วิธีใหม่สำหรับการตรวจวัดสารปฏิชีวนะเททระไซคลินและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการแอโนไดส์

นางสาว ณัฐกานต์ หวังเฟื่องคณากุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-1937-6

A NOVEL METHOD FOR THE DETERMINATION OF TETRACYCLINE ANTIBIOTICS AND HYDROGEN PEROXIDE USING ANODIZED BORON-DOPED DIAMOND THIN FILM ELECTRODES

Miss Nattakarn Wangfuengkanagul

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Doctor of Science Program in Chemistry

Department of Chemistry

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic year 2005

ISBN 974-14-1937-6

Thesis Title	A novel method for the determination of tetracycline antibiotics and hydrogen peroxide using anodized boron-doped diamond thin film electrodes
By	Miss Nattakarn Wangfuengkanagul
Filed of study	Chemistry
Thesis Advisor	Associate Professor Orawon Chailapakul, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Doctor's Degree

.....Dean of the Faculty of Science

(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman

(Associate Professor Sirirat Kokpol, Ph.D.)

..... Thesis Advisor

(Associate Professor Orawon Chailapakul, Ph.D.)

..... Member

(Associate Professor Nattaya Ngamrojnavanich, Ph.D.)

..... Member

(Assistant Professor Narong Praphairaksit, Ph.D.)

..... Member

(Assistant Professor Duangjai Nacapricha, Ph.D.)

ณัฐกานต์ หวังเฟื่องคณากุล: วิธีใหม่สำหรับการตรวจวัดสารปฏิชีวนะเททระไซคลินและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการแอโนไดส์ (A NOVEL METHOD FOR THE DETERMINATION OF TETRACYCLINE ANTIBIOTICS AND HYDROGEN PEROXIDE USING ANODIZED BORON-DOPED DIAMOND THIN FILM ELECTRODES) อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ. ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล; 149 หน้า. ISBN 974-14-1937-6

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาการนำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการดัดแปร ได้แก่ ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการแอโนไดส์และขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการดัดแปรด้วยโครเมียมเฮกซะไซยาโนเฟอเรตเพื่อไปใช้สำหรับการตรวจวัดสารปฏิชีวนะเททระไซคลินและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ทำการศึกษาเคมีไฟฟ้าของสารปฏิชีวนะเททระไซคลินที่ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการแอโนไดส์ด้วยไซคลิกโวลแทมเมทรี โฟลว์อินเจคชัน และไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทรกราฟีซึ่งต่อกับระบบตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า เปรียบเทียบผลการทดลองโดยไซคลิกโวลแทมเมทรีกับขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนและขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอน ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการแอโนไดส์จะให้ผลของไซคลิกโวลแทมโมแกรมสำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารปฏิชีวนะเททระไซคลินแบบไม่ผันกลับที่ชัดเจนและให้สัญญาณกระแสไฟฟ้าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับขั้วไฟฟ้ากลาสสิคาร์บอนและขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอน วิธีดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดสารปฏิชีวนะเททระไซคลินในตัวอย่างยาเตรียมและไข่ได้ จากการศึกษาเปอร์เซนต์การกลับคืนของสารมาตรฐานที่เติมในตัวอย่างพบว่าผลการทดลองที่ได้เป็นที่น่าพอใจ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาเคมีไฟฟ้าของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางของเพชรที่โดปด้วยโบรอนซึ่งผ่านการดัดแปรด้วยโครเมียมเฮกซะไซยาโนเฟอเรตด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี และโฟลว์อินเจคชันซึ่งต่อกับระบบการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า โดยทำการศึกษาวิธีการเตรียมขั้วไฟฟ้าก่อนนำมาดัดแปร วิธีการตรึงทางเคมีไฟฟ้า และอัตราส่วนโดยโมลาร์ระหว่างโครเมียมไนเทรตและโปแทสเซียมเฮกซะไซยาโนเฟอเรตเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมขั้วไฟฟ้าดัดแปร รวมทั้งทำการศึกษาผลของ pH และระบบอิเล็กโทรไลต์และบัฟเฟอร์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จากนั้นนำขั้วไฟฟ้าดัดแปรไปประยุกต์ใช้เป็นระบบการตรวจวัดแอมเปอโรเมทริกต่อกับระบบโฟลว์อินเจคชัน ซึ่งสารดังกล่าวสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการตรวจวัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในตัวอย่างยาเตรียม (ยาฆ่าเชื้อ)

อีกส่วนที่ทำการวิจัย คือ การศึกษาอันตรกิริยาระหว่าง J-aggregate, $(H_4TPPS)_n$, และพอลิเมอร์แบบนอนไอออนิก ได้แก่ Triton X-100 และ PEG 300 พบว่าสเปกตรัมของ J-aggregate, $(H_4TPPS)_n$, ที่มี Triton X-100 และ PEG-300 เปลี่ยนเครื่องหมายไปจากสเปกตรัมของ J-aggregate, $(H_4TPPS)_n$ ทำการอธิบายกลไกของปฏิกิริยาระหว่าง J-aggregate, $(H_4TPPS)_n$, และพอลิเมอร์แบบนอนไอออนิก

ภาควิชา .....เคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....ณัฐกานต์ หวังเฟื่องคณากุล.....

สาขาวิชา.....เคมี..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....อรวรรณ ชัยลภากุล.....

ปีการศึกษา ..2548.....

457 38129 23 : MAJOR ANALYTICAL CHEMISTRY

KEYWORDS : MODIFIED BORON-DOPED DIAMOND THIN FILM ELECTRODES/ FLOW INJECTION SYSTEM/TETRACYCLINES/HYDROGEN PEROXIDE

NATTAKARN WANGFUENGKANAGUL : A NOVEL METHOD FOR THE DETERMINATION OF TETRACYCLINE ANTIOBIOTICS AND HYDROGEN PEROXIDE USING ANODIZED BORON-DOPED DIAMOND THIN FILM ELECTRODES. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. ORAWON CHAILAPAKUL, Ph.D., 149 pp., ISBN 974-14-1937-6

This study focused on the use of modified boron-doped diamond thin film (BDD) including anodized BDD and chromium (III) hexacyanoferrate (II) modified BDD electrodes for the determination of tetracyclines (TCs) and hydrogen peroxide. The electrochemistry of TCs was studied at an anodized BDD electrode using cyclic voltammetry, flow injection (FI) and high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with electrochemical detector. Comparative experiments by cyclic voltammetry were performed at polishing glassy carbon (GC) and as-deposited BDD electrodes. The anodized BDD electrode exhibited well-defined irreversible cyclic voltammograms for the oxidation of TCs with the highest current signals compared to the as-deposited BDD and GC electrodes. The proposed method was applied to determine of TCs in pharmaceutical formulations and egg samples. Recoveries of spiked standard solution were determined. The results obtained were satisfactory. In addition, the electrochemistry of hydrogen peroxide was carried out at chromium (III) hexacyanoferrate (II) modified BDD electrode using cyclic voltammetry and flow injection coupled with an electrochemical detector. The effect of electrode pretreatment and electrodeposition methods, and the molar ratios between chromium nitrate and potassium hexacyanoferrate were investigated to find the optimum condition for the preparation of a modified electrode. The effect of pH and electrolyte/buffer systems was also investigated to find the optimum condition for detecting hydrogen peroxide. The modified electrode was used as the amperometric detector coupled with flow injection. The proposed method was applied to determine hydrogen peroxide in pharmaceutical formulation (disinfection solution).

Moreover, the study of interaction between J-aggregate, $(H_4TPPS)_n$, and nonionic polymers including Triton X-100 and PEG 300. The CD spectra of the J-aggregate, $(H_4TPPS)_n$, changed to the opposite sign CD spectra in the presence of Trion X-100 and PEG 300. The mechanism between J-aggregate, $(H_4TPPS)_n$, and nonionic polymers was described.

Department ...Chemistry..... Student's signature...Nattakarn Wangfuengkanagul.....

Field of study..Chemistry..... Advisor's signature...Orawon Chailapakul.....

Academic Year .2005.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to take this opportunity to express my sincere appreciation to several people who have actively involved and supported throughout my four years study in Chulalongkorn University.

First and foremost is my Advisor, Assoc. Prof. Orawon Chailapakul who has played the crucial role as a valuable and resourceful mentor throughout the entire study period. She has been consistently provided me with all kinds of technical expertise which has clearly laid out a solid background to my professor achievement. Similar acknowledgement of appreciation should also go to Prof. Dr. Masaaki Tabata who has provided a short-term technical support during my overseas scholarship in Japan. I also would like to thank the Thesis Committee for their valuable input, which has clearly endorsed the completion of this thesis. Another group of people who has never been less important to my success and whom I feel very much grateful, is the Thailand Research Fund through the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (Grant No. PHD/0209/2544). They have provided me with full financial support both domestically and internationally. I have been given several opportunities to attend the international trainings and workshops which has undoubtedly not only enhanced my knowledge but also an invaluable opportunity for the international exposure for my professionalism. I feel very much grateful to the The Association of International Education, Japan (AIEJ) scholarship for the short-term financial support during my overseas trainings in Japan. Last but not least, a very much thankful must be extended to the Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University for the continuous support and access to all laboratory facilities. This is extremely helpful to my research work. Thank you to all staff in the department of chemistry who have rendered their endless assistance throughout my time in the laboratory. Special thanks go to my friends in the Assoc. Prof. Orawon Chailapkul 's group as well as the others on 12^{th} floor of the Mahamonkut Building. Finally, my deepest gratitude goes to my family; particularly my parent who has never stopped providing their support and always patiently walk me through the success today.

CONTENTS

page

page

page

page

page

page

LIST OF TABLES

TABLE **page**

TABLE **page**

LIST OF FIGURES

FIGURE **page**

FIGURE **page**

FIGURE **page**

FIGURE **page**

FIGURE **page**

ABBREVIATIONS

BDD	Boron-doped diamond thin film
GC	Glassy carbon
TCs	Tetracyclines
OTC	Oxytetracycline
TC	Tetracycline
CTC	Chlortetracycline
DC	Doxycycline
FIA	Flow injection analysis
HPLC	High performance liquid chromatography
TLC	Thin layer chromatography
CE	Capillary Electrophoresis
CL	Chemiluminescence
LOD	Limit of detection
LOQ	Limit of quantitation
H_2TPPS	5,10,15,20-Tetrakis-(4-sulfonatophenyl)porphyrin
cmc.	Critical micelle concentration
E_p	Peak potential
i_p	Peak current
i	Current
n	Electron per molecule oxidized; faradays mole of substance electrolyzed
F	The faraday; charge on one mole of electrons
A	Area (cm^2)
α	Transfer coefficient
n_a	Number of electrons involved in the rate-determining step
C_0^*	Bulk concentration of species O
C	Concentration of solutions.
D	Diffusion coefficient (cm^2/sec)
ν	Scan rate (V/sec)
δ	Diffusion layer thickness

t	Time
hr	Hour
mg	Milligram
mL	Millilitre
ppm	Part per million