

การหาปริมาณไนไตรท์ ไนเตรท ในระบบฟาร์มเลี้ยงกุ้ง ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

Ion Chromatography for determination of Nitrite and Nitrate
in rearing system of shrimp farm.

พีรดา ภัคดีพิน¹ ศิริรัตน์ ไพศาลสุทธิชล² สราวุธ เดชมณี³ และ รุ่งโรจน์ รัตน์โอภาส³

Peerada Pakdeepin¹, Sirirat Phaisansuthichol², Saravut Dejmanee³ and Roongroje Ratana-ohpas³

¹ The Center for Scientific and Technological Equipment, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80160

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand.50290

³ School of Chemistry, Institute of Science, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80160

บทคัดย่อ

เนื่องจากระดับ ความเข้มข้นของ ไนไตรท์ และไนเตรท เป็นดัชนีชี้วัดระดับคุณภาพของน้ำในบ่อเลี้ยง กุ้ง จึงได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์และไนเตรท โดยวิธีไอออนโครมาโทกราฟี ที่สามารถวิเคราะห์ได้ อย่างต่อเนื่อง ซึ่งผ่านการแยกด้วยคอลัมน์ ไอออนแพ็ค เอเอส-15 อัตราการไหลเท่ากับ 0.25 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร ซึ่งสามารถตรวจวัดไนไตรท์และไนเตรทได้ในระดับ ไมโครกรัมต่อลิตร และคาร์เท็นชันไทมน้อยกว่า 10 นาที ใช้วัสดุภาคเคลื่อนที่เป็นสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 50.0 มิลลิโมล และใช้สารตัวอย่างปริมาตร 25 ไมโครลิตร ค่าความถูกต้องของไนไตรท์ ไนเตรท ในช่วงความเข้มข้น 0.03 ถึง 4.00 มิลลิกรัมต่อลิตรอยู่ในช่วง 82 - 98% และ 86 - 102% ตามลำดับ ความสัมพันธ์เชิงเส้นมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) สูงกว่า 0.999 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด ไนไตรท์ และไนเตรท มีค่าเท่ากับ 0.020 และ 0.030 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ประโยชน์ของวิธีการนี้ได้มีการนำไป ประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาไนไตรท์และไนเตรทในน้ำทะเล

Abstract

Determination of nitrite and nitrate in shrimp farm water was important because water quality was indicated by the concentration levels of nitrite and nitrate. A procedure for the sequential analysis was separation by using a IonPac AS15 column at a flow rate 0.25 ml/min and detected with UV absorbance measuring at 210 nm. Nitrite and nitrate were detected at ultra trace levels the peak showed at retention time < 10 min using an eluent of isocratic 50.0 mM KOH with 25 μ L sample loop for ion chromatographic separation. The method was validated over the concentration range 0.03-4.00 mg/L with recoveries of nitrite nitrate from 82 to 98% and 86 - 102% respectively. The method showed good linearity with correlation coefficients (r^2) exceeding 0.999. The detection limits were found to be 0.020 and 0.030 mg/L for nitrite and nitrate, respectively. The utility of this method was application to simultaneous determination of nitrite and nitrate.

Key words: Nitrite, Nitrate, IonPac AS15, Ion chromatography

บทนำ

คุณภาพของน้ำเป็นปัจจัยหลักในการเลี้ยงกุ้ง ปัญหาส่วนใหญ่มาจากปริมาณของเสียและสิ่งขับถ่ายจากกุ้งที่สะสมในน้ำ พุททและคณะ (2546) รายงานว่าการพบปริมาณไนไตรท์ในระดับความเข้มข้น 0.5 – 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในบ่อเลี้ยงกุ้งทำให้กุ้งจะกินอาหารน้อยลง ป่วยและติดเชื้อโรคได้ง่าย การหาปริมาณ ไนไตรท์ในเตรท จึงมีความสำคัญในการเฝ้าติดตามคุณภาพน้ำ Joachim Weiss (1995) รายงานว่าการใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ในการวิเคราะห์หาปริมาณไนไตรท์ในเตรท ในน้ำ เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ง่าย สะดวก มีประสิทธิภาพสูง ใช้สารตัวอย่างปริมาณน้อย สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกับ Dionex Application Note 132

ในงานวิจัยนี้ได้อธิบายถึงการหาปริมาณ ไนไตรท์ในเตรท ในตัวอย่างน้ำบ่อเลี้ยงกุ้ง มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี โดยใช้คอลัมม์ IonPac AS15 ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ มีอัตราการไหลเท่ากับ 0.25 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดค่าตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร

เครื่องมือและวิธีการ

2.1 เครื่องมือ

2.1.1 Ion Chromatograph รุ่น DX-500 ยี่ห้อ DIONEX ประกอบด้วย Pump ใช้สำหรับนำสารละลาย KOH เข้าสู่ระบบ วาล์วฉีดสารที่มี Sample loop ขนาดบรรจุ 25 μ L คอลัมน์ป้องกัน (Guard Column) รุ่น AG15 ขนาด 2 mm คอลัมน์แยกสาร (Separation Column) รุ่น AS15 ขนาด 2 mm และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV/VIS detector รุ่น AD20 (รูปที่ 1)

2.1.2 Vacuum pump

2.1.3 Ultrasonicator

2.1.4 กระดาษกรอง ขนาด 0.45 μ m รุ่น Acetate filter ยี่ห้อ Sartorius

2.2 วิธีการวิเคราะห์

วิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้เครื่องไอออนโครมาโทกราฟี ยี่ห้อ DIONEX รุ่น DX-500 ส่วนประกอบที่สำคัญดังแสดงในรูปที่ 1 มีสถานะในการวิเคราะห์ดังนี้

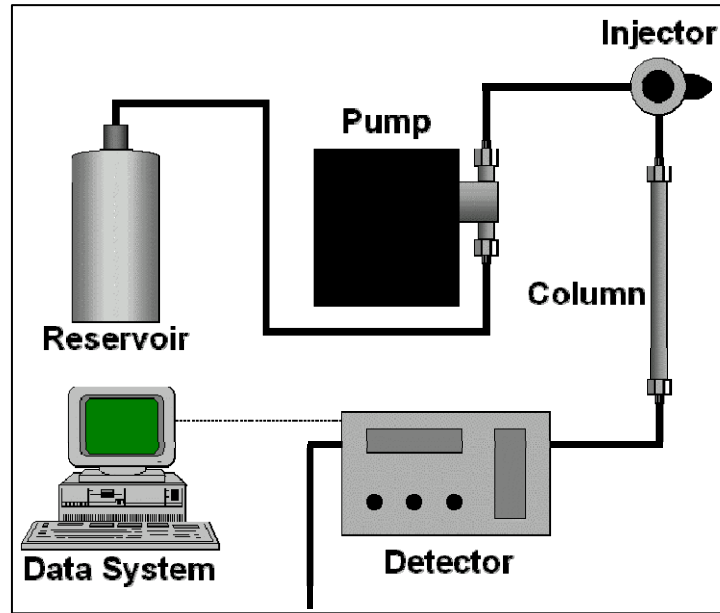
Column : IonPac AG15 และ IonPac AS15

Eluent : 50.0 mM KOH

Eluent Flow rate : 0.25 mL/min

Detector : Direct UV 210 nm .

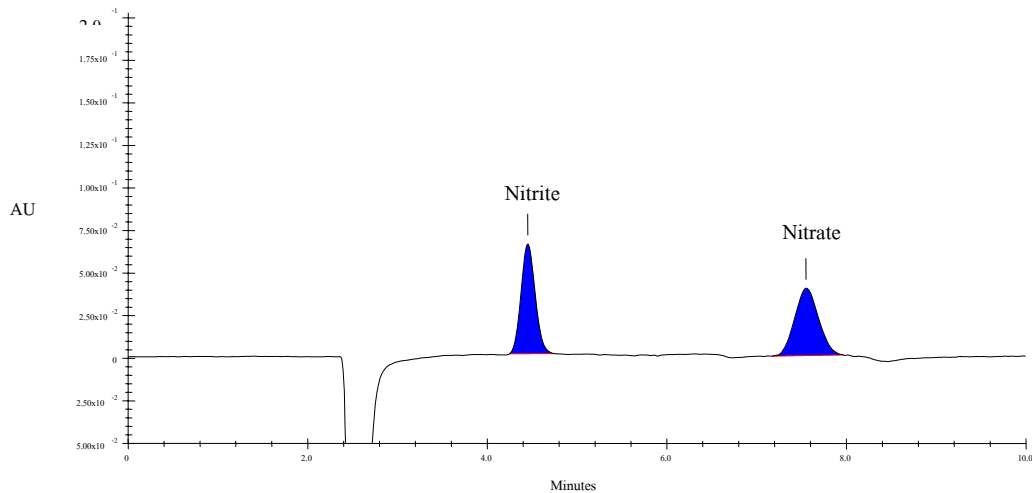
Injection Volume : 25 μ L



รูปที่ 1. ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่องไอออนโครมาโทกราฟี

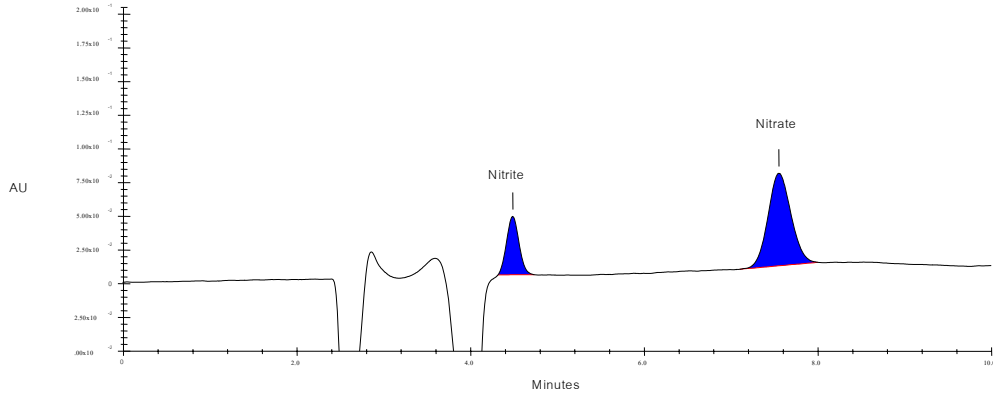
ผลการวิจัย

จากการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยก ไนไตรท์ไนเตรท ในตัวอย่างน้ำบ่อเลี้ยงกุ้ง โดยการฉีดสารละลายมาตรฐานไอออนดังกล่าวในสภาวะวิเคราะห์ที่ใช้ สามารถแยกได้ดี ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2. โครมาโทแกรมของสารละลายมาตรฐาน ไนไตรท์ และ ไนเตรท

การวิเคราะห์หาปริมาณ ไนไตรท์ ไนเตรท ในตัวอย่างน้ำบ่อเลี้ยงกุ้ง มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พบปริมาณไนไตรท์ มีค่าอยู่ในช่วง ไม่พบ - 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และไนเตรทมีค่าอยู่ในช่วง 0.48 - 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3. โคโรมาโทแกรมของ ไนไตรท์ และ ไนเตรท ในตัวอย่างน้ำบ่อกุ่ม

จากการศึกษาร้อยละของการกลับคืน (% Recovery), ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linearity Range), ความแม่นยำของเครื่องมือ (Precision), และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ) ผลที่ได้ดังตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. ผลการวิเคราะห์ไนไตรท์ ไนเตรท ด้วยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี

สมรรถนะของวิธีการวิเคราะห์	ไนไตรท์	ไนเตรท
ความถูกต้อง, % Recovery	82.0 - 98.0	86.0 - 102.0
ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง	ความเข้มข้นช่วง 0.03 – 4.00 mg/L ($r^2 = 0.999482$)	ความเข้มข้นช่วง 0.03 – 4.00 mg/L ($r^2 = 0.999987$)
LOQ (mg/L)	0.020	0.030
ความแม่นยำ, Precision % RSD	2.69	5.29

สรุปและวิจารณ์ผล

วิธีการวิเคราะห์ ไนไตรท์ และ ไนเตรท ในระบบฟาร์มเลี้ยงกุ้งสามารถทำได้โดยการใช้เทคนิคไอออนโครมาโทกราฟี ทำการแยกสารตัวอย่างปริมาตร 25 ไมโครลิตรด้วยคอลัมน์ IonPac AS15 ใช้สารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ มีอัตราการไหลเท่ากับ 0.25 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร เมื่อเทียบกับการวิเคราะห์โดยใช้แคตเมียมรีดักชัน จะเห็นได้ว่าการวิเคราะห์โดยเทคนิคไอออนโครมาโทกราฟีเป็นวิธีที่มีความสะดวก สามารถวิเคราะห์ได้พร้อมกันอย่างต่อเนื่องในการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียวจึงมีความสะดวกในการวิเคราะห์สูง รวดเร็ว ประหยัด ใช้สารเคมีปริมาณน้อยลดปริมาณของเสียจากห้องปฏิบัติการ ไม่เป็นพิษต่อผู้วิเคราะห์และ

สิ่งแวดล้อม ใช้ตัวอย่างในปริมาณน้อยขั้นตอนการเตรียมไม่ยุ่งยาก ไม่เกิดปัญหาจากตัวอย่างที่มีความเค็มสูง จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมเป็นอย่างยิ่งในการหาปริมาณ ไนไตรท์ ไนเตรท ในระบบฟาร์มเลี้ยงกุ้ง และตัวอย่างน้ำที่มีความเค็มสูง

คำขอบคุณ

1. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์
2. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

เอกสารอ้างอิง

พุทธ ส่องแสงจินดา เพ็ญศรี เมืองเยาว์ และธีฎาภรณ์ แก้วทิวี่ ,รายงานประจำปีสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
ชายฝั่งปี 2546, http://www.nicaonline.com/articles10/site/view_article.asp?idarticle=560 (2547)
Joachim Weiss, Ion Chromatography, 2 edition VCH Publishers, New York (1995) 465.
Dionex Application Note 132, "Determination of Nitrite and Nitrate in Drinking Water Using Ion
Chromatography with Direct UV Detection." (1991).