

Thesis Title	Spectrophotometric Sequential Injection Systems for the Determination of Some Nitrogen Compounds	
Author	Miss Kanchana Watla-iad	
Degree	Doctor of Philosophy (Chemistry)	
Thesis Advisory Committee	Prof. Dr. Kate Grudpan	Chairperson
	Dr. Jaron Jakmune	Member
	Asst. Prof. Dr. Yuthasak Vaneesorn	Member
	Prof. Dr. Shoji Motomizu	Member

ABSTRACT

Novel spectrophotometric sequential injection systems for determination of some nitrogen compounds were developed.

A sequential injection (SI) system for determination of protein using the Bradford reagent was investigated. Association species of protein and Coomassie brilliant blue gives a blue color product with a maximum wavelength at 595 nm. A sample throughput of 20 samples h^{-1} was achieved. The protein contents in UHT cow milk and soymilk obtained from the developed method agree well with that of batchwise method.

A new spectrophotometric sequential injection system for successive determination of protein and glucose for screening for diabetic diagnosis was developed. The protein assay is based on ion-association of protein with

tetrabromophenolphthalein ethyl ester (TBPE) in the presence of Triton X-100 at pH 3.2. Absorbance at 607 nm of the blue product is monitored. For glucose, hydrogen peroxide, generated by the oxidation of glucose in the presence of glucose oxidase immobilized on glass beads packed in a minicolumn, is monitored using iron-catalyzed oxidation reaction of *p*-anisidine to form a red colored product (520 nm).

During the incubation period for glucose oxidation, the protein assay can be performed. Linear ranges were up to 10 mg/dl human serum albumin (HSA) with a limit of detection (LOD) (3σ) of 0.3 mg/dl, and up to 12.5 mg/dl glucose with LOD of 0.08 mg/dl. The automated system has been demonstrated for the successive assay of protein and glucose in urine samples taken from diabetic disease patients, with good agreement with the other methods

A special design of sequential injection lab-at-valve (SI-LAV) system for ammonia determination based on indonaphthol reaction of 1-naphthol was investigated. The blue color product was monitored at 720 nm. Analysis time could be reduced by 2 min for triplicate ammonia determination within one-run by using three special designed-mixing chambers. R.S.D.s ($n = 9$) were less than 1.0 % for 1×10^{-5} , 7×10^{-5} and 1.4×10^{-4} M NH_4^+ . The analytical results of ammonium in the certified reference material (CRM) by the developed SI method have a good agreement with the certified values. This developed SI method with a sample throughput of 18 h^{-1} can be alternative for environmental analysis. In addition, the automatic SI system with the modified-mixing chamber was applied for kinetics study of detection reaction under Pseudo-first-order conditions. Mechanism was investigated.

The developed spectrophotometric sequential injection was developed further for successive determination of some nitrogen compounds such as ammonia, nitrite

and nitrate in environment samples. Indophenols reaction of 1-naphthol was used for ammonia determination and novel nitrosation reaction of 1-naphthol, with a yellow product at 350 nm, was used for nitrite determination. For nitrate, it was reduced to nitrite by using a copperized-cadmium column. The proposed method could be applied to determine ammonia, nitrite and nitrate with LOD (3σ) of 1.5×10^{-6} M, 7.7×10^{-7} M and 1.9×10^{-6} M, respectively. Analytical results obtained by the proposed sequential injection procedure show good recoveries. The developed method could be useful for the determination of nitrite and nitrate in environmental water samples.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ระบบสเปกโทรโฟโตเมตริกซีเควนเชียลอินเจกชันสำหรับการหาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนบางชนิด	
ผู้เขียน	นางสาวกาญจนา วัลละเอียด	
ปริญญา	วิทยาศาสตร์ดุสิตบัณฑิต (เคมี)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศาสตราจารย์ ดร. เกตุ กรุดพันธ์	ประธานกรรมการ
	ดร. จริญญา จักรมณี	กรรมการ
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยุทธศักดิ์ มณีสอน	กรรมการ
	ศาสตราจารย์ ดร. โจจิ โมโตมิชิ	กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้พัฒนาระบบสเปกโทรโฟโตเมตริกซีเควนเชียลอินเจกชันสำหรับการหาปริมาณสารประกอบไนโตรเจนบางชนิด

ได้ศึกษาระบบซีเควนเชียลอินเจกชันสำหรับการหาปริมาณโปรตีนโดยใช้เบรดฟอร์ดรีเอเจนต์ เมื่อโปรตีนรวมตัวกับสารคูแมสซีบริลเลียนท์บลูจะได้สารผลิตภัณฑ์สีฟ้าที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด 595 นาโนเมตร ปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์ได้ในนมยูเอสทีชนิดนมวัวและนมถั่วเหลืองด้วยระบบที่พัฒนาขึ้นสอดคล้องกับปริมาณที่วิเคราะห์ด้วยวิธีแบบแบทช์ และระบบที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถตรวจวัด 20 ตัวอย่างต่อชั่วโมง

ระบบสเปกโทรโฟโตเมตริกซีเควนเชียลอินเจกชันแบบใหม่ถูกพัฒนาสำหรับการวิเคราะห์โปรตีนและกลูโคสแบบตามลำดับเพื่อตรวจคัดกรองโรคเบาหวาน การวิเคราะห์โปรตีนใช้หลักการไอออนเอสโซซิเอชันของโปรตีนกับเตตระโบรโมฟีนอลฟาทาลีนเอทิลเอสเทอร์ (ทีบีพีอี) ในไตรตอนอีกหนึ่งร้อยที่พีเอส 3.2 ผลิตภัณฑ์สีฟ้าที่ได้ถูกตรวจวัดที่ 607 นาโนเมตร สำหรับการวิเคราะห์กลูโคสนั้นไฮโครเจนเปอร์ออกไซด์ที่ถูกผลิตจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคสด้วยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสที่ตรึงไว้บนเม็ดบีดแก้วแล้วแพ็คไว้ในคอลัมน์ขนาดเล็กจะถูกตรวจวัดโดยใช้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของพาราแอนนิซินซึ่งมีเหล็กเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาสารผลิตภัณฑ์สีแดงถูกตรวจวัดที่ 520 นาโนเมตร ในระหว่างที่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันของกลูโคส โปรตีนจะถูกตรวจวัด พบว่าช่วงความเป็นเส้นตรงสำหรับ ซีรัมแอลบูมินของมนุษย์ (เอชเอสเอ) สูงถึง 10 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ที่ขีดจำกัดการตรวจวัดที่ 3 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และสำหรับกลูโคสสูงถึง 12.5 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

ที่ขีดจำกัดการตรวจวัด 0.08 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ระบบอัตโนมัติถูกประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจวัดโปรตีนและกลูโคสในตัวอย่างน้ำปัสสาวะที่ได้จากผู้ป่วยโรคเบาหวานซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับวิธีอื่น

ระบบซีเควนเซียลอินเจกชันแลบเอควาล์ว (เอสไอ-แอลเอวี) ได้ถูกออกแบบอย่างพิเศษเพื่อวิเคราะห์แอมโมเนีย โดยใช้ปฏิกิริยาอินโดแนฟรอล ของ 1-แนฟรอล ซึ่งสารผลิตภัณฑ์สีฟ้าที่เกิดขึ้นถูกวัดที่ความยาวคลื่น 720 นาโนเมตร โดยการใช้แชมเบอร์ผสมที่ออกแบบพิเศษนั้นสามารถลดเวลาสำหรับการวิเคราะห์แอมโมเนีย ได้ สองนาที่ต่อการวิเคราะห์หัวสามซ้ำ พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ($n=9$) น้อยกว่า 1.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 1×10^{-5} , 7×10^{-5} และ 1.4×10^{-4} โมลาร์ ผลการวิเคราะห์แอมโมเนียในวัสดุมาตรฐานด้วยวิธีเอสไอที่พัฒนาขึ้นสอดคล้องกับค่าที่รับรอง วิธีเอสไอสามารถตรวจวัดได้ 18 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ทำให้เป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับการวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ระบบอัตโนมัติเอสไอกับแชมเบอร์ผสมดัดแปลงถูกประยุกต์สำหรับการศึกษาทางจลนพลศาสตร์ ภายใต้สภาวะอันดับหนึ่งเทียม และกลไกการเกิดปฏิกิริยาก็ยังได้ศึกษาอีกด้วย

ระบบสเปกโทรโฟโตเมตริกซีเควนเซียลอินเจกชันถูกพัฒนาขึ้นเพื่อตรวจวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจนบางชนิด เช่น แอมโมเนีย ไนไตรท์ และ ไนเตรต แบบตามลำดับในตัวอย่างสิ่งแวดล้อม ปฏิกิริยาแนฟรอลของ 1-แนฟรอลถูกใช้สำหรับการตรวจวัดแอมโมเนียและปฏิกิริยาไนโตรเซชันของ 1-แนฟรอลแบบใหม่ถูกใช้สำหรับการตรวจวัดไนไตรท์ ซึ่งผลิตภัณฑ์สีเหลืองที่ได้ดูดกลืนแสงที่ 350 นาโนเมตร สำหรับไนเตรตนั้นจะถูกรีดิวซ์เป็นไนไตรท์โดยแคดเมียมเคลือบด้วยทองแดงบรรจุในคอลัมน์ วิธีที่เสนอสมาารถประยุกต์ไปตรวจวัดแอมโมเนีย ไนไตรท์ และ ไนเตรต ได้ด้วยขีดจำกัดการตรวจวัด 1.5×10^{-6} , 7.7×10^{-7} และ 1.9×10^{-6} โมลาร์ ตามลำดับ ระบบซีเควนเซียลอินเจกชันที่เสนอให้ค่าการกลับคืนที่ดี นอกจากนี้ยังมีประโยชน์สำหรับการนำไปวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ และ ไนเตรต ใน ตัวอย่างน้ำจากสิ่งแวดล้อม