

國立交通大學

物理研究所

碩士論文

不需標定、即時的液態放電紡絲纖維一氧化氮感測器
**Real-time and indicator-free detection of aqueous nitric
oxide with electrospun fibrous membrane**



研究生：吳孟哲

指導教授：孟心飛 教授

洪勝富 教授

中華民國九十八年六月

不需標定、即時的液態 放電紡絲纖維一氧化氮感測器

國立交通大學物理研究所碩士班

學生：吳孟哲

指導教授：孟心飛教授

洪勝富教授

摘要

一氧化氮(NO)是一種在人體中扮演重要腳色的自由基，可以使血管周圍的平滑肌舒張、控制血壓、抑制血小板聚集，並且在神經系統中扮演著訊息分子的角色。而發展一種可以在細胞外、直接、即時的一氧化氮(NO)感測器是必要的，該感測器可以幫助我們了解一氧化氮(NO)釋放的機制。

放電紡絲(electrospinning)在 20 世紀初就已經被發展出來了，那是一種可以製造出精細纖維的方法，可以製造出小於微米，甚至奈米尺寸的連續纖維。

我們利用放電紡絲(electrospinning)製造一種在一氧化氮(NO)感測器上的奈米纖維感測層，該感測層在液態環境下可以即時感測且不需標定。這種奈米纖維是由 NO probe ZnCl

(11,16-Bisphenyl-6,6,21,21-tetramethyl-m-benzi-6,21porphodimetheno-chloro-Zinc(II))和高分子材料PAN(polyacrylonitrile) 組成的，它的直徑大約在 550 奈米左右。由於奈米纖維感測層的表面積相當大，反應時間也相對快及敏感，反應時間只需要 6 秒鐘。最低可以偵測到濃度 10^{-9} 莫耳的一氧化氮(NO)。而且奈米纖維感測層也顯示出它具有重複利用性、單一選擇性以及在不同PH值中的穩定性。

Real-time and indicator-free detection of aqueous nitric oxide with electrospun fibrous membrane

Student : Meng-Che Wu

Advisors : Prof. Hsin-Fei Meng

Prof. Sheng-Fu Horng

Institute of Physics

National Chiao Tung University

Abstract

Nitric oxide (NO) is a free radical playing important roles in the human body. NO relaxes the smooth muscle in the walls of the arterioles, regulates the blood pressure, and inhibits the aggregation of platelets.^{1–4} It also serves as a signaling molecule in the nervous system.⁵ Direct and real-time detection of NO outside the cell helps to unveil how NO relates to certain physiological function.

Since the beginning of 20 century, electrospinning had been developed. Electrospinning is a process, which produces superfine fibers. Electrospinning is able to produce continuous fibres from the submicron diameter down to the nanometre diameter.

A sensing fibrous membrane prepared by electrospinning is demonstrated for real-time and indicator-free detection of nitric oxide (NO) in aqueous solution. The fibers with diameters of 550 nm are composed of NO probe 11,16-Bisphenyl-6,6,21,21-tetramethyl-m-benzi-6,21-porphodimetheno-chloro-Zinc(I) and host polymer polyacrylonitrile. The high surface area of the sensing fibrous membrane gives rapid response in 6 seconds and high sensitivity, and NO concentration detection limit is estimated to be 10^{-9} M. The sensing fibrous membrane also shows good reversibility, selectivity, and stability in various pH values.

致謝

時間過的很快兩年的實驗室生涯一下子就過去了，我也從剛進實驗室的菜鳥到現在再寫畢業論文了，在這兩年內除了學習到很多知識外，我也學到很多做人的道理。

首先要感謝的是我們實驗室的大家長孟心飛教授和洪勝富教授，孟心飛教授是一個相當帥氣的教授，我永遠都記得我第一次進去教授辦公室的時候，整個被嚇到不敢相信有這麼帥的教授，而洪勝富教授是一個學問相當淵博的人，常常在他的身上學習到很多不知道的領域，感謝他們給我這個學習的機會。

再來我要感謝的是實驗室的學長姐，感謝強哥，您總是給我很多建議給我很多方向，讓我的實驗可以順順利利的，感謝俊宇，俊宇在這兩年內給我我很多幫助，實驗器材有問題找俊宇就對了！感謝韻如學姐，你除了是實驗室最正的女生外，也給了我很多幫助，信榮學長、家銘學長、建成學長感謝你們那麼照顧我。

感謝怡成、吉米、牛哥在實驗室最後的一年，陪我最多的就是你們了，我們畢業後還要一起打牌喔！XD還有要感謝振豪、輝哥、唐牛、正忠在這兩年的時間裡我們互相學習，感謝你們告訴我很多我不知道的事情，我在你們身上學到很多。感謝學弟小胖我不會忘記我們一起喝酒、一起做菜的日子。還有野人、季老師很多事情沒有你們是作不到的。感謝一起打球的同伴，沒有球打的日子我無法想像。

最後我要感謝我的好朋友們，冠偉每當我不知道該怎麼辦的時候我第一個想到的一定是你，橘子皮陪我度過很多無聊的時光，弱智你總是挺我！李碧旋沒有妳那個暑假我不會過的這麼快樂，小韻你知道的，那是我最快樂的一段時光你對我來說永遠都是那麼重要。

要感謝的人這麼多，那就謝天吧。

目錄

中文摘要	i
英文摘要	ii
致謝	iii
目錄	iv
圖目錄	vi
Chapter1 緒論	
1-1 前言	2
1-2 研究分子	4
1-2-1 發現過程與三大實驗	5
1-2-2 NO 在體內扮演的生理功效	9
1-3 研究動機	11
1-4 論文架構	11
Chapter2 實驗原理	12
2-1 發光原理	13
2-2 NO Probe 和 NO 的反應機制	14
2-3 放電紡絲(electrospinning)的原理	17
Chapter3 實驗製程、量測與材料	22
3-1 NO probe 固態薄膜製程	23
3-2 量測	25
3-3 材料介紹	28
3-4 微流管(Microfluidic system)的製作和量測	32

Chapter4 實驗設計與結果	36
4-1 NO probe 之基本特性.....	37
4-1-1 ZnCl.....	37
4-1-2 DAQ.....	42
4-2 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之製作.....	46
4-2-1 放電紡絲(electrospinning)之使用.....	46
4-2-2 放電紡絲(electrospinning)纖維膜和 NO Probe 的結合.....	48
4-3 放電紡絲(electrospinning)纖維膜和旋轉塗佈膜(spin)之比較...	50
4-3-1 ZnCl fibrous membrane 和 spin film 的比較.....	50
4-3-2 DAQ fibrous membrane 和 spin film 的比較.....	53
4-4 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之基本特性.....	56
4-4-1 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之濃度階梯量測.....	56
4-4-2 放電紡絲纖維膜之可逆性反應(reversibility)測試.....	58
4-4-3 放電紡絲纖維膜 PH 值及 NAP 測試.....	60
4-4-4 在生理環境下 ZnCl 對 NO 的反應.....	63
4-4-5 低濃度 SNAP 對 ZnCl PL 的變化.....	65
4-5 濃度極限及時間解析.....	67
4-5-1 濃度極限.....	67
4-5-2 時間解析.....	69

4-6 微流管實驗.....	73
Chapter5 結論	76
Reference	77

圖目錄

圖 1-1 血糖檢測計和採血器.....	2
圖 1-2 Biosensor 的基本原理.....	3
表 1-1, 1998 年諾貝爾生理醫學獎三大得主.....	4
圖 1-3, Furchgott's 三明治實驗.....	5
圖 1-4, 血管內皮 NO 作用機制.....	6
圖 1-5, Ignarro's Spectrophotometry.....	7
圖 1-6, NO 在體內負責的八大工作.....	8
圖 1-7, NO 在體內扮演的生理功效.....	8
圖 2-1 電子躍遷圖.....	13
圖 2-2 入射光吸收的可能情況.....	14
圖 2-3 能帶圖.....	14
圖 2-4 半導體材料中能量對能態密度的關係圖.....	16
圖 2-5 常見的 <i>o</i> -phenylenediamine NO indicators.....	17
圖 2-6 DAF-2 和 NO 反應形成 DAF-2 triazole (DAF-2 T).....	18
圖 2-7 DAQ 和 NO 反應變成 DAQ-TZ.....	18
圖 2-8 ZnCl 中間的 Zinc 和 NO 產生弱鍵結或作用力而造成 PL 下降.....	18
圖 2-9 electrospinning 示意圖.....	19
圖 2-10 放電紡絲(electrospinning)的基本架構.....	20
圖 2-11 使用固定集合器時, 奈米纖維呈現隨機不規則排列之情形.....	21
圖 2-12 使用旋轉盤集合器時, 奈米纖維呈現平行規則之排列....	21

圖 3-1 Electrospinning 示意圖.....	23
圖 3-2 待測物在 f4500 裡面的架構.....	25
圖 3-3 CCD 量測的架構.....	26
圖 3-4 PD 量測架構.....	27
圖 3-5 Polyacrylonitrile.	28
圖 3-6 ZnCl.....	28
圖 3-7 ZnCl 之 UV、PL 圖(from Prof. Hung)	29
圖 3-8 DAQ 以及其和 NO 反應後的 DADAQ-TZ.....	29
圖 3-9 DAQ 和 NO 反應.....	30
圖 3-10 SNAP.....	30
圖 3-11 NAP.....	30
圖 3-12 NoNoate.....	31
圖 3-13 Microfluidic system 圖案示意圖.....	32
圖 3-14 PDMS 通道示意圖.....	32
圖 3-15 PDMS 通道.....	33
圖 3-16 Microfluidic system 量測之架構.....	34
圖 3-17 Microfluidic system 改善示意圖.....	35
圖 3-18 Syringe pump 針筒式幫浦.....	35
圖 4-1 ZnCl 溶液之 UV、PL 圖(from Prof.Hung).....	37
圖 4-2 ZnCl 溶液加入 SNAP 造成其 UV 吸收光譜改變.....	39
圖 4-3 ZnCl 溶液加入 SNAP 造成其 PL 有 shift 以及 decay 之現象	40
圖 4-4 以 NO 氣體直接灌進 ZnCl 溶液也會改變其 UV 吸收光譜	40
圖 4-5 以 NO 氣體灌進 ZnCl 溶液, 亦造成其 PL 下降.....	41
圖 4-6 DAQ@DMSO 溶液加入 SNAP 造成其 PL 下降.....	42
圖 4-7 SNAP 造成 DAQ 在 550 左右的吸收消失.....	43
圖 4-8 其結果和 paper 的結果一致.....	44

圖 4-9 NO 氣體造成 DAQ 溶液 PL 下降(用 545nm 的光激發).....	44
圖 4-10 NO 氣體亦造成 DAQ 溶液 550nm 左右之吸收消失.....	45
圖 4-11 electrospinning 的基本架構.....	46
圖 4-12 其單一條絲直徑約為 600-800nm 之間.....	47
圖 4-13 圖 4-13 添加 ZnCl 的纖維膜.....	48
圖 4-14 其絲的直徑~800nm 左右.....	48
圖 4-15 添加 DAQ 的纖維膜.....	49
圖 4-16 其絲的直徑~~~800nm 左右.....	49
圖 4-17 纖維狀結構使反應很快.....	51
圖 4-18 非纖維狀結構需要較長時間才可達到平衡.....	51
圖 4-19 DAQ 纖維膜和 NO 反應造成其 PL 下降(545nm 激發).....	54
圖 4-20 DAQ 一般膜和 NO 反應造成其 PL 下降(545nm 激發).....	54
圖 4-21 ZnCl 纖維膜的 PL 會隨著 SNAP 濃度增加而下降.....	57
圖 4-22 ZnCl 纖維膜 Reversibility 測試.....	59
圖 4-23 PH 值和 NAP 並不會影響 ZnCl 的 PL.....	61
圖 4-24 PH 值和 NAP 並不會影響 DAQ 的 PL.....	61
圖 4-25 在 culture medium 的環境下，ZnCl 亦可以偵測到 NO.....	64
圖 4-26 濃度為 0.0001625M 的 SNAP，亦可以明顯的造成 ZnCl 的 PL 下降	66
圖 4-27 極限濃度測試.....	68
圖 4-28 暗電流和未放 ZnCl 纖維膜的電流.....	70
圖 4-29 在加入 0.05MSNAP 後 PD 的光電流下降非常快.....	71
圖 4-30 纖維膜和一般膜的時間解析.....	71
圖 4-31 纖維膜可以立即反映出 SNAP 濃度的改變，而一般膜不能	73

Chapter1

緒論



1-1 前言

1-2 研究分子

1-3 研究動機

1-4 論文架構

1-1 前言

什麼是biosensor? biosensor就是生物感測器 [1,2]。生物感測器定義為”使用固定化的生物分子(immobilized biomolecules)結合換能器，用來偵測生物體內或生物體外的環境化學物質或與之起特異性交互作用後產生回應的一種裝置”。這種裝置在現在這個世界所扮演的腳色越來越重要!其最明顯的例子就是血糖檢測器。我們只要在家裡紮自己一針，在短短幾秒內即可得知自己的血糖值。

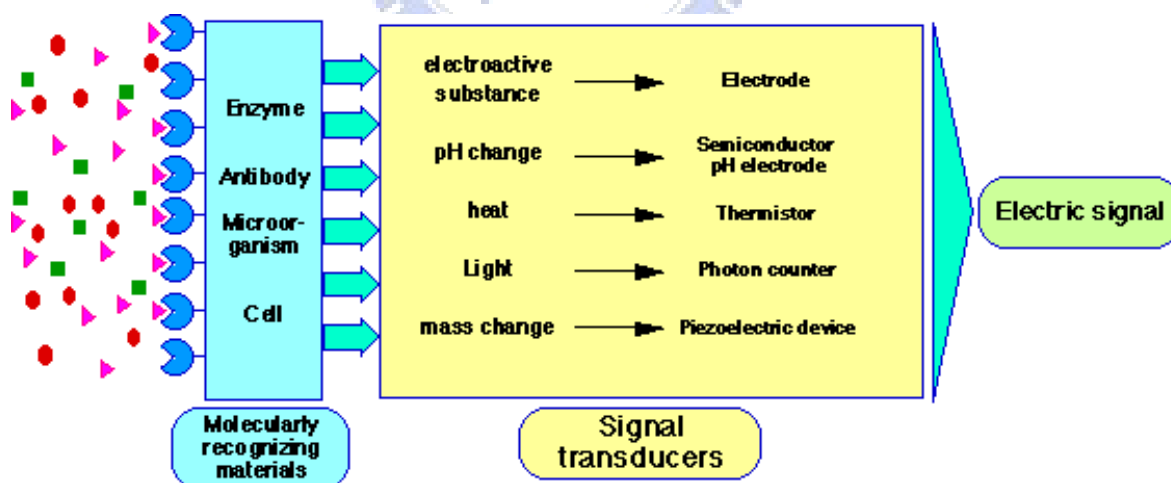


圖1-1血糖檢測計和採血器

而生物感測器的發展可追溯到Clark 與Lyon 於1962 年提出酵素電極作為第一代生物感測器的概念後，便掀起一陣漩風，如Yellow Springs Instrument 公司於1979 年開發的第一個血液葡萄糖檢測的生物感測器。MediScense 公司於1987~1988 年起相繼推出家用型及攜帶式(信用卡型及筆型)的血糖檢測器。然而1980 年代之後，開始投第二代生物感測器的開發，在概念上，以抗體或受體蛋白質作為固定化的生物分子以開發，而在訊號換能器方面朝向多元化，選擇以場效半導體(FET)，光纖式光學感測器(Fiber-Optic Sensor, FOS)，壓電晶體(PZT)，表面聲波器(SAW)等作為訊號換能器。而第二代生物感測器多仍在實驗室

階段，尚未達技術成熟的商品。第三世代的生物感測器定位在更具攜帶式，自動化，與即時測定功能，預測在二十一世紀初期可以達到上市目標。至於第四世代具偵測/信號輸出/控制/自我組合/自我修補與複製等功能的生物感測器將於何時出現，則尚無法預估。

生物感測器的分類是依據感測器的固定化的生物分子、訊號換能器、固定化的生物分子與待測生物樣本的結合方式而有三種分類。(一)依據固定化的生物分子分類：分為抗體、抗原、酵素、核酸、組織部份或個體細胞。(二)依據訊號換能器分類：(1)電化學生物感測器(Electrochemical Biosensor) (2)離子選擇性場效電晶體(ISFET, Ion Sensitive Field Effect Transistor) 3)壓電晶體生物感測器(Piezoelectric quartz crystal biosensor) (4)光纖生物感測器(Fiber-optic biosensor) (三)依據固定化的生物分子與待測生物樣本的結合方式：(1)生物親和性感測器(Bioaffinity sensors) (2)代謝感測器(Metabolism sensor)或生物催化型感測器 (Biocatalytic biosensors)



Principle of Biosensors

圖1-2 Biosensor的基本原理

1-2 研究分子

在本論文所研究偵測的分子爲一氧化氮(Nitric Oxide, NO)。

NO [^{3,4}] 是空氣污染的主要成分，也是酸雨形成的主要因子，但NO卻也被發現可執行重要的生化功能。此發現是生物學上一項重要的新發現，發現者因此也被獲頒 1998 年諾貝爾生理醫學獎，如表 1-1。與其他訊息傳導物質不同的是，NO非常不穩定，以至於它在 10 秒之內即會被完全代謝分解掉。

$\cdot\dot{N}\equiv O:$ 是含一未配對電子的自由基，十分活躍不穩定，半衰期約為3~5秒，約10秒即會被氧化成亞硝酸鹽(nitrite, NO₂⁻)和硝酸鹽(nitrate, NO₃⁻)。



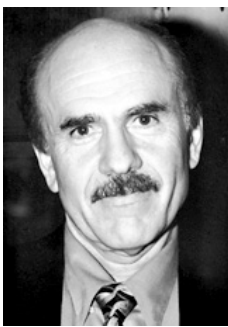
			
名字	Robert F. Furchgott	Ferid Murad	Louis J Ignarro
出生	1916 USA	1941 USA	1936 USA
研究部門	紐約布魯克林的 SUNY Health Science Center 藥理部門	德州大學基礎藥學研究部門	UCLE School of Medicine 的分子及藥理部門
貢獻	乙醯膽鹼於體外可藉由內皮細胞分泌 EDRF 而使血管平滑肌舒張	硝基化合物會釋放 NO 而使血管平滑肌舒張	1986 年，與 Furchgott 同時提出 EDRF 即是 NO

表 1-1，1998 年諾貝爾生理醫學獎三大得主

發現過程與三大實驗

(A) Robert F. Furchgott

乙醯膽鹼(acetylcholine)在當時已經被證實在動物活體內可引發顯著的血管放鬆；在離體血管實驗中，乙醯膽鹼有時候會造成血管平滑肌放鬆，但大部分卻是造成血管肌肉收縮。Furchgott 於是開始懷疑”血管的「內皮細胞完整或損傷」決定「血管壁收縮或擴張」”。

1978 年 5 月 7 號，Furchgott 的技術員 David Davidson 利用血管環的方式以乙醯膽鹼為刺激劑，測試藥物對血管的舒張反應。由於 David Davidson 不小心加錯藥的順序，意外發現乙醯膽鹼可導致血管擴張。經過小心查證後，Furchgott 發現血管收縮是因為在血管處理過程中將血管內皮破壞造成的。當血管內皮完好無損時，乙醯膽鹼只能擴張血管。

1980 年 11 月，Furchgott 在自然期刊 (Nature) 提出「三明治(sandwich)」實驗，如圖 1-1 所示。他以兩組不同的動脈血管做實驗，一組(左圖)將血管內皮細胞移除，一組(右圖)維持原本的內皮細胞層。發現當受正腎上腺素(NA)刺激時兩組動脈血管皆收縮，但在加入乙醯膽鹼(ACh)後，只有具有內皮細胞的血管肌肉(右圖)舒張。因此 Furchgott 推斷**血管內皮細胞**可製造一個不明的訊息傳導因子 -- 「**內皮衍生放鬆因子**」(EDRF=endothelium derived relaxing factor)，而使血管平滑肌細胞放鬆，造成血管擴張。

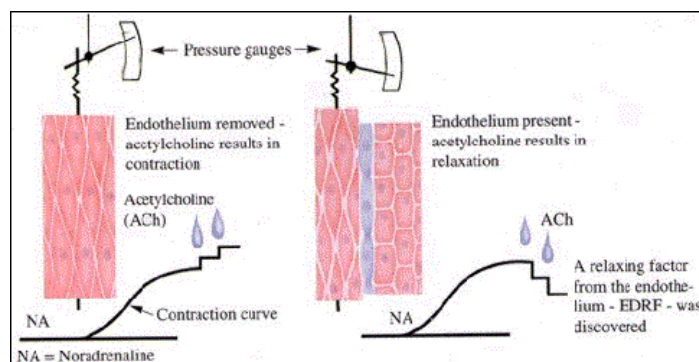


圖 1-3，Furchgott's 三明治實驗³

(B) Ferid Murad

Ferid Murad 本人是臨床醫生又是藥理學研究者，他主要研究工作是分析硝化甘油與相關的血管擴張藥物是透過何種機制去發揮效果。

1970 年代，Ferid Murad 在維吉尼亞大學致力於一氧化氮 (NO, nitric oxide) 和 cGMP (環鳥嘌呤核甘單磷酸鹽) 當作訊息傳導 (signal transduction) 的研究。

由於 guanylate cyclase 可將 GTP 轉化為 cGMP，因此他推測任何可以活化 guanylate cyclase 的酵素皆可調控細胞內 cGMP 含量，進而影響細胞功能。在分離酵素的過程中，他發現酵素除了存在在細胞膜中，也存在於細胞漿中。細胞膜中的酵素可藉由刺激物和受器結合而活化，那麼細胞漿中的酵素是如何受到活化？

已知肌凝蛋白輕鏈(myosin light chain)之去磷酸化會導致平滑肌舒張。1977 年，Ferid Murad 經由實驗證明，含硝基之藥品(包括三酸甘油酯)會釋放 NO 使細胞漿中的 guanylate cyclase 活化，促使 GTP 轉化生成 cGMP，cGMP 使肌凝蛋白輕鏈去磷酸化，造成血管平滑肌舒張，如圖 1-2 所示。同時 Ferid Murad 也發現乙醯膽鹼會刺激血管內皮細胞產生內生性 NO。

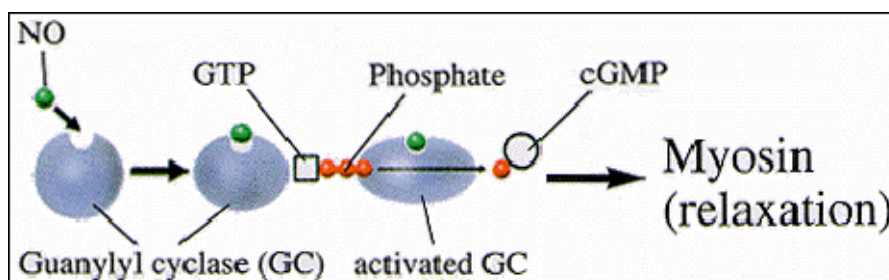


圖 1-4，血管內皮NO作用機制⁴

(C) Louis J Ignarro

在 Furchgott 和 Ferid Murad 陸續發表他們的理論後，Ignarro 也開始投入 EDRF 的研究。

Ignarro 收集了乙酰膽鹼刺激胸主動脈血管環後所遺留之培養液（含 EDRF），再觀察此一培養液對 guanylate cyclase 之活化作用。當這培養液加入各式氧化、還原及抗氧化劑後，guanylate cyclase 的活化程度會被影響。Ignarro 進一步測量此培養液的 NO，發現 NO 的產生量與 guanylate cyclase 活化量成正比，此實驗證明了 **EDRF 即是 NO**。

1986 年，Ignarro 藉由「分光術(spectrophotometry)」實驗(如圖 1-3 所示)提出：

- (1) 內皮衍生放鬆因子 EDRF 即是 NO。
- (2) 人類首次發現一個氣體在生物體內可扮演一個訊息傳導因子的角色。

兩組實驗顯示出 EDRF 和 NO 的最大吸光值完全相同，證明 **EDRF = NO**。

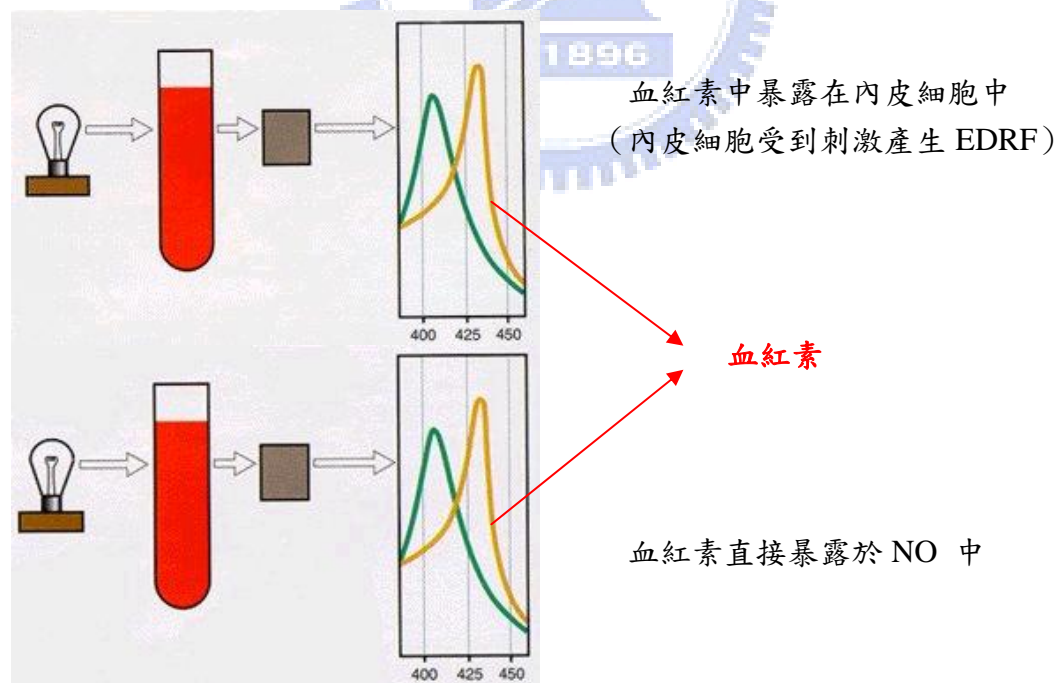


圖1-5，Ignarro's Spectrophotometry

NO 在體內扮演的生理功效

NO 在人體負責的工作大約有八大項，如圖 1-6、圖 1-7 所示。

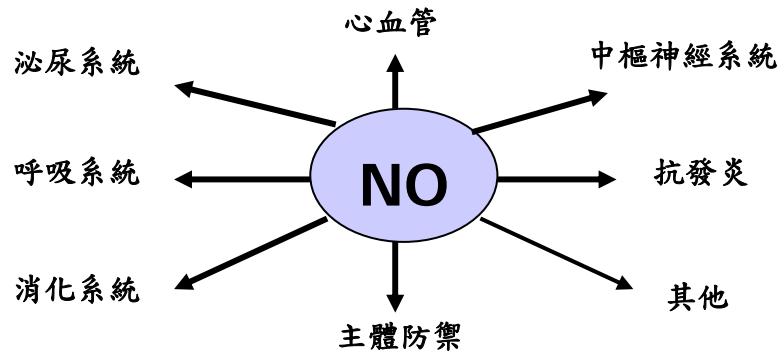


圖 1-6，NO 在體內負責的八大工作

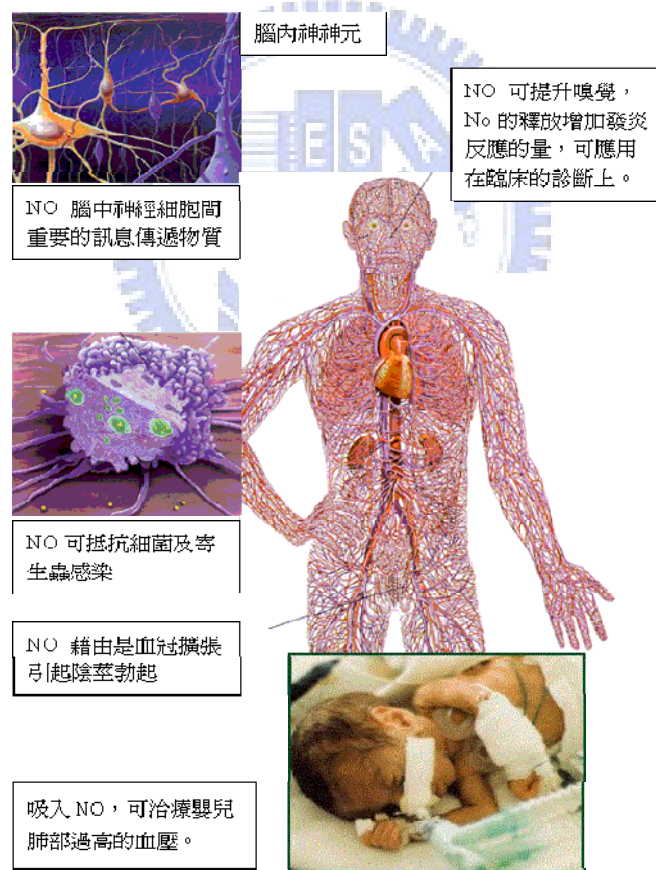


圖 1-7，NO 在體內扮演的生理功效⁶

(A) 心血管疾病(Cardiac Vascular Disease)的防止：

NO 可舒張血管, 有利預防血脂肪沈澱物蓄積在血管內壁, 造成動脈硬化或阻塞、高血壓、中風、心絞痛等疾病。

(B) 中樞神經系統(Central Nerve System)：

NO 可作為神經傳導因子, 傳遞神經細胞間訊息, 促進神經細胞之間的溝通, 與大腦學習、記憶、睡眠、協調等中樞有密切關聯性。

(C) 呼吸系統：

許多肺部疾病如氣喘、肺高壓及肺栓塞, 經由吸入 NO 可以用來改善肺泡氣體交換及局部血液循環功效。

(D) 免疫系統(Anti-Inflammation)：

當體內有感染時, NO 可協助巨噬細胞殺死細菌、病毒、寄生蟲等感染, 亦可刺激胸腺產生 Killer T-cells 免疫殺手細胞, 提升抵抗力。

(E) 消化系統：

NO 可以促進腸胃蠕動及代謝。

(F) 癌症(cancer)：

白血球會使用 NO 去對抗癌症細胞, 因為 NO 會引起 Apoptosis(programmed cell death, 計畫性細胞死亡)。

(F) 抗發炎(Anti-Inflammation)：

NO 能舒緩發炎與風溼症, 對於肌腱關節的發炎與疼痛, 有很好的消炎緩解作用。嗎啡的療效即是產生 NO, 但 NO 本身不會使病人嗜癮, 是藥物作用的有效部份。

(G) 陽萎：

NO 可以擴張陰莖內動脈管壁而引起勃起。PDE5 (phosphodiesterase type 5 第五型磷酸二脂酶) 會促進陰莖海綿體 cGMP 的代謝消耗, 當陰莖海綿體 cGMP 的量被消耗而不足時, 陰莖將軟攤無法勃起。威而鋼藉著抑制 PDE5 來

減少陰莖海綿體 cGMP 的代謝消耗以增強 NO 的功能，而促進陰莖勃起。然而，如果不能在陰莖海綿體製造足夠的 NO 或 cGMP，再多的威而鋼也無法使陰莖勃起。

(H)其他：NO 可幫助我們辨識不同的嗅覺與氣味。



1-3 研究動機

一氧化氮(NO)在人體中扮演的腳色相當重要，人體中一氧化氮(NO)的含量往往跟一個人健不健康有著相當的關係。目前市面上還沒有偵測一氧化氮的生物感測器被發展出來，我們在測量NO濃度只能採用化學發光法(chemiluminescence)，即NO與O₃結合後，會轉變為NO₂和O₂並釋放出光子，機器偵測吸收光強度，可算出NO濃度。然而此方法無法做到即時量測細胞釋放NO濃度變化，而且它還需要龐大的光學儀器。所以發展一種可以在體外，正確、即時的一氧化氮(NO)感測器是必要的。

由於共軛高分子可大量合成材料和製程簡單優點，因此我們期待做出可即時偵測 NO 濃度變化、用完即丟的固態 NO sensor。此固態 NO Sensor 將是一個將 NO probe (會與 NO 分子反應的材料)、高分子有機發光二極體 PLED、共軛高分子光偵測器 OPD 做在同一 substrate 上的整合型元件。並且可以應用在生物實驗上。

在以前的研究中我們已經證明我們的 NO probe(ZnCl)固態膜會和 NO 反應而降低其 PL。所以本論文討論的重點是如何改善我們既有的 NO probe(ZnCl)固態膜，進而增進我們的一氧化氮(NO)感測器性能，使其可以使用在生物實驗上。

1-4 論文架構：

在第一章內先簡單介紹生物感測器的發展以及介紹一氧化氮的重要性，第二章內介紹螢光分子發光原理以及放電紡絲(electrospinning)的基本原理，第三章簡單介紹實驗製程、量測架構和使用的材料，第四章則是實驗的設計和結果，最後第五章是總結和未來的展望。

Chapter2

實驗原理



2-1 發光原理

2-2 NO Probe 和 NO 反應的機制

2-3 放電紡絲(electrospinning)的原理

2-1 發光原理：

在這裡我們討論的放光原理只有關於光激發光(photoluminescence) [5,6]。光激發光(photoluminescence) 是指物質吸收光子(或電磁波)後重新幅射出光子(或電磁波)的過程。從量子力學理論上，這一過程可以描述為物質吸收光子激發到較高能級的激發態後返回低能態，同時放出光子的過程。光激發光是多種形式的螢光(Fluorescence)中的一種。

光激發螢光，牽涉到一個由電磁(Electro-Magnetic) 輻射激發的系統，在分類上是屬於光學發光的技術。當入射光(電磁輻射) 照射在試片上時，導致電子被升高至激發態，描繪如圖2-1，典型的能帶躍遷過程。當激態電子返回初始能態時，它會產生一個光子(能量 $h\omega_{PL}$ ，也可能產生許多的聲子(能量 $h\omega_{phonon}$)。由能量守恆，可將其表示為方程式(1)。

$$h\omega_{laser} = h\omega_{PL} + h\omega_{phonon} \quad (1)$$

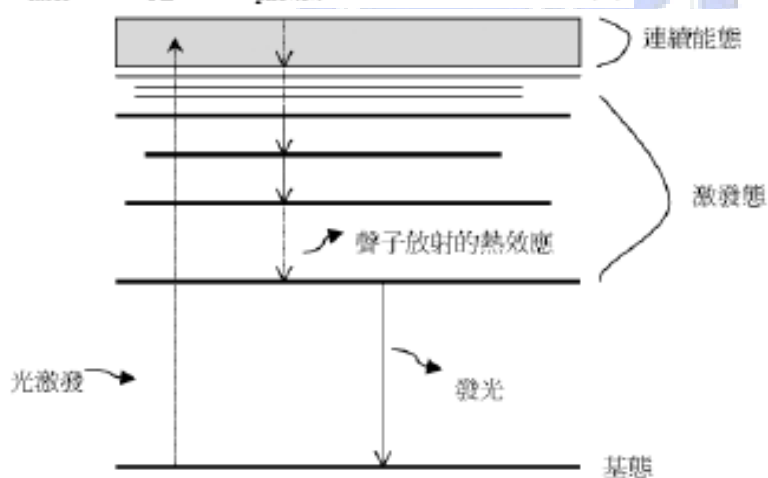


圖2-1 電子躍遷圖

發光可以當做是穩態的現象，試片受到激發源影響而連續地發出光來。在前述的過程，首先是入射光的吸收，如圖2-2，這和激發光子的波長(能量) 有關，故材料的吸收和激發光源的波長有關。

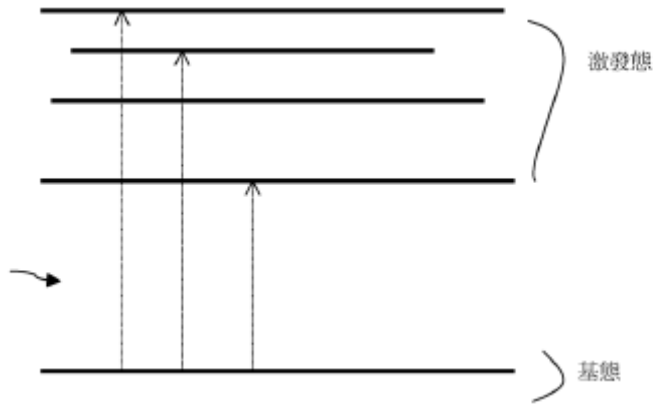


圖 2-2 入射光吸收的可能情況

一旦吸收了入射光之後將電子激發到更高的能態，電子將會釋放到較低的能態。在釋放中帶有不同的過程，可被分類為輻射過程(如光激發螢光)，或非輻射過程(如聲子放射，缺陷捕捉，或歐傑效應)。

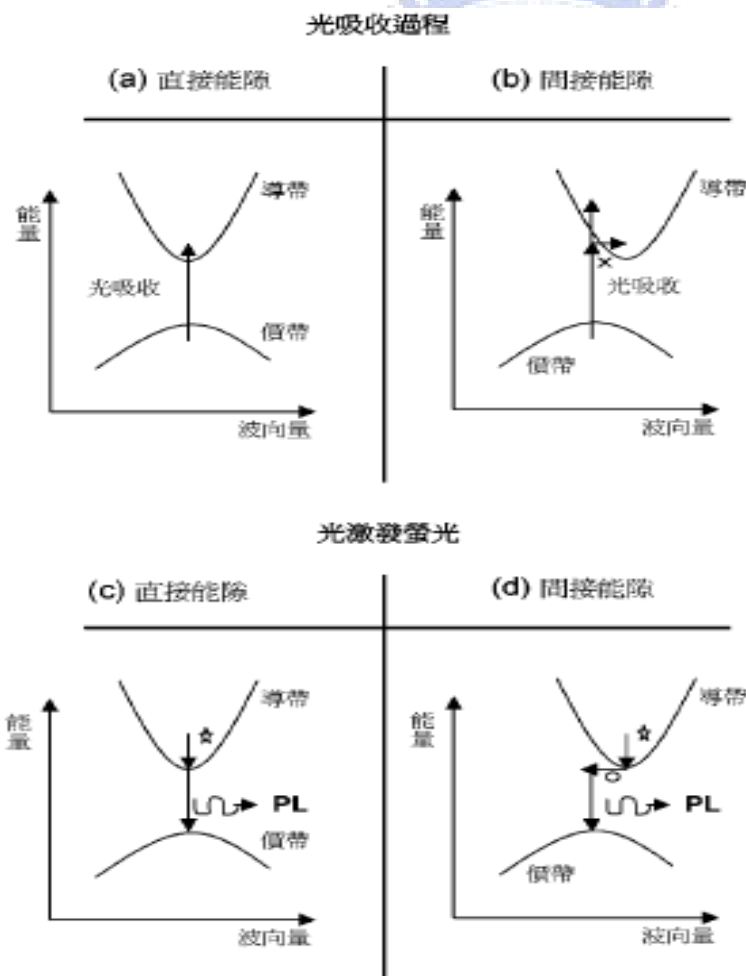


圖2-3能帶圖：(a),(b)光吸收過程與(c),(d)光激發螢光。圖(b)中指光吸收過程需要光子和聲子。圖(c)和(d)呈現除了光子放射外(PL)，聲子的放射是會發生的，因為和光激發的長

度有關，另外，對間接能隙(d)而言，聲子的放射爲了動量守衡。

一般而言，在發光產生之前，較高能量(較短波長)激發的光子導致較多的聲子射出。同樣地，較低的激發能量傾向導致較少的聲子射出。如果激發的能量小於基態和第一激發態之間的能量差時，將沒有光被吸收，也就沒有光激發螢光。前述的電子圖無法充分地解釋半導體結構中許多光激發螢光的特性。較好的解釋是將吸收光想成價帶至導帶間的轉變。放射必需是電子從導帶的最小值移動到價帶的最大值。對於直接能隙和間接能隙材料的光吸收情況如圖2-3(a, b)所示。導帶和價帶相關聯的自由載子，分別是電子和電洞。事實上，光激發螢光(如圖2-3c, d)可以想成是半導體中導帶的電子和價帶的電洞進行輻射復合所致。當激發的能量小於能隙的能量時，光吸收情況將不會發生。圖2-4是典型半導體中導帶和價帶的電子態密度。在曲線(b)中，一個價帶中的電子吸收一個光子後被激發到導帶中。激發的光子可能經由聲子放射，部分釋放能量至導帶中較低態。之後，如曲線(a)，導帶中的電子釋放回價帶後，放出一個光子。光激發螢光光譜可以包含介於 $E_{g, r}$ 和 $E_{g, o}$ 間的光子能量，這是由於每一個發出的光子必須來自佔滿電子態層與導帶最低層之間。然而光吸收情況，由於能量可以大於 $E_{g, o}$ 。因此，由於電子和電洞在導帶和價帶分佈的關係，我們預期用比能隙 E_g 更低波長的光激發可看見發光。

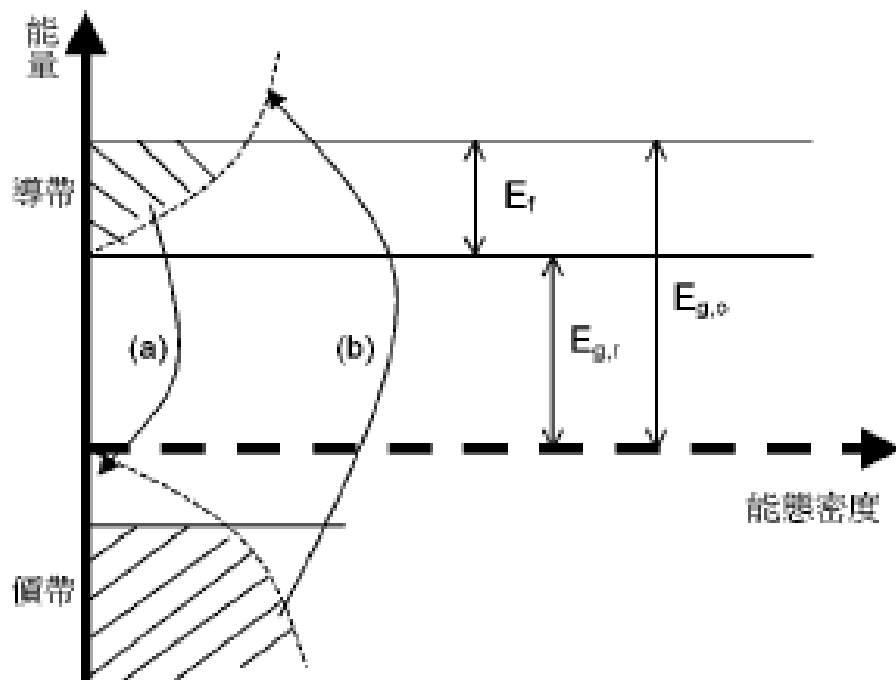


圖2-4半導體材料中能量對態密度的關係圖。圖中呈現發光(a) 與吸收(b) 的轉變過程。



2-2 NO Probe 和 NO 反應的機制

目前醫學上測量NO濃度是採用化學發光法(chemiluminescence)，即NO與O₃結合後，會轉變為NO₂和O₂並釋放出光子，機器偵測吸收光強度，可算出NO濃度。然而此方法無法做到即時量測細胞釋放NO濃度變化，而且它還需要龐大的光學儀器。

利用螢光顯微鏡來偵測NO是一種較新的技術，因為NO本身並不會發光，而使用會和NO結合而改變其螢光特性的NO Probe就可以解決這個問題了。在這裡我們將會說明一些NO Probe和NO反應的機制。

o-phenylenediamine NO Probe 是最常被使用的NO Probe。它就是使用 *o*-phenylenediamine 和NO作反應而命名，當 *o*-phenylenediamine 會改變其 π 鍵的共振進而改變其發光特性〔⁷⁻¹⁰〕。

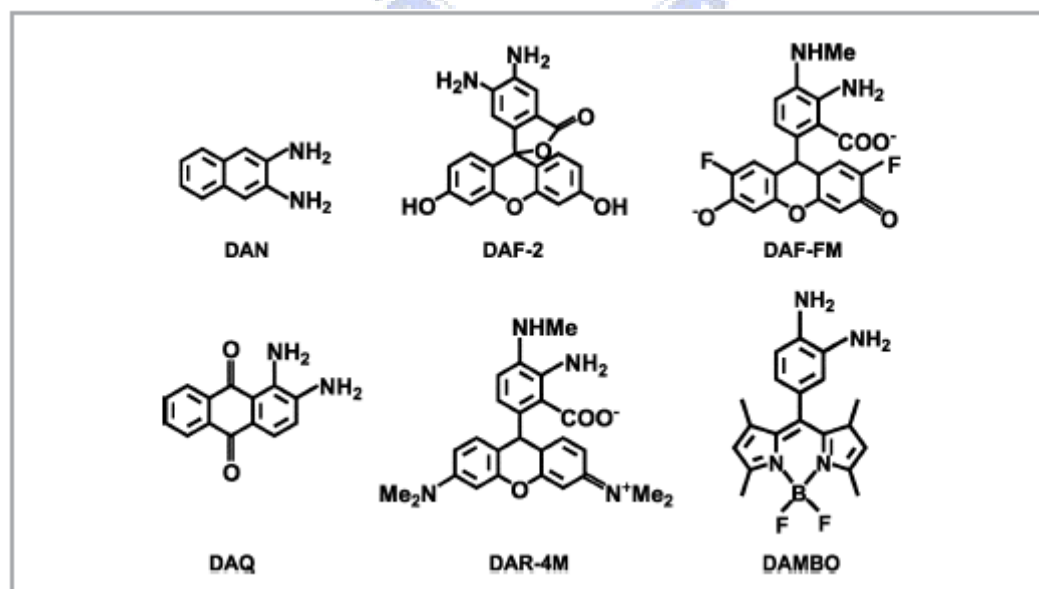


圖2-5常見的 *o*-phenylenediamine NO indicators

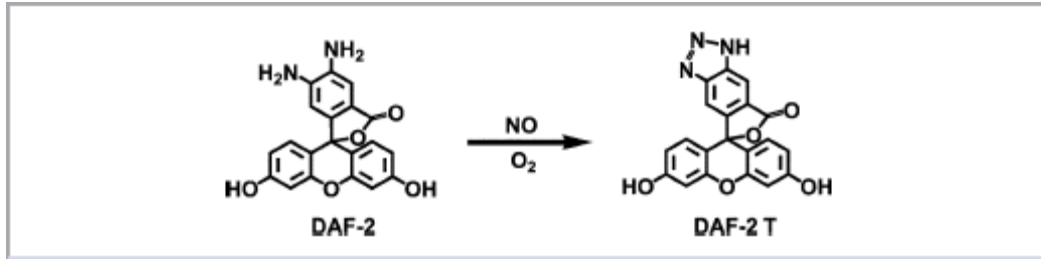


圖2-6 DAF-2和NO反應形成DAF-2 triazole (DAF-2 T)

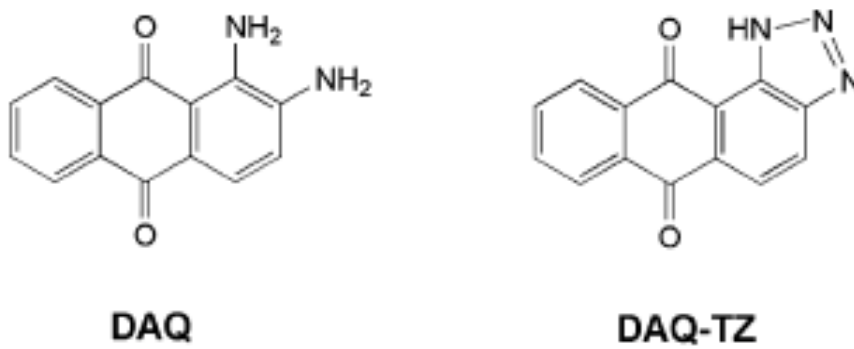


圖2-7 DAQ和NO反應變成DAQ-TZ

而ZnCl和NO的反應機制，推測為NO 跟中心Zinc 產生弱鍵結或作用力 造成被激發的電子以其他方式釋放能量而非螢光方式，造成其PL的下降。

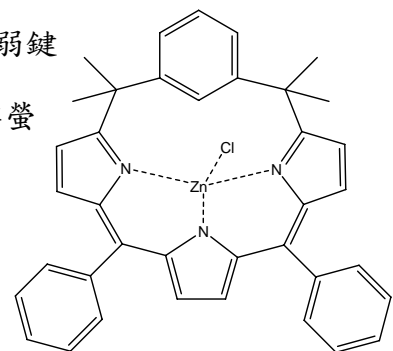


圖 2-8 ZnCl 中間的 Zinc 和 NO 產生弱鍵結或作用力 而造成 PL 下降

2-3 放電紡絲(electrospinning)的原理

放電紡絲(electrospinning)是一個在20世紀初就發展出來的技術，簡單的來說就是一種利用靜電力製造出纖維的方法〔¹¹⁻¹⁴〕。

放電紡絲(electrospinning)的基礎是在於兼具黏著性與伸縮性的溶液。如圖2-9當電場強度逐漸增加後，其在毛細管尖端之半球形流體表面延伸形成圓錐狀(Conical Shape)稱之為泰勒圓錐形(Taylor Cone)；再增加電場強度，若達到某臨界值，其靜電排斥力超過流體表面張力值時，Taylor Cone尖端之帶電荷流體產生噴射現象，而此高分子溶液之放電噴射是一種掃塗行程，在這過程中須使溶劑蒸發固化，留下無規則排列帶電荷之高分子奈米纖維在金屬集合器上。在這裡黏著性與伸縮性扮演著重要的腳色，如果你的溶液並不存在著黏著性與伸縮性的話，當排斥力大於溶液的表面張力的時候，就好像一直往氣球裡面充氣，而使氣球爆開來一樣，只會胡亂噴出一些溶液。而如果你的溶液兼具黏著性與伸縮性的話，就好像在輪胎扎一個洞一樣，裡面的氣體(溶液)就會連續的噴出。

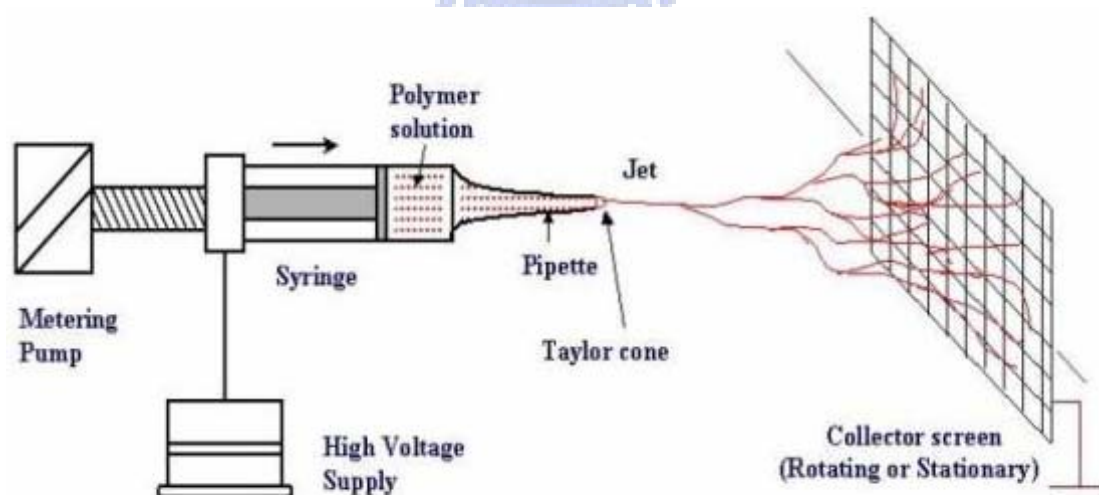


圖 2-9 electrospinning 示意圖

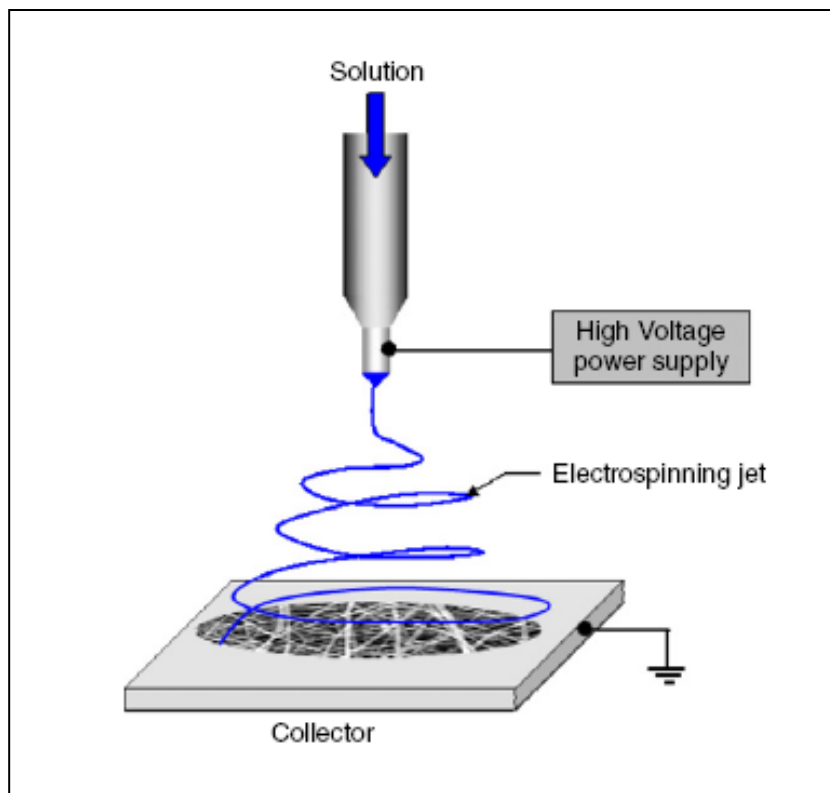
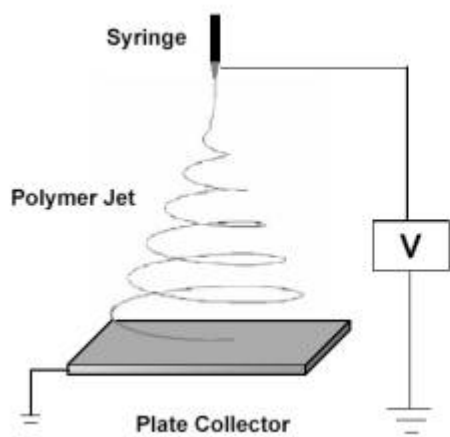


圖 2-10 放電紡絲(electrospinning)的基本架構，由溶液、power supply 和 Collector 組成。

如圖 2-9 所示，將高分子溶液或熔融體充填入玻璃量管 (Pipette) 內，一邊連接喂入注射器 (Syringe)，而計量泵浦 (Metering Pump) 連結注射器之活塞 (Plunger)，使之產生固定的壓力與流量。噴射驅動力來自高壓電源，其一端線浸沉於流體中，而高壓電源可提昇至 30kV，且可變換正或負極之裝置。若調整流量與電場強度大小，則可控制紡絲條件。

如圖 2-11 所示，為使用固定集合器時，奈米纖維呈現隨機不規則排列之情形；如圖 2-12 所示，則為使用旋轉盤集合器時，奈米纖維呈現平行規則之排列。因此，不同設備條件其所生成之纖維網膜亦異，尤其是如何快速大量地、穩定地量化之設備乃是當務之急。



Randomly oriented nanofibers

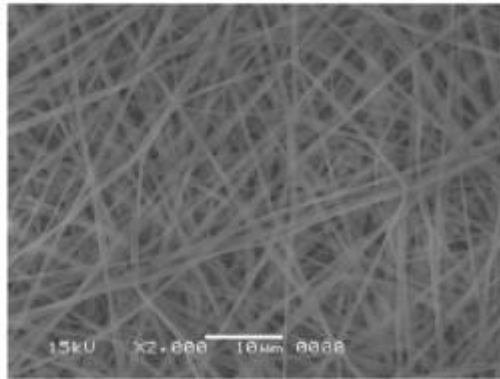
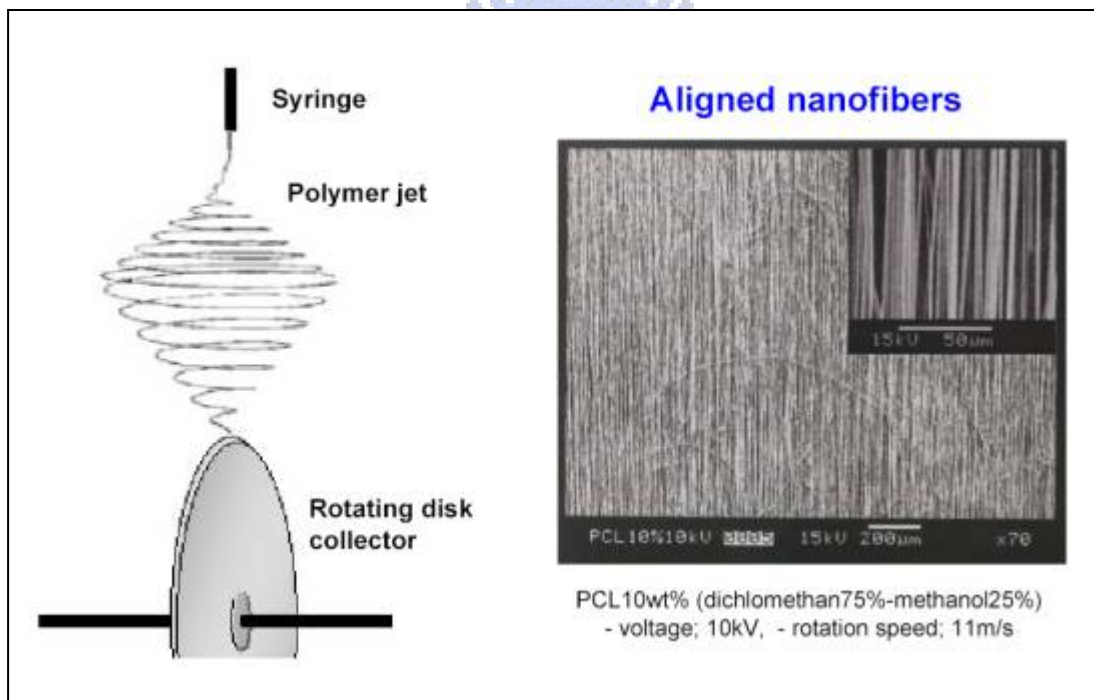
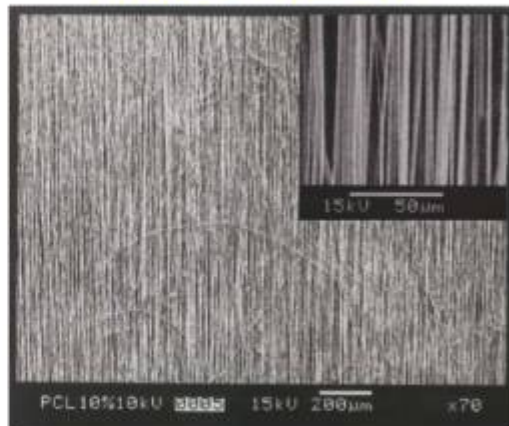


圖 2-11 使用固定集合器時，奈米纖維呈現隨機不規則排列之情形



Aligned nanofibers



PCL10wt% (dichloromethan75%-methanol25%)
- voltage; 10kV, - rotation speed; 11m/s

圖 2-12 使用旋轉盤集合器時，奈米纖維呈現平行規則之排列

Chapter3

實驗製程、量測與材料



3-1 NO probe 固態薄膜製程

3-2 量測

3-3 材料介紹

3-4 微流管(Microfluidic system)的製作和量測

3-1 NO probe 固態薄膜製程

NO probe 固態薄膜的製作發法分成兩種:一種是旋轉塗佈而另一種是放電紡絲 (electrospinning)。

I 溶液配置：

在這裡我們利用二甲基亞砜(Dimethyl sulfoxide或DMSO)作為我們的溶劑。其為一無色液體，並為重要的極性非質子溶劑。它可與許多有機溶劑及水互溶。我們利用它同時溶解PAN (polyacrylonitrile Sigma Aldrich, Mw = 150, 000)和NO probe (ZnCl、DAQ)。PAN溶在DMSO的重量百分比為 10%，而PAN和ZnCl 的重量比為 25 比 1。

II NO probe 固態成膜：

(A) 旋轉塗佈法(spin coating):

將泡好的溶液滴在欲成膜之乾淨白玻璃上，以旋轉塗佈法(spin coating)成膜，轉速為 1000rpm 300sec，甩完後將之加熱 120°C 約莫 60 秒。其膜後約為 $10 \times 10^{-6} \text{m}$ 。

(B) electrospinning:

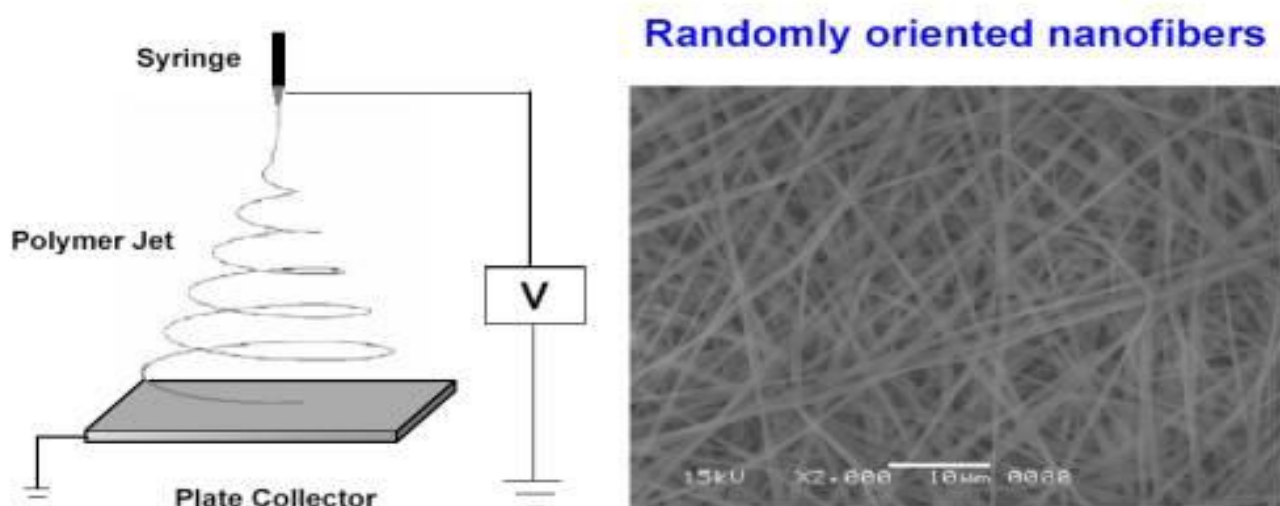


圖 3-1 Electrospinning 示意圖

將溶液吸入玻璃針筒後加入電壓(~10KV)，利用靜電利產生排斥力，當排斥力大於表面張力時，溶液將會噴出成絲(polymer jet)，然後在白玻璃上形成纖維膜 (randomly oriented nanofibers)，其特性為表面積相當大。

electrospinning 的條件為：溶液流速 1 ml/hr、針頭和白玻璃距離 5cm 、 電壓 10KV。



3-2 量測

我們在這裡使用了很多不同方法去量測 ZnCl PL 的變化，以下將會介紹各種量測的架構。

- (1) f4500 量測: 此量測法是直接利用 PL 量測機台 F4500 直接量測。其量測優點在於穩定(整個量測物在一個黑色鐵箱子裡面)、操作方便、可以看到整個光譜、可以使用不同波長的激發光，而且缺點為解析時間相對較長(1 分鐘)。

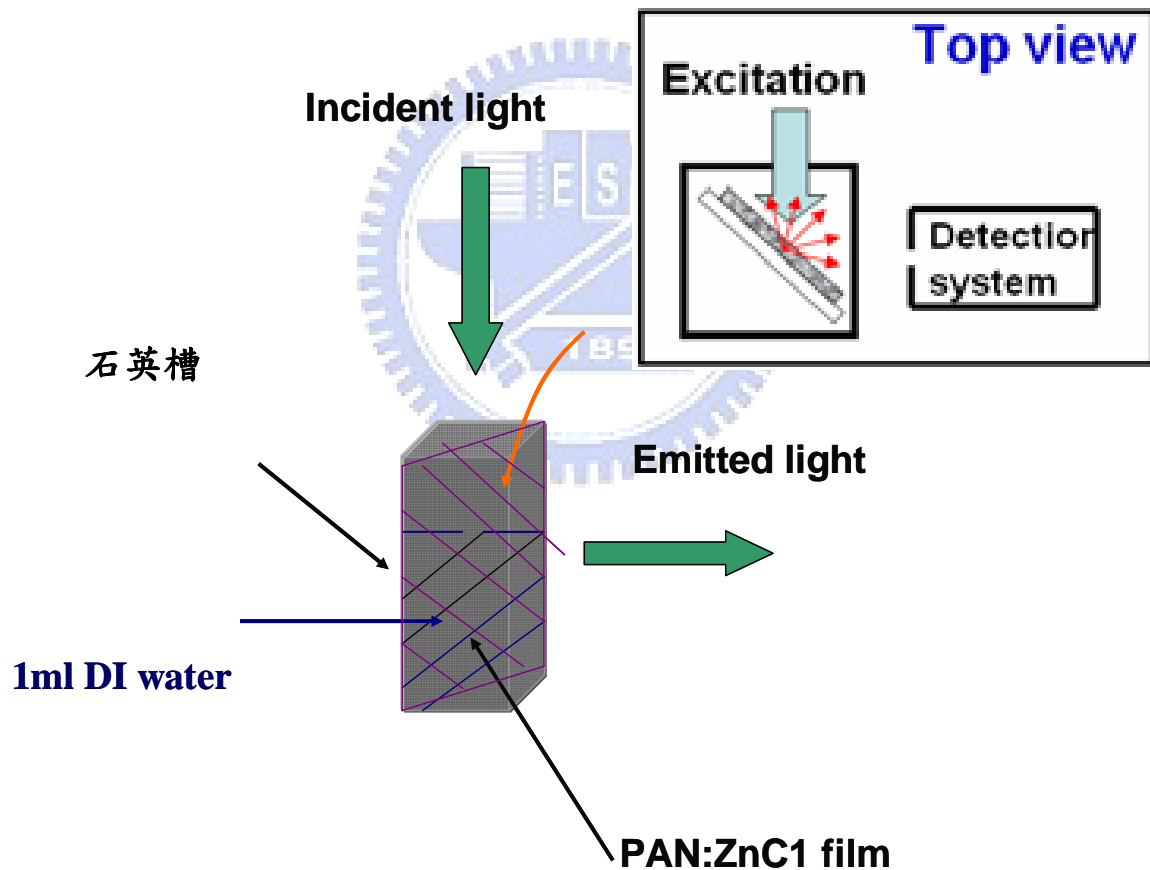


圖 3-2 待測物在 f4500 裡面的架構

(2) CCD 量測:此量測法是在光學桌上，利用雷射激發 ZnCl₂，在用 CCD 量測其 PL 變化。其優點在於時間解析時間相對較短(~10 秒)、可以看到整個光譜。缺點在於架設時間長、較不穩定。

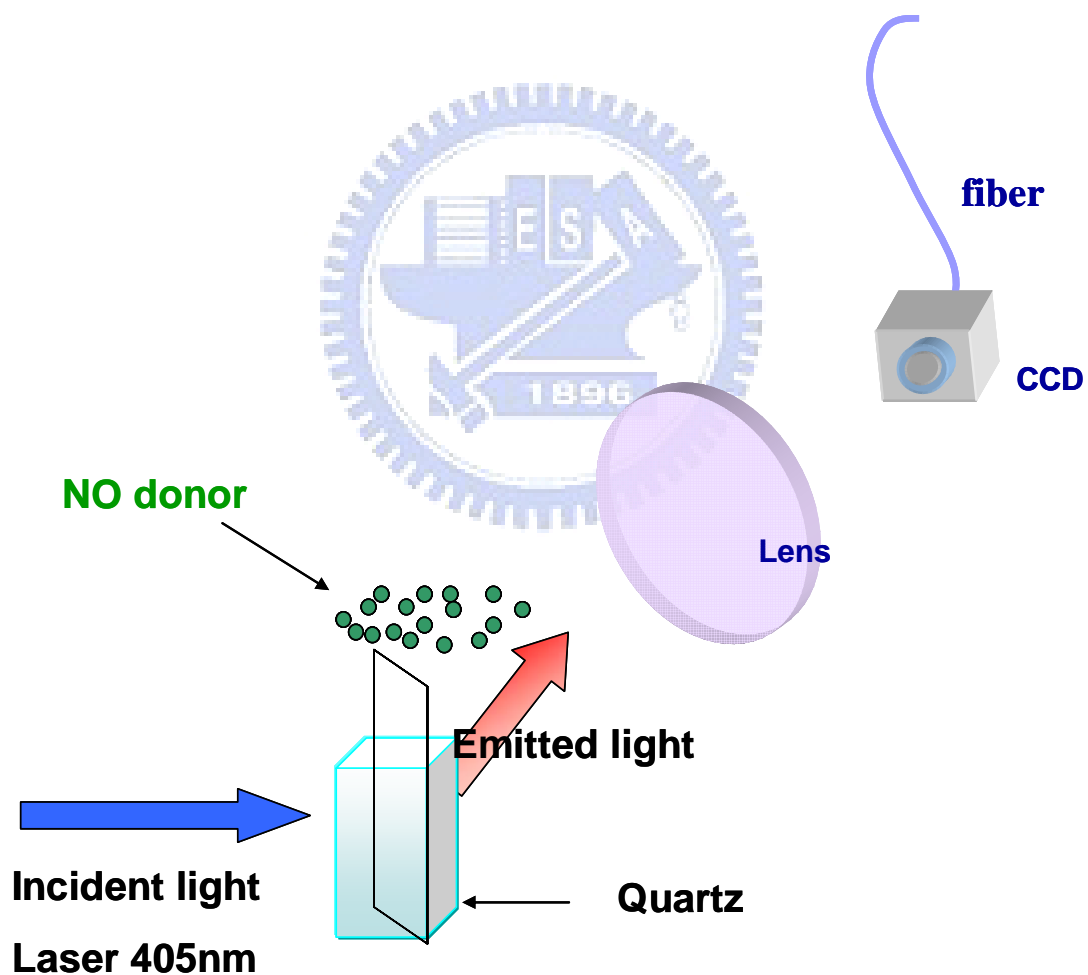


圖 3-3 CCD 量測的架構

(3) PD 量測: 此量測法是在光學桌上，利用雷射激發 ZnC1，在利用 PD 將 PL 光訊號轉成電訊號。其優點在於時間解析最快(~1 秒)缺點是不能看到光譜、較不穩定、由於其只會將光轉變成光電流(沒有選擇性)，所以需要利用 P3HT filter 將激發光給濾掉。

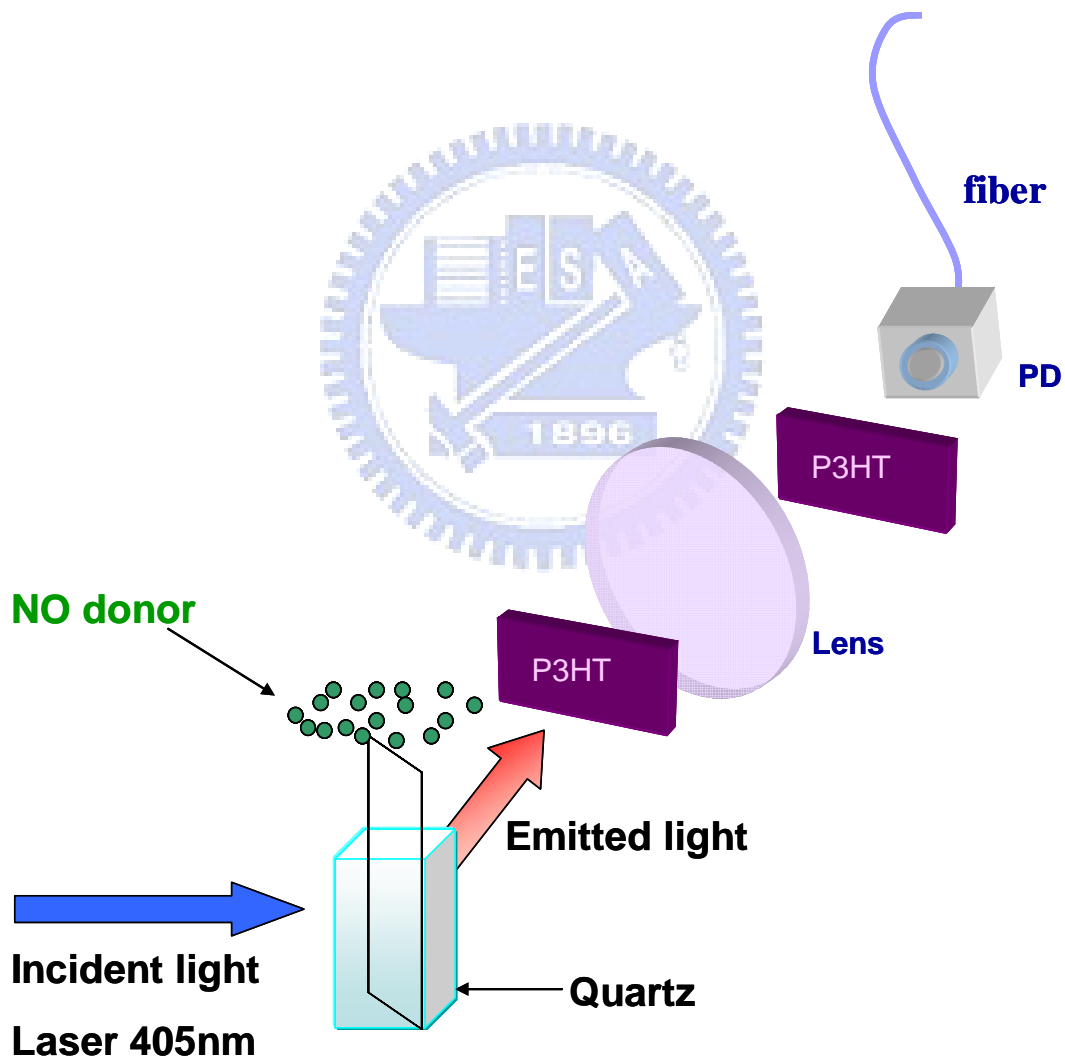


圖 3-4 PD 量測架構

3-3 材料介紹

(1) Polyacrylonitrile(PAN) 聚丙烯腈:其分子式為 $(\text{CH}_2\text{CN})_n$ 是一種碳纖維的材料，由於它可溶在 DMSO 且它溶解後黏滯力相當大可用於 electrospinning，亦可增加 ZnCl 分子間距離以減少其 self quench。

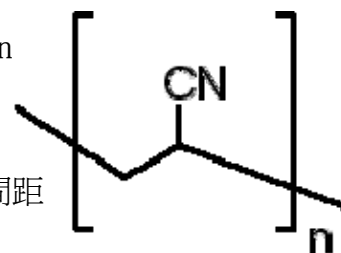


圖 3-5 Polyacrylonitrile

我們使用的是從 SIGMA 買的其性質為：

mol wt average M_w 150,000 (Typical)

refractive index $n_{20/D}$ 1.514

transition temp T_m 317 °C

T_g 85 °C

density 1.184 g/mL at 25 °C(lit.)

(2)ZnCl(11,16-Bisphenyl-6,6,21,21-tetramethyl-m-benzi-6,21porphodimetheno-chloro-Zinc(II)): 由中研院化學所洪政雄老師實驗室所提供的NO probe。

說明：與 NO 分子反應後，ZnCl 放出的 PL 相對

於材料本身的 PL 會有顯著的下降。此材料亦為本論文研究之重點。

建議溶劑：為雙極性分子，除了水以外的溶劑幾乎都可以溶，

但在 ACN(acetonitrile)裡較為穩定。

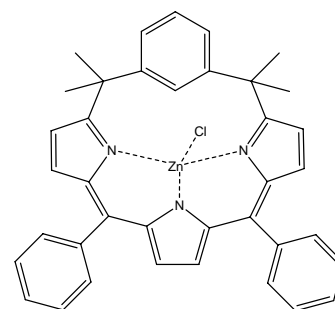


圖 3-6 ZnCl

(3)ZnCl2:也是中研院化學所洪政雄老師實驗室所提供的NO probe。是在ZnCl 上多長出羧基，未來可將它與某氧化物(如SiO₂)作結合以增加材料與NO分子作用表面積。

建議溶劑：DI water

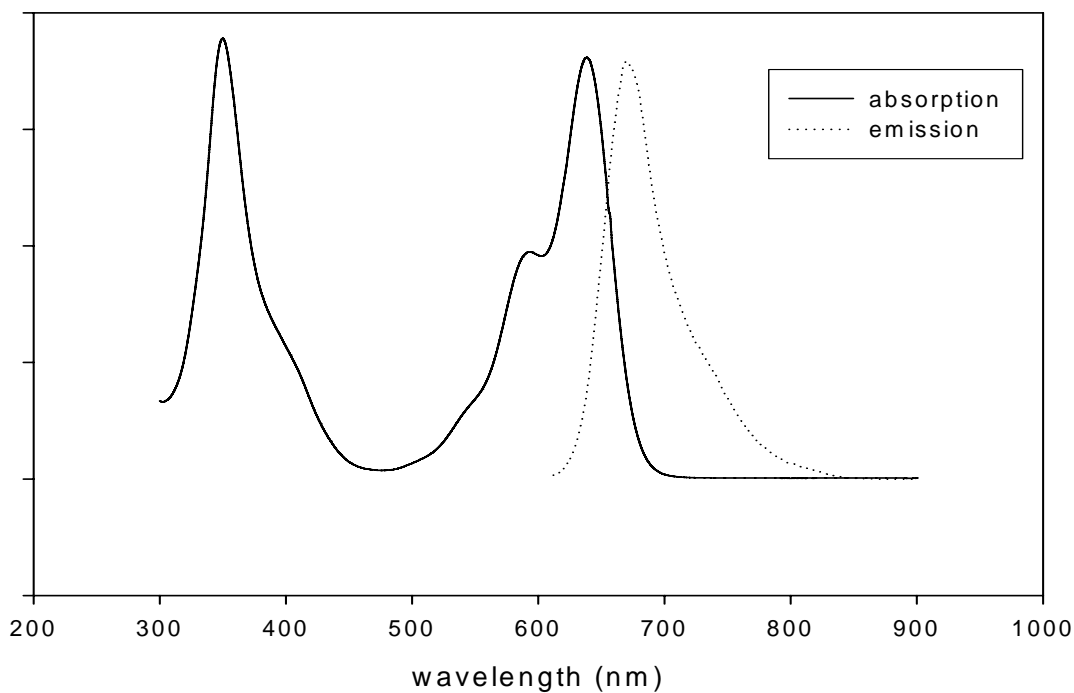


圖 3-7 ZnCl₂ 之 UV、PL 圖 (from Prof.Hung)

(4) DAQ: 商業化的 NO probe。利用其 *o*-Phenylenediamine (鄰苯二胺) 去和 NO (一氧化氮) 反應形成 triazole (三氮二烯伍圓), 而變成 DAQ-TZ 分子, 其和 NO 反應後會使得其 545nm 的吸收消失, 而顏色會從粉紅色變成透明無色, 此時如果以波長 350nm 左右的光去激發它會產生 PL。

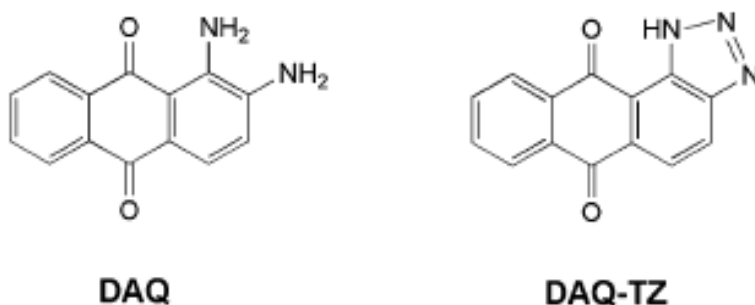


Chart 1

圖 3-8 DAQ 以及其和 NO 反應後的 DADAQ-TZ

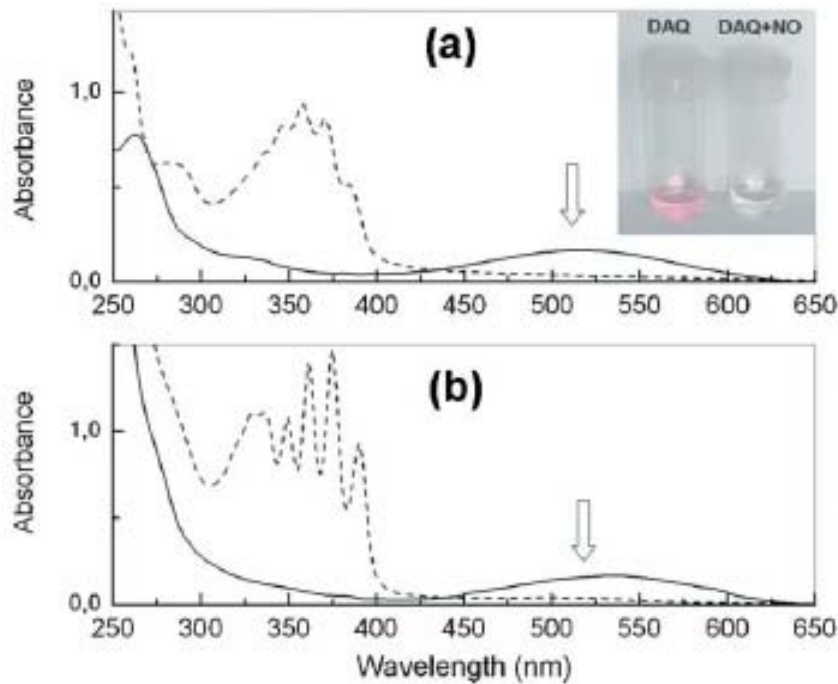


圖 3-9 DAQ 和 NO 反應後其在 545nm 附近的吸收會消失使其顏色從粉紅變成透明

(5)SNAP: 是一種 NO Donor (釋放 NO 分子的材料)

分子式: N-Acetyl-3-(nitrosothio)-DL-valine

S-Nitroso-N-acetylpenicillamine

型號: Sigma 67776-06-1

分子量: 220.25

儲存溫度: -20°C

建議溶劑: DMSO(dimethyl sulfoxide)

半衰期(half-life) in solution: 約 4~5 小時, 視溶劑而定

說明: 平均一個分子會釋放出 1 個 NO 分子



圖 3-10 SNAP

(6)NAP: SNAP 釋放 NO 後的殘留物。

和 SNAP 只差個 NO。

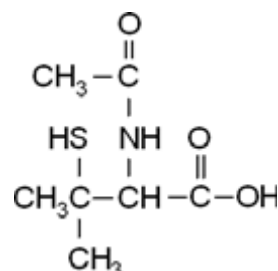


圖 3-11 NAP

(7)NoNoate

分子式：3,3-Bis(aminoethyl)-1-hydroxy-2-oxo-1-triazene

型號：Sigma A5581

分子量：163.18

儲存溫度：-20°C

建議溶劑：DI water

半衰期(half-life) in solution：3400 分鐘

說明：平均一個分子會釋放出 2 個 NO 分子

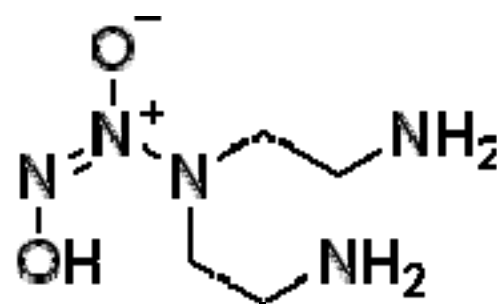


圖 3-12 NoNoate



3-4 微流管(Microfluidic system)的製作和量測

(1)微流管的基本設計:基於我們想要在液體系統中快速改變SNAP的濃度,所以我們設計了以下的Microfluidic system [15,16]。

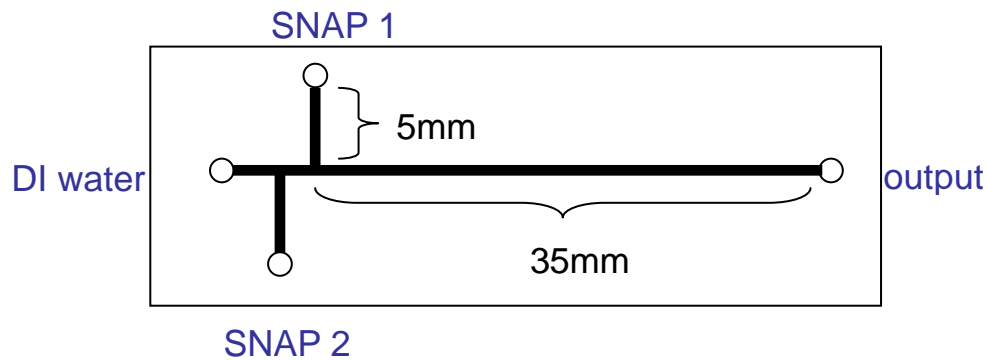


圖 3-13 Microfluidic system 圖案示意圖

● 通道太小會增加偵測上的困難所以 爲了增加ZnC1的PL強度加寬通道, 增加偵測面積但總體積不超過 1cm^3 (1cc)

- 1.通道寬 5mm
- 2.深爲 $100\ \mu\text{m}$
- 3.長寬=50mm x 25mm
- 4.通道設計也使用垂直交叉

(2)通道的製作: 我們的通道是使用 PDMS 來製作, 其優點為成本低, 可大量生產, 缺點: 螢光背景值高, 檢測靈敏度受限制。

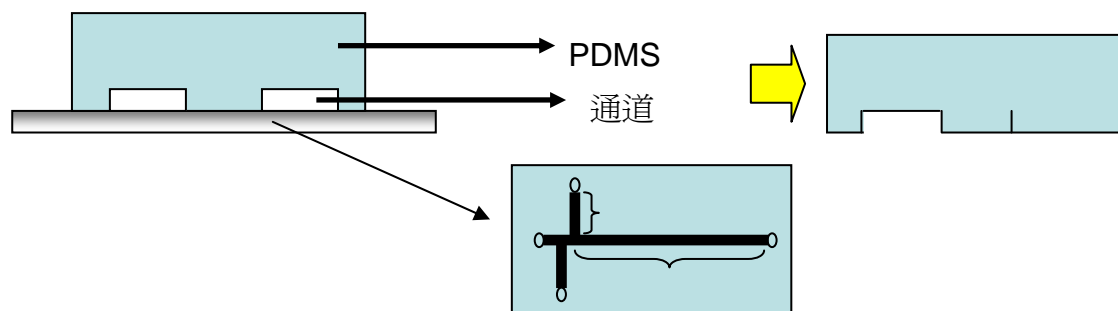


圖 3-14 PDMS 通道示意圖

I 通道模具的製作

1. 先準備好 25mm*50mm 的白玻璃
2. 將白玻璃 clean 乾淨
3. 在白玻璃上貼上一層膠帶(此膠帶一層約厚 50um)
4. 重複步驟 320 次使膠帶厚度達 1mm
5. 在膠帶上畫好所需之圖案
6. 用小刀將不要的交代裁掉，使白玻璃上只剩下所需之圖案

II 通道之製作

1. 將 PDMS 主劑和硬化劑以 10 比 1 的比例調配好
2. 用玻棒攪拌 PDMS(~10 分鐘)
3. 在模具上倒上混合好的 PDMS
4. 利用真空系統重複抽氣放氣，將 PDMS 內的氣泡抽掉
5. 放到 hot plate 上 以 120 度 C 烤 30 分鐘
6. 取下乾掉的 PDMS
7. 放在另一片乾淨的白玻璃上即完成所需之通道

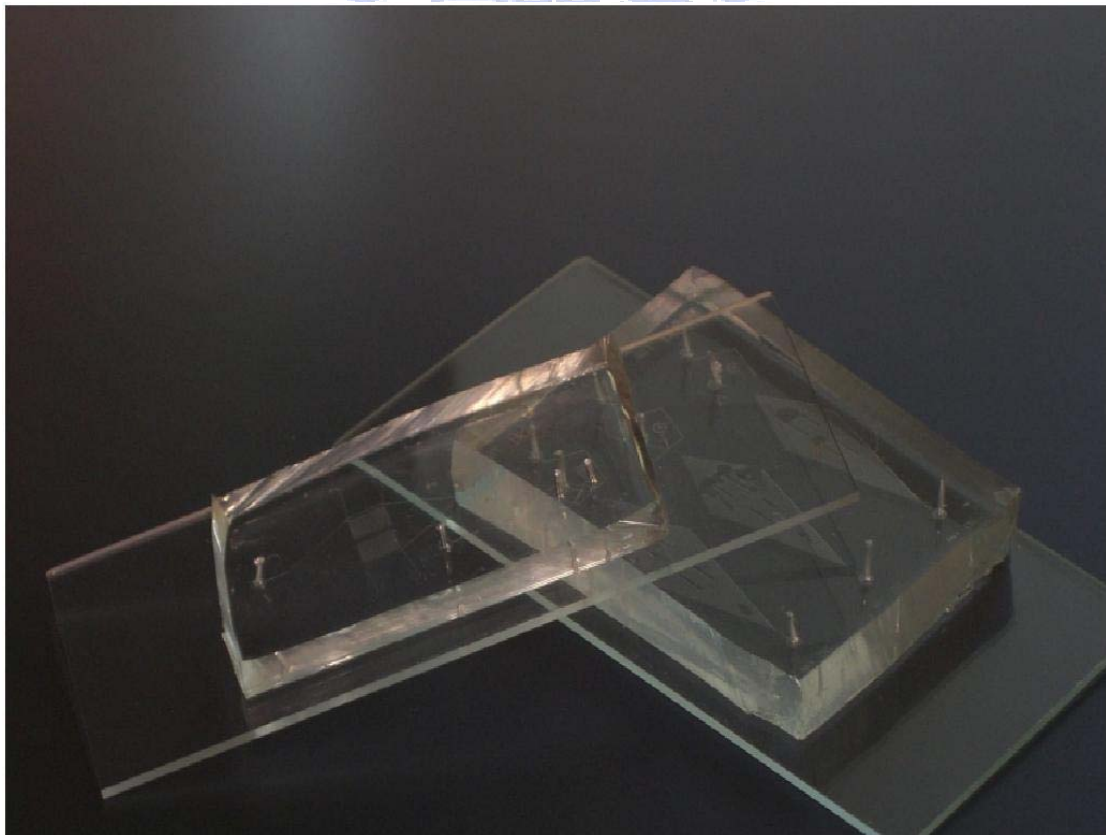


圖 3-15 PDMS 通道

(5) **Microfluidic system 量測:** 在主要通道下放置 ZnCl₂ 纖維膜，再用 laser 激發 ZnCl₂ 使其發出 PL，在使用 CCD 或是 PD 來接收訊號。此量測可以快速改變 SNAP 濃度、而且少量溶液即可量測。

利用 CCD 來量測其架構如下

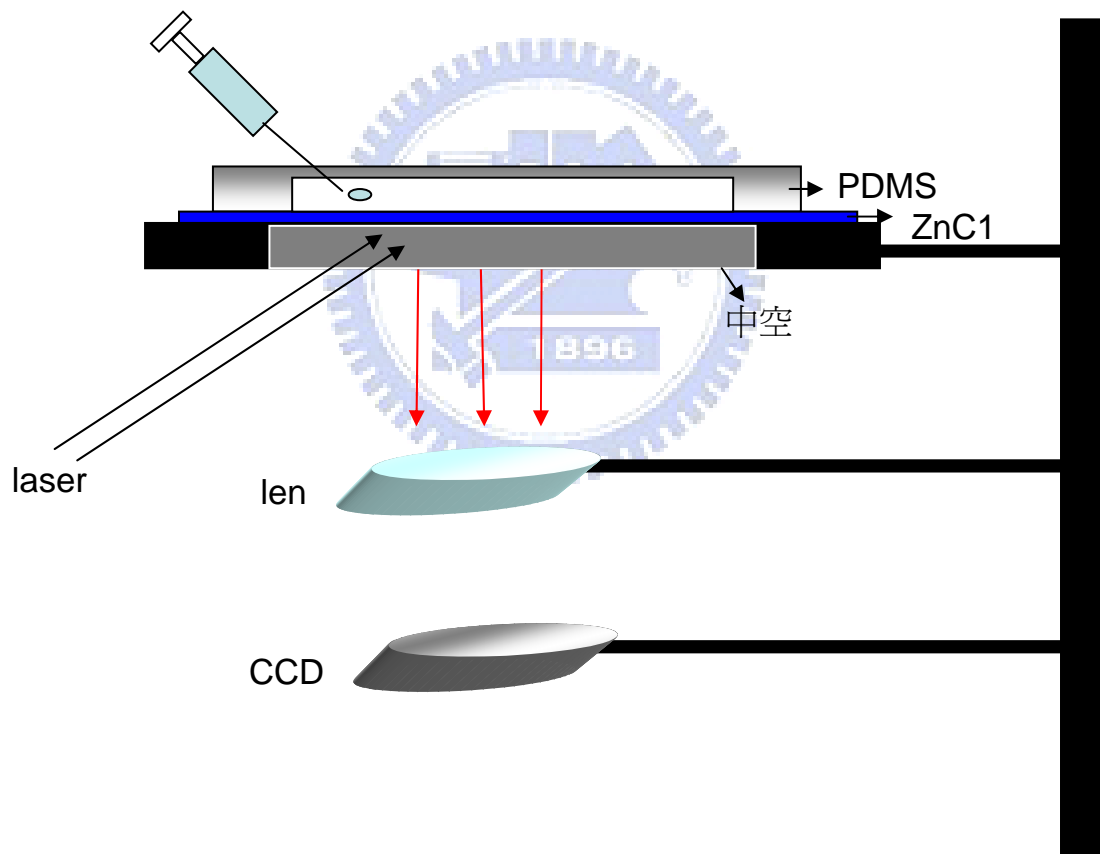


圖 3-16 Microfluidic system 量測之架構

(6) **Microfluidic system 之改善:**一開始的設計直接用針筒注射不過針頭為金屬會反光，影響 CCD 接收的訊號甚劇，所以就對此做一些改善。

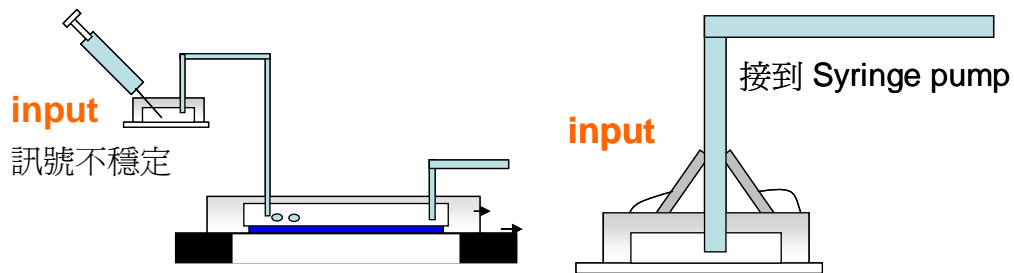


圖 3-17 Microfluidic system 改善示意圖

(7) **Syringe pump:** 針筒式幫浦，可以控制溶液注入速度、注入穩定可以減少雜訊。

Syringe pump



圖 3-18 Syringe pump 針筒式幫浦

Chapter4

實驗設計與結果



4-1 NO probe 之基本特性

4-2 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之製作

4-3 放電紡絲(electrospinning)纖維膜和旋轉塗佈膜(spin)之比較

4-4 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之基本特性

4-5 濃度極限及時間解析

4-6 微流管實驗

4-1 NO probe 之基本特性

4-1-1 ZnCl₂:

實驗動機：

由於 ZnCl₂ 是來自中研院化學所洪政雄老師實驗室，而非商用材料，因此在使用前先對它做一些和 NO 反應的測試。

實驗經過：

我們使用 NO donor SNAP 以及直接吹 NO 氣體測試其對 NO 之反應。

實驗條件：

溶液：我們將 ZnCl₂ 溶在 DMSO 中。

NO 釋放：NO donor SNAP、NO 氣體。

實驗結果：

ZnCl₂ 和 NO 反應會造成其 PL 下降、以及其 UV 吸收光譜改變。

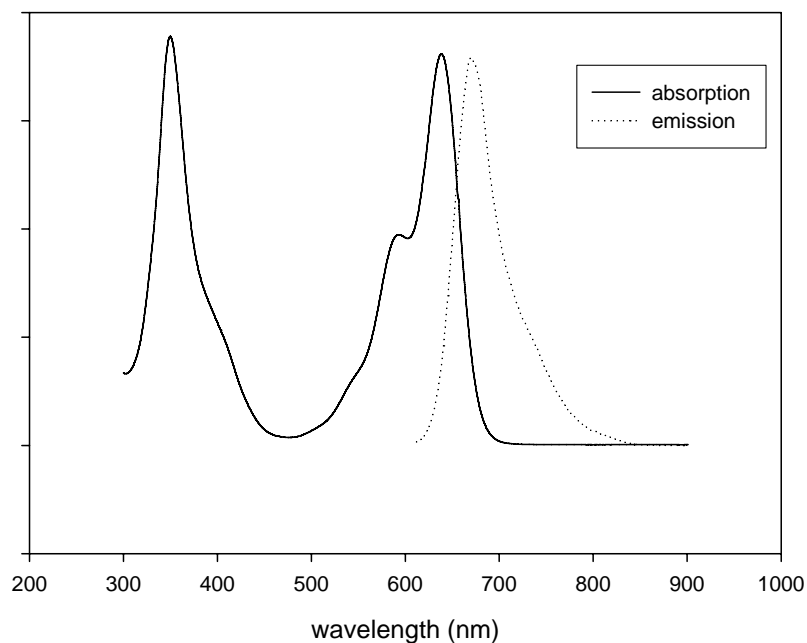


圖 4-1 ZnCl₂ 溶液之 UV、PL 圖(from Prof.Hung)

SNAP 釋放 NO 濃度估算：

在量測之前，我們先來大略估算不同時間點(SNAP 溶質一溶於水中即開始計算)，石英槽中存在的 NO 濃度約為多少？

$$n_{SNAP}(t) = n_{SNAP}(0)e^{-K_1 t} \quad (\text{式 4-1})$$

$$-\frac{dn_{NO}(t)}{dt} = K_2 n_{NO}(t) - K_1 n_{SNAP}(0)e^{-K_1 t} \quad (\text{式 4-2})$$

我們假設 SNAP 濃度隨時間成指數下降，如(式 4-1)；不同時間點的 NO 濃度衰變率會等於 NO 本身的衰變率減掉 SNAP 的 NO 釋放率，如(式 4-2)。我們去解(式 4-2)一階非線性微分方程式，得到：

$$n_{NO}(t) = \frac{K_1}{K_2 - K_1} n_{SNAP}(0) (e^{-K_1 t} - e^{-K_2 t}) \quad (\text{式 4-3})$$

由於SNAP的半衰期為四小時，而NO的半衰期約為五秒從式 4-4 可以得出 $K_1 = 4.813 \times 10^{-5}$ 而 $K_2 = 0.139$

$$[A]e^{-k t} \rightarrow \frac{1}{2}[A] \quad (\text{式 4-4})$$

where t=half-life time

由於SNAP的半衰期為 4 小時，而量測時間相對SNAP的半衰期極短，我們可以從式 4-3 換算出NO的濃度。例如:SNAP濃度 0.01667M時NO的濃度 5.77×10^{-6} M。

在估計完 SNAP 濃度轉換成 NO 濃度後，我們開始了實驗，首先將 ZnCl 溶在 DMSO 後加入也溶在 DMSO 的 SNAP 溶液，觀察其 UV 吸收光譜變化(如圖 4-2)我們發現 ZnCl 在 600 多 nm 的吸收，在加入 SNAP 溶液後明顯的變小了。之後在用新的 ZnCl 溶液，放在石英槽中，利用 F-4500 量測系統用波長 600nm 的光去激發 ZnCl 使它放出 PL，再加入 SNAP 溶液觀察其 PL 變化(如圖 4-3)。我們發現在加入 SNAP 溶液後，ZnCl 的 PL 會隨著時間 Decay，並且會有藍移的現象。

為了確定這個實驗中和 ZnCl 反應的是一氧化氮(NO)我們亦做了另外一個實驗，我們用一氧化氮氣體代替了 SNAP 溶液，如圖 4-4 我們直接吹入 NO 氣體亦改變了 ZnCl 的 UV 吸收光譜，並且發現其結果和圖 4-2 一致。在圖 4-5 中我們也可以看出，NO 氣體也會使 ZnCl 的 PL 隨著時間減弱並且也有著藍移的現象，這個結果和圖 4-3 一致。從這幾個實驗的結果我們可以確定:ZnCl 會和 NO 反應造成其 UV 吸收光譜改變並且造成其 PL 減弱。

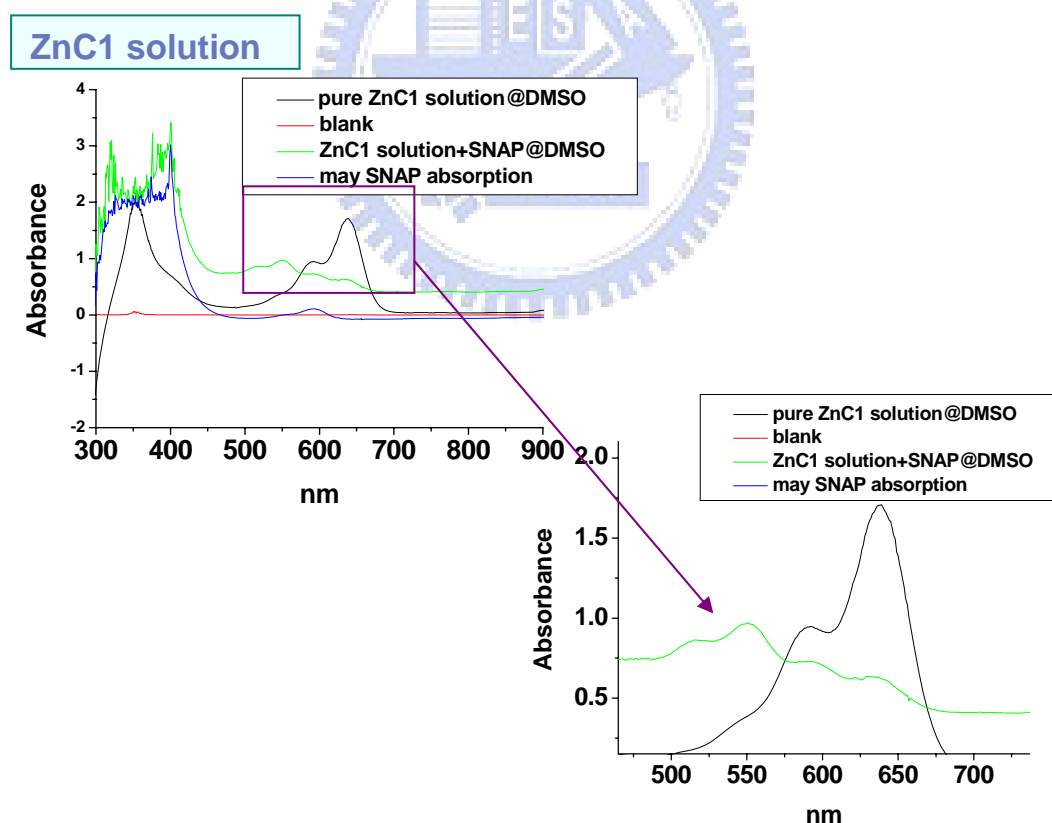


圖 4-2 ZnCl 溶液加入 SNAP 造成其 UV 吸收光譜改變(600 多的吸收減弱)

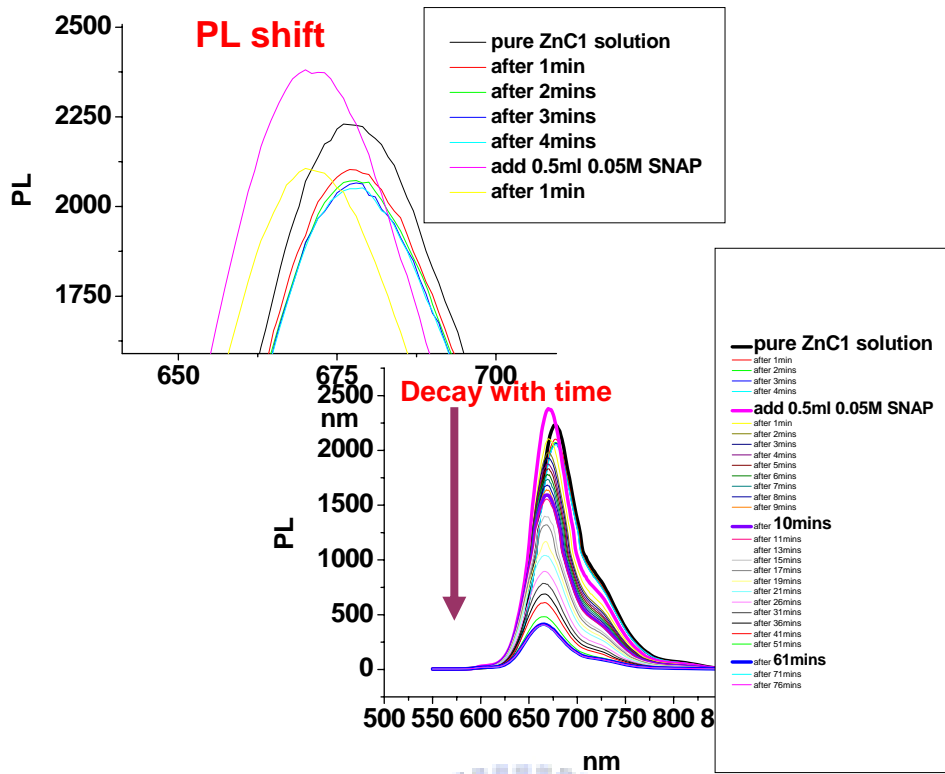


圖 4-3 ZnCl₂ 溶液加入 SNAP 造成其 PL 有 shift 以及 decay 之現象

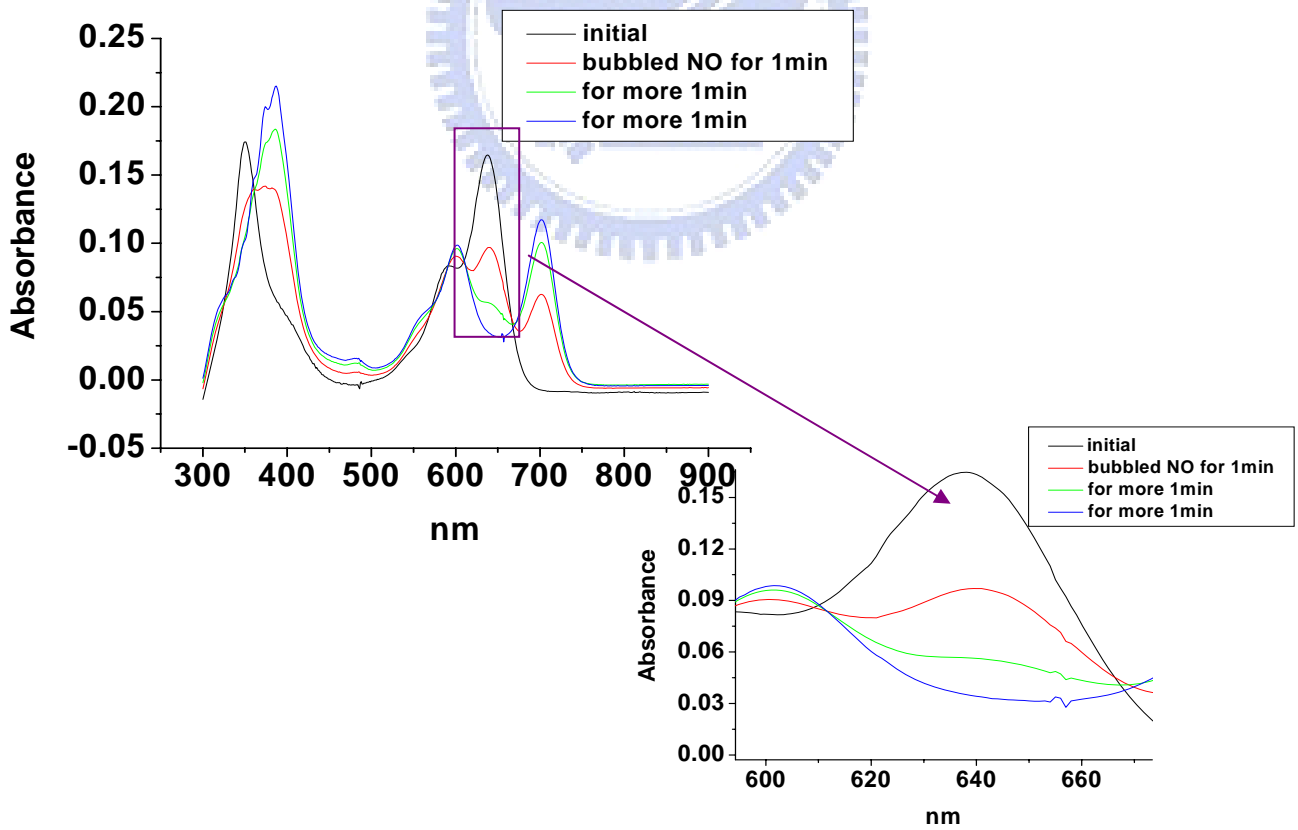


圖 4-4 以 NO 氣體直接灌進 ZnCl₂ 溶液也會改變其 UV 吸收光譜

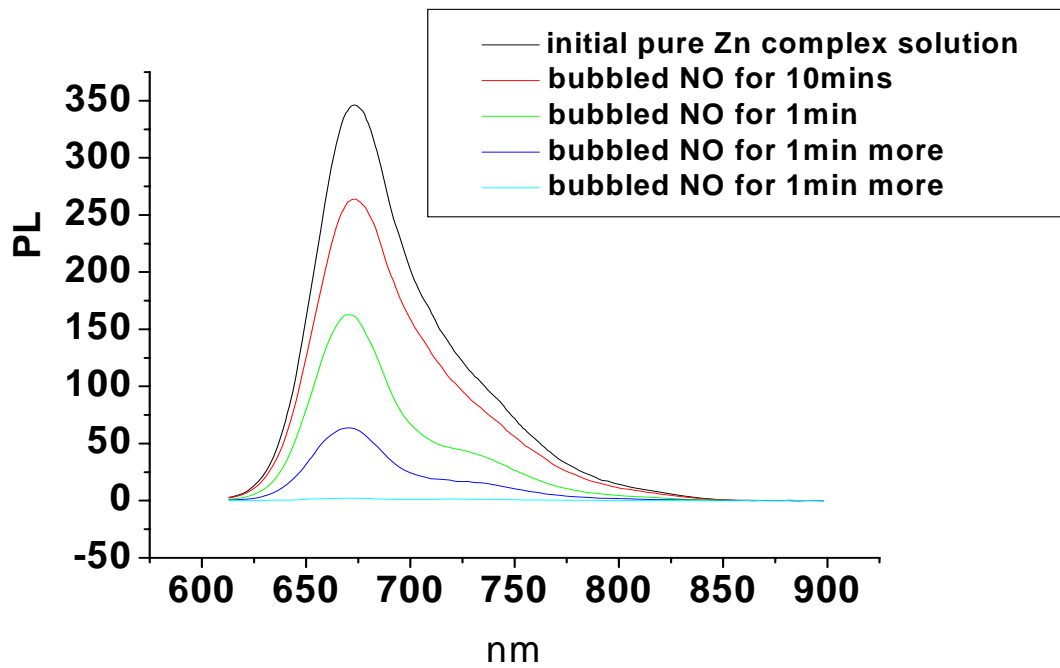


圖 4-5 以 NO 氣體灌進 ZnCl₂ 溶液，亦造成其 PL 下降



4-1-2 DAQ:

實驗動機：

測試買來的 NO probe DAQ 觀察 DAQ 和 NO 反應的結果。

實驗經過：

我們使用 NO donor SNAP 以及直接吹 NO 氣體測試其對 NO 之反應。

實驗條件：

溶液：我們將 DAQ 溶於 DMSO 中

NO 釋放： NO donor SNAP 、 NO 氣體

實驗結果：

DAQ 和 NO 反應會造成其 PL 下降、以及其 UV 吸收光譜改變。

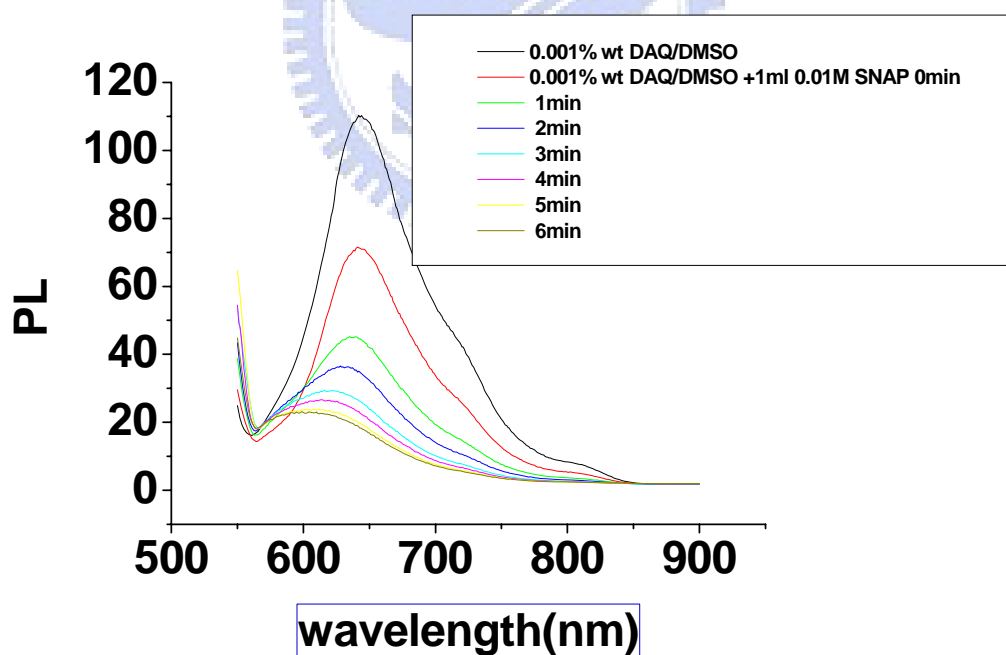


圖 4-6 DAQ@DMSO 溶液加入 SNAP 造成其 PL 下降(用 545nm 的光激發)

在測試完 ZnCl 後繼續測試另一個 NO probe DAQ。首先將 DAQ 溶在 DMSO 中其重量百分比為 0.001% ，再加入 0.01M SNAP 溶液如圖 4-6，在這裏我們發現其 PL 隨著時間減弱，並且有藍移的現象。在觀察完其 PL 變化後，我們也觀察了其 UV 吸收光譜的變化，如圖 4-7 其在 545nm 左右的吸收峰再加入 SNAP 溶液後就消失了，這個結果和 PAPER 一致(如圖 4-8)。在這裡我們也用 NO 氣體取代 SNAP 溶液，亦得到一樣的結果(如圖 4-9 4-10)，這些實驗可以證明 DAQ 和 NO 會反應造成其 545nm 左右的吸收峰消失，也因為其 545nm 的吸收峰消失，所以造成其 PL 下降(用 545nm 的光去激發)。

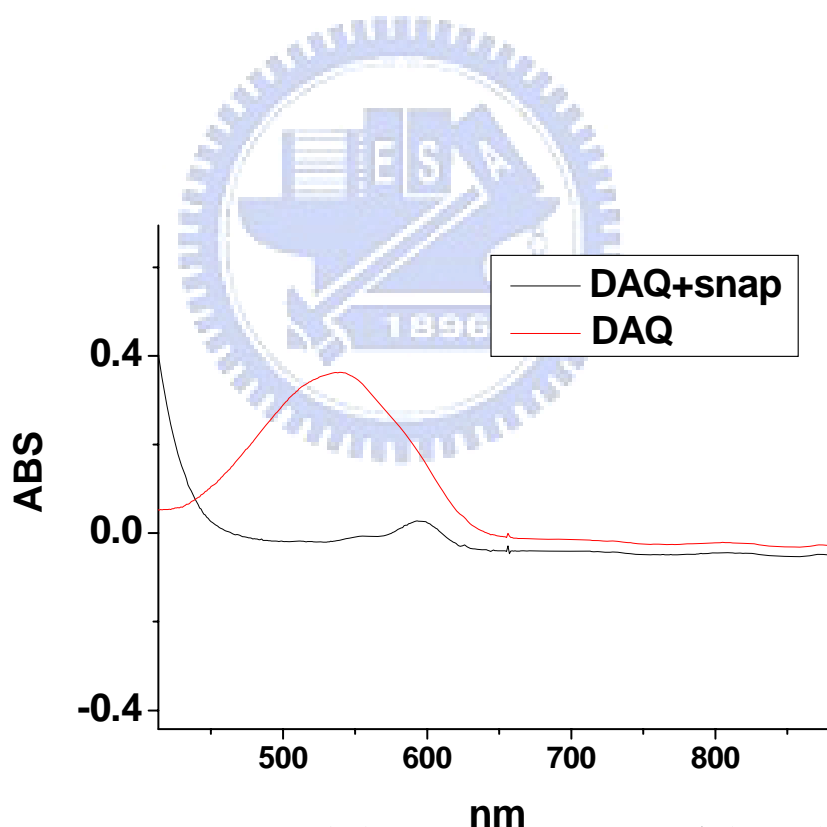


圖 4-7 SNAP 造成 DAQ 在 545nm 左右的吸收消失

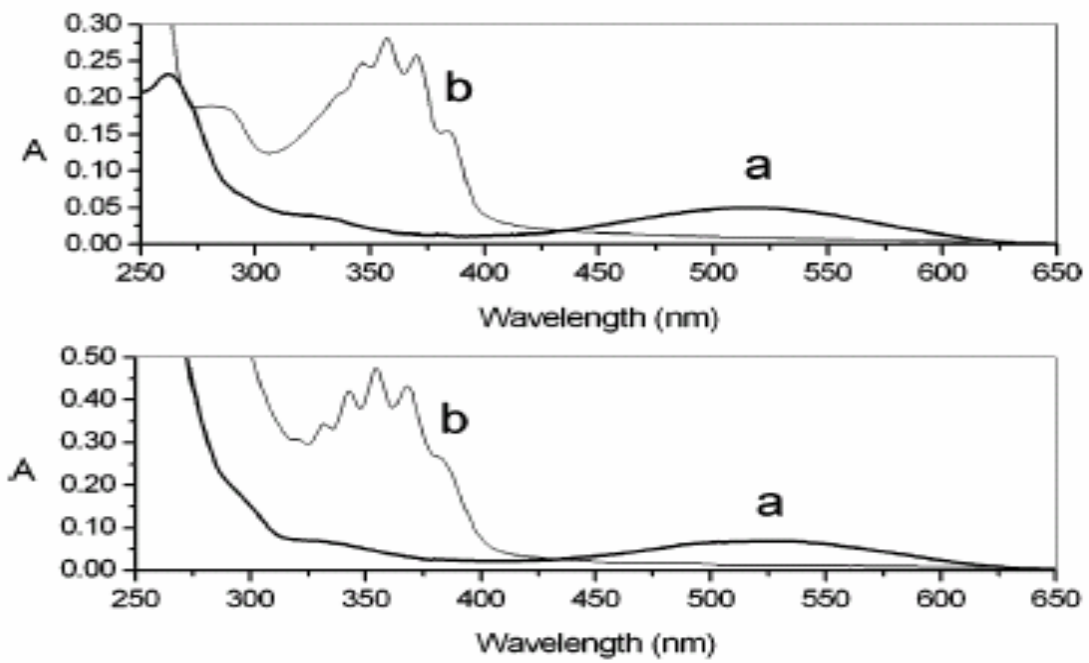


圖 4-8 其結果和 paper 的結果一致

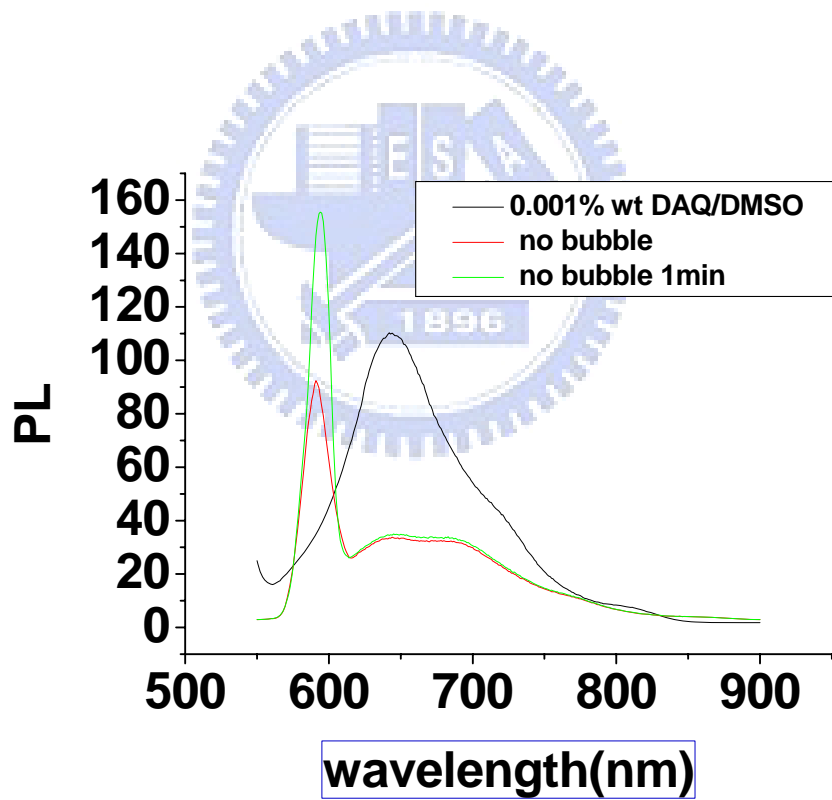


圖 4-9 NO 氣體造成 DAQ 溶液 PL 下降(用 545nm 的光激發)

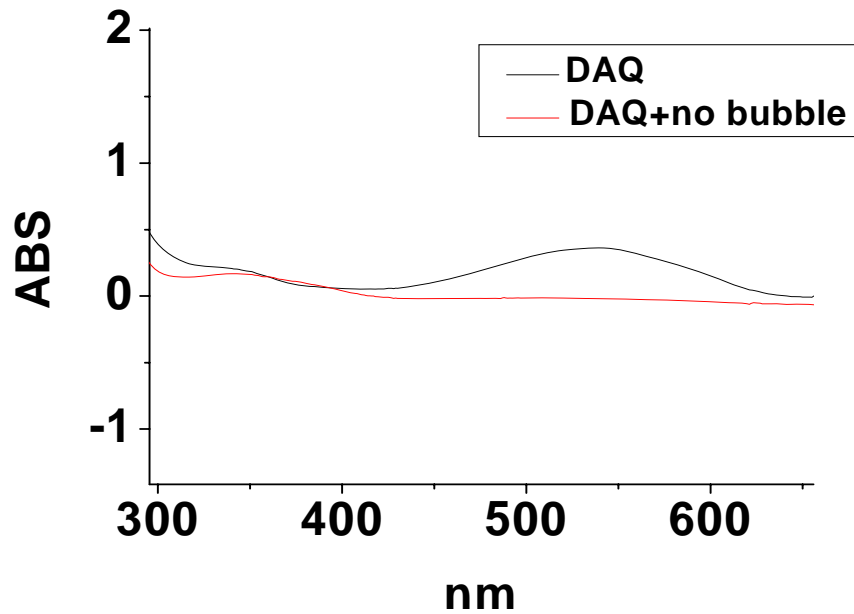


圖 4-10 NO 氣體亦造成 DAQ 溶液 550nm 左右之吸收消失



實驗結果討論：

1. SNAP 會造成 ZnCl 溶液 PL 下降及 UV 吸收改變，其結果和 NO 氣體一致，可證明 ZnCl 和 NO 確實會有反應。
2. NO 氣體和 DAQ 溶液反應會使得其 545nm 吸收峰消失，和 paper 一致。
3. 利用 SNAP 也會造成 DAQ 545nm 吸收峰消失。
4. 由於 545nm 的吸收消失，所以用 545nm 激發時，不管是 NO 氣體或是 SNAP 都會造成 DAQ 的 PL 下降。

4-2 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之製作

4-2-1 放電紡絲(electrospinning)之使用

實驗動機：

使用放電紡絲(electrospinning)製造纖維膜，利用其表面積特大的特性我們期望可以改善原有 ZnCl 固態膜的特性。

實驗經過：

利用 electrospinning 製造纖維膜，再用 SEM 去看其成膜的樣子。

實驗條件：

溶液：我們將 PAN 溶於 DMSO 中重量百分比為 10%。

Electrospinning 製程條件：流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。

實驗結果：

利用 electrospinning 製造出來的膜，在 SEM 下呈現纖維狀，其單一條絲支直徑約為 600-800nm 之間，有一些絲會特別粗，大約 2000nm 左右，很顯然其表面積相當大。

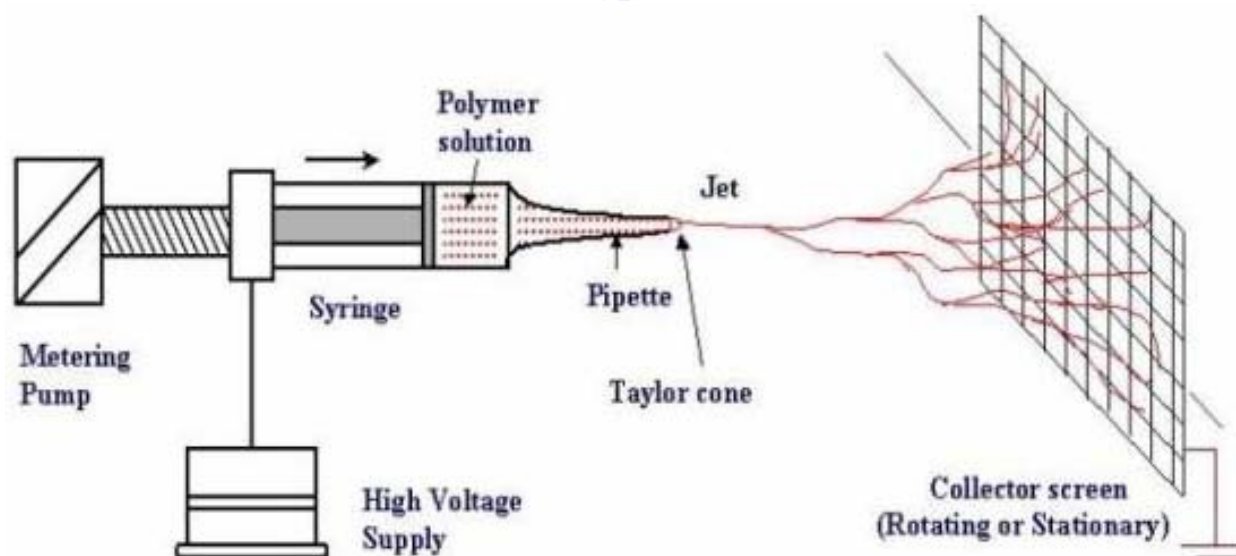


圖 4-11 electrospinning 的基本架構

我們將 PAN 溶於 DMSO 中重量百分比為 10% 後注入針筒內，並用流量控制器控制其流量(如圖 4-11)，之後在針頭上加上高電壓(~10KV)，使溶液因靜電力而噴出，在空氣中溶劑蒸發，而在收集器留下纖維膜。在這裡加上高電壓就好像在溶液內灌進相同電荷，而相同電荷間會產生靜電排斥力，當排斥力大於溶液的表面張力時會將溶液噴出，此即放電紡絲的基本原理。在這裡要特別注意的是容易需兼具黏著性與伸縮性，如果在這裡溶液並不具黏著性與伸縮性的話，就會像在氣球裡一直吹氣一樣破掉，並不會產生溶液噴發。

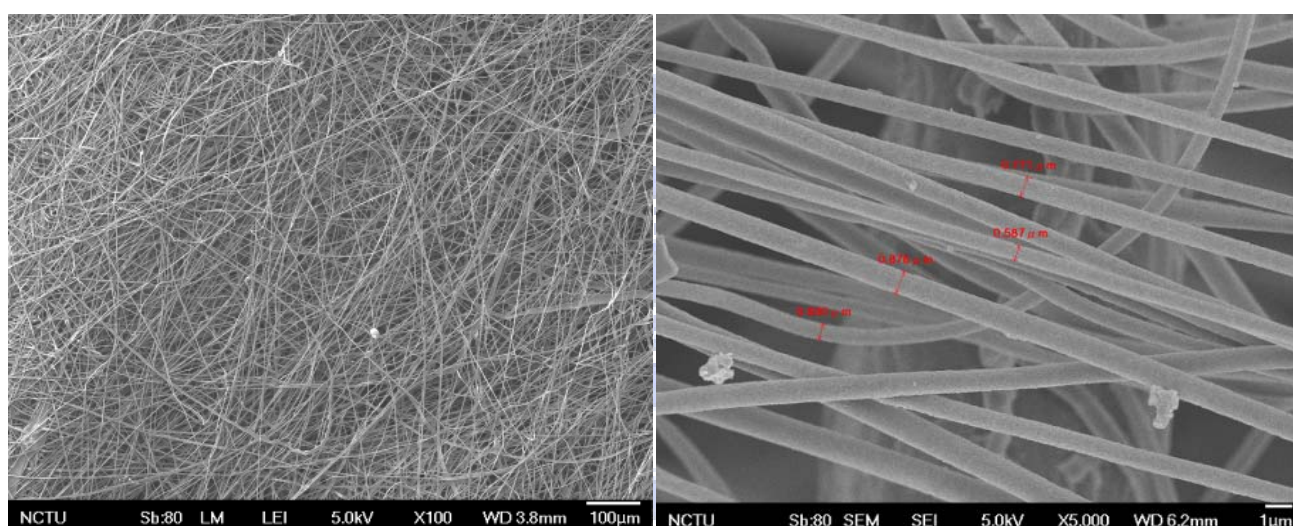


圖 4-12 其單一條絲直徑約為 600-800nm 之間

在收集纖維膜後，將纖維膜拿去照 SEM(如圖 4-12)，其膜呈不規則排列，而其單一條絲的直徑約為 600-800nm 之間。

4-2-2 放電紡絲(electrospinning)纖維膜和 NO Probe 的結合

實驗動機：

將放電紡絲(electrospinning)纖維膜和 NO Probe(ZnCl₂、DAQ)結合

實驗經過：

在 PAN@DMSO 裡加入 NO Probe 其重量比都為 25 比 1，再利用 electrospinning 製造纖維膜，使用 SEM 去看其成膜的樣子。

實驗條件：

溶液：我們將 PAN 溶於 DMSO 中重量百分比為 10%。

再分別添加 ZnCl₂ 和 DAQ 這兩種 NO probe。

PAN 和 NO Probe 其重量比為 25 比 1

Electrospinning 製程條件：流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。

實驗結果：

其結果和只使用 PAN@DMSO 的溶液大致一致，不過添加 DAQ 的纖維膜呈粉紅色，而添加 ZnCl₂ 的纖維膜呈淡藍色。

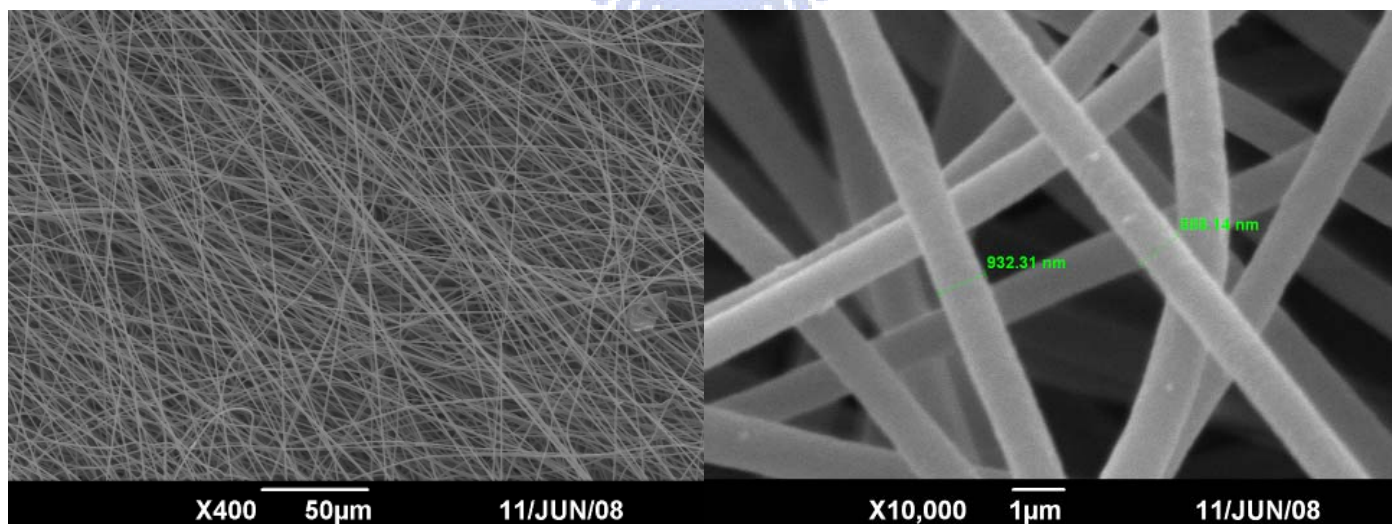


圖 4-13 添加 ZnCl₂ 的纖維膜

圖 4-14 其絲的直徑~800nm 左右

在 PAN@DMSO 10%WT 的溶液中添加 ZnCl 和 DAQ 後，再利用放電紡絲製作成纖維膜，PAN 和 NO Probe 其重量比為 25 比 1，這個比例為最佳比例可放出最大的 PL。將這些纖維膜拿去 SEM 可以發現其結構和一般纖維膜並沒有差別，而添加 DAQ 的纖維膜呈粉紅色，而添加 ZnCl 的纖維膜呈淡藍色。可以證明這樣製作纖維膜，可以在其表面上加入 NO probe。

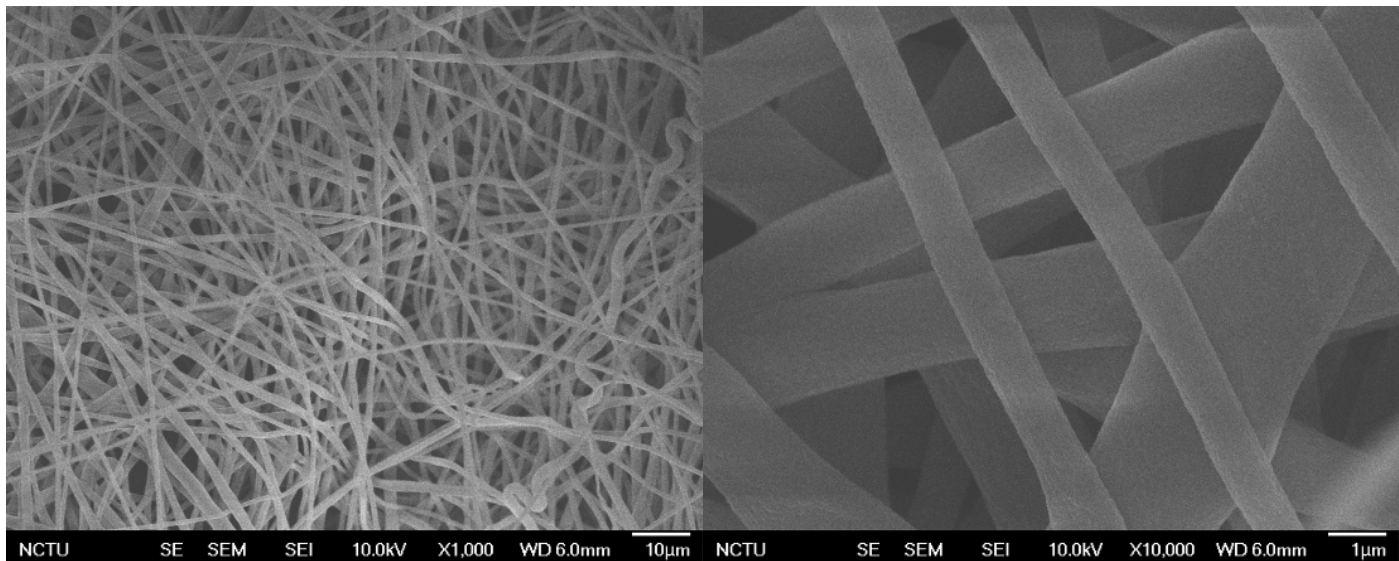


圖 4-15 添加 DAQ 的纖維膜

圖 4-16 其絲的直徑約 800nm 左右

實驗結果討論：

1. 可將 PAN@DMSO 溶液利用放電紡絲(electrospinning)製造出纖維膜。
2. 製造出來的纖維膜其直徑~800nm 左右。
3. 製造出來的纖維膜有很大的表面積。
4. 可將 NO probe(ZnCl、DAQ) 和纖維膜結合，且不會改變其性質，依然擁有很大的表面積。
5. 添加 ZnCl 的纖維膜呈淡藍色，而添加 DAQ 的纖維膜呈粉紅色。

4-3 放電紡絲(electrospinning)纖維膜和旋轉塗佈膜(spin)之比較

4-3-1 ZnCl 纖維膜和 spin film 的比較

實驗動機：

比較 ZnCl 纖維膜和一般固態膜對 SNAP 的反應。

實驗經過：

分別製作好纖維膜和一般固態膜，分別加入 0.05M 的 SNAP(@DI water)，利用 F4500 量測其 PL 變化。

實驗條件：

Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。

PAN:ZnCl=25:1(重量比)

Spin film 條件:轉速 1000rpm 300s 甩完後將之加熱 120°C 約莫 60 秒。

其膜後約為 $10 \times 10^{-6} \text{m}$ 。PAN:ZnCl=25:1(重量比)

實驗結果：

- Electrospinning film 參與反應的面積大 加快反應時間 很快達到飽和
spin film 需要時間慢慢滲透。
- Electrospinning film 32% > spin film 26% (1min) 纖維膜反應較為明顯
- 絲狀的結構確實大大增加了反應面積並加快反應速率。
- 纖維狀結構使反應很快 在小於一分鐘或更短的時間內達到飽和。
- 一般膜(spin film)其反應時間超過 20 分鐘。

在這裡我們要比較不同結構的膜和 NO 反應會有什麼樣的結果，首先我們分別製作了 ZnCl 的纖維膜和一般膜，在加入相同條件的 SNAP 溶液，觀察其 PL 變化情形(如圖 4-17、4-18)，在這裡我們發現纖維膜因為其表面積較大所以其反應速度較快。

ZnC1: PAN 1:25 (fibrous membrane)

1149 → 776 32.46%

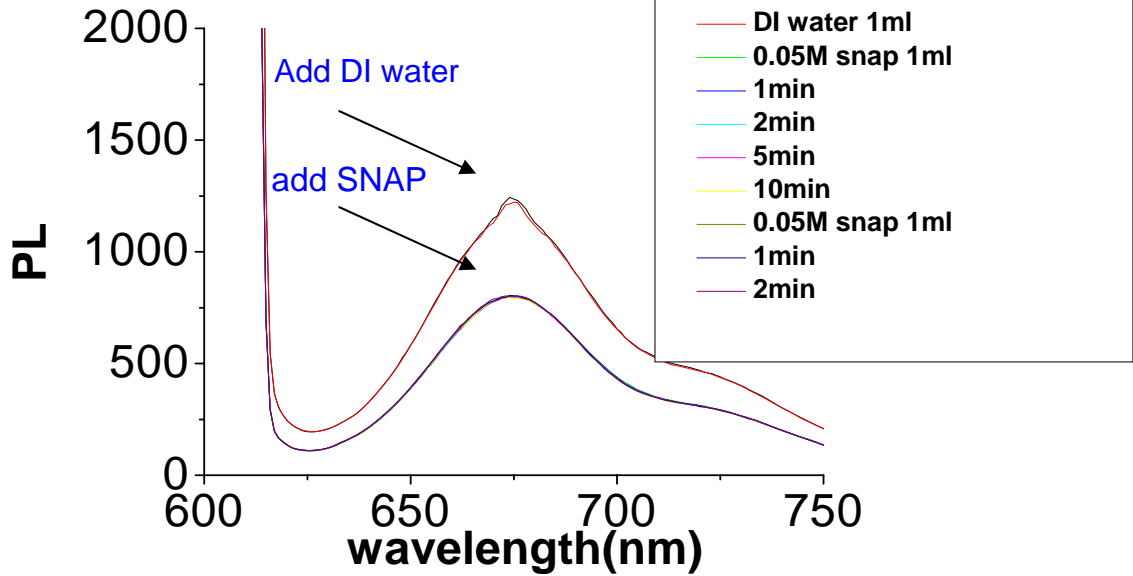


圖4-17 纖維狀結構使反應很快 在小於一分鐘或更短的時間內達到飽和

PAN: ZnC1 25:1 (spin film)

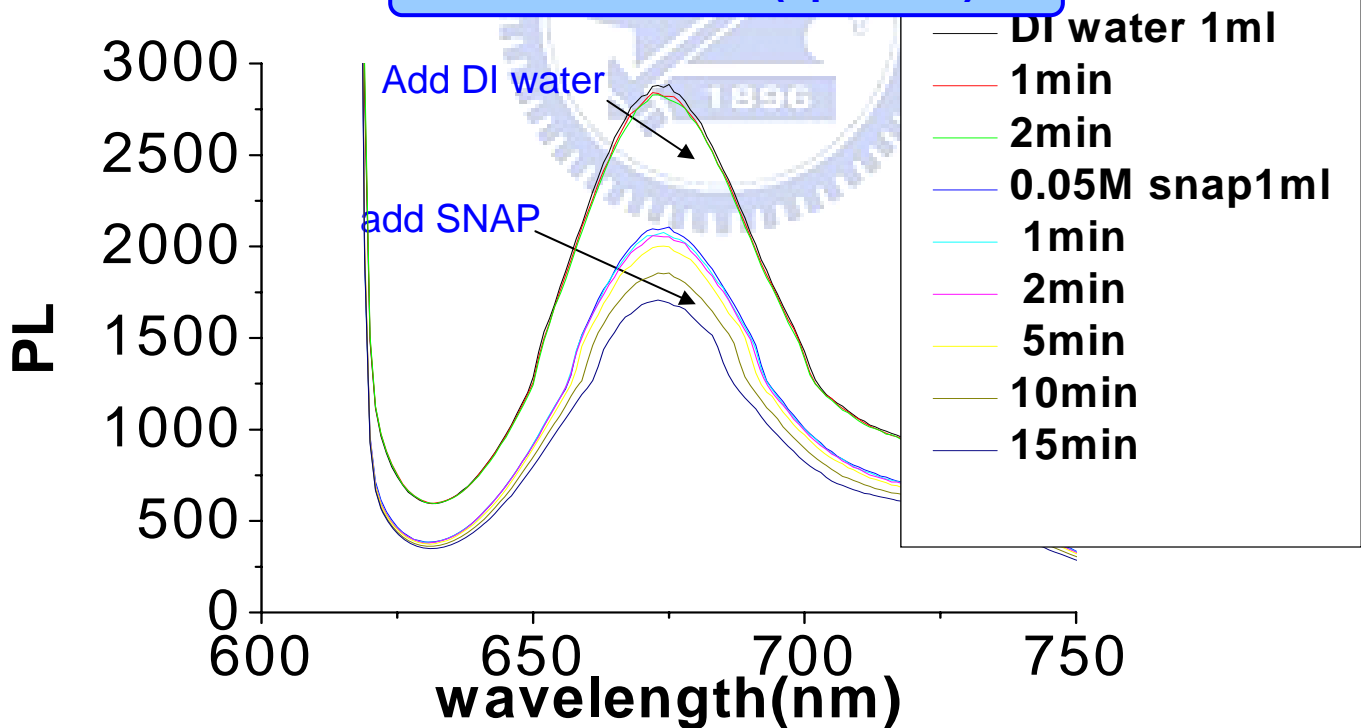


圖 4-18 非纖維狀結構需要較長時間才可達到平衡

1. 所有實驗都在確認加入 DI WATER 不會改變 PL 後再開始。
2. 在纖維膜實驗中，加入 SNAP 一分鐘後再次量測其 PL，並沒有再下降代表其環境已經穩定了，已經達到飽和了。
3. 而在一般膜中，雖未再加入 SNAP 但是其 PL 依然下降，代表還沒飽和 ZnCl 依然還在和 NO 反應造成其 PL 下降。
4. 在纖維膜中，再次加入 SNAP 其 PL 未再下降，原因是在於可以和 NO 反應的 ZnCl 都和 NO 反應了，所以這時候加入在多的 NO 已經沒有意義了。
5. 這兩個實驗比較可以得出:增大表面積可以讓 NO 和 ZnCl 反應速度加快。



4-3-2 DAQ fibrous membrane 和 spin film 的比較

實驗動機：

比較 DAQ 纖維膜和一般固態膜對 SNAP 的反應。

實驗經過：

分別製作好纖維膜和一般固態膜，分別加入 0.0125M 的 SNAP(@DI water)，利用 F4500 量測其 PL 變化。

實驗條件：

Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。

PAN:DAQ=25:1(重量比)

Spin film 條件:轉速 1000rpm 300s 甩完後將之加熱 120°C 約莫 60 秒。

其膜後約為 $10 \times 10^{-6} \text{m}$ 。PAN:DAQ=25:1(重量比)

實驗結果：

- 可以發現其結果和 ZnCl 一樣，纖維膜反應速度較一般膜快。可以驗證我們的想法。

在比較完 ZnCl 的纖維膜和一般膜後，我們也比較了 DAQ 的纖維膜和一般膜，這個實驗是為了確定上面的結果並不會只出現在 ZnCl 上。在分別製作完 DAQ 的纖維膜和一般膜後我們加入一樣條件的 SNAP 溶液後，去觀察 DAQ 的 PL 的變化，在這裡我們發現結果和 ZnCl 一致，纖維膜可以加快反應速度(如圖 4-19、4-20)。

PAN:DAQ 25:1 (fibrous membrane)

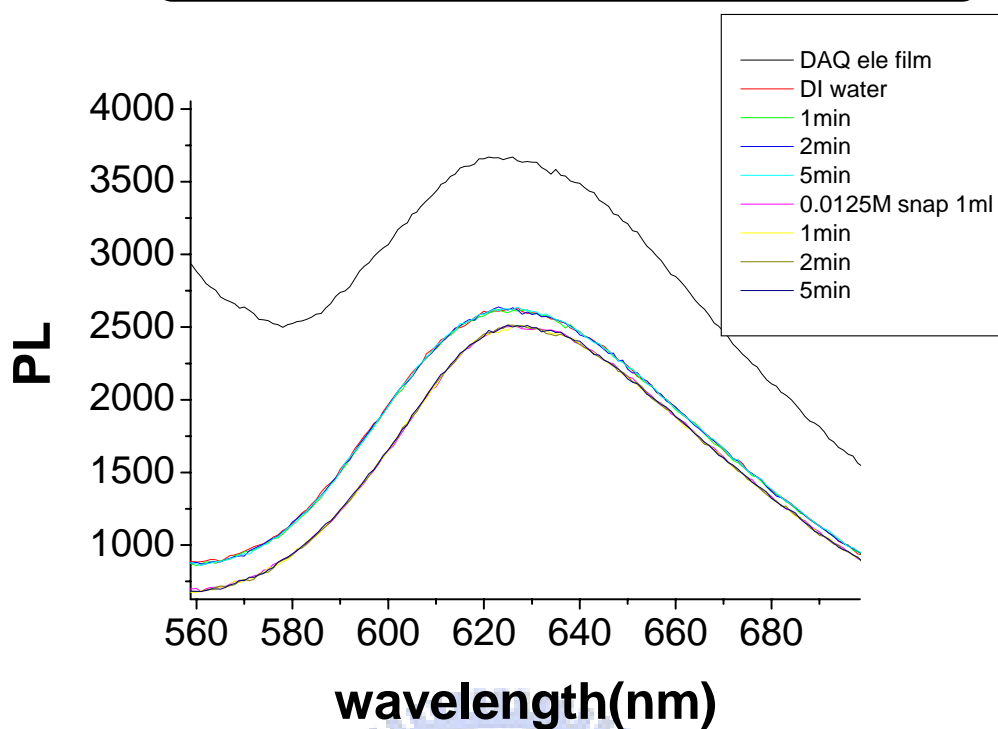


圖 4-19 DAQ 纖維膜和 NO 反應造成其 PL 下降(545nm 激發)

PAN:DAQ 25:1 (spin)

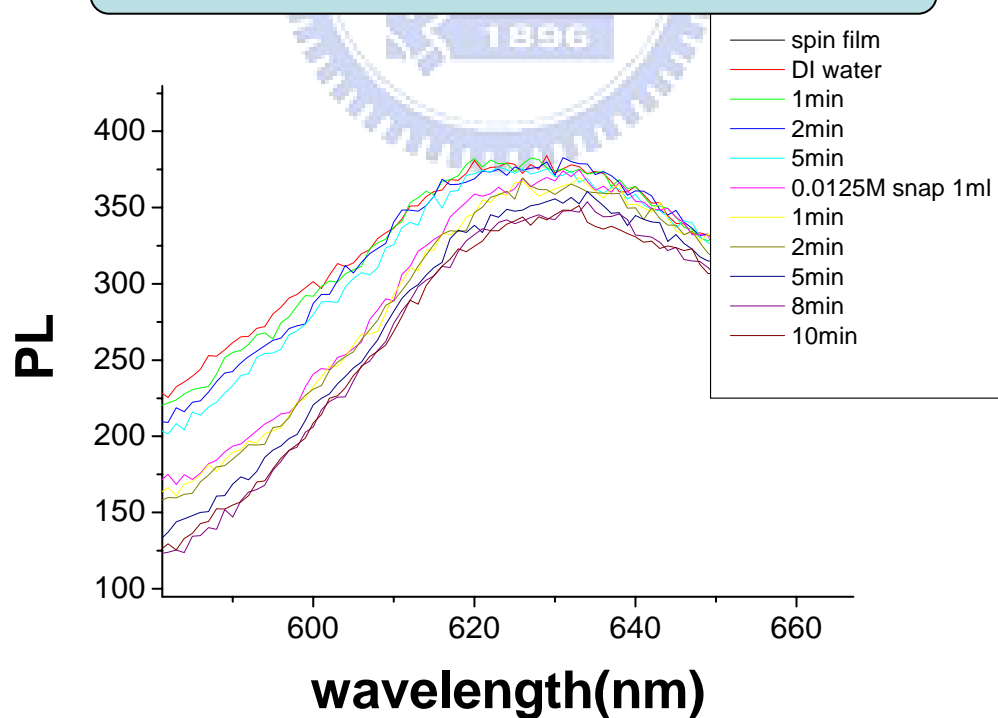


圖 4-20 DAQ 一般膜和 NO 反應造成其 PL 下降(545nm 激發)

1. 在 PL 穩定後加入 SNAP。
2. 如圖 4-20 DAQ 纖維膜在 1 分鐘內完成反應，此後 PL 達到穩定。
3. 如圖 4-21 DAQ 一般膜需要八分鐘才能完成反應使其 PL 穩定。
4. 用 DAQ 證明此結果不只適用於中研院研發的 NO Probe ZnCl，亦可使用於商業化的 NO Probe。

實驗結果討論：

1. Electrospinning film 參與反應的面積大，加快反應時間很快達到飽和，spin film 需要時間慢慢滲透。
2. Electrospinning film 32% > spin film 26% (1min) 纖維膜反應較為明顯
3. 絲狀的結構確實大大增加了反應面積並加快反應速率。
4. 纖維狀結構使反應很快 在小於一分鐘或更短的時間內達到飽和。一般膜 (spin film) 其反應時間超過 20 分鐘。
5. Electrospinning 製作的纖維膜確實比一般膜好。
6. 此結果並非特例，亦可使用於商業化的 NO Probe。

4-4 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之基本特性

4-4-1 放電紡絲(electrospinning)纖維膜之濃度階梯量測:

實驗動機：

漸漸增加 SNAP 濃度，測試 ZnCl 纖維膜 PL 對 SNAP 濃度變化的反應。

實驗經過：

在 ZnCl 纖維膜加入 DI water 後等待使之穩定，之後加入較淡的 SNAP，當 PL 穩定後再增加 SNAP 濃度，觀察其 PL 變化。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。
PAN:ZnCl=25:1(重量比)。
SNAP 濃度:0.000325M、0.000625M、0.025M (皆溶於 DI water)。

實驗結果：

- 發現 ZnCl 纖維膜的 PL 會隨著 SNAP 濃度增加而下降，並且相當穩定。
- 從 ZnCl PL 的值，可以對應出 SNAP 的濃度。

在這裡我們想要知道我們製作的 ZnCl 纖維膜的一些基本性質，首先我們緩慢增加 SANP 的濃度，觀察其 PL 是否會隨著 SANP 濃度增加而改變。如圖 4-21 我們發現 ZnCl 纖維膜的 PL 會隨著 SNAP 濃度變濃而下降。這是很重要的一件事，一個好的感測器一定要可以感測出不同濃度的變化，而我們的 ZnCl 纖維膜會隨著不同濃度做出其 PL 的反應，這代表我們可以偵測出不同濃度的 NO。

PAN:ZnCl 25:1 (fibrous membrane)

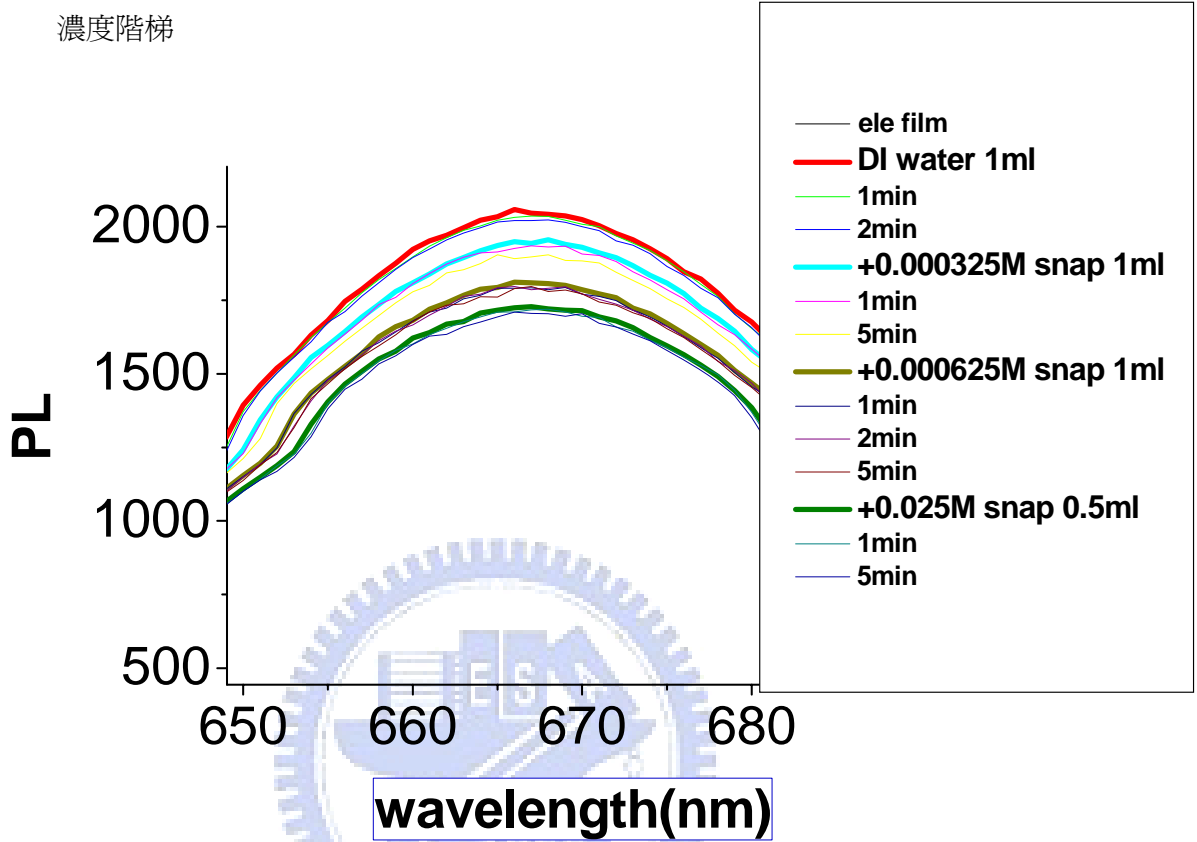


圖 4-21 ZnCl 纖維膜的 PL 會隨著 SNAP 濃度增加而下降

1. 由於 ZnCl 纖維膜和 NO 反應速度很快，改變 SNAP 濃度其 PL 就會跟著改變。
2. 當濃度越高 其 PL 就越低。

4-4-2 放電紡絲纖維膜之可逆性反應(reversibility)測試：

實驗動機：

測試 ZnCl 放電紡絲纖維膜是否可以重複使用。

實驗經過：

將 ZnCl 放電紡絲纖維膜加入 SNAP 後等其穩定，拿起來沖水洗乾淨，在加入一樣濃度的 SNAP 看其 PL 變化。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。
PAN:ZnCl=25:1(重量比)。
SNAP 濃度:0.05M (溶於 DI water)。

實驗結果：

- 發現 ZnCl 纖維膜的 PL 在洗乾淨後卻沒有回到原本亮度。
- 在洗完後再次加入相同濃度 SNAP 其 PL 會減弱到和前面一樣。
- 再次做同樣動作一次，其結果亦相同。

可逆性對於一個好的偵測器來說也是很重要的，一個可逆性的材料除了使偵測器可以重複使用外，為了達到及時的量測可逆性是必要的，在及時的量測中我們不只要偵測出濃度增加，也要能夠偵測出濃度減弱，如果不是可逆反應是做不到這點的。在可逆性實驗中我們加入 SNAP 造成其 PL 改變後，將石英槽內的 ZnCl 纖維膜拿出清洗，再加入相同濃度的 SNAP 溶液，觀察其 PL 是否會回到相同位置。

如圖 4-22 我們發現在清洗完後再加入相同濃度 SNAP 後，其 PL 會回到相同位置，這可以證明 NO 和 ZnCl 的反應是可逆的，而清洗後無法回到相同 PL 的原因是會有些微的 SNAP 殘留。

PAN:ZnCl 25:1(fibrous membrane)

Reversibility 測試

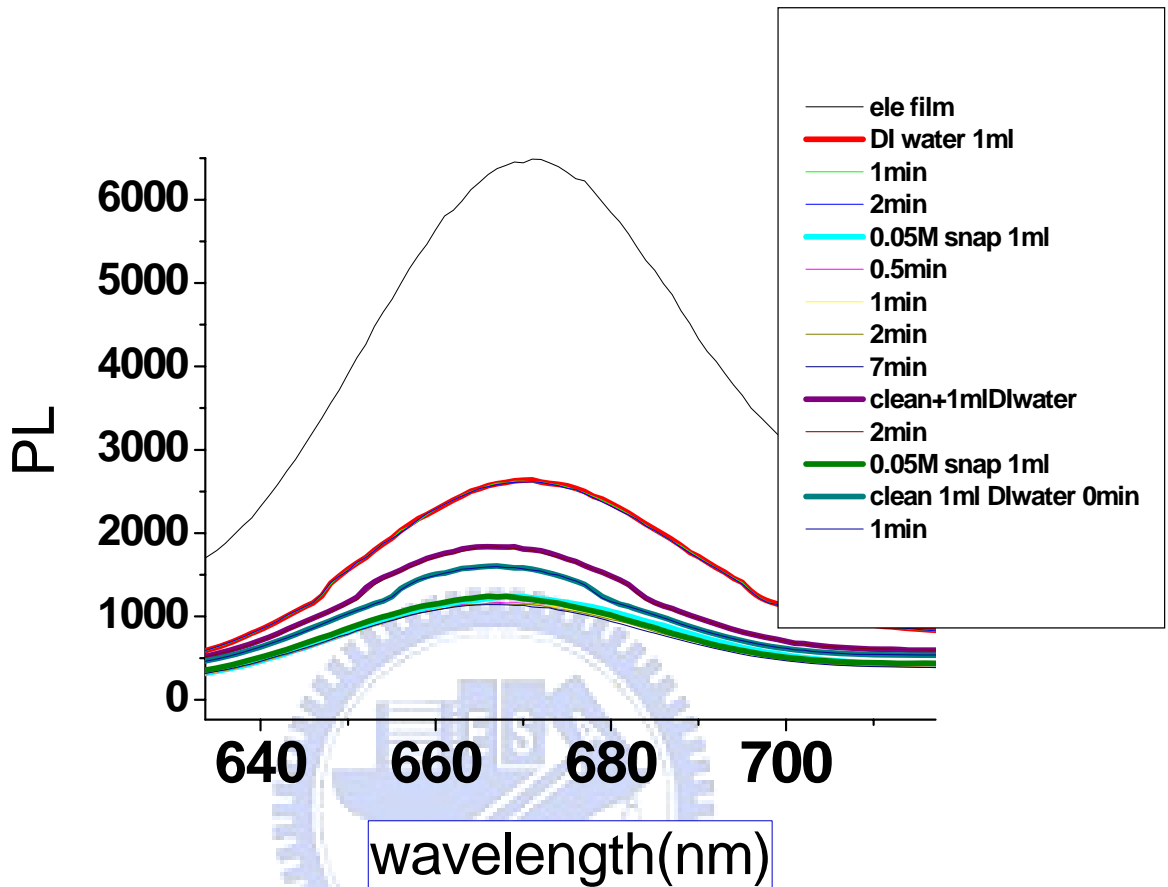


圖 4-22 ZnCl 纖維膜 Reversibility 測試

1. 加入 0.05M SNAP 後其 PL 掉到淡藍色位置，洗乾淨後其 PL 變成紫色位置，沒有回到紅色位置，再加入一樣濃度 SNAP 變成綠色位置，和淡藍色位置相符，可以知道相同濃度會減弱到相同位置。
2. 回到相同濃度時，其濃度會回到相同位置。
3. 其洗乾淨後未能回到相同 PL，推測原因為依然有些微 SNAP 殘留。
4. 清洗完後會將石英槽內的溶液倒掉並清洗石英槽。
5. 其結果顯示 ZnCl 纖維膜是可重複利用的，但是殘留的 SNAP 是個問題。

4-4-3 放電紡絲纖維膜 PH 值及 NAP 測試

實驗動機：

由於 NO 在水中會造成 PH 值上升，所以需要排除 PH 值影響。又 SNAP 放出 NO 後會有 NAP 產生，所以也要將 NAP 影響排除。

實驗經過：

在石英槽內放入 ZnCl 和 DAQ 的纖維膜，加入 DI water 待其穩定後，改變石英槽內 PH 值由 7 到 1，再回到 7，再慢慢增加至 14，最後再加入 NAP，觀察其 PL 值的變化。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。

PAN:ZnCl=25:1(重量比)。

DAQ 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。

PAN:DAQ=25:1(重量比)。

NAP 濃度:0.05M (溶於 DI water)。

實驗結果：

- 發現 PH 值對於 ZnCl 和 DAQ 這兩種 NO probe 影響都不大，都在誤差範圍內，所以可以排除 PH 值對於這兩種 NO probe 的影響。
- ZnCl 和 DAQ 對 NAP 沒有反應。
- 由這邊可是確定 ZnCl 和 DAQ 的 PL 變化，是因為和 NO 反應造成的。

由於 NO 會和水反應生成亞硝酸鹽和硝酸鹽改變 PH 值，所以在這裡的實驗一定要排除 PH 值的影響，而我們加入 SNAP 溶液除了提供 NO 外也會產生 SNAP 殘留物 NAP，所以我們也要確定 NAP 並不會和 ZnCl 或是 DAQ 反應。

如圖 4-23、4-24 我們可以發現改變 PH 值並不會造成 ZnCl 或是 DAQ 的 PL 有明顯的改變，而 NAP 也不會和 ZnCl 或是 DAQ 反應，所以我們可以確定之前的實驗和 ZnCl、DAQ 反應的確實是 NO。

pH and NAP test

PAN:ZnC1 25:1 (fibrous membrane)

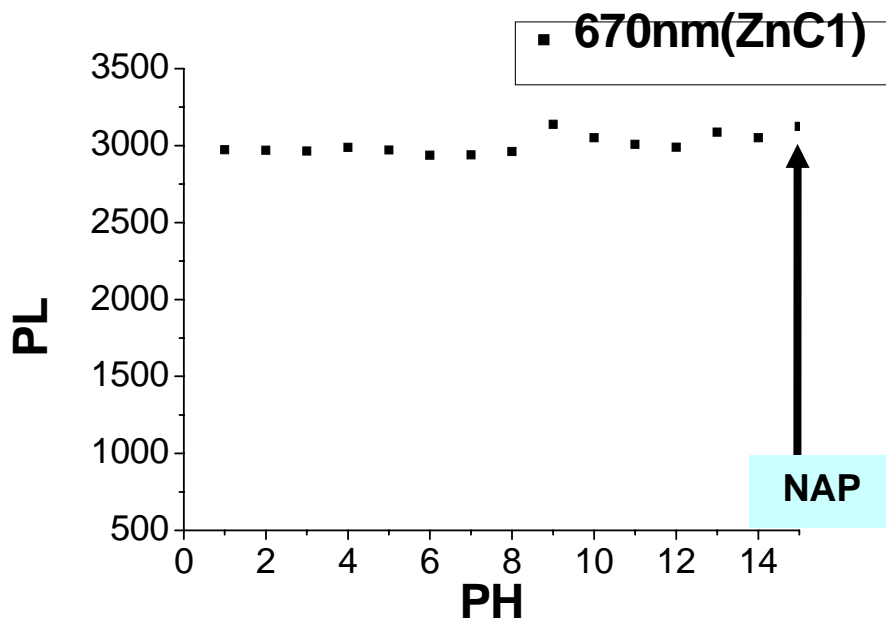


圖 4-23PH 值和 NAP 並不會影響 ZnC1 的 PL

pH and NAP

PAN:DAQ 25:1(fibrous membrane)

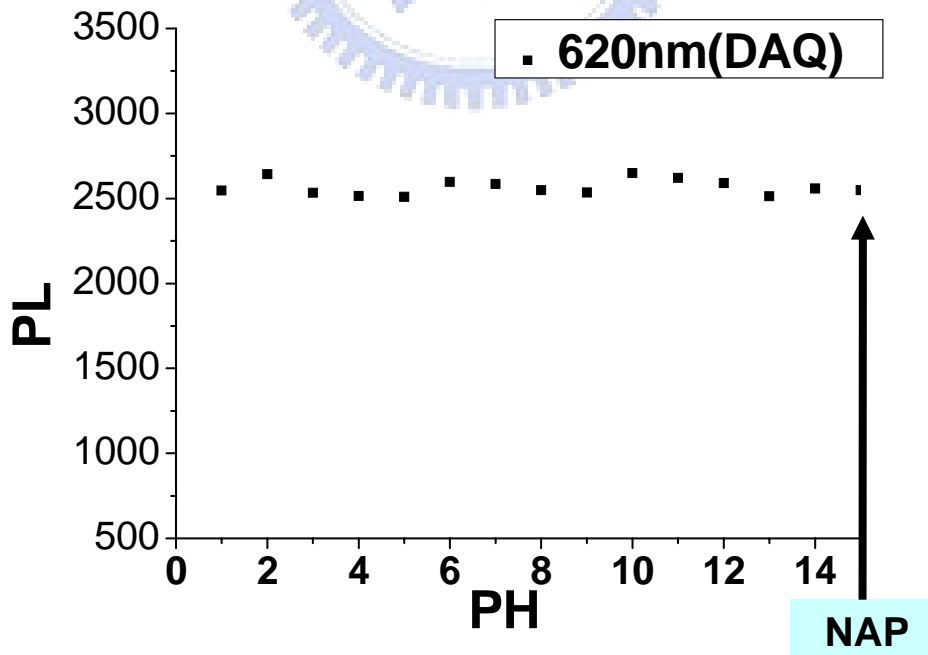


圖 4-24 PH 值和 NAP 並不會影響 DAQ 的 PL

1. PH 值和 SNAP 殘留物(NAP)並不會造成 ZnCl 纖維膜 PL 下降，
所以可以肯定是 NO 造成 ZnCl 纖維膜 PL 下降。
2. PH 值和 SNAP 殘留物(NAP)並不會造成 DAQ 纖維膜 PL 下降，
所以可以肯定是 NO 造成 DAQ 纖維膜 PL 下降。



4-4-4 在生理環境下 ZnCl 對 NO 的反應

實驗動機：

試試在仿生理環境下，ZnCl 是否一樣可以偵測到 NO。

實驗經過：

在石英槽內放入 ZnCl 纖維膜，加入 culture medium 待其穩定後，加入 0.02M SNAP(亦溶於 culture medium)1ml，觀察其 PL 變化是否和在 DI water 環境下一樣。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。
PAN:ZnCl=25:1(重量比)。
NAP 濃度:0.02M (溶於 culture medium)。

實驗結果：

- 在生理環境下 ZnCl 亦可以偵測到 NO。

由於未來我們期望可以將我們的 NO 感測器應用在生物實驗上，所以我們要確定在仿生理環境下，ZnCl 是否一樣可以偵測到 NO，所以我們將我們的環境從 DI water 改變成一種在生物實驗常用的溶液 culture medium，我們期望在這個環境下 ZnCl 一樣可以偵測到 NO。

我們使用 culture medium 取代 DI water，再加入 SNAP 溶液觀察，ZnCl 是否會和 NO 反應造成其 PL 下降，如圖 4-25 我們發現在 culture medium 的環境下，ZnCl 亦可以偵測到 NO。其性質和之前並無不同。

PAN:ZnCl 25:1 (fibrous membrane)

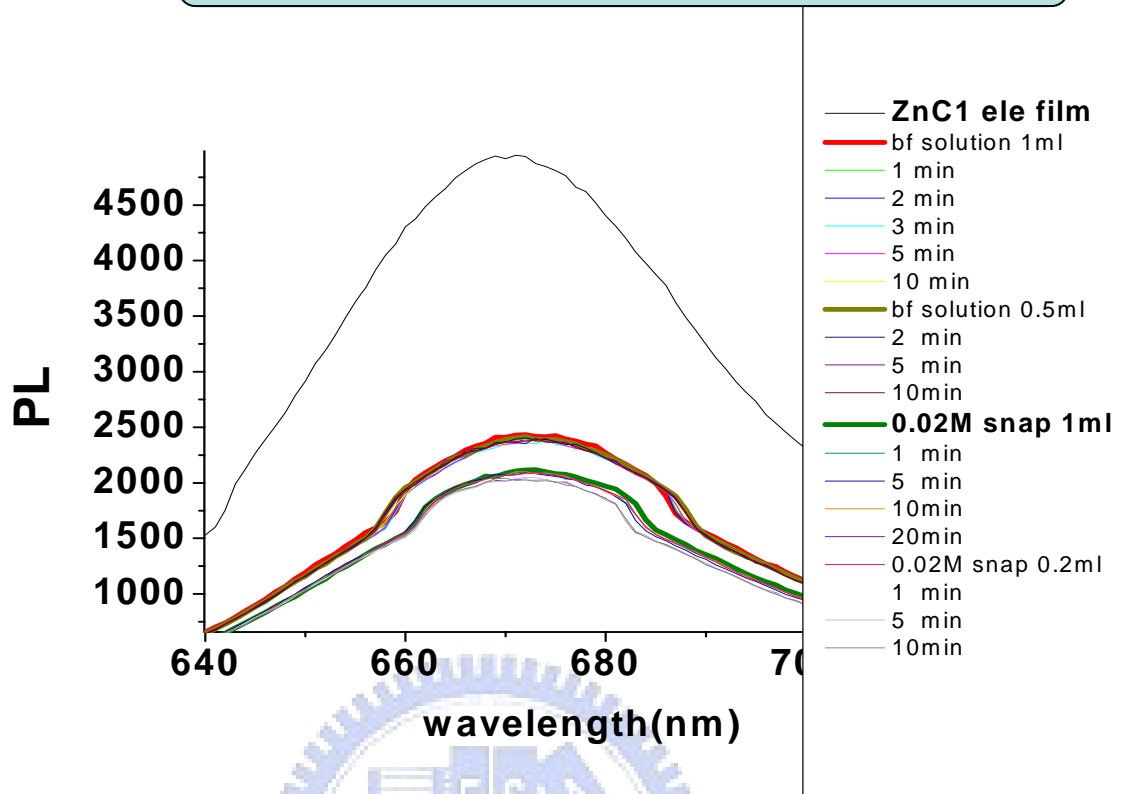


圖 4-25 在 culture medium 的環境下，ZnCl 亦可以偵測到 NO。

1. 未來將會在生理環境下偵測 NO，此結果可以證明 ZnCl 纖維膜可以在生理環境下 work。
2. 就算在生理環境下纖維膜反應速度也相當快(小於 1 分鐘)。

4-4-5 低濃度 SNAP 對 ZnCl PL 的變化

實驗動機：

測試低濃度 SNAP 對 ZnCl PL 的影響。

實驗經過：

在石英槽內放入 ZnCl 纖維膜，加入 DI water 待其穩定後，加入 0.0001625M SNAP(溶於 DI water)1ml，觀察是否 PL 有變化。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。
PAN:ZnCl=25:1(重量比)。
NAP 濃度:0.0001625M (溶於 DI water)。

實驗結果：

- 就算是濃度為 0.0001625M 的 SNAP，還是明顯的使 ZnCl 的 PL 下降。這代表 ZnCl 纖維膜可以偵測到相當低濃度的 SNAP。

一個好的 NO 感測器一定要可以偵測到低濃度的 NO，所以在這裡我們試著將 SNAP 濃度給降低，觀察我們的 ZnCl 纖維膜是否可以偵測到這低濃度的一氧化氮。

如圖 4-26 我們加入濃度為 0.0001625M 的 SNAP 觀察是否可以改變 ZnCl 的 PL，而在這裡我們發現這極低濃度的 SNAP 溶液是可以被我們的 ZnCl 纖維膜偵測到的。

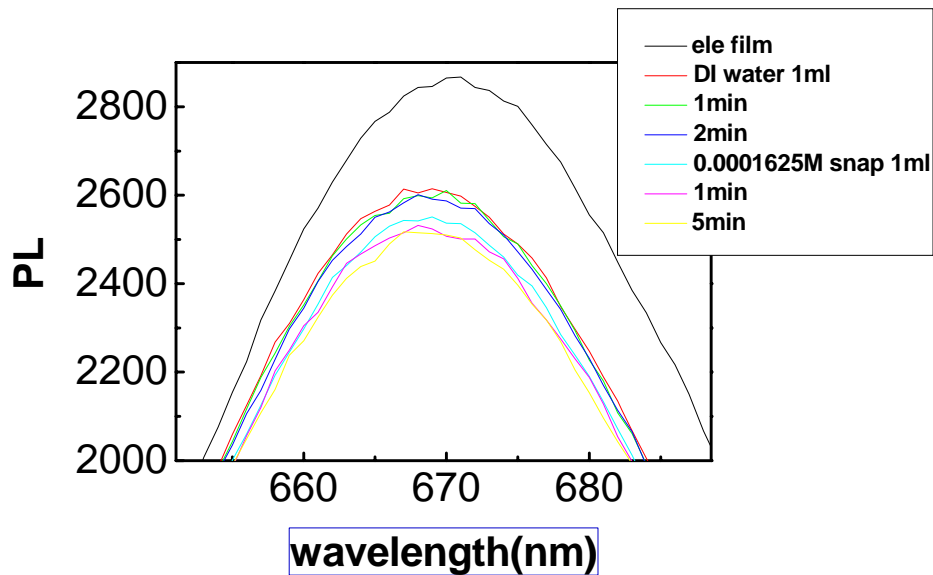


圖 4-26 濃度為 0.0001625M 的 SNAP，亦可以明顯的造成 ZnCl₂ 的 PL 下降

1. 0.0001625M 的 SNAP 其濃度已經相當低了，ZnCl₂ 纖維膜還是可以偵測到 NO，這代表 ZnCl₂ 纖維膜相當敏感。

實驗結果討論：

1. 發現 ZnCl₂ 纖維膜的 PL 會隨著 SNAP 濃度增加而下降，並且相當穩定。而且 ZnCl₂ PL 的值，可以對應出 SNAP 的濃度。
2. ZnCl₂ 纖維膜的 PL 在洗乾淨後卻沒有回到原本亮度。推測是因為纖維膜內還殘留有些微 SNAP。
3. ZnCl₂ 和 NO 的反應推測是可逆的。
4. PH 值和 NAP 並不會對 ZnCl₂ 的 PL 造成影響，ZnCl₂ 的 PL 的下降確實是因為 ZnCl₂ 和 NO 的反應造成的。
5. 在生理環境下 ZnCl₂ 和 NO 還是有反應。
6. ZnCl₂ 纖維膜可以偵測到相當小的 SNAP 濃度。

4-5 濃度極限及時間解析

4-5-1 濃度極限:

實驗動機：

比較 ZnCl 纖維膜和一般膜可偵測最小濃度各為多少。

實驗經過：

在石英槽內放入 ZnCl 纖維膜，加入 DI water 待其穩定後，加入及小濃度 SNAP，觀察其最小可偵測濃度為何。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。

PAN:ZnCl=25:1(重量比)。

Spin film 條件:轉速 1000rpm 300s 甩完後將之加熱 120°C 約莫 60 秒。

其膜後約為 $10 \times 10^{-6} \text{m}$ 。PAN:ZnCl=25:1(重量比)。

實驗結果：

- 一般膜(film)可偵測的SNAP最小濃度為 10^{-3}M 。
- 纖維膜(fibrous membrane) 可偵測的SNAP最小濃度為 10^{-4}M 。

從上面得實驗我們已經知道 ZnCl 纖維膜可以偵測到很小濃度的 SNAP (0.0001625M)，而在這裡我們想要知道，我們的纖維膜和一般膜可以偵測到的最低濃度為何？

如圖 4-27(a)在一般膜中我們將石英槽中 SNAP 濃度變成 10^{-4}M 時，其 PL 並沒有減弱代表一般膜無法偵測到這濃度的 SNAP，而濃度提升到 10^{-3}M 後期 PL 才開始下降，這代表一般膜對 SNAP 最低偵測濃度為 10^{-3}M ，並且我們可以看到在開始下降後沒有增加 SNAP 濃度其 PL 經過時間會持續下降，這可以在次證明其反應速度較慢。

而從圖 4-27(b)可以發現，在石英槽SNAP濃度達到 10^{-4} M時，ZnCl 的PL就開始下降了，由於纖維膜可以加快反應速度，所以可以很快達到穩定並不會隨時間持續下降，而且可以發現其可偵測的最小濃度為 10^{-4} M比一般膜低一個order，在這裡我們發現，纖維膜不只可以增快反應速度還可以偵測到更低濃度的SNAP，而且 10^{-4} M的SNAP 這個濃度已經可以應用在一般的生物實驗了。

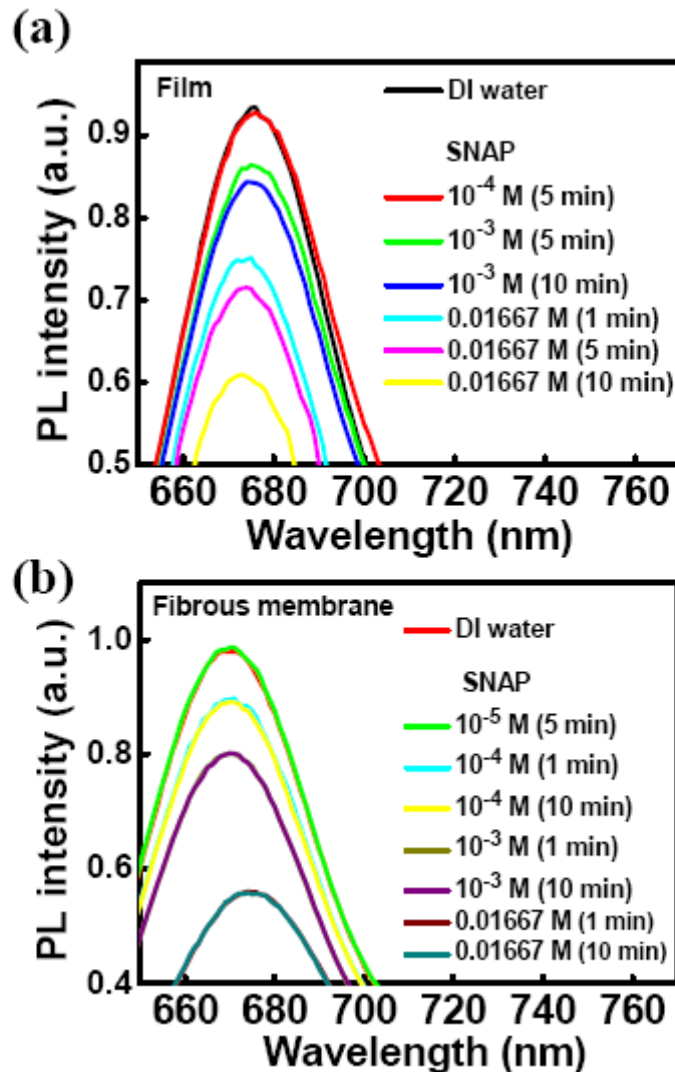


圖 4-27(a) 一般膜(film)可偵測的SNAP最小濃度為 10^{-3} M。(b) 纖維膜 (fibrous membrane) 可偵測的SNAP最小濃度為 10^{-4} M。

1. 纖維膜可偵測濃度較一般膜提升一個 order。
2. 此濃度已經可以應用在生物實驗了。
3. 在圖 4-27(a)亦可以發現一般膜反應速度慢的結果

4-5-2 時間解析：

實驗動機：

利用 PD 較快的量測速度，去即時的解析 NO 和 ZnCl 反應造成 ZnCl PL 下降的情形。

實驗經過：

1. 架設好 PD 量測後，量測其 dark current 和未放 ZnCl 纖維膜前後的電流，再比較差異，確定雜訊大小。

2. 利用 PD 去分別量測纖維膜和一般膜對於 NO 和 ZnCl 反應的情形。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。
PAN:ZnCl=25:1(重量比)。

Spin film 條件:轉速 1000rpm 300s 甩完後將之加熱 120°C 約莫 60 秒。
其膜後約為 $10 \times 10^{-6} \text{m}$ 。PAN:ZnCl=25:1(重量比)。

實驗結果：

- 暗電流和未放 ZnCl 纖維膜的電流遠小於有激發 ZnCl 纖維膜的電流，可以確定我們的訊號比雜訊大很多。
- ZnCl 纖維膜和 NO 反應時間相當短暫，再幾秒就可以達到平衡。
- 纖維膜可以大大的提升 ZnCl 和 NO 的反應速度。
- 纖維膜亦可以讓 PL 下降更加明顯。

我們已經知道纖維膜可以增快我們 ZnCl 和 NO 反應的速度，其可以在一分鐘內達到平衡，而在這裡我們想要知道那一分鐘內反應的情形為何。首先我們使用 PD 取代 F-4500 量側，由於 PD 量測的是光電流而不是光譜所以量測速度較快，但是也因為這樣所以雜訊比較大，所得到的訊號未必是 ZnCl 的 PL 改變而來的，所以在這裡我們使用實驗室自行製作的濾光片，其功能為將波長小於 670nm 的光濾掉，這代表我們濾掉了我們的激發光(波長 405nm 的雷射)，並且整個實驗室在

黑暗的環境下作的，為的就是將雜訊降到最低。

如圖 4-28 我們可以發現在我們的努力下在有 ZnCl 存在的時候其光電流比沒有 ZnCl 的情況大了半個 order，所以我們可以確定我們 ZnCl 的 PL 訊號比雜訊大很多。

在排除雜訊後我們開始我們的實驗，首先我們製作了纖維膜，如圖 4-29 在加入 0.05M SNAP 後再短短幾秒後其光電流已經達到穩定，除了觀察纖維膜的反應外我們也觀察了一般膜並且將它和纖維膜做比較，如圖 4-31 在這裡我們發現一般膜加入 SNAP 後其 PL 會隨時間緩慢下降，其所需時間超過 600 秒以上，而纖維膜只需要幾秒鐘就可以達到平衡。

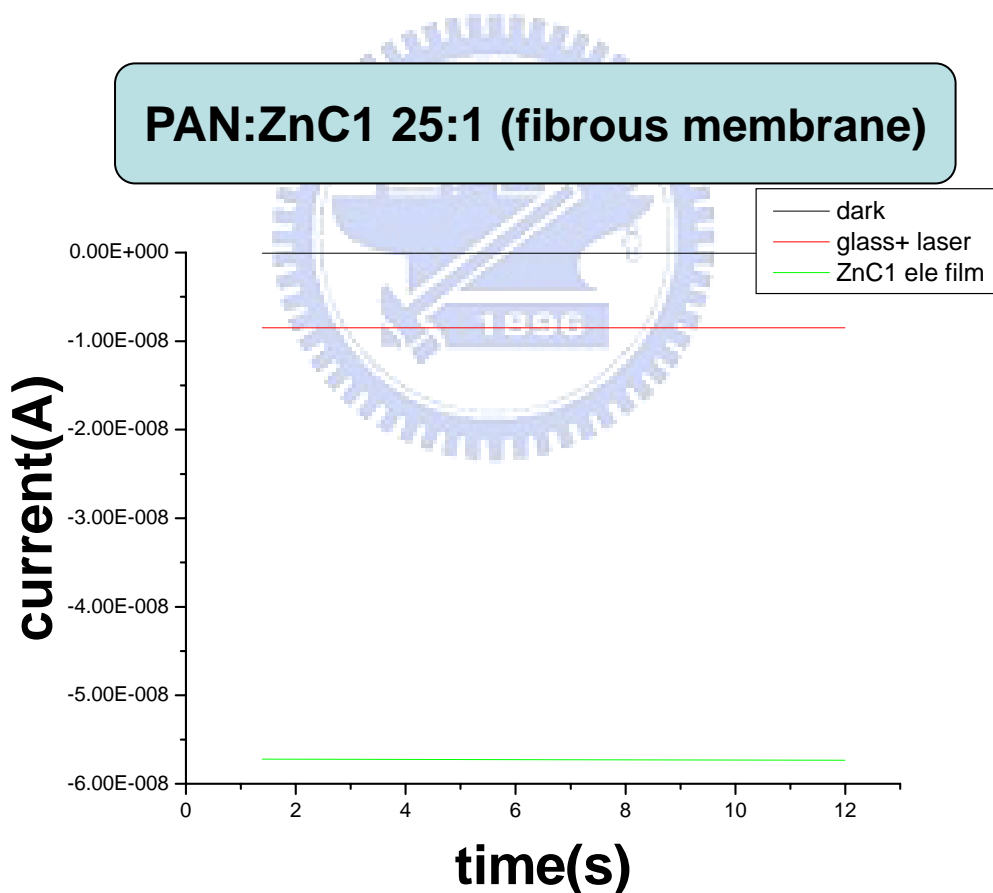


圖 4-28 暗電流和未放 ZnCl 纖維膜的電流遠小於有激發 ZnCl 纖維膜的電流

PAN:ZnC1 25:1 (fibrous membrane)

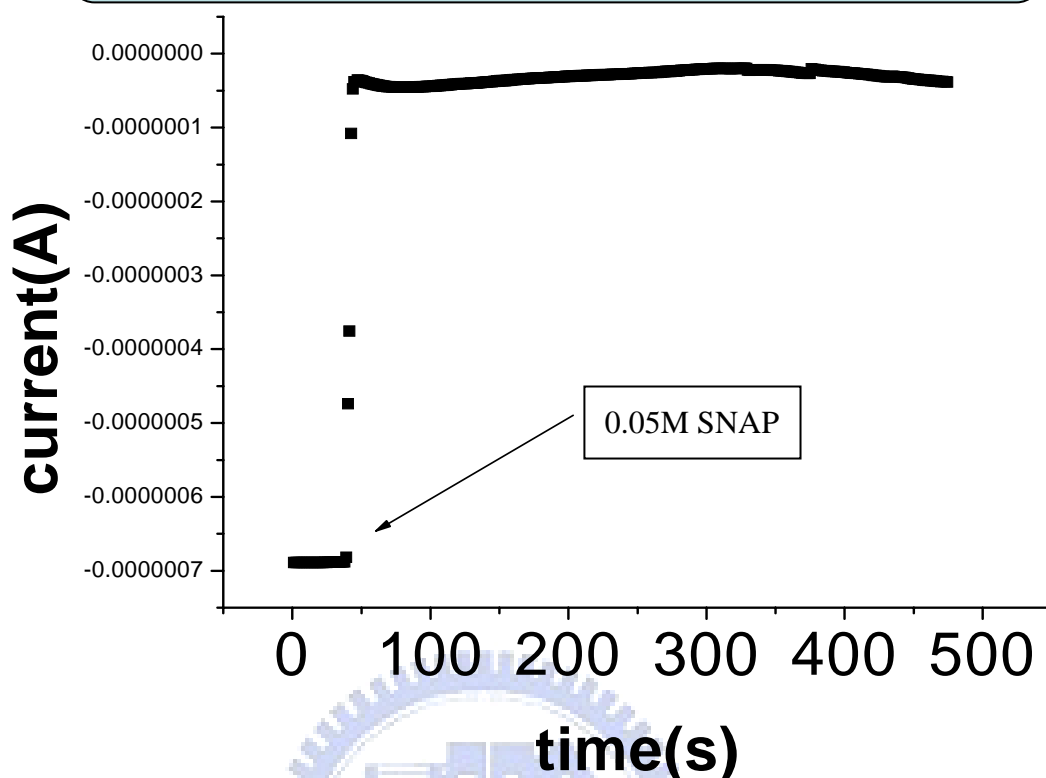


圖 4-29 在加入 0.05MSNAP 後 PD 的光電流下降非常快 10 秒內即達到平衡

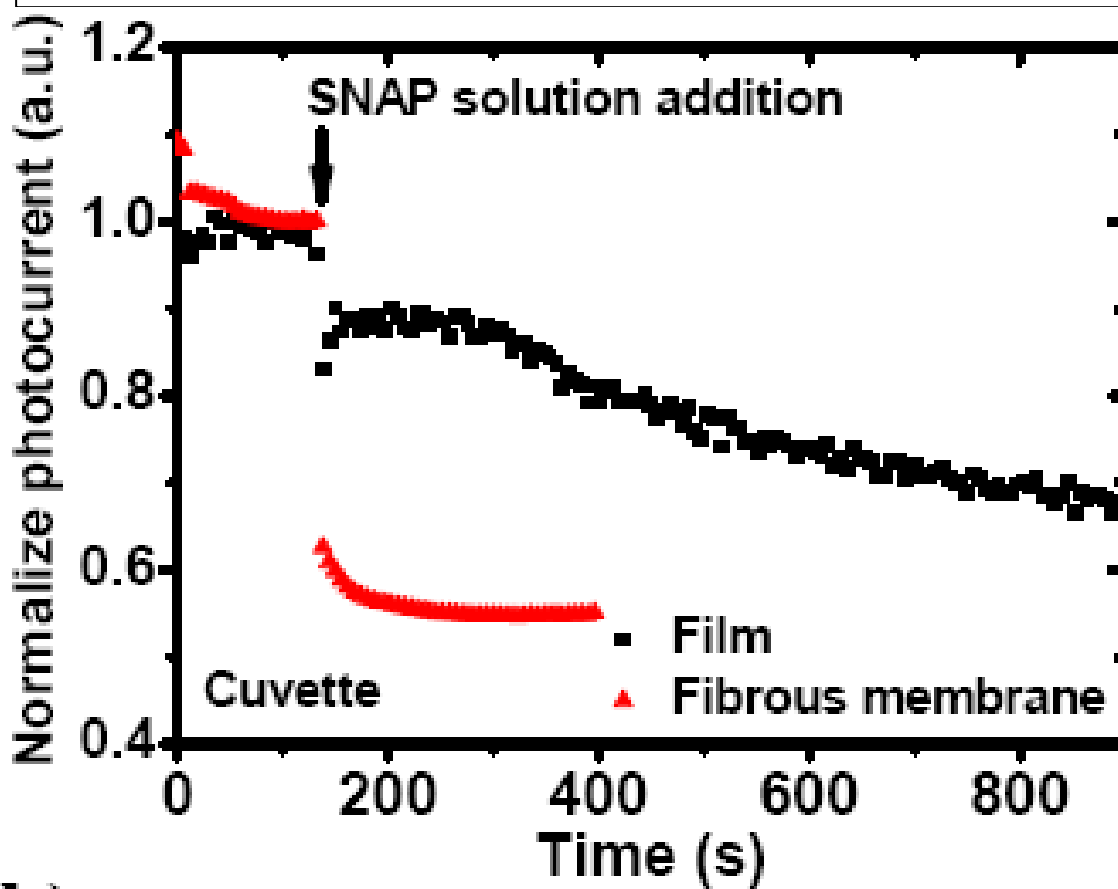


圖 4-30 一般膜和纖維膜的時間解析

1. 我們量取到的光電流變化，是從 ZnCl 的 PL 改變而來，並非來自於雜訊。
2. 從圖 4-31 可以看出 ZnCl 纖維膜和 NO 反應，再短時間內快速下降及達到平衡。
3. 而一般膜先快速下降一些後，再緩緩慢慢下降，推測是表面的 ZnCl 先和 NO 反應後，內部的 ZnCl 再慢慢得遇到 NO 形成反應，所以後來 PL 又慢慢下降。

實驗結果討論：

1. 纖維膜可以解析到更小濃度的 SNAP。
2. 一般膜(film)可偵測的SNAP最小濃度為 10^{-3} M
3. 纖維膜(fibrous membrane) 可偵測的SNAP最小濃度為 10^{-4} M。
4. 纖維膜可偵測濃度較一般膜提升一個 order。
5. 我們的纖維膜已經可以應用在現在的生物實驗了。
6. ZnCl 纖維膜和 NO 反應時間相當短暫，再幾秒就可以達到平衡。
7. 由於纖維膜有更多的表面積，可以大大的提升 ZnCl 和 NO 的反應速度。
8. 纖維膜亦可以讓 PL 下降更加明顯。

4-6 微流管實驗

實驗動機：

利用微流管可以快速改變 SNAP 濃度，觀察快速改變 SNAP 濃度時 ZnCl 和 NO 的反應情形。

實驗經過：

製作好微流管後，分別放入纖維膜和一般膜，快速改變溶液內 SNAP 濃度，觀察其 PL 變化情形。

實驗條件：

ZnCl 纖維膜:Electrospinning 製程條件:流量 1ml/hr 距離 5cm 電壓 10kv。
PAN:ZnCl=25:1(重量比)。

Spin film 條件:轉速 1000rpm 300s 甩完後將之加熱 120°C 約莫 60 秒。
其膜後約為 10×10^{-6} m。PAN:ZnCl=25:1(重量比)。

實驗結果：

- 由於纖維膜反應速度較快，可快速反應出濃度變化。
- 一般膜反應速度較慢，無法及時反映出濃度變化。

將我們的 ZnCl 應用在微流管上，並且比較一般膜和纖維膜的結果。在生物實驗中使用微流管已經是相當普遍的事了，所以在這裡我們也粗略的製作我們的微流管，在這裡使用微流管的最大原因為我們可以快速的改變 SNAP 的濃度，在前面的實驗由於是使用石英槽所以要降低 SNAP 濃度需要倒掉我們石英槽的溶液，或是加入大量的 DI water，但是石英槽的容量只有 4ml，所以要改變 SNAP 濃度相當不容易，而微流管可以改變這個情況。

在製作好微流管通道後，快速改變 SNAP 濃度，如圖 4-31 一般膜因為反應速度慢其 PL 變化無法跟上 SNAP 濃度改變，而纖維膜反應速度快所以可以隨著 SNAP 濃度改變而快速改變其 PL，SNAP 濃度一變高 PL 就變低而用變成 DI water 後其

PL 回覆到和一開始一樣，而一般膜並達不到這個效果。

在這裡我們完完全全可以看出纖維膜比一般膜好太多了。

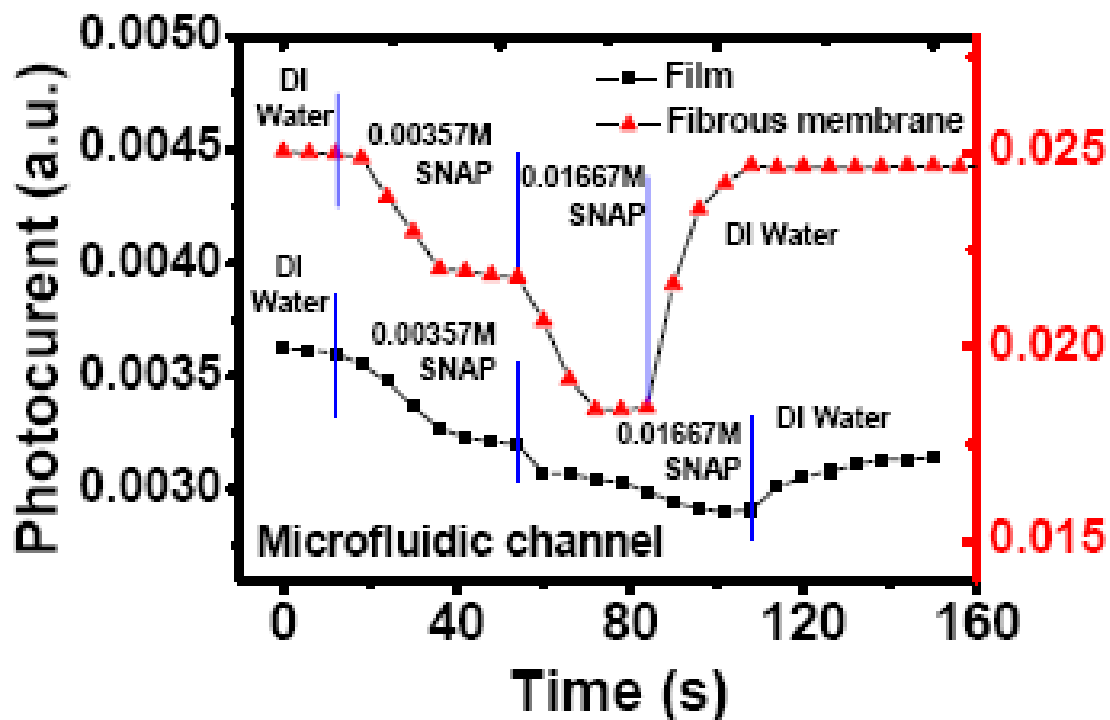


圖 4-31 纖維膜可以立即反映出 SNAP 濃度的改變，而一般膜不能。

實驗結果討論：

1. 由於纖維膜反應速度較快，可快速反應出濃度變化。
2. 一般膜反應速度較慢，無法及時反映出濃度變化。
3. 纖維膜已經可以應用於微流管系統。
4. 圖 4-31 可以看出纖維膜解析 NO 濃度變化比一般膜好太多了。

Chapter5

結論



第五章 結論

在這裡為本篇論文做個總結，首先我們利用放電紡絲(electrospinning)和 NO Probe 作結合，製作了一個高表面積的 NO Probe 固態纖維膜(fibrous membrane)，其高表面積的優點造就了其反應速度快、高解析能力、穩定和可重複利用性。未來我們會將我們 ZnCl 固態纖維膜(fibrous membrane)和 PLED 及 OPD 作結合，期望可以製作一種不需標定、即時的、放電紡絲纖維液態一氧化氮(NO)感測器，這個偵測器是便宜用完即丟的，並且不需要標定，可以在家裡或是實驗室裡面使用。

下面列出我們的 ZnCl 固態纖維膜(fibrous membrane)的優點及特性：

1. 會依照不同 NO 濃度做出 PL 變化，可確實知道此時 NO 的濃度。
2. 具有可逆性，可察覺其濃度減低，相同濃度可達到相同 PL，相當穩定且具有高解析能力。
3. 對 PH 值並沒有明顯影響，對 NO Probe 來說，常常會被 PH 值影響結果，但我們的 ZnCl 固態纖維膜(fibrous membrane)並沒有這個缺點。
4. 在生理環境下一樣可以偵測到 NO 的存在，未來可應用在生物實驗上。
5. 可解析極低濃度的 NO，根據我們的估算我們的 ZnCl 固態纖維膜(fibrous membrane)可解析的最小 NO 濃度為 $3.46 \times 10^{-8} \text{M}$ ，此濃度已經可以應用在生物實驗上了。
6. 可在短時間內解析出 NO 濃度(~10 秒)，可達到即時的 NO 偵測。
7. 可搭配微流管，在大部分的生物實驗都有使用微流管，而我們的 ZnCl 固態纖維膜(fibrous membrane)亦可搭配微流管來偵測 NO。

Reference

- [1] <http://en.wikipedia.org/wiki/Biosensor>
- [2] <http://203.68.17.101/Biotechnology/BIOSENSOR.pdf>
- [3] http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1998/illpres/sandwich.html
- [4] http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1998/illpres/application.html
- [5] <http://en.wikipedia.org/wiki/Photoluminescence>
- [6] http://www.ndl.org.tw/cht/ndlcomm/P12_2/6.pdf
- [7] <http://en.wikipedia.org/wiki/0-phenylenediamine>
- [8] <http://zh.wikipedia.org/wiki/%E9%82%BB%E8%8B%AF%E4%BA%8C%E8%83%BA>
- [9] *Xiaoying Ye, Stanislav S. Rubakhin and Jonathan V. Sweedler Analyst*, 2008, *133*, 423–433
- [10] Francisco Galindo, ^aNurul Kabir, ^{b,c}Jelena Gavrilovic^b and David A. Russell^c *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2008, *7*, 126–130
- [11] <http://www.tmmfa.org.tw/%E5%87%BA%E7%89%88%E5%88%8A%E7%89%A9/magazine/%E7%AC%AC35%E6%9C%9F/3566.htm>
- [12] **WETeo¹ and S Ramakrishna^{1,2,3,4}** *Nanotechnology* **17** (2006) R89–R106
- [13] A. Camposeo, F. Di Benedetto, R. Stabile, R. Cingolani, and D. Pisignano, *Appl. Phys. Lett.* **90**, 143115 (2007).
- [14] D. Li and Y. Xia, *Adv. Mater.* **16**, 1151 (2004).
- [15] **David C. Duffy, J. Cooper McDonald, Olivier J. A. Schueller, and George M. Whitesides*** *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4974–4984
- [16] Volker Nock, ^aRichard J. Blaikie^a and Tim David^b *Lab Chip*, 2008, *8*, 1300–1307