

**ตัวชี้วัดที่ 3.38 :** ระดับความสำเร็จของการพัฒนาชุดทดสอบไนเตรท สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุขกรมอนามัย

**ระยะเวลาดำเนินการ :** ตุลาคม 2565 - กุมภาพันธ์ 2566 (รอบ 5 เดือนแรก ปีงบประมาณ พ.ศ.2566)

**ผู้รับผิดชอบตัวชี้วัด :** ผู้รับผิดชอบหลัก : กลุ่มงานเคมี-กายภาพ ผู้รับผิดชอบรอง : กลุ่มงานจุลชีววิทยา

### สรุป ตัวชี้วัดที่ 3.38 รอบ 5 เดือนแรก (ตุลาคม 2565 - กุมภาพันธ์ 2566)

#### ผลการวิเคราะห์สถานการณ์ของตัวชี้วัด และความรู้ที่นำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์

ประเทศไทย เป็นประเทศที่ใช้ปุ๋ยและสารเคมีในภาคการเกษตรอย่างมาก ซึ่งไนโตรเจนเป็นแร่ธาตุอาหารหลักสำคัญที่จำเป็นอย่างมากสำหรับการปลูกพืช ไนโตรเจนเป็นกลุ่มสารอาหารอินทรีย์และการเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมตามวัฏจักรไนโตรเจนมีความสำคัญต่อสิ่งแวดล้อม เพราะหากมีสารประกอบไนโตรเจนที่มากเกินไป อาจทำให้เกิดเป็นแหล่งมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ ปริมาณไนเตรทในแหล่งน้ำเกิดจากการเน่าเปื่อยของซากพืชซากสัตว์ น้ำเน่า ปุ๋ย และสารเคมีจากเกษตรกรรม เมื่อแบคทีเรียย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจน จากน้ำเสีย อุจจาระ และสารประกอบโปรตีน เปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย ( $\text{NH}_3$ ) จากนั้นเป็นไนไตรท์ ( $\text{NO}_2$ ) และสุดท้ายไปเป็นไนเตรท ( $\text{NO}_3$ ) ซึ่งสามารถละลายได้ดีในน้ำ จึงไหลซึมผ่านการกรองของชั้นดินลงสู่ใต้ดินและสู่แหล่งน้ำบาดาล แต่บางส่วนพืชใช้เป็นอาหาร ดังนั้น การเน่าเปื่อยของสารอินทรีย์และปุ๋ย เป็นสาเหตุหลักของการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำซึ่งอาจเพิ่มความเข้มข้นของไนเตรท ในน้ำผิวดินและน้ำใต้ดินมากขึ้น

ผลกระทบต่อด้านสุขภาพ มีผลการศึกษาวิจัยจากต่างประเทศยืนยันชัดเจนว่า เด็กทารกที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ที่ประกอบเกษตรกรรมในเชิงอุตสาหกรรม ที่มีการปนเปื้อนไนเตรทในแหล่งน้ำชุมชนสูง จะเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงทางสุขภาพสูงสุด พิษของไนเตรทจะทำให้เด็กเกิดโรค "Blue-baby syndrome" หรือ methemoglobinemia และมักเกิดในเด็กทารกอายุต่ำกว่า ๔ เดือน ที่ดื่มน้ำมีไนเตรทเจือปนในปริมาณสูงซึ่งอาการของ Blue-baby syndrome จะเป็นในลักษณะที่ แบคทีเรียในลำไส้เปลี่ยนรูปไนเตรทให้เป็นไนไตรต์ ทำให้ฮีโมโกลบินผิดปกติ (methemoglobin) พบว่าถ้าร่างกายมี Methemoglobin เข้มข้นเป็น ๑๐% ของ Haemoglobin จะเกิดอาการ Methemoglobinaemia-ไม่สามารถนำพาออกซิเจนไปใช้ได้ ทำให้เกิดอาการตัวเขียว(Cyanosis) ถ้าอาการมากขึ้น จะส่งผลให้เกิดอาการขาดออกซิเจน (Asphyxia) อาการนี้เป็นอันตรายมากหากเกิดในเด็ก สตรีมีครรภ์ ผู้ที่มีภาวะซีดหรือมีปัญหาโรคเลือด สำหรับผู้ใหญ่หากดื่มน้ำที่มีไนเตรทปนเปื้อนปริมาณน้อยเป็นระยะเวลานาน จะเกิดพิษเรื้อรังมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งทางเดินอาหาร มะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด NHL มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งรังไข่ ฯลฯ และเมื่อรับประทานอาหารที่ไนเตรทสะสมอยู่ในปริมาณสูง เช่น สัตว์น้ำ หรือผักที่ปลูก พิษที่ตกค้างจะทำให้เกิดภาวะทางประสาท สูญเสียความทรงจำ เป็นอัมพาต หรือท้องร่วงได้

ดังนั้น เพื่อการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค โดยมาตรฐานคุณภาพน้ำบริโภคของประเทศไทยกำหนดให้น้ำบริโภคมีปริมาณไนเตรท ( $\text{NO}_3$ ) ไม่เกิน ๕๐ มิลลิกรัม/ลิตร น้ำดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท มีไนเตรท ในรูปของ ไนเตรท

ไนโตรเจน( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) ไม่เกิน ๔.๐ มิลลิกรัม/ลิตร และน้ำบาดาลที่ใช้บริโภคมีไนเตรท ( $\text{NO}_3$ ) ไม่เกิน ๔๕ มิลลิกรัม/ลิตร นอกจากนี้มาตรฐานคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำผิวดิน กำหนดให้มีไนเตรท ในรูปของไนเตรท ไนโตรเจน ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) ไม่เกิน ๕.๐ มิลลิกรัม/ลิตร และแอมโมเนีย ในรูปของแอมโมเนีย ไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) ไม่เกิน ๐.๕ มิลลิกรัม/ลิตร

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำประปาทางห้องปฏิบัติการของกองห้องปฏิบัติการสาธารณสุข กรมอนามัย โดย เทียบกับเกณฑ์คุณภาพน้ำประปากรมอนามัย พ.ศ. ๒๕๖๓ ของจังหวัดต่างๆ ทั่วประเทศย้อนหลัง ๓ ปีงบประมาณ (ปีงบประมาณ ๒๕๖๓-๒๕๖๕) พบว่า ปริมาณไนเตรท มีแนวโน้มเกินกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนด ในหลายจังหวัด เช่น แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ เชียงราย ตาก ลำปาง แพร่ สุพรรณบุรี สระบุรี ชลบุรี สมุทรสาคร ลำพูน และสุราษฎร์ธานี เป็นต้น ซึ่งในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทในน้ำโดยวิธีมาตรฐานต้องใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์และต้องดำเนินการในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ที่ได้มาตรฐาน มีความน่าเชื่อถือ ใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์ใช้เทคโนโลยีขั้นสูง ที่มีราคาแพง และใช้บุคลากรที่มีความรู้ความสามารถทางด้านวิทยาศาสตร์เฉพาะทางเป็นผู้ตรวจวิเคราะห์

เพื่อสนับสนุนให้ภาคีเครือข่ายทุกภาคส่วน ชุมชนและประชาชนในพื้นที่ ร่วมเฝ้าระวังคุณภาพน้ำที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนทุกกลุ่มวัย กองห้องปฏิบัติการสาธารณสุข กรมอนามัย จึงดำเนินการศึกษาและพัฒนาชุดทดสอบไนเตรทในน้ำประปา ที่ง่ายต่อการใช้งาน เพื่อใช้เฝ้าระวังปริมาณไนเตรทน้ำ ประปาได้ อีกทั้งยังช่วยให้ผู้เกี่ยวข้องใช้เป็นเครื่องมือในการช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำได้อย่างทันท่วงที

### ความรู้ที่นำมาใช้ประกอบการวิเคราะห์

#### ชุดทดสอบ

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

ชุดทดสอบอย่างง่ายมีข้อดีหลายประการ คือการทดสอบทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน และผู้ทดสอบไม่จำเป็นต้องมีความรู้เฉพาะทางด้านเทคนิคมากนักที่สำคัญคือต้นทุนต่ำ และผลการทดสอบน่าเชื่อถือ

หลักการของชุดทดสอบอย่างง่ายส่วนใหญ่อาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารเป้าหมายที่สนใจกับสารทดสอบที่มีความไวและจำเพาะต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารเป้าหมายหนึ่งๆ โดยสารทดสอบมักถูกเคลือบหรือตรึงอยู่บนแผ่นทดสอบที่เป็นวัสดุรองรับ หรืออาจอยู่ในรูปสารละลายก็ได้ เมื่อสารที่ใช้ทดสอบทำปฏิกิริยากับสารเป้าหมายจะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่มองเห็นด้วยตาเปล่า เช่น สีเปลี่ยนไปจากเดิม หรือการเปลี่ยนแปลงสมบัติทาง

แสง เช่น เกิดการเรืองแสง หรือเกิดสารประกอบตัวใหม่หลังเกิดปฏิกิริยาเคมี หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าทางไฟฟ้า ทั้งนี้อาจมีการผนวกรวมจรรยาบรรณสำหรับแปรผลให้เป็นตัวเลขที่อ่านค่าได้โดยสะดวกอีกด้วย

### ชุดทดสอบอย่างง่ายที่ดีควรมีสมบัติดังต่อไปนี้

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

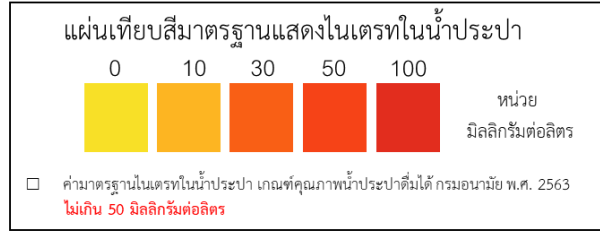
กล่าวโดยสรุป ชุดทดสอบอย่างง่ายเหมาะที่จะใช้ทดสอบเบื้องต้นสำหรับคัดกรองตัวอย่าง หรือใช้สำหรับทดสอบในพื้นที่ที่ไม่สามารถทดสอบด้วยเครื่องมือในห้องปฏิบัติการได้ โดยมีหลักการพื้นฐานจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีของสารบนแผ่นทดสอบและสารเป้าหมายแต่ปฏิกิริยาเคมีนั้นๆ จำเป็นต้องเกิดการเปลี่ยนแปลงที่สามารถตรวจวัดได้อย่างชัดเจน

### การออกแบบชุดทดสอบในเตรทที่ได้จากการศึกษาข้อมูลทางวิชาการ

ชุดทดสอบในเตรท สำหรับการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำบริโภค (อ ๔๒) ได้ออกแบบชุดทดสอบในเตรทที่ได้จากการศึกษาข้อมูลทางวิชาการ มีรายการดังต่อไปนี้



๑. กล่องพลาสติกใสทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้า ประกอบด้วย ๒ ส่วนคือตัวกล่องและฝากล่องที่เชื่อมติดกัน สามารถพับเปิดปิดฝาได้ มีขนาดกว้าง x ยาว x สูง = ๓.๑๕ x ๑๓.๘๕ x ๙.๕๐ เซนติเมตร ภายในกล่องมีการแบ่งกันเป็นช่องให้ใส่สัดส่วนกับขวดที่ใส่จำนวน ๕ ช่อง เพื่อใช้ใส่ขวดสารเคมี ๑ จำนวน ๒ ขวด ขวดสารเคมี ๒ จำนวน ๒ ขวดและใส่ขวดเปล่าสำหรับใส่ตัวอย่างน้ำที่จะตรวจสอบ จำนวน ๑ ขวด



๒. แผ่นเทียบสีมาตรฐานไนเตรท แสดงระดับค่าไนเตรทตั้งแต่ ๐, ๑๐, ๓๐, ๕๐ และ ๑๐๐ มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้เป็นแผ่นสีมาตรฐานของค่าไนเตรทและไว้ใช้อ่านผลการทดสอบไนเตรทของตัวอย่างน้ำที่นำมาตรวจสอบ



๓. ขวดใส่ตัวอย่างตรวจสอบมีขีดที่กำหนดขนาดบรรจุ ๒๐ มิลลิลิตรจำนวน ๑ ขวด เพื่อใช้ใส่ตัวอย่างน้ำเพื่อทดสอบค่าไนเตรท



๔. สารเคมี ๑ และสารเคมี ๒ จำนวนอย่างละ ๒ ขวด ใช้ทำปฏิกิริยากับตัวอย่างน้ำ เพื่อทำให้เกิดสีในการอ่านค่ากับแผ่นเทียบสีมาตรฐานไนเตรท



ชุดทดสอบไนเตรทหลังจากการออกแบบที่ได้จากการศึกษาข้อมูลทางวิชาการ

## การดำเนินการทางห้องปฏิบัติการเพื่อพัฒนาชุดทดสอบต้นแบบ

### การทดสอบความใช้ได้ของชุดทดสอบ

#### 1. การทดสอบความเสถียร (Stability)

เป็นกระบวนการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารทดสอบในชุดทดสอบทางเคมี ความเสถียรที่ดีคุณสมบัติของสารทดสอบจะต้องไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเวลาผ่านไประยะเวลาหนึ่ง

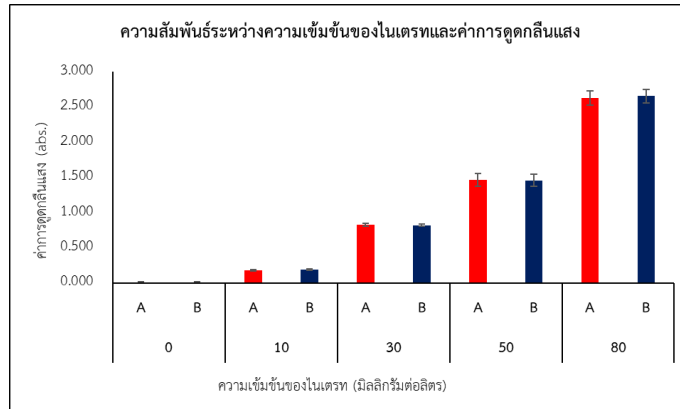
##### 1.1. ขั้นตอนการทดสอบความเสถียรของชุดทดสอบไนเตรท

- 1.1.1. เตรียมสารละลายทดสอบ 2 ชุด นำชุดที่ 1 ไปวิเคราะห์ไนเตรทความเข้มข้น 0, 10, 30, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ความยาวคลื่น 513 นาโนเมตรทันที ทำทั้งหมดอย่างละ 10 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (A)
- 1.1.2. นำสารละลายชุดที่ 2 เก็บทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1, 2, 3 และ 6 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ไม่ถูกแสงแดด พอครบเวลา นำไปวิเคราะห์ไนเตรทความเข้มข้น 0, 10, 30, 50 และ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำทั้งหมดอย่างละ 10 ซ้ำ ที่ความยาวคลื่น 513 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสง (B)
- 1.1.3. เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของชุดที่ 1 (A) และค่าดูดกลืนแสงของชุดที่ 2 (B) ที่เวลาผ่านไป 1, 2, 3 และ 6 เดือน นำไปหาความเสถียร (stability testing) ของสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนเตรท ด้วยสถิติ t-test

## 1.2. ผลการวิเคราะห์ความเสถียร (Stability)

ตารางที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบไนเตรทเริ่มต้น (A) และระยะเวลา 1 เดือน (B)

| จำนวนซ้ำ               | ความเข้มข้นของไนเตรท (มิลลิกรัมต่อลิตร) |        |         |        |         |        |         |        |         |        |
|------------------------|---|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|
|                        | 0                                       |        | 10      |        | 30      |        | 50      |        | 80      |        |
|                        | A                                       | B      | A       | B      | A       | B      | A       | B      | A       | B      |
| 1                      | 0.002                                   | 0.015  | 0.167   | 0.180  | 0.807   | 0.828  | 1.585   | 1.496  | 2.787   | 2.670  |
| 2                      | 0.010                                   | 0.000  | 0.178   | 0.175  | 0.801   | 0.825  | 1.360   | 1.433  | 2.585   | 2.717  |
| 3                      | 0.016                                   | 0.017  | 0.185   | 0.179  | 0.849   | 0.839  | 1.521   | 1.550  | 2.523   | 2.504  |
| 4                      | 0.018                                   | 0.007  | 0.188   | 0.197  | 0.830   | 0.807  | 1.558   | 1.449  | 2.603   | 2.736  |
| 5                      | 0.004                                   | 0.020  | 0.194   | 0.188  | 0.848   | 0.845  | 1.496   | 1.522  | 2.625   | 2.517  |
| 6                      | 0.014                                   | 0.010  | 0.166   | 0.195  | 0.809   | 0.809  | 1.338   | 1.545  | 2.608   | 2.739  |
| 7                      | 0.012                                   | 0.005  | 0.173   | 0.186  | 0.846   | 0.801  | 1.446   | 1.304  | 2.510   | 2.765  |
| 8                      | 0.009                                   | 0.017  | 0.182   | 0.195  | 0.812   | 0.804  | 1.540   | 1.424  | 2.730   | 2.633  |
| 9                      | 0.010                                   | 0.012  | 0.162   | 0.186  | 0.828   | 0.819  | 1.355   | 1.330  | 2.542   | 2.731  |
| 10                     | 0.014                                   | 0.000  | 0.179   | 0.166  | 0.837   | 0.809  | 1.429   | 1.505  | 2.770   | 2.544  |
| ค่าเฉลี่ย              | 0.011                                   | 0.010  | 0.177   | 0.185  | 0.827   | 0.819  | 1.463   | 1.456  | 2.628   | 2.656  |
| SD                     | 0.0050                                  | 0.0072 | 0.0103  | 0.0099 | 0.0183  | 0.0153 | 0.0904  | 0.0854 | 0.1007  | 0.1001 |
| df                     | 9                                       |        | 9       |        | 9       |        | 9       |        | 9       |        |
| t Stat                 | -0.9781                                 |        | -1.4872 |        | -0.1076 |        | -0.4555 |        | -0.4162 |        |
| P(T<=t)<br>two-tail    | 0.3536                                  |        | 0.1711  |        | 0.9167  |        | 0.6596  |        | 0.6870  |        |
| t Critical<br>two-tail | 2.2622                                  |        | 2.2622  |        | 2.2622  |        | 2.2622  |        | 2.2622  |        |



ภาพที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของความเข้มข้นไนเตรท  
ที่ระยะเวลาเริ่มต้น (A) เทียบกับระยะเวลา 1 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 1 เดือน สำหรับการตรวจสอบปริมาณไนเตรท

## 2. การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

การศึกษาความเป็นคุณสมบัติที่บอกว่า สัญญาณของเครื่องมือวัดแปรเปลี่ยนเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารที่ศึกษา

### 2.1. ขั้นตอนเตรียมช่วงความเข้มข้นมาตรฐาน

- 2.1.1. 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 2

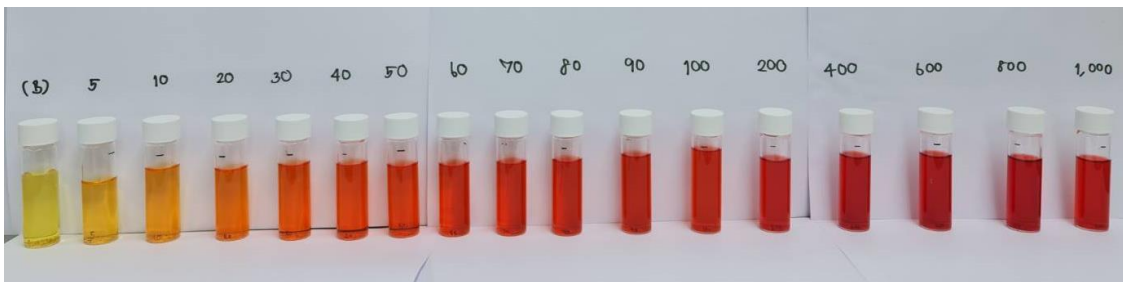
ตารางที่ 2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทในการทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

| สารละลายมาตรฐานใช้งาน<br>(Working standard) | สารละลายมาตรฐานที่นำมาเจือจาง<br>(Stock solution) |             | ปรับปริมาตร<br>(มิลลิลิตร) |
|---|---|-------------|----------------------------|
|   | Conc. (mg/L)                                      | Volume (ml) |                            |
| 0   | 1,000   | 0           | 50                         |
| 5   | 1,000   | 0.25        | 50                         |
| 10  | 1,000   | 0.50        | 50                         |
| 20  | 1,000   | 1.00        | 50                         |
| 30  | 1,000   | 1.50        | 50                         |
| 40  | 1,000   | 2.00        | 50                         |
| 50  | 1,000   | 2.50        | 50                         |
| 60  | 1,000   | 3.00        | 50                         |
| 70  | 1,000   | 3.50        | 50                         |
| 80  | 1,000   | 4.00        | 50                         |
| 90  | 1,000   | 4.50        | 50                         |
| 100   | 1,000   | 5.00        | 50                         |
| 200   | 1,000   | 10.00       | 50                         |
| 400   | 1,000   | 20.00       | 50                         |
| 600   | 1,000   | 30.00       | 50                         |
| 800   | 1,000   | 40.00       | 50                         |
| 1,000                                       | 1,000   | 50.00       | 50                         |



## 2.2. ขั้นตอนการทำให้เกิดสี และสร้างกราฟมาตรฐาน

- 2.2.1. นำสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มาอย่างละ 20 มิลลิลิตร เทลงในหลอดทำปฏิกิริยาขนาด 20 มิลลิลิตร จำนวนความเข้มข้นอย่างละ 6 หลอด
- 2.2.2. เติมน้ำที่ 1 และ 2 ลงไปอย่างละ 10 หยด ตามลำดับ ทิ้งไว้ 8 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์
- 2.2.3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 นาโนเมตร พล็อตความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย (บนแกน X) และค่าการดูดกลืนแสง (บนแกน Y)
- 2.2.4. วิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson Correlation Coefficient : r) โดยที่  $r = \sqrt{R^2}$  โดยที่  $R^2$  คือค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination) ค่า r ที่ได้ควรมีค่าเข้าใกล้ -1 หรือ 1 เป็นค่าที่ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย และค่าการดูดกลืนแสง มีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง



ภาพที่ 2 การเกิดสีของสารมาตรฐานไนเตรทในการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity)

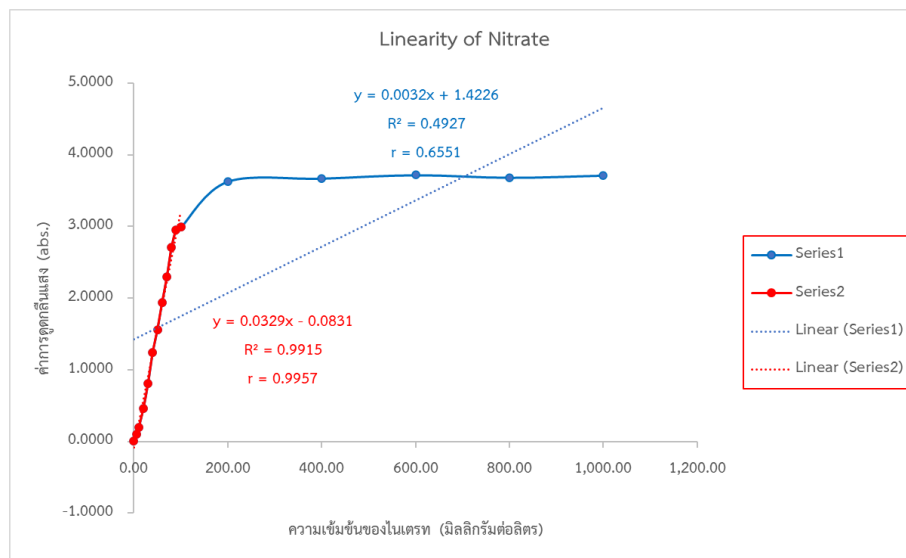
## 2.3. ผลการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity)

ตารางที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานไนเตรทของการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง

| ความเข้มข้น (mg/L) | ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) |            |            |            |            |            |            |            |            |             | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน |
|--------------------|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----------|----------------------|
|                    | ครั้งที่ 1                    | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | ครั้งที่ 4 | ครั้งที่ 5 | ครั้งที่ 6 | ครั้งที่ 7 | ครั้งที่ 8 | ครั้งที่ 9 | ครั้งที่ 10 |           |                      |
| 0                  | 0.000                         | 0.001      | 0.001      | 0.001      | 0.014      | 0.010      | 0.014      | 0.014      | 0.018      | 0.016       | 0.0124    | 0.0056               |
| 5                  | 0.110                         | 0.110      | 0.110      | 0.111      | 0.102      | 0.102      | 0.102      | 0.103      | 0.102      | 0.101       | 0.1048    | 0.0042               |
| 10                 | 0.197                         | 0.192      | 0.189      | 0.189      | 0.198      | 0.198      | 0.193      | 0.193      | 0.195      | 0.196       | 0.1937    | 0.0034               |
| 20                 | 0.454                         | 0.454      | 0.457      | 0.458      | 0.462      | 0.462      | 0.465      | 0.465      | 0.467      | 0.467       | 0.4619    | 0.0046               |
| 30                 | 0.804                         | 0.805      | 0.807      | 0.808      | 0.816      | 0.813      | 0.812      | 0.820      | 0.824      | 0.828       | 0.8148    | 0.0079               |
| 40                 | 1.231                         | 1.229      | 1.249      | 1.244      | 1.248      | 1.247      | 1.246      | 1.250      | 1.254      | 1.255       | 1.2469    | 0.0076               |

| ความเข้มข้น (mg/L) | ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) |            |            |            |            |            |            |            |            |             | ค่าเฉลี่ย | ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน |
|--------------------|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----------|----------------------|
|                    | ครั้งที่ 1                    | ครั้งที่ 2 | ครั้งที่ 3 | ครั้งที่ 4 | ครั้งที่ 5 | ครั้งที่ 6 | ครั้งที่ 7 | ครั้งที่ 8 | ครั้งที่ 9 | ครั้งที่ 10 |           |                      |
| 50                 | 1.515                         | 1.517      | 1.613      | 1.615      | 1.535      | 1.531      | 1.612      | 1.615      | 1.540      | 1.544       | 1.5691    | 0.0430               |
| 60                 | 1.931                         | 1.926      | 1.935      | 1.933      | 1.950      | 1.953      | 1.942      | 1.942      | 1.957      | 1.957       | 1.9439    | 0.0111               |
| 70                 | 2.285                         | 2.285      | 2.280      | 2.279      | 2.302      | 2.302      | 2.290      | 2.290      | 2.319      | 2.319       | 2.2962    | 0.0153               |
| 80                 | 2.751                         | 2.735      | 2.638      | 2.638      | 2.751      | 2.751      | 2.663      | 2.650      | 2.751      | 2.750       | 2.7030    | 0.0536               |
| 90                 | 3.035                         | 3.035      | 2.838      | 2.820      | 3.035      | 3.035      | 2.839      | 2.839      | 3.035      | 3.034       | 2.9456    | 0.1060               |
| 100                | 2.950                         | 2.977      | 3.004      | 3.004      | 2.977      | 2.977      | 3.004      | 3.004      | 3.004      | 3.004       | 2.9950    | 0.0135               |
| 200                | 3.578                         | 3.703      | 3.703      | 3.578      | 3.578      | 3.577      | 3.702      | 3.703      | 3.578      | 3.578       | 3.6333    | 0.0659               |
| 400                | 3.578                         | 3.702      | 3.702      | 3.878      | 3.578      | 3.702      | 3.702      | 3.577      | 3.577      | 3.701       | 3.6799    | 0.0957               |
| 600                | 3.709                         | 3.583      | 3.708      | 3.885      | 3.884      | 3.708      | 3.708      | 3.583      | 3.707      | 3.708       | 3.7193    | 0.1075               |
| 800                | 3.708                         | 3.707      | 3.708      | 3.582      | 3.707      | 3.707      | 3.582      | 3.707      | 3.707      | 3.708       | 3.6794    | 0.0552               |
| 1,000              | 3.707                         | 3.707      | 3.707      | 3.707      | 3.582      | 3.706      | 3.707      | 3.707      | 3.707      | 3.883       | 3.7126    | 0.0761               |

จากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ นำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นไนเตรท โดยให้ความเข้มข้นของไนเตรทอยู่ในแกน X และค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในแกน Y ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นไนเตรท ในการวิเคราะห์ความเป็นเส้นตรง (linearity)

จาก ภาพที่ 1 เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 513 นาโนเมตร ของสารละลายไนเตรท โดยใช้ความเข้มข้น ตั้งแต่ 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