



การพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ราคาประหยัด  
Development of cost effective test kits for nitrate and nitrite

จันทรทิพย์ เทียงธรรม  
Junthip Tiengtum

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
in Technology and Environmental Management  
Prince of Songkla University  
2562  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ราคาประหยัด  
Development of cost effective test kits for nitrate and nitrite

จันทรทิพย์ เทียงธรรม  
Junthip Tiengtum

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
in Technology and Environmental Management  
Prince of Songkla University  
2562  
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ราคาประหยัด  
Development of cost effective test kits for nitrate and nitrite

ผู้เขียน นางสาวจันทร์ทิพย์ เทียงธรรม

สาขาวิชา เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ)

(ดร.วัชรวิดี ลิ้มสกุล)

..... กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ)

.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ วงศ์นิรมัยกุล)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ วงศ์นิรมัยกุล)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปุริม จารุจำรัส)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็น  
ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีและการ  
จัดการสิ่งแวดล้อม

.....  
(ศาสตราจารย์ ดร. ดำรงค์ศักดิ์ ฟ้ารุ่งแสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ.....

(นางสาวจันทร์ทิพย์ เทียงธรรม)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ  
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวจันทร์ทิพย์ เทียงธรรม)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ราคาประหยัด  
 ผู้เขียน นางสาวจันทร์ทิพย์ เทียงธรรม  
 สาขาวิชา เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม  
 ปีการศึกษา 2561

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์แบบเปรียบเทียบสี ชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นมีราคาประหยัด มีขนาดเล็ก พกพาสะดวก ใช้งานง่าย ลดความเสี่ยงจากอันตรายของสารเคมีและสามารถวิเคราะห์ภาคสนามได้ ชุดตรวจไนไตรท์พัฒนาขึ้นจากพอลิเมอร์ชนิดพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly Vinyl Alcohol: PVA) ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวกักเก็บน้ำยาเคมีชนิดเกรส (Griess reagents) และใช้พอลิ เอทิลีน ไกลคอล ไดกลีซิไดล อีเทอร์ (Poly Ethylene Glycol Diglycidyl Ether: EGDE) เป็นตัวเชื่อมสายพอลิเมอร์ และขึ้นรูปให้อยู่ในรูปแบบก้อนพอลิเมอร์ภายในจานหลุม (24-well plate) โดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ก้อนพอลิเมอร์ที่ได้มีลักษณะเป็นก้อนเจลทรงกลม สี และไม่มีสี เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไนไตรท์ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงในจานหลุมที่บรรจุชุดตรวจ จะได้เป็นผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพู ในขณะที่ชุดตรวจไนเตรทพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์โดยใช้ ผงสังกะสีซึ่งถูกกักเก็บไว้ในฟิล์มบางของแป้งมันสำปะหลังแล้วจึงตรวจวัดไนไตรท์ที่เกิดขึ้นด้วยชุดตรวจไนไตรท์ ฟิล์มบางของผงสังกะสีสังเคราะห์โดยการเตรียมสารละลายผสมของแป้งมันสำปะหลังและผงสังกะสีและอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ชุดตรวจไนเตรทที่ได้มีลักษณะเป็นแผ่นบางสีเทาอ่อน เคลือบอยู่บนฝาปิดของหลอดพลาสติกปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร มีความหนา 8.36 ไมโครเมตร สามารถใช้งานได้โดยการเติมสารละลายมาตรฐานไนเตรทลงในหลอดพลาสติกปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วจึงปิดด้วยฝาปิดหลอดที่เคลือบด้วยฟิล์มบางของผงสังกะสี เขย่า และนำสารละลายที่ได้ทดสอบด้วยชุดตรวจไนไตรท์ เมื่อประยุกต์ใช้ชุดตรวจไนเตรทและไนไตรท์ร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลเพื่อวิเคราะห์หาไนเตรทและไนไตรท์ในเชิงปริมาณโดยใช้แอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่เพื่อหาค่าความเข้มแสงของสีพื้นฐาน 3 สี (แดง เขียว น้ำเงิน) ของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างชุดตรวจและสารละลายมาตรฐานพบว่า ค่าความเข้มของแสงสีน้ำเงิน

มีความไวในการตรวจวัดไนโตรเจนสูงสุด ( $20.6 \pm 1.2 \text{ a.u.}/(\text{mgL}^{-1})$ ) ในขณะที่ค่าความเข้มแสงสีแดงให้ความไวของการตรวจวัดไนเตรตสูงสุดเท่ากับ  $3.8 \pm 0.1 \text{ a.u.}/(\text{mgL}^{-1})$  ร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการตรวจวัดไนโตรเจนและไนเตรตภายในหนึ่งวันเท่ากับ 0.29 ถึง 0.84% และ 0.37 ถึง 1.43% ตามลำดับ ในขณะที่การตรวจวัดไนโตรเจนและไนเตรต จำนวน 3 วัน มีร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ตั้งแต่ 0.20 ถึง 0.69% และ 0.31 ถึง 1.48% ตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการตรวจวัดไนโตรเจนตั้งแต่ 0.05 ถึง 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $r^2 > 0.99$ ) และการตรวจวัดไนเตรตตั้งแต่ 1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $r^2 > 0.99$ ) ขีดจำกัดในการตรวจวัดไนโตรเจนเท่ากับ  $0.05 \pm 0.07$  และ  $0.42 \pm 0.04$  มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับตรวจวัดไนเตรต ระบบที่พัฒนาขึ้นมีความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์สำหรับการวิเคราะห์หาไนโตรเจน (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) อยู่ในช่วง 0.75 ถึง 8.22% และค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของไนเตรต (2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) อยู่ในช่วง 1.86 ถึง 7.87% เมื่อประยุกต์ใช้ระบบที่พัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์ไนเตรตและไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณท่าเทียบเรืออ่าวฉลอง จังหวัดภูเก็ต จำนวน 10 จุด ตรวจพบไนโตรเจนและไนเตรตจำนวน 1 จุด และเมื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไนโตรเจนและไนเตรตด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล พบว่า ไนโตรเจนมีความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และตรวจพบไนเตรตที่ความเข้มข้น 0.57 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับวิธีมาตรฐาน (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี)

**คำสำคัญ:** ชุดตรวจวัดไนเตรตและไนโตรเจน ระบบภาพถ่ายดิจิทัล และค่าความเข้มแสง

<b>Thesis Title</b>	Development of cost effective test kits for nitrate and nitrite
<b>Author</b>	Miss Junthip Tiengtum
<b>Major Program</b>	Technology and Environmental Management
<b>Academic</b>	2018

## ABSTRACT

Cost effective colorimetric test kits were successfully developed for nitrate and nitrite detection. The developed test kits were inexpensive, simple, small size and portable for on-site detection with low risk from chemical hazardous. Nitrite test kit was developed based on the entrapment of Griess reagents within poly vinyl alcohol (PVA) hydrogel matrix with poly ethylene glycol diglycidyl ether (EGDE) as a cross-linker. The polymeric sensor was fabricated on 24-well plate in a freezer 24 hours resulting in a clear gel and colorless. When standard solution of nitrite (1.5 mL) was dropped on the polymeric sensor, pink violet product was obtained. For nitrate test kit, it was developed based on the reduction of nitrate to nitrite by zinc powder which was entrapped within tapioca starch film. The film was fabricated on the lid of small plastic tube by incubating the polymeric mixture (zinc powder and starch solution) at 120°C for 15 minutes. The lid containing gray thin film with 8.36  $\mu\text{m}$  thickness could be used to reduce nitrate to be nitrite before testing of nitrite with the nitrite test kit. The test kits were used in conjunction with digital image colorimetry (DIC) to demonstrate the rapid quantitative analysis of nitrate and nitrite. Red-Green-Blue (RGB) intensities of the pink-violet products obtained from the reaction between standard solutions and test kits were analyzed using custom-built color analysis application on smartphone. These RGB color data from the color product were used to establish calibration graphs. The blue intensity provided the most sensitivity for nitrite detection ( $20.6 \pm 1.2 \text{ a.u./}(\text{mgL}^{-1})$ ), while red channel was observed for nitrate detection ( $3.8 \pm 0.1 \text{ a.u./}(\text{mgL}^{-1})$ ). The intra-day precision for analysis of nitrite was 0.29-0.84%RSD and 0.37-1.43%RSD for nitrate, while inter-day precision (n=3) was obtained



in the range of 0.20-0.69%RSD for nitrite and 0.31-1.48%RSD for nitrate. The linear range was obtained in the range of 0.05 to 5 mgL<sup>-1</sup> for nitrite, and 1 to 50 mgL<sup>-1</sup> for nitrate with good linearity ( $r^2 > 0.99$ ). A low detection limit was achieved at  $0.05 \pm 0.07$  mgL<sup>-1</sup> for nitrite and  $0.42 \pm 0.04$  mgL<sup>-1</sup> for nitrate. The accuracy of developed method on analyzing standard sodium nitrite solution of known concentration (0.1 mgL<sup>-1</sup>) was 0.75-8.22% relative error and 1.86-7.87% relative error for nitrate (2.5 mgL<sup>-1</sup>). The developed method was applied for detection nitrite and nitrate in marine water at Chalong Bay, Phuket. Concentration of nitrite was found at 0.06 mgL<sup>-1</sup> and nitrate at 0.57 mgL<sup>-1</sup>. The results of developed method were in good agreement with the spectrophotometric method.

**Keywords:** Nitrate and nitrite test kits, Digital image colorimetry, Intensity

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี โดยความอนุเคราะห์และความกรุณาอย่างดียิ่งจากผู้มีพระคุณหลาย ๆ ฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้ความรู้คำปรึกษา วางแผนการดำเนินงาน อีกทั้งแนะนำเทคนิค ข้อเสนอแนะที่มีประโยชน์ให้แก่ผู้วิจัย และขอขอบพระผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ วงศ์นิรามัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างยิ่งและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณดร.วัชรวิดี ลิ้มสกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปรีม จารุจรัส กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลามาสอบวิทยานิพนธ์และให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์เพื่อใช้เป็นแนวทางการปรับปรุงวิทยานิพนธ์ให้มีคุณภาพมากขึ้น

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย และสำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่มอบทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานบัณฑิตศึกษา ที่คอยชี้แนะแนวทาง ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในด้านการติดต่อประสานงานต่าง ๆ เกี่ยวกับการทำวิทยานิพนธ์ รวมถึงบุคลากรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา และขอขอบคุณหน่วยงานต่าง ๆ ที่ให้บริการทดสอบตัวอย่างเป็นอย่างดีมาตลอด

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่คอยให้กำลังใจ สนับสนุน ส่งเสริม และช่วยเหลือในทุกด้านจนสำเร็จการศึกษา ตลอดจนบุคคลต่าง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลืออีกมากมาย ซึ่งผู้วิจัยอาจไม่สามารถกล่าวนามได้หมดในที่นี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และความปรารถนาดีของทุกท่านเป็นอย่างยิ่ง ประโยชน์อันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านดังกล่าวข้างต้น ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

จันทร์ทิพย์ เทียงธรรม

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....	(5)
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ) .....	(7)
กิตติกรรมประกาศ.....	(9)
สารบัญ.....	(10)
รายการตาราง.....	(13)
รายการภาพประกอบ.....	(14)
สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ.....	(16)
<b>บทที่ 1 บทนำ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b> .....	<b>5</b>
2.1 ไนเตรทและไนไตรท์.....	5
2.2 ความเป็นพิษของไนเตรทและไนไตรท์.....	7
2.3 การตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์.....	8
2.3.1 วิธีการตรวจวัดและหาปริมาณของไนเตรทและไนไตรท์.....	8
2.3.2 การตรวจวัดไนไตรท์ด้วยวิธี Griess Reaction.....	9
2.4 พอลิไวนิลแอลกอฮอล์.....	11
2.5 แป้ง.....	12
2.6 เทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล.....	13
<b>บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย</b> .....	<b>15</b>
3.1 วัสดุและการทดลอง.....	15
3.1.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	15
3.1.2 เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์.....	16
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย.....	17

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.1 การพัฒนาระบบตรวจวัดความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ใช้ร่วมกับ แอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่.....	18
3.2.2 การพัฒนาชุดตรวจไนเตรทและไนไตรท์.....	20
3.2.2.1 การสังเคราะห์ชุดตรวจวัดไนไตรท์.....	20
3.2.2.2 การสังเคราะห์ชุดตรวจวัดไนเตรท.....	20
3.2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม.....	21
3.2.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจไนไตรท์.....	21
3.2.3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจไนเตรท.....	21
3.2.4 ศึกษาคุณลักษณะของชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์.....	22
3.2.5 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยระบบภาพดิจิทัล.....	23
3.2.6 การศึกษาสมรรถนะของระบบและพิสูจน์การใช้ได้ของวิธี.....	23
3.2.7 การศึกษาผลของเมทริกซ์ในน้ำทะเล.....	26
3.2.8 การศึกษาความเสถียรของชุดตรวจ.....	26
3.2.9 การวิเคราะห์ตัวอย่างจริง.....	26
3.2.10 การทดสอบผลการรบกวนที่เกิดจากไอออนชนิดอื่น.....	27
<b>บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา.....</b>	<b>28</b>
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจ.....	28
4.1.1 สภาวะที่เหมาะสมของการพัฒนาชุดตรวจไนไตรท์.....	28
4.1.2 สภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจไนเตรท.....	35
4.2 ผลการศึกษาคุณลักษณะของชุดตรวจ.....	40
4.2.1 ผลจากการวิเคราะห์ SEM.....	40
4.2.2 ผลจากการวิเคราะห์ FTIR.....	41
4.2.3 ผลจากการวิเคราะห์ SEM/EDX.....	44
4.2.4 ผลจากการวิเคราะห์ TGA.....	45
4.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิควิเคราะห์ภาพดิจิทัล.....	48
4.4 สมรรถนะของระบบ.....	53

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4.1 ความถูกต้อง/ความแม่นยำ.....	53
4.4.2 ความเที่ยงตรงของระบบ.....	55
4.4.3 ช่วงความเป็นเส้นตรง.....	55
4.4.4 ขีดจำกัดในการตรวจวัด.....	56
4.4.5 ความไวในการวิเคราะห์.....	57
4.5 ผลของเมทริกซ์ในน้ำทะเล.....	58
4.6 ผลการรบกวนที่เกิดจากไอออนชนิดอื่น.....	60
4.7 ผลการรบกวนแสงภายนอกของระบบภาพดิจิทัล.....	61
4.8 ความเสถียรของชุดตรวจ.....	64
4.9 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง.....	66
4.10 ผลการรบกวนของไอออนไนเตรทต่อความเข้มข้นของไนไตรท์.....	67
4.11 ผลการรบกวนของไอออนไนไตรท์ต่อความเข้มข้นของไนเตรท.....	69
4.12 ต้นทุนของชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์.....	71
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....</b>	<b>72</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	72
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	74
<b>เอกสารอ้างอิง.....</b>	<b>75</b>
<b>ภาคผนวก.....</b>	<b>82</b>
<b>ประวัติผู้เขียน.....</b>	<b>94</b>

## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สมบัติทางเคมีของโซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์.....	5
4.1 ความถูกต้อง/ความแม่นยำของการตรวจวัดไนไตรท์.....	54
4.2 ความถูกต้อง/ความแม่นยำของการตรวจวัดไนเตรท.....	54
4.3 ความเที่ยงตรงของการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท.....	55
4.4 ช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท.....	56
4.5 ขีดจำกัดในการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท.....	57
4.6 ความไวในการวิเคราะห์.....	58
4.7 ความเข้มข้นของไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างน้ำทะเล.....	67
4.8 ค่าความชื้นจากการทดสอบผลการรบกวนของไอออน.....	68

## รายการภาพประกอบ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของโซเดียมไนเตรท.....	6
2.2 โครงสร้างของโซเดียมไนไตรท์.....	6
2.3 ปฏิกิริยา Griess reaction.....	10
2.4 โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์.....	11
2.5 โครงสร้างภายในเม็ดแป้งและองค์ประกอบของแป้ง.....	13
3.1 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	17
3.2 ระบบวิเคราะห์ภาพดิจิทัล.....	18
3.3 การวิเคราะห์ความเข้มแสงของผลิตภัณฑ์สีด้วยแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่.....	19
3.4 จุดเก็บตัวอย่างบริเวณอ่าวฉลอง จังหวัดภูเก็ต.....	27
4.1 ผลของปริมาณซัลฟานิลาไมด์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	29
4.2 ผลของปริมาณ NED ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	30
4.3 ผลของปริมาณกรดฟอสฟอริก ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	31
4.4 ผลของปริมาณน้ำยาเกรส ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	32
4.5 ผลของปริมาณ EGDE ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	33
4.6 ผลของระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายไนไตรท์และชุดตรวจ.....	34
4.7 ผล pH ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	35
4.8 ผลของปริมาณแป้งมันสำปะหลัง ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	36
4.9 ผลของปริมาณผงสังกะสี ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	37
4.10 ผลของปริมาณสารละลายพอลิเมอร์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	38
4.11 ผลของระยะเวลาที่ผงสังกะสีใช้รีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	39
4.12 ผลของ pH ของสารละลายมาตรฐานไนเตรท ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี.....	40
4.13 ลักษณะพื้นผิวของชุดตรวจไนเตรทที่วิเคราะห์ด้วย SEM.....	41
4.14 ผลการวิเคราะห์ชุดตรวจไนไตรท์ด้วย FTIR .....	42
4.15 ผลการวิเคราะห์ชุดตรวจไนเตรทด้วย FTIR .....	44
4.16 ปริมาณธาตุและลักษณะการกระจายตัวของธาตุด้วยเครื่อง SEM/EDX.....	45

## รายการภาพประกอบ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.17 ผลการวิเคราะห์ TGA ของชุดตรวจไนไตรท์.....	46
4.18 ผลการวิเคราะห์ TGA ของชุดตรวจไนเตรท.....	47
4.19 สีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐาน กับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น.....	49
4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสง RGB กับความเข้มข้นของสารละลายไนไตรท์....	50
4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสง RGB กับความเข้มข้นของสารละลายไนเตรท.....	51
4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์กับค่าการดูดกลืนแสง RGB.....	52
4.23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนเตรทกับค่าการดูดกลืนแสง RGB.....	53
4.24 ผลของเมทริกซ์ในน้ำทะเล.....	59
4.25 ผลการทดสอบโอออนรบกวนกับชุดตรวจ.....	61
4.26 ผลการรบกวนจากแสงภายนอกของระบบภาพดิจิทัล.....	63
4.27 ความเสถียรของชุดตรวจ.....	65
4.28 ผลการรบกวนของโอออนไนเตรทต่อความเข้มข้นของไนไตรท์.....	69
4.29 ผลการรบกวนของโอออนไนไตรท์ต่อความเข้มข้นของไนเตรท.....	70



### สัญลักษณ์คำย่อและตัวย่อ

$A_R$	การดูดกลืนแสงสีแดง
$A_G$	การดูดกลืนแสงสีเขียว
$A_B$	การดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน
a.u.	ไม่มีหน่วย
DIC	เทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล
EGDE	พอลิ เอทิลีน ไกลคอล ไดกลีซิดีล อีเทอร์
g	กรัม
$I_R$	ความเข้มแสงสีแดง
$I_G$	ความเข้มแสงสีเขียว
$I_B$	ความเข้มแสงสีน้ำเงิน
LOD	ขีดจำกัดในการตรวจวัด
mg	มิลลิกรัม
$\text{mgL}^{-1}$	มิลลิกรัมต่อลิตร
mL	มิลลิลิตร
NED	N-(1-แนพทิลเอทิลีนไดเอมีน ไตไฮโดรคลอไรด์)
$\text{NO}_3^-$	ไนเตรท
$\text{NO}_2^-$	ไนไตรท์
PVA	พอลิไวนิลแอลกอฮอล์
RGB intensity	ความเข้มแสงของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน
$\mu\text{L}$	ไมโครลิตร
$\mu\text{m}$	ไมโครเมตร

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ ) และไนไตรท์ ( $\text{NO}_2^-$ ) เป็นไอออนที่มีอยู่ธรรมชาติ เช่น น้ำ อากาศ ดิน อาหาร (โดยเฉพาะในผัก) และในร่างกายของมนุษย์ (Walker, 1990) ซึ่งเกิดจากวัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen cycle) โดยอาศัยจุลินทรีย์ในดินเป็นตัวย่อยสลายไนโตรเจนในซากพืช ซากสัตว์ หรือ สารอินทรีย์ต่างๆได้เป็น แอมโมเนียม ( $\text{NH}_4^+$ ) ไนไตรท์ และไนเตรท ตามลำดับ

ในปัจจุบันทั่วโลกกังวลเกี่ยวกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณไนเตรทและไนไตรท์อันเนื่องมาจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การใช้ปุ๋ยที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมากเกินไปซึ่งจะทำให้พืชจะสามารถนำไปใช้ได้หมด การปล่อยน้ำทิ้งของอุตสาหกรรม โรงแรม และอาคารบ้านเรือนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยไม่ได้บำบัด การปล่อยก๊าซจากยานพาหนะ ส่งผลให้มีปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ตกค้างในธรรมชาติ (Camargo and Alonso, 2006; Moorcroft, 2001; Pasquali, *et al.*, 2010) โดยเฉพาะในดินเนื่องจากดินสามารถดูดซับไนเตรทไว้ได้ในปริมาณที่น้อยมาก ไนเตรทจึงถูกชะล้างลงสู่แหล่งน้ำและเกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้

การปนเปื้อนของไนเตรทและไนไตรท์ในแหล่งน้ำ เช่น น้ำใต้ดิน น้ำผิวดิน ก่อให้เกิดผลกระทบต่อระบบนิเวศน้ำและมนุษย์ (Moorcroft, 2001) เนื่องจากการปนเปื้อนไนเตรทและไนไตรท์สามารถรวมตัวกับฮีโมโกลบิน (Haemoglobin) ในเม็ดเลือดแดงและเปลี่ยนเป็นเมทฮีโมโกลบิน (Methemoglobin) ทำให้ความสามารถในการขนส่งออกซิเจนไปเลี้ยงส่วนต่างๆในร่างกายลดลง ส่งผลให้ร่างกายขาดออกซิเจน ซึ่งเรียกว่า โรคเมทฮีโมโกลบินเมีย (Methemoglobinemia) (Camargo and Alonso, 2006; Ayala, *et al.*, 2012; Moorcroft, 2001) โดยไนเตรทสามารถรีดิวซ์เป็นไนไตรท์ได้โดยอาศัยแบคทีเรียในปากจึงมีความเป็นพิษเช่นเดียวกับไนไตรท์ (Moorcroft, 2001; Gaspar, *et al.*, 2005) นอกจากนี้ไนเตรทและไนไตรท์สามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบเอมีน (Amines) เกิดเป็นไนโตรซามีน (Nitrosamines) ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง (Carcinogenic agents) (Camargo and Alonso, 2006; Ayala, *et al.*, 2012;

Wolff and Wasserman, 2009) การปนเปื้อนของไนเตรทในแหล่งน้ำธรรมชาติในปริมาณที่สูงอาจก่อให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) (Camargo and Alonso, 2006) เนื่องจากมีปริมาณสารอาหารมากเกินไปทำให้พืชน้ำเกิดการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทำให้แหล่งน้ำขาดออกซิเจน ส่งผลให้สัตว์น้ำในแหล่งน้ำตาย และเกิดน้ำเน่าเสีย รวมทั้งทำให้เสียทัศนียภาพซึ่งอาจส่งผลเสียต่อเศรษฐกิจได้ เนื่องจากขาดความน่าเชื่อถือจากนักท่องเที่ยว

การตรวจวัดหาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์มีอยู่ด้วยกันหลายวิธี เช่น ไอออนโครมาโทกราฟี (Ion chromatography) (Siu and Henshall, 1998; Niedzielski, *et al.*, 2006) แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (Gas chromatography-mass spectrometry: GCMS) (Pagliano. *et al.*, 2011) แคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis) (Nutku, *et al.*, 2002) เทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีเชิงไฟฟ้า (Electrochemical methods) (Manea, *et al.*, 2010; Serra, *et al.*, 2011; Xia, *et al.*, 2011; Hu, *et al.*, 2012) เทคนิคลูมิเนสเซนซ์ (Luminescence) (Chen, *et al.*, 2012) และ วิธีสเปกโตรโฟโตเมทรี (Spectrophotometric methods) (Ayala, *et al.*, 2012; Ilik, *et al.*, 2011; Patey, *et al.*, 2010; Gentle. *et al.*, 2011) เป็นต้น อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวมีข้อจำกัด เช่น เครื่องมือมีราคาแพง ต้องใช้ผู้ที่มีความเชี่ยวชาญในการวิเคราะห์เนื่องจากมีขั้นตอนที่ซับซ้อน ต้องทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ และอาจเกิดอันตรายจากการใช้สารเคมี (Noroozifar and Khorasani-motlagh, 2007) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาการตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ที่ราคาไม่แพง มีขั้นตอนในการใช้ไม่ยุ่งยากซับซ้อน สามารถทำการวิเคราะห์ได้ในภาคสนาม และไม่เกิดความเป็นอันตรายจากสารเคมีต่อผู้ใช้งาน

ในปัจจุบันปฏิกริยาการเกิดสี (Colorimetric method) ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก ใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อย และสามารถวิเคราะห์ในเชิงปริมาณได้ โดยประยุกต์ใช้ปฏิกริยาการเกิดสีร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล (Digital image colorimetry) เทคนิคดังกล่าวอาศัยหลักการวิเคราะห์ความเข้มแสงของสีพื้นฐาน 3 สี คือสีแดง (Red: R) สีเขียว (Green: G) และสีน้ำเงิน (Blue: B) (Lopez-Moliner, *et al.*, 2010) โดยระหว่างการถ่ายภาพผลิตภัณฑ์สีจะสะท้อนแสงสีต่างๆ ผ่านฟิลเตอร์ (RGB filters) ของกล้องถ่ายภาพ ซึ่งฟิลเตอร์จะทำหน้าที่แยกความเข้มแสงของสีในช่วงสีที่แตกต่างกันและทำการบันทึกค่าความเข้มแสงภายในเซ็นเซอร์ที่อยู่ในกล้อง โดยความเข้มแสงของภาพที่ได้เกิดจากการผสมสีระหว่าง RGB ซึ่งค่า RGB ที่วิเคราะห์ได้จากภาพดิจิทัลสามารถนำมาวิเคราะห์หาปริมาณของสาร โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของสารและค่าความเข้มแสงของผลิตภัณฑ์ในช่วงที่เป็นเส้นตรง

งานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ที่สามารถทำการวิเคราะห์ได้ในภาคสนาม มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก โดยใช้พอลิเมอร์เป็นตัวกักเก็บสารเคมีและทำการขึ้นรูปให้อยู่ในรูปแบบก้อนพอลิเมอร์และแผ่นฟิล์มบางเพื่อช่วยป้องกันอันตรายที่เกิดจากสารเคมีใน

ระหว่างทำการวิเคราะห์ และใช้ระบบตรวจวัดความเข้มแสงของผลิตภัณฑ์ควบคู่กับแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ที่สามารถตรวจวัดภาคสนามที่มีราคาประหยัด
- 1.2.2 เพื่อพัฒนาระบบสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์เชิงปริมาณโดยใช้หลักการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล
- 1.2.3 เพื่อประยุกต์ใช้วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำทะเล

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 พัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์โดยใช้หลักการเก็บสารเคมีที่สามารถทำปฏิกิริยาการเกิดสีกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ไว้ภายในพอลิเมอร์เป็นตัวกักเก็บ มีราคาประหยัด ใช้งานได้ง่าย
- 1.3.2 ออกแบบระบบตรวจวัดค่าความเข้มแสงของผลิตภัณฑ์สีโดยใช้กล้องดิจิทัลบนโทรศัพท์เคลื่อนที่สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์
- 1.3.3 ทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจและระบบที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำในจังหวัดภูเก็ต

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้ชุดตรวจวัดไนเตรทและไนโตรท์ที่สามารถทดสอบภาคสนาม มีราคาถูก ใช้งานง่าย พกพาสะดวก และมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดหาไนเตรทและไนโตรท์ได้ดี
- 1.4.2 ได้บทความวิจัยจากการเสนอในที่ประชุมวิชาการระดับชาติ (Proceeding)
- 1.4.3 ได้ต้นฉบับผลงานวิจัยที่สามารถเสนอตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติ

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

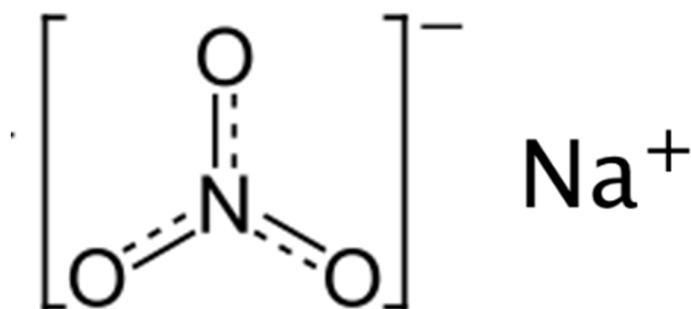
#### 2.1 ไนเตรทและไนไตรท์

ไนเตรท ( $\text{NO}_3^-$ ) และไนไตรท์ ( $\text{NO}_2^-$ ) เป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่มีมวลโมเลกุล 62 กรัมต่อโมล และ 46 กรัมต่อโมล ตามลำดับ และมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี มักอยู่ในรูปของสารประกอบเกลือ ได้แก่ โซเดียมไนเตรท โซเดียมไนไตรท์ แอมโมเนียมไนเตรท และโพแทสเซียมไนไตรท์ เป็นต้น

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางเคมีของโซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์

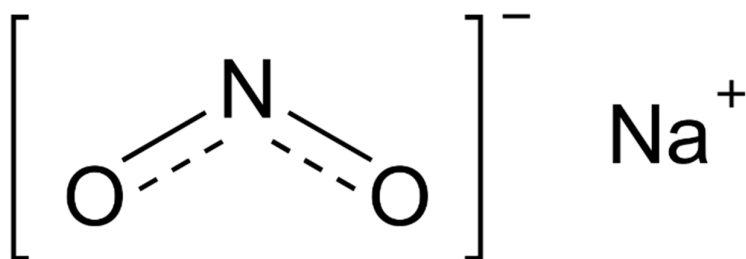
	โซเดียมไนเตรท	โซเดียมไนไตรท์
ลักษณะทั่วไป	ของแข็งไม่มีสี	ของแข็ง สีขาว
สูตรโมเลกุล	$\text{NaNO}_3$	$\text{NaNO}_2$
มวลโมเลกุล	85 กรัมต่อโมล	69 กรัมต่อโมล
จุดหลอมเหลว	308 องศาเซลเซียส	280 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่น	2.26 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร	2.17 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
ความสามารถในการละลายน้ำ	874 กรัมต่อลิตร	820 กรัมต่อลิตร

ที่มา เอกสารข้อมูลความปลอดภัย (2555)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของโซเดียมไนเตรท

ที่มา <https://www.glenthams.com/en/products/product/GK2648/>



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของโซเดียมไนไตรท์

ที่มา [https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium\\_nitrite\\_\(medical\\_use\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_nitrite_(medical_use))

ไนเตรทและไนไตรท์เป็นสารประกอบอนินทรีย์ในวัฏจักรไนโตรเจน (Inorganic nitrogen) เกิดจากการตรึงก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศโดยจุลินทรีย์ที่อยู่อย่างอิสระในดิน (Non-symbiotic-nitrogen fixation) ได้แก่ อะโซโตแบคทีเรีย (*Azotobacter sp.*) คลอสทริเดียม (*Clostridium sp.*) และสาหร่ายบางชนิด เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งจุลินทรีย์จะตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศมาให้แก่พืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Nitrogen fixation) สัตว์จะกินพืชเป็นอาหาร ได้รับไนโตรเจนเข้าไปและขับถ่ายออกมาในรูปของสารอินทรีย์ และถูกจุลินทรีย์เปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียม ( $\text{NH}_4^+$ ) ซึ่งเรียกปฏิกิริยานี้ว่า แอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) แอมโมนิฟิเคชันที่เกิดขึ้นส่วนหนึ่งจะถูกพืชและจุลินทรีย์ใช้เป็นอาหาร เกิดเป็นสารอินทรีย์ใหม่อีกครั้ง และอีกส่วนหนึ่งถูกออกซิไดซ์โดยแบคทีเรียพวกไนโตรโซโมนาส (*Nitrosomonas sp.*) และไนโตรแบคทีเรีย (*Nitrobacter sp.*) ได้เป็นไนไตรท์และไนเตรท (Martinez, et al., 2011;

Richardson and Watmough, 1999) ตามลำดับ นอกจากนี้การใช้ปุ๋ยเคมี การเปิดหน้าดินเพื่อ การเกษตร ชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม ซากพืชซากสัตว์ ยังเป็นส่วนที่ทำให้เกิดไนเตรทและไนไตรท์ อีกด้วย

ปัจจุบันไนเตรทและไนไตรท์ถูกนำมาใช้เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรม เนื่องจากมี คุณสมบัติในการตรึงสีของเนื้อสัตว์ให้มีสีแดงสดน่ารับประทาน ช่วยป้องกันและยับยั้งการเน่าเสียของ อาหาร และยับยั้งเชื้อโรคกลุ่ม คลอสทริเดียม โบทูลินัม (*Clostridium botulinum*) (Reddy, *et al.*, 1983) ในอาหารแปรรูป เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้สร้างพิษที่ร้ายแรง เรียกว่า โบทูลินัมท็อกซิน (*Botulinum toxin*) หรือโบทอกซ์ (Botox) ซึ่งมีฤทธิ์ร้ายแรงกว่าพิษงูเห่าถึง 600 เท่า ส่งผลให้เป็น อัมพาตชั่วคราว และหากสารพิษเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจอาจเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต (Merino, *et al.*, 2000) นอกจากนี้การพัฒนาการเกษตรสมัยใหม่มีการเพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจนเข้าไปเพื่อเพิ่ม ผลผลิตทางการเกษตร (Santamaria, 2006)

## 2.2 ความเป็นพิษของไนเตรทและไนไตรท์

การปนเปื้อนของไนเตรทและไนไตรท์ในแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น น้ำผิวดิน แม่น้ำ เป็นต้น ส่งผลต่อสุขภาพของมนุษย์ และระบบนิเวศน้ำ (Moorcroft, 2001) การปนเปื้อนของไนเตรท และไนไตรท์ในน้ำดื่มเป็นสาเหตุหนึ่งทำให้เกิดภาวะอาการขาดออกซิเจนแบบเฉียบพลัน เนื่องจาก ไนไตรท์จับตัวกับฮีโมโกลบิน (Haemoglobin) เกิดเป็นเมทฮีโมโกลบิน (Methaemoglobin) ทำให้ ฮีโมโกลบินไม่สามารถจับตัวกับออกซิเจนได้ (Camargo, *et al.*, 2005) ซึ่งก่อให้เกิดอาการตัวเขียว เล็บเขียว หอบ เหนื่อย หัวใจเต้นแรง และอาจเสียชีวิตได้ หรือมีอาหารท้องเสียอย่างรุนแรงได้ ใน บราซิลจึงมีข้อกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนสูงสุดของไนเตรท-ไนโตรเจนในน้ำสะอาดที่ 10 มิลลิกรัม ต่อลิตร และไนไตรท์-ไนโตรเจนที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Conselho and Nacional, 2005) ในขณะที่ ไนเตรทมีความพิษเช่นเดียวกับไนไตรท์ เนื่องจากเอนไซม์ในน้ำลายของมนุษย์สามารถรีดิวซ์ไนเตรทให้ เป็นไนไตรท์ได้

นอกจากนี้การปนเปื้อนไนเตรทและไนไตรท์ในแหล่งน้ำธรรมชาติยังเป็นสาเหตุหนึ่ง ที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่แหล่งน้ำมีปริมาณธาตุ อาหารเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ จุลินทรีย์ รา พืชน้ำอื่นๆ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพิ่มจำนวนขึ้น อย่างรวดเร็วทำให้แสงส่องผ่านน้ำลดลง ลดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำได้ ก่อให้เกิดปัญหาทางลบ มากมายทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การเกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน



โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกิดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินยังมีการสร้างสารพิษ เช่น ไมโครซิสติน (Microcystins), แอนาโทอกซิน-เอ (Anatoxin-a) และ โฮโมแอนาโทอกซิน-เอ (Homoanatoxin-a) ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศน้ำ การเกิดยูโทรฟิเคชันยังทำให้แหล่งน้ำสูญเสียทัศนียภาพและความสวยงามด้านการพักผ่อนหย่อนใจ เนื่องจากสีและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของแพลงก์ตอนพืชที่เน่าสลายและทำให้ไม่สามารถทำกิจกรรมทางน้ำในรูปแบบต่างๆ ได้ (พงศศักดิ์ หนูพันธ์ และ รัชชา ชัยชนะ, 2557)

ในปี พ.ศ. 2540 ทะเลสาบสงขลาซึ่งเป็นทะเลสาบธรรมชาติที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศไทย มีพื้นที่ประมาณ 1,018 ตารางกิโลเมตร (โครงการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมลุ่มน้ำทะเลสาบ, 2542) ประสบปัญหาในระดับยูโทรฟิเคชันในทะเลสาบตอนนอกอย่างรุนแรง ทำให้ค่าออกซิเจนละลายและพีเอชในช่วงกลางวันเพิ่มสูงขึ้น แต่ทำให้ความโปร่งใสของน้ำลดต่ำลง และเป็นเหตุให้สัตว์น้ำทั้งที่เลี้ยงในกระชังและธรรมชาติตายเป็นจำนวนมาก (นิคม ปรีดาลัมพะบุตร และ ยงยุทธ ละอองศิริวงศ์, 2003)

## 2.3 การตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์

### 2.3.1 วิธีการตรวจวัดและหาปริมาณของไนเตรทและไนไตรท์

ในช่วง 15 ปีที่ผ่านมา มีการรายงานวิธีการสำหรับการตรวจวัดและการหาไนเตรทและไนไตรท์ที่หลากหลาย เช่น วิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี (Filik, *et al.*, 2011; Miranda, *et al.*, 2001; Mesquita, *et al.*, 2009) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับหาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric method) ด้วยน้ำยาเกรส (Griess reagent) (Bratton and Marshall, 1939; Tsikas, 2007) โดยไอออนของไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมี และค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาสามารถบอกความเข้มข้นของไนไตรท์ได้ ในขณะที่การวิเคราะห์หาไนเตรทต้องอาศัยการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์ ก่อนจะทำปฏิกิริยากับน้ำยาเกรสและหาปริมาณด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี

นอกจากนี้การวิเคราะห์หาไนเตรทและไนไตรท์ยังสามารถทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์และแยกสารด้วยเทคนิคแคปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Capillary electrophoresis) (Fukushi, *et al.*, 2002; Fukushi, *et al.*, 2003) เทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีเชิงไฟฟ้า

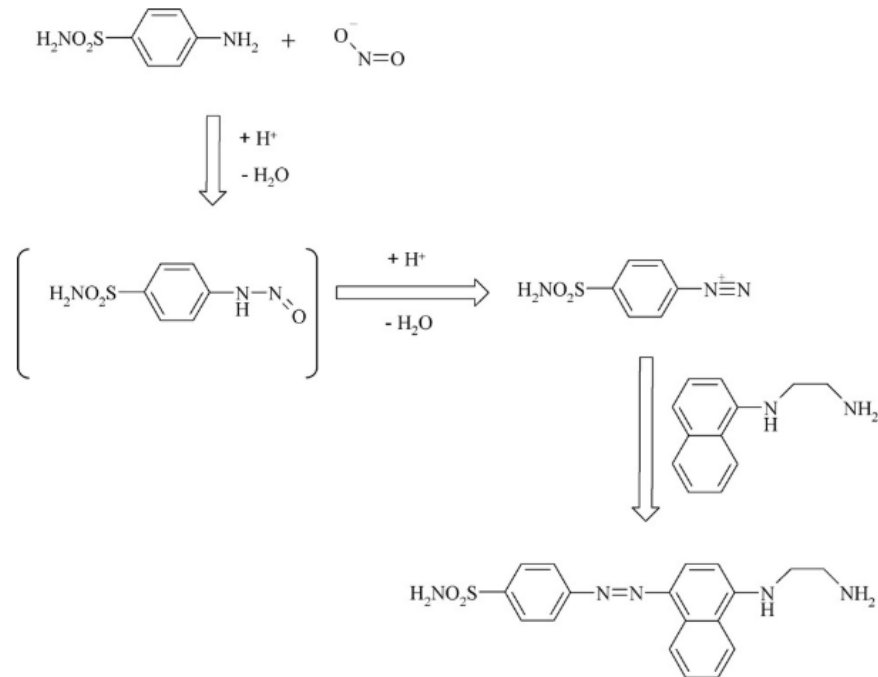
(Electrochemical methods) (Manea, *et al.*, 2010; Zhu, *et al.*, 2009; Manea, *et al.*, 2010) ไอออน โครมาโทกราฟี (Ion chromatography) (Li, *et al.*, 2000; Zuo, *et al.*, 2006; Kodamatani, *et al.*, 2009) เป็นต้น การวิเคราะห์หาปริมาณดั่งที่กล่าวมามีประสิทธิภาพและความไวในการวิเคราะห์สูง สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ช่วงความเป็นเส้นตรงกว้าง แต่ต้องทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ไม่สามารถทำการวิเคราะห์ภาคสนามได้ และเครื่องมือมีราคาแพง

การรีดิวซ์ไอออนของไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้แคดเมียม (Cadmium) ไฮดราซีน (Hydrazine) (Sawicki and Scaringelli, 1971; Kamphake, *et al.*, 1967) วาเนเดียม(III) คลอไรด์ (Vanadium (III) chloride) (McMullen, *et al.*, 2005) และไทเทเนียม (III) คลอไรด์ (Titanium (III) chloride) เป็นต้น แต่วิธีดั่งที่กล่าวมามีข้อจำกัดที่ต่างกัน ได้แก่ แคดเมียม มีความเป็นพิษสูงต่อผู้วิเคราะห์ วิธีไฮดราซีน ต้องใช้เวลาเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (Reduction reaction) นาน ในขณะที่สารละลายไทเทเนียม (III) คลอไรด์ มีสีม่วงและค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงเดียวกับผลิตภัณฑ์ azo dye ที่ได้จากปฏิกิริยา (สีม่วงชมพู) (Wehaid and Townshend, 1986) และนอกจากนี้มียางานการใช้สังกะสีเป็นตัวรีดิวซ์ไอออนไนเตรทเป็นไอออนไนไตรท์ (Merino, 2009) ซึ่งจะเกิดภายใต้สภาวะที่เป็นกรดหรือเป็นกลาง (Ellis, *et al.*, 2011)

### 2.3.2 การตรวจวัดไนไตรท์ด้วยวิธี Griess Reaction

ในปี ค.ศ. 1879 มีการพัฒนาวิธีใช้น้ำยาเกรสสำหรับการตรวจวัดไนไตรท์ในน้ำลายเป็นครั้งแรก (Tsikas, 2007) โดยปฏิกิริยาจะเกิดภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ซึ่งไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับ กรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) ได้เป็นเกลือไดอาโซเนียม (Diazonium salt) จากนั้นเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกับ 1-แนฟทิลลามีน (1-naphthylamine) ได้เป็นสารประกอบ azo dye หรือผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพู โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น ( $\lambda_{max}$ ) ประมาณ 540 นาโนเมตร แต่ 1-แนฟทิลลามีนเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง

ต่อมาในปี ค.ศ. 1939 Bratton and Marshall ได้นำ N-(1-แนฟทิลเอทิลีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl) Ethylenediamine Dihydrochloride: NED) มาทำปฏิกิริยาร่วมกับซัลฟานิลามิด (Sulfanilamide) เนื่องจากพบว่า NED มีข้อดีหลายประการ เช่น ไวต่อการตรวจวัด (Sensitivity) มีประสิทธิภาพในการทำซ้ำได้ (Reproducibility) ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาได้ไวขึ้น และเพิ่มสภาวะความเป็นกรดของสารละลาย azo dye (Bratton and Marshall, 1939) (รูปที่ 2.3)



### รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยา Griess reaction (Tsikas, 2007)

ต่อมามีการพัฒนาวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทโดยใช้ผงสังกะสี (Zinc powder) แทนการใช้แคดเมียมเพื่อรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์ แล้วจึงตรวจวัดไนไตรท์โดยอาศัยน้ำยาเกรสและหาปริมาณด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Merino, 2009) ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยทดสอบกับตัวอย่างผัก เนื้อสัตว์ อาหารสำหรับเด็ก และน้ำผิวดิน พบว่า ค่าความถูกต้อง/ความแม่นยำและประสิทธิภาพในการทำซ้ำอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสากลคือ ประสิทธิภาพในการทำซ้ำของไนเตรทอยู่ในช่วง 73 ถึง 105% และไนไตรท์อยู่ในช่วง 70 ถึง 110% ขีดจำกัดในการตรวจวัดของไนเตรทเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และไนไตรท์มีขีดจำกัดในการตรวจวัด 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

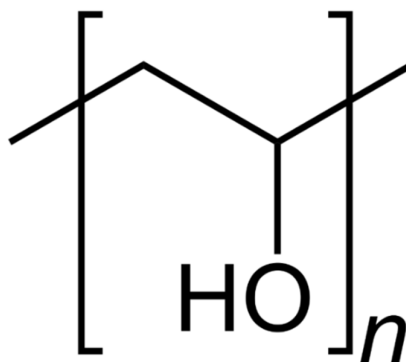
นอกจากนี้ยังมีรายงานการพัฒนาชุดตรวจแบบกระดาษที่อาศัยปฏิกิริยา Griess reaction ในการตรวจวัดปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างเขมาดินปืน (อรอุษา เทียวตระกูล, และคณะ, 2560) และใช้โปรแกรม ImageJ ในการอ่านค่าสีของผลิตภัณฑ์ จากนั้นนำค่าสีและปริมาณของสารมาตรฐานของไนเตรทและไนไตรท์มาสร้างกราฟมาตรฐาน พบว่า ช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.15 ถึง 1.80 นาโนโมล และของไนเตรทเท่ากับ 2 ถึง 10 นาโนโมล จากการเก็บตัวอย่างจาก

เมื่อผู้ยิงและจากด้านในของปลอกกระสุนปืนที่ยิงแล้ว พบว่าปริมาณของไอออนไนไตรท์ที่วัดได้จากชุดตรวจแบบกระดาษมีความสัมพันธ์กับปริมาณของไอออนไนไตรท์ที่วิเคราะห์ได้โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9264 ในขณะที่ปริมาณของไอออนไนไตรท์ที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกันด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9606

## 2.4 พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly Vinyl Alcohol: PVA)

พอลิไวนิลแอลกอฮอล์เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ที่มีขนาดเล็ก มีน้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight) อยู่ที่ 30,000 ถึง 200,000 กรัมต่อโมล มีสูตรโครงสร้างดังรูป 2.4 มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น ละลายน้ำได้ ซึ่ง PVA ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น อุตสาหกรรมกาว อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมสิ่งทอ (Reis, *et al.*, 2006) นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการแพทย์และอาหาร (Demerlis and Schoneker, 2003) เนื่องจากมีความต้านทานต่อสารเคมี สามารถใช้ในการผลิตเส้นใยและฟิล์มได้ สามารถผสมกับตัวเชื่อมโยงพอลิเมอร์เพื่อขึ้นรูปเป็นไฮโดรเจลสำหรับการใช้งานด้านชีวการแพทย์ได้ (Ignatova, *et al.*, 2006; Tang, *et al.*, 2010) ไม่เป็นอันตรายและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากสามารถย่อยสลายได้ง่าย

ไฮโดรเจลพีวีเอ (PVA hydrogel) สามารถสังเคราะห์ได้หลายวิธี เช่น การเชื่อมขวางทางเคมี (Chemical crosslinking) เป็นการเชื่อมสายพอลิเมอร์เข้าด้วยกัน ด้วยพันธะโคเวเลนต์ (Covalent bond) และวิธีการเชื่อมขวางทางกายภาพ (Physical crosslinking) เป็นการแช่แข็ง (Freezing) และการละลายน้ำแข็ง (Thawing cycles) (Wu and Brazel, 2008) เพื่อขึ้นรูปไฮโดรเจล ซึ่งวิธีนี้ช่วยให้เกิดรูพรุน และรูพรุนที่ได้มีขนาดใหญ่

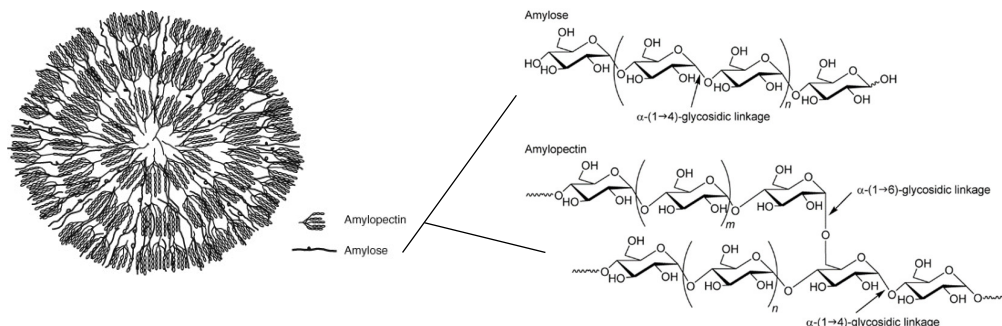


รูปที่ 2.4 โครงสร้างของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์

ปัจจุบันมีการพัฒนาไฮโดรเจลพีวีเอเพื่อการใช้งานหลากหลายด้าน เช่น การพัฒนาชุดตรวจไฮโดรเจลที่มีราคาถูก ใช้งานง่ายสำหรับวิเคราะห์สารระเบิดชนิด trinitrotoluene (TNT) ก่อนและหลังระเบิด (Choodum, *et al.*, 2016) โดยอาศัยหลักการใช้ไฮโดรเจลพีวีเอเป็นตัวกักเก็บ โพลีเอทิลีนไดออกไซด์ (KOH) ที่เป็นรีเอเจนท์เพื่อทำปฏิกิริยาการเกิดสี และใช้โพลีเอทิลีนไกลคอล ไดกลีซีดีล (Poly Ethylene Glycol Diglycidyl Ether: EGDE) เพื่อเป็นตัวเชื่อมขวางทางเคมี การวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวของชุดตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) พบว่าโมเลกุลของโพลีเอทิลีนไดออกไซด์ถูกกักเก็บไว้ภายในโครงสร้างของชุดตรวจ ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของชุดตรวจด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR) พบว่า ปรากฏแถบของการดูดกลืนแสงของโพลีเอทิลีนไดออกไซด์ที่  $1356$  และ  $1422\text{ cm}^{-1}$  พีคการสั่นของหมู่ OH ของ PVA ที่ตำแหน่ง  $3266\text{ cm}^{-1}$  และการสั่นของพันธะ C-O-C ที่เกิดจากการเชื่อมขวางทางเคมีระหว่าง PVA และ EGDE ที่ตำแหน่ง  $1096\text{ cm}^{-1}$  นอกจากนี้ชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นสามารถเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นได้นานถึง 3 เดือน

## 2.5 แป้ง (Starch)

แป้งเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติ (Natural polymers) ที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ แป้งประกอบด้วยอะไมโลส (Amylose) ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง เกิดจากโมเลกุลของกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4 glycosidic และอะไมโลเพกทิน (Amylopectin) ที่เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่มีลักษณะเป็นกิ่งก้าน เกิดจากโมเลกุลของกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4 glycosidic และ  $\alpha$ -1,6 glycosidic (รูป 2.5) (Nuwamanya, *et al.*, 2010; Zeeman, *et al.*, 2010) แป้งมีคุณสมบัติในการย่อยสลายทางชีวภาพ มีต้นทุนต่ำ ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและระบบนิเวศ จึงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหารใช้แป้งผลิต ถุง ถ้วย ซ้อน และบรรจุภัณฑ์อาหาร เพื่อลดการสูญเสียรสชาติและเพื่อเก็บรักษาอาหาร (Lopez, *et al.*, 2015) ในทางการแพทย์แป้งถูกนำมาใช้เพื่อผลิตเนื้อเยื่อกระดูก (Tissue engineering scaffolds) (Gomes, *et al.*, 2002) และใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตยาชนิดเม็ด (Mahkam, 2010) เป็นต้น



## รูปที่ 2.5 โครงสร้างภายในเม็ดแป้งและองค์ประกอบของแป้ง

ที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0566/amylopectin>

จากการค้นคว้าเอกสารพบว่า มีรายงานการพัฒนาฟิล์มบางจากแป้งมันสำปะหลัง เพื่อตรวจวัดการปนเปื้อนของฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde) ในอาหาร (Wongniramaikul, *et al.*, 2018) โดยกักเก็บน้ำยาเคมีที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีไว้ภายในฟิล์มแป้ง เมื่อทำปฏิกิริยากับฟอร์มาลดีไฮด์ จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองเข้มตามความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ที่เพิ่มขึ้น เมื่อประยุกต์ใช้ฟิล์มบางดังกล่าวร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลพบว่า มีช่วงความเป็นเส้นตรง ตั้งแต่ 0 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ชัดจำกัดในการตรวจวัดเท่ากับ  $0.7 \pm 0.1$  มิลลิกรัมต่อลิตร และความเที่ยงตรงในการตรวจวัดระหว่างวันเท่ากับ 0.61 ถึง 3.10 % และมีความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ 4.2% จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของฟอร์มาลดีไฮด์ในตัวอย่างปลาและปลาหมึกเปรียบเทียบกับเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่า มีค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์เท่ากับ  $-7.7$  และ  $+10.8\%$  ตามลำดับ

## 2.6 เทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล (Digital Image Colorimetry: DIC)

เทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์เชิงปริมาณได้อย่างรวดเร็ว และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ที่ไม่สูง (Choodum, *et al.*, 2013) โดยอาศัยหลักการของการวิเคราะห์ค่าความเข้มแสงของสีพื้นฐานได้แก่ สีแดง (Red: R) สีเขียว (Green: G) และสีน้ำเงิน (Blue: B) ของภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากกล้องถ่ายภาพ เช่น กล้องดิจิทัล กล้องดิจิทัลภายในโทรศัพท์เคลื่อนที่ เป็นต้น

หลักการของการวิเคราะห์ค่าความเข้มแสง RGB คือ ผลิตภัณฑ์สีจะสะท้อนแสงสีผ่านตัวกรองสี (RGB filter) และแยกตามช่วงของสเปกตรัม (Spectral ranges) ที่แตกต่างกัน (Choodum, *et al.*, 2015) โดยที่ส่วนประกอบเหล่านี้จะถูกอ่านและบันทึกด้วยเซ็นเซอร์ภายในกล้องดิจิทัล ซึ่งค่าความเข้มแสง RGB ของภาพดิจิทัลเหล่านี้สามารถนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration graph) สำหรับการวิเคราะห์ในเชิงปริมาณได้ โดยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลนี้จำเป็นต้องทำควบคู่กับปฏิกิริยาการเกิดสี เพื่อให้สารที่ต้องการวิเคราะห์เปลี่ยนรูปเป็นสารที่มีสีก่อนการถ่ายภาพ

ในปัจจุบันมีรายงานการใช้เทคนิควิเคราะห์ภาพดิจิทัลเพื่อหาปริมาณสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมากมาย เช่น การใช้ภาพดิจิทัลสำหรับวัดคุณภาพน้ำที่อ่าวกอลเบย์ ประเทศไอซ์แลนด์ (Godijn and White, 2006) การทดสอบสีเชิงปริมาณแบบเรียลไทม์เพื่อวิเคราะห์เมทแอมเฟตามีน โดยใช้เทคนิคภาพถ่ายและโทรศัพท์มือถือ (Choodum, *et al.*, 2014) เป็นต้น

## บทที่ 3

### ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุและการทดลอง

##### 3.1.1 วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

- โซเดียมไนเตรท (Sodium nitrate:  $\text{NaNO}_3$ ) ผลิตจาก CARLO ERBA (Australia)
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid:  $\text{HCl}$ ) ผลิตจาก CARLO ERBA (America)
- แมกนีเซียม (II) คลอไรด์ (Magnesium dichloride:  $\text{MgCl}_2$ ) โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride:  $\text{KCl}$ ) ผลิตจาก Carlo Erba Reagent SaA (Italy)
- กรดฟอสฟอริก (85% Orthophosphoric acid) โซเดียมไนไตรท์ (Sodium Nitrite:  $\text{NaNO}_2$ ) โพแทสเซียมคาร์บอเนต (Potassium carbonate:  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) คอปเปอร์ (II) คลอไรด์ (Copper (II) chloride:  $\text{CuCl}_2$ ) โครเมียม (II) คลอไรด์ (Chromium (II) chloride:  $\text{CrCl}_2$ ) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride:  $\text{NaCl}$ ) แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride:  $\text{CaCl}_2$ ) แคดเมียมซัลเฟต (Cadmium sulfate:  $\text{CdSO}_4$ ) ไอรอน (II) ซัลเฟต (Iron (II) sulfate:  $\text{FeSO}_4$ ) นิกเกิล (II) คลอไรด์ (Nickel (II) chloride:  $\text{NiCl}_2$ ) โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide:  $\text{KI}$ ) ซิงค์คลอไรด์ (Zinc chloride:  $\text{ZnCl}_2$ ) โซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate:  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) แมงกานีส (II) ซัลเฟต (Manganese (II) sulfate:  $\text{MnSO}_4$ ) โซเดียมฟลูออไรด์ (Sodium fluoride:  $\text{NaF}$ ) ผลิตจาก Ajax Dinechem Pty Ltd. (Australia)
- พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly Vinyl Alcohol: PVA) ผงสังกะสี (Zinc powder:  $\text{Zn}$ ) พอลิ เอทิลีน ไกลคอล ไตกลีซิดิล อีเทอร์ (Poly Ethylene Glycol Diglycidyl Ether: EGDE) ผลิตจาก Sigma-Aldrich.Co (USA)



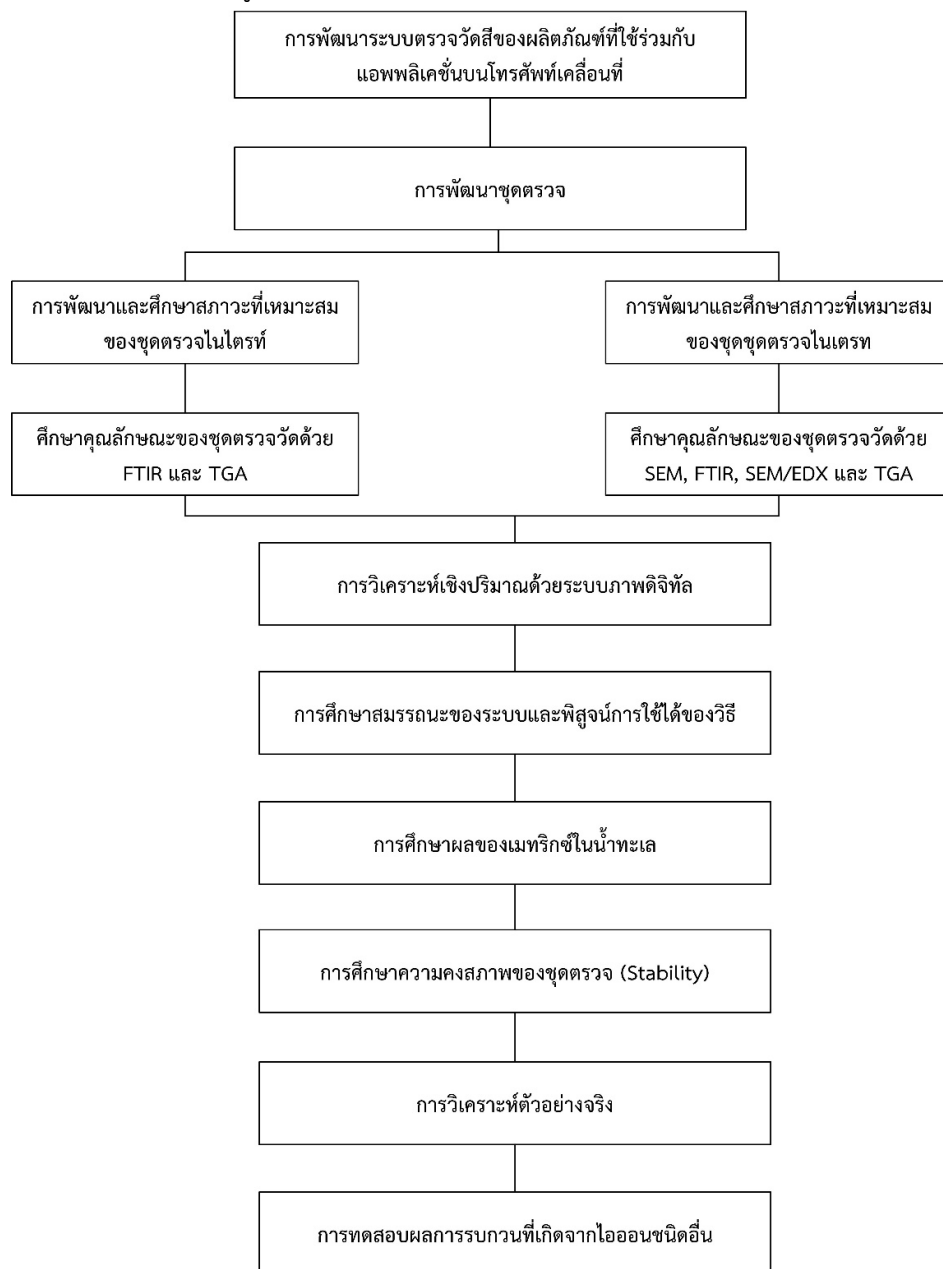
- ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) ผลิตจาก Panreac Quimica SA (Barcelona, Spain)
- เมอร์คิวรี (II) คลอไรด์ (Mercury (II) chloride:  $\text{HgCl}_2$ ) N-(1-แนพทิลเอทธิลีน ไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl) Ethylenediamine Dihydrochloride: NED) ผลิตจาก Fisher Scientific (UK)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide: NaOH) ผลิตจาก Merck Ltd. Germany
- น้ำบริสุทธิ์สูง (Ultrapure water) ผลิตจาก Merck Ltd. Thailand
- แป้งมันสำปะหลัง (Tapioca starch) ผลิตจาก Sitthinan Ltd. Thailand

### 3.1.2 เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์

- โทรศัพท์เคลื่อนที่ ยี่ห้อ oppo รุ่น F1s
- เครื่อง UV-Visible Spectrophotometer (UV-Vis) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1601
- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) ยี่ห้อ FEI รุ่น Quanta 400 (SEM-Quanta)
- เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR) ) ยี่ห้อ Bruker รุ่น VERTEX 70
- เครื่อง Thermo Gravimetric Analyzer (TGA) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น TGA8000
- เครื่อง Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDX) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM-5800 LV (SEM5800)

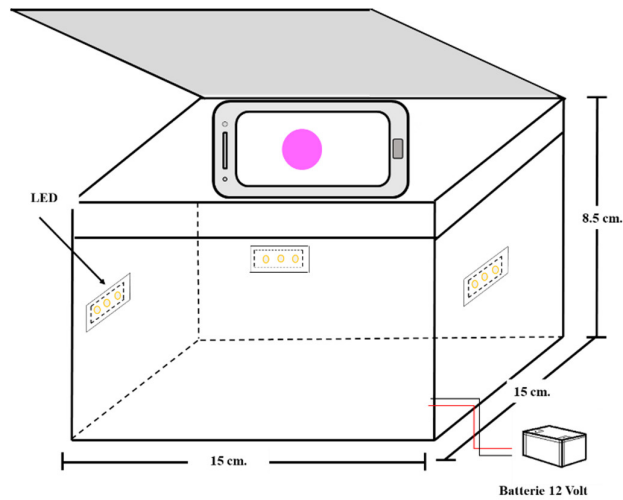
### 3.2 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

การดำเนินงานศึกษาวิจัย แบ่งขั้นตอนการดำเนินงานออกเป็นขั้นตอน ดังแผนผังการดำเนินงานทดลองรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการดำเนินงาน

### 3.2.1 การพัฒนาระบบตรวจวัดความเข้มแสงของผลิตภัณฑ์สีที่ใช้ร่วมกับแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่

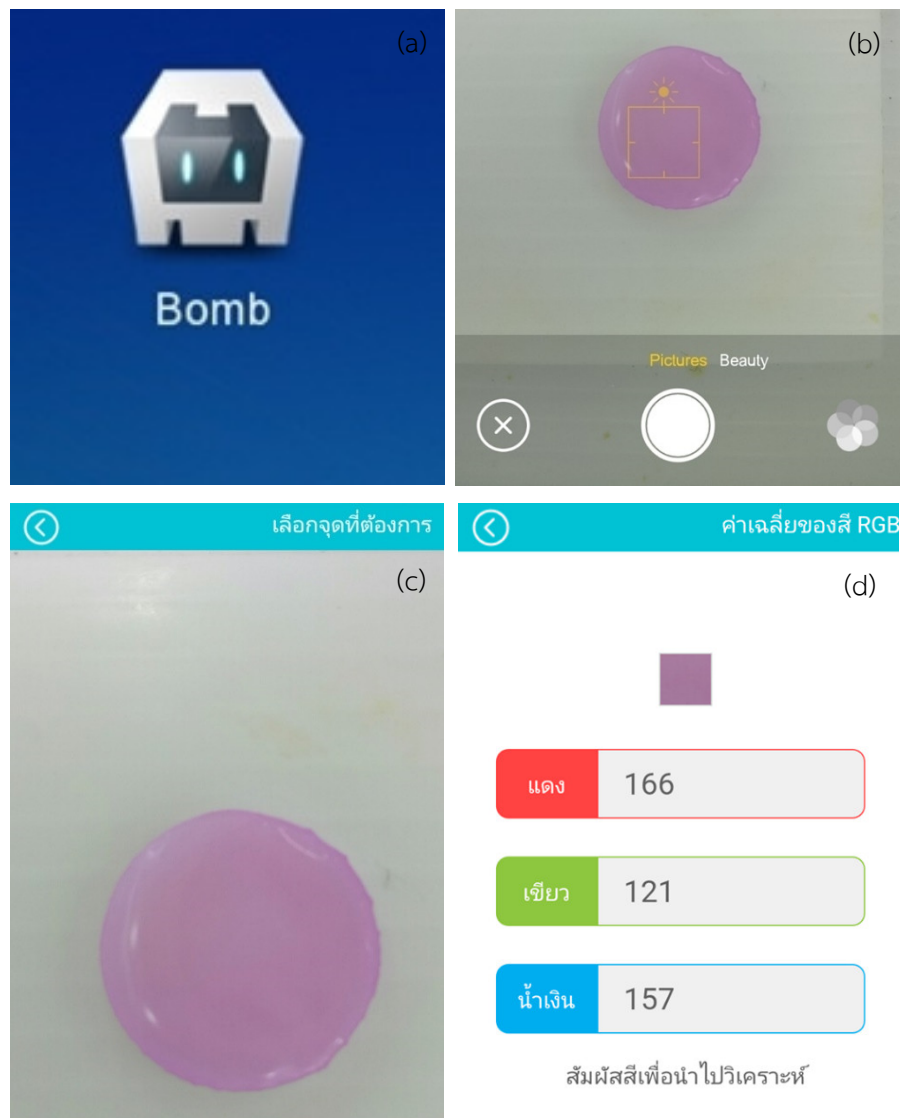


รูปที่ 3.2 ระบบวิเคราะห์ภาพดิจิทัล

ระบบภาพดิจิทัลที่พัฒนาขึ้นมีขนาด  $15 \times 15 \times 8.5$  เซนติเมตร ทำจากแผ่นโพลีคาร์บอเนตที่มีการพันด้วยเทปกาวสีดำเพื่อป้องกันการรบกวนจากแสงภายนอก ภายในกล่องเป็นพื้นผิวที่เป็นสีขาวจากกระดาษสติ๊กเกอร์และมีไฟ LED สีขาว จำนวน 4 ดวง วางไว้ในแต่ละด้านของกล่อง และมีแบตเตอรี่ขนาด 12 โวลต์ ทำหน้าที่กักเก็บพลังงานไฟฟ้าและจ่ายกระแสไฟฟ้าให้กับไฟ LED ดังแสดงในรูป 3.2

ระบบภาพดิจิทัลที่พัฒนาขึ้นมีการทำงานควบคู่กับแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่ยี่ห้อ oppo รุ่น F1s แสดงดังรูปที่ 3.3 โดยที่ระบบการถ่ายภาพของกล้องมีความคมชัด 13 ล้านพิกเซล รูรับแสงขนาด  $f/2.2$  และมีการตั้งค่าปิดโหมดถ่ายภาพช่วงการรับแสงสูง (HDR) และไฟแฟลช LED

การวิเคราะห์ความเข้มแสงของสีพื้นฐาน 3 สี (RGB intensity) ของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นสามารถทำได้โดยการใช้แอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่ที่พัฒนาขึ้นเองในห้องปฏิบัติการ (รูปที่ 3.3 a) โดยเมื่อวางผลิตภัณฑ์สีภายในกล่องถ่ายภาพตามตำแหน่งของตัวอย่างที่ระบุไว้ (รูปที่ 3.3 b) และเปิดใช้งานแอปพลิเคชันดังกล่าวแล้ว ให้แตะบนผลิตภัณฑ์เพื่อเลือกจุดโฟกัส (Touch focus) (รูปที่ 3.3 c) จากนั้นแตะเลือกบริเวณที่ต้องการวิเคราะห์ค่าสี RGB เมื่อเลือกบริเวณที่ต้องการวิเคราะห์แล้วจะปรากฏค่าความเข้มของแสงสีแดง (R) เขียว (G) และน้ำเงิน (B) (รูปที่ 3.3 d)



รูปที่ 3.3 การวิเคราะห์ความเข้มแสงของผลิตภัณฑ์สีด้วยแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่

เนื่องจากงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ภาคสนามจึงต้องมีการศึกษาการรบกวนแสงภายนอกของระบบภาพดิจิทัล ซึ่งสามารถทดสอบโดยการเปิด-ปิดไฟภายในและภายนอกห้องปฏิบัติการ ทั้งในช่วงกลางวันและกลางคืน โดยเริ่มจากการนำชุดตรวจที่ได้มาทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นทำการวิเคราะห์ด้วยระบบ

ภาพดิจิทัลและทำการเปรียบเทียบผลที่ได้ระหว่างเปิด-ปิดไฟภายในและภายนอกห้องปฏิบัติการ ทั้งในช่วงกลางวันและกลางคืน

### 3.2.2 การพัฒนาชุดตรวจไนเตรทและไนไตรท์

#### 3.2.2.1 การสังเคราะห์ชุดตรวจวัดไนไตรท์

การสังเคราะห์ชุดตรวจไนไตรท์สามารถเตรียมได้โดยการผสมน้ำยาเกรส (Griess reagent) ลงในสารละลาย PVA จากนั้นเติม EGDE ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน และทำการขึ้นรูปโดยการนำสารละลายพอลิเมอร์ที่ได้ใส่ในจานหลุม (24-well plate) และแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมสารละลาย PVA สามารถเตรียมได้โดยการละลาย PVA ชนิดเม็ดด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จนได้สารละลายใสและหนืด

การเตรียมน้ำยาเกรสสามารถเตรียมได้โดยละลายซิลฟานิลาไมด์ และ NED ในกรดฟอสฟอริกด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

#### 3.2.2.2 การสังเคราะห์ชุดตรวจวัดไนเตรท

การวิเคราะห์หาไนเตรทจะประกอบด้วย 2 ส่วนด้วยกันคือ การรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์โดยใช้ผงสังกะสี (Zinc powder) ซึ่งถูกกักเก็บให้อยู่ในรูปของฟิล์มบางจากแป้งมันสำปะหลัง จากนั้นวิเคราะห์หาไนไตรท์ที่ได้จากการรีดิวซ์ด้วยชุดตรวจไนไตรท์ดังข้อ 3.2.2.1

การสังเคราะห์ฟิล์มบางของแป้งทำได้โดยการละลายแป้งมันสำปะหลังในน้ำกลั่นด้วยความร้อน จนสารละลายมีความหนืดและใส จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้อุณหภูมิของสารละลายลดลง และทำการเติมผงสังกะสี ลงในสารละลายแป้งมันสำปะหลังในอัตราส่วนที่เหมาะสม เมื่อได้สารละลายพอลิเมอร์แล้วนำมาหยดลงบนฝ่าหลอดพลาสติกขนาด 1.50 มิลลิลิตร และนำไปอบจนกว่าฟิล์มบางแห้ง

### 3.2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

งานวิจัยนี้มีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความเข้มสีที่ดีที่สุด หรือค่า intensity น้อยที่สุด และสามารถตรวจวัดสารปนเปื้อนที่ต้องการได้ที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดของการตรวจวัด โดยปรับเปลี่ยนเฉพาะปัจจัยที่ต้องการศึกษาและคงที่ปัจจัยอื่น

#### 3.2.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจไนไตรท์

สภาวะเริ่มต้นของน้ำยาเกรสคือ ซัลฟานิลไมด์ 0.5 กรัม NED 25 มิลลิกรัม กรดพอสฟอริก 1.25 มิลลิตร สภาวะเริ่มต้นของการขึ้นรูปชุดตรวจคือ สารละลาย PVA 1 มิลลิตร น้ำยาเกรส 0.5 มิลลิตร และ EGDE 25 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารละลายพอลิเมอร์ใส่หลอดพลาสติกขนาด 1.50 มิลลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร

การศึกษาปริมาณซัลฟานิลไมด์ที่เหมาะสมถูกศึกษาในช่วง 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 กรัม ในขณะที่ปริมาณ NED ที่เหมาะสมจะศึกษาในช่วง 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 มิลลิกรัม และกรดพอสฟอริกปริมาตร 1.00, 1.25, 1.50, 1.75 และ 2.00 มิลลิตร

การขึ้นรูปชุดตรวจศึกษาโดยการคงที่สารละลาย PVA 1 มิลลิตร จากนั้นทำการศึกษาน้ำยาเกรสที่เหมาะสมปริมาตร 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 มิลลิตร และเติม EGDE ที่ต้องศึกษาที่ปริมาตร 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 ไมโครลิตร คนจนสารละลายเข้ากันเมื่อได้สารละลายพอลิเมอร์แล้วนำมาใส่ลงในจานหลุมที่ปริมาตร 400 ไมโครลิตร

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกับชุดตรวจศึกษาโดยการปล่อยให้สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับชุดตรวจเป็นระยะเวลา 1 ถึง 20 นาที จากนั้นนำผลิตภัณฑ์สีที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความเข้มแสงของสีพื้นฐาน (RGB intensity) ด้วยแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่

pH ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่เหมาะสมศึกษาโดยการปรับค่า pH ของสารละลายตั้งแต่ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 และ 12 จากนั้นนำผลิตภัณฑ์สีที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยระบบภาพดิจิทัล

#### 3.2.3.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจไนเตรท

สภาวะที่เหมาะสมของฟิล์มบางเริ่มต้น คือ ละลายแป้ง 0.5 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิตร จากนั้นเติมผงสังกะสี 2 มิลลิกรัม ลงในสารละลายแป้ง 1 มิลลิตร และนำสารละลายพอลิเมอร์ 50 ไมโครลิตร หยดลงบนฝาหลอดพลาสติกขนาด 1.50 มิลลิตร และนำไปอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

การหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับสังเคราะห์ฟิล์มบางสำหรับใช้รีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์เพื่อการวิเคราะห์หาไนเตรทศึกษาโดยการละลายแป้งมันสำปะหลังที่ต้องการศึกษาที่ปริมาณ 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 และ 0.6 กรัม ในน้ำ 10 มิลลิลิตร จากนั้นเติมผงสังกะสีที่ต้องการศึกษาปริมาณ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัม ในสารละลายแป้งมันสำปะหลังปริมาตร 1 มิลลิลิตร และนำสารละลายพอลิเมอร์ที่ปริมาตร 20, 30, 40, 50, 75 และ 100 ไมโครลิตร หยดลงบนฝาหลอดพลาสติกขนาด 1.50 มิลลิลิตร และนำไปอบจนแผ่นฟิล์มมีลักษณะแห้ง

ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานไนเตรทกับฟิล์มบางเพื่อรีดิวซ์ไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ศึกษาโดยการปล่อยให้สารละลายมาตรฐานไนเตรททำปฏิกิริยากับฟิล์มบางเป็นระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 7.30, 10, 12.30, 15, 17.30 และ 20 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการรีดิวซ์มาทดสอบการเกิดสีกับชุดตรวจไนไตรท์ และนำผลิตภัณฑ์ความเข้มข้นที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยระบบภาพดิจิทัล

pH ของสารละลายมาตรฐานไนเตรทถูกศึกษาเช่นเดียวกับการศึกษา pH ของสารละลายไนไตรท์

### 3.2.4 ศึกษาคุณลักษณะของชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์

ชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดไนไตรท์ถูกนำมาศึกษาหุ้มฟังก์ชันด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FTIR) และศึกษาความเสถียรของสารที่ถูกกักเก็บไว้ภายในพอลิเมอร์ด้วยเครื่อง Thermo Gravimetric Analyzer (TGA) ในขณะที่ชุดที่ตรวจที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจวัดไนเตรทถูกศึกษาลักษณะพื้นผิวของชุดตรวจโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) ศึกษาหุ้มฟังก์ชันด้วยเครื่อง FTIR ศึกษาการกระจายของธาตุภายในฟิล์มบางของผงสังกะสีด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (SEM/EDX) และ ศึกษาความเสถียรของชุดตรวจด้วยเครื่อง TGA

### 3.2.5 วิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยระบบภาพดิจิทัล

การวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์เชิงปริมาณสามารถทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานไนไตรท์เริ่มต้นที่ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานมาวิเคราะห์ด้วยชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากชุดตรวจถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยระบบภาพดิจิทัลร่วมกับแอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่และอ่านค่าความเข้มแสง RGB (RGB Intensity) ของผลิตภัณฑ์ จากนั้นนำค่าความเข้มแสง RGB ที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานกับความเข้มแสง RGB และนำค่าความเข้มแสง RGB มาคำนวณตามสมการ (3.1) เพื่อคำนวณค่าการดูดกลืนแสง RGB (RGB Absorbance) (Choodum and Nic Daeid, 2011) และสร้างกราฟมาตรฐานซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสงของสารละลายมาตรฐานกับค่าดูดกลืนแสง RGB

$$Ax = -\log \frac{(Ix-Ix,b)}{(Ix,w-Ix,b)} \quad (3.1)$$

โดยที่	Ax	คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสาร x
	Ix	คือ ค่าความเข้มแสง (Intensity)
	Ix,b	คือ ค่าความเข้มแสงของแสงสีดำมีค่าเท่ากับ 0
	Ix,w	คือ ค่าความเข้มแสงของแสงสีขาวมีค่าเท่ากับ 255

### 3.2.6 การศึกษาสมรรถนะของระบบและพิสูจน์การใช้ได้ของวิธี

การศึกษาสมรรถนะของระบบที่พัฒนาขึ้นประกอบด้วย ความถูกต้อง/ความแม่นยำ ความเที่ยงตรง ช่วงความเป็นเส้นตรง ขีดจำกัดในการตรวจวัด และความไวในการวิเคราะห์



## 1) ความถูกต้อง/ความแม่นยำ (Accuracy)

ทดสอบปริมาณสารที่วัดได้จากการใช้กราฟมาตรฐานกับปริมาณของสารที่มีอยู่จริง ซึ่งสามารถคำนวณได้จากค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (% Relative Error) ดังสมการ (3.2)

$$\% \text{ Relative Error} = \frac{x_2 - x_1}{x_1} \times 100 \quad (3.2)$$

โดยที่ % Relative Error คือ ค่าร้อยละความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์

$x_2$  คือ ค่าความเข้มข้นของสารที่วัดได้

$x_1$  คือ ค่าความเข้มข้นของสารจริง

## 2) ความเที่ยงตรง (Precision)

เพื่อทดสอบความใกล้เคียงของผลที่ได้จากการซ้ำกันของการทดสอบ ซึ่งการทดสอบความแม่นยำ 2 รูปแบบ ได้แก่ ความเที่ยงตรงภายในวันเดียวกัน (Intra-day precision) โดยทำการตรวจวัดซ้ำทุก 1, 3, 6, 12 ชั่วโมง จำนวน 4 ซ้ำ และความเที่ยงตรงระหว่างวัน (Inter-day precision) โดยทำการตรวจวัดซ้ำทุกวัน เป็นระยะเวลา 3 วัน จากนั้นนำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ดังสมการ (3.3)

$$\% \text{RSD} = \frac{sd}{\bar{x}} \times 100 \quad (3.3)$$

โดยที่ %RSD คือ ร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

$sd$  คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\bar{x}$  คือ ค่าเฉลี่ย

### 3) ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear Dynamic Range: LDR)

ศึกษาโดยการสร้างกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์กับค่าความเข้มแสง RGB หรือค่าการดูดกลืนแสง และกำหนดช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความสัมพันธ์ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) ที่มากกว่า 0.99 ซึ่งจะได้สมการเส้นตรงที่สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณดังสมการ (3.4)

$$y = m(x) + c \quad (3.4)$$

โดยที่	y	คือ	ค่าความเข้มแสง (Intensity) หรือค่าการดูดกลืนแสง RGB
	X	คือ	ค่าความเข้มข้นของไนเตรทและไนไตรท์ ( $\text{mgL}^{-1}$ )
	M	คือ	ค่าความชันของสมการเส้นตรง (Slope)
	C	คือ	จุดตัดแกน y (Intercept)

### 4) ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of Detection: LOD)

เป็นค่าที่แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของของระบบที่สามารถตรวจวัดได้ ซึ่งคำนวณจากส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank (3.5) และสมการเส้นตรง (Calibration equation) ที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐาน (The International Council for Harmonization, 2005)

$$\text{LOD} = 3.3S_B/S \quad (3.5)$$

โดยที่	LOD	คือ	ขีดจำกัดในการตรวจวัด
	$S_B$	คือ	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank 10 ซ้ำ
	S	คือ	ความชันของกราฟมาตรฐาน

### 5) ความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity)

แสดงความสามารถในการแยกแยะปริมาณสารที่แตกต่างกันออกจากกันได้ เป็นปริมาณต่ำสุดที่สามารถรายงานความแตกต่างได้ โดยพิจารณาจากความชันของสมการเส้นตรงที่สร้างขึ้นจากกราฟมาตรฐาน

### 3.2.7 การศึกษาผลของเมทริกซ์ในน้ำทะเล

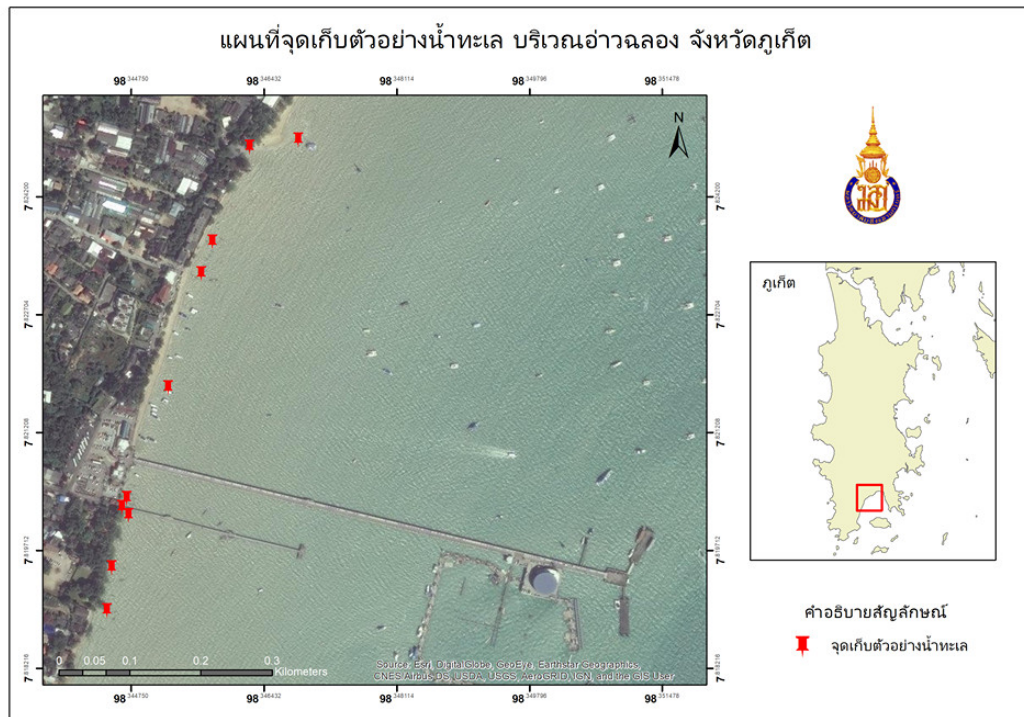
เมทริกซ์ในน้ำทะเลถูกวิเคราะห์โดยการใช้น้ำทะเลจริงจากเกาะนาคาน้อย ห่างจากเกาะประมาณ 500 เมตร ซึ่งน้ำทะเลถูกนำมาเตรียมสารละลายมาตรฐานในช่วงความเข้มข้นที่ 0.05 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับไนโตรเจน และ 1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับไนเตรท และทดสอบด้วยชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น จากนั้นนำมาวิเคราะห์ค่าความเข้มแสง RGB ของผลิตภัณฑ์สีด้วยระบบภาพดิจิทัล และนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยระบบภาพดิจิทัล

### 3.2.8 การศึกษาความเสถียรของชุดตรวจ (Stability)

ทำการสังเคราะห์ชุดตรวจไนเตรทและไนโตรเจนจำนวน 45 ชุด จากนั้นนำชุดตรวจมาวิเคราะห์กับสารละลายมาตรฐานอย่างละ 3 ชุด และนำชุดตรวจไนเตรทที่เหลือเก็บรักษาไว้ในตู้ดูดความชื้น (Desiccator) และชุดตรวจไนโตรเจนเก็บรักษาไว้ในช่องแช่แข็ง โดยนำชุดตรวจมาวิเคราะห์ผลทุกๆ 1 วันเป็นเวลา 1 อาทิตย์ ทุกอาทิตย์จนครบ 1 เดือน และวิเคราะห์ทุกเดือนจนครบ 6 เดือน

### 3.2.9 การวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

ตัวอย่างที่นำมาใช้วิเคราะห์เป็นตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณท่าเทียบเรืออ่าวฉลอง จังหวัดภูเก็ต (รูปที่ 3.4) ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการทำกิจกรรมต่างๆ เช่น การปล่อยน้ำเสียจากร้านอาหาร แหล่งชุมชน รวมไปถึงการขนส่งสินค้าทางเรือ เป็นต้น โดยเก็บตัวอย่างเมื่อวันที่ 18 มีนาคม 2561 จำนวน 10 จุด ตัวอย่างถูกเก็บไว้ในขวดพลาสติกที่มีฝาปิดสนิท และเก็บไว้ในถังน้ำแข็งเพื่อรักษาคุณภาพของน้ำระหว่างการเดินทาง และทดสอบด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์



รูปที่ 3.4 จุดเก็บตัวอย่างบริเวณอ่าวฉลอง จังหวัดภูเก็ต

### 3.2.10 การทดสอบผลการรบกวนที่เกิดจากไอออนชนิดอื่น

ผลการรบกวนของไอออนชนิดอื่นที่อาจมีผลต่อการวิเคราะห์กับวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยทดสอบไอออนรบกวนซึ่งประกอบด้วย  $Pb^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Na$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $CO_3^{2+}$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_3^{2-}$ ,  $Zn^{2+}$  และ  $F^-$  ที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร กับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น ซึ่งสารละลายไอออนรบกวนที่นำมาทดสอบมีการปรับค่า pH ให้มีค่าเท่ากับสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์

## บทที่ 4

### ผลการศึกษาและวิจารณ์ผลการศึกษา

#### 4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจ

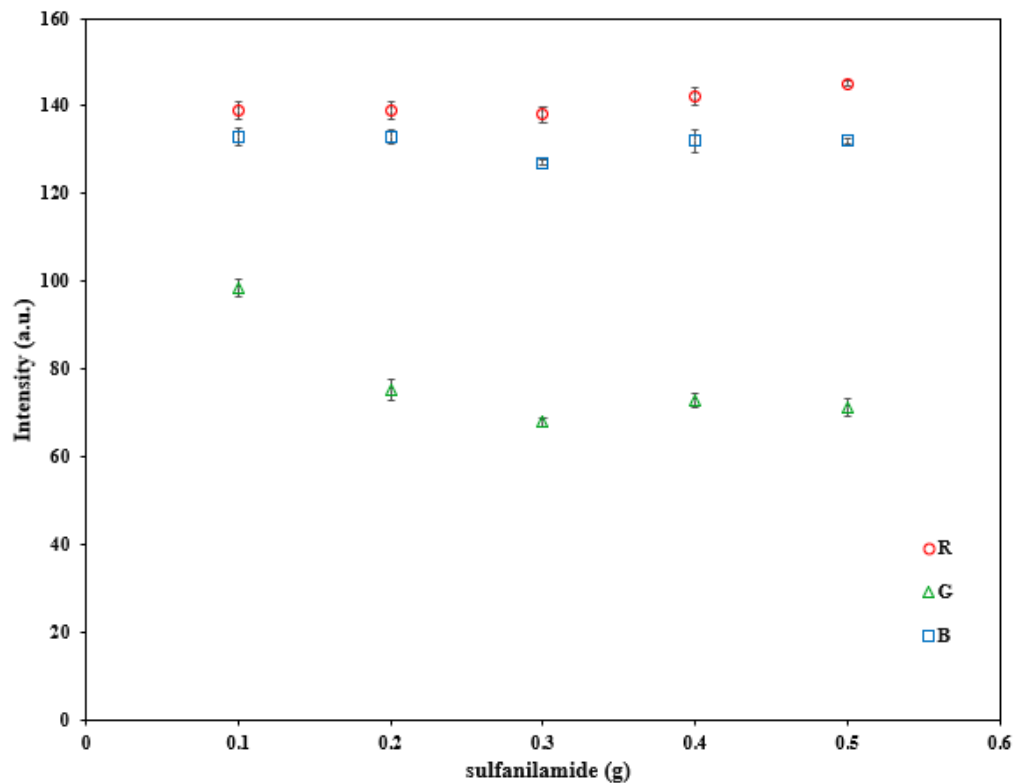
ในงานวิจัยนี้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการพัฒนาชุดตรวจโดยการปรับเปลี่ยนเฉพาะปัจจัยที่ต้องการศึกษา แต่คงที่ปัจจัยอื่นไว้ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเข้มสีที่ดีที่สุด หรือค่า intensity น้อยที่สุด และสามารถตรวจวัดปริมาณสารปนเปื้อนที่ต้องการที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดของการตรวจวัดได้

##### 4.1.1 สภาวะที่เหมาะสมของการพัฒนาชุดตรวจไนโตรท์

การทดสอบไนโตรท์ในงานวิจัยนี้อาศัยหลักการทำปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric test) ของน้ำยาเกรส (Griess reagent) โดยไนโตรท์จะทำปฏิกิริยากับกลุ่มอะมิโนของซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) ให้เกลือไดอาโซเนียม (Diazonium salt) และรวมตัวกับกลุ่ม อะโรมาติก เอมีน (Aromatic amine) ของ N-(1-แนพทิลเอทิสีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride: NED) เกิดเป็น azo dye หรือสารละลายสีม่วงชมพู (Tsikas, 2007) โดยที่ปฏิกิริยาต้องอยู่ภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ดังนั้นเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีสีเข้มที่สุด และมีความคงที่ในการตรวจวัดทุกครั้ง จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของซัลฟานิลาไมด์ NED และปริมาตรของกรดฟอสฟอริก (85% orthophosphoric acid)

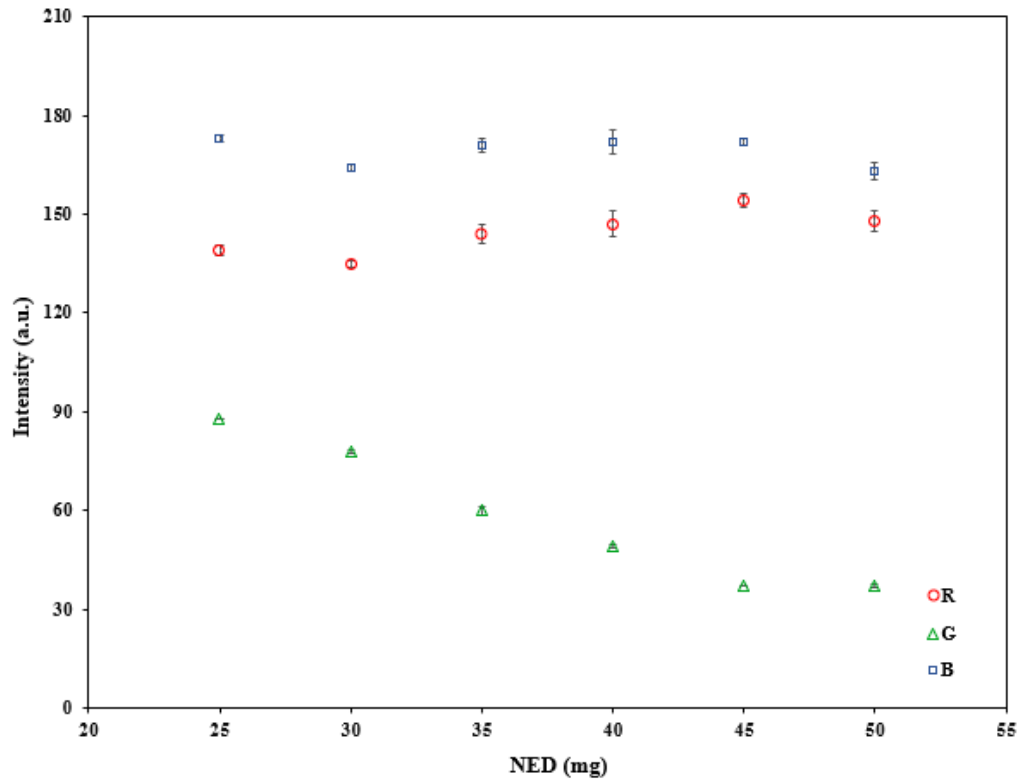
จากการศึกษาปริมาณซัลฟานิลาไมด์ในช่วง 0.1 ถึง 0.5 กรัม พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของซัลฟานิลาไมด์จาก 0.1 ถึง 0.3 กรัม ค่า intensity ของสีเขียวลดลง จากนั้นค่า intensity ของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มคงที่ ในขณะที่ค่า intensity ของสีแดงและน้ำเงินคงที่ (รูปที่ 4.1) ทั้งนี้สืบเนื่องจากผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพูสามารถดูดกลืนแสงสีเขียว แต่จะสะท้อนแสงสีน้ำเงินและแดงออกมา เมื่อเพิ่มปริมาณของซัลฟานิลาไมด์มากขึ้น ปฏิกิริยาระหว่างน้ำยาเกรสและไนโตรท์เกิดได้มากขึ้น จึง

เกิดผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น ค่า intensity ของภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพู จึงมีค่าลดลงเนื่องจากผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณซัลฟาไมด์ไม่ต่ำกว่า 0.3 กรัม พบว่า ค่า intensity มีแนวโน้มคงที่ ซึ่งให้เห็นว่า ปริมาณซัลฟาไมด์ที่ 0.3 กรัม เพียงพอที่ทำให้ปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานไนไตรท์แล้ว ดังนั้นปริมาณซัลฟาไมด์ที่เหมาะสมที่สุดคือ 0.3 กรัม



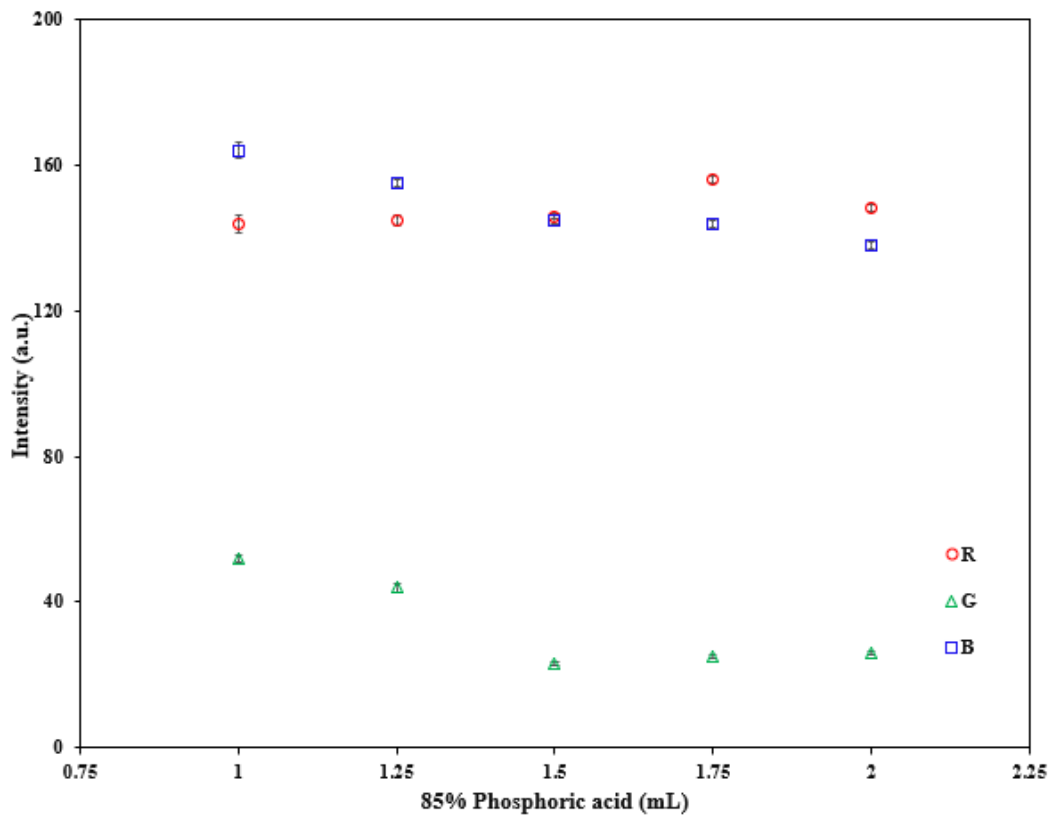
รูปที่ 4.1 ผลของปริมาณซัลฟาไมด์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

จากการศึกษาปริมาณ NED ในช่วง 25 ถึง 50 มิลลิกรัม พบว่า เมื่อปริมาณ NED เพิ่มขึ้น ค่า intensity ของผลิตภัณฑ์ลดลงและเริ่มคงที่ 45 และ 50 มิลลิกรัม (รูปที่ 4.2) เนื่องจากปริมาณ NED 45 มิลลิกรัม เพียงพอต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐานไนไตรท์แล้ว จึงเลือกใช้ปริมาณ NED 45 มิลลิกรัมสำหรับพัฒนาชุดตรวจ



รูปที่ 4.2 ผลของปริมาณ NED ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

จากการศึกษาปริมาตรกรดฟอสฟอริกในช่วง 1 ถึง 2 มิลลิลิตร พบว่า ค่า intensity แปรผกผันตามปริมาตรของกรดฟอสฟอริกที่เพิ่มขึ้น และเริ่มคงที่ตั้งแต่ 1.5 ถึง 2 มิลลิลิตร (รูปที่ 4.3) เนื่องจากปริมาตรกรดฟอสฟอริกที่ 1 และ 1.25 มิลลิลิตร มีปริมาตรน้อยเกินไป จึงเกิดปฏิกิริยาน้อย ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีสีจาง เมื่อเพิ่มปริมาตรกรดฟอสฟอริกเป็น 1.5 มิลลิลิตร ค่า intensity มีค่าลดลง และมีค่าคงที่ เมื่อเพิ่มปริมาตรกรดฟอสฟอริกมากกว่า 1.5 มิลลิลิตร ซึ่งให้เห็นว่า ปริมาตรกรดฟอสฟอริก 1.5 มิลลิลิตร เพียงพอต่อการทำปฏิกิริยา จึงเลือกใช้ปริมาตรดังกล่าวสำหรับการเตรียมชุดตรวจ



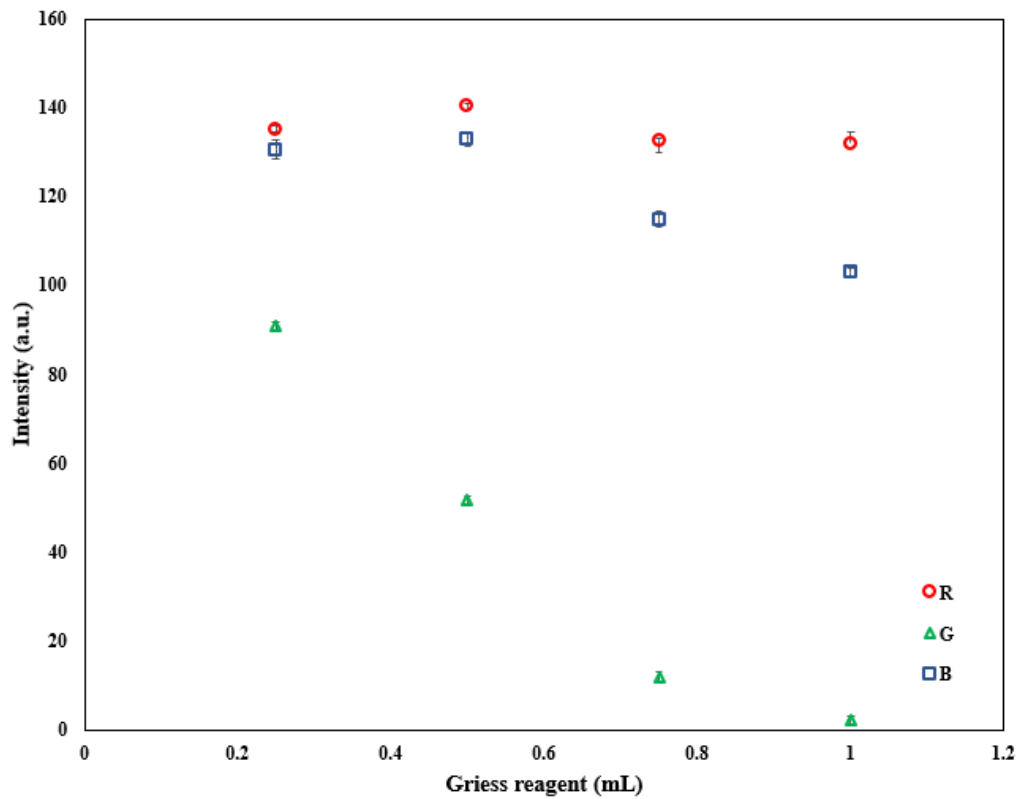
รูปที่ 4.3 ผลของปริมาตรกรดฟอสฟอริก ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

การพัฒนาชุดตรวจวัดไนไตรท์สามารถทำได้โดยการเตรียมสารผสมพอลิเมอร์ ประกอบด้วย น้ำเกรส สารละลายพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Polyvinyl alcohol: PVA) และ พอลิ เอทิลีน ไกลคอล ไดกลีซิดิล อีเทอร์ (Poly Ethylene Glycol Diglycidyl Ether: EGDE) (ตัวเชื่อมสายพอลิเมอร์) จากนั้นจึงนำไปขึ้นรูปโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ชุดตรวจที่ได้มีลักษณะเป็นก้อนทรงกลม ไม่มีสี ยืดหยุ่น และไม่ฉีกขาดง่าย เมื่อทำปฏิกิริยากับ ไนไตรท์สีของชุดตรวจเปลี่ยนเป็นสีม่วงชมพู

การศึกษาปริมาตรของน้ำยาเกรส (Griess reagent) ในช่วง 0.25 ถึง 1 มิลลิลิตร พบว่า ค่า intensity แปรผกผันตามปริมาตรของน้ำยาเกรสที่เพิ่มขึ้น กล่าวคือ ค่า intensity มีค่าลดลง เมื่อเพิ่มปริมาตรของน้ำยาเกรส (รูปที่ 4.4) ทั้งนี้เนื่องจากน้ำยาเกรสเป็นสารที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสี ดังนั้นการเพิ่มปริมาตรน้ำยาเกรสจึงส่งผลให้เกิดปฏิกิริยามากขึ้น ผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้น ค่า intensity จึงลดลง อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาพบว่า เมื่อใช้น้ำยาเกรสปริมาตร 1

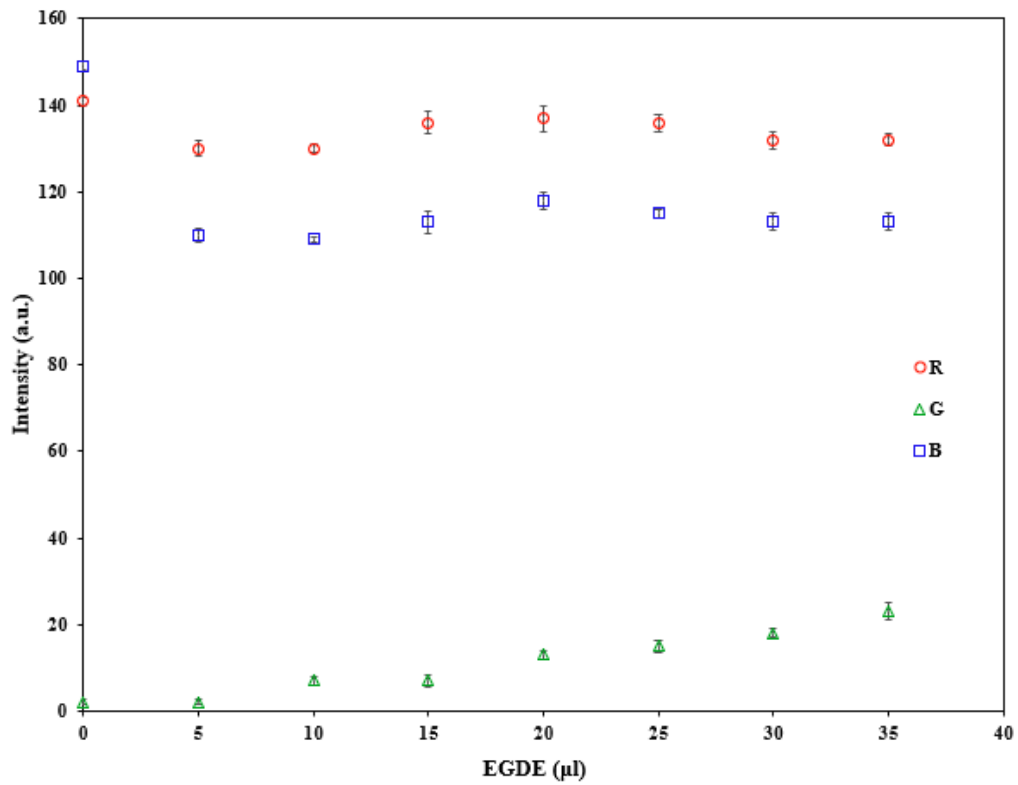


มิลลิลิตร ชุดตรวจที่สังเคราะห์ได้เกิดการเสียรูปและขาดง่าย จึงเลือกใช้น้ำยาเกรสปริมาณ 0.75 มิลลิลิตร สำหรับสังเคราะห์ชุดตรวจ



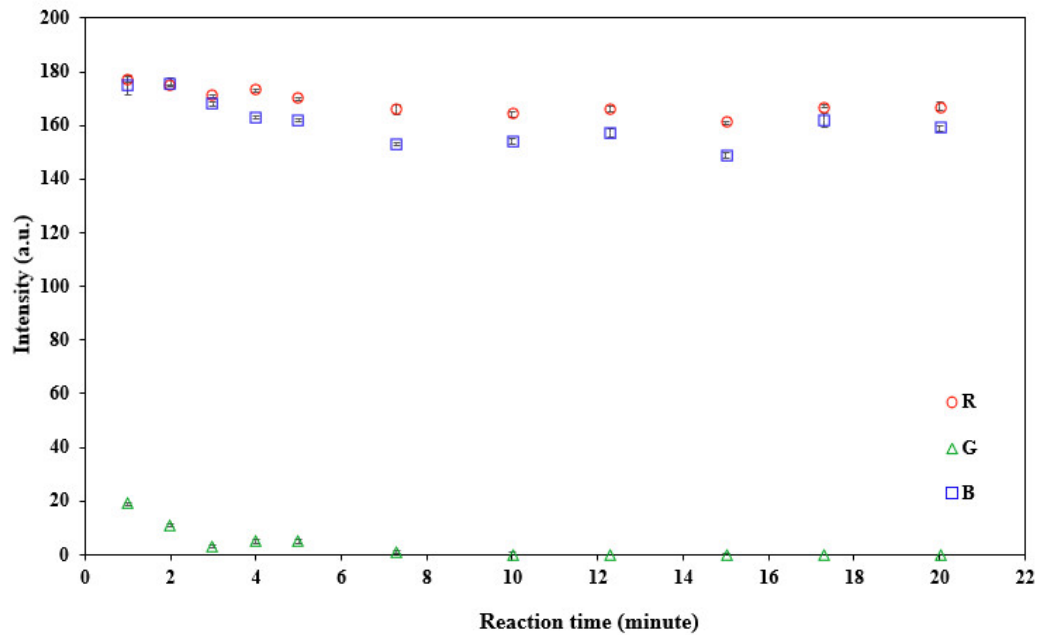
รูปที่ 4.4 ผลของปริมาณน้ำยาเกรส ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

การศึกษาปริมาณ EGDE ในช่วง 0 ถึง 35 ไมโครลิตร พบว่า การเพิ่มปริมาณ EGDE ส่งผลให้ค่า intensity เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.5) ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มปริมาณ EGDE ทำให้สีของชุดตรวจเข้มขึ้น และเมื่อนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลายมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีจางกว่าชุดตรวจที่ไม่เติม EGDE อย่างไรก็ตามชุดตรวจที่ไม่เติม EGDE จะฉีกขาดง่าย ไม่ยืดหยุ่น ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณ EGDE 5 ไมโครลิตรเพื่อให้ชุดตรวจมีความยืดหยุ่น ไม่ฉีกง่าย และผลิตภัณฑ์สีเข้ม



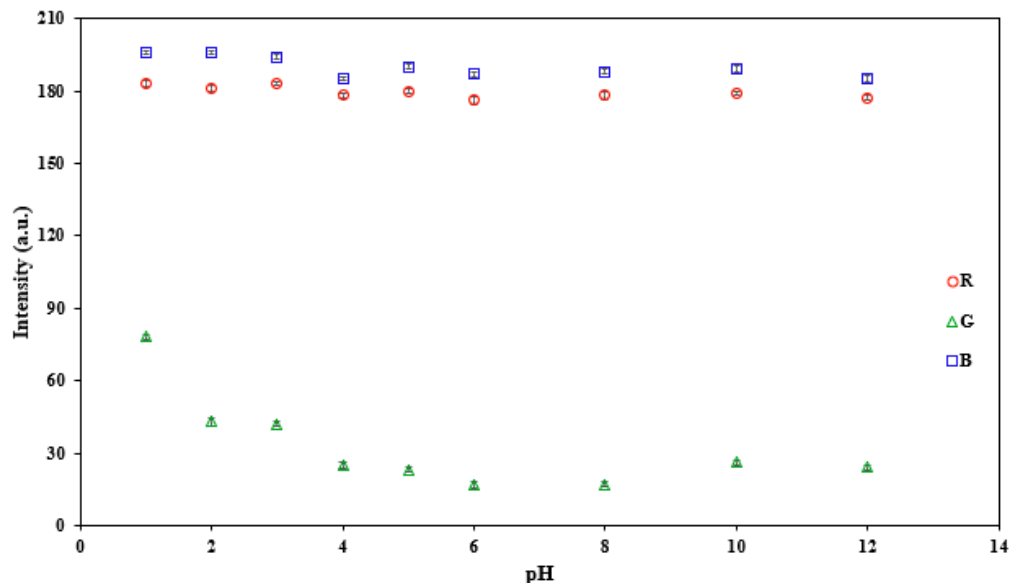
รูปที่ 4.5 ผลของปริมาณ EGDE ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

การศึกษาระยะเวลาที่สารละลายไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับชุดตรวจตั้งแต่ 1 ถึง 20 นาที พบว่า เมื่อเวลาที่สารละลายไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับชุดตรวจนานขึ้น ค่า intensity มีแนวโน้มลดลง และมีแนวโน้มคงที่ หลังจากทำปฏิกิริยา 3 นาที (รูปที่ 4.6) เนื่องจากการทำปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุล ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกตรวจวัดความเข้มแสงของผลิตภัณฑ์หลังจากการทำปฏิกิริยา 3 นาที เพื่อลดเวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์หลังซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากเมื่อต้องวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก



รูปที่ 4.6 ผลของระยะเวลาการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายไนไตรท์และชุดตรวจ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

การศึกษา pH ที่เหมาะสมของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ในช่วง 1 ถึง 12 พบว่าเมื่อเพิ่ม pH ในช่วง pH 1 ถึง 6 ค่า intensity มีแนวโน้มลดลง และมีแนวโน้มคงที่ เมื่อสถานะของสารละลายเป็นกลางที่ pH 6 และ 8 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อ pH ของสารละลายเข้าสู่สถานะที่เป็นเบส (รูป 4.7) ซึ่งตรงกับวิธีมาตรฐานที่มีการปรับน้ำตัวอย่างให้อยู่ในช่วง 5 ถึง 9 ก่อนวิเคราะห์ (มันลิน ตัณฑุลเวศม์, 2540) ด้วยเหตุนี้จึงเลือกใช้ pH ของสารละลายที่ pH 6 เพื่อให้ง่ายต่อการปรับค่า pH เมื่อทดสอบด้วยตัวอย่างจริง เนื่องจาก pH ของน้ำทะเลโดยประมาณอยู่ 6 ถึง 7

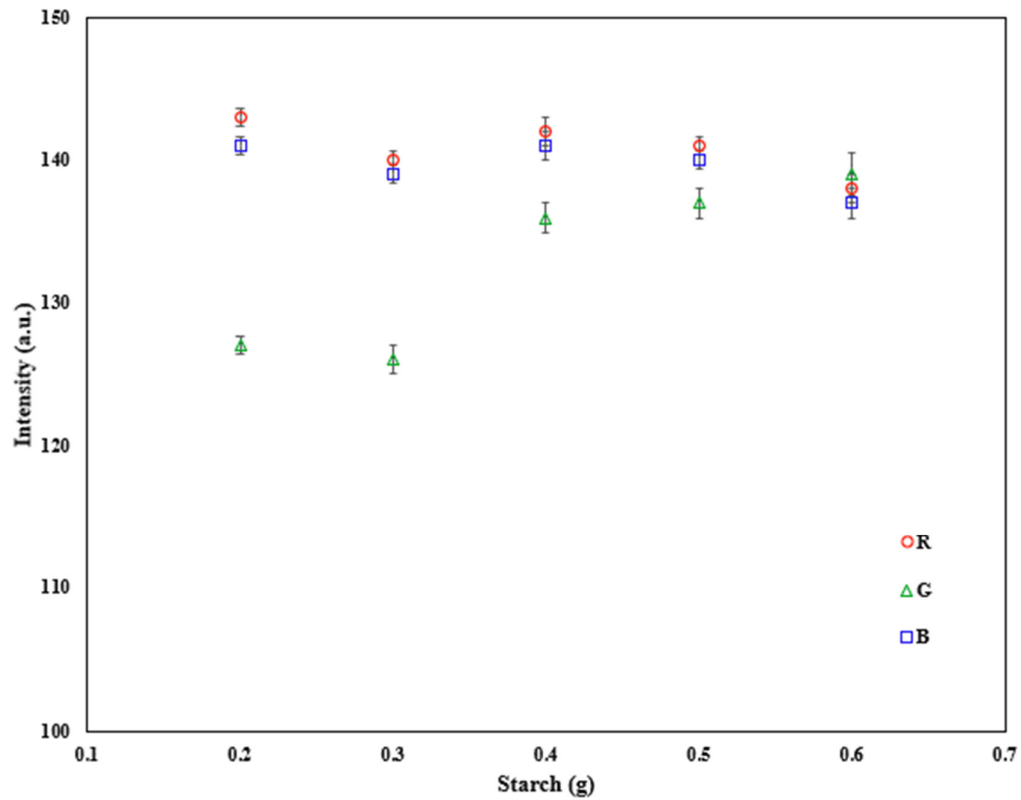


รูปที่ 4.7 ผล pH ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

#### 4.1.2 สภาวะที่เหมาะสมของชุดตรวจไนเตรท

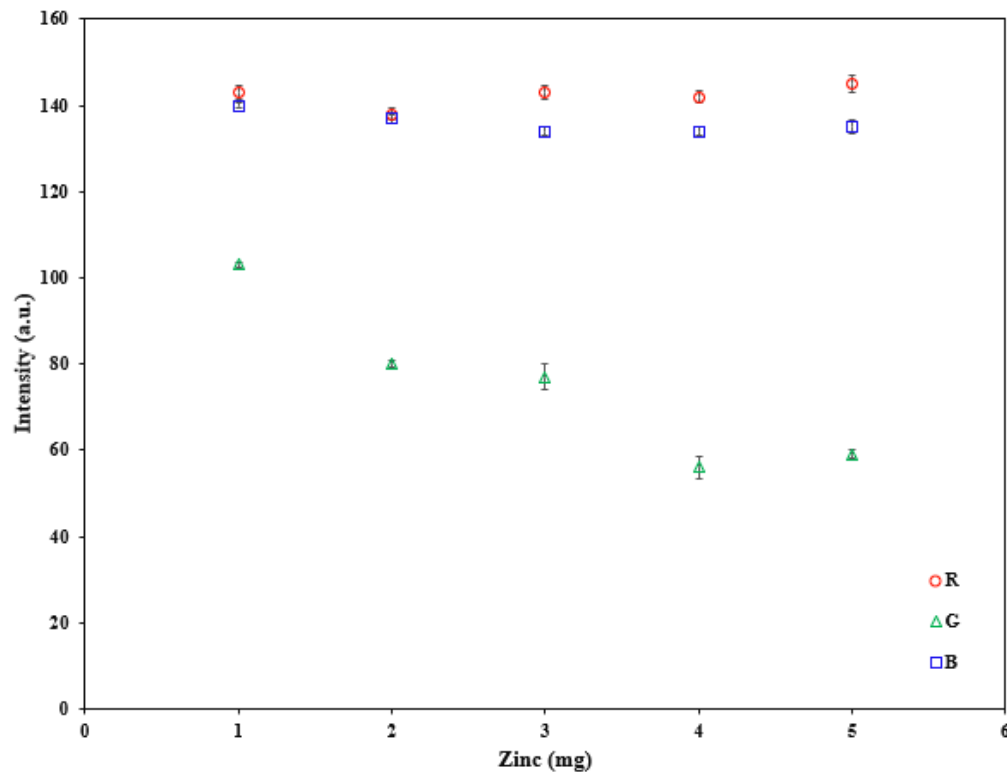
ชุดตรวจไนเตรทประกอบด้วย 2 ส่วน คือ แผ่นฟิล์มบางที่มีส่วนผสมของผงสังกะสีใช้สำหรับรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์ แล้วจึงวิเคราะห์หาไนไตรท์ที่เกิดขึ้นโดยใช้ชุดตรวจไนไตรท์ โดยในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาฟิล์มบางที่สามารถกักเก็บผงสังกะสีด้วยแป้งมันสำปะหลัง

จากการศึกษาปริมาณของแป้งมันสำปะหลังที่ใช้ในการเตรียมสารละลายแป้ง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร พบว่า ค่า intensity มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณของแป้งมันสำปะหลัง (รูป 4.8) ทั้งนี้เนื่องจาก เมื่อปริมาณแป้งมันสำปะหลังมากกว่า 0.3 กรัม ฟิล์มที่ได้จะมีความหนาเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ผงสังกะสีที่ถูกกักเก็บไว้ออกมาทำปฏิกิริยากับสารละลายได้ยากขึ้น ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์จึงลดลง เมื่อใช้ปริมาณแป้ง 0.2 และ 0.3 กรัม ค่า intensity มีค่าใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาลักษณะของฟิล์ม พบว่า ที่ปริมาณแป้ง 0.2 กรัม ชุดตรวจที่ได้มีลักษณะฟิล์มไม่เป็นเนื้อเดียวกันและไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ 0.3 กรัม



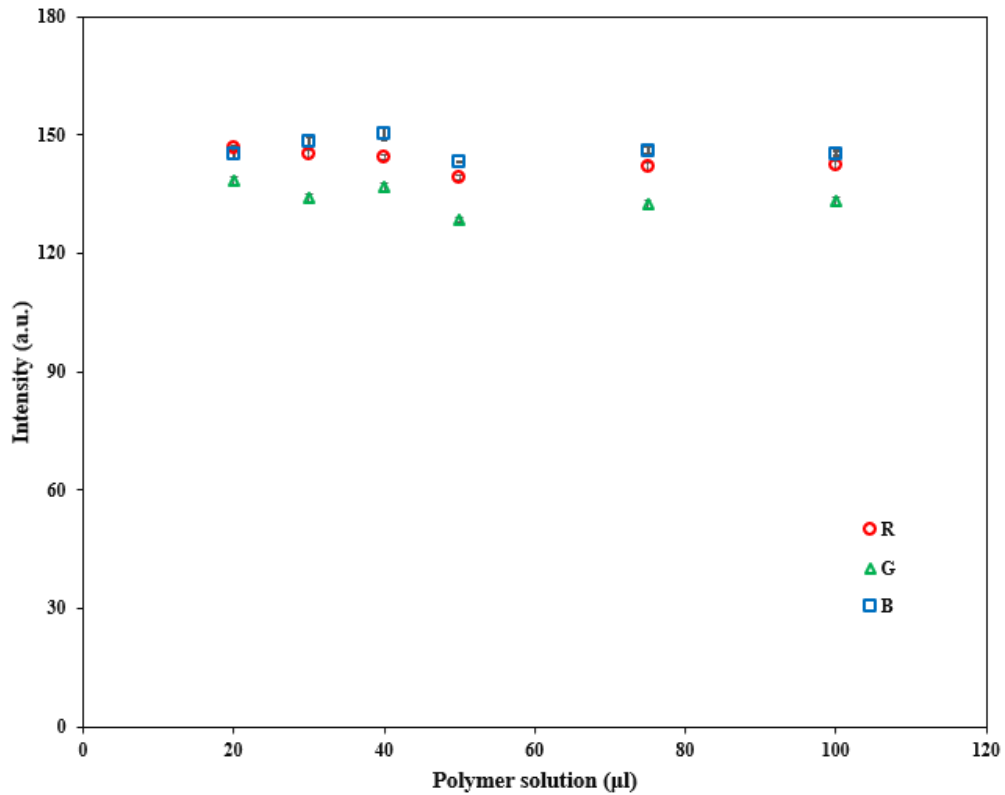
รูปที่ 4.8 ผลของปริมาณแป้งมันสำปะหลัง ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

จากการศึกษาปริมาณผงสังกะสีที่ใช้ในการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทเป็นไอออนไนไตรท์ ในช่วง 1 ถึง 5 มิลลิกรัม พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงสังกะสีจาก 1 ถึง 4 มิลลิกรัม ค่า intensity ของสีเขียวลดลง จากนั้นค่า intensity มีแนวโน้มคงที่ ในขณะที่ค่า intensity ของสีแดงและสีน้ำเงินมีแนวโน้มคงที่ตลอด (รูป 4.9) ทั้งนี้เนื่องจาก การเพิ่มปริมาณผงสังกะสีทำให้ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทเป็นไอออนไนไตรท์ได้ดีขึ้น ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณผงสังกะสี 4 มิลลิกรัม



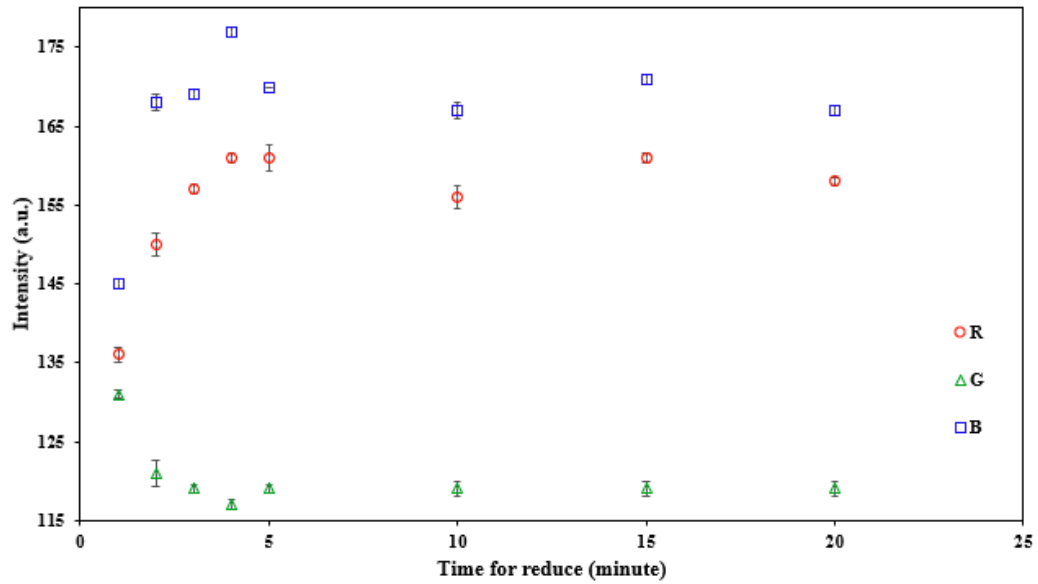
รูปที่ 4.9 ผลของปริมาณผงสังกะสี ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

การศึกษาปริมาณของสารผสมพอลิเมอร์ที่ใช้ในการเตรียมฟิล์มในช่วง 20 ถึง 100 ไมโครลิตร พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณของสารผสมพอลิเมอร์ตั้งแต่ 20 ถึง 50 ไมโครลิตร ค่า intensity มีแนวโน้มลดลง และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังจากเพิ่มปริมาณของสารละลายพอลิเมอร์มากกว่า 75 ไมโครลิตร (รูป 4.10) ทั้งนี้เนื่องจาก ปริมาณพอลิเมอร์ตั้งแต่ 20 ถึง 40 ไมโครลิตร มีปริมาณน้อยทำให้ปฏิกิริยาในการรีดิวซ์เกิดได้น้อย สีของผลิตภัณฑ์จึงไม่เข้ม ในขณะที่ปริมาณพอลิเมอร์ 75 และ 100 ไมโครลิตร ลักษณะฟิล์มที่สังเคราะห์ได้จะมีความหนามากเกินไป ทำให้ประสิทธิภาพการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทเป็นไอออนไนไตรท์จึงลดลง ทำให้ค่า intensity สูงขึ้น ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณของพอลิเมอร์สำหรับเตรียมฟิล์ม 50 ไมโครลิตร



รูปที่ 4.10 ผลของปริมาตรสารละลายพอลิเมอร์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

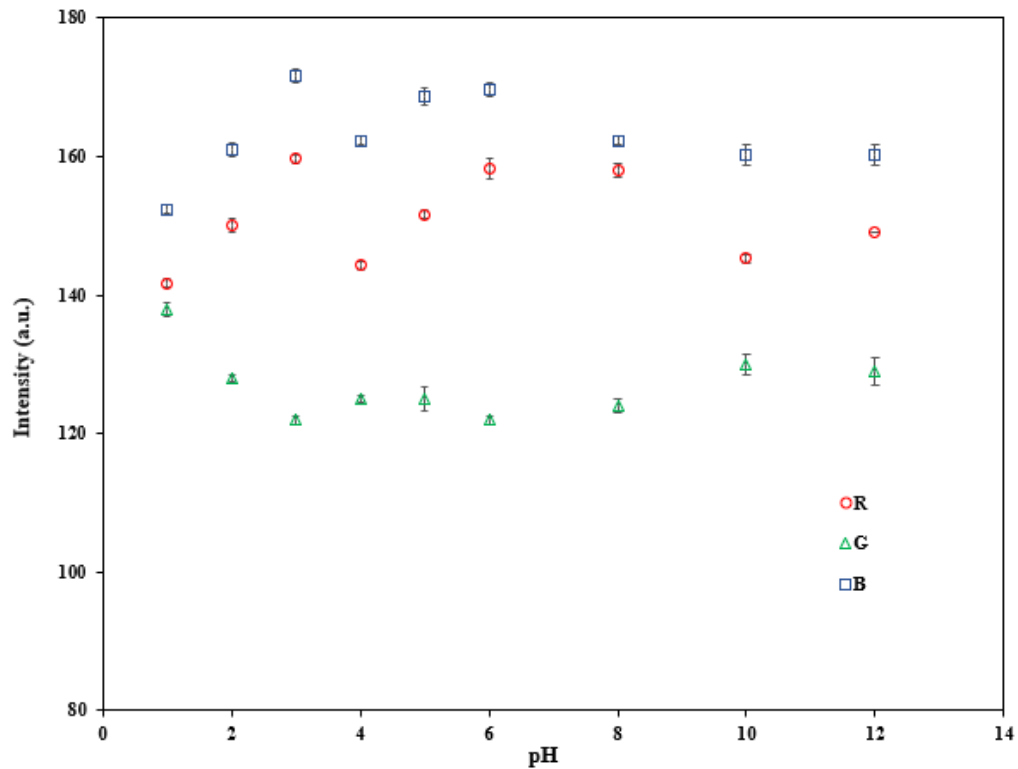
การศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทเป็นไอออนไนไตรต์ตั้งแต่ 1 ถึง 20 นาที พบว่า ค่า intensity มีแนวโน้มลดลงตั้งแต่ 1 ถึง 4 นาที และมีแนวโน้มคงที่ตั้งแต่ 5 นาที ถึง 20 นาที (รูปที่ 4.11) ทั้งนี้เนื่องจาก ในช่วงเวลาที่ 1 ถึง 4 นาที ปฏิกิริยากำลังเข้าอยู่ในสถานะที่สมดุล และหลังจาก 5 นาทีไปแล้วนั้น ปฏิกิริยาเข้าสู่สภาวะสมดุลแล้ว ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทเป็นไอออนไนไตรต์คือ 4 นาที



รูปที่ 4.11 ผลของระยะเวลาที่ผงสังกะสีใช้รีดิวซ์ในเตรทเป็นไนไตรท์ ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

จากการศึกษา pH ของสารละลายมาตรฐานไนเตรทในช่วง 1 ถึง 12 พบว่า pH ที่ให้ค่า intensity น้อยที่สุดอยู่ระหว่าง pH 3 ถึง 8 (รูปที่ 4.12) จึงเลือกปรับ pH ของน้ำตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานก่อนการวิเคราะห์ให้อยู่ในช่วง pH 6 เพื่อให้ง่ายต่อการวิเคราะห์ตัวอย่างจริงเมื่อต้องวิเคราะห์ควบคู่กับการวิเคราะห์หาไนไตรท์



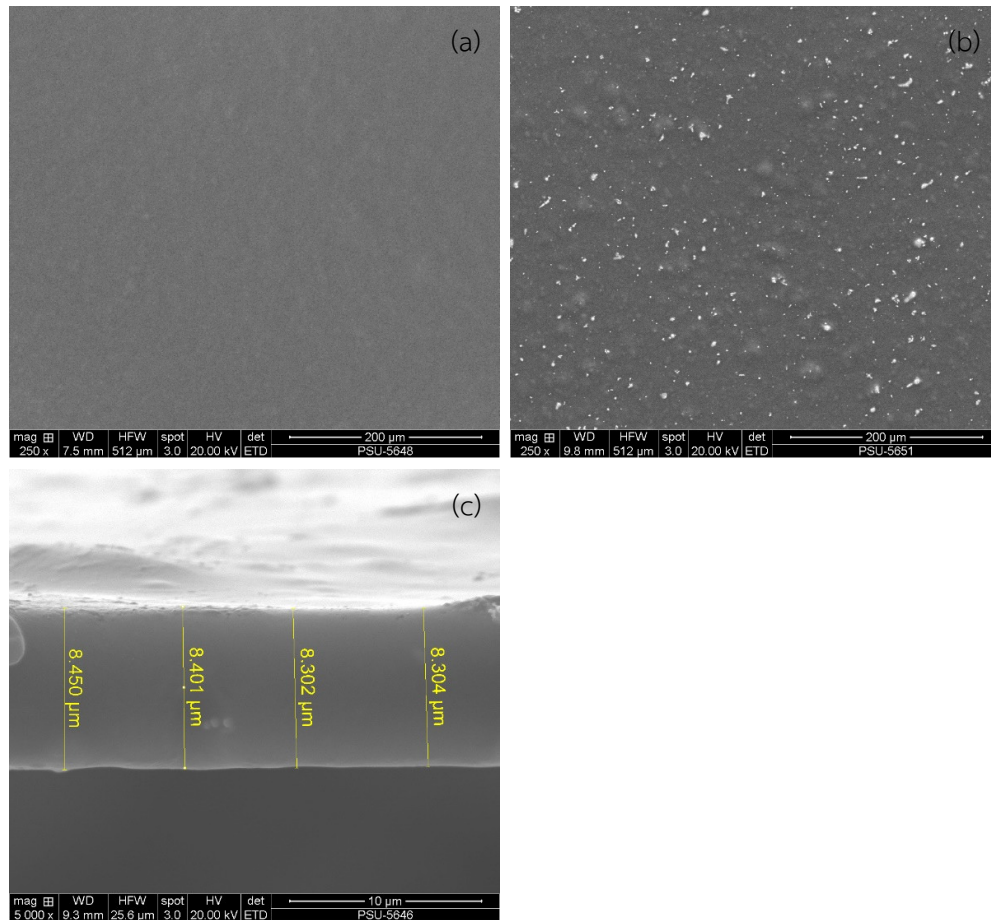


รูปที่ 4.12 ผลของ pH ของสารละลายมาตรฐานไนเตรท ต่อ Intensity ของผลิตภัณฑ์สี

## 4.2 ผลการศึกษาคุณลักษณะของชุดตรวจ

### 4.2.1 ผลจากการวิเคราะห์ SEM

จากการศึกษาลักษณะพื้นผิวและความหนาของฟิล์มด้วยเครื่อง SEM ที่กำลังขยาย 250x (รูปที่ 4.13) พบว่า ฟิล์มของแป้งมันสำปะหลัง (a) มีลักษณะพื้นผิวเรียบและเป็นเนื้อเดียวกัน และเมื่อเติมผงสังกะสี (b) ลงไปพบว่า แผ่นฟิล์มมีลักษณะขรุขระ ซึ่งแสดงถึงอนุภาคของผงสังกะสี เมื่อวัดความหนาของฟิล์มเติมผงสังกะสี (c) พบว่าฟิล์มหนา 8.36 ไมโครเมตร

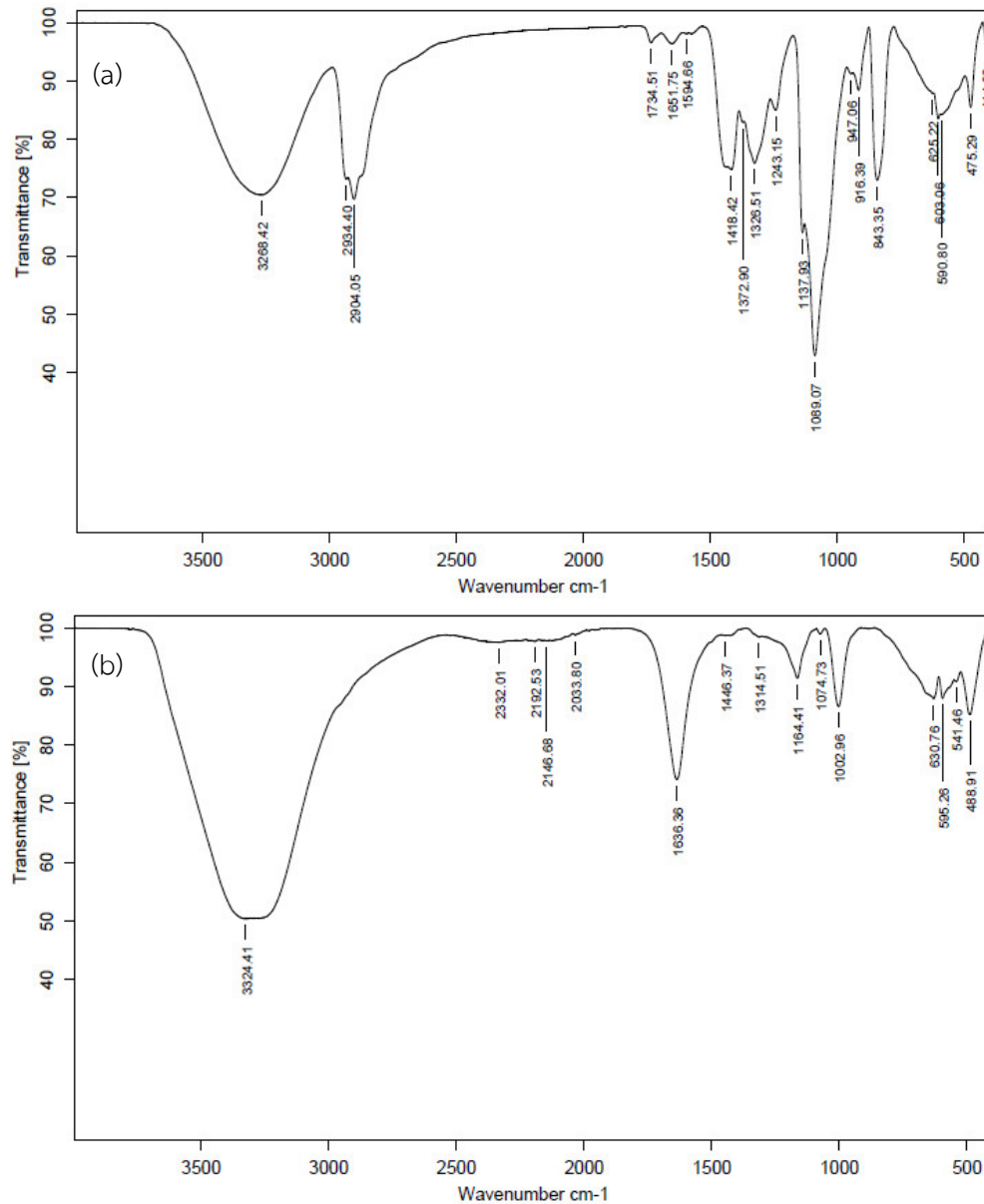


รูปที่ 4.13 ผลของลักษณะพื้นผิวของชุดตรวจไนเตรทที่วิเคราะห์ด้วย SEM (a) फिल्मแบ่ง (b) फिल्मบางผสมผงสังกะสี (c) ความหนาของฟิล์มบางที่ผสมผงสังกะสี

#### 4.2.2 ผลจากการวิเคราะห์ FTIR

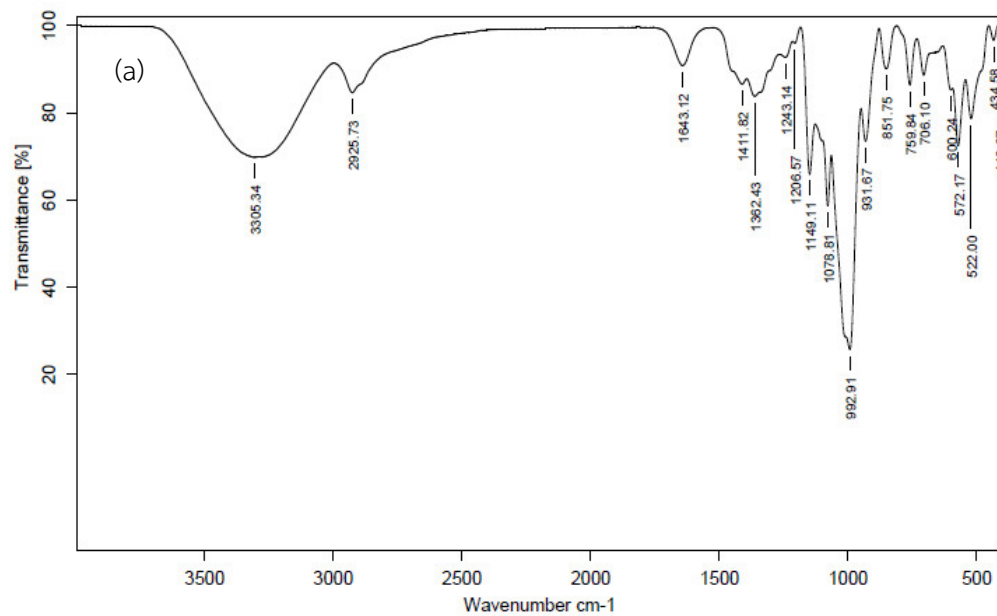
จากการศึกษา FTIR ของชุดตรวจไนเตรทด้วยเครื่อง FTIR ในช่วงเลขคลื่น 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  (รูปที่ 4.14) พบว่า ชุดตรวจที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำยาเกรส (a) มีหมู่ฟังก์ชัน hydroxyl O-H stretching ที่ตำแหน่ง 3268  $\text{cm}^{-1}$  หมู่แอลคิล alkyl groups C-H ที่ตำแหน่ง 2904 และ 2934  $\text{cm}^{-1}$  (Patel and Vavia, 2010; Mansur, Orefice, and Mansur, 2004) นอกจากนี้ยังพบหมู่ฟังก์ชัน C-O-C stretching ที่ตำแหน่ง 1089  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งแสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาการ cross-link ของ

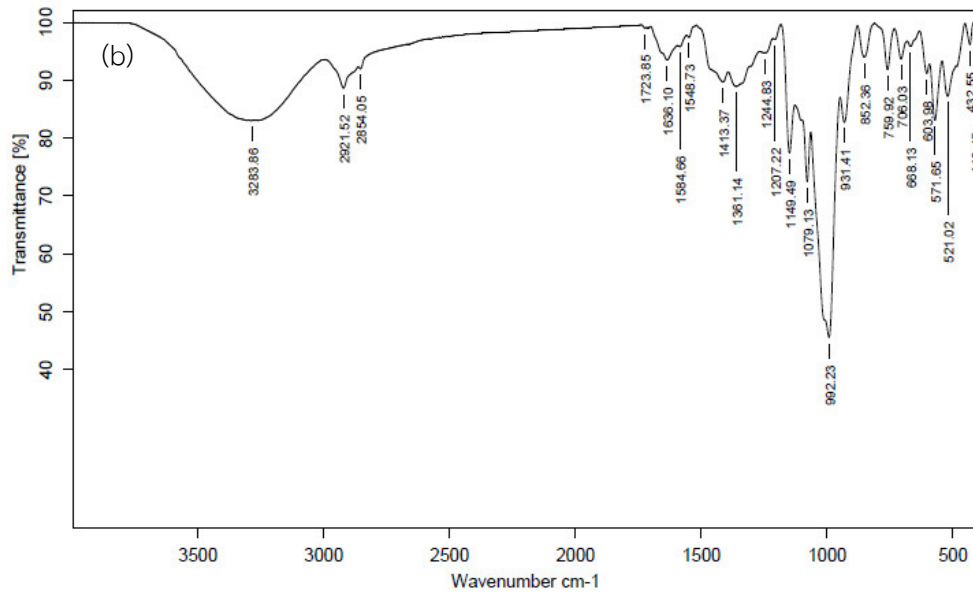
PVA (Liu *et al.*, 2010) ในขณะที่ชุดตรวจวัดไนโตรทที่มีน้ำยาเกรสมอยู่ (b) พบพีคที่ตำแหน่ง  $3324\text{ cm}^{-1}$  เป็นพีคที่แสดงถึง N-H group stretching amine groups ของ -SONH<sub>2</sub> ซัลฟานิลาไมด์ และพีคที่ตำแหน่ง 1636 แสดงถึง C=C stretching ของซัลฟานิลาไมด์และ NED (Lahtinen, *et al.*, 2014)



รูปที่ 4.14 ผลการวิเคราะห์ชุดตรวจไนโตรทด้วย FTIR (a) ชุดตรวจที่ไม่ผสมน้ำยาเกรส (b) ชุดตรวจที่ผสมน้ำยาเกรส

จากการศึกษา FTIR फिल्मบางของแป้งมันสำปะหลังที่ไม่มีส่วนผสมผงสังกะสี (a) พบว่า มีหมู่ฟังก์ชันที่บ่งบอกถึงแป้งอยู่ในช่วง  $3305$  ถึง  $2926$   $\text{cm}^{-1}$  (Ali, *et al.*, 2013) (รูปที่ 4.15) และปรากฏหมู่ฟังก์ชัน O-H stretching ที่ตำแหน่ง  $3305$   $\text{cm}^{-1}$  หมู่ C-H stretching ที่ตำแหน่ง  $2926$  และ C-O-C ที่ตำแหน่ง  $932$   $\text{cm}^{-1}$  แสดงถึง  $\alpha$  1,4 glycosidic linkage ที่จับตัวกับโมเลกุลของกลูโคสในแป้งจากธรรมชาติ (Kizil, *et al.*, 2002) เป็นที่น่าสังเกตว่า การวิเคราะห์ฟิล์มบางสำหรับบริดจ์ไนเตรทที่มีส่วนผสมผงสังกะสี (b) พบว่าพีคการสั่นของหมู่ฟังก์ชัน O-H stretching และ C-H stretching

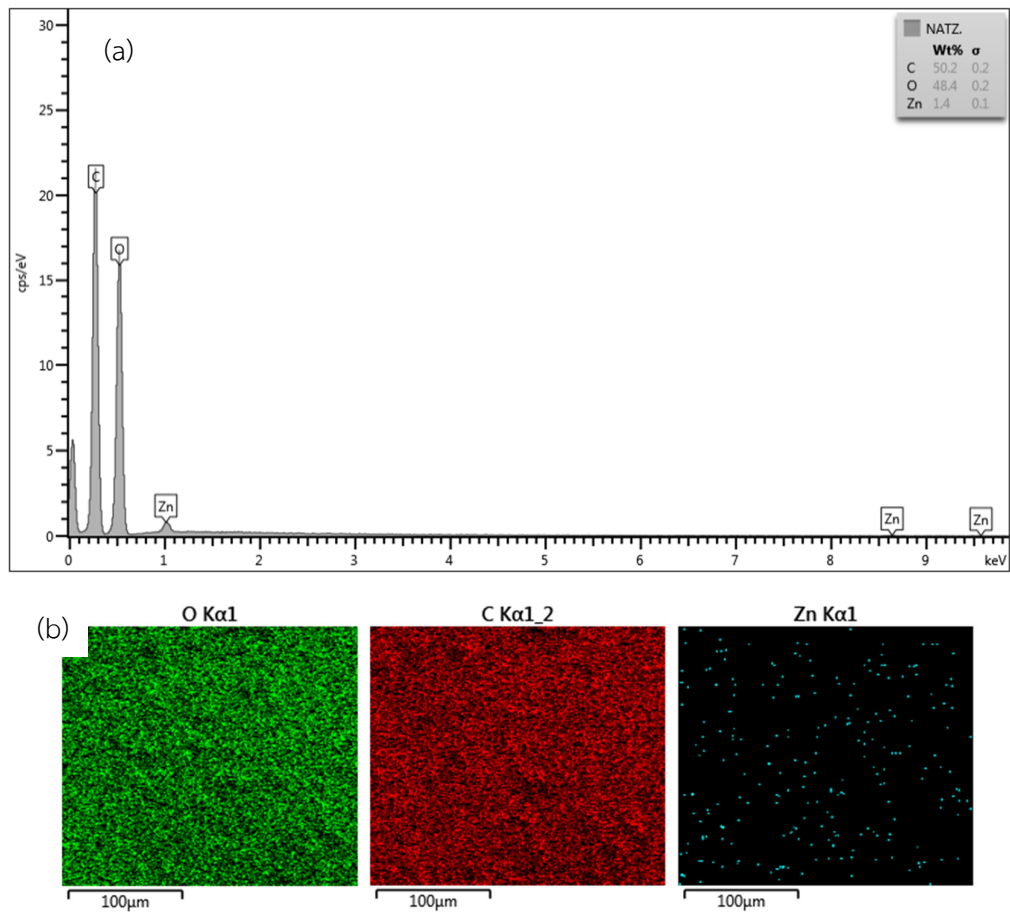




รูปที่ 4.15 ผลการวิเคราะห์ชุดตรวจไนเตรทด้วย FTIR (a) फिल्मบางของแบ้ง (b) फिल्मบางผสมผงสังกะสี

#### 4.2.3 ผลจากการวิเคราะห์ SEM/EDX

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุและลักษณะการกระจายตัวบนพื้นผิวของฟิล์มบางสำหรับรีดิวซ์ไอออนไนเตรทด้วยเทคนิค Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive และเทคนิค X-ray Spectrometry (SEM/EDX) (รูปที่ 4.16) พบว่า ฟิล์มบางที่พัฒนาขึ้นประกอบไปด้วยธาตุ C 50.2 wt%, O 48.4 wt% และ Zn 1.4 wt% (a) และพบว่าธาตุที่เป็นองค์ประกอบของฟิล์มบาง (b) มีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

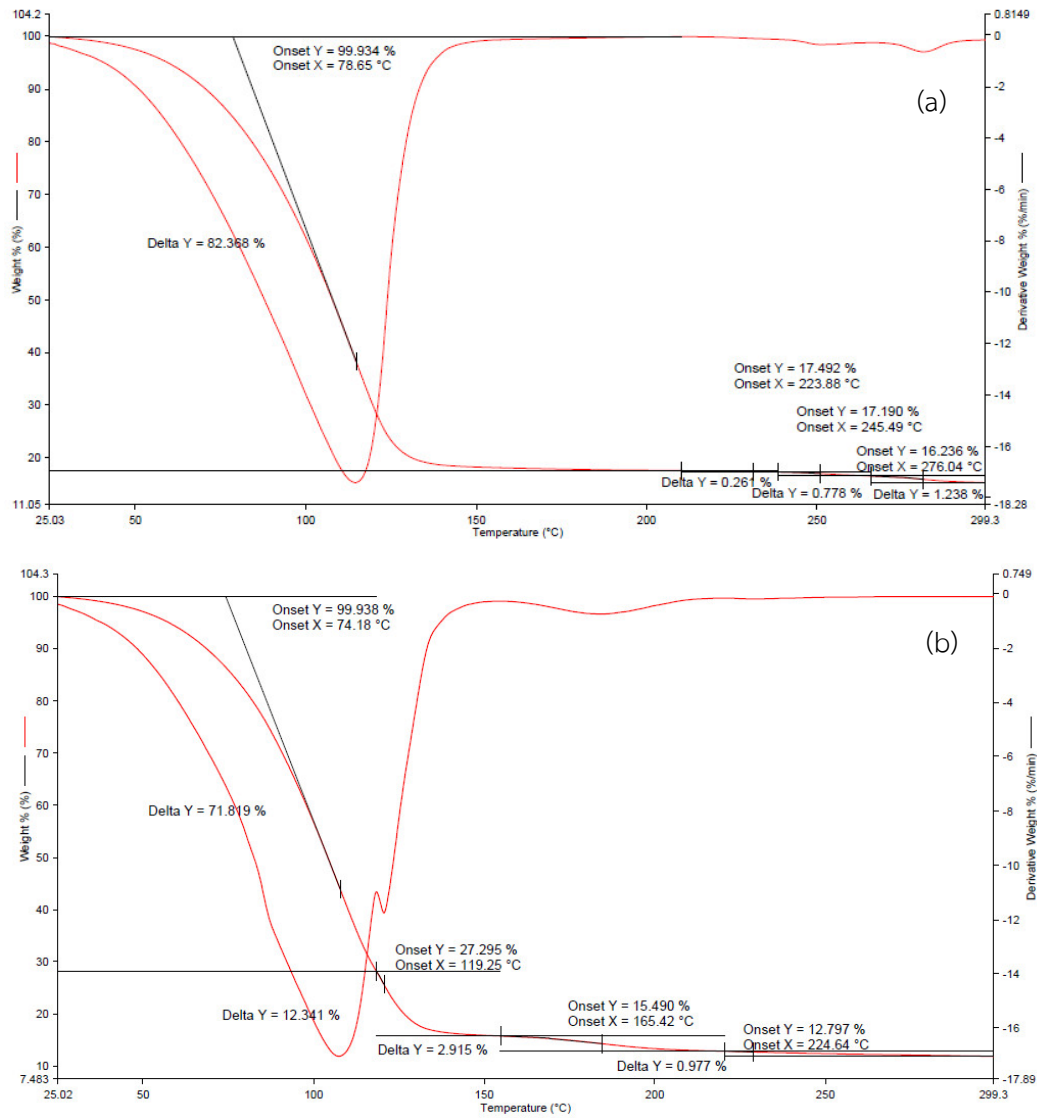


รูปที่ 4.16 ปริมาณธาตุและลักษณะการกระจายตัวของธาตุด้วยเครื่อง SEM/EDX (a) ปริมาณธาตุ (b) การกระจายตัวของธาตุ

#### 4.2.4 ผลจากการวิเคราะห์ TGA

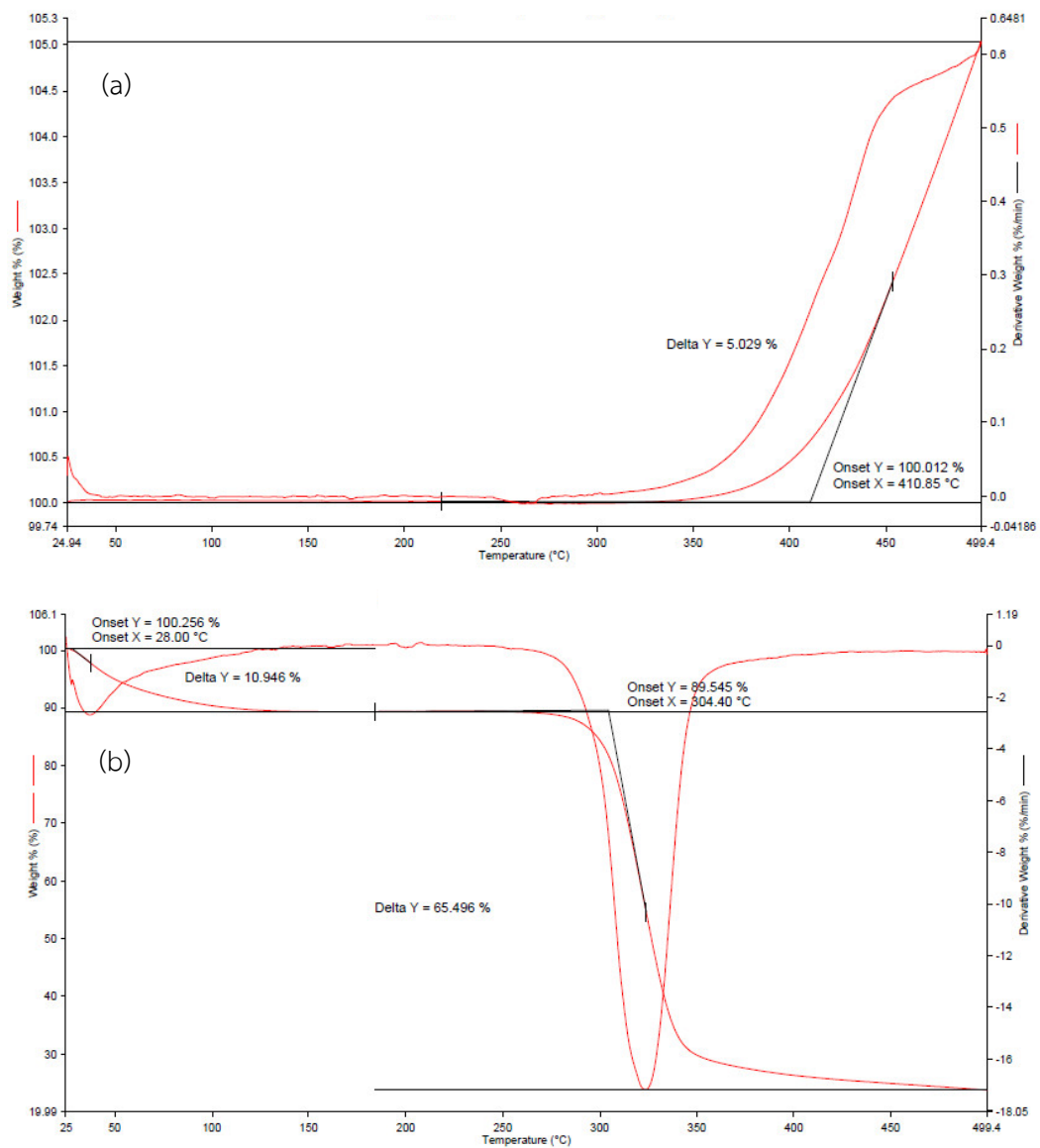
การศึกษาเสถียรภาพ (Decomposition) ทางความร้อนของชุดตรวจไนโตรต์ด้วยเครื่อง TGA โดยการให้ความร้อนตั้งแต่ 25 ถึง 300 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราการเพิ่มอุณหภูมิคงที่ 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักที่สูญเสียไปกับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.17) พบว่า น้ำยาเกรสเพียงอย่างเดียวเกิดการสูญเสียน้ำหนักไปถึง 82% ที่อุณหภูมิประมาณ 79 องศาเซลเซียส (a) และเมื่อนำน้ำเกรสกักเก็บไว้ภายใน PVA (b) พบว่า การสูญเสียน้ำหนักเกิดขึ้น 2 ขั้นตอน โดยในช่วงแรกเกิดการสูญเสียน้ำหนักหรือการย่อยสลายของ PVA backbone (Ganesh *et*

al., 2016) ไป 71.9% ที่อุณหภูมิประมาณ 74 องศาเซลเซียส และเกิดการสูญเสียน้ำหนักอีกครั้ง ประมาณ 12.3% ที่อุณหภูมิประมาณ 119 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.17 ผลการวิเคราะห์ TGA (a) น้ำยาเกรส (b) ชุดตรวจไนไตรท์ที่มีน้ำยาเกรสกับ PVA

การศึกษาเสถียรภาพทางความร้อนของชุดตรวจไนเตรท (รูปที่ 4.18) พบว่า ที่อุณหภูมิมากกว่า 410.85 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักของผงสังกะสีเพิ่มขึ้น (a) ซึ่งอาจเกิดจากผงสังกะสีมีการเปลี่ยนอนุภาคให้อยู่ในระดับนาโน (Vanithakumari, *et al.*, 2009) และเมื่อนำผงสังกะสีมา กักเก็บให้อยู่ในรูปฟิล์มบางของแป้ง (b) ตรวจพบการสูญเสียน้ำหนักของฟิล์มบางประมาณ 65.5% ที่อุณหภูมิ 304.40 องศาเซลเซียส ซึ่งน่าจะเกิดจากการการสลายตัวของแป้ง (Aggarwal, *et al.*, 1997)



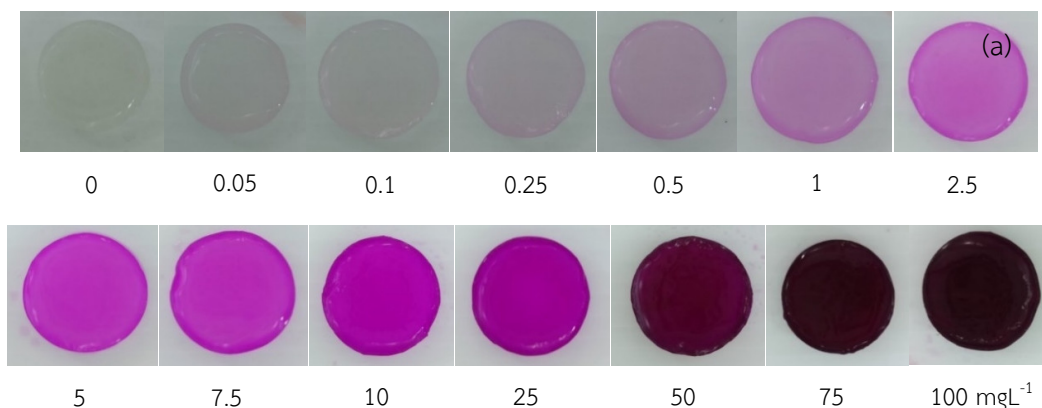
รูปที่ 4.18 ผลการวิเคราะห์ TGA (a) ผงสังกะสี (b) ชุดตรวจไนเตรทที่มีผงสังกะสี

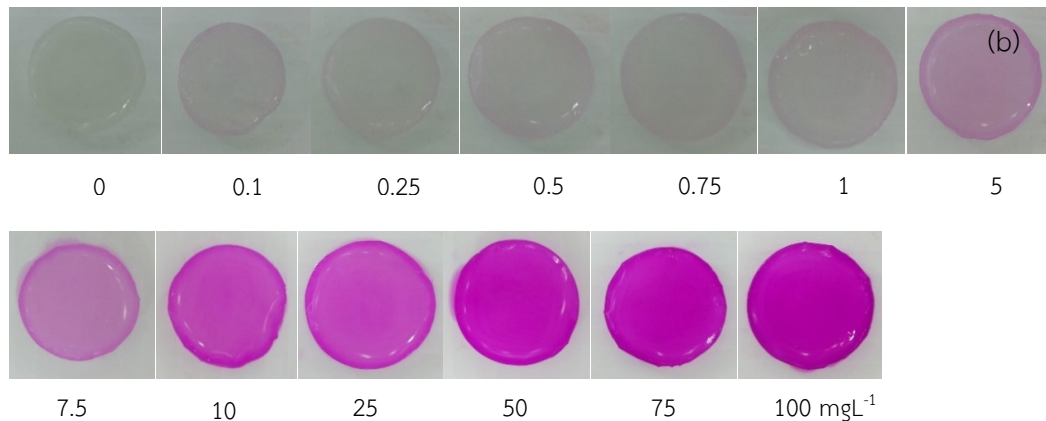


#### 4.3 การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยเทคนิควิเคราะห์ภาพดิจิทัล

การวิเคราะห์เชิงปริมาณของไนเตรทและไนไตรท์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลสามารถทำได้โดยการวิเคราะห์ค่าความเข้มแสง RGB ของภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากการทดสอบสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์กับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น และสร้างความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสง RGB ที่ได้กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน (กราฟมาตรฐาน) เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

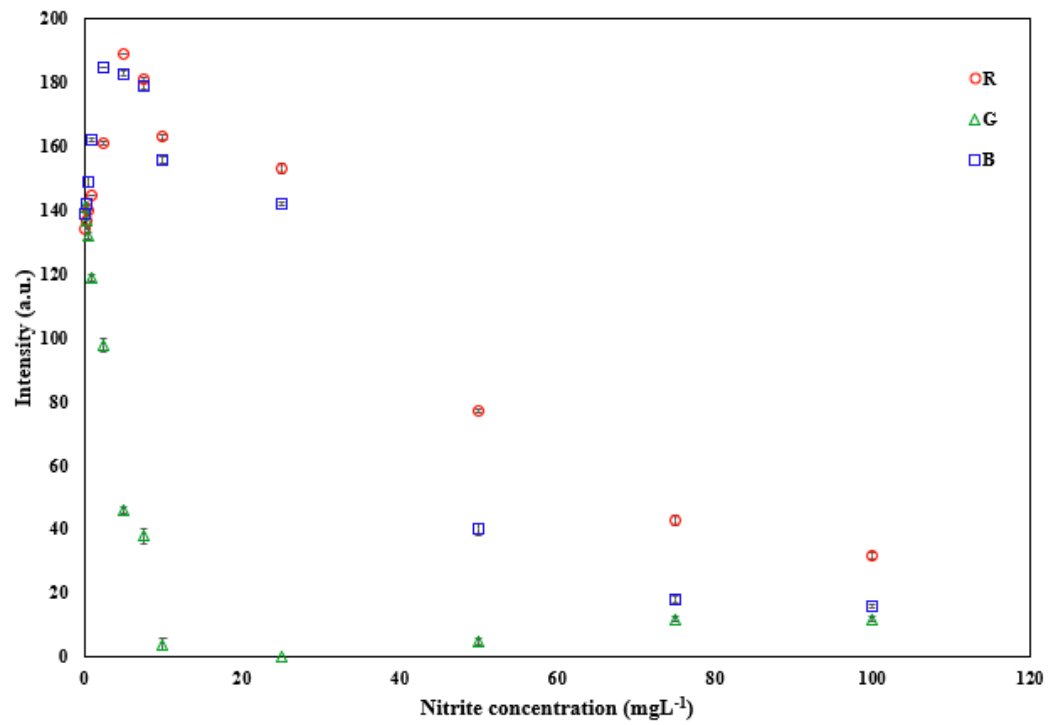
การทดสอบสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น 0.05 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (a) และโซเดียมไนเตรทความเข้มข้น 0.1 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) กับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นพบว่า ได้ผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพู (รูปที่ 4.19) เมื่อความเข้มข้นของไนไตรท์เพิ่มขึ้นส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้นจนเป็นสีน้ำตาล ในขณะที่ผลิตภัณฑ์สีของไนเตรทจะมีความเข้มสีคงที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และจะมีสีเข้มขึ้นที่ความเข้มข้นมากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร





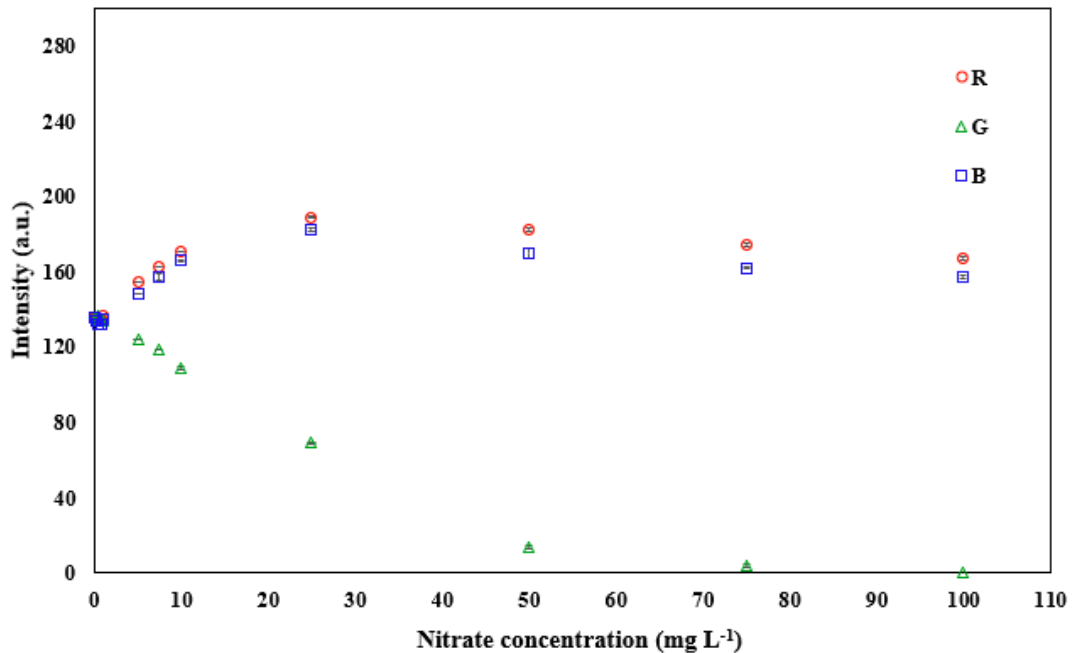
**รูปที่ 4.19** สีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายมาตรฐานกับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น (a) ไนไตรท์ (b) ไนเตรท

เมื่อวิเคราะห์ค่าความเข้มแสง RGB ของภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพูที่ได้เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มแสง RGB และความเข้มข้นของไนไตรท์ พบว่า ค่า intensity ของสีเขียวลดลง เมื่อความเข้มข้นของไนไตรท์เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.20) ในขณะที่ค่า intensity ของสีแดงและสีน้ำเงินมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0.05 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีแนวโน้มลดลงหลังจากนั้น การเพิ่มขึ้นของค่า intensity สีแดงและสีน้ำเงินน่าจะเกี่ยวข้องกับการสะท้อนแสงของผลิตภัณฑ์เนื่องจากผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพูสะท้อนแสงสีผสมระหว่างแดงและน้ำเงิน ดังนั้นเมื่อผลิตภัณฑ์สีม่วงอ่อน มีสีเข้มขึ้น จึงเกิดการสะท้อนของแสงสีแดงและสีน้ำเงินมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์มากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลิตภัณฑ์ที่ได้เริ่มมีเฉดสีม่วงเข้มขึ้น การสะท้อนของแสงสีแดงและสีน้ำเงินจึงลดลง เมื่อพิจารณาค่า intensity ของสีเขียวพบว่า มีแนวโน้มลดลงในช่วงความเข้มข้น 0.05 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และจะเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้นมากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเนื่องจากผลิตภัณฑ์เปลี่ยนเป็นสีม่วงน้ำตาล



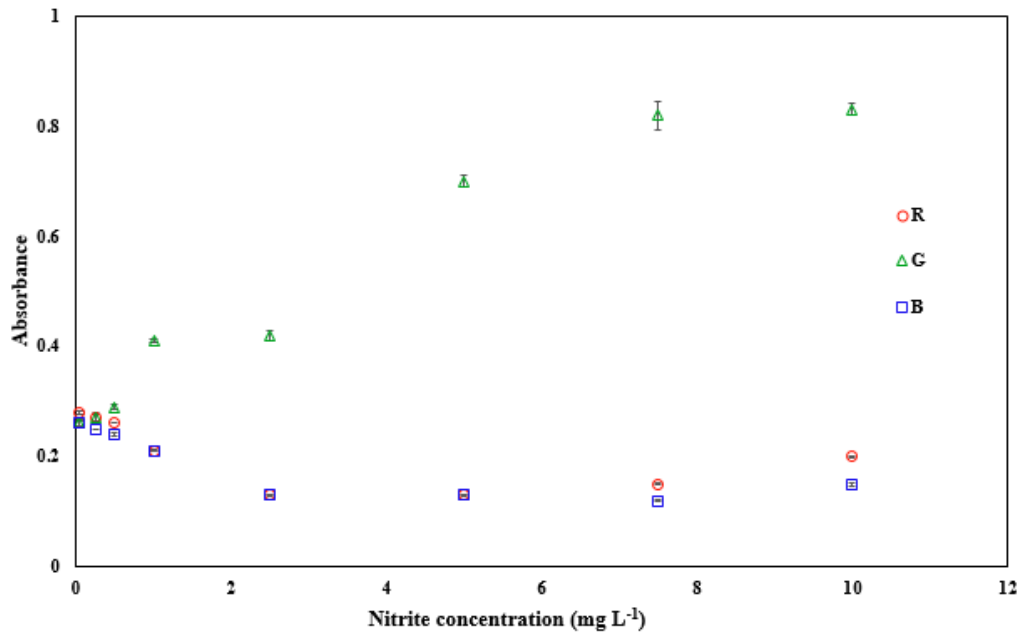
รูปที่ 4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสง RGB กับความเข้มข้นของสารละลายไนไตรท์ ในช่วง 0.05 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

การวิเคราะห์ค่าความเข้มแสง RGB ด้วยระบบภาพดิจิทัลของสารละลายมาตรฐาน ไนเตรท พบว่า ค่า intensity ของสีเขียวลดลง เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นและเริ่มมีค่าคงที่ที่ความเข้มข้นมากกว่า 75 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.21) ในขณะที่ค่า intensity ของสีแดงและน้ำเงินพบว่ามีค่า intensity มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นถึง 25 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นค่า intensity เริ่มคงที่



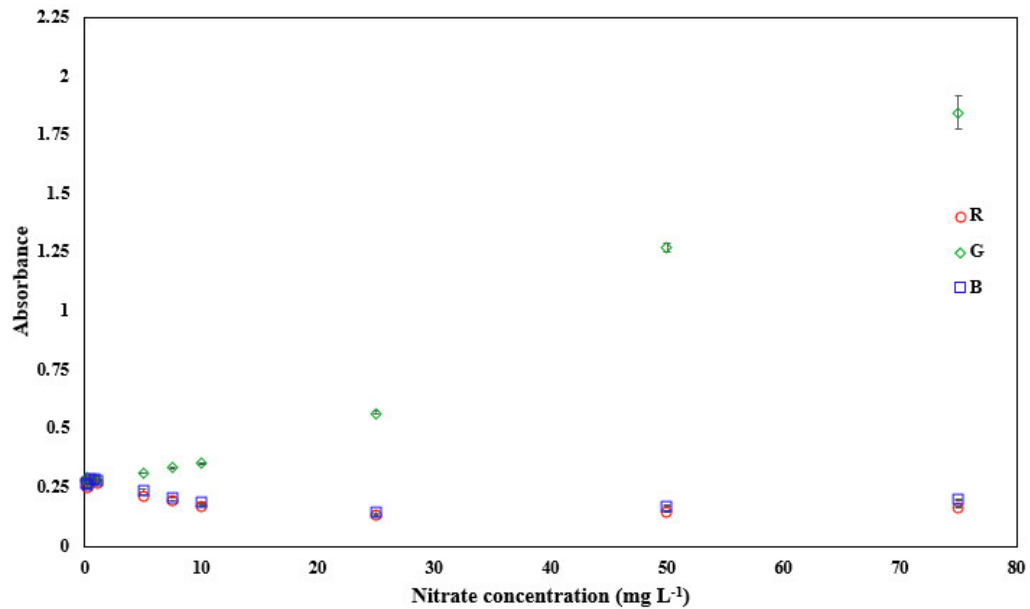
รูปที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มแสง RGB กับความเข้มข้นของสารละลายไนเตรท ในช่วง 0.1 ถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสง RGB (RGB Absorbance) ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ (ได้จากการคำนวณโดยใช้สมการ  $A_x = -\log \frac{(x-l_x,b)}{(x,w-l_x,b)}$  (Choodum and Nic Daeid, 2011; Kompany-Zareh, *et al.*, 2002) ) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 0.05 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสีแดงและน้ำเงินมีแนวโน้มคงที่ ในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงของสีเขียวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.22) ซึ่งให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพูที่ได้จากปฏิกิริยาเกิดการดูดกลืนแสงสีเขียว (ความยาวคลื่น 490 ถึง 560 นาโนเมตร (Cantrell, *et al.*, 2010) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่พบว่ามีการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 545 นาโนเมตร



รูปที่ 4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์กับค่าการดูดกลืนแสง RGB ที่ความเข้มข้น 0.05 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์กับค่าการดูดกลืนแสง RGB ที่ความเข้มข้น 0.1 ถึง 75 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงดังรูป 4.23 พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสีแดงและน้ำเงินมีค่าคงที่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และค่าการดูดกลืนแสงของสีเขียวมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ซึ่งให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพูที่ได้จากปฏิกิริยาเกิดการดูดกลืนแสงสีเขียวซึ่งมีความยาวคลื่น 539 นาโนเมตร



รูปที่ 4.23 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนเตรทกับค่าการดูดกลืนแสง RGB ที่ความเข้มข้น 0.1 ถึง 75 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.4 สมรรถนะของระบบ

##### 4.4.1 ความถูกต้อง/ความแม่นยำ (Accuracy)

จากการศึกษาความถูกต้อง/ความแม่นยำของระบบที่พัฒนาขึ้นโดยการตรวจวัดไนเตรทที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนเตรทที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร กับชุดตรวจที่พัฒนาขึ้น พบว่า ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (% Relative error) ของไนเตรทอยู่ในช่วง 0.75 ถึง 8.22% (ตารางที่ 4.1) และไนเตรทอยู่ในช่วง 1.86 ถึง 7.87% (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.1 ความถูกต้อง/ความแม่นยำของการตรวจวัดไนโตรท์

พารามิเตอร์	ความถูกต้อง/ความแม่นยำ		
	ความเข้มข้นจริง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (% Relative error)
I <sub>R</sub>	0.1	0.09	-0.80
I <sub>G</sub>	0.1	0.12	2.14
I <sub>B</sub>	0.1	0.11	0.75
A <sub>R</sub>	0.1	0.02	-8.22
A <sub>G</sub>	0.1	0.02	-8.22
A <sub>B</sub>	0.1	0.06	-3.79

ตารางที่ 4.2 ความถูกต้อง/ความแม่นยำของการตรวจวัดไนเตรท

พารามิเตอร์	ความถูกต้อง/ความแม่นยำ		
	ความเข้มข้นจริง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (% Relative error)
I <sub>R</sub>	2.5	2.55	1.86
I <sub>G</sub>	2.5	2.57	2.68
I <sub>B</sub>	2.5	2.44	-2.62
A <sub>R</sub>	2.5	2.63	5.36
A <sub>G</sub>	2.5	2.70	7.87
A <sub>B</sub>	2.5	2.66	6.54

#### 4.4.2 ความเที่ยงตรง (Precision)

จากการศึกษาความเที่ยงตรง (ตารางที่ 4.3) เพื่อทดสอบความใกล้เคียงของผลที่ได้จากการซ้ำกันของการทดสอบภายในวันเดียวกัน (Intra-day precision) มีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ของระบบที่พัฒนาขึ้นอยู่ในช่วง 0.29 ถึง 0.84% สำหรับวิเคราะห์ไนโตรเจนและ 0.37 ถึง 1.43% สำหรับวิเคราะห์ไนเตรต นอกจากนี้ยังพบว่าความเที่ยงตรงสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรตและไนโตรเจน จำนวน 3 วัน (Inter-day precision) มีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 0.20 ถึง 0.69% และ 0.31 ถึง 1.48% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 ความเที่ยงตรงของการตรวจวัดไนโตรเจนและไนเตรต

พารามิเตอร์	ร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ภายในวันเดียวกัน		ร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ระหว่างวัน	
	ไนโตรเจน	ไนเตรต	ไนโตรเจน	ไนเตรต
	$I_R$	0.29	1.43	0.20
$I_G$	0.36	0.50	0.25	0.41
$I_B$	0.61	0.37	0.32	0.31
$A_R$	0.52	1.25	0.50	1.48
$A_G$	0.66	1.34	0.21	0.72
$A_B$	0.84	1.37	0.69	0.71

#### 4.4.3 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear Dynamic Range: LDR)

การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงโดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนและไนเตรตกับค่าความเข้มแสง RGB และค่าการดูดกลืนแสง RGB และกำหนดช่วงความเป็นเส้นตรงโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ ) ที่มากกว่า 0.99 (ตารางที่ 4.4) พบว่า ความสัมพันธ์ของค่า intensity สีเขียวให้ช่วงความเป็นเส้นตรงกว้างที่สุดสำหรับการตรวจวัดไนโตรเจน (ตั้งแต่ 0.05 ถึง 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) และการตรวจวัดไนเตรตมีช่วงความเป็นเส้นตรงที่



กว้างที่สุดจากความสัมพันธ์ของค่า intensity ของแสงสีเขียว (1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ช่วงความเป็นเส้นตรงที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้กว้างกว่าช่วงความเป็นเส้นตรงของวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์ (0.05 ถึง 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และไนเตรท (1 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อลิตร)

ตารางที่ 4.4 ผลของช่วงความเป็นเส้นตรง (LDR) ของการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท

พารามิเตอร์	ช่วงความเป็นเส้นตรง (มิลลิกรัมต่อลิตร)		ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ( $r^2$ )	
	ไนไตรท์	ไนเตรท	ไนไตรท์	ไนเตรท
$I_R$	0.05-2.5	1-25	0.9996	0.9992
$I_G$	0.05-5.00	1-50	0.9956	0.9966
$I_B$	0.05-2.50	1-25	0.9976	0.9955
$A_R$	0.05-2.50	1-10	0.9919	0.9936
$A_G$	0.05-2.50	1-25	0.9919	0.9939
$A_B$	0.05-1.00	1-10	0.9960	0.9998
Spectrophotometer	0.05-2.50	1-25	0.9971	0.9968

#### 4.4.4 ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of Detection: LOD)

จากการศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดระบบที่พัฒนาขึ้นและสเปกโทรโฟโตมิเตอร์พบว่าขีดจำกัดในการตรวจวัดไนไตรท์โดยใช้ความสัมพันธ์ของความเข้มของสีเขียวมีค่าต่ำสุดเท่ากับ  $0.05 \pm 0.07$  และ  $0.42 \pm 0.04$  มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับตรวจวัดไนเตรท ซึ่งขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานน้ำดื่มและน้ำจืดขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) ซึ่งกำหนดปริมาณสูงสุดของการปนเปื้อนไนไตรท์และไนเตรทสูงสุดที่ 3 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (United States Environmental Protection Agency: EPA) กำหนดปริมาณสูงสุดของการปนเปื้อนไนไตรท์และไนเตรทสูงสุดที่ 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.5 ผลของขีดจำกัดในการตรวจวัดไนโตรเจนและไนเตรท

พารามิเตอร์	ขีดจำกัดในการตรวจวัด (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ไนโตรเจน	ไนเตรท
$I_R$	$0.32 \pm 0.03$	$0.46 \pm 0.04$
$I_G$	$0.05 \pm 0.07$	$0.42 \pm 0.04$
$I_B$	$0.05 \pm 0.09$	$0.50 \pm 0.03$
$A_R$	$0.41 \pm 0.00$	$0.49 \pm 0.00$
$A_G$	$0.05 \pm 0.00$	$0.33 \pm 0.05$
$A_B$	$0.06 \pm 0.00$	$0.43 \pm 0.00$
Spectrophotometer	$0.002 \pm 0.024$	$0.06 \pm 0.00$

#### 4.4.5 ความไวในการวิเคราะห์ (Sensitivity)

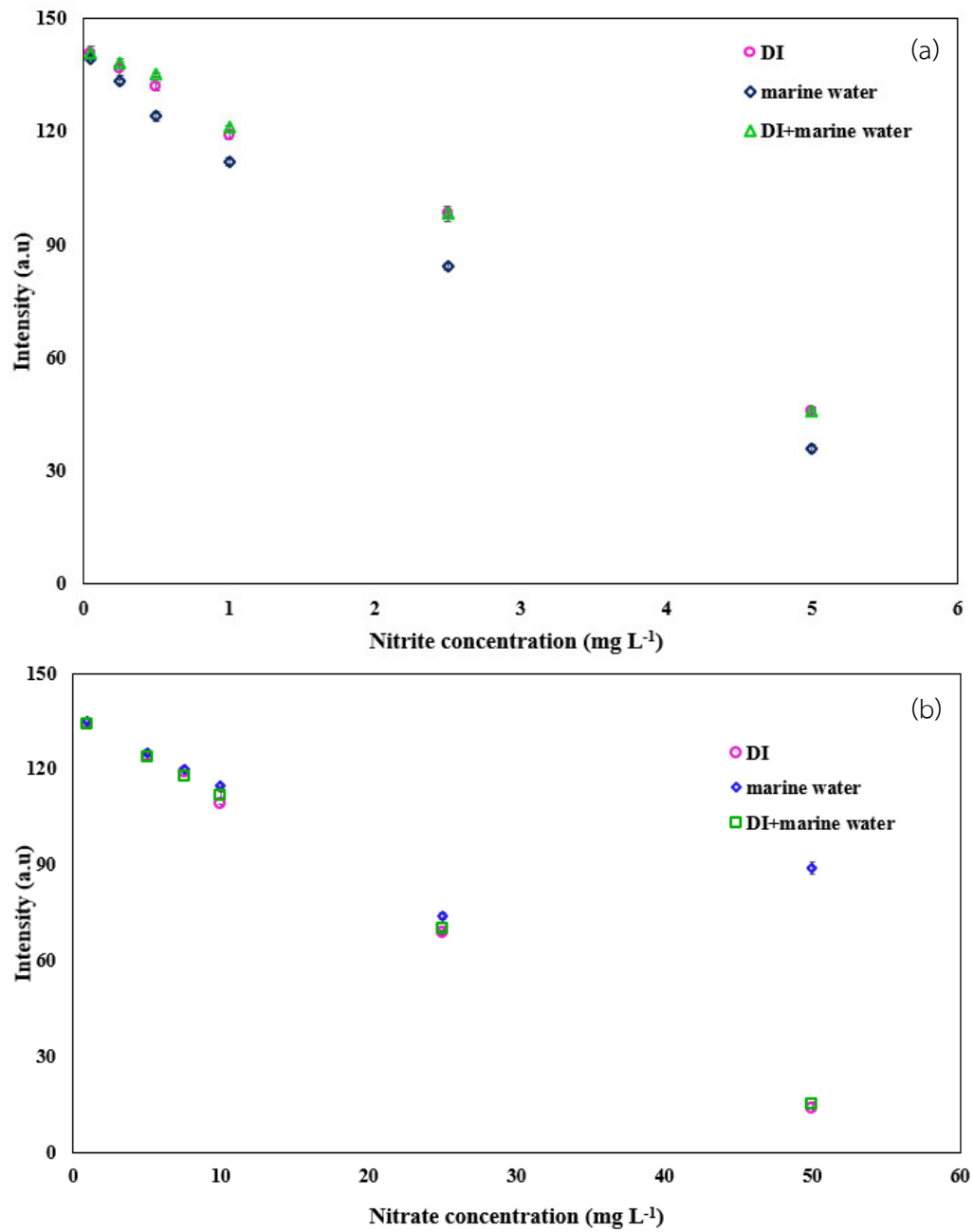
จากการศึกษาความไวในการวิเคราะห์ของระบบการตรวจวัด ซึ่งพิจารณาจากค่าความชันของสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน พบว่า การตรวจวัดไนโตรเจนมีความไวในการสูงสุดอยู่ที่  $20.6 \pm 1.2 \text{ a.u./mgL}^{-1}$  และ  $3.8 \pm 0.1 \text{ a.u./mgL}^{-1}$  สำหรับการตรวจวัดไนเตรท ซึ่งความไวในการตรวจวัดของวิธีที่พัฒนาขึ้นดีกว่าวิธีมาตรฐาน แสดงดังตาราง 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลของความไวในการวิเคราะห์

พารามิเตอร์	ความไวในการวิเคราะห์ (a.u./mgL <sup>-1</sup> )	
	ไนโตรท์	ไนเตรท
I <sub>R</sub>	11.0 ± 0.1	3.8 ± 0.1
I <sub>G</sub>	-18.9 ± 0.0	-2.5 ± 0.0
I <sub>B</sub>	20.6 ± 1.2	3.4 ± 0.2
A <sub>R</sub>	-0.1 ± 0.0	-0.01 ± 0.00
A <sub>G</sub>	0.1 ± 0.0	0.01 ± 0.05
A <sub>B</sub>	-0.1 ± 0.0	-0.01 ± 0.00
Spectrophotometer	0.9 ± 0.5	0.1 ± 0.0

#### 4.5 ผลของเมทริกซ์ในน้ำทะเล

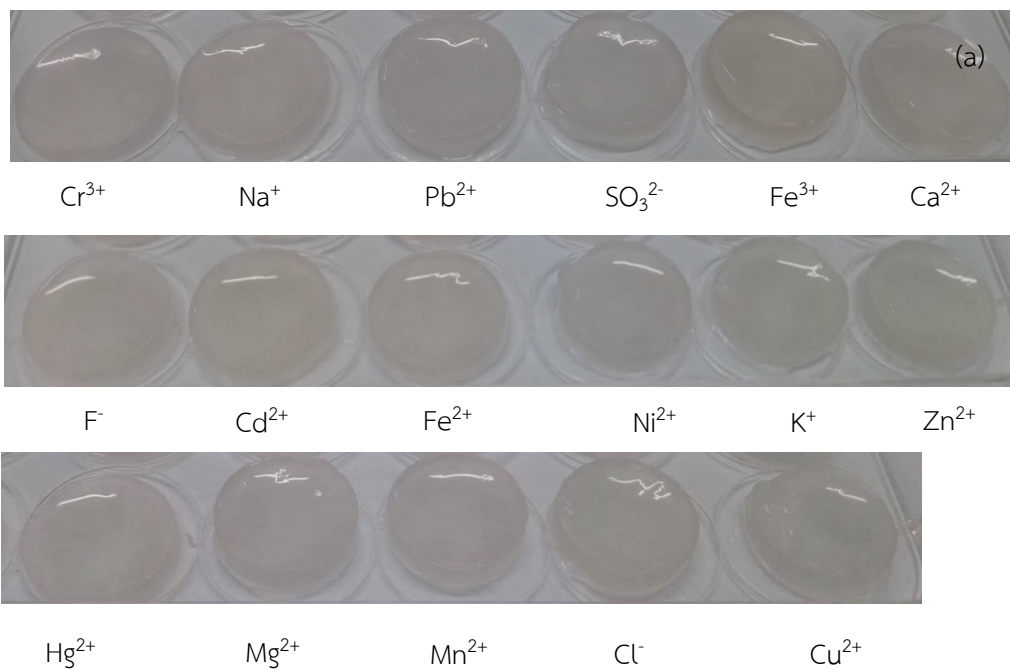
เนื่องจากเมทริกซ์ในน้ำทะเลอาจมีผลต่อการตรวจวัด งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของเมทริกซ์โดยใช้ น้ำทะเลสำหรับเตรียมสารละลายมาตรฐานไนโตรท์และไนเตรทแทนน้ำบริสุทธิ์สูง ในช่วง 0.05 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์ไนโตรท์ และ 1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรท (รูปที่ 4.24) พบว่า ค่าความชันของกราฟที่เตรียมสารละลายมาตรฐานจากน้ำทะเลต่างจากกราฟที่เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำบริสุทธิ์ 10.82% และเมื่อเจือจางน้ำทะเลด้วยน้ำบริสุทธิ์ที่อัตราส่วน 1:1 พบว่าค่าความชันแตกต่างกันเพียง 0.02% (a) ในขณะที่การตรวจวัดไนเตรท พบว่า ความชันของสารละลายมาตรฐานที่เตรียมจากน้ำทะเลในช่วงความเข้มข้น 1 ถึง 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับกราฟที่เตรียมสารละลายมาตรฐานจากน้ำบริสุทธิ์ และค่าความชันเริ่มแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (b) แสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทที่ความเข้มข้นสูงกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลกระทบต่อระบบที่พัฒนาขึ้น และเมื่อทำการเจือจางน้ำทะเลด้วยน้ำบริสุทธิ์อัตราส่วน 1:1 พบว่า ค่าความชันแตกต่างกันเพียง 0.76% ดังนั้นการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง จำเป็นต้องเจือจางตัวอย่างน้ำทะเลด้วยน้ำบริสุทธิ์ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อลดผลของตัวรบกวน

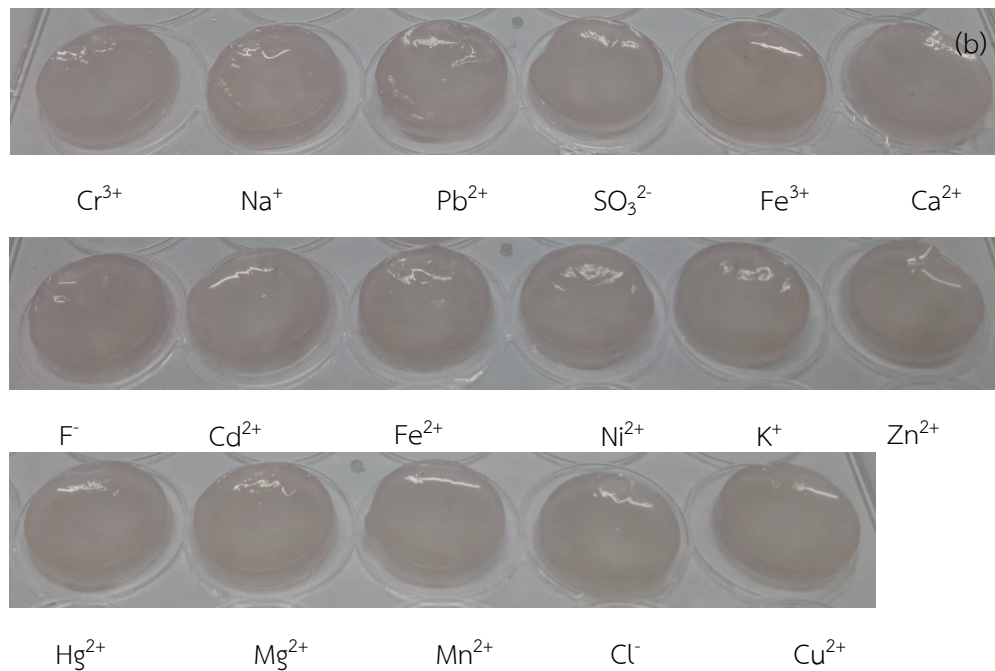


รูปที่ 4.24 ผลของเมทริกซ์ในน้ำทะเล (a) ไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.05 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร  
(b) ไนเตรทที่ความเข้มข้น 1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

#### 4.6 ผลการรบกวนที่เกิดจากไอออนชนิดอื่น

การศึกษาผลการรบกวนของไอออนชนิดอื่นที่มีอาจมีผลต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้น โดยการทดสอบไอออนทั้งหมด 18 ชนิด ที่ความเข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ ชุดตรวจวัดที่พัฒนาขึ้น จากการศึกษาพบว่า ไอออนทั้ง 18 ชนิดไม่เกิดการเปลี่ยนสีเมื่อทำปฏิกิริยากับ ชุดตรวจวัดที่พัฒนาขึ้น (รูปที่ 4.25) ซึ่งให้เห็นว่า ชุดตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทมีความจำเพาะต่อ ไอออนไนไตรท์และไนเตรทสูงและไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่น



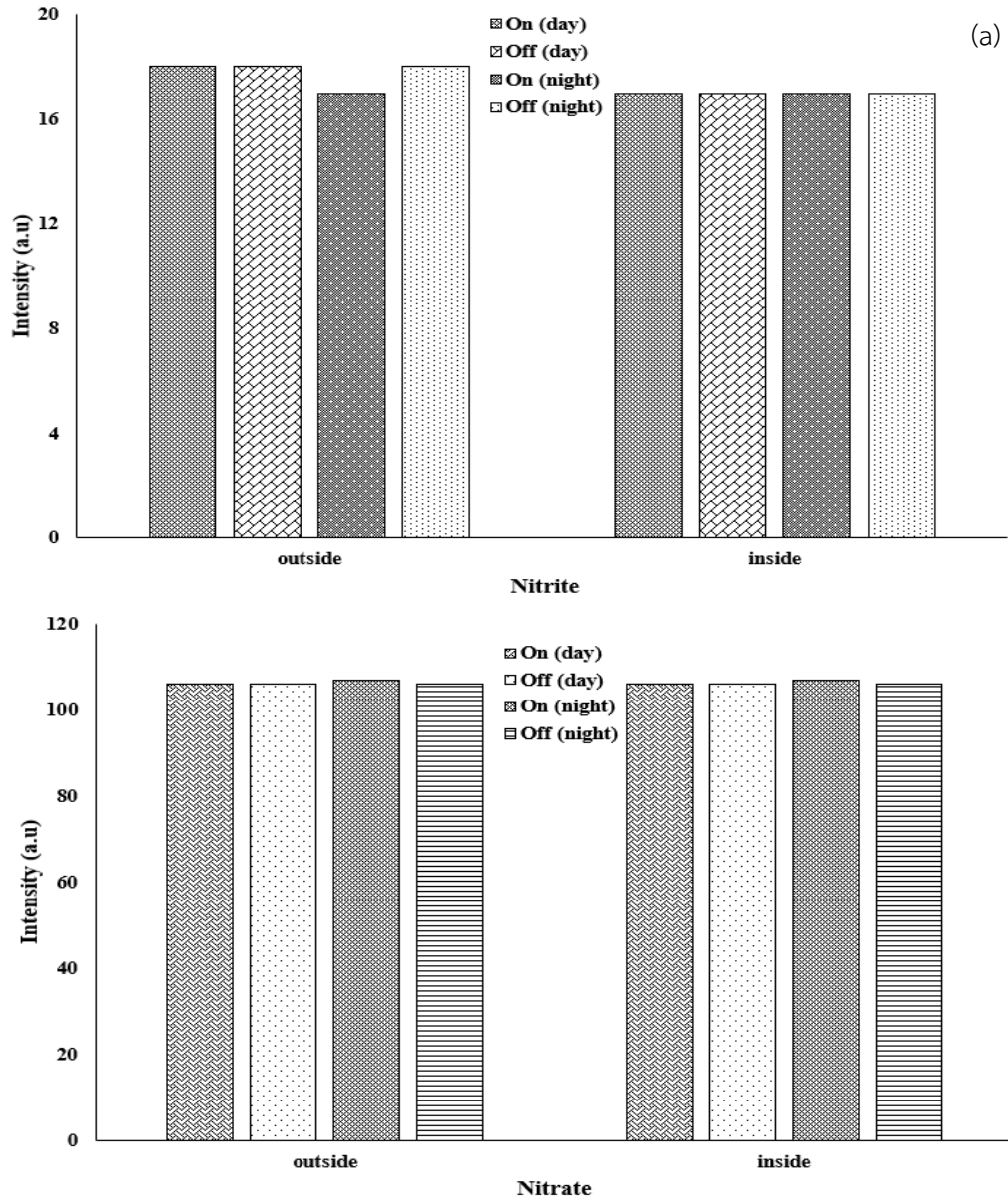


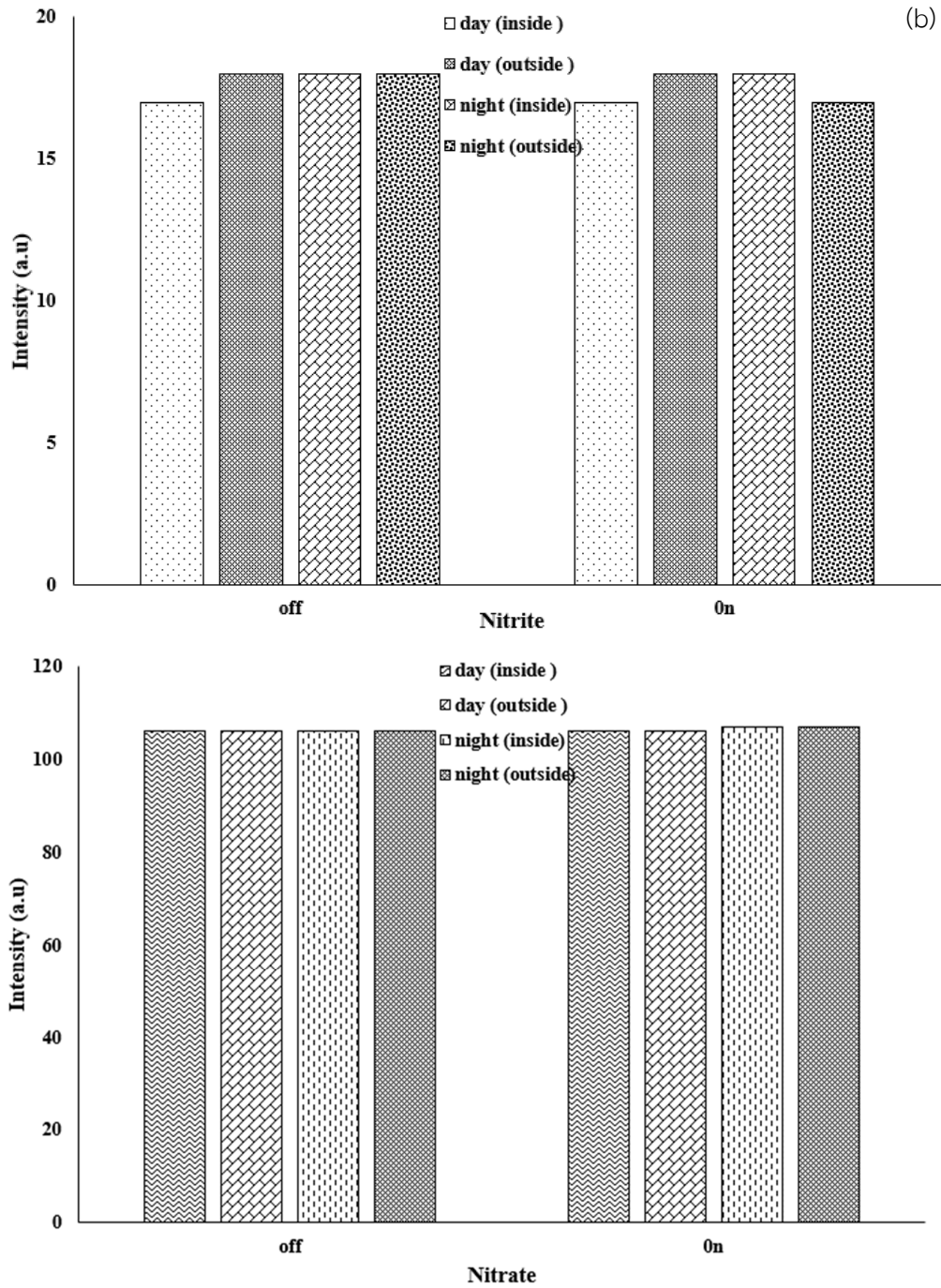
รูปที่ 4.25 ผลการทดสอบไอออนรบกวนกับชุดตรวจ (a) ไนไตรท์ (b) ไนเตรท

#### 4.7 ผลการรบกวนแสงภายนอกของระบบภาพดิจิทัล

การศึกษาผลการรบกวนของแสงภายนอกในระบบวิเคราะห์ความเข้มแสงของภาพดิจิทัลที่พัฒนาขึ้นโดยการวิเคราะห์ความเข้มแสงของภาพดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากการทดสอบสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสารละลายมาตรฐานไนเตรท 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในสภาวะที่มีการเปิด-ปิดไฟภายในและภายนอกห้องปฏิบัติการ ทั้งในช่วงเวลากลางวันและกลางคืน (รูปที่ 4.26) ผลการศึกษาพบว่า การวิเคราะห์ความเข้มแสงสีเขียวของระบบภาพดิจิทัลภายในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการมีค่า  $t$  calculated เท่ากับ 1.57 สำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์ และ  $t$  calculated เท่ากับ 0.65 สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรท ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่าในตาราง ( $t$  critical = 1.94) มีค่ามากกว่า  $t$  calculated ชี้ให้เห็นว่า การวิเคราะห์ค่าความเข้มแสงของระบบภาพดิจิทัลทั้งภายในห้องปฏิบัติการและนอกห้องปฏิบัติการ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งไนเตรทและไนไตรท์ (a) และเมื่อทำการ

ทดสอบโดยการเปิด-ปิดไฟในช่วงเวลากลางวันและกลางคืน พบว่า  $t$  calculated เท่ากับ 0.33 สำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์ และ  $t$  calculated เท่ากับ 1.73 สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรท ซึ่งมีค่าน้อยกว่า  $t$  ในตาราง ( $t$  critical = 1.94) (b) เช่นเดียวกัน ซึ่งสรุปได้ว่า ระบบที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ความเข้มแสงของระบบภาพดิจิทัลสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ภาคสนามได้





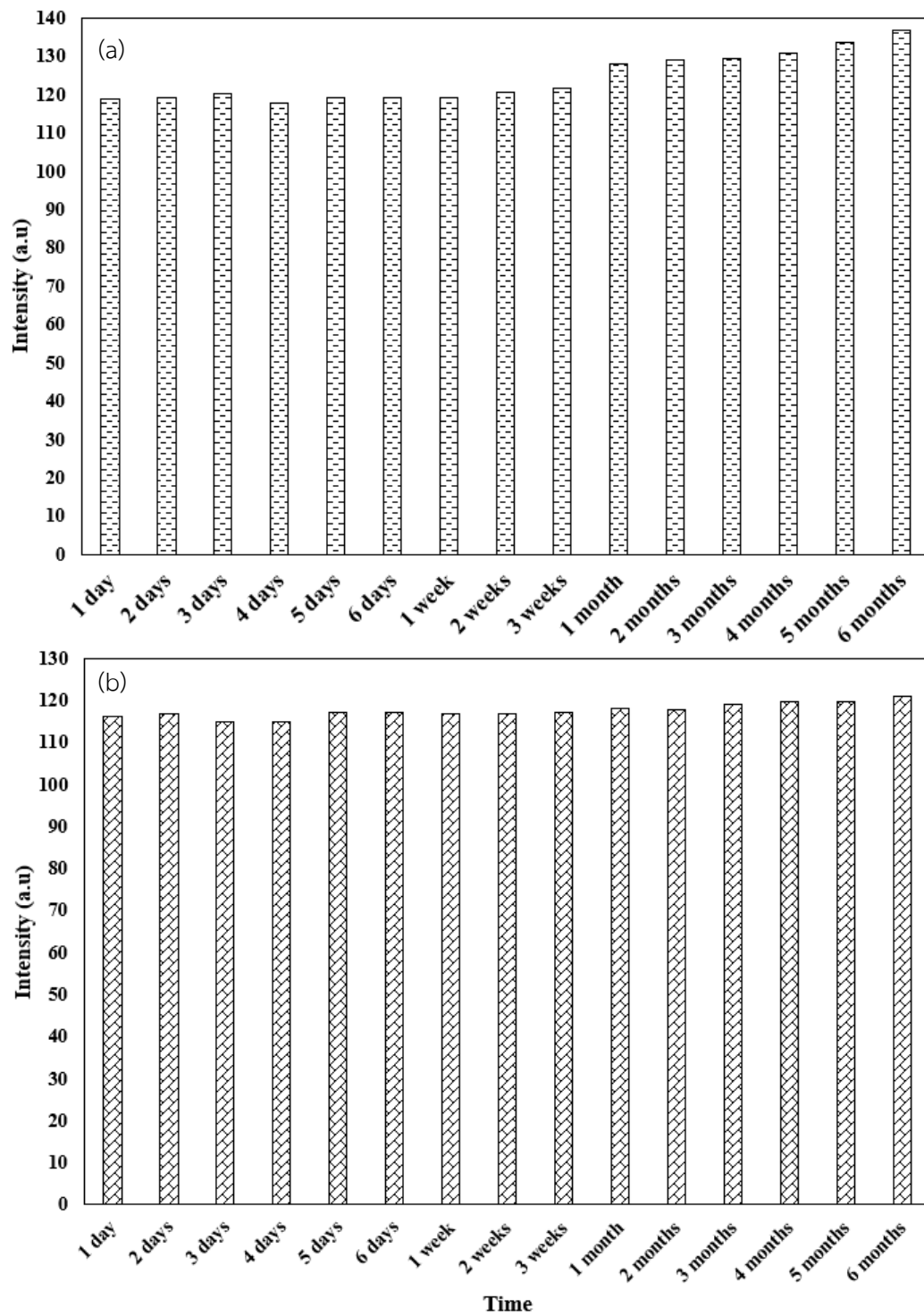
รูปที่ 4.26 ผลการรบกวนจากแสงภายนอกของระบบภาพดิจิทัล (a) ภายในและภายนอกห้องปฏิบัติการ (b) เปิด-ปิดไฟ



#### 4.8 ความเสถียรของชุดตรวจ (Stability)

การศึกษาความเสถียรของชุดตรวจศึกษาโดยการเก็บรักษาชุดตรวจไนเตรทไว้ในตู้ดูดความชื้น ในขณะที่ชุดตรวจไนเตรทเก็บรักษาไว้ในช่องแช่แข็ง (อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำชุดตรวจมาดูลักษณะทางกายภาพและนำมาทดสอบด้วยสารมาตรฐานไนเตรท (10 มิลลิกรัมต่อลิตร) และสารมาตรฐานไนเตรท (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทุกวัน เป็นเวลา 1 อาทิตย์ และทุกอาทิตย์จนครบ 1 เดือน และทุกเดือนจนครบ 6 เดือน จากการเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของก้อนเจลของชุดตรวจไนเตรทพบว่า หลังการเก็บชุดตรวจไว้เป็นเวลา 3 เดือน ความหนาของก้อนเจลไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง แต่เส้นผ่านศูนย์กลางลดลง 1 มิลลิเมตร (วันแรกมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร หนา 2 มิลลิเมตร และหลังเก็บไว้ 3 เดือน มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.4 เซนติเมตร หนา 2 มิลลิเมตร) เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มแสงสีเขียวของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากชุดตรวจที่เก็บไว้ 3 เดือนกับวันแรกที่เตรียม (รูปที่ 4.27 a) พบว่า มีความแตกต่างกัน -8.40% และเมื่อเก็บรักษาชุดตรวจไนเตรทจนถึงระยะเวลา 6 เดือน พบว่า มีความแตกต่างจากวันแรก -15.13%

ในขณะที่ชุดตรวจไนเตรทไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะกายภาพ และมีความแตกต่างระหว่างค่าความเข้มแสงสีเขียวของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากชุดตรวจที่เก็บไว้ 6 เดือนกับวันแรกที่เตรียมเพียง -3.49% แสดงให้เห็นว่า ชุดตรวจไนเตรทมีความเสถียรดีมาก สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 6 เดือน (รูปที่ 4.27 b)



รูปที่ 4.27 ความเสถียรของชุดตรวจ (a) ไนไตรท์ (b) ไนเตรท

#### 4.9 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณท่าเทียบเรืออ่าวฉลอง จังหวัดภูเก็ต ซึ่งเป็นบริเวณที่มีการทำกิจกรรมต่างๆ เช่น การปล่อยน้ำเสียจากร้านอาหาร แหล่งชุมชน รวมไปถึงการขนส่งสินค้าทางเรือ โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด 10 จุด และวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นและวิธีสเปกโทรโฟโตเมทรี ตรวจพบไนโตรตด้วยวิธีการสังเกตสีของชุดตรวจจำนวน 1 จุด และไนเตรทจำนวน 1 จุด เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคภาพดิจิทัลพบว่า ไนโตรตมีความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และตรวจพบไนเตรทที่ความเข้มข้น 0.57 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อตรวจยืนยันผลด้วยวิธีมาตรฐาน พบว่าปริมาณไนโตรตในตัวอย่างน้ำทะเลมีความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณของไนเตรทมีความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงตารางที่ 4.7 และจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจวัดไนโตรตและไนเตรทด้วยวิธีทางสถิติพบว่า  $t$  calculated เท่ากับ 0.01 และ  $t$  critical 2.13 เมื่อพิจารณาจากค่า  $t$  แล้วพบว่าทั้งสองวิธีมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4.7 ความเข้มข้นของไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างน้ำทะเล

ตัวอย่าง	วิธีที่พัฒนา (มิลลิกรัมต่อลิตร)		วิธีสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
	ไนไตรท์	ไนเตรท	ไนไตรท์	ไนเตรท
A	nd	nd	nd	nd
B	nd	nd	nd	nd
C	nd	nd	nd	nd
D	nd	nd	nd	nd
E	nd	nd	nd	nd
F	nd	0.57 ± 0.00	nd	0.60 ± 0.00
G	0.06 ± 0.00	nd	0.05 ± 0.04	nd
H	nd	nd	nd	nd
I	nd	nd	nd	nd
J	nd	nd	nd	nd

\*nd หมายถึง ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ (not detectable)

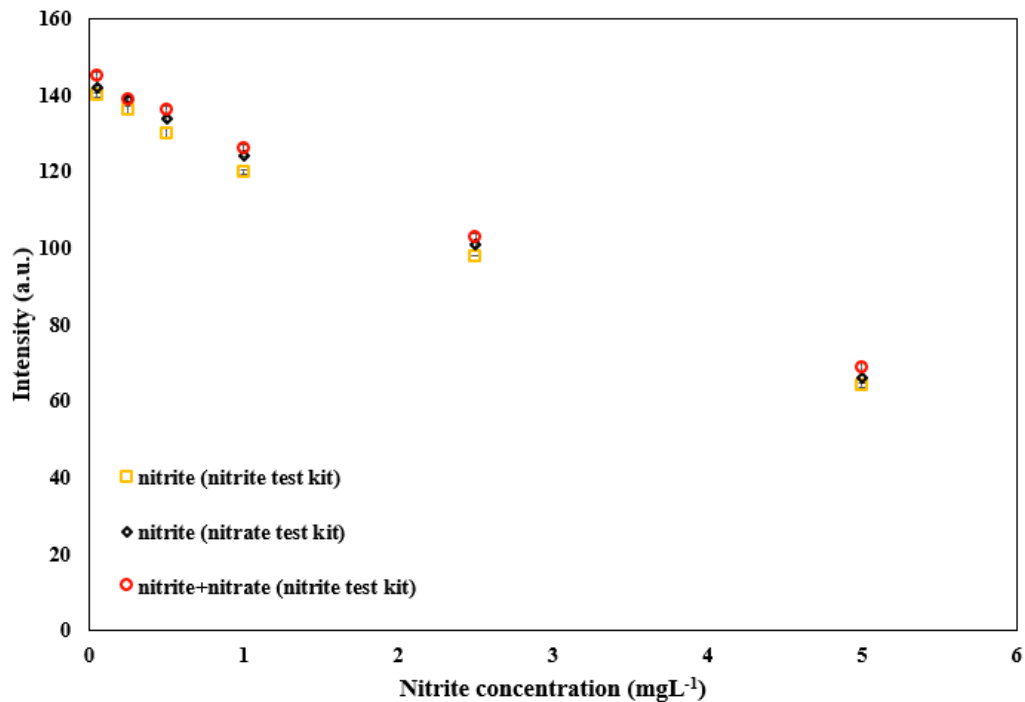
#### 4.10 ผลการรบกวนของไอออนไนเตรทต่อความเข้มข้นของไนไตรท์

ผลการรบกวนของไอออนไนเตรทที่มีผลต่อความเข้มข้นของไนไตรท์ ศึกษาโดยการนำสารละลายไนเตรทที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมกับสารละลายไนไตรท์ในช่วง 0.05 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และทดสอบด้วยชุดตรวจไนไตรท์เปรียบเทียบกับสารละลายที่มีเฉพาะสารมาตรฐานไนไตรท์เพียงอย่างเดียว จากการศึกษาพบว่า ความชันของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนไตรท์และค่า intensity ของสารละลายทั้งสองแบบแตกต่างกันเพียง 0.33% (รูปที่ 4.28 ตารางที่ 4.8) ซึ่งให้เห็นว่า ไอออนไนเตรทไม่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไนไตรท์โดยใช้ชุดตรวจไนไตรท์

เมื่อทดสอบสารละลายไนไตรท์กับชุดตรวจไนเตรทเปรียบเทียบกับชุดตรวจไนไตรท์พบว่า ความชื้นของความสัมพันธ์ของสารละลายทั้งสองแบบมีความแตกต่างกันเพียง 1.30% ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ฟิล์มบางของแป้งที่ใช้รีดิวซ์ไนเตรท (ของชุดตรวจไนเตรท) ไม่มีผลต่อการทดสอบไนไตรท์

ตารางที่ 4.8 ผลของค่าความชื้นจากการทดสอบผลการרבกวนของไอออน

ชุดทดสอบ	ชนิดของสารละลายมาตรฐาน	ค่าความชื้น (a.u.)
ชุดตรวจไนไตรท์	สารละลายไนไตรท์	15.17 ± 0.32
	สารละลายไนเตรท	ไม่เกิดสี
	สารละลายไนไตรท์ผสมไนเตรท	15.12 ± 0.24
	สารละลายไนเตรทผสมไนไตรท์	0.03 ± 0.01
ชุดตรวจไนเตรท	สารละลายไนไตรท์	15.37 ± 0.28
	สารละลายไนเตรท	1.68 ± 0.08
	สารละลายไนเตรทผสมไนไตรท์	1.91 ± 0.02

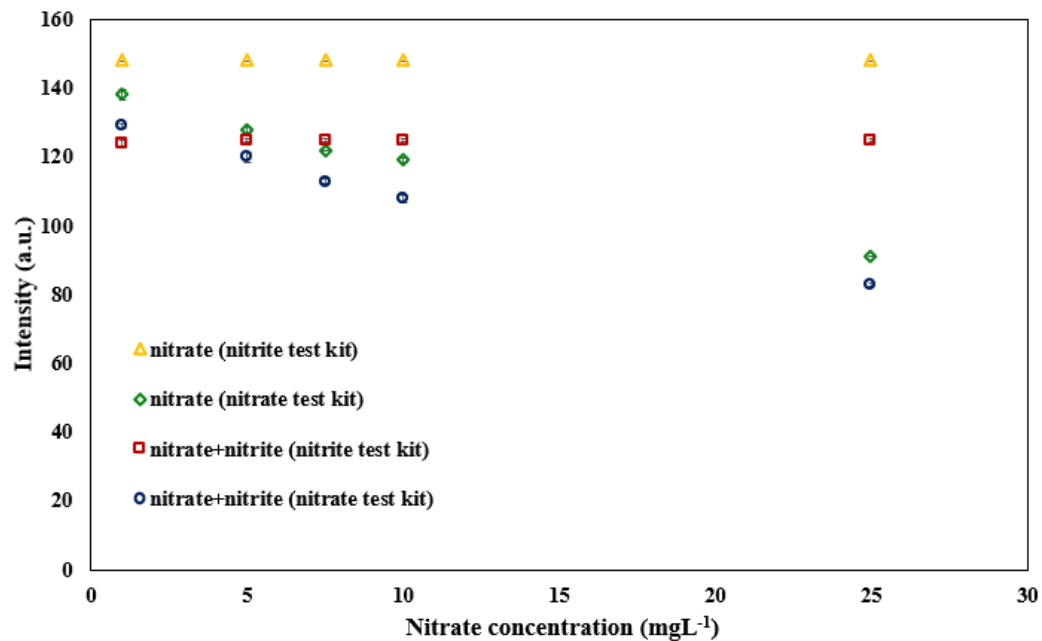


รูปที่ 4.28 ผลการรบกวนของไอออนไนเตรทต่อความเข้มข้นของไนไตรท์

#### 4.11 ผลการรบกวนของไอออนไนเตรทต่อความเข้มข้นของไนเตรท

ผลของไอออนไนเตรทที่มีผลต่อความเข้มข้นของไนเตรท ศึกษาโดยการนำสารมาตรฐานไนเตรทเติมลงในสารละลายมาตรฐานไนเตรท (1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และทดสอบด้วยชุดตรวจไนเตรทและชุดตรวจไนไตรท์ เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานไนเตรท ผลการศึกษา (รูปที่ 4.29) พบว่า การทดสอบสารละลายมาตรฐานไนเตรทด้วยชุดตรวจไนไตรท์ไม่เกิดการเปลี่ยนสี ซึ่งให้เห็นว่า ไอออนของไนเตรทจำเป็นต้องผ่านการรีดิวซ์ด้วยสังกะสี (ภายในฟิล์มบางของชุดตรวจไนไตรท์) ให้เป็นไอออนของไนไตรท์ก่อนจึงจะเกิดผลิตภัณฑ์สีและสามารถตรวจวัดได้ ในขณะที่เมื่อทดสอบสารมาตรฐานผสม (ไนเตรทและไนไตรท์) ด้วยชุดตรวจไนไตรท์ พบว่า เกิดผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพูที่มีค่า intensity ต่ำลงและคงที่ทุกความเข้มข้นของสารละลายไนเตรท (1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร) เนื่องจากไอออนของไนเตรทที่เพิ่มขึ้นไม่สามารถทดสอบได้ด้วยชุดตรวจไนไตรท์ มีเพียงไอออนของไนไตรท์ที่เติมลงไป (ความเข้มข้นคงที่ 1 มิลลิกรัม

ต่อลิตร) ในสารละลายผสมเท่านั้นที่เกิดปฏิกิริยากับชุดตรวจได้ เมื่อนำค่าความเข้มสีที่ได้แทนค่า  $y$  ในสมการของกราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณไนเตรท พบว่า มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.94 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับค่าความเข้มข้นจริงของไนเตรทในสารละลายผสม (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยมีความคลาดเคลื่อนเพียง 6%



รูปที่ 4.29 ผลการรบกวนของไอออนไนเตรทต่อความเข้มสีของไนเตรท

เมื่อทดสอบสารละลายผสมด้วยชุดตรวจไนเตรทพบว่า ค่า intensity ต่ำกว่าหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีเข้มกว่าการทดสอบสารมาตรฐานไนเตรทเพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นผลมาจากไอออนไนเตรทในสารละลายผสมสามารถเกิดปฏิกิริยากับน้ำยาเกรสในชุดตรวจได้เช่นเดียวกับไอออนของไนเตรท ผลรวมของไอออนไนเตรททั้งหมดจากสารละลายผสมจึงมากกว่าสารมาตรฐานไนเตรทเพียงอย่างเดียว

ดังนั้นในการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างจริง ผู้วิเคราะห์จำเป็นต้องทำการทดสอบตัวอย่างด้วยชุดตรวจไนเตรทเพื่อหาความเข้มข้นของไนเตรทในตัวอย่างก่อน แล้วจึงทดสอบตัวอย่างด้วยชุดตรวจไนเตรทอีกครั้ง เพื่อหาความเข้มข้นของไอออนไนเตรทที่เกิดจากการรบกวนของไนเตรท แล้วจึงนำไปลบกับความเข้มข้นของไนเตรทที่มีอยู่เดิม จึงจะเป็นความเข้มข้นของไนเตรทที่ถูกต้อง ยกตัวอย่างเช่น ในสารละลายผสมที่มีความเข้มข้นของไนเตรท 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนเตรท 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หากนำค่าความเข้มแสงที่ได้จากการทดสอบสารละลายดังกล่าวด้วย

ชุดทดสอบไนโตรที่ไปแทนค่าในสมการกราฟมาตรฐานของไนโตร จะหาความเข้มข้นของไนโตรที่ได้ 0.94 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำสารละลายผสมมาทดสอบกับชุดตรวจไนโตรและนำค่าความเข้มแสงที่ได้แทนลงในสมการกราฟมาตรฐานของไนโตร จะได้ความเข้มข้นของไนโตร 28.88 มิลลิกรัมต่อลิตร หากนำค่าความเข้มข้นของไนโตรที่ได้ลบด้วยความเข้มข้นของไนโตร จะได้ความเข้มข้นของไนโตรสุทธิ 27.94 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะมีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นจริงของไนโตร (25 มิลลิกรัมต่อลิตร)

#### 4.12 ต้นทุนของชุดตรวจวัดไนโตรและไนโตร

จากการคำนวณต้นทุนในการผลิตชุดตรวจวัดไนโตรและไนโตรพบว่า फिल्मบางของผงสังกะสีมีต้นทุนในการผลิตเท่ากับ 0.01 บาท และไฮโดรเจลของชุดตรวจวัดไนโตรที่มีต้นทุนเท่ากับ 1.15 บาท และยังพบอีกว่าไฮโดรเจลของชุดตรวจไนโตร สามารถย่อยสลายได้ภายใน 3 วัน และ फिल्मบางของผงสังกะสีสามารถย่อยสลายได้ทันทีเมื่อเจอกับสารละลาย ซึ่งให้เห็นว่าชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นมีราคาถูกและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเมื่อเปรียบเทียบกับชุดตรวจตามท้องตลาด



## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาชุดตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์แบบเปรียบเทียบสี ซึ่งทำงานควบคู่กับเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัลเพื่อวิเคราะห์หาไนเตรทและไนไตรท์ในเชิงปริมาณ ซึ่งสามารถสรุปผลได้ดังนี้

ชุดตรวจไนไตรท์พัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric test) ของน้ำยาเกรส (Griess reagent) ซึ่งถูกกักเก็บไว้ภายในโครงข่ายของไฮโดรเจลของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly Vinyl Alcohol: PVA) ที่ใช้พอลิ เอทิลีน ไกลคอล ไดกลีซิลอีเทอร์ (Poly Ethylene Glycol Diglycidyl Ether: EGDE) เป็นตัวเชื่อมสายพอลิเมอร์ จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมพบว่า การเตรียมชุดตรวจสามารถทำได้โดยการใช้ PVA ปริมาณ 1 กรัม ละลายลงในน้ำบริสุทธิ์สูง 10 มิลลิลิตร ด้วยความร้อนจนได้สารละลายใสและหนืด ผสมกับน้ำยาเกรสซึ่งเตรียมได้โดยการผสมซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) ปริมาณ 0.3 กรัม N-1-แนพทิลเอทิลีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl) Ethylenediamine Dihydrochloride: NED) ปริมาณ 45 มิลลิกรัม และกรดฟอสฟอริก (85% orthophosphoric acid) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรลงในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารผสมพอลิเมอร์ (Polymer mixture) ที่ประกอบด้วยสารละลาย PVA ปริมาตร 1 มิลลิลิตร น้ำยาเกรสปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร และ EGDE ปริมาตร 5 ไมโครลิตร และนำสารละลายผสมพอลิเมอร์ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ใส่ลงในจานหลุม และนำไปขึ้นรูปชุดตรวจโดยการแช่แข็งนาน 24 ชั่วโมง ชุดตรวจไนไตรท์ที่ได้มีลักษณะเป็นก้อนเจลทรงกลม ใส และไม่มีสี มีความยืดหยุ่น ไม่ขาดง่าย และเมื่อนำชุดตรวจมาทดสอบด้วยสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 นาที ได้เป็นผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพู

ในขณะที่ชุดตรวจไนเตรทพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์โดยใช้ผงสังกะสีซึ่งถูกกักเก็บไว้ภายในฟิล์มบางของแป้งมันสำปะหลัง ฟิล์มบางสามารถเตรียมได้โดยใช้สภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ เตรียมสารละลายแป้งมันสำปะหลังโดยการละลาย

แป้งมันสำปะหลัง 0.3 กรัม ลงในน้ำ 10 มิลลิลิตรด้วยความร้อน จนสารละลายที่ได้มีความใส และหนืด จากนั้นเติมผงสังกะสีปริมาณ 4 มิลลิกรัม ลงในสารละลายแป้งมันสำปะหลัง 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารผสมพอลิเมอร์ปริมาตร 50 ไมโครลิตร หยดลงบนฝาปิด (ของหลอดพลาสติกสำหรับใส่ตัวอย่างของเหลว) และนำไปอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ชุดตรวจไนเตรทที่ได้มีลักษณะเป็นฟิล์มบาง สีเทา หนาประมาณ 8.36 ไมโครเมตร เคลือบอยู่บนฝาปิดหลอด เมื่อนำฝาปิดหลอดที่มีฟิล์มบางของผงสังกะสีเคลือบอยู่บนฝาปิดหลอดพลาสติกที่บรรจุสารละลายมาตรฐานไนเตรทอยู่ในและเขย่า ไอออนไนเตรทในสารละลายจะถูกรีดิวซ์เป็นไอออนของไนไตรท์และสามารถทดสอบด้วยชุดตรวจไนไตรท์ต่อไป

ชุดตรวจไนเตรทและไนไตรท์ที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยระบบภาพดิจิทัลเพื่อนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ภาคสนามได้ โดยใช้แอปพลิเคชันบนโทรศัพท์เคลื่อนที่ เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสีพื้นฐาน 3 สี (แดง เขียว น้ำเงิน) ของผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างชุดตรวจและสารละลายมาตรฐานได้ จากการศึกษาสมรรถนะของระบบและพิสูจน์การใช้ได้ของวิธี พบว่า ค่าความเข้มข้นของแสงสีน้ำเงินมีความไวในการตรวจวัดไนไตรท์สูงสุด ( $20.6 \pm 1.2 \text{ a.u.}/(\text{mgL}^{-1})$ ) ในขณะที่ค่าความเข้มข้นแสงสีแดงให้ความไวของการตรวจวัดไนเตรทสูงสุดเท่ากับ  $3.8 \pm 0.1 \text{ a.u.}/(\text{mgL}^{-1})$  ร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ของการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทภายในหนึ่งวันเท่ากับ 0.29 ถึง 0.84% และ 0.37 ถึง 1.43% ตามลำดับ ในขณะที่การตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท จำนวน 3 วัน มีร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ตั้งแต่ 0.20 ถึง 0.69% และ 0.31 ถึง 1.48% ตามลำดับ ช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับการตรวจวัดไนไตรท์ตั้งแต่ 0.05 ถึง 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $r^2 > 0.99$ ) และการตรวจวัดไนเตรทตั้งแต่ 1 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ( $r^2 > 0.99$ ) ขีดจำกัดในการตรวจวัดไนไตรท์เท่ากับ  $0.05 \pm 0.07$  และ  $0.42 \pm 0.04$  มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับตรวจวัดไนเตรท ระบบที่พัฒนาขึ้นมีค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์สำหรับการวิเคราะห์หาไนไตรท์ (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) อยู่ในช่วง 0.75 ถึง 8.22% และค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ของไนเตรท (2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) อยู่ในช่วง 1.86 ถึง 7.87% เมื่อประยุกต์ใช้ระบบที่พัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างน้ำทะเลที่เก็บจากบริเวณท่าเทียบเรืออ่าวฉลอง จังหวัดภูเก็ต จำนวน 10 จุด พบว่า ตรวจพบไนไตรท์และไนเตรทจำนวน 1 จุด และเมื่อวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไนเตรทและไนไตรท์ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล พบว่า ไนไตรท์มีความเข้มข้น 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร และตรวจพบไนเตรทที่ความเข้มข้น 0.57 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับวิธีมาตรฐาน (เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี)

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- 1) ชุดตรวจไนไตรท์ที่พัฒนาขึ้นมีความไวต่อแสง จึงควรเก็บรักษาชุดตรวจไว้ให้พ้นแสง
- 2) การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างจริง ผู้วิเคราะห์จะต้องทำการทดสอบตัวอย่างด้วยชุดตรวจไนไตรท์เพื่อหาความเข้มข้นของไนไตรท์ในตัวอย่างก่อน แล้วจึงทดสอบตัวอย่างด้วยชุดตรวจไนเตรทอีกครั้ง เพื่อหาความเข้มข้นของไอออนไนไตรท์ที่เกิดจากการรีดิวซ์ของไนเตรท แล้วจึงนำไปลบกับความเข้มข้นของไนไตรท์ที่มีอยู่เดิม จึงจะเป็นความเข้มข้นของไนเตรทที่ถูกต้อง

## เอกสารอ้างอิง

- โครงการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา. (2542). การวิเคราะห์สภาพปัญหาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา. Danced และสำนักงานนโยบายและแผนสิ่งแวดล้อม, กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม. 105 หน้า
- พงศ์ศักดิ์ หนูพันธ์ และ รัฐชา ชัยชนะ. (2557). “ผลกระทบของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเกิดยูโทรฟิเคชันในแหล่งน้ำและการกำจัดไนโตรเจนและฟอสฟอรัส.” *Kasetsart Engineering Journal*, 27(80), 57-63
- อรอุษา เตียวตระกูล. (2560). “การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ.” *Science and Technology Silpakorn University*, 4(5), 104-116
- Aggarwal, P., Dollimore, D., and Heon, K. (1997). “Comparative Thermal Analysis Study of Two Biopolymers, Starch and Cellulose.” *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 50(1), 7-17.
- Ali, R.R., Rahman, W.A.W.A., Kasmani, R.M., Ibrahim, N., Mustapha, S.N.H., and Hasbullah, H. (2013). “Tapioca Starch Biocomposite for Disposable Packaging Ware.” *Chemical Engineering Transactions*, 32, 1711-1716.
- Al-Wehaid, A., and Townshend, A. (1986). “Spectrophotometric Flow-Injection Determination of Nitrate Based on Reduction with Titanium (III) Chloride.” *Analytica Chimica Acta*, 186(C), 289-294.
- Aziz, A.S., Ubaidulla, U., Hemalatha, P., Saravanakumar, A., Ravikumar, R., Peng, M.M., Choi, E.Y., and Jang, H.T. (2016). “Sulfanilamide and silver nanoparticles-loaded polyvinyl alcohol-chitosan composite electrospun nanofibers: Synthesis and evaluation on synergism in wound healing. ” *Industrial and Engineering Chemistry*, (39), 127-135.
- Bratton, C., and Marshall, Bratton, K.E. 1939. “Sulfanilamide Determination.” *The Journal of biological chemistry*, 128(5), 537-550.

- Camargo, A.J., Alonso, A., and Salamanca, A. (2005). "Nitrate Toxicity to Aquatic Animals: A Review with New Data for Freshwater Invertebrates." *Chemosphere*, 58(9), 1255-1267.
- Cantrell, K., Erenas, M. M., De Orbe-Payá, I., and Capitán-Vallvey, L. F. 2010. "Use of the Hue Parameter of the Hue, Saturation, Value Color Space as a Quantitative Analytical Parameter for Bitonal Optical Sensors." *Analytical Chemistry*, 82(2) 531-42.
- Choodum, A., and Niamh, N. D. (2011). "Rapid and Semi-Quantitative Presumptive Tests for Opiate Drugs." *Talanta*, 86(1), 284-92.
- Choodum, A., Parabun, K., Klawach, N., Daeid, N.N., Kanatharana, P., Klawach, N., Daeid, N., Kanatharana, P., and Wongniramaikul, W. (2014). "Real Time Quantitative Colourimetric Test for Methamphetamine Detection Using Digital and Mobile Phone Technology." *Forensic Science International*, 235(pp), 8-13.
- Choodum, A., Boonsamran, P., NicDaeid, N., and Wongniramaikul, W. (2015). "On-Site Semi-Quantitative Analysis for Ammonium Nitrate Detection Using Digital Image Colourimetry." *Science and Justice*, 55(6), 437-445.
- Choodum, A., Kanatharana, P., Wongniramaikul, W., and Nic Daeid, N. (2013). "Using the I-Phone as a Device for a Rapid Quantitative Analysis of Trinitrotoluene in Soil." *Talanta*, 115, 143-49.
- Choodum, A., Malathong, K., Limsakul, W., and Wongniramaikul, W. (2016). "A Cost Effective Hydrogel Test Kit for Pre and Post Blast Trinitrotoluene." *Forensic Science International*, 266, 202-208.
- DeMerlis, C. C., and Schoneker, D. R. (2003). "Review of the Oral Toxicity of Polyvinyl Alcohol (PVA)." *Food and Chemical Toxicology*, 41(3), 319-326.

- Ellis, P. S., Shabani, A. H., Gentle, B.S., and McKelvie, I. D. (2011). "Field Measurement of Nitrate in Marine and Estuarine Waters with a Flow Analysis System Utilizing On-Line Zinc Reduction." *Talanta*, 84(1), 98–103.
- Filik, H., Giray, D., Ceylan, B., and Apak, R. (2011). "A Novel Fiber Optic Spectrophotometric Determination of Nitrite Using Safranin O and Cloud Point Extraction." *Talanta*, 85(4), 1818-1824.
- Fukushi, K., Miyado, T., Ishio, N., Nishio, H., Saito, K., Takeda, S., and Wakida, S. (2002). "Determination of Nitrite and Nitrate in a Proposed Certified Reference Material for Nutrients in Seawater by Capillary Zone Electrophoresis with Artificial Seawater as the Background Electrolyte Using Transient Isotachopheresis." *Electrophoresis*, 23(12), 1928-1934.
- Fukushi, K., Nakayama, Y., and Tsujimoto, J. (2003). "Highly Sensitive Capillary Zone Electrophoresis with Artificial Seawater as the Background Electrolyte and Transient Isotachopheresis as the On-Line Concentration Procedure for Simultaneous Determination of Nitrite and Nitrate in Seawater." *Journal of Chromatography A*, 1005(1–2), 197–205.
- Goddijn, L. M., and White, M. (2006). "Using a Digital Camera for Water Quality Measurements in Galway Bay." *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 66(3–4): 429-436.
- Gomes, M. E., Godinho, J. S., Tchalamov, D., Cunha, A. M., and Reis, R. L. (2002). "Alternative Tissue Engineering Scaffolds Based on Starch: Processing Methodologies, Morphology, Degradation and Mechanical Properties." *Materials Science and Engineering C*, 20(1–2), 19–26.
- Ignatova, M., Starbova, K., Markova, N., Manolova, N., and Rashkov, I. (2006). "Electrospun Nano-Fibre Mats with Antibacterial Properties from Quaternised Chitosan and Poly (Vinyl Alcohol)." *Carbohydrate Research*, 341(12), 2098–2107.

- Kizil, R., Irudayaraj, J., and Seetharaman, K. (2002). "Characterization of Irradiated Starches by Using FT-Raman and FTIR Spectroscopy." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 3912-3918.
- Kamphake, L.J., Hannah, S.A., and Cohen, J.M. (1967). "Automated Analysis for Nitrate by Hydrazine Reduction." *Water Research*, 1(3), 205-216.
- Kodamatani, H., Yamazaki, S., Saito, K., Tomiyasu, T., Komatsu, Y. (2009). "Selective Determination Method for Measurement of Nitrite and Nitrate in Water Samples Using High-Performance Liquid Chromatography with Post-Column Photochemical Reaction and Chemiluminescence Detection." *Journal of Chromatography A*, 1216(15), 3163-3167.
- Kompany-Zareh, M., Mansourian, M., and Ravaei, F. (2002). "Simple Method for Colorimetric Spot-Test Quantitative Analysis of Fe(III) Using a Computer Controlled Hand-Scanner." *Analytica Chimica Acta*, 471(1), 97-104.
- Lahtinen, M., JKudva, J., Hegde, P., Bhat, K., Kolehmainen, E., and Naral, D. (2014). "Synthesis, Characterization, Thermal and Antimicrobial Studies of N-Substituted Sulfanilamide Derivatives." *Journal of Molecular Structure*, 1060(1), 280-290.
- Li, H., Meininger, C.J., and Wu, G. (2000). "Rapid Determination of Nitrite by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection." *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 746(2), 199-207.
- Liu, Y., Cao, X., Hua, R., Wang, Y., Liu, Y., Pang, C., and Wang, Y. (2010). "Selective Adsorption of Uranyl Ion on Ion-Imprinted Chitosan/PVA Cross-Linked Hydrogel." *Hydrometallurgy*, 104(2), 150-155.

- López, O.V., Castillo, L.A., García, M.A., Villar, M.A (2015). "Food Packaging Bags Based on Thermoplastic Corn Starch Reinforced with Talc Nanoparticles." *Food Hydrocolloids*, 43, 18–24.
- Mahkam, M. (2010). "Starch-Based Polymeric Carriers for Oral-Insulin Delivery." *Journal of Biomedical Materials Research-Part A*, 92(4), 1392-1397.
- Mansur, H.S., Orefice, R.L., and Mansur, A.A.P. (2004). "Characterization of Poly (Vinyl Alcohol)/Poly (Ethylene Glycol) Hydrogels and PVA-Derived Hybrids by Small-Angle X-Ray Scattering and FTIR Spectroscopy." *Polymer*, 45(21), 7193-7202.
- Manea, F., Remes, A., Radovan, C., Pode, R., Picken, S., Schoonman, J. (2010). "Talanta Simultaneous Electrochemical Determination of Nitrate and Nitrite in Aqueous Solution Using Ag-Doped Zeolite-Expanded Graphite-Epoxy Electrode." *Talanta*, 83(1), 66-71.
- Martínez-Espinosa, R.M., Cole, J.A., Richardson, D.J., and Watmough, N.J (2011). "Enzymology and Ecology of the Nitrogen Cycle." *Biochemical Society Transactions*, 39(1), 175-178.
- McMullen, S.E., Casanova, J.A., Gross, L.K., and Schenck, F.J. (2005). "Ion Chromatographic Determination of Nitrate and Nitrite in Vegetable and Fruit Baby Foods." *Journal of AOAC International*, 88(6), 1793-1796.
- Merino, L. (2009). "Development and Validation of a Method for Determination of Residual Nitrite/Nitrate in Foodstuffs and Water after Zinc Reduction." *Food Analytical Methods*, 2(3), 212-220.
- Mesquita, R.B.R., Ferreira, M.T.S.O.B., Segundo, R.L.A., Teixeira, C.F.C.P., Bordalo, A.A., Rangel, A.O.S.S 2009. "Development of a Sequential Injection System for the Determination of Nitrite and Nitrate in Waters with Different Salinity: Application to Estuaries in NW Portugal." *Analytical Methods*, 1(3), 195-202.



- Miranda, K.M., Espey, M.G., and Wink, D.A. (2001). "A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite." *Nitric Oxide-Biology and Chemistry*, 5(1), 62-71.
- Moorcroft, M., Davis, J., Compton, T.R. (2001). "Detection and Determination of Nitrate and Nitrite: A Review." *Talanta*, 54(5), 785-803.
- Patel, A.R., and Vavia, P.R. (2010). "Evaluation of Synthesized CrossLinked Polyvinyl Alcohol as Potential Disintegrant." *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 114-127.
- Reddy, D., Lancaster, J. R., and Cornforth, D. P. (1983). "Nitrite Inhibition of Clostridium Botulinum: Electron Spin Resonance Detection of Iron-Nitric Oxide Complexes." *Science*, 221(4612), 769-770.
- Reis, E.F., Campos, F., Lage, A.P., Leite, R.C., Heneine, L.G., Vasconcelos, W.L., Lobato, Z.I.P., and Mansur, H.S. (2006). "Synthesis and Characterization of Poly (Vinyl Alcohol) Hydrogels and Hybrids for RMPB70 Protein Adsorption." *Materials Research*, 9(2), 185-191.
- Richardson, D., and Watmough, N. (1999). "Inorganic Nitrogen Metabolism in Bacteria." *Current Opinion in Chemical Biology*, 3(2), 207-219.
- Santamaria, P. (2006). "Nitrate in Vegetables: Toxicity, Content, Intake and EC Regulation." *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 10-17.
- Sawicki, C.R., and Scaringelli, F.P. (1971). "Colorimetric Determination of Nitrate after Hydrazine Reduction to Nitrite." *Microchemical Journal*, 16(4), 657-672.
- Tang, C., Saquing, C.D., Harding, J.R., and Khan, S.A. 2010. "In Situ Cross-Linking of Electrospun Poly(Vinyl Alcohol) Nanofibers." *Macromolecules*, 43(2), 630-637.

- Tsikas, D. (2007). "Analysis of Nitrite and Nitrate in Biological Fluids by Assays Based on the Griess Reaction: Appraisal of the Griess Reaction in the L-Arginine/Nitric Oxide Area of Research." *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 851(1-2), 51-70.
- Vanithakumari, C.S., Nanda, K.K., and Krupanidhi, B.S. (2009). "Synthesis of One-Dimensional ZnO Nanostructures from Zn Powder/Granule." *J Nanosci Nanotechnol*, 9(3), 2061-2065.
- Wongniramaikul, W., Limsakul, W., and Choodum, A. (2018). "A Biodegradable Colorimetric Film for Rapid Low-Cost Field Determination of Formaldehyde Contamination by Digital Image Colorimetry." *Food Chemistry*, 249, 154-161.
- Wu, L., and Brazel, C.S. (2008). "Modifying the Release of Proxiphylline from PVA Hydrogels Using Surface Crosslinking." *International Journal of Pharmaceutics* 349(1-2), 144-151.
- Zeeman, S.C., Kossmann, J., and Smith, A.M. (2010). "Starch: Its Metabolism, Evolution, and Biotechnological Modification in Plants." *Annual Review of Plant Biology*, 61(1), 209-234.
- Zhu, N., Xu, Q., Li, S., and Gao, H. (2009). "Electrochemical Determination of Nitrite Based on Poly(Amidoamine) Dendrimer-Modified Carbon Nanotubes for Nitrite Oxidation." *Electrochemistry Communications*, 11(12), 2308-2311.
- Zuo, Y., Wang, C., and Van, T. (2006). "Simultaneous Determination of Nitrite and Nitrate in Dew, Rain, Snow and Lake Water Samples by Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatography." *Talanta*, 70(2), 281-285.

ภาคผนวก

### ภาคผนวก ก

ความเข้มแสงของสีพื้นฐาน 3 สี (RGB Intensity) จากการศึกษาสภาพที่เหมาะสมของชุดตรวจไนเตรทและไนไตรท์

ตารางภาคผนวก ก 1 ค่าความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาปริมาณซัลฟาไมด์

ปริมาณซัลฟาไมด์ (กรัม)	R	G	B
0.1	139.3	98.7	133.3
0.2	139.0	75.3	133.0
0.3	138.0	68.0	127.3
0.4	142.3	73.0	131.7
0.5	144.7	71.3	132.3

ตารางภาคผนวก ก 2 ค่าความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาปริมาณ N-(1-แนพทิลเอทธีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl) Ethylenediamine Dihydrochloride: NED)

ปริมาณ NED (กรัม)	R	G	B
25	139.0	88.0	173.0
30	135.0	77.7	164.3
35	144.3	60.3	171.3
40	147.3	48.7	172.3
45	154.3	36.0	171.7
50	148.3	37.3	163.0

ตารางภาคผนวก ก 3 ค่าความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาปริมาณกรดฟอสฟอริก

ปริมาณกรดฟอสฟอริก (มิลลิลิตร)	R	G	B
1.00	144.3	52.3	164.3
1.25	145.3	44.3	154.7
1.50	146.3	23.0	144.7
1.75	156.0	25.3	144.0
2.00	148.0	25.7	138.0

ตารางภาคผนวก ก 4 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาปริมาณน้ำยาเกรส

ปริมาณน้ำยาเกรส (มิลลิลิตร)	R	G	B
0.25	135.3	91.0	130.7
0.50	140.3	51.7	133.0
0.75	132.7	12.0	115.0
1.00	132.0	2.3	103.0

ตารางภาคผนวก ก 5 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาปริมาณปริมาตรพอลิ เอทิลีน ไกลคอล ไดกลีซิดิล อีเทอร์ (Poly Ethylene Glycol Diglycidyl Ether: EGDE)

ปริมาณ EGDE (ไมโครลิตร)	R	G	B
0.0	141.0	2.3	148.7
5.0	130.0	2.3	110.0
10.0	130.0	7.3	109.3
15.0	136.0	9.0	116.0
20.0	136.7	13.3	117.7
25.0	135.3	15.3	115.0
30.0	132.3	18.0	113.3
35.0	132.3	22.7	112.0

ตารางภาคผนวก ก 6 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาปริมาณสารผสมพอลิเมอร์สำหรับชั้นรูปฟิล์มบางของผงสังกะสี

ปริมาณสารผสมพอลิเมอร์ (ไมโครลิตร)	R	G	B
20.0	146.7	138.3	145.0
30.0	145.0	134.0	148.3
40.0	144.3	137.0	150.3
50.0	139.3	128.3	143.0
75.0	142.0	132.7	146.0
100.0	142.3	133.3	145.3

ตารางภาคผนวก ก 7 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาปริมาณแป้งมันสำปะหลัง

ปริมาณแป้งมันสำปะหลัง (กรัม)	R	G	B
0.2	143.3	127.3	141.3
0.3	139.7	126.0	139.3
0.4	142.0	136.0	140.7
0.5	141.0	137.0	140.0
0.6	138.0	139.0	137.0

ตารางภาคผนวก ก 8 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษา pH ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์

pH ของสารละลายมาตรฐาน ไนไตรท์	R	G	B
1	182.7	78.0	196.3
2	181.3	43.0	196.3
3	182.7	41.7	194.0
4	178.0	25.3	185.3
5	180.3	23.0	190.0
6	175.7	16.7	187.0
8	177.0	17.0	188.0
10	179.3	26.0	188.7
12	177.0	24.0	185.3

ตารางภาคผนวก ก 9 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษา pH ของสารละลายมาตรฐานไนเตรท

pH ของสารละลายมาตรฐาน ไนเตรท	R	G	B
1	141.7	138.3	152.3
2	150.0	128.3	161.0
3	159.7	122.3	171.7
4	144.3	125.3	162.3
5	151.7	125.0	168.7
6	158.3	122.3	169.7
8	158.0	124.0	162.3
10	145.3	129.7	160.3
12	149.0	129.0	160.3

ตารางภาคผนวก ก 10 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาระยะเวลาที่สารละลายมาตรฐานไนเตรททำปฏิกิริยากับชุดตรวจไนเตรท

เวลา (นาที)	R	G	B
1.00	177.0	19.3	175.3
2.00	175.0	11.3	175.3
3.00	171.3	3.3	168.3
4.00	172.7	5.0	163.3
5.00	169.7	4.7	161.7
7.30	166.0	0.7	153.3
10.00	163.0	0.3	153.7
12.30	166.3	0.3	156.7
15.00	161.7	0.0	149.0
17.30	166.7	0.0	162.7
20.00	167.3	0.0	159.0



ตารางภาคผนวก ก 11 ความเข้มแสงของสี RGB ของการศึกษาระยะเวลาที่สารละลายมาตรฐาน  
ไนเตรทกับฟิล์มบางเพื่อรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไตรท์

เวลา (นาที)	R	G	B
1.00	135.7	131.3	145.7
2.00	149.7	121.0	168.0
3.00	157.3	119.3	168.7
4.00	161.3	117.7	176.7
5.00	161.0	119.3	170.0
7.30	160.0	118.0	169.0
10.00	155.7	118.7	166.7
12.30	164.0	117.0	176.3
15.00	161.3	118.7	171.3
17.30	156.7	120.3	166.7
20.00	157.7	119.0	166.7

ภาคผนวก ข

ความเข้มแสงของสีพื้นฐาน 3 สี (RGB Intensity) จากการวิเคราะห์หาไนเตรทและไนไตรท์เชิงปริมาณด้วยเทคนิควิเคราะห์ภาพดิจิทัล

ตารางภาคผนวก ข 1 ค่าความเข้มแสงของสี RGB จากการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไนเตรทด้วยเทคนิควิเคราะห์ภาพดิจิทัล

ความเข้มข้นของไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	R	G	B
0.05	134.0	141.0	139.0
0.25	137.0	136.7	142.0
0.50	140.0	131.7	149.0
1.00	145.0	119.3	162.0
2.50	161.0	98.3	189.0
5.00	189.0	46.0	183.0
7.50	181.0	38.3	179.0
10.00	163.0	4.0	156.0
25.00	153.0	0.0	142.0
50.00	77.3	5.3	40.0
75.00	43.3	12.0	18.0
100.00	32.0	12.0	16.3

ตารางภาคผนวก ข 2 ค่าความเข้มแสงของสี RGB จากการวิเคราะห์เชิงปริมาณของไนเตรทด้วยเทคนิควิเคราะห์ภาพดิจิทัล

ความเข้มข้นของไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	R	G	B
0.10	136.3	169.0	136.0
0.25	135.7	135.0	134.3
0.50	135.0	136.7	132.0
0.75	134.7	134.0	132.0
1.00	136.7	134.0	134.7
5.00	154.0	124.0	148.0
7.50	163.0	119.0	157.3
10.00	170.7	108.7	166.0
25.00	189.0	69.0	182.3
50.00	182.0	13.7	170.3
75.00	174.0	3.7	162.0
100.00	166.7	0.0	156.7

ตารางภาคผนวก ข 3 ค่าการดูดกลืนแสง RGB จากการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท

ความเข้มข้นของไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	R	G	B
0.05	0.3	0.3	0.3
0.25	0.3	0.3	0.3
0.50	0.3	0.3	0.2
1.00	0.2	0.4	0.2
2.50	0.1	0.4	0.1
5.00	0.1	0.7	0.1
7.50	0.2	0.8	0.1
10.00	0.2	0.8	0.2

ตารางภาคผนวก ข 4 ค่าการดูดกลืนแสง RGB ที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท

ความเข้มข้นของไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	R	G	B
0.10	0.3	0.3	0.3
0.25	0.3	0.3	0.3
0.50	0.3	0.3	0.3
0.75	0.3	0.3	0.3
1.00	0.3	0.3	0.3
5.00	0.2	0.3	0.2
7.50	0.2	0.3	0.2
10.00	0.2	0.4	0.2
25.00	0.1	0.6	0.2
50.00	0.2	1.3	0.2
75.00	0.2	1.9	0.2

ตารางภาคผนวก ข 5 ค่าการดูดกลืนแสง RGB จากผลรวมกวนแสงภายนอกของระบบภาพดิจิทัล

วิเคราะห์	พารามิเตอร์	นอกห้องปฏิบัติการ			ในห้องปฏิบัติการ		
		R	G	B	R	G	B
ไนไตรท์	เปิดไฟ (กลางวัน)	182.0	18.0	174.3	183.0	17.0	183.0
	ปิดไฟ (กลางวัน)	182.3	18.0	173.0	182.0	17.0	173.0
	เปิดไฟ (กลางคืน)	182.0	17.0	173.0	185.0	17.0	183.0
	ปิดไฟ (กลางคืน)	183.0	18.0	173.3	182.0	17.0	173.0
ไนเตรท	เปิดไฟ (กลางวัน)	166.0	106.0	160.0	167.0	106.0	159.0
	ปิดไฟ (กลางวัน)	167.0	106.0	162.0	166.0	106.0	162.0
	เปิดไฟ (กลางคืน)	167.0	106.7	160.0	167.0	107.0	160.0
	ปิดไฟ (กลางคืน)	166.0	106.0	162.0	167.0	106.0	162.0

ตารางภาคผนวก ข 6 ค่าความเข้มแสงของสี RGB จากการศึกษาความเสถียรของชุดตรวจไนโตรท์

ระยะเวลา	G	R	B
1 วัน	118.7	157.3	162.3
2 วัน	119.0	157.3	161.7
3 วัน	120.3	161.3	161.3
4 วัน	117.7	159.3	165.7
5 วัน	119.0	156.0	161.7
6 วัน	119.3	157.0	162.3
1 อาทิตย์	119.0	161.3	161.0
2 อาทิตย์	120.7	157.7	160.7
3 อาทิตย์	121.7	155.7	156.7
1 เดือน	128.0	147.0	150.3
2 เดือน	129.0	148.7	154.0
3 เดือน	129.3	147.0	150.3
4 เดือน	130.7	143.7	153.7
5 เดือน	133.7	141.7	153.0
6 เดือน	136.67	140.0	154.0

ตารางภาคผนวก ข 7 ค่าความเข้มแสงของสี RGB จากการศึกษาความเสถียรของชุดตรวจไนเตรท

ระยะเวลา	R	G	B
1 วัน	166.0	116.3	170.3
2 วัน	165.7	116.7	166.0
3 วัน	167.0	115.0	170.7
4 วัน	165.7	115.0	169.0
5 วัน	162.7	117.0	169.3
6 วัน	162.3	117.0	167.3
1 อาทิตย์	163.3	116.7	169.0
2 อาทิตย์	163.3	116.7	161.0
3 อาทิตย์	162.3	117.0	161.3
1 เดือน	162.3	118.0	161.3
2 เดือน	163.3	117.7	160.0
3 เดือน	157.3	119.0	159.3
4 เดือน	156.3	119.7	159.0
5 เดือน	157.3	119.7	159.3
6 เดือน	155.3	121.0	160.7

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล                      จันทร์ทิพย์ เทียงธรรม

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5930221003

วุฒิการศึกษา

วุฒิ

ชื่อสถาบัน

ปีที่สำเร็จการศึกษา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2557

(เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม)

### การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Tiengtum, J., Wongniramaikul, W., Choodum, A. (2018). "Digital image colorimetry for nitrite detection" *The 2<sup>nd</sup> International Conference on Environment, Livelihood, and Services*, BO0011 (1-6), The CW Tower, Bangkok, Thailand: 19-22 November 2018.