## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ ศูนย์เครื่องมือ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ให้ใช้อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการชีวเคมีเพื่อการ วิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

> รองศาสตราจารย์ ดร. อัลแบร์ต ชูลเทอ อาจารย์ประจำสาขาวิชาเคมี สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 13 สิงหาคม 2556

### บทค้อย่อ

ขั้นตอนแรกของการเตรียมเซนเซอร์อย่างง่ายคือการหยดสารแขวนลอยคาร์บอนนาโนทูบกระจายเต็ม ผิวหน้าแพลตทินัมอิเล็คโทรดแบบแผ่นเรียบแล้วรอให้แห้ง จากนั้นสารละลายเอนไซม์กลูโครสออกซิเดส หรือ สารละลายเอนไซม์กลูโครสออกซิเดสและไคตินซึ่งแขวนลอยผสมอยู่ในสารละลายเดียวกันถูกหยดลงบน ผิวหน้าอิเล็คโทรดเป็นชั้นที่สอง และเพื่อป้องกันไม่ให้ชั้นไบโอโมเลกุลซึมออกจากผิวหน้าอิเล็คโทรด ในขั้นตอน สุดท้ายผิวหน้าอิเล็คโทรดจะถูกเคลือบด้วยชั้นบางๆของโพลิเมอร์ด้วยวิธีเคมีเชิงไฟฟ้า ไบโอเซนเซอร์ทั้งสอง แบบ(ไม่มีและมีไคติน)ถูกตรวจสอบวัดผลโดยวิธีแอมเพอร์โรเมตตริในสารละลายบัฟเฟอร์โดยเพิ่มความเข้มข้น ของสารตั้งต้น การตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวแสดงผลการวิเคราะห์ของกลูโครสไบโอเซนเซอร์ที่ดี ความโดดเด่น ของสารตั้งต้น การตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวแสดงผลการวิเคราะห์ของกลูโครสไบโอเซนเซอร์ที่ดี ความโดดเด่น ของสารตั้งสอง CNT/GOD/EPD และ CNT/chitin/GOD/EDP ถูกรายงานผลในรูปของ linear range ที่ ให้ช่วงกว้างถึง 40 mM กลูโครสและความไวเมื่อเทียบกับกลูโครสไบโอเซนเซอร์อื่นๆ ที่เคยมีการรายงานไว้ คุณสมบัติที่สำคัญของไบโอเซนเซอร์นี้คือความเรียบง่ายของการเตรียม และความสามารถทำงานได้ดีโดย ปราศจากสารเคมีเพิ่มเติมเช่นอนุภาคโลหะระดับนาโนและสารตัวกลางที่สามารถออกซิไดซ์หรือรีดิวซ์ได้ ซึ่ง แน่นอนว่าการออกแบบเซนเซอร์นี้มีความสามารถเพื่อใช้ในการผลิตจำนวนมากๆได้

#### ABSTRACT

Simple drop/dry coating procedures were employed to first spread a nanoporous coating of carbon nanotubes (CNTs) over the surface of disk-shaped platinum electrodes. Dried CNT deposits were then infused with a solution of glucose oxidase (GOD) or first with a suspension of colloidal chitin and then the GOD solution. An undesired enzyme leakage out of the functional electrode coating into storage or measuring buffer was prevented by finally applying an extra protective top layer of cathodic electrodeposition paint (EDP), which served as effective diffusion barrier for the entrapped biomacromolecules. The performance level of biosensors utilizing the two protein immobilization designs has been evaluated via amperometric calibration measurements in buffer solutions with increasing substrate concentrations. The measurements confirmed in either case a good analytical performance of the obtained glucose biosensors. Particularly outstanding for both the CNT/GOD/EPD and the CNT/chitin/GOD/EDP type of sensors was the gain of a very wide linear range of up to about 40 mM and a sensitivity that compared favorably well with other reported types of glucose biosensors. Assets of the established sensor design are the simplicity of making and the nice functionality without extra chemical supplements as, for instance, metal nanoparticles or redox mediators. A definite potential is seen for the proposed sensor architecture to be utilized for mass fabrication.

# สารบัญ

|                    |    |                                   | หน้า |
|--------------------|----|-----------------------------------|------|
| กิตติกรรมประกาศ    |    |                                   |      |
| บทคัดย่อภาษาไทย    |    |                                   | ข    |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ |    |                                   | ନ    |
| สารบัญ             |    |                                   | ঀ    |
| สารบัญภาพ          |    |                                   | ବ    |
| บทที่              | 1  | บทนำ                              |      |
|                    |    | ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย | 1    |
|                    |    | วัตถุประสงค์ของการวิจัย           | 1    |
|                    |    | ขอบเขตของการวิจัย                 | 2    |
|                    |    | ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย      | 2    |
| บทที่              | 2  | วิธีดำเนินการวิจัย                | 3    |
| บทที่              | 3  | ผลการทดลองและข้อวิจารณ์           | 5    |
| บทที่              | 4  | บทสรุป                            | 24   |
| บรรณานุกรม         |    | 26                                |      |
| ภาคผ               | นว | n                                 |      |
|                    |    | ภาคผนวก ก                         | 27   |
|                    |    | กาคผนวก ข                         | 28   |

# ល័ល្លវ

หน้า

|    |     | -   |     |   |   |
|----|-----|-----|-----|---|---|
| สา | เรเ | ງຍໍ | ່ານ | n | พ |

| Figure 1:  | Fabrication of carbon nanotube-based amperometric glucose    |    |
|------------|--|----|
|            | biosensors and their amperometric calibration.               | 3  |
| Figure 2:  | The procedure for the fabrication of glucose biosensors with |    |
|            | electrodeposition paint-covered carbon nanotube-networks as  |    |
|            | immobilization matrix for GOD.                               | 6  |
| Figure 3:  | Scanning electron microscope images of dried carbon          |    |
|            | nanotubes coatings on a metal substrate surface.             | 8  |
| Figure 4:  | Calibration of a carbon nanotube/glucose                     |    |
|            | oxidase/electrodeposition paint-based glucose biosensor to   |    |
|            | successive glucose concentration increases.                  | 9  |
| Figure 5:  | Long-term stability measurements for a carbon                |    |
|            | nanotube/glucose oxidase/electrodeposition paint-based       |    |
|            | glucose biosensor.   | 9  |
| Figure 6:  | A carbon nanotube/glucose oxidase/electrodeposition paint-   |    |
|            | based glucose biosensor with very large linear range.        | 11 |
| Figure 7:  | The pH dependence of the current response of a carbon        |    |
|            | nanotube/glucose oxidase/electrodeposition paint-based       |    |
|            | glucose biosensor.   | 12 |
| Figure 8:  | The dependence of the current through a carbon               |    |
|            | nanotube/glucose oxidase/electrodeposition paint-based       |    |
|            | glucose biosensor on the sensor's working potential.         | 13 |
| Figure 9:  | Hydrogen peroxide oxidation at a bare pencil lead disk       |    |
|            | electrode, a carbon nanotube-modified pencil lead disk       |    |
|            | electrode and a CNT-modified platinum disk electrode.        | 15 |
| Figure 10: | Anodic hydrogen peroxide collection at a "normal" glucose    |    |
|            | biosensor with either a non-conducting polymer film or a     |    |
|            | conductive carbon nanotube deposit as immobilization matrix. | 16 |
| Figure 11: | Glucose quantification with carbon nanotube/glucose          |    |
|            | oxidase/electrodeposition paint-based glucose biosensor that |    |
|            | use either a platinum or a carbon carrier electrode.         | 16 |

| Figure 12: | Detection limit assessment for glucose quantifications with    |    |
|------------|--|----|
|            | carbon nanotube/glucose oxidase/electrodeposition paint-       |    |
|            | based glucose biosensor that used either a Pt or a carbon      |    |
|            | carrier electrode.   | 17 |
| Figure 13: | The fabrication of carbon nanotube/glucose                     |    |
|            | oxidase/electrodeposition paint/Nafion-based glucose biosensor |    |
|            | for analyte quantification in blood serum samples.             | 19 |
| Figure 14: | Application of carbon nanotube/glucose                         |    |
|            | oxidase/electrodeposition paint/Nafion-based glucose biosensor |    |
|            | for the determination of the glucose concentration of a serum  |    |
|            | sample.  | 20 |
| Figure 15: | Preparation of glucose biosensors with a carbon                |    |
|            | nanotube/chitin composite as immobilization matrix.            | 21 |
| Figure 16: | Calibration of a glucose biosensor with glucose oxidase        |    |
|            | immobilized in a drop-coated carbon nanotube/chitin network    |    |
|            | and a top-coat of cathodic electrodeposition paint.            | 22 |
|            |  |    |