

**Thesis Title** Plant Tissue-based Bioelectrodes for Determination of Some Chemical Substances

**Author** Mr. Prasit Purachat

**Ph.D.** Chemistry

**Examining Committee**

Assistant Professor Dr. Saisunee Liawruangrath	Chairman
Associate Professor Dr. Surasak Watañesk	Member
Associate Professor Dr. Boonsom Liawruangrath	Member
Dr. Winai Oungpipat	Member
Dr. Bundit Leelasart	Member
Associate Professor Dr. Vichitr Rattanaphani	Member

## ABSTRACT

A plant tissue-based bioelectrode obtained by incorporating asparagus (*Asparagus officinalis*) tissue into a ferrocene-mediated carbon paste electrode for the determination of fluoride was developed. It is based on the amperometric determination of the inhibitory effect of fluoride on the asparagus peroxidase activity. The measurements were performed in non-deaerated NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-NaOH buffer solution (pH 5.0) containing 0.1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at -0.05 V (*versus* Ag/AgCl). The bioelectrode consisted of 7% (w/w) asparagus tissue and 6% (w/w) ferrocene. The bioelectrode exhibited a linear response up to a fluoride concentration of 14.0 mg l<sup>-1</sup> with a detection limit (*S/N*=3) of 0.5 mg l<sup>-1</sup> and a relative standard deviation (R.S.D.) of 2.1% (*n*=15). The

bioelectrode sensitivity decreased to 50% of its original value within 12 days. This bioelectrode was tested by assaying fluoride in tablet formulations and the results compared favorably with those obtained by potentiometric measurement.

A new plant tissue-based bioelectrode obtained by incorporating sunflower (*Helianthus annuus L.*) leaf tissue as a source of glycolate oxidase and peroxidase into a ferrocene-mediated carbon paste electrode for the determination of glycolic acid was also developed using the FIA and BIA systems. The FIA-amperometric measurements were performed by injecting aliquots of glycolic acid solution into a phosphate buffer carrier stream (pH 8.0) with a flow rate of  $0.3 \text{ ml min}^{-1}$ . The bioelectrode consisted of 20% (w/w) sunflower leaf tissue and 5% (w/w) ferrocene at 0.00 V (vs. Ag/AgCl). The bioelectrode exhibited a linear response up to a glycolic acid concentration of  $2 \times 10^{-3} \text{ M}$  with a detection limit ( $S/N=3$ ) of  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  and a relative standard deviation of 1.67% ( $n=15$ ). The bioelectrode response decreased to 70% of the original value within 90 continuous injections. The BIA-amperometric measurements were performed by injecting a small volume (30  $\mu\text{l}$ ) of analyte solution from a micropipette tip directly over the center of the bioelectrode immersed in a phosphate buffer solution (pH 8.0). The bioelectrode consisted of 16% (w/w) sunflower leaf tissue and 5% (w/w) ferrocene at 0.00 V (vs. Ag/AgCl). The bioelectrode exhibited a linear response up to a glycolic acid concentration of  $8 \times 10^{-4} \text{ M}$  with a detection limit ( $S/N=3$ ) of  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$  and a relative standard deviation (R.S.D.) of 2.4% ( $n=15$ ). The bioelectrode response decreased to 70% of the original value within 180 continuous injections. This bioelectrode was tested by assaying glycolic acid in human urine samples and the results compared favorably with those obtained by HPLC. The advantages which the bioelectrode offers include speed of measurement, high activity, high stability, ease of preparation and low cost.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

อิเล็กโทรดชีวภาพจากเนื้อเยื่อพืชสำหรับการหาปริมาณสารเคมี  
บางชนิด

ชื่อผู้เขียน

นายประสิทธิ์ ปุระชาติ

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเคมี

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สายสุนีย์ เหลี่ยมเรืองรัตน์	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. สุรศักดิ์ วัฒเนสก์	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. นุญสม เหลี่ยมเรืองรัตน์	กรรมการ
ดร. วินัย วงศพิพัฒน์	กรรมการ
ดร. ปัณฑิต ลีลศานต์	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตร รัตนพานิช	กรรมการ

## บทคัดย่อ

ได้พัฒนาอิเล็กโทรดชีวภาพจากเนื้อเยื่อพืชแบบคาร์บอนเพสท์ ซึ่งประกอบด้วยเนื้อเยื่อจากต้นหน่อไม้ฝรั่งกับเฟโรซีน สำหรับการหาปริมาณฟลูออไรด์ โดยอาศัยวิธีแอมเพโตรเมทรี วัดผลการไปยังชั้งฤทธิ์ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดตในหน่อไม้ฝรั่งของฟลูออไรด์ การวัดกระทำในสารละลายฟอสฟอตบัฟเฟอร์ที่ปราศจากการไอล่าอากาศ (ค่าความเป็นกรดเบส เท่ากับ 5.0) ประกอบด้วยไชโตรเจนเปอร์ออกไซด์ เท้มขั้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า -0.05 โวลต์ (เทียบกับอิเล็กโทรดมาตรฐานซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์) โดยอิเล็กโทรดชีวภาพประกอบด้วยเนื้อเยื่อหน่อไม้ฝรั่ง ร้อยละ 7 และ เฟโรซีน ร้อยละ 6 โดยนำหนัก พบว่า อิเล็กโทรดชีวภาพนี้แสดงสภาพเชิงเส้นความเข้มข้นของฟลูออไรด์ได้ถึง 14.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ขีดจำกัดค่าสูง 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 2.1 สภาพไขวของอิเล็กโทรดชีวภาพ ลดลงเหลือร้อยละ 50 ของค่าเริ่มต้น ภายในเวลา 12 วัน ได้นำอิเล็กโทรดชีวภาพนี้ไปทดสอบวัดปริมาณ

ฟลูออไรค์ในยาเตรียมของฟลูออไรค์ชนิดเม็ด ปรากฏว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจเมื่อเทียบกับการวัดโดยวิธีโพแทนซิโอมตรี

อิเล็กโทรเครื่องวัดความนำไฟฟ้า ( $\text{S}^{-1}$ ) ให้ค่าความนำไฟฟ้า  $0.00 \text{ S}^{-1}$  โดยใช้เนื้อเยื่อในตันคอกห่านตะวัน เป็นแหล่งของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส และไกลโคลेत ออกซิเดส ร่วมกับเฟโรซีน สำหรับการหาปริมาณกรดไกลโคลิก โดยใช้ระบบโฟลอินเจกชันและแบบชั่นเจกชันในการวัดแบบโฟลอินเจกชัน-แ昏เมโนโรเมตريค กระทำโดยการฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสของสารละลายฟ้อสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรดเบส เท่ากับ 8.0) อัตราการไหล 0.3 มิลลิลิตรต่อนาที อิเล็กโทรเครื่องวัดความประกอนด้วยเนื้อเยื่อในตันคอกห่านตะวัน ร้อยละ 20 และเฟโรซีน ร้อยละ 5 โดยนำหนัก ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 0.00 โวลต์ (เทียบกับอิเล็กโทรคามาตรฐานซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรค์) อิเล็กโทรเครื่องวัดความนำไฟฟ้าแสดงสภาพเชิงเด่นความเข้มข้นของกรดไกลโคลิกได้ถึง  $2 \times 10^{-3}$  มोลาร์ ที่ขีดจำกัดต่ำสุด  $1 \times 10^{-5}$  มोลาร์ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 1.67 สภาพไวของอิเล็กโทรคลดลงเหลือร้อยละ 70 ของค่าเริ่มต้น ภายในการฉีดแบบต่อเนื่อง 90 ครั้ง ในการวัดแบบแบบชั่นเจกชัน-昏เมโนโรเมตريค กระทำโดยการฉีดสารตัวอย่างปริมาตรน้อย ๆ (30 ไมโครลิตร) จากส่วนปลายของไมโครปีเพต ลงไปบนส่วนกลางของอิเล็กโทรเครื่องวัด ที่แขวนอยู่ในสารละลายฟ้อสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรดเบส เท่ากับ 8.0) อิเล็กโทรเครื่องวัดความประกอนด้วยเนื้อเยื่อในตันคอกห่านตะวัน ร้อยละ 16 และ เฟโรซีน ร้อยละ 5 โดยนำหนัก ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 0.00 โวลต์ (เทียบกับอิเล็กโทรคามาตรฐานซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรค์) อิเล็กโทรเครื่องวัดแสดงสภาพเชิงเด่นความเข้มข้นของกรดไกลโคลิกได้ถึง  $8 \times 10^{-4}$  ไมลาร์ ที่ขีดจำกัดต่ำสุด  $1 \times 10^{-5}$  มोลาร์ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 2.4 สภาพไวในการตอบสนองของอิเล็กโทรคลดลงเหลือร้อยละ 70 ของค่าเริ่มต้น ภายในการฉีดแบบต่อเนื่อง 180 ครั้ง ได้นำอิเล็กโทรเครื่องวัดความนำไฟฟ้าไปทดสอบวัดปริมาณกรดไกลโคลิกในน้ำปัสสาวะของมนุษย์ ปรากฏว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจเมื่อเทียบกับการวัดโดยวิธีโคมากาฟ์แบบของเหลวสมรรถนะสูง อิเล็กโทรเครื่องวัดความนำไฟฟ้า มีความรวดเร็วในการวัด มีถูกที่ มีความคงตัวสูง สามารถเตรียมได้ง่าย และราคาถูก