

Thesis Title Development of Microfluidic Chemiluminescence for the Analysis of
Some Nitrofurans in Pharmaceuticals

Author Miss. Wanida Sirikeaw

Degree Master of Science (Chemistry)

Thesis Advisory Committee

Assistant Professor Dr. Teraboon Pojanagaroon	Advisor
Associate Professor Dr. Saisunee Liawruangrath	Co-advisor
Dr. Sakchai Satiemperakul	Co-advisor

ABSTRACT

A microfluidic system combined with chemiluminescence detection procedure was developed for the determination of some nitrofurans such as nitrofurazone (NFZ), nitrofurantoin (NFT) and furazolidone (FZD) in pharmaceutical preparations and animal feed samples. Preliminary experiments implemented for testing the sensitivity of chemiluminescence reactivity was investigated for nitrofurans by a simple flow injection chemiluminescence method. The method is based on CL induced by luminol in alkaline medium. Regarding on these findings, the CL signal of the presence reaction of the amount of enhanced emission is proportional to the concentration of nitrofurans. The possibility to develop to a microfluidic system for

nitrofurans analysis due to it gave an effective detection but minimize the reagent consumption with reducing waste production.

The microfluidic flow injections procedure was adopted for a microfluidic chemiluminescence device. The microchannels were designed using *CorelDraw X4*, and was fabricated on an acrylic glass by laser engraving. The chip consisted of acrylic glass and PDMS plates in sandwiched fashion. The optimum values of chemical and physical variables for determination of nitrofurans on the microfluidic chemiluminescence system were investigated by univariate procedure. The method involved injection of standard nitrofurans manually into a carrier stream (ultrapure water), which was then merged with the oxidant/surfactant (H_2O_2 with sodium hexametaphosphate) and a stream of reagent (luminol/ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$) solutions, which was passed through a microflow channel where the CL intensity was detected by a PMT put underneath a microchip, operated at a fixed voltage of 850 V. Under the microfluidic chemiluminescence procedure optimum conditions, the method exhibited the linear detection in a large concentration range from 0.30 to 9.00 mg L^{-1} nitrofurans. The detection limit ($S/N = 3$) of the method was 0.058, 0.11 and 0.12 mg L^{-1} with a quantification limit ($S/N = 10$) of 0.19, 0.36 and 0.40 mg L^{-1} for NFZ, NFT and FZD, respectively. The relative standard deviation was found to be 1.9, 0.8 and 1.0 % ($n = 15$) for NFZ, NFT and FZD, respectively. The intra-day and inter-day variations of the method were expressed in terms of percentage relative standard deviation (% RSD) were determined and found to be less than 5.0 % RSD. The proposed method has been successfully applied to determine the FZD, NFT and NFZ concentrations in real samples and results were compared favorably with those obtained by using the BP and HPLC method for commercial pharmaceutical

preparations and animal feeds, which were in good agreement at the 95 % confidence level. The recoveries of the drugs by proposed method were observed between 96.94 and 105.80%.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาไมโครฟลูอิดิกเคมีลูมิเนสเซนส์สำหรับวิเคราะห์ หาไนโตรฟูรานบางชนิดในเกสรชกันท์	
ผู้เขียน	นางสาววนิดา สิริเชียว	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรบุญ พจนการุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สายสุนีย์ เหลี้ยวเรืองรัตน์ ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

ได้พัฒนาระบบไมโครฟลูอิดิกร่วมกับการตรวจวัดเชิงเคมีลูมิเนสเซนส์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนโตรฟูรานบางชนิด คือ ไนโตรฟูราโซน ไนโตรฟูรานโทอิน และฟูราโซลิโดน ในตัวอย่างเกสรชกันท์และอาหารสัตว์ โดยในเบื้องต้นได้ทำการทดสอบการเกิดปฏิกิริยาเชิงเคมีลูมิเนสเซนส์สำหรับวิเคราะห์ไนโตรฟูรานด้วยระบบโพลีอินเจกชันเคมีลูมิเนสเซนส์อย่างง่าย ซึ่งวิธีการนี้อยู่บนพื้นฐานจากการเกิดปฏิกิริยาเคมีลูมิเนสเซนส์ด้วยสารลูมิโนลในสารละลายสถานะต่าง จากการทดสอบพบว่า ให้สัญญาณที่เกิดจากการเปล่งแสงเคมีลูมิเนสเซนส์ที่เพิ่มขึ้นตามจำนวนการทำปฏิกิริยากับสารไนโตรฟูราน จากการศึกษาเบื้องต้นนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับระบบไมโครฟลูอิดิกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนโตรฟูราน ซึ่งลดปริมาณการใช้สารเคมี ทำให้เกิดของเสียน้อยลง

ได้พัฒนาระบบไมโครฟลูอิดิกเคมีลูมิเนสเซนส์โดยใช้อุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณไนโตรฟูราน ช่องได้ถูกออกแบบด้วยโปรแกรมออกแบบกราฟิกแล้วสร้างด้วยลำแสงเลเซอร์ โดยชิปประกอบด้วยด้วยแผ่นอะคริลิกและแผ่นพีดีเอ็มเอในรูปแบบของแซนวิช ได้

ทำการศึกษาสภาพที่เหมาะสมของตัวแปรทางเคมีและทางกายภาพสำหรับหาปริมาณไนโตรฟูรานด้วยวิธียูนิแวนิเอท โดยเมื่อนิโคตติงสารละลายมาตรฐานไนโตรฟูรานเข้าสู่กระแสตัวพา(น้ำบริสุทธิ์ไหลเข้าสู่กระแสของออกซิเจนที่เซอร์แฟลคแดนท์ (ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กับ โซเดียมเมตาฟอสเฟต) หลังจากนั้นจะไปผสมกับกระแสของสารละลายรีเอเจนต์ (ลูมินอล กับ เฟอร์ริกไซยานาท์) แสงเคมีลูมิเนสเซนซ์ที่เปล่งออกมาจะถูกวัด โดยใช้หลอดวัดแสงพีเอ็มทีเพื่อตรวจสัญญาณ โดยใช้ศักย์ไฟฟ้า 850 โวลต์ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับหาปริมาณไนโตรฟูราน พบว่าสามารถตรวจวัดปริมาณไนโตรฟูรานได้ในช่วงความเข้มข้น 0.30 ถึง 9.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไนโตรฟูรานทั้งสามชนิด คือ ไนโตรฟูราโซน ไนโตรฟูรานโตอิน และฟูราโซลิโดน มีขีดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดที่มีความเข้มข้น 0.058, 0.11 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ที่มีความเข้มข้น 0.19, 0.36 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.9, 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (ทำการทดลองซ้ำ 15 ครั้ง) ตามลำดับ ได้ศึกษาความแปรปรวนจากการทดลองซ้ำในช่วงวันเดียวกัน และทำการทดลองซ้ำในช่วงต่างวัน พบว่า มีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์น้อยกว่า 5.0 เปอร์เซ็นต์

ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์สำหรับหาปริมาณไนโตรฟูราโซน ไนโตรฟูรานโตอิน และฟูราโซลิโดน ในตัวอย่างเภสัชภัณฑ์และอาหารสัตว์ ซึ่งผลการวิเคราะห์เป็นที่ยอมรับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับวิธี บีพี และเอชพีแอลซี วิธีการนี้มีความถูกต้อง ซึ่งคำนวณจากร้อยละของการกลับคืนอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ คือ 96.94 ถึง 105.80 เปอร์เซ็นต์