

石油暨石化產業科技學術合作

八十八年度期中報告

電活性高分子薄膜生化感測器 之開發與應用

計畫編號：88-CPC-E-032-008

執行期間：87年8月1日至88年7月31日

委託單位：中國石油股份有限公司

計畫主持人：林孟山

執行單位：淡江大學

中華民國 88 年 5 月 31 日

目 錄

一、計畫目標-----	1
二、研究方法及步驟-----	7
(1)長效型酵素高分子薄膜-----	7
(2)氧化還原型高分子薄膜之開發-----	8
(3)電聚合高分子薄膜之開發-----	11
(4)持續開發—催化型薄膜-----	13
三、目前進度達成情形-----	15
四、實驗結果-----	16
五、結論與建議-----	20
六、圖表-----	21

一、計畫目標

由於社會變遷以及生活水準的快速提昇，一般社會大眾逐漸有監測環境污染以及監控疾病因子的觀念，故感測器(sensor)也逐漸能被大眾接受、使用。一般而言，感測器的基本架構為一結合了化學檢測、生物科技、電子技術、軟體和測量學等所發展之可攜式分析儀器，將會是個可提供快速、瞬時和立即檢測之輕便小巧的分析工具，可廣泛地運用在環保及生醫檢驗等用途上，預期會有相當不錯的市場價值，而感測器被各界列為二十一世紀的十大重點科技之一，相信不久的將來，我國也會在此方面有重大發展與突破，而行政院亦擬將感測器的發展列為未來國家發展的重點計畫之一，被各界看好有相當不錯的發展前景。

而在開發感測器過程中，利用各種不同高分子薄膜修飾在感測器的表面，就成為改善感測器特性中十分重要的手段或方法，配合著電子儀器，感測器就和所有分析程序的要求相同。一般而言感測器必須具有下面所述三項特性：(1)特殊之專一性(Specificity)，(2)高靈敏度(High Sensitivity)，(3)低干擾物影響(Low Interference)，而高分子薄膜則能充分利用其設計上的多重可變性，提高了對分析物種的專一性、靈敏度，並能藉此降低一般偵測環境中的干擾。

為了達到上述要求，在設計感測器界面時必須建立一套有效率的訊號傳遞機制(Signal transduction mechanism)，主要包含兩大部份，(1)傳感器(Transducer)，(2)辨識機制(Recognition mechanism)，以滿足測量訊號時之所需，並發展切合實用的感測器。

感測器之傳感器的種類繁多，而電化學電極則常被選擇作為感測器之傳感器之一，其在感測器的發展上所面臨較大的挑戰即在於較高的過電壓時常面臨的選擇性困擾，為了提高系統之專一性並降低操作電壓，電極通常都必須加以修飾，我們稱之為修飾電極(modified electrode)。所謂修飾電極是指將修飾劑(modifier)藉由機械、物理或化學方式固定在電極表面上，使感測器表面能與特定之被分析物反應，同時亦可藉此改變電子或質點傳遞特性，而使測量具有高度的穩定性與專一性。另一方面來說，藉由修飾電極的修飾劑催化可改變原本的反應路徑，降低反應的活化能達到催化作用，因此，可降低原本的操作電壓至適當的偵測範圍，使得測量上有較少的干擾物質影響，提高分析的準確度。

而特別就生化感測器(Biosensor)而言，製作上便是將生化元件固定於電極的表面，我們稱之為生化修飾電極(Bio-electrode)，此一固定技術乃生化感測器成敗的重要關鍵之一，這是由於生化元件一般都擁有專一性的辨識元中心，如果無法固定於電極表面，電極就

無法對偵測物種作專一性辨識，將產生相當程度上的干擾；甚至無法偵測到分析物的訊號。另外，辨識元與電極間傳導介面的結合度亦是一重要的關鍵，結合程度越好傳導越容易辨識元也比較不容易流失，可操作的生命其也相對延長，所以辨識元與傳感器需能緊密的結合，方能增加偵測靈敏度(Sensitivity)並縮短反應測定的時間(Response Time)與延長生命期(Life time)。

綜合上述，我們可以知道，感測器界面必須包含辨識元的固定機制、訊號傳遞機制，以及排除干擾物質的機制，將這些不同物理和化學特性的物質，在妥善的空間列陣安排下，欲設計成一個具有一項或多項功能的高分子陣列(multi-functional polymer matrix)，必須經過仔細的調整與設計，以期將所有的考量包含於感測器之設計當中，以達成感測器設計之基本要求：速度快、準確性高、成本低、操作方便等特性。

而有鑑於過去數十年來高分子工業的蓬勃發展，各式的高分子亦漸漸的被應用於各行各業上，但卻鮮少被應用於感測器之發展，即使目前標榜應用高分子材料的感測器，也多採用構型簡單的高分子，沒經過特殊設計；因此在感測器的製作應用上，高分子的功能並未發揮到極致。而最近幾年來，許多人對於高分子材料應用於催化系統的開發感到十分有興趣，其應用範圍也相當廣泛，醫藥合成、

生物技術、分析檢測、甚至於各項工業等，只要能夠發展出適當的催化系統，降低整個反應的活化能，必能節省相當多的人力、物力、財力，足以證明利用此一高分子系統的潛力；特別是藉由各種合成方式，能夠隨心所欲的設計各類聚合物。

經由過去許多研究者的投入，各式各樣的高分子技術逐漸的發展出來，其中最主要的包括有(1)Conducting Polymer (2)Redox Polymer (3)Chelating Polymer (4) Charge exclusion Polymer (5) Size exclusion Polymer(6)Recognition containing polymer等等，本研究將著重於第二項的高分子研發。

在第一年的研究當中，我們已將酵素與水性PU高分子，藉由交聯劑UX-600的作用，以共價鍵結的方式固定於石墨電極表面，製備出含有酵素的PU改良型高分子薄膜，並同時得到酵素操作生命期限延長之效果。而發展過程中我們發現，由於PU高分子薄膜的阻隔，使得受質與酵素反應所生成之 H_2O_2 ，還必須經由擴散的過程才能到達電極表面，為石墨工作電極偵測得到訊號，因此系統的反應時間相當的長；並由於系統未修飾任何的電子傳遞媒介，使得系統的操作電位太高而無法避免偵測環境中易氧化物質的干擾，如ascorbic acid, uric acid, acetaminophen等。

因此，擬採用Quinone系列的化合物，來完成電化學生化感測器中電子傳遞之任務，因為Quinone化合物本身具有較為合適之操作電位，符合生化感測器發展之所需，而能避開操作環境中易氧化物質之干擾。此外，將Quinone修飾於PU高分子薄膜上，除了可當作酵素固定的材質之外，Quinone本身又可直接傳遞酵素反應過程中的電子，達成生化感測器設計之需求，辨識元與電子傳遞員必須緊密的接觸，方能擁有最佳之電流密度及最快的反應時間；因此，我們希望此一系列修飾之高分子薄膜，能夠符合我們發展生化感測器之所需。另外，在PU的材質選擇上，我們也對水性PU與油性PU分別進行探討，希望不同材質的PU會對Quinone有不同結合方式，使分析特性隨之改變。

另一方面，由於PU膜本身無法作為電子傳遞媒介，並會阻礙偵測物擴散至電極表面之質傳速度，因此，本計畫的另外一個研究方向則希望能發展一具催化性之高分子薄膜。利用對金屬具特殊結合能力之高分子，讓其與金屬結合，以發展成催化性薄膜，例如以thiophene為基礎的高分子薄膜，將其修飾於電極上，再讓它與溶液中的各類金屬結合，預期將會使固定於電極上的高分子薄膜因含有金屬的緣故，而產生具催化特性的薄膜，當此具催化特性的薄膜修

飾於電極表面上時，可對特定分析物進行偵測，並希望進一步發展成高分子薄膜生化感測器。

根據上年度的初步研究結果顯示，過高的操作電壓使得高分子修飾生化感測器無法避免分析樣品中易氧化物質如 ascorbic acid、uric acid 等等干擾，因此利用本實驗室所發展出之催化劑加以修飾，成功地降低偵測之電壓，並成功地避免干擾物之干擾，但由於薄膜之阻隔，使得酵素反應所生成之 H_2O_2 仍舊必須擴散進入催化劑修飾層，因此造成生化感測器的反應時間較長，並不完全符合發展之所需，因此本計畫將延續上年度之研究，並利用電活性高分子修飾生化感測器來解決所面臨之問題。

此計畫之目的在於利用各式高分子薄膜來發展各式各樣的感測器，並研究出一套可行之策略，以提供未來研製新型感測器或生化感測器之模型，並將以 glucose 的測定為模形來研究。

本計畫不但可培訓學生具備有電化學及高分子化學方面之專精知識，並可從事電化學之研究如腐蝕或電池之工作，且可培訓使其能有規化能力之生醫、環保的研究人員，將來可投入各式 sensor 的發展工作，以成為發展生醫和環保方面偵測技術之尖兵，並在整個研究的過程當中，瞭解國內在此方面之實際需要及所面臨的困難，以期能使研究與實際相互配合。國內此方面之努力，已可由生技中心、

化工所等單位的積極投入，可預見未來的業界將需儲備這方面的人員配合。如前述，生化感測器之發展是需集眾人之力，一點一滴累積而成的。因此，目前訓練的人員，相信未來可在電化學應用、環境中有毒物質的檢測和感測器發展上有顯著的影響。

二、研究方法及步驟

(1)長效型酵素高分子薄膜

此部分乃延續第一年度計畫，利用本系陳幹男教授所發展之水溶性之 PU 高分子化合物來固定生化感測器中之辨識元，此方法可有效保持酵素於電極面上之四級結構，可延長生化感測器的操作期限，有助於開發出符合商業化要求之生化感測器。由於此酵素薄膜具有極佳之穩定性，因此本年度仍對其保存方式及生命期特性作持續之評估。

進行步驟如下：

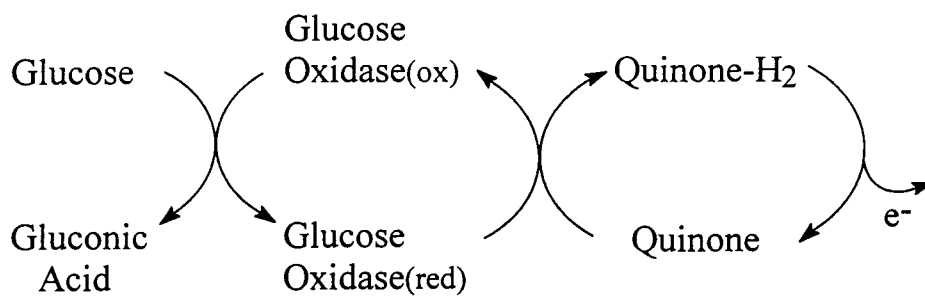
1. 電極修飾：將 5% PU 與 2 單位 GOx 先行混合均勻，再加入等當量之交聯劑反應 30 秒後，以微量吸取器吸取 25 μ l 之上述溶液，並利用旋轉成膜方式將其固定修飾於石墨電極上。並置於空氣中乾燥。
2. 生命期評估：將電極由 4 $^{\circ}$ C 恆溫箱中取出，於室溫下回溫 5 分鐘，置入 25 $^{\circ}$ C 反應槽中偵測葡萄糖。實驗後將酵素-PU 修飾電極依保存方式置於溶液或乾燥條件下 4 $^{\circ}$ C 保存

(2) 氧化還原型高分子薄膜之開發

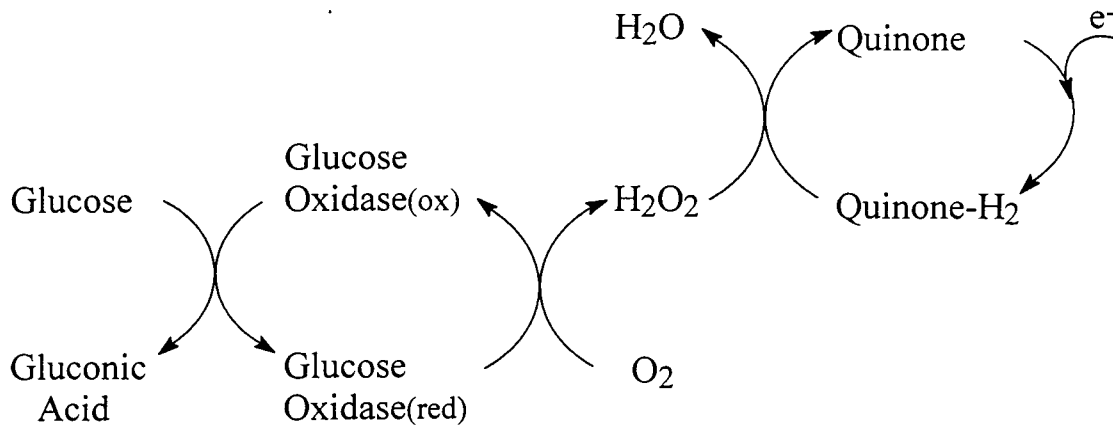
本年度首要乃發展具有氧化還原中心之 PU 高分子薄膜，利用此一具電子傳遞特性之高分子薄膜為基礎，改善系統操作電位太高 ($E > +0.90V$)，使得應用於樣品偵測時干擾物嚴重影響之問題。本年度將著手改進 PU 的基本性質，配合以 quinone 化合物為基礎的單體，反應生成具有氧化還原中心之 PU 高分子薄膜。

利用此一具有氧化還原中心之修飾 PU 高分子薄膜為基礎所製備之生化電極，我們預期它將有下列的反應機制：我們可以選擇以氧化或還原機制來進行葡萄糖之偵測工作：

Oxidized Model Mechanism:



Reductive Model Mechanism:



以下將針對水性 PU 及非水溶性 PU 之改質作一說明。

1. 氧化還原型水性 PU 高分子薄膜

由於水性 PU 藉由其上之 carboxylic group 與所使用之 UX-600 交聯試劑能產生相當好的交聯反應，因此可利用具有 carboxylic group 之 quinone 衍生物與水性 PU 高分子同時與交聯試劑 UX-600 充分反應便可將 quinone 衍生物一起鍵結於水性 PU 高分子溶液中。因此將混合反應之溶液以旋轉成膜方式固定電於電極表面，便可將 quinone 衍生物修飾於 PU 高分子薄膜上，製成具氧化還原特性之 PU 高分子薄膜。

進行步驟如下：

1. 將 5% 水性 PU 與 quinone 的衍生物及 UX-600 進行交聯反應，形成具有 quinone type 氧化還原中心的 PU 高分子溶液。
2. 以 micropette 吸取此一溶液，並以 spin coating 的方式置於電極表

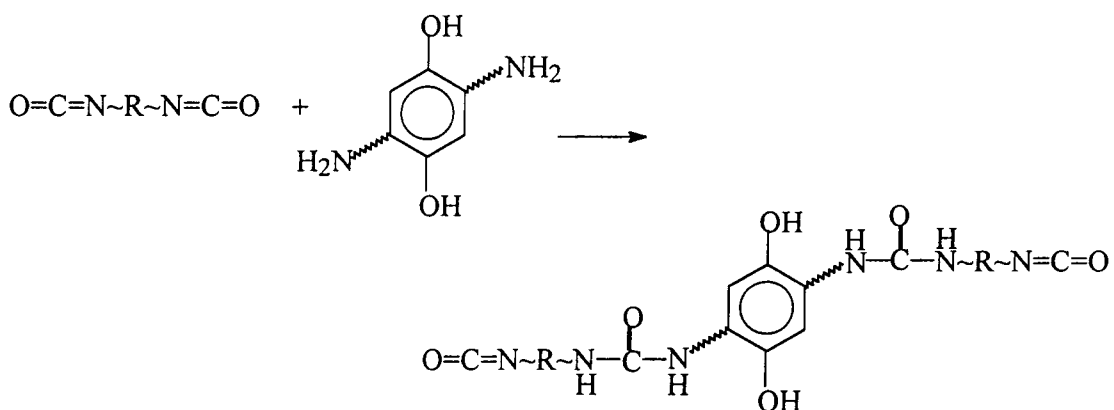
面，使其在旋轉下於電極表面形成高分子薄膜，並靜置使其乾燥。

3. 將此高分子薄膜修飾電極以循環伏安法及微差脈衝伏安法，以檢視此一薄膜的電化學特性。

4. 將此高分子薄膜修飾電極用於偵測各種不同之被分析物，依據被分析物之不同，可以選擇合適的氧化還原酵素加以固定，製備成不同種類的生化感測器。例如，分析葡萄糖則可選擇以 glucose oxidase 為偵測之模型(反應之機制如上)。其他可供選擇的氧化還原型酵素，如 Cholesterol Oxidase、Choline Oxidase、Uricase、Putrescine Oxidase 等等，具有相當大的發展空間。

2. 氧化還原型非水性 PU 高分子薄膜

以非水溶性 PU 反應可藉由其上之 $-N=C=O$ 官能基與具有 amine 官能基之 quinon 衍生物反應，而形成具氧化還原特性之 PU 高分子，所進行的原理如下：

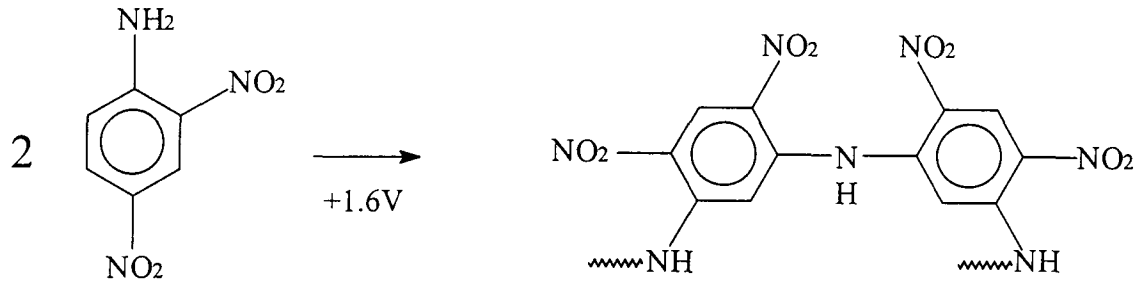


進行步驟如下：

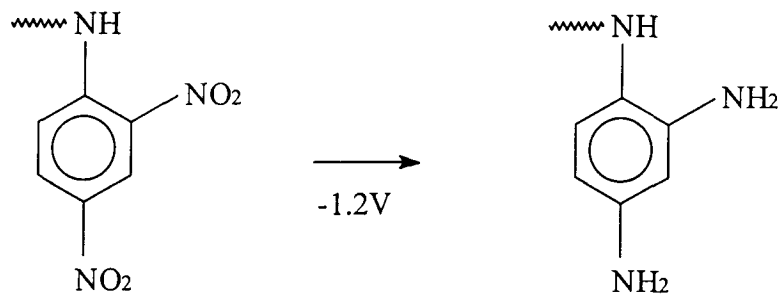
1. 先將非水溶性 PU 與 quinone 的衍生物以等當量進行反應 20 分鐘，使其形成具有氧化還原中心的 PU 高分子溶液。
2. 以 micropette 吸取此一溶液，並以 spin coating 的方式置於電極表面，使其在旋轉下於電極表面形成高分子薄膜，並靜置使其乾燥。
3. 將此高分子薄膜修飾電極以循環伏安法及微差脈衝伏安法，以檢視此一薄膜的電化學特性。
4. 將此高分子薄膜修飾電極用於偵測各種不同之被分析物。

(3)電聚合高分子薄膜之開發

除利用 PU 改質以發展氧化還原型高分子薄膜外，本年度亦嘗試利用電聚合生成(electropolymerization)方式，探討另一系列具 quinone based 之高分子薄膜之可行性以作為感測器之用。實驗採用含有硝基的酚類或胺類化合物為發展基礎，先以電聚合方式在電極面上形成薄膜，再利用電位控制改變高分子薄膜上之官能基團，使其形成具有 quinone based 之高分子，達成電子傳遞之特性以應用於生化感測器上。電聚合形成薄膜之簡易示意圖如下表示：



而施加還原電位於電極面之薄膜上，將可使其上之硝基官能團轉變為胺基，反應如下所示：



由於薄膜上反應生成之胺基衍生聚合物，於含 O₂ 之水溶液中，施加一氧化電位將會於電極面上反應生成具 quinone 之官能團，而完成 quinone 高分子薄膜之修飾。官能團之氧化反應如下：

