

หลักฐานที่ 5.4 ผลงานวิชาการถูกนำไปใช้ประโยชน์ ตามภารกิจของหน่วยงาน

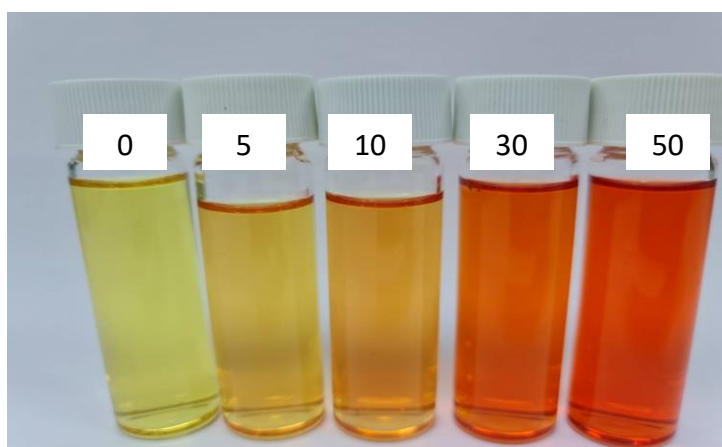
การพัฒนาชุดทดสอบไนเตรท สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค

The Development of Nitrate test kit for Drinking Water Quality Surveillance.

ผลการดำเนินงาน

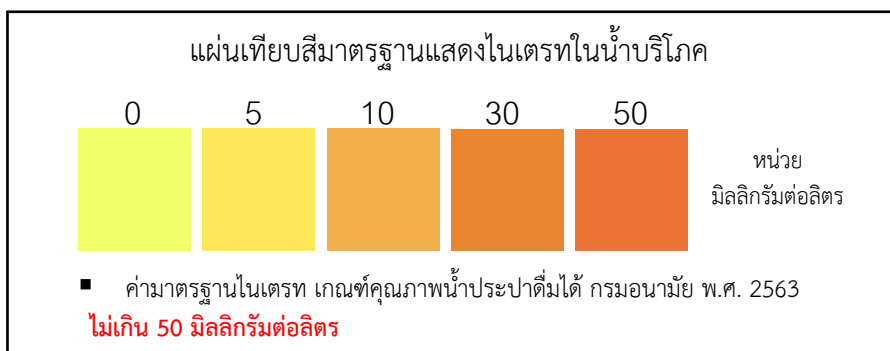
1. ผลการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีมาตรฐานของต้นแบบชุดทดสอบไนเตรท (Test kit)

เมื่อเตรียมสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 5 10 30 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดสอบและหลังทำปฏิกิริยากับ สารเคมี 1 และ 2 แล้วให้สีดังภาพ



ภาพที่ 1 แสดงการเกิดสีของสารมาตรฐานไนเตรท ที่ระดับความเข้มข้น 0 5 10 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากภาพที่ได้ นำไปสร้างแผ่นเทียบสีได้ดังนี้



ภาพที่ 2 แผ่นเทียบสีมาตรฐานแสดงปริมาณไนเตรท

จากสีมาตรฐานที่ได้ นำสารละลายระดับความเข้มข้นต่างๆ ไปทดสอบความใช้ได้ของต้นแบบชุดทดสอบไนเตรท (Test kit)

2. ผลการทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ

2.1 ผลการวิเคราะห์ความไว (sensitivity) ของต้นแบบชุดทดสอบไนเตรท (Test kit)

โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของ sample blank ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแบบลำแสงคู่ที่ความยาวคลื่น (λ) 513 นาโนเมตร ทำซ้ำ 10 ซ้ำ คำนวณหาค่า LOD และ LOQ ได้ผลดัง ตารางที่ 1

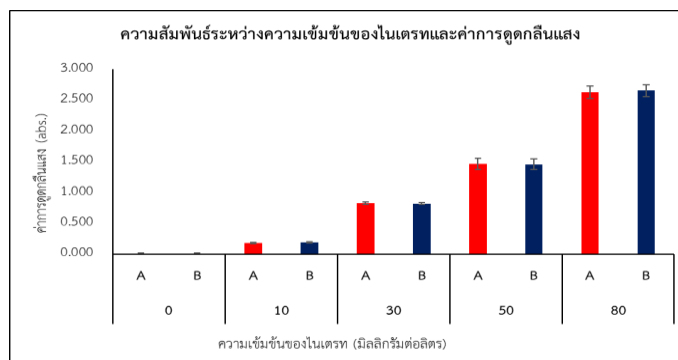
ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาความไว (Sensitivity)

ค่าเฉลี่ยจำนวน 10 ซ้ำ ของความเข้มข้นของ sample blank ที่วิเคราะห์ได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	3.10
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) ของ sample blank	0.22
ขีดจำกัดในการตรวจวัด (detection limit, LOD) (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากสูตร $LOD = \bar{x} + 3S$	$= 3.10 + (3 \times 0.22)$ $= 3.76$
ขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (quantitation limit, LOQ) (มิลลิกรัมต่อลิตร) จากสูตร $LOQ = \bar{x} + 10S$	$= 3.10 + (10 \times 0.22)$ $= 5.3$

จากตารางที่ 1 ชุดทดสอบไนเตรท มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นได้ คือ 3.76 มิลลิกรัมต่อลิตร และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยอมรับได้ว่ามีชุดทดสอบไนเตรทสามารถทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภค ได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ คือ 5.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.2 ผลการทดสอบความเสถียร (Stability)

การทดสอบความเสถียร(Stability) เป็นกระบวนการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารทดสอบในชุดทดสอบทางเคมี ความเสถียรที่ดีคุณสมบัติของสารทดสอบจะต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไประยะเวลาหนึ่ง



ภาพที่ 3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของความเข้มข้นไนเตรท ที่ระยะเวลาเริ่มต้น (A) เทียบกับระยะเวลา 12 เดือน (B)

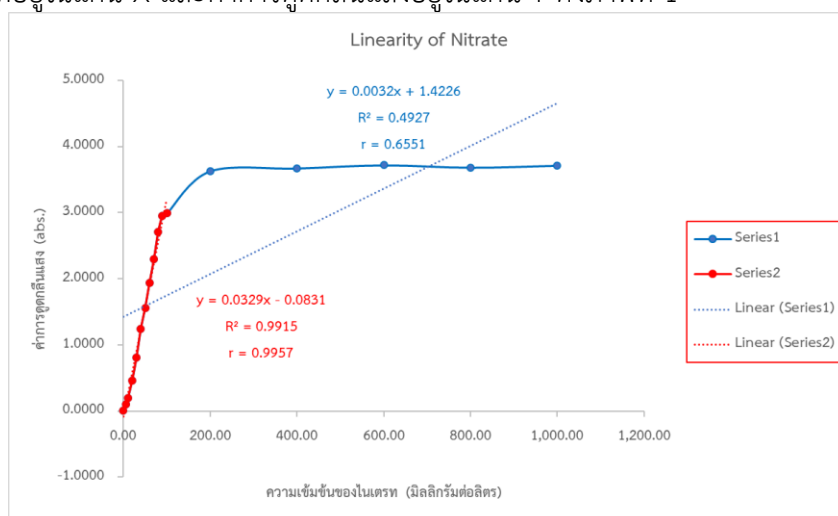
จากตาราง นำไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ดังภาพที่ 1 พบว่า ค่า error bar ของของแต่ละความเข้มข้นต่างๆ อยู่ในช่วงเดียวกัน และนำไปวิเคราะห์ทางสถิติ t-test พบว่า ค่า t Stat มีค่าน้อยกว่า t Critical two-tail ทุกความเข้มข้น แสดงว่าสารทดสอบมีความเสถียรเพียงพอในระยะเวลา 12 เดือน สำหรับการตรวจสอบปริมาณไนเตรท

2.3 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

(1) การทำให้เกิดสี และสร้างกราฟมาตรฐาน

นำสารละลายไนเตรทเข้มข้น 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 6 หลอด เติมสารที่ 1 และ 2 ลงไปอย่างละ 10 หยด ตามลำดับ ทิ้งไว้ 9 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 นาโนเมตร

จากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นไนเตรท โดยให้ความเข้มข้นของไนเตรทอยู่ในแกน X และค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในแกน Y ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นไนเตรท ในการหาวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity)

จาก ภาพที่ 4 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 นาโนเมตร ของสารละลายไนเตรท โดยใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ที่ความเข้มข้นมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (เส้นสีน้ำเงิน) เป็นต้นไป ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มคงที่ไม่เพิ่มขึ้นเป็นเชิงเส้น เกิดจากปริมาณไนเตรทที่มากเกินไป ไม่สามารถฟอร์มสีของสารทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นได้ ความเข้มของสีเลยมีค่าใกล้เคียง ทำให้ค่า r ไม่เข้าใกล้ 1 ($r = 0.6551$) ดังนั้นช่วงความเข้มข้น 0 จนถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงไม่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ไม่เหมาะสมไปพัฒนาชุดทดสอบ

ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (เส้นสีแดง) มีค่า r เข้าใกล้ 1 ($r = 0.9957$) ทำให้ช่วงความเข้มข้น 0 จนถึง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ทำให้ช่วงนี้มีความเหมาะสมไปพัฒนาชุดทดสอบไนเตรท

2.4 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ของสารเคมีที่ใช้ทดสอบปริมาณไนเตรทในชุดทดสอบไนเตรทต้นแบบ มีความเป็นเนื้อเดียวกันของสารเคมีทดสอบหรือไม่ โดยใช้เกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตามสมการ Horwitz มาประเมินความเป็นเนื้อเดียวกัน ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 30 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร อย่างละ 20 ขวด จากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าค่า HorRat ที่ได้ มีค่าน้อยกว่า 2 ทุกความเข้มข้น (ยกเว้น ที่ความเข้มข้นของ ไนเตรทเท่ากับ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นแหล่งของการวิเคราะห์ จึงไม่นำมาคิดค่า HorRat) ดังนั้นชุดทดสอบไนเตรทต้นแบบนี้ มีความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ของ AOAC

2.5 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and Precision) ของชุดทดสอบไนเตรทในตัวอย่างน้ำบริโภค

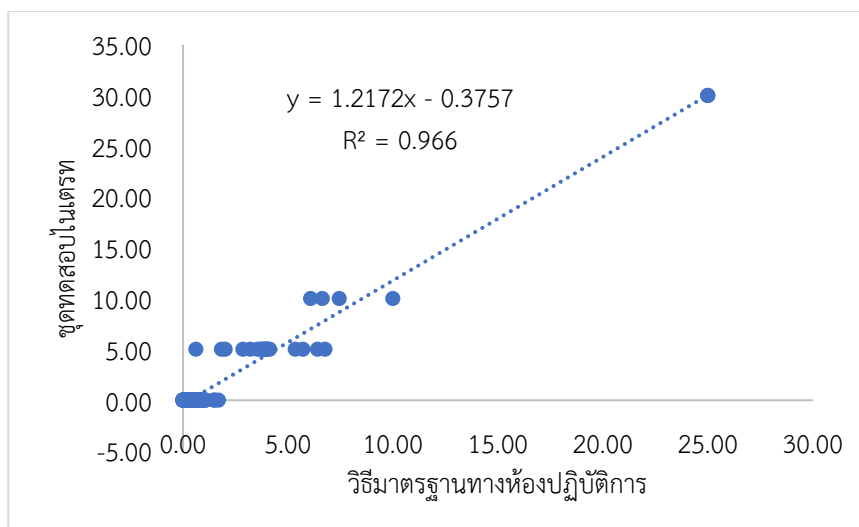
ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and precision)

		ความเข้มข้นของสารมาตรฐานไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
		5	10	30	50
ตัวอย่างน้ำ บริโภค	ค่าเฉลี่ย (10 ซ้ำ)	7.66	11.95	34.01	55.58
	ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน	0.29	0.31	0.5	0.7
	%RSD	3.8	2.7	1.5	1.3
	%Recovery	100.59	93.19	104.61	105.9
	HORRAT	0.49	0.37	0.24	0.22

จากตารางที่ 2 ความแม่นยำ (Accuracy) จะอธิบายในรูปของเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) กล่าวคือ ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 5 จนถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้เปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%recovery) อยู่ที่ 80-110 % เป็นเกณฑ์ยอมรับได้ในช่วงความแม่นยำตามเกณฑ์ของ AOAC ส่วนความเที่ยง (Precision) จะอธิบายในรูปของ HORRAT ตามเกณฑ์ของ AOAC จะยอมรับ HORRAT ที่น้อยกว่า 2 ซึ่งชุดทดสอบไนเตรทเมื่อทดสอบกับน้ำที่ความเข้มข้น 5 จนถึง 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ค่า HORRAT ตลอดช่วงของความเข้มข้น มีค่าน้อยกว่า 2 แสดงว่า ชุดทดสอบไนเตรท มีความเที่ยงตรง ดังนั้น ชุดทดสอบไนเตรท มีความแม่นยำและความเที่ยง ที่ยอมรับได้ เหมาะสมที่นำไปทดสอบไนเตรท ในภาคสนาม

2.6 ผลการเปรียบเทียบของต้นแบบชุดทดสอบไนเตรทกับวิธีมาตรฐาน

1. ผลการวิเคราะห์ผลการวิเคราะห์ไนเตรทในน้ำบริโภค จำนวน 106 ตัวอย่าง



ภาพที่ 5 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการวิเคราะห์ไนเตรทด้วยวิธีมาตรฐานและชุดทดสอบไนเตรท

ทดสอบกับตัวอย่างน้ำบริโภคจำนวน 106 ตัวอย่าง ที่ส่งตรวจกับกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย โดยการทดสอบด้วยชุดทดสอบไนเตรทเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติ วิเคราะห์ทางสถิติ ด้วยวิธีการถดถอยเชิงเส้น (Linear regression) พบว่ามีความถูกต้องถึง 96.6 % โดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน

สรุปผลการศึกษา

การพัฒนาต้นแบบชุดทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภค เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค โดยการใช้การเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method) ซึ่งไนเตรทในตัวอย่างน้ำทำปฏิกิริยากับซิงค์และกรดซัลฟานิลิก (Sulfanilic acid) ในสถานะที่เป็นกรด เกิดเป็นเกลือไดอะโซเนียมที่ไม่เสถียร จากนั้นเกลือไดอะโซเนียมจะทำปฏิกิริยากับกรดโครมาโทรพิก (Chromotropic acid) เกิดสารละลายสีแดงส้ม ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 513 nm ความเข้มของสีที่ปรากฏขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ ไนเตรทที่ละลายอยู่ในตัวอย่างน้ำ ชุดทดสอบนี้สามารถทดสอบปริมาณไนเตรทได้ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0 จนถึง 50 mg/L ให้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน เท่ากับ 0.9957 (เกณฑ์ที่ยอมรับได้เท่ากับ 0.995) ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด และให้ความถูกต้องของชุดทดสอบเมื่อเทียบกับวิธีมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการมากกว่า 90% ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้ชุดทดสอบเปลี่ยนแปลงสีได้ (ความไว (Sensitivity)) คือ 5 mg/L และเมื่อนำไปทดสอบความเสถียร (Stability) ในระยะเวลา 4 เดือน ไม่พบความเปลี่ยนแปลงของสารทดสอบอย่างมีนัยสำคัญ

ได้ต้นแบบชุดทดสอบสำหรับหาปริมาณไนเตรทในน้ำบริโภค ที่สามารถใช้งานได้ง่าย พกพาสะดวก ราคาถูก มีขั้นตอนไม่ซับซ้อนและอ่านผลได้รวดเร็ว ณ จุดทดสอบ เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภคได้อย่างทันทั่วทั้งที่

ได้ชุดทดสอบต้นแบบ



นำชุดทดสอบต้นแบบไปทดสอบการใช้งานจริงในพื้นที่ ระหว่างวันที่ 29-31 พฤษภาคม 2566 ในพื้นที่
รับผิดชอบของศูนย์อนามัยที่ 10 อุบลราชธานี



การทดลองใช้ต้นแบบชุดทดสอบไนเตรทในน้ำบริโภค โดยให้เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ประชาชน หรือชาวบ้านในพื้นที่
ทดลองใช้งานจริง เพื่อประเมินว่าชุดทดสอบดังกล่าว สามารถใช้งานได้ง่ายหรือไม่ อ่านคู่มือการใช้แล้วเข้าใจ
หรือไม่ มีอะไรที่ไม่สะดวกต่อการใช้งาน ความต้องการเพิ่มเติมของผู้ใช้งาน เพื่อนำข้อบ่งชี้ไปปรับปรุง/พัฒนาชุด
ทดสอบต่อไป