



รายงานวิจัย

การพัฒนาอิเล็กโทรดสำหรับตรวจวัดน้ำตาลฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์

Development of Electrode for Fructose Analysis Using Biosensor

ภารุณีย์ สามพิมพ์

Pharunee Sarmphim

โกสินทร์ ทีปรักษพันธ์

Kosin Teeparuksapun

สุปราณี วุ่นศรี

Supranee Wunsri

คณะศิลปศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี พ.ศ.2563

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2563 เป็นงานวิจัยพื้นฐานเพื่อก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ ตลอดจนผลการวิจัยสามารถใช้เป็นแนวทางส่งเสริมให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ และอุตสาหกรรม

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัยที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยในการวิจัย ครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและเพื่อนที่ให้ความห่วงใย เป็นกำลังใจให้เสมอมา ประโยชน์อันใดที่เกิดจากงานวิจัยนี้ย่อมเป็นผลมาจากความกรุณาของท่านและหน่วยงาน ผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ภารุณีย์ สามพิมพ์

สิงหาคม 2564



การพัฒนาอิเล็กโทรดสำหรับตรวจวัดน้ำตาลฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์

ภารุณีย์ สามพิมพ์¹ โกสินทร์ ทีปรักษ์พันธ์¹ และสุปราณี วุ่นศรี¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาอิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจสอบทางเคมีไฟฟ้าได้หลากหลายและลดต้นทุนการผลิต อิเล็กโทรดประกอบด้วยขั้วสามขั้ว คือ ขั้วทำงาน ขั้วช่วย และขั้วอ้างอิง ที่มีคุณสมบัติที่ดีทางเคมีไฟฟ้า จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมตรี ของสารเพอร์โซยานด์ ความเข้มข้นต่ำ ให้กราฟมาตรฐานและมีความว่องไวในการตรวจวัด จากการมีความขรุขระของพื้นผิวทำงานที่มากกว่า ทำให้ค่ากระแสแอนอดิกและแคโทริกของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีค่ามากกว่าค่าของอิเล็กโทรดทางการค้า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95% (P value 0.1) แต่อิเล็กโทรดที่พัฒนาขึ้นมีความสามารถในการผลิตซ้ำต่ำกว่าอิเล็กโทรดทางการค้า ส่งผลให้ความเที่ยงตรงและความแม่นยำในการตรวจสอบน้ำตาลฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์ของอิเล็กโทรดที่พัฒนาขึ้นมีค่าต่ำ นอกจากนี้อิเล็กโทรดที่พัฒนาขึ้นยังสามารถนำมาฝังเอนไซม์ฟรุกโทสดีไฮโดรจีเนส ทำให้เกิดความจำเพาะเจาะจงในการวัดฟรุกโทส ในช่วงความเข้มข้น 0 - 0.8 mM โดยให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง $y=0.875x$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9923 ความเที่ยงตรงและแม่นยำในการวัดของอิเล็กโทรดสามารถพัฒนาให้เพิ่มขึ้นได้ด้วยการใช้เทคนิคการสกรีนที่สูงขึ้น

คำสำคัญ : อิเล็กโทรด พิมพ์สกรีน ฟรุกโทส แอมเพอร์โรเมทรี

¹อาจารย์ สาขาศึกษาทั่วไป คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.เมือง จ.สงขลา

Development of Electrode for Fructose Analysis Using Biosensor

Pharunee Sarmphim¹ Kosin Teeparuksapun¹ and Supranee Wunsri¹

Abstract

This study developed screen-printed carbon electrodes with versatile electrochemical analyses and reduces production cost. The electrode consists of a working electrode, a counter electrode and a reference electrode showed good electrochemical property which was investigated by the cyclic voltammetry (CV) of ferricyanide at a low concentration. The electrode gave standard CV characteristics with sensitive electrochemical behaviors. Due to the surface roughness, the cathodic and anodic current peaks of the developed electrodes were significantly higher than those of commercial electrode at a 90 % confidence level (P value 0.1). However, the reproducibility of developed electrodes was lower than commercial electrode. The low reproducibility of the electrode effected to low precision and accuracy of fructose analysis using biosensor. However, fructose dehydrogenase enzyme can be immobilized on the developed electrodes with specific for fructose measurement. The linearity of calibrate curve was in the range of 0-0.8 mM with linear equation $y=0.875x$ ($R^2=0.9923$). The precision and accuracy of the electrodes can be further improved with the use of more advanced screening techniques.

Keywords: electrode, screen printing, fructose, amperometry

¹Department of General Education, Faculty of Liberal Arts, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Songkhla.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ทฤษฎี สมมุติฐาน.....	2
1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	12
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	12
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	13
2.1 การพัฒนาอิเล็กทรอนิกส์ด้วยเทคนิคพิมพ์สกรีน.....	13
2.2 การปรับแต่งพื้นผิวทำงานของอิเล็กทรอนิกส์ด้วยอนุภาคนาโนกราฟิต์ด้วยวิธีดูดซับ.....	14
2.3 การพัฒนาเซนเซอร์ตรวจวัดฟลูกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์.....	14
2.4 การประยุกต์ใช้เซนเซอร์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง.....	15
บทที่ 3 ผลการวิจัยและวิเคราะห์ผล.....	17
3.1 ผลการพัฒนาอิเล็กทรอนิกส์ด้วยเทคนิคพิมพ์สกรีน.....	17
3.2 ผลการปรับแต่งพื้นผิวทำงานของอิเล็กทรอนิกส์ด้วยอนุภาคนาโนกราฟิต์ด้วยวิธีดูดซับ.....	23
3.3 ผลการพัฒนาเซนเซอร์ตรวจวัดฟลูกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์.....	24
3.4 ผลการพัฒนาเซนเซอร์ตรวจวัดฟลูกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์.....	24
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	33
บรรณานุกรม	
ภาคผนวก ก-จ	

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 : ค่า ΔE_p $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ ของ ตัวอย่าง DS110-1 DS110-2 และ DS110-3	19
ตารางที่ 3.2 : ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ΔE_p $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ อิเล็กโทรดคาร์บอนทางการค้า DropSens 110 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 0.5 mM.....	19
ตารางที่ 3.3 : ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ΔE_p $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ อิเล็กโทรดคาร์บอนทางการค้า DropSens 110 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 8 mM	19
ตารางที่ 3.4 : ค่า ΔE_p $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ ของอิเล็กโทรดพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้น.....	21
ตารางที่ 3.5 : ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ΔE_p $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ อิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น	22
ตารางที่ 3.6 : กระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของความต่างศักย์ต่างๆ ในการตรวจวัดปริมาณฟรุกโทส	24
ตารางที่ 3.7 : กระแสไฟฟ้าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นฟรุกโทสต่าง ๆ	26
ตารางที่ 3.8 : สมการความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้น และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในช่วงต่าง ๆ	27
ตารางที่ 3.9 : ผลการตรวจสอบน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในน้ำฝิ่งชั้นโรงและน้ำล้นจี	28
ตารางที่ 3.10 : ปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และวิตามินซี ในตัวอย่างน้ำฝิ่งชั้นโรงและน้ำล้นจี ในหน่วย mM.....	29
ตารางที่ 3.11 : ความเข้มข้นของปริมาณฟรุกโทสที่วัดด้วยไบโอเซนเซอร์.....	30
ตารางที่ 3.12 : สัดส่วนและเปอร์เซ็นต์ของสารบกวอนที่มีอยู่ในน้ำตาลในน้ำฝิ่งชั้นโรงและน้ำล้นจี.....	30
ตารางที่ 3.13 : ผลการวัดความเข้มข้นของฟรุกโทส มาตรฐาน 0.5 mM เมื่อมีสารบกวอนในระดับต่างๆ.....	31

สารบัญญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1.1 : แสดงสูตรโครงสร้างของฟรุกโทส.....	3
ภาพที่ 1.2 : แสดงการทำงานและส่วนประกอบของไบโอเซนเซอร์.....	4
ภาพที่ 1.3 : แสดงอิเล็กโทรดพิมพ์สกรีนแบบแอมเพอร์โรเมตริก	5
ภาพที่ 1.4 : ค่าความต่างศักย์ที่จ่ายให้ขั้วไฟฟ้าที่เวลาใดๆ	6
ภาพที่ 1.5 : แสดง voltammogram ของปฏิกิริยา	7
ภาพที่ 3.1 : แสดงอิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนทางการค้าของ Methrom DS 110.....	17
ภาพที่ 3.2 : แสดงการติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการวัดค่า CV.....	17
ภาพที่ 3.3 : กราฟ CV ของ ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และ ตัวอย่างที่ 3 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 0.5 mM.....	18
ภาพที่ 3.4 : แสดงกราฟ CV ของ ตัวอย่างที่ 4 ตัวอย่างที่ 5 และ ตัวอย่างที่ 6 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 8 mM.....	18
ภาพที่ 3.2 : แสดงการติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการวัดค่า CV.....	17
ภาพที่ 3.3 : กราฟ CV ของ ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และ ตัวอย่างที่ 3 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 0.5 mM.....	18
ภาพที่ 3.4 : แสดงกราฟ CV ของ ตัวอย่างที่ 4 ตัวอย่างที่ 5 และ ตัวอย่างที่ 6 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 8 mM.....	18
ภาพที่ 3.5 : รูปแบบของอิเล็กโทรดแบบพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้น.....	20
ภาพที่ 3.6 : อิเล็กโทรดคาร์บอนแบบพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้น.....	20
ภาพที่ 3.7 : กราฟ CV ของอิเล็กโทรดพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้น.....	21
ภาพที่ 3.8 : กราฟ CV ขณะทำการฝังตัวของอนุภาคนาโนกราฟไฟต์บนขั้วทำงานของอิเล็กโทรด.....	23
ภาพที่ 3.9 : กราฟ CV ของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นภายหลังการปรับแต่งผิวด้วยอนุภาคนาโนกราฟไฟต์.....	23
ภาพที่ 3.10 : กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับเวลา ของความต่างศักย์ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 V เทคนิคโครโนแอมเพอร์โรเมตริก.....	24

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 3.11 : กระแสไฟฟ้าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากเทคนิคโคโนแอมเพอโรเมตริก.....25

ภาพที่ 3.12 : กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้น 0-1.4 mM.....26

ภาพที่ 3.13 : กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้น 0-0.8 mM.....27



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันปัญหาสุขภาพของประชาชนจากภาวะโภชนาการเกินและโรคไม่ติดต่อ โดยเฉพาะโรคอ้วน โรคเบาหวาน และความดันโลหิตสูง เป็นปัญหาระดับประเทศและระดับโลก กระทรวงสาธารณสุขจึงได้มีนโยบายลดการบริโภคอาหารที่มีรสหวาน มัน เค็ม เพื่อช่วยป้องกันปัญหาภาวะโภชนาการเกินและโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง โดยให้แสดงค่าพลังงาน ไขมัน น้ำตาล และโซเดียมแบบจีดีเอ (Guideline Daily Amounts, GDAs) ต่อหนึ่งหน่วยบรรจุภัณฑ์ ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เรื่อง คำชี้แจงประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 394 (พ.ศ. 2561) เพื่อให้ผู้บริโภคสามารถใช้เป็นข้อมูลในการตัดสินใจเลือกซื้อและบริโภคอาหารได้อย่างเหมาะสม เนื่องจากน้ำตาลเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย ความต้องการน้ำตาลในแต่ละบุคคลขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง อย. จึงไม่ได้กำหนดปริมาณน้ำตาลในอาหารที่มีจำหน่าย แต่คำแนะนำจากองค์การอนามัยโลก (WHO) ให้บริโภคน้ำตาลทรายในแต่ละวัน ไม่เกิน 10 % ของพลังงานทั้งหมดที่ร่างกายต้องการ คิดเป็นวันละ 24 กรัม หรือ 6 ช้อนชา (<https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/sugar-guideline/en/>)

น้ำตาลเป็นส่วนสำคัญ ที่ให้พลังงานต่อร่างกาย น้ำตาลคือคาร์โบไฮเดรต ที่ประกอบไปด้วยหน่วยเล็กสุด ที่เรียกว่าน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 3 ชนิด คือ กลูโคส (glucose) ฟรุกโทส (fructose) และกาแลกโทส (galactose) น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวรวมกันจะเกิดเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ คือ น้ำตาลซูโครส (sucrose) น้ำตาลมอลโทส (maltose) น้ำตาลแล็กโทส (lactose) น้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเป็นส่วนใหญ่ คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโทส และน้ำตาลซูโครส น้ำตาลทรายเป็นน้ำตาลซูโครส ที่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโทส น้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลที่มีประโยชน์ที่สุด เนื่องจากร่างกายจะนำไปใช้เป็นพลังงานได้เลย โดยเป็นแหล่งพลังงานหล่อเลี้ยงเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์สมอง ส่วนฟรุกโทสเป็นน้ำตาลที่ให้ความหวานสูง เป็นน้ำตาลที่พบส่วนใหญ่ในผลไม้และมีมากในน้ำผึ้งและไซรัปที่ใช้ปรุงแต่งเครื่องดื่ม อาหารที่มีปริมาณฟรุกโทสสูงจะเป็นอันตรายต่อสุขภาพเนื่องจากฟรุกโทสไม่ได้สร้างพลังงานให้กับร่างกายได้ทันที เหมือนกับกลูโคส แต่ต้องผ่านกระบวนการที่จะทำให้เกิดผลเสียต่าง ๆ ต่อร่างกาย ซึ่งสามารถทำให้เกิดความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือดสูง โรคเบาหวาน โรคเกาต์ โรคอ้วน และโรคทางหัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น (นนท์ทิพ ลี้มเพียรชอบ, 2558) ; Pereira, 2018, ;Johnson 2010) ดังนั้น การทราบสัดส่วนของปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดที่มีอยู่ในอาหารต่างๆ จะเป็นผลดีต่อสุขภาพทั้งในแง่ของการระวังและการรักษาสุขภาพ

จากการตรวจสอบเอกสารพบว่า การตรวจสอบปริมาณฟรุกโทสสามารถทำได้ด้วยวิธี colorimetric, gas chromatography, liquid chromatography, Fourier transform infrared spectroscopy และเทคนิคไฟฟ้า

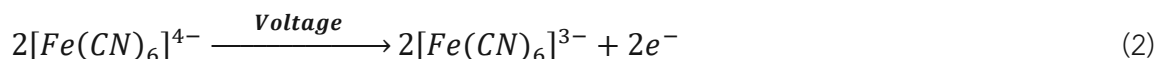
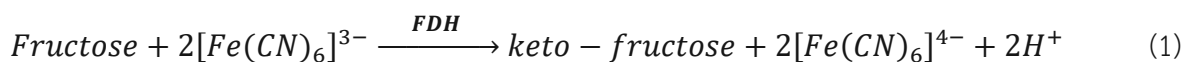
เคมี (electrochemistry) เทคนิคที่มีความแม่นยำที่สุดสำหรับการตรวจสอบฟรุกโทส คือเทคนิค liquid chromatography โดยการใช้เครื่อง HPLC (High performance liquid chromatography) (Han, 2010; วารุณีย์ ภู่อัจพงษ์, 2445; เอกพจน์ สีนงาม, 2012; ธณิกานต์ ธรสินธุ์, 2018) อย่างไรก็ตาม เทคนิค HPLC มีข้อด้อยคือ ต้องมีการเตรียมตัวอย่างที่ใช้เวลานาน และยังมีค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากเครื่องวัดมีราคาแพงและต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญในการวัด และยังไม่สามารถทำการวัดนอกห้องปฏิบัติการ ในปัจจุบันมีเครื่องวัดน้ำตาลฟรุกโทสแบบพกพามีจำหน่ายในตลาด เป็นเครื่องวัดที่ใช้เทคนิค การหักเหของแสง เรียกว่า Brix test (Kawahigashi, Kasuga, Okuizumi, & Hiradate, 2013; มนูญญา คำวชิระพิทักษ์, 2559; เอกพจน์ สีนงาม 2012; ธณิกานต์ ธรสินธุ์, 2018) ซึ่งใช้หลักการหักเหของแสงที่แตกต่างกันในสารที่มีความเข้มข้นต่างกัน ตัวเครื่องมือไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อฟรุกโทส จำเป็นจะต้องแยกส่วนประกอบของฟรุกโทสออกมาก่อน การใช้จึงยังมีความยุ่งยากและมีความผิดพลาดในการตรวจสอบได้ง่าย

การตรวจสอบฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์ (Biosensor) จึงได้รับความสนใจในการพัฒนาอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเป็นการวัดที่มีความจำเพาะเจาะจงและความไวสูง ที่ไม่ต้องทำการคัดแยกฟรุกโทสออกมาจากสารอื่น และยังพัฒนาให้เป็นเครื่องมือขนาดเล็กที่ทำจากอิเล็กโทรด (electrode) แบบพกพา ราคาถูก ใช้ได้ง่าย เพื่อการตรวจสอบมาตรฐานผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง ไวน์ เครื่องดื่ม เป็นการเพิ่มมูลค่า ความเชื่อมั่นและการยอมรับในตลาดในประเทศและการส่งออก จะทำให้สินค้าของไทยเป็นที่เชื่อถือ เพื่อก่อให้เกิดการขยายตัวของการส่งออกได้มากยิ่งขึ้น

1.2 ทฤษฎี สมมติฐาน

1.2.1 สมมติฐาน

อิเล็กโทรดที่พัฒนาขึ้นประกอบด้วยขั้ว 3 ขั้ว คือ ขั้วทำงาน (working electrode) ขั้วอ้างอิง (reference electrode) และขั้วไฟฟ้าช่วย (counter electrode) สำหรับการนำอิเล็กโทรดไปใช้เพื่อสร้างเซนเซอร์ตรวจวัดปริมาณฟรุกโทสนั้นจะทำการตรึงเอนไซม์ฟรุกโทสดีไฮโดรจีเนส (fructose dehydrogenase: FDH) และตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนเฟอร์ริไซยาไนด์ (ferricyanide $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$) บนผิวของอิเล็กโทรด โดยใช้วิธีการตรึงแบบยึดเกาะ (absorption) เมื่อฟรุกโทสทำปฏิกิริยาโดยมี FDH จะเป็นตัวเร่งจะได้ผลิตภัณฑ์ตามสมการที่ 1 และเมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าที่อิเล็กโทรด จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ตามสมการที่ 2 ที่สามารถวัดกระแสไฟฟ้า โดยกระแสไฟฟ้าที่วัดได้จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟรุกโทส

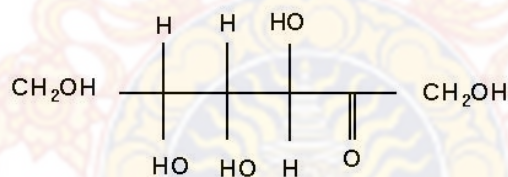


ทั้งนี้อิเล็กโทรดจะมีการปรับแต่งพื้นผิวด้วยอนุภาคนาโนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเซนเซอร์

1.2.2 ทฤษฎี

1) ฟรุคโทส (fructose)

ฟรุคโทส มาจากคำทับศัพท์ภาษาอังกฤษ fructose อาจมีชื่อเป็นอย่างอื่นในภาษาอังกฤษ เช่น D-fructose ซึ่งเป็นฟรุคโทสที่มีอยู่ในอาหาร ฟรุคโทสเป็นน้ำตาล โมเลกุลเดี่ยว เป็นหนึ่งในสามของน้ำตาลในเลือดที่มีความสำคัญมากที่สุด อีกสองชนิดที่เหลือคือกลูโคสและกาแล็กโทส ฟรุคโทสมีมากในน้ำผึ้งและผลไม้ต่าง ๆ ซึ่งโดยปกติจะอยู่ร่วมกับซูโครสและกลูโคส นอกจากนั้น ฟรุคโทสยังได้มาจากการย่อยสลายซูโครส ซึ่งเป็นน้ำตาล โมเลกุลคู่ที่ประกอบด้วยกลูโคสและฟรุคโทส การย่อยสลายจะเร่งโดยเอนไซม์ในระหว่างการย่อยอาหาร บางครั้ง ฟรุคโทสถูกแนะนำให้ป็นน้ำตาลสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน (diabetes mellitus) ซึ่งมีภาวะเลือดมีน้ำตาลน้อย (hypoglycemia) เพราะมันมีค่า GI (Glycemic Index) ต่ำ เมื่อเทียบกับน้ำตาลจากอ้อย (ซูโครส) แต่อย่างไรก็ตาม ข้อดีของมันก็เกิดขึ้นเพียงชั่วคราวเท่านั้น เพราะว่าฟรุคโทสมีผลข้างเคียงต่อไขมัน (lipid) ในพลาสมา (plasma lipids) ฟรุคโทสมีสูตรเอมไพริคัลเดียวกับ กลูโคส ($C_6H_{12}O_6$) แต่จะมีสูตรโครงสร้างที่ต่างกัน ภาพที่ 1.1 แสดงสูตรโครงสร้างของฟรุคโทส

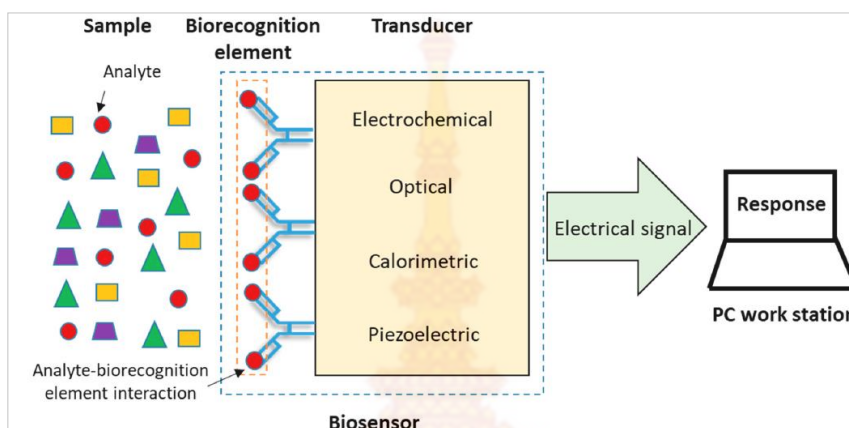


ภาพที่ 1.1 แสดงสูตรโครงสร้างของฟรุคโทส

2) ไบโอสเซนเซอร์ (biosensor)

ไบโอสเซนเซอร์เป็นระบบการวัดปริมาณสารแบบหนึ่งที่สำคัญหลักการทางชีวเคมี โดยการนำ สารชีวภาพ (biological element) ที่มีความจำเพาะเจาะจงกับสารตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ (target analyte) มาตรึงกับตัวตรวจวัดหรือทรานสดิวเซอร์ (transducer) ที่เหมาะสมกับชนิดและรูปแบบของสัญญาณที่เกิดจากผลของปฏิกิริยา ลักษณะของสัญญาณจากปฏิกิริยาอาจเป็น โพรตอน อิเล็กตรอน ไอออน แก๊ส ความร้อนหรือแสง ไบโอสเซนเซอร์จึงประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนของสารชีวภาพที่มีความจำเพาะเจาะจง (recognition) และส่วน

ของตัวรับสัญญาณหรือทรานสดิวเซอร์ที่เหมาะสม ภาพที่ 1.2 แสดงส่วนประกอบของไบโอเซนเซอร์ โดยสารชีวภาพจะทำปฏิกิริยา (interact) อย่างมีความเฉพาะเจาะจงกับสารที่ต้องการตรวจวัด



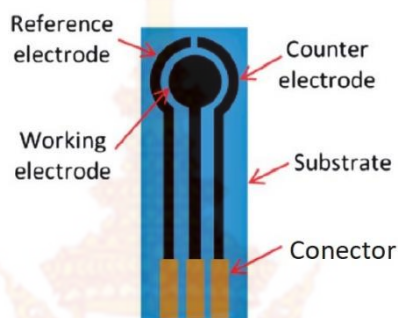
ภาพที่ 1.2 แสดงการทำงานและส่วนประกอบของไบโอเซนเซอร์ (Contreras-Naranjo and Aguilar, 2019)

ส่วนของสารชีวภาพที่นำมาใช้มีหลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ แอนติบอดี (antibody) เซลล์จุลินทรีย์ องค์ประกอบของเนื้อเยื่อ เป็นต้น ซึ่งจะทำให้เกิดสารขึ้นหรือสัญญาณที่เกิดขึ้นแตกต่างกัน ได้แก่ สัญญาณทางไฟฟ้าหรืออิเล็กทรอนิกส์ สัญญาณไอออนหรือแก๊ส สัญญาณความร้อน สัญญาณแสง เป็นต้น ทำให้ต้องเลือกใช้ทรานสดิวเซอร์ที่ต่างกัน เช่น ในกรณีที่เป็นสัญญาณอิเล็กทรอนิกส์จะต้องให้ทรานสดิวเซอร์แบบแอมเพอร์โรเมตริก (amperometric) ในกรณีที่เป็นสัญญาณไอออนหรือแก๊สจะใช้ทรานสดิวเซอร์แบบโพเทนทิโอเมตริก (potentiometric) เป็นต้น ในกรณีของการตรวจวัดฟรุกโทสที่ใช้เอนไซม์ การทำปฏิกิริยากันของฟรุกโทสกับเอนไซม์จะทำให้เกิดอิเล็กตรอนจึงต้องเลือกใช้ทรานสดิวเซอร์แบบแอมเพอร์โรเมตริกที่เป็นขั้วไฟฟ้าเพื่อรับสัญญาณ

3) แอมเพอร์โรเมตริกไบโอเซนเซอร์ (amperometric biosensor)

แอมเพอร์โรเมตริกไบโอเซนเซอร์ เป็นเซนเซอร์ที่มีทรานสดิวเซอร์หรืออิเล็กโทรดที่ศึกษาปฏิกิริยาไฟฟ้าเคมี โดยการให้ความต่างศักย์แล้ววัดกระแสไฟฟ้า อาจประกอบด้วยขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว หรือ 3 ขั้ว (Erlenkotte, 2000) สำหรับอิเล็กโทรด 3 ขั้ว จะประกอบด้วย ขั้วทำงาน ขั้วอ้างอิง และขั้วไฟฟ้าช่วย สามารถตรวจวัดปริมาณของสารที่สนใจ ได้จากการให้ความต่างศักย์ที่ขั้วไฟฟ้าทำงาน เทียบกับขั้วอ้างอิง แล้ววัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาของสารที่สนใจที่ผิวหน้าของขั้วทำงาน ที่ไหลระหว่างขั้วทำงานกับขั้วช่วยด้วย

เครื่องมือวัดทางไฟฟ้าเคมี เรียกว่า โปเทนชิโอสแตท (potentiostat) ทรานสดิวเซอร์แบบแอมเพอร์โรเมตริกมีการพัฒนาให้ทั้งสามขั้วมารวมกันอยู่บนฐานรองขนาดเล็ก ในหลากหลายรูปแบบของการออกแบบ ตัวอย่างแสดงดังภาพที่ 1.3 แต่ละขั้วของทรานสดิวเซอร์ทำด้วยวัสดุที่หลากหลาย ขั้วทำงานจะเป็นขั้วที่สารที่ต้องการวัดเกิดปฏิกิริยา มักทำด้วยโลหะที่มีความเสถียร อย่างเช่น ทองและเงิน แต่วัสดุเหล่านี้มีราคาแพง จึงทำให้เกิดการพัฒนาขั้วไฟฟ้าคาร์บอนที่มีราคาถูกลง และปรับแต่งพื้นผิวขั้วด้วยอนุภาคนาโนชนิดต่างๆ ให้ขั้วไฟฟ้าสามารถทำงานได้ดีขึ้น ฐานรองของขั้วทำงานและขั้วช่วย ส่วนของขั้วอ้างอิง และส่วนเชื่อมต่อระหว่างขั้วต่างๆ กับโปเทนซิโอสแตท มักทำด้วยโลหะ Ag/AgCl



ภาพที่ 1.3 แสดงอิเล็กโทรดพิมพ์สกรีนแบบแอมเพอร์โรเมตริก (Mistry, 2014)

การตรวจวัดแบบแอมเพอร์โรเมตริกสามารถทำได้โดยวิธีไหล (flow injection) หรือวิธีการฝัง (deposition) วิธี flow injection เป็นวิธีการที่ให้สารที่ตรวจวัดไหลอย่างอัตโนมัติอย่างต่อเนื่อง ในระบบของการวัด ข้อดีของวิธีการนี้คือ ใช้สารตัวอย่างและรีเอเจนต์ (reagent) น้อย และนอกจากนี้ยังตอบสนองได้เร็วและมีการทำซ้ำ (reproducibility) ได้ดี แต่อย่างไรก็ตาม การวัดด้วยวิธีนี้จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์เฉพาะ ที่มีราคาสูง ดังนั้นวิธีการ deposition จะเป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก โดยสามารถหยดสารที่ต้องการวัดลงบนผิวของอิเล็กโทรดที่มีความไวของปฏิกิริยาได้เลย (ภัสสรพล, 2543)

4) ความจำเพาะเจาะจงในการวัดฟรุกโทส

การวัดปริมาณฟรุกโทส ทำได้จากการเกิดปฏิกิริยาเคมีแบบออกซิเดชัน (oxidation) (ให้อิเล็กตรอน) ของฟรุกโทสที่เป็นสารที่ตรวจสอบด้วยการเร่งปฏิกิริยา (catalyze) ของเอนไซม์ FDH โดยมี ferricyanide $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{3-}$ เป็นตัวกลางรับอิเล็กตรอน (mediator) (Trivedi, 2009) ปฏิกิริยาจะเป็นตามสมการที่ 1 และ 2 ฟรุกโทสถูกออกซิไดซ์ไปเป็น keto-fructose จากการเร่งปฏิกิริยาของ FDH ที่ผิวของทรานสดิวเซอร์ทำให้เกิดปฏิกิริยารีดักชันของตัวกลาง $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{3-}$ หรือ $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{3-}$ ซึ่งถูกรีดิวซ์ โดยได้รับอิเล็กตรอน กลายเป็น ferrocyanide $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{4-}$ ดังสมการที่ 1 หลังจากนั้น $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{4-}$ จะต้องถูกออกซิไดซ์ ให้สูญเสียอิเล็กตรอนด้วยการให้ศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วทำงานของอิเล็กโทรด ที่สามารถออกซิไดซ์ $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{4-}$ ให้กลายเป็น $[(\text{Fe}(\text{CN})_6)]^{3-}$ อีก

ครั้ง การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนนี้ ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าที่เป็นสัดส่วนกับปริมาณของฟลักโทส ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟลักโทสกับกระแสไฟฟ้าจะขึ้นอยู่กับหลายตัวแปร เช่น ประสิทธิภาพของอิเล็กโทรด การตรึงแอนไอม์ (immobilize)

5) ไชคลิกโวลเทมเมทรี (cyclic voltammetry)

เป็นเทคนิคในการตรวจสอบคุณสมบัติทางไฟฟ้าเคมีของอิเล็กโทรดด้วยโพเทนชิโอสแตท เทคนิค cyclic voltammetry หรือ CV สามารถใช้การเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox) ของสาร มาตรวจวัดการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน (electron transfer process) บนผิวของขั้วไฟฟ้าทำงาน ขั้วไฟฟ้าจะถูกต่อเข้ากับโพเทนชิโอสแตท และจุ่มอิเล็กโทรดวัดลงในสารละลายซึ่งประกอบด้วยสารที่ต้องการวิเคราะห์ตัวทำละลายและสารอิเล็กโทรไลต์ ซึ่งสามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ง่ายและเป็นตัวทำให้สารละลายมีค่านำไฟฟ้าที่ดีขึ้น ศักย์ไฟฟ้าจะจ่ายให้กับขั้วทำงานเทียบกับขั้วอ้างอิงโดยมีการเปลี่ยนแปลงตามเวลาเป็นเส้นตรงด้วยอัตรา (scan rate) ที่เท่ากันและครบรอบ โดยอาจเริ่มต้นที่ศักย์ไฟฟ้าเป็นบวกแล้วเปลี่ยนแปลงศักย์ไฟฟ้าแบบเส้นตรงให้มีค่าลดลงเป็น 0 จนเป็นลบ แล้วเพิ่มศักย์ไฟฟ้าย้อนกลับเป็นเส้นตรงในแนวเดิม ลักษณะของศักย์ไฟฟ้าจะเป็นรูปสามเหลี่ยม ดังภาพที่ 1.4 การเขียนกราฟระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความต่างศักย์เรียกว่า cyclic voltammogram หรือ voltammogram โดย scan rate จะมีผลกับรูปร่างและค่าของ voltammogram



ภาพที่ 1.4 ค่าความต่างศักย์ที่จ่ายให้ขั้วไฟฟ้าที่เวลาใดๆ (ธนศาสตร์, 2548)

พิจารณาลักษณะของ voltammogram ของปฏิกิริยารีดอกซ์ ซึ่งประกอบด้วยปฏิกิริยารีดักชัน ดังสมการที่ (3) และ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังสมการที่ (4) ในการให้ความต่างศักย์ 1 รอบ แสดง ดังภาพที่ 1.5





ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารในปฏิกิริยา ตามสมการของ Nernst ดังสมการที่ (5)

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(\text{Ox})}{(\text{Red})} = E^0 + 2.30226 \frac{RT}{nF} \log_{10} \frac{\text{Ox}}{\text{Red}} \quad (5)$$

เมื่อ E คือ ศักย์ไฟฟ้าของเซลล์ไฟฟ้าเคมี

E^0 คือ ศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของของสารที่เกิดปฏิกิริยาเคมี (species)

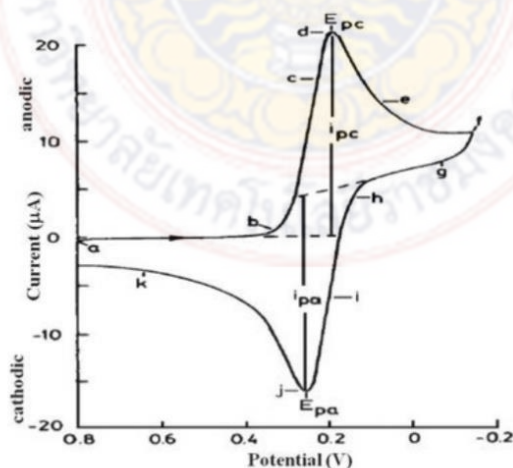
F คือ ค่าคงที่ฟาราเดย์ (Faraday's constant)

R คือ ค่าคงที่ของก๊าซ (universal gas constant)

n คือ จำนวนอิเล็กตรอน

T คือ อุณหภูมิ

ศักย์ไฟฟ้าที่มีค่าน้อยกว่าศักย์ไฟฟ้ามาตรฐานของเซลล์จะถูกเริ่มให้ โดยมีทิศทางไปทางศักย์ไฟฟ้าลบ (Negative Potential) Ox จะถูกรีดิวซ์ เป็น R ที่บริเวณผิวของอิเล็กโทรด ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าเรียกว่า Cathodic current กระแสไฟฟ้านี้จะมีค่าเพิ่มขึ้นจากจุด a และมีค่าสูงสุด ที่จุด d เรียกว่า Cathodic current peak (I_{pc}) โดยศักย์ไฟฟ้าที่ให้จะมีค่าสูงสุด เรียกว่า Cathodic potential peak (E_{pc}) เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าที่เป็นลบมากขึ้นปริมาณของ ตัวถูกรีดิวซ์ O ที่ลดลงทำให้กระแสลดลงจนเป็นศูนย์ จึงเริ่มกลับทิศทางให้ความต่างศักย์ในทางบวก (Positive Potential) R จะถูกออกซิไดซ์ เป็น O ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้าเรียกว่า Anodic current กระแสไฟฟ้านี้จะมีค่าเพิ่มขึ้นจากจุด f และมีค่าสูงสุด ที่จุด j เรียกว่า Anodic current peak (I_{pa}) โดยศักย์ไฟฟ้าที่ให้จะมีค่าสูงสุด เรียกว่า Anodic potential peak (E_{pa}) เมื่อให้ศักย์ไฟฟ้าที่เป็นบวกมากขึ้นปริมาณของตัวถูกออกซิไดซ์ R ที่ลดลงทำให้กระแสลดลงจนเป็นศูนย์



ภาพที่ 1.5 แสดง voltammogram ของปฏิกิริยา (ธนศาสตร์, 2548)

เมื่อพิจารณา กราฟจะพบว่า $(E_{pc} + E_{pa})/2 = E_0$ ค่าศักย์มาตรฐานของเซลล์จะอยู่กึ่งกลางระหว่าง E_{pc} และ E_{pa} ถ้าปฏิกิริยารีดักชันสามารถเกิดขึ้นกลับไปได้ ซึ่งเรียกปฏิกิริยานี้ว่าปฏิกิริยาผันกลับได้ (reversible process) ค่า peak-to-peak separation (ΔE_p) สำหรับปฏิกิริยาที่มีค่า $n=1$ จะมีค่าเท่ากับ 57 mV ที่ 25 °C (Elgrishi, 2017) ดังสมการที่ (6)

$$\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc} = 2.22 \frac{RT}{F} = 57 \text{ mV} \quad (6)$$

กระบวนการแบบผันกลับได้ เป็นกระบวนการที่อิเล็กตรอนที่เคลื่อนที่ระหว่างขั้วไฟฟ้ากับสารที่ตรวจสอบเคลื่อนที่ได้ดี มีการขัดขวาง (barrier) น้อย ศักย์ไฟฟ้าที่ให้กับขั้วไฟฟ้า จะเป็นไปตามสมการของ Nerst การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนเป็นการแพร่ (diffusion) บริเวณผิวของขั้ว ค่าศักย์ไฟฟ้าที่ป้อนจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารที่กำลังเกิดปฏิกิริยา ในทางตรงข้ามเมื่อการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนถูกขัดขวางมาก ปฏิกิริยาจะเป็นแบบผันกลับไม่ได้ (irreversible) ทำให้อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ได้ยากและเคลื่อนที่ช้าจึงต้องให้ศักย์ไฟฟ้ากับขั้วมากขึ้น เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชัน จึงทำให้ ค่า ΔE_p มีค่ามากขึ้น

ความสำคัญของ scan rate

การเพิ่ม scan rate ทำให้ความกว้างของชั้นการแพร่ (diffusion layer) ลดลง กระแสไฟฟ้าเพิ่มขึ้น สำหรับปฏิกิริยาแบบผันกลับได้ ที่การเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนขึ้นอยู่กับกระบวนการแพร่เพียงอย่างเดียว กระแสไฟฟ้าของปฏิกิริยาอธิบายได้ด้วยสมการของ Randles-Sevcik ซึ่งจะเพิ่มขึ้นอย่างเชิงเส้นกับค่ารากที่สองของ scan rate : v ($V s^{-1}$) ดังสมการที่ (7)

$$i_p = 0.446nFAC^0 \left(\frac{nFvD_0}{RT} \right)^{1/2} \quad (7)$$

เมื่อ n คือ จำนวนอิเล็กตรอนที่มีการถ่ายเทในปฏิกิริยารีดอกซ์

A (cm^2) คือ พื้นที่ผิวของขั้ว

D_0 ($cm^2 s^{-1}$) คือ สัมประสิทธิ์การแพร่ของ analyte ที่ถูกออกซิไดซ์

C^0 ($mol cm^{-3}$) คือ bulk concentration of analyte

สมการสามารถบอกถึงสาเหตุของการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนในสารละลาย ในกรณีที่เป็นผลจากการแพร่เพียงอย่างเดียว ถ้าเขียนกราฟระหว่าง i_p กับ $v^{1/2}$ กราฟจะเป็นเส้นตรง

6) การปรับแต่งผิว (modified) ด้วยอนุภาคนาโน

วัสดุนาโน เป็นวัสดุที่มีโครงสร้างด้านใดด้านหนึ่ง น้อยกว่าหรือเท่ากับ 100 นาโนเมตร ซึ่งคุณลักษณะเฉพาะที่สำคัญของวัสดุนาโนที่เปลี่ยนแปลงไปมากเมื่อลดสเกลโครงสร้างจากระดับไมโครสเกลลงสู่นาโนสเกล คือ มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวและปริมาตรสูง โดยสัดส่วนพื้นที่ผิวของอะตอมที่สูงมากดังกล่าวทำให้อนุภาคนาโนมีคุณสมบัติที่แตกต่างไปจากก้อนปริมาตรของวัสดุในขนาดใหญ่ นั่นคือทำให้เพิ่มคุณสมบัติการเร่งปฏิกิริยา ช่วยขยายสัญญาณ และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทอิเล็กตรอนของสารที่ต้องการวิเคราะห์ จากคุณลักษณะเฉพาะที่โดดเด่นดังกล่าว จึงมีการนำอนุภาคนาโนมาปรับแต่งบนขั้วทำงาน เพื่อเพิ่มสมรรถนะของเซนเซอร์ให้มีความจำเพาะ ความไว มีความถูกต้อง และเสถียรภาพที่ดีขึ้น (วรกร ลิมบุตร, 2555) โดยเฉพาะกับขั้วคาร์บอนที่มีความนำไฟฟ้า (conductance) ต่ำ เพื่อลดต้นทุนการผลิตจากการใช้วัสดุทำขั้วที่มีความนำไฟฟ้าสูง แต่ราคาแพงอย่างทองและเงิน

7) การตรึงวัสดุชีวภาพ (immobilize)

สารที่นำมาตรึงลงบนขั้วทำงานของอิเล็กโทรด ได้แก่ สารพวกตัวกลางและเอนไซม์ เพื่อจำกัดตำแหน่งของสารให้อยู่บนพื้นผิว ที่ทำทำสารที่ต้องการตรวจวัดเกิดปฏิกิริยาได้ดี การตรึงเอนไซม์สามารถทำได้โดยการผสมส่วนประกอบต่างๆ แล้วนำไปตรึงด้วยเทคนิคที่เฉพาะ เช่น

- 1) การตรึงโดยการยึดเกาะ (adsorption)
- 2) การตรึงโดยวิธีทำให้เกิดพันธะทางเคมี (chemical bonding)
- 3) การตรึงโดยวิธีโพลีเมอร์ไรเซชัน (polymerization)
- 4) การตรึงโดยวิธีกัก (entrapment)

ส่วนใหญ่แล้ววิธีที่นิยมใช้ในการตรึงสารมักจะอาศัย วิธีการดูดซับ (absorption) เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย โดยสารที่ติงจะถูกดูดซับอยู่บนตัวยึดเกาะด้วยปฏิกิริยาทางกายภาพ ด้วยแรงอ่อน ๆ จึงไม่ส่งผลกระทบต่อการทำงานของอนุภาคที่ตรึง (Winotapun, 2014) อย่างเช่น แรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der Waals forces) แรงโควาเลนต์ (covalent) (Peng, 2015)

Nicholas และคณะ (2018) ทำการปรับแต่งพื้นอิเล็กโทรดคาร์บอนด้วยอนุภาคนาโนกราฟต์ โดยทำให้เกิดการยึดเกาะด้วยการเคลือบอนุภาคนาโนกราฟต์ด้วย carboxylic acid ที่ทำให้เกิดแรงแรงโควาเลนต์ยึดเหนี่ยวบนพื้นผิวคาร์บอน

Biscay และคณะ (2012) พบว่า เอนไซม์ FDH สำหรับการเร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชันของฟรุกโทส สามารถตรึงได้ด้วยวิธีการยึดเกาะ จากการเตรียมสารละลาย FDH ในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (phosphate buffer solution: PBS) 0.1 M หยดลงบน อิเล็กโทรด ferrocyanide/carbon แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง 1 ชั่วโมง

1.2.3 งานวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

Sys และคณะ (2017) สร้างอิเล็กโทรดคาร์บอนพิมสกรีน ด้วยกราไฟต์และแกลลีสคาร์บอน (glassy carbon) บนฐาน ceramic พบว่า การผสม Poly (vinyl chloride) (PVC) 3% กับอนุภาคกราไฟต์ และ glassy carbon ในสารละลาย Cyclohexanone และ paraffin oil (PO) ทำให้อนุภาคยึดติดกับฐานรองได้ดีและมีคุณสมบัติทางไฟฟ้าเคมีที่เหมาะสม การใช้ PVC มากกว่า 3% ให้ค่า ohmic resistance สูงส่งผลเสียต่อคุณสมบัติทางไฟฟ้าทางเคมี และเมื่อ ใช้ PVC น้อยกว่า 3% พบว่าอนุภาคคาร์บอนไม่เกาะที่ผิวของฐานรองรับ นอกจากนี้ยังพบว่าความหนาของชั้นคาร์บอนยังมีผลต่อความไวของปฏิกิริยา ความหนาของชั้นคาร์บอนที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ความต้านทานลดลง ส่งผลให้ความไวของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น พบว่าความหนาที่เกิดจาก ชั้นคาร์บอนพิมสกรีนที่ทำด้วยวิธีโฮมเมด (Homemade) จะมีความหนากว่าชั้นที่ทำจากเครื่องพิมพ์ (printing machine) โดยชั้นคาร์บอนพิมสกรีนที่ทำด้วยวิธีโฮมเมดจะมีความหนาประมาณ 250 μm ส่วนชั้นคาร์บอนพิมสกรีนที่ทำจากเครื่องพิมพ์จะมีความหนาประมาณ 100 μm

Mikysek และคณะ (2012) พบว่า ความต้านทานของชั้นที่เกิดจากการผสมอนุภาคคาร์บอนกับ PVC มีผลกับกระแสไฟฟ้าเคมีที่ตอบสนองบนพื้นผิวของอิเล็กโทรด ด้วยการวัดความต้านทานโอห์มิก (ohmic resistance) และ Cai และคณะ (2009) ยังพบว่าสภาพต้านทาน (resistivity: ρ) ซึ่งวัดจากเทคนิค four-point-probe ของชั้นยังขึ้นอยู่กับความหนาและรูปร่างของชั้น

Wang และคณะ (1997) ศึกษาประสิทธิภาพของหมึกคาร์บอนแบบต่างๆ ด้วยเทคนิค CV จากปฏิกิริยาของ Ferrocyanide พบว่า หมึก grassy carbon ให้ประสิทธิภาพสูงที่สุด ที่ $\Delta E_p = 58 \text{ mV}$

Cinti และคณะ (2015) เปรียบเทียบคุณสมบัติของอิเล็กโทรดคาร์บอนแบบพิมสกรีน ที่มีการปรับแต่ง พื้นผิวของชั้นทำงานด้วยอนุภาคนาโนสามชนิด คือ Cabon Black, Cabon Nanotube และ Graphene โดยใช้หมึกกราไฟต์ (Graphite base ink) เป็น working และ counter electrode หมึกเงิน (Silver ink) เป็น reference electrode บนฐานรอง polyester โดยพื้นที่ของ working electrode มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 mm เตรียมสารละลายอนุภาคนาโนคาร์บอนเพื่อฝังลงบนพื้นผิวด้วยการหยด จากการใช้ผงนาโนคาร์บอน 10 g ผสมกับสารละลาย N,N-Dimethylformamide (DMF) กับน้ำ (1:1 V:V) หลังการปรับแต่งพื้นผิว ชั้นไฟฟ้าถูกตรวจสอบคุณสมบัติทางไฟฟ้าเคมีด้วยเทคนิค CV โดยการใช้ Ferro/ferricyanide $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}/^{3-}$ เป็นสาร (analyte) ในปฏิกิริยารีดอกซ์ ที่มีความเข้มข้น 2 mM ในสารอิเล็กโทรไลต์ Potassium chloride (KCl) 100 mM พบว่า ค่า ΔE_p ของชั้นไฟฟ้าที่มีการปรับปรุงด้วยอนุภาคนาโนทั้งสามชนิด มีค่า 80, 100, 130 และ 120 mV ซึ่งมีค่ามากกว่าชั้นไฟฟ้าที่ยังไม่มีการปรับแต่งพื้นผิวที่มีค่า 430 mV ที่ scan rate 0.05 V/s และพบว่า ค่า ΔE_p ของชั้นที่ปรับแต่งด้วย carbon black (CBN220) บนหมึกกราไฟต์ของงานวิจัยนี้ มีค่าน้อยกว่างานของ Vicentini และคณะ 2014) ซึ่งทำการปรับแต่งพื้นผิวของชั้นแกลลีสคาร์บอน (glassy carbon) แบบพิมสกรีน ด้วย carbon black ที่ต่างกัน สามแบบ (VXC72R, BP4750, E2000)

Biscay และคณะ (2012) พบว่าเอนไซม์ FDH ให้ค่าการวัดที่ดีที่ pH 4.5 (0.1 M phosphate buffer solution (PBS)) พัฒนาเซนเซอร์แอมเพโรเมตริกตรวจสอบปริมาณฟรุกโทสจากข้าวคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่ปรับแต่งพื้นผิวด้วยเฟอร์โรไซยาไนด์ (Ferrocyanide modified screen-printed carbon electrode) ที่มีอยู่ในตลาด แผ่นพิมพ์สกรีนมีฐาน (substrate) เป็นเซรามิก (ceramic) ขนาด $33 \times 10 \times 0.5$ mm มีการทำเชื่อมต่อและขั้วอ้างอิงด้วยโลหะเงิน (Silver) ขั้วทำงานเป็น เฟอร์โรไซยาไนด์/คาร์บอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 4 mm (diameter) และขั้วช่วย และขั้วทำงานเป็นคาร์บอน และปรับปรุงผิวคาร์บอนบนขั้วทำงานด้วยตัวส่งผ่านอิเล็กตรอน เฟอร์โรไซยาไนด์ ขั้วไฟฟ้าถูกทดสอบ ด้วย Buffer PBS (0.1 M pH 4.5) ได้ความเข้มของกระแสไฟฟ้า $1.8 \mu\text{A}$ เมื่อป้อนศักย์ไฟฟ้า $+0.25$ V หลังจากนั้น ตรึงเอนไซม์ FDH โดยหยด FDH (0.125 U/ μL) $10 \mu\text{L}$ ให้การดูดซับ (adsorption) บนผิวหน้าของขั้วทำงาน ปล่อยให้ไวให้แห้ง (ประมาณ 1 ชม.) ที่อุณหภูมิห้อง นำมาวิเคราะห์ปริมาณฟรุกโทส โดยหยดฟรุกโทส $40 \mu\text{L}$ แล้วทำการบันทึก chronoamperogram โดยการให้ศักย์ไฟฟ้า 0.25 V เป็นเวลา 100 s หลังจากนั้นพบว่า เซนเซอร์มีความไว (sensitivity) กับฟรุกโทสอยู่ในระดับดี ($1.25 \mu\text{A}/\text{mM}$) ด้วยความชันของการเปลี่ยนแปลง ($\pm 0.02 \mu\text{A}/\text{mM}$) และช่วงความเป็นเส้นตรง อยู่ระหว่าง (0.1 and 1 mM) ของฟรุกโทส และมีความจำกัดในการวัด (limit of detection) ที่ 0.05 mM เซนเซอร์สามารถทำซ้ำได้ (good reproducibility) และมีความเสถียรสูง (high stability) สามารถวัดปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริง เช่น น้ำผึ้ง น้ำอัดลม Cola น้ำผลไม้ (orange, tomato, apple and pineapple) ไวน์แดง (red wine) องุ่นแดงและองุ่นขาว (red and white grapes) musts and liquor of peach ด้วยความแม่นยำสูง

Nicholas และคณะ (2018) พัฒนาขั้ววัดราคาถูกสำหรับวัดปริมาณฟรุกโทส ด้วยการปรับแต่งพื้นผิว Ferrocyanide /คาร์บอน พิมพ์สกรีนด้วยอนุภาคนาโนกราไฟต์ โดยเตรียมความเข้มข้นของอนุภาคนาโนกราไฟต์ 1.787 mg/mL จากการปรับพื้นผิวของผงกราไฟต์ ด้วย carboxylic acid และหยดสารละลายอนุภาคนาโนกราไฟต์ลงบนขั้ว พบว่าอนุภาคนาโนกราไฟต์ สามารถยึดติดกับผิวของฐานรองรับ Volox ซึ่งเป็น semi-crystalline ที่ทำจากสารพอลิเมอร์ ด้วยคุณสมบัติ ความเป็น Hydrophilic ของอนุภาคคาร์บอนกับฐานรองรับ เมื่อนำขั้ววัดมาตรวจสอบด้วยเทคนิค CV พบว่าขั้ววัดมีความไวต่อปฏิกิริยาและมีความแม่นยำ การศึกษาสอบเทียบ (Calibration studies) ด้วยเทคนิค chronoamperometry สามารถทำได้โดยใช้ ปริมาณฟรุกโทส (fructose) ตัวส่งผ่านอิเล็กตรอน และ เอนไซม์ FHD รวมกันเพียง $40 \mu\text{L}$ ฝังลงบนผิวของคาร์บอนพิมพ์สกรีน การตอบสนองมีความเป็นเชิงเส้นในช่วง 0.1 mM ถึง 1.0 mM. ทำการตรวจสอบน้ำผลไม้ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ให้ผลการวัด 477 mM มีความแม่นยำอยู่ที่ 3% ($n=5$)

1.3. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 4.1 เพื่อพัฒนาอิเล็กทรอนิกส์โดยใช้เทคนิคพิมพ์สกรีน
- 4.2 ทดสอบประสิทธิภาพของอิเล็กทรอนิกส์ในการวัดด้วยเทคนิคเอมเพอโรเมทริกไบโอเซนเซอร์
- 4.3 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและประสิทธิภาพการวิเคราะห์ฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์
- 4.4 เพื่อการประยุกต์ใช้เซนเซอร์ในการวิเคราะห์ปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 3.1 สามารถนำระบบเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นไปใช้วัดปริมาณฟรุกโทส ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่ม เพื่อให้ข้อมูลต่อผู้บริโภค ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่า ความเชื่อมั่นและการยอมรับในตลาดในประเทศและการส่งออก
- 3.2 พัฒนาอิเล็กทรอนิกส์และเซนเซอร์เป็นเครื่องวัดต้นแบบสำหรับในเชิงพาณิชย์
- 3.3 เผยแพร่งานวิจัยในวารสารวิชาการ ในระบบ TCI scopus หรือ ISI



บทที่ 2

วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การพัฒนาอิเล็กโทรดด้วยเทคนิคพิมพ์สกรีน

2.1.1 สร้างอิเล็กโทรด

1) ตรวจสอบรูปร่างและลักษณะอิเล็กโทรดแบบแอมเพอโรเมตริก 3 ขั้ว ทางการค้า ยี่ห้อ Methrom รุ่น DropSens 110

2) ออกแบบอิเล็กโทรดให้มีขนาดและลักษณะใกล้เคียงกับอิเล็กโทรดทางการค้า

3) สร้างอิเล็กโทรดด้วยเทคนิคพิมพ์สกรีน

- ตัดแผ่นมาส (mask) ตามแบบ โดยใช้แผ่นสติ๊กเกอร์แบบลอกออกได้ ติดลงบนแผ่น polyester ที่มีความหนา 0.3 mm แล้วตัดออกมาให้มีขนาดใหญ่กว่าแบบเล็กน้อย ตีงส่วนที่ต้องเติมหมึก (ซึ่งจะเป็นส่วนสีดำทั้งหมด) ออก

- สกรีนหมึกขั้วอ้างอิง โดยใช้หมึก Ag/AgCl ด้วยพู่กัน ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วสกรีนหมึกขั้วทำงานและขั้วอ้างอิง โดยใช้หมึก Carbon ด้วยพู่กัน นำเข้าตู้อบ อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 30 นาที เอาออกมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ปิดส่วนเชื่อมต่อกับขั้วช่วย ขั้วทำงานและขั้วอ้างอิงด้วยสก็อตเทป แล้วล้างขั้วไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบ

2.1.2 ตรวจสอบประสิทธิภาพของอิเล็กโทรด

1) เตรียมสารละลาย ferricyanide ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$) ความเข้มข้น 0.5 mM และ 0.8 mM ใน 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 (0.1 M Potassium chloride (KCl))

2) วัด CV ของอิเล็กโทรดทางการค้าและอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น ด้วยเครื่องเครื่อง Potentionstat ยี่ห้อ Metrohm รุ่น 910 PSTAT mini ตั้งค่าการวัด ให้ความต่างศักย์ประมาณ +0.8 V เป็นเวลา 20 s เพื่อเตรียมพื้นผิวของขั้วให้พร้อมทำงาน และให้ความต่างศักย์จาก + 0.8 V ถึง - 0.3 V ที่ scan rate 10 mV.s⁻¹

2.1.3 การตรวจสอบจุลโครงสร้างของอิเล็กโทรด

นำอิเล็กโทรดไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron Microscopy: SEM) และกล้องจุลทรรศน์แรงอะตอม (Atomic Force Microscope: AFM)

2.2 การปรับแต่งพื้นผิวทำงานของอิเล็กโทรดด้วยอนุภาคนาโนกราฟิต์ด้วยวิธีชุบ

2.2.1 เตรียมสารละลายอนุภาคนาโนกราฟิต์ ความเข้มข้น 0.5 mg/mL ในกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) 50 mM (ใน 0.5 M sulphuric acid) แล้วนำสารละลายนาโนกราฟิต์ 10 μL มา หยดลงบน ขั้วทำงานของอิเล็กโทรด ใช้เทคนิคการฝังตัวด้วยไฟฟ้า (electrodeposition) ด้วยการให้ความต่างศักย์จาก + 0.8 V ถึง - 0.3 V ที่ scan rate 10 $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ แล้วทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมง

2.2.2 ตรวจสอบประสิทธิภาพของขั้วด้วยเทคนิค CV เช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.3 การพัฒนาเซนเซอร์ตรวจวัดฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์

2.3.1 เตรียมสารละลาย

1) เตรียมเอนไซม์ฟรุกโทสดีไฮโดรจีเนส (FDH) ใน Mcllvaine buffer ให้มีความเข้มข้น 50 U/mL ใน Mcllvaine buffer pH 4.5 (เตรียมจาก การผสม 0.2 M citric acid (0.2 M KCl) กับ 0.4 M disodium phosphate) เก็บไว้ในช่องแช่แข็งของตู้เย็น อุณหภูมิ -20°C

2) เตรียมสารละลาย ferricyanide ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$) ความเข้มข้น 12 mM ใน 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 (0.1 M Potassium chloride (KCl))

3) เตรียมสารละลายมาตรฐานฟรุกโทส 8 ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 และ 1.4 mM ในน้ำกลั่น

2.3.2 ฝัง FDH และ ferricyanide และตรวจวัด

1) นำ FHD ความเข้มข้น $50 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ ออกมาจากช่องแช่แข็ง ทิ้งให้ละลายในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ -4°C แล้วนำ FDH 20 μL มาหยดลงบนขั้วทำงานของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น ในกระบวนการข้อ 2.1

2) หยด ferricyanide ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$) ความเข้มข้น 12 mM 10 μL ลงบนขั้วทำงานของอิเล็กโทรด

3) หยดสารละลายมาตรฐานฟรุกโทส 60 μL ลงบนอิเล็กโทรด ทิ้งไว้ 2 นาที

4) ตรวจวัดด้วยเทคนิค โครโนแอมเพอโรเมตริก (chronoamperometric) ด้วยเครื่อง Potentionstat ยี่ห้อ Metrohm รุ่น 910 PSTAT mini โดยให้ความต่างศักย์คงที่ แล้ววัดกระแสไฟฟ้าที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาในช่วงเวลา 0-100 วินาที

2.3.3 ตรวจหาค่าศักย์ไฟฟ้าที่เหมาะสมในการตรวจวัดฟรุกโทส

1) ทำการฝัง FDH และ ferricyanide ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{-3}$) ตามวิธีการในข้อ 2.3.2 1) - 2)

2) ใช้สารละลายมาตรฐานฟรุกโทส ความเข้มข้น 1 mM จากกระบวนการในข้อ 2.3.1 3) มาเป็นตัวทดสอบ ตามวิธีการในข้อ 3.3.2 4) โดยใช้ความต่างศักย์ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 V ทำการทดลองความต่างศักย์ละ 3 ครั้ง โดยใช้อิเล็กโทรด 3 อัน ที่แตกต่างกัน

2.3.4 ทากราฟมาตรฐาน (calibration curve)

1) ทำการตรวจวัดปริมาณฟรุกโทส ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 และ 1.4 mM ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตริก โดยใช้ความต่างศักย์คงที่ ที่เหมาะสม จากการวิเคราะห์ข้อ 2.3.3 โดยทำการฝัง FDH และ ferricyanide ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$) และตรวจวัดตามวิธีการในข้อ 3.3.2

2) นำค่ากระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นมาเขียนกราฟ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน จากกราฟในช่วงที่เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient: R) ใกล้ 1.00

3) พิจารณาความไว (sensitivity) ของเซนเซอร์จากค่าความชันของกราฟเส้นตรง

4) พิจารณาขีดต่ำสุดของการตรวจพบ (limit of detection): ความเข้มข้นต่ำสุดหรือน้อยที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวัดได้ โดยพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสามเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน

$$\text{LOD} = 3S_a / b$$

เมื่อ S_a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

5) ขีดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of quantification): เป็นระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่สามารถหาปริมาณได้ โดยพิจารณาได้จากอัตราส่วนระหว่างสิบเท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y ต่อความชันของกราฟมาตรฐาน

$$\text{LOQ} = 10S_a / b$$

เมื่อ S_a คือ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานบนจุดตัดแกน y

b คือ ความชันของกราฟมาตรฐาน

2.4 การประยุกต์ใช้เซนเซอร์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

2.4.1 ตรวจสอบปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริง ได้แก่ น้ำผึ้งชันโรงและน้ำผลไม้ ด้วยเทคนิค HPLC และทำการตรวจสอบสารรบกวนการวัดฟรุกโทส ได้แก่ น้ำตาลชนิดอื่นๆ และวิตามินซี ด้วยเทคนิคเฉพาะอื่น ๆ

2.4.2 นำตัวอย่างจริง มาเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในการวัดปริมาณฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์ แล้ววิเคราะห์ผลการวัด

2.4.3 ศึกษาการรบกวน (interference study) ของสารอื่นต่อผลการวิเคราะห์

2.4.4 พิจารณาประสิทธิภาพของเซนเซอร์ตรวจวัดฟรุกโทสที่สร้างขึ้น จากค่าความแม่นยำ (accuracy) ในการวัด โดยการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าวัดที่ได้จากเทคนิคไบโอเซนเซอร์กับเทคนิค HPLC และ พิจารณาค่าความเที่ยง (precision) หรือ ความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) โดยใช้ ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; RSD)



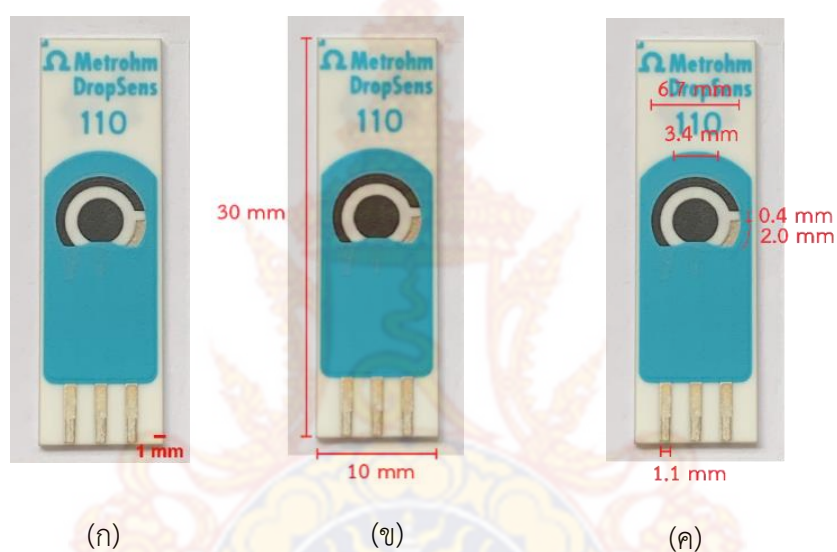
บทที่ 3

ผลการวิจัยและวิเคราะห์ผล

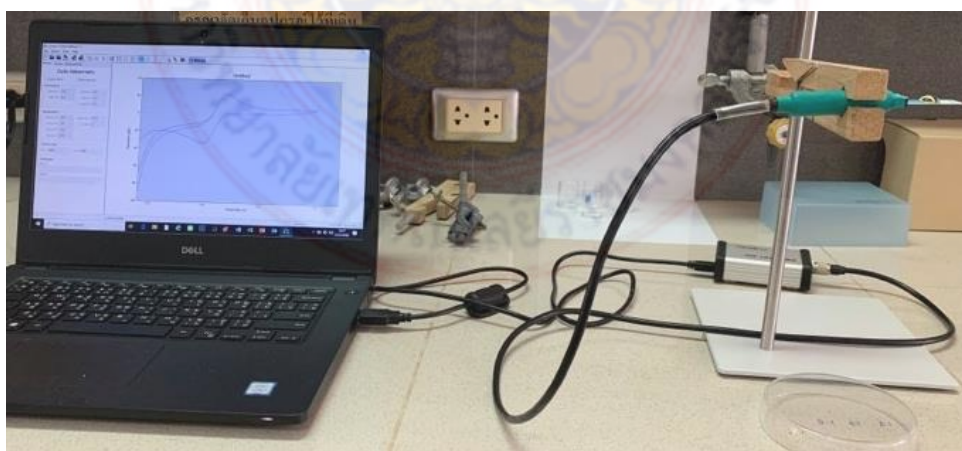
3.1 ผลการพัฒนาอิเล็กโทรดด้วยเทคนิคพิมพ์สกรีน

3.1.1 อิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนทางการค้า

ศึกษาอิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนทางการค้า ของ Metrohm DropSens 110 พื้นที่ทำงาน 4 mm ลักษณะภายนอกของอิเล็กโทรดแสดงดังภาพที่ 3.1 (ก) ขนาดของส่วนต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 3.1 (ข) และ (ค)

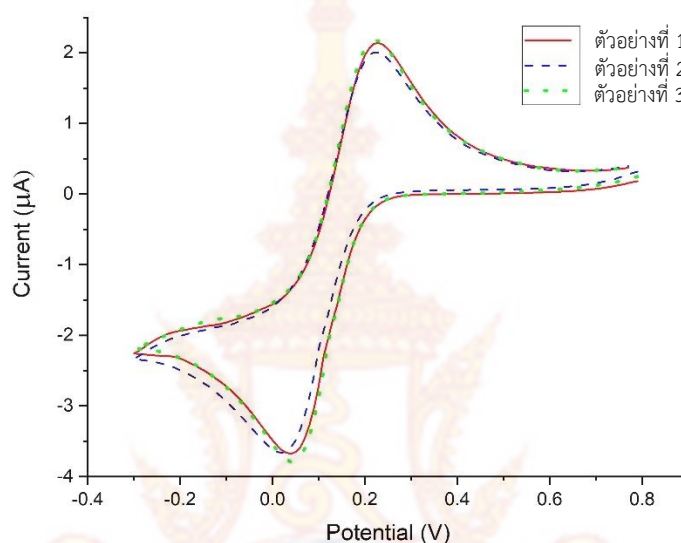


ภาพที่ 3.1 แสดงอิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนทางการค้าของ Metrohm DS 110

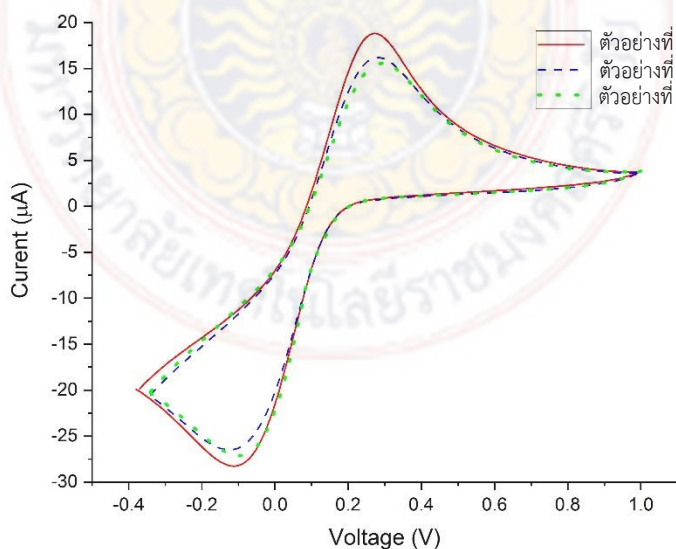


ภาพที่ 3.2 แสดงการติดตั้งอุปกรณ์สำหรับการวัดค่า CV

ศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานทางเคมีไฟฟ้าของอิเล็กโทรด DropSens 110 ด้วยการวัด CV ของปฏิกิริยารีดอกซ์ ของ ferri/ferrocyanide ด้วยเครื่องวัด Potentionstat ของบริษัท Metrohm รุ่น 910 PSTAT mini โดยใช้สายวัดแบบสวม (ภาคผนวก ก) การติดตั้งอุปกรณ์แสดงดังภาพที่ 3.2 โดยใช้สารละลาย ferricyanide ความเข้มข้นต่ำ 0.5 mM และความเข้มข้นสูง 8 mM ความเข้มข้นละ 3 ตัวอย่าง กำหนดชื่อตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 0.5 mM เป็น ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และ ตัวอย่างที่ 3 ตัวอย่างที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 8 mM เป็น ตัวอย่างที่ 4 ตัวอย่างที่ 5 และ ตัวอย่างที่ 6 ได้กราฟดังภาพที่ 3.3 และ 3.4



ภาพที่ 3.3 กราฟ CV ของ ตัวอย่างที่ 1 ตัวอย่างที่ 2 และ ตัวอย่างที่ 3 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 0.5 mM



ภาพที่ 3.4 แสดงกราฟ CV ของ ตัวอย่างที่ 4 ตัวอย่างที่ 5 และ ตัวอย่างที่ 6 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 8 mM

พิจารณาค่า ΔE_p , I_{pa} และ I_{pc} ของตัวอย่าง ทั้ง 6 ซึ่งค่า peak-to-peak separation (ΔE_p) แสดงถึงพลังงานจลน์ของการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน (electron transfer kinetics) ซึ่งจะมีผลต่อความว่องไวของปฏิกิริยาหรือความรวดเร็วในการตรวจวัด และค่ากระแสไฟฟ้าสูงสุดแอโนดิก ($I_{p,a}$) และคาโทดิก ($I_{p,c}$) แสดงถึงปริมาณของอิเล็กตรอนที่เคลื่อนที่ได้บนพื้นผิวของอิเล็กโทรด ซึ่งจะมีผลต่อความสามารถในการตรวจสอบสารในปริมาณน้อยๆ สำหรับผลการวัดของตัวอย่างที่ 1 ถึง ตัวอย่างที่ 6 แสดงในตารางที่ 3.1 เมื่อนำค่า ΔE_p , I_{pa} และ I_{pc} ของแต่ละชุดตัวอย่างมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้ค่า ดังตารางที่ 3.2 และตารางที่ 3.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 ค่า ΔE_p , $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ ของ ตัวอย่าง DS110-1 DS110-2 และ DS110-3

DropSens 110	ΔE_p (mV)	$I_{p,a}$ (μA)	$I_{p,c}$ (μA)
ตัวอย่างที่ 1	190	3.184	3.789
ตัวอย่างที่ 2	200	3.109	3.677
ตัวอย่างที่ 3	180	3.034	3.675
ตัวอย่างที่ 4	380	19.631	24.588
ตัวอย่างที่ 5	400	17.57	22.588
ตัวอย่างที่ 6	390	19.231	21.256

ตารางที่ 3.2 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ΔE_p , $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ อิเล็กโทรดคาร์บอนทางการค้า DropSens 110 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 0.5 mM

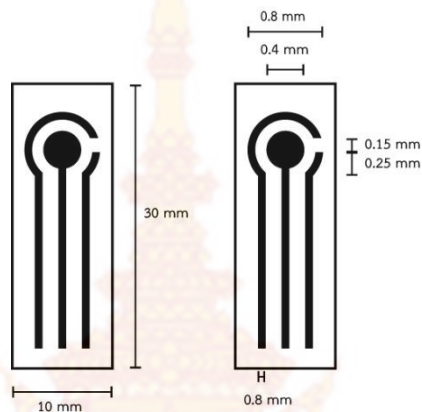
ค่าวัด	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ΔE_p (mV)	190	10
I_{pa} (μA)	3.11	0.08
I_{pc} (μA)	3.71	0.07

ตารางที่ 3.3 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ΔE_p , $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ อิเล็กโทรดคาร์บอนทางการค้า DropSens 110 ที่ใช้ ferricyanide ความเข้มข้น 8 mM

ค่าวัด	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ΔE_p (mV)	390	4
I_{pa} (μA)	18.8	0.6
I_{pc} (μA)	23	1

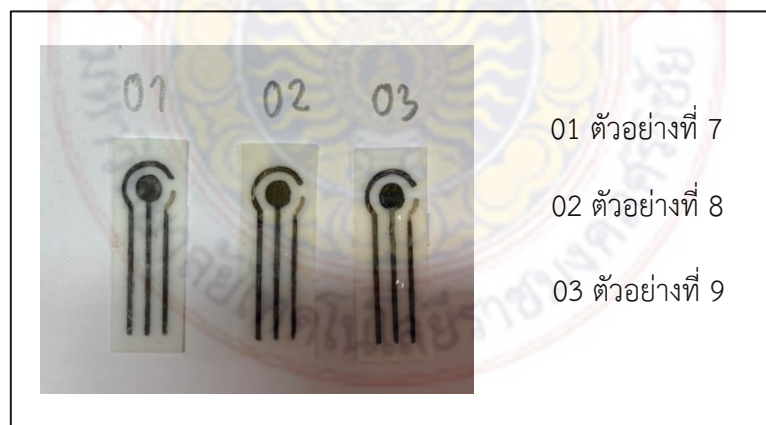
3.1.2 อิเล็กโทรดคาร์บอนพิมสกรีนที่สร้างขึ้น

รูปแบบของอิเล็กโทรดพิมสกรีน ออกแบบให้มีขนาด ใกล้เคียงกับอิเล็กโทรดทางการค้า Methrom DropSens 110 เพื่อให้สามารถให้ กับสายวัด Electrode cable 6.2163.000 อิเล็กโทรดประกอบด้วย ขั้ว 3 ขั้ว คือ ขั้วทำงาน ขั้วอ้างอิง และขั้วช่วย ขนาด 10×30 mm เส้นผ่านศูนย์กลางของขั้วทำงาน 4 mm ขั้วช่วยและขั้วอ้างอิงอยู่ห่างกัน 0.15 mm ส่วนเชื่อมต่อของแต่ละขั้ว มีความกว้าง 0.8 mm ดังภาพที่ 3.5



ภาพที่ 3.5 รูปแบบของอิเล็กโทรดแบบพิมสกรีนที่สร้างขึ้น

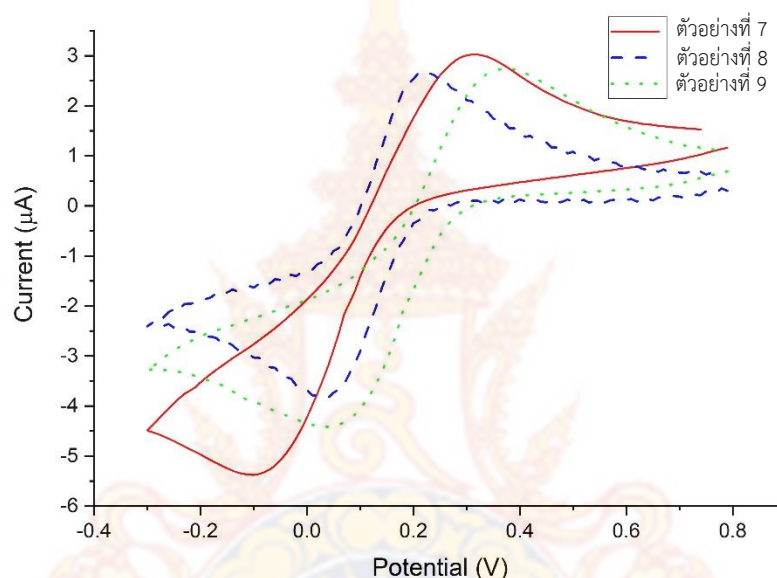
อิเล็กโทรดแบบพิมสกรีน จำนวน 3 ตัวอย่าง ถูกสร้างขึ้น กำหนดชื่อตัวอย่าง เป็น ตัวอย่างที่ 7 ตัวอย่างที่ 8 และ ตัวอย่างที่ 9 แสดงดังภาพที่ 3.6



ภาพที่ 3.6 อิเล็กโทรดคาร์บอนแบบพิมสกรีนที่สร้างขึ้น

3.1.3 ผลการตรวจสอบคุณสมบัติของอิเล็กโทรดแบบพิมสกรีนที่สร้างขึ้น

การตรวจสอบประสิทธิภาพของอิเล็กโทรดคาร์บอนแบบพิมสกรีนที่สร้างขึ้น 3 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ 7 ตัวอย่างที่ 8 และ ตัวอย่างที่ 9 ด้วยการตรวจสอบกราฟ CV จากปฏิกิริยารีดอกซ์ของ ferri/ferrocyanide ความเข้มข้น 0.5 mM ด้วยเครื่องวัด Potentionstat ของบริษัท Metrohm รุ่น 910 PSTAT mini เช่นเดียวกับการตรวจสอบคุณสมบัติของอิเล็กโทรดทางการค้า ตัวอย่างทั้งสาม มีคุณสมบัติไฟฟ้าเคมี ด้วยกราฟ CV แสดงดังภาพที่ 3.7



ภาพที่ 3.7 กราฟ CV ของอิเล็กโทรดพิมสกรีนที่สร้างขึ้น

พิจารณาค่า ΔE_p , I_{pa} และ I_{pc} ของตัวอย่างทั้งสาม แสดงอยู่ในตารางที่ 3.4 เมื่อนำค่า ΔE_p , I_{pa} และ I_{pc} ของทั้งสามตัวอย่างมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานได้ค่า ดังตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.4 ค่า ΔE_p , $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ ของอิเล็กโทรดพิมสกรีนที่สร้างขึ้น

อิเล็กโทรดพิมสกรีนที่สร้างขึ้น	ΔE_p (mV)	I_{pa} (μA)	I_{pc} (μA)
ตัวอย่างที่ 7	410	3.695	5.389
ตัวอย่างที่ 8	170	3.426	3.874
ตัวอย่างที่ 9	330	3.149	4.46

ตารางที่ 3.5 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ ΔE_p $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ อิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น

ค่าวัด	ค่าเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
ΔE_p (mV)	300	120
$I_{p,a}$ (μA)	3.42	0.27
$I_{p,c}$ (μA)	4.57	0.76

3.1.3 เปรียบเทียบคุณสมบัติของอิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้นกับอิเล็กโทรดทางการค้า

การเปรียบเทียบ $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ เฉลี่ย ของอิเล็กโทรดทางการค้าและอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นที่แสดงในตารางที่ 3.2 และ 3.5 พบว่า ค่า $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ ของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีค่ามากกว่าค่าของอิเล็กโทรดทางการค้า 11 และ 12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงถึงคุณสมบัติที่ดีกว่าของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น โดยอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นจะมีค่าขีดจำกัดในการวัดค่าที่ต่ำกว่า หรือวัดสารปริมาณน้อย ๆ ได้ดีกว่า หรือมีความไวในการวัดมากกว่า

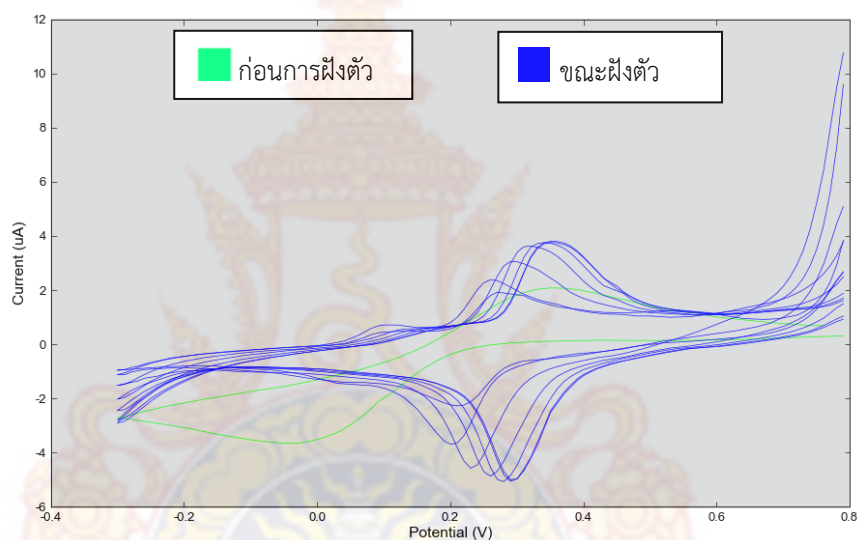
การเปรียบเทียบค่า ΔE_p เฉลี่ยของอิเล็กโทรดทางการค้าและอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น ที่แสดงในตาราง ที่ 3.2 และ 3.5 พบว่า ค่า ΔE_p ของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีค่ามากกว่าค่าของอิเล็กโทรดทางการค้า 59 เปอร์เซ็นต์ แสดงถึงคุณสมบัติที่ดีกว่าของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น โดยอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นจะมีความไวของปฏิกิริยาต่ำกว่า

เปรียบเทียบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวัดค่า ΔE_p $I_{p,a}$ และ $I_{p,c}$ ของอิเล็กโทรดทางการค้าและอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น ที่แสดงในตารางที่ 3.2 และ 3.5 พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีค่ามากกว่าอิเล็กโทรดทางการค้าอย่างมาก แสดงถึงความสามารถในการผลิตซ้ำได้ต่ำของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น ซึ่งจะส่งผลต่อความแม่นยำและความเที่ยงตรงของผลการวัด

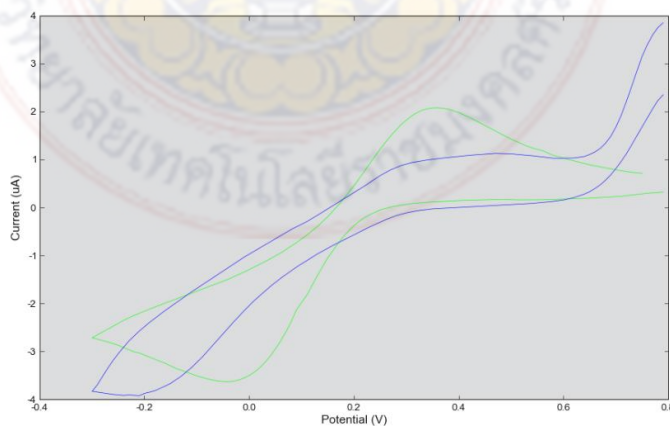
เมื่อตรวจสอบคุณสมบัติทางด้านจุลโครงสร้าง ด้วย SEM และ กล้อง AFM พบว่า อิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีความขรุขระของพื้นผิว (Surface Roughness) ของชิ้นงานมากกว่าอิเล็กโทรดทางการค้า ส่งผลให้อิเล็กโทรดมีความไวต่อการวัดสารปริมาณน้อย ๆ ได้มากกว่าอิเล็กโทรดทางการค้า สอดคล้องกับผลการตรวจสอบคุณสมบัติทางไฟฟ้า และจากรูปร่างความไม่สม่ำเสมอของขนาดและความหนาของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นทำให้อิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นมีคุณสมบัติในการผลิตซ้ำต่ำ (Pharunee, 2021; Pharunee, 2020 ภาคผนวก ข และ ค)

3.2 ผลการปรับแต่งพื้นผิวทำงานของอิเล็กโทรดด้วยอนุภาคนาโนกราฟไฟต์ด้วยวิธีดูดซับ

การปรับแต่งพื้นผิวอิเล็กโทรดเป็นการปรับแต่งพื้นผิวชั่วคราวทำงานของอิเล็กโทรดพิมพ์สกรีนที่สร้างขึ้น จำนวน 3 ตัวอย่าง ด้วยอนุภาคนาโนกราฟไฟต์ โดยวิธีการฝังตัวด้วยไฟฟ้า ตามวิธีการในหัวข้อ 2.2 จำนวน 3 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ 10 ตัวอย่างที่ 11 และ ตัวอย่างที่ 12 พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนรอบในการให้ความต่างศักย์ในการฝังตัวของอนุภาคจะทำให้ค่ากระแสไฟฟ้าของกราฟ CV เพิ่มขึ้น แสดงดังภาพที่ 3.8 แต่เมื่อปล่อยให้ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จนอิเล็กโทรดแห้ง แล้วนำมาตรวจสอบกราฟ CV พบว่ากระแสไฟฟ้าของกราฟ CV มีค่าต่ำลง และกราฟ CV มีลักษณะผิดรูป ดังภาพที่ 3.9 การปรับแต่งพื้นผิวอาจทำลายลักษณะที่ดีของชั่วคราวทำงานของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น



ภาพที่ 3.8 กราฟ CV ขณะทำการฝังตัวของอนุภาคนาโนกราฟไฟต์บนชั่วคราวทำงานของอิเล็กโทรด

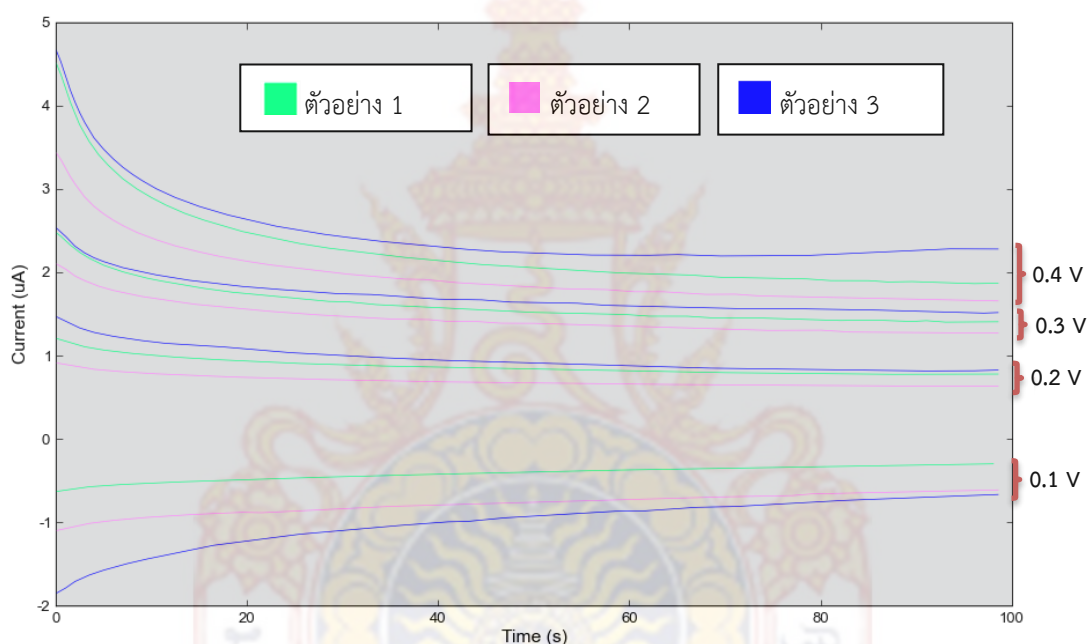


ภาพที่ 3.9 กราฟ CV ของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้นภายหลังการปรับแต่งผิวด้วยอนุภาคนาโนกราฟไฟต์

3.3 ผลการพัฒนาเซนเซอร์ตรวจวัดฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์

3.3.1 ความต่างศักย์ที่เหมาะสมในการตรวจวัด

การตรวจสอบความต่างศักย์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณฟรุกโทสด้วยเทคนิคโคโนแอมเพอโรเมตริก ด้วยเครื่องวัด Potentionstat ของบริษัท Metrohm รุ่น 910 PSTAT mini ทำการติดตั้งอุปกรณ์เช่นเดียวกับภาพที่ 3.2 แต่เปลี่ยนมาใช้ โดยใช้สายวัดแบบหนีบ (ภาคผนวก ก) เนื่องจากสายวัดแบบเสียบ เกิดปัญหาการหลุดของสารทำซ้ำไปติดอยู่ภายในทำให้ค่าวัดผิดพลาด โดย ใช้ความต่างศักย์ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 V ในเวลา 100 s ผลการวัดเป็นดังกราฟ ในภาพที่ 3.10 เป็น ผลการวัด ตัวอย่าง จำนวน 9 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่ 13 ถึง 21 ความต่างศักย์ละ 3 ตัวอย่าง (ตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง 2 และ ตัวอย่าง 3) เมื่อพิจารณาค่ากระแสไฟฟ้าที่เวลา 90 วินาที แสดงดังตารางที่ 3.6



ภาพที่ 3.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับเวลา ของความต่างศักย์ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 V เทคนิคโคโนแอมเพอโรเมตริก

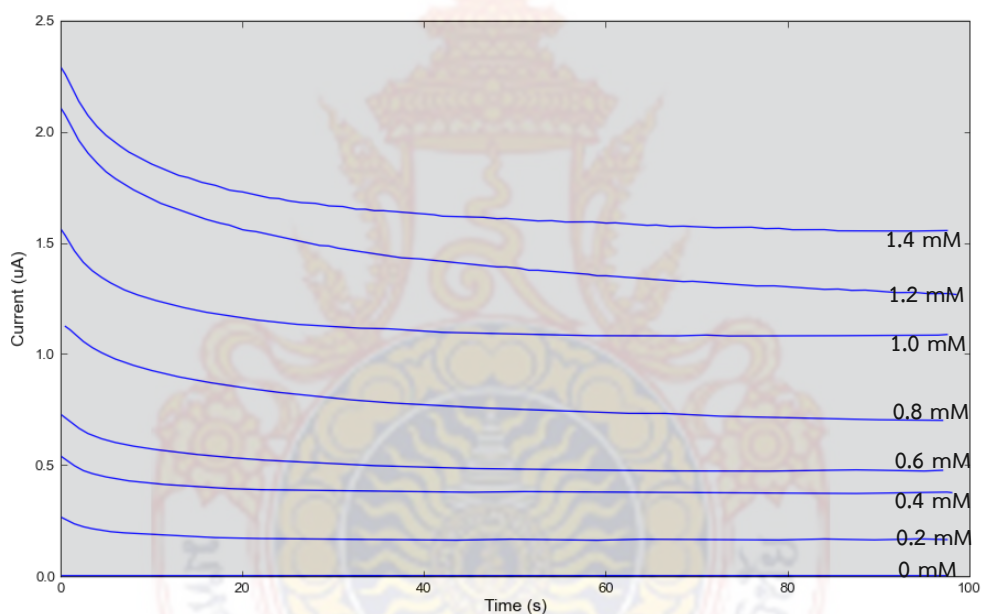
ตาราง 3.6 กระแสไฟฟ้าเฉลี่ยของความต่างศักย์ต่างๆ ในการตรวจวัดปริมาณฟรุกโทส

ความต่างศักย์ (V)	ค่าเฉลี่ยกระแสไฟฟ้าเฉลี่ย (μA)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
0.1	-0.55	0.21
0.2	0.75	0.1
0.3	1.42	0.13
0.4	1.7	0.42

ความต่างศักย์ที่เหมาะสมในการตรวจวัดปริมาณฟรุกโทส ด้วยเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตริกคือความต่างศักย์ 0.3 V เนื่องจากให้ค่ากระแสสูง และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลการวัดต่ำ

3.3.2 กราฟมาตรฐาน

กราฟมาตรฐาน เป็นการพิจารณากราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของฟรุกโทสกับค่ากระแสไฟฟ้า ที่ให้ความต่างศักย์ 0.3 V คงที่ ระยะเวลา 90 วินาที ความเข้มข้นที่ใช้ในการปรับเทียบ (Calibration) มีค่า 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 และ 1.4 mM ในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ครั้ง โดยใช้อิเล็กโทรด 3 อัน (ตัวอย่างที่ 22 ถึง ตัวอย่างที่ 45) ผลการวัดกระแสไฟฟ้า ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ค่ากลาง ของผลการวัด 3 ตัวอย่าง) แสดงดังภาพที่ 3.11 ค่ากระแสไฟฟ้าเฉลี่ย ($t=90$ s) ที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงในตาราง 3.7

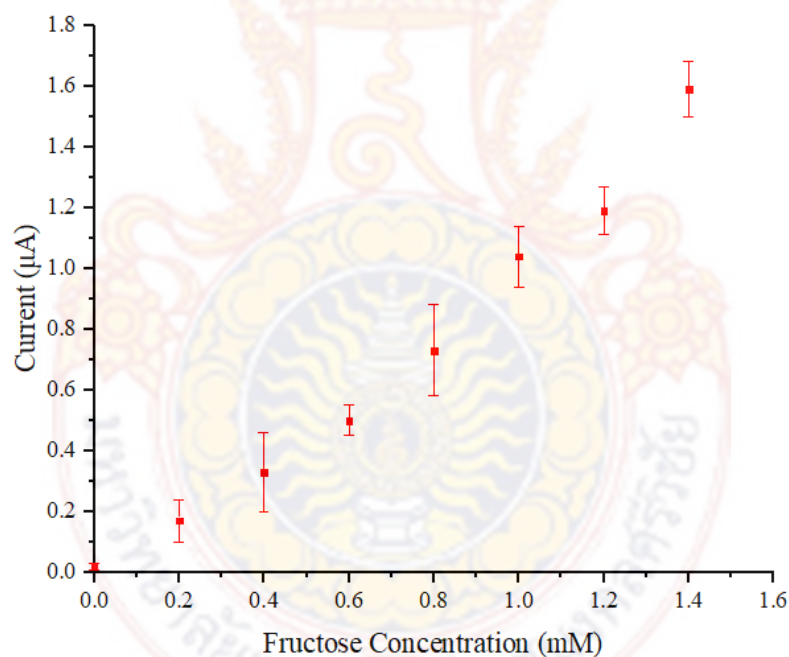


ภาพที่ 3.11 กระแสไฟฟ้าที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากเทคนิคโครโนแอมเพอโรเมตริก

ตาราง 3.7 กระแสไฟฟ้าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของความเข้มข้นฟรุกโทสต่าง ๆ

ความเข้มข้น (mM)	ค่าเฉลี่ยกระแสไฟฟ้า (μA)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
0	0.02	0.01
0.2	0.17	0.07
0.4	0.33	0.13
0.6	0.5	0.05
0.8	0.73	0.15
1.0	1.04	0.10
1.2	1.19	0.08
1.4	1.59	0.09

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้น 0-1.4 mM แสดงดังภาพที่ 3.12



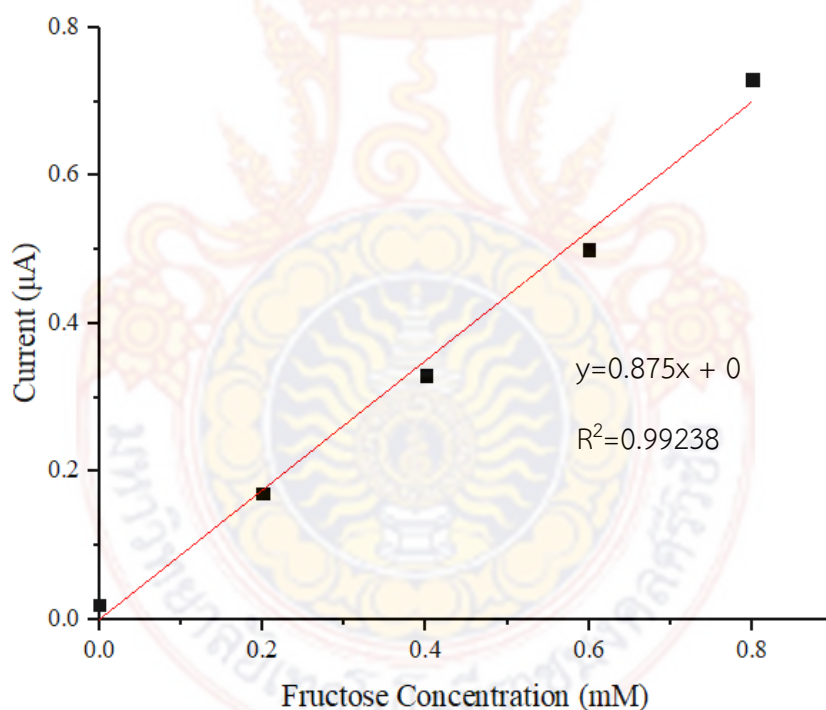
ภาพที่ 3.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้น 0-1.4 mM

เมื่อพิจารณาสมการความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้นในช่วงต่าง ๆ ได้แก่ 0-0.8 mM 0-1.0 mM 0-1.2 mM และ 0-1.4 mM ได้สมการและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ดังตาราง 3.8

ตาราง 3.8 สมการความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้น และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ในช่วงต่าง ๆ

ช่วงความเข้มข้น	สมการความสัมพันธ์	สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์
0-0.8 mM	$y=0.875x + 0$	0.99238
0-1.0 mM	$y=0.92286x - 0.3143$	0.97829
0-1.2 mM	$y=1.00893x - 0.03677$	0.98633
0-1.4 mM	$y=1.09821x - 0.0725$	0.97942

สมการความสัมพันธ์ที่สามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดปริมาณฟรุกโทสที่เหมาะสมที่สุด คือ สมการของช่วงความเข้มข้น 0-0.8 mM ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.99238 มีสมการเป็น $y=0.875x + 0$ กราฟความสัมพันธ์แสดงในภาพที่ 3.13



ภาพที่ 3.13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้ากับความเข้มข้น 0-0.8 mM

ความไว (sensitivity) ของอิเล็กโทรดที่สร้างขึ้น มีค่า $6.96 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ เมื่อเปรียบเทียบกับงานต่างๆ พบว่าเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่าความไวมากกว่างานวิจัยของ Trivedi, Lakshminarayana, Kothari, Patel, & Panchal, 2009 (amperometric biosensor using FDH) ซึ่งมีค่าเท่ากับ $2.19 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ และงานวิจัยของ Antiochia & Gorton, 2014 (osmium-

polymer mediated biosensor) ที่มีค่าเท่ากับ $1.95 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ แต่มีค่าต่ำกว่า งานวิจัยของ Nicholasa, Pittsona & Hart, 2018 (graphite-nanoparticle modified screen-printed carbon electrode) ที่มีค่าเท่ากับ $58.56 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ และ งานวิจัยของ Biscay et al., 2012 (ferrocyanide modified SPCE) ที่มีค่าเท่ากับ $9.95 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$

ค่าขีดต่ำสุดของการตรวจพบ LOD มีค่าเท่ากับ 0.07 mM และ ค่าขีดต่ำสุดของการตรวจวัด LOQ มีค่าเท่ากับ 0.25 mM

3.4 การประยุกต์ใช้ไบโอเซนเซอร์ในการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง

ตัวอย่างจริง ที่จะนำมาใช้ประเมินการวัดปริมาณฟรุกโทสของเซนเซอร์ที่สร้างขึ้น คือ น้ำผึ้ง ชันโรง บ้านสวนลิตตา น้ำผึ้งชันโรง และน้ำล้นจี่ พร้อมตีพิมพ์ โดยผลการวัดด้วยเซนเซอร์ที่สร้างขึ้นจะ เปรียบเทียบกับการวัดปริมาณฟรุกโทสด้วยเทคนิค HPLC

3.4.1 ผลการตรวจสอบปริมาณฟรุกโทส และสารบกวานในตัวอย่างจริง

ผลการตรวจสอบปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในน้ำผึ้งชันโรงและน้ำล้นจี่ดอยคำ ด้วย เทคนิค HPLC เป็นดังตาราง 3.9 (ภาคผนวก ง)

ตาราง 3.9 ผลการตรวจสอบน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในน้ำผึ้งชันโรงและ น้ำล้นจี่ ดอยคำ

ชนิดของน้ำตาล	ปริมาณ (g/100g)	
	น้ำผึ้งชันโรง	น้ำล้นจี่ ดอยคำ
ฟรุกโทส	13.17	3.99
กลูโคส	24.45	3.48
มอลโทส	20.84	5.62

ผลการตรวจสอบปริมาณวิตามินซีในน้ำล้นจี่ ด้วยเทคนิค In-house methode TE-CH-177 based on Bull Dept. Med. Sci. 1998; 40(3): 347-357 พบว่ามีวิตามินซีอยู่ 109.98 mg/100 g (ภาคผนวก จ)

พิจารณาค่าความเข้มข้นของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และวิตามินซี ในน้ำฝิ่งชั้นโรงและน้ำ
 ลินจี้ จากอัตราส่วนของ มวลต่อปริมาตร โดยน้ำฝิ่งชั้นโรง มีอัตราส่วน 1.48 g/mL และน้ำลินจี้ มี
 อัตราส่วน 0.14 g/mL สามารถคำนวณปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และวิตามินซี ในตัวอย่างน้ำฝิ่ง
 ชั้นโรงและน้ำลินจี้ ในหน่วย mM แสดงในตารางที่ 3.10

ตาราง 3.10 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และวิตามินซี ในตัวอย่างน้ำฝิ่งชั้นโรงและน้ำลินจี้โดยค่า
 ในหน่วย mM

ชนิดของน้ำตาล	ปริมาณ (mM)	
	น้ำฝิ่งชั้นโรง	น้ำลินจี้ ดอยคำ
ฟรุกโทส	1081.9	31.4
กลูโคส	2008.5	27.4
มอลโทส	901.1	23.3
วิตามินซี	-	0.09

3.4.2 การตรวจสอบปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริงด้วยเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น

โดยการนำน้ำฝิ่งชั้นโรงและน้ำลินจี้มาเจือจาง (dilute) ให้มีความเข้มข้น 0.5 mM
 (อ้างอิงจากเทคนิค HPLC) แล้วทำการวัดความเข้มข้นของฟรุกโทสด้วยเซนเซอร์ที่พัฒนาขึ้น ใน
 กระบวนการ 2.3 ทำการวัดจำนวน 3 ครั้ง โดยใช้อิเล็กทรอนิกส์ 3 อัน (ตัวอย่างที่ 46 ถึง ตัวอย่างที่ 48)
 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบนเบนมาตรฐานของผลการวัด แสดงในตารางที่ 3.11 พบว่าความเข้มข้นของ
 ฟรุกโทสที่ตรวจสอบได้จากเทคนิคไบโอเซนเซอร์มีค่ามากกว่าค่าอ้างอิง ที่ตรวจสอบจากเทคนิค
 HPLC ทั้งสองตัวอย่าง โดยเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของผลการวัดความเข้มข้นของน้ำฝิ่งชั้นโรง มีค่า
 14% และของน้ำลินจี้ดอยคำมีค่า 18% และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD) ของผลการวัดความ
 เข้มข้นของฟรุกโทสในน้ำฝิ่งชั้นโรงและน้ำลินจี้มีค่า 16% และ 22%

ตาราง 3.11 ความเข้มข้นของปริมาณฟรุกโทสที่วัดด้วยไบโอเซนเซอร์

ตัวอย่างจริง	ความเข้มข้นของฟรุกโทส (mM)	เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างกับ เทคนิค HPLC	RSD
น้ำผึ้งโรงชั้น	0.57 ± 0.09	14%	16%
น้ำล้นจี	0.59 ± 0.13	18%	22%

3.4.3 ผลการศึกษาการรบกวน (interference study) ของสารอื่นต่อผลการวิเคราะห์

จากการวัดปริมาณน้ำตาลในน้ำผึ้งโรงชั้นและน้ำล้นจีพบว่า ตัวอย่างทั้งสองมีน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลมอลโทสเจือปนอยู่ และในน้ำล้นจีมีวิตามินซีเจือปนอยู่ ดังตารางที่ 3.10 สัดส่วนและเปอร์เซ็นต์ของสารรบกวนที่มีอยู่ในน้ำตาลในน้ำผึ้งโรงชั้นและน้ำล้นจีแสดงใน ตารางที่ 3.12

ตาราง 3.12 สัดส่วนและเปอร์เซ็นต์ของสารรบกวนที่มีอยู่ในน้ำตาลในน้ำผึ้งโรงชั้นและน้ำล้นจีโดย

ตัวอย่าง	สารรบกวน	อัตราส่วนการรบกวน (ฟรุกโทส:สารรบกวน)	เปอร์เซ็นต์การรบกวน (ฟรุกโทส:สารรบกวน)
น้ำผึ้งโรงชั้น	กลูโคส	1:1.856	185.7%
	มอลโทส	1:0.833	83.3%
น้ำล้นจี	กลูโคส	1:0.872	87.2%
	มอลโทส	1:0.741	74.1%
	วิตามินซี	1:0.003	0.3%

ในการวัดฟรุกโทสในน้ำผึ้งโรงชั้นและน้ำล้นจีโดยค่าพบว่า ว่ามีกลูโคสรบกวนอยู่ 185.7% และ 87.2% และ มีมอลโทส รบกวนอยู่ 83.3% และ 74.1% และ มีวิตามินซี รบกวนอยู่ 0.3 % จึงตรวจสอบผลการรบกวนโดยการเติม สารรบกวนลงฟรุกโทสมาตรฐาน 0.5 mM ในปริมาณที่ครอบคลุมการรบกวนของตัวอย่างจริงที่ใช้ แล้วทำการวัด ความเข้มข้นของฟรุกโทสขณะมีสารรบกวนต่าง ๆ ในระดับของการรบกวน ตามรายละเอียดในตาราง 3.13

ตารางที่ 3.13 ผลการวัดความเข้มข้นของฟรุกโทส มาตรฐาน 0.5 mM เมื่อมีสารรบกวนในระดับต่างๆ

สารรบกวน	ความเข้มข้น (mM)	เปอร์เซ็นต์การรบกวน	ค่าความเข้มข้นของฟรุกโทสที่วัดได้	%ความแตกต่างจากค่าจริง	%RSD
กลูโคส	0.3	60%	0.54 ± 0.12	8	22
	0.5	100%	0.58 ± 0.08	16	14
	1	200%	0.43 ± 0.07	14	16
มอลโทส	0.3	60%	0.57 ± 0.15	14	26
	0.5	100%	0.45 ± 0.06	10	13
วิตามินซี	0.005	1%	0.56 ± 0.13	12	22

จากผลการทดลองพบว่า การรบกวนของกลูโคส มอลโทสและฟรุกโทส และวิตามินซี ไม่มีผลต่อการวัดปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริง โดยทำให้เกิดความแตกต่างจากค่าจริงอย่างไม่เป็นระบบ โดยการรบกวนของกลูโคส มีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเฉลี่ย 13% ซึ่งน้อยกว่า เปอร์เซ็นต์ค่าความแตกต่างของผลการวัดฟรุกโทสในตัวอย่างจริงทั้งสองตัวอย่างอยู่ 1 และ 5% แสดงถึงการรบกวนของกลูโคสในระดับ 60-200% ไม่มีผลต่อการวัดปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริงทั้งสองชนิด และการรบกวนของมอลโทส ซึ่งทำให้เกิดความแตกต่างจากค่าจริงอย่างไม่เป็นระบบเช่นกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเฉลี่ย 12% ซึ่งน้อยกว่า เปอร์เซ็นต์ค่าความแตกต่างของผลการวัดฟรุกโทสในตัวอย่างจริงทั้งสองตัวอย่างอยู่ 2 และ 5% แสดงถึงการรบกวนของมอลโทสในระดับ 60-100% ไม่มีผลต่อการวัดปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริง และการรบกวนของวิตามินซี ทำให้เกิดความแตกต่างจากค่าจริง โดยมีเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างเฉลี่ย 12% ซึ่งน้อยกว่าเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของผลการวัดฟรุกโทสในตัวอย่างจริงทั้งสองตัวอย่างอยู่ 2 และ 5% แสดงถึงการรบกวนของวิตามินซีใน 1% ไม่มีผลต่อการวัดปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริง

3.4.4 ประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ตรวจสอบฟรุกโทสที่พัฒนาขึ้นในการตรวจสอบตัวอย่างจริง

ผลการพิจารณาประสิทธิภาพของไบโอเซนเซอร์ยังอยู่ในระดับต่ำ จากการพิจารณาความเที่ยงตรง และความแม่นยำในการวัด ดังนี้

1) ความเที่ยงตรง

ความเที่ยงตรงอิเล็กทรอนิกส์ในการวัดค่ากระแสไฟฟ้า (I_{pa} และ I_{pc} ตาราง 3.5) ในระดับ μA ในขั้นตอนการสร้างอิเล็กทรอนิกส์ พบว่าให้ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวัดสูงสุดถึง 17% และเมื่อนำเซนเซอร์มาพัฒนาเป็นไบโอเซนเซอร์ตรวจสอบฟรุกโทส โดยการวัดกระแสไฟฟ้า ด้วยเทคนิคโคโนแอมเพอโรเมตริก พบว่า ความเที่ยงตรงในการวัดความเข้มข้นของฟรุกโทส ที่ความต่างศักย์ 0.3 V (ตาราง 3.7) ให้ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์สูงสุด ในการวัด 21% และเมื่อนำเซนเซอร์มาตรวจสอบปริมาณฟรุกโทสในตัวอย่างจริง พบว่า ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ในการวัดสูงสุดถึง 22%

2) ความแม่นยำ

พิจารณาความแม่นยำในตรวจสอบฟรุกโทสในตัวอย่างน้ำผึ้งชันโรงและน้ำลินจี่ ดอยคำ พบว่าผลการตรวจสอบมีค่าแตกต่างจากค่าจริง อยู่ 14 และ 18%



บทที่ 4

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการสร้างอิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับการตรวจสอบทางเคมีไฟฟ้าต่าง ๆ ที่สามารถลดต้นทุนการผลิตจากการใช้สารคาร์บอนแทนโลหะเงิน อิเล็กโทรดมีคุณสมบัติที่ดีทางเคมีไฟฟ้า จากการตรวจสอบด้วยเทคนิคไซคลิกโวลแทมเมทรี ของสารเพอร์ไอโซยานีนด์ ความเข้มข้นต่ำ มีความว่องไวในการตรวจวัดมากกว่าอิเล็กโทรดทางการค้า แต่อิเล็กโทรดที่พัฒนาขึ้นยังมีความสามารถในการผลิตซ้ำต่ำ ส่งผลให้ความเที่ยงตรงและความแม่นยำในการตรวจสอบน้ำตาลฟรุกโทสด้วยเทคนิคไบโอเซนเซอร์มีค่าต่ำไปด้วย นอกจากนี้ อิเล็กโทรดที่พัฒนาขึ้นยังสามารถนำมาฝังเอนไซม์ที่ทำให้เกิดความจำเพาะเจาะจงในการวัดฟรุกโทส ในช่วงความเข้มข้น 0-0.8 mM โดยให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9923

แต่อย่างไรก็ตาม อิเล็กโทรดคาร์บอนพิมพ์สกรีนสามารถปรับปรุงให้มีความสามารถในการทำซ้ำได้สูงขึ้น เพื่อเพิ่มความเที่ยงตรงและความแม่นยำในการการวัด ด้วยการใช่วิธีการสกรีนชั้นสูงขึ้น โดยการสร้างบล็อกสกรีนที่ซิงด้วยแผ่นมาส ทำลายสกรีนเป็นรูปแบบของอิเล็กโทรดหลาย ๆ อิเล็กโทรดให้สามารถทำการสกรีนพร้อมกัน หลายๆ อิเล็กโทรด และควบคุมปริมาณหมึกและแรงกดผ่านยางปาด



บรรณานุกรม

- ธนิกันต์ ธรสินธุ์. 2561. การเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี คุณค่าโภชนาการ และจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำหวานจากสตร. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา* 23(3): 1301-1316.
- ธนาศาสตร์ สุขศรีเมือง. 2548. การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีไฟฟ้าโดยวิธีไซคลิกโวลแทมเมตรี. *Materials Characterization*. 76-79.
- นันท์ทิพ ลิ้มเพียรชอบ. 2558. น้ำตาลทรายอันตรายจากฟรุกโตส. *สรรพสารวงการยา* 15(201): 13-19.
- ภัสสรพลง งามอุโฆษ. 2543. แอมเพอโรเมตริกกลูโคสเซนเซอร์โดยใช้ขั้วไฟฟ้าทองเคลือบด้วยเฮกซะแอมมีนรูทีเนียมคลอไรด์ เนฟิออน สำหรับการวิเคราะห์โพลีอินเจคชัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มัญญา คำวชิระพิทักษ์, พะยอม รอดเล็ก, มรกต กิจเจา, สุวิญา สิงห์ทอง, เบญจรงค์ อัจฉริยะโพธา, จุฑารัตน์ พงษ์โนรี, กนกวรรณ ปุณณะตระกูล, ทรงพลธนฤทธ์ มฤครัฐอินแปลง และ เบญจพรรณ บุรวัฒน์. 2561. ผลของสารให้ความหวานฟรุกโตสไซรัป และซูคราโลสที่มีต่อคุณลักษณะบางประการของแยมผลไม้ผสม. *วารสารวิจัยและพัฒนาวิจัยและพัฒนายาลอยลงกรรมในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 11(2): 15-23.
- วารการ ลิ้มบุตร. (2555). การประยุกต์ใช้วัสดุคานาโนสำหรับการพัฒนาโกลโคสเซนเซอร์โดยใช้เอนไซม์และไม่ใช้เอนไซม์. *สงขลานครินทร์เวชสาร*. 30(1): 33-47
- วารุณี ภู่อัจจงพงษ์. อรพิน เกิดชูชื่น และ สิรินทรเทพ เต่าประยูร. 2546. น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ในรากและสารหลั่งรากของข้าวพันธุสุพรรณบุรี 1. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร*. 26(3): 339-350.
- วีรภัทร วิโนทพรรษ์. (2558). การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในรูปอิมโมบิลิซด์และรูปร่างสำหรับการสกัดสารธรรมชาติจากพืช. *TBPS*. 9(1): 57-70.
- <http://agscientific.com/blog/2016/01/biosensors-and-diabetes-trending-applications/> เข้าถึง 15 พ.ค. 2562
- <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/sugar-guideline/en/> เข้าถึง 10 พ.ค. 2562
- Biscaya, J., Ramaa, E. C., García, M. B., Reviejo, J., Carrazón, J. M., & García, A. C. 2012. Amperometric fructose sensor based on ferrocyanide modified screen-printed carbon electrode. *Talanta* 88: 432-438.

- Cinti, S., Arduine, F., Carbone, M., Sansone, L., Cacciotti, I., Moscone, D. & Palleschi, G. 2015. Screen-Printed Electrodes Modified with Carbon Nanomaterials: A Comparison among Carbon Black, Carbon Nanotubes and Graphene. **Electroanalysis** 2: 1–10.
- Contreras-Naranjo, J. E. and Aguilar, O. 2019. Suppressing Non-Specific Binding of Proteins onto Electrode Surfaces in the Development of Electrochemical Immunosensors. **Biosensors** 9(1): 15.
- Elgrishi, N., Rountree, K. J., McCarthy, B. D., Rountree, E. S., Eisenhart, T. T. & Dempsey, J. L. 2018. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **ACS Publications** 95(2): 197-206.
- Erlenkotter, A., Kottbus, M. & Chemnitz, G. C. 2000. Flexible amperometric transducers for biosensors based on a screen printed three electrode system. **Journal of Electroanalytical Chemistry** 481: 82-94.
- Han, J. H., Choi, H. N., Park, S. Chung, T. D. & Lee, W. Y. (2010). Mesoporous Platinum Electrodes for Amperometric Determination of Sugars with Anion Exchange Chromatography. **Analytical science** 26: 995-1000.
- Kawahigashi, H., Kasuga, S., Okuizumi, H., Hiradate, S., & Yonemaru, J. 2013. Evaluation of Brix and sugar content in stem juice from sorghum varieties. **Japanese Society of Grassland Science** 59: 11-19.
- Mikysek, T., Stoces, M. Svancara, I. & Ludvik, J. 2012. The ohmic resistance effect for characterization of carbon nanotube paste electrodes (CNTPEs). **RSC Advances** 2: 3684-3690.
- Mistry, K. K., Layek, K., Mahapatra, A., Roychaudhuri, C. & Saha, H. 2014. A review on amperometric type immunosensors based on screen printed electrodes. **The Royal Society of Chemistry** 139: 2289-2311.
- Nicholas, P., Pittson, R. & Hart, J. P. 2018. Development of a simple, low cost chronoamperometric assay for fructose based on a commercial graphite-nanoparticle modified screen-printed carbon electrode. **Food Chemistry** 241: 122-126.
- Peng, S., Liu, C. & Fan, X. 2015. Surface Modification of Graphene Oxide by Carboxyl-Group: Preparation, Characterization and Application for Proteins Immobilization. **Integrated Ferroelectrics** 163: 42-53.

- Pereira, R. M., Botezelli, J. D., Rodrigues, K. C., Mekary, R. A., Cintra, D. E., Pauli, J. R., Silva, A. S., Ropelle, E. R. & Moura, L. P. 2017. Fructose Consumption in the Development of Obesity and the Effects of Different Protocols of Physical Exercise on the Hepatic Metabolism. **Nutrients** 9(405): 1-21.
- Sarmphim, P., Teeparuksapun, K., Wunsri, Sorngodchagorn, S., Duangsiri, W., Tapparak, P. & Sirisathitkul, C. 2021. Facile Fabrication of Screen-Printed Carbon Electrodes for Electrochemical Sensors. **International Journal of Nanoelectronics & Materials** 14(1): 1-10.
- Sarmphim, P., Teeparuksapun K., Wunsri S., & Sirisathitkul, C. 2020. Surface Characterizations of Highly Sensitive Screen-Printed Electrodes Produced by Carbon Ink Pasting. 98-103. **The 5th International Conference on Smart Materials and Nanotechnology (SmartMat@2020)**. Nongnooch Garden, Pattaya, Thailand.
- Sys, M., Khaled, E., Metelka, R. & Vytras, K. 2017. Electrochemical characterisation of novel screen-printed carbon paste electrodes for voltammetric measurements. **Journal of the Serbian Chemical Society** 82(7-8): 865-877.
- Trivedi, U. B., Lakhminarayana, D., Kothari, I. L., Patel, N. G., Kapse, H. N. Makhija, K. K., Patel, P. B. & Panchal, C. J. 2009. Potentiometric biosensor for urea determination in milk. **Sensors and Actuators B: Chemical** 140: 260-266.
- Wang, J., Tian, B., Nascimento, V. B. & Angnes, L. 1998. Performance of screen-printed carbon electrodes fabricated from different carbon inks. **Electrochimica Acta** 43(23): 3459-3465.

ภาคผนวก ก

สายเชื่อมต่อ (Cable Connectors) เครื่องวัด Potentionstat ของบริษัท Metrohm รุ่น 910
PSTAT mini

สายเชื่อมต่อแบบสวม



สายเชื่อมต่อแบบหนีบ



Facile Fabrication of Screen-Printed Carbon Electrodes for Electrochemical Sensors

P. Sarmphim^{1*}, K. Teeparuksapun¹, S. Wunsri¹, S. Sorngodchagorn¹,
W. Duangsiri¹, P. Tapparak¹ and C. Sirisathitkul²

¹Department of General Education, Faculty of Liberal Arts,
Rajamangala University of Technology Srivijaya, Songkhla, Thailand
²Division of Physics, School of Science,
Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand

Received 4 August 2020, Revised 11 December 2020, Accepted 15 February 2021

ABSTRACT

Carbon pastes were applied in fabricating screen-printed carbon electrodes (SPCEs) for versatile electrochemical analyses. The electrochemical behaviour of the homemade system, consists of a working electrode, a counter electrode and a reference electrode, was investigated by the cyclic voltammetry (CV) of ferricyanide at a low concentration. The homemade SPCEs gave standard CV characteristics with sensitive electrochemical behaviours. Due to the surface roughness, the cathodic and anodic current peaks (I_{pc} and I_{pa}) of the homemade SPCEs were significantly higher than those of commercial DropSens 110 SPCEs at a 90 % confidence level (P value 0.1). However, the reproducibility of homemade SPCEs (n=3) by manual pasting was lower than commercial DropSens 110. The novelty in making electrodes on a polyester substrate by using carbon pastes substantially reduces the production cost. The materials and process used for these homemade SPCEs show potential for a variety of electrochemical sensors.

Keywords: Screen-printed electrode, carbon paste, cyclic voltammetry, potentiostat, electrochemical sensor

1. INTRODUCTION

Bulky electrochemical electrodes and beaker-type cells have been very useful in electro-analytical chemistry but lagging behind in many features such as cost, portability, usability and on-site analysis. Screen printing on planar substrates by forcing suitable inks through a patterned stencil or mask is an adaptive technique to overcome these disadvantages. The resulting screen-printed electrodes (SPEs) have already been implemented in many real-life applications [1-3]. This is fuelled by a billion-dollar per year market of the glucose sensing. The incorporation of SPEs enables individuals to measure their blood glucose levels at home [4]. In addition to the commercially available electrochemical glucose sensors, these SPEs have been regularly utilised for other biomedical applications, including determinations of fructose in beverages [5], glucose in fermentation processes [2], as well as diagnosis of infectious disease and virus [6, 7]. The potential use of SPEs in corona virus detections have also been suggested [8, 9].

The use of carbon in screen printing of electrodes has an important part in the commercial success or glucose biosensors [10] and several other detections including dopamine [11] and heavy metals in environments [12]. The carbonaceous nanomaterials possess unique characteristics of high electrical conductivity and chemical stability with large active surface

* Corresponding Author: pharunee.t@rmutsv.ac.th

areas. Their reproducibility and low-cost are attractive for the mass production [13]. Screen-printed carbon electrodes (SPCEs) are therefore highly promising for versatile electrochemical sensors [14].

SPEs are conventionally produced by using printing machines. Most commercial SPEs with excellent performances are mainly distributed at higher prices. Literature researches suggested that DropSens electrodes from Metrohm corporation set a standard for electrochemical sensors [15, 16]. The DropSens 110 electrodes have mostly been implemented in biosensors for detecting neurotransmitter dopamine [11] and monitoring glucose concentration [2].

It is still a challenge to develop a facile fabrication process for low-cost SPCEs. The novelty of this work is to apply carbon pastes in SPCEs for versatile electrochemical analyses. The homemade SPCE is designed to resemble commercial electrodes with suitable cable connections with a potentiostat. The performance of this homemade electrode is compared to the DropSens 110.

2. THEORY

This work involves with the reduction and oxidation of ferri/ferrocyanide ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) on the working electrode surface, referred to as a redox couple reaction. A typical cyclic voltammogram is presented in Figure 1 [5]. When the potential is scanned negatively (cathodically) from point a to c, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ is steadily decreased near the electrode as it is reduced to $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ according to the process in Eq. (1). The corresponding current is referred to as the cathodic current. After the peak cathodic current (I_{pc}) is obtained at point b, the current is decreased by the delivery of additional $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ via the diffusion from the bulk solution. The volume of solution at surface of the electrode containing the $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, called the diffusion layer, continue to grow throughout the scan. This slows down the mass transport of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ to the electrode. Upon scanning to more negative potentials, the rate of diffusion of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ from the bulk solution to the electrode surface therefore becomes slower, resulting in a decrease of current in the continuous scan. When the scan direction is reversed and the potential is scanned in the positive (anode) direction (from point c to e), the $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ from reduction at the electrode surface is oxidized back to $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ as the applied potential become more positive with the process in Eq. (2). After the anodic current reaches the peak (I_{pa}) at point d, the current is decreased by the diffusion mechanism.

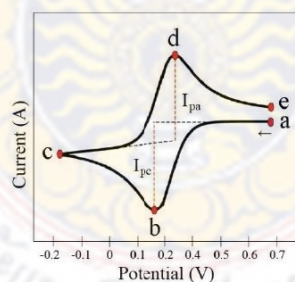
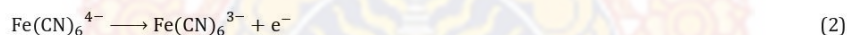


Figure 1. Typical cyclic voltammogram of a redox couple reaction.

The electron transfer rates from the reversible, quasi-reversible and irreversible electrochemical reactions are different. The best performance of electrodes corresponding to the reversible electrochemical reactions is limited. The electron kinetics are much faster than the rate of mass transport according to the Nernst equation. The applied potential (E) is related to the potential of species or analyte (E^0) and the concentration of oxidized [Ox] and reduced [Red] analyte in the system at equilibrium as shown in Eq. (3),

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]} = E^0 + 2.30226 \frac{RT}{nF} \log \frac{[\text{Ox}]}{[\text{Red}]} \quad (3)$$

where F is Faraday's constant and R is the universal gas constant, n is the number of electrons and T is the temperature. By applying the Nernst equation to the one-electron reduction of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ to $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, n is set at 1 and the activities are replaced with their concentrations which are more experimentally accessible. Eq. (4) is obtained as follows:

$$E = E^0 + 2.3026 \frac{RT}{F} \log \frac{[\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}]}{[\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}]} \quad (4)$$

In the case of electrochemically reversible process with rapid electron transfers, the peak-to-peak separation, $\Delta E_p = (E_p^{\text{ox}} - E_p^{\text{red}})$ is relatively small at the reversible limit, where $\Delta E_p = 2.22 RT/nF$ corresponding to a value of 57 mV at 298 K with $n = 1$ [17].

3. MATERIALS AND METHODS

3.1 Materials, reagents and apparatus

The carbon graphite paste (C2130925D1) and silver/silver-chloride (Ag/AgCl) paste (C2090225P7) were obtained from Gwent Electronic Materials. Potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) and potassium chloride (KCl) were purchased from Sigma-Aldrich (UK) whereas a 0.35 mm-thick polyester sheet was obtained from an online supplier. Deionized (DI) water was supplied by Central Equipment Division, Faculty of Science, Prince of Songkla University. Commercial DropSens 110 SPCEs, obtained from Metrohm corporation, were used as a comparison. The electrochemical data were collected by the 910 PSTAT mini potentiostat (Metrohm Autolab), controlled by PSTAT software 1.1. The SPCEs were connected to the potentiostat via electrode cables.

3.2 Fabrication and morphological characterization of the homemade SPCEs

To fabricate SPCEs for this work, the mask was designed using Illustrator CC 2019. The mask was printed on a sticky paper and cut according to the designed shape with the cutting machine. The mask was then placed on a 10 mm \times 30 mm piece of polyester schematically shown in Figure 2. Electrodes were manually pasted by the following steps. Firstly, the Ag/AgCl ink was applied on the reference electrode track by using a small brush and then dried for 15 min. The carbon ink was then applied in the counter and working electrodes as well as all conductive tracks before drying in an oven at 60 °C for 30 min. After the curing step, the mask was removed, and a protective layer was applied by using sticky tape to insulate the conductive tracks from the three electrodes. Finally, the electrodes were rinsed with DI water and then dried at room temperature. The fabricated SPCEs were kept in desiccator until being used. The surfaces of commercial and homemade electrodes were compared by Scanning Electron Microscopy (SEM; Quanta 400 FEI). The surface topographies were also recorded using Atomic Force Microscopy (AFM; Nanosurf

AG., FlexAFM). In addition to the imaging, the root-mean-square roughness (S_q) of both electrodes were also determined by examining a $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ area of electrodes by AFM.

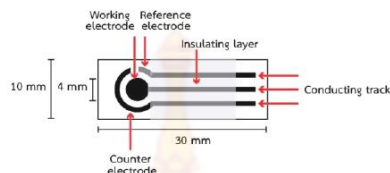


Figure 2. Schematic representation the homemade SPCEs.

3.3 Electrochemical measurement

A schematic drawing of the electrochemical system is shown in Figure 3. SPCEs were connected to the potentiostat via an electrode connector and a potentiostat was connected to the computer via a USB cable.

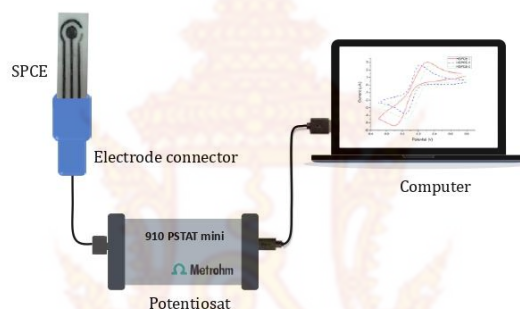


Figure 3. A three-electrode system connecting a computer-controlled potentiostat for CV experiments.

The cyclic voltammetry (CV) was performed by depositing a $200\ \mu\text{l}$ of $0.5\ \text{mM}$ ferricyanide, in $0.1\ \text{M}$ phosphate buffer pH 7.5 containing $0.1\ \text{M}$ potassium chloride, onto the surface of the SPCEs. The scan rate was $10\ \text{mVs}^{-1}$. The initial and final potentials were $+0.8\ \text{V}$ whereas the switching potential was $-0.3\ \text{V}$. The potential was held at $+0.8\ \text{V}$ for $10\ \text{s}$ before the initial cycle. To obtain reproduced electrochemical signal, the surface pre-treatment of electrodes was carried out by applying several CV cycles on an electrochemical assay until the CV characteristic was steady. Then, the cyclic voltammogram was recorded and used to calculate the peak current intensity, the peak potentials of the anodic and cathodic processes as well as the peak-to-peak separation. The reproducibility of the homemade SPCEs was investigated by repeated measurements on three samples, referred to as HSPCE-1, HSPCE-2 and HSPCE-3. A similar experiment was performed using the commercial DropSens 110 for a comparative study of electrode performances.

4. RESULTS AND DISCUSSION

4.1 Morphology of SPCEs

The commercial DropSens 110 and homemade SPCEs are shown in Figure 4. Both types of electrode are composed of a 4 mm diameter carbon working electrode, a carbon counter electrode and an Ag/AgCl reference electrode with carbon conducting parts as well as a layer to insulate electrodes.



Figure 4. Photograph comparing DropSens 110 and homemade SPCE.

Figure 5 shows the top view SEM images of homemade SPCE and DropSens 110. As illustrated in Figure 5(a), the homemade SPCE exhibits rough surface and non-uniform morphology. Its surface is covered by small carbonaceous particles and large holes are observed in the highly magnified inset. By contrast, the DropSens 110 shows a relatively smooth surface in Figure 5(b) with rough patches exemplified in the inset.

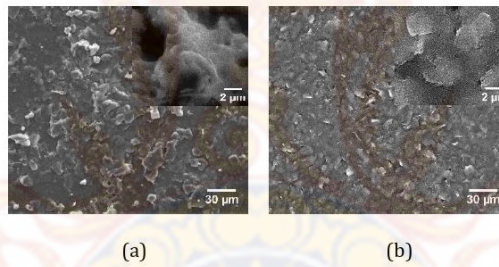


Figure 5. Top view micrographs of (a) homemade SPCE and (b) DropSens 110 taken by SEM.

Figures 6(a) and 6(b) respectively show a three-dimension AFM images of homemade SPCE and DropSens 110. The AFM characterization agree with SEM results that the surface of homemade SPCE is rougher than the DropSens 110 surface. From five areas selected to evaluate the surface roughness, the average Sq of homemade SPCE and DropSens 110 are 1457 ± 148 and 612 ± 144 nm, respectively.

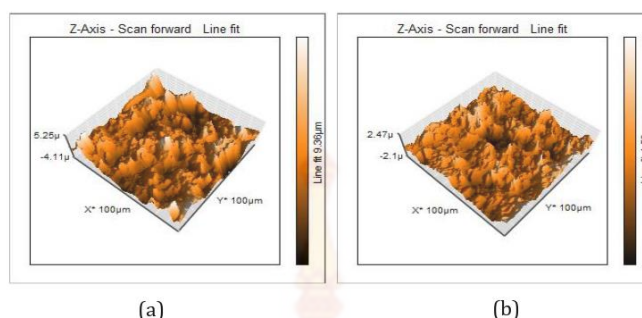


Figure 6. Three-dimensional AFM images of (a) homemade SPCE and (b) DropSens 110.

The manufacturing cost of the developed electrode is less than a half of imported commercial SPCEs (around 6\$ per piece). Using less silver or none at all substantially is cost-effective. In this work, the carbon ink is successfully applied to define conducting tracks and electrode areas. Ag in the reference electrode is replaced by a more stable Ag/AgCl. To prevent the reaction with an analyte, the conductive tracks are insulated by sticky tape. Additionally, the substrate material is replaced by polyester with a lower cost. The fabrication of homemade SPCEs in this work took about 45 min and several electrodes can be manufactured at the same time.

4.2 Performances of SPCEs

Initially, homemade SPCEs were pretreated in order to obtain repeatable electrochemical signal. From the pre-treatment, the cyclic voltammograms using homemade SPCE are uniform in shape, and have high peak currents. The peak to peak is lower when more CV were repeated between 10 to 30 cycles. This observation is in accordance with the previous report by Carneiro *et al.* [18].

The performance of three homemade SPCEs interrogated by CV was compared to three commercial SPCEs (DS110-1, DS110-2 and DS110-3) in Figure 7. The homemade SPCEs exhibit the CV characteristics comparable to DropSens 110 Commercial SPCEs. Each cyclic voltammogram was analysed in terms of the peak separation (ΔE_p), cathodic (I_{pc}) and anodic peak (I_{pa}). The mean values ($\Delta E_{p,av}$, $I_{pc,av}$ and $I_{pa,av}$) with their standard deviations are also listed in Table 1.

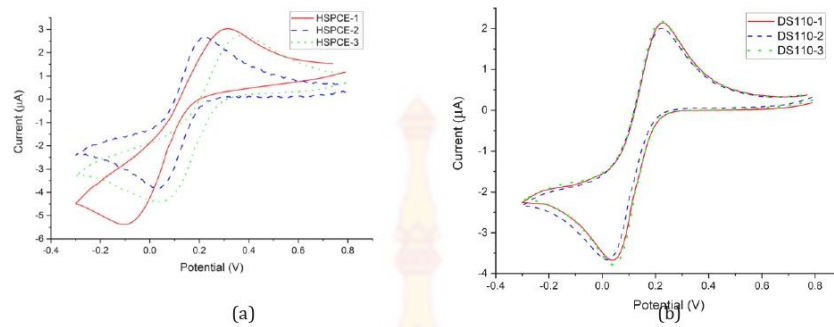


Figure 7. Cyclic voltammograms of the (a) homemade and (b) DropSens 110 SPCEs in ferri/ferrocyanide for three samples each.

From Table 1, the I_{pc} and I_{pa} of the homemade SPCEs are significantly higher than those of the DropSens 110 at a 90 % confidence level (P value 0.1). The average values of cathodic ($I_{pc,av}$) and anodic ($I_{pa,av}$) current peaks of homemade SPCEs are 4.57 ± 0.76 and 3.42 ± 0.27 μA , respectively. These current levels are comparable to those reported by Nicholas et al. [5]. In the work, the SPCEs were evaluated with a lower concentrated ferricyanide (0.5 mM) and used in a fructose detection [5]. The higher values of $I_{pc,av}$ and $I_{pa,av}$ of homemade SPCEs in Table 1 are likely due to the higher surface roughness of homemade SPCEs when compared to the Dropsens 110. It has been reported that electrode roughness has a significant effect on the shape of cyclic voltammogram and peak currents [19]. Thus, the roughness of the homemade SPCEs in this work tends to improve electrochemical reactivities.

However, the homemade SPCEs yielded a lower electron transfer rate with a much larger standard deviation ($\Delta E_p = 300 \pm 120$ mV) than the DropSens 110. A larger variation in performance is commonly expected from homemade products. Nevertheless, the ΔE_p value as low as 170 mV from HSPCE-2 suggests that a good electron transfer rate could be obtained in SPCEs from this facile fabrication. In additions, previous work suggested that SPCEs with ΔE_p as high as 400 mV in a redox probe using $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ can be modified by nanoparticles to improve electron transfer rate for further applications [20, 21].

Table 1. ΔE_p , I_{pc} , I_{pa} , $\Delta E_{p,av}$, $I_{pc,av}$ and $I_{pa,av}$ using homemade and DropSens 110 SPCEs

Sample	ΔE_p (mV)	$\Delta E_{p,av}$ (mV)	I_{pc} (μA)	$I_{pc,av}$ (μA)	I_{pa} (μA)	$I_{pa,av}$ (μA)
HSPCE-1	410		5.389		3.695	
HSPCE-2	170	300 ± 120	3.874	4.57 ± 0.76	3.426	3.42 ± 0.27
HSPCE-3	330		4.46		3.149	
DS110-1	190		3.789		3.184	
DS110-2	200	190 ± 10	3.677	3.71 ± 0.07	3.109	3.11 ± 0.08
DS110-3	180		3.675		3.034	

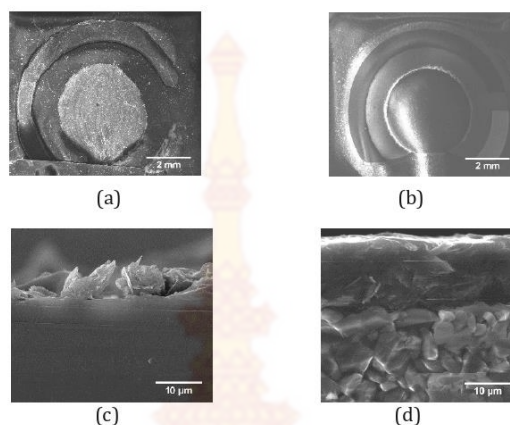


Figure 8. Top view SEM images of the working electrode of (a) homemade SPCE, (b) DropSens 110, and cross-sectional view SEM images of the working electrode of (c) homemade SPCE and (d) DropSens 110.

The reproducibility corresponds to a relative standard deviation of 7% or less [22, 23]. The relative standard deviations of ΔE_{p1} , I_{pC} and I_{pa} of homemade SPCEs are 40, 16.6 and 7.9%, respectively, whereas those of the DropSens 110 are less than 5.3%. The lack of reproducibility in homemade SPCEs is likely due to the non-uniform shape of working electrode as a result of the manual pasting.

The reproducibility of homemade SPCEs fabrication was investigated using SEM. As can be seen in Figure 8 (a), the irregular shape and thickness are observed for homemade SPCEs. The working electrode area was not circular. Such deviations occurred during the filling of carbon ink using a small brush. This result referred to an irregularity of weight and quantity of carbon ink in the fabrication. On the other hand, the shape of the DropSens 110 shown in Figure 8 (b) is circular since this type of electrodes were fabricated with industrial machines. The cross-sections of both electrodes are also investigated. As expected, the thickness of homemade SPCEs in Figures 8 (c) is not uniform. On the other hand, the layer of DropSens 110 exemplified in Figures 8 (d) exhibits much regularity in shape and thickness. The lack of reproducibility of homemade SPCEs lead to a wide variation and shifting in reduction and oxidation peaks as previously observed in Figure 7.

Nevertheless, the fabrication of SPCEs could be improved in the future work. The materials and process proposed in this worked can be incorporated into screen-printing electrochemical architecture [4]. The reproducibility can be increased by using a screen frame with holding mesh screen. In an embedded ensemble stencils design, the movements of the printing media or paste towards the substrate are constant with a flexible and resilient squeegee [24].

5. CONCLUSIONS

In this work, the SPCEs in a three-electrode system are successfully produced and their standard CV characteristics were obtained. The carbon electrodes and conductive tracks on polyester substrates utilised inks and materials with a lower cost than commercial productions. Although the performances of the three samples are significantly varied as a result of manual pasting, the current sensitivity of these homemade electrodes is better than those of commercial electrodes

because of higher surface roughness. Therefore, the prototype can further be developed for a variety of applications.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work is financially supported by Rajamangala University of Technology Srivijaya. The authors would like to thank W. Limbut of Center of Excellence for Trace Analysis and Biosensor, Prince of Songkla University for his guidance and support.

REFERENCES

- [1] G. Ozcelikay, L. Karadurmus, S. I. Kaya, N. K. Bakirhan, and S. A. Ozkan, "A review: New trends in electrode systems for sensitive drug and biomolecule analysis," *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 50, no. 3, pp. 212–225, 2020.
- [2] S. Abdullah, M. Serpelloni, and E. Sardini, "Design of multichannel potentiostat for remote and longtime monitoring of glucose concentration during yeast fermentation," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 91, no. 5, article no. 054104, 2020.
- [3] Y. Cui, "Electronic materials, devices, and signals in electrochemical sensors," *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. 64, no. 6, pp. 2467–2477, 2017.
- [4] C. E. Banks, C. W. Foster, and R. O. Kadara, *Screen-Printing Electrochemical Architectures*, Springer, Cham, Switzerland, 2016.
- [5] P. Nicholas, R. Pittson, and J. P. Hart, "Development of a simple, low cost chronoamperometric assay for fructose based on a commercial graphite-nanoparticle modified screen-printed carbon electrode," *Food Chem.*, vol. 241, pp. 122–126, 2018.
- [6] G. Ruiz-Vega, K. Arias-Alpizar, E. de la Serna, L. N. Borgheti-Cardoso, E. Sulleiro, I. Molina, X. Fernández-Busquets, A. Sánchez-Montalvá, F. J. Del Campo, and E. Baldrich "Electrochemical POC device for fast malaria quantitative diagnosis in whole blood by using magnetic beads, poly-HRP and microfluidic paper electrodes," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 150, article no. 111925, 2020.
- [7] M. Manzano, S. Viezzi, S. Mazerat, R. S. Marks, and J. Vidic, "Rapid and label-free electrochemical DNA biosensor for detecting hepatitis A virus," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 100, pp. 89–95, 2018.
- [8] L. A. Layqah, and S. Eissa, "An electrochemical immunosensor for the corona virus associated with the Middle East respiratory syndrome using an array of gold nanoparticle-modified carbon electrodes," *Microchim. Acta*, vol. 186, article no. 224, 2019.
- [9] S. Mavrikou, G. Moschopoulou, V. Tsekouras, and S. Kintzios, "Development of a portable, ultra-rapid and ultra-sensitive cell-based biosensor for the direct detection of the SARS-CoV-2 S1 spike protein antigen," *Sensors*, vol. 20, no. 11, article no. 3121, 2020.
- [10] A. Morrin, A. J. Killard, and M. R. Smyth, "Electrochemical characterization of commercial and home-made screen-printed carbon electrodes," *Anal. Lett.*, vol. 36, no. 9, pp. 2021–2039, 2003.
- [11] S. Hannah, M. Al-Hatmi, L. Gray, and D. K. Corrigan, "Low-cost, thin-film, mass-manufacturable carbon electrodes for detection of the neurotransmitter dopamine," *Bioelectrochemistry*, vol. 133, article no. 107480, 2020.
- [12] G. Chen, "Application of carbon based material for the electrochemical detection of heavy metal ions in water environment," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 15, pp. 4252–4263, 2020.
- [13] A. Sanati, M. Jalali, K. Raeissi, F. Karimzadeh, M. Kharaziha, S. S. Mahshid, and S. Mahshid "A review on recent advancements in electrochemical biosensing using carbonaceous nanomaterials," *Microchim. Acta*, vol. 186, article no. 773, 2019.
- [14] Z. Lin, G. Wu, L. Zhao, and K. W. C. Lai, "Carbon nanomaterial-based biosensors: A review of design and applications," *IEEE Nanotechnol. Mag.*, vol. 13, no. 5, pp. 4–14, 2019.

- [15] R. O. Kadara, N. Jenkinson, and C. E. Banks, "Characterisation of commercially available electrochemical sensing platforms," *Sens. Actuat. B Chem.*, vol. 138, no. 2, pp. 556–562, 2009.
- [16] P. Fanjul-Bolado, D. Hernández-Santos, P. J. Lamas-Ardisana, A. Martín-Pernía, and A. Costa-García, "Electrochemical characterization of screen-printed and conventional carbon paste electrodes," *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 10, pp. 3635–3642, 2008.
- [17] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, and J. L. Dempsey, "A practical beginner's guide to cyclic voltammetry," *J. Chem. Educ.*, vol. 95, no. 2, pp. 197–206, 2018.
- [18] M. C. C. G. Carneiro, F. T. C. Moreira, R. A. F. Dutra, R. Fernandes, and M. G. F. Sales, "Homemade 3-carbon electrode system for electrochemical sensing: Application to microRNA detection," *Microchem. J.*, vol. 138, pp. 35–44, 2018.
- [19] D. Menshykau, I. Streeter and R. G. Compton (2008). Influence of Electrode Roughness on Cyclic Voltammetry. *J. Phys. Chem. C* 2008, 112, 14428–14438.
- [20] S. Cinti, F. Arduini, M. Carbone, L. Sansone, I. Cacciotti, D. Moscone, and G. Palleschi, "Screen-printed electrodes modified with carbon nanomaterials: A comparison among carbon black, carbon nanotubes and graphene," *Electroanalysis*, vol. 27, no. 9, pp. 2230–2238, 2015.
- [21] S. Cinti, V. Mazzaracchio, I. Cacciotti, D. Moscone, and F. Arduini, "Carbon black-modified electrodes screen-printed onto paper towel, waxed paper and parafilm M®," *Sensors*, vol. 17, no. 10, article no. 2267, 2017.
- [22] R. A. Hassan, L. Y. Heng, and L. L. Tan, "Novel DNA biosensor for direct determination of carrageenan," *Sci. Rep.*, vol. 9, article no. 6379, 2019.
- [23] R. Jirakunakorn, S. Khumngern, J. Choosang, P. Thavarungkul, P. Kanatharana, and A. Numnuam, "Uric acid enzyme biosensor based on a screen-printed electrode coated with Prussian blue and modified with chitosan-graphene composite cryogel," *Microchem. J.*, vol. 154, article no. 104624, 2020.
- [24] S. Kongkaew, P. Kanatharana, P. Thavarungkul, and W. Limbut, "Studying the preparation, electrochemical performance testing, comparison and application of a cost-effective flexible graphene working electrode," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 583, pp. 487–498, 2021.

บทความวิชาการ นำเสนอและตีพิมพ์ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

The 5th International Conference on Smart Materials and Nanotechnology (SmartMat@2020)
1st-4th December 2020, Nongnooch Garden, Pattaya, Thailand



Surface Characterizations of Highly Sensitive Screen-Printed Electrodes Produced by Carbon Ink Pasting

Pharunee Sarnphim^{1*}, Kosin Teeparuksapun¹, Supranee Wunsri¹ and Chitnarong Sirisathitkul²

¹Department of General Education, Faculty of Liberal Arts, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Songkhla, Thailand

²Division of Physics, School of Science, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand

*email: pharunee.r@rmutsv.ac.th

Abstract Screen-printed electrodes were fabricated by pasting carbon ink on a stencil mask manually. These homemade electrodes were designed to resemble the commercial “DropSens 110” with the working carbon electrode of 4 mm in diameter. Electrochemical behaviors were investigated by the cyclic voltammetry (CV) of ferricyanide. The current peak was improved by 1.18 times suggesting that the sensitivity of the homemade electrodes was better than that of the commercial electrode. From the surface characterization of electrodes, X-ray diffractometry (XRD) peaks showed a graphite structure consistent with the energy dispersive spectroscopy (EDS). In additions, morphology and thickness of working electrode were examined with scanning electron microscopy (SEM). The homemade working electrode was not uniform and thinner than the commercial working electrode. It was observed that the homemade working electrode exhibited a higher surface roughness. This surface roughness likely affected the sensitivity of the carbon screen-printed electrodes.

Keywords: Screen-printed carbon electrode, cyclic voltammetry, electrochemical, XRD, SEM

Introduction

In biosensor applications, screen-printed electrodes (SPEs) have advantages over traditional electrodes in terms of cost, solution volume, as well as room temperature and point-of-care operating. Conductive carbon inks have been used in SPEs because of their low-cost and accuracy. Importantly, it can be used for a disposable blood glucose detectors for diabetes. Besides, several other detections including dopamine [1] and heavy metals in environments [2] have been achieved.

Performance of screen-printed carbon electrodes (SPCEs) depends on electrode patterns, kind of electrodes materials and microstructure. Electrode roughness has a significant effect on the shape of cyclic voltammograms (CV) and peak currents [3]. Carbon inks are composed of graphite particles, polymer binder and other additives to improve the ink’s adhesion on plastic or ceramic substrates. Different carbon pastes affect the surface roughness.

This research aims to investigate the sensitivity of homemade SPCEs prepared by manual pasting. The electrode pattern was designed to resemble that of the commercial DropSens 110 SPCE. The sensing characteristics were examined by the CV measurement. The results confirm the influence of surface roughness of working electrodes effect on the electrochemical sensitivity of SPCEs.

Experimental

Carbon graphite paste (C2130925D1) and silver/silver-chloride (Ag/AgCl) paste (C2090225P7) in this work were purchased from Gwent Electronic Materials whereas potassium ferricyanide ($K_3Fe(CN)_6$) and potassium chloride (KCl) were used as received from Sigma-Aldrich. A polyester sheet obtained from an online supplier is 0.35 mm thick.

To fabricate homemade SPCEs for this work, the mask was designed for working, reference and counter electrodes. It was cut and then placed on a $10 \times 30 \text{ mm}^2$ piece of polyester substrate. The ink was pasted by small brushes. Firstly, the Ag/AgCl ink (C2090225P7) was applied on the reference electrode track and then dried. The carbon ink (C2130925D1) was then applied in the counter and working electrodes as well as all conductive tracks before drying in an oven at $60 \text{ }^\circ\text{C}$ for 30 min. After the curing, the mask was removed, a protective layer was applied by sticky tape to insulate the conductive tracks from three electrodes. Then, the electrodes were rinsed with DI water and then dried at room temperature.

CV was performed by potentiostat (910 PSTAT; Metrohm Autolab). A $200 \text{ }\mu\text{l}$ aliquot of 0.5 mM ferricyanide, in 0.1 M phosphate buffer pH 7.5 containing 0.1 M potassium chloride, was dropped onto the surface of the SPCEs. The initial and final conditions were +0.8 V. The switching potential was -0.3 V with scan rate of 10 mV s^{-1} . The potential was held at +0.8 V for 10 s before the initial cycle.

The surface and elemental composition of working electrodes were respectively examined by scanning electron microscopy (SEM; Quanta 400 FEI) and energy dispersive spectroscopy (EDS). The X-ray diffractometry (XRD; Rigaku Oxford Diffraction) was employed to characterize the crystal structure of the working electrode.

Result and Discussion

Photograph of the commercial DropSens 110 and homemade SPCEs are shown in Figure 1. Both types of electrode have a 4 mm diameter carbon working electrode with a carbon counter electrode. The reference electrode of the homemade one replaces the Ag in the commercial SPCE with the stable Ag/AgCl. The conducting parts of the homemade SPCE are carbon with a lower cost than Ag used in the commercial SPCEs. The sticky tape is employed to insulate electrodes of the homemade SPCE, making it cost-effective compared to the commercial SPCEs.

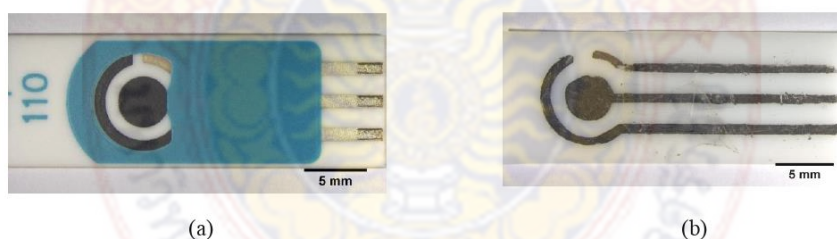


Figure 1. Photographs comparing (a) DropSens 110 and (b) homemade SPCEs.

The cross-sectional surface and element of composition of the working electrodes are shown in Figure. 2 and Figure. 3. Figures. 2 (a) and (b) show respectively the cross-sectional SEM images and EDS element mapping of DropSens 110. The DropSens 110 surface exhibits uniform morphology. The element mapping confirms as the majority of carbon (C) on the top of working electrode. According to Figure. 2(c) the lower layer mostly contains aluminum (Al) and oxygen (O) corresponding to the alumina ceramic substrate.

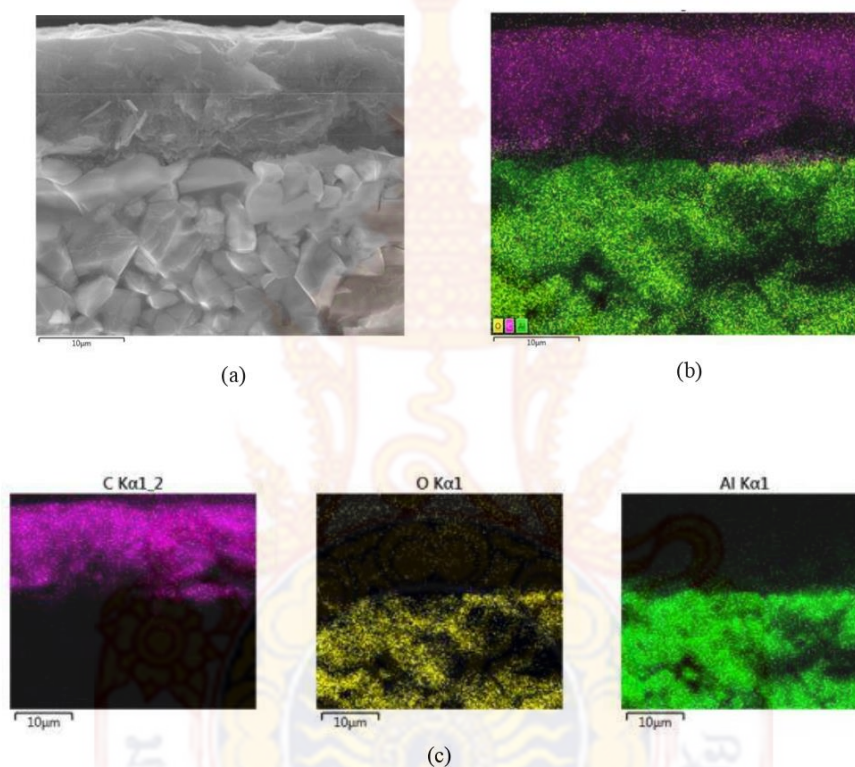


Figure 2. Cross-sectional SEM images (a), EDS element mapping (b) and elemental distribution of C, O, Al (c) of DropSens 110.

The cross-sectional SEM images and EDS element mapping of the homemade SPCEs are shown in Figures. 3 (a) and (b), respectively. The surface of homemade SPCE is non-uniform and thinner than the commercial working electrode. The elemental mapping shows the majority of carbon (C) on the top of the working electrode. As shown in Figure. 3(c), the lower layer is composed of carbon (C) and oxygen (O) corresponding to the polyester substrate. XRD diffraction of the both working electrodes confirmed the carbon element. From the XRD patterns in Figure. 4, both samples exhibit the peak at $2\theta = 26.6^\circ$ corresponding to the 200 plane of graphite [4].

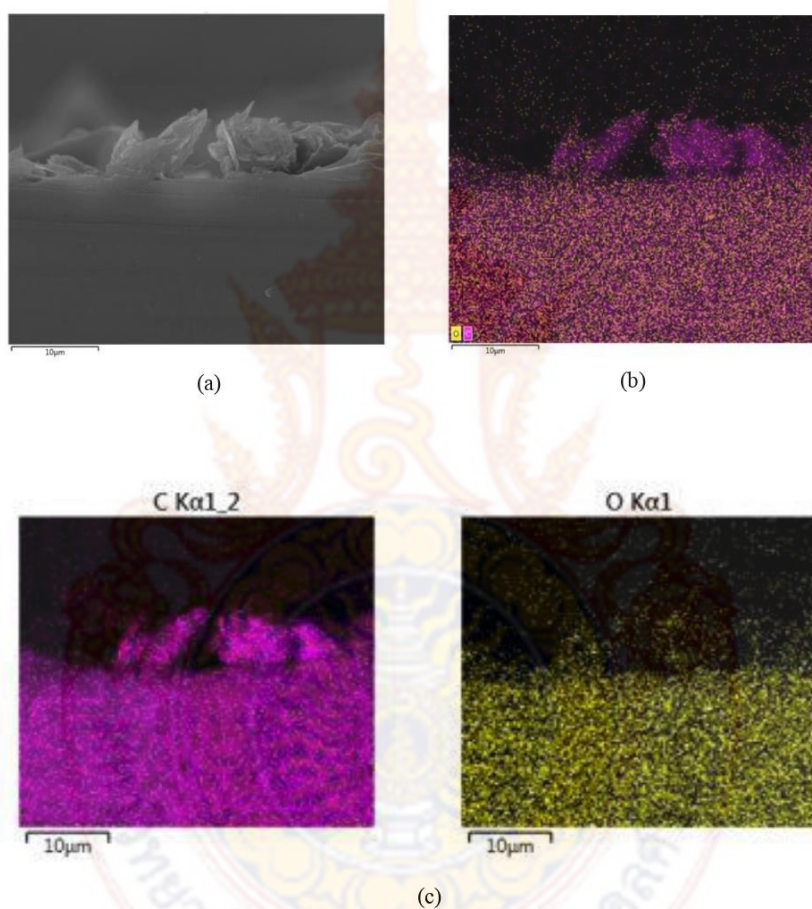


Figure 3. Cross-sectional SEM images (a), EDS element mapping (b) and elemental distribution of C, O (c) of homemade SPCE.

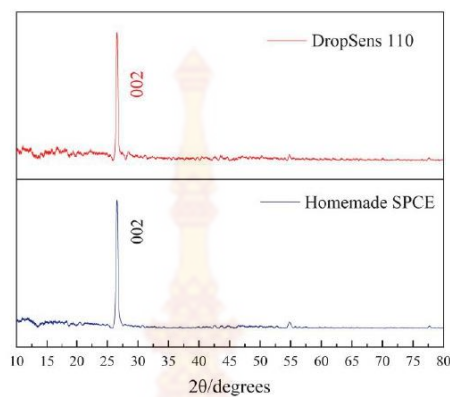


Figure 4. XRD patterns of DropSens 110 and homemade SPCE.

Initially, the homemade SPCEs were pretreated to obtain repeatable electrochemical signals. From the pre-treatment, the CV using homemade SPCE is uniform in shape [5], and has high peak currents. The peak to peak is lower when more CV was repeated between 10 to 30 cycles.

The performance of homemade SPCE and commercial SPCE interrogated by CV was analyzed in terms of anodic peak (I_{pa}) averaged from three samples. The I_{pa} peaks are $2.912 \pm 0.158 \mu\text{A}$ for DropSens 110 and $3.425 \pm 0.391 \mu\text{A}$ for homemade SPCE. The anodic peaks of the homemade SPCEs are significantly higher than those of commercial SPCEs at a 90% confidence level (P value 0.1) suggesting that the sensitivity of the homemade electrodes was better than that of the commercial electrode. Examples of CV are compared in Figure 5.

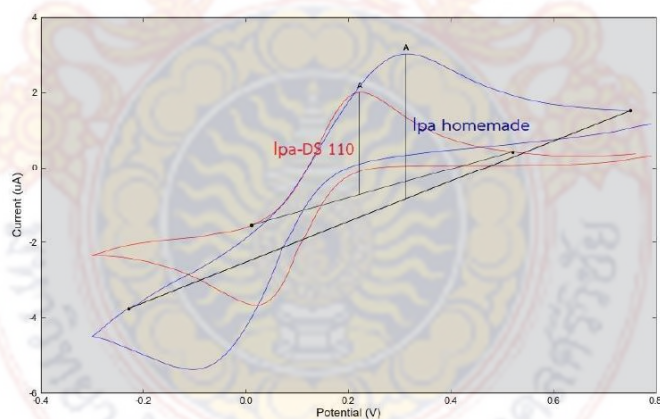


Figure 5. CV of the homemade and DropSens 110 SPCEs in ferri/ferrocyanide.

Although, the conductive tracks of the homemade SPCE are made by carbon of a lower conductivity, the sensitivity of the homemade electrodes is still better than of the commercial electrode. The I_{pa} in the case of homemade SPCE is higher due to a higher surface roughness of homemade SPCEs than that of DropSens 110 as compared between Figure. 2 (a) and 3 (a). It has been reported that electrode roughness has a significant effect on the shape of CV and peak currents [3]. A working electrode roughness enhances electro-active areas and influences the current peak according to the Randles-Sevcik equation [6, 7]. Thus, the roughness of the homemade SPCEs in this work tends to improve the sensitivity to electrochemical reactivities.

Conclusions

In this work, a three-electrode system of the SPCE is successfully produced by manual pasting of carbon ink and its standard CV characteristics are obtained. The carbon electrodes and conductive tracks on polyester substrates employed inks and materials with a lower cost than commercial products. The current sensitivity of this homemade electrodes is better than those of the commercial electrodes because of a higher surface roughness. Therefore, the prototype can further be developed for a variety of applications.

Acknowledgment

This work is financially supported by Rajamangala University of Technology Srivijaya. The authors would like to thank Functional Materials & Nanotechnology Center of Excellence-FunTech Walailak University for the access to the XRD facility.

References

- [1] S. Hannah, M. Al-Hatmi, L. Gray, and D. K. Corrigan, "Low-cost, thin-film, mass-manufacturable carbon electrodes for detection of the neurotransmitter dopamine," *Bioelectrochemistry*, vol. 133, article no. 107480, 2020.
- [2] G. Chen, X. Wang, and L. Wang, "Application of carbon based material for the electrochemical detection of heavy metal ions in water environment," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 15, pp. 4252–4263, 2020.
- [3] D. Menshkykau, I. Streeter, and R. G. Compton, "Influence of electrode roughness on cyclic voltammetry," *J. Phys. Chem. C*, vol. 112, no. 37, pp. 14428–14438, 2008.
- [4] A. A. B. Madushani, P. Kumarasinghe, G. R. A. Kumara, and L. R. A. K. Bandara, "Fabrication of floated graphite / graphene based composite counter electrode for dye-sensitized solar cell," *Int. Res. J. Eng. Technol.*, vol. 7, no. 4, pp. 2824–2829, 2020.
- [5] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, and J. L. Dempsey, "A practical beginner's guide to cyclic voltammetry," *J. Chem. Educ.*, vol. 95, no. 2, pp. 197–206, 2018.
- [6] P. Fanjul-Bolado, D. Hernández-Santos, P. J. Lamas-Ardisana, A. Martín-Pernía, and A. Costa-García, "Electrochemical characterization of screen-printed and conventional carbon paste electrodes," *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 10, pp. 3635–3642, 2008.
- [7] I. M. Apetrei and C. Apetrei, "Study of different carbonaceous materials as modifiers of screen-printed electrodes for detection of catecholamines," *IEEE Sens. J.*, vol. 15, no. 6, pp. 3094–3101, 2015.

ภาคผนวก ง

ผลการตรวจสอบปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในน้ำผึ้งชันโรง ด้วยเทคนิค HPLC



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.

สาขาสงขลา : 9/116 ถนนกาญจนาภิเษย์ ตำบลหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110 ประเทศไทย
Songkhla Branch - 9/116 Kanchananawich Rd., Hat Yai, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand
Tel : (66) 74 558871-3, (66) 74 558901 Fax : (66) 74 558870
http://www.centallabthai.com

Central Lab
One Stop First Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 27 กรกฎาคม 2564

เลขที่รายงาน TRSK64/19094

หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า นางสาวารุณี แซ่มพิมพ์
(ข้อมูลจากลูกค้า) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลา

รายละเอียดตัวอย่าง น้ำผึ้งชันโรง
(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง SK64/06130-001

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : น้ำผึ้งชันโรง
ภาชนะบรรจุ : หลอดพลาสติก
จำนวน : 1 หลอด น้ำหนัก/ปริมาตร 100 กรัม
อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง สภาพตัวอย่างปกติขณะรับ

วันที่รับตัวอย่าง 12 กรกฎาคม 2564

วันที่ทดสอบ 13 กรกฎาคม 2564 - 27 กรกฎาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Total sugar (HPLC)				In-house method TE-CH-164 based on AOAC (2019) 977.20
Total suger	68.46	g/100g	-	
Fructose	13.17	g/100g	-	
Glucose	24.45	g/100g	-	
Sucrose	Not Detected	g/100g	0.30	
Maltose	20.84	g/100g	-	
Lactose	Not Detected	g/100g	0.30	

~End of Report~



(นางชอริณ กาลิหมิน)
ผู้อำนวยการ
บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสงขลา

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพื่อบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ
FM-QP-24-01-001-R05(04/12/63)P1/1-SK



ผลการตรวจสอบปริมาณน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ในลีนจืดยาคำ ด้วยเทคนิค HPLC



บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd.

สาขาสงขลา : 9/116 ถนนกาญจนาภิเษย์ ตำบลหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110 ประเทศไทย

Songkhla Branch : 9/116 Kanchanawach Rd., Hat Yai, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand

Tel : (66) 74 558871-3, (66) 74 558901 Fax : (66) 74 558870

http://www.centrallabthai.com

Central Lab
One Stop & Fast Services

รายงานผลการทดสอบ

วันที่ออกรายงาน 27 กรกฎาคม 2564

เลขที่รายงาน TRSK64/19095

หน้า 01/01

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า นางสาวารุณีย์ สามพิมพ์

(ข้อมูลจากลูกค้า) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลา

รายละเอียดตัวอย่าง น้ำลีนจืด 98%

(ข้อมูลจากลูกค้า)

รหัสตัวอย่าง SK64/06130-002

ลักษณะและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : น้ำลีนจืด

ภาชนะบรรจุ : ถังกรองกระดาษ

จำนวน : 1 ถัง น้ำหนักปริมาตร 200 มิลลิลิตร

อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง สภาพตัวอย่างปกติขณะรับ

วันที่รับตัวอย่าง 12 กรกฎาคม 2564

วันที่ทดสอบ 13 กรกฎาคม 2564 - 27 กรกฎาคม 2564

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Total sugar (HPLC)				In-house method TE-CH-164 based on AOAC (2019) 977.20
Total suger	13.09	g/100g	-	
Fructose	3.99	g/100g	-	
Glucose	3.48	g/100g	-	
Sucrose	Not Detected	g/100g	-	
Maltose	5.62	g/100g	-	
Lactose	Not Detected	g/100g	-	

~End of Report~



(นางชอรรณี คาลิหมิน)

ผู้มีอำนาจลงนาม

บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสงขลา

CERTIFIED

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น

รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นที่แจ้งฉบับ

FM-QP-24-01-001-R05(04/12/63)P1/1-SK



ภาคผนวก จ

ผลการตรวจสอบปริมาณวิตามินซีในน้ำลิ้นจี่ดอยคำ ด้วยเทคนิค In-house method TE-CH-177 based on Bull Dept. Med. Sci. 1998; 40(3): 347-357

	บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด Central Laboratory (Thailand) Co., Ltd. สาขาสงขลา : 9/116 ถนนกาญจนาภิเษย์ ตำบลหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110 ประเทศไทย Songkhla Branch : 9/116 Kanchanawich Rd., Hat Yai, Hat Yai, Songkhla 90110, Thailand Tel : (66) 74 558971-3, (66) 74 558901 Fax : (66) 74 558870 http://www.centralabthai.com			Central Lab One Stop & Fast Services Accreditation No. 108549
รายงานผลการทดสอบ				
วันที่ออกรายงาน	22 กรกฎาคม 2564			
เลขที่รายงาน	TRSK64/18936			
หน้า	01/01			
ชื่อและที่อยู่ลูกค้า (ข้อมูลจากลูกค้า)	นางสาวารุณี แซ่มพิมพ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สงขลา			
รายละเอียดตัวอย่าง (ข้อมูลจากลูกค้า)	น้ำลิ้นจี่ 98%			
รหัสตัวอย่าง	SK64/06122-001			
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : น้ำลิ้นจี่ ภาชนะบรรจุ : กลองกระดาษ จำนวน : 1 กลอง น้ำหนัก/ปริมาตร 200 มิลลิลิตร อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง สภาพตัวอย่างปกติขณะรับ			
วันที่รับตัวอย่าง	09 กรกฎาคม 2564			
วันที่ทดสอบ	20 กรกฎาคม 2564 - 21 กรกฎาคม 2564			
ผลการทดสอบ				
รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Vitamin C (Ascorbic acid)	109.98	mg/100g	0.05	In-house method TE-CH-177 based on Bull. Dept. Med. Sci. 1998; 40(3); 347-357
~End of Report~				
 (นางสาวอรุณี แซ่มพิมพ์) ผู้อำนวยการ บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสงขลา CERTIFIED				
รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น รายงานผลการทดสอบต้องไม่ถูกทำสำเนาเฉพาะเพียงบางส่วน โดยไม่ได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากห้องปฏิบัติการ ยกเว้นทำทั้งฉบับ FM-QP-24-01-001-R05(04/12/63)P1/1-SK				
				