

<b>Thesis Title</b>	Green Analytical Method for Nitrate Determination Based on Flow Injection Photo-reduction Colorimetry
<b>Author</b>	Mr. Itsarapong Suksorn
<b>Degree</b>	Master of Science (Chemistry)
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Jaroon Jakmune

### Abstract

Nitrate is a macronutrient necessary for plant growth and also both nitrate and nitrite used as food preservative agent in food industry as an antimicrobial and color fixing agent. Nitrate is not normally dangerous for health unless it is reduced to nitrite. The most commonly reported health effect of nitrite is Methemoglobinemia or Blue Baby Syndrome. In addition, under acidic condition of a stomach, nitrite is easily converted into carcinogenic nitrosamines and may lead to gastric cancer. Therefore, quantitative determinations of nitrite and nitrate concentrations are of the great importance, especially for supervision of quality of food, monitoring of environmental impacts and also health assessment.

In this work, an automated flow injection system with colorimetric detection based on laboratory-made colorimeter for the determination of nitrate and nitrite has been developed. On-line reduction of nitrate to nitrite was accomplished by using photo-reduction and standard copperized cadmium reduction methods. The resulting mixture then reacted with sulfanilamide in acidic medium, containing hydrochloric acid to form a diazonium cation ( $R-N_2^+Cl^-$ ) which was subsequently coupled with *N*-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride to form a soluble pinkish azo dye. The transmittance of which was recorded as peak height signal by the colorimeter.

Soil, cured meat, ground water, tap water and commercial drinking water were examined for nitrate contents. The result obtained from photo-reduction method agreed well with cadmium reduction, US-EPA standard method. Calibration graph was rectilinear for 0.02-1.5  $\mu\text{g N-NO}_3^- \text{mL}^{-1}$ . Recovery percentages were ranged of 80-102% and repeatability in term of relative standard deviation percentages were 0.6-3.6% for 12-replicate injections of 0.02, 0.10 and 0.25  $\mu\text{g N-NO}_3^- \text{mL}^{-1}$ . This developed method could analyze up to 60 injections per hour with the limit of detection of 2.19  $\text{ngN-NO}_3^- \text{mL}^{-1}$ . Minimization of wastes generation was achieved with the consumption of 2.5 mL each of carrier and reagent solutions per injection, which was slower than the standard method at least 20 times. The proposed method is simple, fast and could be classified as a greener analytical method.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	วิธีวิเคราะห์แบบสอาดสำหรับการหาปริมาณไนเตรทบนพื้นฐานของโพลีอินเจกชัน โฟโตรีดักชันกัลเลอรีเมตรี
ผู้เขียน	นายอิสรพงศ์ ชุกซอน
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. จริญญา จักรมณี

### บทคัดย่อ

ไนเตรต เป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนี้ยังใช้สารประกอบไนเตรตรวมทั้งไนไตรต์ในอุตสาหกรรมอาหารอีกด้วย เนื่องจากสารทั้งสองมีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์รวมทั้งทำให้สีของอาหารสดและอยู่ได้นานขึ้น ปกติแล้วไนเตรตจะไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายแต่จะมีพิษเมื่อถูกรีดิวซ์ไปเป็นไนไตรต์ โดยส่วนใหญ่มักพบว่าไนไตรต์ก่อให้เกิดโรคมะเร็งโมโกลบินิเมีย หรือโรคบลูเบบี้ซินโดรม นอกจากนี้ภายใต้สภาวะกรดในกระเพาะอาหาร ทำให้ไนไตรต์เปลี่ยนเป็นสารไนโตรซามีนได้ง่าย ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารก่อมะเร็งชนิดหนึ่งและอาจชักนำให้เกิดโรคมะเร็งในกระเพาะอาหารได้ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณไอออนทั้งสองชนิดนี้จึงมีความสำคัญมาก ทั้งในด้านการควบคุมคุณภาพของอาหาร การติดตามผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งการตรวจประเมินด้านสุขภาพ

ในงานวิจัยนี้ ระบบการวิเคราะห์หาปริมาณไนเตรทและไนไตรท์โดยใช้โพลีอินเจกชันอัตโนมัติและการตรวจวัดเชิงแสงโดยใช้เครื่องกัลเลอรีมิเตอร์ที่สร้างขึ้นเอง โดยไนเตรทจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นไนไตรท์แบบต่อเนื่อง โดยใช้วิธีโฟโตรีดักชันและวิธีมาตรฐานโดยใช้คอลัมน์ที่บรรจุ

ด้วยแคดเมียมที่เคลือบด้วยทองแดง จากนั้นส่วนผสมที่ได้จะทำปฏิกิริยากับซัลฟานิลลาไมด์ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เพื่อเกิดสารประกอบไอโซเนียมไอออน จากนั้นจะทำปฏิกิริยากับควบกับเอ็นแนฟธิลเอทิลีนไดเอมีน ไคไฮโดรคลอไรด์ เกิดเป็นสารประกอบไอโซที่ละลายน้ำมีสีชมพูแดง บันทึกค่าสัญญาณการส่องผ่านของแสงในรูปฟีก ซึ่งตรวจวัดโดยคัลเลอริมิเตอร์

ตัวอย่างดิน แหนม น้ำผิวดิน น้ำประปา และน้ำดื่มบรรจุขวดสำหรับจำหน่ายได้นำมาศึกษาเพื่อหาปริมาณไนเตรท โดยผลการวิเคราะห์ที่ทั้งจากวิธีการ โฟโตรีดักชัน และวิธีมาตรฐานของหน่วยงานปกป้องสิ่งแวดล้อมแห่งสหรัฐอเมริกาโดยการรีดิวซ์โดยใช้คอลัมน์แคดเมียม มีความสอดคล้องกันดี กราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ไนเตรทมีช่วงความเป็นเส้นตรงระหว่าง 0.02 ถึง 1.5 ไมโครกรัมไนโตรเจนต่อมิลลิลิตร ในรูปของไนเตรท ร้อยละการกลับคืน มีค่าระหว่าง 80 ถึง 120 ความทำซ้ำซึ่งระบุในนิยามของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์มีค่าร้อยละ 0.6 ถึง 3.6 สำหรับการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานไนเตรท ความเข้มข้น 0.02 0.10 และ 0.25 ไมโครกรัมไนโตรเจนต่อมิลลิลิตร โดยทำการวิเคราะห์แต่ละความเข้มข้นซ้ำ 12 ครั้ง วิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถวิเคราะห์ได้ในอัตรา 60 ครั้งต่อชั่วโมง และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดไนเตรทที่ระดับ 2.19 นาโนกรัมไนโตรเจนต่อมิลลิลิตร ในรูปไนเตรท วิธีการดังกล่าวลดการเกิดของเสีย โดยใช้สารละลายตัวพาและรีเอเจนท์ อย่างละ 2.5 มิลลิลิตร ต่อ การวิเคราะห์ 1 ครั้ง ซึ่งเป็นอัตราที่ต่ำกว่าวิธีมาตรฐานถึง 20 เท่า วิธีการที่เสนอนี้ ไม่ยุ่งยากซับซ้อน รวดเร็ว และยังสามารถจัดเป็นวิธีการวิเคราะห์แบบสะอาดอีกด้วย