

Thesis Title Development of Flow Injection Analysis with Modified Amperometric
Biosensor for Determination of Glucose

Author Mr. Arsan Prommintta

Degree Master of Science (Chemistry)

Thesis Advisory Committee

Assistant Professor Dr. Teraboon Pojanagaroon	Advisor
Associate Professor Dr. Saisunee Liawruangrath	Co-advisor
Dr. Sakchai Satienerakul	Co-advisor

ABSTRACT

A novel glucose biosensor was constructed by bulk modification of carbon paste electrode (CPE) with manganese (IV) dioxide (MnO_2) functions as a mediator.

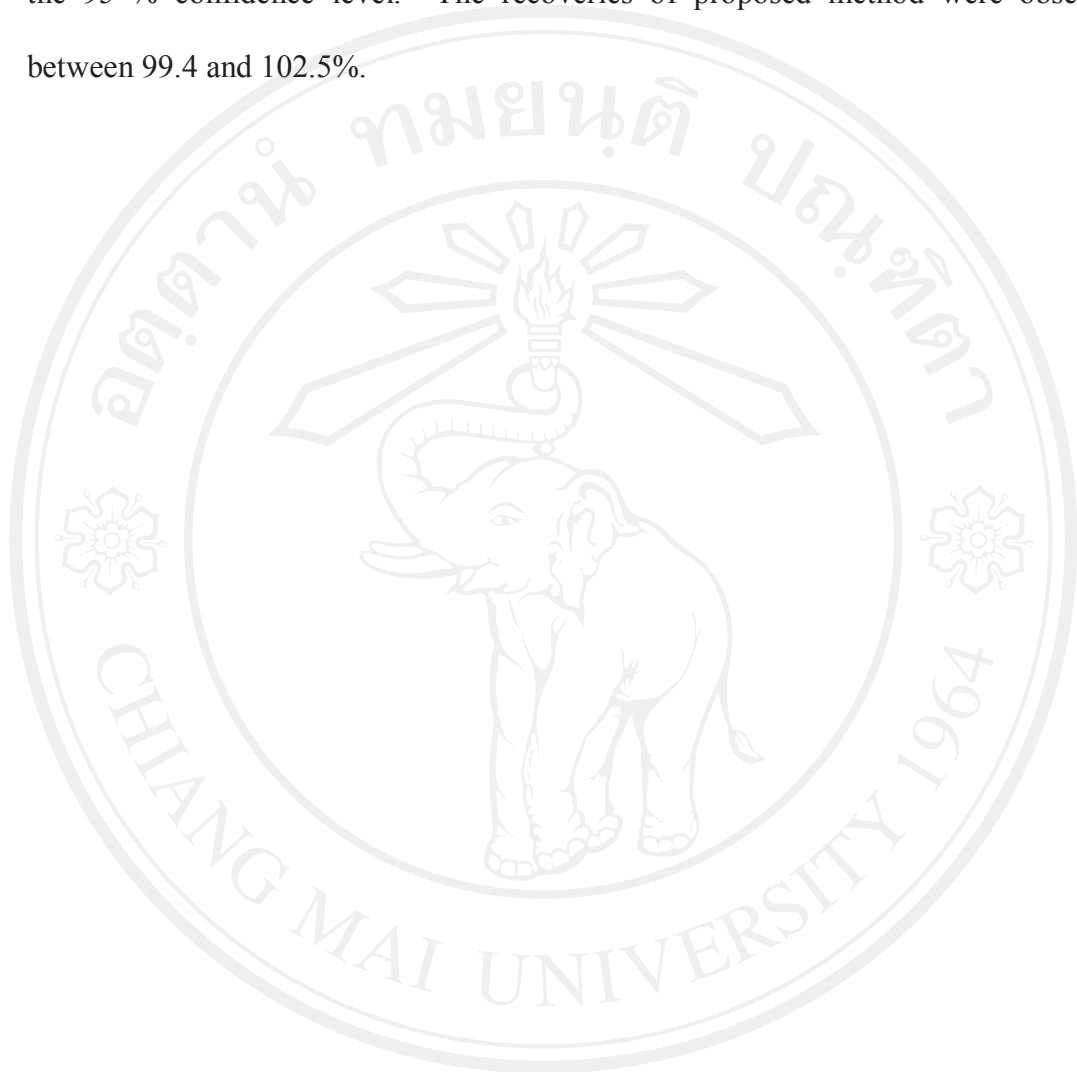
Electrode surface was modified by drop casting method by sequentially dropped polyaniline (PANi), gold nanoparticles (AuNP), glucose oxidase (GOx) and Nafion[®]

solutions onto the surface of MnO_2/CPE . The AuNP were prepared by the citrate reducing method, heating in the microwave oven. The red-purple color AuNP solution gave the highest absorption peak at 521 nm, with the mole ratio of HAuCl_4 to $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ at 1:5. The modified CPE properties were investigated in terms of cyclic voltammetry and amperometry. Experimental results showed a fast response time at +0.5 V (vs. Ag/AgCl) and linear response up to 8.0 mmol L^{-1} glucose with a

correlation coefficient of 0.9953. The detection limit of the sensor was determined to be 0.12 mmol L^{-1} at a signal to noise ratio of 3σ in batch systems. The modified biosensor exhibited excellent electrocatalytic activity, good reproducibility and remarkable improvement in sensitivity of the biosensor performance to glucose. The good performance showed by proposed biosensor in the batch mode suggested the possibility of using this biosensor in flow-injection systems in the conjunction with amperometric detection for glucose determination.

A simple flow injection (FI) amperometric biosensor procedure was proposed for the determination of glucose in human serum and urine samples. Flow injection investigations of modified amperometric biosensor, as working electrode, were carried out by a wall-jet type amperometric flow-through cell. The characteristic flow injection parameters were optimized by univariation procedure. Under the FI optimum conditions, the method exhibited the linear detection in a large concentration range from 0.1 to 15.0 mmol L^{-1} (a correlation coefficient of 0.9985) with a low detection limit of 0.06 mmol L^{-1} ($S/N = 3$). A relative standard deviation of 1.64% ($n = 20$) was achieved and rapid with a sampling rate of 25 h^{-1} . The stability was expressed in terms of intra-day and inter-day variability timescales with the biosensor response decreased to 13.11% (within 8 hours) and 46.75% (within 30 days) of its initial value, respectively. The proposed method has been applied to determine the glucose concentration in real samples and result were compared favorably with those obtained by using glucose oxidase reacts under catalysis of peroxidase with phenol and 4-amino-antipyrine (GOD-PAP method), which were in good agreement at

the 95 % confidence level. The recoveries of proposed method were observed between 99.4 and 102.5%.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การพัฒนาโพลีอินเจกชันอะนาไลซิสร่วมกับแอมเพอโรเมตริก	
	ไบโอเซนเซอร์ที่ตัดแปรสำหรับการหาปริมาณกลูโคส	
ผู้เขียน	นายอาสาฬ พนมมินีตะ	
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์		
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรบุญ พจนการุณ	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
	รองศาสตราจารย์ ดร.สายสุนีย์ เหลี้ยวเรืองรัตน์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	ดร.ศักดิ์ชัย เสถียรพิระกุล	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
	บทคัดย่อ	

ได้สร้างกลูโคสไบโอเซนเซอร์แบบใหม่ขึ้นโดยการปรับปรุงขั้วไฟฟ้าคาร์บอนเพสต์ด้วย

แมงกานีสออกไซด์ บนผิวหน้าของขั้วไฟฟ้าที่ผ่านการตรึงด้วยวิธีการหยดด้วยสารละลายพอลิอะนิลีน สารละลายอนุภาคทองคำนาโน สารละลายกลูโคสออกซิเดส และสารละลายแนฟฟิออนตามลำดับ ซึ่งอนุภาคทองคำนาโนเตรียมขึ้นโดยการรีดิวซ์ทองคำคลอไรด์กับไตรโซเดียมซิติเรตทโดยให้ความร้อนด้วยเตาไมโครเวฟ แล้วนำไปตรวจสอบคุณลักษณะด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่า สารละลายทองคำนาโนที่อัตราส่วนของทองคำคลอไรด์ต่อไตรโซเดียมซิติเรตที่ 1:5 มีสีม่วงแดงและให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 521 นาโนเมตร เมื่อนำขั้วไฟฟ้าที่ปรับปรุงขึ้นนี้

ไปทดสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี และแอมเพอโรเมตรี พบว่า ขั้วไฟฟ้าปรับปรุงคาร์บอน
 เพลตมีการตอบสนองไวที่ศักย์ไฟฟ้า +0.5 โวลต์ (เทียบกับขั้วไฟฟ้าอ้างอิงซิลเวอร์/ซิลเวอร์-
 คลอไรด์) และมีช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงของการตรวจวัดกลูโคสถึง 8.0 มิลลิโมลต่อลิตร
 จีดีจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดด้วยเซนเซอร์นี้เท่ากับ 0.12 มิลลิโมลต่อลิตร เมื่อเทียบกับสัญญาณ
 ตอบสนอง 3 เท่าของสัญญาณพื้นหลัง ไบโอเซนเซอร์ที่ปรับปรุงนี้เกิดการเร่งปฏิกิริยาทางไฟฟ้าเคมี
 ที่ดี มีความแม่นยำสูง และมีการตอบสนองที่ไวเพิ่มขึ้น จากการศึกษาเบื้องต้นนี้สามารถนำขั้วไฟฟ้า
 ปรับปรุงนี้ไปประยุกต์ใช้กับระบบโพลีอินเจกชันร่วมกับการตรวจวัดด้วยแอมเพอโรเมตริก
 สำหรับวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส

ได้พัฒนาระบบโพลีอินเจกชันแอมเพอโรเมตริกอย่างง่ายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส
 ในตัวอย่างน้ำเลือดและปัสสาวะของมนุษย์ ซึ่งไบโอเซนเซอร์ที่ปรับปรุงขึ้นนี้จะประกอบเข้ากับ
 โพลีทรูเชลล์ของเซลล์ไฟฟ้าชนิดวอลต์เจต ได้ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของตัวแปรของ
 ระบบการไหลสำหรับหาปริมาณกลูโคสด้วยวิธียูนิแวร์เอด จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับหา
 ปริมาณกลูโคส พบว่าสามารถตรวจวัดปริมาณกลูโคสได้ในช่วงความเข้มข้น 0.1 ถึง 15.0 มิลลิโมล

ต่อลิตร (ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9995) ด้วยจีดีจำกัดต่ำสุดในการตรวจวัดกลูโคสที่มี
 ความเข้มข้น 0.06 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ 1.64 เปอร์เซ็นต์
 (ทำการทดลองซ้ำ 20 ครั้ง) และมีอัตราเร็วของการวิเคราะห์ 25 ตัวอย่างต่อชั่วโมง ได้ศึกษาอายุการ
 ใช้งานของไบโอเซนเซอร์ปรับปรุงด้วยระบบโพลีอินเจกชัน โดยแยกเป็นทำการทดลองซ้ำหลายๆ
 ครั้งในช่วงวันเดียวกัน และทำการทดลองซ้ำต่างวัน พบว่า ค่าการตอบสนองไบโอเซนเซอร์ลดลง
 13.11 เปอร์เซ็นต์ (วัดซ้ำใน 8 ชั่วโมง) และ 46.75 เปอร์เซ็นต์ (วัดซ้ำใน 30 วัน) ตามลำดับ ได้นำวิธี

ที่พัฒนาขึ้นมาประยุกต์สำหรับหาปริมาณกลูโคสในตัวของน้ำเลือดและปัสสาวะมนุษย์ ซึ่งผลการวิเคราะห์เป็นที่ยอมรับในระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับวิธีจีโอดี-พีเอพี และวิธีการนี้มีความถูกต้อง ซึ่งคำนวณจากร้อยละของการกลับคืนอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ คือ 99.4 ถึง 102.5 เปอร์เซ็นต์

The logo of Chiang Mai University is a circular emblem. In the center is a standing elephant facing left, with a traditional Thai lamp (Lampang) on its trunk. Above the elephant is a sunburst or flame-like symbol. The emblem is surrounded by a circular border containing the Thai text 'มหาวิทยาลัยเชียงใหม่' at the top and 'CHIANG MAI UNIVERSITY 1964' at the bottom. There are also decorative floral motifs on the sides.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved