

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ในงานวิจัยนี้ได้พัฒนาเคมีคัลเซนเซอร์และไบโอเซนเซอร์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยในการศึกษาและพัฒนาได้แบ่งออกเป็น 4 ส่วน ดังนี้

5.1 ศึกษาคุณสมบัติของไฟโบรอินที่เตรียมขึ้นได้โดยการวิเคราะห์เอกลักษณ์ด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี และเทคนิคทรานสมิทเทนซอิลเลคตรอนไมโครสโคปี

สารละลายไฟโบรอินจากรังไหม (SF) ที่เตรียมได้มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น (λ_{max}) 240 นาโนเมตร ส่วนอนุภาคทองนาโน-ไฟโบรอิน (AuNPs-SF) ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นที่ประมาณ 530 นาโนเมตร ส่วนอนุภาคทองนาโน-ไฟโบรอินที่เติมสารละลายกลูโคสออกซิเดส (AuNPs-SF_Gox) ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นประมาณ 240 นาโนเมตร และ 530นาโนเมตรตามลำดับ ผลจากการตรวจวัดลักษณะทางกายภาพของ nanocomposites ด้วยเทคนิค transmission electron microscopy (TEM) จะพบลักษณะทางกายภาพของ CNTs ที่มีลักษณะเป็นท่อขนาดเล็ก ส่วนภาพ TEM ของ NiNPs ที่สังเคราะห์ได้เห็นการกระจายตัวของ โดย NiNPs ที่มีขนาดอนุภาคเฉลี่ยเท่ากับ 21.6 ± 3.2 nm ภาพถ่าย TEM ของ Fe₃O₄-CNTs-NiNPs แสดงให้เห็นลักษณะของการกระจายตัวของอนุภาค Fe₃O₄ และ NiNPs บนพื้นผิวของท่อ CNTs ขนาดอนุภาคที่อยู่บนท่อมีความสม่ำเสมอ และมีความเฉลี่ยเท่ากับ 20.3 ± 1.6 nm ส่วนผลการทดลองจาก XRD pattern ของ NiNPs, Fe₃O₄ และ Fe₃O₄-CNTs-NiNPs ที่สังเคราะห์ได้มีค่า 2θ ที่แสดงเอกลักษณ์ของอนุภาคนาโนที่เตรียมได้

5.2 การพัฒนากลูโคสเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs

ในการพัฒนากลูโคสเคมีคัลเซนเซอร์ พบว่าขั้วไฟฟ้ากลาสซีคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยวัสดุขนาดนาโนลูกผสมของคาร์บอนนาโนทิวป์-อนุภาคแมกนีไทต์-นิกเกิลขนาดนาโน (GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs) เป็นองค์ประกอบที่เหมาะสมต่อการพัฒนาเป็น ขั้วไฟฟ้ากลูโคสเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs กลูโคสจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +0.6 โวลต์ เมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือหนืด ผลจากการตรวจวัดปริมาณกลูโคสแบบแอมเพอร์โรเมทรีด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วไฟฟ้าเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs ที่ศักย์ไฟฟ้า +0.55 โวลต์ พบว่าค่ากระแสของกลูโคสจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมสารละลายมาตรฐานกลูโคสโดยมีช่วงการตอบสนองแบบเป็นเส้นตรงที่ความเข้มข้น 0.01 ถึง 1.8 มิลลิโมลาร์ ค่าความชันของกราฟมาตรฐานเท่ากับ 335.25 ไมโครแอมแปร์ต่อมิลลิโมลาร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.998 ชัดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดมีค่าเท่ากับ 6.7 ไมโครโมลาร์ (3S/N) ค่ากระแสที่ได้จากการวัดมีความเที่ยง (precision) ดีมากคือให้ค่า %RSD เท่ากับ 2.7 (วัดจากสัญญาณของกลูโคสความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ , n = 5) เคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs ที่พัฒนาขึ้นมีสภาพไวสูงในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส และให้สัญญาณที่มีความเสถียรสูง

5.3 การพัฒนาวัสดุโกลด์นาโนไอออนเซอรัซชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS

ในการศึกษาพัฒนาวัสดุโกลด์นาโนไอออนเซอรัซชนิด GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS จะวัดสัญญาณของโกลด์นาโนไอออนเซอรัซที่ใช้สารละลายอิเล็กโทรไลต์เกลือโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (พีเอช 7.0) ผลการทดลองวัดสัญญาณของโกลด์นาโนไอออนเซอรัซด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรีพบว่าเมื่อใช้อัตราเร็วในการสแกนที่สูงขึ้นจะได้ค่ากระแสที่สูงขึ้น เมื่อนำค่ากระแสที่ได้มาพล็อตกับค่าสแกนแควร์ของอัตราเร็วในการสแกน พบว่าค่ากระแสแอนอดิกและแคโทดิกแปรผันตรงกับค่าสแกนแควร์ของอัตราเร็วในการสแกน ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.994 และ 0.999 ตามลำดับ แสดงว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นถูกควบคุมด้วยกระบวนการแพร่และไม่เกิดการดูดซับของผิวของขั้วโกลด์นาโนไอออนเซอรัซ GC/Fe₃O₄-CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS เมื่อนำโกลด์นาโนไอออนเซอรัซที่เตรียมได้มาวัดสัญญาณของโกลด์นาโนไอออนเซอรัซ พบว่าค่ากระแสที่วัดได้มีค่าลดลงเมื่อมีปริมาณโกลด์นาโนไอออนเซอรัซในสารละลายเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบของขั้วไฟฟ้าดังกล่าวยังไม่เหมาะสม หรือมีการหลุดของอนุภาคนาโนที่ใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และหรือมีการหลุดของเอนไซม์ GOx ทำให้ค่ากระแสที่วัดได้มีค่าลดลง

5.4 การพัฒนาขั้วไฟฟ้าโกลด์นาโนไอออนเซอรัซชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE

ในการพัฒนาขั้วไฟฟ้าโกลด์นาโนไอออนเซอรัซโดยการเตรียมเป็นคาร์บอนเฟลสอิเล็กโทรดที่โกลด์นาโนไอออนเซอรัซ CNTs-PDDA-PtNPs-GOx เมื่อนำขั้วไฟฟ้าที่เตรียมได้มาทดสอบสัญญาณของโกลด์นาโนไอออนเซอรัซ พบว่าขั้วไฟฟ้า CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE โกลด์นาโนไอออนเซอรัซจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ศักย์ไฟฟ้าประมาณ +0.37 โวลต์ เมื่อนำโกลด์นาโนไอออนเซอรัซมาวัดปริมาณโกลด์นาโนไอออนเซอรัซพบว่าค่ากระแสที่ได้จากไซคลิกโวลแทมเมตรีแปรผันตรงกับค่าความเข้มข้นของโกลด์นาโนไอออนเซอรัซที่เติมลงไป ในช่วงความเข้มข้น 1-5 มิลลิโมลาร์ สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานมีค่าความชัน เท่ากับ 24.7 ไมโครแอมแปร์ต่อมิลลิโมลาร์ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.997 ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าขั้วไฟฟ้าโกลด์นาโนไอออนเซอรัซชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE เหมาะสมสำหรับนำมาวัดปริมาณโกลด์นาโนไอออนเซอรัซ

เมื่อนำเทคนิคโพลีเมอร์เจลมาใช้ร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอโรเมตรีที่ขั้วโกลด์นาโนไอออนเซอรัซที่พัฒนาขึ้น (CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE) จะทำให้ได้เทคนิควิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพในการตรวจวัดปริมาณโกลด์นาโนไอออนเซอรัซ ในการศึกษาคูณลักษณะของเทคนิควิเคราะห์แอมเพอโรเมตรี โดยใช้โกลด์นาโนไอออนเซอรัซที่พัฒนาขึ้นได้เป็นตัวตรวจวัด ใช้ Ag/AgCl เป็นขั้วไฟฟ้าอ้างอิง ใช้ลวดแพลทินัม (Pt) เป็นขั้วไฟฟ้าช่วย และใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (พีเอช 7) เป็นสารละลายตัวพา ในการศึกษาหาศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดโกลด์นาโนไอออนเซอรัซพบว่า ศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมคือ +0.50 โวลต์ ผลการศึกษาผลของอัตราการไหลของสารละลายตัวพา พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการไหลของสารละลายตัวพาจะทำให้ได้ค่ากระแสที่ต่ำลง แต่ใช้เวลาในการตรวจวัดสารตัวอย่างสั้นลง เพื่อให้ได้ระบบวิเคราะห์ที่มีสภาพไวสูงและจำนวนตัวอย่างต่อชั่วโมงสูง งานวิจัยนี้จึงเลือกอัตราการไหลที่ 1.0 มิลลิลิตรต่อนาทีเป็นค่าที่เหมาะสมและนำไปใช้ในการทดลองต่อไป ในการศึกษาคูณลักษณะของระบบวิเคราะห์แบบแอมเพอโรเมตรีที่ขั้วโกลด์นาโนไอออนเซอรัซที่พัฒนาขึ้น พบว่ากราฟมาตรฐานของขั้วโกลด์นาโนไอออนเซอรัซมีการตอบสนองแบบเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานโกลด์นาโนไอออนเซอรัซในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-100 มิลลิโมลาร์ โดยมีความสัมพันธ์แบบเป็นเส้นตรงสองช่วงความเข้มข้นดังนี้ ช่วงแรกความเข้มข้น 0.1 ถึง 3 มิลลิโมลาร์ ค่าความชันเท่ากับ 0.127 ไมโครแอมแปร์ต่อมิลลิโมลาร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.995 ช่วงที่สองความเข้มข้น 5 ถึง 100 มิลลิโมลาร์ ค่าความชันเท่ากับ 0.06 ไมโครแอมแปร์ต่อ

มิลลิโมลาร์ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.997 ชัดจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดค่าความจาก (3S/N) มีค่าเท่ากับ 0.015 มิลลิโมลาร์ ค่ากระแสที่ได้จากการวัดมีความเที่ยงดีมากที่สุดคือให้ค่า %RSD เท่ากับ 2.8 (วัดจากสัญญาณกลูโคสความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์, จำนวน 15 ซ้ำ) ระบบวิเคราะห์แบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นมีช่วงการตอบสนองแบบเป็นเส้นตรงในช่วงที่กว้าง เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจวัดปริมาณกลูโคสในตัวอย่างต่าง ๆ ผลการศึกษาตัวรบกวนทั้ง 6 ชนิด (sodium chloride, maltose, fructose, sucrose, sodium carbonate และ ascorbic acid) พบว่าตัวรบกวนเหล่านี้ไม่มีผลรบกวนต่อการวิเคราะห์ ในการประเมินประสิทธิภาพของระบบโพลีเมอร์เจลชั้นอะนาไลซิสที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น (CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE) โดยการนำไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่างเครื่องดื่ม, น้ำผึ้ง และสารละลายกลูโคสสำหรับฉีดเข้าร่างกาย พบว่าผลลัพธ์วิเคราะห์ที่ได้จากระบบโพลีเมอร์เจลชั้นอะนาไลซิสที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 99% เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานจากเครื่องตรวจวัดปริมาณกลูโคส ระบบโพลีเมอร์เจลชั้นอะนาไลซิสที่ตรวจวัดด้วยเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วกลูโคสไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นเป็นเทคนิควิเคราะห์ ที่สะดวก รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูงสามารถตรวจวัดปริมาณกลูโคสในตัวอย่างจริงได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

- [1] Pérez, J. P. H.; López-Cabarcos, E.; López-Ruiz, B., Amperometric glucose biosensor based on biocompatible poly(dimethylaminoethyl) methacrylate microparticles. *Talanta*. **2010**, 81, 1197-1202.
- [2] Xu, F.; Wang, L.; Gao, M.; Jin, L.; Jin, J., Amperometric sensor for glucose and hypoxanthine based on a PdIrO₂ modified electrode by a co-crosslinking bienzymic system. *Talanta*. **2002**, 57, 365-373.
- [3] Qiu, J.-D.; Zhou, W.-M.; Guo, J.; Wang, R.; Liang, R.-P., Amperometric sensor based on ferrocene-modified multiwalled carbon nanotube nanocomposites as electron mediator for the determination of glucose. *Analytical Biochemistry*. **2009**, 385, 264-269.
- [4] Wang, S. G.; Zhang, Q.; Wang, R.; Yoon, S. F., A novel multi-walled carbon nanotube-based biosensor for glucose detection. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2003**, 311, 572-576.
- [5] American Diabetes Association. January 2006 Diabetes Care. "Standards of Medical Care- Table 6 and Table 7, Correlation between A1C level and Mean Plasma Glucose Levels on Multiple Testing over 2-3 months." Vol. 29 Supplement 1 Pages 51-580.
- [6] White, B. J.; James Harmon, H., Novel optical solid-state glucose sensor using immobilized glucose oxidase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **2002**, 296, 1069-1071.
- [7] Zhilei, W.; Zaijun, L.; Xiulan, S.; Yinjun, F.; Junkang, L., Synergistic contributions of fullerene, ferrocene, chitosan and ionic liquid towards improved performance for a glucose sensor. *Biosensors and Bioelectronics*. **2010**, 25, 1434-1438.
- [8] Gomathi, P.; Kim, M. K.; Park, J. J.; Ragupathy, D.; Rajendran, A.; Lee, S. C.; Kim, J. C.; Lee, S. H.; Ghim, H. D., Multiwalled carbon nanotubes grafted chitosan nanobiocomposite: A prosperous functional nanomaterials for glucose biosensor application. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2011**, 155, 897-902.
- [9] Kang, X.; Mai, Z.; Zou, X.; Cai, P.; Mo, J., A novel glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in chitosan on a glassy carbon electrode modified with gold-platinum alloy nanoparticles/multiwall carbon nanotubes. *Analytical Biochemistry*. **2007**, 369, 71-79.
- [10] Nagarale, R. K.; Lee, J. M.; Shin, W., Electrochemical properties of ferrocene modified polysiloxane/chitosan nanocomposite and its application to glucose sensor. *Electrochimica Acta*. **2009**, 54, 6508-6514.
- [11] Chen, M.; Xu, J.-Q.; Ding, S.-N.; Shan, D.; Xue, H.-G.; Cosnier, S.; Holzinger, M., Poly(brilliant cresyl blue) electrogenerated on single-walled carbon nanotubes

- modified electrode and its application in mediated biosensing system. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2011**, 152, 14-20.
- [12] Liu, Y.; Wang, M.; Zhao, F.; Xu, Z.; Dong, S., The direct electron transfer of glucose oxidase and glucose biosensor based on carbon nanotubes/chitosan matrix. *Biosensors and Bioelectronics*. **2005**, 21, 984-988.
- [13] Qiu, J.-D.; Wang, R.; Liang, R.-P.; Xia, X.-H., Electrochemically deposited nanocomposite film of CS-Fc/Au NPs/GOx for glucose biosensor application. *Biosensors and Bioelectronics*. **2009**, 24, 2920-2925.
- [14] He, C.; Liu, J.; Zhang, Q.; Wu, C., A novel stable amperometric glucose biosensor based on the adsorption of glucose oxidase on poly(methyl methacrylate)-bovine serum albumin core-shell nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2012**, 166-167, 802-808.
- [15] Liu, J.; Zhang, X.; Pang, H.; Liu, B.; Zou, Q.; Chen, J., High-performance bioanode based on the composite of CNTs-immobilized mediator and silk film-immobilized glucose oxidase for glucose/O₂ biofuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*. **2012**, 31, 170-175.
- [16] Kundu, B.; Rajkhowa, R.; Kundu, S. C.; Wang, X., Silk fibroin biomaterials for tissue regenerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **2013**, 65, 457-470.
- [17] <http://www.silk-secrets.com/secrets.html> (access date 12/06/2013)
- [18] <http://hort.doae.go.th/library/html/detail/silkwopm/silk10.htm> (access date 13/06/2013)
- [19] Adhikari, B.; Majumdar, S, *Prog. Polym. Sci.* **2004**, 29, 699-766
- [20] Terry, L. A.; White, S. F.; Tigwell, L. J., The Application of Biosensors to Fresh Produce and the Wider Food Industry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2005**, 53, 1309-1316.
- [21] Mello, L. D.; Kubota, L. T., Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry*. **2002**, 77, 237-256.
- [22] Niamsa, N.; Srisuwan, Y.; Baimark, Y.; Phinyocheep, P.; Kittipoom, S., Preparation of nanocomposite chitosan/silk fibroin blend films containing nanopore structures. *Carbohydrate Polymers*. **2009**, 78, 60-65.
- [23] Yuan, Q.; Yao, J.; Chen, X.; Huang, L.; Shao, Z., The preparation of high performance silk fiber/fibroin composite. *Polymer*. **2010**, 51, 4843-4849.
- [24] Pizzariello, A.; Stred'ansky, M.; Miertuš, S., A glucose/hydrogen peroxide biofuel cell that uses oxidase and peroxidase as catalysts by composite bulk-modified bioelectrodes based on a solid binding matrix. *Bioelectrochemistry*. **2002**, 56, 99-105.
- [25] Y. Xiao, F. P., E. Katz, J. Hainfeld and I. Willner, *Science* **2003**, 299, 1877-1881.
- [26] Barrière, F.; Kavanagh, P.; Leech, D., A laccase-glucose oxidase biofuel cell prototype operating in a physiological buffer. *Electrochimica Acta*. **2006**, 51, 5187-5192

- [27] Ivnitski, D.; Atanassov, P., *Electroanalysis* **2007**, 19, (22), 2307-2313.
- [28] Liu, Y.; Dong, S., A biofuel cell harvesting energy from glucose–air and fruit juice–air. *Biosensors and Bioelectronics*. **2007**, 23, 593-597.
- [29] Liu, Y.; Dong, S., A biofuel cell with enhanced power output by grape juice. *Electrochemistry Communications*. **2007**, 9, 1423-1427.
- [30] Togo, M.; Takamura, A.; Asai, T.; Kaji, H.; Nishizawa, M., Structural studies of enzyme-based microfluidic biofuel cells. *Journal of Power Sources*. **2008**, 178, 53-58.
- [31] Ge, L.; Zhao, Y.-s.; Mo, T.; Li, J.-r.; Li, P., Immobilization of glucose oxidase in electrospun nanofibrous membranes for food preservation. *Food Control*. **2012**, 26, 188-193.
- [32] H. Yin, Y. Zhou, J. Xu, S. Ai, L. Cui and L. Zhu, Amperometric biosensor based on tyrosinase immobilized onto multiwalled carbon nanotube-cobalt phthalocyanine-silk fibroin film and its application to determine bisphenol A, *Analytica Chimica Acta* **2010**, 659, 144-150.
- [33] Xue, R.; Kang, T.-F.; Lu, L.-P.; Cheng, S.-Y., Immobilization of acetylcholinesterase via biocompatible interface of silk fibroin for detection of organophosphate and carbamate pesticides. *Applied Surface Science*. **2012**, 258, 6040-6045.
- [34] Teymourian H, Salimi A, Hallaj R, Low potential detection of NADH based on Fe₃O₄ nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes composite: Fabrication of integrated dehydrogenase-based lactate biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **2012**, 33:60–68.
- [35] Karamipour Sh., Sadjadi M S, Farhadyar, N. (2015) Fabrication and spectroscopic studies of folic acid-conjugated Fe₃O₄@Au core–shell for targeted drug delivery application. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2015**, 148, 146-155.
- [37] F. Sánchez, T. Tzanov, G. M. Gübitz, A. Cavaco-Paulo, *Bioelectrochem.*, **2002**, 58 149.
- [35] M. Amatongchai, W. Sroysee, S. Laosing and S. Chairam, *Int. J. Electrochem. Sci.* , **2013**, 8 10526.
- [38] A. Fatoni, A. Numnuam, P. Kanatharana, W. Limbut, C. Thammakhet, and P. Thavarungkul, *Sens. Actuators B*, **2013**, 185 725.

Output จากโครงการวิจัย

1 ผลผลิตของโครงการในเรื่องของการตีพิมพ์สรุปรูปได้ดังต่อไปนี้

1.1 วารสารนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง

-M. Amatongchai, W. Sroysee, S. Chairam and D. Nacapricha” Amperometric flow injection analysis of glucose using immobilized glucose oxidase on nano-composite carbon nanotubes-platinum nanoparticles carbon paste electrode” *Talanta*, doi:10.1016/j.talanta.2015.11.072.

1.2 นำเสนอในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

-M. Amatongchai, W. Sroysee, S. Chairam and D. Nacapricha “An amperometric flow injection analysis of glucose using a biosensor based on CNT-PDDA-PtNPs-modified carbon paste electrode” 13th International Conference on Flow Analysis (Flow Analysis XIII) 5-10 July 2015 as oral contribution (Prague, Czech Republic).

-N. Nontavong, S. Chairam and M. Amatongchai “Development of non-enzymatic glucose sensor based on nickel and magnetic nanoparticles decorated multi-walled carbon nanotubes” Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2016) as poster contribution (Bangkok, Thailand).

2 Output ของโครงการในเรื่องของผลการวิจัยสรุปรูปได้ดังต่อไปนี้

1. ได้ข้อสรุปจากกลุ่กลุ่เคมีคัลเซนเซอร์ และกลุ่กลุ่ไบโอเซนเซอร์เซนเซอร์ชนิดใหม่ ที่สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ปริมาณกลุ่กลุ่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2. ผลงานที่ได้พัฒนาขึ้นได้ถูกถ่ายทอดสู่กลุ่มเป้าหมาย โดยการนำผลงานวิจัยไปนำเสนอแบบบรรยาย/โปสเตอร์ ในที่ประชุมวิชาการที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศ และนำไปตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิชาการ

3. ได้องค์ความรู้ที่สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาศักยภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์ เมื่อนำเทคนิคโพลีอีนเจคชันอะนาไลซิสมาใช้ร่วมกับการตรวจวัดแบบแอมเพอร์โรเมทรีที่ขั้วกลุ่กลุ่ไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น (CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE) จะทำให้ได้เทคนิควิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์สูงสามารถตรวจวัดปริมาณกลุ่กลุ่ในตัวอย่างเป็นจริงได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ

4. โครงการวิจัยนี้สามารถเอื้อให้มีการผลิตมหาบัณฑิต ทางด้านเคมี จำนวน 2 คน องค์ความรู้จากงานวิจัยสามารถนำไปใช้ในการวิจัยต่อยอดเป็นสารนิพนธ์สำหรับนักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมี จำนวน 2 เรื่อง

ภาคผนวก



Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta

Amperometric flow injection analysis of glucose using immobilized glucose oxidase on nano-composite carbon nanotubes-platinum nanoparticles carbon paste electrode[☆]

Maliwan Amatatongchai^{a,b,*}, Wongduan Sroysee^a, Sanoe Chairam^a, Duangjai Nacapricha^{b,c}

^a Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani 34190, Thailand

^b Flow Innovation-Research for Science and Technology Laboratories (FIRST Labs), Thailand

^c Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Rama VI Road, Bangkok 10400, Thailand

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 October 2015

Received in revised form

25 November 2015

Accepted 26 November 2015

Keywords:

Glucose biosensor

CNTs

PtNPs

Carbon paste electrode

Amperometry

Flow injection

ABSTRACT

We report a novel amperometric glucose biosensor based on glucose oxidase (GOx) immobilized on a carbon nanotube (CNTs)-poly(diallyldimethyl-ammonium chloride) (PDDA)-platinum nanoparticle (PtNPs) modified carbon-paste electrode (CNTs-PDDA-PtNPs/CPE). The CNTs-PDDA-PtNPs composite materials were characterized by TEM and electrochemical techniques. Cyclic voltammetric results reveal direct electron transfer of the immobilized GOx, indicated by two quasi-reversible redox peaks at a potential of 0.37 V (vs. Ag/AgCl) in phosphate buffered solution (PBS) (0.10 M, pH 7). The biosensor provides good glucose oxidation activity and retention of GOx electrocatalytic activity due to CNTs-PDDA-PtNPs enhancement of the redox response. The carbon paste electrode was installed as working electrode in a flow through electrochemical cell of a flow injection (FI) system. Glucose was quantified using amperometric measurements at 0.5 V vs. Ag/AgCl and PBS carrier (0.10 M, pH 7.0) at a flow rate of 1.0 mL min⁻¹. The linear working ranges for glucose measurements were 0.1–3 mM ($r^2=0.995$) and 5–100 mM ($r^2=0.997$), with corresponding sensitivities of 0.127 and 0.060 ($\mu\text{A s}$) mM⁻¹, respectively. The system provides good precision of 2.8% R.S.D with a calculated detection limit (3 S/N) of 15 μM . The proposed method was successfully applied to determination of glucose in food and pharmaceutical samples with throughput of 200 samples h⁻¹.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Diabetes describes a group of metabolic diseases in which the person has a blood glucose concentration greater than the normal range of 4.4–6.6 mM, resulting from inadequate insulin production, or ineffective response by the body's cells, or both [1,2]. Diabetes is considered to be one of the most serious health problems faced by society today. Consequently, methods for monitoring glucose levels in blood for clinical and diagnostic purposes, and of glucose concentration in pharmaceutical products and beverages for industrial quality control, have attracted much

attention. Therefore, there is a need for the development of quick, accurate, and precise methods for the determination of glucose.

Efforts to develop more sensitive and effective methods for the analysis of glucose include colorimetric [3–6], chemiluminescent [7,8], and electrochemical approaches [9–14]. These approaches are all rely on detection of hydrogen peroxide, produced from a glucose oxidation reaction catalyzed by glucose oxidase (GOx). Electrochemical methods using amperometric detection by a biosensor [9–13] are common because of inherent high sensitivity and simplicity of instrumentation.

The two most challenging and important steps in the development of a biosensor are immobilization of the enzymes and establishment of electron transfer. There are two important limitations to consider when immobilizing enzymes on a solid electrode (i) poor electrical communication between the active site on the enzyme and the electrode, and (ii) enzyme leaching [10,11,15]. To address these issues, a common approach is to immobilize the enzyme using a film or binder that promotes electron transfer

[☆] Presented at the Flow Analysis XIII conference, Prague, Czech Republic (5–10 July 2015).

* Corresponding author at: Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, Ubon Ratchathani 34190, Thailand.

E-mail address: maliwan.a@ubu.ac.th (M. Amatatongchai).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.072>

0039-9140/© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Please cite this article as: M. Amatatongchai, et al., Talanta (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.072>

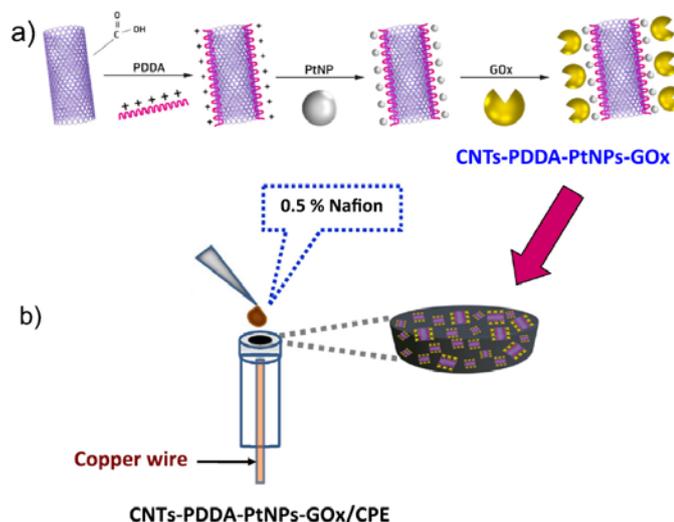


Fig. 1. Preparation of glucose biosensors based on (a) CNTs-PDDA-PtNPs-GOx nanocomposites, and (b) CNTs-PDDA-PtNPs-GOx carbon paste electrode.

[11,15]. Hybrid nanocomposite materials show promise for resolving several bioanalytical problems, including specificity, stability, and sensitivity [12,13].

Platinum and platinum nanoparticles (PtNPs) exhibit extraordinary catalytic, conductivity, biocompatibility, and electrochemical properties [16,17]. There are many reports of applications of these materials in the fields of catalysts, fuel cells, and biosensors [16–20]. Hybrid materials incorporating Pt or PtNPs have been widely used to immobilize enzymes in the fabrication of biosensors because of their performance in glucose determination by detection of hydrogen peroxide. Carbon nanotubes (CNTs) synthesized on a Pt electrode [18] and Pt nanocluster-embedded polypyrrole nanowires synthesized on a glassy carbon electrode [19] are electrocatalytically active for glucose detection. While such devices do provide sensitive glucose biosensors stability may be a problem, and device fabrication or methods for modifying electrodes can be relatively complex.

This paper describes a simple and effective method for constructing a glucose biosensor using hybrid materials composed of CNTs and PtNPs. CNTs are very hydrophobic and cannot be wetted by liquids possessing a surface tension greater than approximately 100 or 200 mN m^{-1} [21]. Thus, most metals or metal nanoparticles, including PtNPs, are unable to adhere to the CNT surface. Using our simple and effective method for deposition of PtNPs on CNTs, PDDA, a positively charged polymer, is used to solubilize and disperse negatively charged CNTs-COOH, enabling deposition of PtNPs onto CNT-PDDA. We constructed a biosensor using the CNTs-PDDA-PtNPs composite to immobilize GOx, and used this to fabricate the biocomposite-modified carbon paste electrode (CPE). The CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE biosensor was applied for on-line amperometric detection of glucose in a flow injection (FI) system, and was successful in the determination of glucose content in food and pharmaceutical samples. The sensor exhibits excellent sensitivity and selectivity with a rapid sample throughput of 200 samples h^{-1} .

2. Experimental

2.1. Chemicals and reagents

All solutions were prepared in deionized-distilled water (Water Pro PS, USA). Ascorbic acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), poly(diallyldimethylammonium chloride) (PDDA, MW: 100,000–200,000, 20% w/w), potassium iodide (KI), Nafion[®] 117 solution (~5%) and glucose oxidase (GOx) from *Aspergillus niger* (E.C. 1.1.3.4; type X-S, 50 kU g^{-1}) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Carboxylated functionalized multiwall carbon nanotubes (CNTs-COOH, diameter: 15 ± 5 nm, length: 1–5 μm , purity: > 95%) were purchased from Nanolab Inc. (MA, USA). Hydrogen hexachloroplatinate (IV) ($\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, Pt > 40%), hexadecyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) and graphite powder were purchased from Acros Organic (Geel, Belgium). Poly(dimethylsiloxane) and PDMS (Sylgard[®] 184) were purchased from Dow Corning (Wiesbaden, Germany).

2.2. Apparatus

2.2.1. Cyclic voltammetry

Cyclic voltammetric measurements were performed in batches using an eDAQ potentiostat (model EA161, Australia) equipped with e-corder 210 and e-Chem v2.0.13 software. The active surface area of carbon paste electrode (CPE) was approximately 0.0134 cm^2 (inner diameter 0.2 cm). A self-assembled three-electrode cell, comprising a CNTs-PDDA-PtNPs-GOx carbon paste working electrode, an Ag/AgCl (sat.) reference electrode, and a platinum wire counter electrode was used. Electrochemical measurements were performed in phosphate buffered solution (PBS) (0.1 M, pH 7) as the supporting-electrolyte.

2.2.2. Simple flow injection system with glucose biosensor

Fig. 2 shows the FI system for amperometric detection of glucose using the glucose biosensor. The system consisted of a Shimadzu pump (model LC-10AD, Japan), a Rheodyne injector (model 7725, USA) fitted with 20 μL sample loop, and the electrochemical detector (ECD). An eDAQ potentiostat (EA161), equipped with an

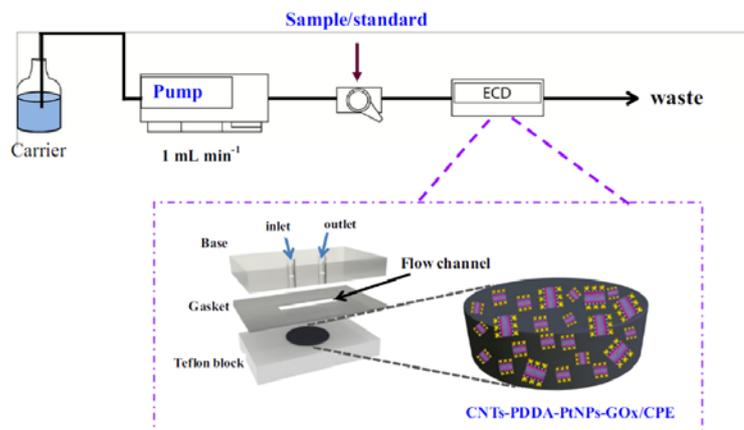


Fig. 2. FI manifold for glucose detection using the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE, which served as working electrode (WE) in the flow-through cell. Optimal conditions: potential, 0.50 V (vs. Ag/AgCl); carrier, 0.1 M PBS (pH 7); flow rate, 1.0 mL min⁻¹.

e-corder 210, Chart v5.5.11 software and an in-house three-electrode thin-layer flow cell were used for amperometric measurements. A silicone rubber gasket (flow channel=0.1 × 0.6 cm) provided a spacer in the ECD, between the base of the cell and the working electrode. The analyte solution was passed through an inlet passage in the base and along a channel in the gasket contacting the biosensor, then to the outlet. The CNTs-PDDA-PtNPs-GOx carbon paste served as the working electrode, Ag/AgCl as the reference electrode, and a stainless steel tube as the counter electrode. The electrode area was ca. 0.06 cm². The inset in Fig. 2 shows details of the in-house three-electrode thin-layer flow cell assembled in electrochemical detector cell (ECD). Analysis of glucose was compared with values using a glucose meter (Accu Check[®] Active, Roche Diagnostics GmbH, Germany).

2.3. Preparation of the glucose biosensor electrode

2.3.1. Preparation of PtNPs

A literature method for the synthesis of platinum nanoparticles (PtNPs) [22] was adopted. Briefly, a Pt seed solution was prepared by mixing H₂PtCl₆ (1 mL, 10 mM) with hexadecyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) solution (20 mL, 12.5 mM) and heating to 95 °C for 5 min on a stirrer-hot plate with continuous stirring for 5 min. Ascorbic acid (160 μL, 100 mM) was then added to the solution and stirring continued as the solution cooled to room temperature. The solution was stored in darkness at 4 °C.

PtNPs were prepared by adding Pt seed solution 80 μL and H₂PtCl₆ (125 μL, 10 mM) to an aqueous CTAB solution (5 mL, 100 mM) containing KI (5 μL, 1 mM). Freshly prepared ascorbic acid (50 μL, 100 mM) was then added to the mixture. The resulting solution was maintained at 50 °C for approximately 8 h and then centrifuged to remove any residual solution. Finally, the nanoparticles were dispersed in 1 mL water and the resulting solution sonicated for 5 min before use.

2.3.2. Preparation of CNTs-PDDA

The method for functionalization multiwall carbon nanotubes with PDDA (CNTs-PDDA) described by Cui et al. [23] and Amatatongchai et al. [24] was employed. Briefly, carboxylated carbon nanotubes (CNTs-COOH) were functionalized with PDDA by dispersion of 10 mg CNTs-COOH in 20 mL of a 0.25% aqueous PDDA solution containing 0.5 M NaCl, with ultrasonic stirring for 30 min.

The resulting dispersion was centrifuged and washed with water three times to remove residual PDDA. Finally, 12.5 mg of the product was used as an electrocatalyst in the electrode fabrication.

2.3.3. Preparation of CNTs-PDDA-PtNPs-GOx carbon paste electrode

The carbon paste electrode (CPE) was prepared by thoroughly mixing graphite powder (0.750 g), PDMS (0.007 g), CNTs-PDDA (0.0125 g), and PtNPs (37.5 μL) to a homogenous consistency using a mortar and pestle. The composite material was then heated to 60 °C for 30 min. Immobilization of GOx was carried out by dropping 40 μL of GOx solution (200 mg mL⁻¹) in 0.1 M PBS at pH 7 onto the composite. Mineral oil (30 μL) was then added and thoroughly mixed. Fig. 1a illustrates the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx composite preparation procedure. Graphite was added to form a carbon paste electrode.

For the cyclic voltammetry study, electrodes were built by packing the paste inside a glass tube (inner diameter 0.2 cm, length 7.5 cm) with a copper wire for electrical contact (Fig. 1b). The copper wire was fixed in the glass tube by epoxy resin. The CNTs-PDDA-PtNPs-GOx electrode surface was polished with weighing paper until a smooth surface was achieved. The surface of the electrode was finally covered with Nafion[®] by drop casting of 0.5% Nafion[®] solution (10 μL) onto the well-polished electrode surface. Finally, the electrode was dried at room temperature and then stored at 4 °C in a refrigerator until required for use.

2.4. Application to real samples

We used three types of commercially available products: energy drinks, honey, and glucose injection solution, for method validation. Energy drinks (A, B, and C) contained glucose at 2.1, 4.0, and 8.0% w/v, respectively. Honey samples D and E were not labeled with glucose concentrations. Intravenous glucose solutions (F-H) contained glucose at 50% w/v. Samples (A-H) were determined using the developed amperometric biosensor in a flow injection system. Samples were diluted by a factor of 100–1000 with PBS before analysis. We compared our amperometric results with measurements obtained from a commercial glucose meter [25].

3. Results and discussion

3.1. Characterization of hybrid composite

CNTs are very hydrophobic and cannot be wetted by liquid with surface tension greater than $100\text{--}200\text{ mN m}^{-1}$ [21]. Thus, most metals do not adhere to carbon nanotubes. Our strategy for the deposition of PtNPs on CNTs is simple and effective; PDDA, a positively charged polymer, was firstly used to solubilize and disperse negatively charged CNTs-COOH, followed by end capping with negatively charged PtNPs. In this way, we found that it is possible to deposit PtNPs on CNTs-PDDA. The morphology of the nanocomposites and hybrid nanocomposites were examined by transmission electron microscopy (TEM). Fig. 3 shows TEM images of (A) the typical curved, layered structure of graphite, (B) a homogenous dispersion of PtNPs, (C) CNTs-PDDA-PtNPs, and (D) morphology of the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx-Graphite composite. PtNPs were prepared by reduction of Pt^{4+} by ascorbic acid and potassium iodide in the presence of CTAB, as a stabilizing agent [22]. In our work, the average diameter of synthesized PtNPs was $12.7 \pm 2.7\text{ nm}$ (count=100). The TEM image in Fig. 3C shows a typical deposition of PtNPs as a single bundle; PtNPs are well dispersed within the CNTs-PDDA nanocomposites, and tend to deposit along the CNTs tubes. The PtNPs are better dispersed on the CNTs-PDDA matrix, and are smaller than the unmodified PtNPs (Fig. 3B). A thin layer of GOx covers the CNTs-PDDA-PtNPs-Graphite surface (Fig. 3D). When CNTs-PDDA-PtNPs are composited with GOx and graphite, the positively charged PDDA interacts with the negatively charged CNT surface, resulting in electrostatic attraction between PtNPs and GOx, and the composite surface.

3.2. Cyclic voltammetry of glucose

The electrochemical behaviors of glucose with the carbon-paste electrodes containing immobilized GOx were investigated by cyclic voltammetry using glucose as the redox marker. Fig. 4 (A) shows cyclic voltammograms for (a) PtNPs-GOx/CPE, (b) CNTs-PDDA-GOx/CPE, and (c) CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE. The carbon paste electrodes with PtNPs and CNTs-PDDA both display a pair of redox peaks (see Fig. 4A (a) and (b)). This suggests that both PtNPs and CNTs-PDDA are electroactive. However, the electrode with only PtNPs produced very small current. The electrode modified with CNTs-PDDA is more sensitive. The highest signal for glucose is observed for the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx carbon paste electrode. Thus, the introduction of PtNPs on the CNTs-PDDA composite enhanced the redox response. Therefore the carbon paste biosensor containing CNTs-PDDA-PtNPs-GOx was selected for glucose determination.

The CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE produces a hydrogen peroxide oxidation peak of approximately 0.37 V (Fig. 4A(c)). The reaction mechanism may be a two-step process [1,26,27]: (1) glucose is catalyzed to gluconic acid and hydrogen peroxide by GOx in the presence of oxygen; (2) oxidation of hydrogen peroxide occurs at a positive applied potential, of around 0.37 V , and the carbon paste electrode detects the oxidation current:



Fig. 4B (inset) shows the relationship between peak current

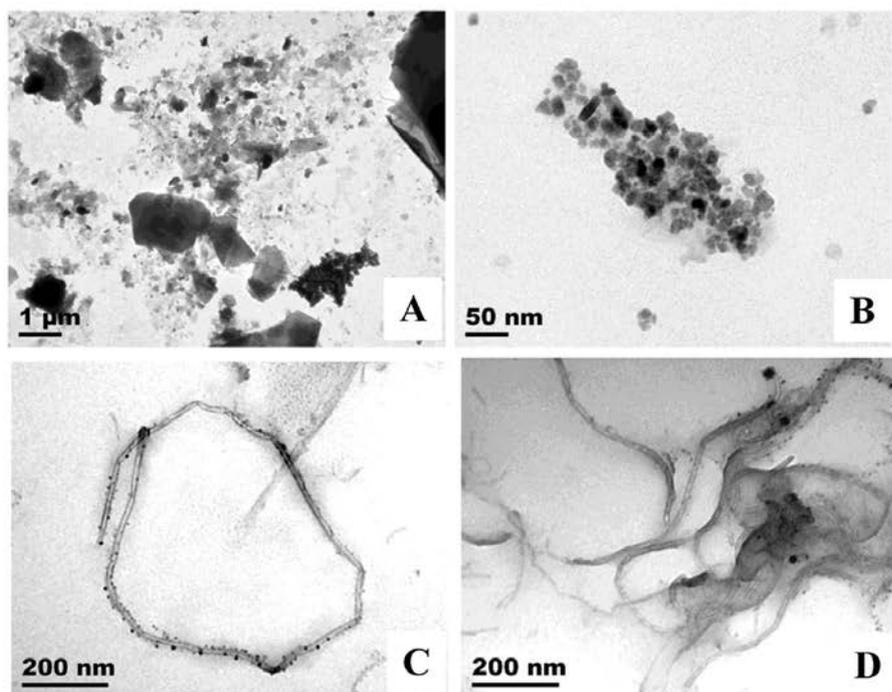


Fig. 3. TEM images of (A) graphite, (B) PtNPs, (C) CNTs-PDDA-PtNPs, and (D) CNTs-PDDA-PtNPs-GOx-Graphite.

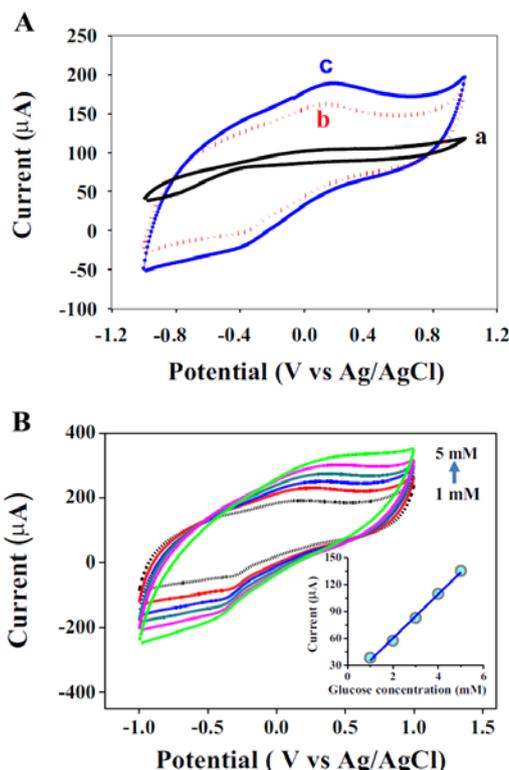


Fig. 4. (A) CV plots obtained from 2 mM glucose in 0.1 M PBS (pH 7) on (a) PtNPs-GOx/CPE, (b) CNTs-PDDA-GOx/CPE, and (c) CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE; scan rate: 0.05 Vs⁻¹. (B) CV plots of glucose in 0.1 M PBS (pH 7) at the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE, with various glucose concentrations in the range of 1–5 mM; scan rate, 0.05 Vs⁻¹ (the inset figure shows the linear calibration curve).

(μA) and glucose concentration in the range 1–5 mM. A linear calibration ($r^2=0.997$) was obtained with a slope of 24.7 $\mu\text{A mM}^{-1}$. CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE provided an oxidation peak, in response to glucose addition at a potential of 0.37 V (vs. Ag/AgCl) in PBS (0.10 M, pH 7). This is the oxidation peak for hydrogen peroxide, a product of the enzymatic reaction. From these results, we conclude that the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE is suitable for the quantitation of glucose.

Cyclic voltammograms of a glucose solution at the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE in 0.1 M PBS (pH 7) at various scan rates were taken (data not shown) to investigate electrode responses to this analyte. Anodic and cathodic peak currents (μA) increase linearly with the square root of the scan rate ($\text{V}^{1/2} \text{s}^{-1/2}$) over the scan range of 0.005–0.250 Vs⁻¹. Linear regression analysis provides r^2 values of 0.999 for oxidation and 0.997 for reduction reactions, indicating a diffusion controlled quasi-reversible electrochemical process.

The apparent Michaelis-Menten constant (K_M^{app}), a reflection of enzymatic affinity, was calculated according to the Linear-Burk equation [28–30].

$$\frac{1}{I_{\text{ss}}} = \frac{1}{I_{\text{max}}} + \frac{K_M^{\text{app}}}{I_{\text{max}}C} \quad (3)$$

Where I_{ss} is the steady-state current after the addition of substrate; I_{max} is the maximum current measured under saturated substrate conditions and C is the bulk concentration of the substrate. The K_M^{app} value for the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE was calculated to be 0.25 mM, indicating that our biosensor was a high affinity of the GOx immobilization for H₂O₂ electroanalytical determination. The K_M^{app} found here was smaller than such K_M^{app} value of 1.5 mM for the system of GOx immobilized onto Au electrode modified with chitosan-bovine serum albumin cryogel incorporated with CNTs-ferrocene [29] and also smaller than 0.60 mM [30] and 0.48 mM [31] for GOx immobilized onto glassy carbon electrodes modified with graphene/polyaniline/gold nanoparticles nanocomposite [30] and palladium nanoparticles supported on CNTs functionalized with metformin [31]. This result indicates that our biosensor provides good GOx activity and retention of GOx electrocatalytic activity.

The stability repeatability and reproducibility of electrode measurements were investigated. We investigated the stability of the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE, by measuring the cyclic voltammetric current responses to 2 mM glucose at various intervals. The electrode retained 84% of its initial current response after repeated use for one week, and retained 82% response after two weeks; the CPE was stored in a refrigerator at 4 °C when not in use. The relative standard deviation (RSD) in the peak current response to glucose at three different electrodes was 4.7%, demonstrating acceptable repeatability. The reproducibility of one CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE electrode was demonstrated by a R.S.D of 2.9% for ten successive additions of 0.5 mM glucose.

3.3. Amperometric detection in the FI system

3.3.1. Optimization of detection potential and flow rate

The proposed amperometric method for determination of glucose uses the oxidation response at the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE electrode. The detection potential has a strong influence on electrode sensitivity toward an analyte. We performed an optimization using an FI manifold (Fig. 2) to find the oxidation potential at which the electrode is most sensitive. CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE amperometric responses to the 1 mM standard glucose solution various potentials were tested using the FI system (Fig. 5A). Over the range 0.0–1.0 V (versus Ag/AgCl), the response increases with increasing detection potential between 0 and 0.5 V. There is a sharp decrease in the peak current response to further increases in potential. The maximum peak current occurs at a potential of 0.5 V. Thus, we chose a detection potential of 0.5 V for the FIA experiments.

To achieve satisfactory sensitivity and sample throughput, we optimized the effect of flow rate, based on injection of 20 μL of standard glucose solution. Fig. 5B shows that the response decreases with increasing flow rate, from 0.4 to 2.0 mL min⁻¹. Greater flow rates generally result in a decreased signal response because of the shorter reaction time between the electrode and analyte. This behavior is in accordance with previous enzyme-based flow-injection assay studies [29,32,33]. However, increasing flow rate increases sample throughput. We selected a flow rate of 1.0 mL min⁻¹ to compromise between sensitivity and sample throughput (200 samples h⁻¹).

3.3.2. Analytical features

We analyzed the glucose analytical performance of the FI amperometric detection method with the developed biosensor. To obtain a calibration curve, various concentrations of glucose standard, from 0.1 to 100 mM were injected into the flow system (Fig. 2). Fig. 6 shows representative signal profiles for multiple injections and the calibration curve. Linear concentration dependence occurs over the range 0.1–100 mM. At concentrations less

6

M. Amatatongchai et al. / Talanta ■ (■■■■) ■■■-■■■

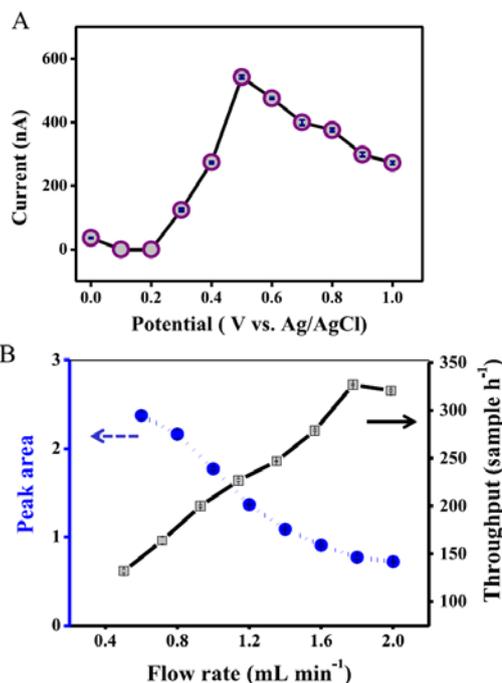


Fig. 5. Effects of (A) detection potential on current response of glucose, and (B) flow rate on current signal and sample throughput at the CNTs-PDDA-PtNPs/CPE in the FI system.

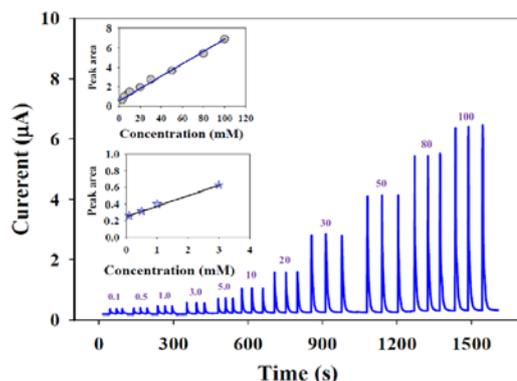


Fig. 6. Typical FI response obtained from injected glucose standards. The inset shows a linear relationship between the signal current and glucose concentration. Conditions: operating potential: +0.5 V versus Ag/AgCl; carrier solution: PBS pH 7; flow rate 1.0 mL min⁻¹.

than 3 mM, the glucose peak oxidation current varies linearly with concentration. The plot has its greatest slope at low concentrations. The regression equation is given by: $y=0.127x+0.255$ ($r^2=0.995$), where y and x are the areas of peak current ($\mu\text{A s}$) and glucose concentration (mM), respectively. At high glucose concentrations, over the range of 5–100 mM, the slope of the plot indicates reduced linear sensitivity of $0.060 (\mu\text{A s}) \text{ mM}^{-1}$ with a linear correlation of 0.997. The calculated detection limit (3 S/N) is

0.015 mM. The system provides impressively good precision (% R.S. D=2.8) for 20 μL injections ($n=15$) of 1 mM glucose. Sample throughput is 200 samples h^{-1} .

Table 1 provides a comparison of the analytical characteristics of our glucose biosensor with related modified electrodes from the literature. The analytical characteristics of our sensor are comparable to, or better than, those reported for other glucose biosensor designs. Additionally, the applied potential for our sensor is lower [27], or comparable to, those in previous reports [30,31,34,35], providing reduced the risk of interference from sample constituents. Moreover, the use of the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE electrode offers a lower limit of detection [34,37] and wider range of linearity compared with previously reported modified electrodes. The CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE offers a simple preparation procedure and handling and storage of the biosensor is uncomplicated. Our approach to fabricate the amperometric glucose biosensor by immobilizing GOx on the CNTs-PDDA-PtNPs modified carbon paste electrode resulted in high electrode stability and improved biosensor performance toward glucose detection.

3.4. Interferences

To assess the selectivity of the proposed method, we investigated possible interference with glucose detection from competing ions and compounds, such as ascorbic acid, carbonic acid, fructose, maltose, sucrose, and sodium chloride, which are always present in energy drinks. We studied the effects of foreign species on the FI signals obtained from standard 1 mM glucose. The tolerance limit was taken as the amount of substance needed to cause a signal alteration of greater than $\pm 5\%$. Table 2 summarizes the results. Different sugars (maltose, fructose, and sucrose) and anions (Cl^- and CO_3^{2-}) produce very low interference signals at molar concentration of 25 mM or greater (50 mM) with respect to glucose. Only ascorbic acid, at molar concentration of 5 mM or greater interfered with the glucose measurement, resulting in an increase in the amperometric signal. However, because samples were diluted between 100 and 1000 times prior to analysis, the presence of these foreign species is assumed not to be problematic, and these effects should not compromise electrode performance.

3.5. Application to real samples

We applied the developed biosensor and flow injection method to the determination of glucose in samples (Fig. 2) including energy drinks, honey, and pharmaceutical products. The results compare well with measurements obtained from a commercially available glucose meter (Fig. 7). The measurements obtained from the two methods are not significantly different at 99% confidence, by the paired t -test ($t_{\text{observed}}=2.5613$, $t_{\text{critical}}=3.4995$) [25]. Additionally, our results are in good agreement with the nutritional analysis provided by the manufacturer for each product (Fig. 7). These results indicate that our glucose biosensor is suitable for the determination of glucose in these samples.

4. Conclusion

This work describes a novel glucose biosensor based on the CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE for on-line amperometric detection of glucose in a flow-injection system. The biosensor is a bio-composite-modified carbon paste electrode, fabricated using a CNTs-PDDA-PtNPs composite to immobilize glucose oxidase. The composite materials were formed by coating negatively charged carboxylated CNTs with positively charged PDDA, followed by

Table 1
Comparison of amperometric detection performance of the proposed glucose biosensor with previously reported GOx based glucose biosensor performances.

Electrode type	Structure of biosensor	E_{app} (V) (vs Ag/AgCl)	Linear range (mM)	Detection limit μ M	References
Pt	GRA-PANI/CS	+0.69	0.010–1.48	2.77	[27], Batch
Au	CNTs/CS-BSA-Fc	+0.18	0.01–30	10	[29], FIA
GCE	GRA/PANI/Au	-0.52	0.004–1.12	0.6	[30], Batch
GCE	Pd@Met/FCNTs	-0.47	0.004–1.5	1.4	[31], Batch
GCE	CNTs/GO	-0.40	0.1–19.82	28	[34], Batch
GCE	Pt/f-GRA/CS	-0.40	0.15–4.2	0.6	[35], Batch
SPCE	Fe ₃ O ₄ @Au/MnO ₂	+0.38	0.2–9.0	13.0	[36], FIA
CILPE	GaHfE/Nafion	-0.25	0.2–6	50	[37], Batch
CILPE	GaHfE/BSA-Glu	-0.20	0.1–6	30	[37], Batch
CPE	CNTs-PDDA-PtNPs	+0.50	0.1–3.0 5.0–100	15	This work

Pt=platinum electrode.

GCE=glassy carbon electrode.

SPCE =screen-printed carbon electrode.

CILPE =carbon ionic liquid paste electrode.

CPE =carbon paste electrode.

GRA= graphene, PANI= polyaniline, CS=chitosan, CNTs= carbon nanotubes, BSA= bovine serum albumin, Fc= ferrocene, Pd@Met/FCNTs= palladium nanoparticles supported on CNTs functionalized with metformin, GO= graphene oxide, Pt= electrodeposited platinum, f-GRA= functional graphene sheet, GaHfE= gallium hexacyanoferrate, SBA-15= hexagonal mesoporous silica, PDDA= poly(diallyldimethyl ammoniumchloride), PtNPs= platinum nanoparticles, E_{app} = applied potential.

Table 2
Interference effects of foreign substances on the FI signal obtained from replicate injections ($n=3$) of glucose standard (1 mM).

Foreign species/added as	Results ^a (mM)
Cl ⁻ /NaCl	50
CO ₃ ²⁻ /H ₂ CO ₃	25
Maltose/C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	50
Fructose/C ₆ H ₁₂ O ₆	25
Sucrose/C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	25
Ascorbic acid/C ₈ H ₈ O ₆	5

^a Greater than a $\pm 5\%$ change in the signal is classified as interference.

electrostatic capping with negatively charged PtNPs. We immobilized GOx by chemisorption on CNTs-PDDA-PtNPs-Graphite, to produce a biosensor that exploits the electrochemical properties of GOx. CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE was used for sensitive detection of hydrogen peroxide, the product of the enzymatic reaction between glucose and GOx. Therefore, detection of hydrogen peroxide oxidation peak produced from the GOx reaction can be used to indirectly determination of glucose concentration. Glucose was quantified using amperometric measurements at the CNTs-

PDDA-PtNPs-GOx/CPE electrode in an in-house assembled flow cell (at +0.5 V) of flow injection system. The proposed biosensor exhibits two wide linear ranges (0.1–3 mM and 5–100 mM), has a low detection limit (15 μ M), acceptable reproducibility (%R.S. $D=2.8$), and rapid sample throughput (200 samples h^{-1}). The method was successfully applied to glucose determination in energy drinks, honey, and intravenous glucose solutions.

Acknowledgments

Financial support from the National Research Council of Thailand (NRCT, 2558A11703003), the Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), the Commission on Higher Education, the Ministry of Education, and the Faculty of Science at Ubon Ratchathani University (UBU) are gratefully acknowledged. The authors would also like to thank Dr. Purim Jarujamrus, Dr. Suparb Tamuang, and Mr. Rattapol Meelapsom for useful discussion and technical expertise in the application of TEM. M.A. would like to express her gratitude to Assoc. Prof. Prapin Wilairat for useful discussion and editing.

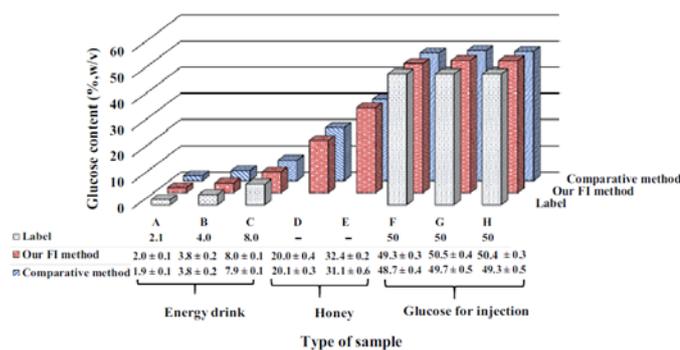


Fig. 7. Comparison of the glucose content found in (A–C) energy drinks, (D–E) honey, and (F–H) intravenous glucose solution, obtained using the developed FI glucose biosensor (CNTs-PDDA-PtNPs-GOx/CPE), and a commercially available glucose sensor [25]. For each method, determinations were performed in triplicate. Values are expressed as means, and \pm SD values are shown.

Please cite this article as: M. Amaratongchai, et al., Talanta (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.072>

References

- [1] J. Wang, *Chem. Rev.* 108 (2008) 814.
- [2] S. Canivell, R. Gomis, *Autoimmun. Rev.* 13 (2014) 403.
- [3] H. Wei, E. Wang, *Anal. Chem.* 80 (2008) 2250.
- [4] W. Zhang, D. Ma, J. Du, *Talanta* 120 (2014) 362.
- [5] G. Palazzo, L. Facchini, A. Mallardi, *Sens. Actuators B* 161 (2012) 366.
- [6] L. Caseli, D.S. dos Santos Jr., R.F. Aroca, O.N. Oliveira Jr., *Mater. Sci. Eng. C* 29 (2009) 1687.
- [7] C. Wang, H. Huang, *Anal. Chim. Acta* 498 (2003) 61.
- [8] L. Qingwen, L. Guoan, W. Yiming, Z. Xingrong, *Mater. Sci. Eng. C* 11 (2000) 67.
- [9] J. Wang, S. Li, J.-W. Mo, J. Porter, M.M. Musameh, P.K. Dasgupta, *Biosens. Bioelectron.* 17 (2002) 999.
- [10] I. Willner, E. Katz, *Angew. Chem. Int. Ed.* 39 (2000) 1180.
- [11] V. Mazeiko, A.K. Minkstimiene, A. Ramanaviciene, Z. Belevicius, A. Ramanavicius, *Sens. Actuators B* 189 (2013) 187.
- [12] V. Mani, R. Devasenathipathy, S.-M. Chen, B. Subramani, M. Govindasamy, *Int. J. Electrochem. Sci.* 10 (2015) 691.
- [13] B. Unnikrishnan, S. Palanisamy, S.-M. Chen, *Biosens. Bioelectron.* 39 (2013) 70.
- [14] P. Rattanarat, P. Teengam, W. Siangproh, R. Ishimatsu, K. Nakano, O. Chailapakul, T. Imato, *Electroanalysis* 27 (2015) 703.
- [15] M.M. Barsan, M.E. Ghica, C.M.A. Brett, *Anal. Chim. Acta* 881 (2015) 1.
- [16] H. Li, J. He, Y. Zhao, D. Wu, Y. Cai, Q. Wei, M. Yang, *Electrochim. Acta* 56 (2011) 2960.
- [17] M.-Y. Yen, C.-C. Teng, M.-C. Hsiao, P.-I. Liu, W.-P. Chuang, C.-C.M. Ma, C.-K. Hsieh, *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 1280.
- [18] M. Tominaga, S. Nomura, I. Taniguchi, *Electrochem. Commun.* 10 (2008) 888.
- [19] J. Li, X. Lin, *Biosens. Bioelectron.* 22 (2007) 2898.
- [20] S. Donmez, F. Arslan, N. Sari, N.K. Yetim, H. Arslan, *Biosens. Bioelectron.* 54 (2014) 149.
- [21] S. Hrapovic, Y. Liu, K.B. Male, J.H.T. Luong, *Anal. Chem.* 76 (2004) 1083.
- [22] J. Ren, W. Shi, K. Li, Z. Ma, *Sens. Actuators B* 163 (2012) 115.
- [23] R. Cui, H. Huang, Z. Yin, D. Gao, J.-J. Zhu, *Biosens. Bioelectron.* 23 (2008) 1666.
- [24] M. Amatatongchai, W. Sroysee, S. Chairam, D. Nacapricha, *Talanta* 133 (2015) 134.
- [25] J.N. Miller, J.C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5th ed., Pearson Education Limited, Essex, 2005.
- [26] L. Wang, X. Gao, L. Jin, Q. Wu, Z. Chem, X. Lin, *Sens. Actuators B* 176 (2012) 9.
- [27] X. Feng, H. Cheng, Y. Pan, H. Zheng, *Biosens. Bioelectron.* 70 (2015) 411.
- [28] A. Lehninger, D. Nelson, M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, 4th ed., W.H. Freeman, New York, 2008.
- [29] A. Fatoni, A. Numnuam, P. Kanatharana, W. Limbut, C. Thammakhet, P. Thavarungkul, *Sens. Actuators B* 185 (2013) 725.
- [30] Q. Xu, S.-X. Gu, L. Jin, Y.-e Zhou, Z. Yang, W. Wang, X. Hu, *Sens. Actuators B* 190 (2014) 562.
- [31] M. Baghayeri, H. Veisi, H. Veisi, B. Maleki, H.K. Maleh, H. Beitollahie, *RSC Adv.* 4 (2014) 49595.
- [32] F. Sánchez, T. Tzanov, G.M. Gübitz, A. Cavaco-Paulo, *Bioelectrochemistry* 58 (2002) 149.
- [33] M. Amatatongchai, W. Sroysee, S. Laosing, S. Chairam, *Int. J. Electrochem. Sci.* 8 (2013) 10526.
- [34] S. Palanisamy, S. Cheemalpati, S.-M. Chen, *Mater. Sci. Eng. C* 34 (2014) 207.
- [35] H. Wu, J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, I.A. Aksay, Y. Lin, *Talanta* 80 (2009) 403.
- [36] A. Samphao, P. Butmee, J. Jitcharoen, L. Svorc, G. Raber, K. Kalcher, *Talanta* 142 (2015) 35.
- [37] B. Haghghi, M. Khosravi, A. Barati, *Mater. Sci. Eng. C* 40 (2014) 204.

Flow Analysis XIII



5–10 July 2015, Diplomat Hotel, Prague, Czech Republic



Final Programme & Book of Abstracts



www.flowanalysis2015.org



CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE
FACULTY OF PHARMACY
IN HRADEC KRÁLOVÉ


OP10

An amperometric flow injection analysis of glucose using a biosensor based on CNT-PDDA-PtNPs-modified carbon paste electrode

M. Amatongchai¹, W. Sroysee², S. Chairam², D. Nacapricha³

¹ Ubonratchathani University, Chemistry, Ubon ratchathani, Thailand

² Ubon ratchathani University, Chemistry, Ubon ratchathani University, Thailand

³ Mahidol University, Chemistry, Bangkok, Thailand

amaliwan@gmail.com

A new approach is presented for sensitive measurement of glucose in beverages based on simple flow injection system with amperometric glucose biosensor. The sensor was fabricated using a carbon paste electrode (CPE) modified with carbon nanotubes (CNTs)-poly (diallyldimethylammonium chloride) (PDDA)-platinum nanoparticles (PtNPs) nanocomposites. Incorporation of glucose oxidase (GOx) to this electrode matrix improves the sensitivity. Results show that direct electron transfer of the immobilized GOx occurs as indicated by a couple of quasi-reversible redox peaks with potential of 0.37 V (vs Ag/AgCl) in 0.10 M pH 7.0 phosphate buffer. Results from amperometric flow injection experiment indicated that the glucose biosensor with the CNTs-PDDA-PtNPs-modified CPE was very sensitive and stable. Interferences from ascorbic acid and/or carbonic acid were minimized by coating the electrode surface with a thin Nafion film. Potential use of this biosensor for in quantification of glucose in fruit juices, glucose syrup and soft drink will be discussed.

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการวิจัย

วัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการวิจัย	ผลการดำเนินการ
1. สังเคราะห์และพิสูจน์เอกลักษณ์เส้นใยไฟโบรอินของไหมไทยชนิดใหม่ ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษบนพื้นผิว โดยใช้อนุภาคทองคำนาโน, คาร์บอนนาโนทิวป์ หรือ โพลีเมอร์นำไฟฟ้า สำหรับใช้เป็นเมทริกซ์ในการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดส	ได้ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ของไฟโบรอินของไหม (SF), อนุภาคทองคำนาโน (AuNPs), อนุภาคแมกนีไทต์(Fe_3O_4), อนุภาคนิกเกิลนาโน (NiNPs), อนุภาคแพลตตินัมนาโน (PtPs),	เป็นไปตามแผน
2. ศึกษาและพัฒนาไบโอเซนเซอร์เพื่อหาค่าประกอบของวัสดุเชิงประกอบระดับนาโน (nano composites) ของเส้นใยไฟโบรอินและอนุภาคนาโน เช่น อนุภาคทองคำนาโน คาร์บอนนาโนทิวป์ หรือ โพลีเมอร์นำไฟฟ้า ที่เหมาะสมในการตรึงเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสลงบนขั้วไฟฟ้า เพื่อใช้เป็นเซนเซอร์ในการตรวจวัดปริมาณกลูโคส	ได้ขั้วไฟฟ้า i) กลูโคสเคมีคัลเซนเซอร์ชนิด GC/ Fe_3O_4 -CNTs-NiNPs, ii) กลูโคสไบโอเซนเซอร์ชนิด GC/ Fe_3O_4 -CNTs-NiNPs/GOx/SF-AuNPs-CS และ iii) กลูโคสไบโอเซนเซอร์ชนิด CNTs-PDDA-PtNPs-GOX/CPE	เป็นไปตามแผน
3. ศึกษาถึงผลของตัวแปรต่าง ๆ ที่มีต่อสภาพไวของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส เช่น วิธีการดัดแปรวัสดุเชิงประกอบลงบนขั้วไฟฟ้าและ pH ของสารละลายที่เหมาะสม	ได้สภาวะที่เหมาะสมและตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อสภาพไวของขั้วไฟฟ้าที่พัฒนาขึ้น	เป็นไปตามแผน
4. ประเมินคุณลักษณะของไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส เช่น ช่วงการตอบสนองแบบเป็นเส้นตรง (linearity range), ขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (limit of detection), ผลของตัวรบกวน (interference study) และนำไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในตัวอย่าง	ได้คุณลักษณะของไบโอเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นในการวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส	เป็นไปตามแผน

รายงานสรุปการเงิน

โครงการ: การพัฒนาหลักสูตรโคสไปโอเซนเซอร์โดยใช้ไฟโบรอินจากไหมไทย

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน นางสาว มะลิวรรณ อมตธงไชย

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ต.ค. 2557 ถึงวันที่ 30 ก.ย. 2558

รายการ	งปี 2558	รายจ่าย	คงเหลือ
1. งบดำเนินการ			
1.1 ค่าตอบแทน ใช้สอยและวัสดุ			
1.1.1 ค่าตอบแทน (ค่าทำการนอกเวลาราชการ)	9,700	4,880.00	4,820.00
1.1.2 ค่าใช้สอย			
-ค่าจ้างเหมาผู้ช่วยวิจัย (12 เดือน x 8,000 บาท)	96,000	96,000.00	0
-ค่าเดินทางเข้าร่วมประชุม/สัมมนา/เสนอผลการวิจัย	10,000	4,917.54	5,082.46
-ค่าจ้างอื่น ๆ เช่น เหมापิมพ์/จัดทำรูปเล่มรายงาน, วิเคราะห์ผลทางห้องปฏิบัติการ	7,000	1,610.00	5,390.00
-ค่าถ่ายเอกสาร	2,500	2,477.00	23.00
2. ค่าวัสดุและสารเคมี			
-อุปกรณ์และวัสดุวิทยาศาสตร์	27,000	40,541.58	-13,541.58
-สารเคมี	35,000	31,715.98	3,284.02
-วัสดุสิ้นเปลืองในห้องปฏิบัติการ/สำนักงาน	7,300	12,535.00	-5,235.00
2.2 ค่าสาธารณูปโภค			
-ค่าสาธารณูปโภค (คณะ 5% ,มหาวิทยาลัย 5%)	19,500	19,500	0
รวมงบประมาณทั้งสิ้น	214,000	214,177.10	-177.10

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. (ชื่อ-สกุล ภาษาไทย) น.ส. มะลิวรรณ อมตงไชย
(ชื่อ-สกุล ภาษาอังกฤษ) Ms Maliwan Amatatongchai
2. หมายเลขบัตรประชาชน XXXXXXXXXXX
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ต. ศรีโค อ. วารินชำราบ
จ. อุบลราชธานี 34190
โทร. 045-353-400-1 ต่อ 4576
โทรสาร 045-288-379
โทรศัพท์มือถือ 08-9623-7545
e-mail: maliwan.a@ubu.ac.th หรือ amaliwan@gmail.com
5. ประวัติการศึกษา

วุฒิการศึกษา	สถาบันการศึกษา	ปีที่จบการศึกษา
Ph.D. (Analytical Chemistry)	มหาวิทยาลัยมหิดล	2549
วท.ม. (Applied Analytical and Inorganic Chemistry)	มหาวิทยาลัยมหิดล	2542
วท.บ. (เคมี)	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	2539

6. สาขาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ
 - 6.1 Electrochemistry
 - 6.2 Biosensors
 - 6.3 Analytical Chemistry
 - 6.4 Flow Injection Analysis, Microfluidics and Chromatography
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัย ว่าเป็นผู้ดำเนินการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

งานวิจัยที่สำเร็จแล้ว

-ทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) เรื่อง “การพัฒนาไบโอแคโทดและไบโอแอนโนดชนิดใหม่โดยใช้เอนไซม์เพื่อการประยุกต์ใช้ในเซลล์เชื้อเพลิงชีวภาพ” งบประมาณจากสำนักงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2553-2554 (หัวหน้าโครงการวิจัย, มีผู้ร่วมวิจัย 3 ท่าน)

-ทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) เรื่อง “ระบบวิเคราะห์ในการประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วด้วยไบโอเซนเซอร์ชนิดใหม่ (A high throughput

screening method for assessing total antioxidant capacity using new biosensors)” งบประมาณจากสำนักงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 (หัวหน้าโครงการวิจัย, มีผู้ร่วมวิจัย 3 ท่าน)
- ทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) เรื่อง “การพัฒนาเทคนิคแอมเพอร์โรเมทรีแบบใหม่สำหรับวิเคราะห์ปริมาณซัลไฟต์ในตัวอย่างผลไม้และเครื่องดื่ม (Development of new amperometric method for determination of sulfite in fruit and beverage)” งบประมาณจากสำนักงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556-2557 (หัวหน้าโครงการวิจัย, มีผู้ร่วมวิจัย 3 ท่าน)

7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์การเผยแพร่ และสถานภาพในการวิจัย

ตีพิมพ์ในวารสาร

1. **M. Amatongchai**, W. Sroysee, S. Chairam and D. Nacapricha “Simple flow injection for determination of sulfite by amperometric detection using glassy carbon electrode modified with carbon nanotubes-PDDA-gold nanoparticles” *Talanta*, 2015, 133, 134-141. สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย
2. P. Jarujamrus, **M. Amatongchai**, A. Thima, T. Khongrangdee, C. Mongkontong “Selective colorimetric sensors based on the monitoring of an unmodified silver nanoparticles (AgNPs) reduction for a simple and rapid determination of mercury” *Original Research Article* *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, 142, 86-93. สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย
3. A. Chatmontree, S. Chairam, S. Supasorn, **M. Amatongchai**, P. Jarujamrus, S. Tamuang, and E. Somsook “Student Fabrication and Use of Simple, Low-Cost, Paper-Based Galvanic Cells To Investigate Electrochemistry” *J. Chem. Educ.* 2015, 92, 1044–1048. สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย
4. S. Chairam, W. Sroysee, C. Boonchit, C. Kaewprom, T. Goedsak Na Wangnoi, **M. Amatongchai**, P. Jarujamrus, S. Tamung, E. Somsook. Nonenzymatic sensor for hydrogen peroxide using a carbon paste electrode modified with a composite consisting of silver nanoparticles, poly(o-aminobenzoic acid) and magnetite, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2015, 10, 4611 – 4625. สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย
5. **M. Amatongchai**, W. Sroysee, S. Laosing and S. Chairam “Rapid Screening Method for Assessing Total Phenolic Content Using Simple Flow Injection System with Laccase based-biosensor” *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2013, 8, 10526-10539. สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย
6. S. Chairam, P. Buddhalee and **M. Amatongchai**, A Novel Hydrogen Peroxide Biosensor Based on Horseradish Peroxidase Immobilized on Poly(aniline-co-o-aminobenzoic acid) Modified Glassy Carbon Electrode Coated with Chitosan Film. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 2013, 8, 10250-10264. สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้วิจัยร่วม
7. **M. Amatongchai**, S. Laosing, O. Chailapakul and D. Nacapricha “Simple Flow Injection for Screening of Total Antioxidant Capacity by Amperometric Detection of DPPH Radical on

Carbon Nanotube Modified-Glassy Carbon Electrode”, *Talanta*, 2012, 97, 267-272. สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

8. S. Chairam, W. Sriraksa, M. Amatongchai and E. Somsook “Electrocatalytic Oxidation of Ascorbic Acid Using a Poly(aniline-co-m-ferrocenylaniline) Modified Glassy Carbon Electrode” *Sensors*, 2011, 11(11), 10166-10179. สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมโครงการวิจัย

9. ยุวากร เสนศรี, เสนอ ชัยรัมย์, ดวงใจ นาคะปรีชา และ มะลิวรรณ อมตงไชย “การพัฒนาไบโอเซนเซอร์ด้วยเมทริกซ์ของวัสดุเชิงประกอบคาร์บอนนาโนทิวป์-โกลด์ที่เคลือบด้วยโพลีไพร์โรลที่ดัดแปลงด้วยแลคเคส” วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 16 ฉบับที่ 2. สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

10. เสาวนีย์ เหล่าสิงห์, ศิริธร อ่างแก้ว และ มะลิวรรณ อมตงไชย “เทคนิคตรวจวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยรวมแบบใหม่ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีในระบบที่มีการไหลที่ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ดัดแปรด้วยคาร์บอนนาโนทิวป์” วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ฉบับพิเศษ 2554. สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

นำเสนอในงานประชุม

1. M. Amatongchai, W. Sroysee, S. Chairam and D. Nacapricha “An amperometric flow injection analysis of glucose using a biosensor based on CNT-PDDA-PtNPs-modified carbon paste electrode” ¹³th Conference on Flow Analysis (Flow Analysis XIII) 5-10 July 2015 as oral contribution (Prague, Czech Republic). สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการ

2. M. Amatongchai, Y. Sensri and D. Nacapricha “Development of flow injection system with amperometric detection on laccase-based biosensor for antioxidant assay” ⁶th Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2012), Chiang Mai, Thailand. สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการ

3. M. Amatongchai, Y. Sensri and D. Nacapricha “Development of flow injection system with amperometric detection on laccase-based biosensor for antioxidant assay” ⁶th Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON 2012), Chiang Mai, Thailand. สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการ

4. M. Amatongchai, J. Phanthuwat and D. Nacapricha “Development of glucose biosensor based on glucose oxidase entrapped in the matrix of carbon nanotube/chitosan modified glassy carbon electrode” 16th International Conference on Flow Injection Analysis (ICFIA 2010) including related techniques 25-30 April 2010 as poster contribution (Pattaya, Thailand). สถานภาพในการทำวิจัย : หัวหน้าโครงการ

ผู้ร่วมโครงการวิจัย 1

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นาย เสนอ ชัยรัมย์
(ภาษาอังกฤษ) Mr. Sanoe Chairam
2. หมายเลขบัตรประชาชน XXXXXXXXXXXXX
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานของรัฐ ตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ต. ศรีโค อ. วารินชำราบ
จ. อุบลราชธานี 34190
โทร. 045-353-400-1 ต่อ 4137 โทรสาร 045-288-379
e-mail: chairam019@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

วุฒิการศึกษา	สถาบันการศึกษา	ปีที่จบการศึกษา
Ph.D. (Science & Technology Education)	มหาวิทยาลัยมหิดล	2551
Certificate (Teaching Profession)	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	2546
วท.บ. (เคมี)	มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี	2545

6. สาขาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

Polymer-assisted synthesis of nanostructures and catalysis

Magnetic materials

Molecular catalysis

Electrochemistry

Science education (Chemistry)

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัย ว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

7.1 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์การเผยแพร่ และสถานภาพในการวิจัย

1. A. Chatmontree, **S. Chairam**, S. Supasorn, **M. Amatatongchai**, P. Jarujamrus, S. Tamuang, and E. Somsook “Student Fabrication and Use of Simple, Low-Cost, Paper-Based Galvanic Cells To Investigate Electrochemistry” J. Chem. Educ. 2015, 92, 1044–1048.
สถานภาพในการทำการวิจัย : หัวหน้าโครงการวิจัย

2. **S. Chairam**, W. Sroysee, C. Boonchit, C. Kaewprom, T. Goedsak Na Wangnoi, M. Amatatongchai, P. Jarujamrus, S. Tamung, E. Somsook. Nonenzymatic sensor for hydrogen peroxide using a carbon paste electrode modified with a composite consisting of silver

ผู้ร่วมวิจัยโครงการวิจัย 2

1. (ชื่อ-สกุล ภาษาไทย) น.ส. เสาวนีย์ เหล่าสิงห์
(ชื่อ-สกุล ภาษาอังกฤษ) Miss Saowanee Laosing
2. หมายเลขบัตรประชาชน XXXXXXXXXXXXX
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัย
4. หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์และโทรสาร
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ต. ศรีโค อ. วารินชำราบ
จ. อุบลราชธานี 34190
โทร. 045-433-110-2 ต่อ 4113 โทรสาร 045-288-379
โทรศัพท์มือถือ 08-6726-6688
e-mail: lsouwanee@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา

- | | | |
|-----------------------------|------------------------|------|
| วท.บ. (เคมี) | มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี | 2543 |
| วท.ม (เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม) | มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี | 2553 |

6. สาขาที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

- 6.1 Analytical Chemistry
- 6.2 High Performance Liquid Chromatography

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัย ว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย เป็นต้น

7.1. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์การเผยแพร่ และสถานภาพในการวิจัย

1. M. Amatongchai, W. Sroysee, **S. Laosing** and S. Chairam “Rapid Screening Method for Assessing Total Phenolic Content Using Simple Flow Injection System with Laccase based-biosensor” Int. J. Electrochem. Sci., 2013, 8, 10256-10539. สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย

2. M. Amatongchai, **S. Laosing**, O. Chailapakul and D. Nacapricha “Simple Flow Injection for Screening of Total Antioxidant Capacity by Amperometric Detection of DPPH Radical on Carbon Nanotube Modified-Glassy Carbon Electrode”, Talanta, 2012, 97, 267-272.

สถานภาพในการทำวิจัย : ผู้ร่วมโครงการวิจัย

3. เสาวนีย์ เหล่าสิงห์, ศิริธร อ่างแก้ว และ มะลิวรรณ อมตงไชย “เทคนิคตรวจวัดความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยรวมแบบใหม่ด้วยเทคนิคแอมเพอโรเมทรีในระบบที่มีการไหลที่ขั้วไฟฟ้ากลาสคาร์บอนที่ดัด

แปรรด้วยคาร์บอนนาโนทิวบ์” วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ฉบับพิเศษ 2554. สถานภาพ
ในการทำวิจัย : ผู้ร่วมวิจัย