Thesis Title Development of Flow Injection Analysis Methods for the Determination of Some Phytochemical Compounds from Thai Medicinal Plants and Drug Residue

Author Mr. Wisanu Thongchai

Degree Doctor of Philosophy (Pharmacy)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Boonsom Liawruangrath	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Saisunee Liawruangrath	Member
Prof. Dr. Gillian M. Greenway	Member

ABSTRACT

Two flow injection analysis systems were designed, fabricated and investigated for determination of arbutin and curcuminoids. First, a flow-injection analysis procedure is proposed for the determination of arbutin contents in pear fruits and commercial whitening creams extracts. It is based on the measurement at 514 nm of a red colored product formed by the complexation reaction between arbutin and 4-aminoantipyrine in the presence of hexacyanoferrate (III) in an alkaline medium. Under optimum conditions, linear calibration graph was obtained over the concentration range of 1.0 - 30.0 μg mL^{-1}. The detection limit (3σ) and the limit of quantitation (10σ) were 0.04 μg mL^{-1} and 0.13 μg mL^{-1} respectively. The method was successfully applied to the determination of arbutin in pear fruits and commercial whitening creams extracts.

Second, a flow-injection analysis procedure is proposed for the determination of curcuminoids content in turmeric extracts. The method is based on the formation of a red colored complex between 4-aminoantipyrine and curcuminoids, in the presence of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

potassium hexacyanoferrate (III) in alkaline media. Under the optimum conditions, linear calibration graph was obtained over the concentration range of 5.0 - 50.0 μg mL^{-1}. The limits of detection and quantitation were found to be 0.6 μg mL^{-1} and 1.8 μg mL^{-1} respectively. The proposed method was applied to the determination of curcuminoids content in turmeric.

Sequential injection analysis with lab-at-valve was developed for determination of solasodine in various *Solanum* species fruits. The method is based on the formation of ion-association complex between solasodine and methyl orange which can be extracted into chloroform before spectrophotometric detection. Sample, reagent and chloroform are sequentially aspirated via a multiposition selection valve attached with an extraction coil where the extraction process is performed. The aqueous and organic phases were separated in a lab-at-valve unit attracted to one of the ports of the selection valve. The ion pair complex in the organic phase was measured spectrophotometrically at 420 nm. The proposed method was successfully applied to the determination of solasodine in various *Solanum* species fruits.

A novel chemiluminescence microfluidic system incorporating a molecularly imprinted polymer (MIP) preconcentration step was used for the determination of chloramphenicol in honey samples. The molecularly imprinted polymer was prepared by using chloramphenicol as the template. When the sample containing chloramphenicol was introduced into the microfluidic device it was first pre-concentrated on the MIP then detected by an enhancement effect on the chemiluminescence reaction of tris(2, 2'-bipyridyl) ruthenium(II) with cerium(IV) sulphate in sulfuric acid. The CL intensity was linear in relationship to the chloramphenicol concentration from 1.55×10^{-4} - 3.09×10^{-3} μmol L^{-1} and the detection limit (3σ) and the quantitation limit (10σ) were found to be 7.46×10^{-6} μmol L^{-1} and 2.48×10^{-5} μmol L^{-1} respectively. This method offered a high selectivity and sensitivity for quantitative analysis of chloramphenicol in the honey sample.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การพัฒนาวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิซีสสำหรับหาปริมาณสารพฤกษเคมีบางชนิดจากพืชสมุนไพรไทยและยาตกค้าง

ผู้เขียน นายวิษณุ ธงไชย

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เภสัชศาสตร์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ.ดร. บุญสม เหลี่ยวเรืองรัตน์ ประธานกรรมการ
รศ.ดร. สายสุนีย์ เหลี่ยวเรืองรัตน์ กรรมการ
ศ.ดร. จิลเลียน เอ็ม กรีนเวย์ กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้พัฒนาระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซีส สองระบบ สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอาร์บูตินและเคอร์คูมินอยด์ โฟลอินเจคชันอะนาลิซีสระบบแรกใช้สำหรับหาปริมาณอาร์บูตินจากสารสกัดผลสาลีและครีมที่ทำให้ผิวขาว ด้วยการทำปฏิกิริยาระหว่างอาร์บูตินกับสารละลาย 4-อะมิโนแอนตีไพรีนในสารละลายโปแตสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตในสารละลายด่าง เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 514 นาโนเมตร ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1.0 - 30.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (3 ซิกมา) และค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณ (10 ซิกมา) เท่ากับ 0.04 และ 0.13 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณอาร์บูตินในตัวอย่างสารสกัดผลสาลีและครีมทำให้ผิวขาว

โฟลอินเจคชันอะนาลิซีสระบบที่สองใช้สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คูมินอยด์จากสารสกัดของขมิ้น ด้วยการทำปฏิกิริยาระหว่างเคอร์คูมินอยด์กับสารละลาย 4-อะมิโนแอนตีไพรีนในสารละลายโปแตสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอร์เรตในสารละลายด่างเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 5.0 - 50.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์และค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณเท่ากับ 0.6 และ 0.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ได้ประยุกต์วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณเคอร์คูมินอยด์ในตัวอย่างสารสกัดขมิ้น

ได้พัฒนาวิธีซีเควนเชียลอินเจคชันแบบแล็ปแอทวาล์ว สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโซลาโซดีนในผลโซลานุมสปีชีส์ชนิดต่าง ๆ วิธีนี้อาศัยหลักการทำให้เกิดไอออน -แอ็ซโซซิเอชันคอมเพล็กระหว่าง โซลาโซดีน กับเมธิลออเร็นจ์ ซึ่งสามารถสกัดโดยใช้คลอโรฟอร์มก่อนการ ตรวจวัดโดยสเปกโทรโฟโตเมทรี สารตัวอย่าง รีเอเจนต์และ คลอโรฟอร์ม ถูกดูดเข้าสู่มัลทิโพสิชันซิเลคชันวาล์วตามลำดับ เข้าสู่เอ็คแทร์คชันคอยล์แล้วเกิดขบวนการสกัดขึ้น ณ แล็ปแอทวาล์ว ชั้นน้ำและชั้นสารละลายอินทรีย์จะแยกออกจากกันและไหลเข้าสู่พอร์ทที่แยกกัน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงของไอออนแพร์คอมเพล็คในชั้นสารละลายอินทรีย์โดยวิธี สเปกโทรโฟโตเมทรีที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ได้ประยุกต์วิธีที่พัฒนาขึ้นสำหรับหาปริมาณโซลาโซดีนในผลโซลานุมสปีชีส์ชนิดต่าง ๆ

ระบบใหม่ของ เคมิลูมิเนสเซนส์ไมโครฟลูอิดิกร่วมกับขั้นตอนทำให้สารเข้มข้นด้วยพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุล (เอ็มไอพี) สำหรับวิเคราะห์ปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในตัวอย่างน้ำผึ้ง พอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลเตรียมขึ้นโดยการใช้คลอแรมเฟนิคอลเป็นแม่ พิมพ์ต้น แบบโมเลกุลเมื่อสารละลายตัวอย่างผ่านเข้าสู่ไมโครฟลูอิดิกชิป ขั้นตอนแรกสารละลายตัวอย่างจะถูกทำให้เข้มข้นบนพอลิเมอร์ลอกแบบโมเลกุลจากนั้นจะถูกตรวจวัดโดยผ่านสารละลายที่ส่งผลต่อการเพิ่มสัญญาณของปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนส์ของทริส 2, 2'-ไบไพริดิวลูทิเนียม (II) ไอออน ด้วยซีเรียม (IV) ซัลเฟตในสารละลายกรดซัลฟูริก ได้กราฟมาตรฐานของสัญญาณปฏิกิริยาเคมิลูมิเนสเซนส์เป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 1.55×10^{-4} - 3.09×10^{-3} ไมโครโมลต่อลิตร และมีค่าขีดจำกัดต่ำสุดของการวิเคราะห์และค่าขีดจำกัดของการวิเคราะห์ปริมาณเท่ากับ 7.46×10^{-6} ไมโครโมลต่อลิตรและ 2.48×10^{-5} ไมโครโมลต่อลิตรตามลำดับ ระบบที่พัฒนาขึ้นได้ประยุกต์สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณคลอแรมเฟนิคอลในตัวอย่างน้ำผึ้งที่ให้ค่าความเฉพาะเจาะจงและความไวสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved