

國立交通大學

生物科技系所

碩士論文

探討表面修飾網版印刷碳膠電極在  
電化學特性影響



**Effect of Surface Modification on the  
Electrochemical Properties of Screen-printed  
Carbon Paste Electrode**

研究生：王彥棋

指導教授：袁俊傑 博士

中華民國九十六年七月

探討表面修飾網版印刷碳膠電極在電化學特性影響

**Effect of Surface Modification on the Electrochemical Properties of  
Screen-printed Carbon Paste Electrode**

研 究 生：王彥棋

Student : Yan-Chi Wang

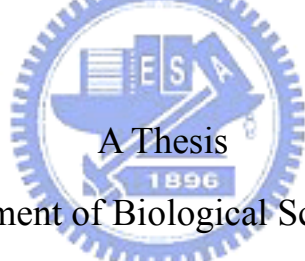
指導教授：袁俊傑 博士

Advisor : Dr. Chiun-Jye Yuan

國 立 交 通 大 學

生 物 科 技 系 所

碩 士 論 文



Submitted to Department of Biological Science and Technology

National Chiao Tung University

in partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master

in

Biological Science and Technology

July 2007

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十六年七月

# 探討表面修飾網版印刷碳膠電極在電化學特性影響

學生：王彥棋

指導教授：袁俊傑博士

國立交通大學生物科技系暨研究所碩士班

## 中文摘要

網版印刷碳膠電極為廣泛應用於電化學生物感測器上。由於它具有低成本、製程簡單、易圖案化等優點，因而可用於可拋棄式感測系統上。本研究中，針對三種修飾網版印刷碳膠電極方式進行研究。

利用單層奈米碳管溶於 Nafion 覆蓋於網版印刷碳膠電極上，與利用四種溶液 (0.1% 鹽酸，50 mM 磷酸緩衝溶液，1 M 碳酸氫鈉與飽和的碳酸鈉水溶液) 對網版印刷碳膠電極進行循環伏安法修飾，此兩種方法均可提升對過氧化氫的氧化電流。有趣的是，當利用非離子界面活性劑 (Triton X-100 與 Tween 20) 可明顯有效提升對過氧化氫反應與輕微降低抗壞血酸反應，且其連續性使用再現性良好 (Triton X-100, R.S.D = 2.88%; Tween 20, R.S.D = 6.9%, n = 20)，利用此修飾電極方式便宜且容易製程應用。利用 Tween 20 修飾之電極對於過氧化氫偵測電流較利用 Triton X-100 修飾方式為佳。接著將葡萄糖氧化酶固定於利用非離子界面活性劑修飾之電極表面上，進行葡萄糖感測，發覺可提升反應電流。顯示修飾後電極應用在以氧化酶為主的電化學生物感測器的潛力上。

由電子顯微鏡圖顯示網版印刷碳膠電極在經由非離子型界面活性劑

修飾後，其將在電極表面形成平滑薄膜覆蓋。而利用 Tween 20 在電極表面薄膜結構將比 Triton X-100 來的均勻一致。而利用水滴量測電極表面接觸角可顯示以非離子型界面活性劑修飾，表面化學特性，將由疏水性轉為親水性，可利用此改變性質應用於固定化技術上。



# Effect of Surface Modification on the Electrochemical Properties of Screen-printed Carbon Paste Electrode

Student : Yan-Chi Wang

Advisor : Chiun-Jye Yuan

Department of Biological Science and Technology  
National Chiao Tung University

## Abstract

Screen-printed carbon paste electrodes (SPCE) are most commonly used in the fabrication of electrochemical biosensors. SPCE exhibits a great potential in the generation of disposable sensing system because of its economic, easily mass-production, and easily patterned. In this study, the surface of SPCE, which was modified by three methods, was investigated.

Both of the surface modifications of SPCE by SWNT (single-walled carbon nanotube)/Nafion coating and surface treatment by cyclic voltammograms (CVs) with 4 types of solutions, including 0.1 % HCl , 50 mM phosphate buffer, 1 M NaHCO<sub>3</sub>, and saturated Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, performed in this study. The response of pre-treated SPCE exhibited an improved oxidative current of hydrogen peroxide. Interestingly, SPCE modified with nonionic surfactants, e.g. Triton X-100 and Tween 20, showed greatly increased response for hydrogen peroxide, and slightly decreased in response for ascorbic acid. It had a good reproducibility in duplicate test (Triton X-100, R.S.D=2.88%; Tween 20, R.S.D=6.9%, n=20), and it was inexpensive and easy to prepare. Tween 20-modified SPCE response to hydrogen peroxide was better than Triton X-100-modified SPCE. The glucose biosensor was fabricated using nonionic surfactants-modified SPCE exhibited increasing response for sensing glucose. These result indicated that nonionic

surfactants-modified SPCE has potential for enhancing the reaction current of oxidase-based electrochemical biosensor.

Microscopic images of SPCE under the scanning electron micrograph (SEM) revealed that coated on nonionic surfactants the surface of SPCE forming a smooth film, and Tween 20 coating membrane on the surface of SPCE was more uniform than Triton X-100 coating, and measuring the water contact angles at the nonionic surfactants-modified SPCE surfaces showed the chemical properties on SPCE surface from hydrophobicity to hydrophilicity, and can use in immobilization technology.



## 誌謝

在研究所的求學過程中，特別感謝 袁俊傑老師一直悉心督導與教誨，以及 張谷昇老師的指導與協助，感謝口試委員 楊裕雄老師、 吳東昆老師在百忙之中撥冗指導，給予諸多寶貴意見，使本論文更加完善。

感謝實驗室的博班學長姐，佳穎、弘毅、威震、俊炫和奕榮，已畢業的學長岳縉，及我碩班的好伙伴世昌、詩穎、偉志、雯世、俊能和佩琴，以及我的好同學宏明及振寧，在實驗上及日常生活之協助。

對於在研究所生涯，給予我關心與鼓勵的朋友，小毛、人文、文華、宗翰、杰翰、思涵、茄子、Emily 及 Eva，謝謝你們陪我度過在碩班這些日子。

最後特別感謝我的家人一路的陪伴，給予我最大的支持與關懷，讓我可以完成我的碩士學位，謝謝你們！

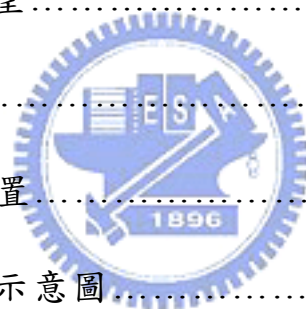


## 目錄

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
誌謝.....	V
目錄.....	VI
圖目錄.....	VIII
表目錄.....	X
第一章 續論.....	1
1-1 生物感測器.....	1
1-2 修飾網版印刷碳膠電極.....	7
1-3 生物元件固定化.....	13
1-4 界面活性.....	16
1-5 實驗目的.....	20
第二章 實驗材料與方法.....	21
2-1 實驗藥品.....	21
2-2 實驗儀器與設備.....	22
2-3 實驗步驟.....	22
2-4 實驗原理與方法.....	25
第三章 結果與討論.....	33



3-1 利用 SWNT 對 SPCE 進行表面修飾.....	33
3-2 利用 Triton X-100 與 Tween 20 對 SPCE 進行表面修飾.....	34
3-3 利用循環伏安法對 SPCE 進行表面修飾.....	37
3-4 比較利用 SWNT，Triton X-100，Tween 20 與 CV 修飾 SPCE 效果 .....	38
3-5 表面結構分析 Triton X-100 與 Tween 20 修飾之 SPCE.....	39
3-6 以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 應用於葡萄糖生物感測器 .....	43
第四章 結論與未來展望.....	46
參考文獻.....	48
附錄一 生物感測器裝置.....	76
附錄二 電化學系統之示意圖.....	77
附錄三 以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之氧化酶感測器模型 .....	78



## 圖目錄

圖一 利用含SWNT溶劑與其純溶劑修飾SPCE對1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 反應性 .....	56
圖二 不同濃度 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 對 1mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 反應 性.....	57
圖三 不同工作電位對 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之對 1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 反應電流.....	58
圖四 不同工作電位對 SWNT 修飾之 SPCE 對 1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 反應電流 .....	59
圖五 不同工作電位對 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之對 500 μM ascorbic acid 之反應電流.....	60
圖六 以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之連續性測試.....	61
圖七 利用不同溶液對 SPCE 以循環伏安法進行表面修飾比較.....	62
圖八 利用不同溶液對 SPCE 以循環伏安法進行表面修飾 CV 圖.....	63
圖九 比較利用 4 種 SPCE 修飾方式對於 1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 反應性.....	64
圖十 反射光學顯微鏡拍攝 SPCE 圖.....	65
圖十一 SEM 拍攝 SPCE 圖.....	66
圖十二 以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之接觸角測試.....	67
圖十三 比較以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 與葡萄糖生物感測器 效率比較圖.....	68

圖十四 葡萄糖生物感測器之葡萄糖線性範圍.....69

圖十五 連續添加 200  $\mu\text{M}$  葡萄糖對葡萄糖生物感測器之階梯反應  
.....72

圖十六 葡萄糖生物感測器之最低偵測極限.....73



## 表目錄

表一 界面活性劑修飾 GOx/PVA-SbQ SPCE 在不同電位對 5 mM Glc 與 500 $\mu$ M ascorbate 反應性比.....	74
表二 界面活性劑修飾 SPCE 在不同電位對 1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 與 500 $\mu$ M ascorbate 反應性比較.....	75



## 第一章 緒論

### 1-1 生物感測器

生物感測器是近年來所開發應用的技術，開始的應用起源於 Clark 和 Lyons [1] 於西元1962年所提出的酵素電極，將葡萄糖氧化酶與溶氧電極結合，藉以偵測環境中 $O_2$  的消耗來測得葡萄糖的濃度。而之後在1975年時，美國Yellow Springs Instruments (YSI) 公司投入酵素電極商品研發，到1979年時，第一代的葡萄糖生物感測器商品正式上市，提供了醫檢市場的需求，也奠定了生物感測器在醫療檢驗上的地位。之後的生物感測器，應用電化學、生物化學、材料科學上的理論，發展出更靈敏、準確、便宜與快速檢驗的生物感測器。

生物感測器定義為「使生物元件 (biological component) 固定並結合換能器 (transducer)，用來偵測生物體內外之化學物質或與之起特異性交互作用而產生回應。」[2] 如【附錄一】所示。生物感測器是結合對待測物質具分子辨識作用之生物元件，以及能將生化反應後之訊息轉變成可處理顯示訊號之換能器兩大部分，利用生物元件當作辨識元之優點為具備高選擇性 (selectivity) 以及專一性 (specificity)，且反應迅速，但其缺點為生物元件對環境之穩定度較不佳，易受環境因素如溫度、pH值等影響，造成生物感測器生命週期減短。

生物感測器依轉能器的分類主要可分為光學式、壓電式、熱學式、電

化學式等四種 [3]。

1. 光學式 [4, 5]：

將適合的生物元件使其固定在光學元件的尖端，當環境產生光學變化反應時，利用生物元件內的光敏感指示劑，如：生物螢光物質、化學發光物質 (chemiluminescence) 來產生光學訊號，而此光學訊號可由儀器來量測其吸光值 (absorbance)、螢光強度 (fluorescence)、反射強度、顏色、混濁度或冷光 (luminescence) 變化等數值來進行偵測。

2. 壓電式 [6-8]：

常見壓電式生化感測器如：石英微量天平 (QCM, quartz crystal microbalance) 用於發展生物感測器之換能器。而其原理是當一個力或質量以適當的方向施加在具有壓電性質的材料，如石英上時，會產生偏極化之現象，此壓電性質是可逆的，並且其質量變化正比於其震盪頻率之改變。也就是說利用生物元件辨識作用，將在其與壓電元件結合之時，會產生質量變化，其將會影響石英晶體震盪頻率之改變。而辨識作用是利用生化反應的吸附或結合，如抗原抗體的結合。

3. 熱感式 [9, 10]：

利用熱感式生物感測器來偵測系統中生物元件的生化反應所產生的熱量，造成系統環境中溫度的變化。常利用 Thermistor 和 Thermopile 來做為偵測的工具。但因為系統環境中生化反應所產生的溫度變化，常是極為

細微，所以周圍環境溫度些微改變即會對系統量測的訊號產生相當程度的誤差，所以發展較受到限制。

#### 4. 電化學式

電化學式感應器為最早應用於生物感測方面，而其目前也是最廣泛應用的生物感測器。其原理是當生物元件產生生化反應時，偵測其增加或者消耗的電化學物質，如電子，當產生電化學訊號時，即可以利用儀器進行量測。其優點在於反應靈敏、低成本以及易操作。所以可以將其廣泛用於偵測污染物、食品添加物或者臨床檢測上 [11]。而電化學生物感測器幾乎都使用特定的電極當作訊號轉換器，而其常見的電極使用材料如：白金 (platinum) [12]、金 (gold) [13]、銀 (silver) [14]、銅 (copper) [15]、鎳 (nickel) [16] 以及碳粉 (carbon) [17]、碳膠 (carbon paste)、玻璃碳 (glassy carbon) [18]、二氧化矽 ( $\text{SiO}_2$ ) [19] 和透明導電薄膜 (ITO) [20]。而電化學生物感測器依其訊號輸出方式分類主要可分為三種 [21]：導電度式 (conductometric)、電位式 (potentiometric) 及電流式 (amperometric)。

##### (1) 導電度式：

又稱為電阻式生物感測器。藉以量測在溶液內，兩電極間導電度之變化。其原理是利用兩電極間離子的自然運動，使電極間產生一微量之交流電流，而此電流大小與溶液內離子濃度成正比 [22]。其優點在於廉價耐用且操作方便，但其缺點為靈敏度以及選擇性較差。



## (2) 電位式：

量測工作電極與參考電極，兩電極間電位差的改變 [23]。根據電化學原理，各物質均有其電化學位能 (electrochemical potential)，在化學動力平衡狀態底下，兩極間並無電流流動，當加入特定感測物質後，在電極界面上會形成電荷聚集，在含有選擇性通透膜的電極兩側，形成電位差，而在此系統中，待測物的濃度可用測量膜電位大小來表示。而其電位差一般遵循能士特方程式 (Nernst Equation)，電位差的改變與分析物濃度成自然對數關係。其優點在於不必太過於考慮電極大小且操作簡易，但其缺點是偵測待測物的反應時間較長，選擇性則較受限制。

## (3) 電流式：

施加適當的電位來提供電極介面具有足夠的能量進行電子轉移，以量測分析物在電極表面上進行生化反應時，所產生的氧化還原電流 [24-26]。而在系統量測的線性範圍內，分析物的濃度與電流訊號成正比。和電位式生物感測器比較，電流式生物感測器無須設置選擇性通透膜的電極，並常具有較快的反應時間，且選擇性和靈敏度都較高，還有其線性範圍也較廣。在氧化酶 (oxidase) 的酵素反應中，氧氣 ( $O_2$ ) 和過氧化氫 ( $H_2O_2$ ) 常是共待測物 (co-substrate) 或產物 [27]。然而在施加工作電位時，一些非偵測的干擾物質亦會產生。所以常在反應槽中添加電子傳遞媒介物 (mediator) [28]，以降低感測器氧化還原的工作電位，使其避免干



擾，並且可以增加靈敏度。常見的電子傳遞媒介物有 Ferrocene 及其衍生物 [29]，亞甲基藍 (methylene blue) [30]，以及 benzoquinone [31] 等等。而本研究即利用電流式生物感測器來進行實驗量測，故接下來就來了解常見的電流式生物感測器系統。

### 1-1-1 電流式生物感測器系統

基本系統組成有一電化學訊號分析儀，將兩電極或三電極浸入在含有電解液 (electrolyte) 的生化反應槽中。常利用標準三極系統 (Standard three-electrode system) 來進行偵測，可以使其獲得的訊號值較為精準。而在工作電極 (working electrode) 與對極 (counter electrode) 兩極間將會進行氧化還原反應，進行電子傳遞反應，產生氧化還原電流。而參考電極 (reference electrode) 是可以提供較穩定的工作電壓，進行校正工作。常見的工作電極材料為金屬如：白金、金、銀、銅，或者非金屬，例如碳粉、碳膠。常見的對極材料為金與白金。而參考電極常使用的材料為 Ag/AgCl 或者 Hg/HgCl<sub>2</sub>。而在系統中電解液的作用是可以減少電子遷移現象 (electro-migration effect)，並可以維持溶液中的離子強度還可以降低其中之電阻。

### 1-1-2 網版印刷碳膠電極 (Screen-printed Carbon Paste Electrode; SPCE)

網版印刷技術是種在工業上可大量製造的厚膜印刷技術 (thick film

technology)，而在工業上的網版印刷技術，具有印刷墨層的厚度可自行調整，且任何種類之印墨均可使用，還有印製的形狀大小較無限制等等優點，所以利用此技術應用於生物感測器的領域之中，可以使網版印刷電極 (screen-printing electrode) 設計多種變化，並且其成本低廉、方便攜帶、可拋棄還可以大量生產 [32]。而在 1987 年，Matthews 等人 [33] 首次將網版印刷技術應用於葡萄糖生物感測器的測量後，陸續的開始相關研究，使其可以應用於不同物質的檢測上。而在 1995 年 R. Negata 與 T. karube [34] 等人，利用此技術作三極式葡萄糖電流感測器，利用 ferrocence 當作電子傳遞媒介物來增加葡萄糖氧化酶之活性，並添加高分子樹脂當作固定劑，使其酵素混合物固定於白金電極上，而此電極可以穩定偵測濃度範圍為 0.5 mg/ml ~ 2.0 mg/ml。



在 1958 年，Adams 發表一種新式電極，利用碳膠使其固定於電極上。而其碳膠的主要成分，有碳粉粉末 (carbon powder) 以及液體黏著劑 (liquid binder)，而此新式電極就被稱為碳膠電極 (carbon paste electrode) [35]。在碳膠電極中的液體黏著劑主要成分為礦物油 (mineral oil) [36]、矽樹脂油 (silicone oil) [37] 還有些高分子黏著劑，主要作用在於使碳粉顆粒可以黏著於電極表面上。而利用網版印刷技術所製造出來的碳膠電極就稱為網版印刷碳膠電極。而此電極在可拋棄式的生物感測器系統上，具有極大的發展潛力，由於在成本價格上更顯低廉，所以利用其在網版印刷技

術上，可大量製造且製程簡易的優點，在生物感測的市場上，更具有競爭力。

## 1-2 修飾網版印刷碳膠電極

雖然 SPCE 在電化學生物感測器上的應用相當的廣泛，但是卻有較低靈敏度、反應時間較慢，且需要較高工作電壓氧化還原反應的缺點。而利用修飾方式預先改善 SPCE 之電化學特性，又可稱為前處理法 (pre-treatment method)。而利用以下的方法，如添加電子傳遞媒介物修飾、金屬化 (metallization) 修飾、電化學前處理法 (electrochemical pre-treatment) 修飾、選擇性薄膜 (selective membrane) 修飾、奈米碳管 (carbon nanotube; CNT) 修飾等方式，可以增進 SPCE 之電化學反應特性，使其增進其靈敏度及選擇性，並可以加快反應時間還有降低工作電位等優點。

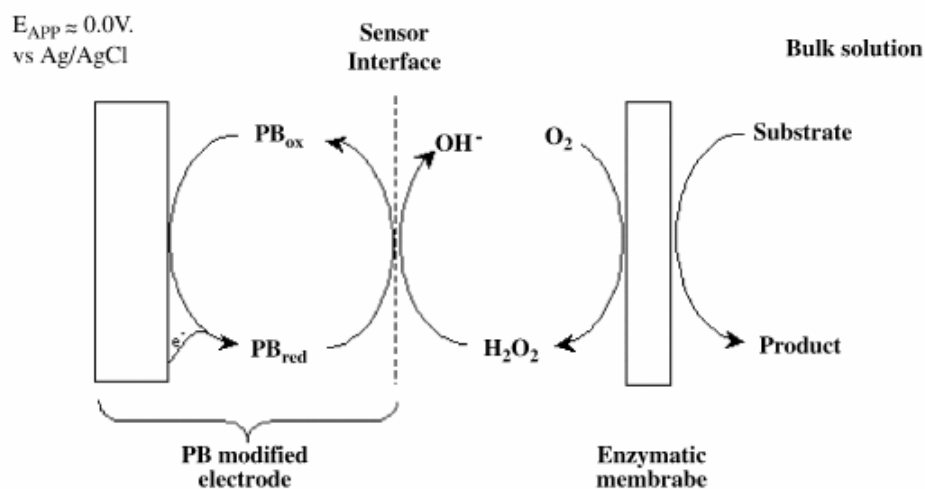
### 1-2-1 電子傳遞媒介物修飾

在研究氧化酶的酵素電化學生化反應中，除了偵測  $O_2$  濃度的改變，對於偵測  $H_2O_2$  產物的濃度變化，在電流式生物感測器上之應用範圍相當廣泛。對於偵測  $H_2O_2$  可直接在外加電位下，量測其所產生的電流值大小來定量物質濃度。因為  $H_2O_2$  是電化學活性物質，所以可在外接電位下分解，但其所需要的電位較高，約在 0.6 V 以上 (vs. Ag/AgCl)，所以在此電

位下，常會伴隨一些非偵測的電化學活性干擾物質產生，如抗壞血酸 (ascorbate)、尿酸 (urate) 也會產生氧化反應 [38, 39]，導致所偵測到的訊號不具代表性，所以降低  $\text{H}_2\text{O}_2$  的工作電位以及減少干擾物質的影響是其需要的。

電子傳遞媒介物的添加修飾可以調整適當的工作電位，來做為測量的操作條件。在氧化酶的催化作用下，電子會由酵素傳至電子傳遞媒介物，再由電子傳遞媒介物傳至電極表面上，而在量測的工作電位上即可設定為電子傳遞媒介物所需之電位。而在選擇電子傳遞媒介物的策略上，會選擇其在酵素電極上，氧化還原反應的工作電位越低越好，盡量避免干擾物質的影響。而理想的電子傳遞媒介物應具備以下幾點特性：本身具備較低的氧化還原電位、在酵素與電極間具有良好的電子傳遞作用、具有安定的化學結構、不會影響酵素活性與系統中其他物質產生反應等。而添加電子傳遞媒介物除了可降低偵測電位 [40]、減少干擾物的氧化還原，還可以增加系統的靈敏度與選擇性。而在電流式生物感測器上，常見的電子傳遞媒介物有 hexacyanoferrate [41]、普魯士藍 (Prussian blue) [42]、亞甲基藍 (Methylene blue) [43] 等。而其中普魯士藍是目前生物感測器上普遍使用的電子傳遞媒介物。普魯士藍可簡單的利用電化學沉積 (electrochemical deposition) 方式與氯化鐵 ( $\text{FeCl}_3$ )、 $\text{K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6^-$  固定於電極上。利用普魯士藍修飾的電極可以降低工作電位至 0 V 左右 (vs. Ag/AgCl) [44] 【附圖

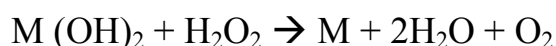
一】。



附圖一、普魯士藍修飾電極反應機制 [44]

### 1-2-2 金屬化修飾

利用適當的金屬來修飾電極，可對於特定受質產生催化作用 (catalytic effect) [45, 46]，可降低氧化還原反應所需之工作電位。例如：白金、鈀 (palladium)、鈷 (cobalt)、鈳 (ruthenium)、金、銱 (iridium)、銅等，利用其對於 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 有良好的催化作用，可用來降低其氧化還原之工作電位。其中利用鈳及白金來修飾電極，可使得 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 工作電位降至小於 0.2 V (vs. Ag/AgCl)，其機制如下：



利用偵測電位降低之優點可使得干擾物質影響降低，並且可以提高酵素電極的靈敏度與選擇性。而常見對於金屬化修飾電極方式有電化學沉積法

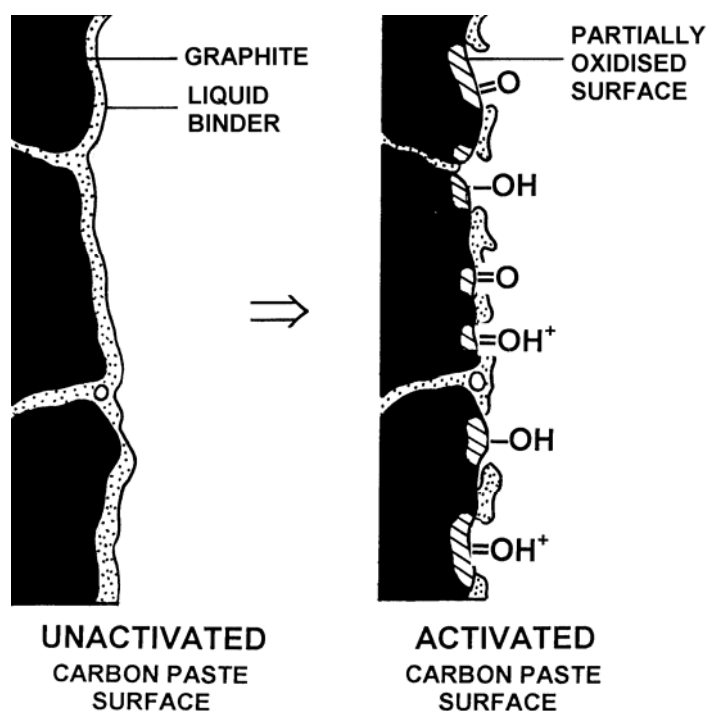


(electrochemical deposition)、濺鍍法 (sputtering) 和將金屬顆粒與碳膠一起混合等修飾 SPCE 方式 [46, 49]。

### 1-2-3 電化學前處理法修飾

由於在 SPCE 上常有礦物油、矽樹脂油、高分子黏著劑或者油漬等殘留，常會影響電極上電子傳遞效率，所以利用電化學前處理法，可有效的將電極上的有機黏著劑清除，進而增進電子傳遞速率，並將電極反應靈敏度給予提升。而 SPCE 上的有機黏著劑，由於是疏水性 (hydrophobic)，亦可能影響在偵測水溶性待測物質在電極表面上之擴散速率，進而影響電極之反應活性。常見的電化學處理法有：陽極處理法 (anodization) [50]、循環伏安法 (cyclic voltammetry; CV)、電漿 (plasma) 等。短暫的對 SPCE 進行陽極處理，可以有效改善氧化還原物質之電化學可逆特性，並且可以增加電極表面上的官能基與反應面積。而利用此方式修飾，可增加電極表面親水性 (hydrophilic) 特性，進而可應用於對 SPCE 親水性物質後修飾上。對於利用陽極處理法修飾電極使 SPCE 電化學反應增強的解釋，除了認為是有機黏著劑的清除 [51]，也認為是因為在電極上增加了含氧官能基群 (-OH, =O) 的影響 [52] 【附圖二】，進而催化了氧化還原反應。對於不同溶劑在三種產牌的 SPCE 的陽極處理上所造成的影響，發覺將電極浸泡於飽和的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液中，給予 1.2V 操作電位反應 5 分鐘，為最有

效增進 SPCE 電化學活性的條件 [50]。陽極處理法為一簡單改善 SPCE 電化學特性的修飾方式。

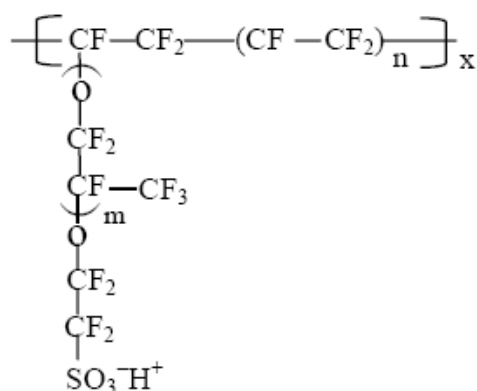


附圖二、電化學前處理法修飾增加了含氧官能基 [52]

#### 1-2-4 選擇性薄膜修飾

對於在進行電化學檢測時，常會在溶液中有干擾物質的影響，進而影響訊號值的判斷。所以常見的策略除了將工作電位降低，減少干擾物質的氧化還原，也常在電極上覆蓋一層透析薄膜阻礙干擾物質的影響。而此薄膜依其孔徑、極性、正負電荷的特性，可防止干擾物質吸附在電極表面的現象。常見的有利用電荷相斥作用，帶電高分子薄膜，由杜邦公司研發出磺酸化聚氟碳化合物 (Nafion) 【附圖三】，其具帶負電的官能基，可防止帶負電荷化學物質之干擾，如血清中常見的抗壞血酸與尿酸 [53, 54]，

研究指出控制 Nafion 適當的密度與厚度，可以有效阻止帶負電干擾物的影響。另一種方式為，利用其多孔性高分子孔徑大小，來當作分子篩 (size exclusion) 形式濾掉較大的電化學物質，來阻止其干擾，如醋酸纖維 (cellulose acetate) 膜 [55]。調整孔徑大小可利用調配容易的密度進行控制。然而覆蓋一層薄膜阻礙效果，也將使得測量時雜訊與背景電流增加，分析物靈敏度降低，並會將偵測的線性範圍給延長，所以其應用較常使用在高濃度檢測。而本身薄膜的穩定度亦會影響測量的準確度與再現性。



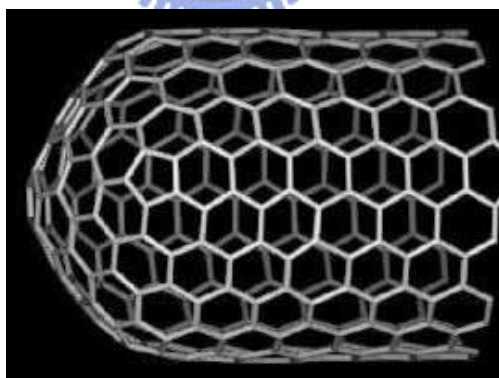
附圖三、Nafion 的化學結構式

### 1-2-5 奈米碳管修飾

在 1991 年，日本飯島 (Iijima) 教授第一個發現 CNT (carbon nanotube) [56]，而其 CNT 的結構為數層石墨層所組成的同軸中空管狀結構【附圖四】，層間距為 0.34 nm，其直徑約數 nm 至數 10 nm，長度可達到 1 μm。其具有良好的電化學特性與機械強度。若以石墨層數來分，可分為單層奈米碳管 (SWNT) 與多層奈米碳管 (MWNT)。SWNT 依不同直徑與螺旋角



(chair angle) 將會影響其為金屬性或半導體性。若相對於 MWNT 而言，SWNT 具有較明確的電化學特性。而 CNT 因其特殊結構，具有幫助電子轉移反應的機制，將其應用於酵素電極上，可以將 CNT 視為連結酵素與電極之間的奈米等級的電子連接者角色 [57]。而利用 CNT 修飾之電極，具有增進許多化學物質的電化學反應強度，如  $H_2O_2$ 、多巴胺 (dopamine)、NADH、細胞色素 c (cytochrome c)、抗壞血酸、 $O_2$ 、catechol 等 [58, 59]。而其應用於電極修飾上常見問題在於其難溶於水特性，不易在電極上進行簡易修飾。若要改變其化學特性，需經由化學修飾改善其疏水性，或者溶於特定界面活性劑 (sufactants) 如：DMF、Nafion [60]、NaDDBS [61] 等之中，再行應用。雖然 CNT 具有特殊良好的電化學催化特性，Compton 團隊卻認為 CNT 的電化學特性應該相當類似於石墨 [62, 63]。



附圖四、CNT 結構 [64]

### 1-3 生物元件固定化 (immobilization) [3, 65, 66]

如何將生物元件固定在轉能器上是生物感測器相當重要的課題。因生

物元件常會因外界環境的影響造成生物活性改變，如溫度、pH值、離子強度等，所以將生物元件利用適當固定化條件與方法，將會影響系統偵測靈敏度與其活性之保存性。所以固定化技術往往是生物感測器發展之重要關鍵。而至目前為止，尚未具有完美通用之固定方法應用於所有感測系統上，故依不同用途，將有不同的固定化方式。簡單分類可分為物理性與化學性方法，而有些會結合兩者方法來固定生物元件。而物理性固定法有物理吸附法 (physical adsorption) 及膠體包埋法 (gel entrapment)，至於化學性固定法有共價結合法 (covalent coupling) 及架橋連結法 (crosslinking)，而以下將分別敘述其四種固定化技術。



### 1-3-1 物理吸附法

物理吸附法為最早也是最簡單之方法。其方法為將生物分子與擔體 (carrier) 作用一段時間，生物分子即會吸附於擔體表面上，然後再將未結合的部份沖洗分離。而其吸附作用主要是利用氫鍵、凡得瓦力 (vander Waals force)、離子鍵等。生物分子與擔體之間物理吸附作用為可逆性。其吸附量易受環境的溫度、pH值、離子強度等影響。由於此法是在較溫和的環境底下進行，所以對生物活性的損耗亦較少。但此法吸附能力較弱，生物分子較容易從擔體表面脫落，而失去偵測靈敏度，為其最大缺點。常見的擔體材料有離子交換樹脂、活性碳、矽膠、尼龍、氧化鋁、多孔玻

璃等等。

### 1-3-2 膠體包埋法

膠體包埋是將生物分子包埋於高分子物質中，而包埋過程為將生物分子與高分子物質均勻混合，再製成薄膜或粒狀膠體，通常形成似膠體結構。大分子的生物分子包埋於膠體內不易擴散流失，而待測的小分子物質可進入膠體內與生物分子反應。膠體包埋為一溫和的固定方式，可依實驗需求製成不同形狀，而此法亦為普遍的固定化技術方法之一。但膠體包埋法經過長時間使用，生物分子易從膠體中流失，進而失去偵測的靈敏度，也可能因其膠體基質，造成部份程度待測物質之擴散阻礙。常見的膠體材料有聚丙醯氨 (polyacrylamide gel)、凝膠 (gelatin)、聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol)、碳膠、洋菜 (agar) 等。

### 1-3-3 共價結合

共價結合為將生物分子官能基與承載物質表面官能基發生共價結合反應。此方式對於環境的溫度、pH值、離子強度具有最好的阻抗性，且其反應再現性也是最好的。對於生物分子對承載物質共價結合的官能基不能是具有催化反應的活性中心，因為容易因此造成生物分子活性的極大損害。而共價結合常伴隨對於承載物質活化，在表面修飾官能基使其能與生物分子行共價結合反應。而在生物分子上，常利用的官能基有胺基 (amino

group)、羧基 (carboxyl group)、硫氫基 (sulfhydryl group)、氫氧根 (hydroxyl group) 等，而常利用的承載物質有不溶於水之多醣體如：纖維素，或者高分子量蛋白質如：動物膠 (collagen)，高分子物質如：聚氯乙烯 (PVC) 等。

#### 1-3-4 架橋連結法

架橋連結法是利用具有雙或多官能基架橋劑，將生物分子與承載物質利用架橋劑當作橋樑連結，或將不具催化能力之蛋白質分子如：動物膠或者血清蛋白，與生物分子結合形成巨大高分子量物質，可留於透析薄膜中。常用的架橋劑有戊二醛 (glutaraldehyde)、雙異氰酸衍生物 (bisisocyanate derivatives)、雙重氮對二胺基聯苯 (bisdiazobenzidine)，而其中以戊二醛當作架橋劑最為常見。其優點在於製程簡單且結合穩固。利用此方式固定對於環境的溫度、pH值、離子強度具有良好的阻抗性，但其也可能產生待測物質與生物分子之立體障礙。所以選擇適當的架橋劑與反應條件是相當重要的。

#### 1-4 界面活性劑 (surfactant)

界面活性劑為一具有對稱性分子結構之化合物。其結構可分為兩部份，頭端 (Head-Group) 及尾端 (Tail-Group)，頭端對水相親和力較高，稱為親水基，尾端則對有機物及其他疏水性物質之親和力較高，稱之為疏

水基或親油基。其可溶於極性化合物如水，或非極性化合物如油之間。視親水基疏水基兩基團的大小和平衡所產生溶解度的結果，可分為水溶性界面活性劑和油溶性界面活性劑兩種。界面活性劑的分類，可依其在水中的解離狀態，分為陰離子 (Anionic)、陽離子 (Cationic)、非離子 (Nonionic) 及兩性界面活性劑 (Amphoteric) 四種型態：

### 1. 陰離子型

若界面活性劑的分子為可解離，而解離後，親水基帶有負電荷者，稱為陰離子界面活性劑。此型為界面活性劑中產量及種類最多者。此類型親水基常見為磺酸根 ( $-\text{SO}_3^{2-}$ )、硫酸根 ( $-\text{SO}_4^{2-}$ ) 或者是羧基。

### 2. 陽離子型

若界面活性劑的分子為可解離，而解離後，親水基帶有正電荷者，稱為陽離子界面活性劑。常見如：quaternary ammonium ( $-\text{R}_3\text{N}^+$ )。此型界面活性劑因產量較少，所以價格較高，通常具有抗靜電與殺菌力 [67]。

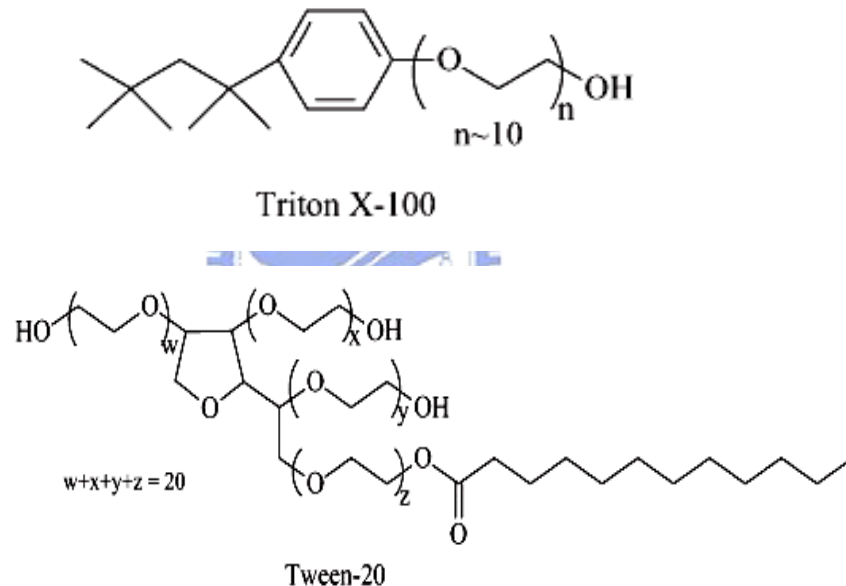
### 3. 非離子型

若界面活性劑的分子為不解離，而具有界面活性的整個分子都不帶電荷，則稱為非離子界面活性劑。在四類型的界面活性劑中毒性最低，由於其電荷中性關係，所以可與其它型的界面活性劑任意混合。非離子型界面活性劑為臨界微胞濃度 (Critical Micelle Concentration, CMC) 較低，且因非離子型界面活性劑不帶電，其分子易形成微胞 (Micelle)。如 Triton X-100

與Tween 20【附圖五】。

#### 4. 兩性界面活性劑

若界面活性劑在同一分子中，同時具有解離成陰離子與陽離子，兩者以上官能基存在時，稱之為兩性界面活性劑。隨溶液的pH值變化而改變離子性，在酸性時呈陽離子性；在鹼性時呈陰離子性。當兩性離子強度達到平衡時，可與其它型界面活性劑自由混合。



附圖五、非離子型界面活性劑Triton X-100與Tween 20結構式

#### 1-4-1 臨界微胞濃度

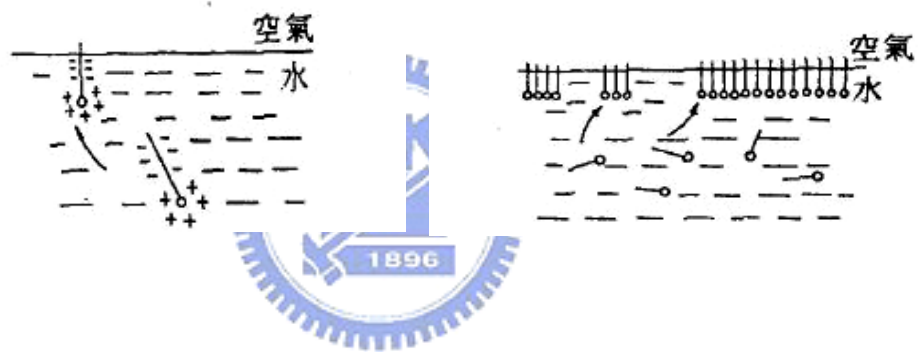
當界面活性劑存在於水溶液中時，單體分子親水基將會朝向水溶液主體方向，而疏水基部分將與水產生斥力，會朝反方向伸展，接著單體分子 (Monomer) 開始往水溶液界面移動。當界面活性劑在水溶液中的逐漸提



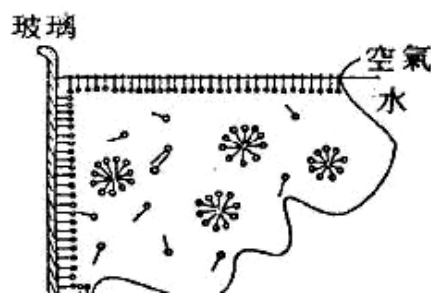
升時，在水溶液界面的單體也越來越多，當達到飽和後，多餘的單體分子疏水端將開始朝內，親水端開始朝外，並開始聚集形成分子團【附圖六】。而此結構通常由許多界面活性分子組成，此分子團稱為微胞。而界面活性劑形成微胞所需之最小濃度，稱為臨界微胞濃度 (CMC)。超過此濃度之後，界面活性劑單體分子濃度將維持一定，因為繼續加入之界面活性劑會形成微胞，而將不再以單體分子的形態存在。

(a)

(b)



(c)



附圖六、界面活性劑分子在水溶液中的狀態模型 [68]

## 1-5 實驗目的

SPCE為目前普遍使用於電化學研究與商用生物感測器市場上，由於其成本低廉，容易微小化且大量製造。但SPCE常有電子轉移效率較差之電化學特性，所以將會影響其反應性，所以我們在此研究中，嘗試修飾SPCE以改善其電化學特性，增強其反應強度，並降低干擾物質的影響，選擇出最適當修飾SPCE條件，並希望可以將其改良後之優點，應用於生物感測器上。





## 第二章 實驗材料與方法

### 2-1 實驗藥品

- (1) 葡萄糖氧化酶 (Glucose oxidase ; GOx) , EC 1.1.3.4 (Fluca)
- (2) 葡萄糖 (Glucose anhydrous) (Sigma)
- (3) 抗壞血酸(L (+)-Ascorbic acid) (Sigma)
- (4) 乙醇 (Alcohol) (Sigma)
- (5) 過氧化氫 (Hydrogen peroxide) ( Showa)
- (6) 磷酸氫二鈉 (Sodium Phosphate Dibasic Heptahydrate) (Showa)
- (7) 磷酸二氫鉀 (Potasium dihydrogenphosphate) ( Showa)
- (8) 氯化鈉 (Sodium chloride) ( Amresco)
- (9) 氯化鉀 (Potasium chloride) ( ICN)
- (10) Nafion (perfluorinated ion-exchange resin, 5% w/v solution in lower alcohol/water) ( Aldrich Steinheim Germany)
- (11) Triton X-100 (Biobasic INC)
- (12) Tween 20 (Biomedical)
- (13) SWNT (Conyuan Biochemical technology Co. Ltd)
- (14) SPCE (ApexBio from Hsinchu Taiwan)
- (15) 聚乙烯醇光聚合物 (pyridinium methyl sulfatate : PVA-SbQ)( Toyo Gosei Kogyo Co. Ltd., Japan.)

## 2-2 實驗儀器與設備

所有電化學實驗均使用型號 CHI 440 (CH Instruments) 之儀器來進行檢測，並連接至電腦上進行訊號判讀。而電化學系統是利用標準三電極系統 (Standard three-electrode system)，將純金電極當作對極，Ag/AgCl 當作參考電極，SPCE 當作工作電極，並將三極浸泡於 10 ml 的燒杯中，並在磁石穩定攪拌的環境中進行電化學檢測【附錄二】。光學顯微鏡照是利用 Olympus BX51 光學反射式顯微鏡並利用 DP12 數位照相機來讀取訊號。而電子顯微鏡照是由清華大學化學工程學系電子顯微鏡所拍得。

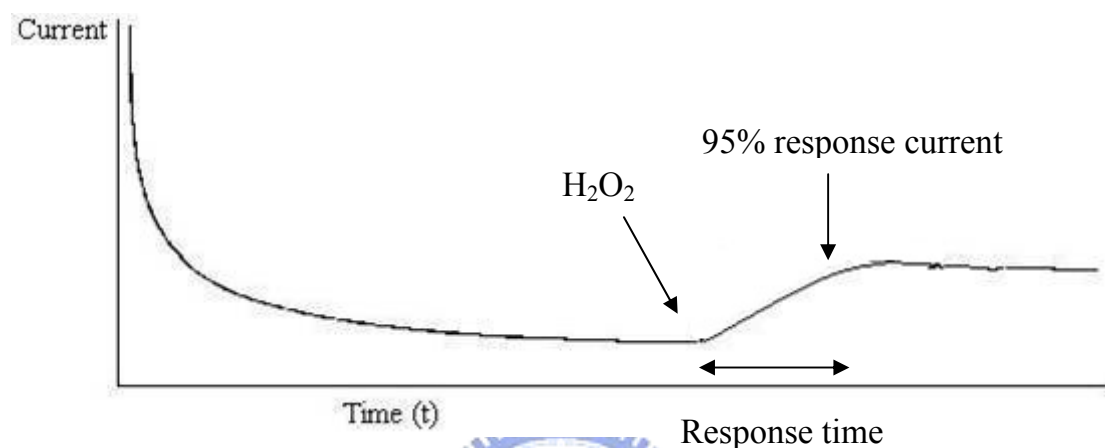
## 2-3 實驗步驟



### 過氧化氫之電流式檢測

調配新的 1 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  放置於冰上使其不易產生反應因而濃度降低，並在小燒杯中注入 10 mL 1X PBS 當作反應槽中之電解緩衝液，並在反應槽內放置一小磁石，固定速度攪拌使其能均勻反應。並將對極之金電極、參考電極之 Ag/AgCl 與工作電極之 SPCE 浸於反應槽中。將工作電壓相對參考電極設定於 0.7 V。當背景電流值得到一穩定平衡狀態時，再添加 10  $\mu\text{L}$ , 1 M  $\text{H}_2\text{O}_2$  於反應槽內。因為所添加的  $\text{H}_2\text{O}_2$  體積相對於反應槽內的 PBS 相比小於 0.1%，所以其濃度誤差可以忽略不記，可視為添加濃度為 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。而當添加  $\text{H}_2\text{O}_2$  完後，待反應達到穩定平衡狀態時，則將其

氧化電流減掉背景電流 (background current), 則為我們所求得之反應電流值 (response current)。而其反應時間 (response time) 為當添加  $\text{H}_2\text{O}_2$  完後, 待電流由背景電流值上升至 95% 反應電流值之時間 [69], 其為電流反應時間【附圖七】。



附圖七、電流反應時間示意圖

## 表面修飾 SPCE

(1) 利用循環伏安法清潔修飾：

利用預先調配好濃度之各類溶液 (0.1% HCl, 飽和 KCl, 0.05 M phosphate buffer, 1 M NaHCO<sub>3</sub>, 飽和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), 將各類溶液當作電化學系統中之電解緩衝液, 並進行循環伏安法來做為電極表面清潔, 起始電壓設定為 0.0 ~ 2.0 V 或 1.0 ~ 2.0 V, 以 0.1 V/s 速度改變電位, 並設定循環圈數分別為 5 圈, 10 圈或者 15 圈, 待系統反應結束, 利用二次去離子水洗淨之後, 即可將 SPCE 置於室溫下保存。

## (2) 利用奈米碳管修飾：

利用 99.5% 乙醇稀釋 5% Nafion 於所需濃度。同樣利用乙醇稀釋 Triton X-100 與 Tween 20 於所需濃度 (0.5 ~ 10%)。並將 SWNT 利用超音波震盪器，使其均勻溶於不同濃度之 Nafion，Triton X-100 與 Tween 20 溶液中，調配為 2 mg/ml 濃度，並取 1.5  $\mu$ L 體積，利用微量吸管，均勻塗布在 SPCE 活性區域上。置於抽氣櫃中於室溫下 24 小時後，則置於室溫保存。

## (3) 利用非離子型界面活性劑修飾：

利用 99.5% 乙醇稀釋非離子型界面活性劑 (Triton X-100, Tween 20) 於所需濃度 (0.5%~10%)，並將其取 2  $\mu$ L 體積，利用微量吸管，均勻塗布在 SPCE 活性區域上，置於烘箱內以 37°C 烘乾 1 小時後，則置於室溫保存。

## 葡萄糖感測器

葡萄糖感測晶片是利用 PVA-SbQ 材質將葡萄糖氧化酶進行膠體包埋使其固定化在電極之上。利用 PVA-SbQ 光聚合反應將酵素包埋的方法，已經在許多文獻 [69, 70] 進行過探討。而在此之實驗程序，是依循之前本實驗室研究成果，所測試出最適合的膠體包埋條件進行。酵素溶液的調配是將可溶的葡萄糖氧化酶粉末與二次去離子水以 1:12 (w/w) 的比例均

勻混合。並且將 PVA-SbQ 與二次去離子水以 1 : 1 (w/w) 稀釋。接下來將已調配之酵素溶液 (13 U/ $\mu$ L) 以及稀釋之 PVA-SbQ 再以 1 : 1 (v/v) 充分的均勻混合。之後再塗布 1.5  $\mu$ L GOD/PVA-SbQ 溶液於 SPCE 之工作區域上，置於冰上照光 2 小時進行光交聯反應，待反應完畢即將此酵素電極置於 4°C 冰箱 24 小時後，即可進行偵測。

在進行電化學檢測時，預先調配好 1 M 與 100 mM 濃度的葡萄糖溶液，在進行葡萄糖檢測時，利用三極系統進行偵測，並將工作電位設定在 0.7 V (vs. Ag/AgCl)，而再添加所需之葡萄糖溶液濃度，而獲得電流反應值之方法，與在偵測 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 所進行之程序相同。

#### 接觸角 (Contact angle) 量測



利用微量吸管滴落 1  $\mu$ L 二次去離子水於 SPCE 表面上，利用電腦判讀角度擷取圖形。

## 2-4 實驗原理與方法

### 電化學原理與方法 [71]

電化學為研究電能與化學能之間，其能量和質量轉換的學問，主要是探討反應物質在化學反應中與電荷的關係【附圖八】。電荷的輸送發生於電極表面和電解質之間。在電解質中可利用離子的移動輸送電荷。當施加

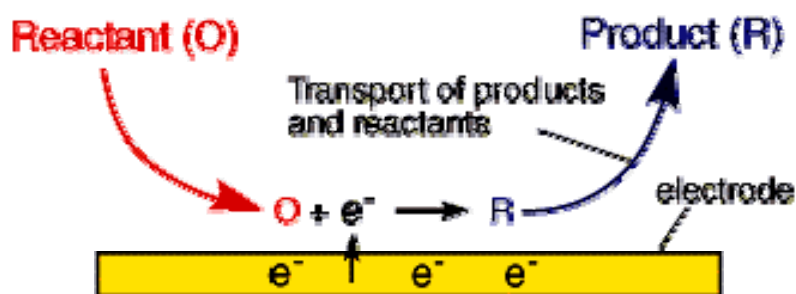
電壓於電極時，電極表面會產生一層離子，然後鄰近表面電解液中，再散佈一層帶異性電之離子，形成電雙層。對某一特定物種（標準電位,  $E_0$ ）而言，當電極處於較大的電位時（ $E < E_0$ ），電子的能量提升，使電子由電極表面流向電解液，此時稱為還原電流（Reduction current）。而當電解液處於較大的電位時（ $E > E_0$ ），將使電極偏向正電位，電子由電解液流通過電雙層到電極表面發生氧化反應，此時稱為氧化電流（Oxidation current）。

而電極的反應電流大小除了與施加電位有關，與質量傳送的速率也有著絕對關係。因為反應物必須先由電解溶液中傳達至電極表面才能完成氧化還原反應發生電子傳遞現象。而質傳機制有三類，分別為擴散（Diffusion）、遷移（Migration）及對流（Convection）。

擴散為當電極發生反應後，電極表面反應物濃度下降，使電解液和電極表面之間形成濃度差，則反應物會從高濃度擴散到低濃度，此現象稱為擴散，其速度與濃度差成正比。遷移為在電極施加電位時，會形成電場，而電子或離子在電場的作用下，使帶有電性的電子或離子往相對電場電性的方向移動，此現象稱為遷移。其遷移速度與離子濃度、電荷價數和電場強度成正比。對流為在電解槽中，電解液中物質因電極和電解液之間進行攪拌或旋轉電極等機械性運動或是溫度的變化而傳送到電極表面的現象稱為對流。其所造成的反應物流速與物質的濃度、攪拌速度、旋轉速度和



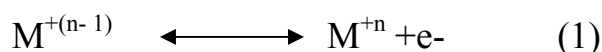
溫差成正比。而在一般電化學實驗會添加大量電解質，提供足夠的離子強度，在此情況可以忽略遷移現象。而一般若仔細操作，對流現象也可以控制在相同狀態。所以一般只需考慮到擴散現象。



附圖八、反應物質傳送至電極表面反應機制圖 [72]

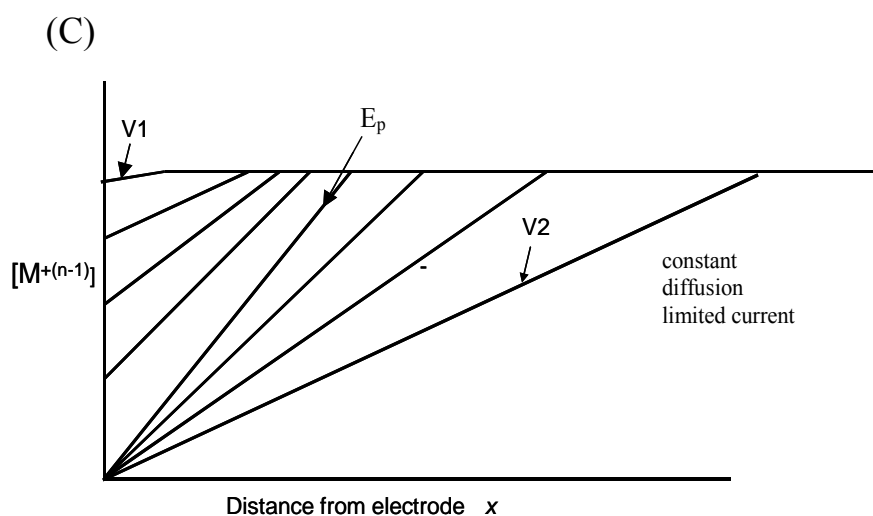
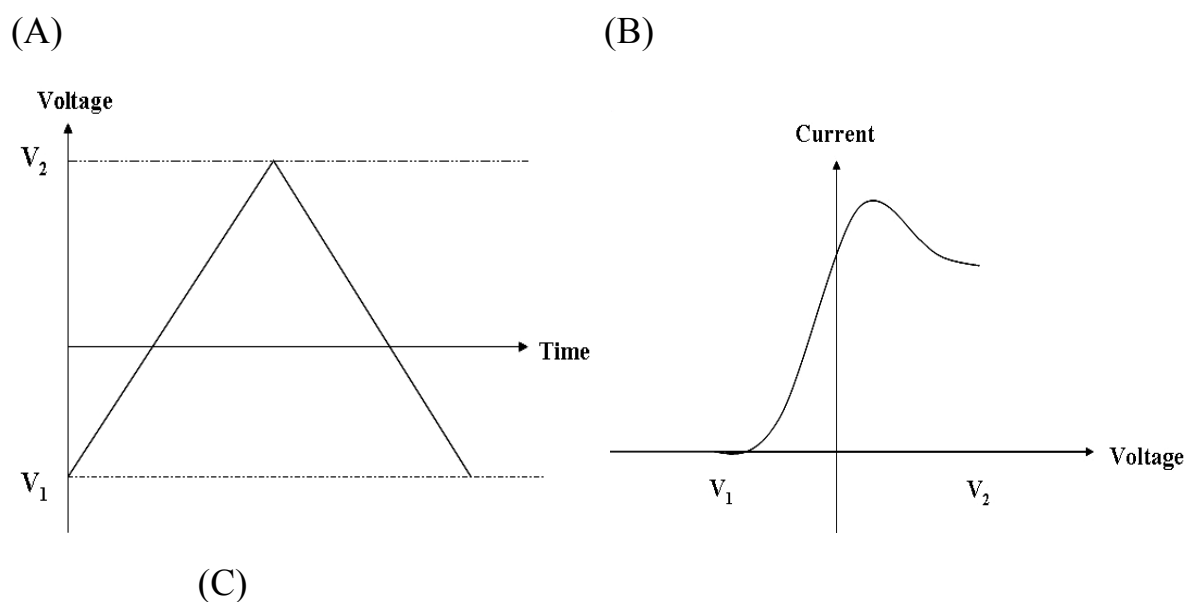
## 循環伏安法

循環伏安法為一種廣泛應用於伏特安培法 (Voltammetry) 之技術，常用來研究電極表面行氧化還原反應現象如電子傳遞動力學。對於電極提供外加電壓，其為隨時間而變之固定掃瞄速率之三角波【附圖九(A)】，並且有前掃瞄 (forward scan)，如【附圖九(B)】由  $V_1$  至  $V_2$ ，或逆掃瞄 (reverse scan)，由  $V_2$  至  $V_1$ 。藉由所得到之電流—電位曲線，則可獲得反應物於電極表面進行氧化還原之相關資訊。



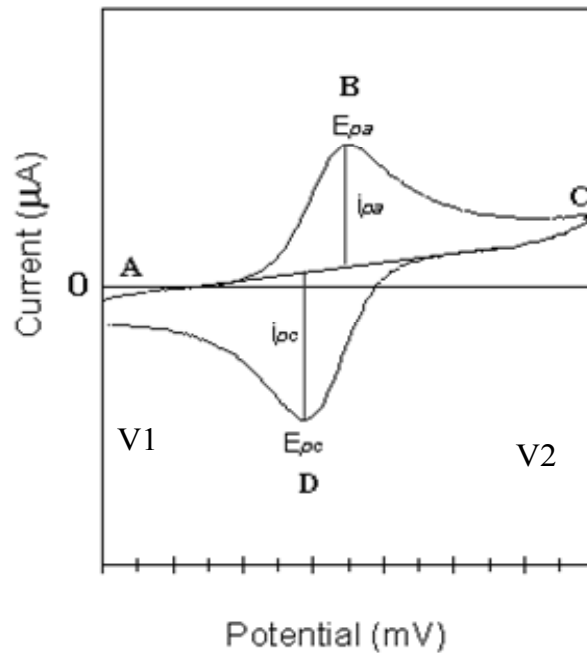
上式為由  $V_1$  至  $V_2$  循環掃瞄時，電化學物質之氧化還原反應。由  $V_1$  至  $V_2$  循環掃瞄時，在電極表面上會在其擴散層，形成一濃度梯度。在  $V_1$ ， $t=0$  時，在電極表面大部份都是  $M^{+(n-1)}$  反應物，之後隨著電位的提升，其擴

散速率將會逐漸增加，在電極表面上逐漸提升 $M^{+n}$ 生成物，當到達擴散速率與化學反應平衡時，在電流-電位曲線上會發現一波峰，即為其氧化峰電位 (oxidative peak potential;  $E_{pa}$ )，其所對應電流為  $I_{pa}$ 。當波峰點出現後，其擴散層將往外延伸，導致擴散速率不足，進而電流反應值持續但越來越小【附圖九(C)】。而若此電化學反應為可逆，當電壓由 $V_2$ 逆掃描至 $V_1$ 時，會產生還原峰電位 (reductive peak potential;  $E_{pc}$ )，其對應電流為 $I_{pc}$ 【附圖九(D)】。





(D)



附圖九、(A) CV 電位—時間變化圖。(B) CV 電位—電流變化圖。

(C) 電極表面擴散層濃度梯度變化。

(D) 可逆式 CV 電位—時間變化圖。

對於受質能傳送控制的可逆性循環伏安法而言，將遵循下列關係式：

$$E_{\text{red}} = (E_{\text{pa}} + E_{\text{pc}})/2, \quad I_{\text{pa}} = I_{\text{pc}} = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2}, \quad \text{並且 } \Delta E_p = E_{\text{pa}} - E_{\text{pc}}$$

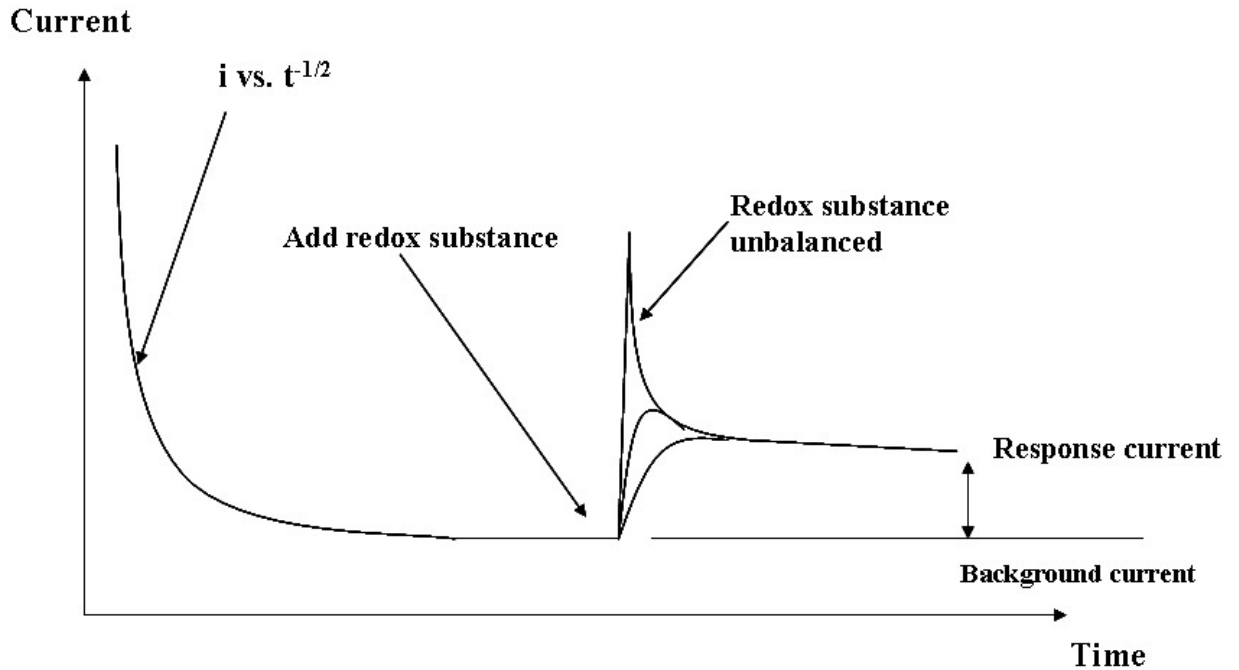
= 59 mV/n，其中 n 為電子數，A 為電極表面積，C 為反應物在溶液中濃

度，D 為反應物之擴散係數，v 為電位掃描速率。可看出利用循環伏安法

將可以用來研究電極電子轉移與化學反應速率。

**定電位法 (Constant—Potential method, CP)**

定電位法為將外加電壓維持在可以使待測物質反應之常數值。隨著待測物質的加入，其反應量將會表現在電流的變化上。此方法又可稱為電流式檢測法。利用此方法，可以電流值之變化量將會隨待測物質濃度呈現比例關係。而在反應時，需在系統攪拌，使其產生對流，利用此法可以將溶液達均勻狀態。而在利用此法時，通常會選擇在含有電解質溶液當操作環境，而在未添加待測物時，施以一外接工作電壓時，將會發覺起始時會產生極大電流值，之後隨著時間增加，會隨之漸漸降低，最後達一穩定平衡電流，稱之為背景電流值。而其電流隨時間下降速率將可由Cottrell方程式可得知： $i$  vs.  $t^{-1/2}$  之關係。而隨著當穩定產生背景電流值後，此時添加待測物將會改變環境中濃度，記錄其電流—時間曲線 ( $i$ - $t$  curve)，當電流值再次反應平衡時，將此電流值扣除背景電流值即為其反應電流值。而再添加待測物時，有時會因待測物在系統環境中，濃度不均造成電流會有瞬間變大現象，此時若系統是穩定且選擇電位為正確的話，等待一段時間，還是會達一穩定平衡狀態。在計算其反應時間，為當添加待測物後，電流由背景電流值爬升至95%反應電流值所需時間【附圖十】。在此系統中反應物與電流值可用下列方程式表示： $I = nFADC_{\text{bulk}}/\delta$ ， $I$ 為反應電流值， $n$ 為電荷數， $F$ 為法拉第常數， $A$ 為電極表面積， $D$ 為物質之擴散係數， $\delta$ 為物質之擴散層厚度， $C_{\text{bulk}}$ 為溶液中反應完之氧化還原物質濃度。



附圖十、定電位法之添加待測物於系統中時間—電流曲線

電流式氧化酶感測器【附圖十一】

在酵素感測器上，氧化酶通常伴隨產生  $\text{H}_2\text{O}_2$ ，而其標準氧化電位可由 (2) 式得知為  $-0.695 \text{ V}$ ，

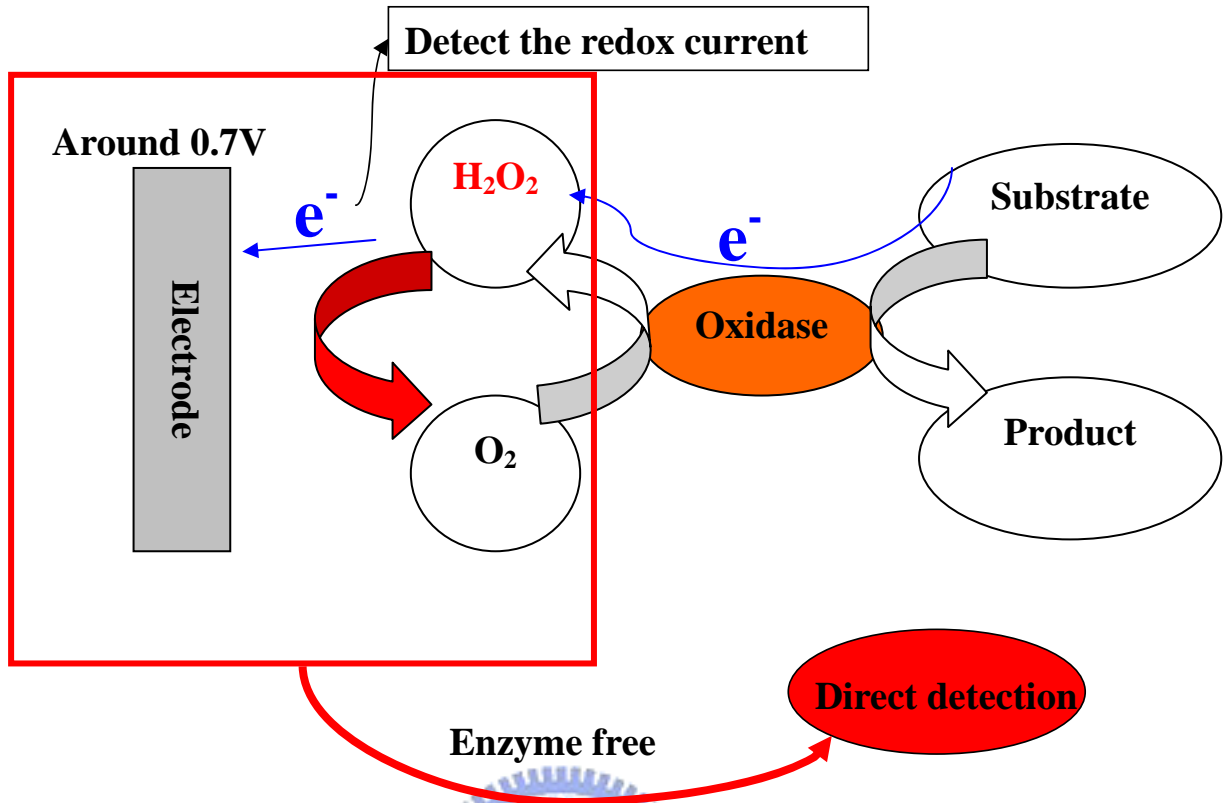


利用定電位法，設定工作電位約為  $0.7 \text{ V}$ ，即可測得  $\text{H}_2\text{O}_2$  氧化反應電流。

而以葡萄糖氧化酶反應為例，



葡萄糖經酵素催化後會產生  $\text{H}_2\text{O}_2$ ，偵測  $\text{H}_2\text{O}_2$  濃度可回推得知葡萄糖濃度，可應用於血糖測試用途上。



附圖十一、電流式氧化酶感測器示意圖。



### 第三章 結果與討論

#### 3-1 利用 SWNT 對 SPCE 進行表面修飾

SPCE 雖然已廣泛應用於生物感測器上，但其卻有低靈敏度、反應時間較慢，需要較高工作電壓氧化還原反應等缺點。有文獻 [60] 指出利用 2 mg/mL MWNT 於 0.5% Nafion 中，可有效改善玻璃碳電極對於  $H_2O_2$  之反應性與降低工作電位進行氧化反應。而為了驗證其是否也可應用於修飾 SPCE 上，所以選擇將同樣 2 mg/mL 濃度之 SWNT 溶於 0.5% 與 5% 中比較其反應性。在此選擇 SWNT 原因在於，SWNT 比 MWNT 較具有一致電化學特性。在【圖一】可得知在當 2 mg/mL 溶於 0.5% Nafion 時，相對於未修飾 SPCE 反應性為其 6.2 倍，而溶於 5% Nafion 時，反應性為其 3.8 倍，表示對於 1 mM  $H_2O_2$  而言，文獻中最佳化條件也可應用於 SPCE 上。而當無 SWNT 只有 0.5% 與 5% Nafion 時，電極對  $H_2O_2$  反應性無顯著改善。

由於 CNT 其應用最大障礙在於其難溶於水，文獻中可利用 Nafion 溶解高濃度 CNT，因 Nafion 高分子結構含疏水基與帶負電親水基，陰離子界面活性劑結構，所以希望同樣應用 Triton X-100 與 Tween 20 等非離子性界面活性劑，利用疏水基將 CNT 吸附，利用親水基溶於水溶液中，並將此混合物塗布於 SPCE 上進行 CNT 修飾。本實驗所用 2 mg/mL SWNT 溶於 0.5% ~ 10% Triton X-100 與 1 ~ 5% Tween 20 的濃度範圍，發現其相

當難溶於水，需利用超音波震盪器經強烈攪拌後，才可以在 eppendorf 形成暫時性勻態，但經靜置一段時間後，其將開始產生沉澱。而將利用強烈攪拌均勻之 SWNT/Triton X-100，利用微量吸管，均勻塗布於 SPCE 上，發現隨著 Triton X-100 濃度增加，其對於 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應性呈一逐步增加現象，尤其是在溶於 10% Triton X-100 時，其反應性相對於未修飾電極為 10.1 倍，但有趣的是若無 SWNT 溶於其中，單純的以不同濃度之 Triton X-100 修飾 SPCE，發現當在低濃度時，小於 2% 時，其反應性與含 SWNT 之溶液相比為差，但在大於 5% 高濃度時，卻具有相當良好的電化學反應，而同樣的情況同樣發生於 Tween 20 中，甚至在 5% Tween 20 比未修飾電極反應大 11.1 倍。而文獻中利用 SWNT/Nafion 修飾 SPCE 最佳條件卻只有 6.2 倍。在此似乎發現 Triton X-100 與 Tween 20 對 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 具催化作用，故開始研究其對於 SPCE 之電化學特性上的改變。

### 3-2 利用 Triton X-100 與 Tween 20 對 SPCE 進行表面修飾

#### Triton X-100 與 Tween 20 濃度對 SPCE 修飾影響性

利用 99.5% 酒精溶解不同濃度 (0.5, 1, 2, 5, 7.5, 10%) 的 Triton X-100 與 Tween 20，將此兩類分別對 SPCE 進行修飾，可發現隨著濃度增加，其對於 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 之反應性將會提升【圖二】。在 10% 的濃度時，Triton X-100 與 Tween 20 相對於較低濃度之標準誤差值增大許多，尤其是 10%

Tween 20 其標準誤差異異常之大。推測為因其 CMC 較低，而非離子型界面活性劑不帶電，其分子易形成微胞，造成在高濃度時無法均勻的覆蓋在 SPCE 表面上，因其疏水基都包覆在微胞內側，只能露出親水基於外側，則造成其對 SPCE 表面吸附力不佳所致，因而造成其穩定反應性不佳。7.5% Tween 20 具有良好穩定增強 SPCE 電性效果，而 7.5% Triton X-100 也同樣具有此現象。並且為方便比較這兩者界面活性劑，對於 SPCE 修飾效果程度，所以之後實驗都採用 7.5%濃度進行修飾 SPCE。

#### 不同工作電位對 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之反應電流

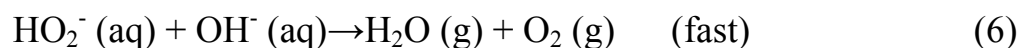
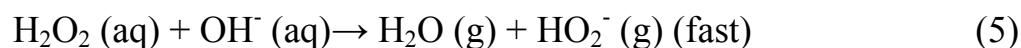
選擇利用 7.5% Triton X-100 與 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE，在不同工作電位-0.3~0.7 V 底下，添加 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  反應電流值，於 pH 7.4, PBS 溶液中。在【圖三】中，可明顯看出經修飾後之 SPCE，其對於 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  反應在不同工作電壓下，均比未修飾之 SPCE 反應為佳。表示 Triton X-100 與 Tween 20 似乎具有對  $\text{H}_2\text{O}_2$  催化作用，且可發現經此兩者修飾後電極，其對  $\text{H}_2\text{O}_2$  電流—電位圖形有類似曲線，但 Tween 20 較 Triton X-100 對修飾 SPCE 效果較佳。而由文獻中可知，CNT 可有效改善玻璃碳電極對於  $\text{H}_2\text{O}_2$  之反應性與降低工作電位進行反應，所以將 2 mg/mL SWNT 於 0.5% Nafion 修飾 SPCE，在不同工作電位下-0.1 ~ 0.7 V 偵測其對 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  反應電流值【圖四】。可看出其電流—電位圖形與【圖三】相當類似。可



再次印證以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE，將可改善其電化學特性，使修飾後之 SPCE 對於  $\text{H}_2\text{O}_2$  之反應性明顯提升。

為了了解以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾之 SPCE，除了對於  $\text{H}_2\text{O}_2$  之反應性增加外，對於血液檢測時，常見的干擾物質抗壞血酸，是否也會提升其電化學反應，於是利用添加  $500\ \mu\text{M}$  抗壞血酸，在  $0.3\sim 0.7\ \text{V}$  不同工作電位下，測其反應電流值，並與未修飾 SPCE 做比較【圖五】。可發覺以 7.5% Triton X-100 與 Tween 20 修飾之 SPCE，對於抗壞血酸反應性較未修飾 SPCE 反應性為差。推測原因在於其表面覆蓋 Triton X-100 與 Tween 20 薄膜，將使抗壞血酸通透性降低，使其具有些微阻擋作用。

至於為何會增進  $\text{H}_2\text{O}_2$  之反應性，可推測因 Triton X-100 與 Tween 20 結構上帶有 -OH 官能基，使其可以對  $\text{H}_2\text{O}_2$  催化作用。因利用陽極處理法修飾碳膠電極改善其電化學特性，部分原因在於增加其電極含氧官能基 [52]。而利用氧電漿增加碳黑電極含氧官能基，可催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解效率 [73]。至於  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解機制為：



因  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解第一步 (4) 為速率決定步驟，而以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 上，其帶有 -OH 官能基，將可視為跳過速率決定步驟，直接進行 (5) 步驟，而有效增進  $\text{H}_2\text{O}_2$  分解，進而使其電流反應值提升。

## Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之連續性測試

利用 Triton X-100 與 Tween 20 兩種界面活性劑來修飾 SPCE，研究其對於 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 之重複性測試反應，浸泡於 pH 7.4 PBS 溶液中。可發覺以 7.5% Triton X-100 修飾 SPCE 其反應平均值為 607.48 nA，其相對標準差 (relative standard derivation; R.S.D) 為 4.42%。而以 7.5% Tween 20 修飾 SPCE 其反應平均值為 1744.70 nA，其相對標準差為 2.88%。【圖六】可看到 7.5% Tween 20 修飾電極在第 15 次反應後，開始有輕微降低反應值現象，不過後 5 次反應平均值與前 5 次反應平均值相差只有約 3.29%，所以其影響不大。而 7.5% Triton X-100 修飾電極只有前兩次跳動較明顯，之後反應值一直維持在穩定狀態。這結果顯示，利用界面活性劑修飾 SPCE 之方式，具有良好的再現性，對於界面活性劑易溶解於偵測系統溶液中之疑慮，可知其可穩定連續測試 20 次，而不會造成反應訊號值流失，進而造成誤差之判讀。

### 3-3 利用循環伏安法對 SPCE 進行表面修飾

利用陽極處理法來修飾 SPCE，可移除其電極表面有機黏著劑，增加其電化學特性。將其應用於利用五種不同溶液 (0.1% HCl, 飽和 KCl, 0.05 M phosphate buffer, 1 M NaHCO<sub>3</sub> 與飽和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 進行循環伏安法，希望能夠以 0.0 ~ 2.0 V 或 1.0 ~ 2.0 V 兩種電壓範圍，對 SPCE 表面行氧化作

用，將其礦物油與高分子黏著劑給予氧化清潔作用。在【圖七】可發覺，增加 CV 掃描範圍，將可提升對於 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應值，其原因在於可將在此範圍內電極表面上之不同種類有機溶劑，給予部份氧化，將碳粉顆粒露出，提高其電極反應面積。而隨著循環圈數的提升，將會對電極電性有明顯提升，在於可將電極表面有機物質氧化清潔時間增長。除了利用 1 M NaHCO<sub>3</sub> 在 1.0 ~ 2.0 V，5 圈 CVs 時，其電性與 10 圈，15 圈相比較大，推測應該為 SPCE 在製程上的誤差，造成訊號判讀上的錯誤。【圖八】為五種溶液在對 SPCE 由 0.0 ~ 2.0 V，進行 15 圈 CVs 圖形，由【圖八 B】可看出，為何在【圖七】中，利用飽和 KCl 清潔將不會改善其電性，原因在於當 CV 逆掃描由 1.2 ~ 0.0 V 時，將產生一還原電流，造成溶液中部份物質還原於 SPCE 表面上，影響電極電子傳遞效率。在【圖七】可發現經由 1 M NaHCO<sub>3</sub> 進行由 0.0 ~ 2.0 V，15 圈 CVs 可對 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 具有最佳反應性，提升至 5.3 倍。而利用 1.0 ~ 2.0 V，0.05 M phosphate buffer，進行 CVs，將可在較短前處理時間內，將 SPCE 對 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應進行提升。對於此五種溶液，除了 KCl 之外，其餘四種溶液皆可有效改善 SPCE 電化學活性。

### 3-4 比較利用 SWNT，Triton X-100，Tween 20 與 CV 修飾 SPCE 效果

由 CNT 來增強 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化反應已經被證實，但是由於 CNT 為一昂貴

材料，將其用在修飾 SPCE 上，成本將會增加許多。至於利用不同溶液對 SPCE 進行循環伏安法電化學前處理，雖可有效改善對  $H_2O_2$  之反應，但因 SPCE 必須單根逐一進行處理，且其前處理時間也必須達數分鐘之久，所以對於大量修飾 SPCE 時間效率上，將受到限制。而利用非離子界面活性劑 Triton X-100 與 Tween 20 除了可有效增進 SPCE 對  $H_2O_2$  電化學反應之外，因其價格低廉，可減少修飾成本，且可在短時間內對電極進行大量修飾，對於應用於生物感測器上將具有更大優勢。【圖九】為在工作電壓 0.7 V 底下，對於 SWNT, Triton X-100, Tween 20 修飾 SPCE 對 1 mM  $H_2O_2$  反應性與未修飾電極比較，可發覺利用 7.5% Tween 20 修飾 SPCE，其對  $H_2O_2$  反應最佳，表示其修飾效果最好，至於雖然利用 7.5% Triton X-100 修飾方式較 SWNT 修飾效果略微不佳，但由於其成本因素，且利用非離子界面活性劑來修飾 SPCE 增進其對  $H_2O_2$  反應為新發現，並且希望其修飾效果一樣能應用於氧化酶感測器上，所以將選擇 Triton X-100 與 Tween 20 兩種修飾方式進行氧化酶生物感測上之研究。

### 3-5 表面結構分析 Triton X-100 與 Tween 20 修飾之 SPCE

#### 利用反射式光學式顯微鏡分析

為了了解利用 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 方式，對於其表面結構有無改變，所以接下來將利用顯微鏡來分析其電極表面。利用 100X

的反射式光學式分析 SPCE【圖十】。可發現經過 7.5% Triton X-100 與 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE 較未處理之 SPCE 表面來的平滑。未修飾之 SPCE(A)有高低不平較粗糙的碳粉顆粒，這可能是在網版印刷時密度不均所造成，而經由 7.5% Triton X-100 修飾之 SPCE【圖十 B】。可看出在表面上覆蓋一層透明薄膜，但在圖左側可發現有一氣泡結構，表示其在 SPCE 表面上有覆蓋不均之現象。而以 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE【圖十 C】也可看出在表面上覆蓋一層較厚薄膜，相對於 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE，其覆蓋薄膜較厚，但同樣在【圖十 C】左側也可發現【圖十 B】類似氣泡結構，代表其覆蓋不均現象。

#### 利用掃描式電子顯微鏡分析



為了更了解 SPCE 細微之表面結構，所以利用掃描式電子顯微鏡 (scanning electron micrograph ; SEM)來分析其以界面活性劑修飾之 SPCE【圖十一】。主要可分為兩種倍率來探討，1000X 與 7000X 兩種。由 1000X 之 SEM 圖【圖十一 A】，可看出未修飾之 SPCE 成鱗狀結構，其表面可分為兩大區塊，在周圍為較平坦之碳膠堆疊區，在中間凹陷部位為粗糙裸露之堆疊結構，可看出 SPCE 上有印刷不均現象。將中間凹陷粗糙堆疊區，利用更高倍率 7000X 放大觀察【圖十一 D】，可發覺在平板狀碳粉上周邊有些微顆粒，此為有機黏著劑，這些會造成 SPCE 在電化學反應時電子傳



透效率降低，進而影響偵測反應值。在 1000X SEM 觀察，7.5% Triton X-100 修飾之 SPCE【圖十一 B】可看出與光學顯微鏡相同結果，形成薄膜平坦的覆蓋在 SPCE 上，遮蔽住原本碳膠之鱗狀結構，但還是可發覺薄膜中間有裂縫形狀，可推測其覆蓋不均所致。而 7000X SEM【圖十一 E】可看出 Triton X-100 均勻的覆蓋在碳膠上，形成較圓滑的薄膜表面結構。以 1000X SEM 觀察 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE【圖十一 C】可發覺幾乎完全看不見碳膠鱗狀結構，並且薄膜裂縫也幾乎不見，表示其覆蓋程度較 Triton X-100 均勻。但在 7000X SEM【圖十一 F】中，卻還是可發覺左側有一空洞結構，代表其覆蓋程度雖較 Triton X-100 來的密實均勻，但還是無法完全均勻分布在 SPCE 之上。綜合反射式光學顯微鏡與 SEM 可了解到為何雖然 Triton X-100 與 Tween 20 有催化  $H_2O_2$  之能力，但是其訊號的反應值卻較不穩定，標準差會較大，原因就在於其覆蓋能力無法均勻平鋪在 SPCE 上，造成每根 SPCE 有些許覆蓋程度的不同，因於對訊號值造成誤差。當然會造成覆蓋程度的不同，原因有可能在於操作塗布上的誤差所致。

### **Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之接觸角量測**

接觸角 (contact angle) 為一量測液體在固相物質上之表面張力之表示方式。由於 Triton X-100 與 Tween 20 在其化學結構上都帶有氫氧根官

能基 (-OH)，所以利用其兩者修飾 SPCE，將會改變電極表面上的化學特性，由疏水性轉變為較親水性。接觸角量測方式為將一微小定量體積水滴，滴落在 SPCE 表面上，量測其水滴與 SPCE 之接觸角度，若判讀角度越大，代表其電極表面特性越傾向疏水性。在【圖十二 A】顯示，未修飾之 SPCE 其接觸角為  $87.86^\circ$ ，其水滴平鋪直徑為 1.45 mm，呈現隆起之水滴狀，表示未修飾 SPCE 其表面相當疏水。而以 7.5% Triton X-100 修飾之 SPCE【圖十二 B】，其接觸角為  $19.84^\circ$ ，水滴直徑為 3.25 mm，呈現扁平之水滴狀，表示其電極表面已由疏水性轉變成親水性特性。至於利用 7.5% Tween 200 修飾之 SPCE【圖十二 C】，其接觸角為  $12.25^\circ$ ，其水滴直徑為 3.38 mm，呈現扁平之水滴形狀，代表 SPCE 表面特性也由疏水轉為親水性，而且相對於 Triton X-100 修飾之 SPCE，比較其接觸角度與水滴直徑，似乎可發覺其親水特性更強。利用此兩種界面活性劑修飾 SPCE 改變其表面特性，可視為因界面活性劑疏水端與疏水性的 SPCE 表面碳膠相吸引，裸露出親水性的氫氧根與外界接觸，進而改變電極表面特性。對於將電極表面轉為親水性在生物元件的固定化上為一重要課題。因其可以黏附其它親水性物質，如 silca sol-gel，這些物質對於親水性的電極表面吸附黏著能力可提升許多。就如同 silca sol-gel 可較輕易的黏著在以氧電漿修飾之 SPCE，但是在未修飾 SPCE 卻會輕易自行脫落於電極表面上。



### 3-6 以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 應用於葡萄糖生物感測器

由於利用 Triton X-100 與 Tween 20 對於催化  $H_2O_2$  之效果類似於 CNT。有文獻利用 CNT 在較低工作電位下(0.0 ~ -0.2 V)，來減少在氧化酶生物感測器上常見的干擾物質 (抗壞血酸、尿酸等) 物質之影響 [60, 74]。選擇在偵測氧化酶生物感測器常用之工作電位 0.7 V，與希望能降低干擾物質影響之電位-0.1 V，來驗證其修飾方式是否可以應用於氧化酶生物感測器上。利用葡萄糖生物感測器當做實驗模型，其製程方式將 GOx 包埋於光交聯高分子，PVA-SbQ 中。而葡萄糖反應機制為利用 GOx，將葡萄糖反應為 gluconic acid 與  $H_2O_2$ 。可偵測不同濃度  $H_2O_2$  電流反應，回推葡萄糖濃度。利用 Triton X-100 與 Tween 20 修飾後之葡萄糖生物感測器，在工作電位-0.1 V 與 0.7 V 時，連續添加 5 mM 葡萄糖與 500  $\mu$ M 抗壞血酸，偵測其電流反應值。在【表一 A】可看出，在工作電位-0.1 V 時，未修飾 SPCE 其對於葡萄糖與抗壞血酸幾乎無法反應。而利用 Triton X-100 與 Tween 20 修飾葡萄糖生物感測器，對於葡萄糖反應均有效提升，且抗壞血酸之干擾影響並無顯著提升，反應微小。利用 Tween 20 修飾方式，較 Triton X-100 修飾之感測器效果更佳，在工作電位為-0.1 V 時。雖然看似在此工作電位可以得到良好電性反應，但比較【表一 B】中，在 0.7 V 未修飾葡萄糖生物感測器之反應，與修飾後之葡萄糖生物感測器反應相比，電流值較不佳，與修飾後 SPCE 對  $H_2O_2$  反應提升程度，有一定

落差。【表二】中可看出在-0.1 V 時，修飾後之 SPCE 與在 0.7 V，與未修飾 SPCE 相比，其對 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應電流較大。利用作圖表示【圖十三】，更可明顯看出其差別。因希望可以經修飾後，可有效提升對 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 電流反應，若與未修飾相比較為差時，將不符合預期成效，雖然其有降低干擾物質之效果。並且在此電位偵測修飾後之葡萄糖感測器，有時會發生訊號不穩與反應電流無法平衡之情況。推測原因在於在較低工作電位下，因質傳上擴散速率問題，當施於電極電位越小時，其反應物擴散速率將會越小 [75]，進而無法提供足量葡萄糖給予反應，並且由於利用 PVA-SbQ 包埋 GOx，因膠體包埋方式，也將造成反應物擴散程度之阻礙。因上述兩原因造成 Triton X-100 與 Tween 20 修飾葡萄糖生物感測器在-0.1 V 無法有效提升其反應電流。而在【表一 B】與【表二 B】做比較，當工作電位為 0.7 V 時，經修飾後葡萄糖生物感測器對葡萄糖反應，與修飾後 SPCE 對 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應，其對於電極電化學特性的提升效果為一致，代表在此工作電位下，修飾後葡萄糖生物感測器可有效利用 Triton X-100 與 Tween 20 增加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化效率。修飾後葡萄糖生物感測器對於抗壞血酸阻礙程度降低，推測原因在於因利用 PVA-SbQ 包埋 GOx 時，PVA-SbQ 將部分破壞 Triton X-100 與 Tween 20 薄膜結構，使其無法具有良好阻隔效果，但相對於未修飾葡萄糖生物感測器而言，其對抗壞血酸反應大約相當，並無具有增強抗壞血酸反應效果。

製備葡萄糖檢量線【圖十四】，未修飾與以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾後葡萄糖生物感測器其線性範圍相當，在 50  $\mu\text{M}$ ~1500  $\mu\text{M}$  之間。至於為何經修飾後葡萄糖生物感測器其偵測極限無法降低原因在於，因電極表面薄膜阻礙反應物之傳遞，造成靈敏度降低。並在此葡萄糖檢量線可得知，以 Triton X-100 將比未處理電極增加 5.9 倍，而以 Tween 20 修飾將增加 10.4 倍。連續添加 200  $\mu\text{M}$  葡萄糖對葡萄糖生物感測器之階梯反應 (step response) 【圖十五】，可得未修飾 SPCE 其平均反應值為 2.62 nA，反應時間為 31.7 sec，以 Triton X-100 修飾 SPCE，平均反應值為 16.8 nA，反應時間為 63.2 sec，而以 Tween 20 修飾 SPCE，平均反應值為 22.5 nA，反應時間為 45.3 sec，表示修飾後 SPCE 對於葡萄糖電流反應值將可有效提升，且由階梯反應可看出系統穩定性，雖然反應時間較未修飾為長，但仍在允許範圍內。【圖十六】為印證葡萄糖最低極限偵測值，在生物感測器系統中，其訊號相對雜訊比例 (signal-to-noise ratio)  $\geq 3$ 。

由以上結果可顯示，利用 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 所製成之葡萄糖生物感測器，具有提升偵測電流反應性與選擇性效應，不會提升干擾物質反應。顯然利用 Triton X-100 與 Tween 20 修飾方式具有改善 SPCE 電化學特性之潛力，並可應用於氧化酶生物感測器系統上。其機制模型為【附錄三】。

#### 第四章 結論與未來展望

1. 利用 3 種不同修飾 SPCE 方式皆可提升電極對  $\text{H}_2\text{O}_2$  電化學反應特性，其中以利用 7.5% Tween 20 修飾 SPCE 為最佳條件，在增強 SPCE 反應電流值方面。
2. 利用非離子界面活性劑修飾 SPCE 除了可提升  $\text{H}_2\text{O}_2$  反應電流值外，也可些微降低抗壞血酸的干擾，代表其具有選擇性作用。且由於其價格低廉，並且可在短時間內大量修飾 SPCE，對於應用於生物感測器上將有相當大潛力。
3. 利用非離子界面活性劑修飾 SPCE 可連續性使用，且其再現性表現良好。
4. 利用 SEM 觀察非離子界面活性劑修飾 SPCE 將在其表面上形成一層光滑薄膜平鋪其上，而 Tween 20 薄膜結構將比 Triton X-100 在 SPCE 上均勻一致。
5. 利用非離子界面活性劑修飾 SPCE 可改變其表面特性，使其由疏水性轉為親水性，將可應用於生物元件之固定化技術上。
6. 利用非離子界面活性劑修飾 SPCE 除了可在工作電位 0.7 V 偵測到  $\text{H}_2\text{O}_2$  反應值外，也可在工作電位 -0.1 V 偵測到  $\text{H}_2\text{O}_2$  電流值，在此電位下可避免干擾物質影響。
7. 利用非離子界面活性劑修飾 SPCE 可應用於葡萄糖生物感測器上，同

樣具有提升反應電流值之效果，且也不會同時提升干擾物質反應電流值，代表其可應用於氧化酶生物感測器系統上，並具有相當大競爭優勢。

8. SPCE 廣泛的應用於生物感測器中，由於其價格低廉、製程簡單、易圖案化等優點。利用非離子行界面活性劑修飾方式，除了可有效提升 SPCE 對  $H_2O_2$  電化學反應特性，並具有選擇性效應，而其價格低廉方便大量製程也為一大優勢，所以利用此修飾方式將具有相當大市場價值，應用於氧化酶生物感測器系統上。



## 參考文獻

1. L.C. Clark, Jr., C. Lyons, Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Sciences* 102 (1962) 29-45.
2. M.P. Byfield, R.A. Abuknesha, Biochemical aspects of biosensors. *Biosensors & bioelectronics* 9 (1994) 373-400.
3. F.W. Scheller, F. Schubert, B. Neumann, D. Pfeiffer, R. Hintsche, I. Dransfeld, U. Wollenberger, R. Renneberg, A. Warsinke, G. Johansson, et al., Second generation biosensors. *Biosensors & bioelectronics* 6 (1991) 245-253.
4. Andres R.T., N. R., Fibre-optic pesticide biosensor based on covalently immobilized acetylcholinesterase and thymol blue. *Talanta* 44 (1997) 1335-1352.
5. Liao S.C., A. J.R., Real time fiber optic technologies for monitoring physiological parameters with optical biosensors. *Biomedical Engineering* 8 (1996) 325-331.
6. C. Zhang, G. Feng, Z. Gao, Development of a new kind of dual modulated QCM biosensor. *Biosensors & bioelectronics* 12 (1997) 1219-1225.
7. J. Rickert, A. Brecht, W. Gopel, Quartz crystal microbalances for quantitative biosensing and characterizing protein multilayers. *Biosensors & bioelectronics* 12 (1997) 567-575.
8. J. Wang, M. Jiang, E. Palecek, Real-time monitoring of enzymatic cleavage of nucleic acids using a quartz crystal microbalance. *Bioelectrochemistry and bioenergetics (Lausanne, Switzerland)* 48 (1999) 477-480.
9. B.C. Towe, E.J. Guilbeau, A vibrating probe thermal biochemical sensor. *Biosensors & bioelectronics* 11 (1996) 247-252.
10. K. Ramanathan, M. Rank, J. Svitel, A. Dzgoev, B. Danielsson, The development and applications of thermal biosensors for bioprocess monitoring. *Trends in biotechnology* 17 (1999) 499-505.
11. E. Bakker, Electrochemical sensors. *Analytical chemistry* 76 (2004) 3285-3298.



12. S. Mu, Catechol sensor using poly(aniline-co-o-aminophenol) as an electron transfer mediator. *Biosensors & bioelectronics* 21 (2006) 1237-1243.
13. G. Liu, Y. Lin, Electrochemical sensor for organophosphate pesticides and nerve agents using zirconia nanoparticles as selective sorbents. *Analytical chemistry* 77 (2005) 5894-5901.
14. T. Jovanovic, Z. Koricanac, B. Stankovic, Silver electrode in direct potentiometric determination of propylthiouracil in pharmaceutical dosage form. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* 13 (1995) 679-681.
15. M. Macka, G. Gerhardt, P. Andersson, D. Bogan, R.M. Cassidy, P.R. Haddad, Capillary electrophoresis with end-capillary potentiometric detection using a copper electrode. *Electrophoresis* 20 (1999) 2539-2546.
16. S. Lin, C.C. Liu, T.C. Chou, Amperometric acetylcholine sensor catalyzed by nickel anode electrode. *Biosensors & bioelectronics* 20 (2004) 9-14.
17. S. Serban, N. El Murr, Synergetic effect for NADH oxidation of ferrocene and zeolite in modified carbon paste electrodes. New approach for dehydrogenase based biosensors. *Biosensors & bioelectronics* 20 (2004) 161-166.
18. Y.T. Kong, M. Boopathi, Y.B. Shim, Direct electrochemistry of horseradish peroxidase bonded on a conducting polymer modified glassy carbon electrode. *Biosensors & bioelectronics* 19 (2003) 227-232.
19. J. Susuki, M. Yamada, A. Uchiyama, N. Niwa, [Biomedical electrode with silicon oxide film (author's transl)]. *Iyo denshi to seitai kogaku* 17 (1979) 53-59.
20. L. Wang, D. Xiao, E. Wang, L. Xu, Electrochemistry of ITO electrode modified by multilayer ultrathin films based on crown-shaped polyoxomolybdate. *Journal of colloid and interface science* 285 (2005) 435-442.
21. D.R. Thevenot, K. Toth, R.A. Durst, G.S. Wilson, Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors & bioelectronics* 16 (2001) 121-131.
22. S. Sukeerthi, A.Q. Contractor, Applications of conducting polymers as sensors.



Indian Journal of Chemistry 33A (1994) 565-571.

23. A. Senillou, A. Jaffrezic-Renault, C. Martelet, S. Cosnier, A miniaturized urea sensor based on the integration of both ammonium based urea enzyme field effect transistor and a reference field effect transistor in a single chip. *Talanta* 50 (1999) 219-226.
24. A.N. Reshetilov, [Biosensor models based on potentiometric and amperometric transducers for use in medicine, biotechnology, and environmental monitoring (review)]. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiya* 32 (1996) 78-93.
25. J. Fei, Y. Wu, X. Ji, J. Wang, S. Hu, Z. Gao, An amperometric biosensor for glucose based on electrodeposited redox polymer/glucose oxidase film on a gold electrode. *Anal Sci* 19 (2003) 1259-1263.
26. Y.C. Tsai, J.D. Huang, C.C. Chiu, Amperometric ethanol biosensor based on poly(vinyl alcohol)-multiwalled carbon nanotube-alcohol dehydrogenase biocomposite. *Biosensors & bioelectronics* 22 (2007) 3051-3056.
27. A. Lindgren, T. Ruzgas, L. Gorton, E. Csoregi, G.B. Ardila, I.Y. Sakharov, I.G. Gazaryan, Biosensors based on novel peroxidases with improved properties in direct and mediated electron transfer. *Biosensors & bioelectronics* 15 (2000) 491-497.
28. 陳治誠, 生化感測器技術簡介, 科儀新知, 1993, pp. 71-81.
29. S. Milardovic, Z. Grabaric, M. Tkalcec, V. Rumenjak, Determination of oxalate in urine, using an amperometric biosensor with oxalate oxidase immobilized on the surface of a chromium hexacyanoferrate-modified graphite electrode. *Journal of AOAC International* 83 (2000) 1212-1217.
30. S. Han, M. Zhu, Z. Yuan, X. Li, A methylene blue-mediated enzyme electrode for the determination of trace mercury(II), mercury(I), methylmercury, and mercury-glutathione complex. *Biosensors & bioelectronics* 16 (2001) 9-16.
31. N.J. Forrow, G.S. Sanghera, S.J. Walters, J.L. Watkin, Development of a commercial amperometric biosensor electrode for the ketone D-3-hydroxybutyrate. *Biosensors & bioelectronics* 20 (2005) 1617-1625.
32. J.P. Hart, A. Crew, E. Crouch, K.C. Honeychurch, R.M. Pemberton, Some recent

- designs and developments of screen-printed carbon electrochemical sensors/biosensors for biomedical, environmental, and industrial analyses. . *Analytical Letters* 37 (2004) 789 - 830
33. D.R. Matthews, R.R. Holman, E. Bown, J. Steemson, A. Watson, S. Hughes, D. Scott, Pen-sized digital 30-second blood glucose meter. *Lancet* 1 (1987) 778-779.
  34. R. Nagata, S. A. Clark, K. Yokoyama, E. Tamiya, I. Karube, Amperometric glucose biosensor manufactured by a printing technique. *Analytica Chimica Acta* 304 (1995) 157-164.
  35. A. R.N., Carbon paste electrodes. *Analytical chemistry* 28 (1958) 1576-1576.
  36. R.G. Evans, C.E. Banks, R.G. Compton, Amperometric detection of glucose using self-catalytic carbon paste electrodes. *The Analyst* 129 (2004) 428-431.
  37. K.R. Rogers, J.Y. Becker, J. Cembrano, Improved selective electrocatalytic oxidation of phenols by tyrosinase-based carbon paste electrode biosensor. *Electrochimica Acta* 45 (2000) 4373-4379.
  38. F. Palmisano, P.G. Zambonin, Ascorbic-Acid Interferences in Hydrogen-Peroxide Detecting Biosensors Based on Electrochemically Immobilized Enzymes. *Analytical chemistry* 65 (1993) 2690-2692.
  39. J.P. Lowry, R.D. O'Neill, Homogeneous mechanism of ascorbic acid interference in hydrogen peroxide detection at enzyme-modified electrodes. *Analytical chemistry* 64 (1992) 453-456.
  40. S.A. Wring, J.P. Hart, Chemically modified, carbon-based electrodes and their application as electrochemical sensors for the analysis of biologically important compounds. A review. *Analyt* 117 (1992) 1215-1229.
  41. S. Senthil Kumar, S. Sriman Narayanan, Amperometric sensor for the determination of ascorbic acid based on Cobalt hexacyanoferrate modified electrode fabricated through a new route. *Chemical & pharmaceutical bulletin* 54 (2006) 963-967.
  42. X.C. Tan, Y.X. Tian, P.X. Cai, X.Y. Zou, Glucose biosensor based on glucose oxidase immobilized in sol-gel chitosan/silica hybrid composite film on Prussian blue

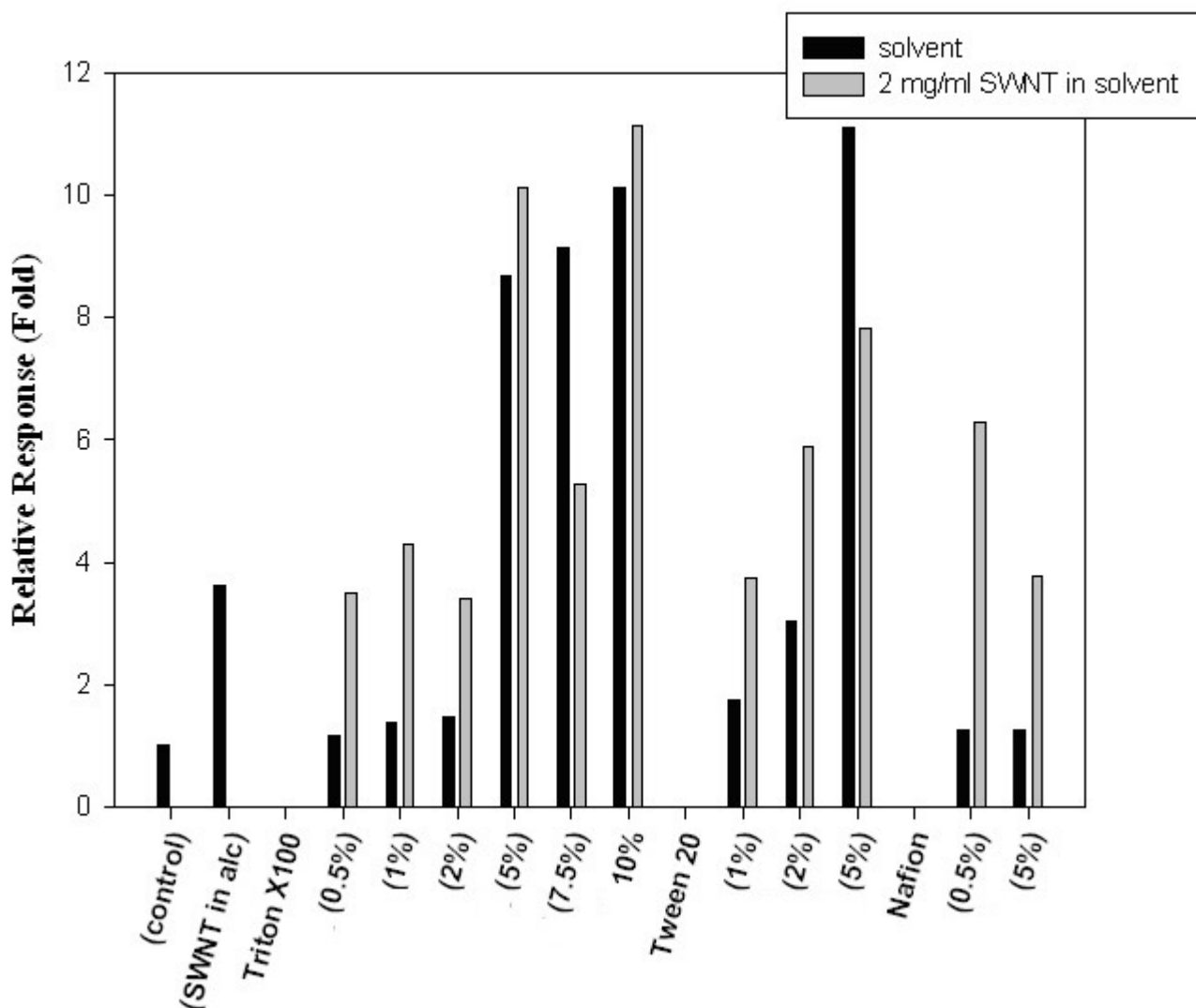
- modified glass carbon electrode. *Analytical and bioanalytical chemistry* 381 (2005) 500-507.
43. B. Liu, Z. Liu, D. Chen, J. Kong, J. Deng, An amperometric biosensor based on the coimmobilization of horseradish peroxidase and methylene blue on a beta-type zeolite modified electrode. *Fresenius' journal of analytical chemistry* 367 (2000) 539-544.
  44. F. Ricci, G. Palleschi, Sensor and biosensor preparation, optimisation and applications of Prussian Blue modified electrodes. *Biosensors & bioelectronics* 21 (2005) 389-407.
  45. J. Wang, J. Liu, L. Chen, F. Lu, Highly Selective Membrane-Free, Mediator-Free Glucose Biosensor. *Analytical chemistry* 66 (1994) 3600-3603.
  46. H. Sakslund, J. Wang, O. Hammerich, Analysis of the factors determining the sensitivity of a miniaturized glucose biosensor made by codeposition of palladium and glucose oxidase onto an 8  $\mu$  m carbon fiber. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 402 (1996).
  47. S.B. Hall, E.A. Khudaish, A.L. Hart, Electrochemical oxidation of hydrogen peroxide at platinum electrodes. Part I. An adsorption-controlled mechanism. *Electrochimica Acta* 43 (1998) 579 - 588.
  48. S.B. Hall, E.A. Khudaish, A.L. Hart, Electrochemical oxidation of hydrogen peroxide at platinum electrodes. Part II: effect of potential. *Electrochimica Acta* 43 (1998) 2015-2024.
  49. J. Liu, F. Lu, J. Wang, Metal-alloy-dispersed carbon-paste enzyme electrodes for amperometric biosensing of glucose. *Electrochemistry Communications* 1 (1999) 341-344.
  50. G. Cui, J.H. Yoo, J.S. Lee, J. Yoo, J.H. Uhm, G.S. Cha, H. Nam, Effect of pre-treatment on the surface and electrochemical properties of screen-printed carbon paste electrodes. *The Analyst* 126 (2001) 1399-1403.
  51. J. Wang, M. Pedrero, H. Sakslund, O. Hammerich, J. Pingarron, Electrochemical activation of screen-printed carbon strips. *The Analyst* 121 (1998).

52. I. Svancara, K. Vytras, J. Barek, J. Zima, Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis Critical Reviews in Analytical Chemistry 31 (2001) 311-345.
53. L.S. Rocha, H.M. Carapuca, Ion-exchange voltammetry of dopamine at Nafion-coated glassy carbon electrodes: quantitative features of ion-exchange partition and reassessment on the oxidation mechanism of dopamine in the presence of excess ascorbic acid. Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands) 69 (2006) 258-266.
54. J. M. Zen, J. J. Jou , G. Ilangoan, Selective voltammetric method for uric acid detection using pre-anodized Nafion-coated glassy carbon electrodes. The Analyst 123 (1998) 1345-1350.
55. S. Wang, X. Ji, Z. Yuan, Study of cellulose acetate membrane-based glucose biosensors. Chinese journal of biotechnology 11 (1995) 199-205.
56. S. Iijima, Helical microtubules of graphitic carbon. Nature 354 (1991) 56-58.
57. A. Merkoçi, Carbon nanotubes in analytical sciences. Microchimica Acta 152 (2006) 157-174.
58. J. Wang, M. Musameh, Carbon nanotube/teflon composite electrochemical sensors and biosensors. Analytical chemistry 75 (2003) 2075-2079.
59. K. Gong, M. Zhang, Y. Yan, L. Su, L. Mao, S. Xiong, Y. Chen, Sol-gel-derived ceramic-carbon nanotube nanocomposite electrodes: tunable electrode dimension and potential electrochemical applications. Analytical chemistry 76 (2004) 6500-6505.
60. J. Wang, M. Musameh, Y. Lin, Solubilization of carbon nanotubes by Nafion toward the preparation of amperometric biosensors. Journal of the American Chemical Society 125 (2003) 2408-2409.
61. M. F. Islam, E. Rojas, D. M. Bergey, A. T. Johnson, A.G. Yodh, High Weight Fraction Surfactant Solubilization of Single-Wall Carbon Nanotubes in Water. Nano letters 3 (2003) 269-273.
62. R.R. Moore, C.E. Banks, R.G. Compton, Basal plane pyrolytic graphite modified

- electrodes: comparison of carbon nanotubes and graphite powder as electrocatalysts. *Analytical chemistry* 76 (2004) 2677-2682.
63. C.E. Banks, R.R. Moore, T.J. Davies, R.G. Compton, Investigation of modified basal plane pyrolytic graphite electrodes: definitive evidence for the electrocatalytic properties of the ends of carbon nanotubes. *Chemical communications* (Cambridge, England) (2004) 1804-1805.
  64. <http://www.cpmah.org.tw/2002/home/c91c064/www/cnt/a.htm>.
  65. 蘇建雄, 細胞及酵素固定技術, 九州圖書文物有限公司, 1996.
  66. 陳治誠, 生化感測器技術簡介, 科儀新知, 1993, pp. 71-81.
  67. V.A. Shcherbakova, K.S. Laurinavichius, V.K. Akimenko, Toxic effect of surfactants and probable products of their biodegradation on methanogenesis in an anaerobic microbial community. *Chemosphere* 39 (1999) 1861-1870.
  68. 歐靜枝譯編, 乳化溶化技術實務, 復漢出版社, 台灣台南, 1990.
  69. C.J. Yuan, S.C.W. C.L. Hsu, K.S. Chang, Eliminating the interference of ascorbic acid and uric acid to the amperometric glucose biosensor by cation exchangers membrane and size exclusion membrane. *Electroanalysis* 24 (2005).
  70. J. Li, X. Wei, T. Peng, Fabrication of herbicide biosensors based on the inhibition of enzyme activity that catalyzes the scavenging of hydrogen peroxide in a thylakoid membrane. *Anal Sci* 21 (2005) 1217-1222.
  71. <http://www.cheng.cam.ac.uk/research/groups/electrochem/teaching.html>.
  72. <http://people.bath.ac.uk/chsataj/CH20016%202006/CH20016%20Lecture%2014%20and%2015.pdf>.
  73. X. Li, K. Horita, Electrochemical characterization of carbon black subjected RF oxygen plasma. *Carbon* 38 (2000) 133-138.
  74. Y. Lin, F. Lu, Y. Tu, Z. Ren, Glucose Biosensors Based on Carbon Nanotube Nanoelectrode Ensembles. *Nano letters* 4 (2004) 191-195.

75. D.A. Skoog, Principles of instrumental analysis, 1998.
76. W. H. Scouten, J. H.T. Luong, B.R.S. Brown, Enzyme or protein immobilization techniques for applications in biosensor. Trends in biotechnology 13 (1995) 178-185.

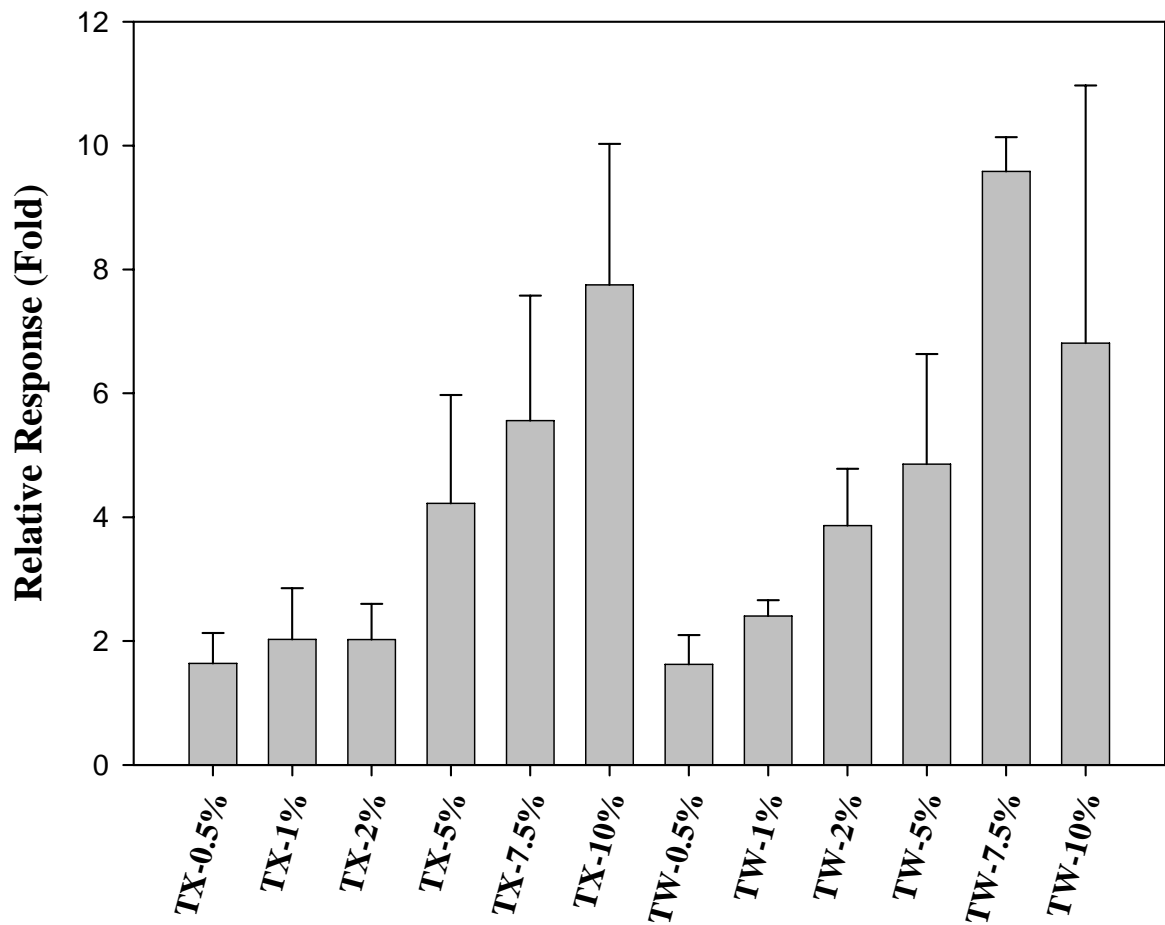




圖一、利用含 SWNT 溶劑與其純溶劑修飾 SPCE 對 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應性。

一條件為將 2 mg/mL SWNT 溶於 0.5, 1, 2, 5, 7.5, 10% Triton X-100，或溶於 1, 2 及 5% Tween 20，或溶於 0.5% 及 5% Nafion 中，另一條件為純溶劑狀態。與未修飾 SPCE 比較其電性反應倍率。在 pH 7.4, PBS 溶液環境中，添加 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 測其電化學反應值。工作電位為 0.7 V (vs. Ag/AgCl)。





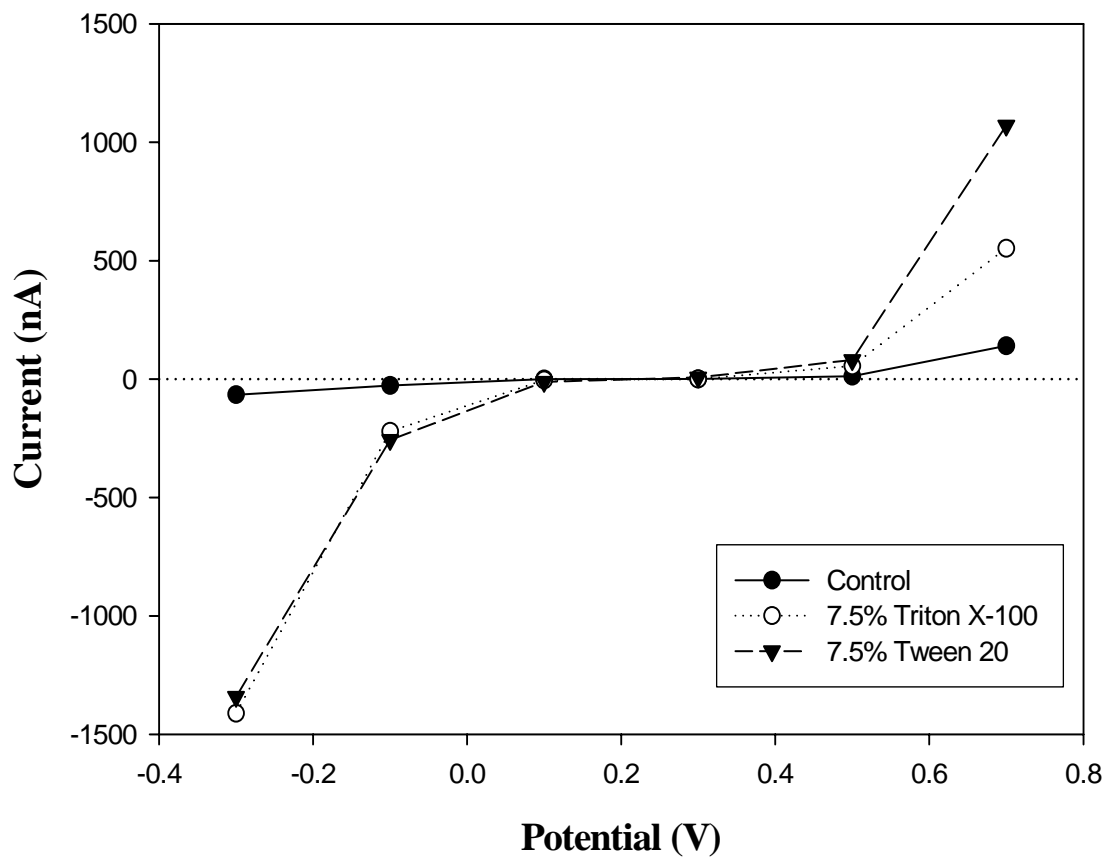
圖二、不同濃度 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 對 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應性。

利用不同濃度 0.5, 1, 2, 5, 7.5, 10% Triton X-100 (TX) 與 Tween 20

(TW) 修飾 SPCE。與未修飾 SPCE 比較其電性反應倍率。在 pH 7.4, PBS

溶液環境中，添加 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 測其電化學反應值。工作電位為 0.7 V

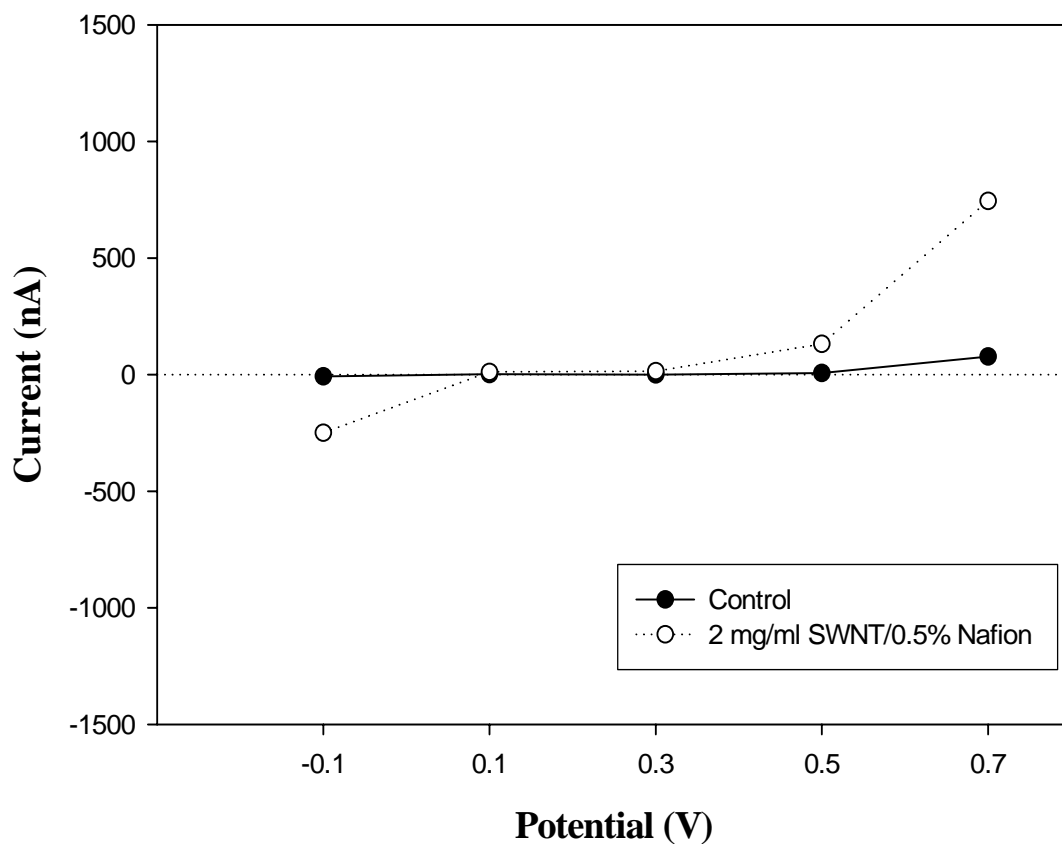
(vs. Ag/AgCl)。



圖三、不同工作電位對 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之對 1 mM

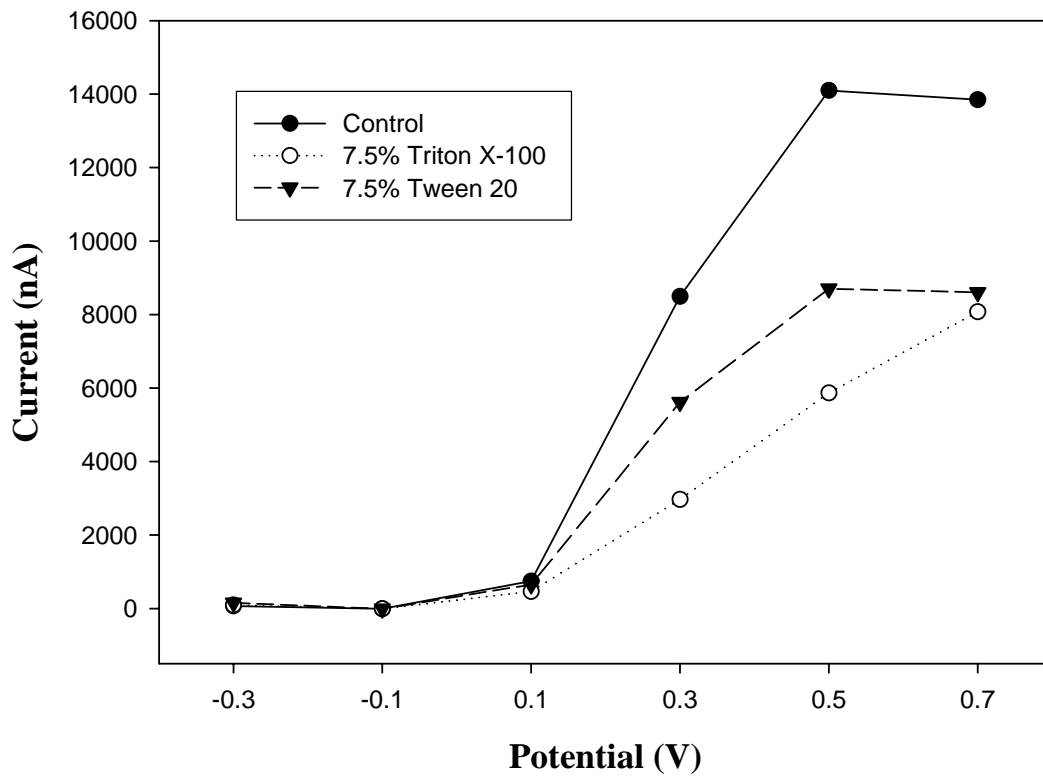
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應電流。

探討 7.5% Triton X-100 與 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE，在不同工作電位 -0.3 ~ 0.7 V (vs. Ag/AgCl) 底下，添加 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 記錄其反應電流值，在 pH 7.4, PBS 溶液中。



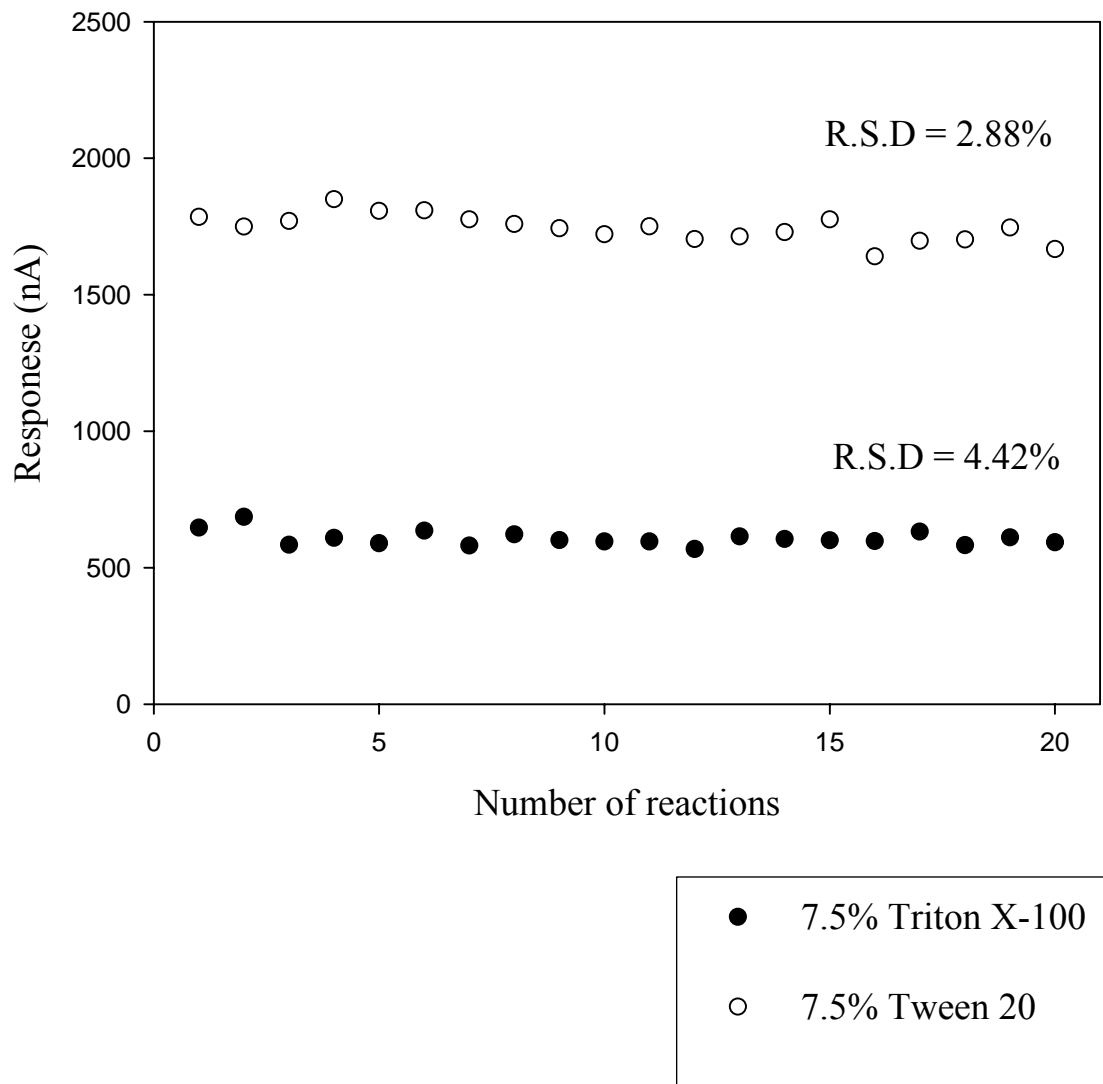
圖四、不同工作電位對 SWNT 修飾之 SPCE 對 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應電流。

利用 2 mg/mL SWNT/ 0.5% Nafion 修飾之 SPCE，在不同工作電位 -0.1 ~ 0.7 V (vs. Ag/AgCl) 底下，添加 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 記錄其反應電流值，在 pH 7.4, PBS 溶液中。



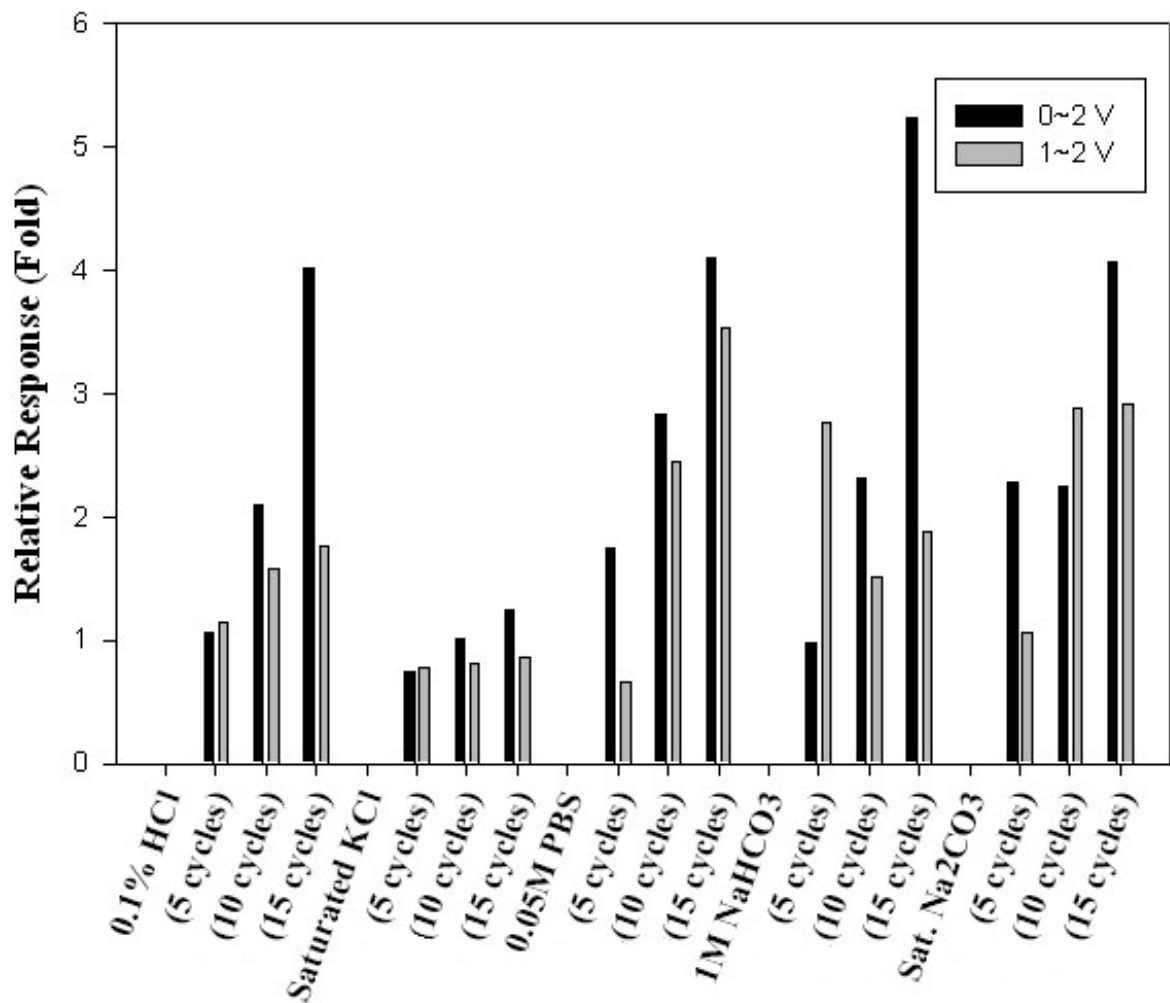
圖五、不同工作電位對 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之對 500  $\mu\text{M}$  ascorbate 之反應電流。

探討 7.5% Triton X-100 與 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE，在不同工作電位 -0.3 ~ 0.7 V (vs. Ag/AgCl) 底下，添加 500  $\mu\text{M}$  ascorbate 記錄其反應電流值，在 pH 7.4, PBS 溶液中。



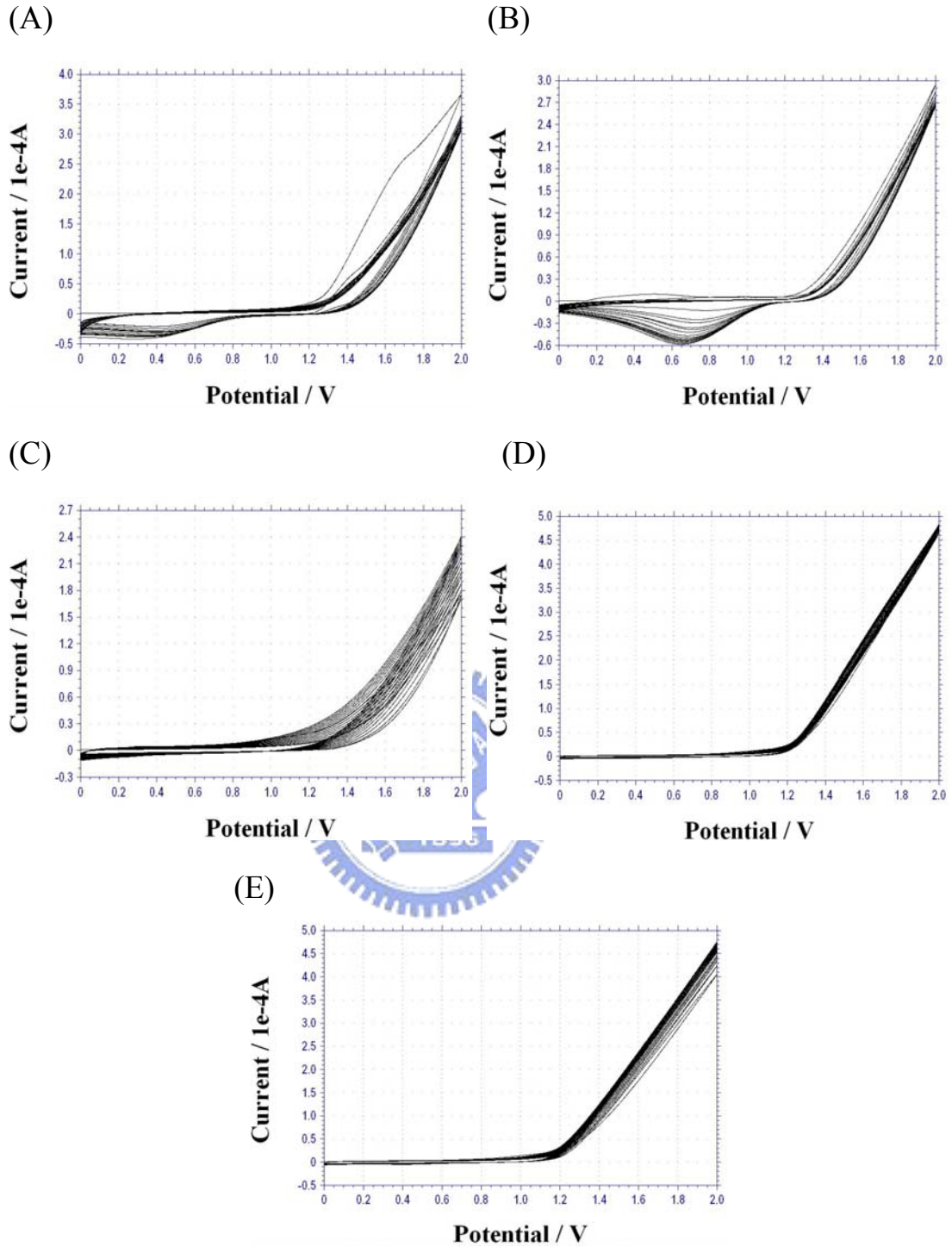
圖六、以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之連續性測試。

利用 7.5% Triton X-100 與 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE。在 pH 7.4, PBS 溶液環境中，添加 1 mM  $H_2O_2$  測其電化學反應值。工作電位為 0.7 V (vs. Ag/AgCl)。連續測試 20 次。



圖七、利用不同溶液對 SPCE 以循環伏安法進行表面修飾比較。

利用 0.1% HCl，飽和 KCl，0.05 M phosphate buffer，1 M NaHCO<sub>3</sub> 與飽和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 五種溶液，以 0.0 ~ 2.0 V 或 1.0 ~ 2.0 V 進行 5, 10 及 15 圈之 CVs 前處理後，在工作電位為 0.7 V (vs. Ag/AgCl), pH 7.4, PBS 中，量測 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應電流與未修飾之 SPCE 比較。



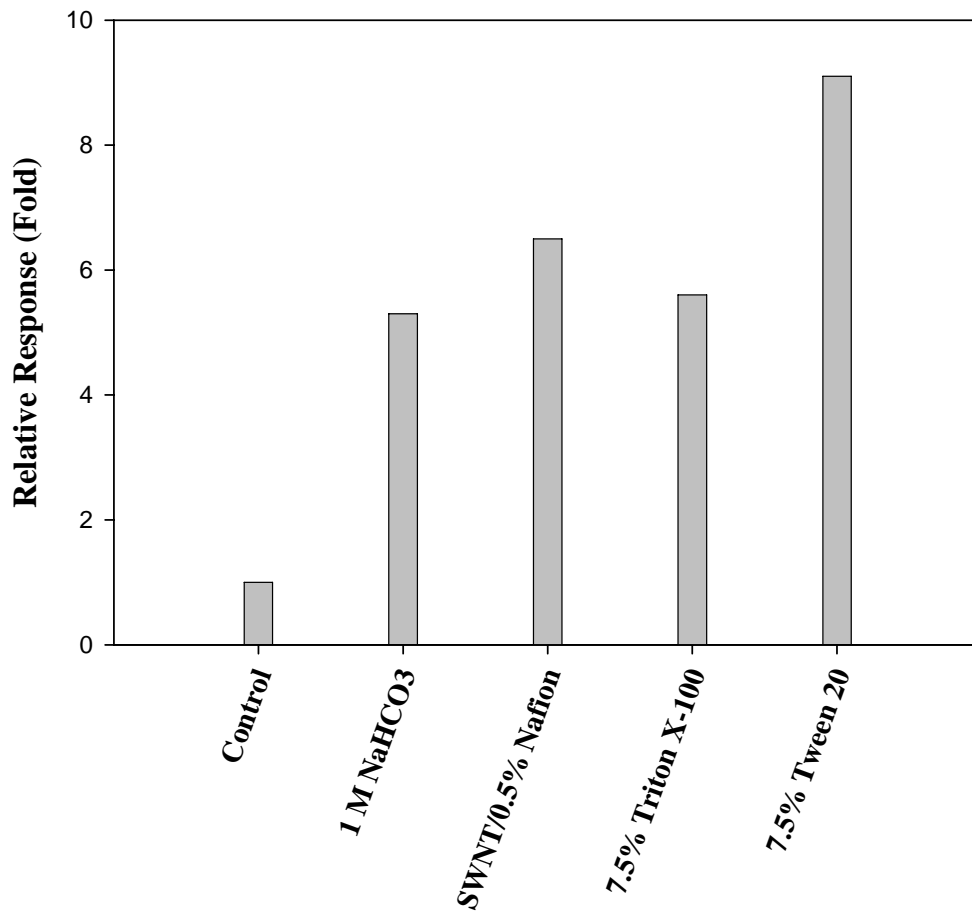
圖八、利用不同溶液對 SPCE 以循環伏安法進行表面修飾 CV 圖。

(A) 0.1% HCl, (B) 飽和 KCl, (C) 0.05 M phosphate buffer,

(D) 1 M NaHCO<sub>3</sub> 與(E) 飽和 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 五種溶液，對 SPCE 進行 15

圈 CVs。

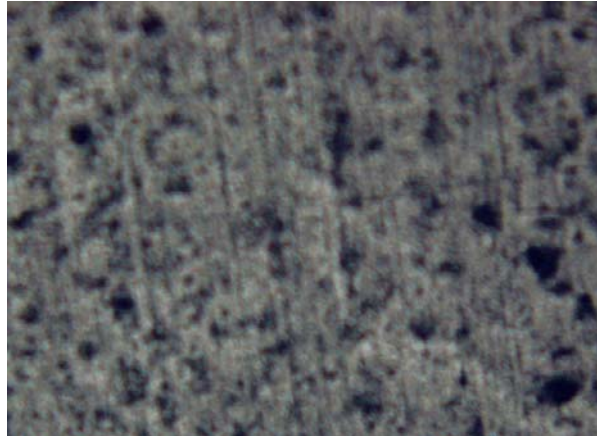




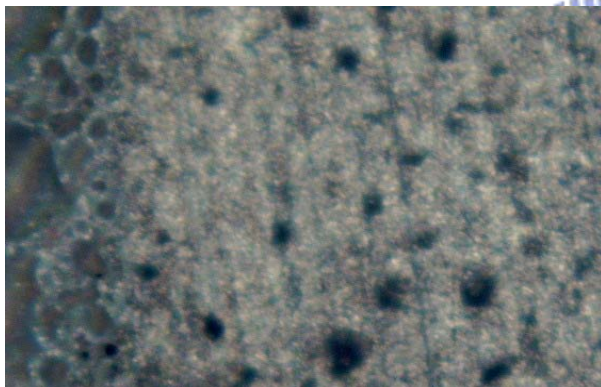
圖九、比較利用 4 種 SPCE 修飾方式對於 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應性。

利用 NaHCO<sub>3</sub> 15 圈循環伏安法前處理，2 mg/mL SWNT/0.5% Nafion，7.5% Triton X-100 與 7.5% Tween 20 四種修飾 SPCE 方式，量測 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 反應電流與未修飾之 SPCE 比較，在工作電位為 0.7 V (vs. Ag/AgCl), pH 7.4, PBS 中。

(A) 未修飾之 SPCE



(B) 7.5% Triton X-100 修飾後之 SPCE



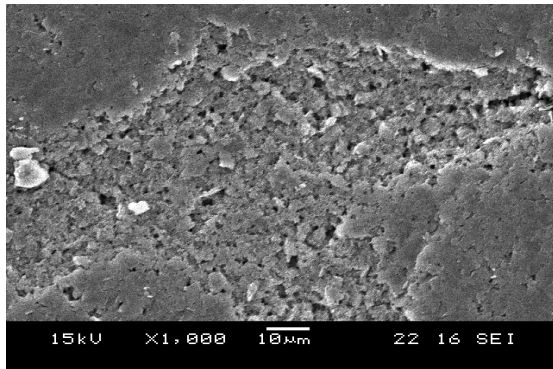
(C) 7.5% Tween 20 修飾後之 SPCE



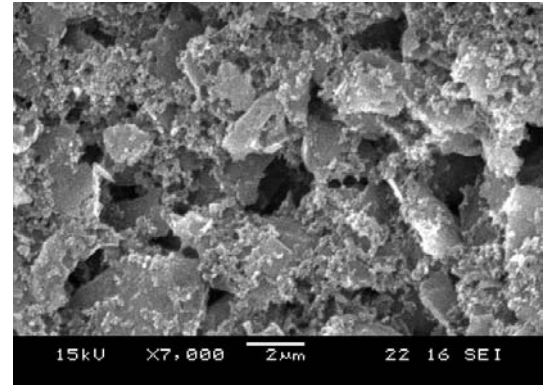
圖十、反射光學顯微鏡拍攝 SPCE 圖。

拍攝倍率為 100X。 (A) 為未修飾之 SPCE。 (B) 為 7.5% Triton X-100 修飾後之 SPCE， (C) 為 7.5% Tween 20 修飾後之 SPCE

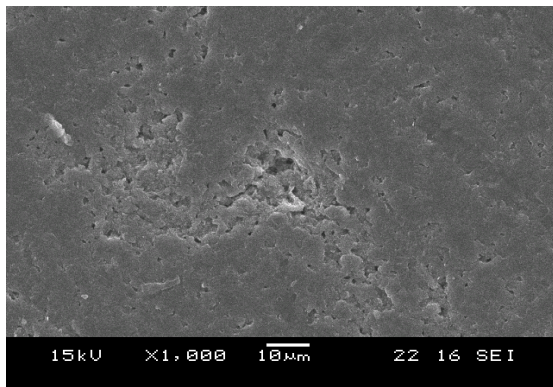
(A) 未修飾之 SPCE



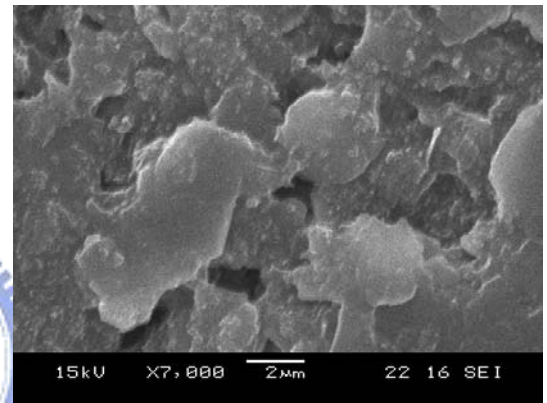
(D) 未修飾之 SPCE



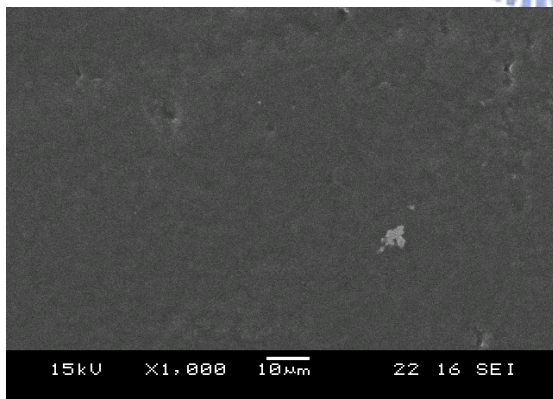
(B) 7.5% Triton X-100 修飾後之 SPCE



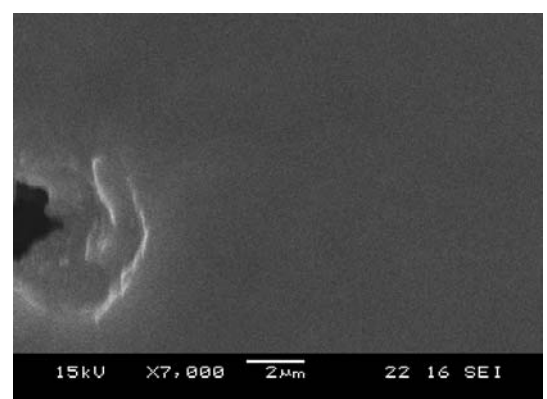
(E) 7.5% Triton X-100 修飾後之 SPCE



(C) 7.5% Tween 20 修飾後之 SPCE



(F) 7.5% Tween 20 修飾後之 SPCE



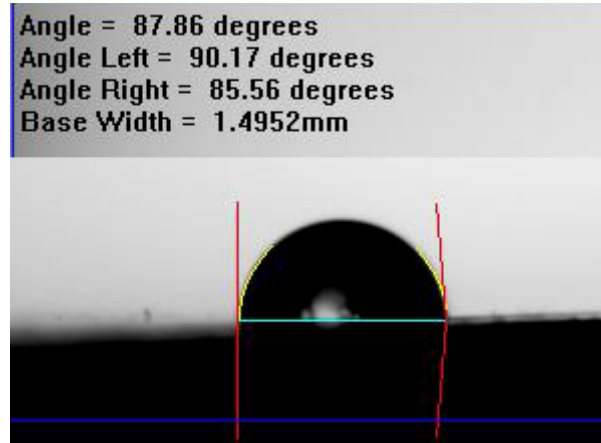
圖十一、SEM 拍攝 SPCE 圖。

(A - C) 為 1000X, (D - F) 為 7000X。(A and D) 是未處理之 SPCE。

(B and E) 是以 Triton X-100 修飾後之 SPCE。(C and F) 是以 7.5%

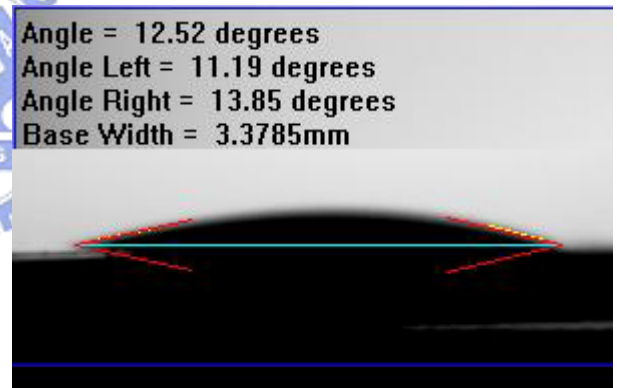
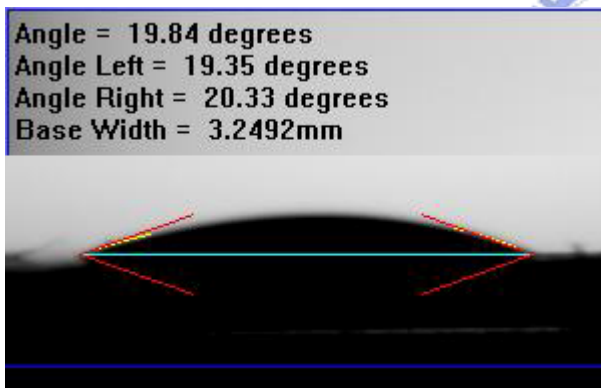
Tween 20 修飾後之 SPCE。

(A) 未修飾之 SPCE



(B) 7.5% Triton X-100 修飾後之 SPCE

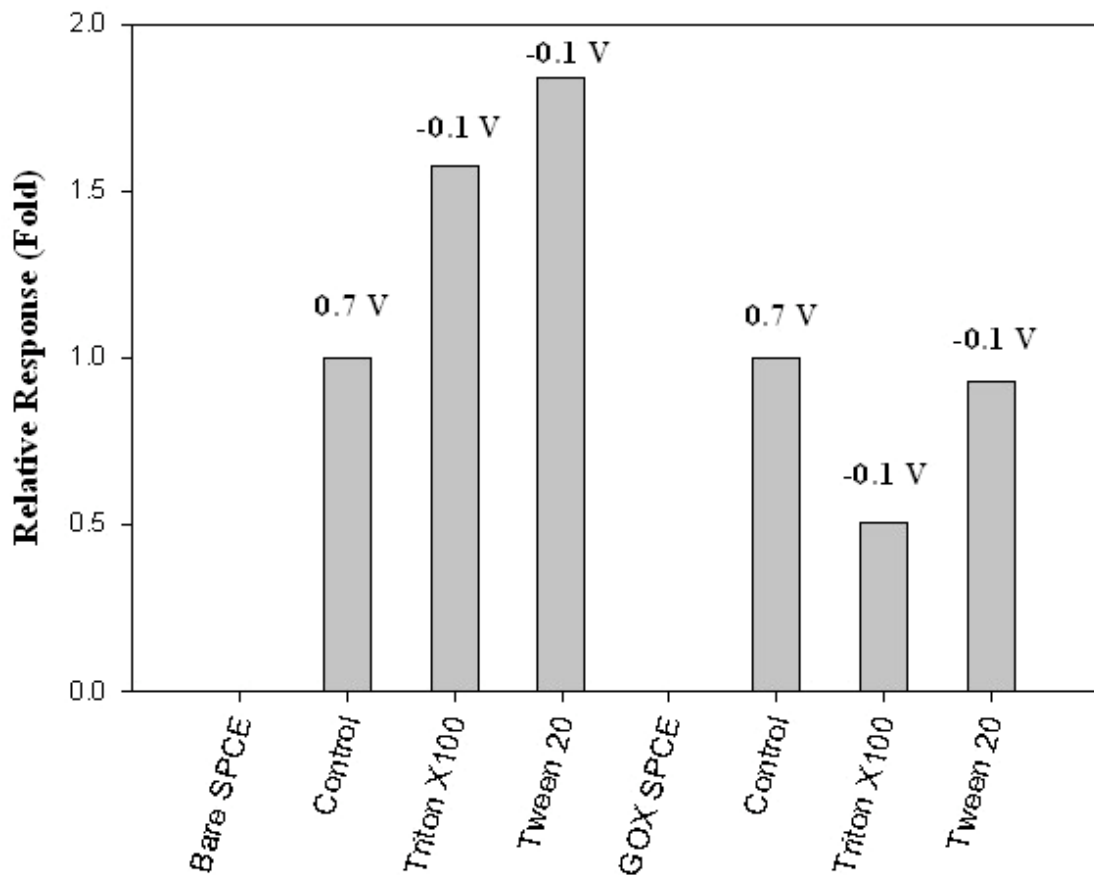
(C) 7.5% Tween 20 修飾後之 SPCE



圖十二、以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之接觸角測試

(A) 為未修飾之 SPCE，(B) 為 7.5% Triton X-100 修飾後之 SPCE，

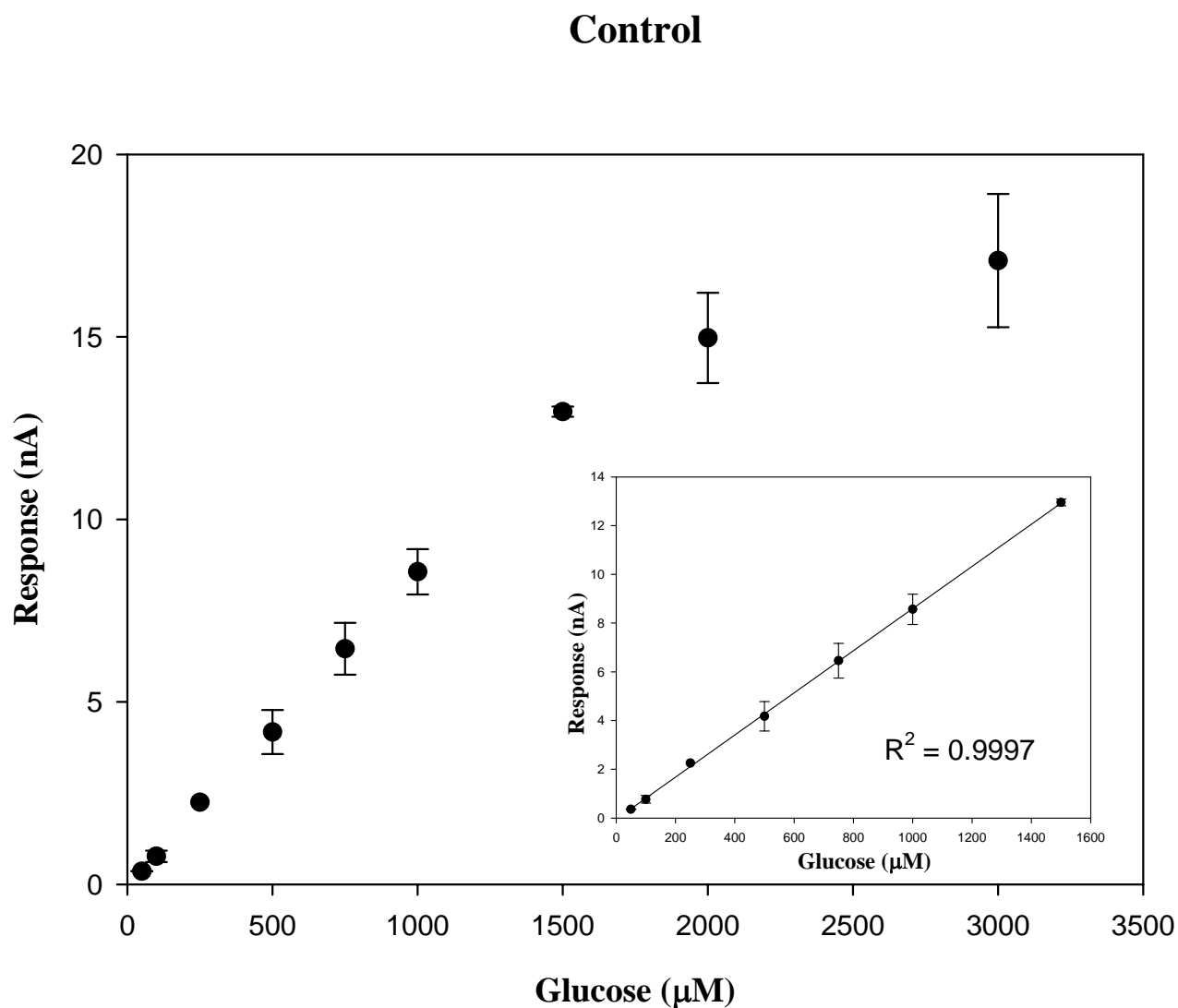
(C) 為 7.5% Tween 20 修飾後之 SPCE



圖十三、比較以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 與葡萄糖生物感測器效率比較圖。

1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在未修飾 SPCE 與 0.7 V 工作電位下，及 SPCE 經 7.5% Triton X-100，與 7.5% Tween 20 修飾後在 -0.1 V 工作電位下之電化學反應。以 PVA-SbQ 包埋 10 U GOx 在未修飾的 SPCE 與 0.7 V 工作電位下，及 SPCE 經 7.5% Triton X-100 與 7.5% Tween 20 修飾，在 -0.1 V 工作電位下對 5 mM 葡萄糖之電化學反應。於 pH 7.4, PBS，其工作電位為相對於 Ag/AgCl 參考電極。

(A)



圖十四(A)、葡萄糖生物感測器之葡萄糖線性範圍。

葡萄糖生物感測器組成為利用 PVA-SbQ 包埋 10 U GOx。(A)

為未處理之 SPCE，在 pH 7.4, PBS 溶液，工作電位 0.7 V

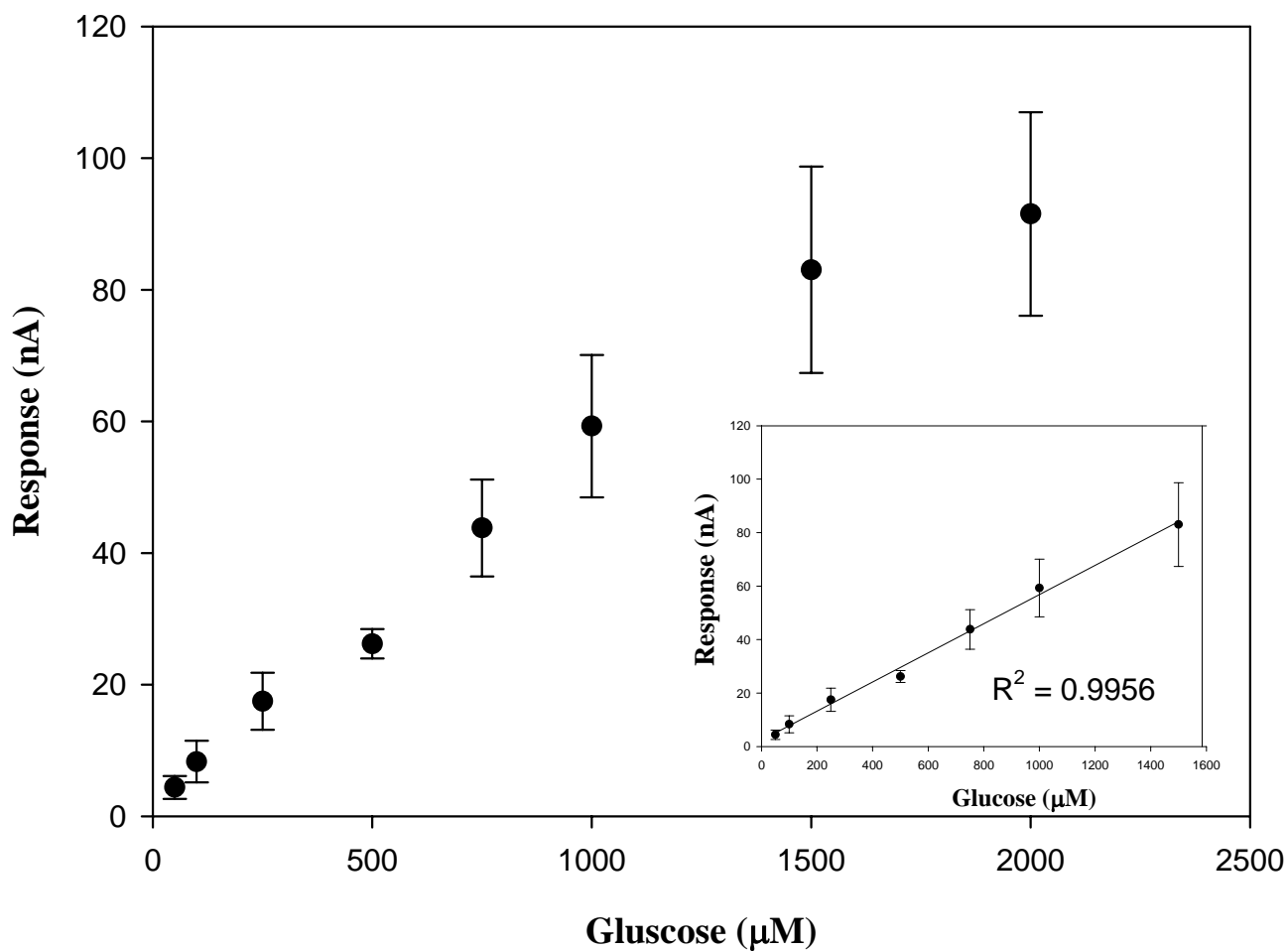
(vs. Ag/AgCl) 環境中添加不同濃度之葡萄糖 (50 ~ 3000 μM)

偵測其反應電流。



(B)

### Triton X-100



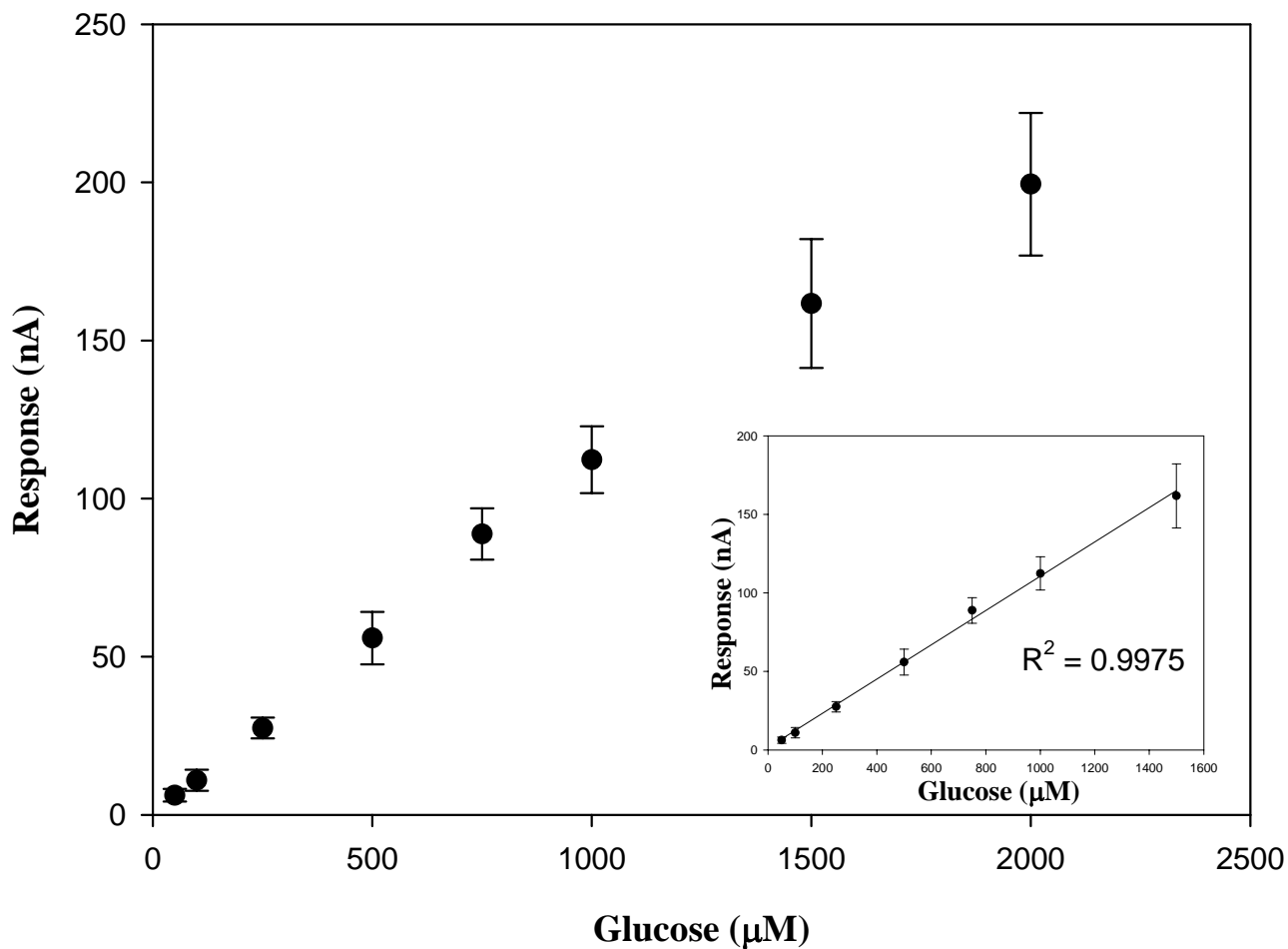
圖十四(B)、葡萄糖生物感測器之葡萄糖線性範圍。

葡萄糖生物感測器組成為利用 PVA-SbQ 包埋 10 U GOx。(B) 為利用 7.5% Triton X-100 修飾之 SPCE，在 pH 7.4, PBS，工作電位 0.7 V (vs. Ag/AgCl) 環境中添加不同濃度之葡萄糖 (50~2000 μM) 偵測其反應電流。



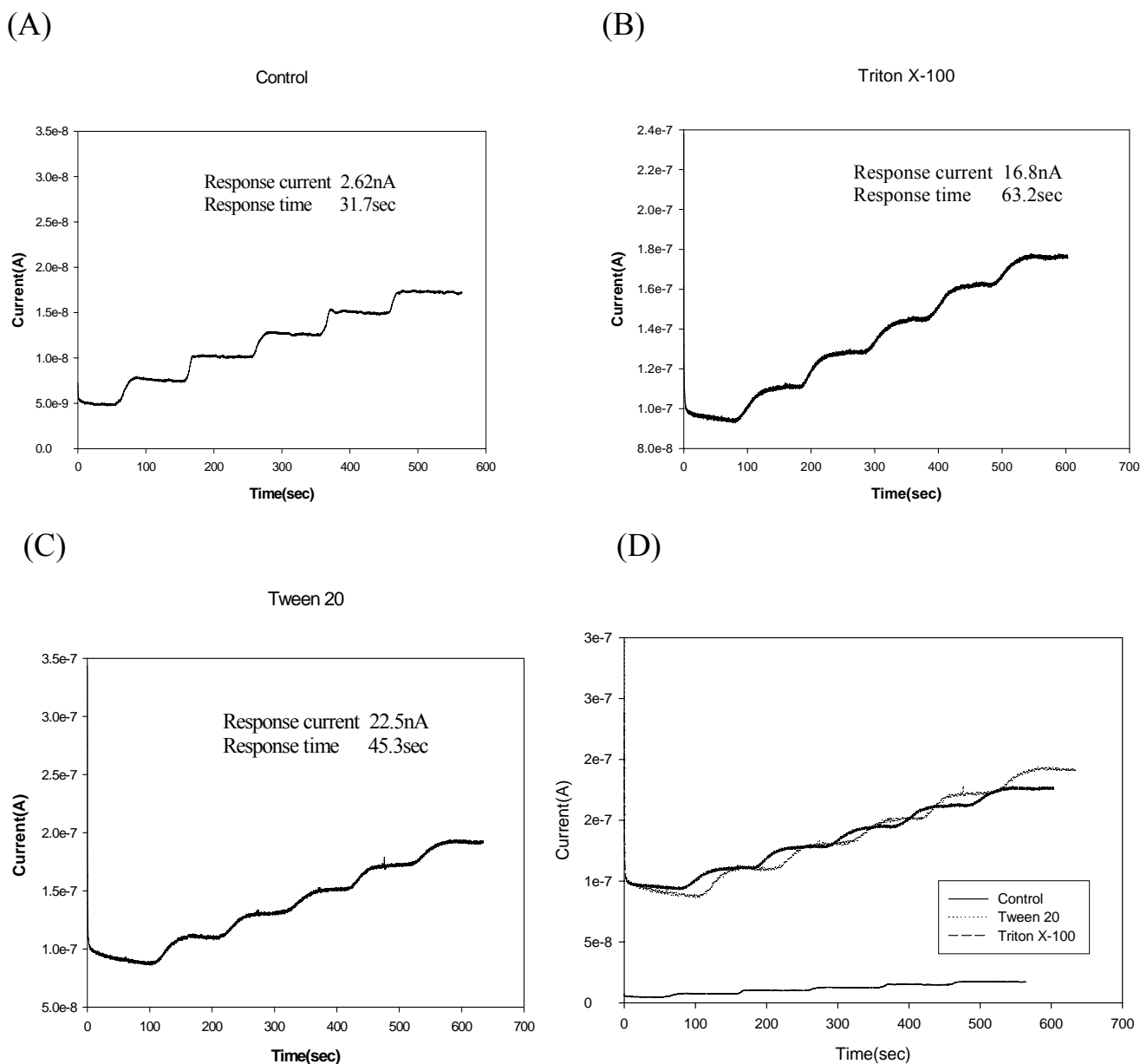
(C)

### Tween 20



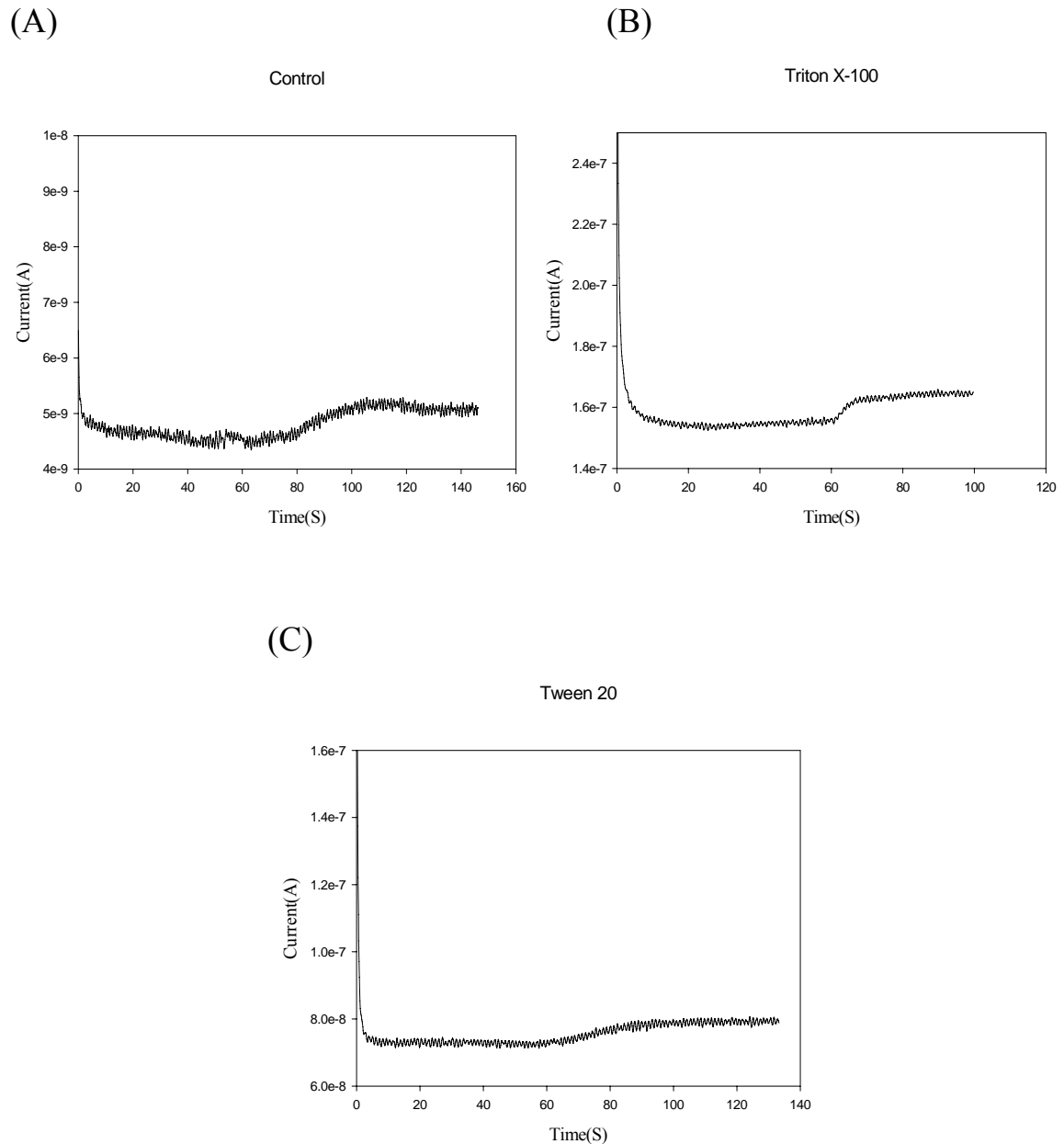
圖十四(C)、葡萄糖生物感測器之葡萄糖線性範圍。

葡萄糖生物感測器組成為利用 PVA-SbQ 包埋 10 U GO<sub>x</sub>。(C) 為利用 7.5% Tween 20 修飾之 SPCE，在 pH 7.4 PBS，工作電位 0.7 V (vs. Ag/AgCl) 環境中添加不同濃度之葡萄糖 (50 ~ 2000 μM) 偵測其反應電流。



圖十五、連續添加 200  $\mu\text{M}$  葡萄糖對葡萄糖生物感測器之階梯反應。

(A) 為未處理 SPCE，(B) 為 7.5% Triton X-100 修飾 SPCE，(C) 為 7.5% Tween 20 修飾 SPCE，(D) 為三者比較圖，葡萄糖生物感測器組成為利用 PVA-SbQ 包埋 10 U GOx，在 pH 7.4 PBS，在工作電位 0.7 V (vs. Ag/AgCl) 環境中連續添加 200  $\mu\text{M}$  葡萄糖記錄其階梯反應電流。



圖十六、葡萄糖生物感測器之最低偵測極限。

葡萄糖生物感測器組成為利用 PVA-SbQ 包埋 10 U GOx，(A) 為未處理 SPCE，(B) 為 7.5% Triton X-100 修飾 SPCE，(C) 為 7.5% Tween 20 修飾 SPCE，在 pH 7.4, PBS，在工作電位 0.7 V (vs. Ag/AgCl) 環境中添加 50  $\mu$ M 葡萄糖偵測其最低偵測極限反應電流 ( $S/N \geq 3$ )。

(A) -0.1 V

	5 mM Glc response(nA)	5 mM Glc responsee fold	500 $\mu$ M ascorbate response(nA)	500 $\mu$ M ascorbate resopnse fold
Control	-0.775	1	-1.22	1
7.5% Triton X-100	-13.05	16.84	-1.74	1.43
7.5% Tween 20	-23.83	30.75	-3.39	2.78

(B) 0.7 V

	5 mM Glc response(nA)	5 mM Glc responsee fold	500 $\mu$ M ascorbate response(nA)	500 $\mu$ M ascorbate resopnse fold
Control	25.7	1	4775	1
7.5% Triton X-100	64.75	2.52	3980	0.83
7.5% Tween 20	189.1	7.36	5015	1.05

表一、界面活性劑修飾 GOx/PVA-SbQ SPCE 在不同電位對 5 mM 葡萄糖與 500  $\mu$ M ascorbate 反應性比較。

10 U GOx 包埋於 PVA-SbQ 固定於 7.5% Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 上，在工作電位-0.1 V 與 0.7 V, pH 7.4, PBS 環境中連續添加 5 mM 葡萄糖與 500  $\mu$ M ascorbate 反應值與未修飾之 SPCE 比較。

(A) -0.1 V

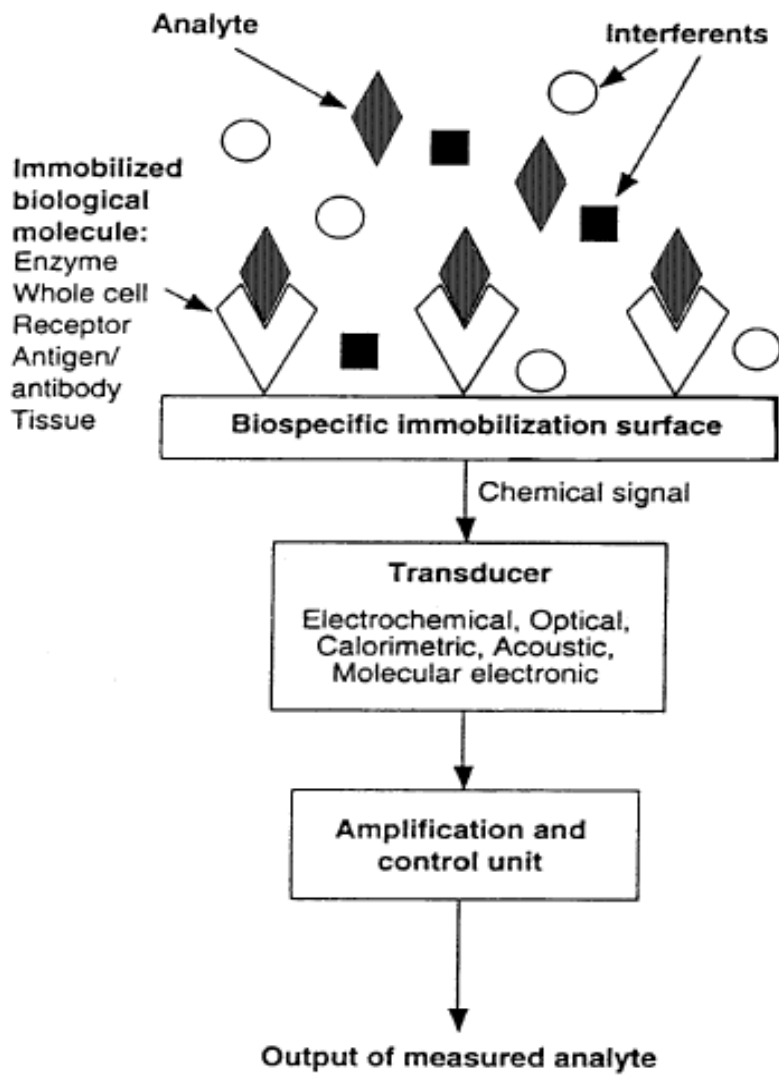
	1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> response(nA)	1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> response fold	500 μM ascorbate response(nA)	500 μM ascorbate response fold
Control	-27.02	1	-7.37	1
7.5% Triton X-100	-221	8.18	-11.57	1.57
7.5% Tween 20	-257.65	9.54	-8.45	1.15

(B) 0.7 V

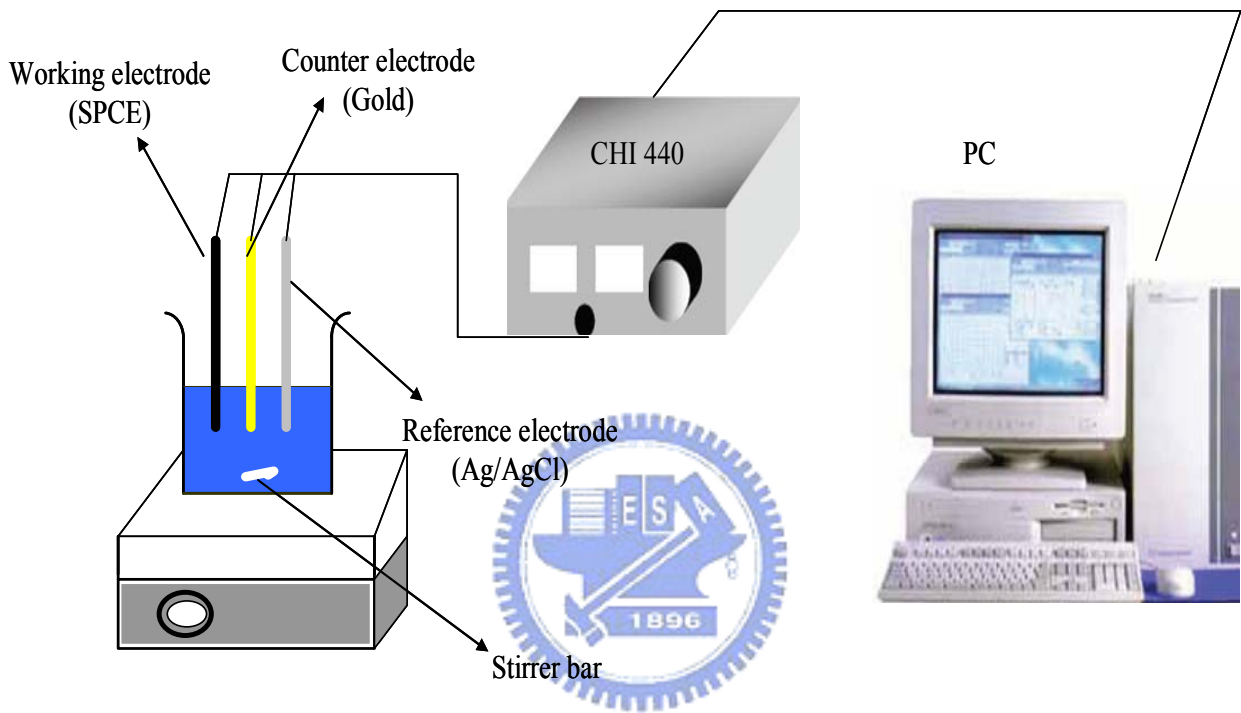
	1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> response(nA)	1 mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> response fold	500 μM ascorbate response(nA)	500 μM ascorbate response fold
Control	140.20	1	13850	1
7.5% Triton X-100	551.75	3.94	8077	0.58
7.5% Tween 20	1070	7.63	8603	0.62

表二、界面活性劑修飾 SPCE 在不同電位對 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 與 500 μM ascorbate 反應性比較。

Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE，在工作電位-0.1 V 與 0.7 V, pH 7.4, PBS 環境中連續添加 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 與 500 μM ascorbate 反應值與未修飾之 SPCE 比較。

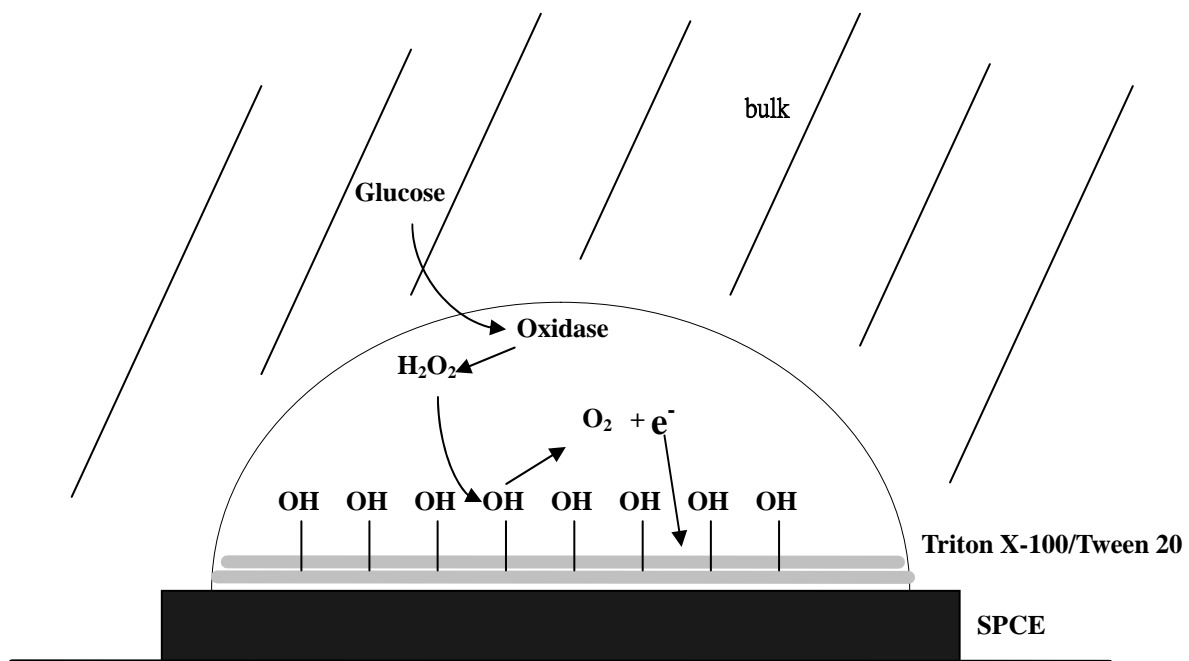


附錄一、生物感測器裝置 [76]



附錄二、電化學系統之示意圖





附錄三、以 Triton X-100 與 Tween 20 修飾 SPCE 之氧化酶感測器模型。