

การพัฒนาวิธีทดสอบ sodium nitrite (NO_2^-), nitric acid (NO_3^-),
potassium bromide (Br^-), phosphoric acid (PO_4^-), sulfuric acid (SO_4^-)
และ hydrochloric acid (Cl^-) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์
ด้วยเทคนิค ion chromatography

สุนันท์ กิตติจารุวัฒนา ชูศักดิ์ อาจสูงเนิน จุฑามาศ ประภาพรรณพวงค์
พรรณราย สิ่งถี่เื้อน จุฑาพร หงส์ผาทอง

บทคัดย่อ

การพัฒนาวิธีทดสอบหาปริมาณสาร sodium nitrite (NO_2^-), nitric acid (NO_3^-), potassium bromide (Br^-), phosphoric acid (PO_4^-), sulfuric acid (SO_4^-) และ hydrochloric acid (Cl^-) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ ด้วยเทคนิค Ion chromatography สามารถทดสอบหาปริมาณสารได้ 6 ชนิดสารสำคัญ โดยใช้ anion-exchange column ยี่ห้อ Dionex IonPacTM AS22 RFICTM ขนาด 4 x 250 mm ใช้ eluent 3.6 mM Na_2CO_3 และ 1.7 mM NaHCO_3 ใช้ flow rate 2.0 mL/min ฉีดตัวอย่างที่ 25 μL ใช้เวลาในการฉีดครั้งละ 10 นาที การศึกษาช่วงของการวิเคราะห์ของสารของสารมาตรฐาน NO_2^- , NO_3^- และ Br^- ที่ความเข้มข้นในช่วง 1.0 – 100 $\mu\text{g/mL}$ พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) เท่ากับ 0.9998, 0.9989 และ 0.9990 ของ PO_4^- และ SO_4^- ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.5 – 150 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 0.9990, 0.9989 และ Cl^- ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.3-30 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 0.9994 การทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน NO_2^- , NO_3^- และ Br^- ที่ความเข้มข้นในช่วง 20 – 80 $\mu\text{g/mL}$ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; r) เท่ากับ 0.9998, 0.9995 และ 0.9994 และ PO_4^- , SO_4^- ที่ความเข้มข้นในช่วง 30 – 120 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 0.9994 และ 0.9994 และ Cl^- ที่ความเข้มข้นในช่วง 6 – 24 $\mu\text{g/mL}$ เท่ากับ 0.9995 การทดสอบความแม่นยำโดยการหาค่าร้อยละการคืนกลับผลทดสอบของ NO_2^- อยู่ในช่วง 96.5 – 100.0 % NO_3^- อยู่ในช่วง 98.9 – 105.0 % Br^- อยู่ในช่วง 97.4 – 105.0 %, PO_4^- อยู่ในช่วง 98.9 – 104.3 %, SO_4^- อยู่ในช่วง 98.3 – 105.0 % และ Cl^- อยู่ในช่วง 95.7 – 104.1 % ได้ค่าความสามารถในการทำซ้ำน้อยกว่า 2.0 % RSD ทุกชนิดสาร ดังนั้นวิธีที่พัฒนาขึ้นนี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำไปทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบหาปริมาณสารสำคัญทั้ง 6 ชนิดในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ต่อไป

คำสำคัญ : sodium nitrite (NO_2^-), nitric acid (NO_3^-), potassium bromide (Br^-), phosphoric acid (PO_4^-), sulfuric acid (SO_4^-), hydrochloric acid (Cl^-) และ ion chromatography

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพยาสัตว์และวัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพ

สินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพยาสัตว์และวัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์

หน้าที่ 1 จาก 43

Development of an Ion Chromatography Method for Quantitative Determination of Sodium Nitrite (NO_2^-), Nitrate (NO_3^-), Bromide (Br^-), Phosphate (PO_4^-), Sulfate (SO_4^-), and Chloride (Cl^-) in Hazardous Livestock Product

Sunan Kittijaruwattana, Chusak Ardsongnearn, Jutamas Prapapanpong

Phannarai Singthuan, Jutaporn Hongpathong

Abstract

The development of a testing method for quantifying sodium nitrite (NO_2^-), nitric acid (NO_3^-), potassium bromide (Br^-), phosphoric acid (PO_4^-), sulfuric acid (SO_4^-), and hydrochloric acid (Cl^-) in hazardous livestock product samples was conducted using Ion Chromatography technique. This method can test for six key substances using an anion-exchange column (Dionex IonPacTM AS22 RFICTM, 4 x 250 mm). The eluent used was 3.6 mM Na_2CO_3 and 1.7 mM NaHCO_3 , with a flow rate of 2.0 mL/min. Sample injection volume was 25 μL , with a run time of 10 minutes. The analytical range study for standard NO_2^- , NO_3^- and Br^- at concentrations between 1.0 – 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ showed correlation coefficients (r) of 0.9998, 0.9989, and 0.9990, respectively. For PO_4^- and SO_4^- at concentrations between 1.5 – 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the r values were 0.9990 and 0.9989 respectively. Cl^- at concentration between 0.3-30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the r value of 0.9994. Linearity testing of standard NO_2^- , NO_3^- and Br^- at concentrations between 20 – 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yielded correlation coefficients (r) of 0.9998, 0.9995 and 0.9994, respectively. For PO_4^- and SO_4^- at concentrations between 30 – 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the r value was 0.9994 and 0.9994, and Cl^- at concentrations between 6 – 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.9995. Accuracy testing through recovery percentage showed results for NO_2^- 96.5 – 100.0%, NO_3^- 98.9 – 105.0 %, Br^- 97.4 – 105.0%, PO_4^- 98.9 – 104.3 %, SO_4^- 98.3 – 105.0 %, and Cl^- 95.7 – 104.1 %. The repeatability for all substances was less than 2.0% RSD. In conclusion, this developed method is suitable for further validation testing to quantify these substances in hazardous livestock products.

Keywords: sodium nitrite (NO_2^-), nitric acid (NO_3^-), potassium bromide (Br^-), phosphoric acid (PO_4^-), sulfuric acid (SO_4^-), hydrochloric acid (Cl^-) and ion chromatography

Veterinary Drug and Hazardous Substances Assay Division, Bureau of Quality Control of Livestock Products, Department of Livestock Development

บทนำ

เชื้อจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคสามารถเข้ามาในฟาร์มปศุสัตว์ได้ ผ่านทางบุคลากรภายในฟาร์ม ยานพาหนะ สัตว์พาหะ ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคภายในฟาร์มปศุสัตว์ผลิตภัณฑ์สินค้าปศุสัตว์ อาจเกิดการปนเปื้อนเชื้อก่อโรค ปัจจุบันเกษตรกรมีการใช้ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อด้านการปศุสัตว์ สำหรับทำลายเชื้อก่อโรค เป็นสารหรือส่วนผสมของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้ง หรือทำลายจุลชีพชนิดต่างๆ ลดปริมาณเชื้อโรคให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อโรค มีฤทธิ์ระคายเคืองจึงไม่นำมาใช้กับสิ่งมีชีวิต โดยปกติจะใช้ทำความสะอาดและฆ่าเชื้อพื้นผิวต่างๆ เช่น บ่อจุ่มเท้า โรงเรือนเลี้ยงสัตว์ ยานพาหนะ โรงงานผลิตอาหารสัตว์ และโรงฆ่าสัตว์ เป็นต้น (คณิงนิจ, 2550) โดยผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของ nitric acid และ phosphoric acid เป็นอีกผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้และมีขึ้นทะเบียนในด้านปศุสัตว์ เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรคในสัตว์และในสัตว์สู่คน

ตามประกาศบัญชีรายชื่อวัตถุอันตรายที่กรมปศุสัตว์รับผิดชอบ พ.ร.บ. วัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 แบ่งผลิตภัณฑ์กลุ่มทำความสะอาด/ฆ่าเชื้อ เป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ acid, aldehyde, alkalis, chlorine, chlorine and releasing substances, phenol and phenolics compounds, amphoteric surfactants, cationic surfactants และ nonyl phenol ethoxylate โดย nitric acid และ phosphoric acid มักเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อและทำความสะอาด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการเสริมฤทธิ์ในการทำความสะอาดร่วมกับสารที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ เช่น iodine complexes หรือ quaternary ammonium compounds เป็นต้น nitric acid และ phosphoric acid จัดเป็นกรดแก่ (strong acid) มีไฮโดรเจนเป็นองค์ประกอบ เป็นสารประกอบที่เมื่อละลายน้ำจะแตกตัวให้ไฮโดรเจนไอออน (H^+) มีค่า pH ต่ำกว่า 7 แตกตัวในน้ำได้ดีมีประสิทธิภาพในการทำลายจุลชีพสูง หากทำปฏิกิริยากับต่างจะได้เกลือ (ศศิ, 2560) ซึ่งห้องปฏิบัติการกลุ่มตรวจสอบคุณภาพยาสัตว์และวัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ จึงจำเป็นต้องมีวิธีทดสอบที่สามารถทดสอบผลิตภัณฑ์ได้อย่างน่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับ

หลักการของการแยกด้วยเทคนิค ion chromatography (IC) เป็นการแยกสารผสมในสถานะการแตกตัวเป็นไอออน โดยแยกสารผสมออกจากกัน จากความต่างกันด้านคุณสมบัติของสาร อาศัย mobile phase หรือ eluent เป็นตัวพาสารตัวอย่างเข้า column โดยการแลกเปลี่ยนประจุภายในคอลัมน์ (ion exchange) ซึ่งไอออนที่อยู่ใน eluent และไอออนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ จะมีประจุตรงข้ามกับไอออนที่ผิวของ stationary phase ที่อยู่ในคอลัมน์ ทำให้ไอออนที่อยู่ใน eluent และไอออนของสารตัวอย่างที่ต้องการ เกิดการแลกเปลี่ยนประจุที่ผิวของ stationary phase จากนั้นสารจะผ่านเข้าตัวตรวจวัด และแสดงผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม

(chromatogram) สามารถใช้แยกสารประเภทกรดและเบสที่มีมวลโมเลกุลต่ำและละลายน้ำได้ดี (ชูติมา, 2546)

ในปัจจุบันมีการขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของ nitric acid, phosphoric acid และ hydrochloric acid รวมอยู่ และมีวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบหาปริมาณด้วยเทคนิคการไทเทรต แต่ไม่สามารถทดสอบหาปริมาณสาร sodium nitrite, nitric acid, potassium bromide, phosphoric acid, sulfuric acid และ hydrochloric acid แยกตามชนิดสารได้หากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสารเหล่านี้อยู่ร่วมกัน และยังไม่มียวิธีทดสอบหาปริมาณสารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ/ทำความสะอาด ด้วยเทคนิค IC ซึ่งตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2017 ข้อ 7.2.2.1 ระบุให้ห้องปฏิบัติการต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่ไม่เป็นมาตรฐาน วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นเองหรือการดัดแปลงวิธีมาตรฐาน การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีทดสอบหาปริมาณสาร nitric acid, sodium nitrite, potassium bromide, phosphoric acid, sulfuric acid และ hydrochloric acid ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ ด้วยเทคนิค IC เพื่อนำไปตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตามแนวทางของ Eurachem (2014) ต่อไป

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

American Public Health Association (2012) กำหนดวิธีทดสอบ anion ใน part 4110 A. และ 4110 B. ด้วยเทคนิค IC ทดสอบหา fluoride (F^-), chloride (Cl^-), nitrite (NO_2^-), nitrate (NO_3^-), bromide (Br^-), orthophosphate (PO_3^-) และ sulfate (SO_4^-) เพื่อใช้ในการประเมินผลทดสอบความเข้มข้นของสารในน้ำที่ผ่านการกรองอนุภาค ขนาด $0.45 \mu m$ น้ำในกระบวนการทางอุตสาหกรรมบางชนิด เช่น น้ำหม้อไอน้ำ น้ำหล่อเย็น เป็นต้น หรือน้ำที่ยังไม่ผ่านการบำบัดตลอดจนน้ำดื่มสำเร็จรูป โดยใช้ column Dionex AG4A-sc plus AS4A-SC ใช้ eluent 1.7 mM sodium bicarbonate ($NaHCO_3$)/ 1.8 mM sodium carbonate (Na_2CO_3) flow rate 2.0 mL/min ฉีดตัวอย่างที่ $25 \mu L$ ใช้ standard anion solution ความเข้มข้น 1,000 mg/mL สำหรับ calibration curve ได้ค่า correlation coefficients (r) ≥ 0.99 ใช้ตัวอย่างน้ำที่ผ่านการกรองอนุภาค ขนาด $0.45 \mu m$ มีการควบคุมคุณภาพโดยทดสอบ % recovery พบว่าอยู่ในช่วง 70 - 125 % และเมื่อทดสอบโดยใช้ความเข้มข้นช่วงกลางและช่วงสูง พบว่า อยู่ระหว่าง 90 - 110 %

Bajenaru et al. (2015) ได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีหาปริมาณ anion ใน wet depositions ด้วยเทคนิค IC โดยการตรวจปริมาณของ F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , PO_3^- และ SO_4^- ได้ทดสอบ linearity ของ F^- ในช่วงความเข้มข้น 0.04 - 0.2 mg/L Cl^- , NO_3^- , Br^- และ SO_4^- ทดสอบกลุ่มตรวจสอบคุณภาพยาสัตว์และวัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์

ช่วงความเข้มข้น 0.2 - 5 mg/L และทดสอบ PO_3^- ช่วงความเข้มข้น 0.4 - 10 mg/L ได้ค่า r เท่ากับ 0.995 ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.01-0.02 mg/L ค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.004-0.06 mg/L มีค่า repeatability และ intermediate precision (%RSD) อยู่ระหว่าง 0.65 - 2.19 % โดยการทดสอบ เก็บตัวอย่างในเขตเมือง Bucharest ในเดือนธันวาคม 2012 - มีนาคม 2013

Ivanova et al. (2018) ได้ศึกษาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีสำหรับการหาค่า standard inorganic anions ในน้ำดื่มที่ผ่านการบำบัดและไม่บำบัด ด้วยเทคนิค IC โดยหาปริมาณ F^- , Cl^- , NO_3^- และ SO_4^- ด้วยเครื่อง IC conductivity detector โดยใช้คอลัมน์ Metrosep A supp 7-250 (250 x 4 mm) eluent คือ 3.6 mM Na_2CO_3 (isocratic) ใช้ flow rate 0.7 mL/min ผลการทดสอบได้ค่า linearity, LOD, LOQ, recovery และ precision ผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด

The National Institute for Occupational Safety and Health (2014) method 7907 กำหนดวิธีทดสอบ volatile acid ด้วย IC โดยทดสอบสาร hydrogen chloride (HCl), hydrogen bromide (HBr) และ nitric acid (HNO_3^-) โดยหาปริมาณ Cl^- , Br^- และ NO_3^- ไอออน โดยใช้ Pre-column (4.0x50 mm), anion-exchange column (4.0x200 mm) และ suppressor column (4 mm) ใช้ eluent 0.35 mM NaHCO_3 / 3.1 mM Na_2CO_3 ใช้ flow rate 1.5 mL/min ฉีดที่ปริมาตร 25 μL ใช้ standard solution Cl^- , Br^- และ NO_3^- ความเข้มข้น 1,000 mg/L สร้าง calibration curve ในช่วง 0.4 - 4 mg/mL เตรียมตัวอย่างโดยการกรองด้วย pre-filter quartz fiber filter ขนาด 37-mm 1 ครั้งและ filter ที่ซึบด้วย 1 M Na_2CO_3 500 μL โดยใช้ pump สำหรับการเตรียมตัวอย่างด้วยอัตราการไหล 2 L/min ปริมาตรตัวอย่างทั้งหมด 30-600 L เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 20 °C ในเวลา 1 สัปดาห์ หลังจาก 28 วัน เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เก็บตัวอย่างไว้อย่างน้อย 4 วันก่อนนำมาทดสอบ เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสีย HNO_3^- ทดสอบตัวอย่าง ระหว่างเวลา 4 วันและ 4 สัปดาห์ พบว่าได้ ค่า % recovery มากกว่า 95 % หลังจาก 4 วันได้ % recovery อยู่ในช่วง 97-100 % ได้ค่า LOD 0.003 mg หรือ 0.0012 mg/m³ ค่า precision เท่ากับ 0.01 %

The National Institute for Occupational Safety and Health (2014) method 7908 กำหนดวิธีทดสอบ non-volatile acid ด้วยเทคนิค IC โดยทดสอบสาร sulfuric acid (H_2SO_4) และ phosphoric acid (H_3PO_4) โดยใช้ Pre-column (4.0x50 mm), anion-exchange column (4.0x200 mm) และ suppressor column (4 mm) ใช้ eluent 0.3 mM NaHCO_3 / 2.7 mM Na_2CO_3 ใช้ flow rate 1.5 mL/min ฉีดที่ปริมาตร 50 μL ใช้ standard solution anion ความเข้มข้น 100 mg/L สำหรับสร้าง calibration curve โดย H_2SO_4 อยู่ในช่วง 0.2 - 8 mg/mL

และ H_3PO_4 อยู่ในช่วง 0.8 – 8 mg/mL เตรียมตัวอย่างโดยการกรองด้วย quartz fiber filter ขนาด 37 mm และ polytetra fluoroethylene filter (PTFE) ขนาด 0.45 μm และสกัดตัวอย่างด้วยสารละลาย (0.27 M Na_2CO_3 และ 0.03 M NaHCO_3) ปริมาตร 2 mL โดยใช้ pump สำหรับการเตรียมตัวอย่างด้วยอัตราการไหล 1-5 L/min พบว่าได้ ค่า % recovery มากกว่า 95 % อยู่ในช่วง 97-100 % ได้ค่า LOD ของ H_2SO_4 เท่ากับ 0.002 mg/m^3 และ H_3PO_4 เท่ากับ 0.003 mg/m^3 ค่า precision ของ H_2SO_4 เท่ากับ 0.043 % และ H_3PO_4 เท่ากับ 0.032 %

1. วัตถุประสงค์

เพื่อพัฒนาวิธีทดสอบหาปริมาณสาร sodium nitrite, nitric acid, potassium bromide, phosphoric acid, sulfuric acid และ hydrochloric acid ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ด้วยเทคนิค IC

2. ขอบข่าย

เป็นการทดสอบหาปริมาณสาร sodium nitrite, nitric acid, potassium bromide, phosphoric acid, sulfuric acid และ hydrochloric acid ด้วยเทคนิค IC ในผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ที่ระดับความเข้มข้นของ NO_2^- , NO_3^- , และ Br^- 20-80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ความเข้มข้นของ PO_4^- และ SO_4^- 30-120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ และความเข้มข้นของ Cl^- 6-24 $\mu\text{g}/\text{mL}$

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้วิธีทดสอบการหาปริมาณสาร sodium nitrite, nitric acid, potassium bromide, phosphoric acid, sulfuric acid และ hydrochloric acid ด้วยเทคนิค IC เพื่อนำไปใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตัวอย่างวัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ และสามารถนำวิธีทดสอบไปขอรับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้

4. วิธีดำเนินการ

4.1 เครื่องมือ

4.1.1 ชุดแยกชนิดเครื่องวิเคราะห์หาปริมาณไอออน (Ion chromatography) พร้อมอุปกรณ์ ยี่ห้อ Thermo scientific[®] รุ่น ICS-6000

4.1.2 คอมพิวเตอร์ควบคุมระบบและประมวลผล โปรแกรม Chromeleon[™]

4.1.3 Anion-exchange column ยี่ห้อ Dionex IonPac[™] AS22 RFIC[™] ขนาด 4 x 250 mm.

4.1.4 Suppressor column ยี่ห้อ Thermo scientific[®] รุ่น Dionex ACRS 500 4 mm

4.1.5 ชุดป้อนสำหรับ suppressor anion ยี่ห้อ FLOW รุ่น SP-21

4.1.6 เครื่องทำน้ำบริสุทธิ์พร้อมอุปกรณ์ ยี่ห้อ Thermo scientific® รุ่น Genpure Pro UV TOC

4.1.7 เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น AX 205 DR

4.2 วัสดุวิทยาศาสตร์

4.2.1 Vial ใส พร้อมฝา ขนาด 1.5 mL

4.2.2 Vial ใส พร้อมฝา ขนาด 10 mL

4.2.3 Micropipette ขนาด 20-100 μ L

4.2.4 Micropipette ขนาด 100-1,000 μ L

4.2.5 Micropipette ขนาด 5 mL

4.2.6 Volumetric pipette ขนาด 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 mL

4.2.7 Volumetric flask ขนาด 5, 10, 50, 100 และ 1,000 mL

4.2.8 Beaker ขนาด 10, 50 และ 500 mL

4.3 สารมาตรฐาน

Seven anion standard, certified reference material ยี่ห้อ CPA chem Lot no. 953005 ประกอบด้วย

- 1) Fluoride (F^-) ความเข้มข้น 20.00 mg/L
- 2) Chloride (Cl^-) ความเข้มข้น 30.08 mg/L
- 3) Nitrite (NO_2^-) ความเข้มข้น 99.97 mg/L
- 4) Nitrate (NO_3^-) ความเข้มข้น 99.79 mg/L
- 5) Bromide (Br^-) ความเข้มข้น 100.05 mg/L
- 6) Phosphate (PO_4^-) ความเข้มข้น 149.86 mg/L
- 7) Sulfate (SO_4^-) ความเข้มข้น 149.58 mg/L

4.4 สารเคมี

4.4.1 Sulfuric acid (H_2SO_4) ชนิด AR grade

4.4.2 0.5 M Sodium carbonate (Na_2CO_3) in deionized water

4.4.3 0.5 M Sodium bicarbonate ($NaHCO_3$) in deionized water

4.4.4 น้ำบริสุทธิ์ความต้านทานไม่น้อยกว่า 18.2 M Ω .cm (deionized water, DI)

4.5 ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ

Table 1. Sample used for method development

ตัวอย่าง	ส่วนประกอบ
Mix sample lot. 2306073	1. Nitric acid 10 % 2. Phosphoric acid 20 %
Nitric acid lot. 18010449	Nitric acid 70 %
Orthro-phosphoric acid lot. AC11002500	Orthro-phosphoric acid 85 %
Hydrochloric acid lot. 19040282	Hydrochloric acid 37 %
Sulfuric acid lot. 410306	Sulfuric acid 96 %
Sodium nitrite lot. F2G107	Sodium nitrite 97 %
Potassium bromide lot. B359072103	Potassium bromide 99.5 %

4.6 ขั้นตอนการทดสอบ

4.6.1 การเตรียมสารเคมี

4.6.1.1 1N (H₂SO₄)

ตวง H₂SO₄ มา 27 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 mL ที่มีน้ำ DI อยู่ 900 mL เทช้าๆ และเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนปรับปริมาตร

4.6.1.2 50 mM H₂SO₄

ตวง 1 N H₂SO₄ มา 50 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 mL ที่มีน้ำ DI อยู่ 800 mL เทช้าๆ และเขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนปรับปริมาตร

4.6.1.3 Eluent anion 1.8 mM Na₂CO₃ และ 1.7 mM NaHCO₃

ปิเปต 0.5 M Na₂CO₃ มา 3.6 mL และ 0.5 M NaHCO₃ มา 3.4 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI เขย่าให้เข้ากันและนำไปใช้งาน

4.6.1.4 Eluent anion 3.6 mM Na₂CO₃ และ 1.7 mM NaHCO₃

ปิเปต 0.5 M Na₂CO₃ มา 7.2 mL และ 0.5 M NaHCO₃ มา 3.4 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 1,000 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI เขย่าให้เข้ากันและนำไปใช้งาน

4.7 การพัฒนาวิธีทดสอบ

การพัฒนาวิธีดำเนินการทดสอบตัวอย่างและสารมาตรฐานเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบหาปริมาณสาร nitric acid และ phosphoric acid ด้วยเทคนิค IC โดยอ้างอิงวิธีทดสอบจาก American Public Health Association (APHA). 2012. Part 4110 A., 4110 B. ที่ใช้ column Dionex AS4A-SC plus with guard column AG4A-sc ใช้ eluent 1.7 mM NaHCO_3 / 1.8 mM Na_2CO_3 ใช้ flow rate 2.0 mL/min ฉีดตัวอย่างที่ 25 μL โดยมีรายละเอียดการพัฒนาวิธีทดสอบดังนี้

4.7.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับทดสอบ

4.7.1.1 ตัวอย่างทดสอบหาปริมาณสาร nitric acid (HNO_3)

- 1) ปิเปตตัวอย่าง HNO_3 มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI
- 2) ปิเปต ข้อ 1) มา 0.5 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ nitric acid เท่ากับ 35 $\mu\text{g/mL}$
- 3) นำตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่อง IC

4.7.1.2 ตัวอย่างทดสอบหาปริมาณสาร phosphoric acid

- 1) ปิเปตตัวอย่าง orthro-phosphoric acid (H_3PO_4) มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI
- 2) ปิเปต ข้อ 1) มา 0.5 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ phosphoric acid เท่ากับ 43 $\mu\text{g/mL}$
- 3) นำตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่อง IC

4.7.1.3 ตัวอย่างทดสอบหาปริมาณสาร nitric acid และ phosphoric acid

- 1) ปิเปตตัวอย่าง mix sample มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI
- 2) ปิเปต ข้อ 1) มา 2 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ nitric acid เท่ากับ

65.28 $\mu\text{g/mL}$ และ ความเข้มข้นของ phosphoric acid เท่ากับ
90 $\mu\text{g/mL}$

3) นำตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่อง IC

4.7.1.4 ตัวอย่างทดสอบหาปริมาณสาร Hydrochloric acid (HCl)

1) บีบสาร HCl มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL
ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

2) บีบ ข้อ 1) มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL
ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ HCl เท่ากับ
37 $\mu\text{g/mL}$

3) นำตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่อง IC

4.7.1.5 ตัวอย่างทดสอบหาปริมาณสาร Sulfuric acid (H_2SO_4)

1) บีบสาร H_2SO_4 มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด
100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

2) บีบ ข้อ 1) มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL
ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ HCl เท่ากับ
98 $\mu\text{g/mL}$

3) นำตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่อง IC

4.7.1.6 ตัวอย่างทดสอบหาปริมาณสาร Sodium nitrite (Na_2NO_2)

1) ชั่งสาร Na_2NO_2 มาประมาณ 0.5 g ใส่ใน volumetric flask ขนาด
100 mL ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

2) บีบ ข้อ 1) มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL
ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ Na_2NO_2 เท่ากับ
48.5 $\mu\text{g/mL}$

3) นำตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่อง IC

4.7.1.7 ตัวอย่างทดสอบหาปริมาณสาร Potassium bromine (KBr)

1) ชั่งสาร KBr มา 0.5 g ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL
ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI

2) ปิเปต ข้อ 1) มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL
ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ KBr เท่ากับ 49.8
µg/mL

3) นำตัวอย่างทดสอบด้วยเครื่อง IC

4.7.2 การเตรียมสารมาตรฐานสำหรับพัฒนาวิธีทดสอบ

1) ปิเปตสารมาตรฐาน seven anion มา 0.60 mL และน้ำบริสุทธิ์ มา
0.40 mL ลงใน vial ขนาด 1.5 mL จะได้ความเข้มข้นของ NO₃⁻ เท่ากับ
60 µg/mL, PO₄⁻ เท่ากับ 90 µg/mL, NO₂⁻ เท่ากับ 60 µg/mL

2) นำสารมาตรฐานทดสอบด้วยเครื่อง IC

Table 2. Test conditions modified according to the APHA (2012) method

Parameter	วิธีทดสอบที่อ้างอิง	Condition ที่ 1	Condition ที่ 2
Column	Dionex TM AS4A-SC plus with guard column AG4A-SC	Dionex AS22 4x250 mm	IonPac TM Dionex AS22 4x250 mm IonPac TM
Eluent	1.8 mM Na ₂ CO ₃ / 1.7 mM NaHCO ₃	1.8 mM Na ₂ CO ₃ / 1.7 mM NaHCO ₃	3.6 mM Na ₂ CO ₃ / 1.7 mM NaHCO ₃
Elution mode	Isocratic	Isocratic	Isocratic
Eluent flow rate	2 mL/min	2 mL/min	2 mL/min
Injection volume	25 µL	25 µL	25 µL

4.7.3 การคำนวณ

4.7.3.1 การคำนวณหาปริมาณสาร Sodium nitrite

$$\text{Sodium nitrite \%W/W หรือ \%W/V} = \frac{C_o \times V_s \times D}{M_s \times 1000} \times 100$$

C_o = ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (mg/mL) ได้จากการ
คำนวณของเครื่องหรือจากสมการของ calibration curve

V_s = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่เตรียม (mL)

D = ระดับความเจือจาง

M_s = น้ำหนักหรือปริมาตรที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g หรือ mL)
1000 = แปลงจากหน่วย g เป็น mg
100 = ทำให้เป็น %

4.7.3.2 การคำนวณหาปริมาณสาร nitric acid

$$\text{Nitric acid \%W/W หรือ \%W/V} = \frac{C_o \times V_s \times D}{M_s \times 1000} \times 100$$

C_o = ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (mg/mL) ได้จากการคำนวณของเครื่องหรือจากสมการของ calibration curve
 V_s = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่เตรียม (mL)
 D = ระดับความเจือจาง
 M_s = น้ำหนักหรือปริมาตรที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g หรือ mL)
1000 = แปลงจากหน่วย g เป็น mg
100 = ทำให้เป็น %

4.7.3.3 การคำนวณหาปริมาณสาร Potassium bromide

$$\text{Potassium bromide \%W/W หรือ \%W/V} = \frac{C_o \times V_s \times D}{M_s \times 1000} \times 100$$

C_o = ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (mg/mL) ได้จากการคำนวณของเครื่องหรือจากสมการของ calibration curve
 V_s = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่เตรียม (mL)
 D = ระดับความเจือจาง
 M_s = น้ำหนักหรือปริมาตรที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g หรือ mL)
1000 = แปลงจากหน่วย g เป็น mg
100 = ทำให้เป็น %

4.7.3.4 การคำนวณหาปริมาณสาร phosphoric acid

$$\text{Phosphoric acid \%W/W หรือ \%W/V} = \frac{C_o \times V_s \times D}{M_s \times 1000} \times 100$$

C_o = ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (mg/mL) ได้จากการคำนวณของเครื่องหรือจากสมการของ calibration curve

V_s = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่เตรียม (mL)

D = ระดับความเจือจาง

M_s = น้ำหนักหรือปริมาตรที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g หรือ mL)

1000 = แปลงจากหน่วย g เป็น mg

100 = ทำให้เป็น %

4.7.3.5 การคำนวณหาปริมาณสาร Sulfuric acid

$$\text{Sulfuric acid \%W/W หรือ \%W/V} = \frac{C_o \times V_s \times D}{M_s \times 1000} \times 100$$

C_o = ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (mg/mL) ได้จากการคำนวณของเครื่องหรือจากสมการของ calibration curve

V_s = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่เตรียม (mL)

D = ระดับความเจือจาง

M_s = น้ำหนักหรือปริมาตรที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g หรือ mL)

1000 = แปลงจากหน่วย g เป็น mg

100 = ทำให้เป็น %

4.7.3.6 การคำนวณหาปริมาณสาร Hydrochloric acid

$$\text{Hydrochloric acid \%W/W หรือ \%W/V} = \frac{C_o \times V_s \times D}{M_s \times 1000} \times 100$$

C_o = ปริมาณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง (mg/mL) ได้จากการคำนวณของเครื่องหรือจากสมการของ calibration curve

V_s = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่เตรียม (mL)

- D = ระดับความเจือจาง
 M_s = น้ำหนักหรือปริมาตรที่ใช้เตรียมตัวอย่าง (g หรือ mL)
 1000 = แปลงจากหน่วย g เป็น mg
 100 = ทำให้เป็น %

4.7.4 การทดสอบช่วงของการวิเคราะห์ (range)

เตรียม range ของสารมาตรฐาน NO_2^- , NO_3^- , และ Br^- จำนวน 13 ความเข้มข้น ให้อยู่ในช่วง 1 – 100 $\mu\text{g/mL}$ (1, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 $\mu\text{g/mL}$) สารมาตรฐาน PO_4^- และ SO_4^- จำนวน 13 ความเข้มข้น อยู่ในช่วง 1.5 – 150 $\mu\text{g/mL}$ (1.5, 3.75, 7.5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 และ 150 $\mu\text{g/mL}$) และสารมาตรฐาน Cl^- จำนวน 13 ความเข้มข้น อยู่ในช่วง 0.3 – 30 $\mu\text{g/mL}$ (0.3, 0.75, 1.5, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 และ 30 $\mu\text{g/mL}$) เตรียมตาม Table 3, 4 และ 5 โดยฉีดสารมาตรฐานความเข้มข้นละ 3 injection

Table 3. Preparation of solutions for testing the range of NO_2^- , NO_3^- , and Br^-

ลำดับ	ปริมาตร (mL) ของ สารมาตรฐาน conc. 100 ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาตรของน้ำ บริสุทธิ์ (mL)	Final conc. NO_2^- ($\mu\text{g/mL}$)	Final conc. NO_3^- ($\mu\text{g/mL}$)	Final conc. Br^- ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.010	0.990	1	1	1
2	0.025	0.975	2.5	2.5	2.5
3	0.050	0.95	5	5	5
4	0.10	0.90	10	10	10
5	0.20	0.80	20	20	20
6	0.30	0.70	30	30	30
7	0.40	0.60	40	40	40
8	0.50	0.50	50	50	50
9	0.60	0.40	60	60	60
10	0.70	0.30	70	70	70
11	0.80	0.20	80	80	80
12	0.90	0.10	90	90	90
13	1	-	100	100	100

Table 4. Preparation of solutions for testing the range of PO_4^- and SO_4^-

ลำดับ	ปริมาตร (mL) ของ สารมาตรฐาน conc.150 $\mu\text{g/mL}$	ปริมาตรของน้ำบริสุทธิ์ (mL)	Final conc. PO_4^- ($\mu\text{g/mL}$)	Final conc. SO_4^- ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.010	0.990	1.5	1.5
2	0.025	0.975	3.75	3.75
3	0.050	0.95	7.5	7.5
4	0.10	0.90	15	15
5	0.20	0.80	30	30
6	0.30	0.70	45	45
7	0.40	0.60	60	60
8	0.50	0.50	75	75
9	0.60	0.40	90	90
10	0.70	0.30	105	105
11	0.80	0.20	120	120
12	0.90	0.1	135	135
13	1	-	150	150

นำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานและความเข้มข้นไปสร้างกราฟหาค่า correlation coefficient (r) เกณฑ์การยอมรับ $r > 0.99$ (AOAC, 2023)

Table 5. Preparation of solutions for testing the range of Cl^-

ลำดับ	ปริมาตร (mL) ของ สารมาตรฐาน conc. 30 $\mu\text{g/mL}$	ปริมาตรของน้ำบริสุทธิ์ (mL)	Final conc. Cl^- ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.010	0.990	0.30
2	0.025	0.975	0.75
3	0.050	0.95	1.5
4	0.10	0.90	3.0
5	0.20	0.80	6.0
6	0.30	0.70	9.0
7	0.40	0.60	12
8	0.50	0.50	15
9	0.60	0.40	18
10	0.70	0.30	21
11	0.80	0.20	24
12	0.90	0.1	27

นำค่าพื้นที่ใต้พีคของสารมาตรฐานและความเข้มข้นไปสร้างกราฟหาค่า correlation coefficient (r) เกณฑ์การยอมรับ $r > 0.99$ (AOAC, 2023)

4.7.5 การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

4.7.5.1 การทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน NO_2^- , NO_3^- , และ Br^- โดยเตรียม calibration curve ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 20 – 80 $\mu\text{g/mL}$ (20, 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 $\mu\text{g/mL}$) ซึ่งเตรียมดัง Table 6 และเตรียมความเข้มข้นละ 1 ซ้ำๆ ละ 3 injection

4.7.5.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน PO_4^- และ SO_4^- โดยเตรียม calibration curve ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 30 – 120 $\mu\text{g/mL}$ (30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 $\mu\text{g/mL}$) ซึ่งเตรียมดัง Table 7 และเตรียมความเข้มข้นละ 1 ซ้ำๆ ละ 3 injection

4.7.5.3 การทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน Cl^- โดยเตรียม calibration curve ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 6 – 24 $\mu\text{g/mL}$ (6, 9, 12, 15, 18, 21 และ 24 $\mu\text{g/mL}$) ซึ่งเตรียมดัง Table 8 และเตรียมความเข้มข้นละ 1 ซ้ำๆ ละ 3 injection

4.7.5.4 นำค่าพื้นที่ใต้พีคสารมาตรฐานและความเข้มข้น ของ nitrate และ phosphate ไปสร้างกราฟหาค่า correlation coefficient (r) เกณฑ์การยอมรับ $r > 0.99$ (AOAC, 2023)

Table 6. Preparation of solutions for testing the linearity of standard NO_2^- , NO_3^- and Br^-

ลำดับ	ปริมาตร (mL) ของ สารมาตรฐาน conc. 100 ($\mu\text{g/mL}$)	ปริมาตรของน้ำ บริสุทธิ์ (mL)	Final conc. NO_2^- ($\mu\text{g/mL}$)	Final conc. NO_3^- ($\mu\text{g/mL}$)	Final conc. Br^- ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.20	0.80	20	20	20
2	0.30	0.70	30	30	30
3	0.40	0.60	40	40	40
4	0.50	0.50	50	50	50
5	0.60	0.40	60	60	60
6	0.70	0.30	70	70	70
7	0.80	0.20	80	80	80

Table 7. Preparation of solutions for testing the linearity of standard PO_4^- และ SO_4^-

ลำดับ	ปริมาตร (mL) ของ สารมาตรฐาน conc.150 $\mu\text{g/mL}$	ปริมาตรของน้ำ บริสุทธิ์ (mL)	Final conc. PO_4^- ($\mu\text{g/mL}$)	Final conc. SO_4^- ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.20	0.80	30	30
2	0.30	0.70	45	45
3	0.40	0.60	60	60
4	0.50	0.50	75	75
5	0.60	0.40	90	90
6	0.70	0.30	105	105
7	0.80	0.20	120	120

Table 8 Preparation of solutions for testing the linearity of standard Cl^-

ลำดับ	ปริมาตร (mL) ของ สารมาตรฐาน conc. 30 $\mu\text{g/mL}$	ปริมาตรของน้ำบริสุทธิ์ (mL)	Final conc. Cl^- ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.20	0.80	6.0
2	0.30	0.70	9.0
3	0.40	0.60	12
4	0.50	0.50	15
5	0.60	0.40	18
6	0.70	0.30	21
7	0.80	0.20	24

4.7.6 การทดสอบความแม่นยำ (accuracy)

4.7.6.1 การทดสอบ accuracy ของ NaNO_2 , HNO_3 , และ KBr โดยการหา ร้อยละค่าการคืนกลับ (% recovery) โดยการเตรียมสารทดสอบที่ ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 30, 50 และ 70 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งมีขั้นตอนการ เตรียมตาม Table 9-11 โดยทำความเข้าใจความเข้มข้นละ 2 ซ้ำๆ ละ 3 injection เกณฑ์การยอมรับ % recovery อยู่ในช่วง 95-105 และ %RPD ≤ 2 (AOAC, 2023) โดยเตรียม stock ของตัวอย่างดังนี้

- 1) ตัวอย่าง NaNO_2 ชั่งสารมาประมาณ 0.5 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ใน volumetric flask ขนาด 100 mL จะได้ความเข้มข้นของ NO_2^- เท่ากับ 4,850 $\mu\text{g/mL}$
- 2) ตัวอย่าง HNO_3 ปิเปต มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ NO_3^- เท่ากับ 7,000 $\mu\text{g/mL}$
- 3) ตัวอย่าง KBr ชั่งสารมาประมาณ 0.5 g ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI ใน volumetric flask ขนาด 100 mL จะได้ความเข้มข้นของ Br^- เท่ากับ 4,975 $\mu\text{g/mL}$

Table 9. Preparation of standard addition NaNO_2 for determining % recovery

No.	Stock Std. conc. 100 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. Std. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample conc. 4,850 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. sample ($\mu\text{g/mL}$)	Final NO_2^- conc. ($\mu\text{g/mL}$)
1	1	10	0.044	20	30
2	1	10	0.085	40	50
3	1	10	0.125	60	70

Table 10. Preparation of standard addition HNO_3 for determining % recovery

No.	Stock Std. conc. 100 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. Std. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample conc. 7,000 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. sample ($\mu\text{g/mL}$)	Final NO_3^- conc. ($\mu\text{g/mL}$)
1	1	10	0.030	20	30
2	1	10	0.060	40	50
3	1	10	0.090	60	70

Table 11. Preparation of standard addition KBr for determining % recovery

No.	Stock Std. conc. 100 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. Std. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample conc. 4,975 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. sample ($\mu\text{g/mL}$)	Final Br^- conc. ($\mu\text{g/mL}$)
1	1	10	0.043	20	30
2	1	10	0.082	40	50
3	1	10	0.120	60	70

4.7.6.2 การทดสอบ accuracy ของ H_3PO_4 , และ H_2SO_4 โดยการหาละค่าการคืนกลับ (% recovery) โดยการเตรียมสารทดสอบที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 45, 75 และ 105 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียมตาม Table 12-13 โดยทำความเข้าใจความเข้มข้นละ 2 ซ้ำๆ ละ 3 injection เกณฑ์การยอมรับ % recovery อยู่ในช่วง 95-105 และ %RPD ≤ 2 (AOAC, 2023) โดยเตรียม stock ของตัวอย่างดังนี้

- 1) ตัวอย่าง H_3PO_4 ปิเปต มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ PO_4^- เท่ากับ 8,500 $\mu\text{g/mL}$
- 2) ตัวอย่าง H_2SO_4 ปิเปต มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ SO_4^- เท่ากับ 9,800 $\mu\text{g/mL}$

Table 12. Preparation of standard addition H_3PO_4 for determining % recovery

No.	Stock Std. conc. 150 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. Std. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample 8,500 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. sample ($\mu\text{g/mL}$)	Final PO_4^- conc. ($\mu\text{g/mL}$)
1	1	15	0.035	30	45
2	1	15	0.070	60	75
3	1	15	0.105	90	105

Table 13. Preparation of standard addition H_2SO_4 for determining % recovery

No.	Stock Std. conc. 150 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. Std. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample 9,800 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. sample ($\mu\text{g/mL}$)	Final SO_4^- conc. ($\mu\text{g/mL}$)
1	1	15	0.031	30	45
2	1	15	0.062	60	75
3	1	15	0.093	90	105

4.6.7.3 ทดสอบ accuracy ของ HCl โดยการหาละค่าการคืนกลับ (% recovery) โดยการเตรียมสารทดสอบที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 9, 15 และ 21 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียมตาม Table 14 โดยทำความเข้าใจความเข้มข้นละ 2 ซ้ำๆ ละ 3 injection เกณฑ์การยอมรับ %

recovery อยู่ในช่วง 95-105 และ %RPD ≤ 2 (AOAC, 2023) เตรียม stock ของตัวอย่างโดยปิเปต HCl มา 1 mL ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI จะได้ความเข้มข้นของ Cl^- เท่ากับ 3,700 $\mu\text{g/mL}$

Table 14. Preparation of standard addition HCl for determining % recovery

No.	Stock Std. conc. 30 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. Std. ($\mu\text{g/mL}$)	Sample 3,700 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Conc. sample ($\mu\text{g/mL}$)	Final Cl^- conc. ($\mu\text{g/mL}$)
1	1	3	0.017	6	9
2	1	3	0.033	12	15
3	1	3	0.093	18	21

5. ผลการทดสอบ

5.1 การทดสอบสถานะ

ทดสอบสารมาตรฐาน seven anion ที่ความเข้มข้นของ NO_2^- , NO_3^- และ Br^- เท่ากับ 60 $\mu\text{g/mL}$ ความเข้มข้นของ PO_4^- และ SO_4^- เท่ากับ 90 $\mu\text{g/mL}$ และความเข้มข้นของ Cl^- เท่ากับ 18 $\mu\text{g/mL}$ ใช้สภาวะการทดสอบตามวิธีทดสอบที่อ้างอิง APHA 2012 โดยเปลี่ยนรุ่น column จาก DionexTM AS4A-SC plus with guard column AG4A-SC เป็น Dionex IonPacTM AS22 RFICTM ขนาด 4 x 250 mm Dionex IonPacTM AS22 และทดสอบตาม condition ที่ 1 ดัง Table 2 พบว่า peak ของ NO_2^- , NO_3^- และ Br^- ปรากฏที่ 4.070, 5.563 และ 4.913 นาที และ peak ของ PO_4^- , SO_4^- ปรากฏที่ 10.967 และ 13.447 นาที และ peak ของ Cl^- ปรากฏที่ 3.263 นาที ดัง Fig 1

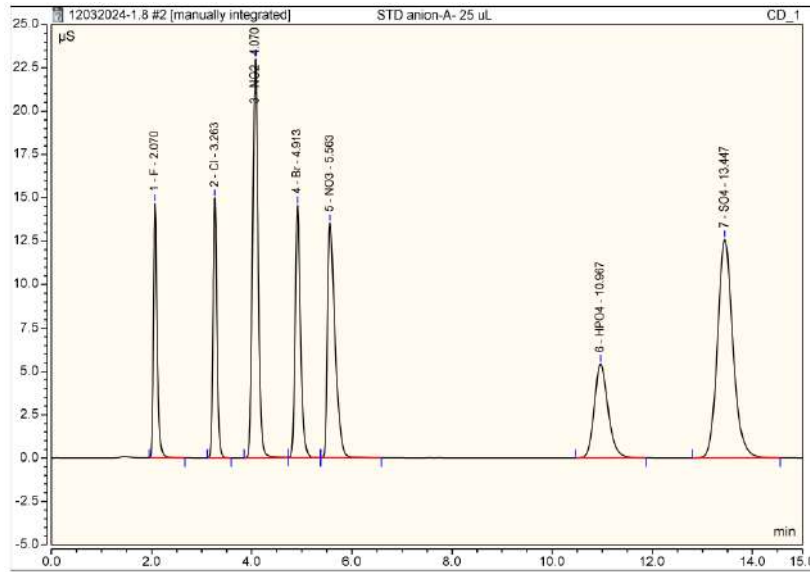


Fig 1 chromatogram Standard solutions of seven anions based on the APHA (2012) testing method condition 1

ทดสอบสารมาตรฐาน seven anion ที่ความเข้มข้นของ NO₂⁻, NO₃⁻ และ Br⁻ เท่ากับ 60 μg/mL ความเข้มข้นของ PO₄⁻ และ SO₄⁻ เท่ากับ 90 μg/mL และความเข้มข้นของ Cl⁻ เท่ากับ 18 μg/mL ใช้สภาวะตาม condition ที่ 2 Table 2 พบว่า peak ของ NO₂⁻, NO₃⁻ และ Br⁻ ปรากฏที่ 3.340, 4.480 และ 3.970 นาที และ peak ของ PO₄⁻, SO₄⁻ ปรากฏที่ 6.500 และ 7.637 นาที และ peak ของ Cl⁻ ปรากฏที่ 2.737 นาที ดัง Fig 2

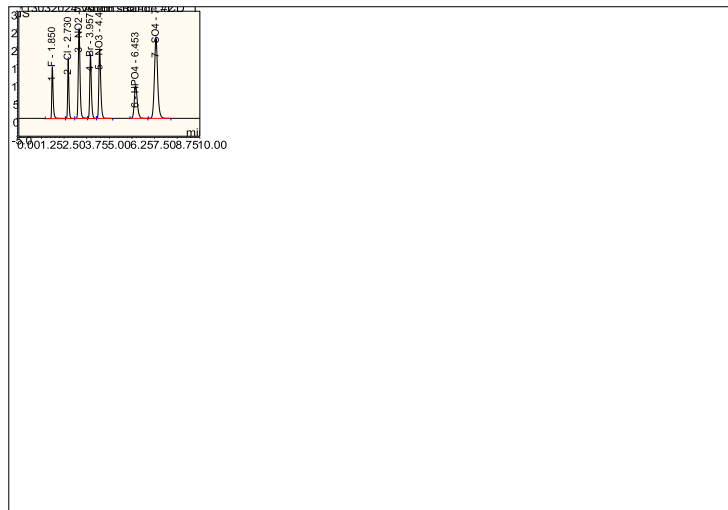


Fig 2 chromatogram seven-anion standard solutions prepared under condition 2

เมื่อทดสอบตัวอย่าง mix sample ใช้ condition ที่ 2 พบว่า สามารถแยก peak ของ NO_3^- และ PO_4^- ได้อย่างชัดเจน โดย peak ของ NO_3^- ปรากฏที่ 4.477 นาที และ PO_4^- ปรากฏที่ 6.470 นาที ดังรูปที่ 3 มีค่า resolution ของ NO_3^- เท่ากับ 7.8 มี tailing factor ของ NO_3^- เท่ากับ 1.4 และ PO_4^- เท่ากับ 1.2 ดัง Fig 3

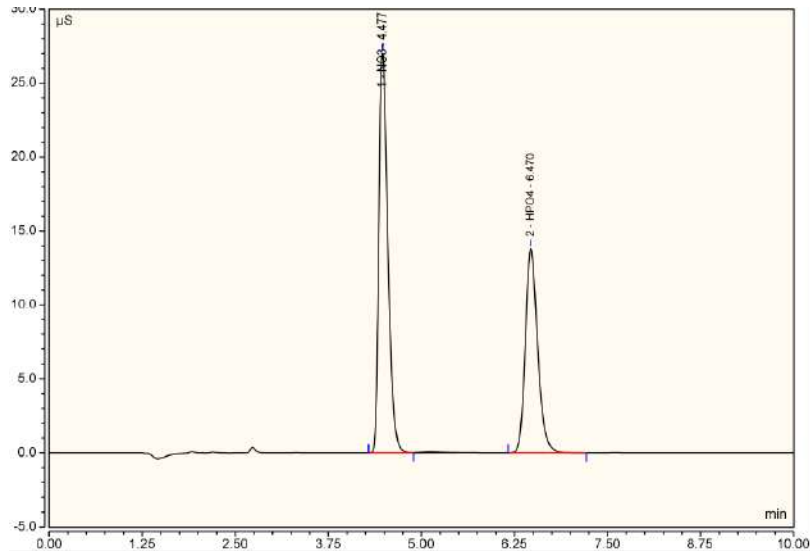


Fig 3 chromatogram of mix sample under condition 2

ทดสอบตัวอย่าง NaNO_2 โดยใช้ condition ที่ 2 พบว่า peak ของ NO_2^- ปรากฏชัดเจน ที่ 3.327 นาที ดัง Fig 4

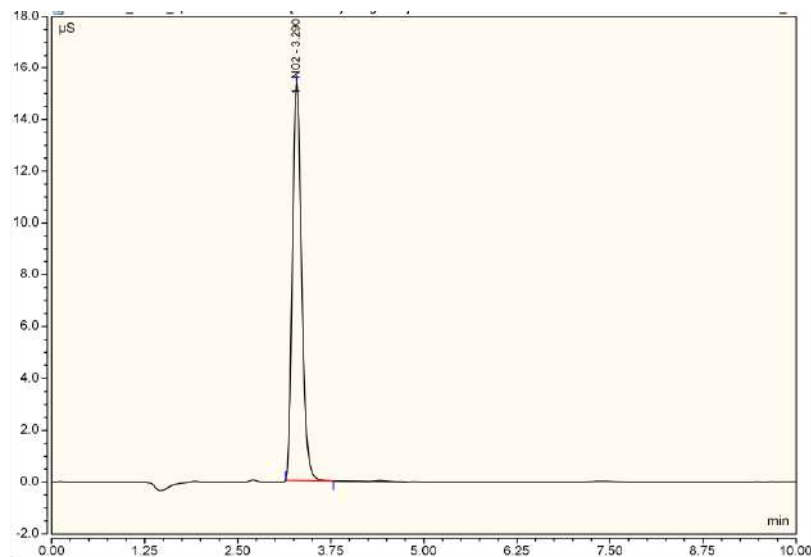


Fig 4 chromatogram of NaNO_2 under condition 2

ทดสอบตัวอย่าง HNO_3 โดยใช้ condition ที่ 2 พบว่า peak ของ NO_3^- ปรากฏ
ชัดเจน ที่ 4.450 นาที ดัง Fig 5

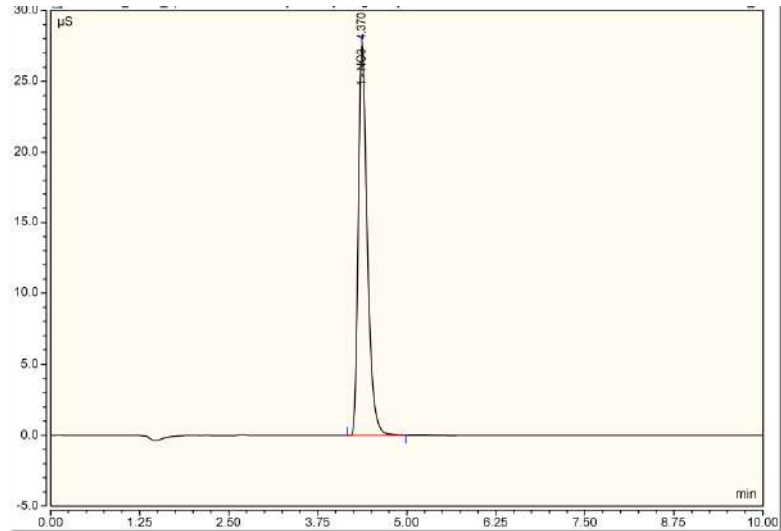


Fig 5 chromatogram of HNO_3 under condition 2

ทดสอบตัวอย่าง KBr โดยใช้ condition ที่ 2 พบว่า peak ของ Br^- ปรากฏชัดเจน
ที่ 3.953 นาที ดัง Fig 6

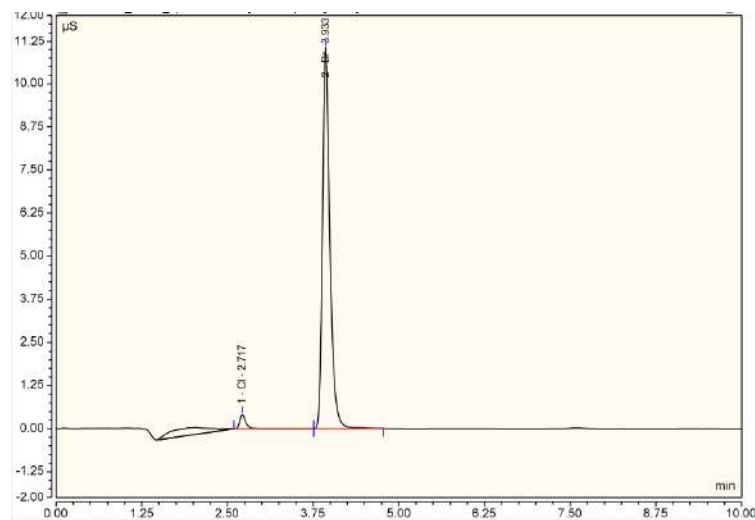


Fig 6 chromatogram of KBr under condition 2

ทดสอบตัวอย่าง H_3PO_4 โดยใช้ condition ที่ 2 พบว่า peak ของ PO_4^- ปรากฏ
ชัดเจน ที่ 6.447 นาที Fig 7

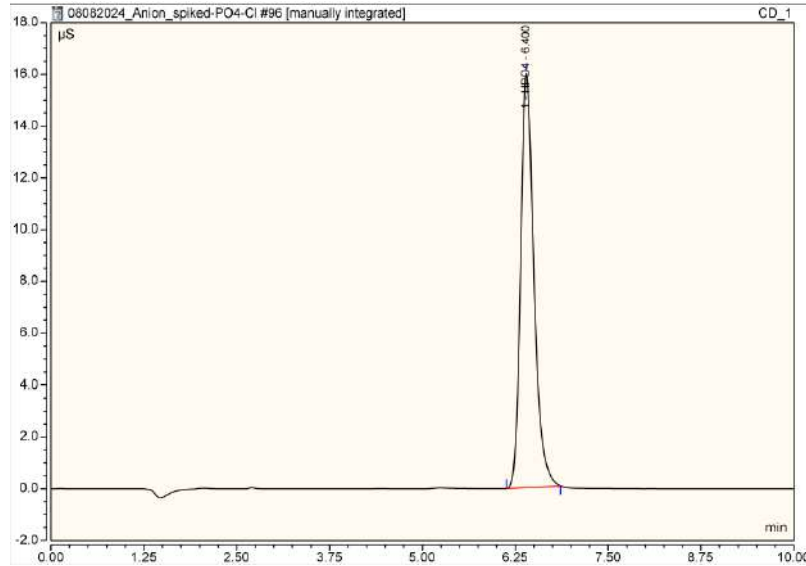


Fig 7 chromatogram of H_3PO_4 under condition 2

ทดสอบตัวอย่าง H_2SO_4 โดยใช้ condition ที่ 2 พบว่า peak ของ SO_4^- ปรากฏ
ชัดเจน ที่ 7.637 นาที ดัง Fig 8

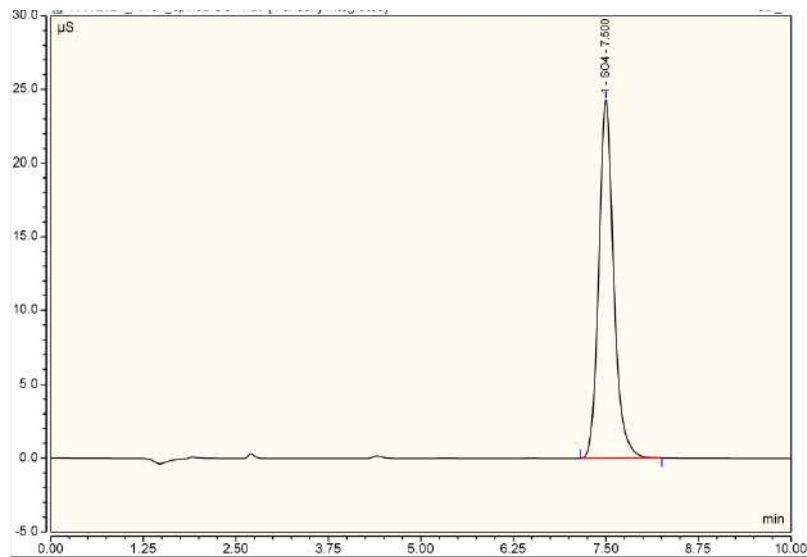


Fig 8 chromatogram of H_2SO_4 under condition 2

ทดสอบตัวอย่าง HCl โดยใช้ condition ที่ 2 พบว่า peak ของ Cl^- ปรากฏชัดเจน
ที่ 2.750 นาที ดัง Fig 9

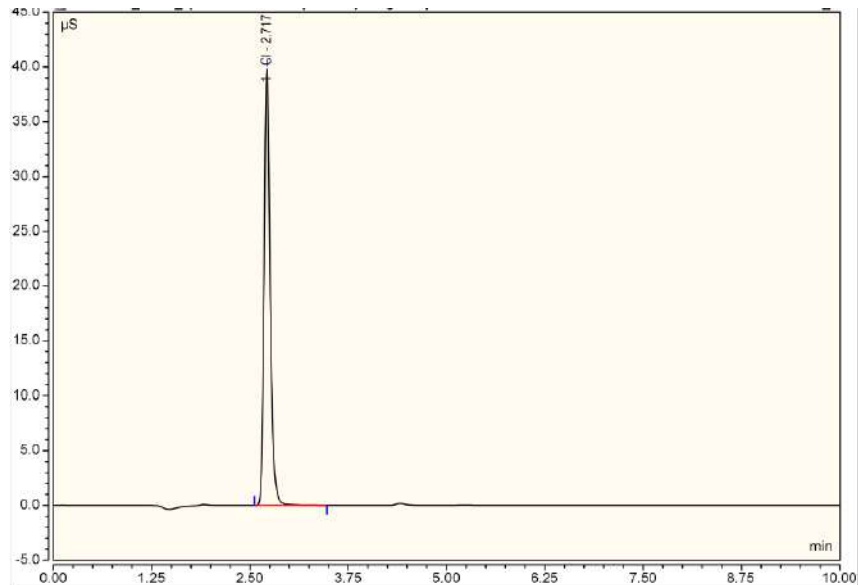


Fig 9 chromatogram of HCl under condition 2

5.2 การทดสอบช่วงของการวิเคราะห์ (range)

5.2.1 ผลการทดสอบ range ของสารมาตรฐาน NO_2^- , NO_3^- , และ Br^- ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.0 – 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ดัง Table 15-17 พบว่า % RSD ของ NO_2^- ระหว่างซ้ำอยู่ในช่วง 0.05 – 1.96 % RSD ของ NO_3^- อยู่ในช่วง 0.03 – 0.49 และ % RSD ของ Br^- อยู่ในช่วง 0.04 – 1.74 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (% RSD \leq 2) เมื่อนำ area ไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่า correlation coefficient (r) ดัง Fig 10-12 พบว่ามีค่า r ของ NO_2^- , NO_3^- , และ Br^- เท่ากับ 0.9998, 0.9989 และ 0.9990 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ ($r > 0.99$) ทั้งหมด

Table 15. Results of range testing for NO₂⁻ standard solution

ความเข้มข้น (µg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
1.00	0.0507	0.0504	0.0505	0.0505	0.0002	0.30
2.50	0.1258	0.1247	0.1230	0.1245	0.0014	1.14
5.00	0.2566	0.2554	0.2566	0.2562	0.0007	0.27
10.00	0.5181	0.5185	0.5179	0.5182	0.0003	0.05
19.99	1.1415	1.1008	1.1073	1.1165	0.0219	1.96
29.99	1.6479	1.6400	1.6428	1.6436	0.0040	0.25
39.99	2.2824	2.2851	2.2883	2.2853	0.0030	0.13
49.99	2.8650	2.8690	2.8634	2.8658	0.0029	0.10
59.98	3.4319	3.4276	3.4290	3.4295	0.0022	0.06
69.98	4.0314	4.0623	4.0521	4.0486	0.0158	0.39
79.98	4.6565	4.6532	4.6522	4.6540	0.0023	0.05
89.97	5.2420	5.2465	5.2377	5.2421	0.0044	0.08
99.97	5.8262	5.8323	5.8340	5.8308	0.0041	0.07

Table 16. Results of range testing for NO₃⁻ standard solution

ความเข้มข้น (µg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
1.00	0.0404	0.0406	0.0405	0.0405	0.0001	0.24
2.50	0.1009	0.1003	0.1000	0.1004	0.0005	0.48
5.00	0.2062	0.2061	0.2062	0.2062	0.0001	0.03
10.01	0.4158	0.4164	0.4166	0.4163	0.0004	0.09
20.01	0.9049	0.8915	0.9010	0.8991	0.0069	0.77
30.02	1.3531	1.3399	1.3471	1.3467	0.0066	0.49
40.02	1.8665	1.8650	1.8656	1.8657	0.0007	0.04
50.03	2.3863	2.3913	2.3841	2.3872	0.0037	0.15
60.03	2.9075	2.9022	2.9031	2.9043	0.0028	0.10
70.04	3.4614	3.4751	3.4657	3.4674	0.0070	0.20
80.04	4.0384	4.0314	4.0150	4.0283	0.0120	0.30
90.05	4.6152	4.6162	4.6122	4.6145	0.0021	0.05
100.05	5.2035	5.2021	5.2047	5.2034	0.0013	0.03

Table 17. Results of range testing for Br⁻ standard solution

ความเข้มข้น (µg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
1.00	0.0320	0.0322	0.0323	0.0322	0.0002	0.57
2.49	0.0817	0.0799	0.0789	0.0802	0.0014	1.74
4.99	0.1639	0.1639	0.1643	0.1640	0.0002	0.14
9.98	0.3312	0.3303	0.3314	0.3310	0.0006	0.18
19.96	0.7193	0.7048	0.7100	0.7114	0.0074	1.03
29.94	1.0641	1.0527	1.0591	1.0587	0.0057	0.54
39.92	1.4760	1.4752	1.4755	1.4756	0.0004	0.03
49.90	1.8808	1.8825	1.8779	1.8804	0.0023	0.12
59.87	2.2817	2.2821	2.2791	2.2810	0.0016	0.07
69.85	2.7090	2.7326	2.7280	2.7232	0.0125	0.46
79.83	3.1681	3.1622	3.1522	3.1608	0.0080	0.25
89.81	3.6252	3.6269	3.6226	3.6249	0.0022	0.06
99.79	4.0831	4.0809	4.0836	4.0825	0.0014	0.04

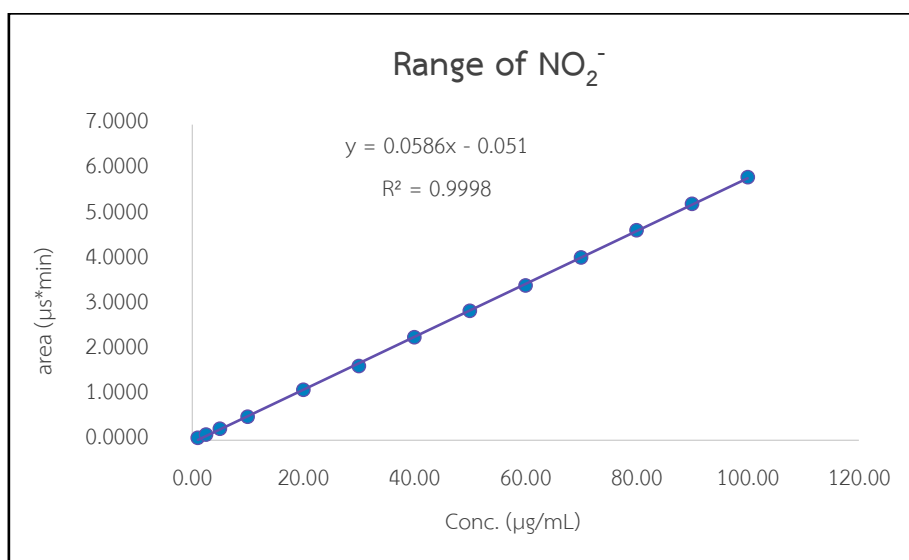


Fig 10 Calibration curve of range for standard solution NO₂⁻

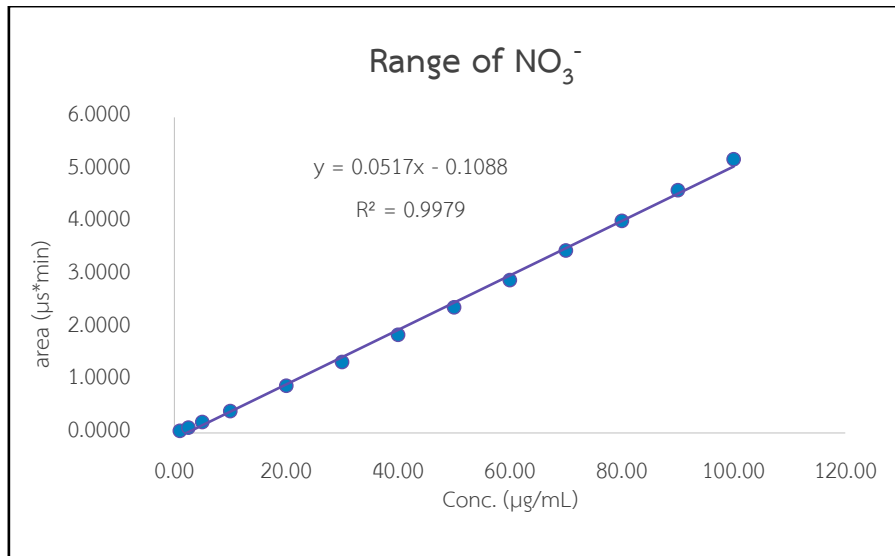


Fig 11 Calibration curve of range for standard solution NO₃⁻

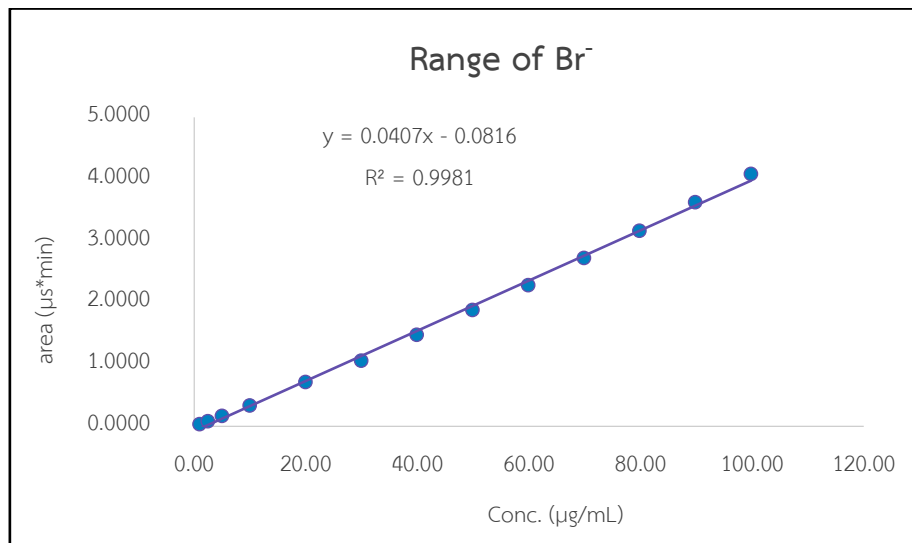


Fig 12 Calibration curve of range for standard solution Br⁻

5.2.2 ผลการทดสอบ range ของสารมาตรฐาน PO_4^- และ SO_4^- ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.5 – 150 $\mu\text{g/mL}$ ดัง Table 17-18 พบว่า % RSD ของ PO_4^- ระหว่างซ้ำอยู่ในช่วง 0.03 – 1.75 และ % RSD ของ SO_4^- อยู่ในช่วง 0.03 – 0.53 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (% RSD \leq 2) เมื่อนำ area ไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่า correlation coefficient (r) ดัง Fig 13-14 พบว่ามีค่า r ของ PO_4^- และ SO_4^- เท่ากับ 0.9990 และ 0.9989 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ ($r > 0.99$)

Table 17. Results of range testing for PO_4^- standard solution

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
1.5	0.0308	0.0304	0.0315	0.0309	0.0005	1.75
3.75	0.0763	0.0755	0.0762	0.0760	0.0004	0.55
7.5	0.1582	0.1582	0.1581	0.1582	0.0001	0.03
14.99	0.3183	0.3193	0.3191	0.3189	0.0005	0.17
29.97	0.6746	0.6757	0.6761	0.6755	0.0008	0.11
44.96	1.0110	1.0088	1.0048	1.0082	0.0031	0.31
59.94	1.3762	1.3734	1.3739	1.3745	0.0015	0.11
74.93	1.7613	1.7707	1.7585	1.7635	0.0064	0.36
89.92	2.1554	2.1430	2.1443	2.1476	0.0068	0.32
104.90	2.5735	2.5955	2.5718	2.5803	0.0132	0.51
119.89	2.9810	2.9720	2.9761	2.9764	0.0045	0.15
134.87	3.4088	3.4103	3.4087	3.4093	0.0009	0.03
149.86	3.8393	3.8320	3.8363	3.8359	0.0037	0.10

Table 18. Results of range testing for SO_4^- standard solution

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
1.50	0.0798	0.0793	0.0789	0.0793	0.0004	0.53
3.74	0.1968	0.1970	0.1963	0.1967	0.0004	0.20
7.48	0.4054	0.4075	0.4072	0.4067	0.0011	0.27
14.96	0.8203	0.8198	0.8202	0.8201	0.0002	0.03
29.92	1.7620	1.7577	1.7604	1.7600	0.0022	0.12
44.87	2.6498	2.6429	2.6338	2.6422	0.0081	0.31
59.83	3.6276	3.6226	3.6229	3.6244	0.0028	0.08
74.79	4.6570	4.6757	4.6522	4.6616	0.0124	0.27
89.75	5.7087	5.6827	5.6762	5.6892	0.0172	0.30
104.71	6.8327	6.8777	6.8373	6.8492	0.0248	0.36
119.66	7.9170	7.8990	7.9026	7.9062	0.0096	0.12
134.62	9.0477	9.0478	9.0359	9.0438	0.0069	0.08
149.58	10.1705	10.1588	10.1764	10.1685	0.0090	0.09

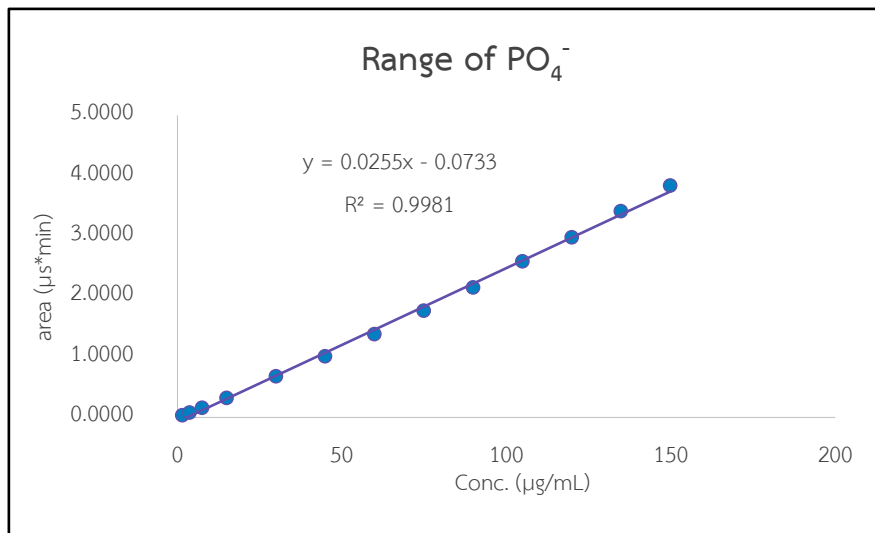


Fig 13 Calibration curve of range for PO_4^- standard solution

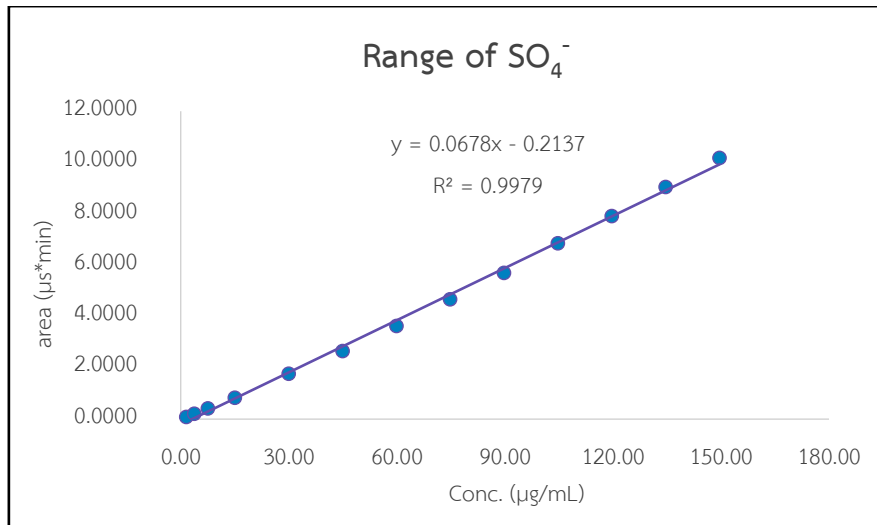


Fig 14 Calibration curve of range for SO_4^{2-} standard solution

5.2.3 ผลการทดสอบ range ของสารมาตรฐาน Cl^- ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.3 – 30 $\mu\text{g/mL}$ ดัง Table 19 พบว่า % RSD ของ ระหว่างซ้ำอยู่ในช่วง 0.02 – 1.26 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (% RSD \leq 2) เมื่อนำ area ไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่า correlation coefficient (r) ดัง Fig 15 พบว่ามีค่า r เท่ากับ 0.9994 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ ($r > 0.99$)

Table 19. Results of range testing for Cl^- standard solution

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
0.30	0.0303	0.0299	0.0302	0.0302	0.0002	0.66
0.75	0.0623	0.0633	0.0618	0.0625	0.0008	1.26
1.50	0.1265	0.1257	0.1263	0.1262	0.0004	0.31
3.01	0.2355	0.2352	0.2355	0.2354	0.0002	0.09
6.02	0.5122	0.5040	0.5073	0.5078	0.0041	0.81
9.02	0.7363	0.7366	0.7345	0.7358	0.0012	0.16
12.03	1.0691	1.0649	1.0630	1.0656	0.0031	0.29
15.04	1.3200	1.3267	1.3201	1.3223	0.0038	0.29
18.05	1.5829	1.5808	1.5779	1.5805	0.0025	0.16
21.06	1.8739	1.8782	1.8758	1.8760	0.0022	0.12
24.06	2.1955	2.1986	2.1953	2.1964	0.0019	0.08
27.07	2.4801	2.4821	2.4794	2.4805	0.0014	0.06
30.08	2.7867	2.7856	2.7867	2.7863	0.0006	0.02

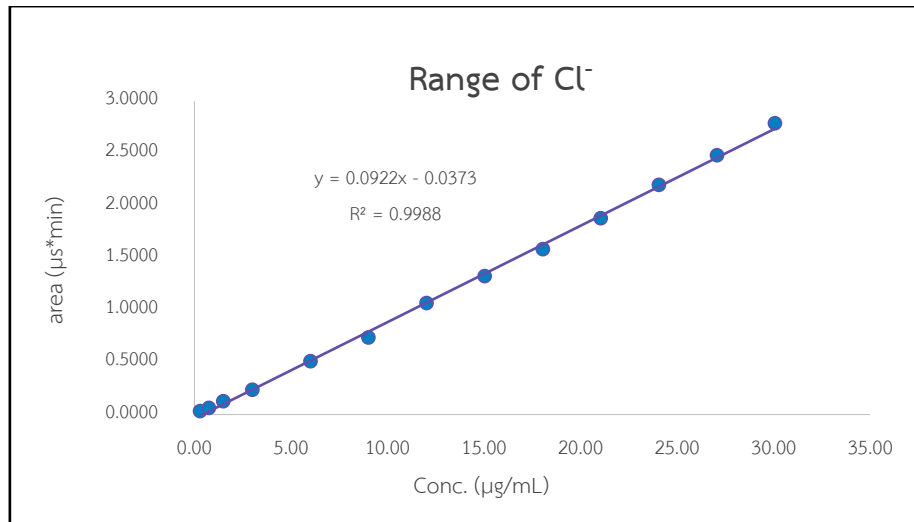


Fig 15 Calibration curve of range for Cl⁻ standard solution

5.3 การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity)

5.3.1 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน NO₂⁻, NO₃⁻, และ Br⁻ โดยเตรียม calibration curve ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 20 – 80 µg/mL ดัง Table 20-22 พบว่า % RSD ของ NO₂⁻ ระหว่างซ้ำอยู่ในช่วง 0.10 – 1.13 % RSD ของ NO₃⁻ อยู่ในช่วง 0.15 – 0.88 และ % RSD ของ Br⁻ อยู่ในช่วง 0.16 – 1.55 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (% RSD ≤ 2) เมื่อนำ area ไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่า correlation coefficient (*r*) ดัง Fig 15-17 พบว่ามีค่า *r* ของ NO₂⁻, NO₃⁻, และ Br⁻ เท่ากับ 0.9998, 0.9995 และ 0.9994 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (*r* > 0.99) ทั้งหมด

Table 20. Results of linearity testing for NO₂⁻ standard solution

ความเข้มข้น (µg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
19.99	1.0978	1.0928	1.0891	1.0932	0.0044	0.40
29.99	1.6820	1.7066	1.7086	1.6991	0.0148	0.87
39.99	2.3274	2.2825	2.3284	2.3128	0.0262	1.13
49.99	2.9249	2.9036	2.9193	2.9159	0.0110	0.38
59.98	3.5002	3.4965	3.5154	3.5040	0.0100	0.29
69.98	4.1159	4.1243	4.1189	4.1197	0.0043	0.10
79.98	4.7446	4.7759	4.7581	4.7595	0.0157	0.33

Table 21. Results of linearity testing for NO₃⁻ standard solution

ความเข้มข้น (µg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
20.01	0.8974	0.8923	0.8931	0.8943	0.0027	0.30
30.02	1.3976	1.4177	1.4205	1.4120	0.0125	0.88
40.02	1.9360	1.9161	1.9350	1.9290	0.0112	0.58
50.03	2.4758	2.4431	2.4623	2.4604	0.0165	0.67
60.03	2.9964	2.9898	3.0090	2.9984	0.0098	0.33
70.04	3.5865	3.5812	3.5759	3.5812	0.0053	0.15
80.04	4.1729	4.2021	4.1801	4.1851	0.0152	0.36

Table 22. Results of linearity testing for Br⁻ standard solution

ความเข้มข้น (µg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
19.96	0.7104	0.7062	0.7042	0.7069	0.0031	0.44
29.94	1.0986	1.1282	1.1290	1.1186	0.0174	1.55
39.92	1.5284	1.5041	1.5274	1.5200	0.0137	0.90
49.90	1.9481	1.9289	1.9380	1.9383	0.0096	0.50
59.87	2.3573	2.3527	2.3666	2.3589	0.0071	0.30
69.85	2.8148	2.8098	2.8059	2.8102	0.0045	0.16
79.83	3.2763	3.2948	3.2829	3.2847	0.0093	0.28

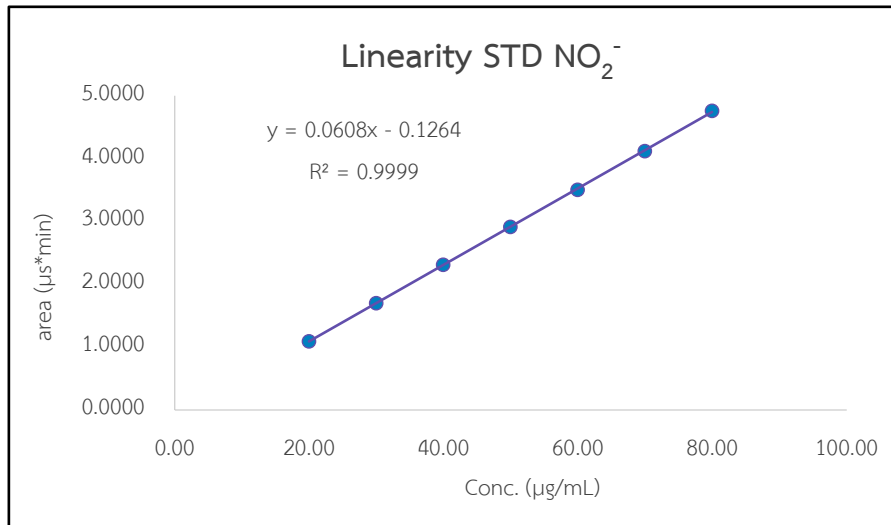


Fig 16 Calibration curve of linearity for NO₂⁻ standard solution

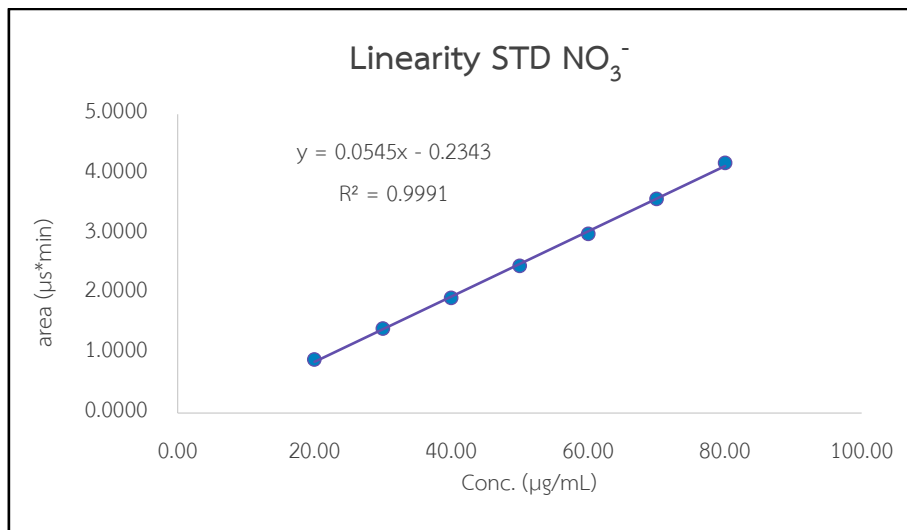


Fig 17 Calibration curve of linearity for NO₃⁻ standard solution

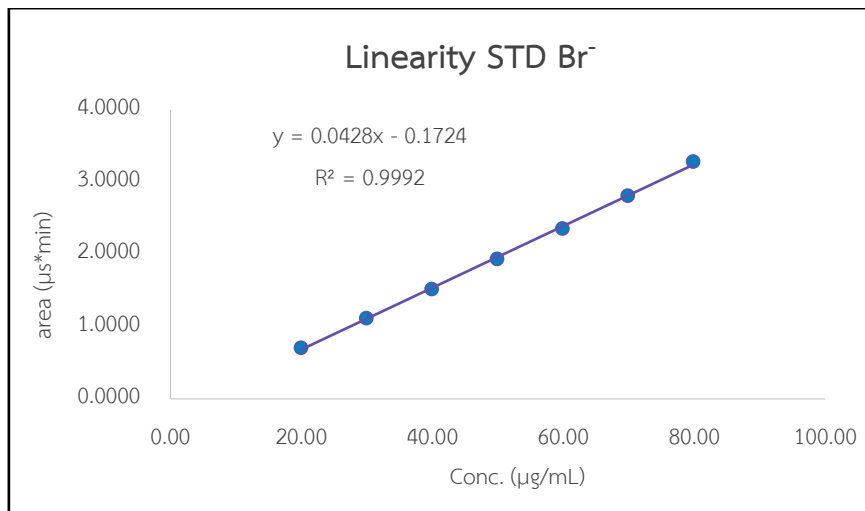


Fig 18 Calibration curve of linearity for Br⁻ standard solution

5.3.2 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน PO₄⁻ และ SO₄⁻ โดยเตรียม calibration curve ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 30 – 120 μg/mL ดัง Table 23-24 พบว่า % RSD ของ PO₄⁻ ระหว่างซ้ำอยู่ในช่วง 0.03 – 0.89 และ % RSD ของ SO₄⁻ อยู่ในช่วง 0.04 – 0.50 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (% RSD ≤ 2) เมื่อนำ area ไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่า correlation coefficient (r) ดัง Fig 18-19 พบว่ามีค่า r ของ PO₄⁻ และ SO₄⁻ เท่ากับ 0.9994 และ 0.9994 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (r > 0.99) ทั้งหมด

Table 23. Results of linearity testing for PO₄⁻ standard solution

ความเข้มข้น (μg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
29.97	0.6732	0.6782	0.6793	0.6769	0.0032	0.48
44.96	1.0438	1.0433	1.0450	1.0441	0.0009	0.08
59.94	1.4295	1.4257	1.4273	1.4275	0.0019	0.14
74.93	1.8413	1.8217	1.8214	1.8282	0.0114	0.62
89.92	2.2324	2.2317	2.2313	2.2318	0.0006	0.03
104.90	2.6620	2.6561	2.6523	2.6568	0.0049	0.18
119.89	3.0912	3.1447	3.1065	3.1141	0.0276	0.89

Table 24. Results of linearity testing for SO_4^- standard solution

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
29.92	1.7582	1.7574	1.7590	1.7582	0.0008	0.04
44.87	2.7250	2.7161	2.7198	2.7203	0.0045	0.16
59.83	3.7467	3.7368	3.7412	3.7415	0.0050	0.13
74.79	4.8320	4.7898	4.7917	4.8045	0.0238	0.50
89.75	5.8840	5.8765	5.8788	5.8798	0.0039	0.07
104.71	7.0138	7.0127	6.9922	7.0062	0.0122	0.17
119.66	8.1519	8.2681	8.1787	8.1996	0.0609	0.74

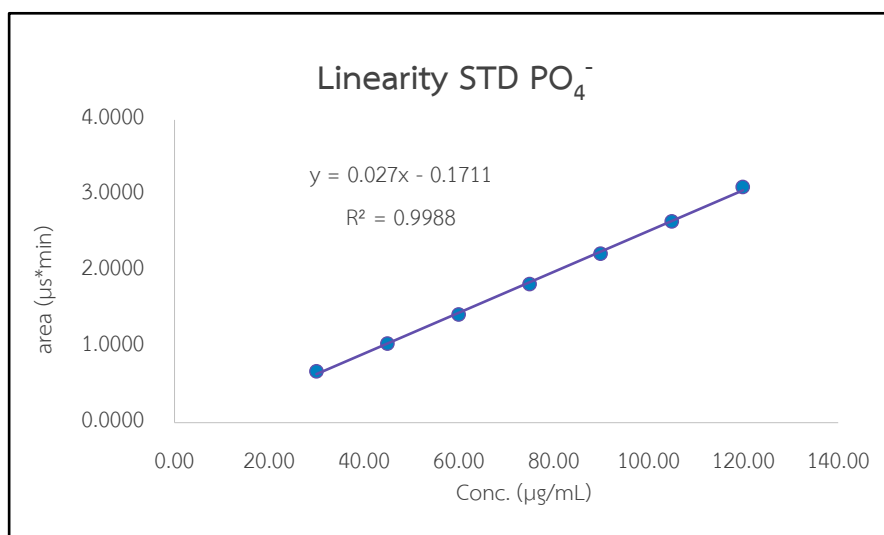


Fig 19 Calibration curve of linearity for PO_4^- standard solution

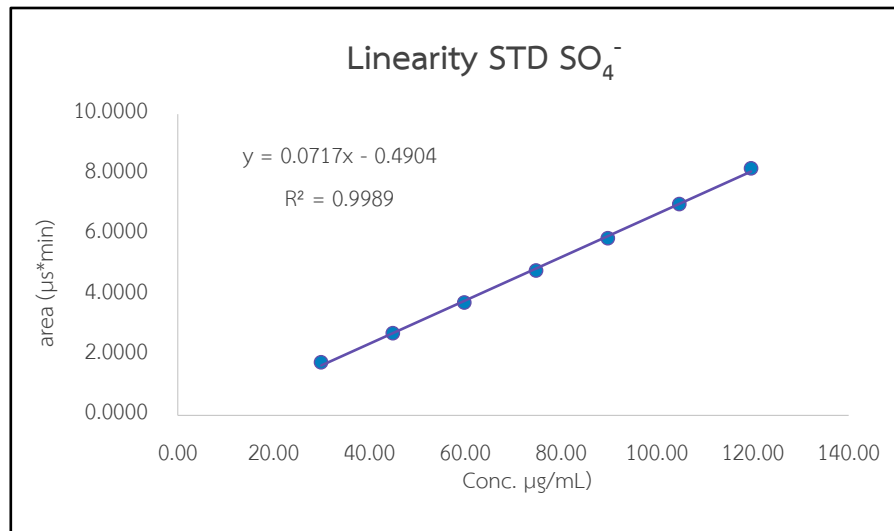


Fig 20 Calibration curve of linearity for SO₄⁻ standard solution

5.3.3 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของสารมาตรฐาน Cl⁻ โดยเตรียม calibration curve ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 6.0 – 24 μg/mL ดัง Table 25 พบว่า % RSD อยู่ระหว่างค่าอยู่ในช่วง 0.13 – 1.65 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (% RSD ≤ 2) เมื่อนำ area ไปสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อหาค่า correlation coefficient (r) ดัง Fig 21 พบว่ามีค่า r เท่ากับ 0.9995 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ (r > 0.99) ทั้งหมด

Table 25. Results of linearity testing for Cl⁻ standard solution

ความเข้มข้น (μg/mL)	Area			Average	SD	% RSD
	1	2	3			
6.02	0.4903	0.4905	0.4915	0.4907	0.0006	0.13
9.02	0.7594	0.7831	0.7794	0.7740	0.0128	1.65
12.03	1.0784	1.0530	1.0864	1.0726	0.0174	1.62
15.04	1.3514	1.3364	1.3422	1.3434	0.0075	0.56
18.05	1.6125	1.6095	1.6183	1.6134	0.0045	0.28
21.06	1.9129	1.9166	1.9105	1.9133	0.0031	0.16
24.06	2.2319	2.2439	2.2366	2.2375	0.0061	0.27

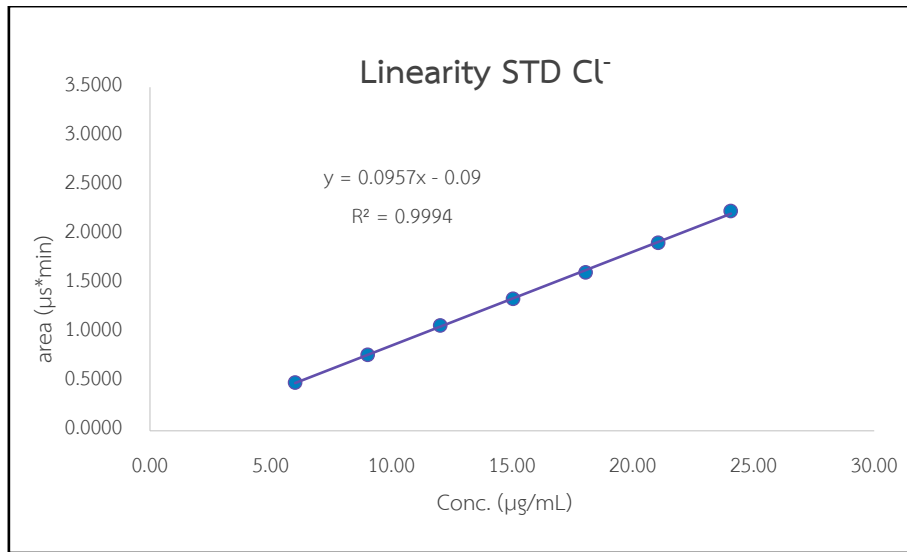


Fig 21 Calibration curve of linearity for Cl⁻ standard solution

5.4 ผลการทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

5.4.1 ผลการทดสอบความแม่นยำของ NaNO₂, HNO₃ และ KBr จากการหาค่าการคืนกลับ (% recovery) จำนวน 3 ความเข้มข้นโดย NO₂⁻ ผลทดสอบอยู่ในช่วง 96.5 – 100.0 %RPD อยู่ในช่วง 0.30-1.73, NO₃⁻ อยู่ในช่วง 98.9 – 105.0 %RPD อยู่ในช่วง 0.13 - 1.25 และ Br⁻ อยู่ในช่วง 97.4 – 105.0 %RPD อยู่ในช่วง 0.45 - 1.21 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด (% recovery 95-105 และ %RPD ≤ 2 (AOAC, 2023) ดัง Table 26

Table 26. Result of % recovery for NaNO₂, HNO₃ and KBr

	Concentration level (µg/mL)	% recovery	% RPD
NO ₂ ⁻	30	96.5	0.97
	50	100.0	1.73
	70	98.3	0.30
NO ₃ ⁻	30	98.9	1.25
	50	104.1	0.89
	70	105.0	0.13
Br ⁻	30	97.8	0.50
	50	97.4	0.45
	70	105.0	1.21

5.4.2 ผลการทดสอบความแม่นยำของ PO_4^- และ SO_4^- จากการหาละยละลายค่าการคืนกลับ (% recovery) จำนวน 3 ความเข้มข้นโดย PO_4^- ผลทดสอบอยู่ในช่วง 98.9 – 104.3 % RPD อยู่ในช่วง 0.20 - 1.01 และ SO_4^- อยู่ในช่วง 98.3 – 105.0 %RPD อยู่ในช่วง 0.19 – 0.81 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด (% recovery 95-105 และ %RPD \leq 2 (AOAC, 2023) ดัง Table 27

Table 27. Result of % recovery for PO_4^- and SO_4^-

	Concentration level ($\mu\text{g/mL}$)	% recovery	% RPD
PO_4^-	45	98.9	0.20
	75	101.9	0.40
	105	104.3	1.01
SO_4^-	45	98.4	0.19
	75	98.3	0.81
	105	100.8	0.52

5.4.3 ผลการทดสอบความแม่นยำของ Cl^- จากการหาละยละลายค่าการคืนกลับ (% recovery) จำนวน 3 ความเข้มข้นโดย ผลทดสอบอยู่ในช่วง 95.7 – 104.1 % RPD อยู่ในช่วง 0.01 - 1.18 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด (% recovery 95-105 และ %RPD \leq 2 (AOAC, 2023) ดัง Table 28

Table 28. Result of % recovery for Cl^-

	Concentration level ($\mu\text{g/mL}$)	% recovery	% RPD
Cl^-	9	95.7	0.01
	15	104.1	1.18
	21	97.2	0.57

1. สรุปผลการทดสอบ

จากการพัฒนาวิธีทดสอบหาปริมาณสาร nitric acid และ phosphoric acid ด้วยเทคนิค IC ได้ condition ที่เหมาะสมตาม condition 2 เนื่องจากทุก factor การทดสอบอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ นอกจากนี้ยังมีค่า Run time ที่ได้มีระยะเวลาในการฉีดตัวอย่างสั้นกว่า Condition ที่ 1 ดัง Table 29

Table 29. Summary of factors for condition testing results

รายการ	Condition 1			Condition 2		
	Resolution	Tailing factor	Retention time (min)	Resolution	Tailing factor	Retention time (min)
Cl ⁻	4.9	1.2	3.263	4.0	1.1	2.730
NO ₂ ⁻	4.3	1.1	4.070	3.7	1.2	3.330
NO ₃ ⁻	14.2	1.8	5.563	8.0	1.4	4.480
Br ⁻	2.8	1.3	4.913	2.8	1.3	3.957
PO ₄ ⁻	4.73	1.2	10.967	3.6	1.2	6.453
SO ₄ ⁻	-	1.2	13.447	-	1.1	7.577

หมายเหตุ 1. resolution > 1.5 (USP 2023)

2. tailing factor อยู่ในช่วง 0.8-1.8 (USP 2023)

การทดสอบช่วงของการวิเคราะห์ (range) ของสารมาตรฐาน NO₂⁻, NO₃⁻, และ Br⁻ ที่ช่วงความเข้มข้น 1 – 100 µg/mL สารมาตรฐาน PO₄⁻ และ SO₄⁻ ที่ช่วงความเข้มข้น 1.5 – 150 µg/mL และสารมาตรฐาน Cl⁻ ที่ช่วงความเข้มข้น 0.3 – 30 µg/mL และ linearity ของสารมาตรฐาน NO₂⁻, NO₃⁻, และ Br⁻ และตัวอย่าง NO₃⁻ ที่ช่วงความเข้มข้น 20 – 80 µg/mL สารมาตรฐาน PO₄⁻ และ SO₄⁻ ที่ช่วงความเข้มข้น 30 – 120 µg/mL และสารมาตรฐาน Cl⁻ ที่ช่วงความเข้มข้น 6.0 – 24 µg/mL พบว่า % RSD ระหว่างซ้ำผ่านเกณฑ์การยอมรับ (% RSD ≤ 2) เมื่อนำผลทดสอบมาสร้างกราฟมาตรฐาน และทดสอบความแม่นยำ (accuracy) โดยการหาค่าร้อยละการคืนกลับ (% recovery) ของสารทั้ง 6 ชนิด พบว่าผลการทดสอบผ่านเกณฑ์การยอมรับทั้งหมด (AOAC, 2023) ดัง Table 30 จึงสรุปได้ว่าสามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตัวอย่างวัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์ที่มีสารทั้ง 6 ชนิดเป็น

ส่วนประกอบ และสามารถนำวิธีทดสอบไปขอรับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้ในลำดับต่อไป

Table 30. Summary of test results

	Range ($r > 0.99$)	Linearity ² ($r > 0.99$)	% recovery (95-105%)	สรุป
NO ₂ ⁻	0.9998	0.9999	96.5 – 100.0	ผ่านเกณฑ์การยอมรับ
NO ₃ ⁻	0.9989	0.9991	98.9 – 105.0	ผ่านเกณฑ์การยอมรับ
Br ⁻	0.9990	0.9992	97.4 – 105.0	ผ่านเกณฑ์การยอมรับ
PO ₄ ⁻	0.9990	0.9988	98.9 – 104.3	ผ่านเกณฑ์การยอมรับ
SO ₄ ⁻	0.9989	0.9989	98.3 – 105.0	ผ่านเกณฑ์การยอมรับ
Cl ⁻	0.9994	0.9994	95.7 – 104.1	ผ่านเกณฑ์การยอมรับ

2. ข้อเสนอแนะ

-

3. กิตติกรรมประกาศ

-

4. เอกสารอ้างอิง

กองควบคุมอาหารและยาสัตว์. 2563. การกำหนดข้อมูล เอกสารและหลักฐานการขึ้น

ทะเบียนวัตถุอันตราย พ.ศ. 2563. [Online]. Available:

http://afvc.dld.go.th/webnew/images/All-Law/hazardous-dld/4_announce-dld-hazardous_2563.pdf.

กองควบคุมอาหารและยาสัตว์. 2563. กำหนดเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนจากปริมาณที่กำหนดไว้ของสารสำคัญในวัตถุอันตรายที่กรมปศุสัตว์รับผิดชอบ พ.ศ. 2560. [Online].

Available: http://afvc.dld.go.th/webnew/images/All-Law/hazardous-moac/10_announce-moac-hazardous-2560.pdf.

คณิงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์. 2550. วัตถุอันตรายด้านการปศุสัตว์. สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์กรมปศุสัตว์. 18-32.

ชูติมา ศรีวิบูลย์. 2546. การวิเคราะห์โดยเครื่องโครมาโทกราฟี. ภาควิชาเคมี คณะ
วิทยาศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง. 247

ศศิ เจริญพจน์. 2560. การพัฒนาระบบควบคุมยาสัตว์ วัตถุอันตราย (ผลิตภัณฑ์ฆ่าเชื้อ) และ
เชื้อดื้อยาในการเลี้ยงสัตว์พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่ง
ประเทศไทย. 136-140.

American Public Health Association. 2012. Part 4110 A., 4110 B. Determination
of anion by ion chromatography. In: Standard Method for the
Examination of Water and Wastewater 22nd eds. Laura B. (ed).
Washington, DC: American Public Health Association. 4-5 to 4-9.

AOAC. 2023. Appendix F: Guideline for Standard Method Performance
Requirements. In: Official Methods of Analysis. 22 st ed. G.W. Latimer
(ed.). Maryland, AOAC International. 1-34.

Bajenaru, I. Minca, I. Guran, C. Josceanu, AM. and Bacarum, F. 2013. Validation
of an ion chromatographic method for determination of anions in wet
depositions. [Online]. Available:
[https://www.researchgate.net/publication/272162239_Validation_of_an
_Ion_Chromatographic_Method_for_Determination_of_Anions_in_Wet_
Depositions.](https://www.researchgate.net/publication/272162239_Validation_of_an_Ion_Chromatographic_Method_for_Determination_of_Anions_in_Wet_Depositions)

EURACHEM Guide, The Fitness for Purpose of Analytical Methods A
Laboratory. Guide to Method Validation and Related Topics. United
Kingdom, 2014. [Online]. Available:
https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf

Ivanova, v. Surleva, A. and Koleva, B. 2018. Validation of ion chromatographic
Method for determination of standard inorganic anions in treated and
untreated drinking water. IOP Conf. Series: Materials Science and
Engineering 374 012053, 1-9.

The National Institute for Occupational Safety and Health. 2014. Non-volatile acid by ion chromatography (Sulfuric Acid and Phosphoric Acid) method 7908. [Online]. Available:

<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/7908.pdf>.

The National Institute for Occupational Safety and Health. 2014. Volatile acid by ion chromatography (Hydrogen Chloride, Hydrogen Bromide, Nitric Acid) method 7907. [Online]. Available:

<https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003154/pdfs/7907.pdf>.

The United State Pharmacopeia (USP 46) and the National Formulary (NF 41). 2023. [Online]. Available:

https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B_6_en-US.