การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ

โดย
นางสาวอรอุษา เตียวตระกูล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ

โดย

นางสาวอรอุษา เตียวตระกูล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

DETERMINATION OF NITRITES AND NITRATES IN GUNSHOT RESIDUES BY A PAPER-BASED DEVICE

By

MISS Onusa TIAWTRAGUL

A Thesis Submitted in partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)
Science Silpakorn University
Academic Year 2016
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ
โดย	อรอุษา เตียวตระกูล
สาขาวิชา	นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

-- คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.ปานใจ ธารทัศนวงศ์)

พิจารณาเห็นชอบโดย

-- ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร. ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี)

-- อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง)

-- ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

(อาจารย์ ดร. ยุภาพร สมีน้อย)

57312331 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : ไนไตรท์, ไนเตรท, เขม่าดินปืน, อุปกรณ์แบบกระดาษ

นางสาว อรอุษา เตียวตระกูล: การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อาจารย์ ดร. ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง

งานวิจัยนี้ได้สร้างอุปกรณ์แบบกระดาษและอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction ในการตรวจวัดปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน ใช้โปรแกรม ImageJ ในการอ่านค่าสีของจุดที่ปรากฏบนอุปกรณ์ นำข้อมูลค่าสีและปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์และของไนเตรทมาสร้างกราฟมาตรฐาน ในช่วงปริมาณของไนไตรท์เท่ากับ 0.15 - 1.80 nmol และของไนเตรทเท่ากับ 2.0 - 10.0 nmol เมื่อนำอุปกรณ์แบบกระดาษมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่เก็บตัวอย่างจากมือผู้ยิงและจากด้านในของปลอกกระสุนปืนที่ยิงแล้ว พบว่าปริมาณของไอออนไนไตรท์ที่วัดได้จากอุปกรณ์แบบกระดาษมีความสัมพันธ์กับปริมาณของไอออนไนไตรท์ที่วิเคราะห์ได้โดยใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9264 ในขณะที่ปริมาณของไอออนไนเตรทที่วิเคราะห์ได้จากทั้งสองวิธีมีความสอดคล้องกัน ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9490 วิธีการที่ใช้อุปกรณ์แบบกระดาษที่พัฒนาในงานวิจัยนี้ อาจนำไปใช้หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืน เพื่อวัตถุประสงค์ทางนิติวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

57312331 : Major (FORENSIC SCIENCE)

Keyword : NITRITE, NITRATE, GUNSHOT RESIDUES, PAPER-BASED DEVICE

MISS Onusa TIAWTRAGUL : DETERMINATION OF NITRITES AND NITRATES IN GUNSHOT RESIDUES BY A PAPER-BASED DEVICE Thesis advisor : Sirirat Choosakoonkriang, Ph.D.

In this study, a paper-based device based on Griess reaction was fabricated and was used to determine the amounts of nitrite and nitrate ions in gunshot residues. The ImageJ software was used to measure color values of the images of spots on the device. Calibration graphs were constructed for the color values and the amounts of standard nitrite and nitrate ions in the range of 0.15 - 1.80 nmol and 2.0 - 10.0 nmol respectively. The device was then used to analyse the nitrite and nitrate ions in gunshot residues collected from the hands of a shooter and from the inside of the fired cartridge cases. A correlation between the amounts of nitrite measured by using the paper-based device and those determined by an Ion chromatography technique was observed with a correlation coefficient of 0.9264 while the amounts of nitrate ions measured by the two methods were in good agreement with a correlation coefficient of 0.9490. The method of using the paper-based device developed in this work may be used to determine the amounts of nitrite and nitrate ions in gunshot residues for forensic purpose.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ เรื่อง การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ 2 ท่าน ท่านแรกคืออาจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี ที่ท่านคอยให้ความรู้ และให้คำแนะนำตั้งแต่การหาหัวข้อวิทยานิพนธ์ ตลอดจนแนวทางการแก้ไขปัญหาในการทำการทดลอง ทั้งสองท่านได้สละเวลาและช่วยเหลืออย่างดียิ่ง จนกระทั่งวิทยานิพนธ์นี้มีความสมบูรณ์และสำเร็จลุล่วงลงด้วยดี

นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยให้กำลังใจ และช่วยเหลือ และขอขอบพระคุณอาจารย์ประจำคณะนิติวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่กรุณาให้ความรู้อันเป็นประโยชน์ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชานิติวิทยาศาสตร์ สำหรับความช่วยเหลือและความเอื้อเฟื้อจนกระทั่งวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

อรอุษา เตียวตระกูล

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ...... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ...... จ
กิตติกรรมประกาศ ...... ฉ
สารบัญ ...... ช
สารบัญตาราง ...... ญ
สารบัญภาพ ...... ฎ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
2.วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
3.สมมุติฐานของการวิจัย 2
4.ขอบเขตของการวิจัย 3
5.ความจำกัดของการวิจัย 3
6. นิยามศัพท์เฉพาะ 3
7. ประโยชน์ที่จะได้รับ 4
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 5
1. อาวุธปืนและเครื่องกระสุนปืน 5
2. เขม่าดินปืน (Gunshot residue; GSR) 11
3. ไนไตรท์และไนเตรท 13
4. Griess assay 14
5. อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (Paper-based device) 15

6.เทคนิค Ion chromatography (IC) 16
7.งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 17
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย....................21
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง....................21
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง....................26
3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน....................26
3.4 สารตัวอย่างในการทดลอง 27
3.5 การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ 28
3.6 การเตรียมอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อตรวจวัด 29
3.7 ศึกษาการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทด้วยอุปกรณ์ที่ได้สร้างขึ้น....................29
3.7.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอุปกรณ์เพื่อตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท......29
3.7.2 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท....................31
3.7.3 ศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility) 32
3.7.4 ศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (Limit of quantification, LOQ) 32
3.7.5 ศึกษาความเสถียรของอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (Stability) 32
3.8 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์แบบกระดาษ 33
3.9 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี....................33
3.10 ขั้นตอนการวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ....................34
3.11 แผนการดำเนินการวิจัย....................37
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย....................38
4.1 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทด้วยอุปกรณ์ที่ได้สร้างขึ้น.....38

4.1.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอุปกรณ์เพื่อตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท......38

4.1.2 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท........................43

4.1.3 ศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility)..46

4.1.4 ศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)..48

4.1.5 ศึกษาความเสถียรของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (Stability).....49

4.2 ผลการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์แบบกระดาษ......52

4.3 ผลการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี..54

4.4 ผลการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี..60

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..66

5.1 สรุป...66

5.2 อภิปรายผล...67

5.3 ข้อเสนอแนะ...67

รายการอ้างอิง...68

ภาคผนวก...70

ภาคผนวก ก กราฟจากการศึกษาการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทด้วยอุปกรณ์ที่ได้สร้างขึ้น...71

ภาคผนวก ข Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือและในปลอกกระสุนปืน...74

ประวัติผู้เขียน...80

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 21

ตารางที่ 2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 26

ตารางที่ 3 สภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟี 33

ตารางที่ 4 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารมาตรฐานไนไตรท์บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ 44

ตารางที่ 5 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารมาตรฐานไนเตรทบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ 46

ตารางที่ 6 ผลการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์....................47

ตารางที่ 7 ผลการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนเตรท....................47

ตารางที่ 8 ผลการศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการหาปริมาณของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท....................48

ตารางที่ 9 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ 53

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท....................55

ตารางที่ 11 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทจากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี 57

ตารางที่ 12 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 μM....................58

ตารางที่ 13 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ได้จากเครื่องโครมาโทกราฟี....59

ตารางที่ 14 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี....................60

ตารางที่ 15 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากการเปรียบเทียบทั้งสองวิธี (9 ตัวอย่าง)....................64

ตารางที่ 16 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของปริมาณไนเตรทที่ได้จากการเปรียบเทียบทั้งสองวิธี 65

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของปืน a.อาวุธปืนพกอัตโนมัติ (Semiautomatic pistol) b.อาวุธปืนลูกโม่ (Revolver) 7

ภาพที่ 2 ส่วนประกอบของกระสุนปืน 8

ภาพที่ 3 ลูกกระสุนปืนชนิดต่างๆ 9

ภาพที่ 4 ปลอกกระสุนปืนชนิดต่างๆ 9

ภาพที่ 5 ส่วนสำคัญของ Primer cap 11

ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของไนไตรท์ 13

ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของไนเตรท 14

ภาพที่ 8 Resonance structures ของไนเตรท 14

ภาพที่ 9 ปฏิกิริยา Griess reaction 15

ภาพที่ 10 ส่วนประกอบของเครื่อง Ion chromatography 17

ภาพที่ 11 การเตรียมกระดาษกรองและแผ่นพลาสติกเคลือบบัตร 18

ภาพที่ 12 ขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ 19

ภาพที่ 13 a) แผนภาพแบบ 2 มิติ b) แผนภาพแบบ 3 มิติ ของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ 20

ภาพที่ 14 ขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ 28

ภาพที่ 15 แสดงโปรแกรม ImageJ 34

ภาพที่ 16 แสดงการเลือกรูปถ่ายในโปรแกรม ImageJ 35

ภาพที่ 17 แสดงการปรับเป็นโหมด RGB ในโปรแกรม ImageJ 35

ภาพที่ 18 แสดงบริเวณที่ตรวจวัดและการ Analyze measurement ในโปรแกรม ImageJ 36

ภาพที่ 19 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัย 37

ภาพที่ 20 อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ 38

ภาพที่ 21 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย NED เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL และสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 µM ปริมาตร 10 µL และเปลี่ยนแปลงปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 0 µM (B) สารละลาย Sulfanilamide ปริมาตร 10 µL (500 nmol) (C) สารละลาย Sulfanilamide ปริมาตร 11 µL (550 nmol) (D) สารละลาย Sulfanilamide ปริมาตร 12 µL (600 nmol) 39

ภาพที่ 22 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10 µL และสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 µM ปริมาตร 10 µL และเปลี่ยนแปลงปริมาตรสารละลาย NED เข้มข้น 10 mM (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 0 µM (B) สารละลาย NED ปริมาตร 10 µL (99.7 nmol) (C) สารละลาย NED ปริมาตร 11 µL (109.7 nmol) (D) สารละลาย NED ปริมาตร 12 µL (119.6 nmol) 39

ภาพที่ 23 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10 µL และสารละลาย NED เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL และเปลี่ยนแปลงปริมาตรสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 µM (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 0 µM (B) สารละลายไนไตรท์ ปริมาตร 10 µL (1.50 nmol) (C) สารละลายไนไตรท์ ปริมาตร 11 µL (1.65 nmol) (D) สารละลายไนไตรท์ ปริมาตร 12 µL (1.80 nmol) 40

ภาพที่ 24 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10 µL สารละลาย NED เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL และสารละลายไนเตรทเข้มข้น 1000 µM ปริมาตร 10 µL และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น Zinc suspension ปริมาตร 10 µL (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 µM (B) Zinc suspension เข้มข้น 0.075 g/mL (0.75 mg) (C) Zinc suspension เข้มข้น 0.1 g/mL (1 mg) (D) Zinc suspension เข้มข้น 0.125 g/mL (1.25 mg) 41

ภาพที่ 25 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของ Zinc (mg) (n=4) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB 41

ภาพที่ 26 ความเข้มสีที่ปรากฏบนกระดาษที่ได้จากสารละลายไนเตรททำปฏิกิริยากับ Griess reagent ที่เวลาต่างๆ 42

ภาพที่ 27 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาที่ทำการถ่ายภาพ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB 42

ภาพที่ 28 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารมาตรฐานไนไตรท์ที่ปริมาณ 0.15, 0.30, 0.60, 1.20 และ 1.80 nmol ลงไป 43

ภาพที่ 29 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์ (n=3) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB....................44

ภาพที่ 30 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารมาตรฐานไนเตรทที่ปริมาณ 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 nmol ลงไป 45

ภาพที่ 31 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของสารมาตรฐานไนเตรท (n=3) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB....................45

ภาพที่ 32 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB....50

ภาพที่ 33 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB....50

ภาพที่ 34 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษที่เก็บไว้ในตู้เย็นโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB 51

ภาพที่ 35 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ในตู้เย็นโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB 52

ภาพที่ 36 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานผสมไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้น 15 µM 55

ภาพที่ 37 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์ (n=2)........56

ภาพที่ 38 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณของสารมาตรฐานไนเตรท (n=2)........56

ภาพที่ 39 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 μM 57

ภาพที่ 40 Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ THAI ARM ขนาด 9 มม........58

ภาพที่ 41 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนไตรท์ ในหน่วย nmol ของการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี........62

ภาพที่ 42 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนเตรท ในหน่วย nmol ของการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี........63

ภาพที่ 43 กราฟพลอตระหว่างปริมาณของไนไตรท์ที่ได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ กับค่าจากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (9 ตัวอย่าง)........64

ภาพที่ 44 กราฟพลอตระหว่างปริมาณของไนเตรทที่ได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ กับค่าจากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี........65

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 1 บทนำ

1.ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการนำเอาความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมาพัฒนาใช้ในการพิสูจน์หลักฐานต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นการตรวจลายนิ้วมือ การตรวจรหัสพันธุกรรม (DNA) เอกสาร ยาเสพติด หรืออาวุธปืน รวมเข้ากับการบังคับใช้กฎหมาย โดยศาลได้ถือว่าพยานหลักฐานเหล่านี้เป็นพยานหลักฐานอย่างหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการพิจารณาคดีหรือนำความรู้ที่ได้มาวินิจฉัยว่าจำเลยมีความผิดจริงหรือไม่ เนื่องจากสามารถใช้พิสูจน์ความผิดได้อย่างชัดเจนโดยมีข้อโต้แย้งน้อยกว่าพยานหลักฐานในลักษณะอื่น และมีความน่าเชื่อถือมาก

เขม่าดินปืน คือสิ่งที่เกิดขึ้นภายหลังจากการยิงปืน เป็นส่วนที่หลงเหลือจากการเผาไหม้ของชนวนท้ายกระสุนปืนและดินส่งกระสุนปืน ซึ่งจะปลิวไปเกาะอยู่ที่บริเวณมือ เสื้อผ้า เส้นผม หรือพื้นผิวอื่นๆที่อยู่บริเวณใกล้เคียง[1] สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ Inorganic residues ซึ่งได้มาจาก Primer mixture ที่ถูกเผาไหม้เมื่อได้รับความร้อนในระหว่างการจุดระเบิดของชนวนท้ายกระสุนปืน และหลงเหลือเป็นเขม่าที่ประกอบไปด้วยอนุภาคของโลหะหนัก ได้แก่ ตะกั่ว (Pb) แอนติโมนี (Sb) และแบเรียม (Ba) สามารถตรวจพิสูจน์ได้ด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)[2], Atomic absorption spectrophotometer (AAS)[3] หรือ Scanning electron microscopy (SEM) /EDX[4] และ Organic residues ที่ได้จากการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืน สามารถตรวจได้จากปริมาณไอออนไนไตรท์และไนเตรท เนื่องจากไอออนทั้งสองชนิดนี้เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในดินปืน วิธีที่ใช้หาปริมาณ ได้แก่ เทคนิคทดสอบสี (Color test)[5], Ion chromatography (IC)[6],[7], UV-Visible spectroscopy[8] เป็นต้น

อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (Paper based device) ถูกริเริ่มโดย Whitesides และคณะ เป็นแนวทางการปฏิวัติสำหรับการวิเคราะห์ที่มีราคาถูกและรวดเร็ว[9] เป็นอุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์รูปแบบใหม่ที่กำลังเป็นที่นิยมมากในการวินิจฉัยทางการแพทย์ เนื่องจากเป็นอุปกรณ์ที่มีต้นทุนในการผลิตต่ำ ประดิษฐ์ใช้งานได้ง่าย อีกทั้งกระดาษยังเป็นวัสดุที่หาซื้อได้ทั่วไป นอกจากนี้การวิเคราะห์บนอุปกรณ์กระดาษยังไม่จำเป็นที่จะต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ พกพาไปใช้ในภาคสนามได้ อุปกรณ์กำจัดทิ้งได้โดยการเผา ใช้ปริมาณสารตัวอย่างและรีเอเจนต์น้อยในการวิเคราะห์ สามารถสร้างลวดลายบนกระดาษได้ตามต้องการ เหมาะสำหรับใช้ในประเทศกำลังพัฒนาที่อยู่ห่างไกลจากโรงพยาบาลหรือสถานพยาบาลและสถานที่เกิดภัยพิบัติทางธรรมชาติ[10] โดยเมื่อหยดสารละลายลงบนกระดาษ ซึ่งเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) สารที่หยดลงไปก็จะซึมและเคลื่อนที่ไปยัง

บริเวณตรวจวัด โดยสามารถควบคุมทิศทางการไหลของสารได้โดยการสร้างบางส่วนของกระดาษให้ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เพื่อเป็นช่องทางการไหลของสารลงบนกระดาษ[11]

สำหรับเทคนิคที่ใช้ในการสร้างอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษมีด้วยกันหลากหลายวิธีแต่ละวิธีก็มีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันออกไป เช่น การตัดกระดาษ (Paper cutting) การพิมพ์สกรีน (Screen printing) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (Wax printing) การพิมพ์ด้วยน้ำหมึก (Inkjet printing) การพิมพ์ด้วยแสง (Photolithography) การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (Plotter) การปรับสภาพด้วยเลเซอร์ (Laser treatment) เป็นต้น ส่วนการตรวจวัดอาจทำด้วยการเทียบสี ซึ่งวิธีนี้เป็นที่นิยมใช้กันอย่างมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สามารถที่จะมองได้ด้วยตาเปล่า หรือใช้กล้องในการถ่ายภาพ หรือใช้เครื่องสแกนเนอร์ จากนั้นรูปภาพจะถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมต่อไป[12]

จากที่กล่าวมาข้างต้น จะเห็นได้ว่าอุปกรณ์การวิเคราะห์บนกระดาษมีข้อดีมากมายหลายข้อ เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาประยุกต์ใช้งานในการสืบสวนสอบสวนเพื่อหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนได้ เพราะเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว

ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยสนใจวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืน โดยสร้างอุปกรณ์ด้วยวิธีการตัดกระดาษ (Paper cutting) และตรวจวัดโดยการเทียบสีบนอุปกรณ์กระดาษ แล้วใช้กล้องมือถือในการถ่ายภาพ ก่อนจะใช้โปรแกรม ImageJ เพื่อวิเคราะห์หาความเข้มสีแล้วแปลผลการทดลองต่อไป

2.วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษที่สามารถตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนเชิงปริมาณได้

2.2 เพื่อสามารถนำอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปใช้ในการตรวจวัดในภาคสนามได้

2.3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษกับวิธีมาตรฐาน

3.สมมุติฐานของการวิจัย

3.1 อุปกรณ์แบบกระดาษสามารถตรวจวัดปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน และใช้งานในภาคสนามได้

3.2 อุปกรณ์แบบกระดาษมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรท

4.ขอบเขตของการวิจัย

4.1 ประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษเพื่อหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรท ในตัวอย่างเขม่าดินปืน

4.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ไตรท์และไนเตรทด้วย Griess assay บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ สภาวะที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณ Griess reagent ปริมาณตัวอย่าง ปริมาณ Zinc และระยะเวลาที่เหมะสมสำหรับการถ่ายภาพ

4.3 ทดสอบประสิทธิภาพของวิธี Griess assay บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้น โดยหาค่าการวิเคราะห์ ได้แก่ ความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility, %RSD) ขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection) ขีดจำกัดการหาปริมาณ (Limit of quantification) และความเสถียรของอุปกรณ์แบบกระดาษ (Stability)

5.ความจำกัดของการวิจัย

5.1 ใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ในการทำอุปกรณ์แบบกระดาษ

5.2 ทำการถ่ายภาพด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือยี่ห้อ iPhone รุ่น 5 ภายใต้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ตำแหน่งเดิมทุกครั้ง ให้ระยะห่างระหว่างอุปกรณ์กับกล้องเท่ากับ 20 เซนติเมตร

6. นิยามศัพท์เฉพาะ

6.1 Griss assay คือ การทดสอบทางเคมีเชิงวิเคราะห์ โดยใช้ Sulfanilamide และ N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI (NED) ภายใต้สภาวะกรด ตรวจจับไอออนไนไตรท์ในสารละลาย

6.2 เขม่าดินปืน คือ สิ่งที่เกิดขึ้นหลังจากยิงปืน เป็นส่วนที่เหลือหลังการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืนหรือดินควันน้อยที่อยู่ในปลอกกระสุนปืนออกมาสู่บริเวณรอบๆ ประกอบด้วยไอออนของไนไตรท์และไนเตรท

6.3 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษ คือ อุปกรณ์ที่สร้างช่องไหลของสารบนกระดาษ โดยจะสร้างส่วนที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) จากการเจาะกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) จากแผ่นพลาสติกใสที่ซ้อนทับกัน 4 ชั้น โดยใช้เทปกาวสองหน้าเป็นตัวยึด จากนั้นเจาะรูให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm ด้านหลังของอุปกรณ์จะถูกปิดทับด้วยเทปใส ส่วนด้านบนถูกปิดด้วยสติ๊กเกอร์ใสที่เจาะช่องไว้สำหรับหยดตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 mm

7. ประโยชน์ที่จะได้รับ

7.1 อุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษสามารถหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนได้

7.2 สามารถนำเอาอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์บนกระดาษไปใช้งานในภาคสนามได้

7.3 เพื่อเป็นแนวทางและทางเลือกหนึ่ง ให้เจ้าหน้าที่ใช้ในการสืบสวนสอบสวนคดีที่เกี่ยวข้องกับอาวุธปืน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยต่างๆ รวมทั้งทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง เพื่อใช้ประกอบการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องในหัวข้อ การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรท ในเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ ตามลำดับดังนี้

1. อาวุธปืนและเครื่องกระสุนปืน
2. เขม่าดินปืน (Gunshot residue; GSR)
3. ไนไตรท์และไนเตรท
4. Griess assay
5. อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (Paper based device)
6. เทคนิค Ion chromatography
7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. อาวุธปืนและเครื่องกระสุนปืน

1.1. อาวุธปืน

พันตำรวจโทหญิงธรรมภรณ์[13] ได้กล่าวถึงอาวุธปืนและเครื่องกระสุนปืนไว้ดังนี้

ตามความในมาตรา 4 (1),(2) แห่งพระราชบัญญัติอาวุธปืน เครื่องกระสุนปืน วัตถุระเบิด ดอกไม้เพลิง และสิ่งที่เทียมอาวุธปืน พ.ศ. 2490 แก้ไขเพิ่มเติมโดยมาตรา 3 แห่งพระราชบัญญัติอาวุธปืนฯ (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2501 ได้บัญญัติอาวุธปืนไว้ดังนี้

“อาวุธปืน” หมายความรวมตลอดถึงอาวุธทุกชนิดซึ่งใช้เครื่องส่งกระสุนโดยวิธีระเบิด หรือกำลังแรงดันของแก๊สหรืออัดลม หรือเครื่องกลไกอย่างใดซึ่งต้องอาศัยอำนาจของพลังงานโดยส่วนใดส่วนหนึ่งของอาวุธนั้นๆ ซึ่งรัฐมนตรีเห็นว่าสำคัญและได้ระบุไว้ในกฎกระทรวง

“เครื่องกระสุนปืน” หมายความรวมตลอดถึงกระสุนโดด กระสุนปลาย กระสุนแตก ลูกระเบิด ตอร์ปิโด ทุ่นระเบิด และจรวด ทั้งชนิดที่มีและไม่มีกรดแก๊ส เชื้อเพลิง เชื้อโรค ไอพิษ หมอก หรือควัน หรือกระสุน ลูกระเบิด ตอร์ปิโด ทุ่นระเบิด และจรวด ที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกัน หรือ เครื่อง หรือสิ่งสำหรับอัดหรือทำ หรือใช้ประกอบเครื่องกระสุนปืน

ตามกฎกระทรวงฉบับที่ 3 (พ.ศ.2491) ออกตามความในพระราชบัญญัติอาวุธปืนฯ พ.ศ.2490 ได้กำหนดในกฎข้อ 1 ไว้ว่า ส่วนของอาวุธปืนที่มีความสำคัญให้ถือเป็นอาวุธปืน ตามความในมาตรา 4(1) คือ

1. ลำกล้อง

2. เครื่องลูกเลื่อน หรือส่วนประกอบสำคัญของเครื่องลูกเลื่อน

3. เครื่องลั่นไก หรือส่วนประกอบสำคัญของเครื่องลั่นไก

4. เครื่องส่งกระสุน ซองกระสุนปืน หรือส่วนประกอบสำคัญของสิ่งเหล่านี้

1.2 ประเภทของอาวุธปืน

ปืนสั้น หรือ ปืนพก (Pistol) แบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่

1.2.1 อาวุธปืนลูกโม่ (Revolver) เป็นอาวุธปืนพกแบบ Multiple chambers มีกลไกการใช้รังเพลิงแบบหมุน (Cylinder) โดยการหมุนมีทิศทางทั้งตามหรือทวนเข็มนาฬิกาขึ้นอยู่กับผู้ผลิต มีรังเพลิงอยู่ 5-10 ช่อง ในแต่ละช่องบรรจุกระสุนได้เพียงหนึ่งนัด ซึ่งรังเพลิงช่องบนสุดที่ใช้ส่งกระสุนปืนอยู่ในตำแหน่งตรงกับท้ายลำกล้องปืนและเข็มแทงชนวน ลำกล้องสั้นสะดวกต่อการพกพา แต่มีน้ำหนักมากและการใช้งานไม่สะดวก

กลไกการทำงานของปืนลูกโม่ (Revolver) สามารถยิงได้ทั้งที่ขึ้นนกก่อน (Single action) หรือไม่ขึ้นนกก่อน (Double action) การขึ้นนกจะหมุนลูกโม่นำกระสุนลูกใหม่มาเตรียมพร้อมในรังเพลิง เมื่อเหนี่ยวไก นกจะสับลงมาที่ท้ายปลอกกระสุน การยิงลักษณะนี้จะเบาและมีความแม่นยำกว่าการเหนี่ยวไกโดยไม่ขึ้นนก ร่องรอยที่นกสับลงที่ท้ายกระสุนปืนจะมีลักษณะแตกต่างกันไปแต่ละกระบอกของปืน จึงใช้เปรียบเทียบหาอาวุธที่ใช้ยิงได้ ส่วนการเหนี่ยวไกโดยไม่ขึ้นนกก่อนนั้น จังหวะแรกของการเหนี่ยวไกจะเป็นการขึ้นนกและหมุนลูกโม่ จังหวะที่สองจึงจะเป็นการสับไก ถ้าลูกโม่ปืนไม่หมุน นกจะไม่สามารถถูกง้างได้

ปืนลูกโม่เวลายิงปืนนกสับจะทำงานสองจังหวะคือ จังหวะแรกนกสับที่อยู่ชิดโครงปืนต้องง้างถอยหลังออกมาจนสุด จังหวะที่สองคือ นกสับดีดกลับไปชิดโครงปืน ทำให้เข็มแทงชนวนชนกับจานท้ายกระสุนเพื่อจุดระเบิดดินปืนส่งผลให้กระสุนถูกส่งออกไป ปืน Single action หมายถึงต้องง้างนกสับถอยหลังก่อนจึงจะเหนี่ยวไก เพื่อปล่อยให้นกสับดีดกลับไปชนจานท้ายกระสุน ถ้าไม่ง้างนกสับก่อนก็จะยิงไม่ได้ ส่วนปืน Double action สามารถเหนี่ยวไกได้ในขณะที่นกสับอยู่ชิดโครงปืน ช่วงที่เหนี่ยวไกอยู่นั้นนกสับจะทำงานทั้งสองจังหวะ โดยถอยหลังออกมาจนถึงระยะหนึ่งก็จะดีดตัวกลับไปชนจานท้ายกระสุน ทำให้ลูกปืนถูกส่งออกไป ปืนลูกโม่สมัยใหม่ส่วนใหญ่สามารถยิงได้ทั้งสองแบบ แต่ปืนกึ่งอัตโนมัติส่วนใหญ่เป็น Single action

1.2.2 อาวุธปืนพกอัตโนมัติ (Semiautomatic pistol) เป็นอาวุธปืนแบบ Auto-loader หรือ Self-loader ที่บรรจุลูกกระสุนปืนได้หลายนัดต่อครั้ง และมีกลไกสำหรับขึ้นลำกระสุนไว้ในรังเพลิงและคัดปลอกกระสุนปืนเองได้ โดยยิงได้ทีละนัด หลายครั้งต่อการยิงหนึ่งชุดด้วยลำกล้องเดียว (Multiple-shot) มีลักษณะต่างไปจากอาวุธปืนลูกโม่ คือ ใช้รังเพลิงเดี่ยวแบบ (Single fixed firing

chamber) โดยวางกลไกและลำกล้องปืนไว้ภายในตัวอาวุธปืน มีซองกระสุนปืน (Magazine) ที่ถอดได้ (Detachable magazine) สำหรับบรรจุและส่งกระสุนปืนเพื่อขึ้นลำในรังเพลิง โดยด้ามปืน (Grip) มีลักษณะกลวงเป็นส่วนในการยึดจับซองกระสุนปืนไว้

กลไกการทำงานของปืนพกกึ่งอัตโนมัติ กระสุนของปืนพกอัตโนมัติจะถูกจัดเรียงไว้ในซองกระสุนปืน (Magazine) ซึ่งจะส่งลูกปืนเข้ารังเพลิงหลังการยิง และปลอกกระสุนที่ยิงแล้วต้องถูกผลักดันออกไปนอกรังเพลิงทุกครั้งหลังการยิง ซึ่งจะทำการคัดปลอกกระสุนและส่งกระสุนลูกต่อไปเข้าสู่รังเพลิงนี้จะเป็นไปโดยอัตโนมัติ และสามารถยิงต่อไปได้แต่ต้องเหนี่ยวไกซ้ำ ยังไม่มีผู้ผลิตปืนพกกึ่งอัตโนมัติให้เป็นอัตโนมัติเต็มตัวคือเหนี่ยวไกครั้งเดียวสามารถปล่อยกระสุนต่อเนื่องจนหมดซองกระสุนปืน การคัดปลอกกระสุนโดยการเกี่ยวและดีดออกไปนี้จะทำให้เกิดร่องรอยบนปลอกกระสุน สามารถตรวจหาลำกล้องปืนได้ด้วย แต่ในการยิงนัดแรกผู้ใช้ต้องขึ้นลำโดยเลื่อนครอบลำกล้องไปด้านหลัง เพื่อให้กระสุนปืนลูกแรกเข้าไปอยู่ในรังเพลิงและเป็นการขึ้นนกไปด้วย เมื่อกระสุนอยู่ในรังเพลิงแล้วก็สามารถยิงและมีการคัดปลอกกระสุนตามมา เมื่อขึ้นลำในนัดแรก แล้วผู้ใช้อาวุธอาจจะลดนกโดยไม่ให้มีการกระแทกกับท้ายปลอกกระสุน ทำให้พร้อมที่จะยิงได้โดยไม่ต้องขึ้นลำอีก และการยิงก็สามารถทำแบบขึ้นนกก่อน (Single action) และไม่ขึ้นนกก่อน (Double action) ก็ได้

ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของปืน a.อาวุธปืนพกอัตโนมัติ (Semiautomatic pistol) b.อาวุธปืนลูกโม่ (Revolver)

ที่มา : NATIONAL RIFLE ASSOCIATION. *NRA Pistol Courses Offered* 20 พฤษภาคม 2560];
Available from: http://www.bigtexastraining.com/nra-pistol-training.html

1.3 ประเภทของกระสุนปืน

แบ่งได้ 3 ประเภท คือ

1.3.1 Pin fire cartridge ปลอกกระสุนปืนทำด้วยกระดาษส่วนท้ายเป็นทองเหลืองและมีเข็มแทงชนวนโผล่ออกมาด้านข้างปลอกกระสุน ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งวางอยู่บนแก๊ปปืน

1.3.2 Rim fire cartridge กระสุนประเภทนี้จะมีแก๊ปอยู่บริเวณที่ขอบจานท้ายกระสุนปืน เมื่อยิงเข็มแทงชนวนของปืนจะต้องตีบริเวณด้านข้างของปลอก จึงจะเกิดการระเบิดขึ้น

1.3.3 Center fire cartridge เป็นกระสุนที่ปัจจุบันนิยมใช้ จะมีแก๊ปปืนอยู่ตรงบริเวณกึ่งกลางจานท้ายกระสุนปืน มีความปลอดภัยสูงและกระสุนปืนมีอายุการเก็บรักษาได้นาน

1.4 ส่วนประกอบของกระสุนปืน

โดยทั่วไปมีส่วนประกอบที่สำคัญ 4 ส่วน คือ

1. ลูกกระสุนปืน (Bullet)
2. ปลอกกระสุนปืน (Cartridge case)
3. ดินส่งกระสุนปืน (Gun powder)
4. แก๊ป (Primer cap)

ภาพที่ 2 ส่วนประกอบของกระสุนปืน

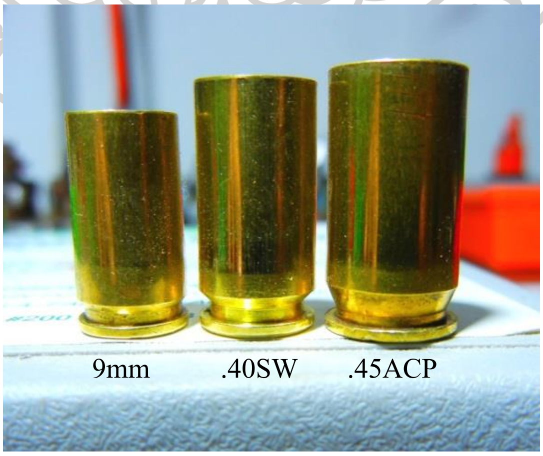
ที่มา : Sittidet Chooduang. *ส่วนประกอบของกระสุนปืน*. 2554 20 พฤษภาคม 2560]; Available from: http://sittinfo.blogspot.com/2011/12/blog-post.html.

1.4.1 ลูกกระสุนปืน (Bullet) คือ ส่วนโลหะทรงกระบอกที่อยู่ปลายสุดของกระสุนปืน เป็นส่วนที่จะวิ่งไปกระแทกกับเป้าหมาย มีหลากหลายแบบตามการใช้งาน

ภาพที่ 3 ลูกกระสุนปืนชนิดต่างๆ

ที่มา : Keyword Suggest Encyclopedia. *Image Gallery: Handgun 38 Vs 380*. 20 พฤษภาคม 2560]; Available from: http://keywordsuggest.org/gallery/1327789.html.

1.4.2 ปลอกกระสุนปืน (Cartridge case) ในกระสุนปืน 1 นัดจะรวมเอาลูกกระสุนปืน ดินปืน และแก๊ปปืนไว้ด้วยกัน และในการทำปลอกกระสุนปืนนิยมใช้ทองเหลือง เพราะมีราคาถูก นำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยนำไปอัดกระสุนปืนยิงใหม่ได้อีกประมาณ 3-4 ครั้ง และขนาดของปลอกกระสุนสามารถใช้คาดคะเนความแรงของกระสุนปืนได้



ภาพที่ 4 ปลอกกระสุนปืนชนิดต่างๆ

ที่มา : เว็บบอร์ดสนทนาภาษาปืน. *กระสุน reload* 2011 20 พฤษภาคม 2560]; Available from: http://www.gunsandgames.com/smf/index.php?topic=96000.0.

1.4.3 ดินส่งกระสุนปืน (Gun powder) มีลักษณะเป็นผงสีดำ ซึ่งเมื่อเกิดการลุกไหม้ในช่วงเวลาอันสั้นจะให้แก๊สออกมาปริมาณมาก ปัจจุบันมี 3 แบบ คือ

1.4.3.1 ดินดำ (Black powder) เป็นดินปืนชนิดแรกที่ชาวยุโรปพบในประเทศจีน ซึ่งในขณะนั้นชาวจีนใช้ดินดำทำประทัดและพลุเพื่อจุดในงานฉลองต่าง ๆ โดยส่วนประกอบของดินดำ ประกอบด้วย ดินประสิว (Potassiam nitrate) ถ่านไม้ (Charcoal) และกำมะถัน (Sulphur) ซึ่งเมื่อเริ่มแรกนั้น อัตราส่วนผสมของสาร 3 ชนิดนี้ มีหลายแบบ แต่อัตราส่วนมาตรฐานของดินดำในปัจจุบันที่ถือว่าเป็นอัตราส่วนโดยน้ำหนักที่ให้แรงระเบิดสูงสุด คือ ดินประสิว 75% ถ่านไม้ 15% และกำมะถัน 10% ซึ่งดินดำนั้นไวต่อประกายไฟมาก

1.4.3.2 ดินดำแบบใหม่ (Pyrodex) ดินปืนชนิดนี้มีส่วนผสมหลักเหมือนกับดินดำ คือ มีดินประสิว ถ่านไม้ และกำมะถัน แต่มีอัตราส่วนแตกต่างกับดินดำ นอกจากนี้ยังมีส่วนผสมอื่นเข้ามาอีก คือ Sodiumbenzoate, Potassiumpercholrate, Dicyandiamide (1-Cyanoguani- dine) และยังมี Dextrine, Wax และ Graphite จำนวนเล็กน้อยผสมอยู่ Pyrodex ที่ยังไม่ได้ใช้ยิงจะเห็นความแตกต่างจากดินดำอย่างชัดเจน เพราะ Pyrodex เป็นเม็ดสีเทา และมีบางส่วนโปร่งแสง นอกจากนี้ยังติดไฟยากกว่าดินดำ สำหรับ Pyrodex ที่ยิงแล้ว สามารถตรวจหาสารประกอบที่นอกเหนือจากดินดำได้หลายวิธี

1.4.3.3 ดินควันน้อย (Smokeless powder) การพัฒนาดินควันน้อยนั้น เกิดขึ้นพร้อมๆ กับการค้นพบ Nitroglycerine, Guncotton และ Dynamite โดยในปี ค.ศ.1846 Ascaio Sobrero ชาวอิตาลี ได้ค้นพบ Nitroglycerine หรือ Glyceryl nitrate ในปี ค.ศ. 1845 Christian Schoenbein ชาวสวิสเป็นผู้ค้นพบ Guncotton ต่อมาในปี ค.ศ.1867 Alfred Nobel ชาวสวีเดน ได้ค้นพบ Dynamite แต่ทั้ง 3 ตัวนี้ล้วนเป็นวัตถุระเบิดไม่สามารถนำมาใช้เป็นดินปืนได้ทำให้มีการศึกษาหาวิธีทำดินปืนแบบใหม่ขึ้นมา เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีกว่าดินดำและสามารถควบคุมอัตราการเผาไหม้ได้

1.4.4 แก๊ปปืน (Primer cap) ทำหน้าที่เป็นตัวจุดระเบิดให้เกิดประกายไฟไปติดกับดินปืน เพื่อผลักดันลูกกระสุนปืนให้ออกจากลำกล้อง อยู่ตรงบริเวณจานท้ายของปลอกกระสุน เมื่อเวลายิงปืนเข็มแทงชนวนจะไปชนตรงจานท้ายของปลอกกระสุน ทำให้แก๊ปเกิดการระเบิด และจุดระเบิดให้เกิดเปลวไฟลุกไหม้ไปยังดินปืนที่อยู่ภายในปลอกกระสุน เมื่อดินปืนเกิดการลุกไหม้ก็จะขับดันหัวกระสุนให้หลุดออกจากลำกล้องปืน ซึ่งกระสุนปืนแบบ Center fire ยกเว้นของกระสุนปืนลูกซอง จะมี Primer cap อยู่ 2 แบบ คือ

1.4.4.1 Standard ใช้กับกระสุนปืนพกขนาดเล็ก ตัว Primer cap มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.175 นิ้ว

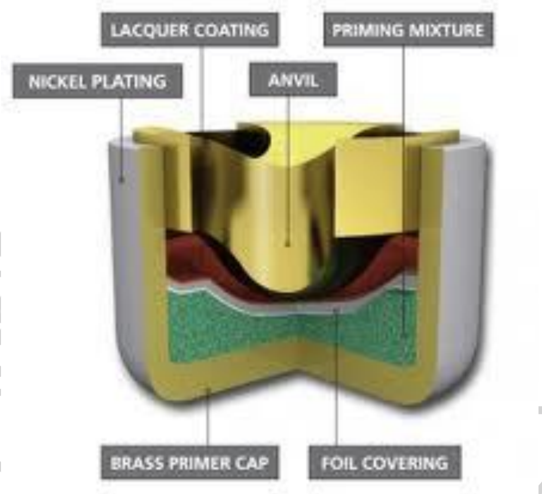
1.4.4.2 Magnum ใช้กับกระสุนปืนพกขนาดใหญ่ และกระสุนปืนไรเฟิล ตัว Primer cap มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.210 นิ้ว

Primer cap จะมีส่วนประกอบสำคัญอยู่ 3 ส่วน คือ

ก. Primer cap ทำด้วยโลหะทองแดง ทองเหลือง หรือทองเหลืองชุบนิเกิล ทำหน้าที่เป็นตัวบรรจุ Primimg mixture

ข. Primimg mixture เป็นวัตถุระเบิดประเภทกระทบแตก ทำหน้าที่เป็นตัวให้ประกายไฟจุดดินปืน

ค. Anvil เป็นโลหะแข็ง ทำหน้าที่เป็นตัวรับการกระแทกของเข็มแทงชนวน เพื่อทำให้ Primimg mixture ที่อยู่ระหว่างกลางเกิดการระเบิดขึ้น



ภาพที่ 5 ส่วนสำคัญของ Primer cap

ที่มา : Martin Kavanagh. *PRIMERS .. Small Rifle & 'Small Pistol Magnum' - What's the Diff?* 20 พฤษภาคม 2560]; Available from: https://flicense.blogspot.com/2016/08/.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

2. เขม่าดินปืน (Gunshot residue; GSR)

พันตำรวจโทหญิงธรรมภรณ์[13] ได้กล่าวถึงเขม่าดินปืนไว้ดังนี้

2.1 ความหมายของเขม่าดินปืน

เขม่าดินปืน คือ สิ่งที่เกิดขึ้นหลังจากยิงปืน เป็นส่วนที่เหลือหลังการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืนที่อยู่ในปลอกกระสุนปืนออกมาสู่บริเวณรอบๆ

2.2 การเกิดเขม่าดินปืน

เขม่าดินปืนเกิดจาก เมื่อมีการลั่นไกปืนเกิดขึ้น เข็มแทงชนวนจะไปชนที่ชนวนท้ายกระสุนปืน(Primer cap) ซึ่งจะทำให้แก๊ปปืนที่อยู่ตรงชนวนท้ายกระสุนปืนนั้น เกิดการจุดชนวนมีประกายไฟเกิดขึ้นแล้วไปเผาไหม้ดินส่งกระสุนปืนซึ่งเป็นดินควันน้อย (Smokeless powder) ที่บรรจุอยู่ข้างในปลอกกระสุนปืน เกิดการลุกไหม้และให้แก๊สปริมาณมากออกมาอย่างทันที ในช่วงเวลาอันรวดเร็ว แก๊สที่เกิดขึ้นนั้นจะขยายตัวทำให้เกิดความดันสูง หรือที่เรียกว่าเกิดการจุดระเบิด ทำให้ลูกกระสุนปืนสามารถพุ่งออกไปจากปากลำกล้องปืนเพื่อชนกับเป้าหมายได้ นอกจากนี้แรงระเบิดที่เกิดขึ้นจะผลักดันให้ไอของอนุภาคสารต่าง ๆ ที่ถูกความร้อนเผาไหม้นั้น กระจายออกจากภายในอาวุธปืนออกมาสู่บริเวณรอบๆ ตามบริเวณช่องว่างต่าง ๆ ของอาวุธปืน ซึ่งไออนุภาคสารเหล่านี้เมื่อออกมาสู่บริเวณภายนอกที่มีความร้อนน้อยกว่าก็จะควบแน่นลงมา แล้วปลิวไปเกาะติดอยู่ที่บริเวณมือ เสื้อผ้า เส้นผม และพื้นผิวอื่น ๆ ที่อยู่บริเวณใกล้เคียง ซึ่งปริมาณความมากน้อยของอนุภาคที่จะปลิวมาเกาะนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ประเภท ขนาด และลักษณะของอาวุธปืนและกระสุนปืนที่ใช้ และสภาพแวดล้อมในขณะยิงปืน เช่น ยิงปืนภายในพื้นที่ปิด หรือพื้นที่โล่งแจ้ง ก็จะทำให้ทิศทางการกระจายตัวของไออนุภาคสารมีความแตกต่างกันอีกด้วย เป็นต้น

ในการยิงปืนนั้น เขม่าที่เกิดขึ้นจากการเผาไหม้ของชนวนท้ายกระสุนปืน (Primer cap) จะก่อให้เกิดอนุภาคในปริมาณที่แตกต่างกันที่ประกอบไปด้วย ตะกั่ว (Pb) แบเรี่ยม (Ba) และแอนติโมนี (Sb) นอกจากอนุภาคเหล่านี้แล้วก็จะมีอนุภาคอื่นอีกหลายชนิดที่เป็นส่วนผสมอยู่ข้างในกระสุนปืนด้วย เมื่อเข็มแทงชนวนกระทบที่ชนวนท้ายกระสุนปืน (Primer cap) จะทำให้เกิดการระเบิดและเผาไหม้ขึ้นอย่างฉับพลัน จากอุณหภูมินี้จะทำให้โลหะที่เป็นส่วนประกอบของแก๊ปปืนกลายเป็นไอ เมื่ออุณหภูมิลดลงไอของแต่ละธาตุจะแข็งตัวเป็นอนุภาค จากการที่มีความดันสูงขึ้นนั้นในกรณีปืนพกรีวอลเวอร์ จะมีช่องว่าง (Physical gap) ระหว่างผิวหน้าของรังเพลิงและส่วนท้ายของลำกล้อง (ไม่เช่นนั้นลูกโม่ปืนจะหมุนไม่สะดวก) ดังนั้นก็จะมีการรั่วของ Propellant gas ที่จุดนี้เมื่อมีการยิงช่องว่างนี้จะแคบที่สุดถึง 0.0015 นิ้ว และกว้างที่สุดถึง 0.006 นิ้ว ส่วนกรณีปืนพกออโตเมติกเขม่าปืนจะออกมาทาง Ejection port และเมื่อ Slide ถอยหลังก็จะนำเขม่าปืนออกมาด้วย ทำให้ติดบริเวณระหว่างนิ้วหัวแม่มือกับนิ้วชี้เป็นจำนวนมาก ส่วนเขม่าปืนที่พ่นออกมาทางปากกระบอกปืนนั้น ก็มีผลที่จะปลิวไปติดที่มือได้อยู่แล้ว

ส่วนสารประกอบไนไตรท์นั้นจะเกิดขึ้นเมื่อส่วนประกอบสำคัญของดินปืนไม่ว่าจะเป็นดินดำ ดินควันน้อย หรือดินระเบิดบางตัว เกิดการเผาไหม้ (Decomposition) แล้วสิ่งที่เหลือบางส่วนคือสารประกอบไนไตรท์และไนเตรท ซึ่งจะยังคงอยู่ที่ลำกล้องปืนและติดที่เสื้อผ้าของผู้เสียหายและผู้ต้องสงสัย

2.3 ประเภทของเขม่าปืน

แบ่งตามคุณสมบัติของเขม่าปืนได้ 2 ประเภท คือ

2.3.1 Organic gunshot residues (O-GSR)

เป็นเขม่าปืนที่เกิดจากการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืน (Propellant discharge residue) เทคนิคการตรวจวิเคราะห์อินทรียสารจากเขม่าปืน มีพัฒนาการเรื่อยๆ โดยเดิมใช้การตรวจหาไนไตรท์และไนเตรทที่เกิดจากการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืนชนิดดินปืน โดยใช้ Dermal nitrate test แต่ในปัจจุบันนิยมใช้ดินส่งกระสุนปืนชนิดดินควันน้อย

2.3.2 Inorganic gunshot residues (I-GSR)

เป็นเขม่าปืนประเภทอนินทรียสารที่เป็นผลจากการลุกไหม้ของ Primer mixture ระหว่างการจุดระเบิดของชนวนท้ายกระสุนปืน (Primer discharge residue) เกิดเป็นการตกค้างของเขม่าที่ประกอบไปด้วยอนุภาคของโลหะตะกั่ว (Pb) แอนติโมนี (Sb) และแบเรี่ยม (Ba)

3. ไนไตรท์และไนเตรท

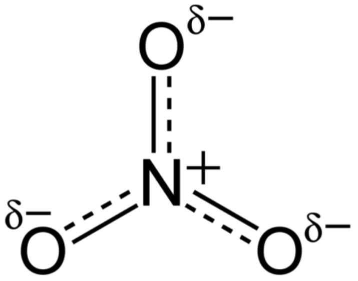
3.1 ไนไตรท์

ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของไนไตรท์

ที่มา : Wikipedia. *Nitrite*. 20 พฤษภาคม 2560]; Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Nitrite.

ไนไตรท์ มีสูตรเอมไพริกัลป์ ดังนี้ NO_2^- เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food additive) นิยมใช้ในรูปของเกลือโซเดียมไนไตรท์(Sodium nitrite) และโพแทสเซียมไนไตรท์ ไนไตรท์จะถูกรีดิวซ์มาจาก เกลือไนเตรท (Nitrate, NO_3^-) เช่น เกลือโซเดียมไนเตรท และโพแทสเซียมไนเตรท (ดินประสิว) และเป็นเขม่าปืนชนิดอินทรียสาร ที่เกิดจากการเผาไหม้ของดินส่งกระสุนปืนชนิดดินควันน้อย

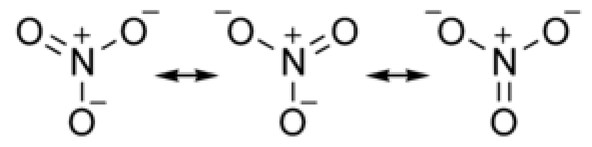
3.2 ไนเตรท



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของไนเตรท

ที่มา : Wikipedia. *Nitrate*. 20 พฤษภาคม 2560]; Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Nitrate.

ไนเตรท เป็นพอลิอะตอมิกไอออน (Polyatomic ion) ซึ่งมีสูตรเอมไพริกัลป์ ดังนี้ NO_3^- มีโครงสร้างเป็นสามเหลี่ยมแบนราบ (Trigonal planar-โดยแต่ละออร์บิทัลทำมุมกัน 120 องศา) และสามารถแทนด้วยลูกผสม (Hybrid) ดังภาพที่ 8 และเป็นไอออนที่เกิดจากดินส่งกระสุนปืนชนิดดินควันน้อยที่มีการเผาไหม้เกิดขึ้น จัดเป็นเขม่าปืนชนิดอินทรียสาร



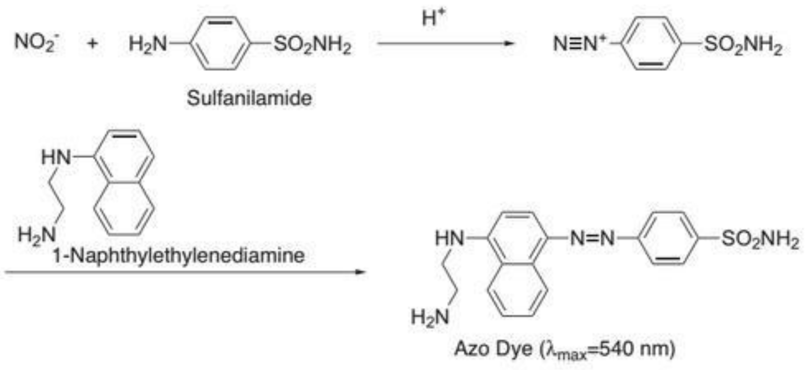
ภาพที่ 8 Resonance structures ของไนเตรท

ที่มา : Wikipedia. *Nitrate*. 20 พฤษภาคม 2560]; Available from: https://en.wikipedia.org/wiki/Nitrate..

4. Griess assay

ปฏิกิริยา Griess reaction เป็นปฏิกิริยาที่ใช้กันมาตั้งแต่ปี 1879 เป็นปฏิกิริยาการเกิดสีที่ได้รับความนิยมมาก เนื่องจากเป็นปฏิกิริยาที่ง่าย จึงถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง ในการวิเคราะห์ตัวอย่างทางชีววิทยามากมาย เช่น พลาสม่า (ซีรั่ม) ปัสสาวะ น้ำในไขสันหลัง และน้ำลาย[14] เป็นปฏิกิริยาสำหรับใช้ตรวจจับไอออนไนไตรท์ โดย Sulfanilamide จะทำปฏิกิริยาไดอะโซไทเทชั่นกับไอออนไนไตรท์ในสารละลายกรด กลายเป็น Diazonium salt จากนั้นเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI ได้สารประกอบ Azo dye สีแดงม่วง สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 540 nm ส่วนไอออนไนเตรทไม่สามารถตรวจวัดได้โดยวิธี Griess assay จะต้องถูก

รีดิวซ์ให้กลายเป็นไอออนไนไตรท์ก่อน โดยใช้ Zinc หรือ Copperized Cd ก่อนเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว[9]



ภาพที่ 9 ปฏิกิริยา Griess reaction
ที่มา : SIGMA – ALDRICH, *Nitrite/Nitrate Assay Kit, colorimetric*.

5. อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (Paper-based device)

กระดาษกรอง (Filter paper) คือ กระดาษที่มีคุณสมบัติในการคัดเลือกอนุภาคหรือสิ่งเจือปนออกจากสารละลายหรืออากาศโดยการวางแบบตั้งฉากกับทิศทางการไหลของสารละลาย ที่ต้องการกรอง กระดาษกรองจะมีขนาดของช่องว่างแตกต่างกันไปหลายขนาดด้วยกัน การเลือกใช้ขึ้นอยู่กับลักษณะงานแต่ละชนิด คุณสมบัติที่สำคัญของกระดาษกรองประกอบด้วย ความคงทนเมื่อเปียก ขนาดของช่องว่าง ความสามารถในการกรองอนุภาค อัตราการไหลของสารที่ต้องการกรอง ประสิทธิภาพและความจุ กลไกที่สำคัญในการกรองด้วยกระดาษกรองจะมีอยู่ 2 ลักษณะ คือ ปริมาตร(Volume) และผิว(Surface) โดยแบบปริมาตร อนุภาคจะถูกดักไว้ชั้นในหรือในตัวของกระดาษกรอง ส่วนแบบผิว อนุภาคจะถูกดักไว้ที่ผิวของกระดาษกรอง ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ จึงได้มีผู้นำมาใช้ทำเป็นอุปกรณ์สำหรับตรวจวัด

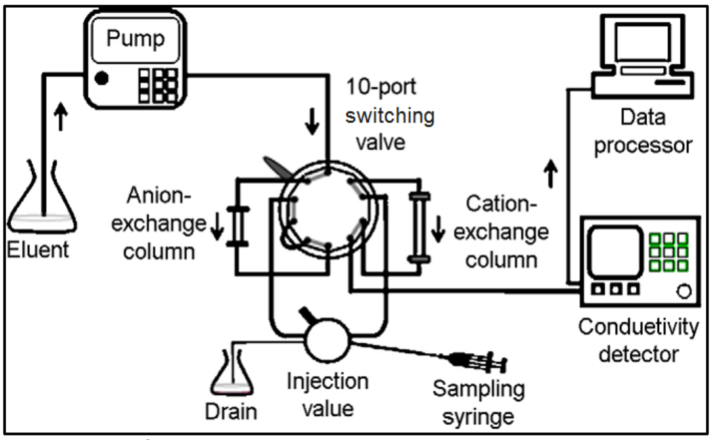
อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (Paper based device) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้วิเคราะห์รูปแบบใหม่ที่กำลังเป็นที่นิยมมากในการวินิจฉัยทางการแพทย์ เนื่องจากเป็นอุปกรณ์ที่มีต้นทุนในการผลิตต่ำ ประดิษฐ์ใช้งานได้ง่าย อีกทั้งกระดาษยังเป็นวัสดุที่หาซื้อได้ทั่วไป นอกจากนี้การวิเคราะห์บนอุปกรณ์กระดาษยังไม่จำเป็นที่จะต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวิเคราะห์ พกพาไปใช้ในภาคสนามได้ อุปกรณ์กำจัดทิ้งได้โดยการเผา สามารถสร้างลวดลายบนกระดาษได้ตามต้องการ เหมาะสำหรับใช้ในประเทศกำลังพัฒนาที่อยู่ห่างไกลจากโรงพยาบาลหรือสถานพยาบาล และสถานที่เกิดภัยพิบัติทางธรรมชาติ[10]

อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษถูกริเริ่มโดย Whitesides และคณะ เป็นแนวทางการปฏิวัติสำหรับการวิเคราะห์ที่ไม่แพงและรวดเร็ว[9] โดยเมื่อหยดสารละลายลงบนกระดาษ ซึ่งเป็นวัสดุที่ชอบน้ำ (Hydrophilic) สารที่หยดลงไปก็จะซึมและเคลื่อนที่ไปยังบริเวณตรวจวัด โดยสามารถควบคุมทิศทางการไหลของสารได้โดยการสร้างบางส่วนของกระดาษให้ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เพื่อเป็นช่องทางการไหลของสารลงบนกระดาษ[11]

ปัจจุบันอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษสามารถสร้างส่วนที่ไม่ชอบน้ำให้มีลวดลายได้ด้วยเทคนิคต่าง ๆ เช่นการตัดกระดาษ (Paper cutting) การพิมพ์สกรีน (Screen printing) การพิมพ์ด้วยขี้ผึ้ง (Wax printing) การพิมพ์ด้วยน้ำหมึก (Inkjet printing) การพิมพ์ด้วยแสง (Photolithography) การพิมพ์ด้วยเครื่องพล็อตเตอร์ (Plotter) การปรับสภาพด้วยเลเซอร์ (Laser treatment) เป็นต้น ส่วนการตรวจวัดอาจทำด้วยการเทียบสี ซึ่งวิธีนี้เป็นที่นิยมใช้กันอย่างมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สามารถที่จะมองได้ด้วยตาเปล่า หรือใช้กล้องในการถ่ายภาพ หรือใช้เครื่องสแกนเนอร์ จากนั้นรูปภาพจะถูกวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมต่อไป[12]

6.เทคนิค Ion chromatography (IC)

เทคนิคของการทำงานของเครื่อง IC อาศัยการแลกเปลี่ยนไอออน (Ion exchange) โดยสมบัติของสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ (Stationary phase) สามารถจับกับไอออนของสารที่มีประจุตรงกันข้ามโดยอาศัยการทำปฏิกิริยายึดเหนี่ยวระหว่างประจุที่แตกต่างกัน (Ionic interaction) สารที่ไม่มีประจุหรือมีประจุเหมือนกับสารที่เป็นตัวแลกเปลี่ยนประจุที่อยู่ภายในคอลัมน์ (Ion-exchanger) จะเคลื่อนที่ออกมาก่อน ส่วนสารที่ถูกยึดเหนี่ยวอยู่ภายในคอลัมน์ จะถูกชะออกมาเมื่อมีการเปลี่ยนสภาวะของค่า pH หรือ ถูกแทนที่ด้วยไอออนที่มีความแรงมากกว่า (Ionic strength) การวิเคราะห์หาปริมาณของไอออนทั้งประจุบวก หรือ ประจุลบ โดยใช้เครื่อง IC นั้น ต้องพิจารณาถึงการเลือกสารที่ชะละลาย (Eluent) ประเภทของคอลัมน์ (Column) อุปกรณ์สำหรับแยกชนิดประจุ (Suppressor) และอุปกรณ์ตรวจวัดสัญญาณ (Detector) ให้เหมาะสม ใช้สำหรับวิเคราะห์ไอออนประจุบวก (Cation) เช่น Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+} และไอออนประจุลบ (Anion) เช่น F^{-}, Cl^{-}, Br^{-}, NO_3^{2-} และ SO_4^{2-} เป็นต้น[15]



ภาพที่ 10 ส่วนประกอบของเครื่อง Ion chromatography

ที่มา : Moustafa, M.Y. and E.R. Morsi. *Ion Exchange Chromatography - An Overview*. 5 กรกฎาคม 2560]; Available from: https://www.intechopen.com/books/column-chromatography/ion-exchange-chromatography-an-overview.

7.งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ร้อยตำรวจเอกปิยะชัย มั่นคง[16] ได้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทบนมือของผู้ยิงปืน โดยทำการเก็บตัวอย่างบริเวณหลังมือขวาและบริเวณหลังมือซ้าย ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Ion chromatography พบว่าปริมาณไนไตรท์ที่พบจากการยิงปืนนั้นเกิดจากการยิงอาวุธปืน เพราะหากมือนั้นไม่ได้ผ่านการยิงมาก่อนจะพบจำนวนไนไตรท์ที่ค่อนข้างต่ำ ผลการศึกษาหาระยะเวลาการคงอยู่ของปริมาณไนไตรท์และไนเตรทภายหลังการยิงปืนจำนวน 3 นัด/ครั้ง ในแต่ละชนิดของปืน โดยทำการเก็บ 2 ครั้ง คือ เก็บทันทีหลังการยิงและเก็บภายใน 6 ชั่วโมงหลังจากยิงปืน พบว่าปืนรีวอลเวอร์จะมีค่าเฉลี่ยไนไตรท์และไนเตรทระหว่างหลังมือขวาและซ้ายในปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วนอาวุธปืนกึ่งอัตโนมัติจะมีค่าเฉลี่ยปริมาณไนไตรท์และไนเตรทข้างขวามากกว่าข้างซ้ายอย่างชัดเจน โดยปริมาณไนไตรท์และไนเตรทจะลดลงตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น

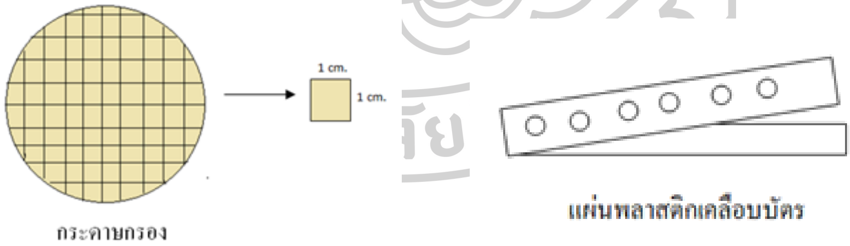
นายนเรศ โกฏทอง[17] ศึกษาหาระยะเวลาการคงอยู่ของอนุภาคเขม่าปืนที่สะสมติดอยู่บริเวณเส้นผมของผู้ยิงและเส้นผมที่ติดอยู่บนเป้ายิง (เสมือนเป็นเส้นผมของผู้ถูกยิง) ภายในห้องปิด ทำการยิงด้วยอาวุธปืนกึ่งอัตโนมัติ จากนั้นทำการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction การวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทในงานวิจัยนี้จะใช้วิธี Cadmium reduction ซึ่งจะทำการเปลี่ยนรูปไนเตรทไปอยู่ในรูปของไนไตรท์ด้วยการถูกรีดิวซ์เมื่อผ่านคอลัมน์ที่มีแคดเมียมเป็นตัวกลาง ก่อนจะทำปฏิกิริยากับ Griess reagent จึงจะสามารถทราบปริมาณไนเตรทที่อยู่ในรูปไนไตรท์ได้ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์จะทำปฏิกิริยากับ Griess reagent ได้โดยตรงเลย หลังจากนั้นจึงทำการตรวจวัดด้วยเทคนิค UV-Visible spectroscopy

Peter S. Ellis และคณะ[18] ได้ทำการตรวจวัดแบบภาคสนามเพื่อหาปริมาณไนเตรทในน้ำทะเลและน้ำกร่อยด้วยระบบการไหลแบบ On-line zinc reduction โดยใช้ Zinc reduction column เพื่อเปลี่ยนให้ไนเตรทอยู่ในรูปของไนไตรท์ ก่อนจะทำปฏิกิริยากับ Griess reagent และหาปริมาณด้วยเทคนิค Spectrophotometry ที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm

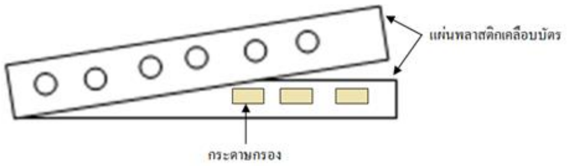
Samir A. Bhakta และคณะ[19] ได้ใช้อุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษหาปริมาณไนไตรท์ในน้ำลายโดยวิธี Griess assay ตรวจวัดโดยใช้เครื่องสแกนเนอร์ และนำไปประมวลผลด้วยโปรแกรม Adobe photoshop CS6 คำนวณหาปริมาณไนไตรท์จากการอ่านค่าความเข้มสีจากสีม่วงแดงในโปรแกรม (เมื่อตั้งค่าเป็นรูปแบบ CMYK)

Nuria Lopez-Ruiz และคณะ[20] ใช้กล้องจากโทรศัพท์มือถือในการถ่ายภาพเพื่อตรวจวัด pH และไนไตรท์ในน้ำดื่มพร้อมๆกันบนอุปกรณ์ตรวจวัดของไหลจุลภาคแบบกระดาษ และถูกประมวลผลโดยแอปพลิเคชันจากระบบปฏิบัติการ Android ที่ติดตั้งลงบนโทรศัพท์มือถือ เพื่อหาค่า pH และปริมาณของไนไตรท์ที่เกิดขึ้น

วิมล แสงนาค[21] ทำการสร้างอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในอาหารและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ โดยการตัดกระดาษกรอง แล้วเคลือบด้วยพลาสติกเคลือบบัตรที่มีการเจาะรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm ไว้สำหรับในการวิเคราะห์สาร ข้อดีของอุปกรณ์นี้ได้แก่ บริเวณที่วิเคราะห์มีลักษณะเป็นแบบหลุมทำให้สามารถกั้นไม่ให้สารละลายออกนอกพื้นที่ตรวจวัดได้ มีราคาถูก วิเคราะห์ได้พร้อมๆกันทีละหลายตัวอย่าง อุปกรณ์มีขนาดเล็กและน้ำหนักเบาสามารถพกพาไปตรวจวัดภาคสนามได้

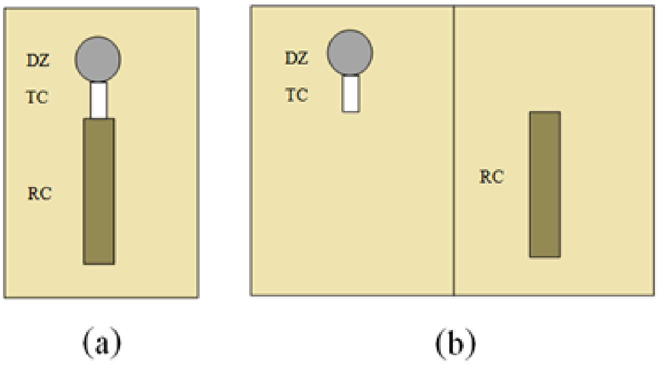


ภาพที่ 11 การเตรียมกระดาษกรองและแผ่นพลาสติกเคลือบบัตร
ที่มา : ดัดแปลงจาก วิมล แสงนาค, *การพัฒนาวิธีดีพีพีเอชบนอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อการวิเคราะห์แบบรู้ผลรวดเร็วของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในอาหารและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ*, in *สาขาวิชาเคมีศึกษา*. 2558, มหาวิทยาลัยบูรพา.



ภาพที่ 12 ขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ
ที่มา : ดัดแปลงจาก วิมล แสงนาค, *การพัฒนาวิธีดีพีพีเอชบนอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อการวิเคราะห์แบบรู้ผลรวดเร็วของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในอาหารและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ*, in *สาขาวิชาเคมีศึกษา*. 2558, มหาวิทยาลัยบูรพา.

Manori B. Jayawardane และคณะ[9] ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างน้ำธรรมชาติและน้ำที่ผ่านการสังเคราะห์มาแล้ว โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction วิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทจะต้องทำการรีดิวซ์ด้วย Zinc เพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของไนไตรท์ก่อนจะทำปฏิกิริยาดังกล่าว ทำการเตรียมอุปกรณ์ด้วยเทคนิคการพิมพ์ด้วยน้ำหมึกฉีด (Inkjet printing) เพื่อสร้างเป็นช่องทางการไหลของสารตัวอย่างไปยังบริเวณที่ตรวจวัด จากนั้นตรวจวัดความเข้มสีที่เวลา 5 นาที โดยใช้เครื่องสแกนเนอร์ นำรูปที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ และเลือกใช้ความเข้มสีของสีเขียวในการอ่านค่า จากนั้นหาค่าเฉลี่ยของความเข้มสีของสีเขียวที่บริเวณตรวจวัด แล้วแปลงค่าที่ได้เป็นค่า Absorbance พบว่ากราฟมาตรฐานของไนไตรท์มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 10 – 150 μM มีค่า R^2 เท่ากับ 0.999 และไนเตรทที่ความเข้มข้น 50 – 1000 μM มีค่า R^2 เท่ากับ 1.000 มี %RSD ของไนไตรท์และไนเตรท น้อยว่า 2.9% และ 5.6% ($n \leq 8$) ตามลำดับ มีขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณของไนไตรท์ เท่ากับ 1.0 และ 7.8 μM ตามลำดับ ส่วนไนเตรท เท่ากับ 19 และ 48 μM ตามลำดับ จากนั้นศึกษาความเสถียรของอุปกรณ์โดยเก็บอุปกรณ์แบบกระดาษไว้ที่อุณหภูมิห้อง (สัมผัสแสง และไม่สัมผัสแสง) และเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ $\leq$ 4 °C และช่องแช่แข็งอุณหภูมิ $\leq$ -20 °C โดยใส่อุปกรณ์แบบกระดาษไว้ในถุงซิปและไม่ใส่ในถุงซิป พบว่าสามารถเก็บไว้ได้นาน 7 วันเมื่อเก็บไว้ในช่องแช่แข็ง 5 วันเมื่อเก็บไว้ในตู้เย็น 2 วันเมื่อเก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิ ห้อง 1 วันเมื่อสัมผัสแสงที่อุณหภูมิห้อง และถ้าเก็บอุปกรณ์ใส่ในถุงซิปไว้ในตู้เย็นจะสามารถเก็บได้นานขึ้นเป็นสองเท่า จากนั้นนำอุปกรณ์แบบกระดาษมาตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทที่ทำการ Spiked ไนไตรท์และไนเตรทลงในตัวอย่างน้ำธรรมชาติและน้ำที่ผ่านการสังเคราะห์มาแล้ว เทียบกับผลที่ได้จากเครื่องโครมาโทกราฟี พบว่าค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 13 a) แผนภาพแบบ 2 มิติ b) แผนภาพแบบ 3 มิติ ของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Jayawardane, B.M., et al., *Microfluidic Paper-Based Analytical Device for the Determination of Nitrite and Nitrate.* ANALYTICAL CHEMISTRY, 2014. **86**(15): p. 7274-7279.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

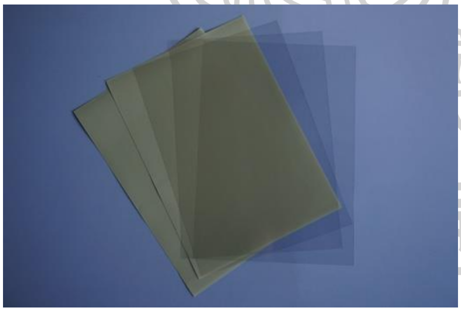
ตารางที่ 1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

รูปภาพ	คำอธิบาย
	3.1.1 เครื่อง Ion chromatography (IC) รุ่น DIONEX MODEL ICS-1000 บริษัท อาร์มีก้า อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
	3.1.2 เครื่อง Ultrasonic water bath ยี่ห้อ CREST
	3.1.3 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น DRAGON 204 ยี่ห้อ METTLER TOLEDO

รูปภาพ	คำอธิบาย
	3.1.4 ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 200 µL ยี่ห้อ GILSON
	3.1.5 ขวดเก็บตัวอย่าง (Vial) ขนาด 3 mL
	3.1.6 Beaker ขนาด 50 และ 100 mL ยี่ห้อ BOMEX
	3.1.7 Volumetric flask 10, 25, 50 และ 100 mL ยี่ห้อ HERKA

รูปภาพ	คำอธิบาย
	3.1.8 Graduated pipette 1 mL ยี่ห้อ DERMAGOLD และ Volumetric pipette 5 mL ยี่ห้อ WITEG
	3.1.9 โทรศัพท์มือถือ ยี่ห้อ iPhone รุ่น 5
	3.1.10 กระบอกฉีดยา (Syrlinge) ขนาด 1 cc/mL ยี่ห้อ NIPRO และ Nylon membrane filter 0.45µm ยี่ห้อ VETICLEAN
	3.1.11 สำลี ตรารถพยาบาล ซื้อจาก 7-ELEVEN

รูปภาพ	คำอธิบาย
	3.1.12 ไดร์เป่าผม ยี่ห้อ PHILIPS
	3.1.13 นาฬิกาจับเวลา ยี่ห้อ CASIO
	3.1.14 ที่เจาะกระดาษแบบรูเดียว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 mm ยี่ห้อ TENWIN และ 5 mm ยี่ห้อ TOTO
	3.1.15 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

รูปภาพ	คำอธิบาย
	3.1.16 มีดคัตเตอร์ และ กรรไกร ซื้อจากร้านเกรียงไกร
	3.1.17 ถุงมือยาง ซื้อจากร้านแก้วเภสัช
	3.1.18 แผ่นพลาสติกใส ขนาด A4 ยี่ห้อ ORCA และ สติ๊กเกอร์ PVC ใส ขนาด A4 ยี่ห้อ N&P ซื้อจากร้านเกรียงไกร
	3.1.19 เทปเยื่อกาว 2 หน้า ยี่ห้อ SCOTCH และเทปใส ยี่ห้อ LOUIS TAPE ซื้อจากร้านเกรียงไกร

รูปภาพ	คำอธิบาย
	3.1.20 ถุงซิป ซื้อจากร้านโจ้

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อสารเคมี	แหล่งที่มา
Citric acid	Carlo
Potassium nitrate	Carlo
Sodium nitrite	Carlo
Zinc dust (10 µm)	Aldrich
Sulphanilamide	Carlo
N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI (NED)	ACROS

3.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

3.3.1 สารละลาย Citric acid เข้มข้น 330 mM

ชั่ง Citric acid 3.4673 g จากนั้นละลายด้วย Deionize water แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 mL ในขวดปริมาตร จะได้สารละลาย Citric acid เข้มข้น 330 mM

3.3.2 สารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM

ชั่ง Sulfanilamide 0.2153 g จากนั้นละลายด้วย Citric acid แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 mL ในขวดปริมาตร จะได้สารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM

3.3.3 สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI (NED) เข้มข้น 10 mM

ชั่ง N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI 0.0648 g จากนั้นละลายด้วย Deionize water แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 mL ในขวดปริมาตร จะได้สารละลาย NED เข้มข้น 10 mM

3.3.4 สารละลายมาตรฐาน Nitrite เข้มข้น 10 mM

ชั่ง Sodium nitrite 0.069 g จากนั้นละลายด้วย Deionize water แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ในขวดปริมาตร จะได้สารละลาย Sodium nitrite เข้มข้น 10 mM

3.3.5 สารละลายมาตรฐาน Nitrate เข้มข้น 10 mM

ชั่ง Potassium nitrate 0.1011 g จากนั้นละลายด้วย Deionize water แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ในขวดปริมาตร จะได้สารละลาย Potassium nitrate เข้มข้น 10 mM

3.3.6 Zinc suspension เข้มข้น 0.1 g/mL

ชั่ง Zinc dust 0.0500 g ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 mL จากนั้นปิเปต Deionize water จำนวน 0.5 mL ใส่ลงไป จะได้ Zinc suspension เข้มข้น 0.1 g/mL

3.3.7 สารละลายมาตรฐานของ Nitrite เข้มข้น 15, 30, 60, 120 และ 180 µM

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Nitrite เข้มข้น 10 mM จำนวน 15, 30, 60, 120 และ 180 µL ลงในขวดปริมาตรขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วย Deionize water จะได้สารละลาย Sodium nitrite เข้มข้น 15, 30, 60, 120 และ 180 µM

3.3.8 สารละลายมาตรฐานของ Nitrate เข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 µM

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Nitrate เข้มข้น 10 mM จำนวน 200, 400, 600, 800 และ 1000 µL ลงในขวดปริมาตรขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วย Deionize water จะได้สารละลาย Potassium nitrate เข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 µM

3.4 สารตัวอย่างในการทดลอง

3.4.1 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างเขม่าดินปืนจากมือผู้ยิง

ผู้ยิงจับปืนด้วยมือทั้งสองข้างยิงในลักษณะท่ายืนโดยอาวุธปืนขนานกับพื้นด้วยอาวุธปืนรีวอลเวอร์ ยี่ห้อ Smith & Wesson ขนาด .38 special กับกระสุนปืน ยี่ห้อ AP ยิงจำนวน 4 นัด นำก้านสำลีชุบ Deionize water เช็ดบริเวณหน้ามือและหลังมือ บริเวณละ 1 ก้าน โดยเก็บทั้งมือซ้ายและมือขวา แล้วใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง (Vial) ทั้ง 2 ขวด คือมือซ้าย 1 ขวด และมือขวา 1 ขวด

3.4.2 ขั้นตอนการเก็บตัวอย่างปลอกกระสุนปืน

ผู้ยิงจับปืนด้วยมือทั้งสองข้างยิงในลักษณะท่ายืนโดยอาวุธปืนขนานกับพื้นด้วยอาวุธปืนพกรีวอลเวอร์ ยี่ห้อ Glock ขนาด .38 และอาวุธปืนพกกึ่งอัตโนมัติ ยี่ห้อ Smith & Wesson ขนาด 9 มม. กับกระสุนปืนยี่ห้อต่างๆ ยิงครั้งละ 3 นัด แล้วทำการเก็บตัวอย่างปลอกกระสุนปืนใส่ซองพลาสติกใสแบบมีซิป

3.4.3 การเตรียมตัวอย่าง

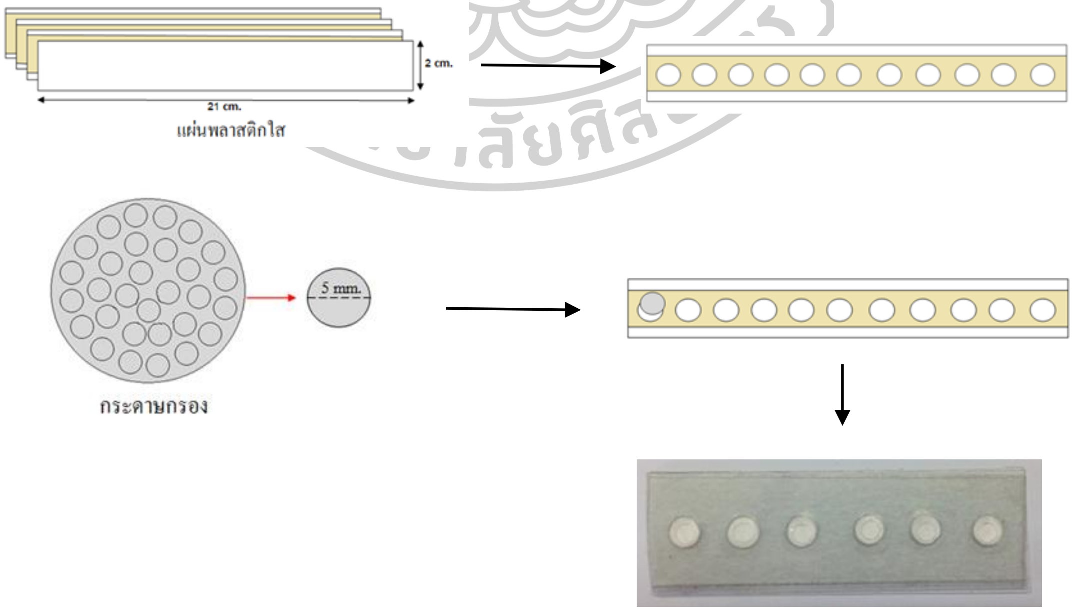
3.4.3.1 นำตัวอย่างสำลีที่เช็ดเขม่าดินปืนแล้วมาตัดก้านออก ปิเปต Deionize water 1.00 mL ใส่ในขวดเก็บตัวอย่าง (Vial) ปิดฝาขวด จากนั้นนำไป Sonicate เป็นเวลา 30 นาที เพื่อสกัดเขม่า

3.4.3.2 นำตัวอย่างปลอกกระสุนปืนวางในแนวตั้งฉากลงในบีกเกอร์ขนาด 50 mL ใส่น้ำ Deionize water ลงในปลอกกระสุน โดยตัวอย่างปลอกกระสุนปืนขนาด 9 มม. ใส่น้ำ 0.9 mL และปลอกกระสุนปืนขนาด .38 ใส่น้ำ 1.5 mL จากนั้น Sonicate เป็นเวลา 30 นาที เพื่อสกัดเขม่า

3.4.3.3 นำตัวอย่างข้อที่ 3.4.3.1 และ 3.4.3.2 มากรองผ่าน Membrane filtered 0.45 µm

3.5 การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

การสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษจะสร้างบริเวณส่วนกั้นที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic barrier) ด้วยการนำแผ่นพลาสติกใสกว้าง 2 cm ยาว 21 cm มาซ้อนทับกัน 4 ชั้น โดยใช้เทปกาวสองหน้าเป็นตัวยึด จากนั้นใช้ที่เจาะกระดาษแบบรูเดียวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm มาเจาะเป็นช่อง แต่ละช่องห่างกันประมาณ 5 mm จะได้ช่องทั้งหมด 20 ช่องต่อ 1 ชิ้นงาน ส่วนที่ชอบน้ำเตรียมโดยเจาะกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1ให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm หลังจากนั้นนำกระดาษกรองที่เตรียมไว้ มาวางลงในช่องที่เจาะบนอุปกรณ์ โดยด้านหลังของอุปกรณ์ถูกปิดทับด้วยเทปใส ส่วนด้านบนถูกปิดด้วยสติ๊กเกอร์ใสที่เจาะช่องไว้สำหรับหยดตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 mm



ภาพที่ 14 ขั้นตอนการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

3.6 การเตรียมอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อตรวจวัด

3.6.1 ตรวจวัดไนไตรท์

วางกระดาษกรองที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm 2 แผ่น ซ้อนทับกันลงในช่องที่เจาะบนอุปกรณ์ แล้วปิเปตสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง จากนั้นปิเปตสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง แล้ววางกระดาษกรองอีก 1 แผ่นปิดทับลงไป เมื่อต้องการวิเคราะห์ไนไตรท์ให้หยดสารตัวอย่างลงบนช่องที่เจาะไว้สำหรับหยดตัวอย่าง

3.6.2 ตรวจวัดไนเตรท

วางกระดาษกรองที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm 1 แผ่น ลงในช่องที่เจาะบนอุปกรณ์ แล้วปิเปตสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง จากนั้นปิเปตสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง วางกระดาษกรองอีก 1 แผ่น ซ้อนทับกันลงในช่อง ปิเปต Zinc suspension เข้มข้น 0.1 g/mL ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง วางกระดาษกรองอีก 1 แผ่นปิดทับลงไป เมื่อต้องการวิเคราะห์ไนเตรทให้หยดสารตัวอย่างลงบนช่องที่เจาะไว้สำหรับหยดตัวอย่าง

3.7 ศึกษาการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทด้วยอุปกรณ์ที่ได้สร้างขึ้น

3.7.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอุปกรณ์เพื่อตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท

3.7.1.1 ศึกษาปริมาณของ Griess reagent ที่เหมาะสม

3.7.1.1.1 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM

เตรียมสาระลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM และเตรียมสารละลายไนไตรท์ เข้มข้น 150 µM ทำการทดสอบ โดยปิเปตสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10, 11 และ 12 µL (n=3) ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ และปิเปตสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL ลงไป จากนั้นปิเปตสารละลายไนไตรท์ เข้มข้น 150 µM ปริมาตร 10 µL ลงในแต่ละหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี แล้วพลอตกราฟระหว่างปริมาณของสารละลาย Sulfanilamide และค่าความเข้มสี แล้วเลือกปริมาณที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดสอบบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

3.7.1.1.2 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารละลาย N-(1-Naphthyl)-Ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM

เตรียมสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl เข้มข้น 10 mM และเตรียมสารละลายไนไตรท์ เข้มข้น 150 µM ทำการทดสอบโดยปิเปตสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10 µL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ และปิเปตสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10, 11 และ 12 µL (n=3) ลงไป จากนั้นปิเปตสารละลายไนไตรท์ เข้มข้น 150 µM ปริมาตร 10 µL ลงในแต่ละหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี แล้วพลอตกราฟระหว่างปริมาณของสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl และค่าความเข้มสี แล้วเลือกปริมาณที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดสอบบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

3.7.1.2 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารมาตรฐานและตัวอย่าง

เตรียมสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl เข้มข้น 10 mM และเตรียมสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 µM ทำการทดสอบโดยปิเปตสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร10 µL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ และปิเปตสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL ลงไป จากนั้นปิเปตสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 µM ปริมาตร 10, 11 และ 12 µL (n=3) ลงในแต่ละหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี แล้วพลอตกราฟระหว่างปริมาณของสารละลายไนไตรท์ และค่าความเข้มสี แล้วเลือกปริมาณที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดสอบบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

3.7.1.3 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของ Zinc suspension

เตรียมสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl เข้มข้น 10 mM สารละลายไนเตรท เข้มข้น 1000 µM และ Zinc suspension เข้มข้น 0.075, 0.1 และ 0.125 g/mL ทำการทดสอบโดยปิเปตสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร10 µL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ และปิเปตสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL ลงไป จากนั้นปิเปต Zinc suspension ความเข้มข้นต่างๆปริมาตร 10 µL (0.75, 1.0, และ 1.25 mg) ลงในแต่ละหลุม (n=4) สุดท้ายปิเปตสารละลายไนเตรท เข้มข้น 1000 µM ปริมาตร 10 µL ลงไป ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี แล้วพลอตกราฟระหว่างปริมาณของ

Zinc suspension และค่าความเข้มสี แล้วเลือกปริมาณที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดสอบบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

3.7.1.4 ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการถ่ายภาพการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Griess reagent และสารละลายไนเตรท

เตรียมสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM Zinc suspension เข้มข้น 0.1 g/mL และสารละลายไนเตรท เข้มข้น 900 μM ทำการทดสอบโดยปิเปตสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร10 μL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ และปิเปตสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 μL จากนั้นปิเปต Zinc suspension ความเข้มข้น 0.1 g/mL ปริมาตร 10 μL (1.0 mg) สุดท้ายปิเปตสารละลายไนเตรท เข้มข้น 900 μM ปริมาตร 10 μL ลงในแต่ละหลุม (n=5) ทำการถ่ายภาพทุกๆ 1นาที ตั้งแต่นาทีที่ 3-15 นาทีแรก หลังจากนั้นถ่ายทุกๆ 5 นาที แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี แล้วพลอตกราฟระหว่างเวลาทำการถ่ายภาพภายหลังการหยดสารและค่าความเข้มสี แล้วเลือกเวลาที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการถ่ายภาพเพื่อทดสอบบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

3.7.2 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท

3.7.2.1 ความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนไตรท์

เตรียมสารละลายไนไตรท์ เข้มข้น 15, 30, 60, 120 และ 180 μM ทำการทดสอบโดยปิเปตความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร10 μL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (n=3) ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี แล้วพลอตกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างปริมาณของไนไตรท์แต่ละความเข้มข้นที่ปริมาตร10 μL และค่าความเข้มสี

3.7.2.2 ความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนเตรท

เตรียมสารละลายไนเตรท เข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 μM ทำการทดสอบโดยปิเปตความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร10 μL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (n=3) ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี แล้วพลอตกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างปริมาณของไนเตรทแต่ละความเข้มข้นที่ปริมาตร 10 μL และค่าความเข้มสี

3.7.3 ศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility)

3.7.3.1 การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์

เตรียมสารละลายไนไตรท์ เข้มข้น 15, 60 และ 180 μM ทำการทดสอบโดยปิเปตสารละลายไนไตรท์ ปริมาตร 10 μL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (n=11) ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี หลังจากนั้นคำนวณค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Percentage of relative standard deviation, %RSD)

3.7.3.1 การศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนเตรท

เตรียมสารละลายไนเตรท เข้มข้น 200, 600 และ 1000 μM ทำการทดสอบโดยปิเปตสารละลายไนเตรท ปริมาตร 10 μL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (n=14) ทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพแล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มสี หลังจากนั้นคำนวณค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Percentage of relative standard deviation, %RSD)

3.7.4 ศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

ปิเปตสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้น 0 μM ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทแบบกระดาษปริมาตร 10 μL ทำทั้งหมด 10 ซ้ำ โดยทำการถ่ายภาพพร้อมกับกราฟมาตรฐานแล้วหาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

การคำนวณหาขีดจำกัดการตรวจวัดโดยใช้สูตร LOD = 3S.D. นำค่าที่คำนวณได้จากสูตรหารด้วยค่าความชันในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด

การคำนวณหาขีดจำกัดการหาปริมาณโดยใช้สูตร LOQ = 10S.D. นำค่าที่คำนวณได้จากสูตรหารด้วยค่าความชันในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่าขีดจำกัดการหาปริมาณ

3.7.5 ศึกษาความเสถียรของอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์แบบกระดาษ (Stability)

เตรียมอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทแบบกระดาษ โดยศึกษาภายใต้อุณหภูมิห้อง (ไม่สัมผัสแสงและใส่ถุงซิป) และเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ $\leq$ 4 °C (ไม่สัมผัสแสงและใส่ถุงซิป) มาทดสอบด้วยสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 60 μM และสารละลายมาตรฐานไนเตรท 600 μM ทำการวิเคราะห์ความเข้มสีเป็นระยะเวลาต่อเนื่องนาน 30 วัน แล้วนำไปพลอตกราฟระหว่างระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทแบบกระดาษ กับค่าความเข้มสีของแต่ละวันที่ได้

3.8 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์แบบกระดาษ

งานวิจัยชิ้นนี้ได้ใช้อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนตามข้อ 3.4.3 และทำการทดสอบโดยปิเปตสารละลายตัวอย่างเขม่าดินปืนลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษหลุมละ 10 μL (n=6) ทิ้งไว้ 5 นาที โดยทำการถ่ายภาพพร้อมกับกราฟมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท แล้ววิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ImageJ หาค่าความเข้มสีของตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท และคำนวณปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในรูปของค่า nmol

3.9 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

3.9.1 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท

เตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไนไตรท์และไนเตรทความเข้มข้น 15, 30, 60, 120, 240, 480 และ 960 μM เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท วัดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟี โดยมีสภาวะของเครื่อง ดังนี้

ตารางที่ 3 สภาวะของเครื่องโครมาโทกราฟี

Ion chromatography (IC)	**Donex ICS -1000**
Program	Dionex CM Dongle Chromeleon 680 SPI build 2238
Reagent-free controller	RFC-30 Dionex
Column Guard column Analytical column	 DionexIonPac AG17 Guard column (4×50mm) DionexIonPac AS17-C Analytical column (4×250 mm)
Eluent	Potassium Hydroxide
Detector	Conductivity
Run time	10 min
Eluting flow rate	1.0 mL/min

3.9.2 ศึกษาขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท

เตรียมสารมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 μM แล้วฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟี ทำทั้งหมด 7 ซ้ำ หาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

การคำนวณหาขีดจำกัดการตรวจวัดโดยใช้สูตร LOD = 3S.D. นำค่าที่คำนวณได้จากสูตรหารด้วยค่าความชันในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด

การคำนวณหาขีดจำกัดการหาปริมาณโดยใช้สูตร LOQ = 10S.D. นำค่าที่คำนวณได้จากสูตรหารด้วยค่าความชันในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่าขีดจำกัดการหาปริมาณ

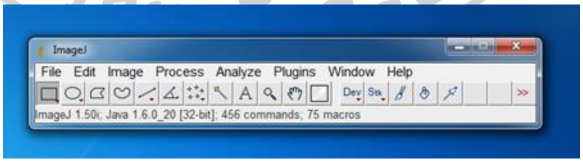
3.9.3 การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน

นำสารตัวอย่างที่ได้จากมือผู้ยิงปืนและในปลอกกระสุนปืนมาทำการสกัดเอาเขม่าออกมา ก่อนจะฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟี เพื่อหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรต และรายงานค่าในรูปแบบ nmol

3.10 ขั้นตอนการวิเคราะห์ความเข้มสีด้วยโปรแกรม ImageJ

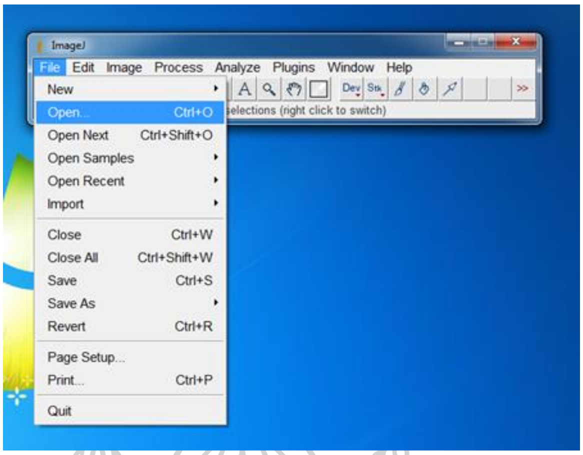
3.10.1 ถ่ายภาพอุปกรณ์ที่ได้ทำการทดลองด้วยกล้องโทรศัพท์มือถือยี่ห้อ iPhone รุ่น 5 ภายใต้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ตำแหน่งเดียวกันทุกครั้ง ให้ระยะห่างระหว่างอุปกรณ์กับกล้องเท่ากับ 20 เซนติเมตร

3.10.2 เปิดโปรแกรม ImageJ



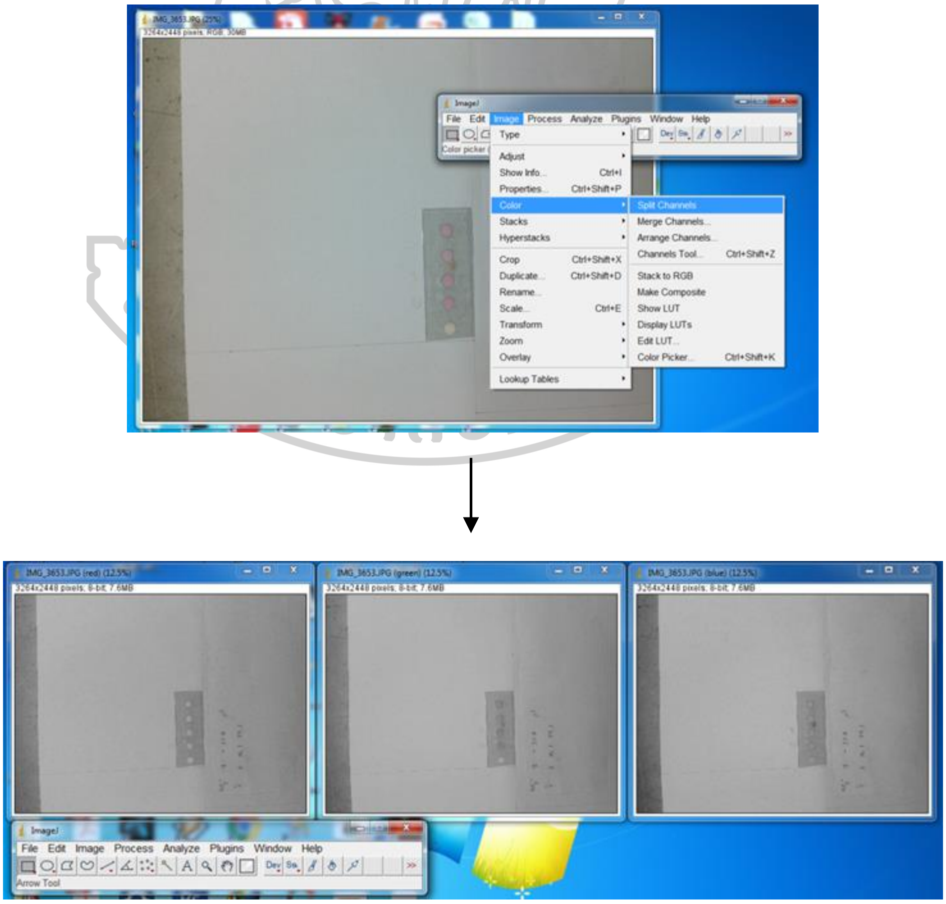
ภาพที่ 15 แสดงโปรแกรม ImageJ

3.10.3 เลือก Open เลือกรูปที่ต้องการประมวลผล



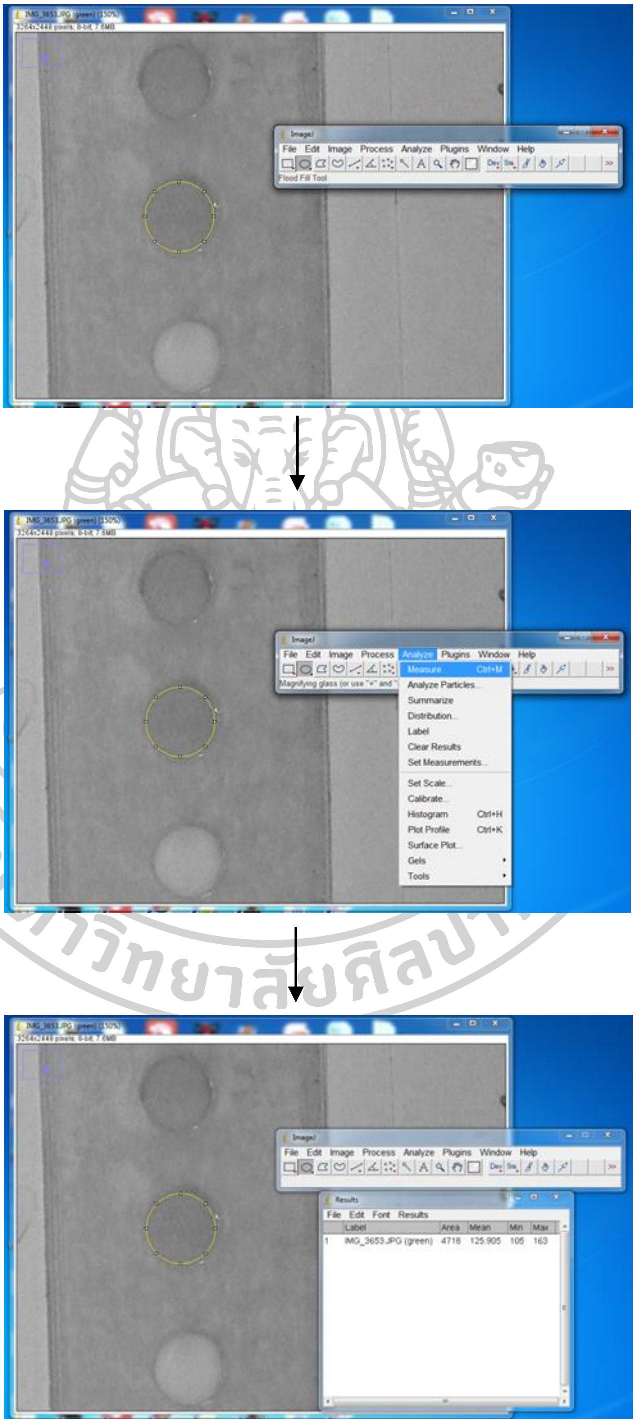
ภาพที่ 16 แสดงการเลือกรูปถ่ายในโปรแกรม ImageJ

3.10.4 เลือก Image ไปที่ Color ไปที่ Split channels เพื่อวัดค่าความเข้มสีในโหมด RGB



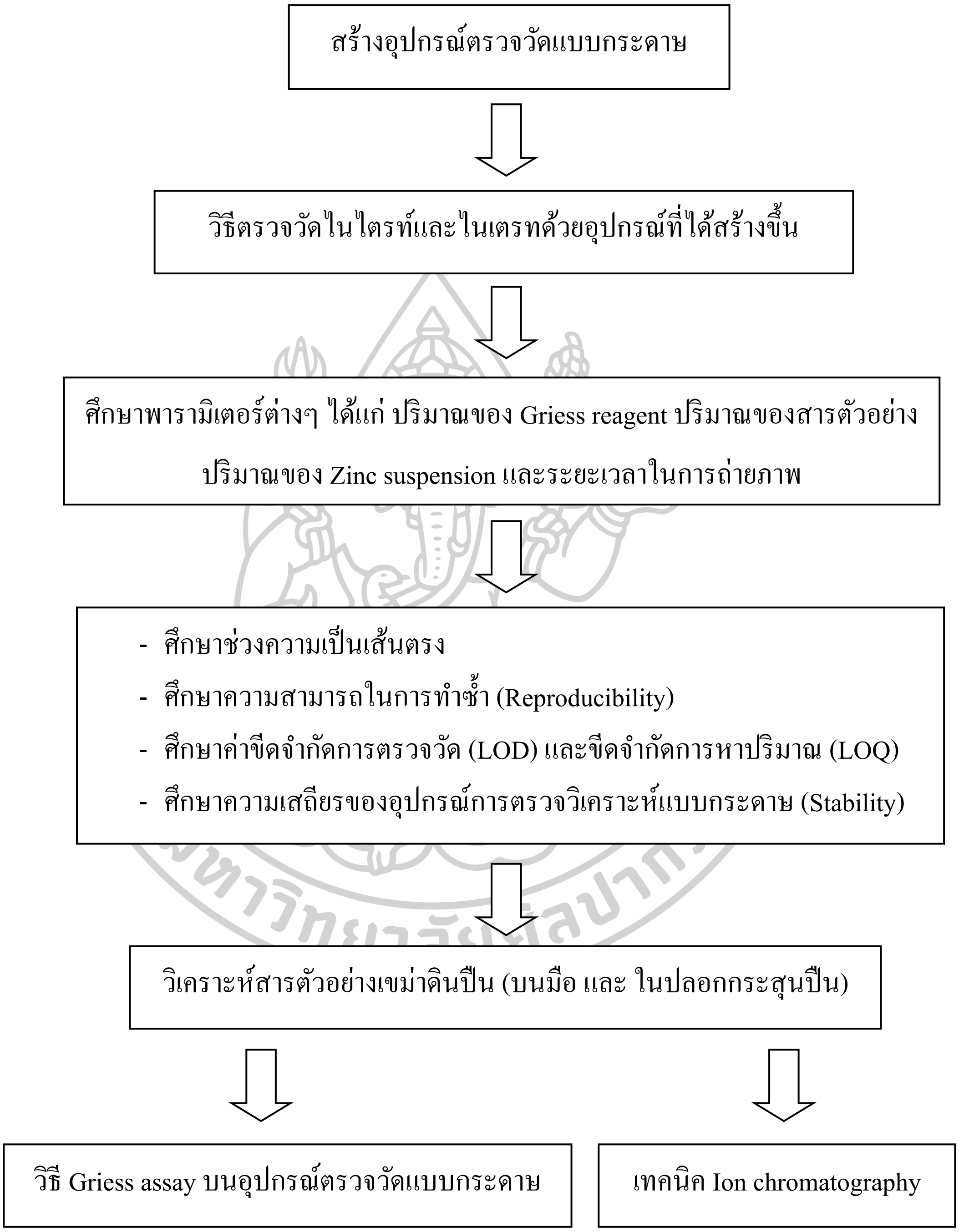
ภาพที่ 17 แสดงการปรับเป็นโหมด RGB ในโปรแกรม ImageJ

3.10.5 เลือกบริเวณที่ต้องการตรวจวัด โดยเลือก Shortcut ตามที่ต้องการ จากนั้นลากคลุมบริเวณที่ต้องการวัด เมื่อได้บริเวณแล้วให้ไปที่ Analyze ไปที่ Measurement ค่า Mean ที่ปรากฏคือค่า Mean intensity ของโหมดสีที่วิเคราะห์ ที่ได้จากการประมวลภาพ



ภาพที่ 18 แสดงบริเวณที่ตรวจวัดและการ Analyze measurement ในโปรแกรม ImageJ

3.11 แผนการดำเนินการวิจัย



ภาพที่ 19 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัย

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน โดยใช้อุปกรณ์แบบกระดาษที่สร้างขึ้นเอง การสร้างอุปกรณ์กระดาษทำโดยใช้แผ่นพลาสติกใสที่ซ้อนกันอย่างน้อย 4 ชั้น โดยมีเทปกาวสองหน้าเป็นตัวยึด และเจาะรูให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm จากนั้นวางกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 mm ลงในช่องว่าง ด้านหลังของอุปกรณ์จะถูกปิดทับด้วยเทปใส ส่วนด้านบนถูกปิดด้วยสติ๊กเกอร์ใสที่เจาะช่องไว้สำหรับหยดตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 mm ดังภาพที่ 20

ภาพที่ 20 อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

การเตรียมอุปกรณ์เพื่อตรวจวัดไนไตรท์ ทำโดยวางกระดาษกรอง 2 แผ่น ซ้อนทับกันลงในช่องที่เจาะบนอุปกรณ์ จากนั้นปิเปต Griess reagent ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง แล้ววางกระดาษกรองอีก 1 แผ่นปิดทับลงไป ส่วนไนเตรท จะวางกระดาษกรองลงในช่องที่เจาะบนอุปกรณ์ 1 แผ่น ปิเปต Griess reagent ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง วางกระดาษกรองอีก 1 แผ่นซ้อนทับกันลงในช่อง ปิเปต Zinc suspension ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง จากนั้นวางกระดาษกรองอีก 1 แผ่นปิดทับลงไป

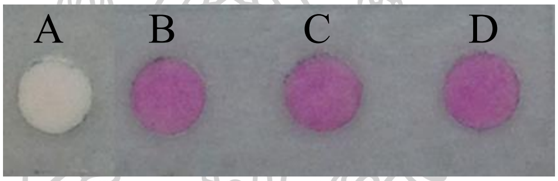
4.1 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทด้วยอุปกรณ์ที่ได้สร้างขึ้น

4.1.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเตรียมอุปกรณ์เพื่อตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท

4.1.1.1 ศึกษาปริมาณของ Griess reagent และสารตัวอย่างที่เหมาะสมกับอุปกรณ์

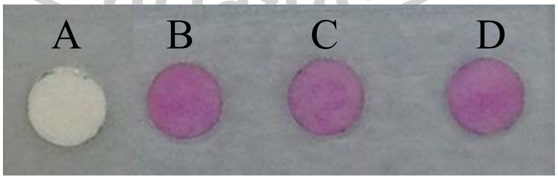
การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรท นั้นอาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงสีของ Griess reagent ซึ่งเป็นสารละลายใสไม่มีสี โดย Sulfanilamide จะทำปฏิกิริยากับไอออนไนไตรท์ในสารละลายกรด กลายเป็น Diazonium salt จากนั้นเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI ได้สารประกอบ Azo dye ที่มีสีแดงม่วง ส่วนไอออนไนเตรทจะถูกรีดิวซ์กลายเป็นไนไตรท์ ด้วย Zinc ก่อนเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว ความเข้มสีที่เกิดขึ้นจะแปรผันตรงกับ

ไนไตรท์และไนเตรทที่ถูกรีดิวซ์กลายเป็นไนไตรท์ของสารตัวอย่าง จากนั้นทำการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCI เข้มข้น 10 mM และสารมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น 150 μM ทำการเตรียมอุปกรณ์โดยปิเปตสารละลาย Sulfanilamide และสารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine .2HCI ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษปริมาตร 10, 11 และ 12 μL ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง จากนั้นจึงปิเปตสารมาตรฐานไนไตรท์ปริมาตร 10, 11 และ 12 μL ลงไป ทำ Blank เปรียบเทียบในทุกปริมาณที่ศึกษา ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา 5 นาที แล้วนำอุปกรณ์ที่ได้ไปถ่ายรูป นำเข้าโปรแกรมประมวลภาพ ImageJ เพื่อตรวจวัดค่าความเข้มของสีที่เกิดขึ้น ได้ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษดังภาพที่ 21-23



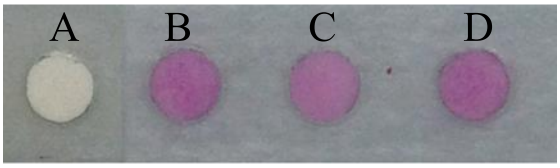
Blank 500 550 600 nmol Sulfanilamide

ภาพที่ 21 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย NED เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 μL และสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 μM ปริมาตร 10 μL และเปลี่ยนแปลงปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 0 μM (B) สารละลาย Sulfanilamide ปริมาตร 10 μL (500 nmol) (C) สารละลาย Sulfanilamide ปริมาตร 11 μL (550 nmol) (D) สารละลาย Sulfanilamide ปริมาตร 12 μL (600 nmol)



Blank 99.7 109.7 119.6 nmol NED

ภาพที่ 22 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10 μL และสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 μM ปริมาตร 10 μL และเปลี่ยนแปลงปริมาตรสารละลาย NED เข้มข้น 10 mM (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 0 μM (B) สารละลาย NED ปริมาตร 10 μL (99.7 nmol) (C) สารละลาย NED ปริมาตร 11 μL (109.7 nmol) (D) สารละลาย NED ปริมาตร 12 μL (119.6 nmol)



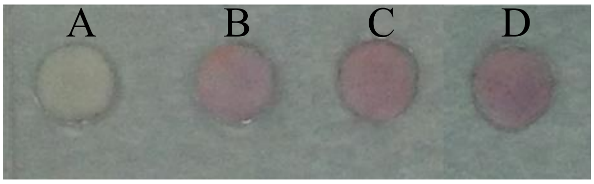
Blank 1.50 1.65 1.80 nmol Standard

ภาพที่ 23 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10 µL และสารละลาย NED เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL และเปลี่ยนแปลงปริมาตรสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 150 µM (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนไตรท์เข้มข้น 0 µM (B) สารละลายไนไตรท์ ปริมาตร 10 µL (1.50 nmol) (C) สารละลายไนไตรท์ ปริมาตร 11 µL (1.65 nmol) (D) สารละลายไนไตรท์ ปริมาตร 12 µL (1.80 nmol)

จากรูปที่ 21-23 พบว่าปริมาณของสารละลายที่ศึกษาแต่ละตัว เมื่อนำไปอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และรวมทุกสี (RGB) เมื่อปริมาณสารละลาย Sulfanilamide, NED และไนไตรท์เพิ่มขึ้น ค่าความเข้มสีในทุกๆสีไม่ได้เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ปริมาตร 10 µL ซึ่งเป็นปริมาตรที่เหมาะสมสำหรับอุปกรณ์นี้

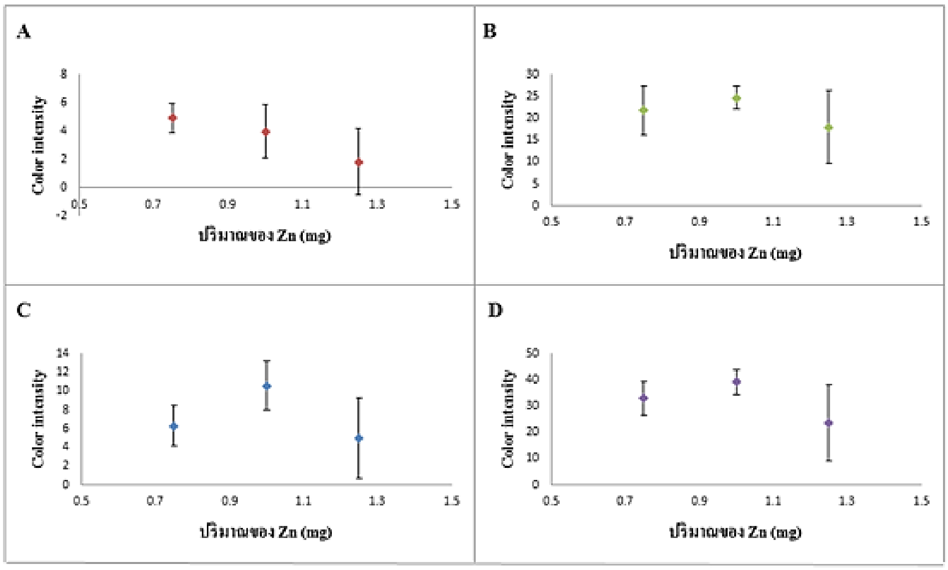
4.1.1.2 ศึกษาปริมาณของ Zinc suspension

ทำการศึกษาปริมาณของ Zinc suspension โดยทำการเตรียมสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM สารละลาย N-(1-Naphthyl)-ethylenediamine.2HCl เข้มข้น 10 mM Zinc suspension ที่ความเข้มข้น 0.075, 0.1 และ 0.125 g/mL และสารมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 1000 µM ทำการเตรียมอุปกรณ์โดยปิเปต Griess reagent ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษปริมาตร10 µL ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง จากนั้นปิเปต Zinc suspension ความเข้มข้น 0.075-0.125 g/mL ปริมาตร 10 µL ลงไป ใช้ไดร์เป่าผมเป่าให้แห้ง สุดท้ายจึงปิเปตสารมาตรฐานไนเตรท ปริมาตร10 µL ลงไป ทำ Blank เปรียบเทียบในทุกปริมาณที่ศึกษา ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา 5 นาที แล้วนำอุปกรณ์ที่ได้ไปถ่ายรูป ได้ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษดังภาพที่ 24 จากนั้นนำไปประมวลผลด้วยโปรแกรม ImageJ ได้กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของ Zinc ดังภาพที่ 25



Blank 0.75 1.0 1.25 mg Zinc

ภาพที่ 24 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารละลาย โดยควบคุมปริมาตรสารละลาย Sulfanilamide เข้มข้น 50 mM ปริมาตร 10 µL สารละลาย NED เข้มข้น 10 mM ปริมาตร 10 µL และสารละลายไนเตรทเข้มข้น 1000 µM ปริมาตร 10 µL และเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น Zinc suspension ปริมาตร 10 µL (A) คือ Blank โดยหยดสารละลายไนเตรทเข้มข้น 0 µM (B) Zinc suspension เข้มข้น 0.075 g/mL (0.75 mg) (C) Zinc suspension เข้มข้น 0.1 g/mL (1 mg) (D) Zinc suspension เข้มข้น 0.125 g/mL (1.25 mg)

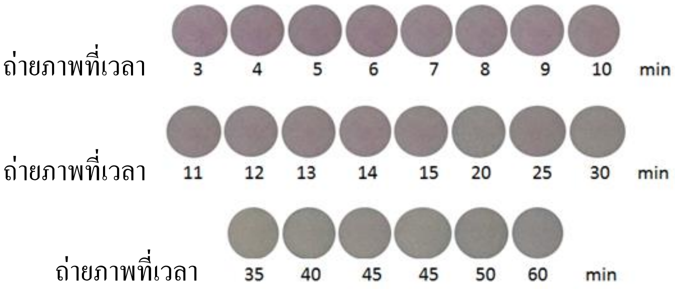


ภาพที่ 25 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของ Zinc (mg) (n=4) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

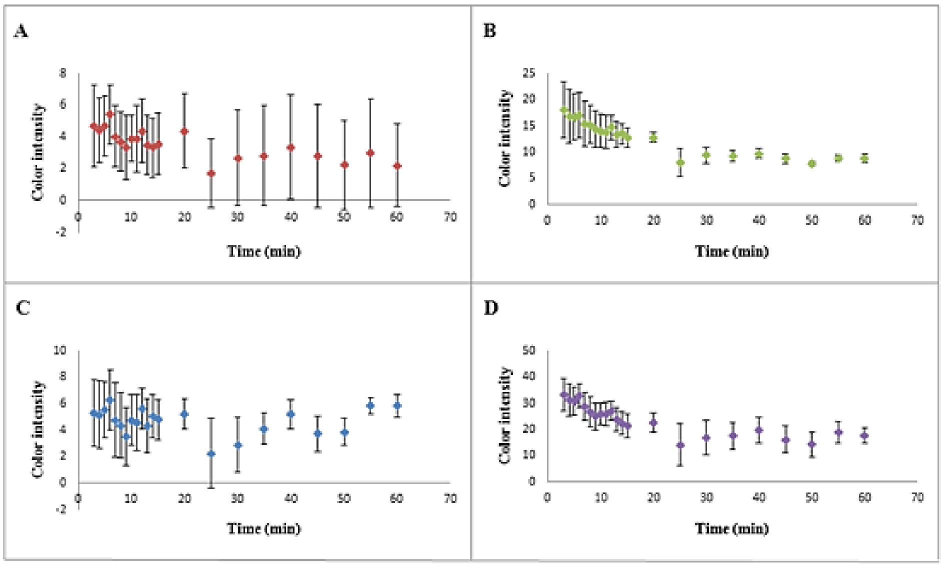
จากการศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของ Zinc ที่ปริมาณ 0.75-1.25 mg พบว่าเมื่อนำไปอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และ RGB เมื่อปริมาณของ Zinc เพิ่มขึ้น ค่าความเข้มสีที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงเลือกใช้ Zinc ที่ปริมาณ 1 mg ในการตรวจวัดบนอุปกรณ์แบบกระดาษ เนื่องจากหากมีปริมาณ Zinc ที่มากเกินไป สีของ Zinc ซึ่งมีสีดำ อาจรบกวนต่อการตรวจวัดได้

4.1.1.3 ศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ใช้ในการถ่ายภาพการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง Griess reagent และสารละลายไนเตรท

จากการศึกษาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการถ่ายภาพภายหลังการหยดสาร โดยใช้ปริมาณของ Griess reagent สารตัวอย่าง และ Zinc suspension ดังที่ศึกษาในข้างต้น และใช้สารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 900 µM ปริมาตร 10 µL ในการตรวจวัด โดยถ่ายภาพภายหลังจากการหยดสารที่เวลาต่างๆ ได้ผลดังภาพที่ 26 จากนั้นนำไปอ่านค่าความเข้มสีโดยใช้โปรแกรม ImageJ ทำการพลอตกราฟระหว่างค่าความเข้มสีกับเวลาทำการถ่ายภาพภายหลังการหยดสาร ได้ผลดังภาพที่ 27



ภาพที่ 26 ความเข้มสีที่ปรากฏบนกระดาษที่ได้จากสารละลายไนเตรททำปฏิกิริยากับ Griess reagent ที่เวลาต่างๆ



ภาพที่ 27 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาที่ทำการถ่ายภาพ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

จากการศึกษาเวลาที่ใช้ถ่ายภาพภายหลังการหยดสารของปฏิกิริยา Griess reagent กับไนเตรท โดยใช้สารมาตรฐานไนเตรทที่ความเข้มข้น 900 μM พบว่าจากภาพที่ 26 เมื่อเตรียมอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อตรวจวัดไนเตรทแล้ว จากนั้นจึงหยดสารมาตรฐานไนเตรทลงไป หลังการหยดไนเตรทจะถูกรีดิวซ์กลายเป็นไนไตรท์ด้วย Zinc แล้วทำปฏิกิริยากับ Griess reagent ปรากฏสีแดงม่วงขึ้นบนกระดาษ เมื่อเวลาผ่านไปสีจะค่อยๆซีดจางลง และจากภาพที่ 27 เมื่อนำมาอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และ RGB พบว่าในช่วงเวลาที่ 3-20 นาที ค่าความเข้มสีแต่ละสีที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน และค่อยๆลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แสดงว่าระยะเวลา 3-20 นาทีเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายภาพ ดังนั้นจึงได้เลือกใช้เวลาในการถ่ายภาพที่ 5 นาที เพื่อความรวดเร็วในการวิเคราะห์

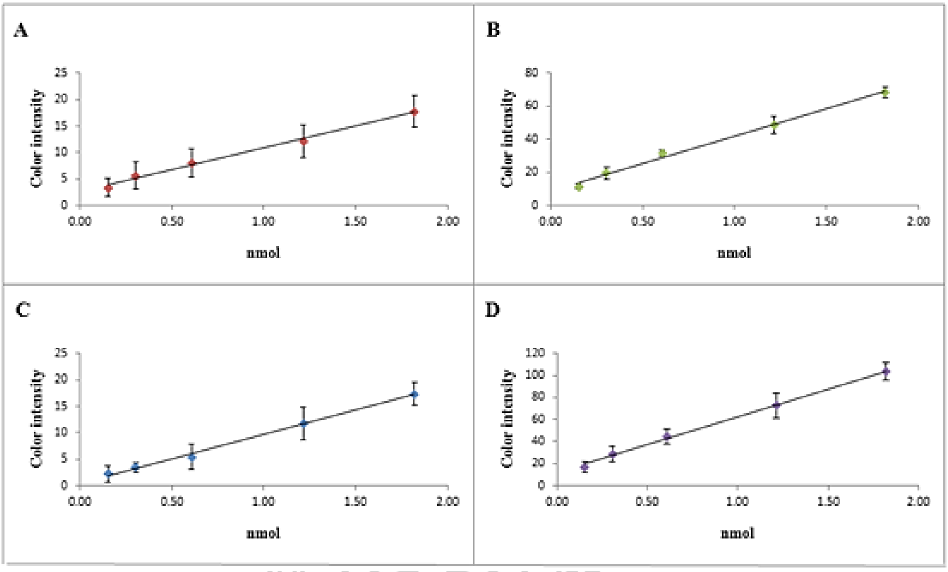
4.1.2 ศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท

4.1.2.1 ความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนไตรท์

จากการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์ โดยใช้ปริมาณของ Griess reagent และสารตัวอย่างดังที่ศึกษาในข้างต้น และเตรียมสารมาตรฐานไนไตรท์ช่วงความเข้มข้น 15 – 180 μM ทำการทดสอบโดยหยดสารละลายไนไตรท์ความเข้มข้นต่างๆลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษหลุมละ 10 μL (0.15 – 1.80 nmol) (n=3) วางทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพ ได้ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษดังภาพที่ 28 และเมื่อนำรูปภาพไปอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และ RGB แล้วพลอตกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของไนไตรท์ จะได้กราฟมาตรฐานของไนไตรท์ดังภาพที่ 29 และตารางแสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกราฟมาตรฐานไนไตรท์ดังตารางที่ 4

0 0.15 0.30 0.60 1.20 1.80 nmol

ภาพที่ 28 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารมาตรฐานไนไตรท์ที่ปริมาณ 0.15, 0.30, 0.60, 1.20 และ 1.80 nmol ลงไป



ภาพที่ 29 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์ (n=3) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

ตารางที่ 4 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารมาตรฐานไนไตรท์บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

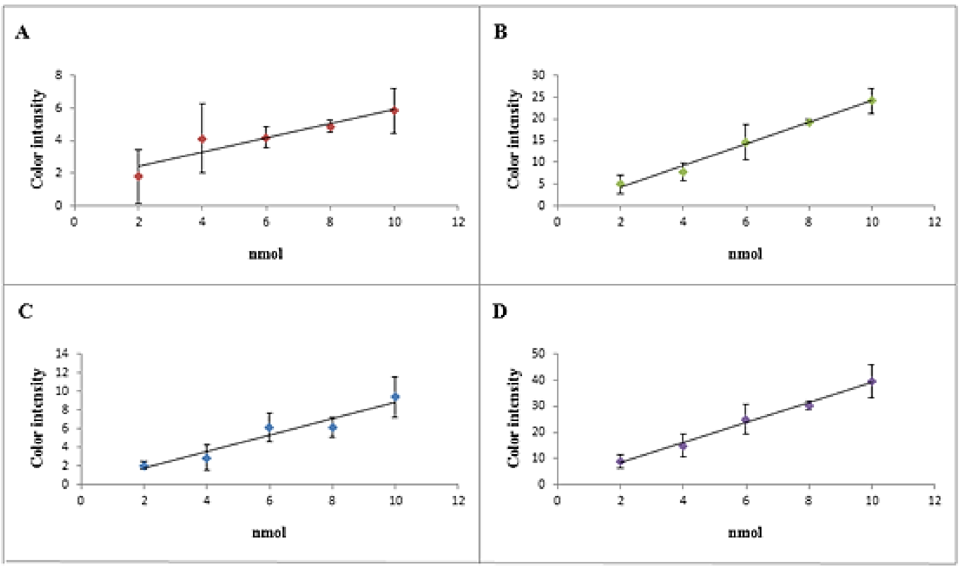
Color	Equations	r
Red	y = 8.1946x + 2.6613	0.9968
Green	y = 33.164x + 8.6521	0.9968
Blue	y = 9.1862x + 0.4748	0.9982
RGB	y = 50.545x + 11.788	0.9985

จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์ด้วยวิธี Griess assay บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 28 ซึ่งจะเห็นว่า เมื่อปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์เพิ่มขึ้น ความเข้มสีจะเพิ่มขึ้น เนื่องจาก Griess reagent จะทำปฏิกิริยากับสารมาตรฐานไนไตรท์ ทำให้มีสีแดงม่วงที่เข้มขึ้น เมื่อพลอตกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และ RGB กับปริมาณของไนไตรท์ จะได้กราฟมาตรฐานที่มีความเป็นเส้นตรงในช่วงปริมาณ 0.15 – 1.80 nmol โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.9968 - 0.9985

4.1.2.2 ความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐานไนเตรท

จากการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนเตรท โดยใช้ปริมาณของ Griess reagent สารตัวอย่าง และ Zinc suspension ดังที่ศึกษาในข้างต้น และเตรียมสารมาตรฐานไนเตรทช่วงความเข้มข้น 200 – 1000 µM ทำการทดสอบโดยหยดสารละลายไนเตรทความเข้มข้นต่างๆลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษหลุมละ 10 µL (2.0 – 10.0 nmol) (n=3) วางทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพ ได้ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษดังภาพที่ 30 และเมื่อนำรูปภาพไปอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และ RGB แล้วพลอตกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของไนเตรท จะได้กราฟมาตรฐานของไนเตรทดังภาพที่ 31 และตารางแสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของกราฟมาตรฐานไนเตรทดังตารางที่ 5

ภาพที่ 30 ภาพถ่ายอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเมื่อทำการหยดสารมาตรฐานไนเตรทที่ปริมาณ 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 และ 10.0 nmol ลงไป



ภาพที่ 31 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของสารมาตรฐานไนเตรท (n=3) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

ตารางที่ 5 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารมาตรฐานไนเตรทบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ

Color	Equations	r
Red	y = 0.4401x + 1.533	0.9347
Green	y = 2.4941x - 0.7368	0.9953
Blue	y = 0.8955x - 0.0617	0.9658
RGB	y = 3.8296x + 0.7344	0.9964

จากการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนเตรทด้วยวิธี Griess assay บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 30 ซึ่งจะเห็นว่า เมื่อปริมาณของสารมาตรฐานไนเตรทเพิ่มขึ้น ความเข้มสีจะเพิ่มขึ้น เนื่องจาก Griess reagent จะทำปฏิกิริยากับไนเตรทที่ถูกรีดิวซ์กลายเป็นไนไตรท์ ทำให้มีสีแดงม่วงที่เข้มขึ้น เมื่อพลอตกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และ RGB กับปริมาณของไนเตรท จะได้กราฟมาตรฐานที่มีความเป็นเส้นตรงในช่วงปริมาณ 2.0 – 10.0 nmol โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ อยู่ในช่วง 0.9347 - 0.9964

4.1.3 ศึกษาความสามารถในการทำซ้ำ (Reproducibility)

ศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์ที่ปริมาณ 0.15, 0.60 และ 1.80 nmol (15, 60, 180 μM) และสารมาตรฐานไนเตรทที่ปริมาณ 2.0, 6.0 และ 10.0 nmol (200, 600, 1000 μM) ทดสอบโดยหยดสารละลายไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทแบบกระดาษหลุมละ 10 μL วางทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพ แล้วนำรูปภาพไปหาค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และ RGB ได้ผลการทดลองดังตารางแสดงผลการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทตารางที่ 6 และ 7

ตารางที่ 6 ผลการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์

Amounts (nmol)	Color intensity (Mean, n=11)		SD	%RSD
0.15 (15 µM)	R	149.91	3.968	2.65
	G	147.16	5.41	3.67
	B	140.37	5.81	4.14
	RGB	437.44	15.06	3.44
0.60 (60 µM)	R	156.48	3.74	2.39
	G	137.05	3.82	2.79
	B	143.89	5.11	3.55
	RGB	437.42	12.47	2.85
1.80 (180 µM)	R	144.23	4.29	2.97
	G	102.30	7.15	6.99
	B	131.99	6.05	4.58
	RGB	378.51	17.16	4.53

ตารางที่ 7 ผลการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนเตรท

Amounts (nmol)	Color intensity (Mean, n=14)		SD	%RSD
2.0 (200 µM)	R	136.47	4.20	3.07
	G	140.38	4.22	3.01
	B	133.63	3.91	2.92
	RGB	410.48	11.95	2.91
6.0 (600 µM)	R	141.87	3.96	2.79
	G	136.38	5.16	3.79
	B	132.66	5.37	4.05
	RGB	410.91	13.90	3.38

Amounts (nmol)	Color intensity (Mean, n=14)		SD	%RSD
10.0 (1000 μM)	R	135.18	4.00	2.96
	G	120.65	5.75	4.76
	B	119.49	4.99	4.17
	RGB	375.33	13.84	3.69

ผลการศึกษาความสามารถในการทำซ้ำจากการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท โดยศึกษาที่ปริมาณที่อยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรง พบว่าการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์ให้ค่า %RSD อยู่ในช่วง 2.39-6.99 (n=11) และการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนเตรทให้ค่า %RSD อยู่ในช่วง 2.79-4.76 (n=14) แสดงให้เห็นว่าวิธี Griess assay บนอุปกรณ์แบบกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีความเที่ยงสูงในการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรท

4.1.4 ศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดการหาปริมาณ (Limit of quantification, LOQ)

ศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการหาปริมาณ โดยนำค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และRGB ของการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรท 0 nmol (0 μM) (Blank) ด้วยวิธี Griess assay มาคำนวณหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรท ได้ผลการทดลองดังตารางแสดงผลการศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการหาปริมาณของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัด และขีดจำกัดการหาปริมาณของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท

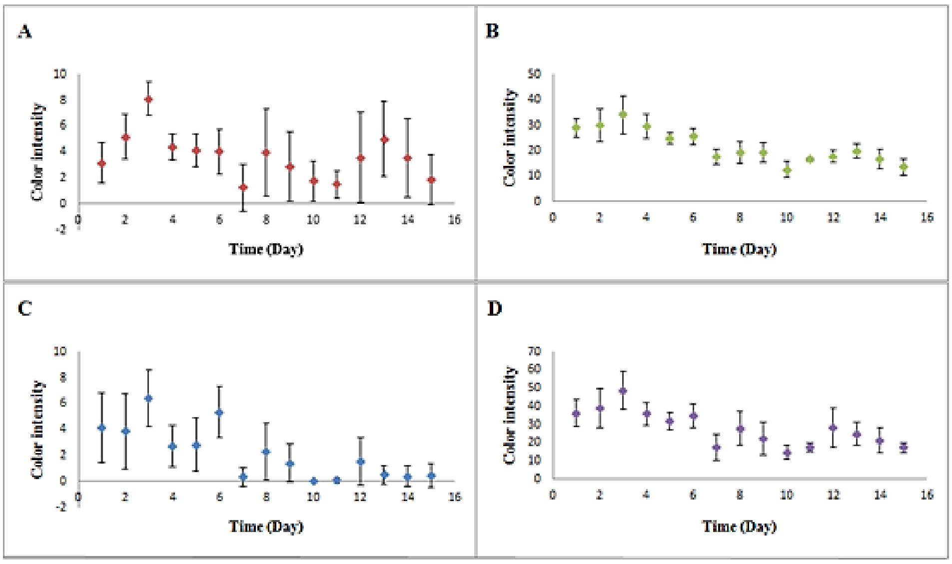
Standards	Color	LOD (nmol)	LOQ (nmol)
ไนไตรท์	R	0.294	0.980
	G	0.063	0.211
	B	0.199	0.664
	RGB	0.074	0.246
ไนเตรท	G	0.840	2.801
	B	0.752	2.507
	RGB	1.283	4.277

มหาวิทยาลัยศิลปากร

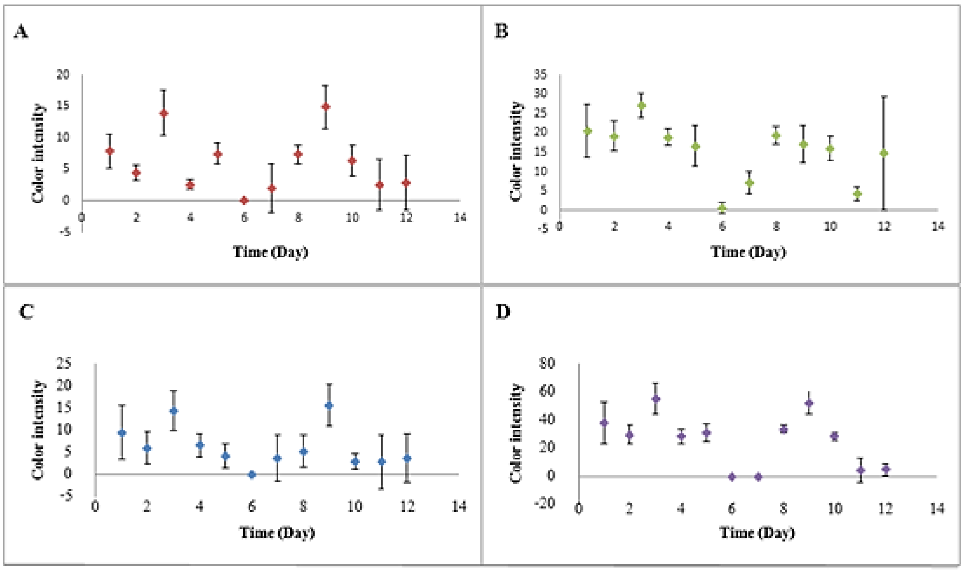
ผลการศึกษาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณของการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท 0 μM โดยอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และRGB พบว่าค่าขีดจำกัดการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทอยู่ในช่วง 0.063-0.294 และ 0.752-1.283 nmol ตามลำดับ และค่าขีดจำกัดการหาปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทอยู่ในช่วง 0.211-0.980 และ 2.507-4.277 nmol ตามลำดับ

4.1.5 ศึกษาความเสถียรของอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (Stability)

เมื่อนำอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ มาทดสอบด้วยสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ 60 μM และสารละลายมาตรฐานไนเตรท 600 μM ทำการวิเคราะห์หาความเข้มสี เป็นระยะเวลาต่อเนื่องนาน 30 วัน เมื่อนำค่าที่ได้มาพลอตค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และRGB ของแต่ละวันเปรียบเทียบกันได้ พบว่าอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษ มีผลการวิเคราะห์ความเข้มสีในแต่ละสีช่วงวันที่ 1 - 6 มีค่าใกล้เคียงกัน และหลังจากนั้นค่อยๆลดต่ำลง แสดงว่าอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ไม่เสถียร เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องมากกว่า 6 วัน ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากรีเอเจนต์ที่หยดลงบนอุปกรณ์ได้รับความร้อนแล้วเกิดการสลายตัวไป ทำให้ความสามารถในการทำปฏิกิริยาลดลง ผลการวิเคราะห์ความเข้มสีจึงมีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ดังแสดงในภาพกราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องภาพที่ 32 และอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษมีผลการวิเคราะห์ความเข้มสีในแต่ละสีช่วงวันที่ 1 - 5 มีค่าใกล้เคียงกัน แต่เนื่องจากวันที่ 3 เป็นต้นไปนั้น ได้มีสีน้ำตาลปรากฏขึ้นบนกระดาษก่อนทำการหยดสารมาตรฐาน ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากรีเอเจนต์ที่หยดลงบนอุปกรณ์ได้รับความร้อนแล้วเกิดการเสื่อมสภาพ แสดงว่าอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ไม่เสถียร เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องมากกว่า 2 วัน ดังนั้นจึงควรเก็บอุปกรณ์ไว้ใช้งานได้นาน 2 วัน ดังแสดงในภาพกราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องภาพที่ 33

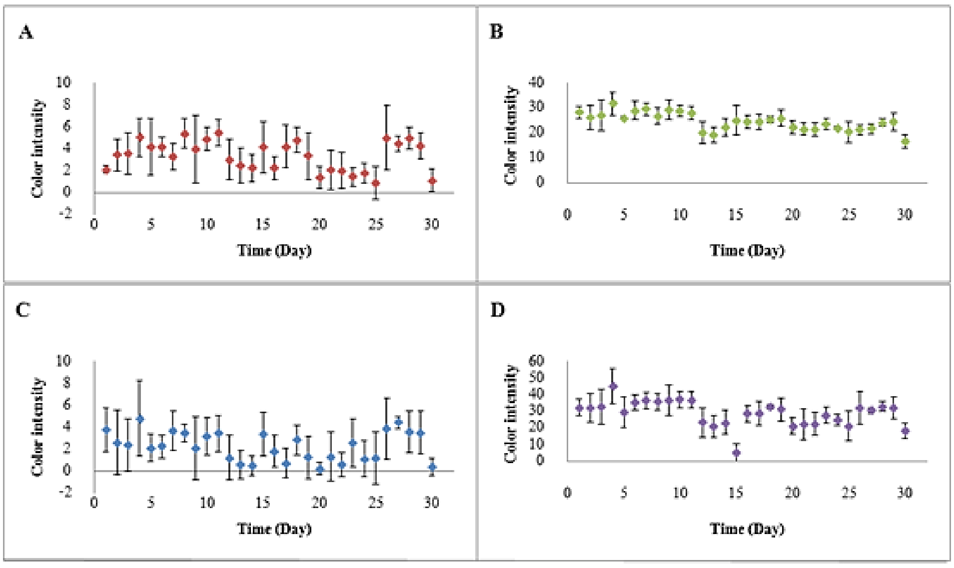


ภาพที่ 32 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

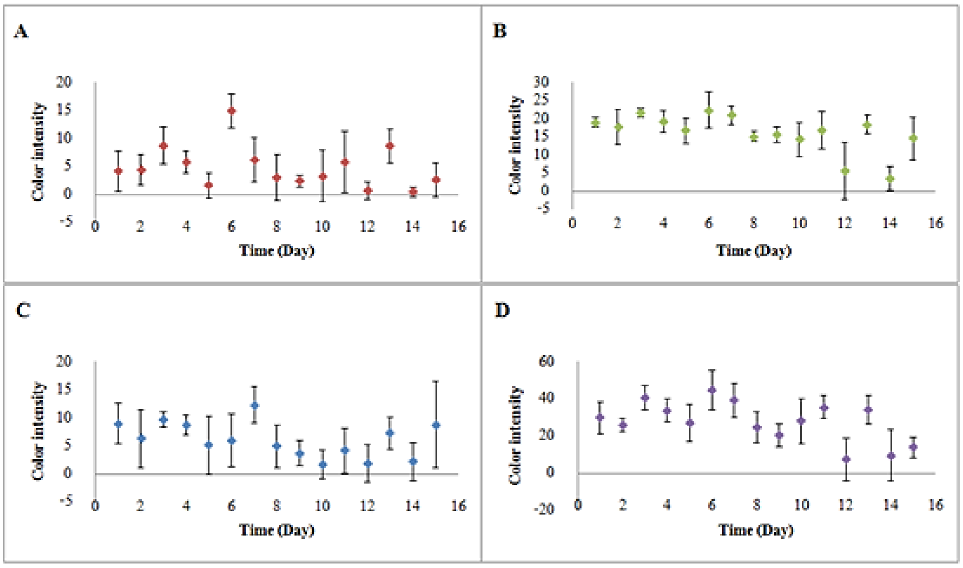


ภาพที่ 33 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

สำหรับอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ในตู้เย็น พบว่าอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษมีผลการวิเคราะห์ความเข้มสีในแต่ละสีช่วงวันที่ 1 - 11 มีค่าใกล้เคียงกัน และเมื่อเวลาผ่านไปค่าความเข้มสีจะลดลง แสดงว่าอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ไม่เสถียร เมื่อเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นมากกว่า 11 วัน ดังแสดงในภาพกราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษที่เก็บไว้ในตู้เย็นภาพที่ 34 และอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษมีผลการวิเคราะห์ความเข้มสีในแต่ละสีช่วงวันที่ 1 - 7 มีค่าใกล้เคียงกัน แต่เนื่องจากวันที่ 6 เป็นต้นไปนั้น ได้มีสีน้ำตาลปรากฏขึ้นบนกระดาษก่อนทำการหยดสารมาตรฐาน ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากรีเอเจนต์เกิดการเสื่อมสภาพ แสดงว่าอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นนี้ไม่เสถียร เมื่อเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นมากกว่า 5 วัน ดังนั้นจึงควรเก็บอุปกรณ์ไว้ใช้งานได้นาน 5 วัน ซึ่งมากกว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อาจมีสาเหตุมาจากความชื้นและอุณหภูมิที่เย็นช่วยให้รีเอเจนต์มีความเสถียร ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ดี ดังแสดงในภาพกราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ในตู้เย็นภาพที่ 35



ภาพที่ 34 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์แบบกระดาษที่เก็บไว้ในตู้เย็นโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB



ภาพที่ 35 กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับระยะเวลาในการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไนเตรทแบบกระดาษที่เก็บไว้ในตู้เย็นโดยไม่ให้ถูกแสงแดดและอากาศ (n=5) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

4.2 ผลการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์แบบกระดาษ

จากการทดลองหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทบนมือของผู้ยิง โดยทำการยิงด้วยอาวุธปืนรีวอลเวอร์ ยี่ห้อ Smith & Wesson ขนาด .38 special กับกระสุนปืน ยี่ห้อ AP ยิงจำนวน 4 นัด และในปลอกกระสุนปืนที่ยิงด้วยอาวุธปืนพกรีวอลเวอร์ ยี่ห้อ Glock ขนาด .38 และอาวุธปืนพกกึ่งอัตโนมัติ ยี่ห้อ Smith & Wesson ขนาด 9 มม. กับกระสุนปืนยี่ห้อต่างๆ ยิงครั้งละ 3 นัด โดยทำการเก็บตัวอย่างทันที นำมาสกัดเอาเขม่าออก หลังจากนั้นทำการปิเปตสารตัวอย่างปริมาตร 10 µL (n=6) ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตร์และไนเตรทแบบกระดาษ วางทิ้งไว้ 5 นาที ทำการถ่ายภาพพร้อมกับกราฟมาตรฐาน นำไปอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน และRGB แล้วนำค่าความเข้มสีที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของไนไตรท์และไนเตรท และคำนวณหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทที่มีอยู่ในตัวอย่าง ได้ผลการทดลองดังตารางแสดงปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์แบบกระดาษ

No.	Sample	Color	ปริมาณไนไตรท์ (NO_2^-/nmol)	SD	ปริมาณไนเตรท (NO_3^-/nmol)	SD
1	THAI ARM 9 มม.	R	454.47	43.95	-	-
		G	348.48	33.77	2159.95	525.30
		B	358.20	33.77	3308.24	539.70
		RGB	345.38	53.01	2953.45	437.97
2	AP .38	R	527.24	103.52	-	-
		G	347.89	29.33	4275.46	9.69
		B	324.69	63.49	6330.74	868.80
		RGB	347.33	45.51	5319.15	522.88
3	มือซ้าย	R	72.47	4.43	-	-
		G	20.92	3.22	259.95	31.94
		B	53.53	6.78	244.57	33.18
		RGB	33.42	5.67	257.78	20.94
4	มือขวา	R	107.10	2.71	-	-
		G	85.82	3.40	338.95	49.15
		B	70.71	3.82	295.48	46.73
		RGB	87.11	2.40	649.14	22.30
5	AP 9 มม.	R	265.54	40.20	-	-
		G	230.16	24.63	2437.16	48.99
		B	251.92	62.64	2028.73	168.23
		RGB	244.07	30.39	2596.20	405.90
6	WIN .38	R	576.41	44.64	-	-
		G	324.55	26.87	1436.53	134.92
		B	327.64	71.09	1273.02	200.30
		RGB	359.98	38.63	1743.74	503.62

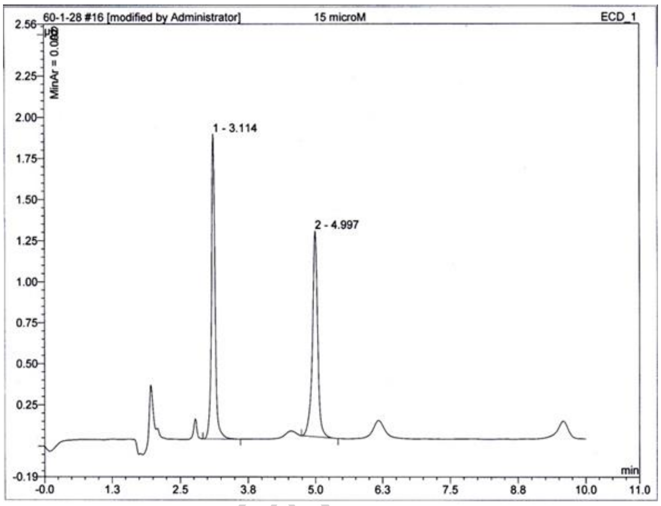
No.	Sample	Color	ปริมาณไนไตรท์ (NO_2^-/nmol)	SD	ปริมาณไนเตรท (NO_3^-/nmol)	SD
7	PMC .38	R	612.64	35.24	-	-
		G	476.88	41.59	6381.44	558.45
		B	317.92	43.75	4835.38	553.04
		RGB	478.17	17.25	5617.91	693.03
8	RP 9 มม.	R	422.31	69.60	-	-
		G	516.21	28.85	2208.27	95.72
		B	594.93	52.47	1255.75	230.05
		RGB	530.22	45.37	1432.59	320.62
9	SPEER 9 มม.	R	246.65	126.61	-	-
		G	287.37	32.70	1853.10	118.35
		B	130.15	36.37	1466.34	135.84
		RGB	222.46	48.73	1831.36	171.12
10	RAI 9 มม.	R	91.55	1.92	-	-
		G	3.91	1.34	513.83	36.73
		B	12.04	5.09	463.21	93.24
		RGB	18.91	0.93	437.09	73.25

หมายเหตุเครื่องหมาย – หมายถึงหาค่าไม่ได้

ในตารางที่ 9 เนื่องจากค่าความเข้มสีของสีแดงของสารมาตรฐานไนเตรทที่ช่วงปริมาณ 2.0 – 10.0 nmol ไม่สามารถทำการพลอตกราฟมาตรฐานของความเข้มสีของสีแดงเทียบกับปริมาณของไนเตรทได้ ดังนั้นจึงหาปริมาณไนเตรทที่ความเข้มสีของสีแดงไม่ได้ และพบว่าในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือและในปลอกกระสุนปืนมีปริมาณของไนเตรทมากกว่าปริมาณของไนไตรท์

4.3 ผลการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

จากการเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้น 15 μM จากนั้นตรวจวัดด้วยเครื่องโครมาโทกราฟี (n=2) พบว่าได้ Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานผสมไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้น 15 μM ดังภาพที่ 36



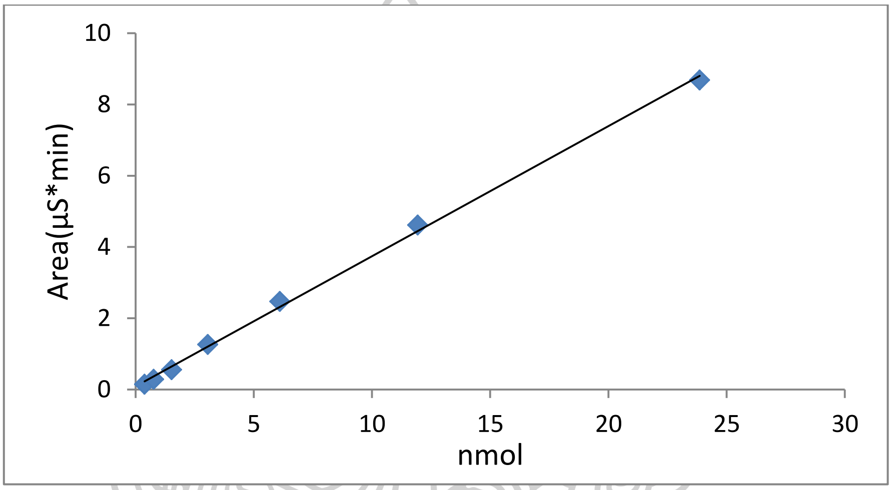
ภาพที่ 36 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานผสมไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้น 15 µM

จากภาพที่ 36 พบว่าพีคของไนไตรท์สามารถแยกจากพีคของไนเตรทได้อย่างชัดเจน และจาก Chromatogram ของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทพบว่า Retention time ของไนไตรท์ เท่ากับ 3.11 min และ Retention time ของไนเตรท เท่ากับ 4.99 min จากนั้นทำการสร้างกราฟมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้น 15 - 960 µM ฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟี ปริมาตร 25 µL (0.38-24.00 nmol) (n=2) จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานที่ปริมาณต่างๆ ได้ผลการทดลองดังตารางแสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทตารางที่ 10

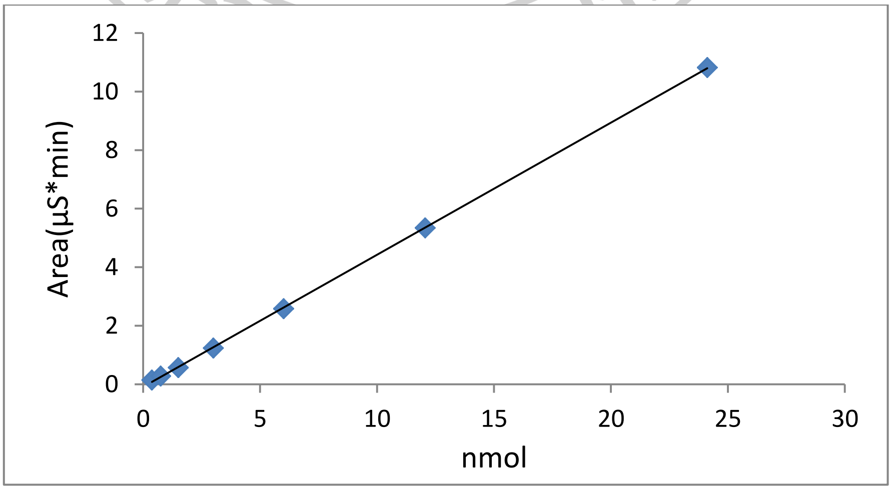
ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท

ปริมาณของสารมาตรฐาน (nmol)	ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีค			
	สารมาตรฐานไนไตรท์	SD	สารมาตรฐานไนเตรท	SD
0.38	0.146	0.0007	0.142	0
0.75	0.288	0.0021	0.280	0.0057
1.50	0.554	0.0007	0.572	0.0042
3.00	1.262	0.0007	1.238	0.0092
6.00	2.471	0.0212	2.581	0.0007
12.00	4.613	0	5.341	0.0163
24.00	8.681	0	10.820	0.0028

จากตารางที่ 10 พบว่าเมื่อใช้สารมาตรฐานผสมไนไตรท์และไนเตรทที่ปริมาณ 0.38 - 24.00 nmol ได้ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานไนไตรท์อยู่ในช่วง 0.146-8.681 µS*min และของสารมาตรฐานไนเตรทอยู่ในช่วง 0.142- 10.820 µS*min และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ได้ภาพกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์ ดังภาพที่ 37 และภาพกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณของสารมาตรฐานไนเตรทดังภาพที่ 38 และตารางแสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทจากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีตารางที่ 11



ภาพที่ 37 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์ (n=2)



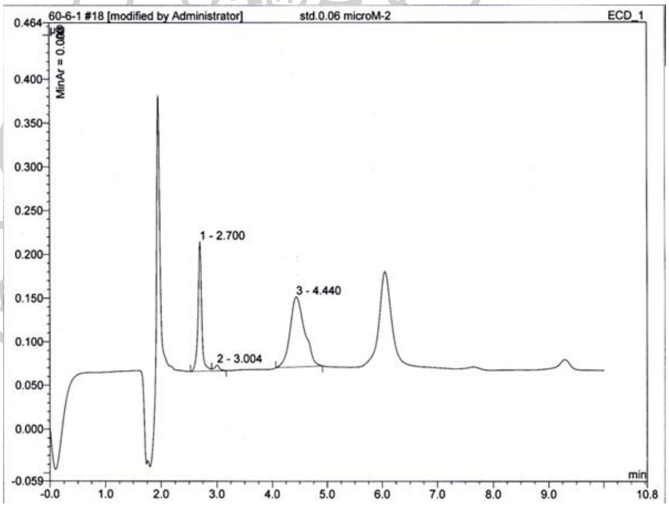
ภาพที่ 38 กราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณของสารมาตรฐานไนเตรท (n=2)

ตารางที่ 11 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรท จากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

Standards	Equations	r
ไนไตรท์	y = 0.3651x + 0.0896	0.9992
ไนเตรท	y = 0.4513x - 0.0865	0.9999

จากภาพที่ 37 และ 38 และตารางที่ 11 พบว่ากราฟมาตรฐานของไนไตรท์และไนเตรท ได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงที่ดี มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของไนไตรท์และไนเตรท คือ 0.9992 และ 0.9999 ตามลำดับ

จากการหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณ โดยใช้สารมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 μM เป็น Blank มาฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟี พบว่าได้ Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 μM ดังภาพที่ 39



ภาพที่ 39 Chromatogram ของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 μM

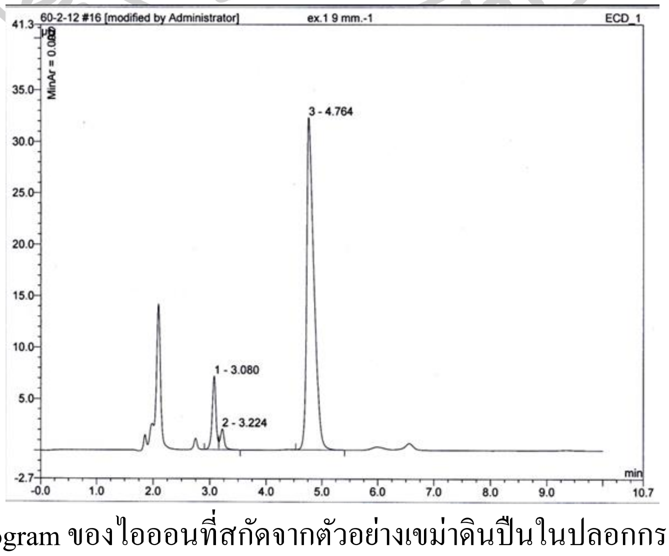
จากภาพที่ 39 พบว่าพีคของไนไตรท์มี Retention time เท่ากับ 3.00 min และเนื่องจากไนเตรทที่ความเข้มข้น 0 μM พบพีคของน้ำ DI ที่มี Retention time เท่ากับ 4.44 min ซึ่งอยู่ในตำแหน่งเดียวกับพีคของไนเตรท จึงได้ใช้พีคของน้ำที่เวลา 4.44 min มาทำการวิเคราะห์ จากนั้นทำการฉีดซ้ำ 7 ครั้ง ได้ค่าพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 μM ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 พื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ที่ความเข้มข้น 0.06 µM

ครั้งที่	ไนไตรท์ Area (µS*min)	ไนเตรท Area (µS*min)
1	0.001	0.024
2	0.001	0.023
3	0.001	0.020
4	0.001	0.020
5	0.001	0.020
6	0.001	0.021
7	0.001	0.022

จากตารางที่ 12 เมื่อนำค่าที่ได้คำนวณหาค่า LOD และ LOQ โดย LOD = 3S.D. และ LOQ = 10S.D. นำค่าที่ได้ไปหารด้วยค่าความชัน (Slope) ของสมการเส้นตรง ผลการคำนวณได้ค่า LOD = 0 nmol, LOQ = 0 nmol สำหรับไนไตรท์ และ LOD = 0.011 nmol, LOQ = 0.036 nmol สำหรับไนเตรท

จากการนำตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนที่ทำการสกัดและกรองแล้วมาฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟี (n=2) พบว่าได้ Chromatogram ของตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ THAI ARM ขนาด 9 มม. ดังภาพที่ 40 (Chromatogram ของตัวอย่างเขม่าดินปืนที่วิเคราะห์โดยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีแสดงในภาคผนวก)



ภาพที่ 40 Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ THAI ARM ขนาด 9 มม.

จากภาพที่ 40 เมื่อนำ Chromatogram ของตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ THAI ARM ขนาด 9 มม. ไปเปรียบเทียบกับของสารมาตรฐาน จะได้ว่าตัวอย่างมี Retention time ของไนไตรท์ เท่ากับ 3.08 min และ Retention time ของไนเตรท เท่ากับ 4.76 min จากนั้นนำตัวอย่างที่เหลือมาวิเคราะห์ต่อด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

จากการทดลองหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทบนมือของผู้ยิง โดยทำการยิงด้วยอาวุธปืนรีวอลเวอร์ ยี่ห้อ Smith & Wesson ขนาด .38 special กับกระสุนปืน ยี่ห้อ AP ยิงจำนวน 4 นัด และในปลอกกระสุนปืนที่ยิงด้วยอาวุธปืนพกรีวอลเวอร์ ยี่ห้อ Glock ขนาด .38 และอาวุธปืนพกกึ่งอัตโนมัติ ยี่ห้อ Smith & Wesson ขนาด 9 มม. กับกระสุนปืนยี่ห้อต่างๆ ยิงครั้งละ 3 นัด ทำการเก็บตัวอย่างทันที นำมาสกัดเอาเขม่าออก หลังจากนั้นฉีดเข้าเครื่องโครมาโทกราฟี จะได้ค่าพื้นที่ใต้พีคมาคำนวณหาปริมาณของไนไตรท์และไนเตรท โดยนำมาแทนค่า y ในกราฟมาตรฐาน ซึ่งพลอตระหว่างค่าพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทในช่วงปริมาณที่ 0.38 – 24.00 nmol ได้ผลการทดลองดังตารางแสดงปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ได้จากเครื่องโครมาโทกราฟีตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ได้จากเครื่องโครมาโทกราฟี

No.	Sample	ปริมาณไนไตรท์ (NO_2^-/nmol)	SD	ปริมาณไนเตรท (NO_3^-/nmol)	SD
1	THAI ARM 9 มม.	229.20	0.0007	1957.74	0.0042
2	AP .38	303.53	0.0085	2890.98	0.0686
3	มือซ้าย	22.17	-	140.79	-
4	มือขวา	83.42	-	117.48	-
5	AP 9 มม.	118.27	0.0092	1472.35	0.1018
6	WIN .38	144.90	0.0318	557.59	0.1195
7	PMC .38	353.66	0.0099	6470.31	0.2432
8	RP 9 มม.	314.99	0.0219	988.34	0.0742
9	SPEER 9 มม.	170.29	0.0057	703.17	0.0007
10	RAI 9 มม.	-	-	819.59	-

หมายเหตุเครื่องหมาย – หมายถึงหาค่าไม่ได้

ในตารางที่ 13 จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี พบว่าในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือและในปลอกกระสุนปืนมีปริมาณของไนเตรทมากกว่าปริมาณของไนไตรท์

4.4 ผลการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

จากการศึกษาการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืน พบว่าสามารถทำได้โดยปิเปตตัวอย่างปริมาตร 10 µL ลงบนอุปกรณ์ตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทแบบกระดาษ ทำปฏิกิริยากันใช้ระยะเวลา 5 นาที ให้ค่าการวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงสูง แสดงให้เห็นว่าวิธี Griess assay บนอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นสามารถใช้วิเคราะห์ได้จริง ขั้นตอนต่อไปจึงทำการเปรียบเทียบระหว่างการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (Paper-based assay) และเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยใช้ตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือและในปลอกกระสุนปืนทั้งหมด 10 ตัวอย่าง แสดงปริมาณในหน่วย nmol ได้ผลการทดลองดังตารางแสดงปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีตารางที่ 14

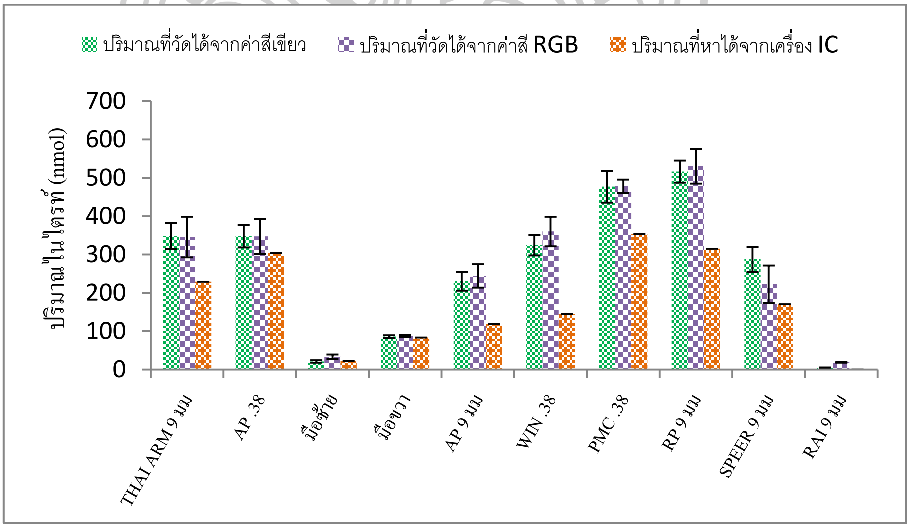
ตารางที่ 14 ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

No.	Sample	Color	ปริมาณไนไตรท์ (NO_2^-/nmol)	SD	ปริมาณไนเตรท (NO_3^-/nmol)	SD
1	THAI ARM 9 มม.	G	348.48	33.77	2159.95	525.30
		RGB	345.38	53.01	2953.45	437.97
		IC	229.2	0.0007	1957.74	0.0042
2	AP .38	G	347.89	29.33	4275.46	9.69
		RGB	347.33	45.51	5319.15	522.88
		IC	303.533	0.0085	2890.98	0.0686
3	มือซ้าย	G	20.92	3.22	259.95	31.94
		RGB	33.42	5.67	257.78	20.94
		IC	22.17	-	140.79	-

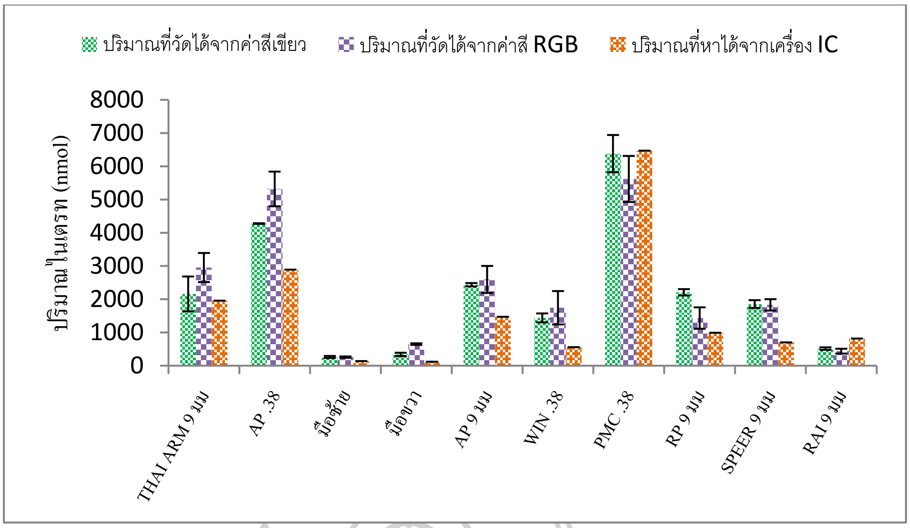
No.	Sample	Color	ปริมาณไนไตรท์ (NO_2^-/nmol)	SD	ปริมาณไนเตรท (NO_3^-/nmol)	SD
4	มือขวา	G	85.82	3.40	338.95	49.15
		RGB	87.11	2.40	649.14	22.30
		IC	83.42	-	117.48	-
5	AP 9 มม.	G	230.16	24.63	2437.16	48.99
		RGB	244.07	30.39	2596.20	405.90
		IC	118.27	0.0092	1472.35	0.1018
6	WIN .38	G	324.55	26.87	1436.53	134.92
		RGB	359.98	38.63	1743.74	503.62
		IC	144.9	0.0318	557.59	0.1195
7	PMC .38	G	476.88	41.59	6381.44	558.45
		RGB	478.17	17.25	5617.91	693.03
		IC	353.66	0.0099	6470.31	0.2432
8	RP 9 มม.	G	516.21	28.85	2208.27	95.72
		RGB	530.22	45.37	1432.59	320.62
		IC	314.99	0.0219	988.34	0.0742
9	SPEER 9 มม.	G	287.37	32.70	1853.10	118.35
		RGB	222.46	48.73	1831.36	171.12
		IC	170.29	0.0057	703.17	0.0007
10	RAI 9 มม.	G	3.91	1.34	513.83	36.73
		RGB	18.91	0.93	437.09	73.25
		IC	-	-	819.59	-

หมายเหตุเครื่องหมาย – หมายถึงหาค่าไม่ได้

จากตารางที่ 14 เนื่องจากในกราฟมาตรฐานซึ่งพลอตระหว่างค่าความเข้มสีและปริมาณของไนไตรท์และไนเตรท พบว่าจากการอ่านค่าความเข้มสีของสีเขียว และ RGB ให้ค่าความชัน (Slope) ของกราฟมากกว่าจากการอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง และสีน้ำเงิน แสดงว่าจากการอ่านค่าความเข้มสีของสีเขียว และ RGB มีความไวของสัญญาณในการตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทที่มากกว่าจากการอ่านค่าความเข้มสีของสีแดง และสีน้ำเงิน จึงได้เลือกใช้ความเข้มสีของสีเขียว และ RGB ในการอ่านค่าเพื่อใช้ในการหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทที่มีอยู่ในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ และเมื่อนำปริมาณไนไตรท์ที่หาได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเทียบกับปริมาณไนไตรท์ที่หาด้วยวิธีมาตรฐาน (เทคนิค IC) มีค่าใกล้เคียงกันมากกว่าปริมาณของไนเตรทที่หาได้จากทั้งสองวิธี อาจเนื่องมาจากการรีดิวซ์ไนเตรทด้วย Zinc บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษนั้นเปลี่ยนเป็นไนไตรท์ได้ไม่หมด จึงทำให้ปริมาณไนเตรทที่หาได้จากทั้งสองวิธีมีค่าใกล้เคียงกันน้อยกว่าปริมาณของไนไตรท์ที่หาได้จากทั้งสองวิธี และเมื่อนำค่าที่ได้จากการอ่านค่าความเข้มสีของสีเขียว และ RGB และค่าที่ได้จากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีไปพลอตแผนภูมิแท่ง ได้ผลการทดลองดังภาพแผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนไตรท์และไนเตรท ในหน่วย nmol ของการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืน ด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีดังภาพที่ 41 และ 42

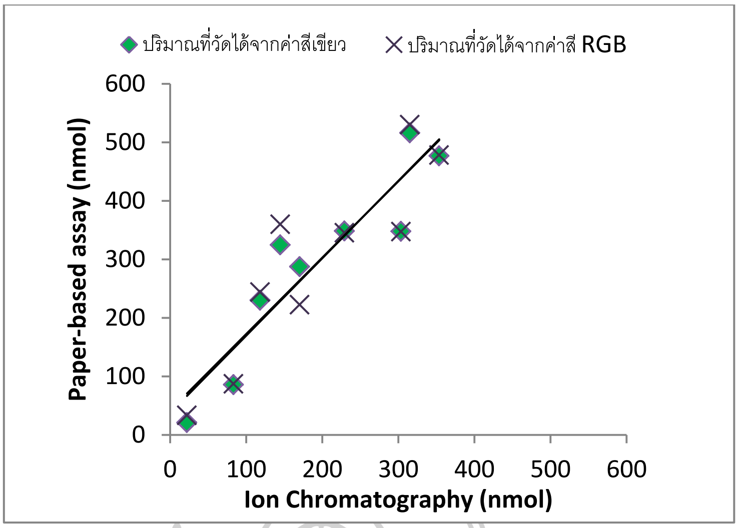


ภาพที่ 41 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนไตรท์ ในหน่วย nmol ของการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี



ภาพที่ 42 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณไนเตรท ในหน่วย nmol ของการวิเคราะห์ตัวอย่างเขม่าดินปืนด้วยอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

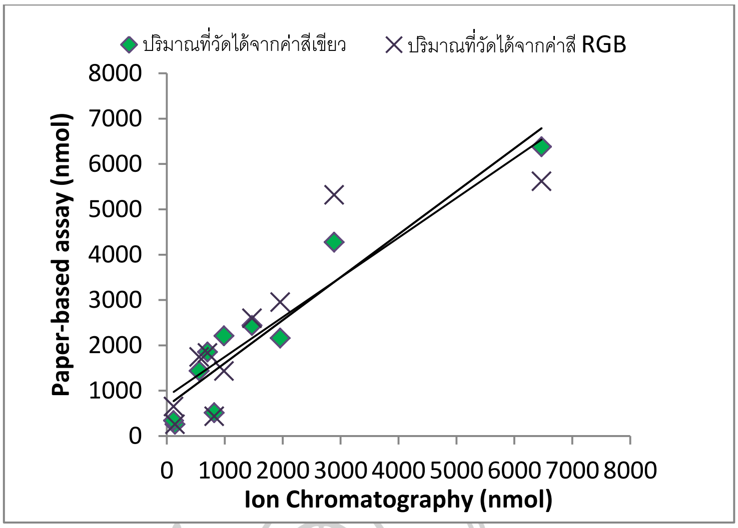
จากแผนภูมิแท่งในภาพที่ 41 และ 42 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษและจากเครื่องโครมาโทกราฟี พบว่าส่วนใหญ่แล้วปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่ตรวจวัดบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ มีค่าที่ใกล้เคียงกับเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี และเมื่อนำปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่หาได้จากทั้งสองวิธีมาทำการพลอตกราฟ correlation เพื่อเปรียบเทียบกัน ได้ผลการทดลองดังกราฟพลอตระหว่างปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่ได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ กับค่าจากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีภาพที่ 43 และ 44 และตารางแสดงสมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของปริมาณไนไตรท์และไนเตรทที่ได้จากการเปรียบเทียบทั้งสองวิธีตารางที่ 15 และ 16



ภาพที่ 43 กราฟพลอตระหว่างปริมาณของไนไตรท์ที่ได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ กับค่าจากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี (9 ตัวอย่าง)

ตารางที่ 15 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของปริมาณไนไตรท์ที่ได้จากการเปรียบเทียบทั้งสองวิธี (9 ตัวอย่าง)

Color	Equations	r
Green	y = 1.3228x + 37.346	0.9264
RGB	y = 1.3053x + 41.81	0.9011



ภาพที่ 44 กราฟพลอตระหว่างปริมาณของไนเตรทที่ได้จากอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ กับค่าจากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

ตารางที่ 16 สมการเส้นตรงและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของปริมาณไนเตรทที่ได้จากการเปรียบเทียบทั้งสองวิธี

Color	Equations	r
Green	y = 0.9474x + 659.41	0.9490
RGB	y = 0.8758x + 872.14	0.8819

จากภาพที่ 43 และ 44 และตารางที่ 15 และ 16 พบว่ากราฟพลอตระหว่างปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่ได้จากการอ่านค่าความเข้มสีของสีเขียว และ RGB บนอุปกรณ์แบบกระดาษและปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่ได้จากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีมีค่าความชัน (Slope) และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่ใกล้เคียงเท่ากับ 1 แสดงให้เห็นว่าปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทที่วิเคราะห์ได้ระหว่างบนอุปกรณ์แบบกระดาษกับเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี มีค่าไม่แตกต่างกัน เป็นการยืนยันว่าวิธีตรวจวัดบนอุปกรณ์แบบกระดาษสามารถวิเคราะห์หาปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทได้ถูกต้องและแม่นยำเทียบเท่ากับการหาปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

ในงานวิจัยนี้ได้ประดิษฐ์อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนไตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน โดยอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นมีคุณสมบัติ ได้แก่ วัสดุที่ใช้ในการประดิษฐ์หาซื้อได้ทั่วไป ราคาไม่แพง ใช้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ในปริมาณน้อย ใช้เวลาในการวิเคราะห์รวดเร็ว และใช้เครื่องมือการตรวจวัดสัญญาณที่ไม่แพง

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจวัดไนไตรท์โดยใช้อุปกรณ์แบบกระดาษด้วยวิธี Griess assay จากนั้นตรวจวัดด้วยการถ่ายภาพที่เวลา 5 นาที เลือกอ่านค่าความเข้มสีของสีเขียวโดยใช้โปรแกรม ImageJ พบว่ากราฟมาตรฐานไนไตรท์ มีความเป็นเส้นตรงในช่วงปริมาณ 0.15 – 1.80 nmol มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9968 มีความสามารถในการทำซ้ำที่ปริมาณ 0.15, 0.60 และ 1.80 nmol ที่มีร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 3.67, 2.79 และ 6.99 (n = 11) ตามลำดับ มีขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณ เท่ากับ 0.063 และ 0.211 nmol ตามลำดับ และสามารถเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน 6 วัน ในตู้เย็นนาน 11 วัน

สำหรับการตรวจวัดไนเตรทในสภาวะที่เหมาะสมบนอุปกรณ์แบบกระดาษ โดยใช้ Zinc ในการรีดิวซ์เพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของไนไตรท์ ก่อนทำปฏิกิริยากับ Griess reagent จากนั้นตรวจวัดที่เวลา 5 นาทีโดยการถ่ายภาพ เลือกความเข้มสีของสีเขียวในการอ่านค่าโดยใช้โปรแกรม ImageJ พบว่ากราฟมาตรฐานที่ช่วงปริมาณ 2.0 – 10.0 nmol มีความเป็นเส้นตรง มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9953 ที่ปริมาณ 2.0, 6.0 และ 10.0 nmol มีความสามารถในการทำซ้ำของการวิเคราะห์ที่มีร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 3.01, 3.79 และ 4.76 (n = 14) ตามลำดับ มีขีดจำกัดการตรวจวัดและขีดจำกัดการหาปริมาณ เท่ากับ 0.840 และ 2.801 nmol ตามลำดับ และเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดได้นาน 2 วันที่อุณหภูมิห้อง และนาน 5 วันในตู้เย็น

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Manori B. Jayawardane และคณะ[9] ที่ทำการวิเคราะห์หาไนไตรท์และไนเตรท โดยอาศัยปฏิกิริยา Griess reaction ในตัวอย่างน้ำธรรมชาติและน้ำที่ผ่านการสังเคราะห์มาแล้ว บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ จากนั้นนำไปอ่านค่าความเข้มสีของสีเขียวโดยใช้โปรแกรม ImageJ พบว่าความเข้มสีที่อ่านได้สามารถหาปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทได้ใกล้เคียงกับค่าที่หาได้จากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี และถ้าเก็บอุปกรณ์ใส่ในถุงซิปไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ $\leq$ 4 °C จะมีความเสถียร สามารถเก็บไว้ใช้งานได้นานกว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Samir A. Bhakta และคณะ[19] และ Nuria Lopez-Ruiz และคณะ[20] ที่ทำการหาปริมาณไนไตรท์ ด้วยวิธี

Griess assay บนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ และเมื่อนำความเข้มสีที่ได้มาอ่านค่า พบว่าสามารถหาปริมาณของไนไตรท์ได้

เมื่อนำปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนที่ได้จากมือผู้ยิงและในปลอกกระสุนปืนที่ตรวจวัดบนอุปกรณ์แบบกระดาษมาพลอตกราฟเทียบกับปริมาณที่หาได้จากเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี พบว่าที่ปริมาณของไนไตรท์ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9264 และที่ปริมาณของไนเตรท มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9490 ซึ่งค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงเท่ากับ 1 แสดงว่าอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษที่สร้างขึ้นสามารถนำไปใช้งานในภาคสนามเพื่อหาปริมาณของไนไตรท์และไนเตรทได้

5.2 อภิปรายผล

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ต้องการประดิษฐ์อุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืน ซึ่งเป็นพยานหลักฐานที่สำคัญที่ใช้บ่งบอกถึงผู้ที่กระทำความผิดที่เกี่ยวข้องกับอาวุธปืนได้ ให้มีความแม่นยำและถูกต้อง สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการสืบสวนสอบสวนในภาคสนามได้ จากการทดลอง พบว่าสามารถหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าดินปืนบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษได้ โดยการถ่ายภาพ แล้วนำไปอ่านค่าความเข้มสีของสีเขียวโดยใช้โปรแกรม ImageJ ซึ่งปริมาณที่หาได้นั้นมีค่าใกล้เคียงกับเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี และหากต้องการเก็บอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษไว้ใช้งานได้นานควรเก็บไว้ในถุงซิปใส่ไว้ในตู้เย็น ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว อาจมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อการทดลองได้ เช่น เทคนิคการสร้างอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ วิธีการตรวจวัด และค่าไนไตรท์และไนเตรทในแต่ละตัวอย่าง เป็นต้น

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. งานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์เขม่าดินปืนบนมือและในปลอกกระสุนปืน จึงควรทำการทดลองเขม่าดินปืนจากแหล่งอื่นบ้าง

2. ศึกษาผลของตัวรบกวน (Interferences) ที่อาจมีผลต่อการวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทบนอุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษเพิ่มเติม

รายการอ้างอิง

1. Tarifa, A. and J.R. Almirall, *Fast detection and characterization of organic and inorganic gunshot residues on the hands of suspects by CMV-GC–MS and LIBS.* Science & Justice, 2015. 55: p. 168-175.
2. Costa, R.A., et al., *Gunshot residues (GSR) analysis of clean range ammunition using SEM/EDX, colorimetric test and ICP-MS: A comparative approach between the analytical techniques.* Microchemical Journal, 2016. 129: p. 339-347.
3. Aliste, M. and L.G. Chavez, *Analysis of gunshot residues as trace in nasal mucus by GFAAS.* Forensic Science International, 2016: p. 14.
4. Brozek-Mucha, Z., *Distribution and properties of gunshot residue originating from a Luger 9mm ammunition in the vicinity of the shooting gun.* Forensic Science International, 2009. 183: p. 33-44.
5. Conrad, E.C., *Evidential implications of the dermal nitrate test for gunpowder residues.* Marquette Law Review, 1961. 44: p. 500-517.
6. เบญจ์ พุฒินิล and ศุภชัย ศุภลักษณ์นารี, การวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในเขม่าดินปืนด้วยไอออนโครมาโทกราฟี. Veridian E-Journal, 2555. 5: p. 730-741.
7. ยุทธพงศ์ เศรษฐีสมบัติ and ศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง, การหาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ในเขม่าปืนที่ติดบนผิวรถยนต์ โดยเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี. Veridian E-Journal, 2557. 1: p. 64-75.
8. Petraco, N., M. Yander, and J. Sardone, *A method for the quantitative determination of nitrites in gunshot residue cases*. 1981, The Lancet Publishing Group, a division of Elsevier Science Ltd. p. 85.
9. Jayawardane, B.M., et al., *Microfluidic Paper-Based Analytical Device for the Determination of Nitrite and Nitrate.* ANALYTICAL CHEMISTRY, 2014. 86(15): p. 7274-7279.
10. Ravgiala, R.R., et al., *Using Paper-Based Diagnostics with High School Students To Model Forensic Investigation and Colorimetric Analysis.* JOURNAL OF CHEMICAL EDUCATION, 2014. 91(1): p. 107-111.
11. Martinez, A.W., et al., *Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays.* ANGEWANDTE CHEMIE-INTERNATIONAL EDITION, 2007. 46(8): p. 1318-

1320.

12. Cate, D.M., et al., *Recent Developments in Paper-Based Microfluidic Devices.* ANALYTICAL CHEMISTRY, 2015. 87(1): p. 19-41.

13. ธรรมภรณ์ ธนวัฒน์วงศธร, เอกสารประกอบการสอนวิชานิติวิทยาศาสตร์ 2. ภาควิชาวิทยาการตำรวจ กลุ่มงานวิชาการสืบสวนและสอบสวน กองบังคับการวิชาการ โรงเรียนนายร้อยตำรวจ.

14. Harry, F., et al., *Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction Assay.* Sensors, Vol 3, Iss 8, Pp 276-284 (2003), 2003(8): p. 276.

15. ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. เทคนิค *Ion chromatography*. 5 กรกฎาคม 2560]; Available from: http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/ion-chromatography-ic.

16. มั่นคง, ป., การหาปริมาณไนไตรท์และไนเตรทบนมือของผู้ยิงปืนโดยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี / โดย ปิยะชัย มั่นคง. 2555, นครปฐม :: สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร. ง-ฎ, 72 หน้า : ภาพประกอบสี, ตาราง.

17. โกฏทอง., น., การตรวจพิสูจน์เขม่าปืนบนเส้นผมโดยเทคนิค *UV-Visible Spectroscopy /* โดย นเรศ โกฏทอง. 2556, นครปฐม :: สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร. ง-ญ, 58 แผ่น : ภาพประกอบสี, ตาราง.

18. Ellis, P.S., et al., *Field measurement of nitrate in marine and estuarine waters with a flow analysis system utilizing on-line zinc reduction.* Talanta, 2011. 84: p. 98-103.

19. Bhakta, S.A., et al., *Determination of nitrite in saliva using microfluidic paper-based analytical devices.* Analytica Chimica Acta, 2014. 809: p. 117-122.

20. Lopez-Ruiz, N., et al., *Smartphone-Based Simultaneous pH and Nitrite Colorimetric Determination for Paper Microfluidic Devices.* ANALYTICAL CHEMISTRY, 2014. 86(19): p. 9554-9562.

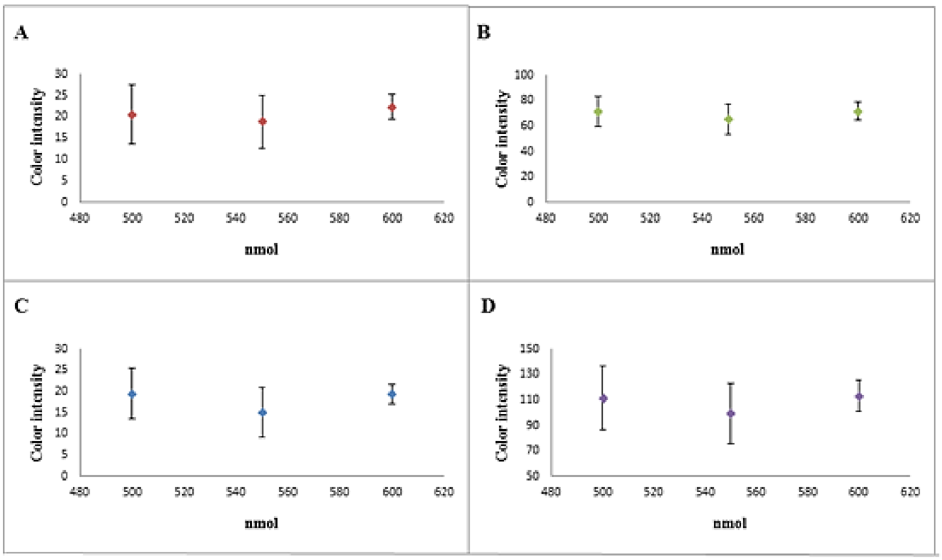
21. วิมล แสงนาค, การพัฒนาวิธีดีพีพีเอชบนอุปกรณ์แบบกระดาษเพื่อการวิเคราะห์แบบรู้ผลรวดเร็วของฤทธิ์ต้านนอนุมูลอิสระในอาหารและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ, in สาขาวิชาเคมีศึกษา. 2558, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ภาคผนวก

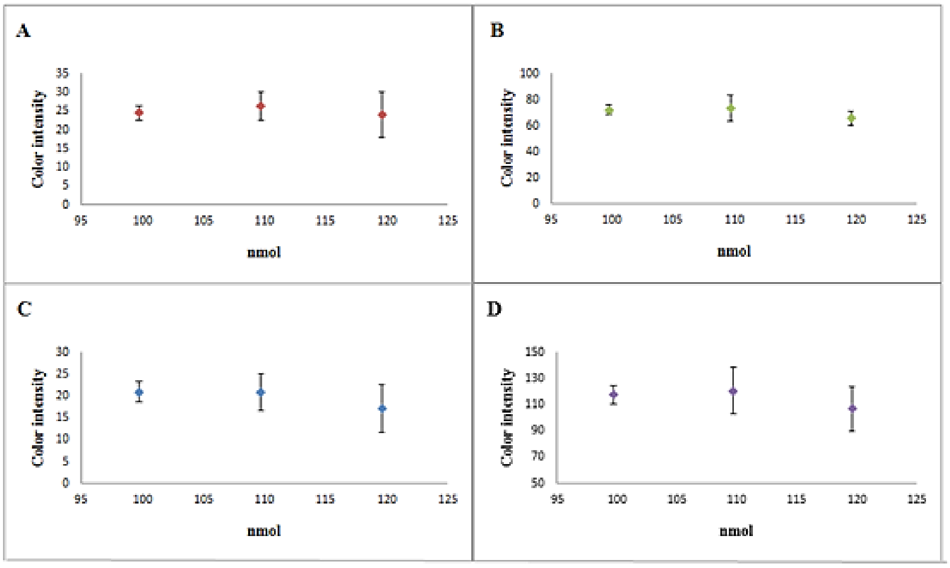
มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก ก กราฟจากการศึกษาการวิเคราะห์สารมาตรฐานไนไตรท์และไนเตรทด้วยอุปกรณ์ที่ได้สร้างขึ้น

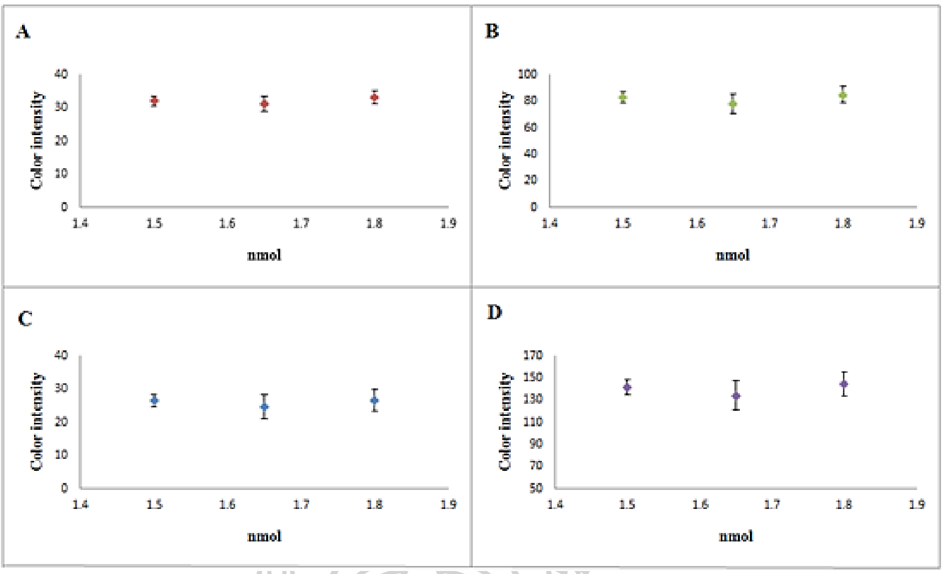
มหาวิทยาลัยศิลปากร



กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของสารละลาย Sulfanilamide (n=3) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB



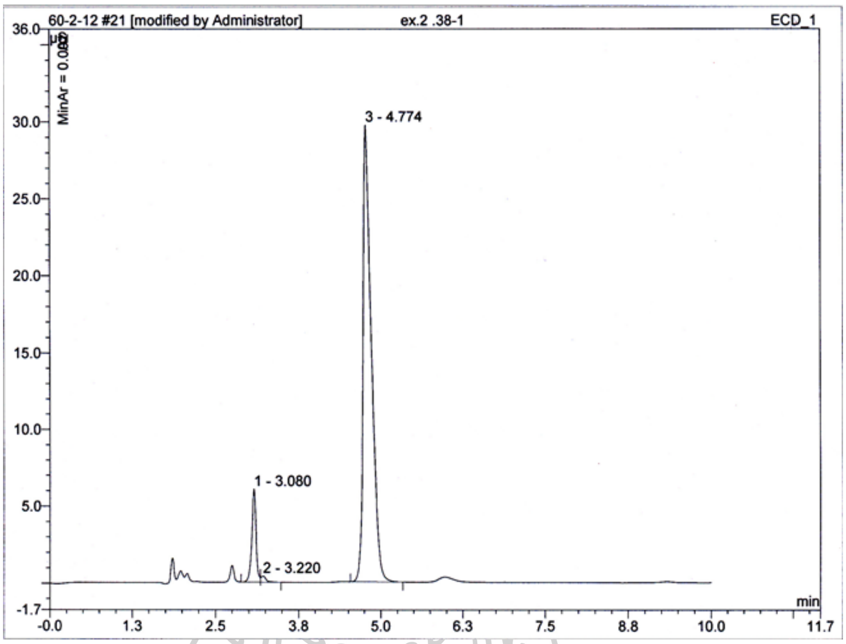
กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของสารละลาย NED (n=3) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB



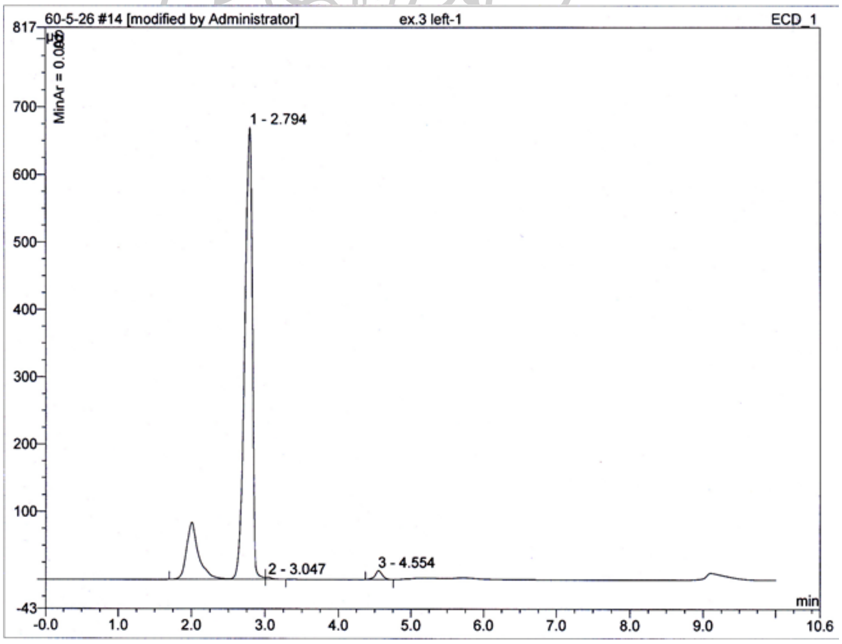
กราฟพลอตระหว่างค่าความเข้มสีกับปริมาณของสารมาตรฐานไนไตรท์ (n=3) โดย (A) ค่าความเข้มสีของสีแดง (B) ค่าความเข้มสีของสีเขียว (C) ค่าความเข้มสีของสีน้ำเงิน (D) ค่าความเข้มสีของ RGB

ภาคผนวก ข Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือและในปลอก กระสุนปืน

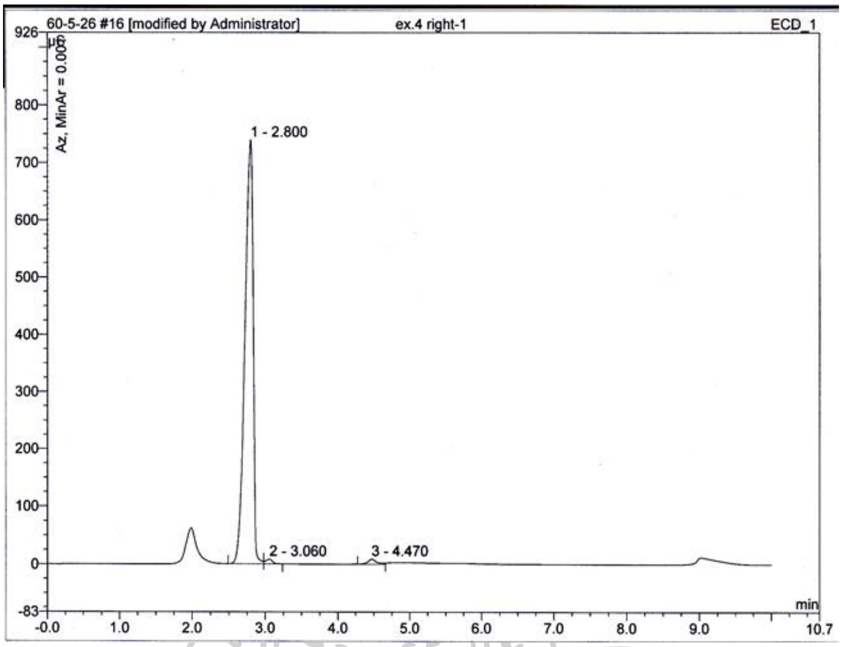
มหาวิทยาลัยศิลปากร



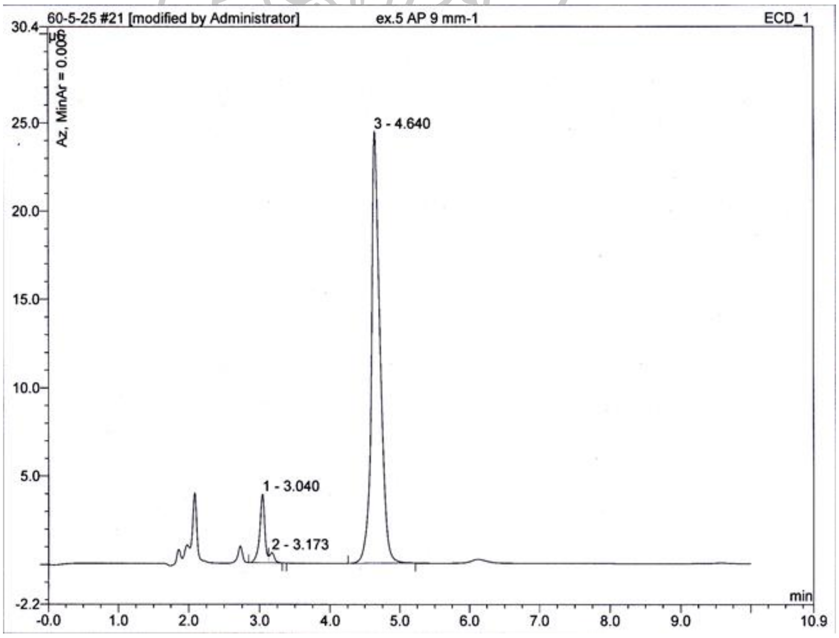
Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ AP ขนาด .38



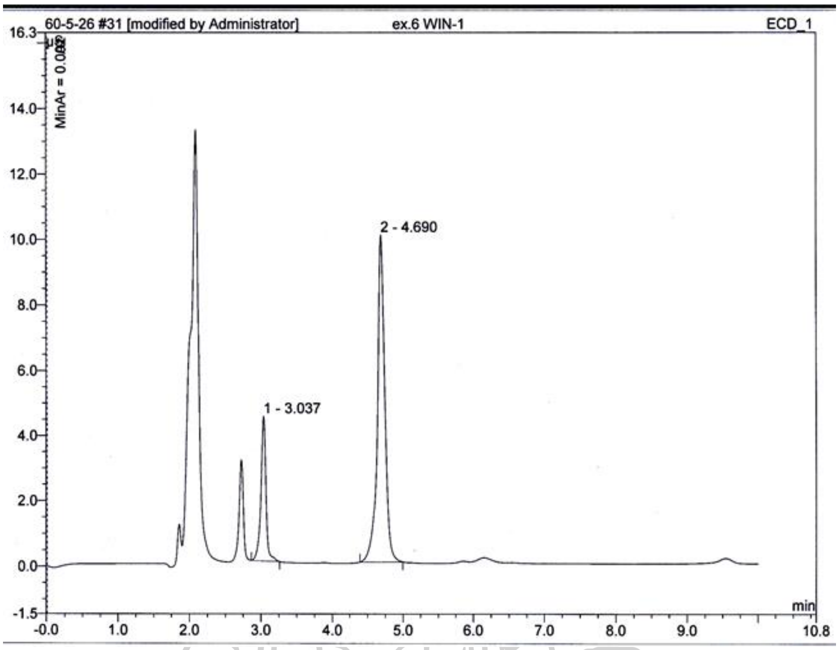
Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือข้างซ้าย



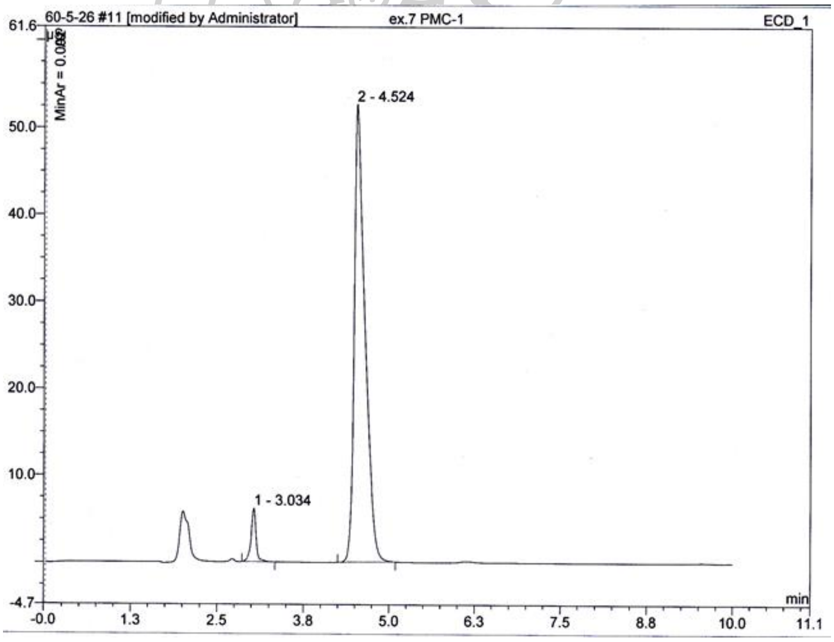
Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนบนมือข้างขวา



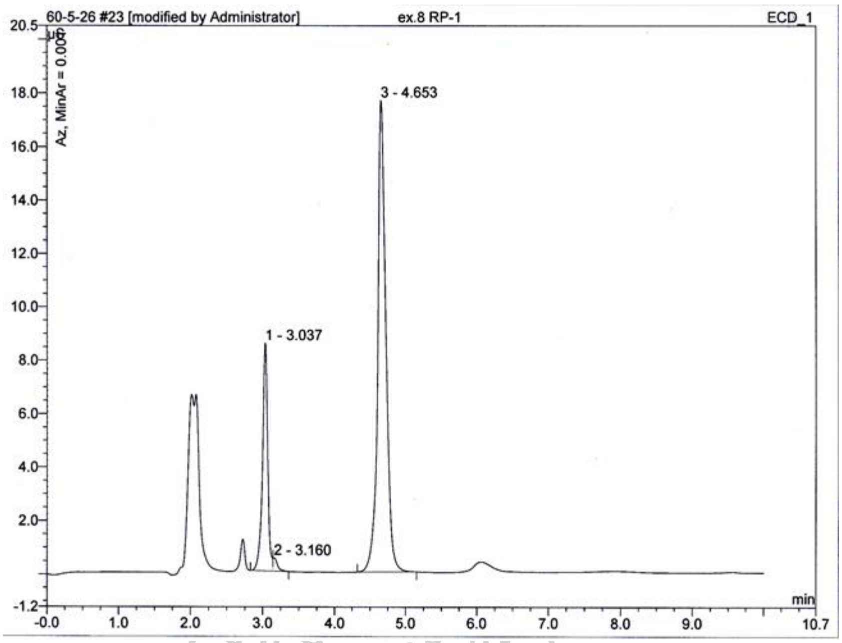
Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ AP ขนาด 9 มม.



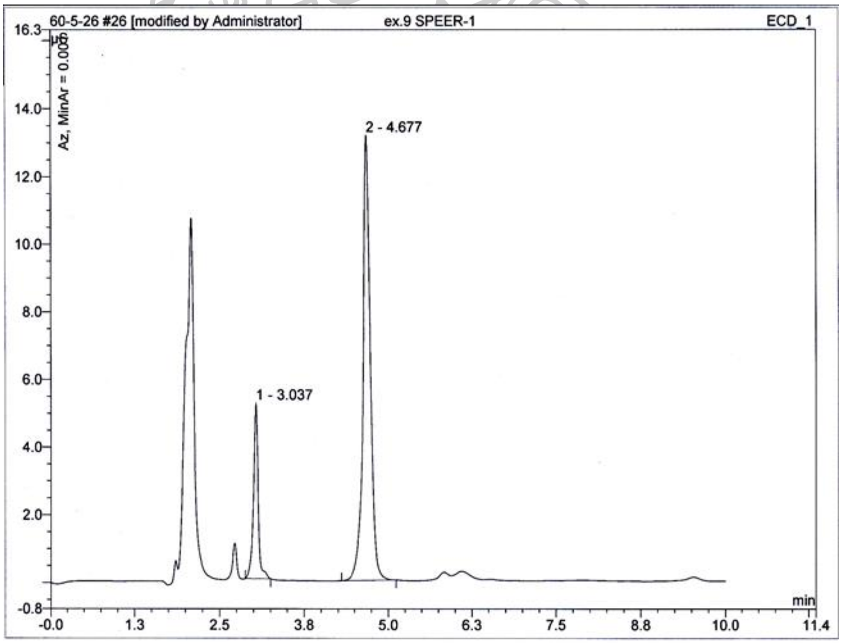
Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ WIN ขนาด .38



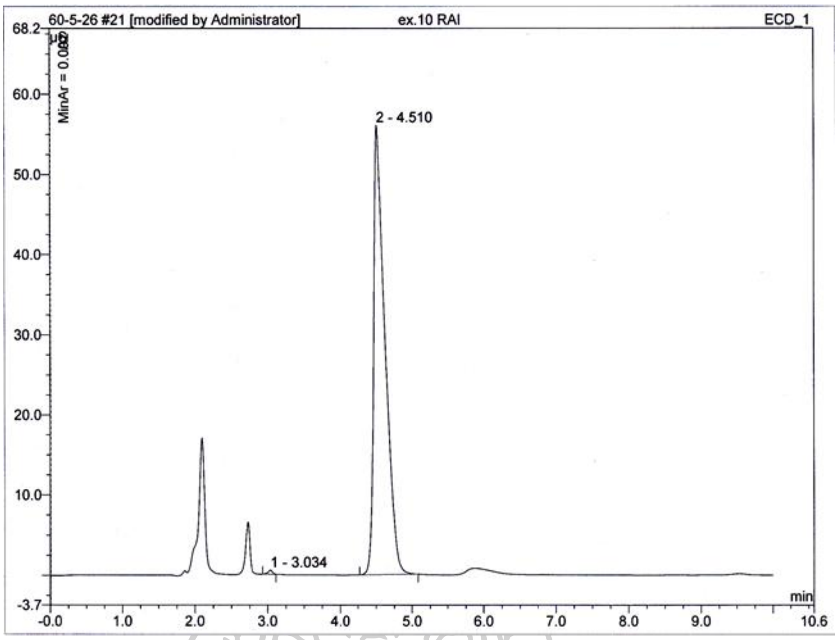
Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ PMC ขนาด .38



Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ RP ขนาด 9 มม.



Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ SPEER ขนาด 9 มม.



Chromatogram ของไอออนที่สกัดจากตัวอย่างเขม่าดินปืนในปลอกกระสุนปืนยี่ห้อ RAI ขนาด 9 มม.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	อรอุษา เตียวตระกูล
วัน เดือน ปี เกิด	22 มีนาคม 2534
สถานที่เกิด	นครปฐม
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี)
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 22 หมู่ที่ 6 ตำบลวัดแก้ว อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

มหาวิทยาลัยศิลปากร