

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC 89-2113-M-032-014

執行期限：88年8月1日至89年7月31日

主持人：林孟山 執行機構及單位名稱：淡江大學化學系

共同主持人：林志興 執行機構及單位名稱：淡江大學化學系

一、中文摘要

本研究為利用鈷太青素(cobalt phthalocyanine, CoPC)修飾碳墨電極來發展兼具快速分析與偵測靈敏度的二硫代胺基甲酸鹽(dithiocarbamate)類農藥的電化學感測器，並以鈉乃浦(Nabam)為研究對象。此以 dip-coating 的方式修飾鈷太青素於旋轉玻璃碳電極上，並於電化學安培法來偵測 Nabam 分子。成功地利用 CoPC 催化 Nabam 的特性，將偵測電壓由+550mV 降低至+220mV。由實驗結果顯示，本系統於 0.1M 磷酸緩衝溶液中(pH=7.5)，施加電位 +0.2V(vs. Ag/AgCl)，電極轉速 1600rpm 下，測得 Nabam 的線性範圍達 1.5 μ M(R=0.9993)，偵測極限濃度為 20nM(S/N=3)，系統反應時間(response time)為 8.6 秒，此結果完全符合 EPA 對這一系列農藥的偵測極限濃度要求，其靈敏度可達 0.993 μ A/ μ M。

關鍵詞：鈷太青素、二硫代胺基甲酸鹽、鈉乃浦、修飾電極

Abstract

This paper reports a sensitive electrochemical sensor for the detection of dithiocarbamate (Nabam) by using a cobalt phthalocyanine (CoPC) modified carbon ink electrode. A portion of 1.0 μ l mixture was then dip-coated on a rotate disk glass carbon electrode and air dried for 15mins. The cyclic voltammetry indicates that CoPC catalysis the oxidation of Nabam at -180mV which is 400mV less than that of a bare glassy carbon electrode. A typical calibration plot of Nabam at +200mV(vs. Ag/AgCl), rotating speed=1600rpm, in 0.1M phosphate buffer pH 7.5, is linear over the concentration range of 0.1 to 1.5 μ M(R=0.9993). The detection limit was estimated about 20nM(S/N=3), and response time was 8.6 sec at the injection of 1.0 μ M

Nabam. This sensitive scheme satisfies the sensitivity requirement of JMPR meeting (Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues).

Keywords: cobalt phthalocyanine, dithiocarbamate, nabam, modified electrode

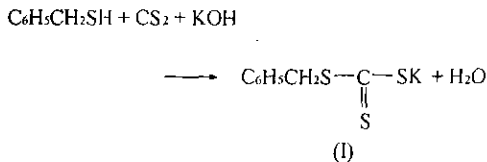
二、緣由與目的

農藥可避免農作物生長時遭受蟲害或環境破壞所使用的化學品，可讓單位耕作面積的農作物產量增加外，亦有促使品質改善，減少農業勞力貢獻等好處，從現在經濟眼光來看，因應人口不斷增加，為了加強利用現有耕地，促使產量提高，所以雖知農藥對人類有所危害，但在尚未尋得較佳的替代品前，部分農藥還是被大量地使用。衛生局、檢驗所甚至消基會等單位為蔬果中農藥的殘留把關，但這些單位檢驗農藥殘留所需時間，少則三四天，多則七八天，即使有毒蔬果就算驗出，這些農產品也早已下肚，因此發展快速準確甚至可就地檢測農藥的分析方法是刻不容緩的重要課題。其中二硫代胺基甲酸鹽農藥更被廣泛的使用，且經研究顯示它具產生降解產物乙烯硫尿(ETU)的可能，又 ETU 為被證實應會致癌的物質，因此偵測二硫代胺基甲酸鹽是相當重要的。以下將介紹幾種已發展的二硫代胺基甲酸鹽分析方法。

基於二硫代胺基甲酸鹽的分子特性，其結構可經降解成胺類及二硫化碳¹，因此有許多偵測二硫代胺基甲酸鹽的方法就是藉由分析胺類、二硫化碳或二硫化氫等分解後的產物，再間接定量二硫代胺基甲酸鹽的濃度，如分別對胺類進行氧化²或二硫化碳還原³反應偵測電流而分析。由於許多的二硫代胺基甲酸鹽偵測是配合使用 HPLC 或 LC(Liquid chromatography)等當分離工具，可將偵測系統分為 UV 光譜法、電化學偵測法⁴(electrochemistry, EC)、

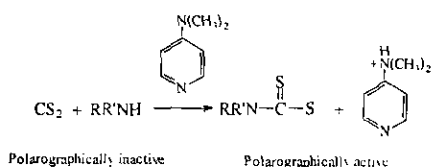
HPLC-EC⁵、流注分析-螢光偵測法⁶(FIA-fluorimetry)等等。

Verma, B. C.⁷利用以下反應：



產生淡黃色 potassium benzyl trithiocarbonate(I)，此物質光譜吸收訊號，經由比爾定律可得二硫代胺基甲酸鹽濃度線性範圍在 59~630 μM 。Gupta, V. K.⁸提出分析鋅乃浦的方法，處理形成具光吸收活性的 methylene blue，如此間接定量其分析遵守比爾定律的線性為 3~32 ppm。不久，Gupta, V. K.⁹又於 1998 年將二硫代胺基甲酸鹽以酸處理分離出的 C_2S 經衍生步驟形成於 $\lambda=595nm$ 具吸收特性的 Crystal violet dye，亦可間接定量 dithiocarbamate，此法偵測 thiram、ziram 和 zineb 之限性範圍分別是 0.02~0.20、0.02~0.24 及 0.04~0.32 ppm，比前兩者所述有較低的偵測極限。Rao, T. P.¹⁰亦用光譜吸光分析法，直接將 Ziram 與 thiocyanate 和 rhodamine 6G 生成紫色錯和物在於波長等於 570nm 處偵測二硫代胺基甲酸鹽的濃度，分析 Ziram 的偵測極限值為 1.31 μM 。

Schwack, W.¹¹將二硫代胺基甲酸鹽(dithiocarbamate)和硫代胺基甲酸鹽(thiocarbamate)以熱與酸進行分解，分別讓其生成 CS_2 及 COS ，再與 methanolic piperidine 試劑進行吸附後，以微差脈衝極譜法(differential pulse-polarograph)的電流測量技術，於 $E=-0.57$ 和 $E=-0.36 V$ (vs. $Ag/AgCl/(0.1M LiCl)$)測得 CS_2 及 COS 的還原訊號。此方法可分析 CS_2 及 COS 的線性範圍分別為 1.5~9.2 和 2.1~12.6 μM 。Chan, W. H.¹²也是使用微差脈衝極譜法的測量技術，將二硫代胺基甲酸鹽分解成胺類(amines)後利用以下反應：



把胺類衍生為具極譜法電活性的物質，以偵測胺類間接定量二硫代胺基甲酸

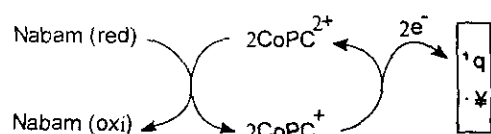
鹽，以此方法偵測胺類的線性範圍在 5~25 μM 。如上所述，已發展出的分析方法靈敏度皆不高、操作步驟繁複及分析時間耗時等缺點，因此發展精確分析二硫代胺基甲酸鹽的簡便偵測系統是必要的，此即本研究極力發展的目的。

三、結果與討論

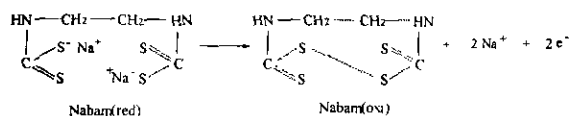
本研究的目的是發展二硫代胺基甲酸鹽(dithiocarbamate)類農藥之化學感測器，以鈷太青素(cobalt phthalocyanine)當催化劑，嘗試針對二硫代胺基甲酸鹽進行偵測之可能性研究，並以鈉乃浦當研究模型。實驗利用碳墨將鈷太青素催化劑固定於玻璃碳電極上，使用電化學安培法(amperometry)，將其發展成鈉乃浦電化學感測器，應用鈷太青素修飾之感測器對鈉乃浦的催化作用，於較低氧化電位下即可測得鈉乃浦的氧化電流而进行分析，以解決於未修飾電極偵測鈉乃浦須在易受環境氧化物質干擾之較高電位偵測所衍生的問題，並研究鈷太青素催化鈉乃浦的氧化機制，以及探究可能影響系統的因子。

(1)鈷太青素修飾電極催化鈉乃浦氧化的機制探究

使用循環伏安法來檢視鈷太青素修飾玻璃碳電極對鈉乃浦催化的效果所得結果如圖(一)(A)所示，修飾鈷太青素之碳電極(a)於 $E=-200mV$ 處有一明顯的鈉乃浦氧化峰，而(b)為 Blank，即溶液中不含鈉乃浦；相較於圖(一)(B)所得結果，未修飾的純碳電極(a)卻在 $E=+100mV$ 才有一訊號不大的氧化電流。由上述可知鈷太青素修飾玻璃碳電極具有催化鈉乃浦進行氧化反應的效果。同樣以鈷太青素修飾玻璃碳電極於不同鈉乃浦濃度(a)0 μM (b)50 μM (c)100 μM (d)150 μM 中操作所得之循環伏安圖，如圖(二)所示，可明顯看出隨鈉乃浦的濃度增加，於 $E=-200mV$ 的氧化電流呈逐漸增加趨勢，由此可知鈷太青素修飾玻璃碳電極偵測鈉乃浦的可行性。由上述所得之鈷太青素修飾電極催化氧化鈉乃浦的現象，推測本系統鈉乃浦氧化可能的催化機制如下：



上述反應中的 Nabam(red)及 Nabam(oxi)，根據 Marshall, W. D.¹³ 及 Lesage, S. J.¹⁴ 所發表推論之鈉乃浦氧化可能反應式為：



顯示了 Nabam(red)進行氧化之可能機制。

(2) 電子傳遞速率 κ 值的計算

本研究亦對鈷太青素催化劑修飾電極催化鈉乃浦的電化學感測器之電子傳遞速率 κ 值作評估，藉此評估來判斷鈷太青素催化劑催化鈉乃浦氧化的能力。根據 Karyakin, A. A. 所述，則 Levich equation 可改寫成 Koutetchky-Levich equation 表示如下：

$$I_L = 0.62 n F A D^{2/3} C \nu^{-1/6} \omega^{1/2}$$

Levich equation

$$1/I = 1/I_{kin} + 1/I_L$$

Koutetchky-Levich equation

當 $\omega \rightarrow \infty$ ，則 $I_{kin} = n F A \kappa C_0$

其中 I 為反應總電流、 I_{kin} 為動力電流、 I_L 為擴散限制電流、 ω 為電極轉速、 n 為電子轉移數目、 F 為法拉第常數、 A 為電極面積、 κ 為與電位相關之電子傳遞速率常數而 C_0 為電活性物質的濃度。藉由以上式子所述，經實驗設計於電位 $E = -150\text{mV}$ ，添加鈉乃浦濃度 $20\mu\text{M}$ 下，在不同轉速的實驗中得不同 I 值，並以 $1/I$ 對 $\omega^{-1/2}$ 作圖見圖(圖三)，可得鈷太青素修飾電極催化鈉乃浦的電化學感測器系統之 $I_{kin} = 3.41\mu\text{A}$ ，並求得 $\kappa = 0.9 \times 10^{-2} \text{ cm/s}$ ，由此數值可顯示鈷太青素修飾電極對鈉乃浦的催化電子傳遞速率。

鈉乃浦感測器偵測條件之最適化

(1) 催化劑的組成

研究使用 0.5~7% 鈷太青素/碳墨重量百分比(w/w) 的不同比例修飾之旋轉碳電極，於偵測電位 0.0mV ， 0.1M pH 7.5 磷酸緩衝溶液，電極轉速 1600rpm 下，分別偵測 $2\mu\text{M}$ 鈉乃浦，探究鈷太青素的組成對反應電流訊號的影響。其結果如圖(四)所示，顯示修飾 3% 鈷太青素組成時偵測鈉乃浦得到的氧化電流訊號值較其他比例修飾之電極大。

(2) 偵測電位的決定

選擇電位操作區間 $E = 0 \sim +400\text{mV}$ ，分別偵測 $2\mu\text{M}$ 鈉乃浦，探究偵測電位對系統的影響。其結果如圖(五)所示，圖中顯示鈷太青素修飾電極以安培法在不同電位下偵測鈉乃浦時的氧化電流訊號，可發現當偵測電位低於 $+200\text{mV}$ 時，氧化電流隨電位下降而快速地減小，而在氧化電位高於 $E = +200\text{mV}$ 時的電流訊號，增加卻不大，基於避免干擾及保有不錯的偵測靈敏度之雙重考量，因此決定以 $E = +200\text{mV}$ 當作鈉乃浦感測器的最佳偵測電位。

(3) 電極轉速的效應

鈷太青素修飾之玻璃碳旋轉電極鈉乃浦電化學感測器在旋轉電極系統下電流與轉速的關係可以 Levich equation 表示。改變電極轉速於 $\omega = 400\text{rpm} \sim 3600\text{rpm}$ 間，並探討電極轉速與訊號靈敏度的關係，結果如圖(六)所示。圖中顯示了 I_L vs. $\omega^{1/2}$ 的曲線關係圖，在電極轉速 $\omega = 400\text{rpm} \sim 1600\text{rpm}$ 間，電極轉速的平方根值與氧化電流值的增加呈線性關係，此階段為上述之質傳控制。電極轉速 $\omega = 1600\text{rpm}$ 以上時質傳速度的影響已不再是主要因素，因此最後選擇電極轉速 $\omega = 1600\text{rpm}$ 作為實驗的最適操作條件。

(4) 溶液氫離子濃度的影響

實驗也考慮 pH 值對系統的影響進行研究，改變溶液氫離子濃度範圍 pH 5~9 間，探討溶液氫離子濃度與操作系統的關係。結果如圖(七)所示，圖中顯示了酸鹼值在 pH 5~7 間，氧化電流隨氫離子濃度的增加而緩慢下降，原因是在此 pH 範圍之溶液氫離子提高會造成對鈉乃浦的電子親和力增加，使得鈉乃浦的氧化較不易進行，而在 pH 7 後此現象的影響已有限，使得圖中觀察到 pH 7.5~9 範圍間的電流訊號趨向定值，其中又以 pH 7.5 的訊號靈敏度及再現性較好，因此最後選擇 pH 7.5 為操作條件。

(5) 電解質的效應

實驗選擇於 pH 7.5 之緩衝溶液為操作條件，因此實驗也研究了在此氫離子濃度值下具酸鹼緩衝能力的三種緩衝電解質 phosphate、Tris 和 HEPES，分別觀察不同電解質種類是否造成電流訊號的差別，實

驗結果如圖(八)所示，顯示了電解質種類對於鈉乃浦偵測系統並沒有明顯差異，所測得的氧化電流相近，其中以磷酸電解質緩衝溶液所得的訊號較大，所以實驗最後是以磷酸緩衝溶液為偵測系統最適化之條件。

另外，實驗也對電解質濃度的最佳化做了研究，選擇電解質 0.025~0.5M 的濃度區間作探討，如圖(九)所示。圖中顯示電解質濃度小於 0.1M 時，鈉乃浦的催化電流逐漸變小，而在濃度高於 0.1M，則氧化電流不再顯著增加而趨於飽和。原因如上述電解質濃度愈高，則偵測水溶液的導電性愈好，使得溶液的 IR drop 降低，因此電流值隨電解質濃度增加而增大，但濃度達 0.1M 後氧化電流值幾乎保持一定，因此決定以 0.1M 磷酸緩衝溶液為最佳操作條件使用的電解質。

鈉乃浦感測器分析特性評估

(1) 分析鈉乃浦之感測器的特性探討

完成製備之 3%鈷太青素玻璃碳電極鈉乃浦農藥感測器於 0.1M pH 7.5 之磷酸緩衝溶液，施加電位+0.2V(vs. Ag/AgCl)，電極轉速 1600rpm 等系統最佳化條件下，偵測鈉乃浦得到的校正曲線如圖(十)所示。其線性範圍的研究在連續添加 5 次 0.1 μ M 及 9 次 0.5 μ M 鈉乃浦濃度後，結果顯示線性可達 3.0 μ M(correlation coefficient=0.9991)。而此感測器的偵測極限為 20nM(S/N=3)，電流密度為 1.13 μ A/ μ M \cdot cm²。並且對 1.0 μ M 鈉乃浦連續重複操作偵測 20 次，得到的相對標準偏差 RSD=5.0%。另外，對 1.0 μ M 鈉乃浦作偵測，安培法電流訊號達 10~90%時所需反應時間(Response time)為 8.6 秒。如表(一)所示，顯示分析鈉乃浦之感測器的特性。

四、計劃成果自評

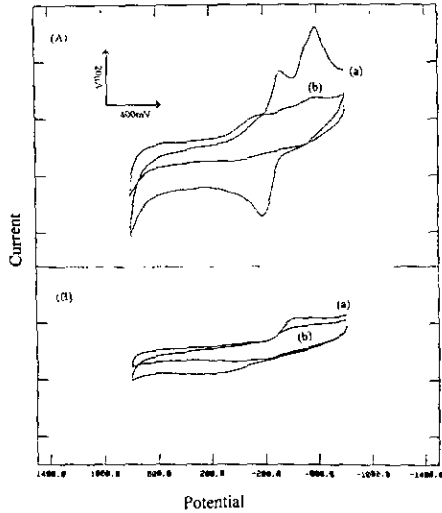
由實驗結果顯示，本研究發展出的鈷太青素修飾碳電極成功應用於鈉乃浦的催化偵測時，它具有相當低偵測極限(detection limit)及短的偵測時間(response time)等雙重優點，分別為 20nM(S/N=3)和 8.6 秒(t=10~90%)，而此偵測極限比現有的分析方法皆來的低，更符合 EPA 對此類農

藥的管制濃度，這是傳統分析法所達不到的，充分展示此分析方法的優越性。

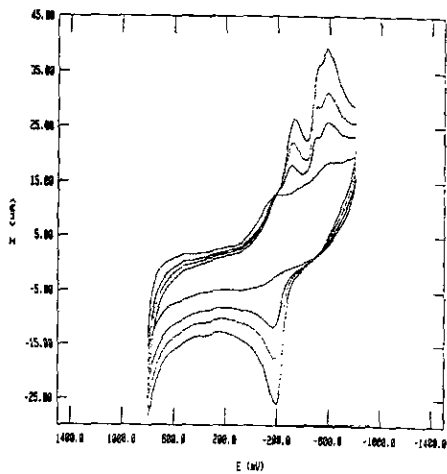
五、參考文獻

1. Cullen, T. E. *Anal. Chem.* **1964**, *36*, 221.
2. Rangaswamy, J. R.; Vijayashankar, Y. N. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1975**, *58*, 1232.
3. Rangaswamy, J. R.; Poornima, P.; Majumder, S. K. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **1970**, *53*, 519.
4. Rao, T. P.; Mathew, L.; Reddy, M. L. P.; Iyer, C. S. P.; Damodaran, A. D. *Talanta* **1996**, *43*, 73.
5. Pingarron, J. M.; Fernandez, C.; Reviejo, A. J.; Polo, L. M. *Talanta* **1996**, *43*, 1341.
6. Perez-Ruiz, T.; Martinez-Lozano, C.; Tomas, V.; Casajus, R. *Talanta* **1996**, *43*, 193.
7. Verma, B. C.; Sood, R. K.; Sidhu, H. S. *Talanta* **1983**, *30*, 787.
8. Gupta, V. K.; Agrawal, V.; Shivhare, P. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1992**, *344*, 350.
9. Gupta, V. K.; Kesari, R. *Talanta* **1998**, *45*, 1097.
10. Rao, T. P.; Mathew, L.; Iyer, C. S. P.; Damodaran A. D. *Talanta* **1995**, *42*, 41.
11. Schwack, W.; Bruger, B.; Nyanzi, S. *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *351*, 297.
12. Chan, W. H.; Lee, A. W. M.; Ng, S. L.; Liu, W. L. *Analyst* **1992**, *117*, 1909.
13. Marshall, W. D. *J. Agric. Food Chem.* **1972**, *25*, 357.
14. Lesage, S. *J. Agric. Food Chem.* **1980**, *28*, 787.

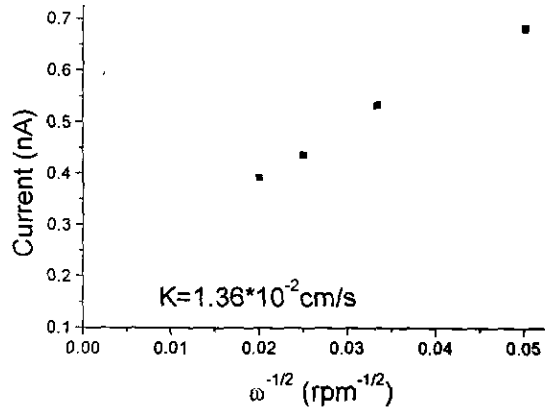
六、圖表



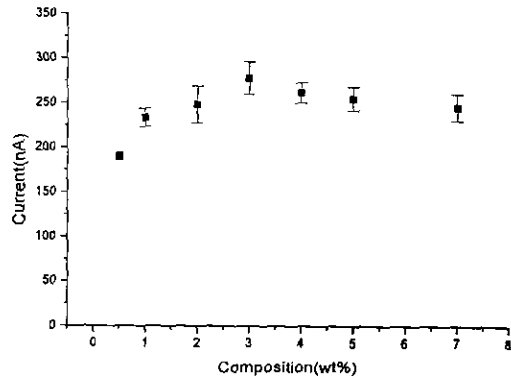
圖(一) 鈷太青素修飾電極催化鈉乃浦之循環伏安圖，經鈷太青素修飾(A)及未修飾(B)之玻璃碳電極偵測鈉乃浦之循環伏安圖，其中(a)加入 $0.4\mu\text{M}$ 鈉乃浦(b)blank，於 0.1M pH 7.5 磷酸緩衝溶液，掃描速率 50mV/s 條件下操作。



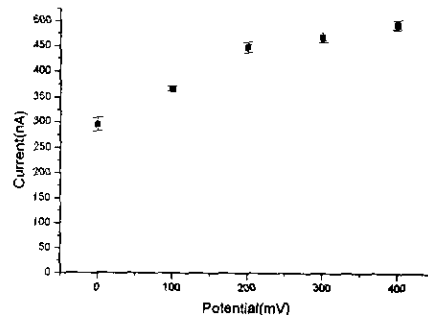
圖(二) 鈷太青素修飾電極偵測鈉乃浦之循環伏安圖，鈷太青素修飾電極於 0.1M pH 7.5 磷酸緩衝溶液，掃描速率 50mV/s 條件下連續添加鈉乃浦之循環伏安圖。鈉乃浦添加濃度(a)blank、(b) $50\mu\text{M}$ 、(c) $100\mu\text{M}$ 和(d) $150\mu\text{M}$ 。



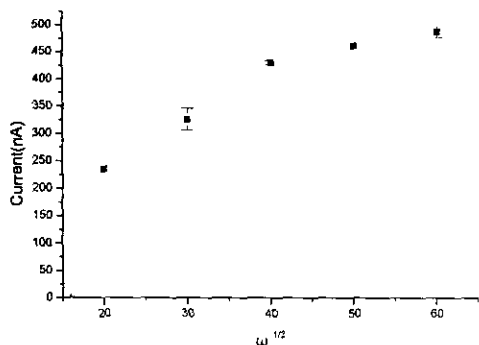
圖(三) 電子傳遞速率的研究，鈷太青素修飾電極在不同轉速下，於鈉乃浦濃度 $20\mu\text{M}$ ， $E=150\text{mV}$ (vs. Ag/AgCl)， 0.1M pH 7.5 磷酸緩衝溶液中所獲得電流訊號與轉速的關係圖。



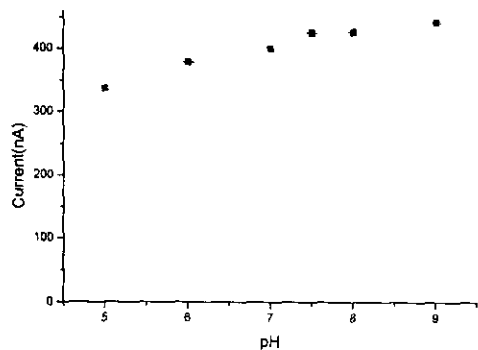
圖(四) 鈷太青素修飾組成的探討，不同電極組成 $0.5\sim 7\%$ (wt%)間於 $E=0.0\text{V}$ (vs. Ag/AgCl)，電解液為 0.1M 磷酸 pH 7.5 之緩衝溶液，電極轉速 1600rpm 條件下添加 $2\mu\text{M}$ 鈉乃浦之電流訊號。



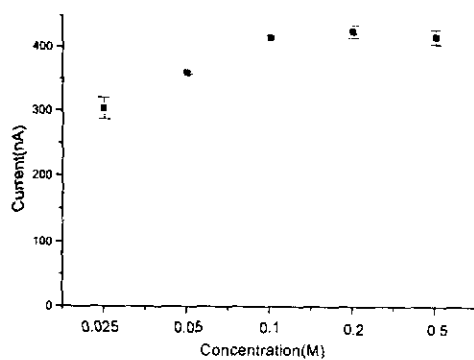
圖(五) 偵測電位的探討，使用 3% 鈷太青素修飾電極於不同的操作電位 $E=0.0$ 至 400mV (vs. Ag/AgCl) 間，探究操作電位的不同對系統之影響，其餘偵測條件與圖(四)相同。



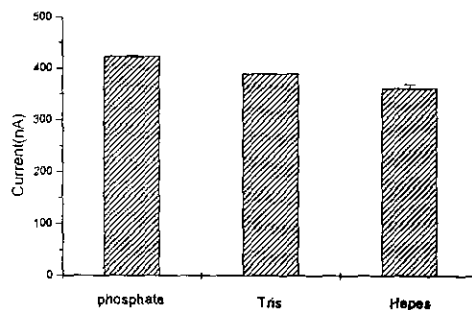
圖(六) 電極轉速的探討,於操作電位 $E=200\text{mV}$ (vs. Ag/AgCl), 不同電極轉速下, 探究電流訊號與轉速的關係, 其餘偵測條件與圖(五)相同。



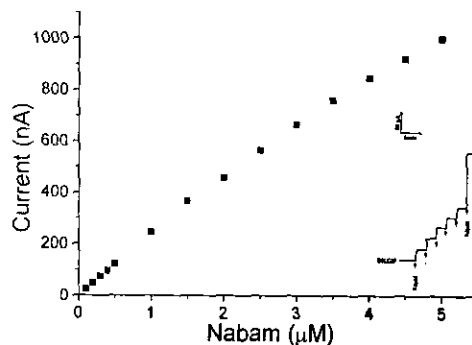
圖(七) 溶液氫離子濃度的探討,於不同氫離子濃度 pH 5~9 間, 研究氫離子濃度改變對操作系統的影響, 實驗條件為電極轉速 1600rpm, 其餘偵測條件與圖(六)相同。



圖(八) 電解質濃度的探討,於不同離子濃度 0.025~0.5M 間, 研究電解質濃度改變對操作系統的影響, 實驗條件為 pH 7.5, 其餘偵測條件與圖(七)相同。



圖(九) 電解質種類的探討, 選擇於 pH 7.5 具緩衝能力之 phosphate、Tris 和 Hepes 電解質, 研究電解質種類對操作系統的影響, 實驗於 0.1M 離子濃度, 其餘偵測條件與圖(八)相同。



圖(十) 鈉乃浦化學感測器之校正曲線圖, 圖為 3% 鈷太青素修飾電極於 $E=200\text{mV}$, 1600rpm, 0.1M pH 7.5 磷酸緩衝溶液的操作條件下所得鈉乃浦氧化電流對濃度之校正曲線圖。

表(一) 鈉乃浦化學感測器之特性

| | | |
|--------|---|--------------------|
| 操作條件 | 3% CoPC, $E=+200\text{mV}$ (vs. Ag/AgCl), 1600rpm, 0.1M pH 7.5 phosphate buffer | |
| 電流密度 | $0.9993\ \mu\text{A}/\mu\text{M}\cdot\text{cm}^2$ | |
| 線性範圍 | 1.5 μM | ($R=0.9993$) |
| 偵測極限 | 20 nM | ($S/N=3$) |
| 反應時間 | 8.6 sec | ($t=10\sim90\%$) |
| 相對標準偏差 | 5.0% | ($n=20$) |
| 干擾物* | SDS | (-3.93%) |
| (1ppm) | camphor | (-0.97%) |
| | humic acid | (+6.75%) |

*相對於 0.5 μM 鈉乃浦之干擾訊號