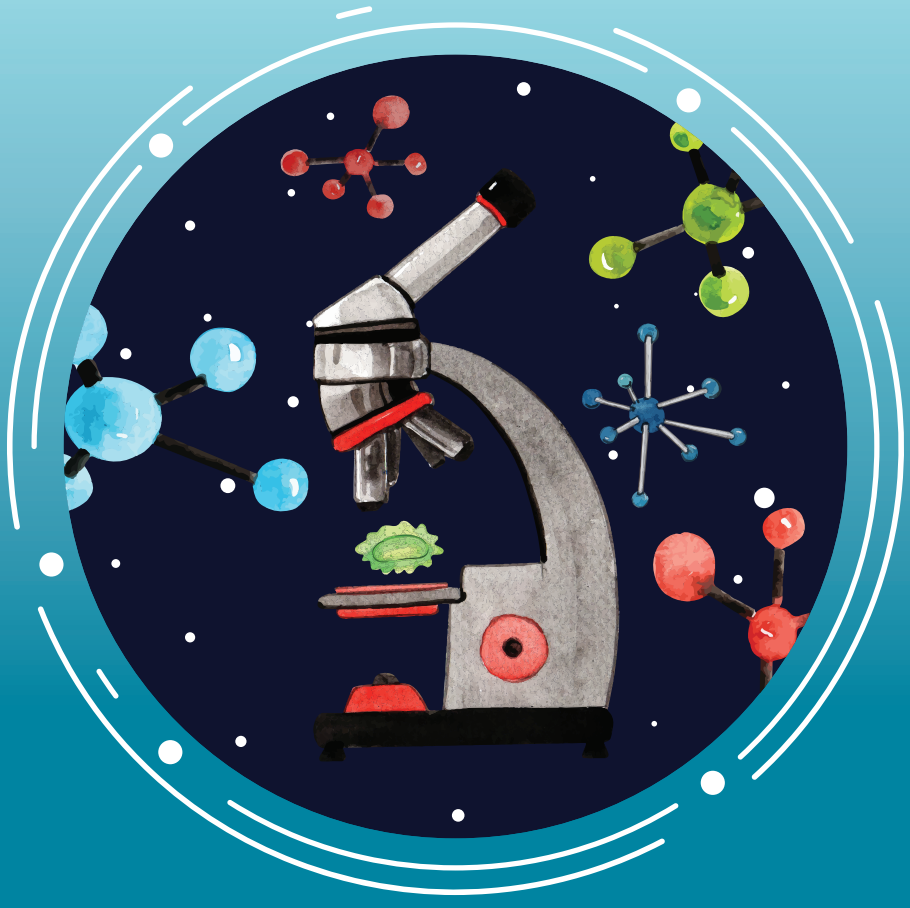
คู่มือ ชุดทดสอบ
ฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ในน้ำ



ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
ประจำปี พ.ศ. 2563

คู่มือ ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ในน้ำ

จัดทำโดย

รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ

รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ วงศ์นิรามัยกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรวดี ลิ่มสกุล

ดร.วิลาสินี ศรีพรหม

คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิทยาเขตภูเก็ต

ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ

(วช.) ประจำปี พ.ศ. 2563

คู่มือ ชุดทดสอบ

ฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ในน้ำ

พิมพ์ครั้งที่ 1: สิงหาคม 2563 (จำนวน 300 เล่ม)

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของสำนักหอสมุดแห่งชาติ
National Library of Thailand Cataloging in Publication Data

คู่มือชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำ.-- ภูเก็ต : คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต, 2563.
44 หน้า.

1. ฟอสเฟต. 2. น้ำ -- ปริมาณฟอสฟอรัส. I. อารีย์ ชูดำ. II. ชื่อเรื่อง.

553.64
ISBN 978-616-271-598-3

ผู้เขียน: รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ
รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ วงศ์นิรามัยกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรวดี ลิ่มสกุล
ดร.วิลาสินี ศรีพรหม

พิมพ์ที่: บริษัท มั่นมีเดีย จำกัด โทรศัพท์ 081-844-7356

จัดทำโดย
คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต
เลขที่ 80 หมู่ 1 ถนนวิชิตสงคราม ตำบลกะทู้ อำเภอกะทู้ จังหวัดภูเก็ต 83120
สนใจติดต่อ โทร 0 7627 6481 โทรสาร 0 7627 6102

(สงวนลิขสิทธิ์ตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2537)

คำนำ

หลายปีที่ผ่านมารัฐบาลได้สนับสนุนและส่งเสริมให้มีกิจกรรมทางเศรษฐกิจที่กระตุ้นรายได้จากการท่องเที่ยวอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดการเคลื่อนย้ายประชากรและแรงงานต่างถิ่นสู่แหล่งท่องเที่ยวที่มีชื่อเสียง เช่น ภูเก็ต พัทยา ส่งผลให้ทรัพยากรธรรมชาติถูกใช้ไปเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้คนที่มากขึ้น และก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมตามมามากมาย โดยเฉพาะปัญหาคุณภาพน้ำผิวดินในพื้นที่ที่เป็นแหล่งท่องเที่ยวที่มีชื่อเสียง เช่น จังหวัดภูเก็ต ซึ่งมักอยู่ในเกณฑ์เสื่อมโทรมและเสื่อมโทรมมาก รวมไปถึงน้ำทะเลที่เชื่อมต่อกับแหล่งน้ำผิวดินเหล่านี้ มักประสบปัญหาคุณภาพน้ำทะเลและเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีและสาหร่ายขนาดใหญ่สะพรั่ง (Algae bloom) หรือปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น (Eutrophication) ปัญหาเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับปริมาณธาตุอาหารจำพวกไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่มีมากในน้ำทิ้งจากสถานประกอบการด้านการท่องเที่ยวและชุมชนที่มีอยู่กันอย่างหนาแน่น ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียของท้องถิ่นอาจไม่สามารถกำจัดสารเหล่านี้ได้ ดังนั้นการเฝ้าระวังปริมาณธาตุอาหารกลุ่มไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ได้แก่ สารประกอบฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ในน้ำผิวดิน จึงมีความสำคัญต่อการจัดการปัญหาดังกล่าวอย่างยิ่ง

คณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต ประสบความสำเร็จในการพัฒนาชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ จึงมองเห็นแนวทางที่จะมีส่วนช่วยแก้ปัญหาดังกล่าว จึงได้จัดการองค์ความรู้ *“ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์”* ให้มีลักษณะที่เป็นต้นแบบภาคสนามเพื่อการทดสอบธาตุอาหาร (ฟอสฟอรัสและไนโตรเจน) ในน้ำอย่างรวดเร็วและทราบผลทันที ณ สถานที่ตรวจ มีความถูกต้องแม่นยำเทียบเท่าวิธีมาตรฐาน และจัดทำเป็นคู่มือเล่มนี้ เพื่อใช้ประกอบการจัดอบรมเพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้ดังกล่าวให้กับกลุ่มเป้าหมายที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ นักเรียน นักศึกษาและคณะครู และเจ้าหน้าที่ด้านสิ่งแวดล้อม

ขององค์การบริหารส่วนท้องถิ่น ซึ่งถือเป็นเจ้าของพื้นที่ที่มีศักยภาพในการเรียนรู้ และยังสามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ และขยายผลเพื่อให้ช่วยกันเฝ้าระวังปัญหาดังกล่าวได้

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า คู่มือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์กับผู้อ่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใด ต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คู่มือ “ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ในน้ำ” เล่มนี้ไม่สามารถเกิดขึ้นได้ หากไม่ได้รับทุนสนับสนุนการจัดทำจากทุนอุดหนุนเพื่อทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัย การจัดการความรู้การวิจัยเพื่อการใช้ประโยชน์ในมิติเชิงชุมชน สังคม ตามแนวพระราชดำริ ภายใต้โครงการจัดการความรู้การวิจัยเพื่อการใช้ประโยชน์ ประจำปี 2563 เรื่อง การจัดการองค์ความรู้ชุดทดสอบฟอสเฟตไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำสำหรับเฝ้าระวังปริมาณธาตุฟอสฟอรัสและไนโตรเจนในน้ำผิวดินและน้ำทะเลในพื้นที่จังหวัดภูเก็ตจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

นอกจากนี้แล้ว คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณกองทุนวิจัยคณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต ที่ให้การสนับสนุนโครงการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลงานวิจัยนี้ และขอขอบพระคุณผู้อ่านทุกท่านที่ให้ความสนใจ ร่วมด้วยช่วยกันเฝ้าระวังปริมาณธาตุฟอสฟอรัสและไนโตรเจนในน้ำผิวดินและน้ำทะเล และช่วยกันดูแลรักษาทรัพยากรทางธรรมชาติ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ฟอสเฟตคืออะไร	12
ไนเตรทและไนไตรท์คืออะไร	16
ยูโทรฟิเคชั่นคืออะไร	20
การวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในน้ำทำได้อย่างไร	22
การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำทำได้อย่างไร	26
ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำ	30
คุณสมบัติของชุดทดสอบ	38
วิธีการใช้งาน	39
การเก็บรักษา	40
คณะผู้จัดทำ	41

สารบัญรูป

เรื่อง	หน้า
รูปที่ 1 โครงสร้างของโซเดียมไนเตรท	**17**
รูปที่ 2 โครงสร้างของโซเดียมไนไตรท์	**17**
รูปที่ 3 ปฏิกิริยา Griess reaction	**27**
รูปที่ 4 ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท ไนไตรท์	**31**
รูปที่ 5 ผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากการทดสอบสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตด้วยชุดทดสอบฟอสเฟต	**32**
รูปที่ 6 ชุดทดสอบไนไตรท์แบบก้อนพอลิเมอร์ซึ่งจะเปลี่ยนสีตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์	**34**
รูปที่ 7 แผ่นฟิล์มบางสำหรับรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์	**35**
รูปที่ 8 ชุดทดสอบไนไตรท์แบบก้อนพอลิเมอร์ซึ่งจะเปลี่ยนสีตามความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท	**35**
รูปที่ 9 ค่า Intensity ของสีแดง เขียว น้ำเงิน ของภาพถ่ายดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีภายหลังการทดสอบโซเดียมไนไตรท์ที่ 1 ถึง 20 นาที	**36**

สารบัญตาราง

เรื่อง	หน้า
ตารางที่ 1 รูปของฟอสเฟตตามพีเอชของน้ำ	15
ตารางที่ 2 สมบัติทางเคมีของโซเดียมไนเตรท และโซเดียมไนไตรท์	16
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์การปนเปื้อนฟอสเฟต ในน้ำตัวอย่าง 7 แหล่งโดยใช้ชุดทดสอบฟอสเฟต	33

1

ฟอสเฟตคืออะไร ?

ฟอสเฟตเป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยธาตุฟอสฟอรัส (P) ซึ่งเป็นธาตุอาหารที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของพืชและสัตว์ สารประกอบฟอสเฟตที่พบในสิ่งมีชีวิตอยู่ในรูปของสารอินทรีย์ฟอสเฟต (Organic phosphates) เป็นองค์ประกอบของสารที่ให้พลังงานอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate: ATP) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต และเป็นองค์ประกอบของสารพันธุกรรม DNA (Deoxyribonucleic acid) และ RNA (Ribonucleic acid) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึม และการถ่ายทอดพันธุกรรมของเซลล์ นอกจากนี้ยังสามารถพบสารอินทรีย์ฟอสเฟตในเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane) ทั้งของพืชและสัตว์ในรูปของฟอสโฟไลปิด (Phospholipid) รวมทั้งในกระดูกและฟันของสัตว์มีกระดูกสันหลังอีกด้วย

นอกจากนี้แล้วยังสามารถพบสารประกอบฟอสเฟตในรูปของสารอนินทรีย์ฟอสเฟต (Inorganic phosphates) ได้ทั่วไปตามธรรมชาติ เนื่องจากฟอสเฟตประกอบด้วยฟอสฟอรัสซึ่งเป็นธาตุที่มีการหมุนเวียนในระบบนิเวศตามวัฏจักรฟอสฟอรัส (Phosphorus cycle) ผ่านกระบวนการของสิ่งมีชีวิต กล่าวคือ ฟอสฟอรัสที่พบในสิ่งแวดล้อมจะถูกผู้ผลิตขั้นต้นนำไปใช้ประโยชน์ โดยผู้ผลิตขั้นต้นจะนำฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปโมโนฟอสเฟตไอออน ($H_3PO_4^-$) และใน รูปฟอสเฟต (PO_4^{3-}) ไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ก่อนที่จะถ่ายทอดไปยังผู้บริโภคที่จะได้รับฟอสฟอรัสจากการบริโภคผู้ผลิตขั้นต้น และเมื่อผู้ผลิตขั้นต้นและผู้บริโภคเหล่านั้นตายลง ฟอสฟาไทซิงแบคทีเรีย (Phosphatizing bacteria) จะย่อยสลายและปลดปล่อยฟอสฟอรัสหมุนเวียนกลับไปสู่สิ่งแวดล้อม

สารอนินทรีย์ฟอสเฟตนี้มักอยู่ในรูปเกลือของกรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) และสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. สารประกอบออร์โธฟอสเฟต (Orthophosphates) ซึ่งอยู่ในรูปของ PO_4^{3-} ถือเป็นฟอสเฟตที่มีโครงสร้างพื้นฐานที่สุด โดยประกอบด้วยฟอสเฟตเพียง 1 หมู่ที่ประกอบด้วยธาตุฟอสฟอรัส 1 อะตอมที่ถูกล้อมรอบด้วยออกซิเจน 4 อะตอม ได้แก่ สารประกอบพวก PO_4^{3-}, HPO_4^{2-} และ $H_2PO_4^{-}$ สารประกอบกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ดีและแพลงก์ตอนพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

2. สารประกอบคอนเดนซ์ฟอสเฟต (Condensed phosphate) เป็นสารประกอบฟอสเฟตที่ประกอบด้วยหมู่ฟอสเฟตตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไปเชื่อมต่อกันโดยใช้ออกซิเจนรวมกัน เกิดจากการให้ความร้อนแก่ออร์โธฟอสเฟตภายใต้สภาวะควบคุม (Gonçalves et al., 2008) สารประกอบฟอสเฟตที่มีหมู่ฟอสเฟต 2 หมู่ เรียกว่า ไพโรฟอสเฟต (Pyrophosphate) สารประกอบฟอสเฟตที่มีหมู่ฟอสเฟตตั้งแต่ 3 หมู่ขึ้นไปเรียงต่อกันเป็นโซ่ยาวเรียกว่า โพลิฟอสเฟต (Polyphosphate) ซึ่งสามารถพบได้ในน้ำทิ้งจากบ้านเรือนซึ่งเป็นส่วนผสมของผงซักฟอก สารประกอบฟอสเฟตที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน เรียกว่า เมตาฟอสเฟต (Metaphosphate) สารประกอบกลุ่มอนินทรีย์ฟอสเฟตนี้ สามารถเปลี่ยนเป็นออร์โธฟอสเฟตได้โดยกระบวนการไฮโดรไลซีส

1. สารฟอสเฟตเหล่านี้จะประกอบด้วยธาตุฟอสฟอรัส ซึ่งในสิ่งแวดล้อมจะไม่พบฟอสฟอรัสในรูปธาตุอิสระ แต่จะพบฟอสฟอรัสในรูปของแข็ง (Solid phosphorus) เช่น Hydroxyapatite ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), Kaolinite ($Si_2O_5Al_2(OH)_4.(PO_4)$ เป็นต้น และฟอสฟอรัสในรูปสารละลาย (Soluble Phosphorus) ที่มักจะพบในแหล่งน้ำ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่

2. ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ (Total dissolved phosphorus: TDP) ได้แก่ อนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ (Dissolved inorganic phosphorus: DIP) อาจเรียก

อีกชื่อหนึ่งว่า ออร์โธฟอสเฟต และอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ (Dissolved organic phosphorus: DOP)

ฟอสฟอรัสในอนุภาค (Particulate phosphorus: PP) ได้แก่ ฟอสฟอรัสที่อยู่ในสิ่งมีชีวิตหรือซากสิ่งมีชีวิต ซึ่งฟอสฟอรัสในอนุภาคนี้ส่วนหนึ่งจะตกตะกอน อีกส่วนหนึ่งจะเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก รวมทั้งแบคทีเรีย เช่นเดียวกับไนโตรเจน

โดยรูปแบบของฟอสเฟตในแหล่งน้ำขึ้นอยู่กับค่าพีเอชแสดงดังตารางที่ 1 เช่น เมื่อน้ำมีค่าพีเอชต่ำกว่า 6 ฟอสเฟตส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ $H_2PO_4^-$ ขณะที่พีเอชระหว่าง 7-11 อิออน หลักเป็น HPO_4^{2-} (Dojlido and Best, 1993)

ตารางที่ 1 รูปของฟอสเฟตตามพีเอชของน้ำ

รูปของฟอสเฟต	สัดส่วนของฟอสเฟต (%) ที่แต่ละพีเอช							
	5.00	6.00	7.00	8.00	8.50	9.00	10.00	11.00
H_3PO_4	0.10	0.10	-	-	-	-	-	-
$H_2PO_4^-$	97.99	83.68	33.90	4.88	1.60	0.51	0.05	-
HPO_4^{2-}	1.91	16.32	66.10	95.12	98.39	99.45	99.59	96.53
PO_4^{3-}	-	-	-	-	0.10	0.04	0.36	3.47

ที่มา: (Dojlido and Best, 1993)

แหล่งที่มาสำคัญของฟอสเฟต แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. กระบวนการตามธรรมชาติ ได้แก่ อิทธิพลจากลมและฝนทำให้เกิดการกัดกร่อนของหินแร่ที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบถูกชะล้างสู่สิ่งแวดล้อม การที่สิ่งมีชีวิตนำฟอสฟอรัสไปใช้ในการดำรงชีวิตและขับถ่ายส่วนที่ใช้ประโยชน์ไม่ได้หรือถูกย่อยสลายเมื่อสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นตายลง เป็นต้น
2. กิจกรรมของมนุษย์ ได้แก่ การปล่อยน้ำเสียจากการซักล้างในครัวเรือนสู่แหล่งน้ำสาธารณะ การชะล้างจากน้ำท่า (Runoff) การทำเหมืองแร่ การเกษตรกรรม และปศุสัตว์ เป็นต้น

หากแหล่งน้ำมีฟอสเฟตในปริมาณมากจะส่งผลต่อระบบนิเวศของแหล่งน้ำดังกล่าวทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับการเจริญเติบโตของสาหร่ายอย่างรวดเร็ว ส่งผลต่อปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงหรือเรียกว่า ปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น (Eutrophication) ซึ่งจะนำไปสู่การเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ

2

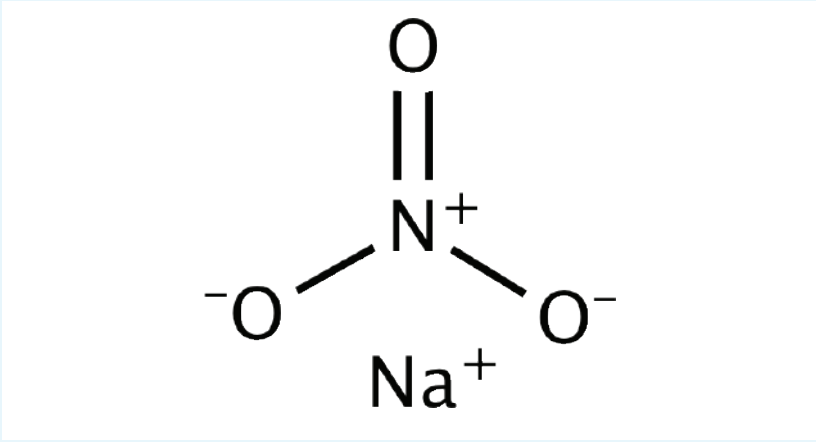
ไนเตรทและไนไตรท์คืออะไร ?

ไนเตรท (NO_3^-) และไนไตรท์ (NO_2^-) เป็นสารประกอบอนินทรีย์มีมวลโมเลกุล 62 กรัมต่อโมล และ 46 กรัมต่อโมล ตามลำดับ และมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี (ตารางที่ 2) มักอยู่ในรูปของสารประกอบเกลือ ได้แก่ โซเดียมไนเตรท (รูปที่ 1) โซเดียมไนไตรท์ (รูปที่ 2) แอมโมเนียมไนเตรท โพแทสเซียมไนไตรท์ เป็นต้น

ตารางที่ 2 สมบัติทางเคมีของโซเดียมไนเตรทและโซเดียมไนไตรท์

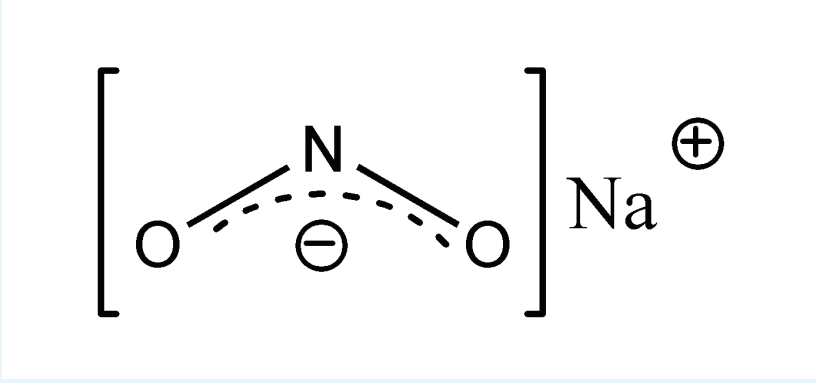
	โซเดียมไนเตรท	**โซเดียมไนไตรท์**
ลักษณะทั่วไป	ของแข็งไม่มีสี	ของแข็ง สีขาว
สูตรโมเลกุล	$NaNO_3$	$NaNO_2$
มวลโมเลกุล	85 กรัมต่อโมล	69 กรัมต่อโมล
จุดหลอมเหลว	308 องศาเซลเซียส	280 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่น	2.26 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร	2.17 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
ความสามารถในการละลายน้ำ	874 กรัมต่อลิตร	820 กรัมต่อลิตร

ที่มา: เอกสารข้อมูลความปลอดภัย (2555)



รูปที่ 1 โครงสร้างของโซเดียมไนเตรท

ที่มา: https://www.glentham.com/en/products/product/GK2648



รูปที่ 2 โครงสร้างของโซเดียมไนไตรท์

ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_nitrite_(medical_use)

ไนเตรทและไนไตรท์เป็นสารประกอบอนินทรีย์ในวัฏจักรไนโตรเจน (Inorganic nitrogen) เกิดจากการตรึงก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศโดยจุลินทรีย์ที่อยู่อย่างอิสระในดิน (Non-symbiotic nitrogen fixation) ได้แก่ อะโซโตแบคเตอร์ (Azotobacter sp.) คลอสตริเดียม (Clostridium sp.) และสาหร่ายบางชนิด เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งจุลินทรีย์จะตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศมาให้แก่พืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต (Nitrogen fixation) สัตว์จะกินพืชเป็นอาหารได้รับไนโตรเจนเข้าไปและขับถ่ายออกมาในรูปของสารอินทรีย์ และถูกจุลินทรีย์เปลี่ยนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียม (NH_4^+) ซึ่งเรียกปฏิกิริยานี้ว่า แอมโมนิฟิเคชัน (Ammonification) แอมโมเนียมที่เกิดขึ้นส่วนหนึ่งจะถูกพืชและจุลินทรีย์ใช้เป็นอาหาร เกิดเป็นสารอินทรีย์ใหม่อีกครั้ง และอีกส่วนหนึ่งถูกออกซิไดซ์โดยแบคทีเรียพวก Nitrosomonas และ Nitrobacter ได้เป็นไนไตรท์และไนเตรท (Martinez, et al., 2011; Richardson and Watmough, 1999) ตามลำดับ นอกจากนี้การใช้ปุ๋ยเคมี การเปิดหน้าดินเพื่อการเกษตรชุมชน โรงงานอุตสาหกรรม ซากพืชซากสัตว์ ยังเป็นส่วนที่ทำให้เกิดไนเตรทและไนไตรท์อีกด้วย

ปัจจุบันไนเตรทและไนไตรท์ถูกนำมาใช้เป็นสารเติมแต่งในอุตสาหกรรม เนื่องจากมีคุณสมบัติในการตรึงสีของเนื้อสัตว์ให้มีสีแดงสดน่ารับประทาน ช่วยป้องกันและยับยั้งการเน่าเสียของอาหาร และยับยั้งเชื้อโรคกลุ่มคลอสตริเนียมโบทูลินัม (Clostridium botulinum) (Reddy, et al., 1983) ในอาหารแปรรูป เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้สร้างพิษที่ร้ายแรง เรียกว่า โบทูลินัมท็อกซิน (Botulinum toxin) หรือโบทอกซ์ (Botox) ซึ่งมีฤทธิ์ร้ายแรงกว่าพิษงูเห่าถึง 600 เท่า ส่งผลให้เป็นอัมพาตชั่วคราว และหากสารพิษเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจอาจเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต (Merino, et al., 2000) นอกจากนี้การพัฒนาการเกษตรสมัยใหม่มีการเพิ่มปริมาณธาตุไนโตรเจนเข้าไปเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร (Santamaria, 2006)

การปนเปื้อนของไนเตรทและไนไตรท์ในแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น น้ำผิวดิน แม่น้ำ เป็นต้น ส่งผลต่อสุขภาพของมนุษย์และระบบนิเวศน้ำ (Moorcroft, 2001) การปนเปื้อน

ของไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำดื่มเป็นสาเหตุหนึ่งทำให้เกิดภาวะอาการขาดออกซิเจนแบบเฉียบพลัน เนื่องจากไนไตรท์จับตัวกับฮีโมโกลบิน (Haemoglobin) เกิดเป็นเมทฮีโมโกลบิน (Methaemoglobin) ทำให้ฮีโมโกลบินไม่สามารถจับตัวกับออกซิเจนได้ (Camargo, et al., 2005) ซึ่งก่อให้เกิดอาการตัวเขียว เล็บเขียว หอบ เหนื่อย หัวใจเต้นแรง และอาจเสียชีวิตได้ หรือมีอาการท้องเสียอย่างรุนแรงได้

นอกจากนี้การปนเปื้อนไนเตรทและไนไตรท์ในแหล่งน้ำธรรมชาติยังเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น (Eutrophication) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่แหล่งน้ำมีปริมาณธาตุอาหารเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ จุลินทรีย์ ราพืชน้ำอื่นๆ เช่น สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้แสงส่องผ่านน้ำลดลง ลดปริมาณออกซิเจนละลายน้ำได้ ก่อให้เกิดปัญหาทางลบมากมายทั้งทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การเกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกิดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินยังมีการสร้างสารพิษ เช่น ไมโครซิสติน (Microcystins), แอนาท็อกซิน-เอ (Anatoxin-a) และโฮโมแอนาท็อกซิน-เอ (Homoanatoxin-a) ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศน้ำ การเกิดยูโทรฟิเคชั่นยังทำให้แหล่งน้ำสูญเสียทัศนียภาพและความสวยงาม ด้านการพักผ่อนหย่อนใจ เนื่องจากสีและกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของแพลงก์ตอนพืชที่เน่าสลายและทำให้ไม่สามารถทำกิจกรรมทางน้ำในรูปแบบต่างๆ ได้ (พงศ์ศักดิ์ หนูพันธ์ และ รัฐชา ชัยชนะ, 2557)

ในปี พ.ศ. 2540 ทะเลสาบสงขลาซึ่งเป็นทะเลสาบธรรมชาติที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในประเทศ มีพื้นที่ประมาณ 1,018 ตารางกิโลเมตร (โครงการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ลุ่มน้ำทะเลสาบ, 2542) ประสบปัญหาระดับยูโทรฟิเคชั่นในทะเลสาบตอนนอกอย่างรุนแรง ทำให้ค่าออกซิเจนละลายและพีเอชในช่วงกลางวันเพิ่มสูงขึ้น แต่ทำให้ความโปร่งใสของน้ำลดต่ำลง และเป็นเหตุให้สัตว์น้ำทั้งที่เลี้ยงในกระชังและธรรมชาติตายเป็นจำนวนมาก (นิคม และ ยงยุทธ, 2003)

3

ยูโทรฟิเคชั่นคืออะไร ?

ยูโทรฟิเคชั่น (Eutrophication) เป็นสภาวะที่แหล่งน้ำมีความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารสำหรับพืช ได้แก่ สารประกอบไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในระดับที่ส่งผลให้สิ่งมีชีวิตกลุ่มออโตโทรฟ (Autotroph) เช่น แพลงก์ตอนพืช สาหร่าย และพืชน้ำเพิ่มปริมาณและผลผลิตอย่างรวดเร็ว ผ่านการเพิ่มและเร่งอัตราการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นปฏิกิริยาชีวเคมีขั้นพื้นฐานของระบบนิเวศ ที่เปลี่ยนพลังงานแสงให้เป็นพลังงานเคมี โดยการรีดิวส์สารประกอบอนินทรีย์โมเลกุลเล็ก ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ให้เป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ประเภทแป้งและน้ำตาลที่มีพลังงานสูง (อัศดร คำเมือง, 2553; Falkowski and Raven, 1997; Sigee, 2005)

ปรากฏการณ์นี้มักเกิดกับแหล่งน้ำปิดที่มีเวลากักน้ำมากกว่า 20 วัน และมีรายงานค่าวิกฤตของการปนเปื้อนไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำเท่ากับ 0.05-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.007-0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สิ่งบ่งชี้การเกิดยูโทรฟิเคชั่นในแหล่งน้ำสามารถดูได้จากการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ซึ่งเป็นรงควัตถุสังเคราะห์แสงที่พบในแพลงก์ตอนพืชทุกชนิด ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จึงสัมพันธ์กับมวลชีวภาพของแพลงก์ตอนพืช หากพบปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ มากกว่า 10 ไมโครกรัมต่อลิตร ถือว่าเกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตจากสาหร่ายที่ปกคลุมผิวน้ำโดยในกรณีของแหล่งน้ำตื้น (ความลึก 1-1.5 เมตร) จะพบสาหร่ายขนาดใหญ่ เช่น Cladophora, Ulva หรือ Enteromorpha และพบสาหร่ายหนาม (Najas sp.) ส่วนในกรณีของแหล่งน้ำลึก 2 เมตร จะพบ

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) หรือเรียกว่า แพลงก์ตอนพืช โดยมีปัจจัยสำคัญในการควบคุมปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่น ได้แก่ ปริมาณธาตุอาหารในรูปของคาร์บอน สารอินทรีย์ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แสง ความเร็ว อัตราการไหลของน้ำและระยะเวลาของการกักเก็บน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติ

ในประเทศไทยพบการเกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชั่นหลายพื้นที่ เช่น ป่าตอง ชะอำ หัวหิน ศรีราชา กว๊านพะเยา บึงแก่นนคร อ่างเก็บน้ำบางพระ บึงบอระเพ็ด ทะเลสาบสงขลา ทะเลน้อย เป็นต้น ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น ทำให้แหล่งน้ำขาดออกซิเจนส่งผลให้สัตว์น้ำในแหล่งน้ำตาย เกิดน้ำเน่าเสีย เกิดความตื้นเขินทำให้ขัดขวางการไหลของน้ำ รวมทั้งทำให้เสียทัศนียภาพซึ่งอาจส่งผลเสียต่อเศรษฐกิจได้ นอกจากนี้แล้วสาหร่ายบางชนิดอาจผลิตสารพิษ (Toxin) ซึ่งอาจส่งผลต่อสุขภาพมนุษย์ผ่านห่วงโซ่อาหารได้

4

การวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตในน้ำทำได้อย่างไร ?

ปัจจุบันการวิเคราะห์ฟอสเฟตอาศัยวิธีการทางเครื่องมือ (Instrumental method) ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถทำการตรวจวัดฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่ำได้ ทั้งมีความรวดเร็ว ให้ความถูกต้องและความแม่นยำในการแสดงผลการตรวจวัด ซึ่งมีวิธีการหลากหลายที่ใช้ในการตรวจวัดฟอสเฟต ได้แก่ เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography: HPLC) (Habere and Brandes, 2003) เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี (Spectrophotometry) (Maltez and Carasek, 2005) เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (Ion chromatography) (Guo et. al., 2005) และเทคนิคคาปิลลารี อิเล็กโทรฟอรีซีส (Capillary electrophoresis) (Nogueira and Lago, 2011) อย่างไรก็ตาม วิธีการทางเครื่องมือเหล่านี้มีกระบวนการซับซ้อน ต้องอาศัยความชำนาญการในด้านเครื่องมือ ซึ่งไม่เหมาะสมสำหรับผู้ตรวจวิเคราะห์ทั่วไป ทั้งยังเป็นเครื่องมือที่มีขนาดใหญ่และราคาสูง จึงทำให้เกิดแนวคิดการพัฒนาวิธีการใหม่ที่อำนวยความสะดวกให้กับผู้ปฏิบัติงานทางด้านสิ่งแวดล้อม โดยมุ่งหวังให้ได้รับวิธีการที่สะดวก รวดเร็ว ราคาต่ำแต่มีคุณภาพในการตรวจวัดใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน ได้แก่ การวิเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี เป็นต้น

การวิเคราะห์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีใช้อย่างแพร่หลายในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในห้องปฏิบัติการ การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะต้องทำให้เกิดสีในตัวอย่างน้ำด้วยการเติมสารเคมีที่จำเพาะลงไปตามวิธีการ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะทำให้สารประกอบที่ต้องการวิเคราะห์เปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีขึ้น ซึ่งความเข้มของสีจะ

เป็นสัดส่วนกับปริมาณสารที่มีในตัวอย่าง จากนั้นจึงนำตัวอย่างที่มีสีไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์และเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่รู้ความเข้มข้นแน่นอน (APHA, AWWA and WEF, 2005) หรือที่เรียกว่ากราฟมาตรฐาน (Calibration Curve) การวิเคราะห์ด้วยการเปรียบเทียบสีเป็นวิธีที่ง่ายและนิยมใช้กัน เช่น การนำมาประยุกต์ใช้ในด้านนิติวิทยาศาสตร์ในตรวจวิเคราะห์วัตถุระเบิด (Almog and Zitrin, 2009) หรือการวิเคราะห์หาปริมาณลิเทียม (Lithium) โซเดียม (Sodium) และแคลเซียม (Calcium) ในตัวยารักษาโรคซึมเศร้า (Silva Lyra, et.al, 2009) เป็นต้น

วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาออร์โฟสเฟต (PO_4^{3-}) (APHA, AWWA and WEF, 2005)

วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์หาฟอสเฟตจะใช้วิธีกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid method) โดยมีหลักการโดยย่อ คือ ฟอสเฟตในตัวอย่างน้ำจะทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมีที่มีส่วนผสมของแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium molybdate) และโพแทสเซียมแอนติโมนิลทาร์เทรต (Potassium antimonyl tartrate) ภายใต้สภาวะกรด ดังแสดงในสมการที่ (1) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดฟอสฟอโมลิบดิก (Phosphomolybdic acid) ซึ่งจะถูกรีดิวส์โดยกรดแอสคอร์บิกได้โมลิบดีนัมบลู (Molybdenum blue) ดังสมการที่ (2)

สมการที่ (1)

$$PO_4^{3-} + 12(NH_4)_2MoO_4 + 24H^+ \longrightarrow (NH_4)_3PO_4.12MoO_3 + 21NH_4 + 12H_2O$$

สมการที่ (2)

$$(NH_4)_3PO_4.12MoO_3 + C_6H_8O_6 \longrightarrow \text{molybdenum blue} + \text{oxidised form of ascorbic acid}$$

ผลิตภัณฑ์สีน้ำเงินนี้มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร และมี Molar absorptivity เท่ากับ 22700 ที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร มีช่วงความเป็นเส้นตรง เท่ากับ 0.1 – 0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่า R^2 = 0.9999 ค่าขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์คือ 0.1 mg-P/L (APHA, AWWA and WEF, 2005)

5

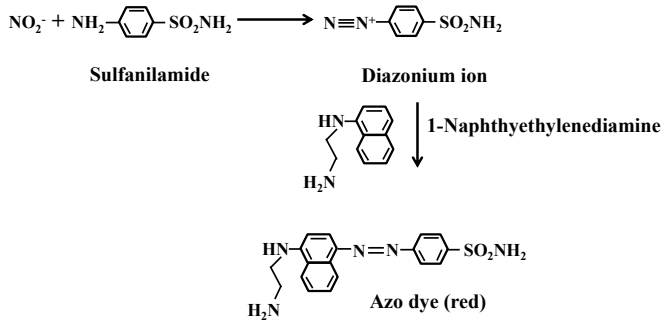
การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำทำได้อย่างไร ?

ในช่วง 15 ปีที่ผ่านมา มีการรายงานวิธีการสำหรับการตรวจวัดและการหาไนเตรทและไนไตรท์ที่หลากหลาย ได้แก่ เทคนิคแคปปิลลารีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Fukushi, et al., 2002; Fukushi, et al., 2003) เทคนิคการวิเคราะห์ทางเคมีเชิงไฟฟ้า (Manea, et al., 2010; Zhu, et al., 2009; Manea, et al., 2010) เทคนิคโครมาโทกราฟี (Li, et al., 2000; Zuo, et al., 2006; Kodamatani, et al., 2009) เป็นต้น การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ดังที่กล่าวมามีประสิทธิภาพ และความไวในการวิเคราะห์สูง สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ช่วงความเป็นเส้นตรงกว้าง แต่ต้องทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ไม่สามารถทำการวิเคราะห์ภาคสนามได้ และเครื่องมือมีราคาแพง เทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับหาปริมาณ ไนเตรทและไนไตรท์ (Filik, et al., 2011; Miranda, et al., 2001; Mesquita, et al., 2009) ซึ่งอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric method) ด้วยน้ำยาเกรส (Griess reagent) (Bratton and Marshall, 1939; Tsikas, 2007) โดยไอออนของไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมี และค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาสามารถบอกความเข้มข้นของไนไตรท์ได้ ในขณะที่การวิเคราะห์หาไนเตรทต้องอาศัยการรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์ ก่อนจะทำปฏิกิริยากับน้ำยาเกรสและหาปริมาณด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมทรี

ในปี ค.ศ. 1879 มีการพัฒนาวิธีใช้น้ำยาเกรสสำหรับการตรวจวัดไนไตรท์ในน้ำลายเป็นครั้งแรก โดยปฏิกิริยาจะเกิดภายใต้สภาวะที่เป็นกรด ซึ่งไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับ

กรดซัลฟานิลิค (Sulfanilic acid) ได้เป็นเกลือไดอาโซเนียม (Diazonium salt) จากนั้นเกิดปฏิกิริยาการรวมตัวกับ 1-แนฟทิลลามิน (1-Naphthylamine) ได้เป็นสารประกอบ Azo dye หรือผลิตภัณฑ์สีม่วงชมพู โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น (λ_{max}) ประมาณ 540 นาโนเมตร แต่ 1-แนฟทิลลามินเป็นสารที่ก่อให้เกิดมะเร็ง

ต่อมาในปี ค.ศ. 1939 Bratton and Marshall ได้นำ N-(1-แนพธิลเอทธิลีนไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride: NED) มาทำปฏิกิริยาร่วมกับซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) เนื่องจากพบว่า NED มีข้อดีหลายประการ เช่น ไวต่อการตรวจวัด (Sensitive) มีประสิทธิภาพในการทำซ้ำได้ (Reproducible) ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาได้ไวขึ้นและเพิ่มสภาวะความเป็นกรดของสารละลาย Azo dye (Bratton and Marshall, 1939) (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ปฏิกิริยา Griess reaction

การรีดิวซ์ไอออนของไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์สามารถทำหลายวิธี เช่น การใช้แคดเมียม (Cadmium) ไฮดราซีน (Hydrazine) (Sawicki and Scaringelli, 1971; Kamphake, et al., 1967) วาเนเดียม(III)คลอไรด์ (Vanadium(III) chloride) (McMullen, et al., 2005) และไทเทเนียม(III)คลอไรด์ (Titanium(III) chloride) เป็นต้น แต่วิธีดังที่กล่าวมามีข้อจำกัดที่แตกต่างกัน ได้แก่ แคดเมียมมีความเป็นพิษสูงต่อผู้วิเคราะห์ วิธีไฮดราซีน ต้องใช้เวลาเกิดปฏิกิริยารีดักชั่น (Reduction reaction) นาน ในขณะที่สารละลายไทเทเนียม (III) คลอไรด์ มีสีม่วงและค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วงเดียวกับผลิตภัณฑ์ Azo dye ที่ได้จากปฏิกิริยา (สีม่วงชมพู) (Wehaid and Townshend, 1986) นอกจากนี้มีรายงานการใช้สังกะสีเป็นตัวรีดิวซ์ไอออนไนเตรทเป็นไอออนไนไตรท์ (Merino, 2009) ซึ่งจะเกิดภายใต้สภาวะที่เป็นกรดหรือเป็นกลาง (Ellis, et al., 2011) ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยทดสอบกับตัวอย่างผัก เนื้อสัตว์ อาหารสำหรับเด็ก และน้ำผิวดิน พบว่าค่าความถูกต้องความแม่นยำและประสิทธิภาพในการทำซ้ำอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสากลคือ ประสิทธิภาพในการทำซ้ำของไนเตรทอยู่ในช่วง 73 ถึง 105% และไนไตรท์อยู่ในช่วง 70 ถึง 110% ขีดจำกัดในการตรวจวัดของไนเตรทเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และไนไตรท์มีขีดจำกัดในการตรวจวัด 3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

6

ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรทและไนไตรท์ในน้ำ

ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรทและไนไตรท์ที่พัฒนาโดยคณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม (รูปที่ 4) เป็นชุดทดสอบที่อาศัยหลักการทำปฏิกิริยาการเกิดสี (Colorimetric test) โดยอาศัยหลักการกักเก็บรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาการเกิดสีไว้ภายในพอลิเมอร์ชนิดไฮโดรเจล (Hydrogel) เพื่อช่วยลดภาระและความเสี่ยงในการพกพาสารเคมี ทำให้สามารถตรวจวัดสารภาคสนามได้อย่างสะดวกและรวดเร็วยิ่งขึ้น ไฮโดรเจลจะเตรียมจากการพอลิเมอไรเซชันของ พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (Poly vinyl alcohol: PVA) และมีพอลิ เอทิลีน ไกลคอล ไดกลิลซิดิลล์ อีเทอร์ (Poly ethylene glycol diglycidyl ether: EGDE) เพื่อเป็นตัวเชื่อมขวางทางเคมี (Crosslinker) ทำให้ได้ชุดทดสอบที่มีลักษณะเป็นก้อนเจลใส ไม่มีสี รีเอเจนต์ที่ใช้สำหรับทดสอบฟอสเฟต ได้แก่ โพแทสเซียมแอนติโมนิลทาร์เทรต แอมโมเนียมโมลิบเดต กรดแอสคอร์บิก และกรดซัลฟิวริก ในขณะที่การทดสอบไนไตรท์จะใช้รีเอเจนต์เกรส (Griess reagent) ซึ่งประกอบด้วยซัลฟานิลาไมด์ N-(1-แนพธิลเอทธิลีนไดเอมีน ไดไฮโดรคลอไรด์และกรดฟอสฟอริก ในขณะที่ชุดตรวจไนเตรทประกอบด้วย 2 ส่วน คือ แผ่นฟิล์มบางที่มีส่วนผสมของผงสังกะสีใช้สำหรับรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์ แล้วจึงทดสอบหาไนไตรท์ที่เกิดขึ้นโดยใช้ชุดทดสอบไนไตรท์

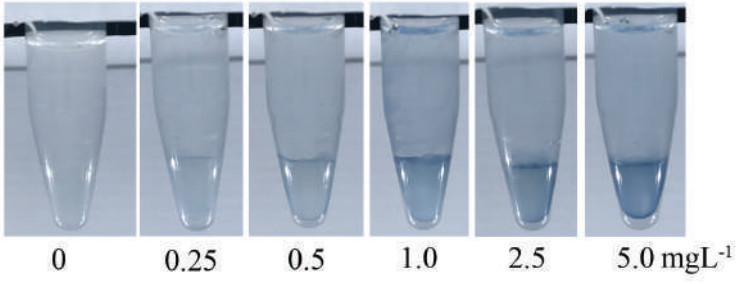
ชุดทดสอบฯ ที่พัฒนาขึ้นนี้จะบรรจุอยู่ในซองพลาสติก โดย 1 ซองบรรจุประกอบด้วย ชุดทดสอบฟอสเฟต จำนวน 5 ชุด ชุดทดสอบไนเตรท จำนวน 5 ชุด และชุดทดสอบไนไตรท์ จำนวน 5 ชุด ชุดทดสอบ 1 ชุด สามารถทดสอบได้ 1 ตัวอย่าง ดังนั้นชุดทดสอบฯ 1 ซอง สามารถ ทดสอบหาฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ ได้ 5 ตัวอย่าง

รูปที่ 4 ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท ไนไตรท์

ชุดทดสอบฟอสเฟต

ชุดทดสอบฟอสเฟตมีลักษณะเป็นก้อนเจลใส ไม่มีสี บรรจุอยู่บริเวณก้นหลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตลงในหลอด ก้อนเจลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน หากสารละลายมีความเข้มข้นของฟอสเฟตสูง สีน้ำเงินจะเข้ม ในทางตรงข้าม หากสารละลายมีปริมาณฟอสเฟตน้อย ก้อนเจลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินจาง ผู้ใช้สามารถเปรียบเทียบสีที่ได้จากการทดสอบตัวอย่างกับแถบสีมาตรฐาน (รูปที่ 5) เพื่อหาปริมาณของฟอสเฟตในตัวอย่างได้

การศึกษาค่าความถูกต้อง (Accuracy) ของชุดทดสอบโดยใช้ตัวอย่างควบคุมที่มีความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 0.8 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (mg-PO_4^{3-}/L) พบว่า ชุดทดสอบฟอสเฟตที่พัฒนาขึ้นมีค่าความผิดพลาดสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 0.1–3.0% ซึ่งเป็นระดับที่ต่ำกว่าวิธีมาตรฐานที่ใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ในการตรวจวัด (2.45–4.6%) ชี้ให้เห็นว่า ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพดี การศึกษาความแม่นยำโดยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต 1 mg-PO_4^{3-}/L ซ้ำภายในช่วงเวลาวันเดียว (Intra-day precision) พบว่า ให้ร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% Relative Standard Error, %RSD) ตั้งแต่ 0.58–1.3% เมื่อวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานฟอสเฟตเป็นเวลา 3 วัน (Inter-day precision) พบว่า ร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าตั้งแต่ 0.76–1.2% น้อยกว่าระดับที่ยอมรับได้ (8.0%, Greffeuille, et al., 2011)



รูปที่ 5 ผลิตภัณฑ์สีที่ได้จากการทดสอบสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตด้วยชุดทดสอบฟอสเฟต

การประยุกต์ใช้ชุดทดสอบฟอสเฟตที่พัฒนาขึ้นสำหรับศึกษาความเข้มข้นของฟอสเฟตในตัวอย่างจริง 7 ตัวอย่าง ให้ผลการวิเคราะห์ตามตารางที่ 3 โดยพบว่าชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นให้ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตได้ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐาน โดยมีผลการตรวจวัดที่แตกต่างกันเพียง 2.3–8.7% เท่านั้น ซึ่งถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะอำนวยความสะดวกในการใช้งานด้านการวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อมได้ ทั้งยังเป็นวิธีการที่มีกระบวนการทำงานไม่ซับซ้อน ใช้งานง่าย ประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย สามารถประยุกต์ใช้กับงานภาคสนามได้

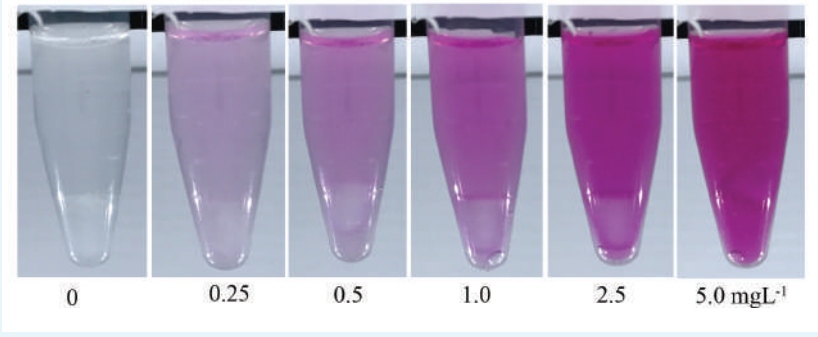
ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์การปนเปื้อนฟอสเฟตในน้ำตัวอย่าง 7 แหล่ง โดยใช้ชุดทดสอบฟอสเฟต

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (mg-PO_4^{3-}/L)		% ความแตกต่าง
	ชุดทดสอบ	วิธีมาตรฐาน	
สระอโนดาต	1.807 ± 0.001	1.875 ± 0.001	3.63
ขุมเหมืองเก่า PSU	1.194 ± 0.002	1.233 ± 0.001	3.16.
น้ำคลองบางใหญ่	1.150 ± 0.002	1.200 ± 0.001	4.17
น้ำเสียจากบ่อบำบัด PSU	2.487 ± 0.001	2.503 ± 0.002	4.01
น้ำดื่มหยอดเหรียญ	n.d.	n.d.	n.d.
น้ำบาดาล	0.428 ±0.001	0.469 ± 0.001	8.74
น้ำลำธาร	2.510 ± 0.002	2.570 ± 0.001	2.34

(n.d.= Not Detected)

ชุดทดสอบไนไตรท์และไนเตรท

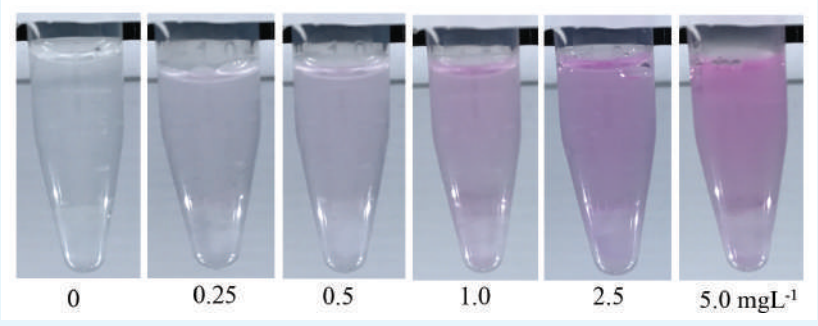
ชุดทดสอบไนไตรท์มีลักษณะเหมือนกับชุดทดสอบฟอสเฟต กล่าวคือ มีลักษณะเป็นก้อนเจลใส ไม่มีสี บรรจุอยู่บริเวณก้นหลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร เมื่อเติมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ลงในหลอด ก้อนเจลจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงชมพูเนื่องจากไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับกลุ่มอะมิโนของซัลฟานิลาไมด์ให้เกลือไดอาโซเนียม (Diazonium salt) และรวมตัวกับกลุ่มอะโรมาติก เอมีน (Aromatic amine) ของ N-(1-แนพธิลเอทธิลีนไดเอมีนไดไฮโดรคลอไรด์ เกิดเป็น Azo dye สีม่วงชมพู (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 ชุดทดสอบไนไตรท์แบบก้อนพอลิเมอร์ ซึ่งจะเปลี่ยนสีตามความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์

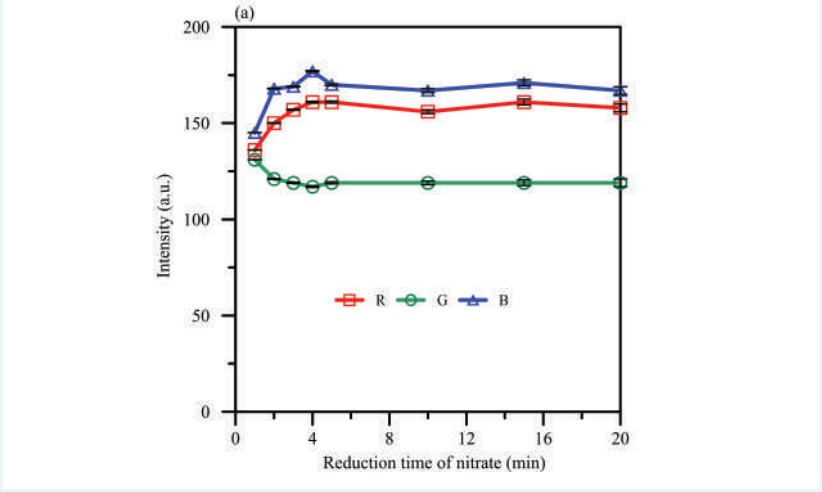
ในขณะที่ชุดตรวจไนเตรทประกอบด้วย 2 ส่วน คือ แผ่นฟิล์มบางที่มีส่วนผสมของผงสังกะสีใช้สำหรับรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์ (รูปที่ 7) แล้วจึงวิเคราะห์หาไนไตรท์ที่เกิดขึ้นโดยใช้ชุดตรวจไนไตรท์ การเปลี่ยนสีของชุดทดสอบภายหลังการทำปฏิกิริยากับโซเดียมไนเตรทที่ถูกรีดิวซ์ด้วยผงสังกะสีแล้ว แสดงดังรูปที่ 8

รูปที่ 7 แผ่นฟิล์มบางสำหรับรีดิวซ์ไอออนไนเตรทให้เป็นไอออนไนไตรท์



รูปที่ 8 ชุดทดสอบไนไตรท์แบบก้อนพอลิเมอร์ซึ่งจะเปลี่ยนสีตามความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท

การศึกษาระยะเวลาที่สารละลายไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับชุดตรวจตั้งแต่ 1 ถึง 20 นาที พบว่าเมื่อเวลาที่สารละลายไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับชุดตรวจนานขึ้น ค่า Intensity ของภาพถ่ายดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีมีแนวโน้มลดลง หรือ สีของผลิตภัณฑ์มีสีเข้มข้นและจะมีแนวโน้มคงที่หลังจากทำปฏิกิริยา 3 นาที (รูปที่ 9) เนื่องจากการทำปฏิกิริยาเริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุล ชี้ให้เห็นว่า ชุดทดสอบไนเตรทและไนไตรท์นี้ใช้เวลาทดสอบเพียง 3 นาที ก็จะสามารถทราบผลการทดสอบได้ ชุดทดสอบดังกล่าวจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการหาปริมาณธาตุอาหารไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างจริงภาคสนามได้



รูปที่ 9 ค่า Intensity ของสีแดง เขียว น้ำเงิน ของภาพถ่ายดิจิทัลของผลิตภัณฑ์สีภายหลังการทดสอบโซเดียมไนไตรท์ที่ 1 ถึง 20 นาที

เมื่อประยุกต์ใช้ชุดทดสอบในการทดสอบตัวอย่างควบคุมที่ความเข้มข้นของไนไตรท์ 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชุดทดสอบให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณของไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ 2.14% ในขณะที่การทดสอบตัวอย่างควบคุมที่ความเข้มข้นของโซเดียมไนเตรท 2.50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชุดทดสอบให้ผลการวิเคราะห์ 2.57 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ 2.68% ผลการวิจัยเหล่านี้ ชี้ให้เห็นว่า ชุดทดสอบมีความถูกต้อง/แม่นยำ (Accuracy) สูง

จากการศึกษาความเที่ยงตรงของชุดทดสอบเพื่อทดสอบความใกล้เคียงของผลที่ได้จากการซ้ำกันของการทดสอบภายในวันเดียวกัน (Intra-day precision) พบว่า มีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) อยู่ในช่วง 0.29 ถึง 0.83% สำหรับวิเคราะห์ไนไตรท์และ 0.37 ถึง 1.43% สำหรับวิเคราะห์ไนเตรท นอกจากนี้ยังพบว่าความเที่ยงตรงสำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ จำนวน 3 วัน (Inter-day precision) มีค่าร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 0.20 ถึง 0.69% และ 0.31 ถึง 1.48% ตามลำดับ การศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดพบว่า ขีดจำกัดในการตรวจวัดไนไตรท์เท่ากับ 0.05±0.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรทเท่ากับ 0.42±0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร

ซึ่งขีดจำกัดในการตรวจวัดที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้น มีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานน้ำดื่มและน้ำจืดขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) ซึ่งกำหนดปริมาณสูงสุดของการปนเปื้อนไนไตรท์และไนเตรทสูงสุดที่ 3 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และสำนักงานปกป้องสิ่งแวดล้อม (United States Environmental Protection Agency: EPA) กำหนดปริมาณสูงสุดของการปนเปื้อนไนไตรท์และไนเตรทสูงสุดที่ 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ การศึกษาผลการรบกวนของไอออนชนิดอื่นที่มีอาจมีผลต่อการวิเคราะห์ โดยการทดสอบไอออนทั้งหมด 18 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย Pb^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+}, Cr^{3}, N^{+}, Ca^{2+}, Cd^{2+}, Hg^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{2+}, K^{+}, Mn^{2+}, CO_3^{2+}, Cl^{-}, SO_3^{2-}, Zn^{2+} และ F^{-} ที่ความ เข้มข้น 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไอออนทั้ง 18 ชนิด ไม่เกิดการเปลี่ยนสีเมื่อทำปฏิกิริยากับชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้น ชี้ให้เห็นว่าชุดตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท มีความจำเพาะต่อไอออนไนไตรท์และไนเตรทสูงและไม่มีการรบกวนจากไอออนชนิดอื่น

7

คุณสมบัติ ข้อดี และข้อเสีย

ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์มีคุณสมบัติและลักษณะเด่น ดังนี้

1. สามารถทดสอบหาฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ในตัวอย่างที่เป็นสารละลาย (เช่น ตัวอย่างน้ำทะเล น้ำผิวดิน) ได้โดยการสังเกตสี หากตัวอย่างเป็นของแข็ง เช่น ดิน สามารถสกัด (ละลาย) ตัวอย่างด้วยตัวทำละลาย เช่น น้ำ แล้วจึงนำส่วนที่เป็นสารละลายมาทดสอบด้วยชุดทดสอบฯ ได้
2. สามารถบอกปริมาณของฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ได้โดยการเปรียบเทียบความเข้มของผลิตภัณฑ์สีกับแถบสีมาตรฐานหรือการวิเคราะห์ภาพดิจิทัล
3. ใช้ง่ายโดยการเติมตัวอย่างลงในชุดตรวจได้โดยตรง
4. ไม่จำเป็นต้องมีขวดหรือถุงทดสอบ สามารถทดสอบภายในชุดทดสอบที่เป็นหลอดพลาสติกได้เลย
5. มีขนาดเล็ก พกพาสะดวก
6. ทราบผลทันที
7. ปลอดภัยจากสารเคมีเนื่องจากไม่ต้องสัมผัสสารเคมีเพราะไม่มีกระบวนการหยดน้ำยาเคมีหรือผสมน้ำยาเคมี
8. มีอายุการใช้งานนาน

8

วิธีการใช้งาน

ชุดทดสอบฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ใช้สำหรับทดสอบหาฟอสเฟต ไนเตรท และไนไตรท์ในตัวอย่างที่เป็นสารละลาย (เช่น ตัวอย่างน้ำทะเล น้ำผิวดิน) โดยมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

ชุดทดสอบฟอสเฟตและไนไตรท์

1. จิ้มก้อนเจลในหลอดพลาสติก
2. เติมตัวอย่างน้ำลงในชุดทดสอบถึงระดับ 1
3. เขย่าและทิ้งไว้ 2-3 นาที
4. เปรียบเทียบสีกับแถบสีมาตรฐานหน้าซอง

ชุดทดสอบไนเตรท

1. จิ้มก้อนเจลในหลอดพลาสติก
2. เติมตัวอย่างน้ำลงในชุดทดสอบไนเตรทถึงระดับ 1
3. เขย่าและคว่ำทิ้งไว้ 3 นาทีแล้วจึงเขย่าอีกครั้ง
4. เปรียบเทียบสีกับแถบสีมาตรฐานหน้าซอง

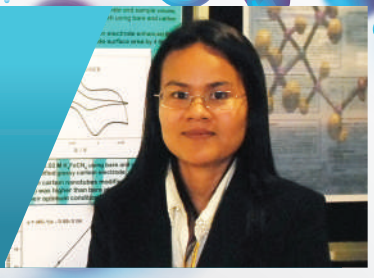
9

การเก็บรักษา

1. ก่อนการใช้งานควรเก็บรักษาชุดทดสอบไว้ภายในช่องแช่แข็งของตู้เย็น
2. สามารถนำชุดทดสอบออกจากตู้เย็นได้ไม่เกิน 3 วัน โดยประสิทธิภาพในการทดสอบเหมือนเดิม
3. เมื่อนำออกจากตู้เย็นแล้ว สามารถนำกลับไปเข้าตู้เย็นได้อีก
4. ควรเก็บชุดทดสอบไว้ในซองบรรจุตลอดเวลาเพื่อป้องกันหลอดพลาสติก

คณะผู้จัดทำ

รองศาสตราจารย์
ดร.อารีย์ ชูดำ

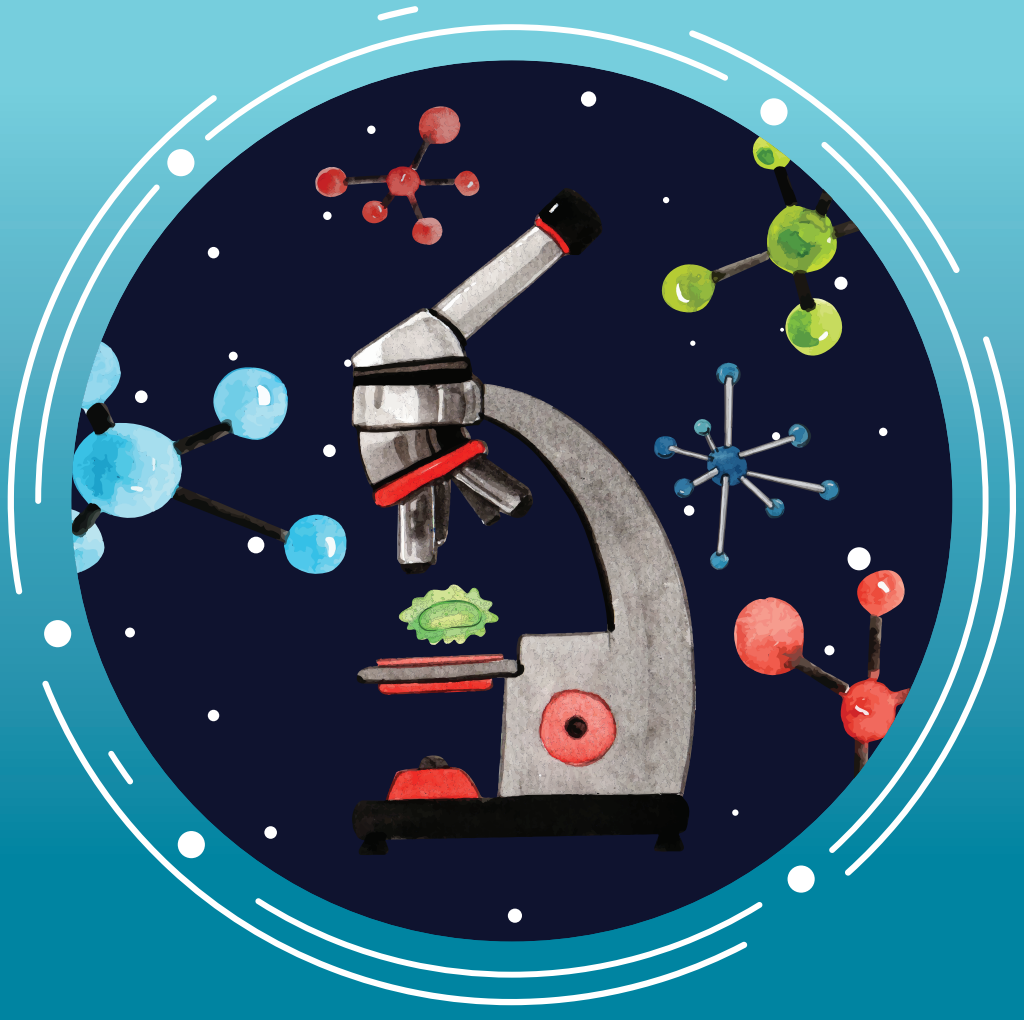


รองศาสตราจารย์
ดร.วรวิทย์ วงศ์นิรามัยกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์
ดร.วัชรวดี ลิ่มสกุล

ดร.วิลาสินี ศรีพรหม

CH3
H3C
CH3
CH3
O2N
NO2
NO2
a
CH3
O2N
NO2
NO2



ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.)
ประจำปี พ.ศ. 2563