



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กทรอนิกส์อย่างคุ้มค่าและมี
ประสิทธิผลต่อการผลิตด้วยการใช้โลหะผสมโคบอลต์-เหล็กบนตัวรองรับกราฟีนที่
พิมพ์ได้บนใบโอเซนเซอร์กระดาษสำหรับการตรวจวัดขั้นสูงของสารไฮโดรเจนเปอร์
ออกไซด์ในของเหลวภายในร่างกาย

โดย

นางสาวเมทินี จรยยาสุภาพ

13 กุมภาพันธ์ 2562

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนอย่างคุ้มค่าและมี
ประสิทธิผลต่อการผลิตด้วยการใช้โลหะผสมโคบอลต์-เหล็กบนตัวรองรับกราฟีนที่พิมพ์ได้
บนไบโอเซนเซอร์กระดาษสำหรับการตรวจวัดขั้นสูงของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ใน
ของเหลวภายในร่างกาย

Enhancement of direct electron transfer by cost-effective bimetal: cobalt/ iron
catalysts on printable graphene paper based biosensors for ultra-highly sensitive
 H_2O_2 detection in human body fluids

นางสาว เมทินี จรยาสุภาพ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

สารบัญ

บทคัดย่อ.....	3
Abstract	5
Executive summary	7
วัตถุประสงค์	9
วิธีทดลอง	9
ผลการทดลอง	10
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง และข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต.....	24
บรรณานุกรม	24
ภาคผนวก.....	25
Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.	25
เอกสารแนบ 1	26
เอกสารแนบ 2	271
รายงานสรุปการเงิน.....	282

สารบัญรูปและตาราง

Figure 1. Graphical abstract of CoFe-NG catalyst for glucose detection in physiological pH urine and human specimens.....	8
Figure 2. (A) ภาพถ่าย TEM ของ CoFe-NG, (B)-(C) TEM ของ CoFe, (D) HRTEM ของ CoFe, และ (E) SAED pattern แสดงการหักเหของ Fe_2O_3 (110), Co(111), และ Fe(200) จากวงในไปยังวงนอกตามลำดับ	11
Figure 3. ภาพถ่าย STEM ของ CoFe, (B) EDS, และ (C) EDS elemental mapping ขอลธาตุ O, Fe, และCo บนตาข่ายทองแดง	13
Figure 4. (A) XRD patterns ของ CoFe-NG แสดงคลื่นอ้างอิงของ JCPDS และ (B) FTIR spectra ของ CoFe-NG (สีดำ), CoFe-NG ผสมกับน้ำตาล 2 mM glucose ในบัลลวาระโดยยังไม่ได้ใช้ DPV (สีแดง), และCoFe-NG หลังจากการใช้ DPV ตรวจวัดน้ำตาล 2 mM ในบัลลวาระ (สีน้ำเงิน).....	14
Figure 5. (A) XPS wide spectrum ของ N-doped graphene supported CoFe catalyst, (B-F) High-resolution spectra ของ C1s, O1s, N1s, Co2p, และ Fe2p ตามลำดับ.....	15
Figure 6. Cyclic voltammograms of CoFe บนตัวรองรับที่แตกต่างกันออกไป สีแดงแสดงถึงการทดสอบกับน้ำตาล 2 mM และสีดำคือการทดสอบที่ปราศจากน้ำตาล (black) ในบัลลวาระสังเคราะห์ mAUM ที่ผสม 0.1 M NaOH (pH=13).....	16
Figure 7. Cyclic voltammograms of CoFe บนตัวรองรับที่แตกต่างกันออกไป สีแดงแสดงถึงการทดสอบกับน้ำตาล 2 mM และสีดำคือการทดสอบที่ปราศจากน้ำตาล (black) ในบัลลวาระสังเคราะห์ Surine (pH=6.7).....	16
Figure 8. Cyclic voltammograms ของ (A) CoFe-NG และ (B) CoFe-C; differential pulse voltammograms ของ (C) CoFe-NG และ (D) CoFe-C; calibration plots ของ (E) CoFe-NG และ (F) CoFe-C ในบัลลวาระสังเคราะห์ (mAUM) ตามลำดับ.....	18
Figure 9. Cyclic voltammograms ของ (A) CoFe-NG และ (B) CoFe-C; differential pulse voltammograms ของ (C) CoFe-NG และ (D) CoFe-C; calibration plots ของ (E) CoFe-NG และ (F) CoFe-C ในบัลลวาระสังเคราะห์ Surine ตามลำดับ.....	19
Figure 10. (A-B) Cyclic voltammograms, (C-D) differential pulse voltammograms, และ (E) calibration plot ของ CoFe-NG ในบัลลวาระคนประเภทที่ I.....	20
Figure 11 (A-B) Cyclic voltammograms, (C-D) differential pulse voltammograms, and (E) calibration plot ของ CoFe-NG ในบัลลวาระคนประเภทที่ II	21
Figure 12. (A) Cyclic voltammograms, (B) differential pulse voltammograms, and (C) calibration plot of CoFe-C in human urine specimens type II.....	22
Table 1 Summary of glucose and creatinine levels in serum from clinical analysis in Human Urine Specimens obtained from Ladkrabang Hospital	23
Table 2 ตารางแสดงการวิเคราะห์สมบัติเคมีไฟฟ้าของ CoFe-NG และ CoFe-C ในการตรวจวัดน้ำตาลในบัลลวาระ.....	24

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: **MRG5980159**

ชื่อโครงการ: โครงการการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนอย่างคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพต่อการผลิตด้วยการใช้โลหะผสมโคบอลต์-เหล็กบนตัวรองรับกราฟีนที่พิมพ์ได้บนไบโอเซนเซอร์กระดาษสำหรับการตรวจวัดขั้นสูงของสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในของเหลวภายในร่างกาย

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน นางสาว เมทินี จรยาสุภาพ
คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยี

อีเมล: **metini.janya@gmail.com**

ระยะเวลาโครงการ: **2 ปี 10 เดือน (2 พฤษภาคม 2559 ถึง 13 กุมภาพันธ์ 2562)**

บทคัดย่อ:

การพัฒนาประสิทธิภาพตัวเร่งปฏิกิริยาในการตรวจวัดอุปกรณ์เซ็นเซอร์จะเพิ่มขีดความสามารถในการตรวจวัดทางการแพทย์ ได้แก่ การเฝ้าระวัง การประเมินประสิทธิภาพของวิธีการรักษานั้น รวมถึงการสร้างอุปกรณ์วิศวกรรมทางการแพทย์อัจฉริยะในอนาคตได้ โครงการวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีตรวจวัดน้ำตาลในปัสสาวะโดยไม่ใช้เอนไซม์และอยู่ในสภาวะเป็นกลาง มีค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกับปัสสาวะในคนทั่วไป ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาต่อในระบบสุขภาพอัจฉริยะในอนาคตต่อไปได้ โดยตัวเร่งปฏิกิริยาดังกล่าวทำจากโลหะผสมโคบอลต์ (Co) และเหล็ก (Fe) บนกราฟีนที่ถูกเจือด้วยไนโตรเจน การทดลองทำในปัสสาวะสามประเภทคือ (1) ปัสสาวะจำลองที่สังเคราะห์ขึ้นในห้องแล็บวิเคราะห์ผลทางการแพทย์ (modified Artificial Urine Medium, mAUM), (2) ปัสสาวะมาตรฐานที่เรียกทางการค้าในนาม Surine ใช้เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ในการทดลองทางชีวเคมีและการแพทย์ทั่วไป, และ (3) ปัสสาวะจากคนจำนวน 4 ท่านซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร โดยการทดลองได้ใช้เทคนิคทางเคมีไฟฟ้าที่มีชื่อว่า Differential Pulse Voltammetry (DPV) ในการประเมินประสิทธิภาพตัวเร่งปฏิกิริยาบนอิเล็กโทรดหมุนวน (Rotating Disk Electrode, RDE) ทำจากคาร์บอนเพื่อควบคุมการแพร่และการไหลในการศึกษาผลลัพธ์ของกระแสไฟฟ้าจากปฏิกิริยาที่เกิดจากความสามารถของตัวเร่งปฏิกิริยาได้โดยตรง โดยค้นพบว่าโคบอลต์ในสภาวะ Co^{3+} และ Co^{4+} มีความสามารถสร้างพันธะกับน้ำตาลกลูโคสและส่งผลให้เกิดกระแสไฟฟ้าได้ในปัสสาวะทั้ง 3 ประเภท และจะตรวจวัดน้ำตาลได้ดีที่ความต่างศักย์ 0.18 โวลต์ แสดงประสิทธิภาพความไวในการตรวจวัด (Sensitivity) เท่ากับ 16.77 ($R^2 = 0.987$), 45.36 ($R^2 = 0.988$),

and 20.26 ($R^2 = 0.991$) $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ ในปัสสาวะประเภทที่ 1 ถึง 3 ตามลำดับ และสามารถตรวจวัดได้ถึงความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่น้อยที่สุดคือ 0.25, 0.07, and 0.19 มิลลิโมลาร์ในปัสสาวะประเภทที่ 1 ถึง 3 ตามลำดับในการทดสอบการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสจาก 0 ถึง 3 มิลลิโมลาร์ นอกจากนี้ทางโครงการยังได้ศึกษาผลกระทบการใช้กราฟีนเจอโนโตรเจนในตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะโคบอลต์-เหล็กเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับกราฟีนบริสุทธิ์และคาร์บอน Vulcan XC-72 ในสภาวะเป็นเบสจากปัสสาวะที่ผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (ค่า pH เท่ากับ 13) และใน Surine (ค่า pH เท่ากับ 6.7) ผลปรากฏว่าตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะโคบอลต์-เหล็กบนคาร์บอนนั้นแสดงการตรวจจับน้ำได้ดีไม่แพ้กับการใช้กราฟีนเจอโนโตรเจนในสภาวะเป็นเบส และเพียงการใช้กราฟีนเจอโนโตรเจนกับตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะโคบอลต์-เหล็กบนคาร์บอนใน Surine ที่มีสภาวะเป็นกลางเท่านั้นที่แสดงกระแสไฟฟ้าจากการตรวจจับกลูโคสที่ชัดเจน ซึ่งในส่วนของการใช้กราฟีนบริสุทธิ์ไม่แสดงผลการเปลี่ยนแปลงใดๆที่เด่นชัด ทั้งนี้แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติพิเศษของการพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะโคบอลต์-เหล็กบนกราฟีนเจอโนโตรเจนที่สามารถตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะได้และยังมีคุณสมบัติที่ทนต่อการก่อกวนของกรดยูริกอีกด้วย

คำหลัก : โลหะผสมสองชนิด, การตรวจวัดแบบไม่ใช้เอนไซม์, การตรวจน้ำตาลในปัสสาวะ

Project Code : MRG5980159

Project Title : Enhancement of direct electron transfer by cost-effective bimetal: cobalt/ iron catalysts on printable graphene paper based biosensors for ultra-highly sensitive H₂O₂ detection in human body fluids

Investigator : Metini Janyasupab

Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

E-mail Address : metini.janya@gmail.com

Project Period : 2 years and 10 Months (2 May 2016 - 11 February 2019)

Abstract:

Development of non-invasive glucose measurement allows future advancement of smart sensing platform for diagnostic technology. Especially for endocrine disorders, advanced kidney diseases, and diabetes, monitoring excessive glucose level in urine can provide invaluable information for clinical prognosis and preventive healthcare. Herein, we present a comparative electrochemical study of cobalt/iron (CoFe) catalyst on nitrogen-doped graphene (NG) for non-enzymatic glucose detection, carried out in physiological pH urine including (i) modified artificial urine medium (mAUM), (ii) commercial standard urine (Surine), and (iii) human urine specimens. With no requirement of strong alkaline addition, catalytic properties of CoFe-NG were assessed by using cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV) on a glassy carbon rotating disk electrode. Upon successive glucose additions from 0 to 3 mM, DPV results revealed two anodic peaks at +0.18 V and +0.42 V versus Ag/AgCl, corresponding to Co³⁺ and Co⁴⁺ as a result of glucose binding in urine. By evaluating at +0.18V, the sensitivities of CoFe-NG were estimated to be 16.77 (R² = 0.987), 45.36 (R² = 0.988), and 20.26 (R² = 0.991) $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ with the limit of detection of 0.25, 0.07, and 0.19 mM in mAUM, Surine, and human urine specimen with low serum creatinine, respectively. Furthermore, the effects of CoFe on graphene (G) and carbon Vulcan XC-72 (C) were also studied in comparison of NG on the bimetal. Interestingly, CoFe-C showed a good electrochemical trend in glucose detection in urine. However, negligible catalytic activity was

presented in CoFe-G. Thus, electrochemical responses of CoFe-C were also further studied in the comparison of CoFe-NG in each type of urine. Overall, CoFe-NG outperformed CoFe-C in all types of urine and exhibited an excellent anti-interference property toward uric acid, thereby suggesting great potential for the next generation of glucose sensing platform in urine.

Keywords : bimetallic catalyst, non-enzymatic detection, glucose in urine

Executive summary

This research project investigated an enhancement of bimetallic cobalt (Co)-ion (Fe) incorporated on nitrogen doped graphene (NG) to detect glucose in physiological pH urine and human urine specimens. As originally proposed to enhance the detection of hydrogen peroxide, there is still a necessary enzyme immobilization to convert glucose in physiological fluids. However, our recent experimental study has found a more applicable and practical alternative of using CoFe-NG that can non-enzymatically bind with glucose. Therefore, we continued this investigation of electrocatalytic properties on CoFe-NG. Without any addition of strong alkaline electrolyte such as sodium hydroxide (NaOH), the as-prepared CoFe-NG catalyst can detect glucose in nearly neutral pH urine from 0 to 3 mM, assessed by Differential Pulse Voltammetry (DPV). In detail, a comparative study of CoFe-NG was carried out in various physiological pH urine conditions including (i) modified artificial urine medium (mAUM), (ii) commercially simulated negative control urine (Surine), and (ii) human urine specimens. As shown in Figure 1, our schematic approach of the as-synthesized CoFe-NG illustrates a presence of active Co^{3+} and Co^{4+} redox couple, oxidizing with glucose in urine and generating catalytic current response under DPV operation. In our preliminary experiment, the effect of different supporting materials e.g. pure graphene (G) and activated carbon Vulcan XC-72 (C) was studied as a control of NG incorporation. Under strong alkaline condition (pH of 13), it was found that CoFe-NG and CoFe-C were able to detect 2 mM glucose clearly from their backgrounds. Further study also found that NG by its owns can oxidize glucose and detect 2 mM glucose but not as good as with CoFe catalyst in 0.1 M NaOH supported urine. In neutral pH urine, only CoFe-NG showed an obvious catalytic response of glucose detection, whereas, negligible response was observed on CoFe-G in either strong alkaline medium or neutral pH urine conditions. Thus, CoFe-C was selected as a control in comparison its electrochemical performance with CoFe-NG in the three types of urine.

By operating on rotating disk electrode (RDE), the kinetic behavior of CoFe catalysts can be observed from the hydraulic effect. Therefore, the total current response in this study represents the catalytic current of CoFe and consequently implies the direct comparison in various urine conditions. Under DPV operation, the non-faradic current is controlled, thereby indicating faradic process of catalytic reaction on CoFe system. In this study, there were two prominent anodic peaks, that were located at +0.18 and +0.42 V versus Ag/AgCl and corresponding to Co^{3+} and Co^{4+} as a result of glucose binding in urine. Upon glucose addition, the former anodic peak of CoFe-NG increases linearly with the estimated sensitivities of to be 16.77 ($R^2 = 0.987$), 45.36 ($R^2 = 0.988$), and 20.26 ($R^2 = 0.991$) $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ and the limit of detection of 0.25, 0.07, and 0.19 mM in mAUM, Surine, and

human urine specimen with low serum creatinine (type I), respectively. On the other hand, a prominent anodic peak of CoFe-C was observed at +0.88 V versus Ag/AgCl, attributed to the oxygen discharge from oxide formation of CoO_2 and Fe_2O_3 and presented in CoFe-C in mAUM, CoFe-C in human urine type II, and CoFe-NG in human urine with high serum creatinine (type II). Although this formation process seemed to be indirectly quantified the glucose level with the inversely linear trend, it was significantly affected by the charge/discharge of other competitive species, leading to the diminution of oxygen discharge in glucose addition at a higher potential above 0.8 V as well. Thus, the optimal condition of CoFe-NG by using DPV in our study was at +0.18 V from the process of Co^{3+} oxidation upon glucose binding. In addition, CoFe-NG showed an excellent anti-interferent property of uric acid in mAUM, providing a potential development of smart sensing platform for glucose detection in urine. Furthermore, morphological, elemental, and chemical characterizations of Transmission Electron Microscopy (TEM), Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM), Energy Dispersive X-ray spectroscopy (EDS), X-ray diffraction (XRD), Fourier Transform Infrared spectra (FTIR), and X-ray Photoemission Spectroscopy (XPS) were also carried out, providing evidences of catalytic explanation and mechanism of this non-enzymatic glucose detection in physiological pH urine.

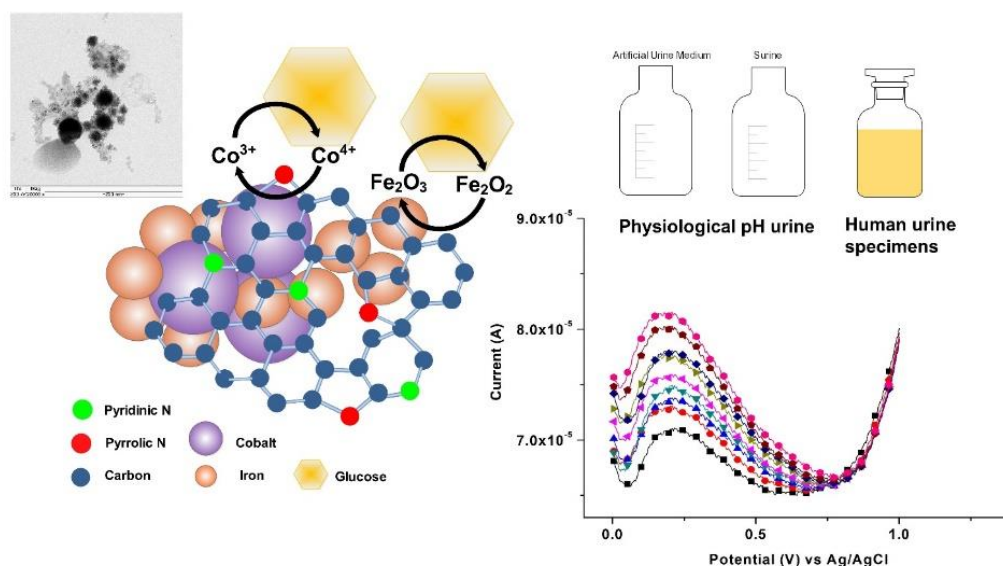


Figure 1. Graphical abstract of CoFe-NG catalyst for glucose detection in physiological pH urine and human specimens

วัตถุดิบ

เพื่อคัดค้านวิธีพัฒนาการตรวจวัดอุปกรณ์เซ็นเซอร์ขั้นสูงที่มีประสิทธิภาพในการวัดแบบไม่ใช้เอนไซม์

วิธีทดลอง

1. สารเคมี

Cobalt (II) acetylacetonate ($\text{Co}(\text{acac})_2$, 99.0%), Iron (III) acetylacetonate ($\text{Fe}(\text{acac})_3$, 99.9%), Oleic acid (OAc, 90%), Oleylamine (OAm, 70%), Benzyl Ether (BE, 98%), 1-Octadecene (ODE, > 95.0 %), and Trioctylphosphine (TOP, 97%), Natural graphite flakes (99%), sulfuric acid (98%), sodium nitrate (NaNO_3), potassium permanganate (KMnO_4), และ ammonia เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ตัวเร่งปฏิกิริยาและตัวรองรับกราฟีนเจือไนโตรเจน นอกจากนี้ Vulcan XC 72R (Cabot) และ graphene powder ใช้สำหรับเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้กราฟีนเจือไนโตรเจน

ในการทดสอบปัสสาวะสังเคราะห์ (mAUM) ได้ใช้สูตรในห้องปฏิบัติการทดลองทางการแพทย์ [2-3] ดังต่อไปนี้ Sodium bicarbonate (NaHCO_3), sodium chloride (NaCl), sodium sulphate decahydrate ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), di-potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4), ammonia chloride (NH_4Cl), creatinine, และ urea

2. การสังเคราะห์ตัวเร่งปฏิกิริยา

วิธีสังเคราะห์ได้ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Zhang et al. [1]. โดยผสมตัวทำละลาย OAm (8 mL), OAc (4 mL), ODE (4 mL) และ TOP (2 mL) และคนต่อเนื่อง 5 นาที จากนั้นผสม $\text{Co}(\text{acac})_2$ ในปริมาณ 0.61 mmol หรือ 156.96 mg ลงใน BE (2 mL) เพื่อให้ละลายขึ้นต้นก่อนและผสมรวมกับตัวทำละลายทั้งหมดที่เตรียมไว้ นำไปให้ความร้อนในระบบปิดที่มีการรีฟลักซ์และผ่านก๊าซไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 110 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อนำสิ่งสกปรกและสารเจือปนออก หลังจากนั้นให้ความร้อนต่อที่อุณหภูมิ 230 °C เป็นเวลานาน 20 นาที สีของสารละลายจะเข้มข้นจนเป็นสีดำทั้งหมด บ่งบอกถึงการเกิดอนุภาคนาโนของโคบอลต์ หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและผสมไอโซโพรพานอลลงไป นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 r. p. m. เป็นเวลา 20 minutes ที่อุณหภูมิ 0°C และล้างด้วยเฮกเซนและเอทานอล ทำซ้ำกันเช่นนี้หลายรอบเพื่อล้างตัวทำละลายที่คงค้างออกให้หมดจะได้และนำไปผสมกับเฮกเซนเพื่อแช่เก็บไว้ วิธีทำตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะผสมโคบอลต์-เหล็ก ก็ทำเช่นเดียวกันโดยเริ่มจากนำ $\text{Fe}(\text{acac})_3$ ปริมาณ 0.61 mmol มาละลายในตัวทำละลายขึ้นต้น และผสมโคบอลต์ปริมาณ 0.2 mmol ลงไปและตั้งความร้อนแบบเดียวกับวิธีสังเคราะห์ข้างต้นที่กล่าวมา

ในการสังเคราะห์กราฟีนเจือไนโตรเจนจะใช้วิธีไฮโดรเทอร์มอล โดยเริ่มจากการสังเคราะห์กราฟีนออกไซด์ด้วยวิธีของ Hummer method [4] และใช้กระบวนการเจือไนโตรเจนด้วยวิธีของ Chen et al. and Sui et al. [5-6]. โดยเริ่มจากการนำกราฟีนออกไซด์ที่สังเคราะห์มาได้ละลายในน้ำในปริมาณความเข้มข้น 5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ และผ่านคลื่นความถี่สูงและการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายกราฟีนออกไซด์จำนวน

30 mL ผสมกับแอมโมเนียปริมาณ 0.6 g. และคนต่อเนื่องเป็นเวลา 15 นาที สารละลายจะถูกถ่ายไปยัง Teflon-line autoclave และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และล้างด้วยน้ำ Deionized และเข้าเครื่องอบสูญญากาศที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลาหนึ่งคืน

3. การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของตัวเร่งปฏิกิริยา

การทดสอบวิเคราะห์ทางกายภาพและสมบัติธาตุทางเคมีด้วยเครื่องถ่ายภาพอิเล็กตรอน ทรานสมิชัน Transmission Electron Microscopy (TEM), Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM), Energy Dispersive X-ray spectroscopy (EDS), รุ่น JEOL JEM-200CX ที่พลังงาน 200 kV, การวัดสมบัติธาตุด้วย X-ray diffraction (XRD, รุ่น Scintag X-1, operating ที่พลังงาน 40 kV และ 40 mA ด้วยแหล่งกำเนิดคลื่นที่ทำจาก Cu K α , $\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$), และการวัดสมบัติการเกิดพันธะทางเคมีด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared spectra (FTIR, Shimadzu, IRPrestige-21, Japan, ที่ $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ ใน ATR mode), และเทคนิค X-ray Photoemission Spectroscopy (XPS, PHI 5000, Versa Probe II XPS system, ULVAC-PHI)

4. การทดสอบประสิทธิภาพทางเคมีไฟฟ้า

การทดสอบสมบัติเชิงเคมีไฟฟ้าของ CoFe-NG ด้วยระบบอิเล็กโทรดสามขั้ว ประกอบด้วย 1. working electrode (GCE), 2. auxiliary electrode (Pt), และ 3. reference electrode (Ag/AgCl) ใน mAUM, Surine, และบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH เท่ากับ 6.8, 6.7 และ 6.5 ตามลำดับ. โดยในการทดลองทั้งหมดจะวัดความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสช่วง 0 ถึง 3 mM โดยการใส่น้ำตาลที่มีความเข้มข้น 500 mM ในปริมาณ 2.5 μL ลงในบัฟเฟอร์ปริมาตร 5-mL. และทำการทดลองบนเครื่อง RDE ขั้นตอนเริ่มต้นก่อนการทดลองทุกครั้งจะทำความสะอาด working electrode ด้วยการใช้กระบวนการเคมีไฟฟ้าใส่ความต่างศักย์ในเทคนิค Cyclic voltammetry (CV) จาก 0 ถึง 1.2 V ด้วยอัตรา 50 mV.s^{-1} เป็นจำนวน 50 รอบ. หลังจากนั้นจะทดสอบด้วยการวัด จาก -0.2 to 1.0 V vs Ag/AgCl ที่อัตรา 50 mV.s^{-1} และทดสอบ DPV จาก 0 to 1 V vs Ag/AgCl ด้วยการเพิ่มความต่างศักย์ที่ 4mV, amplitude of 50 mV, pulse width of 0.05 s และ pulse period of 0.5 s. นอกจากนี้การทดสอบการก่อกวนของสารอื่นๆที่เจือปนในบัฟเฟอร์ เช่น ascorbic acid และ uric acid ทำขึ้นใน mAUM ข้อมูลการวัดจะถูกบันทึกในเครื่อง Potentiostat รุ่น CHI900B potentiostat บน RDE modular workstation (Pine Research Instruments, USA), ที่ความเร็วรอบ 900 rpm ในทุกๆการทดสอบ.

ผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี

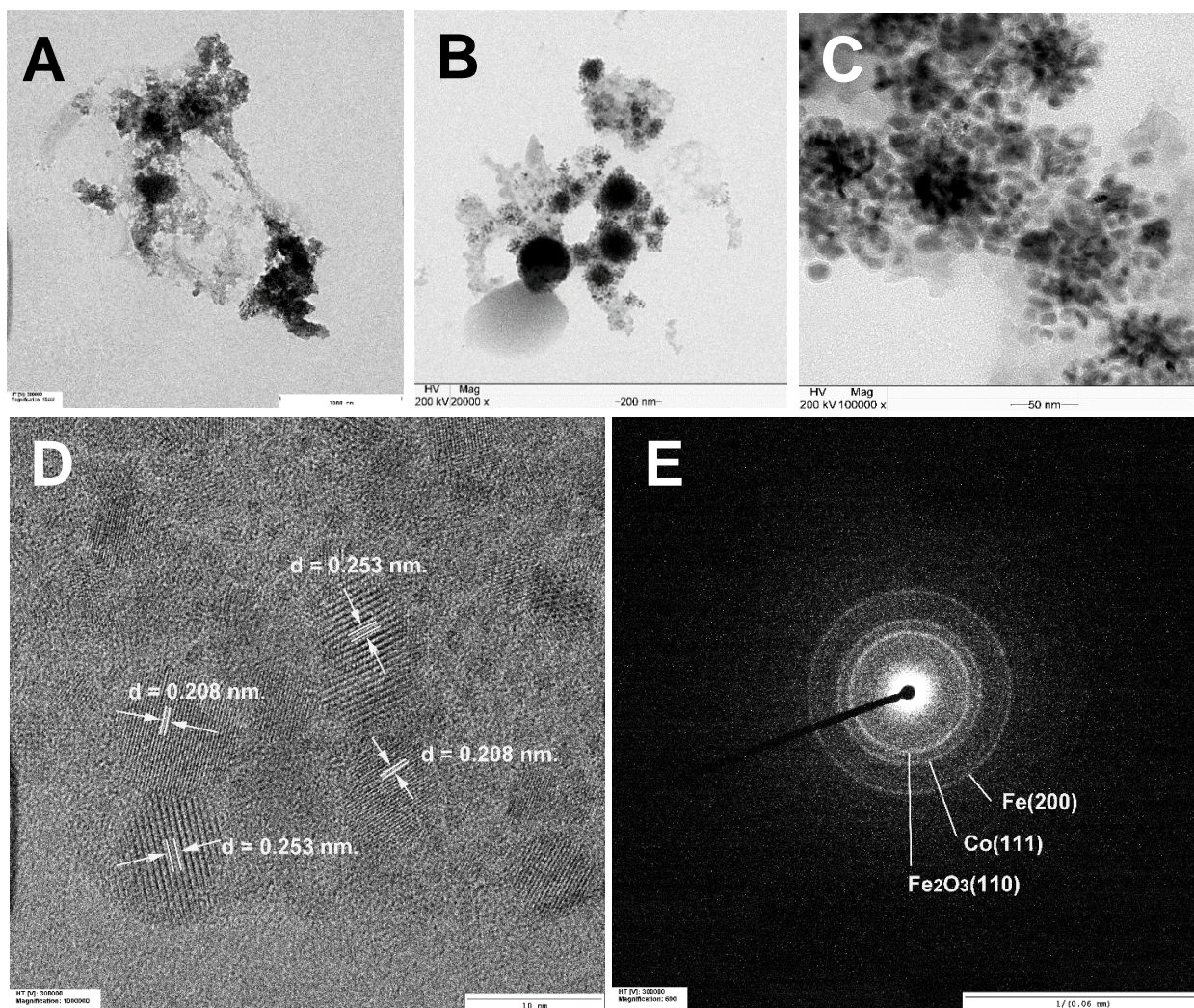


Figure 2. (A) ภาพถ่าย TEM ของ CoFe-NG, (B)-(C) TEM ของ CoFe, (D) HRTEM ของ CoFe, และ (E) SAED pattern แสดงการหักเหของ Fe_2O_3 (110), Co(111), และ Fe(200) จากวงในไปยังวงนอกตามลำดับ

ภาพถ่ายอิเล็กตรอนแบบส่องกราดที่แสดงใน *Figure 2A-B* แสดงถึงลักษณะรูปร่างของโลหะโคบอลต์และเหล็กในตัวเร่งปฏิกิริยาซึ่งมีลักษณะรวมกันแบบกลุ่มและมีขนาดในช่วงประมาณ 74 ถึง 246 นาโนเมตร ซึ่งใน *Figure 2C* แสดงถึงอนุภาคเดี่ยวๆของตัวเร่งปฏิกิริยามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ยประมาณ 8.25 นาโนเมตรและแสดง crystalline lattice fringes ที่มีค่า d-spacing of 0.208 and 0.253 นาโนเมตรซึ่งแสดงถึง Co(111) และ Fe_2O_3 (110) ตามลำดับ นอกจากนี้การวัด crystalline lattice สามารถวิเคราะห์ได้จาก Selected Area Electron Diffraction (SAED) ดังที่แสดงในรูป *Figure 2E*. แสดงถึงวงกลมจากการหักเหที่มีขนาด 0.253, 0.208, และ 0.146 นาโนเมตร ซึ่งคือค่าเฉพาะของ Fe_2O_3 (110), Co(111), และ Fe(200) ตามลำดับ. ใน *Figure 3A* และ *B* แสดงภาพ STEM และ EDS spectrum ของตัวเร่งปฏิกิริยายืนยันถึงส่วนประกอบของธาตุ C, Co และ Fe ในตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งสามารถประเมินส่วนประกอบของตัวอย่างด้วย gravimetric percentage ในปริมาณ 0.5% Fe, 1.9% Co, และ 85% C. ในส่วนของ *Figure 3C*

แสดงแผนภาพปริมาณของธาตุ Co, Fe, และ O elements ในตัวอย่างซึ่งบ่งบอกถึงว่า Co จะกระจุกตัวอยู่ตรงกลางและมีเหล็กออกไซด์รอบๆ

ใน Figure 4A แสดงลักษณะเฉพาะของ XRD pattern ใน CoFe-NG จากมุม 20° ถึง 80° ซึ่งแสดงคาร์บอนที่ 25.8° ตรงกับเส้นอ้างอิงของ JCPDS 26-1080. ในเส้นหักเหอื่นๆของ Co, Fe, Fe_2O_3 , และ CoFe_2O_4 สามารถสังเกตได้และตรงกับเส้นอ้างอิง JCPDS 15-806, JCPDS 06-0696, JCPDS 02-0919, และ JCPDS 03-0864 ตามลำดับ. นอกจากนี้ยังมีสามเส้นที่ 35.7° , 44.2° , และ 65.0° ตรงกับหลักฐานที่พบในการวิเคราะห์ SAED ใน Figure 2E ยืนยัน lattice phase ของ $\text{Fe}_2\text{O}_3(110)$, $\text{Co}(111)$, และ $\text{Fe}(200)$ ในงานวิจัยนี้. นอกจากนี้เรายังได้ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีด้วย FTIR ของ CoFe-NG ในสถานะที่ (i) เตรียมเรียบร้อยแล้วก่อนการใช้งาน, (ii) CoFe-NG ผสมกับ 2 mM น้ำตาลกลูโคสแต่ไม่ได้ใช้การวัดด้วย DPV และ (iii) CoFe-NG ที่ผ่านการวัด 2 mM น้ำตาลด้วยการใช้ DPV แล้ว ผลปรากฏแสดงใน Figure 4B ในกรณีที่ (i)-(iii) ด้วยสีดำ, แดงและน้ำเงินตามลำดับ ซึ่งผล FTIR ในช่วง $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ และ 1600 cm^{-1} แสดงถึงการดูดซึมของ OH และการโค้งงอของพันธะ OH ตามลำดับ [7-8]. ที่ช่วง 1543 cm^{-1} คือช่วงของ amide II (C-N) ในสถานะที่ (iii) ภายหลังการใช้ DPV ในการตรวจวัด 2 mM น้ำตาลกลูโคสซึ่งแสดงถึงการเกิดพันธะของ C-N ใน CoFe-NG ระหว่างการตรวจวัดน้ำตาล นอกจากนี้ยังมีสี่ช่วงคลื่นของ 1234-1215, 1157-1150, 1080-1053 และ $987\text{--}975\text{ cm}^{-1}$ แสดงพันธะของ C-O-C และการยืดของพันธะ C-O [29]. ซึ่งในผลการทดลองนี้ได้สังเกตเห็นการเลื่อนไปยังค่า wave number ที่น้อยลงจากการใช้งานของตัวเร่งปฏิกิริยาในการตรวจวัดนี้ด้วย นอกจากนี้ช่วงของ 670 และ 560 cm^{-1} แสดงถึงการสั่นในช่วงของโลหะและออกไซด์ของโลหะในตัวเร่งปฏิกิริยา [7-8]. นอกจากนี้ในส่วนของการวิเคราะห์เคมีบนพื้นผิว ผลของ XPS ในตัวอย่าง CoFe-NG แสดงดังรูป Figure 5A ถึงสเปกตรัมทั้งหมดแบบช่วงกว้างของรังสีเอกซ์บ่งชี้ถึงองค์ประกอบของธาตุ C, O, Co, Fe, N บนพื้นผิวดังตัวอย่าง และมีเส้นกราฟของ C1s ที่ช่วง 284.2, 285.1, 286.5 และ 288.6 eV แสดงถึงพันธะของ C-C, C-N, C-O, และ C=O ในกราฟเส้นแคบในโตรเจนดังรูป Figure 5B บนช่วงของ O1s จะแสดงที่ช่วงพลังงาน 531.6, 532.4, และ 533 eV ซึ่งยืนยันการเกิดพันธะ C-O, C=O, และหมู่ OH ในตัวเร่งปฏิกิริยาใน Figure 5C ในช่วงของ N1s ที่ 399 และ 399.7 eV แสดงถึง pyridinic N และ pyrodinic N อันเป็นคุณสมบัติเฉพาะที่สามารถนำกระแสไฟฟ้าได้ดียิ่งขึ้น และช่วง Co2p กับ Fe2p จะถูกแสดงใน Figure 4E และ F ตามลำดับ ดังนั้นผลของการศึกษา XPS สเปกตรัมบ่งชี้ถึงการเกิดพันธะที่ส่งเสริมการเพิ่มประสิทธิภาพของตัวเร่งปฏิกิริยาในที่นี้

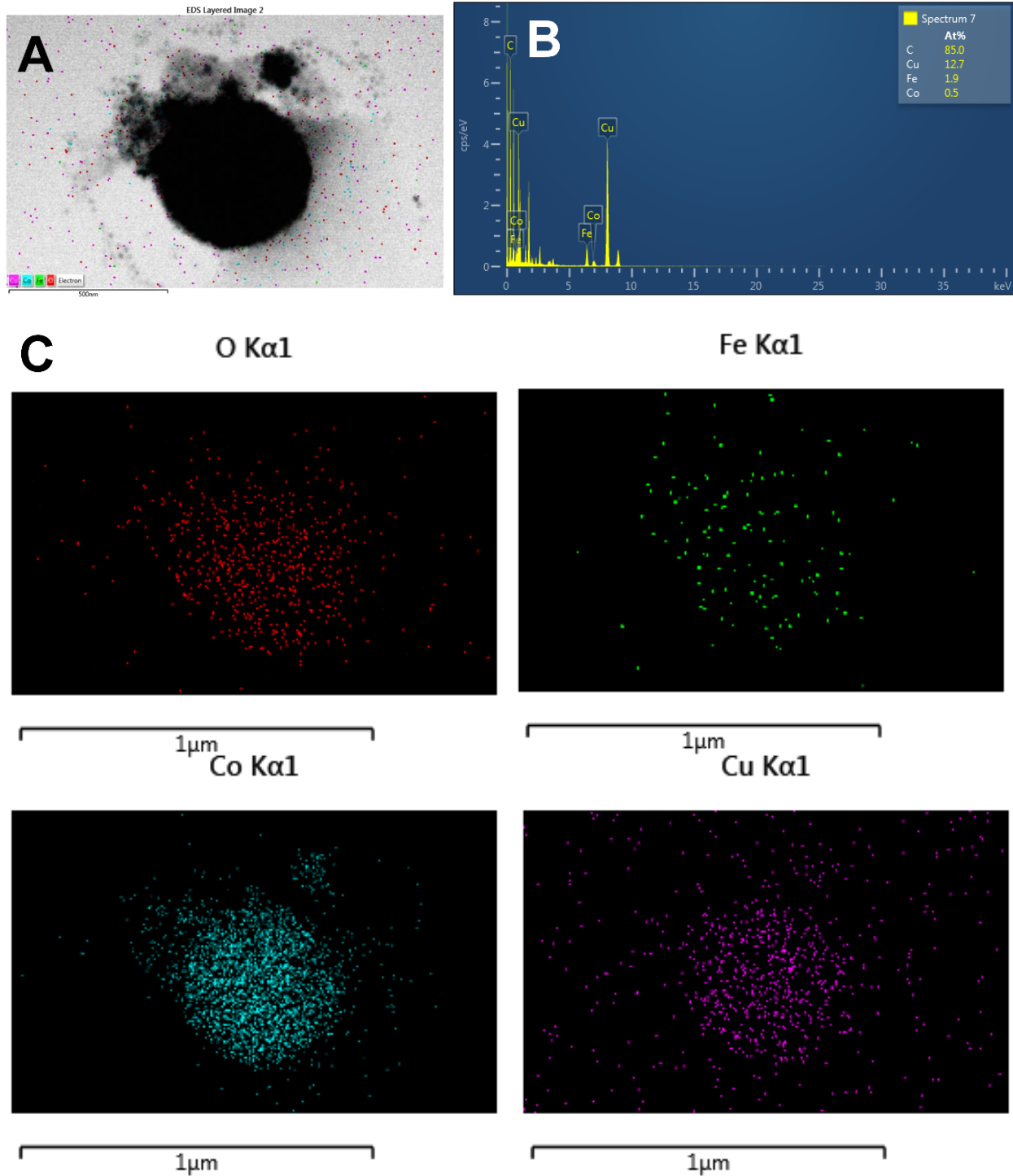


Figure 3. ภาพถ่าย STEM ของ CoFe, (B) EDS, และ (C) EDS elemental mapping ของธาตุ O, Fe, และCo บนตาข่ายทองแดง

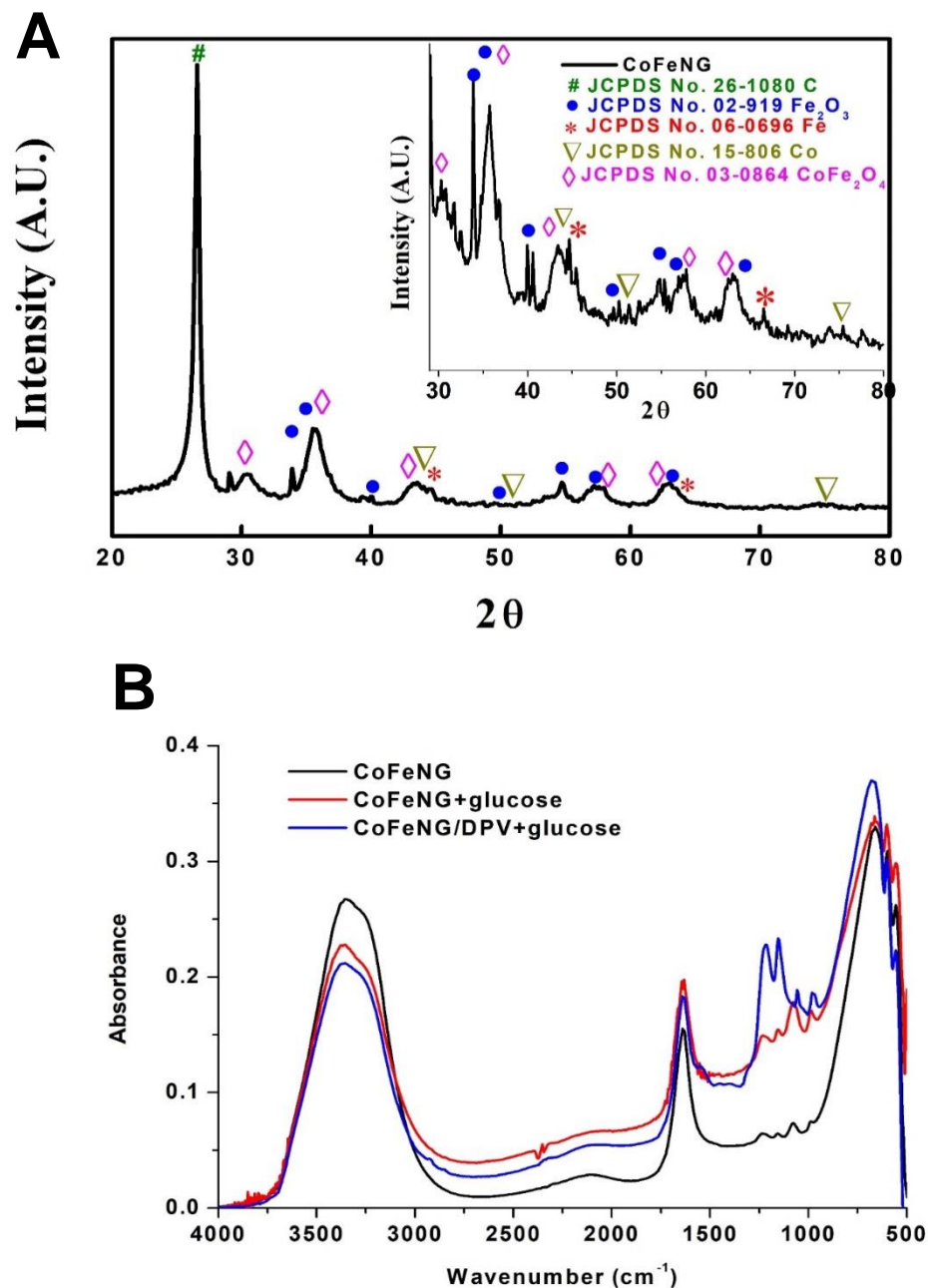


Figure 4. (A) XRD patterns ของ CoFe-NG แสดงคลื่นอ้างอิงของ JCPDS และ (B) FTIR spectra ของ CoFe-NG (สีดำ), CoFe-NG ผสมกับน้ำตาล 2 mM glucose ในปัสสาวะโดยยังไม่ได้ใช้ DPV (สีแดง), และ CoFe-NG หลังการใช้ DPV ตรวจวัดน้ำตาล 2 mM ในปัสสาวะ (สีน้ำเงิน).

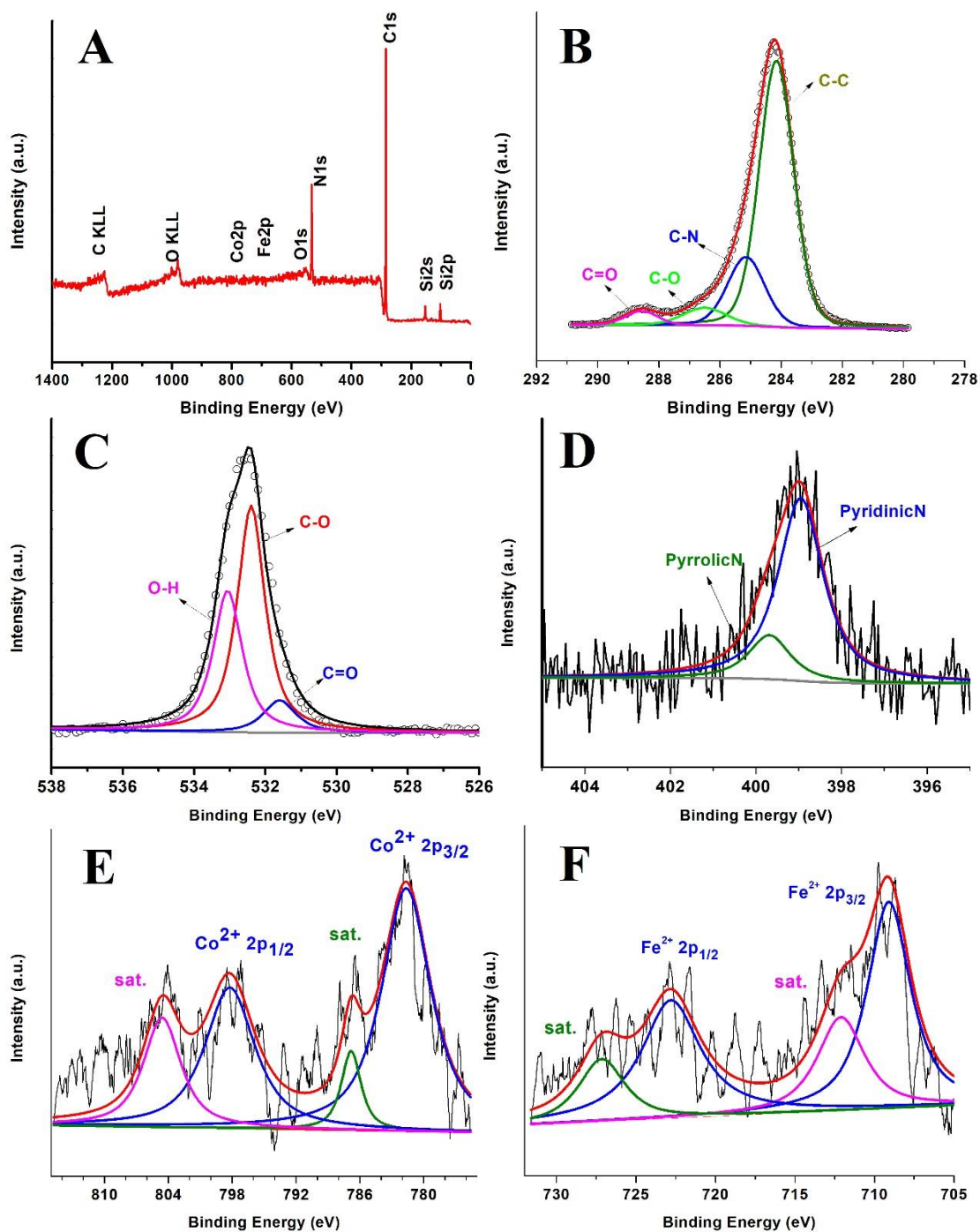


Figure 5. (A) XPS wide spectrum ของ N-doped graphene supported CoFe catalyst, (B-F) High-resolution spectra ของ C1s, O1s, N1s, Co2p, และ Fe2p ตามลำดับ

2. การทดสอบประสิทธิภาพทางเคมีไฟฟ้า

การทดสอบประสิทธิภาพทางไฟฟ้าเคมีเริ่มจากการทดลองเบื้องต้นโดยนำตัวรองรับที่ทำจากคาร์บอนต่างประเภทกันมาทดสอบน้ำตาลที่ผสมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.1 M) ในสภาวะเบสแก่ ซึ่งผลใน Figure 6 แสดงถึงการตอบสนองทางเคมีไฟฟ้าของ CoFe และน้ำตาลในปัสสาวะ จะเห็นได้ว่า CoFe-NG, CoFe และ CoFe-C แสดงผลที่แตกต่างค่า background (ไม่มีน้ำตาล) และหากดำเนินการศึกษาต่อไปใน Surine ซึ่งมีสภาวะที่เป็นกลางใน Figure 7 จะเห็นได้ชัดเจนว่า CoFe-NG มีประสิทธิภาพในการตรวจจับน้ำตาลได้ดีเมื่อเทียบกับการผสมในตัวรองรับคาร์บอนอื่นๆ

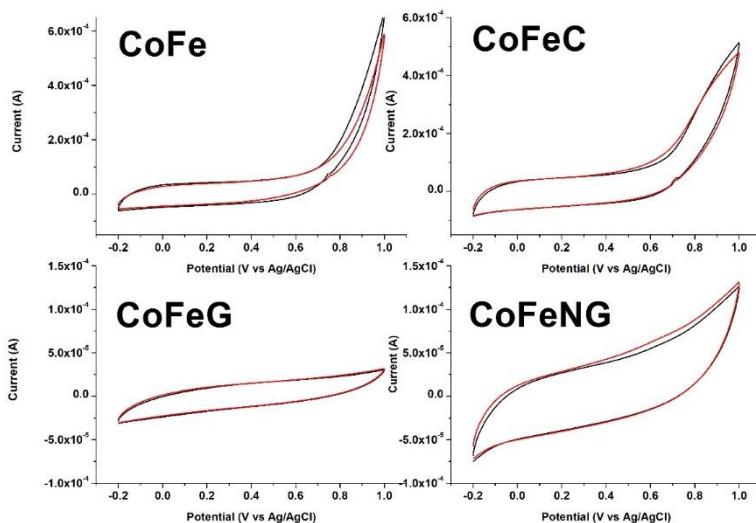


Figure 6. Cyclic voltammograms of CoFe บนตัวรองรับที่แตกต่างกันออกไป สีแดงแสดงถึงการทดสอบกับน้ำตาล 2 mM และสีดำคือการทดสอบที่ปราศจากน้ำตาล (black) ในปัสสาวะสังเคราะห์ mAUM ที่ผสม 0.1 M NaOH (pH=13)

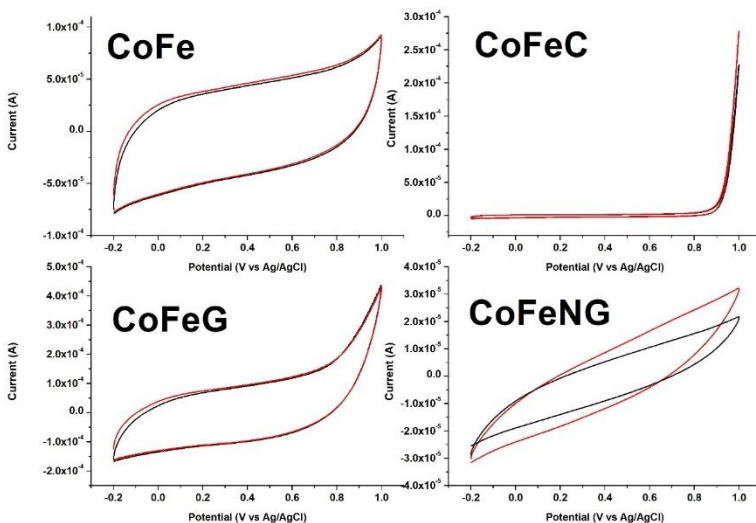


Figure 7. Cyclic voltammograms of CoFe บนตัวรองรับที่แตกต่างกันออกไป สีแดงแสดงถึงการทดสอบกับน้ำตาล 2 mM และสีดำคือการทดสอบที่ปราศจากน้ำตาล (black) ในปัสสาวะสังเคราะห์ Surine (pH=6.7)

ดังนั้นในการทดสอบสมบัติการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในงานวิจัยนี้จะนำตัวอย่างของ CoFe-NG และ CoFe-C มาเปรียบเทียบในสภาวะของปัสสาวะทั้งสามประเภทเพื่อให้เห็นผลของการทำปฏิกิริยาทางเคมีไฟฟ้าได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ใน Figure 8, การทดสอบของเทคนิค CV, DPV และกราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสได้แสดง Figure 8A, C, E (CoFe-NG) และ Figure 8B, D, F (CoFe-C) ตามลำดับ ในการวัดน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะสังเคราะห์ mAUM ซึ่งจะเห็น anodic peak ของ CoFe-NG ได้ชัดที่ +0.18 V และแสดงถึงการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Co^{3+} ในที่นี้ ในทางกลับกัน anodic peak ของ CoFe-C เกิดขึ้นที่ +0.88 V แสดงความสัมพันธ์ของกระแสไฟฟ้าผกผันกับระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสใน mAUM ตัวเร่งปฏิกิริยาทั้งสองนี้สามารถประเมินค่าความไวในการตรวจวัด (sensitivity) ได้ที่ $16.77 \mu\text{A.mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.987$) ของ CoFe-NG และ $-378.09 \mu\text{A.mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.944$) และ $-335.29 \mu\text{A.mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.942$) สำหรับ CoFe-C ตามลำดับ

ต่อมาได้ทำการทดสอบในปัสสาวะสังเคราะห์ Surine ซึ่งแสดงผลในรูป Figure 9 โดยการทดสอบของเทคนิค CV, DPV และกราฟแสดงค่าความสัมพันธ์ระหว่างกระแสไฟฟ้าและความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสได้แสดง Figure 9A, C, E (CoFe-NG) และ Figure 9B, D, F (CoFe-C) ตามลำดับ ในการวัดน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะสังเคราะห์ Surine จะเห็นได้ว่า anodic peak ที่ +0.18 V ใน CoFe-NG ยังคงมีอยู่แต่แสดงไม่เด่นชัดในขณะที่ไม่มี anodic peak ที่ชัดเจนใน CoFe-C แต่การเพิ่มขึ้นของกระแสไฟฟ้าเป็นไปในลักษณะความสัมพันธ์เชิงเส้นของตัวเร่งปฏิกิริยาทั้งคู่ Surine ถือเป็นปัสสาวะเทียมที่ใช้แพร่หลายในห้องปฏิบัติการวิจัยทางการแพทย์และชีวเคมี ซึ่งจะควบคุมสาร electrolyte ที่ active และนำมาใช้เป็น negative control ในการทดสอบการตรวจสารต่างในปัสสาวะ จากผลการทดลองใน mAUM เราจึงให้ค่าต่างศักย์เดิมที่ 0.18 V มาประเมินค่า sensitivity ของ CoFe-NG และ CoFe-C ซึ่งเท่ากับ $45.36 \mu\text{A.mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.988$) และ $11.73 \mu\text{A.mM}^{-1}$ ($R^2 = 0.993$) ใน Surine ตามลำดับ

ในขั้นต่อมาการทดสอบในปัสสาวะตัวอย่างถูกนำมาใช้ โดยปัสสาวะจากผู้ป่วยที่โรงพยาบาลลาดกระบังจำนวน 4 ท่าน พร้อมรายงานการวิเคราะห์ผลการตรวจจากห้องปฏิบัติการแสดงค่าสำคัญที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ น้ำตาลกลูโคสและ creatinine ในซีรัมแสดงไว้ใน Table 1 โดยสามารถแบ่งตัวอย่างเป็นสองประเภทคือ ประเภทที่ 1 ที่มีค่า creatinine ต่ำกว่า 1 mg.dL^{-1} และประเภทที่ 2 คือมีค่านี้สูงกว่า 1 mg.dL^{-1} ตามลำดับ ใน Figure 10 แสดงถึงผลการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในกราฟ CV, DPV และ calibration ในปัสสาวะประเภทที่ 1 จากคน ซึ่งผลการทดสอบใน DPV แสดง anodic peak ที่เด่นชัดที่ +0.18 และ +0.42 V บ่งบอกถึงปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Co^{3+} และ Co^{4+} ใน CoFe-NG และมีค่า sensitivity เท่ากับ $20.26 \mu\text{A.mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.991$, $n=3$). นอกจากนี้ Figure 11 ได้แสดงผลของการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในกราฟ CV, DPV และ calibration ในปัสสาวะประเภทที่ 2 จากคนด้วย CoFe-NG ซึ่งให้ลักษณะที่แตกต่างออกไป กล่าวคือ anodic peak ที่ +0.18 V จะไม่เด่นชัด แต่จะเกิดออกไซด์มากยิ่งขึ้นที่ค่าความต่างศักย์ที่สูงกว่า +0.42 V และแสดงความสัมพันธ์ของกระแสไฟฟ้ากับระดับน้ำตาลกลูโคสแบบเชิงเส้นผกผัน ซึ่งสามารถประเมินค่า sensitivity ได้เท่ากับ $-10.14 \mu\text{A.mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.925$) และ $-55.11 \mu\text{A.mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.967$)

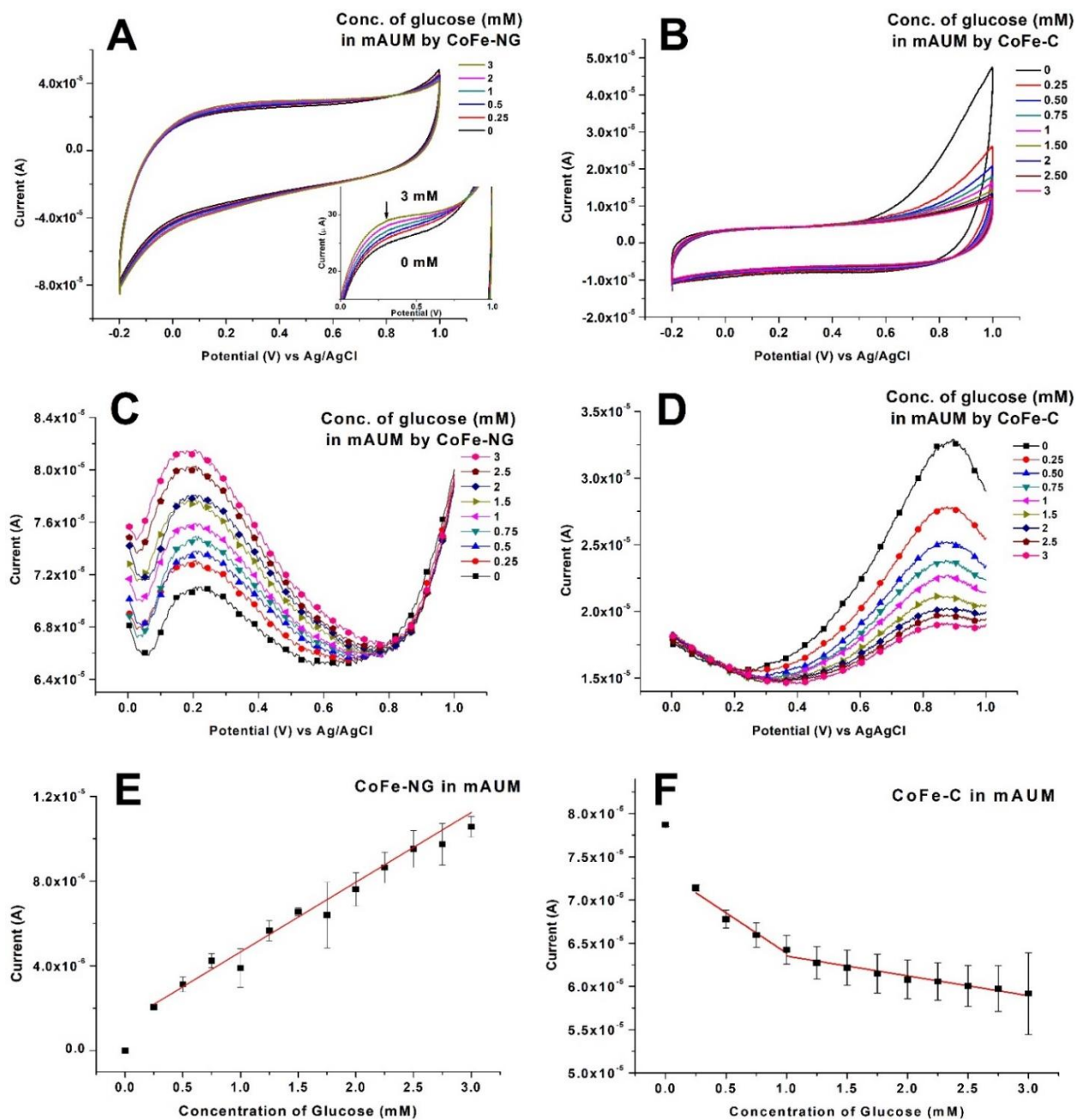


Figure 8. Cyclic voltammograms ของ (A) CoFe-NG และ (B) CoFe-C; differential pulse voltammograms ของ (C) CoFe-NG และ (D) CoFe-C; calibration plots ของ (E) CoFe-NG และ (F) CoFe-C ในปัสสาวะสังเคราะห์ (mAUM) ตามลำดับ

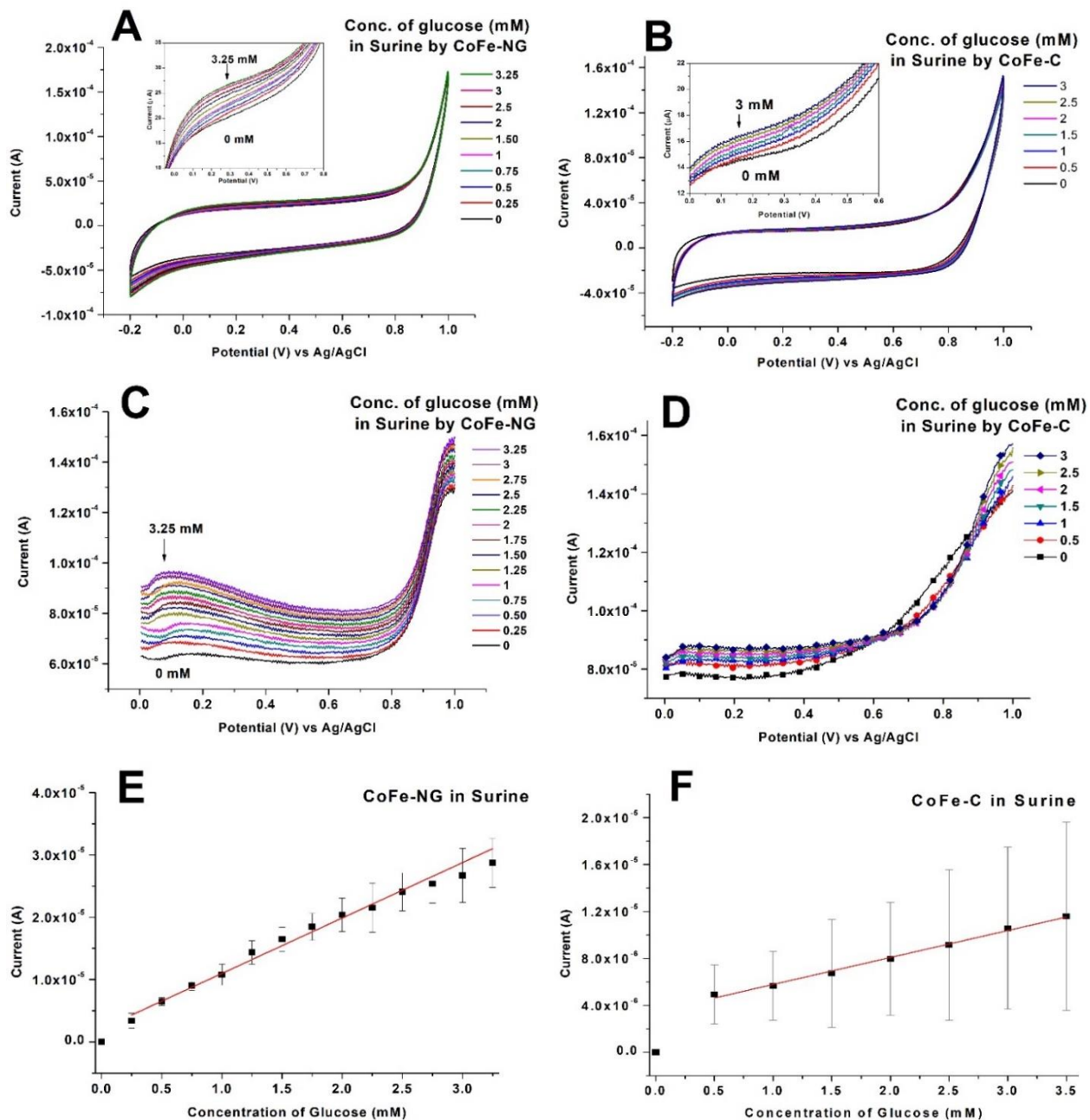


Figure 9. Cyclic voltammograms ของ (A) CoFe-NG และ (B) CoFe-C; differential pulse voltammograms ของ (C) CoFe-NG และ (D) CoFe-C; calibration plots ของ (E) CoFe-NG และ (F) CoFe-C ในปัสสาวะ สุนัขระยะที่ Surine ตามลำดับ

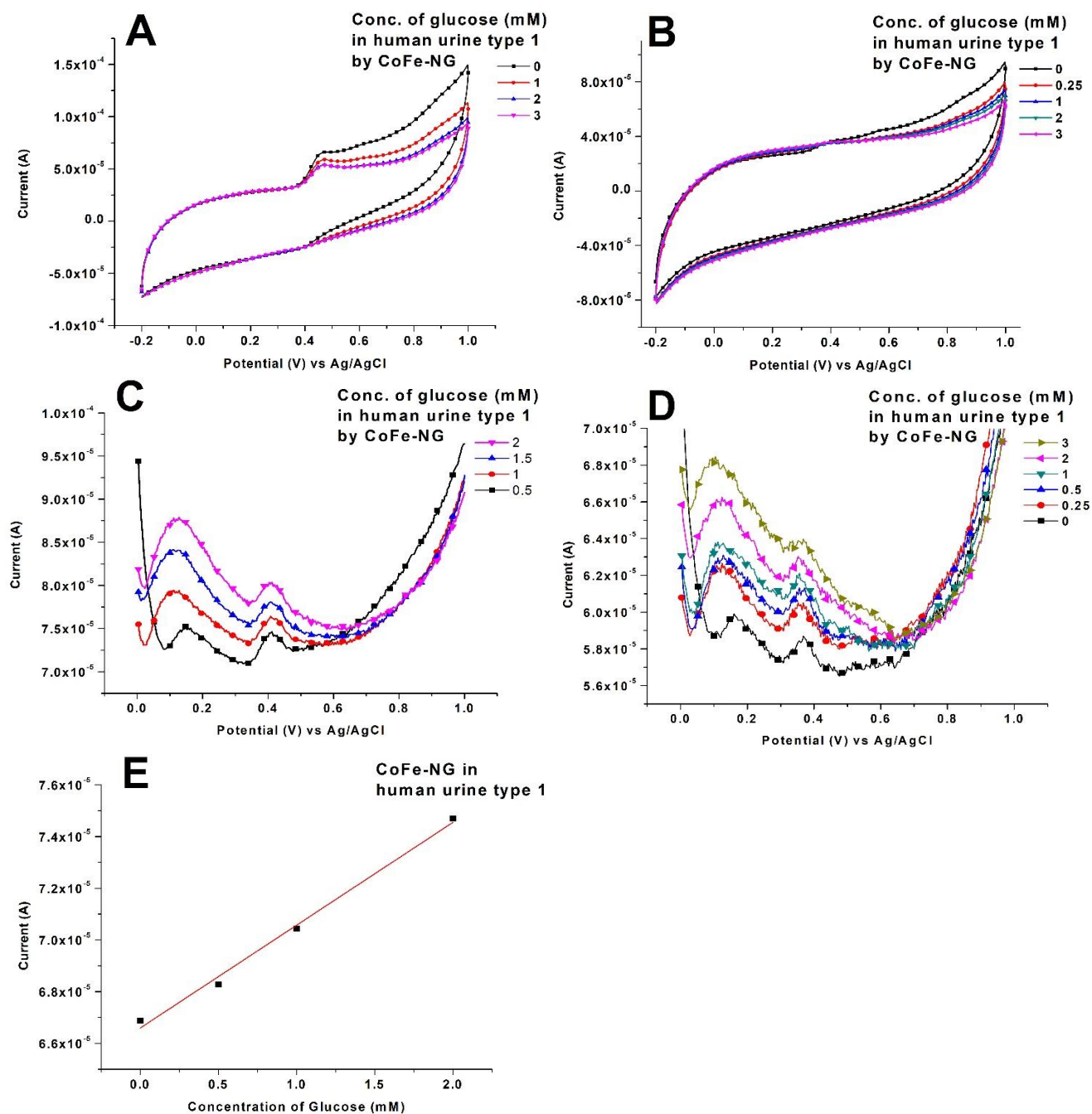


Figure 10. (A-B) Cyclic voltammograms, (C-D) differential pulse voltammograms, และ (E) calibration plot ของ CoFe-NG ในปัสสาวะคนประเภทที่ 1

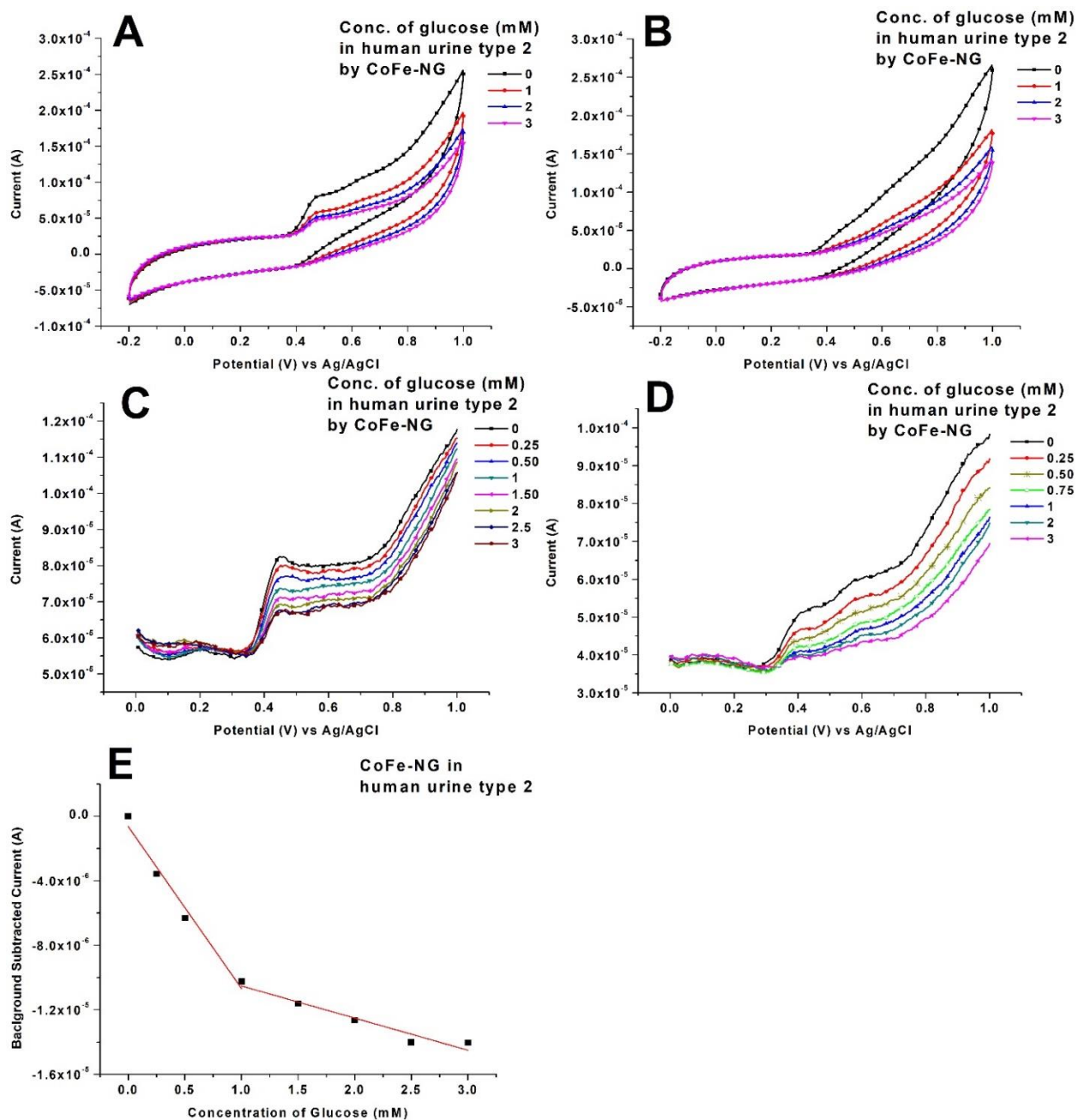


Figure 11 (A-B) Cyclic voltammograms, (C-D) differential pulse voltammograms, and (E) calibration plot ของ CoFe-NG ในปัสสาวะคนประเภทที่ II

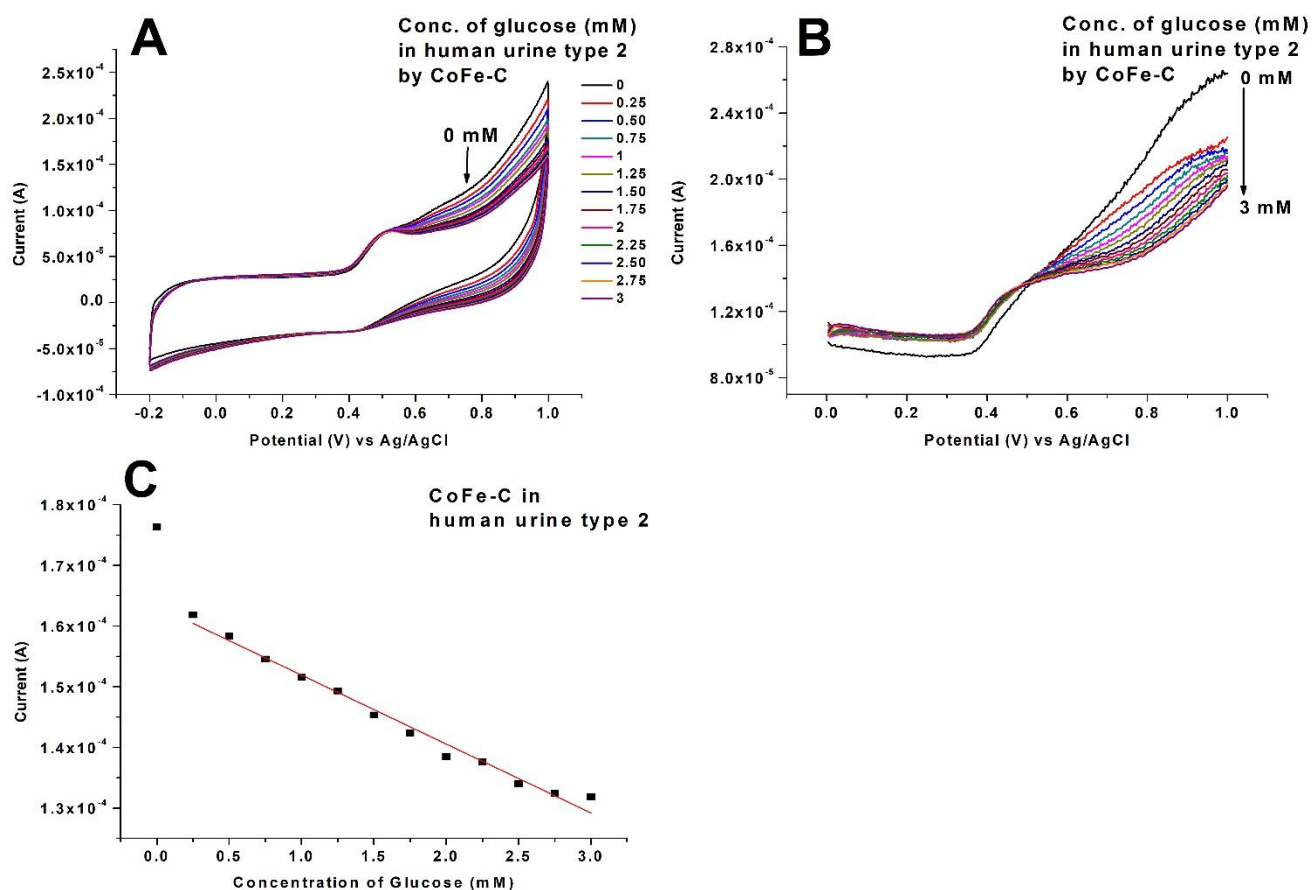


Figure 12. (A) Cyclic voltammograms, (B) differential pulse voltammograms, and (C) calibration plot of CoFe-C in human urine specimens type II

Table 1. Summary of glucose and creatinine levels in serum from clinical analysis in Human Urine Specimens obtained from Ladkrabang Hospital

ID	Gender	Age	FBS* (mg.dL ⁻¹)	Creatinine (mg.dL ⁻¹)
01	Female	65	112	0.6
02	Female	44	158	0.86
03	Female	54	229	1
04	Male	46	127	1.3

*Fasting Blood Glucose Serum (FBS)

Table 2 ตารางแสดงการวิเคราะห์สมบัติน้ำตาลในปัสสาวะของ CoFe-NG และ CoFe-C ในการตรวจวัดน้ำตาลในปัสสาวะ

Urine Type	Catalyst	LOD (mM) n=4	LOQ (mM)	Linear Range (mM)	Trend of CV ^a	Trend of DPV ^a	Potential Peak(s) in DPV (V)	Peak Correspondence
mAUM	CoFe-NG	0.25	0.83	0.25-3.0	+	+	0.18-0.20	Electroactive sites
	CoFe-C	0.07	0.24	1.0-3.0	-	-	0.88	Oxide formation
Surine	CoFe-NG	0.07	0.23	0.25-3.25	+	+	Not obvious	Oxidation observed from 0-0.8V
	CoFe-C	0.34	1.14	0.5-3.5	+	+	Not obvious	Oxidation observed from 0-0.6V
Human Urine Type I ^b	CoFe-NG	0.19	0.64	0.5-2.0	-	+	0.18 0.39-0.42	Electroactive sites Oxide formation
Human Urine Type II ^c	CoFe-NG	0.18	0.60	1.0-3.0	-	-	0.42	Oxide formation
	CoFe-C	0.21	0.71	0.25-3.0	-	-	0.58	Oxide formation

ในส่วนของการเปรียบเทียบประสิทธิภาพ CoFe-C กับ CoFe-NG Figure 12 ได้แสดงกราฟ CV, DPV และ calibration ในปัสสาวะประเภทที่ 2 ด้วย CoFe-C ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงเส้นที่ผกผันในย่านความต่างศักย์ที่สูงกว่า 0.58 V อันเกิดจากออกไซด์ของโคบอลต์และเหล็กที่ discharge กับออกซิเจนอันเป็นผลมาจากการจับกันของตัวเร่งปฏิกิริยาและโมเลกุลน้ำตาลกลูโคส ซึ่งมีข้อสังเกตที่ว่าปริมาณครีเอตินินที่มากในร่างกายสามารถส่งผลมายังปัสสาวะอาจจะอยู่รูปของครีเอตินินหรืออนุพันธ์และมีผลกระทบกับกระบวนการทำงานของ Co^{3+} ในการตรวจจับกลูโคส ในตารางที่ 2 ได้สรุปวิเคราะห์แนวโน้มความสัมพันธ์ของ CoFe-NG และ CoFe-C ในปัสสาวะ mAUM, Surine และปัสสาวะคน รวมทั้งแสดงช่วงการตรวจวัดเชิงเส้น ค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantification (LOQ) มาในที่นี้ด้วย

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง และข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

การทดสอบการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการถ่ายโอนอิเล็กตรอนอย่างคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพต่อการผลิตด้วยการใช้โลหะผสมโคบอลต์-เหล็กบนตัวรองรับกราฟีนเจือด้วยไนโตรเจนสามารถตรวจวัดน้ำตาลในปัสสาวะที่สภาวะเป็นกลางได้โดยการทดลองนี้ได้ทดสอบอย่างครอบคลุมในปัสสาวะเทียมสองประเภทและตัวอย่างจากปัสสาวะคน ซึ่งถือเป็นการค้นพบใหม่ในการพัฒนาตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีไฟฟ้าที่สามารถจับกับน้ำตาลกลูโคสในสภาวะที่เป็นกลางได้ อย่างไรก็ตามการเพิ่มประสิทธิภาพของ LOD และความเสถียรของระบบควรมีการปรับปรุงให้ดีขึ้นไปเพื่อสามารถนำไปใช้ในการตรวจวัดที่มีความแม่นยำและรวดเร็วที่ดียิ่งขึ้นในอนาคต

บรรณานุกรม

- [1] S. Zhang, Y. Hao, D. Su, V.V.T. Doan-Nguyen, Y. Wu, J. Li, S. Sun, C.B. Murray, Monodisperse Core/Shell Ni/FePt Nanoparticles and Their Conversion to Ni/Pt to Catalyze Oxygen Reduction, Journal of the American Chemical Society, 136 (2014) 15921-15924.
- [2] T. Brooks, C.W. Keevil, A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens, Letters in Applied Microbiology, 24 (2003) 203-206.
- [3] L.B. Khan, H.M. Read, S.R. Ritchie, T. Proft, Artificial Urine for Teaching Urinalysis Concepts and Diagnosis of Urinary Tract Infection in the Medical Microbiology Laboratory, Journal of Microbiology & Biology Education, 18 (2017) 18.12.46.
- [4] Y. Xu, K. Sheng, C. Li, G. Shi, Self-Assembled Graphene Hydrogel via a One-Step Hydrothermal Process, ACS Nano, 4 (2010) 4324-4330.
- [5] P. Chen, J.-J. Yang, S.-S. Li, Z. Wang, T.-Y. Xiao, Y.-H. Qian, S.-H. Yu, Hydrothermal synthesis of macroscopic nitrogen-doped graphene hydrogels for ultrafast supercapacitor, Nano Energy, 2 (2013) 249-256.
- [6] Z.-Y. Sui, Y.-N. Meng, P.-W. Xiao, Z.-Q. Zhao, Z.-X. Wei, B.-H. Han, Nitrogen-Doped Graphene Aerogels as Efficient Supercapacitor Electrodes and Gas Adsorbents, ACS Applied Materials & Interfaces, 7 (2015) 1431-1438.
- [7] A. Stadnik, F.Q. Mariani, F.J. Anaissi, Effects of precursor salt on colloidal cobalt oxyhydroxides composition and its application in non-enzymatic glucose electrooxidation, South African Journal of Chemistry, 70 (2017) 137-144.
- [8] P.P. Tomanin, P.V. Cherepanov, Q.A. Besford, A.J. Christofferson, A. Amodio, C.F. McConville, I. Yarovsky, F. Caruso, F. Cavalieri, Cobalt Phosphate Nanostructures for Non-Enzymatic Glucose Sensing at Physiological pH, ACS Applied Materials & Interfaces, 10 (2018) 42786-42795.

ภาคผนวก

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (เอกสารแนบ 1)

Metini Janyasupab, Chen-Wei Liu, Narong Chanlek, Sirinart Chio-Srichan, Chamras Promptmas, Werasak Surareungchai, "A comparative study of non-enzymatic glucose detection in artificial human urine and human urine specimens by using mesoporous bimetallic cobalt-iron supported N-doped graphene biosensor based on differential pulse voltammetry," Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 286, 2019, Pages 550-563,

ISSN 0925-4005, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.018>.

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400519302217>)

เป็นวารสารวิชาการในฐานข้อมูล Web of Science (Impact factor of 5.67)

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์เชิงวิชาการ (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่) สร้างบุคลากรใหม่ในการทำวิจัยที่สามารถพัฒนาประสิทธิภาพในการตีพิมพ์และได้สร้างองค์ความรู้ต่อยอดในการพัฒนาเซ็นเซอร์ในประเทศไทยที่จะเป็นประโยชน์ในการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะในอนาคต

3. การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการโดยเผยแพร่ในงานประชุมวิชาการ (ตามเอกสารแนบ 2)

The IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (Malaysia Chapter), IEEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES 2018), Kuching, Malaysia, December 3-6, 2018 ในชื่อผลงาน Development of Amperometric N-doped Graphene supported Cobalt/Iron based Sensor for Non-Enzymatic Glucose Detection in Urine โดย Metini Janyasupab และ Chamras Promptmas, และการตีพิมพ์ในฐานข้อมูล IEEE Xplore (Scopus), Section: The 2018 IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (Malaysia Chapter), IEEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES 2018)

เอกสารแนบ 1

Metini Janyasupab, Chen-Wei Liu, Narong Chanlek, Sirinart Chio-Srichan, Chamras Promptmas, Werasak Surareungchai, "A comparative study of non-enzymatic glucose detection in artificial human urine and human urine specimens by using mesoporous bimetallic cobalt-iron supported N-doped graphene biosensor based on differential pulse voltammetry," Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 286, 2019, Pages 550-563,

ISSN 0925-4005, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.018>.

(<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400519302217>)

เป็นวารสารวิชาการในฐานข้อมูล Web of Science (Impact factor of 5.67)



A comparative study of non-enzymatic glucose detection in artificial human urine and human urine specimens by using mesoporous bimetallic cobalt-iron supported N-doped graphene biosensor based on differential pulse voltammetry

Metini Janyasupab^{a,*}, Chen-Wei Liu^b, Narong Chanlek^c, Sirinart Chio-Srichan^c, Chamras Promptmas^d, Werasak Surareungchai^{e,f}

^a Department of Electronics Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand

^b Green Energy and Environment Research Laboratories, Industrial Technology Research Institute, Hsinchu 310, Taiwan

^c Synchrotron Light Research Institute (Public Organization), Nakhon Ratchasima, 30000, Thailand

^d Department of Biomedical Engineering, Mahidol University, Nakhon Pathom, 73170, Thailand

^e School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, 10150, Thailand

^f Nanoscience and Nanotechnology Graduate Program, Faculty of Science, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140, Thailand

ARTICLE INFO

Keywords:

Bimetallic catalyst
Non-enzymatic detection
Glucose in urine

ABSTRACT

Development of non-invasive glucose measurement allows future advancement of smart sensing platform for diagnostic technology. Especially for endocrine disorders, advanced kidney diseases, and diabetes, monitoring excessive glucose level in urine can provide invaluable information for clinical prognosis and preventive healthcare. Herein, we present a comparative electrochemical study of cobalt/iron (CoFe) catalyst on nitrogen-doped graphene (NG) for non-enzymatic glucose detection, carried out in physiological pH urine including (i) modified artificial urine medium (mAUM), (ii) commercial standard urine (Surine), and (iii) human urine specimens. With no requirement of strong alkaline addition, catalytic properties of CoFe-NG were assessed by using cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV) on a glassy carbon rotating disk electrode. Upon successive glucose additions from 0 to 3 mM, DPV results revealed two anodic peaks at +0.18 V and +0.42 V versus Ag/AgCl, corresponding to Co³⁺ and Co⁴⁺ as a result of glucose binding in urine. By evaluating at +0.18 V, the sensitivities of CoFe-NG were estimated to be 16.77 ($R^2 = 0.987$), 45.36 ($R^2 = 0.988$), and 20.26 ($R^2 = 0.991$) $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ with the limit of detection of 0.25, 0.07, and 0.19 mM in mAUM, Surine, and human urine specimen with low serum creatinine, respectively. Furthermore, the effects of CoFe on graphene (G) and carbon Vulcan XC-72 (C) were also studied in comparison of NG on the bimetal. Interestingly, CoFe-C showed a good electrochemical trend in glucose detection in urine. However, negligible catalytic activity was presented in CoFe-G. Thus, electrochemical responses of CoFe-C were also further studied in the comparison of CoFe-NG in each type of urine. Overall, CoFe-NG outperformed CoFe-C in all types of urine and exhibited an excellent anti-interference property toward uric acid, thereby suggesting great potential for the next generation of glucose sensing platform in urine.

1. Introduction

A growing concern of diabetes mellitus has become a globally significant public health challenge, causing other non-communicable diseases and health complications such as cardiovascular disease, stroke, and chronic kidney failure [1]. For ease of comfort, non-invasive glucose measurement has tremendously gained more attention not only in treatment efficacy but also preventive healthcare promotion. For

practical glucose monitoring, an assessment of glucose in urine can be a good indicator [2–5], easily accessible and secreted from excessive glucose in the body due to an imbalance of kidney function, endocrine disorders and hyperglycemia. Recently, development of non-enzymatic glucose detection has been demonstrated to overcome the limitations of traditional enzyme based glucose sensors, affected by humidity, pH, enzyme's deformation, poor reproducibility, and high cost of production [6]. As explained by Pletcher [7], the mechanism of non-enzymatic

* Corresponding author at: 1 Chalongkrung Road, Soi 1, Ladkrabang, Bangkok, 10520, Thailand.

E-mail address: metini.ja@kmitl.ac.th (M. Janyasupab).

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.018>

Received 26 August 2018; Received in revised form 30 January 2019; Accepted 4 February 2019

Available online 05 February 2019

0925-4005/© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

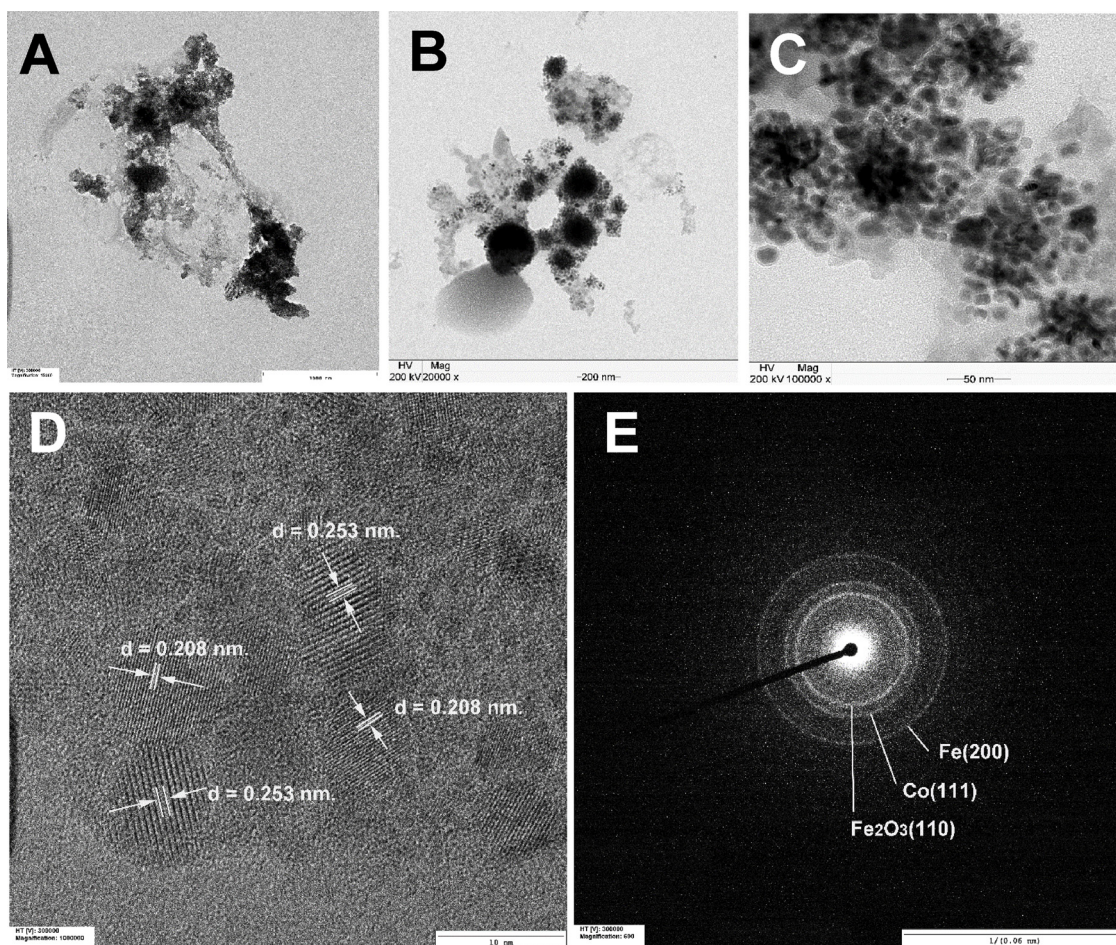


Fig. 1. (A) TEM image of CoFe-NG, (B)–(C) TEM images of CoFe, (D) HRTEM of CoFe, and (E) SAED pattern showing the diffraction of Fe₂O₃ (110), Co(111), and Fe (200) from inside to outside, respectively.

glucose sensor is involved in chemisorption of hydroxyl group onto the metal catalyst, subsequently allowing a bond formation of the d-electron of metal and glucose molecule. As a result, a change of oxidation state of glucose molecule onto the metal surface also corresponds to a change of metal-glucose interaction, thereby lowering glucose-metal bond strength and resulting in desorption of glucose molecules [6]. Another possible explanation is based on Incipient Hydrated Oxide Adatom Mediator (IHOAM) model, proposing a pre-monomer process of OH_{ads} that mediates the oxidation of glucose [8].

By considering a mimicking process of enzyme-like mechanism, several metals and metal oxides such as Au [9], Pt [10,11], Cu [12–15], Ni [16–18], Mn [19,20], Co [21,22], and Fe [23,24] have been reported for the direct electrochemical oxidation of glucose and electron transfer. Among these metals, Co-based catalysts have been considered an attractive choice due to low cost of production, high stability, excellent catalytic activities toward hydrogen peroxide (H₂O₂) and glucose, and various oxidation states including Co(OH)₂, CoOOH, and CoO₂ [25–27]. For example, cobalt nitride nanosheet (Co₃N-NSs) was reported a high sensitivity of 1137.2 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ for glucose detection in alkaline medium as a result of an excellent mass transfer ability by Co⁴⁺ active sites [28]. Also, Co oxide and Co complex including cobalt oxyhydroxides [29], Co₃O₄ [30,31], CoO_x overoxidized polypyrrole [32], cobalt phthalocyanine [33], and network Co₃(PO)₄ [27] have been utilized the Co²⁺/Co³⁺ and Co³⁺/Co⁴⁺ redox couples for non-enzymatic glucose detection under alkaline supporting electrolytes. Although the advantage of high catalytic activity and electron transfer are presented, operation in strongly alkaline condition is not practical for most of physiological specimens. For the most commonly

used alkaline electrolyte, 0.1 M of sodium hydroxide (NaOH) has a pH of 13, leading to a less environmentally suitable condition for proteins and other biological analytes. However, eliminating the use of alkaline supporting electrolyte can severely affect the electron transfer process of Co and other non-precious metals. Therefore, functional doping of carbon materials support has been strategically designed to facilitate electron transfer process in aqueous media. For example, N-doped carbon dots [34–36], N-doped graphene quantum dots [37–39], and pyridinic N-doped graphene [40–43] have reported for the higher sensitivity in oxygen reduction reaction mechanisms and sensing applications. Not only promoted electrical conductivity, but a recent study of N-doping on graphene for non-enzymatic glucose detection in both alkaline and neutral pH electrolyte has also been proven as an effective strategy for enhancement of the catalytic activity of graphene due to the improvement of electron-donor ability, charge distribution, and binding ability of graphene [44].

Unlike neutral buffer solution, a wide range of pH from 4 to 8 can be found in normal urine condition [45,46]. In addition, possible electroactive species including bicarbonate, chloride ion, urea, and creatinine can be completing the active sites of catalyst during glucose detection. Therefore, our approach in this study was to incorporate Fe metal in order to facilitate hydroxyl adsorption on Co and consequently form Co active sites. Iron and iron oxide have also shown a great advantage of low-cost and excellent catalytic activities toward glucose detection [23,47–49]. Not only facilitates the electron transfer but iron oxide also provides an intrinsic peroxidase-like catalysis property, promoting (OH)_{ads} in glucose oxidation [24]. Herein, we investigated mesoporous cobalt/iron (CoFe) on nitrogen-doped graphene (NG)

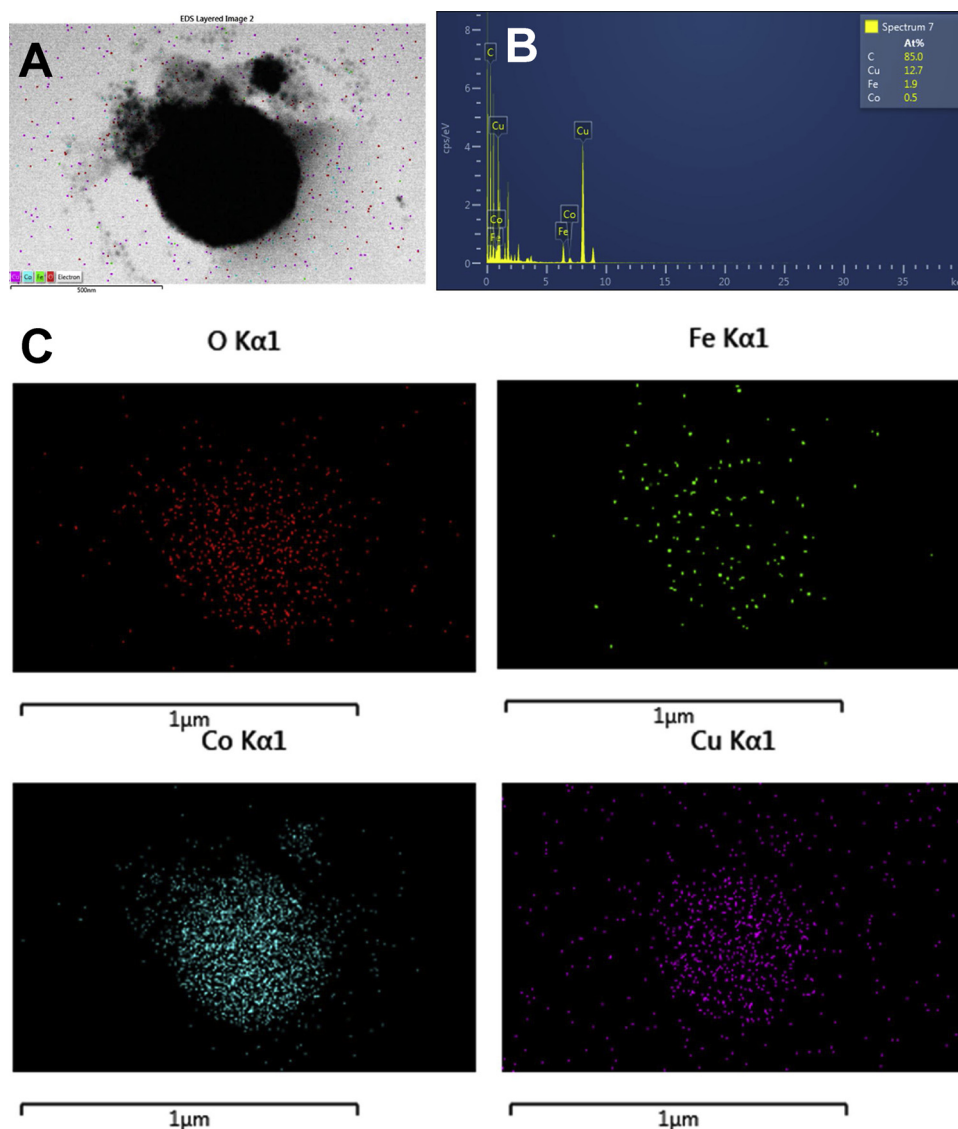


Fig. 2. (A) STEM bright field image of CoFe cluster, (B) EDS spectrum, and (C) EDS elemental mapping of O, Fe, and Co elements on Cu grid.

catalyst for the first time in physiological pH urine including modified artificial urine medium (mAUM), commercial artificial urine, namely, Surine, and human urine specimens. Among these sources of urine, direct comparisons of electrocatalytic behaviors of CoFe-NG were carried out. The studies were performed on the modified glassy carbon rotating disk electrode (RDE), providing kinetic response, assessed by cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV). In addition, the effects of different carbon supports such as graphene (G) and active carbon Vulcan XC-72 (C) on CoFe were also evaluated in both alkaline and neutral pH conditions. Furthermore, morphological, elemental, and chemical properties of CoFe-NG were also characterized. Overall, CoFe-NG showed an excellent catalytic performance in neutral media without any electron facilitator, leading to a new advancement for practical glucose determination in urine.

2. Experimental

2.1. Materials and reagents

Cobalt (II) acetylacetonate ($\text{Co}(\text{acac})_2$, 99.0%), Iron (III) acetylacetonate ($\text{Fe}(\text{acac})_3$, 99.9%), Oleic acid (OAc, 90%), Oleylamine (OAm, 70%), Benzyl Ether (BE, 98%), 1-Octadecene (ODE, > 95.0%), and Trioctylphosphine (TOP, 97%) were used as metal precursors and

solvents for nanoparticle synthesis. Natural graphite flakes (99%), sulfuric acid (98%), sodium nitrate (NaNO_3), potassium permanganate (KMnO_4), and ammonia were used to produce graphene oxide and NG. In comparison of different carbon supports, Vulcan XC 72R (Cabot) and graphene powder were used in this study. For electrochemical experiments, Surine, Nafion (5% solution), glucose, glacier ascorbic acid (AA), and uric acid (UA) were used as electrode coating materials and testing reagents. Sodium bicarbonate (NaHCO_3), sodium chloride (NaCl), sodium sulphate decahydrate ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), di-potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4), ammonia chloride (NH_4Cl), creatinine, and urea were used to prepare mAUM by the following guideline [46,50] in Supplemental Section S1. Deionized water (18.2 MΩ) was utilized to prepare all solutions. All chemicals were of analytical grade and purchased from Sigma Aldrich without further purification. Human urine specimens were obtained from patients at Ladkrabang Hospital, Bangkok, Thailand.

2.2. Synthesis of nanoparticles

Bimetallic CoFe was prepared by a modified method of template-free self-assembly approach as reported by Zhang et al. [51]. In a typical synthesis of the single Co, a mixture of organic solvents,

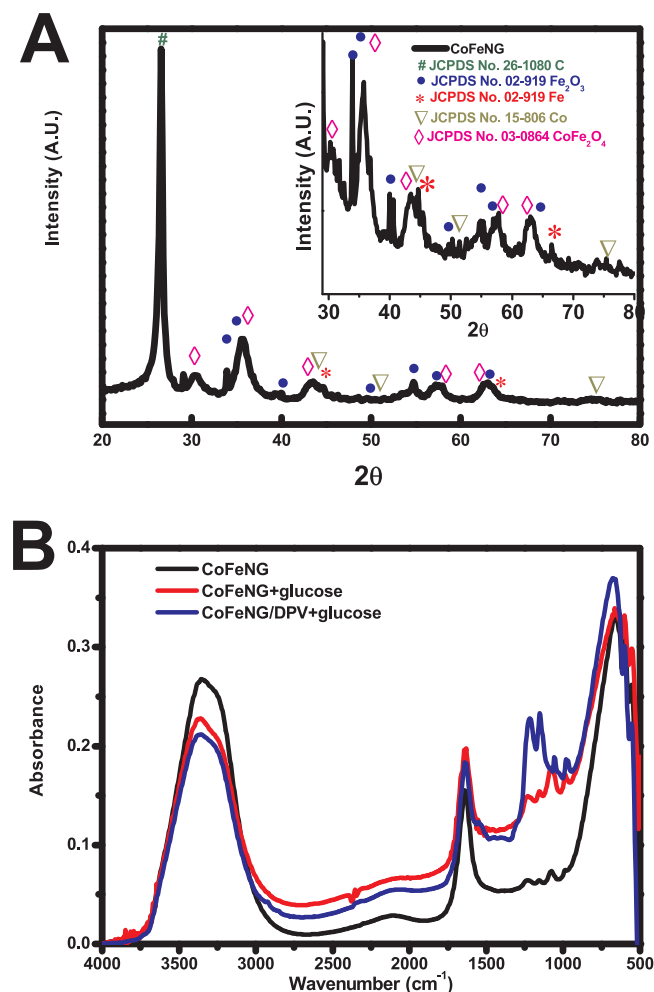


Fig. 3. (A) XRD patterns of CoFe-NG with the primary peaks indexed to JCPDS references and (B) FTIR spectra of CoFe-NG (black), CoFe-NG mixed with 2 mM glucose in urine without DPV operation (red), and CoFe-NG after DPV operation in the presence of 2 mM glucose in urine (blue). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

containing 8 mL of OAm, 4 mL of OAc, 4 mL of ODE and 2 mL of TOP, was added into a three-neck flask. After stirring for 5 min, 156.96 mg of Co (acac)₂ (0.61 mmol) was dissolved into 2 mL BE and then added to the flask. The mixture was then heated up to 110 °C under nitrogen for 1 h to remove all impurities, and continuously to 230 °C for 20 min to form Co nanoparticles. Afterward, the solution turned black, and was cool down at room temperature with isopropanol addition. The black precipitate was then collected by centrifugation at 10,000 r.p.m. for 20 min, 0 °C, and washed with hexane and methanol several times. Subsequently, the single Co was collected and stored in hexane. For bimetallic CoFe synthesis, 0.61 mmol of Fe(acac)₂ was dissolved in the organic solvents and then mixed with 0.2 mmol Co nanoparticle solution. Similarly, the CoFe was followed the aforementioned synthesis steps to collect the black precipitate and stored in hexane.

2.3. Synthesis of modified N-doped graphene

N-doped graphene was prepared by hydrothermal reduction of graphene oxide and a nitrogen source, ammonia. Initially, graphene oxide was synthesized by the modified Hummer method [52] described in Supplemental Section S2. Subsequently, N-doped graphene preparation was followed by Chen et al. and Sui et al. [53,54]. In brief, the as-prepared graphene oxide powder was dispersed in water by

ultrasonication (5 mg mL⁻¹), and centrifugation at 4000 rpm for 30 min. 30 mL of graphene oxide suspension was then mixed with 0.6 g. of ammonia under stirring for 15 min. The solution was then transferred into a 50 mL-Teflon-line autoclave and raised the temperature to 180 °C for 12 h. After the reaction was cool down, the solution was vacuum filtered and washed with DI water to collect the precipitate NG. Finally, NG was dried at 80 °C overnight.

2.4. Preparation of NG and CoFe catalysts on modified glassy carbon electrode (GCE)

Prior to each trial, GCE (diameter of 5 mm) was clean with DI water and ethanol, then polished with alumina powder, and ultrasonicated for 15 min. Metal loading of 10% wt. CoFe was loaded onto NG, G and C for a preliminary evaluation on supporting materials. Followed by ultrasonication for 1 h, the suspension was then dried at 80 °C for 12 h to obtain catalyst powder. In the preparation of the modified GCE, 8 mg of catalyst was dissolved into 100 μL ethanol and added 100 μL of 5% Nafion solution. Then, 8 μL of the mixture was dropped on the GCE (the metal catalyst loading of 163 μg cm⁻²).

2.5. Material characterizations

Morphological, elemental, and chemical characterizations of the as-prepared catalysts were studied by Transmission Electron Microscopy (TEM), Scanning Transmission Electron Microscopy (STEM) and Energy Dispersive X-ray spectroscopy (EDS), operated by JEOL JEM-200CX at 200 kV, X-ray diffraction (XRD, Scintag X-1, operating at 40 kV and 40 mA and using Cu K α radiation λ = 1.54056 Å), Fourier Transform Infrared spectra (FTIR, Shimadzu, IRPrestige-21, Japan, operated at 4000–400 cm⁻¹ in Attenuated Total Reflection (ATR) mode), and X-ray Photoemission Spectroscopy (XPS, PHI 5000, Versa Probe II XPS system, ULVAC-PHI, Japan)

2.6. Electrochemical performance

A three-electrode system of working electrode (GCE), auxiliary electrode (Pt), and reference electrode (Ag/AgCl) was employed to examine electrochemical properties in mAUM, Surine, and human urine samples, with the measured pH values of 6.8, 6.7, and 6.5, respectively. For all studies, measurements of glucose concentration from 0 to 3 mM were conducted by successive additions of 2.5 μL of 500 mM glucose into 5-mL testing urine solution. Also, RDE was electrochemically clean by applying the pretreatment from 0 to 1.2 V at 50 mV s⁻¹, 50 cycles before each test. In this study, CV measurements were performed from -0.2 to 1.0 V vs Ag/AgCl at scan rate of 50 mV s⁻¹. And, the results of DPV were obtained from 0 to 1 V vs Ag/AgCl with the increment of 4 mV, amplitude of 50 mV, pulse width of 0.05 s and pulse period of 0.5 s. Furthermore, AA and UA were added as interfering species in mAUM. All measurements were carried out by CHI900B potentiostat and the RDE modular workstation (Pine Research Instruments, USA), operated at 900 rpm for controlling the kinetic environment.

3. Results and discussion

3.1. Material characterizations

The microstructure of CoFe-NG (Fig. 1A) and morphology of CoFe (Fig. 1B) were characterized by TEM. As shown in Fig. 1C, mesoporous spherical clusters of CoFe, ranging from 74 to 246 nm, can be observed with the average of 176 nm in diameter. In each cluster, small Co and Fe nanoparticles were highly interconnected between neighboring atoms. For a high-resolution TEM, Fig. 1D shows CoFe nanoparticles with the average diameters of 8.25 nm, and crystalline lattice fringes with the d-spacing of 0.208 and 0.253 nm, corresponding to Co(111) and Fe₂O₃(110), respectively. Further details of the crystalline lattice

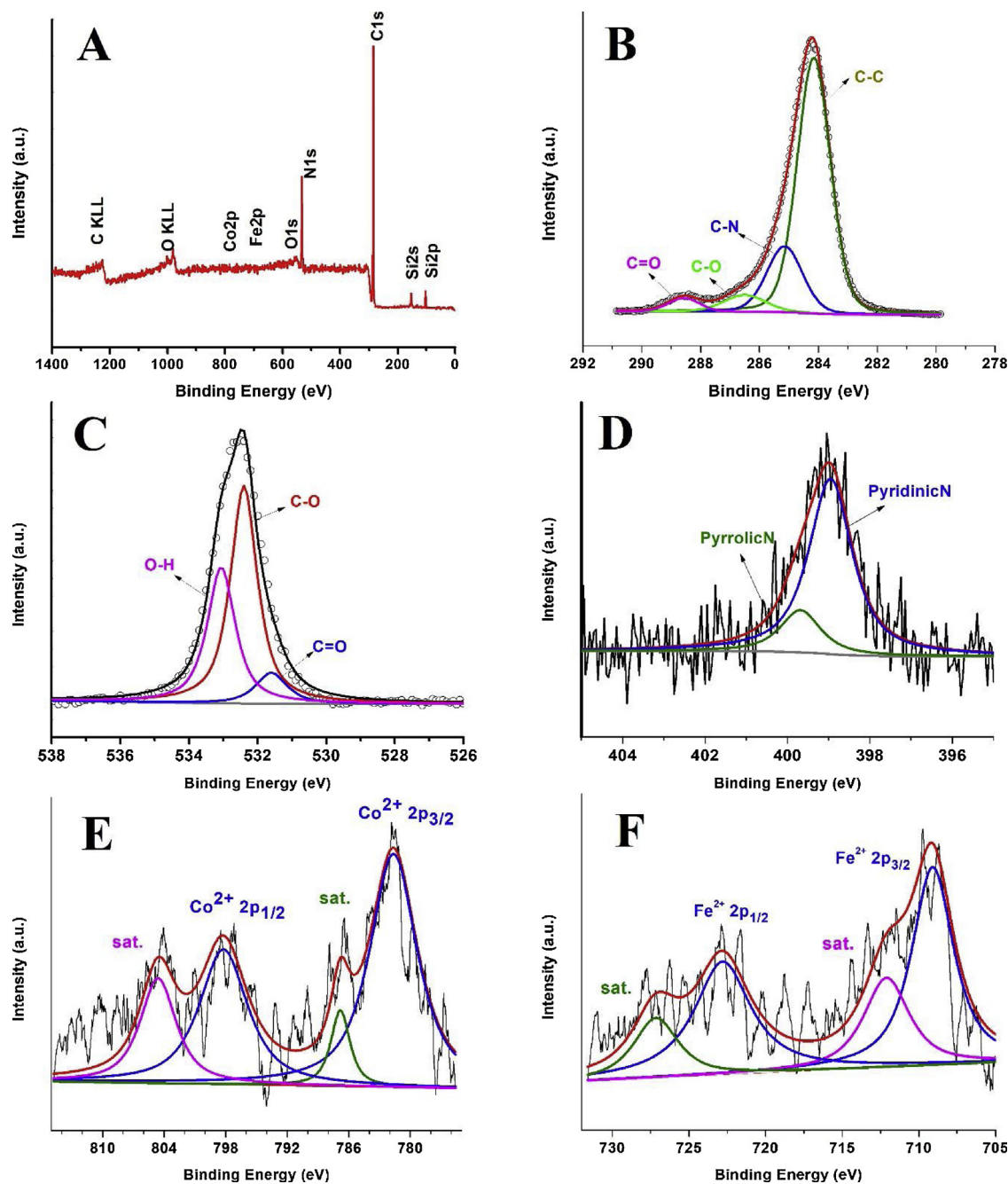


Fig. 4. (A) XPS wide spectrum of N-doped graphene supported CoFe catalyst, (B–F) High-resolution spectra of C1s, O1s, N1s, Co2p, and Fe2p, respectively.

can be observed in selected area electron diffraction (SAED) analysis as shown in Fig. 1E. The patterns reveal three concentric diffraction rings from the center with the d spacing of 0.253, 0.208, and 0.146 nm, corresponding to $\text{Fe}_2\text{O}_3(110)$, $\text{Co}(111)$, and $\text{Fe}(200)$, respectively. Furthermore, Fig. 2A and B present STEM image and EDS spectrum of the catalyst, confirming the coexistence of C, Co and Fe with the estimated composition in the gravimetric percentage of 0.5% Fe, 1.9% Co, and 85% C. On the selected cluster, Fig. 2C demonstrates elemental mapping of Co, Fe, and O elements, suggesting concentric center Co with the surrounding iron oxide throughout the cluster.

Fig. 3A shows an XRD characteristic pattern of CoFe-NG catalyst powder from 20° to 80° with the inset of the high-resolution XRD pattern. In detail, a strong carbon peak was indicated at 25.8° indexed to JCPDS 26-1080. Diffraction peaks of Co, Fe, Fe_2O_3 , and CoFe_2O_4 were also observed and indexed to JCPDS 15-806, JCPDS 06-0696, JCPDS

02-0919, and JCPDS 03-0864, respectively. Furthermore, three distinct peaks at 35.7° , 44.2° , and 65.0° were also in agreement with the SAED analysis in Fig. 1E, confirming the lattice phase of $\text{Fe}_2\text{O}_3(110)$, $\text{Co}(111)$, and $\text{Fe}(200)$ in this study. In addition, the FTIR spectra of CoFe-NG samples were examined with the following conditions: (i) freshly prepared CoFe-NG catalyst, (ii) CoFe-NG mixed with 2 mM glucose but no electrochemical DPV operation, and (iii) CoFe-NG after 2 mM glucose detection under DPV operation. The results of these condition (i)–(iii) were denoted as CoFe-NG (black), CoFe-NG + glucose (red), and CoFe-NG/DPV + glucose (blue), respectively in Fig. 3B. In particular, all spectra manifest OH bonding in the range of $3500\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ and also the band at 1600 cm^{-1} , corresponding to OH absorption and OH bending, respectively [29,55]. A shoulder at 1543 cm^{-1} was observed and assigned to a typical interval for amide II (C-N) absorption in the condition (iii) after DPV operation of 2 mM glucose, implying that the

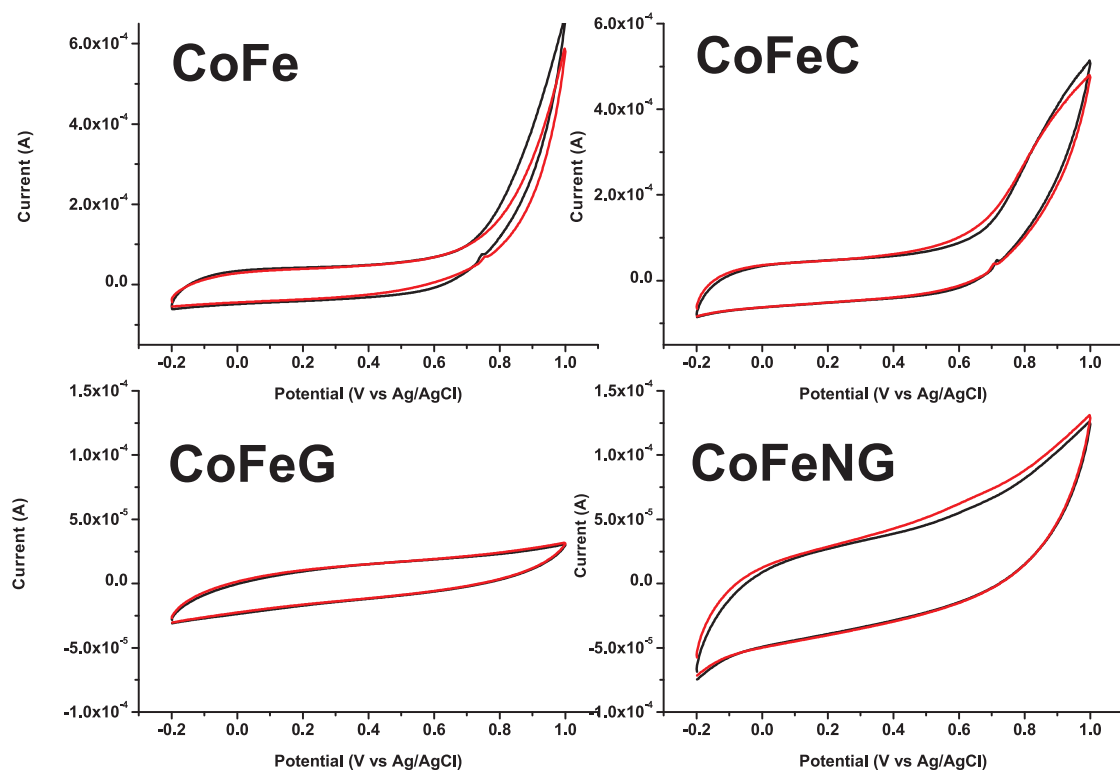


Fig. 5. Cyclic voltammograms of CoFe catalysts on different supporting materials with 2 mM glucose (red) and background (black) in mAUM containing 0.1 M NaOH (pH = 13). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

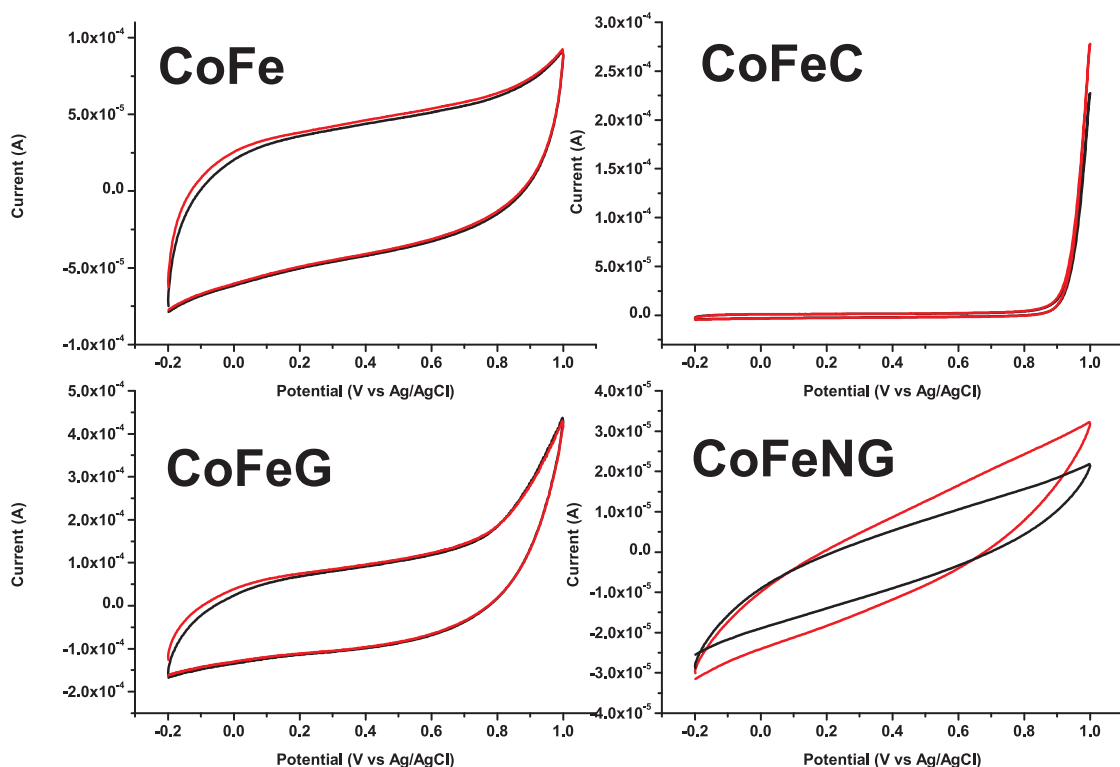


Fig. 6. Cyclic voltammograms of CoFe catalysts on different supporting materials with 2 mM glucose (red) and background (black) in Surine (pH = 6.7). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

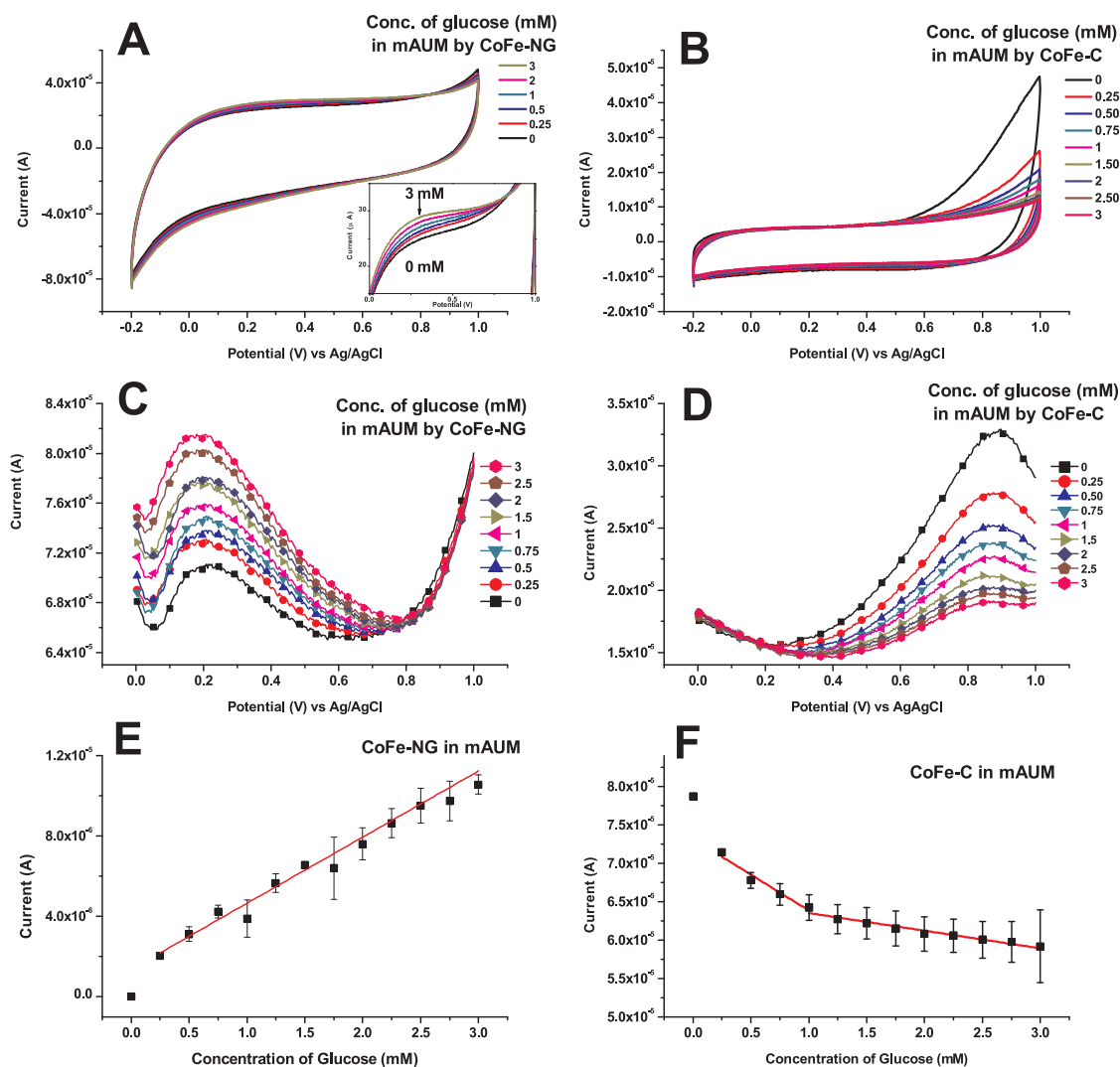


Fig. 7. Cyclic voltamograms of (A) CoFe-NG and (B) CoFe-C; differential pulse voltammograms of (C) CoFe-NG and (D) CoFe-C; calibration plots of (E) CoFe-NG and (F) CoFe-C in mAUM, respectively.

formation on C-N of CoFe-NG occurred in the glucose oxidation of CoFe-NG. In addition, there were 4 bands in glucose absorption region including the bands of 1234–1215, 1157–1150, 1080–1053 and 987–975 cm^{-1} representing C–O–C and C–O stretching bonds [29]. It was worthy to note that the shift of these peaks to the lower wavenumber was observed. Moreover, none of these peaks was presented by CoFe-G (shown in Fig. S3). Furthermore, the peaks at 670 and 560 cm^{-1} were attributed to the vibration in metal oxide regions [29,55–57].

For surface chemical compositions, CoFe-NG was characterized by XPS. As shown in Fig. 4A, the wide scan of XPS spectra indicates the presence of C, O, Co, Fe, N, and Si-substrate. In Fig. 4B, four resolved peaks of the C1s were located at 284.2, 285.1, 286.5 and 288.6 eV, attributed to C–C, C–N, C–O, and C=O bonds of N-doped graphene, respectively. In addition, the interaction of carbonyl group and hydroxyl group were also confirmed in O1s (shown in Fig. 4C) with the fitted curves of binding energy at 531.6, 532.4, and 533 eV, corresponding to C–O, C=O, and OH groups, respectively. In Fig. 4D, two resolved peaks of N1s at 399 and 399.7 eV represented pyridinic N and pyrrolic N on the catalyst. It was notably reported that the role of pyridinic N is an important N species for electrocatalysis by promoting current density, cathodic reduction peak, and onset potential in oxygen reduction reaction [21]. Furthermore, Co2p and Fe2p spectra were attributed to Co^{2+} and Fe^{2+} species as shown in Fig. 4E and F,

respectively. The overall results of XPS study confirmed that all surface chemical compositions of CoFe-NG were found in the as-prepared catalyst.

3.2. Electrochemical performance in mAUM and surine

In our preliminary studies, the effect of CoFe incorporated on NG was evaluated with different carbon supports in alkaline medium as well as neutral pH urine. Fig. 5 illustrates CV results of 2 mM glucose by using pure CoFe, CoFe-C, CoFe-G, and CoFe-NG in mAUM with 0.1 M NaOH (pH = 13). In comparison to the absence of glucose (black), the increasing oxidation current from glucose addition only occurred in the case of CoFe-NG. While decreasing oxidation current was observed in both CVs of pure CoFe and CoFe-C, negligible response was found in that of CoFe-G. Further studies of support materials were also performed by using only C, G, and NG to detect glucose in alkaline and physiological pH Surine as shown in Supplemental Section S4. In Fig. S4-1, CV of NG explicitly shows the increase of oxidation current of glucose in mAUM with 0.1 M NaOH as compared to that of G and C. Thus, the oxidation of glucose in alkaline medium was attributed the catalytic property of NG. However, no obvious electrochemical response of glucose was observed in Surine (pH of 6.7) by any of these carbon materials as shown in Fig. S4-2. Therefore, further CV measurements of CoFe, CoFe-G, CoFe-C and CoFe-NG were performed in

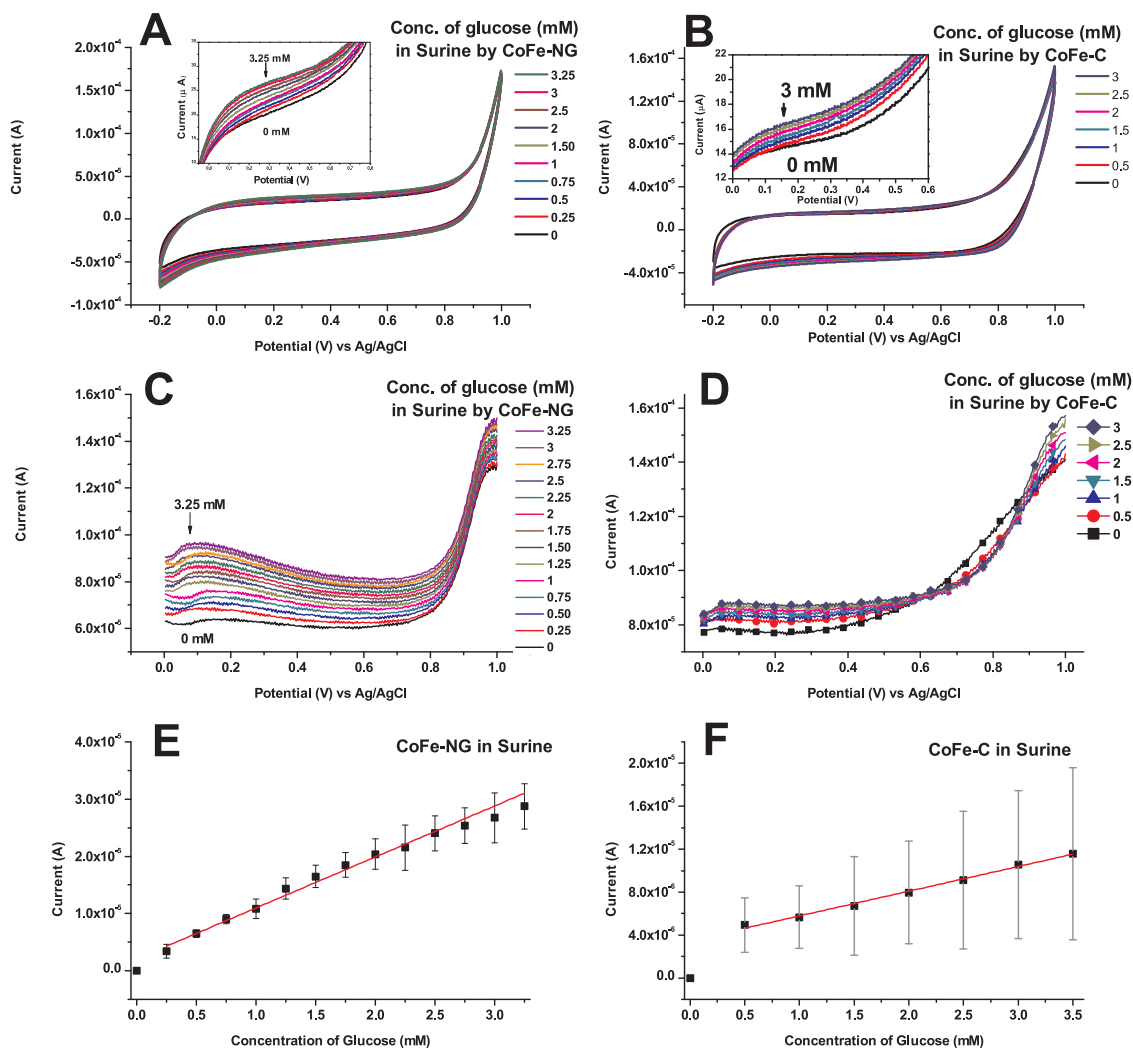


Fig. 8. Cyclic voltammograms of (A) CoFe-NG and (B) CoFe-C; differential pulse voltammograms of (C) CoFe-NG and (D) CoFe-C; calibration plots of (E) CoFe-NG and (F) CoFe-C in Surine, respectively.

physiological pH Surine. Fig. 6 indicates that only CoFe-NG shows the obvious electrochemical change of glucose response in Surine. In consideration of well-conducted graphene, CoFe-G did not indicate superior results in both Figs. 5 and 6 due to the less catalytic glucose binding as compared to CoFe-NG. Hence, our results summarized that both CoFe and NG incorporation play important roles for catalytic glucose oxidation in nearly neutral pH urine environment. For providing more comparative electrochemical behaviors of CoFe-NG, CoFe-C was also selected as a control in further CV and DPV experiments in this study.

For glucose determination in physiological urine, Fig. 7 shows CVs, DPVs, and calibration plots of CoFe-NG and CoFe-C over the range of 0–3 mM glucose in mAUM. In detail, Fig. 7A shows small increasing oxidation current approximately in the range of 20–30 μA in mAUM, due to the dominating non-faradic process in CV of CoFe-NG. On the other hand, CV of CoFe-C in Fig. 7B demonstrates the decreasing oxidation current upon glucose addition at the oxide formation region above 0.55 V onwards. This phenomenon of diminishing current upon increasing glucose substrate could be explained by the depletion of the oxygen in discharge process of CoO_2 and Fe_2O_3 species [58]. Further details on electrocatalytic activities in faradic process were carried out by DPV. As shown in Fig. 7C, a distinct oxidation peak of 0.18 V was presented in DPV of CoFe-NG, corresponding to the catalytic activity from the Co^{3+} formation [30,58]. As increasing glucose concentration, the higher oxidation peak at this location was observed. In contrast,

Fig. 7D displays the decreasing oxidation current in DPV of CoFe-C located at 0.88 V, verifying the depletion of CoO_2 and Fe_2O_3 oxide layer toward glucose binding. Furthermore, the calibration curve of CoFe-NG in Fig. 7E was evaluated at 0.18 V with the calculated sensitivity of $16.77 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.987$) in mAUM. In Fig. 8F, there were two linear regions of oxide depletion in CoFe-C, indirectly quantified glucose measurement at 0.88 V with the estimated sensitivities of $-378.09 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.944$) and $-335.29 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.942$), respectively. In addition, Fig. S5 shows the onset potentials of pure carbon, CoFe-C, pure N-doped graphene, and CoFe-NG in mAUM. The CoFe-C had an onset potential of 0.40 V, higher than that of CoFe-NG about 0.1 V. Therefore, the advantages of lower onset potential and high catalytic glucose oxidation of CoFe-NG were certainly favorable in chemisorption. Hence, excellent anodic current of CoFe-NG was explicitly shown in mAUM.

For more insightful detail of catalytic activity, the clinical negative control urine, namely, Surine, was used to evaluate electrochemical response of non-enzymatic glucose detection. It is commonly known the use of Surine in both pharmaceutical and analytical chemistry as simulated urine test solution. Fig. 8 shows CVs, DPVs, and calibration plots of CoFe-NG and CoFe-C in Surine. In Fig. 8A and B, both CVs of CoFe-NG and CoFe-C show increasing oxidation current trends in successive glucose measurement from 0 to 3 mM in Surine. For further studies of faradic current, Fig. 8C displays DPV of CoFe-NG, exhibiting an increasing oxidation current from 0 to 0.8 V with negligible

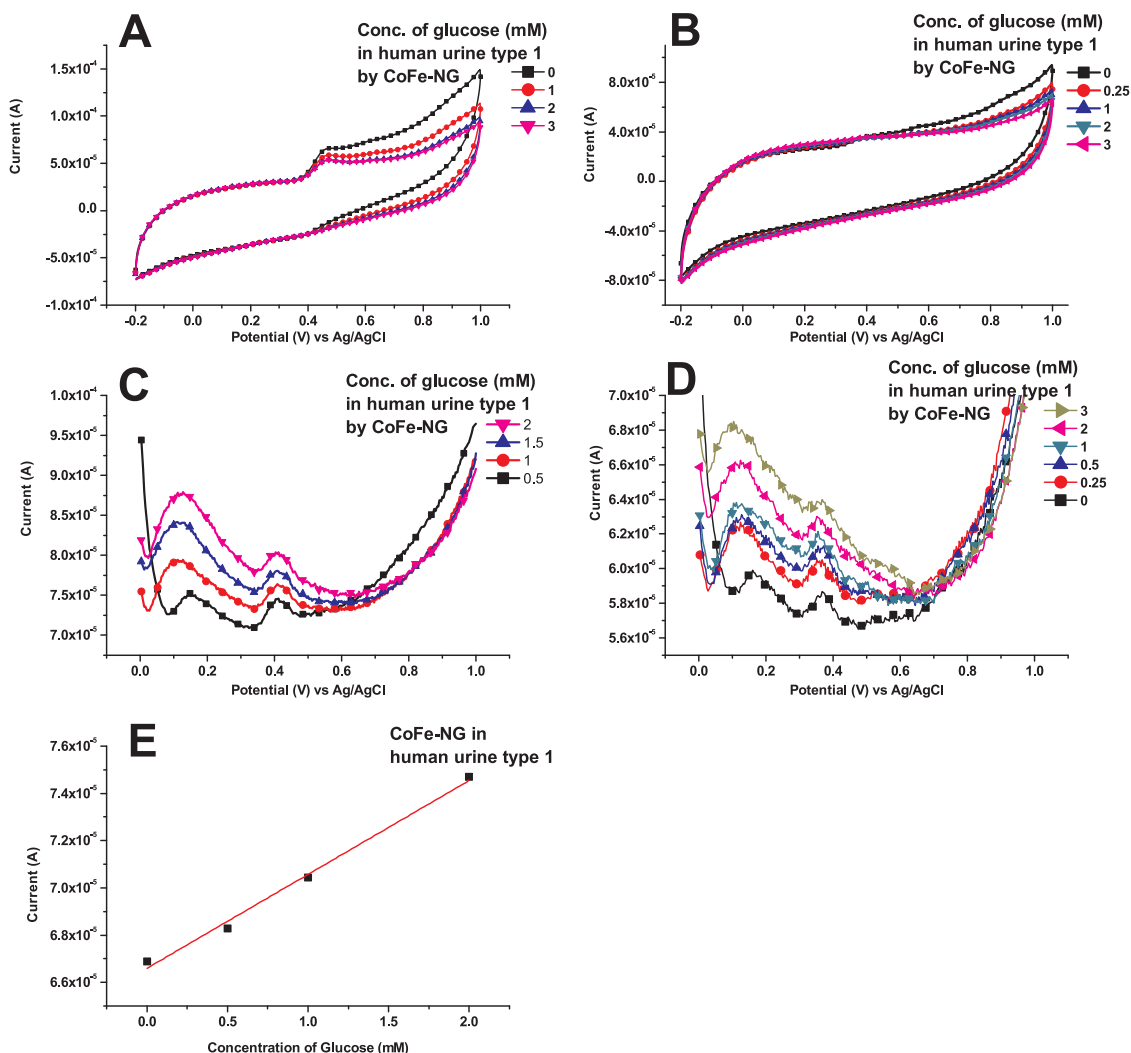


Fig. 9. (A–B) Cyclic voltammograms, (C–D) differential pulse voltammograms, and (E) calibration plot of CoFe-NG in human urine specimens type I.

oxidation peak found in this case. Similarly, Fig. 8D indicates a small increasing oxidation current in DPV of CoFe-C, implying less catalytic activity occurred. According to our previous DPV results in mAUM, the potential of 0.18 V was contributed by the catalytic Co^{3+} of CoFe-NG. Therefore, this potential was selected to evaluate the sensitivities of DPV in Surine. Fig. 8E and F show the calibration curves of CoFe-NG and CoFe-C with the sensitivities of $45.36 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.988$) and $11.73 \mu\text{A mM}^{-1}$ ($R^2 = 0.993$), respectively. Although the R^2 value of CoFe-C was higher, the reproducibility of CoFe-C was significantly poorer and severely affected the overall reliability of glucose measurement.

3.3. Electrochemical performance in human urine specimens

For feasibility in practical applications, glucose measurements of CoFe-NG and CoFe-C were quantified in human urine specimens in Fig. 9 and 10. In general, a variation of constituents in human urine including a different range of pH (4–8), protein waste, and specific gravity could be found. In this study, four human urine specimens were obtained from Ladkrabang Hospital, with the clinical information of patients shown in Table S6. Among these specimens, two of them were from individuals (ID#01-02) with normal serum creatinine (below 1 mg.dL^{-1}), whereas, the exceeding creatinine concentrations from the other two patients (ID#03-04) were reported in the clinical analysis. Therefore, the urine samples were classified into two types of (I) low

and (II) high creatinine level. As seen in Fig. 9A and B, CVs of CoFe-NG in human urine specimens Type I demonstrate a decreasing oxidation current from 0.4 to 1 V upon glucose addition, suggesting a similar decreasing oxygen discharge process to that of CoFe-C in mAUM. By controlling the non-faradic process, DPV results in Fig. 9C and D exhibit two distinct increasing oxidation peaks at 0.18 and 0.42 V, proportional to the increase of glucose concentrations. Unlike the process in the CV measurements, DPV results represent faradic current, primarily attributed to the diffusion control reaction and influenced by the glucose concentration. A minor shift of potential in DPV was also observed due to the systematic waveform factors including electrode reaction constant and transfer coefficient [59,60]. Furthermore, the calibration curve of CoFe-NG in human urine Type I was evaluated at the first oxidation peak in DPV (at 0.18 V), corresponding to the catalytic Co^{3+} oxidation process of CoFe-NG in human urine Type I with the sensitivity of $20.26 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.991$, $n = 3$).

Similarly, Fig. 10A and B show CVs of CoFe-NG, indicating the decreasing oxidation current from 0.4 to 1 V upon glucose addition in human urine specimen type II. These results verified the fast oxide formation of Co and $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}_2\text{O}_3$ in all human urine specimens in oxygen discharge region. By indirectly quantify glucose level, the decreasing oxidation current is proportional to the increasing glucose concentration. In Fig. 10C and D, the DPV results confirm the aforementioned phenomenon by showing the weak oxidation peak at 0.18 V and strong oxidation current from 0.40 V onward, inversely

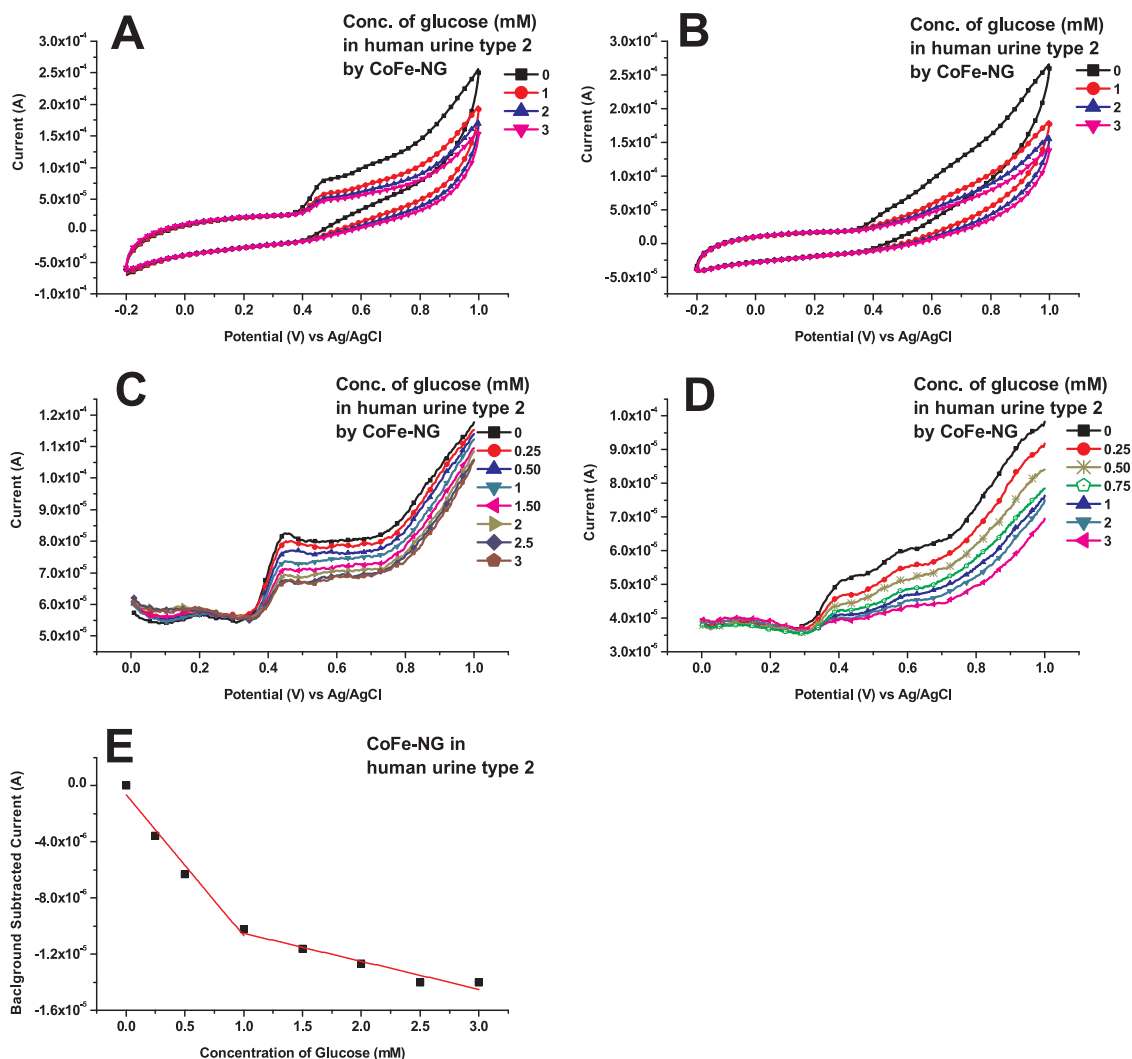


Fig. 10. (A–B) Cyclic voltammograms, (C–D) differential pulse voltammograms, and (E) calibration plot of CoFe-NG in human urine specimens type II.

proportional to the glucose concentration. Therefore, the influence of exceeding body creatinine might be secreted in urine, promoting more oxide formation and favorable to the $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{Fe}_2\text{O}_2$ cycle or Co oxide formation. Furthermore, Fig. 10E demonstrates the calibration curve with the sensitivities of $-10.14 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.925$) and $-55.11 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.967$) for the lower glucose concentration ($< 1 \text{ mM}$) and the higher glucose concentration, respectively. In addition, similar trends of decreasing oxidation current occurred in CV and DPV results of CoFe-C in human urine Type II as shown in Fig. 11 with the estimated sensitivity of $-57.83 \mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ ($R^2 = 0.984$) evaluated at 0.88 V. Hence, both CoFe-NG and CoFe-C suffered the slow catalytic Co^{3+} oxidation in the case of specimens from patients with the high serum-creatinine level.

3.4. Catalytic performance and detection mechanism in physiological pH urine

According to our results in Figs. 7–11, there were 3 oxidation potentials located at 0.18, 0.42, and 0.88 V involved in non-enzymatic glucose detection in urine. The possible mechanism of CoFe-NG relied on the electrooxidation of pre-monolayer hydroxyl Co active sites and oxide formation of Co and Fe. As previously discussed, the catalytic importance of OH_{ads} layer was well-known to mediate oxidation, followed by chemisorption of glucose [8]. Several studies of Co based catalysts were also reported the presence of Co redox pairs in non-

enzymatic glucose detection under alkaline medium. These peaks were attributed to the reduction/oxidation of $\text{Co}^{2+}/\text{Co}^{3+}$ and $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{4+}$ redox pairs, corresponding to the conversion of (i) $\text{Co}(\text{OH})_2/\text{Co}_3\text{O}_4$, (ii) $\text{Co}_3\text{O}_4/\text{CoOOH}$, and (iii) $\text{CoOOH}/\text{CoO}_2$, respectively [55,58]. In this study, the catalytic glucose oxidation of $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{4+}$ redox pairs occurred at the potential redox waves (ii) and (iii), indicating the formation of CoOOH and CoO_2 at 0.18 and 0.88 V, respectively. Based on our XRD and TEM analysis, the formation CoOOH could be resulted from $\text{Co}(0)$ and Co_2FeO_4 . This process was presented by using CoFe-NG in mAUM, CoFe-NG in Surine, CoFe-C in Surine and CoFe-NG in human urine specimen type I. On the other hand, the catalytic glucose oxidation of CoOOH was contributed to the CoO_2 formation as presented by using CoFe-C in mAUM, CoFe-C in human urine type II, and CoFe-NG in human urine type II. However, the CoO_2 formation process seemed to be affected by the charge/discharge of other competitive species, leading to the diminution of oxygen discharge in glucose addition at a higher potential above 0.8 V [8,31,58,61]. In neutral pH urine, Co could weakly bind to the hydroxyl groups. Our results were also in agreement of recent experimental and theoretical study by Tomanin et al. that has proven the presence of $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{4+}$ redox pairs and the most energetically favorable crystalline lattice phase of $\text{Co}(111)$ for glucose detection in phosphate-buffered saline (pH 7.4) [55]. Furthermore, Fe_2O_3 was likely being reduced to Fe_2O_2 intermediate species after interacting with glucose molecules, similar to the oxidation peak of Fe_2O_3 on nanowire reported by Cao et al. [35]. As increasing glucose

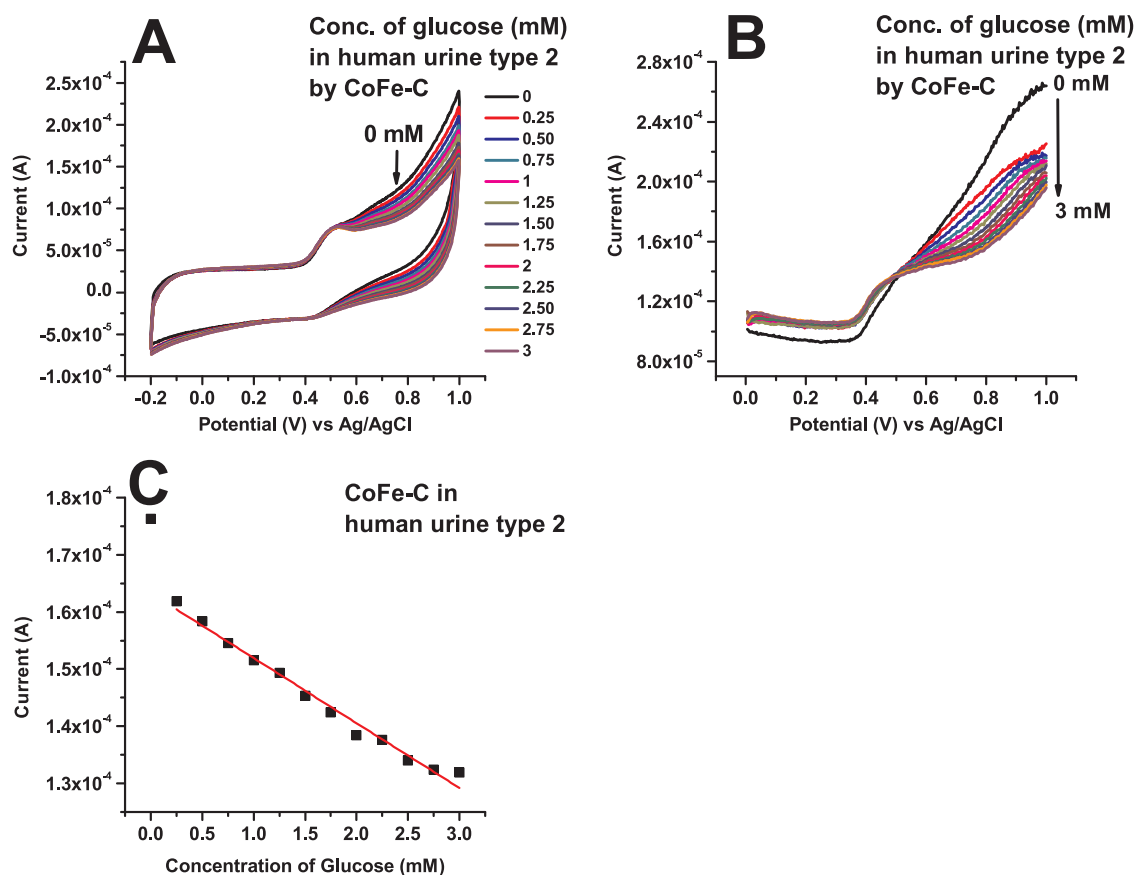


Fig. 11. (A) Cyclic voltammograms, (B) differential pulse voltammograms, and (C) calibration plot of CoFe-C in human urine specimens type II.

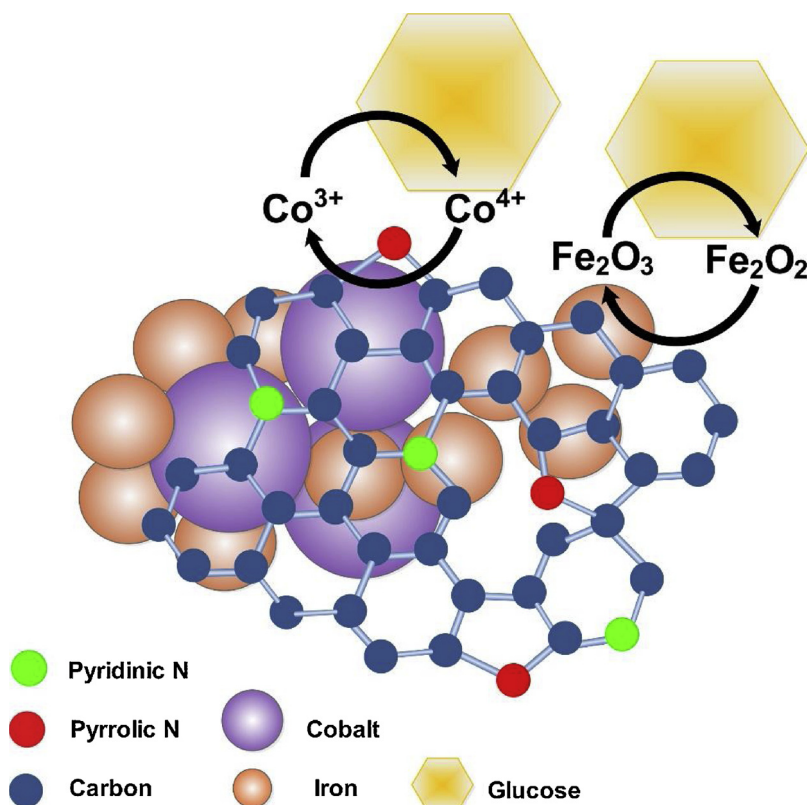


Fig. 12. Schematic illustration for CoFe-NG glucose detection in urine.

Table 1

Comparison of different non-enzymatic glucose sensors in neutral medium and/or physiological pH urine.

Electrode Materials	Medium	Electron mediator	pH	Sensitivity ($\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$)	Detection method ^d	Oxidation Peak (V) or Applied Potential	Linear range (mM)	Ref.
Au/FGO ^a	urine	TES ^b	7.5	–	i-t	+0.60	Up to 15	[64]
Pt/Ni Graphene	urine	–	7.4	20.42	i-t	–0.35	35	[65]
Silica coated nano iron oxide/MWCNT ^c	PBS	K ₃ Fe(CN) ₆	–	N/A	CV		2	[62]
		K ₄ Fe(CN) ₆						
Fe ₂ O ₃ nanowire	PBS	–	7.0	N/A	DPV	+0.50	0.1–3.0	[23]
Co ₃ (PO) ₄	PBS	–	7.4	0.0079	i-t	+0.65	1–30	[55]
CoFe-NG	urine	–	6.8	45.36	DPV	+0.18	0.25–3.0	This work

N/A: Not applicable due to no report on electrode area or unit cannot be specified.

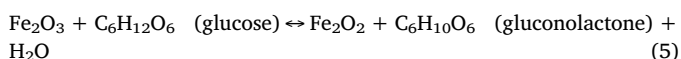
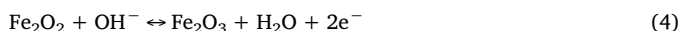
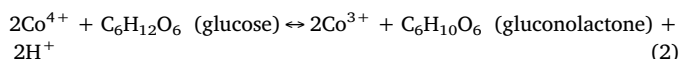
^a FGO: functionalized graphene oxide.^b TES: *N*-[Tris(hydroxymethyl) methyl]-2-aminoethanesulfonic acid sodium salt buffer.^c MWCNT: Multi-walled carbon nanotube.^d Amperometry (i-t), Differential pulse voltammetry (DPV), Cyclic voltammogram (CV).**Table 2**

Summary of electrochemical behaviors of CoFe in urine.

Urine Type	Catalyst	LOD (mM) n = 4	LOQ (mM)	Linear Range (mM)	Trend of CV ^a	Trend of DPV ^a	Potential Peak(s) in DPV (V)	Peak Correspondence
mAUM	CoFe-NG	0.25	0.83	0.25–3.0	+	+	0.18–0.20	Electroactive sites
	CoFe-C	0.07	0.24	1.0–3.0	–	–	0.88	Oxide formation
Surine	CoFe-NG	0.07	0.23	0.25–3.25	+	+	Not obvious	Oxidation observed from 0–0.8 V
	CoFe-C	0.34	1.14	0.5–3.5	+	+	Not obvious	Oxidation observed from 0–0.6 V
Human Urine Type I ^b	CoFe-NG	0.19	0.64	0.5–2.0	–	+	0.18	Electroactive sites
Human Urine Type II ^c	CoFe-NG	0.18	0.60	1.0–3.0	–	–	0.39–0.42	Oxide formation
	CoFe-C	0.21	0.71	0.25–3.0	–	–	0.42	Oxide formation
							0.58	Oxide formation

^a Trend of current with increasing glucose concentration: (+) linearly increasing, and (–) linearly decreasing.^b Type I: obtained from patients with low creatinine level (< 1 mg dL^{–1}).^c Type II: obtained from patients with high creatinine level (> 1 mg dL^{–1}).

concentration, more Fe₂O₃ sites were consumed by glucose molecules, thereby decreasing the Fe₂O₃ oxidation peak, accordingly. This process was indirectly correlated to the glucose measurement as same as the CoO₂ formation [23,62,63]. Therefore, our proposed detection mechanism of CoFe-NG was summarized in (1)–(5) as illustrated in Fig. 12.



Apart from this phenomenon, the performance of CoFe-NG in mAUM, Surine, and human urine could be comparable to those non-enzymatic sensors in neutral pH aqueous solution shown in Table 1. It was commonly known that most of non-precious metals, especially Ni, are unstable in neutral medium. Thus, most of non-enzymatic sensors were conducted in strong alkaline medium (pH > 12). Only few non-enzymatic glucose based sensors were reported in neutral aqueous solution. For example, Gao et al. applied the amperometric based sensor using bimetallic PtNi on reduced graphene oxide to detect glucose in 0.1 M PBS, showing a wide linear range and with the sensitivity of 20.42 $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$. In addition, Fe₂O₃ nanowire showed an intrinsic peroxidase-like property to determine glucose in 0.1 mM PBS at the oxidation peak of 0.521 V. To our best knowledge, the close experimental scenario was reported by Tomanin et al. using cobalt phosphate nanostructure to detect glucose in PBS (pH 7.4) with a wide linear

range of 1–30 mM but very low sensitivity of 7.90 $\text{nA mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ [55]. In this research study, CoFe-NG demonstrated the catalytic oxidation peak at 0.18 V from the Co³⁺/Co⁴⁺ redox pair and the oxygen discharge from oxide formation of Co and Fe₂O₃ that was inversely linear to the concentration of glucose in urine. Furthermore, the results in this work can contribute to the significance of bimetallic catalyst and functionalized NG support incorporation, which in turn can establish a better understanding for more practical design of non-enzymatic glucose sensors in any other physiological medium.

3.5. Long-term stability and interference

For interference studies, possible major electroactive species include AA, and UA. Both species are commonly secreted in urine, caused by vitamin C and Gout's symptom, respectively. As seen in Fig. S7, the interference studies on CoFe-NG were assessed by CVs of 2 mM glucose in the absence and the presence of AA and UA at 4 mg dL^{–1} (about 0.23 mM), respectively. It was found that CoFe-NG is severely oxidized by AA from 0 to 1 V. However, no changes of CV were shown in the presence of UA, suggesting an excellent anti UA interference in urine. Furthermore, reproducibility of CoFe-NG and CoFe-C were evaluated by DPV at 3 mM glucose, estimated to be 4.61% and 8% relative standard deviation (RSD) in mAUM, respectively. Under optimum conditions, CoFe-NG showed the excellent reproducibility of 0.38% RSD in human specimen type II, and the limit of detection (LOD) of 70 μM glucose (SNR = 3). However, other type of urine samples showed the higher LOD estimations of CoFe-NG in the range of 0.18–0.25 mM, comparable to that of cobalt-phosphate nanostructure reported by Tomanin et al. [55]. A complete detail of electrochemical behaviors, LOD, limit of quantification (LOQ), and linear range of CoFe-NG and CoFe-C in each

type of urine was reported in Table 2. In term of long-term stability, Fig. S8 demonstrates an evaluation of the catalytic performance of CoFe-NG for 36, 44, 81, and 103 days, indicating that the stabilized catalytic sites of CoFe-NG are formed within 36 days and remain its performance up to 45 days. Therefore, further study of CoFe-NG would be essential to develop a longer shelf-life period. Overall, CoFe-NG presented a great potential of electrochemical behavior in physiological urine with an excellent anti-UA characteristic, providing a promising advancement for diagnostic technology.

4. Conclusions

The as-prepared mesoporous CoFe-NG catalyst was developed by using oleic acid/oleylamine reduction to quantify glucose in urine from 0 to 3 mM. With no requirement of strong alkaline condition, CoFe-NG showed comparable electrochemical response of DPV in mAUM, Surine, and human specimens. By quantifying glucose, both direct catalytic oxidation of $\text{Co}^{3+}/\text{Co}^{4+}$ redox pair and indirect oxide depletion processes were observed. Based on the results, CoFe-NG provided an excellent sensitivity in mAUM and human urine specimens, suggesting practical application for glucose measurement in urine.

Acknowledgements

This research was financially supported by Thailand Research Fund MRG Grant Number 5980159 and Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Grant Number 2560-01-01006. In addition, XPS facility from Beamline5.3:SUT-NANOTEC-SLRI XPS, Synchrotron Light Research Institutes several and electrochemical instruments by the Sensor Technology Group, King Mongkut's University of Technology, Thonburi are gratefully acknowledged.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.02.018>.

References

- [1] W. Animaw, Y. Seyoum, Increasing prevalence of diabetes mellitus in a developing country and its related factors, *PLoS One* 12 (2017) e0187670.
- [2] C. Radhakumary, K. Sreenivasan, Naked eye detection of glucose in urine using glucose oxidase immobilized gold nanoparticles, *Anal. Chem.* 83 (2011) 2829–2833.
- [3] M.S. Kim, D.-Y. Lee, Urinary glucose screening for early detection of asymptomatic type 2 diabetes in Jeonbuk Province Korean schoolchildren, *J. Korean Med. Sci.* 32 (2017) 985–991.
- [4] N. Friedrich, T. Skaaby, M. Pietzner, K. Budde, B.H. Thuesen, M. Nauck, A. Linneberg, Identification of urine metabolites associated with 5-year changes in biomarkers of glucose homeostasis, *Diabetes Metab.* 44 (2018) 261–268.
- [5] E. Ferrannini, Learning from glycosuria, *Diabetes* 60 (2011) 695–696.
- [6] K. Tian, M. Prestgard, A. Tiwari, A review of recent advances in nonenzymatic glucose sensors, *Mater. Sci. Eng. C* 41 (2014) 100–118.
- [7] D. Pletcher, Electrocatalysis: present and future, *J. Appl. Electrochem.* 14 (1984) 403–415.
- [8] Kathryn E. Toghill, Richard G. Compton, Electrochemical non-enzymatic glucose sensors: a perspective and an evaluation, *Int. J. Electrochem. Sci.* 2010 (2010) 1246–1301.
- [9] S. Fu, G. Fan, L. Yang, F. Li, Non-enzymatic glucose sensor based on Au nanoparticles decorated ternary Ni-Al layered double hydroxide/single-walled carbon nanotubes/graphene nanocomposite, *Electrochim. Acta* 152 (2015) 146–154.
- [10] L.T. Hoa, K.G. Sun, S.H. Hur, Highly sensitive non-enzymatic glucose sensor based on Pt nanoparticle decorated graphene oxide hydrogel, *Sens. Actuators B: Chem.* 210 (2015) 618–623.
- [11] G.-h. Wu, X.-h. Song, Y.-F. Wu, X.-m. Chen, F. Luo, X. Chen, Non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on platinum nanoflowers supported on graphene oxide, *Talanta* 105 (2013) 379–385.
- [12] L. Hou, H. Zhao, S. Bi, Y. Xu, Y. Lu, Ultrasensitive and highly selective sandpaper-supported copper framework for non-enzymatic glucose sensor, *Electrochim. Acta* 248 (2017) 281–291.
- [13] X. Liu, W. Yang, L. Chen, J. Jia, Three-dimensional copper foam supported CuO nanowire arrays: an efficient non-enzymatic glucose sensor, *Electrochim. Acta* 235 (2017) 519–526.
- [14] Y. Zhong, T. Shi, Z. Liu, S. Cheng, Y. Huang, X. Tao, G. Liao, Z. Tang, Ultrasensitive non-enzymatic glucose sensors based on different copper oxide nanostructures by in-situ growth, *Sens. Actuators B: Chem.* 236 (2016) 326–333.
- [15] Q. Wang, Q. Wang, M. Li, S. Szunerits, R. Boukherroub, Preparation of reduced graphene oxide/Cu nanoparticle composites through electrophoretic deposition: application for nonenzymatic glucose sensing, *RSC Adv.* 5 (2015) 15861–15869.
- [16] B. Hai, Y. Zou, Carbon cloth supported NiAl-layered double hydroxides for flexible application and highly sensitive electrochemical sensors, *Sens. Actuators B: Chem.* 208 (2015) 143–150.
- [17] X. Li, J. Liu, X. Ji, J. Jiang, R. Ding, Y. Hu, A. Hu, X. Huang, Ni/Al layered double hydroxide nanosheet film grown directly on Ti substrate and its application for a nonenzymatic glucose sensor, *Sens. Actuators B: Chem.* 147 (2010) 241–247.
- [18] Y. Shu, Y. Yan, J. Chen, Q. Xu, H. Pang, X. Hu, Ni and NiO nanoparticles decorated metal-organic framework nanosheets: facile synthesis and high-performance nonenzymatic glucose detection in human serum, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 9 (2017) 22342–22349.
- [19] M.M. Farid, L. Goudini, F. Piri, A. Zamani, F. Saadati, Molecular imprinting method for fabricating novel glucose sensor: polyvinyl acetate electrode reinforced by MnO₂/CuO loaded on graphene oxide nanoparticles, *Food Chem.* 194 (2016) 61–67.
- [20] S. Yang, L. Liu, G. Wang, G. Li, D. Deng, L. Qu, One-pot synthesis of Mn₃O₄ nanoparticles decorated with nitrogen-doped reduced graphene oxide for sensitive nonenzymatic glucose sensing, *J. Electroanal. Chem.* 755 (2015) 15–21.
- [21] J. Balamurugan, T.D. Thanh, G. Karthikeyan, N.H. Kim, J.H. Lee, A novel hierarchical 3D N-Co-CNT@NG nanocomposite electrode for non-enzymatic glucose and hydrogen peroxide sensing applications, *Biosens. Bioelectron.* 89 (2017) 970–977.
- [22] L.T. Hoa, J.S. Chung, S.H. Hur, A highly sensitive enzyme-free glucose sensor based on Co₃O₄ nanoflowers and 3D graphene oxide hydrogel fabricated via hydrothermal synthesis, *Sens. Actuators B: Chem.* 223 (2016) 76–82.
- [23] X. Cao, N. Wang, A novel non-enzymatic glucose sensor modified with Fe₂O₃ nanowire arrays, *Analyst* 136 (2011) 4241–4246.
- [24] C. Xia, W. Ning, A novel non-enzymatic electrochemical glucose sensor modified with FeOOH nanowire, *Electrochem. Commun.* 12 (2010) 1581–1584.
- [25] M. Yang, J.-M. Jeong, K.G. Lee, D.H. Kim, S.J. Lee, B.G. Choi, Hierarchical porous microspheres of the Co₃O₄@graphene with enhanced electrocatalytic performance for electrochemical biosensors, *Biosens. Bioelectron.* 89 (2017) 612–619.
- [26] F. Xie, X. Cao, F. Qu, A.M. Asiri, X. Sun, Cobalt nitride nanowire array as an efficient electrochemical sensor for glucose and H₂O₂ detection, *Sens. Actuators B: Chem.* 255 (2018) 1254–1261.
- [27] L. Xiao, Q. Chen, L. Jia, Q. Zhao, J. Jiang, Networked cobaltous phosphate decorated with nitrogen-doped reduced graphene oxide for non-enzymatic glucose sensing, *Sens. Actuators B: Chem.* 283 (2019) 443–450.
- [28] T. Liu, M. Li, P. Dong, Y. Zhang, L. Guo, Design and facile synthesis of mesoporous cobalt nitride nanosheets modified by pyrolytic carbon for the nonenzymatic glucose detection, *Sens. Actuators B: Chem.* 255 (2018) 1983–1994.
- [29] A. Stadnik, F.Q. Mariani, F.J. Anaissi, Effects of precursor salt on colloidal cobalt oxyhydroxides composition and its application in non-enzymatic glucose electro-oxidation, *S. Afr. J. Chem.* 70 (2017) 137–144.
- [30] L. Han, D.-P. Yang, A. Liu, Leaf-templated synthesis of 3D hierarchical porous cobalt oxide nanostructure as direct electrochemical biosensing interface with enhanced electrocatalysis, *Biosens. Bioelectron.* 63 (2015) 145–152.
- [31] Y. Ding, Y. Wang, L. Su, M. Bellagamba, H. Zhang, Y. Lei, Electrospun Co₃O₄ nanofibers for sensitive and selective glucose detection, *Biosens. Bioelectron.* 26 (2010) 542–548.
- [32] H. Yu, J. Jin, X. Jian, Y. Wang, G.-c. Qi, Preparation of cobalt oxide nanoclusters/overoxidized polypyrrole composite film modified electrode and its application in nonenzymatic glucose sensing, *Electroanalysis* 25 (2013) 1665–1674.
- [33] S. Chaiyo, E. Mehmeti, W. Siangproh, T.L. Hoang, H.P. Nguyen, O. Chailapakul, K. Kalcher, Non-enzymatic electrochemical detection of glucose with a disposable paper-based sensor using a cobalt phthalocyanine-ionic liquid-graphene composite, *Biosens. Bioelectron.* 102 (2018) 113–120.
- [34] H. Liu, Q. Zhao, J. Liu, X. Ma, Y. Rao, X. Shao, Z. Li, W. Wu, H. Ning, M. Wu, Synergistically enhanced activity of nitrogen-doped carbon dots/graphene composites for oxygen reduction reaction, *Appl. Surf. Sci.* 423 (2017) 909–916.
- [35] Q. Shi, R. Zhang, Y. Lv, Y. Deng, A.A. Elzattahrya, D. Zhao, Nitrogen-doped ordered mesoporous carbons based on cyanamide as the dopant for supercapacitor, *Carbon* 84 (2015) 335–346.
- [36] L. Li, D. Liu, H. Mao, T. You, Multifunctional solid-state electrochemiluminescence sensing platform based on poly(ethylenimine) capped N-doped carbon dots as novel co-reactant, *Biosens. Bioelectron.* 89 (2017) 489–495.
- [37] M. Fan, C. Zhu, J. Yang, D. Sun, Facile self-assembly N-doped graphene quantum dots/graphene for oxygen reduction reaction, *Electrochim. Acta* 216 (2016) 102–109.
- [38] B.-Y. Fang, C. Li, Y.-Y. Song, F. Tan, Y.-C. Cao, Y.-D. Zhao, Nitrogen-doped graphene quantum dot for direct fluorescence detection of Al³⁺ in aqueous media and living cells, *Biosens. Bioelectron.* 100 (2018) 41–48.
- [39] M. Miah, S. Bhattacharya, A. Gupta, S.K. Saha, Origin of high storage capacity in N-doped graphene quantum dots, *Electrochim. Acta* 222 (2016) 709–716.
- [40] H. Miao, S. Li, Z. Wang, S. Sun, M. Kuang, Z. Liu, J. Yuan, Enhancing the pyridinic N content of Nitrogen-doped graphene and improving its catalytic activity for oxygen reduction reaction, *Int. J. Hydrogen Energy* 42 (2017) 28298–28308.
- [41] Q. Wei, X. Tong, G. Zhang, J. Qiao, G. Gong, S. Sun, Nitrogen-doped carbon nanotube and graphene materials for oxygen reduction reactions, *Catalysts* 5 (2015).
- [42] H.-J. Qiu, Y. Guan, P. Luo, Y. Wang, Recent advance in fabricating monolithic 3D porous graphene and their applications in biosensing and biofuel cells, *Biosens. Bioelectron.* 89 (2017) 85–95.

- [43] Y. Wang, Y. Shao, D.W. Matson, J. Li, Y. Lin, Nitrogen-doped graphene and its application in electrochemical biosensing, *ACS Nano* 4 (2010) 1790–1798.
- [44] M. Rahsepar, F. Foroughi, H. Kim, A new enzyme-free biosensor based on nitrogen-doped graphene with high sensing performance for electrochemical detection of glucose at biological pH value, *Sens. Actuators B: Chem.* 282 (2019) 322–330.
- [45] P. Arndt, N.D. Leistner, S. Neuss, D. Kaltbeitzel, G.A. Brook, J. Grosse, Artificial urine and FBS supplemented media in cytocompatibility assays for PLGA-PEG-based intravesical devices using the urothelium cell line UROtsa, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 0 (2017).
- [46] T. Brooks, C.W. Keevil, A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens, *Lett. Appl. Microbiol.* 24 (2003) 203–206.
- [47] A.M.A. Abdul Amir Al-Mokaram, R. Yahya, M.M. Abdi, H.N. Muhammad Ekramul Mahmud, One-step electrochemical deposition of polypyrrole–chitosan–iron oxide nanocomposite films for non-enzymatic glucose biosensor, *Mater. Lett.* 183 (2016) 90–93.
- [48] S. Masoomi-Godarzi, A.A. Khodadadi, M. Vesali-Naseh, Y. Mortazavi, Highly Stable and Selective Non-Enzymatic Glucose Biosensor Using Carbon Nanotubes Decorated by Fe₃O₄ Nanoparticles, (2014).
- [49] C. You, R. Dai, X. Cao, Y. Ji, F. Qu, Z. Liu, G. Du, A.M. Asiri, X. Xiong, X. Sun, K. Huang, Fe₂Ni₂N nanosheet array: an efficient non-noble-metal electrocatalyst for non-enzymatic glucose sensing, *Nanotechnology* 28 (2017) 365503.
- [50] L.B. Khan, H.M. Read, S.R. Ritchie, T. Proft, Artificial urine for teaching urinalysis concepts and diagnosis of urinary tract infection in the medical microbiology laboratory, *J. Microbiol. Biol. Educ.* 18 (2017) 18.12.46.
- [51] S. Zhang, Y. Hao, D. Su, V.V.T. Doan-Nguyen, Y. Wu, J. Li, S. Sun, C.B. Murray, Monodisperse core/shell Ni/FePt nanoparticles and their conversion to Ni/Pt to catalyze oxygen reduction, *J. Am. Chem. Soc.* 136 (2014) 15921–15924.
- [52] Y. Xu, K. Sheng, C. Li, G. Shi, Self-assembled graphene hydrogel via a one-step hydrothermal process, *ACS Nano* 4 (2010) 4324–4330.
- [53] P. Chen, J.-J. Yang, S.-S. Li, Z. Wang, T.-Y. Xiao, Y.-H. Qian, S.-H. Yu, Hydrothermal synthesis of macroscopic nitrogen-doped graphene hydrogels for ultrafast supercapacitor, *Nano Energy* 2 (2013) 249–256.
- [54] Z.-Y. Sui, Y.-N. Meng, P.-W. Xiao, Z.-Q. Zhao, Z.-X. Wei, B.-H. Han, Nitrogen-doped graphene aerogels as efficient supercapacitor electrodes and gas adsorbents, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 7 (2015) 1431–1438.
- [55] P.P. Tomanin, P.V. Cherepanov, Q.A. Besford, A.J. Christofferson, A. Amodio, C.F. McConville, I. Yarovsky, F. Caruso, F. Cavalieri, Cobalt phosphate nanostructures for non-enzymatic glucose sensing at physiological pH, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 10 (2018) 42786–42795.
- [56] S. Chattopadhyay, S.P. Chakraborty, D. Laha, R. Baral, P. Pramanik, S. Roy, Surface-modified cobalt oxide nanoparticles: new opportunities for anti-cancer drug development, *Cancer Nanotechnol.* 3 (2012) 13–23.
- [57] G. Sharma, P. Jeevanandam, A Thermal Decomposition Approach for the Synthesis of Iron Oxide Microspheres, (2013).
- [58] I.G. Casella, M. Gatta, Study of the electrochemical deposition and properties of cobalt oxide species in citrate alkaline solutions, *J. Electroanal. Chem.* 534 (2002) 31–38.
- [59] S. Chebil, I. Hafaiedh, H. Sauriat-Dorizon, N. Jaffrezic-Renault, A. Errachid, Z. Ali, H. Korri-Youssoufi, Electrochemical detection of d-dimer as deep vein thrombosis marker using single-chain d-dimer antibody immobilized on functionalized polypyrrole, *Biosens. Bioelectron.* 26 (2010) 736–742.
- [60] Y. Dai, C.C. Liu, Detection of 17 β -estradiol in environmental samples and for health care using a single-use, cost-effective biosensor based on differential pulse voltammetry (DPV), *Biosensors* 7 (2017).
- [61] N. Senthilkumar, K.J. Babu, G. Gnana Kumar, A.R. Kim, D.J. Yoo, Flexible electrospun PVdF-HFP/Ni/Co membranes for efficient and highly selective enzyme free glucose detection, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53 (2014) 10347–10357.
- [62] T.T. Baby, S. Ramaprabhu, Non-enzymatic glucose and cholesterol biosensors based on silica coated nano iron oxide dispersed multiwalled carbon nanotubes, 2011 International Conference on Nanoscience, Technology and Societal Implications, (2011), pp. 1–6.
- [63] M. Pasta, F. La Mantia, Y. Cui, Mechanism of glucose electrochemical oxidation on gold surface, *Electrochim. Acta* 55 (2010) 5561–5568.
- [64] H.Y. Kim, K.J. Jang, M. Veerapandian, H.C. Kim, Y.T. Seo, K.N. Lee, M.-H. Lee, Reusable urine glucose sensor based on functionalized graphene oxide conjugated Au electrode with protective layers, *Biotechnol. Rep.* 3 (2014) 49–53.
- [65] H. Gao, F. Xiao, C.B. Ching, H. Duan, One-step electrochemical synthesis of PtNi nanoparticle-graphene nanocomposites for nonenzymatic amperometric glucose detection, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 3 (2011) 3049–3057.

เอกสารแนบ 2

Metini Janyasupab and Chamras Promptmas, “Development of Amperometric N-doped Graphene supported Cobalt/Iron based Sensor for Non-Enzymatic Glucose Detection in Urine,” The IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (Malaysia Chapter), IEEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES 2018), Kuching, Malaysia, December 3-6, 2018

ประเภทผลงาน งานวิจัย


รูปแบบ Conference Proceeding


การเผยแพร่ Oral Presentation

และการตีพิมพ์ในฐานข้อมูล IEEE Xplore (Scopus),

Section: The 2018 IEEE Engineering in Medicine & Biology Society (Malaysia Chapter), IEEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES 2018)

หน้า Website




IECBES
 2018 IEEE EMBS CONFERENCE ON
**BIOMEDICAL ENGINEERING
 AND SCIENCES**
IECBES2018
 3rd - 6th December 2018
 Kuching Sarawak, Malaysia

ABOUT IECBES

ITEE Engineering in Medicine & Biology Society (Malaysia Chapter) is pleased to announce the 5th instalment of our flagship conference, ITEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (ICESBS 2020). In this installation, the conference turns to (welcome) this time in the city of Seremban – Kuching, from December 3-6, 2018. The theme of the latest is “Innovations in Global Healthcare”. Consistent with our theme, we are seeking to attract for plenary speakers from leading industrial and academic societies, who will give forward looking views as well as presenting cutting technological/innovative limitations in our field – to help focus and spark innovations in healthcare. A broad array of scientific topics will cover diverse topics of cutting edge research and innovation in biomedical engineering, healthcare technology, R&D, translational clinical research, healthcare transfer and entrepreneurship, and biomedical engineering education. In addition to the high-profile keynote, the conference program will feature mini symposia, workshops, invited sessions, oral and poster sessions, sessions for students and young professionals, sessions for clinicians and entrepreneurs, and exhibits from vendors and universities. We look forward to meeting you in Kuching.

Seremban – the city of great history and legends.

IMPORTANT DATES

31 AUG 2018
~~15 AUG 2018~~
PAPER SUBMISSION (FINAL)

15 SEPT 2018
ACCEPTANCE NOTIFICATION

15 OCT 2018
CAMERA READY

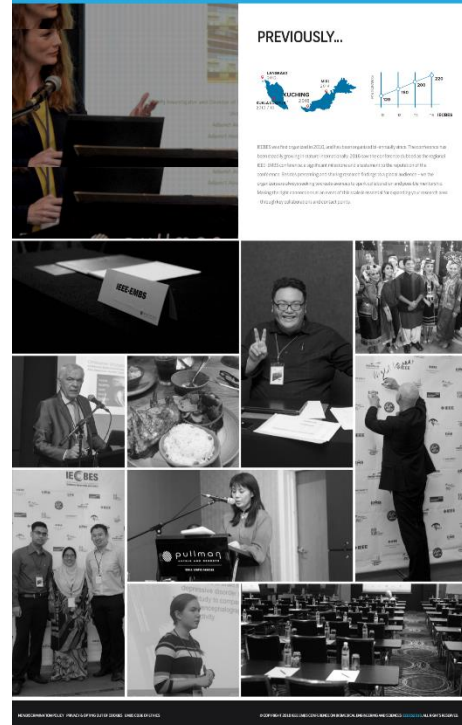
3 DEC 2018
CONFERENCE

OUR PARTNERS



TRACKS			
<p>With the help of technology, students understand and interact with the world around them by participating in the following areas:</p>			
 <p>Sound and Hearing</p>	 <p>Geometry and Mathematics</p>	 <p>Science and Mathematics</p>	 <p>Science and Mathematics</p>
 <p>Architecture and Design</p>	 <p>Neuroscience and Health</p>	 <p>Science and Mathematics</p>	 <p>Science and Mathematics</p>
 <p>Earth and Space</p>	 <p>Environment and Health</p>	 <p>Health and Medicine</p>	 <p>Science and Mathematics</p>
 <p>Health and Medicine</p>	 <p>Environment and Health</p>	 <p>Science and Mathematics</p>	 <p>Science and Mathematics</p>

PREVIOUSLY...

[illegible]

ที่มา <https://www.iecbes.org/>

บรรณาธิการและคณะกรรมการจัดการประชุม

ORGANIZING COMMITTEE



Siti Anom Ahmad
UNIVERSITI PUTRA MALAYSIA
Chair
sanom@upm.edu.my



Norliza Mohd. Noor
UNIVERSITI TEKNOLOGI MALAYSIA
Co-Chair
norliza@utm.my



Alpha Agape Gopalai
MONASH UNIVERSITY MALAYSIA
Secretary / Local Arrangement Chair
alpha.agape@monash.edu



Chong Yu Zheng
UNIVERSITI TUNKU ABDUL RAHMAN
Treasurer
yzchong@ieee.org



Yogeswaran Mohan
JKS ENGINEERING (M) SDN. BHD.
Publicity & Website
yog@jkseng.com



Darwin Gouwanda
MONASH UNIVERSITY MALAYSIA
Technical Program
darwin.gouwanda@monash.edu



Ashrani Aizzuddin
UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
Technical Program
ashrani@ukm.edu.my



Lee Yoot Khuan
UNIVERSITI TEKNOLOGI MARA
Publication Chair
leeyootkhuan@salam.uitm.edu.my



Afaf Rozan
UNIVERSITI TEKNOLOGI MARA
Publication Co-chair
nikrozan@yahoo.com



Aamir Malik
UNIVERSITI TEKNOLOGI PETRONAS
Special Sessions & Workshop
aamir_aseed@utp.edu.my



Ibrahima Faye
UNIVERSITI TEKNOLOGI PETRONAS
Special Sessions & Workshop
ibrahima_faye@utp.edu.my



Wahidah Mansor
UNIVERSITI TEKNOLOGI MARA
Secretariat
wahidah231@salam.uitm.edu.my

ADVISORY COMMITTEE



Nigel Lovell
President, EMBS
UNIVERSITY OF NEW SOUTH WALES



Toshiyo Tamura
OSAKA ELECTRO-COMMUNICATION
UNIVERSITY



Nitish Thakor
NATIONAL UNIVERSITY OF SINGAPORE
JOHNS HOPKINS UNIVERSITY



Jose Principe
UNIVERSITY OF FLORIDA

Indexed in IEEE Xplore


IEEE.org | IEEE Xplore Digital Library | IEEE-SA | IEEE Spectrum | More Sites | Cart (0) | Create Account | Personal Sign In

IEEE Xplore[®]
Digital Library

Institutional Sign In

IEEE

Browse ▾ My Settings ▾ Get Help ▾ Subscribe

All ▾ Enter keywords or phrases (Note: Searches metadata only by default. A search for 'smart grid' = 'smart AND grid') 


■ Search within Publication Advanced Search | Other Search Options ▾

Browse Conferences > 2016 IEEE EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES)

4-8 Dec. 2016

Filter Results | Displaying Results 1 - 25 of 162 | Show: 25 ▾

Select All on Page | Download Citations | Export | Email Selected Results | Print

Search within results: 


AUTHOR


Search for Author

- ☐ W. Mansor (6)
- ☐ Kalavani Chellappan (4)
- ☐ Khuan Y. Lee (3)
- ☐ Rifky Ismail (3)
- ☐ Wahyu Caesarendra (3)
- ☐ N. F. Mohd Nasir (3)
- ☐ Aamir Saeed Malik (3)
- ☐ Z. Mahmood (3)
- ☐ Mohd Nabil Muhtazaruddin (2)
- ☐ P. Rajalakshmi (2)
- ☐ Omar Mohd Rijal (2)
- ☐ R. Bharath (2)
- ☐ Siti Zura A. Jali (2)
- ☐ Fatimah Dzaharudin (2)
- ☐ P. E. Ong (2)
- ☐ Uvata Qidwai (2)
- ☐ Md. Khayrul Bashar (2)
- ☐ Teh Yi Jun (2)
- ☐ U. Hashim (2)
- ☐ S. Z. Yahaya (2)
- ☐ Sheena P. Philimon (2)
- ☐ Uda Hashim (2)
- ☐ V. Thiruv (2)
- ☐ A. R. M. Radzol (2)
- ☐ Pechman Sasangpour (2)

AFFILIATION

Search for Affiliation

[Front cover]
Publication Year: 2016, Page(s): 1
 PDF (321 KB)

[Copyright notice]
Publication Year: 2016, Page(s): 1
 PDF (52 KB)







Organising committee
Publication Year: 2016, Page(s): 1 - 66
 PDF (4696 KB)

Table of contents
Publication Year: 2016, Page(s): 1 - 11
 PDF (164 KB)

Author index
Publication Year: 2016, Page(s): 1 - 7
 PDF (99 KB)

A new CFOA-based low frequency lowpass filter for biomedical applications
Muhammad Taher Abuelma'atti, Sagar Kumar Dhar
Publication Year: 2016, Page(s): 1 - 4
Cited by: Papers (1)
 Abstract |  PDF (955 KB) |  HTML

Need Full-Text
access to IEEE Xplore for your organization?
[REQUEST A FREE TRIAL >](#)

IEEEDAY

Complimentary IEEE Xplore Article
Machine Learning Paradigms for Next-Generation Wireless Networks
IEEE honors the roles IEEE members play in their local communities, and their work toward the vision of advancing technology for the benefit of humanity.
[Access Now](#)

Proceedings Available

Certificate of Attendance

THIS IS TO CERTIFY

METINI JANYASUPAB, CHAMRAS PROMPTMAS

HAS ATTENDED THE CONFERENCE AND PRESENTED THE PAPER

*'Development of Non-Enzymatic N-doped Graphene supported Cobalt/Iron Amperometric based
Sensor for Glucose Detection in Urine'*

AT IECBES 2018, BORNEO CONVENTION CENTRE KUCHING, MALAYSIA

BEM Approved 6 CPD Hours

Alpha Agape

ALPHA AGAPE GOPALAI

IEEE-EMBS Malaysia Chapter Chair

Nigel Lovell

NIGEL LOVELL

IEEE-EMBS President (2017-2018)

Siti Anom

SITI ANOM AHMAD

IECBES2018 Conference Chair

Development of Non-Enzymatic N-doped Graphene supported Cobalt/Iron Amperometric based Sensor for Glucose Detection in Urine

Metini Janyasupab
Faculty of Engineering,
King Mongkut's Institute of
Technology Ladkrabang
Bangkok, Thailand
metini.ja@kmitl.ac.th

Chamras Promptmas
Department of Biomedical
Engineering,
Mahidol University,
Nakhon Pathom, Thailand
chamras.pro@mahidol.ac.th

Abstract— We presented a cost-effective design of electrochemical based biosensor for non-enzymatic glucose detection in urine. By incorporating low-cost, non-precious cobalt (Co)/iron (Fe) metals, the sensor was employed onto the three-electrode system for quantifying glucose level from 0 to 3.25 mM in artificial urine medium and clinical simulated urine solution, namely, Surine. In particular, the fabricated CoFe nanoparticles on N-doped graphene (NG) biosensor was assessed electrochemical performances by cyclic voltammetry and amperometry at applied potential of +0.90 V versus Ag/AgCl, in comparison with that of CoFe on carbon supported. Based on the results, it was found that two processes of catalytic oxidation and oxide depletion are involved in glucose detection. More importantly, the as-prepared biosensor exhibited an outstanding sensitivity of $476.67 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{mM}^{-1}$ with R^2 of 0.9974 in Surine. Furthermore, the low limit of detection was estimated to be 37.7 μM (signal-to-noise ratio of 3) with an excellent anti-interference property toward ascorbic acid, uric acid, and chlorine ions, providing a promising advancement for future glucose measurement in urine, applicable for sustainable diabetic prognosis and management.

Keywords—glucose in urine, non-enzymatic sensor, cobalt, iron, nitrogen-doped graphene

I. INTRODUCTION

Diabetes Mellitus has become a major public health concern, causing complications and other non-communicable diseases including cardiovascular diseases, stroke, and chronic kidney failure [1]. According to World Health Organization (WHO), more than 422 million people have been living with diabetes, which in turn leads to economic and societal burdens [2]. Therefore, a sustainable and strategic long-term management is essential to a better quality of life for each diabetic patient. Especially, self-management at home can be applied for practical monitoring in daily basis. Since the first commercially innovated glucose stripe sensor, tremendous research efforts have also been continuously made and gained a great momentum in research. Recently, non-enzymatic glucose sensing approach has been motivated to address several problems of traditional enzymatic glucose sensors, regarding to

pH, humidity, enzyme's deformation, poor reproducibility, and high cost of production [3]. Interestingly, the information of glucose in urine can become a good indicator [4-6], physiologically secreting an excessive glucose from the body and can be obtained in a non-invasive manner, providing ease of use and comfort for long-term monitoring.

By considering a mimicking enzyme-like mechanism, several metals and metal oxides have been investigated for this unique sensing property. In particular, electrochemical properties toward glucose detection of possible less expensive metals including Mn [7, 8], Ni [9-11], Cu [12, 13], Co [14, 15], and Fe [16]. In addition, combinations of these metals such as, MnO_2/CuO [7], Ni-Co [17], NiCo_2O_4 [18], have been reported their electrocatalytic enhancements due to the synergistic effect in catalytic system. However, stabilities of these metals, especially Ni, are poor in neutral pH medium, which in turn required to operate under strong alkaline media (pH >12). Therefore, the experimental environment is far from any normal urine condition (pH from 4 to 8) [19, 20]. Thus, further improvements of stabilization among these sensing materials are necessary for implementation in a physiological urine medium for practical biosensing designs.

Herein, we investigated bimetallic CoFe on NG catalyst in a neutral pH urine media's conditions for non-enzymatic glucose based biosensor. The synthesis of CoFe-NG was prepared through self-assembly oleic acid reduction and the modified Hummer's method with thermal reduction of nitrogen source, ammonia. By generating the hydraulic effect, the fabricated CoFe-NG catalyst was employed onto the modified glassy carbon rotating disk electrode (RDE) to quantify the kinetic response of glucose detection. All catalytic activities of CoFe-NG were assessed by cyclic voltammetry (CV) and amperometry in comparison with CoFe on carbon support to evaluate the effect of supporting materials. Furthermore, an interference study on potential chemical species such as acetaminophen, ascorbic acid, uric acid, and chlorine ions were also carried out. Overall, CoFe-NG exhibited excellent catalytic performance in neutral urine without any electron facilitator, leading to a new advancement for practical glucose determination in urine.

II. EXPERIMENTAL

A. Chemicals

Metal precursors of Fe and Co were from Iron (III) acetylacetonate ($\text{Fe}(\text{acac})_3$, 99.9%), Cobalt (II) acetylacetonate ($\text{Co}(\text{acac})_2$, 99.0%), respectively. Oleic acid (OAc, 90%) was served as organic reducing agent. In addition, graphite flakes (99%), sulfuric acid (98%), sodium nitrate (NaNO_3), potassium permanganate (KMnO_4), ammonia were used to prepared N-doped graphene (NG) support. Vulcan XC 72R (Cabot) carbon support was used in comparison with NG. For preparation of synthetic urine, sodium bicarbonate (NaHCO_3), sodium chloride (NaCl), potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4), di-potassium hydrogen phosphate (K_2HPO_4), sodium sulphate decahydrate ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), ammonia chloride (NH_4Cl), creatinine, and urea were used to prepared AUM and compared with Surine. All chemicals were of analytical grade and purchased from Sigma Aldrich without further purification.

B. Synthesis and Electrode Fabrication

The as-prepared CoFe nanoparticles were synthesized by self-assembly oleic acid reduction. In a typical run, 156.96 mg of Co ($\text{acac})_2$ (0.61 mmol) was dissolved in 4 mL of OAc and heated up to 110 °C under nitrogen atmosphere for 1 hour to remove all impurities. Then, the temperature was raised to 230 °C, for 20 minutes and cool down at room temperature. Black precipitate was then collected Co nanoparticle solution by centrifugation at 10,000 r. p. m. for 20 minutes, 0 °C, and washed with hexane and methanol several times. Subsequently, 0.2 mmol Co nanoparticle was added into the solution, containing 0.61 mmol of $\text{Fe}(\text{acac})_3$ in OAc (4 mL). Then, the mixture was repeated the similar steps to that of Co to collect the black bimetallic CoFe precipitate and stored in hexane.

For N-doped graphene preparation, graphene oxide was synthesized by the modified Hummer method. Successively, N-doped graphene preparation was followed by Chen and Sui's previous studies. [21-23]. In brief, the as-prepared graphene oxide was dispersed in water by ultrasonication ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), and centrifugation at 4000 r.p.m. for 30 minutes. Graphene oxide suspension (30 mL) was mixed with 0.6 gram of ammonia under stirring for 15 minutes. The solution was then transferred into a 50 mL-Teflon-line autoclave and raised the temperature to 180 °C for 12 hours. After the reaction was cool down, the solution was vacuum filtered and washed with DI water to collect the precipitate NG. Finally, NG was dried in oven 80°C overnight.

In a preparation of catalyst, CoFe metal loading of 10% wt. was added onto N-doped graphene (NG) and carbon Vulcan XC72R powder (C) for CoFe-NG and CoFe-C, respectively. Followed by ultrasonication for 1 hours, the suspension was then heated at 80°C for 12 hours to obtain catalyst powder. Then, 8 mg of catalyst was dissolved into 100 μL ethanol and added 100 μL of 5% Nafion solution. Prior to each run, 8 μL of catalyst solution was dropped on glassy

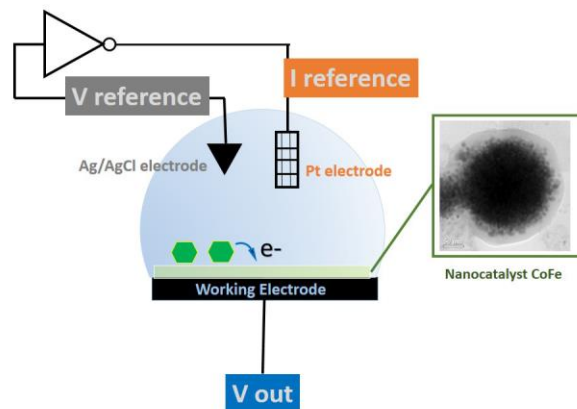


Fig.1. Schematic of electrochemical based biosensor system

carbon electrode (GCE, diameter of 5 mm) with the metal catalyst loading of $163 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ on each biosensor.

C. Performances and Characterizations

As shown in Fig.1, a three-electrode system of working electrode (GCE), auxiliary electrode (Pt), and reference electrode (Ag/AgCl) was employed to construct biosensing system for glucose measurement in AUM (prepared by the following guideline [19]), and Surine with pH values of 6.8 and 6.7, respectively. Experimentally, CV and amperometry were used to detect the presence of glucose ranging from 0 to 3.25 mM by adding 0.5 μL of 0.45 M glucose into a 5-mL testing urine solution, at the electrode speed of 900 r.p.m. to generate the kinetic environment. Based on the hydraulic effect, output of this configuration directly corresponds to the catalytic activity, thereby representing sensor's performance. For CV measurement, the input potential waveform was applied and measured between the working electrode and the reference electrode. In addition, applied potential of + 0.90 V (dc bias) was used in amperometry, with current measurement between the working electrode and the auxiliary Pt electrode. Furthermore, chlorine (Cl^-) ion, acetaminophen (AP), ascorbic acid (AA), and uric acid (UA) were added as interfering species in AUM in the presence of 2 mM glucose detection.

III. RESULTS AND DISCUSSION

A. Detection Mechanism

At present, there is little understanding on how these metals can provide direct oxidation of glucose and electron transfer. In 1984, the mechanism proposed by Pletcher [24] demonstrated an intrinsic chemisorption of hydroxyl group onto the metal catalyst in non-enzymatic glucose detection process. Subsequently, the pre-hydroxyl layer allowed a bond formation of the d-electron of metal atom and the glucose molecule, thereby lowering glucose-metal bond strength and resulting in desorption of glucose molecules. Another possible theoretical study was derived from Incipient Hydrous Oxide Adatom Mediator (IHOAM) model, that was presumably involved a pre-monolayer process of OH_{ads} and mediated the oxidation of glucose molecule [25].

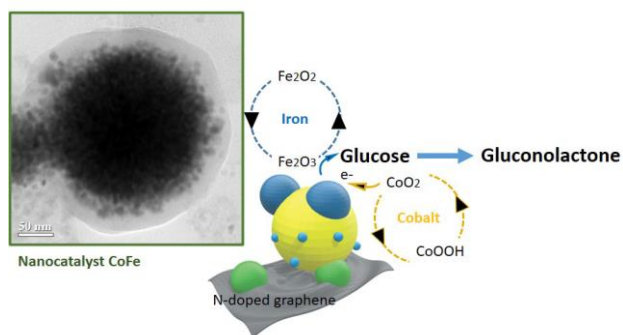
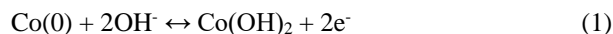
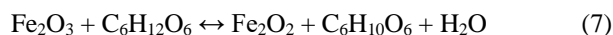


Fig.2. Schematic mechanism of non-enzymatic glucose detection by CoFe nanoparticles on N-doped graphene

In this study, possible mechanism of CoFe-NG catalyst was fundamentally rationalized by pre-monolayer hydroxyl adsorption of catalytic active sites. In this case, the interaction of Co(0) and OH group was strongly formed CoOOH and CoO₂ species as shown below:



As shown in Fig.2, the oxidation of CoO₂ in (1)-(3) would generate current, contributed to the kinetic currents when binding with glucose molecule (C₆H₁₂O₆) and oxidize to gluconolactone (C₆H₁₀O₆), accordingly (4). It was also known that CoOOH is normally formed under alkaline medium conditions, showing an oxidation potential peak at 0.30 V or less. Subsequently, the CoOOH can be further oxidized, resulting in CoO₂ active sites formation [25]. However, Co could weakly bind to the hydroxyl groups in neutral aqueous solution. Thus, less amount of active binding sites may be formed in this condition. Furthermore, the intermediate species of Fe₂O₃ would presumably be reduced to Fe₂O₂ when binding with glucose as shown in (5)-(7), resulted in the decrease of overall kinetic current.



B. Catalytic Performance in synthetic urine

With enzyme-free glucose based sensors have exploited the strong affinity and catalytic process of glucose binding with the active sites of catalyst. Fig.3a shows CV of CoFe-NG with the presence of glucose 0.5, 1, 2, and 3 mM in AUM, expressing the cathodic reduction from -0.2 to 0.4 V. In comparison, Fig. 3b indicates the decreasing oxidation current from 0.4 to 1.0 V

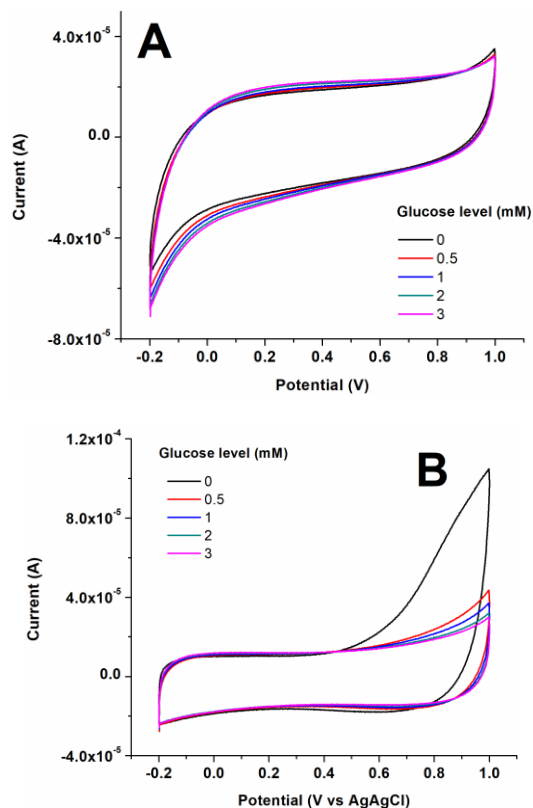


Fig.3. Cyclic voltammograms of (a) CoFe-NG and (b) CoFe-C in the presence of 0.5, 1, 2, 3 mM glucose addition in AUM

of CoFe-C in AUM as increasing glucose concentration from 0, 0.5, 1, 2, and 3 mM, successively. Based on the results, different supporting materials have played an important role to promote the detection mechanism on CoFe active sites, thereby exhibiting totally different electrochemical behaviors.

For further detail of catalytic performance, CoFe-C and CoFe-NG were assessed by amperometry. According to the CV of CoFe-C, the glucose oxidation process was initiated from +0.40 V to +1.0 V vs Ag/AgCl. Therefore, +0.90 V was arbitrary selected to investigate the catalytic activity at this potential. In Fig.4a, amperometric response of CoFe-C was shown in the presence of glucose in series of 0 to 3.25 mM with 0.25 mM increment, illustrating the decreasing oxidation current as increasing concentration of glucose. This phenomenon could be explained by formation of Fe₂O₂ and depletion of Fe₂O₃ when binding with glucose molecules. In addition, Fig.4b shows the calibration curve of CoFe-C in AUM with the estimated sensitivities of -266.57 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{mM}^{-1}$ ($R^2 = 0.9622$), and -58.58 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{mM}^{-1}$ ($R^2 = 0.9591$), for the lower glucose concentration (below 1.25 mM) and the higher concentration, respectively.

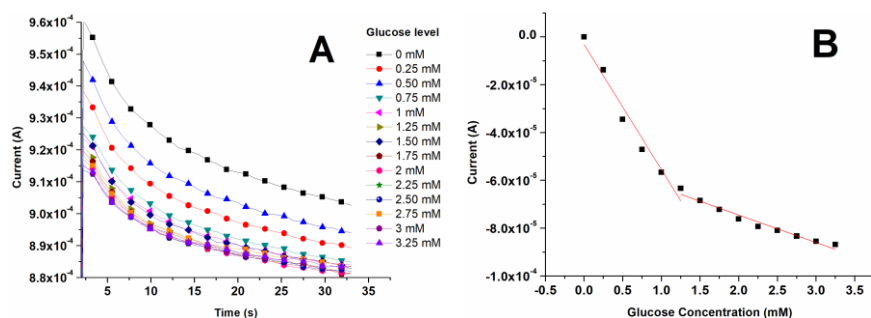


Fig.4. (a) Amperometric response of CoFe-C in AUM at +0.90 V vs Ag/AgCl and (b) the calibration curve

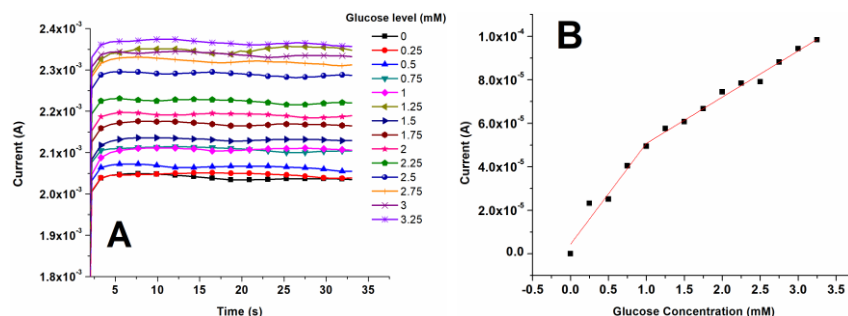


Fig.5. (a) Amperometric response of CoFe-NG in AUM at +0.90 V vs Ag/AgCl and (b) the calibration curve

In comparison with that of CoFe-C, Fig.5a shows amperometric response of CoFe-NG with the increasing oxidation current at +0.90 V as increasing glucose concentration from 0 to 3.25 mM, implying catalytic reaction process of CoOOH and CoO₂ in glucose oxidation. As shown in Fig.5b, the calibration curve of CoFe-NG in AUM expresses two linear regions of the lower glucose concentration level (below 1 mM) and the higher one with the estimated sensitivities of 236.64 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{mM}^{-1}$ ($R^2 = 0.9249$), and 108.31 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{mM}^{-1}$ ($R^2 = 0.9881$), respectively. Thus, the excellent catalytic performance of CoFe-NG in AUM provided a promising result to detect glucose in urine and further assessment.

C. Catalytic Performance in Surine

For practical applications, a feasibility study of the as-prepared electrode was investigated on clinical urine standard, namely Surine, commonly used in both analytical and pharmaceutical analysis for simulated human urine test solution. Fig. 6 shows CV of CoFe-NG in Surine, indicating

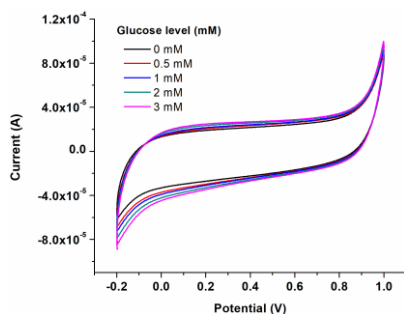


Fig.6. Cyclic voltammogram of CoFe-NG in the presence of 0.5, 1, 2, 3 mM glucose addition in Surine

cathodic current from -0.2 V to +0.4 V and anodic current from 0.0 V to +0.80 V. By examining the faradic process, the amperometric response of CoFe-NG in Surine is shown in Fig. 7a, similar to that of CoFe-NG in AUM. In Fig.7b, the calibration plot of CoFe-NG in Surine was calculated the sensitivity, estimated to be 476.67 $\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{mM}^{-1}$ with the excellent correlation coefficient of 0.9974, showing superior performance in this environment. All experiments were repeated separately 3 trials with the relative standard deviated of 3.0 % RSD, evaluated at 2 mM

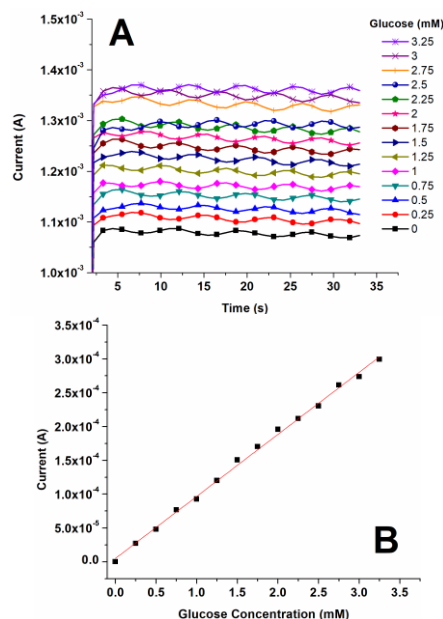


Fig.7. (a) Amperometric response of CoFe-NG in Surine at +0.90 V vs Ag/AgCl and (b) the calibration curve

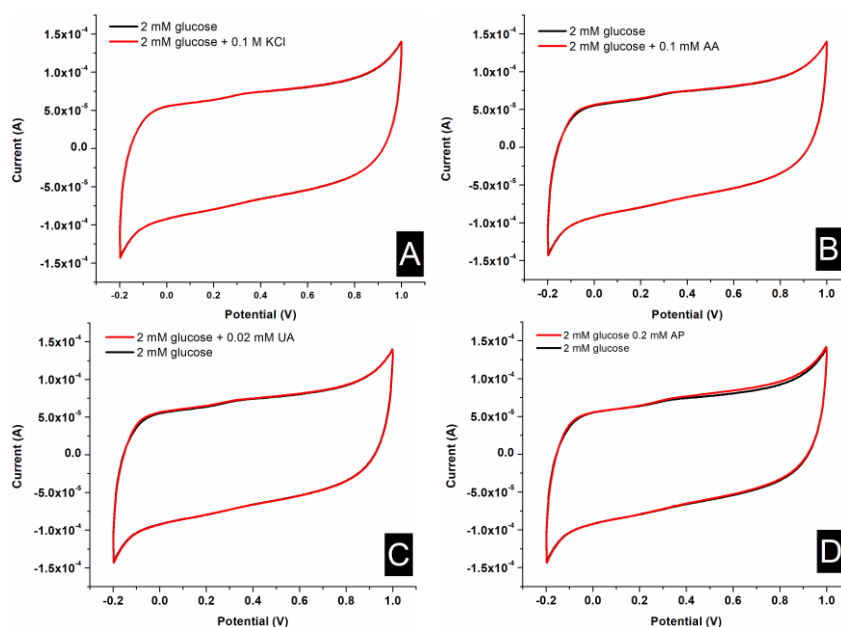


Fig.8. Cyclic voltammograms of 2 mM glucose by CoFe-NG in AUM in the presence of interfering species (a) 0.1 M KCl, (b) 0.1 mM ascorbic acid, (c) 0.02 mM uric acid, and (d) 0.2 mM acetaminophen, respectively

glucose concentration. Furthermore, the calculation of limit of detection (LOD) was $37.7 \mu\text{M}$ based on signal-to-noise ratio of 3, suggesting an appreciable sensing range of glucose detection in urine for non-enzymatic biosensing catalyst.

D. Interference Study

The fabricated electrode was further assessed by cyclic voltammetry from -0.2 V to 1.0 V versus Ag/AgCl at the scan rate of $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ on RDE 900 rpm rotating speed for evaluating possible interference. In normal urine, excessive chemical species include Cl^- ion, acetaminophen (AP), ascorbic acid (AA), and uric acid (UA) can potentially secreted from the body. Fig.8a shows CVs at 2 mM glucose concentration by using CoFe-NG in AUM in the absence and presence of 0.1 M Cl^- ion. The result implied an excellent tolerance to chloride ion on the as-prepared bimetal. Similarly, Fig. 8b and 8c show no difference of 2 mM glucose detection in the presence of 0.1 mM AA, and 0.02 mM UA, respectively. Consequently, the developed catalysts could provide an excellent anti-AA and anti-UA properties in urine. Furthermore, Fig. 8d exhibits a slightly increasing oxidation current of 2 mM glucose detection, from $+0.30 \text{ V}$ to $+1.0 \text{ V}$ in the presence of AP, attributable to pain relief medicine. Overall, the CoFe-NG has shown excellent anti-interference property toward AA, UA, and Cl^- ion, providing a promising result for future non-enzymatic glucose sensor.

IV. CONCLUSION

We investigated the use of bimetallic CoFe catalyst in the development of non-enzymatic glucose sensor in urine. Two supporting materials (carbon and N-doped graphene) were applied to load 10% metal catalyst. Based on amperometric

response, CoFe-NG exhibited superior performance to CoFe-C. Especially in Surine, CoFe-NG provided an outstanding performance with the sensitivity of $476.67 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{mM}^{-1}$ with R^2 of 0.9974 from 0 to 3.25 mM glucose detection. Furthermore, the limit of detection of $37.7 \mu\text{M}$ glucose and excellent anti-interference property toward AA, UA, and Cl^- ions, providing a promising results for future low-cost, non-enzymatic glucose amperometric based sensor in urine.

ACKNOWLEDGMENT

This research was financially supported by Thailand Research Fund MRG Grant Number 5980159 and KMITL Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand, Grant Number 2560-01-01006.

REFERENCES

- [1] W. Animaw and Y. Seyoum, "Increasing prevalence of diabetes mellitus in a developing country and its related factors," *PLoS ONE*, vol. 12, p. e0187670, November 2007.
- [2] [World Health Organization, "Global Report on Diabetes," WHO Press, Geneva, Switzerland ISBN 978924156525 7, 2016.
- [3] K. Tian, M. Prestgard, and A. Tiwari, "A review of recent advances in nonenzymatic glucose sensors," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 41, pp. 100-118, August 2014.
- [4] E. Ferrannini, "Learning From Glycosuria," *Diabetes*, vol. 60, pp. 695-696, February 2011.
- [5] N. Friedrich, T. Skaaby, M. Pietzner, K. Budde, B. H. Thuesen, M. Nauck, *et al.*, "Identification of urine metabolites associated with 5-year changes in biomarkers of glucose homeostasis," *Diabetes & Metabolism*, vol. 44, pp. 261-268, June 2018.
- [6] M. S. Kim and D.-Y. Lee, "Urinary Glucose Screening for Early Detection of Asymptomatic Type 2 Diabetes in Jeonbuk Province

- Korean Schoolchildren," *Journal of Korean Medical Science*, vol. 32, pp. 985-991, April 2018
- [7] M. M. Farid, L. Goudini, F. Piri, A. Zamani, and F. Saadati, "Molecular imprinting method for fabricating novel glucose sensor: Polyvinyl acetate electrode reinforced by MnO₂/CuO loaded on graphene oxide nanoparticles," *Food Chemistry*, vol. 194, pp. 61-67, March 2016.
 - [8] S. Yang, L. Liu, G. Wang, G. Li, D. Deng, and L. Qu, "One-pot synthesis of Mn₃O₄ nanoparticles decorated with nitrogen-doped reduced graphene oxide for sensitive nonenzymatic glucose sensing," *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 755, pp. 15-21, October 2015.
 - [9] X. Li, J. Liu, X. Ji, J. Jiang, R. Ding, Y. Hu, *et al.*, "Ni/Al layered double hydroxide nanosheet film grown directly on Ti substrate and its application for a nonenzymatic glucose sensor," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 147, pp. 241-247, May 2010.
 - [10] B. Hai and Y. Zou, "Carbon cloth supported NiAl-layered double hydroxides for flexible application and highly sensitive electrochemical sensors," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 208, pp. 143-150, March 2015.
 - [11] Y. Shu, Y. Yan, J. Chen, Q. Xu, H. Pang, and X. Hu, "Ni and NiO Nanoparticles Decorated Metal-Organic Framework Nanosheets: Facile Synthesis and High-Performance Nonenzymatic Glucose Detection in Human Serum," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 9, pp. 22342-22349, July 2017.
 - [12] Q. Wang, Q. Wang, M. Li, S. Szunerits, and R. Boukherroub, "Preparation of reduced graphene oxide/Cu nanoparticle composites through electrophoretic deposition: application for nonenzymatic glucose sensing," *RSC Advances*, vol. 5, 2015, pp. 15861-15869.
 - [13] X. Liu, W. Yang, L. Chen, and J. Jia, "Three-Dimensional Copper Foam Supported CuO Nanowire Arrays: An Efficient Non-enzymatic Glucose Sensor," *Electrochimica Acta*, vol. 235, pp. 519-526, May 2017.
 - [14] L. T. Hoa, J. S. Chung, and S. H. Hur, "A highly sensitive enzyme-free glucose sensor based on Co₃O₄ nanoflowers and 3D graphene oxide hydrogel fabricated via hydrothermal synthesis," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 223, pp. 76-82, February 2016.
 - [15] J. Balamurugan, T. D. Thanh, G. Karthikeyan, N. H. Kim, and J. H. Lee, "A novel hierarchical 3D N-Co-CNT@NG nanocomposite electrode for non-enzymatic glucose and hydrogen peroxide sensing applications," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 89, pp. 970-977, March 2017.
 - [16] X. Cao and N. Wang, "A novel non-enzymatic glucose sensor modified with Fe₂O₃ nanowire arrays," *Analyst*, vol. 136, 2011, pp. 4241-4246.
 - [17] H. Dai, P. Cao, D. Chen, Y. Li, N. Wang, H. Ma, *et al.*, "Ni-Co-S/PPy core-shell nanohybrid on nickel foam as a non-enzymatic electrochemical glucose sensor," *Synthetic Metals*, vol. 235, pp. 97-102, August 2018.
 - [18] L. Liu, Z. Wang, J. Yang, G. Liu, J. Li, L. Guo, *et al.*, "NiCo₂O₄ nanoneedle-decorated electrospun carbon nanofiber nanohybrids for sensitive non-enzymatic glucose sensors," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 258, pp. 920-928, April 2018.
 - [19] T. Brooks and C. W. Keevil, "A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens," *Letters in Applied Microbiology*, vol. 24, pp. 203-206, March 1997.
 - [20] P. Arndt, N. D. Leistner, S. Neuss, D. Kaltbeitzel, G. A. Brook, and J. Grosse, "Artificial urine and FBS supplemented media in cytocompatibility assays for PLGA-PEG-based intravesical devices using the urothelium cell line UROtsa," *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 0, 2017.
 - [21] P. Chen, J.-J. Yang, S.-S. Li, Z. Wang, T.-Y. Xiao, Y.-H. Qian, *et al.*, "Hydrothermal synthesis of macroscopic nitrogen-doped graphene hydrogels for ultrafast supercapacitor," *Nano Energy*, vol. 2, pp. 249-256, March 2013.
 - [22] L. Sun, L. Wang, C. Tian, T. Tan, Y. Xie, K. Shi, *et al.*, "Nitrogen-doped graphene with high nitrogen level via a one-step hydrothermal reaction of graphene oxide with urea for superior capacitive energy storage," *RSC Advances*, vol. 2, 2012, pp. 4498-4506.
 - [23] Y. Xu, K. Sheng, C. Li, and G. Shi, "Self-Assembled Graphene Hydrogel via a One-Step Hydrothermal Process," *ACS Nano*, vol. 4, pp. 4324-4330, July 2010.
 - [24] D. Pletcher, "Electrocatalysis: present and future," *Journal of Applied Electrochemistry*, vol. 14, pp. 403-415, July 1984.
 - [25] K. E. T. a. R. G. Compton, "Electrochemical Non-enzymatic Glucose Sensors: A Perspective and an Evaluation," *International Journal of Electrochemical Science*, 2010, pp. 1246-1301.

รายงานสรุปการเงิน

สัญญาเลขที่ MRG5980159

โครงการ: Enhancement of direct electron transfer by cost-effective bimetal: cobalt/ iron catalysts on printable graphene paper based biosensors for ultra highly sensitive H₂O₂ detection in human body fluids

รายงานสรุปการเงินในรอบ 30 เดือน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน เมทินี จรยาสุภาพ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 2 พ.ค. 59 ถึงวันที่ 13-Feb-62

รายจ่าย

หมวด (ตามสัญญา)	รายจ่ายสะสม จากรายงาน ครั้งก่อน	ค่าใช้จ่าย งวดปัจจุบัน	รวมรายจ่าย สะสมจนถึง งวดปัจจุบัน	งบประมาณ รวมทั้ง โครงการ	คงเหลือ (หรือเกิน)
1. ค่าตอบแทน	202,800.00	0.00	202,800.00	280,800	78,000.00
2. ค่าจ้าง	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3. ค่าวัสดุ	194,328.09	54,968.39	249,296.48	244,000	-5,296.48
4. ค่าใช้สอย	18,631.20	61,823.88	80,455.08	75,200.00	-5,255.08
5. ค่าครุภัณฑ์	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
รวม	415,759.29	116,792.27	532,551.56	600,000.00	67,448.44

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ		
งวดที่ 1	300,000.00 บาท	เมื่อ วันที่ 13/7/59
งวดที่ 2	100,000.00 บาท	เมื่อ วันที่ 12/05/60
งวดที่ 3	122,000.00 บาท	เมื่อ วันที่ 12/05/60
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 1	253.72 บาท	เมื่อ วันที่ 31/12/59
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 2	279.00 บาท	เมื่อ วันที่ 30/06/60
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 3	351.20 บาท	เมื่อ วันที่ 31/12/60
ดอกเบี้ย ครั้งที่ 4	152.72 บาท	เมื่อ วันที่ 30/06/61
รวม	523,036.64 บาท (A)	

ค่าใช้จ่าย

งวดที่ 1	172,473.00 บาท	เมื่อ วันที่ 7/22/59
งวดที่ 2	31,200.00 บาท	เมื่อ วันที่ 2/8/59
งวดที่ 3	31,200.00 บาท	เมื่อ วันที่ 01/02/60
งวดที่ 4	41,600.00 บาท	เมื่อ วันที่ 04/05/60
งวดที่ 5	2,958.00 บาท	เมื่อ วันที่ 04/05/60
งวดที่ 6	59,345.00 บาท	เมื่อ วันที่ 15/06/60
งวดที่ 7	90,818.53 บาท	เมื่อ วันที่ 03/10/60
งวดที่ 8	30,835.00 บาท	เมื่อ วันที่ 29/01/61
งวดที่ 9	37,751.96 บาท	เมื่อ วันที่ 04/06/61
งวดที่ 10	24,702.00 บาท	เมื่อ วันที่ 07/12/61
รวม	522,883.49 บาท (B)	

จำนวนเงินคงเหลือ (A-B) 153.15 บาท

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

ลงนามเจ้าหน้าที่การเงินโครงการ

หมายเหตุ 1. ตัวเลขใน cell สีฟ้า (ยอดรวมรายจ่ายสะสมจนถึงงวดปัจจุบันและยอดรวมค่าใช้จ่าย) ต้องเท่ากัน
2. ยอดจำนวนเงินคงเหลือ (A-B) ควรเท่ากับหรือใกล้เคียงกับยอดคงเหลือในสำเนาสมุดบัญชี

ชื่อโครงการ : MRG5980159 บัญชีเงินฝากเลขที่ 693-0-02858-4											
วัน-เดือน-ปี	รายการ	เลขที่ อ้างอิง	เงินฝากธนาคาร			รายจ่าย					
			รับ	จ่าย	คงเหลือ	ค่าตอบแทน	ค่าจ้าง	ค่าใช้สอย	ค่าวัสดุ	ครุภัณฑ์	รวม
	งบประมาณ (หัก) ค่าใช้จ่าย		300,000								
	งบประมาณคงเหลือ		300,000	-337,759.29	(37,759.29)	-	-	20,568.80	(58,328.09)	-	(37,759.29)
	ยอดคงเหลือยกมา		-	-	-	-	-	-	-	-	-
	รับเงินงวดที่ 1 จาก สกว.	R59/01	300,000		300,000.00						
24/05/59	ค่าวัสดุสำนักงาน	P59/001		-1,858.00	298,142.00				1,858.00		
24/05/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/002		-768.00	297,374.00				768.00		
31/05/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/003		-6,124.00	291,250.00				6,124.00		
3/6/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/004		-288.00	290,962.00				288.00		
3/6/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/005		-77,039.07	213,922.93				77,039.07		
3/6/59	ค่าใช้สอย	P59/006		-15,673.00	198,249.93			15,673.00			
3/6/59	ค่าสารเคมี	P59/007		-28,760.21	169,489.72				28,760.21		
14/7/59	ค่าสารเคมี	P59/008		-23,456.54	146,033.18				23,456.54		
14/7/59	ค่าสารเคมี	P59/009		-21,526.05	124,507.13				21,526.05		
22/7/59	ค่าตอบแทนงวดที่1	P59/010		-20,800.00	103,707.13	20,800.00					
2/8/59	ค่าตอบแทนงวดที่2	P59/011		-31,200.00	72,507.13	31,200.00					
11/12/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/012		-1,144.58	71,362.55				1,144.58		
25/7/59	ค่าวัสดุสำนักงาน	P59/013		-184.00	71,178.55				184.00		
28/9/59	ค่าวัสดุสำนักงาน	P59/014		-314.00	70,864.55				314.00		
3/6/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/015		-1,140.00	69,724.55				1,140.00		
25/11/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/016		-2,064.00	67,660.55				2,064.00		
24/12/59	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/017		-4,360.00	63,300.55				4,360.00		
10/1/60	ค่าใช้สอย	P59/018		-1,087.00	62,213.55			1,087.00			
11/1/60	ค่าใช้สอย	P59/019		-1,675.50	60,538.05			1,675.50			

5/1/60	ค่าสารเคมี	P59/020		-11,982.79	48,555.26				11,982.79		
20/1/60	ค่าใช้สอย	P59/021		-195.70	48,359.56			195.70			
8/1/60	ค่าใช้สอย	P59/022		-2,634.00	45,725.56				2,634.00		
15/1/60	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/023		-2,283.38	43,442.18				2,283.38		
11/4/60	ค่าวัสดุการทดลอง	P59/024		-7,379.47	36,062.71				7,379.47		
18/4/60	ค่าวัสดุสำนักงาน	P59/025		-369.00	35,693.71				369.00		
20/4/60	ค่าวัสดุสำนักงาน	P59/026		-653.00	35,040.71				653.00		
20/1/03	ค่าตอบแทนงวดที่3	P59/027		-31,200.00	3,840.71	31,200.00					
06/15/60	ค่าตอบแทนงวดที่4	P59/28		-41,600.00	(37,759.29)	41,600.00					
	รวม		300,000	-337,759.29	(37,759.29)	124,800.00	-	18,631.20	194,328.09	-	337,759.29
	ยอดยกไป										

2/1/61	ค่าตอบแทนงวดที่ 3	P60/16		-13000.00	52,268.29	13,000.00				
8/1/61	ค่าวัสดุทดลอง	P60/17		-1337.50	50,930.79				1,337.50	
16/01/61	ค่าใช้สอย	P60/18		-1090.00	49,840.79			1,090.00		
18/01/61	ค่าใช้สอย	P60/19		-6264.85	43,575.94				6,264.85	
27/05/61	ค่าวัสดุสำนักงาน	P60/20		-652.00	42,923.94				652.00	
9/7/61	ค่าวัสดุทดลอง Lab	P60/21		-239.00	42,684.94				239.00	
11/6/61	ค่าใช้สอย	P60/22		-2172.90	40,512.04			2,172.90		
24/8/61	ค่าใช้สอย ลงทะเบียน	P60/23		-16021.76	24,490.28			16,021.76		
12/6/61	ค่าใช้สอย ที่พัก	P60/24		-5235.12	19,255.16			5,235.12		
13/6/61	ค่าใช้สอย ตัวเครื่องบิน	P60/25		-8553.00	10,702.16			8,553.00		
12/2/61	ค่ารถและเบี้ยเลี้ยง	P60/26		-3000.00				3,000.00		
1/10/61	ค่าจ้างนักศึกษาเก็บข้อมูล	P60/27		-18000.00				18,000.00		
30/6/03	ดอกเบี้ยเงินฝาก		279.00		10,981.16					
31/12/03	ดอกเบี้ยเงินฝาก		351.20		11,332.36					
2/7/03	ดอกเบี้ยเงินฝาก		152.72		11,485.08					
	รวม		243,605	-253,120.36	(9,514.92)	78,000.00	-	61,823.88	113,296.48	253,120.36
	ยอดยกไป				-					