สิรีรัตน์ อินทรกำแหง : การพัฒนาเทคนิคสำหรับตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระและโลหะหนักปริมาณน้อย โดยเคมีไฟฟ้าโรโบติกในไมโครไตเตอร์เพลท (DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE DETERMINATION OF ANTIOXIDANTS AND TRACE HEAVY METALS BY ROBOTIC ELECTROCHEMISTRY IN MICROTITER PLATES) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.อัลแบร์ท ชูลเทอ, 226 หน้า.

วิทยานิพนธ์นี้มุ่งพัฒนา การวิเคราะห์เชิงปริมาณทางเคมีไฟฟ้าแบบอัตโนมัติเพื่อหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร และโลหะหนักปริมาณน้อยในตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม ระบบนี้ประกอบด้วยไมโครไตเตอร์เพลทขนาด 24 หลุม ขั้วไฟฟ้าทำงานไส้ดินสอคาร์บอน ขั้วไฟฟ้าอ้างอิง Ag/AgCl และขั้วไฟฟ้าเคาเตอร์แพลททินัม ทั้งหมดนี้ใช้คอมพิวเตอร์ในการควบคุมการเคลื่อนที่ของขั้วไฟฟ้าขึ้น-ลง (แกน z) ไมโครไตเตอร์เพลท (แกน x y) และการทำงานของโพเทนชิโอสเตตควบคุมโดยโปรแกรมไปที่ไมโครไตเตอร์เพลทขนาด 24 หลุม และเซนเซอร์ โดยมีการทำความสะอาดขั้วไฟฟ้า หรือใช้เทคนิคแอมเพอโรเมตรี/โวลแทรมเมตรี ในการวิเคราะห์

ดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวแทมเมตรี (differential pulse voltammetry) ของกรดแอสคอบิคแบบอัตโนมัติในไมโครไตเตอร์เพลทเมื่อใช้วิธีโวลแทมเมตรีแบบอัตโนมัติมีการตอบสนองความเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 0.1-8.0 มิลลิโมลาร์เซนซิติวิตี 1 μAmM^{-1} และความสามารถในการวัดที่น้อยที่สุด 50 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นของตัวอย่างกรดแอสคอบิคที่ทราบค่าโดยวิธีสร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve method) และวิธีเพิ่มเติมความเข้มข้นสารมาตรฐาน (standard addition method) พบว่า ร้อยละการกลับคืน (recovery rate) ดี นอกจากนั้นยังได้ประยุกต์วิธีนี้ในการหาปริมาณกรดแอสคอบิค ในเม็ดยาวิตามินซี น้ำฝรั่ง และชาสมุนไพร

การใช้คอมพิวเตอร์ควบคุมไมโครไตเตอร์เพลท ขนาด 24 หลุม และแอมเพอโรเมตรีแบบอัตโนมัติกับสารอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH•)) เพื่อหาค่าสารต้านอนุมูลอิสระรวม พบว่าวิธีนี้ประสบความสำเร็จในการประยุกต์กับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น ชา น้ำผลไม้ และผักสกัด

ส่วนสุดท้ายเคมีไฟฟ้าโรโบติกในไมโครไตเตอร์เพลทเพื่อการประยุกต์อย่างมีประสิทธิภาพโดยวิธีสตริปปิงดิฟเฟอเรนเชียลพัลส์โวแทมเมตตรี (differential pulse stripping voltammetry) กับขั้วไฟฟ้าบิสมัส เพื่อหาตะกั่วและแคดเมียมปริมาณน้อย พบว่าปริมาณของโลหะหนักตะกั่วและแคดเมียมในตัวอย่างน้ำที่ใส่ตะกั่วและแคดเมียมลงไปมีร้อยละการกลับคืนที่ดีเมื่อประยุกต์กับสารตัวอย่างน้ำเสียที่มีใบรับรอง (certified waste water reference) ได้ค่าร้อยละการกลับคืนที่ดี ระหว่างร้อยละ 90-110 เช่นกัน โดยใช้วิธีเพิ่มเติมความเข้มข้นสารมาตรฐานกับเคมีไฟฟ้าโรโบติก การ

ประยุกต์กับตัวอย่างจริงวัดปริมาณของตะกั่วในดินปนเปื้อนโดยใช้เคมีไฟฟ้าโรโบติกเทียบกับวิธีอินดักทิฟลิ คัพเพิลพลาสมาสเปกโทสโกปี

ประโยชน์ของเคมีไฟฟ้าโรโบติกในไมโครไตเตอร์เพลทแสดงให้เห็นว่าดีกว่าการวิเคราะห์โดยใช้การทำงานที่ควบคุมโดยมือ เนื่องจากสะดวกประหยัดเวลาและลดความผิดพลาดจากการใช้การทำงานที่ควบคุมโดยมือ นอกจากนั้นเทคนิคนี้ยังเป็นที่ดึงดูดในการตรวจจับจำนวนตัวอย่างปริมาณมากและสามารถนำไปประยุกต์ในห้องปฏิบัติการอุตสาหกรรมทางด้านเภสัชกรรม และงานทางด้านตรวจสอบและติดตามคุณภาพทางสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเคมี ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2555 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

SIREERAT INTARAKAMHANG : DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE DETERMINATION OF ANTIOXIDANTS AND TRACE HEAVY METALS BY ROBOTIC ELECTROCHEMISTRY IN MICROTITER PLATES. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. ALBERT SCHULTE, Ph.D. 226 PP.

ROBOTIC ELECTROCHEMISTRY/ELECTROANALYSIS/ ASCORBIC ACID/ TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY/ LEAD CADMIUM TRACE ANALYSIS/ CARBON PENCIL LEAD ELECTRODE/ MICRO TITERPLATE

This dissertation aimed on the development of a convenient automated electrochemical quantification of antioxidants in dietary and trace toxic heavy metals in environmental samples. The complete 24-well microtiter plate electrochemical assay uses a movable assembly of a carbon pencil lead working, an Ag/AgCl reference and a Pt counter electrode. A computer was in command of electrode assembly (z) and microtiter plate (x, y) positioning and timed potentiostat operation. Synchronization of these actions supported sequential approach of all 24 wells with the sensor device and subsequent execution of electrode treatment/cleaning procedures or amperometry/voltammetry by a programmed analytical platform.

Automated ascorbic acid (AA) differential pulse voltammetry (DPV) in microtiter plates offered a linear analytical response between 0.1 and 8.0 mM, a sensitivity of about 1 μAmM^{-1} AA, and a detection limit of 50 µM. When using with the calibration curve or standard addition method, automated AA voltammetry of samples with added known amounts of AA demonstrated good recovery rates. The assay also succeeded with the accurate determination of the AA content of vitamin C tablets, a fresh guava juice and a herbal tea extract.

The establishment of an ac.curate computer-controlled amperometric 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH·) assay was possible and allowed the determination of total antioxidant levels in 24-well microtiter plate format. The methodology was successfully applied to the assessment of the with synthetic antioxidants of known concentrations and tea infusions, fruit juices, and vegetable extracts.

Finally, trace Pb(II) and Cd(II) determination was effectively accomplished with robotic differential pulse stripping voltammetry (DPSV) in microtiter plates with bismuth-film electrode. The obtained heavy metal assay offered good recovery rates for trace Pb(II) and Cd(II) in spiked water samples. Applied to an analysis certified of waste water in the robotic stripping voltammetry standard addition mode delivered recovery rates between 90-110 % relation. In an application to real samples, the amount of Pb (II) in contaminated soil samples was determined, and the level compared well to the one determined in a measurement with robotic DPSV from inductively coupled plasma spectroscopy.

Microtiter plate-based robotic electroanalysis offers significant advantages over manual operation including convenience, time saving and minimization of manual errors. The methodology is certainly an attractive complementary option when the task is the screening large numbers of samples. Potential is thus for future applications in the laboratories of the food and pharmaceutical industry as well as for environmental monitoring and testing.

School of Chemistry Student's Signature Sireerat Intarakamhang

Academic Year 2012 Advisor's Signature