



การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ในเขม่าดินปืน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2562

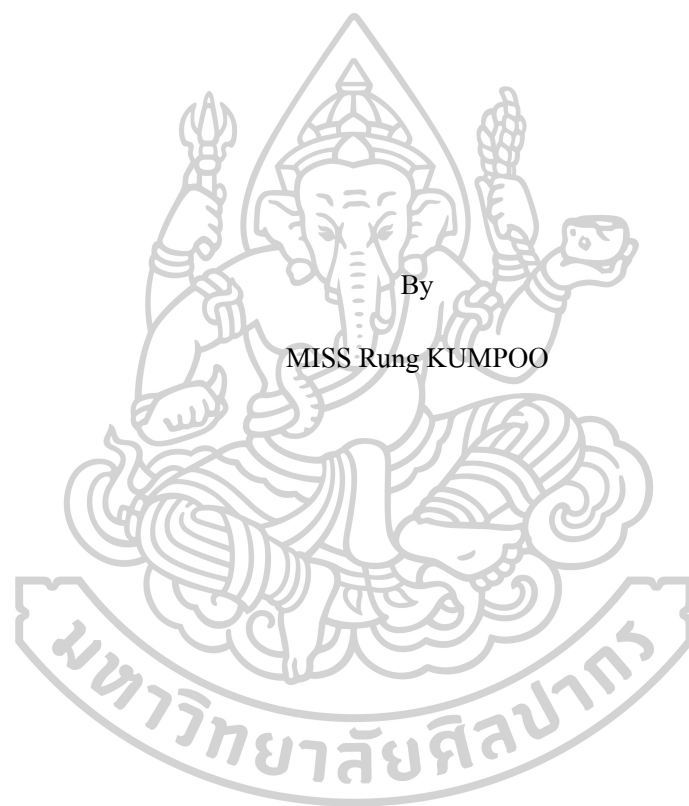
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ในเขม่า
ดินปืน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

DEVELOPMENT OF MICROFLUIDIC PAPER BASED ANALYTICAL DEVICES
FOR DETERMINATION OF NITRATE AND NITRITE IN GUNSHOT RESIDUES.



By
MISS Rung KUMPOO

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2019
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืน
โดย	รุ่ง คำปุ
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ดร. ศิริรัตน์ ชุสกุลเกரியง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ
(ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ดร.ศิริรัตน์ ชุสกุลเกரியง)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยุภาพร สมิน้อย)



60312312 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโท

คำสำคัญ : ไนไตรท์ ไนเตรท เขม่าป็น อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

นางสาว รุ่ง คำปุ้: การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ในเขม่าดินปืน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

ผู้วิจัยประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μ PADs) เพื่อใช้ตรวจหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าป็น โดยการพิมพ์สกรีนบนกระดาษด้วยขี้ผึ้ง และตรวจวิเคราะห์ไนไตรท์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีกับรีเอเจนท์ Griess การตรวจวัดไนเตรทใช้โลหะ Zn เป็นตัวรีดิวซ์เปลี่ยนไอออนไนเตรทไปเป็นไอออนไนไตรท์ ในการวัดปริมาณไนไตรท์และไนเตรทด้วยอุปกรณ์นี้ ผู้วิจัยวัดค่าความเข้มของสีที่ปรากฏขึ้นบนอุปกรณ์โดยใช้โปรแกรม imageJ อ่านค่าสี RGB ของภาพอุปกรณ์ ในการตรวจวัดพบว่ามีค่าขีดจำกัดในการหาปริมาณเท่ากับ 0.02 nmol สำหรับการตรวจวัดทั้งไนไตรท์และไนเตรทเมื่อเก็บรักษาอุปกรณ์ตรวจวัดนี้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง และแช่แข็งเป็นเวลา 7 วัน อุปกรณ์นี้ยังคงมีความเสถียรในการวัดปริมาณไนไตรท์ ในขณะที่การวัดปริมาณไนเตรทยังคงความเสถียรเมื่อเก็บรักษาอุปกรณ์นี้ในสถานะข้างต้นเป็นเวลา 2 วัน ตัวอย่างเขม่าป็นที่นำมาวิเคราะห์เป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากปลอกกระสุนและจากมือผู้ยิงปืน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าป็นที่วัดได้ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ กับที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี พบว่าข้อมูลมีความสัมพันธ์กันเป็นอย่างดีเมื่อพิจารณาจากสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่มีค่าเท่ากับ 0.983 และ 0.968 สำหรับไอออนไนไตรท์และไนเตรทตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าป็นที่วิเคราะห์ได้ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมีค่ามากกว่าที่ตรวจวัดด้วยวิธีไอออนโครมาโตกราฟีเล็กน้อย ดังจะเห็นได้จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ที่มีค่าเท่ากับ 1.295 และ 1.445 สำหรับไอออนทั้งสองตามลำดับ อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่พัฒนาในงานวิจัยนี้เป็นวิธีวิเคราะห์เขม่าป็นที่สะดวก มีค่าใช้จ่ายต่ำ และอาจนำไปใช้ในงานตรวจวัดเขม่าป็นในภาคสนาม

60312312 : Major (FORENSIC SCIENCE)

Keyword : Nitrite Nitrate Gunshot residues Microfluidic paper-based analytical devices

MISS RUNG KUMPOO : DEVELOPMENT OF MICROFLUIDIC PAPER BASED ANALYTICAL DEVICES FOR DETERMINATION OF NITRATE AND NITRITE IN GUNSHOT RESIDUES. THESIS ADVISOR : SIRIRAT CHOOSAKOONKRIANG

Microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) have been fabricated to determine nitrate and nitrite ions in samples of gunshot residues (GSR). The μ PADs were created by screen printing with beeswax and the analysis of nitrite ions was based on the color reaction using a Griess reagent. For nitrate analysis, the nitrate ions were converted into nitrite ions by using Zn metal as a reducing agent. The devices were used to quantify the nitrate and nitrite contents from the color intensity of the μ PADs images read by an ImageJ software in RGB color space. It was found that the limits of quantification for both ions were 0.02 nmol. The storage of μ PADs in the dark at ambient temperature and freeze condition for 7 days provides stability for nitrite determination while the stability of μ PADs for nitrate measurement is 2 days in that storage condition. The GSR samples for analysis were collected from the cartridge cases and the hands of the shooters. The nitrite and nitrate contents in GSR determined by the μ PADs were compared to those measured by the ion chromatography (IC) technique. The good correlations between the two data sets were observed for both nitrite and nitrate contents as suggested by the correlation coefficients of 0.983 and 0.968 for the two ions respectively. However, the amounts of nitrite and nitrate ions in GSR measured by μ PADs were slightly higher than those determined by the IC technique. The slopes of correlation graphs were 1.295 and 1.445 for nitrite and nitrate ions respectively. The μ PADs developed in this study provides a low-cost and convenient method for GSR analysis and may be used in the field-work detection of GSR.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่อง การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืน สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี โดยได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจากอาจารย์ที่ปรึกษา ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการดำเนินการวิจัย ตลอดจนแก้ไขปัญหาต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัย และขอขอบคุณ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ที่ได้กรุณาเป็นประธานกรรมการ และ ผศ. ดร. युภาพร สมิน้อย ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ พ.ต.ท. ถือชัย รักเหลือ ที่จัดหาอาสาสมัครฝึกยิงปืน และติดต่อใช้สถานที่ ณ กองบังคับการฝึกอบรมตำรวจกลาง สนามยิงปืนพก และคุณดวงพร โคนะทิง ที่คอยช่วยจัดการอุปกรณ์และดูแลความเรียบร้อยทุกอย่างตลอดการเก็บตัวอย่าง เพราะความช่วยเหลือจากทั้งสองท่านจึงทำให้สามารถเก็บตัวอย่างได้อย่างราบรื่น ไม่เกิดปัญหาใดๆขึ้น และขอขอบคุณอาสาทุกท่านที่สละเวลามาฝึกยิงปืน และให้เก็บตัวอย่างเขม่าดินปืนที่บริเวณมือ

นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณพ่อคุณแม่ ที่ให้การสนับสนุน ส่งเสริมการศึกษาแก่ผู้วิจัยด้วยดี โดยตลอด และญาติๆทุกคนที่คอยให้กำลังใจ และขอขอบคุณอาจารย์ประจำสาขานิติวิทยาศาสตร์ รวมถึงอาจารย์พิเศษภายนอกทุกท่านที่ให้ความรู้อันเป็นประโยชน์ตลอดการศึกษา และสุดท้ายเพื่อนๆ นิติวิทยาศาสตร์ทุกคนที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และคำปรึกษาในงานวิจัยนี้ ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวข้างต้น ผู้จัดทำขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

รุ่ง คำปู้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1. ความเป็นมา และความสำคัญ.....	1
2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
3. สมมติฐานของงานวิจัย	2
4. ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
5. นิยามศัพท์เฉพาะ	3
6. ประโยชน์คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎี และวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
1. เขม่าดินปืน	4
2. ไนไตรท และไนไตรท์	6
3. การตรวจเก็บและตรวจพิสูจน์เขม่าดินปืน.....	8
4. Griess reagent	10
5. เทคนิคการตรวจวัดที่ประยุกต์ใช้กับอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาศ	11
6. อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาศ	12
7. การวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ.....	16

8. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไอออน (Ion Chromatography; IC)	18
9. ทบทวนวรรณกรรม	20
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ	22
1. เครื่องมือ และอุปกรณ์	22
2. สารเคมี.....	22
3. การเตรียมสารเคมี	23
4. การเก็บตัวอย่าง และเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์	23
5. วิธีการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยเทคนิค screen printing	24
6. แผนผังการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ.....	27
7. ศึกษาปริมาตรสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐานที่เหมาะสม	28
8. ศึกษาปริมาตรรีเอเจนท์.....	28
9. ศึกษารูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่เหมาะสม.....	28
10. ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพภายหลังการเกิดปฏิกิริยา.....	28
11. ศึกษาผลของตัวรบกวน	28
12. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μ PAD)	29
13. การวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย μ PAD	29
14. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วย Ion chromatography	30
15. การวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย Ion chromatography	30
16. การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษกับวิธี IC.....	31
บทที่ 4 ผลการทดลอง	32
4.1 ผลการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ.....	32
4.2 ผลการศึกษาปริมาตรรีเอเจนท์ และสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่เหมาะสม.....	32
4.3 ผลการศึกษารูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่เหมาะสม.....	36
4.4 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพหลังเกิดปฏิกิริยา	37

4.5 ผลการศึกษาตัวרבกวน	40
4.6 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μ PAD).....	40
4.7 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย μ PAD.....	48
4.8 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วย Ion chromatography (IC).....	50
4.9 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย Ion chromatography	55
4.10 ผลการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี (IC) และอุปกรณ์ ตรวจวัดบนกระดาษ (μ PAD).....	58
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	63
5.1 สรุป.....	63
5.2 อภิปรายผล.....	64
5.3 ข้อเสนอแนะ	64
รายการอ้างอิง	65
ภาคผนวก	67
ภาคผนวก ก ตารางแสดงข้อมูลการวิเคราะห์.....	68
ภาคผนวก ข ประมวลผลการทดลอง	90
ภาคผนวก ค โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน	94
ภาคผนวก ง โครมาโตแกรมของตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน.....	101
ประวัติผู้เขียน	113

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เทคนิควิเคราะห์สำหรับตรวจวัด OGSR	6
ตารางที่ 2 ความแตกต่างของเทคนิคต่างๆที่ใช้ในการสร้างช่องไหลจุลภาค	13
ตารางที่ 3 ข้อดีและข้อเสียของแต่ละเทคนิคในการสร้างอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษในระบบ	14
ตารางที่ 4 สภาวะเครื่อง Ion chromatography (IC)	31
ตารางที่ 5 ลักษณะการไหลของรีเอเจนท์ที่ใช้ปริมาตรที่แตกต่างกัน	33
ตารางที่ 6 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัด	34
ตารางที่ 7 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัด	34
ตารางที่ 8 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัด	35
ตารางที่ 9 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัด	36
ตารางที่ 10 อุปกรณ์ตรวจวัดทั้ง 4 แบบ ณ เวลาที่ 15 นาที ที่ตรวจวัดกับไนเตรท และไนไตรท์.....	37
ตารางที่ 11 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไนเตรท 1000 μM หลังเกิดปฏิกิริยา ณ เวลาต่างๆ	37
ตารางที่ 12 ค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้นช่วง 1-120 μM	41
ตารางที่ 13 ค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้นช่วง 1-400 μM	43
ตารางที่ 14 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	44
ตารางที่ 15 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรทบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	44
ตารางที่ 16 ค่าความเข้มข้นของสารละลายไนเตรท และไนไตรท์ 0 μM	45
ตารางที่ 17 ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืนที่ตรวจวัดบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	48

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ในช่วง 0.01-200 μM	50
ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 0.01-200 μM	51
ตารางที่ 20 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ด้วย IC.....	54
ตารางที่ 21 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรทด้วย IC.....	54
ตารางที่ 22 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 0.005 μM และไนไตรท์ 0.01 μM	55
ตารางที่ 23 ปริมาณไนเตรท และไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ได้จากเครื่อง IC.....	57
ตารางที่ 24 ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ที่ตรวจวัดจากเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี และ อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	58
ตารางที่ 25 สมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์	62
ตารางที่ 26 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ช่วง 0.01 – 200 μM	69
ตารางที่ 27 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ช่วง 0.01– 200 μM	69
ตารางที่ 28 พื้นที่ใต้พีคไนไตรท์ของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน	70
ตารางที่ 29 พื้นที่ใต้พีคไนเตรทของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน	72
ตารางที่ 30 จำนวนปริมาณไนไตรท์ของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอก กระสุนปืน	74
ตารางที่ 31 จำนวนปริมาณไนเตรทของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอก กระสุนปืน	76
ตารางที่ 32 ค่าความเข้มสีเขียวของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 1-120 μM	77
ตารางที่ 33 ค่าความเข้มสีเขียวของสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 1-400 μM	77
ตารางที่ 34 ภาพอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์บนกระดาษของสารละลายเขม่าดินปืน และ ปลอกกระสุนปืน	78
ตารางที่ 35 ค่าความเข้มสีเขียวของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน วิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์บนกระดาษ	81

ตารางที่ 36 ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือและปลอกกระสุนปืน
วิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทบนกระดาษ82

ตารางที่ 37 จำนวนปริมาณไนเตรท และไนไตรท์ของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ ...84

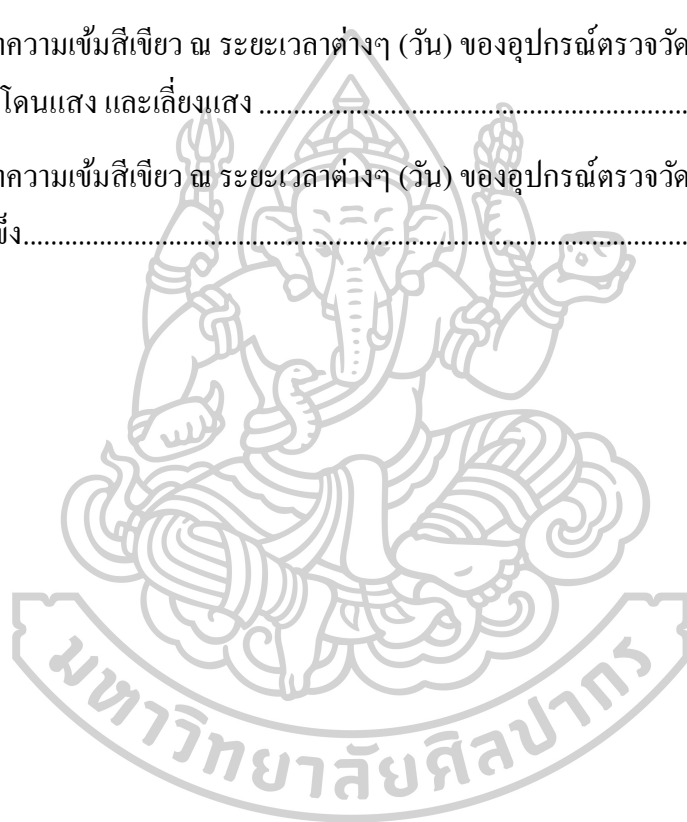
ตารางที่ 38 ค่าความเข้มข้นของ ธาตุ เวลาต่างๆ (นาท) บนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท 1000 μ M86

ตารางที่ 39 ค่าความเข้มข้นของ ธาตุ เวลาต่างๆ (นาท) บนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท 1000 μ M87

ตารางที่ 40 ค่าความเข้มข้นของ ธาตุ เวลาต่างๆ (นาท) บนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท 1000 μ M88

ตารางที่ 41 ค่าความเข้มข้นของ ธาตุ ระยะเวลาต่างๆ (วัน) ของอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์ที่สภาวะ
อุณหภูมิห้อง โคนแสง และแสง89

ตารางที่ 42 ค่าความเข้มข้นของ ธาตุ ระยะเวลาต่างๆ (วัน) ของอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์ที่สภาวะ
เย็น และแสง89

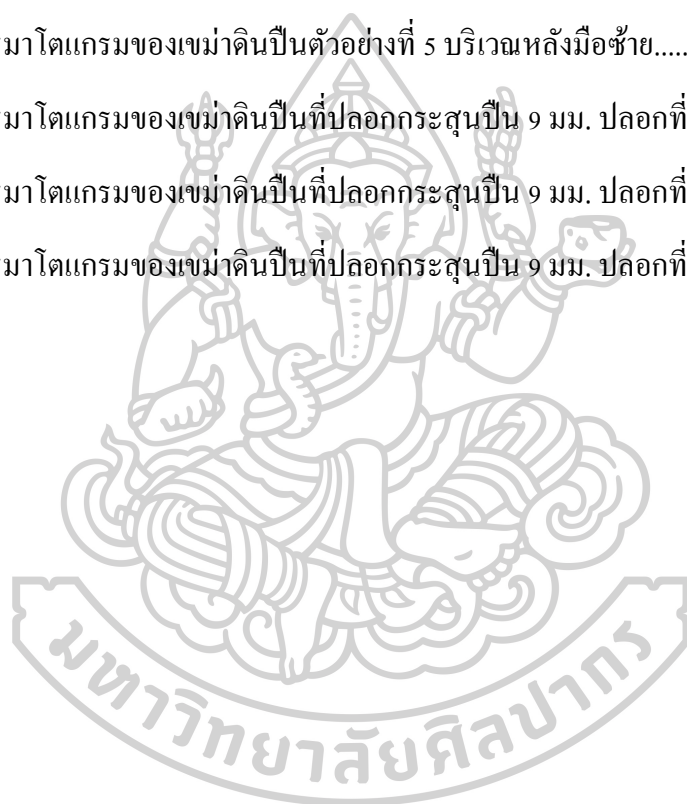


สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 โครงสร้างเคมีไนเตรท.....	7
ภาพที่ 2 โครงสร้างเคมีไนไตรท์.....	7
ภาพที่ 3 ปฏิกิริยา Griess ดั้งเดิม โดย Johann Peter Griess	10
ภาพที่ 4 ปฏิกิริยา Griess ที่ถูกปรับเปลี่ยน	11
ภาพที่ 5 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับการตรวจวัดคลอโคส	12
ภาพที่ 6 ขั้นตอนในการสร้างช่องทางไหล.....	15
ภาพที่ 7 แถบการใช้งานโปรแกรม Image J.....	16
ภาพที่ 8 แผนผังแสดงวิธีวัดความเข้มสีด้วย imageJ.....	17
ภาพที่ 9 แผนผังส่วนประกอบอย่างง่ายของ IC.....	18
ภาพที่ 10 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1.....	24
ภาพที่ 11 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2.....	25
ภาพที่ 12 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3.....	25
ภาพที่ 13 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 4.....	25
ภาพที่ 14 การจัดวางรูปแบบเพื่อทำบล็อกสกรีน	26
ภาพที่ 15 แผนผังการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ	27
ภาพที่ 16 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้น	32
ภาพที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ (นาที่) กับค่าความเข้มสีแดง	38
ภาพที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ (นาที่) กับค่าความเข้มสีเขียว	39
ภาพที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ (นาที่) กับค่าความเข้มสีฟ้า	39
ภาพที่ 20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ(นาที่) กับค่าความเข้มสี RGB.....	39
ภาพที่ 21 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่ทดสอบกับสารละลายสารรบกวน.....	40

ภาพที่ 22 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนไตรท์ (nmol)	42
ภาพที่ 23 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนเตรท(nmol) กับค่าความเข้มข้น	44
ภาพที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นกับระยะเวลา (วัน) ของอุปกรณ์ ตรวจวัดไนไตรท์ที่สภาวะต่างๆ โดย (a) อุณหภูมิห้อง โคนแสง (b) อุณหภูมิห้อง เลี่ยงแสง	47
ภาพที่ 25 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)	50
ภาพที่ 26 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)	51
ภาพที่ 27 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรทและไนไตรท์ 200 μM	52
ภาพที่ 28 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ ผสมกับสารรบกวน	53
ภาพที่ 29 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์	53
ภาพที่ 30 โครมาโตแกรมของสารละลายเขม่าดินปืนบนมือ	56
ภาพที่ 31 โครมาโตแกรมของสารละลายเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม.	56
ภาพที่ 32 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนไตรท์ (nmol) ในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ตรวจวัด	60
ภาพที่ 33 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนเตรท (nmol) ในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง IC	60
ภาพที่ 34 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนไตรท์จาก IC กับอุปกรณ์ตรวจวัด	61
ภาพที่ 35 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนเตรทจาก IC กับอุปกรณ์ตรวจวัด	61
ภาพที่ 36 สถานที่เก็บตัวอย่างเขม่าดินปืน	91
ภาพที่ 37 การเก็บตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือ	91
ภาพที่ 38 การบรรจุ เก็บ ก้านสำลีที่เช็ดเขม่าดินปืนบนมือและปลอกกระสุนปืนในถุงซิปล็อค	92
ภาพที่ 39 ปลอกกระสุนปืนขนาด 9 มม	92
ภาพที่ 40 การเตรียมตัวอย่างโดยแช่ด้านสำลีลงใน vial ที่มีน้ำปราศจากไอออน 2 mL.....	92
ภาพที่ 41 การ sonicate เพื่อสกัดไนเตรทและไนไตรท์จากเขม่าดินปืน.....	93
ภาพที่ 42 ตัวอย่างสารละลายเขม่าดินปืนที่ผ่านการสกัด และกรอง ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ ตรวจวัดบนกระดาษ และ IC	93

ภาพที่ 67 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 4 บริเวณหลังมือขวา.....	108
ภาพที่ 68 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 4 บริเวณฝ่ามือซ้าย.....	109
ภาพที่ 69 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 4 บริเวณหลังมือซ้าย	109
ภาพที่ 70 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณฝ่ามือขวา.....	110
ภาพที่ 71 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณหลังมือขวา.....	110
ภาพที่ 72 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณฝ่ามือซ้าย.....	111
ภาพที่ 73 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณหลังมือซ้าย.....	111
ภาพที่ 74 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1.....	112
ภาพที่ 75 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2.....	112
ภาพที่ 76 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3.....	112



บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมา และความสำคัญ

ปัญหาอาชญากรรมในสังคมไทยปัจจุบันปรากฏให้เห็นตามสื่อต่างๆ ทั่วไป จากการสำรวจ (NIDA Poll., 2017) พบว่าประชาชนทั่วประเทศส่วนใหญ่ร้อยละ 52.32 ระบุว่า เป็นปัญหาที่มีความรุนแรงมาก และปัญหาอาชญากรรมตามสถิติข่าวความรุนแรงปี 2561 ในช่วง 7 เดือนแรก (Workpoint News, 2018) ปรากฏข่าวความรุนแรงในครอบครัว 367 ข่าว โดยเป็นข่าวฆ่ากันตาย 242 ข่าว คิดเป็นร้อยละ 65.9 และเมื่อวิเคราะห์เชิงลึกในรอบ 4 เดือน (GunPolicy.org, 2019) พบว่าอาวุธที่ใช้ในการก่อเหตุมากที่สุดคืออาวุธปืนร้อยละ 40.5 นอกจากนี้พบว่าคนไทยมีการครอบครองอาวุธปืนเป็นอันดับที่ 39 ของโลก (178 ประเทศ) และสูงที่สุดในกลุ่มประเทศอาเซียน โดยปริมาณการครอบครองปืนแบบจดทะเบียน และปืนเถื่อนรวมทั้งสิ้น 10 ล้านกระบอก และยังมีอัตราการเสียชีวิตด้วยอาวุธปืนเป็น 4.45 คนต่อประชากร 100,000 คน ซึ่งสูงรองลงมาจากประเทศฟิลิปปินส์

เมื่อมีการก่อเหตุเกี่ยวกับอาวุธปืนเกิดขึ้นพยานหลักฐานที่ใช้ในการยืนยันการกระทำผิดคืออาวุธปืน และเขม่าดินปืน ซึ่งเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นภายหลังการยิงมีการกระจายออกทุกทิศทาง จึงทำการเก็บเขม่าดินปืน ณ สถานที่เกิดเหตุ และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ในห้องปฏิบัติการ เช่น SEM และ ICP สำหรับวิเคราะห์เขม่าดินปืนอินทรีย์ (อนุภาคโลหะ) HPLC และ GC สำหรับวิเคราะห์เขม่าดินปืนอินทรีย์ (สารประกอบไนโตร) สำหรับข้อจำกัดของการวิเคราะห์เขม่าดินปืนคือ บุคลากรต้องมีความชำนาญและทักษะเฉพาะในการใช้เครื่องมือ และยังไม่มียุทธวิธีสำหรับตรวจวัดเชิงคุณภาพเพื่อคัดกรองในเบื้องต้น ก่อนใช้เครื่องมือในการตรวจยืนยันผลที่ซึ่งใช้เวลาวิเคราะห์นาน และมีค่าใช้จ่ายที่สูง

ปัจจุบันมีงานวิจัยมากมายที่มุ่งพัฒนาหรือสร้างอุปกรณ์สำหรับการตรวจวัดสิ่งต่างๆ ให้มีความเหมาะสมในการใช้งานภาคสนาม เนื่องจากมีขนาดเล็ก เคลื่อนย้ายได้ ซึ่งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (Microfluidic paper-based devices) กำลังได้รับความนิยม และได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในทางสิ่งแวดล้อมเช่น ตรวจวัดไอออนที่มีความเป็นพิษในน้ำ (Sriram et al., 2017) ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Jayawardane, Wei, McKelvie, & Kolev, 2014) และทางคลินิก เช่น การตรวจวัดไนไตรท์ในน้ำลายเพื่อช่วยตรวจเกี่ยวกับโรคในช่องปาก (Bhakta, Borba, Taba Jr, Garcia, & Carrilho, 2014) และทางนิติวิทยาศาสตร์เช่นกัน เช่น ตรวจวัดปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืน (อรอุษา เตียวตระกูล, 2560) ตรวจวัด Fe^{2+} ในน้ำอุ่นลูกตาเพื่อประเมินเวลาการเสียชีวิต และทดลองเทียบกับวิธีมาตรฐาน ICP-MS พบว่าค่าความเข้มข้นของ $Fe(II)$ ไปใน

แนวทางเดียวกัน จึงทำให้อุปกรณ์นี้มีความน่าเชื่อถือ สามารถนำมาใช้งานจริงได้ (Garcia et al., 2017)

อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษเป็นอุปกรณ์ราคาถูก พกพาได้ ใช้งานง่าย อีกทั้งยังใช้น้ำยาเคมี และตัวอย่างปริมาณน้อย ได้ถูกนำมาใช้ร่วมกับเทคนิคการตรวจวัดแบบเทียบสี (Colorimetric Detection) เพราะเป็นวิธีที่ง่าย และสามารถทำการวัดการเปรียบเทียบสีด้วยตาเปล่า หรือ โดยการใช้กล้องถ่ายรูป หรือเครื่องสแกนเนอร์ จากนั้นวิเคราะห์ความเข้มของสีด้วยโปรแกรม ImageJ (ปีณา เดือนฉาย และวิจิตรา เดือนฉาย, 2014)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีสนใจที่จะศึกษาเกี่ยวกับอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่กำลังมีบทบาทในการนำมาประยุกต์ใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ โดยทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดสำหรับตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ ในเขม่าดินปืน โดยอาศัยหลักการทางเคมี ติดตามการเปลี่ยนแปลงของความเข้มสีที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาเคมีระหว่างสารที่วิเคราะห์ (ไนเตรทและไนไตรท์) กับรีเอเจนท์ Griess

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืน

3. สมมติฐานของงานวิจัย

อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสามารถวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืนในเชิงปริมาณได้ และมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับวิธีตรวจวัดมาตรฐาน

4. ขอบเขตของงานวิจัย

4.1 ประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษที่แตกต่างกัน 4 รูปแบบ ด้วยเทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยสีผง

4.2 หาปริมาณที่เหมาะสมของรีเอเจนท์ Griess และสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่เหมาะสมกับอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษแต่ละรูปแบบ และพิจารณาเลือกรูปแบบที่ให้ประสิทธิภาพในการตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ที่ดีที่สุด

4.3 หาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพหลังการเกิดปฏิกิริยาบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษ

4.4 ศึกษาตัวรบกวนที่มีผลต่อการตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ด้วยรีเอเจนท์ Griess บนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษ

4.5 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μ PAD) ประกอบด้วย ความเป็นเส้นตรง (linearity) ความแม่นยำ (precision) ค่าขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ) และ ความเสถียร (stability)

4.6 วิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษ

4.7.5 ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วย Ion chromatography ประกอบด้วย ความเป็นเส้นตรง (linearity) ความจำเพาะ (specificity) ความแม่นยำ (precision) ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) และค่าขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)

4.8 วิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืนด้วย Ion chromatography

4.9 เปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ และ Ion chromatography ด้วยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์

5. นิยามศัพท์เฉพาะ

เขม่าดินปืน คือสิ่งที่เกิดขึ้นภายหลังการยิงปืน เป็นส่วนที่เหลือตกค้างหลังการเผาไหม้ของชนวนท้ายกระสุนปืนและดินส่งกระสุนปืน ที่ประกอบด้วยอนุภาคจากส่วนประกอบของเครื่องกระสุนปืน ดินส่งกระสุนปืนส่วนที่ไม่ถูกเผาไหม้ และเศษโลหะที่ได้จากพื้นผิวภายในลำกล้อง

Griess reagent คือน้ำยาเคมีสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ โดยใช้ sulfanilamide และ N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl (NED) ในสภาวะกรด และตัวรีดิวซ์ไนเตรท เมื่อมีการตรวจพบไนเตรทและไนไตรท์ได้ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากไม่มีสีไปเป็นสีม่วงแดง

อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ คือ อุปกรณ์การตรวจวัดที่สร้างขึ้นด้วยกระดาษ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และบริเวณกระดาษมีคุณสมบัติชอบน้ำเป็นบริเวณที่ทำปฏิกิริยา และบริเวณตรวจวัด

6. ประโยชน์คาดว่าจะได้รับ

6.1 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสามารถตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืนทั้งทางเชิงคุณภาพ และปริมาณอย่างมีประสิทธิภาพ

6.2 เป็นอุปกรณ์ทางเลือกหนึ่งสำหรับเจ้าหน้าที่ในการตรวจวัดเชิงคุณภาพเพื่อคัดกรองในเบื้องต้นในเหตุที่เกี่ยวข้องกับอาวุธปืน

บทที่ 2

แนวคิดทฤษฎี และวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาวิจัยเรื่อง การพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าดินปืน ผู้วิจัยได้ศึกษาแนวคิดทฤษฎี และวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง ดังต่อไปนี้

1. เขม่าดินปืน
3. ไนเตรท และไนไตรท์
2. การตรวจเก็บและตรวจพิสูจน์เขม่าดินปืน
4. Griess reagent
5. เทคนิคการตรวจวัดที่ประยุกต์ใช้กับอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ
6. อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ
7. การวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J
8. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไอออน (Ion Chromatography)
9. ทบทวนวรรณกรรม

1. เขม่าดินปืน

1.1 ความหมายเขม่าดินปืน

สิ่งที่เกิดขึ้นภายหลังการยิงปืน เป็นผลมาจากส่วนที่เหลืออยู่หลังจากการเผาไหม้ของชนวนท้ายกระสุนปืนดินส่งกระสุนปืน ที่ประกอบด้วยอนุภาคจากส่วนประกอบของเครื่องกระสุนปืนดินส่งกระสุนปืนส่วนที่ไม่ถูกเผาไหม้ และเศษโลหะที่ติดค้างจากพื้นผิวภายในลำกล้อง

1.2 ความสำคัญของเขม่าดินปืน

เขม่าดินปืน (Schwoeble & Exline, 2000) เป็นวัตถุพยานที่มีขนาดเล็กประเภทหนึ่งที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า บางครั้งต้องทำการขยาย หรือวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่ละเอียด เพื่ออธิบายลักษณะ และระบุประเภท ซึ่งมีความสำคัญต่อการสืบสวน สอบสวน และการพิสูจน์หลักฐานในทางคดี เพื่อนำผลจากการตรวจวิเคราะห์หามาเชื่อมโยงและคลี่คลายการสืบสวนสอบสวนคดีอาญาที่เกี่ยวข้องกับอาวุธปืน ทั้งคดีฆาตกรรม อภิวัตกรรมการ หรืออุบัติเหตุ เป็นต้น

การตรวจวิเคราะห์เขม่าดินปืนด้วยเครื่องมือวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะเทคนิคหรือวิธีที่มีความจำเพาะเจาะจง น่าเชื่อถือ แม่นยำ รวมถึงประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายก็จะส่งผลดีต่อกระบวนการยุติธรรมเป็นอย่างมาก เมื่อตรวจพบว่าเขม่าบนมือนั้นเกิดจากการยิงปืนจริง สามารถยืนยันได้ว่าบุคคลนั้นผ่านการยิงปืนมาจริง ซึ่งนำไปสู่การนำตัวผู้กระทำความผิดมาฟ้องและลงโทษ หรือสามารถยืนยันความบริสุทธิ์ให้บุคคลที่ไม่ได้กระทำความผิด เพื่อความยุติธรรมในสังคม

1.3 การเกิดเขม่าดินปืน

เป็นผลมาจากการการทำงานของอาวุธปืนและเครื่องกระสุนปืนที่เกิดขึ้นหลังจากการเหนี่ยวไกปืน โดยเข็มแทงชนวนจะกระแทกกับชนวนซึ่งอยู่บริเวณท้ายกระสุนปืนของกระสุนปืนที่อยู่ในรังเพลิง ทำให้ชนวนท้ายกระสุนปืนระเบิดเกิดเป็นเปลวไฟเพื่อใช้จุดดินส่งกระสุนปืนให้เกิดการลุกไหม้ต่อไป การระเบิดของชนวนท้ายกระสุนปืนและการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืนเกิดขึ้นในระยะเวลาอันสั้นประมาณ 1 มิลลิวินาที และภายในพื้นที่ที่จำกัดจึงเกิดการเปลี่ยนแปลงกะทันหันของอุณหภูมิและความดัน ส่งผลให้เกิดความร้อนและก๊าซปริมาณมาก และเมื่อก๊าซเกิดการขยายตัวจะกลายเป็นแรงระเบิดความดันสูงที่ขับให้ลูกกระสุนปืนวิ่งออกจากปลายปลอกกระสุนปืนผ่านทางปากลำกล้องปืน และแรงระเบิดยังขับกลุ่มก๊าซและไอที่เกิดจากการเผาไหม้ให้ผ่านออกมาทางปากลำกล้องปืน โดยพาเขม่าดินปืนหรือส่วนที่เหลือหลังจากการเผาไหม้ออกมาพร้อมกันด้วย

ส่วนที่ทำให้เกิดเขม่าดินปืนได้มาจากส่วนประกอบเครื่องกระสุน รวมทั้งชนวนท้ายกระสุนปืน ดินส่งกระสุนปืน ปลอกกระสุนปืน และลูกกระสุนปืน อีกทั้งยังพบบางส่วนจากลำกล้องปืน โดยแต่ละส่วนจะให้ส่วนประกอบเขม่าดินปืนที่แตกต่างกัน ทั้งเป็นอินทรีย์และอนินทรีย์

1.4 ประเภทเขม่าดินปืน

สามารถแบ่งได้ 2 ประเภทคือ Organic Residues ที่ได้จากการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืน และ Inorganic Residues ที่มาจากชนวนและกระสุนปืน

Organic Gunshot Residues (OGSR) เป็นเขม่าดินปืนที่เกิดจากการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืนชนิดดินปืน โดยใช้ Dermal Nitrate Test แต่ในปัจจุบันนิยมใช้ดินส่งกระสุนปืนชนิดดินคว้นน้อยที่พบว่ามีเขม่าดินปืนอยู่ในรูปของสารประกอบ Organic จำพวก Nitro-compound โดยเทคนิคที่ใช้สำหรับตรวจวิเคราะห์เขม่าดินปืนจากดินประเภท Organic มีหลากหลายเทคนิค ตัวอย่างดังตารางที่ 1 (Goudsmits, Sharples, & Birkett, 2015)

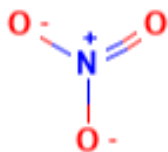
ตารางที่ 1 เทคนิควิเคราะห์สำหรับตรวจวัด OGSR

ประเภทของเทคนิค	เทคนิค
Color test	Color/spot test Thin layer chromatography
Spectroscopy	Fourier transform infrared
Liquid chromatography	HPLC-ECD HPLC-PMDE HPLC-MS LC-MS/MS HPLC-UV
Gas chromatography	GC-EDC GC-TEA GC-FID GC-MS
Electrochemical detection	Capillary electrophoresis

Inorganic Gunshot Residues (I-GSR) เป็นเขม่าดินปืนประเภทอนินทรีย์ที่เกิดจากการเผาไหม้ของชนวนท้ายกระสุนปืน เกิดเป็นการตกค้างของเขม่าที่ประกอบไปด้วยอนุภาคของโลหะตะกั่ว (Pb) แอนติโมนี (Sb) และแบเรียม (Ba) ซึ่งจะพบบริเวณมือหลังการยิงปืน และเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน (Goudsmits et al., 2015) มี 2 ลักษณะ คือตรวจเชิงปริมาณด้วย Neutron Activation Analysis (NAA) Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) Inductively Coupled Plasma – Spectrometry (ICP-S) และการตรวจเชิงคุณภาพด้วย Scanning Electron Microscopy / Energy Dispersive X-ray Analysis (SEM/EDX)

2. ไนโตรท และไนไตรท์

ไนเตรทมีสูตรโมเลกุลคือ NO_3^- (National Center for Biotechnology Information) ดังภาพที่ 1 มีโครงสร้างแบบสามเหลี่ยมแบบราบ และมีมวลโมเลกุล 62.004 g/mol โดยไนเตรทเป็นไนโตรเจนออกไซด์ไอออน (nitrogen oxoanion) ที่เกิดจากการสูญเสียโปรตอนจากกรดไนตริก สามารถพบได้ตามธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำผิวดิน น้ำใต้ดิน เนื่องจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งไนโตรทมักถูกนำมาใช้ในรูปของเกลือไนเตรท



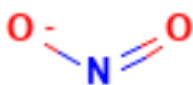
ภาพที่ 1 โครงสร้างเคมีไนเตรท

ที่มา: National Center for Biotechnology Information. Nitrate. [cited 2019 July 2]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nitrate>

และได้มีการนำไนเตรทไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ ทั้งทางด้านเกษตรและอุตสาหกรรมดังนี้ (ฝ่ายจัดการสารพิษ กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม และสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อม, 2541)

1. แอมโมเนียมไนเตรท ใช้ในปุ๋ย วัตถุระเบิด และดินปืน
2. โซเดียมไนเตรท ใช้ในวัตถุเจือปนอาหาร ช่วยให้เนื้อสัตว์มีสีน่ารับประทาน ป้องกันการเน่าเสีย
3. โปแตสเซียมไนเตรท ใช้ในปุ๋ย การถนอมอาหาร ผลิตโลหะ แก้ว เทียน ไม้ขีด
4. แคลเซียมไนเตรท ใช้ในปุ๋ยพืชบางชนิด ผลิตก๊าซไนตรัส
5. ไนเตรทของเหล็ก ทองแดง อะลูมิเนียม โครเมียม ใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้า
6. ไนเตรทของปรอท เงิน บิสมัท ใช้ในอุตสาหกรรมยารักษาโรค

ไนไตรท์ที่มีสูตรโมเลกุลคือ NO_2 (National Center for Biotechnology Information) ดังภาพที่ 2 มีโครงสร้างแบบสามเหลี่ยมแบนราบ และมีมวลโมเลกุล 46.005 g/mol ไนไตรท์เป็นไนโตรเจนออกไซด์ไอออน (nitrogen oxoanion) ที่เกิดจากการสูญเสียโปรตอนจากกรดไนตรัส ไนไตรท์นั้นถูกจัดว่าเป็นไนเตรทได้ง่าย ดังนั้นในธรรมชาติจึงพบไนไตรท์ปริมาณต่ำ



ภาพที่ 2 โครงสร้างเคมีไนไตรท์

ที่มา: National Center for Biotechnology Information. Nitrite. [cited 2019 July 2]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/946>

และได้มีการนำไนไตรท์ไปใช้แพร่หลายในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์ ใช้ในกิจกรรมต่างๆดังนี้

1. เป็นตัวเร่งให้คอนกรีตแข็งตัวเร็ว, เหล็กแข็งตัวเร็ว
2. ใช้ถนอมอาหารสำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อ
3. การผลิต azo dye
4. เป็น oxidant สำหรับอุตสาหกรรมไอโอดีน
5. เป็นสารป้องกันการกัดกร่อนจากบรรยากาศ
6. สารเคลือบผิวโลหะ
7. ด้านเภสัชกรรม
8. อุตสาหกรรมกระดาษ, ยาง, ทอผ้า
9. สารกำจัดวัชพืช

3. การตรวจเก็บและตรวจพิสูจน์เขม่าดินปืน

พยานหลักฐานที่เป็นเขม่าดินปืน อาวุธปืน ร่องรอยเครื่องมือ จะทำการส่งให้ผู้เชี่ยวชาญตรวจพิสูจน์ที่สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ ผู้รับผิดชอบคือกลุ่มงานตรวจสอบอาวุธปืนและวัตถุพยานทางฟิสิกส์ หรือที่กองพิสูจน์หลักฐาน ผู้รับผิดชอบคือกลุ่มงานตรวจอาวุธปืนและเครื่องกระสุน

การตรวจพิสูจน์ว่ามีส่วนข้องเกี่ยวกับการใช้อาวุธปืน โดยตรวจหาเขม่าดินปืนที่บริเวณมือผู้ต้องสงสัย หรือบริเวณบาดแผล ในปี ค.ศ. 1933 มีการตรวจหาสารไนเตรทเรียกว่า "Diphenylamine Test" การตรวจวิธีนี้ได้ถูกใช้แพร่หลายอยู่เป็นเวลานานทั้งในต่างประเทศและประเทศไทย ต่อมาพบว่าสารไนเตรทสามารถพบเจอในสิ่งแวดล้อมได้เป็นจำนวนมาก ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงเห็นว่าวิธีดังกล่าวไม่แน่นอน จึงได้เลิกใช้

การตรวจหาธาตุหรือสารประกอบต่างๆ ที่เกิดจากการยิง (ตรวจเขม่า) โดยตรวจจากบาดแผลทางเข้ากระสุนปืนจากการยิงระยะใกล้ อาจจะมีตะกั่ว (Pb) แอนติโมนี (Sb) และแบเรียม (Ba) และตรวจจากมือผู้ยิงหรือผู้ต้องสงสัย ซึ่งการระเบิดของของกระสุนจะเกิดการกระจายออกทุกทิศทางของธาตุและสารประกอบต่างๆ อาจติดอยู่บนมือผู้ยิง บนอาวุธปืน บนวัตถุที่อยู่ใกล้จุดที่ยิงปืน เป็นต้น สำหรับวิธีการตรวจในปัจจุบันนี้ที่เป็นที่ยอมรับใช้กันทั่วโลกประกอบด้วย (พลตำรวจตรี เลียง หุยประเสริฐ)

1. NNA (Neutron Activation Analysis) มีความไวสูงต่อการตรวจวิเคราะห์หาธาตุแบเรียม (Ba) และแอนติโมนี (Sb) สามารถวิเคราะห์ได้ละเอียดถึงระดับไมโครกรัม โดยใช้พาราฟินพอกไปในส่วนที่สงสัยแล้วนำไปล้างด้วยกรดไนตริกเจือจาง แล้วนำสารที่ได้ไปยิงด้วยอนุภาคนิวตรอน

เมื่อสารนั้นจับอนุภาคนิวตรอนไว้และกลายสภาพเป็นสารกัมมันตภาพ ปล่อยรังสีออกมา และนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลของสารอ้างอิงที่มีอยู่จะทำให้สามารถทราบว่าเป็นสารสงสัยเป็นสารใด แต่มีข้อจำกัดคือ ค่าใช้จ่ายสูง และใช้เวลานาน

2. FAAS หรือ GFAAS (Flameless หรือ Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry) เป็นเทคนิคที่หลีกเลี่ยงการใช้เปลวไฟในการให้ความร้อนเพื่อให้ธาตุในสารละลายตัวอย่างกลายเป็นอะตอมอิสระ โดยให้ความร้อนด้วยกระแสไฟฟ้า แก่ท่อ Graphite และอะตอมอิสระของธาตุต่างๆ จะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะกับธาตุนั้น และเนื่องจากธาตุแต่ละชนิดมีระดับพลังงานต่างกัน จึงมีการดูดกลืนพลังงานที่แตกต่างกันด้วย และ AAS เป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะเจาะจง (Specific) และความไว (Sensitive) ในการวิเคราะห์สูง แต่มีข้อจำกัดคือเป็นการทำลายตัวอย่าง และใช้เวลามากเพราะไม่สามารถวิเคราะห์หลายธาตุได้พร้อมกัน

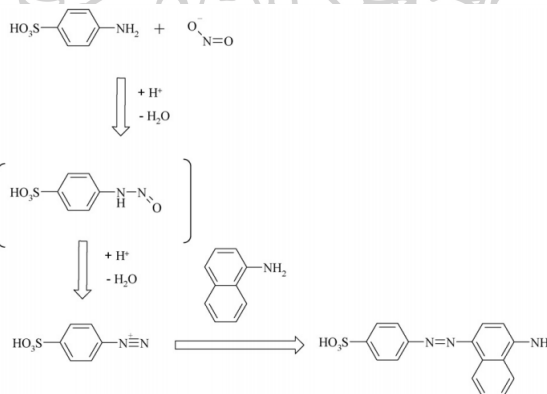
3. ICP – S (Inductively Coupled Plasma – Spectrometry) สารละลายตัวอย่างที่อยู่ในรูปของเหลว เมื่อนิดเข้าไปจะกลายเป็นละอองเล็กๆ และถูกป้อนเข้ามาเผาที่อุณหภูมิสูง (มากกว่า 6000 °C) จนแตกตัวเป็นพลาสมาเกิดอะตอมอิสระในสภาวะกระตุ้น และคายพลังงานออกมาเพื่อกลับสู่สถานะเสถียร เครื่องจะวัดพลังงานที่คายจากแสงที่เปล่งออกมาโดยใช้ Spectrometer สีของแสงหรือความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมาจะเป็นลักษณะเฉพาะของธาตุแต่ละชนิด และนำแสงที่วัดได้ไปเทียบกับข้อมูลจะทราบว่าเป็นธาตุชนิดใด และเมื่อทราบความเข้มแสงก็จะสามารถทราบความเข้มข้นของธาตุนั้นๆ ได้ และ ICP เป็นเทคนิคที่ไวต่อการวิเคราะห์ ใช้เวลาน้อย และสามารถวิเคราะห์หลายธาตุพร้อมกันได้

4. SEM (scanning electron microscope) การใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ไมโครสโคปแบบส่องกราด SEM ศึกษาด้านกายภาพ โครงสร้างของเขม่าดินปืน และใช้เครื่องวิเคราะห์ธาตุ EDS/EDX วิเคราะห์เชิงคุณภาพ เชิงปริมาณ และดูการกระจายตัวของธาตุ หาดำแหน่งธาตุที่ต้องการพิสูจน์ โดยธาตุที่ศึกษาในการวิเคราะห์คือ Ba Sb และ Pb เป็นหลัก และเป็นองค์ประกอบหลักของชนวนท้ายกระสุนปืน

นอกจากทำการตรวจวิเคราะห์ธาตุที่เป็นส่วนประกอบในเขม่าดินปืนแล้ว ยังสามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณไอออนไนไตรท์และไนเตรท ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในดินปืน ที่เกิดขึ้นเมื่อมีการเผาไหม้ของดินปืน และวิธีที่นิยมใช้หาปริมาณได้แก่ เทคนิคการทดสอบสี และ ion chromatography และ UV-Visible spectroscopy เป็นต้น

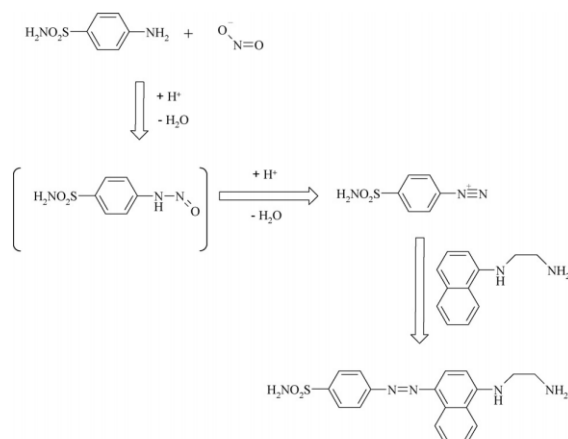
4. Griess reagent

วิธีการสำหรับตรวจวิเคราะห์ไนโตรต์และไนเตรทที่เป็นที่นิยมมากที่สุดและใช้กันบ่อยมากที่สุด (Tsikas, 2007) จะอาศัยปฏิกิริยา Griess ที่ใช้ชื่อตามบุคคลที่คิดค้น โดย Johann Peter Griess เป็นนักเคมีชาวเยอรมัน ได้อธิบายเกี่ยวกับรายละเอียดการสังเคราะห์ azo dye “Diazobenzolamidonaphтол” โดยมีสารตั้งต้นเป็น diazobenzene และ naphthylamine และเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของ azo dye จึงแทนที่ diazobenzene ด้วย diazobenzene sulfonic acid ซึ่งเตรียมได้จาก sulfanilic acid และต่อมาได้มีการนำไปใช้ตรวจพิสูจน์ร่องรอยของ nitrous acid โดยปฏิกิริยา Griess แบบดั้งเดิมนั้น เกิดจาก nitrite ทำปฏิกิริยากับ sulfanilic acid ภายใต้สภาวะกรด เพื่อสร้าง diazonium ion เพื่อไปจับคู่กับ α -naphthylamine กลายเป็น azo dye สีม่วงแดงที่สามารถละลายน้ำได้ โดยมีสูตรโมเลกุลของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเป็น $C_{16}H_{13}N_3SO_3$ ดังภาพที่ 3 และมีการนำปฏิกิริยา Griess ไปปรับเปลี่ยนเพื่อใช้ในการหาไนโตรต์ในบัสสภาวะ



ภาพที่ 3 ปฏิกิริยา Griess ดั้งเดิม โดย Johann Peter Griess

ปฏิกิริยา Griess แบบดั้งเดิม เป็นปฏิกิริยา diazotization ที่ใช้รีเอเจนต์เป็น sulfanilic acid และ α -naphthylamine เรียกว่า Griess รีเอเจนต์ และอาจนำสารอนุพันธ์มาใช้ โดยตัวที่โดดเด่นคือ sulfanilamide และ N-(1-naphthyl)ethylenediamine (NED หรือ NEDA) ดังภาพที่ 4 โดย sulfanilamide ทำปฏิกิริยากับไนโตรต์ไอออนในสภาวะกรด เกิดเป็น diazonium salt จากนั้นทำปฏิกิริยากับ NED เกิดเป็น azo compound ให้สีม่วงแดง



ภาพที่ 4 ปฏิกิริยา Griess ที่ถูกปรับเปลี่ยน

สำหรับไนเตรทไอออนต้องทำการรีดิวซ์ให้เป็นไนไตรท์ไอออนก่อน แล้วจึงตามด้วยปฏิกิริยา Griess วิธีการรีดิวซ์ไนเตรทมีหลากหลายวิธี เช่น การใช้เอมไซม์ไนเตรทรีดักเทส, NADPH, reducing metals (Zn, Cd, Cd/Cu column) และ VCl₃ ซึ่งการใช้ reducing metals ถือว่าเป็นที่นิยมใช้กันมากกว่า

5. เทคนิคการตรวจวัดที่ประยุกต์ใช้กับอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

สำหรับวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสามารถใช้เทคนิคต่างๆ เข้าร่วมในการวิเคราะห์ผลได้ เช่น

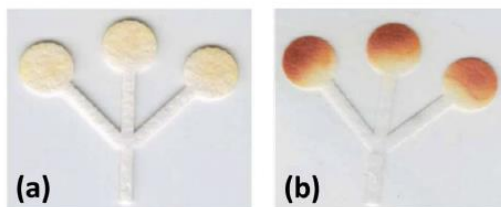
5.1 การตรวจหาโดยการเทียบสี (Colorimetric Detection) วิธีนี้ถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวาง เพราะเป็นวิธีที่ง่าย และสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งทำการวัดการเปรียบเทียบสีด้วยตาเปล่า หรือโดยการใช้กล้องถ่ายรูป หรือเครื่องสแกนเนอร์ จากนั้นส่งรูปไปยังคอมพิวเตอร์เพื่อวิเคราะห์ความเข้มของสี

5.2 การตรวจหาด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า (Electrochemical Detection) วิธีนี้เป็นการวัดการเปลี่ยนแปลงทางไฟฟ้า โดยเทคนิคนี้จะใช้ขั้วไฟฟ้าทั้งหมด 3 ชนิดในระบบได้แก่ ขั้วไฟฟ้าช่วยขั้วไฟฟ้าอ้างอิง และขั้วไฟฟ้าใช้งาน ซึ่งจะทำให้การสร้างกระดาษโดยนำขั้วทั้ง 3 ชนิด เคลือบหรือติดไว้บนกระดาษ

5.3 การตรวจหาโดยวิธีการทางเคมีเรืองแสง (Chemiluminescent) และวิธีการทางไฟฟ้าเคมีเรืองแสง (Electrochemiluminescent) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ประสบความสำเร็จในการนำมาใช้กับอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษ โดยได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเนื่องจากสามารถผลิตได้ง่าย ราคาถูก และมีความไวในการตรวจวัดสูง

6. อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจวัดรูปแบบใหม่ที่กำลังได้รับความนิยม ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ทางการแพทย์หรือวิทยาศาสตร์สุขภาพตัวอย่างดังภาพที่ 5 ใช้เพื่อประกอบการวินิจฉัยโรคในตัวอย่าง เซรัม เลือด ปัสสาวะ เป็นต้น รวมถึงการควบคุมคุณภาพอาหารและการตรวจวัดทางสิ่งแวดล้อมเช่น โลหะหนักในน้ำ สำหรับข้อดีของอุปกรณ์นี้คือ สามารถผลิตได้ง่าย ต้นทุนในการผลิตต่ำ เนื่องจากวัสดุที่ใช้เป็นกระดาษ ซึ่งเป็นวัสดุที่ซื้อได้ง่าย พบได้ในชีวิตประจำวัน นอกจากนี้ยังพกพาสะดวกและสามารถทิ้งได้ทันทีหลังจากทำการตรวจวัด โดยคุณสมบัติของกระดาษประกอบด้วยเส้นใยเซลลูโลสที่สามารถดูดซับน้ำ (Hydrophilic) ได้ดี อีกทั้งยังสามารถปรับเปลี่ยนพื้นผิวของกระดาษให้ได้ตามที่ต้องการใช้งานอีกด้วย ซึ่งกระดาษที่ใช้ในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดก็มีความหลากหลาย



ภาพที่ 5 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับการตรวจวัดกลูโคส

(Morbioli, Mazzu-Nascimento, Stockton, & Carrilho, 2017)

(a) ความเข้มสีต่ำสุด (b) ความเข้มสีสูงสุด

ที่ ม ๑ : Morbioli, G.G., “Technical aspects and challenges of colorimetric detection with microfluidic paper-based analytical device”, “Analytica Chimica Acta” (Brazil), 1-22

โดยเทคนิคที่ใช้ในการเตรียมอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษด้วยระบบของไหลจุลภาค มีด้วยกัน 10 เทคนิค ได้แก่ การพิมพ์ด้วยแสง การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ การสลักด้วยการฉีดหมึก การปรับสภาพด้วยพลาสมา การตัดกระดาษ การพิมพ์ด้วยซีพิ้ง การพิมพ์ด้วยน้ำหมึกฉีด การพิมพ์แบบยืดหยุ่น การพิมพ์สกรีน และการปรับสภาพด้วยเลเซอร์ ซึ่งหลักการพื้นฐานของการสร้างช่องไหลจุลภาคบนกระดาษประกอบด้วยสองส่วน คือ ส่วนที่ชอบน้ำ และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ โดยจะสร้างขนาดช่องในระดับไมครอนบนกระดาษ ดังตารางที่ 2 (ปวีณา เตื่อนฉาย และวิจิตร เตื่อนฉาย, 2014) จะแสดงความแตกต่างของเทคนิคต่างๆที่ใช้ในการสร้างช่องไหลจุลภาค ยกเว้นเทคนิคการตัดกระดาษ เพราะไม่สามารถเชื่อถือได้ในการแบ่งส่วนชอบน้ำกับไม่ชอบน้ำ

ตารางที่ 2 ความแตกต่างของเทคนิคต่างๆที่ใช้ในการสร้างช่องไหลจุลภาค

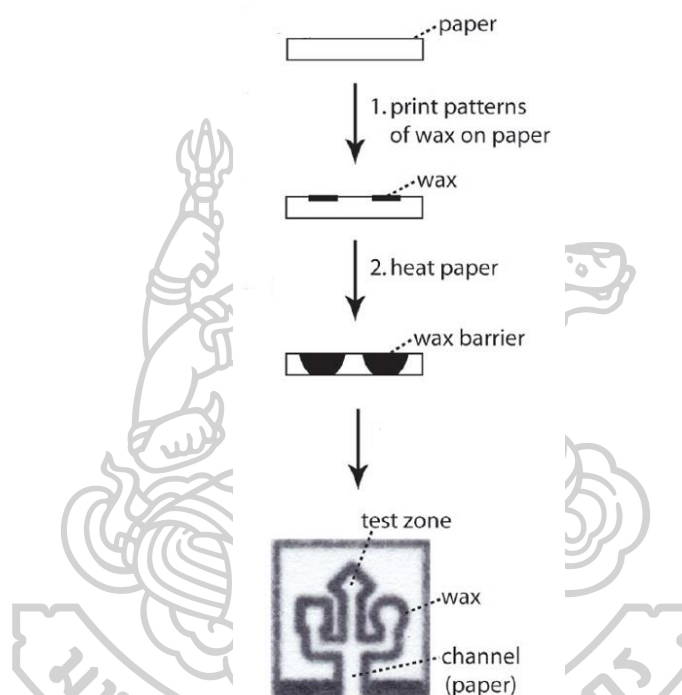
เทคนิค	สารที่ใช้เคลือบ	หลักการออกแบบ	วิธีการ
การพิมพ์ด้วยแสง	สารไวแสง	การปิดกั้นรูบน กระดาษ	เลือกส่วนที่ไม่ชอบน้ำ
การพิมพ์ด้วยเครื่อง พล็อตเตอร์	Polydimethylsiloxane	การปิดกั้นรูบน กระดาษ	เลือกส่วนที่ชอบน้ำ
การสลักด้วยการฉีด หมึก	โพลีสไตรีน	การเคลือบของสารบน พื้นผิวเส้นใย	เลือกส่วนที่ไม่ชอบน้ำ
การปรับสภาพด้วย พลาสมา	Alkylketene Dimer	การดัดแปลงพื้นผิว เส้นใย	เลือกส่วนที่ไม่ชอบน้ำ
การพิมพ์ด้วยจี้ผึ้ง	จี้ผึ้ง	การเคลือบของสารบน พื้นผิวเส้นใย	เลือกส่วนที่ชอบน้ำ
การพิมพ์ด้วยน้ำหมึก ฉีด	Alkylketene Dimer	การดัดแปลงพื้นผิว เส้นใย	เลือกส่วนที่ชอบน้ำ
การพิมพ์แบบ ยืดหยุ่น	โพลีสไตรีน	การเคลือบของสารบน พื้นผิวเส้นใย	เลือกส่วนที่ไม่ชอบน้ำ
การพิมพ์สกรีน	จี้ผึ้ง	การเคลือบของสารบน พื้นผิวเส้นใย	เลือกส่วนที่ไม่ชอบน้ำ
การปรับสภาพด้วย เลเซอร์	ขึ้นอยู่กับชนิดกระดาษ เช่น ซิลิกอน: ใช้กับ กระดาษหนัง , จี้ผึ้ง: ใช้กับกระดาษจี้ผึ้ง	การปิดกั้นรูบน กระดาษ	เลือกส่วนที่ไม่ชอบน้ำ

โดยการเลือกใช้เทคนิคในการสร้างอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษต้องพิจารณาจากหลายๆปัจจัย เช่นความพร้อมของอุปกรณ์ ราคาของวัสดุ กระบวนการผลิต และการประยุกต์ของอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษในระบบของไหลจุลภาค โดยตารางที่ 3 ได้แสดงข้อดีและข้อเสียของแต่ละเทคนิค ซึ่งพบว่าการสร้างอุปกรณ์กระดาษด้วยวิธีการพิมพ์ด้วยน้ำหมึกชนิด และการพิมพ์ด้วยจี้คิง เป็นเทคนิคที่มีราคาถูก ง่าย และใช้เวลาในการผลิตน้อย จึงเป็นวิธีที่ค่อนข้างได้รับความนิยมสูงในปัจจุบัน

ตารางที่ 3 ข้อดีและข้อเสียของแต่ละเทคนิคในการสร้างอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษในระบบของไหลจุลภาค

เทคนิค	ข้อดี	ข้อเสีย
การพิมพ์ด้วยแสง	ความละเอียดของช่องไหลจุลภาคสูง	อุปกรณ์ราคาแพง
การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์	Polydimethylsiloxane มีราคาถูก	ไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตระดับสูงได้
การสลักด้วยการกัดหมึก	ต้องใช้เครื่องพิมพ์ในการสร้างช่องไหลจุลภาค โดยกัดและพิมพ์สารเคมีหรือสารชีวเคมี	ในการสร้างการไหลต้องพิมพ์ 10 ครั้ง, อุปกรณ์ที่พิมพ์ต้องกำหนดเอง และไม่เหมาะกับการพิมพ์รูปแบบขนาดใหญ่
การปรับสภาพด้วยพลาสติก	Alkylketene Dimer มีราคาถูก	ความต่างของต้นแบบทำให้เกิดความต่างของช่องไหลบนกระดาษ
การพิมพ์ด้วยจี้คิง	อุปกรณ์ในการผลิตมีขนาดใหญ่ ซึ่งมีกระบวนการผลิตที่ง่าย และรวดเร็ว	จี้คิงที่ใช้ในการพิมพ์มีราคาแพง และยังมีขั้นตอนสำหรับให้ความร้อน หลังจากพิมพ์ให้ความร้อนแล้ว
การพิมพ์ด้วยน้ำหมึกชนิด	Alkylketene Dimer มีราคาถูก มีกระบวนการผลิตที่ง่ายและรวดเร็ว	ต้องให้ความร้อน หลังจากพิมพ์ Alkylketene Dimer และ ต้องมีการปรับเปลี่ยนเครื่องพิมพ์
การพิมพ์แบบยึดหยุ่น	สามารถใช้เครื่องพิมพ์ที่อยู่ที่บ้านผลิตได้	คุณภาพของการพิมพ์ขึ้นอยู่กับความเรียบของพื้นผิวกระดาษ
การพิมพ์สกรีน	อุปกรณ์สามารถผลิตได้ง่าย	ช่องไหลมีความละเอียดต่ำ
การปรับสภาพด้วยเลเซอร์	ช่องไหลมีความละเอียดสูง	ของเหลวไม่สามารถไหลออกไปนอกช่องไหลได้

เทคนิคการพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (wax screen printing) เป็นเทคนิคที่ราคาถูก ง่าย และใช้เวลาในการผลิตน้อย จึงเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมสูงในปัจจุบัน (ELVESYS., 2017) ซึ่งประกอบด้วยสองขั้นตอน ขั้นตอนแรกคือ ออกแบบและทำการพิมพ์ขี้ผึ้งลงบนกระดาษส่วนที่ต้องการให้เป็นบริเวณไม่ชอบน้ำจะออกแบบให้เคลือบหรือพิมพ์ด้วยขี้ผึ้งแข็ง โดยเครื่องพิมพ์ขี้ผึ้งที่ขายทั่วไป (wax printer) ขั้นตอนที่สองคือ นำกระดาษที่เคลือบขี้ผึ้งแข็งแล้วนั้นวางลงบนแผ่นความร้อนเพื่อให้ขี้ผึ้งหลอมและซึมลงไปเนื้อกระดาษ จะทำให้เกิดบริเวณชอบน้ำหรือไม่ชอบน้ำตามที่ออกแบบไว้ตอนต้น แสดงขั้นตอนในการสร้างช่องไหลดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ขั้นตอนในการสร้างช่องทางไหล

ที่มา : ELVESYS. PAPER MICROFLUIDIC DEVICES : A REVIEW 2017. 2017 [cited 2019 March 30]; Available from: <https://www.elfeflow.com/microfluidic-tutorials/microfluidic-reviews-and-tutorials/paper-microfluidic-devices-a-review-2017/microfluidic-paper-based-analytical-devices-microfluidic-paper-based-devices-wax-printing/>

อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษก็ยังมีข้อจำกัดอยู่หลายด้าน ไม่ว่าจะเป็นคุณสมบัติของกระดาษ วิธีที่ใช้การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัด หรือ วิธีตรวจวัดที่ใช้ร่วมกับอุปกรณ์บนกระดาษ รวมทั้งข้อจำกัดต่อไปนี้

1. การรักษาสภาพตัวอย่างภายในช่องไหล เนื่องจากระหว่างที่สารกำลังไหลภายในช่องไหล สารตัวอย่างมีโอกาสที่จะระเหยได้ ทำให้ปริมาณของสารตัวอย่างที่ไหลถึงบริเวณตรวจวัดมีค่า

น้อยกว่าปริมาณตอนที่หยดตอนเริ่มต้นซึ่งอาจจะมีค่าน้อยกว่า 50% ของปริมาณเริ่มต้น จึงทำให้ อุปกรณ์กระดาศไม่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารที่มีปริมาณน้อยหรือสารที่มีราคาค่อนข้างแพง

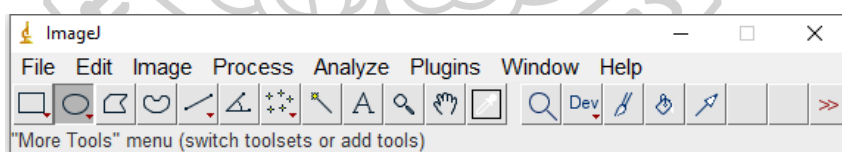
2. สารที่นำมาใช้เป็นกำแพงไฮโดรโฟบิก เนื่องจากกำแพงของช่องไหลที่นิยมใช้นับอุปกรณ์กระดาศที่ทำหน้าที่เป็นไฮโดรฟิลิก คือซีฟี่ง และ Alkylketene Dimer โดยปกติกำแพงเหล่านี้จะไม่ยอมให้สารซึมผ่านหรือรั่วออกจากช่องไหลได้ แต่กรณีที่สารตัวอย่างมีความตึงผิวที่ต่ำ จะทำให้กำแพงที่สร้างจากซีฟี่ง และ Alkylketene Dimer ไม่สามารถต้านได้จึงทำให้สารเกิดการรั่วออกจากช่องไหลไม่ไหลไปตามช่อง

ไหลที่ออกแบบไว้

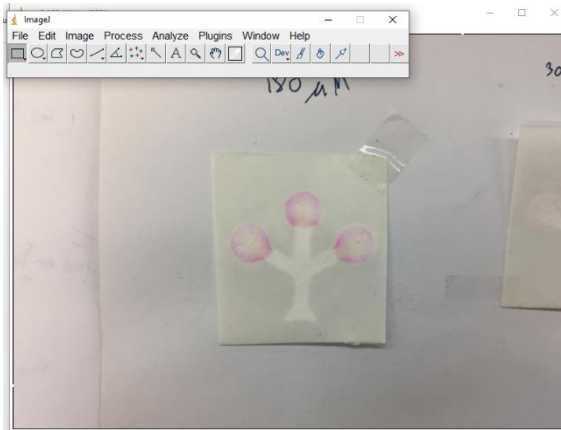
3. ขีดจำกัดในการตรวจวัด (LOD) ค่อนข้างสูง สำหรับการเทียบสีด้วยตาเปล่า จึงทำให้ไม่สามารถทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำๆ ได้ จึงยากที่จะวิเคราะห์โดยอาศัยการดูดสีหรือการเปลี่ยน แปลงสีด้วยอุปกรณ์บนกระดาศ

7. การวัดความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ

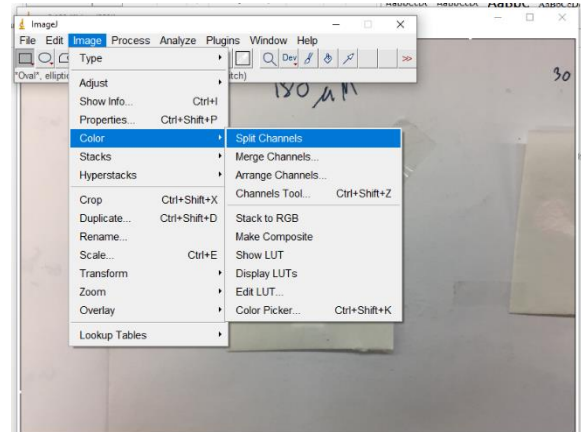
เป็น โปรแกรมที่ได้ถูกพัฒนาขึ้น Wayne Rasband และ The National Institute of Health (NIH) ประเทศสหรัฐอเมริกา โปรแกรมนี้ถูกเขียนมาเพื่ออำนวยความสะดวกในการวิเคราะห์ข้อมูลจากรูปภาพ โดยสามารถคำนวณพื้นที่ วัดระยะทาง และมุม รวมไปถึงใช้ตรวจวัดความเข้มสีโดยโปรแกรม ImageJ แสดงดังภาพที่ 7 และยังเป็นโปรแกรมวิเคราะห์ขนาดของวัตถุบนภาพถ่าย โดยอาศัยหลักการวัดความเข้มสีที่เกิดจากการดูดกลืนแสงของสี และสามารถตรวจวัดหาความเข้มสีแยกได้เป็น สีแดง (R) สีเขียว (G) สีฟ้า (B) หรือ RGB ดังแผนผังวิธีในภาพที่ 8



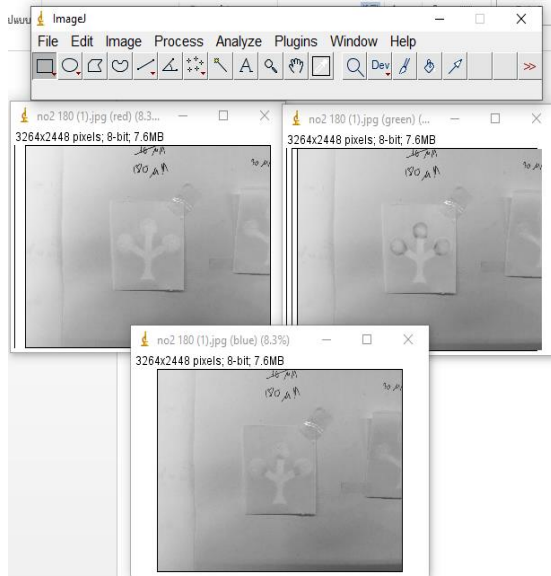
ภาพที่ 7 แถบการใช้งานโปรแกรม Image J



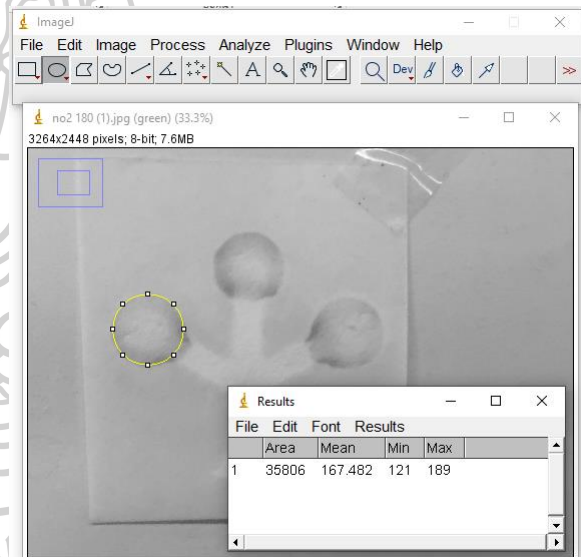
เปิดไฟล์ภาพที่ต้องการวัดความเข้มสี
File > Open > เลือกไฟล์ภาพ > เปิด



วัดความเข้มสี R G และ B
Image > Color > Split channels



แสดงการปรับเป็นโหมด 3 อัน
แยกเป็น red green และ blue



วัดความเข้มสีบริเวณที่ต้องการ
เลือก shortcut ลากคลุมบริเวณที่ต้องการวัด
> Analyze > Measure (ctrl+M)

ภาพที่ 8 แผนผังแสดงวิธีวัดความเข้มสีด้วย imageJ

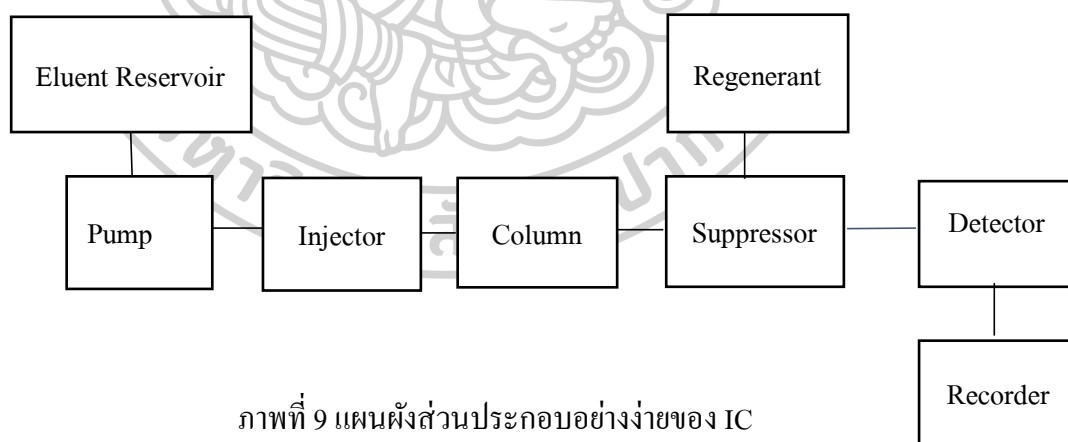
8. เครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไอออน (Ion Chromatography; IC)

8.1 หลักเกณฑ์พื้นฐานของ IC

เป็นเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ที่มีความก้าวหน้าในการวิเคราะห์ไอออน (แม้น อมรสิทธิ์, 2555) และเป็นเทคนิคที่มีการนำไปประยุกต์ใช้มากที่สุดวิธีหนึ่งสำหรับการแยก (separation) และการหาปริมาณของ ไอออนที่ถูกละลาย เป็นเทคนิคที่มีความสามารถที่ดีในการแก้ปัญหาการหาปริมาณของ สารในสารละลายโดยพิจารณาจากปัจจัยต่อไปนี้

1. ต้องการ sensitivity สูง
2. ต้องการหาปริมาณของไอออนหลายๆอย่างในสารละลายชนิดเดียวกัน
3. สารละลายตัวอย่างมีตัวแทรกสอดจากเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์
4. เป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะ (specificity) ในการวิเคราะห์

เทคนิคนี้จัดอยู่ในประเภท liquid-solid chromatography นั่นคือมีคอลัมน์เป็นวัสดุของแข็งสำหรับแยก เป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และของเหลวเคลื่อนที่สำหรับชะสาร (eluent) ที่อยู่ในคอลัมน์เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เมื่อสารตัวอย่างถูกฉีดเข้าระบบจะถูกพาไปยังคอลัมน์ โดย eluent และเกิดการแยกที่คอลัมน์หลังจากนั้นเข้าสู่ตัวตรวจวัดสัญญาณ (detector) และให้สัญญาณออกมาจากระบบการแยกเป็น chromatogram ของสารตัวอย่าง โดยแสดงแผนผังส่วนประกอบอย่างง่ายของ IC ดังภาพที่ 9



ภาพที่ 9 แผนผังส่วนประกอบอย่างง่ายของ IC

ที่มา: แม้น อมรสิทธิ์. (2555). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ (2 ed.). กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์ 50.

ในกระบวนการแยกทางโครมาโตกราฟีนั้นอยู่ใน elution mode คือเมื่อนำสารตัวอย่าง A และ B เข้าไปในระบบด้วย injector สารทั้งสองนี้จะเดินทางผ่านคอลัมน์และการแยกของสารทั้งสองจะเกิดขึ้นจากการเคลื่อนที่ที่ต่างกัน และเข้าสู่เครื่องตรวจวัดในเวลาที่แตกต่างกัน สัญญาณ A และ B จะถูกบันทึกเป็นลักษณะโครมาโตแกรม เทคนิคนี้ได้เติบโตอย่างรวดเร็วมาก เพราะเป็น

เทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ Anion และ Cation ในตัวอย่างสารอนินทรีย์จำนวนมากด้วยวิธี simultaneous determination ให้ผลออกมาถูกต้องและเชื่อถือได้ และยังสามารถนำไปใช้วิเคราะห์สารที่เป็นอินทรีย์ได้เช่นกัน

8.2 ส่วนประกอบของของ IC

1. ภาชนะบรรจุตัวชะ (Eluent reservoir) สำหรับบรรจุสารที่เป็นตัวชะ ที่ทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ที่พาสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์และชะสารที่ต้องการออกจากคอลัมน์ในเวลาที่เหมาะสมโดย Eluent ที่ใช้โดยทั่วไปจะประกอบด้วยสารละลายของเกลือ หรือเป็นของผสมเกลือ และอาจมีการผสมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไปบ้างเล็กน้อย สารละลายของเกลืออาจทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ เพื่อควบคุม pH ในกระบวนการที่เฟสเคลื่อนที่ทำหน้าที่ชะสารมี 2 แบบด้วยกัน คือ Isocratic elution เป็นการใช้สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่คงที่ตลอดการวิเคราะห์ และ Gradient elution เป็นการใช้สัดส่วนเฟสเคลื่อนที่ที่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการวิเคราะห์ เพื่อให้ไอออนที่มี retention time ที่แตกต่างกัน สามารถเกิดการแยกได้พร้อมกัน โดยให้ประสิทธิภาพการแยกที่ดี และให้ retention time ที่เหมาะสม

2. ปั๊ม (Pump) สำหรับส่งสารละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่ระบบโครมาโตกราฟี

3. หัวฉีดสาร (Injector) สำหรับนำปริมาณสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์สำหรับแยกโดยตรงด้วย injection valve ที่มีอยู่สองตำแหน่ง คือตำแหน่ง load สารตัวอย่างจะเข้าไปพักที่บริเวณ sample loop ขณะที่ตัวชะกำลังเคลื่อนที่ไปยังคอลัมน์ และเมื่ออยู่ในตำแหน่ง inject ตัวชะจะผ่านเข้าไปใน loop และพาสารตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์

4. คอลัมน์ (Column) สำหรับแยกไอออนตัวอย่าง ซึ่งมีหลากหลายชนิดขึ้นอยู่กับวัสดุที่บรรจุอยู่ภายในคอลัมน์ เช่น กลุ่มฟังก์ชันที่มีประจุ-กลุ่มแลกเปลี่ยน ไอออนที่ดำเนินการแยก เมื่อทำการเลือกคอลัมน์สิ่งที่ต้องพิจารณาคือ capacity และ selectivity นอกจากนี้ efficiency ของคอลัมน์ก็มีความสำคัญเช่นกัน

5. Suppressor มีหน้าที่สำหรับช่วยลด background ของตัวชะ และเพิ่มสัญญาณของไอออนตัวอย่างก่อนเข้าสู่ตัวตรวจวัดสัญญาณ

6. ตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) สำหรับตรวจวิเคราะห์ทั้งทางคุณภาพ (ระบุชนิด) และทางปริมาณ โดยตัวตรวจวัดสัญญาณด้วยคุณสมบัติการนำไฟฟ้านั้นถูกนำมาใช้มากที่สุดในการวิเคราะห์ anion เพราะค่าการนำไฟฟ้าครอบคลุมกับไอออนทั้งหมด โดยมีกรนำไฟฟ้าที่เฉพาะสำหรับทุกไอออน

7. Recorder เกิดการประมวลผลที่ส่วนนี้ หลังจากไอออนตัวอย่างผ่านเข้าสู่ตัวตรวจวัด สัญญาณค่าการนำไฟฟ้าจึงเพิ่มขึ้น และปรากฏพิคบน โครมาโตแกรมที่มีความสัมพันธ์ระหว่างค่าการนำไฟฟ้า กับเวลา

8.3 ประเภทตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ด้วย IC

1. Inorganic anion เช่น Cl^- , Br^- และ SO_4^{2-}
2. Inorganic cation เช่น โลหะอัลคาไลน, alkaline earth, transition metal, rare earth ions (ยกเว้น neutral chelates)
3. สารประกอบกรดอินทรีย์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เช่น HCOOH และ CH_3COOH
4. สารประกอบมวลโมเลกุลต่ำประเภทเบสละลายน้ำ เช่น amines
5. สารประกอบ ionic organo metallic และ สารประกอบ tributyltin

9. ทบทวนวรรณกรรม

ปวีณา เตือนฉาย และคณะ (2557) ผู้วิจัยทำการสร้างอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษโดยเตรียมได้หลากหลายเทคนิคเช่น การพิมพ์ด้วยจี้ฟิ่ง เป็นต้น และสร้างช่องไหลจุลภาค บนกระดาษประกอบด้วยสองส่วนคือ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ และส่วนที่ชอบน้ำ ซึ่งก็คือกระดาษ และการวิเคราะห์ผลทำได้หลากหลายวิธีเช่น การตรวจโดยการเทียบสี การตรวจหาด้วยวิธีทางเคมีไฟฟ้า เป็นต้น อุปกรณ์การวิเคราะห์ด้วยกระดาษนี้มีข้อดีคือ ผลิตง่าย ต้นทุนในการผลิตต่ำ พกพาสะดวก แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของการสูญเสียสารตัวอย่างได้มากถึง 50% จากการระเหย และค่าขีดจำกัดในการตรวจวัดสูง จึงไม่สามารถตรวจวัดสารที่ปริมาณต่ำได้

Bhakta et al. (2557) ผู้วิจัยทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคบนกระดาษ เพื่อตรวจพิสูจน์และหาปริมาณไนไตรท์ในน้ำลาย โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess เมื่อทำปฏิกิริยาแล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบอะโซ (Azo compound) เป็นสารประกอบที่มีสีที่มีหมู่กรดซัลโฟนิค และทำการวิเคราะห์ภาพด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop เพื่อหาปริมาณของไนไตรท์จากความเข้มของสีพบว่าอุปกรณ์นี้สามารถตรวจวัดปริมาณไนไตรท์ได้ในช่วงความเข้มข้น 10-1000 $\mu\text{mol/L}$ และมีค่า LOD เป็น 10 $\mu\text{mol/L}$

Jayawardane et al. (2557) ผู้วิจัยทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคบนกระดาษ (μPAD) โดยใช้เทคนิค inkjet printing สำหรับตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท โดยไนไตรท์ทำการทดสอบโดยตรงกับ Griess reagent ในขณะที่ไนเตรทจะต้องทำการรีดิวซ์ให้เป็นไนไตรท์ก่อนด้วยผง Zn อุปกรณ์ตรวจวัดนี้สามารถใช้งานง่ายและมีราคาถูก พบว่ามี LOD และ LOQ ของ ไนไตรท์ เป็น 1.0 และ 7.8 μM ตามลำดับ และสำหรับไนเตรทเป็น 19 และ 48 μM ตามลำดับ และ

ความสามารถในการตรวจวัดซ้ำแสดงผลเป็นค่า RSD มีค่าน้อยกว่า 2.9% และ 5.6% ($n \leq 8$) สำหรับไนไตรท์และไนเตรทตามลำดับ

อรอุษา เตียวตระกูล (2560) ผู้วิจัยทำการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ และอาศัยปฏิกิริยา Griess ในการตรวจวัดปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน และใช้โปรแกรม Image J เปลี่ยนเป็นค่าความเข้มสี ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่เก็บตัวอย่างจากมือผู้ยิง และจากด้านในของปลอกกระสุนปืนที่ยิงแล้ว พบว่ามีขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) ของไอออนไนไตรท์เป็น 0.063 nmol และไนเตรทเป็น 0.840 nmol และปริมาณไอออนไนไตรท์ที่วัดได้จากอุปกรณ์บนกระดาษมีความสัมพันธ์กับปริมาณของไอออนไนไตรท์ที่วิเคราะห์โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9606

Garcia et al. (2560) ผู้วิจัยทำการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ เพื่อประเมินเวลาการเสียชีวิต ณ สถานที่เกิดเหตุ โดยอาศัยหลักการเทียบสีของ Fe(II) ในตัวอย่างน้ำอุ่นลูกตา จากการทดลองพบว่าเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นของ Fe(II) 2-10 mg/L มีค่า LOD เป็น 0.3 mg/L และมีค่า LOQ เป็น 0.9 mg/L ทำการทดลองกับตัวอย่างจริงทั้งอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ และเทคนิค ICP-MS พบว่า ค่าความเข้มข้นของ Fe(II) ทั้ง 2 วิธีไปในแนวทางเดียวกัน ซึ่งเมื่อคำนวณในทางสถิติด้วย t-test พบว่าทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

Sriram et al. (2560) ผู้วิจัยทำการตรวจวัดไอออนโลหะ และไนไตรท์จากแหล่งต่างๆ ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคบนกระดาษ โดยมีการประยุกต์ใช้นุภาคนาโนของโลหะ เช่น แพลตตินั่ม ทองคำ และเงินมาเคลือบบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไอออนที่เป็นพิษในตัวอย่างน้ำจากบริเวณบ่อน้ำ และแม่น้ำ เป็นต้น โดยอนุภาคนาโนของเงินเป็นตัวเลือกที่ดีที่สุด เนื่องจากมีราคาถูก และมีค่าคงที่การดูดกลืนแสงที่สูงกว่าชนิดอื่นๆ ยังสามารถประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ ทางชีวภาพ ความปลอดภัยในอาหาร สิ่งแวดล้อม เป็นต้น

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการ

1. เครื่องมือ และอุปกรณ์

- 1.1 ไมโครปิเปต
- 1.2 กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
- 1.3 เครื่องแก้ว
- 1.4 บล็อกสกรีน
- 1.5 ไม้พันสำลี
- 1.6 ซองพลาสติกซิปล็อค
- 1.7 กระบอกฉีดยา (Syringe)
- 1.8 หลอดบรรจุของเหลว (Vial)
- 1.9 Nylon membrane filter ขนาดรูพรุน 0.45 μm
- 1.10 เครื่องชั่งสาร
- 1.11 เครื่องให้ความร้อน (hot plate)
- 1.12 เครื่องไอออนโครมาโตกราฟี (Ion Chromatography, IC)
- 1.13 Ultrasonic water bath

2. สารเคมี

- 2.1 Sulfanilamide
- 2.2 N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl (NED)
- 2.3 Citric acid
- 2.4 Zinc dust
- 2.5 Sodium nitrite
- 2.6 Potassium nitrate
- 2.7 Deionized water
- 2.8 Interference study; Sodium chloride, Potassium dihydrogen phosphate, Potassium sulfate
- 2.9 Beeswax

3. การเตรียมสารเคมี

3.1 สารละลายไนเตรท

ชั่ง KNO_3 0.1011 g ละลายในน้ำปราศจากไอออน ปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL เพื่อให้มีความเข้มข้นเป็น 10 mM และนำมาเจือจางเพื่อเตรียมความเข้มข้นในช่วง 0.01-400 μM

3.2 สารละลายไนไตรท์

ชั่ง NaNO_2 0.0690 g ละลายในน้ำปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 100 mL เพื่อให้มีความเข้มข้นเป็น 10 mM และนำมาเจือจางเพื่อเตรียมความเข้มข้นในช่วง 0.01- 200 μM

3.3 เตรียมสารละลาย citric acid 330 mM

ชั่ง citric acid 3.4674 g ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 50 mL

3.4 เตรียมสารละลาย sulfanilamide 50 mM

ชั่ง sulfanilamide 0.0865 g ละลายด้วย citric acid 330 mM ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

3.5 สารละลาย NED เข้มข้น 10 mM

ชั่ง NED 0.0270 g ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน ปรับปริมาตรเป็น 10 mL

3.6 Zn suspension

ชั่ง Zn dust 500 mg ละลายด้วยน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 10.0 mL

4. การเก็บตัวอย่าง และเตรียมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์

4.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างเขม่าดินปืนบนฝ่ามือและหลังมือทั้งสองข้าง และปลอกกระสุนปืน ณ กองบังคับการฝึกอบรมตำรวจกลาง สนามยิงปืนพก ตั้งอยู่ที่ ตำบล ศาลายา อำเภอพุทธมณฑล นครปฐม 73170 และมีอาสาให้ความร่วมมือเก็บตัวอย่างเขม่าดินปืนทั้งหมด 5 คน ใช้อาวุธปืนแบบ กึ่งอัตโนมัติ Glock19 ขนาด 9 มม.ตลอดการทดลอง โดยทำการยิง 3 นัดติดกัน และทำการเก็บตัวอย่างทันที

4.2 จัดหาซองพลาสติกซิปล็อคจำนวน 5 ซอง แต่ละซองให้ระบุดังนี้

ซองที่ 1 blank

ซองที่ 2 หลังมือขวา

ซองที่ 3 ฝ่ามือขวา

ซองที่ 4 หลังมือซ้าย

ซองที่ 5 ฝ่ามือซ้าย

4.3 จัดหาไม้พันสำลีจำนวน 5 ก้าน

4.4 หยดน้ำปราศจากไอออน 4-5 หยด บนไม้พันสำลีที่ 1 แล้วบรรจุใส่ซองที่ 1 เพื่อเป็นblank

4.5 หยคน้ำปราศจากไอออนประมาณ 4-5 หยด บนก้านสำลีที่ 2 แล้วเช็ดที่หลังมือขวาโดยเช็ดตั้งแต่บริเวณข้อมือ ไปจนถึงปลายนิ้วหรือจากปลายนิ้วถึงข้อมือ โดยการหมุนหรือกลิ้งสำลีไปทางเดียวกัน ห้ามเช็ดกลับไปกลับมา แล้วบรรจุในช่องที่ 2

4.6 สำหรับก้านที่ 3, 4 และ 5 ให้เช็ดที่ฝ่ามือขวา หลังมือซ้าย และฝ่ามือซ้าย โดยปฏิบัติเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น แล้วบรรจุใส่ช่องที่ 3, 4 และ 5 ตามลำดับ

4.7 ตัดก้านสำลีแช่ใน vial ที่มีน้ำปราศจากไอออน 2 mL และสำหรับปลอกกระสุนปืน 9 มม. วางแนวตั้งฉากกับบีกเกอร์ และใส่น้ำปราศจากไอออนลงในปลอกกระสุนปืน 0.9 mL และนำไป sonicate เป็นเวลา 30 นาที

4.8 นำสารละลายมาตรฐาน ไนเตรทและไนไตรท์ และสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้กรองผ่าน Nylon membrane filter ขนาดรูพรุน 0.45 μm และตรวจวัดด้วย Ion Chromatography (IC)

4.9 นำสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้หยดลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ ที่มีการบรรจุรีเอเจนท์ Griess และตัวรีดิทซ์ไว้ก่อนแล้ว ทิ้งให้เกิดสีและถ่ายภาพผลการทดลองที่ได้

4.10 นำภาพผลการทดลองเข้าโปรแกรม imageJ เพื่อวิเคราะห์ความเข้มสี

5. วิธีการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยเทคนิค screen printing

5.1 ออกแบบอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษด้วยโปรแกรม Adobe Photoshop CS6 ทั้งหมด 4 รูปแบบ ดังภาพต่อไปนี้

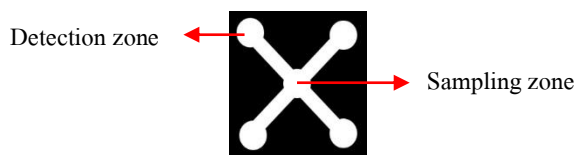
1. รูปแบบที่ 1 มีลักษณะคล้ายรูปดัมเบลที่ด้านปลายเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm. เชื่อมกันด้วยช่องทางไหลที่มีความยาว 15 mm. และมีความกว้าง 2 mm. ที่บริเวณปลายด้านหนึ่งทำหน้าที่เป็นพื้นที่ตรวจวัด (detection zone) ที่บรรจุสารรีเอเจนท์ และอีกด้านเป็นพื้นที่หยดตัวอย่าง (sampling zone) และที่บริเวณช่องทางไหลสำหรับบรรจุตัวรีดิทซ์ไนเตรทแสดงดังภาพที่

10



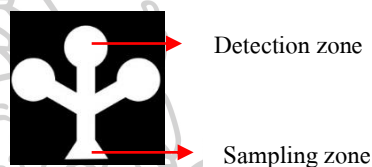
ภาพที่ 10 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1

2. รูปแบบที่ 2 มีลักษณะคล้ายตัว x ที่มีวงกลมตรงกลางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm. ทำหน้าที่เป็นพื้นที่หยดสารตัวอย่าง (sampling zone) และแตกออกเป็น 4 แขน ซึ่งเป็นช่องทางไหลสำหรับบรรจุตัวรีดิทซ์ไนเตรท และไปเชื่อมกับวงกลมที่ด้านปลายที่เป็นพื้นที่ตรวจวัด (detection zone) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm. เช่นเดียวกัน ช่องทางไหลมีความยาว 7 mm. และมีความกว้าง 2 mm. แสดงดังภาพที่ 11



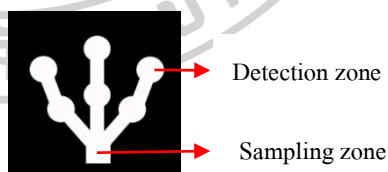
ภาพที่ 11 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2

3. รูปแบบที่ 3 (Ortiz-Gomez et al., 2016) ที่ด้านล่างเป็นสามเหลี่ยมฐานยาว 5 mm สูง 3 mm. เป็นพื้นที่หยดสารตัวอย่าง (sampling zone) และเชื่อมกับช่องทางไหลหลักที่ยาว 5 mm. กว้าง 2 mm. และแตกออกเป็น 3 แขนเชื่อมกับวงกลมที่ด้านปลายที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 mm. เป็นพื้นที่ตรวจวัด (detection zone) โดยเชื่อมด้วยช่องทางไหลย่อยยาว 5 mm. กว้าง 2 mm. แสดงดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3

4. รูปแบบที่ 4 (Rossini, Milani, Carrilho, Pezza, & Pezza, 2018) ที่สี่เหลี่ยมด้านล่างเป็นพื้นที่หยดสารตัวอย่าง (sampling zone) และแตกออกเป็น 3 แขน ที่วงกลมตรงกลางช่องทางไหลที่ยาว 10 mm. ของแต่ละแขนมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 mm. เป็นพื้นที่สำหรับบรรจุตัวรีดิคซ์ไนเตรท และที่วงกลมด้านปลายมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับข้างต้นเป็นพื้นที่สำหรับตรวจวัด (detection zone) แสดงดังภาพที่ 13



ภาพที่ 13 รูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 4

5.2 จัดวางรูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดให้พอดีกับกระดวยกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 125 mm. และนำไปพิมพ์บล็อกสกรีนขนาด A4 ดังภาพที่ 14



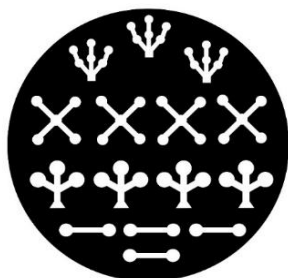
ภาพที่ 14 การจัดวางรูปแบบเพื่อทำบล็อกสกรีน

5.3 สกรีนสีฟุ้งให้ทั่วบริเวณที่มีการกำหนดช่องทางการไหล ที่วางอยู่บนกระดวยกรอง ขณะที่ให้ความร้อนอยู่บน hot plate ที่อุณหภูมิประมาณ 50 °C เป็นเวลา 10-15 วินาที หรือจนกว่าสีฟุ้งจะละลายและซึมลงในกระดวยกรอง สังเกตได้จากกระดวยกรองจะโปร่งใสขึ้น

5.4 นำกระดวยกรองออกจาก hot plate ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 10 วินาที

5.5 ทำความสะอาดบล็อกสกรีนด้วยการวางบน hot plate ให้ความร้อน 60 วินาที และเช็ดด้วยทิชชู

6. แผนผังการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ



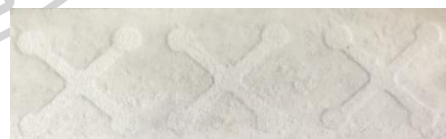
ออกแบบรูปแบบอุปกรณ์กระดาษ และจัดวางให้
ขนาดพอดีกระดาษกรอง และนำไปทำบล็อก

ได้บล็อกสกรีนขนาด A4 ขอบไม้
สำหรับสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบ



วางบล็อกสกรีนทับด้านบนกระดาษกรอง

วางกระดาษกรองบน hot plate โดยให้
ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 50 °C



สกรีนทับด้วยสีฟ้าให้ทั่วบริเวณที่กำหนดช่องทาง
ไหลจนทั่ว และให้ความร้อนเป็นเวลา
10-15 วินาที

หรือจนกว่าสีฟ้าจะละลายและซึมลงใน
กระดาษกรอง สังเกตได้จาก
กระดาษกรองจะโปร่งใสขึ้น

ภาพที่ 15 แผนผังการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

7. ศึกษาปริมาณสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐานที่เหมาะสม

หดยคสารละลายสีผสมอาหารที่ใช้เป็นตัวแทนสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน โดยหดยคลงบริเวณหดยคสารตัวอย่าง และสังเกตการไหลของสารไปตามช่องทางไหลของอุปกรณ์ตรวจวัดจนถึงบริเวณตรวจวัด โดยใช้ปริมาตรที่แตกต่างกัน ในช่วง 3-20 μL ซึ่งทำการทดสอบเช่นเดียวกันในอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษทั้ง 4 รูปแบบ

8. ศึกษาปริมาตรรีเอเจนท์

หดยคสารละลายสีผสมอาหารที่ใช้เป็นตัวแทนรีเอเจนท์ โดยหดยคลงบริเวณตรวจวัด และสังเกตการไหลของสารให้พอดีกับบริเวณตรวจวัด โดยใช้หลอดคาปิลลารี และไมโครปิเปต 1 μL และ 2 μL ซึ่งทำการทดสอบเช่นเดียวกันในอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษทั้ง 4 รูปแบบ

9. ศึกษารูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่เหมาะสม

สังเกตการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นเมื่อหดยคสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 180 μM และไนเตรท 800 μM ตรงบริเวณหดยคสารตัวอย่าง และสารไหลไปตามช่องทางไหลของอุปกรณ์ทำปฏิกิริยาเคมีกับรีเอเจนท์ และตัวรีดิวซ์ Zn ที่ถูกเตรียมไว้ก่อนแล้วตรงบริเวณตรวจวัด โดยบันทึกภาพทุกๆนาที่จนครบ 5 นาที หลังจากนั้นบันทึกภาพทุก 5 นาทีจนครบ 20 นาที

10. ศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพภายหลังการเกิดปฏิกิริยา

หดยครีเอเจนท์บริเวณตรวจวัด และตัวรีดิวซ์ Zn และทิ้งไว้ให้แห้ง 15 นาที หลังจากนั้นหดยคสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 1000 μM บริเวณหดยคสารตัวอย่าง สังเกตผลและบันทึกผลด้วยการถ่ายภาพทุกๆนาที่จนถึงนาทีที่ 5 หลังจากนั้นบันทึกภาพทุก 5 นาทีจนครบ 60 นาที นำไปหาความเข้มสี R G B และ RGB เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพ

11. ศึกษาผลของตัวรบกวน

ตัวรบกวนที่เป็นไอออนทั่วไปเช่น Cl^- SO_4^{2-} และ PO_4^{3-} โดยเตรียมสารละลาย NaCl K_2SO_4 และ KH_2PO_4 ความเข้มข้น 10 mM และนำมาเตรียมเป็นสารละลายผสมไนเตรท ไนไตรท์ และสารละลายรบกวน Cl^- SO_4^{2-} และ PO_4^{3-} ที่ความเข้มข้น 1 mM ปริมาตร 10 mL และนำไปวิเคราะห์ด้วย IC และหดยคสารละลายรบกวน Cl^- SO_4^{2-} และ PO_4^{3-} 10 mM ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่มีการเตรียมรีเอเจนท์ Griess ไว้ก่อนแล้ว บันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

12. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μ PAD)

12.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity)

หดยคสารละลายมาตรฐานไนเตรทในช่วงความเข้มข้น 1-400 μ M และไนไตรท์ในช่วงความเข้มข้น 1-120 μ M บริเวณที่หดยคสารตัวอย่างบนอุปกรณ์ตรวจวัดที่ผ่านการเตรียมรีเอเจนท์และตัวรีดิคซ์ Zn ไว้เรียบร้อยแล้ว สังเกตผลการทดลองและบันทึกผลการทดลองด้วยการถ่ายภาพ และวัดค่าความเข้มสี

12.2 ความแม่นยำ (precision)

ทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ผ่านรูปแบบค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (RSD) โดยการหดยคสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 15 120 และ 400 μ M ปริมาตร 20 μ L ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 10 60 และ 120 μ M ปริมาตร 20 μ L ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

12.3 ขีดจำกัดการหาปริมาณ (limit of quantification, LOQ)

หดยคสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0 μ M ปริมาตร 20 μ L ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่มีการหดยครีเอเจนท์เตรียมไว้ก่อนแล้ว ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ และถ่ายภาพผลการทดลอง นำไปวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม Image J สร้างกราฟมาตรฐานและหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เพื่อนำมาคำนวณหาค่า LOQ

12.3 ศึกษาความเสถียรของอุปกรณ์วิเคราะห์บนกระดาษ (stability)

นำอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่มีการบรรจุรีเอเจนท์ และตัวรีดิคซ์ Zn สำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์มาศึกษาภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันได้แก่ อุณหภูมิห้องที่หลีกเลี่ยงแสง และ โดรนแสง แสงแยบ และแสงจ้า ทั้ง 4 สภาวะบรรจุในซองพลาสติกซิปล็อค มาทดสอบกับสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 600 μ M และสารละลายมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น 120 μ M และบันทึกภาพผลการทดสอบทุกวัน เพื่อนำมาวิเคราะห์ความเข้มสีต่อเนื่องเป็นเวลา 10 วัน

13. การวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย μ PAD

หดยคตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ผ่านการสกัดลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์บนกระดาษที่มีการบรรจุรีเอเจนท์ Griess และตัวรีดิคซ์ Zn ไว้ก่อนแล้ว ทิ้งให้เกิดสีที่สมบูรณ์ และบันทึกภาพผลการทดลองด้วยการถ่ายภาพ และนำไปวิเคราะห์ความเข้มสีเขียวด้วยโปรแกรม imageJ และนำค่าความเข้มสีที่ได้ไปเทียบกับสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไนเตรทและไนไตรท์กับความเข้มสีเขียว

14. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วย Ion chromatography

14.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง

ศึกษาสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ในช่วงความเข้มข้น 0.01-200 μM ให้ครอบคลุมตลอดช่วง และใช้ความเข้มข้นอย่างน้อย 5 ระดับ และนำค่าพื้นที่พีคที่ได้มาสร้างเป็นกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนเตรทและไนไตรท์กับพื้นที่พีค

14.2 ความจำเพาะ (specificity)

ฉีดสารละลายผสมไนเตรทและไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 200 μM และสารละลายไนเตรทและไนไตรท์ที่ผสมกับสารรบกวน Cl^- SO_4^{2-} และ PO_4^{3-} 1 mM และสารละลายไนเตรทและไนไตรท์ที่ผสมลงในตัวอย่างเขม่าดินปืน เพื่อพิจารณาพีคของไนเตรทและไนไตรท์ในโครมาโตแกรม กับพีคของสารรบกวนที่อาจปรากฏอยู่

14.3 ความแม่นยำ (precision)

ทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ผ่านรูปแบบค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (RSD) โดยการเติมสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรทและไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ 5 30 และ 120 μM ลงในสารละลายตัวอย่างที่ไม่มีเขม่าดินปืน (sample blank) และฉีดเข้าเครื่อง IC ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

14.4 ศึกษาค่า LOD และ LOQ

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรท 0.005 μM และไนไตรท์ 0.01 μM และฉีดเข้าเครื่อง IC ทั้งหมด 10 ซ้ำ และหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เพื่อนำมาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ

15. การวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย Ion chromatography

หาปริมาณของไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืน โดยใช้เครื่อง Ion chromatography (IC) และควบคุมให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สภาวะเครื่อง Ion chromatography (IC)

Ion Chromatography (IC) Dionex ICS-1000	
Program	Dionex CM Dongle Chromeleon 680 SPI build 2238
Reagent-free controller	RFC-30 Dionex
Column : Guard column	DionexIonPac AG17 Guard column
Analytical column	DionexIonPac AS17-C Analytical column
Eluent	Potassium Hydroxide
Detector	Conductivity
Run time	10 min
Eluting flow rate	1.0 mL/min
Gradient elution	ความเข้มข้นเริ่มต้น 5 mM และความเข้มข้นสุดท้าย 25 mM

16. การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษกับวิธี IC

เปรียบเทียบปริมาณไนเตรท และไนไตรท์ที่ตรวจวัดได้จาก 2 วิธีด้วยการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlative analysis) โดยพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ ความชันจากสมการเส้นตรงของการหาปริมาณไนเตรท และไนไตรท์ที่ตรวจวัดได้จาก 2 วิธี

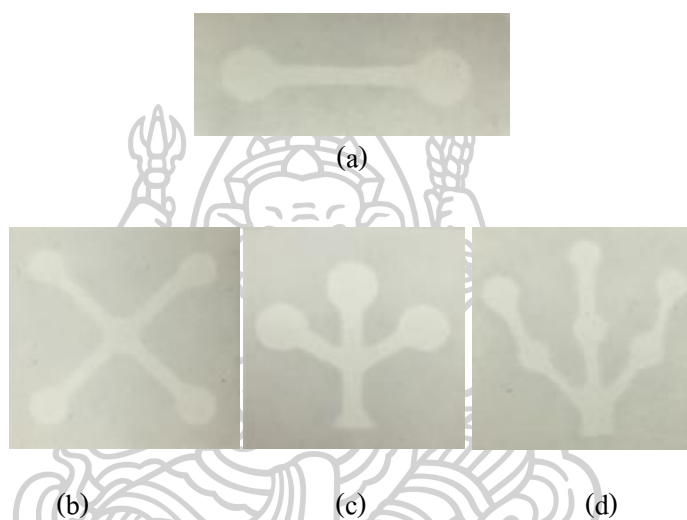


บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษประดิษฐ์ขึ้นโดยอาศัยเทคนิค screen printing โดยการสกรีน จี๊ฟลงบนบล็อกรูปที่มีกระดาษกรองอยู่ด้านล่าง และให้ความร้อนประมาณ 50 °C ประมาณ 10-15 วินาที หรือจนกว่าจี๊ฟจะละลายซึมลงในกระดาษกรอง สังเกตได้จากกระดาษกรองมีลักษณะ โปร่งใส แสดงดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้น

- (a) อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1
- (b) อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2
- (c) อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3
- (d) อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 4


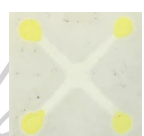


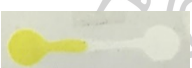







4.2 ผลการศึกษาปริมาตรรีเอเจนต์ และสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่เหมาะสม

การทดลองนี้ได้ทำการออกแบบอุปกรณ์กระดาษที่มีรูปแบบช่องทางการไหล และขนาดที่แตกต่างกันทั้งหมด 4 รูปแบบ ทำให้แต่ละรูปแบบใช้ปริมาตรรีเอเจนต์ และสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานที่เหมาะสมแตกต่างกัน ดังนั้นจึงทำการทดลองโดยใช้สีผสมอาหารเป็นตัวแทนสารละลายที่ช่วยให้สามารถมองเห็นการไหลได้อย่างง่ายด้วยตาเปล่า

4.2.1 ปริมาตรรีเอเจนต์

หยดสารละลายสีผสมอาหารซึ่งเป็นตัวแทนของปริมาตรรีเอเจนต์ลงบริเวณตรวจวัด (detection zone) และสังเกตการแพร่ของสารละลายให้ไปเต็มบริเวณตรวจวัด และไม่ล้นออกมานอกบริเวณดังกล่าว ด้วยปริมาตรที่แตกต่างกัน

สารละลายสีผสมอาหารหยดบนอุปกรณ์กระดาษทั้ง 4 แบบ โดยใช้ปริมาตรที่แตกต่างกัน ด้วยหลอดคาปิลลารี และด้วยไมโครปิเปต ปริมาตร 1 μL และ 2 μL ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 5 พบว่าสารละลายปริมาตร 1 μL และ 2 μL มีการไหลออกมาเกินบริเวณตรวจวัด ตารางที่ 5 ลักษณะการไหลของรีเอเจนท์โดยใช้ปริมาตรที่แตกต่างกัน

ปริมาตรรีเอเจนท์	ลักษณะการไหล			
	อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1	อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2	อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3	อุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 4
หลอดคาปิลลารี				
1.0 μL				
2.0 μL				

เนื่องจากข้อจำกัดทางด้านอุปกรณ์จึงไม่สามารถศึกษาปริมาตรสารละลายที่น้อยกว่า 1.0 μL ได้ ดังนั้นจึงเลือกใช้การหยดรีเอเจนท์ด้วยหลอดคาปิลลารี แทนการใช้ไมโครปิเปต โดยควบคุมการหยดให้ปริมาตรสารพอดีกับบริเวณตรวจวัดบนอุปกรณ์ตรวจวัดทั้ง 4 แบบ และสามารถประมาณได้ว่าปริมาตรน้อยกว่า 1.0 μL

4.2.2 ปริมาตรสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน

หยดสารละลายสีผสมอาหารซึ่งเป็นตัวแทนของปริมาตรสารตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐานลงบริเวณหยดสารตัวอย่าง (sampling zone) และสังเกตการไหลไปยังบริเวณตรวจวัด (detection zone) ด้วยปริมาตรที่แตกต่างกัน


สำหรับอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1 ใช้ปริมาตรที่แตกต่างกันคือ 3.5 และ 7 μL ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 6 พบว่าปริมาตรสารละลาย 3.0 μL และ 5.0 μL เมื่อหยดลงบริเวณหยดสารตัวอย่างพบว่าสารละลายไหลไปตามช่องทางไหล แต่เคลื่อนที่ไปไม่ถึงบริเวณตรวจวัด และปริมาตร 7 μL สารละลายสามารถเคลื่อนที่ไปถึงบริเวณตรวจวัดได้พอดี ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรสารที่ใช้หยดบริเวณหยดสารตัวอย่าง 7 μL บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1

ตารางที่ 6 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1

ปริมาตร (μL)	ลักษณะการไหล
3	
5	
7	




จากนั้นนำสารละลายสีผสมอาหารหยดบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2 โดยใช้ปริมาตรที่แตกต่างกันคือ 5 7 และ 10 μL ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 8 พบว่าปริมาตรสารละลาย 5 μL และ 7 μL เมื่อหยดลงบริเวณหยดสารตัวอย่างพบว่าสารละลายไหลไปตามช่องทางไหล แต่เคลื่อนที่ไม่ถึงบริเวณตรวจวัด และปริมาตร 10 μL สารละลายสามารถเคลื่อนที่ไปถึงบริเวณตรวจวัดได้พอดี ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรสารที่ใช้หยดบริเวณหยดสารตัวอย่างปริมาณ 10 μL บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2

ตารางที่ 7 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2

ปริมาตร (μL)	ลักษณะการไหล
5	
7	
10	




จากนั้นนำสารละลายสีผสมอาหารหยดบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3 โดยใช้ปริมาตรที่แตกต่างกันคือ 10 15 และ 20 μL ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 7 พบว่าปริมาตรสารละลาย 10 μL และ 15 μL เมื่อหยดลงบริเวณหยดสารตัวอย่างพบว่าสารละลายไหลไปตามช่องทางไหล แต่เคลื่อนที่ไปไม่ถึงบริเวณตรวจวัด และปริมาตร 20 μL สารละลายสามารถเคลื่อนที่ไปถึงบริเวณตรวจวัดได้พอดี ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรสารที่ใช้หยดบริเวณหยดสารตัวอย่างปริมาณ 20 μL บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3

ตารางที่ 8 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3

ปริมาตร (μL)	ลักษณะการไหล
10	
15	
20	

จากนั้นนำสารละลายสีผสมอาหารหยดบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 4 โดยใช้ปริมาตรที่แตกต่างกันคือ 3 5 และ 10 μL ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9 พบว่าปริมาตรสารละลาย 3 μL และ 5 μL เมื่อหยดลงบริเวณหยดสารตัวอย่างพบว่าสารละลายไหลไปตามช่องทางไหล แต่เคลื่อนที่ไปไม่ถึงบริเวณตรวจวัด และปริมาตร 10 μL สารละลายสามารถเคลื่อนที่ไปถึงบริเวณตรวจวัดได้พอดี ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาตรสารที่ใช้หยดบริเวณหยดสารตัวอย่างปริมาณ 10 μL บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 4

ตารางที่ 9 ลักษณะการไหลที่เกิดขึ้นโดยใช้ปริมาตรสารละลายที่แตกต่างกันของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 4

ปริมาตร (μL)	ลักษณะการไหล
3	
5	
10	

4.3 ผลการศึกษารูปแบบอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่เหมาะสม

เมื่อทำการหยดสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ความเข้มข้น $180 \mu\text{M}$ ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่มีหยดรีเอเจนต์เตรียมไว้ก่อนแล้วบริเวณตรวจวัด สังเกตการณ์เกิดสีที่เกิดขึ้นหลังเกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 20 นาที โดยทำการบันทึกภาพทุกๆ นาทีจนครบ 5 นาที หลังจากนั้นบันทึกภาพทุก 5 นาทีจนครบ 20 นาที และทำการเปรียบเทียบอุปกรณ์ตรวจวัดทั้ง 4 แบบที่เวลา 15 นาที เพื่อหาอุปกรณ์ที่มีความเหมาะสมในการตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ ดังตารางที่ 10 พบว่าอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 2 และแบบที่ 4 มีพื้นที่บริเวณตรวจวัดขนาดเล็กเกินไป เมื่อทำการหยดรีเอเจนต์จึงเกิดการไหลออกมาเกินบริเวณที่ต้องการไปยังช่องทางไหล ซึ่งส่งผลต่อการตรวจวัดความเข้มข้นในภายหลัง อีกทั้งช่องทางไหลมีพื้นที่ที่แคบทำให้สารตัวอย่าง หรือสารละลายมาตรฐานเคลื่อนที่ได้ไม่ดี หลังจากนั้นนำอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1 และแบบที่ 3 ตรวจวัดกับสารละลายไนเตรทความเข้มข้น $800 \mu\text{M}$ บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่มีหยดรีเอเจนต์เตรียมไว้ก่อนแล้วบริเวณตรวจวัด และหยด Zn suspension เพื่อเป็นตัวรีดิวซ์ไนเตรท พบว่าอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 1 ไม่มีพื้นที่ที่เหมาะสม สำหรับหยด Zn suspension จากภาพทำการหยดที่บริเวณช่องทางไหลทำให้ชัดเจนการเคลื่อนที่ของสารละลายตัวอย่าง และหากหยดที่บริเวณตรวจวัดทำให้ชัดเจนการปรากฏสีและตรวจวัดความเข้มข้น และหากหยดที่บริเวณหยดสารตัวอย่าง ผง Zn จะเกิดกระกระจายและไหลรวมไปกับสารละลาย ดังนั้นอุปกรณ์ตรวจวัดแบบที่ 3 จึงมีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์











ตารางที่ 10 อุปกรณ์ตรวจวัดทั้ง 4 แบบ ณ เวลาที่ 15 นาที ที่ตรวจวัดกับไนเตรท และไนไตรท์

อุปกรณ์ตรวจวัด ณ เวลาที่ 15 นาที	ตรวจวัดไนไตรท์(NO_2^-)	ตรวจวัดไนเตรท (NO_3^-)
แบบที่ 1		
แบบที่ 2		-
แบบที่ 3		
แบบที่ 4		-

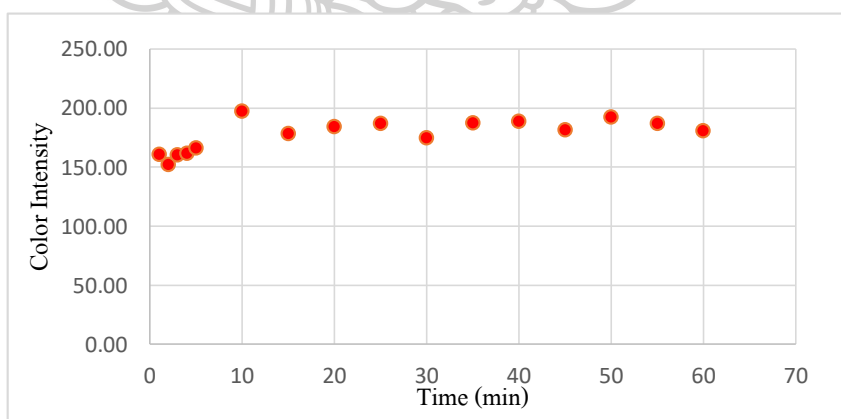
4.4 ผลการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพหลังเกิดปฏิกิริยา

เมื่อทำการหยดรีเอเจนต์บริเวณตรวจวัดและทิ้งไว้ให้แห้ง 15 นาที หลังจากนั้นหยดสารละลายมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้น $1000 \mu\text{M}$ ที่บริเวณตรวจวัด และทำการถ่ายภาพทุกนาทีจนถึงนาทีที่ 5 หลังจากนั้นบันทึกภาพทุก 5 นาทีจนครบ 60 นาที แสดงผลดังตารางที่ 7 ซึ่งพบว่าที่เวลา 5 นาทีจะปรากฏสีม่วงแดงบนบริเวณตรวจวัดที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าอย่างชัดเจน หลังจากนั้นจะปรากฏสีเข้มขึ้นเมื่อเวลามากขึ้น ได้ผลดังตารางที่ 11 ตารางที่ 11 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานไนเตรท $1000 \mu\text{M}$ หลังเกิดปฏิกิริยา ณ เวลาต่างๆ

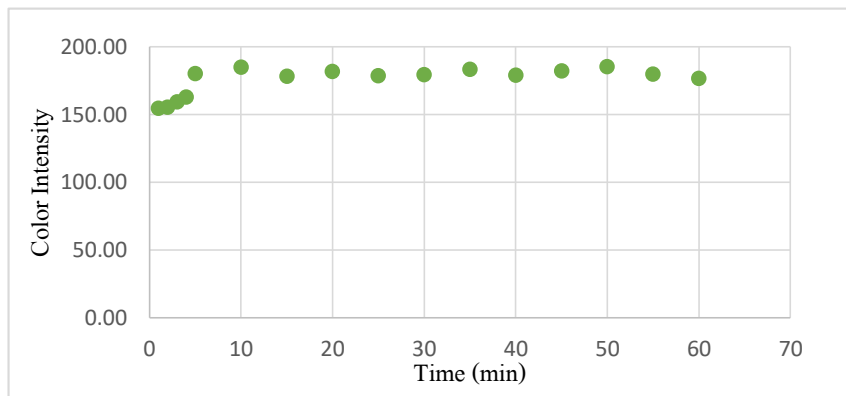
นาทีที่	ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัด	นาทีที่	ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัด
1		25	
2		30	
3		35	

นาทีที่	ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัด	นาทีที่	ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัด
4		40	
5		45	
10		50	
15		55	
20		60	

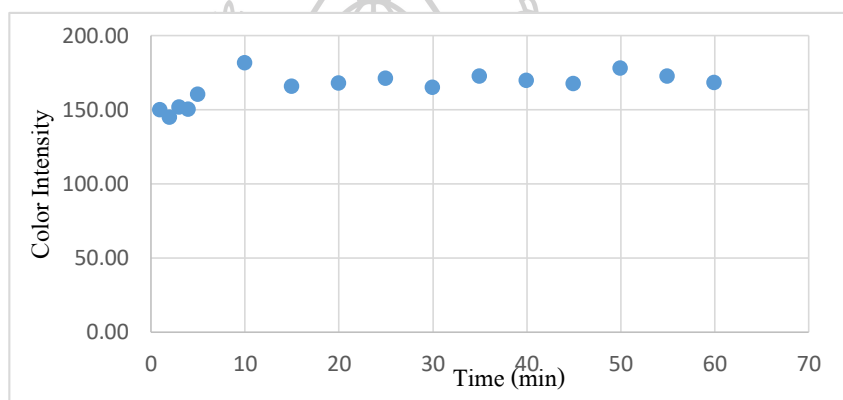
จากนั้นนำภาพถ่ายที่เวลาต่างๆไปวัดค่าความเข้มสีด้วย ImageJ และสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพกับค่าความเข้มสีแดง (R) ดังภาพที่ 17 ค่าความเข้มสีเขียว (G) ดังภาพที่ 18 ค่าความเข้มสีน้ำเงิน (B) ดังภาพที่ 19 และค่าความเข้มของ RGB ดังภาพที่ 20



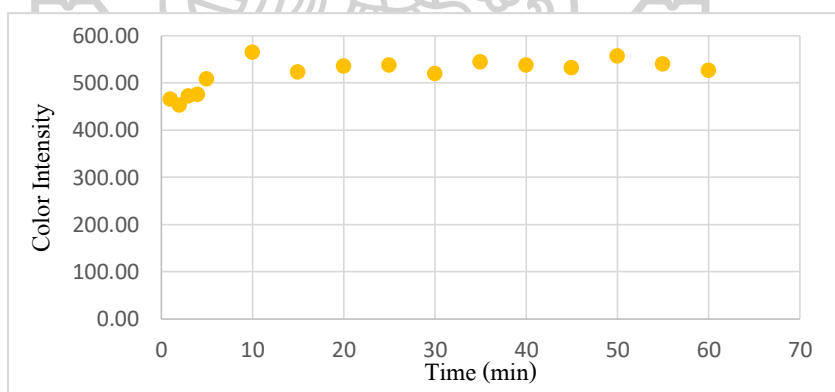
ภาพที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ (นาที) กับค่าความเข้มสีแดง



ภาพที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ (นาที) กับค่าความเข้มสีเขียว



ภาพที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ (นาที) กับค่าความเข้มสีฟ้า



ภาพที่ 20 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาถ่ายภาพ(นาที) กับค่าความเข้มสี RGB

จากการศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพหลังเกิดปฏิกิริยา เมื่อนำภาพถ่ายไปวัดความเข้มสีด้วย ImageJ พบว่าในช่วงนาที่ที่ 1-10 ค่าความเข้มสีของสีทั้ง 4 ชนิดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และตั้งแต่นาทีที่ 10 เป็นต้นไปค่าความเข้มสีแต่ละชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน และค่าความเข้มสีลดลงเมื่อเวลามากกว่า 50 นาที โดยเฉพาะค่าความเข้มสีของสีเขียวให้ค่าความเข้มสีที่ใกล้เคียงกันมากที่สุด ในช่วงเวลาที่เหมาะสมกับการถ่ายภาพนั้นคือ 10-50 นาที ดังนั้นจึงเลือกใช้เวลาในการถ่ายภาพหลังเกิดปฏิกิริยาที่ 10 นาที

4.5 ผลการศึกษาตัวรบกวน

จากการหดยุทธสารละลายสารรบกวน 3 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ Cl^- SO_4^{2-} และ PO_4^{3-} ที่มีความเข้มข้น 10 mM ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษปริมาตร 20 μL บริเวณหยดสารตัวอย่าง และที่บริเวณตรวจวัดหยดรีเอเจนต์ Griess เมื่อสารละลายสารรบกวนเคลื่อนที่ไปยังบริเวณตรวจวัด ทิ้งไว้ 10 นาทีและทำการบันทึกภาพ พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง แสดงดังภาพที่ 21 ดังนั้นการตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ด้วยรีเอเจนต์ Griess บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษไม่ถูกรบกวนด้วยสารรบกวนดังกล่าว



ภาพที่ 21 อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่ทดสอบกับสารละลายสารรบกวน

(a) สารละลาย NaCl

(b) สารละลาย K_2SO_4


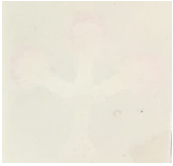

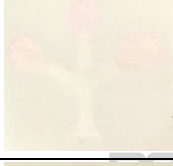

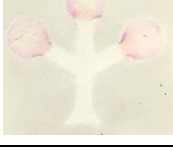
(c) สารละลาย KH_2PO_4

4.6 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μPAD)

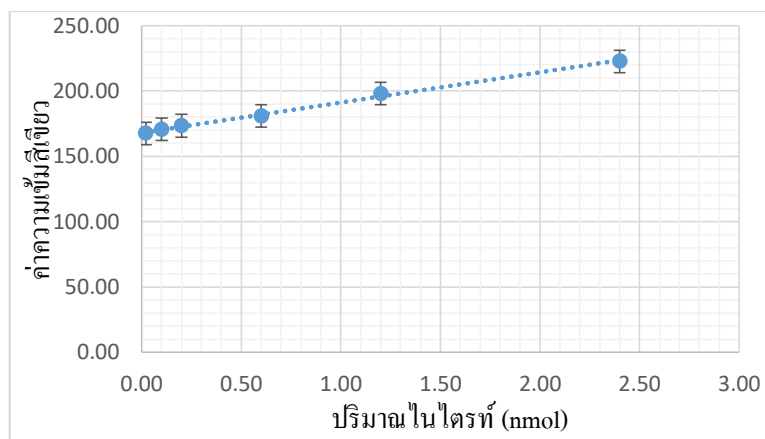
4.6.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง (linearity)

สำหรับการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ เมื่อหยดรีเอเจนต์ Griess และสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 1-120 μM (0.02-2.4 nmol) ปริมาตร 20 μL ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาและถ่ายภาพที่เวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำภาพถ่ายไปวัดค่าความเข้มสีเขียวด้วยโปรแกรม imageJ ได้ข้อมูลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ค่าความเข้มสีเทียบบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรที่ที่ความเข้มข้นช่วง 1-120 μM
(0.02-2.4 nmol)

อุปกรณ์ตรวจวัด ณ เวลาที่ 10 นาที	ความเข้มข้นไนโตรที่ (μM)	ปริมาณไนโตรที่ (nmol)	ค่าความเข้มสีเขียวเฉลี่ย (n=3)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
	1	0.02	167.54	5.4103
	5	0.10	170.75	0.7038
	10	0.2	173.45	1.3683
	30	0.6	190.88	2.9932
	60	1.2	215.06	1.8451
	120	2.4	222.70	8.4606

จากภาพอุปกรณ์ตรวจวัดจะพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรที่เพิ่มขึ้น สีม่วงแดงที่ปรากฏและสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่ามีสีที่เข้มมากขึ้นเช่นเดียวกันค่าความเข้มสีเขียว หลังจากนั้นนำข้อมูลในตารางที่ 8 ไปสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรที่ (nmol) กับค่าความเข้มสีเขียว ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 22 โดยให้สมการเส้นตรงเท่ากับ $y = 23.077x + 168.18$ และ $R^2 = 0.9962$





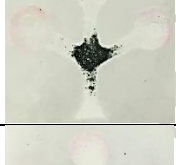



ภาพที่ 22 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนไตรท์ (nmol) กับค่าความเข้มสีเขียว

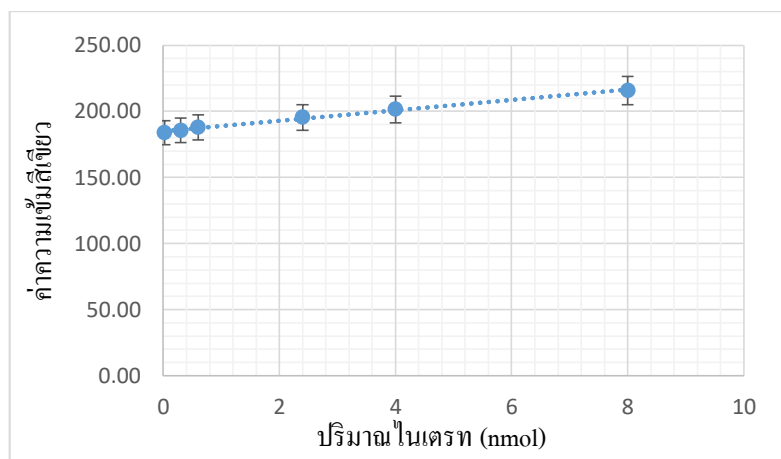
สำหรับการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรท เมื่อหยดรีเอเจนต์ Griess ตัวรีดิคซ์ Zn suspension และสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 1-400 μM (0.02-8 nmol) ปริมาตร 20 μL ทั้งให้เกิดปฏิกิริยาและถ่ายภาพที่เวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำภาพถ่ายไปวัดค่าความเข้มสีเขียวด้วยโปรแกรม imageJ ได้ข้อมูลดังตารางที่ 13



ตารางที่ 13 ค่าความเข้มข้นสีเทียบบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทที่ความเข้มข้นช่วง 1-400 μM
(0.02-8 nmol)

อุปกรณ์ตรวจวัด ณ เวลาที่ 10 นาที	ความเข้มข้นไนเตรท (μM)	ปริมาณไนเตรท (nmol)	ค่าความเข้มข้นสีเทียบเฉลี่ย (n=3)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
	1	0.02	183.91	2.9263
	15	0.3	185.84	3.7230
	30	0.6	187.88	2.3639
	120	2.4	195.39	3.0717
	200	4	201.45	0.8816
	400	8	215.62	3.7414

จากภาพอุปกรณ์ตรวจวัดจะพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนเตรทเพิ่มขึ้นสีม่วงแดงที่ปรากฏและสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่ามีสีที่เข้มมากขึ้นเช่นเดียวกัน แต่ลักษณะการเกิดสีจะไม่ทั่วพื้นที่ตรวจวัดเหมือนกรณีไนเตรท และนำข้อมูลในตารางที่ 12 ไปสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนเตรท(nmol) กับค่าความเข้มข้นสีเทียบ ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 23 โดยให้สมการเส้นตรงเท่ากับ $y = 3.9272x + 184.94$ และ $R^2 = 0.9943$



ภาพที่ 23 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอินโดล(nmol) กับค่าความเข้มสีเขียว

4.6.2 ความแม่นยำ (precision)

ศึกษาความแม่นยำ (precision) ของวิธีวิเคราะห์ผ่านรูปแบบค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพันธ์ (%RSD) โดยทดสอบที่ความเข้มข้น 3 ระดับ สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 10 60 และ 120 μM (0.2 1.2 และ 2.4 nmol) และสารละลายมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 15 120 และ 400 μM (0.3 2.4 และ 8.0 nmol) โดยหยดลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทบนกระดาษปริมาตร 20 μL และมีการหยดรีเอเจนต์ และตัวรีดิคซ์ Zn เตรียมไว้ก่อนแล้วที่บริเวณตรวจวัดทิ้งไว้ 10 นาที จึงทำการถ่ายภาพและนำไปหาค่าความเข้มสีเขียวได้ข้อมูลดังตารางที่ 14 และ 15 ตารางที่ 14 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

ปริมาณไนไตรท์ (nmol)	ค่าความเข้มสีเขียว เฉลี่ย (n=3)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	ค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพันธ์ (%RSD)
0.2	173.45	1.3683	0.79
1.2	198.06	1.1655	0.59
2.4	222.70	8.4606	3.80

ตารางที่ 15 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรทบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

ปริมาณไนเตรท (nmol)	ค่าความเข้มสีเขียว เฉลี่ย (n=3)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	ค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพันธ์ (%RSD)
0.3	185.54	3.7230	2.01
2.4	192.39	3.0717	1.57
8.0	211.483	3.7414	1.74

จากตารางที่ 14 พบว่าการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษให้ค่า %RSD ในช่วง 0.59-3.80 และจากตารางที่ 15 การวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรทให้ค่า %RSD ในช่วง 1.57-2.01 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ด้วยรีเอเจนท์ Griess บนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมีความแม่นยำสูงในการตรวจวัด

4.6.3 ศึกษาขีดจำกัดการหาปริมาณ (LOQ)

เมื่อทำการหาค่าสารละลายไนเตรท และไนไตรท์ 0 μM ปริมาตร 20 μL บริเวณหยดสารตัวอย่างบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ที่มีการหยดรีเอเจนท์และตัวรีดิคซ์เตรียมไว้ก่อนแล้วที่บริเวณตรวจวัด ทิ้งไว้ 10 นาที จึงทำการถ่ายภาพ และนำไปหาค่าความเข้มสีเฉลี่ย โดยวิเคราะห์ซ้ำทั้งหมด 10 ครั้ง และคำนวณหาค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ได้ข้อมูลดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ค่าความเข้มสีเฉลี่ยของสารละลายไนเตรท และไนไตรท์ 0 μM

ครั้งที่	ค่าความเข้มสีเฉลี่ยของไนเตรท	ค่าความเข้มสีเฉลี่ยของไนไตรท์
1	182.47	163.19
2	188.42	160.48
3	183.12	165.94
4	185.34	162.70
5	187.90	161.18
6	184.03	169.23
7	183.67	164.13
8	183.73	169.23
9	185.28	161.21
10	181.20	160.33
ค่าเฉลี่ย	184.52	163.82
SD	2.2762	3.3036

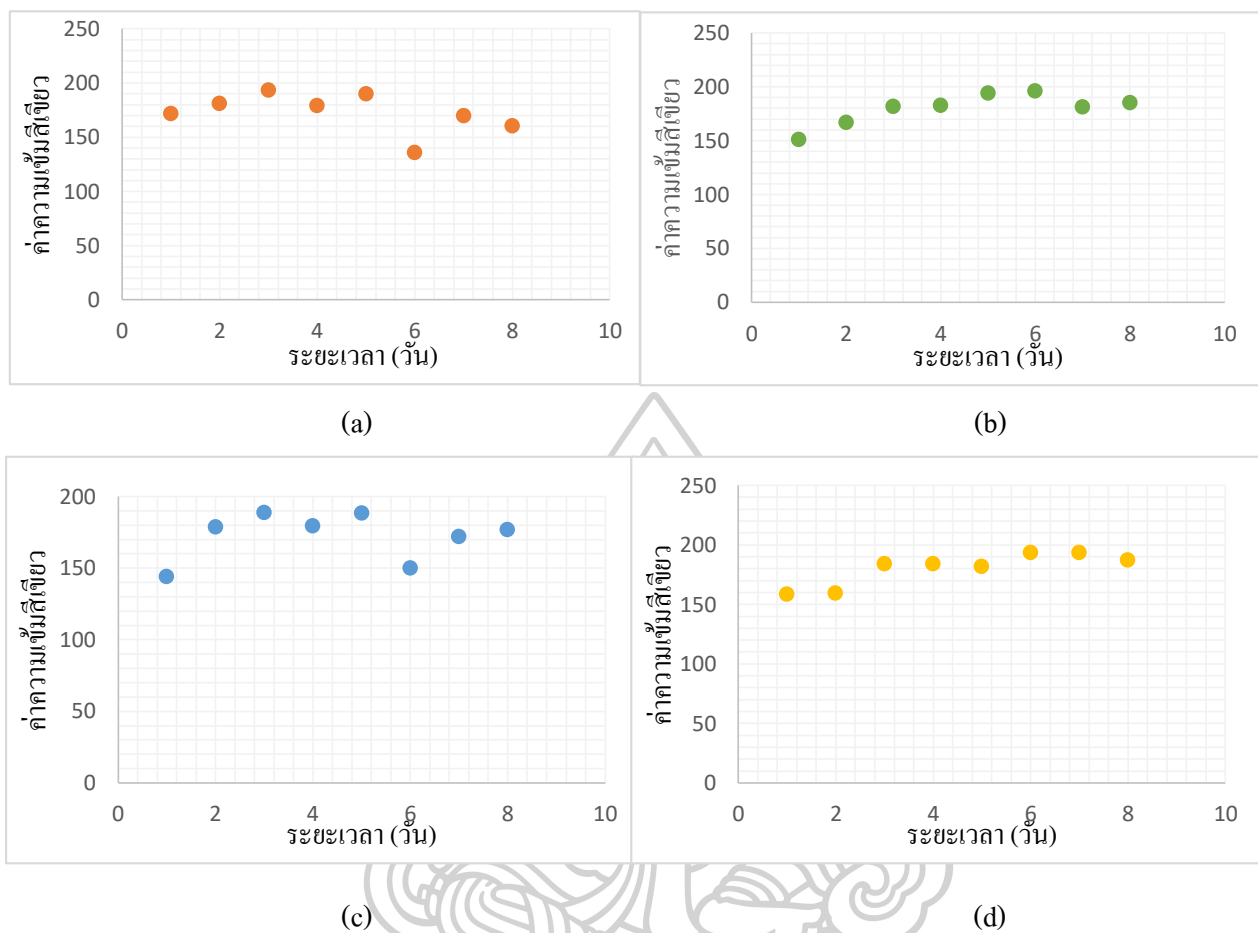
จากตารางที่ 16 นำค่า SD ของไนเตรทและไนไตรท์มาคำนวณหาค่า LOQ โดย $LOQ = 10SD/slope$ ผลการคำนวณ LOQ สำหรับไนเตรทเป็น 5.80 nmol และผลการคำนวณ LOQ สำหรับไนไตรท์เป็น 1.43 nmol

จากค่า LOQ ของอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์บนกระดาษที่คำนวณได้ข้างต้น นั้นสังเกตได้ว่ามีค่าที่มากกว่า ค่าปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ ณ จุดแรกของกราฟมาตรฐาน ระหว่างปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ (nmol) กับค่าความเข้มสีเขียว ซึ่งเท่ากับ 0.02 nmol ซึ่งเป็นผลมาจากค่า SD ที่มีค่ามาก ดังนั้นจึงเลือกกราฟค่า LOQ โดยพิจารณาจากค่าปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ ณ จุดแรกของกราฟมาตรฐานนั้นคือ 0.02 nmol

4.6.4 ศึกษาความเสถียรของอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (stability)

นำอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่การบรรจุเอเจนต์สำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ มาศึกษาภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันได้แก่ อุณหภูมิห้องที่หลีกเลี่ยงแสง อุณหภูมิห้องที่โดนแสง แสงเย็น และแสงแข็ง ทั้ง 4 สภาวะบรรจุในถุงซิปล็อค มาทดสอบกับสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 600 μM และสารละลายมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น 120 μM ต่อเนื่องเป็นเวลา 10 วัน

ลักษณะภายนอกที่สังเกตเห็นได้สำหรับอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์ในสภาวะอุณหภูมิห้องที่โดนแสงและเลี่ยงแสงวันที่ 1-6 หลังหยดสารละลายมาตรฐานสามารถเกิดปฏิกิริยาและเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงได้ แต่ในวันที่ 2 และ 3 จะปรากฏสีน้ำตาลขึ้นบริเวณตรวจวัด และตั้งแต่วันที่ 7 เป็นต้นไปไม่เกิดการเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง สำหรับสภาวะแสงเย็นและแสงแข็งในวันที่ 6 ปรากฏสีชมพูอ่อนขึ้นเล็กน้อยบริเวณตรวจวัดก่อนหยดสารละลายมาตรฐาน และตั้งแต่วันที่ 8 เป็นต้นไปไม่เกิดการเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง และสำหรับอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทสามารถตรวจวัดได้ 2 วัน เพราะวันที่ 3 เป็นต้นไป ตัวรีดิคซ์ Zn suspension ที่หยดเตรียมไว้ก่อนนั้นแห้งมากขึ้นและหลุดออกจากอุปกรณ์ตรวจวัด อุปกรณ์นี้จึงไม่มีประสิทธิภาพในการรีดิคซ์ไนเตรทได้และไม่สามารถตรวจวัดได้ และเมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ไปวัดค่าความเข้มสีเขียวด้วย ImageJ ทั้ง 4 สภาวะในแต่ละวันเปรียบเทียบกับกันดังภาพที่ 24



ภาพที่ 24 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นเชื้อกับระยะเวลา (วัน) ของอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์ที่สภาวะต่างๆ โดย (a) อุณหภูมิห้อง โคนแสง (b) อุณหภูมิห้อง เลียงแสง (c) แสงเย็น (d) แสงแข็ง

จากภาพที่ 24 ค่าความเข้มข้นสีเขียวของอุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรที่ทั้ง 4 สภาวะพบว่าในช่วง 3 วันแรกมีแนวโน้มค่าความเข้มข้นสีเขียวเพิ่มขึ้น ที่สภาวะอุณหภูมิห้อง โคนแสง และแช่เย็นตั้งแต่วันที่ 5 เป็นต้นไปมีค่าความเข้มข้นสีเขียวลดลง ที่อุณหภูมิห้องแสงและแช่แข็งตั้งแต่วันที่ 4 เป็นต้นไปมีค่าใกล้เคียงกันจนถึงวันสุดท้ายที่สามารถตรวจวัดได้ ดังนั้นการเก็บรักษาอุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรที่อุณหภูมิห้อง โคนแสงและแช่เย็นเก็บได้ 5 วัน ขณะที่อุณหภูมิห้องแสงและแช่แข็งเก็บได้ 7 วัน

4.7 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย μ PAD

จากการตรวจวัดสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนโตรที่ ทั้งหมด 8 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่บริเวณฝ่ามือและหลังมือทั้งสองข้างจำนวน 5 ตัวอย่าง และปลอกกระสุนปืนขนาด 9 มม.จำนวน 3 ตัวอย่าง โดยหยดลงบนบริเวณหยดสารตัวอย่างปริมาตร 20 μ L เมื่อสารละลายตัวอย่างเคลื่อนที่ไปยังบริเวณตรวจวัด และทำปฏิกิริยากับรีเอเจนท์ Gress และตัวรีดิคซ์ Zn suspension ปรากฏเป็นสีม่วงแดง ทำการถ่ายภาพ และนำค่าความเข้มข้นที่วัดได้ไปแทนค่าหาปริมาณ ไนเตรทและไนโตรที่ จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน และได้ผลการทดลองเป็นปริมาณไนเตรทและไนโตรที่ ดังตารางที่ 17 ตารางที่ 17 ปริมาณไนเตรทและไนโตรที่ในเขม่าดินปืนที่ตรวจวัดบนอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	ปริมาณสาร (nmol)	
		ไนเตรท	ไนโตรที่
1	ฝ่ามือขวา	-	1.62
	หลังมือขวา	-	0.34
	ฝ่ามือซ้าย	-	-
	หลังมือซ้าย	-	0.54
2	ฝ่ามือขวา	-	0.35
	หลังมือขวา	-	0.29
	ฝ่ามือซ้าย	-	0.43
	หลังมือซ้าย	1.18	0.39

ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	ปริมาณสาร (nmol)	
		ไนเตรท	ไนไตรท์
3	ฝ่ามือขวา	-	0.29
	หลังมือขวา	0.11	0.34
	ฝ่ามือซ้าย	-	1.39
	หลังมือซ้าย	0.45	0.31
4	ฝ่ามือขวา	0.63	0.28
	หลังมือขวา	0.15	0.39
	ฝ่ามือซ้าย	1.04	0.30
	หลังมือซ้าย	0.70	0.30
5	ฝ่ามือขวา	0.05	0.37
	หลังมือขวา	-	0.33
	ฝ่ามือซ้าย	-	0.48
	หลังมือซ้าย	0.35	0.46
6	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	1.72	0.35
7	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	1.02	0.33
8	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	4.06	0.55

หมายเหตุ – ไม่สามารถตรวจวัดได้

จากตารางที่ 17 พบว่าที่บริเวณปลอกกระสุนปืนตรวจพบได้ทั้งไนเตรทและไนไตรท์ โดยมีปริมาณไนเตรทมากกว่าไนไตรท์ และที่บริเวณมือมีบางบริเวณที่ไม่สามารถตรวจวัดไนเตรทได้ซึ่งเป็นผลจากปริมาณไนเตรทในตัวอย่างมีน้อยกว่าขีดจำกัดในการหาปริมาณของอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทบนกระดาษ

อีกทั้งปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ที่ตรวจพบที่บริเวณมือพบน้อยกว่าบริเวณปลอกกระสุนปืนซึ่งสอดคล้องกับข้อเท็จจริงที่ว่า บริเวณมือเป็นเขม่าดินปืนที่เกิดหลังการยิงปืนติดต่อกัน 3 ครั้ง และที่ปลอกกระสุนปืนเป็นเขม่าดินปืนที่เกิดหลังการยิงปืน และดินปืนที่ตกค้างอยู่หลังการเผาไหม้

4.8 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วย Ion chromatography (IC)

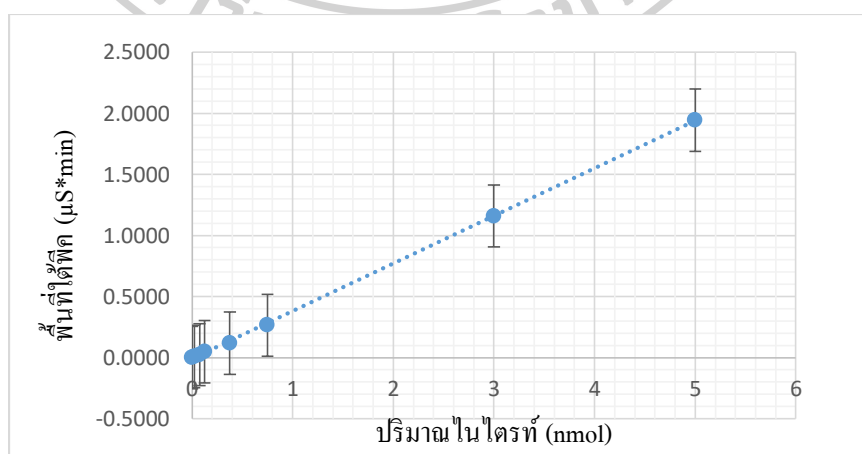
4.8.1 ช่วงความเป็นเส้นตรง

เตรียมสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ในช่วงความเข้มข้น 0.01-200 μM มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง IC ปริมาตร 25 μL โดยวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง และนำมาหาค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ข้อมูลดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ในช่วง 0.01-200 μM

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (μM)	ปริมาณไนไตรท์ (nmol)	ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
0.01	0.00025	0.0008	0.0002
1	0.025	0.0084	0.0002
3	0.075	0.0232	0.0014
5	0.125	0.0485	0.0018
15	0.375	0.1178	0.0004
30	0.750	0.2650	0.0048
120	3	1.1592	0.0064
200	5	1.9425	0.0227

นำข้อมูลไปสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$) กับปริมาณไนไตรท์ (nmol) ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 25 โดยมีสมการเส้นตรงเป็น $y = 0.3897x - 0.0098$ และ $R^2 = 0.9997$



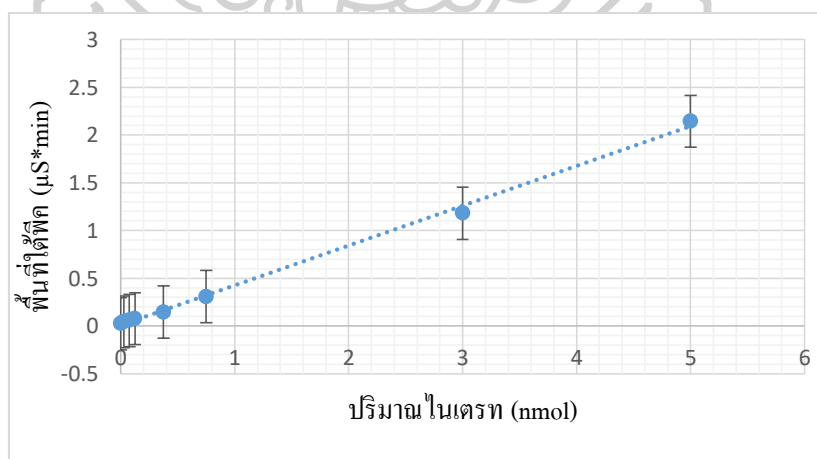
ภาพที่ 25 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$) กับปริมาณไนไตรท์ (nmol) ช่วง 0.00025-5 nmol

เตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทความเข้มข้นในช่วงความเข้มข้น 0.01-200 μM มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง IC ปริมาตร 25 μL โดยวิเคราะห์ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง และนำมาหาค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ข้อมูลดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 0.01-200 μM

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานไนเตรท(μM)	ปริมาณไนเตรท (nmol)	ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S}*\text{min}$)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
0.01	0.00025	0.0235	0.0021
1	0.025	0.0425	0.0006
3	0.075	0.0570	0.0025
5	0.125	0.0775	0.0020
15	0.375	0.1462	0.0021
30	0.750	0.3082	0.0021
120	3	1.1806	0.0103
200	5	2.1434	0.0062

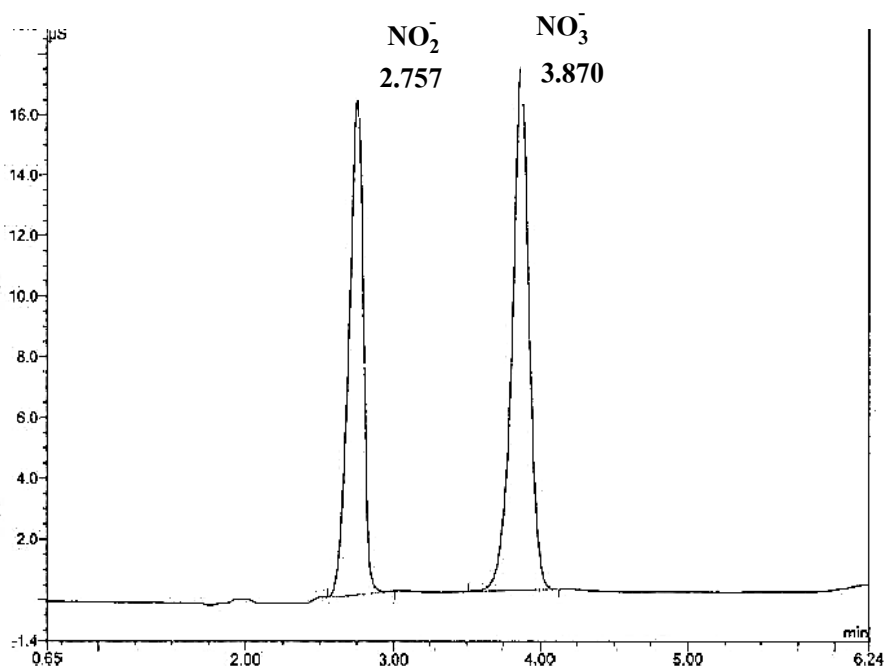
นำข้อมูลไปสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S}*\text{min}$) กับปริมาณไนเตรท (nmol) ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 26 โดยมีสมการเส้นตรงเป็น $y = 0.4164x + 0.0107$ และ $R^2 = 0.9974$



ภาพที่ 26 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค ($\mu\text{S}*\text{min}$) กับปริมาณไนเตรท (nmol) ช่วง 0.00025-5 nmol

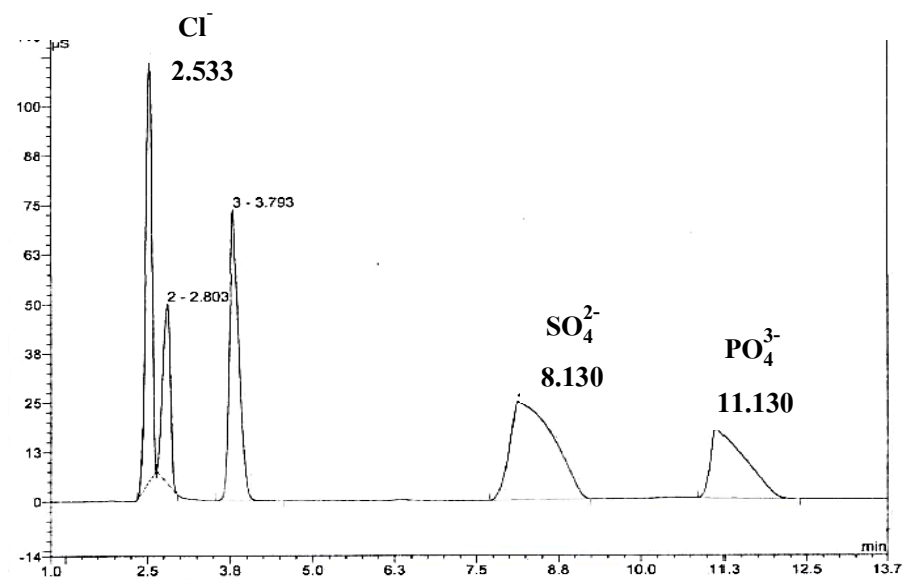
4.8.2 ความจำเพาะ (specificity)

จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรทและไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 200 μM และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง IC จำนวน 3 ซ้ำ พบว่าโครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรทและไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 200 μM แสดงผลโครมาโตแกรมดังภาพที่ 27



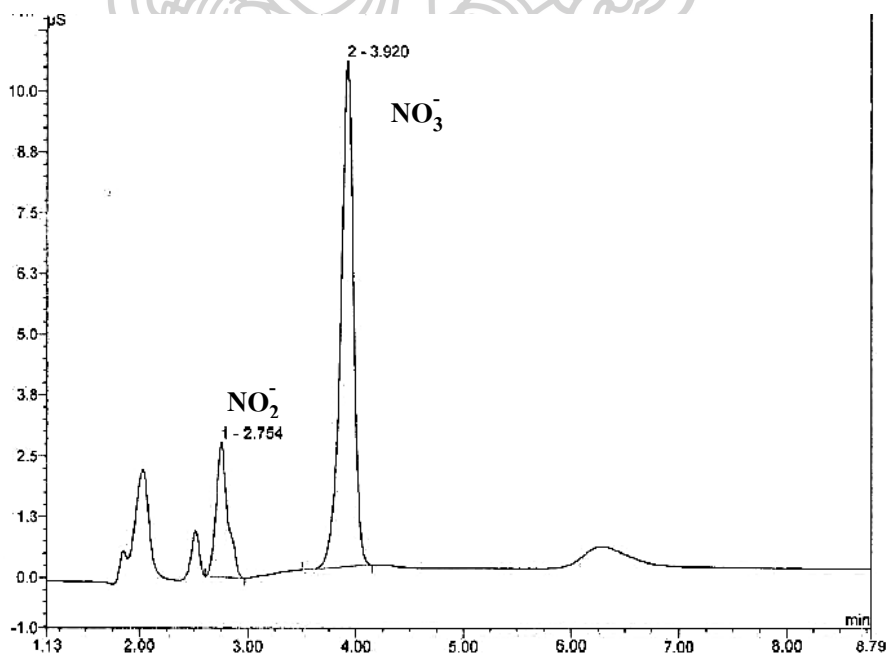
ภาพที่ 27 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรทและไนไตรท์ 200 μM

จากโครมาโตแกรมดังภาพที่ 27 พบว่าค่า Retention time ของไนไตรท์เป็น 2.757 นาที และของไนเตรทเป็น 3.870 นาที ลักษณะพีคของไนไตรท์และไนเตรทแยกออกจากกันอย่างชัดเจน และจากการเตรียมสารละลายของสารรบกวนและนำมาผสมกับสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรทและไนไตรท์เพื่อศึกษาผลการรบกวนจากสารอื่นๆที่อาจมีในเขม่าดินปืน แสดงผลโครมาโตแกรมดังภาพที่ 28



ภาพที่ 28 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไตรท์ ผสมกับสารรบกวน

จากโครมาโตแกรมดังกล่าวพบว่ามีสารรบกวนทั้งสามชนิด ได้แก่ Cl^- SO_4^{2-} และ PO_4^{3-} มีค่า Retention time ที่ 2.533 นาที 8.130 นาที และ 11.130 นาทีตามลำดับ ลักษณะพีคของสารรบกวนทั้งสามชนิดแยกออกจากไนเตรทและไนไตรท์ และเมื่อนำสารละลายมาตรฐานผสมไนเตรทและไนไตรท์ผสมลงในสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนเพื่อศึกษาผลการรบกวนจากสารอื่นๆที่มีอยู่ในเขม่าดินปืน แสดงผลโครมาโตแกรมดังภาพที่ 29



ภาพที่ 29 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไตรท์ ผสมกับสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืน

จากโครมาโตแกรมดังภาพที่ 29 พบว่าไม่มีการซ้อนทับกับพีคของสารที่ต้องการวิเคราะห์ ดังนั้นการตรวจวัดในเตรท และในไตรท์ด้วยเทคนิคนี้จึงไม่ถูกรบกวนด้วยพีคของสารอื่นๆที่มีอยู่ในตัวอย่างเขม่าดินปืน

4.8.3 ความแม่นยำ (precision)

ศึกษาความแม่นยำ (precision) ของวิธีวิเคราะห์ด้วย IC ผ่านรูปแบบค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD) โดยทดสอบสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ และไนเตรท ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ 5 30 และ 120 μM (0.125 0.750 และ 3 nmol) และฉีดเข้าเครื่อง IC ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ แสดงผลดังตารางที่ 20 และ 21

ตารางที่ 20 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ด้วย IC

ปริมาณไนไตรท์ (nmol)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย (n=3)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	ค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD)
0.125	0.0458	0.0018	3.94
0.750	0.2650	0.0048	1.80
3	1.1592	0.0064	0.55

ตารางที่ 21 ผลการศึกษาความแม่นยำในการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรทด้วย IC

ปริมาณไนเตรท (nmol)	พื้นที่ใต้พีคเฉลี่ย (n=3)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	ค่าร้อยละเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ (%RSD)
0.125	0.0775	0.0020	2.54
0.750	0.3082	0.0021	0.68
3	1.1806	0.0103	0.87

จากตารางที่ 20 พบว่าการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ด้วย IC ให้ค่า %RSD ในช่วง 0.55-3.94 และ จากตารางที่ 21 การวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรทด้วย IC ให้ค่า %RSD ในช่วง 0.68-2.54 แสดงให้เห็นว่าการตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ด้วยวิธี IC มีความแม่นยำสูงในการตรวจวัด

4.8.4 ค่า LOD และ LOQ

เมื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 0.005 μM และไนไตรท์เข้มข้น 0.01 μM และวิเคราะห์ด้วย IC ทั้งหมด 10 ครั้ง นำพื้นที่ใต้พีคของไนเตรท และไนไตรท์มาคำนวณหา ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน แสดงผลดังตารางที่ 22

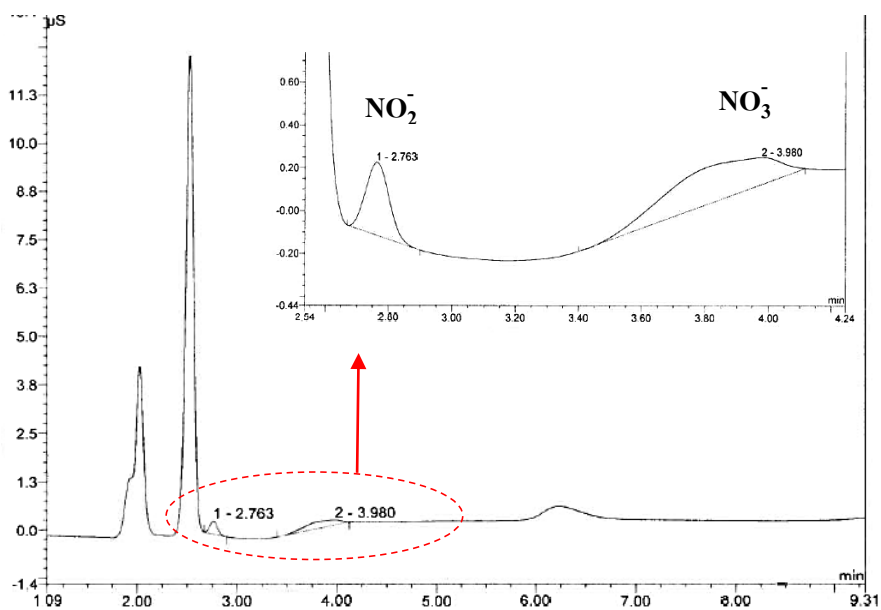
ตารางที่ 22 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 0.005 μM และไนไตรท์ 0.01 μM

ครั้งที่	พื้นที่ใต้พีค ไนเตรท ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)	พื้นที่ใต้พีค ไนไตรท์ ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)
1	0.0033	0.0005
2	0.0027	0.0006
3	0.0029	0.0007
4	0.0028	0.0011
5	0.0029	0.0005
6	0.0028	0.0007
7	0.0029	0.0010
8	0.0028	0.0007
9	0.0033	0.0005
10	0.0028	0.0006
ค่าเฉลี่ย	0.0029	0.0007
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	0.0002	0.0002

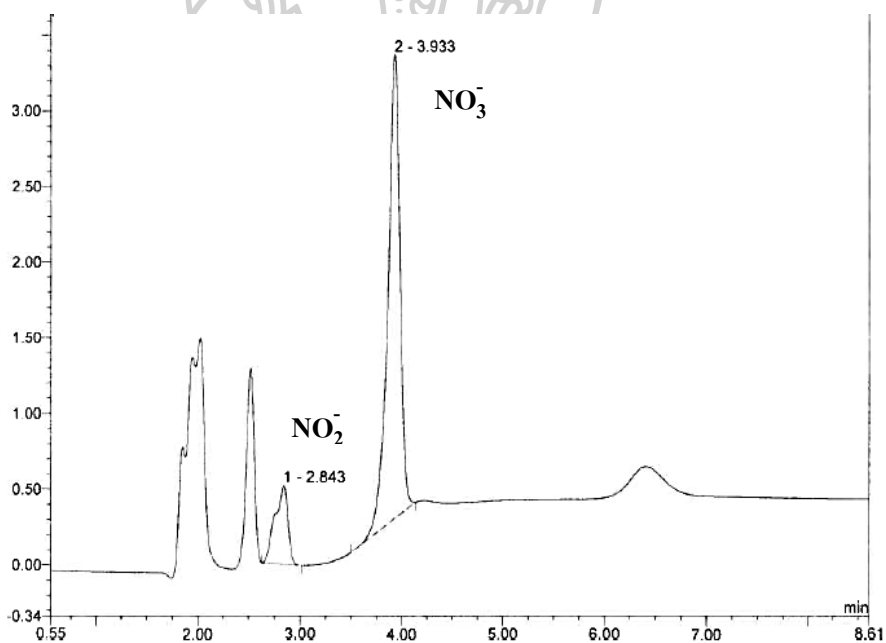
จากตารางที่ 22 นำค่า SD ของไนเตรทและไนไตรท์มาคำนวณหาค่า LOD และ LOQ โดย $\text{LOD} = 3\text{SD}/\text{slope}$ และ $\text{LOQ} = 10\text{SD}/\text{slope}$ ผลการคำนวณ LOD และ LOQ สำหรับไนเตรทเป็น 0.0015 และ 0.0050 nmol ตามลำดับ และ LOD และ LOQ สำหรับไนไตรท์เป็น 0.0016 และ 0.0053 nmol ตามลำดับ

4.9 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย Ion chromatography

จากการการวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วย Ion chromatography ทั้งหมด 8 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่บริเวณฝ่ามือและหลังมือทั้งสองข้างจำนวน 5 ตัวอย่าง และปลอกกระสุนปืนขนาด 9 มม. จำนวน 3 ตัวอย่าง แสดงตัวอย่างโครมาโตแกรมของสารละลายเขม่าดินปืนบนมือและที่ปลอกกระสุนปืนดังภาพที่ 30 และ 31



ภาพที่ 30 โครมาโตแกรมของสารละลายเขม่าดินปืนบนมือ



ภาพที่ 31 โครมาโตแกรมของสารละลายเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม.

และนำพื้นที่ใต้พีคของตัวอย่างไปแทนค่าหาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน และได้ผลการทดลองเป็นปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ดังตารางที่ 23

ตารางที่ 23 ปริมาณไนเตรท และไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ได้จากเครื่อง IC

ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	ปริมาณสาร (nmol)	
		ไนเตรท	ไนไตรท์
1	ฝ่ามือขวา	0.09	1.33
	หลังมือขวา	0.07	0.29
	ฝ่ามือซ้าย	-	-
	หลังมือซ้าย	0.28	0.31
2	ฝ่ามือขวา	-	0.28
	หลังมือขวา	-	0.28
	ฝ่ามือซ้าย	0.16	0.31
	หลังมือซ้าย	0.91	0.26
3	ฝ่ามือขวา	0.11	0.27
	หลังมือขวา	0.42	0.27
	ฝ่ามือซ้าย	0.48	0.97
	หลังมือซ้าย	0.72	0.27
4	ฝ่ามือขวา	0.80	0.27
	หลังมือขวา	0.47	0.28
	ฝ่ามือซ้าย	0.98	0.29
	หลังมือซ้าย	0.92	0.27
5	ฝ่ามือขวา	0.30	0.28
	หลังมือขวา	0.14	0.28
	ฝ่ามือซ้าย	0.22	0.32
	หลังมือซ้าย	0.74	0.28
6	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	1.87	0.29

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	ปริมาณสาร (nmol)	
		ไนเตรท	ไนไตรท์
7	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	1.02	0.28
8	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	3.01	0.44

หมายเหตุ - 'ไม่สามารถตรวจวัดได้'

จากตารางที่ 23 พบว่าที่บริเวณปลอกกระสุนปืนจะพบปริมาณไนเตรทมากกว่าไนไตรท์ และที่บริเวณมือจะมีบางบริเวณที่ไม่สามารถตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ได้ ซึ่งเป็นผลจากปริมาณไนเตรทมีน้อยกว่าจึงจำกัดในการหาปริมาณของอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทบนกระดาศ

4.10 ผลการเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี (IC) และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาศ (μ PAD)

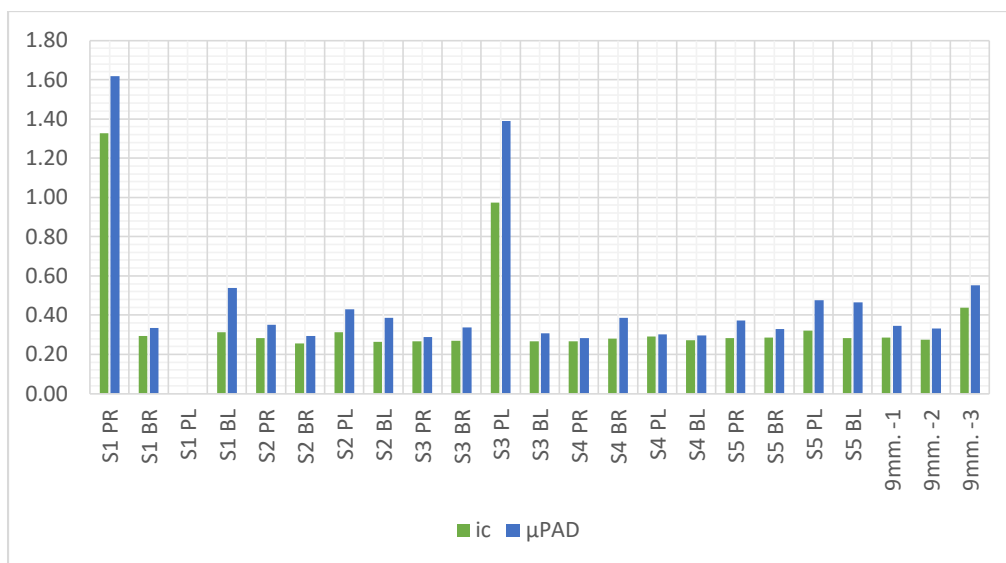
การศึกษาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืน 8 ตัวอย่าง ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาศ (μ PAD) ที่ทำการพัฒนาให้ผลเปรียบเทียบดังตารางที่ 17 พบว่าการตรวจวัดด้วย μ PAD ให้ผลปริมาณไนเตรทและไนไตรท์มากกว่าเทคนิค IC และสำหรับการตรวจวัดไนเตรทต้องอาศัยตัวรีดิทซ์ Zn ซึ่งถ้าเกิดการรีดิทซ์ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ได้ไม่หมดจะส่งผลให้ปริมาณไนเตรทที่ตรวจวัดมีความแตกต่างจากวิธีมาตรฐาน (เทคนิค IC) และนำข้อมูลในตารางที่ 24 ไปสร้างแผนภูมิแท่งเปรียบเทียบระหว่างปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ที่ตรวจวัดด้วย 2 วิธีดังกล่าวดังภาพที่ 32 และ 33

ตารางที่ 24 ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ที่ตรวจวัดจากเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาศ

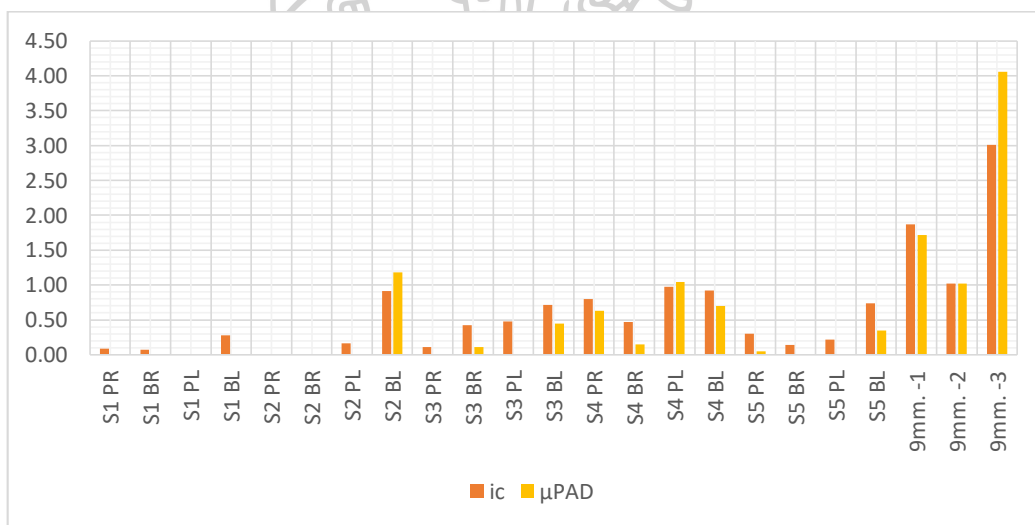
ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	ปริมาณไนเตรท (nmol)		ปริมาณไนไตรท์ (nmol)	
		IC	μ PAD	IC	μ PAD
1	ฝ่ามือขวา	0.09	-	1.33	1.62
	หลังมือขวา	0.07	-	0.29	0.34
	ฝ่ามือซ้าย	-	-	-	-
	หลังมือซ้าย	0.28	-	0.31	0.54

ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	ปริมาณไนเตรท (nmol)		ปริมาณไนไตรท์ (nmol)	
		IC	μPAD	IC	μPAD
2	ฝ่ามือขวา	-	-	0.28	0.35
	หลังมือขวา	-	-	0.26	0.29
	ฝ่ามือซ้าย	0.16	-	0.31	0.43
	หลังมือซ้าย	0.91	1.18	0.26	0.39
3	ฝ่ามือขวา	0.11	-	0.27	0.29
	หลังมือขวา	0.42	0.11	0.27	0.34
	ฝ่ามือซ้าย	0.48	-	0.97	1.39
	หลังมือซ้าย	0.72	0.45	0.27	0.31
4	ฝ่ามือขวา	0.80	0.63	0.27	0.28
	หลังมือขวา	0.47	0.15	0.28	0.39
	ฝ่ามือซ้าย	0.98	1.04	0.29	0.30
	หลังมือซ้าย	0.92	0.70	0.27	0.30
5	ฝ่ามือขวา	0.30	0.05	0.28	0.37
	หลังมือขวา	0.14	-	0.28	0.33
	ฝ่ามือซ้าย	0.22	-	0.32	0.48
	หลังมือซ้าย	0.74	0.35	0.28	0.46
6	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	1.87	1.72	0.29	0.35
7	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	1.02	1.02	0.28	0.33
8	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	3.01	4.06	0.44	0.55

จากตารางที่ 24 พบว่าการตรวจวัดตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์บนกระดาษ (μPAD) ในบางตัวอย่างไม่สามารถตรวจวัดปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืนได้ ในขณะที่สามารถตรวจวัดได้ด้วยเทคนิค IC เนื่องจากอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์บนกระดาษ (μPAD) ไม่สามารถตรวจวัดที่ปริมาณต่างๆได้ เมื่อเทียบกับการตรวจวัดด้วยเทคนิค IC

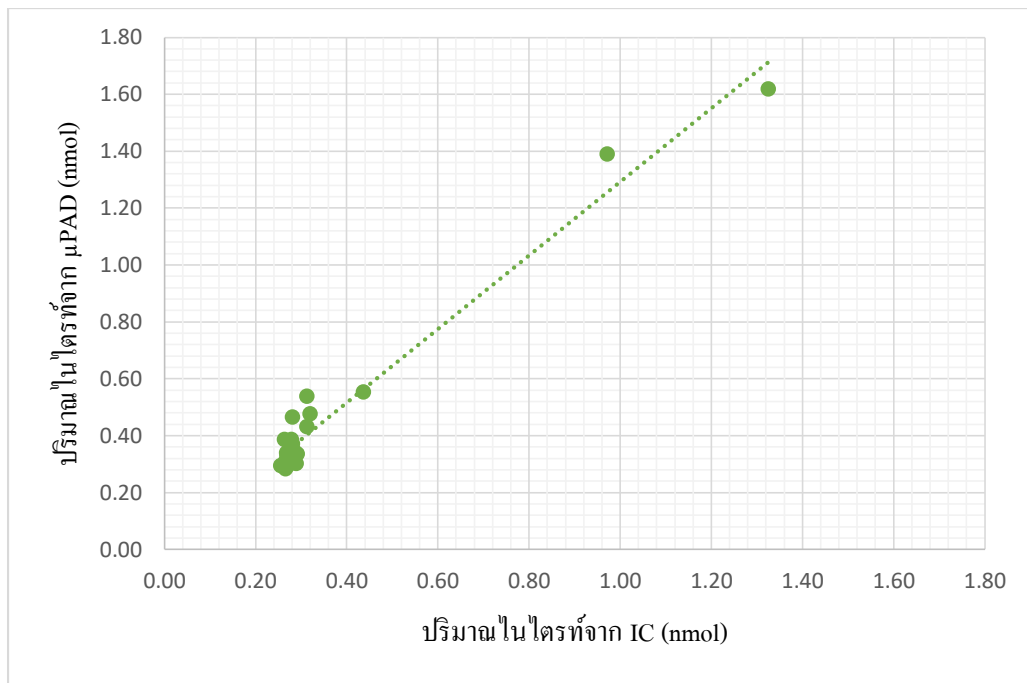


ภาพที่ 32 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนไตรท์ (nmol) ในตัวอย่างเสมานินปัสที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง IC และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

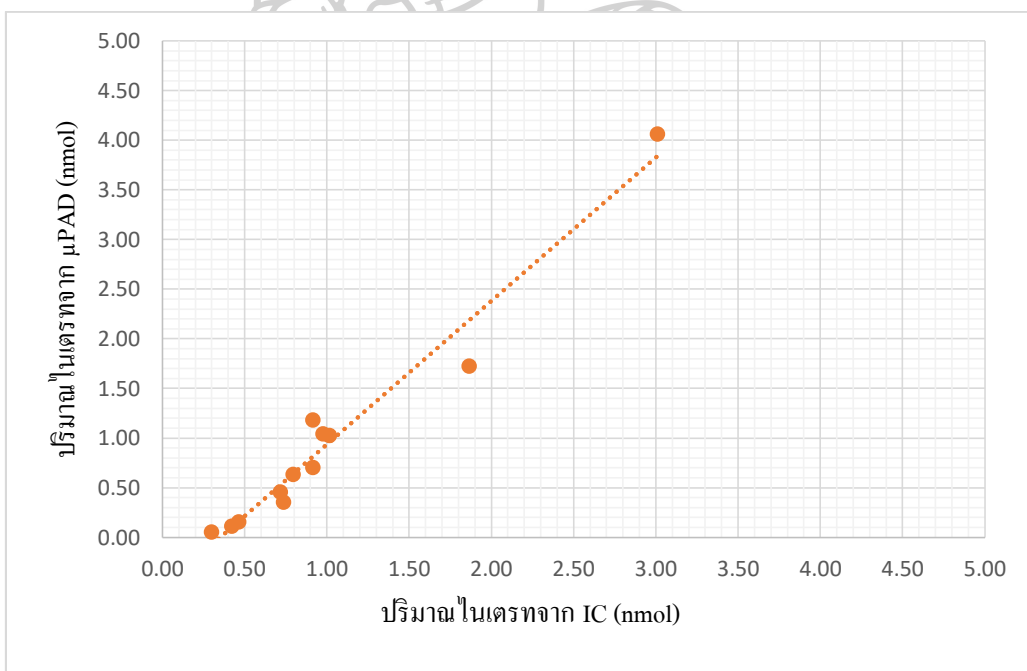


ภาพที่ 33 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนเตรท (nmol) ในตัวอย่างเสมานินปัสที่ตรวจวัดด้วยเครื่อง IC และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

จากภาพที่ 32 และ 33 จะเห็นได้ว่าปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ที่ตรวจวัดได้จาก 2 วิธี ส่วนใหญ่มีค่าที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อนำมาวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlative analysis) สร้างกราฟเพื่อเปรียบเทียบปริมาณไนเตรท และไนไตรท์จากเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ (μPAD) ดังภาพที่ 34 และ 35 และแสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ดังตารางที่ 25



ภาพที่ 34 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนไตรท์จาก IC กับอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ



ภาพที่ 35 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนเตรทจาก IC กับอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

ตารางที่ 25 สมการเส้นตรงและสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

ปริมาณที่วิเคราะห์	ไนโตรเจน	ไนเตรต
สมการเส้นตรง	$y = 1.2949x - 0.0036$	$y = 1.4452x - 0.5082$
R^2	0.966	0.962
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)	0.983	0.968
ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของ slop	0.054	0.091
ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของ y intercept	0.024	0.113

จากภาพที่ 34 และ 35 แสดงให้เห็นว่าการตรวจด้วยวิธี IC และ μ PAD สำหรับปริมาณไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กัน โดยมีสมการเส้นตรงเป็น $y = 1.2949x - 0.0036$ และปริมาณไนเตรตมีความสัมพันธ์ โดยมีสมการเส้นตรงเป็น $y = 1.4452x - 0.5082$ เมื่อพิจารณาค่าความชัน (slope) จากสมการเส้นตรงของปริมาณไนโตรเจน และไนเตรตมีค่าเป็น 1.2949 และ 1.4452 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) พบว่าการหาปริมาณไนโตรเจนและไนเตรตจากทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันเป็นอย่างดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เป็น 0.983 และ 0.968 ตามลำดับ ดังนั้นการตรวจวัดไนโตรเจนและไนเตรตด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดได้เทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน (เทคนิค IC)



บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

งานวิจัยนี้ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษเพื่อตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ ในเขม่าดินปืน โดยเลือกใช้เทคนิคการพิมพ์สกรีนด้วยสีฟ้าในการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัด โดยการออกแบบอุปกรณ์ตรวจวัดที่แตกต่างกัน 4 รูปแบบ และทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ เพื่อเลือกรูปแบบที่เหมาะสมกับงานวิจัยมากที่สุด อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษใช้วัสดุ อุปกรณ์ที่หาซื้อได้ง่าย ค่าใช้จ่ายต่ำ เช่น กระดาษกรอง บล็อกสกรีน สีฟ้า อีกทั้งยังใช้สารตัวอย่าง และรีเอเจนท์ในปริมาณน้อย ใช้เวลาในการตรวจวัดเร็ว และใช้งานง่าย โดยผู้ใช้งานไม่ต้องอาศัยความชำนาญหรือทักษะเฉพาะในการใช้งาน และอาจนำไปใช้ในงานตรวจเขม่าดินปืนภาคสนามได้

จากผลการศึกษาผู้วิจัยเลือกใช้อุปกรณ์ตรวจวัดรูปแบบที่ 3 ในการตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ โดยเลือกใช้ปริมาตรรีเอเจนท์ Griess น้อยกว่า 1 μL หยดด้วยหลอดคาปิลารี ใช้ปริมาตรสารละลายมาตรฐานหรือสารตัวอย่าง 20 μL เมื่อไนเตรทหรือไนไตรท์ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนท์ Griess เกิดสีม่วงแดง จะทำการถ่ายภาพที่เวลา 10 นาที และรักษาระยะห่างระหว่างอุปกรณ์ตรวจวัดกับกล้องที่ 15 ซม. และวัดค่าความเข้มสีด้วย imageJ เลือกใช้ความเข้มสีเขียวตลอดการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์

จากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ สำหรับตรวจวัดไนไตรท์พบว่าเป็นเส้นตรงในช่วง 1-120 μM (0.02-2.4 nmol) มี R^2 เป็น 0.0962 และที่ความเข้มข้น 0.2 1.2 และ 2.4 nmol มีความแม่นยำในการวิเคราะห์รายงานเป็นค่า %RSD เป็น 0.79 0.59 และ 3.80 ตามลำดับ และมีค่าขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) 0.02 nmol และสามารถเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดในสภาวะอุณหภูมิห้องแสง และแห้งแข็งได้ 7 วัน และที่สภาวะอุณหภูมิห้องโดนแสง และแห้งเย็นเก็บได้ 5 วัน สำหรับตรวจวัดไนเตรทพบว่าเป็นเส้นตรงในช่วง 1-400 μM (0.02-8 nmol) มี R^2 เป็น 0.9943 และที่ความเข้มข้น 0.3 2.4 และ 8.0 nmol มีความแม่นยำในการวิเคราะห์รายงานเป็นค่า %RSD เป็น 2.01 1.54 และ 1.74 ตามลำดับ และมีค่าขีดจำกัดในการหาปริมาณ (LOQ) เป็น 0.02 nmol และสามารถเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดได้ทุกสภาวะได้ 2 วัน

เมื่อนำผลการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรท และไนไตรท์ในเขม่าปืนที่มี และปลดออกกระสุน จากวิธีอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน Ion Chromatography (IC) นำมาวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlative analysis) จากสมการเส้นตรงของการหาปริมาณไนไตรท์มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เป็น 0.983 และไนเตรทมีค่าเป็น 0.968 ซึ่งทั้งสองมีค่าใกล้เคียงกัน และเข้าใกล้ 1 ดังนั้นการตรวจวัดด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมีความสัมพันธ์เป็นอย่างดีกับวิธี

มาตรฐาน (เทคนิค IC) และพบว่าไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนที่วิเคราะห์ได้ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษมีค่ามากกว่าที่ตรวจวัดด้วยวิธีไอออน โครมาโตกราฟฟีเล็กน้อย จะเห็นได้จากความชันของกราฟความสัมพันธ์ที่มีค่าเท่ากับ 1.295 และ 1.445 สำหรับไอออนทั้งสองตามลำดับ และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่พัฒนาในงานวิจัยนี้เป็นวิธีวิเคราะห์เขม่าดินปืนที่สะดวก มีค่าใช้จ่ายต่ำ และอาจนำไปใช้ในงานตรวจเขม่าปืนในภาคสนาม

จากผลการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับผลวิจัยของ Jayawardane, B. M และคณะสามารถใช้รีเอเจนท์ Griess และตัวรีดิวซ์ Zn ในการตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์ได้ รวมไปถึงยังสามารถหาปริมาณไนไตรท์และไนไตรท์จากการวัดค่าความเข้มสีเชิงด้วยโปรแกรม imageJ และสามารถเก็บรักษาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษได้นานในสภาวะแห้งแข็ง และยังสามารถใช้ของ อรอุษา เตียวตระกูล ที่ทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษพบว่าประสิทธิภาพเทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน หรือให้ผลที่ต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

5.2 อภิปรายผล

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษสำหรับตรวจวัดไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืน ซึ่งเขม่าดินปืนเป็นพยานหลักฐานที่มีความสำคัญต่อการพิสูจน์หลักฐานในทางคดีเกี่ยวกับการใช้อาวุธปืน เพื่อยืนยันตัวผู้กระทำความผิด หรือช่วยคนบริสุทธิ์ให้พ้นข้อกล่าวหา โดยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษที่พัฒนาขึ้นมาสามารถใช้ในการตรวจวัดเชิงคุณภาพเพื่อคัดกรองเบื้องต้น โดยการคิดตามการเกิดสีของปฏิกิริยาเคมีระหว่างรีเอเจนท์กับไนเตรทและไนไตรท์ในตัวอย่างเขม่าดินปืน และยังสามารถหาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ได้โดยการถ่ายภาพอุปกรณ์ตรวจวัดที่เกิดสี นำไปวัดค่าความเข้มสีเชิงด้วยโปรแกรม imageJ และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน (IC) พบว่าให้ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ที่ใกล้เคียงกัน และอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษเมื่อเก็บไว้ในซองพลาสติกซิปล็อคสามารถเก็บรักษาได้นานถึง 7 วันในสภาวะอุณหภูมิห้องแสงและแห้งแข็ง

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. งานวิจัยนี้เลือกใช้ Zn suspension เป็นตัวรีดิวซ์ไนเตรท ซึ่งมีลักษณะไม่เป็น Homogenous และผลดีการบวกรวมการตรวจวัดสี ดังนั้นจึงควรใช้ตัวรีดิวซ์ชนิดอื่นที่ไม่มีข้อเสียดังกล่าว
2. ศึกษาหาวิธีการหรือสภาวะที่จะสามารถเก็บรักษาอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทบนกระดาษให้นานมากขึ้น
3. ควรทำการตรวจวัดตัวอย่างบน 3 อุปกรณ์ต่อหนึ่งตัวอย่าง เพื่อช่วยลดความคลาดเคลื่อนที่เกิดขึ้นจากการไหลของสารละลายที่ Random เพราะการเรียงตัวของเส้นใยบนกระดาษ

รายการอ้างอิง

- Bhakta, S. A., Borba, R., Taba Jr, M., Garcia, C. D., & Carrilho, E. (2014). Determination of nitrite in saliva using microfluidic paper-based analytical devices. *Analytica chimica acta*, 809, 117-122.
- ELVESYS. PAPER MICROFLUIDIC DEVICES : A REVIEW 2017. 2017 [cited 2019 March 30]; Available from: <https://www.elveflow.com/microfluidic-tutorials/microfluidic-reviews-and-tutorials/paper-microfluidic-devices-a-review-2017/microfluidic-paper-based-analytical-devices-microfluidic-paper-based-devices-wax-printing/>
- Garcia, P. T., Gabriel, E. F., Pessoa, G. S., Júnior, J. C. S., Mollo Filho, P. C., Guidugli, R. B., . . . Coltro, W. K. (2017). based microfluidic devices on the crime scene: A simple tool for rapid estimation of post-mortem interval using vitreous humour. *Analytica chimica acta*, 974, 69-74.
- Goudsmits, E., Sharples, G. P., & Birkett, J. W. (2015). Recent trends in organic gunshot residue analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 74, 46-57.
- GunPolicy.org. Armed Violence and Guns in South East Asia,. 2019 [cited]; Available from: <https://www.gunpolicy.org/firearms/region/south-east-asia>
- Jayawardane, B. M., Wei, S., McKelvie, I. D., & Kolev, S. D. (2014). Microfluidic paper-based analytical device (μ PADs) for the detection of nitrite and nitrate. *analytical chemistry*, 86(15), 7274-7279.
- Morbioli, G. G., Mazzu-Nascimento, T., Stockton, A. M., & Carrilho, E. (2017). Technical aspects and challenges of colorimetric detection with microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs)-A review. *Analytica chimica acta*, 970, 1-22.
- National Center for Biotechnology Information. Nitrate. [cited 2019 July 2]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nitrate>
- National Center for Biotechnology Information. Nitrite. [cited 2019 July 2]; Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/946>
- NIDA Poll. ปัญหาอาชญากรรมของสังคมไทยในปัจจุบัน. 2017 [cited 2019 July 2]; Available from: <http://nidapoll.nida.ac.th/index.php?op=polls-detail&id=556>
- Ortiz-Gomez, I., Ortega-Muñoz, M., Salinas-Castillo, A., Álvarez-Bermejo, J. A., Ariza-Avidad,

- M., de Orbe-Payá, I., . . . Capitan-Vallvey, L. F. (2016). Tetrazine-based chemistry for nitrite determination in a paper microfluidic device. *Talanta*, 160, 721-728.
- Rossini, E. L., Milani, M. I., Carrilho, E., Pezza, L., & Pezza, H. R. (2018). Simultaneous determination of renal function biomarkers in urine using a validated paper-based microfluidic analytical device. *Analytica chimica acta*, 997, 16-23.
- Schwoeble, A. J., & Exline, D. L. (2000). *Current methods in forensic gunshot residue analysis*: CRC Press.
- Sriram, G., Bhat, M. P., Patil, P., Uthappa, U. T., Jung, H.-Y., Altalhi, T., . . . Kurkuri, M. D. (2017). based microfluidic analytical devices for colorimetric detection of toxic ions: A review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 93, 212-227.
- Tsikis, D. (2007). Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. *Journal of Chromatography B*, 851(1-2), 51-70.
- Workpoint News. เปิดสถิติข่าวความรุนแรงปี 2561 ผ่านมา 7 เดือน มีข่าวมากถึง 367 ข่าว,. 2018 [cited 2017 July 2]; Available from: <https://workpointnews.com/2018/08/24/%E0%B9%80%E0%B8%9B%E0%B8%B4%E0%B8%94%E0%B8%AA%E0%B8%96%E0%B8%B4%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%82%E0%B9%88%E0%B8%B2%E0%B8%A7%E0%B8%84%E0%B8%A7%E0%B8%B2%E0%B8%A1%E0%B8%A3%E0%B8%B8%E0%B8%99%E0%B9%81%E0%B8%A3/>
- ปวีณา เตือนฉาย และวิจิตรา เตือนฉาย. (2014). อุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษ. วารสารวิชาการปทุมวัน, 4(10), 37-47.
- ฝ่ายจัดการสารพิษ กองมาตรฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อม และสำนักงานคณะกรรมการสิ่งแวดล้อม. (2541). ไนเตรท ใน ไตรท์ และสารประกอบเอ็น-ไนโตรโซ. In (pp. 7-13).
- พลตำรวจตรี เลี้ยง หุยประเสริฐ. บทที่ 7 บาดแผลกระสุนปืนและวัตถุระเบิด. [cited 2019 July 2]; Available from: <http://www.ifm.go.th/97-text-book/ifm-textbook/145-gun.html>
- แม่น อมรสิทธิ์. (2555). หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ (2 ed.). กรุงเทพฯ: ชวนพิมพ์ 50.
- อรอุษา เตียวตระกูล. (2560). การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเสม้าดินปืนบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ. *Veridian E-Journal*, 4(5), 104-116.



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก ตารางแสดงข้อมูลการวิเคราะห์

ตารางที่ 26 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนโตรที่ช่วง 0.01 – 200 μM

ความเข้มข้น (μM)	พื้นที่ใต้พีคในไนโตร ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
0.01	0.0007	0.001	0.0008	0.0008	0.0002
0.05	0.0018	0.002	0.0023	0.0020	0.0003
0.10	0.0034	0.0036	0.0033	0.0034	0.0002
0.50	0.0057	0.0052	0.0053	0.0054	0.0003
1	0.0086	0.008	0.0086	0.0084	0.0003
3	0.0247	0.022	0.023	0.0232	0.0014
5	0.0477	0.0457	0.0441	0.0458	0.0018
10	0.0787	0.0798	0.0788	0.0791	0.0006
15	0.1178	0.1182	0.1174	0.1178	0.0004
30	0.2672	0.2595	0.2682	0.2650	0.0048
120	1.1588	1.1531	1.1658	1.1592	0.0064
200	1.9665	1.9214	1.9395	1.9425	0.0227

ตารางที่ 27 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนโตรที่ช่วง 0.01– 200 μM

ความเข้มข้น (μM)	พื้นที่ใต้พีคในไนโตร ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	STD
0.01	0.0259	0.0222	0.0223	0.0235	0.0021
0.05	0.028	0.0278	0.0296	0.0285	0.0010
0.10	0.0311	0.0308	0.0309	0.0309	0.0002
0.50	0.0360	0.0367	0.0368	0.0365	0.0004
1	0.0428	0.0418	0.0429	0.0425	0.0006
3	0.0599	0.0556	0.0554	0.0570	0.0025
5	0.0798	0.0765	0.0763	0.0775	0.0020
10	0.1173	0.1135	0.1142	0.1150	0.0020
15	0.147	0.1478	0.1438	0.1462	0.0021
30	0.3082	0.3061	0.3103	0.3082	0.0021
120	1.1921	1.1775	1.1722	1.1806	0.0103
200	2.1373	2.1432	2.1497	2.1434	0.0062

ตารางที่ 28 พื้นที่ใต้พีคไนไตรท์ของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน

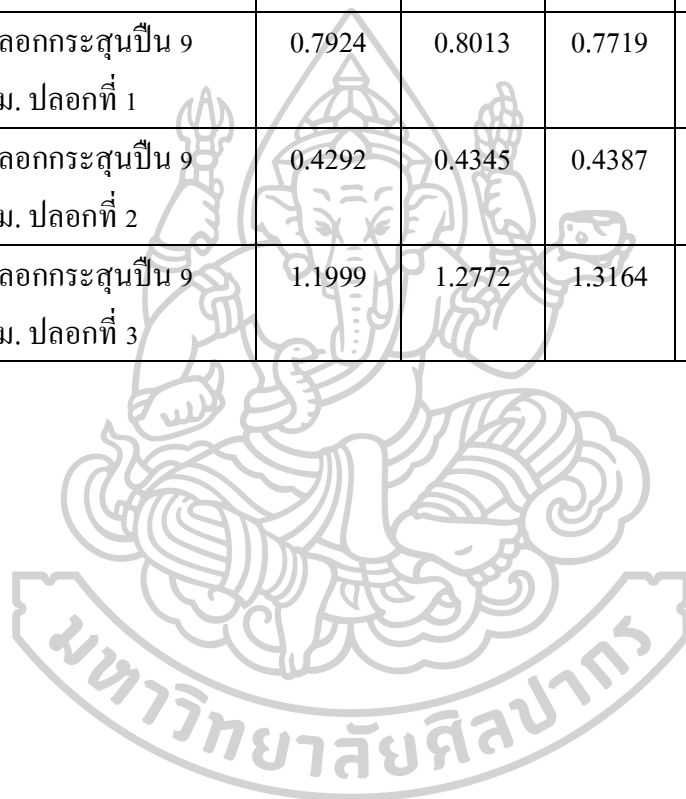
ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	พื้นที่ใต้พีคไนไตรท์ ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)				
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	blank	-	-	-	-	-
	ฝ่ามือขวา	0.0011	0.0013	0.0014	0.0013	0.0002
	หลังมือขวา	0.0018	0.0020	0.0016	0.0018	0.0002
	ฝ่ามือซ้าย	-	-	-	-	-
	หลังมือซ้าย	0.0010	0.0027	0.0034	0.0024	0.0012
2	blank	0.0002	0.0005	0.0014	0.0013	0.0008
	ฝ่ามือขวา	-	0.0016	0.0034	0.0025	0.0013
	หลังมือขวา	-	0.0014	0.0015	0.0015	0.0001
	ฝ่ามือซ้าย	0.0021	0.0035	0.0054	0.0037	0.0017
	หลังมือซ้าย	-	0.0017	0.0019	0.0018	0.0001
3	blank	0.0021	0.0024	0.0022	0.0022	0.0002
	ฝ่ามือขวา	0.0022	-	0.0034	0.0028	0.0004
	หลังมือขวา	0.0029	0.0027	0.0031	0.0029	0.0162
	ฝ่ามือซ้าย	0.0327	0.0292	0.0289	0.0303	0.0021
	หลังมือซ้าย	0.0029	0.0028	0.0026	0.0028	0.0002

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	พื้นที่ได้ฟลักในไตรท์ ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$)				
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
4	blank	-	-	0.0002	0.0002	-
	ฝ่ามือขวา	-	-	0.0008	0.0008	-
	หลังมือขวา	0.0002	0.0018	0.0018	0.0013	0.0009
	ฝ่ามือซ้าย	-	0.0017	0.0016	0.0017	0.0001
	หลังมือซ้าย	0.0002	0.0012	0.0015	0.0010	0.0007
5	blank	0.0006	0.0012	0.0012	0.0010	0.0003
	ฝ่ามือขวา	-	0.0031	0.0012	0.0022	0.0013
	หลังมือขวา	0.0008	0.0032	0.0030	0.0023	0.0013
	ฝ่ามือซ้าย	0.0028	0.0042	0.0042	0.0037	0.0008
	หลังมือซ้าย	0.0001	0.0028	0.0029	0.0022	0.0011
6	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	0.1092	0.0990	0.0964	0.1015	0.0068
7	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	0.0752	0.0694	0.1481	0.0976	0.0439
8	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	0.1781	0.1485	0.1554	0.1607	0.0155

ตารางที่ 29 พื้นที่ได้ฟุ้งไอน์ตรทของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	พื้นที่ได้ฟุ้งไอน์ตรท ($\mu\text{S}^*\text{min}$)				
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	blank	0.0286	0.0290	0.0282	0.0286	0.0004
	ฝ่ามือขวา	0.0385	0.0455	0.0451	0.0430	0.0039
	หลังมือขวา	0.0351	0.0322	0.0597	0.0423	0.0151
	ฝ่ามือซ้าย	-	-	-	-	-
	หลังมือซ้าย	0.0494	0.0490	0.0545	0.0510	0.0031
2	blank	0.0214	-	-	0.0214	-
	ฝ่ามือขวา	-	0.0353	0.0202	0.0278	0.0107
	หลังมือขวา	-	0.0216	0.0401	0.0309	0.0131
	ฝ่ามือซ้าย	0.0370	0.0336	0.0459	0.0388	0.0064
	หลังมือซ้าย	-	0.0756	0.0648	0.0702	0.0076
3	blank	0.0416	0.0401	0.0461	0.0426	0.0031
	ฝ่ามือขวา	0.0555	0.0730	0.0452	0.0579	0.0141
	หลังมือขวา	0.0653	0.0636	0.0838	0.0709	0.0112
	ฝ่ามือซ้าย	-	0.0878	0.0712	0.0796	0.0117
	หลังมือซ้าย	0.0803	0.0861	0.0832	0.0832	0.0029
4	blank	0.0008	0.0400	0.0358	0.0255	0.0215
	ฝ่ามือขวา	0.1105	0.0345	0.0634	0.0695	0.0384
	หลังมือขวา	0.0437	0.0660	0.0573	0.0557	0.0384
	ฝ่ามือซ้าย	0.0760	0.0854	0.0693	0.0769	0.0081
	หลังมือซ้าย	0.0671	0.0769	0.0792	0.0744	0.0064

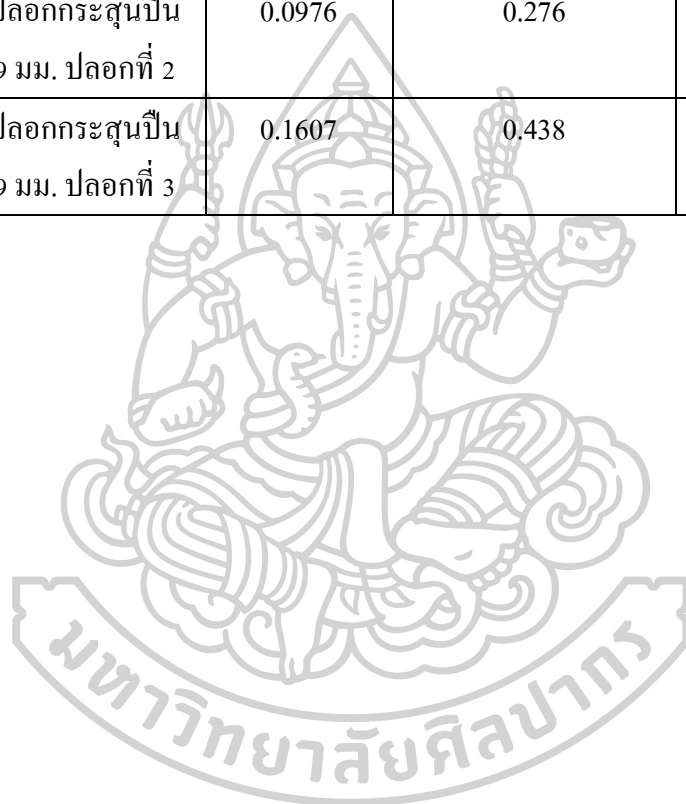
ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	พื้นที่ใต้พีคในเมตรท ($\mu\text{S}^*\text{min}$)				
		1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
5	blank	0.0221	0.0250	0.0613	0.0236	0.0218
	ฝ่ามือขวา	0.0613	0.0498	0.0292	0.0468	0.0163
	หลังมือขวา	0.0348	0.0617	0.0237	0.0401	0.0195
	ฝ่ามือซ้าย	0.0297	0.0269	0.0730	0.0432	0.0258
	หลังมือซ้าย	0.0412	0.0729	0.0811	0.0651	0.0211
6	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	0.7924	0.8013	0.7719	0.7855	0.0151
7	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	0.4292	0.4345	0.4387	0.4341	0.0048
8	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	1.1999	1.2772	1.3164	1.2645	0.0593



ตารางที่ 30 จำนวนปริมาณไนไตรท์ของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	พื้นที่ใต้พีค ไนไตรท์ ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$) *หักลบ blank	ปริมาณไนไตรท์ (nmol) *คำนวณจาก $y=0.3897x-0.0098$	ปริมาณไนไตรท์ (nmol) Non dilution * สารละลายตัวอย่าง บริเวณมือผ่านการเจือ จาง 10 เท่า
1	ฝ่ามือขวา	0.0013	0.1327	1.327
	หลังมือขวา	0.0016	0.0293	0.293
	ฝ่ามือซ้าย	-	-	-
	หลังมือซ้าย	0.0024	0.0313	0.313
2	ฝ่ามือขวา	0.0012	0.0282	0.282
	หลังมือขวา	0.0002	0.0257	0.257
	ฝ่ามือซ้าย	0.0024	0.0313	0.313
	หลังมือซ้าย	0.0005	0.0264	0.264
3	ฝ่ามือขวา	0.0006	0.0267	0.267
	หลังมือขวา	0.0007	0.0269	0.269
	ฝ่ามือซ้าย	0.0281	0.0973	0.973
	หลังมือซ้าย	0.0006	0.0267	0.267
4	ฝ่ามือขวา	0.0006	0.0267	0.267
	หลังมือขวา	0.0011	0.0280	0.280
	ฝ่ามือซ้าย	0.0015	0.0290	0.290
	หลังมือซ้าย	0.0008	0.0272	0.272
5	ฝ่ามือขวา	0.0012	0.0282	0.282
	หลังมือขวา	0.0013	0.0285	0.285
	ฝ่ามือซ้าย	0.0027	0.0321	0.321
	หลังมือซ้าย	0.0012	0.0282	0.321

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	พื้นที่ใต้พีค ไนโตรท ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$) *หักลบ blank	ปริมาณไนโตรท (nmol) *คำนวณจาก $y=0.3897x-0.0098$	ปริมาณไนโตรท (nmol) Non dilution * สารละลายตัวอย่าง บริเวณมือผ่านการเจือ จาง 10 เท่า
6	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	0.1015	0.286	0.286
7	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	0.0976	0.276	0.276
8	ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	0.1607	0.438	0.438



ตารางที่ 31 จำนวนปริมาณไนเตรทของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	พื้นที่ได้ฟิค ไนเตรท ($\mu\text{S} \cdot \text{min}$) *หักลบ blank	ปริมาณไนเตรท(nmol) *คำนวณจาก $y=0.4164x+0.0107$	ปริมาณไนเตรท(nmol) Non dilution * สารละลายตัวอย่าง บริเวณมือผ่านการเจือ จาง 10 เท่า
1	ฝ่ามือขวา	0.0144	0.0089	0.089
	หลังมือขวา	0.0137	0.0072	0.072
	ฝ่ามือซ้าย	-	-	-
	หลังมือซ้าย	0.0224	0.0281	0.281
2	ฝ่ามือขวา	0.0064	-	-
	หลังมือขวา	0.0095	-0.0029	-
	ฝ่ามือซ้าย	0.0174	0.0161	0.161
	หลังมือซ้าย	0.0488	0.0915	0.915
3	ฝ่ามือขวา	0.0153	0.0110	0.110
	หลังมือขวา	0.0283	0.0423	0.423
	ฝ่ามือซ้าย	0.0307	0.0480	0.480
	หลังมือซ้าย	0.0406	0.0718	0.718
4	ฝ่ามือขวา	0.0439	0.0797	0.797
	หลังมือขวา	0.0301	0.0466	0.466
	ฝ่ามือซ้าย	0.0514	0.0977	0.977
	หลังมือซ้าย	0.0489	0.0917	0.917
5	ฝ่ามือขวา	0.0232	0.0300	0.300
	หลังมือขวา	0.0165	0.0139	0.129
	ฝ่ามือซ้าย	0.0197	0.0216	0.216
	หลังมือซ้าย	0.0415	0.0740	0.740








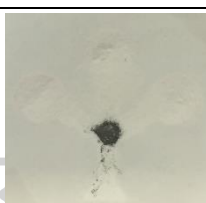
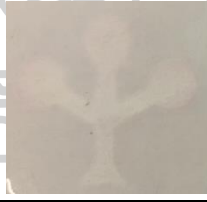





ตารางที่ 32 ค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรที่ความเข้มข้น 1-120 μM




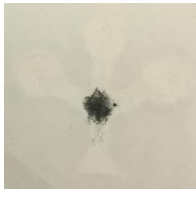



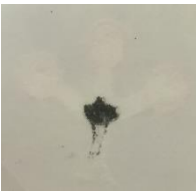





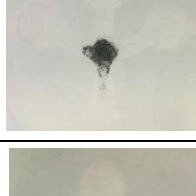

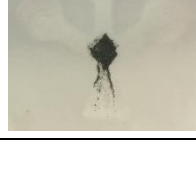
ความเข้มข้น (μM)	ค่าความเข้มข้น				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	173.22	162.44	166.96	167.54	5.4103
5	170.36	170.34	171.57	170.76	0.7039
10	174.93	173.20	172.23	173.45	1.3683
30	192.29	192.91	187.44	190.88	2.9933
60	212.94	215.98	216.26	215.06	1.8451
120	227.50	227.67	212.93	222.70	8.4606

















ตารางที่ 33 ค่าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรที่ความเข้มข้น 1-400 μM

ความเข้มข้น (μM)	ค่าความเข้มข้น				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	186.38	180.68	184.66	183.91	2.9264
15	182.94	183.88	189.81	185.54	3.7230
30	190.18	185.45	188.00	187.88	2.3639
60	191.60	192.73	192.09	192.14	0.4632
120	198.03	196.16	192.02	195.39	3.0717
200	201.98	200.43	201.93	0.8817	0.8816
400	218.76	216.63	215.62	3.7414	3.7414

ตารางที่ 34 ภาพอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท และไนไตรท์บนกระดาษของสารละลายเขม่าดินปืน และ
 ปลอกกระสุนปืน

ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	อุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์ บนกระดาษ	อุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท บนกระดาษ
1	ฝ่ามือขวา		
	หลังมือขวา		
	ฝ่ามือซ้าย		
	หลังมือซ้าย		
2	ฝ่ามือขวา		
	หลังมือขวา		
	ฝ่ามือซ้าย		

ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	อุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรเจน บนกระดาษ	อุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทบน กระดาษ
	หลังมือซ้าย		
3	ฝ่ามือขวา		
	หลังมือขวา		
	ฝ่ามือซ้าย		
	หลังมือซ้าย		
4	ฝ่ามือขวา		
	หลังมือขวา		
	ฝ่ามือซ้าย		

ตัวอย่างที่	บริเวณที่วิเคราะห์	อุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรท บนกระดาษ	อุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท บนกระดาษ
	หลังมือซ้าย		
5	ฝ่ามือขวา		
	หลังมือขวา		
	ฝ่ามือซ้าย		
	หลังมือซ้าย		
6	ปลอกประสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1		
7	ปลอกประสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2		
8	ปลอกประสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3		

ตารางที่ 35 ค่าความเข้มสีเขียวของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน
วิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรเจนบนกระดาษ

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่วิเคราะห์	ค่าความเข้มสีเขียว			ค่าเฉลี่ย	SD
		1	2	3		
1	ฝ่ามือขวา	205.84	206.02	204.77	205.54	0.6757
	หลังมือขวา	175.48	173.66	178.70	175.94	0.6757
	ฝ่ามือซ้าย	163.02	161.55	165.11	163.22	1.7900
	หลังมือซ้าย	181.21	178.65	182.12	180.66	1.8021
2	ฝ่ามือขวา	178.81	176.22	175.77	176.93	1.685
	หลังมือขวา	174.32	175.09	173.59	174.33	0.7486
	ฝ่ามือซ้าย	177.71	182.00	175.15	178.29	3.4603
	หลังมือซ้าย	181.38	174.90	174.74	177.01	3.7894
3	ฝ่ามือขวา	177.82	173.80	173.07	174.90	2.5594
	หลังมือขวา	173.32	175.09	179.05	175.82	2.9321
	ฝ่ามือซ้าย	201.03	202.11	199.42	200.85	1.3553
	หลังมือซ้าย	175.39	174.47	178.01	175.96	1.8383
4	ฝ่ามือขวา	175.68	171.99	176.40	174.69	2.3685
	หลังมือขวา	177.63	180.58	175.00	177.74	2.7889
	ฝ่ามือซ้าย	173.63	178.95	172.88	175.15	3.3104
	หลังมือซ้าย	175.75	173.47	177.63	175.61	2.0812
5	ฝ่ามือขวา	177.13	180.31	173.12	176.85	3.5985
	หลังมือขวา	172.62	171.92	180.55	175.03	4.7925
	ฝ่ามือซ้าย	178.60	181.74	179.20	179.85	1.6698
	หลังมือซ้าย	180.03	173.22	182.47	178.57	4.7963

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่ วิเคราะห์	ค่าความเข้มสีเขียว			ค่าเฉลี่ย	SD
		1	2	3		
6	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	181.05	173.97	174.43	176.48	3.9643
7	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	178.73	173.30	173.78	175.27	3.0074
8	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	180.47	185.00	175.34	180.27	4.8347

ตารางที่ 36 ค่าความเข้มสีเขียวของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือและปลอกกระสุนปืน
วิเคราะห์ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรทเจนกระดาษ

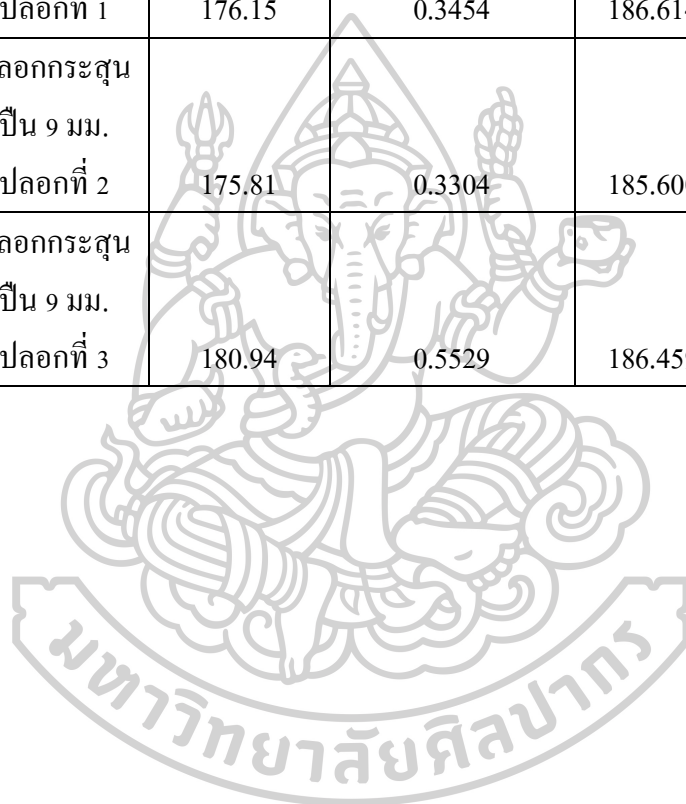
ตัวอย่างที่	บริเวณที่ วิเคราะห์	ค่าความเข้มสีเขียว			ค่าเฉลี่ย	SD
		1	2	3		
1	ฝ่ามือขวา	185.46	184.68	185.82	185.32	0.5829
	หลังมือขวา	185.94	182.39	186.44	184.92	2.2070
	ฝ่ามือซ้าย	181.74	178.03	179.51	179.76	1.8665
	หลังมือซ้าย	185.29	185.66	189.82	186.92	2.5171
2	ฝ่ามือขวา	171.77	174.93	177.62	174.77	2.9322
	หลังมือขวา	185.09	181.78	183.94	183.60	1.6766
	ฝ่ามือซ้าย	183.78	185.57	188.18	185.84	2.2138
	หลังมือซ้าย	191.56	193.63	190.04	191.74	1.8051
3	ฝ่ามือขวา	182.37	185.20	187.74	185.10	2.6884
	หลังมือขวา	186.94	185.73	186.90	186.52	0.6895
	ฝ่ามือซ้าย	185.01	189.94	184.21	186.39	3.1029
	หลังมือซ้าย	183.55	192.92	187.24	187.90	4.7193

ตัวอย่างที่	บริเวณที่ วิเคราะห์	ค่าความเข้มสีเขียว			ค่าเฉลี่ย	SD
		1	2	3		
4	ฝ่ามือขวา	189.57	185.92	189.05	188.18	1.9715
	หลังมือขวา	188.14	186.66	187.26	187.35	0.7430
	ฝ่ามือซ้าย	191.33	189.33	190.24	190.30	1.0043
	หลังมือซ้าย	188.87	186.57	191.08	188.84	2.2536
5	ฝ่ามือขวา	188.62	182.89	186.52	186.01	2.9031
	หลังมือขวา	183.90	187.03	185.27	185.40	1.5659
	ฝ่ามือซ้าย	184.71	188.60	186.07	186.46	1.9737
	หลังมือซ้าย	189.11	185.97	190.73	188.60	2.4183
6	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	195.02	193.91	198.19	195.71	2.2257
7	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	190.26	189.33	193.24	190.94	2.0422
8	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	204.74	201.12	206.06	203.97	2.5589

ตารางที่ 37 จำนวนปริมาณไนเตรท และไนไตรท์ของสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาษ

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่ วิเคราะห์	ค่าความเข้ม สีเขียวเฉลี่ย ไนไตรท์ (n=3)	ปริมาณไนไตรท์ (nmol) *คำนวณจาก $y=23.077x+168.18$	ค่าความ เข้มสีเขียว เฉลี่ย ไนเตรท (n=3)	ปริมาณไนไตรท์และ ไนเตรท(nmol) + *คำนวณจาก $y=3.9272+184.94$
1	ฝ่ามือขวา	205.54	1.6189	185.322	0.0974
	หลังมือขวา	175.93	0.3358	184.851	-0.0226
	ฝ่ามือซ้าย	163.20	-0.2159	179.093	-1.4889
	หลังมือซ้าย	180.60	0.5382	186.256	0.3351
2	ฝ่ามือขวา	176.27	0.3504	174.774	-2.5887
	หลังมือขวา	174.99	0.2949	183.603	-0.3405
	ฝ่ามือซ้าย	178.11	0.4304	185.808	0.2209
	หลังมือซ้าย	177.07	0.3854	191.077	1.5627
3	ฝ่ามือขวา	174.81	0.2874	185.702	0.1941
	หลังมือขวา	175.99	0.3384	186.688	0.4450
	ฝ่ามือซ้าย	200.22	1.3884	186.952	0.5124
	หลังมือซ้าย	175.29	0.3081	187.904	0.7548
4	ฝ่ามือขวา	174.69	0.2821	188.510	0.9090
	หลังมือขวา	177.07	0.3852	187.052	0.5379
	ฝ่ามือซ้าย	175.15	0.3022	190.208	1.3414
	หลังมือซ้าย	175.01	0.2961	188.840	0.9932
5	ฝ่ามือขวา	176.75	0.3715	186.614	0.4263
	หลังมือขวา	175.78	0.3293	185.600	0.1681
	ฝ่ามือซ้าย	179.15	0.4752	186.459	0.3869
	หลังมือซ้าย	178.91	0.4649	188.138	0.8143

ตัวอย่าง ที่	บริเวณที่ วิเคราะห์	ค่าความเข้ม สีเขียวเฉลี่ย ไนโตรที่ (n=3)	ปริมาณไนโตรที่ (nmol) *คำนวณจาก $y=23.077x+168.18$	ค่าความ เข้มสีเขียว เฉลี่ย ไนเตรท (n=3)	ปริมาณไนเตรท (nmol) *คำนวณจาก $y=3.9272x+184.94$
6	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 1	176.15	0.3454	186.614	0.4263
7	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 2	175.81	0.3304	185.600	0.1681
8	ปลอกกระสุน ปืน 9 มม. ปลอกที่ 3	180.94	0.5529	186.459	0.3869



ตารางที่ 38 ค่าความเข้มสีแดง ณ เวลาต่างๆ (นาที) บนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท 1000 μM

นาทีที่	ค่าความเข้มสีแดง			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
1	162.495	169.935	149.356	160.60	10.42
2	154.466	155.529	146.642	152.21	4.85
3	165.295	161.85	154.259	160.47	5.65
4	166.238	166.152	152.568	161.65	7.87
5	171.949	169.012	158.349	166.44	7.16
10	200.174	199.181	192.942	197.43	3.92
15	179.974	180.589	175.082	178.55	3.02
20	188.245	182.454	182.653	184.45	3.29
25	190.412	187.156	183.816	187.13	3.30
30	179.806	176.008	169.162	174.99	5.39
35	191.116	187.063	184.164	187.45	3.49
40	194.78	188.35	183.56	188.90	5.63
45	179.042	182.642	182.994	181.56	2.19
50	194.56	191.649	191.119	192.44	1.85
55	187.391	186.383	187.441	187.07	0.60
60	183.543	180.276	178.132	180.65	2.72

ตารางที่ 39 ค่าความเข้มข้นสีเขียว ณ เวลาต่างๆ (นาที) บนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท 1000 μ M

นาทีที่	ค่าความเข้มข้นสีเขียว			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
1	161.092	161.694	149.759	154.41	6.72
2	153.408	154.408	146.106	155.21	4.53
3	162.546	161.375	153.43	159.41	4.96
4	162.981	164.834	151.293	162.97	7.34
5	170.144	170.172	158.395	180.29	6.79
10	195.833	196.736	190.458	185.08	3.39
15	176.175	179.215	172.075	178.07	3.58
20	180.334	180.124	180.471	181.76	0.17
25	183.817	185.255	180.566	178.67	2.40
30	177.413	177.751	167.224	179.23	5.98
35	185.992	185.651	181.354	183.30	2.58
40	185.471	183.393	177.911	179.00	3.91
45	173.596	177.72	175.921	182.02	2.07
50	188.127	189.384	187.371	185.47	1.02
55	181.963	183.891	182.077	179.69	1.08
60	177.614	177.375	175.204	176.73	1.33

ตารางที่ 40 ค่าความเข้มสีฟ้า ณ เวลาต่างๆ (นาที) บนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรท 1000 μM

นาทีที่	ค่าความเข้มสีเขียว			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
1	153.1	153.071	143.136	149.77	5.74
2	147.204	147.732	139.715	144.88	4.48
3	155.654	154.217	145.538	151.80	5.47
4	153.411	154.004	143.239	150.22	6.05
5	164.651	163.485	153.085	160.41	6.37
10	183.806	183.311	177.91	181.68	3.27
15	166.896	167.827	162.053	165.59	3.10
20	169.359	167.35	167.318	168.01	1.17
25	172.219	172.204	169.266	171.23	1.70
30	168.276	167.095	159.219	164.86	4.92
35	174.099	172.828	171.006	172.64	1.55
40	173.187	169.89	165.34	169.47	3.94
45	166.959	168.436	167.157	167.52	0.80
50	179.853	178.134	176.225	178.07	1.81
55	173.038	172.586	172.074	172.57	0.48
60	169.414	168.314	166.37	168.03	1.54

ตารางที่ 41 ค่าความเข้มสีเขียว ณ ระยะเวลาต่างๆ (วัน) ของอุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรเจนที่สภาวะ
อุณหภูมิห้อง โคนแสง และเฉียงแสง

วันที่	ค่าความเข้มสีเขียว									
	อุณหภูมิห้อง โคนแสง					อุณหภูมิห้อง เฉียงแสง				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	171.21	170.14	174.15	171.84	2.08	155.17	144.41	152.54	150.71	5.61
2	164.30	181.14	197.27	180.91	16.49	164.43	167.39	168.61	166.87	2.15
3	191.95	192.97	195.20	193.37	1.67	183.20	180.25	181.19	181.55	1.51
4	180.54	179.63	176.74	178.97	1.98	181.55	186.91	179.54	182.66	3.81
5	186.12	191.68	191.81	189.87	3.24	194.33	193.68	193.52	193.85	0.43
6	143.76	140.98	123.13	135.96	11.20	196.99	192.80	197.26	195.69	2.50
7	171.18	172.28	166.27	169.91	3.20	180.46	180.59	182.11	181.05	0.91
8	163.20	161.51	156.19	160.30	3.66	171.81	185.66	197.14	184.87	12.69

ตารางที่ 42 ค่าความเข้มสีเขียว ณ ระยะเวลาต่างๆ (วัน) ของอุปกรณ์ตรวจวัดไนโตรเจนที่สภาวะแช่
เย็น และแช่แข็ง

วันที่	ค่าความเข้มสีเขียว									
	อุณหภูมิห้อง โคนแสง					อุณหภูมิห้อง เฉียงแสง				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD	1	2	3	ค่าเฉลี่ย	SD
1	140.03	141.88	148.81	143.57	4.63	155.87	159.47	159.47	158.27	2.08
2	176.43	182.30	177.58	178.77	3.11	156.45	159.68	161.75	159.29	2.67
3	185.35	189.84	190.42	188.54	2.77	186.50	183.05	182.53	184.03	2.16
4	180.25	180.63	177.62	179.50	1.34	181.82	188.92	180.55	183.77	4.51
5	189.86	193.44	181.68	188.33	6.03	181.25	180.40	183.81	181.82	1.77
6	146.17	152.66	150.58	149.80	3.31	182.58	194.63	203.14	193.45	10.33
7	169.02	173.87	172.87	171.92	2.56	190.32	196.30	193.21	193.28	2.99
8	186.35	178.89	164.83	176.69	10.92	183.69	186.39	191.06	187.05	3.73



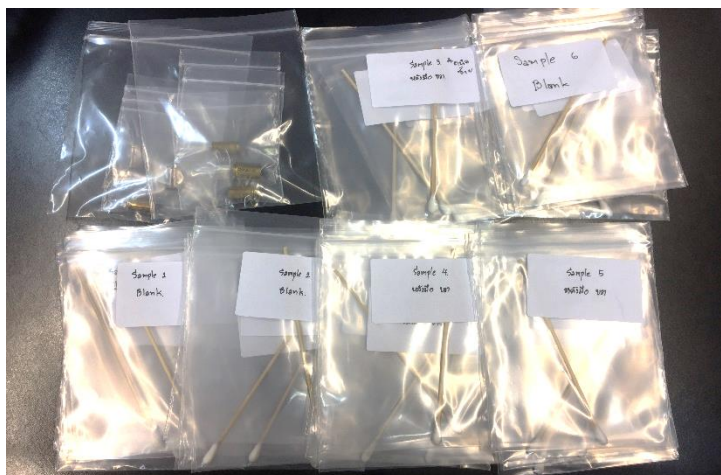
ภาคผนวก ข ประมวลภาพการทดลอง



ภาพที่ 36 สถานที่เก็บตัวอย่างเขม่าดินปืน



ภาพที่ 37 การเก็บตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือ



ภาพที่ 38 การบรรจุ เก็บ ก้านสำลีที่เช็ดเขม่าดินปืนบนมือและปลอกกระสุนปืนในถุงซิปล็อก



ภาพที่ 39 ปลอกกระสุนปืนขนาด 9 มม



ภาพที่ 40 การเตรียมตัวอย่าง โดยแช่ด้านสำลีลงใน vial ที่มีน้ำปราศจากไอออน 2 mL



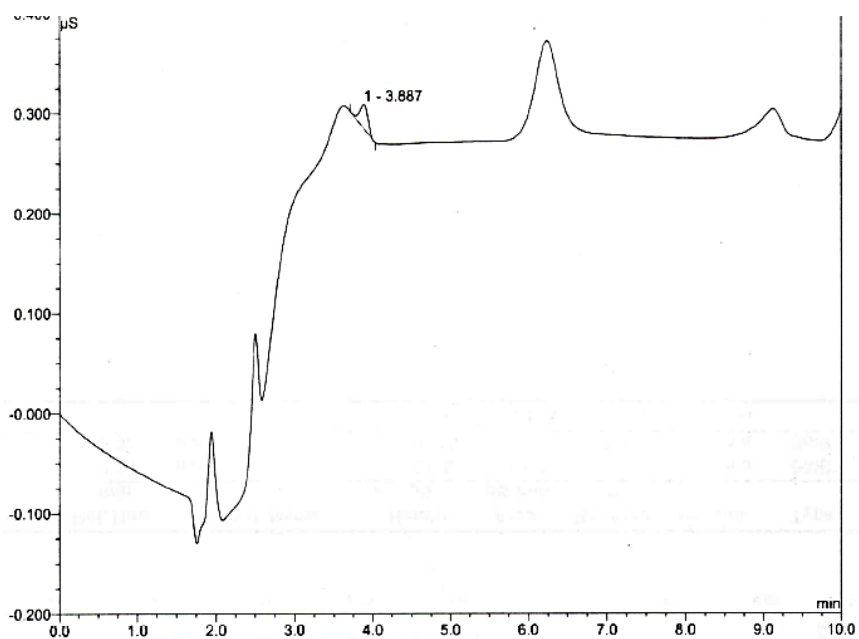
ภาพที่ 41 การ sonicate เพื่อสกัดไนเตรทและไตรท์จากเขม่าดินปืน



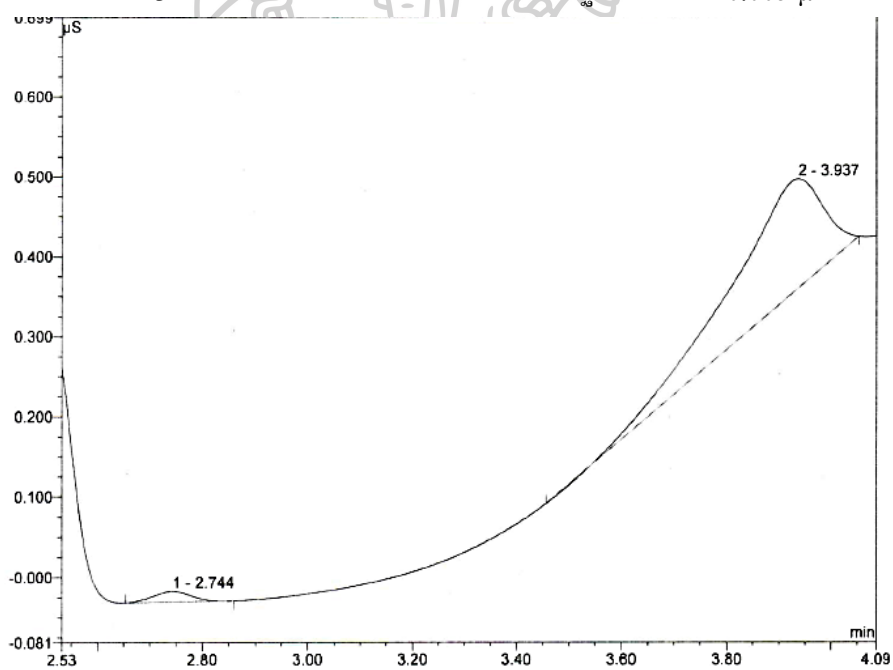
ภาพที่ 42 ตัวอย่างสารละลายเขม่าดินปืนที่ผ่านการสกัด และกรอง ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วย
อุปกรณ์ตรวจวัดบนกระดาน และ IC



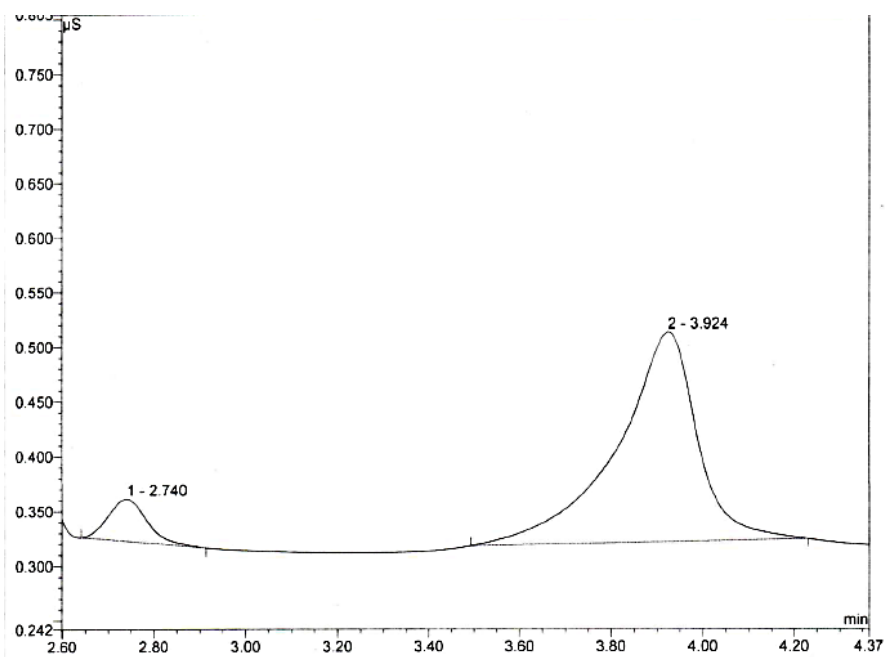
ภาคผนวก ค โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน



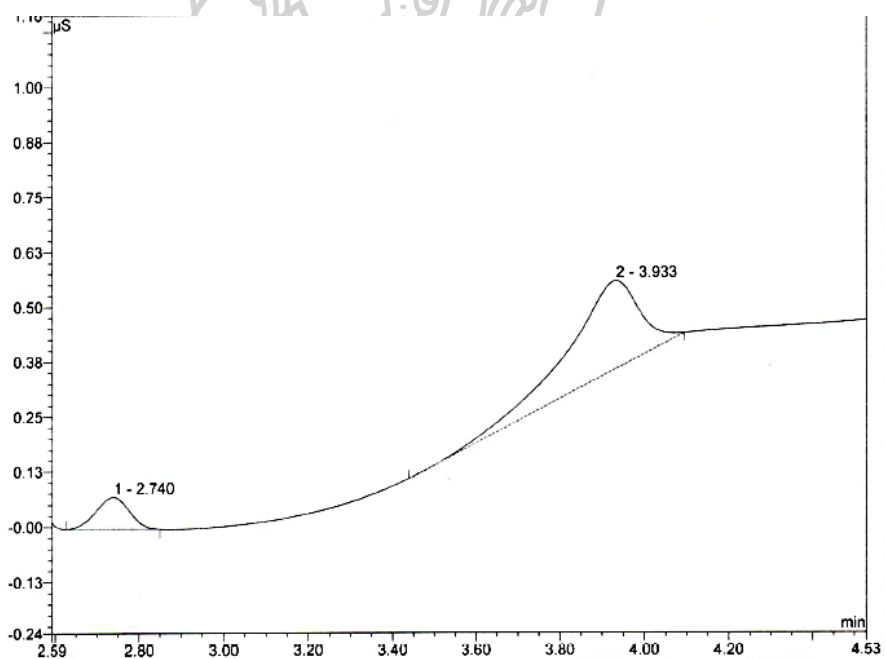
ภาพที่ 43 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรท 0.005 µM



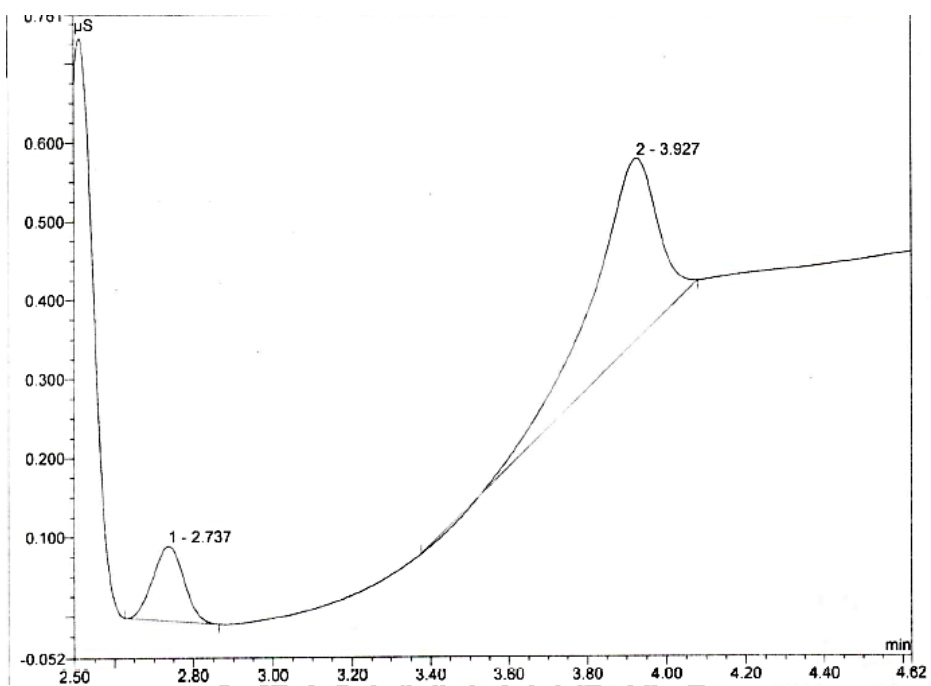
ภาพที่ 44 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทแลไนไตรท์ 0.01 µM



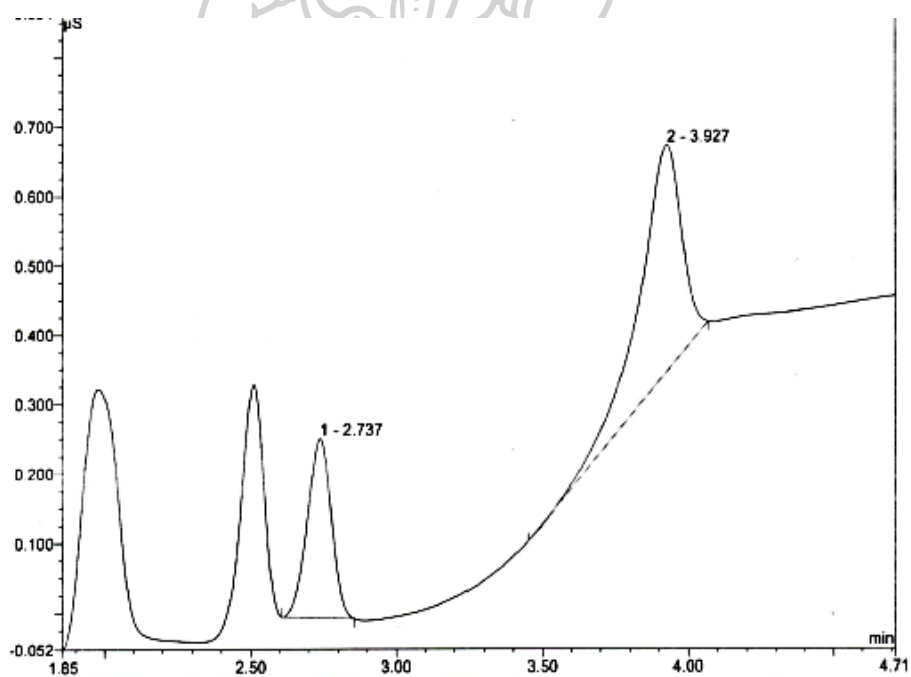
ภาพที่ 45 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ 0.10 μM



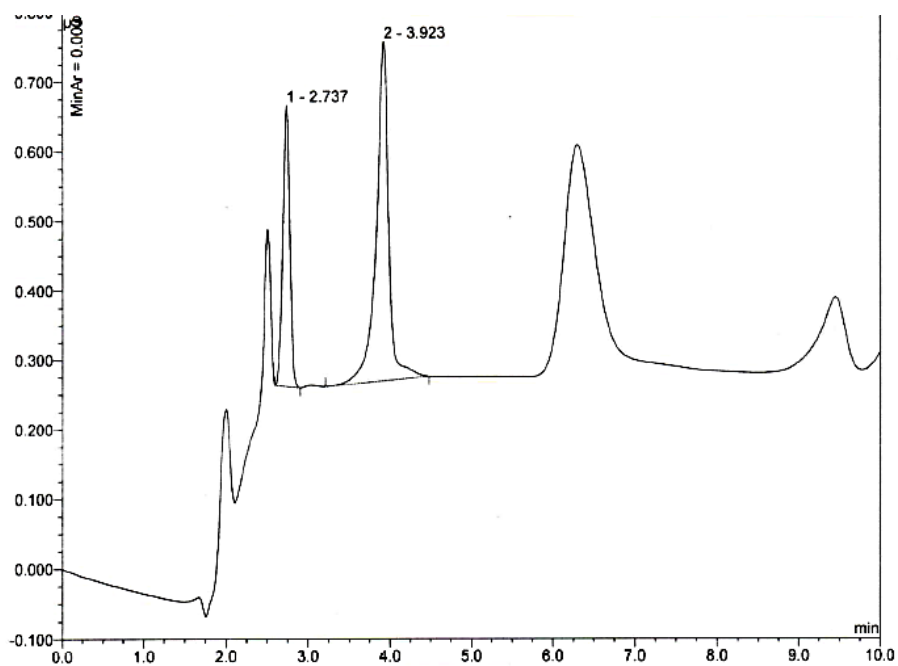
ภาพที่ 46 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ 0.50 μM



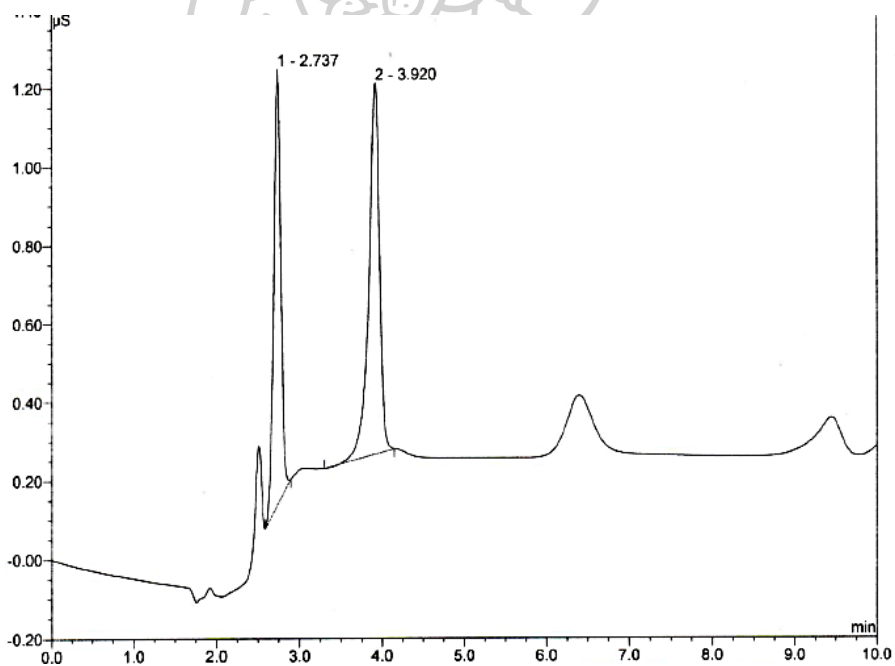
ภาพที่ 47 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ $1 \mu M$



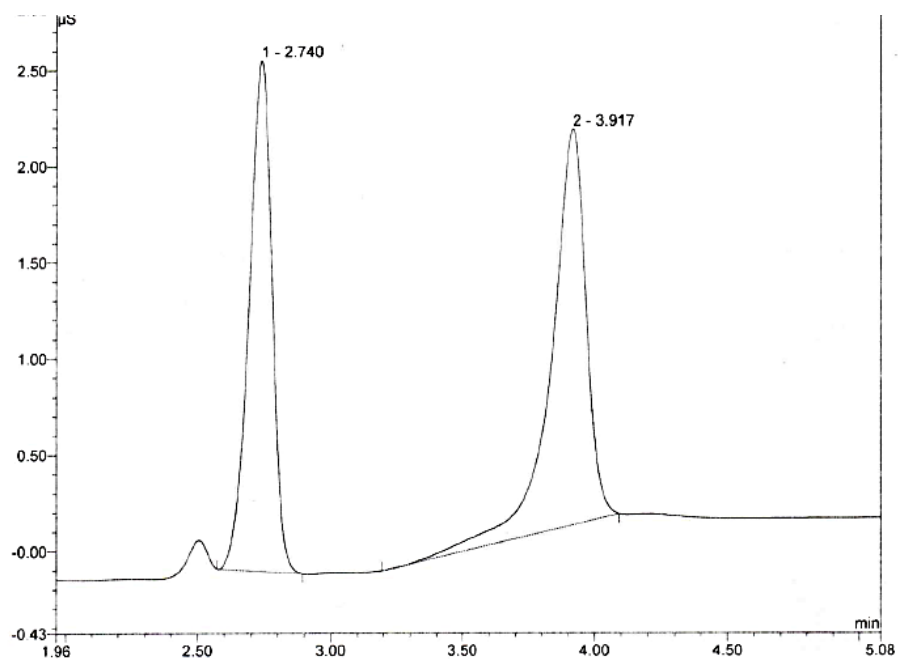
ภาพที่ 48 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ $3 \mu M$



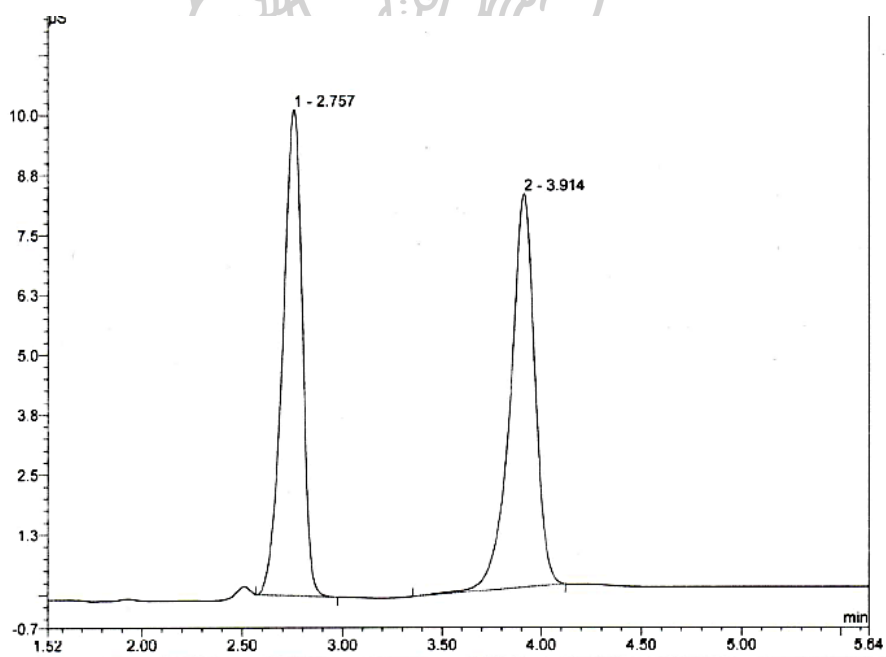
ภาพที่ 49 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ 5 μ M



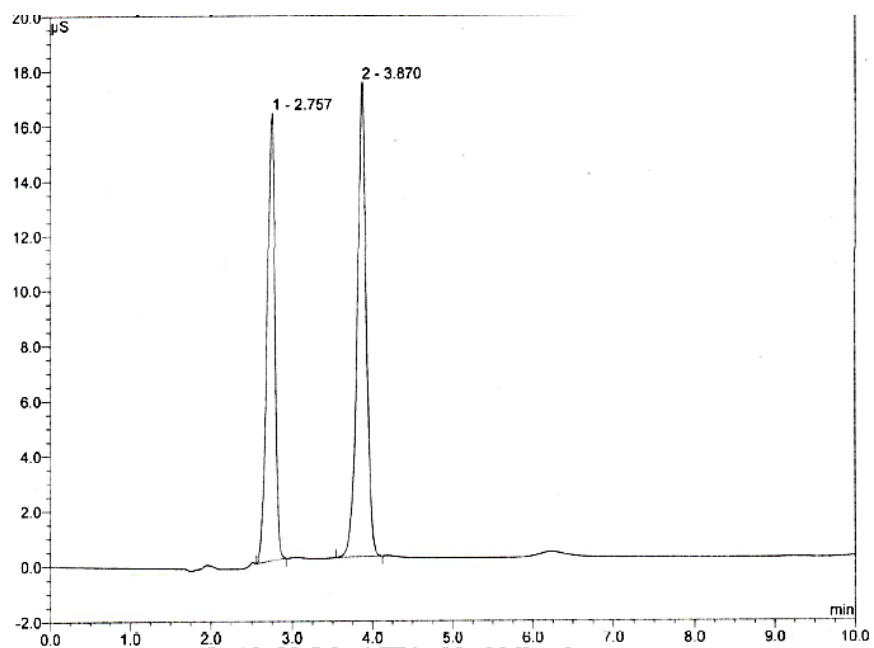
ภาพที่ 50 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ 15 μ M



ภาพที่ 51 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ 30 μM



ภาพที่ 52 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ 120 μM

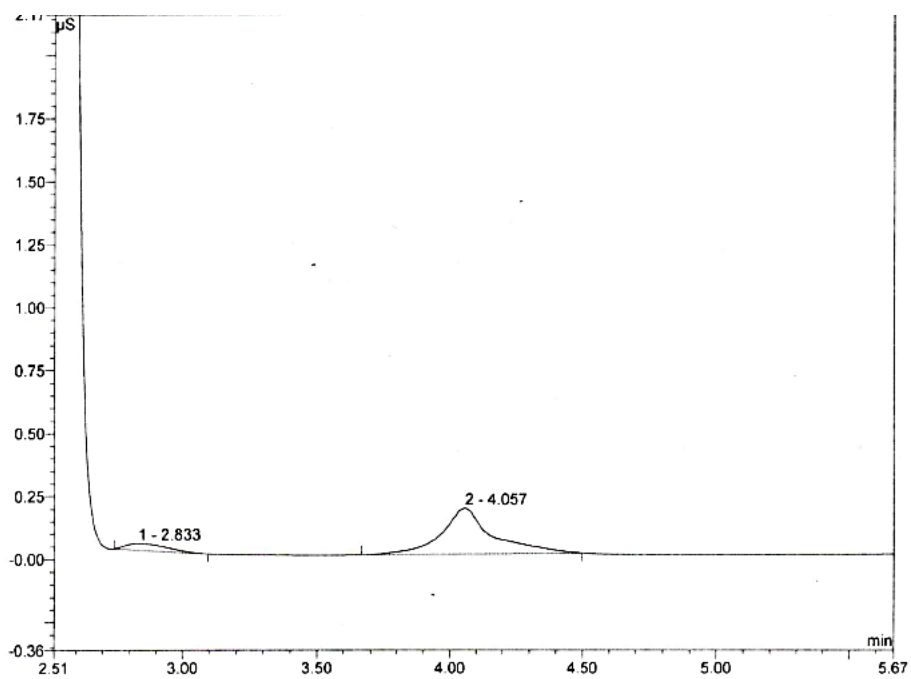


ภาพที่ 53 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานไนเตรทและไนไตรท์ 200 μM

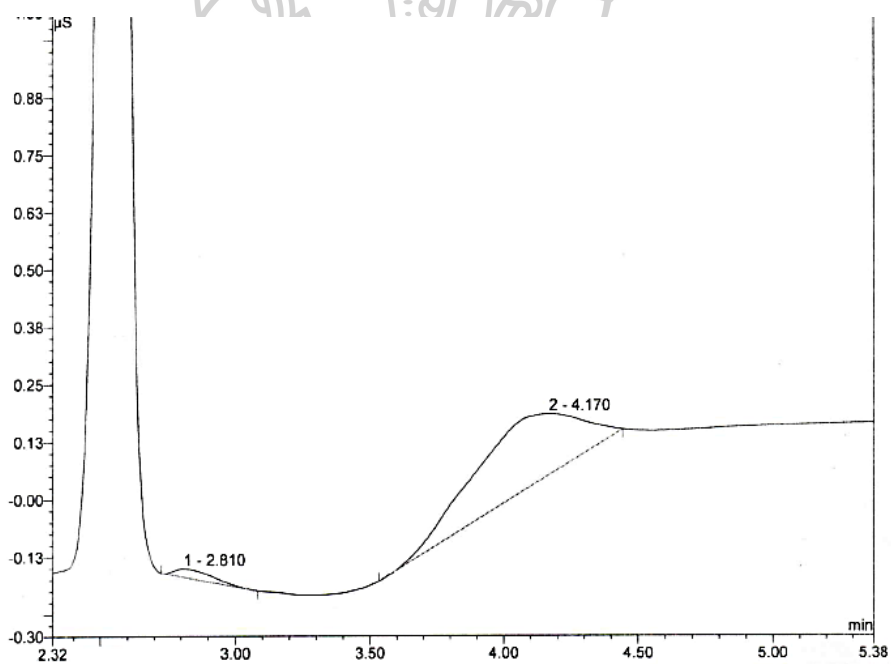


ภาคผนวก ง โครมาโตแกรมของตัวอย่างเขม่าดินปืนบริเวณมือ และปลอกกระสุนปืน

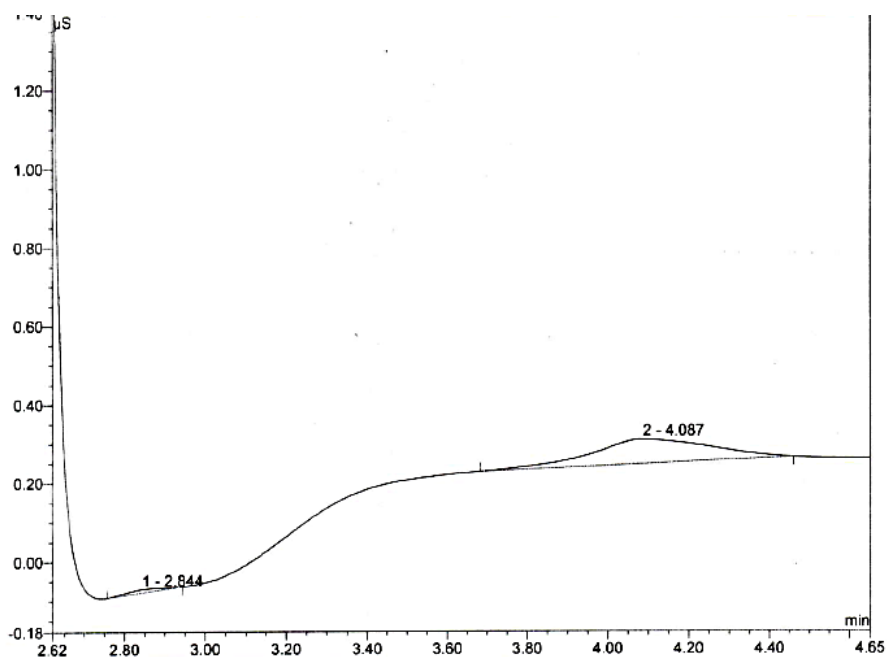




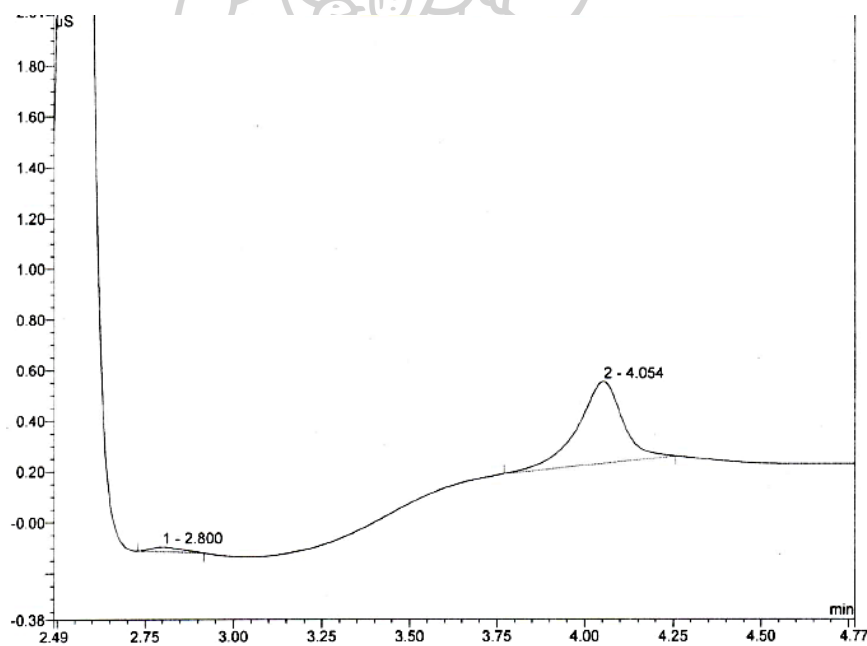
ภาพที่ 54 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 1 บริเวณฝ่ามือขวา



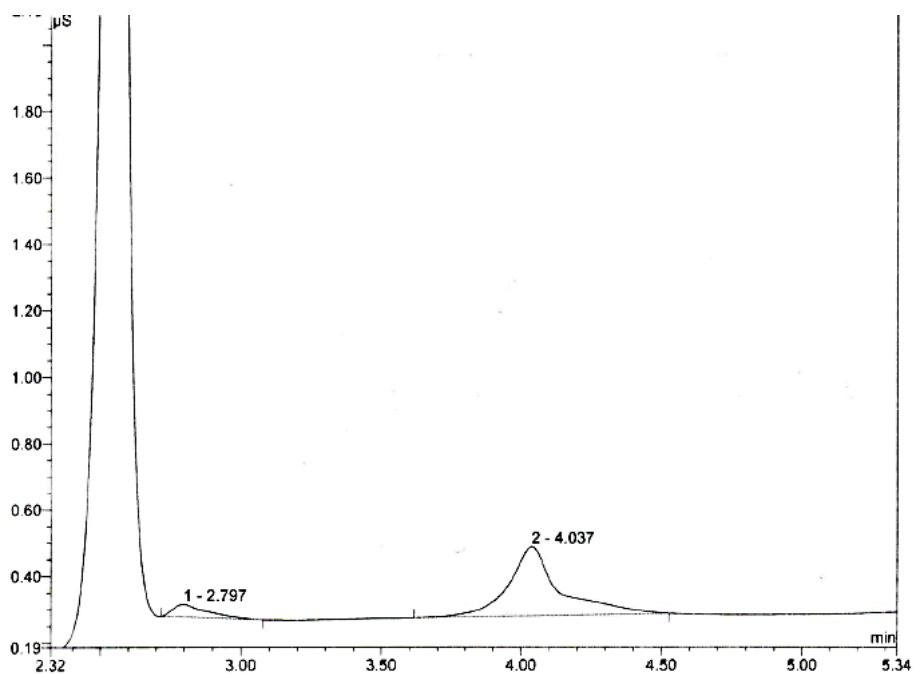
ภาพที่ 55 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 1 บริเวณหลังมือขวา



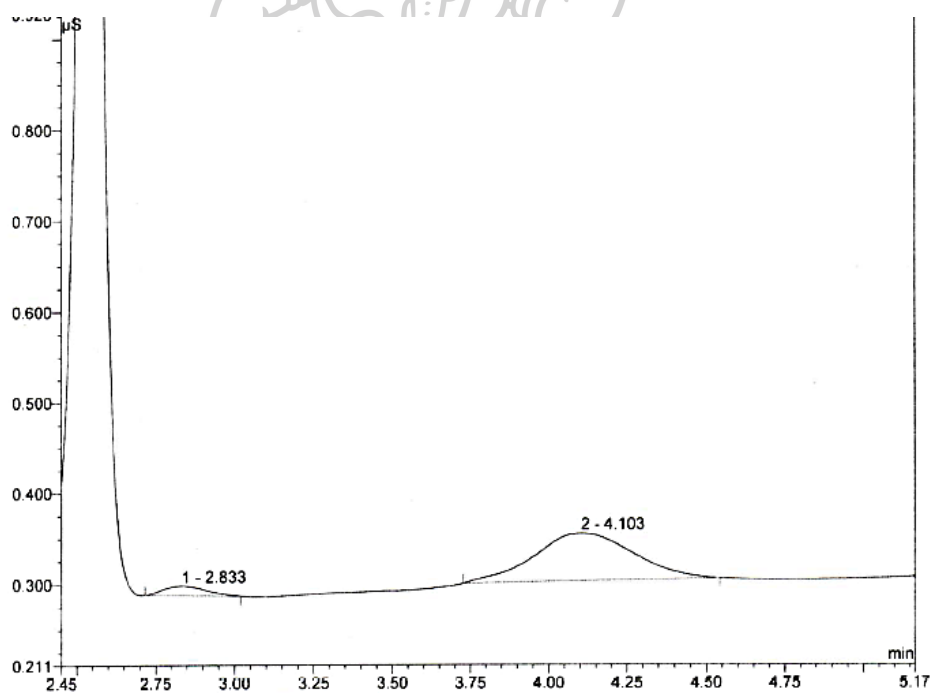
ภาพที่ 56 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 1 บริเวณฝ่ามือซ้าย



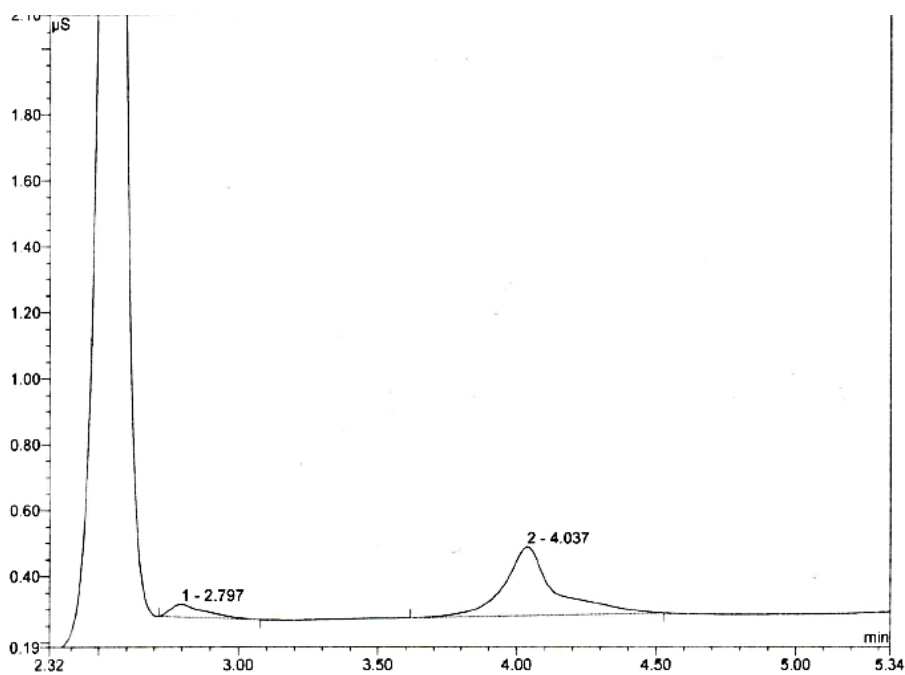
ภาพที่ 57 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 1 บริเวณหลังมือซ้าย



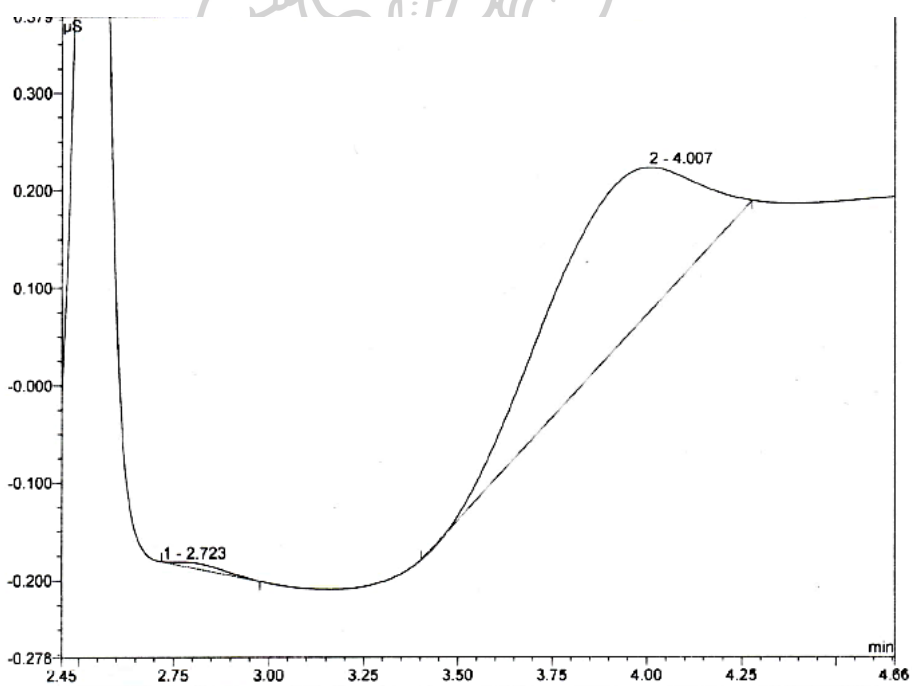
ภาพที่ 58 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 2 บริเวณฟ้ามือขวา



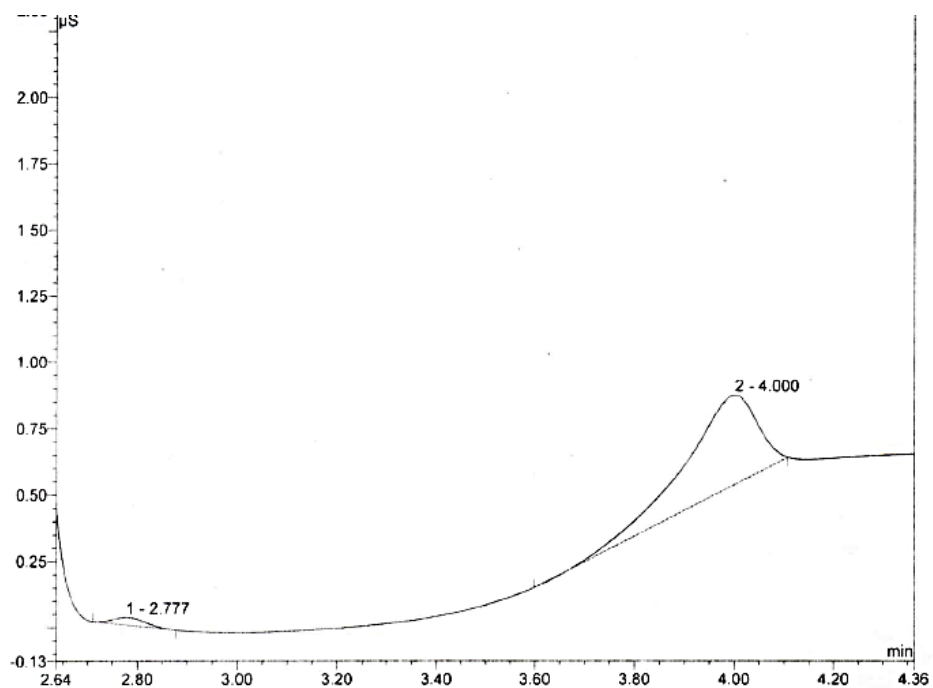
ภาพที่ 59 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 2 บริเวณหลังมือขวา



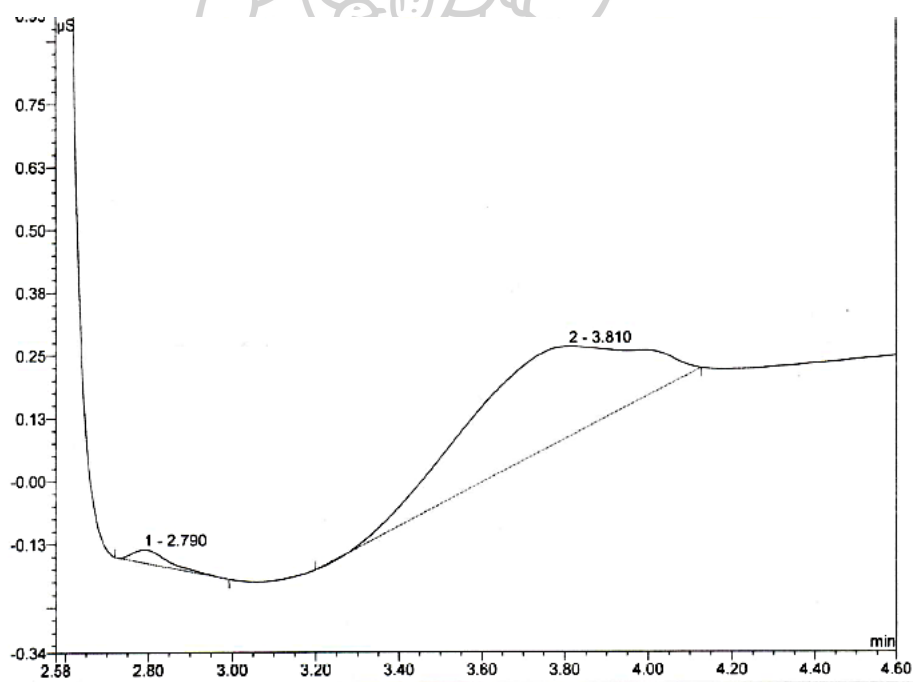
ภาพที่ 60 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 2 บริเวณฝามือซ้าย



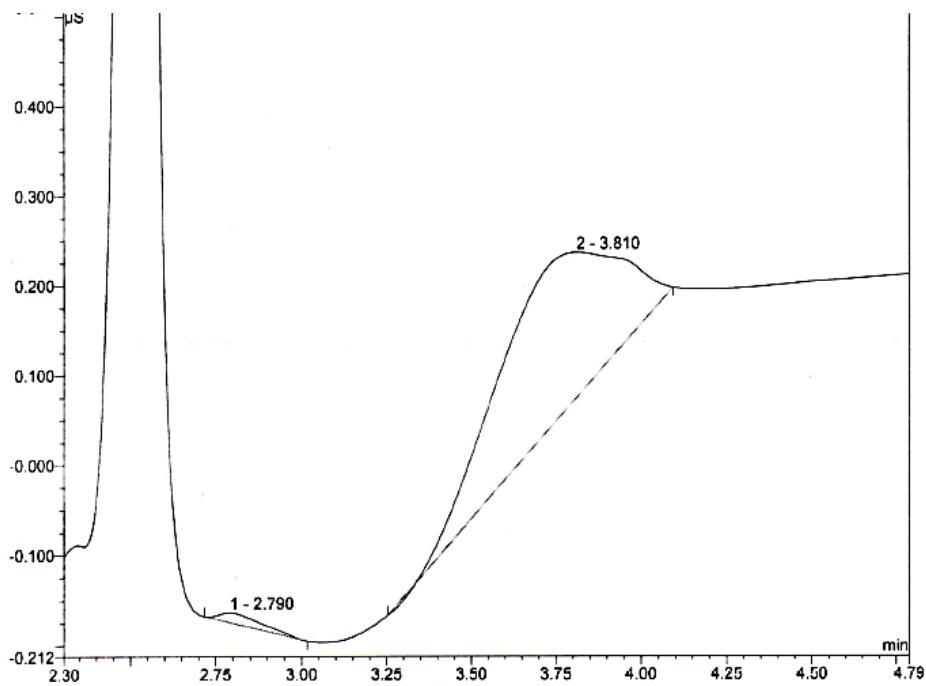
ภาพที่ 61 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 2 บริเวณหลังมือซ้าย



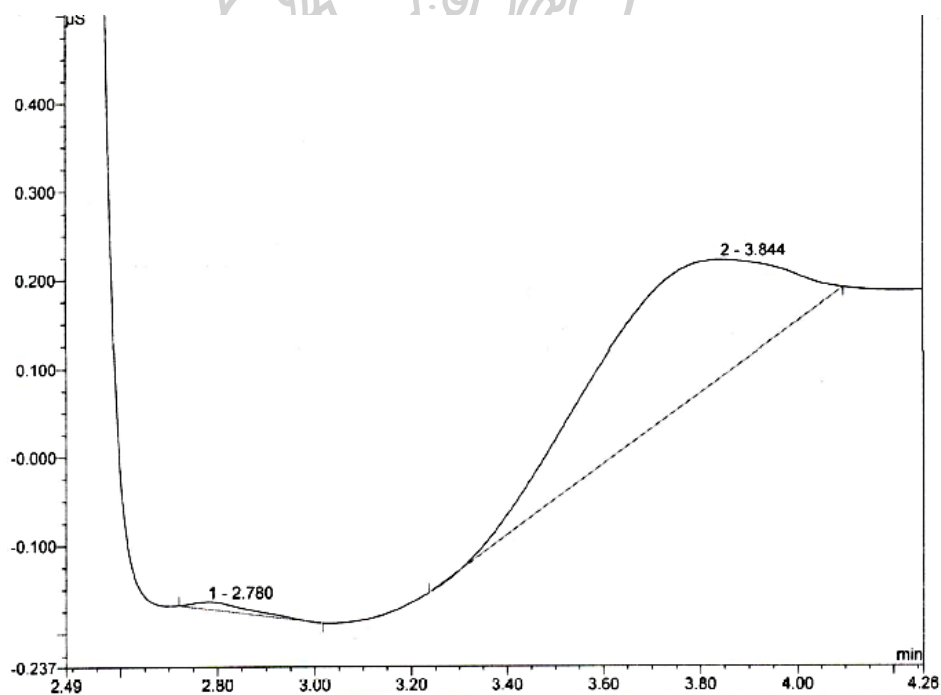
ภาพที่ 62 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 3 บริเวณฝ่ามือขวา



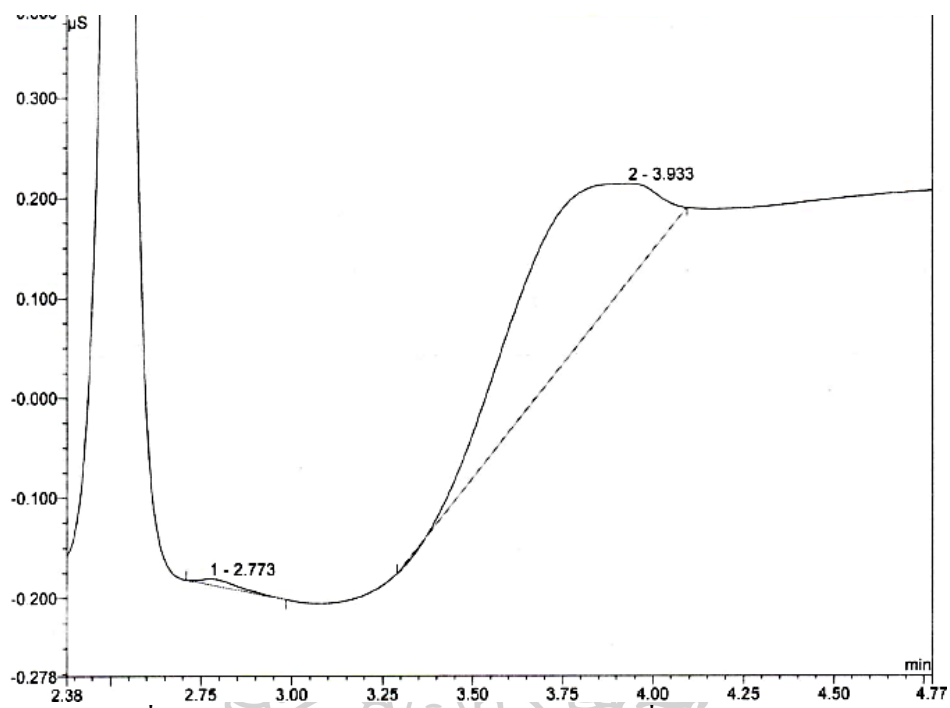
ภาพที่ 63 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 3 บริเวณหลังมือขวา



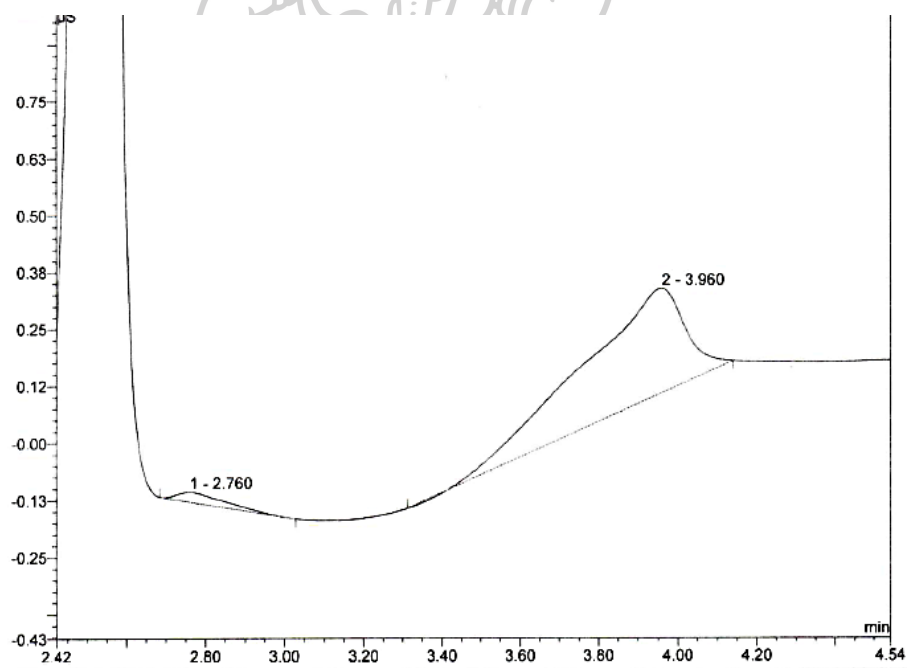
ภาพที่ 64 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 3 บริเวณฝ่ามือซ้าย



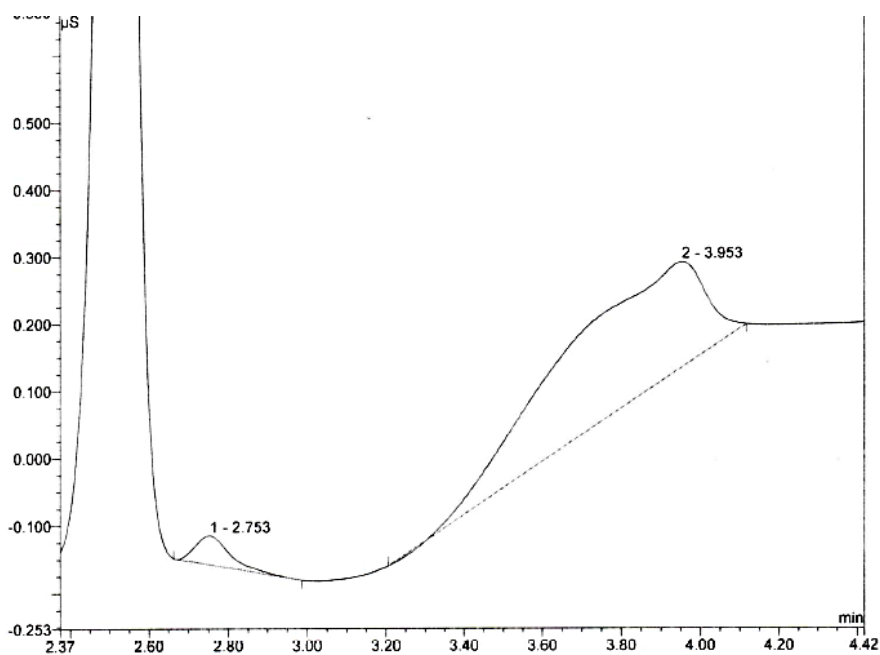
ภาพที่ 65 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 3 บริเวณหลังมือซ้าย



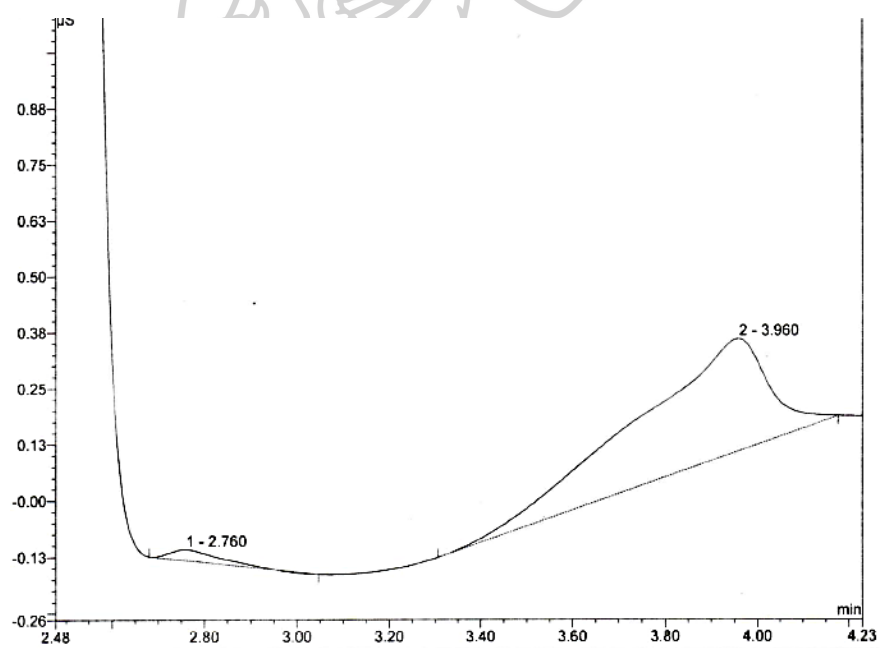
ภาพที่ 66 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 4 บริเวณฝ่ามือขวา



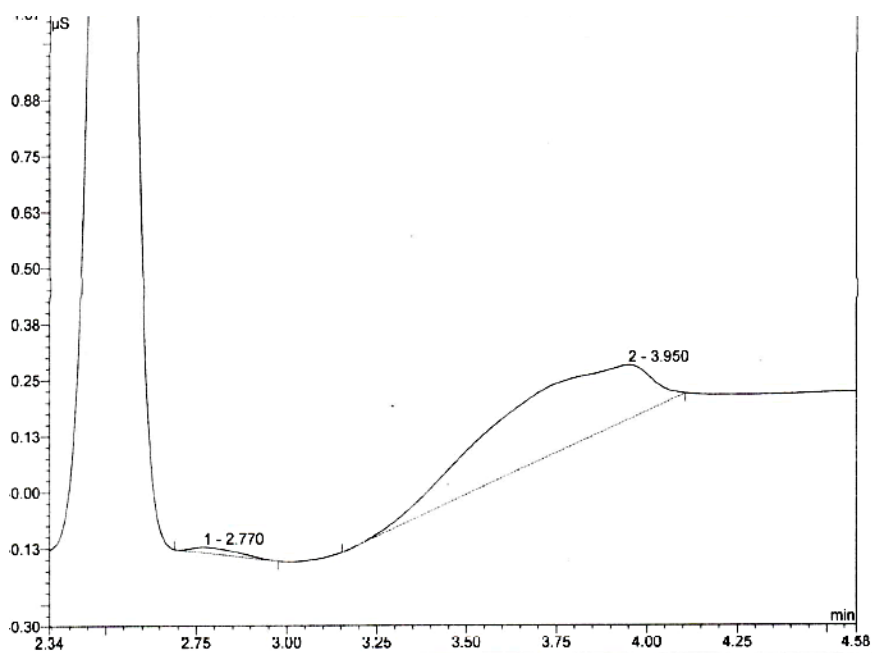
ภาพที่ 67 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 4 บริเวณหลังมือขวา



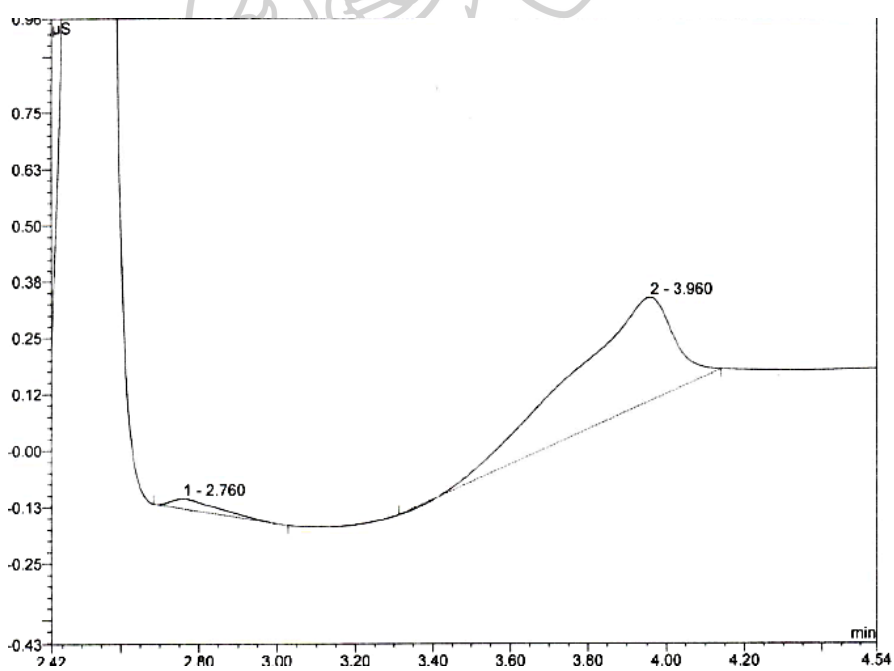
ภาพที่ 68 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 4 บริเวณฝ่ามือซ้าย



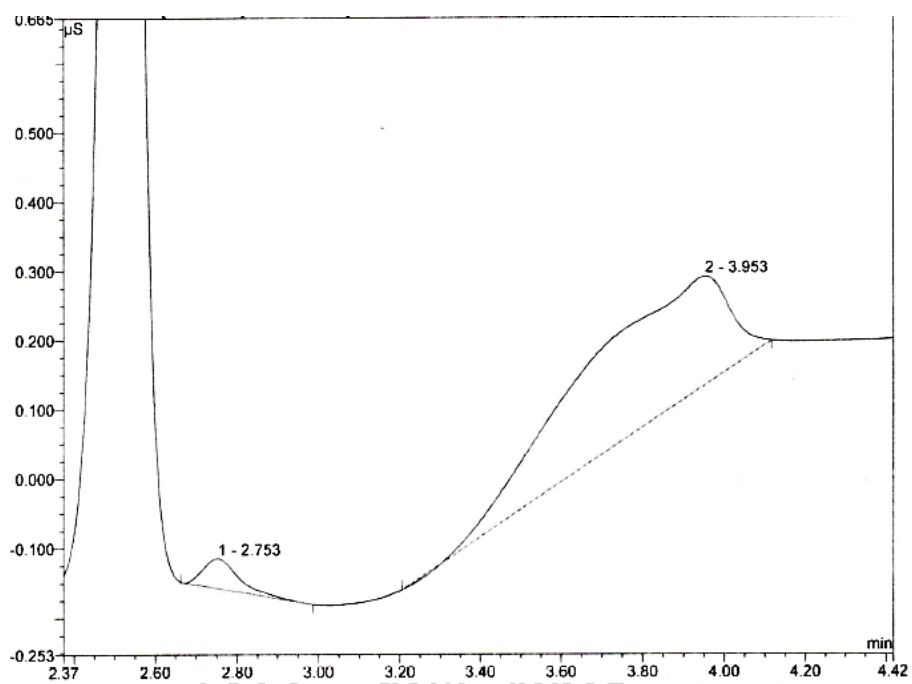
ภาพที่ 69 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 4 บริเวณหลังมือซ้าย



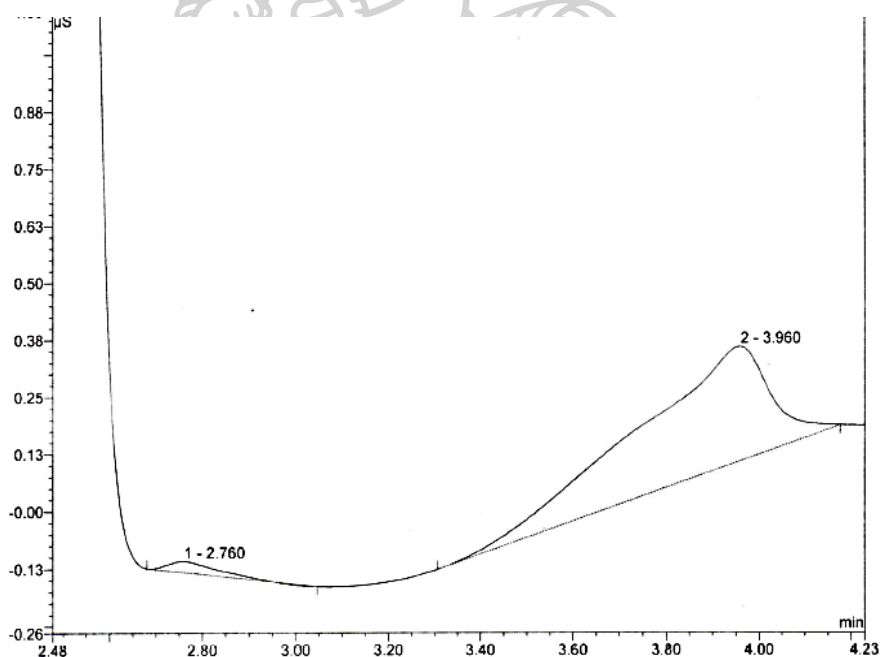
ภาพที่ 70 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณฝ้ามือขวา



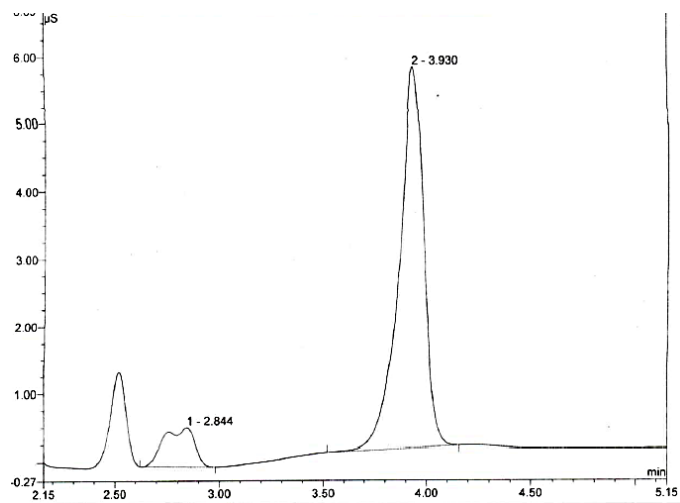
ภาพที่ 71 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณหลังมือขวา



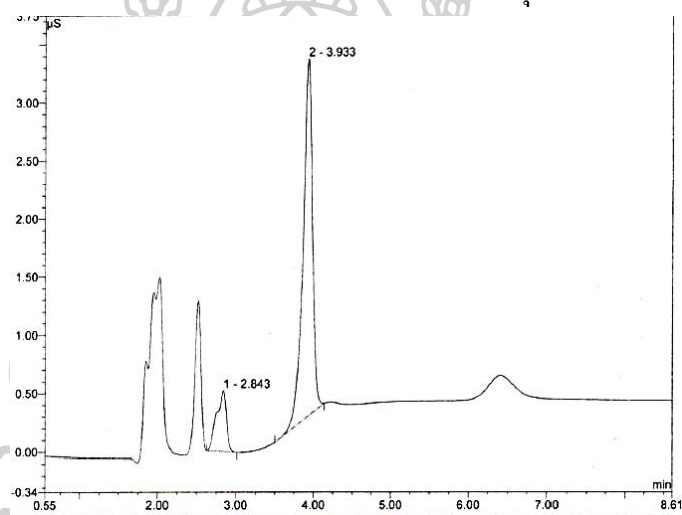
ภาพที่ 72 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณฝ่ามือซ้าย



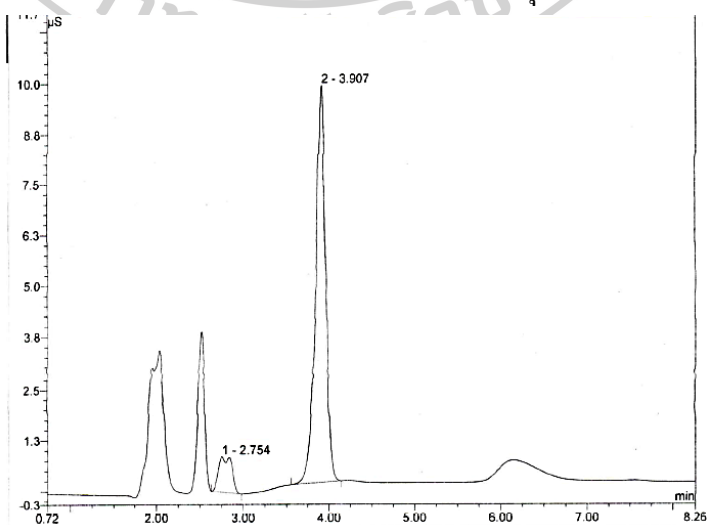
ภาพที่ 73 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนตัวอย่างที่ 5 บริเวณหลังมือซ้าย



ภาพที่ 74 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 1



ภาพที่ 75 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 2



ภาพที่ 76 โครมาโตแกรมของเขม่าดินปืนที่ปลอกกระสุนปืน 9 มม. ปลอกที่ 3

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	รุ่ง คำปู้
วัน เดือน ปี เกิด	28 มกราคม 2538
สถานที่เกิด	นนทบุรี
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เคมี)
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 87/1 หมู่ที่ 7 ตำบลบางกร่าง อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

