



## The Biosensor Development for Determination of Glucose in Blood Sample

Nanthiyakon Wiengseema<sup>1</sup>, Anchana Preechaworapun<sup>2</sup> and TaninTangkuaram<sup>\*</sup>

<sup>1</sup>Chemistry Program, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000, Thailand

<sup>3</sup>Nanoscience and Nanotechnology Research Laboratory, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

\*e-mail: tanin@mju.ac.th

**Abstract:** The biosensor development for determination of glucose was described. A carbon paste electrode was modified with copper hexacyanoferrate (CuHCF), chitosan (CHIT), carbon nanotube (CNT) and glucose oxidase (GOx)(CPE/CuHCF-CHIT-CNT/GOx). The electrocatalytic reaction of the CPE/CuHCF-CHIT-CNT/GOx catalyzed the glucose to gluconolactone and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and it was changed to water by the CuHCF at the electrode surface. The electroanalytical techniques such as cyclic voltammetric and amperometric were selected to detect such biocatalytic reaction. The analytical parameter of the modified electrode at 0.65 V showed that the suitable parameters of GOx, CHIT, CuHCF, and CNT were 9, 4, 8 and 4 mg, respectively. The figure of merit exhibited a linear range of 1  $\mu$ M to 20 mM glucose ( $R^2 = 0.9881$ ). The modified electrode is good stability and sensitivity for glucose determination.

**Keywords:** glucose biosensor, carbon nanotube, copper hexacyanoferrate, chitosan

### 1. Introduction

Glucose is a type of sugar that is vital to the metabolic processes of the body metabolism. A shortage or excess body of the glucose [1] because the abnormal cells resulting in various diseases such as diabetes diseases, impaired by a lack of glucose. (hypoglycemia). The addition of glucose as eruptions of energy cells can compensate for the lack of nutrients. Glucose residues can be found in the blood and cause a lot of the above diseases [2]. Glucose determination mainly achieved by using advanced tools such as gas chromatography, however, analyzed cost is quite high, slow and has low sensitivity. In this research, we aimed to develop a glucose biosensor based on immobilized glucose oxidase (GOx) on the carbon paste electrode. The assisted electrochemical materials such as carbon nanotubes (CNT), chitosan (CHIT) and copper hexacyanoferrate (CuHCF) were mixed for improvement the sensitivity and detection limit.

### 2. Materials and Methods

#### 2.1 Materials

Deionized water was produced from the Nano-Lab water system. Potassium dihydrogenphosphate, multi-walled carbon nanotube (CNT), copper (II) nitrate, disodium hydrogenphosphate, D-glucose, acetonitrile, hydrogen peroxide, glucose oxidase, were purchased from Sigma (USA). All reagents used in this work were used without further purification.

#### 2.2 Apparatus

The cyclic voltammetric and amperometric experiments were conducted using a potentiostat (DigiIVY DY2000, USA). A three electrode; platinum wire, Ag/AgCl (3 M KCl) and carbon paste (3 mm diameter) were used to be counter, reference and working electrode, respectively. The electrochemical measurement investigate in a 4 mL consisted three electrode system.

#### 2.3 The preparation of carbon paste

Copper hexacyanoferrate (CuHCF) was synthesized by bring the 25 mL of 0.2 mM Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> into the 25 mL of 0.1 mM K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>. The mixed solution changed to precipitate with a dark brown color. The precipitant was filtrated and dried to received the CuHCF and ready to use.

The GOx/CuHCF/CHIT/CNT/CPE was prepared by mixing the GOx, CuHCF, CHIT, CNT, graphite and mineral oil in the ratio of 9:8:4:4:35:5 mg, respectively. The mixed paste were compress to the 3-mm inner diameter home-made electrode. Finally, the fine surface of the carbon paste electrode were accomplished by the oil removing film. The GOx/CuHCF/CHIT/CNT/CPE was ready to use.

#### 2.2 Electrochemical measurement

The electrochemical system was operated in the solution of 0.1M phosphate buffer pH 7.4. The cyclic voltammetric was cycling in the voltage range of -0.4 to 1.0V and in the quiescent solution. For the amperometric system, the working potential was fixed at the optimum potential in the stir solution.



### 3. Results and Discussion

#### 3.1 Cyclic voltammogram of modified electrodes

Figure 1 shows the cyclic voltammograms of the electrodes with different modifications in a solution of a) 0 mM and b) 5 mM glucose. The bare CPE showed no any current (figure 1A, a and b) from  $H_2O_2$  produced from the glucose since there are no GOx on the electrode. However, with the GOx, the oxidative current of  $H_2O_2$  is steeply increased at 0.95 V with 5 mM glucose (figure 1B-D). With the CuHCF doped in the modified electrode, it shows oxidative and reductive peaks at 0.78 and 0.65 V (figure 1E and F), respectively. The current is oxidative dominant with 5 mM glucose for figure 1E and F. The GOx was doped in figure 1F showed the oxidative current lower than without GOx. However, the background current of the CPE/CNT-CHIT-CuHCF-Gox (figure 1F) is lower than CPE/CNT-CHIT-CuHCF. The lower background, the good limit of detection will be obtained.

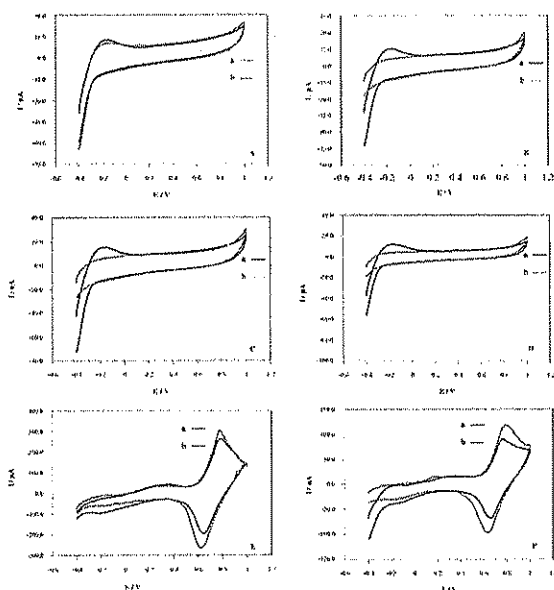


Figure 1. Cyclic voltammograms of A.) CPE, B.) CPE/GOx, C) CPE/CNT, D) CPE/CNT/GOx, E) CPE/CNT-CHIT-CuHCF, and F) CPE/CNT-CHIT-CuHCF/GOx, in a) 0 mM and b) 5 mM glucose. Condition; PBS 0.1 M, pH 7.4 as supporting electrolyte; scan rate of  $0.1 \text{ V s}^{-1}$ .

#### 3.2 Optimization

Figure 2 showed optimized parameters on the CPE/CNT-CHIT-CuHCF/GOx. The applied potential was the first optimized parameter that effect on the obtained  $H_2O_2$  oxidative current (figure 2A). It showed that the current was nearly zero at 0.10 to 0.45 V. The current immediately increased at the potential 0.55 V and reached the maximum at 0.65 V and it was

selected for applied potential. The current from 0.75 – 0.90 V were stable.

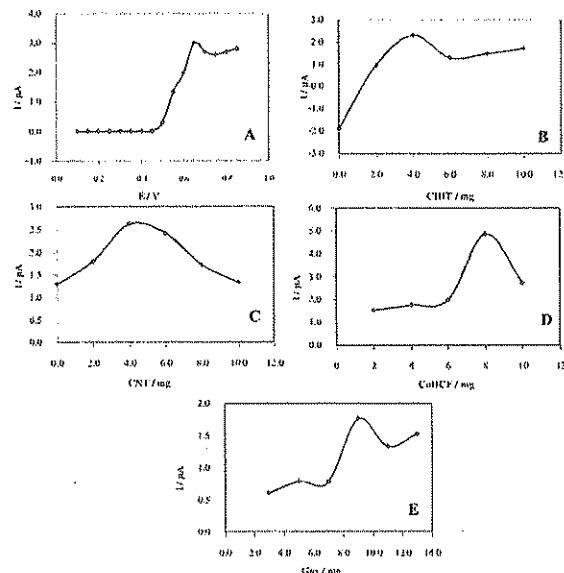


Figure 2 The optimization parameters on the amperometric response of spiked 1 mM glucose at the CPE/CNT-CHIT-CuHCF/GOx. A) applied potential, B) glucose amount, C) CHIT amount, D) CNT amount and E) the CuHCF content.

The effect of CHIT was showed in figure 2B. The current reach a maximum quickly at 5.0 mg of CHIT and selected for the further experiment. At the CHIT content over 5.0 mg, the current quite lower than that one.

For the effect of CNT was in figure 2C, the current steeply increase from 0.0 mg CNT, and reach the maximum at 4 mg. The current at 5.0 mg CNT and more, the current is lower and lower. The 4.0 mg CNT was selected for the next experiment.

The effect of CuHCF was showed in figure 2D. The current at CuHCF from 2 - 6 mg is stable and about  $2 \mu\text{A}$ . The current is the highest at 8 mg and lower at 10 mg. The amount of CuHCF was selected at 8 mg for further experiments.

The amount of GOx loading was showed in figure 2E. At 3 - 5 mg of GOx, the current showed quite small since a little GOx that is not significant to catalyzed glucose to  $H_2O_2$ . When the GOx is at 9 mg, the current was the highest and selected for the further experiments. The GOx is more, the current is stable like plateau.



### 3.3 Figure of merits

The selected parameters from section 3.2 were brought for the linearity. This biosensor showed linearity in the range of 1  $\mu$ M to 20 mM glucose ( $y = 1.5576x + 0.2003$ ,  $R^2 = 0.9881$ ) (figure 3.3). The detection limit was calculated and found to be 0.7 mM.

using copper hexacyanoferrate-carbon nanotube modified carbon paste electrode. *Talanta* 2010;81(4-5):1793-9.

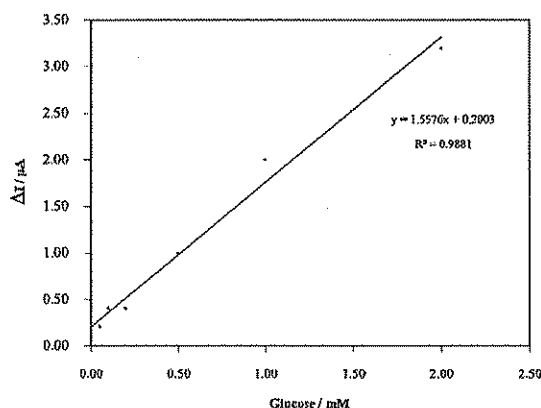


Figure 3 Linearity of the CPE/CuHCF-CHIT-CNT/GOx.

### 4. Conclusion

The glucose biosensors based on CPE/CuHCF-CHIT-CNT/GOx was successfully developed. This biosensor will be applied for glucose determination in real blood samples in the near future.

### Acknowledgements

This project was supported by the Thailand Research Fund (TRF) and partial financial support by the Faculty of Science, Maejo University.

### References

- [1] Chen H-J, Zhang Z-H, Luo L-J, Yao S-Z. Surface-imprinted chitosan-coated magnetic nanoparticles modified multi-walled carbon nanotubes biosensor for detection of bovine serum albumin. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2012;163(1):76-83.
- [2] El-Desoky HS, Ghoneim MM. Stripping voltammetric determination of silymarin in formulations and human blood utilizing bare and modified carbon paste electrodes. *Talanta* 2011;84(1):223-34.
- [3] Monošík R, Stredánský M, Greif G, Šturdík E. A rapid method for determination of l-lactic acid in real samples by amperometric biosensor utilizing nanocomposite. *Food Control* 2012;23(1):238-44.
- [4] Alamo LST, Tangkuaram T, Satienperakul S. Determination of sulfite by pervaporation-flow injection with amperometric detection



ที่ ศธ.5808 /สรป./ 244

สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี  
49 ซ.เทียนทะเล 25 ถ.บางขุนเทียน-ชายทะเล  
แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กทม. 10150

16 สิงหาคม 2556

เรื่อง ขอเรียนเชิญเข้าร่วมงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ (ภูมิภาคอาเซียน) ครั้งที่ 2  
ASEAN Plus 2013: The 2nd Regional Symposium on Biosensors, Biodiagnostics and Biochips

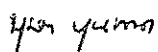
เรียน ท่านผู้ทรงคุณวุฒิ

ด้วยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีร่วมกับมหาวิทยาลัยมหิดล มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ดำเนินการจัดโครงการประชุมวิชาการระดับนานาชาติทางวิทยาศาสตร์ (ภูมิภาคอาเซียน) ในหัวข้อ ASEAN Plus 2013: The regional symposium on Biosensors, Biodiagnostics and Biochips โดยกำหนดจัดขึ้นระหว่าง 11-13 ธันวาคม 2556 ณ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมให้เกิดการเผยแพร่ผลงานวิจัยสู่การนำไปใช้ประโยชน์ต่อสาธารณะ รวมทั้งเป็นเวทีในการแลกเปลี่ยนความคิดเห็นของนักวิชาการ อาจารย์ นักศึกษาจากสถาบันต่างๆ อันจะนำไปสู่การสร้างสรรค์ผลงานทางวิชาการที่มีคุณค่าต่อประเทศชาติ รวมถึงความสัมพันธ์อันดีต่อประเทศเพื่อนบ้าน

คณะผู้จัดการประชุมวิชาการ ใคร่ขอเรียนเชิญบุคลากรที่มีความสนใจ หรือผู้มีผลงานวิจัย เข้าร่วมประชุมและนำเสนอผลงานทางวิชาการดังกล่าว พร้อมทั้งขอความอนุเคราะห์ประชาสัมพันธ์งานสัมมนาไปยังผู้สนใจ ทั้งนี้ผู้เข้าร่วมฝึกอบรมที่ได้รับอนุมัติการเข้าร่วมจากผู้บังคับบัญชาจะไม่ถือเป็นวันลา และสามารถเบิกค่าใช้จ่ายจาก ต้นสังกัดได้ตามหนังสือของกระทรวงการคลังที่ กค 0409.6/ว.122 ลงวันที่ 27 ธันวาคม 2545 สำหรับพนักงานรัฐวิสาหกิจและองค์การบริหารส่วนท้องถิ่นสามารถเบิกค่าใช้จ่ายจากต้นสังกัดได้ตามระเบียบของแต่ละหน่วยงาน

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณาเข้าร่วมโครงการ ซึ่งจะยังประโยชน์ให้เกิดการพัฒนาเทคโนโลยี รวมถึงเพิ่มศักยภาพในการปฏิบัติงานในลำดับต่อไป

ขอแสดงความนับถือ



(นางบุษยา บุญนาค)

ผู้อำนวยการ

สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

สามารถติดตามรายละเอียดการประชุมวิชาการ ฯ ได้ที่ <http://www.aseanplus2013.com/>

ติดต่อสอบถามข้อมูลเพิ่มเติม

ฝ่ายบริการวิชาการ: ยมิษฐา ดาวเด่น โทร. 02-470-7452

เลขงานประชุม AseanPlus2013: เบญจพร เลิศอนันตวงศ์ โทร. 02-470-7475, 02-470-7561