

Thesis Title	Determination of Glucosamine by Sequential Injection Chromatography with Fluorescence Detector
Author	Mr. Arthit Bunma
Degree	Master of Science (Chemistry)
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Somchai Lapanantnoppakhun

ABSTRACT

A sequential injection chromatographic system (SIC), using UV and/or fluorescence as detectors, was developed for determination of glucosamine (GLcN) in synovial fluid samples. GLcN was derivatized by reacting with 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride (Fmoc-Cl) in a neutral medium before separation in the SIC. A fluorescence detector (excitation wavelength at 265 nm and emission wavelength at 315 nm) were employed. Chromatographic separation was performed on a short column (Monolith[®] C-18 column, column size is 5.0 mm × 4.6 mm) which is usually used as a guard column in the HPLC and using sequence elution technique. The mobile phase was consisted of methanol and 0.02 mol/L acetic acid (at the ratio of 10:90, 22:78 and 50:50 v/v) and was used at a flow rate of 1.02 mL/min. The optimum pH of medium for derivatization of GLcN was 7. The optimum temperature and injection volume for separation of GLcN derivative were in the range of 25-31 °C and 50 µL, respectively. The results obtained from the fluorescence detector provided linearity in the range of 3-40 mg/L with a correlation coefficient (r^2) of 0.9972, limit

of detection of 3 mg/L and the accuracy ranged from 87-100%. The proposed method was applied to the determination of glucosamine in synovial fluid samples.

In addition, turbidimetric technique was applied for the determination of potassium in soil. Potassium ion was precipitated by using sodium cobaltinitrite and the precipitate was monitored by UV-VIS spectrophotometer at 650 nm. The solution of sodium cobaltinitrite was freshly prepared by using cobalt nitrate and sodium nitrite (1 : 20 by mole ratio). The analytical parameters were studied. It was found that the concentration of stabilizing agent was 0.10 % w/v of PVA and the reaction time was 2 min. The linearity in the range of 15-80 mg/L K^+ was obtained. Relative standard deviation was 4.8 %. The proposed method was applied for determination of potassium in soil.

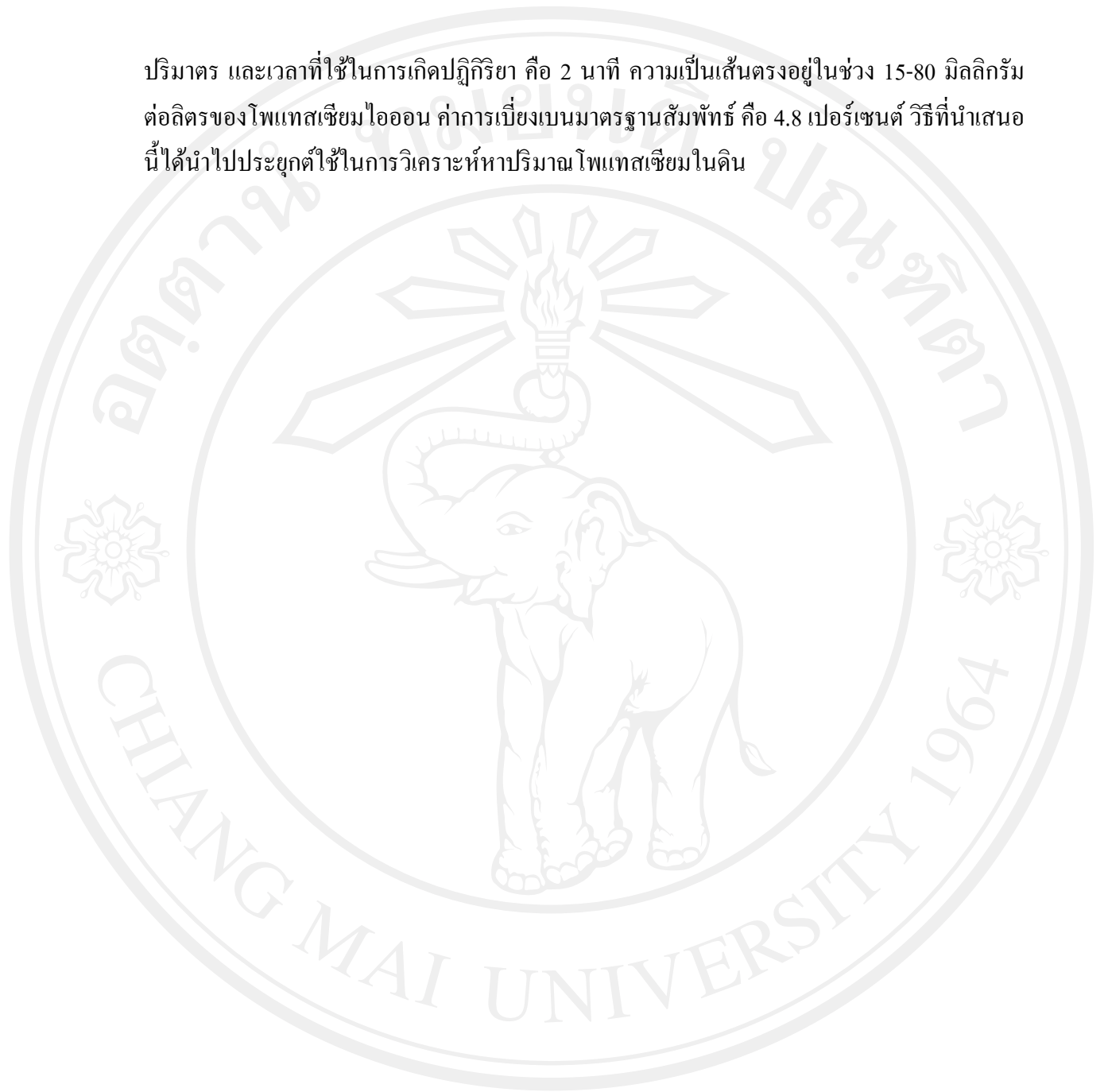
ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การหาปริมาณกลูโคซามีนโดยซีเควนเชียลอินเจกชันโครมาโทกราฟีที่ใช้ตัวตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์
ผู้เขียน	นายอาทิตย์ บุญมา
ปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เคมี)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.สมชัย ลาภอนันต์นันทกุล

บทคัดย่อ

ระบบซีเควนเชียลอินเจกชันโครมาโทกราฟี (เอสไอซี) โดยการใช้ตัวตรวจวัดยูวีและ/หรือฟลูออเรสเซนซ์ได้ถูกพัฒนาสำหรับการหาปริมาณกลูโคซามีนในตัวอย่างน้ำไขข้อ อนุพันธ์ของกลูโคซามีนเกิดขึ้นโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยากับ 9-ฟลูออรีนิลเมทอกซีคาร์บอนิล คลอไรด์ (เอฟม็อก - คลอไรด์) ในตัวกลางที่เป็นกลางก่อนที่จะนำไปทำการแยกในระบบเอสไอซี โดยใช้ตัวตรวจวัดฟลูออเรสเซนซ์ (ความยาวคลื่นที่ใช้กระตุ้นที่ 265 นาโนเมตร และความยาวคลื่นของการเปล่งแสงที่ 315 นาโนเมตร) โดยกระบวนการแยกเกิดบนคอลัมน์แบบสั้น (โมนอลิท ซี-18 คอลัมน์ขนาด 5.0 มิลลิเมตร×4.6 มิลลิเมตร) ซึ่งปกติจะใช้เป็นการคัดคอลัมน์ในระบบเอชพีแอลซีและใช้การจับตัวพาดด้วยเทคนิคซีเควนเชียลอินเจกชัน โดยเฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเมทานอลและกรดอะซิติกเข้มข้น 0.02 โมลลาร์ (อัตราส่วน 10:90, 22:78 และ 50:50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร) และใช้อัตราการไหลที่ 1.02 มิลลิลิตรต่อนาที ค่าความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมในการเตรียมอนุพันธ์กลูโคซามีนเท่ากับ 7 อุณหภูมิและปริมาตรในการฉีดที่เหมาะสมสำหรับการแยกอนุพันธ์ของกลูโคซามีน คือ อยู่ในช่วง 25-31 องศาเซลเซียส และ 50 ไมโครลิตรตามลำดับ ผลของการใช้ฟลูออเรสเซนซ์เป็นตัวตรวจวัด คือ ให้ค่าความเป็นเส้นตรงในช่วง 3-40 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 0.9972 ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้เท่ากับ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีร้อยละของความถูกต้องในช่วง 87-100 เปอร์เซ็นต์ วิธีที่นำเสนอนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณของกลูโคซามีนในตัวอย่างน้ำไขข้อ

นอกจากนี้ยังได้ประยุกต์เทคนิคการวัดความขุ่นมาใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมในดิน โดยโพแทสเซียมไอออนจะถูกทำให้เกิดการตกตะกอนโดยใช้โซเดียมโคบอลต์ไนไตรต์และติดตามตะกอนที่เกิดขึ้นโดยเครื่อง ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ 650 นาโนเมตร สารละลายโซเดียมโคบอลต์ไนไตรต์เตรียมขึ้นมาในขณะนั้นโดยใช้โคบอลต์ไนเตรต และโซเดียมไนไตรต์ (อัตราส่วน 1:20 โดยโมล) ได้ทำการศึกษาตัวแปรของการวิเคราะห์ พบว่าความเข้มข้นของพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ที่ทำให้ตะกอนเกิดเสถียรภาพลอยอยู่ในสารละลาย คือ 0.10 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อ

ปริมาณ และเวลาที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยา คือ 2 นาที ความเป็นเส้นตรงอยู่ในช่วง 15-80 มิลลิกรัม ต่อลิตรของโพแทสเซียมไอออน ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ คือ 4.8 เปอร์เซ็นต์ วิธีที่นำเสนอ นี้ได้นำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมในดิน



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved