

可拋棄式奈米白金碳墨修飾電極電化學偵測之研究

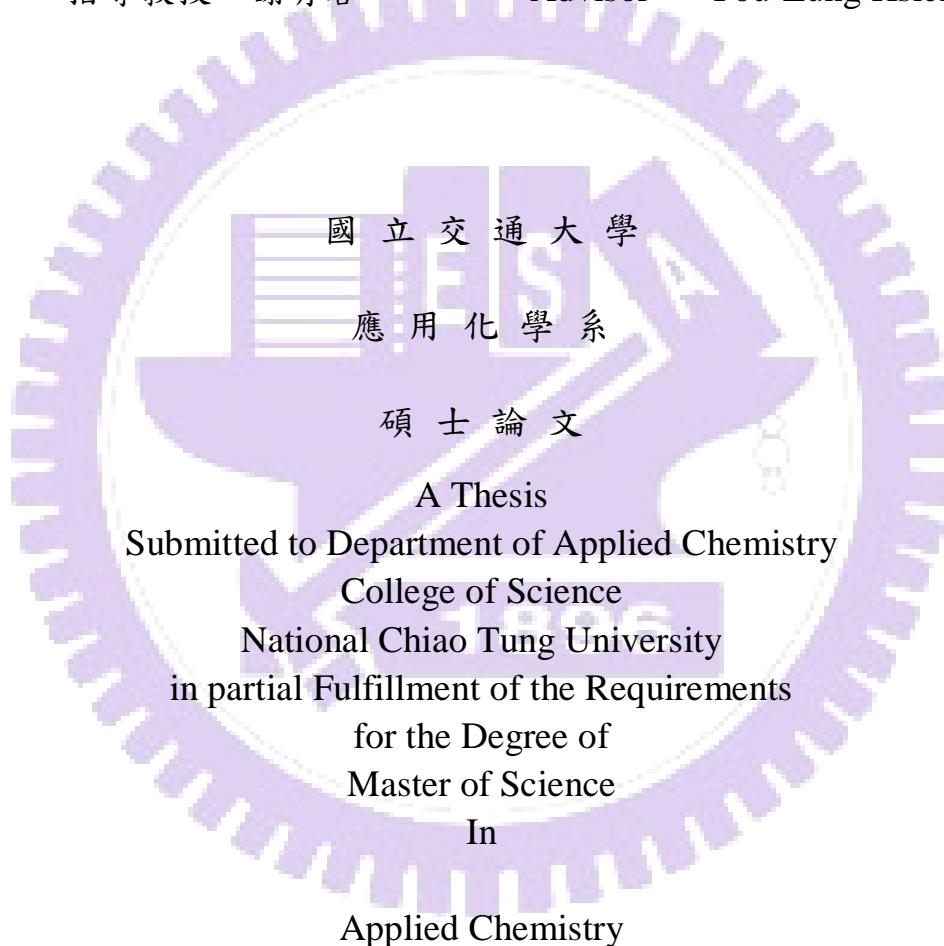
Development of electrochemical detection using a disposable platinum nanoparticle modified carbon paste electrode

研究生：郭豔如

Student : Yen-Ru Kuo

指導教授：謝有容

Advisor : You-Zung Hsieh



June 2009

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

可拋棄式奈米白金碳墨修飾電極電化學偵測之研究

研究生：郭豔如

指導教授：謝有容 博士

國立交通大學應用化學學系（研究所）碩士班

摘要

奈米材料修飾電極具有擴大電極表面積，以增加接觸分析物的特性，可有效提升分析物的電子傳遞速度，並且改善其偵測靈敏度以及排除干擾物訊號等優點。傳統的工作電極具有靈敏度低以及選擇性不佳等缺點，因此近年來在電化學領域中有不少學者將奈米材料修飾在電極表面進而電催化分析物，改善這些傳統工作電極的缺點。本論文之研究主要以電化學分析技術，在三電極系統中的工作電極上進行奈米材料的修飾，並且藉由奈米材料修飾電極進行分析並且應用在真實樣品上。研究中使用循環伏安法電沉積的方式將奈米白金修飾在碳墨電極上，並且藉由掃描電子顯微鏡以及元素分析確認此修飾奈米白金方法的可行性。此修飾方法分別對兩種分析物進行偵測。第一，為分析污染水源中的砷離子，此部份所使用的偵測方法為安培法，安培法條件定電位於 + 0.9 V 偵測其砷離子的氧化電流，其線性範圍為 $0.5\text{~}250 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.9998$ ，偵測極限為 15.43 ng/mL 。此修飾電極對於在水源中常見的氯離子干擾物，也可有效的排除其在偵測上所造成的干擾，將此修飾電極應用於三種水源的真實樣品上，其回收率均在 93.2% 以上 (RSD 為 7.8% 以下)；第二為使用奈米白金修飾電極電催化三種雌激

素，以安培法定電位於 + 0.6 V 做出三種雌激素的校正曲線，其中雌二醇之其線性範圍為 $0.05 \sim 11 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.991$ ，偵測極限為 2.1 nM ，雌素酮所得之校正曲線其濃度線性範圍為 $0.05 \sim 9 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.993$ ，偵測極限為 4.9 nM ($3\sigma/m$ ， σ ：STEVD， m ：slope)，雌三酮作出來的校正曲線其濃度線性範圍為 $0.05 \sim 11 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.990$ ，偵測極限為 5.0 nM ($3\sigma/m$ ， σ ：STEVD， m ：slope)，對於干擾物氯離子具有排除干擾的效果，真實樣品雌二醇之回收率於 103.7% 以上 (RSD 為 9.6% 以下)。因此本研究的奈米白金修飾電極對於偵測水中污染物：砷離子以及雌激素中對於人體影響較大的雌二醇有良好的準確度以及具有其應用的價值。

Development of electrochemical detection using a disposable platinum nanoparticle modified carbon paste electrode

Student: Yen-Ru Kuo

Advisor: You-Zung Hsieh

Department of Applied Chemistry
National Chiao Tung University

ABSTRACT

Recently, nanomaterials were wildly used in fabrication or modification of the traditional electrodes in electrochemical analysis. The sensitivity and selectivity of modified electrodes were large improved due to the high surface to volume ratio of nanomaterials. The working electrode in three electrodes system was modified with nanoplatinum particle on the surface of carbon ink electrode by single step cyclic voltammetry electrodeposition procedure and was applied in analyzing of real samples. The surface of electrodes was characterized with scanning electron microscope (SEM) and energy dispersive spectrometer (EDS) for its surface morphology and composition.

In the first part of this study, arsenic (III) was measured with nanoplatinum modified carbon ink electrode by amperometry at fixed potential of +0.9 V for its oxidation current. The linear range of the calibration curve was 0.5~250 μ M ($R^2 = 0.9998$) and the detection limit was 15.43 ng/mL. The arsenic sensing was not interfered by chloride anion and other common interferences. The recoveries were higher than 93.2% in three water samples that spiking 10 μ M of As with RSD of 7.8%.

The second part in this study was using the same electrode to detect three estrogens using amperometry with fixed detecting potential at +0.6 V. The linear range of calibration curve for estradiol was 0.05~11 μ M ($R^2 = 0.991$) with limit

of detection of 2.1 nM. The linear range of calibration curve for estrone was 0.05~9 μ M ($R^2 = 0.993$) with limit of detection of 4.9 nM. The linear range of calibration curve for estriol was 0.05~11 μ M ($R^2 = 0.990$) with limit of detection of 5.0 nM. The interferences of several cations and anions were not observed and the recoveries of three different water samples that spiking 50 nM of estradiol were 103.7% to 109.1% with RSD of 9.6%.

The nanoplatinum modified carbon ink electrode was fabricated by single electrodeposition step in this study with high sensitivity, high reproducibility, high selectivity and low cost was suitable for detecting arsenic and estradiol in different real samples.



誌謝

本論文能夠順利得得到成果，首先要由衷地感謝我的指導教授 謝有容教授，感謝老師兩年的指導以及照顧，在研究上細心指導使得論文內容得以完善，並且日常生活中也付諸無限的關懷以及鼓勵，感恩。其次感謝口試委員許千樹教授以及學生大學時期的專研指導老師鄭淑華老師於百忙之中撥冗前來指導學生的論文，給予許多的建議以及鼓勵，讓學生的論文更為完善，其中必須特別感謝鄭淑華老師特地從埔里千里迢迢前來參加學生的碩士口試，在此獻上無限的感謝。

感謝慶昇學長在我碩一擔任儀分實驗助教時，儀器經常得出現狀況常給學長添麻煩，很感謝學長還是很細心得幫我處理；感謝冠文學長在於研究以及生活上的照顧以及指導，讓我學習到許多學長以前的經驗；感謝秀麗學姊常常在適時給予關懷以及照顧，在分析領域裡的一些基本知識只要問學姊他都很樂意得教導我，真的是一位很不錯的學姊；感謝已經畢業的學長姐蘭英、敏慈、葉蓁以及志倫，謝謝蘭英學姊常常切水果給我吃，是一位很賢慧而且有愛心的學姊，謝謝敏慈學姊在我找工作的時候常常關心我的狀況，並且還幫我詢問一些相關事項，謝謝葉蓁學姊時常給我鼓勵並且還帶我去清大吃中餐，讓剛到交大的我感到很溫馨，謝謝志倫學長在我做研究時講笑話讓我帶有笑容，並且在搬宿舍時也幫了我不少忙；感謝承宇學長細心得幫我修改論文格式；感謝學弟妹沂淳、昱成、昶禎、婉君以及

雪怡，還有大學部學弟妹函文、于瑤以及重佑和子婷，很幸運得能夠與這一群可愛貼心的學弟妹相處，和你們一起運動、一起歡樂、一起思考研究內容、一起聚餐時我總是擁有笑容。感謝你們的支持以及相伴，使得我的研究所生涯充滿美好的回憶，另外感謝暨南大學的學長姊以及同學於研究上的幫助以及生活上的關懷，讓我的論文得以完成。

感謝我親愛的父母提供我如此優良的就學環境，感謝你們對於我的付出以及疼愛，謝謝爸爸每天很認真得工作賺錢供應我就學的費用，謝謝媽媽和弟弟時常給予關懷以及鼓勵感到十分窩心，能夠與你們相處一輩子是我這一生的榮幸。最後，感謝交通大學應用化學所提供之良好的研究以及學習環境讓我順利完成學位，更要感謝國科會 (NSC 95-2113-M-009-033-MY3) 的經費資助，讓我的研究能夠順利進展。

1896

目錄

中文摘要	I
英文摘要	III
表目錄	X
一、序論	1
1.1 引言	1
1.2 電化學原理	1
1.3 電化學分析法	3
1.3.1 循環伏安法 (Cyclic voltammetry)	3
1.3.2 安培偵測法 (Amperometry)	6
1.4 修飾電極的種類	8
1.5 奈米材料	10
1.6 金屬奈米粒子修飾電極	12
1.7 分析物簡介	17
1.7.1 砷離子	17
1.7.2 雌激素	18
二、偵測水中砷離子含量	20
2.1 實驗目的	20
2.2 實驗儀器	20
2.2.1 電化學偵測儀器	20

2.2.2 三電極系統	20
2.2.3 場發射掃描式電子顯微鏡 (Field Emission Scanning Electron Microscope , FE-SEM)	21
2.3 藥品	22
2.3.1 電極製作材料以及藥品	22
2.3.2 分析物藥品	22
2.3.3 真實樣品來源	23
2.3.4 藥品製備	24
2.4 電極製備流程	24
2.4.1 碳墨電極 (carbon ink electrode) 製備	24
2.4.2 修飾電極的製備	26
2.5 結果與討論	26
2.5.1 電鍍液濃度以及比例之最佳化	27
2.5.2 奈米白金電極修飾圈數之最佳化	26
2.5.3 不同修飾圈數的電子掃描顯微鏡圖以及最佳修飾圈數的元素分析表	36
2.5.4 奈米白金最佳修飾圈數電活性表面積	37
2.5.5 校正曲線	38
2.5.6 干擾物測試	40
2.5.7 三種砷離子的水真實樣品	41
2.6 結論	43
三、電化學偵測雌激素	45
3.1 實驗目的	45

3.2 藥品	45
3.2.1 分析物藥品	45
3.2.2 藥品製備	46
3.2.3 真實樣品來源	47
3.3 電極製備流程	47
3.3.1 修飾電極的製備	47
3.4 結果與討論	47
3.4.1 奈米白金電極修飾圈數最佳化	47
3.4.2 奈米白金電極最佳修飾圈數電活性表面積	52
3.4.3 安培法電位探討	54
3.4.4 最佳修飾圈數的 SEM 以及 EDX 圖	56
3.4.5 雌激素的校正曲線	58
3.4.6 雌二醇干擾物測試	60
3.4.7 三種添加雌二醇的水真實樣品	62
3.4.8 結論	63
3.5 未來展望	64
四、參考文獻	66

圖目錄

Fig. 1 電化學三電極系統裝置。	2
Fig. 2 電活性物質 (electroactive species) 的分子軌域示意圖。	3
Fig. 3 (a) 循環伏安法時間對電位之關係 (b) 典型循環伏安圖。	5
Fig. 4 安培法示意圖。	7
Fig. 5 修飾劑示意圖。	9
Fig. 6 修飾電極的種類。	10
Fig. 7 奈米白金催化砷離子氧化機制。	14
Fig. 8 三種天然雌激素的結構.....	19
Fig. 9 碳墨電極製備流程圖。	25
Fig. 10 電沉積奈米白金於碳墨電極的循環伏安圖。	27
Fig. 11 不同比例電鍍液對於偵測電流之影響。	28
Fig. 12 不同濃度之 PtCl_6^{2-} 對電流的趨勢圖。	29
Fig. 13 不同修飾圈數的奈米白金修飾電極對於偵測砷離子氧化電流之影響。	32
Fig. 14 奈米白金電極修飾圈數對於氧化電流之曲線圖。	33
Fig. 15 碳墨電極以及修飾 80 圈的奈米白金電極偵測砷離子氧化電流之影響。	34
Fig. 16 不同修飾圈數的奈米白金電極之 SEM 圖。	35

Fig. 17 奈米白金修飾電極最佳修飾條件 (80 圈) 之 energy-dispersive spectrum(EDS)。	37
Fig. 18 最佳修飾圈數的電活性面積之循環伏安圖。	38
Fig. 19 定電位於+0.9 V 的校正曲線以及安培圖。	39
Fig. 20 真實樣品水源中常見的干擾物測試。	41
Fig. 21 三種水源真實樣品的安培圖。	42
Fig. 22 修飾電極以及碳墨電極偵測雌二醇的循環伏安圖。	49
Fig. 23 不同修飾圈數對於偵測雌二醇之影響。	51
Fig. 24 不同修飾圈數對於偵測雌二醇氧化電流的變化曲線圖。	51
Fig. 25 最佳修飾圈數的電活性面積。	53
Fig. 26 不同偵測電位對於偵測雌二醇之影響。	55
Fig. 27 奈米白金最佳修飾圈數的 SEM 以及 EDX 圖。	57
Fig. 28 偵測三種雌激素安培法圖以及校正曲線。	60
Fig. 29 真實樣品水源中常見的干擾物測試。	61
Fig. 30 三種水源真實樣品的安培圖。	63

表目錄

Table 1 不同電位的校正曲線數據表	40
Table 2 過去文獻之比較表.....	40
Table 3 真實樣品濃度為 As(III) 的回收率表。	43
Table 4 不同修飾圈數偵測雌二醇電極間差異度。	52
Table 5 不同電位偵測雌二醇的電流統計表。	56
Table 6 三種含有雌二醇真實樣品的回收率表。	63



一、序論

1.1 引言

電化學 (electrochemistry) 為一門給予電位使得具備電活性的物質行氧化還原反應的學問。藉由偵測具電活性物質所產生氧化還原電流值作為訊號的來源。電化學近來被受重視其主要原因為具有偵測時間短以及儀器較為廉價等優點。對於早期電化學偵測之分析物而言，分析物必須具有氧化還原能力的電活性物質才可被偵測其訊號。因此分析物種類範圍較為狹小，近年來研發出一種在傳統電極表面加以修飾產生電催化的現象。使得原本不具電活性的物質也可以氧化還原產生電流訊號，因此本論文針對修飾電極進行研究，並且將其分析方法應用在真實樣品上。

1.2 電化學原理

電化學的實驗裝置為三電極系統 (three-electrode system)。在這個裝置中電流流經的路徑為工作電極 (working electrode) 與輔助電極 (counter electrode) 之間，分析物進行氧化還原的位置在於工作電極，為形成一個完整的電流迴路，輔助電極為擔任與工作電極相反之氧化還原反應的工作，一般常見的輔助電極為白金絲線，在給予電位時需要以一個固定電壓作為參考電壓 (相對電位)，因此參考電極的電壓必須為一個穩定值。如此一來

儀器給予的電位才會準確，一般實驗室常用之參考電極種類有 Ag/AgCl 、標準氫電極 (SHE)、飽和甘汞電極 (SCE) 等，如 Fig 1 所示。

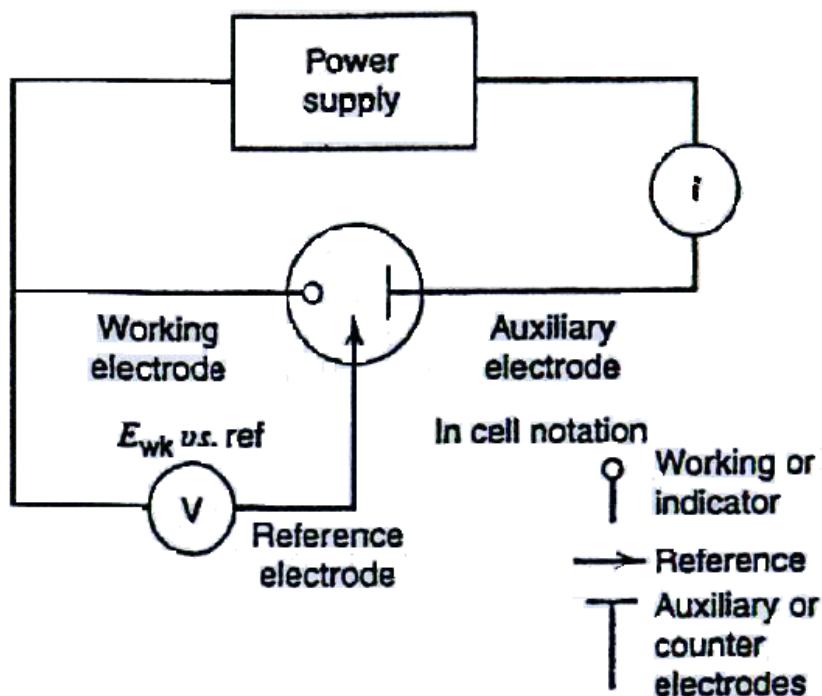


Fig. 1 電化學三電極系統裝置 [1]。

典型電化學實驗為利用給予電位之方式為控制電位使得電活性化學物質 (electroactive species) 失去電子 (氧化) 或得到電子 (還原)，其可以被視為電極與溶液界面的反應，如 Fig. 2 所示。一個氧化還原反應要進行必須其電極上電子之能量較偵測物的 LUMO 要來的高，電極上的電子即被傳遞到電極附近溶液的待測分子上進行還原反應。反之，往正電位掃瞄回來即行氧化反應，儀器所偵測到的電流即為偵測物訊號大小，當然偵測物基本

條件為具有氧化還原訊號（具電活性）才可被當作分析物，事實上不同物質分子軌域中 HOMO 與 LUMO 之能階差距並不一樣，因此不同物質的氧化還原電位也不一致。

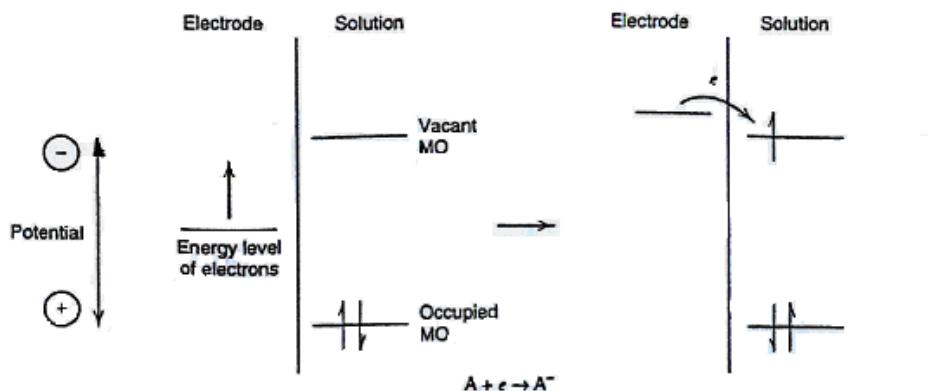


Fig. 2 電活性物質 (electroactive species) 的分子軌域示意圖 [2]。

1.3 電化學分析法

1.3.1 循環伏安法 (Cyclic voltammetry, CV)

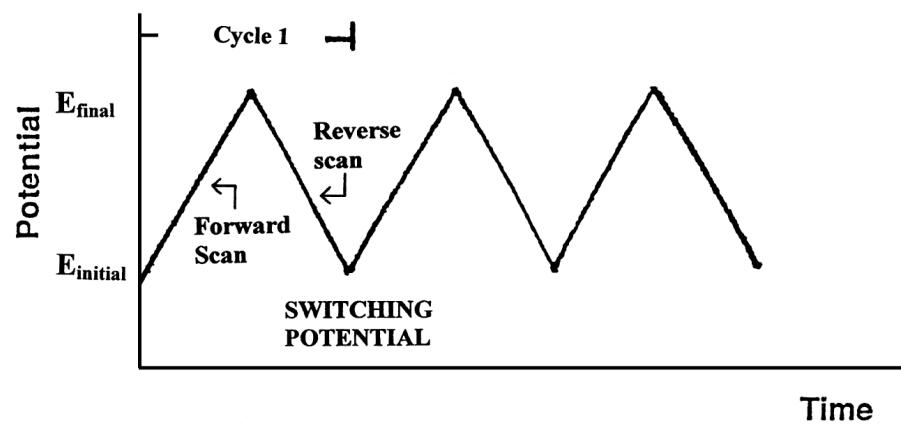
循環伏安法為廣泛用來研究電化學反應之定性偵測方法。假設起始溶液中的分析物皆為還原態，CV 為以線性給電位的方式將偵測電位往正電位方向掃瞄 (forward scan) 得到氧化電流 (anodic current)，並且電位加到一定

電位 (E_{final}) 後即往負電位方向 (reverse scan) 回到原電位 ($E_{initial}$) 得到還原電流 (cathodic current)。這種電位來回掃描方法被稱為切換電位 (switching potential)，其電位掃瞄模式如 **Fig. 3 (a)** 所示。事實上氧化還原反應的部分在於電極表面附近分析物。因此當電位往正電位掃瞄時電極表面的還原態物質濃度與離電極很遠的區域 (bulk solution) 具有濃度差，在掃描的過程中即產生所謂的電雙層 (double layer)。此時即會有擴散現象產生 (diffusion)，另外欲探討一個氧化還原是否為可逆反應，可藉由觀察 CV 上的氧化電流 ($I_{p,f}$) 與還原電流 ($I_{p,r}$) 之比值即可得知。則若是兩者電流比值為 1 且氧化電位 ($E_{p,a}$) 與還原電位 ($E_{p,c}$) 的差異 (peak to peak separation) 為 $0.059/n(V)$ ，則可想像物質氧化的量與還原的量一致，因此被稱此氧化還原反應為可逆反應 (reversible reaction)，如 **Fig. 3 (b)** 所示。根據 Randels-Sevcik equation：

$$ip = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} ACD^{1/2} V^{1/2}$$

n ：轉移電子數目、 A ：電極面積、 C ：濃度、 D ：擴散係數、 V ：掃描速率 [1]，偵測電流與分析物濃度以及掃描速率有關。濃度以及掃描速率越高其電流值亦隨之提升，對於非可逆 (irreversible) 和似可逆 (quasi-reversible) 反應而言其氧化還原電位差值較 $0.059/n(V)$ 大許多，甚至於對於非可逆反應而言更是可能只偵測到氧化 (或者還原) 電流訊號。

(a)



(b)

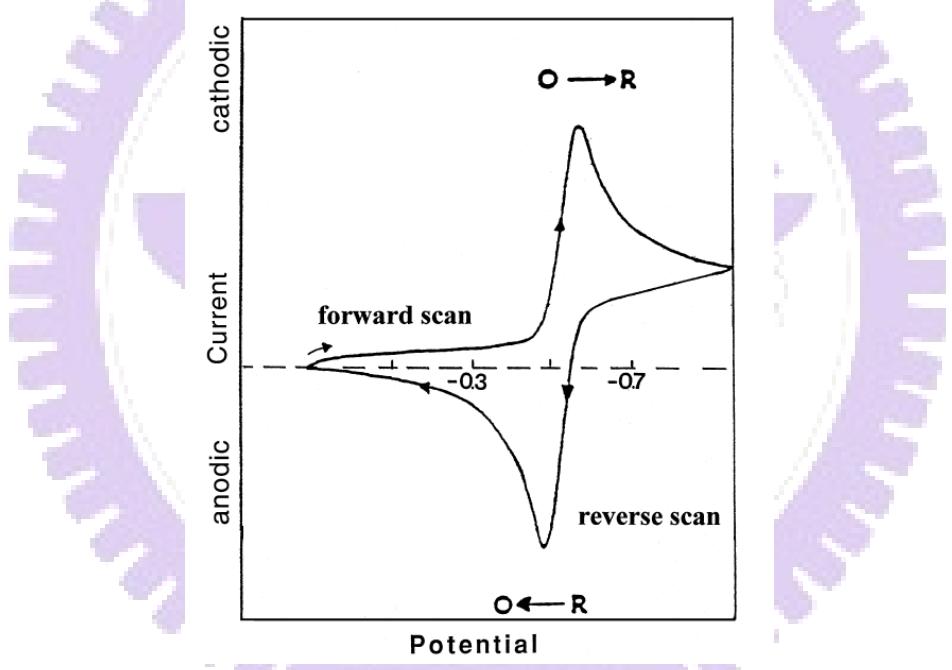


Fig. 3 (a) 循環伏安法時間對電位之關係 (b) 典型循環伏安圖 [2]。

1.3.2 安培偵測法 (Amperometry)

安培法為一種對於工作電極施予相較參考電極固定電位偵測電流之方法，於定電位的過程中並沒有所謂的法拉第反應產生，給予一個可使得物種產生氧化 (還原) 反應的電位時，瞬間接近電極附近的電活性物質及行氧化還原反應，因此偵測電流之訊號瞬間提升，如 Fig. 4 (c) 所示。但隨著給電位時間增長溶液中的可氧化 (還原) 的電活性物質即開始減少，溶液中電極表面的氧化態 (還原態) 電活性物質濃度降低，因此氧化態 (還原態) 物種逐漸減少，並且偵測電流也隨著時間的增長而變小，其電流隨著定電位時間拉長趨勢可以 Cottrell equation 表示：

$$i(t) = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2} t^{1/2}} = kt^{-1/2} \quad [2]$$

$it^{1/2}$ 若為一定值即稱為 Cottrell behavior，另外從溶液結構角度探討電極表面電活性質較低，而離電極較遠的區域氧化態 (還原態) 電活性物種的濃度較高，因此濃度梯度即產生，如 Fig. 4 (b) 所示，此時濃度梯度的擴散效應即進行，Fig. 4 為定電位於靜止的溶液中的濃度梯度示意圖。

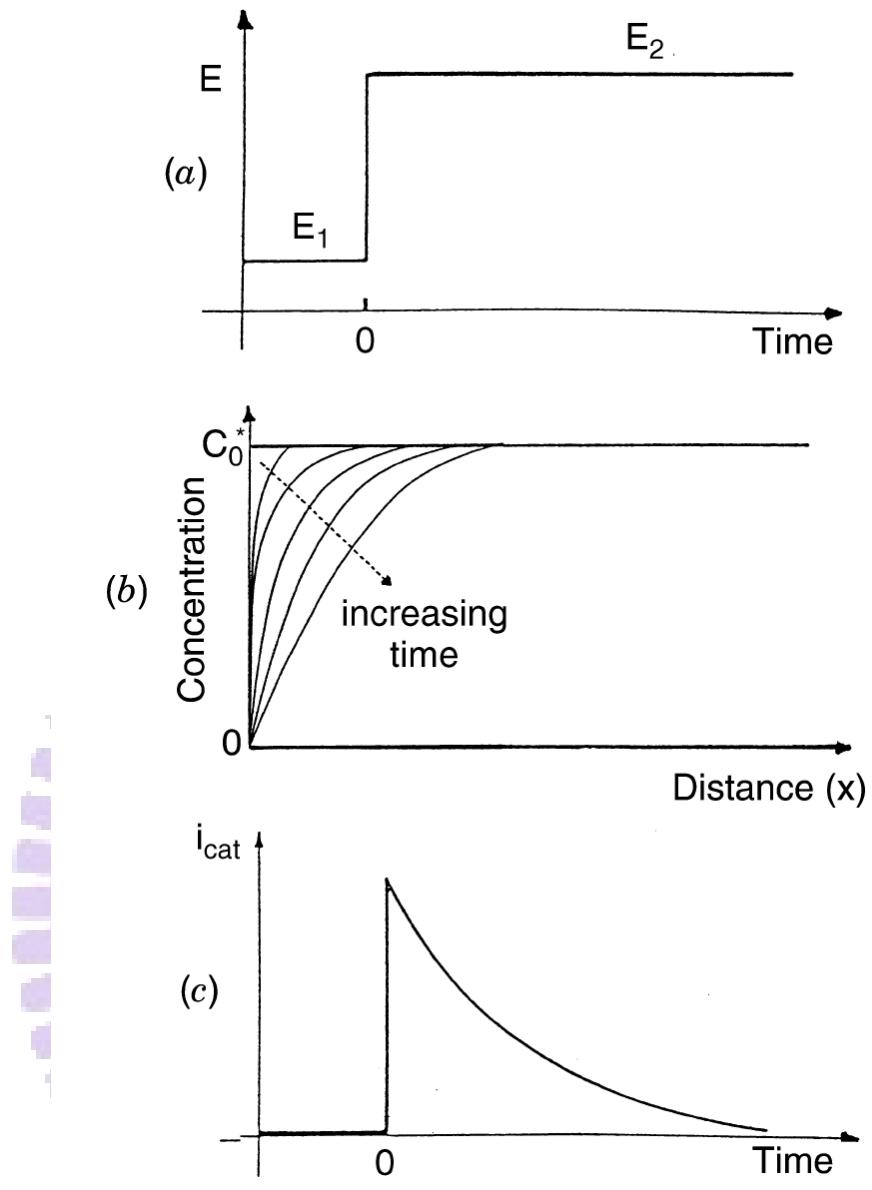


Fig. 4 安培法示意圖 [2]。

1.4 修飾電極的種類

早期的傳統裸工作電極 (bare electrode) 如**Fig. 6 (A)** 所示，並沒有所謂的電催化效果 (electrocatalytic effect)，一般常用的傳統裸電極有碳電極、白金電極、金電極等。金電極能夠偵測到許多種分析物例如：葡萄糖 [3]、過氧化氫 [4]、胺基酸、抗生素 [5]、汞離子、砷離子以及銅離子 [6]等，碳電極在文獻上能夠偵測一些神經傳導物質、抗壞血酸 [7]、尿酸 [8]、兒茶酚 [9] [10]、胺基酸 [11] 等等，白金電極能夠偵測的物質有砷離子 [12]、雌激素 [52]、神經傳導物質 [13] 和醣類 [14] 等，甚至於燃料電池領域中以奈米白金催化甲醇轉換效率，使得甲醇氧化轉換為無污染的水以及二氣化碳，並且試圖提高其轉換效率 [15] [16] [17]，相較於一般的金屬電極而言，碳電極本身具有較寬的背景電位範圍 (potential window)、較低的背景訊號、化學惰性以及穩定性高、較為廉價等優點。許多分析物能夠被偵測到其訊號，碳電極本身有許多不同形式結構，例如：玻璃碳電極 (glassy carbon, GCE)、碳纖維 (carbon fiber)、混硼鑽石 (dope boron diamond, BBD)、碳膠和碳墨 (carbon ink) 電極等。不同形式的碳電極具有不同的電子傳遞速度，傳統裸電極於進行電化學偵測之際常因為未修飾電極會吸附分析物、氧化還原後的產物、中間產物而造成電極表面毒化、污染 (poison)、鈍化等現象，造成電極表面的催化活性面積 (electroactive sites) 減小，因此

偵測效果變差。

另外偵測氧化還原電位相近的分析物時常會有訊號重疊之問題產生，因此Xiangqin Lin團隊試圖在玻璃碳電極上修飾5-hydroxytryptophan，藉由抗壞血酸以及尿酸對於修飾劑間作用力不同，而使得訊號分離達到定量的目的 [18]，1997年Zhiqiang Gaoa團隊於玻璃碳電極上修飾3，4-dihydroxybenzaldehyde (DHB) 偵測真實樣品中常見的干擾物維生素C以及尿酸，利用DHB對於兩分析物具有不同的電子交換 (electron-exchange) 達到訊號分離效果。對近幾年盛行的修飾電極 (modified electrode)，於電極表面使用一些方法將修飾劑 (modifier) 修飾在電極表面。如Fig. 6 (B) 所示，修飾劑即於電極表面擔任氧化還原傳遞媒介 (mediator) 角色以達到提升電子傳遞速率，另外通常修飾劑本身被期望具有可逆氧化還原反應，如此一來修飾電極上的修飾劑即可重複使用，修飾劑本身傳遞電子速率較分析物的速率快，因此電子於電極與溶液界面移動速率提升，產生電催化的效果(分析物偵測電流增大或是氧化 (還原) 電位提前)，甚至於使得背景電流降低提升靈敏度以及具有選擇性。其修飾劑示意圖如Fig. 5所示 (M: mediator, A: analyte, P: form products) [19]。

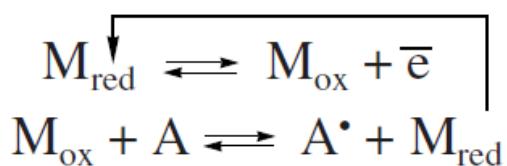
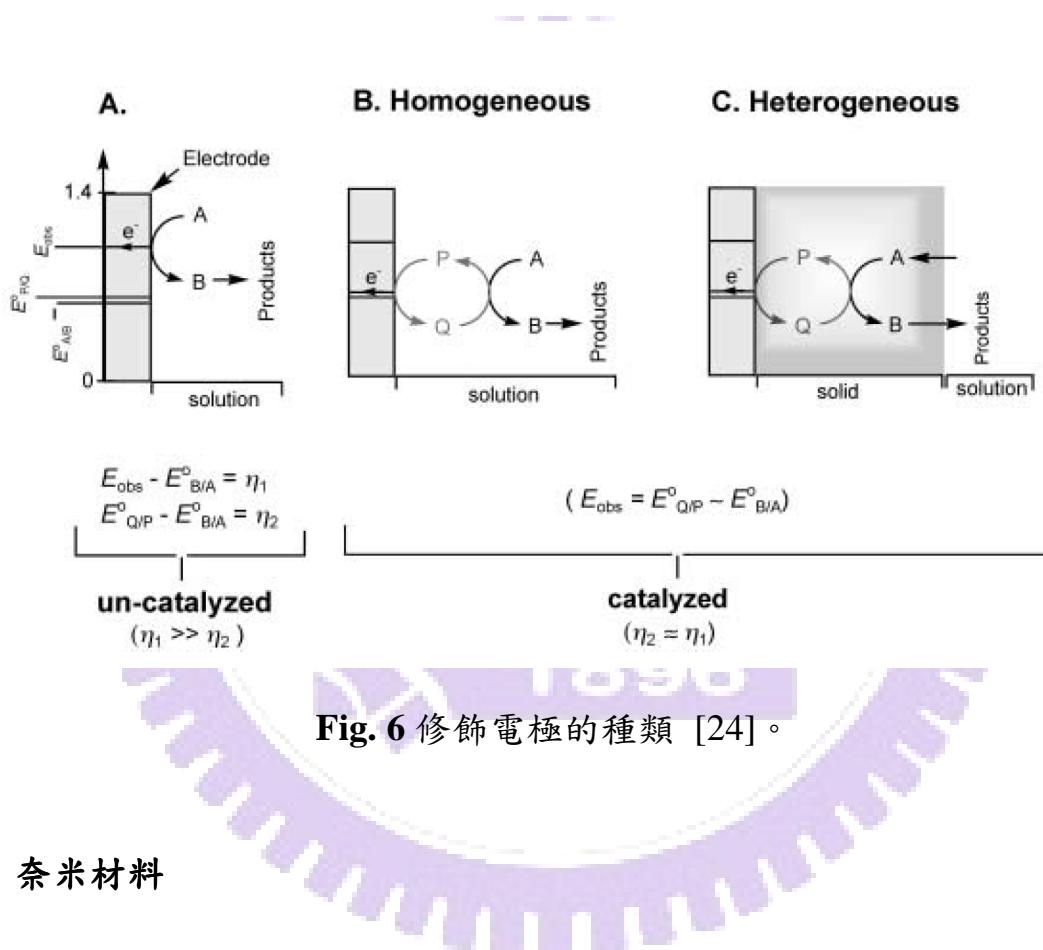


Fig. 5 修飾劑示意圖。

化學修飾電極主要分為四大類，其中有：吸附型 (sorption) [20]、共價鍵結式 (covalently bonded) [21]、勻相多層化學修飾 (homogeneous multilayers) [22]、混摻多層化學修飾 (heterogeneous multilayers) [23]，如Fig. 6所示。



1.5 奈米材料

近幾年來奈米材料成為頗熱門的研究方向，特別在材料的電、熱、磁以及光學等性質上產生重要影響。早期材料領域研究人員僅以奈米晶體材料含括奈米材料，為因應研究範圍的擴大而逐漸將奈米粒子、奈米元件以及奈米多孔材料納入其範圍，甚至有奈米結構化表面的塊材亦被涵蓋在

內。奈米材料的定義是指材料特徵長度，於 100 nm 以下，此長度可為粒子直徑、晶體尺寸、鍍層厚度等，且具有與一般物質不同特性之材料方稱為奈米材料。奈米材料的奈米維度分為四類：零維、一維、二維、三維。並且依據不同範圍尺寸分為不同的名稱：簇 (cluster)、奈米粒子 (nanoparticle)、微粉末 (micro powder)。

隨著微粒尺寸之減小而遽增進而影響到奈米粒子的物性以及化性。若是以球型奈米粒子為例，奈米粒子的表面積 (S) 可以簡單被表示為 $S = 4\pi r^2 n^{2/3}$ ，表面原子數 (n_s) 可以表示為 $n_s = S/\pi r^2 4n^{2/3}$ ，當微粒直徑減至很小時，其表面積會大增。隨著奈米粒子的粒徑逐漸減小到奈米尺寸時，除造成表面積迅速增加之外，其表面吸附的能力亦逐漸提升。在修飾電極這一塊領域裡，近年來不少學者試圖將奈米材料引進作為奈米修飾電極，利用奈米粒子較一般傳統裸電極的接觸面積大以及表面吸附特性兩個特點，使得分析物接觸到電極表面的機率提升，進而達電催化 (electrocatalyze) 的效果 [25]。

1.6 金屬奈米粒子修飾電極

近來許多文獻將金屬奈米粒子修飾在傳統電極表面，藉由奈米材料本身許多特點結合電化學感測做為研究，為製備奈米金屬修飾電極文獻上提供許多方法：利用物理噴濺金屬粉末於電極表面 [26]，利用化學（電化學）方法還原金屬離子於電極上，常用的還原劑有 sodium hypophosphite、borohydride、hydrazine 等。

對於電化學方法偵測本研究第一部分分析物砷離子的電流訊號技術文獻裡所提供的方法有以下幾種：吸附剝除法 (adsorption stripping voltammetry, ASV) [27]、脈衝伏安法 (differential pulse voltammetry, DPV) [29]、方波伏安法 (square wave voltammetry, SWV)、流動注入分析法 (flow injection analysis, FIA) [69]。H. T. Luong 與其團隊於摻混硼鑽石電極 (doped diamond electrode, BDD) 上藉由循環伏安法電位來回掃描方式以及雙電位電沉積法 (double-pulse step deposition) 電沉積奈米白金 [28]，於此文獻中提及後者方法所製備出來的奈米白金修飾電極較為穩定，且電沉積的時間越長其粒子大小以及密度亦隨之提升，利用此修飾電極以線形掃描伏安法 (linear sweep voltammetry, LSV) 偵測三種真實樣品（奈米純化水、自來水、飲用水）中砷離子三價氧化為五價作為訊號來源，並且本文獻提及修飾電極具有多次使用效果 [29]，另外 Richard G. Compton 團隊試圖亦使用

雙電位電沉積法修飾奈米白金於玻璃碳電極上偵測砷離子，內容提及砷離子氧化訊號不被水源真實樣品中之常見共存的銅離子干擾[30]，Litong Jin團隊於玻璃碳電極上以浸泡方式將3-aminopropyltrimethoxysilane-modified porous anodic alumina template (PAA) 修飾在電極表面。定電位 (constant-potential) 於-0.1 V 約10分鐘，奈米白金即成長在PAA周圍，再使用NaOH將PAA洗離電極表面即形成nanoarray形狀，雖然使用不同方法所取得白金奈米材料的形狀有別於一般奈米粒子結構，在文獻中提及催化砷離子氧化反應機制與前兩篇文獻一致 [31]，以上皆為使用電化學沉積方式完成奈米白金修飾電極。另外其他文獻以合成的方式取得奈米白金部分，Litong Jin團隊將奈米碳管 (carbon nanotube，CNT)、 H_2PtCl_6 、EG、KOH混合溶液放置於800 W 微波烘箱中加熱60秒，將此粉末溶在DMF中取10 μL 滴至玻璃碳電極上等待乾燥即完成修飾動作，其形狀為球型粒子成長於奈米碳管 [32]，並且基於電極選擇性因素，John H. T. Luong團隊甚至於試圖結合奈米材料以及酵素於電極表面，於奈米碳管上修飾砷氧化酵素，藉由酵素具有專一性特性，以安培法定電位於+0.3 V 偵測砷離子氧化訊號，並且對於酵素活性因素作探討，此文獻偵測12次砷離子訊號的數值僅有些微差距，證實此奈米白金酵素修飾電極具有再現性 [33]。

提及奈米白金對於催化砷離子反應機制，白金奈米粒子於掃描過程中會氧化產生Pt-O並且與 H^+ 產生Pt-OH，Pt-OH與溶液中分析物As(III) 接觸後

即進行電催化反應，使得As(III) 氧化為As(V) 得到氧化訊號，而於行氧化反應同時電極表面的Pt-OH即行還原反應轉變為Pt回到未施予電位時之狀態，因此表面奈米白金氧化數狀態反應前後始終如一 [34] [35]，其反應機制如Fig. 7所示。

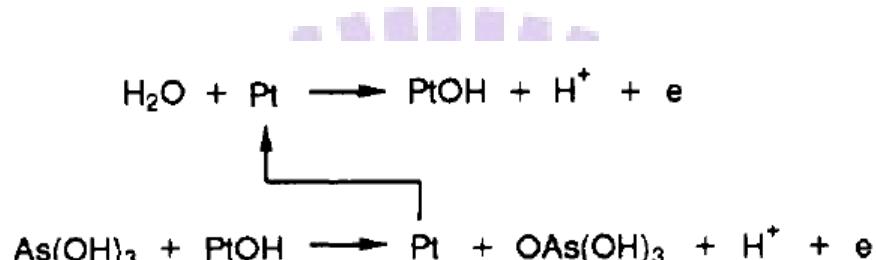


Fig. 7 奈米白金催化砷離子氧化機制 [35]。

另外白金奈米修飾電極除了應用在砷離子的偵測外，不少學者利用碳為基材在表面修飾奈米白金試圖提升催化甲醇氧化訊號，並且達到對於環境無污染目的。學者使用奈米白金修飾電極偵測一些神經傳導物質，例如：鎮痛劑 (acetaminophen) [36]、多巴胺 (dopamine) [37]、葡萄糖(glucose) [38]、腎上腺素 (epinephrine) [39]、雌激素 (estrogens) [52]、生物真實樣品的主要常見干擾物抗壞血酸 (ascorbic acid) 以及尿酸 (uric acid) [40]。這些分析物中本研究方向集中於環境賀爾蒙雌二醇 (estradiol，E2) 以及水污染中常見金屬污染的砷離子。

事實上對於偵測雌二醇而言，定量雌二醇的偵測方法過去文獻中有提

及：non-isotopic、colorimetric [41] [42]、chemiluminescent [43]、fluorescent [44]、UV-Visible [45] [46] 等方法，雖然電化學方法具有很多優點，但是對於偵測雌激素上仍有難度，Murugananthan團隊試圖在高效能液相層析 (high performance liquid chromatography, HPLC) 末端連接電化學偵測器，以BDD電極為其工作電極偵測雌二醇的氧化電流作為訊號來源 [47]，先前文獻對於使用電化學偵測雌激素的模式大多數為免疫型感測器，即先於電極表面修飾辨識雌二醇的抗體，利用先行酵素免疫分析法 (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 後再藉由安培法偵測其電流訊號 [48]，P. Yáñez-Sedeño團隊將CNT溶於Nafion中以滴 (drop) 方式修飾於玻璃碳電極上偵測酚類雌激素電活性物質，以電化學方法中安培法作為偵測方法偵測其氧化電流訊號，並且結合 HPLC 分離水源中多種酚類雌激素 [49]，另外 Shengshui Hu團隊將多壁奈米碳管 (multi-wall carbon nanotube, MWCNT) 先以硝酸以及硫酸的混合溶液進行表面酸化後，使得奈米探管表面帶酸性基官能基，再以滴 (drop) 的方式修飾於玻璃碳電極上等待乾燥後即完成修飾電極的部份，藉由奈米材料表面積較大特性做為催化電流的根據，使用此奈米碳管修飾電極以脈衝伏安法偵測雌二醇，其線性範圍在0.25 ~ 50 μM ，偵測極限為0.01 μM [50]。Isabelle V. Batista團隊以混合碳粉以及iron tetraphyridinoporphyrazine粉末灌入玻璃tube中即製備完成，以此修飾電極搭配高效能液相層析法定電位於 + 0.6 V 定量市售藥丸中estradiol valerate含

量 [51]。最常見分析雌激素之分析方法為HPLC，但基於HPLC分離時間過長的因素，因此以實驗效率的觀點而言會期望分析時間能夠縮短，基於分析時間過長的缺點，電化學分析法能夠提供許多不錯的優點：高靈敏度、較低的偵測極限、分析時間短、較簡單以及廉價的實驗儀器裝置，因此使用電化學方法作為偵測的模式或許可以對於偵測時間過長的缺點改進，電化學文獻常有利用於傳統裸電極上修飾抗體結合抗原型的免疫感測器偵測雌二醇，藉由具備電活性性質label agent的電化學訊號作為偵測的根據，George G. Guilbault團隊即於網版印刷電極 (screen-printed electrode, SPE) 上修飾辨識雌激素的抗體並利用酵素免疫感測法鍵結雌二醇後，再使用安培法偵測其氧化電流值。2006年Xiangqin Lin團隊將多層奈米碳管酸化，使得碳管表面帶COOH官能基，將之修飾在玻璃探電極表面上，再將其電極置放在含有 H_2PtCl_6 的溶液中，以循環伏安法來回掃描的方式修飾上奈米白金，此文獻為以使用直接偵測方式，偵測雌二醇應用於定量血清中含量 [52]，是一種非電化學免疫分析直接偵測雌二醇方法。本研究主要為於碳墨電極上修飾奈米白金，進而以非免疫型感測器研究水中雌二醇含量，以及定量有毒金屬離子砷離子的含量。

1.7 分析物簡介

1.7.1 砷離子

砷離子 (Arsenic, As) 為地殼表面含量排行第二十的元素，是一種有毒但無味道的元素。As 本身存在於礦岩中，藉由河流侵蝕其表面而將 As 帶進水源，水溶液中 As 以三價以及五價存在。As 事實上在人體中也被稱為必需元素之一 [53]，若是其濃度高過一定量時人體即會產生不良的生理訊息，例如：腹瀉、腹痛、甚至會使得罹患癌症 (膀胱、腎臟、肺臟)，以及皮膚也會有所病變 (色素沉澱、皮膚角化症) [54]，根據 World Health Organization's (WHO's) 所發布的消息，飲用水中 As 含量上限為 10 ng/mL [55]，另外 US Environmental Protection Agency(EPA) 定一個新範圍為 2 至 20 ng/mL [56] [57]，1990 年期間中國、印度以及孟加拉共和國的井水中被檢測到 As [58]，而台灣地下水 As 含量則為 400-800 ng/mL，甚至於 West Bengal 許多地下水的 As 總含量更是高達 10-1000 ng/mL。基於前面所敘述砷離子對於人體所造成一些不正常生理反應，因此對於偵測地下水、飲用水中 As 含量頗為重要。較常見對於偵測砷離子的技術為 inductively coupled plasma mass spectrometry(ICP-MS)，文獻上常見偵測砷離子的電化學偵測方法皆為使用 linear sweep voltammetry(LSV) 偵測三價氧化為五價的氧化訊號作為訊號的依據 [59] [60]。

1.7.2 雌激素

最近幾年環境學者專注於水源以及污水中有害的內分泌中斷化學物質 (endocrine disrupting chemical, EDCs) 的含量。EDC來源為藉由農場養殖動物或者是人類的排泄物由土壤滲透力帶入水源中，使其流入表面水以及地下水水源中造成地層下陷、海水倒灌進而影響飲用水的品質，或者是工業排放水以及家庭用水中也包含EDC排入河川中 [61]，而低濃度的EDC極會影響水源品質，因此對於水源中低濃度的EDC不容忽視。這些物質會造成人體罹患癌症 (睪丸癌、乳癌)，並且使得男性的內分泌系統失調而使得精子減少，亦會造成嬰兒成長時間增長，其中雌激素的影響力佔有重要的一環，因此基於以上不尋常的人體生理反應，人體不允許額外接收雌激素之刺激，雌激素被分為人工合成以及人體自然分泌 (天然) 兩種，其中雌二醇屬於天然種類類別，人體中的雌激素事實上有三種：雌素酮 (estrone, E1)、雌二醇 (estradiol, E2)、雌三酮 (estriol, E3)，結構如Fig. 8所示，其中這三種雌激素中以雌二醇生物作用力最強，血中雌二醇約有70%會與性激素結合蛋白 (SHBG) 結合，雌二醇即使低濃度時仍被認為是有害於人體的物質 [62]，定量水中的雌二醇即為重要的一環分析工作，大多數文獻為常用ELISA免疫型感測器偵測雌二醇，對於直接用電化學方法偵側雌激素文獻並不多，因此本研究的研究方向為於碳墨電極上以循環伏安法進行修飾奈米

白金偵測三種雌激素。

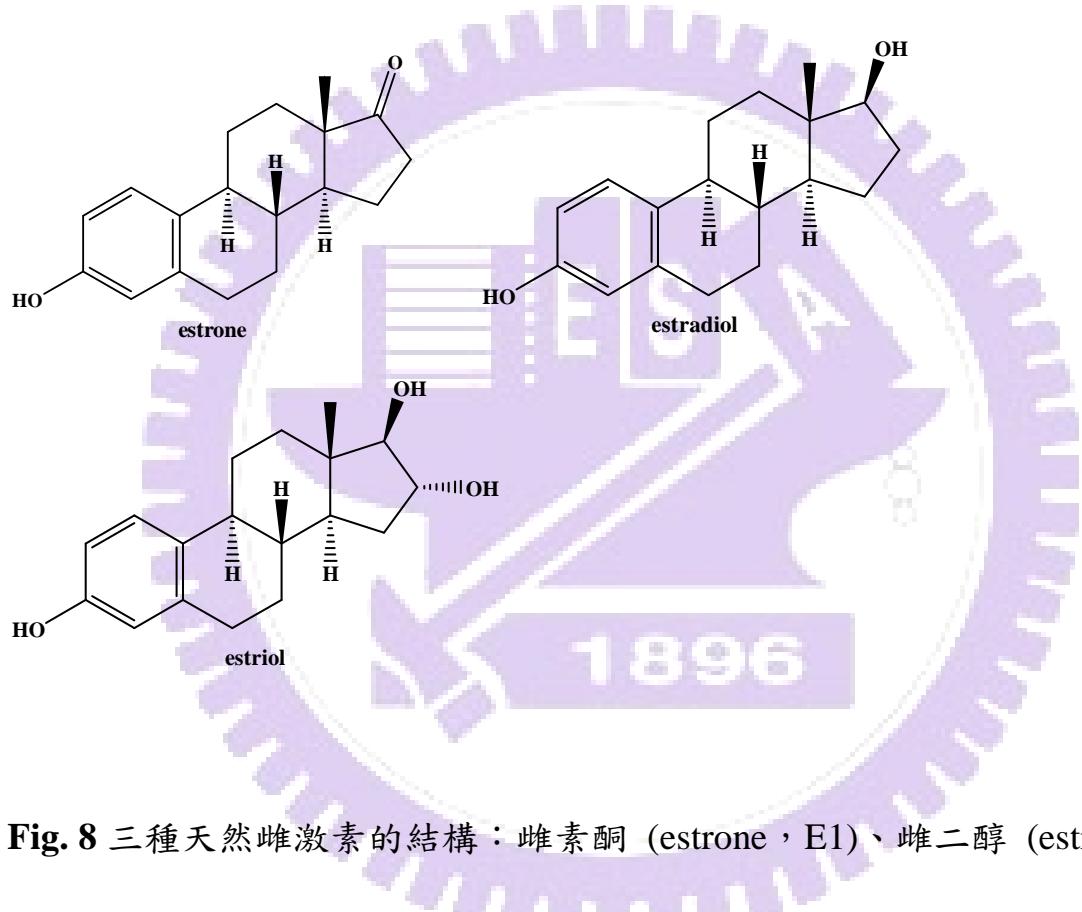


Fig. 8 三種天然雌激素的結構：雌素酮 (estrone, E1)、雌二醇 (estradiol, E2)、雌三酮 (estriol, E3)。

二、偵測水中砷離子含量

2.1 實驗目的

本部份研究目的為研發一種奈米白金修飾電極以偵測污染水源中的砷離子，並且期望於碳墨電極上修飾奈米白金可以達到促使砷離子氧化速率提升以達電催化效果，提升其偵測靈敏度，並且排除污染水源中共存離子干擾物訊號，以取得正確訊號大小的成效。期望可以運用於污染水源的真實樣品上，若以日常生活的使用方便性為考量因素，並且期望不同修飾電極間的差異性很小，因此欲將電極設定為拋棄型電極使用一次即丟棄。

2.2 實驗儀器

2.2.1 電化學偵測儀器

CH Instruments , Inc. (Austin , TX , USA) 所生產的Model 802B Electrochemical Detector , 並使用其中所提供的循環伏安法 (cyclic voltammetry , CV) 和安培偵測法 (amperometry) 這兩種功能。

2.2.2 三電極系統

以碳墨奈米白金修飾電極作為工作電極，參考電極為 Ag/AgCl (in 3M KCl) 從 CH Instruments, Inc. 購入，而輔助電極則用純度為 99.9% 的箔絲線。

2.2.3 場發射掃描式電子顯微鏡 (Field Emission Scanning Electron Microscope, FE-SEM)

由 JEOL 公司所生產的 SEM，型號為 JSM - 7401F，操作電壓為 0.1 kV ~30 kV，而解析度為 1.0 nm (V = 15 kV) 或 1.5 nm (V = 1 kV)，應用於一般金屬、陶瓷、半導體、高分子等材料領域之微觀組織、成份探討、以及奈米材料、奈米元件之形貌、結構分析；IC 半導體、封裝、光碟、LED 等光電相關產業之破壞、故障分析等。主要附件為能量散佈光譜儀系統 (energy dispersive spectrometer, EDS)，它是原理是因為試片受電子束撞擊產生二次離子後，會在內層軌域留下電洞，當外層電子躍遷進去後，多出的能量會以 X 光的形式放出，其能量因元素不同而有所差異，因此，EDS 系統可以作為表面元素分析的定性研究。

2.3 藥品

2.3.1 電極製作材料以及藥品

本實驗所使用的工作電極為導電碳墨 (carbon ink) 為Electrodag 423ss (Acheson Colloids Company, Ontario, CA, USA)，主要成份為石墨和乙烯基樹脂黏結劑 (vinyl resin binder)；隱形膠帶 (Scotch® Magic™ Tape) 型號為 810L-3PK (3M St. Paul, MN, USA)，主要材質是聚乙烯醋酸酯類 (Poly(vinyl acetate))； 丁酮 (methyl ethyl ketone) 由J.T.Baker, Inc. (Phillipsburg, NJ, USA) 購入；速硬AB膠由徠福行科技有限公司所出產 (台北市內湖區，台灣)；sodium hexachloroplatinate (IV) hexahydrate由strem chemical購入；sodium chloride從Fluka (Buchs, Switzerland) 購入；nitrogen gas從洽隆購入；實驗室所使用的去離子水為Milli-Q純水系統 (Millipore, Bedford, MA, USA) 所製作，電阻值為18.2 mΩ/cm。

2.3.2 分析物藥品

所有藥品皆為分析級試劑。氧化砷 (arsenic oxide) 由清華大學王素蘭教授實驗室所提供之六氯鉑酸鈉六水合物 (sodium hexachloroplatinunate (IV) hexahydrate) 為由 strem chemicals (NEWBURYPORT, USA) 購入，硫酸

(Sulfide acid) 由聯工化學廠 (UNION CHEMICAL WORKS LTD., Taiwan, ROC) 購入當做偵測時的溶液組成成分；真實樣品干擾物藥品有硫酸鉀 (sodium sulfate anhydrous) 由 Fluka 購入；磷酸鉀 (potassium dihydrogen phosphate) 和光純藥工業株式會社 (Wako. Pure Chemical Industry Co.,Japan)；磷酸鈉 (sodium phosphate) 由 Fluka 購入；磷酸鈣 (calcium phosphate) 由 Fluka 購入；magnesium phosphate 由 Fluka 購入；硝酸鈉 (sodium nitrate) 由島久藥品株式會社 (Osaka Pharmaceutical Corporation, Japan) 購入；氯化鈉 (sodium chloride) 由 Fluka 購入；硫酸納 (sodium sulfate) 由 Merck 購入。實驗室所使用的去離子水皆為 Milli-Q 水系統 (Millipore, Bedford, MA, USA) 提供。

2.3.3 真實樣品來源

自來水 (tap water) 取自於新竹市地區，地下水 (groundwater) 為嘉義縣義竹鄉所取得，礦泉水 (mineral water) 為南投縣埔里鎮產地的礦泉水。以三種水源分別配成濃度為 0.1 M H_2SO_4 的溶液再行偵測砷離子氧化訊號，藉由標準添加法 As(III) 的濃度以及真實測到的濃度做比對計算其回收率。

2.3.4 藥品製備

0.1 M NaOH 和 20 mM NaCl 皆為秤其重量後再以去離子水溶解配置而成，由 18 M 硫酸以去離子水稀釋得 0.1 M 硫酸，10 mM 氧化砷為秤量其重量後，再以溶於 0.1 M NaOH 中製配而得之，修飾電極溶液組成成分 1 mM Na_2PtCl_6 由取母液濃度為 0.18 M 用 20 mM NaCl 稀釋製配而成。

2.4 電極製備流程

2.4.1 碳墨電極 (carbon ink electrode) 製備

- (1) 取一張 A4 大小投影片，使用 3 M 膠帶於投影片上貼出四公分裸露空間，於投影片上方均勻刷上一碳墨薄層，放進 70 °C 烘箱中 15 分鐘，等待乾燥。
- (2) 乾燥完畢後，在碳墨上下各離一公分處刷上 AB 膠固定電極面積，隔天等待乾燥，如 Fig. 9 所示。

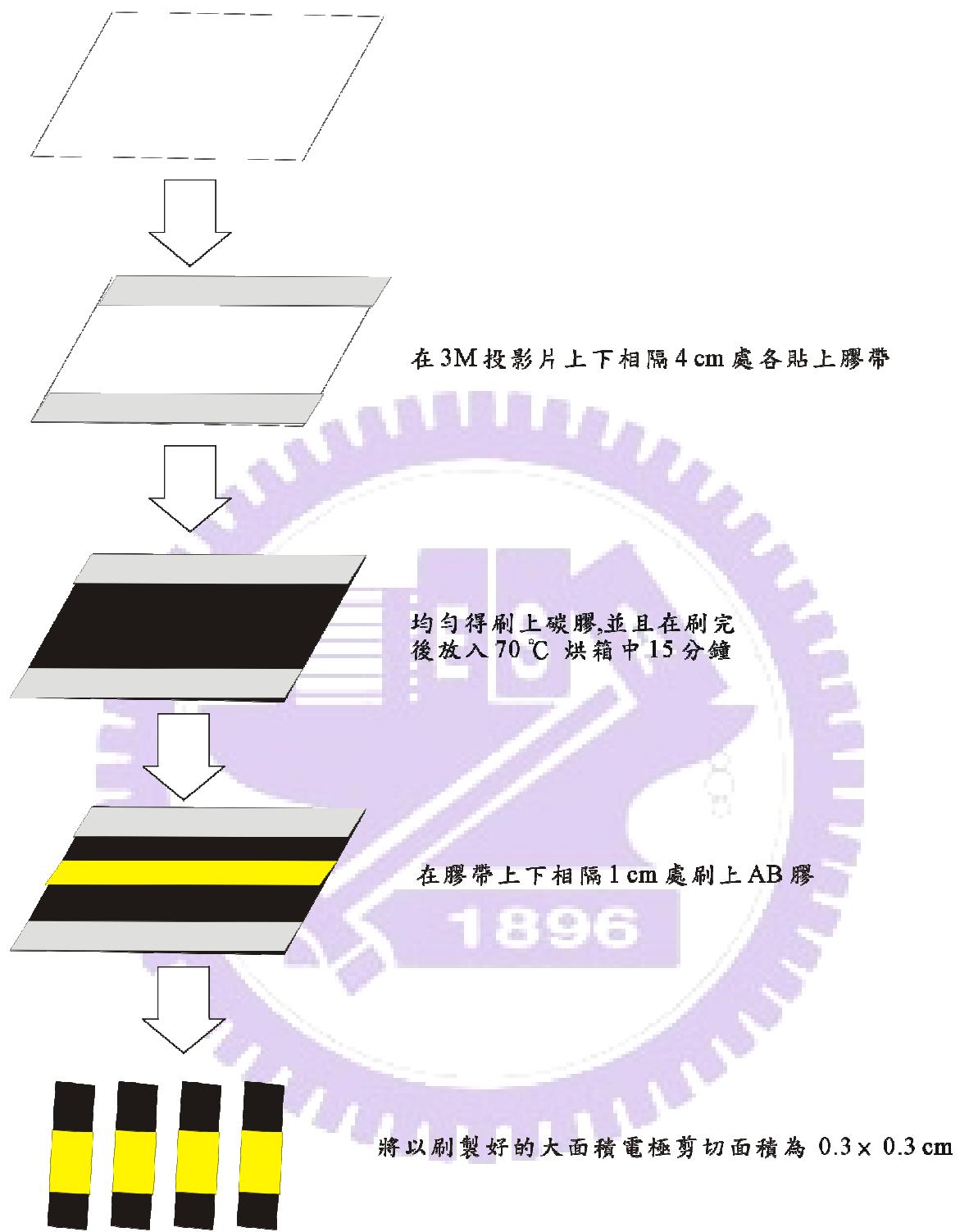


Fig. 9 碳墨電極製備流程圖。

2.4.2 修飾電極的製備

將前面部份完成的碳墨電極裁剪成為面積為 $0.3 \times 0.3\text{ cm}$ 之電極，三電極系統（參考電極、輔助電極以及工作電極）放置入 $1\text{ mM Na}_2\text{PtCl}_6$ 與 20 mM NaCl 的混合水溶液中並且電極間互相不碰觸，掃描電位範圍設定於 $+0.5 \sim -0.7\text{ V}$ 電位區間，掃描速率為 50 mV s^{-1} [63] [64]，於循環伏安法掃描修飾之前先通以氮氣除氧氣五分鐘後，即利用循環伏安法連續掃描進行修飾，並且以循環伏安法掃描修飾的過程中仍然持續通以氮氣，電極修飾完成後再以去離子水沖洗其電極表面，即完成奈米白金修飾電極。

2.5 結果與討論

2.5.1 奈米白金電極修飾圈數最佳化

Fig. 10 為電沉積修飾奈米白金於碳墨電極表面循環伏安圖，由於 Pt 本身存在有 0 ， $+2$ ， $+4$ 三種價數種類，接近 0.0 V 以及 -0.35 V 訊號為 $+2$ 和 $+4$ 互相轉換之訊號，約在 -0.4 V 和 -0.5 V 為 0 和 $+2$ 價數轉換之訊號 [65]。

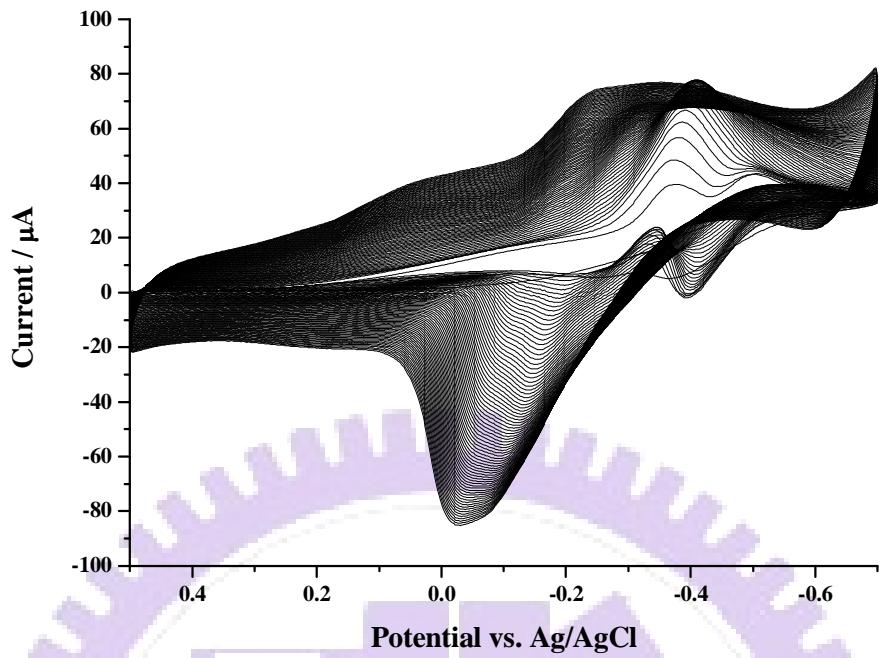


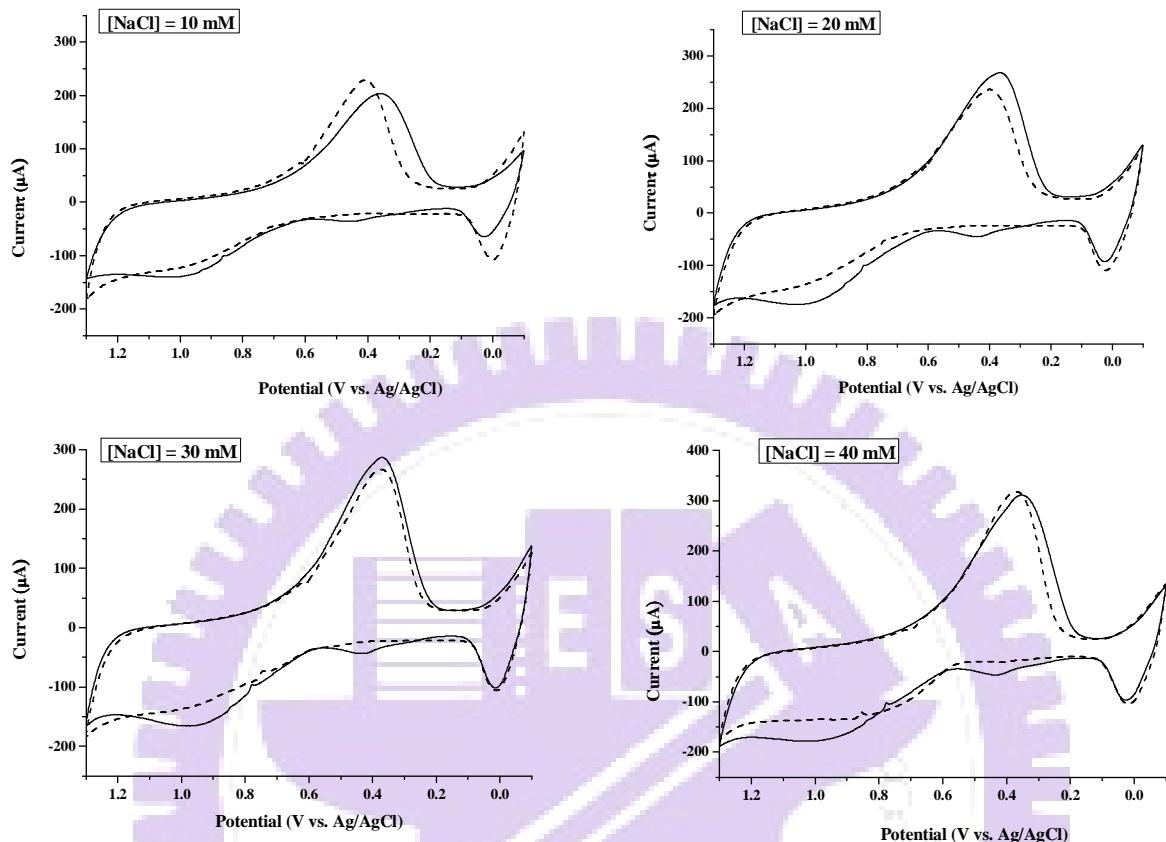
Fig. 10 電沉積奈米白金於碳墨電極的循環伏安圖。1 mM Na_2PtCl_6 和 20 mM NaCl 的電沉積混合溶液，掃描電位範圍為 +0.5~ -0.7 V，掃描速率 50 mV s^{-1} 。

2.5.2 電鍍液濃度以及比例之最佳化

首先針對電鍍液中 Na_2PtCl_6 和 NaCl 的濃度比例作最佳化之調整，試圖固定 Na_2PtCl_6 濃度為 1 mM， NaCl 濃度分別為 10, 20, 30, 40 mM 修飾而成的修飾電極以循環伏安法偵測 100 μM As_2O_3 ，並且將其在約 +1.0 V 的電流值對比例作成 Fig. 11，其劇烈成長的趨勢於 NaCl 濃度為 10 mM 之間 20 mM，在濃度為 20 mM 以上其電流值變化量即呈現緩和增加的狀態，從此部份的實驗結果可得知電鍍液的電解質亦為修飾電極的影響變因，基於分

析物電流值因素因此選擇比例為 1:20 做為電鍍液最佳比例。

(a)



(b)

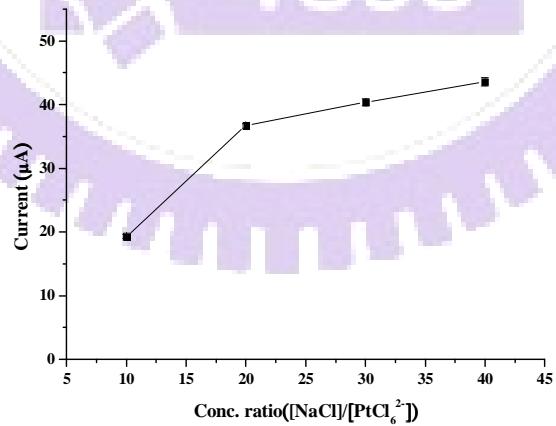


Fig. 11 不同比例電鍍液對於偵測電流之影響 (a) 偵測 100 μM $\text{As}_2\text{O}_3/0.1$ $\text{M H}_2\text{SO}_4$ (b) 不同濃度比例對於偵測電流之曲線圖。

以 1 : 20 此比例調整 Na_2PtCl_6 濃度，其 Na_2PtCl_6 濃度分別為 0.5, 1, 1.5, 2 mM 試圖探討其影響，如 Fig. 12 (a) 所示，隨著 Na_2PtCl_6 濃度增加其電流值有跟著提升，但當 Na_2PtCl_6 濃度為 1 mM 時即達電流最大值，且觀察到在電鍍奈米白金的過程隨著濃度提升其電鍍的 CV 圖訊號也隨之變大，如 Fig. 12 (b) 所示，與增加修飾圈數的現象一致，因此推測電鍍液的組成成分等比例，濃度增加與增加修飾圈數的影響一致，且偵測分析物的訊號也有漸升達最大值後漸減的趨勢，基於以上實驗結果選定 1 mM Na_2PtCl_6 與 20 mM NaCl 作為修飾電極電鍍液的溶液組成。

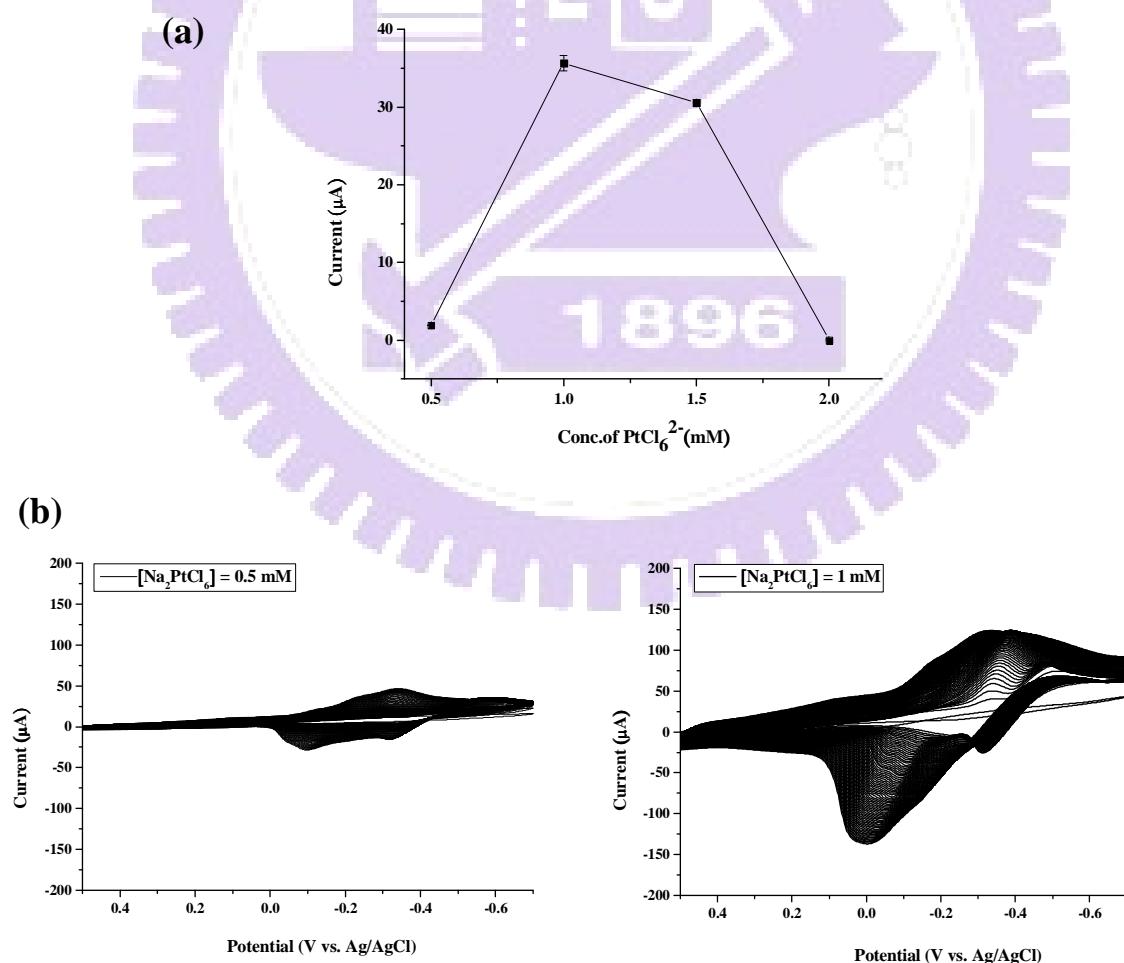


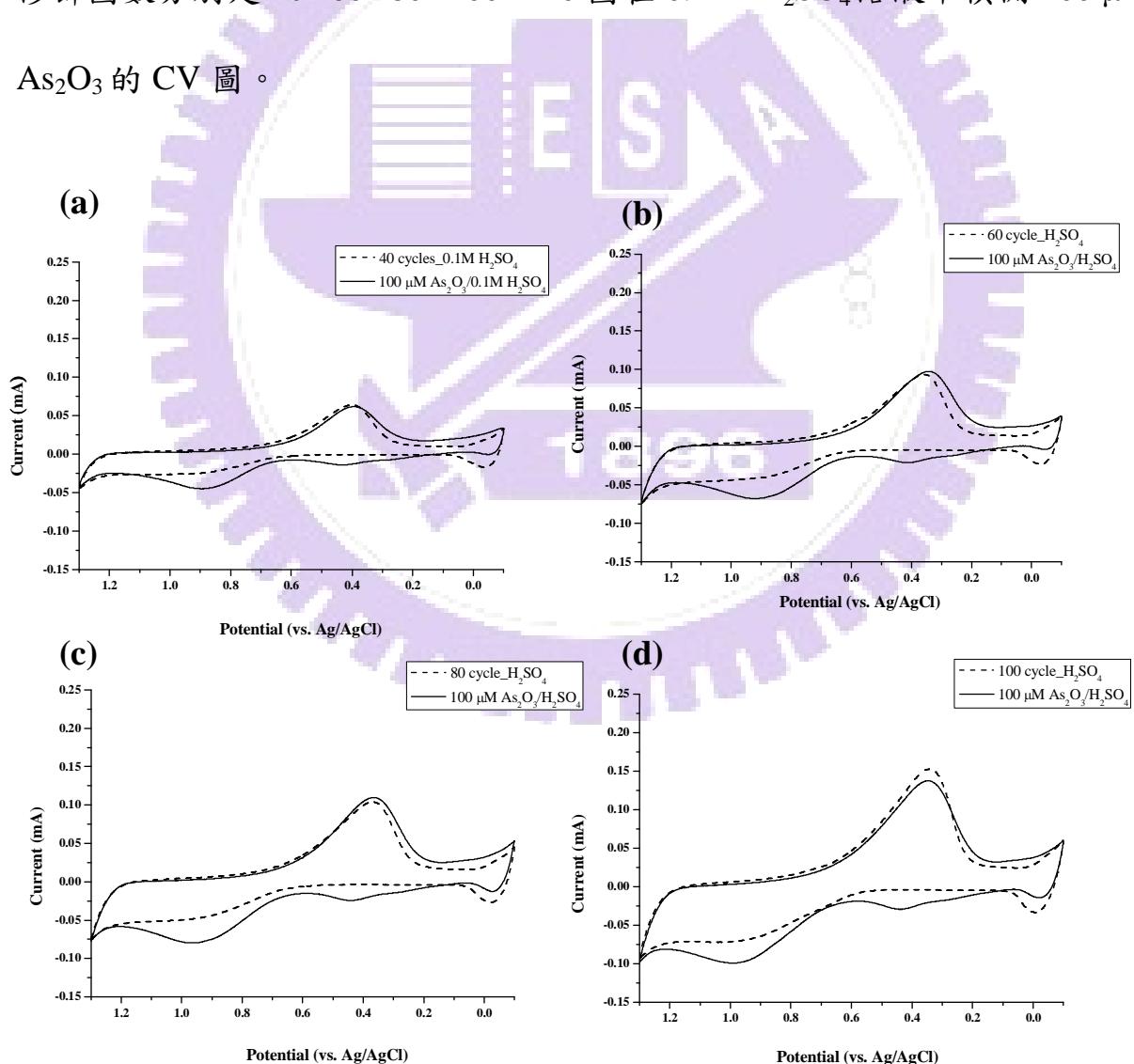
Fig. 12 不同濃度之 PtCl_6^{2-} 對電流的趨勢圖。(a) $[\text{PtCl}_6^{2-}] = 0.5, 1, 1.5, 2 \text{ mM}$

(b) 電沉積之循環伏安圖。

為了解白金碳墨修飾電極在電分析 As_2O_3 時的氧化訊號位置，因此採用循環伏安法 (cyclic voltammetry, CV) 探討其氧化還原電位，掃描電位範圍設定為 $-0.1 \sim +1.3 \text{ V}$ ，根據文獻提供的訊息在 $+0.45 \text{ V}$ 左右的訊號奈米白金表面在電位來回掃描的過程中產生 Pt-OH 的官能基，白金修飾電極表面在掃描過程電極表面所產生的 Pt-OH 接觸到溶液中的砷離子三價進而催化氧化為五價的訊號位於 $+0.8 \sim +1.0 \text{ V}$ 範圍內，推測電極上的 Pt-OH 即行還原反應轉變回原本零價 [66]，因此電極上的奈米白金仍與剛修飾完成的電極狀態一致，另外觀察修飾 80 圈的電極偵測 As(III) 的循環伏安圖，於 $+0.45 \text{ V}$ 有一個氧化訊號出現，此為 As 從價數為 0 氧化為 +3 的訊號，因此從 -0.1 V 往 $+1.3 \text{ V}$ 掃瞄的過程中可以觀察到 As 離子從零價氧化為三價的訊號，接著在約為 $+0.9 \text{ V}$ 出現一個氧化訊號為 As 離子再從三價氧化為五價的訊號，再往負電位方向掃瞄的過程中皆沒有觀察到其三價還原為零價以及五價還原為三價的還原訊號，因此從循環伏安圖上數據顯示可以被解讀為砷離子氧化後即不再行還原反應，電化學上被稱為一種不可逆氧化還原反應。

採用掃描 CV 的方法修飾奈米白金於碳墨電極上，事實上有文獻探討其電沉積時間長度對於奈米粒子大小之影響，給予電位的時間越長，奈米粒

子隨之增大 [67]，因此利用循環伏安法連續掃瞄多圈的狀況可被視為給予電位的時間長度，藉由掃描循環伏安圖的時間增長使得奈米白金沉積於碳墨電極上，奈米粒子沉積於碳墨電極上初期其尺寸較為小，但當粒子逐漸增大時其粒子間即會互相碰觸，時間增長雖然可使得粒子增大，但粒子的尺寸增大互相碰觸，其表面積即開始縮小其催化效果即呈現下降的趨勢，因此需要探討其修飾白金奈米圈數對於偵測氧化電流值的影響，Fig. 13 為修飾圈數分別是 40, 60, 80, 100, 120 圈在 0.1 M H_2SO_4 溶液中偵測 100 μM As_2O_3 的 CV 圖。



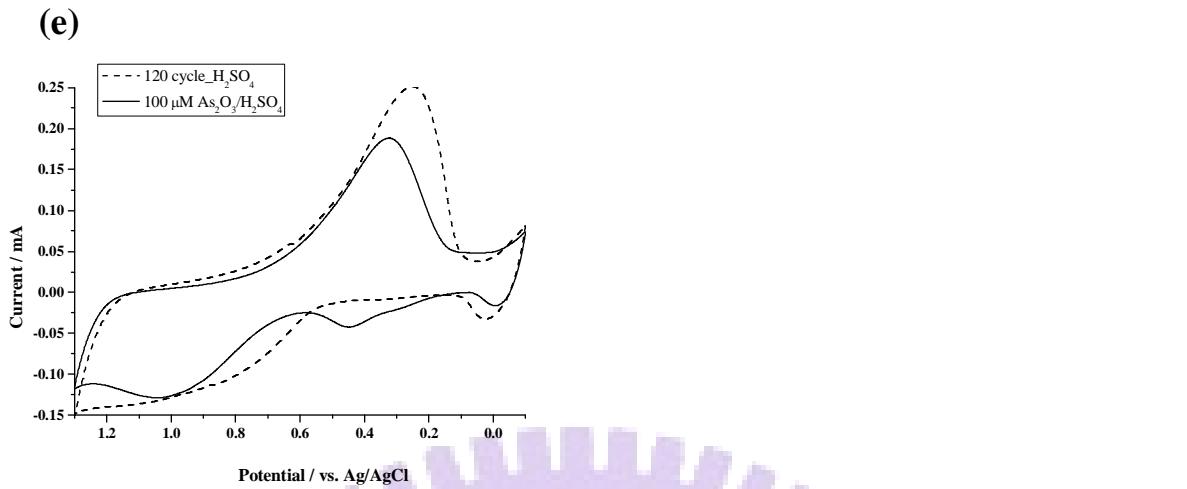


Fig. 13 不同修飾圈數的奈米白金修飾電極對於偵測砷離子氧化電流之影響。

偵測 $100 \mu\text{M} \text{As}_2\text{O}_3/0.1 \text{M} \text{H}_2\text{SO}_4$ 的循環伏安圖。修飾圈數分別為 (a) 40, (b) 60, (c) 80, (d) 100, (e) 120, 掃描電位範圍為 $-0.1 \text{ V} \sim +1.3 \text{ V}$ ，掃描速率 50 mVs^{-1} 。

將其三價氧化為五價的氧化電流對修飾圈數作統計圖，如 **Fig. 14** 所示，修飾圈數為小於 80 圈之氧化電流明顯增加，此現象為奈米白金表面積隨修飾圈數提升而增加，其碳墨電極上白金的量對於催化砷離子氧化並還未達最大值，但當修飾圈數大於 80 圈時氧化電流訊號即開始有下降趨勢，此現象為修飾超過 80 圈以上白金沉積較多於碳墨電極上其奈米粒子結構即逐漸擴大，粒子間即互相碰觸形成更大尺寸之結構其催化面積即降低，從

Fig. 14 的曲線變化圖明顯得觀察其修飾圈數達 80 圈時，所偵測到的氧化電流亦達最大值，基於靈敏度因素因此選擇修飾圈數為 80 圈作為修飾電極的最佳條件，另外針對未修飾碳墨電極偵測砷離子而言，並且從 **Fig. 15** 可以

確認碳墨電極並未偵測砷離子的氧化訊號，但從使用循環伏安法修飾奈米白金電極偵測結果解讀，修飾奈米白金確實能夠催化砷離子氧化。

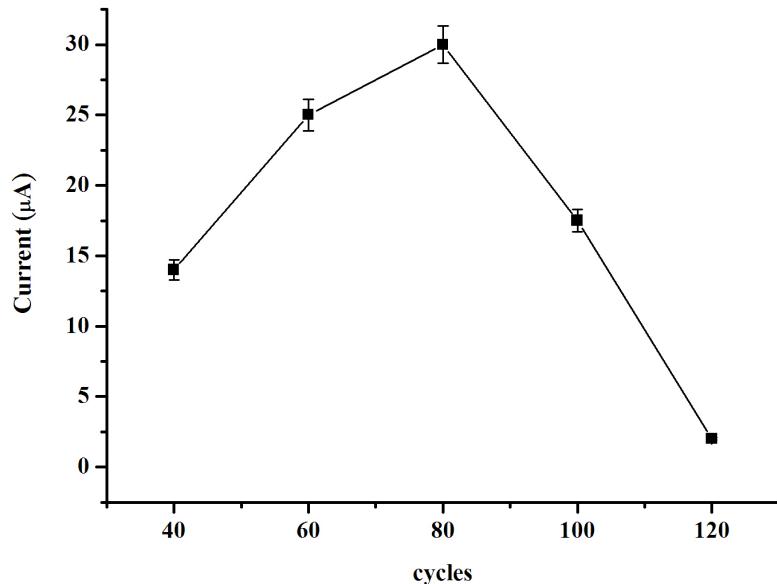


Fig. 14 奈米白金電極修飾圈數對於氧化電流之曲線圖。

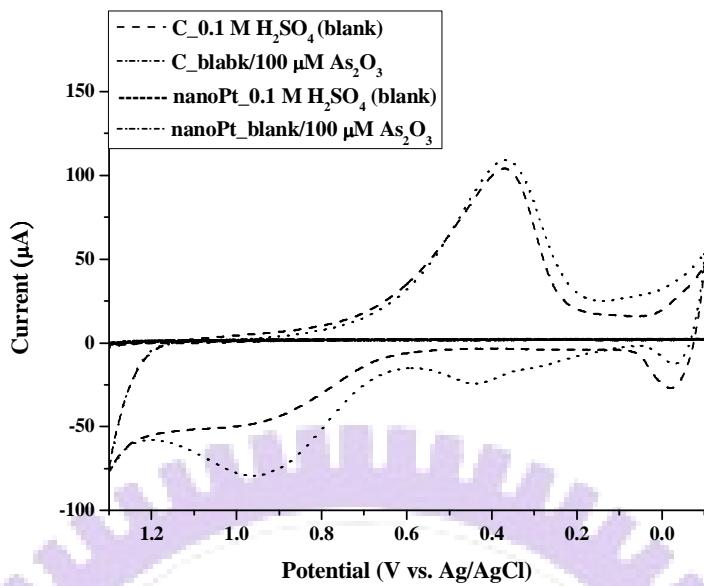


Fig. 15 碳墨電極以及修飾 80 圈的奈米白金電極偵測砷離子氧化電流之影響。

以循環伏安法於 $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ 中偵測 $100 \mu\text{M As}_2\text{O}_3$ ，掃描電位範圍為 $-0.1 \text{ V} \sim +1.3 \text{ V}$ ，掃描速率 50 mVs^{-1} 。

Fig. 16 為不同修飾圈數 SEM 圖，**Fig. 16 (a)** 為未修飾碳墨電極的表面結構，從其圖可觀察到碳墨電極本身為具有孔洞性的結構，且表面較為不平整，通常對於表面較為不平整的基材較為容易被修飾劑附著於其表面，另外碳墨價格極為便宜，因此選擇碳墨為基材具有兩個優點：降低實驗成本以及對於修飾層而言較為容易修飾奈米材料於其表面，另外從 **Fig. 16** 不同修飾圈數的 SEM 圖可以發現，當修飾圈數增加時，其奈米粒子的尺寸會隨之增大，於修飾圈數達 120 圈時，奈米粒子之間即開始相接觸成為凹凸平面結構，因此從 **Fig. 14** 與 **Fig. 16** 實驗結果推測最佳電流的產生為 nanoaprticle size 達一定尺寸時，其 particle 的接觸表面積即達最大，因此基

於此部份最佳修飾圈數實驗結果，推測偵測砷離子三價氧化為五價的氧化電流與其修飾電極循環伏安法修飾圈數有相關性。

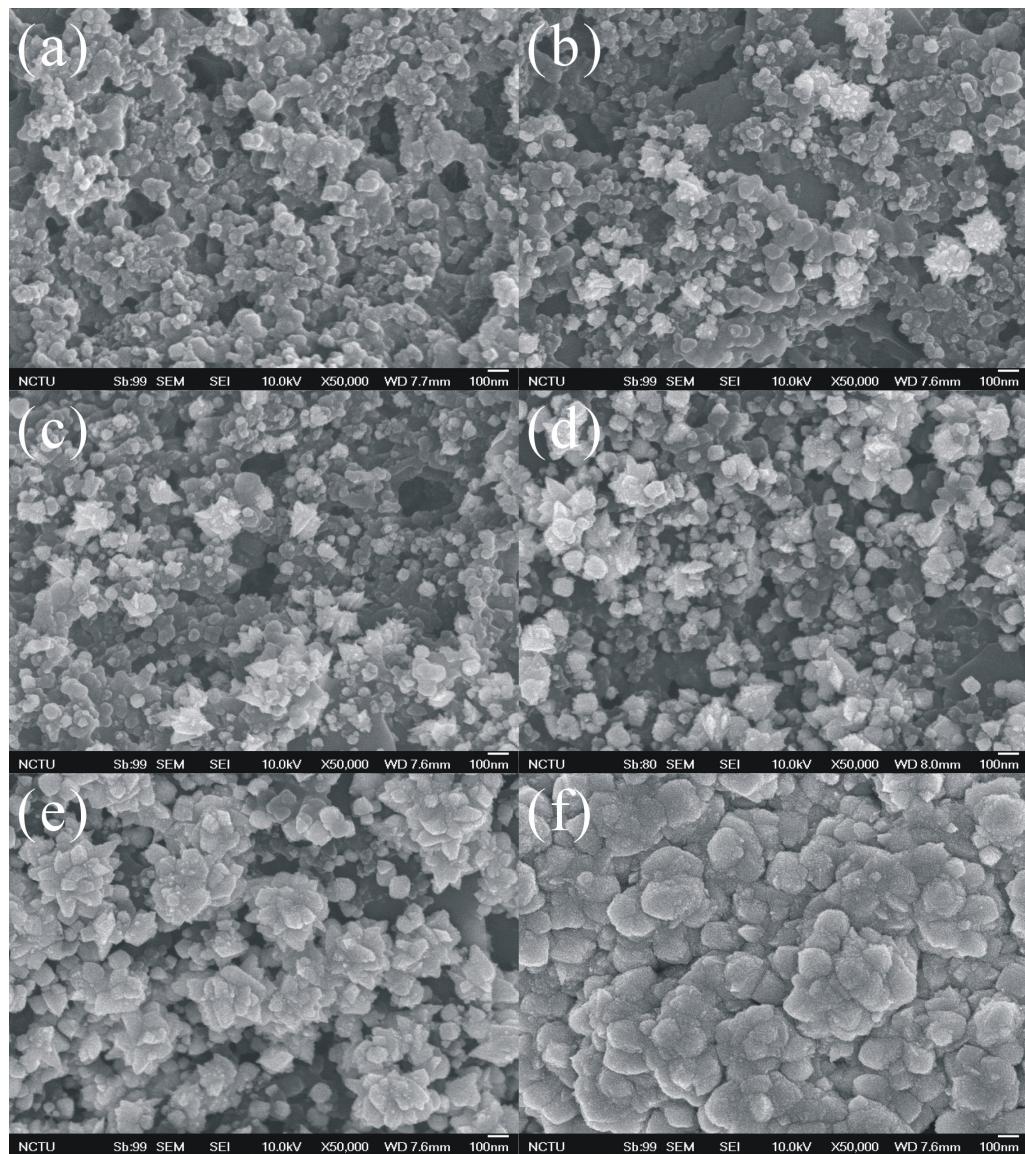
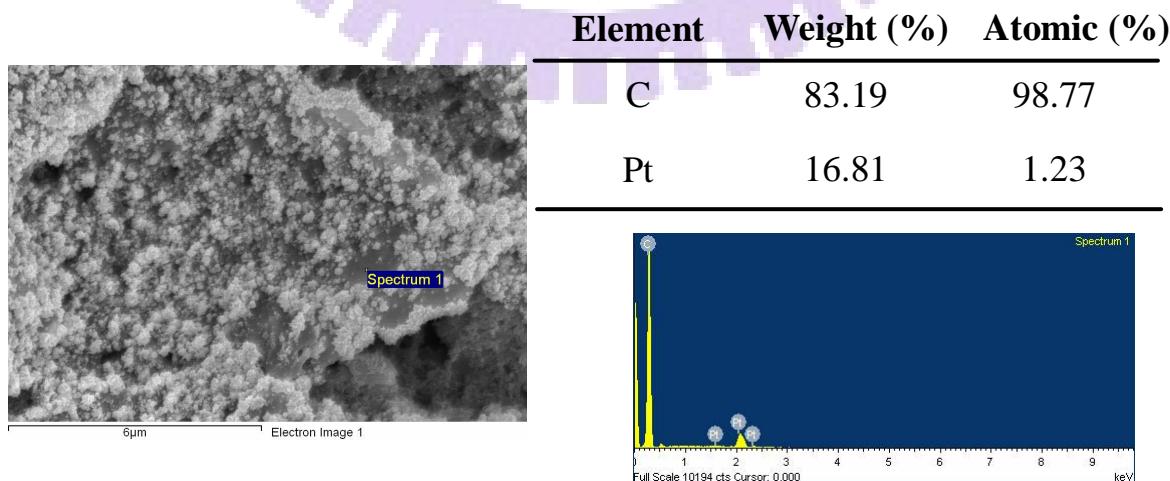


Fig. 16 不同修飾圈數的奈米白金電極之 SEM 圖。奈米白金電極修飾圈數：
(a) 0, (b) 40, (c) 60, (d) 80, (e) 100, (f) 120 圈的 SEM 圖。修飾條件：電沉積的溶液組成為 $1\text{ mM Na}_2\text{PtCl}_6$ 與 20 mM NaCl ，掃描電位範圍為 $+0.5\text{~-}0.7\text{ V}$ ，掃描速率 50 mV s^{-1} 。

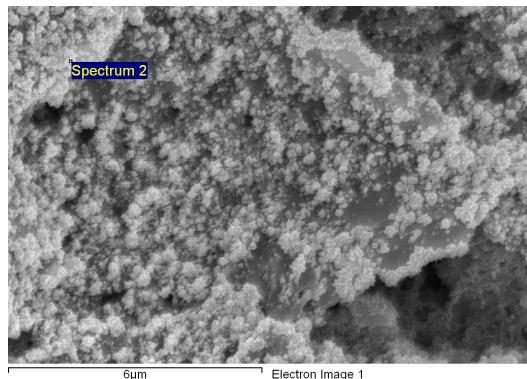
2.5.3 不同修飾圈數電子掃描顯微鏡圖以及最佳修飾圈數元素分析表

為證明從**Fig. 16**所觀察到較白色且突起的物質成分為白金，因此取最佳修飾圈數為80圈電極進行EDS偵測，取得較為灰色的區域以及較為白色突起的區域進行元素重量分析。**Fig. 17 (a)** 元素重量分析數據顯示Pt重量比例為16.81%，**Fig. 17 (b)** 的重量成分比例為90.43%，灰色區域較白色部份的比例明顯少許多，因此綜合**Fig. 17 (a) (b)** EDS之數據，確認白色且突起的物質成分確實為白金，另外亦證明使用循環伏安法掃描電沉積法足以將奈米白金修飾電沉積於碳墨電極上，其中**Fig. 17 (a)** 仍然偵測到微量Pt成份，推測為於修飾電極過程中，有少許Pt亦一起修飾到碳墨電極上，但對於EDS的數據顯示較黑色部分區塊有Pt成份，此推測其含量極微量因此在SEM影像上並未觀測到奈米粒子存在，但根據這些數據證實奈米白金被修飾於碳墨電極上，並且使用此電極能夠偵測砷離子氧化訊號。

(a)



(b)



Element	Weight(%)	Atomic(%)
C	9.57	36.77
Pt	90.43	63.23

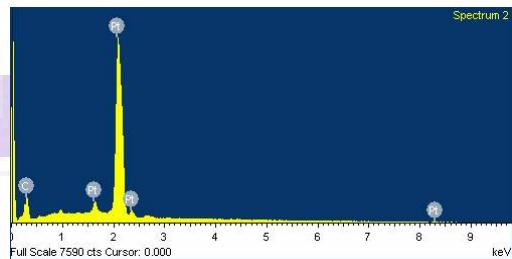


Fig. 17 奈米白金修飾電極最佳修飾條件 (80 圈) 之 energy-dispersive spectrum (EDS)。(a) 偵測碳墨部份 (黑色凹下區域) (b) 偵測白金部份 (白色突起區域)，電鍍溶液為 $1\text{ mM Na}_2\text{PtCl}_6$ 與 20 mM NaCl ，掃描電位範圍為 $+0.5 \sim -0.7\text{ V}$ ，修飾圈數為 80 圈，掃描速率 50 mV s^{-1} 。

2.5.4 奈米白金最佳修飾圈數電活性表面積

對於最佳修飾圈數 80 圈修飾電極定量其表面積，藉由掃描循環伏安法電壓範圍設定為 $+1.0 \sim -0.3\text{ V}$ 在 $0.5\text{ M H}_2\text{SO}_4$ 進行掃描，掃描速率為 50 mVs^{-1} ，並且於實驗掃描過程中仍然持續通以氮氣，從 **Fig. 18** 得知其白金吸附跟脫離氫的訊號位置位於 $+0.2 \sim -0.3\text{ V}$ 電位區間，根據文獻提供計算方法 [62]，使用此電位區間的積分面積 (Q_H , μC) 能夠計算其表面積，將積分面積 (μC) 除以理論電量值 $210\text{ }\mu\text{Ccm}^{-2}$ ，即可得粒子表面積 (A_r , cm^2)，

本研究計算之結果為 $Q_H = 128.3 \mu\text{C}$ 、 $A_r = 0.6 \text{ cm}^2$ ，對於三支修飾電極差異性以 RSD 值表現為 3.2%，證實電極間差異性頗小且具有再現性。

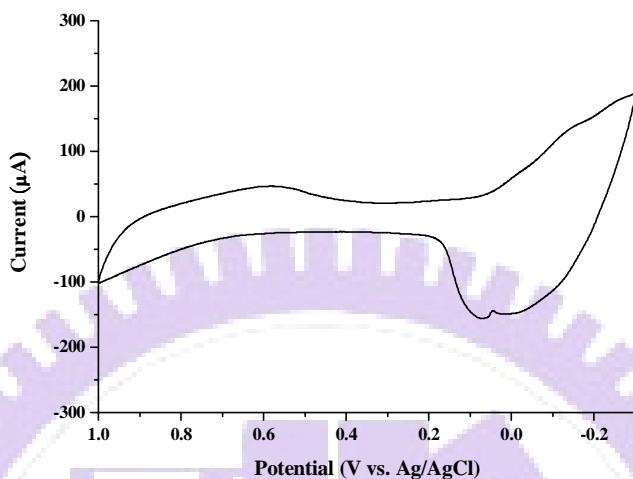


Fig. 18 最佳修飾圈數的電活性面積之循環伏安圖。修飾 80 圈奈米白金修飾電極於 0.5 M H_2SO_4 中掃描，掃描範圍為 $+1.0 \sim -0.3 \text{ V}$ ，掃描速率 50 mVs^{-1} 。

2.5.5 校正曲線

電極最佳修飾圈數設定為 80 圈，以安培法偵測砷離子三價氧化為五價的氧化訊號作校正曲線，基於 **Fig. 13** 偵測到氧化電位範圍 $+0.7 \sim +1.1 \text{ V}$ ，因此以此電位區間定五種不同電位做校正曲線，其數據於 **Table 1** 中呈現，**Table 1** 為不同電位之校正曲線數據，其靈敏度最高者為 $+1.0 \text{ V}$ 其次為 $+1.1 \text{ V}$ ，此兩電位的線性範圍皆為 $0.5 \sim 100 \mu\text{M}$ ，雖然 $+1.0 \text{ V}$ 其靈敏度為五種電位中最高者，但基於線性濃度範圍不為 $+0.9 \text{ V}$ 廣的因素，因此 amperometry 選定最佳電位為線性濃度範圍較寬者 $+0.9 \text{ V}$ ，並且與過去文獻

比較，本研究的線性範圍皆較 Table 2 中所呈現的文獻線性濃度範圍為廣，本研究之線性範圍為 $0.5\text{~}250\text{ }\mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.9998$ ，limit of detection (LOD) = $0.078\text{ }\mu\text{M}$ (15.43 ngmL^{-1})，如 Fig. 19 所示，根據 EPA 頒布法規顯示飲用水砷離子的含量上限為 $2\text{~}20\text{ ngmL}^{-1}$ ，因此對於本研究試圖將本奈米白金修飾電極應用於三種水源真實樣品。

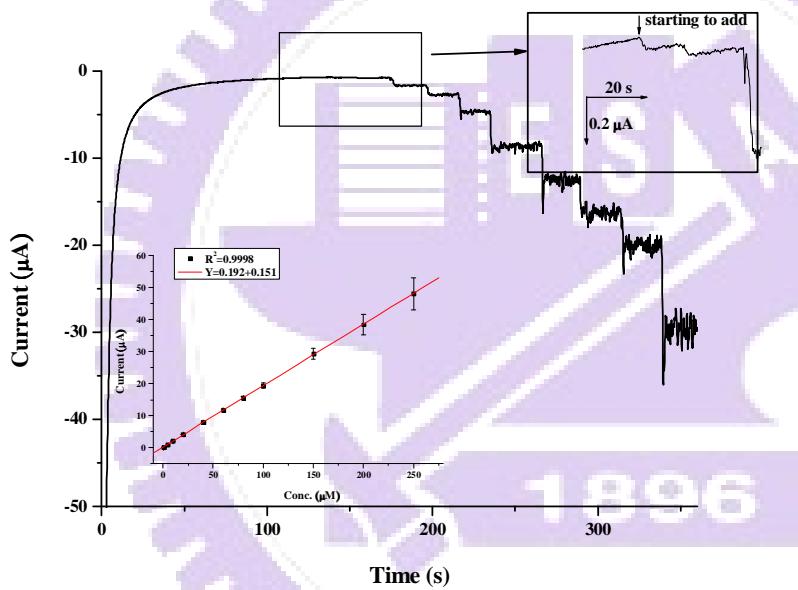


Fig. 19 定電位於 $+0.9\text{ V}$ 的校正曲線以及安培圖。於 $0.1\text{ M H}_2\text{SO}_4$ 中進行偵測。

Table 1 不同電位的校正曲線數據表

E (V)	Sensitivity ($\text{AM}^{-1}\text{cm}^{-2}$)	Conc. Range (μM)	LOD (μM)	LOD (ngmL^{-1})
0.7	1.811	0.5~250	0.191	37.78
0.8	2.100	0.5~250	0.174	34.42
0.9	2.133	0.5~250	0.078	15.43
1.0	2.333	0.5~100	0.068	13.45
1.1	2.178	0.5~100	0.074	14.64

Table 2 過去文獻之比較表

electrode type	Linea range (μM)	reference
Pt nanoparticle/SPE	0.16~1.3	<i>Electroanalysis</i> 2009, 21, 635-639.
Pt-nanotube	1~10, 10~200	<i>Electrochim. Commun.</i> 2008, 10, 1893-1896.
Pt nanoparticle/GCE	1 ~50	<i>Analyst</i> 2006, 131, 516-521.
carbon	Upper limit to 10	<i>Electrochim. Commun.</i> 2008, 10, 987-990.
Pt/CPE	0.05~250	this study

2.5.6 干擾物測試

於真實樣品偵測前必須針對水中干擾物進一步探討，因此 Fig. 20 為針對水源中常見之干擾物 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 於 $10 \mu\text{M}$ 、 $100 \mu\text{M}$ 濃度時，並未造成於偵側砷離子上之干擾，甚至對於一般最常用於偵測砷離子偵測方法 ICPMS 亦常受氯離子之干擾 [68]，因此特別針對干擾物 Cl^- 進行探討， Cl^- 濃度為 $10 \mu\text{M}$ 、 $100 \mu\text{M}$ 、 $1000 \mu\text{M}$ 情況下並未影響偵測 $10 \mu\text{M}$ $\text{As}(\text{III})$ 之訊號 [69]，基於干擾離子不影響之優點，因此於碳墨電極上修飾

奈米白金可排除真實樣品中干擾物訊號，具有選擇性偵測砷離子氧化的訊號，基於排除干擾物訊號之優點，因此試著將此修飾電極應用於水源真實樣品。

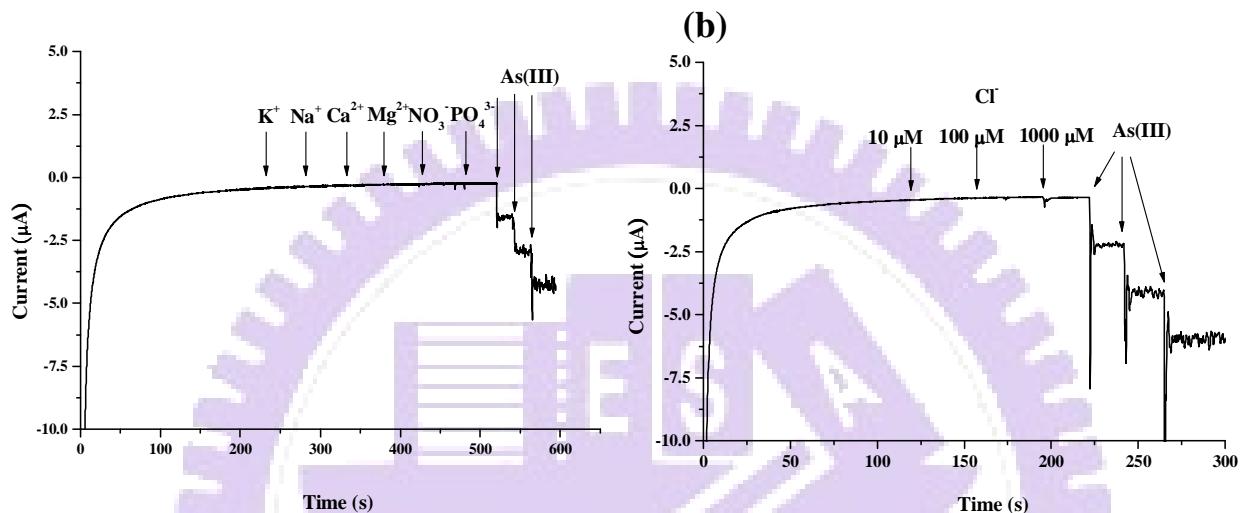


Fig. 20 真實樣品水源中常見的干擾物測試。先加入濃度分別為 $10 \mu\text{M}$ 、 $100 \mu\text{M}$ 的 (a) K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} (b) $10 \mu\text{M}$ 、 $100 \mu\text{M}$ 、 $1000 \mu\text{M}$ Cl^- ，接著連續添加 $10 \mu\text{M}$ As(III) 三次。

2.5.7 三種砷離子的水真實樣品

本研究挑選與文獻相同的三種常見砷離子會存在之真實樣品 [69] [70]，**Fig. 21** 為偵測砷離子真實樣品的安培圖，其水樣品種類分別為礦泉水、自來水以及地下水，以上三種水源調配成 $0.1 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ 即以安培法定電位於線性濃度範圍較為寬且為 CV 圖上氧化電位 $+0.9 \text{ V}$ 偵測砷離子氧化訊號，藉由以標準添加法連續添加 $10 \mu\text{M}$ As(III) 五次，將其實驗結果整理

為 Table 3 其回收率皆於 93.2% 以上，並且其五次訊號的 RSD 值皆於 7.8% 以下，此部分數據顯示其誤差並不大，因此本研究奈米白金修飾電極對於偵測水中砷離子準確性頗高。

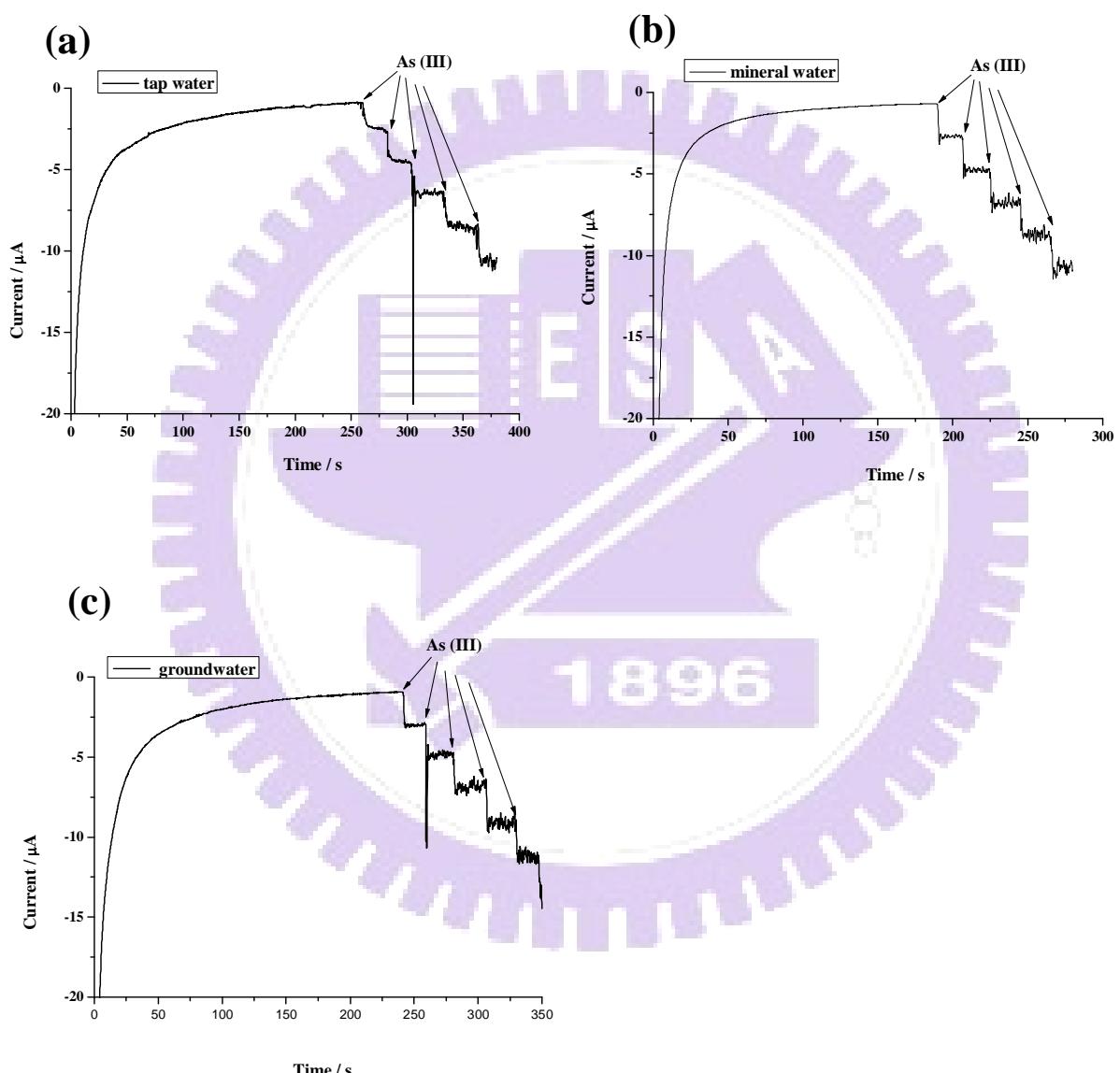


Fig. 21 三種水源真實樣品的安培圖。真實樣品 (a) 自來水 (b) 矿泉水 (c) 地下水。

Table 3 真實樣品濃度為 $10 \mu\text{M}$ As(III) 的回收率表。

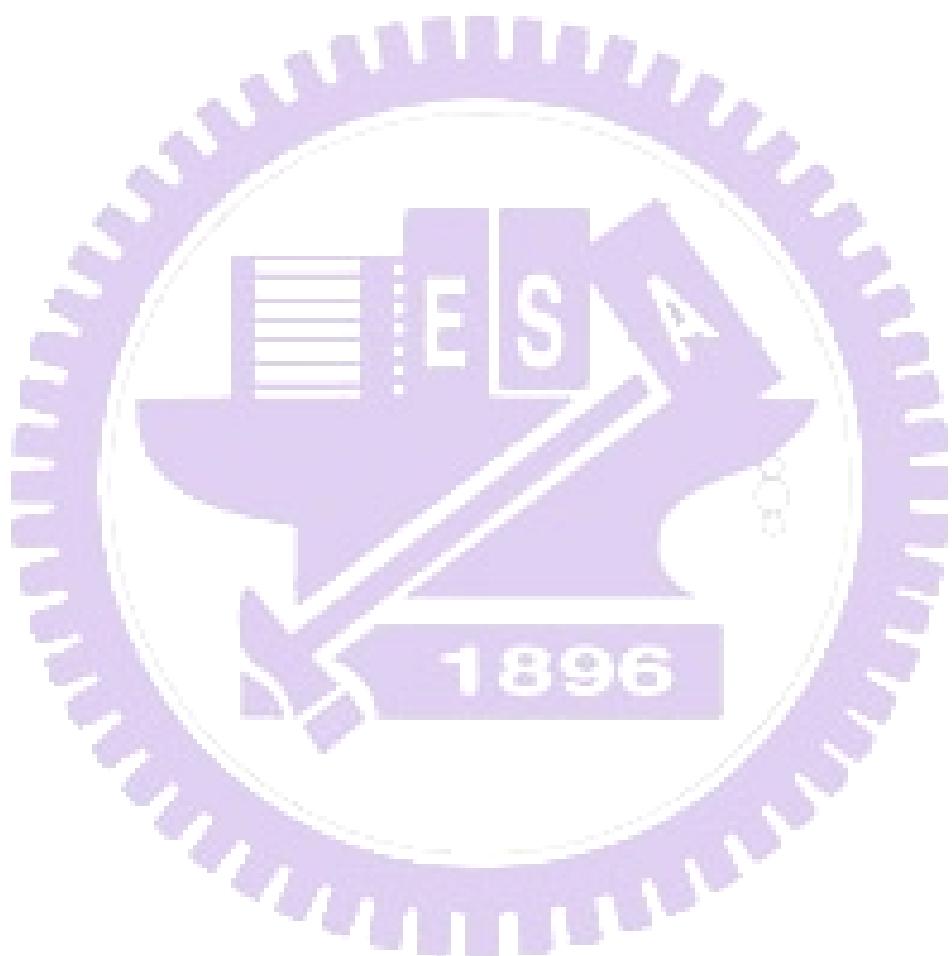
Real samples	Recovery (%)	RSD (%)
mineral water	95.7	4.4
tap water	93.2	7.8
groundwater	94.2	4.7

$N = 5$

2.6 結論

本實驗為以循環伏安法電位範圍定於 $-0.5 \sim +0.7 \text{ V}$ 、掃描速率為 50 mVs^{-1} 以切換正負電位來回掃瞄循環伏安法方式修飾奈米白金於碳墨電極上，碳墨電極為將塗刷碳墨膠於投影片上，一方面能夠使得電極所佔有的空間減小，因此具有攜帶方便以及較高應用價值之特性，另一方面使用較為低廉電極可節省實驗成本，最佳奈米白金修飾條件為以循環伏安法於碳墨電極上修飾 80 圈，並且最佳修飾條件奈米白金表面積為 0.6 cm^2 ，安培法最佳偵測電壓為 $+0.9 \text{ V}$ ，以安培法定電位於 $+0.9 \text{ V}$ 所呈現的校正曲線現性範圍為 $0.5 \sim 250 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.9998$ ，偵測極限為 15.43 ngmL^{-1} ($3\sigma/m$, σ : STEVD, m : slope)，此偵測極限濃度根據 EPA 所頒布的規定水中砷離子含量最低上限值為 $2 \sim 20 \text{ ngmL}^{-1}$ ，因此將本研究的奈米白金修飾電極應用於水汙染水源的真實樣品上，本研究為基於奈米材料本身粒子小表面積大的特性，藉由奈米材料接觸分析物機率提升因而提升其靈敏度，對於未修飾碳墨電極事實上文獻提及碳電極對於偵測砷離子略微差，因此本研究為

於碳墨電極上修飾白金以達到電催化砷離子氧化，本研究主要重點為於排除真實樣品中常見之干擾離子 Cl^- 離子訊號，因此奈米白金修飾電極對於偵測砷離子氧化具有電催化成效，並且能夠專一性偵測其訊號排除干擾物訊號。



三、電化學偵測雌激素

3.1 實驗目的

本部份研究為以電化學方法循環伏安法來回掃描修飾奈米白金於碳墨電極上，利用奈米白金修飾電極相對於碳墨電極偵測雌激素具有增加氧化電流現象，使得奈米白金具有電催化雌激素能力，雌激素氧化訊號提升使得靈敏度增加，以降低其偵測極限，並且本研究使用電化學方法可以提供一般較為簡單、實驗成本低且儀器價格較低廉的方法，基於這些優越的優點本研究選用較為靈敏的安培法作為偵測方法，企圖研發與大部分文獻不同的非免疫型感測器，並且應用於水源真實樣品中偵測較具影響力雌二醇之含量。

3.2 藥品

3.2.1 分析物藥品

以下所有藥品皆為分析級試劑。雌二醇 (estradiol)、雌素酮 (estrone)、雌三酮 (estriol) 皆由 Sigma (St. Louis, MO, USA) 購入，磷酸二氫鈉 (Sodium dihydrogen phosphate anhydrous) 由 Fluka (Buchs, Switzerland) 購入當做偵測時的溶液；六氯鉑酸鈉六水合物 (sodium hexachloroplatinumate

(IV) hexahydrate) 為由 strem chemicals (NEWBURYPORT, MA, USA) 購入；乙醇 (ethanol) 由台灣菸酒有限公司 (台北, 台灣) 購入，用來溶解主要分
析物 estradiol 用；真實樣品干擾物藥品有硫酸鉀 (sodium sulfate anhydrous)
由 Fluka (Buchs) 購入；磷酸二氫鉀 (potassium dihydrogen phosphate) 和光
純藥工業株式會社；磷酸鈉 (sodium phosphate) 由 Fluka 購入；磷酸鈣
(calcium phosphate) 由 Fluka 購入；磷酸鎂 (magnesium phosphate) 由 Fluka
購入；硝酸鈉 (sodium nitrate) 由島九藥品株式會社 (Osaka Pharmaceutical
Corporation, Japan) 購入；氯化鈉 (sodium chloride) 由 Fluka 購入；硫酸納
(sodium sulfate) 由 Merck 購入。實驗室所使用的去離子水皆為 Milli-Q 水系
統 (Millipore, Bedford, MA, USA) 提供。

3.2.2 藥品製備

修飾電極溶液組成成分 1 mM Na_2PtCl_6 由取母液濃度為 0.18 M 用 20
mM NaCl 稀釋製配而成，20 mM NaCl 皆為秤其重量後以去離子水溶解之配
置而成，0.1 M 磷酸緩衝溶液 (phosphate buffer solution) 為秤及重量後以去
離水溶解而得之，其 pH 值以 17 M 磷酸逐步添加調整至 7.0，干擾物陰陽
離子皆用以上製備之磷酸緩衝溶液溶解製備而成，並且不使用時皆存放在 4
 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避免緩衝溶液變質。主要分析物 10 mM estradiol 溶於 95% 酒精

中，需要使用時即再由 4 °C 冰箱中取出。

3.2.3 真實樣品來源

自來水 (tap water) 取自新竹地區，湖泊水(lake)為交通大學竹湖所取得，礦泉水 (mineral water) 為南投縣埔里鎮產地的礦泉水，所有待測真實樣品皆未接受前處理即直接進行偵測，藉由標準添加法加入雌二醇的濃度以及真實測到的濃度比值計算出其回收率。

3.3 電極製備流程

3.3.1 修飾電極的製備

同 2.4.2 所示

3.4 結果與討論

3.4.1 奈米白金電極修飾圈數最佳化

本部分的研究所選用之偵測方法與第一部分的電化學偵測方法一致為安培法 (amperometry)，Fig. 22 為以最佳修飾圈數 70 圈奈米白金修飾電極偵測 20 μM 雌二醇之循環伏安圖，根據文獻所提供之雌二醇氧化訊號位置

分別為 $+0.35$ 、 $+0.7$ V [52]，其中 $+0.7$ V 為最主要氧化訊號位置，文獻解釋 $+0.35$ V 為 pre-wave signal，此為白金於電位區間為 -0.1 ~ $+0.35$ V 此區間白金會吸附氧原子，推測此 pre-wave signal 為白金表面吸附雌二醇結構上的氧原子訊號來源，於電極上吸附雌二醇即使雌二醇行氧化反應，往正電位掃瞄使雌二醇氧化，並且控制電位從正電位再往負電位方向掃描，掃描還原部份並未觀察任何雌二醇還原的訊號產生，因此稱雌二醇的氧化還原為不可逆氧化還原反應。**Fig. 22** 中雌二醇氧化訊號約位於 $+0.7$ V，其 pre-wave signal 電位做為探討，本研究訊號位置與文獻所提供的訊息稍低且電位提前的現象，另外試圖探討碳墨電極及修飾奈米白金電極兩者之差異，此兩者電極以循環伏安法偵測相同濃度雌二醇，由 **Fig. 22** 觀察碳墨電極並未偵測到雌二醇氧化訊號，相對的奈米白金修飾電極即偵測到雌二醇氧化訊號，因此本研究於碳墨電極上修飾奈米白金確實奈米白金擔任 mediator 的角色，奈米白金於碳墨電極表面修飾上扮演促使電子傳遞角色，使得修飾工作電極上電子傳遞到分析物速度變快，因此偵測分析物的氧化訊號提升，從電化學觀點思考修飾白金奈米粒子具有使得氧化訊號提升的電催化雌二醇效果，並且碳電極對於偵測雌二醇較為不理想，另外基於本部分所採取的實驗方法為安培法因素，因此偵測電位方面需要使其最佳化。

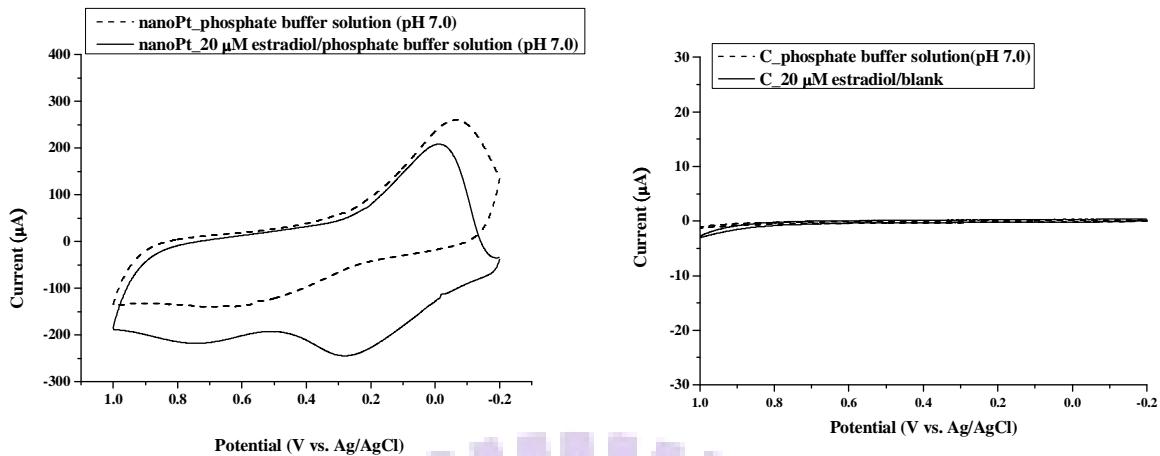
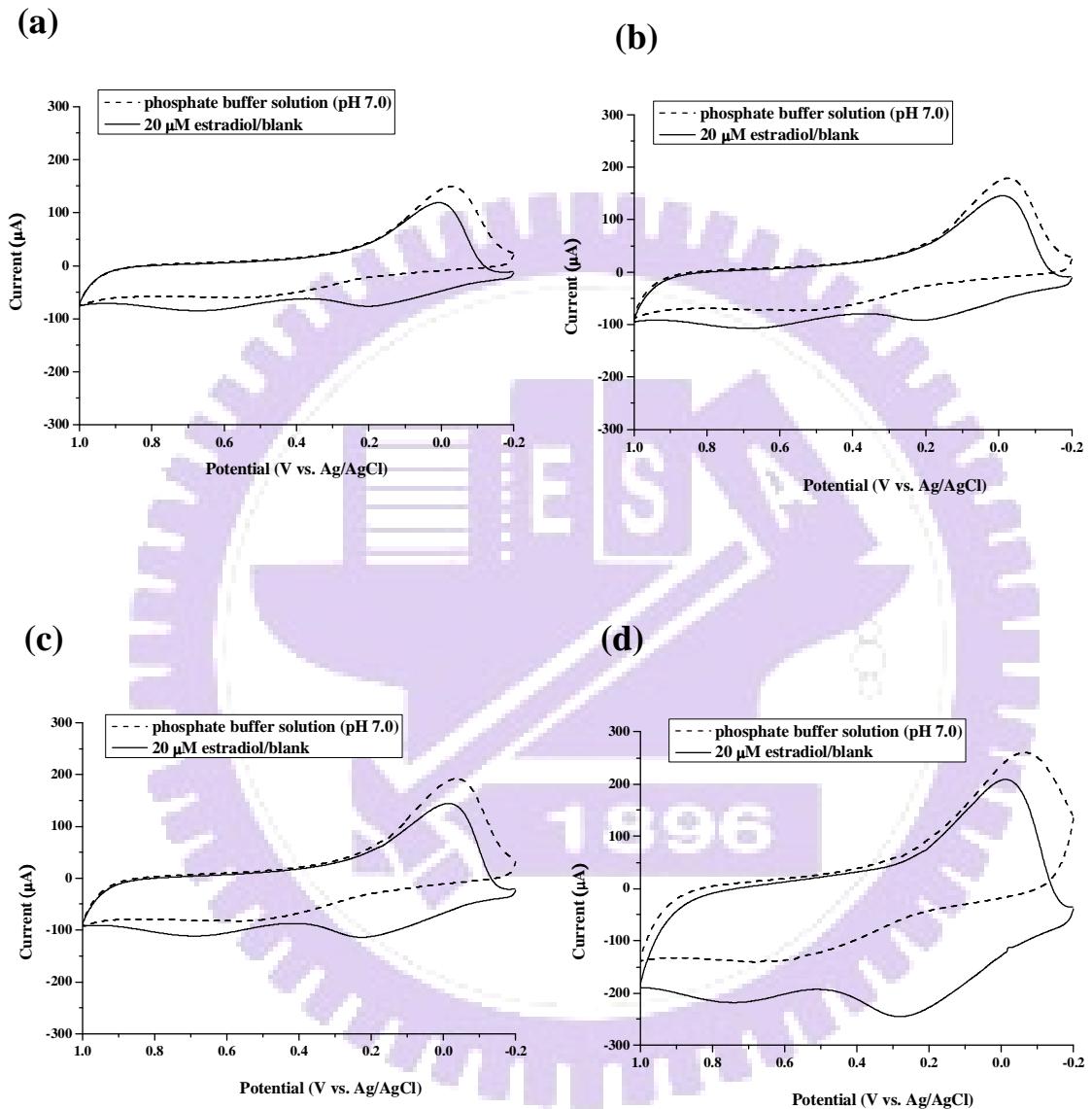


Fig. 22 修飾電極以及碳墨電極偵測雌二醇的循環伏安圖。20 μM estradiol 在磷酸緩衝溶液 (pH 7.0) 以未修飾碳墨電極 (右) 以及修飾奈米白金碳墨電極進行偵測的循環伏安圖，掃描速率 50 mVs^{-1} 。

本部份所使用電極修飾方法與第一部份相同為定最佳修飾圈數的循環伏安法，基於三種雌激素之結構類似，因此於選定最佳條件時以環境影響力較大者雌二醇為主，**Fig. 23** 為不同修飾圈數的奈米修飾電極偵測 20 μM 雌二醇之循環伏安圖，並且將不同修飾圈數偵測到的氧化訊號作成 **Fig. 24** 修飾圈數對於偵測電流變化曲線圖，由 **Fig. 24** 觀察到隨著修飾圈數增加其偵測氧化訊號隨之提升，但圈數達 70 圈以上氧化電流即下降，此現象與第一部份不同修飾圈數的修飾電極對於偵測砷離子的現象解釋方式一致，基於電沉積的圈數越長其奈米粒子的結構會越大，表面積也會越大，但當修飾圈數達 70 圈後奈米材料的表面積極下降，再加上不同修飾圈數的白金電極對於吸附雌二醇狀況不同，因此偵測到約 +0.7 V 的氧化電流於修飾 70

圈以上即開始下降，另外基於靈敏度以及偵測極限考量，因此本部份研究選擇 70 圈為最佳修飾圈數。



(e)

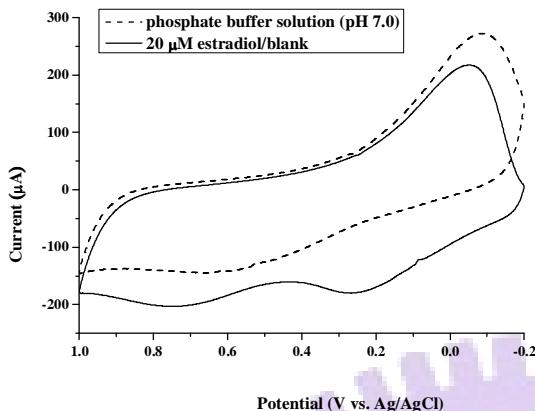


Fig. 23 不同修飾圈數對於偵測雌二醇之影響。不同修飾圈數的奈米白金電極對於偵測 $20 \mu\text{M}$ estradiol 於磷酸緩衝溶液 (pH 7.0) 中偵測的循環伏安法圖，修飾圈數：(a) 40，(b) 50，(c) 60，(d) 70，(e) 80，掃描速率 50 mVs^{-1} 。

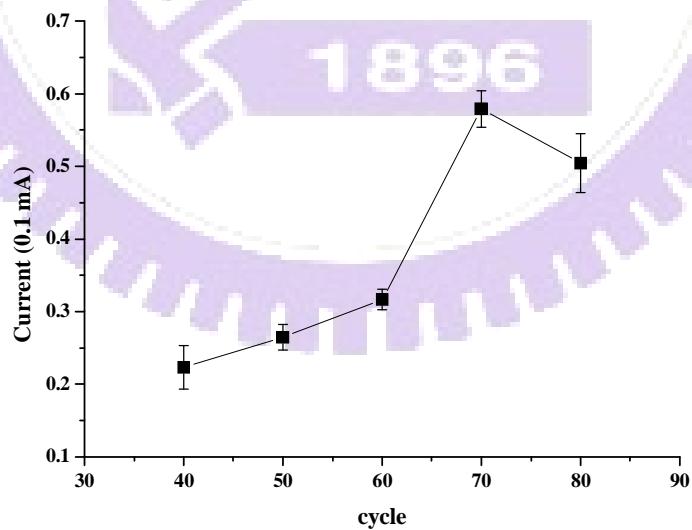


Fig. 24 不同修飾圈數對於偵測雌二醇氧化電流的變化曲線圖。

另外必須被探討實驗因素為不同修飾電極之間差異度，因此對於同修飾圈數製作三隻修飾電極並且以循環伏安法偵測同濃度 ($20 \mu\text{M}$) 雌二醇測試其差異度計算出 RSD 值，**Table 4** 中的 RSD 值即為三支電極差異度表現值，不同修飾圈數電極 RSD 值皆在 11.7% 以內，藉由此部分數據得知本研究不同隻修飾電極間差異程度並不大き且具有再現性，因此利用相同修飾條件所得到的奈米修飾電極偵測結果數據仍具有可信度，並且基於再現性優越因素，提升本研究修飾電極之價值以及應用性，亦使得數據具有可信度以及說服力。另外根據文獻提供的資訊，磷酸緩衝溶液的 pH 值本部分的研究內容選定為中性環境 pH 7.0 [64]。

Table 4 不同修飾圈數偵測 $20 \mu\text{M}$ 雌二醇電極間差異度。

deposition cycle	RSD (%)
40	11.7
50	6.7
60	4.5
70	4.4
80	8.0

$N = 3$

3.4.2 奈米白金電極最佳修飾圈數電活性表面積

對於最佳修飾圈數 70 圈奈米白金修飾電極上的白金表面積必需進一步做探討，如 **Fig. 25** 所示，於 $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ 中進行循環伏安法掃描，並且可

從循環伏安圖上發現其白金吸附跟脫離氫的訊號位於 $+0.2\sim -0.3$ V 電位區間，因此根據文獻所提供的計算方法 [63]，以此區間的面積積分數值(μC)除以理論電量值 ($210 \mu\text{C cm}^2$) 即可以得其表面積 (cm^2)，本部份實驗所計算出來的帶電量 (Q_H) 為 $63.3 \mu\text{C}$ 、電活性表面積 (A_r) 為 0.3 cm^2 ，並且對於不同三隻電極表面積值計算出其 RSD 值為 9.1%，可說其不同修飾電極之再現性頗高，並且與第一部分的奈米白金修飾圈數為 80 圈電活性表面積數值 (0.6 cm^2) 比較，由兩部份實驗結果可證明修飾電極修飾圈數提升，其表面積確實亦隨之變大。

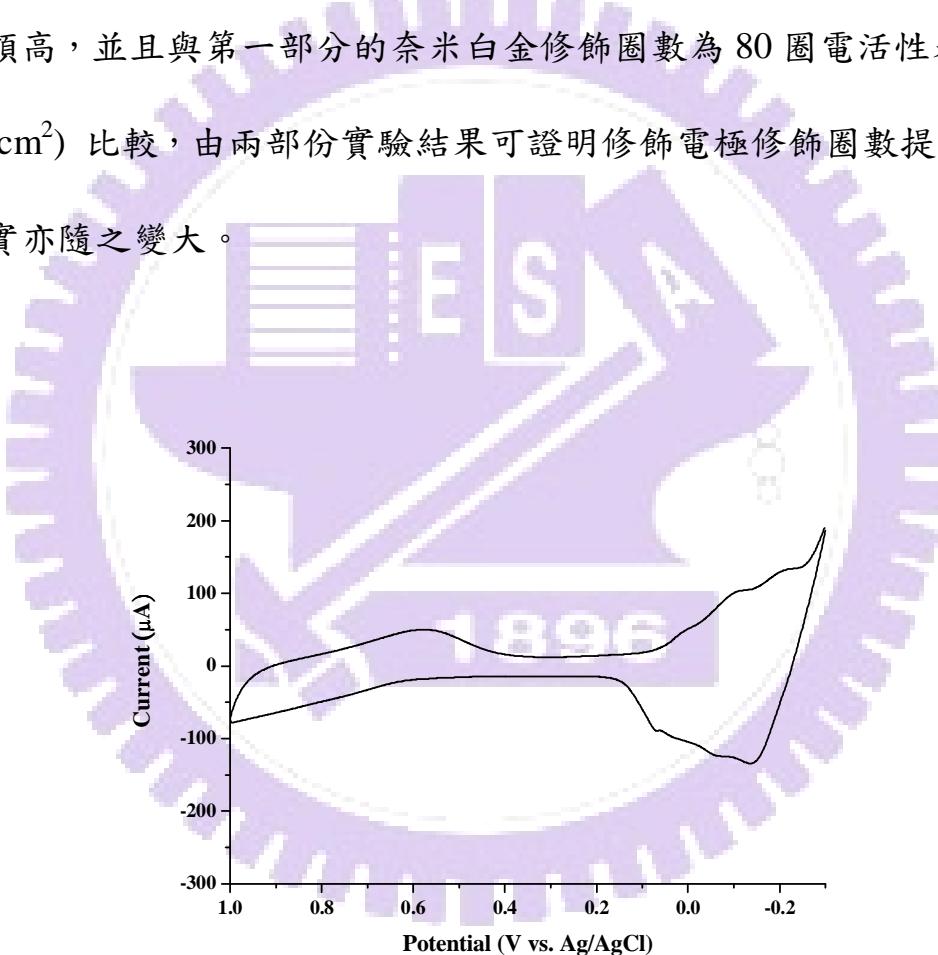


Fig. 25 最佳修飾圈數的電活性面積。以循環伏安法修飾 70 圈的奈米白金修飾電極掃描 $0.5 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ，掃描範圍為 $+1.0 \sim -0.3$ V，掃描速率 50 mVs^{-1} 。

3.4.3 安培法電位探討

Fig. 26 為以安培法定不同電位偵測 $10 \mu\text{M}$ 雌二醇的數據，所選擇電位範圍為循環伏安圖上雌二醇之氧化訊號範圍 $+0.6 \text{ V} \sim +1.0 \text{ V}$ ，基於不同電極間差異性不大的因素，因此本部份的實驗皆以同一隻奈米白金修飾電極分別偵測同濃度雌二醇氧化電流三次算其平均值做為 **Table 5** 之電流數值，從 **Table 5** 中電流數值最高者為偵測電位 $+0.6 \text{ V}$ ，另外當偵測電壓為 $+0.2 \text{ V}$ 時其電流值為最小，但在 **Fig. 22** 的 CV 圖卻觀察到於 $+0.3 \text{ V}$ 的氧化電流值大於在 $+0.7 \text{ V}$ 的電流，根據文獻所提供的訊息於 $+0.35 \text{ V}$ 會出現一個 pre-wave signal，所謂的 pre-wave signal 為當分析物以吸附形式接觸電極進行氧化還原反應時，低於分析物之氧化還原電位即多分出一個訊號[71]，而文獻之 pre-wave signal 即為奈米白金吸附雌二醇之訊號，往正電位掃瞄奈米白金電極即先吸附雌二醇，再在約 $+0.7 \text{ V}$ 處氧化，因此 $+0.7 \text{ V}$ 為雌二醇主要氧化訊號，推測本實驗電位為 $+0.3 \text{ V}$ 時所觀察到的訊號為文獻中所提及的 pre-wave signal，並且與 **Fig. 26** 的實驗結果符合，安培法所偵測到的最大氧化訊號位於 $+0.6 \text{ V}$ ，因此雌二醇的主要氧化訊號為 **Fig. 22** 中所呈現 $+0.7 \text{ V}$ 附近之訊號，數據結果與文獻提供的現象有所吻合[52]，電位於 $+0.6 \text{ V}$ 時之氧化電流值最大，其靈敏度亦隨之提升，因此針對偵測電流靈敏度大小選擇 $+0.6 \text{ V}$ 為最佳化電位，另外本部分安培法最佳電位與 CV 圖上的

電位有所差別，推測為使用較為靈敏的安培法以及本研究具電催化雌二醇的奈米白金修飾電極，使得原本 CV 圖上之訊號於使用安培法偵測時往負電位偏移，CV 之最大訊號處偏移至 +0.6 V 即為安培法之最大電流處，本研究選擇偵測氧化電流最大值之 +0.6 V 為偵測電位最佳條件。

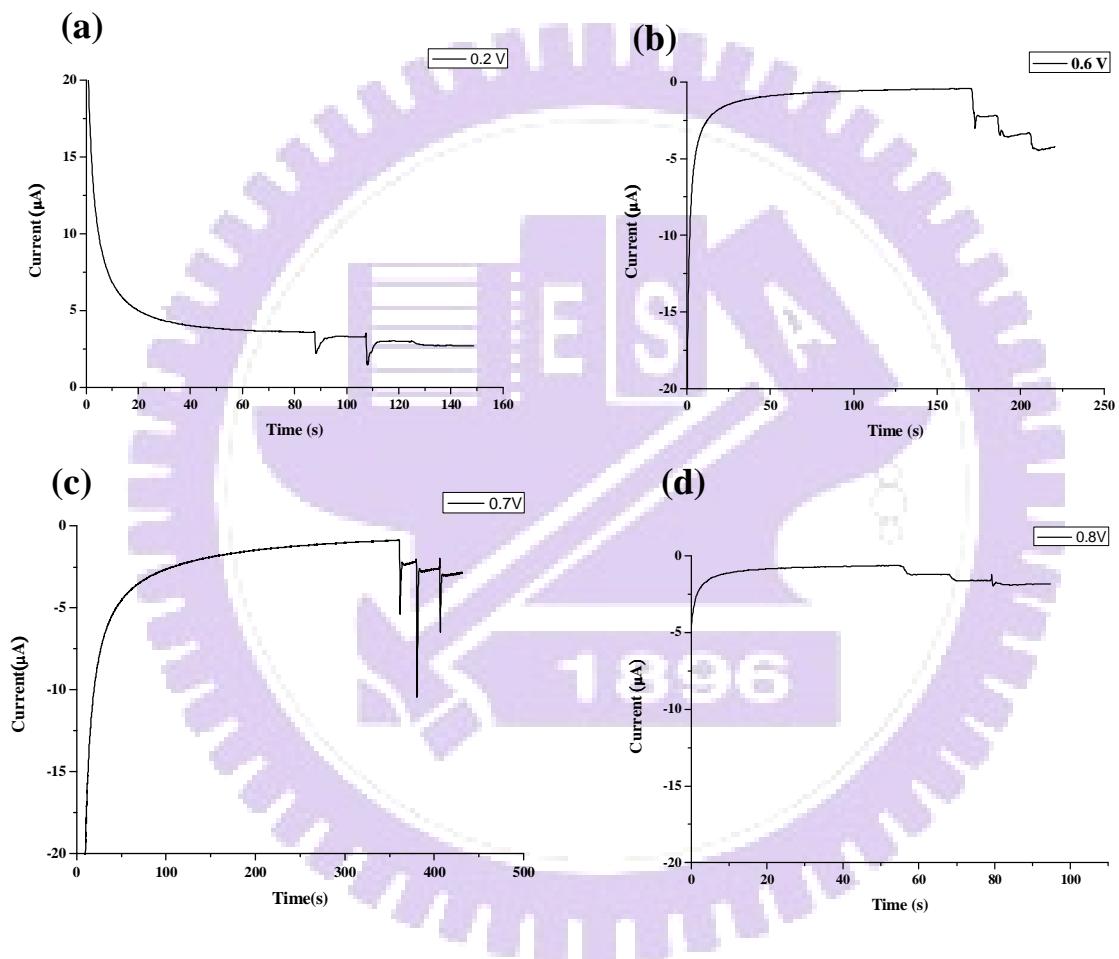


Fig. 26 不同偵測電位對於偵測雌二醇之影響。不同偵測電位偵測 $10 \mu\text{M}$ estradiol 在磷酸緩衝溶液 (pH 7.0) 的安培法圖，電壓分別為：(a) +0.2，(b) +0.6，(c) +0.7，(d) +0.8 V。

Table 5 不同電位偵測 $10 \mu\text{M}$ 雌二醇的電流統計表。

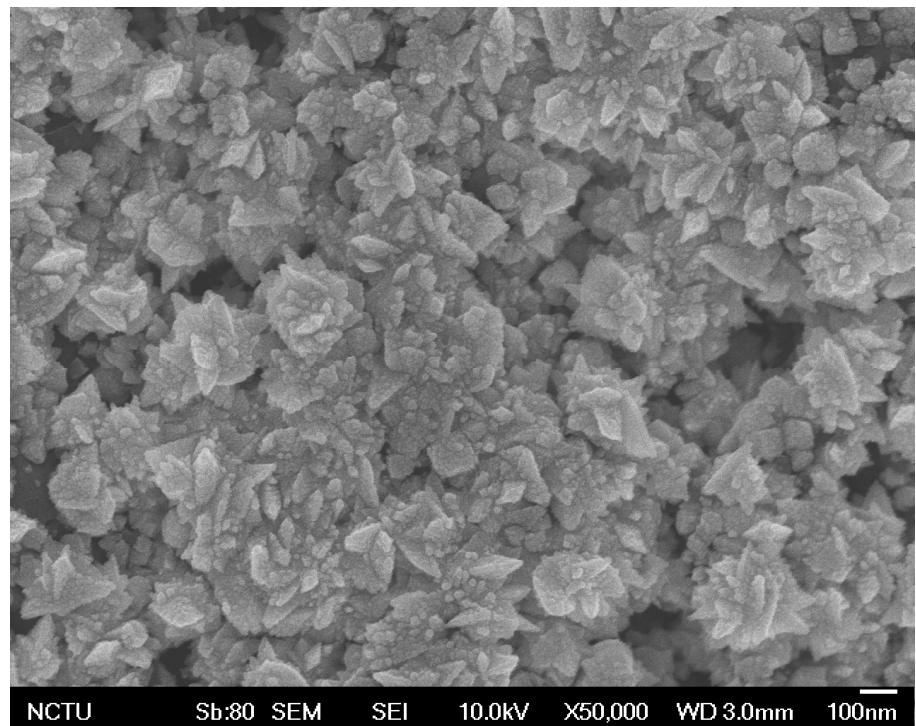
E (V)	I (μA)
0.2	0.296
0.6	1.812
0.7	0.965
0.8	0.581

$N = 3$

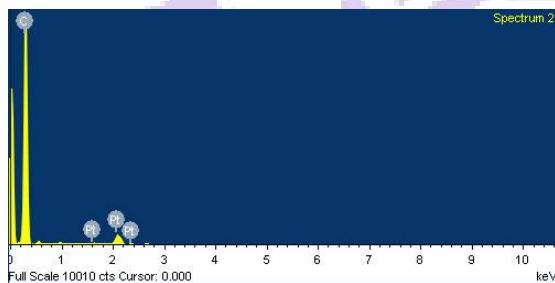
3.4.4 最佳修飾圈數的 SEM 以及 EDX 圖

Fig. 27 為於碳墨上以循環伏安法修飾 70 圈之 SEM 以及 EDX 圖，白金重量比重從 12.32% 增加為 86.36%，因此藉由電子束偵測碳墨以及白金區塊之元素分析比重確認較為白色的區塊確實為白金，並且再次驗證以循環伏安法掃描沉積法成功得將奈米白金修飾於碳墨電極，並且確認奈米白金於 SEM 圖上之位置。

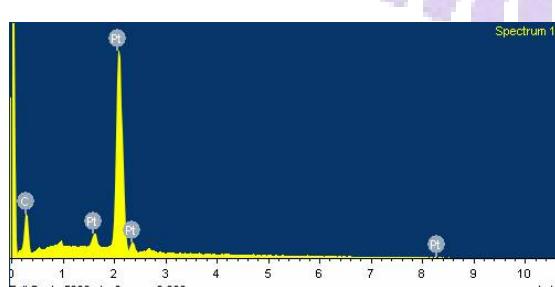
(a)



(b)



Element	Weight (%)	Atomic (%)
C	87.68	99.14
Pt	12.32	0.86
Totals		100

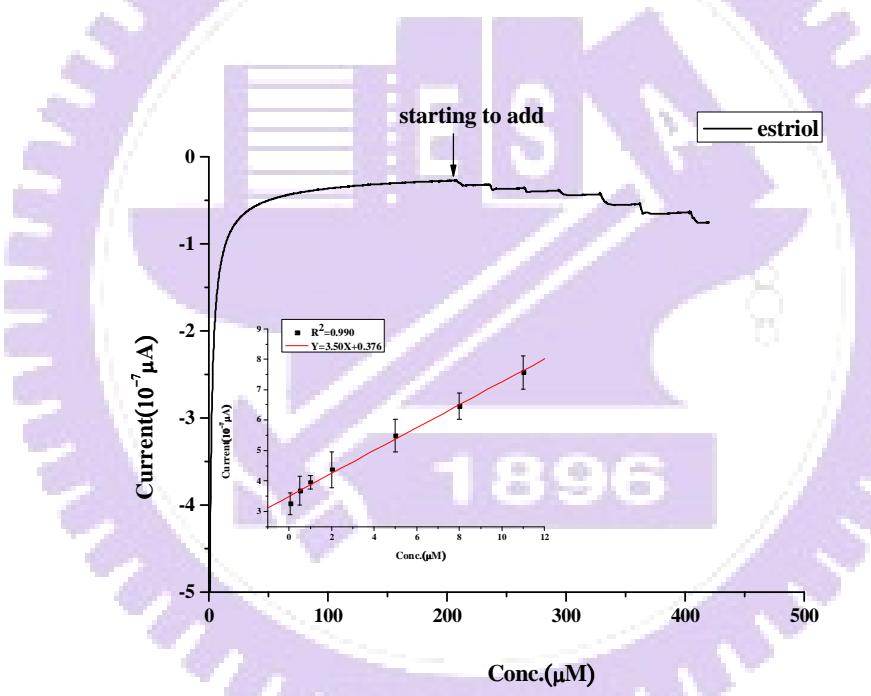
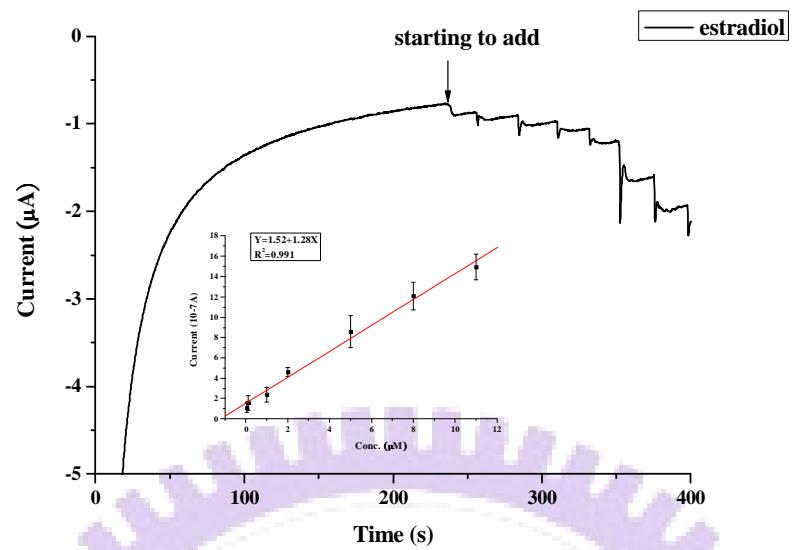


Element	Weight (%)	Atomic (%)
C	13.64	71.95
Pt	86.36	28.05
Totals		100

Fig. 27 奈米白金最佳修飾圈數的 (a) SEM 以及 (b) EDX 圖。

3.4.5 雌激素的校正曲線

使用最佳條件 (修飾圈數：70圈以及安培法的偵測電壓 +0.6 V)，雌二醇校正曲線其濃度線性範圍為 $0.05 \sim 11 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.991$ ，偵測極限為 2.1 nM ($3\sigma/m$ ， σ ：STEVD， m ：slope)，雌素酮所得到校正曲線其濃度線性範圍為 $0.05 \sim 9 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.993$ ，偵測極限為 4.9 nM ($3\sigma/m$ ， σ ：STEVD， m ：slope)，雌三酮作出來的校正曲線其濃度線性範圍為 $0.05 \sim 11 \mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.990$ ，偵測極限為 5.0 nM ($3\sigma/m$ ， σ ：STEVD， m ：slope)，如Fig. 28所示，與以碳為基材的電極上修飾奈米白金的文獻偵測三種雌激素的線性範圍 (E1： $2.0 \times 10^{-6} \sim 5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ ，E2： $5.0 \times 10^{-7} \sim 1.5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ，E3： $1.0 \times 10^{-6} \sim 7.5 \times 10^{-5} \text{ M}$)比較 [52]，本研究實驗結果表現較為良好。若同皆為利用循環伏安法修飾奈米白金而言，文獻為於奈米碳管上以循環伏安法進行修飾白金 nanocluster，製備電極度層面本研究所使用碳墨為基底材料較為節省實驗時間，且不同於大多數免疫型感測器對於偵測雌二醇之先前文獻，本研究為文獻較少見的非免疫型感測器，其中本研究雌二醇校正曲線之最低濃度皆為同為非免疫型感測器文獻校正曲線之最低濃度低一個order，因此其效果較同用奈米白金修飾電極和電化學偵測方法的文獻優越，期望可以將此修飾電極應用於真實樣品。



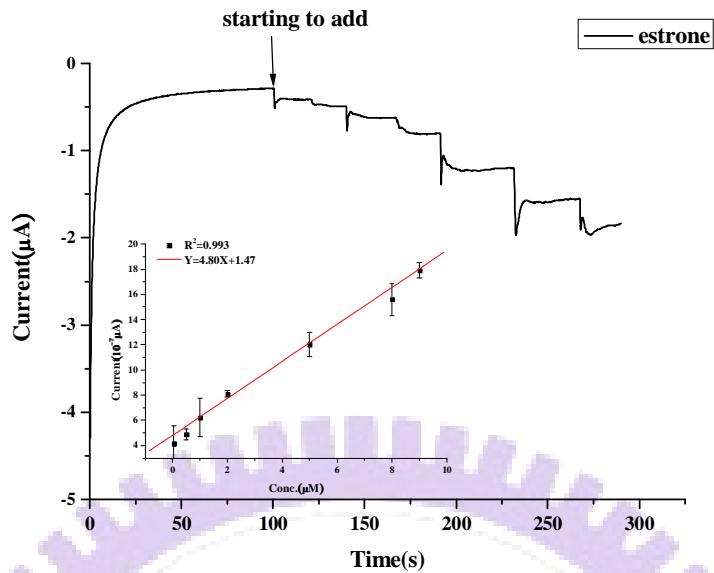
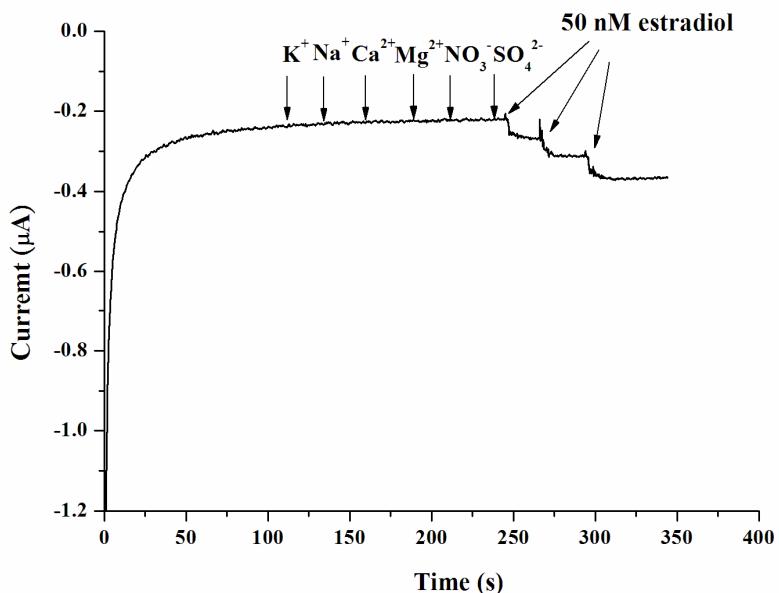


Fig. 28 偵測三種雌激素安培法圖以及校正曲線。定電位於 +0.6 V，奈米白金修飾電極修飾圈數 70 圈，0.1 M 磷酸緩衝溶液 (pH 7.0)。

3.4.6 雌二醇干擾物測試

Fig. 29 為探討水真實樣品中常含有干擾物之測試，其中基於第一部分研究真實樣品種類類似，因此本部分干擾測試仍著重於 Cl⁻離子為最主要干擾離子做進一步之探討，其現象與第一部份的結果一致，**Fig. 29 (a)** 部份這些離子皆未對於背景訊號基線造成電流值之影響，另外 **Fig. 29 (b)** 中 Cl⁻離子濃度為 5000 nM 時空白溶液之基線有往下變動，但於 180 秒時基線仍然回到起初基線之位置，因此本研究之奈米白金修飾電極對於 Cl⁻離子的訊號具有排除現象，進而達到選擇性偵測之成果。

(a)



(b)

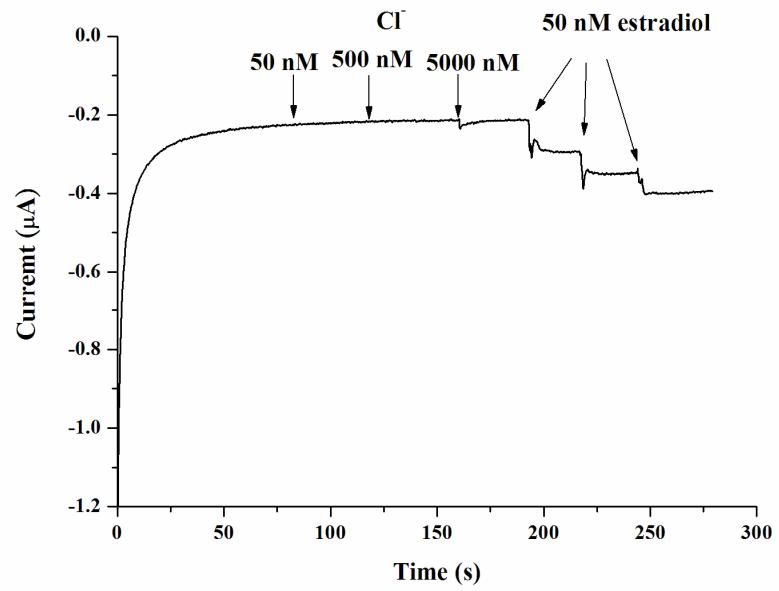
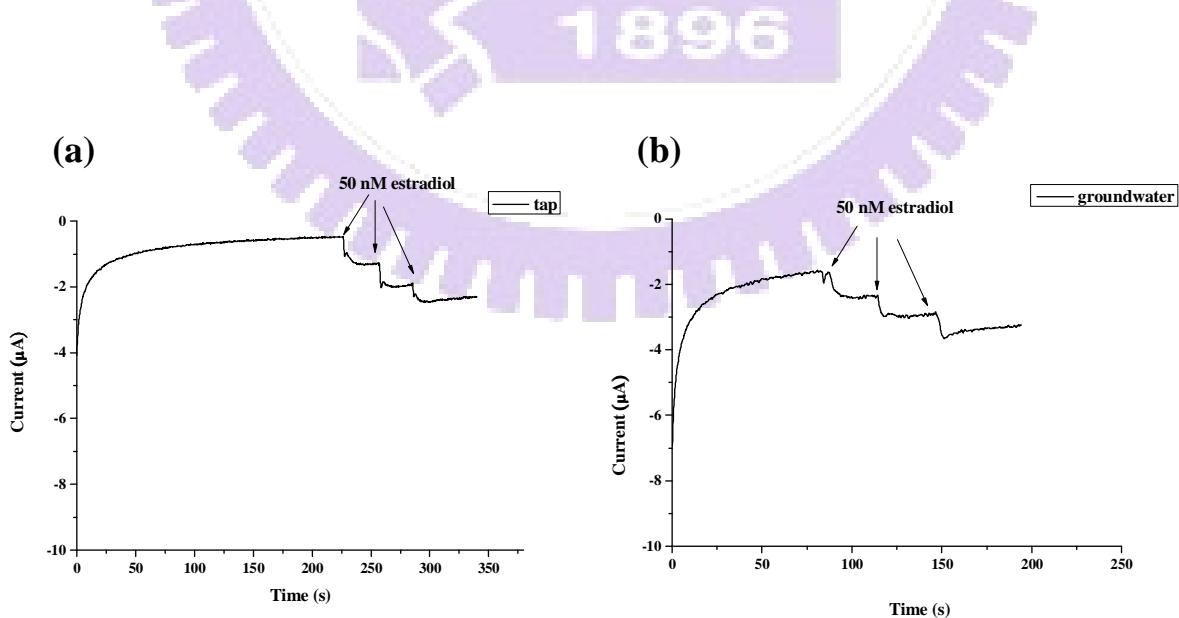


Fig. 29 真實樣品水源中常見的干擾物測試。先加入 (a) 500 nM K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} (b) 50、500、5000 nM Cl^- ，再連續添加 50 nM estradiol 三次。

3.4.7 三種添加雌二醇的水真實樣品

Fig. 30 為偵測真實樣品的安培圖，本研究所選用的真實樣品種類為文獻上所提供之 [61]，先前之文獻中常使用 HPLC 作為分離雌激素真實樣品並且定量方法，雖然 HPLC 確實為常見且有用的分析系統，但其缺點為分析時間過太長 [72]，所以本研究使用電化學偵測方法克服此項 HPLC 於分析上之缺點，然而主要天然雌激素有三種，以雌二醇生物作用程度較其他兩者強，**Table 6** 中雌二醇的回收率皆於 103.7% 以上，並且其 RSD 值為 9.6% 以內，其正偏差的原因推測為水源中共存許多可以被白金電極偵測到的離子，可能為這些未探討到的離子訊號干擾所產生之正偏差，藉由真實樣品定量結果證實本研究之奈米白金修飾電極對於偵測水中雌二醇含量具有應用價值。



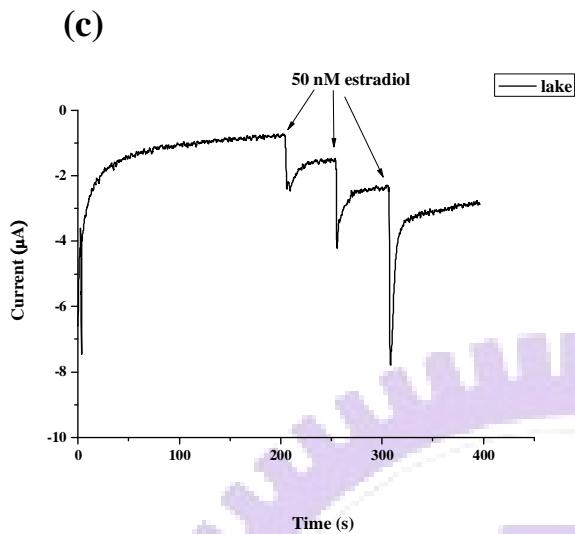


Fig. 30 三種水源真實樣品的安培圖。真實樣品 (a) 自來水 (b) 地下水 (c) 湖泊的水，連續添加三次濃度為 50 nM estradiol (E2) 的安培法圖譜。

Table 6 三種含有 50 nM 雌二醇真實樣品的回收率表。

Real sample	Recovery (%)	RSD (%)
Tap water	109.1	7.1
Groundwater	107.2	9.0
Lake	103.7	9.6

N=3

3.4.8 結論

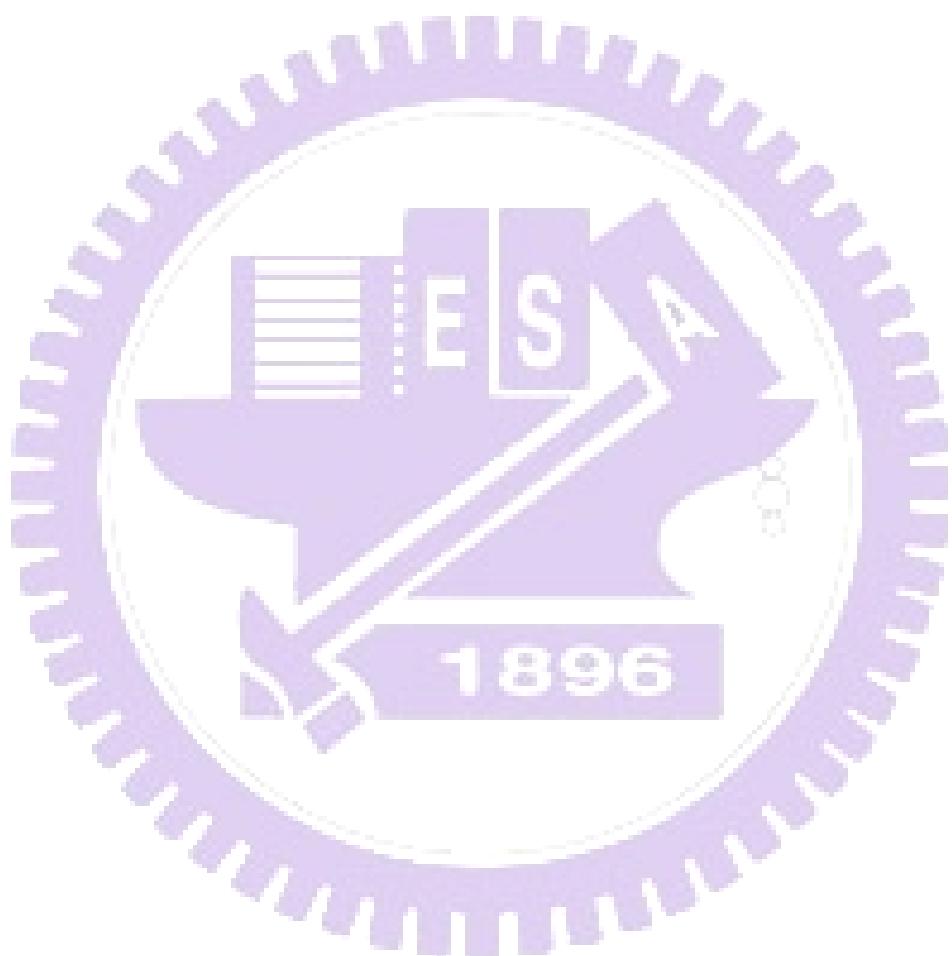
本部份研究成功得使用奈米白金修飾電極以及電化學偵測法安培法排除真實樣品中干擾離子訊號，為一種對於偵測較具影響力的雌二醇具有應用價值的方法，第二部分研究仍以循環伏安法來回掃描修飾的方式將奈

米白金修飾於碳墨電極表面，並且針對不同修飾圈數做電極間差異性的測試，其 RSD 值 (9.6%) 皆在可接受的範圍內，因此可說電極間的差異性頗小，且不同電極間具有再現性，那麼奈米白金修飾電極最佳的修飾圈數為 70 圈，其最佳奈米白金修飾圈數的表面積為 0.3 cm^2 ，將最佳修飾圈數為 70 圈奈米白金修飾電極以安培法定電位於 +0.6 V 偵測雌二醇以及雌三酮氧化訊號所做出來校正曲線性濃度範圍皆為 $0.05\text{--}11\text{ }\mu\text{M}$ ， $R^2 = 0.991$ ，雌二醇偵測極限為 2.1 nM ，雌三酮之偵測極限為 5.0 nM ($3\sigma/m$ ， σ ：STEVD， m ：slope)， $R^2 = 0.990$ ，雌素酮之校正曲線性濃度範圍皆為 $0.05\text{--}9\text{ }\mu\text{M}$ 偵測極限為 4.9 nM ($3\sigma/m$ ， σ ：STEVD， m ：slope)， $R^2 = 0.993$ ，另外對於干擾物測試其中對於主要干擾離子氯離子做測試，其實驗結果顯示本研究奈米白金修飾電極對於偵測雌二醇而言具有排除干擾物訊號，並且選擇性偵測雌二醇氧化之訊號，並且對於三種真實樣品水源偵測雌二醇準確度頗高，其回收率高於 103.7%，RSD 值亦於 9.6 以下，因此本部份研究奈米白金修飾電極對於偵測雌二醇在應用上具有頗高準確度，因而可提供偵測時間較短且儀器成本較為廉價的偵測方法。

3.5 未來展望

本研究為於碳墨電極上修飾奈米白金偵測砷離子以及雌二醇之研究，於偵測雌二醇部份過去文獻中有提及以血清作為真實樣品，本研究未來可

從血清為真實樣品作為研究方向起點，並且對於排除常見干擾物維生素 C 以及尿酸訊號更為其研究之主要重點，使得奈米白金修飾電極成為能夠定量血清中雌二醇的生物感測器，並且期望能夠應用於日常生活中。



四、參考文獻

- [1] Bard, A. J., *electrochemical methods : fundamentals and applications*, 2nd Edition, New York, John Wiley & Sons, 2001.
-
- [2] Wang J., *Analytical Electrochemistry*, 2nd Edition, New York, 2000.
- [3] Zhou, Y. -G.; Yang, S.; Qian, Q. -Y.; Xia, X. -H., “Gold nanoparticles integrated in a nanotube array for electrochemical detection of glucose” *Electrochem. Commun.* 2009, 11, 216-219.
- [4] Liu, X., Wong, K.Y. D., “Electrodeposition of gold nanoparticles on indium/tin oxide electrode for fabrication of a disposable hydrogen peroxide biosensor” *Talanta* 2009, 77, 1454-1459.
- [5] García, C. D., Henry, S. C., “Flow Injection Analysis of an Ultratrace Amount of Arsenite Using a Prussian Blue-Modified Screen-Printed Electrode” *Anal. Chem.* 2003, 75, 4778-4783.
- [6] Privett, J. B., Shin, H. J.; Schoenfisch, H. M., “Gold Nanoelectrode Ensembles for the Simultaneous Electrochemical Detection of Ultratrace Arsenic, Mercury, and Copper” *Anal. Chem.* 2008, 80, 4836–4844.
- [7] Kovarik, M. L., Torrence, N. J., Spence, D. M., Martin, R. S., “Fabrication of carbon microelectrodes with a micromolding technique and their use in microchip-based flow analyses” *Analyst* 2004, 129, 400-405.
- [8] Horng, R.-H., Han, P., Chen, H.-Y., Lin, K.-W., Tsai, T.-M., Zen, J.-M., “PMMA-based capillary electrophoresis electrochemical detection microchip Fabrication” *J. Micromech. Microeng.* 2005, 15, 6-10.
- [9] Gawron, A. J., Martin, R. S., Lunte, S. M., “Fabrication and evaluation of a carbon-based dual-electrode detector for poly(dimethylsiloxane)electrophoresis chips” *Electrophoresis* 2001, 22,

242-248.

- [10] Kovarik, M. L., Li, M. W., Martin, R. S., “Integration of a carbon microelectrode with a microfabricated palladium decoupler for use in microchip capillary electrophoresis/electrochemistry” *Electrophoresis* 2005, 26, 202-210.
- [11] Wang, J., Chen, Gang., “Microchip capillary electrophoresis with electrochemical detector for fast measurements of aromatic amino acids” *Talanta* 2003, 60, 1239-1244.
- [12] Adams, R., “Gold Nanoelectrode Ensembles for the Simultaneous Electrochemical Detection of Ultratrace Arsenic, Mercury, and Copper” *Anal. Chem.* 2008, 80, 4836-4844.
- [13] Wang, W., Wang, Q., Zhang, Z., “Hydrothermal synthesis of one-dimensional assemblies of Pt nanoparticles and their sensor application for simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid” *J. Nanopart. Res.* 2008, 10, 255-262.
- [14] Hossain, Md. M., Islam, Md. M., Ferdousi, S., Okajima, T., Ohsaka, T., “Electrocatalytic Oxidation of Glucose at Carbon Nanotubes Supported PtRu Nanoparticles and Its Detection” *Electroanalysis* 2008, 20, 2212-2216.
- [15] Bergamaski, K., Pinheiro, L. N. A., Teixeira-Neto, E., Nart, F. C., “Nanoparticle Size Effects on Methanol Electrochemical Oxidation on Carbon Supported Platinum Catalysts” *J. Phys. Chem. B* 2006, 110, 19271-19279.
- [16] Shimazaki, Y., Kobayashi, Y., Sugimasa, M., Yamada, S., Itabashi, T., Miwa, T., Konno, M., “Preparation and characterization of long-lived anode

-
- catalyst for direct methanol fuel cells" *J. Colloid Interface Sci.* 2006, 300, 253-258.
- [17] Ye, J. -S., Cui, H. -F., Wen, Y., Zhang, W. D., Xu, G. Q., Sheu, F. -S., "Electrodeposition and electrocatalytic properties of platinum nanoparticles on multi-walled carbon nanotubes: effect of the deposition conditions" *Microchim Acta* 2007, 158, 327-334.
- [18] Lin, X., Li, Y., "Monolayer covalent modification of 5-hydroxytryptophan on glassy carbon electrodes for simultaneous determination of uric acid and ascorbic acid" *Electrochimica Acta* 2006, 51, 5794-5801.
- [19] Shaidarova, L. G., Budnikov, G. K., "Electrochemical deposition of platinum nanoparticles on different carbon supports and conducting polymers" *J. Anal. Chem.* 2008, 63, 922-942.
- [20] Zen, J. -M., Chung, H. -H., Ilangovan, G. A., Kumar, S., "Electrochemical impedance study and sensitive voltammetric determination of Pb(II) at electrochemically activated glassy carbon electrodes" *Analyst* 2000, 125, 1139-1146.
- [21] Mano, N., Thienpont, A., Kuhn, A., "Amperometric determination of ascorbic acid at a ferricyanide-doped Tosflex-modified electrode" *Electrochim. Commun.*, 2001, 3, 585-589.
- [22] Zen, J. -M., Tsai, D. -M., Kumar, A. S., Dharuman, V., "Amperometric determination of ascorbic acid at a ferricyanide-doped Tosflex-modified electrode" *Electrochim. Commun.* 2000, 2, 782-785.
- [23] Choi, J. Y., Seo, K., Cho, S. R., Oh, J. R., "Electrochemical sensors for the detection of lead and other toxic heavy metals : the next generation of

-
- personal exposure biomonitoring” *Anal. Chim. Acta* 2001, 443, 241-247.
- [24] Zen, J.-M.; Kumar, A. S.; Tsai, D.-M. “Recent Updates of Chemically Modified Electrodes in Analytical Chemistry” *Electroanalysis* 2003, 15, 1073-1087.
- [25] 馬振基，「奈米材料科技原理與應用」，全華科技圖書股份有限公司，2005 年。
- [26] Petrov, Yu.I., *Klastery i malye chastitsy* (Clusters and Small Particles), Moscow : Nauka, 1986.
- [27] Reyes-Salas, E.O., Dosal-Gomez, M.A., Barcelo-Quintal, M.H., Manzanilla-Cano, J.A., “SIMULTANEOUS DETERMINATION OF NICKEL, COBALT, ANTIMONY, AND ARSENIC IN AN AQUEOUS SAMPLE BY DIFFERENTIAL PULSE POLAROGRAPHY” *Anal. Lett.* 2002, 35, 123-133.
- [28] Duarte, M.M.E., Pilla, A.S., Sieben, J.M., Mayer, C.E. , “Platinum particles electrodeposition on carbon substrates” *Electrochem. Commun.* 2006, 8, 159-164.
- [29] Hrapovic, S, Liu, Y., Luong, J. H. T., “Reusable Platinum Nanoparticle Modified Boron Doped Diamond Microelectrodes for Oxidative Determination of Arsenite” *Anal. Chem.* 2007, 79, 500-507.
- [30] Dai, X., Compton, R. G., “Detection of As(III) via oxidation to As(V) using platinum nanoparticle modified glassy carbon electrodes : arsenic detection without interference from copper” *Analyst*, 2006, 131, 516-521.
- [31] Xu, H., Zeng, L., Xing, S., Shi, G.Y., Chen, J., Xian, Y.; Jin, L., “Highly ordered platinum-nanotube arrays for oxidative determination of trace arsenic(III)” *Electrochem. Commun.* 2008, 10, 1893-1896.

-
- [32] Xu, H., Zeng, L., Xing, S., Xian, Y., Jin, L., “Microwave-irradiated synthesized platinum nanoparticles/carbon nanotubes for oxidative determination of trace arsenic(III)” *Electrochem. Commun.* 2008, 10, 551-554.
- [33] Male, K. B., Hrapovic, S., Santini, Joanne, M., Luong, J. H. T., “Biosensor for Arsenite Using Arsenite Oxidase and Multiwalled Carbon Nanotube Modified Electrodes” *Anal. Chem.* 2007, 79, 7831-7837.
- [34] Cabelka, T. D., Austin, D. S., Johnson, D. C., “Electrocatalytic oxidation of As(III)” *J. Electrochem. Soc.* 1984, 1595-1602.
- [35] Williams, D. G., Johnson, D. C., “Pulsed voltammetric detection of arsenic(III) at platinum electrodes in acidic media” *Anal. Chem.* 1992, 64, 1785-1789.
- [36] Baranowska, I., Markowski, P., Gerle, A., Baranowski, J., “Determination of selected drugs in human urine by differential pulse voltammetry technique” *Bioelectrochem.* 2008, 73, 5-10.
- [37] Selvaraju, T., Ramaraj, R., *J. Electroanal. Chem.* 2005, 585, 290-300.
- [38] Rong, L. -Q., Yang, C., Qian, Q. -Y., Xia, X. -H., “Study of the nonenzymatic glucose sensor based on highly dispersed Pt nanoparticles supported on carbon nanotubes” *Talanta* 2007, 72, 819-824.
- [39] Yugeswaran, U., Thiagarajan, S., Chen, S. M., “Nanocomposite of functionalized multiwall carbon nanotubes with nafion, nano platinum, and nano gold biosensing film for simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid” *Anal. Biochem.* 2007, 365, 122-131.
- [40] Thiagarajan, S., Chen, S. M., “Preparation and characterization of PtAu hybrid film modified electrodes and their use in simultaneous determination

-
- of dopamine, ascorbic acid and uric acid” *Talanta* 2007, 74, 212-222.
- [41] Tamate, K., Charleton, M., Gosling, JP., Egan, D., Ishikawa, M. F. PF., “Direct colorimetric monoclonal antibody enzyme immunoassay for estradiol-17b in saliva” *Clin Chem.* 1997, 43, 1159-1164.
- [42] Dancoine, F., Couplet, G., Buvat, J., Guittard, C., Marcolin, G., Fourlinnie, J. -C., “Analytical and clinical evaluation of the Immulite estradiol assay in serum from patients undergoing in vitro fertilization : estradiol increase in mature follicles” *Clin. Chem.* 1997, 43, 1165-1171.
- [43] De Boever, J., Mares, A., Stans, G., Bosmans, E., Kohen, F., “Comparison of chemiluminescent and chromogenic substrates of alkaline phosphatase in a direct immunoassay for plasma estradiol” *Anal. Chim. Acta* 1995, 303, 143-148.
- [44] Majima, K., Fukui, T., Yuan, J., Wang, G., Matsumoto, K., “Nanocomposite of functionalized multiwall carbon nanotubes with nafion, nano platinum, and nano gold biosensing film for simultaneous determination of ascorbic acid, epinephrine, and uric acid” *Anal. Sci.* 2002, 18, 869-874.
- [45] Novakova, L., Solich, P., Jan Šicha, L. M., “HPLC determination of estradiol, its degradation product, and preservatives in new topical formulation Estrogel HBF” *Anal. Bioanal. Chem.* 2004, 379, 781-787.
- [46] Wang, S., Huang, W., Fang, G., He, J., Zhang, Y., “On-line coupling of solid-phase extraction to high-performance liquid chromatography for determination of estrogens in environment” *Anal. Chim. Acta* 2008, 606, 194-201.
- [47] Murugananthan, M., Yoshihara, S., Rakuma, T., Uehara, N., Shirakashi, T.,

-
- “Electrochemical degradation of 17 β -estradiol (E2) at boron-doped diamond (Si/BDD) thin film electrode” *Electrochimica Acta* 2007, 52, 3242-3249.
- [48] Volpe, G., Fares, G., delli Quadri, F., Draisici, R., Ferretti, G., Marchiafava, C., Moscone, D., Palleschi, G., “A disposable immunosensor for detection of 17 β -estradiol in non-extracted bovine serum” *Anal. Chim. Acta* 2006, 572, 11-16.
- [49] Vega, D., Agüi, L., González-Cortés, A., Yáñez-Sedeño, P., Pingarrón, J.M., “Electrochemical detection of phenolic estrogenic compounds at carbon nanotube-modified electrodes” *Talanta* 2007, 71, 1031-1038.
- [50] Sun, Y., Wu, K., Hu, S., “Fabrication of a Multi-wall Carbon Nanotubes Modified Glassy Carbon Electrode and its Catalytic Effect on the Oxidation of Estradiol, Estrone and Estriol” *Microchim. Acta* 2003, 142, 49-53.
- [51] Batista, I. V., Lanza, M. R. V., Dias, I. L. T., Tanaka, S. M. C., Tanaka, N. A. A., Sotomayor, M. D. P. T., “Electrochemical sensor highly selective for estradiol valerate determination based on a modified carbon paste with iron tetrapyridinoporphyrazine” *Analyst* 2008, 133, 1692-1699.
- [52] Lin, X., Li, Y., “A sensitive determination of estrogens with a Pt nano-clusters/multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode” *Biosens. Bioelectr.* 2006, 22, 253-259.
- [53] Abernathy, C.; Calderson, R. L.; Chappel, W. R. *Arsenic exposure and health effects*; Elsevier Science Ltd. : London, 1999.
- [54] Feeney, R., Kounaves, S. P., *Talanta* 2002, 58, 23-31.
- [55] <http://www.who.int/inf-fs/en/fact210.html>.
- [56] battelle.org/environment/pdfs/arsenic-detection.pdf (superior aescnic

detection capabilities).

- [57] Rashid, M. H., Mridha, A. K. Arsenic contamination in groundwater in Bangladesh. 24th WEDC Conference, Sanitation and Water for All, Islamabad, Pakistan. 1998, pp 166-165.
- [58] Chatterjee, A., Das, D., Mandal, B. K., Chowhury, T. R., Yang, M. H., Chiu, K. H., Shieh, G. M., Wai, C. M., "Arsenic Species in Groundwater of the Blackfoot Disease Area, Taiwan" *Environ. Sci. Technol.* 1994, 28, 877-881.
- [59] Xiao, L., Wildgoose, G. G. Compton, R. G., "Sensitive electrochemical detection of arsenic (III) using gold nanoparticle modified carbon nanotubes via anodic stripping voltammetry" *analytica chimica acta* 2008, 620, 44-49.
- [60] Cavicchioli, A., La-Scalea, M. A., Gutz, I. G. R., "Analysis and Speciation of Traces of Arsenic in Environmental, Food and Industrial Samples by Voltammetry : a Review" *Electroanalysis* 2004, 16, 697-710.
- [61] C. Desbrow, E.J. Routledge, G.C. Brighty, J.P. Sumper, M. Waldock, "Identification of estrogenic chemicals in STW effluent .Chemical fractionation and in vitro biological screening" *Environ. Sci. Technol.*, 1998, 32, 1549-1558.
- [62] Butler, D., Guilbault, G. G., "Disposable amperometric immunosensor for the detection of 17- β estradiol using screen-printed electrodes" *Sensors and Actuators B* 2006, 113, 692–699.
- [63] Ye, J. S., Cui, H. F., Wen, Y. W., Zhang, D., Xu, G. Q., Sheu, F. S., "Electrodeposition of Platinum Nanoparticles on Multi-Walled Carbon Nanotubes for Electrocatalytic Oxidation of Methanol" *Microchim Acta*

-
- 2006, 152, 267-275.
- [64] Narayanan, R., El-Sayed , M. A., “Nanoparticle Size Effects on Methanol Electrochemical Oxidation on Carbon Supported Platinum Catalysts” *J. Phys. Chem. B* 2003, 107, 12416-12424.
- [65] Domínguez-Domínguez, S., Arias-Pardilla, J., Berenguer-Murcia, A., Diego C., “Electrochemical deposition of platinum nanoparticles on different carbon supports and conducting polymers” *J Appl Electrochem* 2008, 38, 259-268.
- [66] Cabelka, T. D., Austin, D. S., Johnson, D. C., “Electrocatalytic oxidation of As(III)” *J. Electrochem. Soc.* 1984, 131, 1590-1602.
- [67] Day, T. M., Unwin, P. R., Macpherson, J. V., “Factors Controlling the Electrodeposition of Metal Nanoparticles on Pristine Single Walled Carbon Nanotubes” *Nano letter* 2007, 7, 51-57.
- [68] Chatterjee, A., “Determination of total cationic and total anionic arsenic species in oyster tissue using microwave-assisted extraction followed by HPLC-ICP-MS” *Talanta* 2000, 51, 303-314.
- [69] Zen, J. -M., Chen, P.-Y., Kumar, A. S., “Flow Injection Analysis of an Ultratrace Amount of Arsenite Using a Prussian Blue-Modified Screen-Printed Electrode” *Anal. Chem.* 2003, 75, 6017-6022.
- [70] Majid, E., Hrapovic, S., Liu, Y., Male, K. B., Luong, J. H. T., “Electrochemical Determination of Arsenite Using a Gold Nanoparticle Modified Glassy Carbon Electrode and Flow Analysis” *Anal. Chem.* 2006, 78, 762-769.
- [71] Wopschall , R. Shah, I., “Effects of Adsorption of Electroactive Species in stationary electrode polarography.” *Anal. Chem.* 1967, 39, 1514-1527.
- [72] Penalver, A., Pocurull, E., Borrull, F., Marce, R. M., “Method based on

solid-phase microextraction–high-performance liquid chromatography with with UV and electrochemical detection to determine estrogenic compounds in water samples" *J. Chromatogr. A* 2002, 964, 153–160.

