



การพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง

ชื่อ นายพิสิฐ วีระพันธ์

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับ ปฏิบัติการ

ตำแหน่งเลขที่ 2175

กลุ่มงานวิชาการทางเคมี-กายภาพ

ส่วนราชการ กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

กรมอนามัย

เพื่อแต่งตั้งให้ดำรง

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับชำนาญการ

ตำแหน่งเลขที่ 2175

กลุ่มงานวิชาการทางเคมี-กายภาพ

ส่วนราชการ กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

กรมอนามัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง ที่มีขั้นตอนง่าย ไม่ซับซ้อน รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ในน้ำทิ้ง ซึ่งในชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนจะอาศัยปฏิกิริยาของซาลิไซเลต โดยที่แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำจะทำปฏิกิริยากับไฮโปคลอไรต์ไอออน ในสภาวะที่เป็นเบสเกิดเป็นโมโนคลอรามิน โมโนคลอรามินที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับโซเดียมซาลิไซเลต เปลี่ยนฟอर्मรูปเป็น 5-อะมิโนซาลิไซเลต 5-อะมิโนซาลิไซเลตที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยไนโตรบลัสไซด์ ทำให้สีของสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีเขียว ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร (nm) ความเข้มของสีขึ้นกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในสารละลาย จากการศึกษ พบว่าชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนสามารถวิเคราะห์ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ 0 จนถึง 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) มีความเสถียรเพียงพอต่อการทดสอบในระยะเวลา 12 เดือน มีความเป็นเนื้อเดียวกันอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ มีความไวที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) มีความจำเพาะกับแอมโมเนียเมื่อไม่มีไอออนของโครเมียมและปรอท และมีความถูกต้อง (%Recovery) อยู่ในช่วง 80-110 % และความเที่ยง (HorRat) น้อยกว่า 2 เมื่อนำ ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง พบว่าชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ให้ความถูกต้องเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานถึง 98.02 % อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ แสดงว่าชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน นี้สามารถนำไปทดสอบตัวอย่างน้ำทิ้งได้ เป็นประโยชน์โดยใช้เฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง ก่อนปล่อยน้ำทิ้งสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อให้เกิดการแก้ปัญหาและการปรับปรุงคุณภาพน้ำในระบบได้อย่างทันท่วงที

คำสำคัญ : ชุดทดสอบ, แอมโมเนีย-ไนโตรเจน, ปฏิกิริยาการเกิดสี, น้ำทิ้ง

กิตติกรรมประกาศ

ความสำเร็จของงานวิจัยเรื่อง การพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง เล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เพราะได้รับความกรุณาจากบุคลากรหลายท่านข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.ทนพญ.ยุพิน โฉ่แปง ผู้อำนวยการศูนย์ห้องปฏิบัติการกรมอนามัย

นางสาววาสนา คงสุข นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ

นางวันนี มากันต์ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ

ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัย ตลอดจนตรวจทานแก้ไขรายงานวิจัย จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้ให้สถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับทำวิจัย

ขอขอบคุณบุคลากรกรมอนามัย ผู้มีความรู้ความเชี่ยวชาญที่ให้ความรู้ในเทคนิคเฉพาะด้านและแง่คิดใหม่ ๆ ในงานศึกษาวิจัยของข้าพเจ้าเป็นผลให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ท้ายสุด ขอขอบคุณ ผู้มีส่วนเกี่ยวข้องที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี ทั้งที่ได้กล่าวนาม และไม่ได้กล่าวนาม มา ณ ที่นี้เป็นอย่างสูง

ผู้วิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทที่ 1 บทนำ	1
หลักการและเหตุผล	1
วัตถุประสงค์	2
เป้าหมายและตัวชี้วัดความสำเร็จ	2
พื้นที่ดำเนินการ	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
คำศัพท์และนิยาม	2
กรอบแนวคิดงานวิจัย	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	5
การจัดการน้ำทิ้งและปริมาณไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (TKN)	5
ความเป็นพิษของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ	8
การวิเคราะห์หาแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia nitrogen : $\text{NH}_3\text{-N}$)	9
ชุดทดสอบอย่างง่ายเพื่อการเฝ้าระวัง	10
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	13
ขั้นตอนเบื้องต้นในการดำเนินงานวิจัย	13
เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ ในห้องปฏิบัติการ	13
สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์และจัดเตรียมชุดทดสอบ	13
การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	14
การทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	15
บทที่ 4 ผลการศึกษา	21
การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	21
ผลการทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	22
ผลการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้ง	27
การจัดเตรียมชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	28

เรื่อง	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	31
สรุปผลการวิจัย	31
อภิปรายผลการวิจัย	31
ข้อเสนอแนะ	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก 1 เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำ	34
ภาคผนวก 2 ผลการวิเคราะห์	36
ภาคผนวก 3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	53

สารบัญตาราง

เรื่อง	หน้า
ตารางที่ 1 การเตรียมสารละลายแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ใช้งาน (working solution)	14
ตารางที่ 2 การเตรียมสารละลายแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ใช้งาน (working solution) สำหรับการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)	16
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาความไว (Sensitivity)	22
ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision)	26
ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity) ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	37
ตารางที่ 6 แสดงผลวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง เริ่มต้น (A) และค่าการดูดกลืนแสง เมื่อผ่านไประยะเวลา 12 เดือน (B)	38
ตารางที่ 7 แสดงผลวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์ ความเป็นเส้นตรง (linearity)	39
ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อ A คือความเข้มข้นที่ได้จากวิธีมาตรฐาน B คือความเข้มข้นที่ได้จากชุดทดสอบ	40
ตารางที่ 9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของโลหะหนัก ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อไม่มีแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	41
ตารางที่ 10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของโลหะหนัก ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อมีแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	42
ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้ง	43
ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง จำนวน 200 ตัวอย่าง	44

สารบัญภาพ

เรื่อง	หน้า
ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง	4
ภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ $\%NH_3$ กับ pH	8
ภาพที่ 3 แสดงการเกิดสีของสารละลายเมื่อมีแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	21
ภาพที่ 4 แผ่นเทียบสีมาตรฐานแสดงปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	21
ภาพที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบแอมโมเนียเริ่มต้น (A) และ ระยะเวลา 12 เดือน (B)	23
ภาพที่ 6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอมโมเนียของการวิเคราะห์ ความเป็นเส้นตรง	23
ภาพที่ 7 ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ (A) และวิธีที่ได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (B)	24
ภาพที่ 8 การทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยใช้ไอออนของโลหะหนัก เป็นตัวรบกวนการวิเคราะห์	25
ภาพที่ 9 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ด้วยวิธีมาตรฐานและชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	27
ภาพที่ 10 ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนสำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง	30
ภาพที่ 11 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	54
ภาพที่ 12 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	55
ภาพที่ 13 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	56
ภาพที่ 14 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	57
ภาพที่ 15 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	58
ภาพที่ 16 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0-1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	59

เรื่อง	หน้า
ภาพที่ 17 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0-70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	59
ภาพที่ 18 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	60
ภาพที่ 19 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	61
ภาพที่ 20 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	62
ภาพที่ 21 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ที่ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)	63
ภาพที่ 22 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ Regression ของการทดสอบเปรียบเทียบ วิธีมาตรฐานและวิธีชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน	66

บทที่ 1

บทนำ

1.1. หลักการและเหตุผล

โรงพยาบาลเป็นสถานที่ให้บริการรักษาผู้ป่วยด้วยโรคติดต่อและไม่ติดต่อกิจกรรมที่ให้บริการก่อให้เกิดผลเสีย เช่น มูลฝอยติดเชื้อ มูลฝอยอันตราย น้ำเสีย ซึ่งต้องได้รับการจัดการที่ถูกต้องและเหมาะสม เพื่อให้มั่นใจได้ว่าของเสียจากโรงพยาบาลไม่ได้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของประชาชน สำหรับน้ำเสียที่เกิดจากกิจกรรมการให้บริการของโรงพยาบาลมีปริมาณเฉลี่ย 800 ลิตร ต่อเตียงต่อวัน ประเทศไทยมีสถานพยาบาลทั้งภาครัฐและเอกชนจำนวน 27,804 แห่งมีจำนวนเตียงทั้งหมด 140,961 เตียง ประกอบด้วยโรงพยาบาลศูนย์ โรงพยาบาลทั่วไป โรงพยาบาลชุมชน โรงพยาบาลนอกสังกัดกระทรวงสาธารณสุข โรงพยาบาลเอกชน และคลินิก เป็นต้น น้ำเสียที่เกิดจากการให้บริการของโรงพยาบาลอาจก่อให้เกิดผลกระทบในด้านต่างๆ หากไม่มีการควบคุมดูแลและบำบัดที่ถูกต้อง

โดยเฉพาะแอมโมเนีย-ไนโตรเจน เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ เกิดจากการปนเปื้อนในน้ำทิ้งที่ไม่ได้รับการบำบัดอย่างดีพอ ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในแหล่งน้ำไม่ควรเกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (Liao and Mayo, 1972) ในขณะที่แหล่งน้ำมีปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนสูง จะทำให้เหืองปลาถูกทำลาย ความสามารถในการรับออกซิเจนของปลาลดลงและทำให้ปลาตายได้ ซึ่งในการตรวจวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนตามวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการต้องใช้เวลา อาจไม่ทันการ จึงต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของน้ำเบื้องต้นเป็นการเฝ้าระวังก่อนปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ

จากการรวบรวมผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย/น้ำทิ้ง ของโรงพยาบาลสังกัดกระทรวงสาธารณสุข ที่ส่งตัวอย่างน้ำตรวจวิเคราะห์และทดสอบที่กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัยตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำเสีย/น้ำทิ้ง ตาม ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุม การระบายน้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาด ลงวันที่ 7 พฤศจิกายน 2548 ตั้งแต่ปีงบประมาณ 2559-2562 จำนวนทั้งสิ้น 4,553 ตัวอย่าง 1,615 โรงพยาบาล พบว่าคุณภาพน้ำทิ้งโรงพยาบาลผ่านเกณฑ์เฉลี่ยร้อยละ 48.84 ไม่ผ่านเกณฑ์เฉลี่ยร้อยละ 51.16 ซึ่งแนวโน้มคุณภาพน้ำทิ้งโรงพยาบาลมีแนวโน้มไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานสูงขึ้น รายการทดสอบที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานได้แก่ แบคทีเรีย (Bacteria),ของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด (TDS), ของแข็งแขวนลอย (SS), ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD), ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (BOD)และไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (TKN) และจากการดำเนินงานการตรวจวิเคราะห์และทดสอบทางห้องปฏิบัติการพบความสัมพันธ์กันของรายการทดสอบ ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) เป็นค่าความต้องการออกซิเจนทั้งหมดเพื่อออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในน้ำให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (TKN) หมายถึงปริมาณรวมทั้งหมดของไนโตรเจนอินทรีย์และแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ที่อยู่ในโปรตีนของพืชและสัตว์หรือที่เกิดจากกระบวนการของสิ่งมีชีวิต เช่น เกิดจากการขับถ่ายของเสีย เช่น ปัสสาวะ โดยปกติแล้วน้ำทิ้งที่มีค่าปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) สูง ทำให้ไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (TKN) มีค่าสูงเนื่องจากสารอินทรีย์ไนโตรเจนที่

สามารถออกซิไดซ์ในสารเคมีที่วิเคราะห์ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) ได้ แต่บางตัวอย่างน้ำทิ้งไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) ต่ำ แต่ปริมาณค่าไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (TKN) กลับมีค่าสูงเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดและสูงกว่าค่าปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) ซึ่งอาจมีความเป็นไปได้มาจากปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้ง (แอมโมเนีย-ไนโตรเจนไม่มีผลทำให้ค่าปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) สูง เพราะไม่ใช่สารอินทรีย์ที่สามารถออกซิไดซ์ทางเคมีด้วยสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์หาค่าปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (COD) ได้) ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์ผู้ทำการตรวจวิเคราะห์ดำเนินการกลั่นตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์แอมโมเนียเพิ่มเติม เพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์ให้มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ

กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ในฐานะห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์และทดสอบทางวิทยาศาสตร์ ที่ทำการศึกษา วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวิเคราะห์และทดสอบที่ทันสมัยและทันต่อเหตุการณ์ทั้งทางห้องปฏิบัติการมาตรฐานในเชิงรุกและเชิงรับ และทางภาคสนามเชิงมวลชนในการสร้างเสริมประชาชนให้มีส่วนร่วมในการตรวจสอบและเฝ้าระวังอนามัยสิ่งแวดล้อมและสุขภาพ จึงดำเนินการศึกษาและพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง

1.2. วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง ทางภาคสนามอย่างง่าย ให้ใช้วัดค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ณ จุดเก็บตัวอย่างในเวลานั้น

1.3. เป้าหมายและตัวชี้วัดความสำเร็จ

ได้ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง ที่สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ง่าย และรวดเร็ว โดยมีความถูกต้องและแม่นยำได้ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 85

1.4. พื้นที่ดำเนินการ

ผู้วิจัยได้ดำเนินการวิจัยในห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุข กรมอนามัย ในการพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง และทดสอบการใช้ได้ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนกับตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ

1.5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง อย่างง่าย ที่มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน รวดเร็ว เที่ยงตรงและแม่นยำโดยที่ประชาชนและเจ้าหน้าที่สามารถนำชุดทดสอบคุณภาพน้ำทิ้งอย่างง่ายนี้ ไปใช้ติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำทิ้งได้

1.6. คำศัพท์และนิยาม

ชุดทดสอบ หมายถึง ชุดทดสอบที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง ที่ใช้เวลาไม่นานและสามารถทำได้ง่าย เพื่อให้ทราบผลอย่างรวดเร็วในเบื้องต้น ก่อนจะนำไปทดสอบอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือและขั้นตอนที่มีแม่นยำสูงในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ผลถูกต้องมากขึ้น โดยทั่วไปชุดทดสอบอย่างง่ายจะถูกออกแบบมาเพื่อให้ใช้งานง่าย เห็นผลลัพธ์ในเวลาไม่นาน ไม่จำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการทดสอบ

น้ำเสีย หมายถึง น้ำที่มีสารใด ๆ หรือสิ่งปฏิกูลที่ไม่พึงปรารถนาปนอยู่ การปนเปื้อนของสิ่งสกปรกเหล่านี้จะทำให้ คุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนแปลงไปจนอยู่ในสภาพที่ไม่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ สิ่งปนเปื้อนที่อยู่ในน้ำเสีย ได้แก่ น้ำมัน ไขมัน ผงซักฟอก สบู่

น้ำทิ้ง หมายถึง น้ำเสียที่ผ่านระบบบำบัดน้ำเสียแล้วจนเป็นไปตามมาตรฐานควบคุม

ไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) หมายถึง ปริมาณไนโตรเจนในรูปแอมโมเนีย-ไนโตรเจนและอินทรีย์ไนโตรเจนรวมกัน

แอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia-nitrogen) หมายถึง ไนโตรเจนทั้งหมดที่อยู่ในรูปแอมโมเนียมไอออน (NH_4^+) หรือในรูปแอมโมเนีย (NH_3) อยู่ในระบบรวมกันอย่างสมดุล

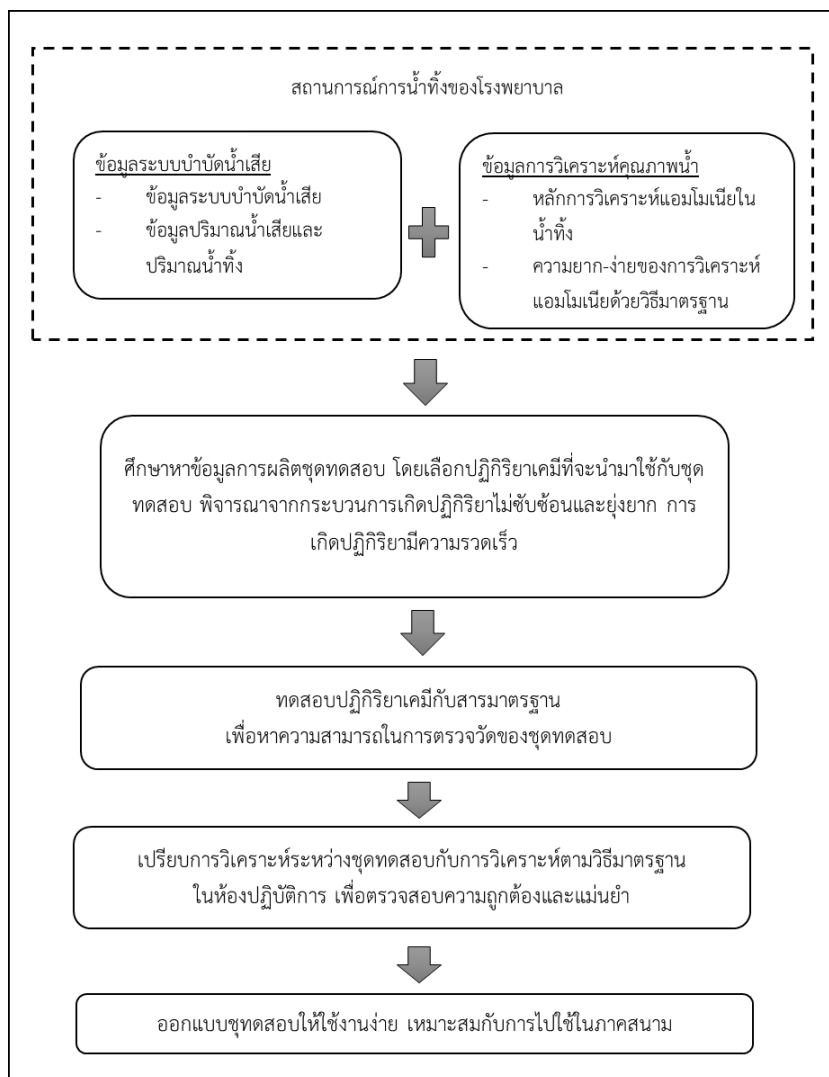
1.7. กรอบแนวคิดงานวิจัย

ชุดทดสอบอย่างง่าย มักใช้เพื่อทดสอบเบื้องต้นสำหรับคัดกรองตัวอย่าง ก่อนที่จะนำไปทดสอบอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือที่มีความเที่ยงตรงและแม่นยำสูงในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ผลถูกต้องมากขึ้นชุดทดสอบอย่างง่ายมีข้อดีหลายอย่างคือ การทดสอบทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน และไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการลงมือทดสอบ ที่สำคัญคือต้นทุนต่ำ และผลการทดสอบน่าเชื่อถือ หลักการของชุดทดสอบอย่างง่ายส่วนใหญ่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารเป้าหมายที่สนใจกับสารทดสอบที่มีความไวและจำเพาะต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารเป้าหมาย โดยทั้งนี้สารทดสอบมักถูกเคลือบหรือตรึงอยู่บนแผ่นทดสอบที่เป็นวัสดุรองรับ หรืออาจอยู่ในรูปสารละลายก็ได้ เมื่อสารทดสอบทำปฏิกิริยากับสารเป้าหมายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มองเห็นด้วยตาเปล่า เช่น สีเปลี่ยนไปจากเดิม หรือการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแสง เช่น เกิดการเรืองแสง หรือเกิดสารประกอบตัวใหม่หลังเกิดปฏิกิริยาเคมี หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าทางไฟฟ้า นอกจากนี้อาจมีการประกอบวงจรอย่างง่ายเข้าไปด้วยสำหรับแปรผลให้เป็นตัวเลขที่อ่านค่าได้โดยสะดวก

การพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย รายการแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง จะดำเนินการพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง ภาคสนาม ที่สามารถตรวจสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนได้ในระดับความเข้มข้น 0 – 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ด้วยวิธีการเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method)

โดยเลือกใช้วิธีซาลิไซเลต (salicylate method) ซึ่งเป็นวิธีที่ทดสอบแอมโมเนีย โดยให้ทำปฏิกิริยากับไฮโปคลอไรต์และซาลิไซเลตในสถานะที่เป็นต่าง และมีโซเดียมไนโตรพรัสไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดสารละลายสีเขียว และมีสีเขียวเข้มขึ้นเรื่อย ๆ ตามความเข้มข้นของแอมโมเนีย

จากการรวบรวมผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้งตัวอย่างน้ำตรวจวิเคราะห์และทดสอบที่กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัยตามเกณฑ์มาตรฐานน้ำทิ้ง ได้เป็นกรอบแนวคิดการวิจัยดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1. การจัดการน้ำทิ้งและปริมาณไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (TKN)

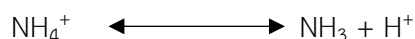
น้ำเสีย เป็นน้ำที่มีการปนเปื้อนสารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์ที่เกิดจากการประกอบกิจการโรงงาน อุตสาหกรรม การใช้น้ำจากบ้านเรือนที่อยู่อาศัย ซึ่งอาจก่ออันตรายหรือเป็นสารพิษทำให้คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลง ไป ความสกปรกของน้ำเสียพิจารณาจากทั้งลักษณะทางเคมี ชีวภาพ และลักษณะทางกายภาพ เช่น ความเป็น กรด-ด่าง (pH) ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางชีวเคมี (Biochemical Oxygen Demand) ปริมาณความต้องการออกซิเจนทางเคมี (Chemical Oxygen Demand) ค่าของแข็งแขวนลอย (Suspended Solids, SS) ค่าของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (Total Suspended Solids, TSS), ค่าของแข็ง ละลายน้ำทั้งหมด (Total Dissolved Solids, TDS), ค่าไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) โลหะหนัก (Heavy Metal) ไขมันและน้ำมัน (Grease and oil) ในน้ำเสีย ซึ่งการระบายน้ำเสียลงสู่ สิ่งแวดล้อมจะต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของน้ำไม่ให้เกิดการปนเปื้อน เกินมาตรฐานมาตรฐานควบคุมการระบาย น้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาด กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

สารไนโตรเจนในบ่อบำบัดน้ำเสียมีได้หลายรูป ได้แก่ ไนโตรเจนทั้งหมด (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) อินทรีย์-ไนโตรเจน (Org-N) และไนเตรท-ไนโตรเจน ($\text{NO}_3\text{-N}$) โดยแต่ละรูปจะมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งกันและกัน โดยที่แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ได้เพิ่มขึ้นมากตาม การลดลงของสารอินทรีย์-ไนโตรเจน และเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอากาศเพียงพอจะเกิดปฏิกิริยาไนตริฟเคชัน คือ แอมโมเนีย-ไนโตรเจนเปลี่ยนรูปเป็นไนเตรท-ไนโตรเจน โดยบ่อบำบัดน้ำเสียที่สามารถบำบัดน้ำเสียได้อย่างมีประสิทธิภาพ ควรมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด แอมโมเนีย-ไนโตรเจน อินทรีย์-ไนโตรเจน และไนเตรท-ไนโตรเจนเป็นตามการหมุนเวียนของวัฏจักรไนโตรเจน (ธงชัย, 2545) ได้ ดังนั้นเพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพของสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะคุณภาพน้ำจึงจำเป็นต้องมีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการหาปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนในรูปที เค เอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN), แอมโมเนียไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$), ไนเตรท (NO_3) หรือ ไนเตรท-ไนโตรเจน ($\text{NO}_3\text{-N}$), ไนไตรท์ (NO_2) หรือไนไตรท์-ไนโตรเจน ($\text{NO}_2\text{-N}$) โดยมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน กำหนดให้มีแอมโมเนีย ในรูปของแอมโมเนีย ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) และมาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้ง กำหนดให้น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม มีไนโตรเจนในรูปของ TKN ไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) หรือแล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง แต่ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ส่วนมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาดให้มีไนโตรเจนในรูปทีเคเอ็น (TKN) ไม่เกิน 35 และ 40 มิลลิกรัมต่อลิตร

(mg/L) ค่ามาตรฐานน้ำทิ้งจากที่ดินจัดสรร มีไนโตรเจนในรูป TKN ไม่เกิน 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) และมาตรฐานเพื่อควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากฟาร์มสุกร มีไนโตรเจนในรูป TKN ไม่เกิน 120 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) หรือ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (เทพวิฑูรย์ ทองศรี, ผลกระทบของไนโตรเจนต่อสิ่งแวดล้อม, วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ ปีที่ 60 ฉบับที่ 190)

แอมโมเนีย-ไนโตรเจน(Ammonia nitrogen) หมายถึง ไนโตรเจนทั้งหมดที่อยู่ในรูป NH_4^+ (แอมโมเนียมไอออน) หรือในรูป NH_3 (แอมโมเนีย) ซึ่งสมดุลกันเรียกว่า แอมโมเนียไนโตรเจน

แสดงดังสมการ



โดยทั่วไป จะพบแอมโมเนียในแหล่งน้ำผิวดินและในน้ำเสีย ส่วนในน้ำใต้ดินพบว่ามีปริมาณแอมโมเนียต่ำ เนื่องจากดินจะดูดซับแอมโมเนียเอาไว้โดยไม่มีการชะล้างออกมา ทั้งนี้แอมโมเนียส่วนใหญ่เกิดจากจุลินทรีย์ย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน เมื่อแอมโมเนียไนโตรเจนอยู่ในรูป NH_4^+ จะไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ แต่หากอยู่ในรูป NH_3 จะมีความเป็นพิษต่อสัตว์น้ำ

การตรวจวิเคราะห์หาแอมโมเนียในน้ำ สามารถบ่งบอกถึงการปนเปื้อนของแหล่งน้ำและเป็นการเฝ้าระวังในกรณีพบว่า มีการปนเปื้อนสูง ในอดีตค่าแอมโมเนียใช้บอกถึงคุณภาพของน้ำอย่างคร่าว ๆ ได้น้ำนั้นถูกปนเปื้อนด้วยอุจจาระหรือปัสสาวะหรือไม่ เช่น น้ำที่มีอินทรีย์ไนโตรเจน (organic nitrogen) และแอมโมเนียไนโตรเจน (ammonia nitrogen) บ่งบอกว่า มีการปนเปื้อนหรือถูกทำให้สกปรกใหม่ ๆ แต่ถ้ามีไนเตรตไนโตรเจน (nitrate nitrogen) เป็นส่วนใหญ่แสดงว่า น้ำนั้นถูกทำให้สกปรกเป็นเวลานานแล้ว

ไนโตรเจนในน้ำมักพบได้รูปของ ก๊าซไนโตรเจนละลายและสารประกอบไนโตรเจน สารประกอบไนโตรเจนในน้ำจำแนกได้เป็น 4 ชนิด คือ สารอินทรีย์ไนโตรเจน (Organic Nitrogen), แอมโมเนีย (Ammonia), ไนเตรต (Nitrate) และไนไตรต์ (Nitrite)

สารอินทรีย์ไนโตรเจนได้แก่ ไนโตรเจนที่พบอยู่ในสารอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น ยูเรีย กรดอะมิโน ถั่วเหลือง มูลสัตว์ เป็นต้น แอมโมเนียไนโตรเจน ได้แก่ ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปแบบ NH_3 หรือ NH_4^+ ส่วนไนเตรตและไนไตรต์ ได้แก่ ไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของ NO_3^- และ NO_2^- ตามลำดับ แอมโมเนีย ไนเตรต และไนไตรต์เป็นสารประกอบอินทรีย์ นั่นคือ

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมด} &= \text{สารอินทรีย์ไนโตรเจน} + \text{แอมโมเนีย} + \text{ไนเตรต} + \text{ไนไตรต์} \\ &= \text{สารอินทรีย์ไนโตรเจน} + \text{สารอนินทรีย์ไนโตรเจน} \end{aligned}$$

เนื่องจากการวิเคราะห์หาปริมาณสารอินทรีย์ไนโตรเจนใช้วิธีที่เรียกว่า Kjeldahl (เจลดาล์) ซึ่งเป็นวิธีย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจนให้กลายเป็นแอมโมเนีย และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนได้จากแอมโมเนียที่เกิดขึ้น จึงนิยมเรียกผลรวมของสารอินทรีย์ไนโตรเจนและแอมโมเนีย ว่า Total Kjeldahl Nitrogen (TKN)

$$\text{TKN} = \text{สารอินทรีย์ไนโตรเจน} + \text{แอมโมเนีย}$$

หน่วยความเข้มข้นของสารประกอบไนโตรเจน

ความเข้มข้นของสารประกอบไนโตรเจนทั้ง 4 ชนิด แสดงอยู่ในรูปไนโตรเจน (N) โดยเขียนสัญลักษณ์ ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{Org-N} &= \text{สารอินทรีย์ไนโตรเจน} \\ \text{NH}_3\text{-N} &= \text{แอมโมเนียไนโตรเจน} \\ \text{NO}_3\text{-N} &= \text{ไนเตรตไนโตรเจน} \\ \text{NO}_2\text{-N} &= \text{ไนไตรต์ไนโตรเจน} \end{aligned}$$

ตัวอย่างที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในน้ำเสียมีดังนี้

Org-N	25	มก./ล.N	NO ₃ -N	5	มก./ล.N
NH ₃ -N	10	มก./ล.N	NO ₂ -N	2	มก./ล.N

$$\begin{aligned} \text{นั่นคือ TKN} &= \text{Org-N} + \text{NH}_3\text{-N} \\ &= 25 + 10 \\ &= 35 \text{ มก./ล.N} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ไนโตรเจนรวมทั้งหมด} &= \text{Org-N} + \text{NH}_3\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} \\ &= 25 + 10 + 5 + 2 \\ &= 42 \text{ มก./ล.N} \end{aligned}$$

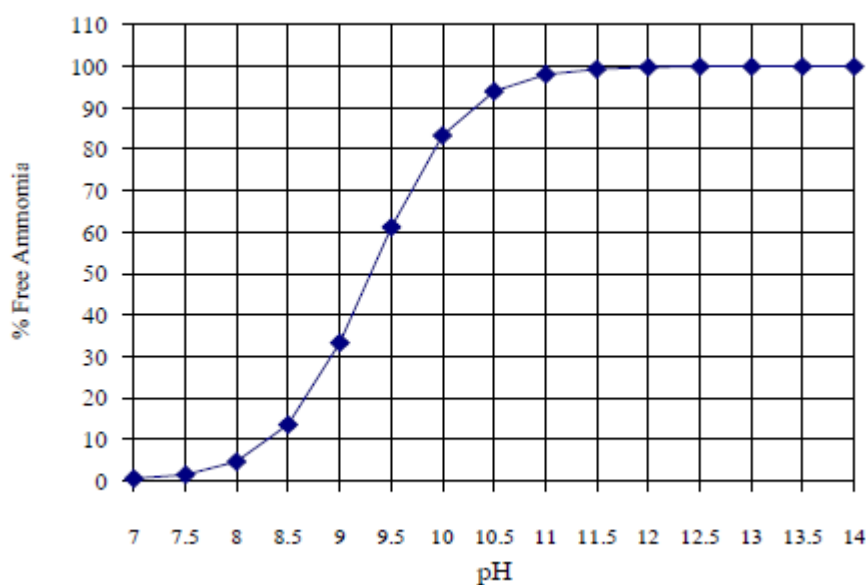
$$\begin{aligned} \text{สารอินทรีย์ไนโตรเจนรวม} &= \text{NH}_3\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N} + \text{NO}_2\text{-N} \\ &= 10 + 5 + 2 \\ &= 17 \text{ มก./ล.N} \end{aligned}$$

แอมโมเนียในน้ำอาจอยู่ในรูปของแอมโมเนียอิสระ (NH₃) หรือ อีออนแอมโมเนียม (NH₄⁺) โดยมีสมดุลดังนี้



$$\text{โดยมี } K = 10^{-9.3} \text{ ที่อุณหภูมิ } 25^\circ \text{ เซลเซียส}$$

NH₃ เรียกว่า Free Ammonia หรือ แอมโมเนียอิสระ (ก๊าซ) ส่วน NH₄⁺ เรียกว่า อีออนแอมโมเนียมโดยปกติ เมื่อน้ำมีพีเอชเป็นกลาง แอมโมเนีย จึงอยู่ในรูปอีออน NH₄⁺ มากกว่า NH₃ แต่ถ้าพีเอชสูงขึ้น ก๊าซแอมโมเนียจะพบมากขึ้นและอีออนจะมีน้อยลง และยังทำให้ก๊าซแอมโมเนียสามารถหนีจากน้ำขึ้นสู่อากาศได้ง่ายขึ้นภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %NH₃ กับพีเอชของน้ำ แอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้ในห้องแล็บจะเป็นแอมโมเนียทั้งหมดเสมอ



ภาพที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ %NH₃ กับ pH

2.2. ความเป็นพิษของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ

แอมโมเนียอิสระ หรือ NH_3 เป็นพิษอย่างมากต่อปลา แต่แอมโมเนียมหรือ NH_4^+ ไม่มีพิษ สัดส่วนของ NH_3 และ NH_4^+ ในน้ำขึ้นอยู่กับพีเอช อุณหภูมิและปริมาณเกลือแร่ ปริมาณแอมโมเนียอิสระจะเพิ่มตามระดับพีเอชและอุณหภูมิที่สูงขึ้น ค่าพีเอชมีอิทธิพลต่อเคมีของแอมโมเนียในน้ำมากกว่าอุณหภูมิ ปริมาณเกลือแร่ในน้ำมีอิทธิพลน้อยเช่นเดียวกับอุณหภูมิ แต่มีอิทธิพลในทางตรงกันข้าม นั่นคือ แอมโมเนียจะมีน้อยลงถ้าปริมาณเกลือแร่สูงขึ้น แอมโมเนียเป็นพิษต่อปลาในทางอ้อม คือทำให้ปลาไม่สามารถขับถ่ายแอมโมเนียออกจากกระแสเลือด ถ้า NH_3 ในน้ำมีปริมาณสูงเกินไป พบว่าในขณะที่ระดับแอมโมเนียในน้ำเพิ่มขึ้น เป็นผลให้พีเอชของเลือดมีค่าสูงขึ้น และเป็นผลเสียของปฏิกิริยาชีวเคมีต่าง ๆ ทำให้มีความต้องการปริมาณออกซิเจนเพิ่มขึ้น ทำอันตรายต่อเหงือกและลดความสามารถของเลือดในการขนถ่ายออกซิเจน ปลาที่เลี้ยงอยู่ในน้ำที่มีแอมโมเนียสูงถึงระดับ Sublethal มักอ่อนแอติดโรคได้ง่าย ค่า LC_{50} ของแอมโมเนียอิสระสูงประมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (มันสินและไพพรรณ, 2539)

แอมโมเนียเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำโดยตรง ซึ่งอาจมีผลตั้งแต่ทำให้อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายต่ำ หรือทำให้สัตว์น้ำตายในระยะเวลาสั้น ๆ หรือทำให้เกิดผลกระทบที่เกิดจากความเครียดอย่างอื่น ๆ (วรธนา, ม.ป.ป.) ความเป็นพิษของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำคือแอมโมเนียจะทำลายเหงือกของสัตว์น้ำ แอมโมเนียจะลดประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนในเลือด ทำให้สัตว์น้ำต้องการออกซิเจนมากขึ้น และสัตว์น้ำมีความต้านทานโรคลดลง สัตว์น้ำมีความทนทานต่อพิษแอมโมเนียต่างกัน โดยปกติจะมีความทนทานได้ใน

ระยะสั้น (24-72 ชั่วโมง) เมื่อมีความเข้มข้นของแอมโมเนียในน้ำมากกว่า 0.2-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (กรรณิการ์, 2543)

2.3. การวิเคราะห์หาแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (Ammonia-nitrogen : $\text{NH}_3\text{-N}$)

การวิเคราะห์หาแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่นิยมใช้ คือ วิธีการไตเตรท และวิธีเนสเลอร์ไลเซชัน ซึ่งการเลือกวิธีวิเคราะห์จะต้องพิจารณาปัจจัย 2 อย่าง คือ ความเข้มข้นของแอมโมเนีย และสารรบกวนที่มีอยู่ในตัวอย่างน้ำ วิธีเนสเลอร์ไลเซชันเหมาะสำหรับน้ำที่มีปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนต่ำ (อยู่ในช่วง 0.02-5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))⁽³⁾ เช่นน้ำดื่ม น้ำผิวดินที่สะอาด น้ำที่ได้รับการบำบัดแล้วส่วนน้ำที่มีสารรบกวน เช่น สี ความขุ่น สารรบกวนอื่น ๆ และต้องการค่าที่มีความแน่นอนสูงควรใช้วิธีกลั่นเพื่อแยกแอมโมเนียจากตัวอย่างน้ำก่อน แล้วจึงนำมาวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียต่อไป สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณแอมโมเนียสูง (5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ขึ้นไป) ควรนำตัวอย่างไปกลั่นแยกแอมโมเนียจากตัวอย่างน้ำก่อนแล้วใช้วิธีไตเตรทเพื่อหาปริมาณแอมโมเนียต่อไป

หลักการกลั่นแยกแอมโมเนีย (Distillation Method)

วิธีการกลั่นเป็นการแยกแอมโมเนียออกจากสารรบกวนต่าง ๆ ก่อน แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียต่อไป หลักสำคัญของการกลั่นแยก คือ NH_4^+ จะสลายตัวเป็นก๊าซ NH_3 เมื่อถูกต้มกลั่นที่ pH 7.2-7.4 จากการกลั่นจะทำให้เกิด H^+ มีผลทำให้ pH ลดลง ดังนั้น จำเป็นต้องเติมสารละลายบัฟเฟอร์เพื่อควบคุมค่า pH ให้อยู่ในช่วง 7.2-7.4 ตลอดการกลั่น เพราะถ้า pH สูงเกินไปสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนจะถูกเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย ซึ่งทำให้ปริมาณแอมโมเนียที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงเกินจริง แต่ถ้า pH ต่ำไปแอมโมเนียจะถูกกลั่นออกมาไม่หมด ทำให้ปริมาณแอมโมเนียที่ได้น้อยเกินจริง ทั้งนี้แอมโมเนียเป็นสารที่ระเหยได้ง่าย จึงจำเป็นต้องจับแอมโมเนียที่ถูกกลั่นออกมาด้วยสารละลายกรดบอริก ด้วยวิธีการนำส่วนที่กลั่นได้ผ่านลงไปในสารละลายกรดบอริก แล้วจึงนำสารละลายที่ได้ไปหาปริมาณแอมโมเนียไนโตรเจนด้วยวิธีเนสเลอร์ไลเซชันหรือวิธีไตเตรทต่อไป

วิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียไนโตรเจน ด้วยวิธีการกลั่นและไตเตรท ตามวิธีของ standard method for the examination of water and wastewater 23rd edition, 2017

1) การเตรียมชุดกลั่น

ตวงน้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนีย 500 มิลลิลิตร ใส่ขวดเจลดาห์ลแล้วนำไปใส่ชุดกลั่นเพื่อเป็นการกลั่นล้างเครื่องกลั่นจนสะอาดปราศจากแอมโมเนีย

2) การเตรียมตัวอย่างน้ำ

ตวงตัวอย่างน้ำ 500 มิลลิลิตร ใส่ขวดเจลดาห์ล ปรับให้ตัวอย่างน้ำมีค่า pH เท่ากับ 7 ด้วยกรดหรือเบส แล้วเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 30 มิลลิลิตร

3) การกลั่น

นำขวดเจลด้าหลพร้อมตัวอย่างเข้าเครื่องกลั่น เปิดน้ำหล่อเย็นให้พร้อม ตวงสารละลายกรดบอริก 30 มิลลิลิตร ใส่ในขวดชมพู่ (Erlenmeyer flask) นำเข้าไปต่อกับชุดกลั่นโดยให้ปลายหลอดที่ต่อท่อน้ำไอน้ำและแอมโมเนียที่กลั่นออกมาจุ่มอยู่ใต้สารละลายกรดบอริก พบว่าแอมโมเนียจะถูกขับออกหมดเมื่อถูกกลั่นจนได้สารละลายอย่างน้อย 200 มิลลิลิตร เมื่อใช้ตัวอย่างน้ำ 500 มิลลิลิตรหรือน้อยกว่า

4) การไตเตรท

นำสารละลายที่ได้จากการกลั่น มาไตเตรทด้วยกรมซัลฟูริกความเข้มข้น 0.02 นอร์มัล จนกระทั่งสารละลายสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีม่วง โดยเทียบกับสีม่วงของแบลงค์ (ทำเหมือนตัวอย่างทุกขั้นตอนแต่ใช้น้ำกลั่นที่ปราศจากแอมโมเนียเป็นตัวอย่าง)

5) การคำนวณ

$$\text{แอมโมเนียไนโตรเจน (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร)} = \frac{(A-B) \times N \times 14 \times 1,000}{\text{ปริมาณตัวอย่าง (มล.)}}$$

ปริมาณตัวอย่าง (มล.)

เมื่อ

A = มิลลิลิตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B = มิลลิลิตรของกรมซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรทแบลงค์

N = ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริกเป็นนอร์มัลลิต์

2.4. ชุดทดสอบอย่างง่ายเพื่อการเฝ้าระวัง

ชุดทดสอบอย่างง่ายมีหลายชนิด เช่น ชุดทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง ความกระด้างของน้ำ ปริมาณโลหะหนักในน้ำ ปริมาณน้ำตาล และการตั้งครรภ์ เป็นต้น ชุดทดสอบอย่างง่ายมักใช้เพื่อกลั่นกรองตัวอย่างก่อนที่จะนำไปทดสอบอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการที่มีความเที่ยงตรงและแม่นยำสูง เพื่อให้ได้ผลถูกต้องมากขึ้น

ชุดทดสอบอย่างง่ายมีข้อดี คือการทดสอบทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน และผู้ทดสอบไม่จำเป็นต้องมีความรู้จำเพาะทางด้านเทคนิคมากนักที่สำคัญคือต้นทุนต่ำ และผลการทดสอบน่าเชื่อถือ

หลักการของชุดทดสอบอย่างง่ายส่วนใหญ่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารเป้าหมายที่สนใจกับสารทดสอบที่มีความไวและจำเพาะต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารเป้าหมายหนึ่งๆ โดยสารทดสอบมักถูกเคลือบหรือตรึงอยู่บนแผ่นทดสอบที่เป็นวัสดุรองรับ หรืออาจอยู่ในรูปสารละลายก็ได้ เมื่อสารที่ใช้ทดสอบทำปฏิกิริยากับสารเป้าหมายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มองเห็นด้วยตาเปล่า เช่น สีเปลี่ยนไปจากเดิม หรือการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแสง เช่น เกิดการเรืองแสง หรือเกิดสารประกอบตัวใหม่หลังเกิดปฏิกิริยาเคมี หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าทางไฟฟ้า ทั้งนี้อาจมีการผนวกวงจรอย่างง่ายสำหรับแปรผลให้เป็นตัวเลขที่อ่านค่าได้โดยสะดวกอีกด้วย

ชุดทดสอบอย่างง่ายที่ดีควรมีสมบัติดังต่อไปนี้

1. ความไวต่อปฏิกิริยาเคมี: ชุดทดสอบควรมีความไวต่อปฏิกิริยาในช่วงเวลาระดับวินาทีและไม่ควรเกิน 10 นาที
2. ความเที่ยงตรงและแม่นยำในการทดสอบ: ชุดทดสอบอย่างง่ายควรให้ผลการทดสอบที่แม่นยำ มีความเบี่ยงเบนต่ำ สามารถทดสอบซ้ำเดิมได้โดยผลการทดสอบไม่ขึ้นกับผู้ใช้งาน
3. การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสามารถแปรเป็นผลการทดสอบที่อ่านค่าได้ชัดเจน
4. ค่าต่ำสุดที่สามารถทดสอบได้ (detection limit) : ชุดทดสอบที่ดีควรปรับเลือกค่าต่ำสุดของการทดสอบได้ เพื่อให้ช่วงการทดสอบครอบคลุมความเข้มข้นของสารที่ต้องการตรวจวัด

กล่าวโดยสรุป ชุดทดสอบอย่างง่ายเหมาะที่จะใช้ทดสอบเบื้องต้นสำหรับคัดกรองตัวอย่าง หรือใช้สำหรับทดสอบในพื้นที่ที่ไม่สามารถทดสอบด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการได้ โดยมีหลักการพื้นฐานจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารบนแผ่นทดสอบและสารเป้าหมายแต่ปฏิกิริยาเคมีนั้นๆ จำเป็นต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สามารถตรวจวัดได้อย่างชัดเจน

2.5. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Dong Kim Loan et al. ได้ศึกษาวิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียในน้ำอย่างรวดเร็วด้วยวิธีการสร้างสีแบบไทมอล โดยมีสารทดสอบทั้งหมด 3 ชนิด คือ สารละลาย nitroprusside สารละลาย hypochlorite ในบัฟเฟอร์คาร์บอเนต และสารละลายไทมอลรวมกับ EDTA ในโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 โมลต่อลิตร พบว่าปฏิกิริยาทั้งหมดในการเกิดสีใช้เวลาน้อยกว่า 5 นาทีและเวลารวมสำหรับการทดสอบหนึ่งครั้งประมาณ 7 – 8 นาที ด้วยวิธีการทดสอบนี้สามารถตรวจวัดแอมโมเนียทั่วไปในน้ำจืดและน้ำดื่ม มีข้อผิดพลาดสัมพัทธ์สูงที่สุดน้อยกว่า 25%

Hossam E.M. Sayour ได้ศึกษาวิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียอย่างง่ายในการตรวจสอบคุณภาพน้ำ ที่ตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว โดยใช้หลักการของเทียบสีของปฏิกิริยาฟีนิต เป็นสารละลายสีน้ำเงินเมื่อมีแอมโมเนีย ซึ่งเทคนิคแบบเดิมในการวิเคราะห์แอมโมเนีย ทำได้ยากและต้องมีเครื่องมือวิเคราะห์ โดยวิธีการเทียบสีที่พัฒนาขึ้น ใช้เวลาวิเคราะห์ไม่นาน (7 นาที) และมีต้นทุนที่ต่ำกว่าวิธีดั้งเดิม สามารถตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียได้ตั้งแต่ 0.5 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ในตัวอย่างที่เป็นน้ำ ทั้งน้ำจืด และน้ำเค็ม มีความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ไม่น้อยกว่า 10 % มีความเหมาะสมในการวิเคราะห์แอมโมเนีย ในการเฝ้าระวัง โดยเฉพาะการเลี้ยงสัตว์น้ำที่จะต้องเฝ้าระวังแอมโมเนียเป็นพิเศษ

สุรพงษ์ ขาวสวนงาม และคณะ ได้ศึกษาศึกษาการสะสมของ แอมโมเนียทั้งหมด แอมโมเนียอิสระ และไนเตรท ในระบบเลี้ยงปลาแบบระบบน้ำหมุนเวียนเพื่อใช้ประกอบการพิจารณาเปลี่ยนถ่ายน้ำให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาด้วยระบบน้ำหมุนเวียนที่ผ่านการบำบัดด้วยระบบตัวกรองชีวภาพ ในการทดลองได้เลี้ยงปลานิล 2 ความหนาแน่นคือ 30 ตัว/ลบ.ม. และ 40 ตัว/ลบ.ม. และเพื่อลดการสะสมของของเสียในบ่อเลี้ยงปลา ได้ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำจากบ่อเลี้ยงทดสอบทุก 2 สัปดาห์ จากผลการศึกษาพบว่า การสะสมแอมโมเนีย

ทั้งหมด แอมโมเนียอิสระ และไนเตรทในบ่อเลี้ยงปลาแปรผันตามความหนาแน่นของปลาในบ่อเลี้ยง หากรอบการเปลี่ยนถ่ายน้ำกำหนดที่ 2 สัปดาห์ ปริมาณการสะสมของแอมโมเนียอิสระ และไนเตรท อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ อย่างไรก็ตามตัวแปรที่สำคัญต่อการควบคุมคุณภาพน้ำคือปริมาณการสะสมของ NH, ไม่ควรเกินระดับที่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (ไม่ควรเกิน 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)) ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมในการเปลี่ยนถ่ายน้ำให้ พิจารณาที่ปริมาณการสะสมของแอมโมเนียอิสระเป็นหลัก และควรเปลี่ยนถ่ายน้ำอาทิตย์ละ 1 ครั้ง เพื่อลดความเป็นพิษของแอมโมเนียอิสระต่อปลา

ศิริพร พรหมดีได้ศึกษาการพัฒนาชุดทดสอบปริมาณแอมโมเนียและไนเตรทในน้ำภาคสนามสำหรับโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ พบว่าชุดทดสอบปริมาณแอมโมเนียอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอมโมเนียกับโซเดียมไฮโปคลอไรด์ โดยมีโซเดียมไนโตรปริสไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการเกิดปฏิกิริยา พบว่า ใช้น้ำตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร ผงรีเอเจนท์ A 0.0520 กรัม และรีเอเจนท์ B 5 หยด และตั้งทิ้งไว้ 20 นาที สำหรับชุดทดสอบปริมาณไนเตรทพบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้น้ำตัวอย่าง 10.0 มิลลิลิตร รีเอเจนท์ C 0.5 มิลลิลิตร ผงรีเอเจนท์ D 0.1155 กรัม และตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จากการทดสอบประสิทธิภาพของชุดทดสอบโดยการตรวจวัดปริมาณแอมโมเนียและ ไนเตรทในสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย สารละลายมาตรฐานไนเตรท แหล่งน้ำภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และแหล่งน้ำจากโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริด้วยชุดทดสอบและเปรียบเทียบกับวิธียูวี-วิสิเบิลสเปกโตรโฟโตเมทรี พบว่า ปริมาณแอมโมเนียและไนเตรทที่ตรวจวัดได้จากทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ มีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) น้อยกว่า 10 ดังนั้น ชุดทดสอบปริมาณของแอมโมเนียและไนเตรทในตัวอย่างน้ำภาคสนามจึงมีประสิทธิภาพและน่าเชื่อถือ

อังสนา ฉั่วสุวรรณและสังวาลย์ ราชธรรมมา รายงานว่าแอมโมเนียอิสระเป็นรูปที่เป็นพิษอย่างมากต่อสัตว์น้ำโดยความเป็นพิษขึ้นกับความเข้มข้นของแอมโมเนียอิสระ แอมโมเนียไอออนเป็นรูปที่ไม่เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ โดยทั่วไปนิยมรายงานความเป็นพิษของแอมโมเนียในเทอมของความเข้มข้นของแอมโมเนียอิสระมากกว่าแอมโมเนียทั้งหมด สัตว์น้ำส่วนใหญ่เมื่อสัมผัสกับแอมโมเนียอิสระคำนวณในรูปไนโตรเจน 1 ถึง 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) นานประมาณ 1 ชั่วโมงอาจทำให้เกิดการตายอย่างเฉียบพลัน ดังนั้นการทดสอบคุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงเป็นประจำว่ามีปริมาณแอมโมเนียเท่าใดเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. ขั้นตอนเบื้องต้นในการดำเนินงานวิจัย

- 3.1.1. ศึกษาข้อมูลเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
- 3.1.2. ศึกษาวิธีทดสอบและสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
- 3.1.3. เลือกวิธีทดสอบที่เหมาะสมสำหรับการผลิตชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน พร้อมเตรียมวัสดุอุปกรณ์ สารเคมีสำหรับทดสอบทางห้องปฏิบัติการ
- 3.1.4. ทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ เปรียบเทียบผลการทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง ของชุดทดสอบกับวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีการทางสถิติ
- 3.1.5. ออกแบบชุดทดสอบและอุปกรณ์ประกอบการใช้งาน
- 3.1.6. ดำเนินการผลิตชุดทดสอบต้นแบบ

3.2. เครื่องมือวัสดุ อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

- 3.2.1. ปีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร
- 3.2.2. ปิเปต (Pipette) ขนาด 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, และ 10 มิลลิลิตร
- 3.2.3. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
- 3.2.4. แท่งแก้วคนสาร (Glass Stirring Rod)
- 3.2.5. ขวดหยด (Dropper Bottle)
- 3.2.6. เครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ (UV-Visible Double Beam Spectrophotometer) ยี่ห้อ: Perkin Elmer รุ่น LAMBDA 365
- 3.2.7. เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Kjedahl Distillation Unit) ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น VAPODEST 500

3.3. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์และจัดเตรียมชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

- 3.3.1. สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite, NaOCl) ยี่ห้อ Merck เข้มข้น 8-12 % โดยน้ำหนัก
- 3.3.2. สารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ชนิดวัสดุอ้างอิงรับรอง (CRM) ยี่ห้อ Accustandard ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)
- 3.3.3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Merck ความบริสุทธิ์ ไม่น้อยกว่า 99 %
- 3.3.4. โซเดียมซาลิไซเลต (Sodium Salicylate, $C_7H_5NaO_3$) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Merck ความบริสุทธิ์ ไม่น้อยกว่า 99 %

3.3.5. โซเดียมไนโตรพรัสไซด์ไดไฮเดรต (Sodium nitroprusside dihydrate, $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) เกรดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Merck ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 99 %

3.3.6. น้ำกลั่น (Distilled Water)

การเตรียมสารละลายทดสอบ

- สารละลายทดสอบที่ 1 มีส่วนผสมหลัก คือ โซเดียมซาลิไซเลต (Sodium Salicylate) ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 30 % โดยมวลต่อปริมาตร
- สารละลายทดสอบที่ 2 มีส่วนผสมหลัก คือ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite) ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 6 % โดยมวลต่อปริมาตร
- สารละลายทดสอบที่ 3 มีส่วนผสมหลัก คือ โซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (Sodium nitroprusside dihydrate) ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 4 % โดยมวลต่อปริมาตร

3.4. การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

3.4.1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) มา 2 มิลลิลิตร เจือจางให้ครบ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นถ่ายลงในขวดทำปฏิกิริยาปริมาตร 20 มิลลิลิตร (การเตรียมสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ($\text{NH}_3\text{-N}$) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ให้เตรียมตามตารางที่ 1)

3.4.2. หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 6 หยด

3.4.3. หยดสารละลายทดสอบที่ 2 จำนวน 6 หยด

3.4.4. หยดสารละลายทดสอบที่ 3 จำนวน 6 หยด

3.4.5. ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 8 นาที

3.4.6. ถ่ายรูปและเก็บตัวอย่างสีเพื่อนำไปสร้างแถบสีมาตรฐาน (Standard color scale)

3.4.7. ทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0 20 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ตามข้อที่ 3.4.1 ถึงข้อที่ 3.4.5.

ตารางที่ 1 การเตรียมสารละลายแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ใช้งาน (working solution)

ความเข้มข้นสต็อกแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (stock solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ต้องการเตรียม (working solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ปิเปต stock solution ใส่ใน ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร (มิลลิลิตร)
1000	0	0
	10	1
	20	2
	35	3.5
	70	7

3.5. การทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

3.5.1. การทดสอบความไว (sensitivity)

ความไว (Sensitivity) ของชุดทดสอบเป็นความสามารถที่ชุดทดสอบแสดงการเปลี่ยนแปลงในการวัดความเข้มข้นที่แตกต่างกันน้อยที่สุด ชุดทดสอบที่มีสภาพไวสูงจะสามารถตรวจวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยมากหรือสามารถแยกความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกันน้อยมากได้ถูกต้อง

สภาพไวแสดงด้วยคุณสมบัติใน 2 ลักษณะ คือ ขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (LOQ)

ขีดจำกัดในการตรวจวัด (detection limit, LOD) คือค่าความเข้มข้นหรือปริมาณต่ำที่สุดของสารที่สนใจในสารตัวอย่างใด ๆ ที่ชุดทดสอบจะสามารถตรวจวัดได้

ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (quantitation limit, LOQ) หมายถึง ปริมาณต่ำสุดของสารที่สนใจในสารตัวอย่างใด ๆ ที่ชุดทดสอบสามารถตรวจวัดและอ่านค่าได้อย่างถูกต้องและเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยทั่วไปจะเป็นระดับความเข้มข้นของสารที่ให้สัญญาณเป็น 10 เท่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (sd) ของตัวอย่างแบลงค์ (sample blank)

3.5.1.1. ขั้นตอนการทดสอบความไว (Sensitivity)

- คำนวณความไวจากสัญญาณของตัวอย่างแบลงค์ ที่ปราศจากแอมโมเนีย-ไนโตรเจน เช่น น้ำกลั่น สัญญาณที่อ่านได้จากเครื่องมือวัด จะต้องมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ไม่เท่ากับศูนย์
- วิเคราะห์ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยชุดทดสอบ ในตัวอย่างแบลงค์ 7 - 10 ข้ำ ข้ำละ 1 ครั้ง ด้วยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm)

- คำนวณค่าความเข้มข้น และความเข้มข้นเฉลี่ย (mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s.d.) ของตัวอย่างแบลงค์ โดยใช้สมการของการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)
- คำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด (detection limit, LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (quantitation limit, LOQ)

3.5.2. การทดสอบความเสถียร (Stability)

เป็นกระบวนการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารละลายทดสอบในชุดทดสอบ ความเสถียรที่ดี คุณสมบัติของสารจะต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไประยะเวลาหนึ่ง ในที่นี้จะศึกษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยที่ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบทดสอบเริ่มต้นเทียบกับสารละลายทดสอบที่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 12 เดือน

ขั้นตอนการทดสอบความเสถียรของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

- เตรียมสารละลายทดสอบสองชุด ชุดที่ 1 นำไปวิเคราะห์แอมโมเนียความเข้มข้น 0 10 20 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (A)
- นำสารละลายชุดที่ 2 เก็บไว้เป็นเวลา 12 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ไม่ถูกแสงแดด เมื่อครบระยะเวลา 12 เดือน นำไปวิเคราะห์แอมโมเนียความเข้มข้น 0 10 20 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (B)
- เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบชุดที่ 1 และค่าดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบชุดที่ 2 ที่เวลาผ่านไป 12 เดือน นำไปหาความเสถียร (stability) ของสารละลายที่ใช้ทดสอบปริมาณแอมโมเนีย ด้วยสถิติ t-test

3.5.3. การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

เป็นการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายทดสอบในชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ตามความเข้มข้นที่กำหนด

3.5.3.1. ขั้นตอนเตรียมช่วงความเข้มข้นมาตรฐาน

- เตรียมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0 0.5 1 2 5 10 20 35 70 160 200 400 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ตามตารางที่ 2 (ให้ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น)

ตารางที่ 2 การเตรียมสารละลายแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ใช้งาน (working solution)

สำหรับการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

ความเข้มข้นสต็อกแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (stock solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ต้องการเตรียม (working solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ปิเปต stock solution ใส่ใน ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร (มิลลิลิตร)
1000	0	0
	0.5	0.025
	1	0.050
	2	0.10
	5	0.25
	10	0.50
	20	1.00
	35	1.75
	70	3.50
	160	8.00
	200	10.00
	400	20.00
	800	40.00
	1,000	50.00

3.5.3.2. ขั้นตอนการทำให้เกิดสีและสร้างกราฟมาตรฐาน

- ปิเปตสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0 0.5 1 2 5 10 20 35 70 160 200 400 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) อย่างละ 2 มิลลิลิตร
- ปิเปตลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน
- เทลงในหลอดทำปฏิกิริยา ขนาด 20 มิลลิลิตร
- เติมน้ำที่ 1, 2 และ 3 ลงไปอย่างละ 6 หยด ตามลำดับ เขย่า 15-20 ครั้งให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์
- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm)

- สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย (บนแกน X) และค่าการดูดกลืนแสง (บนแกน Y)
- วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient : r) โดยที่ $r = \sqrt{R^2}$ โดยที่ R^2 คือค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) ค่า r ที่ได้ควรมีค่าเข้าใกล้ -1 หรือ 1 เป็นค่าที่ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย และค่าการดูดกลืนแสง มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

3.5.4. การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

3.5.4.1. ขั้นตอนการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

- เตรียมสารละลายแอมโมเนียเข้มข้น 0 10 20 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ขวด จากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) โดยปิเปตมาปริมาตร 0 1 2 4 และ 8 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร
- นำสารละลายที่เตรียมได้แบ่งมา 50 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนียด้วยวิธีมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, AWWA, APHA, 23rd, 2012 4500-NH₃ C. Titrimetric method บันทึกค่าความเข้มข้นที่ได้เป็นค่า A นำส่วนที่เหลือไปวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบแอมโมเนียที่พัฒนาขึ้น บันทึกค่าความเข้มข้นที่ได้เป็นค่า B
- เปรียบเทียบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยใช้สถิติ HorRat

3.5.5. การทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

เป็นความสามารถของวิธีในการจำแนกสารที่สนใจวิเคราะห์ออกจากสารอื่นๆ รวมถึงสารปนเปื้อน และเมทริกซ์อื่นๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์

3.5.5.1. ขั้นตอนการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

- เตรียมสารละลายโลหะ 14 ชนิด จากสารละลายโลหะมาตรฐานเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ได้แก่ เหล็ก (Fe), ทองแดง (Cu), แมงกานีส (Mn), สังกะสี (Zn), แคดเมียม (Cd), ซีลีเนียม (Se), แบเรียม (Ba), นิกเกิล (Ni), โครเมียม (Cr), เงิน (Ag), ตะกั่ว (Pb),ปรอท (Hg), อลูมิเนียม (Al) และ สารหนู (As) โดยปิเปตสารละลายโลหะมาปริมาตรชนิดละ 1 มิลลิลิตร ในขวดปรับ 50 มิลลิลิตร (แยกแต่ละชนิดของโลหะ ไม่นำโลหะแต่ละชนิดมาปนกัน) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้ความเข้มข้นของโลหะเป็น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) นำไปทดสอบหาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน โดยการบันทึกค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ทำซ้ำทั้งหมด 7 ซ้ำ

- เตรียมสารละลายโลหะหนักทั้ง 14 ชนิด แต่เติมแอมโมเนีย-ไนโตรเจนให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ทำซ้ำทั้งหมด 7 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm)
- เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้ โดยใช้สถิติ ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

3.5.6. การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision) ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในห้องปฏิบัติการ

ความแม่นยำเป็นคุณลักษณะของวิธีที่แสดงความใกล้เคียงของผลการทดสอบต่อค่าจริงหรือค่าอ้างอิง ความเที่ยงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีที่แสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลการวิเคราะห์ซ้ำภายใต้สภาวะที่กำหนด

3.5.6.1. ขั้นตอนการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision)

- ทดสอบกับตัวอย่างน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว (มีค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเริ่มต้นในน้ำทิ้ง = 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ตรวจสอบได้โดยวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ) โดยเตรียมจากการเติมสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนลงไปในตัวอย่าง (spike sample) ดังนี้
- ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ปริมาตร 3.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ปิเปตตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น 2 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน
- เทลงในหลอดทำปฏิกิริยา ขนาด 20 มิลลิลิตร
- เติมน้ำที่ 1 จำนวน 6 หยด, สารที่ 2 จำนวน 6 หยดและสารที่ 3 จำนวน 6 หยด ตามลำดับ เขย่า 15-20 ครั้งให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 8 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์

- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) คำนวณหาความเข้มข้นแอมโมเนีย-ไนโตรเจน จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity) (ความเข้มข้นอย่างละ 10 ซี้า)
- นำข้อมูลที่ได้ ไปคำนวณความแม่นยำในรูปของเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) และความเที่ยงในรูปของ HORRAT

3.5.7. การใช้ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนทดสอบกับตัวอย่างน้ำทิ้งเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ

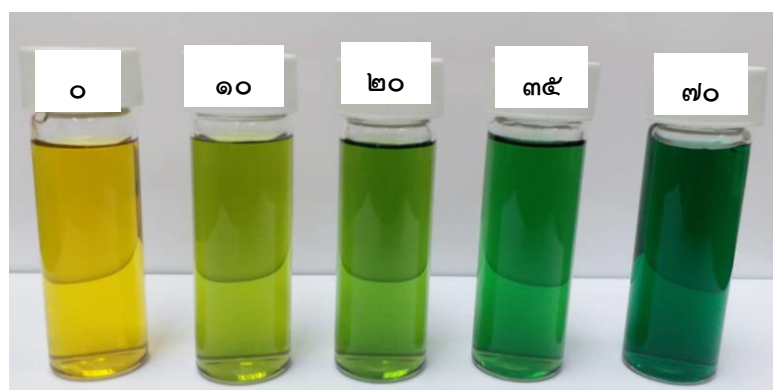
- นำตัวอย่างน้ำทิ้งจำนวน ๒๐๐ ตัวอย่าง มาวิเคราะห์หาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ด้วยวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ เทียบกับการใช้ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
- เปรียบเทียบข้อมูลของสองวิธี โดยใช้สถิติการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) ในการวิเคราะห์ข้อมูล

บทที่ 4

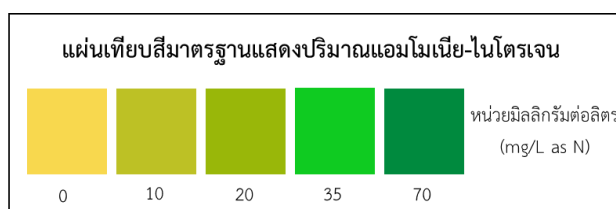
ผลการศึกษา

4.1. การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

เมื่อนำตัวอย่างสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ที่ระดับความเข้มข้น 0 10 20 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) หลังทำปฏิกิริยากับสารละลายทดสอบที่ 1 2 และ 3 สีของสารละลายที่เกิดขึ้นในภาพที่ 3 นำไปสร้างแผ่นเทียบสีมาตรฐาน ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 3 แสดงการเกิดสีของสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)



ภาพที่ 4 แผ่นเทียบสีมาตรฐานแสดงปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

4.2. ผลการทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

4.2.1. ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity) ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างแบล็งค์ (sample blank) ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ทำซ้ำ 10 ซ้ำ คำนวณหาค่าขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) ได้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ ตารางที่ 3

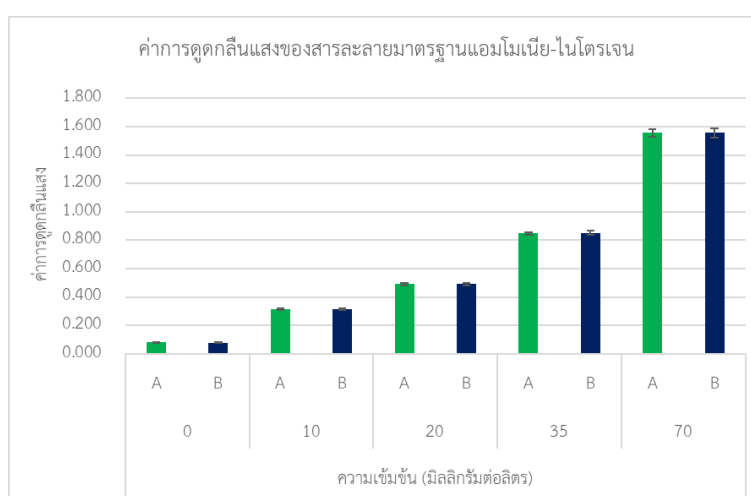
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาความไว (Sensitivity)

ค่าเฉลี่ยจำนวน 10 ซ้ำ ของความเข้มข้นแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในตัวอย่างแบลнк (sample blank) ที่วิเคราะห์ได้	0.66 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) ของตัวอย่างแบลнк (sample blank)	0.103
ขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) จากสูตร $LOD = \bar{x} + 3S$	$= 0.66 + (3 \times 0.103)$ $= 0.969$ ≈ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)
ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ) จากสูตร $LOQ = \bar{x} + 10S$	$= 0.66 + (10 \times 0.103)$ $= 1.69$ ≈ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากตารางที่ 3 ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงของความเข้มสีได้ คือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เป็นขีดจำกัดในการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ด้วยชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ คือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เป็นขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitation, LOQ)

4.2.2. ผลการวิเคราะห์ความเสถียร (Stability) ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

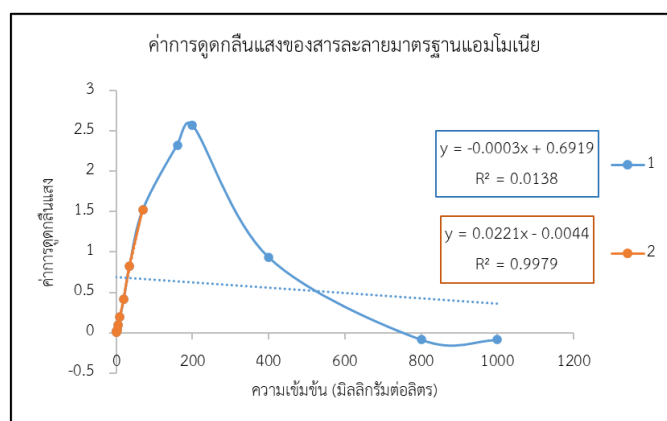
โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ



ภาพที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบแอมโมเนียเริ่มต้น (A) และระยะเวลา 12 เดือน (B)

จากภาพที่ 5 เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ t-test พบว่าค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นเมื่อเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงผ่านไประยะเวลา 12 เดือน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าสารละลายทดสอบมีความเสถียรเพียงพอในระยะเวลา 12 เดือน สำหรับการทดสอบปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

4.2.3. ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) โดยการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายทดสอบ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่า



ภาพที่ 6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายแอมโมเนียของการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง

จากภาพที่ 6 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ของสารละลายมาตรฐานแอมโมเนีย - ไนโตรเจนโดยใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) พบว่า ที่ความเข้มข้นมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (เส้นสีน้ำเงิน) ค่าการดูดกลืนแสงลดลงอย่างเห็นได้ชัด ทำให้ค่า R^2 ไม่เข้าใกล้ 1 ($R^2 = 0.0138$) ช่วงความเข้มข้น 0 จนถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) จึงไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ไม่เหมาะสมไปพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย - ไนโตรเจน

ความเข้มข้นที่ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เป็นต้นไป เมื่อสังเกตจากภาพที่ 4 พบว่า ค่าการดูดกลืนแสงลดลงอย่างเห็นได้ชัด เกิดมาจากปฏิกิริยาของแอมโมเนีย (NH_3) ที่มากเกินไปกับไนโตรปลัสไซด์ $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2+}$ ในสภาวะเบส ดังสมการที่ (1)

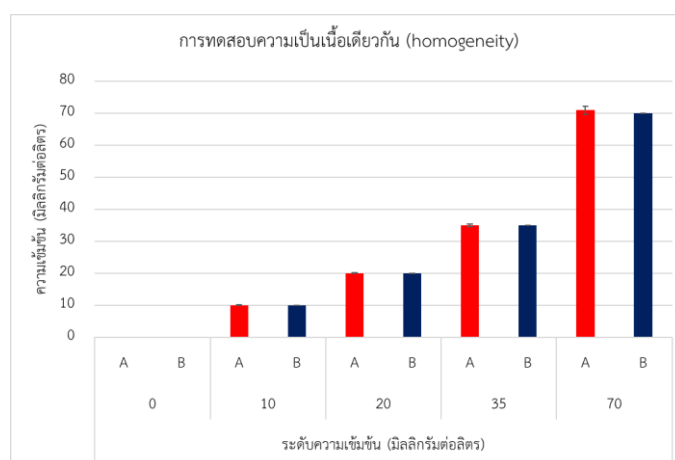


เพนตะไซยาโนอะมิโนเฟอเรตไอออน (Pentacyanoamminoferrate ion, $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NH}_3)]^{3+}$) ที่เกิดขึ้น ไม่สามารถไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปได้ ทำให้เกิดการฟอกจางสี ที่ได้จะจางลง ตามความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่สูงขึ้น ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 200

มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เป็นต้นไปด้วยชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน จะไม่สามารถตรวจวัดแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ระดับความเข้มข้นนี้ได้

ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (เส้นสีส้ม) ค่า R^2 เข้าใกล้ 1 ($R^2 = 0.9979$) ทำให้ช่วงความเข้มข้น 0 จนถึง 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ทำให้ช่วงของความเข้มข้นนี้ มีความเหมาะสมไปพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

4.2.4. ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ของสารละลายทดสอบ เทียบกับสารละลายมาตรฐาน โดยใช้สถิติ t-test พบว่า

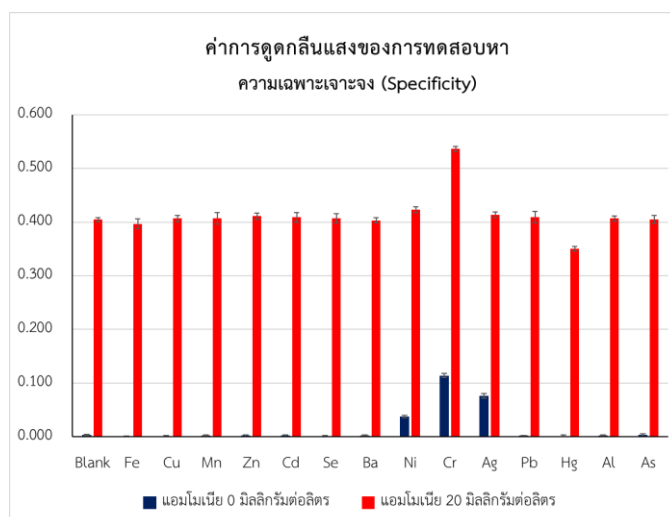


ภาพที่ 7 ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

ที่ได้จากวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ (A) และวิธีที่ได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (B)

จากภาพที่ 7 พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ (A) และวิธีที่ได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน (B) เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ t-test พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนนี้ มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

4.2.5. ผลการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)



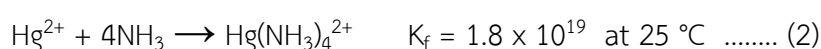
ภาพที่ 8 การทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

โดยใช้ไอออนของโลหะหนักเป็นตัวรบกวนการวิเคราะห์

จากภาพที่ 8 พบว่า ไอออนของโลหะหนักส่วนมากที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) (แอมโมเนีย-ไนโตรเจน = 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)) เมื่อนำไปทดสอบหาปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไม่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างแบลนด์ (blank sample) แต่มีไอออนของโลหะหนักบางชนิด เช่น นิกเกิล (Ni^{2+}) และโครเมียมไตรวาเลนต์ (Cr^{3+}) ไอออนของโลหะหนักชนิดนี้ในธรรมชาติมีสีเขียว โดยเฉพาะโครเมียมไตรวาเลนต์ (Cr^{3+}) ที่มีสีเขียวเข้ม สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร (nm) ได้ ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของนิกเกิล (Ni^{2+}) และโครเมียมไตรวาเลนต์ (Cr^{3+}) เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ในส่วนของเงิน (Ag) ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้น เกิดจากเงิน (Ag) ทำปฏิกิริยากับคลอไรด์ในสารเคมีทดสอบ เป็นสารประกอบเงิน (i) คลอไรด์ (AgCl) ที่เป็นตะกอนสารแขวนลอย ที่สามารถรบกวนการดูดกลืนแสง ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าความเป็นจริง

เมื่อเติมแอมโมเนีย-ไนโตรเจน เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ลงไปในไอออนของโลหะหนักชนิดต่างๆ พบว่า โครเมียมไตรวาเลนต์ (Cr^{3+}) ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าตัวอย่างแบลนด์ (blank sample) ที่เติมแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ซึ่งเกิดจากไอออนของโครเมียมไตรวาเลนต์ (Cr^{3+}) ที่มีสีเขียว ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น

ไอออนของปรอท (Hg^{2+}) เมื่อมีแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในระบบ ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง เกิดจากไอออนของปรอท (Hg^{2+}) ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนีย เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน ดังสมการที่ 2



เตตระเอมีนเมอร์คิวรี (ii) ไอออน ($\text{Hg}(\text{NH}_3)_4^{2+}$) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรสูง โดยดูจากค่าคงที่ของการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน (K_f) ค่า K_f ที่มาก แสดงว่าปฏิกิริยาดำเนินไปข้างหน้าได้ดี (เกิดผลิตภัณฑ์มาก)

ขึ้น ย้อนกลับเป็นสารตั้งต้นได้น้อย) แอมโมเนีย-ไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุลของสารเชิงซ้อนไม่สามารถหลุดออกมาเป็นไอออนแอมโมเนีย-ไนโตรเจนอิสระ ทำให้แอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่สามารถทำปฏิกิริยากับสารทดสอบในชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนมีความเข้มข้นลดลง ค่าการดูดกลืนแสงจึงลดลงอย่างเห็นได้ชัด

4.2.6. ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and Precision) ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้ง

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision)

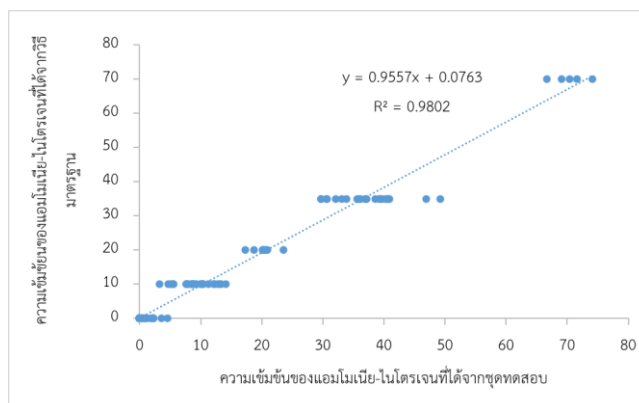
		ความเข้มข้นของสารมาตรฐานแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่เติมลงไปตัวอย่างน้ำทิ้ง (spike sample) (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))			
		10	20	35	70
ตัวอย่างน้ำทิ้งที่ผ่านการบำบัดแล้ว (NH ₃ -N = 0 mg/L)	ค่าเฉลี่ย (10 ซ้ำ) (mean)	10.78	20.80	33.92	67.92
	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	1.09	1.39	1.99	3.66
	%RSD	10.13	6.67	5.86	5.39
	%Recovery	93.44	96.78	92.79	94.98
	HorRat	1.37	1.00	0.94	0.96

จากตารางที่ 4 ความแม่นยำ (Accuracy) จะอธิบายในรูปของเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) กล่าวคือที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10 - 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) พบว่าได้เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) อยู่ที่ 80-120 % เป็นเกณฑ์ยอมรับได้ในช่วงความแม่นยำตามเกณฑ์ของ AOAC ส่วนความเที่ยง (Precision) จะอธิบายในรูปของ HorRat ตามเกณฑ์ของ AOAC จะยอมรับ HorRat ที่น้อยกว่า 2 ซึ่งชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเมื่อทดสอบกับน้ำทิ้งที่ความเข้มข้น 10 จนถึง 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) พบว่า ค่า HorRat ตลอดช่วงของความเข้มข้น 10 - 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) มีค่าน้อยกว่า 2 แสดงว่า ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน มีความเที่ยง (Precision) อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด

ดังนั้น ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน มีความแม่นยำและความเที่ยงที่ยอมรับได้ เหมาะสมที่นำไปทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในภาคสนาม

4.3. ผลการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้ง

4.3.1. ผลการวิเคราะห์ผลการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง จำนวน 200 ตัวอย่าง



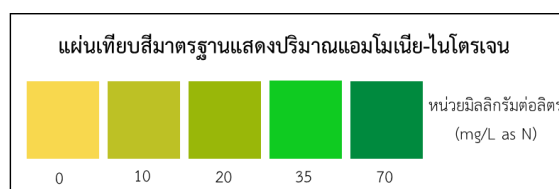
ภาพที่ 9 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจน
ด้วยวิธีมาตรฐานและชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

ผลการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง จำนวน 200 ตัวอย่าง เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยวิธีการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุดทดสอบ ไม่แตกต่างกับวิธีวิเคราะห์ทางมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ มีความถูกต้อง (Accuracy) 98.02 % (เกณฑ์ยอมรับต้องมากกว่า 85 %) ดังภาพที่ 9 ทำให้ชุดทดสอบแอมโมเนียที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้ได้ อย่างเหมาะสมในภาคสนามเพื่อเป็นการเฝ้าระวังค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมได้

4.4. การจัดเตรียมชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน



- 4.4.1. กล่องพลาสติกใสทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ประกอบด้วย 2 ส่วนคือตัวกล่องและฝากล่องที่เชื่อมติดกัน สามารถพับเปิดปิดฝาได้ มีขนาดกว้าง x ยาว x สูง = 13.5 x 16 x 12.5 เซนติเมตร มีความมุ่งหมายเพื่อใช้ใส่ขวดสารเคมี 1 จำนวน 1 ขวด ขวดสารเคมี 2 จำนวน 1 ขวด ขวดสารเคมี 3 จำนวน 1 ขวด ปีกเกอร์พลาสติกขนาด 100 มิลลิลิตรสำหรับใส่ตัวอย่างน้ำที่จะตรวจสอบ จำนวน 2 ใบ หลอดแก้วทำปฏิกิริยา 2 หลอด หลอดสำหรับเจือจางตัวอย่างขนาด 50 มิลลิลิตร ไซริงค์พลาสติกขนาด 3 มิลลิลิตร สำหรับดูดตัวอย่างเพื่อเจือจางจำนวน 2 หลอด แผ่นเทียบสีมาตรฐานแอมโมเนียและแผ่นคู่มือการใช้งานจำนวน 1 แผ่น ด้านหน้ากล่องติดสติ๊กเกอร์แสดงชื่อชุดตรวจสอบปริมาณแอมโมเนียในน้ำทิ้ง (อ 40) และด้านหลังติดสติ๊กเกอร์แสดงข้อแนะนำและข้อควรระวัง



- 4.4.2. แผ่นเทียบสีมาตรฐานตรวจสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน แสดงค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ตั้งแต่ 0 10 20 35 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) มีความมุ่งหมายเพื่อใช้เป็นสีมาตรฐานของการตรวจสอบแอมโมเนีย ไว้ใช้อ่านผลการตรวจสอบค่าแอมโมเนียของตัวอย่างน้ำที่นำมาตรวจสอบ



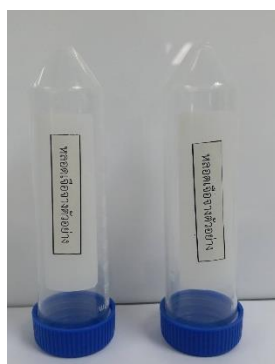
- 4.4.3. แผ่นกระดาษเคลือบพลาสติก บอกวิธีการใช้งานชุดตรวจสอบแอมโมเนีย ทั้ง 2 ด้าน



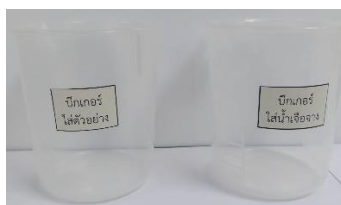
- 4.4.4. หลอดแก้วทำปฏิกิริยามีขีดที่กำหนดปริมาตร ขนาดบรรจุ 20 มิลลิลิตรจำนวน 2 ขวด เพื่อใช้ใส่ตัวอย่างน้ำทิ้งเพื่อตรวจสอบค่าแอมโมเนีย



- 4.4.5. ไส้ริงค์พลาสติกขนาด 3 มิลลิลิตรจำนวน 2 หลอด เพื่อใช้ดูดตัวอย่างน้ำมาเจือจางในหลอดเจือจางตัวอย่าง



- 4.4.6. หลอดพลาสติกสำหรับเจือจางตัวอย่าง แบบมีฝาปิด ขนาด 50 มิลลิลิตร มีขีดบอกปริมาตรแบบชัดเจน



- 4.4.7. บีกเกอร์พลาสติกขนาด 100 มิลลิลิตร มีขีดบอกปริมาตร สำหรับใส่น้ำเจือจางและใส่น้ำตัวอย่าง



- 4.4.8. ภาชนะบรรจุใส่สารเคมีทดสอบ ที่สามารถหยดสารเคมีทดสอบได้ จำนวน 3 ขวด บรรจุสารเคมี 1 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร สารเคมี 2 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร และสารเคมี 3 ปริมาตร 30 มิลลิลิตร เพื่อใช้เติมในตัวอย่าง เพื่อตรวจสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

ได้เป็นอุปกรณ์ชุดตรวจสอบปริมาณแอมโมเนียในน้ำทิ้ง ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนสำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดทดสอบ สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง ทำการวิจัยโดยใช้กรอบแนวคิดของนวัตกรรมการผลิตชุดทดสอบอย่างง่ายคือ เพื่อการเฝ้าระวังและคัดกรองตัวอย่างก่อนที่จะนำส่งห้องปฏิบัติการทดสอบ โดยชุดทดสอบอย่างง่าย ต้องมีความถูกต้องเที่ยงตรง ต้นทุนต่ำ อ่านผลการทดสอบได้รวดเร็ว ประชาชนทั่วไปสามารถใช้งานได้ง่าย การวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในน้ำทิ้ง โดยวิธีการเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method) โดยเลือกใช้วิธีซาลิไซเลต (salicylate method) โดยแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำ ทำปฏิกิริยากับไฮโปคลอไรต์และซาลิไซเลตในสภาวะที่เป็นด่างและมีโซเดียมไนโตรปรัสไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดสารละลายสีเขียว ผลการวิจัยสรุปได้ดังนี้

จากการวิจัย พบว่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำจะทำปฏิกิริยากับไฮโปคลอไรต์ไอออน ในสภาวะเบส เกิดเป็นโมโนคลอรามิน โมโนคลอรามินที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับโซเดียมซาลิไซเลต เปลี่ยนฟอรมุรูปเป็น 5-อะมิโนซาลิไซเลต 5-อะมิโนซาลิไซเลตที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยไนโตรปรัสไซด์ ทำให้สีของสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีเขียว ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ) 625 นาโนเมตร (nm) ความเข้มของสีขึ้นกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ละลายอยู่ในสารละลาย

ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนสามารถทดสอบปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนได้ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน เท่ากับ 0.9979 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้เท่ากับ 0.995 ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด และให้ความถูกต้อง 98.02 % เมื่อทดสอบกับตัวอย่างน้ำทิ้ง โดยเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ มีความไว (Sensitivity) ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ชุดทดสอบเปลี่ยนแปลงสีได้คือ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) มีความจำเพาะ (Specificity) กับแอมโมเนีย-ไนโตรเจน เมื่อไม่มีไอออนของโครเมียมและปรอท

ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนเมื่อนำไปทดสอบความเสถียร (Stability) พบว่าชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สามารถทดสอบได้ในระยะเวลา 12 เดือน นับจากวันที่ผลิต

อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้ง โดยใช้หลักการเกิดสีของสาร (Colorimetric Method) โดยดูจากความเข้มสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนของความเข้มข้นแอมโมเนีย พบว่าเมื่อมีความเข้มข้นของแอมโมเนียมากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ขึ้นไป จะได้ปฏิกิริยาสีเขียว นอกจากนี้ เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนด้วยวิธีชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนและวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธีกลั่นแอมโมเนียออกมาแล้วไทเทรต พบว่ามีค่า

ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตามหลักสถิติ สามารถนำชุดทดสอบนี้มาใช้ทดสอบตัวอย่างน้ำทิ้งเพื่อการเฝ้าระวังได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อพิจารณาต้นทุนในส่วนของวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีและระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบเทียบกับวิธีการไทเทรต พบว่า ชุดทดสอบ () ประหยัดค่าใช้จ่ายได้มากกว่า และให้ผลการทดสอบที่เร็วกว่า ดังนั้น ชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความเหมาะสม มีความถูกต้อง แม่นยำสูง ประหยัดงบประมาณและเวลารวมทั้งให้ผลทดสอบที่รวดเร็ว สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำรายการทดสอบปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง

ข้อเสนอแนะ

1. ข้อเสนอเชิงนโยบาย
 - หน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องควรนำชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไปใช้เป็นเครื่องมือสำหรับการเฝ้าระวังปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในน้ำทิ้งให้เป็นไปตามมาตรฐาน ซึ่งเป็น 1 ใน 3 องค์ประกอบของมาตรฐานเมืองสุขภาพดี
2. ข้อเสนอเชิงปฏิบัติการ
 - ควรนำชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ไปใช้เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำทิ้งจากโรงพยาบาล เทศบาลหรือน้ำทิ้งจากแหล่งอื่นๆ
 - ผู้ควบคุม/ผู้ดูแลระบบบำบัดน้ำเสีย สามารถนำชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนนี้ไปใช้ในการเฝ้าระวังปริมาณ แอมโมเนีย-ไนโตรเจน ในระบบบำบัดน้ำเสีย เพื่อให้เกิดการแก้ปัญหา และปรับปรุงคุณภาพน้ำเสียในระบบบำบัด ก่อนปล่อยน้ำทิ้งได้อย่างทันท่วงที
3. ข้อเสนอสำหรับงานวิจัยครั้งต่อไป
 - ควรพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนโดยใช้หลักการหรือเทคโนโลยีอื่นๆ เพื่อลดขั้นตอนในการเจือจางน้ำตัวอย่าง และอุปกรณ์ประกอบในการจัดชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
 - ควรพัฒนาชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจนให้มีความจำเพาะกับแอมโมเนียมากขึ้น ลดการรบกวนของไอออนของโลหะหนัก

เอกสารอ้างอิง

1. กรรณิการ์ สิริสิงห (2544). เคมีของน้ำ: น้ำโสโครกและการวิเคราะห์. กรุงเทพฯ: คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
2. กรมควบคุมมลพิษ (2563). ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง มาตรฐานการควบคุมการระบายน้ำทิ้งบางประเภทและบางขนาดลงวันที่ 7 พฤศจิกายน 2548 (ออนไลน์). สืบค้นจาก http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_water04.html (1 เมษายน 2563)
3. มั่นสินและไพพรรณ, 2539. การจัดการคุณภาพน้ำและการบำบัดน้ำเสียในบ่อเลี้ยงปลาและสัตว์น้ำอื่น ๆ เล่มที่ 1 การจัดการคุณภาพน้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
4. เทพวิฑูรย์ ทองศรี, ผลกระทบของไนโตรเจนต่อสิ่งแวดล้อม, วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ ปีที่ 60 ฉบับที่ 190
5. ทิพวรรณ นิงน้อย และวันทนีย์ ขำเลิศ, 2552. การตรวจความใช้ได้ของวิธี ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการตรวจความใช้ได้ของวิธี ระหว่างวันที่ 23-27 มีนาคม 2552 : กรมวิทยาศาสตร์บริการ.
6. ศุภมาส ด้านวิทยากุล. ชุดทดสอบ (ทางเคมี) ง่าย ๆ ทำงานอย่างไร.เทคโนโลยีวัสดุ. ฉบับที่ 74 (กรกฎาคม-กันยายน) 2557, หน้า 17-18
7. สมชาย สกุลอิสริยาภรณ์. 2540. การพัฒนารูปแบบการจัดการน้ำเสียโรงพยาบาลของกระทรวงสาธารณสุข (ออนไลน์). สืบค้นบทคัดย่อจาก http://advisor.anamai.moph.go.th/main.php?filename=JHealthVol20No3_06. วันที่ 1 เมษายน 2563
8. สุรพงษ์ ขาวสวนงาม และคณะ. การสะสมของแอมโมเนียทั้งหมด แอมโมเนียอิสระ และไนเตรทในบ่อเลี้ยงปลาระบบน้ำหมุนเวียน. วารสารวิศวกรรมฟาร์มและเทคโนโลยีการควบคุมอัตโนมัติ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น: ขอนแก่น; 2564
9. ศิริพร พรหมดี. 2555. การพัฒนาชุดทดสอบปริมาณแอมโมเนียและ ไนเตรทในน้ำภาคสนามสำหรับโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
10. อังสนา ฉั่วสุวรรณ และสังวาลย์ ราชธรรมมา. ผลกระทบของแอมโมเนียต่อสัตว์น้ำ. รายงานผลการวิจัย. กรมวิทยาศาสตร์บริการ: กรุงเทพฯ; 2549
11. American Public Health Association (APHA), 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water 23rd edition.
12. Dong Kim Loan et al. Quick Determination of Ammonia Ions in Water Environment Based on Thymol Color Creating Reaction, Environmental Sciences, Vol. 1, 2013, no. 2, 83 - 92
13. Hossam E.M. Sayour. Fabrication and Validation of Rapid Test for Monitoring Ammonium Water Quality. 2012.

ภาคผนวกที่ 1

เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำ

เกณฑ์มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาด

รายการทดสอบ	ค่ามาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งจากอาคารบางประเภทและบางขนาด		
	หน่วย	เกณฑ์กำหนดสูงสุดตามประเภทมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง	
		ก. (สถานพยาบาลขนาด 30 เตียง ขึ้นไป)	ข. (สถานพยาบาลขนาด 10 ถึง 30 เตียง)
1. ค่าความเป็นกรดและด่าง (Ph)	-	5 - 9	5 - 9
2. บีโอดี (BOD)	มก./ล.	ไม่เกิน 20	ไม่เกิน 30
3. ปริมาณของแข็ง (Solids)	-		
3.1 ค่าสารแขวนลอย (Suspended Solids)	มก./ล.	ไม่เกิน 30	ไม่เกิน 40
3.2 ค่าตะกอนหนัก (Settleable Solids)	มก./ล.	ไม่เกิน 0.5	ไม่เกิน 0.5
3.3 ค่าสารละลายทั้งหมด (Total Dissolved Solid)	มก./ล.	ไม่เกิน 500 *	ไม่เกิน 500 *
4. ซัลไฟด์ (Sulfide)	มก./ล.	ไม่เกิน 1.0	ไม่เกิน 1.0
5. ไนโตรเจน (Nitrogen) ในรูป ทีเคเอ็น (TKN)	มก./ล.	ไม่เกิน 35	ไม่เกิน 35
6. น้ำมันและไขมัน (Oil and Grease)	มก./ล.	ไม่เกิน 20	ไม่เกิน 20
7. ซีโอดี (COD)	มก./ล.	ไม่เกิน 120 **	ไม่เกิน 120 **
8. แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด (Total Coliform Bacteria)	MPN/100ml	ไม่เกิน 5,000 ***	ไม่เกิน 5,000 ***
9. แบคทีเรียกลุ่มฟิโคไลฟอร์ม (Fecal Coliform Bacteria)	MPN/100ml	ไม่เกิน 1,000 ***	ไม่เกิน 1,000 ***

แหล่งที่มา :

1. วิธีการตรวจสอบลักษณะน้ำทิ้งจากอาคารเป็นไปตามวิธีการมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์น้ำและน้ำเสียใน Standard Methods for Examination of Water and Wastewater ซึ่ง APHA : American Public Health Association, AWWA : American Water Works Association และ WPCF : Water Pollution Control Federation ร่วมกันกำหนดไว้
2. *เป็นค่าที่เพิ่มขึ้นจากปริมาณสารละลายในน้ำตามปกติ
3. ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุม การระบายน้ำทิ้งจากอาคาร บางประเภทและบางขนาด ลงวันที่ 7 พฤศจิกายน 2548 ประกาศในราชกิจจานุเบกษาเล่มที่ 122 ตอนที่ 125ง วันที่ 29 ธันวาคม 2548
4. ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เรื่อง กำหนดประเภทของอาคารเป็นแหล่งกำเนิดมลพิษที่ จะต้องถูกควบคุมการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะหรือออกสู่สิ่งแวดล้อม ลงวันที่ 7 พฤศจิกายน 2548 ประกาศในราชกิจจานุเบกษาเล่มที่ 122 ตอนที่ 125ง วันที่ 29 ธันวาคม 2548
5. **ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (พ.ศ.2539) เรื่อง กำหนดมาตรฐานควบคุม การระบายน้ำทิ้งจากแหล่งกำเนิดประเภทโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรม
6. ***ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริม และรักษาคุณภาพ สิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน (ประเภท ที่ 2) ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 111 ตอนที่ 16 ง ลงวันที่ 24 กุมภาพันธ์ 2537 (ภาคผนวก ณ)

ภาคผนวก 2

ผลการวิเคราะห์ความใช้ได้ในห้องปฏิบัติการ

1. ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity) ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ()

จำนวนซ้ำที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ความเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณของสมการเส้นตรง $y = 0.0221x - 0.0044$
1	0.010	0.65
2	0.007	0.52
3	0.014	0.83
4	0.010	0.65
5	0.008	0.56
6	0.013	0.79
7	0.012	0.74
8	0.008	0.56
9	0.009	0.61
10	0.010	0.65
ค่าเฉลี่ย	0.010	0.66
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.002	0.103

2. ผลการวิเคราะห์ความเสถียร (Stability)

ตารางที่ 6 แสดงผลวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสง เริ่มต้น (A) และค่าการดูดกลืนแสงเมื่อผ่านไประยะเวลา 12 เดือน (B)

จำนวน ซ้ำ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))									
	0		10		20		35		70	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0.084	0.075	0.315	0.322	0.500	0.498	0.850	0.880	1.570	1.510
2	0.081	0.083	0.321	0.318	0.500	0.480	0.850	0.840	1.580	1.520
3	0.075	0.082	0.304	0.316	0.500	0.470	0.860	0.860	1.560	1.540
4	0.076	0.080	0.311	0.310	0.500	0.489	0.860	0.840	1.560	1.540
5	0.082	0.074	0.316	0.312	0.490	0.480	0.840	0.850	1.570	1.550
6	0.080	0.076	0.322	0.319	0.490	0.490	0.850	0.860	1.520	1.610
7	0.080	0.079	0.319	0.312	0.490	0.500	0.830	0.860	1.580	1.560
8	0.076	0.080	0.311	0.321	0.490	0.500	0.860	0.840	1.580	1.560
9	0.082	0.079	0.322	0.325	0.480	0.496	0.840	0.870	1.510	1.620
10	0.080	0.080	0.309	0.311	0.480	0.500	0.840	0.830	1.530	1.550
ค่าเฉลี่ย	0.080	0.079	0.315	0.317	0.492	0.490	0.848	0.853	1.556	1.556
SD	0.0030	0.0029	0.0061	0.0052	0.0079	0.0105	0.0103	0.0157	0.0263	0.0350

3. ตารางผลการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity)

ตารางที่ 7 แสดงผลวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity)

ความเข้มข้น (mg/l)	ค่าการดูดกลืนแสง						ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6		
0	0.008	0.007	0.009	0.01	0.008	0.007	0.0082	0.0012
0.5	0.01	0.011	0.012	0.012	0.012	0.012	0.0115	0.0008
1	0.019	0.019	0.018	0.009	0.009	0.009	0.0138	0.0053
2	0.038	0.038	0.038	0.034	0.034	0.034	0.0360	0.0022
5	0.101	0.101	0.101	0.098	0.098	0.098	0.0995	0.0016
10	0.192	0.192	0.192	0.202	0.202	0.202	0.1970	0.0055
20	0.421	0.421	0.421	0.416	0.416	0.416	0.4185	0.0027
35	0.828	0.828	0.828	0.823	0.823	0.823	0.8255	0.0027
70	1.528	1.528	1.528	1.523	1.523	1.524	1.5257	0.0026
160	2.285	2.282	2.285	2.421	2.424	2.248	2.3242	0.0774
200	2.582	2.582	2.587	2.558	2.562	2.557	2.5713	0.0137
400	1.029	1.03	1.031	0.838	0.839	0.84	0.9345	0.1046
800	-0.08	-0.08	-0.08	-0.087	-0.087	-0.087	-0.0835	0.0038
1000	-0.086	-0.086	-0.087	-0.086	-0.087	-0.086	-0.0863	0.0005

4. ผลการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกัน

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกัน

เมื่อ A คือความเข้มข้นที่ได้จากวิธีมาตรฐาน B คือความเข้มข้นที่ได้จากชุดทดสอบ

ตัวอย่างที่	ระดับความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))									
	0		10		20		35		70	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	0	0	10.03	10	19.96	20	35.13	35	69.81	70
2	0	0	10.11	10	20.07	20	35.02	35	70.07	70
3	0	0	9.92	10	20.05	20	35.12	35	70.55	70
4	0	0	9.96	10	20.17	20	34.55	35	73.21	70
5	0	0	10.08	10	20.02	20	34.14	35	70.45	70
6	0	0	10	10	20.16	20	35.21	35	70.79	70
7	0	0	10.05	10	19.95	20	35.61	35	70.21	70
8	0	0	9.96	10	19.93	20	35.23	35	71.13	70
9	0	0	10.01	10	20.04	20	35.15	35	73.27	70
10	0	0	10.04	10	20.07	20	35.08	35	69.54	70
Mean	0	0	10.016	10	20.042	20	35.024	35	70.903	70
SD	0.000	0.000	0.058	0.000	0.082	0.000	0.404	0.000	1.314	0.000

5. ผลการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

ตารางที่ 9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของโลหะหนัก ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อไม่มีแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

ชนิดของโลหะ	ค่าดูดกลืนแสง								ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7	ค่าเฉลี่ย	
Blank	0.001	0.004	0.003	0.003	0.003	0.004	0.004	0.003	0.001
เหล็ก (Fe)	0.001	0.002	0.001	0.001	0.000	0.002	0.000	0.001	0.001
ทองแดง (Cu)	0.000	0.001	0.001	0.004	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
แมงกานีส (Mn)	0.003	0.003	0.001	0.002	0.002	0.003	0.004	0.003	0.001
สังกะสี (Zn)	0.000	0.002	0.001	0.004	0.002	0.003	0.003	0.002	0.001
แคดเมียม (Cd)	0.002	0.004	0.002	0.002	0.000	0.002	0.002	0.002	0.001
ซีลีเนียม (Se)	0.002	0.002	0.003	0.003	0.001	0.000	0.002	0.002	0.001
แบเรียม (Ba)	0.003	0.002	0.001	0.001	0.004	0.002	0.003	0.002	0.001
นิกเกิล (Ni)	0.036	0.036	0.036	0.041	0.039	0.038	0.037	0.038	0.002
โครเมียม (Cr)	0.112	0.112	0.112	0.116	0.121	0.115	0.110	0.114	0.004
เงิน (Ag)	0.074	0.073	0.073	0.075	0.082	0.083	0.076	0.077	0.004
ตะกั่ว (Pb)	0.001	0.003	0.003	0.001	0.003	0.002	0.001	0.002	0.001
ปรอท (Hg)	0.001	0.000	0.000	0.003	0.004	0.001	0.002	0.002	0.002
อลูมิเนียม (Al)	0.004	0.001	0.001	0.003	0.003	0.002	0.001	0.002	0.001
สารหนู (As)	0.003	0.007	0.007	0.003	0.002	0.001	0.001	0.003	0.003

ตารางที่ 10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของโลหะหนัก ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อมีแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

ชนิดของโลหะ	ค่าดูดกลืนแสง								ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 6	ครั้งที่ 7	ค่าเฉลี่ย	
Blank	0.409	0.409	0.408	0.400	0.402	0.403	0.401	0.405	0.004
เหล็ก (Fe)	0.391	0.391	0.391	0.415	0.397	0.390	0.401	0.397	0.009
ทองแดง (Cu)	0.404	0.403	0.403	0.410	0.416	0.410	0.400	0.407	0.006
แมงกานีส (Mn)	0.415	0.415	0.415	0.396	0.394	0.398	0.418	0.407	0.011
สังกะสี (Zn)	0.415	0.415	0.415	0.406	0.414	0.400	0.412	0.411	0.006
แคดเมียม (Cd)	0.412	0.412	0.412	0.418	0.399	0.394	0.416	0.409	0.009
ซีลีเนียม (Se)	0.413	0.413	0.413	0.391	0.398	0.408	0.412	0.407	0.009
แบเรียม (Ba)	0.407	0.407	0.407	0.407	0.397	0.395	0.403	0.403	0.005
นิกเกิล (Ni)	0.428	0.424	0.427	0.422	0.416	0.415	0.430	0.423	0.006
โครเมียม (Cr)	0.536	0.531	0.536	0.529	0.538	0.539	0.544	0.536	0.005
เงิน (Ag)	0.414	0.410	0.420	0.418	0.417	0.413	0.403	0.414	0.006
ตะกั่ว (Pb)	0.419	0.419	0.419	0.400	0.409	0.403	0.393	0.409	0.011
ปรอท (Hg)	0.354	0.352	0.354	0.341	0.352	0.348	0.350	0.350	0.005
อลูมิเนียม (Al)	0.407	0.407	0.407	0.397	0.407	0.409	0.412	0.407	0.005
สารหนู (As)	0.410	0.410	0.410	0.398	0.391	0.412	0.403	0.405	0.008

6. ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง ในทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision) ของชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ()

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในตัวอย่างน้ำทิ้ง

การทดสอบซ้ำที่	ความเข้มข้นที่ทดสอบได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))									
	reagent	sample	10		20		35		70	
	blank		ความเข้มข้นที่ทดสอบได้	% recovery	ความเข้มข้นที่ทดสอบได้	% recovery	ความเข้มข้นที่ทดสอบได้	% recovery	ความเข้มข้นที่ทดสอบได้	% recovery
1	0	1.50	12.30	108.00	21.23	98.65	33.20	90.57	65.23	91.04
2	0	1.30	11.56	102.60	22.65	106.75	36.71	101.17	69.64	97.63
3	0	2.00	9.97	79.70	19.84	89.20	34.26	92.17	64.50	89.29
4	0	1.70	10.23	85.30	19.30	88.00	33.67	91.34	68.60	95.57
5	0	1.80	10.82	90.20	22.30	102.50	32.98	89.09	72.36	100.80
6	0	1.10	11.23	101.30	21.08	99.90	35.12	97.20	74.21	104.44
7	0	1.00	10.94	99.40	19.69	93.45	31.10	86.00	70.12	98.74
8	0	1.00	8.97	79.70	18.71	88.55	31.60	87.43	64.40	90.57
9	0	1.60	9.62	80.20	22.42	104.10	33.27	90.49	63.38	88.26
10	0	1.40	12.20	108.00	20.74	96.70	37.24	102.40	66.80	93.43
ค่าเฉลี่ย	0	1.44	10.78	93.44	20.80	96.78	33.92	92.79	67.92	94.98
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน			1.09		1.39		1.99		3.66	
%RSD			10.13		6.67		5.86		5.39	
C			1.1E-05		2.1E-05		3.4E-05		6.8E-05	
1-0.5logC			3.5		3.3		3.2		3.1	
Predicted Horwitz RSD			7.4		6.7		6.2		5.6	
HORRAT			1.37		1.00		0.94		0.96	

7. ผลการวิเคราะห์แอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง จำนวน 200 ตัวอย่าง

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจนในน้ำทิ้ง จำนวน 200 ตัวอย่าง

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
1	ใส	13.51	10.21	10
2	ใส	1.81	0	0
3	ใส	0.95	0	0
4	ใส	0.34	0	0
5	ใส	0.65	0.3	0
6	เหลืองอ่อน	0	0	0
7	ใส	0	0	0
8	ใส	10.38	4.7	<10
9	ใส	2.3	0.7	0
10	ใส	2.65	0.5	0
11	ใส	1.97	0.4	0
12	ใส	24.53	12.1	10
13	ใส	1.59	0.3	0
14	ใส	7.9	2.2	0
15	ใส	1.71	0.9	0
16	เหลืองอ่อน	0.26	0	0
17	ใส	0.74	0	0
18	ใส	3.33	1.7	0
19	เหลืองอ่อน	0	0	0
20	ใส	0	0	0
21	เหลืองอ่อน	0	0	0
22	ใส	1.24	0	0

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
23	ใส	1.35	0	0
24	ใส	32.65	12.2	10
25	ใส	0.84	0	0
26	ใส	2.75	0.4	0
27	ใส	48.19	37.1	35
28	ใส	0	0	0
29	ใส	11.22	2.2	0
30	ใส	31.54	20.1	20
31	เหลืองอ่อน	0	0	0
32	เหลืองอ่อน	0	0	0
33	เหลือง	0	0	0
34	ใส	7.28	3.2	<10
35	ใส	0.58	0	0
36	ใส	0	0	0
37	ใส	0	0	0
38	ใส	1.24	0	0
39	ใส	1.24	0	0
40	ใส	0	0	0
41	ใส	0.28	0	0
42	ใส	0.19	0	0
43	ใส	7.94	5.1	<10
44	น้ำตาล	44.2	38.6	35
45	ใส	97.74	0.4	0
46	ใส	42.89	32.1	35

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
47	ใส	22.03	8.9	10
48	ใส	2.04	0	0
49	ใส	1.59	0	0
50	ใส	2.41	0	0
51	เหลืองอ่อน	7.16	5.4	<10
52	เหลืองอ่อน	47.66	40.7	35
53	ใส	41.7	39.2	35
54	ใส	0.54	0	0
55	ใส	1.59	0	0
56	ใส	1.92	0	0
57	ใส	20.77	14.1	10
58	เหลืองอ่อน	0.38	0	0
59	ใส	66.97	49.2	35
60	ใส	1.78	0	0
61	เหลืองอ่อน	3.59	0	0
62	ใส	0.26	0	0
63	เหลืองอ่อน	14.55	0	0
64	ใส	30.76	12.8	10
65	เหลืองอ่อน	39.07	5.6	<10
66	เหลืองอ่อน	2.88	0	0
67	เหลืองอ่อน	1.94	0	0
68	ใส	2.42	0	0
69	ใส	1.17	0	0
70	ใส	50.1	40.2	35

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
71	เหลืองอ่อน	10.23	0	0
72	ใส	38.09	18.7	20
73	ใส	29.22	9.9	10
74	เหลืองอ่อน	28.23	2.3	0
75	เหลืองอ่อน	4.09	0	0
76	เหลืองอ่อน	20.76	7.6	10
77	ใส	1.98	0	0
78	ใส	42.13	36	35
79	ใส	22.54	13.1	10
80	ใส	4.33	0	0
81	เหลืองอ่อน	14.29	2.3	0
82	เหลืองอ่อน	32.21	1.1	0
83	ใส	ND	0	0
84	ใส	53.4	46.9	35
85	ใส	18.83	0	0
86	ใส	3.9	0	0
87	เหลืองอ่อน	3.22	0	0
88	ใส	65.37	30.7	35
89	ใส	36.08	10.4	10
90	ใส	ND	0	0
91	ใส	77.2	71.6	70
92	เหลืองอ่อน	17.36	8.7	10
93	ใส	2.7	0	0
94	เหลืองอ่อน	9.88	0	0

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
95	เหลืองอ่อน	3.54	0	0
96	เหลืองอ่อน	53.32	17.3	20
97	เหลืองอ่อน	2.41	0	0
98	เหลืองอ่อน	12.76	0	0
99	เหลืองอ่อน	0.82	0	0
100	ใส	9.52	1.1	0
101	เหลืองอ่อน	9.65	0	0
102	ใส	28.16	4.6	0
103	เหลืองอ่อน	2.78	0	0
104	ใส	4.65	0	0
105	ใส	4.68	0	0
106	เหลืองอ่อน	29.46	3.6	0
107	ใส	63.07	39.7	35
108	ใส	9.38	0	0
109	ใส	3.33	0	0
110	ใส	1.83	0	0
111	ใส	2.01	0	0
112	ใส	43.85	29.7	35
113	เหลืองอ่อน	58.91	35.6	35
114	ใส	52.7	33.1	35
115	เหลืองอ่อน	12.67	10.4	10
116	ใส	4.06	0	0
117	ใส	6.65	0	0
118	ใส	84.76	69.1	70

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
119	ใส	15.99	0	0
120	ใส	1.48	0	0
121	ใส	18.18	7.7	10
122	เหลืองอ่อน	15.24	0	0
123	เหลืองอ่อน	29.85	23.5	20
124	เหลืองอ่อน	9.12	0	0
125	ใส	21.66	13.4	10
126	เหลืองอ่อน	1.62	0	0
127	เหลืองอ่อน	100.31	74.1	70
128	ใส	2.66	0	0
129	เหลืองอ่อน	1.31	0	0
130	เหลืองอ่อน	24.91	20.9	20
131	เหลืองอ่อน	2.66	0	0
132	เหลืองอ่อน	1.89	0	0
133	ใส	0.7	0	0
134	เหลืองอ่อน	3.91	0	0
135	ใส	2.98	0	0
136	ใส	2.3	0	0
137	เหลืองอ่อน	26.36	8.8	10
138	ใส	43.18	33.9	35
139	ใส	39.67	20.4	20
140	ใส	11	0	0
141	เหลืองอ่อน	36.04	29.7	35
142	ใส	ND	0	0

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
143	ใส	104.26	66.7	70
144	ใส	14.92	0	0
145	เหลืองอ่อน	1.85	0	0
146	เหลืองอ่อน	7.79	0	0
147	ใส	1.55	0	0
148	ใส	42.58	30.6	35
149	เหลืองอ่อน	31.47	20.1	20
150	เหลืองอ่อน	2.54	0	0
151	เหลืองอ่อน	36.94	9.3	10
152	เหลืองอ่อน	90.15	40.7	35
153	ใส	2.9	0	0
154	เหลืองอ่อน	19.23	8	10
155	ใส	2.41	0	0
156	เหลืองอ่อน	28.35	7.6	10
157	ใส	2.1	0	0
158	ใส	15.77	8.5	10
159	เหลืองอ่อน	4.02	0	0
160	เหลืองอ่อน	4.04	0	0
161	ใส	3.85	0	0
162	เหลืองอ่อน	23.89	0	0
163	ใส	8.96	0	0
164	ใส	0.65	0	0
165	ใส	7.75	0	0
166	เหลืองอ่อน	4.11	0	0

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
167	เหลืองอ่อน	4.39	0	0
168	ใส	98.1	40.9	35
169	เหลืองอ่อน	1.42	0	0
170	ใส	1.14	0	0
171	ใส	34.96	10.3	10
172	ใส	2.52	0	0
173	เหลืองอ่อน	1.97	0	0
174	เหลืองอ่อน	4.46	0	0
175	ใส	50.55	36.2	35
176	ใส	25.52	8.5	10
177	เหลืองอ่อน	2.78	0	0
178	เหลืองอ่อน	84.88	70.4	70
179	เหลืองอ่อน	14.05	0	0
180	ใส	2.5	0	0
181	ใส	0.14	0	0
182	ใส	ND	0	0
183	ใส	5.28	0	0
184	ใส	16.97	11.3	10
185	ใส	4.06	0	0
186	เหลืองอ่อน	2.43	0	0
187	เหลืองอ่อน	44.12	36.9	35
188	ใส	12.98	0	0
189	ใส	8.13	0	0
190	ใส	2.29	0	0

ลำดับที่	ข้อมูลของตัวอย่าง		ผลการทดสอบ (หน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	
	สีของตัวอย่างน้ำ	ปริมาณ TKN (มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน	ค่าแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่อ่านได้จากชุดทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน
191	เหลืองอ่อน	4.2	0	0
192	เหลืองอ่อน	76.88	39.4	35
193	ใส	15.09	0	0
194	เหลืองอ่อน	22.36	2.3	0
195	เหลืองอ่อน	ND	0	0
196	เหลืองอ่อน	0.1	0	0
197	ใส	1.89	0	0
198	เหลืองอ่อน	ND	0	0
199	เหลืองอ่อน	1.44	0	0
200	เหลืองอ่อน	39.8	20.7	20

ภาคผนวก 3

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ทางสถิติของการวิเคราะห์ความเสถียร (Stability)

1.1. การตั้งสมมติฐาน (ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0 : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

H_a : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

สมมติฐานทางสถิติ

H_0 : $A=B$

H_a : $A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	Variable 1	Variable 2
Mean	0.0796	0.0788
Variance	8.93333E-06	8.62222E-06
Observations	10	10
Pearson Correlation	-0.579837892	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	0.480384461	
P(T<=t) one-tail	0.321207569	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.642415138	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 11 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 11 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.2. การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0 : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

H_a : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

$H_0: A=B$

$H_a: A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	0.315	0.3166
Variance	3.77778E-05	2.716E-05
Observations	10	10
Pearson Correlation	0.381594956	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	-0.795155474	
P(T ≤ t) one-tail	0.223492545	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T ≤ t) two-tail	0.446985089	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 12 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 12 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.3. การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0 : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

H_a : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

$H_0: A=B$

$H_a: A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	Variable 1	Variable 2
Mean	0.492	0.4903
Variance	6.22222E-05	0.000111
Observations	10	10
Pearson Correlation	-0.529150802	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	0.332538769	
P(T<=t) one-tail	0.373548515	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.747097029	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 13 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 13 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.4. การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0 : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

H_a : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

$H_0: A=B$

$H_a: A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	0.848	0.853
Variance	0.000106667	0.000245556
Observations	10	10
Pearson Correlation	-0.164770511	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	-0.785135884	
P(T<=t) one-tail	0.226272772	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.452545544	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 14 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 14 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.5. การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0 : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

H_a : ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

$H_0: A=B$

$H_a: A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Mean	1.556	1.556
Variance	0.000693	0.001227
Observations	10	10
Pearson Correlation	-0.75422	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	0	
P(T<=t) one-tail	0.5	
t Critical one-tail	1.833113	
P(T<=t) two-tail	1	
t Critical two-tail	2.262157	

ภาพที่ 15 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 15 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 12 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ของความเป็นเส้นตรง (linearity)

SUMMARY OUTPUT								
Regression Statistics								
Multiple R	0.117605753							
R Square	0.013831113							
Adjusted R Square	-0.06834963							
Standard Error	0.933761802							
Observations	14							
ANOVA								
	df	SS	MS	F	Significance F			
Regression	1	0.146743641	0.146743641	0.168301149	0.688855789			
Residual	12	10.46293323	0.871911102					
Total	13	10.60967687						
	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95.0%	Upper 95.0%
Intercept	0.691935846	0.293871288	2.354554098	0.03641005	0.051645313	1.3322264	0.051645313	1.332226378
X Variable 1	-0.00032967	0.000803598	-0.41024523	0.688855789	-0.002080561	0.0014212	-0.002080561	0.001421217

ภาพที่ 16 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเส้นตรง (linearity)

ที่ความเข้มข้น 0-1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

SUMMARY OUTPUT								
Regression Statistics								
Multiple R	0.998956868							
R Square	0.997914823							
Adjusted R Square	0.997616941							
Standard Error	0.025260858							
Observations	9							
ANOVA								
	df	SS	MS	F	Significance F			
Regression	1	2.137690563	2.137690563	3350.029569	1.20583E-10			
Residual	7	0.004466777	0.000638111					
Total	8	2.14215734						
	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95.0%	Upper 95.0%
Intercept	-0.00435246	0.010394567	-0.418724164	0.687966292	-0.028931701	0.020226788	-0.0289317	0.020226788
X Variable 1	0.022124312	0.000382248	57.87943995	1.20583E-10	0.021220439	0.023028185	0.021220439	0.023028185

ภาพที่ 17 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเส้นตรง (linearity) ที่ความเข้มข้น 0-70 มิลลิกรัมต่อลิตร

(mg/L)

3. การวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

3.1. การตั้งสมมุติฐาน ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

H_0 : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

H_a : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานแตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

$H_0: A=B$

$H_a: A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	Variable 1	Variable 2
Mean	10.016	10
Variance	0.0034044	0
Observations	10	10
Pearson Correlation	#DIV/0!	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	0.8671552	
P(T<=t) one-tail	0.2041907	
t Critical one-tail	1.8331129	
P(T<=t) two-tail	0.4083815	
t Critical two-tail	2.2621572	

ภาพที่ 18 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 18 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.2. การตั้งสมมุติฐาน ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

H_0 : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

H_a : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานแตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

H_0 : $A=B$

H_a : $A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	Variable 1	Variable 2
Mean	20.042	20
Variance	0.006684	0
Observations	10	10
Pearson Correlation	#DIV/0!	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	1.624488	
P(T<=t) one-tail	0.069359	
t Critical one-tail	1.833113	
P(T<=t) two-tail	0.138718	
t Critical two-tail	2.262157	

ภาพที่ 19 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 19 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.3. การตั้งสมมุติฐาน ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

H_0 : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

H_a : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานแตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

H_0 : $A=B$

H_a : $A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	Variable 1	Variable 2
Mean	35.024	35
Variance	0.162893	0
Observations	10	10
Pearson Correlation	#DIV/0!	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	0.188044	
P(T<=t) one-tail	0.427507	
t Critical one-tail	1.833113	
P(T<=t) two-tail	0.855014	
t Critical two-tail	2.262157	

ภาพที่ 20 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 20 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 35 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน ไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.4. การตั้งสมมุติฐาน ที่ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

H_0 : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

H_a : ความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐานแตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด

H_0 : $A=B$

H_a : $A \neq B$

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means		
	Variable 1	Variable 2
Mean	70.903	70
Variance	1.72729	0
Observations	10	10
Pearson Correlation	#DIV/0!	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	2.172727	
P(T<=t) one-tail	0.028928	
t Critical one-tail	1.833113	
P(T<=t) two-tail	0.057856	
t Critical two-tail	2.262157	

ภาพที่ 21 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ที่ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 21 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 70 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) ของความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน ไม่แตกต่างกับความเข้มข้นของแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีชุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. การวิเคราะห์ทางสถิติผลการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยใช้ Oneway-ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan Test

4.1. การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าดูดกลืนแสงของโลหะ 14 ชนิด เมื่อไม่มีแอมโมเนีย-ไนโตรเจน

Oneway

ANOVA

value

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.112	14	.008	2143.210	.000
Within Groups	.000	90	.000		
Total	.113	104			

value

Duncan^a

metal	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
เหล็ก	7	.00100			
ทองแดง	7	.00129			
ปรอท	7	.00157			
ซิลิเนียม	7	.00186			
ตะกั่ว	7	.00200			
แคดเมียม	7	.00200			
สังกะสี	7	.00214			
อคูมิเนียม	7	.00214			
แบเรียม	7	.00229			
แมงกานีส	7	.00257			
blank	7	.00314			
สารหนู	7	.00343			
นิกเกิล	7		.03757		
เงิน	7			.07657	
โครเมียม	7				.11400
Sig.		.053	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

4.2. การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าดูดกลืนแสงของโลหะ 14 ชนิด เมื่อมีแอมโมเนีย-ไนโตรเจนความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

Oneway

ANOVA

value

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.139	14	.010	193.376	.000
Within Groups	.005	90	.000		
Total	.144	104			

value

Duncan^a

metal	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
ปรอท	7	.35014					
เหล็ก	7		.39657				
แบเรียม	7		.40329	.40329			
blank	7		.40457	.40457	.40457		
สารหนู	7			.40486	.40486		
อลูมิเนียม	7			.40657	.40657		
ทองแดง	7			.40657	.40657		
ซิลิเนียม	7			.40686	.40686		
แมงกานีส	7			.40729	.40729		
ตะกั่ว	7			.40886	.40886		
แคดเมียม	7			.40900	.40900		
สังกะสี	7			.41100	.41100		
เงิน	7				.41357		
นิกเกิล	7					.42314	
โครเมียม	7						.53614
Sig.		1.000	.050	.095	.050	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

5. การเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้นแอมโมเนีย-ไนโตรเจนที่ได้จากวิธีมาตรฐาน และวิธีชุดทดสอบ
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0.990061368							
R Square	0.980221512							
Adjusted R	0.980121621							
Standard E	2.12810344							
Observatio	200							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	44440.7928	44440.79	9812.876	1.2036E-170			
Residual	198	896.7072016	4.528824					
Total	199	45337.5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95.0%</i>	<i>Upper 95.0%</i>
Intercept	0.076273083	0.169248399	0.450658	0.652729	-0.257487719	0.410033884	-0.257487719	0.410033884
X Variable	0.955745315	0.009648149	99.05996	1.2E-170	0.936718996	0.974771633	0.936718996	0.974771633

ภาพที่ 22 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ Regression ของการทดสอบเปรียบเทียบวิธีมาตรฐานและวิธีชุด
ทดสอบแอมโมเนีย-ไนโตรเจน