กรมอนามัย

การพัฒนาชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค

นางสาวประไพ บัวไข

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับ ปฏิบัติการ
ตำแหน่งเลขที่ 2178
กลุ่มงานเคมี-กายภาพ
ส่วนราชการ กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย
กรมอนามัย

เพื่อแต่งตั้งให้ดำรง

ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับ ชำนาญการ
ตำแหน่งเลขที่ 2178
กลุ่มงานเคมี-กายภาพ
ส่วนราชการ กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย
กรมอนามัย

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค ที่มีวิธีการใช้งานที่ง่าย ไม่ซับซ้อน รวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ และมีความเฉพาะเจาะจงสำหรับตรวจหาปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำบริโภค ชุดทดสอบนี้อาศัยหลักการเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method) โดยไนเตรทในตัวอย่างน้ำทำปฏิกิริยากับซิงค์และกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) ในสภาวะที่เป็นกรด เกิดเป็นเกลือไดอะโซเนียมที่ไม่เสถียร จากนั้นเกลือไดอะโซเนียมจะทำปฏิกิริยากับกรดโครมาโทรพิค (Chromotropic acid) เกิดสารละลายสีแดงส้ม ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ความเข้มของสีที่ปรากฏขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของปริมาณไนเตรทในตัวอย่าง

การศึกษาความใช้ได้ของชุดทดสอบไนเตรท พบว่าช่วงความเข้มข้นของไนเตรทที่เหมาะสมที่ชุดทดสอบสามารถตรวจหาได้ คือ 0 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เข้าใกล้ 1 (r = 0.995) และสามารถมองเห็นความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงสีได้ด้วยตาเปล่า มีความไว (Sensitivity) โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ชุดทดสอบเปลี่ยนแปลงสีได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (LOQ) คือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ของสารทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยอธิบายในรูปของ HorRat อยู่ระหว่าง 0.34 ถึง 0.78 (เกณฑ์ยอมรับค่า HorRat น้อยกว่า 2) มีค่าความถูกต้องแม่นยำ (Accuracy) ที่ระดับความเข้มข้นของไนเตรท 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) อยู่ระหว่าง 93.19 ถึง 105.90 (เกณฑ์ยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 80-110%) มีค่าความเที่ยง (Precision) โดยอธิบายในรูปของ HorRat อยู่ระหว่าง 0.22 ถึง 0.37 (เกณฑ์ยอมรับค่า HorRat น้อยกว่า 2) มีความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้สถิติ ANOVA เมื่อมีตัวรบกวน พบว่าให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีความเสถียร (Stability) โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารทดสอบในระยะเวลา 10 เดือนนับจากการผลิต

เมื่อนำชุดทดสอบไนเตรททดสอบกับน้ำบริโภค พบว่ามีความถูกต้องถึง 96.6 % เทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธีการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) แสดงว่าชุดทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภคนี้ สามารถนำไปใช้เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภคในพื้นที่ต่างๆ ได้ และช่วงการใช้งานครอบคลุมตามเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้กรมอนามัย ปี 2563 ซึ่งกำหนดไนเตรทไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

คำสำคัญ : ชุดทดสอบ, ไนเตรท, วิธีการเปรียบเทียบความเข้มของสี,น้ำบริโภค

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยนี้บรรลุผลสำเร็จไปด้วยดี เพราะได้รับความอนุเคราะห์และสนับสนุนเป็นอย่างดียิ่งจากบุคลากรหลายท่าน ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ ดังนี้

ขอขอบคุณทีมงานกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ในการทำงาน ตลอดจนให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่สำหรับใช้ในการดำเนินงานวิจัย จนทำให้เอกสารงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณบุคลากรกรมอนามัย ผู้มีความรู้ความเชี่ยวชาญที่ให้ความรู้ในเทคนิคเฉพาะด้านและแง่คิดใหม่ๆ ในการดำเนินงานวิจัย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้ คงเป็นประโยชน์สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องและผู้ที่สนใจศึกษาต่อไป

ประไพ บัวไข

สารบัญ

สารบัญ

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการใช้ปุ๋ยและสารเคมีในภาคการเกษตรปริมาณมาก ซึ่งไนโตรเจนถือเป็นแร่ธาตุหลักที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในปุ๋ยและจำเป็นอย่างมากสำหรับการเจริญของพืช ไนโตรเจนเป็นกลุ่มสารอาหารประเภทอนินทรีย์ การเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมตามวัฏจักรไนโตรเจนมีความสำคัญต่อสิ่งแวดล้อม เพราะหากมีสารประกอบไนโตรเจนที่มากเกินไป อาจทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ โดยปริมาณไนเตรทในแหล่งน้ำเกิดจากการเน่าเปื่อยของซากพืชซากสัตว์ สารอินทรีย์ ปุ๋ย และสารเคมีจากภาคการเกษตร โดยแบคทีเรียจะย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจนที่ปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (NH_3) จากนั้นเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ (NO_2^-) และสุดท้ายเปลี่ยนเป็นไนเตรท (NO_3^-) ซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำจึงไหลซึมผ่านการกรองของชั้นดินลงสู่ใต้ดินและสู่แหล่งน้ำบาดาล ทำให้ความเข้มข้นของไนเตรทในน้ำผิวดินและน้ำใต้ดินเพิ่มมากขึ้นได้ ดังนั้นการเน่าเปื่อยของสารอินทรีย์และปุ๋ยจึงถือเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำได้ มีผลการศึกษาวิจัยจากต่างประเทศยืนยันชัดเจนว่าไนเตรทมีผลระทบต่อสุขภาพของเด็กทารกที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมในเชิงอุตสาหกรรมที่มีการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำชุมชนปริมาณสูง จะเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงทางสุขภาพสูงสุด โดยพิษของไนเตรทจะทำให้เด็กเกิดโรค "Blue-baby syndrome" หรือ “methemoglobinemia” และมักเกิดในเด็กทารกอายุต่ำกว่า 3 เดือน ซึ่งอาการของ Blue-baby syndrome เกิดจากแบคทีเรียในลำไส้เปลี่ยนรูปไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนฮีโมโกลบินให้เป็นเมทฮีโมโกลบิน (methemoglobin) ทำให้ความสามารถในการพาออกซิเจนไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายลดลง พบว่าถ้าร่างกายมี Methemoglobin มากกว่า 10% ของ Hemoglobin ทั้งหมดจะเกิดอาการ Methemoglobinemia[1] ไม่สามารถนำพาออกซิเจนไปใช้ได้ ทำให้เกิดอาการตัวเขียว (Cyanosis) ถ้าอาการมากขึ้น จะส่งผลให้เกิดอาการขาดออกซิเจน (Asphyxia) อาการนี้เป็นอันตรายมากหากเกิดในเด็ก สตรีมีครรภ์ ผู้ที่มีภาวะซีดหรือมีปัญหาโรคเลือด สำหรับผู้ใหญ่หากดื่มน้ำที่มีไนเตรทปนเปื้อนปริมาณน้อยเป็นระยะเวลานาน จะเกิดพิษเรื้อรังมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งทางเดินอาหาร มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด NHL มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งรังไข่ เป็นต้น และเมื่อรับประทานอาหารที่มีไนเตรทสะสมในปริมาณสูง เช่น สัตว์น้ำหรือผัก พิษที่ตกค้างจะทำให้เกิดภาวะทางประสาท สูญเสียความทรงจำ เป็นอัมพาตหรือท้องร่วงได้

ความปลอดภัยด้านอาหารและน้ำจึงถือว่ามีความสำคัญอย่างมากต่อประชาชน ดังนั้นเพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค หน่วยงานที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำประเภทต่างๆ ในประเทศไทย จึงได้มีการกำหนดเกณฑ์มาตรฐานของปริมาณไนเตรทในน้ำประเภทต่างๆ เช่น เกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้กรมอนามัย พ.ศ. 2563 กำหนดปริมาณไนเตรท (NO^-_3) ไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เกณฑ์น้ำดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทกำหนดไนเตรท ในรูปของไนเตรท ไนโตรเจน (NO^-_3-N) ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำบาดาลที่ใช้บริโภค กำหนดให้มีไนเตรท (NO^-_3) ไม่เกิน 45 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน กำหนดให้มีไนเตรท ในรูปของไนเตรท ไนโตรเจน (NO^-_3-N) ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนียในรูปของแอมโมเนีย ไนโตรเจน (NH_3-N) ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสถานการณ์คุณภาพน้ำบริโภคในครัวเรือน ปี 2565 ที่ตรวจพบปนเปื้อนด้านเคมีที่ต้องเฝ้าระวังเป็นพิเศษ ได้แก่ เหล็ก ความกระด้าง ฟลูออไรด์ แมงกานีส สารหนู คลอไรด์ และไนเตรท ตามลำดับ[2] ซึ่งสอดคล้องสถานการณ์คุณภาพน้ำบริโภครายการไนเตรท จากการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

โดยเทียบกับเกณฑ์คุณภาพน้ำบริโภคกรมอนามัย พ.ศ. 2563 ของจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศย้อนหลัง 3 ปีงบประมาณ (ปีงบประมาณ 2563-2565) พบว่า ปริมาณไนเตรทมีแนวโน้มเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดในหลายจังหวัด เช่น แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เชียงราย ตาก ลำปาง แพร่ สุพรรณบุรี สระบุรี ชลบุรี สมุทรสาคร ลำพูน และสุราษฎร์ธานี เป็นต้น ซึ่งในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในน้ำโดยวิธีมาตรฐานต้องใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์และต้องดำเนินการในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ที่ได้มาตรฐาน มีความน่าเชื่อถือ ใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีชั้นสูง ที่มีราคาแพง และใช้บุคลากรที่มีความรู้ความสามารถทางด้านวิทยาศาสตร์เฉพาะทางเป็นผู้ตรวจวิเคราะห์ จากข้อจำกัดของการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีมาตรฐานดังกล่าว อาจทำให้การเฝ้าระวังคุณภาพน้ำไม่ทันต่อสถานการณ์ ดังนั้นเพื่อเป็นการสนับสนุนให้ภาคีเครือข่ายทุกภาคส่วน ชุมชนและประชาชนในพื้นที่ มีส่วนร่วมเฝ้าระวังคุณภาพน้ำที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนทุกกลุ่มวัย กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัยจึงดำเนินการศึกษาและพัฒนานวัตกรรมเพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค (รายการชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค) ที่ง่ายต่อการใช้งาน เพื่อใช้เฝ้าระวังปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค อีกทั้งยังช่วยให้ผู้เกี่ยวข้องใช้เป็นเครื่องมือในการช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำได้อย่างทันท่วงที

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคภาคสนามอย่างง่าย ใช้ทดสอบหาปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค ณ จุดเก็บตัวอย่างในเวลานั้น

1.3 เป้าหมายและตัวชี้วัดความสำเร็จ

ได้ชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค ที่มีความถูกต้องและแม่นยำ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 85

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคอย่างง่าย ที่มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน รวดเร็ว เที่ยงตรงและแม่นยำ โดยภาคีเครือข่ายทุกภาคส่วน ชุมชนและประชาชนในพื้นที่สามารถนำชุดทดสอบคุณภาพน้ำบริโภคอย่างง่ายนี้ไปใช้ติดตามตรวจสอบและเฝ้าระวังคุณภาพน้ำที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนทุกกลุ่มวัยได้

1.5 คำศัพท์และนิยาม

ชุดทดสอบ หมายถึง ชุดทดสอบที่ใช้สำหรับทดสอบตัวอย่าง ที่ใช้เวลาไม่นานและสามารถทำได้ง่าย เพื่อให้ทราบผลอย่างรวดเร็วในเบื้องต้น ก่อนจะนำไปทดสอบอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือและขั้นตอนที่มีแม่นยำสูงในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ผลถูกต้องมากขึ้น โดยทั่วไปชุดทดสอบอย่างง่ายจะถูกออกแบบมาเพื่อให้ใช้งานง่าย เห็นผลลัพธ์ในเวลาไม่นาน ไม่จำเป็นต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการทดสอบ

ไนเตรท หมายถึง สารประกอบชนิดหนึ่งที่มีสูตรทางเคมี คือ NO_3^- มีมวลโมเลกุล 62 กรัมต่อโมล นิยมใช้ทำปุ๋ยไนโตรเจน ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่สำคัญในพืช

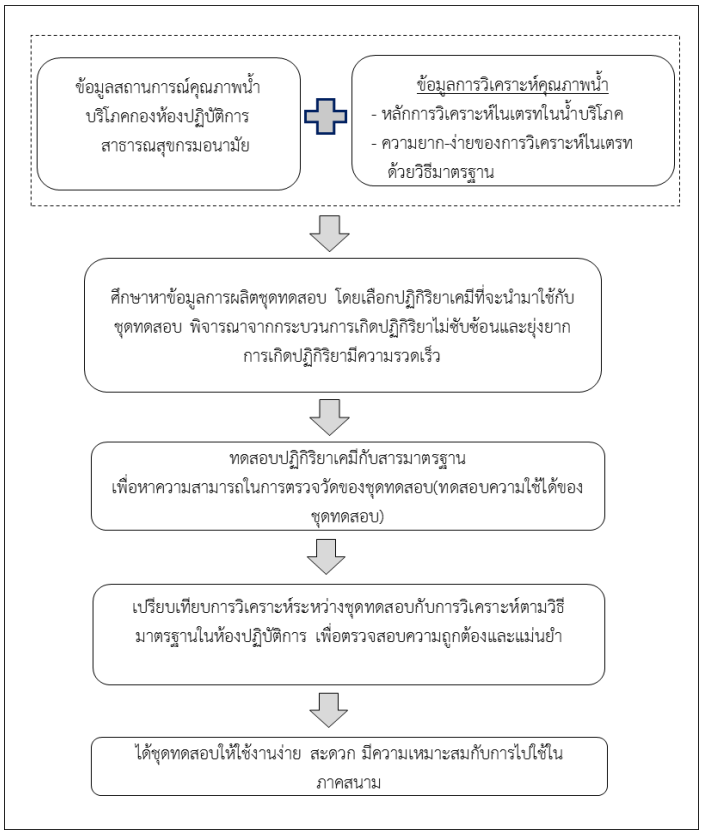
วิธีการเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method) หมายถึง วิธีกำหนดความเข้มข้นขององค์ประกอบทางเคมีหรือสารประกอบทางเคมีในสารละลายโดยใช้รีเอเจนต์ที่ทำปฏิกิริยาแล้วให้สี ใช้ได้กับทั้งสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบอนินทรีย์

น้ำบริโภค หมายถึง น้ำที่ใช้ดื่ม รวมทั้งน้ำที่ใช้ทำอาหารและเครื่องดื่ม น้ำประปา น้ำบ่อบาดาล น้ำบ่อตื้น น้ำฝน และน้ำดื่มบรรจุขวด

1.6 กรอบแนวคิดงานวิจัย

จากการรวบรวมผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำบริโภค ซึ่งตรวจวิเคราะห์และทดสอบโดยห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย ตามเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย พ.ศ. 2563 พบว่าปริมาณไนเตรทมีแนวโน้มเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด ดังนั้นเพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภคในรายการทดสอบดังกล่าว จึงดำเนินการพัฒนาชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคที่สามารถตรวจสอบปริมาณไนเตรทได้ในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้หลักการเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method) โดยไนเตรทในตัวอย่างน้ำทำปฏิกิริยากับซิงค์และกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) ในสภาวะที่เป็นกรด เกิดเป็นเกลือไดอะโซเนียมที่ไม่เสถียร จากนั้นเกลือไดอะโซเนียมจะทำปฏิกิริยากับกรดโครมาโทรพิค (Chromotropic acid) เกิดสารละลายสีแดงส้ม ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ความเข้มของสีที่ปรากฏขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไนเตรทที่ละลายอยู่ในตัวอย่างน้ำ

ชุดทดสอบอย่างง่าย (test kit) มักใช้เพื่อทดสอบเบื้องต้นสำหรับคัดกรองตัวอย่าง ก่อนที่จะนำไปทดสอบอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือที่มีความเที่ยงตรงและแม่นยำสูงในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ถูกต้องมากขึ้น ชุดทดสอบอย่างง่ายมีข้อดีหลายอย่าง คือ การทดสอบทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน และไม่ต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการลงมือทดสอบ ที่สำคัญคือต้นทุนต่ำ และผลการทดสอบน่าเชื่อถือ หลักการของชุดทดสอบอย่างง่ายส่วนใหญ่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารเป้าหมายที่สนใจกับสารทดสอบที่มีความไวและจำเพาะต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารเป้าหมาย เมื่อสารทดสอบทำปฏิกิริยากับสารเป้าหมายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มองเห็นด้วยตาเปล่า เช่น สีเปลี่ยนไปจากเดิม หรือการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแสง เช่น เกิดการเรืองแสง หรือเกิดสารประกอบตัวใหม่หลังเกิดปฏิกิริยาเคมี หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าทางไฟฟ้า นอกจากนี้อาจมีการประกอบวงจรอย่างง่ายเข้าไปด้วยสำหรับแปลผลให้เป็นตัวเลขที่อ่านค่าได้โดยสะดวก ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดงานวิจัยพัฒนาชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ครอบคลุมหัวข้อเอกสารงานวิชาการ เพื่อเป็นพื้นฐานสำหรับการศึกษา ดังต่อไปนี้

2.1 น้ำบริโภค และประเภทของน้ำบริโภค

2.2 กระบวนการผลิตน้ำบริโภค

2.3 การปนเปื้อนทางชีวภาพ ทางเคมีในน้ำ และผลกระทบต่อสุขภาพ

2.4 ไนเตรท (NO_3^-) ในแหล่งน้ำ และผลกระทบต่อสุขภาพ

2.5 คุณภาพน้ำบริโภค

2.6 มาตรฐานไนเตรท ตามเกณฑ์คุณภาพน้ำบริโภค

2.7 การเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค

2.8 การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทด้วยวิธีมาตรฐาน (Determination of Nitrate for Potable water)

2.9 ชุดทดสอบอย่างง่าย (test kit)

2.10 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

2.11 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำบริโภค และประเภทของน้ำบริโภค

น้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญในการดำรงชีวิตของมนุษย์ การบริโภคและอุปโภคน้ำย่อมส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีการดำเนินการควบคุมให้เป็นไปตามมาตรฐานหรือเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนด เพื่อให้ประชาชนที่สะอาดและปลอดภัย

2.1.1 น้ำบริโภค หมายถึง น้ำที่ใช้ดื่ม รวมทั้งน้ำที่ใช้ทำอาหารและเครื่องดื่ม[3] น้ำประปา น้ำบ่อบาดาล น้ำบ่อตื้น น้ำฝน และน้ำดื่มบรรจุขวด[4]

2.1.2 ประเภทน้ำบริโภค [4]

1) น้ำประปา เป็นน้ำที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพโดยผ่านขั้นตอนการตกตะกอนการกรอง การฆ่าเชื้อโรค และการสูบจ่ายไปยังผู้บริโภคผ่านเส้นท่อ
2) น้ำบ่อบาดาล น้ำบ่อตื้น เป็นน้ำที่ได้จากแหล่งน้ำใต้ดิน
3) น้ำฝน เป็นน้ำที่ตกลงมาจากบรรยากาศและผู้บริโภครองรับไว้ในภาชนะที่สะอาด
4) น้ำดื่มบรรจุขวด เป็นน้ำดื่มที่ผลิตขึ้นด้วยวิธีต่างๆ เช่น การกรอง การฆ่าเชื้อ และบรรจุจำหน่าย โดยได้การรับรองมาตรฐาน

2.2 กระบวนการผลิตน้ำบริโภค [5]

2.2.1 การปรับปรุงคุณภาพน้ำ คือการทำให้น้ำมีคุณสมบัติเหมาะแก่การดื่มและใช้ ปราศจากการปนเปื้อนทางฟิสิกส์ เคมี และจุลินทรีย์ หากมีการปนเปื้อนในน้ำเกินมาตรฐานของน้ำบริโภคต้องการปรับปรุงคุณภาพน้ำ มีหลายวิธี ได้แก่ การต้ม การตกตะกอน การใช้เคมี เช่น การเติมคลอรีน การเติมโอโซน เป็นต้น

2.2.2 การกรองน้ำ เป็นการกำจัดหรือช่วยลดสิ่งแปลกปลอมเชื้อจุลินทรีย์ หรือสารเคมีที่ปนมากับน้ำ โดยสิ่งปนเปื้อนจะถูกแยกออกตามชนิดของสารแขวนลอยสารกรอง

1) สารกรอง เช่น สารกรองเรซิน (Resin) ทำหน้าที่กำจัดความกระด้างของน้ำที่เกิดจากสารประกอบของแคลเซียม แมกนีเซียม และอิออนบวกอื่นๆ ที่มีอยู่ในน้ำ สารกรองแอนทราไซต์ (Anthracite filter) ใช้กรองความขุ่น ตะกอน สารแขวนลอยในน้ำ และสารแขวนลอยที่เจือปนธาตุเหล็ก แมงกานีส เป็นต้น

2) กระบวนการฆ่าเชื้อในน้ำ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 กระบวนการฆ่าเชื้อในน้ำ

กระบวนการ	ชนิดจุลินทรีย์	หมายเหตุ
การกรอง (Filtration): Microfiltration, Ultrafiltration, Nanofiltration, Reverse osmosis	ไวรัส แบคทีเรีย โปรโตซัว	ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับขนาดรูพรุนหรือความละเอียดของตัวกรองที่ใช้
การใช้คลอรีน (Chlorine)	ไวรัส แบคทีเรีย โปรโตซัว	ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ใช้ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันมานานและเป็นที่นิยมมีประสิทธิภาพกับน้ำที่มีความขุ่นไม่เกิน 5 NTU
การใช้โอโซน (Ozone)	ไวรัส แบคทีเรีย โปรโตซัว	ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นและเวลาที่ใช้โดยทั่วไปไวรัสจะทนต่อโอโซนได้ดีกว่าแบคทีเรีย
การใช้แสงยูวี (UV)	ไวรัส แบคทีเรีย โปรโตซัว	ประสิทธิภาพการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับความเข้มแสง เวลาที่ใช้และความยาวของหลอดยูวีมีประสิทธิภาพกับน้ำที่มีความขุ่นไม่เกิน 5 NTU

ที่มา: คู่มือมาตรฐานน้ำดื่มประเทศไทย สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2562

2.2.3 ระบบเครื่องกรองน้ำ

1) เครื่องกรองน้ำระบบ RO (reverse osmosis) การใช้แรงดันให้น้ำผ่านเยื่อเมมเบรนที่มีคุณภาพสูง (Thin film composite) ซึ่งเยื่อเมมเบรนแบบนี้เต็มไปด้วยรูพรุนขนาดเล็ก ที่มีความสามารถในการกรองได้ละเอียดถึง 0.0001 ไมครอน หรือเล็กกว่าเส้นผมถึง 500,000 เท่า (เส้นผม=50 ไมครอน) สามารถกรองได้ถึงไอออนและโมเลกุลของสารละลายที่อยู่ในน้ำได้ น้ำที่ออกจากเครื่องกรองประเภทนี้จึงมีความบริสุทธิ์สูง

2) เครื่องกรองน้ำระบบ UF (Ultrafiltration) เป็นการกรองโดยใช้แรงดันน้ำ (pressure) เป็นตัวซับดันให้น้ำและสารละลายที่มีขนาดเล็ก ผ่านไส้กรองที่มีความละเอียดสูง ขนาดความละเอียดในการกรอง 0.01 ไมครอน สามารถกรองสารแขวนลอย (ตะกอน หรือฝุ่น) และเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กที่สุดอย่างไวรัสที่อยู่ในน้ำได้ ซึ่งหลักการดังกล่าวเป็นหลักการเดียวกับระบบ RO แต่ขนาดความละเอียดในการกรองน้อยกว่าเท่านั้น

3) เครื่องกรองน้ำระบบ UV(Ultraviolet) เป็นระบบกรองสิ่งสกปรกต่าง ๆ ออกจากน้ำตามประเภทของไส้กรองและนำเอาหลอดไฟที่สามารถสร้างคลื่นแสงที่เป็นรังสี UV มาใช้ในการทำลายเชื้อโรค โดยมีความยาวคลื่นระหว่าง 250-270 นาโนเมตร ความยาวของหลอดไฟมากเท่าไร ก็ทำให้แสงสัมผัสกับน้ำได้มากขึ้นเท่านั้น

2.3 การปนเปื้อนทางชีวภาพ ทางเคมีในน้ำ และผลกระทบต่อสุขภาพ [6]

ผลกระทบต่อสุขภาพ หมายถึง การเจ็บป่วยด้วยโรคที่มีสาเหตุจากน้ำเป็นสื่อ (Water-borne Disease) ซึ่งผู้บริโภคดื่มน้ำที่มีการปนเปื้อนจากสิ่งปนเปื้อนต่างๆ ดังนี้

2.3.1 การปนเปื้อนทางชีวภาพ เช่น จุลินทรีย์ ประกอบด้วย แบคทีเรีย ไวรัส โปรโตซัว และหนอนพยาธิ ซึ่งมีความหมายดังนี้

1) แบคทีเรีย เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า พบได้ในน้ำทั่วไปมีหลายชนิด แต่ละชนิดก่อให้เกิดโรคและความรุนแรงของโรคแตกต่างกันไป โรคที่เกิดจากแบคทีเรียที่มีน้ำเป็นสื่อ ได้แก่ โรคอุจจาระร่วงอย่างแรง อุจจาระร่วงเฉียบพลัน บิดไทฟอยด์ เป็นต้น
2) ไวรัส เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กที่สุด โรคที่เกิดจากไวรัสที่มีน้ำเป็นสื่อ ได้แก่ ไวรัสตับอักเสบเอ โรคอุจจาระร่วงอย่างรุนแรง
3) โปรโตซัว เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคที่เรียแต่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า โรคที่เกิดจากโปรโตซัวที่มีน้ำเป็นสื่อ ได้แก่ บิดที่มีเชื้ออะมีบา ท้องร่วงเรื้อรัง ปวดท้องเกร็ง ปวดเมื่อยเนื้อตัว มีอาการคลื่นไส้ มีไข้ และน้ำหนักลด
4) หนอนพยาธิ เป็นจุลินทรีย์ขนาดใหญ่มองเห็นด้วยตาเปล่า หนอนพยาธิที่เข้าร่างกายจะแย่งสารอาหารทำให้ผู้ติดเชื้อมีร่างกายซูบซีด น้ำหนักลด บางชนิดทำให้มีอาการปวดท้อง หรืออาจเข้าไปอุดอวัยวะในร่างกาย เช่น ท่อน้ำดี ทำให้เกิดโรคดีซ่าน

2.3.2 การปนเปื้อนทางเคมี เช่น สารละลายและสารเคมี ประกอบด้วย สี ความขุ่น คลอไรด์ ไนเตรท เหล็ก ทองแดง ฟลูออไรด์ ตะกั่ว แคดเมียม แมงกานีส สารหนู ซึ่งแต่ละชนิดมีแหล่งที่มาดังนี้

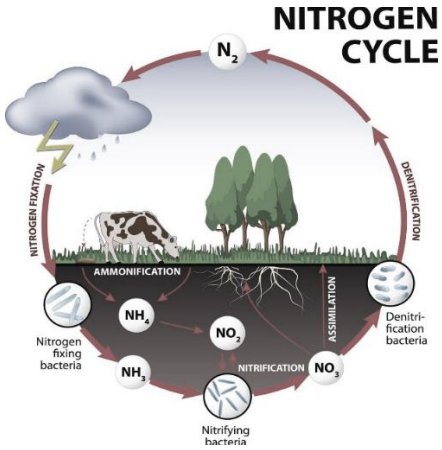
1) สี เกิดจากสารละลายของอินทรียวัตถุ เช่น ต้นหญ้า พืชน้ำหรือใบไม้ที่เน่าเปื่อยทำให้น้ำมีสีเหมือนสีชาหรือสีน้ำตาลปนแดง ทำให้น้ำนั้นไม่น่าดื่ม มีความยุ่งยากในการกำจัดในกระบวนการผลิตน้ำประปา
2) ความขุ่น เกิดจากสารที่ไม่ละลายน้ำ มีขนาดเล็กแขวนลอยในน้ำ ทำให้น้ำนั้นไม่น่าดื่ม มีผลกระทบต่อการใช้คลอรีนในขั้นตอนการฆ่าเชื้อโรค เนื่องจากสารแขวนลอยไปห่อหุ้มเชื้อโรคทำให้คลอรีนไม่สามารถฆ่าเชื้อโรคได้ นอกจากนี้ความขุ่นมีผลต่อเครื่องกรองทำให้อุดตันและชำรุดง่าย
3) คลอไรด์ ที่พบในน้ำธรรมชาติเกิดจากการละลายเอาคลอไรด์ที่ผิวดิน และละอองคลอไรด์ที่พัดจากมหาสมุทร หรือไหลปะปนมากับน้ำจืดตอนน้ำขึ้น นอกจากนี้คลอไรด์ยังมาจากสิ่งขับถ่ายโดยเฉพาะจากปัสสาวะ เหงื่อ หรือน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม จากอาคารบ้านเรือน คลอไรด์ในน้ำทำให้น้ำมีรสกร่อย ไม่น่าดื่ม เป็นอันตรายต่อคนที่เป็นโรคหัวใจ
4) ไนเตรท เกิดจากการปนเปื้อนปุ๋ยหรือสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อย เมื่อดื่มน้ำที่มีไนเตรทมากทำให้ร่างกายขาดออกซิเจน มีอาการเขียวคล้ำ และจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สารนี้มีส่วนทำลายตับ ปอด และอาจจะทำให้เป็นมะเร็ง
5) เหล็ก มักเกิดจากสารประกอบของเหล็กในดิน น้ำที่มีเหล็กปนเปื้อนสูงมีสีแดงขุ่น กลิ่นและรสชาติไม่น่าดื่ม เหล็กอาจไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพมาก

6) ทองแดง ทำให้น้ำมีรสฝาดและขุ่น ไม่มีโทษต่อร่างกาย แต่ถ้ามีมากในน้ำทำให้น้ำไม่น่าดื่ม
7) ฟลูออไรด์ พบในแหล่งน้ำใต้ดินโดยทั่วไป มีประโยชน์ต่อร่างกายถ้าได้รับในปริมาณที่ไม่เกินกำหนด หากได้รับปริมาณมากจะทำให้เกิดพิษเฉียบพลันและเรื้อรังมีอาการปวดท้อง ท้องเสีย หากได้รับปริมาณที่มากเกินกำหนดในระยะเวลานานๆจะทำให้ฟันตกกระ เป็นพิษต่อกระดูก
8) ตะกั่ว ที่พบในน้ำอาจมาจากไอเสียรถยนต์ สารเคมีกำจัดแมลง น้ำทิ้งอุตสาหกรรมหากเข้าร่างกายส่งผลต่อระบบประสาท การพัฒนาการของสมอง ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรงและเป็นอัมพาตได้
9) สารหนู ส่วนใหญ่มาจากเหมืองแร่ สารกำจัดศัตรูพืช สารหนูทำให้เกิดพิษทั้งเฉียบพลันและเรื้อรัง ถ้าเข้าร่างกายในปริมาณมากจะทำให้เกิดการระคายเคืองกระเพาะอาหารและลำไส้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน ชีพจรเต้นเร็วหมดสติได้ กรณีที่เข้าสู่ร่างกายเป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดโรคมะเร็งผิวหนังปอด ตับ ไต และกระเพาะปัสสาวะได้ นอกจากนี้ส่งผลต่อการพัฒนาการของเด็ก
10) แคดเมียม อาจมาจากน้ำเสียอุตสาหกรรมทำสี แบตเตอรี่ ผลิตสังกะสี เหมืองแร่ ปุ๋ยฟอสเฟต เมื่อเข้าร่างกายจะมีผลต่อตับ ตับอ่อน ทำให้เกิดโรคอิไต-อิไต และโรคมะเร็งได้
11) แมงกานีส มาจากเหมืองแร่ อุตสาหกรรมผลิตโลหะ โรงงานเชื่อมโลหะด้วยไฟฟ้าโรงงานทำถ่านไฟฉาย ถ้าร่างกายได้รับสะสมนานๆ อาจทำให้สมองฝ่อ มีอาการปวดศีรษะ ซึมเซา การโต้ตอบทางประสาทช้า ถ้ารุนแรงมีอาการที่เรียกว่า เอ๋อ และเป็นอัมพาตได้

2.4 ไนเตรท (NO_3^-) ในแหล่งน้ำ และผลกระทบต่อสุขภาพ

ไนเตรท (NO_3^-) พบได้ในธรรมชาติในรูปของอิออนซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของวัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen Cycle) ถูกใช้เป็นส่วนประกอบหลักของปุ๋ย โดยเฉพาะปุ๋ยไนโตรเจนซึ่งเป็นปัจจัยการผลิตพืชที่สำคัญอย่างมาก ปริมาณการใช้ปุ๋ยทางการเกษตรมีผลต่อปริมาณไนเตรทที่พบในน้ำใต้ดินและน้ำผิวดินด้วย เนื่องจากน้ำไหลซึมและน้ำไหลบ่าในพื้นที่การเกษตร หรืออาจปนเปื้อนจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ชะเอาไนเตรทให้ละลายในแหล่งน้ำได้

2.4.1 วัฏจักรไนโตรเจน[7]



ภาพที่ 2 วัฏจักรไนโตรเจน
ที่มา: www.onlinebiologynotes.com

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญของกรดอะมิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนทุกชนิดในสิ่งมีชีวิต โดยพืชสามารถใช้ไนโตรเจนได้ 2 รูป คือ แอมโมเนียม (ammonium หรือ NH_4^+) และไนเตรท (nitrate หรือ NO_3^-) และแม้ว่าในบรรยากาศจะประกอบด้วยไนโตรเจนถึง 80% แต่อยู่ในรูปก๊าซไนโตรเจน (N_2) ซึ่งพืชไม่สามารถนำมาใช้ได้ไนโตรเจนสามารถเข้าสู่วัฏจักรไนโตรเจนของระบบนิเวศได้ 2 ทาง คือ

1) ฝนชะล้างไนโตรเจนกลายเป็นแอมโมเนียมและไนเตรท จากนั้นไหลลงสู่ดินและพืชใช้เป็นธาตุอาหารเพื่อการเจริญเติบโตโดยปฏิกิริยาแอสซิมิเลชั่น (assimilation)
2) การตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) ซึ่งมีเพียงแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้นที่สามารถใช้ก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศเปลี่ยนเป็นไนโตรเจนในรูปที่พืชสามารถนำมาใช้ได้แบคทีเรียพวกนี้มีทั้งที่อยู่ในดินและที่อยู่ในสิ่งมีชีวิต เช่น ไรโซเบียมในปมรากถั่ว แบคทีเรียในเฟิร์นน้ำพวกแหนแดง (Azolla) และแบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงินในน้ำบางชนิด ในปัจจุบันการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนใช้ในเกษตรกรรมก็เป็นแหล่งไนโตรเจนสำคัญที่เติมไนโตรเจนสู่ระบบนิเวศอีกด้วย

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารสำคัญที่พืชใช้ในโครงสร้างและแมทาบอลิซึม สัตว์กินพืชและผู้บริโภคลำดับถัดมา ได้ใช้ไนโตรเจนจากพืชเป็นแหล่งสร้างโปรตีนและสารพันธุกรรม เมื่อพืชและสัตว์ตายผู้ย่อยสลายพวกราและแบคทีเรียสามารถย่อยสลายไนโตรเจนในสิ่งมีชีวิตให้กลับเป็นแอมโมเนียมซึ่งพืชสามารถนำมาใช้ได้ ผ่านกระบวนการที่เรียกว่า แอมโมนิฟิเคชัน (ammonification)

ไนโตรเจนในสารอินทรีย์สามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นก๊าซไนโตรเจนได้ โดยผ่านขั้นตอน 2 กระบวนการสำคัญ ดังนี้

1) ไนตริฟิเคชัน (nitrification) แบคทีเรียบางชนิด ใช้แอมโมเนียมในดินเป็นแหล่งพลังงานและทำให้เกิดไนไตรต์ (NO_2^-) ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นไนเตรต และพืชสามารถนำไปใช้ได้ แสดงดังสมการ

$$NH_4^+ \text{ (ammonium)} \xrightarrow{\text{Nitrosomonas}} NO_2^- \text{ (nitrite)} \xrightarrow{\text{Nitrobacter}} NO_3^- \text{ (nitrate)}$$

2) ดีไนตริฟิเคชัน (denitrification) ในสภาพไร้ออกซิเจน แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างออกซิเจนได้เองจากไนเตรท และได้ผลผลิตเป็นก๊าซไนโตรเจนกลับคืนสู่บรรยากาศ แสดงดังสมการ

$$NO_3^- \text{ (nitrate)} \longrightarrow NO_2^- \text{ (nitrite)} \longrightarrow N_2O \text{ (nitrous oxide)} \longrightarrow N_2 \text{ (nitrogen)}$$

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าปริมาณไนโตรเจนที่หมุนเวียนในระบบนิเวศที่กล่าวถึงทั้งหมดนี้จะมีปริมาณน้อยมาก แต่วัฏจักรไนโตรเจนในธรรมชาติก็สมดุลด้วยปฏิกิริยาซึ่งเกิดโดยพืชและการย่อยสลายของแบคทีเรีย

ปริมาณไนเตรทในแหล่งน้ำเกิดจากการเน่าเปื่อยของซากพืช ซากสัตว์ อุจจาระ น้ำเน่า ปุ๋ยและน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและสารเคมีจากเกษตรกรรม เมื่อแบคทีเรียย่อยสลาย

สารอินทรีย์ไนโตรเจน จากน้ำเสีย อุจจาระ และสารประกอบโปรตีน เปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย (NH_3) จากนั้นแอมโมเนียจะถูกออกซิไดซ์เป็นไนไตรท์ (NO^-_2) และสุดท้ายไนไตรท์จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไนเตรท (NO^-_3) ซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำ จึงไหลซึมผ่านการกรองของชั้นดินลงสู่ใต้ดินและแหล่งน้ำบาดาล แต่บางส่วนพืชจะดูดไปใช้เป็นแหล่งอาหาร เนื่องจากไนเตรทเป็นสารอาหารของพืชและจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการเน่าเปื่อยของสารอินทรีย์และปริมาณการใช้ปุ๋ยที่เพิ่มมากขึ้น จึงเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำ ซึ่งอาจเพิ่มความเข้มข้นของไนเตรทในน้ำผิวดินและน้ำใต้ดินมากขึ้นจนถึงปริมาณที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้

2.4.2 ผลกระทบต่อสุขภาพ

มลพิษจากแหล่งน้ำส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมทางการเกษตร เช่น การใช้ปุ๋ย และความไม่เหมาะสมทางด้านสุขาภิบาล ส่งผลให้น้ำดื่มน้ำใช้มีโอกาสปนเปื้อนไนเตรทและไนไตรต์ได้ [8] ปริมาณความเข้มข้นของไนเตรตมีผลกระทบต่อสุขภาพ เช่น โรคเมทฮีโมโกลบินิเมียและการก่อตัวของสารประกอบไนโตรซามีน [9]

คนสามารถได้รับไนเตรทและไนไตรท์จากน้ำดื่ม อาหารและยา เช่น ได้รับผ่านพืชผัก (nitrate และ nitrite) ผ่านเนื้อสัตว์ในอาหาร (nitrite ใช้เป็นสารกันบูด ป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด) และสาเหตุสำคัญ คือ ได้รับจากการดื่มน้ำที่มีปริมาณไนเตรท [1] การบริโภคน้ำ ผักหรืออาหารที่มีไนเตรทสามารถทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ได้ อันที่จริงสิ่งที่เป็นพิษโดยตรงต่อร่างกาย คือ ไนไตรท์ แต่อย่างไรก็ตามไนเตรทมีโอกาสแปรสภาพเป็นไนไตรท์ได้ โดยไนไตรท์ที่เกิดขึ้นสามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ไนไตรท์จะ oxidize เหล็กในฮีโมโกลบินซึ่งอยู่ในรูป ferrous form (Fe^{2+}) ให้กลายเป็น ferric form (Fe^{3+}) ฮีโมโกลบินจึงกลายเป็น Methemoglobin ซึ่งจะไม่มีคุณสมบัติในการรับและนำพาออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆในร่างกาย ทำให้เกิดอาการตัวเขียว อ่อนเพลีย หายใจหอบ ปวดศีรษะ และ หัวใจเต้นแรง ดังนั้นการบริโภคสารไนเตรทเข้าไปจำนวนมาก ร่างกายจะเกิดภาวะขาดออกซิเจนอย่างฉับพลันได้

ซึ่งผลจากการศึกษาวิจัยพบว่าถ้าร่างกายมี Methemoglobin เข้มข้นเป็น 10% ของ Hemoglobin จะทำให้เกิดอาการ Methemoglobinemia โดยทำให้เกิดตัวเขียว (Cyanosis) ในทารกอายุน้อยกว่า 3 เดือน ซึ่งมักจะอ่อนไหวต่ออาการนี้มากกว่าเด็กโตและผู้ใหญ่จึงถูกเรียกเป็น “Blue-baby Syndrome” และถ้าอาการมากขึ้น จะส่งผลให้เกิดอาการขาดออกซิเจน (Asphyxia) นำไปสู่การเสียชีวิตได้ [1]

2.5 คุณภาพน้ำบริโภค

คุณภาพน้ำบริโภค หมายถึง คุณลักษณะของน้ำบริโภคทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ที่มีปริมาณไม่เกินกว่าค่าที่กำหนดในมาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคต่างๆ เช่น เกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย (ภาคผนวก 1) เกณฑ์เสนอแนะคุณภาพบริโภคขององค์การอนามัยโลก

2.6 มาตรฐานไนเตรท ตามเกณฑ์คุณภาพน้ำบริโภค

2.6.1 องค์การอนามัยโลก (Word Health Organization; WHO ปี 2017) แนะนำขีดจำกัดค่าของไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ในน้ำ คือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร [1]

2.6.2 ประกาศกรมอนามัย เรื่อง เกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย ปี 2563 กำหนดคุณภาพน้ำประปา เพื่อรองรับน้ำประปาดื่มได้ โดยต้องมีคุณภาพไม่ด้อยไปกว่าเกณฑ์กำหนด และได้กำหนดค่าไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ต้องมีค่าไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.6.3 มาตรฐานคุณภาพน้ำประปา การประปาส่วนภูมิภาค ได้กำหนดค่าไนเตรทในรูปไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ต้องมีค่าไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.6.4 มาตรฐานคุณภาพน้ำประปา การประปานครหลวง ได้กำหนดค่าไนเตรทในรูปไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ต้องมีค่าไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.6.5 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท กำหนดเกณฑ์ไนเตรท ในรูปของ ไนเตรท ไนโตรเจน (NO_3^- -N) ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร

2.6.6 ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 3470 (พ.ศ.2549) เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค กำหนดเกณฑ์ไนเตรท ในรูปของ ไนเตรท ไนโตรเจน (NO_3^- -N) ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร

2.6.7 ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (พ.ศ. 2551) เรื่อง กำหนดหลักเกณฑ์และมาตรการในทางวิชาการสำหรับการป้องกันด้านสาธารณสุขและการป้องกันในเรื่องสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำบาดาลที่ใช้บริโภค ให้มีไนเตรท (NO_3^-) ไม่เกิน 45 มิลลิกรัม/ลิตร

2.6.8 ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ.2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน กำหนดให้มีไนเตรท ในรูปของไนเตรท ไนโตรเจน (NO_3^- -N) ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัม/ลิตร

2.7 การเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค[4]

การเฝ้าระวัง หมายถึง การเฝ้าติดตามดูปัจจัยต่างๆอย่างละเอียดรอบคอบที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรค รวมทั้งสภาวะต่างๆที่มีผลกระทบต่อสุขภาพการเฝ้าระวังมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงสาเหตุการเกิดและทราบถึงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรที่ได้รับผลกระทบ ตลอดทั้งวิธีการควบคุมและป้องกัน ดังนั้นการเฝ้าระวังที่มีประสิทธิภาพที่ประกอบด้วยการวางแผน รวบรวม วิเคราะห์ ประเมินผลข้อมูล รวมทั้งสื่อสาร ประชาสัมพันธ์ รายงานผลการเฝ้าระวัง จะเป็นเครื่องมือในการควบคุมและป้องกันได้ แนวทางการเฝ้าระวัง ดังนี้

1) สภาวะแวดล้อม เช่น อาคาร สถานที่ตั้ง สิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำจะต้องสะอาด
2) เครื่องกรองน้ำ มีการทำความสะอาดและการดูแลรักษา เช่น ล้างหรือเปลี่ยนไส้กรอง
3) คุณภาพน้ำ มีการตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นทางฟิสิกส์ เคมี และจุลินทรีย์ ที่สามารถบ่งชี้ได้ว่าควรล้างเปลี่ยนสารกรอง ตรวจเบื้องต้นด้วยชุดทดสอบอย่างง่ายหรือส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

องค์การอนามัยโลก ได้ให้ความหมาย การเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค หมายถึง การติดตามตรวจสอบทางด้านสาธารณสุข เพื่อให้การจัดบริการน้ำดื่มสำหรับชุมชนมีความปลอดภัยต่อสุขภาพซึ่งการตรวจสอบทางด้านสาธารณสุข เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อสุขภาพของการจัดบริการน้ำดื่มนั้นจะต้องดำเนินการตรวจสอบให้ครอบคลุมทุกขั้นตอน ตั้งแต่แหล่งน้ำดิบ ระบบการผลิต การเก็บรักษาและการจ่ายไปให้ผู้บริโภค ซึ่งทุกขั้นตอนมีผลต่อการผลิตน้ำดื่มที่สะอาดได้มาตรฐานดังนั้น การเฝ้าระวังประกอบด้วยขั้นตอนการตรวจสอบคุณภาพแหล่งน้ำดิบ ตรวจสอบด้านโครงสร้างระบบการผลิต ระบบการจ่ายน้ำ รวมทั้งตรวจสอบคุณภาพน้ำที่ผลิตออกมาจากระบบ (น้ำต้นท่อ) จนถึงน้ำที่ส่งถึงผู้บริโภค (น้ำปลายท่อ) ซึ่งจะมีการสุ่มตัวอย่างน้ำตรวจสอบสิ่งสำคัญของการเฝ้าระวังอีกประการหนึ่งคือ การเฝ้า

ระวังจะก่อประโยชน์ก็ต่อเมื่อมีการนำข้อมูลที่ได้จากการรวบรวม วิเคราะห์และแปลผล รายงานต่อผู้เกี่ยวข้องในการดำเนินการแก้ไขต่อไป

การตรวจสอบคุณภาพน้ำบริโภค หมายถึง กิจกรรมที่ประกอบด้วยกระบวนการตรวจสอบด้านสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อมของแหล่งน้ำ การวิเคราะห์สาเหตุการปนเปื้อน และหาแนวทางแก้ไขอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการ การตรวจวิเคราะห์สามารถทำได้ทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม การส่งตรวจคุณภาพน้ำทางห้องปฏิบัติการควรดำเนินการทุกปี โดยตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้ง 3 ด้าน ได้แก่

1) คุณสมบัติทางกายภาพ เป็นการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าหรือสามารถดม ชิมได้ ได้แก่ ความขุ่น สี รส กลิ่น และอุณหภูมิ
2) คุณสมบัติทางเคมี เป็นการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าแต่ต้องผ่านกระบวนการทำปฏิกิริยาทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ความกระด้าง ซัลเฟต คลอไรด์ ไนเตรท เหล็ก สังกะสี ตะกั่ว โครเมียม แคดเมียม สารหนูและปรอท
3) คุณสมบัติทางชีววิทยา เป็นการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำที่บ่งชี้ถึงความเหมาะสมในการบริโภค ได้แก่ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย อี.โคไล

วิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการควบคุมปริมาณความเข้มข้นของไนเตรท โดยเฉพาะในน้ำบาดาล คือ การป้องกันหรือการเฝ้าระวังการปนเปื้อน โดยการจัดการด้านการเกษตรอย่างเหมาะสม เช่น การจัดการปุ๋ย ควบคุมการใช้ปุ๋ยและการจัดเก็บมูลสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ปุ๋ยในแปลงใกล้บ่อน้ำควรระมัดระวัง เพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้น บ่อน้ำควรได้รับการป้องกันอย่างเพียงพอเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำไหลเข้ามาในบ่อน้ำ รวมทั้งแนวทางการปฏิบัติด้านการสุขาภิบาล เช่น การตั้งส้วมหลุมและถังส้วมอย่างระมัดระวัง การควบคุมการรั่วไหลของท่อระบายน้ำ และที่สำคัญ คือ จะต้องแน่ใจว่าถังบำบัดน้ำเสีย ส้วมหลุม หรือถังส้วมจะไม่ตั้งอยู่ใกล้บ่อน้ำหรือที่ขุดบ่อน้ำ เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีน้ำไหลเข้าบ่อหรือดินบริเวณที่อยู่ใกล้บ่อน้ำได้ [1]

การมีปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคสูง เป็นสาเหตุให้เด็กทารกป่วยเป็น Methemoglobinemia ได้ ดังนั้นเพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพของสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะคุณภาพน้ำ จึงจำเป็นต้องมีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนในรูปที เค เอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) ไนเตรท (NO_3^-) ไนเตรท-ไนโตรเจน (NO_3^- -N) ไนไตรท์ (NO_2^-) หรือไนไตรท์-ไนโตรเจน (NO_2^--N) [10]

2.8 การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทด้วยวิธีมาตรฐาน (Determination of Nitrate for Potable water)

การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท (NO_3^-) มีหลายวิธี โดยการพิจารณาเลือกวิธีทดสอบควรคำนึงถึงข้อดีข้อจำกัดของแต่ละวิธี รวมทั้งประเภทของตัวอย่าง ช่วงความเข้มข้น และความต้องการของข้อมูล

2.8.1 ไอออน โครมาโตกราฟฟี (Ion Chromatography)

อาศัยหลักการแลกเปลี่ยนประจุภายในคอลัมน์ ซึ่งสารละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase; eluent) จะพาตัวอย่างเข้าไปในคอลัมน์ เกิดการแลกเปลี่ยนไอออนกับเฟสคงที่ (stationary phase) ในคอลัมน์ ไอออนแต่ละชนิดจะถูกแยกจากกันตามความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออน ถ้าความสามารถในการแลกเปลี่ยนสูงจะอยู่ในคอลัมน์ได้นาน (retention- time สูง) จากนั้นจะออกจากคอลัมน์เข้าสู่ suppressor เพื่อลดค่า background เป็นการช่วยปรับให้สามารถตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้าที่เกิดจากไอออนที่สนใจได้ดีขึ้น ขณะที่ค่าการนำไฟฟ้าที่เกิดจาก eluent จะลดลง ใน suppressor ไอออนที่แยกออกมาจะมีสภาพเป็นกรด เมื่อผ่านเข้าไปในเครื่องตรวจวัดค่าการนำไฟฟ้า จะเกิดสัญญาณ

ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นโครมาโตแกรม คำนวณหาปริมาณของไอออนจาก calibration curve ที่สร้างระหว่าง peak area กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

2.8.2 การวิเคราะห์โดยวิธีเปรียบเทียบความเข้มข้นของสี (Colorimetric Analysis)

การวิเคราะห์โดยวิธีวัดสีเป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณ โดยใช้ปฏิกิริยาทำให้เกิดสารประกอบที่มีสีแน่นอนเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัว เมื่อสารในน้ำทำปฏิกิริยากับสารสร้างสีทำให้เกิดสีต่าง ๆ ที่มีความเข้มข้นเป็นปฏิภาคกับความเข้มข้นของสารในน้ำ การวัดความเข้มของสีที่เกิดขึ้นจะบ่งบอกถึงปริมาณของสารได้

โดยนิยมใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer เป็นเครื่องมือสำหรับตรวจหาปริมาณของสาร อาศัยหลักการ คือ สารแต่ละชนิดสามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน และปริมาณการดูดกลืนแสงขึ้นอยู่กับความเข้มของสารนั้นๆ โดยมีคุณสมบัติเป็นไปตามกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต ค่าการดูดกลืนแสงของสารมีความสำคัญอย่างยิ่งในเชิงปริมาณวิเคราะห์ เนื่องจากค่าการดูดกลืนจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert law) ดังสมการ

$$A = \varepsilon cl$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (absorbance)

ε = เป็นสมบัติจำเพาะของสารที่ดูดกลืนและวัดที่ความยาวค่าหนึ่ง เรียกว่า molar absorptivity (L mol^{-1} cm^{-1})

l = ระยะทางที่แสงผ่านตัวอย่าง หรือความกว้างของเซลล์นั่นเอง (cm)

c = ความเข้มข้นเป็น โมล/ลิตร หรือโมลาร์ (M)

ถ้าความเข้มข้นของสารอยู่ในหน่วยอื่นจะเขียนสมการเป็น

$$A = acl$$

โดยที่ a = absorptivity ซึ่งเป็นค่าคงที่ขึ้นกับชนิดของสาร และความยาวคลื่น

2.9 ชุดทดสอบอย่างง่าย (test kit) [11]

ชุดทดสอบอย่างง่าย (test kit) มีหลายชนิด เช่น ชุดทดสอบค่าความเป็นกรด-ด่าง ความกระด้างของน้ำ ปริมาณโลหะหนักในน้ำ ปริมาณน้ำตาล และชุดตรวจการตั้งครรภ์ เป็นต้น ชุดทดสอบอย่างง่ายมักใช้เพื่อกลั่นกรองตัวอย่าง ก่อนที่จะนำไปทดสอบอย่างละเอียดด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการที่มีความเที่ยงตรงและแม่นยำสูง เพื่อให้ได้ผลถูกต้องมากขึ้น

ชุดทดสอบอย่างง่ายมีข้อดีหลายประการ คือ การทดสอบทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน และผู้ทดสอบไม่จำเป็นต้องมีความรู้จำเพาะทางด้านเทคนิคมากนัก ที่สำคัญ คือ ต้นทุนต่ำและผลการทดสอบน่าเชื่อถือ

หลักการของชุดทดสอบอย่างง่ายส่วนใหญ่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารเป้าหมายที่สนใจกับสารทดสอบที่มีความไวและจำเพาะต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารเป้าหมายหนึ่งๆ โดยสารทดสอบมักถูกเคลือบหรือตรึงอยู่บนแผ่นทดสอบที่เป็นวัสดุรองรับ หรืออาจอยู่ในรูปสารละลายก็ได้ เมื่อสารที่ใช้ทดสอบทำปฏิกิริยากับสารเป้าหมายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มองเห็นด้วยตาเปล่า เช่น สีเปลี่ยนไปจากเดิม หรือการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางแสง เช่น เกิดการเรืองแสง หรือเกิดสารประกอบตัวใหม่หลังเกิดปฏิกิริยาเคมี หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าทางไฟฟ้า ทั้งนี้อาจมีการผนวกวงจรอย่างง่ายสำหรับแปลผลให้เป็นตัวเลขที่อ่านค่าได้โดยสะดวกอีกด้วย ชุดทดสอบอย่างง่ายที่ดี ควรมีสมบัติดังต่อไปนี้

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

ชุดทดสอบอย่างง่ายเหมาะที่จะใช้ทดสอบเบื้องต้นสำหรับคัดกรองตัวอย่าง หรือใช้สำหรับทดสอบในพื้นที่ที่ไม่สามารถทดสอบด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการได้ โดยมีหลักการพื้นฐานจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารบนแผ่นทดสอบและสารเป้าหมายแต่ปฏิกิริยาเคมีนั้น จำเป็นต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สามารถตรวจวัดได้อย่างชัดเจน ปฏิกิริยาเคมีที่นำมาใช้กับชุดทดสอบอย่างง่าย มีหลายปฏิกิริยา ได้แก่

1) ปฏิกิริยาระหว่างกรดกับด่าง : ตัวอย่างของชุดทดสอบอย่างง่ายที่อาศัยปฏิกิริยาระหว่างกรดกับด่างที่เด่นชัดที่สุด คือ พีเอชอินดิเคเตอร์ ที่ใช้หาค่าความเป็นกรด - ด่าง โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงสีจะเกิดขึ้นบนวัสดุรองรับที่อาจเป็นแผ่นกระดาษ หรือแผ่นพลาสติกที่เคลือบสารอินดิเคเตอร์ที่ไวต่อปฏิกิริยาระหว่างกรด - ด่างไว้ สิ่งสำคัญในการเตรียมแผ่นทดสอบพีเอชอินดิเคเตอร์ ได้แก่ การทำให้สารอินดิเคเตอร์ยึดติดบนแผ่นรองรับโดยไม่ละลายน้ำหรือหลุดร่อนจากวัสดุรองรับ แรงที่ใช้ตรึงสารอินดิเคเตอร์ให้อยู่บนวัสดุรองรับมีหลายแบบ เช่น แรงดูดซับทางกายภาพที่พื้นผิวของวัสดุรองรับดูดซับสารอินดิเคเตอร์ด้วยแรงอ่อนๆ อย่างแรงแวนเดอร์วัลส์ แต่มีโอกาสสูงที่สารอินดิเคเตอร์จะละลายออกจากวัสดุรองรับ ถ้าสารอินดิเคเตอร์ที่ใช้มีค่าการละลายน้ำดี การเพิ่มแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสารอินดิเคเตอร์กับวัสดุรองรับให้แน่นหนามากขึ้นจะใช้แรงทางไฟฟ้าสถิต หรือแรงจากพันธะโคเวเลนต์ซึ่งมีความแข็งแรงของการตรึงมากที่สุด
2) ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน : เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและมีการเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ไฟฟ้า โดยการเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ไฟฟ้าเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารเป้าหมายกับสารที่ถูกยึดตรึงไว้กับวัสดุรองรับ ตัวอย่างการทดสอบที่อาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ได้แก่ การหาปริมาณไดเวเลนต์โคบอลต์ (Cobalt; Co (I) ด้วยสาร 1-(2- pyridylazo)-2-napthol (PAN) โดยมีสารโพแทสเซียมเพอริโอเดต (KIO เป็นตัวออกซิไดส์ มีหน้าที่ทำให้ Co (I) เปลี่ยนเป็น Co (II) ที่มีความไวต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ PAN ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนนี้มีสีเขียว
3) ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน : ชุดทดสอบที่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อน นิยมใช้อย่างกว้างขวางในการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนของโลหะหนัก สารทดสอบที่นำมาใช้ คือ ไดไทโซน (dithizone) เพราะสามารถเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับไอออนของโลหะได้หลายชนิดและเกิดสีที่แตกต่างกัน ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนของสารไดไทโซนกับไอออนของโลหะเรียงลำดับ ดังนี้ (Ag > Hg >Pd >Pt > Au > Cu > Bi > In > Sn > Zn > Cd >Co > Pb > Ni > Fe(ll) > Mn > T) การเลือกใช้ไดไทโซนในการทดสอบหาไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ สามารถเพิ่มความจำเพาะโดยการปรับเปลี่ยนค่าพีเอชระหว่างการ

ทดสอบ เช่น การทดสอบหาไอออนของปรอท (Hg) สารประกอบเชิงซ้อนของไดไทโซนและปรอทจะเกิดได้ดีเมื่อพีเอช เป็น 2 เป็นต้น

4) ปฏิกิริยาของเอนไซม์ : ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ภายในร่างกาย แตกต่างจากปฏิกิริยาที่เกิดจากสารเคมีทั่วไป เนื่องจากมีความจำเพาะต่อการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก สารเป้าหมายที่มีปริมาณเพียงน้อยนิดก็สามารถตรวจพบได้

2.10 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

คุณลักษณะที่สำคัญที่สุดของวิธีวิเคราะห์ที่ดี คือ สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ได้ตลอดไป โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางสถิติ (statistical control) ซึ่งหมายความว่าแม้จะใช้ตรวจวิเคราะห์ซ้ำๆและมีความแปรปรวนเกิดขึ้น คุณสมบัติทางสถิติของความแปรปรวนนั้นจะไม่เปลี่ยนแปลงไปตามกาลเวลาไม่ว่าจะยาวนานเพียงใด การยืนยันวิธีที่ใช้ว่ามีความน่าเชื่อถือและถูกต้อง คุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ได้แก่

2.10.1 ความจำเพาะเจาะจง (specificity/selectivity) คือ คุณสมบัติที่บอกว่าวิธีนั้นจะไม่ตอบ สนองต่อสารอื่นที่ไม่ใช่สาร (analyte) ที่กำลังศึกษา specificity มักใช้ในกรณีที่วิธีนั้นตอบสนองต่อสารชนิดเดียว (single analyte) เท่านั้น ส่วน selectivity มักใช้ในกรณีที่วิธีนั้นตอบสนองต่อสารหลายชนิดที่อาจแยกแยะความแตกต่างกันได้หรือไม่ได้

2.10.2 พิสัยหรือช่วงของการใช้งาน (working range) คือ ช่วงของความเข้มข้นที่วิธีนั้นตรวจวัดสารที่กำลังศึกษาได้

2.10.3 ความเป็นเส้นตรง (linearity) คือ คุณสมบัติที่บอกว่าสัญญาณของเครื่องมือวัดแปรเปลี่ยนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่กำลังศึกษา

2.10.4 ความแม่น (accuracy) คือ คุณสมบัติที่บอกความใกล้เคียงของค่าที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธีนั้นกับค่าอ้างอิง

2.10.5 ความเที่ยง (precision) คือ คุณสมบัติที่บอกการกระจายของค่าแต่ละค่าที่วิเคราะห์ได้รอบๆ ค่าเฉลี่ย โดยอาจคำนวณเป็นค่า repeatability, intra-laboratory reproducibility, inter-laboratory reproducibility

2.10.6 ขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงคุณภาพ (limit of detection: LOD) คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่วิธีนี้จะตรวจพบได้

2.10.7 ขีดจำกัดของการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (limit of quantitation: LOQ) คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่วิธีนี้จะวัดปริมาณได้โดยมีความแม่นและความเที่ยงที่ยอมรับได้

2.11 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ระดับไนเตรทในแหล่งน้ำ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในหลายพื้นที่ของโลก ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการใช้ปุ๋ยในพื้นที่เกษตรกรรม ข้อแนะนำและเกณฑ์มาตรฐานสำหรับไนเตรทในแหล่งน้ำดื่มสาธารณะถูกกำหนดขึ้นเพื่อป้องกันภาวะโลหิตจางในทารก มะเร็งและความผิดปกติของทารกแรกเกิด แต่ไม่คำนึงถึงผลกระทบต่อสุขภาพอื่นๆ ความเสี่ยงของการได้รับไนเตรทในปริมาณมาก คือ การก่อตัวของสารประกอบ N-nitroso จากการทบทวนผลการศึกษาทางระบาดวิทยาก่อนปี 2548 เกี่ยวกับการได้รับไนเตรทจากน้ำดื่ม การเกิดมะเร็ง ผลข้างเคียงจากการสืบพันธุ์ และผลกระทบต่อสุขภาพอื่นๆ งานศึกษาทางระบาดวิทยา 30 เรื่อง ได้ประเมินผลกระทบของไนเตรทต่อการเกิดโรคต่างๆ และผลสรุปที่พบมากที่สุดที่ศึกษาคือ มะเร็งหลอดอาหาร กระเพาะปัสสาวะ มะเร็งเต้านม และโรคไทรอยด์ เมื่อพิจารณาผล

การศึกษาทั้งหมด พบความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับไนเตรทในน้ำดื่มและผลลัพธ์ที่ไม่พึงประสงค์ต่อสุขภาพ (นอกเหนือจากโรคฮีโมโกลบิน) คือ มะเร็งลำไส้ โรคไทรอยด์ และความผิดปกติของหลอดประสาท งานศึกษาหลายงานสังเกตเห็นความเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นจากการรับไนเตรทในน้ำที่มีคุณภาพต่ำกว่าเกณฑ์ การศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับผลลัพธ์เหล่านี้และสุขภาพควรรวมถึงการประเมินปัจจัยเฉพาะบุคคลอื่นๆ ร่วมด้วย [12]

ปริมาณความเข้มข้นของไนเตรท ตลอดระยะเวลาในการศึกษาตั้งแต่ช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนสิงหาคมบริเวณหาดวอนนภา จังหวัดชลบุรี มีค่าความเข้มข้นของไนเตรท สูงสุดเฉลี่ยในเดือนพฤศจิกายน 48.88±22.38 ไมโครกรัมต่อลิตร และค่าต่ำสุดเฉลี่ยในเดือนกุมภาพันธ์ 0.35±0.47 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนบริเวณแหลมแท่นพบค่าความเข้มข้นของไนเตรทสูงสุดในเดือนตุลาคม เฉลี่ย 112.20±63.27 ไมโครกรัมต่อลิตร และค่าต่ำสุดเฉลี่ย 16.50±5.89 ไมโครกรัมต่อลิตร จากการทำการศึกษาพบว่าทั้งสองสถานที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษา โดยบริเวณหาดวอนนภาและแหลมแท่นพบว่าค่าความเข้มข้นของไนเตรทมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน [13]

ไนเตรท (Nitrate) มักพบในรูปของสารประกอบโซเดียมไนเตรท หรือแคลเซียมไนเตรท ซึ่งไนเตรทถือว่าไม่เป็นพิษ ต่อสัตว์น้ำโดยตรง นอกจากจะมีความเข้มข้นสูงมากและอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน จะถูกจุลินทรีย์รีดิวซ์เป็นไนไตรท์ ไนเตรทมีประโยชน์ต่อพืชน้ำและแพลงก์ตอนพืชมาก เพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนโดยปกติไนเตรทในแหล่งน้ำจะมีปริมาณ 0.3 มิลลิกรัมกรัมต่อลิตร ในฤดูร้อนแพลงก์ตอนพืชจะใช้ไนเตรทมาก จึงทำให้ปริมาณไนเตรทน้อยลง [14]

การพัฒนาวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริกที่ง่ายและรวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรตในน้ำ ดิน และตัวอย่างเภสัชภัณฑ์ การหาปริมาณไนไตรท์จะเกี่ยวข้องกับอันตรปฏิกิริยาของกรดซัลฟานิลิก-เมทิลแอนทรานิเลต และการหาปริมาณไนเตรตเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดักชั่นของไนเตรทเป็นไนไตรท์โดยใช้ผงสังกะสีในโซเดียมคลอไรด์ (Zn/NaCl) ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาไดเอโซไทซ์ (diazotized) ด้วยกรดซัลฟานิลิก-เมทิลแอนทรานิเลตเพื่อสร้างสีย้อมเอโซ (Azo dye) นำไปวัดที่ความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร วิธีนี้เหมาะสมในสภาวะที่เป็นกรด ใช้ปริมาณสารเคมีน้อยและมีความคงทนต่อไอออนอื่นๆ ที่รบกวนต่อการวิเคราะห์ ช่วงของความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์ไนไตรท์ สำหรับกรดซัลฟานิลิก-เมทิลแอนทรานิเลต คือ 0.2-8.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าโมลาร์แอบซอบติวิตี้ (molar absorptivity) เท่ากับ 1.03×10^{4} $Lmol^{-1}cm^{-1}$ และความไวของเซนเดล (sandell's sensitivity) เท่ากับ 4.5×10^{-3} ug cm^{-2} ขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดตรวจวัดเชิงปริมาณของการวัดค่าไนไตรต์อยู่ที่ 0.93 μg mL^{-1} และ 2.82 ug mL^{-1} ตามลำดับ วิธีทดสอบนี้มีสามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนไตรต์และไนเตรตในน้ำ ดิน และเภสัชภัณฑ์ได้อย่างเหมาะสม [15]

การวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรท สามารถตรวจวัดปริมาณได้โดยอาศัยการเกิดสีของปฏิกิริยา Griess reaction โดย Sulfanilamide จะทำปฏิกิริยาไดอะโซไทเทชั่นกับไอออนไนไตรท์ในสารละลายกรด กลายเป็น Diazonium salt จากนั้นเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับเอ็นดีอี (N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine).2HCl) ได้สารประกอบ Azo dye สีแดงม่วง ส่วนไอออนไนเตรทจะต้องถูกรีดิวซ์ให้กลายเป็นไอออนไนไตรท์ก่อน โดยใช้ Zinc หรือ cadmium ก่อนเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว โดยความเข้มสีของสารประกอบ Azo dye จะแปรผันตรงกับปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่มีอยู่ในตัวอย่าง [16]

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนเบื้องต้นในการดำเนินงานวิจัย

3.1.1 ศึกษาข้อมูลเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการผลิตชุดทดสอบ (Test kit)

3.1.2 ศึกษาวิธีทดสอบและสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภค

3.1.3 เลือกวิธีทดสอบที่เหมาะสำหรับการผลิตชุดทดสอบไนเตรท พร้อมเตรียมวัสดุอุปกรณ์ สารเคมีสำหรับทดสอบทางห้องปฏิบัติการ

3.1.4 ทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ เปรียบเทียบผลการทดสอบหาปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคของต้นแบบชุดทดสอบกับวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีการทางสถิติ

3.1.5 ออกแบบรูปแบบของชุดทดสอบและอุปกรณ์ประกอบการใช้งาน

3.1.6 ดำเนินการผลิตชุดทดสอบ

3.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์

3.2.1 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร

3.2.2 ปิเปต (Pipette) ขนาด 1 2 3 4 5 10 20 25 และ 50 มิลลิลิตร

3.2.3 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร

3.2.4 แท่งแก้วคนสาร (Glass Stirring Rod)

3.2.5 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.2.6 ขวดหยด (Dropper Bottle)

3.2.7 แคปซูลสีชา (Capsules) เบอร์ 0 ขนาด 500 มิลลิกรัม

3.2.8 เครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ (UV-Visible Double Beam Spectrophotometer) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น LAMBDA 365

3.2.9 เครื่องไอออนโครมาโตรกราฟ (ion chromatography) ยี่ห้อ Thermo Scientific™ Dionex™ รุ่น ICS6000

3.3 สารเคมีและการเตรียมสารละลายชุดทดสอบ (Test kit)

3.3.1 สารเคมี

1) สารมาตรฐานไนเตรท เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ชนิด CRM ยี่ห้อ Accu Standard
2) กรดโครมาโทรพิค (Chromotropic acid) ยี่ห้อ Sigma aldrich เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
3) ผงสังกะสี (Zinc powder) ยี่ห้อ Sigma aldrich เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
4) สารพารา-ไนโตรอะนิลิน (p-Nitroaniline) ยี่ห้อ Sigma aldrich เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
5) กรดซัลฟานิลิค (Sulfanilic acid) ยี่ห้อ Merck เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
6) แคลเซียม คาร์บอเนต (calcium carbonate) ยี่ห้อ KemAus เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
7) กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) เข้มข้น 95-97% ยี่ห้อ Merck เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
8) สารมาตรฐานคลอไรด์ เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
9) สารมาตรฐานซัลเฟต เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

10) สารมาตรฐานฟลูออไรด์ เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

11) น้ำกลั่น

3.3.2 การเตรียมสารละลายชุดทดสอบ (Test kit)

1) สารทดสอบที่ 1 สารละลายพารา-ไนโตรอะนิลิน ในสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 20 % บรรจุในขวดหยด (Dropper Bottle) ปริมาตร 16 มิลลิลิตร

2) สารทดสอบที่ 2 เป็นสารผสมของแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ผงสังกะสี (Zn) กรดซัลฟานิลิค (Sulfanilic acid) และกรดโครมาโทรพิค (Chromatropic acid) ผสมอยู่ในรูปของแข็ง (ผงละเอียด) บรรจุอยู่ในแคปซูล 0.04 กรัม

3.3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรท

1) การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรท ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Stock Standard)

ดูดสารละลายมาตรฐานไนเตรท จากความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อที่ 3.3.1 ข้อ 1)) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น และผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2) การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน (working standard)

ดูดสารละลายมาตรฐานไนเตรท จากความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อที่ 3.3.3 ข้อ 1)) ปริมาตรดังตารางที่ 2 ด้วยน้ำกลั่น และผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

<u>ตารางที่ 2</u> การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน (working standard)

stock standard (mg/L)	working standard (mg/L)	ปริมาตรจาก stock standard ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น (mL)
100	0	0
	5	5
	10	10
	30	30
	50	50

3) การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทสำหรับการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

ดูดสารละลายมาตรฐานไนเตรท จากความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อ 3.3.1) ปริมาตรดังตารางที่ 2 ปรับปริมาตรด้วยด้วยน้ำกลั่น และผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ได้สารละลายมาตรฐานไนเตรทสำหรับการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ดังตารางที่ 3

<u>ตารางที่ 3</u> การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทสำหรับการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

ความเข้มข้นไนเตรท (Standard ; mg/L)	ความเข้มข้นของไนเตรทที่ต้องการเตรียม (mg/L)	ปิเปต stock standard ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL (mL)
1,000	0	0
	5	0.25
	10	0.50
	20	1.00
	30	1.50
	40	2.00
	50	2.50
	60	3.00
	70	3.50
	80	4.00
	90	4.50
	100	5.00
	200	10.00
	400	20.00
	600	30.00
	800	40.00
	1,000	50.00

3.4 วิธีปฏิบัติงานและทดสอบประสิทธิภาพชุดทดสอบ (Test kit)

3.4.1 การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)

1) ดูดสารละลายมาตรฐานไนเตรท (working standard) ที่เตรียมตามข้อ 3.3.3 (ตารางที่ 2) ที่ 5 mg/L ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในขวดทำปฏิกิริยา
2) หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 20 หยด
3) เติมสารทดสอบที่ 2
4) ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 9 นาที
5) ถ่ายรูปและเก็บตัวอย่างสีเพื่อนำไปสร้างแถบสีมาตรฐาน (Standard color scale)
6) ทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตามข้อที่ 3.4.1. ข้อ1) ถึง ข้อ 3.4.1 ข้อ 5))

3.4.2 การทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)

1) การทดสอบความไว (sensitivity)

ความไว (Sensitivity) ของชุดทดสอบเป็นความสามารถที่ชุดทดสอบแสดงการเปลี่ยนแปลงในการวัดความเข้มข้นที่แตกต่างกันน้อยที่สุด ชุดทดสอบที่มีสภาพไวสูงจะสามารถตรวจวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยมากหรือสามารถแยกความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกันน้อยมากได้ถูกต้อง

สภาพไวสูงแสดงว่าวิธีดังกล่าวสามารถแสดงความแตกต่างได้ดีเมื่อความเข้มข้นเปลี่ยนเพียงเล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงของความเข้มของสีในสารละลายกับความเข้มข้นจะต้องมีความสัมพันธ์กันเป็นเส้นตรงจึงจะใช้สภาพไวในสภาวะนั้นในการทดสอบเชิงปริมาณได้ บางครั้งสภาพไวแสดงด้วยคุณสมบัติใน 2 ลักษณะ คือ ขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (LOQ)

ขีดจำกัดในการตรวจวัด (detection limit, LOD) คือค่าความเข้มข้นหรือปริมาณต่ำที่สุดของสารที่สนใจในสารตัวอย่างใด ๆ ที่ชุดทดสอบจะสามารถตรวจวัดได้

ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (quantitation limit, LOQ) หมายถึง ปริมาณต่ำสุดของสารที่สนใจในสารตัวอย่างใด ๆ ที่ชุดทดสอบสามารถตรวจวัดและอ่านค่าได้อย่างถูกต้องและเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยทั่วไปจะเป็นระดับความเข้มข้นของสารที่ให้สัญญาณเป็น 10 เท่าของ SD ของ blank ขั้นตอนการทดสอบความไว (Sensitivity) ดังนี้

- คำนวณจากสัญญานของ sample blank ที่อ่านได้จากเครื่องมือวัด วิธีนี้ sample blank ต้องสามารถอ่าน สัญญาณได้ (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานไม่เท่ากับศูนย์ และสัญญาณที่ได้ต้องไม่ได้มาจากการมีสารที่สนใจ)
- วิเคราะห์ความเข้มข้นของไนเตรทด้วยชุดทดสอบใน sample blank 7 - 10 ซ้ำ (ซ้ำละ 1 ครั้ง)
- คำนวณค่าความเข้มข้น และความเข้มข้นเฉลี่ย ($\overline{x}$) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) ของ sample blank
- คำนวณขีดจำกัดในการตรวจวัด (detection limit, LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (quantitation limit, LOQ)

2) การทดสอบความเสถียร (Stability)

เป็นกระบวนการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารละลายทดสอบในชุดทดสอบ ความเสถียรที่ดีต้องมีคุณสมบัติของสารที่ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไประยะเวลาหนึ่ง ในที่นี้จะศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบเริ่มต้นเทียบกับสารละลายทดสอบที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 10 เดือน โดยมีขั้นตอนการทดสอบความเสถียรของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit) ดังนี้

- เตรียมสารละลายทดสอบไนเตรทความเข้มข้น 0 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข้อ 3.3.3 ตารางที่ 2) จำนวน 2 ชุด ดังนี้

  ชุดที่ 1 นำไปวิเคราะห์ ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (**λ**) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (A)

  ชุดที่ 2 เก็บไว้เป็นเวลา 10 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ไม่ถูกแสงแดด เมื่อครบระยะเวลา นำไปวิเคราะห์ไนเตรทความเข้มข้น 0 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (**λ**) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (C)

- เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบชุดที่ 1 และค่าดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบชุดที่ 2 ที่เวลาผ่านไป 10 เดือน นำไปหาความเสถียร (stability testing) ของสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนเตรท

3) การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

เป็นการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายทดสอบในชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit) ตามความเข้มข้นที่กำหนด โดยเตรียมสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 5 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 200 400 600 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ข้อ 3.3.3 ตารางที่ 3 ขั้นตอนการทำให้เกิดสีและสร้างกราฟมาตรฐาน ดังนี้

- ดูดสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 5 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 200 400 600 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในขวดทำปฏิกิริยา
- หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 20 หยด
- เติมสารทดสอบที่ 2
- ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 9 นาที
- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ที่ความยาวคลื่น (**λ**) 513 นาโนเมตร ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ
- สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย (บนแกน X) และค่าการดูดกลืนแสง (บนแกน Y)
- วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธ์สหสัมพันธ์ของเปียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient : r) โดยที่ $r = \sqrt{R^2}$ และ R^2 คือ ค่าสัมประสิทธ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) ค่า r ที่ได้ควรมีค่าเข้าใกล้ -1 หรือ 1 เป็นค่าที่ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายและค่าการดูดกลืนแสงมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

4) การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

ขั้นตอนการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนี้

- เตรียมสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร อย่างละ 20 ขวด วิธีเตรียม ตามข้อ 3.3.3 ตารางที่ 2

- นำสารละลายที่เตรียม นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ที่ความยาวคลื่น (**λ**) 513 นาโนเมตร
- เปรียบเทียบค่าทั้ง 20 ขวด ของแต่ละความเข้มข้น ของความเป็นเนื้อเดียวกันของสารทดสอบ โดยใช้เกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตามสมการ Horwitz และ HorRat มาประเมินความเป็นเนื้อเดียวกัน

5) การทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

เป็นความสามารถของวิธีในการจำแนกสารที่สนใจวิเคราะห์ออกจากสารอื่นๆ รวมถึงสารปนเปื้อนและเมทริกซ์อื่นๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ขั้นตอนการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) ทำการศึกษาตัวรบกวนสารละลายแอนไอออน 3 ชนิด ได้แก่ คลอไรด์ (Cl^-), ฟลูออไรด์ (F^-) และซัลเฟต (SO^{2-}_4) ขั้นตอนการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) ดังนี้

ทดสอบกับตัวอย่างน้ำกลั่น ที่ระดับความเข้มข้นของไนเตรท จำนวน 18 ชุด ดังนี้

ชุดที่ 1 ความเข้มข้นของไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายคลอไรด์ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานคลอไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 2 ความเข้มข้นของไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายคลอไรด์ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานคลอไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 3 ความเข้มข้นของไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายซัลเฟต 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานซัลเฟตเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 4 ความเข้มข้นของไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายซัลเฟต 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานซัลเฟตเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 5 ความเข้มข้นของไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายฟลูออไรด์ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อ

ลิตรปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 6 ความเข้มข้นของไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายฟลูออไรด์ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 7 ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายคลอไรด์ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานคลอไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 8 ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายคลอไรด์ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานคลอไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 9 ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายซัลเฟต 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานซัลเฟตเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 10 ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายซัลเฟต 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานซัลเฟตเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 11 ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายฟลูออไรด์ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 12 ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายฟลูออไรด์ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อ

ลิตรปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 13 ความเข้มข้นของไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายคลอไรด์ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานคลอไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 14 ความเข้มข้นของไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายคลอไรด์ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานคลอไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 15 ความเข้มข้นของไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายซัลเฟต 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานซัลเฟตเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 16 ความเข้มข้นของไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายซัลเฟต 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานซัลเฟตเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 17 ความเข้มข้นของไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายฟลูออไรด์ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด

ชุดที่ 18 ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและสารละลายฟลูออไรด์ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

- เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง และเติมสารมาตรฐานฟลูออไรด์เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร จำนวน 10 ขวด
- นำตัวอย่างชุดที่ 1- 18 ไปทดสอบหาปริมาณไนเตรท (ปฏิบัติตามข้อ 3.4.1 2) ถึง 4))

- บันทึกค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร (nm) เทียบกับสารมาตรฐานเข้มข้นของไนเตรท 5 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
- เปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้ โดยใช้สถิติ ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

6) การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision) ของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)

ความแม่นเป็นคุณลักษณะของวิธีที่แสดงความใกล้เคียงของผลการทดสอบต่อค่าจริงหรือค่าอ้างอิง การทดสอบความแม่นทำได้โดยการประเมินทั้ง systematic และ random effects ที่มีต่อผลทดสอบ ความเที่ยงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีที่แสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลการวิเคราะห์ซ้ำภายใต้สภาวะที่กำหนด ขั้นตอนการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision) ดังนี้

ทดสอบกับตัวอย่างน้ำบริโภค ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของไนเตรท โดยเตรียมจากการเติมสารมาตรฐานไนเตรทลงไปในตัวอย่าง (spike sample) ดังนี้

- ความเข้มข้นของไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ความเข้มข้นของไนเตรท 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรท เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ความเข้มข้นของไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- ดูดตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทำปฏิกิริยา
- หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 20 หยด
- เติมสารทดสอบที่ 2 ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 9 นาที
- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร คำนวณหาความเข้มข้นไนเตรท จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity) (ความเข้มข้นอย่างละ 10 ซ้ำ)
- นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณความแม่นยำ (Accuracy) ในรูปของเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% recovery) และความเที่ยง (Precision) ในรูปของ HorRat

3.4.3 การใช้ชุดทดสอบไนเตรท ทดสอบกับตัวอย่างน้ำบริโภคเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ

1) นำตัวอย่างน้ำบริโภค ทดสอบหาปริมาณไนเตรทด้วยวิธีมาตรฐานเทียบกับการใช้ชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)
2) เปรียบเทียบข้อมูลผลการทดสอบของทั้งสองวิธี โดยใช้สถิติการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) ในการวิเคราะห์ข้อมูล

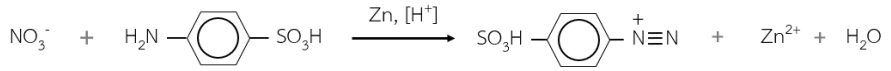
บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

4.1 ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของชุดทดสอบไนเตรท (Test kit)

เตรียมสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 5 10 30 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเติมสารเคมี 1 และ 2 เกิดปฏิกิริยาดังสมการที่ 1 และ 2 เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของอินดิเคเตอร์ ดังภาพที่ 3

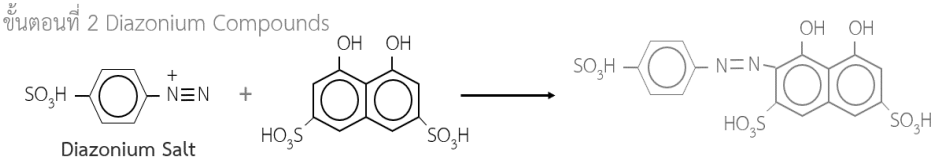
หลักการของปฏิกิริยาชุดทดสอบไนเตรท

ขั้นตอนที่ 1 Diazotization



Nitrate ion Sufanilic Acid Diazonium Salt ..... (1)

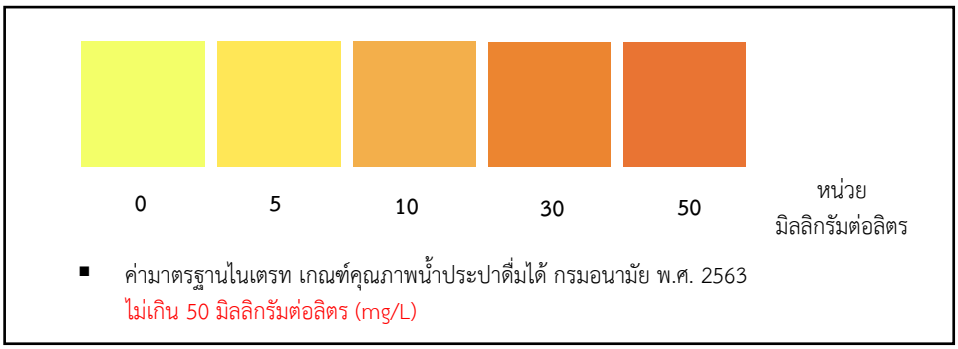
ขั้นตอนที่ 2 Diazonium Compounds



Diazonium Salt Chromotropic Acid Red - orange complex ..... (2)

ภาพที่ 3 การเกิดสีของสารมาตรฐานไนเตรท
ที่ระดับความเข้มข้น 0 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากภาพที่ 3 นำไปสร้างแผ่นเทียบสีมาตรฐานแสดงปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคได้ดังนี้



ภาพที่ 4 แผ่นเทียบสีมาตรฐานแสดงปริมาณไนเตรท

จากสีมาตรฐานที่ได้ นำสารละลายระดับความเข้มข้นต่างๆ ไปทดสอบความใช้ได้ของต้นแบบชุดทดสอบไนเตรท (Test kit) ต่อไป

4.2 ผลการทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค (Nitrate Test kit)

4.2.1 ผลการทดสอบความไว (sensitivity)

วัดค่าการดูดกลืนแสงของ sample blank ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำ 10 ซ้ำ คำนวณหาค่า LOD และ LOQ ได้ผลดังตารางที่ 4

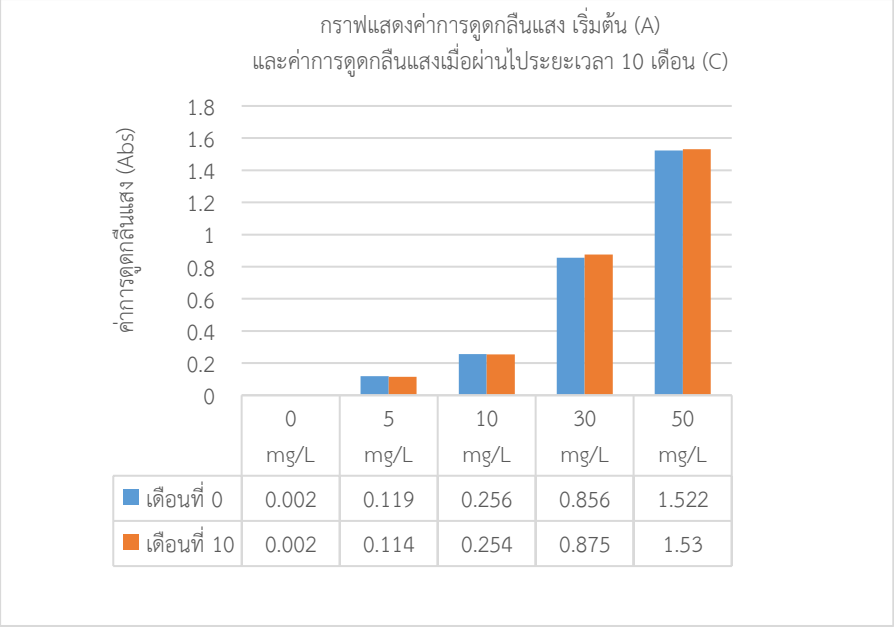
<u>ตารางที่ 4</u> ผลการทดสอบความไว (Sensitivity)

ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นของตัวอย่างแบลงค์ (sample blank) ที่วิเคราะห์ได้ จำนวน 10 ซ้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	2.24
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) ของ sample blank	0.239
ขีดจำกัดในการตรวจวัด (detection limit, LOD) จากสูตร $\mathrm{LOD} = \bar{x} + 3S$	= 2.24 + (3 x 0.239) = 2.95 ≈ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร
ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (quantitation limit, LOQ) จากสูตร $\mathrm{LOQ} = \bar{x} + 10S$	= 2.24 + (10 x 0.239) = 4.62 ≈ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากตารางที่ 4 ความเข้มข้นต่ำสุดของไนเตรทที่ชุดทดสอบไนเตรทสามารถตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงของความเข้มสีได้ (LOD) คือ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยอมรับได้ว่าชุดทดสอบไนเตรทสามารถทดสอบได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (LOQ) คือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

4.2.2 ผลการทดสอบความเสถียร (Stability)

การทดสอบความเสถียร (Stability) เป็นกระบวนการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารทดสอบในชุดทดสอบทางเคมี ความเสถียรที่ดีคุณสมบัติของสารทดสอบจะต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไประยะเวลาหนึ่ง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนเตรทด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ



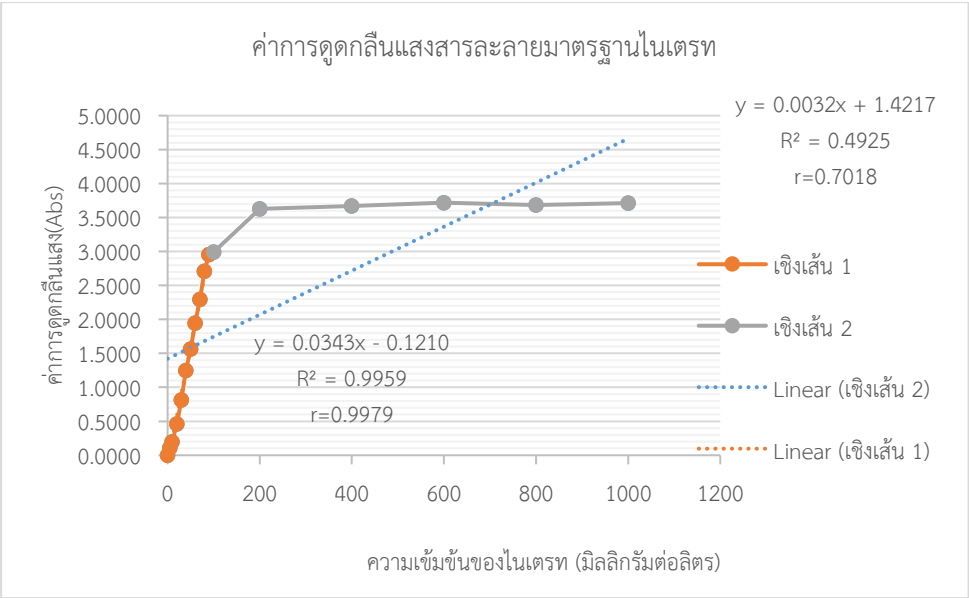
ภาพที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบไนเตรทเริ่มต้น (A) และระยะเวลา 10 เดือน (C)

วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนเตรทด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ทดสอบซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ผลการทดสอบดังภาพที่ 5 เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ t-test พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบไนเตรทเริ่มต้น เมื่อเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบที่ผ่านไประยะเวลา 10 เดือน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าสารละลายทดสอบมีความเสถียรเพียงพอในระยะเวลา 10 เดือน สำหรับการทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค

4.2.3 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

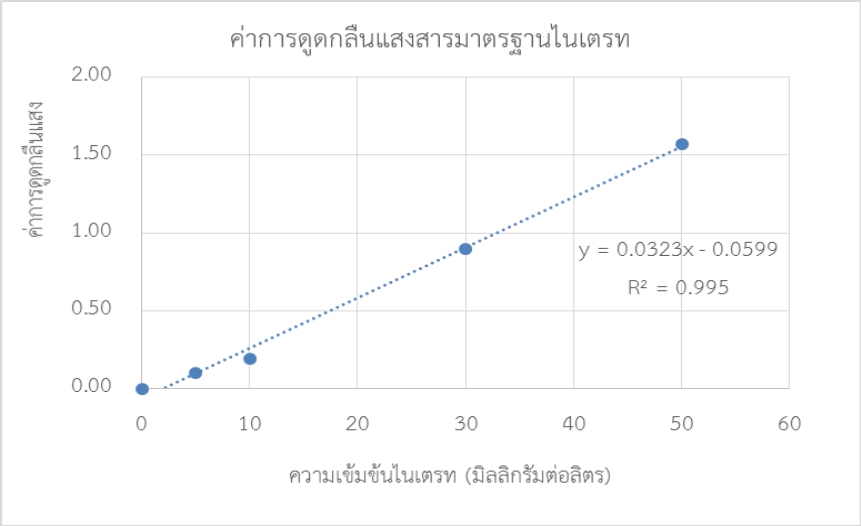
การทำให้เกิดสีและสร้างกราฟมาตรฐาน โดยนำสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มาอย่างละ 20 มิลลิลิตร เทลงในหลอดทำปฏิกิริยา ขนาด 20 มิลลิลิตร จำนวนความเข้มข้นอย่างละ 10 หลอด หยดสารที่ 1 จำนวน 20 หยด เติมสารที่ 1 ทิ้งไว้ 9 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร

จากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นไนเตรท โดยให้ความเข้มข้นของไนเตรทอยู่ในแกน X และค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในแกน Y ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นไนเตรท ในการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

จากภาพที่ 6 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไนเตรท ที่ความยาวคลื่น 513 นาโนเมตร โดยศึกษาที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าถ้าใช้ช่วงความเข้มข้น 0 จนถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าการดูดกลืนแสงจะไม่เพิ่มขึ้นเป็นเชิงเส้น เกิดจากปริมาณไนเตรทที่มากเกินพอ ทำให้ไม่สามารถฟอร์มสีของสารทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นได้ ค่าการดูดกลืนแสงในระดับความเข้มข้นสูงจึงมีค่าใกล้เคียง ทำให้ค่า r ไม่เข้าใกล้ 1 (r = 0.7018) ดังนั้นช่วงความเข้มข้น 0 จนถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ไม่เหมาะสมไปพัฒนาชุดทดสอบ เมื่อพิจารณาช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 90 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าค่า r เข้าใกล้ 1 (r = 0.9979) มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง และจากการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของสี พบว่าช่วงความเข้มสีที่สามารถมองเห็นถึงความแตกต่างของความเข้มข้นไนเตรทได้ด้วยตาเปล่าอยู่ในช่วง 0 จนถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่า r เข้าใกล้ 1 (r = 0.995) (ดังภาพที่ 7) ทำให้ช่วงความเข้มข้นนี้มีความเหมาะสมนำไปพัฒนาชุดทดสอบไนเตรทต่อไป



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นไนเตรท ช่วง 0 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

4.2.4 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)

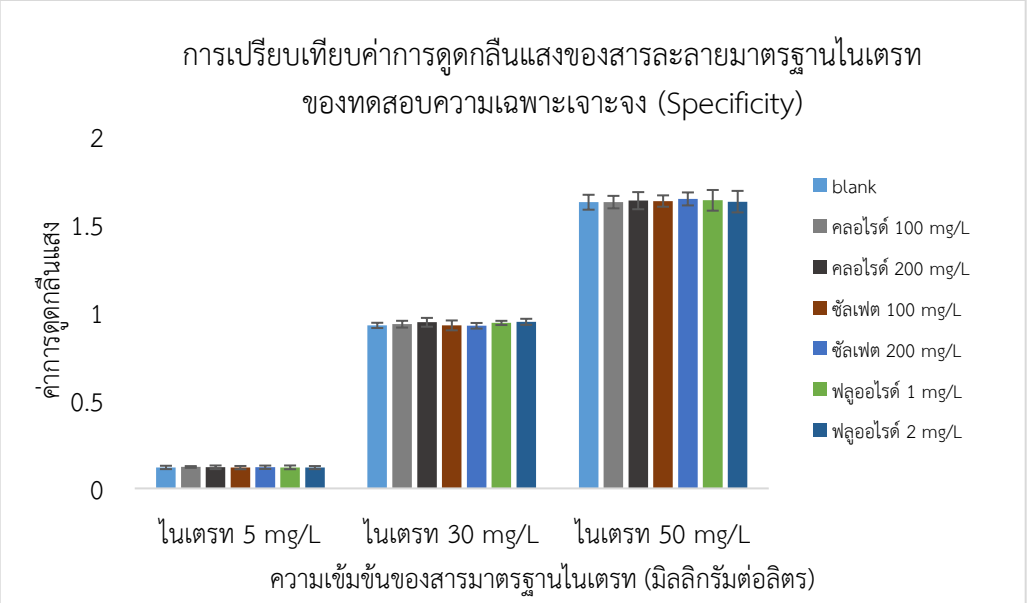
ตารางที่ 5 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) จำนวน 20 ซ้ำ

ความเข้มข้นไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย 20 ซ้ำ	SD	RSD_{obs}	$RSD_{expected}$	HorRAT
0	-	-	-	-	-
5	0.142	0.0078	5.5	14.2	0.39
10	0.216	0.0385	17.8	13.3	1.34
30	0.863	0.0728	8.4	10.8	0.78
50	1.555	0.0817	5.3	9.9	0.53

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ของสารเคมีที่ใช้ทดสอบปริมาณไนเตรทในชุดทดสอบไนเตรท โดยใช้เกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตามสมการ Horwitz และ HorRat มาประเมินความเป็นเนื้อเดียวกัน ที่ความเข้มข้น 0 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเข้มข้นละ 20 ซ้ำ พบว่าค่า HorRat ที่ได้มีค่าน้อยกว่า 2 ทุกความเข้มข้น (ยกเว้นที่ความเข้มข้นของ ไนเตรทเท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นแบลงค์ของการวิเคราะห์ จึงไม่นำมาคำนวณค่า HorRat) ดังนั้นชุดทดสอบไนเตรทนี้ มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ของ AOAC

4.2.5 การทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

เป็นความสามารถของวิธีในการจำแนกสารที่สนใจวิเคราะห์ออกจากสารอื่นๆ รวมถึงสารปนเปื้อนและเมทริกซ์อื่นๆ ที่มีผลต่อการวิเคราะห์ ขั้นตอนการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) ทำการศึกษาตัวรบกวนสารละลายแอนไอออน 3 ชนิด ได้แก่ คลอไรด์ (Cl^-), ฟลูออไรด์ (F^-) และซัลเฟต (SO^{2-}_4)



ภาพที่ 8 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 นาโนเมตรของสารมาตรฐานไนเตรท เมื่อมีไอออนของคลอไรด์ ซัลเฟต และฟลูออไรด์เป็นตัวรบกวน

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้สถิติ ANOVA ให้ค่า Significant มากกว่า 0.05 แสดงว่า ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้อง

4.2.6 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and Precision)

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision)

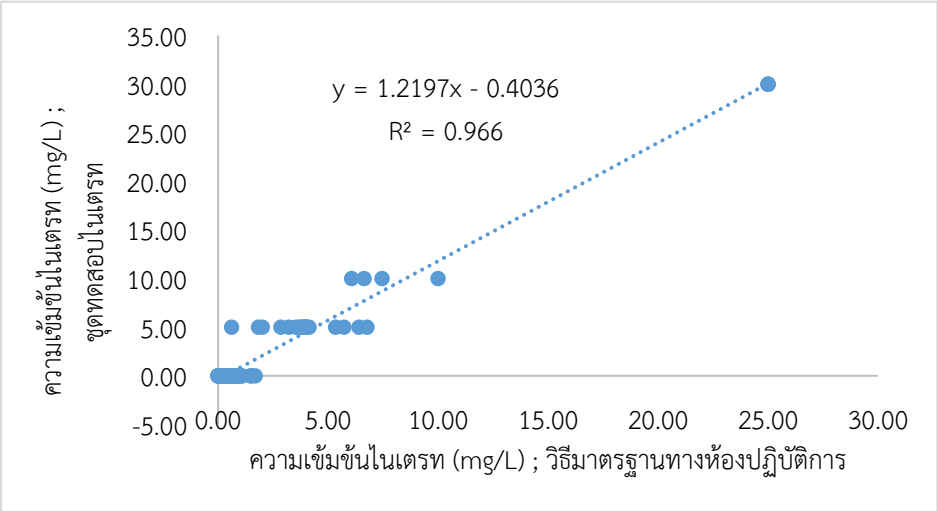
ความเข้มข้นไนเตรท (mg/L)	ความเข้มข้นไนเตรทในตัวอย่างน้ำบริโภค (mg/L) ค่าเฉลี่ย (10 ซ้ำ)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD)	%RSD	%Recovery	HorRat
5	7.71	0.21	2.8	101.59	0.35
10	11.95	0.32	2.7	93.19	0.37
30	34.01	0.50	1.5	104.61	0.24
50	55.58	0.70	1.3	105.90	0.22

จากตารางที่ 6 ความแม่นยำ (Accuracy) จะอธิบายในรูปของเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% recovery) กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 จนถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (% recovery) อยู่ในช่วง 80-110 % ซึ่งเป็นเกณฑ์ยอมรับได้ ในช่วงความถูกต้องตามเกณฑ์ของ AOAC ส่วนความเที่ยง (Precision) จะอธิบายในรูปของ HorRat ตามเกณฑ์ของ AOAC จะยอมรับ HorRat ที่น้อยกว่า 2 ซึ่งชุดทดสอบไนเตรทเมื่อทดสอบกับตัวอย่างที่ความเข้มข้น 5 จนถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าค่า HorRat ตลอดช่วงของความเข้มข้น มีค่าน้อยกว่า 2 แสดงว่าชุดทดสอบไนเตรท มีความเที่ยงตรง

ดังนั้นชุดทดสอบไนเตรทมีความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ที่ยอมรับได้ เหมาะสมที่นำไปทดสอบไนเตรทในภาคสนาม

4.3 ผลการเปรียบเทียบชุดทดสอบไนเตรทกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ

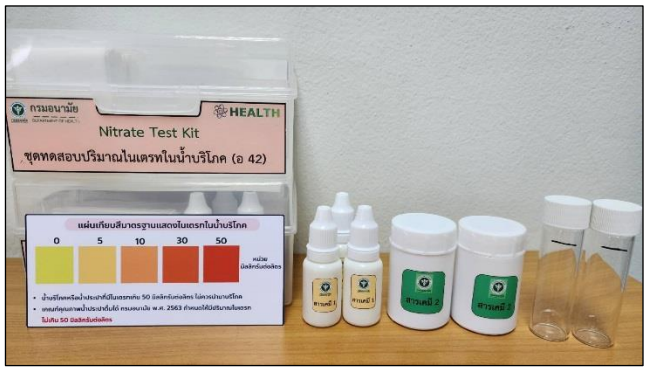
โดยทำการทดสอบหาปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคด้วยวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบกับชุดทดสอบไนเตรท จำนวน 100 ตัวอย่าง



ภาพที่ 9 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการทดสอบไนเตรทด้วยวิธีมาตรฐานและชุดทดสอบไนเตรท

ทำการทดสอบด้วยตัวอย่างน้ำบริโภคจำนวน 100 ตัวอย่าง ที่ส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการกับกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย โดยทดสอบด้วยชุดทดสอบไนเตรทเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธีการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทที่ได้จากวิธีชุดทดสอบ ไม่แตกต่างกับวิธีวิเคราะห์มาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ มีความถูกต้อง (Accuracy) 96.6 % (เกณฑ์ยอมรับต้องมากกว่า 85 %) ดังภาพที่ 9 ทำให้ชุดทดสอบไนเตรทที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปใช้ได้อย่างเหมาะสมในภาคสนามเพื่อเป็นการเฝ้าระวังปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคได้

4.4 ชุดทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภคสำหรับใช้งานภาคสนาม



ภาพที่ 10 ชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค

ภาพที่ 11 องค์ประกอบชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค

บทที่ 5
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

ชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคเพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค ใช้หลักการเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method) โดยไนเตรทในตัวอย่างน้ำทำปฏิกิริยากับซิงค์และกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) ในสภาวะที่เป็นกรด เกิดเป็นเกลือไดอะโซเนียมที่ไม่เสถียร จากนั้นเกลือไดอะโซเนียมจะทำปฏิกิริยากับกรดโครมาโทรพิค (Chromotropic acid) เกิดสารละลายสีแดงส้ม ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ความเข้มของสีที่ปรากฏขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของปริมาณไนเตรทในตัวอย่าง จากการศึกษาพบว่าช่วงความเข้มข้นของไนเตรทที่เหมาะสมที่ชุดทดสอบสามารถตรวจหาได้ คือ 0 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เข้าใกล้ 1 (r = 0.995) และสามารถมองเห็นความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงสีได้ด้วยตาเปล่า มีความไว (Sensitivity) โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ชุดทดสอบเปลี่ยนแปลงสีได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (LOQ) คือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ของสารทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยอธิบายในรูปของ HorRat อยู่ระหว่าง 0.34 ถึง 0.78 (เกณฑ์ยอมรับค่า HorRat น้อยกว่า 2) มีค่าความถูกต้องแม่นยำ (Accuracy) ที่ระดับความเข้มข้นของไนเตรท 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) อยู่ระหว่าง 93.19 ถึง 105.90 (เกณฑ์ยอมรับ %Recovery อยู่ในช่วง 80-110%) มีค่าความเที่ยง (Precision) โดยอธิบายในรูปของ HorRat อยู่ระหว่าง 0.22 ถึง 0.37 (เกณฑ์ยอมรับค่า HorRat น้อยกว่า 2) มีความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้สถิติ ANOVA เมื่อมีตัวรบกวน พบว่าให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีความเสถียร (Stability) โดยไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารทดสอบในระยะเวลา 10 เดือน นับจากการผลิต

เมื่อนำชุดทดสอบไนเตรททดสอบกับน้ำบริโภค จำนวน 100 ตัวอย่างที่ส่งตรวจกับกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย โดยการทดสอบด้วยชุดทดสอบไนเตรทเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ จากนั้นนำผลการทดสอบมาวิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยวิธีการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) พบว่ามีความถูกต้องถึง 96.6 % เมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ แสดงว่าชุดทดสอบปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคนี้ สามารถนำไปใช้งานภาคสนามได้

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนานวัตกรรมชุดทดสอบไนเตรทสำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค รายการทดสอบไนเตรท โดยใช้หลักการเกิดสีของสาร (Colorimetric Method) โดยดูจากความเข้มสีที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนของความเข้มข้นไนเตรท พบว่าเมื่อมีความเข้มข้นของไนเตรทมากกว่า 5 มิลลิกรัมต่อลิตรขึ้นไป จะได้ปฏิกิริยาสีแดงส้ม นอกจากนี้ เมื่อทำการเปรียบเทียบระหว่างการวิเคราะห์ไนเตรทด้วยวิธีชุดทดสอบและวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการที่ใช้ไอออนโครมาโตกราฟี พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตามหลักสถิติ สามารถนำชุดทดสอบนี้มาใช้ทดสอบตัวอย่างน้ำประปาเพื่อการเฝ้าระวังได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อพิจารณาต้นทุนในส่วนของวัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีและระยะเวลาที่ใช้ในการทดสอบเทียบกับวิธีการไอออนโครมาโตกราฟี พบว่า ชุดทดสอบประหยัดค่าใช้จ่ายได้มากกว่า และให้ผลการทดสอบที่เร็วกว่า ดังนั้นชุดทดสอบไนเตรทจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความเหมาะสม มีความถูกต้อง แม่นยำสูง ประหยัดงบประมาณและเวลารวมทั้งให้ผลทดสอบที่รวดเร็ว สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

1) ชุดทดสอบไนเตรท เป็นเครื่องมือให้หน่วยงานต่างๆ ทั้งภาครัฐ ภาคเอกชนและประชาชน ใช้สำหรับการเฝ้าระวังปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค ให้เป็นไปตามมาตรฐานคุณภาพบริโภค
2) เป็นเครื่องมือให้หน่วยงานต่าง ๆ ทั้งภาครัฐ ภาคเอกชนและประชาชน ใช้สำหรับการเฝ้าระวังปริมาณไนเตรท ในน้ำบริโภคให้เป็นไปตามมาตรฐาน
3) ผู้ควบคุม/ผู้ดูแลระบบ น้ำประปา สามารถนำชุดทดสอบนี้ไปใช้ในการเฝ้าระวังปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค น้ำประปาได้ เพื่อให้เกิดการแก้ปัญหาและปรับปรุงคุณภาพน้ำในระบบได้อย่างทันท่วงที

5.3.2 ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยครั้งต่อไป

1) ควรขยายพื้นที่ในการนำชุดทดสอบนี้ไปใช้งานโดยไม่จำกัดเฉพาะพื้นที่ เพื่อให้เกิดความครอบคลุม
2) ควรดำเนินการวิจัยโดยใช้หลักการหรือเทคโนโลยีอื่นๆ เพื่อเปลี่ยนแปลงสารทดสอบให้ใช้งานที่ง่ายยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. 2017. Nitrate and Nitrite in Drinking-water. Geneva.
2. กลุ่มพัฒนาระบบจัดการคุณภาพน้ำบริโภค สำนักสุขาภิบาลอาหารและน้ำ กรมอนามัย.2565.รายงายสรุปสถานการณ์คุณภาพน้ำบริโภคในครัวเรือนประจำปีงบประมาณ 2565.กันยายน 2565.24
3. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2549 (มอก 257-2549). ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 3470 (พ.ศ.2549) เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค. 3470 : 1-3
4. สำนักส่งเสริมสุขภาพ สำนักสุขาภิบาลอาหารและน้ำ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2556. การจัดการน้ำบริโภคในโรงเรียน.4 เมษายน 2556.2-8.ศูนย์สื่อและสิ่งพิมพ์แก้วเจ้าจอม วชิระ เขตตุสิต กรุงเทพมหานคร
5. สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2562. คู่มือ มาตรฐานน้ำดื่มประเทศไทย.พฤษภาคม 2562.16-23
6. สำนักส่งเสริมสุขภาพ สำนักสุขาภิบาลอาหารและน้ำ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2556. การจัดการน้ำบริโภคในโรงเรียน.4 เมษายน 2556.2-8.ศูนย์สื่อและสิ่งพิมพ์แก้วเจ้าจอม วชิระ เขตตุสิต กรุงเทพมหานคร
7. สถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล ม.ป.ป. วัฏจักรไนโตรเจน. [ออนไลน์];[สืบค้น13 ก.พ.2566] เข้าถึงได้จาก: https://il.mahidol.ac.th/emedia/ecology/chapter1/chapter1_nitrogen1.htm.
8. Roberto Picetti, Megan Deeney. 2022. Nitrate and nitrite contamination in drinking water and cancer risk: A systematic review with meta-analysis.210
9. Davoud Jalili,Majid RadFard,and Hamed Soleimani. 2018.Data on Nitrate-Nitrite pollution in the groundwater resources a Sonqor plain Iran.20:394-401
10. เทพวิทูรย์ ทองศรี. 2555. ผลกระทบของไนโตรเจนต่อสิ่งแวดล้อม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ.190:12-13
11. อัญชลี แท่นนิล. 2564. การพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย กรมส่งเสริมสิ่งแวดล้อม.12-13
12. Mary H. Ward,Rena R. Jones,and Jean D. Brender[2].2018.Drinking Water Nitrate and Human Health: An Update Review.
13. ถนอมศักดิ์ บุญภักดี.2563. การเฝ้าระวังและบ่งชี้สาเหตุการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี (Red tide) บริเวณชายหาดบางแสนขวอนนภา
14. ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์.2531. เอกสารคำสอนวิชาชลธีวิทยา - Limnology(ชีววิทยาประมง451). คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
15. Badiadka Narayana and Kenchaiah Sunil, 2009. A Spectrophotometric Method for the Determination of Nitrite and Nitrate.Eurasian of Analytical Chemistry.
16. .Manori B. Jayawardane, Shen Wei, Ian D. McKelvie, and Spas D. Kolev. (2014). “ Microfluidic paper-based analytical device for the determination of nitrite and nitrate.” Analytical Chemistry 86:7274-7279

ภาคผนวก ก

เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภค

<u>ตารางที่ 7</u> เกณฑ์การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท
ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524)

รายการทดสอบ	หน่วย	มาตรฐานที่กำหนด	วิธีการทดสอบ
ทางกายภาพ			
1. สี (Colour)	ฮาเซนยูนิต	ไม่เกิน 20	Spectrophotometric-Single-Wavelength
2. ความขุ่น (Turbidity)	(ซิลิกา)	ไม่เกิน 5	Nephelometric
3. ความเป็นกรด - ด่าง (pH)	-	ต้องอยู่ระหว่าง 6.5 ถึง 8.5	Electrometric
4. กลิ่น (Odour)	-	ไม่มีกลิ่น แต่ไม่รวมถึงกลิ่นคลอรีน	
ทางเคมี			
5. ปริมาณสารทั้งหมด (Total Solids)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 500	TS Dried at 103-105°C
6. ความกระด้างทั้งหมด (Total Hardness)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 100	EDTA Titrimetric
7. สารหนู (Arsenic)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
8. แบเรียม (Barium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 1.0	ICP
9. แคดเมียม (Cadmium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.01	ICP
10. คลอไรด์ (Chloride)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 250	Ion Chromatography
11. โครเมียม (Chromium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
12. ทองแดง (Copper)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 1.0	ICP
13. เหล็ก (Iron)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.5	ICP
14. ตะกั่ว (Lead)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.1	ICP
15. แมงกานีส (Manganese)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
16. ปรอท (Mercury)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.002	ICP
17. ไนเตรท (Nitrate) คำนวณเป็นไนโตรเจน	(มก./ล.)	ไม่เกิน 4.0	Auto-Cadmium Reduction
18. ฟีนอล (Phenol)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.001	Distillation & Colorimetric
19. ซีลีเนียม (Selenium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.01	ICP
20. เงิน (Silver)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
21. ซัลเฟต (Sulfate)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 250	Turbidimetric
22. สังกะสี (Zinc)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 5.0	ICP
23. ฟลูออไรด์ (Fluoride)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 1.5	Ion Selective Electrode
ทางจุลชีววิทยา			
24. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform bacteria)	(เอ็มพีเอ็น/100 มล.)	น้อยกว่า 2.2	Multiple-Tube Fermentation Technique
25. อี.โคไล (E.coli)	-	ไม่พบ	Multiple-Tube Fermentation Technique
26. สแตฟฟีโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique
27. ซาลโมเนลลา (Salmonella)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique
28. คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (Clostridium perfringens)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique

แหล่งที่มา : ประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 98 ตอนที่ 157 วันที่ 24 กันยายน 2524

<u>ตารางที่ 8</u> เกณฑ์การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท
ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ.2534)

รายการทดสอบ	หน่วย	มาตรฐานที่กำหนด	วิธีการทดสอบ
ทางกายภาพ			
1. สี (Colour)	ฮาเซนยูนิต	ไม่เกิน 20	Spectrophotometric-Single-Wavelength
2. ความขุ่น (Turbidity)	(ซิลิกา)	ไม่เกิน 5	Nephelometric
3. ความเป็นกรด - ด่าง (pH)	-	ต้องอยู่ระหว่าง 6.5 ถึง 8.5	Electrometric
4. กลิ่น (Odour)	-	ไม่มีกลิ่น แต่ไม่รวมถึงกลิ่นคลอรีน	
ทางเคมี			
5. ปริมาณสารทั้งหมด (Total Solids)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 500	TS Dried at 103-105°C
6. ความกระด้างทั้งหมด (Total Hardness)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 100	EDTA Titrimetric
7. สารหนู (Arsenic)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
8. แบเรียม (Barium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 1.0	ICP
9. แคดเมียม (Cadmium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.005	ICP
10. คลอไรด์ (Chloride)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 250	Ion Chromatography
11. โครเมียม (Chromium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
12. ทองแดง (Copper)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 1.0	ICP
13. เหล็ก (Iron)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.3	ICP
14. ตะกั่ว (Lead)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
15. แมงกานีส (Manganese)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
16. ปรอท (Mercury)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.002	ICP
17. ไนเตรท (Nitrate) คำนวณเป็นไนโตรเจน	(มก./ล.)	ไม่เกิน 4.0	Auto-Cadmium Reduction
18. ฟีนอล (Phenol)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.001	Distillation & Colorimetric
19. ซีลีเนียม (Selenium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.01	ICP
20. เงิน (Silver)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.05	ICP
21. ซัลเฟต (Sulfate)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 250	Turbidimetric
22. สังกะสี (Zinc)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 5.0	ICP
23. ฟลูออไรด์ (Fluoride)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 1.5	Ion Selective Electrode
24. อลูมิเนียม (Aluminium)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.2	ICP
25. อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนต (ABS)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.2	Extraction & Colorimetric
26. ไซยาไนด์ (Cyanide)	(มก./ล.)	ไม่เกิน 0.1	Ion Chromatography
ทางจุลชีววิทยา			
27. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform bacteria)	(เอ็มพีเอ็น/100 มล.)	น้อยกว่า 2.2	Multiple-Tube Fermentation Technique
28. อี.โคไล (E.coli)	-	ไม่พบ	Multiple-Tube Fermentation Technique
29. สแตฟฟีโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique
30. ซาลโมเนลลา (Salmonella)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique
31. คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (Clostridium perfringens)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique

แหล่งที่มา : ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ.2534) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ 2) ซึ่งประกาศในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 108 ตอนที่ 61 วันที่ 2 เมษายน 2534

<u>ตารางที่ 9</u> เกณฑ์การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำบริโภค ตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม มาตรฐานเลขที่ มอก.257-2549

รายการทดสอบ	หน่วย	เกณฑ์ที่กำหนดสูงสุด	วิธีการทดสอบ
ทางกายภาพ			
1. สี (Colour)	(แพลทินัม - โคบอลต์)	5	Spectrophotometric-Single-Wavelength
2. ความขุ่น (Turbidity)	(เอ็นทียู)	ไม่เกิน 5	Nephelometirc
3. ความเป็นกรด - ด่าง (pH)	-	6.5 ถึง 8.5	Electrometric
4. กลิ่น (Odour)	-	ไม่เป็นที่รังเกียจ	-
5. รส (Taste)	-	ไม่เป็นที่รังเกียจ	-
ทางเคมี			
6. ปริมาณสารที่ละลายทั้งหมด (Total Dissolved Solids)	(มก./ล.)	500	TDS Dried at 180°C
7. เหล็ก (Iron)	(มก./ล.)	0.3	ICP
8. แมงกานีส (Manganese)	(มก./ล.)	0.05	ICP
9. ทองแดง (Copper)	(มก./ล.)	1.0	ICP
10. สังกะสี (Zine)	(มก./ล.)	3	ICP
11. ความกระด้างทั้งหมด (Total Hardness)		100	EDTA Titrimetric
12. ซัลเฟต (Sulfate)	(มก./ล.)	200	Ion Chromatography
13. คลอไรด์ (Chloride)	(มก./ล.)	250	Ion Chromatography
14. ฟลูออไรด์ (Fluoride)	(มก./ล.)	0.7	Ion Chromatography
15. ไนเตรท (Nitrate as Nitrogen)	(มก./ล.)	4	Ion Chromatography
16. ลิเนียร์อัลคิลเบนซีนซัลโฟเนต (LAS)	(มก./ล.)	0.2	Extraction & Colorimetric
17. ฟีโนลิกซับสแตนซ์ (Phenolic substances, as Phenol)	(มก./ล.)	0.001	Distillation & Colorimetric
สารเป็นพิษ			
18. ปรอท (Mercury)	(มก./ล.)	0.001	ICP
19. ตะกั่ว (Lead)	(มก./ล.)	0.01	ICP
20. สารหนู (Arsenic)	(มก./ล.)	0.01	ICP
21. ซีลีเนียม (Selenium)	(มก./ล.)	0.01	ICP
22. โครเมียม (Chromium)	(มก./ล.)	0.05	ICP
23. ไซยาไนด์ (Cyanide)	(มก./ล.)	0.07	Ion Chromatography
24. แคดเมียม (Cadmium)	(มก./ล.)	0.003	ICP
25. แบเรียม (Barium)	(มก./ล.)	0.7	ICP
ทางจุลวิทยา			
26. โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Coliform bacteria)	(เอ็มพีเอ็น/100 มล.)	น้อยกว่า 1.1	Multiple-Tube Fermentation Technique
27. อี.โคไล (E.coli)	-	ไม่พบ	Multiple-Tube Fermentation Technique
28. สแตฟฟิโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique
29. ซาลโมเนลลา (Salmonella)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique
30. คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (Clostridium perfringens)	-	ไม่พบ	Membrane Filter Technique

แหล่งที่มา : ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศและงานทั่วไป เล่ม 123 ตอนที่ 64ง วันที่ 6 กรกฎาคม 2549

<u>ตารางที่ 10</u> เกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ ประกาศกรมอนามัย พ.ศ.2563

พารามิเตอร์	หน่วยวัด	ค่ามาตรฐาน	วิธีวิเคราะห์
ด้านกายภาพ			
ความขุ่น (Turbidity)	เอ็นทียู	ไม่เกิน 5	Nephelometry
สีปรากฏ (Apparent color)	แพลตตินัมโคบอลท์	ไม่เกิน 15	Spectrophotometric-single-wavelenght,visual comparison method
ความเป็นกรดและด่าง (pH)	-	6.5 – 8.5	Electrometric method
ด้านเคมีทั่วไป			
ของแข็งละลายน้ำทั้งหมด (Total dissolved solids)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 500	TDS dride at 180 องศาเซลเซียส, Gravimetric, Electrometric method
ความกระด้าง (Hardness)	มิลลิกรัมต่อลิตร (as $CaCO_3$)	ไม่เกิน 300	EDTA titrimetric
ซัลเฟต (Sulfate)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 250	Turbidimetry, ion chromatography
คลอไรด์ (Chloride)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 250	Argentometry, ion chromatography
ไนเตรท (Nitrate)	มิลลิกรัมต่อลิตร (as NO_3^-)	ไม่เกิน 50	Cadmium reduction, ion chromatography, spectrophotometry
ไนไตรท์ (Nitrite)	มิลลิกรัมต่อลิตร (as NO_2^-)	ไม่เกิน 3	Cadmium reduction, ion chromatography, spectrophotometry
ฟลูออไรด์ (Fluoride)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.7	ion chromatography, SPADNS colorimetric method, ion-selective electrode
ด้านเคมี (โลหะหนัก)			
เหล็ก (Iron)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.3	AAS (flame), ICP, spectrophotometry
แมงกานีส (Manganese)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.3	AAS (flame), ICP, spectrophotometry
ทองแดง (Copper)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 1	AAS (flame), ICP, spectrophotometry
สังกะสี (Zinc)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 3	AAS (flame), ICP, spectrophotometry
ด้านเคมี (โลหะหนักที่เป็นพิษ)			
ตะกั่ว (Lead)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.01	AAS (graphite furnace), ICP
โครเมียมรวม (Total chromium)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.05	AAS (graphite furnace), ICP
แคดเมียม (Cadmium)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.003	AAS (graphite furnace), ICP
สารหนู (Arsenic)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.01	AAS (vapor generation technique), ICP, graphite furnace
ปรอท (Mercury)	มิลลิกรัมต่อลิตร	ไม่เกิน 0.001	AAS (vapor generation technique), ICP, Automatic direct mercury analyzer
ด้านชีวภาพ			
โคลิฟอร์มแบคทีเรีย (Total coliforms bacteria)	ต่อ 100 มิลลิลิตร	ไม่พบ	Present-Absence Test
	เอ็มพี่เอ็น ต่อ 100 มิลลิลิตร	น้อยกว่า 1.1	MPN method
อีโคไล (*Escherichia coli*)	ต่อ 100 มิลลิลิตร	ไม่พบ	Present-Absence Test
	เอ็มพี่เอ็น ต่อ 100 มิลลิลิตร	น้อยกว่า 1.1	MPN method

แหล่งที่มา : ประกาศกรมอนามัย พ.ศ.2563. เรื่องเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ (ลงวันที่ 13 กรกฎาคม 2563)

ภาคผนวก ข

ผลการทดสอบ

1. ผลการทดสอบความไว (sensitivity) ของชุดทดสอบไนเตรท (Test kit)

โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของ sample blank ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำ 10 ซ้ำ

ตารางที่ 11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 nm ของ sample blank จากห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

ครั้งที่	ค่าดูดกลืนแสง	ความเข้มข้นที่ได้จากการคำนวณของสมการเส้นตรง
		y = 0.0323x - 0.060
1	0.009	2.136
2	0.001	1.889
3	0.007	2.074
4	0.001	1.889
5	0.014	2.291
6	0.025	2.632
7	0.014	2.291
8	0.015	2.322
9	0.019	2.446
10	0.017	2.384
ค่าเฉลี่ย	0.015	2.235
SD		0.239

2. ผลการศึกษาความเสถียร (Stability) ของสารทดสอบ

<u>ตารางที่ 12</u> ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบไนเตรทเริ่มต้น (A) และระยะเวลา 10 เดือน (C)

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง(Abs) ที่ระดับความเข้มข้นไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)									
	0 mg/L		5 mg/L		10 mg/L		30 mg/L		50 mg/L	
	A	C	A	C	A	C	A	C	A	C
1	0.002	0.000	0.112	0.111	0.274	0.238	0.875	0.869	1.518	1.523
2	0.001	0.000	0.129	0.111	0.273	0.239	0.876	0.869	1.525	1.546
3	0.000	0.000	0.127	0.108	0.238	0.256	0.907	0.871	1.534	1.543
4	0.001	0.007	0.121	0.109	0.264	0.255	0.907	0.863	1.499	1.503
5	0.004	0.004	0.127	0.111	0.264	0.249	0.884	0.856	1.498	1.533
6	0.000	0.000	0.114	0.111	0.239	0.248	0.678	0.856	1.592	1.525
7	0.000	0.000	0.116	0.111	0.253	0.269	0.852	0.853	1.519	1.548
8	0.000	0.000	0.113	0.111	0.253	0.269	0.864	0.853	1.505	1.503
9	0.010	0.010	0.111	0.127	0.266	0.258	0.807	0.928	1.510	1.533
10	0.000	0.000	0.115	0.126	0.236	0.257	0.910	0.927	1.516	1.543
ค่าเฉลี่ย	0.002	0.002	0.119	0.114	0.256	0.254	0.856	0.875	1.522	1.530
SD	0.0032	0.0037	0.0069	0.0069	0.0144	0.0107	0.0698	0.0287	0.0272	0.0166
df (N-1)	9		9		9		9		9	
t Stat	-0.4494		1.3091		0.3247		-0.8060		-0.9097	
P(T<=t) two-tail	0.6637		0.2229		0.7528		0.4410		0.3867	
t Critical two-tail	2.2622		2.2622		2.2622		2.2622		2.2622	

3. ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

<u>ตารางที่ 13</u> ค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 nm ของสารละลายมาตรฐานไนเตรทของการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง ช่วง 0 ถึง 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้น (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)										ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.001	0.000	0.000	0.0004	0.0007
5	0.11	0.11	0.11	0.111	0.102	0.102	0.102	0.103	0.102	0.101	0.1053	0.0043
10	0.197	0.192	0.189	0.189	0.198	0.198	0.193	0.193	0.195	0.196	0.1940	0.0034
20	0.454	0.454	0.457	0.458	0.462	0.462	0.465	0.465	0.467	0.467	0.4611	0.0050
30	0.804	0.805	0.807	0.808	0.816	0.813	0.812	0.82	0.824	0.828	0.8137	0.0082
40	1.231	1.229	1.249	1.244	1.248	1.247	1.246	1.250	1.254	1.255	1.2453	0.0087
50	1.515	1.517	1.613	1.615	1.535	1.531	1.612	1.615	1.540	1.544	1.5637	0.0440
60	1.931	1.926	1.935	1.933	1.95	1.953	1.942	1.942	1.957	1.957	1.9426	0.0112
70	2.285	2.285	2.28	2.279	2.302	2.302	2.29	2.29	2.319	2.319	2.2951	0.0148
80	2.751	2.735	2.638	2.638	2.751	2.751	2.663	2.65	2.751	2.75	2.7078	0.0528
90	3.035	3.035	2.838	2.82	3.035	3.035	2.839	2.839	3.035	3.034	2.9545	0.1039
100	2.95	2.977	3.004	3.004	2.977	2.977	3.004	3.004	3.004	3.004	2.9905	0.0191
200	3.578	3.703	3.703	3.578	3.578	3.577	3.702	3.703	3.578	3.578	3.6278	0.0645
400	3.578	3.702	3.702	3.878	3.578	3.702	3.702	3.577	3.577	3.701	3.6697	0.0958
600	3.709	3.583	3.708	3.885	3.884	3.708	3.708	3.583	3.707	3.708	3.7183	0.1014
800	3.708	3.707	3.708	3.582	3.707	3.707	3.582	3.707	3.707	3.708	3.6823	0.0529
1000	3.707	3.707	3.707	3.707	3.582	3.706	3.707	3.707	3.707	3.883	3.7120	0.0718

<u>ตารางที่ 14</u> ค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 nm ของสารละลายมาตรฐานไนเตรทของการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง ช่วง 0 ถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นไนเตรท (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)			
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
0	0	0.001	0.001	0.001
5	0.100	0.099	0.101	0.100
10	0.194	0.195	0.193	0.194
30	0.899	0.893	0.901	0.898
50	1.563	1.579	1.580	1.574

4. ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity)

<u>ตารางที่ 15</u> ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของชุดทดสอบ จำนวน 20 ซ้ำ

จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)				
	0 mg/L	5 mg/L	10 mg/L	30 mg/L	50 mg/L
1	0.000	0.151	0.258	0.875	1.326
2	0.000	0.143	0.213	0.876	1.525
3	0.002	0.142	0.231	0.907	1.534
4	0.000	0.141	0.231	0.907	1.499
5	0.000	0.146	0.236	0.884	1.498
6	0.000	0.148	0.236	0.678	1.592
7	0.000	0.138	0.257	0.852	1.519
8	0.000	0.147	0.213	0.864	1.505
9	0.000	0.151	0.189	0.807	1.591
10	0.000	0.150	0.219	0.910	1.592
11	0.000	0.126	0.235	0.885	1.667
12	0.000	0.132	0.234	0.678	1.518
13	0.000	0.151	0.188	0.853	1.586
14	0.000	0.150	0.219	0.865	1.510
15	0.000	0.142	0.122	0.810	1.516
16	0.000	0.144	0.207	0.914	1.544
17	0.000	0.134	0.205	0.934	1.709
18	0.000	0.139	0.122	0.935	1.625
19	0.000	0.132	0.249	0.921	1.655
20	0.000	0.130	0.264	0.914	1.597
ค่าเฉลี่ย	0.000	0.142	0.216	0.863	1.555
SD	-	0.0078	0.0385	0.0728	0.0817
RSD_{obs}	-	5.5	17.8	8.4	5.3
$RSD_{expected}$	-	14.2	13.3	10.8	9.9
HorRat	-	0.39	1.34	0.78	0.53

ประเมินผลตามสมการของ Horwitz วิธีนี้ให้นำค่า RSD จากการทดสอบซ้ำมาเปรียบเทียบกับ RSD จากการคำนวณในสมการของ Horwitz ซึ่งสมการ Horwitz พบว่า RSD สัมพันธ์กับ log concentration โดยที่การทดสอบซ้ำจากหลายห้องปฏิบัติการ พบความสัมพันธ์ว่า RSD = $\pm 2^{(1-0.5\ \log C)}$ และการทดสอบซ้ำภายในห้องปฏิบัติการเดียวกันจะมีค่า RSD อยู่ที่ 2 ใน 3 (~0.66) ของการทดสอบจากหลายห้องปฏิบัติการ โดยสรุปเป็นสมการ Horwitz ดังนี้

$$RSD_r = \pm(0.66)(2)C^{-0.1505}$$

เมื่อ C = อัตราส่วนความเข้มข้น (concentration ratio)

เกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตามสมการ Horwitz

1) ค่า RSD จากการทดลองต้องน้อยกว่า RSD จากสูตรในการคำนวณตามสมการ Horwitz

2) ถ้าค่า RSD จากการทดลองมากกว่า RSD จากสูตรในการคำนวณตามสมการ Horwitz ให้

หาค่า HorRat จากสูตร

$$\mathrm{HorRat} = \frac{\mathrm{RSD_{ex}}}{\mathrm{RSD_{pr}}}$$

เมื่อ RSD_{ex} = experimental RSD

RSD_{pr} = predicted RSD

ค่าที่ยอมรับโดยทั่วไป HorRat ต้องอยู่ระหว่าง 0.5 – 1.5

AOAC ยอมรับ HorRat น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2

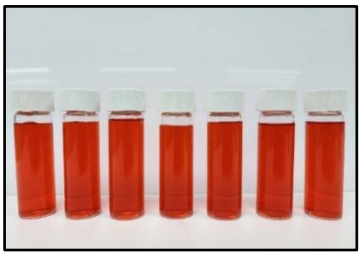
EU, Codec ยอมรับ HorRat น้อยกว่า 2

ไนเตรทเข้มข้นของ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ไนเตรทเข้มข้นของ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ไนเตรทเข้มข้นของ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

ไนเตรทเข้มข้นของ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร



ไนเตรทเข้มข้นของ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 12 ตัวอย่างการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน
ที่ความเข้มข้นของไนเตรท 5, 10, 30 และ50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการวิเคราะห์ค่า HorRat ที่ได้ มีค่าน้อยกว่า 2 ทุกความเข้มข้น (ยกเว้น ที่ความเข้มข้นของไนเตรทเท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นแบลงค์ของการวิเคราะห์ จึงไม่นำมาคิดค่า HorRat) ดังนั้นชุดทดสอบไนเตรทต้นแบบนี้ มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ของ AOAC

5. ผลการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity)

<u>ตารางที่ 16</u> แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 513 nm ของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อมีตัวรบกวนไอออนของคลอไรด์ ซัลเฟต และฟลูออไรด์

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง						
	5 mg/L NO_3^-	5 mg/L NO_3^-					
		เติมคลอไรด์ไอออน		เติมซัลเฟตไอออน		เติมฟลูออไรด์ไอออน	
		100mg/L	200mg/L	100mg/L	200mg/L	1mg/L	2mg/L
1	0.112	0.120	0.118	0.118	0.116	0.131	0.101
2	0.121	0.119	0.126	0.107	0.132	0.106	0.112
3	0.133	0.130	0.110	0.132	0.121	0.113	0.133
4	0.108	0.127	0.129	0.120	0.119	0.122	0.114
5	0.114	0.119	0.121	0.113	0.127	0.102	0.119
6	0.128	0.120	0.116	0.104	0.132	0.131	0.126
7	0.108	0.120	0.134	0.133	0.106	0.116	0.124
8	0.133	0.128	0.112	0.120	0.114	0.122	0.119
9	0.119	0.120	0.102	0.119	0.107	0.119	0.114
10	0.115	0.115	0.132	0.115	0.128	0.134	0.120
ค่าเฉลี่ย	0.1191	0.1218	0.1200	0.1181	0.1202	0.1196	0.1182
SD	0.0095	0.0048	0.0104	0.0093	0.0095	0.0107	0.0087
RSD_{obs}	8.0	3.9	8.6	7.9	7.9	8.9	7.4
$RSD_{expected}$	14.5	14.5	14.5	14.6	14.5	14.5	14.6
HorRat	0.55	0.27	0.59	0.54	0.55	0.62	0.51

<u>ตารางที่ 17</u> แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 513 nm ของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อมีตัวรบกวนไอออนของคลอไรด์ ซัลเฟต และฟลูออไรด์

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง						
	30 mg/L NO3-	30 mg/L NO3-					
		เติมคลอไรด์ไอออน		เติมซัลเฟตไอออน		เติมฟลูออไรด์ไอออน	
		100mg/L	200mg/L	100mg/L	200mg/L	1mg/L	2mg/L
1	0.928	0.933	0.933	0.886	0.951	0.937	0.939
2	0.930	0.933	0.966	0.956	0.922	0.936	0.920
3	0.940	0.899	0.932	0.899	0.940	0.939	0.938
4	0.926	0.906	0.990	0.942	0.941	0.940	0.942
5	0.891	0.932	0.962	0.923	0.911	0.910	0.975
6	0.934	0.928	0.945	0.923	0.910	0.936	0.966
7	0.915	0.960	0.902	0.890	0.927	0.952	0.952
8	0.945	0.959	0.918	0.972	0.910	0.946	0.923
9	0.922	0.937	0.944	0.938	0.917	0.948	0.950
10	0.923	0.936	0.938	0.926	0.904	0.950	0.952
ค่าเฉลี่ย	0.9254	0.9323	0.9430	0.9255	0.9233	0.9394	0.9457
SD	0.0149	0.0193	0.0251	0.0280	0.0160	0.0119	0.0172
RSD_{obs}	1.6	2.1	2.7	3.0	1.7	1.3	1.8
$RSD_{expected}$	10.7	10.7	10.7	10.7	10.7	10.7	10.6
HorRat	0.15	0.19	0.25	0.28	0.16	0.12	0.17

<u>ตารางที่ 18</u> แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ 513 nm ของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อมีตัวรบกวนไอออนของคลอไรด์ ซัลเฟต และฟลูออไรด์

ครั้งที่	ค่าการดูดกลืนแสง						
	50 mg/L NO3-	50 mg/L NO3-					
		เติมคลอไรด์ไอออน		เติมซัลเฟตไอออน		เติมฟลูออไรด์ไอออน	
		100mg/L	200mg/L	100mg/L	200mg/L	1mg/L	2mg/L
1	1.604	1.602	1.622	1.620	1.595	1.667	1.623
2	1.570	1.633	1.578	1.592	1.595	1.589	1.678
3	1.562	1.563	1.665	1.634	1.682	1.573	1.521
4	1.644	1.608	1.670	1.662	1.683	1.559	1.720
5	1.658	1.599	1.627	1.690	1.662	1.617	1.612
6	1.662	1.697	1.684	1.597	1.697	1.613	1.612
7	1.631	1.640	1.587	1.622	1.641	1.728	1.646
8	1.634	1.641	1.556	1.600	1.642	1.729	1.648
9	1.589	1.636	1.643	1.633	1.615	1.639	1.678
10	1.692	1.634	1.703	1.664	1.622	1.640	1.542
ค่าเฉลี่ย	1.6246	1.6253	1.6335	1.6314	1.6434	1.6354	1.6280
SD	0.0424	0.0354	0.0486	0.0323	0.0369	0.0588	0.0611
RSD_{obs}	2.6	2.2	3.0	2.0	2.2	3.6	3.8
$RSD_{expected}$	9.8	9.8	9.8	9.8	9.8	9.8	9.8
HorRat	0.27	0.22	0.30	0.20	0.23	0.37	0.38

6. การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and Precision)

<u>ตารางที่ 19</u> การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision) ของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)

สารมาตรฐานไนเตรท (mg/L)	0	5		10		30		50	
ทดสอบซ้ำครั้งที่	Blank	**ความเข้มข้นที่ทดสอบได้**	%Recovery	**ความเข้มข้นที่ทดสอบได้**	%Recovery	**ความเข้มข้นที่ทดสอบได้**	%Recovery	**ความเข้มข้นที่ทดสอบได้**	%Recovery
1	2.619	7.569	98.78	12.651	100.21	34.347	105.72	55.429	105.60
2	2.385	7.921	105.82	12.109	94.79	33.565	103.12	55.516	105.77
3	2.806	7.907	105.54	11.75	91.20	34.600	106.57	54.984	104.71
4	2.708	7.581	99.02	12.109	94.79	33.628	103.33	55.070	104.88
5	2.583	7.392	95.24	11.922	92.92	33.505	102.92	55.073	104.89
6	2.397	7.492	97.24	11.552	89.22	34.800	107.23	55.512	105.76
7	2.611	7.904	105.48	11.582	89.52	34.543	106.38	56.007	106.75
8	2.762	7.562	98.64	12.04	94.10	33.795	103.88	57.375	109.49
9	2.496	7.793	103.26	11.773	91.43	33.600	103.23	55.514	105.77
10	2.928	7.975	106.90	11.999	93.69	33.744	103.71	55.332	105.40
ค่าเฉลี่ย	2.630	7.710	101.59	11.949	93.19	34.013	104.61	55.581	105.90
SD		0.2122		0.3194		0.5004		0.6971	
RSD_{obs}		2.8		2.7		1.5		1.3	
$RSD_{expected}$		7.8		7.3		6.2		5.8	
HorRat		0.35		0.37		0.24		0.22	

7. ผลการเปรียบเทียบชุดทดสอบไนเตรทกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 20 ผลการเปรียบเทียบผลการทดสอบของต้นแบบชุดทดสอบไนเตรทกับวิธีมาตรฐาน

ลำดับที่	ประเภทน้ำบริโภค	ความเข้มข้นไนเตรทที่ทดสอบได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
		วิธีมาตรฐาน (IC)	ชุดทดสอบไนเตรท
1	น้ำบริโภค	0.62	0
2	น้ำบริโภค	0.5	0
3	น้ำบริโภค	0.49	0
4	น้ำบริโภค	0.2	0
5	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.38	0
6	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.62	5
7	น้ำบริโภค	0.32	0
8	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.88	0
9	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.2	0
10	น้ำอุปโภค/บริโภค	1.48	5
11	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.71	0
12	น้ำอุปโภค/บริโภค	2.01	5
13	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.75	5
14	น้ำประปาเพื่อบริโภค	1.1	5
15	น้ำประปา	0.35	0
16	น้ำประปา	0.36	0
17	น้ำอุปโภค/บริโภค	2.86	5
18	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.2	0
19	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.2	0
20	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.2	0
21	น้ำประปา	6.08	10
22	น้ำประปา	5.72	5
23	น้ำประปา	6.64	10
24	น้ำประปา	25	30
25	น้ำประปาหมู่บ้าน	10	10

ลำดับที่	ประเภทน้ำบริโภค	ความเข้มข้นไนเตรทที่ทดสอบได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
		วิธีมาตรฐาน (IC)	ชุดทดสอบไนเตรท
26	น้ำประปาหมู่บ้าน	7.45	10
27	น้ำประปา	25	30
28	น้ำประปา	25	30
29	น้ำประปาหมู่บ้าน	6.41	5
30	น้ำประปาหมู่บ้าน	6.77	5
31	น้ำประปา รพ.	5.35	5
32	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.2	0
33	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.26	0
34	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.44	0
35	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.55	0
36	น้ำบริโภค	0.78	0
37	น้ำดื่ม	0.74	0
38	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	3.78	5
39	น้ำบริโภค	3.22	5
40	น้ำบริโภค	3.99	5
41	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.48	0
42	น้ำอุปโภค/บริโภค	1.84	5
43	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.89	0
44	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.45	0
45	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.2	0
46	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	3.72	5
47	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.37	0
48	น้ำประปาเพื่อบริโภค	1	0
49	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.33	0
50	น้ำประปาเพื่อบริโภค	1.03	0
51	น้ำดื่มผ่านกรอง RO	0.35	0

ลำดับที่	ประเภทน้ำบริโภค	ความเข้มข้นไนเตรทที่ทดสอบได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
		วิธีมาตรฐาน (IC)	ชุดทดสอบไนเตรท
52	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.92	0
53	น้ำบริโภค	0.68	0
54	น้ำประปา	0.2	0
55	น้ำประปา	0.46	0
56	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.35	0
57	น้ำประปา	0.3	0
58	น้ำบริโภค ชุดใหญ่	0.74	0
59	น้ำประปา	0.64	0
60	น้ำประปา	0.91	0
61	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	4.13	5
62	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.32	0
63	น้ำประปา	0.51	0
64	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.9	0
65	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.3	0
66	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.2	0
67	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.25	0
68	น้ำอุปโภค/บริโภค	0.23	0
69	น้ำบริโภค	0.61	0
70	น้ำบริโภค	0.61	0
71	น้ำบริโภค	0.2	0
72	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.59	0
73	น้ำบริโภค ชุดใหญ่	0.2	0
74	น้ำบริโภค	0.63	0
75	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	3.97	5
76	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	3.9	5
77	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.74	0

ลำดับที่	ประเภทน้ำบริโภค	ความเข้มข้นไนเตรทที่ทดสอบได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	
		วิธีมาตรฐาน (IC)	ชุดทดสอบไนเตรท
78	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.2	0
79	น้ำประปาเพื่อบริโภค	0.5	0
80	น้ำดื่ม	0.56	0
81	น้ำดื่ม	0.22	0
82	น้ำประปา	1.52	0
83	น้ำประปาภูเขาผ่านกรอง(น้ำดื่ม)	0.2	0
84	น้ำดื่มโรงอาหาร	0.2	0
85	น้ำดื่มผลิตยา	0.23	0
86	น้ำดื่ม	0.2	0
87	น้ำดื่ม	0.37	0
88	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	3.97	5
89	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	3.8	5
90	น้ำจากตู้น้ำดื่ม	4.02	5
91	น้ำดื่ม RO	0.73	0
92	น้ำดื่ม RO	0.74	0
93	น้ำบริโภค	1.69	0
94	น้ำบริโภค	0.23	0
95	น้ำบริโภค	3.56	5
96	น้ำประปาดื่มได้	0	0
97	น้ำประปาดื่มได้	0.46	0
98	น้ำบริโภค	1.05	0
99	น้ำดื่ม RO	0.72	0
100	น้ำประปาผ่านเครื่องกรอง	0.43	0

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบความเสถียร (Stability)

1.1 การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

H_a: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

H_0: A=B

H_a: A≠B

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	0.0018	0.0021
Variance	9.95556E-06	1.34333E-05
Observations	10	10
Pearson Correlation	0.818601318	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	-0.449438552	
P(T<=t) one-tail	0.33187174	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.663743481	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 13 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.2 การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

H_a: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

H_0: A=B

H_a: A≠B

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	0.1185	0.1136
Variance	4.76111E-05	4.73778E-05
Observations	10	10
Pearson Correlation	-0.474910779	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	1.309112629	
P(T<=t) one-tail	0.111465777	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.222931554	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 14 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 14 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.3 การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

H_a: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

H_0: A=B

H_a: A≠B

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	0.256	0.2538
Variance	0.000208	0.000113511
Observations	10	10
Pearson Correlation	-0.447607428	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	0.324701879	
P(T<=t) one-tail	0.376413438	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.752826877	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 15 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 15 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.4 การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

H_a: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

H_0: A=B

H_a: A≠B

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	0.856	0.8745
Variance	0.004869778	0.000825833
Observations	10	10
Pearson Correlation	0.106545718	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	-0.806004368	
P(T<=t) one-tail	0.220508027	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.441016054	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 16 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 16 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

1.5 การตั้งสมมุติฐาน (ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L))

H_0: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นไม่แตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

H_a: ค่าการดูดกลืนแสงของระยะเวลาเริ่มต้นแตกต่างกับค่าการดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน

สมมุติฐานทางสถิติ

H_0: A=B

H_a: A≠B

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

t-Test: Paired Two Sample for Means

	Variable 1	*Variable 2*
Mean	1.5216	1.53
Variance	0.000738933	0.000274222
Observations	10	10
Pearson Correlation	0.178213556	
Hypothesized Mean Difference	0	
df	9	
t Stat	-0.909658381	
P(T<=t) one-tail	0.193357645	
t Critical one-tail	1.833112933	
P(T<=t) two-tail	0.386715289	
t Critical two-tail	2.262157163	

ภาพที่ 17 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเสถียร (Stability) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากภาพที่ 17 พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail แสดงว่ายอมรับสมมุติฐานหลัก (H_0) ดังนั้น ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L) เมื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลา 10 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ของความเป็นเส้นตรง (linearity)

SUMMARY OUTPUT								
Regression Statistics								
Multiple R	0.701774989							
R Square	0.492488135							
Adjusted R Square	0.458654011							
Standard Error	1.038137419							
Observations	17							
ANOVA								
	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*			
Regression	1	15.68738377	15.68738377	14.55595924	0.001689804			
Residual	15	16.16593951	1.0777293					
Total	16	31.85332328						
	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*	*Lower 95.0%*	*Upper 95.0%*
Intercept	1.421689783	0.30808782	4.614560165	0.000337111	0.765016138	2.078363427	0.765016138	2.078363427
X Variable 1	0.003239205	0.00084902	3.815227286	0.001689804	0.001429561	0.005048849	0.001429561	0.005048849

ภาพที่ 18 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเส้นตรง (linearity)
ที่ความเข้มข้น 0-1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

SUMMARY OUTPUT								
Regression Statistics								
Multiple R	0.997961367							
R Square	0.995926889							
Adjusted R Square	0.995474321							
Standard Error	0.072062969							
Observations	11							
ANOVA								
	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*			
Regression	1	11.4279424	11.4279424	2200.613347	4.55169E-12			
Residual	9	0.046737643	0.005193071					
Total	10	11.47468004						
	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*	*Lower 95.0%*	*Upper 95.0%*
Intercept	-0.12093377	0.037251266	-3.24643386	0.01005458	-0.205201988	-0.03666555	-0.205201988	-0.036665553
X Variable 1	0.034315981	0.000731517	46.91069544	4.55169E-12	0.032661174	0.035970788	0.032661174	0.035970788

ภาพที่ 19 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเส้นตรง (linearity)
ที่ความเข้มข้น 0-90 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

Regression Statistics								
Multiple R	0.997516645							
R Square	0.995039457							
Adjusted R Square	0.993385942							
Standard Error	1.686429637							
Observations	5							
ANOVA								
	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*			
Regression	1	1711.467865	1711.467865	601.7724449	0.000148501			
Residual	3	8.532134761	2.84404492					
Total	4	1720						
	Coefficients	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*	*Lower 95.0%*	*Upper 95.0%*
Intercept	1.941743704	1.025843101	1.892827179	0.154722158	-1.322946884	5.206434292	-1.322946884	5.206434292
X Variable 1	30.83188871	1.256851538	24.53105063	0.000148501	26.83202618	34.83175125	26.83202618	34.83175125

ภาพที่ 20 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความเป็นเส้นตรง (linearity)
ที่ความเข้มข้น 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

3. การวิเคราะห์ทางสถิติผลการทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยใช้ One way-ANOVA

3.1 การเปรียบเทียบความแปรปรวน ของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

การตั้งสมมุติฐานของการวิจัย

H_0: ค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 mg/L ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 mg/L เมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้อง

H_a: ค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 mg/L แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 mg/L เมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้อง

การตั้งสมมุติฐานทางสถิติ

H_0: $\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D = \mu_E = \mu_F = \mu_G$

H_a: $\mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D \neq \mu_E \neq \mu_F \neq \mu_G$

เมื่อ

μ_A คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 mg/L

μ_B คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 mg/Lเมื่อเติมคลอไรด์ไอออน 100 mg/L

μ_C คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 mg/Lเมื่อเติมคลอไรด์ไอออน 200 mg/L

μ_D คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 mg/L เมื่อเติมซัลเฟตไอออน 100 mg/L

μ_E คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 mg/L เมื่อเติมซัลเฟตไอออน 200 mg/L

μ_F คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 mg/L เมื่อเติมฟลูออไรด์ไอออน 1 mg/L

μ_G คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 mg/L เมื่อเติมฟลูออไรด์ไอออน 2 mg/L

ANOVA

value

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	6	.000	.194	.977
Within Groups	.005	63	.000		
Total	.005	69			

ภาพที่ 21 ทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยใช้ One way-ANOVA ของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 25 เป็นโปรแกรมช่วยคำนวณผลทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ ให้ค่า Sig. = 0.977 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 แสดงว่า ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้องไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.2 การเปรียบเทียบความแปรปรวน ของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

การตั้งสมมุติฐานของการวิจัย

H_0: ค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 30 mg/L ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 30 mg/L เมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้อง

H_a: ค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 30 mg/L แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 30 mg/L เมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้อง

การตั้งสมมุติฐานทางสถิติ

H_0: $\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D = \mu_E = \mu_F = \mu_G$

H_a: $\mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D \neq \mu_E \neq \mu_F \neq \mu_G$

เมื่อ

μ_A คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 30 mg/L

μ_B คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น30 mg/Lเมื่อเติมคลอไรด์ไอออน100 mg/L

μ_C คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น30mg/Lเมื่อเติมคลอไรด์ไอออน200 mg/L

μ_D คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น30 mg/Lเมื่อเติมซัลเฟตไอออน 100 mg/L

μ_E คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 30 mg/Lเมื่อเติมซัลเฟตไอออน 200 mg/L

μ_F คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 30 mg/Lเมื่อเติมฟลูออไรด์ไอออน 1 mg/L

μ_G คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น30 mg/Lเมื่อเติมฟลูออไรด์ไอออน 2 mg/L

ANOVA

value

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.006	6	.001	2.145	.060
Within Groups	.031	63	.000		
Total	.038	69			

ภาพที่ 22 ทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยใช้ One way-ANOVA ของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 25 เป็นโปรแกรมช่วยคำนวณผลทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ ให้ค่า Sig. = 0.060 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 แสดงว่า ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตรและค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้องไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.3 การเปรียบเทียบความแปรปรวน ของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

การตั้งสมมุติฐานของการวิจัย

H_0: ค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 mg/L ไม่แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 mg/L เมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้อง

H_a: ค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 mg/L แตกต่างกับค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 mg/L เมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้อง

การตั้งสมมุติฐานทางสถิติ

H_0: $\mu_A = \mu_B = \mu_C = \mu_D = \mu_E = \mu_F = \mu_G$

H_a: $\mu_A \neq \mu_B \neq \mu_C \neq \mu_D \neq \mu_E \neq \mu_F \neq \mu_G$

เมื่อ

μ_A คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 50 mg/L

μ_B คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น50 mg/Lเมื่อเติมคลอไรด์ไอออน100 mg/L

μ_C คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น50mg/Lเมื่อเติมคลอไรด์ไอออน200 mg/L

μ_D คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น50 mg/Lเมื่อเติมซัลเฟตไอออน 100 mg/L

μ_E คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 50 mg/Lเมื่อเติมซัลเฟตไอออน 200 mg/L

μ_F คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 50 mg/Lเมื่อเติมฟลูออไรด์ไอออน 1 mg/L

μ_G คือค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น50 mg/Lเมื่อเติมฟลูออไรด์ไอออน 2 mg/L

ANOVA

value

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.003	6	.000	.202	.975
Within Groups	.135	63	.002		
Total	.138	69			

ภาพที่ 23 ทดสอบความเฉพาะเจาะจง (Specificity) โดยใช้ One way-ANOVA ของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg/L)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 25 เป็นโปรแกรมช่วยคำนวณผลทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ ให้ค่า Sig. = 0.975 ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.05 แสดงว่า ค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนของสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น50 มิลลิกรัมต่อลิตรและค่าดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อมีตัวรบกวนมาเกี่ยวข้องไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

ตารางที่ 21 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

จำนวน10 ซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง(Abs)ที่ความเข้มข้น(mg/L)				
	0	5	10	30	50
ค่าเฉลี่ย	0.0001	0.142	0.216	0.863	1.555
SD	-	0.0078	0.0385	0.0728	0.0817
RSD_{obs}	-	5.5	17.8	8.4	5.3
$RSD_{expected}$	-	14.2	13.3	10.8	9.9
HORRAT	-	0.39	1.34	0.78	0.53

ประเมินผลตามสมการของ Horwitz วิธีนี้ให้นำค่า RSD จากการทดสอบซ้ำมาเปรียบเทียบกับ RSD จากการคำนวณในสมการของ Horwitz ซึ่งสมการ Horwitz พบว่า RSD สัมพันธ์กับ log concentration โดยที่การทดสอบซ้ำจากหลายห้องปฏิบัติการ พบความสัมพันธ์ว่า RSD = $\pm 2^{(1-0.5 \log C)}$ และการทดสอบซ้ำภายในห้องปฏิบัติการเดียวกันจะมีค่า RSD อยู่ที่ 2 ใน 3 (~0.66) ของการทดสอบจากหลายห้องปฏิบัติการ โดยสรุปเป็นสมการ Horwitz ดังนี้

$$RSD_r = \pm(0.66)(2)C^{-0.1505}$$

เมื่อ C = อัตราส่วนความเข้มข้น (concentration ratio)

เกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตามสมการ Horwitz

1) ค่า RSD จากการทดลองต้องน้อยกว่า RSD จากสูตรในการคำนวณตามสมการ Horwitz

2) ถ้าค่า RSD จากการทดลองมากกว่า RSD จากสูตรในการคำนวณตามสมการ Horwitz ให้หาค่า HorRat จากสูตร

$$\text{HorRat} = \frac{\text{RSD}_{\text{ex}}}{\text{RSD}_{\text{pr}}}$$

เมื่อ RSD_{ex} = experimental RSD

RSD_{pr} = predicted RSD

ค่าที่ยอมรับโดยทั่วไป HorRat ต้องอยู่ระหว่าง 0.5 – 1.5

AOAC ยอมรับ HorRat น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2

EU, Codec ยอมรับ HorRat น้อยกว่า 2

5. การเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้นไนเตรทที่ได้จากวิธีมาตรฐาน และวิธีชุดทดสอบปริมาณไนเตรท

SUMMARY OUTPUT	
Regression Statistics	
Multiple R	0.982843972
R Square	0.965982273
Adjusted R Square	0.965635153
Standard Error	0.83166849
Observations	100

ANOVA								
	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*			
Regression	1	1924.821361	1924.8214	2782.850877	9.24999E-74			
Residual	98	67.78390283	0.6916725					
Total	99	1992.605264						
	Coefficient	*Standard Error*	*t Stat*	*P-value*	*Lower 95%*	*Upper 95%*	*Lower 95.0%*	*Upper 95.0%*
Intercept	0.39364	0.089765099	4.3852677	2.91701E-05	0.215508074	0.57177991	0.215508074	0.57177991
X Variable 1	0.79198	0.015013069	52.752733	9.24999E-74	0.7621875	0.8217734	0.7621875	0.8217734

ภาพที่ 24 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ Regression ของการทดสอบเปรียบเทียบวิธีมาตรฐาน และชุดทดสอบปริมาณไนเตรท