

การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนด้วย วิธีการสเปกโตรโฟโตเมตรี

DETERMINATION OF NITRITE AND NITRATE IN GUNSHOT RESIDUES BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

พัชรี เปรมกระโทก¹ วรรณฤดี ทองจุลกลาง¹
อารีรัตน์ ริมใหม่² ธนากร เปลื้องกลาง¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์ (NO_2^-) และไนเตรท (NO_3^-) พร้อมกันในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนด้วยวิธีการสเปกโตรโฟโตเมตรี เพราะเป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ไนไตรท์และไนเตรทได้ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ อีกทั้งยังมีความถูกต้อง แม่นยำ และความไวสูง โดยทำการศึกษาปฏิกิริยาของไนไตรท์กับสารละลาย Griess และประสิทธิภาพการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ด้วยสังกะสี พบว่าปฏิกิริยาการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์สมบูรณ์ที่สุดเกิดขึ้นโดยทันที (0 วินาที) เมื่อเติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร และสังกะสีปริมาณ 0.13 กรัม ตามลำดับ และมีค่าขีดจำกัดการตรวจวัดไนไตรท์เท่ากับ 0.41 ไมโครโมลาร์ นอกจากนี้การวิเคราะห์ร้อยละคืนกลับของไนไตรท์มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 72.34 แสดงให้เห็นว่าวิธีการที่เสนอมีความถูกต้อง ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างที่บริเวณเป้าหมาย ระยะยิง 2 นิ้ว และระยะเวลาภายหลังการยิง 6 ชั่วโมง ปรากฏว่าพบปริมาณไนเตรทในตัวอย่างมากกว่าปริมาณไนไตรท์

คำสำคัญ: เขม่าที่เกิดจากการยิงปืน สเปกโตรโฟโตเมตรี ไนไตรท์ และไนเตรท

บทนำ

ปัจจุบันได้มีการนำวิธีการทางด้านเคมีวิเคราะห์เข้ามาช่วยเพื่อพิสูจน์หาว่า บุคคลใดเป็นผู้บริสุทธิ์ บุคคลใดเป็นผู้กระทำความผิดหรือเป็นผู้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการกระทำความผิด โดยใช้ผลการวิเคราะห์ประกอบเป็นพยานหลักฐาน

ทางนิติวิทยาศาสตร์ซึ่งถือว่าเป็นที่ยอมรับในกระบวนการยุติธรรม โดยเฉพาะกรณีการก่ออาชญากรรมในคดีที่มีอาวุธปืนมาเกี่ยวข้องจะพบเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน 2 ส่วน ได้แก่ เขม่าแก๊ปปืนและเขม่าดินปืนฟุ้งกระจายอยู่โดยรอบสถานที่เกิด

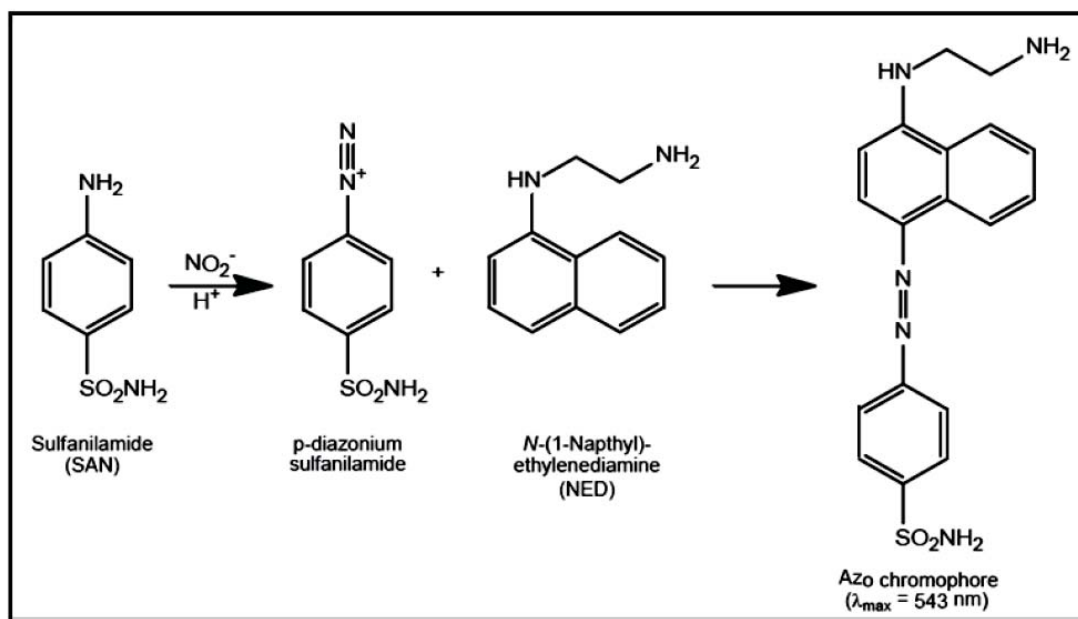
¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา 30000

²ศูนย์พิสูจน์หลักฐาน 3 สำนักงานตำรวจแห่งชาติ จังหวัดนครราชสีมา 30000

เหตุ เหม่าแก๊ปป็นและเหม่าดินป็นเป็นผลที่เกิดขึ้นมาจากการทำงานของอาวุธป็นทุกชนิด ซึ่งใช้เครื่องส่งกระสุนโดยวิธีการจุดระเบิดแล้วเกิดกำลังแรงดันของแก๊สภายใต้กลไกการทำงานของอาวุธป็น [1] การตรวจพิสูจน์ยืนยันการพบเหม่าที่เกิดจากการยิงป็นถือว่าเป็นหลักฐานชิ้นสำคัญที่นำไปสู่การสืบสวนหาตัวอาชญากร เหม่าแก๊ปป็นเกิดจากการเผาไหม้และไม่เผาไหม้ของชนวนท้ายกระสุนป็น (แก๊ปป็น) ส่วนใหญ่จะตรวจพบบริเวณมือของผู้ยิง ส่วนเหม่าดินป็นเกิดจากการเผาไหม้และไม่เผาไหม้ของดินป็น ส่วนใหญ่พบที่บริเวณเป้าหมายที่ถูกยิงรวมถึงบริเวณอื่นๆ เช่น เสื้อผ้า ยานพาหนะ และอื่นๆ ที่อยู่โดยรอบบริเวณที่มีการยิงป็น เป็นต้น [2] ซึ่งเหม่าแก๊ปป็นนั้นสามารถตรวจสอบหาธาตุองค์ประกอบหลักได้แก่ ธาตุแอนติโมนี (Sb) ธาตุแบเรียม (Ba) และธาตุตะกั่ว (Pb) ส่วนเหม่าดินป็นสามารถตรวจสอบหาไอออนของไนโตรท์ (NO_2^-) และไนเตรท (NO_3^-) เนื่องจากไอออนทั้งสองตัวนี้เป็นส่วนประกอบหลัก

ที่พบอยู่ในดินป็น ด้วยเหตุนี้จึงสามารถตรวจพบไนโตรท์และไนเตรทได้เมื่อเกิดการยิงป็นขึ้น [3]

กรณีวิธีการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบไนเตรทและไนโตรท์นั้น มีรายงานผลการศึกษาวิธีการวิเคราะห์หลายวิธี เช่น วิธี Colorimetric method ทำได้โดยการให้สารประกอบไนโตรท์ทำปฏิกิริยากับ Griess reagent [4-8] ซึ่งประกอบด้วยสารละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide) และสารละลาย N-(1-Naphthyl) ethylene diamine (NED) จะเกิดสารผลิตภัณฑ์ที่มีสีชมพูซึ่งมีความเข้มสีเป็นสัดส่วนกับปริมาณของสารประกอบไนโตรท์ที่มีอยู่เริ่มต้น กรณีที่ต้องการวิเคราะห์สารประกอบไนเตรทด้วย จะต้องทำการเติมตัวรีดิวซ์เพื่อทำการรีดิวซ์สารประกอบไนเตรทให้เป็นสารประกอบไนโตรท์ก่อน จึงจะเริ่มทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดสีต่อไป จากนั้นนักวิจัยสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสง เพื่อการวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรีต่อไป Griess reaction แสดงดังรูปที่ 1 ต่อไปนี้



รูปที่ 1 แสดง Griess reaction เพื่อทำให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ที่มีสีสำหรับวิเคราะห์สารประกอบไนโตรท์ [4]

การให้เกิดปฏิกิริยาด้วยสารทำให้เกิดสีด้วย Griess reagent ตามที่แสดงในรูปที่ 1 นี้ มีรายงานการประยุกต์ทั้งกับเทคนิค Spectrophotometry เทคนิคที่มีการไหลอย่างต่อเนื่อง (Sequential injection analysis, SIA และ Flow injection analysis, FIA) (Chen et al. 2008; Feng et al. 2013 and fasquali et al. 290) และเทคนิคที่ใช้อุปกรณ์วิเคราะห์แบบกระดาษ (Paper based analytical devices, PADs) (Bhakta, Borba and taba, 2014) อย่างไรก็ตามยังมีรายงานการประยุกต์สารฟอร์มส์ตัวอื่น ๆ สำหรับการวิเคราะห์สารประกอบไนโตรที่ได้อีกเช่นเดียวกัน [9] เทคนิคการแยกและวิเคราะห์ (Separation techniques) ก็มีรายงานการประยุกต์เพื่อใช้วิเคราะห์สารประกอบไนโตรที่และไนเตรทในเขม่าดินปืนได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น วิธีการแคปิลลารี อิเล็กโทรโฟเรซิส (Capillary electrophoresis, CE) [10-11] วิธีโครมาโตกราฟีของเหลวประสิทธิภาพสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) [12] และวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography, GC) [13] งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์เทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนโตรที่และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน เพราะเป็นเทคนิค ที่ประยุกต์ได้ง่ายด้วยอุปกรณ์เครื่องมือที่มีในห้องปฏิบัติการทั่วไป ที่สำคัญเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นับเป็นเครื่องมือที่มีราคาไม่สูงมากนัก ทั้งยังต้องการทักษะของนักวิเคราะห์ไม่สูงมากจนเกินไปด้วย โดยมุ่งวิเคราะห์หาปริมาณทั้งไนโตรที่และไนเตรทพร้อมกันในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนที่เก็บโดยรอบเป้าหมายที่ยิง และกำหนดระยะเวลาการเก็บตัวอย่าง 6 ชั่วโมง ภายหลังการยิงปืน หลักการวิเคราะห์ไนโตรที่ทำได้ โดยให้ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Griess (รูปที่ 1) เกิดสารผลิตภัณฑ์สีชมพูซึ่งดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max}) ที่ 540 นาโนเมตร ขณะที่การวิเคราะห์ไนเตรทต้อง

ทำการรีดิวซ์เป็นไนโตรที่ก่อน จึงให้ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Griess เช่นเดียวกัน งานวิจัยนี้ได้ประยุกต์สังกะสีเป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) แทนที่ใช้แคดเมียม (Cd column) ซึ่งค่อนข้างยุ่งยากและมีต้นทุนสูง [14] สภาวะต่างๆที่เกี่ยวข้องจะถูกศึกษาเพื่อเลือกสภาวะการวิเคราะห์ที่เหมาะสม อันจะนำมาซึ่งวิธีการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องแม่นยำ จำเพาะเจาะจง มีความสะดวก ประหยัด และยืดหยุ่นสูง และสามารถประยุกต์ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อใช้ระบุตัวบุคคลที่ยิงปืนได้

1. วิธีดำเนินการวิจัย

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1.1 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Filter paper No.1) ยี่ห้อ Whatman, Sigma – Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา

1.1.2 ปืนพกกึ่งอัตโนมัติ ขนาด 9 มิลลิเมตร ยี่ห้อ CZ รุ่น 75D Compact สาธารณรัฐเช็ก

1.1.3 กระสุนปืนชนิดหัวรู ยี่ห้อ THAIARMS ประเทศไทย

1.1.4 ก้านสำลี ยี่ห้อ รพพยาบาล ประเทศไทย

1.1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้า (Analysis balance) รุ่น PG2002 – S, METTLER TOLEDO ประเทศ สวิตเซอร์แลนด์

1.1.6 เครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer) รุ่น CERAMAG Midi บริษัท IKA WORKS ประเทศสหรัฐอเมริกา

1.1.7 เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic cleaning bath) รุ่น Transsonic Digitals ยี่ห้อ Elma ประเทศเยอรมัน

1.1.8 เครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV – Visible Spectrophotometer) รุ่น GENESYS 20uv ยี่ห้อ Thermo ประเทศ

สหรัฐอเมริกา

1.2 สารเคมี งานวิจัยนี้ใช้สารเคมีทุกชนิดเป็น Analytical reagent (AR) grade ดังนี้

1.2.1 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) บริษัท RCL Labscan ประเทศไทย

1.2.2 เอ็น-(1-แนฟทิล)เอทิลีน ไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-(1-naphthyl)-ethylene diamine dihydrochloride, NED) บริษัท Sigma - Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา

1.2.3 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium nitrite, NaNO_2) บริษัท RCL Labscan ประเทศไทย

1.2.4 ซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide, $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$) บริษัท Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

1.2.5 โพแทสเซียมไนเตรท (Potassium nitrate, KNO_3) บริษัท Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย

1.2.6 สังกะสี (Zinc powder, Zn) บริษัท Univar ประเทศสหรัฐอเมริกา

1.2.7 น้ำปราศจากไอออนที่มีค่าความต้านทานไม่ต่ำกว่า 108 Ω (Deionized water, DI)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 การศึกษากราฟมาตรฐานของไนไตรท์ด้วยสารละลาย Griess ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนไตรท์เข้มข้น 2,174 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 0.00, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 และ 0.50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตรจำนวน 6 ขวด แยกกัน ตามลำดับ เติมน้ำ 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl ปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร และ 1% w/v N-(1-naphthyl) ethylene diamine dihydrochloride (NED) ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ในแต่ละขวด ปรับปริมาตรด้วยน้ำปราศจากไอออนจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืน

แสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี - วิสibel สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (แกนนอน) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (แกนตั้ง)

2.3.2 การศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ด้วย Zn

2.3.2.1 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณ Zn ที่มีต่อความสามารถ ในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 806 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตรจำนวน 7 ใบ แยกกัน เติมกรด HCl เข้มข้น (Conc. HCl) ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร และ Zn ปริมาณ 0.00, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50, 1.00 และ 2.00 กรัม ในแต่ละบีกเกอร์ ตามลำดับ คนด้วย Magnetic stirrer เป็นเวลา 20 วินาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นปิเปตสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำ 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl และ 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v NED เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Zn (แกนนอน) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (แกนตั้ง) เลือกปริมาณ Zn ที่เหมาะสมในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์เพื่อใช้สำหรับวิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทต่อไป

2.3.2.2 การศึกษาอิทธิพลของปริมาณ HCl ที่มีต่อความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 806 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตรจำนวน 7 ใบ แยกกัน เติมกรด HCl เข้มข้น ปริมาตร 0.00, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 1.50 และ 2.00 มิลลิลิตร ในแต่ละบีกเกอร์ ตามลำดับ และเติม Zn

ปริมาณ 0.13 กรัม ในแต่ละบีกเกอร์ (ผลการศึกษาจาก หัวข้อ 2.3.2.1) คนด้วย Magnetic stirrer เป็นเวลา 20 วินาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นปิเปตสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติม 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl และ 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v NED เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณ HCl (แกนนอน) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (แกนตั้ง) เลือก ปริมาณ HCl ที่เหมาะสมในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็น ไนไตรท์เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทต่อไป

2.3.2.3 การศึกษาอิทธิพลของเวลา ที่มีต่อความสามารถของ Zn ในการรีดิวซ์ไนเตรท เป็นไนไตรท์ปิเปตสารละลายมาตรฐานไนเตรทเข้มข้น 806 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตรจำนวน 7 ใบ แยกกัน เติมกรด HCl เข้มข้น ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร และ Zn ปริมาณ 0.13 กรัม ในแต่ละบีกเกอร์ (ผลการศึกษาที่ได้จากหัวข้อ 2.3.2.1 – 2.3.2.2) คนด้วย Magnetic stirrer เป็นเวลา 0, 10, 20, 30, 60, 120 และ 300 วินาที ตามลำดับ กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 จากนั้นปิเปตสารละลายที่กรองได้ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติม 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl และ 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v NED เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (แกนนอน) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (แกนตั้ง) เลือกเวลาที่เหมาะสมในการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ เพื่อใช้ สำหรับการวิเคราะห์ไนเตรทต่อไป

2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน

2.3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน ของไนไตรท์ปิเปตสารละลายมาตรฐานผสมระหว่าง ไนไตรท์และไนเตรทความเข้มข้นรวม 0, 109, 218, 327, 436 และ 546 ไมโครโมลาร์ ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^- = 0/0, 0.43/108.6, 0.65/217.3, 0.87/326.2, 1.09/434.9$ และ $2.17/543.8$ ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองจำนวน 6 หลอด แยกกันตามลำดับ เติม 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl และ 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v NED เขย่าให้เข้ากัน (สารละลายถูกเจือจาง 2 เท่า) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (แกนนอน) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (แกนตั้ง)

2.3.3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน ของไนไตรท์ผสมไนเตรทปิเปตสารละลายมาตรฐาน ผสมระหว่างไนไตรท์และไนเตรทความเข้มข้นรวม 0, 109, 218, 327, 436 และ 546 ไมโครโมลาร์ ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^- = 0/0, 0.43/108.6, 0.65/217.3, 0.87/326.2, 1.09/434.9$ และ $2.17/543.8$ ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตรจำนวน 6 ใบ แยกกัน ตามลำดับ เติมกรด HCl เข้มข้น ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร และ Zn ปริมาณ 0.13 กรัม ในแต่ละบีกเกอร์ คนสารละลายเล็กน้อย กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นปิเปตสารละลายที่กรองได้ ปริมาตร 2.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติม 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl และ 1.00 มิลลิลิตร ของ 1% w/v NED เขย่าให้เข้ากัน (สารละลายถูกเจือจาง 2 เท่า) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานผสมในรูป

ของไนโตรท์ (แกนนอน) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (แกนตั้ง)

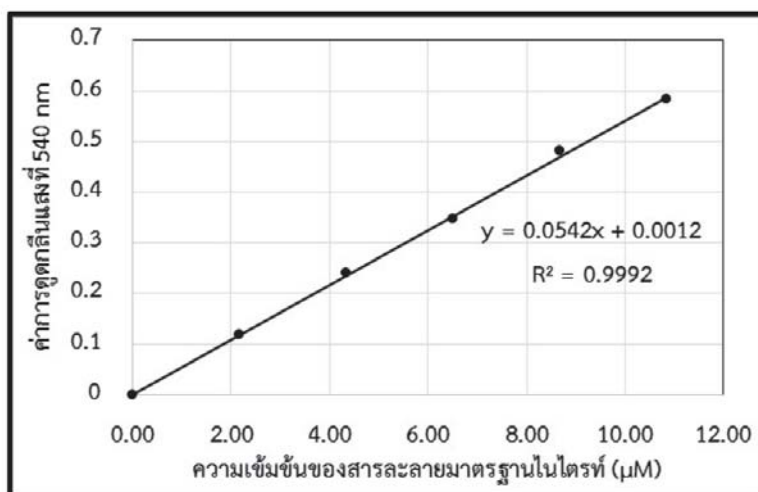
2.3.3.3 การเตรียมตัวอย่างนำก้านสำลี (cotton brush) ใช้เก็บกวาด (Swab) ตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนบริเวณโดยรอบเป้าหมายผ้าขาว (white cotton target) ที่ถูกยิงด้วยระยะยิง 2 นิ้ว โดยใช้ก้านสำลีเก็บกวาดจำนวน 2 ก้าน (2 replicates) ภายหลังการยิงปืนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทำการสกัดโดยตัดปลายก้านสำลีทั้งสองใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำปราศจากไอออนปริมาตร 4.00 มิลลิลิตร ปิดปากหลอดทดลองด้วยพาราฟิล์ม ก่อนนำไปสกัดใน Ultrasonic bath water เป็นเวลา 5 นาที กรองผ่านสำลี ก่อนนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรท์และไนเตรทต่อไป

2.3.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณและร้อยละคืนกลับของไนโตรท์ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ ปริมาตร 1.00 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง จำนวน 2 หลอด แยกกัน เติมสารละลายมาตรฐานไนโตรท์เข้มข้น 3.26 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 0.50 มิลลิลิตร ในหลอดที่ 2 จากนั้นเติม 1.00 มิลลิลิตร 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl และ 1.00 มิลลิลิตร 1% w/v NED ลงในหลอดทดลองทั้ง 2 หลอด เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยทำการทดลองสกัดและวิเคราะห์สารตัวอย่างทั้งสิ้นจำนวน 3 ชุด

2.3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทปิเปตสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ ปริมาตร 1.50 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติม 0.25 มิลลิลิตร กรด HCl เข้มข้น และ Zn หนัก 0.13 กรัม คนสารละลายเล็กน้อย ก่อนกรองสารละลายผ่านสำลี ใส่ลงในหลอดทดลองอันใหม่ จากนั้นเติม 1.00 มิลลิลิตร 1% w/v Sulfanilamide ใน 5% w/v HCl และ 1.00 มิลลิลิตร 1% w/v NED เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยทำการทดลองสกัดสารและวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งสิ้นจำนวน 3 ชุด

ผลการทดลองและอภิปราย

ผลการศึกษากฎกราฟมาตรฐานของไนโตรท์ด้วยสารละลาย Griess การศึกษากฎกราฟมาตรฐานของไนโตรท์ด้วยสารละลาย Griess ซ้ำ 10 ครั้ง โดยใช้สารละลายมาตรฐานไนโตรท์ที่ความเข้มข้น 0.00 ถึง 10.9 ไมโครโมลาร์ (หัวข้อ 2.3.1) เมื่อสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรท์กับค่าการดูดกลืนแสงพบว่าไนโตรท์มีกราฟช่วงความเป็นเส้นตรง และค่า Correlation coefficient (R^2) แสดงตัวอย่างดังรูปที่ 2 และสรุปผลการสร้างกราฟมาตรฐานของไนโตรท์ด้วยสารละลาย Griess จำนวน 10 ครั้ง แสดงดังตารางที่ 1 ตามลำดับ



รูปที่ 2 แสดงกราฟมาตรฐานไนโตรท์ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.00 – 10.9 ไมโครโมลาร์

ตารางที่ 1 แสดงผลการสร้างกราฟมาตรฐานของไนโตรเจนด้วยสารละลาย Griess จำนวน 10 ครั้ง

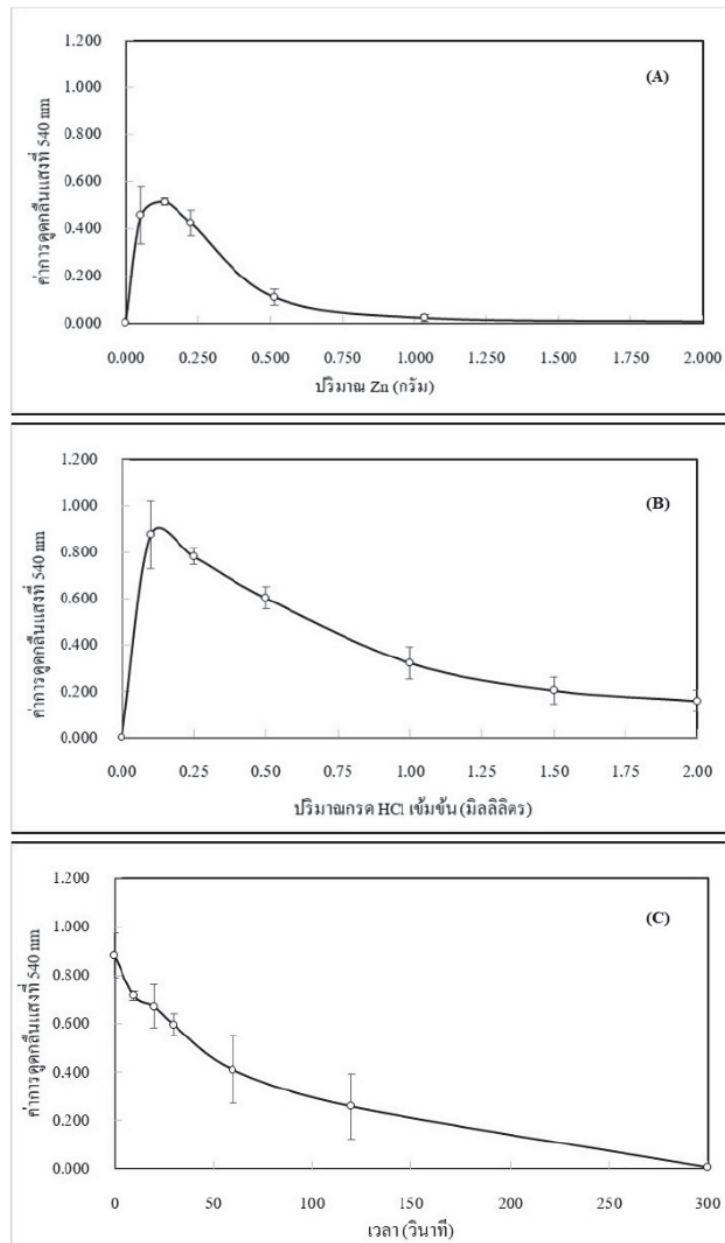
ครั้งที่	วัน/เดือน/ปี	สมการเชิงเส้น ($y = mx + C$)	ความชัน (Slope, m)	R^2
1	15/12/2559	$y=0.0542x+0.0012$	0.0542	0.9992
2	16/12/2559	$y=0.0515x+0.0226$	0.0515	0.9998
3	16/12/2559	$y=0.0545x+0.0023$	0.0545	0.9995
4	16/12/2559	$y=0.0540x+0.0038$	0.0540	0.9999
5	16/12/2559	$y=0.0539x+0.0083$	0.0539	0.9999
6	19/12/2559	$y=0.0522x+0.0090$	0.0522	0.9995
7	19/12/2559	$y=0.0520x+0.0063$	0.0520	0.9988
8	19/12/2559	$y=0.0535x+0.0171$	0.0535	0.9983
9	21/12/2559	$y=0.0536x+0.0162$	0.0536	0.9920
10	21/12/2559	$y=0.0574x+0.0051$	0.0574	0.9986
เฉลี่ย			0.0537	0.9986
Standard deviation (SD)			1.08×10^{-3}	0.0025
Relative standard deviation (%RSD)			2.02	0.24
3 × SD ของ Intercept (C)			0.0222	
(3 × S.D. ของ Intercept)/Slope = Limit of detection (LOD as NO_2^-)			0.41 μM	

จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าผลการสร้างกราฟมาตรฐานของไนโตรเจนทั้งหมด 10 ครั้ง มีความถูกต้องแม่นยำสูงและน่าเชื่อถืออย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานที่สร้างภายในวันเดียวกัน (Intraday) หรือสร้างระหว่างวันที่ต่างกัน (Inter day) พิจารณาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) มีค่าต่ำกว่า 5% ทั้งค่าความชัน (Slope, m) และสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรง (Regression coefficient, R^2) และยังพบอีกว่าวิธีการที่เสนอนี้มีความไว (Sensitivity) ของตรวจวัดที่ดี พิจารณาได้จากค่าขีดจำกัดของการตรวจวัด

(Limit of detection, LOD as NO_2^-) มีค่าต่ำมากเพียง 0.41 μM ในรูปของไนโตรเจน กล่าวได้ว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงเหมาะแก่การนำไปประยุกต์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน

ผลการศึกษาประสิทธิภาพการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนโตรเจนโดยใช้ Zn เป็นตัวรีดิวซ์

จากผลการศึกษาที่ได้จากหัวข้อ 2.3.2.1 – 2.3.2.3 พบว่าปัจจัยต่างๆที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณ Zn ปริมาณกรด HCl เข้มข้น และเวลา ล้วนมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนโตรเจนแสดงดัง



รูปที่ 3 แสดงอิทธิพลของ (A) ปริมาณ Zn (B) ปริมาณกรด HCl เข้มข้น และ (C) เวลาในการรีดิวซ์ ต่อประสิทธิภาพการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ (n=3)

รูปที่ 3 ด้วยเหตุที่ไอออนไนเตรท (NO_3^-) สามารถถูกรีดิวซ์ด้วยสารรีดิวซ์หลายชนิดแล้วและยังสามารถเกิดสารผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นสารประกอบของไนโตรเจนหลายชนิดด้วย เรียงลำดับสารผลิตภัณฑ์ต่างๆตามเลขออกซิเดชันของไนโตรเจนอะตอมจากมากไปหาน้อย ได้แก่ ไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_2) ไนไตรท์ (NO_2^-) ไนตริกออกไซด์ (NO) ไนตรัสออกไซด์ (N_2O) และแก๊สไนโตรเจน (N_2) ตามลำดับ

ทั้งนี้การเกิดสารผลิตภัณฑ์ใดมากหรือน้อยนั้นเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายประการ เช่น ความแรงของสารรีดิวซ์ที่ใช้ ปริมาณของสารรีดิวซ์ สภาวะความเป็นกรด - ด่าง ของสารละลาย อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการรีดิวซ์ เป็นต้น เมื่อพิจารณารูปที่ 3 (A) จะเห็นว่าปริมาณ Zn สำหรับรีดิวซ์ไนเตรทเพื่อให้เกิดไนไตรท์ที่ดีที่สุดอยู่ระหว่าง 0.05 – 0.23 กรัม เพราะพบว่าการใช้ปริมาณ Zn มากเกินไปทำให้

เกิดสปีชีส์ NO₂ - ลงลด นักวิจัยจึงเลือกปริมาณ Zn เท่ากับ 0.13 กรัมเป็นปริมาณที่เหมาะสม ขณะที่ผลในรูปที่ 3 (B) ได้บอกให้ทราบว่าปริมาณกรด HCl เข้มข้นเท่ากับ 0.25 มิลลิลิตร เป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยารีดักชันของไนเตรท ขณะที่เมื่อพิจารณารูปที่ 3 (C) พบว่าปฏิกิริยารีดักชันของไนเตรทเป็นไนไตรท์นั้นเกิดขึ้นโดยทันทีอย่างรวดเร็ว (0 วินาที) เมื่อผสมสารรีดิวซ์ลงในสารละลายของไนเตรท โดยพบว่าการใช้เวลาในการทำปฏิกิริยานานขึ้นกลับทำให้สารผลิตผลไนไตรท์มีปริมาณลดลง ด้วยเหตุว่าปฏิกิริยารีดักชันเกิดขึ้นตลอดเวลาทำให้เกิดสปีชีส์อื่นๆ ของไนโตรเจนที่มีแนวโน้มเลขออกซิเดชันของไนโตรเจนอะตอมลดลงต่ำกว่า +3 นั้นเอง สามารถสรุปเงื่อนไขที่เหมาะสมสำหรับการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ แสดงดังตารางที่ 2 ตามลำดับ ซึ่งพิจารณาเห็นว่าเป็นสภาวะที่ง่าย สะดวก ต้นทุนต่ำ และรวดเร็ว กล่าวได้ว่าเป็นสภาวะที่เหมาะสมแก่การไปประยุกต์เป็นทางเลือกใหม่สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทต่อไป

ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนไตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน

3.3.1 การสร้างกราฟมาตรฐานของไนไตรท์
การสร้างกราฟ

มาตรฐานของไนไตรท์ตามหัวข้อที่ 2.3.3.1 โดยใช้สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.00 ถึง 546 ไมโครโมลาร์ จากนั้นจึงดำเนินการนำสารละลายแต่ละความเข้มข้นทำปฏิกิริยากับสารละลาย Griess โดยยังไม่ได้เติม Zn ซึ่งเป็นสารรีดิวซ์ในขั้นตอนนี้ จึงสามารถสร้างกราฟมาตรฐานของไนไตรท์ (ในสารละลายผสม) แสดงดังสมการที่ 1

$$Y_1 = m_1 X_1 + C$$

.....(1)

เมื่อ Y_1 เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตผล (Absorbance, Abs) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร m_1 เป็นค่าความชัน ($\text{Abs } \mu\text{M}^{-1} \text{ NO}_2^-$) ของกราฟมาตรฐานในหน่วย X_1 เป็นความเข้มข้นไมโครโมลาร์ของไนไตรท์ (μM) และ C เป็นจุดตัดแกน Y (Intercept) ตามลำดับ

3.3.2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายผสมไนไตรท์และไนเตรท

การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายผสมไนไตรท์และไนเตรทตามหัวข้อที่ 2.3.3.2 โดยใช้สารละลายมาตรฐานผสมระหว่างไนไตรท์และไนเตรทที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.00 ถึง 546 ไมโคร

ตารางที่ 2 แสดงปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์โดยใช้ Zn เป็นตัวรีดิวซ์

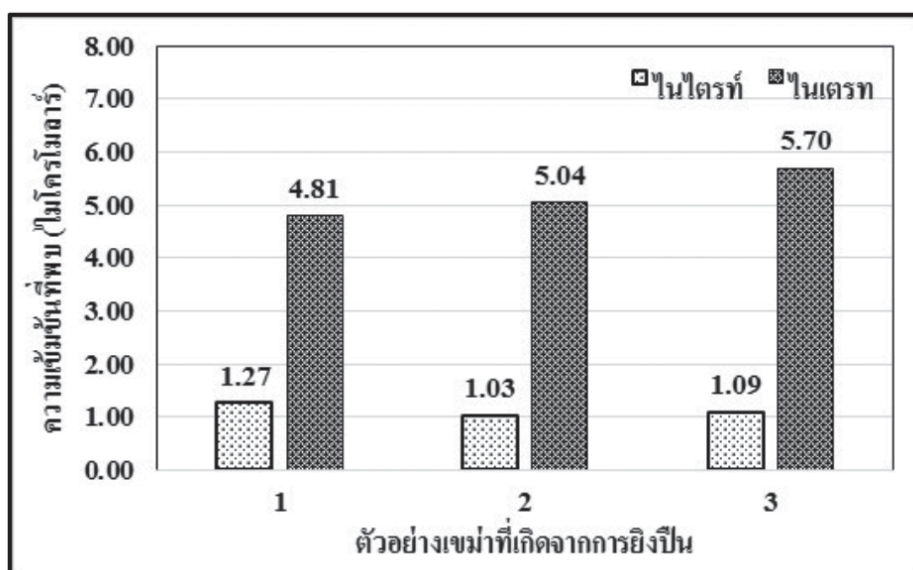
ปัจจัยที่ศึกษา	ช่วงที่ทำการศึกษา	เงื่อนไขที่เหมาะสมที่เลือก
ปริมาณ Zn	0.00 – 2.00 กรัม	0.13 กรัม
ปริมาณกรด HCl เข้มข้น	0.00 – 2.00 มิลลิลิตร	0.25 มิลลิลิตร
เวลาที่ใช้สำหรับการรีดิวซ์	0 – 300 วินาที	ทันที (0 วินาที)

โมลาร์ จากนั้นจึงดำเนินการนำสารละลายแต่ละความเข้มข้นทำปฏิกิริยากับ 0.13 กรัม Zn ซึ่งเป็นสารรีดิวซ์ และ 0.25 มิลลิลิตร กรด HCl เข้มข้น ก่อนกรองสารละลายที่ได้และนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Griess เช่นเดียวกัน จึงสามารถสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายผสมแสดงในรูปของไนโตรท์ (คำนวณความเข้มข้นไมโครโมลาร์รวมของ NO_3^- และ NO_2^- ทว่าแสดงในรูปของไนโตรท์) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร แสดงดังสมการที่ 2

$$Y_2 = m_2 X_2 + C \quad \dots\dots(2)$$

เมื่อ Y_2 เป็นค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ (Absorbance, Abs) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร m_2 เป็นค่าความชัน ($\text{Abs } \mu\text{M}^{-1} \text{ as } \text{NO}_2^-$) ของกราฟมาตรฐานในหน่วย X_2 เป็นความเข้มข้นรวมไมโครโมลาร์ของไนโตรท์และไนเตรท (μM) และ C เป็นจุดตัดแกน Y (Intercept) ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรท์และไนเตรทในสารละลายตัวอย่าง ทำได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาระหว่างสารละลายตัวอย่างกับสารละลาย Griess จะได้ค่า Y_1 แล้วจึงแทนค่า Y_1 ที่ได้ลงในสมการที่ 1 จะสามารถคำนวณความเข้มข้นไมโครโมลาร์ของไนโตรท์ (X_1) ในตัวอย่างได้ จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างชุดเดิมที่มีปริมาตรเท่าเดิมมาทำปฏิกิริยากับสารรีดิวซ์ Zn 0.13 กรัมและ 0.25 มิลลิลิตร กรด HCl เข้มข้น กรองสารละลายแล้วให้ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Griess ก่อนทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะได้ค่า Y_2 แล้วแทนค่าลงในสมการที่ 2 จะสามารถคำนวณความเข้มข้นไมโครโมลาร์ของไนโตรท์และไนเตรท (X_2) ในตัวอย่างได้ สุดท้ายนักวิจัยก็จะสามารถคำนวณความเข้มข้นไมโครโมลาร์ของไนเตรทในสารตัวอย่างได้จากค่า $X_2 - X_1$ นั่นเอง ผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน ยิงปืนที่เก็บบริเวณเป้าที่ถูกยิงด้วยระยะยิง 2 นิ้ว ซึ่งถูกเก็บภายหลังการยิงเป็นเวลา 6 ชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน

จากผลในรูปที่ 4 พบว่าทุกตัวอย่างมีปริมาณไนโตรเจนที่พบน้อยกว่าปริมาณไนโตรเจนอย่างมีนัยสำคัญประมาณ 4 – 5 เท่า การประยุกต์วิธีการสเปกโตรโฟโตเมตริกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี สามารถวิเคราะห์พบสารที่สนใจทั้งสองชนิดในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนซึ่งเก็บภายหลังจากการยิงถึง 6 ชั่วโมง นั่นกล่าวได้ว่าเป็นวิธีที่มีความไวที่ดี เพราะโดยปกติปริมาณไนโตรเจนและไนเตรทจะลดลงอย่างมากเมื่อถูกทิ้งไว้เป็นเวลานานก่อนการเก็บตัวอย่าง

3.3.3 ผลการวิเคราะห์ค่าร้อยละคืนกลับของการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

ผลการตรวจสอบค่าร้อยละคืนกลับของการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน จำนวน 3 ชุด โดยการนำสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตริก ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ตามหัวข้อที่ 2.3.3.4 โดยการเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานไนโตรเจน (สมการที่ 1) และไนโตรเจนผสมไนเตรท (สมการที่ 2) ซึ่งทำการสร้างใหม่ทุกครั้ง ที่ทำการวิเคราะห์ตัวอย่าง ได้แก่ $y = 0.0629x_1 -$

0.0012 และ $y = 0.0015x_2 - 0.0208$ ตามลำดับ พบปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง และปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างที่ถูกเติมสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนแสดงดังตารางที่ 3 ซึ่งเมื่อนำความเข้มข้นของไนโตรเจนมาคำนวณค่าร้อยละคืนกลับของไนโตรเจนในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน พบว่าได้ร้อยละคืนกลับของไนโตรเจนเฉลี่ย เท่ากับ 72.34

สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนด้วยวิธีการสเปกโตรโฟโตเมตริก โดยการศึกษาการเกิดปฏิกิริยาของไนโตรเจนกับสารละลาย Griess ซึ่งจะเกิดผลิตภัณฑ์สีชมพู และศึกษาการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนโตรเจนด้วย Zn เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท ซึ่งพบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนโตรเจน ได้แก่ ปริมาณของกรด HCl เข้มข้นที่ใช้เท่ากับ 0.25 มิลลิลิตร ปริมาณของ Zn ที่ใช้เท่ากับ 0.13 กรัม และเวลาที่ใช้ในการรีดิวซ์เกิดสมบูรณ์โดยทันที (0 วินาที) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนซึ่งเก็บที่เป้ายิงภายหลังจากการยิงเป็นเวลา 6 ชั่วโมงด้วย

ตารางที่ 3 แสดงค่าร้อยละคืนกลับของการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืน

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นของไนโตรเจน (ไมโครโมลาร์)			ร้อยละคืนกลับ
	สารละลายตัวอย่าง	สารละลายตัวอย่างผสมกับสารละลายมาตรฐานที่ถูกเติมลงไป	สารละลายมาตรฐานที่ถูกเติมลงไป	
1	1.27	1.57	0.47	63.82
2	1.03	1.38	0.47	74.47
3	1.09	1.46	0.47	78.72
เฉลี่ย				72.34

วิธีการสเปกโตรโฟโตเมตรี พบว่าสามารถวิเคราะห์ปริมาณไนโตรท์และไนเตรทในตัวอย่างเขม่าที่เกิดจากการยิงปืนได้ประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี จึงสรุปได้ว่าวิธีการสเปกโตรโฟโตเมตรีที่เสนอมีความไวที่ดีและสามารถเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อนำไปประยุกต์สำหรับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา และขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินงานวิจัย จนส่งผลให้งานวิจัยสำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- [1] เบญจ พุฒินิล. (2554). การวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนโตรท์ในเขม่าดินปืนด้วยไอออนโครมาโตกราฟี.วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- [2] Morelato, M., Beavis, A., Ogle, A., Doble, P., Kirkbride, P., Roux, C. (2012). Screening of gunshot residues using desorption electrospray ionization – mass spectrometry (DESI – MS). Journal of Forensic Science International. 101 – 106.
- [3] ยุทธพงศ์ เศรษฐ์สมบัติ และศิริรัตน์ ชูสกุลเกรียง. (2557). การหาปริมาณไนเตรทและไนโตรท์ในเขม่าปืนที่ติดบนผิวรถยนต์โดยเทคนิคไอออนโครมาโตกราฟี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. 1(2).
- [4] Patton C. J. and Kryskalla J. R., Colorimetric Determination of Nitrate Plus Nitrite in Water by Enzymatic Reduction, Automated Discrete Analyzer Methods. Chapter 8 Section B, Methods of the National Water Quality Laboratory Book 5, Laboratory Analysis, U.S. Department of the Interior, U.S. Geological Survey, Reston, Virginia: 2011
- [5] Chen G., Yuan D., Huang Y., Zhang M. and Bergman M., In-field determination of nanomolar nitrite in seawater using a sequential injection technique combined with solid phase enrichment and colorimetric detection. Analytica Chimica Acta 2008, 620, 82–88
- [6] Pasquali C. E. L., Gallego-Pico A., Hernando P. F., Velasco M. and Alegria J. S. D., Two rapid and sensitive automated methods for the determination of nitrite and nitrate in soil samples. Microchemical Journal 2010, 94, 79–82
- [7] Feng S., Zhang M., Huang Y., Yuan D. and Zhu Y., Simultaneous determination of nanomolar nitrite and nitrate in sea water using reverse flow injection analysis coupled with a long path length liquid waveguide capillary cell. Talanta 2013, 117, 456–462

- [8] Bhakta S. A., Borba R., Taba Jr. M., Garcia C. D. and Carrilho E., Determination of nitrite in saliva using microfluidic paper-based analytical devices. *Analytica Chimica Acta* 2014, 809, 117– 122
- [9] Zhang H., Qi S., Dong Y., Chen X., Xu Y., Ma Y. and Chen X., A sensitive colorimetric method for the determination of nitrite in water supplies, meat and dairy products using ionic liquid-modified methyl red as a colour reagent. *Food Chemistry* 2014, 151, 429–434
- [10] Troska P., Chudoba R., Danc L., Bodor R., Horciciak M., Tesarova E. and Masar M., Determination of nitrite and nitrate in cerebrospinal fluid by microchip electrophoresis with microsolid phase extraction pre-treatment. *Journal of Chromatography B* 2013, 930, 41– 47
- [11] Betta F. D., Vitali L., Fett R. and Costa A. C. O., Development and validation of a sub-minute capillary zone electrophoresis method for determination of nitrate and nitrite in baby foods. *Talanta* 2014, 122, 23–29
- [12] Ferreira I.M.P.L.V.O. and Silva S., Quantification of residual nitrite and nitrate in ham by reverse-phase high performance liquid chromatography/diode array detector. *Talanta* 2008, 74, 1598–1602
- [13] Pagliano E., Meija J. and Mester Z., High-precision quadruple isotope dilution method for simultaneous determination of nitrite and nitrate in seawater by GCMS after derivatization with triethyloxonium tetrafluoroborate. *Analytica Chimica Acta* 2014, 824, 36–41
- [14] ภิญญดา อันสนั่น สุธา ภูสิทธิศักดิ์ และจิรวัชร ธนรัตน์. (2556). การหาปริมาณไนเตรทในเขม่าดินปืนภายในลำกล้องปืนโดยเทคนิคสเปกโตรโฟโตเมตรี. วารสารวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 13(4).