

โครงงานวิจัย

เรื่อง การพัฒนาชุดทดสอบในเตรท เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค

ผู้รับผิดชอบ : นางสาวประไพ บัวไข นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ
กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ใช้ปุ๋ยและสารเคมีในภาคการเกษตรอย่างมาก ซึ่งไนโตรเจนเป็นแร่ธาตุอาหารหลักสำคัญที่จำเป็นอย่างมากสำหรับการปลูกพืช ไนโตรเจนเป็นกลุ่มสารอาหารอินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงของไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมตามวัฏจักรไนโตรเจนมีความสำคัญต่อสิ่งแวดล้อม หากมีสารประกอบไนโตรเจนที่มากเกินไป อาจทำให้เกิดเป็นแหล่งมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ โดยไนโตรเจนในปุ๋ยและสารอินทรีย์ต่างๆ เมื่อถูกย่อยสลายด้วยแบคทีเรียจะเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (NH_3) จากนั้นเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ (NO_2^-) และสุดท้ายเปลี่ยนเป็นไนเตรท (NO_3^-) ซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำ และไหลซึมผ่านการกรองของชั้นดินลงสู่ใต้ดินและสู่แหล่งน้ำบาดาล ดังนั้นการเน่าเปื่อยของสารอินทรีย์และปุ๋ย จึงเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำ

ผลกระทบต่อด้านสุขภาพ มีผลการศึกษาวิจัยจากต่างประเทศยืนยันชัดเจนว่า เด็กทารกที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมในเชิงอุตสาหกรรมที่มีการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำชุมชนปริมาณสูง จะเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงทางสุขภาพสูงสุด โดยพิษของไนเตรทจะทำให้เด็กเกิดโรค "Blue-baby syndrome" หรือ "methemoglobinemia" และมักเกิดในเด็กทารกอายุต่ำกว่า 4 เดือนที่บริโภคน้ำที่ปนเปื้อนไนเตรทสูง ซึ่งอาการของ Blue-baby syndrome เกิดจากแบคทีเรียในลำไส้เปลี่ยนรูปไนเตรทให้เป็นไนไตรท์ ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนฮีโมโกลบินให้เป็นเมทฮีโมโกลบิน (methemoglobin) ทำให้ความสามารถในการพาออกซิเจนไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายลดลง พบว่าถ้าร่างกายมี Methemoglobin มากกว่า 10% ของ Hemoglobin ทั้งหมดจะเกิดอาการ Methemoglobinemia ไม่สามารถนำพาออกซิเจนไปใช้ได้ ทำให้เกิดอาการตัวเขียว (Cyanosis) ถ้าอาการมากขึ้น จะส่งผลให้เกิดอาการขาดออกซิเจน (Asphyxia) อาการนี้เป็นอันตรายมากหากเกิดในเด็ก สตรีมีครรภ์ ผู้ที่มีภาวะซีดหรือมีปัญหาโรคเลือด สำหรับผู้ใหญ่หากบริโภคน้ำที่ปนเปื้อนไนเตรทในปริมาณน้อยเป็นระยะเวลานาน จะเกิดพิษเรื้อรังมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งทางเดินอาหาร มะเร็งต่อมไทรอยด์ NHL มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งรังไข่ ฯลฯ และเมื่อรับประทานอาหารที่มีไนเตรทสะสมอยู่ในปริมาณมาก เช่น ไม้กระถาง กุนเชียง พืชที่ตกค้างจะทำให้เกิดภาวะทางประสาท สูญเสียความทรงจำ เป็นอัมพาตหรือท้องร่วงได้

ดังนั้นเพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค โดยมาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคของประเทศไทยกำหนดให้น้ำบริโภคมีปริมาณไนเตรท (NO_3^-) ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/ลิตร น้ำดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท มีไนเตรทในรูปของไนเตรทไนโตรเจน ($\text{NO}_3^- - \text{N}$) ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร และน้ำบาดาลที่ใช้บริโภคมีไนเตรท (NO_3^-) ไม่เกิน 45 มิลลิกรัม/ลิตร นอกจากนี้มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน กำหนดให้มีไนเตรทในรูปของไนเตรทไนโตรเจน ($\text{NO}_3^- - \text{N}$) ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัม/ลิตร และแอมโมเนีย ในรูปของแอมโมเนียไนโตรเจน ($\text{NH}_3 - \text{N}$) ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำบริโภคทางห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย โดยเทียบกับเกณฑ์คุณภาพน้ำประปาที่ได้กรมอนามัย พ.ศ. 2563 ของจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศ ย้อนหลัง 3 ปีงบประมาณ (ปีงบประมาณ 2563-2565) พบว่า ปริมาณไนเตรทมีแนวโน้มเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด (ไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/ลิตร) ในหลายจังหวัด เช่น แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เชียงราย ตาก ลำปาง แพร่ สุพรรณบุรี สระบุรี ชลบุรี สมุทรสาคร ลำพูน และสุราษฎร์ธานี เป็นต้น

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในตัวอย่างน้ำโดยวิธีมาตรฐาน ต้องดำเนินการภายในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ที่ได้มาตรฐาน มีความน่าเชื่อถือ ใช้บุคลากรที่มีความรู้ความสามารถทางด้านวิทยาศาสตร์เฉพาะทาง เป็นผู้ตรวจวิเคราะห์ ใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่มีเทคโนโลยีขั้นสูง มีขั้นตอนที่ซับซ้อน ยุ่งยาก ทำให้ต้องใช้เวลานานในการตรวจวิเคราะห์ อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภคที่ล่าช้า ไม่ทันต่อสถานการณ์

เพื่อสนับสนุนให้ภาคีเครือข่ายทุกภาคส่วน ชุมชนและประชาชนในพื้นที่ ร่วมเฝ้าระวังคุณภาพน้ำที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนทุกกลุ่มวัย กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย จึงได้ศึกษาและพัฒนาชุดทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภคขึ้น เพื่อใช้เฝ้าระวังปริมาณไนเตรทที่ง่ายต่อการใช้งาน อีกทั้งยังช่วยให้ผู้เกี่ยวข้องใช้เป็นเครื่องมือในการช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำได้อย่างทัน่วงที

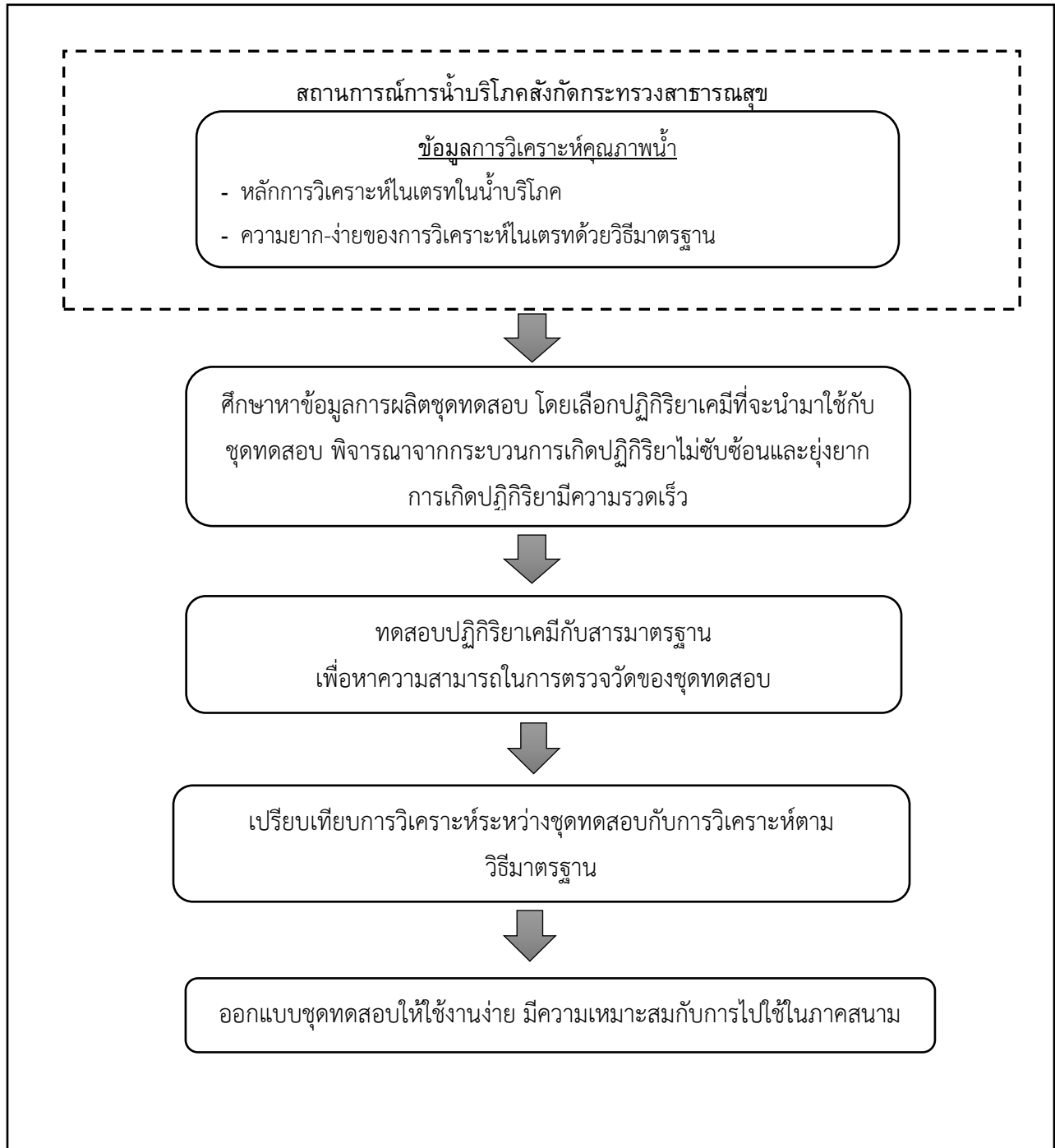
1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อพัฒนาชุดทดสอบต้นแบบสำหรับหาปริมาณไนเตรทอย่างง่ายในน้ำบริโภค
- 1.2.2 เพื่อเฝ้าระวังปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค ที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนทุกกลุ่มวัย
- 1.2.3 เพื่อสนับสนุนให้ภาคีเครือข่ายและประชาชนในพื้นที่ใช้ชุดทดสอบอย่างง่าย เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค

1.3 ขอบเขตการศึกษา

- 1.3.1 พัฒนาชุดทดสอบคุณภาพน้ำอย่างง่าย ที่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท (Nitrate) ที่ระดับความเข้มข้น 10 30 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำบริโภค
- 1.3.2 ทดลองกับตัวอย่างภายในห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

1.4 กรอบแนวคิดในการศึกษา



1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

น้ำบริโภคน้ำ หมายถึง น้ำที่ใช้ดื่มพร้อมทั้งน้ำที่ใช้ทำอาหารและเครื่องดื่ม

ไนเตรท หมายถึง สารประกอบชนิดหนึ่งที่มีสูตรทางเคมี คือ NO_3^- นิยมใช้ทำปุ๋ยไนโตรเจน ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลักที่สำคัญในพืช

ชุดทดสอบ หมายถึง ชุดหรือวิธีการทดสอบเบื้องต้น ที่ง่ายต่อการใช้งาน เพื่อการเฝ้าระวังเบื้องต้นก่อนเข้าสู่การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

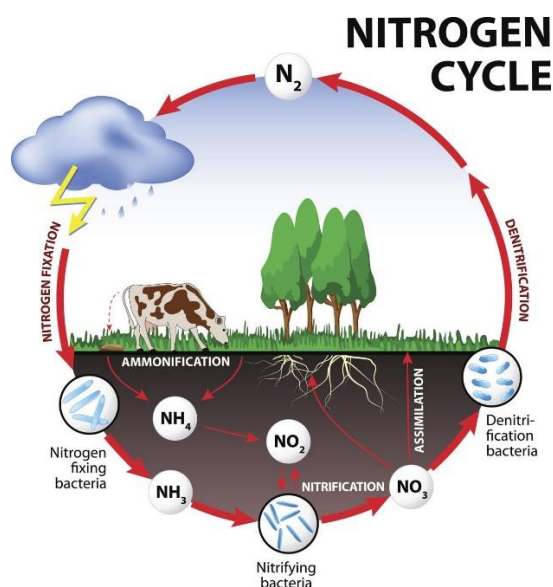
1.6.1 ได้ชุดทดสอบสำหรับหาปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำ ที่ใช้งานได้ง่าย มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน พกพาสะดวก สามารถใช้งานและอ่านผลได้รวดเร็ว ณ จุดทดสอบ

1.6.2 ได้ชุดทดสอบต้นทุนต่ำ ราคาถูก ระบุผลการทดสอบได้ว่าตัวอย่างทดสอบผ่านเกณฑ์มาตรฐานหรือไม่

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 วัฏจักรไนโตรเจน



ภาพ แสดงวัฏจักรไนโตรเจน

ที่มา: www.onlinebiologynotes.com

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญของกรดอะมิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนทุกชนิดในสิ่งมีชีวิต โดยพืชใช้ไนโตรเจนได้ใน 2 รูป คือ แอมโมเนียม (ammonium หรือ NH_4^+) และไนเตรท (nitrate หรือ NO_3^-) และแม้ว่าในบรรยากาศจะประกอบด้วยไนโตรเจนถึง 80% แต่อยู่ในรูปก๊าซไนโตรเจน (N_2) ซึ่งพืชไม่สามารถนำมาใช้ได้ ไนโตรเจนสามารถเข้าสู่วัฏจักรไนโตรเจนของระบบนิเวศได้ 2 ทางคือ

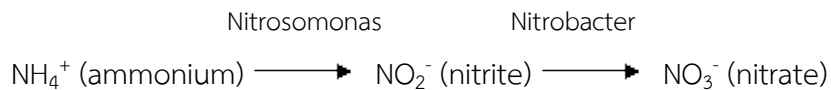
1. ฝนชะล้างไนโตรเจนกลายเป็นแอมโมเนียมและไนเตรท จากนั้นไหลลงสู่ดินและพืชใช้เป็นธาตุอาหารเพื่อการเจริญเติบโตโดยปฏิกิริยาแอสซิมิเลชัน (assimilation)

2. การตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) ซึ่งมีเพียงแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้นที่สามารถใช้ก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศเปลี่ยนเป็นไนโตรเจนในรูปที่พืชสามารถนำมาใช้ได้แบคทีเรียพวกนี้มีทั้งที่อยู่ในดินและที่อยู่ในสิ่งมีชีวิต เช่น ไรโซเบียมในปมรากถั่ว และแบคทีเรียในเฟินน้ำพวกแหวนแดง (Azolla) นอกจากนี้ยังมีแบคทีเรียสีเขียวแกมน้ำเงินในน้ำบางชนิด ในปัจจุบันการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนใช้ในเกษตรกรรมก็เป็นแหล่งไนโตรเจนสำคัญที่เติมไนโตรเจนสู่ระบบนิเวศ

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารสำคัญที่พืชใช้ในโครงสร้างและเมแทบอลิซึม สัตว์กินพืชและผู้บริโภคลำดับถัดมา ได้ใช้ไนโตรเจนจากพืชนี้เองเป็นแหล่งสร้างโปรตีนและสารพันธุกรรม เมื่อพืชและสัตว์ตายลง ผู้ย่อยสลายพวกรา และแบคทีเรียสามารถย่อยสลายไนโตรเจนในสิ่งมีชีวิตให้กลับเป็นแอมโมเนียมซึ่งพืชสามารถนำมาใช้ได้ผ่านกระบวนการที่เรียกว่าแอมโมนิฟิเคชัน(ammonification)

ไนโตรเจนในสารอินทรีย์สามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นก๊าซไนโตรเจนโดยผ่าน 2 กระบวนการ คือ

1. ไนตริฟิเคชัน (nitrification) แบคทีเรียบางชนิดใช้แอมโมเนียมในดินเป็นแหล่งพลังงานและทำให้เกิดไนไตรต์ (NO_2^-) ซึ่งเปลี่ยนเป็นไนเตรตซึ่งพืชใช้ได้ด้วย



2. ดีไนตริฟิเคชัน (denitrification) ในสภาพไร้ออกซิเจน แบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างออกซิเจนตัวเองจากไนเตรต และได้ผลผลิตเป็นก๊าซไนโตรเจนกลับคืนสู่บรรยากาศ



อย่างไรก็ตาม แม้ว่าปริมาณไนโตรเจนที่หมุนเวียนในระบบนิเวศที่กล่าวถึงทั้งหมดนี้จะมีปริมาณน้อยมาก แต่วัฏจักรไนโตรเจนในธรรมชาติก็สมดุลด้วยปฏิกิริยาซึ่งเกิดโดยพืชและการย่อยสลายของแบคทีเรีย [1]

2.2 ไนเตรตและผลกระทบต่อสุขภาพ

ไนเตรต (NO_3^-) พบได้ในธรรมชาติในรูปของไอออนซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของวัฏจักรไนโตรเจน (Nitrogen Cycle) ถูกใช้เป็นส่วนประกอบหลักของปุ๋ย โดยเฉพาะปุ๋ยไนโตรเจนซึ่งเป็นปัจจัยการผลิตพืชที่สำคัญอย่างมาก ปริมาณการใช้ปุ๋ยทางการเกษตรมีผลต่อปริมาณไนเตรตที่พบในน้ำใต้ดินและน้ำผิวดินด้วย เนื่องจากน้ำไหลซึมและน้ำไหลบ่าในพื้นที่การเกษตรหรืออาจปนเปื้อนจากสิ่งขับถ่ายของมนุษย์และสัตว์ ชะเออนาเตรตให้ละลายในแหล่งน้ำได้

ปริมาณไนเตรตในแหล่งน้ำเกิดจากการเน่าเปื่อยของซากพืช ซากสัตว์ อุจจาระ น้ำเน่า ปุ๋ย และน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมและสารเคมีจากเกษตรกรรม เมื่อแบคทีเรียย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจน จากน้ำเสีย อุจจาระ และสารประกอบโปรตีน เปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย (NH_3) จากนั้นแอมโมเนียจะถูกออกซิไดซ์เป็นไนไตรต์ (NO_2^-) และสุดท้ายไนไตรต์จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นไนเตรต (NO_3^-) ซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำ จึงไหลซึมผ่านการกรองของชั้นดินลงสู่ใต้ดินและแหล่งน้ำบาดาล แต่บางส่วนพืชจะดูดไปใช้เป็นแหล่งอาหาร เนื่องจากไนเตรตเป็นสารอาหารของพืชและจำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการเน่าเปื่อยของสารอินทรีย์และปริมาณการใช้ปุ๋ยที่เพิ่มมากขึ้น

จึงเป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำ ซึ่งอาจเพิ่มความเข้มข้นของไนเตรทในน้ำผิวดินและน้ำใต้ดินมากขึ้นจนถึงปริมาณที่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตได้

มลพิษจากแหล่งน้ำส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมทางการเกษตร เช่น การใช้ปุ๋ย และความไม่เหมาะสมทางด้านสุขาภิบาล ส่งผลให้น้ำดื่มน้ำใช้มีโอกาสปนเปื้อนไนเตรทและไนไตรต์ได้ [2] ปริมาณความเข้มข้นของไนเตรทมีผลกระทบต่อสุขภาพ เช่น โรคมะเร็งฮีโมโกลบินเมียและการก่อตัวของสารประกอบไนโตรซามีน [3]

คนสามารถได้รับไนเตรทและไนไตรท์จากน้ำดื่ม อาหารและยา เช่น ได้รับผ่านพืชผัก (nitrate และ nitrite) ผ่านเนื้อสัตว์ในอาหาร (nitrite ใช้เป็นสารกันบูด ป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิด) และสาเหตุสำคัญ คือ ได้รับจากการดื่มน้ำที่มีปริมาณไนเตรท [4] การบริโภคน้ำ ผักหรืออาหารที่มีไนเตรทสามารถทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายมนุษย์ได้ อันที่จริงสิ่งที่เป็นพิษโดยตรงต่อร่างกาย คือ ไนไตรท์ แต่อย่างไรก็ตามไนเตรทมีโอกาสแปรสภาพเป็นไนไตรท์ได้ โดยไนไตรท์ที่เกิดขึ้นสามารถดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ไนไตรท์จะ oxidize เหล็กในฮีโมโกลบิน ซึ่งอยู่ในรูป ferrous form (Fe^{2+}) ให้กลายเป็น ferric form (Fe^{3+}) ฮีโมโกลบินจึงกลายเป็น Methemoglobin ซึ่งจะไม่มีคุณสมบัติในการรับและนำพาออกซิเจนไปเลี้ยงเซลล์ต่างๆในร่างกาย ทำให้เกิดอาการตัวเขียว อ่อนเพลีย หายใจหอบ ปวดศีรษะ และ หัวใจเต้นแรง ดังนั้นการบริโภคสารไนเตรทเข้าไปจำนวนมาก ร่างกายจะเกิดภาวะขาดออกซิเจนอย่างฉับพลันได้ [5]

ซึ่งผลจากการศึกษาวิจัยพบว่าถ้าร่างกายมี Methemoglobin เข้มข้นเป็น 10% ของ Hemoglobin จะทำให้เกิดอาการ Methemoglobinemia โดยทำให้เกิดตัวเขียว (Cyanosis) ในทารกอายุต่ำกว่า 3 เดือน ซึ่งมักจะอ่อนไหวต่ออาการนี้มากกว่าเด็กโตและผู้ใหญ่จึงถูกเรียกเป็น “Blue-baby Syndrome” และถ้าอาการมากขึ้น จะส่งผลให้เกิดอาการขาดออกซิเจน (Asphyxia) นำไปสู่การเสียชีวิตได้ [4]

2.3 การเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค

น้ำบริโภค หมายถึง น้ำที่ใช้ดื่ม รวมทั้งน้ำที่ใช้ทำอาหารและเครื่องดื่ม [6] น้ำประปา น้ำบ่อบาดาล น้ำบ่อตื้น น้ำฝน และน้ำดื่มบรรจุขวด [7]

2.3.1 ประเภทน้ำบริโภค

- **น้ำประปา** เป็นน้ำที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพโดยผ่านขั้นตอนการตกตะกอนการกรอง การฆ่าเชื้อโรค และการสูบน้ำไปยังผู้บริโภคผ่านเส้นท่อ
- **น้ำบ่อบาดาล น้ำบ่อตื้น** เป็นน้ำที่ได้จากแหล่งน้ำใต้ดิน
- **น้ำฝน** เป็นน้ำที่ตกลงมาจากบรรยากาศและผู้บริโภครองรับไว้ในภาชนะที่สะอาด
- **น้ำดื่มบรรจุขวด** เป็นน้ำดื่มที่ผลิตขึ้นด้วยวิธีต่างๆ เช่น การกรอง การฆ่าเชื้อ และบรรจุจำหน่าย โดยได้มีการรับรองมาตรฐาน

2.3.2 คุณภาพน้ำบริโภค

คุณภาพน้ำบริโภค หมายถึง คุณลักษณะของน้ำบริโภคทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ที่มีปริมาณไม่เกินกว่าค่าที่กำหนดในมาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคต่างๆ เช่น เกณฑ์คุณภาพน้ำบริโภคกรมอนามัย เกณฑ์เสนอแนะคุณภาพบริโภคขององค์การอนามัยโลก

2.3.3 ผลกระทบต่อสุขภาพ

ผลกระทบต่อสุขภาพ หมายถึง การเจ็บป่วยด้วยโรคที่มีสาเหตุจากน้ำเป็นสื่อ (Water-borne Disease) ซึ่งผู้บริโภคมักมีน้ำที่มีการปนเปื้อนจากสิ่งปนเปื้อนต่างๆ ดังนี้

1) จุลินทรีย์ ประกอบด้วย แบคทีเรีย ไวรัส โปรโตซัว และหนอนพยาธิ ซึ่งมีความหมายดังนี้

1.1) แบคทีเรีย เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กมองไม่เห็นด้วยตาเปล่า พบได้ในน้ำทั่วไปมีหลายชนิด แต่ละชนิดก่อให้เกิดโรคและความรุนแรงของโรคแตกต่างกันไป โรคที่เกิดจากแบคทีเรียที่มีน้ำเป็นสื่อ ได้แก่ โรคอุจจาระร่วงอย่างแรง อุจจาระร่วงเฉียบพลัน บิด ไทฟอยด์ เป็นต้น

1.2) ไวรัส เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็กที่สุด โรคที่เกิดจากไวรัสที่มีน้ำเป็นสื่อ ได้แก่ ไวรัสตับอักเสบบี โรคอุจจาระร่วงอย่างรุนแรง

1.3) โปรโตซัว เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรียแต่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า โรคที่เกิดจากโปรโตซัวที่มีน้ำเป็นสื่อ ได้แก่ บิดที่มีเชื้ออะมีบา ท้องร่วงเรื้อรัง ปวดท้องเกร็ง ปวดเมื่อยเนื้อตัว มีอาการคลื่นไส้ มีไข้ และน้ำหนักลด

1.4) หนอนพยาธิ เป็นจุลินทรีย์ขนาดใหญ่มองเห็นด้วยตาเปล่า หนอนพยาธิที่เข้าร่างกายจะแย่งสารอาหารทำให้ผู้ติดเชื้อมีร่างกายซูบซีด น้ำหนักลด บางชนิดทำให้มีอาการปวดท้อง หรืออาจเข้าไปอุดอวยวะในร่างกาย เช่น ท่อน้ำดี ทำให้เกิดโรคดีซ่าน

2) สารละลายและสารเคมี ประกอบด้วย สี ความขุ่น คลอไรด์ ไนเตรท เหล็ก ทองแดง ฟลูออไรด์ ตะกั่ว แคดเมียม แมงกานีส สารหนู ซึ่งแต่ละชนิดมีแหล่งที่มาดังนี้

2.1) สี เกิดจากสารละลายของอินทรีย์วัตถุ เช่น ต้นหญ้า พืชน้ำหรือใบไม้ที่เน่าเปื่อยทำให้น้ำมีสีเหมือนสีชาหรือสีน้ำตาลปนแดง ทำให้น้ำนั้นไม่น่าดื่ม มีความยุ่งยากในการกำจัดในกระบวนการผลิตน้ำประปา

2.2) ความขุ่น เกิดจากสารที่ไม่ละลายน้ำ มีขนาดเล็กแขวนลอยในน้ำ ทำให้น้ำนั้นไม่น่าดื่ม มีผลกระทบต่อการใช้คลอรีนในขั้นตอนการฆ่าเชื้อโรค เนื่องจากสารแขวนลอยไปห่อหุ้มเชื้อโรคทำให้คลอรีนไม่สามารถฆ่าเชื้อโรคได้ นอกจากนี้ความขุ่นมีผลต่อเครื่องกรองทำให้อุดตันและชำรุดง่าย

2.3) คลอไรด์ ที่พบในน้ำธรรมชาติเกิดจากการละลายเอาคลอไรด์ที่ผิวดิน และละอองคลอไรด์ที่พัดจากมหาสมุทร หรือไหลปะปนมากับน้ำจืดตอนน้ำขึ้น นอกจากนี้คลอไรด์ยังมาจากสิ่งขับถ่ายโดยเฉพาะจากปัสสาวะ เหงื่อ หรือน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม จากอาคารบ้านเรือน คลอไรด์ในน้ำทำให้รสกร่อย ไม่น่าดื่มเป็นอันตรายต่อคนที่ เป็นโรคหัวใจ ไตอักเสบ

2.4) ไนเตรท เกิดจากการปนเปื้อนปุ๋ยหรือสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อย เมื่อดื่ม น้ำที่มีไนเตรทมากทำให้ร่างกายขาดออกซิเจน มีอาการเขียวคล้ำ และจากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สารนี้มีส่วนทำลายตับ ปอด และอาจจะทำให้เป็นมะเร็ง

2.5) เหล็ก มักเกิดจากสารประกอบของเหล็กในดิน น้ำที่มีเหล็กปนเปื้อนสูงมีสีแดงขุ่น กลิ่นและรสชาติไม่น่าดื่ม เหล็กอาจไม่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพมาก

2.6) ทองแดง ทำให้น้ำมีรสฝาดและขุ่น ไม่มีโทษต่อร่างกาย แต่ถ้ามีมากในน้ำทำให้น้ำมีรสชาติไม่น่าดื่ม

2.7) ฟลูออไรด์ พบในแหล่งน้ำใต้ดินโดยทั่วไป มีประโยชน์ต่อร่างกายถ้าได้รับในปริมาณที่ไม่เกินกำหนด หากได้รับปริมาณมากจะทำให้เกิดพิษเฉียบพลันและเรื้อรังมีอาการปวดท้อง ท้องเสีย หากได้รับปริมาณที่มากเกินไปในระยะเวลาอันยาวนานจะทำให้ฟันตกกระ เป็นพิษต่อกระดูก

2.8) ตะกั่ว ที่พบในน้ำอาจมาจากไอเสียรถยนต์ สารเคมีกำจัดแมลง น้ำทิ้งอุตสาหกรรมหากเข้าร่างกายส่งผลกระทบต่อระบบประสาท การพัฒนาการของสมอง ทำให้กล้ามเนื้ออ่อนแรงและเป็นอัมพาตได้

2.9) สารหนู ส่วนใหญ่มาจากเหมืองแร่ สารกำจัดศัตรูพืช สารหนูทำให้เกิดพิษทั้งเฉียบพลันและเรื้อรัง ถ้าเข้าร่างกายในปริมาณมากจะทำให้เกิดการระคายเคืองกระเพาะอาหารและลำไส้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน ชีพจรเต้นเร็วหมดสติได้ กรณีที่เข้าสู่ร่างกายเป็นระยะเวลาอันยาวนาน ทำให้เกิดโรคมะเร็งผิวหนังปอด ตับ ไต และกระเพาะปัสสาวะได้ นอกจากนี้ส่งผลกระทบต่อพัฒนาการของเด็ก

2.10) แคดเมียม อาจมาจากน้ำเสียอุตสาหกรรมทำสี แบตเตอรี่ ผลิตสังกะสี เหมืองแร่ ปุ๋ยฟอสเฟต เมื่อเข้าร่างกายจะมีผลต่อตับ ตับอ่อน ทำให้เกิดโรคไต-อิตาลี และโรคมะเร็งได้

2.11) แมงกานีส มาจากเหมืองแร่ อุตสาหกรรมผลิตโลหะ โรงงานเชื่อมโลหะด้วยไฟฟ้าโรงงานทำถ่านไฟฉาย ถ้าร่างกายได้รับสะสมนานๆ อาจทำให้สมองฝ่อ มีอาการปวดศีรษะ ซึมเซา การโต้ตอบทางประสาทช้า ถ้ารุนแรงมีอาการที่เรียกว่า เอื้อ และเป็นอัมพาตได้

2.3.4 การเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค

การเฝ้าระวัง หมายถึง การเฝ้าติดตามดูปัจจัยต่างๆอย่างละเอียดรอบคอบที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรค รวมทั้งสภาวะต่างๆที่มีผลกระทบต่อสุขภาพการเฝ้าระวังมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงสาเหตุการเกิดและทราบถึงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรที่ได้รับผลกระทบ ตลอดจนทั้งวิธีการควบคุมและป้องกัน ดังนั้นการเฝ้าระวังที่มีประสิทธิภาพที่ประกอบด้วย การวางแผน รวบรวม วิเคราะห์ ประเมินผลข้อมูล รวมทั้งสื่อสารประชาสัมพันธ์ รายงานผลการเฝ้าระวัง จะเป็นเครื่องมือในการควบคุมและป้องกันได้

องค์การอนามัยโลก ได้ให้ความหมาย การเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค หมายถึง การติดตาม ตรวจสอบทางด้านสาธารณสุข เพื่อให้การจัดการบริการน้ำดื่มสำหรับชุมชนมีความปลอดภัยต่อสุขภาพซึ่งการตรวจสอบทางด้านสาธารณสุข เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อสุขภาพของการจัดการบริการน้ำดื่ม นั้น จะต้องดำเนินการตรวจสอบให้ครอบคลุมทุกขั้นตอน ตั้งแต่แหล่งน้ำดิบ ระบบการผลิต การเก็บรักษา และการจ่ายไปให้ผู้บริโภค ซึ่งทุกขั้นตอนมี

ผลต่อการผลิตน้ำดื่มที่สะอาดได้มาตรฐาน ดังนั้น การเฝ้าระวังประกอบด้วยขั้นตอนการตรวจสอบคุณภาพแหล่งน้ำ ดิบ ตรวจสอบด้านโครงสร้างระบบการผลิต ระบบการจ่ายน้ำ รวมทั้งตรวจสอบคุณภาพน้ำที่ผลิตออกมาจากระบบ (น้ำต้นท่อ)จนถึงน้ำที่ส่งถึงผู้บริโภค(น้ำปลายท่อ) ซึ่งจะมีการสุ่มตัวอย่างน้ำตรวจสอบสิ่งสำคัญของการเฝ้าระวังอีก ประการหนึ่งคือ การเฝ้าระวังจะก่อประโยชน์ก็ต่อเมื่อมีการนำข้อมูลที่ได้จากการรวบรวม วิเคราะห์ และแปลผล รายงานต่อผู้เกี่ยวข้องในการดำเนินการแก้ไขต่อไปการตรวจสอบคุณภาพน้ำบริโภคการตรวจสอบคุณภาพน้ำ บริโภค หมายถึง กิจกรรมที่ประกอบด้วย กระบวนการตรวจสอบด้านสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อมของแหล่งน้ำ การ วิเคราะห์สาเหตุการปนเปื้อน และหาแนวทางแก้ไขอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการการตรวจวิเคราะห์สามารถทำได้ ทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม ดังนี้ การตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำใน ห้องปฏิบัติการควรดำเนินการทุกปี โดยการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทั้ง 3 ด้าน ได้แก่

1. คุณสมบัติน้ำกายภาพ เป็นการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าหรือ สามารถดม ชิมได้ ได้แก่ ความขุ่น สี รส กลิ่น และอุณหภูมิ

2. คุณสมบัติน้ำเคมี เป็นการตรวจวิเคราะห์คุณลักษณะของน้ำที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าแต่ต้อง ผ่านกระบวนการทำปฏิกิริยาทางเคมี ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ความกระด้าง ซัลเฟต คลอไรด์ ไนเตรท เหล็ก สังกะสี ตะกั่ว โครเมียม แคดเมียม สารหนูและปรอท

3. คุณสมบัติน้ำชีววิทยา เป็นการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำที่บ่งชี้ถึงความเหมาะสมในการ บริโภค ได้แก่ โคลิฟอร์มแบคทีเรีย ฟีคัลโคลิฟอร์มแบคทีเรีย^[7]

วิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการควบคุมปริมาณความเข้มข้นของไนเตรท โดยเฉพาะในน้ำบาดาล คือ การ ป้องกันหรือการเฝ้าระวังการปนเปื้อน โดยการจัดการด้านการเกษตรอย่างเหมาะสม เช่น การจัดการปุ๋ย ควบคุม การใช้ปุ๋ยและการจัดเก็บมูลสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ปุ๋ยในแปลงใกล้บ่อน้ำควรระมัดระวัง เพื่อหลีกเลี่ยงการ ปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้น บ่อน้ำควรได้รับการป้องกันอย่างเพียงพอเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำไหลเข้ามาในบ่อน้ำ รวมทั้ง แนวทางการปฏิบัติด้านการสุขาภิบาล เช่น การตั้งส้วมหลุมและถังส้วมอย่างระมัดระวัง การควบคุมการรั่วไหลของ ท่อระบายน้ำ และที่สำคัญ คือ จะต้องแน่ใจว่าถังบำบัดน้ำเสีย ส้วมหลุม หรือถังส้วมจะไม่ตั้งอยู่ใกล้บ่อน้ำหรือที่ขุด บ่อน้ำ เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีน้ำไหลเข้าบ่อหรือดินบริเวณที่อยู่ใกล้บ่อน้ำได้ ^[4]

การมีปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภคสูง เป็นสาเหตุให้เด็กทารกป่วยเป็น Methemoglobinemia ได้ ดังนั้น เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพของสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะคุณภาพน้ำ จึงจำเป็นต้องมีการตรวจวิเคราะห์ทาง ห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนในรูปที่ เค เอ็น (Total Kjeldahl Nitrogen, TKN) แอมโมเนียไนโตรเจน (NH₃-N) ไนเตรท (NO₃⁻) ไนเตรท-ไนโตรเจน (NO₃⁻-N) ไนไตรท์ (NO₂⁻) หรือไนไตรท์- ไนโตรเจน (NO₂⁻-N) ^[8]

2.4 มาตรฐานไนเตรท ตามเกณฑ์คุณภาพน้ำบริโภค

1. องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO ปี 2017) แนะนำขีดจำกัดค่าของไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ในน้ำ คือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ^[4]
2. ประกาศกรมอนามัย เรื่อง เกณฑ์คุณภาพน้ำประปาดื่มได้ กรมอนามัย ปี 2563 กำหนดคุณภาพน้ำประปา เพื่อรองรับน้ำประปาดื่มได้ โดยต้องมีคุณภาพไม่ด้อยไปกว่าเกณฑ์กำหนด และได้กำหนดค่าไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ต้องมีค่าไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. มาตรฐานคุณภาพน้ำประปา การประปาส่วนภูมิภาค ได้กำหนดค่าไนเตรทในรูปไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ต้องมีค่าไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. มาตรฐานคุณภาพน้ำประปา การประปานครหลวง ได้กำหนดค่าไนเตรทในรูปไนเตรท (Nitrate as NO_3^-) ต้องมีค่าไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
5. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ.2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท กำหนดเกณฑ์ไนเตรท ในรูปของ ไนเตรท ไนโตรเจน ($\text{NO}_3^- -\text{N}$) ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร
6. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 3470 (พ.ศ.2549) เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค กำหนดเกณฑ์ไนเตรท ในรูปของ ไนเตรท ไนโตรเจน ($\text{NO}_3^- -\text{N}$) ไม่เกิน 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร
7. ประกาศกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม (พ.ศ. 2551) เรื่อง กำหนดหลักเกณฑ์และมาตรการในทางวิชาการสำหรับการป้องกันด้านสาธารณสุขและการป้องกันในเรื่องสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำบาดาลที่ใช้บริโภค ให้มีไนเตรท (NO_3^-) ไม่เกิน 45 มิลลิกรัม/ลิตร
8. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ.2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน กำหนดให้มีไนเตรท ในรูปของไนเตรท ไนโตรเจน ($\text{NO}_3^- -\text{N}$) ไม่เกิน 5.0 มิลลิกรัม/ลิตร

2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทด้วยวิธีมาตรฐาน (Determination of Nitrate ion for Potable water)

การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท (NO_3^-) มีหลายวิธี โดยการพิจารณาเลือกวิธีทดสอบควรคำนึงถึง ข้อดี ข้อจำกัดของแต่ละวิธี รวมทั้งประเภทของตัวอย่าง ช่วงความเข้มข้น และความต้องการของข้อมูล

2.5.1 ไอออน โครมาโตกราฟี (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 จะเกิดสัญญาณซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นโครมาโตแกรม คำนวณหาปริมาณของไอออนจาก calibration curve ที่สร้างระหว่าง peak area กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

2.5.2 การวิเคราะห์โดยวิธีวัดสี (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

$$A = \epsilon cl$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของสาร (absorbance)

ϵ = เป็นสมบัติจำเพาะของสารที่ดูดกลืนและวัดที่ความยาวค่าหนึ่ง

เรียกว่า molar absorptivity ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

l = ระยะทางที่แสงผ่านตัวอย่าง หรือความกว้างของเซลล์นั่นเอง (cm)

c = ความเข้มข้นเป็น โมล/ลิตร หรือโมลาร์ (M)

ถ้าความเข้มข้นของสารอยู่ในหน่วยอื่นจะเขียนสมการเป็น

$$A = a cl$$

โดยที่ a = absorptivity ซึ่งเป็นค่าคงที่ขึ้นกับชนิดของสาร และความยาวคลื่น

2.6 ชุดทดสอบอย่างง่าย (test kit)

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

ชุดทดสอบอย่างง่ายมีข้อดีหลายประการ คือ การทดสอบทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน และผู้ทดสอบไม่จำเป็นต้องมีความรู้จำเพาะทางด้านเทคนิคมากนัก ที่สำคัญ คือ ต้นทุนต่ำและผลการทดสอบน่าเชื่อถือ

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

ชุดทดสอบอย่างง่ายที่ดี ควรมีสมบัติดังต่อไปนี้

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

ชุดทดสอบอย่างง่ายเหมาะที่จะใช้ทดสอบเบื้องต้นสำหรับคัดกรองตัวอย่าง หรือใช้สำหรับทดสอบในพื้นที่ที่ไม่สามารถทดสอบด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการได้ โดยมีหลักการพื้นฐานจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารบนแผ่นทดสอบและสารเป้าหมายแต่ปฏิกิริยาเคมีนั้น จำเป็นต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สามารถตรวจวัดได้อย่างชัดเจน ^[9]

2.7 ปฏิกริยาการเกิดสี

ปฏิกริยาเคมีที่นำมาใช้กับชุดทดสอบอย่างง่าย มีหลายปฏิกริยา ได้แก่

2.7.1 ปฏิกริยาระหว่างกรดกับด่าง

ตัวอย่างของชุดทดสอบอย่างง่ายที่อาศัยปฏิกริยาระหว่างกรดกับด่างที่เด่นชัดที่สุด คือ ฟิเอซอินดิเคเตอร์ที่ใช้หาค่าความเป็นกรด - ด่าง โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงสีจะเกิดขึ้นบนวัสดุรองรับที่อาจเป็นแผ่นกระดาษ หรือแผ่นพลาสติกที่เคลือบสารอินดิเคเตอร์ที่ไวต่อปฏิกริยาระหว่างกรด - ด่างไว้ สิ่งสำคัญในการเตรียมแผ่นฟิเอซอินดิเคเตอร์ ได้แก่ การทำให้สารอินดิเคเตอร์ยึดติดบนแผ่นรองรับโดยไม่ละลายน้ำหรือหลุดร่อนจากวัสดุรองรับ แรงที่ใช้ตรึงสารอินดิเคเตอร์ให้อยู่บนวัสดุรองรับมีหลายแบบ เช่น แรงดูดซับทางกายภาพที่พื้นผิวของวัสดุรองรับดูดซับสารอินดิเคเตอร์ด้วยแรงอ่อนๆ อย่างแรงแวนเดอร์วาลส์ แต่มีโอกาสูงที่สารอินดิเคเตอร์จะละลายออกจากวัสดุรองรับ ถ้าสารอินดิเคเตอร์ที่ใช้มีค่าการละลายน้ำดี การเพิ่มแรงยึดเหนี่ยวระหว่างสารอินดิเคเตอร์กับวัสดุรองรับให้แน่นหนามากขึ้นจะใช้แรงทางไฟฟ้าสถิต หรือแรงจากพันธะโคเวเลนต์ซึ่งมีความแข็งแรงของการตรึงมากที่สุด

2.7.2 ปฏิกริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน

เป็นปฏิกริยาที่เกิดขึ้นและมีการเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ไฟฟ้า โดยการเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ไฟฟ้าเกิดจากปฏิกริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารเป้าหมายกับสารที่ถูกยึดตรึงไว้กับวัสดุรองรับ ตัวอย่างการทดสอบที่อาศัยปฏิกริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ได้แก่ การหาปริมาณโคบอลต์โคบอลต์ (Cobalt; Co(I) ด้วยสาร 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) โดยมีสารโพแทสเซียมเพอร์ไอโอดेट (KIO₃) เป็นตัวออกซิไดส์ มีหน้าที่ทำให้ Co(I) เปลี่ยนเป็น Co(II) ที่มีความไวต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับ PAN ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนนี้มีสีเขียว

2.7.3 ปฏิกริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อน

ชุดทดสอบที่อาศัยการเกิดปฏิกริยาเชิงซ้อน นิยมใช้อย่างกว้างขวางในการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนของโลหะหนัก สารทดสอบที่นำมาใช้ คือ ไดไทโซน (dithizone) เพราะสามารถเกิดปฏิกริยาเชิงซ้อนกับไอออนของโลหะได้หลายชนิดและเกิดสีที่แตกต่างกัน ความสามารถในการเกิดปฏิกริยาเชิงซ้อนของสารไดไทโซนกับไอออนของโลหะเรียงลำดับ ดังนี้ $Ag > Hg > Pd > Pt > Au > Cu > Bi > In > Sn > Zn > Cd > Co > Pb > Ni > Fe(II) > Mn > T$

การเลือกใช้ไดไทโซนในการทดสอบหาไอออนของโลหะชนิดต่าง ๆ สามารถเพิ่มความจำเพาะโดยการปรับเปลี่ยนค่าพีเอชระหว่างการทดสอบ เช่น การทดสอบหาไอออนของปรอท (Hg) สารประกอบเชิงซ้อนของไดไทโซนและปรอทจะเกิดได้ดีเมื่อพีเอชเป็น 2 เป็นต้น

2.7.4 ปฏิกริยาของเอนไซม์

ปฏิกริยาที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ภายในร่างกาย แตกต่างจากปฏิกริยาที่เกิดจากสารเคมีทั่วไป เนื่องจากมีความจำเพาะต่อการเกิดปฏิกริยาสูงมาก สารเป้าหมายที่มีปริมาณเพียงน้อยนิดก็สามารถตรวจพบได้^[9]

2.8 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ระดับไนเตรทในแหล่งน้ำ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในหลายพื้นที่ของโลก ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากการใช้ปุ๋ยในพื้นที่เกษตรกรรม ข้อแนะนำและเกณฑ์มาตรฐานสำหรับไนเตรทในแหล่งน้ำดื่มสาธารณสุขถูกกำหนดขึ้นเพื่อป้องกันภาวะโลหิตจางในทารก มะเร็งและความผิดปกติของทารกแรกเกิด แต่ไม่คำนึงถึงผลกระทบต่อสุขภาพอื่นๆ ความเสี่ยงของการได้รับไนเตรทในปริมาณมาก คือ การก่อตัวของสารประกอบ N-nitroso จากการทบทวนผลการศึกษาระบาดวิทยา ก่อนปี 2548 เกี่ยวกับการได้รับไนเตรทจากน้ำดื่ม การเกิดมะเร็ง ผลข้างเคียงจากการสืบพันธุ์ และผลกระทบต่อสุขภาพอื่นๆ งานศึกษาทางระบาดวิทยา 30 เรื่อง ได้ประเมินไนเตรทในน้ำดื่ม และผลสรุปที่พบมากที่สุดที่ศึกษาคือ มะเร็งหลอดอาหาร กระเพาะปัสสาวะ มะเร็งเต้านม และโรคไทรอยด์ เมื่อพิจารณาผลการศึกษาทั้งหมด พบความสัมพันธ์ระหว่างการได้รับไนเตรทในน้ำดื่มและผลลัพธ์ที่ไม่พึงประสงค์ต่อสุขภาพ (นอกเหนือจากโรคฮีโมโกลบิน) คือ มะเร็งลำไส้ โรคไทรอยด์ และความผิดปกติของหลอดประสาท งานศึกษาหลายงานสังเกตเห็นความเสี่ยงที่เพิ่มขึ้นจากการรับไนเตรทในน้ำที่มีคุณภาพต่ำกว่าเกณฑ์ การศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับผลลัพธ์เหล่านี้และสุขภาพควรรวมถึงการประเมินปัจจัยเฉพาะบุคคลอื่นๆ ร่วมด้วย ^[10]

ปริมาณความเข้มข้นของไนเตรท ตลอดระยะเวลาในการศึกษาตั้งแต่ช่วงเดือนกันยายนถึงเดือน สิงหาคม บริเวณหาดวอนนภา จังหวัดชลบุรี มีค่าความเข้มข้นของไนเตรท สูงสุดเฉลี่ยในเดือนพฤศจิกายน 48.88 ± 22.38 ไมโครกรัมต่อลิตร และค่าต่ำสุดเฉลี่ยในเดือนกุมภาพันธ์ 0.35 ± 0.47 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนบริเวณแหลมแม่พันพบค่าความเข้มข้นของไนเตรทสูงสุดในเดือนตุลาคม เฉลี่ย 112.20 ± 63.27 ไมโครกรัมต่อลิตร และค่าต่ำสุดเฉลี่ย 16.50 ± 5.89 ไมโครกรัมต่อลิตร จากการ ทำการศึกษาพบว่าทั้งสองสถานที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงระยะเวลาที่ทำการศึกษา โดยบริเวณหาดวอนนภาและแหลมแม่พัน พบว่าค่าความเข้มข้นของไนเตรทมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน ^[11]

ไนเตรท (Nitrate) มักพบในรูปของสารประกอบโซเดียมไนเตรท หรือแคลเซียมไนเตรท ซึ่งไนเตรทถือว่าเป็นพิษ ต่อสัตว์น้ำโดยตรง นอกจากจะมีความเข้มข้นสูงมากและอยู่ในสภาวะไร้ออกซิเจน จะถูกจุลินทรีย์รีดิวซ์เป็นไนไตรท์ ไนเตรทมีประโยชน์ต่อพืชน้ำและแพลงก์ตอนพืชมาก เพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนโดยปกติไนเตรทในแหล่งน้ำจะมีปริมาณ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในฤดูร้อนแพลงก์ตอนพืชจะใช้ไนเตรทมาก จึงทำให้ปริมาณไนเตรทน้อยลง ^[12]

ได้มีการพัฒนาวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริกที่ง่ายและรวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในน้ำดิน และตัวอย่างเภสัชภัณฑ์ การหาปริมาณไนไตรต์จะเกี่ยวข้องกับอันตรปฏิกิริยาของกรดซัลฟานิลิก-เมทิลแอนทราโนเลต และการหาปริมาณไนเตรทเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดักชันของไนเตรทเป็นไนไตรท์ โดยใช้ผงสังกะสีในโซเดียมคลอไรด์ (Zn/NaCl) ไนไตรท์ที่เกิดขึ้นจะเกิดปฏิกิริยาไดเอโซไทซ (diazotized) ด้วยกรดซัลฟานิลิก-เมทิลแอนทราโนเลตเพื่อสร้างสีอ้อมเอโซ (Azo dye) นำไปวัดที่ความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร วิธีนี้เหมาะสมในสภาวะที่เป็นกรด ใช้ปริมาณสารเคมีน้อยและมีความคงทนต่อไอออนอื่นๆ ที่รบกวนต่อการวิเคราะห์ ช่วงของความเป็น

เส้นตรงของการวิเคราะห์ไนไตรท์ สำหรับกรดซัลฟานิลิก-เมทิลแอนทรานิเลต คือ 0.2-8.0 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีค่าโมลาร์แอบซอบติวิตี (molar absorptivity) = $1.03 \times 10^4 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ และความไวของเซนเดล (sandell's sensitivity) = $4.5 \times 10^{-3} \text{ ug cm}^{-2}$ ขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดตรวจวัดเชิงปริมาณของการวัดค่าไนไตรท์อยู่ที่ 0.93 ug mL^{-1} และ 2.82 ug mL^{-1} ตามลำดับ วิธีทดสอบนี้มีความสามารถประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณไนไตรต์และไนเตรตในน้ำ ดิน และเศษซากพืชได้อย่างเหมาะสม ^[13]

การวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรท สามารถตรวจวัดปริมาณได้โดยอาศัยการเกิดสีของปฏิกิริยา Griess reaction โดย Sulfanilamide จะทำปฏิกิริยาไดอะโซไทเทชันกับไอออนไนไตรท์ในสารละลายกรด กลายเป็น Diazonium salt จากนั้นเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับเอ็นดีอี (N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine).2HCl) ได้สารประกอบ Azo dye สีแดงม่วง ส่วนไอออนไนเตรทจะต้องถูกรีดิวซ์ให้กลายเป็นไอออนไนไตรท์ก่อน โดยใช้ Zinc หรือ cadmium ก่อนเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว โดยความเข้มสีของสารประกอบ Azo dye จะแปรผันตรงกับปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่มีอยู่ในตัวอย่าง ^[14]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนเบื้องต้นในการดำเนินงานวิจัย

- 3.1.1 ศึกษาข้อมูลเอกสารทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการผลิตชุดทดสอบ (Test kit)
- 3.1.2 ศึกษาวิธีทดสอบและสถานะที่เหมาะสมในการทดสอบไนเตรท
- 3.1.3 เลือกวิธีทดสอบที่เหมาะสมสำหรับการผลิตชุดทดสอบไนเตรท พร้อมเตรียมวัสดุอุปกรณ์ สารเคมี สำหรับทดสอบทางห้องปฏิบัติการ
- 3.1.4 ทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ เปรียบเทียบผลการทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภคน้ำของชุดทดสอบกับวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการ โดยใช้วิธีการทางสถิติ
- 3.1.5 ออกแบบชุดทดสอบและอุปกรณ์ประกอบการใช้งาน
- 3.1.6 ดำเนินการผลิตชุดทดสอบต้นแบบ

3.2 เครื่องมือวัสดุ อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

- 3.2.1 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร
- 3.2.2 ปิเปต (Pipette) ขนาด 1 2 3 4 5 6 8 และ 10 มิลลิลิตร
- 3.2.3 ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร
- 3.2.4 แท่งแก้วคนสาร (Glass Stirring Rod)
- 3.2.5 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 เครื่องไอออนโครมาโตกราฟี (ion chromatography) ยี่ห้อ: Thermo Scientific™ Dionex™ รุ่น ICS6000

3.3 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์และจัดเตรียมชุดทดสอบ (Nitrate Test kit)

- 3.3.1 สารมาตรฐานไนเตรท เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ชนิด CRM ยี่ห้อ AccuStandard
- 3.3.2 กรดโครมาโทรพิก (Chromotropic acid) ยี่ห้อ Sigma aldrich เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
- 3.3.3 ผงสังกะสี (Zinc powder) ยี่ห้อ Sigma aldrich เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
- 3.3.4 สารพารา-ไนโตรอะนิลีน (p-Nitroaniline) ยี่ห้อ Sigma aldrich เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
- 3.3.5 สารโพลี เอทิลีนไกลคอล 400 (Polyethylene Glycol 400) ยี่ห้อ Sigma aldrich เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
- 3.3.6 ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) ยี่ห้อ Merck เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
- 3.3.7 แคลเซียม คาร์บอเนต (calcium carbonate) ยี่ห้อ KemAus เกรดวิเคราะห์ (AR grade)
- 3.3.8 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) เข้มข้น 95-97% ยี่ห้อ Merck เกรดวิเคราะห์ (AR grade)

3.4 การเตรียมสารละลายทดสอบ

- 3.4.1 สารละลายพารา-ไนโตรอะนิลีน ในสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 20 % เป็นสารละลายทดสอบที่ 1
- 3.4.2 สารผสมของแคลเซียม คาร์บอเนต (CaCO_3) ผงสังกะสี (Zn) ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) และกรดโครมาโทรพิก (Chromotropic acid) ผสมอยู่ในรูปของแข็ง บรรจุอยู่ในแคปซูล 0.04 กรัม เป็นสารทดสอบที่ 2

3.5 การทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)

- 3.5.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรท ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในขวดทำปฏิกิริยาปริมาตร 20 มิลลิลิตร (การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรท ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เตรียมตามตารางที่ 3-1)
- 3.5.2 หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 10 หยด
- 3.5.3 เติมสารทดสอบที่ 2
- 3.5.4 ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 9 นาที
- 3.5.5 ถ่ายรูปและเก็บตัวอย่างสีเพื่อนำไปสร้างแถบสีมาตรฐาน (Standard color scale)

3.5.6 ทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0 10 30 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามข้อที่ 3.5.1 ถึงข้อที่ 3.5.5

ตารางที่ 3-1 การเตรียมสารละลายไนเตรทที่ใช้งาน (working solution)

ความเข้มข้นสต็อกไนเตรท (stock solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของไนเตรทที่ต้องการเตรียม (working solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปิเปต stock solution ใส่ในขวด ปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร (มิลลิลิตร)
1000	0	0
	10	1
	30	3
	50	5
	100	10

3.6 การทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)

3.6.1 การทดสอบความเสถียร (Stability)

เป็นกระบวนการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารละลายทดสอบในชุดทดสอบ ความเสถียรที่ดีคุณสมบัติของสารจะต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไประยะเวลาหนึ่ง ในที่นี้จะศึกษาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบเริ่มต้นเทียบกับสารละลายทดสอบที่เก็บไว้เป็นระยะเวลา 1 2 3 และ 6 เดือน โดยมีขั้นตอนการทดสอบความเสถียรของชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit) ดังนี้

- 1) เตรียมสารละลายทดสอบสองชุด ชุดที่ 1 นำไปวิเคราะห์ไนเตรทความเข้มข้น 0 10 30 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (A)
- 2) นำสารละลายชุดที่ 2 เก็บไว้เป็นเวลา 1 2 3 และ 6 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ไม่ถูกแสงแดด เมื่อครบระยะเวลา นำไปวิเคราะห์ไนเตรทความเข้มข้น 0 10 30 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (B)
- 3) เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบชุดที่ 1 และค่าดูดกลืนแสงของสารละลายทดสอบชุดที่ 2 ที่เวลาผ่านไป 1 2 3 และ 6 เดือน นำไปหาความเสถียร (stability testing) ของสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนเตรท

3.6.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

เป็นการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของสารละลายทดสอบในชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit) ตามความเข้มข้นที่กำหนด โดยมีขั้นตอนเตรียมช่วงความเข้มข้นมาตรฐาน ดังนี้

- 1) เตรียมสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 5 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 200 400 600 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเตรียมได้จากตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 การเตรียมสารละลายไนเตรทที่ใช้งาน (working solution) สำหรับการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

ความเข้มข้นสต็อกไนเตรท (stock solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของไนเตรทที่ต้องการเตรียม (working solution) (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปิเปต stock solution ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร (มิลลิลิตร)
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

2) ขั้นตอนการทำให้เกิดสีและสร้างกราฟมาตรฐาน ดังนี้

- ปิเปตสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 5 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 200 400 600 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทำปฏิกิริยา ขนาด 20 มิลลิลิตร
- หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 10 หยด
- เติมน้ำทดสอบที่ 2
- ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 9 นาที
- นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ความเข้มข้นละ 10 ซีซี
- สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย (บนแกน X) และค่าการดูดกลืนแสง (บนแกน Y)
- วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient : r) โดยที่ $r = \sqrt{R^2}$ โดยที่ R^2 คือค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination : R^2) ค่า r ที่ได้ควรมีค่าเข้าใกล้ -1 หรือ 1 เป็นค่าที่ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย และค่าการดูดกลืนแสง มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

3.6.3 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

ขั้นตอนการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ดังนี้

- 1) เตรียมสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 10 30 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร อย่างละ 10 ขวด จากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตมาปริมาตร 0 1 3 5 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จนครบ 100 มิลลิลิตร
- 2) นำสารละลายที่เตรียมได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนละ 50 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทด้วยวิธีมาตรฐาน Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater , AWWA, APHA, 23rd , 2012 part 4 1 10 B. Ion Chromatography with Chemical Suppression of Eluent Conductivity บันทึกค่าความเข้มข้นที่ได้เป็นค่า A นำส่วนที่เหลือไปวิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบไนเตรทที่พัฒนาขึ้น บันทึกค่าความเข้มข้นที่ได้เป็นค่า B
- 3) เปรียบเทียบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยใช้สถิติ t-test

3.6.4 การทดสอบความไว (sensitivity)

ความไว (Sensitivity) ของวิธีวิเคราะห์เป็นความสามารถที่เครื่องมือแสดงสัญญาณตอบสนองเปลี่ยนแปลงไปในการวัดความเข้มข้นที่แตกต่างกันน้อยที่สุด ถ้าทราบค่า โมลาร์ แอบซอร์ปติวิตี (molar absorptivity) สามารถคำนวณความไว (Sensitivity) ได้จากสูตรที่ 1

$$\text{Sandell's Sensitivity (S)} = n \left(\frac{M}{\epsilon} \right) = \left[\frac{\text{Molecular wt.} \times \text{No. of atoms in the element}}{\text{Molar absorptivity of coloured species}} \right] \dots \dots \dots (1)$$

ขั้นตอนการทดสอบความไว (Sensitivity)

- 1) เตรียมสารละลายไนเตรทเข้มข้น 5 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเตรียมได้จากตารางที่ 3-2
- 2) ปิเปตสารละลายไนเตรทเข้มข้น 5 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทำปฏิกิริยา ขนาด 20 มิลลิลิตร
- 3) หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 10 หยด
- 4) เติมสารทดสอบที่ 2
- 5) ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 9 นาที
- 6) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ความเข้มข้นละ 10 ซีซี (สามารถใช้ค่าดูดกลืนแสงของการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) ได้)
- 7) คำนวณค่าโมลาร์ แอบซอร์ปติวิตี (molar absorptivity) ตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert law) เพื่อนำไปคำนวณหาค่า Sandell 's Sensitivity ตามสูตรที่ 1

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

ความแม่นยำเป็นคุณลักษณะของวิธีที่แสดงความใกล้เคียงของผลการทดสอบต่อค่าจริงหรือค่าอ้างอิง การทดสอบความแม่นยำทำได้โดยการประเมินทั้ง systematic และ random effects ที่มีต่อผลทดสอบ ความเที่ยงเป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีที่แสดงถึงความใกล้เคียงกันของผลการวิเคราะห์ซ้ำภายใต้สภาวะที่กำหนด

ขั้นตอนการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision) ดังนี้

- 1) ทดสอบกับตัวอย่างน้ำบริโภค ที่ระดับความเข้มข้นของไนเตรท โดยเตรียมจากการการเติมสารมาตรฐานไนเตรทลงไปในตัวอย่าง (spike sample) ดังนี้
- 2) ความเข้มข้นของไนเตรท 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- 3) ความเข้มข้นของไนเตรท 30 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- 4) ความเข้มข้นของไนเตรท 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- 5) ความเข้มข้นของไนเตรท 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เตรียมโดยเติมสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไปในตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรด้วยตัวอย่าง จนครบ 100 มิลลิลิตร
- 6) ปิเปตตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น จำนวน 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทำปฏิกิริยา ขนาด 20 มิลลิลิตร
- 7) หยดสารละลายทดสอบที่ 1 จำนวน 10 หยด
- 8) เติมสารทดสอบที่ 2
- 9) ปิดฝาขวดทำปฏิกิริยา เขย่าขึ้นลง 15-20 ครั้ง เพื่อให้สารละลายมีความเป็นเนื้อเดียวกัน รอปฏิกิริยาสมบูรณ์ เป็นเวลา 9 นาที
- 10) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร คำนวณหาความเข้มข้นไนเตรท จากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity) (ความเข้มข้นอย่างละ 10 ซ้ำ)
- 11) นำข้อมูลที่ได้ ไปคำนวณความแม่นยำในรูปของเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) และความเที่ยงในรูปของ HORRAT

3.6.6 การใช้ชุดทดสอบไนเตรท ทดสอบกับตัวอย่างน้ำบริโภค

- 1) นำตัวอย่างน้ำบริโภค มาวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท ด้วยวิธีมาตรฐาน เทียบกับการใช้ชุดทดสอบไนเตรท (Nitrate Test kit)
- 2) เปรียบเทียบข้อมูลของสองวิธี โดยใช้สถิติการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) ในการวิเคราะห์ข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

- 1.สถาบันนวัตกรรมการเรียนรู้ มหาวิทยาลัยมหิดล ม.ป.ป. วัฏจักรไนโตรเจน (ออนไลน์)
https://il.mahidol.ac.th/e-media/ecology/chapter1/chapter1_nitrogen1.htm.13 กุมภาพันธ์ 2566
- 2.Roberto Picetti, Megan Deeney. 2022. Nitrate and nitrite contamination in drinking water and cancer risk: A systematic review with meta-analysis.210
- 3.Davoud Jalili,Majid RadFard,and Hamed Soleimani. 2018.Data on Nitrate-Nitrite pollution in the groundwater resources a Songor plain Iran.20:394-401
- 4.Word Health Organization. 2017. Nitrate and Nitrite in Drinking-water. Geneva.
- 5.กรรณิการ์ สิริสิงห. 2552 . เคมีของน้ำ น้ำโสโครก และการวิเคราะห์. กรุงเทพฯ
- 6.สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2549 (มอก 257-2549). ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 3470 (พ.ศ.2549) เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำบริโภค. 3470 : 1-3
- 7.สำนักส่งเสริมสุขภาพ สำนักสุขาภิบาลอาหารและน้ำ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2556. การจัดการน้ำบริโภคในโรงเรียน.4 เมษายน 2556.2-8.ศูนย์สื่อและสิ่งพิมพ์แก้วเจ้าจอม วชิระ เขตตลิ่งชัน กรุงเทพมหานคร
8. เทพวิฑูรย์ ทองศรี. 2555. ผลกระทบของไนโตรเจนต่อสิ่งแวดล้อม. วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ.190:12-13
9. อัญชลี แทนนิล. 2564. การพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่าย กรมส่งเสริมสิ่งแวดล้อม.12-13
10. Mary H. Ward,Rena R. Jones,and Jean D. Brender².2018.Drinking Water Nitrate and Human Health: An Update Review.
- 11.ถนนศักดิ์ บุญภักดี.2563. การเฝ้าระวังและป้องกันสาเหตุการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี (Red tide) บริเวณชายหาดบางแสนขอนแก่น
- 12.ประมาณ พรหมสุทธิรักษ์.2531. เอกสารคำสอนวิชาชลชีววิทยา - Limnology(ชีววิทยาประมง451).คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- 13.Badiadka Narayana and Kenchaiah Sunil,2009. A Spectrophotometric Method for the Determination of Nitrite and Nitrate.Eurasian of Analytical Chemistry.
- 14.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