

GRAPHENE AND ENZYME MODIFIED ELECTRODE FOR
ULTRASENSITIVE ACETYLCHOLINE DETECTION IN MICROFLUIDIC
DEVICE

PIYAWAT PITIKULTHAM 5537714 EGBE/M

M.Eng. (BIOMEDICAL ENGINEERING)

THESIS ADVISORY COMMITTEE : CHAMRAS PROMPTMAS, Ph.D.,
NORASED NASONKLA, Ph.D.

ABSTRACT

A promising acetylcholine biosensor based on graphene-PEDOT:PSS (GR-PEDOT:PSS) bienzyme, choline oxidase (ChOx) and acetylcholine esterase (AChE), a modified electrode was successfully fabricated. GR-PEDOT:PSS and MWCNT were selected for electrode modification. The sensitivity of H₂O₂ detection at 0.7V vs Ag/AgCl, based on bare SPE, MWCNT/SPE and GR-PEDOT:PSS/SPE was 6.2 nA/mM, 2.038 μA/mM, and 13.29 μA/mM, respectively. GR-PEDOT:PSS/SPE exhibited the highest sensitivity. ChOx and AChE in the optimized loading ratio were immobilized on GR-PEDOT:PSS/SPE by the 10% glutaraldehyde (GA) vapor cross-linked for 8 minutes. 1% Nafion was coated on the outermost layer of AChE-ChOx/GR-PEDOT:PSS/SPE as a protective film. A new design of electrode, 22 mm in length and 12 mm in width, consisted of a working electrode (WE), a counter electrode (CE) and Ag/AgCl reference electrode (RE) on single piece. It was offered to integrate with the microchannel which was made of transparent polypropylene (PP) plastic sheet. In order to fabricate microfluidic chip, the PP channel was adjoined on the electrode surface by adhesive tape. These microfluidic biosensor chip was cost-effective and easy to use. Moreover, the fabrication procedure was easy and simple. The acetylcholine biosensor modified microfluidic chip platform showed the limit of detection, linearity and sensitivity as 10 μM, 10 μM to 750 μM ($R^2 = 0.989$), and 430.76 nA/mM, respectively.

KEY WORDS: ACETYLCHOLINE/ MICROFLUIDIC CHIP/ BIOSENSOR/
GRAPHENE/ AMPEROMETRY

69 pages

การปรับปรุงพื้นผิวอิเล็กโทรดด้วยกราฟีนและเอนไซม์สำหรับตรวจวัดสารอะเซทิลโคลีนในชิพระบบของไหลจุลภาค

GRAPHENE AND ENZYME MODIFIED ELECTRODE FOR ULTRASENSITIVE ACETYLCHOLINE DETECTION IN A MICROFLUIDIC DEVICE

ปิยะวัฒน์ ปิติกุลธรรม 5537714 EGBE/M

วศ.ม. (วิศวกรรมชีวการแพทย์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : จำรัส พร้อมมาศ, Ph.D., นรเศรษฐ์ ณ สงขลา, Ph.D.

บทคัดย่อ

Acetylcholine เซ็นเซอร์ชนิดดัดแปลงหน้าผิวอิเล็กโทรดด้วย graphene-PEDOT:PSS กับเอนไซม์ Choline oxidase และ Acetylcholine esterase ได้ถูกสร้างขึ้นวัสดุนาโน GR-PEDOT:PSS และ Multi walled carbon nanotube ถูกเลือกมาใช้ในการปรับปรุงผิวหน้าอิเล็กโทรดเพื่อเพิ่มการนำไฟฟ้าจากการทดลองการวัดเปรียบเทียบกับ Hydrogen peroxide ที่ศักย์ไฟฟ้า 0.7 โวลต์เทียบกับขั้วอ้างอิง Ag/AgCl ด้วยอิเล็กโทรดพิมพ์สกินทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ อิเล็กโทรด อิเล็กโทรดที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย Multi walled carbon nanotube และ อิเล็กโทรดที่ปรับปรุงพื้นผิวด้วย GR-PEDOT:PSS ให้ค่า Sensitivity ในการตรวจวัดเท่ากับ 6.2 nA/mM, 2.038 μ A/mM และ 13.29 μ A/mM ตามลำดับ สรุปได้ว่า GR-PEDOT:PSS ให้ค่าที่ดีที่สุด จึงถูกใช้ในกระบวนการทดลองถัดไป เอนไซม์ถูกตรึงบนพื้นผิวอิเล็กโทรดในปริมาณและกระบวนการที่เหมาะสม โดยการใช้ไอระเหยจาก 8% Glutaraldehyde บริเวณพื้นผิวอิเล็กโทรดเป็นเวลา 8 นาที พร้อมทั้งเคลือบผิวด้านนอกสุดด้วย Nafion อิเล็กโทรดพิมพ์สกินชนิดใหม่ได้ถูกออกแบบให้มีขนาด ยาว 22 มิลลิเมตร กว้าง 12 มิลลิเมตร อิเล็กโทรดถูกนำไปประยุกต์ร่วมกับ Microchannel ที่ทำมาจากแผ่นพลาสติกใส Polypropylene ในการสร้าง Microfluidic chip สามารถทำได้โดยนำ Microchannel มาติดบนอิเล็กโทรดพิมพ์สกินด้วยกาวสองหน้าชนิดบาง Microfluidic chip ที่พัฒนาขึ้นสามารถตรวจวัดสาร Acetylcholine ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 10 μ M และสามารถตรวจวัดได้ในช่วงความเข้มข้นตั้งแต่ 10 μ M ถึง 750 μ M โดยมีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับความเข้มข้นของ Acetylcholine ด้วยค่าสหสัมพันธ์ทางสถิติ 0.989 และมีค่า Sensitivity อยู่ที่ 430.76 nA/mM