

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 Watanesk	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 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$ buffer solution (pH 5.0) containing 0.1 mM H_2O_2 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^{-1} with a detection limit ($S/N=3$) of 0.5 mg l^{-1} 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 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.

ฟลูออไรด์ในยาเตรียมของฟลูออไรด์ชนิดเม็ด ปรากฏว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจเมื่อเทียบกับการวัดโดยวิธีโพเทนชิโอเมตรี

อิเล็กโทรดชีวภาพจากเนื้อเยื่อพืชชนิดใหม่แบบคาร์บอนเพสที่ได้ถูกพัฒนา โดยใช้เนื้อเยื่อใบต้นดอกทานตะวัน เป็นแหล่งของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส และไกลโคเลต ออกซิเดส ร่วมกับเฟโรซีน สำหรับการหาปริมาณกรดไกลโคลิก โดยใช้ระบบโพลีอินเจกชันและแบทซ์อินเจกชัน ในการวัดแบบโพลีอินเจกชัน-แอมเพอโรเมตริก กระทำโดยการฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในกระแสของสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรดเบส เท่ากับ 8.0) อัตราการไหล 0.3 มิลลิลิตรต่อ นาที อิเล็กโทรดชีวภาพประกอบด้วยเนื้อเยื่อใบต้นดอกทานตะวัน ร้อยละ 20 และเฟโรซีน ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 0.00 โวลต์ (เทียบกับอิเล็กโทรดมาตรฐานซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์) อิเล็กโทรดชีวภาพนี้แสดงสภาพเชิงเส้นความเข้มข้นของกรดไกลโคลิกได้ถึง 2×10^{-3} โมลาร์ ที่ขีดจำกัดต่ำสุด 1×10^{-5} โมลาร์ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 1.67 สภาพไวของอิเล็กโทรดลดลงเหลือร้อยละ 70 ของค่าเริ่มต้น ภายในการฉีดแบบต่อเนื่อง 90 ครั้ง ในการวัดแบบแบทซ์อินเจกชัน-แอมเพอโรเมตริก กระทำโดยการฉีดสารตัวอย่างปริมาณน้อย ๆ (30 ไมโครลิตร) จากส่วนปลายของไมโครปิเปต ลงไปบนส่วนกลางของอิเล็กโทรดชีวภาพ ที่แช่อยู่ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรดเบส เท่ากับ 8.0) อิเล็กโทรดชีวภาพประกอบด้วยเนื้อเยื่อใบต้นดอกทานตะวัน ร้อยละ 16 และ เฟโรซีน ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 0.00 โวลต์ (เทียบกับอิเล็กโทรดมาตรฐานซิลเวอร์/ซิลเวอร์คลอไรด์) อิเล็กโทรดชีวภาพแสดงสภาพเชิงเส้นความเข้มข้นของกรดไกลโคลิกได้ถึง 8×10^{-4} โมลาร์ ที่ขีดจำกัดต่ำสุด 1×10^{-5} โมลาร์ และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ ร้อยละ 2.4 สภาพไวในการตอบสนองของอิเล็กโทรดลดลงเหลือร้อยละ 70 ของค่าเริ่มต้น ภายในการฉีดแบบต่อเนื่อง 180 ครั้ง ได้นำอิเล็กโทรดชีวภาพนี้ไปทดสอบวัดปริมาณกรดไกลโคลิกในน้ำปัสสาวะของมนุษย์ ปรากฏว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจเมื่อเทียบกับการวัดโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง อิเล็กโทรดชีวภาพนี้ มีความรวดเร็วในการวัด มีฤทธิ์ มีความคงตัวสูง สามารถเตรียมได้ง่าย และราคาถูก