

Thesis Title Development of Flow-based Systems for the Determinations of Selenium, Aluminium, Zinc, Albumin, and Creatinine

Author Miss Yaowalak Khanhuathon

Degree Doctor of Philosophy (Chemistry)

Thesis Advisory Committee

Professor Dr. Kate Grudpan Advisor

Professor Dr. Tadao Sakai Co-advisor

Professor Dr. Norio Teshima Co-advisor

Abstract

In this work, flow-based systems were developed for the determinations of selenium, aluminium, zinc, albumin and creatinine.

A precise, accurate and reliable flow-batch method was developed using a sequential injection-monosegmented flow system incorporating a simple heating unit prior to spectrophotometric determination of Se(IV) using *o*-phenylenediamine reagent. The reaction zones of Se(IV) and *o*-phenylenediamine were mixed and heated in a heating chamber at 62 °C for 5 minutes to produce the adequate piaselelol complexes for detection at maximum absorption wavelength of 335 nm. In-line single standard calibration and standard addition were developed by employing a monosegmented flow technique.

The developed system was successfully applied to raw selenium-enriched yeast samples. The results agreed well with those obtained from inductively coupled plasma- mass spectrophotometry (ICP-MS).

The proposed system has high potential to be developed further to be an automated process analytical method for the enrichment process of selenium enriched yeast.

A cost-effective sequential injection system incorporating a mixing unit which is adapted from microcentrifuge tube to accomplish effective mixing of solution zones prior to dispense to a spectrophotometer after air segment elimination. The system was used for aluminium determination by using Eriochrome Cyanine R (ECR) in the presence of DTAB as a sensitive and selective reagent. In-line single standard calibration and standard addition were developed employing a monosegmented flow technique. The proposed method was successfully applied to determination of labile Al^{3+} in water and total Al^{3+} in some beverage samples. The results were found to be in good agreement with those obtained by inductively coupled plasma - atomic emission spectrophotometric (ICP-AES) method. Sequential injection-monosegmented flow analysis with spectrophotometric method offers high degrees of automation, less contamination, low consumption of reagent and sample, and low waste production when compared to batch-wise standard addition method.

A precise, reliable, and automatic system for on-line sample dilution and in-line standard addition was developed for urinary protein (as bovine serum albumin)/creatinine ratio in urine sample assay. Monosegmentation with sequential injection Lab-at-valve (SI-LAV) by using fiber optic spectrophotometer provides a simple way for on-line sample dilution and also in-line standard addition for routine

task on albumin and creatinine ratio determination in hospitals. Employing Eosin Y in acidic media, albumin can be assayed by following the product of orange red color complex (λ_{max} 535 nm).

In the Jaffé reaction by using alkaline picrate, creatinine can be determined by observing the increase in absorbance (λ_{max} 500 nm). The developed method was applied for the determination of microalbumin and creatinine contents or the urinary protein (as bovine serum albumin)/creatinine ratio in urine samples. Application was demonstrated for real urine samples. This system provides the benefits in terms of less reagent and sample consumption, cost-effectiveness, less waste production, and suitability for routine task of dilution urine samples.

Macro-lab on chip made of acrylic with simple fabrication by drilling for channels (1 mm diameter) was employed as a platform for chemical analysis. Solution feeding can be made via syringe or solenoid pump/valve. Detection can be made by naked eye or a fiber optic spectrophotometer. This simple lab on chip platform was applied for the determination of zinc using Eriochrome Black T (EBT) as a reagent. Calibrations in ranges of 10-100 and 1-8 mgL^{-1} of zinc were obtained.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาระบบที่อาศัยการไหลเพื่อการหาปริมาณซีลีเนียม อะลูมิเนียม สังกะสี อลูมิเนียม และครีเอทีนีน	
ผู้เขียน	นางสาวเยาวลักษณ์ ชันหวัโทน	
ปริญญา	วิทยาศาสตร์ดุสิตบัณฑิต (เคมี)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ศาสตราจารย์ ดร. เกตุ กรุดพันธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ศาสตราจารย์ ดร. โทคาโอะ ซาไก อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ศาสตราจารย์ ดร. โนริโอะ เทชิมะ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	
บทคัดย่อ		

ในงานนี้ ได้มีการพัฒนาเทคนิคเกี่ยวกับการไหล สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของ
ซีลีเนียม อะลูมิเนียม สังกะสี และ ครีเอทีนีน

ได้พัฒนาวิธี โฟลว์-เบตซ์ ที่มีความแม่นยำ ถูกต้อง และเชื่อถือได้ โดยใช้ ระบบซีเควน-
เชียล อินเจกชัน โมโนเซกเมนเตดโฟลว์ ร่วมกับ หน่วยให้ความร้อนอย่างง่ายก่อนที่จะส่งไปหา
ปริมาณซีลีเนียม (IV) ด้วยเทคนิค สเปกโตรโฟโตเมตริก ในการวิเคราะห์หาซีลีเนียม โดยการใช้
โอ-ฟีนิลลีนไดเอมีน รีเอเจนต์ โซนของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างซีลีเนียม (IV) และโอ-ฟีนิลลีนไดเอ-
มีนจะถูกผสมและให้ความร้อนในแฮมเบอร์ที่ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ซึ่งจะทำให้ได้
สารประกอบเชิงซ้อนของ สารประกอบเชิงซ้อนเพียซีลีนอล ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความ
ยาวคลื่น 335 นาโนเมตร ทั้งนี้ได้พัฒนาการทำ กราฟมาตรฐานเดี่ยวแบบอินไลน์ และ การเติมสาร
มาตรฐานโดยใช้เทคนิคโมโนเซกเมนเตดโฟลว์ ระบบที่ได้พัฒนาขึ้นนั้นใช้ในการวิเคราะห์หา
ปริมาณซีลีเนียมในตัวอย่างวัตถุบิยส์ต์ที่เสริมซีลีเนียม

ผลที่ได้นั้นสอดคล้องกับผลที่ได้จากวิธี อินดักทีฟลี คอรัปเปิล พลาสมา - แมสสเปกโตรโฟโตเมตรี (ไอซีพี-เอ็มเอส) วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมีศักยภาพสูงที่จะได้พัฒนาต่อไปในอนาคตเพื่อเป็นวิธีที่วิเคราะห์ที่มีความเป็นอัตโนมัติสำหรับการควบคุมปริมาณซีลีเนียมที่อยู่ในกระบวนการเสริมซีลีเนียมในยีสต์

ได้พัฒนาระบบซีเควนเซียล อินเจกชัน ที่ราคาไม่แพง ควบคู่กับหน่วยผสมที่ดัดแปลงมาจากหลอดปั่นเหวี่ยงขนาดไมโครเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมของโซนสารละลายก่อนที่จะผลักไปตรวจวัดที่สเปกโตรโฟโตมิเตอร์หลังจากที่มีการกำจัดท่อนอากาศออกไปแล้ว ระบบนี้ได้พัฒนาเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณอะลูมิเนียมโดยใช้ อีรีโอโครมไซยานิน อาร์ (อีซีอาร์) ที่มีดีแทบ เป็นเหมือนรีเอเจนต์ที่มีสภาพไววิเคราะห์และมีความจำเพาะสูง ได้มีการพัฒนาการทำการฟาสต์สแควมมาตรฐานเดียวแบบออนไลน์และการเติมสารมาตรฐาน โดยอาศัยเทคนิค โมโนเซกเมนต์ โฟลว์ วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นประสบความสำเร็จในการประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาอะลูมิเนียมที่อยู่ในน้ำและปริมาณรวมของอะลูมิเนียมในตัวอย่างเครื่องดื่มบางชนิด ผลพบว่าผลที่ได้จากวิธีอินดักทีฟลี คอรัปเปิล พลาสมา - อะตอมมิก อิมิซชัน สเปกโตรโฟโตเมตริก (ไอซีพี-เออีเอส) กับวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนั้นมีความสอดคล้องกัน ซึ่งเทคนิคซีเควนเซียล อินเจกชัน- โมโนเซกเมนต์ โฟลว์ อналиซิส กับ สเปกโตรโฟโตเมตริก ให้ความเป็นอัตโนมัติสูง มีการปนเปื้อนน้อย บริโภคสารรีเอเจนต์และตัวอย่างน้อย เกิดของเสียจากการทดลองน้อย เมื่อเทียบกับวิธีการเติมสารมาตรฐานแบบแบทช์

ได้มีการพัฒนาระบบสำหรับการทำการเจือจางตัวอย่างและการเติมสารมาตรฐานแบบออนไลน์ ที่มีความแม่นยำ น่าเชื่อถือ และเป็นระบบที่มีความเป็นอัตโนมัติ เพื่อการวิเคราะห์หาสัดส่วนระหว่างโปรตีนในปัสสาวะ (ใช้ โบวิน ซีรัม อัลบูมิน) กับครีเอตินินในตัวอย่างน้ำปัสสาวะ โมโนเซกเมนต์ชัน กับ ซีเควนเซียล อินเจกชัน แลป-แอท-วาล์ว (เอสไอ-แอลเอวี) ด้วยการใช้ไฟเบอร์ ออพติก สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นั้นควรเป็นหนทางที่ง่ายในการทำการเจือจางตัวอย่างแบบออนไลน์ และพร้อมทั้งทำการเติมสารมาตรฐานแบบออนไลน์ และเพื่อเป็นแนวทางในการวิเคราะห์หาอัตราส่วนอัลบูมินและครีเอตินินซึ่งเป็นงานวิเคราะห์ประจำของโรงพยาบาลต่างๆ การใช้ อีโอซิน วาย ในตัวกลางที่เป็นกรดนั้น อัลบูมินสามารถหาปริมาณได้โดยการติดตามสารผลิตภัณฑ์ส้อมแดง (ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด 535 นาโนเมตร) ในปฏิกิริยาของเจฟฟ์ โดยการใช้ แอลคาไลน์ ฟิเครต สามารถวิเคราะห์ครีเอตินิน โดยการสังเกตการเพิ่มค่าการดูดกลืนแสง

(ความยาวคลื่นที่ดูดกลืนแสงสูงสุด 500 นาโนเมตร) วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนั้นประยุกต์ใช้ในการหาไมโครอัลบูมินและครีเอตินีนที่มีอยู่หรือ อัตราส่วนโปรตีนในปัสสาวะ (ใช้ โบวิน ซีรัม อัลบูมิน) กับครีเอตินีน ในตัวอย่างน้ำปัสสาวะ การประยุกต์ได้สาธิตในตัวอย่างจริง ระบบนี้ให้ประโยชน์ในด้านใช้รีเอเจนต์และสารตัวอย่างในปริมาณน้อย ราคาไม่แพง เกิดของเสียจากการวิเคราะห์น้อย และเหมาะสำหรับงานวิเคราะห์ที่ต้องเจือจางตัวอย่างปัสสาวะเป็นประจำ

แถบออนชิปขนาดแมคโครที่ทำจากอะคริลิก ซึ่งมีการสร้างแบบง่าย ๆ ด้วยการเซาะร่องต่างๆ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร) ได้ถูกใช้ในรูปแบบสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี สารละลายต่างๆจะถูกป้อนในระบบวิเคราะห์โดยการใช้เข็มฉีดยาหรือซีลีนอยด์ ปัมป์/ วาล์ว การตรวจวัดสามารถทำได้โดยการใช้ตาเปล่าหรือไฟเบอร์ ออปติก สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แถบออนชิป เป็นรูปแบบสำหรับการประยุกต์ใช้ในการหาปริมาณสังกะสี โดยการใช้ อิริโอ โครม แบลค ที (อิปีที) เป็นรีเอเจนต์ กราฟมาตรฐานพบว่าได้ค่าในช่วง 1-100 และ 1-8 มิลลิกรัมต่อลิตร