

第一章、緒論

1-1 碳六十化學

1-1-1 碳六十的發現

在 1980 年以前，大多數人認為碳只有三維結構的鑽石及二維結構的石墨。直到 1985 年 Kroto^{[1][3]} 等人為了研究星際塵埃的物性，在一項雷射汽化石墨的實驗中發現一種在常溫常壓下極為穩定的新結構。其結構是由 60 個碳原子組成，直徑大約 7 埃的 32 面體，其中 20 面為正六邊形、12 面為正五邊形，而 60 個碳原子就分別座落在 60 個頂點上。此種結構猶如一顆縮小的足球。此種結構被稱為 Buckminster fullerene，或簡稱為 Buckyball。但是因為產量過低，粉末不易取得，使得此種新穎材料的研究發展進行得相當緩慢。直到 1990 年，Kratschmer^[1] 等人發現了利用電弧放電汽化石墨棒的方式來合成，並以苯溶液來萃取碳六十粉末。這方法不僅提高碳六十產量，而且比雷射汽化石墨製備來的容易，自此引來一場科學界對碳六十物性與應用的研究熱潮。

1-1-2 碳六十的基本性質

C_{60} 是由 60 個碳原子形成的籠狀結構，分子高度對稱，其結構如圖 1-1 所示，是由 20 個六角形和 12 個五角形所圍成，是目前對稱性最高的球狀分子，也是除了石墨及金剛石外，第三個被發現的碳同素異形體(allotropic form)。其性質歸納如下：

- (1) C_{60} 分子的直徑為 7.1 埃，密度為 1.68 克/毫升，在室溫下呈紫紅色固態分子晶體，它和鑽石一樣不具導電性，但在 18K 時具有超導性。
- (2) C_{60} 具有近似石墨的 sp^2 混成軌域，每個碳原子僅與相鄰的三個碳原子鍵結，具有三個 σ 鍵和一個 π 鍵。其碳鍵有兩種長度，分別為

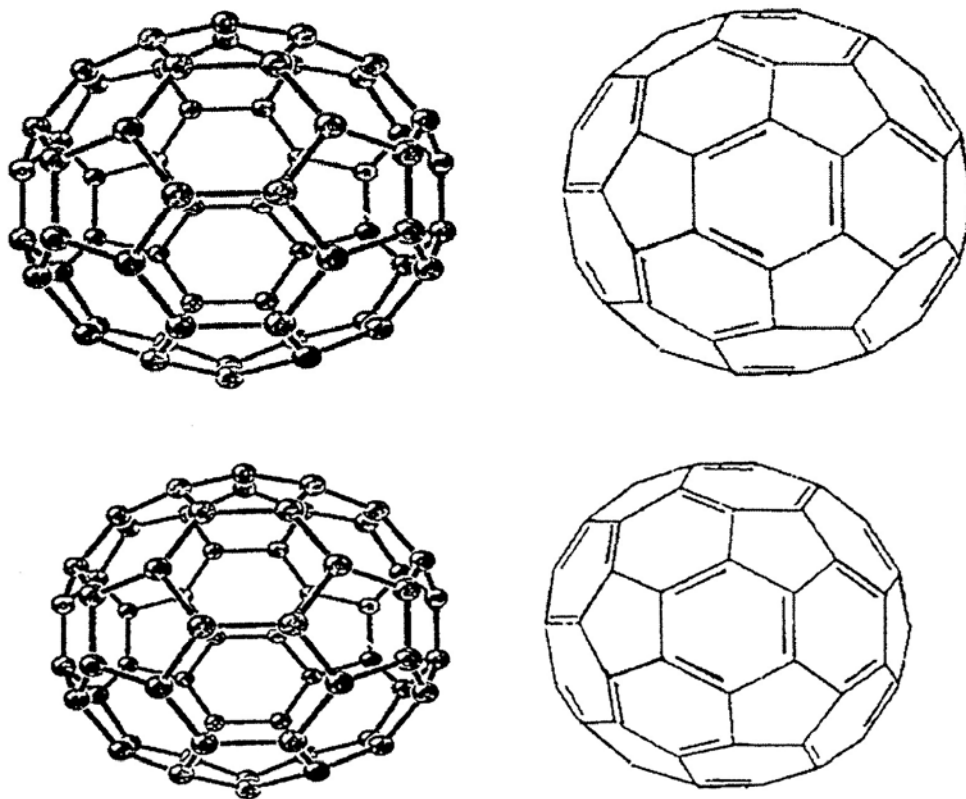


圖 1-1 碳六十之三十個雙鍵較定域部位

Fig. 1-1 Thirty double bonds localized positions of C₆₀

- (4) C₆₀的光譜特性^[5]說明，如表 1-1。
- (5) C₆₀於有機溶劑中的溶解度^[6]，如表 1-2。在一般常用的溶劑中，以甲苯的溶解度較佳(2.8 mg/mL)。另外，C₆₀在不同溶劑中的溶解度也會受溫度影響。
- (6) C₆₀分子內含有 30 個 π 鍵，可引發加成反應，故又稱為「自由基海綿」。其觀測到的反應性質計有：環加成反應(親電子性、親核性、自由基)、氧化反應、還原反應及鹵化反應等。其常見反應如圖 1-2

表 1-1 碳六十光谱性^[5]

Table 1-1 The spectrum character of C60^[5]

Vibrational Frequency		
Abs(obs)	Em(obs)	calc,cm ⁻¹
528	527.1	472
577	570.3	618
1183	1169.1	1119
1429	1406.9	1434

X-Ray Data	
r(c-c)=1.388 Å	six-six ring fusion
r(c-c)=1.432 Å	five-six ring fusion

NMR Data	
Chemical shift(benzene soln)	142.68ppm

Electronic/Spectroscopic Data	
Electron affinity	2.6-2.8 eV
Ionization energy	7.61(0.02 eV)
UV/vis bands	213,257,329,404(w),440- 670(brd)nm

表 1-2 碳六十在不同溶劑之溶解度^[6]

Table 1-2 The solubility of C60 in different solvent^[6]

Solvent	Solubility (mg / mL)	solvent	Solubility (mg / mL)
<i>Nonaromatic Hydrocarbons</i>		<i>Haloalkenes</i>	
pentane	0.005	1,2-dibromoethylene	1.84
n-hexane	0.043	tetrachloroethylene	1.20
octane	0.025	<i>Haloalkynes</i>	
isooctane	0.026	propargyl bromide	0.22
n-decane	0.071	<i>Aromatic Hydrocarbons</i>	
dodecane	0.091	benzene	1.70
trtradecane	0.126	toluene	2.80
cyclopentane	0.002	1,2-dimethylbenzene	8.70
cyclohexane	0.036	tetralin	16.00
decalins(mix)	4.6	fluorobenzene	0.59
cis-decalin	2.20	chlorobenzene	7.00
trans-declin	1.30	bromobenzene	3.30
cyclohexene	1.21	1,2-dichlorobenzene	27.00
methylcyclohexane	0.17	1,2,4-trichlorobenzene	8.50
<i>Haloalkanes</i>		styrene	3.75
dichloromethane	0.26	benzaldehyde	0.42
chloroform	0.16	thiophenol	6.91
carbon tetrachloride	0.32	<i>Naphthalene-derivatives</i>	
1,1,1-trichloropropane	0.15	1-methylnaphthalene	33.00
1,1,2,2-tetrachloroethane	5.30	dimethylnaphthalene	36.00
<i>Polar solvents</i>		1-phenylnaphthalene	50.00
methanol	0.000	1-chloronaphthalene	51.00
ethanol	0.001	<i>Inorganic solvent</i>	
acetone	0.001	water	1.3×10^{-11}
acetonitrile	0.000	silicon(IV) chloride	0.09
dioxane	0.041	silicon(IV) bromide	0.74
Miscellaneous			
carbon disulfide	7.90		
tetrahydrofuran	0.00		
pyridine	0.89		

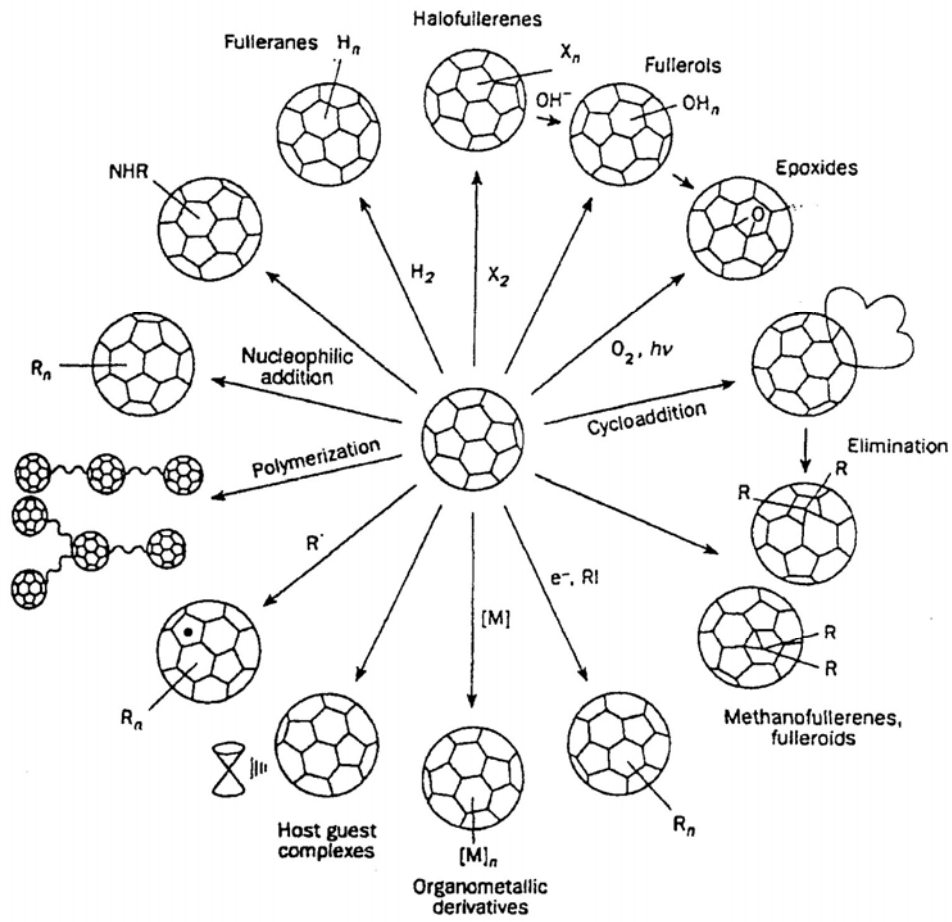


圖 1-2 碳六十之常見反應^[7]

Fig. 1-2 General reactions to occur with C₆₀^[7]

1-1-3 碳六十的應用

由於碳六十是以固定的足球型分子結構(二十個六圓環及十二個五圓環)存在於自然界中，並非一般無定型的各種碳的異構物，如煤灰、活性碳、碳纖維等。因此它除了具備各種碳異構物的優點外，更可以運用化學方法加以修飾、衍生，使得它在各個領域上的應用性極高。這十多年來的研究發現，碳六十以及陸續發現的碳簇分子具有特殊的化學及物理性質，例如生物活性^[2]、機械性質^{[[2]}以及光電性質^[2]等。

在生物活性上，由於碳六十分子具有清除自由基的功效，所以必須讓碳六十的表面衍生一些極性的官能基，例如：親水性磺酸基、多取代長鏈胺基等，才能讓碳六十分子變成水溶性而進入生物體內達到清除自由基的功效，如圖 1-3 及圖 1-4。另外，研究報導也指出引發滋病毒的一種關鍵性酵素 HIV PR，其活性位置的空間恰巧可以容納碳六十的球型結構，所以經過衍生後而具有雙銨鹽($R-NH_3^+ X^-$)臂鏈的碳六十分子便扮演此酵素抑制劑的角色。

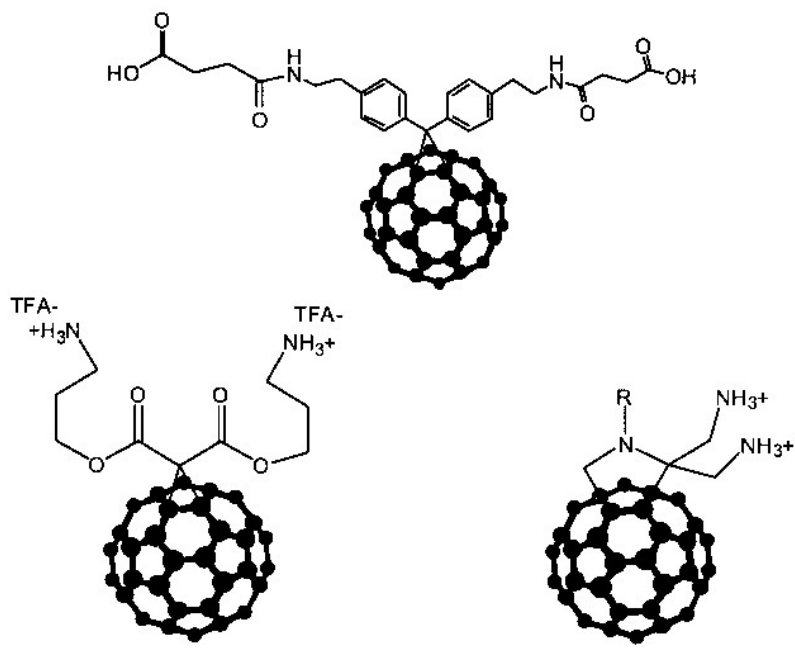


圖 1-3 各式單一取代基之碳六十衍生物^[2]

Fig.1-3 The mono-substitute derivatives of carbon-sixty

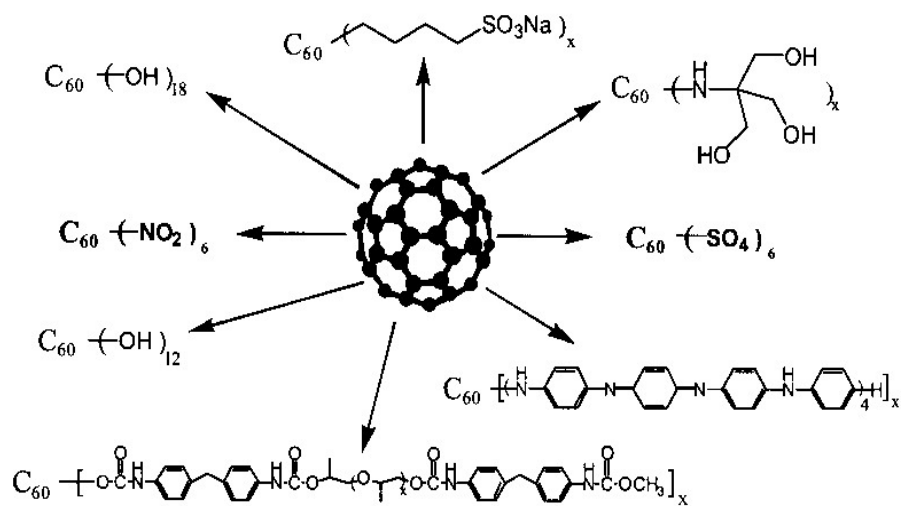


圖 1-4 各式具多取代官能基之碳六十衍生物^[2]

另外，因為碳六十具有大量的共軛 π 電子的系統，目前常被應用在各種有機光電材料上；而將碳六十分子摻雜鹼金族的金屬後便可用來作超導材料，且是第一個三度空間的有機電子導體。倘若在光電轉移系統中結合碳六十與導電性高分子，碳六十將扮演 electron acceptor 的角色，而導電性高分子則扮演 electron donor 的角色。這種系統可以極有效率的將太陽能轉換成電能(photoelectric devices)。如圖 1-5 是結合導電性高分子與碳六十而形成具有光誘導性 acceptor-donor 系統的示意圖。

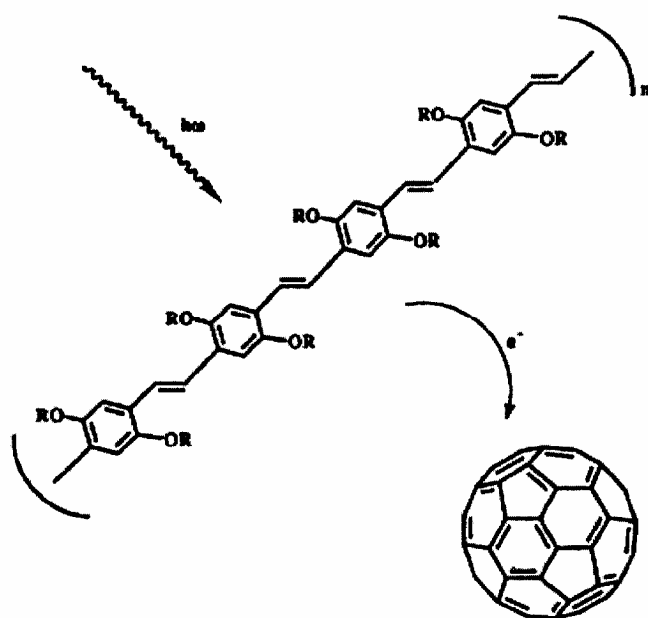


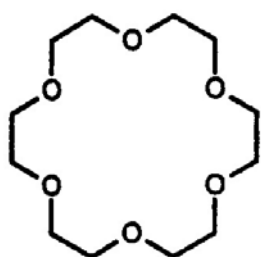
圖 1-5 光誘導性電子在導電高分子(Donor)及碳六十(Acceptor)間轉移之示意圖^[2]

1-2 冠狀醚及大環胺醚

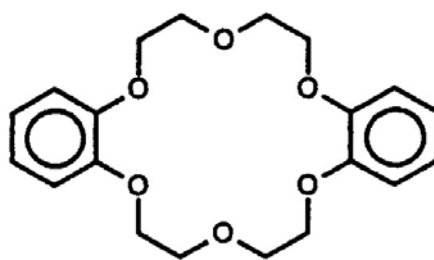
1-2-1 冠狀醚及大環胺醚簡介

西元 1967 年，Pederson^[8]於合成配位子雙酚(Bisphenol)的實驗時，意外的發現一種白色纖維狀的副產物。此種物質能使鈉鹽在甲醇中的溶解度增加，後來經過證實，確認其結構為冠狀醚-雙苯 18 冠 6(Dibenzo 18 crown 6)。經過科學家不斷地研究發展，發現特殊結構的冠狀醚(Crown Ethers)能利用其凹槽捕捉金屬離子而形成穩定的錯合物，故利用此性質可對離子做選擇性的捕捉、分離和傳輸。也因此使冠狀醚在近 30 年來，廣為有機、無機、生化及分析等領域的研究與應用。

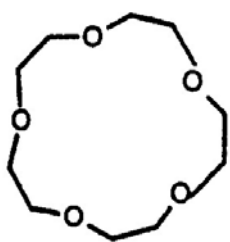
冠狀醚乃指一封閉碳環上間有氧原子、氮原子或磷原子所組成，其整個分子有如一頂鑲有珍珠的皇冠(Crown)而得名，其結構如圖 1-6 所示。西元 1968 年，連恩^[9] (Lehn)等人合成了第一個含氮的大環胺醚(cryptand [2.2.2])，結構如圖 1-7 所示。其利用橋端原子(氮、碳、磷原子等)連接出似橋樑的球型分子結構，因為其三度空間裡有電子予體原子(e⁻ donor atom)的存在，使得分子可同樣地捕捉金屬離子而形成穩定的錯合物。



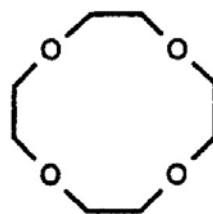
18 crown 6



dibenzo 18 crown 6



15 crown 5



12 crown 4

圖 1-6 常用冠狀醚之結構與命名^[8]

Fig.1-6 Structures and nomenclature of various crown ethers^[8]

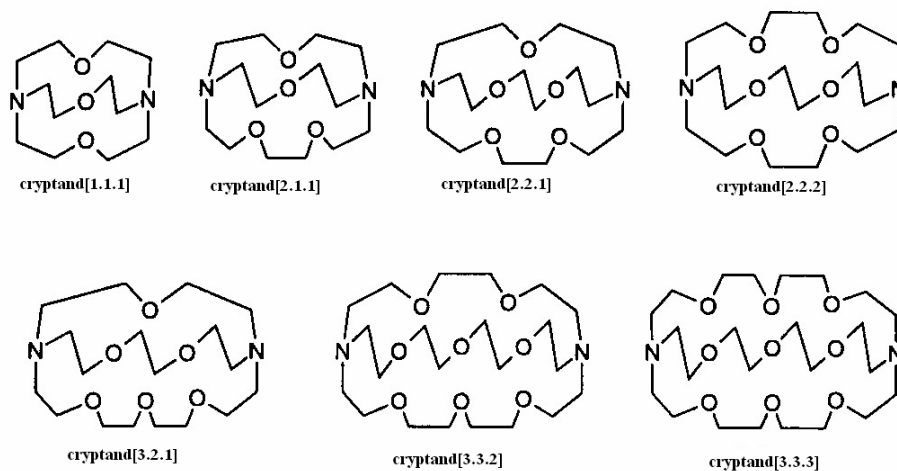


圖 1-7 常見大環胺醚之結構與命名^[9]

Fig.1-7 Structures and nomenclature of various cryptand^[9]

1-2-2 大環胺醚的應用

由於大環胺醚的三度空間結構所致，使得大環胺醚比冠狀醚對陽離子更具選擇性。此外，大環胺醚的氮在低pH值溶液中可以被質子化，藉由氮上的 H^+ 增加其與陰離子結合的能力。如此一來，便可預期大環胺醚在離子選擇與分離上的應用。

因為大環胺醚為水溶性物質，限制了其實用性，若把大環胺醚與碳六十結合，本著碳六十在大多數溶劑中的低溶解度，配合對陰陽離子的選擇性， $C_{60}/cryptand[2.2]$ 已應用在感測器與管柱材質的材料上。

我們實驗室的陳秋樺^[10]學姐利用自行合成的 $C_{60}/cryptand[2.2]$ 研製酯類光學異構物石英壓電晶體感測器。將 $C_{60}/cryptand[2.2]$ 塗佈在石英晶體上，來吸附L-form胺基酸(L-form胺基酸酯類經脂肪分解酵素催化後的產物)，所研製的酯類光學異構物壓電感測器能成功的分辨D-form與L-form胺基酸酯類，且對L-form胺基酸酯類的偵測具有良好的靈敏度及再現性。

1-3 酵素化學

1-3-1 酵素的發現

對於時間就是生命的化學工業而言，催化劑的重要性不可言喻。在合成硫酸時，如果沒有鉑黑催化劑，反應速率要比蝸牛還慢。催化劑是能加快反應速率但在反應中不消耗的物質，特定的催化劑往往催化一定類型的反應。但即是加了催化劑，大多數的化學反應還需要高溫、高壓等條件迫使分子們高速運動起來以加快速度。所以當生物催化劑—酶—被發現後，科學家對生命現象的崇拜達到了前所未有的地步。酶的催化反應效率比非催化反應高 $10^8 \sim 10^{20}$ 倍，比其他催化反應高出 $10^7 \sim 10^{13}$ 倍；而且酶參與的反應不需要加溫加壓，只要在生物體內就能夠發揮功能；酶具有高度的專一性，它能敏銳地辨別反應物，沒有討厭的副反應。

人類利用酶的歷史和人類釀酒的歷史一樣久遠，古時候的人們利用酵母將果汁和穀類加速轉換成酒。西元 1850 年巴斯德^[11] (Louis Pasteur) 用實驗斷定把糖醱酵成酒精是酵母的作用，於是他把能夠產生酒精的酵母稱為「酵素」。西元 1897 年德國化學家布赫納^[11] (Edward Buchner) 用砂將酵母細胞磨碎，並且成功提取出一種液體，雖不含活細胞，但他發現這種液體能夠和原來的酵母一樣完成發酵作用。直到西元 1926 年索姆納^[11] 使用南美熱帶植物—刀豆。豆粉中存在脲酶，脲酶能催化尿素水解生成二氧化碳和氨。索姆納從豆粉中分離出結晶體，這種結晶體溶解後可以再次結晶出來，酶活性基本不變，它的溶液顯示出脲酶的性質，它的結晶卻顯示出蛋白質的性質。凡是使蛋白質變性的東西都會破壞這種酶。索姆納無法將蛋白質和酶的活性分開，所有實驗證明他所得到的是一種純的結晶型酶，而且這種酶是一種蛋白質。爾後，科學家陸續成功地從生物體提純出各種結晶酶，提供了酶是蛋白質的有利證據。

1-3-2 酵素的命名

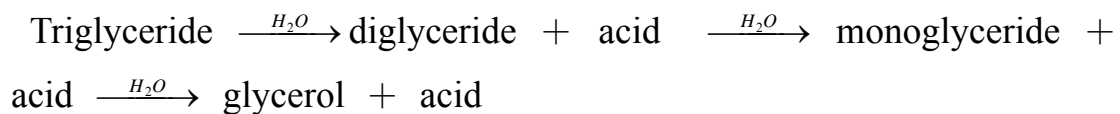
隨著酵素種類的逐日增多，為了避免對同一個酵素彼此使用不同名稱而發生混淆。因此，國際生物化學聯盟(International Union of Biochemistry)設有酵素委員會(Enzyme Commission)，有系統地制訂了酵素的分類和命名法。I.U.B所公布的EC(Enzyme Commission)分類命名法^[12]的要點和特徵有三：

(1) 酵素分類

依酵素所催化的反應種類來做酵素分類，將酵素反應分成六類 (class)，每一類底下分為四到十三個組 (group)，再細分為若干亞組 (sub-group)。

(2) 酵素命名

酵素名稱由二部分組成，開始的部分是表示反應物的基質名稱，後面部分則是表示其所催化的反應種類，而以 ase 結尾。每一個酵素都具有四個數字所組成的系統號碼(EC number)。例如：



催化此反應之酵素系統名即為 Glycerol-ester hydrolase (Lipase, Esterase) (EC 3.1.1.3)。即將 Triglyceride 加水分解成 glycerol 和脂肪酸之酵素。

“ 3 ”表示第 3 類的加水分解酵素(hydrolase)。

“ 1 ”表示作用於 ester 結合的第 1 組 (group)。

“ 1 ”表示作用於 carboxyl ester 之加水分解的第一亞組 (sub-group)。

“ 3 ”表示最後一個數字表示由前面三個數字分類所得之小組內酵素的序列號碼。

依 EC 號碼的第一個數字主分為六大類酵素，分別是氧化還原酵素 (Oxidoreductase)、轉移酵素(Transferase)、加水分解酵素(Hydrolase)、脫離酵素(Lyase)、異構化酵素(Isomerases)和合成酵素(Ligase ; Synthetase)，如表 1-3 所示。

表 1-3 酵素的六種主要類別^[13]

Table 1-3 The main six classification of enzyme^[13]

類別	酵素	催化功能
1	氧化還原酵素 (Oxidoreductases)	氧化還原反應
2	轉移酵素 (Transferases)	官能基轉移反應
3	水解酵素 (Hydrolases)	水解反應
4	裂解酵素 (Lyases)	牽涉到切斷一化學鍵而消去一官能基並留下一雙鍵或加上一官能基至一雙鍵的反應
5	異構酵素 (Isomerases)	牽涉到異構化作用的反應
6	連接酵素 (Ligases)	連接二個分子並伴隨高能量的焦磷酸鹽鍵 (pyrophosphate bonds) 水解

1-3-3 酵素的特性

酵素是一種催化劑；它可在中等溫度及溫和的條件下做高速度的催化反應；不需要極端的 pH 值與壓力等。它在反應完成後不會被消耗仍然能回復其原本狀態。而且酵素作用只能降低反應中的活化能，是不能改變平衡常數的。

(一) 特異性^{[14][15]} (specificity)

基質結合在接近於或位於酵素蛋白質分子的一個區域，此區稱為活化位置(active site)。因為酵素的活化位置能表現出”三點附著”(three-point attachment) 的能力，故能分辨兩個或多個對掌型基質。如圖 1-8 所示 a1 基及 a2 基可能是相同或不同的，而在對掌基質中 a1、a2、b 及 d 都不相同。而對於大分子的辨識則必須以”多點結合的方式”(multi-point attachment) 之方式進行。假如基質是光學異構物的話，酵素是絕對會顯示其“立體特異性”(stereo specificity) 之性質。例如：amino acylase 雖可催化分解 acyl-L-amino acid 但卻不會對 acyl-D-amino acid 進行加水分解。

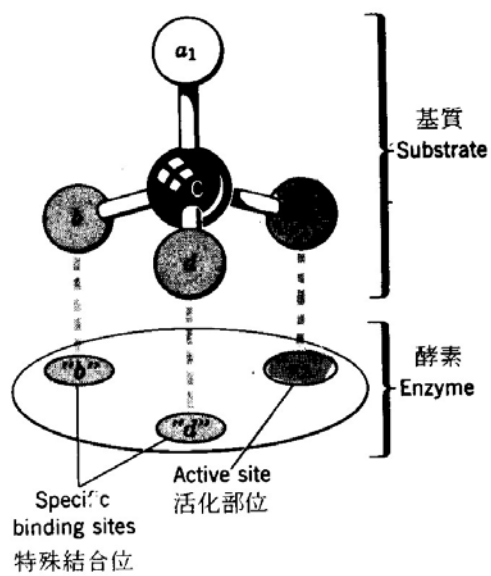


圖 1-8 酵素與基質間的三點作用簡圖^[14]

Fig.1-8 the three-point attachment diagram of enzyme and substrate^[14]

(二) 穩定性

因為大部分酵素本質是蛋白質，故利用酵素時必須考慮到蛋白質的變性特質(denaturation)。一旦蛋白質因物理或化學原因造成變性現象會使酵素的活性降低，甚至失掉其觸媒活性，即所謂的“失活”(inactivation)。

(1) 熱變性

熱對於蛋白質變性有極大的影響，如眾所皆知的，加熱雞蛋後會使原本澄清的蛋液凝固成不透明狀。所以當酵素溶液經加熱時，超過某一溫度時，酵素極易失活而且是不可逆的情況居多。乾燥情況下，酵素相當穩定。因為水分子的存在不僅是分子運動的必要介質且有促進切斷胍鍵氫鍵結合的作用。故乾燥粉末的酵素製劑的儲存穩定性優於液態製劑。為了增加液態酵素製劑的儲存穩定性，可添加可與水結合並具有封鎖水分子能力的化學藥品，如多價醇、糖類、多醣類等，使得液狀酵素如同乾燥粉末一樣地穩定。

(2) 表面變性

一般而言，蛋白質具有表面活性，在表面上盡量擴張其表面積而使得水的表面張力降低。此一表面張力之下降亦可視為表面壓力的一種。所以當激烈地攪拌酵素溶液時，容易起泡現象而造成酵素失去活性。

(3) 有機溶劑變性

各種水溶性有機溶劑如乙醇、丙酮等，雖可用來做為酵素沈澱劑，但亦會引起變性。

(三) 最適溫度

在各種溫度下測定酵素反應速率的話，可得到如圖 1-9 所示之曲線。可得最大反應速率之溫度即謂酵素反應的最適溫度(optimum temperature)。超過此溫度，則反應速率將由於蛋白質之熱變性而急速降低。大多數酵素的最適溫度都在 30 ~ 40 °C 之間，但是亦有生長在 80°C 以上熱溫泉中的微生物。

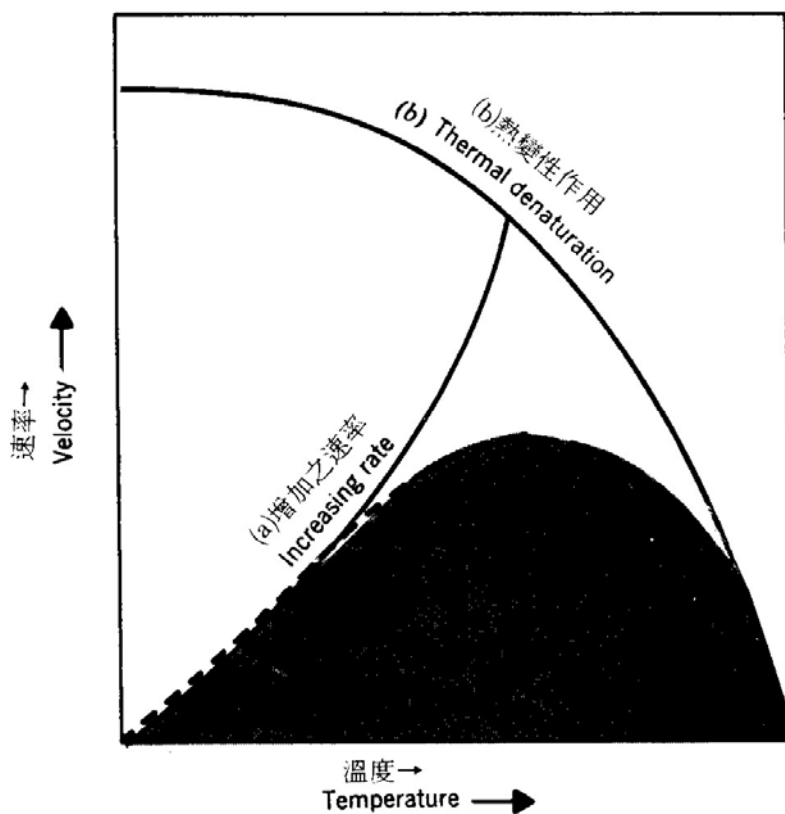


圖 1-9 溫度對酵素催化反應速率之影響^[14]

Fig.1-9 The temperature effect on the velocity of the enzyme catalytic reaction ^[14]

(四) 最適 pH 值

酵素由於其構造部分氨基酸含有羧基(carboxyl group)及氨基(amino group)，使得蛋白質成子的離子化因 pH 值而變。適合的 pH 變化不但影響酵素分子的離子化狀態，有時也會影響基質的離子化狀態。在各種 pH 值下，測量酵素反應速率(初速率)可得到如圖 1-10 所示，如鐘鈴形之曲線。表現出最大活性的 pH，即一般所謂的最適 pH。

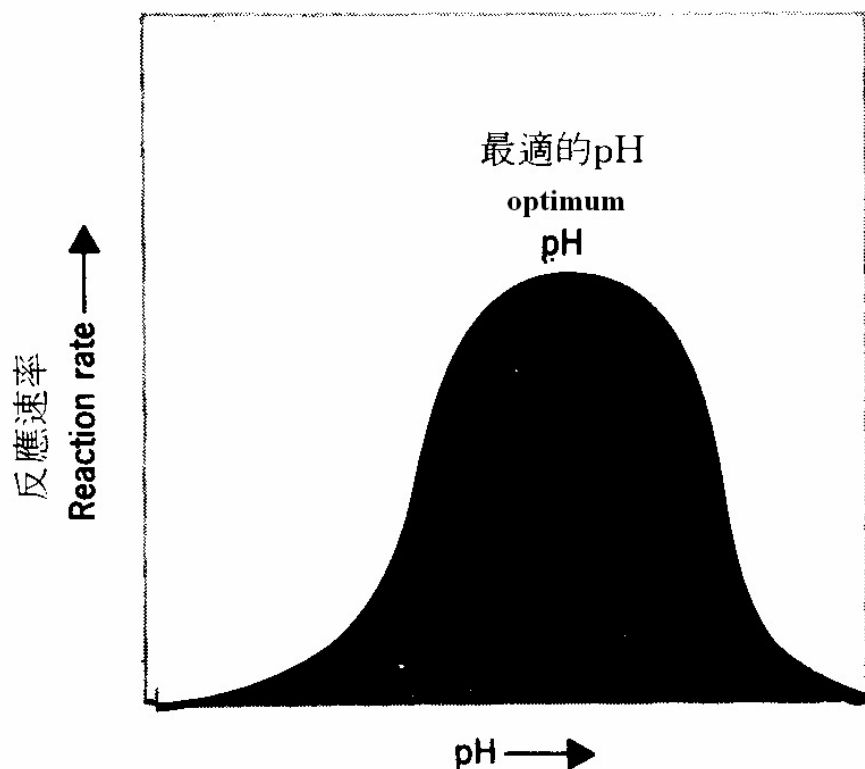


圖 1-10 pH值對酵素催化反應速率之效應^{[12][14]}

Fig.1-10 The pH effect on the velocity of the enzyme catalytic reaction^{[12][14]}

(五) 輔因子(cofactors)

有些酵素僅在和某些特定金屬離子結合時，才能表現其活性。有時這些金屬離子強固地結合在酵素上，事實上，已成為酵素分子之構成成分，即所謂的金屬蛋白質(metal protein)。但是，也有彼此間只是微弱地可逆性結合，即所謂的活性化因子(activator)。對酵素活性具促進作用之金屬離子有 Na^+ ， K^+ ， Mg^{+2} ， Ca^{+2} ， Zn^{+2} 等。

1-3-4 固定化酵素(immobilized enzymes)

酵素雖然比傳統化學催化劑來得優越，但因為酵素分子本身溶於水且易受環境的影響而改變其結構，容易造成酵素失去活性。所以科學家發展出固定化酵素技術，使得酵素能更穩定地進行各種生化反應。酵素固定化具有下列優點：

- (1) 可重複使用以降低成本
- (2) 在酵素反應器中可自動化控制及連續性操作
- (3) 酵素與基質及產物分離容易
- (4) 酵素穩定性增加
- (5) 可藉擔體與固定方法改變酵素性質，如最適反應 pH 與專一性。

固定化酵素的定義^[17]為「將酵素局限於一特定區域內，但不妨礙其活性部位(active site)，使得酵素可以重覆使用及連續操作，減少酵素的使用量，並能將最終產物與酵素做最有效的分離」。換言之，是將水溶性的酵素分子固定在一種非水溶性的固體支持物上(稱為擔體)。固定化的方法繁多，通常可分為吸附法、離子結合法、共價鍵結法、包埋法、交聯法等。

(一) 酵素固定化的方法：

酵素固定化方法^{[16][19]}大致可分為下列幾種：

(1) 吸附法(adsorption)

將擔體加入酵素溶液中，經充分混和攪拌後，酵素藉吸附的方式固定化在擔體上，其作用力主要是凡得瓦引力、氫鍵、疏水性作用力等。常見的擔體有多孔性玻璃、陶瓷(ceramic)、活性碳、陰陽離子交換樹脂、黏土等。本法之優點為操作簡易且對生物觸媒之結構影響較小，但其缺點則是因吸附結合力相當弱，故所吸附的生物觸媒較易因溫度波動或基質與離子濃度之變化而導致脫附。

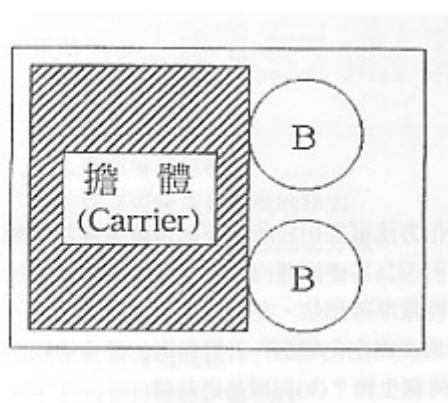


圖 1-11 酵素固定化吸附法^[16]

Fig. 1-11 The immobilization of enzymes by adsorption ^[16]

(2) 離子結合法

離子結合法是藉由擔體與生物觸媒間之相反電荷所形成之靜電吸引力而達到固定化之作用，如圖 1-12 所示。適合之擔體主要是聚合醣類或合成樹脂材質之離子交換樹脂。利用離子結合法固定酵素比物理吸附法來得牢固，但是使用時需特別注意維持正確的離子強度與酸鹼值以防止脫落。

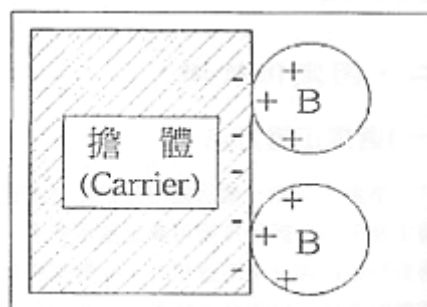


圖 1-12 酵素固定化離子結合法^[16]

Fig.1-12 The immobilization of enzymes by ion bonding^[16]

(3) 共價鍵結法(covalent binding)

通常是利用酵素的官能基與擔體上修飾後的官能基作共價性的鍵合。與擔體做共價結合的酵素官能基大多是一SH、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 等。常見的擔體是多孔玻璃、天然高分子材料例如纖維素(cellulose)、葡聚糖等。此法的優點在於擔體和酵素作永久性的結合，可提高酵素的穩定性。但本方法之缺點易對酵素造成傷害，由於固定化過程之嚴酷條件，容易造成結構之改變而導致活性喪失。如圖 1-13 所示

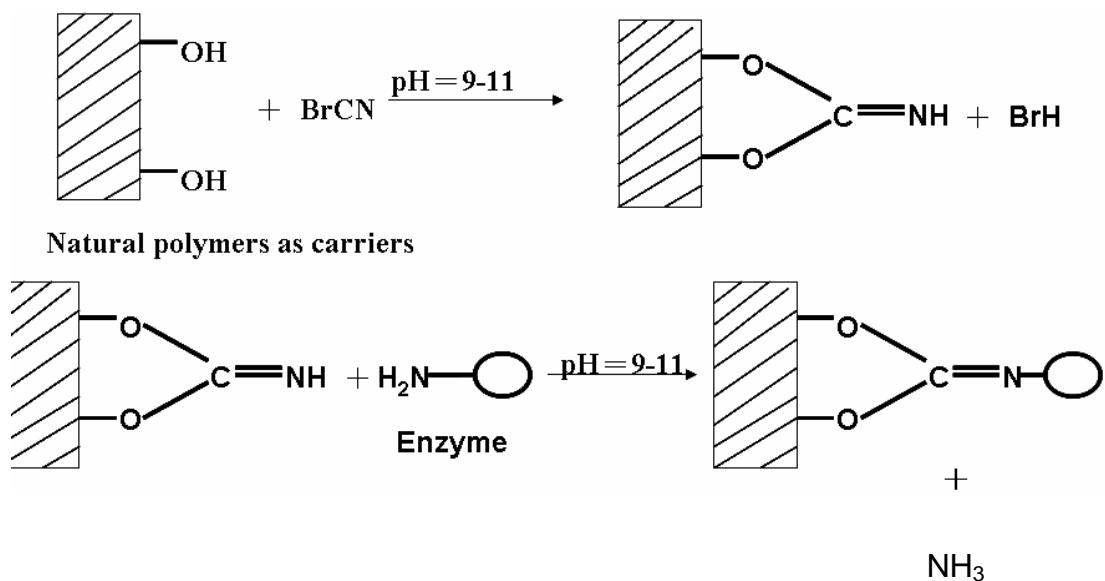


圖 1-13 活化天然高分子與酵素的共價鍵結機制^[16]

Fig.1-13 the covalent binding mechanism of activated nature polymer and enzyme^[16]

(4) 包埋法

將酵素或細胞埋入似膠狀結構的天然或合成高分子基材內，為了使包埋酵素能發揮催化反應功能，基質與產物必須能通過基材，且基材空隙亦不可太大以防生物觸媒的流失。常用的基材為高分子如果膠 (pectin)、瓊脂 (agar)、明膠 (gelatin) 及聚丙烯醯胺 (polyacrylamide) 等。使用最普遍的聚丙烯醯胺 (polyacrylamide) 應用於酵素包埋如圖 1-14 所示。

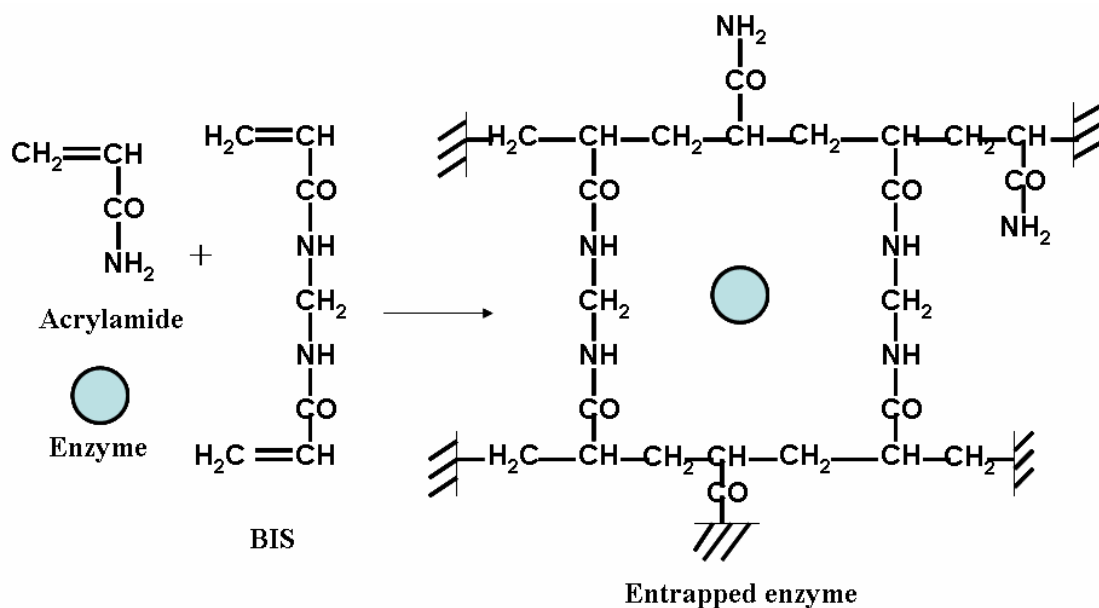


圖 1-14 酵素包埋於聚丙烯醯胺高分子^[16]

Fig.1-14 Entrapped enzyme in the polyacrylamide polymer

(5) 交聯法(cross-linking)

交聯法是使用具有兩個以上官能基的化學試劑與酵素蛋白質中的胺基、酚基、氫氧基相反應，使酵素分子相互結合形成不溶性的高分子量凝聚物。常用的試劑為戊二醛(Glutaraldehyde)，如圖 1-15 所示：

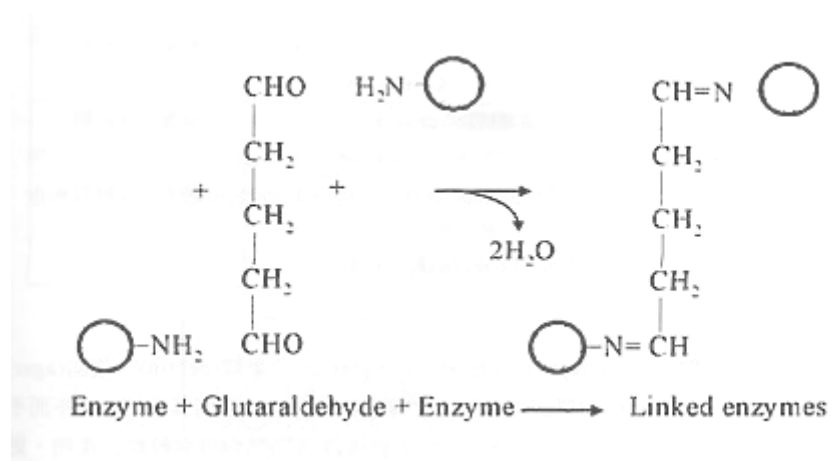


圖 1-15 酵素經戊二醛交聯結合^[16]

Fig.1-15 Cross linked enzyme with Glutaraldehyde^[16]

上述所提單一法皆有其優缺點，故組合兩種以上的方法可提高固定化效率，如吸附－交聯之組合，以及吸附－交聯－化學鍵結等共同使用。茲將各固定法的優缺點列舉於表。

表 1-4 固定化酵素法的優點及缺點^[18]

Table 1-4 The advantage and disadvantage of the immobilized enzyme methods^[18]

性質	固定化法				嵌入法	
	載體結合法				格型	微膠囊型
	共價鍵結法	物理吸附法	離子結合法	交聯法		
調製的難易	難	易	易	難	易	難
調製時酵素不活化的可能性	大	小	小	大	小	大
結合力	強	弱	弱	強	強	強
固定化的價格	高	低	低	低	中間	中間

(二) 固定化酵素的應用

最早於 1969 年使用固定化胺基醯酶(aminoacylase)，來進行 DL-胺基酸光學分離。之後，分別應用於發酵、食品、醫藥品領域。例如：利用固定化酵母菌進行酒精製造與啤酒的連續釀造。

本實驗室的魏麗芳^[20]學姊利用自行合成的固定化酵素：碳六十一-尿素酵素，將其製作成固定化的酵素膜，來研製一尿素感測器。其所研製的尿素感測器對尿素偵測具有不錯的靈敏度(2.35×10^3 Hz/ M)。

本實驗室的莊佳雯^[21]學姊利用自行合成之碳六十(C₆₀)-固定化酵素：碳六十-過氧化氫酵素及碳六十-葡萄糖氧化酵素，來研製一生物感測器。碳六十-過氧化氫酵素使用 95 天後，仍保有 93 % 的高活性。而碳六十-葡萄糖氧化酵素使用 93 天後，仍保有 88 % 的高活性。

1-3-5 脂肪分解酵素(lipase)

脂肪分解酵素^{[23][26]}(glycerol ester hydrolases E.C. 3.1.1.3)主司催化水解及酯基的轉酯化反應(transesterification of ester group)，它除了扮演著催化天然基質三酸甘油酯(triacylglycerol ; triglycerides)外，亦可催化水解及合成許多水溶性或非水溶性的羧酸酯類及羧酸醯胺類(carboxylic acid esters and carboxylic acid amides)，如圖 1-16 所示。倘若脂肪水解酵素催化反應的對象是屬非水溶性物質，而它通常在油水介面上進行有效地催化反應。脂肪水解酵素分子量大小隨生物體而異，最小的分子量約 20-25 kDa而最大的分子量約 60-65 kDa。

在最近幾年，許多脂肪水解酵素(不同分子量)的三度空間結構已陸續被解出來，研究發現大部份脂肪水解酵素皆含有一結構中心，稱為 α/β -hydrolase fold^{[24][26]}，它主要是以 β -褶板(β -sheet)中心結構及周圍伴隨許多螺旋(helices)所組成的，在其結構上可進行酯類催化反應。在本實驗中，主要是利用 *Candida rugosa* lipase 活化區(active site) 上的 Ser 209, His 449 及 Glu 341，即催化鐵三角(the catalytic triads)來進行三酸甘油酯催化水解反應。如圖 1-17 及圖 1-18 所示。

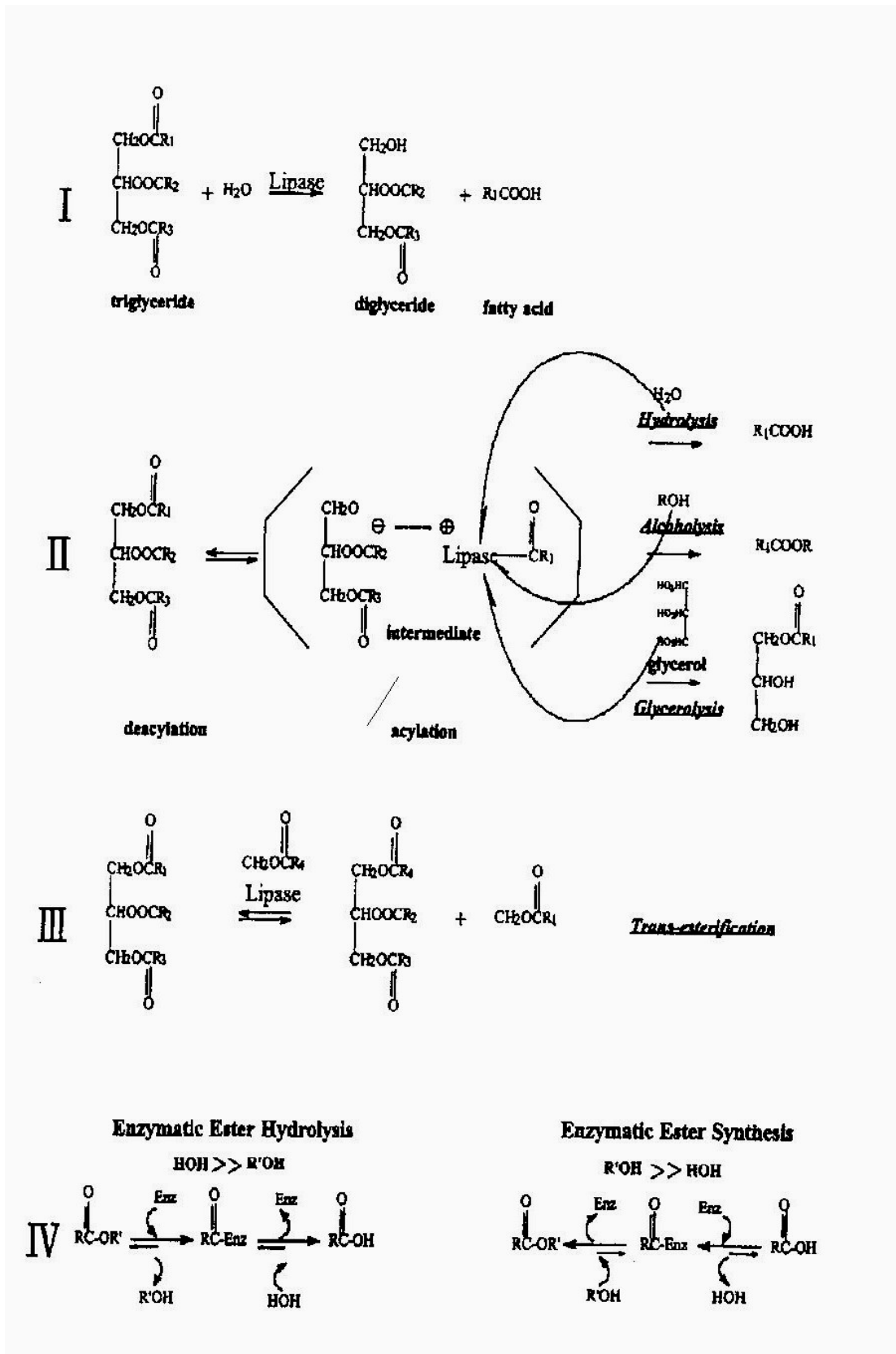


圖 1-16 脂肪分解酵素之不同反應^[27]

Fig.1-16 The different reactions catalyzed by lipase^[27]

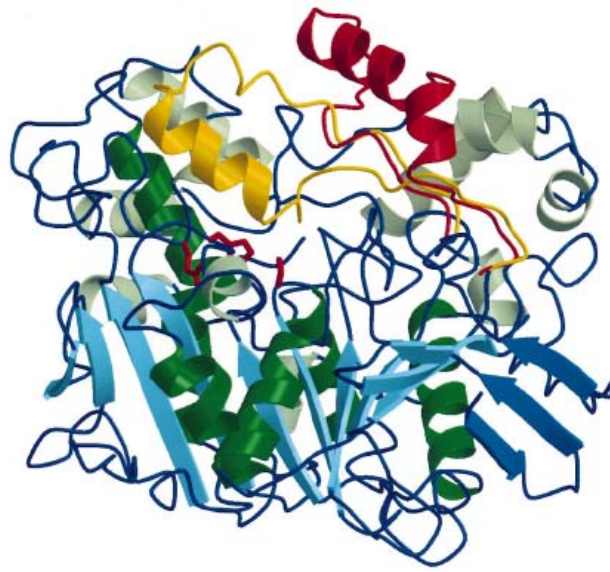


圖 1-17 *Candida rugosa* lipase 的三度空間結構圖^[26]

Fig. 1-17 The three-dimensional space structure of *Candida rugosa* lipase^[26]

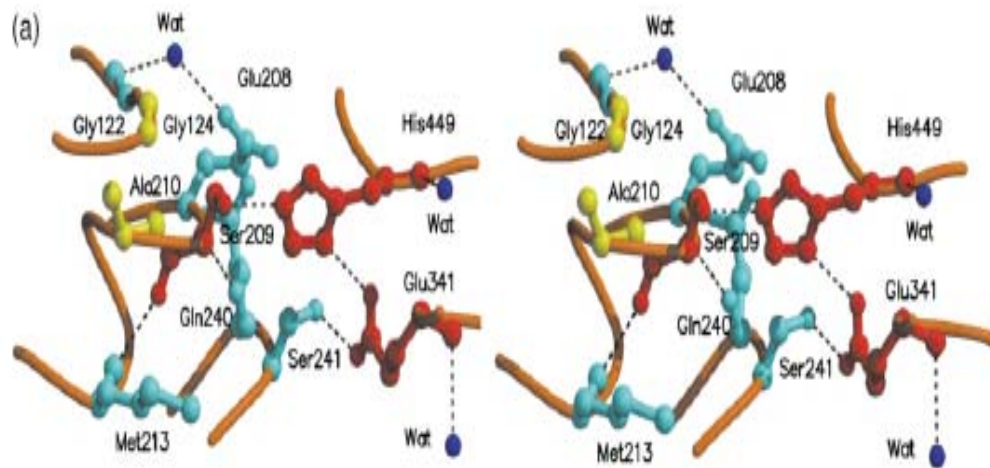


圖 1-18 *Candida rugosa* lipase 的活性區結構圖^[25]

Fig.1-18 The active site structure of *Candida rugosa* lipase^[25]

脂肪分解酵素在工業上有著非常廣泛的用途^[23]，如表 1-5 所示。包含油脂類水解、合成脂肪酸酯類當作化妝品原料或界面活性劑等，近年來更在有機合成領域中扮演著重要的角色。除了用於製造有機合成中的中間物外，例如：對掌性醇類、對掌性羧酸及胺類等，亦可選擇性地催化鏡向和立體化合物，例如：進行酯化反應、轉酯反應、胺解作用及氨解作用等。

固定化可以增加脂肪分解酵素的穩定度和活性，也增加其重複使用率。脂肪分解酵素的固定方法有很多種，包括吸附法、共價鍵結法、包埋法、離子結合法、交聯法等等。

表 1-5 脂肪分解酵素在工業上的應用^[28]

Table 1-5 Industrial application of lipase^[28]

Industry	Action	Product or application
Detergents	Hydrolysis of fats	Removal of oil stains from fabrics
Dairy foods	Hydrolysis of milk fat, cheese ripening, modification of butter fat	Development of flavoring agents in milk, cheese, and butter
Bakery foods	Flavor improvement	Shelf-life prolongation
Beverages	Improved aroma	Beverages
Food dressings	Quality improvement	Mayonnaise, dressings, and whippings
Health foods	Transesterification	Health foods
Meat and fish	Flavor development	Meat and fish products; fat removal
Fats and oils	Transesterification; hydrolysis	Cocoa butter, margarine, fatty acids, glycerol, mono-, and diglycerides
Chemicals	Enantioselectivity, synthesis	Chiral building blocks, chemicals
Pharmaceuticals	Transesterification, hydrolysis	Specialty lipids, digestive aids
Cosmetics	Synthesis	Emulsifiers, moisturizers
Leather	Hydrolysis	Leather products
Paper	Hydrolysis	Paper with improved quality
Cleaning	Hydrolysis	Removal of fats

1-4 脂質(lipid)

1-4-1 脂質之簡介

脂質^[22]不溶於水，而溶於有機溶劑(如酒精、氯仿及乙醚等)為生命中到處存在的物質，如細胞的細胞膜、激素功能的類固醇(steroids)、代謝中間產物(前列腺素)、能量儲存來源(脂肪組織)等。

脂質^{[22][15]}可分為三大類，即簡單脂質、複脂質及衍脂類，如表 1-6

一、簡單脂質(simple lipid)

簡單脂質為脂肪酸和醇類所形成的酯。

(1) 中性脂肪(neutral fat)

中性脂肪係由一分子甘油(Glycerol)及三分子脂肪酸(fatty acid)結合而成，所以又稱為三酸甘油酯(triglyceride ; triacylglycerol ; TG)。

中性脂肪又可分為兩類：

脂肪(fat)：室溫下為固體狀態者。如豬油、牛油。

油類(oil)：室溫下為液體狀態者。如花生油、黃豆油。

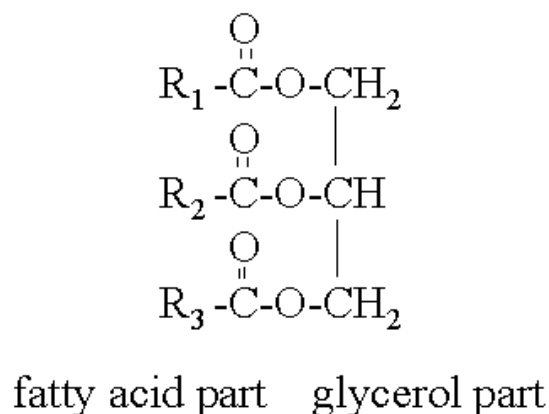


圖 1-18 三酸甘油酯結構圖^[22]

Fig. 1-18 The structure of triglyceride^[22]

(2) 蠟類(wax)

蠟類由脂肪酸和高級醇所組成。高級醇的碳數通常在 10 以上。這種化合物不能被人體所吸收消化，故不能食用。例如：一般蠟燭是以鯨蠟醇和棕櫚酸聚合而成。

二、複脂類 (compound lipid)

複脂類為中性脂肪與其他基團組成的脂質。

(1) 磷脂質(phospholipids)

為脂肪酸、甘油及磷的化合物，常與含氮的鹼基結合，如卵磷脂是脂肪酸、甘油及膽素的化合物。

(2) 糖脂類(glycolipid)

為碳水化合物和甘油酯的化合物，但不含磷酸，主要存在於腦、神經細胞。例如半乳糖脂質為半乳糖和脂質的化合物。

三、脂質衍生物(derived lipids)

由上列各類脂質水解所得的產物，包括脂肪酸、甘油、固醇及類固醇等。其他脂溶性維生素(維生素 A、D、E、K)也屬於此類。

表 1-6 脂質分類表^[29]

Table 1-6 The classification of lipid^[29]

種 類	組 成	例 子
單脂類	脂肪酸與醇	脂肪、蠟類
複脂質	脂肪酸、甘油與其他基團	磷脂質、糖脂質
脂質衍生物		固醇類

1-4-2 三酸甘油酯(Triacylglycerols ; Triglycerides)

三酸甘油酯^{[15][30]}(Triacylglycerols ; Triglycerides ; TG)係由甘油(glycerol)與長鏈脂肪酸(fatty acid)，如硬脂酸、亞油酸、油酸、棕櫚酸，結合而成的酯類，主要分佈於皮下脂肪組織、肝臟及血清。三酸甘油酯儲存在皮下組織的目的，不但為了儲備能量，而且可用來抵抗低溫。它屬於非極性疏水性分子，故難溶於水。且因為它的比重比水小，故以油的形式浮在水面上。

食物中 TG 在十二指腸及空腸上段被酵素分解成甘油及脂肪酸，如圖 1-19 所示，經腸上皮細胞吸收後，再重組成外源性 TG。外源性 TG 合成於乳糜微粒(CM)中，經淋巴、血液系統被組織所利用。外源性 TG 受飲食影響很大，血中濃度通常在飯後 1~2 小時達最高峰。另外由肝臟自身合成的 TG 稱為內源性 TG，多出現於空腹時，為極低密度脂蛋白(VLDL)的主要脂質成分。臨床上，內源性 TG 比較能反映出脂肪代謝狀態，故測定 TG 必須在早晨並經 10~14 小時空腹後採血，才有意義。

當過多未利用的三酸甘油酯隨著血液循環在血管中流動時，會慢慢沉積在動脈血管壁內，尤其會附著在提供心臟及腦血循環的動脈上，進而導致心臟疾病。而當禁食十二小時後，血中三酸甘油酯的濃度仍高於正常值時，便稱為高三酸甘油酯血症。此症容易引發冠狀動脈心臟疾病。罹患高三酸甘油酯血症患者的飲食原則^[31]，應多採用富含纖維質和多醣類食物，如：五穀根莖類，並避免攝取精緻的甜食及含有蔗糖或果糖的飲料，及多攝取富含 ω -3 脂肪酸的魚類，例如：秋刀魚、鮭魚、鰻魚、白鯧魚、牡蠣等，且盡量少飲酒等。

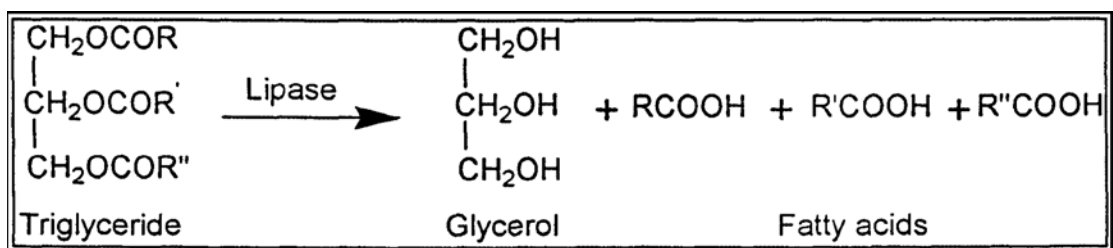


圖 1-19 脂肪分解酵素催化三酸甘油酯之化學反應式^[34]

Fig. 1-19 The chemical reaction of triglyceride catalyzed by lipase^[34]

表 1-7 三酸甘油酯的來源與特性^[29]

Table 1-7 The sources and characterization of triglycerides^[29]

種 類	內源性三酸甘油酯	外源性三酸甘油酯
來源	肝臟	食物攝入
特性	反映脂肪代謝狀態	飯後 1~2 小時後達最高量

表 1-8 成人血液三酸甘油酯濃度^[32]

Table 1-8 The triglyceride concentration of the adult blood^[32]

成人血液三酸甘油酯濃度			
	理想濃度	邊際高危險濃度	高危險濃度
血液中三酸甘油酯濃度 (禁食 12 小時)	< 200 mg/dL	200~400 mg/dL	> 400 mg/dL

1-4-3 三酸甘油酯的偵測

許多研究發現^[33]，當血液中三酸甘油酯含量超過正常標準值，是造成動脈硬化的主因之一，會增加罹患冠狀動脈心臟疾病的機率。而且，若人體維持高濃度的血漿三酸甘油酯，常會導致三酸甘油酯蓄積於肝細胞，因而伴生脂肪肝病變。所以，對於臨床醫學而言，偵測血液中的三酸甘油酯含量是診斷疾病非常重要的指標。

在過去文獻研究中^[36]，科學家是利用分光光度計及電化學的方法測定三酸甘油酯含量，主要是利用一系列的酵素催化反應來決定甘油含量，以間接得知三酸甘油酯的含量。目前幾乎所有臨床檢驗室均採用酵素法檢測三酸甘油酯^[33]，以 2：1 比例互加的二酸甘油酯和三棕櫚酸甘油酯混合物可當作分析標準品。酵素法一般是將三酸甘油酯水解成甘油，再測甘油釋出量來間接判定三酸甘油酯的含量。在某些情況下若未考慮檢體中原先已存在之甘油，則可能造成高估誤差。

在最近幾年的研究^[35]，科學家是利用三酸甘油酯經酵素催化所產生的脂肪酸，會造成溶液pH值變化來間接決定三酸甘油酯的含量。之後，研究人員更利用 EISCAP biosensor 間接測定三酸甘油酯的濃度，應用原理是藉EISCAP 感測器的C-V 圖上的電容量會隨著溶液中電解質的酸鹼值變化而發生改變，間接地推知三酸甘油酯的濃度，但此法在原待測溶液若有脂肪酸亦會造成誤差。

1-5 壓電晶體

1-5-1 壓電晶體之壓電性

在 1880 年時，Pierre Curie 及 Jacques Curie 兄弟發現若對電氣石施加機械壓力，則在其表面可得到電荷，此因物質外加應力時會呈現極化的現象，這種性質稱為壓電性^[37] (piezoelectricity)。一壓電材料其晶體結構中多半無對稱中心 (centrosymmetry) 或具低對稱性。當壓電性晶體在加應力時呈現極化現象，反過來說，如果在壓電晶體加上電場，晶體中的電距會順著電場的方向作調整，調整所引起原子位移會造成晶體的延長與壓縮，因而有了應變。前者稱之為正壓電性 (direct piezoelectricity)，後者則稱為反壓電性 (converse piezoelectricity)，簡而言之，壓電效應就是電能與機械能的相互轉換，如圖 1-20 及圖 1-21 所示。所以當施加一交流電場時，壓電晶體會產生週期性的形變而產生具有特定振盪頻率。最常見的壓電晶體為石英 (quartz)，其他如 BaTiO_3 , KNbO_3 , LiNbO_3 , LiTaO_3 及高分子 polyvinylidene fluoride, $(-\text{CH}_2-\text{CF}_2-)_n$ 等亦可作為壓電材料。

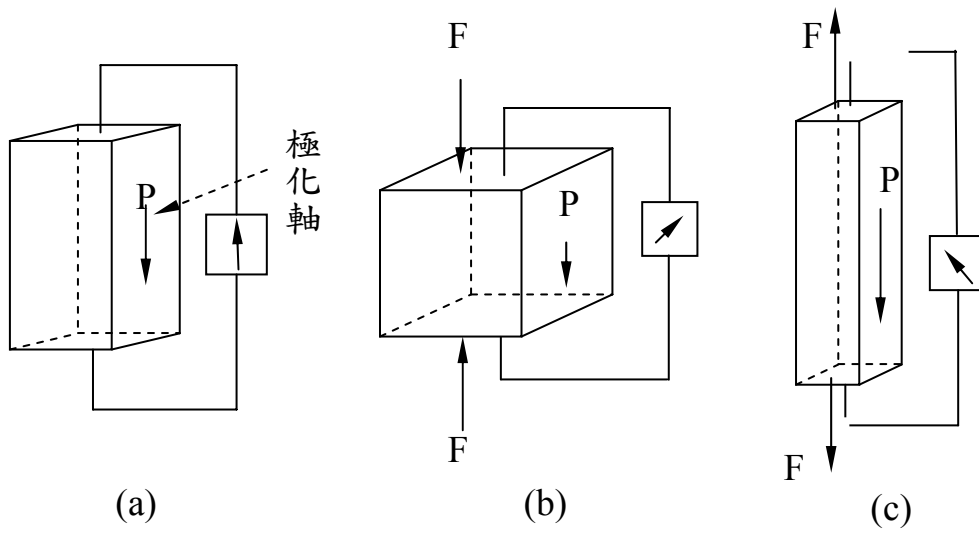


圖 1-20 正壓電效應示意圖^[38]

Fig. 1-20 The direct piezoelectric effect^[38]

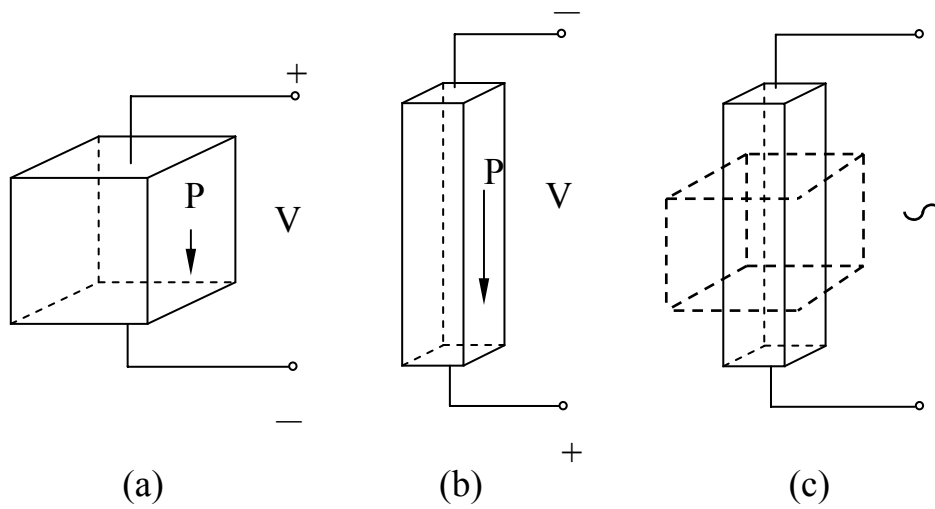


圖 1-21 反壓電效應示意圖^[39]

Fig. 1-2 The converse piezoelectric effect^[39]

1-5-2 石英振盪器

石英振盪器原理是利用在壓電性石英晶片上施加一交流電場，石英晶片會產生如彈簧般的往復運動，稱之為石英振盪^[40]，如圖 1-22。而當外加交流電場頻率與石英晶片的機械頻率吻合，石英晶片的機械振幅會達到最大，並呈現穩定的共振(resonance)現象，因此，將石英晶片安裝在電子迴路中，將交流電場的訊號予以適當的放大與回饋(feedback)，便可利用石英晶片的共振特性，產生精確的振盪頻率。

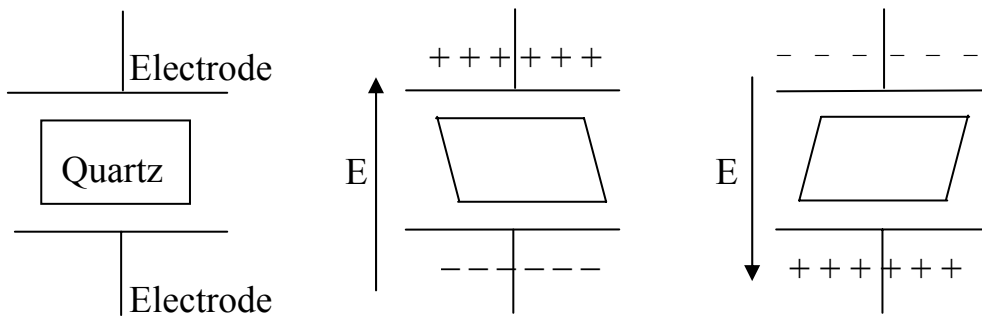


圖 1-22 外加電場下的石英振盪^[40]

Fig. 1-22 The quartz oscillation in the electrical field^[40]

目前市售的石英晶片，是將人工培養的單晶之右型石英(α -quartz)，以AT-cut的方式切割成薄片而得^[39]，如圖 1-23，若切割方向不同，其振盪模式便不相同^[41]，如AT-cut之石英晶體屬於厚度切變振盪(thickness shear mode)。切割後的石英晶體以金屬電極夾住兩端，形成一類似三明治結構的石英振盪晶體^[42]，如圖 1-24。此金屬電極可在垂直於石英晶體表面的方向誘導出振盪電場，使其產生機械振盪。此外，石英晶體震盪頻率的穩定性會受到溫度的影響，如圖 1-25 所示，而AT-cut石英晶體是所有切割方向中受溫度的影響是最小的，故被廣泛地應用在微量感測上。

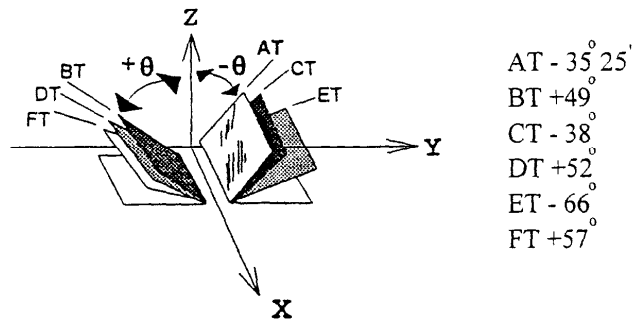


圖 1-23 石英晶體的各種切割方向及角度^[39]

Fig. 1-23 The cut types of quartz crystal^[39]

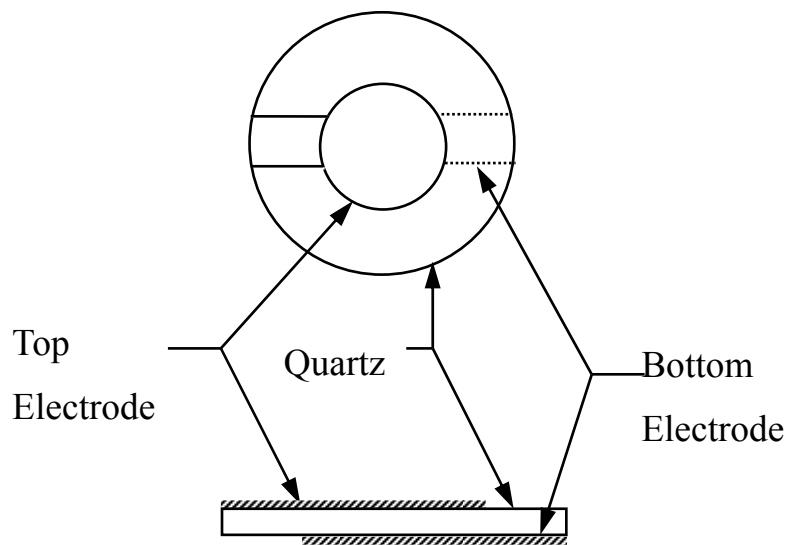


圖 1-24 典型石英晶片^[42]

Fig. 1-24 The typical QCM^[42]

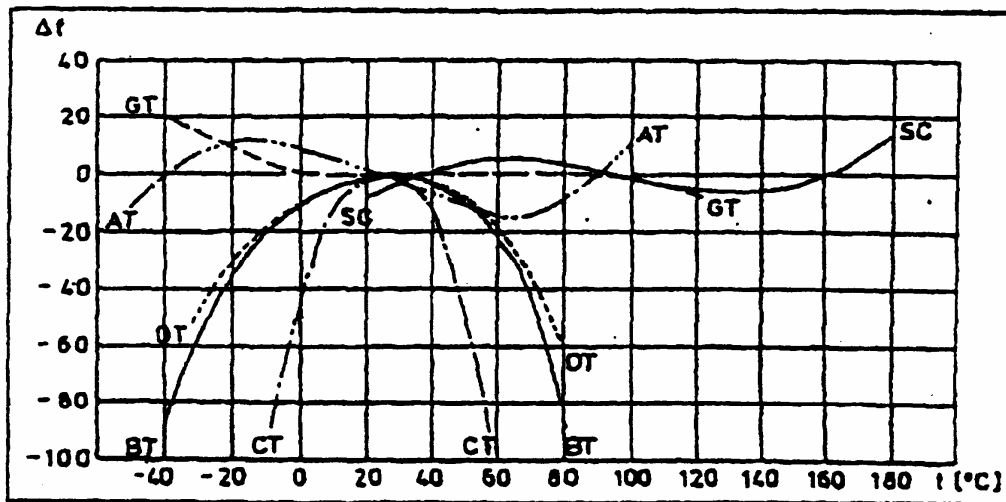


圖 1-25 各種切割方向石英晶體振盪頻率與溫度的關係^[43]

Fig.1-25 The dependence of cutting angle on the frequency temperature curve^[43]

1-5-3 石英振盪器的線路

常見的石英晶體振盪線路如圖 1-26 所示^[44]

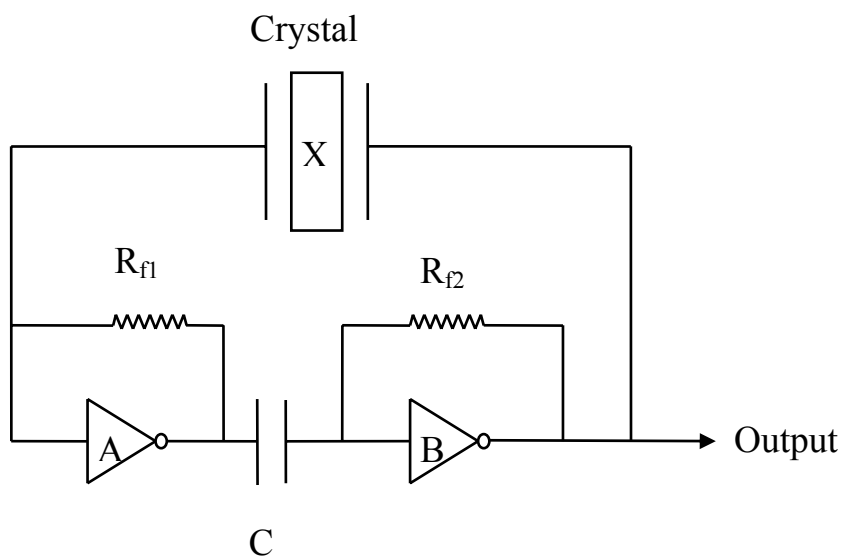


圖 1-26 石英晶體振盪線路^[44]

Fig.1-26 Quartz crystal oscillate circuit^[44]

圖中 R_f 是反向放大器A、B作成的負回授電阻，C是相位補償電容，X是石英晶體，而A、B與負回授電阻 R_{f1} 、 R_{f2} 所形成的反向放大器構成了基本的放大器，但因實際上，A— R_{f1} 與B— R_{f2} 兩個反向放大器間會有相位延遲，所以必須串聯一電容C來達到相位補償及隔絕直流偏壓的效果，此時，X與放大器形成正回授電路，在達成共振頻率時，此等效電路相當於一電阻。

此振盪線路可以圖 1-27 之方塊圖來表示。

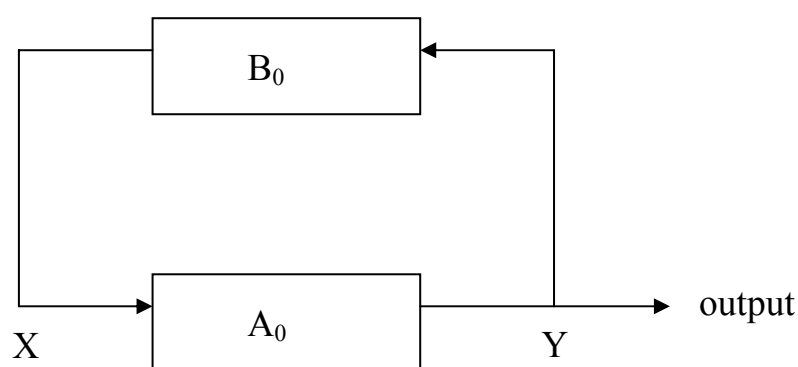


圖 1-27 振盪線路示意方塊圖^[44]

Fig. 1-27 Block diagram of oscillating circuit^[44]

B_0 表示由石英晶片所形成的回授電路，而 A_0 是由兩組反向器及一個電容所構成，要達到石英晶體振盪，必須符合下列條件^[45]：

(1) $A_0 \times B_0 \geq 1$ 。

式中 A_0 的單位為 Ω ， B_0 的單位為 Ω^{-1} 。

(2) 電壓信號由X點經 A_0 到Y點，再由Y點經 B_0 回到X點，其相位差必須為0。

由上述原則，可以由電阻值 R_f 及電容C調整出與石英晶體振盪週期相匹配的最佳組合，即 $R_f \times C$ 乘積需大於或等於振盪週期，且其中 R_f 在200~500 Ω 。

1-5-4 振盪頻率的量測

一般量測石英晶體振盪頻率的方法有兩種：

(一)計數器法^[46] (Frequency counter)

計數器法是以一段固定時間 t 作為取樣時間，這段時間內，訊號每振盪一次，計數器內的值便會累加一(上數型)，待取樣時間結束後，若計數器內累加的值為 N ，則振盪頻率 $F=N/t$ (Hz)，如圖 1-28 中，若一秒鐘的取樣時間內訊號振動 8 次，則頻率為 8 次/1 秒=8Hz。

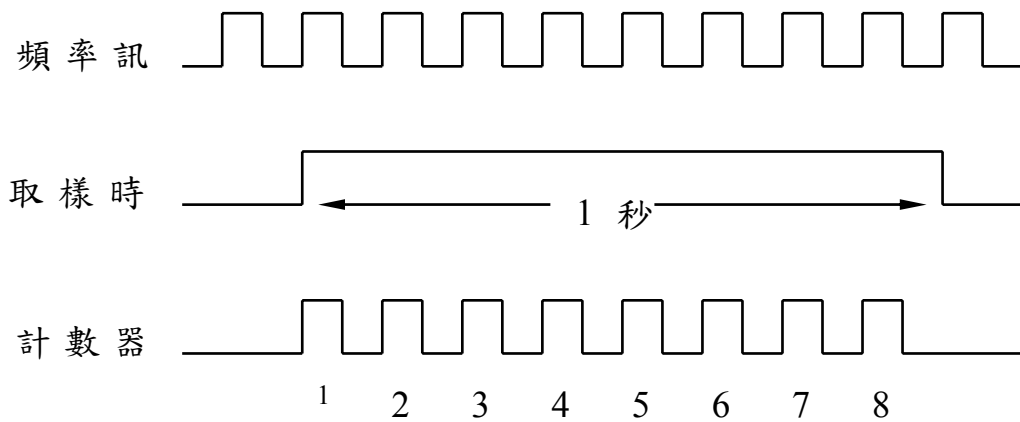


圖 1-28 頻率取樣方法^[46]

Fig. 1-28 Acquisition of frequency signals

計數器法的解析度仰賴取樣時間的長短，取樣時間為 1 秒，解析度為 1Hz；若取樣時間為 10 秒，解析度為 0.1Hz。另外計數器法的不準度(uncertainty)，取決於控制取樣時間之時間閘(time gate)的精確度，尤其當待測訊號的頻率愈高，取樣時間的精確度更顯重要，否則當不準度大於解析度，甚至大於訊號改變量，將造成量測上的影響。

(二) 頻率－電壓轉換法 (F/V conversion)

頻率－電壓轉換法是將頻率值的大小變化轉化成電壓高低，可將轉化的電壓值直接以記錄器輸出或以A/D卡和電腦相連。所謂A/D卡是一類比與數位訊號的轉換器，利用一種比例運算。假設輸入的類比訊號 V_i 藉著與一個參考訊號 V_r 做比較後，被轉換成一個分數 X ，而轉換器的數位輸出是以此分數的密碼表之^[47]，如圖 1-29。研究室採用雙極輸入 $\pm 5V$ 及 12 位元解析度的ADC。

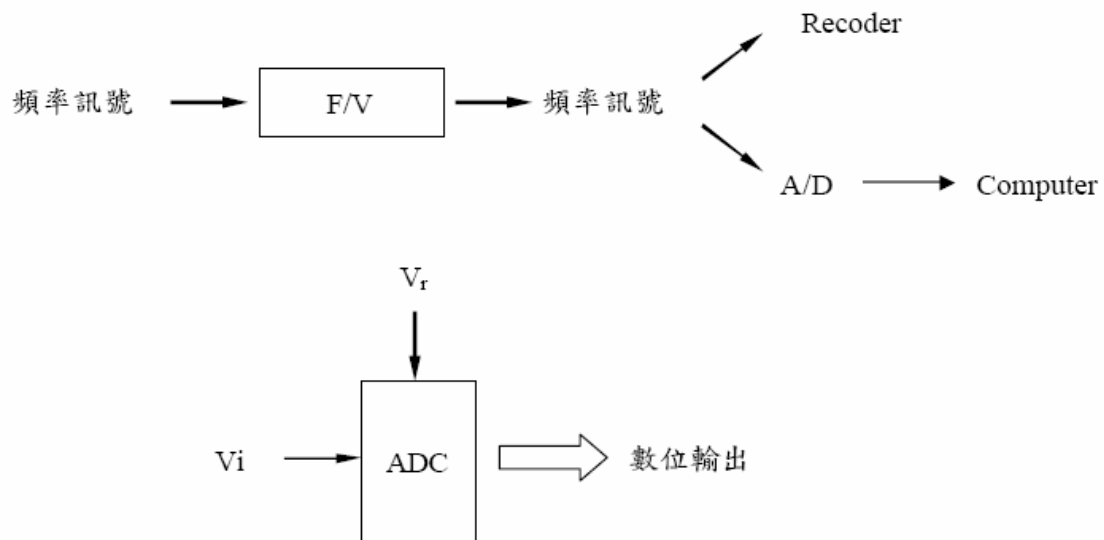


圖 1-29 類比/數位轉換之示意圖^[47]

Figure 1-29 Diagram of A/D transformation ^[47]

1-5-5 石英微量天平(Quartz Crystal Microbalance, QCM)

對一個典型的機械振盪系統而言，其振盪頻率常由一些物理參數來決定，例如振盪體的總質量。因此當一些外來的物質被加到振盪體上，或由振盪體移走時，常可觀測到其頻率變化，而這些現象就可用來了解振盪體質量的改變情形。作為一質量量測的振盪系統，需符合下列條件^[48]：

- (1)系統的振盪必須易激發(啟動)，最好是用電力能。
- (2)頻率或週期的量測裝置能夠連接至振盪系統上，而不會對振盪產生明顯的干擾。
- (3)振盪系統必須要有明確的(sharply defined)振盪頻率，以便在短時間內取得精確值。
- (4)由外加質量所引起的頻率變化必須大於系統本身的不準度。
- (5)外在環境所引起的頻率變化，如溫度、壓力等，必須遠小於質量改變的訊號。
- (6)需已知頻率變化與質量變化的關係式。

高頻率的石英振盪器符合以上要求，因此，把作為質量量測工具的石英振盪器稱為QCM(Quartz Crystal Microbalance)。西元 1959 年，Sauerbrey 針對 AT-cut 石英晶體，導出晶體表面重量變化與頻率變化的關係式^{[48][49]}。因 AT-cut 石英晶體屬於厚度切變模式振盪，故需符合：

$$Z_q = \frac{\lambda_q}{2} \quad (1-1)$$

Z_q ：石英晶體厚度

λ_q ：剪力波(shear-mode wave)在厚度方向的波長
而剪力波的波速 V_q

$$V_q = \lambda_q F \quad (1-2)$$

F ：石英晶體的振盪頻率

由上可得

$$F \times Z_q = \frac{V_q}{2} \quad (1-3)$$

設石英晶體厚度發生極小量的改變 ΔZ_q ，所引起的共振頻率的變化為 ΔF (resonant frequency shift)，則

$$\frac{\Delta F}{F} = - \frac{\Delta Z_q}{Z_q} \quad (1-4)$$

其中負號表示石英晶體厚度增加，造成共振頻率減少。又石英晶體厚度增加與質量間呈現性關係：

$$\frac{\Delta z}{z} = \frac{\Delta M}{M} \quad (1-5)$$

因此可將 $\Delta F/F$ 以石英晶體的質量 M_q 及質量變化 ΔM_q 來表示

$$\frac{\Delta F}{F} = - \frac{\Delta M}{M_q} \quad (1-6)$$

根據 Sauerbrey 基本假設，對於外來質量的增加而造成的微小質量變化可視為相當於石英晶體本身的質量變化

又 $M_q = A \times \rho \times Z$

$$\frac{\Delta F}{F} = - \frac{\Delta M_q}{A \rho Z} \quad (1-7)$$

A：石英晶體表面積

ρ ：石英密度(=2.6 gcm⁻³)

Z：石英晶體厚度

對 AT-cut 的石英晶體而言

$$\Delta F (\text{Hz}) = -2.3 \times 10^6 F^2 \frac{\Delta M}{A} \quad (1-8)$$

式中 F：石英晶體原始振盪頻率(MHz)

ΔF ：石英晶體之頻率變化(Hz)

ΔM ：石英晶體之質量改變(g)

上式(1-8)即為 Sauerbrey equation^[49]，由 Sauerbrey equation 可知石英晶體的原始頻率 F 愈高，其質量靈敏度愈大。但 QCM 的振盪頻率極為複雜，並非單純只受質量影響，如於液相中振盪的石英晶片便會受溶液的黏滯度影響，因此有許多學者因應各種複雜的情況，導出許多修正公式，但由於每種公式都無法適用所有的情況，所以到目前還是以 Sauerbrey equation 為標準。

根據後來其他學者的實驗結果，發現 Sauerbrey equation 公式無法適用於下列各種情況：

- (1) 黏度效應：溶液的黏度會改變石英微量天平上薄膜的厚度而有了 Δf_s 的差值。
- (2) 高質量覆載：依據 Sauerbrey equation，當石英晶體吸附物質造成重量增加時，頻率會下降，然而質量增加太多時會降低石英微量天平的靈敏度。
- (3) 表面粗糙：尤其在液相系統中，如果表面粗糙會造成吸附物質卡在表面的坑洞中。
- (4) 表面應力：在液相系統中液體的流動，會造成石英晶體表面應力改變，可用 1-9 式修正之

$$f_0 - f_{0\max} = A(P - P_{\max})^2 \quad (1-9)$$

A：常數

P：液體所造成的壓力

(5)質量分布不一致：AT-cut 的石英晶體在氣相及液相的物理特性並不相同，在實驗中發現，石英微量天平必須是單一狀態的質量分布，才能符合 Sauerbrey equation。

若要以石英微量天平直接量測重量的話，必須符合下列四項原則：

- (1)所測物質必須要均勻的覆蓋在石英晶片表面。
- (2)石英晶片的振盪區域（即電極所夾的區域）需完全覆蓋。
- (3)待測物質需緊密的吸附在石英晶片上。
- (4)待測物所覆蓋的面積必須是已知。

1-5-6 液相石英壓電晶體的特性

從西元 1980 年之後，陸續有學者開始投入液相石英壓電晶體方面的研究，發現石英晶體在液相中的振盪行為遠比在氣相中來得複雜 [50][51]，其受許多因素的影響，如液體的黏度、密度、介電常數、表面薄膜特性等。而且，在液相石英晶體振盪系統中，由於其振盪能量經液體介質由內向外傳遞時，能量會被介質所吸收，因而產生衰敗的現象。尤其當介質的黏度或密度越大時，會使得振盪頻率下降的更明顯。如圖 1-30 及圖 1-31 所示。

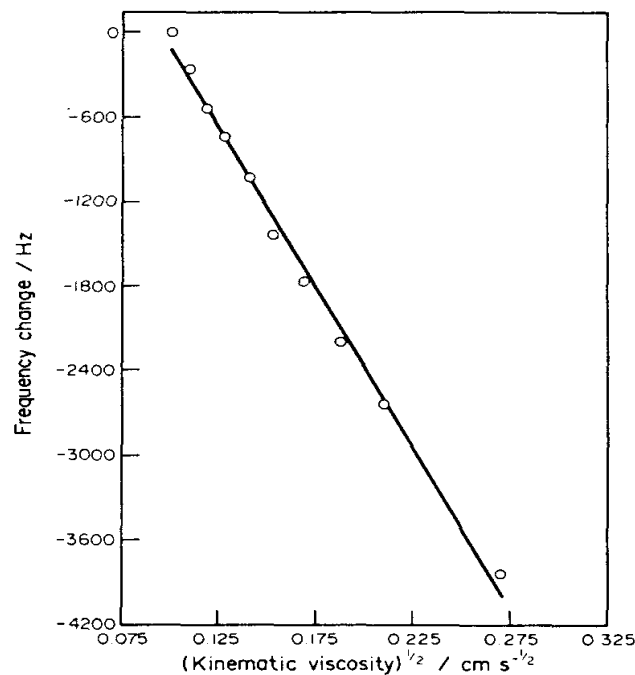


圖 1-30 溶液黏度對振盪頻率的影響^[50]

Fig.1-30 The effect of viscosity solution on frequency shift

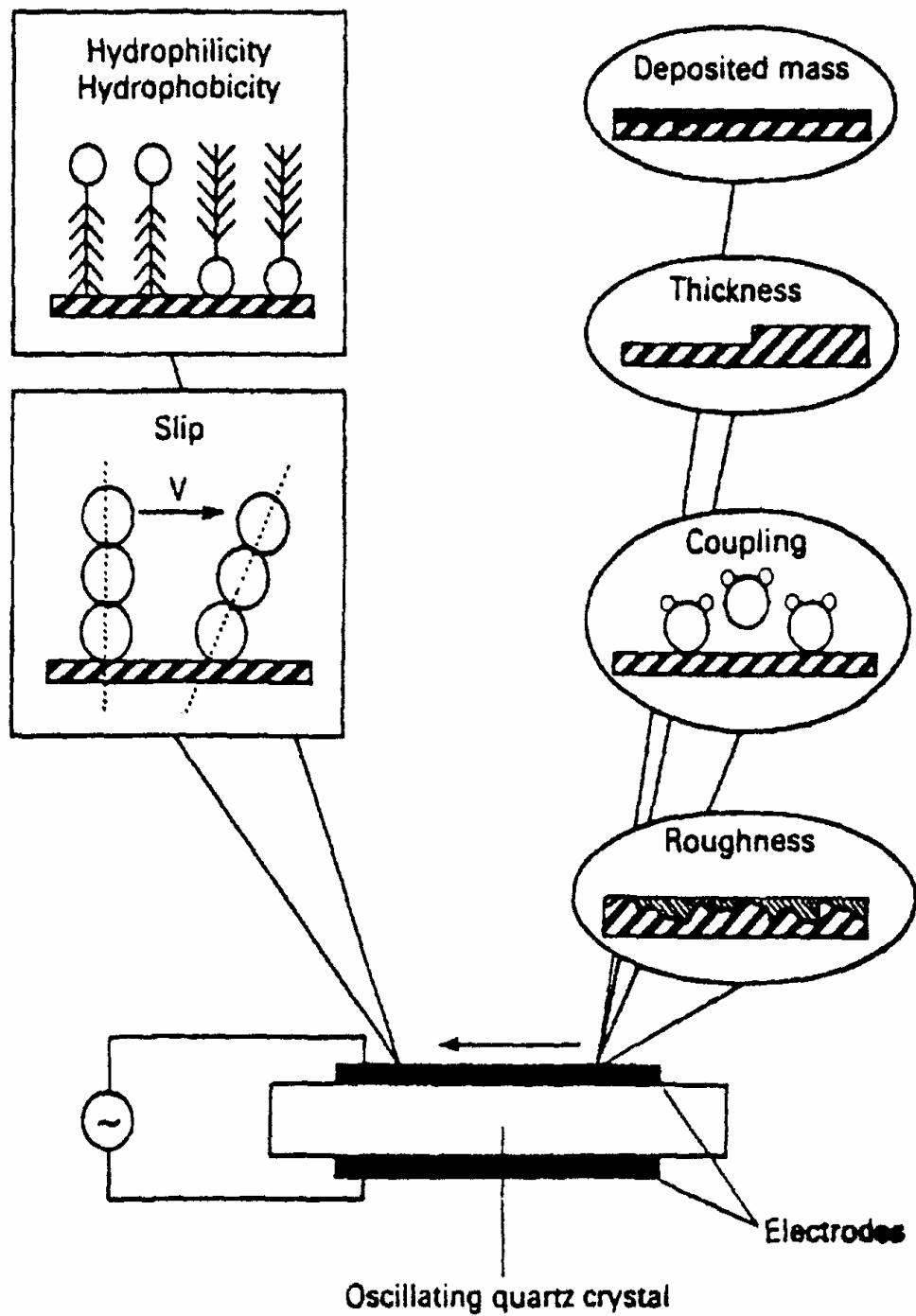


圖 1-31 在液相中影響振盪晶體感測器行為之因素示意圖^[51]

Fig. 1-31 The schematic diagram of interfacial factors that effect on the behavior of the oscillating crystal sensor in liquid phase^[51]

1-5-7 石英壓電晶體之應用

(一) 氣相石英壓電晶體之運用

將QCM應用於氣體偵測的研究相當多，表 1-9 列出各種化學塗佈物對各種特定氣體的偵測靈敏度^[52]。由此表可看出氣相石英壓電感測器可用來偵測微量(ppm-ppb)的各種有機及無機污染物。

表 1-9 塗佈各種化學物質於石英壓電晶體對特定氣體的感測能力^[52]

Fig. 1-9 Types of chemical coatings on QCM for various gas^[52]

Detected gas	Typical coating	Sensitivity level
H ₂	Palladium	ppm
SO ₂	Quadrol	ppm
	Trethanolamine	
	Armeen 2S	
H ₂ O	LiCl	ppm
	SiO _x	
NH ₃	AgNO ₃	ppb
	Ascorbic acid	
H ₂ S	Metallic copper	ppm
HCl	Teritary amines	ppm or ppb
	Triphenylamine	
Pesticide	Triton X-100	ppm
	NaOH	
Hydrocarbons	Silicone oil	ppm
Aromatic	Nujol+Ir complex	ppm
Hydrocarbons		
Toluene	Carbowax	ppm
Mercury	Gold	ppm
CO	HgO	ppb

近年來，更發展多頻道系統(multi channel)系統，在多個石英晶體表面塗佈不同的選擇性物質，可同時分辨多種氣體^{[53][54]}。如Ping Chang^[53]利用主成分分析(PCA)方法選取適當的塗佈物，以偵測有機氣體，使用挑選出的六種塗佈物質組成一個六頻道系統，能分辨出胺、酸、醇及芳香族化合物，並利用倒傳遞類神經網路，如圖 1-30，成功的分辨這些有機氣體。

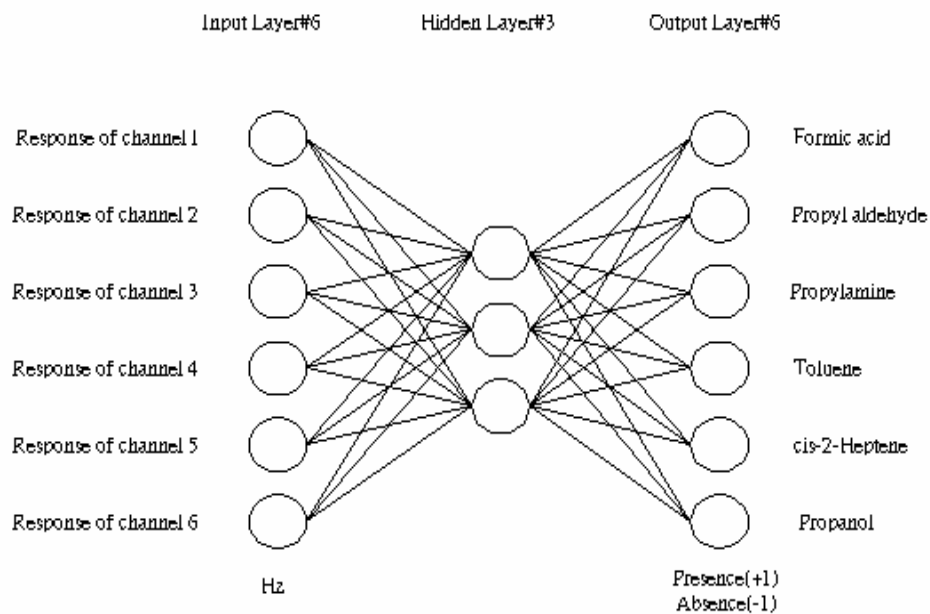


圖 1-32 6-3-6 結構倒傳遞網路之示意圖^[53]

Fig.1-32 The 6-3-6 structure of neural network^[53]

(二) 液相石英壓電晶體在生物感測器上之運用

近年來石英壓電晶體系統被廣泛地應用在生物分析上，通常是先在晶體表面修飾上一些額外的官能基，並利用某些生物分子間特殊的結合作用力，間接地利用石英壓電感測系統來偵測特定的生物分子。

西元 2001 年，Xiaodi Su^[55]先在石英晶體上的銀電極塗佈上一層聚苯乙烯薄膜以防止氧化，並利用 U.V. 照射下將 biotin 衍生物 (photobiotin ; PHB) 鍵結到聚苯乙烯上，之後運用 biotin/avidin/biotin-DNA 間極強的結合力及互補 DNA 間雜交作用來進行單股 DNA 的測定。如圖 1-33^[55]。

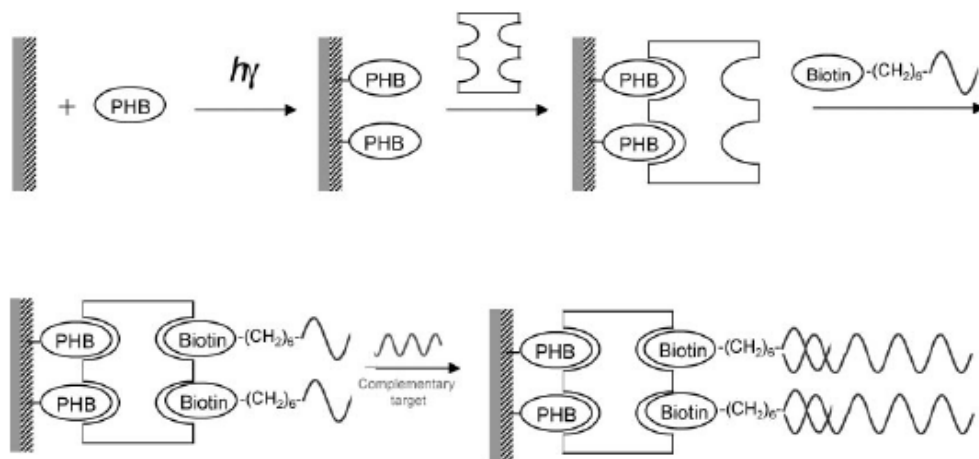


圖 1-33 互補DNA固定於已修飾的石英晶片之示意圖^[55]

Fig.1-33 Immobilization of biotin-ssDNA on biotin-avidin-biotin modified QCM electrode^[55]

雖然科學家廣泛地運用QCM來偵測DNA，而且過去的方法大多使用高頻率的晶體或是在晶片上修飾含DNA的多層膜來提高偵測DNA的靈敏度，但是前者方法會有影響系統的穩定度，而後者方法會提高定量固定化DNA上的難度。在過去文獻中，科學家巧妙地運用膠體金奈米粒子的生物相容性、高表面積及金與金奈米的電偶性質，研製一高靈敏度感測器來偵測葡萄糖濃度。所以，西元2000年 Lin, 和 Zhao^[56]等人，利用交聯劑 1,6-hexanedithiol 上的官能基-硫基分別與石英晶體上的金表面和膠體金奈米粒子作鍵結，並在鍵結完成後的金奈米修飾上HS-DNA，之後利用互補DNA與HS-DNA 進行DNA雜交實驗，並由石英壓電晶體偵測整個反應的過程。實驗結果發現，隨著反應時間的變化，修飾上金奈米粒子晶體對HS-DNA的吸附訊號遠比未修飾金奈米的晶體來得大。如圖 1-34^[57]及 1-35^[56]所示。

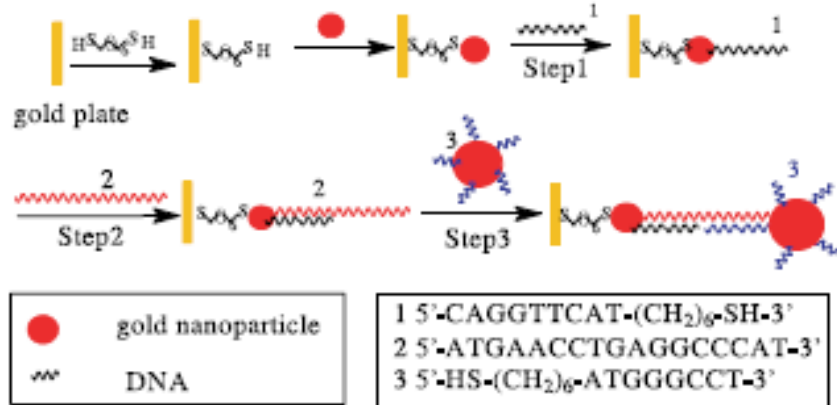


圖 1-34 塗佈金奈米粒子於石英晶體表面之訊號放大示意圖^[57]
 Fig.1-34 Schematic illustration of the sensing process of amplifying system based on Au nanoparticle-covered QCM surface^[57]

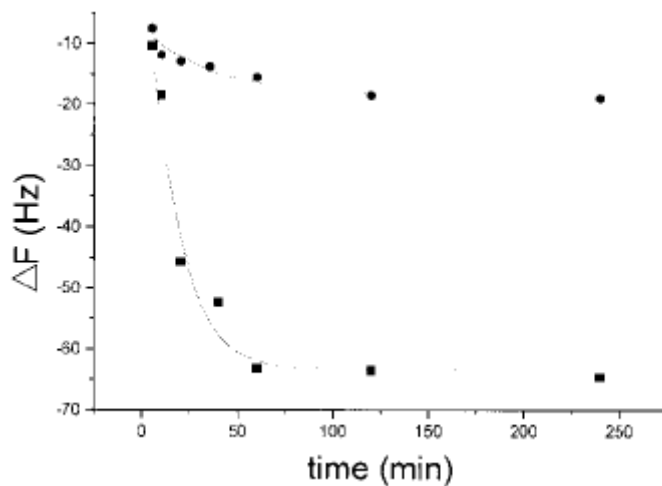


圖 1-35 未修飾金奈米與修飾上金奈米晶體吸附HS-DNA的時間-頻率變化圖^[56]

Fig. 1-35 Frequency response with time for the adsorption of 50 μ g/mL SH-DNA from PBS buffer solution onto gold., ●, with no colloidal Au; ■, modified with 50 ng colloidal Au^[56]

1-6 研究動機

在臨床醫學檢測項目內，血液中三酸甘油酯(TG)的含量是診斷疾病的重要指標之一。許多研究顯示，維持高濃度的血漿三酸甘油酯，常會導致三酸甘油酯蓄積於肝細胞內，伴生脂肪肝病變。當血漿三酸甘油酯濃度高至超過 800-1000 mg/dL 時，會有併發急性胰臟炎的危險。且血漿三酸甘油濃度偏高，也都是動脈粥樣硬化的危險因子之一。

目前幾乎所有的臨床檢驗皆採用酵素法檢測三酸甘油酯。一般是將三酸甘油酯水解成甘油再測定甘油的釋出量,然後換算出 TG 的含量。然而，因為測得甘油的含量需要一連串的酵素反應，此方法太過於繁雜，容易造成實驗上的誤差。

故本研究利用塗佈碳六十-大環胺醚的石英壓電感測器，可直接偵測三酸甘油酯經脂肪分解酵素催化水解後的產物-脂肪酸。此方法的優點是此感測系統成本低廉、具有再現性的優點，且可從電腦螢幕上觀察其催化反應的過程。本研究期許日後能應用在真實的血液樣品，藉石英晶片的頻率變化值推估人體血液三酸甘油酯的含量。