

**DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL SENSORS FOR
ANALYSIS OF MEDICAL AND ENVIRONMENTAL ANALYTES**

TANIN TANGKUARAM

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(ANALYTICAL CHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2007

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การพัฒนาเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าเพื่อการวิเคราะห์สารทางแพทย์และสิ่งแวดล้อม
(DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL SENSORS FOR ANALYSIS OF
MEDICAL AND ENVIRONMENTAL ANALYTES)

ชานินทร์ แดงกวารัมย์ 4636250 SCAC/D

ปร.ค. (เคมีวิเคราะห์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วรศ วีระชัย, Dr. rer. nat. (Physical Inorganic Chemistry),
ดวงใจ นาคะปรีชา, Ph.D. (Analytical Chemistry), ทินกร เตียนสิงห์, Ph.D. (Environmental
Science), Joseph Wang, D.Sc. (Chemistry)

บทคัดย่อ

การพัฒนาเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้า 4 ชนิดซึ่งมีความสำคัญทางด้านการแพทย์และการเฝ้าระวัง
สิ่งแวดล้อมได้แก่ (i) อินซูลิน, (ii) โกลโคซิเดส, (iii) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ (iv) ฟอสเฟต เพื่อให้
ความไว, ความเลือกเฉพาะ, จี๊ดจำกัดการตรวจวัดและความเสถียรดีขึ้นดังนี้

(i) อินซูลิน เป็นฮอร์โมนจากตับอ่อนเพื่อควบคุมการดูดซึมและการใช้น้ำตาลกลูโคส อินซูลินเซนเซอร์
ถูกพัฒนาโดยใช้ไบเลเยอร์ของรูทีเนียมออกไซด์บนชั้นของคาร์บอนนาโนทิวป์ การวิจัยพบว่าอินซูลินเซนเซอร์ที่
ใช้ไบเลเยอร์ให้เสถียรภาพดีกว่าและไวกว่าโมโนเลเยอร์ของรูทีเนียมออกไซด์หรือคาร์บอนนาโนทิวป์
ช่วงความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงมีค่าระหว่าง 10 ถึง 800 นาโนโมลาร์และมีจี๊ดจำกัดการตรวจวัด 1 นาโนโมลาร์

(ii) โกลโคซิเดสเป็นเอนไซม์ค้ำจุนสำหรับการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งในเบื้องต้น กลไกของโกลโค
ซิเดสเซนเซอร์เริ่มจากเอนไซม์ดังกล่าวเปลี่ยนสับสเตรท 4-ไนโตรฟีนอล-เบตา-กาแลคโทไพราโนไซด์ไปเป็น
พาราไนโตรฟีนอลที่ไวต่อการตรวจวัดทางเคมีไฟฟ้า สัญญาณการวัดเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณของโกลโค
ซิเดส การวิเคราะห์ด้วยเซนเซอร์ทางเคมีไฟฟ้าให้การวัดที่ดีกว่าเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตริกแบบดั้งเดิม

(iii) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารมัธยันตร์จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ ไบโอเซนเซอร์สำหรับสารนี้
ถูกพัฒนาบนขั้วไฟฟ้าคาร์บอนพิมพ์สกรีน โดยนำขั้วไฟฟ้าเปลือยมาตรึงผิวหน้าด้วยเอนไซม์ฮอสสเรดิซเปอร์ออก
ซิเดสในเมทริกซ์ของไคโทซาน-ทองนาโน การตรึงร่วมกันดังกล่าวทำให้เซนเซอร์มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เซนเซอร์
นี้ให้ความเสถียรมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเวลา 30 วันของการวิเคราะห์โดยเก็บเซนเซอร์ไว้ที่อุณหภูมิ
4 องศาเซลเซียส ไบโอเซนเซอร์มีช่วงการใช้งานตั้งแต่ 0.01 ถึง 11.3 มิลลิโมลาร์และมีจี๊ดจำกัดการตรวจวัดที่
0.65 ไมโครโมลาร์

(iv) ฟอสเฟตเป็นธาตุอาหารอีกรูปหนึ่งของธาตุฟอสฟอรัสซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย
ฟอสเฟตไบโอเซนเซอร์ถูกพัฒนาโดยใช้เอนไซม์ไฟรูเวตออกซิเดสตรึงบนผิวหน้าของ (iii) สารไฟรูเวตและ
ฟอสเฟตทำปฏิกิริยาฟอสโฟไรเลชันแล้วให้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกมา ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังกล่าว
เป็นปฏิภาคโดยตรงกับฟอสเฟต การใช้งานฟอสเฟตเซนเซอร์เพื่อวิเคราะห์ฟอสเฟตในน้ำตัวอย่างจริงแสดงให้เห็น
เห็นว่ามีผลถูกต้องเมื่อเทียบกับวิธียูวีวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตเมตริก

DEVELOPMENT OF ELECTROCHEMICAL SENSORS FOR ANALYSIS OF MEDICAL AND ENVIRONMENTAL ANALYTES

TANIN TANGKUARAM 4636250 SCAC/D

Ph.D. (ANALYTICAL CHEMISTRY)

THESIS ADVISORS: WARET VEERASAI, Dr. rer. nat. (PHYSICAL INORGANIC CHEMISTRY), DUANGJAI NACAPRICHA, Ph.D. (ANALYTICAL CHEMISTRY), TINNAKORN TIENSING, Ph.D. (ENVIRONMENTAL SCIENCE), JOSEPH WANG, D.Sc. (CHEMISTRY)

ABSTRACT

Four different electrochemical sensors were developed for analysis of some selected analytes, namely: (i) insulin, (ii) glycosidases, (iii) hydrogen peroxide (H_2O_2), and (iv) phosphate (PO_4^{3-}). These are very important in health care and environmental monitoring. The improvement of sensitivity, selectivity, detection limit and stability of these sensors were investigated.

(i) Insulin is a pancreatic endocrine hormone for controlling body cells adsorbing and using glucose. The insulin sensor was developed by using a bilayer surface coating of ruthenium oxide (RuO_x) onto a carbon nanotube (CNT) layer. RuO_x/CNT offers dramatic improvement in the stability and sensitivity of voltammetric and amperometric measurements of insulin. A wide linear dynamic range (10 - 800 nM) was achieved with a detection limit of 1 nM insulin.

(ii) Glycosidases are index enzymes for cancer screening. The mechanism of the glycosidases sensor involved the enzymes converting a probe substrate, 4-nitrophenol- β -D-galactopyranoside, to an electrochemical active form as *p*-nitrophenol. The detection signal of *p*-nitrophenol oxidation is a proportion of the glycosidases content. The electrochemical assay for glycosidases enzymes is better than the conventional spectrophotometric techniques.

(iii) Hydrogen peroxide is an intermediate species in many enzymatic reactions. The H_2O_2 biosensor was designed on a screen printed carbon electrode (SPCE). A bare SPCE was modified by horseradish peroxidase (HRP)/gold nanoparticles (AuNP) in the matrix of chitosan (HRP/AuNP/CHIT). The HRP/AuNP incorporated with CHIT yielded the higher performance. It retained amperometric response over 95% of the initial current of the first day up to 30 days of storage at 4 °C. The biosensor showed a linear range of 0.01 – 11.3 mM H_2O_2 , with a detection limit of 0.65 μ M H_2O_2 .

(iv) Phosphate is an important nutrient form of phosphorus related to the algae bloom phenomenon. A phosphate biosensor was designed by immobilizing pyruvate oxidase on H_2O_2 biosensor. Pyruvate associated phosphate via a phosphorylation reaction to generate H_2O_2 is an important step of phosphate biosensor. The detectable H_2O_2 is proportional to the phosphate content in the samples. The practical use of this biosensor for phosphate determination in real samples was demonstrated and validated with UV-Vis spectrophotometry.

KEY WORDS: INSULIN SENSOR / GLYCOSIDASES SENSOR / HYDROGEN PEROXIDE BIOSENSOR / AMPEROMETRIC PHOSPHATE BIOSENSOR / NANOTECHNOLOGY

174 pp.