



บทที่ 2

วิธีการทดลอง

2.1 อุปกรณ์ และ สารเคมี

1. Parafin oil film, Para film, USA
2. Polypropylene boxes, Raaco, Denmark
3. Syringe tube 5 ml and 10 ml, Nipro, Thailand
4. Membrane filter (0.45 μm , 13 mm i.d) cellulose acetate, Chrom Tech, Inc., England
5. GF/A (110 mm i.d) and cellulose filter paper (No 1, 125 mm), (No 6, 110 nm) and (No 40, 70 nm), Whatman, USA
6. Phosphoric acid (H_3PO_4 , 85%) (S.D. Fine-Chem)
7. Sodium nitrite (NaNO_2 , 97%) (Fluka, Switzerland)
8. Sulfanilamide ($\text{C}_6\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, 98%) (Fluka, Switzerland)
9. Triethanolamine ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$, 99%) (Fluka, Switzerland)
10. N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$, 90%) (Fluka, Switzerland)

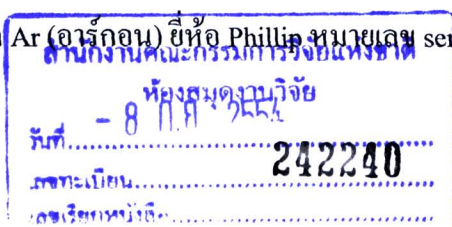
2.2 เครื่องมือ และ อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ

2.2.1 เครื่องมือการทดลอง

1. UV-VIS spectrophotometer, Jasco V 530, Japan
2. Ultrasonic bath, Transsonic Digital S, Elma, USA

2.2.2 อุปกรณ์ประกอบการถ่ายภาพ

1. Lens 24-70mm F2.8L
2. Digital Camera, ยี่ห้อ Canon รุ่น EOS 7D
3. หลอด Ne (นีออน) ยี่ห้อ Phillip หมายเลข serial 93099E, Belgium
4. หลอด Na (โซเดียม) ยี่ห้อ Phillip หมายเลข serial 93122E, Belgium
5. หลอด Ar (อาร์กอน) ยี่ห้อ Phillip หมายเลข serial 93100E, Belgium



2.3 การเตรียมสารละลายสำหรับชุดทดสอบสำหรับการหาปริมาณไนโตรเจนไดออกไซด์

2.3.1 สารละลายดูดซับ (Absorbing solution) (20% v/v of Triethanolamine, TEA)

ดูดสารละลาย 20 มล. ของ TEA ด้วยปิเปตลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เต็มด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water)

2.3.2 สารละลายซัลฟานิลาไมด์ (Sulfanilamide solution)

ซังซัลฟานิลาไมด์ 10.75 กรัม ละลายในกรดฟอสฟอริก 28 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เต็มขวดปรับปริมาตรขนาด 500 มล. ด้วยน้ำปราศจากไอออน

2.3.3 สารละลาย N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (NEDA)

ละลาย N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride 0.1520 กรัม ด้วยน้ำปราศจากไอออนแล้วปรับปริมาตร 100 มล. ด้วยขวดปรับปริมาตร

2.3.4 สารละลายตัวกระทำซอลส์แมน (Saltzman reagent)

ผสมสารละลายซัลฟานิลาไมด์ 10 มล. กับ สารละลาย NEDA 1 มล. เข้าด้วยกัน ควรเก็บไว้ในตู้เย็นและละเว้นจากแสงอาทิตย์

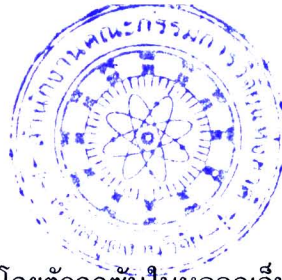
2.3.5 สารละลายมาตรฐานไนไตรท์ (Nitrite standard stock solution: 1,000 mg/L)

จากนี้จะเรียกสารละลายไนโตรเจนไดออกไซด์เพื่อให้เข้าใจง่าย

เตรียมโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) 0.150 กรัม ละลายในน้ำปราศจากแล้วปรับปริมาตร 100 มล. ด้วยขวดปรับปริมาตร

2.4 ชุดทดสอบสำหรับการหาปริมาณไนโตรเจนไดออกไซด์

ชุดทดสอบหาปริมาณไนโตรเจนไดออกไซด์ในอากาศอย่างง่ายพัฒนาโดย Chalermrom (2008) อาศัยหลักการแพร่ของก๊าซในการเก็บตัวอย่างหาปริมาณไนโตรเจนไดออกไซด์ซึ่งเป็นสารมลพิษที่สำคัญตัวหนึ่งในอากาศ อุปกรณ์เก็บตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยหลอดพอลิพรอพิลีนซึ่งบรรจุกระดาษกรองแบบใยแก้ว (GF/A) ชุบด้วยตัวดูดซับไนโตรเจนไดออกไซด์คือ 20% TEA และบรรจุลงในกล่องป้องกันตลอดการเก็บตัวอย่าง เพื่อลดผลกระทบจากสภาวะทาง

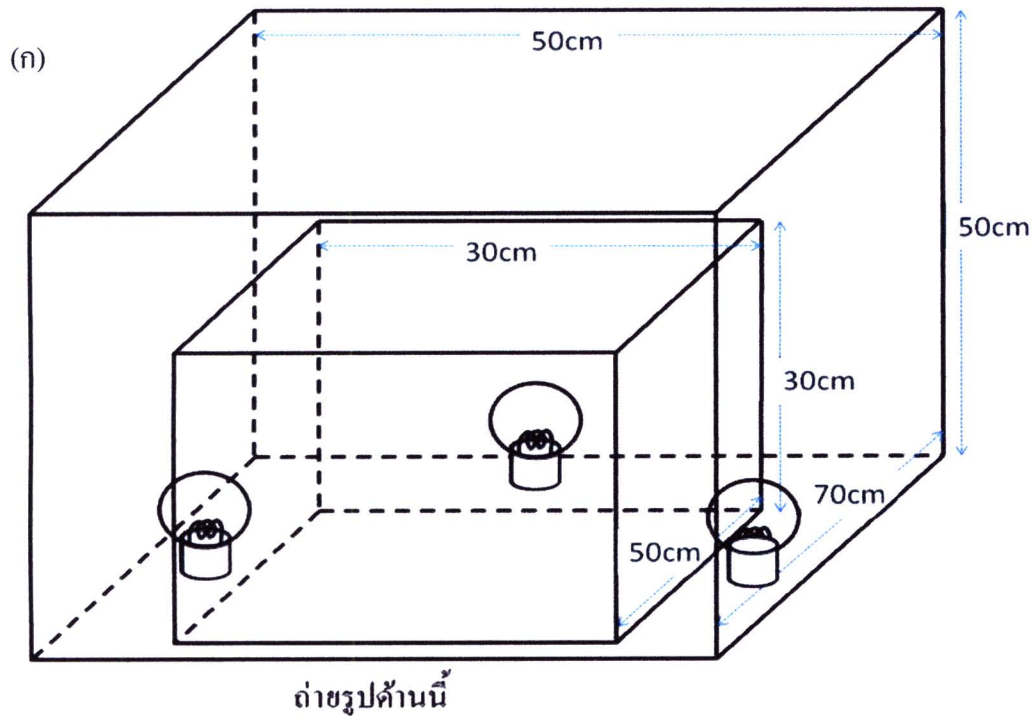


อุตุนิยมวิทยา ในโตรเจนไดออกไซด์ในอากาศถูกจับโดยตัวดูดซับในหลอดเก็บตัวอย่างในรูปของไนไตรท์ หลังจากการเก็บตัวอย่างทำการสกัดตัวอย่างด้วยการเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร และตามด้วยสารละลายซอลท์ซมันน์ 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วนำมาเทียบกับแถบสีมาตรฐานไนโตรเจนไดออกไซด์ (ภาพ 1.6)

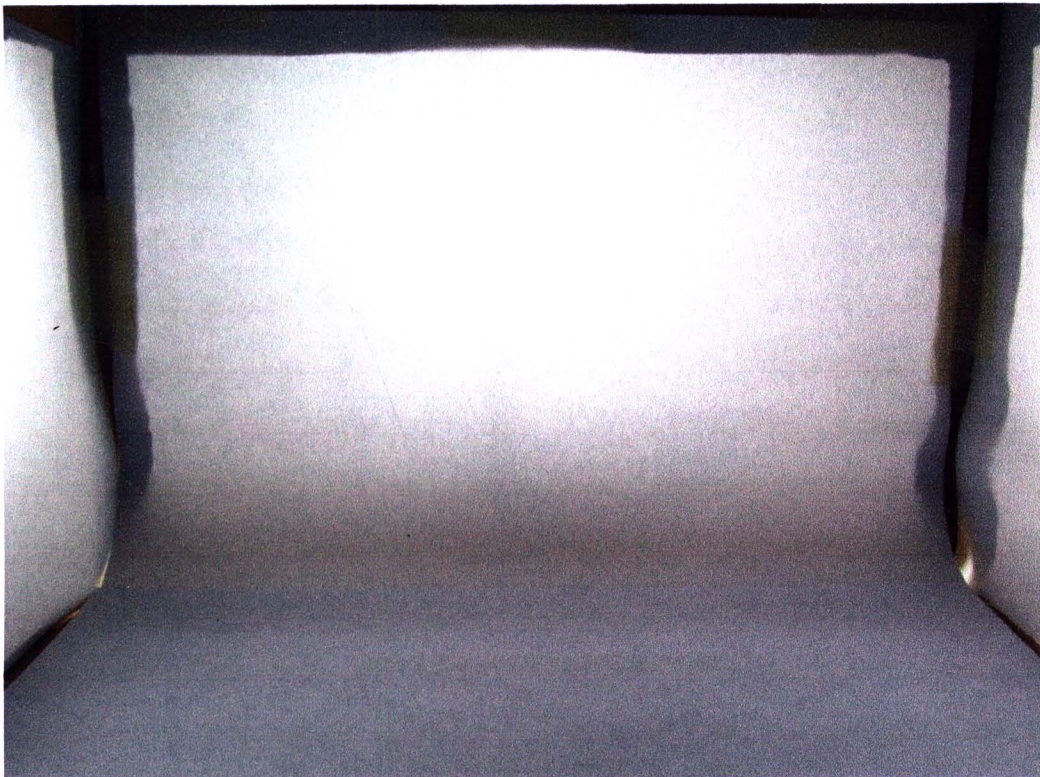
2.5 ขั้นตอนการสอบเทียบวัดสีมาตรฐานเพื่อบ่งชี้ความเข้มข้นของสารละลายไนโตรเจนไดออกไซด์

2.5.1 การสร้างกล่องถ่ายรูปมาตรฐานระบบปิดกั้นแสงจากภายนอก

การถ่ายรูปในแสงธรรมชาติ อาจทำให้เกิดความแตกต่างของแสงได้เนื่องจากแสงสามารถเปลี่ยนความสว่างและอุณหภูมิสีได้ตามปัจจัยแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นเมฆ หรือแม้กระทั่งกำแพงห้องที่มีสีต่างๆ ดังนั้นการสร้างกล่องถ่ายรูปแบบปิดกั้นแสงจากภายนอก แล้วใช้แหล่งกำเนิดแสงประดิษฐ์แบบต่อเนื่องจึงสามารถช่วยให้ควบคุมสภาพแสงให้มีความสว่างและสีที่เหมือนกันตลอดเวลา กล่องถ่ายรูปมีทั้งหมด 2 ชั้น โดยชั้นในมีขนาด 30x50x30 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั้นนอกมีขนาด 50x70x50 ลูกบาศก์เซนติเมตร สร้างจากกล่องกระดาษลูกฟูกที่มีความหนา 0.5 มิลลิเมตร สามารถปิดกั้นแสงจากภายนอกได้เป็นอย่างดี ระหว่างกล่องชั้นนอกและชั้นใน ใช้แหล่งกำเนิดแสงสม่ำเสมอ คือ หลอดประหยัดไฟยี่ห้อฟิลิปส์ (Philips) ขนาด 23 วัตต์ โทนแสงสีขาว (Cool daylight) จำนวน 3 หลอด โดยแต่ละด้านของกล่องชั้นในจะบุด้วยกระดาษ A4 สีขาวเพื่อให้โปร่งแสง ส่วนกล่องด้านนอกเป็นกล่องทึบแสง ปิดกั้นแสงจากภายนอก ตามภาพ 2.1 ด้านหน้าที่เปิดเข้าไปถ่ายรูป ถูกคลุมด้วยผ้าสีดำผืนใหญ่เพื่อป้องกันแสงจากภายนอกเข้ามารบกวนภายในกล่องเวลาถ่ายรูป กล่องถ่ายรูปมาตรฐานระบบปิดกั้นแสงจากภายนอกถูกใช้ในการถ่ายรูปสีของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ กล้องถูกตั้งค่า iso 100, Shutter Speed 1/30s, f 5.6 และ white balance shade และได้ทำการตั้งค่าดังกล่าวเท่าเดิมทุกครั้งที่มีการถ่ายภาพจากกล่องถ่ายรูปมาตรฐานนี้



(ข)



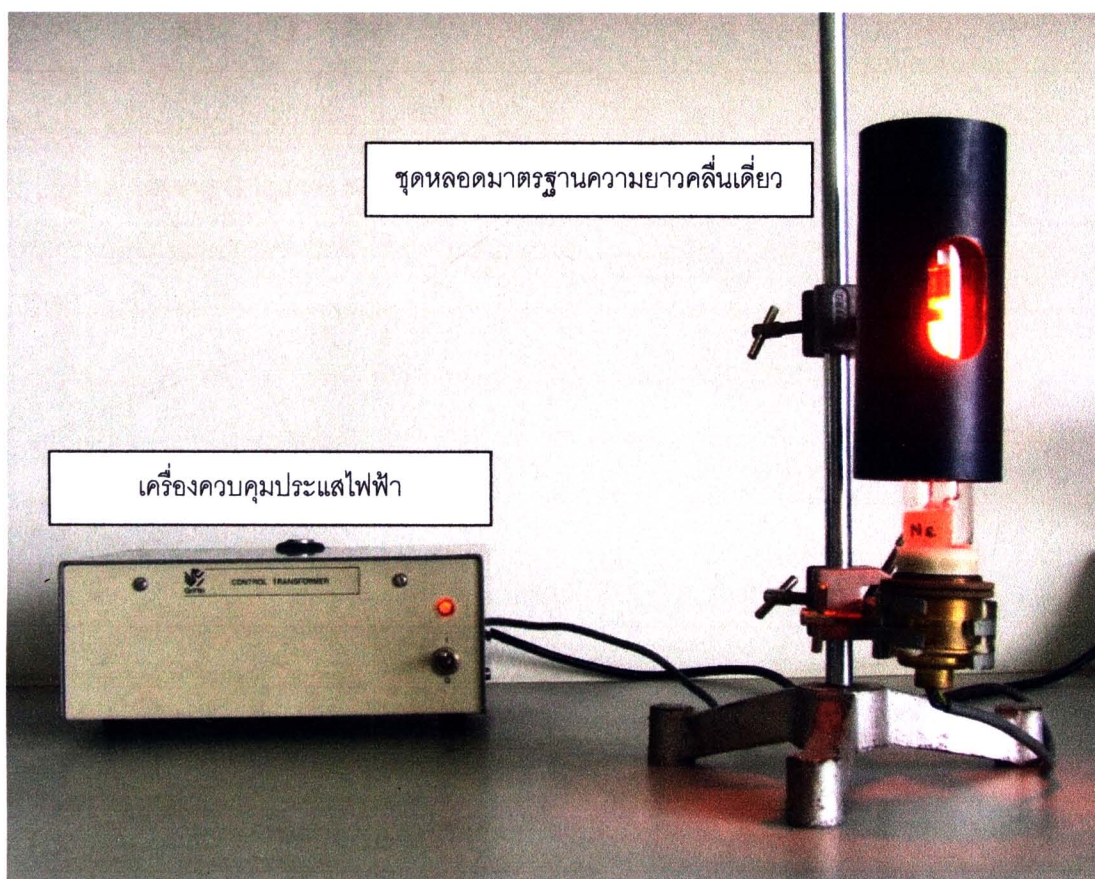
ภาพ 2.1 (ก) กล่องถ่ายรูปมาตรฐานระบบปิดกันแสงจากภายนอก

(ข) ภายในกล่องถ่ายรูปมาตรฐาน

2.5.2 การถ่ายรูปหลอดมาตรฐานความยาวคลื่นเดียว

ถ่ายรูปแสงสีของหลอดมาตรฐานที่มีค่าความยาวคลื่นคงที่ ของธาตุเดี่ยว เพื่อให้นักวิจัยนี้สามารถอ้างอิงเปรียบเทียบ และพัฒนาได้ต่อไป การถ่ายรูปหลอดทำโดยใช้ผ้าสีดำหาคลุมปิดให้มีคสนิท ไม่มีแสงจากภายนอกเข้ามารบกวน ซึ่งอุปกรณ์ของหลอดมาตรฐานได้แสดงในภาพ 2.2

หลอดมาตรฐานความยาวคลื่นเดียวที่ถูกถ่ายภาพมีทั้งหมด 3 หลอด คือ หลอด Na (โซเดียม) หลอด Ne (นีออน) และ หลอด Ar (อาร์กอน) กล้องถ่ายรูปถูกตั้งค่า ISO 100 , f 5.6 และ white balance shade เป็นค่าคงที่ แต่จะปรับเปลี่ยนค่า shutter speed ตามความเหมาะสมเพื่อมิให้ภาพหลอดมาตรฐานความยาวคลื่นเดียวมีความสว่างมากเกินไป ค่าสีที่ได้จากการทดลองนี้จะบ่งบอกถึงค่าสีที่กล้องสามารถตรวจวัดได้ ในอนาคตหากมีการทดลองด้วยกล้องดิจิทัลชนิดอื่น จะสามารถทราบค่าสีที่ตรวจวัดได้ว่าแตกต่างกับสีที่ได้กล้องดิจิทัล Canon EOS 7D เพียงใด

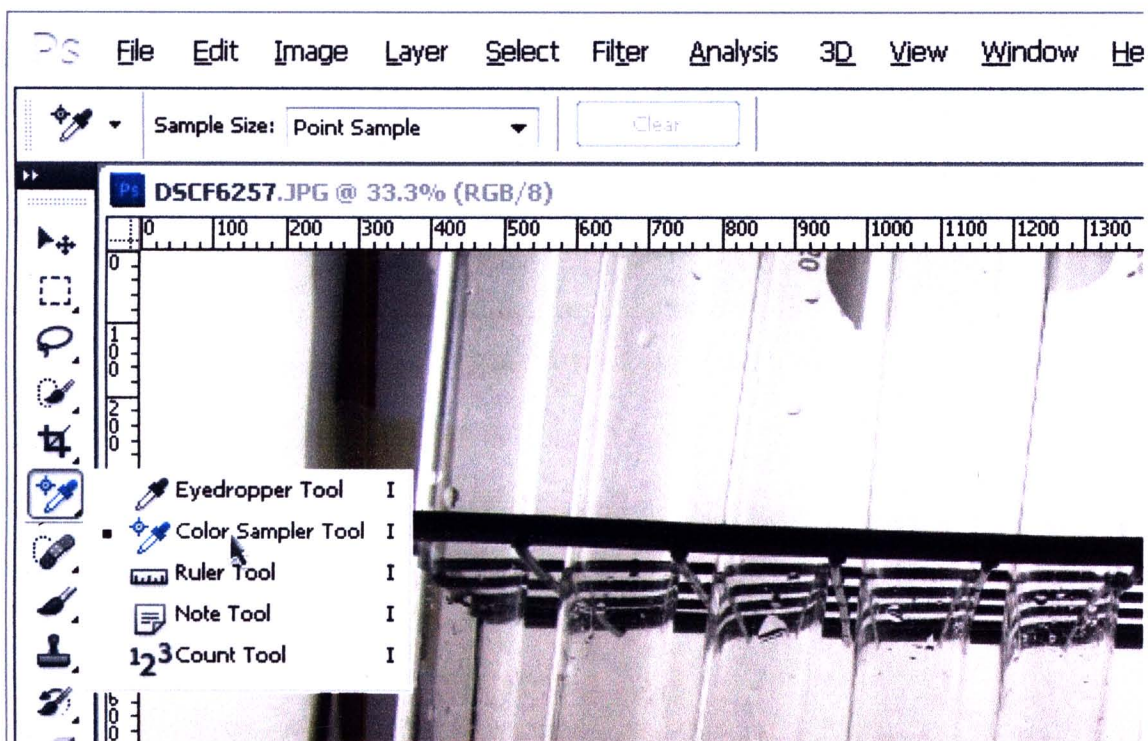


ภาพ 2.2 อุปกรณ์ของหลอดมาตรฐาน

2.5.3 การปรับตั้งค่ามาตรฐานวิธีการ (Calibrate method) และการตรวจวัดค่าสีด้วยโปรแกรม Photoshop CS4

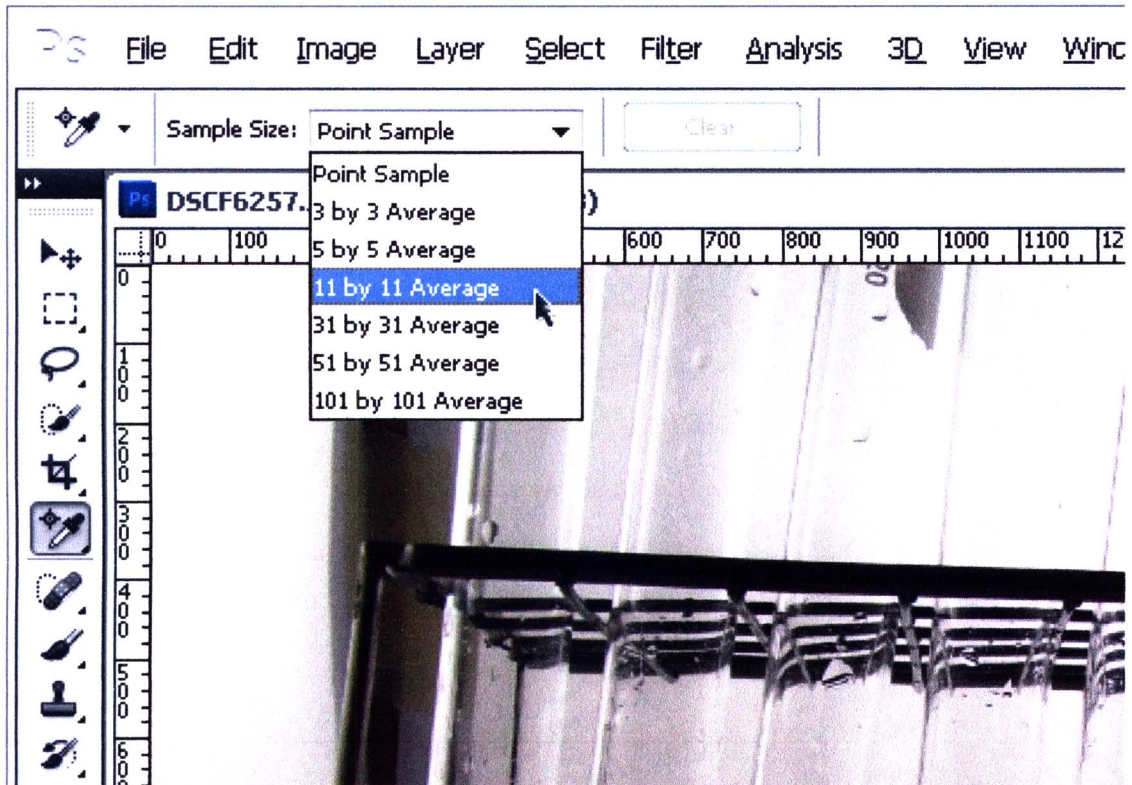
สารละลายมาตรฐานไนโตรเจนไดออกไซด์จากข้อ 2.3.5 ถูกนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.01 ppm เพียงความเข้มข้นเดียว เนื่องจากเพียงพอต่อการทดลองตรวจวัดความมีมาตรฐานของโปรแกรม Photoshop CS4 ภาพสารละลายดังกล่าวถูกถ่ายภาพและวัดค่าสี RGB ในคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรม Photoshop CS4 มาตรฐาน ซึ่งมีรายละเอียดวิธีการตรวจวัดดังต่อไปนี้

- เปิดโปรแกรม Photoshop CS4
- เปิดไฟล์รูปที่ต้องการตรวจวัดโดยคลิกที่ menu File >>> Open
- เลือกใช้เครื่องมือ Color Sampler Tool ตามภาพ 2.3(ก)



ภาพ 2.3(ก) การเลือกเครื่องมือ Color Sampler Tool

- ตั้งค่า Sample Size เท่ากับ 11x11



ภาพ 2.3(ข) การตั้งค่า Sample Size

- คลิก Color Sampler Tool ลงบนสีที่ต้องการทราบค่าสี RGB จะมีค่าสีแสดงทางด้านขวามือ ดังภาพ 2.3(ค)



ภาพ 2.3(ค) การแสดงค่าสีของโปรแกรม Photoshop CS4

ทำการวัดค่าสี RGB รูปเดียว โดยทำการวัดด้วยโปรแกรม Photoshop CS4 ซ้ำ 30 ครั้ง เพื่อดูสถิติความถูกต้องของโปรแกรมในการอ่านค่าสี

2.5.4 การปรับตั้งค่ามาตรฐานกล้องถ่ายรูปดิจิทัล (Calibrate digital camera)

กล้องดิจิทัลที่ใช้ คือ กล้อง Canon EOS 7D ขนาด 18 ล้านพิกเซล ใช้เลนส์ช่วง 24-70 mm F2.8L USM



ภาพ 2.4 กล้อง Canon EOS 7D และ เลนส์ EF 24-70mm

ทำการถ่ายภาพซ้ำ 30 ครั้ง กับสารละลายไนโตรเจนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.01 ppm โดยใช้ mode manual ตั้งค่า iso 100, Shutter Speed 1/30s, f 5.6 และ White Balance Shade แล้วทำการวัดค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม Photoshop CS4 ด้วยวิธีในข้อที่ 2.4.3 จากนั้นเปรียบเทียบค่าที่ได้โดยใช้สถิติความแปรปรวน และ สัมประสิทธิ์ของความแปรผันทดสอบ

2.5.5 การสร้างกราฟความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนไดออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เตรียมสารละลายมาตรฐานของไนโตรเจนไดออกไซด์ความเข้มข้น 0.01, 0.02, 0.03, ..., 0.10 ppm และ 0.10, 0.20, 0.30, ..., 1.00 ppm และ 1.00, 2.00, 3.00, ..., 8.00 ppm จากข้อ 2.3.5 ด้วยวิธีเจือจางสารละลาย นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตเมตริก จากนั้นสารละลายมาตรฐานทั้งหมดจะถูกถ่ายภาพด้วยกล้องในข้อที่ 2.4.4 จากนั้นทำการวัดค่าสี RGB ด้วยวิธีในข้อที่ 2.4.3 เพื่อสร้างกราฟเส้นตรง 3 เส้นของแม่สี R, G และ B ในภาพถ่ายความเข้มข้นแต่ละภาพ โดยแกน X คือความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนไดออกไซด์ แกน Y คือ ค่าความเข้มของแม่สีมีค่า 0-255

2.6 การผลิตแถบสีมาตรฐานให้มีความละเอียดสูง

ใช้ค่าสีที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.5.5 นำไปสร้างแถบสีเพื่อหาปริมาณไนโตรเจนไดออกไซด์ในอากาศ โดยแถบสีที่พัฒนาขึ้นจะมีความละเอียดมากขึ้น โดยแบ่งเป็น 3 ช่วงความเข้มข้น คือ ระดับ 0.01, 0.02, 0.03 ... 0.10 ppm และ 0.10, 0.20, 0.30 ... 1.00 ppm และ 1.00, 2.00, 3.00 ... 8.00 ppm แถบสีทั้งหมดถูกจัดเรียงในโปรแกรม Photoshop CS4 ขนาด Project 4x6 นิ้ว แล้วส่งอัดรูปที่ Lab อัดรูปมาตรฐาน โดยใช้กระดาษอัดรูปของ FUJI Film ขนาด 4x6 นิ้วแบบด้านเพื่อลดแสงสะท้อน

2.7 การพัฒนาโปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อคำนวณความเข้มข้นของ NO_2 จากภาพถ่าย

สมการของแม่สีทั้งสาม จะถูกนำมาสร้าง โปรแกรมสำเร็จรูป ที่เขียนขึ้นด้วยภาษา C++ โดยใช้โปรแกรม Microsoft .NET Framework 3.0 เมื่อเราถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิทัลพร้อมแถบสีที่ได้จากข้อ 2.5 แล้วนำภาพที่ได้ไปวัดค่าสี RGB 4 จุด ด้วยโปรแกรม Photoshop โดยจุดที่ 1-3 คือจุดที่มีความเข้มข้นตามที่โปรแกรมเรียกหา จากนำค่าที่ได้มาใส่ในโปรแกรม โปรแกรมจะคำนวณค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนไดออกไซด์ออกมาจากสมการเส้นตรงที่ได้จากการพัฒนาในข้อ 2.4.5

2.8 การทำแบบสำรวจการอ่านค่าสีสารละลายไนโตรเจนไดออกไซด์กับแถบสีที่ถูกพัฒนาใหม่

2.8.1 การทดสอบการใช้งานแถบสีที่พัฒนาครั้งที่ 1 ($\text{NO}_2 - \text{d1}$; 1st development)

ทำแบบสำรวจกับนักศึกษาระดับปริญญาตรี และ ปริญญาโท คณะและชั้นปีจำนวน 40 คน โดยให้อ่านค่าของสารละลายมาตรฐานไนโตรเจนไดออกไซด์ 9 หลอด ที่มีความเข้มข้น 0.03, 0.05, 0.08, 0.20, 0.50, 0.70, 2.00, 4.00 และ 6.00 ppm โดยไม่เรียงลำดับความเข้มข้น เทียบกับแถบสี 26 ความเข้มข้น (0.01-8.00ppm) ที่ได้จากข้อ 2.5 แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เพื่อหาค่าความถูกต้องในการอ่านค่าแถบสี

2.8.2 การทดสอบการใช้งานแถบสีที่พัฒนาครั้งที่ 2 ($\text{NO}_2 - \text{d2}$; 2nd development)

หลังจากทำการวิเคราะห์ความถูกต้องจากการทำแบบสำรวจแล้ว นำผลที่ได้มาปรับปรุงพัฒนาแถบสีใหม่ให้มีความเหมาะสมมากขึ้น ซึ่งมีทั้งหมด 12 แถบสี โดยใช้ค่าสีเดิมที่ได้จากการทดลอง 2.6 แล้วทำแบบสำรวจ 40 ชุดอีกครั้ง ซึ่งใช้สารละลายไนโตรเจนไดออกไซด์ 9 หลอด ที่มีความเข้มข้น 0.03, 0.05, 0.08, 0.20, 0.40, 0.80, 2.00, 4.00 และ 6.00 ppm โดยไม่เรียงลำดับความเข้มข้น จากนั้นก็นำข้อมูลการอ่านค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับการทำแบบสำรวจครั้งก่อนหน้า

2.9 การเปรียบเทียบผลการอ่านค่าแถบสีมาตรฐานที่มีความละเอียดสูง กับ โปรแกรมสำเร็จรูปเพื่อคำนวณความเข้มข้นของ NO_2 จากภาพถ่าย กับ วิธีการทางสเปกโตรโฟโตเมตรี

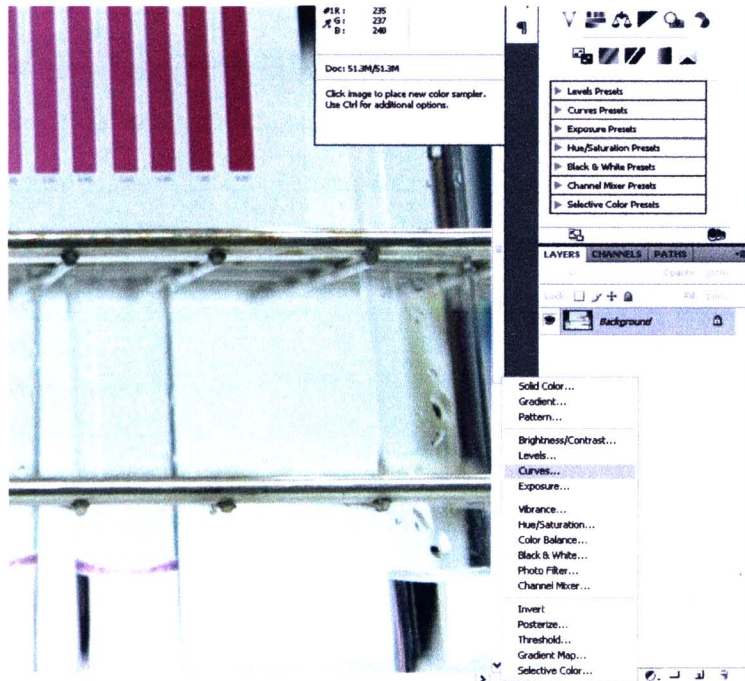
วางชุดทดสอบสำหรับการหาปริมาณไนโตรเจนไดออกไซด์ของ Chalermrom, 2008 บริเวณคูเมืองเชียงใหม่ฝั่งข้างเผือก จำนวน 45 หลอด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในวันที่ 16 สิงหาคม 2553 จากนั้นทำการตรวจวัดค่าไนโตรเจนไดออกไซด์ด้วยวิธีทางสเปกโตรโฟโตเมตรี

นำหลอดสารละลายไนโตรเจนไดออกไซด์ตัวอย่างไปอ่านเทียบค่ากับแถบสีมาตรฐาน โดยใส่สารละลายลงใน Cuvet พลาสติกใส ที่ด้านหนึ่งติดกระดาษสีขาวไว้เพื่อเป็นพื้นหลังของสารละลายให้สามารถดูสีของสารละลายได้ง่ายขึ้น

นำหลอดตัวอย่างไปถ่ายภาพเพื่อนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายไนโตรเจนไดออกไซด์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปที่เขียนขึ้นจากการทดลองในข้อ 2.7 โดยทำการวัดค่าสี RGB ด้วยโปรแกรม Photoshop CS4 แล้วนำค่าที่ได้กรอกลงไปโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อให้ได้ค่าความเข้มข้นที่ต้องการ

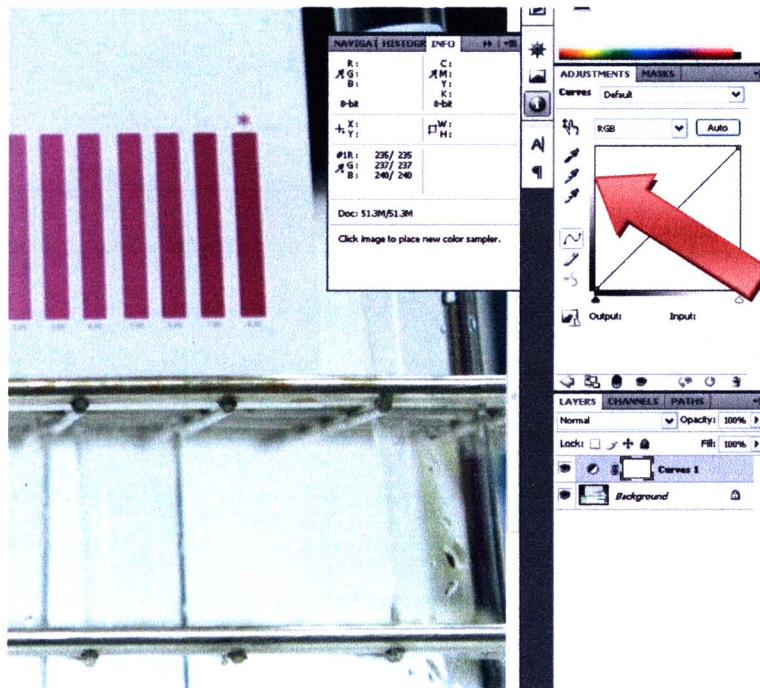
วิธีการวัดค่าสีสารละลายจากการถ่ายภาพเพื่อใช้ในโปรแกรมสำเร็จรูป

- คลิกที่ Adjustments (รูปวงกลมครึ่งขาวดำ) แล้วเลือก Curves



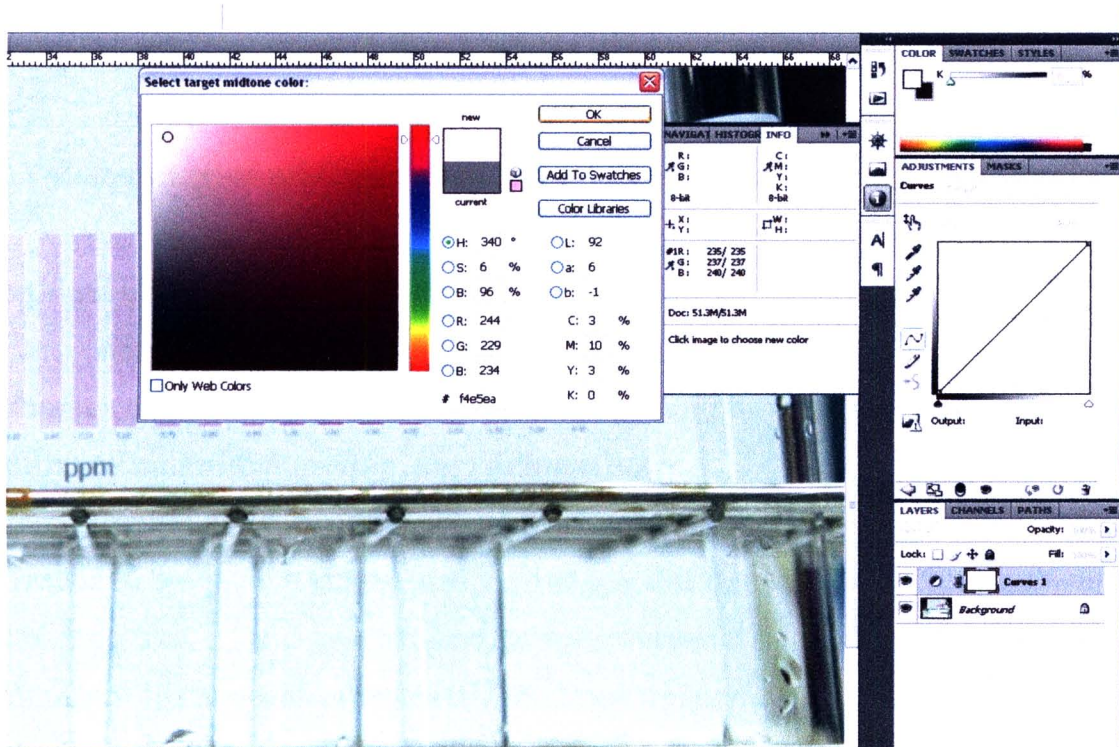
ภาพ 2.5 การเลือกใช้ Curves

- ดับเบิ้ลคลิกที่ dropper อันกลาง ตามลูกศร เพื่อกำหนดแถบสีให้มีค่าแสงสีที่ต้องการ



ภาพ 2.6 การกำหนดค่าสี

- กำหนดค่า R=244 G=229 B=234 (ค่าสีที่ความเข้มข้น 0.10ppm) แล้วคลิก OK



ภาพ 2.7 การใส่ค่าสี RGB

- จากนั้นคลิก dropper ที่แถบสีความเข้มข้น 0.10ppm เพื่อกำหนดให้แถบสีในภาพเป็นสีที่ตรงจริง



ภาพ 2.8 ภาพหลังจากการกำหนดค่าสี

- จากนั้นจึงทำการวัดค่าสีด้วยวิธีในข้อ 2.5.3