

國立交通大學

應用化學系分子科學碩士班

碩士論文

以差式脈衝伏安法偵測乙硫醇

Detection of Ethanethiol Using Differential Pulse Voltammetry



研究生：蔡泓哲

指導教授：余艇 博士

中華民國 一〇一 年 七 月

以差式脈衝伏安法偵測乙硫醇

Detection of Ethanethiol Using Differential Pulse Voltammetry

研究生：蔡泓哲

Student : Hong-Jhe Tsai

指導教授：余 艇 博士

Advisor : Dr. Tiing Yu

國立交通大學

應用化學系分子科學碩士班



M. S. Program, Institute of Molecular Science
Department of Applied Chemistry
College of Science
National Chiao Tung University
in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Degree of
Master
In
Applied Chemistry
July 2012
Hsinchu, Taiwan, Republic of China.

中華民國 一〇一 年 七 月

以差式脈衝伏安法偵測乙硫醇

學生：蔡泓哲

指導教授：余 艇

國立交通大學應用化學系分子科學碩士班

摘要

本研究中，我們以差式脈衝伏安法偵測乙硫醇，將 catechol 加入樣品溶液中做為電化學偵測上的媒介，在掃描過程中將 catechol 氧化成 o-benzoquinone 與乙硫醇反應形成 catechol-thiol adduct，並偵測其氧化電流，透過此方法，使得偵測乙硫醇所需氧化電位降低約 0.5V。使用差式脈衝伏安法對乙硫醇進行偵測，以反應後 adduct 的氧化電流對乙硫醇進行定量分析，此偵測方法線性範圍為 0.65 μM - 59.3 μM (以丁醇為溶劑配製乙硫醇樣品)，其偵測極限為 0.068 μM (S/N= 3)。在選擇性的偵測中，分別將甲硫醚、硫化氫、二氧化硫、苯乙烯、乙醛、二氧化氮加入於丁醇中做為干擾物測試，其中硫化氫的氧化電位與乙硫醇太過接近而會造成對乙硫醇偵測的干擾。在環境中乙硫醇氣體的偵測，以丁醇收集氣體樣品，當採集氣體為 100L 時，則測定範圍為 0.4 - 37 (mg/m^3)，此範圍符合環境保護署所制訂的標準。

Detection of Ethanethiol Using Differential Pulse Voltammetry

Student : Hong-Jhe Tsai

Advisor : Tiing Yu

M. S. Program, Institute of Molecular Science, Department of Applied
Chemistry
National Chiao Tung University

Abstract

We applied differential pulse voltammetry (DPV) to detect ethanethiol in this study. Catechol, added to the sample solution, was readily oxidized to form o-benzoquinone during the oxidation cycle. Ethanethiol then reacted with o-benzoquinone immediately to form a catechol-thiol adduct which was further oxidized during the same cycle. The oxidation potential of the adduct was found ~0.5 V lower than that of ethanethiol. Quantitative analysis was investigated using the DPV oxidation current. A linear dynamic range of 0.65 μM – 59.3 μM (ethanethiol solution prepared in butanol) was obtained while the detection limit was 0.068 μM (S/N = 3). Interferences including dimethyl sulfide, hydrogen sulfide, sulfur dioxide, styrene, acetaldehyde, and nitrogen dioxide were doped in the butanol sample solutions in selectivity tests. Hydrogen sulfide created major problem due to its very close oxidation potential to ethanethiol. Detection of gaseous ethanethiol was also examined under the ambient environment. When gas volume of 100 L was collected in neat butanol, the detectable range of ethanethiol was found 0.4 – 37 mg/m^3 . This technique conformed to the regulation set by the Environmental Protection Agency.

謝誌

轉眼間，兩年的碩士生活已經過去了，在這段時間內我不敢說學到很多專業領域上的知識，但至少我認為我得到的非常多，不僅僅是學業上而已。

首先我要先感謝我的恩師余艇，在研究上，一步一步的引領著我，讓我學習怎麼將難題抽絲剝繭，學習如何面對接踵而來的問題；面對挫折，更重要的是除了學業，老師也時常與我們分享一些為人處事的看法，讓我成長了許多。也要感謝王念夏老師與許馨云老師指點出我在論文中需要注意的部分，還有竹北惠基生技的林修民工程師，總是提供我在研究方向上許多不同的想法。更要感謝裘性天老師、李耀坤老師實驗室及吳慶昇老師提供我實驗所需的儀器，另外我要特別感謝兩位學長昱成以及蘇美學長，在研究過程中，不厭其煩的幫忙我解決難題。

實驗室的夥伴們，小揚、大沛、柏森，因為你們讓實驗室充滿了歡笑；打球的夥伴們，昱良、阿龍、富為、志偉、英生、德瑋，因為你們讓我盡情的揮灑汗水。

嗲嗲、安琪、毛毛、Magic、昌學，零錢包、陳昀以及陳昀的家人，還有心血來潮便衝來新竹的承齊，最後還有杜小妞，特別是你們

這幾個，我們一起笑過、哭過、也一起瘋過，對於你們，我由衷的感謝，在這不長不短的時間裡，你們都是我這段旅途中的貴客，因為你們才會讓離別如此令人不捨，沒有你們，這兩年不會這麼精采，我很高興你們是我這段日子中的重要回憶。

最後，我必須深深感謝我的父母，對於他們的感謝，真不是用言語文字能表達清楚的，在我十多年來的求學生涯中，深怕給我太多的壓力，總是在背後默默的一直支持著我，因為他們我才能無憂無慮的專心完成我的碩士學業。



總目錄

摘要.....	i
Abstract.....	ii
謝誌.....	iii
總目錄.....	v
圖目錄.....	vii
第一章 緒論.....	1
1-1 前言.....	1
1-2 研究目的.....	2
第二章 研究背景與文獻回顧.....	3
2-1 硫醇化合物(Thiols)簡介.....	3
2-2 硫醇化合物的檢測方法.....	9
2-3 Catechol 在電化學上的應用.....	16
第三章 實驗部分.....	19
3-1 儀器.....	19
3-2 藥品.....	19
3-3 溶液配製.....	21

3-4	Catechol 與乙硫醇偵測的實驗流程	25
3-4-1	循環伏安法(Cyclic Voltammetry, CV)	25
3-4-2	差式脈衝伏安法(Differential Pulse Voltammetry, DPV) ...	25
3-5	干擾物測試.....	26
3-6	氣態樣品偵測.....	26
3-7	乙硫醇標準方法檢測 (NIEA A703.71C)	27
第四章 結果與討論.....		29
4-1	Catechol 與乙硫醇(ethanethiol)的電化學性質	29
4-2	電化學反應類型的探討.....	35
4-3	差式脈衝伏安法(DPV)參數對偵測的影響.....	38
4-4	溶液 pH 值的影響.....	41
4-5	Catechol 濃度的影響	45
4-6	檢量線製作.....	48
4-7	干擾物測試.....	50
4-8	環境中乙硫醇氣體檢測.....	52
4-9	標準硫醇偵測法—吸收光度法.....	55
第五章 結論.....		58
參考文獻.....		60

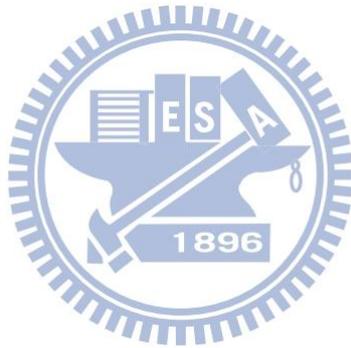
圖目錄

圖 1. Cysteine、Homocysteine 與 Glutathione 結構	3
圖 2. 甲硫醇與乙硫醇結構	4
圖 3. Co^{2+} 在電極表面催化 Thiocholine 的電子交換機制	10
圖 4. 利用 PQQ 催化硫醇氧化於電極表面偵測示意圖	11
圖 5. DMPD 經電化學氧化成 DMPD^+ 後與 H_2S 的反應機制	12
圖 6. TOQ 修飾在 SWNT 上的示意圖	12
圖 7. Piazselenole 與 GSH 的反應機制	13
圖 8. Catechol 類衍生物的氧化還原機制	16
圖 9. Catechol 氧化成 o-benzoquinone 與 Nucleophile 反應機制	17
圖 10. Dopamine 的自身合環反應機制	18
圖 11. 硫化氫製備裝置(Kipp's gas generator)	24
圖 12. 環境中乙硫醇採樣裝置示意圖	28
圖 13. Catechol 與乙硫醇的循環伏安圖	29
圖 14. Catechol / o-benzoquinone 的氧化還原反應機制	30
圖 15. Catechol 與乙硫醇的反應機制	30
圖 16. Catechol 多次掃描的 CV 圖	32
圖 17. Catechol 自身聚合反應機制	32

圖 18. Catechol 與乙硫醇、丁醇的循環伏安圖	33
圖 19. 25 μM Catechol 添加各濃度乙硫醇的 DPV 圖	35
圖 20. 200 μM Catechol 添加同濃度乙硫醇以不同速率掃描 CV 圖..	37
圖 21. 氧化波峰電流(I_{A0})對掃描速率的平方根關係圖	37
圖 22. 分別施加不同脈衝振幅的 DPV 圖	39
圖 23. 分別施加不同脈衝寬度的 DPV 圖	40
圖 24. 分別施加不同脈衝週期的 DPV 圖	40
圖 25. 200 μM catechol 在不同 pH 值下的 DPV 圖	42
圖 26. Catechol 氧化電流訊號對不同 pH 值關係圖	43
圖 27. Catechol 在不同 pH 值下加入同濃度乙硫醇的 DPV 圖	44
圖 28. Catechol 解離平衡反應	44
圖 29. 乙硫醇氧化電流訊號(A_2)與 pH 值的關係圖	45
圖 30. 各濃度 catechol 添加乙硫醇的檢量線圖	47
圖 31. 25 μM catechol 添加各濃度乙硫醇的 DPV 圖	49
圖 32. 25 μM catechol 添加各濃度乙硫醇的檢量線圖	49
圖 33. Catechol 添加各種干擾物之 DPV 圖	51
圖 34. 環境中乙硫醇氣體偵測之 DPV 圖	54
圖 35. 吸收光度法偵測乙硫醇之吸收光譜圖	57
圖 36. 吸收光度法偵測乙硫醇之檢量線圖(505nm)	57

表目錄

表 1. 動物實驗呼吸暴露甲硫醇造成各種效應的濃度.....	6
表 2. 各國之容許暴露濃度標準.....	7
表 3. 環境採樣分析方法.....	14
表 4. 各濃度 catechol 添加乙硫醇的偵測結果.....	48



第一章 緒論

1-1 前言

隨著世界經濟的發展，環境資源受到了嚴重的負面衝擊，排放到環境中的污染物種類越來越多。它們包括有機物、無機物和微生物等，主要分佈在大氣、水質、土壤、固體廢棄物及生物體內，除了對環境的危害之外，其中化學工業所排放污染物來源複雜，當中的有害空氣污染物(Hazardous Air Pollutants, HAPs)更是對人體具有致癌性。

化學污染物的監測應及時、準確、全面地反映環境品質和污染源現狀及發展趨勢，為環境管理和規劃、污染防治提供科學依據。目前有機污染物的測定氣相層析儀(Gas chromatography, GC)、高效能液相層析儀(High performance liquid chromatography, HPLC)、傅立葉轉換紅外線光譜(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)、氣相層析串聯質譜分析儀(Gas chromatography-Mass Spectrophotometer, GS-MS)等方法已用於有機污染物的測定；原子吸收光譜(Atomic absorption spectrometry, AAs)、感應耦合電漿質譜分析儀(Inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)、螢光光譜法(Fluorescence Spectrometry)、比色法(Colorimetry)等方法用於無機污染物的測定¹。這些方法普遍存在儀器比較貴，樣品處理或檢測耗時，不易攜帶等缺點，在連續監測及現場測定等方面受到很大限制。

電化學技術具有儀器設備簡單，易自動化，便於攜帶，靈敏度和準確度高，選擇性好，及檢測快速的特點，使電化學技術更具實用性，在現代環境分析中得到了更廣泛的推廣，決定了其在環境分析中的重要地位。

1-2 研究目的

許多工業生產過程中，經常伴隨著產生有害空氣污染物，其中硫化氫、硫化甲基、硫醇類等含硫化合物，更是帶有令人不悅的氣味。特別是硫醇類化合物，在工業上的應用相當廣泛，甚至做為天然氣或液化石油氣的助嗅劑，更是與我們日常生活息息相關，過去對於環境中的硫醇化合物的檢測，主要方法是利用醋酸汞來吸附環境中的硫醇分子，再經由萃取或者是熱脫附等方式進行脫附，隨後透過氣相層析儀(gas chromatography, GC)結合火焰光度偵測器(flame photometric detector, FPD)來進行，。

本研究中，藉由 catechol 做為電化學媒介(mediator)，利用電化學氧化方式將 catechol 氧化成 o-benzoquinone 而與乙硫醇反應，透過氧化電流訊號來對乙硫醇做定量分析。借以改善以往繁雜耗時的前處理步驟，以及避免使用會對環境造成破壞的汞類化合物。

第二章 研究背景與文獻回顧

2-1 硫醇化合物(Thiols)簡介

硫醇化合物是一種帶有硫醇官能基(-SH)的有機硫化物。其中一些含有硫醇官能基的胺基酸在生物體內扮演著相當重要的角色，參與了許多生化及藥理反應，其中以 cysteine (Cys)，homocysteine (Hcy)和 glutathione (GSH)這三種硫醇分子(圖 1)特別重要，它們有著類似的結構，舉例來說，Cys 和 Hcy 在人體內的濃度與某些重大疾病有相當的關係，像是阿茲海默症(Alzheimer's disease)^{2,3} 與帕金森氏症 (Parkinson's diseases)²，AIDS⁴⁻⁷，以及腎臟⁸、肝臟⁹和心臟血管^{10,11}方面的疾病。GSH 是由 3 種胺基酸組成，其中 Cys 上的-SH 是主要的官能基，他是一種非蛋白質的硫醇分子。在細胞內 GSH 具有抗損傷與代謝調節等重要的生理功能^{12,13}，其中包含氨基酸的運送與合成，醣代謝和 DNA 的合成調節，解毒、抗氧化作用。由於在多種疾病中，硫醇化合物能夠做為一種健康指標及有價值性的生物標記，所以在生物醫學領域中，已經有很多方法來偵測這些胺基酸以及其他硫醇化合物¹⁴⁻¹⁸。

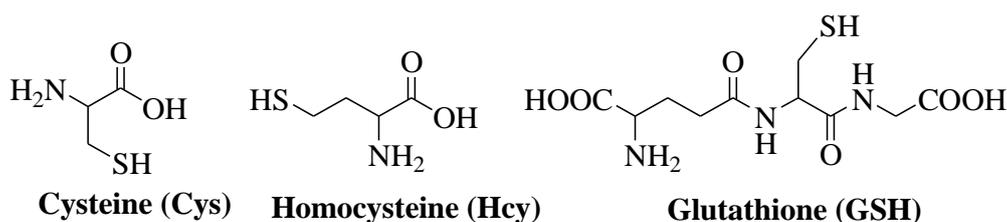


圖 1. Cysteine、Homocysteine 與 Glutathione 結構

硫醇化合物本身是石油提煉過程中的產物之外，也是噴射機燃料、農藥殺蟲劑，除黴劑及塑膠製程中的中間產物^{19,20}，其應用相當廣泛以甲硫醇為例包括有木材、製紙、化學用品、石油及煤工業、電機、天然氣等方面之應用²¹⁻²³。

在日常生活中，乙硫醇也可作為具一些無味危險性氣體的氣味警示劑¹⁹，如液化石油氣、天然氣、丙烷及丁烷等(依照CNS 12951所規定之標準，液化石油氣除製造噴霧用劑、打火機用氣體以及其他工業用外，皆應添加相當於乙硫醇20 ppmw以上之臭劑)²⁴。

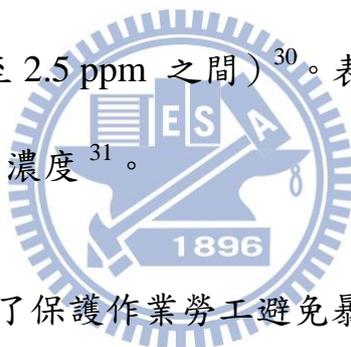
此外，人體口腔或胃中的細菌也會產生甲硫醇，與硫化氫同為口臭的主要成分之一²⁵，受到牙周疾病及口腔衛生的影響，口腔中甲硫醇的濃度介於5 - 466 ppb之間²⁶。

許多硫醇具有較強烈且令人反感的氣味，特別是對於那些低分子量、低碳鏈的硫醇分子，如甲硫醇、乙硫醇等(圖 2)。這些低碳鏈的硫醇分子主要由吸呼方式進入人體，經皮膚或經眼睛暴露吸收的量較低，濃度最低的效應為強烈令人不快的氣味。



圖 2. 甲硫醇與乙硫醇結構

其中乙硫醇的嗅覺閾值(Odor threshold)僅有 0.27 ppb²⁷，這些硫醇分子的毒理機轉與硫化氫相似²⁸，會造成呼吸系統及神經系統的抑制，視暴露濃度及暴露時間不同可能會引起眼睛及呼吸道黏膜刺激、頭痛、頭暈、步伐不穩、噁心及嘔吐等症狀，暴露濃度約 4 ppm 之下數小時後就會造成頭暈、頭痛、噁心、嘔吐，而暴露高濃度時²⁹，則會造成肝臟及腎臟受損、昏迷，甚至呼吸麻痺而死亡。在長期暴露於甲硫醇及其他含硫化合物時，雖然濃度不高但依舊可能造成眼睛及呼吸道的不適與相關症狀（每年推估平均暴露濃度低於 0.5 ppm，每天推估平均暴露濃度介於 1 至 2.5 ppm 之間）³⁰。表 1 為動物實驗呼吸暴露甲硫醇造成各種效應的濃度³¹。



綜合前述理由，為了保護作業勞工避免暴露於過量甲硫醇造成可能的中樞神經系統、心血管系統及肝腎毒性，及減少暴露於甲硫醇強烈不悅氣味的考量下，對於甲硫醇容許建議標準值，根據行政院勞工委員會所制訂勞工作業環境空氣中有害物容許濃度為 10 ppm (25.4 mg/m³)，而美國職業安全衛生署(Occupational Safety and Health Administration, OSHA) 及其他世界多數國家制定甲硫醇的日時量平均容許暴露濃度 0.5 ppm (1.27mg/m³) 作為法規管制標準，此濃度也符合目前採樣分析方法的限制。表 2 為各國之容許暴露濃度標準³¹。

表 1. 動物實驗呼吸暴露甲硫醇造成各種效應的濃度

動物種類	暴露 頻率/時間	系統	NOAEL (ppm)	LOAEL		參考文獻
				輕微症狀(ppm)	嚴重症狀(ppm)	
死亡						
小鼠	2 小時				3.3(LC ₅₀)	Selyuzhitskii, 1972
大鼠	4 小時				4.5(LC ₅₀)	Selyuzhitskii, 1972
大鼠(公母)	4 小時		400	600	675(LC ₅₀)	Tansy et al., 1981
大鼠(公母)	14 分鐘				10000	Norberg, 1943
神經學症狀						
大鼠(母)	30-35 分鐘		500	700(嗜睡)	1500(喪失反射)	Norberg, 1943
大鼠(公母)	15 分鐘		1200		1,400 (EC ₅₀ 昏迷)	Zieve et al., 1984
大鼠(母)	1 分鐘				10,000 (痙攣、中樞神經抑制及隨意肌痲痺)	Norberg, 1943
系統性症狀						
大鼠(母)	30-35 分鐘	呼吸			1500 (肺泡出血及增厚)	Norberg, 1943
大鼠(母)	1 分鐘	呼吸			10,000 (肺出血)	Norberg, 1943
死亡						
大鼠(公母)	3 個月 5 天/每週 7 小時/每天		57			Tansy et al., 1981
系統性症狀						
大鼠	3 天 6 小時/每天	呼吸		100 (肺部纖維化)		RTECS, 2004
大鼠(公母)	3 個月 5 天/每週 7 小時/每天	呼吸 心血管 腸胃道 肝臟 腎臟 體重	57 57 57 57 57 17	57 (下降)		Tansy et al., 1981

EC₅₀：半有效濃度 (effective concentration, 50% morbidity) LC₅₀：半致死濃度 (lethal concentration, 50% mortality) LOAEL：最低可觀察有害作用劑量(lowest observed adverse effect level)NOAEL：無可觀察有害作用劑量(non observed adverse effect level)；中等暴露期間為15天至364天

參考1992年美國毒物標準局疾病登記處(ATSDR, Agency of Toxic Substances and Disease Registry)資料庫

表 2. 各國之容許暴露濃度標準

國家	單位	TWA	STEL	IDLH	Ceiling
中華民國	ppm	-	-	-	10
美國	ppm	0.5	-	-	-
MSHA Standard-air	ppm	-	-	-	10
OSHA PEL (General Industry)	ppm	-	-	-	10
OSHA PEL (Federal Contractors)	ppm	0.5	-	-	-
OSHA PEL (Construction)	ppm	0.5	-	-	-
OSHA PEL (Shipyards)	ppm	0.5	-	-	-
OSHA PEL 1989	ppm	0.5	-	-	-
ACGIH TLV	ppm	0.5	-	-	-
NIOSH REL	ppm	-	-	150	0.5
德國 MAK	ppm	0.5	-	-	-
英國 HSC OEL	ppm	0.5	-	-	-
日本 JSOH	ppm	-	-	-	-
法國 OEL	ppm	0.5	-	-	-
丹麥 OEL	ppm	0.5	-	-	-
奧地利 OEL	ppm	0.5	-	-	-
比利時 OEL	ppm	0.5	-	-	-
中國大陸 OEL		1 (mg/m ³)	2.5 (mg/m ³)	-	-
俄羅斯 PDK OEL		-	0.8 (mg/m ³)	-	-

挪威 OEL	ppm	0.5	-	-	-
芬蘭 OEL	ppm	0.5	1.5	-	-
匈牙利 OEL		-	-	1 (mg/m ³)	-
菲律賓 OEL	ppm	10	-	-	-
澳洲 NOHSC OEL	ppm	0.5	-	-	-
波蘭 OEL		MAC: 1 (mg/m ³)	MAC: 2 (mg/m ³)	-	-
瑞典 OEL	ppm	NGV: 1	-	-	-
瑞士 OEL	ppm	MAK-wee k: 0.5	KZG-week : 1	-	-
泰國 OEL	ppm	10	-	-	-
土耳其 OEL	ppm	10	-	-	-
荷蘭 OEL		MAC-TGG : 1 (mg/m ³)	-	-	-
阿根廷、紐西蘭、 哥倫比亞、約旦、 韓國、保加利亞、 新加坡、越南 OEL	ppm	ACGIH TLV: 0.5	-	-	-

介質：空氣；無特別標示之濃度單位：ppm。

ACGIH：American Conference of Governmental Industrial Hygienists；IDLH：Immediately Dangerous to Life and Health；MSHA：Mine Safety and Health Administration；OEL：Occupational Exposure Limit；OSHA：Occupational Safety and Health Administration；PEL：Permissible Exposure Limit；STEL：short term exposure limit；TLV：Threshold Limit Value；TWA：time-weighted average。

參考2004年RTECS資料庫。

2-2 硫醇化合物的檢測方法

目前，對於硫醇化合物偵測的方法，包括氣相層析(Gas chromatography, GC)³²，高效能液相層析法 (High performance liquid chromatography, HPLC)³³⁻³⁵，毛細管電泳(Capillary electrophoresis, CE)³⁶⁻³⁸，UV-vis detection^{39, 40}，螢光偵測法(Fluorescence detection)⁴¹⁻⁴³，質譜分析(Mass spectrometry)^{44, 45}，分光光度法(Colorimetric assays)⁴⁶⁻⁴⁸，電化學偵測法(Electrochemical detection)⁴⁹與其他⁵⁰等等方法。

然而，大部分的分析方法都存在著一定的限制性，在UV-vis或者螢光偵測上，因為一般硫醇化合物不具有發色團(chromophore)或是螢光團(fluorophore)，所以必須先利用具有發色團或螢光團的衍生劑，將其衍生化(Derivatization)後才能進行偵測，使得偵測相當的耗時並需要煩雜的實驗步驟。在利用質譜做偵測方面，雖然質譜儀是目前分析技術中能夠提供最多分析物化學訊息的儀器，且結合各種層析法、CE、ICP等等儀器，使得選擇性以及靈敏度更是大大的提升，但是儀器本身價格昂貴，與上述方法相比，電化學分析法具有簡單、便宜、高靈敏度，及易於攜帶等優點。

在硫醇的電化學偵測中，在電極上直接偵測硫醇的氧化電流是最簡單的偵測方法，但是在偵測硫醇化合物時，通常會因為硫醇化合物

本身的氧化電位在許多生物檢測上與其他生物分子類似，或是需要較高的氧化電位才能偵測，這對於偵測上的選擇性以及靈敏度的觀點來看，在分析上會有相當大程度上的干擾。雖然利用汞電極(mercury amalgam electrodes)來偵測硫醇⁵¹⁻⁵³，其偵測電位只有+0.1 V，可以大幅改善這問題，增加偵測上的靈敏度，但是由於汞本身的毒性和環保要求，限制了汞電極的使用，所以對於硫醇化合物在電化學的研究上，都朝著於電極表面進行修飾，藉由電極表面狀況的改變，來催化硫醇化合物。

1994年，John P. Hart 利用 cobalt phthalocyanine (CoPC) 修飾在網版印刷碳電極(screen-printed carbon electrode, SPCE)上，藉由 Co^{2+} 催化 Thiocholine，產生電化學訊號⁵⁴。如圖3所示：

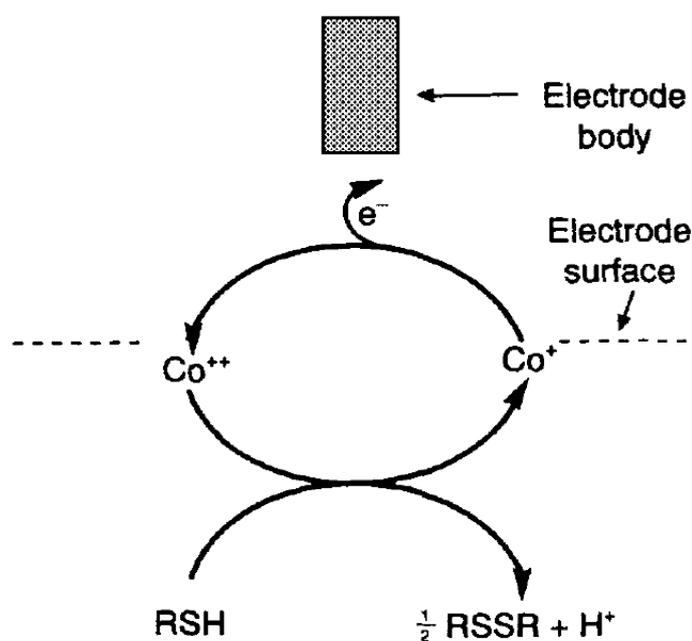


圖 3. Co^{2+} 在電極表面催化 Thiocholine 的電子交換機制

而Jose´H. Zagal的研究團隊，利用同樣的想法在1997年嘗試使用修飾有cobalt phthalocyanine(CoPc) + poly(2-chloroaniline) 複合膜來修飾電極對2-mercaptoethanol進行偵測⁵⁵。

在2000年，Takayo Inoue在電極上以具導電性的聚合物 polypyrrole(PPy)，利用電聚合(electropolymerization)的方法修飾 Coenzyme Pyrroloquinoline Quinone(PQQ)在電極表面上，PQQ能有效的催化硫醇化合物，因為藉由氧化態的PQQ促使硫醇化合物氧化反應的發生，所以只需施加較低電位(+0.5 V)，即可偵測硫醇化合物⁵⁶。如

圖4所示：

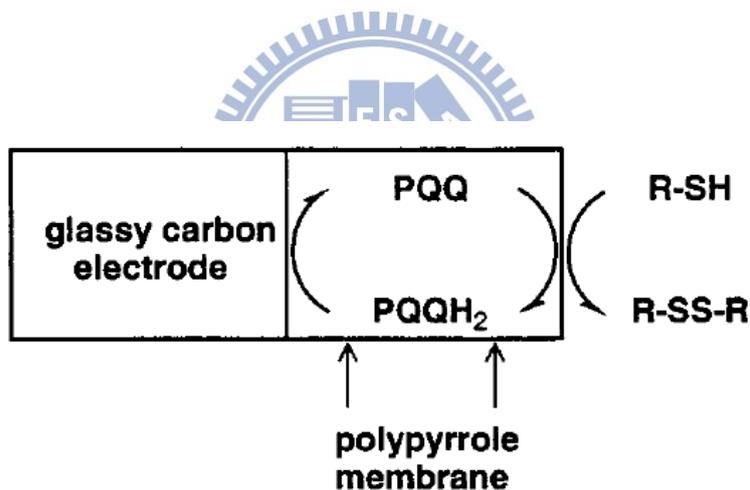


圖 4. 利用 PQQ 催化硫醇氧化於電極表面偵測示意圖

而Richard G. Compton的研究團隊則使用了另一種新的方式偵測硫醇化合物，他們使用N,N-dimethylphenylene-1,4-diamine(DMPD) 作為電化學媒介(mediator)，利用電化學的方法將DMPD氧化後與硫醇化合物反應，其反應機制如圖5，可惜的是，DMPD在高pH的環境下非常的不穩定⁵⁷。因此在2001年Richard G. Compton的研究團隊改使用

catechol取代DMPD作為電化學媒介，藉由catechol的氧化態o-quinone與cysteine進行1,4-addition形成新的產物⁵⁸。

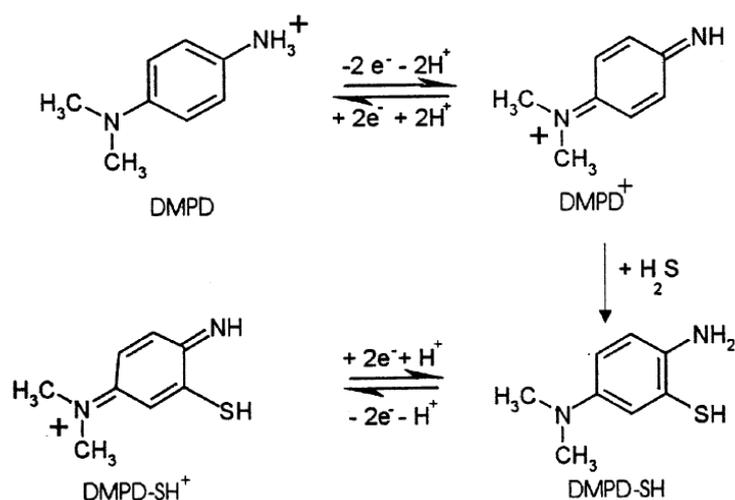


圖 5. DMPD 經電化學氧化成 DMPD⁺後與 H₂S 的反應機制

到了2005年，Kuanping Gong等人，以單層奈米碳管修飾在玻璃碳電極上，再添加tritycene orthoquinone (TOQ)以吸附的方式，吸附在SWNT表面，並且在SWNT上修飾羧基(carboxylic group, -COOH)來幫助催化硫醇分子⁵⁹，圖6為TOQ修飾在SWNT上的示意圖。

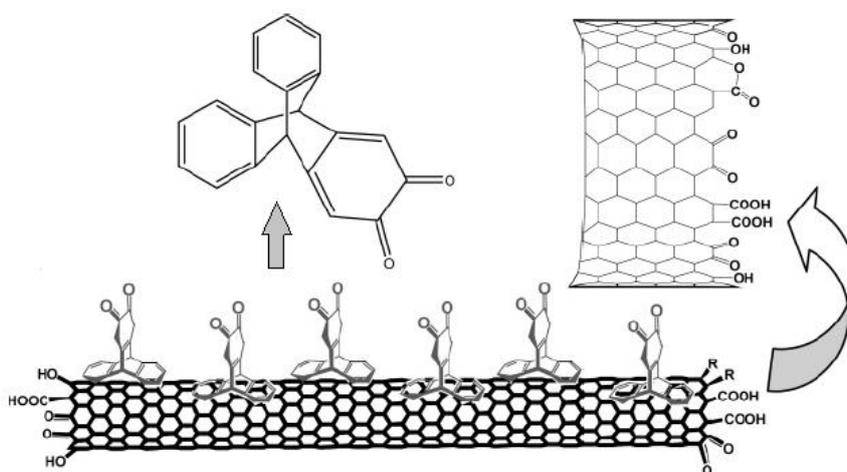


圖 6. TOQ 修飾在 SWNT 上的示意圖

2008年，Shusheng Zhang等人，將piazselenole(一種含有Se-N鍵的電化學活性物質)修飾在金電極表面上，利用GSH上-SH官能基的親核性(Nucleophilicity)性質與piazselenole反應產生非電化學活性的產物，使得偵測電流下降，進而用來對GSH做定量偵測⁶⁰，piazselenole與GSH的反應機制如圖7：

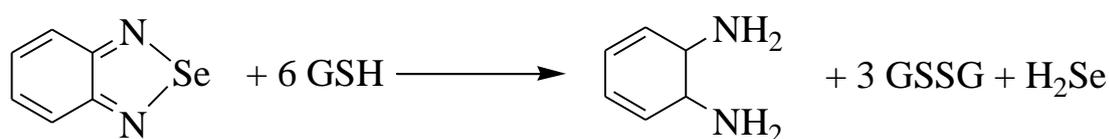


圖 7. Piazselenole與GSH的反應機制

而在環境中有關硫醇的採樣分析方法，包括生物指標分析和環境採樣分析，生物採樣分析可測量細菌、血液、腦組織、膠原蛋白、血漿或呼出氣體等檢體中的甲硫醇濃度；環境採樣分析則可以測量空氣、水或土壤等檢體中的甲硫醇濃度。國內目前的環境採樣分析方法為勞委會公佈之CLA 5017 乙硫醇採樣分析法⁶¹為主，此法乃依據美國OSHA 26⁶²進行修訂，方法列表如表3⁶¹⁻⁶⁵。

表 3. 環境採樣分析方法

方法別	美國 OSHA 26	美國 NIOSH 2542	中華民國 CLA 5017	中華民國 NIEA A701.11C	中華民國 NIEA A703.71C
採樣介質	含醋酸汞的 玻璃纖維過 濾器	含醋酸汞的 玻璃纖維過 濾器	玻璃纖維濾 紙，需預先浸 於含5 %(W/V)醋酸 汞水溶液中	含 Tenax - TA 吸附管或 Tedlar 採樣袋	含醋酸汞的吸收 液
分析物	甲硫醇	甲硫醇、乙硫 醇及正丁基 硫醇	乙硫醇	硫化氫、甲硫 醇、二硫化 碳、硫化甲 基、及二硫化 甲基	硫醇化合物
採樣流率	0.2 L/min	0.1-0.2 L/min	0.2 L/min	0.2L/min (吸附 管)；0.5L/min (採樣袋)	1-2 L/min
採樣體積	20 L	20 L	20 L	1.5L(吸附管)； 3L(採樣袋)	10-100 L
樣品運送	須避光	須避光	密封，隔絕光 線，例行性	4℃ 以下冰存 (吸附管)密 封，避光；(採 樣袋)	密封，避光
樣品穩定性	15 天	至少 3 週	未定	7 天 (吸附管) 24 小時；(採樣 袋)	未定
分析儀器	GC/FPD	GC/FPD	GC/FPD	GC/FPD	UV-vis
脫附溶劑	二氯甲烷(20 mL)	鹽酸(25% 20 mL) 加上 1,2-二氯乙烷 (5 mL)	二氯甲烷	熱脫附裝置(吸 附管)；液態氮 冷凍凝集 (採 樣袋)	-

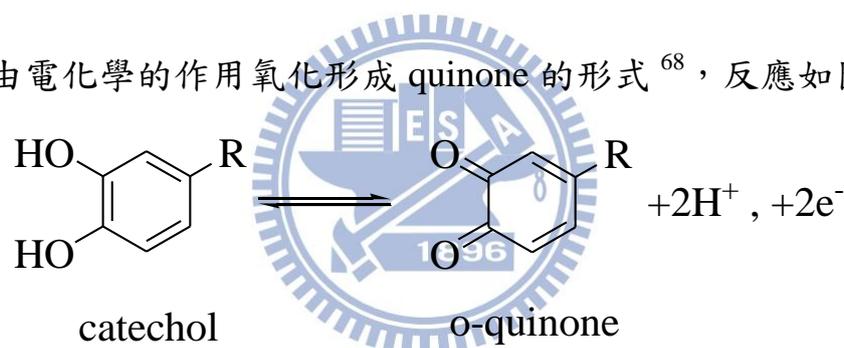
載流氣體	氮氣 (20 mL/min)	氮氣 (1.0 mL/min)	氮氣 (8.7 mL/min)	氮氣(7 mL / min)	-
分離管柱	不銹鋼管(填充 20%SP2100, 0.1%CW150 0 on 80/120mesh Supelcoport)	narrow-bore, fused-silica capillary, 30 cm × 0.25-mm ID, 1 µm DB-1	fused silica WCOT DB-1 30m×0.53m mID	GS / Q 管柱或 PoraplotQ, 參考規格為 30 m *0.53 mm I.D., 3.0 µm	-
檢量線範圍		0.5 ~ 2.0 ppm	7.6 ~ 125.9 µg/10mL		採氣量 10L 時，在 0.5-10.0 ppm (V/V) ；100L 時，則在 0.05-1.00 ppm
可量化最低濃度	1.06 µg/每樣品；0.027 ppm (每20 L 樣品)	4 µg/每件樣品	0.76 µg/mL	23.6 ng	
適用範圍	0.52 至2.085 mg/m ³ (20 L 空氣 樣品)	10 to 50 µg/ 每件樣品	12.7 至50.8 µg/每件樣品		
其他					顯色液：N,N-二 甲基對苯二胺 (N,N-dimethyl-p- phenylene-diamin e,DPDA)之氯化 鐵混合液

火焰光度偵測器(FPD, flame photometric detector) ；
氣相層析儀(GC, gas chromatography) ；
紫外光可見光光譜儀 (UV/Vis Spectrophotometer)

2-3 Catechol在電化學上的應用

近十年來 Catechol 類的物質被廣泛用來做為電化學分析過程中的電子傳遞媒介，是因為除了 Catechol 衍生物本身具有良好的氧化還原性質且價格低廉之外，這類的化合物修飾在電極上的方法相當多元，其中包含利用吸附(adsorption)的方式⁶⁶，或者是與碳糊電極(carbon paste electrode)混合⁶⁷，最簡單又方便的方法便是直接將 catechol 與分析溶液混合⁵⁸。

1976 年 Daniel C. S. Tse 等人發現 catechol 類衍生物的電化學特性，可以藉由電化學的作用氧化形成 quinone 的形式⁶⁸，反應如圖 8：



where R = CH₂CH₂NH₂ → Dopamine
=CH(OH)CH₂NH₂ → Norepinephrine
=CH₃ → 4-methylcatechol

圖 8. Catechol 類衍生物的氧化還原機制

而在 1978 年 Daniel C. S. Tse 與 T. Kuwana 更將 dopamine、3,4-dihydroxybenzylamine 及 4-methylcatechol 等 catechol 類物質分別置於溶液中，做為測量 Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) 的電化學媒介⁶⁹，其中催化 NADH 的反應最佳的為 3,4-dihydroxybenzylamine，而 4-methylcatechol 的催化效果較差。

此外，在 1985 年，Carlson 與 Miller 探討 o-benzoquinone and p-benzoquinone 與 NADH 的反應機制⁷⁰，證明鄰位(ortho-)的電子傳遞速率是對位(para-)的一百倍，並且更進一步針對單電子轉移與雙電子轉移的速率做比較，證明兩個電子轉移(electron transfer)的電化學媒介其電子傳遞速率是一個電子的十萬倍。也因為如此，引發了往後許多研究團隊開始利用 catechol 的衍生物在電化學上的偵測，亦或是將 catechol 經過電化學氧化成 o-benzoquinone 後與親核性化合物反應情形的研究⁷¹⁻⁸⁴。

其中 D. Nematollahi 等人從 1997 年開始，發表了一系列以電化學氧化 catechol 或是 catechol 的衍生物為基礎，與各種不同分析物在電化學性質上的研究與探討⁷⁴⁻⁸⁴，希望能以電化學合成的方法，合成出新的衍生物。主要是利用 o-benzoquinone 結構本身具有一較缺電子的性質，所以溶液中如果存在親核性化合物時，則會在 catechol 氧化成 o-benzoquinone 時，進行親核性反應，反應如下圖 9

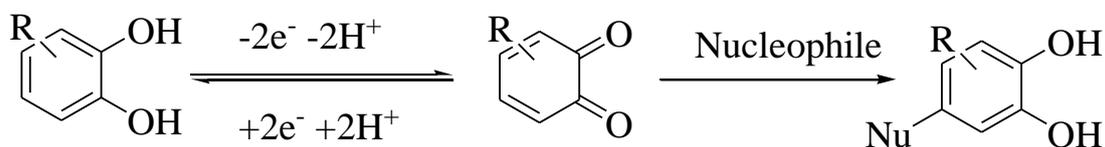


圖 9. Catechol 氧化成 o-benzoquinone 與 Nucleophile 反應機制

且此一氧化還原對又會因 catechol 苯環上的取代基不同而有所不同，若 catechol 本身苯環上的取代基就具有親核性時，如 dopamine，

則dopamine會在氧化成dopaminoquinone時，自行進行分子內的環化反應產生leucochrome，其反應如圖10⁷¹，因為leucodopaminochrome比dopamine更容易氧化，所以leucodopaminochrome/dopaminechrome的氧化還原電位相對於dopamine會出現在較負的電位。

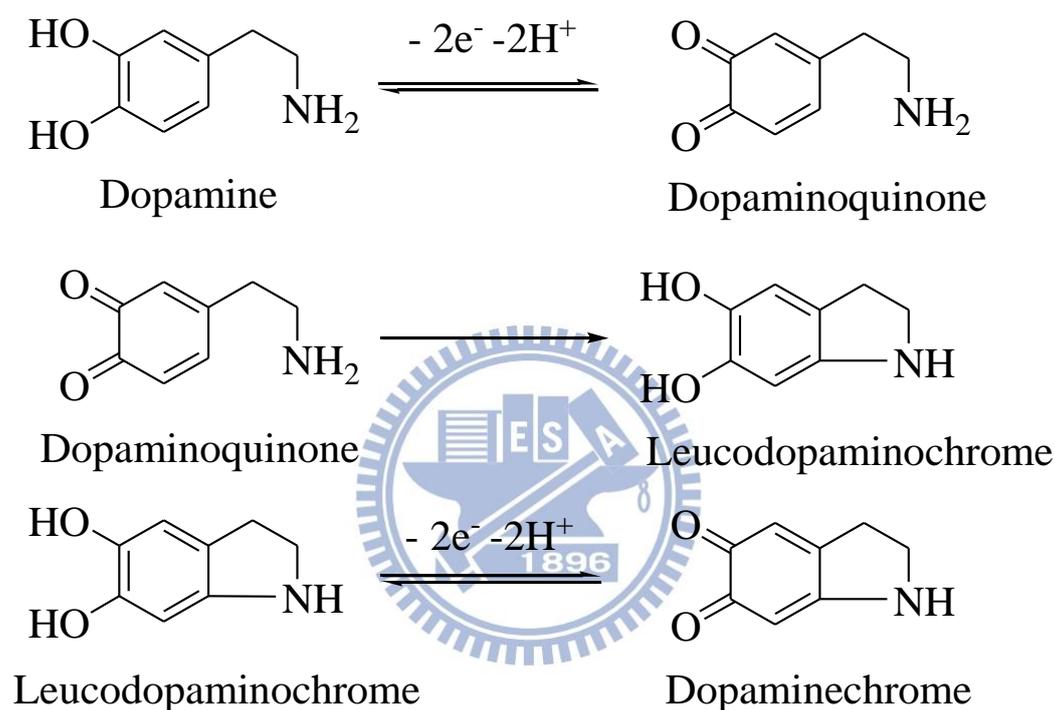


圖 10. Dopamine 的自身合環反應機制

第三章 實驗部分

3-1 儀器

1. 電化學分析儀：

(1) CHI 1205A (CH Instruments Inc. , USA)

(2) CHI660D (CH Instruments Inc. , USA)

2. 電極

(1) 工作電極(working electrode)：玻璃碳電極(Glassy carbon electrode) ，直徑為 3mm，面積為 0.0706cm^2 (Part No.CHI104) (CH Instruments Inc. , USA)

(2) 輔助電極(counter electrode)：鉑絲 (Pt wire)

(3) 參考電極(reference electrode)：銀-氯化銀電極(Ag/AgCl，3M KCl) (CH Instruments Inc. , USA)

3. pH 偵測儀(pH meter)：SP-2200 (Suntex, Taiwan)

4. 紫外光可見光光譜儀：U-3010 Spectrophotometer (Hitachi, Japan)

5. 真空泵浦：MOA-V112-AE (Gast, USA)

6. 浮子流量計：RMA-21-SSV (Dwyer, USA)

7. 氣體產生裝置(Kipp's gas generator)：(慶發玻璃儀器商行，Taiwan)

3-2 藥品

(1) Deionized water , purified from Milli-Q plus , (Millipore, USA)

- (2) Catechol , $C_6H_6O_2$, 99% (Alfa Aesar, USA)
- (3) Ethanethiol , C_2H_6S , 97% (Alfa Aesar, USA)
- (4) Potassium hydrogen phosphate , K_2HPO_4 , 99% (Showa, Japan)
- (5) Potassium dihydrogen phosphate , KH_2PO_4 , 99% (Showa, Japan)
- (6) Citric acid , anhydrous , $C_6H_8O_7$, 100% (J.T. Baker, USA)
- (7) Sodium hydrogen phosphate , Na_2HPO_4 , 99% (Showa, Japan)
- (8) Sodium carbonate , Na_2CO_3 , 99% (Showa, Japan)
- (9) Sodium hydrogen carbonate , $NaHCO_3$, 99% (Showa, Japan)
- (10) Sodium hydroxide , $NaOH$, 96% (Showa, Japan)
- (11) Hydrochloric acid , HCl , 1N (Scharlau, Spain)
- (12) Hydrochloric acid , HCl , 35% (Showa, Japan)
- (13) Nitric acid , HNO_3 , 16M (D=1.42 g/mL) (Showa, Japan)
- (14) n-butanol , C_4H_9OH , 99.9% (Echo, Taiwan)
- (15) N,N-dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride , $C_8H_{14}N_2Cl_2$, 99% (Sigma, USA)
- (16) Iron(III) chloride hexahydrate , $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 97%+ (Alfa Aesar, USA)
- (17) Dimethyl sulfide , C_2H_6S , 99% (Alfa Aesar, USA)
- (18) Styrene , C_8H_8 , 99% (Alfa Aesar, USA)

- (19)Iron(II) sulfide , FeS , tech. (Alfa Aesar, USA)
- (20)Mercury(II) acetate , C₄H₆O₄Hg , 98% (Alfa Aesar, USA)
- (21)Potassium nitrate , KNO₃ , 99.9% (Aldrich, USA)
- (22)Sodium sulfite, anhydrous , Na₂SO₃ , 98% (Alfa Aesar, USA)
- (23)Acetaldehyde , C₂H₄O , 99% (Alfa Aesar, USA)
- (24)Acetic acid (Glacial) , CH₃COOH , 99.7% (Showa, Japan)

3-3 溶液配製

(1) 緩衝溶液配製：

- a、Phosphate buffer solution (PBS)：秤取 17.42 g K₂HPO₄ 置於 500 mL 定量瓶中以去離子水稀釋至刻度，配成 0.2 M K₂HPO₄ 溶液；秤取 13.61 g KH₂PO₄ 置於 500 mL 定量瓶中以去離子水稀釋至刻度，配成 0.2 M KH₂PO₄ 溶液。再將 K₂HPO₄ 與 KH₂PO₄ 以一定比例混合成 pH 6.0、7.0、8.0 緩衝溶液。
- b、Citric acid + Na₂HPO₄ buffer solutions：秤取 9.60 g Citric acid 置於 500 mL 定量瓶中以去離子水稀釋至刻度，配成 0.1 M Citric acid 溶液；秤取 14.20 g Na₂HPO₄ 置於 500 mL 定量瓶中以去離子水稀釋至刻度，配成 0.2 M Na₂HPO₄

溶液。再將 Citric acid 與 Na_2HPO_4 以一定比例混合成 pH 3.0、4.0、5.0 緩衝溶液。

c、 $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$ buffer solutions：秤取 5.30 g Na_2CO_3 置於 500 mL 定量瓶中以去離子水稀釋至刻度，配成 0.1 M Na_2CO_3 溶液；秤取 4.20 g NaHCO_3 置於 500 mL 定量瓶中以去離子水稀釋至刻度，配成 0.1 M NaHCO_3 溶液。再將 Na_2CO_3 與 NaHCO_3 以一定比例混合配合 HCl 與 NaOH 調整至 pH 9.0、10.0、11.0 緩衝溶液。

(2) Catechol 溶液：秤取 0.011 g catechol 於 10 mL 定量瓶中並以 0.1 M PBS (pH=7) 稀釋至刻度，配成 10 mM catechol 溶液，置於深色瓶中，依需求稀釋至各濃度，溶液擺放時間過久可能產生變質，所以每次測量皆須重新配製 catechol 溶液。

(3) 乙硫醇樣品溶液：取 10 μl 97% 乙硫醇加入 10 mL 定量瓶中並以丁醇稀釋至刻度，配成 13 mM 乙硫醇標準溶液，依需求稀釋至各濃度，避免乙硫醇樣品濃度因揮發產生改變，所以每次測量皆須重新配製乙硫醇樣品溶液。

(4) 醋酸汞吸收液：取 25 g 醋酸汞溶於 200 mL 的水中，加 12.5 mL 冰醋酸後，加水稀釋至 500 mL，使溶液醋酸汞濃度為 5 g/100 mL。

- (5) 氯化鐵溶液：取 19.6 g 氯化鐵結晶($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)溶於 250 mL 水中，加入濃硝酸(比重 1.42)18 mL，加水稀釋至 500 mL。
- (6) N,N-二甲基對苯二胺溶液：取 2.5 g N,N-二甲基對苯二胺溶於 500 mL 濃鹽酸(35% w/w)中，並須存於褐色瓶中，有效期間為 6 個月，若冷藏則可延長期限。
- (7) UV-vis 顯色液：檢測前，將 N,N-二甲基對苯二胺溶液與氯化鐵溶液以體積比 3:1 混合。
- (8) 硝酸鉀樣品溶液：秤取 0.0404 g 硝酸鉀於 10 mL 定量瓶中並加水稀釋至刻度，配成 40 mM 硝酸鉀樣品溶液。
- (9) 亞硫酸鈉樣品溶液：秤取 0.0504 g 亞硫酸鈉於 10 mL 定量瓶中並加水稀釋至刻度，配成 40 mM 亞硫酸鈉樣品溶液。
- (10) 苯乙烯樣品溶液：取 46 μl 99% 苯乙烯加入 10 mL 定量瓶中並以丁醇稀釋至刻度，配成 40 mM 苯乙烯樣品溶液。
- (11) 乙醛樣品溶液：取 22 μl 99% 乙醛加入 10 mL 定量瓶中並加水稀釋至刻度，配成 40 mM 乙醛樣品溶液。
- (12) 甲硫醚樣品溶液：取 32 μl 99% 甲硫醚加入 10 mL 定量瓶中並以丁醇稀釋至刻度，配成 40 mM 甲硫醚樣品溶液。
- (13) 硫化氫樣品溶液：利用啟普氣體產生裝置(Kipp's gas generator)製備硫化氫氣體。啟普氣體產生裝置主要由幾個部分所構成，

分別是球型漏斗(A)、葫蘆型容器(B)、薊頭漏斗(C)、導氣管(D)(有控制閥可控制開關)所組成，如圖 11 所示，製備步驟

為：

1. 將裝置橫放，取塊狀硫化亞鐵(FeS)從導氣管(D)置入於容器中間部分後，擺正裝置，插緊導氣管
2. 由上方漏斗(C)加入稀鹽酸至容器底部，在上升至容器(B)中間部分與硫化亞鐵反應產生硫化氫氣體
3. 氣體經導氣管放出，尾端以氫氧化鈉溶液收集
4. 收集結束後，導氣管口有控制閥控制反應進行。將導氣管關上，使容器中部壓力增大，把鹽酸壓回容器底部直至不與硫化亞鐵接觸為止，此時反應停止。

反應所得硫化氫濃度可以劑量換算，取 0.35 g 硫化亞鐵，加入過量的 1N 鹽酸反應，其反應方程式如下：

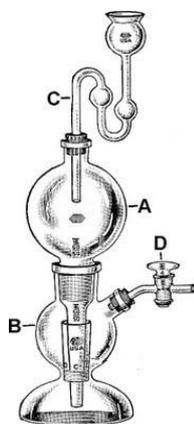
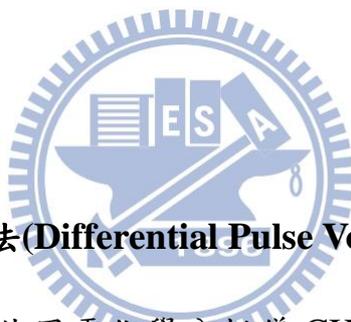


圖 11. 硫化氫製備裝置(Kipp's gas generator)

3-4 Catechol 與乙硫醇偵測的實驗流程

3-4-1 循環伏安法(Cyclic Voltammetry, CV)

循環伏安法是使用電化學分析儀 CHI 1205A，進行每次實驗前，需先將玻璃碳電極以去離子水清洗，並在研磨布上以 0.05 μm Alumina powder 以 8 字型研磨 1 分鐘後，再以超音波震盪除去殘留在電極表面的 Alumina powder 並用去離子水清洗，之後與 Ag/AgCl 參考電極及白金絲輔助電極共同置放 0.1 M 10 mL PBS (pH= 7) 中，按檢測需求加入特定濃度的 catechol 於溶液中，之後加入不同濃度的乙硫醇樣品溶液進行 CV 偵測。



3-4-2 差式脈衝伏安法(Differential Pulse Voltammetry, DPV)

差式脈衝伏安法是使用電化學分析儀 CHI660D，進行每次實驗前，需先將玻璃碳電極以去離子水清洗，並在研磨布上以 0.05 μm Alumina powder 以 8 字型研磨 30s 後，再以超音波震盪除去殘留在電極表面的 Alumina powder 並用去離子水清洗，之後與 Ag/AgCl 參考電極及白金絲輔助電極共同置放於 0.1 M 10 mL PBS (pH= 7) 中，按檢測需求加入特定濃度的 catechol 於溶液中，以 DPV 掃描至電流訊號穩定之後，再加入不同濃度的乙硫醇樣品溶液，攪拌 10 秒均勻混合後進行偵測。DPV 掃描電位範圍為 -0.20 至 0.60 V；脈波振幅為 50 mV；脈波寬度

為 30 ms，脈波週期為 0.1 s。

3-5 干擾物測試

分別取 0.1 M 10 mL PBS (pH= 7)含有 100 μ M catechol 溶液，以 DPV 掃描至電流訊號穩定之後，在不同實驗中分別加入已配製好的含甲硫醚、硫化氫、乙醛、苯乙烯、亞硫酸鈉，硝酸鉀樣品溶液 50 μ l，使溶液中干擾物濃度為 200 μ M並攪拌 10 秒均勻混合後進行偵測。

DPV 掃描電位範圍為-0.20 至 0.60 V；脈波振幅為 50 mV；脈波寬度為 30 ms，脈波週期為 0.1 s。



3-6 氣態樣品偵測

以 25 μ M 10 mL catechol 分別加入不同濃度的乙硫醇樣品溶液，用 DPV 電化學方法進行偵測，並以乙硫醇濃度對氧化電流訊號製作檢量線。接著在一密閉空間中，置入 100 μ l 乙硫醇標準液，並將氣體吸收瓶裝入 10 mL 丁醇吸收液後，串聯於真空泵浦同樣置於密閉空間中，如圖 12 (a)所示，抽氣速率為 2 L/min，採樣時間分別為 5 min、20 min、50 min。待氣體樣品之吸收完成後，取出 100 μ l 吸收液加入到 25 μ M 10 mL catechol 中，進行 DPV 偵測，所得之氣態樣品溶液訊號，可由檢量線換算求出氣態樣品中所含乙硫醇之濃度。

3-7 乙硫醇標準方法檢測 (NIEA A703.71C)⁶⁵

量取 770 μl 130 mM 乙硫醇溶於 100 mL 醋酸汞溶液中做為標準液 (本標準液 1 mL 相當於 NTP(Normal Temperature and Pressure)狀態下之乙硫醇氣體 24.5 μL)，接著取出乙硫醇標準液 0.0、5.0、10.0、15.0 及 20.0 mL，分別置於 25 mL 量瓶中，個別加入 2 mL 顯色液並以醋酸汞吸收液至刻度，搖動混合均勻後，放置 30 分鐘，以 UV-Vis 測其吸收度，偵測波長為 505 nm。測定吸收度所用之空白溶液則取 2 mL 顯色液加醋酸汞吸收液至量瓶刻度，依乙硫醇濃度與吸收度製作檢量線。接著在一密閉空間中，置入乙硫醇氣體樣品，將兩個氣體吸收瓶各裝入 20 mL 醋酸汞吸收液後，串聯於真空泵浦同樣置於密閉空間中，如圖 12 (b)所示，抽氣速率為 2 L/min，採樣時間為 20 min，待氣體樣品之吸收完成後，將二瓶 40 mL 之樣品吸收液移入 50 mL 量瓶內，再用醋酸汞吸收液淋洗吸收瓶，將淋洗液併入量瓶內，並以醋酸汞吸收液稀釋至刻度，接著量取 5 mL 之樣品溶液於 25 mL 量瓶內，加 2 mL 顯色液後並以醋酸汞吸收液稀釋至刻度，搖動混合均勻後，放置 30 分鐘，以 UV-Vis 測其吸收度，偵測波長為 505 nm。所得之樣品溶液吸收度，可由檢量線求出氣體樣品中所含硫醇之濃度。

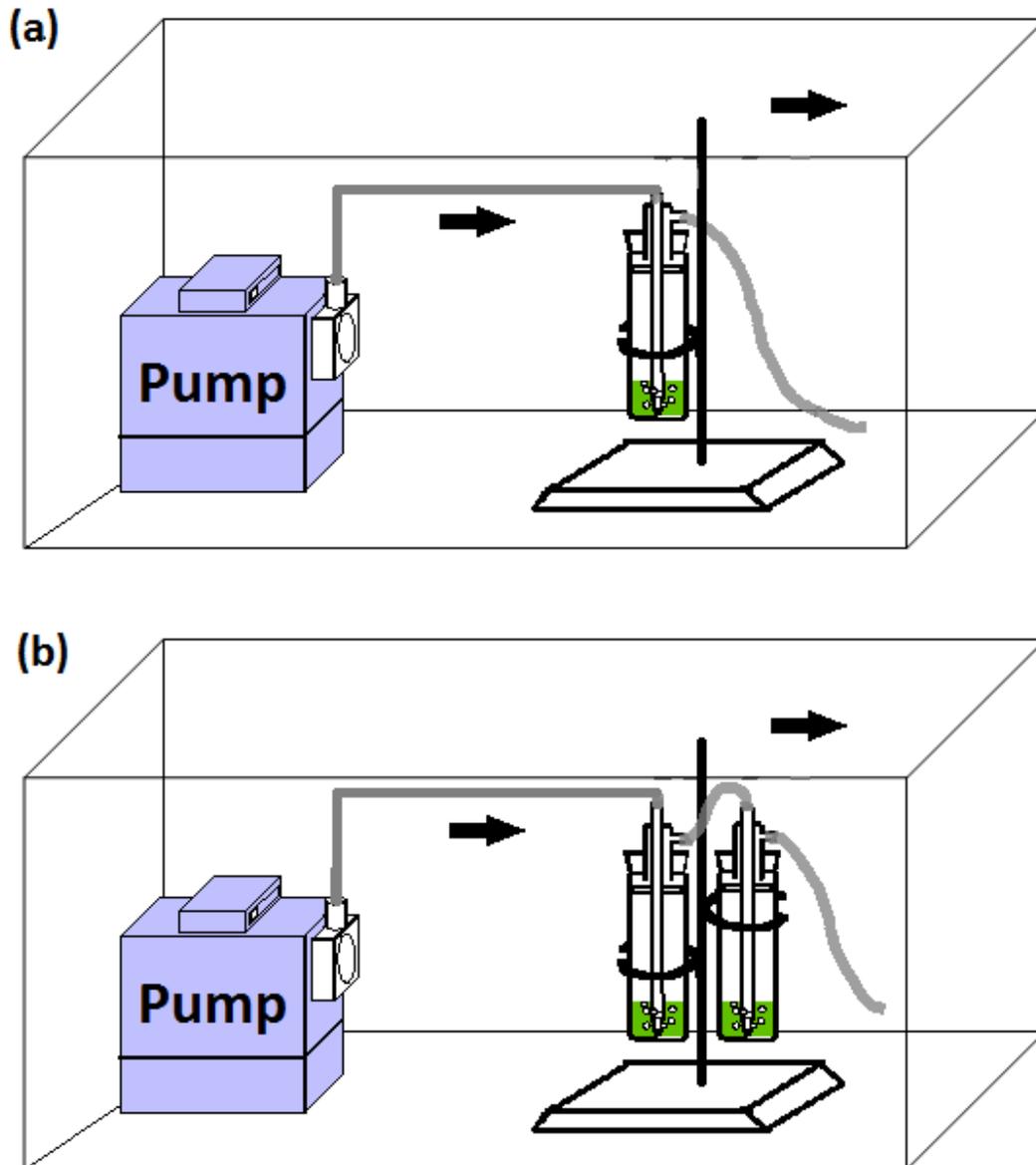


圖 12. 環境中乙硫醇採樣裝置示意圖
 (a)利用電化學方法偵測環境中乙硫醇之採樣裝置圖 (b)乙硫醇標準方法(NIEA A703.71C)檢測環境中乙流醇之採樣裝置圖

第四章 結果與討論

4-1 Catechol 與乙硫醇(ethanethiol)的電化學性質

圖 13 是 200 μM catechol 在 0.1 M PBS (pH= 7) 溶液以掃描速率 20 mV/s 所獲得的循環伏安圖(Cyclic Voltammetry, CV)，圖中(a)加入 1 mM 乙硫醇，(b)未加入乙硫醇，(c)與(d)則分別是 1 mM 乙硫醇與 0.1 M PBS 溶液不含 catechol 在 -0.2 V 到 0.8 V 此掃描範圍內的 CV 圖。從圖中可以看出，若沒有 catechol 作為電化學媒介(mediator)的話，其施加電位必須大於 +0.7 V 才能使乙硫醇氧化，如此過高的氧化電位導致乙硫醇在電化學分析上受到許多限制。

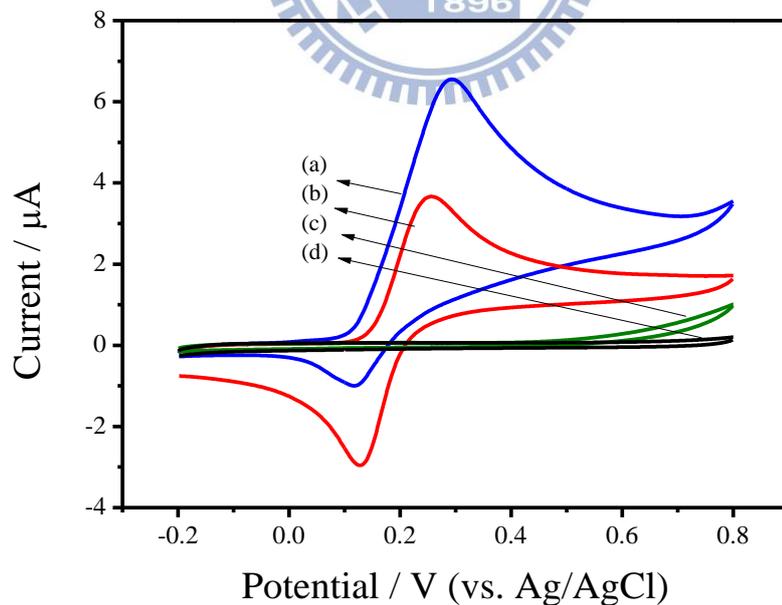


圖 13. Catechol 與乙硫醇的循環伏安圖
(a) 200 μM catechol + 1 mM 乙硫醇 (b) 200 μM catechol (c) 1mM 乙硫醇 (d) 0.1 M PBS。0.1 M PBS (pH= 7)；掃描範圍：-0.2 V~0.8 V；掃描速率：20 mV/s

在溶液 pH=7 的條件下，catechol / *o*-benzoquinone 的氧化還原電位分別為 $E_{pa} = 0.256 \text{ V}$, $E_{pc} = 0.128 \text{ V}$ ，是一個近乎可逆(quasi-reversible)的氧化還原反應($I_{pc}/I_{pa} = 0.8$)。catechol 的電化學氧化還原反應⁶⁸如圖 14 所示：

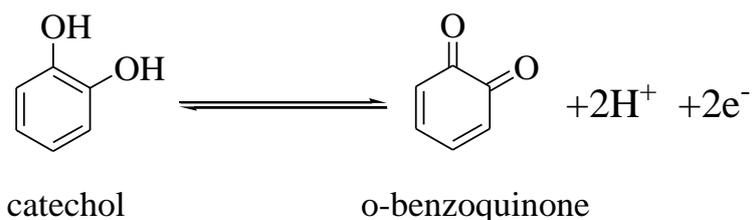


圖 14. Catechol / *o*-benzoquinone 的氧化還原反應機制

當溶液中加入乙硫醇此類具有親核性性質的分析時，可以發現其氧化電位從 0.256 V 往正電位方向偏移至 0.293 V，氧化電流也增加了約 78% 之多，而還原電流則是會減少，甚至在加入過量的乙硫醇時，還原電位會消失，catechol 與乙硫醇可能的反應機制⁷³如圖 15 所示：

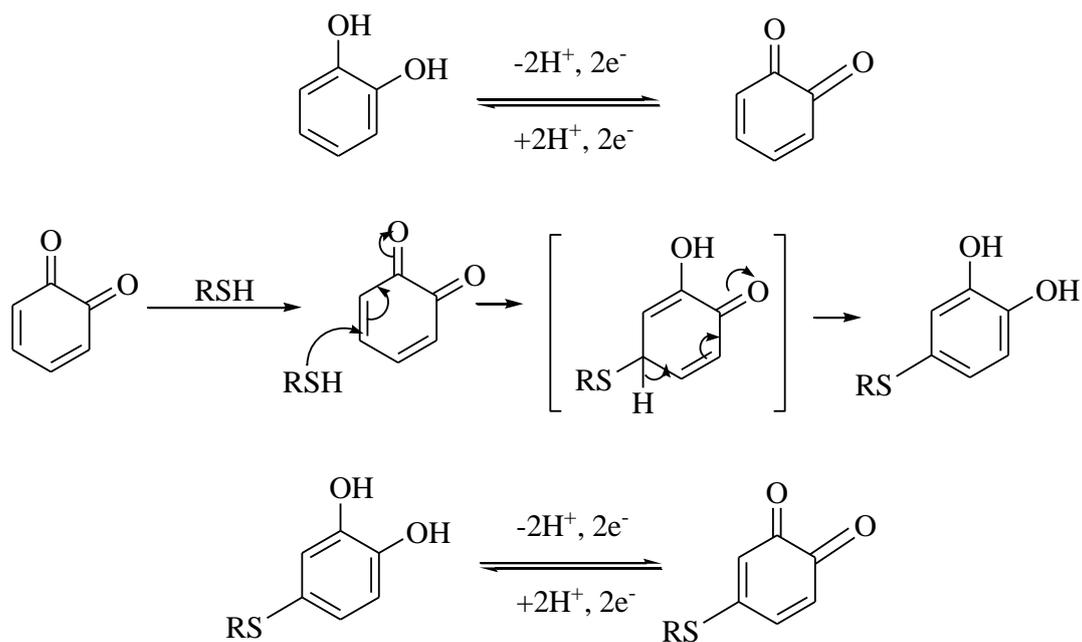


圖 15. Catechol 與乙硫醇的反應機制

Catechol 經由電化學方式氧化形成 *o*-benzoquinone 後，會與溶液中的乙硫醇發生 Michael addition reaction 而生成 ethanethiol-catechol adduct，藉由 adduct 的再氧化使得電流訊號增加⁵⁸。而造成氧化電位往正電位方向偏移的最主要原因是由於反應所生成的 ethanethiol-catechol adduct 會在電極表面形成薄膜而毒化電極⁷⁸，導致氧化電位會往正電位的方向偏移，由於乙硫醇與 *o*-benzoquinone 的反應機制為不可逆，所以原本 catechol / *o*-benzoquinone 的還原電流訊號會因為溶液中的 *o*-benzoquinone 與乙硫醇反應消耗而造成還原電流下降，甚至消失不見⁷⁹。

另外，在尚未添加乙硫醇前，若將含有 catechol 的溶液進行多次 CV 掃描之後，除了原本 catechol 的氧化波峰(A_0)與相對應的還原波峰(C_0)之外，則會發現約 0.06 V 左右出現一個新的氧化波峰(A_1)，如圖 16，根據先前文獻⁷⁹中有指出，這是 catechol 自身發生聚合而形成的聚合物，所產生的氧化波峰，其反應機制如圖 17 所示。

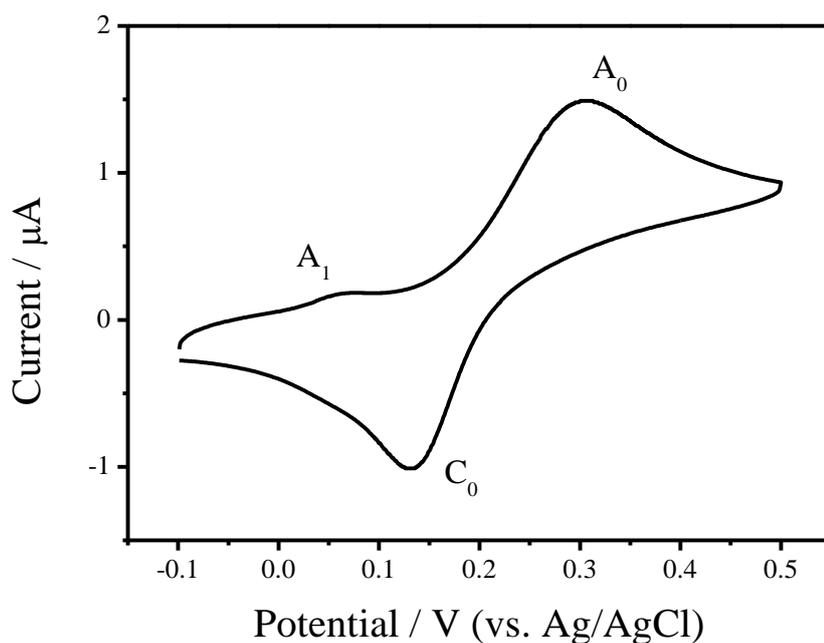


圖 16. Catechol 多次掃描的 CV 圖
 0.1 M PBS (pH= 7)；掃描範圍：-0.1 V~0.5 V，掃描速率：50 mV/s，
 掃描圈數：20 圈

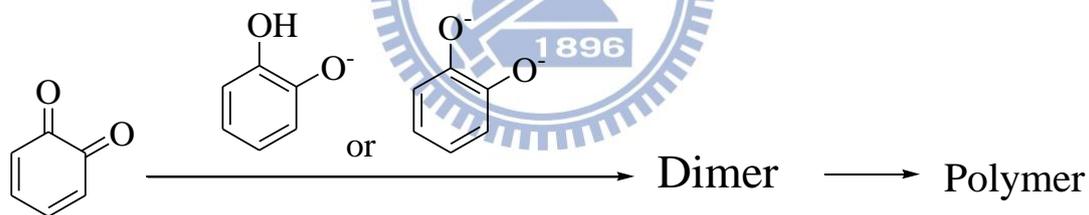


圖 17. Catechol 自身聚合反應機制

Catechol 自身聚合的反應亦受到溶液中 pH 值的影響，溶液在中性或者酸性的條件下，自身聚合反應相當的緩慢；但當在鹼性環境中，catechol 苯環上的兩個羥基(-OH)會因為酸解離而形成帶一個負電或兩個負電的形式(anionic form)，使得 catechol 更加容易發生自身聚合反應。

乙硫醇在水中的溶解度並不好，只有 0.68 mg/mL^{85} ，所以在配製乙硫醇的溶劑選擇上，改以有機溶劑做為配製乙硫醇的溶劑，所以本研究中選用了相對較不具毒性的醇類做為溶劑，又因為乙醇沸點過低，所以改以丁醇做為溶劑進行測試，從圖 18 中，分別加入與未加入丁醇做比較，可以看出丁醇並不會對氧化電流訊號造成影響，而以丁醇做為溶劑的乙硫醇卻可以導致 catechol 的氧化電流增加，所以最後使用丁醇做為配製乙硫醇的溶劑。

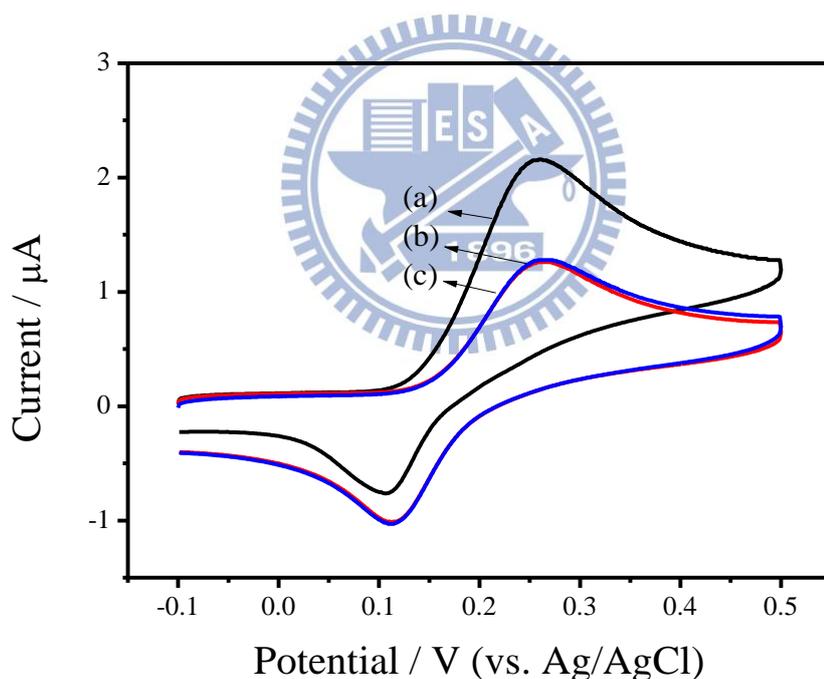


圖 18. Catechol 與乙硫醇、丁醇的循環伏安圖
(a) $50 \mu\text{M}$ 乙硫醇 (b) $50 \mu\text{M}$ catechol (c) $50 \mu\text{l}$ 99.9% 丁醇。0.1 M PBS (pH= 7)；掃描範圍：-0.1 V~0.5 V；掃描速率：50 mV/s

對於乙硫醇的電化學方法偵測而言，乙硫醇與 *o*-benzoquinone 反應產生 ethanethiol-catechol adduct，而在電極表面形成薄膜而使電極毒化，導致氧化電位會往正電位的方向偏移，造成我們在使用固定電位安培偵測法(Amperometry i-t curve)進行定量分析上的困難，在其他的電化學方法中，差式脈衝伏安法(Differential Pulse Voltammetry, DPV) 具有降低背景訊號的干擾、增加訊號對雜訊的比值(S/N ratio) 進而使靈敏度提高的優點，所以本研究中對於乙硫醇的電化學分析方法改採用 DPV 來進行定量分析。

在 DPV 電化學偵測中，我們觀察到與 CV 不一樣的現象，當溶液僅含有 catechol 時，可以在 0.267 V 得到 catechol 的氧化波峰訊號(A_0)，再加入乙硫醇後，並沒有像 CV 圖中造成 catechol 的氧化電流訊號(A_0) 增加，而是在 0.11 V 觀察到一個新的氧化波峰(A_2)，如圖 19 所示，此氧化波峰來源應是乙硫醇與 *o*-benzoquinone 進行 Michael addition reaction 所產生新產物的氧化訊號⁸⁶，因為 ethanethiol-catechol adduct 苯環上的 C₄- position 多了一個硫烷基(-SR)，使推電子性質增加，所以在 adduct 上的兩個羥基相較於 catechol 更容易被氧化，所以可以在較負電位的地方觀察到新的氧化波峰，且隨著乙硫醇濃度的增加，其氧化電流也會呈線性上升的趨勢。

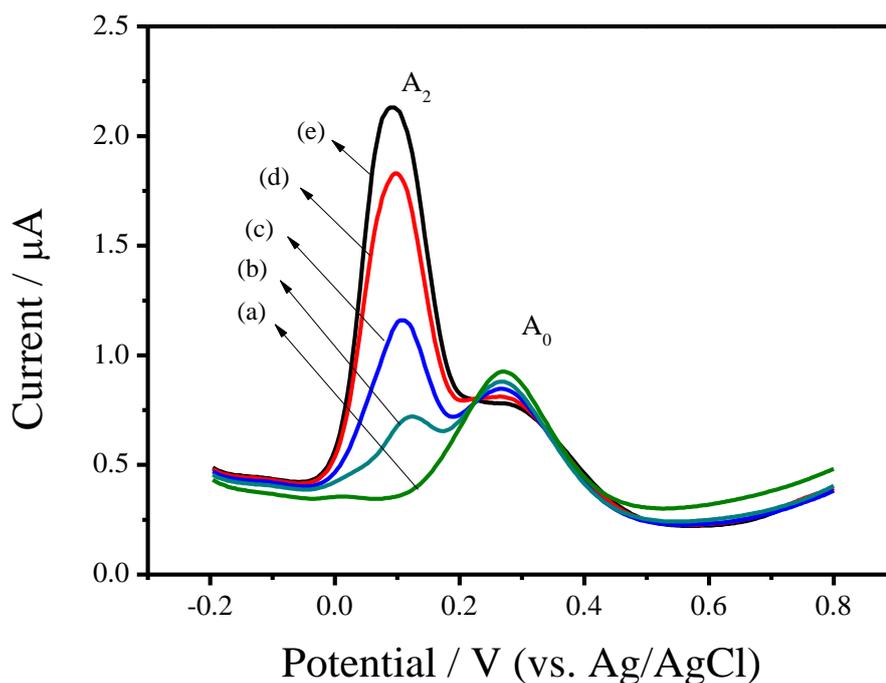


圖 19. 25 μ M Catechol 添加各濃度乙硫醇的 DPV 圖

(a) 未加入乙硫醇 (b) 2.6 μ M 乙硫醇 (c) 6.5 μ M 乙硫醇 (d) 13 μ M 乙硫醇 (e) 19.5 μ M 乙硫醇。0.1 M PBS (pH= 7); DPV 參數: E_i : -0.2 V, E_f : 0.8 V, Pulse Amplitude: 50 mV, Pulse width: 30 ms, Pulse period: 0.1 s

4-2 電化學反應類型的探討

接著我們藉由改變 CV 中的掃描速率，來觀察添加乙硫醇後的氧化電流(A_0)與掃描速率的關係，進一步研究 catechol 氧化形成 *o*-benzoquinone 與乙硫醇在電極表面的反應情形，如果分析物在電極表面的反應機制為擴散控制(diffusion-controlled)的話，則該反應的氧化波峰電流可以由 Randles-Sevcik 理論方程式⁸⁷計算，方程式可表示為式 2：

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{\frac{3}{2}} C_0 A D^{\frac{1}{2}} v^{\frac{1}{2}} \quad (\text{式 2})$$

其中 i_p 為波峰電流； n 為電子轉移數； C_0 為分析物濃度； A 為電極表面積； D 為分析物擴散係數； v 為掃描速率。若分析物在電極表面的反應機制為吸附控制(adsorption-controlled)，則波峰電流將可表示為式 3：

$$i_p = \frac{n^2 F^2}{4RT} v A \tau_0^* \quad (\text{式 3})$$

其中 F 為法拉第常數(Faraday constant)：96500 Cmol⁻¹； R 為氣體常數：8.314 Jmol⁻¹k⁻¹； T 為絕對溫度； τ_0^* 為吸附量：mole cm⁻²。所以當波峰電流與掃描速率的平方根成正比時，即表示電極表面的反應機制為擴散控制之電化學反應；若兩者成一次方線性關係則為吸附控制之電化學反應⁸⁸。

圖 20 是在 pH=7 的環境下，於 catechol 添加相同濃度乙硫醇，改變不同的掃描速率，由 -0.2 V 掃描至 +0.8 V 的 CV 圖，可以觀察到乙硫醇與 *o*-benzoquinone 反應後，僅剩下 A₀ 的氧化波峰訊號，原本 *o*-benzoquinone 還原波峰訊號(C₀)則幾乎消失不見，隨著掃描速率從 10 mV/s 依序增加至 400 mV/s，其氧化電流亦隨之增加，接著以氧化波峰電流(I_{A0})對掃描速率作圖，見圖 21，從結果可以得知從 10 mV/s 到 400 mV/s 的條件下，氧化波峰的電流值與掃描速率的平方根呈一個線性關係，這表示 *o*-benzoquinone 與乙硫醇的電化學反應是以擴散控制的方式被電極所偵測。

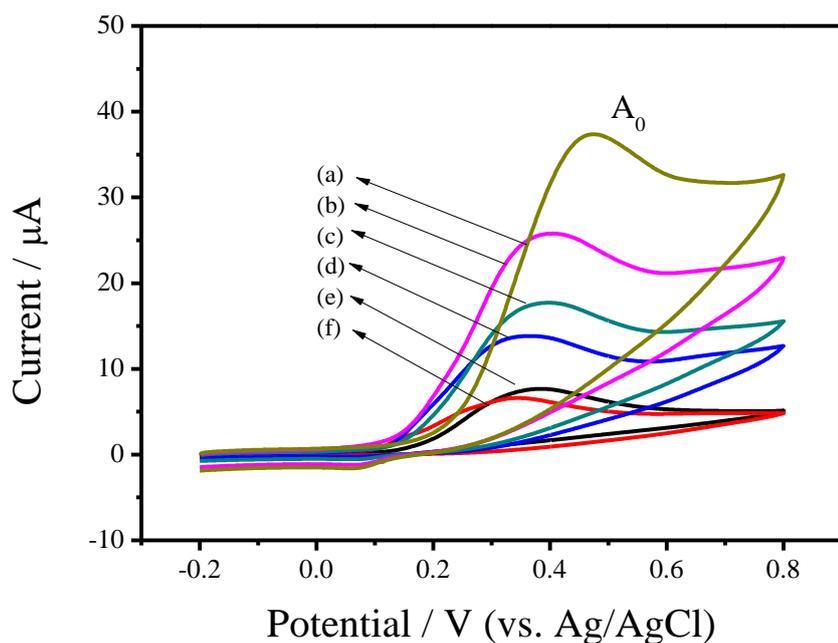


圖 20. 200 μM Catechol 添加同濃度乙醇以不同速率掃描 CV 圖 (a) 400 mV/s (b) 200 mV/s (c) 100 mV/s (d) 50 mV/s (e) 20 mV/s (f) 10 mV/s。0.1 M PBS (pH= 7)；掃描範圍：-0.2 V~0.8 V

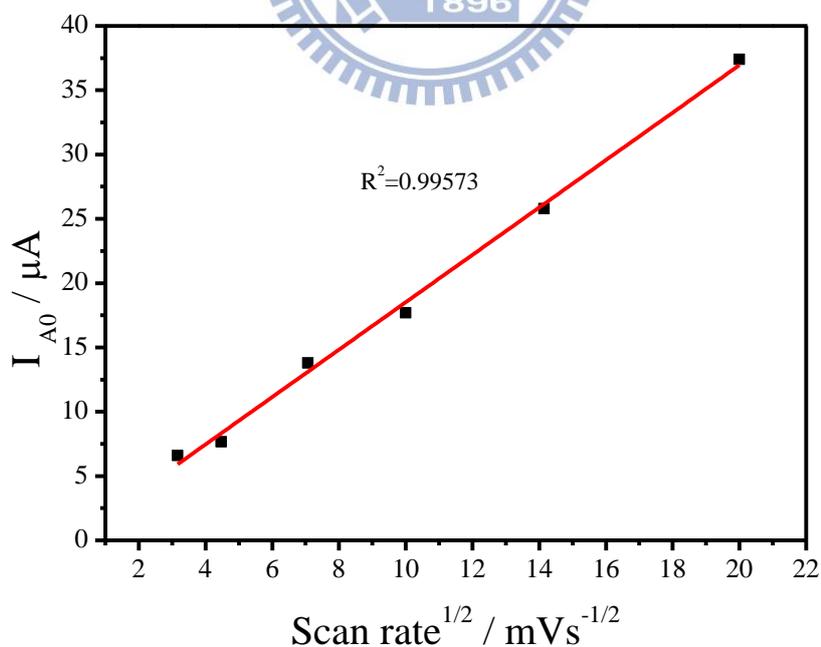


圖 21. 氧化波峰電流(I_{A_0})對掃描速率的平方根關係圖

4-3 差式脈衝伏安法(DPV)參數對偵測的影響

使用 DPV 電化學分析方法偵測乙硫醇，其氧化電流訊號會受到幾項施加脈衝條件影響，如：脈衝振幅(Pulse amplitude, A)、脈衝寬度(Pulse width, P)、脈衝週期(Pulse period, T)

圖 22-24 是 catechol 在 DPV 電化學方法中改變脈衝振幅(Pulse amplitude, A)、脈衝寬度(Pulse width, P)、脈衝週期(Pulse period, T)的比較圖。

從圖 22 可以看出，當脈衝振幅依序從 10 mV、30 mV、50 mV、80 mV 增加到 100 mV 時，可以得到相對較強的電流訊號，並且並不會對乙硫醇的氧化波峰電位造成偏移的影響，但當施加 100 mV 的脈衝振幅時，catechol 與乙硫醇氧的氧化電位，幾乎重疊在一起，另一方面也考慮到增加脈衝振幅其所產生的背景電流也會同時增大的因素，最後選擇 50 mV 為乙硫醇的偵測條件。

在圖 23 中，當我們改變施加脈衝的寬度從 30 ms、50 ms 到 100 ms 時，可以觀察到，隨著脈衝寬度的增加，所得到的電流訊號會逐漸下降，且乙硫醇氧化電流的增加幅度也有稍微下降，這可能是因為 DPV 的原理是利用瞬間施加一脈衝電位後，法拉第電流(Faraday's current, I_f)以及充電電流(Charging current, I_c)都會急遽上升，接著兩者都會隨著時間的增加而降低，其中充電電流衰減的速度遠快於法拉第電流。

因此，當脈衝快結束前 16.7 ms (i_{S2}) 充電電流已經下降的非常低，而且此時所測得的充電電流與施加脈衝前 16.7 ms (i_{S1}) 幾乎相同，故將兩者相減後所得的 Δi 中幾乎完全是由分析物進行電化學反應所產生的法拉第電流訊號。所以當施加脈衝寬度越小時，其訊號可能也會比較強，相對的其背景訊號亦會增強，由於實驗中所產生之背景訊號沒有很高，所以我們選用可獲得較高電流訊號的 30 ms 為 DPV 實驗的條件。

而圖 24 中，分別是施加的脈衝週期為 0.1 s、0.2 s、0.5 s，可以發現隨著週期的改變，對於乙硫醇的氧化電流訊號，沒有顯著的影響，由於施加脈衝週期影響著掃描時間的長短，在此，我們選擇脈衝週期為 0.1 s 做為 DPV 實驗的條件。

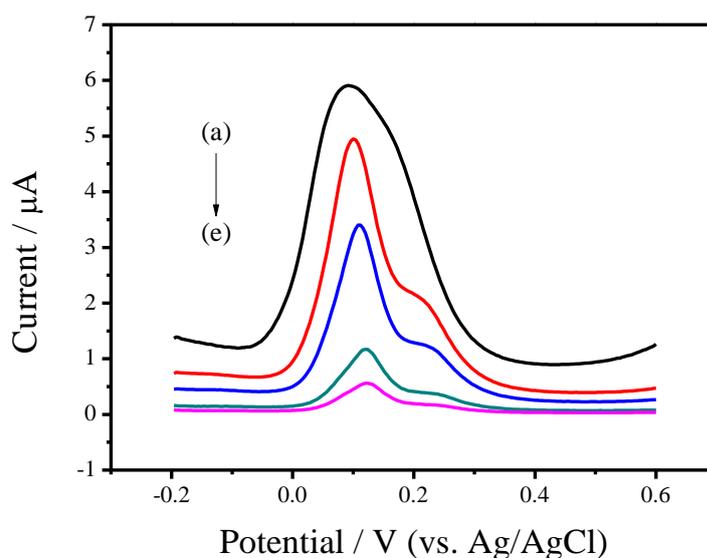


圖 22. 分別施加不同脈衝振幅的 DPV 圖
(a)100mV(b) 80mV (c) 50mV (d) 30mV (e) 10mV。0.1M PBS (pH= 7)；
 E_i ：-0.2V， E_f ：0.6V，脈衝週期：0.1s，脈衝寬度：30ms

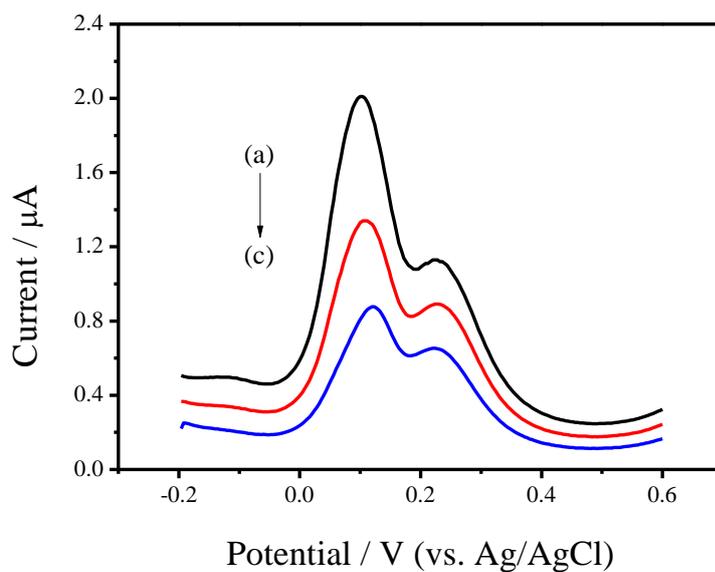


圖 23. 分別施加不同脈衝寬度的 DPV 圖

(a) 30 ms (b) 50 ms (c) 100 ms。0.1 M PBS (pH= 7) ; E_i : -0.2 V , E_f : 0.6 V , 脈衝振幅 : 50 mV , 脈衝週期 : 0.2 s

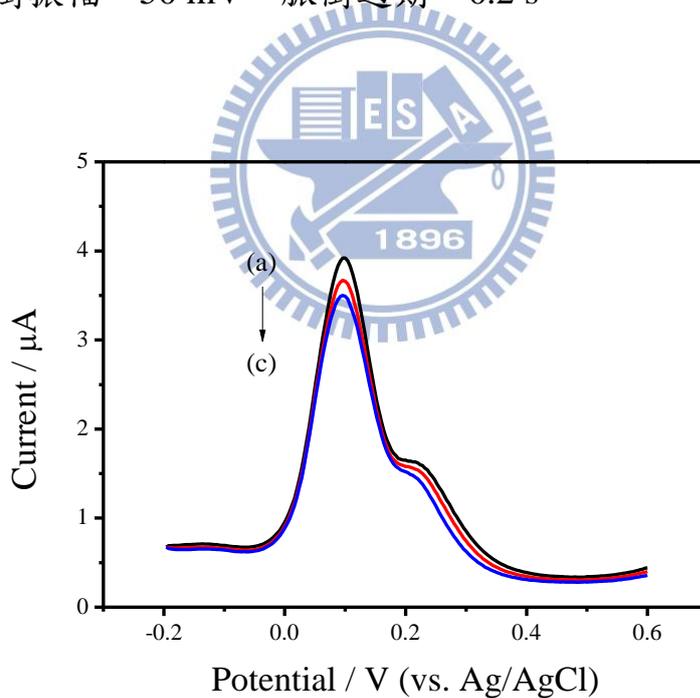


圖 24. 分別施加不同脈衝週期的 DPV 圖

(a) 0.1 s (b) 0.2 s (c) 0.5 s。0.1 M PBS (pH= 7) ; E_i : -0.2 V , E_f : 0.6 V , 脈衝振幅 : 50 mV , 脈衝寬度 : 30 ms

4-4 溶液 pH 值的影響

Catechol 氧化成 *o*-benzoquinone 的反應中，牽涉到失去 2 個 H^+ ，在對於有 H^+ 參與的電化學反應來說，緩衝溶液的 pH 值影響是非常重要的因素。根據勒沙特列原理(Le Chatelier's principle)可以知道，當 pH 值增加時(H^+ 濃度減少)，將有利於反應朝向氧化方向進行，因此偵測 catechol 所需之氧化電位便會降低；反之，若當 pH 值降低時(H^+ 濃度增加)，則反應會傾向於還原反應的方向進行，則偵測 catechol 所需之氧化電位便會增加。

圖 25 是 catechol 溶液在 pH 3-11 的 DPV 圖，其中 pH 3-6 是由 citric acid 與 Na_2HPO_4 調配而成，pH 7-8 則是以 PBS 配製，而 pH 9~11 是以 Na_2CO_3 與 $NaHCO_3$ 調配而成，從圖中可以觀察到，隨著溶液中的 pH 增加，catechol 的氧化電位也隨之往較負電位偏移，此現象除了勒沙特列原理之外，也可以利用能斯特方程式(Nernst equation)加以解釋，從 catechol 的半反應式中失去兩個電子和兩個氫離子來看，其能斯特方程式可以表示為式 4：

$$E = E^0 - \frac{0.0592}{2} \log \frac{[catechol_{red}]}{[catechol_{ox}][H^+]^2} \quad (\text{式 4})$$

將 E^0 與 $[catechol_{red}]$ 、 $[catechol_{ox}]$ 合併成一常數項 C ，則可表示為式 5：

$$E = C - 0.0592 \times pH \quad (\text{式 5})$$

因此若將 catechol 的氧化電位(E)對 pH 值做圖，則理論上可得一條斜率為-0.0592 的線性關係，所以當我們改變緩衝溶液的 pH 值來對 catechol 的氧化電位作圖(圖 26)，可以得到一斜率為-0.0719 的線性關係，表示 catechol 的氧化電位會隨著 pH 增加而往負電位偏移的關係。

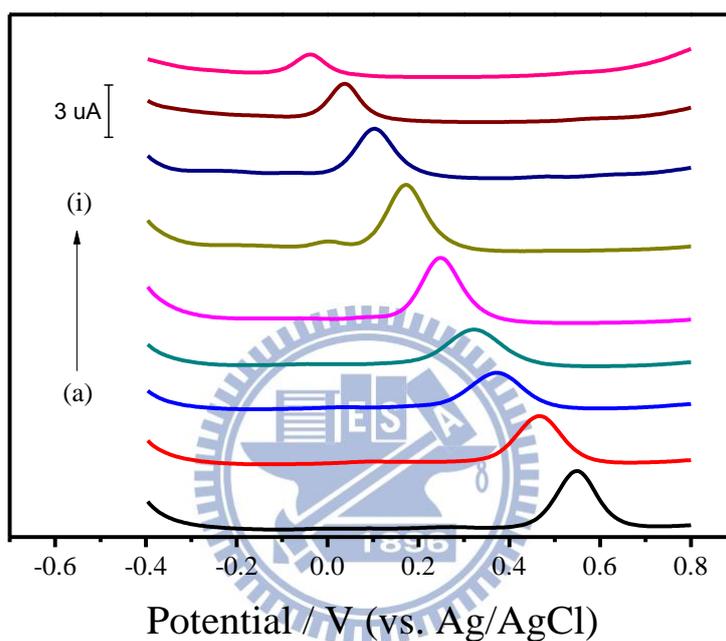


圖 25. 200 μ M catechol 在不同 pH 值下的 DPV 圖
(a) pH 3 (b) pH 4 (c) pH 5 (d) pH 6 (e) pH 7 (f) pH 8 (g) pH 9 (h) pH 10
(i) pH 11。0.1M PBS (pH=7)；DPV 參數同圖 19

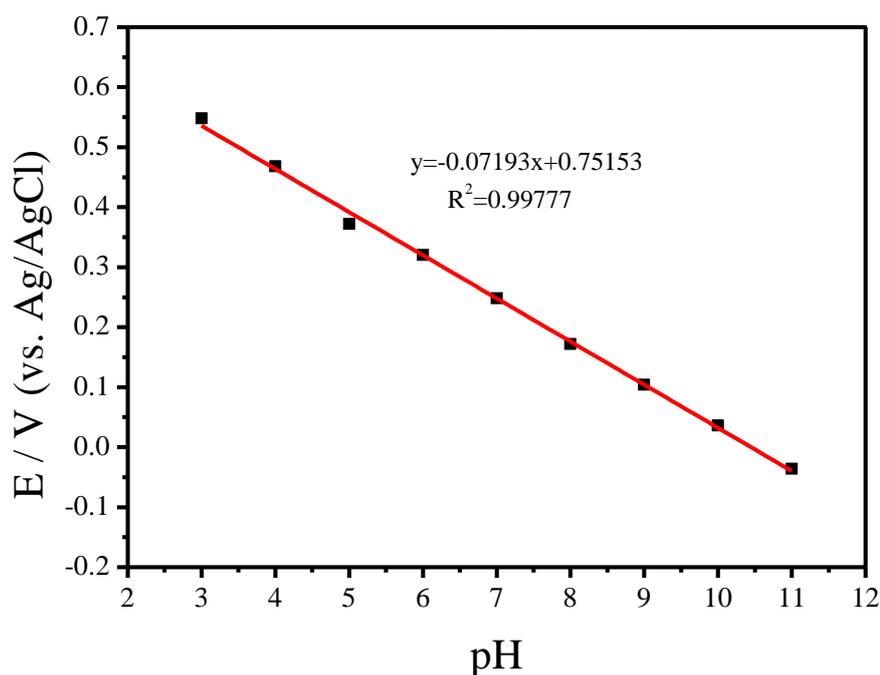


圖 26. Catechol 氧化電流訊號對不同 pH 值關係圖

接著我們在不同的 pH 環境下加入乙硫醇來觀察 *o*-benzoquinone 與乙硫醇的反應情形，圖 27 是在 pH 3-11 200 μ M catechol 加入相同濃度乙硫醇的 DPV 圖，在 pH > 9 之後，可以看到加入乙硫醇並無法得到氧化電流訊號的增加，原因可能是 catechol 的 pKa= 9.5，當環境 pH 值大於 9.5 時，會使溶液中大部分 catechol 轉換成帶負電的型式，如圖 28 所示，使得 catechol 發生自身聚合反應，導致乙硫醇無法與 *o*-benzoquinone 進行 Michael addition reaction。

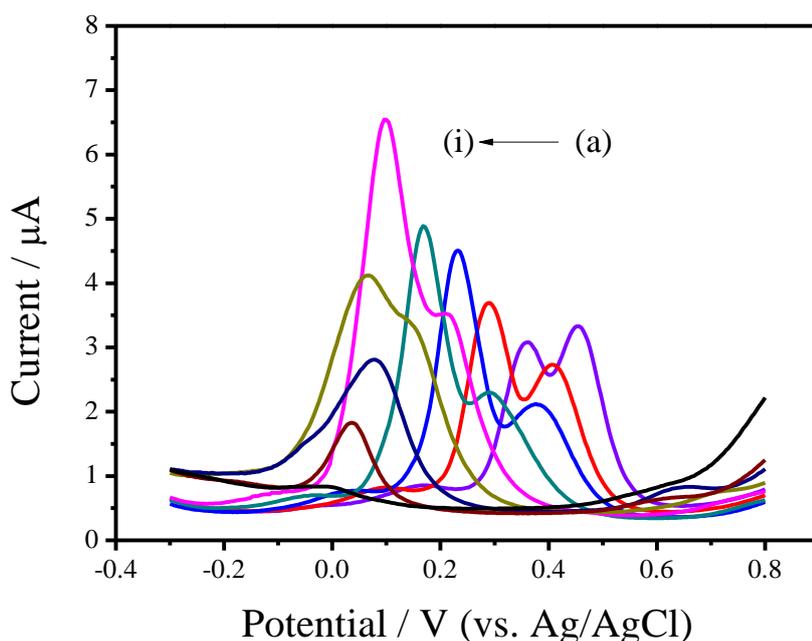


圖 27. Catechol 在不同 pH 值下加入同濃度乙硫醇的 DPV 圖
 (a) pH 3 (b) pH 4 (c) pH 5 (d) pH 6 (e) pH 7 (f) pH 8 (g) pH 9 (h) pH 10
 (i) pH 11。0.1M PBS (pH=7)；DPV 參數同圖 19

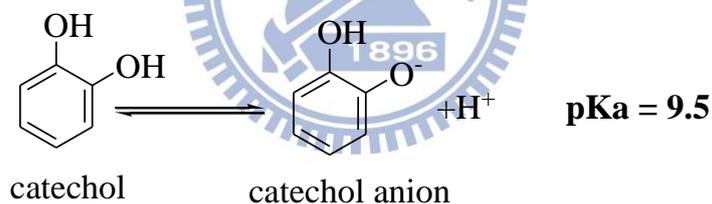


圖 28. Catechol 解離平衡反應

圖 29 是乙硫醇在不同 pH 環境下與 *o*-benzoquinone 進行反應所得到的氧化電流訊號(A₂)與 pH 值的關係圖，從圖中可以明顯觀察到，隨著 pH 值增加的趨勢，得到的氧化電流訊號也隨之上升，並在 pH=7 時達到最大值；而當 pH 值大於 7 之後，氧化電流訊號會隨著 pH 值的提高而下降，其原因是當溶液處於酸性條件下，乙硫醇受到質子化的影響，使得乙硫醇的親核性性質降低，不利於 Michael addition

reaction 的反應進行，致使氧化電流的增加幅度減少；而當溶液環境為鹼性條件下時，catechol 本身會因為苯環上的羥基的氫解離，產生帶負電形式的 catechol，使得 *o*-benzoquinone 受到自身聚合反應形成二聚體甚至聚合物，導致氧化電流的增加幅度下降。

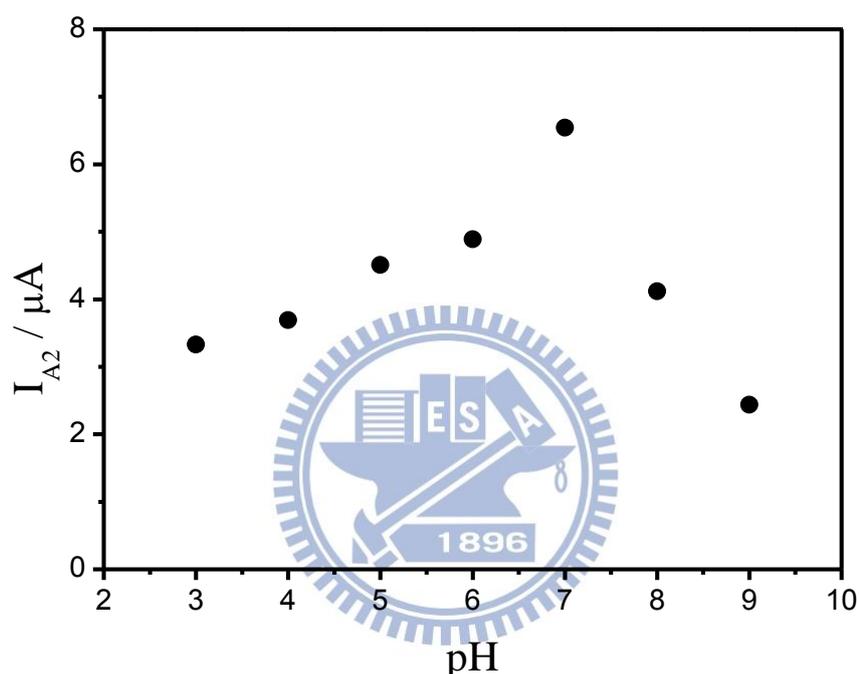


圖 29. 乙硫醇氧化電流訊號(A_2)與 pH 值的關係圖

4-5 Catechol 濃度的影響

本實驗是藉由 catechol 做為偵測乙硫醇的電化學媒介，所以在乙硫醇的定量分析上，其氧化電流大小以及偵測極限也會受到 catechol 濃度的影響。圖 30(a)-(e)分別是利用 DPV 來偵測含有 10 μM 、25 μM 、50 μM 、100 μM 、200 μM catechol 與乙硫醇反應的檢量線圖。

從圖中可以發現，當 catechol 的濃度只有 10 μM 時，雖然可以在偵測較低濃度得到較高的靈敏度，不過因為 catechol 的濃度低，很快就和乙硫醇進行反應達到飽和，而無法得到較廣的偵測線性範圍；但是當 catechol 的濃度提高時，雖然可以提高可偵測的上限，增加偵測的線性濃度範圍，但卻會失去在較低濃度偵測乙硫醇的靈敏度，故在 catechol 的濃度選擇上，可以依照偵測濃度的需求而改變不同濃度的 catechol。其中各濃度 catechol 偵測乙硫醇的線性範圍與最低可偵測濃度如表 4 所示。



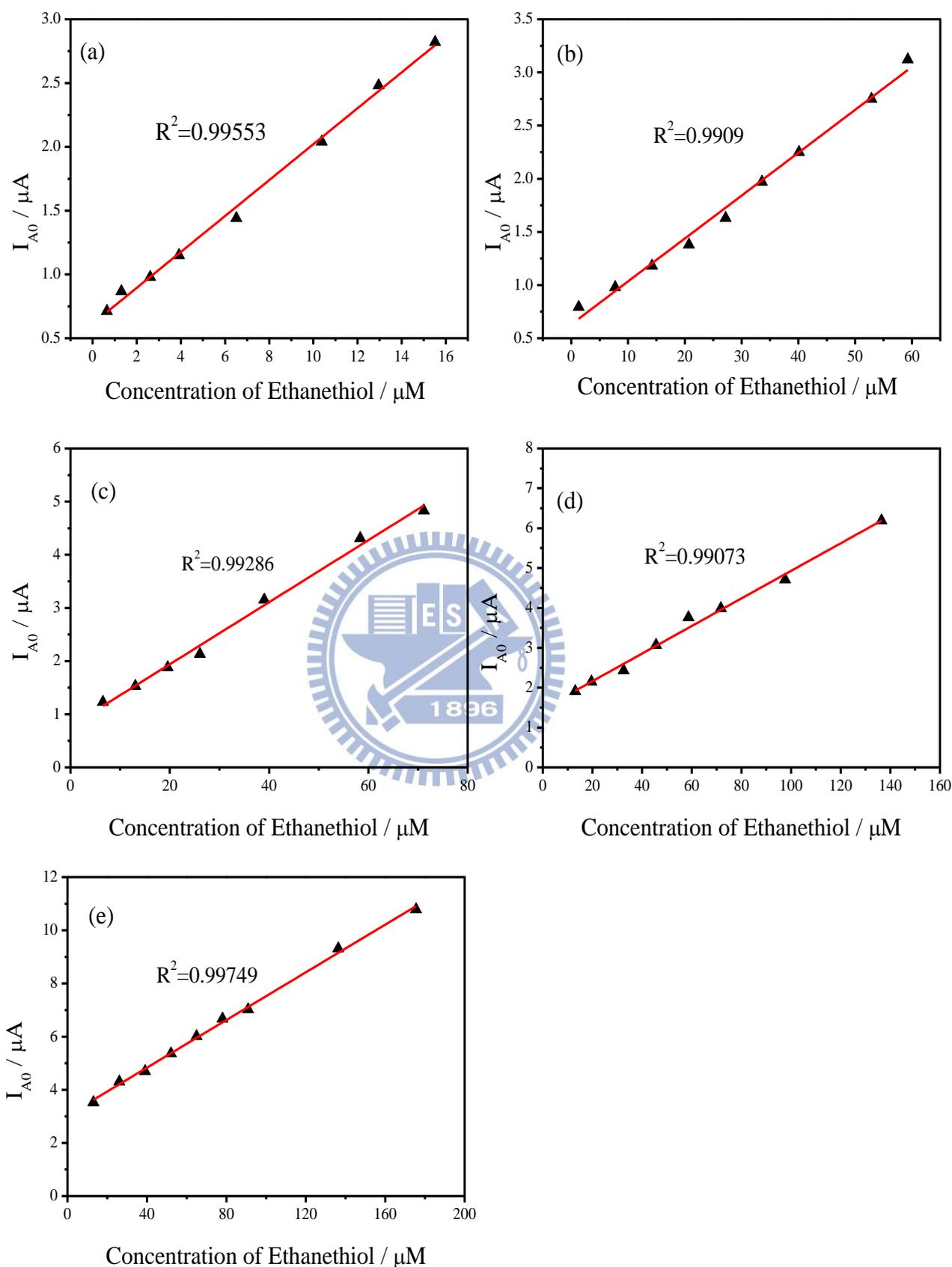


圖 30. 各濃度 catechol 添加乙硫醇的檢量線圖
 (a) 10 μM (b) 25 μM (c) 50 μM (d) 100 μM (e) 200 μM 。0.1M PBS (pH=7)；DPV 參數同圖 19

表 4. 各濃度 catechol 添加乙硫醇的偵測結果

Catechol (μM)	線性範圍(μM)	可偵測最低濃度 (μM)
10	0.65 -15.5	0.65
25	0.65 -59.3	0.65
50	6.5 -71.2	6.5
100	13.0 -136.4	13.0
200	13.0 -175.5	13.0

4-6 檢量線製作

在檢量線的製作上，本實驗利用玻璃碳電極為工作電極，以差式脈衝伏安法從負電位-0.2 V 掃描到正電位 0.6 V，緩衝溶液為 0.1 M PBS，pH 值為 7，選用 25 μM 的 catechol 做為媒介；DPV 參數部分，脈衝振幅為 50mV、脈衝寬度為 30 ms、脈衝週期為 0.1 s。從圖 31，我們可以在 0.12 V 的氧化電位(A_2)得到一個隨著乙流醇濃度增加而氧化電流訊號也呈線性增加的趨勢。接著我們將此氧化電流與乙硫醇濃度作圖(圖 32)，得到檢量線的線性範圍 0.65 μM -59.3 μM ，其偵測極限為 0.068 μM (S/N=3)。

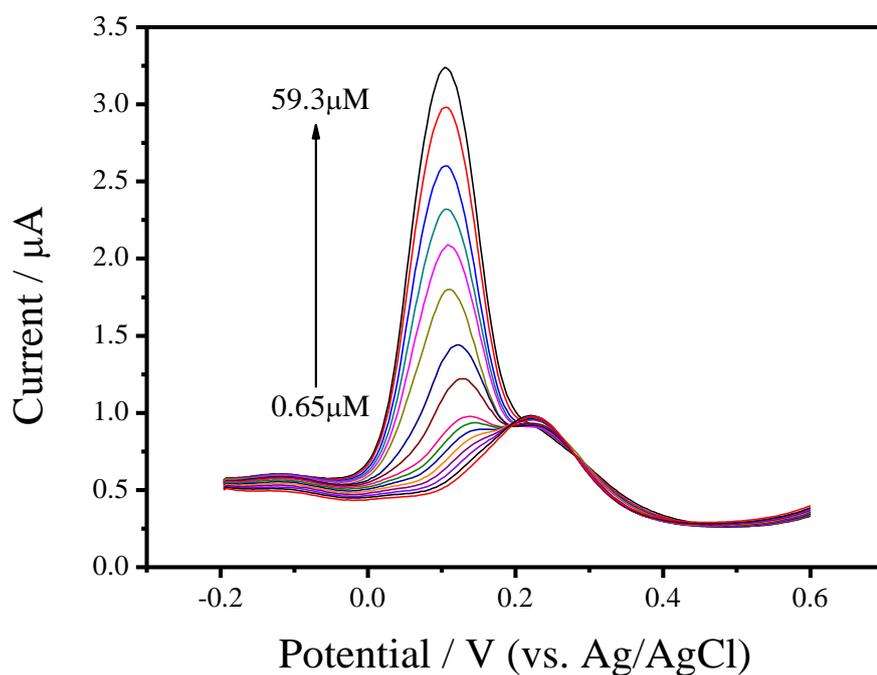


圖 31. 25 μM catechol 添加各濃度乙硫醇的 DPV 圖
 0.1M PBS (pH= 7); DPV 參數: E_i : -0.2 V, E_f : 0.6 V; Pulse Amplitude :
 50 mV ; Pulse width : 30 ms ; Pulse period : 0.1 s

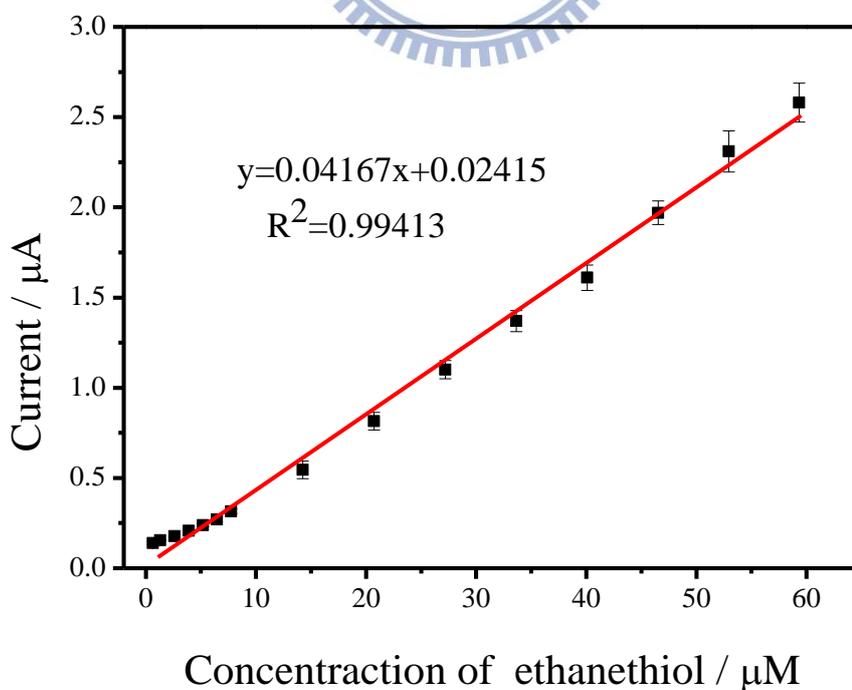


圖 32. 25 μM catechol 添加各濃度乙硫醇的檢量線圖

4-7 干擾物測試

在環境的檢測中，可能會受到一些含硫化合物的干擾，在這選用了幾種可能使用或反應所產生乙硫醇的工作環境中，也會存在於環境中的有害污染物，分別測試了甲硫醚(Dimethyl sulfide, DMS)、硫化氫(Hydrogen sulfide)、二氧化硫(Sulfur dioxide)、乙醛(Acetaldehyde)、苯乙烯(Styrene)、二氧化氮(Nitrogen dioxide)。因為二氧化硫與二氧化氮溶於水中分別會形成亞硫酸根離子(SO_3^-)與硝酸根離子(NO_3^-)部分，所以在二氧化硫與二氧化氮的測試上，我們直接使用亞硫酸鈉溶液與硝酸鉀溶液來替代氣體。

當加入 200 μM 高濃度的干擾物時，圖 33(a)-(d)可以看到，二氧化氮、乙醛、甲硫醚、苯乙烯並不會對偵測乙硫醇的氧化電流訊號造成干擾，而在二氧化硫的部分，如圖 33(e)，可以在約 0.33 V 的位置發現一新氧化電流訊號，因為乙硫醇的氧化電流訊號在 0.14 V，所以二氧化硫所產生的氧化訊號並不會對乙硫醇的偵測造成干擾，最後在硫化氫的偵測上，如圖 33(f)，由於硫化氫溶於水中會形成氫硫酸根(HS^-)，而氫硫酸根可能會與溶液中經由電化學氧化產生的 *o*-quinone 進行 Michael addition reaction 而產生氧化電流的增加，在此，我們還沒有辦法可以避免硫化氫對於乙硫醇偵測時所造成的干擾。

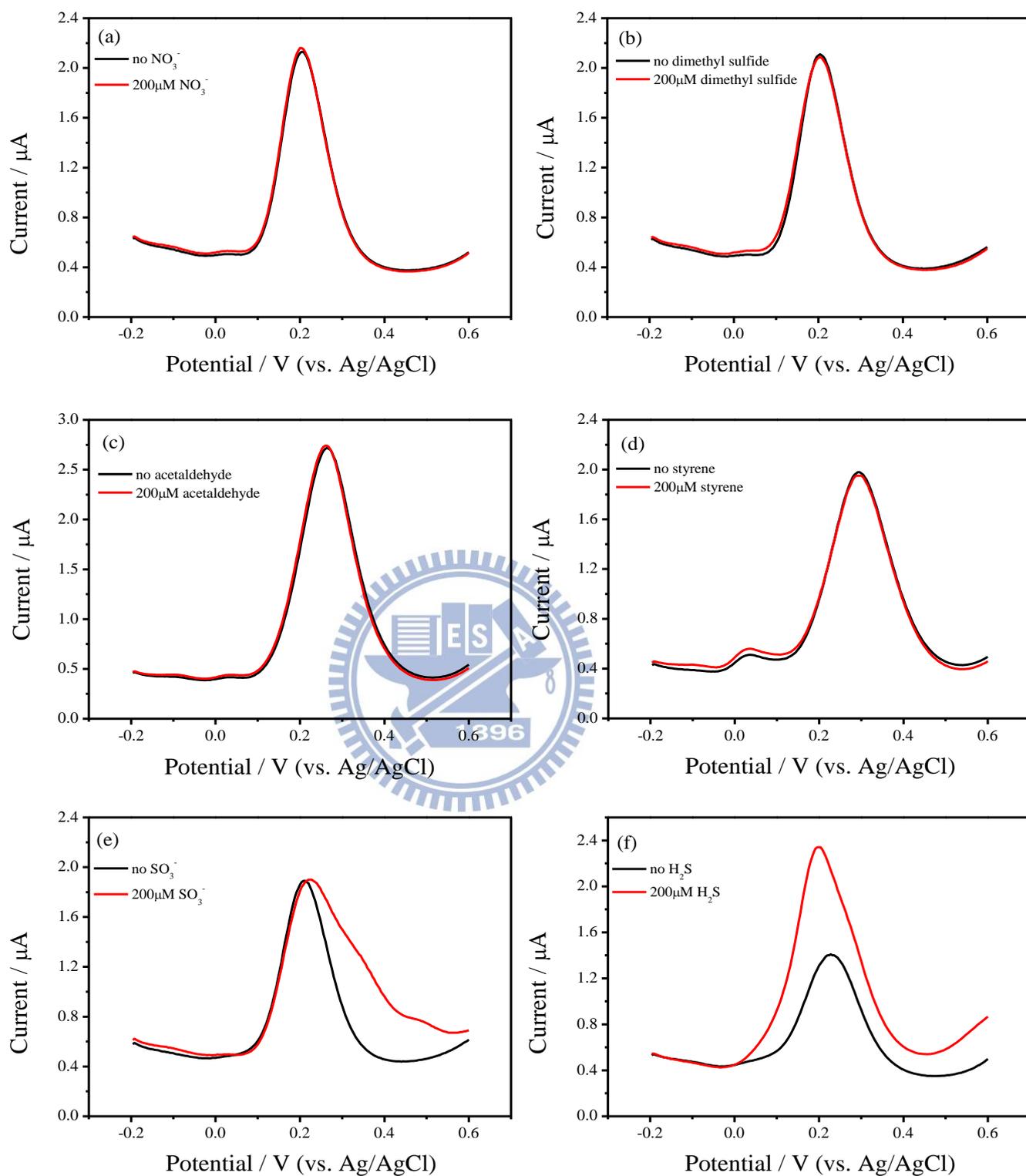


圖 33. Catechol 添加各種干擾物之 DPV 圖

(a) nitrate (b) dimethyl sulfide (c) acetaldehyde (d) styrene (e) sulfite (f) hydrogen sulfide。0.1M PBS (pH=7) ; DPV 參數同圖 31

4-8 環境中乙硫醇氣體檢測

在環境中氣體的偵測上，參考行政院勞工委員會所提供的採樣分析方法通則來進行採樣⁸⁹，如 3-6 實驗流程所述，分別將所測得之電流訊號，利用檢量線換算求出氣態樣品中所含乙硫醇之濃度。

先將檢量線之濃度($\mu\text{g/L}$)，再乘上溶液體積換算成溶液中含有乙硫醇的質量(μg)，接著乘上 100(稀釋倍數)後，則可知道空氣中所含乙硫醇的量，除以總採樣空氣之體積，即等於此空間中所含乙硫醇之濃度(mg/m^3)。

其換算公式如下：

$$C = \frac{A \times M \times 0.01}{V} \times 100 \quad (\text{式 6})$$

C：氣體中乙硫醇之濃度(mg/m^3)

A：由檢量線所求出乙硫醇之濃度(μM)

M：乙硫醇莫耳質量($\mu\text{g}/\mu\text{mole}$)

V：總採樣空氣之體積(dm^3)

溶液體積：0.01 (L)

稀釋倍數：100



對於乙硫醇容許建議標準值，根據行政院勞工委員會制訂勞工作業環境空氣中有害物容許濃度為 10 ppm (25.4 mg/m^3)，而美國 OSHA 及其他世界多數國家制定的日時量平均容許暴露濃度為 0.5 ppm (1.27 mg/m^3)，而本方法對乙硫醇的濃度測定範圍與採氣量相關，當採氣量為 10L 時，則測定範圍在 4-370 (mg/m^3)內，若採氣量為 100 L 時，則測定範圍在 0.4-37 (mg/m^3)內，已可達到環境中乙硫醇容許濃度的偵測標準範圍規定內。

圖 33(a)-(c)分別是採樣時間為 5 min、20 min、50 min 所得到的 DPV 圖，所得之氧化電流訊號分別為 $0.1889 \mu\text{A}$ 、 $0.798 \mu\text{A}$ 、 $1.408 \mu\text{A}$ ，經由檢量線求得乙硫醇溶液中濃度分別為 $3.95 \mu\text{M}$ 、 $18.63 \mu\text{M}$ 、 $33.21 \mu\text{M}$ ，再經由式 6 換算可得容器中乙硫醇之氣體濃度為 24.54、28.93、20.63(mg/m^3)。

理論上，加入乙硫醇的量相同，所以即使採樣時間不同，但所換算得到的氣體濃度也應相同，且實際添加在密閉容器中乙硫醇的量為 $626 \text{ (mg/m}^3)$ ，與所偵測的訊號所換算得到的濃度相差甚大，造成上述情況原因之推測可能是所加入的乙硫醇氣體會吸附在密閉容器的器壁或儀器上；也可能是加入過程中，已有乙硫醇逸散至環境中，或是丁醇本身並不像標準方法所用之醋酸汞會與乙硫醇生成聚合結構的硫醇配合物($\text{Hg}(\text{SEt})_2$)，所以無法很有效的吸收環境中的乙硫醇。

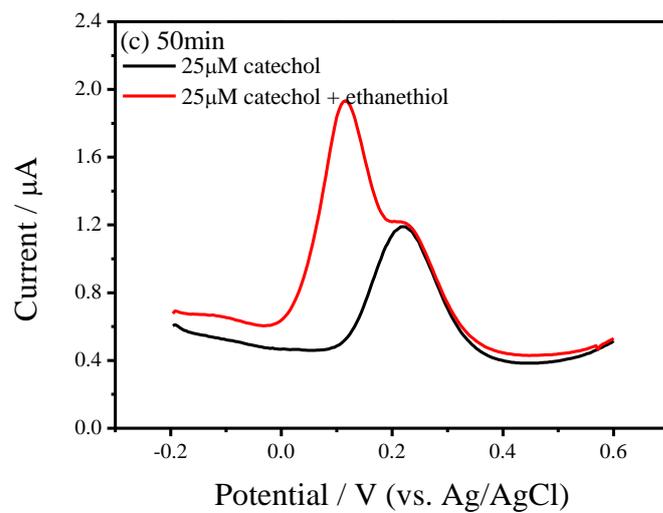
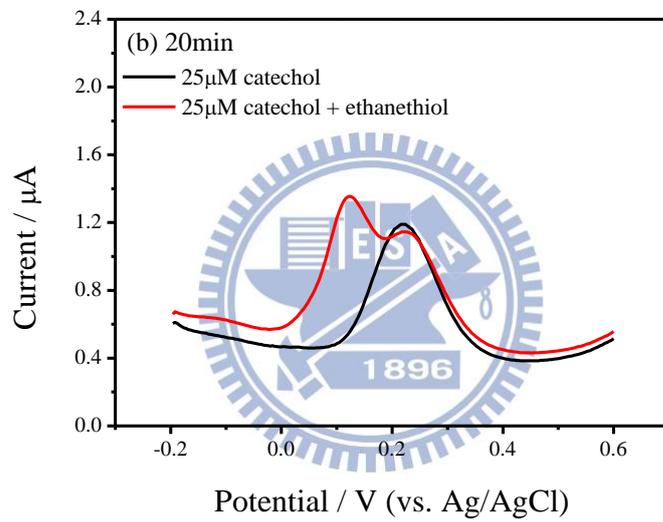
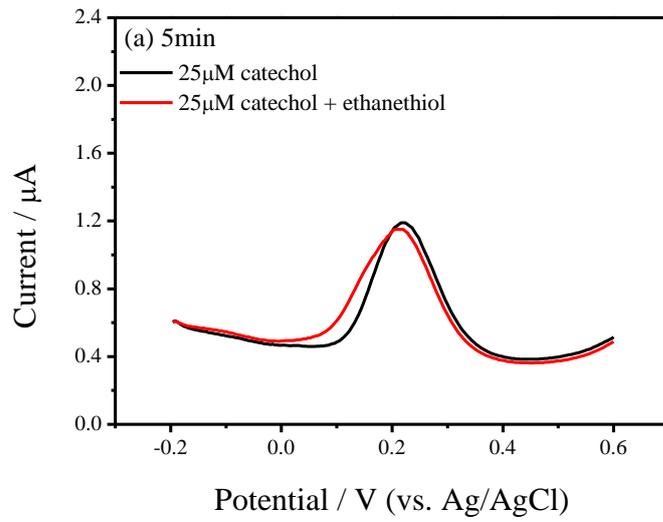


圖 34. 環境中乙硫醇氣體偵測之 DPV 圖
採樣時間(a) 5 min (b) 20 min (c) 50 min, 0.1M PBS (pH= 7); DPV 參數同圖 31

4-9 標準硫醇偵測法—吸收光度法

最後本研究中在偵測環境中氣體的標準方法上，參考行政院環境保護署所提供的排放管道中硫醇檢驗法—吸收光度法做為標準偵測方法，此方法主要利用醋酸汞溶液吸收環境中乙硫醇氣體，再與 N,N-二甲基對苯二胺(N,N-dimethyl-p-phenylene-diamine,DPDA)之氯化鐵混合液作用顯色，在波長 505nm 處測定硫醇之濃度。但氣體樣品中若含有 200 ppm (V/V)以上之二氧化硫或二氧化氮，或 1 ppm (V/V)以上硫化氫時，則會造成干擾。其實驗流程如 3-7 所述，配製各濃度的乙硫醇標準液，以 UV-Vis 測其吸收度(圖 35)，依乙硫醇濃度($\mu\text{L}/\text{mL}$)與吸收度製作檢量線，如圖 36，其濃度範圍為 0.98 — 19.6 ($\mu\text{L}/\text{mL}$)。

在氣體的採樣方式上，使用與本論文中 4-8 環境乙硫醇氣體檢測相同的採樣方式進行採樣，詳細步驟如實驗流程 3-7 所述，乙硫醇氣體樣品中硫醇濃度 C (ppm, V/V)可依式 7 求得⁶⁵，將得到結果與本偵測方法做比較。

$$C = \frac{A \times 25}{V} \times \frac{50}{5} \quad (\text{式 7})$$

A：由檢量線求出之硫醇濃度($\mu\text{L}/\text{mL}$)

V：採樣氣體之總體積(L)

在氣體的檢測中，加入 50 μL 97% 乙硫醇於密閉容器中，使容器內乙硫醇濃度為 313 (mg/m^3)，採樣 20min 後，將二瓶 40 mL 之樣品吸收液移入 50 mL 量瓶內，再用醋酸汞吸收液淋洗吸收瓶，將淋洗液併入量瓶內，並以醋酸汞吸收液稀釋至刻度，接著量取 5 mL 之樣品溶液於 25 mL 量瓶內，加 2 mL 顯色液後並以醋酸汞吸收液稀釋至刻度，搖動混合均勻後，放置 30 分鐘，以 UV-Vis 光譜儀測其吸收度，得到吸收值為 0.087，接著再利用檢量線與式 7 換算得到乙硫醇氣體的濃度為 60.58 ppm，將濃度單位改變為每立方公尺所含之分析物毫克數(mg/m^3)，與本研究方法比較，其換算濃度單位公式參考勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準⁹⁰，如式 8 所示，得到結果為 153.62 (mg/m^3)，與實際添加之乙硫醇含量仍有相當誤差，此誤差應是來自採樣方法上所造成，表示此採樣方法仍需要相當改善。

$$(\text{mg} / \text{m}^3) = \frac{M_w}{24.45} \times \text{ppm} \quad (\text{式 7})$$

M_w ：有害污染物之莫耳分子量(g/mole)

24.45 為攝氏 25 度、一大氣壓條件下，有害污染物之毫克莫耳體積立方公分數(cm^3/mmole)

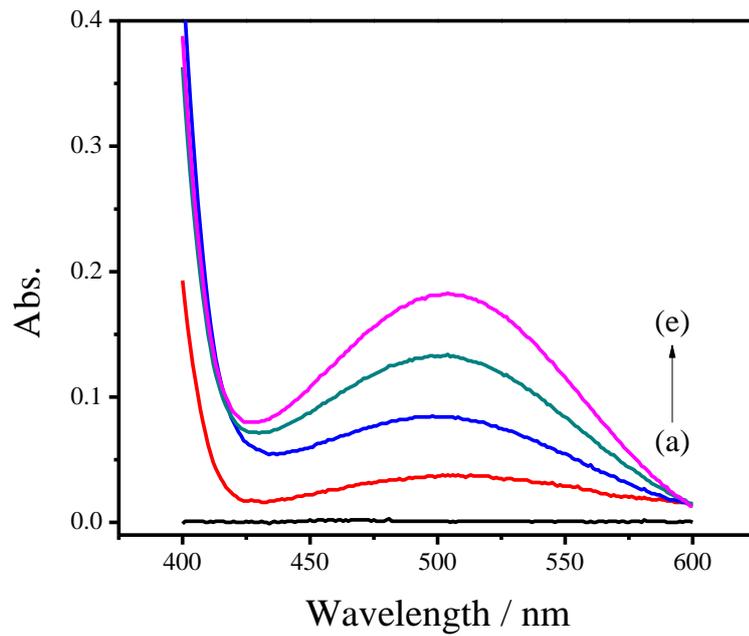


圖 35. 吸收光度法偵測乙硫醇之吸收光譜圖
 取乙硫醇標準液(a) 0.0 (b) 5.0 (c) 10.0 (d) 15.0 (e) 20.0 mL，個別加入 2 mL 顯色液後稀釋至 25mL

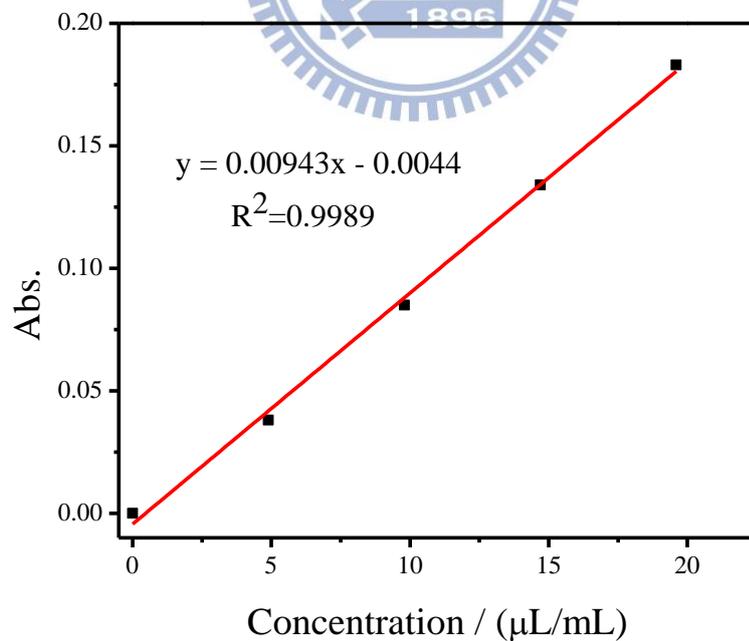


圖 36. 吸收光度法偵測乙硫醇之檢量線圖(505nm)

第五章 結論

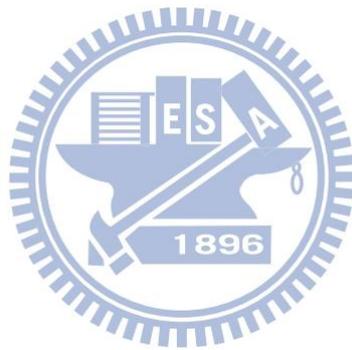
對於環境中的乙硫醇的偵測，目前主要的方法是利用醋酸汞做為吸附劑，利用汞金屬離子與環境中的硫醇形成配合物($\text{Hg}(\text{SEt})_2$)，再經由萃取或者是熱脫附等方式進行脫附，隨後利用 GC / FPD 或者是比色法進行偵測，但這些方法中的處理步驟相當繁雜，或是需要利用對環境汙染造成相當大危害的汞類化合物。

本研究中以 catechol 做為電化學媒介，降低乙硫醇偵測所需的氧化電位，選用 DPV 做為偵測方法，針對 o-benzoquinone 與乙硫醇反應後的氧化電流訊號進行乙硫醇的定量分析，此偵測方法的線性範圍為 $0.65 \mu\text{M} - 59.3 \mu\text{M}$ ，其偵測極限為 $0.068 \mu\text{M}$ ($S/N=3$)。

對真實環境中乙硫醇的濃度測定範圍與採氣量相關，當採氣量為 100 L 時，則理論測定範圍在 $0.4-37 (\text{mg}/\text{m}^3)$ 內，已符合環境中乙硫醇容許濃度的偵測標準範圍規定內。

此方法在選擇性上還沒有辦法可以避免硫化氫所造成的干擾，但亦可做為在工作環境中含有總硫化合物濃度的檢測參考；而在環境中乙硫醇的偵測上，雖然避免使用對環境造成危害的醋酸汞，改以丁醇做為吸附劑，但丁醇與乙硫醇之間可能作用力較小，不能有效的吸附環境中的乙硫醇氣體，而無法得到理論上預期的成果，希望在之後可以更進一步的藉由在電極上進行修飾或是找尋更適當的溶劑做為吸

附劑，以改善對於環境空氣中硫醇分子的吸附及減低硫化氫在此方法中所造成的干擾。



參考文獻

1. Patnaik, P., *Handbook of Environmental Analysis: Chemical Pollutants in Air, Water, Soil, and Solid Wastes*. CRC Press: **2009**.
2. Heafield, M. T.; Fearn, S.; Steventon, G. B.; Waring, R. H.; Williams, A. C.; Sturman, S. G., Plasma cysteine and sulphate levels in patients with motor neurone, Parkinson's and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters* **1990**, *110* (1–2), 216.
3. Seshadri, S.; Beiser, A.; Selhub, J.; Jacques, P. F.; Rosenberg, I. H.; D'Agostino, R. B.; Wilson, P. W. F.; Wolf, P. A., Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Dementia and Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine* **2002**, *346* (7), 476.
4. Herzenberg, L. A.; Rosa, S. C. D.; Dubs, J. G.; Roederer, M.; Anderson, M. T.; Ela, S. W.; Deresinski, S. C.; Herzenberg, L. A., Glutathione Deficiency is Associated with Impaired Survival in HIV Disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1997**, *94* (5), 1967.
5. Roederer, M.; Staal, F. J. T.; Anderson, M.; Rabin, R. O. N.; Raju, P. A.; Herzenberg, L. A.; Herzenberg, L. A., Disregulation of Leukocyte Glutathione in AIDS. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1993**, *677* (1), 113.
6. Eck, H. P.; Gmunder, H.; Hartmann, M.; Petzoldt, D.; Daniel, V.; Droge, W., Low concentrations of acid-soluble thiol (cysteine) in the blood plasma of HIV-1-infected patients. *Biological chemistry Hoppe-Seyler* **1989**, *370* (2), 101.
7. Townsend, D. M.; Tew, K. D.; Tapiero, H., The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2003**, *57* (3–4), 145.
8. Soria, C.; Chadefaux, B.; Coudé, M.; Gaillard, O.; Kamoun, P.,

Concentrations of total homocysteine in plasma in chronic renal failure. *Clinical Chemistry* **1990**, 36 (12), 2137.

9. Shahrokhian, S., Lead Phthalocyanine as a Selective Carrier for Preparation of a Cysteine-Selective Electrode. *Analytical Chemistry* **2001**, 73 (24), 5972.

10. Nygård, O.; Nordrehaug, J. E.; Refsum, H.; Ueland, P. M.; Farstad, M.; Vollset, S. E., Plasma Homocysteine Levels and Mortality in Patients with Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine* **1997**, 337 (4), 230.

11. Refsum, M. H.; Ueland, M. P. M.; Nygård, M. O.; Vollset, M. D. D. P. H. S. E., HOMOCYSTEINE AND CARDIOVASCULAR DISEASE. *Annual Review of Medicine* **1998**, 49 (1), 31.

12. Hwang, C.; Sinskey, A.; Lodish, H., Oxidized redox state of glutathione in the endoplasmic reticulum. *Science* **1992**, 257 (5076), 1496.

13. Dalton, T. P.; Shertzer, H. G.; Puga, A., REGULATION OF GENE EXPRESSION BY REACTIVE OXYGEN. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **1999**, 39 (1), 67.

14. Trabesinger, A. H.; Weber, O. M.; Duc, C. O.; Boesiger, P., Detection of glutathione in the human brain in vivo by means of double quantum coherence filtering. *Magnetic Resonance in Medicine* **1999**, 42 (2), 283.

15. Dieckhaus, C. M.; Fernández-Metzler, C. L.; King, R.; Krolikowski, P. H.; Baillie, T. A., Negative Ion Tandem Mass Spectrometry for the Detection of Glutathione Conjugates. *Chemical Research in Toxicology* **2005**, 18 (4), 630.

16. Wang, W.; Rusin, O.; Xu, X.; Kim, K. K.; Escobedo, J. O.; Fakayode, S. O.; Fletcher, K. A.; Lowry, M.; Schowalter, C. M.; Lawrence, C. M.; Fronczek, F. R.; Warner, I. M.; Strongin, R. M., Detection of Homocysteine and Cysteine. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, 127 (45), 15949.

17. Huo, F.-J.; Sun, Y.-Q.; Su, J.; Chao, J.-B.; Zhi, H.-J.; Yin, C.-X., Colorimetric Detection of Thiols Using a Chromene Molecule. *Organic Letters* **2009**, *11* (21), 4918.
18. Chen, X.; Zhou, Y.; Peng, X.; Yoon, J., Fluorescent and colorimetric probes for detection of thiols. *Chemical Society Reviews* **2010**, *39* (6), 2120.
19. Assessment, S. R. C. C. f. C. H.; Santodonato, J.; Etiology, N. C. I. D. o. C., *Monograph on Human Exposure to Chemicals in the Workplace : Mercaptans: Final Report*. National Cancer Institute, Division of Cancer Etiology: **1985**.
20. ACGIH., *Documentation of the Threshold Limit Values & Biological Exposure Indices (7th edition)*. Amer Conf of Governmental: Cincinnati, **2001**.
21. Kangas, J.; JÄ Ppinen, P.; Savolainen, H., Exposure to Hydrogen Sulfide, Mercaptans and Sulfur Dioxide in Pulp Industry. *American Industrial Hygiene Association Journal* **1984**, *45* (12), 787.
22. Goyer, N., Evaluation of Occupational Exposure to Sulfur Compounds in Paper Pulp Kraft Mills. *American Industrial Hygiene Association Journal* **1990**, *51* (7), 390.
23. RTECS, Methanethiol Methanethiol, Ed. NIOSH: **2004**.
24. 液化石油氣. In *CNS 12951*, 中國國家標準: **2003**.
25. Persson, S.; Edlund, M.-B.; Claesson, R.; Carlsson, J., The formation of hydrogen sulfide and methyl mercaptan by oral bacteria. *Oral Microbiology and Immunology* **1990**, *5* (4), 195.
26. Awano, S.; Koshimune, S.; Kurihara, E.; Gohara, K.; Sakai, A.; Soh, I.; Hamasaki, T.; Ansai, T.; Takehara, T., The assessment of methyl mercaptan, an important clinical marker for the diagnosis of oral malodor. *Journal of Dentistry* **2004**, *32* (7), 555.

27. ETHYL MERCAPTAN. H.H.S., U. S., Ed. **1988**.
28. Waller, R. L., Methanethiol inhibition of mitochondrial respiration. *Toxicology and Applied Pharmacology* **1977**, 42 (1), 111.
29. Sandmeyer, E. E., *Organic Sulfur Compounds, in Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*. John Wiley and Sons: New York, **1981**; p 2063.
30. Jaakkola, J. J. K.; Vilkka, V.; Marttila, O.; Jäppinen, P.; Haahtela, T., The South Karelia Air Pollution Study: The Effects of Malodorous Sulfur Compounds from Pulp Mills on Respiratory and Other Symptoms. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **1990**, 142 (6 Pt 1), 1344.
31. 陳成裕, 95 年作業環境有害物容許濃度標準建議值訂定計畫
IOSH95-A304. 勞委會安全衛生研究所: 台灣, **2007**; p 73.
32. Wroński, M., Determination of volatile thiols by gas chromatography using separation as tributyltin mercaptides. *Journal of Chromatography A* **1991**, 555 (1-2), 306.
33. Tcherkas, Y. V.; Denisenko, A. D., Simultaneous determination of several amino acids, including homocysteine, cysteine and glutamic acid, in human plasma by isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A* **2001**, 913 (1-2), 309.
34. Amarnath, K.; Amarnath, V.; Amarnath, K.; Valentine, H. L.; Valentine, W. M., A specific HPLC-UV method for the determination of cysteine and related aminothiols in biological samples. *Talanta* **2003**, 60 (6), 1229.
35. Ogasawara, Y.; Mukai, Y.; Togawa, T.; Suzuki, T.; Tanabe, S.; Ishii, K., Determination of plasma thiol bound to albumin using affinity chromatography and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: Ratio of cysteinyl albumin as a possible

biomarker of oxidative stress. *Journal of Chromatography B* **2007**, *845* (1), 157.

36. Ivanov, A. R.; Nazimov, I. V.; Baratova, L. A., Determination of biologically active low-molecular-mass thiols in human blood: II. High-performance capillary electrophoresis with photometric detection. *Journal of Chromatography A* **2000**, *895* (1–2), 167.

37. Chen, G.; Zhang, L.; Wang, J., Miniaturized capillary electrophoresis system with a carbon nanotube microelectrode for rapid separation and detection of thiols. *Talanta* **2004**, *64* (4), 1018.

38. Zinellu, A.; Sotgia, S.; Scanu, B.; Usai, M.; Fois, A.; Spada, V.; Deledda, A.; Deiana, L.; Pirina, P.; Carru, C., Simultaneous detection of N-acetyl-l-cysteine and physiological low molecular mass thiols in plasma by capillary electrophoresis. *Amino Acids* **2009**, *37* (2), 395.

39. Fei, S.; Chen, J.; Yao, S.; Deng, G.; He, D.; Kuang, Y., Electrochemical behavior of l-cysteine and its detection at carbon nanotube electrode modified with platinum. *Analytical biochemistry* **2005**, *339* (1), 29.

40. Potesil, D.; Petrlova, J.; Adam, V.; Vacek, J.; Klejdus, B.; Zehnalek, J.; Trnkova, L.; Havel, L.; Kizek, R., Simultaneous femtomole determination of cysteine, reduced and oxidized glutathione, and phytochelatin in maize (*Zea mays* L.) kernels using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A* **2005**, *1084* (1–2), 134.

41. Huang, S.-T.; Ting, K.-N.; Wang, K.-L., Development of a long-wavelength fluorescent probe based on quinone–methide-type reaction to detect physiologically significant thiols. *Analytica Chimica Acta* **2008**, *620* (1–2), 120.

42. Shibata, A.; Furukawa, K.; Abe, H.; Tsuneda, S.; Ito, Y., Rhodamine-based fluorogenic probe for imaging biological thiol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, *18* (7), 2246.

43. Duan, L.; Xu, Y.; Qian, X.; Wang, F.; Liu, J.; Cheng, T., Highly selective fluorescent chemosensor with red shift for cysteine in buffer solution and its bioimage: symmetrical naphthalimide aldehyde. *Tetrahedron Letters* **2008**, 49 (47), 6624.
44. Rafii, M.; Elango, R.; Courtney-Martin, G.; House, J. D.; Fisher, L.; Pencharz, P. B., High-throughput and simultaneous measurement of homocysteine and cysteine in human plasma and urine by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Analytical biochemistry* **2007**, 371 (1), 71.
45. Burford, N.; Eelman, M. D.; Mahony, D. E.; Morash, M., Definitive identification of cysteine and glutathione complexes of bismuth by mass spectrometry: assessing the biochemical fate of bismuth pharmaceutical agents. *Chemical Communications* **2003**, (1), 146.
46. Zeng, Y.; Zhang, G.; Zhang, D., A selective colorimetric chemosensor for thiols based on intramolecular charge transfer mechanism. *Analytica Chimica Acta* **2008**, 627 (2), 254.
47. Zhang, D.; Zhang, M.; Liu, Z.; Yu, M.; Li, F.; Yi, T.; Huang, C., Highly selective colorimetric sensor for cysteine and homocysteine based on azo derivatives. *Tetrahedron Letters* **2006**, 47 (39), 7093.
48. Shao, N.; Jin, J. Y.; Cheung, S. M.; Yang, R. H.; Chan, W. H.; Mo, T., A Spiropyran-Based Ensemble for Visual Recognition and Quantification of Cysteine and Homocysteine at Physiological Levels. *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, 45 (30), 4944.
49. Wen, M.; Liu, H.; Zhang, F.; Zhu, Y.; Liu, D.; Tian, Y.; Wu, Q., Amorphous FeNiPt nanoparticles with tunable length for electrocatalysis and electrochemical determination of thiols. *Chemical Communications* **2009**, (30), 4530.
50. Zacharis, C. K.; Tzanavaras, P. D.; Themelis, D. G., Ethyl-propiolate as a novel and promising analytical reagent for the derivatization of thiols: Study of the reaction under flow conditions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2009**, 50 (3), 384.

51. Heyrovský, M.; Vavříčka, S., Electrochemical reactivity of homocysteine at mercury electrodes as compared with cysteine. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* **1999**, 48 (1), 43.
52. Çakır, S.; Biçer, E.; Çakır, O., Square-wave adsorptive stripping voltammetric behaviour of fresh and aged cystine solutions at physiological pH. *Electrochemistry Communications* **1999**, 1 (7), 257.
53. Çakır, S.; Biçer, E.; Çakır, O., Binary and ternary complexes of Cu(II) ions with saccharin and cysteine. *Electrochemistry Communications* **2000**, 2 (2), 124.
54. Hart, J. P.; Hartley, I. C., Voltammetric and amperometric studies of thiocholine at a screen-printed carbon electrode chemically modified with cobalt phthalocyanine: studies towards a pesticide sensor. *The Analyst* **1994**, 119 (2), 259.
55. Retamal, B. A.; Vaschetto, M. E.; Zagal, J., Catalytic electro-oxidation of 2-mercaptoethanol using cobalt phthalocyanine + poly(2-chloroaniline) modified electrodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1997**, 431 (1), 1.
56. Inoue, T.; Kirchhoff, J. R., Electrochemical detection of thiols with a coenzyme pyrroloquinoline quinone modified electrode. *Analytical Chemistry* **2000**, 72 (23), 5755.
57. Lawrence, N. S.; Davis, J.; Compton, R. G.; Jiang, L.; Jones, T. G. J.; Davis, S. N., Selective determination of thiols: a novel electroanalytical approach. *The Analyst* **2000**, 125 (4), 661.
58. Lawrence, N. S.; Davis, J.; Compton, R. G., Electrochemical detection of thiols in biological media. *Talanta* **2001**, 53 (5), 1089.
59. Gong, K. P.; Zhu, X. Z.; Zhao, R.; Xiong, S. X.; Mao, L. Q.; Chen, C. F., Rational attachment of synthetic triptycene orthoquinone onto carbon nanotubes for electrocatalysis and sensitive detection of thiols. *Analytical Chemistry* **2005**, 77 (24), 8158.

60. Wang, W.; Li, L.; Liu, S. F.; Ma, C. P.; Zhang, S. S., Determination of physiological thiols by electrochemical detection with piaseleole and its application in rat breast cancer cells 4T-1. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130* (33), 10846.

61. 乙硫醇採樣分析方法建議. In *CLA 5017*, 行政院勞工委員會: **2008**.

62. OSHA, METHYL MERCAPTAN. In *OSHA 26*, OSHA: **1981**.

63. MERCAPTANS, METHYL-, ETHYL-, and n-BUTYL-. In *NIOSH 2542*, NIOSH: **1994**.

64. 空氣中硫化氫、甲硫醇、二硫化碳、硫化甲基、及二硫化甲基檢驗方法-氣相層析/火焰光度偵測法. In *NIEA A701.11C*, 行政院環境保護署: **2008**.



65. 排放管道中硫醇檢驗法-吸收光度法. In *NIEA A703.71C*, 行政院環境保護署: **2005**.

66. Pariente, F.; Tobalina, F.; Moreno, G.; Hernández, L.; Lorenzo, E.; Abruña, H. D., Mechanistic Studies of the Electrocatalytic Oxidation of NADH and Ascorbate at Glassy Carbon Electrodes Modified with Electrodeposited Films Derived from 3,4-Dihydroxybenzaldehyde. *Analytical Chemistry* **1997**, *69* (19), 4065.

67. Zare, H. R.; Nasirizadeh, N., Electrocatalytic Characteristics of Hydrazine and Hydroxylamine Oxidation at Coumestan Modified Carbon Paste Electrode. *Electroanalysis* **2006**, *18* (5), 507.

68. Tse, D. C. S.; McCreery, R. L.; Adams, R. N., Potential oxidative pathways of brain catecholamines. *Journal of Medicinal Chemistry* **1976**,

19 (1), 37.

69. Tse, D. C.-S.; Kuwana, T., Electrocatalysis of dihydronicotinamide adenosine diphosphate with quinones and modified quinone electrodes. *Analytical Chemistry* **1978**, 50 (9), 1315.

70. Carlson, B. W.; Miller, L. L., Mechanism of the oxidation of NADH by quinones. Energetics of one-electron and hydride routes. *Journal of the American Chemical Society* **1985**, 107 (2), 479.

71. Shahrokhian, S.; Bozorgzadeh, S., Electrochemical oxidation of dopamine in the presence of sulfhydryl compounds: Application to the square-wave voltammetric detection of penicillamine and cysteine. *Electrochimica Acta* **2006**, 51 (20), 4271.

72. Shahrokhian, S.; Saberi, R. S., Differential pulse voltammetric determination of propylthiouracil and methylthiouracil using their catalytic effects on the electrochemical oxidation of catechol. *International Journal of Electrochemical Science* **2007**, 2 (2), 158.

73. Raouf, J. B.; Ojani, R.; Amiri-Aref, M.; Chekin, F., Catechol as an electrochemical indicator for voltammetric determination of N-acetyl-l-cysteine in aqueous media at the surface of carbon paste electrode. *Journal of Applied Electrochemistry* **2010**, 40 (7), 1357.

74. Nematollahi, D.; Golabi, S. M., Electrochemical study of catechol and 4-methylcatechol in methanol. Application to the electro-organic synthesis of 4,5-dimethoxy-and 4-methoxy-5-methyl-o-benzoquinone. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1996**, 405 (1–2), 133.

75. Golabi, S. M.; Nematollahi, D., Electrochemical study of catechol and some 3-substituted catechols in the presence of 4-hydroxy coumarin: application to the electro-organic synthesis of new coumestan derivatives. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1997**, 420 (1–2), 127.

76. Nematollahi, D.; Forooghi, Z., Electrochemical oxidation of catechols in the presence of 4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone. *Tetrahedron* **2002**, 58 (24), 4949.

77. Nematollahi, D.; Rahchamani, R. A., Electro-oxidation of catechols in the presence of benzenesulfinic acid. Application to electro-organic synthesis of new sulfone derivatives. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2002**, 520 (1-2), 145.
78. Nematollahi, D.; Alimoradi, M.; Husain, S. W., Cyclic Voltammetric Study of the Oxidation of Catechols in the Presence of Cyanide Ion. *Electroanalysis* **2004**, 16 (16), 1359.
79. Nematollahi, D.; Rafiee, M., Electrochemical oxidation of catechols in the presence of acetylacetone. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2004**, 566 (1), 31.
80. Moghaddam, A. B.; Kobarfard, F.; Fakhari, A. R.; Nematollahi, D.; Davarani, S. S. H., Mechanistic study of electrochemical oxidation of o-dihydroxybenzenes in the presence of 4-hydroxy-1-methyl-2(1H)-quinolone - Application to the electrochemical synthesis. *Electrochimica Acta* **2005**, 51 (4), 739.
81. Fotouhi, L.; Khakpour, M.; Nematollahi, D.; Heravi, M. M., Investigation of the electrochemical behavior of some catechols in the presence of 4,6-dimethylpyrimidine-2-thiol. *Arkivoc* **2008**, 43.
82. Nematollahi, D.; Rafiee, M.; Fotouhi, L., Mechanistic Study of Homogeneous Reactions Coupled with Electrochemical Oxidation of Catechols. *Journal of the Iranian Chemical Society* **2009**, 6 (3), 448.
83. Nematollahi, D.; Bamzadeh, M.; Shayani-Jam, H., Electrochemical Oxidation of Catechols in the Presence of Phenyl-Meldrum's Acid. Synthesis and Kinetic Evaluation. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2010**, 58 (1), 23.
84. Varmaghani, F.; Nematollahi, D.; Mallakpour, S.; Esmaili, R., Electrochemical oxidation of 4-substituted urazoles in the presence of arylsulfinic acids: an efficient method for the synthesis of new sulfonamide derivatives. *Green Chemistry* **2012**, 14 (4), 963.
85. 乙硫醇物質安全資料表. 行政院勞工委員會, Ed. **2010**.

86. Wang, J., Lü, Hui Sun, Qiaohua Li, Rongzhi Zhong, Yan Zhao, Jian Liu, Min Jia, Xiang Method of Electrochemical Determination of Glutathione. *Acta Chim. Sinica* **2009**, 67 (5), 415.

87. Zanello, P.; Chemistry, R. S. o., *Inorganic Electrochemistry: Theory, Practice and Applications*. Royal Society of Chemistry: **2003**.

88. Shahrokhian, S.; Ghalkhani, M., Simultaneous voltammetric detection of ascorbic acid and uric acid at a carbon-paste modified electrode incorporating thionine–nafion ion-pair as an electron mediator. *Electrochimica Acta* **2006**, 51 (13), 2599.

89. 採樣分析方法通則. 行政院勞工委員會: **1995**.

90. 勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準. In 勞工安全衛生法第五條, 勞工安全衛生研究所, **2011**.

