行政院國家科學委員會專題研究計畫　成果報告

在層析分離系統中對化學修飾電極及脈波安培法之充電背景電流消除系統之研究

計畫類別：個別型計畫
計畫編號：NSC91-2113-M-041-002-
執行期間：91 年 08 月 01 日至 92 年 07 月 31 日
執行單位：嘉南藥理科技大學藥學系

計畫主持人：唐自強

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中　華　民　國 92 年 10 月 29 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告
在層析分離系統中對化學修飾電極及脈波安培法之充電背景電流消除系統之研究

計畫編號：NSC 91-2113-M-041-002
執行期限：91 年 08 月 01 日至 92 年 07 月 31 日
主持人：唐自強　　嘉南藥理科技大學 藥學系

一、中文摘要

本研究使用自行設計可作背景訊號扣除之雙工作電極定電位儀（NSC 90-2113-M-041-003），應用在流動注入分析系統中，以塗覆 Nafion 之金電極作為糖類偵測的工作電極，由電腦控制之脈波電位施加及訊號擷取，利用差分電路將二工作電極之偵測訊號（一為樣品溶液，一為空白溶液）在真實時間（real time）進行相減，在對工作電極施加電位時，可在真時（real time）時間內消除充電背景電流，因而可以將電流訊號偵測時間提前以獲得較大之法拉第電流，而無充電背景電流干擾，同時可調高定電位儀靈敏度（放大倍率）而無過載現象，進而降低線性掃瞄伏安法偵測極限。

在 0.1M NaOH 溶液中，最佳化之施加脈波電及時間為 E1 = -0.45V (100ms)，E2 = +0.24V (100ms)，E3 = +0.79V (100ms)，E4 = -0.76V (150ms)，E5 = -0.80V (10ms)，其中 E1、E2 為偵測電位 E3、E4、E5 為清潔電位。在此電位模式下，glucose 及 fructose 之偵測線性範圍為 0.4 - 70 mM，對 glucose 偵測極限 0.2mM，fructose 偵測極限 0.3mM。

關鍵詞：化學修飾電極，脈波安培法，充電背景電流消減，葡萄糖，果糖

Abstract

By using a dual-working electrodes potentiostat with real-time charging current subtraction system developed previously, the determination of glucose and fructose were performed under flow injection analysis system, and detected by pulsed amperometric method.

With the function of real-time charging current subtraction system in this dual-working electrodes potentiostat, Faraday current can be detected after potential ramp is applied without components of charging current.

As a result of this study, a linear range of glucose and fructose determination was obtained from 0.4 to 70 mM, while detection limits of glucose and fructose were 0.2mM and 0.3mM, respectively.

Keywords: Nafion-coated electrode, pulsed amperometric detection, charging current subtraction, glucose, fructose.

二、緣由與目的

基於前期 貴會研究計畫成果所製作之可作背景訊號扣除之雙工作電極定電位儀研究成果，將其應用在流動注入分析系統中之脈波安培測定法，藉由縮短脈波電位施加後所需充電背景電流衰減時間以進行法拉第電流測定，可獲得較大的法拉第

電流值而提高偵測靈敏度及降低偵測極限。此外，由於減少偵測電位施加時間，所以分析物在電極表面所造成的電極鈍化現象可大大縮減，因此清潔電位以及所施加的時間可以縮短，進而延長工作電極使用壽命。

本期計畫以糖類的分析偵測作為研究對象，探討利用上述對背景充電電流消除方法，對於脈波安培偵測法之偵測靈敏度、偵測極限、工作電極壽命等之助益。

三、結果與討論

本實驗裝置如 Fig. 1 所示：使用二通道流動注入系統,A 通道為樣品溶液注入及訊號偵測用,B 通道則經過另一工作電極以作為背景電流扣除用。

以金電極在 0.1M NaOH 溶液中對於 glucose 及 fructose 之測定，二者在 +0.24V(SSCE)處皆有氧化電流產生，而 glucose 在-0.4V 處也有另一氧化電流產生[1]。因此利用二種糖類的不同氧化電流，吾人可在+0.24V 處測得二者之氧化電流訊號，而在-0.4V 處單獨測得 glucose 訊號。

以脈波安培法對果汁中的 glucose 及 fructose 偵測時會遭受到如草酸、檸檬酸等或其他胺基酸之干擾，因此在工作電極製備時，為工作電極表面塗覆 Nafion 薄膜，以防止上述陰離子的干擾。作法為：將金電極經拋磨處理後，以 spin coating 方式塗覆 Nafion（3%），靜置乾燥。偵測前則先浸入 carrier solution 內 60 分鐘，以活化（swelling）Nafion 膜[2]。

然而 Nafion 薄膜的塗覆，影響工作電極表面之電雙層電容，使得施加電位時所產生之充電電流大幅增加，因此必須延後法拉第電流偵測時間以避開充電背景電流的干擾。

利用本系統之雙工作電極定電位儀所具有背景充電電流消減功能，在施加脈波電位時，二工作電極所產生之背景充電電流可作真實時間(real-time)之扣除而得到法拉第電流，因此在脈波電位施加後可立即進行法拉第電流偵測因而具有較大的偵測靈敏度。

在實際實驗中則發現：因為 Nafion 薄膜的塗覆使得分析物擴散到工作電極表面的速率受到影響，亦即施加脈波偵測電位後，法拉第電流值並非最大值，因此仍需等待一段短暫時間，使分析物擴散至電極表面以獲得最大電流值。

此外因為總偵測電位所施加時間縮短，所須之清潔電位施加時間也相對縮短，對電極使用壽命有很大的幫助[3,4]。在連續長時間穩定度測試中（187 sample injections）其訊號差異不超過 20%。

Fig. 2 為經測試最佳化後所使用之脈波電位及其施加時間，分別為 E1 = -0.45V (100ms),E2 = +0.24V (100ms),E3 = +0.79V（100ms），E4 = -0.76V (150ms)，E5 = -0.80V (10ms)。其中 E1、E2 為偵測電位，E3、E4、E5 為清潔電位。Glucose 之氧化電流訊號可在 E1 、E2 電位獲得，而 fructose 氧化電流訊號則在 E2 電位獲得。因此作定量偵測時，可分別利用 E1 、E2 電位訊號先對 glucose 建立二條檢量線，而 fructose 則利用 E2 電位訊號建立檢量線。

若作二者混合物測定時，則可直接以 E1 電位訊號對 glucose 進行定量，並在 E2 電位訊號中扣除 glucose 之訊號成分，以獲得 fructose 之訊號而進行定量。

在上述電位模式下，對於 glucose 及 fructose 之偵測線性範圍為 0.4 - 70 mM（glucose，R=0.9988；fructose，R=0.9991），對 glucose 偵測極限 0.2mM，fructose 偵測極限 0.3mM。

本系統對蘋果汁之樣品進行測試，具有良好的再現性（62.3% mg/ml，RSD=2.0%），而使用市售分析套件（assay kit）對樣品測試比較（60.2% mg/ml，RSD=2.0%），則測定值相差 3.5%，在誤差

範圍內，顯見本分析方法之適用性。

四、計畫成果自評

本系統應用在塗覆Nafion聚合薄膜之金電極，對glucose及fructose之測定上具有良好之偵測成果，除能提高偵測靈敏度並降低偵測極限外，對於延長工作電極之使用壽命也有很大的幫助。

然而由於聚合薄膜限制分析物在工作電極表面之擴散作用，因此實際偵測時，在施加脈波電位後，仍需等待一段短暫時間，使法拉第電流達最大值。但是整體而言，仍可縮短脈波電位施加及偵測的時間。

此外，若應用在層析分離系統作為偵測器時，需設計能耐相同高壓之電化學雙工作電極流動電解槽，以使二工作電極作背景電流扣減時，有較為一致的動相流通條件，亦即較為一致的背景訊號及電極清潔結果，此為後續實驗運用時，需作進一步研究探討之項目。

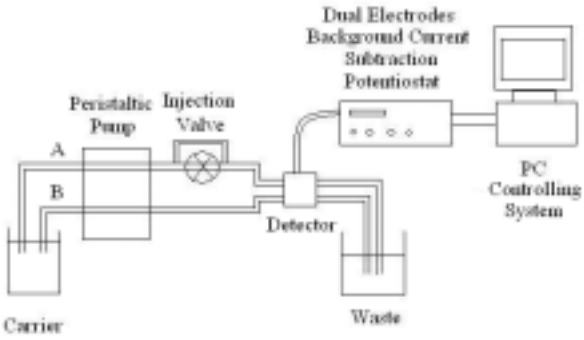

Fig. 1 背景電流校正流動注入分析系統

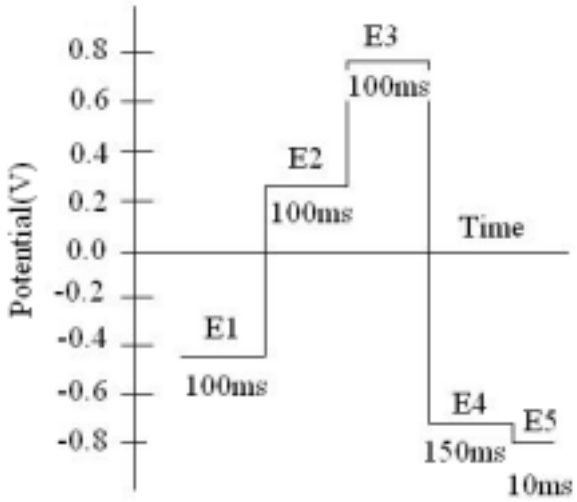

Fig.2 脈波電位及其施加時間。E1 = -0.45V (100ms)，E2 = +0.24V (100ms)，E3 = +0.79V (100ms) ，E4 = -0.76V (150ms)，E5 = -0.80V (10ms)

五、參考文獻

1 M. B. Jensen, D. C. Johnson, Anal. Chem. 69 (1997) 1776.

2 W. Surareungchai, W. Deepunya, P. Tasakorn, Anal. Chim, Acta 448 (2001) 215.

3 R. D. Rocklin, A. P. Clarke, M. Weitzhandler, Anal. Chem. 70 (1998) 1496.

4 M. B. Jensen, D. C. Johnson, Anal. Chem. 69 (1997) 1776.

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

在層析分離系統中對化學修飾電極及脈波安培法之充電背景電流消除系統之研究

A Study of Real-time Charging Current Subtraction System Applied to Pulsed Amperometric Determination Using Chemically Modified Electrode in Liquid Chromatography Seperation

計畫類別：V 個別型計畫　　□整合型計畫
計畫編號：NSC　91－2113－M－041－002
執行期間：91 年 08 月 01 日　至　92 年 07 月 31 日

計畫主持人：唐自強　　嘉南藥理科技大學 藥學系
共同主持人：
計畫參與人員：

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- □赴國外出差或研習心得報告一份
- □赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- □出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- □國際合作研究計畫國外研究報告書一份

執行單位：嘉南藥理科技大學 藥學系

中　華　民　國　92 年　10 月 29 日