

私立東海大學化學工程與材料工程研究所

碩士論文

指導教授：顧野松 博士

於離子溶液系統中利用酵素聚合聚苯胺之工藝開發

研究生：楊建成 撰

中華民國 100 年 7 月

摘要

本研究探討在離子液體系統中，以界面活性劑作為模板進行酵素聚合反應並嘗試得到鹽式中間氧化態之聚苯胺。反應溶液中界面活性劑的添加，使得酵素結構改變進而失活，因此實驗中利用離子液體的添加用來維持酵素之活性。

首先，研究中探討不同陰離子型界面活性劑(DBSA、SDBS、SDS)與過氧化氫對酵素活性之影響。發現當界面活性劑與過氧化氫濃度增加時，對於酵素活性的確帶來不良之影響。但在添加離子液體([BMIM]OTf、[BMIM]PF₆)後，由於其與界面活性劑作用，減少界面活性劑之游離單體且離子液體可包覆酵素 HRP，故可有效地維持其活性。

探討利用酵素法聚合之最佳條件，結果顯示當界面活性劑使用量過低時，造成摻雜效果較差；而濃度過高時，易導致酵素失活而降低聚合效果。當離子液體濃度過高時，導致溶液黏度升高，故亦對酵素活液有不利之影響。發現當離子液體的添加量為 2% (v/v)以及當[DBSA]/[苯胺]為 1/4 及[SDBS]/[苯胺]為 1/3 時，利用 UV-Vis 測試下具有較佳的特徵波峰。

此外，我們可得知於不同離子液體系統中對於聚苯胺產率及導電度之影響，實驗結果顯示又以聚合溫度為 4°C 且利用親水性離子有最佳

之結果。從 TGA 測試可知添加界面活性劑後可其熱穩定。利用四點探針測試酵素法聚合聚苯胺之導電度(約為 0.023 S/cm)。最後，研究證實在此系統中，可有效的維持酵素活性且重複利用進行聚合反應，在酵素催化聚合之探討上更具有價值。

關鍵字：辣根過氧化酶、陰離子界面活性劑、離子液體、聚苯胺、

酵素法

Abstract

This research was explored in ionic liquid system, and we used surfactants as the template and dopant to do enzymatic polymerization and to synthesize the polyaniline of emeraldine salt. Adding the surfactant will results in the changing structure of enzyme, which makes it inactive. Therefore, in this research, we added the ionic liquid to maintain the activity of enzyme.

At first, this research discusses about the effects which cause in different anionic surfactants and hydrogen peroxide to the activity of enzyme. We found that when the concentration of surfactant and hydrogen peroxide increased, the activity of enzyme will has bad effects. But after adding ionic liquid, owing to the effect that caused by ionic liquid and surfactants, they will decrease monomers of surfactants and cover enzyme HRP; so the phenomenon we mentioned above can maintain its activity effectively.

We explored the best condition of enzymatic synthesise, the result shows the bad doping-effect when using the lower concentration of surfactants; in contrast, the inactivity of enzyme happened when using the higher concentration of surfactants. Besides, when the proportion of ionic liquid raised, the viscosity of solution enhanced, which will also has negative effect to enzyme. The result shows better characteristic absorbance under UV-Vis test, as well as the adding-volume of ionic liquid is 2% (v/v), molar ratio of [DBSA]/[aniline] and [SDBS]/[aniline] is 1/4 and 1/3.

Furthermore, we can know that under different ionic liquid systems

will affect the yield of aniline and conductivity. According to the result of the experiment, when the temperature of polymerization is 4°C together with hydrophilic ionic liquid, we can get the optimal outcomes. Based on TGA test, after adding surfactant, its thermal stability can be enhanced. And we detected the conductivity of polyaniline by using four-point probe. Finally, this research confirmed that when add ionic liquid can efficiently maintain enzyme activity, reduce the extraction step and reuse for polymerization, which let polymerization of enzymatic synthesis get more valuable.

Keywords : horseradish peroxidase (HRP) 、 anionic surfactant 、 ionic liquid

(IL) 、 polyaniline (PANI) 、 enzymatic synthesis

誌謝

本論文得以順利完成，首先得感謝指導教授 顧野松老師對於研究上的諄諄教誨以及在生活中的分享，使學生受益良多，謹此深摯謝忱。

再者也要感謝 杜景順教授、林松池教授、楊怡寬教授與林其昌教授，能在百忙之中參加學生口試，並給予許多寶貴的意見。使本論文得以更加完整，在此獻上由衷的感謝。

研究期間中，感謝實驗室的大郭學長在實驗上全力的協助與幫助，以及東柏、村村、峰哥與佳霖的鼓勵和陪伴。還有提攜並進的好夥伴森迪、心潔與亮均學長，在研究上的互相打氣與扶持，以及在課後時間一起運動和聊天，讓冰冷的實驗室有歡笑也有淚水。再者謝謝小光學妹與其他學弟妹的幫忙，是我一輩子難忘的，真的很謝謝你們。

此外，還要感謝系壘學弟們的不離不棄，讓我這老人還有球可以打也讓我的球員生涯跟碩士生涯一起畫上完美的句點。還有 358K 好友們的全力相挺以及在煩悶之時的娛樂消遣，在此獻上我最真誠的謝意。

最後，最想感謝我的爸媽和家人，在我數年來離鄉背井的求學生涯給予全心全力的幫忙及支持，讓我無後顧之憂的努力向學。還有女友家蓁的體貼和體諒和好麻吉申棟的鼓勵，謹此奉獻給我最愛的家人。

目錄

摘要.....	I
Abstract.....	III
致謝.....	V
目錄.....	VI
表目錄.....	XI
圖目錄.....	XIII
第一章 緒論與文獻回顧.....	1
1-1 前言.....	1
1-2 導電高分子.....	3
1-2-1 導電高分子歷史.....	3
1-2-2 導電原理.....	3
1-3 聚苯胺.....	7
1-3-1 合成方法.....	10
1-3-2 應用方面.....	11
1-4 辣根過氧化酶(HRP).....	13
1-4-1 簡介.....	13
1-4-2 催化反應機制.....	14
1-4-3 酵素測定原理.....	15

1-5 離子液體(ionic liquid).....	17
1-5-1 發展歷史.....	18
1-5-2 離子液體的物理化學特性.....	19
1-5-3 離子液體的分類及組成.....	19
1-5-4 離子液體的應用.....	20
1-5-5 離子液體對界面活性劑之作用.....	23
1-6 界面活性劑.....	24
1-6-1 簡介.....	24
1-6-2 界面活性劑應用.....	24
1-6-3 臨界微胞濃度(CMC).....	27
1-7 研究動機與方法.....	29
第二章 藥品與儀器分析.....	30
2-1 實驗藥品.....	30
2-2 實驗儀器.....	32
2-3 藥品配置.....	34
2-4 儀器分析方法.....	36
2-4-1 紫外光可見光光譜儀(UV/Vis).....	36
2-4-2 傅立葉紅外線光光譜分析儀(FTIR).....	38
2-4-3 熱重分析儀(TGA).....	39

2-4-4 場發式掃描電子顯微鏡(SEM).....	39
2-4-5 四點探針面電阻儀.....	40
第三章 實驗步驟與方法.....	41
3-1 酵素活性測定之藥品配置.....	41
3-1-1 不同 DBSA 濃度對酵素 HRP 影響.....	41
3-1-2 不同 SDBS 對酵素 HRP 影響.....	42
3-1-3 不同 SDS 濃度對酵素 HRP 影響.....	43
3-1-4 過氧化氫對酵素 HRP 影響.....	44
3-2 測量界面活性劑之微胞濃度.....	45
3-2-1 無添加離子液體[BMIM]OTf.....	45
3-2-2 添加 2%離子液體[BMIM]OTf.....	46
3-3 利用酵素法聚合聚苯胺之探討.....	47
3-3-1 探討不同界面活性劑之聚合影響.....	47
3-3-2 探討不同離子液體比例之影響.....	49
3-3-3 界面活性劑濃度之影響.....	51
3-3-4 不同條件聚合之比較.....	52
3-4 酵素催化聚合之實驗步驟.....	53
3-4-1 合成離子液體流程.....	53
3-4-2 離子液體系統中，進行酵素催化聚合流程.....	54

第四章 結果與討論.....	55
4-1 酵素活性探討之目的.....	56
4-1-1 界面活性劑之影響.....	56
4-1-2 酵素活性之實驗總結.....	67
4-2 探討界面活性劑之微胞濃度.....	70
4-3 回收分析及探討.....	73
4-3-1 酵素回收探討.....	73
4-3-2 離子液體回收探討.....	76
4-3-3 多次聚合之探討.....	78
4-4 聚苯胺分析.....	79
4-4-1 利用十二烷基苯磺酸(DBSA)聚合.....	80
4-4-2 利用十二烷基苯磺酸鈉(SDBS)聚合.....	83
4-4-3 不同離子液體系統中之聚合.....	86
4-4-4 界面活性劑之微胞濃度影響.....	91
4-4-5 離子液體與界面活性劑添加與否之比較.....	94
4-4-6 探討其它條件之影響.....	96
4-4-7 聚合後作其他方法處理.....	101
4-5 傅立葉紅外線光譜儀分析.....	105
4-6 場發式電子掃描式顯微鏡.....	112

4-7 熱重分析儀.....	115
4-8 離子液體的合成.....	117
4-8-1 實驗目的.....	118
4-8-2 實驗方法.....	118
4-8-3 實驗結果.....	119
4-8-4 NMR 檢測結果.....	120
第五章結論與未來建議.....	121
5-1 實驗結論.....	121
5-2 未來建議.....	125
第六章 參考文獻.....	126

表目錄

表【1-1】常見的導電性高分子結構.....	6
表【1-2】聚苯胺酸摻雜效應之比較表.....	9
表【2-1】本研究使用藥品清單表.....	30
表【2-2】本研究使用之儀器設備表.....	32
表【2-3】檸檬酸-磷鹽緩衝溶液配方.....	35
表【3-1】不同 DBSA 濃度之配置表.....	41
表【3-2】於不同 IL 中，不同 DBSA 濃度之配製表.....	41
表【3-3】不同 SDBS 濃度之配置表.....	42
表【3-4】於不同 IL 中，不同 SDBS 濃度之配製表.....	42
表【3-5】不同 SDS 濃度之配置表.....	43
表【3-6】於 IL 中，不同 SDS 濃度之配製表.....	43
表【3-7】不同 IL 中，不同過氧化氫濃度之配製表.....	44
表【3-8】無加離子液體之溶液配置表.....	45
表【3-9】添加 2% 離子液體[BMIM]OTf 之溶液配置表.....	46
表【3-10】不同[DBSA]/[Aniline]比例之溶液配置表.....	47
表【3-11】不同[SDBS]/[Aniline]比例之溶液配置表.....	48
表【3-12】DBSA 於不同離子液體比例中聚合配置表.....	49
表【3-13】SDBS 於不同離子液體比例中聚合配置表.....	50

表【3-14】不同 SDBS 濃度之溶液配置表.....	51
表【3-15】不同條件聚合之溶液配置表.....	52
表【4-1】聚合次數之產率與導電度比較.....	77
表【4-2】四種聚苯胺型態之吸收光譜.....	79
表【4-3】不同界面活性劑聚合之導電度比較.....	79
表【4-4】不同離子液體聚合之比較.....	87
表【4-5】不同溫度聚合之比較.....	96
表【4-6】不同清洗方法之比較.....	97
表【4-7】聚苯胺紅外線吸收光譜.....	105
表【4-8】[BMIM]Cl 之氫譜吸收值.....	119

圖目錄

圖【1-1】不同高分子之導電程度分布圖	4
圖【1-2】導體、半導體、絕緣體能帶理論	5
圖【1-3】聚苯胺不同型態之紫外光可見光吸收光譜	8
圖【1-4】聚苯胺不同型態之轉換圖	9
圖【1-5】辣根過氧化酶 3D 結構圖	13
圖【1-6】辣根過氧化酶示意圖	14
圖【1-7】HRP 與過氧化氫反應路徑	15
圖【1-8】離子液體中常見的陰、陽離子	20
圖【1-9】1-butyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonate	22
圖【1-10】1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate	22
圖【1-11】離子液體與界面活性劑之關係圖	23
圖【1-12】利用界面活性劑形成微胞作為模板之聚合示意圖	25
圖【1-13】界面活性劑摻雜示意圖	25
圖【1-14】十二烷基苯磺酸鈉結構式	26
圖【1-15】十二烷基苯磺酸結構式	26
圖【1-16】苯胺與界面活性劑相互作用與聚合機制	26
圖【1-17】不同的界面活性劑微胞型態	28
圖【1-18】高分子與界面活性劑叢集之模型	28

圖【2-1】四點探針簡單示意圖.....	40
圖【3-1】簡單蒸餾裝置.....	53
圖【3-2】反應流程圖.....	54
圖【3-3】回收反應流程圖.....	54
圖【4-1】離子液體添加下，DBSA 對酵素 HRP 之活性影響.....	58
圖【4-2】離子液體添加下，SDBS 對酵素 HRP 之活性影響.....	61
圖【4-3】離子液體添加下，SDS 對酵素 HRP 之活性影響.....	63
圖【4-4】離子液體添加下，H ₂ O ₂ 對酵素 HRP 之活性影響.....	66
圖【4-5】比較不同界面活性劑對酵素活性之影響.....	69
圖【4-6】聚合反應時，溶液形成微胞之結果.....	70
圖【4-7】無添加離子液體 SDBS 之波長掃描.....	71
圖【4-8】無添加離子液體 SDBS 之 CMC.....	71
圖【4-9】添加 2% [BMIM]OTf SDBS 之波長掃描.....	72
圖【4-10】添加 2% [BMIM]OTf SDBS 之 CMC.....	72
圖【4-11】回收反應溶液之殘餘活性測試.....	75
圖【4-12】回收後聚合聚苯胺之 UV-Vis.....	78
圖【4-13】於 [BMIM]OTf 中，不同 [DBSA]/[Aniline] 之 UV-Vis.....	81
圖【4-14】於 [BMIM]PF ₆ 中，不同 [DBSA]/[Aniline] 之 UV-Vis.....	82
圖【4-15】[BMIM]OTf 中，不同 [SDBS]/[Aniline] 比例聚合之 UV-Vis...84	

圖【4-16】[BMIM]PF ₆ 中，不同[SDBS]/[Aniline]比例聚合之 UV-Vis....	85
圖【4-17】不同比例[BMIM]OTf 聚合聚苯胺之 UV-Vis.....	88
圖【4-18】不同比例[BMIM]PF ₆ 聚合聚苯胺之 UV-Vis.....	89
圖【4-19】不同比例[BMIM]Cl 聚合聚苯胺之 UV-Vis.....	90
圖【4-20】在[BMIM]OTf 中，不同[SDBS]聚合之 UV-Vis.....	92
圖【4-21】在[BMIM]PF ₆ 中，不同[SDBS]聚合之 UV-Vis.....	93
圖【4-22】比較不同條件下聚合之 UV-Vis.....	95
圖【4-23】不同摻雜結果之 UV-Vis.....	98
圖【4-24】觀察不同時間下，酵素法之聚苯胺沉澱速率.....	100
圖【4-25】不同聚合方法之沉降速率比較.....	100
圖【4-26】探討有無添加 APS 之 UV-Vis.....	102
圖【4-27】利用戊二醛交聯之化學式.....	103
圖【4-28】探討添加戊二醛後之 UV-Vis.....	104
圖【4-29】聚苯胺經交聯後之 FTIR.....	104
圖【4-30】無添加界面活性劑聚合聚苯胺之 FTIR.....	108
圖【4-31】4°C 下，利用 2%[BMIM]OTf 聚合聚苯胺之 FTI.....	108
圖【4-32】4°C 下，利用 2%[BMIM]PF ₆ 聚合聚苯胺之 FTIR.....	109
圖【4-33】4°C 下，利用 2%[BMIM]Cl 聚合聚苯胺之 FTIR.....	109
圖【4-34】25°C 下，利用 2%[BMIM]OTf 聚合聚苯胺之 FTIR.....	110

圖【4-35】 25°C 下，利用 2%[BMIM]PF ₆ 聚合聚苯胺之 FTIR.....	110
圖【4-36】 4°C 下，2%[BMIM]OTf 回收再聚合聚苯胺之 FTIR.....	111
圖【4-37】 聚合用利用 1M HCl 清洗之 FTIR.....	111
圖【4-38】 利用[BMIM]OTf 聚合之 SEM.....	113
圖【4-39】 利用[BMIM]PF ₆ 聚合之 SEM.....	113
圖【4-40】 利用[BMIM]OTf 回收再聚合之 SEM.....	114
圖【4-41】 經由 1MHCl 摻雜後之 SEM.....	114
圖【4-42】 不同聚合條件下，測量其熱重損失之結果.....	116
圖【4-43】 一步合成法的化學式.....	117
圖【4-44】 兩步合成的化學式.....	117
圖【4-45】 合成[BMIM]Cl 之化學式.....	118
圖【4-46】 [BMIM]Cl 之藥品及合成比較圖.....	119
圖【4-47】 藥品級之[BMIM]Cl.....	120
圖【4-48】 合成級之[BMIM]Cl.....	120

第一章 緒論與文獻回顧

1-1 前言

由於科技進步的快速與人類需求的提升，材料多元的發展腳步亦刻不容緩，為因應新材料與產品開發需求所具備可塑性、輕量化及導電性等。因為苯胺的原料易取得、價格便宜以及簡單的合成方法並具有良好的穩定性和特別的電化學窗口，這些特點使得導電性聚苯胺在電子產業界中佔有一席之地。

Boara 等人探討各種聚合方法可得到聚苯胺之結論，但是近年來由於綠色化學的推動節能減碳及降低污染的考量下，利用酵素催化之合成方法漸漸地備受矚目 [1]。酵素催化聚合的條件溫和與極少地利用有機溶劑，但需在聚合過程當中添加適當的模板如(聚電解質：sulfonated polystyrene、poly(vinylphosphonic acid)或 deoxyribonucleic acid(DNA)等)或者具備摻雜的化合物如(界面活性劑:SDS、DBSA 或 SDBS 等)以減少支鏈的產生 [2]，進而提升聚苯胺的分子量及形成具有導電性的型態。由於添加模板或摻雜劑時，會導致酵素活性衰退等問題。近年來為了克服酵素失活之問題，Das 等人指出離子液體可以有效地穩定及酵素活性維持，並且可以避免使用有機溶劑行萃取步驟以落實綠色化學製程 [3]。

目前研究中探討親、疏水性離子液體的回收方法，前者利用鹽類析出方可回收，但當鹽類濃度過高時亦會導致酵素活性的破壞以及分離的困難；後者則可利用過濾方法進行分離。故本研究從探討反應機制、製程改良與利用離子液體進行聚合反應以便再利用，以達到綠色製程之理想。

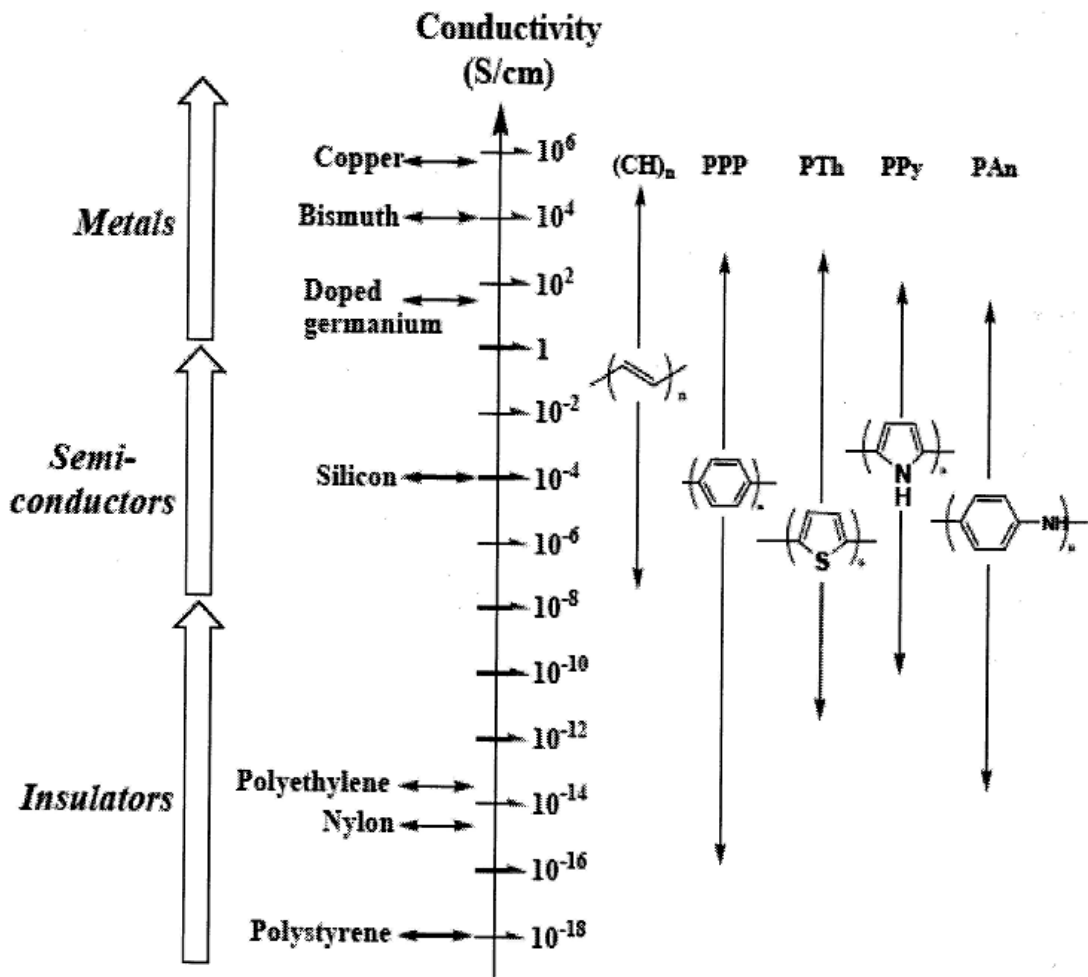
1-2 導電高分子

1-2-1 導電高分子歷史

導電高分子起源於 1958 年義大利學家 Ziegler-Natta 利用觸媒合成聚乙炔粉末，進而開創了導電高分子之領域[4]。1967 年日本筑波大學的 Hideki Shirakawa 教授利用觸媒聚合使不溶性固體粉末的聚乙炔形成聚乙炔薄膜[5]及 1976 年美國加州大學的 Alan Heeger 教授、美國賓州大學的 Alan MacDiarmid 教授則利用碘摻雜聚乙炔以導電度增加數十倍[6]，而於 2000 年諾貝爾化學獎頒給三位頂尖的科學家，更凸顯導電高分子發展重要性。

1-2-2 導電原理

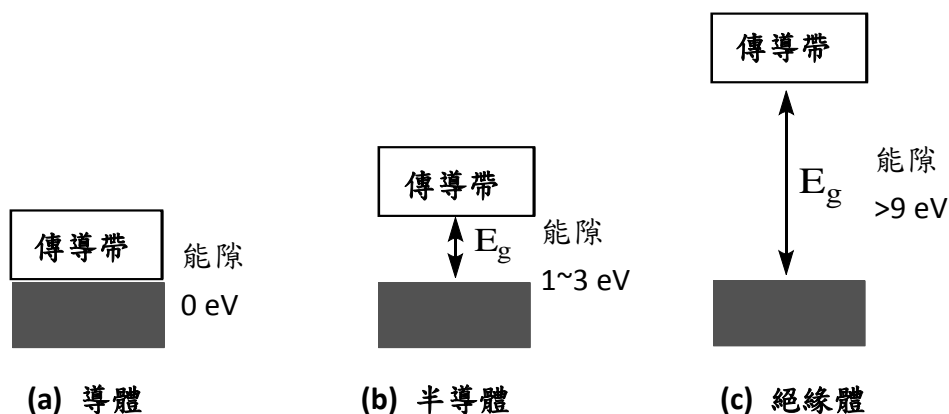
將一種或多種不同小分子的單體藉由化學鍵連結而形成巨大的分子就稱作高分子或聚合物。如圖【1-1】表示不同高分子聚合後之導電度，其性質則與分子量也有相當的關係，一般的有機高分子大都是絕緣體，是因為在碳氫化合物組成的共價單鍵上不提供可自由移動之電子作為傳遞。而導電高分子之主鏈則是由單-雙鍵交替的共軛雙鍵組成，除了 $\sigma-\sigma$ 鍵結的單鍵外另有 p 軌域重疊 $\pi-\pi$ 鍵結的雙鍵，而具有此交替的單鍵-雙鍵之共軛鍵結，則屬本質型的導電高分子。



圖【1-1】不同高分子之導電程度分布圖[7]

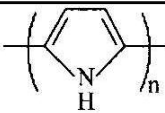
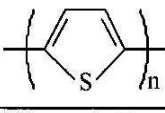
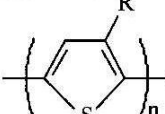
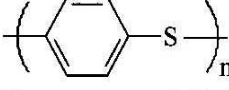
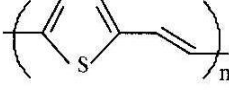

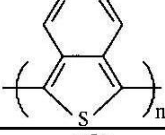
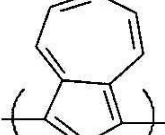

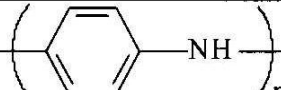
利用電子能帶理論來解釋其電子性質，當呈固態時，由於每一個原子的原子軌域重疊組成的分子軌域，其能量狀況近似連續性的能帶，這些能帶中含有的電子，以及最高電子佔有和最低無電子占有能帶位置，依最初原子軌域包含的電子數和軌域的能量而定。價電子所佔有的能帶稱為共價帶，而在基態時無電子佔有的能帶成為傳導帶，共價帶之最高電子能量和傳導帶的最低電子能量之間的時間隙，即稱為能量間隙。導電高分子主鏈上結構是由交替的單鍵-雙鍵共軛鍵結而成，電

荷隨著高分子鏈移動而具導電現象，此共軛結構能帶間隙約在 1~3eV 之間，因此具有半導體材料的主要特徵，如圖【1-2】所示。



圖【1-2】 導體、半導體、絕緣體能帶理論

由於共軛性高分子可經由化學或電化學的方式加以摻雜，使主鏈上移去部分電子而產生電洞(氧化)或注入數個額外電子(還原)，並伴隨在能帶間隙中產生新能階，使這些電洞或額外電子可以在分子鏈上躍遷移動，此時共軛性高分子便成為具有本質導電性之導電體，有別於一般摻入金屬粉或導電級碳黑的高分子複合體。表【1-1】為不同導電高分子其摻雜劑及其導電度。

Polymer	Structure	Doping material	Approximate conductivity (Siemens per cm)
Polyacetylene	$\text{---}(\text{CH}=\text{CH})_n\text{---}$	$\text{I}_2, \text{Br}_2, \text{Li}, \text{Na}, \text{AsF}_6$	10000^a
Polypyrrole		$\text{BF}_4^-, \text{ClO}_4^-, \text{tosylate}$	500~7500
Polythiophene		$\text{BF}_4^-, \text{ClO}_4^-, \text{tosylate}$ FeCl_4^-	1000
Poly (3-alkylthio-phenene)		$\text{BF}_4^-, \text{ClO}_4^-, \text{FeCl}_4^-$	$1000\sim 10000^a$
Polyphenylene sulfide		AsF_6	500
Polythienylene-vinylene		AsF_6	2700^a
Polyphenylene		$\text{AsF}_6, \text{Li}, \text{K}$	1000
Polyisothiana-phthene		$\text{BF}_4^-, \text{ClO}_4^-$	50
Polyazulene		$\text{BF}_4^-, \text{ClO}_4^-$	1
Polyuran		$\text{BF}_4^-, \text{ClO}_4^-$	100
Polyaniline		HCl	200^a

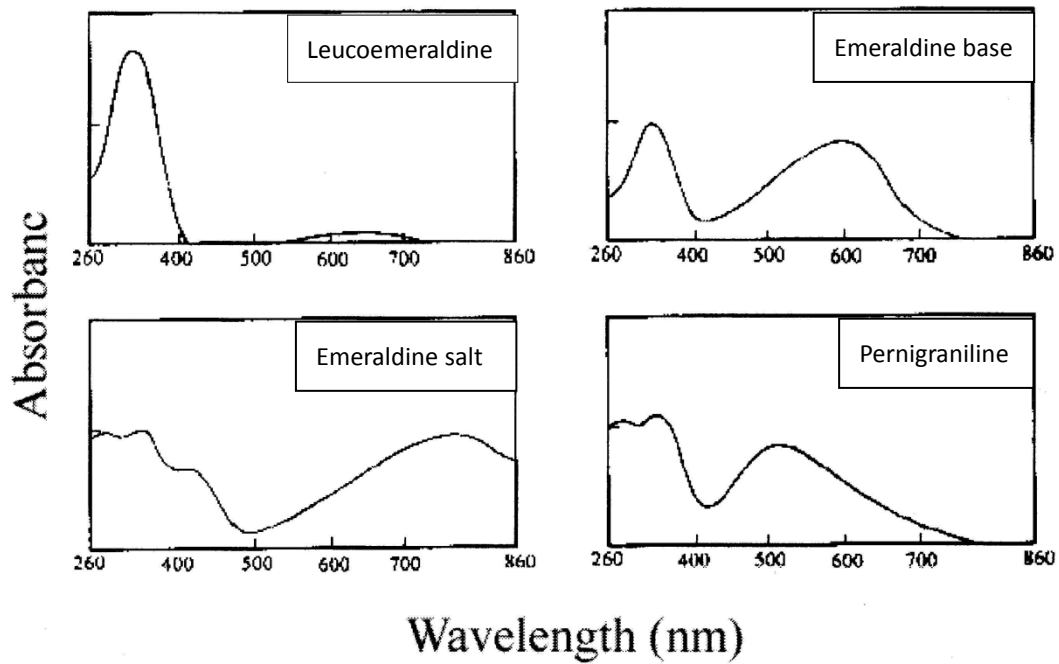
a:Conductivity of oriented polymer

表【1-1】 常見的導電性高分子結構[8]

1-3 聚苯胺

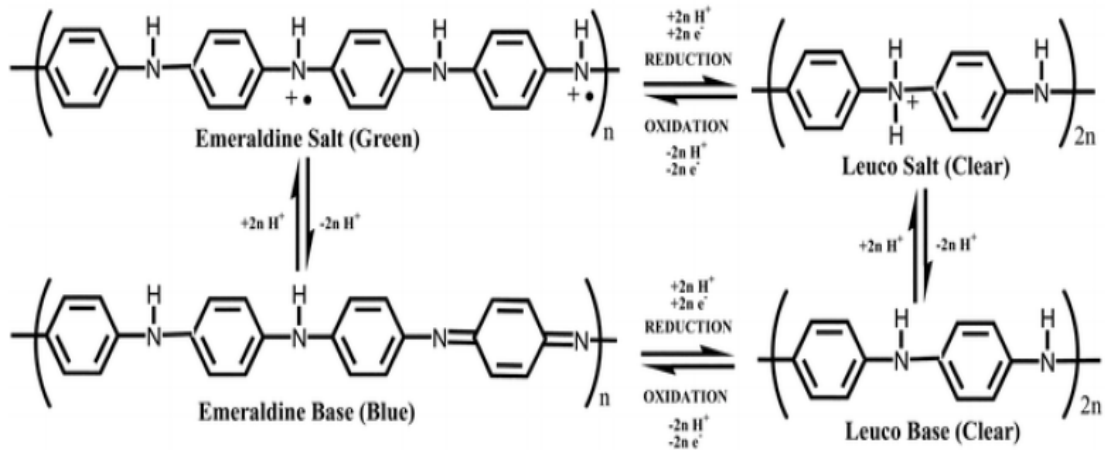
聚苯胺為高分子合成材料，又稱導電塑料。此材料功能除了具備塑料的密度外，亦具備金屬的導電性和加工性，最特別的是擁有金屬和塑膠材料所缺少的化學和電化學效能，當中電子化學品、抗靜電材料、聚苯胺金屬防腐蝕材料、電磁屏蔽材料則佔 80%以上，於 2005 年國際上導電高分子的相關產品產值已達 10 億美元。多元的應用和市場「錢」景，使其成為目前世界各國爭相研究、開發的熱門材料。而現今最具規模的公司則屬德國的 Ormecon 公司，該公司主要生產導電聚苯胺的防腐塗料和抗靜電塗料，目前分別在美國、日本與韓國分別建立三家子公司，顯然已成為全球最具影響力的導電聚苯胺產品公司。

鹼式中間氧化型態之聚苯胺(又稱 EB 型聚苯胺)經酸摻雜後轉變為鹽式中間氧化態之聚苯胺(又稱 ES 型聚苯胺)，吸收峰值從原來 640nm 偏移至 820nm 附近，且在 420nm 出現另一個吸收峰。因 820nm 的峰值是經摻雜後，電子非定域化及共振較佳，使得能隙減少，降低電子躍遷所需的能量而導致，此外 420nm 的吸收則與極子的結構有關。然而，從圖【1-3】中即可觀察出不同型態聚苯胺的吸收峰形。



圖【1-3】 聚苯胺不同型態之紫外光可見光吸收光譜[9]

由圖【1-4】可得知高分子聚苯胺可利用酸、鹼和電位之氧化還原程度改變其型態，且不同型態下的聚苯胺也有不同的性質、顏色和吸收波峰。完全還原的聚苯胺(Leucoemeraldine 鹼)為白色、不導電物質，主鏈中各重覆單元間不共軛；經氧化摻雜後得到(Emeraldine 鹼)為藍色、不導電物質；在經酸摻雜後得到(Emeraldine 鹽)為綠色、導電物質；如(Emeraldine 鹼)完全氧化則得到(Pernigraniline 鹼)不導電物質。



圖【1-4】聚苯胺不同型態之轉換圖[10]

此外，摻雜試劑又分為：無機酸/小分子有機酸摻雜以及高分子酸兩種；利用不同的試劑摻雜聚苯胺其效果亦不相同，如表【1-2】所示。而本研究中選用摻雜試劑為高分子酸(SDBS、DBSA)作為比較，主要是因聚苯胺其難溶性質，但經由高分子酸摻雜後可提高其溶解度。

無機酸/小分子有機酸摻雜：加工性不佳，少有溶劑可溶解，室溫或以上蒸發導電度下降	強酸(苯環-苯環聚合)	HCl：聚合速率慢，平滑狀
		HClO ₄ ：聚合速率慢，平滑狀
		H ₂ SO ₄ ：聚合速率快，顆粒或網狀
		HBF ₄ ：聚合速率快，顆粒或網狀
	弱酸/中性(氮-苯環聚合)	
	鹼性(氮-氮聚合)	
高分子酸：酸摻雜劑、聚電解質可溶於水。結合離力：氫鍵、長距離靜電吸引力	聚苯乙烯磺酸、聚丙烯酸、PAMPSA、CSA、丙烯醯胺 (AAm)、十二烷基苯磺酸、雙硫二苯胺、PAPSAH/V ₂ O ₅ 、烷基衍生物、有機硫化物 DMcT、環上取代的 sulfonated polyaniline (SPAN)、氮上取代之 poly(aniline-co-N-propane sulfonic acid aniline) (PAPSAH)、o-sulfobenzoic anhydride PABSAH、PAPSAH poly(aniline-co-3-[(2-aminophenyl)sulfanyl]-1-propanesulfonic acid) (MPS-PAN)、負型摻雜(n-type 摻雜)、以 LiH、NaH、KH、CaH ₂ 為摻雜物在聚苯胺的 DMSO(dimethyl sulfoxide,DMSO)溶液中進行摻雜	

註：PAMPSA：聚 2-丙醯胺-2-甲基-1-丙烷磺酸 poly(2-acrylamino-2-methyl-1-propanesulfonic acid)
CSA：DL-10-Camphorsulfonic acid AAm：acrylamide

表【1-2】聚苯胺酸摻雜效應之比較表[11]

1-3-1 合成方法

聚苯胺有數種方式可聚合而成，而研究中則選擇利用酵素法聚合之方式，主要是對於環境汙染及能源消耗較小，以及此聚合方法已備受重視。以下將分別說明之：

a.化學法[9]

利用化學氧化聚合法製備聚苯胺，在製備過程當中，因添加氧化劑(過硫酸銨、碘酸鉀、氯化鐵、重鉻酸鉀等)下使苯胺單體被氧化成為自由基，進而進行反應。所得產物為 ES 型的聚苯胺且產物極多，但因其溶解度欠佳，故利用抽氣過濾方法收集產物。最後再利用質子酸進行摻雜使其成為穩定的鹽式中間氧化態聚苯胺，但在氧化聚合反應中必須要在酸性條件下進行，苯胺才會以苯胺鹽的形式存在，且為了使苯胺能充分的聚合，不殘留過多的單體，故氧化劑添加量需適當，以確保聚苯胺聚合達最大效益。

b.電化學法[12]

利用電化學聚合方法製備聚苯胺，則是苯胺在硫酸水溶液中，以白金為電極下進行陽極氧化，即可使苯胺因失電子氧化形成自由基陽離子而發生聚合反應，最後形成聚苯胺薄膜。然而，隨著提供的電壓、時間等因素的變化，使聚苯胺的氧化程度不同造成表面顏色不同。

c. 酵素法[13]

利用酵素法催化聚合聚苯胺，則是近年來較受注目的方法。因其反應過程中條件溫和且催化效率高，方法則是將溶液之 pH 值控制為 4.3，此時酵素活性最佳，並加入單體與氧化劑(莫爾比率為 1:1)，在短時間內即可完成聚合反應，經離心及清洗動作後，即可收集產物聚苯胺。

若直接使用酵素聚合聚苯胺的情況下並無法合成出導電性的聚苯胺，須利用具有模板功能的物質或者具摻雜效果的界面活性劑。因這些模板或界面活性劑為帶負電荷的高分子，使得帶正電荷的苯胺單體自由基進行對位向的排列(頭-尾接)，進而成 ES 型的聚苯胺。

1-3-2 應用方面

聚苯胺被發現經由摻雜後，可大幅提升導電度而被廣泛的研究及應用[14]。以下舉例說明之：

a. 二次電池

聚苯胺為共軛導電高分子，在電化學摻雜後導電高分子電極即與對應電及電解質構成一個蓄有電能之電池，若因負載而放電，導電高分子即進行去摻雜，此摻雜/去摻雜(充電/放電)為一可逆反應，且因聚苯胺價廉、能量密度高、循環壽命長與低自身放電等優點，以備受重視。

b.電致變色

當共軛高分子經電化學氧化還原之電荷轉移，在能帶間隙中生成新的能階時，使電子轉移能量降低而形成新的吸收光譜，此因電化學氧化還原反應所產的變色現象則稱為電致變色。聚苯胺結構上有兩個以上不同氧化還原狀態，具有多重電致變色性質，其範圍為：透明黃-綠-深藍-黑，皆具有明顯的顏色對比性。應用於汽車防眩後視鏡、光資訊儲存元件、太陽眼鏡、軍事用途護目鏡、飛機駕駛艙遮篷與智慧窗等皆具有極大的發展潛力。

c.防腐領域

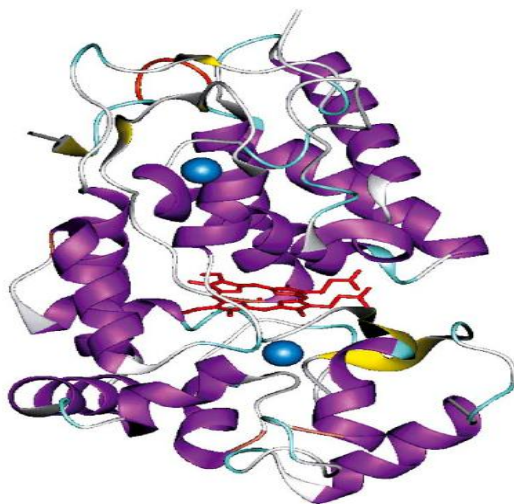
自從 1985 年 Beberry 發現聚苯胺對鐵基金屬具有相當的防護作用以來，相關學者陸續進行研究及開發。聚苯胺優異的防腐蝕性能與機制已逐漸成熟，其主要是使金屬和聚苯胺膜界面形成一層致密的金屬氧化膜，讓金屬的電極電位處於鈍化區，此層膜可使金屬進一步氧化而得到保護。防腐機制主要是利用氧化-還原反應形成鈍化膜，使可逆的 EB/LE 氧化還原反應和由陰陽極氧化還原引起的中介作用。

1-4 辣根過氧化酶(HRP)

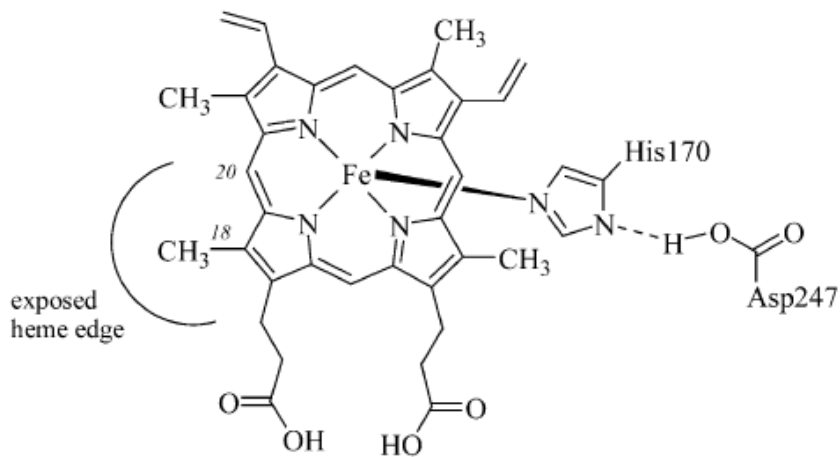
1-4-1 簡介

過氧化酵素為中心帶有原血紅素的氧化還原酵素，廣泛存在於微生物及動植物細胞中，且在許多的動植物生理代謝過程中扮演著重要的角色[15]。由於辣根過氧化酵素取於辣根植物根部的過氧化酵素，故稱之為辣根過氧化酵素(horseradish peroxidase, HRP)。價格便宜、取得容易且穩定性高，故常被用作化氧化酵素[16]。

HRP 由 308 個胺基酸所組成的單肽鏈，分子量約為 44 kDa，其結構由胺基酸、活性中心的 heme group 與兩個鈣離子所組成，如圖【1-6】所示。結構中表示鈣離子對於酵素的結構與活性穩定有相當的關係，亦指出鈣離子並不會參予酵素催化反應[17]。如圖【1-7】所示 Heme group 之活性中心為正三價五配位體的鐵離子，其除了與 porphyrin 組成四個配位外並與 His 170 形成第五號配位。



圖【1-5】辣根過氧化酶 3D 結構圖[18]

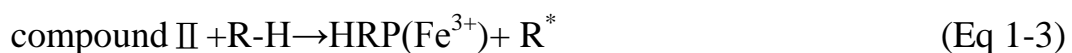
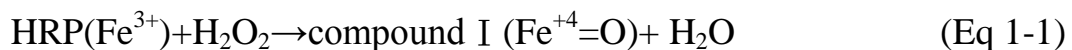


圖【1-6】辣根過氧化酶示意圖[18]

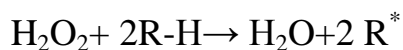
1-4-2 催化反應機制

由於酵素為一種具有生物性催化劑功能的蛋白質且受到廣泛的應用，但當蛋白質受到某些環境條件的影響下，會導致結構改變或失活。造成變性失活的因素可分為兩種—物理性變性：加熱、冷凍、高速攪拌、高壓與輻射照射；化學性變性：酸、鹼、重金屬離子、有機溶劑、尿素與界面活性劑。

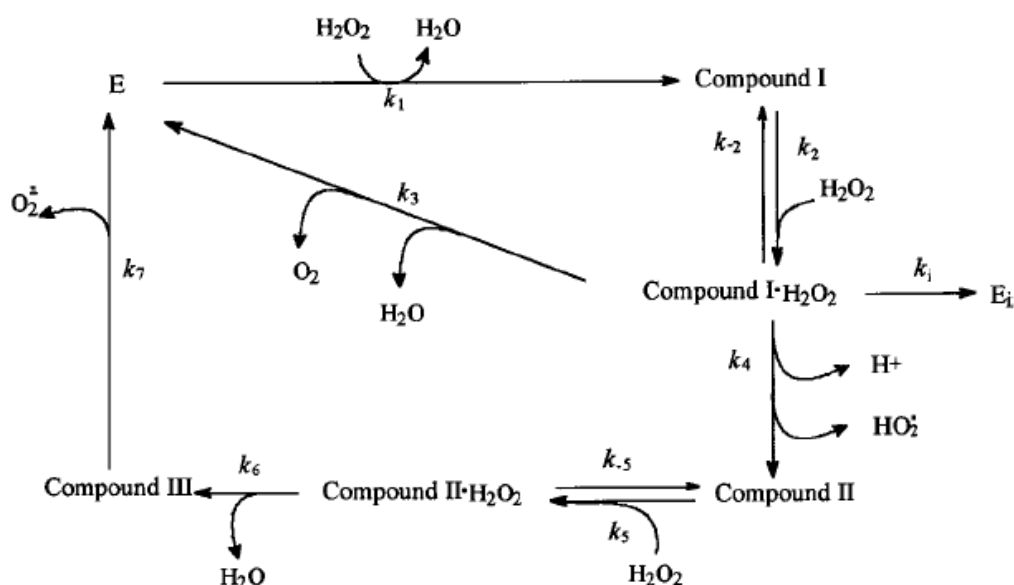
具有高度的催化效率及專一性是酵素催化的優點，且相對於化學法與電化學法其條件溫和。以下為 HRP 催化過氧化氫之反應機制[19] 與反應路徑如圖【1-8】所示：



全反應式：



從反應式(Eq 1-1)可發現當 HRP 被過氧化氫氧化後失去電子,便形成正四價高氧化態的中間體 compound I,再經兩次單一電子轉移如(Eq 1-2)、(Eq 1-3),使得 HRP 回到原始狀態。其中 R-H 表還原底物如: 苯胺、對苯二胺等, R*表自由基[20]。



圖【1-7】HRP 與過氧化氫反應路徑[21]

1-4-3 酵素測定原理

酵素活性即為酵素催化化學反應之能力,測定方法有比色法、化學滴定法、紫外光吸收測定、螢光測定等。通常在固定時間內,觀察生成物的產量,反應進行一定時間後,並中止反應再進行生成物的測量。主要用於測量辣根過氧化酶(HRP)活性是利用式的添加 ABTS (2,2-Azino-bis (3-Ethylbenzthiazoline-6-Sulfonic Acid)一種有極佳的安全性及基質的高敏感度,經由反應後生成藍綠色之氧化物並在 405 nm 到

410 nm 下有特定吸收峰值。故實驗中，測量酵素活性皆固定於波長 410 nm 下進行。

對於 ABTS 與 HRP 反應時間之探討，由實驗室先前研究結果得知，基質最佳反應時間為 15 分鐘較為穩定[22]，故往後檢測酵素活性皆應用此結論，實驗中則不另外探討。

$$\text{相對活性的定義} = \frac{\text{測量反應之吸收值}}{\text{未參予反應之吸收值}} \times 100\%$$

1-5 離子液體(ionic liquid)

離子液體又稱作為室溫離子液體或室溫熔融鹽，是指完全由陰、陽離子組成，在室溫或鄰近溫度下成液體的有機化合物。然而離子液體是一種完全由離子構成的化合物，但它與傳統的離子化合物卻有很大的差別。最大的差別在於，傳統的離子化合物在室溫下大都是固體，只有在高溫狀態下才會變成液態，而離子液體在室溫附近很大的溫度範圍內，均呈液態存在。

傳統的離子化合物中，強大的離子鍵使陰、陽離子在晶格上只能振動，不能轉動或移動，且具有較高的熔點、沸點和硬度。而離子液體中陰、陽離子的半徑較大且極不對稱，由於空間阻礙，強大的靜電力也無法使陰、陽離子在微觀上做緊密堆積，在室溫下陰、陽離子不僅可以振動，甚至可以轉動、移動，使得整個有序的晶體結構遭到徹底破壞，離子之間的作用力減小，進而使這類離子化合物的熔點下降，在室溫下就可能為液態。

一般認為以下幾個方面原因共同導致某些離子化合物具有很低的熔點：(1)組成化合物的陽離子的低對稱性；(2)分子間弱的相互作用力；(3)電荷在陽離子上的平均分布；(4)晶體的低效堆積。此外，陰離子的種類、組成、大小等也會影響離子液體的熔點。

1-5-1 發展歷史

1914 年，Walden 將乙胺與濃硝酸混合生成的鹽類-硝酸乙基胺，其在室溫下熔點為 12°C 。1940 年代，Hurley 等在室溫條件下電解 Al_2O_3 時，將 N-烷基吡啶加入到 AlCl_3 中加熱後產生透明澄清的溶液，此稱為第一代離子液體。1976 年，Osteryong 等利用離子液體 N-乙基吡啶四氯鋁酸作電解液，發現它具有液態範圍寬以及能與有機物混溶等特點。1992 年，Wikes 等在 1,3-二烷基咪唑鎧鋁酸鹽離子液體的基礎上，把離子液體中對水和空氣敏感的 $[\text{AlCl}_4]$ 置換為 $[\text{BF}_4]^-$ 、 $[\text{PF}_6]^-$ 、 $[\text{NO}_3]^-$ 等陰離子[23]。

而這些新型的離子液體，因具備對水和空氣有相當的穩定性及種類多樣性等優點，進而在很多領域中得到廣泛的應用，又被稱為第二代離子液體。之後，找更多替代的陰離子合成一系列二烷基咪唑類離子液體，使得黏度更低、電化學窗口更寬且化學性能更穩定，因此二烷基咪唑離子液體成為人們廣泛研究以及探討，至今能持續地進行中。

21 世紀後，離子液體的研究也進入新的階段，最受矚目的是在功能化離子液體的開發和應用。合成離子液體主要想法之一：是將二烷基咪唑的側鏈接上特定官能基團，使其擁有特殊的性質、用途和功能，這類則為第三類離子液體。

1-5-2 離子液體的物理化學特性

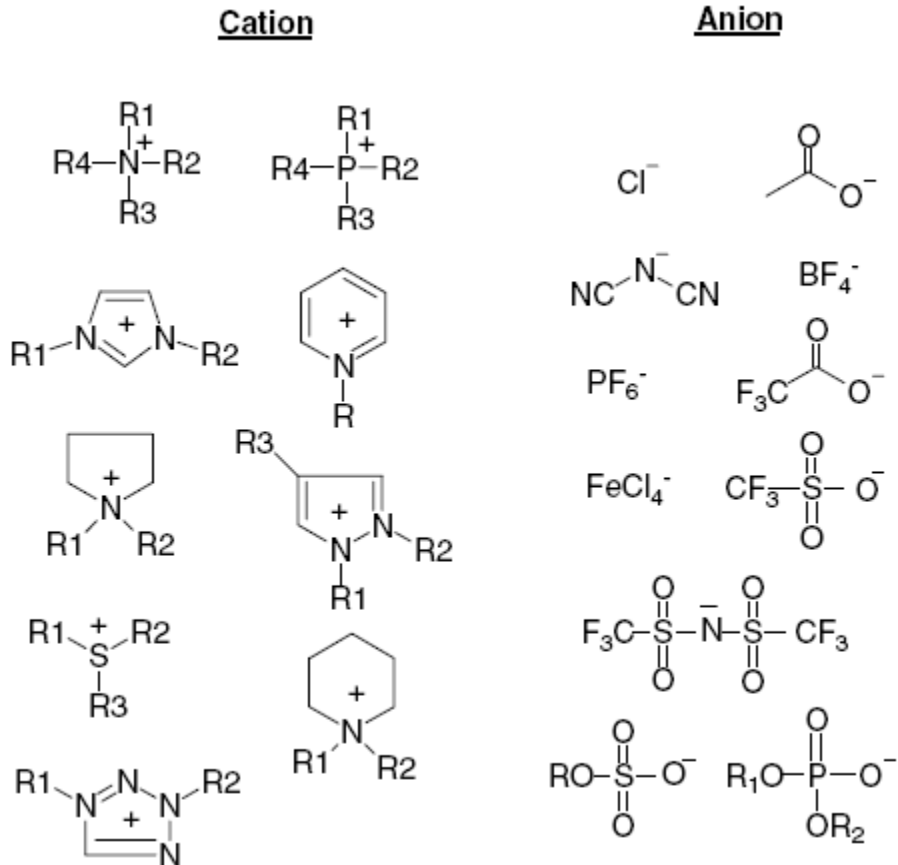
離子液體因具有各種不同物理化學之特性，使得在電化學、合成化學與分離化學上具有多方面的應用。主要其特性為：

- (1) 有高沸點及高溫的熱穩定性。
- (2) 本身即為液態電解質且具有導電性。
- (3) 可藉由改變離子種類或組成比例作為調整寬廣的可用電位範圍 (electrochemical window)。
- (4) 大部分有機、無機、有機金屬化合物離子液體均可以溶解，但離子液體與大部分的有機溶劑並無法互溶，而易形成兩相的反應系統。
- (5) 低揮發性，易保存。
- (6) 低熔點、高極性、低蒸氣壓、低毒性且在特定反應中具有催化性亦可回收再使用。
- (7) 與氣體 H_2 、 CO 及 O_2 離子液體可以大量溶解。

1-5-3 離子液體的分類及組成

離子液體主要由有機陽離子和有機或無機陰離子組成(如圖【1-9】)，而其性質也決定於組成結構。由於離子液體可利用不同的陰陽離子搭配組合，設計出不同性質的離子液體，故在許多領域中有了更廣泛的應用。離子液體常見分類方為分為幾種：

- (1) 離子液體發展的先後順序。
- (2) 離子液體的水溶性。
- (3) 離子液體中陰、陽離子的不同。
- (4) 離子液體酸鹼性的不同。



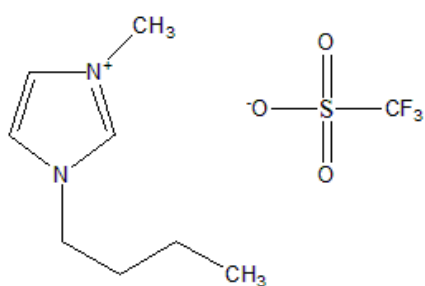
圖【1-8】離子液體中常見的陰、陽離子[24]

1-5-4 離子液體的應用

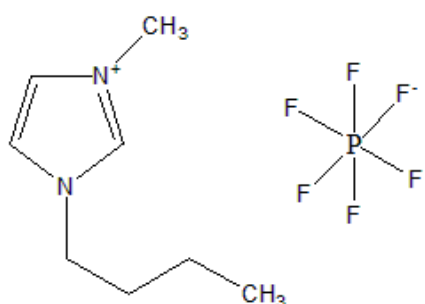
離子液體的應用起源於 1972 年 Parshall 等人[25]在離子液體中添加過度金屬，以兩相催化方式進行氫化反應，並開啟了離子液體的應用端。以下有許多用應於合成和催化反應的介紹：

- (1) 親電性取代反應：在離子液體[BMIM]PF₆中，催化烯烴與芳香烴所進行的烷基化反應，可達高產率及高轉化率並且可將離子液體的催化劑重覆使用[26]。
- (2) 氫化反應：在[BMIM]SbF₆離子液體中加入銻化合物催化烯烴氫化反應，雖然溶解度較小，但反應速率有高度提升且證明可有效地固定催化劑，達到回收利用的目的[27]。
- (3) 氧化反應：在離子液體[BMIM]PF₆中以次氯酸鈉水溶液當氧化劑，加入二氯甲烷進行氧化反應，相對於有機溶劑在產率及立體選擇性都有相當的提升[28]。
- (4) Heck 偶合反應：在離子液體介質中添加鈀觸媒以催化芳香基鹵化物與烯烴的 Heck 偶合反應，而產物可利用蒸餾方式作分離純化[29]。
- (5) Suzuki 偶合反應：利用烷基鹵化芳香烴與芳香基硼酸進行 Suzuki 偶合反應，有效地將產率和反應速率提升且催化劑用量大幅減少[30]。
- (6) Diels-Alder 反應：在離子液體中進行 Diels-Alder 反應，相較於在有機溶劑中反應，反應速率和產率的選擇性皆有提升[31]。
- (7) 環加成反應：在離子液體中進行二氧化碳與環氧化物的環加成反應，產率可達到 100%，且利用蒸餾方式即可分離產率，並可回收重覆使用催化劑[32]。

目前為止，離子液體的應用研究中以取代揮發的有機溶劑為主要趨勢及探討最多，有機合成反應中利用離子液體作為反應的溶劑且提供有別於有機溶劑合成之環境。離子液體使催化劑活性維持、穩定性高且轉化率更好；此外，離子液體種類甚多，亦可由不同陰、陽離子作搭配合成以滿足各種需求。文獻中指出，聚合高分子多選用咪唑類離子液體，因其具有獨特的結構、具良好的導電性、高熱穩定性以及強聚合能力，故本實驗選用咪唑類離子液體作為應用，如圖【1-9】與圖【1-10】所示。



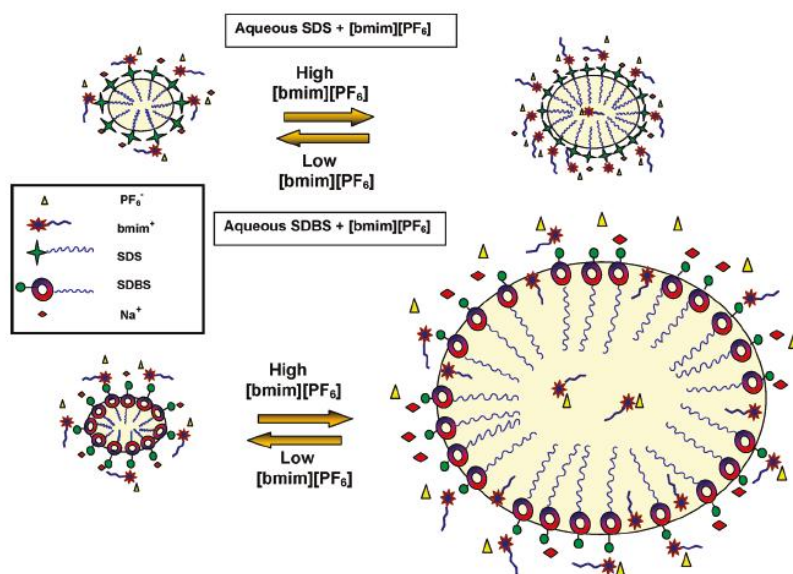
圖【1-9】 1-butyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonate



圖【1-10】 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate

1-5-5 離子液體對界面活性劑之作用

Beyaz 等人指出由於 SDBS 與 SDS 結構上的不同，以至於對離子液體相互作用的不同，故導致排列堆積緊密度之不同[33]，如圖【1-11】所示。



圖【1-11】離子液體與界面活性劑之關係圖[33]

於 SDBS 溶液中，離子液體濃度提高時，對於聚集微胞形狀、大小將有所改變，推測主要因 SDBS 上之苯環所造成空間產生空隙且其疏水性質，導致疏水性離子液體易進入微胞系統中並增加微胞的粒徑大小。SDBS 的苯環上帶有陰離子 SO_3^- 與離子液體的陽離子 bmim^+ 形成陽離子- π 相互作用以及 SDBS 苯環上的 π 電子雲，而當離子液體帶有長鏈的烷基時，溶於溶液中後，會有類似界面活性劑的行為與現象。

離子液體與酵素作用的主要兩大機制為：

(1) 離子液體的親水端與蛋白質上胺基酸的電荷產生靜電吸引。

(2)離子液體的疏水端與蛋白質的疏水端亦有相互作用力。

1-6 界面活性劑

1-6-1 簡介

界面活性劑分子主要分為三部分：親油基、連結基與親水基。當界面活性劑溶於水後，親油部分解離成陰離子、陽離子、兩性離子(視水溶液之 pH 值而解離成陰離子或陽離子)或不解離之離子。因此，界面活性劑之種類相當地多樣，大致上可分為以下四大類，而本實驗選用之界面活性劑為陰離子型界面活性劑：

(1)陽離子界面活性劑

(2)陰離子界面活性劑

(3)兩性離子型界面活性劑

(4)非離子界面活性劑。

界面活性劑是指能使溶液表面張力下降及降低兩種液體間表面張力，其具有親水和疏水基團的有機分子。當在溶液中濃度超過某一臨界值時，其分子或離子會形成聚集體，又稱微胞。當微胞開始形成之濃度稱為臨界微胞濃度(Critical Micelle Concentration, CMC)，為表面活性劑的重要參數之一。

1-6-2 界面活性劑應用

聚苯胺上主要因存在許多不同的頭尾相接支鏈之結構，導致聚苯

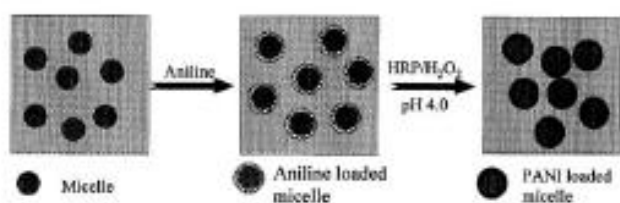
胺難溶的原因，因此為改善其性質有幾種適當的方法：

(1)提供適當的陰離子作為導電高分子摻雜用。

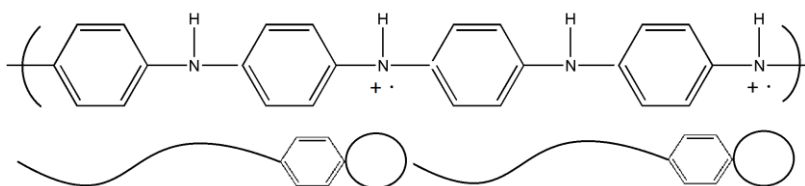
(2)改善水溶性。

(3)在聚合反應時，利用模板使單體分子形成直線排列。

實驗中選用 SDBS 與 DBSA 兩種皆為陰離子型界面活性劑進行探討，文獻中指出可利用界面活性劑形成微胞狀態後，可提供聚合聚苯胺的合適條件，如圖【1-12】所示，但是最大的缺點即為易導致酵素活性降低[34]。由於聚苯胺的加工性與溶解性不良，故利用界面活性劑的添加改善其缺點。然而在化學合成法中，為了提高聚苯胺之溶解性亦會添加界面活性劑作為摻雜用，使其能微溶有機溶劑以利再加工[35]。因鹽式中間氧化態之聚苯胺上帶有正電荷會使陰離子型界面活性劑的親水端產生庫倫靜電力吸引，此現象稱為摻雜，如圖【1-13】所示，此結構可發現因具有界面活性劑之親水端的添加，故可提高其溶解性。

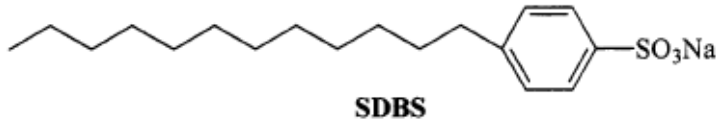


圖【1-12】利用界面活性劑形成微胞作為模板之聚合示意圖[35]

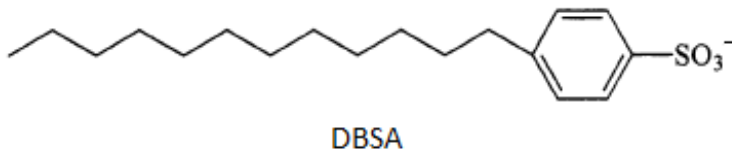


圖【1-13】界面活性劑摻雜示意圖

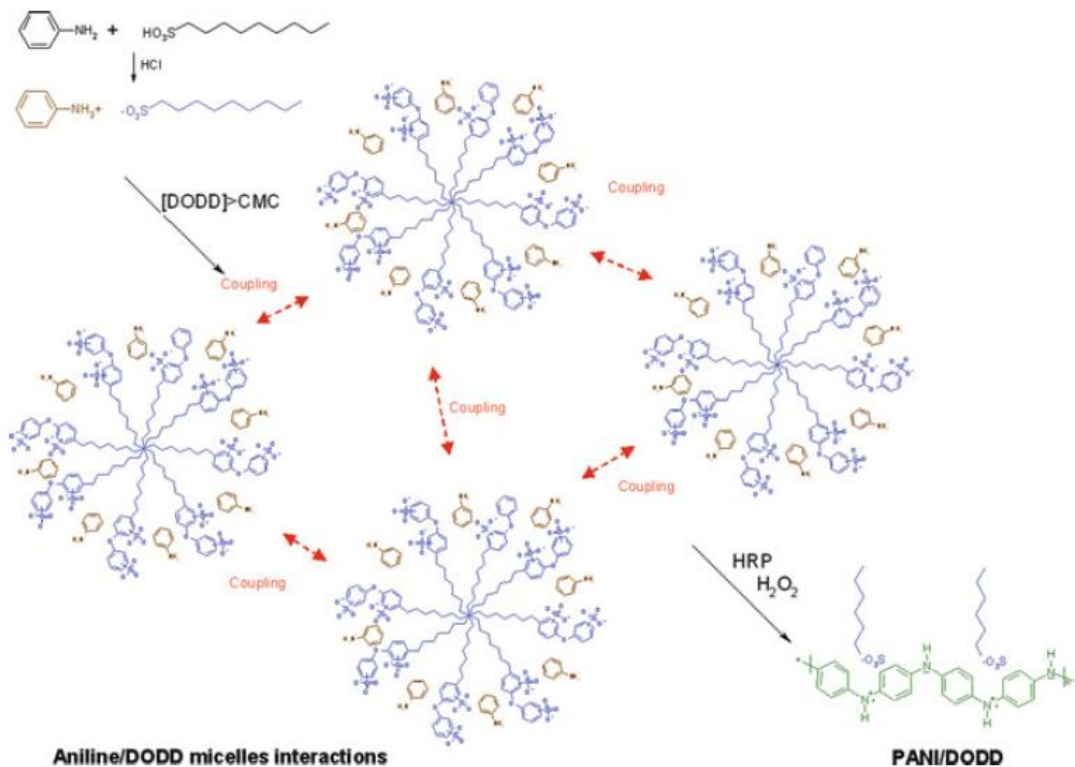
從圖【1-14】與【1-15】可得知此兩種界面活性劑皆帶有 SO_3^- ，而圖【1-16】可得知在酸性溶液中帶正電的苯胺自由基與陰電性的界面活性性，藉由靜電吸引力進行聚合而得到具溶解性的聚苯胺高分子。



圖【1-14】十二烷基苯磺酸鈉結構式



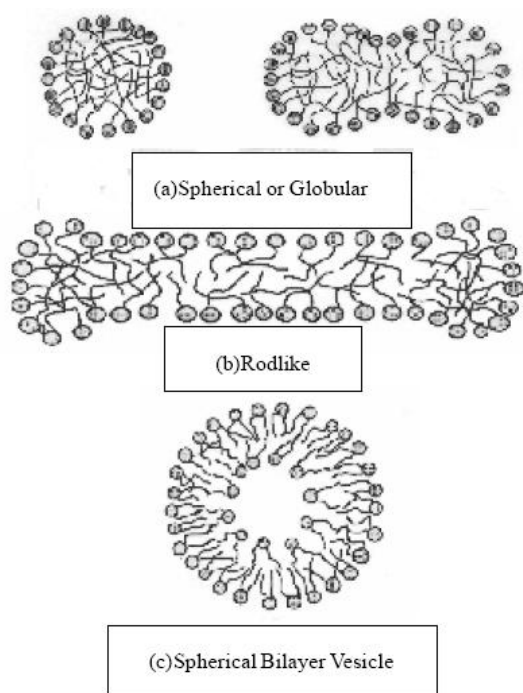
圖【1-15】十二烷基苯磺酸結構式



圖【1-16】苯胺與界面活性劑相互作用與聚合機制[36]

1-6-3 臨界微胞濃度(CMC)

由於界面活性劑為親水端與疏水端兩種鏈段組成的兩性分子，使得在溶液中界面性質上和溶液中組裝結構上有特別的表現。此外，一般認為界面活性劑形成微胞的驅動力，主要歸因於疏水端間的作用力和親水端電荷排斥力之影響，使得疏水端互相靠近且使親水端翻轉成各種的微胞型態，如圖【1-17】所示。當界面活性劑濃度高於臨界微胞濃度時，即可形成界面活性劑微胞，臨界微胞濃度的測定方法甚多，例如有表面張力法、導電度法、色素法以及螢光測定法等。



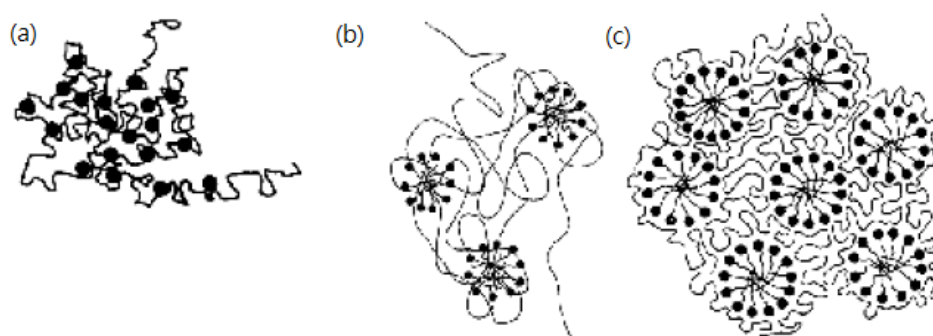
圖【1-17】不同的界面活性劑微胞型態[37]

近年來，對於界面活性劑之微胞於離子液體系統中生成有著廣泛的研究及探討，由界面活性劑分子所組成的微胞型態，是否會因為離子液體的存在而有所改變。本實驗利用界面活性劑添加指示劑後，所

產生的特徵吸收值進行測試，以利決定界面活性劑之臨界微胞濃度 (CMC)。實驗方法：溶液中添加指示劑 (8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid) 攪拌均勻後靜置，則可進行分光光度計測量並於 360 nm 下特定吸收值作圖[38]。

探討離子液體對於界面活性劑之影響，由於陰離子型界面活性劑與離子液體的陽離子產生靜電吸引力，親水性離子液體會導致界面活性劑的臨界微胞濃度下降，故反應中可降低界面活性劑之用量以減少其對酵素活性之影響；而疏水性離子液體會與界面活性劑之疏水端產生聚集效應，使得微胞粒徑大小增加。

另外，聚苯胺高分子帶正電荷與陰離子型界面活性劑產生的叢集現象。達臨界微胞濃度前，會先到達臨界聚集濃度，此濃度下界面活性劑和高分子開始產生作用，如圖【1-18】所示。



圖【1-18】高分子與界面活性劑叢集之模型：(a)項鏈型；(b)高分子鏈穿透界面活性劑形成微胞；(c)高分子纏擾在界面活性劑微胞外層[39]

1-7 研究動機與方法

現今導電高分子應用於許多新科技產品，雖然導電高分子種類繁多，又以聚苯胺最具廣闊的應用性且價格便宜、穩定性高。但缺點是溶解度不佳導致加工性困難。研究中主要為合成具溶解性的聚苯胺導電高分子，以增加其應用方面。

在聚合高分子聚苯胺時，通常需在強酸下才能進行卻也對環境帶來不小的衝擊。近年來，由於綠色化學的提倡與實施，故如何有效的將製程簡化及節能是重要的課題之一。本研究則利用酵素催化聚合之方法，其特點為專一性強並只與特定結構進行反應；雖然酵素反應的環境對 pH 值與溫度較嚴苛外，皆是有利於環境保護。然而，在反應過程中其他的試劑添加(如過氧化氫、界面活性劑)會對酵素造成衰退、失活等影響，故添加離子液體使其能有效地維持酵素活性外，亦可達到多次利用的目標。

此外，為了增加聚苯胺的溶解性，本研究中則探討不同的界面活性劑添加作為摻雜及模板之用途與比較，使得導電高分子聚苯胺具有溶解性，且減少利用有機溶劑進行萃取的步驟，更能維持及保護酵素的活性，以便回收再利用。研究中，亦探討在不同條件下，聚苯胺的性質與導電度並比較其優劣；以及探討酵素與離子液體的作用及回收反應之結果，以達到酵素催化最大的優點是本研究的目標。

第二章 藥品與儀器分析

2-1 實驗藥品

本研究中所使用藥品之相關訊息如表【2-1】所示：

表【2-1】本研究使用藥品清單表

藥品名稱	廠商	產品序號	藥品等級
1- Butyl-3-methylimidazolium trifluoromethanesulfonate ([bmim]OTf)	MERCK (Darmstadt, Germany)	490024	For synthesis
1- Butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphat ([bmim]PF ₆)	MERCK (Darmstadt, Germany)	490050	For synthesis
1- Butyl-3-methylimidazolium chloride ([bmim]Cl)	Alfa (Darmstadt, Germany)	79919.90.1	For synthesis
1-step TM ABTS	PIERCE (Boston, USA)	37615	
Aniline	MERCK (Darmstadt, Germany)	1.01261.1000	≥ 99.5%
Crtric acid	SIGMA (St. Louis, MO, USA)	C0759	Reagent Grade

Disodium hydrogen phosphate	KANTO (Tokyo, Japan)	37243-00	99.00%
Dodecylbenzenesulfonic acid, sodium salt(SDBS)	ACROS (New Jersey, USA)	325912500	88%
4-Dodecylbenzenesulfonic acid(DBSA)	Fluka (Italy)	44198	~90%
Sodium dodecyl sulfafte(SDS)	USB	US75819	99.80%
Ethanol	ECHO (Miaoli, Taiwan)	AS0811-146	95%
Horseradish peroxidase (25KU) (HRP)	SIGMA (St. Louis, MO, USA)	P8250	
Hydrogen peroxide	MERCK (Darmstadt, Germany)	1.086	30~37%
N-methyl pyrrolidinone(NMP)	SIGMA (St. Louis, MO, USA)	M6762	
Dimethyl sulfoxide (DMSO)	SIGMA (France)	D8418	≥ 99.9%

2-2 使用儀器介紹

本研究中所使用儀器之相關資訊如表【2-2】

表【2-2】本研究使用之儀器設備表

儀器名稱	製造廠商	型號
pH meter (酸鹼度計)	Suntex (Taipei, Taiwan)	SP-701
一般冰箱(4°C)	東元	RE7222
大冰箱(4°C)	均泰	1000L
-20°C 冰箱	Fisher & Paykel	Standard H160
-80°C 冰箱	Thermo	Forma-86 ULT Freezer
Micro-pipette (微量移液吸取器)	Eppendorf (Hamburg, Germany)	Research 1000/200/100/20/10/2.5
Drying Oven (烘箱)	DENG YNG (Taipei, Taiwan)	DOV30
UV/visible Spectrophotometer (紫外/可見光光譜儀)	SHIMADZU (Kyoto, Japan)	UVmini-1240
Ultrapure water system (超純水機)	Barnstead (Dubuque, USA)	D11901

Vortex-Genie 2	Scientific Industries	G560
(試管震盪器)	(New York, USA)	
冷凍乾燥機	泛群	CT-5000
高速離心機	National Labent	C0160-P
電磁攪拌器	Fargo	MS-90
Thermogravimetric analyzer (TGA)		Q50
熱重分析儀		
Fourier transform infrared spectrometer (FTIR)	Thermal	Nicolet 5700
(霍式轉換紅外線光譜儀)		
Sheet resistivity meter (四點探針面電阻測試儀)	Qqatek	CHI-5601Y
面電阻手動控制測試台	Qqatek	QT-50
電子天秤	OHAUS	AR1530
Field emission-scanning electron microscope (FE-SEM)	JEOL (東海化工)	JSM-7000
(場發式掃描電子顯微鏡)		
Ultrasonic cleaner	DELTA	DC150H
(超音波震盪器)		

2-3 藥品配置

2-3-1 檸檬酸-磷酸鹽緩衝溶液

1. 秤取 9.606 g 檸檬酸粉末溶於 500 ml 去離子水中，配製成 0.1 M 檸檬酸緩衝液。
2. 秤取 14.196 g 磷酸氫二鈉粉末溶於 500 ml 去離子水中，配製成 0.2 M 磷酸氫二鈉緩衝溶液。
3. 依據表【2-3】混合，並利用 pH meter 測定 pH 值為 4。

2-3-2 辣根過氧化酶 (HRP)

1. 將辣根過氧化酶從-20°C 冰箱中取出，置於冰上解凍約 20 分鐘。
2. 實驗中須將溶液稀釋為 0.1 M。
3. 利用緩衝溶液批次稀釋為 1 mg/ml，儲存於-20°C 冰箱備用。

2-3-3 苯胺 (aniline)

1. 取 137 μ l 苯胺原液(11 M)與 4863 μ l 之去離子水，配製成 5 毫升的 0.3 M 苯胺溶液備用。

2-3-4 過氧化氫 (H₂O₂)

1. 取 97 μ l 過氧化氫(10.3M)與 9903 μ l 去離子水，配製成 10 毫升的 0.05 M 過氧化氫溶液備用。

2-3-5 十二烷基苯磺酸 (DBSA)

1. 取 0.907 g 十二烷基苯磺酸(DBSA)加入去離子水至 50 毫升，配置成 0.05 M 溶液備用。

2. 溶液配置時，需攪拌均勻且至澄清狀態後即可使用。

2-3-6 十二烷基苯磺酸鈉 (SDBS)

1. 秤取 2.376 g 十二烷基苯磺酸鈉(SDBS)加入去離子水至 50 毫升，配置成 0.12 M 溶液備用。

2. 溶液配置時，需攪拌均勻且至澄清狀態後即可使用。

3. 實驗中須將溶液稀釋為 0.1 M。

2-3-7 十二烷基硫酸鈉 (SDS)

1. 秤取 0.639 g 十二烷基硫酸鈉 (SDS)加入去離子水至 40 毫升，配製成 0.07 M 溶液備用。

2. 溶液配置時，需攪拌均勻且至澄清狀態後即可使用。

表【2-3】檸檬酸-磷酸鹽緩衝溶液配方

Citric acid-phosphate buffers

pH	0.2 M Na ₂ HPO ₄	0.1 M Citric Acid
3.0	20.55 ml	79.45 ml
4.0	38.55 ml	61.45 ml
5.0	51.50 ml	48.50 ml
6.0	63.15 ml	36.85 ml
7.0	82.35 ml	17.65 ml
8.0	97.25 ml	2.75 ml

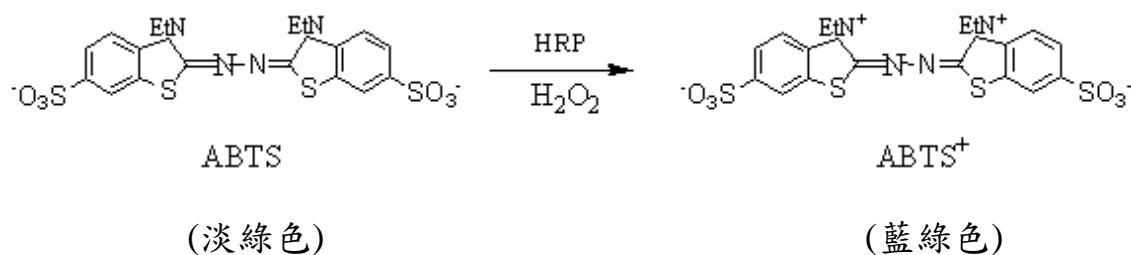
2-4 儀器分析方法

2-4-1 紫外光可見光光譜儀 (UV/Vis)

紫外、可見光譜所相對應的物理變化是分子中的電子吸收，這些能量，可以由基本態能階躍遷到第一激發態能階，一般所測得到的是 π 電子及 σ 電子的激發記錄。 σ 電子需要更多能量才能激發，而這時 σ 鍵可能也斷裂了。紫外、可見光譜最主要的功能在顯示不飽和鍵間的共軛關係。不飽和鍵如碳-碳雙鍵、參鍵、苯、碳氧雙鍵等，相互形成共軛的程度越大，則 π 或 σ 電子躍遷所需的能量越小，主要的吸收就漸漸由紫外光區移入可見光區。

2-4-1.1 HRP 活性分析原理

測量酵素活性是利用 ABTS(2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) 作為提供辣根過氧化酶與過氧化氫催化作用的產物於 ABTS/ H_2O_2 /HRP 之反應系統中，經由一個電子轉移將 ABTS 反應成自由基態，反應溶液從淡黃色形成藍綠色且具半衰期長的 $ABTS^+$ ，並在特定波長 410 nm 與 750 nm 下產生特徵吸收波峰。而本實驗利用紫外光-可見光分光光度計於波長 410 nm 下進行測量。



2-4-1.2 聚苯胺產物分析

文獻中指出不同型態聚苯胺皆有其特定的吸收光譜[9]，聚苯胺苯環的共振吸收帶在 230 nm，聚苯胺結構中的 (benzenoid ring) $\pi \rightarrow \pi^*$ 電子躍遷吸收峰在 420 nm，而 (quinoid ring) 在 750 nm 有 $\pi \rightarrow \pi^*$ 電子躍遷吸收峰，此外當氧化劑的多寡亦會影響波峰偏移的大小。聚苯胺又可細分為四種型態：Leucoemeraldine 完全氧化態（無色）、Emeraldine base 鹼式中間氧化態（藍色）、Pernigraniline 完全氧化態（紫紅色）、Emeraldine salt 鹽式中間氧化態（深綠色），波長於 750 nm 下的吸收峰則為鹽式中間氧化態聚苯胺，經質子摻雜後主鏈上電子形成非定域化情形，使降低電子躍遷所需能量且共振現象較佳，此外鹽式中間氧化態在 420 nm 下，因自由基陽離子有吸收波峰，故可藉此初步判斷聚苯胺為何種型態。

本實驗檢測方法為：將反應溶液經離心後，將沉澱物聚苯胺利用 95% 乙醇去除未反應之試劑以及寡聚物，但由於溶劑效應之影響，故利用去離子水清洗後，再利用 1 M 鹽酸清洗使其保持鹽式中間氧化態之聚苯胺。加入有機溶劑 NMP 或 DMSO 進行溶解、分析，取溶液稀釋於去離子水中，並以去離子水作為空白背景，即可測量全波長之吸收值。

2-4-2 傅立葉紅外線光光譜分析儀(FTIR)

紅外線吸收光譜之原理為分子物種之紅外線吸收、發射以及反射光譜之解釋，能夠由假設其等均由分子之一個振動或轉動能階狀態(vibrational or rotational energy state)至另一個狀態之躍遷(transition)所引起之不同能量之改變。在此，我們以分子之吸收來敘述此等躍遷之性質。一般分子振動所吸收的能量較小，大致為紅外光區的範圍可依波數分為三個部分： $12800\text{ cm}^{-1}\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 為遠紅外光區、 $4000\text{ cm}^{-1}\sim 200\text{ cm}^{-1}$ 為中紅外光區、 $200\text{ cm}^{-1}\sim 10\text{ cm}^{-1}$ 為近紅外光區，而最常用的大多是中紅外光區的部分，專門提供有關分子振動的訊息且許多有機物的重要吸收區間皆於此。然而，當聚苯胺被 HCl 摻雜後則紅外線光譜會產生些許改變：(1) $4000\text{ cm}^{-1}\sim 2000\text{ cm}^{-1}$ 的基線明顯上升；(2) 1589 cm^{-1} 和 1496 cm^{-1} 處吸收值往低頻方向偏移約 10 cm^{-1} ；(3) 1306 cm^{-1} 處的收度增強；(4) 1165 cm^{-1} 處的吸收值偏移至 1140 cm^{-1} 附近[40]。

本實驗則是將產物完全乾燥後與 KBr 依 1：99 比例均勻混合後，利用壓錠方式於 300 kg/cm^2 下數分鐘後即可取出，置入通氮氣的儀器中進行掃描，分析聚合物之分子結構，波長範圍為 $400\text{ cm}^{-1}\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 。

2-4-3 熱重分析儀(TGA)

熱重分析儀的原理是利用程式控溫的環境下，測量物質重量與溫度的關係，進而從熱重曲線得知高分子的熱穩定性與熱裂解溫度。Chandrakanthi 等人指出醞式中間氧化態聚苯胺(EB 型 PANI)於 200°C 下具有良好的穩定性，且極少量的水分與高分子間有強大鍵結存在，最主要的重量損失則在於 420°C~450°C 產生[41]。爾後 Chen 等人研究鹽式中間氧化態聚苯胺(ES 型 PANI)之熱裂解溫度為 360°C~410°C，因此得知 ES 型態的聚苯胺熱穩定性較差，故利用熱重分析方法探討聚合物的成分。

本實驗量秤約 10 mg，產物置於白金盤中進入儀器中，溫度範圍為室溫到 600°C 下，升溫速率 10 °C/min，氮氣流量 100 mL/min 下。測量聚合物的熱重損失即可由重量損失情形判斷其熱穩定性。

2-4-4 場發式掃描電子顯微鏡(SEM)

利用掃描式電子顯微鏡(SEM)觀察聚苯胺之表面組態，將進行完醌素聚合反應的產物，經冷凍乾燥 12 小時後置入烘箱使其完全乾燥，即可以 SEM 做測試。

本實驗為取適量產物以碳膠帶固定後，以白金濺鍍 30 秒以增加顯像效果，藉此觀察聚合物之表面及顆粒大小。

2-4-5 四點探針面電阻儀

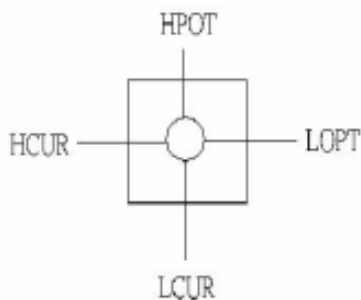
四點探針是最常用來量測薄片電阻的工具，只要在其中兩個探針間加上固定之電流，並同時量測另外兩個探針間之電壓差值，就可以計算出薄片電阻，如圖【2-1】所示。且四點探針檢測時，須注意下列條件：1.量測時的四個接觸點位置必須在待測品的邊緣；2.連接的接觸點面積必須非常小；3.待測品厚度必須非常均勻；4.待測品的表面必須是單獨連接的。

本實驗將乾燥的聚苯胺粉末利用模具壓錠於 300 kg/cm^2 下，數分鐘後取出即可作測試，利用四個探針(LCUR、LPOT、HPOT、HCUR)進行測試，由於邊際效應之影響導致數值不穩定，故檢測數次後，取平均值所得為面電阻(Ω/\square)，依據公式換算求得導電度(S/cm)公式如下：

$$\sigma = \frac{1}{R \times L}$$

R：測量之面電阻

L：樣品厚度(cm)



圖【2-1】四點探針簡單示意圖

第三章 實驗步驟與方法

3-1 酵素活性測定之藥品配置

3-1-1 不同 DBSA 濃度對酵素 HRP 影響

- (1) 根據表【3-1】與【3-2】配置各反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。
- (2) 將 Buffer、DBSA(0.05 M)以及不同之離子液體依序添加，最後再加入酵素 HRP 均勻混合，於 4°C 下旋轉攪拌，反應 5 小時。
- (3) 反應結束後，取出 10 μ l 反應溶液、915 μ l 去離子水及 75 μ l ABTS 於比色槽中，利用移液管均勻攪拌後，靜置反應 15 分鐘。
- (4) 利用去離子水作為空白背景，於波長 410 nm 下，測量其吸收值。

表【3-1】不同 DBSA 濃度之配置表(單位： μ l)

最終[DBSA] mM	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2
0.2M 檸檬酸-磷酸緩衝 溶液(pH = 4.3)	980	978	976	972	964	948	916
DBSA(0.05 M)	0	2	4	8	16	32	64
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20	20	20	20

* [HRP] = 0.02 mg/ml

表【3-2】於不同 IL 中，不同 DBSA 濃度之配製表(單位： μ l)

最終[DBSA] mM	0	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液 (pH = 4.3)	960	958	956	952	944	928	896
DBSA(0.05 M)	0	2	4	8	16	32	64
[BMIM]OTf、[BMIM]PF ₆	20	20	20	20	20	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20	20	20	20

* [HRP] = 0.02 mg/ml、[BMIM]OTf = 90 mM、[BMIM]PF₆ = 97 mM

3-1-2 不同 SDBS 對酵素 HRP 影響

- (1) 根據表【3-3】與【3-4】配置各反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。
- (2) 首先，將 Buffer、SDBS(0.1 M)以及不同之離子液體依序添加，最後加入酵素 HRP 均勻混合，於 4°C 下旋轉攪拌，反應 5 小時。
- (3) 反應結束後，取 10 μ l 反應溶液、915 μ l 去離子水及 75 μ l ABTS 於比色槽中，利用移液管均勻攪拌，靜置反應 15 分鐘。
- (4) 利用去離子水作為空白背景，於波長 410 nm 下，測量其吸收值。

表【3-3】不同 SDBS 濃度之配置表(單位： μ l)

最終[SDBS] mM	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	3	5
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液(pH = 4.3)	980	960	940	920	900	880	680	480
SDBS(0.01 M)	0	20	40	60	80	100	300	500
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20	20	20	20	20

* [HRP] = 0.02 mg/ml

表【3-4】於不同 IL 中，不同 SDBS 濃度之配製表(單位： μ l)

最終[SDBS] mM	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	3	5
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液(pH = 4.3)	960	940	920	900	880	860	660	460
SDBS(0.01 M)	0	20	40	60	80	100	300	500
[BMIM]OTf、[BMIM]PF ₆	20	20	20	20	20	20	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20	20	20	20	20

* [HRP] = 0.02 mg/ml、[BMIM]OTf = 90 mM、[BMIM]PF₆ = 97 mM

3-1-3 不同 SDS 濃度對酵素 HRP 影響

- (1)根據表【3-5】與【3-6】配置各反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。
- (2)首先，將 Buffer、SDS(0.07 M)以及不同之離子液體依序添加，最後加入酵素 HRP 均勻混合，於 4°C 下旋轉攪拌，反應 5 小時。
- (3) 反應結束後，取 10 μ l 反應溶液、915 μ l 去離子水及 75 μ l ABTS 於比色槽中，利用移液管均勻攪拌，靜置反應 15 分鐘。
- (4)利用去離子水作為空白背景，於波長 410 nm 下，測量其吸收值。

表【3-5】不同 SDS 濃度之配置表(單位： μ l)

最終[SDS] mM	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	3	5	7	10
0.2M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液(pH = 4.3)	980	977.1	974.3	971.4	968.6	965.7	937.1	908.5	880	837
SDS(0.07 M)	0	2.86	5.72	8.58	11.44	14.3	42.9	71.5	100	143
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

*[HRP] = 0.02 mg/ml

表【3-6】於 IL 中，不同 SDS 濃度之配製表(單位： μ l)

最終[SDS] mM	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1	3	5	7	10
0.2M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液(pH = 4.3)	960	957.1	954.3	951.4	948.6	945.7	917.1	888.5	860	817
[BMIM]OTf	20	20	20	20	20	20	20	20	100	143
SDS(0.07 M)	0	2.86	5.72	8.58	11.44	14.3	42.9	71.5	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

*[HRP] = 0.02 mg/ml、[BMIM]OTf = 90 mM

3-1-4 過氧化氫對酵素 HRP 影響

(1)根據表【3-7】配置各反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。

(2)首先，將 Buffer、不同之離子液體與酵素 HRP 依序添加，最後加入 H_2O_2 (0.05 M) 均勻混合，於 4°C 下旋轉攪拌，反應 5 小時。

(3) 反應結束後，取 10 μl 反應溶液、915 μl 去離子水及 75 μl ABTS 於比色槽中，利用移液管均勻攪拌，靜置反應 15 分鐘。

(4)利用去離子水作為空白背景，於波長 410 nm 下，測量其吸收值。

表【3-7】不同 IL 中，不同過氧化氫濃度之配製表(單位： μl)

最終 $[\text{H}_2\text{O}_2]$ (mM)	0	2	4	6	8	10
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液 (pH = 4.3)	960	920	880	840	800	760
[BMIM]OTf、[BMIM]PF ₆	20	20	20	20	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20	20	20
H_2O_2 (0.05 M)	0	40	80	120	160	200
最終 $[\text{H}_2\text{O}_2]$ (mM)	50	100	200			
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液 (pH = 4.3)	721	860	860			
[BMIM]OTf、[BMIM]PF ₆	20	20	20			
HRP(1 mg/ml)	20	20	20			
H_2O_2 (1 M)	50	100	200			

* [HRP] = 0.02 mg/ml、[BMIM]OTf = 90 mM、[BMIM]PF₆ = 97 mM

3-2 測量界面活性劑之微胞濃度

3-2-1 無添加離子液體[BMIM]OTf

(1) 根據表【3-8】配置各反應溶液於 5ml 的試管中。

(2) 首先，將界面活性劑 SDBS (0.03 M) 利用去離子水依濃度比例稀釋，攪拌均勻並靜置直到氣泡完全消失。

(3) 利用移液管取反應溶液 3000 μl 與 500 μl 指示劑均勻混合，即可利用紫外光可見光光譜儀進行全波長掃描，範圍為 200 nm~500 nm。

(4) 取特定波長 360 nm 下之吸收值作圖，即可作圖求得界面活性劑之微胞濃度。

表【3-8】無加離子液體之溶液配置表(單位： μl)

No.	1	2	3	4	5	6
最終[SDBS] (mM)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
SDBS (0.03M)	0	10	20	30	40	50
ddH ₂ O	3000	2990	2980	2970	2960	2950
Dye-indicator	500	500	500	500	500	500
Total solution	3500	3500	3500	3500	3500	3500
No.	7	8	9	10	11	12
最終[SDBS] (mM)	0.6	0.8	1	1.3	1.5	2
SDBS (0.03M)	60	80	100	130	150	200
ddH ₂ O	2940	2920	2900	2870	2850	2800
Dye-indicator	500	500	500	500	500	500
Total solution	3500	3500	3500	3500	3500	3500

3-2-2 添加 2% 離子液體[BMIM]OTf

(1) 根據表【3-9】配置各反應溶液於 5 ml 的試管中。

(2) 首先，將界面活性劑 SDBS (0.03 M) 利用去離子水依濃度比例稀釋後，並添加入 2% (v/v) 離子液體[BMIM]OTf，攪拌均勻並靜置直到氣泡完全消失。

(3) 利用移液管取反應溶液 3000 μl 與 500 μl 指示劑均勻混合，即可利用紫外光可見光光譜儀進行全波長掃描，範圍為 200 nm~500 nm。

(4) 取特定波長 360 nm 下之吸收值作圖，即可作圖求得界面活性劑之微胞濃度。

表【3-9】添加 2% 離子液體[BMIM]OTf 之溶液配置表(單位： μl)

No.	1	2	3	4	5	6
最終[SDBS] (mM)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
SDBS (0.03 M)	0	10	20	30	40	50
IL(OTf)	0	60	60	60	60	60
ddH ₂ O	3000	2930	2920	2910	2900	2890
Dye-indicator	500	500	500	500	500	500
Total solution	3500	3500	3500	3500	3500	3500
No.	7	8	9	10	11	12
最終[SDBS] (mM)	0.6	0.8	1	1.3	1.5	2
SDBS (0.03 M)	60	80	100	130	150	200
IL(OTf)	60	60	60	60	60	60
ddH ₂ O	2880	2860	2840	2810	2790	2740
Dye-indicator)	500	500	500	500	500	500
Total solution	3500	3500	3500	3500	3500	3500

3-3 利用酵素法聚合聚苯胺之探討

3-3-1 探討不同界面活性劑之聚合影響

3-3-1.1 添加 DBSA 聚合之影響

(1) 根據表【3-10】配置各反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。

(2) 首先，將 Buffer、DBSA(0.05 M)、苯胺(0.3 M)以及不同之離子液體與酵素 HRP 依序添加，最後批次加入 H_2O_2 均勻混合，於 $4^\circ C$ 下旋轉攪拌，反應 5 小時。

(3) 待反應結束後，取出反應溶液經離心後移除上清液，將沉澱物依序利用 95% 乙醇、去離子水作為清洗，使其溶解於 50% 之 NMP 中。並取 200 μl 之反應溶液與 2800 μl 去離子水稀釋於 3 ml 石英管中。

(4) 利用去離子水作為空白背景，進行紫外光-可見光光譜全波長掃描，範圍為 1000 nm~400 nm。

表【3-10】不同[DBSA]/[Aniline]比例之溶液配置表(單位： μl)

最終[DBSA]/[Aniline]	1/1	1/2	1/3	1/4
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液(pH = 4.3)	856.6	853.3	850	847
DBSA(0.05 M)	20	20	20	20
Aniline(0.3 M)	3.3	6.7	10	13
[BMIM]OTf、[BMIM]PF ₆	20	20	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20
H ₂ O ₂ (0.05M)	80	80	80	80

* [DBSA] = 1 mM、[BMIM]OTf = 90 mM、[BMIM]PF₆ = 97 mM、
[HRP] = 0.02 mg/ml、[H₂O₂] = 4 mM

3-3-1.2 添加 SDBS 聚合之影響

- (1) 根據表【3-11】配置反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。
- (2) 首先，將 Buffer、SDBS (0.1 M)、苯胺 (0.3 M) 以及不同之離子液體與酵素 HRP 依序添加，最後批次加入 H_2O_2 均勻混合，於 $4^\circ C$ 下旋轉攪拌，反應 5 小時。
- (3) 待反應結束後，取反應溶液 1000 μ l 經離心後移除上清液，將沉澱物依序利用乙醇、水作為清洗，使其溶解於 50% 之 NMP 中。並取 200 μ l 之反應溶液與 2800 μ l 去離子水稀釋於 3 ml 石英管中。
- (4) 利用去離子水作為空白背景，進行紫外光-可見光光譜全波長掃描，範圍為 1000 nm~400 nm。

表【3-11】不同[SDBS]/[Aniline]比例之溶液配置表(單位： μ l)

最終[SDBS]/[Aniline]	1/1	1/2	1/3	1/4
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液 (pH = 4.3)	862.7	858.4	854	849.7
SDBS(0.1 M)	13	13	13	13
Aniline(0.3 M)	4.3	8.6	13	17.3
[BMIM]OTf、[BMIM]PF ₆	20	20	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20
H ₂ O ₂ (0.05 M)	80	80	80	80

*[SDBS] = 1.3mM、[H₂O₂] = 4 mM、[BMIM]OTf = 90 mM、[BMIM]PF₆ = 93 mM
[HRP] = 0.02mg/ml

3-3-2 探討不同離子液體比例之影響

3-3-2.1 添加 DBSA 聚合之影響

(1) 根據表【3-12】配置反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。

(2) 首先，將 Buffer、DBSA (0.05 M)、苯胺(0.3 M)以及離子液體與酵素

HRP 依序添加，最後批次加入 H_2O_2 均勻混合，於 $4^\circ C$ 下旋轉攪拌，

反應 5 小時。

(3) 待反應結束後，取反應溶液經離心後移除上清液，將沉澱物依序利

用 95% 乙醇、去離子水作為清洗，使其溶解於 50% 之 NMP 中。並

取 200 μl 之反應溶液與 2800 μl 去離子水稀釋於 3 ml 石英管中。

(4) 利用去離子水作為空白背景，進行紫外光-可見光光譜全波長掃描，

範圍為 1000 nm~400 nm。

表【3-12】DBSA 於不同離子液體比例中聚合配置表(單位： μl)

最終 IL (v/v%)	2%	5%	10%	20%
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液 (pH = 4.3)	847	817	767	667
DBSA(0.05 M)	20	20	20	20
Aniline(0.3 M)	13	13	13	13
[BMIM]OTf	20	50	100	200
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20
H_2O_2 (0.05 M)	80	80	80	80

* [DBSA] = 1 mM、[Aniline] = 4 mM、 $[H_2O_2]$ = 4 mM、[HRP] = 0.02mg/ml

3-3-2.2 添加 SDBS 聚合之影響

- (1) 根據表【3-13】配置反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。
- (2) 首先，將 Buffer、SDBS (0.1 M)、苯胺(0.3 M)以及不同之離子液體與酵素 HRP 依序添加，最後批次加入 H₂O₂ 均勻混合，於 4°C 下旋轉攪拌，反應 5 小時。
- (3) 待反應結束後，取反應溶液經離心後移除上清液，將沉澱物依序利用 95% 乙醇、去離子水作為清洗，使其溶解於 50% 之 NMP 中。並取 200 μl 之反應溶液與 2800 μl 去離子水稀釋於 3 ml 石英管中。
- (4) 利用去離子水作為空白背景，進行紫外光-可見光光譜全波長掃描，範圍為 1000 nm~400 nm。

表【3-13】SDBS 於不同離子液體比例中聚合配置表(單位：μl)

最終 IL (v/v%)	2%	5%	10%	20%
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液(pH = 4.3)	854	824	774	667
SDBS(0.1 M)	13	13	13	13
Aniline(0.3 M)	13	13	13	13
[BMIM]OTf、Cl、PF ₆	20	50	100	200
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20
H ₂ O ₂ (0.05 M)	80	80	80	80

*[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = 4 mM、[H₂O₂] = 4 mM、[HRP] = 0.02mg/ml

3-3-3 界面活性劑濃度之影響

- (1) 根據表【3-14】配置反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。
- (2) 首先，將 Buffer、SDBS (0.1 M)、苯胺(0.3 M)以及不同之離子液體與酵素 HRP 依序添加，最後批次加入 H₂O₂ 均勻混合，於 4°C 下旋轉攪拌，反應 5 小時。
- (3) 待反應結束後，取反應溶液經離心後移除上清液，將沉澱物依序利用 95% 乙醇、去離子水作為清洗，使其溶解於 50% 之 NMP 中。並取 200 μl 之反應溶液與 2800 μl 去離子水稀釋於 3 ml 石英管中。
- (4) 利用去離子水作為空白背景，進行紫外光-可見光光譜全波長掃描，範圍為 1000 nm~400 nm。

表【3-14】不同 SDBS 濃度之溶液配置表(單位：μl)

最終[SDBS] (mM)	0	0.6	1.3	2
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液 (pH = 4.3)	867	868	854	840
SDBS(0.1 M)	0	6	13	20
Aniline(0.3 M)	13	6	13	20
[BMIM]OTf、[BMIM]PF ₆	20	20	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20
H ₂ O ₂ (0.05 M)	80	80	80	80

* [H₂O₂] = 4 mM、[BMIM]OTf = 90 mM、[BMIM]PF₆ = 93 mM、[HRP] = 0.02mg/ml

3-3-4 不同條件聚合之比較

- (1) 根據表【3-15】配置反應溶液於 1.5 ml 的微量試管中。
- (2) 首先，將 Buffer、ddH₂O、SDBS、苯胺以及不同之離子液體與酵素 HRP 依序添加，最後批次加入 H₂O₂ 均勻混合，於 4°C 下旋轉攪拌，反應 5 小時。
- (3) 待反應結束後，將反應溶液經離心後移除上清液，將沉澱物依序利用 95% 乙醇、去離子水作為清洗，並使其溶解於 50% 之 NMP 中。取 200 μl 之溶液與 2800 μl 去離子水稀釋於 3 ml 石英管中。
- (4) 利用去離子水作為空白背景，進行紫外光-可見光光譜全波長掃描，範圍為 1000 nm~400 nm。

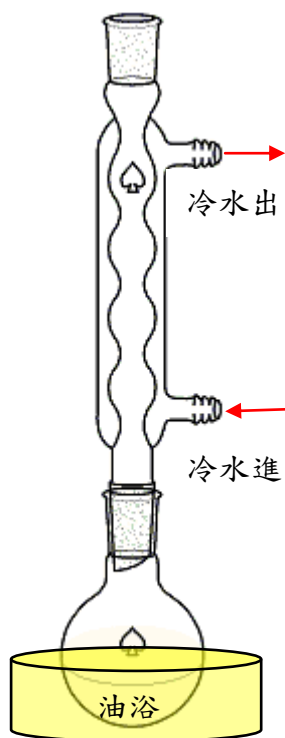
表【3-15】不同條件聚合之溶液配置表(單位：μl)

Sample	A	B	C	D
0.2 M 檸檬酸-磷酸緩衝溶液 (pH = 4.3)	887	867	874	854
SDBS(0.1 M)	0	0	13	13
Aniline(0.3 M)	13	13	13	13
[BMIM]OTf	20	20	20	20
HRP(1 mg/ml)	20	20	20	20
H ₂ O ₂ (0.05 M)	80	80	80	80

*A：皆未添加[BMIM]OTf 與 SDBS；B：添加[BMIM]OTf 與未添加 SDBS；
C：未添加[BMIM]OTf 與添加 SDBS；D：皆添加[BMIM]OTf 與 SDBS

3-4 酵素催化聚合之實驗步驟

3-4-1 合成離子液體流程[42]

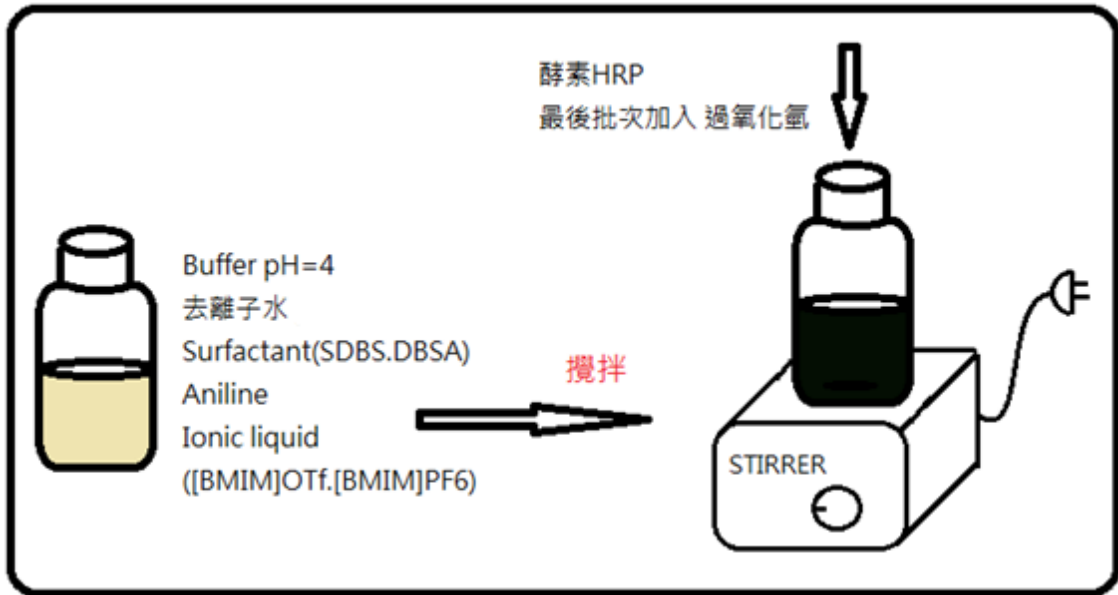


利用簡單蒸餾方式如圖【3-1】進行離子合成應，首先取 N-甲基咪唑以及氯丁烷置入瓶中，並以油浴加熱至 120°C，為期一天。直到反應物呈金黃色即可，在利用乙酸乙酯清洗除去未反應的藥品及副產物，再利用旋轉濃縮去除氯丁烷，最後置入 100°C 烘箱一天即可得到產物 [BMIM]Cl。

圖【3-1】簡單蒸餾裝置

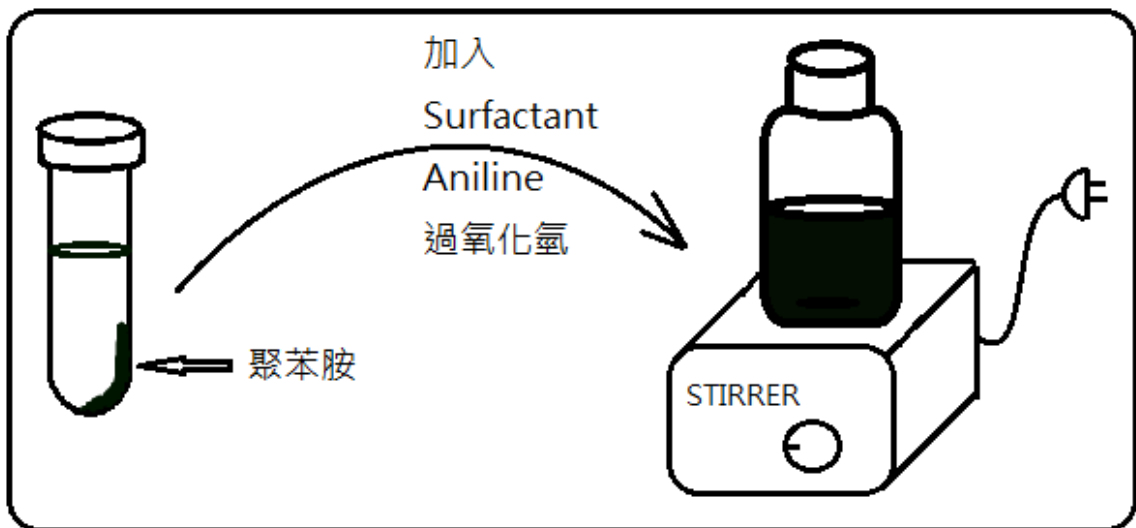
依圖【3-2】將溶液混合後，預冷於 4°C 半小時後，依序添加入酵素 HRP 以及批次加入氧化劑過氧化氫，持續磁石攪拌（固定轉速為 200 r.p.m.）下，反應 5 小時即可得到產物。如圖【3-3】反應溶液經離心分離後（離心條件固定為：4°C、8000 rpm、5min），取出上清液後，再添加入界面活性劑、苯胺及批次加入過氧化氫即可進行第二次聚合反應。

3-4-2 離子液體系統中，進行酵素催化聚合流程



圖【3-2】聚合反應流程圖

產物分離及酵素回收

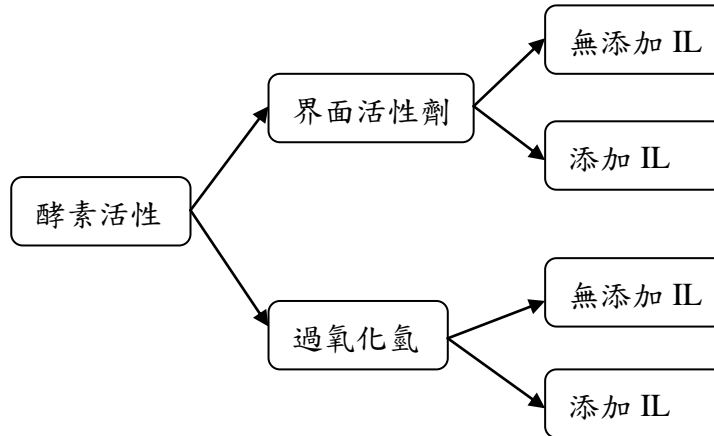


圖【3-3】回收反應流程圖

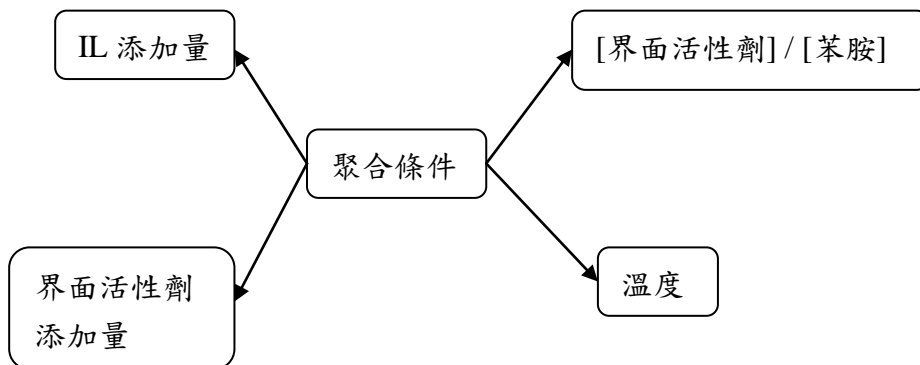
第四章 結果與討論

實驗討論之架構說明

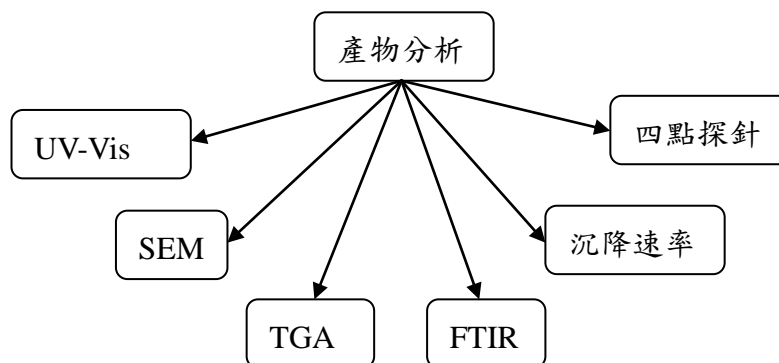
1. 探討酵素活性之影響



2. 探討聚合條件之影響



3. 產物聚苯胺之分析



4-1 酵素活性探討之目的

由於界面活性劑容易造成酵素因結構改變而導致失活現象。實驗中，利用添加界面活性劑作為模板及摻雜劑用與過氧化氫作為氧化劑，故在此探討這兩種試劑對酵素相對活性之影響。

實驗中，比較三種不同的陰離子型界面活性劑(SDS、DBSA 與 SDBS)以及氧化劑過氧化氫(H_2O_2)對於酵素 HRP 活性之影響，以及探討添加不同親、疏水性離子液體 ([BMIM]OTf、[BMIM]PF₆)後，酵素活性之改變。

4-1-1 界面活性劑之影響

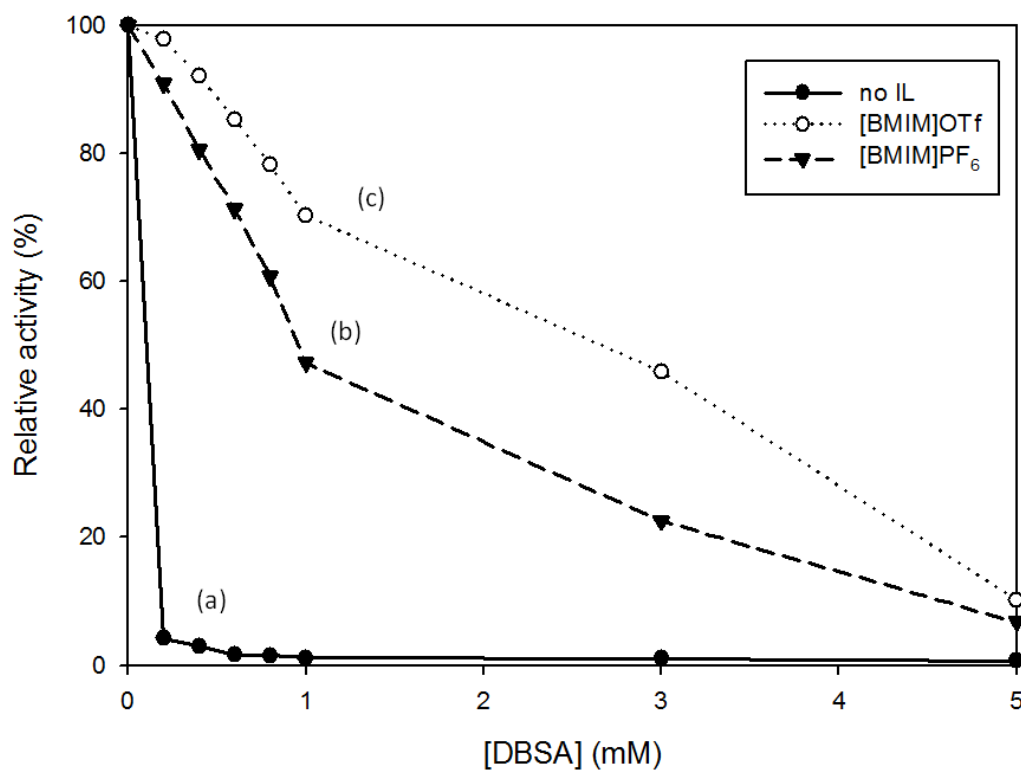
4-1-1.1 十二烷基苯磺酸(DBSA)對酵素活性之影響

探討不同濃度之界面活性劑 DBSA 對於酵素 HRP 之影響，可由圖【4-1】之結果觀察得之。圖【4-1】line a.表示未添加離子液體，可觀察出當界面活性劑濃度逐漸提高時，對於酵素活性是相當不利的。當溶液中開始存在有 0.2 mM DBSA 時，酵素之相對活性從 100%驟降不到 5%，故表示酵素在溶液中已趨近失活；圖【4-1】line b.表示溶液中添加 2% (v/v)疏水性離子液體[BMIM]PF₆，可得知當 DBSA 濃度提高時，酵素活性亦是逐漸失活之趨勢，但於 DBSA 濃度低於 1 mM 時，仍保持近 50%之相對活性；圖【4-1】line c.表示於溶液中添加 2% (v/v)親水性離子液體[BMIM]OTf，可得知當 DBSA 濃度低於 1 mM 時，酵素活

性仍可有效地維持在 70% 以上而當界面活性劑濃度過高時，亦會造成酵素活性失活之影響。

此實驗中可發現界面活性劑對於酵素活性之影響甚大，主要是因界面活性劑尚未形成微胞時，溶液中存在許多的游離 DBSA 單體，此時界面活性劑游離單體之疏水端與酵素 HRP 之疏水端相互作用下，因此影響蛋白質之疏水性作用力而造成結構之變化故影響酵素活性。

結果可發現，在添加親水性離子液體[BMIM]OTf 後，可有效地維持酵素 HRP 之活性，故可使酵素進行催化聚合反應；而疏水性離子液體[BMIM]PF₆ 對於酵素活性的維持能力較親水性離子液體差，但仍有一定程度上的幫助。由於界面活性劑 DBSA 易造成酵素活性之衰退，故在進行聚合反應時，界面活性劑之濃度不宜過高，以確保酵素可達催化之效果。



圖【4-1】離子液體添加下，DBSA 對酵素 HRP 之活性影響

條件：空白背景為去離子水；酵素反應濃度為 0.02 mg/ml

2% (v/v)離子液體[BMIM]OTf = 90 mM

2% (v/v)離子液體[BMIM]PF₆ = 97 mM

[DBSA]為 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、3、5 mM

反應溶液之 pH 值為 4.3；反應溫度為 4°C

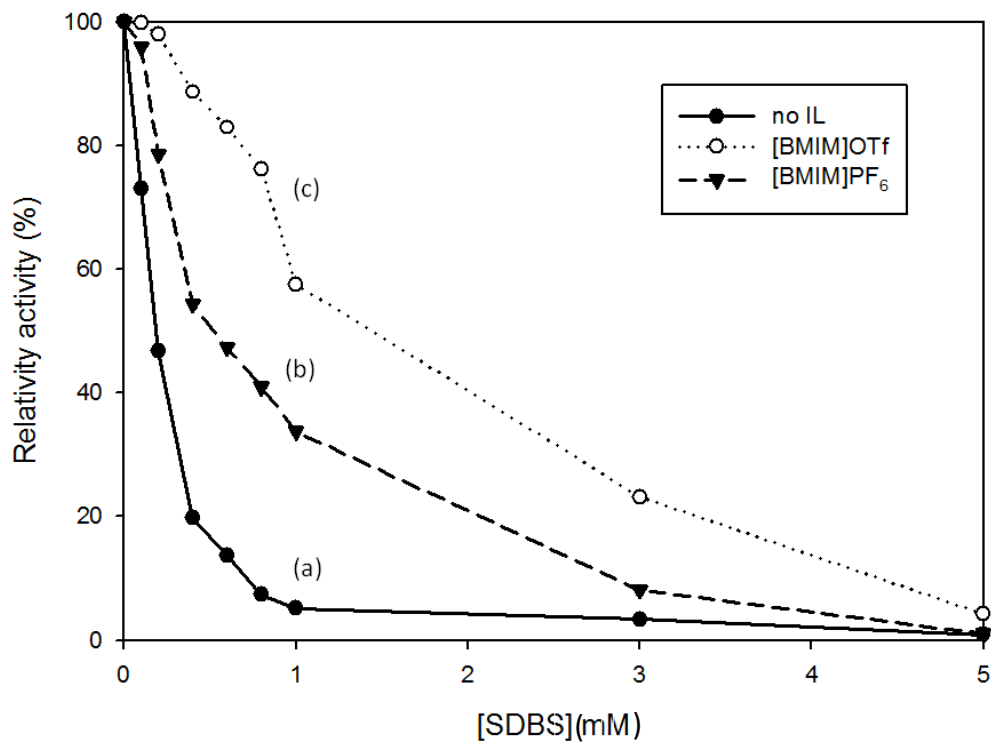
反應時間為 5 小時

4-1-1.2 十二烷基苯磺酸鈉(SDBS)對酵素活性探討

探討不同濃度之 SDBS 對於酵素活性之影響，可從圖【4-2】之結果觀察其現象。圖【4-2】line a.表示沒有添加離子液體，可發現當界面活性劑 SDBS 濃度提高時，對於酵素活性是會產生不利的影響。雖然當 SDBS 濃度低於 0.4 mM 時，酵素仍保持近 50%之活性；但當濃度大於 1 mM 時，相對活性僅剩不到 5%，即表活性造成失活之現象；圖【4-2】line c.表示溶液中添加親水性離子液體[BMIM]OTf，實驗結果可觀察出添加離子液體後，對於酵素活性的維持是有些許幫助的，且當 SDBS 濃度為 1 mM 時，仍具有將近 58%的相對活性；圖【4-2】line b.表示溶液中添加疏水性離子液體[BMIM]PF₆，可知雖然維持酵素活性的能力並沒有親水性離子液體佳，但於[SDBS] = 1 mM 時，則保有 35%之活性，故證實能維持酵素之活性。

實驗中主要針對界面活性劑 SDBS 之臨界微胞濃度為 1.3 mM 進行探討及比較，可由圖【4-2】得知，當未添加離子液體的酵素之相對活性已趨近於零；親水性離子液體[BMIM]OTf 使得酵素的相對活性仍保持有 55%；而使用疏水性離子液體[BMIM]PF₆ 酵素的活性僅剩 30%。實驗結果表示，當添加離子液體後，對於酵素活性的維持是有一定的提升，又以親水性離子液體較優於疏水性離子液體。

主要推測兩個原因：第一，因離子液體屬於鹽類的一種，故其解離後水合能力上升，導致界面活性劑親水端之水合能力降低、疏水端性質提升，使得親水、疏水平衡值或水油度(又稱 HLB 值)下降，進而促使界面活性劑微胞的快速形成；第二，離子液體的陽離子與界面活性劑的陰離子產生靜電吸引力，此作用力使陽離子基團包覆住親水端的基團，使得水合能力下降亦會導致疏水端能力上升，使得 HLB 值下降，進而使微胞的快速形成。微胞的形成表示溶液中游離之界面活性劑單體降低，進而避免游離單體之疏水端與酵素 HRP 之疏水端產生作用力，而導致酵素結構變形故影響其之活性。



圖【4-2】離子液體添加下，SDBS 對酵素 HRP 之活性影響

條件：空白背景為去離子水；酵素反應濃度為 0.02 mg/ml

離子液體濃度 [BMIM]OTf = 90 mM

離子液體濃度 [BMIM]PF₆ = 97 mM

[SDBS] 為 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、3、5 mM

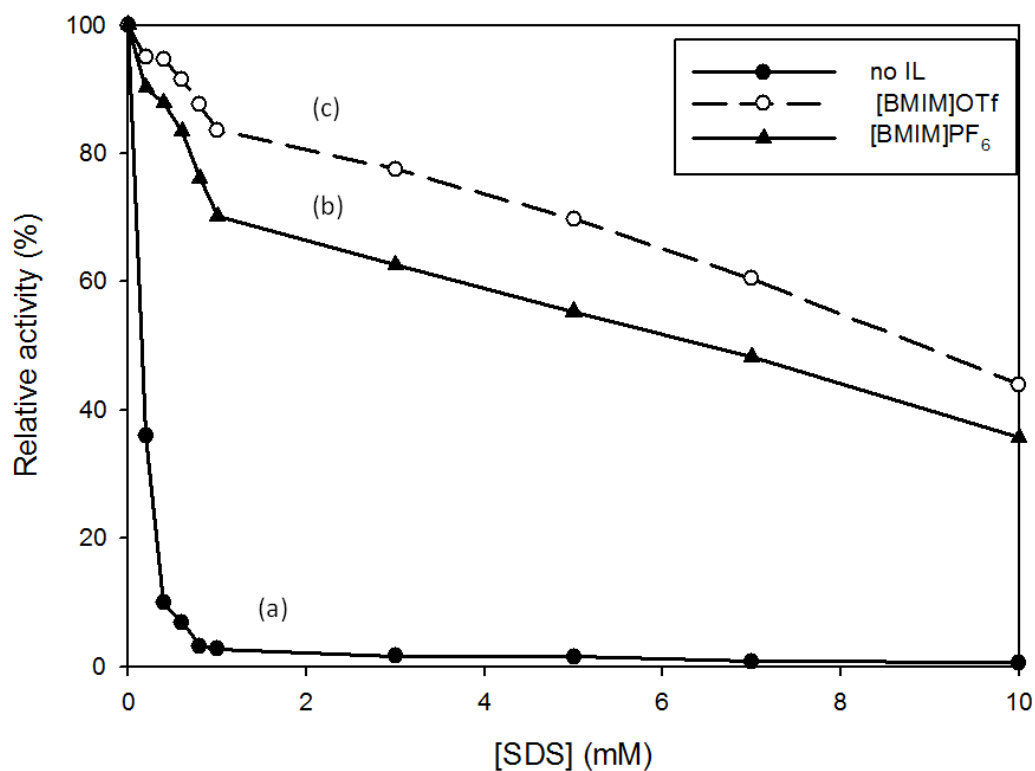
反應溶液之 pH 值為 4.3；反應溫度為 4°C

反應時間 5 小時

4-1-1.3 十二烷基硫酸鈉(SDS)對酵素活性探討

探討不同濃度 SDS 與酵素 HRP 之影響由圖【4-3】之結果可觀察其現象。由圖【4-3】line a.之觀察下，與先前實驗結果雷同，發現當溶液中添加界面活性劑後，均會使酵素活性因疏水端之相互作用下，導致結構改變進而失活，故利用離子液體的添加給予酵素活性之維持及保護。由圖【4-3】line b.表示添加疏水性離子液體下之結果當 SDS 濃度小於 1 mM 時，其酵素活性仍保有 70%。故證實在添加離子液體後，可確實提高其酵素活性；從圖【4-3】line c.可發現，溶液中添加離子液體後確將酵素活性有效地維持。當[SDS]<2 mM 時，酵素活性仍在 80%以上可有效發揮催化效果，但酵素活性亦隨著 SDS 濃度上升而下降。

實驗中探討利用 SDS 作為模板之聚合最終濃度為 7 mM，當 SDS 為 7 mM 時，於親水性離子液體的添加下，酵素活性仍可維持在 60%，故此催化反應可有效的進行；而疏水性則保有 48%之活性，故在此皆具酵素催化之功能。



圖【4-3】離子液體添加下，SDS 對酵素 HRP 之活性影響

條件：空白背景為去離子水；酵素反應濃度為 0.02 mg/ml

離子液體濃度[BMIM]OTf = 90 mM

離子液體濃度[BMIM]PF₆ = 97 mM

[SDS]為 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、3、5、7、10 mM

反應溶液之 pH 值為 4.3；反應溫度為 4°C

反應時間 5 小時

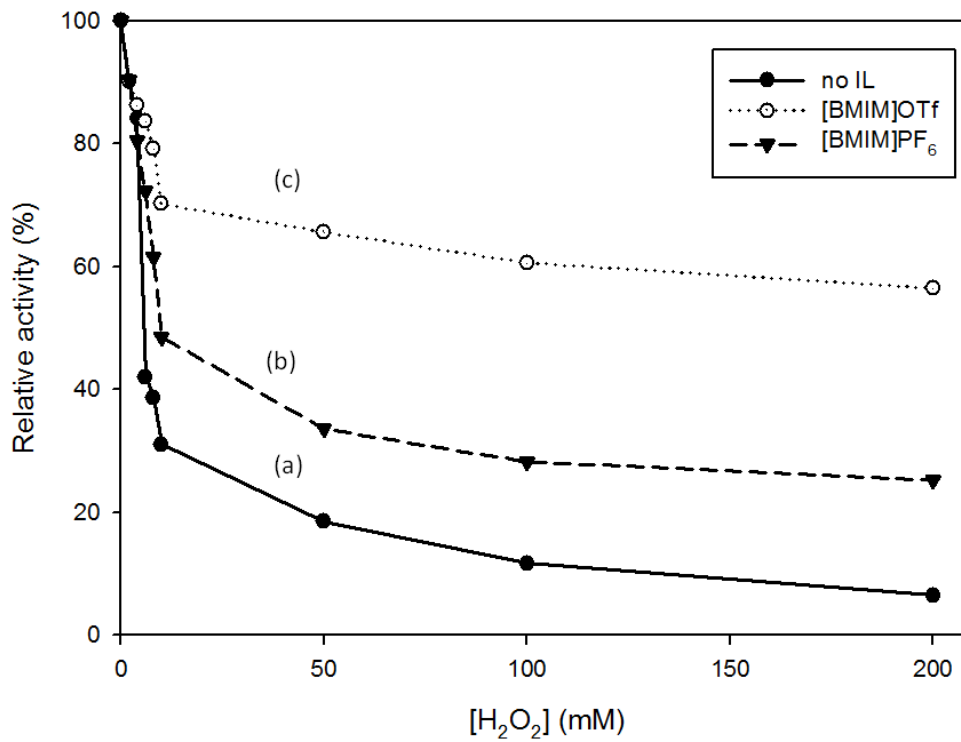
4-1-1.4 過氧化氫對酵素活性探討

文獻中可得知蛋白質在氧化狀態下，其胺基酸殘基會受到多種的氧化修飾，如蛋白質碳基(carbonyls)的形成。由於蛋白質上會結合過渡金屬離子，因而過氧化氫在蛋白質的特定位置上形成氫氧自由基，使蛋白質成為攻擊目標[43]。

由實驗室先前的研究指出過氧化氫對酵素 HRP 活性影響甚大，本實驗則探討於添加離子液體後，是否對於酵素活性的維持及保護能否達到一定效果，以及選取適當的催化反應濃度。從圖【4-4】可觀察出過氧化氫超過一定濃度(10 mM)時，即造成 HRP 的結構改變，使酵素 HRP 活性有相當大的影響。

利用離子液體的添加下，探討酵素 HRP 在過氧化氫 H_2O_2 中之影響。由圖【4-4】之結果觀察得知，圖【4-4】line a.表示未添加離子液體，可觀察出酵素之相對活性隨著過氧化氫濃度提高下而逐漸下降，但在低濃度範圍內(>10mM)，酵素仍可達 30%；圖【4-4】line c.表示溶液中添加 2% (v/v)親水性離子液體[BMIM]OTf，從結果得知當過氧化氫濃度 > 10 mM 時，可以有效地維持酵素活性於 70%且當過氧化氫濃度提高至 200 mM 時，則不會產生太大的變化；圖【4-4】line b.表示溶液中添加 2% (v/v)疏水性離子液體[BMIM]PF₆，可以有效地穩定酵素之活性且維持活性在 50%附近，但其效果較親水性離子液體差。

從實驗結果圖【4-4】可觀察出過氧化氫濃度提高下，的確對於酵素活性是不利的。結果證實離子液體對於酵素活性的維持是有一定的幫助。當添加親、疏水性離子液體後，過氧化氫濃度低於 10 mM 時，酵素活性可維持在 80% 附近以達到良好的催化效果。文獻[34]中提出當 $[\text{苯胺}]/[\text{過氧化氫}] < 1.33$ 時，當過氧化氫濃度過少時，會使苯胺氧化不完全呈完全還原態，而過多時，則呈完全氧化態。本實驗選取 4 mM 之苯胺以及 4 mM 之過氧化氫，使其比例為 1/1，已達酵素催化聚合聚苯胺之效果最佳。



圖【4-4】離子液體添加下，H₂O₂對酵素 HRP 之活性影響

條件：空白背景為去離子水；酵素反應濃度為 0.02 mg/ml

2%(v/v)離子液體濃度[BMIM]OTf = 90 mM

2%(v/v)離子液體濃度[BMIM]PF₆ = 97 mM

[H₂O₂]為 0、2、4、6、8、10、50、100、200 mM

反應溶液 pH 值為 4.3；反應溫度為 4°C

反應時間 5 小時

4-1-2 酵素活性之實驗總結

從圖【4-1】、【4-2】可觀察得知，當反應溶液中界面活性劑(SDS、DBSA 與 SDBS)的濃度提高時，對於酵素活性是有相當的影響。因本實驗中選取的界面活性劑為陰離子型界面活性劑，於溶液中可形成帶負電荷的微胞。若控制且維持反應溶液之 pH 值為 4.3，此時苯胺 ($pK_a = 4.7$) 單體形成自由基後，即形成帶正電荷的分子，兩者利用靜電吸引力使苯胺利用界面活性劑所形成微胞作為模板以及摻雜劑用。

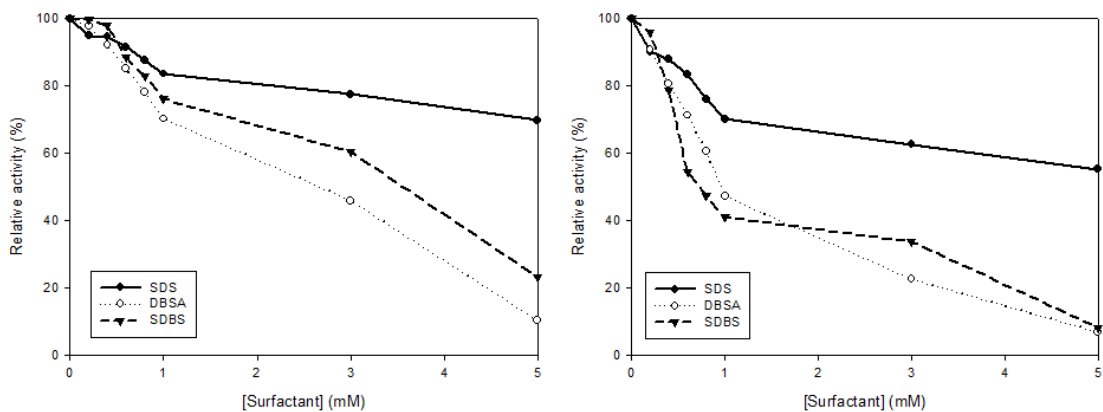
實驗中發現，界面活性劑使酵素產生嚴重的失活現象，推測可能是酵素之穩定性下降。主要是因為界面活性劑的游離單體與酵素產生作用力，使結構改變導致變性失活。改善方法則是利用離子溶液的添加，主要是因離子液體的水合能力比界面活性劑強，使界面活性劑親水端之搶水能力下降，進而造成疏水端之能力上升，故降低界面活性劑的臨界微胞濃度(CMC)而促使微胞的形成。然而，當加入離子液體後使溶液中形成微胞的單體減少時，界面活性劑之疏水端與酵素 HRP 之疏水端靜電吸引力作用的機率降低，故酵素的活性較佳。

此外，推測液體黏度與溫度的不同亦會影響酵素活性，於低黏度時酵素具有較高的效率；高黏度則反之。由藥品資訊可得知[BMIM]PF₆的黏度高於[BMIM]OTf，故可能造成酵素活性維持不良之原因，且亦有文獻[44]指出疏水性離子液體[BMIM]PF₆中對於辣根過氧化酶的酵

素活性較為不利。近年來，發現親水性離子液體[BMIM]OTf 可有效的穩定酵素活性，其主因是離子液體中的陰離子 CF_3SO_3^- 不會對於酵素產生抑制活性之作用[3]。離子液體會降低界面活性劑之微胞濃度，使游離單體數量降低，進而減少酵素失活之影響，故對於酵素活性可有效地維持。

從圖【4-5】中可發現添加 2% 親水性離子液體後對於酵素活性影響大小由 DBSA 最大，其次是 SDBS，最小則為 SDS。推測其原因為 HLB 值之影響，由 HLB 大小順序分別為：SDS (40) > SDBS (20) > DBSA (13)，由於 HLB 值大小表示親、疏水端之能力，HLB 值較大者表親水能力較高；反之則較小。SDBS 與 DBSA 之結構上皆帶有苯環，導致疏水性質較強，故 HLB 較低。因酵素失活原因是其疏水端與界面活性劑之疏水端作用導致結構改變而降低其活性，故利用離子液體的添加使界面活性劑疏水端能力減少時，即對酵素活性造成較低之影響。此外，文獻中亦指出疏水性離子液體[BMIM]PF₆ 對於辣根過氧化酶的活性維持較不利[44]，而從實驗現象驗證此結果。

本實驗探討反應溶液中，影響酵素活性衰退的原因為界面活性劑游離單體之疏水端與酵素作用，改變結構所造成以及酵素與過氧化氫作用導致活性減少。此外，本實驗中利用離子液體與界面活性劑產生靜電引力的關係，使得酵素活性較易維持更能促使催化反應之進行。



圖【4-5】比較不同界面活性劑對酵素活性之影響

條件：空白背景為去離子水；酵素反應濃度為 0.02 mg/ml

2%(v/v) [BMIM]OTf 濃度為 90 mM

2%(v/v) [BMIM]PF₆ 濃度為 97 mM

[SDS]為 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、3、5、7、10 mM

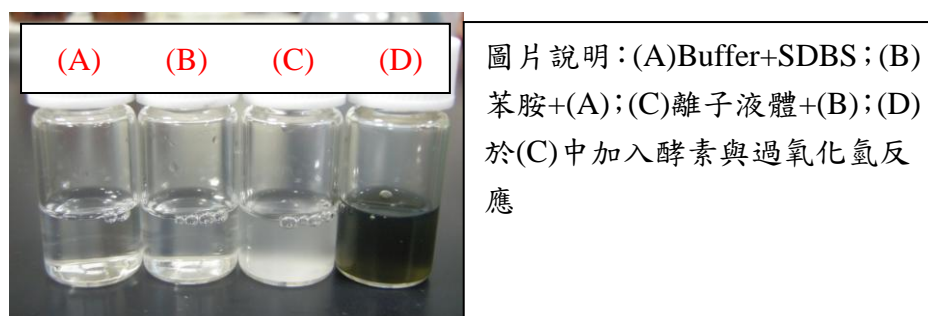
[DBSA]為 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、3、5、7、10 mM

[SDBS]為 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、3、5、7、10 mM

反應溶液之 pH 值為 4.3；反應溫度為 4°C；反應時間 5 小時

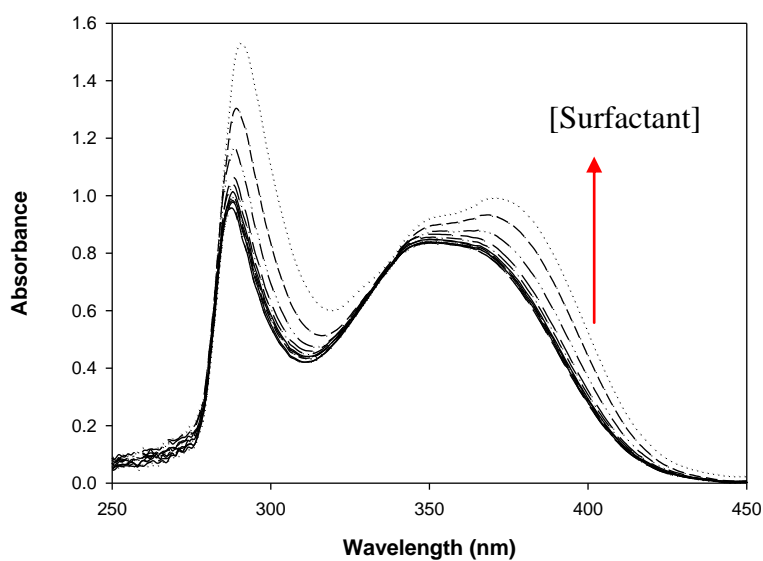
4-2 探討界面活性劑之微胞濃度

利用實驗中觀察圖【4-6】可發現，若反應溶液中未添加離子液體 [BMIM]OTf 時，當界面活性劑 SDBS 濃度未達臨界微胞濃度時，尚未形成大量微胞，故呈澄清狀態；然而，當添加入離子液體 [BMIM]OTf 後，溶液轉變為半透明狀，故推斷此時界面活性劑大多呈微胞狀且為聚集之型態，導致光學性質的改變。



圖【4-6】聚合反應時，溶液形成微胞之結果

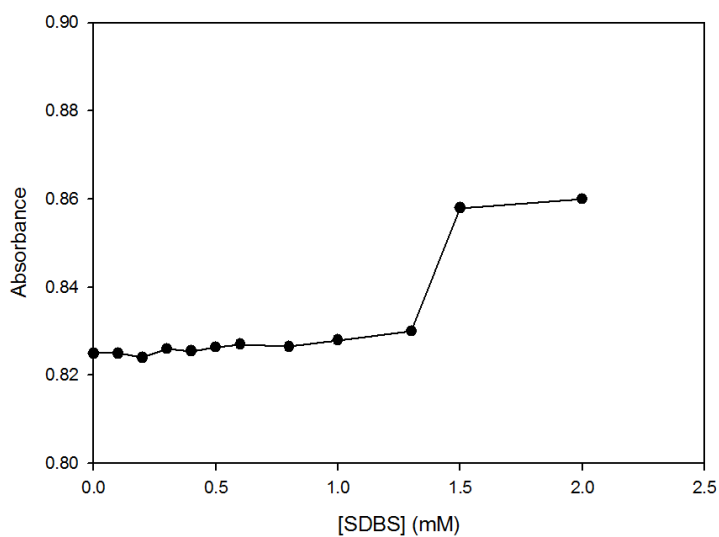
本實驗探討離子液體的添加是否會造成臨界微胞濃度的改變，進而降低界面活性劑添加量促使酵素活性能維持更有效的時間及利用；但又不影響其聚合結果。將反應溶液加入指示劑後，進行紫外光-可見光之全波長掃描並於 360 nm 下，取其特定吸收值作圖，以求得其臨界微胞濃度。依圖【4-8】所示，當 SDBS 濃度大於 1.3 mM~1.5 mM 時，界面活性劑已形成微胞狀態。然而，從圖【4-10】中可得知在添加 2% (v/v) 親水性離子液體後，由於陰離子界面活性劑會與離子液體的陽離子產生靜電吸引力，使得微胞聚集能力上升，導致臨界微胞濃度下降約至 1 mM。



圖【4-7】無添加離子液體 SDBS 之波長掃描

條件：去離子水為空白背景；波長範圍：250 nm~450 nm

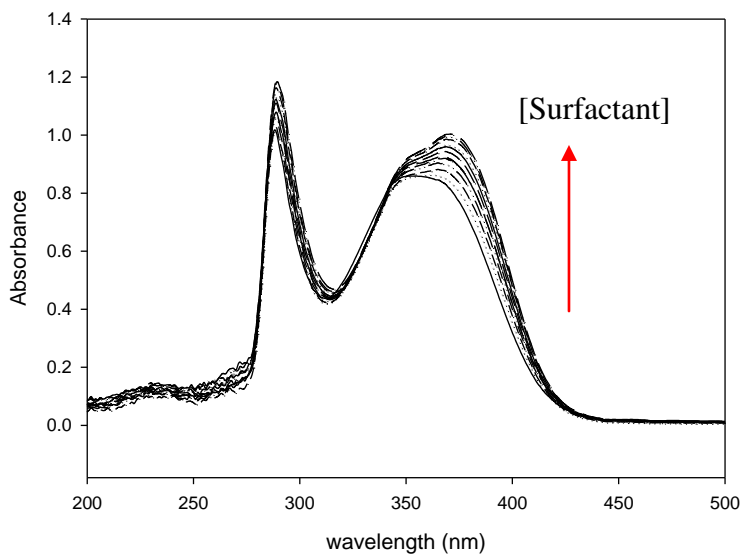
[SDBS] = 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、1、1.3、1.5、2 mM



圖【4-8】無添加離子液體 SDBS 之 CMC

條件：去離子水為空白背景；波長範圍：250 nm~450 nm

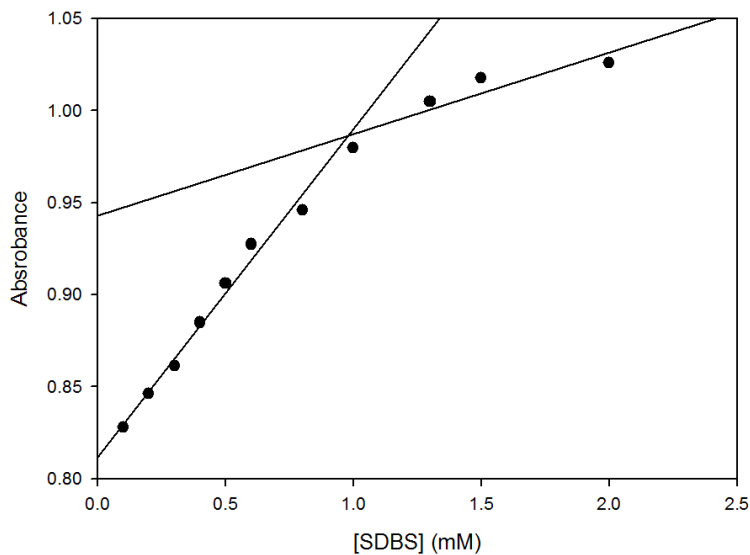
[SDBS] = 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、1、1.3、1.5、2 mM



圖【4-9】添加 2% [BMIM]OTf SDBS 之波長掃描

條件：去離子水為空白背景；波長範圍：250 nm~450 nm

[SDBS] = 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、1、1.3、1.5、2 mM



圖【4-10】添加 2% [BMIM]OTf SDBS 之 CMC

條件：去離子水為空白背景；波長範圍：250 nm~450 nm

[SDBS] = 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、1、1.3、1.5、2 mM

4-3 回收分析及探討

4-3-1 酵素回收探討

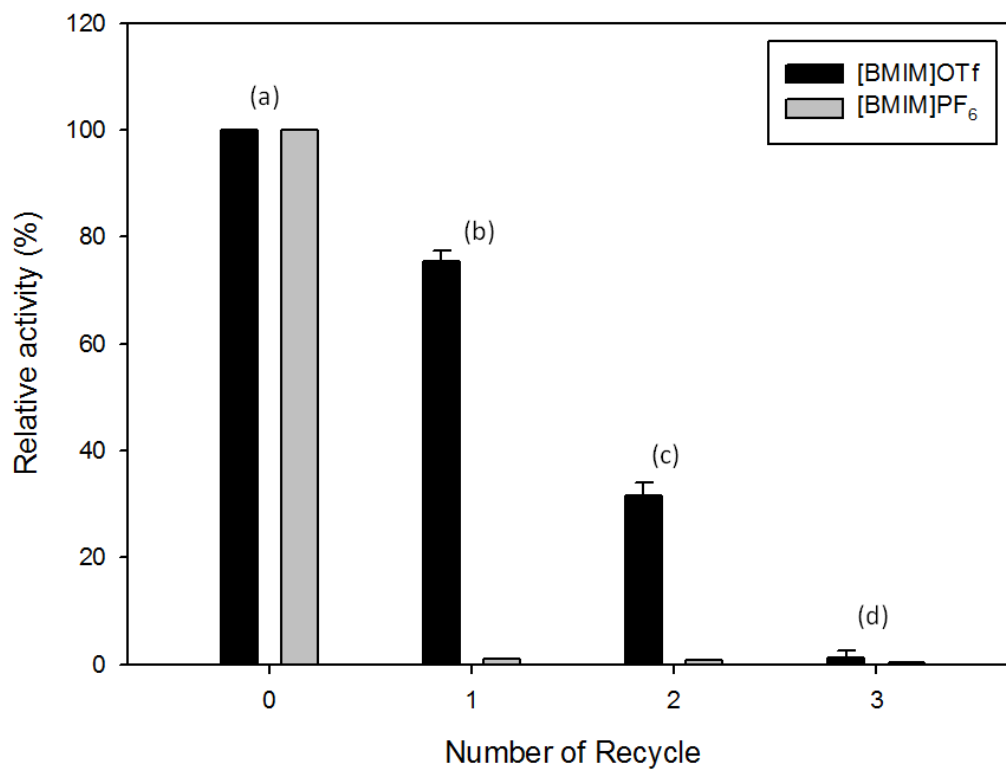
本實驗目的為探討酵素聚合反應後，是否能夠經由分離方法可使酵素在回收再利用。實驗中探討聚合反應後酵素是否仍具有活性，使其可重複催化聚合聚苯胺，檢測其殘餘活性之實驗方法則參考活性分析方法。當聚合反應結束後，經由離心方法使產物聚苯胺與溶液分離，並取上清液作酵素活性分析。酵素回收部分則先探討利用 2% (v/v) 親水性離子液體[BMIM]OTf 聚合反應後，經離心取上清液之檢測結果。圖

【4-11】 bar a. 表示在反應未開始前酵素的相對活性為 100%；而 bar b. 當進行一次反應後，經離心分離並測量上清液之酵素殘餘活性，得到酵素相對活性約為 70%；bar c. 表示取一次反應後之上清液進行第二次聚合，反應溶液經離心分離後，所測量之酵素相對活性之值為 30%；bar d. 表示利用二次聚合後之上清液進行第三次聚合，但此無聚合反應產生且測量其酵素相對活性值約為 1%，推測由於酵素活性過低，導致酵素無法達到催化效果。

圖中亦可發現將第一次反應完之回收溶液可進行再聚合反應，而第三次反應後因酵素催化劑濃度不足導致聚合反應無法進行，如欲驅動反應進行需額外再添加適量的酵素方可進行催化聚合。故實驗中欲使酵素進行多次反應，並且維持其酵素活性是存在困難的，須在往後

研究中做更進一步之探討。但本實驗已達到減少酵素的使用量並且可促使反應催化之進行。

此外，實驗中發現在疏水性離子液體[BMIM]PF₆下進行聚合反應後，經離心取上清液檢測其酵素殘留活性，結果得知不管在任何條件下，皆不存在酵素活性，故推測蛋白質經由離心分離後，皆與離子液體沉澱於試管底部，並且與離子液體混合，故提高其回收之困難。所以目前實驗中，主要探討親水性離子液體[BMIM]OTf之回收方面。



圖【4-11】回收反應溶液之殘餘活性測試

條件：(a)未反應；(b)第一次反應；(c)第二次反應；(d)第三次反應

空白背景為去離子水；2%(v/v)離子液體為[BMIM]OTf 與

[BMIM]PF₆；聚合條件為[SDBS]/[Aniline]=1/3、

[Aniline]/[H₂O₂]=1/1；反應溶液 pH 值為 4.3

反應溫度 4°C；每次反應時間 5 小時

4-3-2 離子液體回收探討

本實驗中採直接回收方式，使原溶液進行再聚合反應至酵素完全失活不再反應。此外，實驗中所利用的離子液體因具有高沸點及其低揮發特性，故亦可利用減壓蒸餾方式將離子液體與溶液分離以進行回收。首先，先將酵素利用膜分離方式可分離並利用有機溶劑萃取離子液體以及將界面活性劑的分離，方可使親水性離子液體達到有效的回收。而疏水性離子液體[BMIM]PF₆經聚合反應完成，使其離心後發現由上而下可分為上清液、聚苯胺產物以及離子液體，可利用過濾分離方式或者利用針筒吸取底層的離子液體進行回收再利用。

其中發現回收後的疏水性離子液體含有小分子的聚苯胺（如雙體或寡聚物），導致離子液體由淡黃色轉變為淡紫色。此推測因聚合過程當中，所產生的聚苯胺小分子因其疏水性質較強，故較易進入離子液體的結構中。而當離子液體中含有聚苯胺小分子時，進行重覆反應時造成聚合速度的加快，可能會導致結構較不穩定，進而影響產物之結構。

由於上述之原因，目前本實驗主要針對於親水性離子作直接性的重複使用，若欲將親、疏水性離子液體與溶液及聚苯胺小分子完全的分離須另外探討及研究。

4-3-3 多次聚合之探討

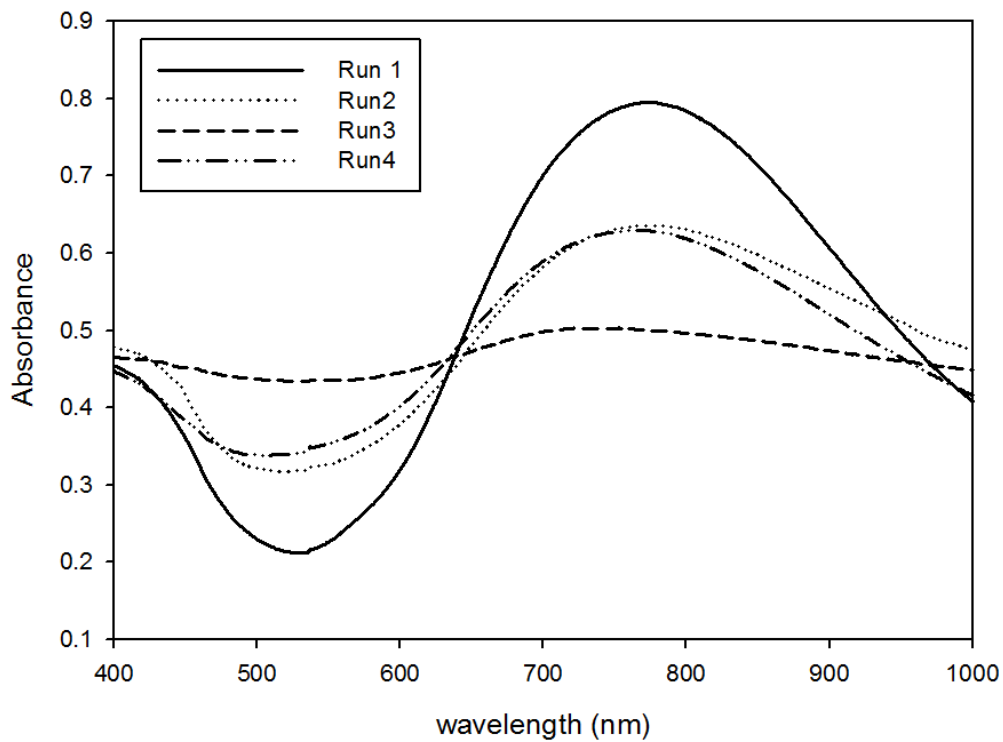
實驗中將反應後溶液離心取出上清液後，添加入界面活性劑、苯胺以及批次加入過氧化氫進行再聚合反應。從圖【4-12】可觀察出當再反應次數增加時(Run1→Run3)，由於酵素活性減少下導致催化能力下降，故吸收值逐漸降低。此時，若加入原添加量之一半的酵素 HRP 增加其催化能力，則可使聚合反應順利進行。從表【4-1】得知，當酵素逐漸失活時，產率會因催化能力不足隨之降低，但不影響其產物之性質，故導電度之變化不大。

從 UV-Vis 觀察 ES 型 PANI 之特徵波峰及聚合反應溶液顏色觀察，可得知皆為綠色、鹽式中間氧化態亦是本研究之目的。此方法可以減少酵素的使用量並可以達到催化聚合之結果。

表【4-1】聚合次數之產率與導電度比較

方法	溫度(°C)	界面活性劑	IL (v/v)	pH	Yield(%)	導電度(S/cm)
酵素法 ^a	4	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	75.8	0.023
酵素法 ^b	4	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	60.3	0.020
酵素法 ^c	4	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	X	X
酵素法 ^d	4	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	63.6	0.020

反應次數：a. 第一次 b. 第二次 c. 第三次 d. 第四次



圖【4-12】回收後聚合聚苯胺之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[HRP] = 0.02 mg/ml

2%(v/v)離子液體濃度[BMIM]OTf = 90 mM

聚合條件為[SDBS]/[Aniline] = 1/3、[Aniline]/[H₂O₂] = 1/1

反應溶液 pH 值為 4.3；反應溫度 4°C

聚合時間 5 小時

4-4 聚苯胺分析

研究中利用紫外光-可見光譜分析 UV-Vis 探討酵素催化聚合聚苯胺反應之結果。實驗方法為：依照實驗 3-3 作聚合反應 5 小時後，將反應溶液利用離心機 (條件為：4°C、8000 rpm、5 min) 分離，取得產物聚苯胺，首先將產物利用 95% 乙醇清洗並利用超音波震盪 5 分鐘後，再利用乙醇、去離子水清洗並溶於 50% 之 NMP 中，取反應溶液 200 μ l 與 2800 μ l 之去離子水混合，利用移液管攪拌均勻後，以去離子水作為空白背景，進行全波長掃描，範圍為 400 nm~1000 nm。

表【4-2】四種聚苯胺型態之吸收光譜[9]

聚苯胺型態	吸收波長
Leucoemeraldine	343
Emeraldine base	330、600
Pernigraniline	327、500
Emeraldine salt	335、410、820

表【4-3】不同界面活性劑聚合之導電度比較

方法	溫度(°C)	界面活性劑	IL (v/v)	pH	Yield(%)	導電度(S/cm)
酵素法	4	DBSA	2%[BMIM]OTf	4.3	52.4	0.016
酵素法	4	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	75.8	0.023
酵素法	4	SDBS	2%[BMIM]PF ₆	4.3	64.6	0.014

4-4-1 利用十二烷基苯磺酸(DBSA)聚合

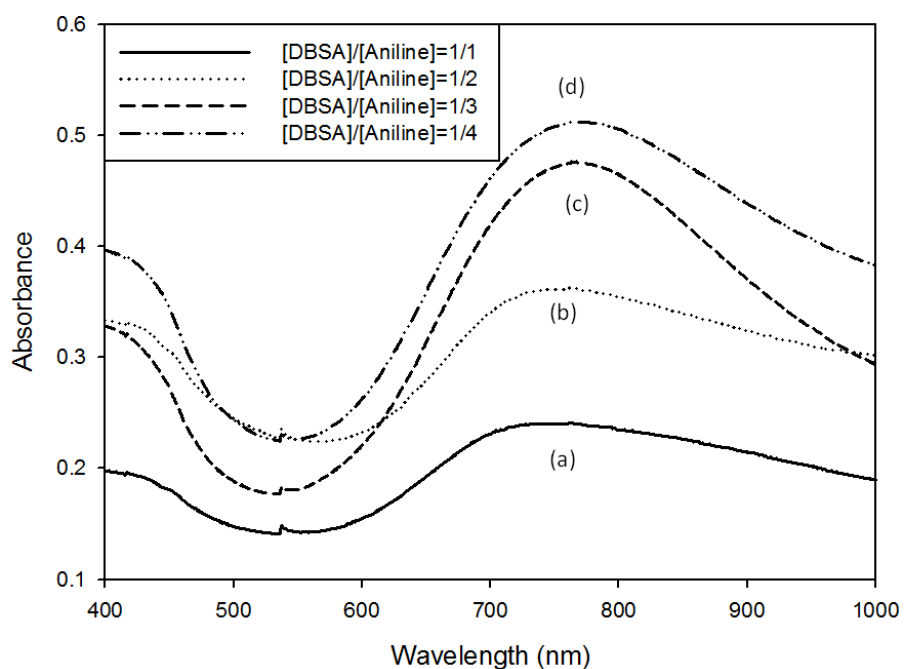
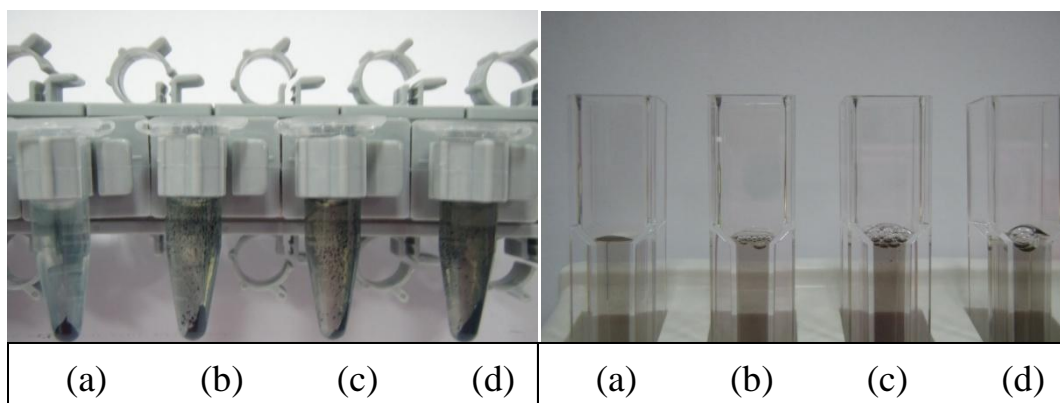
實驗中利用界面活性劑十二烷基苯磺酸 (DBSA)作為模板以及摻雜用途。首先，探討[DBSA]/[Aniline]比例不同對聚合之影響，以決定何種條件為最佳化。

由先前的酵素活性測試實驗可知，利用親、疏水性離子液體皆對酵素活性存在著維持之效果。實驗中，將[DBSA]固定為 1.6 mM，此時為其之臨界微胞濃度且酵素活性分別維持在親水性的 60%與疏水性的 40%左右。本實驗中，比較當苯胺濃度提高的情況下，何種比例下對於聚合結果之影響為較佳。利用親、疏水性離子液體進行聚合討論，結果如圖【4-13】與圖【4-14】所示，當界面活性劑形成微胞後，此時若微胞附近之苯胺濃度增加，導致聚合產率增加故吸收值較大。從聚合顏色看來溶液為墨綠色以及參考表【4-2】觀察其波形，得知其形態應為鹽式中間氧化態，但因比例條件不同對於酵素活性之影響，以及苯胺濃度決定自由基的多寡，導致產率的不同，故吸收值濃度有所差異。

實驗最後選用聚合條件[DBSA]/[Aniline] = 1/4 之結果作為放大製程之條件以及對於利用 DBSA 聚合聚苯胺有助於提升聚合物之溶解性，故利用其條件進行其他更深入的測試。

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-13】於[BMIM]OTf 中，不同[DBSA]/[Aniline]之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[DBSA] = 1.6 mM

2% (v/v)離子液體[BMIM]OTf = 90 mM

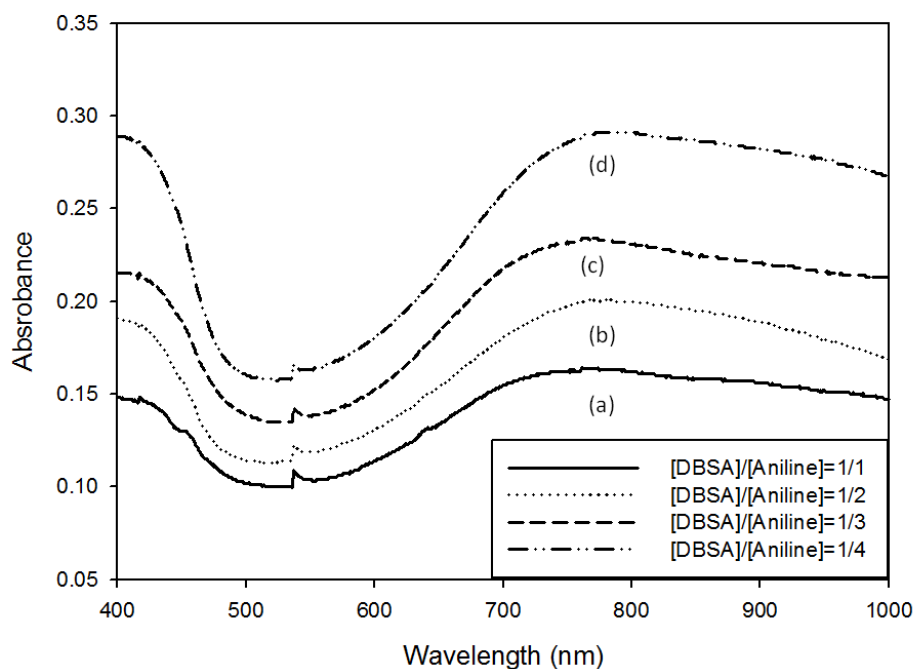
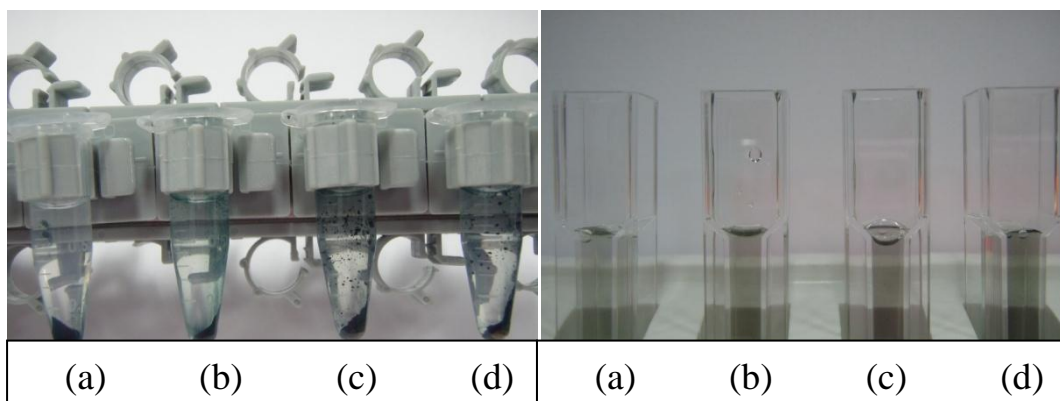
反應條件：(a)DBSA/Aniline = 1/1；(b)DBSA/Aniline = 1/2；

(c)DBSA/Aniline = 1/3；(d)DBSA/Aniline = 1/4

聚合溫度為 4°C；聚合時間為 5 小時

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-14】於[BMIM]PF₆中，不同[DBSA]/[Aniline]之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[DBSA] = 1.6 mM

2% (v/v)離子液體[BMIM]PF₆ = 97 mM

反應條件：(a)DBSA/Aniline = 1/1；(b)DBSA/Aniline = 1/2；

(c)DBSA/Aniline = 1/3；(d)DBSA/Aniline = 1/4

聚合溫度為 4°C；聚合時間為 5 小時

4-4-2 利用十二烷基苯磺酸鈉(SDBS)聚合

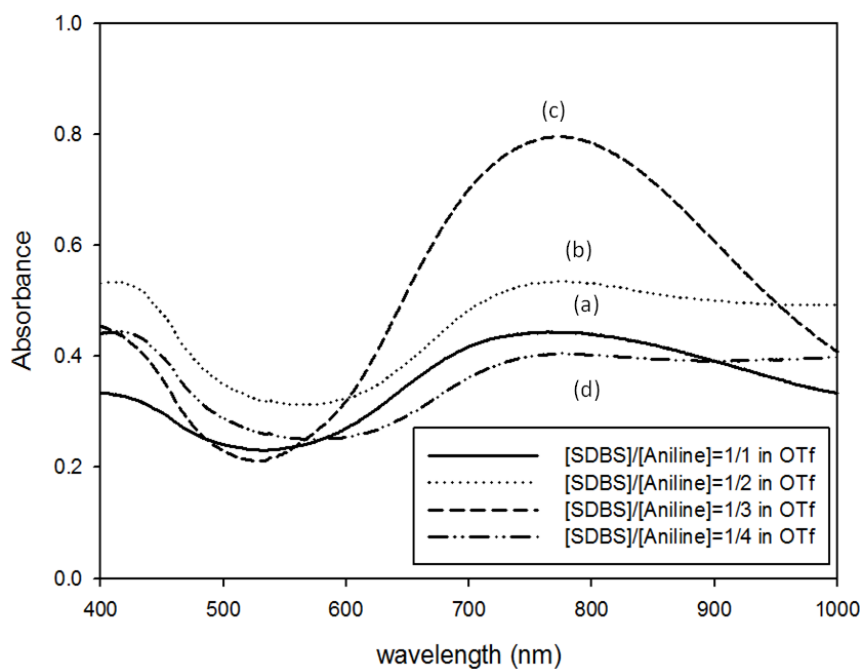
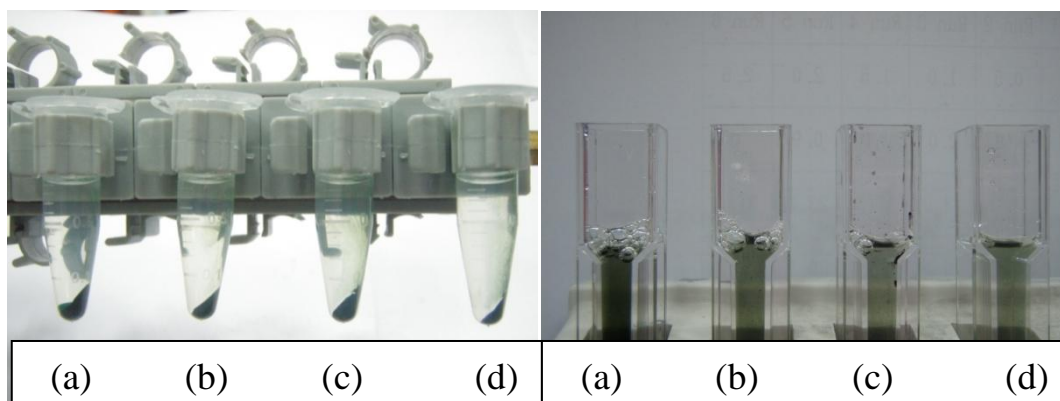
實驗中利用界面活性劑十二烷基苯磺酸鈉(SDBS)作為模板以及摻雜用途。比較不同的[SDBS]/[Aniline]比例下聚合之結果，以利決定何種聚合比例是為最佳化之條件。實驗結果可得知聚合反應溶液皆為墨綠色，且參考表【4-2】觀察波形為鹽式中間氧化態。

先前實驗中已探討選用[SDBS]之臨界微胞濃度為 1.3 mM 之原因，此實驗則是固定界面活性劑濃度並改變苯胺的濃度進行討論，可發現反應溶液中除了界面活性劑與過氧化氫會導致酵素活性的失活外，溶液中的苯胺亦會造成酵素變性失活之影響。在聚合時，當苯胺濃度不足時，溶液中苯胺自由基碰撞機率減少，故導致產率下降進而影響吸收值之大小，而對於波形看來其皆為鹽式中間氧化態。此外，當苯胺濃度與氧化劑濃度比例偏低時，易造成聚苯胺成完全氧化態。由於圖【4-15】與圖【4-16】中可得知選取[SDBS]/[Aniline] = 1/3 之聚合條件為最佳化，故利用此條件進行放大製程及其他檢測。

然而，添加界面活性劑之目的主要是為使難溶性的聚苯胺具些許溶解性，其原因在此推測：第一，由於苯胺單體利用酵素催化反應後，因聚合物分子量較少，故可溶於有機溶劑；第二，由於界面活性劑對於聚苯胺中結構的摻雜亦會導致其具溶解性。

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-15】 [BMIM]OTf 中，不同[SDBS]/[Aniline]比例聚合之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[SDBS] = 1.3 mM

2% (v/v)離子液體[BMIM]OTf 濃度為 90 mM

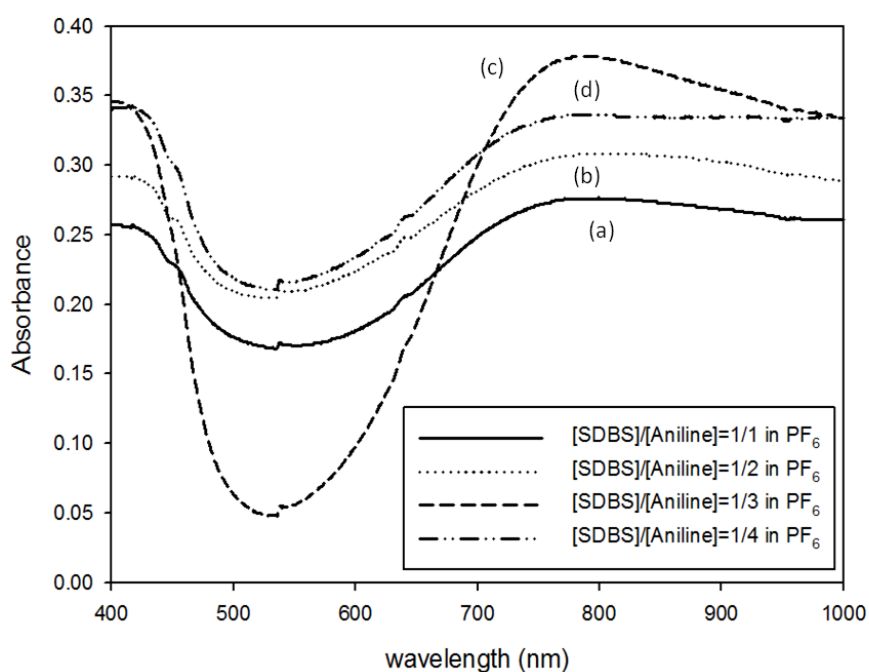
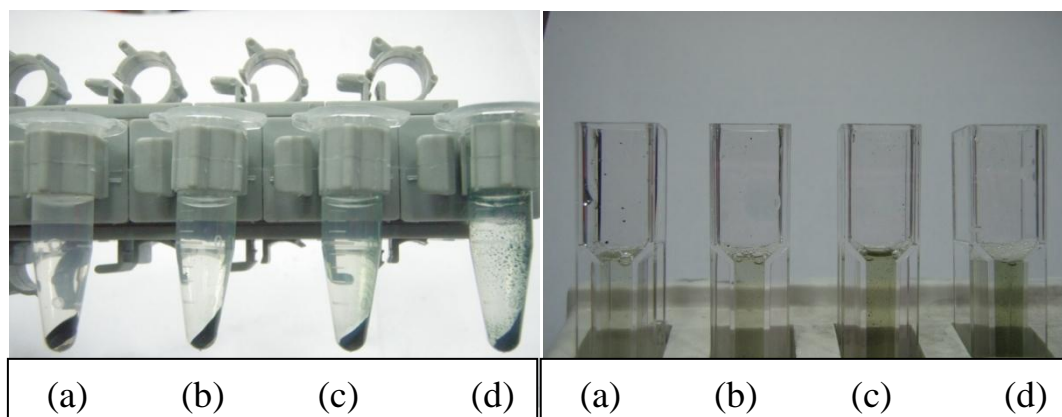
反應條件為：(a)SDBS/Aniline = 1/1；(b)SDBS/Aniline = 1/2

；(c)SDBS/Aniline = 1/3；(d)SDBS/Aniline = 1/4

聚合溫度為 4°C；聚合時間為 5 小時

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-16】[BMIM]PF₆中，不同[SDBS]/[Aniline]比例聚合之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[SDBS] = 1.3 mM

2% (v/v)離子液體[BMIM]PF₆濃度為 97 mM

反應條件為：(a)SDBS/Aniline = 1/1；(b)SDBS/Aniline = 1/2；

(c)SDBS/Aniline = 1/3；(d)SDBS/Aniline = 1/4

聚合溫度為 4°C；聚合時間為 5 小時

4-4-3 不同離子液體系統中之聚合

實驗中探討在不同比例離子液體的添加下，對於酵素催化及聚合結果之討論。當離子液體添加量提高後，對於酵素活性的影響以及反應溶液黏度的改變皆對聚合反應造成一定程度之影響。從實驗結果觀察出，當親水性離子液體之量逐漸增加時，對於酵素活性是不利的，也導致催化效果不佳。

首先，初步利用聚合完成後之顏色進行判斷，不同顏色表示為不同型態之聚苯胺，實驗目的為墨綠色、鹽式中間氧化態之聚苯胺。從圖【4-17】與圖【4-19】可以觀察到當親水性離子液體[BMIM]OTf 與[BMIM]Cl 逐漸增加用量時，對於聚合之結果是不利的，且從 UV-Vis 之特徵吸收峰看來 800 nm 附近的吸收值一直減少並往短波長移動，表示聚苯胺之型態逐漸在改變，故實驗中選用 2% (v/v) 親水性離子液體作為放大實驗之條件。

從酵素活性測試結果可知，疏水性離子液體比親水性離子液體對於酵素保護及維持較差。當疏水性離子液體之用量提高時，對於酵素活性降低導致產率下降外，對於產物之結構上並無造成太大之改變。而當親水性離子液體之用量逐漸增加時，此時溶液黏度改變，造成酵素活性快速衰退，導致聚合結果之不佳。故實驗最後選用 2% (v/v) 之離子液體進行放大試驗及檢測。

對於疏水性離子液體來說，因為其疏水性質不易導致溶液黏度之改變，故比例不同時對於聚苯胺之型態無太大之改變。由圖【4-18】之特徵吸收峰形觀察出於 2% (v/v)離子液體系統之下，相對於其他離子液體比例，其峰值於 800 nm 附近有較明顯的吸收值且增加離子液體的用量，對於聚苯胺的合成並無太大之影響。故為減少實驗之成本，本實驗選用 2% (v/v) [BMIM]PF₆ 進行放大實驗及探討。

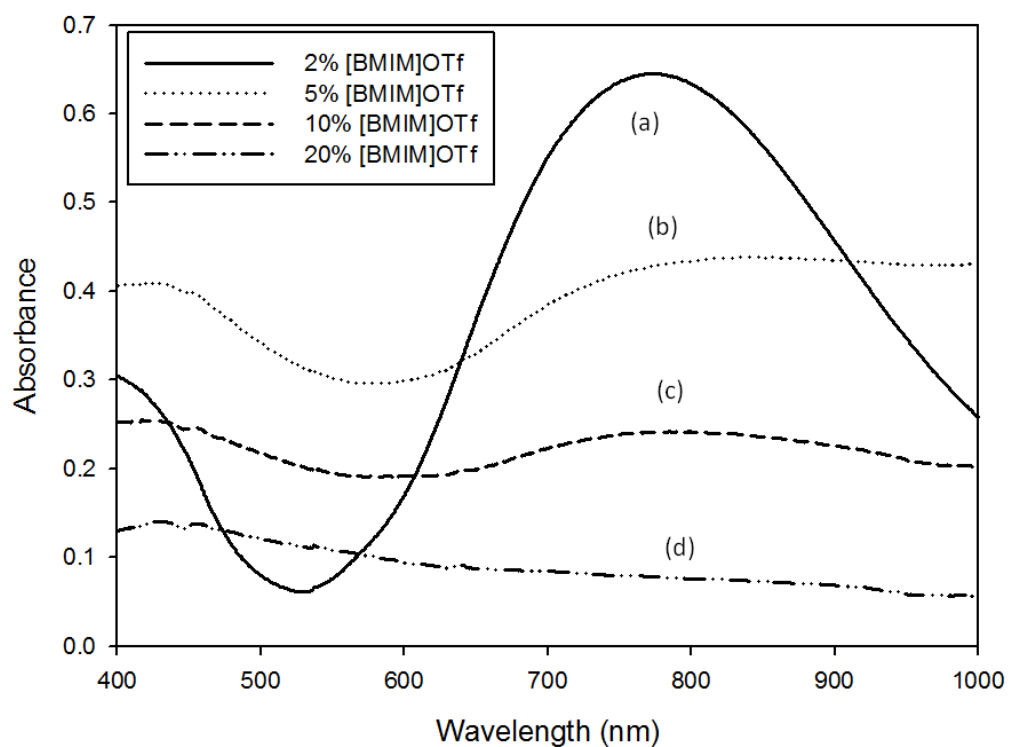
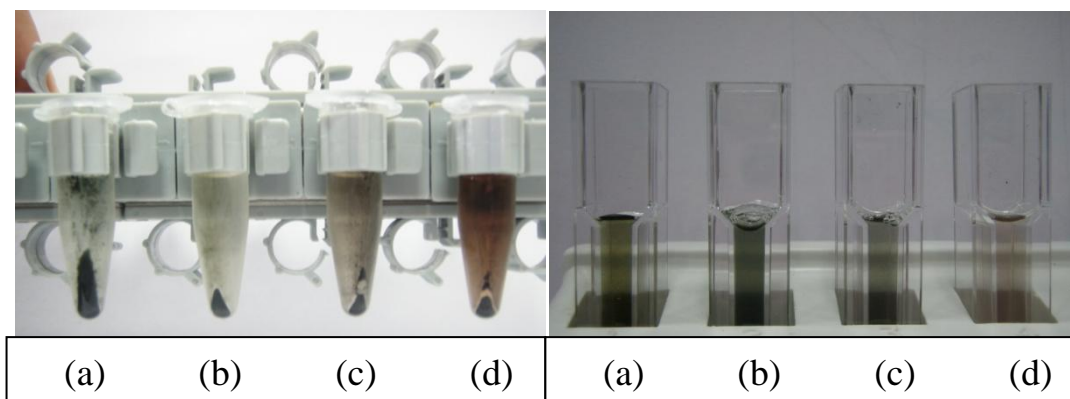
實驗結果的 UV-Vis 圖中，可以發現有些吸收值於長波長下產生紅偏移效果，主要是因聚苯胺其氧化程度不同。因聚苯胺為氧化單位(oxidation unit)和還原單位(reduction unit)所組成，因比例不同所造成之氧化還原程度有所差異[45]。本實驗之目的為鹽式中間氧化態之聚苯胺，其氧化與還原單位比應為各半，故在 420 nm 與 800 nm 附近各有其吸收值。當氧化單位佔較多比例時，則往完全氧化態之波長方向偏移，由於完全氧化態主要是以單-雙鍵結構成，故於長波長下之吸收值較高。實驗中推測於疏水性離子液體下聚合聚苯胺，其氧化程度比親水性離子液體來的高，故紅偏移效果較多，且於長波長下有較高的吸收值。

表【4-4】不同離子液體聚合之比較

方法	溫度(°C)	界面活性劑	IL (v/v)	pH	Yield(%)	導電度(S/cm)
酵素法	4	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	75.8	0.023
酵素法	4	SDBS	2%[BMIM]Cl	4.3	74.1	0.056
酵素法	4	SDBS	2%[BMIM]PF ₆	4.3	64.6	0.014

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-17】不同比例[BMIM]OTf 聚合聚苯胺之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[SDBS]/[Aniline]/[H₂O₂] = 1/3/3

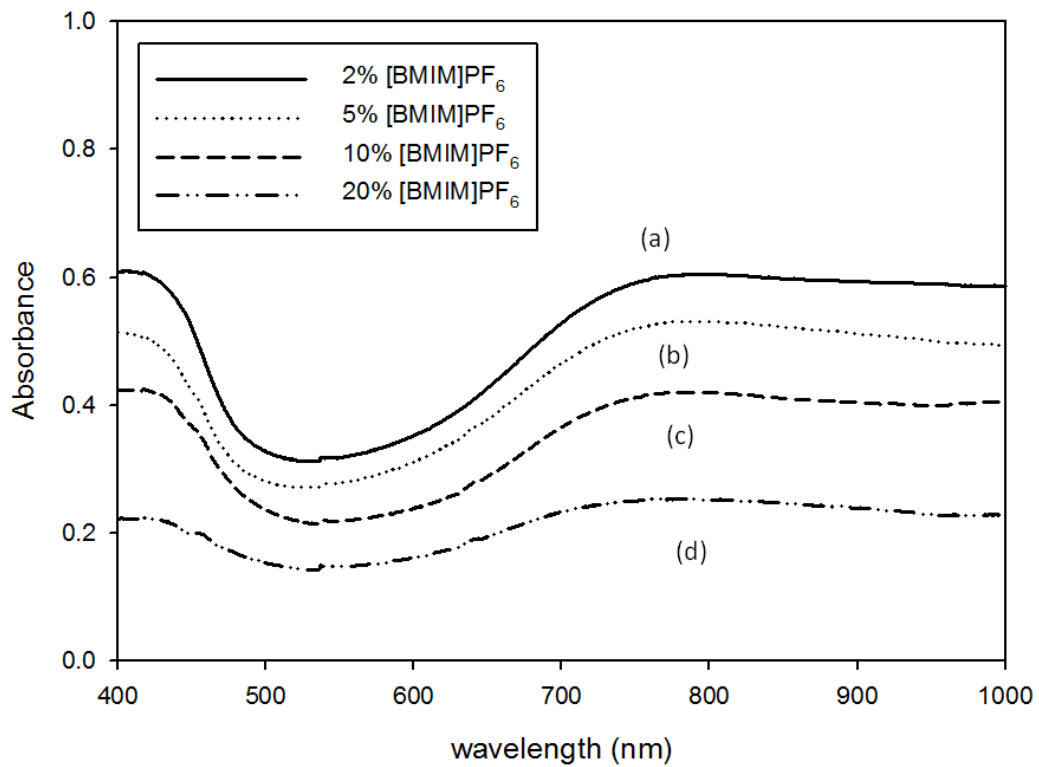
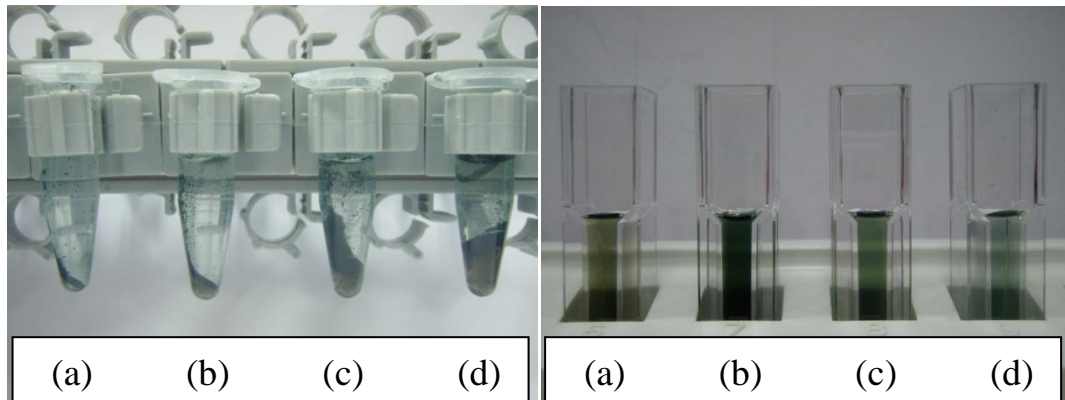
條件：(a)2% (v/v)[BMIM]OTf；(b)5% (v/v)[BMIM]OTf；

(c)10% (v/v) [BMIM]OTf；(d)20% (v/v)[BMIM]OTf

反應溫度 4°C；反應時間 5 小時

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-18】不同比例[BMIM]PF₆聚合聚苯胺之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[SDBS]/[Aniline]/[H₂O₂] = 1/3/3

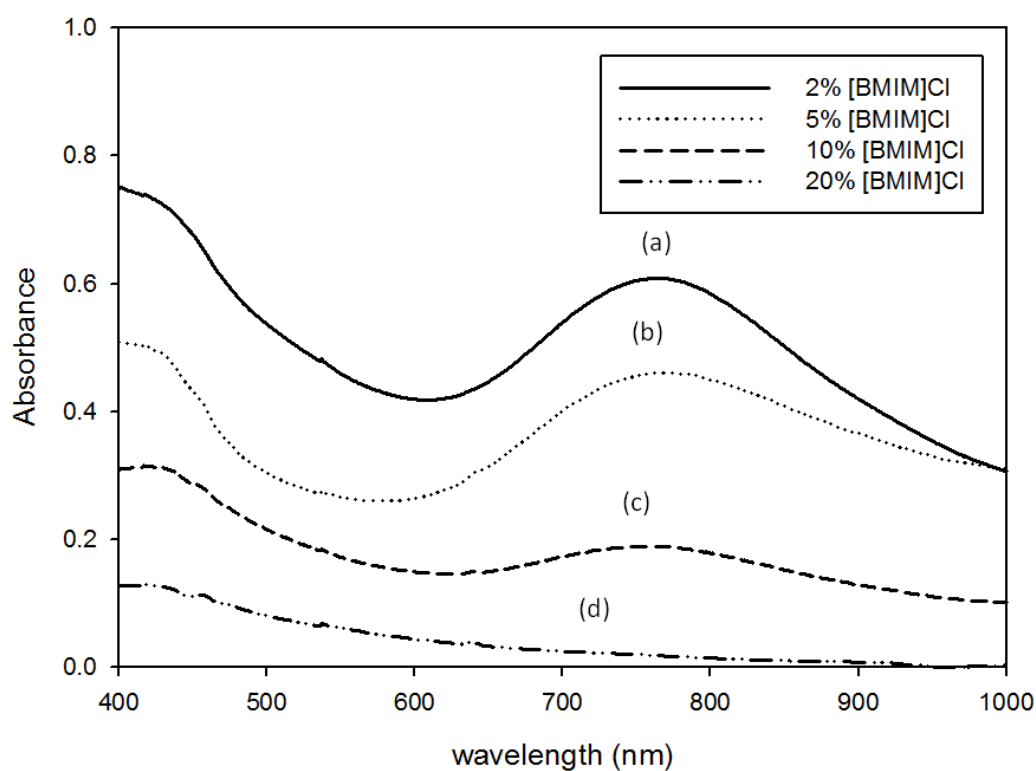
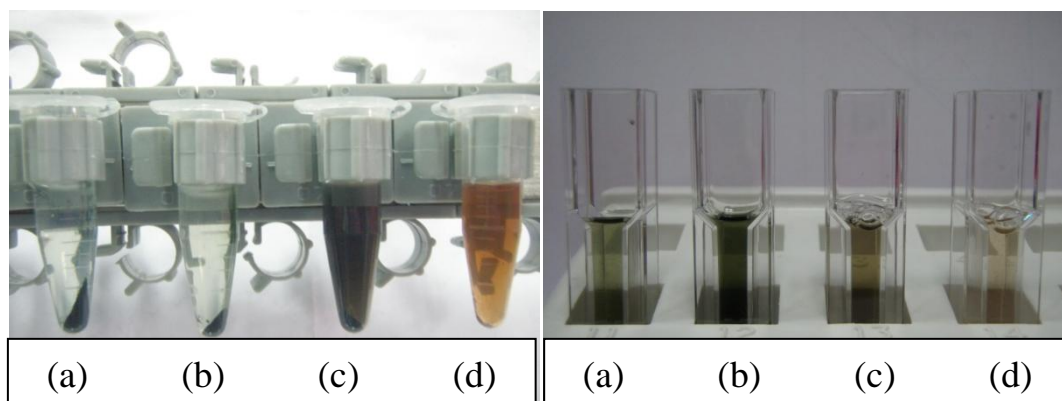
條件：(a)2% (v/v)[BMIM]PF₆；(b)5% (v/v)[BMIM]PF₆；

(c)10% (v/v)[BMIM]PF₆；(d)20% (v/v)[BMIM]PF₆

反應溫度 4°C；反應時間 5 小時

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-19】不同比例[BMIM]Cl 聚合聚苯胺之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[SDBS]/[Aniline]/[H₂O₂] = 1/3/3

條件：(a)2% (v/v)[BMIM]Cl；(b)5% (v/v)[BMIM]Cl；

(c)10% (v/v)[BMIM]Cl；(d)20% (v/v)[BMIM]Cl

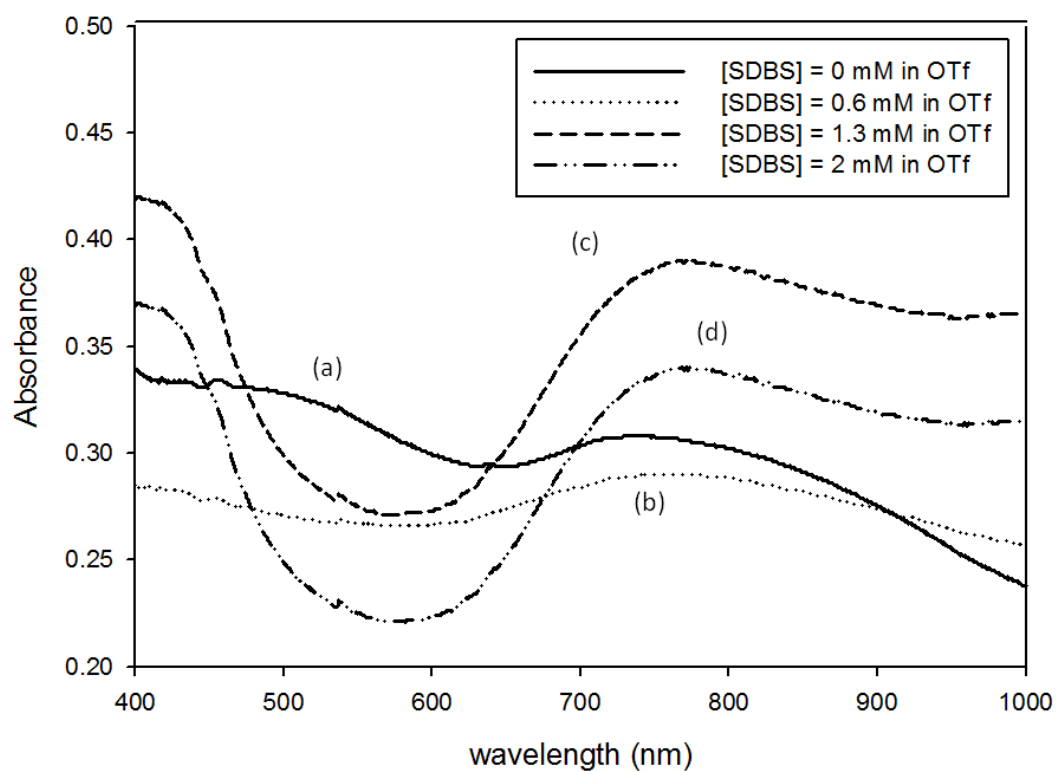
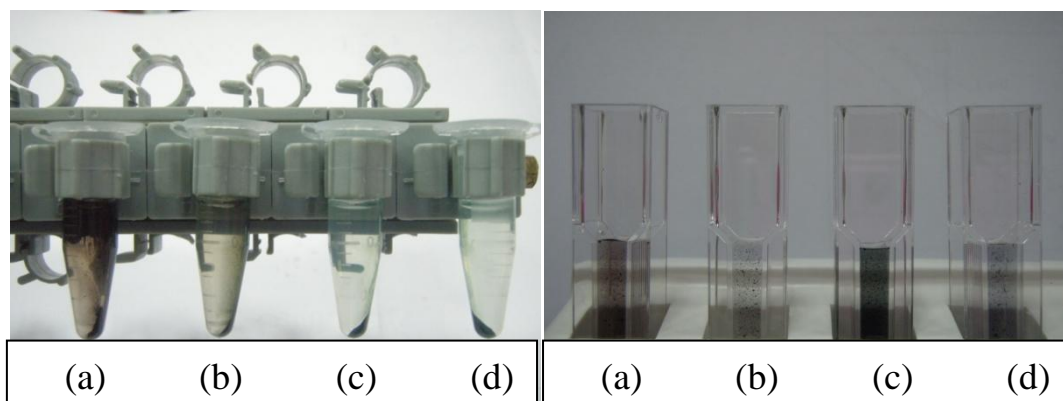
反應溫度 4°C；反應時間 5 小時

4-4-4 界面活性劑之微胞濃度影響

此實驗探討當添加不同界面活性劑時對聚合結果之影響。從實驗結果得知，利用 SDBS 摻雜及當作模板的效果明顯比使用 DBSA 較優，可從聚合後 UV-Vis 之特徵波峰以及導電性測試結果應證，當 $[SDBS]/[Aniline] = 1/3$ 時，導電度為 0.023 S/cm ； $[DBSA]/[Aniline] = 1/4$ 時，導電度為 0.016 S/cm 。本實驗主要選用十二烷基苯磺酸鈉(SDBS)作為模板與摻雜之用，此則探討當界面活性劑之濃度高於或低於臨界微胞濃度時，對於聚合反應之影響。從圖【4-20】與圖【4-21】中發現當聚合反應中，無添加界面活性劑時產物則為咖啡色、不具導電性的型態。圖【4-20.b】中觀察出當 SDBS 濃度過低時，造成摻效果不佳，導致聚苯胺產率略低，故吸收值偏低。但當[SDBS]提高為 1.3 mM 時其聚合效果有明顯的改善(如圖【4-20.c】)，然而持續增加界面活性劑之用量，則會造成酵素活性失活快速，較易影響反應聚合結果(如圖【4-20.d】)。從聚合反應上，不論是親水性離子液體或疏水性離子液體其皆於 SDBS 濃度為 1.3 mM 時有較好的表現峰形，故其為本實驗反應條件。

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-20】在[BMIM]OTf 中，不同[SDBS]聚合之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[BMIM]OTf = 90 mM、[H₂O₂] = 4 mM

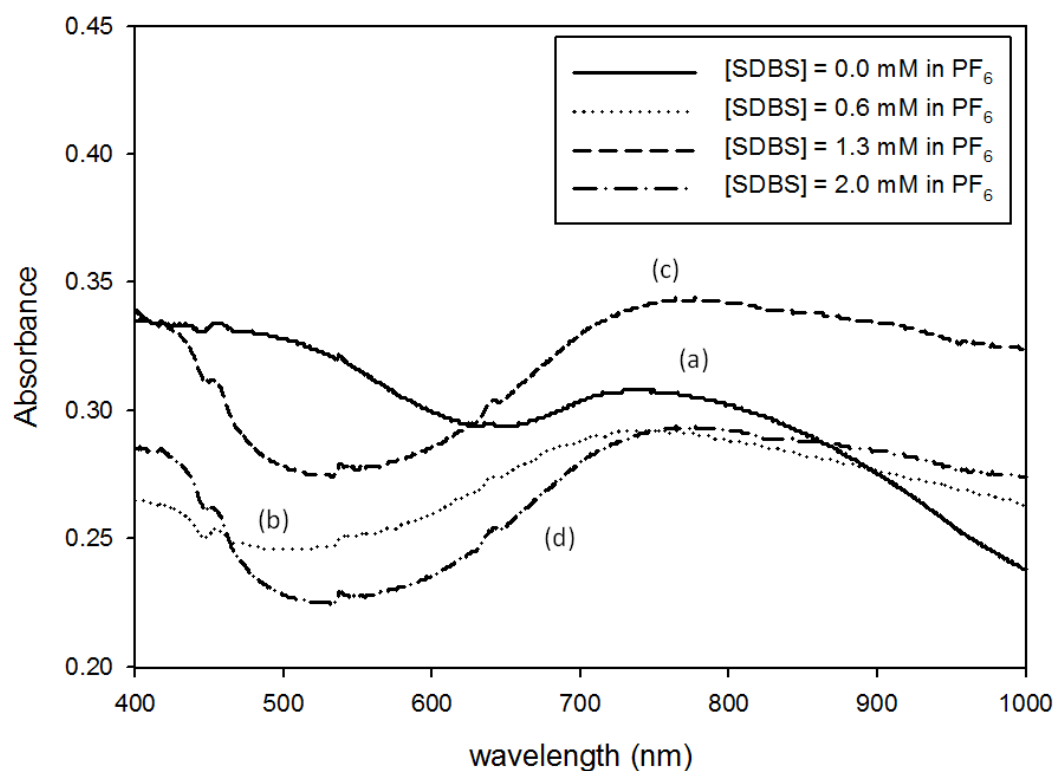
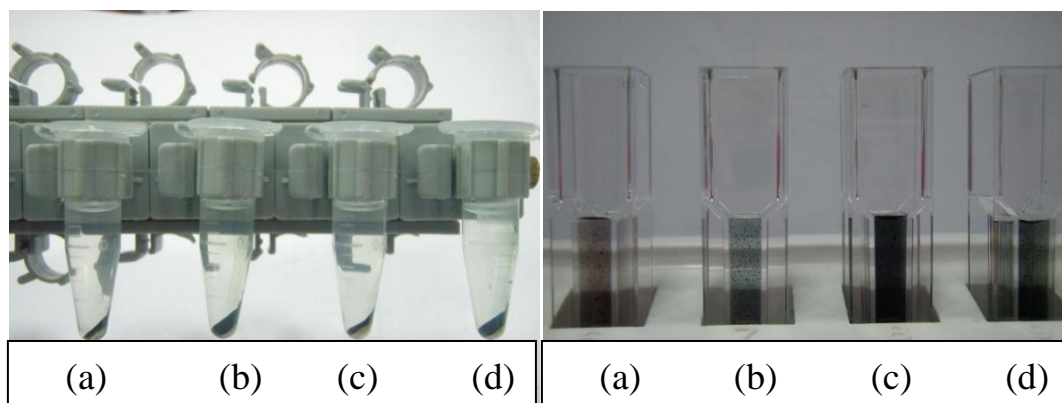
界面活性劑濃度：(a)[SDBS] = 0 mM；(b)[SDBS] = 0.6 mM；

(c) [SDBS] = 1.3 mM；(d)[SDBS] = 2 mM

反應溫度 4°C；反應時間 5 小時

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-21】在[BMIM]PF₆中，不同[SDBS]聚合之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；[BMIM]PF₆ = 97 mM、[H₂O₂] = 4 mM

界面活性劑濃度：(a)[SDBS] = 0 mM；(b)[SDBS] = 0.6 mM；

(c) [SDBS] = 1.3 mM；(d)[SDBS] = 2 mM

反應溫度 4°C；反應時間 5 小時

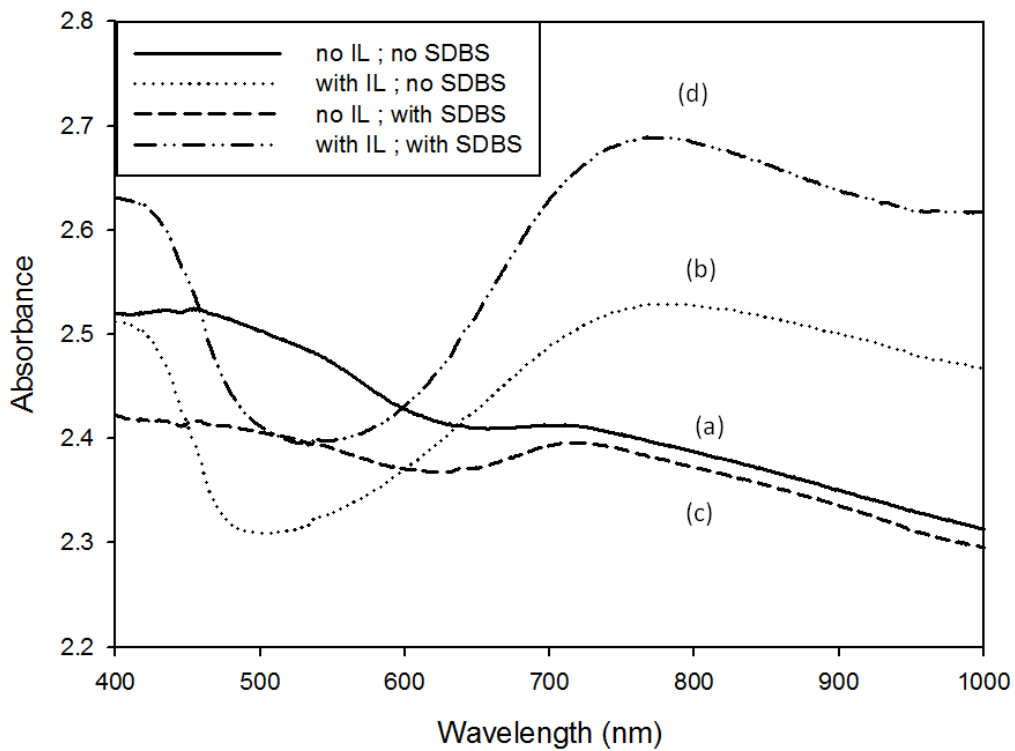
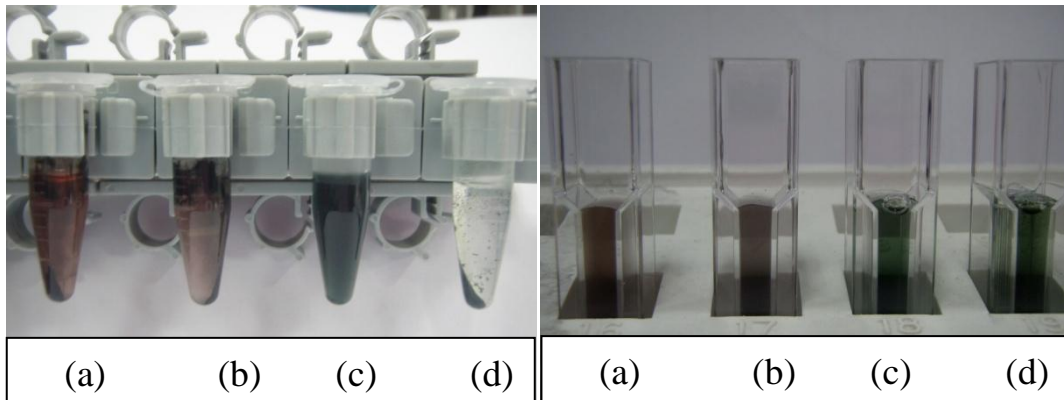
4-4-5 離子液體與界面活性劑添加與否之比較

由實驗 3-3-4 之結果可得到圖【4-22】，並探討對於離子液體與界面活性劑的添加下，是否造成聚合反應產物之不同。從圖【4-22】line a. 可知，當反應溶液中未添加離子液體與界面活性劑進行酵素聚合時，其產物從顏色及波形判斷出此產物不為鹽式中間氧化態且反應後酵素已完全失活。圖【4-22】line b.之聚合結果亦與圖【4-22】line a.相同，此歸納出當聚合反應中，如未添加界面活性劑作為摻雜劑時，皆無法聚合出具導電性之鹽式中間氧化態。而圖【4-22】line c.雖然顏色為墨綠色且從波形看來為鹽式中間氧化態，但此溶液經離心後無沉澱物，故需利用有機溶劑萃取才可得到產物且產率極低。從圖【4-22】line d.發現當離子液體與界面活性劑皆添加下，聚合反應之結果皆克服以上所產生的問題，且反應溶液只需經由離心後即可得到產物。

利用酵素法催化聚合聚苯胺的方法時，為簡化其製程步驟及回收再利用，故需添加此兩種試劑—界面活性劑作為摻雜以及利用離子溶液進行析出。

經離心 5 分鐘

利用去離子水稀釋 10 倍



圖【4-22】比較不同條件下聚合之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水

界面活性劑濃度：(a)皆未添加；(b)只添加[BMIM]OTf；

(c) 只添加 SDBS；(d)皆有添加

反應溫度 4°C；反應時間 5 小時

4-4-6 探討其它條件之比較

4-4-6.1 溫度

由於溫度的高低會造成反應速率的不同，進而影響聚合之結果。但本實驗之反應時間為 5 小時，而長時間下之反應速率已達平衡且從表【4-5】中可得其產率並無太大之改變。此外，Ruckenstein 等人提出溫度對於黏度也會造成部分影響，將反應溫度提高後，反應溶液黏度下降後使得苯胺單體擴散性能提升，促使鏈轉移反應機率增加，聚合機率提高，因此使產率增加[46]。但由於鏈轉移反應機率的增加，使得合成之產物聚苯胺的分子量較低，造成利用界面活性劑摻雜的量減少，故導致產物之導電度下降，如表【4-5】所示。

表【4-5】不同溫度聚合之比較

方法	溫度(°C)	界面活性劑	IL (v/v)	pH	Yield(%)	導電度(S/cm)
酵素法	4	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	75.8	0.023
酵素法	25	SDBS	2%[BMIM]OTf	4.3	72.6	0.020

4-4-6.2 離子液體

探討使用不同離子液體聚合時，其陰離子對於聚苯胺具有摻雜作用。由於陰離子界面活性劑其本身具有摻雜效果，而從導電度測試判斷並推估離子液體的陰離子具摻雜之影響。其中，考慮其立體障礙之關係，當陰離子基團越大時對於聚苯胺的摻雜效果越差，導致導電度

較低。故從表【4-4】得之，利用離子液體聚合之導電度比較為： $[\text{BMIM}]\text{Cl}$
 $> [\text{BMIM}]\text{OTf} > [\text{BMIM}]\text{PF}_6$ 。

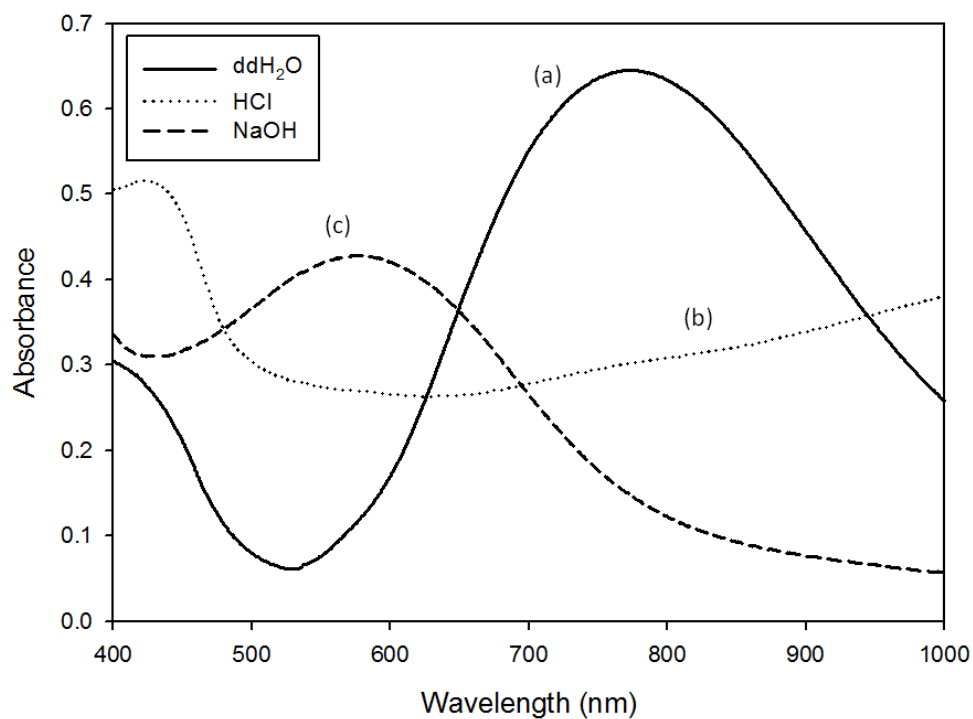
4-4-6.3 清洗步驟

本實驗聚合反應完成後，分別探討利用氫氧化鈉、去離子水以及鹽酸作為清洗劑之影響，表【4-5】中可以發現利用氫氧化鈉清洗後，導電度變差是因受溶劑效應及去摻雜效應影響，導致聚苯胺結構上的電子轉移機率能力下降，故導電度下降。而利用鹽酸清洗，溶液中因解離的氯離子與原本摻雜在聚苯胺上的磺酸根競爭並進行部分取代，使得聚苯胺結構上摻雜更為完整，進而促使電子轉移上更加容易，故導電度因此提高。由圖【4-23】可觀察聚苯胺經 1 M HCl 摻雜與經 1 M NaOH 去摻雜後之特徵波峰。實驗結果發現【4-23】line a. 主要特徵吸收值在於 800 nm 為導電性之鹽式中間氧化態；line b. 經鹽酸摻雜後其吸收值往長波長偏移，故其導電性增加；line c. 主要特徵吸收值偏移至 600 nm 為不具導電性之鹼式中間氧化態。

表【4-6】不同清洗方法之比較

方法	溫度(°C)	界面活性劑	IL (v/v)	pH	Yield(%)	導電度(S/cm)
酵素法 ^a	4	SDBS	2% $[\text{BMIM}]\text{OTf}$	4.3	63.4	1.270E-05
酵素法 ^b	4	SDBS	2% $[\text{BMIM}]\text{OTf}$	4.3	75.8	0.023
酵素法 ^c	4	SDBS	2% $[\text{BMIM}]\text{OTf}$	4.3	76.2	0.087

清洗方式：a. 1 M NaOH b. 去離子水 c. 1 M HCl



圖【4-23】不同摻雜結果之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水

2% (v/v)[BMIM]OTf、[SDBS]/[Aniline]/[H₂O₂] = 1/3/3

反應時間 5 小時；反應溫度 4°C

(a)利用去離子水清洗

(b)利用 1 M HCl 摻雜

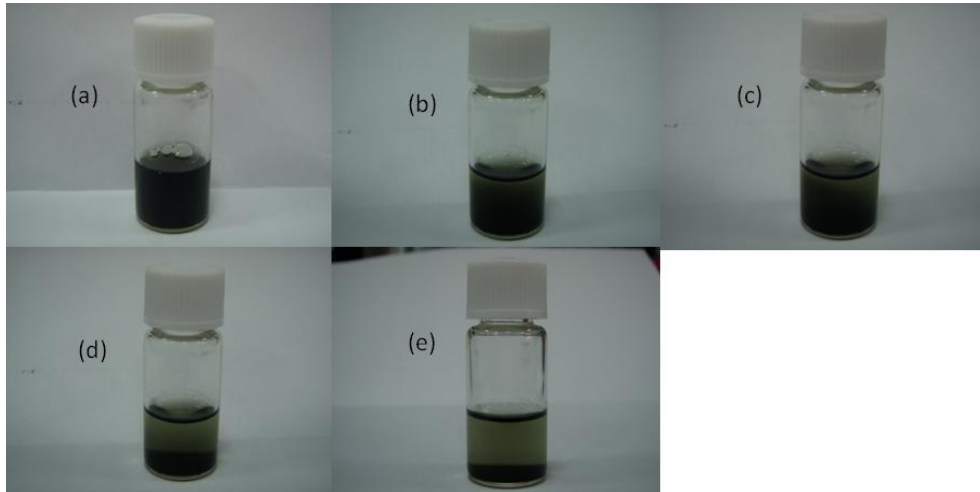
(c)利用 1 M NaOH 去摻雜

4-4-6.4 沉降速率

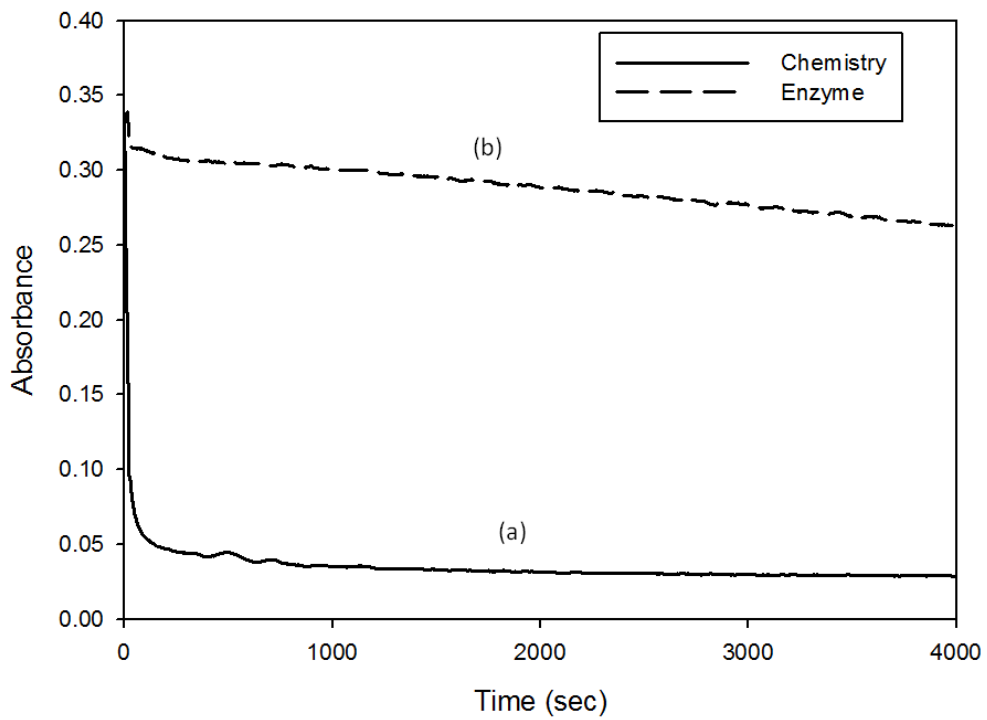
由此實驗可比較利用化學法與酵素法聚合之產物聚苯胺，從圖【4-25】可觀察出將酵素法合成之聚苯胺靜置並觀察其沉降速度，發現約 24 小時後才會有明顯的分層，表示粉末易於懸浮於溶液中。

取反應溶液並稀釋於去離子水中(稀釋倍率為 10 倍)將其均勻混合後，利用紫外光-可見光波長掃描其吸收值，即可從時間對於吸收值來判斷其關係。由圖【4-24】可觀察出，其中圖【4-24】line a.為化學法聚合，可觀察出於短時間內，化學法聚合之聚苯胺其吸收值有很大的變化，表示在很快的時間內顆粒沉澱速率快，導致吸收值明顯降低；而圖【4-24】line b.是利用酵素法聚合聚苯胺知結果，其吸收值變化很小，表示顆粒均勻懸浮在水溶液中且沉降速率很慢。實驗推測可能為酵素法聚合之產物，由於分子聚集量較少導致顆粒較小，故較易懸浮於水溶液中，以及利用界面活性劑的添加下，導致產物聚苯胺具微水溶性，故沉澱速率較慢。

實驗結果可知利用酵素法催化的產物聚苯胺其分子量比化學法小，故聚集顆粒較小。雖其具微溶性之特點，但對於耐久性質而言是不利的，往後可進一步將分子量提高以增強其耐久性。



圖【4-24】觀察不同時間下，酵素法之聚苯胺沉澱速率：(a)1hr；(b)3hr；
(c)5hr；(d)12hr；(e)24hr



圖【4-25】不同聚合方法之沉降速率比較

條件：利用去離子水稀釋反應溶液 10 倍

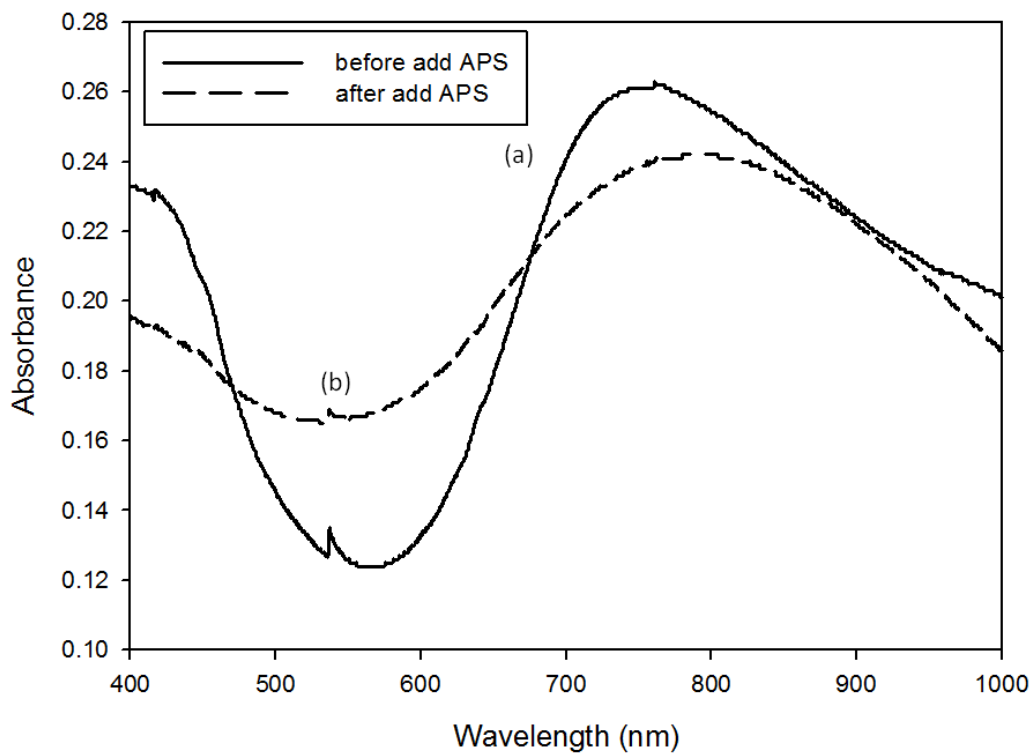
(a) 利用化學法聚合；(b) 利用酵素法聚合

4-4-7 聚合後之其他方法處理

本實驗目的為利用酵素法聚合之產物聚苯胺，因其分子聚集效應較差，故探討另用其他試劑的添加能否促使分子聚集更為完整。

4-4-7.1 加入過硫酸銨

探討溶液中是否仍有未反應完之苯胺單體，可再進行聚合反應以達到完全聚合之效果以及將聚苯胺寡聚物利用氧化劑的添加下，使其能更有效的形成大分子。於聚合反應完成後，溶液中再添加入化學氧化劑 4×10^{-3} mM 的過硫酸銨 (APS) 並持續攪拌 30min，從圖【4-26】可觀察出添加 APS 後，特徵波峰仍與未添加時相似，故推測反應結束後並無過多的苯胺單體存在可促使反應再進行聚合，導致波形並無太大之改變。但由沉澱速率觀察可發現，由於過量氧化劑的添加，使聚苯胺粒徑變大，其沉降速率比未添加時更為快速。



圖【4-26】探討有無添加 APS 之 UV-Vis

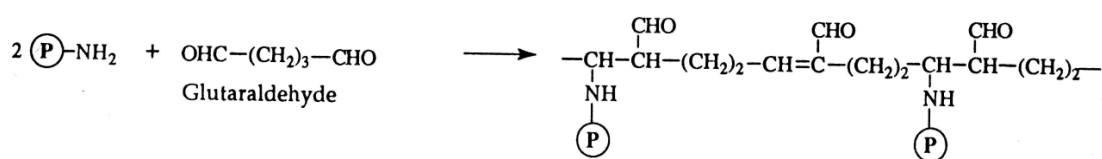
條件：空白背景為去離子水

(a)尚未添加 APS；(b)添加 $[APS] = 4 \times 10^{-3} \text{ mM}$ 後

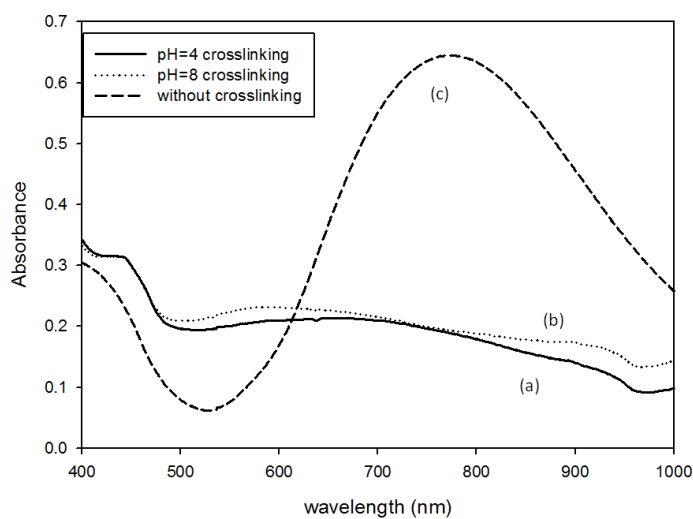
4-4-7.2 利用戊二醛進行交聯聚合物

實驗中目的為利用戊二醛當作交聯劑，使得溶液中聚苯胺之聚合物能夠經由交聯聚合方式形成更大的高分子鏈，其化學反應結構式，如圖【4-27】。由於實驗中溶液 pH 維持在 4，故利用此 pH 值進行交聯聚合反應；但使用戊二醛當作交聯劑時，最佳反應之 pH 值應為偏鹼，故取 pH 為 8 作實驗進行比較。

從圖【4-28】中可發現，當交聯反應發生後會使得聚苯胺的吸收波峰往低波長偏移，表示聚苯胺之型態受到有機溶劑改變，產生的溶劑現象；此外，利用紅外線光譜分析(FTIR)觀察是否利用戊二醛與聚苯胺有效地形成交聯聚合物。由化學結構式可得知交聯後聚苯胺的結構官能基，主要特徵吸收值為-CH₂-的 1465 cm⁻¹、C=C 的 1680 cm⁻¹~1600 cm⁻¹、N—H 的 3500 cm⁻¹~3100 cm⁻¹、C—N 的 1350 cm⁻¹ ~1000 cm⁻¹、C=O 的 1725cm⁻¹ 以及 CHO 中 CH 的伸展特性吸收波峰有 2750cm⁻¹ 與 2850cm⁻¹。圖【4-29】中可得知，聚苯胺結構的確經由戊二醛交聯後，產生交聯聚合物，其 FTIR 吸收值可發現主要官能基位於 1600 cm⁻¹ 的 C=C、1720 cm⁻¹ 的 C=O 及 3500 cm⁻¹ 附近的 N—H 吸收值，但從四點探針測試發現導電性下降其值約為 0.0132 S/cm，推測是當聚苯胺形成交聯聚合物時，使得聚合物之共軛性質下降導致電子傳遞效果不佳，故導電性質下降。

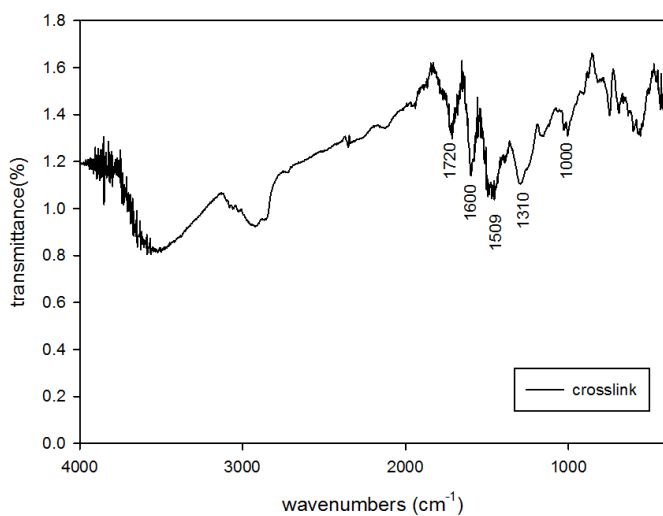


圖【4-27】利用戊二醛交聯之化學式



圖【4-28】添加戊二醛後之 UV-Vis

條件：空白背景為去離子水；(a)於溶液 pH = 4 時，加入 2%(v/v)戊二醛；(b)於溶液 pH = 8 時，加入 2%(v/v)戊二醛；(c)未加入戊二醛



圖【4-29】聚苯胺經交聯後之 FTIR

聚合條件：[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = [H₂O₂] = 4 mM、

2% (v/v)[BMIM]OTf、反應時間 5 小時、反應溫度 4°C

利用 2% (v/v)戊二醛交聯

4-5 傅立葉紅外線光譜儀分析

為了確立在離子液體系統中，進行酵素法聚合聚苯胺之產物是否正確，則利用紅外線光譜儀器分析作進一步的分析。操作方法為：取產物與 KBr 約 1：99 之量研磨後壓錠，即可在波長 $400\text{ cm}^{-1}\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 下作掃描。

由表【4-4】可知 ES 型導電聚苯胺之紅外線吸收波長： 3200 cm^{-1} 為 N-H 振動、 $1500\text{ cm}^{-1}\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ 間為苯環及醌環之吸收峰、 1315 cm^{-1} 為芳香苯胺 C-N 延伸、 1030 cm^{-1} 和 1000 cm^{-1} 為 SO_3^- 延伸。而於長波長下，因為單-雙共軛鍵之存在，由於聚苯胺為一種共軛性導電高分子，其導電方式即為利用單-雙鍵上的自由電子所進行傳遞，故此波長下有極大的連續吸收峰值。

表【4-7】聚苯胺紅外線吸收光譜[9]

吸收波長(cm^{-1})	振動方式
3380	NH stretching
1587	stretching of C=N in N=Q=N
1510	stretching of C=N in N=B=N
1380	C-N stretching in QBtQ
1315	C-N stretching in QBcQ, QBB, BBQ
1240	C-N stretching in BBB
1140	a mode of N=Q=N
800~850	aromatic, para-disubstituted, C-H out-of-plane bending

Q: quinonoid unit, B: benzenoid, Bt: trans-benzenoid unit, Bc: cis-benzenoid unit

4-5-1 實驗探討

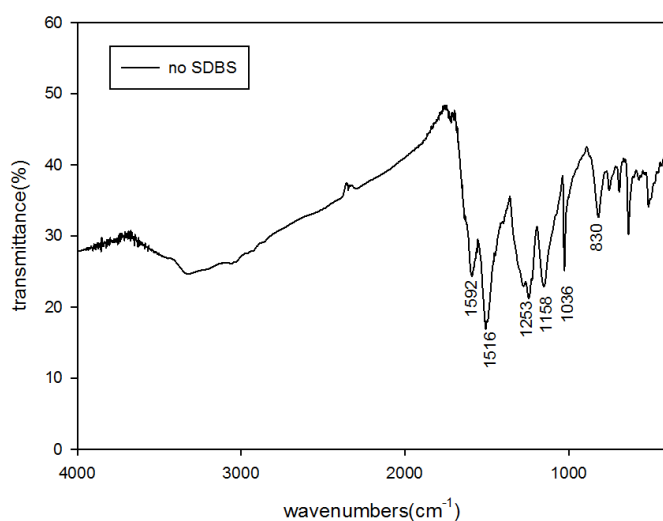
利用紅外線光譜分析儀觀察產物聚苯胺主要官能基與結構之吸收值，即可初步判斷產物聚苯胺之型態。實驗結果可發現圖【4-30】中的吸收峰值，由於無添加界面活性劑 SDBS 作為模板及摻雜用，雖為完全氧化型態之聚苯胺，但因 N-H 的振動波峰($3400\text{ cm}^{-1}\sim 3500\text{ cm}^{-1}$)不明顯，導致其為不具導電性質。

圖【4-31】～圖【4-33】是利用不同離子液體聚合聚苯胺，其吸收峰值皆具有鹽式中間氧化態之聚苯胺的趨勢，主要在 benzoid ($-\text{N-B-N}-$; 1510 cm^{-1})與 quinoid ($-\text{N-Q-N}-$; 1587 cm^{-1})，以及 2910 cm^{-1} 附近有明顯的 $-\text{CH}_2-$ 基的吸收峰，而於長波長 $2000\text{ cm}^{-1}\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ 下有寬廣地吸收值，是因為聚苯胺之共軛系統下所造成的紅偏移現象。此外，發現於波數 $1030\text{ cm}^{-1}\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ 處有吸收值則表示聚苯胺經界面活性劑 SDBS 的磺酸根($-\text{SO}_3\text{H}$)所摻雜之結果。當聚合溫度不同時，對於聚合之產物結構影響並不大，因反應時間拉長並不影響其聚合速率，故從圖【4-34】與圖【4-35】得知波峰型態與前者相符，表示聚合產物之官能基與 4°C 下聚合結果相同。

最後，探討利用回收後之上清液進行重覆聚合聚苯胺之型態，從圖【4-36】的吸收峰形中可發現其與第一次聚合之結果(如圖【4-31】)其特徵吸收峰，皆落在聚苯胺之主要官能基上，故可確立回收再聚合

之可行性。此外，實驗中可發現當清洗方法不同時，會導致摻雜度之改變，如圖【4-37】中可發現因利用 1 M HCl 作為清洗以及再摻雜之動作，位於 $1030\text{ cm}^{-1}\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ 表—SO₃H 之波峰已消失，則可證明聚苯胺上由於鹽酸中解離氯離子取代掉部分界面活性劑摻雜的磺酸根導致。

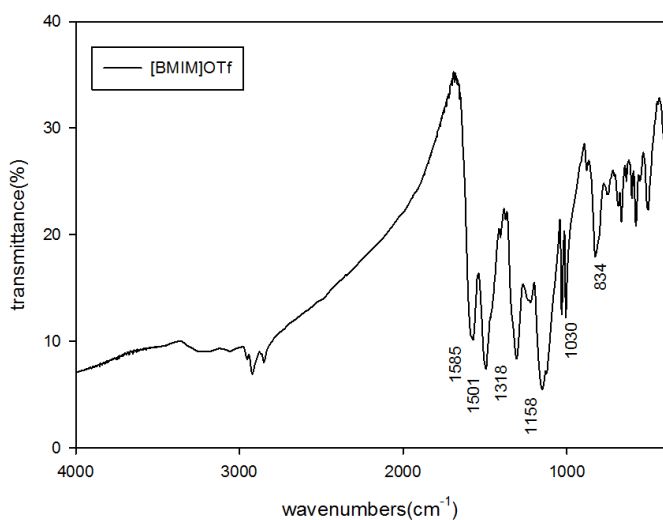
對於立體障礙上來說，因為氯離子比磺酸根小，摻雜度較高使得電子轉移效率較好，故導電度較高。推測其取代掉具有親、疏水端的界面活性劑，使得界面活性劑陰離子的減少可能會降低聚苯胺之溶解度。



圖【4-30】無添加界面活性劑聚合聚苯胺之 FTIR

聚合條件： $[Aniline] = [H_2O_2] = 4 \text{ mM}$ 、2% (v/v)[BMIM]OTf、

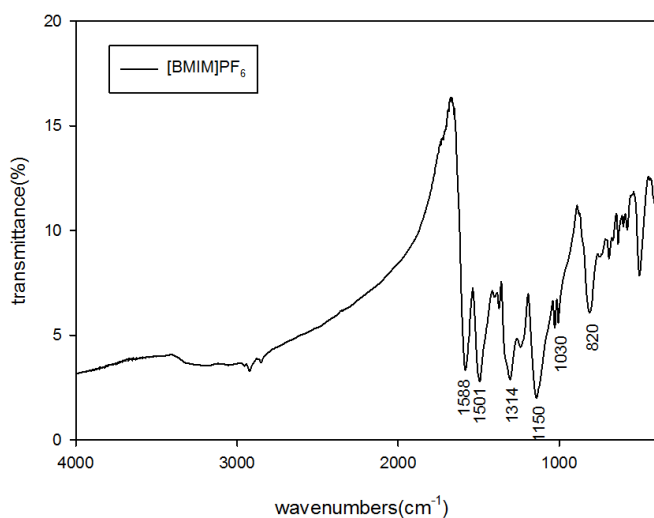
反應時間 5 小時、反應溫度 4°C



圖【4-31】 4°C 下，利用 2% [BMIM]OTf 聚合聚苯胺之 FTIR

聚合條件： $[SDBS] = 1.3 \text{ mM}$ 、 $[Aniline] = [H_2O_2] = 4 \text{ mM}$ 、

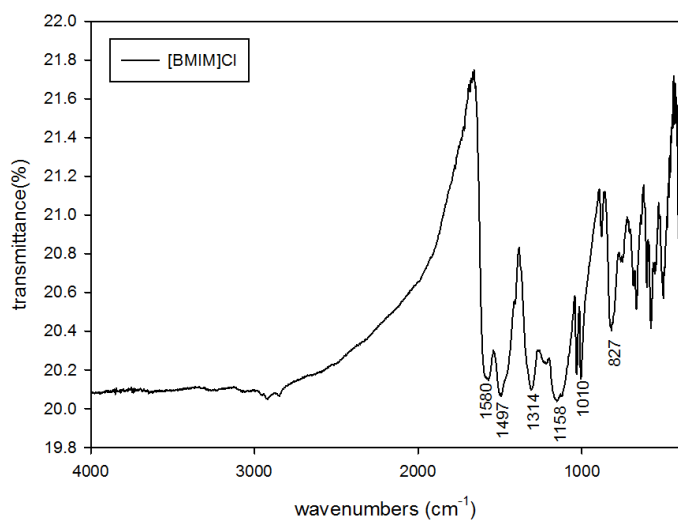
2% (v/v)[BMIM]OTf、反應時間 5 小時、反應溫度 4°C



圖【4-32】4°C下，利用 2% [BMIM]PF₆ 聚合聚苯胺之 FTIR

聚合條件：[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = [H₂O₂] = 4 mM、

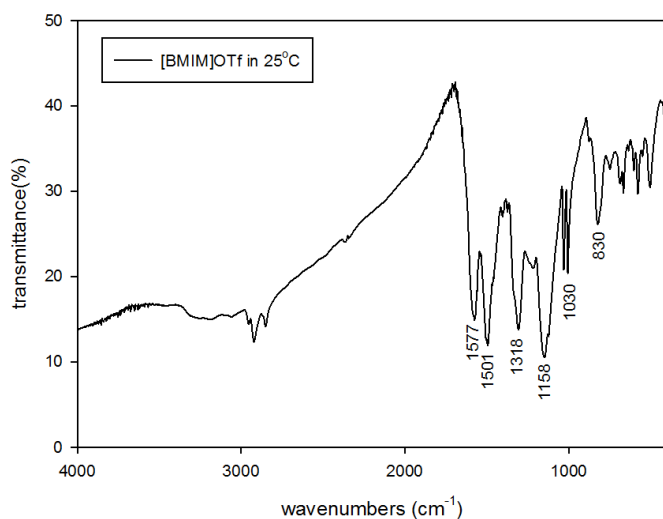
2% (v/v)[BMIM]PF₆、反應時間 5 小時、反應溫度 4°C



圖【4-33】4°C下，利用 2% [BMIM]Cl 聚合聚苯胺之 FTIR

聚合條件：[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = [H₂O₂] = 4 mM、

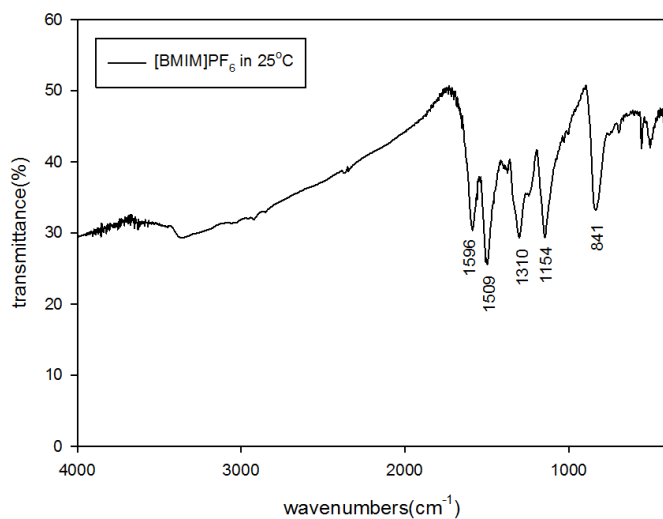
2% (v/v)[BMIM]Cl、反應時間 5 小時、反應溫度 4°C



圖【4-34】25°C下，利用 2% [BMIM]OTf 聚合聚苯胺之 FTIR

聚合條件：[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = [H₂O₂] = 4 mM、

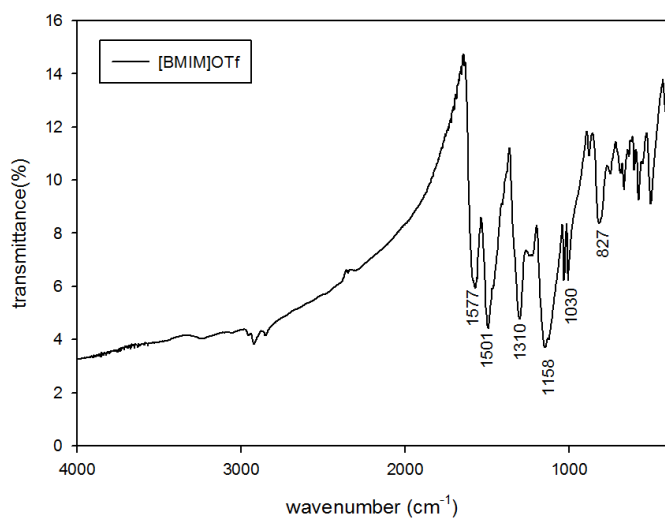
2% (v/v)[BMIM]OTf、反應時間 5 小時、反應溫度 25°C



圖【4-35】25°C下，利用 2% [BMIM]PF₆ 聚合聚苯胺之 FTIR

聚合條件：[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = [H₂O₂] = 4 mM、

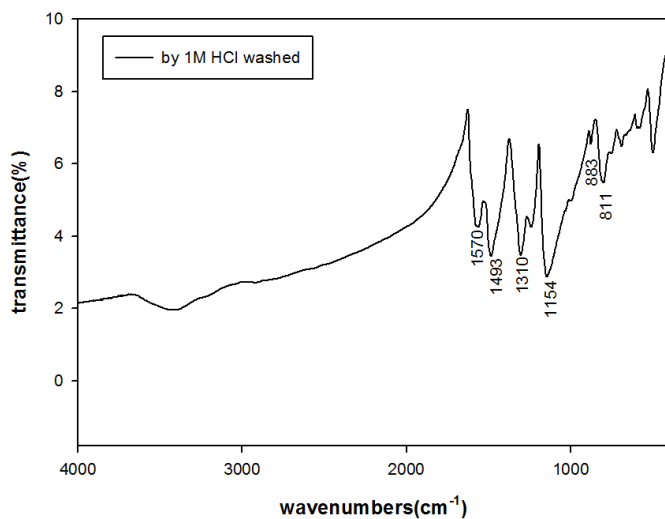
2% (v/v)[BMIM] PF₆、反應時間 5 小時、反應溫度 25°C



圖【4-36】4°C下，2%[BMIM]OTf回收再聚合聚苯胺之 FTIR

聚合條件：[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = [H₂O₂] = 4 mM、

2% (v/v)[BMIM]OTf、反應時間 5 小時、反應溫度 4°C



圖【4-37】聚合用利用 1M HCl 清洗之 FTIR

聚合條件：[SDBS] = 1.3 mM、[Aniline] = [H₂O₂] = 4 mM、

2% (v/v)[BMIM]OTf、反應時間 5 小時、反應溫度 4°C

利用 1 M HCl 摻雜

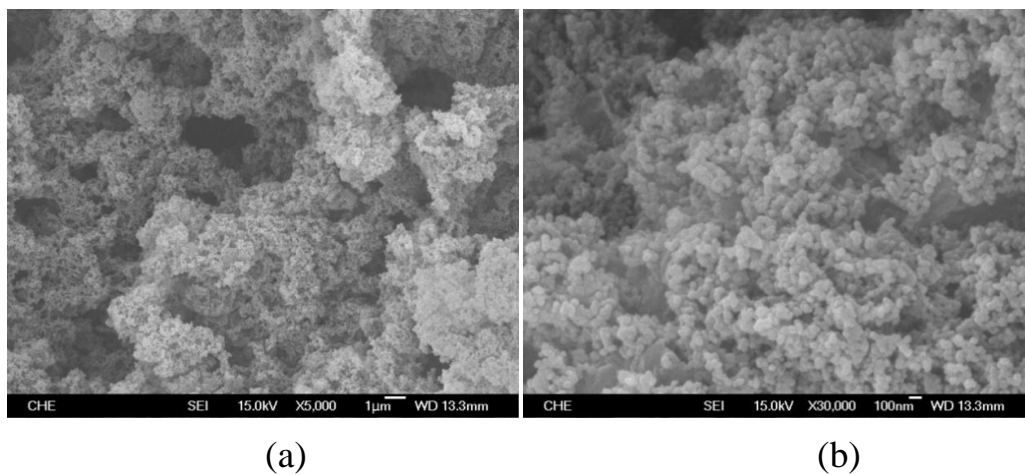
4-6 場發式電子掃描式顯微鏡

本實驗利用掃描式電子顯微鏡觀察利用酵素法聚合聚苯胺之組態，進行分析及探討。將產物聚苯胺經由清洗後利用冷凍乾燥 12 小時後，置入烘箱待完全乾燥後即可觀察。

實驗結果之聚合條件為[界面活性劑 SDBS]/[苯胺 Aniline] = 1/3、[過氧化氫 H₂O₂]/[苯胺 Aniline] = 1/1 以及 2(v/v%)離子液體並於 4°C 中，不同的是利用親水性離子液體[BMIM]OTf、[BMIM] Cl 以及疏水性離子液體[BMIM]PF₆進行聚合反應。如圖【4-38】～圖【4-40】中發現，於界面活性劑之臨界微胞濃度聚合時，產物聚苯胺形態為球狀且粒徑大小約為 10-20 nm。從圖【4-38】中可發現利用親水性離子液體聚合之聚苯胺結構較為鬆散，以至於增加陰離子摻雜效果，故推測其為導電度較高之原因。然而，實驗中發現任何種類之離子液體對於聚苯胺之型態並沒有太大之影響及改變。

如圖【4-41】所示，當利用 1 M HCl 清洗後，可以發現其形態從球狀轉變為層狀、片狀。原因則是原本產物聚苯胺是利用界面活性劑作為摻雜，當利用鹽酸清洗後，鹽酸中解離出的氯離子會部分取代界面活性劑的磺酸根，使聚苯胺型態重新排列進而形成較緻密的堆積，此外，可進一步使用 EDS 分析方法進行證明與探討。

4-6-1 利用[BMIM]OTf 在 4°C 下聚合之結果

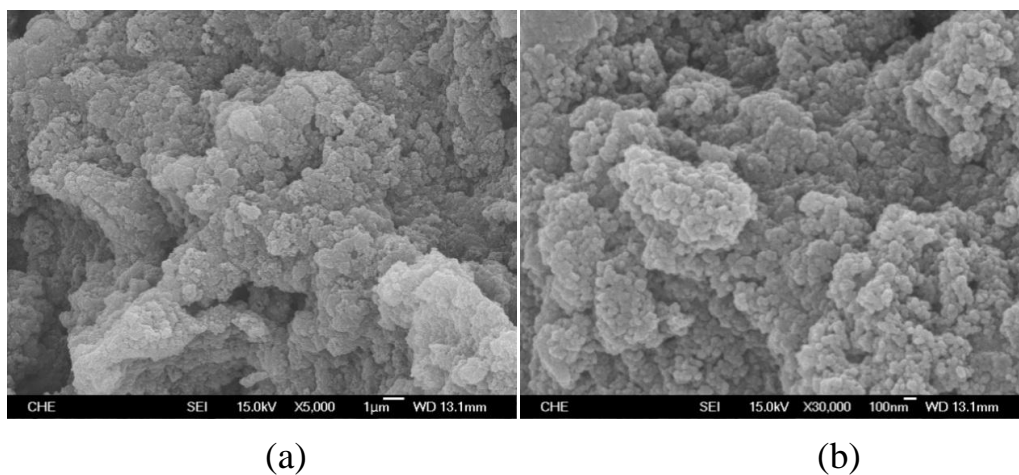


圖【4-38】利用[BMIM]OTf 聚合之 SEM

圖片說明：於 2%(v/v) [BMIM]OTf 中，[SDBS]/[Aniline] = 1/3

(a)5000 倍(b)30000 倍

4-6-2 利用[BMIM]PF₆ 在 4°C 下聚合之結果

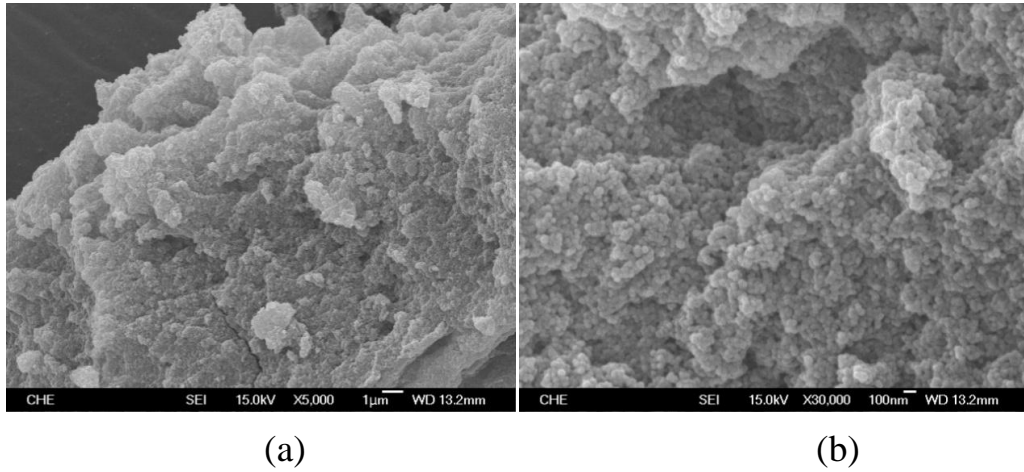


圖【4-39】利用[BMIM]PF₆ 聚合之 SEM

圖片說明：於 2%(v/v) [BMIM] PF₆ 中，[SDBS]/[Aniline] = 1/3

(a)5000 倍(b)30000 倍

4-6-3 回收再聚合之結果

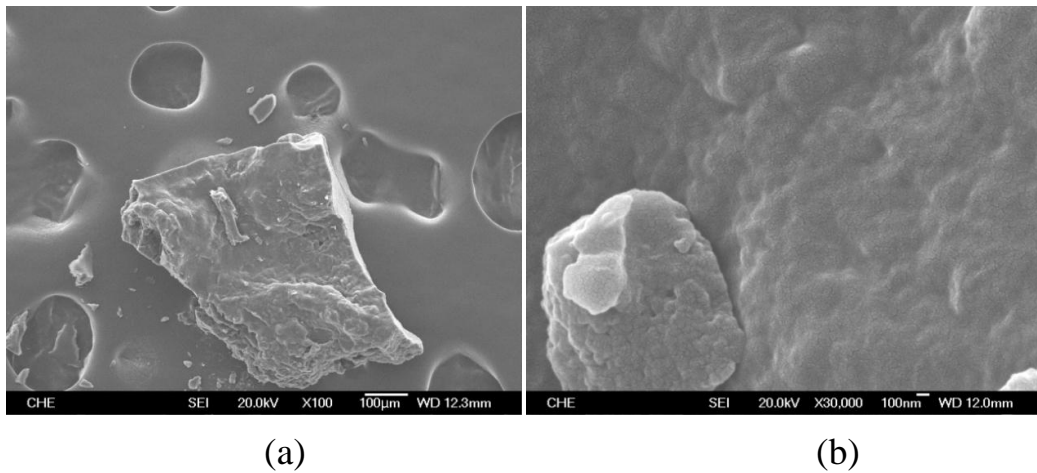


圖【4-40】利用[BMIM]OTf 回收再聚合之 SEM

圖片說明：於 2%(v/v) [BMIM] OTf 中，[SDBS]/[Aniline] = 1/3

(a)5000 倍(b)30000 倍

4-6-4 聚合後利用 1 M HCl 作摻雜之結果



圖【4-41】經由 1MHCl 摻雜後之 SEM

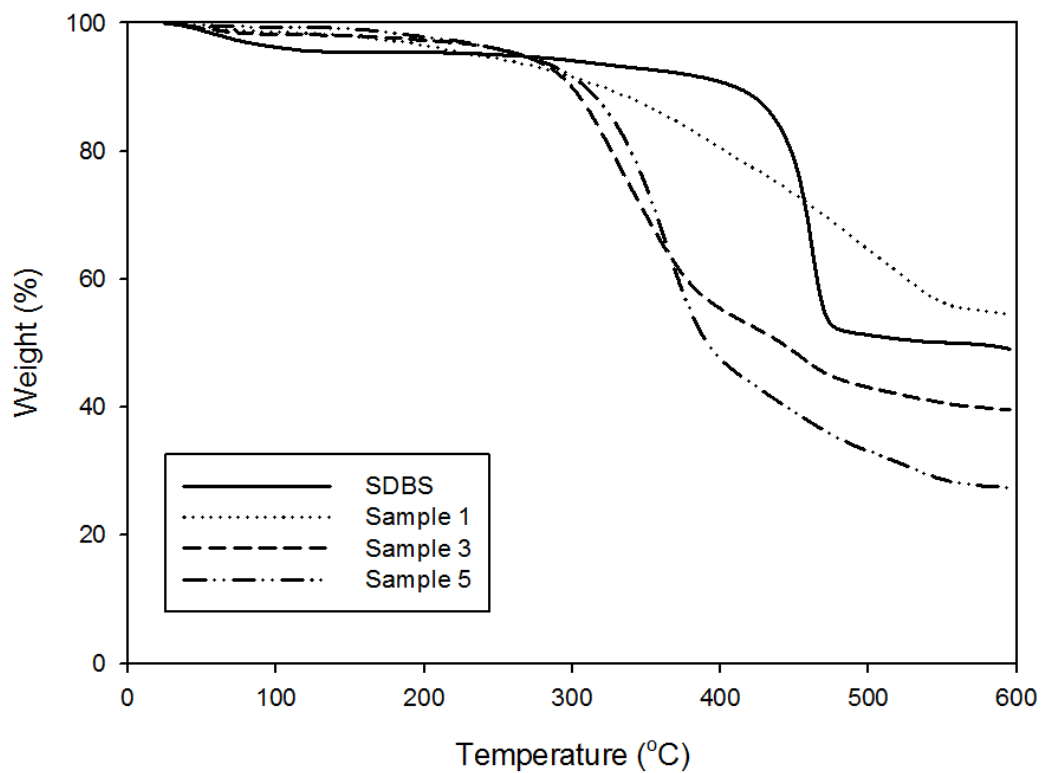
圖片說明：於 2%(v/v) [BMIM] OTf 中，[SDBS]/[Aniline] = 1/3

(a)5000 倍(b)30000 倍

4-7 熱重分析儀

熱重分析儀主要是使用於測量材料溫度的重量變化來觀察其熱穩定性及組成，故利用此法來進一步確認界面活性劑與聚苯胺的影響。由圖【4-42】可知對於 100°C~200°C 應為水分之蒸發導致重量損失，從純度 88% 的 SDBS 化合物，可觀察出其熱裂解溫度約在 430°C 以及熱損失約為 55%。沒有添加模板 sample1，觀察出 220°C 附近由於產物多半為寡聚物故低溫時已開始裂解；而 400°C~550°C 為完全氧化態聚苯胺裂解所造成的其熱重損失約 40%。Wei Liu 等人指出，當聚合反應中添加界面活性劑 SDBS 可減少寡聚物的生成、提高聚苯胺的熱穩定性且石墨化比例亦會改善，故選用界面活性劑作為模板及摻雜劑的選擇[47]。

比較不同溫度下聚合聚苯胺之熱重分析 sample3 與 sample5，因溫度造成聚合效果不同有些許之影響外，由於文獻中指出 ES 型聚苯胺其熱裂解溫度約在 360°C~410°C 間，相較於 EB 型聚苯胺之熱穩定性較差，從實驗亦可應證；然而在 430°C 也有些許熱重損失，故推測在聚合系統中，界面活性劑 SDBS 是有可能參與反應的。



圖【4-42】不同聚合條件下，測量其熱重損失之結果

條件： Sample1.無添加 SDBS 下之聚苯胺

Sample3.為 4°C 下之聚苯胺

Sample5.為室溫下之聚苯胺

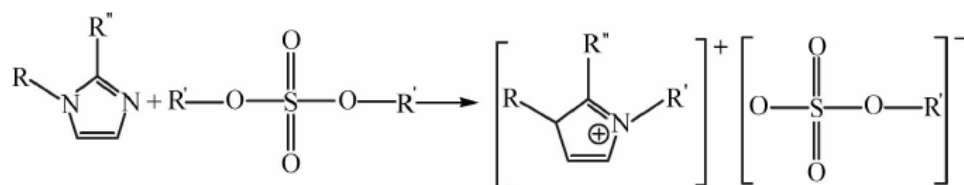
測試溫度範圍：26°C ~ 600°C

聚合條件為 4°C，反應時間 5 小時

4-8 離子液體的合成

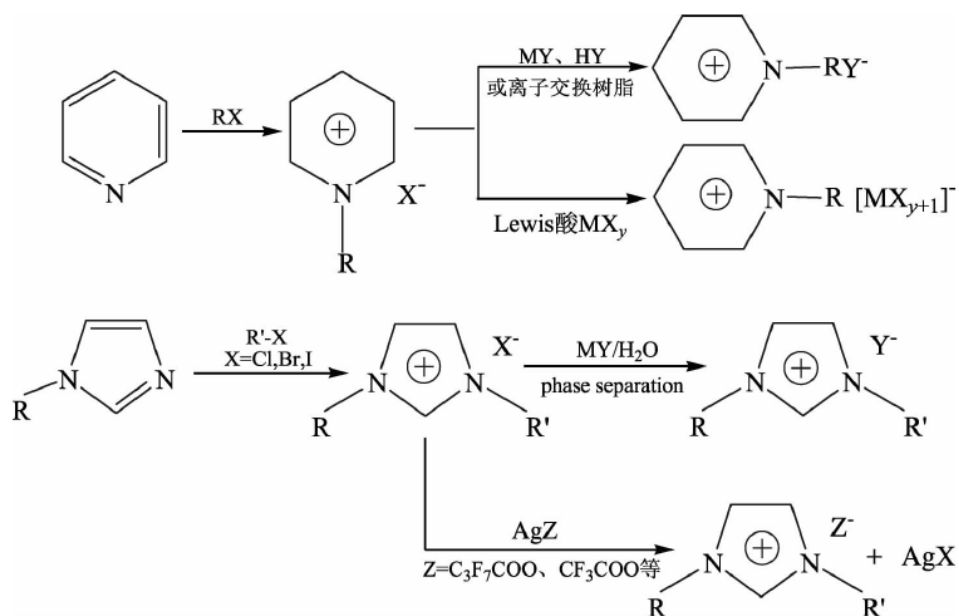
離子液體合成過程中考慮的因素有：原料的來源、方法的清潔性及產物的特定功能性。而合成方法可分為以下三種：

(1) 一步合成法：利用酸鹼中和反應或季銨化反應一步合成離子液體，其操作簡單、無副產物且產物易純化。



圖【4-43】一步合成法的化學式[48]

(2) 兩步合成法：如當一步合成難以獲得產物時，就會採用兩步合成法。其優點為普適性好、產率高，但缺點為有副產物產生。



圖【4-44】兩步合成的化學式[49]

(3) 其他輔助合成方法：可利用超聲波、微波和電化學等輔助合成方法，

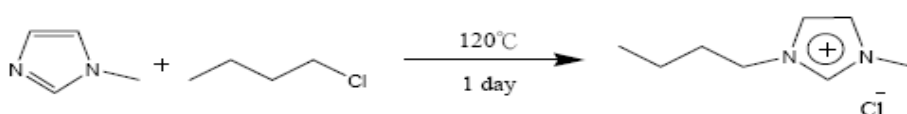
使離子液體合成能夠快速進行且產率和純度也有效的提升。

4-8-1 實驗目的

對於研究中選用親水性離子液體[BMIM]OTf 作為聚合聚苯胺外，實驗中嘗試利用不同陰離子的親水性離子液體[BMIM]Cl 作為比較其不同與優劣。現今離子液體的資訊與應用備受肯定，但價格上仍略為昂貴；故本實驗目的即為，利用自製合成離子液體並應用於聚合反應方面。從實驗結果可得知利用[BMM]Cl 聚合之聚苯胺，其導電度大於利用[BMIM]OTf 之聚合結果，故選擇親水性離子液體[BMIM]Cl 之合成以降低製程之成本。

4-8-2 實驗方法

取 25 g 的 N-甲基咪唑及 28.5 g 的氯丁烷，置於圓底燒瓶瓶中，以油浴加熱至 120°C 下，磁石攪拌 1 天直至反應物呈現金黃色油物狀即可。接下來，利用 125ml 的乙酸乙酯清洗產物，以除去殘餘的 N-甲基咪唑，再利用旋轉濃縮法，將氯丁烷清除乾淨。最後將產物置於 100°C 烘箱中 1 天，即可得到產物[BMIM]Cl。本實驗利用 H 譜 NMR 測試產物是否為正確。首先將產物[BMIM]Cl 溶於氯仿(CHCl₃)中帶完全溶解後，即可置入儀器中進行分析。



圖【4-45】合成[BMIM]Cl 之化學式[42]

4-8-3 實驗結果

將實驗中所得之離子液體[BMIM]Cl 溶於氯仿中並利用核磁共振儀(H-NMR)檢測即可確定其結構是否與購買的相同(如圖【4-47】)。產物初步可從外觀、顏色及親水性質，觀察實驗中合成的離子液體是否為本實驗之目標；此外，購買藥品當樣本以利比較。

由圖【4-46】中觀察其顏色為淡黃色之液體且帶有黏稠狀，將其添加去離子水互溶進而觀察其是否具溶解性，以證明實驗所得之離子液體[BMIM]Cl 為親水性離子液體。另外，從表【4-5】中表示 H-NMR 的特徵吸收峰觀察出其位置大致相同，故可證明本實驗合成之離子液體[BMIM]Cl 與購買的相符。



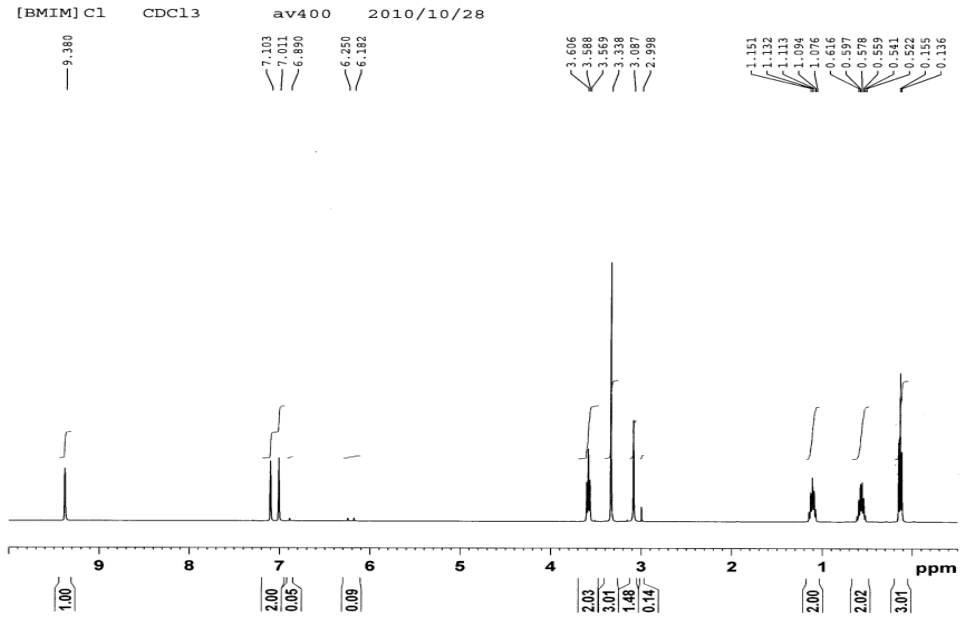
圖【4-46】 [BMIM]Cl 之購買及合成比較圖

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3)

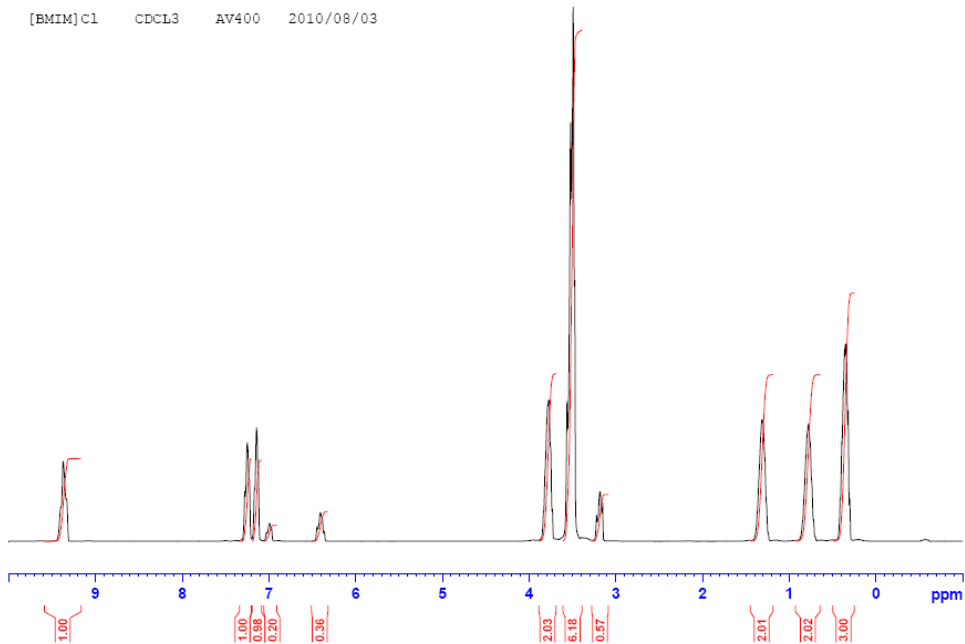
δ (ppm) : 10.26 (s, 1H, NCHN), 7.55 (s, H, NCH), 7.39 (s, 1H, NCH), 4.17 (t, 2H, CH_2), 3.93 (s, 3H, CH_3), 1.71 (m, 2H, CH_2), 1.67 (q, 2H, CH_2), 0.75 (t, 3H, CH_3).

表【4-8】 [BMIM]Cl 之氫譜吸收值

4-8-4 NMR 檢測結果



圖【4-47】購買[BMIM]Cl 之 NMR



圖【4-48】合成[BMIM]Cl 之 NMR

第五章 結論與未來建議

5-1 實驗結論

由於綠色化學的推廣下，素有綠色溶劑之稱的離子液體則備受矚目，其應用端亦非常多元。主要是因為其具有低蒸氣壓、低熔點、高極性、不可燃、耐強酸、高熱穩定性、高導電度、高電化學性以及較廣的溫度範圍(-96°C~400°C)等，這些優點使其代替一般傳統的揮發性有機溶劑，不但可將低操作成本、降低對環境的污染且避免人員暴露在有機溶劑下的風險。

文獻中表示，將離子液體應用於化學聚合以及將界面活性劑應用於酵素聚合。本研究不同於其他文獻，將利用兩者的優點進行研究與探討；離子液體可維持酵素活性的穩定及界面活性劑可用來摻雜或作為模板以利聚合，並增加聚苯胺之溶解性。並將反應後溶液作回收再聚合之動作，使得反應系統可達多次聚合。實驗中發現界面活性劑之游離單體與酵素作用使得酵素活性結構變形，導致酵素活性衰退造成相當的影響。當催化劑量不足時，無法降低反應之活化能，反應無法進行導致再反應次數不能提高。實驗中利用離子液體可穩定酵素活性及萃取聚苯胺之功能，且二次反應之產物性質並無太大的差異，更可降低反應的操作成本。未來若能提高酵素活性的維持以提高重覆聚合之次數，以及有效率地回收再利用離子液體，以達到綠色化學、永續

經營的宗旨。

本研究分為兩部分探討：

(一) 酵素活性探討

1. 從實驗結果中得知，當界面活性劑之濃度提高時，對酵素活性是絕對不利的。由於游離的界面活性劑單體與蛋白質的疏水端作用，導致結構改變而造成活性衰退的現象。在溶液中添加部分離子液體來幫助酵素活性之維持，可發現離子液體對於酵素活性維持是有相當的提升。但當離子液體添加量過高時，除了造成酵素活性衰退外，對於反應溶液黏度提高易造成不良之影響，故選用添加 2%(v/v)的離子液體作為最佳聚合條件。
2. 從實驗結果比較得知，酵素活性的影響程度為 $SDS < SDBS < DBSA$ 。主要從三者的 HLB 值進行判斷，後兩者主要是結構上帶有苯環，故疏水性質較強。當游離的界面活性劑單體之疏水端對於蛋白質的疏水端產生較大的影響，易造成酵素活性之衰退。
3. 除了界面活性劑會造成影響外，溶液中的氧化劑過氧化氫亦會造成酵素活性衰退，所以選擇過氧化氫的濃度亦不能過高。由於反應中過氧化氫經酵素催化後形成水分子，而在反應過程中酵素活性會逐漸減少。故本研究最後選用 4 mM 之過氧化氫作為最佳聚合條件。

(二) 聚合聚苯胺之探討

1. 文獻中指出當聚合條件為 $[\text{Aniline}]/[\text{H}_2\text{O}_2] < 1.33$ 時，聚合效果最佳 [34]。本實驗中，苯胺濃度為 4 mM、過氧化氫濃度為 4 mM，其比例為一比一亦符合文獻之最佳結果。
2. 當實驗中無添加界面活性劑作為摻雜或模板時，則產物聚苯胺則為完全氧化之型態，不具導電性且多為寡聚物。無添加離子液體進行反應時，則無產物析出，需另外利用有機溶劑萃取方可得到。故得知兩者皆添加時，方可得到鹽式中間氧化態之聚苯胺。
3. 將緩衝溶液、界面活性劑、苯胺與離子液體經由超音波震盪，使其均勻混合及促使微胞生成。此時大部分疏水性之苯胺單體已進到微胞內部，最後利用酵素及氧化劑的添加，進行聚合反應。而文獻中提及利用微胞當作模板聚合時，其聚合反應主要於內部進行 [50]。
4. 當界面活性劑與苯胺比例不同時，造成聚合結果之不同。當濃度為 $[\text{DBSA}]/[\text{Aniline}] = 1/4$ 時，聚合效果最佳與本實驗結果相符；另外探討 $[\text{SDBS}]$ 與 $[\text{Aniline}]$ 之比例則選用 $1/3$ 之結果。當固定界面活性劑在臨界微胞濃度時，並改變苯胺之濃度進行探討。可發現當微胞附近的苯胺濃度不足時，因氧化劑濃度過多時，導致聚苯胺易形成完全氧化態，故選用適當比例之界面活性劑極為重要。
5. 由於聚合時帶正電的苯胺、帶負電的界面活性劑以及離子液體的陰

離子會互相產生庫倫靜電吸引力，故不同的離子液體所產生的聚苯胺有些差異。推測如摻雜的陰離子基團太大時，導致立體障礙過大使得摻雜效應不佳，故導電性較差。

6. 聚合後，利用過多的氧化劑進行再聚合，發現溶液中殘餘的苯胺單體量不多，故推測苯胺自由基形成寡聚物或聚合物較多。此外，利用戊二醛作為交聯劑進行苯胺聚合物之交聯，使其分子鏈增長、導電度增加，但苯胺聚合物之側鏈只帶一個苯基可作交聯，導致反應碰撞機率過低進而影響其結果，且從其交聯結構以及導電度測試皆會降低其導電性質。
7. 當聚合反應結束後，經離心使其分離並回收其上清液進行多次聚合，進而減少酵素與離子液體之用量且產物聚苯胺性質亦相近，故往實驗宗旨—綠色化學更前進一步。

5-2 未來建議

1. 親水性離子液體利用鹽析方式雖可形成相分層，卻無法進一步使離子液體與鹽類分離。而疏水性離子液體雖利用乙醇溶液互溶，經由蒸餾方式將其分開，但在聚合反應後的離子液體中殘留許多聚苯胺的寡聚物。此結果皆提高回收離子液體的困難，如能找出更有效之分離方法，以達到離子液體回收的可能性。
2. 利用其它方法將酵素活性更有效地穩定及維持，使得反應回收次數增加更為理想，以及於聚合反應後將離子液體有效地分離及回收再應用。
3. 合成親水性離子液體 [BMIM]Cl，目的在於想利用磁性離子液體 [BMIM]FeCl₄ 作聚合反應，使其反應後更利於分離，但合成技術上能須突破。
4. 可將酵素法產物聚苯胺與化學法進行其他延伸用途與測試比較，進而取代使用大量有機溶劑的化學法製程。
5. 利用動態光散射儀(DLS)測量 SDBS 之臨界微胞大小，並與產物聚苯胺進行粒徑比較，以證明界面活性劑是否存在於模板之功能。

第六章 參考文獻

1. Boara, G., Sparpaglione and Massimo, *Synthesis of polyanilines with high electrical conductivity*. Synthetic Metals, 1995. **72**(2): p. 135-140.
2. Cruz-Silva, R., Romero-Garc, Jorge, Angulo-Schez, Jose Luis, Ledezma-Pez, Antonio, Arias-Mar, Eduardo, Moggio, Ivana, Flores-Loyola and Erika, *Template-free enzymatic synthesis of electrically conducting polyaniline using soybean peroxidase*. European Polymer Journal, 2005. **41**(5): p. 1129-1135.
3. Das, D., A. Dasgupta, and P.K. Das, *Improved activity of horseradish peroxidase (HRP) in []specifically designed' ionic liquid*. Tetrahedron Letters, 2007. **48**(32): p. 5635-5639.
4. Cossee, P., *Ziegler-Natta catalysis I. Mechanism of polymerization of [alpha]-olefins with Ziegler-Natta catalysts*. Journal of Catalysis, 1964. **3**(1): p. 80-88.
5. Ito, T., H. Shirakawa, and S. Ikeda, *Simultaneous polymerization and formation of polyacetylene film on the surface of concentrated soluble Ziegler-type catalyst solution*. Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, 1974. **12**(1): p. 11-20.
6. Shirakawa, H., Louis, Edwin J., MacDiarmid, Alan G., Chiang, Chwan K., Heeger and Alan J., *Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH)*. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1977(16): p. 578-580.
7. Harsanyi, G., *Sensing Effects in Electroconducting Conjugated Polymers*. Polymer Films in Sensor Application, 1995. **Chapter 3**: p. 209.
8. Wessling, B., *Talking point. Intrinsically conducting polymers: A critical stage in research strategy?* Advanced Materials, 1991. **3**(10): p. 507-509.
9. Kang, E.T., K.G. Neoh, and K.L. Tan, *Polyaniline: A polymer with many interesting intrinsic redox states*. Progress in Polymer Science, 1998. **23**(2): p. 277-324.
10. Alan G. Macdiarmid, J.-C.C., Marc Halpern, Wu-Song Huang, Shao-Lin Mu, L. D Nanaxakkara, Somasiri Wanqun Wu & Stuart I. Yaniger "Polyaniline": *Interconversion of Metallic and Insulating Forms*. 1985. **121**(1-4): p. 173-180.

11. 喬慶東, 王勝, 王巍, 雷良才, *新型共混十二烷基苯磺酸摻雜的聚苯胺導電膠的合成*. 精細化工 FINE CHEMICALS, 1999. **16**(2).
12. Kinyanjui, J.M., Wijeratne, Neloni R., Hanks, Justin and Hatchett, David W., *Chemical and electrochemical synthesis of polyaniline/platinum composites*. *Electrochimica Acta*, 2006. **51**(14): p. 2825-2835.
13. Shen, Y., Sun, Jianzhong, Wu, Jiangang and Zhou, Qiyun, *Synthesis and characterization of water-soluble conducting polyaniline by enzyme catalysis*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2005. **96**(3): p. 814-817.
14. Harima, Y., K. Kishimoto, and H. Mizota, *Light reflection at polyaniline films and its application to a kinetic study of polymer chain conformation*. *Electrochimica Acta*, 2007. **53**(2): p. 657-663.
15. Diazdeleon, F., K.L. Klotz, and L.M. Lagrimini, *Nucleotide-Sequence of the Tobacco (Nicotiana-Tabacum) Anionic Peroxidase Gene*. *Plant Physiology*, 1993. **101**(3): p. 1117-1118.
16. Smith, A.T. and N.C. Veitch, *Substrate binding and catalysis in heme peroxidases*. *Current Opinion in Chemical Biology*, 1998. **2**(2): p. 269-278.
17. George Tsaprailis, D.W.S.C., and, Ann M. English, *Conformational States in Denaturants of Cytochrome c and Horseradish Peroxidases Examined by Fluorescence and Circular Dichroism†*. *Biochemistry*, 1998. **37**(7): p. 2004-2016.
18. Veitch, N.C., *Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme*. *Phytochemistry*, 2004. **65**(3): p. 249-59.
19. Ruzgas, T., Csoregi, E., Katakis, I., Kenausis, G. and Gorton, L., *Preliminary investigations of an amperometric oligosaccharide dehydrogenase-based electrode for the detection of glucose and some other low molecular weight saccharides*. *J Mol Recognit*, 1996. **9**(5-6): p. 480-4.
20. Hu, X., Shu, Xiao-Shun, Li, Xi-Wen, Liu, Sheng-Gui, Zhang, Yu-Ying and Zou, Guo-Lin, *Hemoglobin-biocatalyzed synthesis of conducting polyaniline in micellar solutions*. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006. **38**(5): p. 675-682.
21. Josefa HERNÁNDEZ-RUIZ*, M.B.A., Alexander N.P. HINER*,

- Francisco GARCÍA-CÁNOVAST and Manuel ACOSTA, *Catalase-like activity of horseradish peroxidase: relationship to enzyme inactivation by H₂O₂*. *Biochemistry. J.*, 2001. **354**: p. 107-114.
22. 蔡茹雅, *離子液體在酵素催化聚合聚苯胺的應用*. 2010, 私立東海大學碩士論文.
 23. R., M.J.a.K., *Ionic liquids. Green solvents for the future*. *Pure Appl. Chem.*, 2000. **72**(7): p. 1391-1398.
 24. Zhao, H., *Methods for stabilizing and activating enzymes in ionic liquids—a review*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2010. **85**(7): p. 891-907.
 25. Wilkins, S.S.a.H., *CLXVII.—The parachor and chemical constitution. Part XII. Fused metals and salts*. *J. Chem. Soc.*, 1929: p. 1291-1298.
 26. Roh, C.E.S.a.E.J., *Practical method to recycle a chiral (salen)Mn epoxidation catalyst by using an ionic liquid* *Chem. Commun*, 2000: p. 837-838.
 27. Chauvin, Y., L. Mussmann, and H. Olivier, *A Novel Class of Versatile Solvents for Two-Phase Catalysis: Hydrogenation, Isomerization, and Hydroformylation of Alkenes Catalyzed by Rhodium Complexes in Liquid 1,3-Dialkylimidazolium Salts*. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 1996. **34**(23-24): p. 2698-2700.
 28. Kim, E.J., S.Y. Ko, and C.E. Song, *Acceleration of the Baylis–Hillman Reaction in the Presence of Ionic Liquids*. *Helvetica Chimica Acta*, 2003. **86**(3): p. 894-899.
 29. Lijin Xu, Weiping Chen, and, Jianliang Xiao, *Heck Reaction in Ionic Liquids and the in Situ Identification of N-Heterocyclic Carbene Complexes of Palladium*. *Organometallics*, 2000. **19**(6): p. 1123-1127.
 30. Boyapati M. Choudary, Sateesh Madhi,, Naidu S. Chowdari,, Mannepalli L. Kantam, and, Bojja Sreedhar, *Layered Double Hydroxide Supported Nanopalladium Catalyst for Heck-, Suzuki-, Sonogashira-, and Stille-Type Coupling Reactions of Chloroarenes*. *Journal of the American Chemical Society*, 2002. **124**(47): p. 14127-14136.
 31. J. Earle, M., P. B. McCormac, and K. R. Seddon, *Diels-Alder*

- reactions in ionic liquids . A safe recyclable alternative to lithium perchlorate-diethyl ether mixtures.* Green Chemistry, 1999. **1**(1): p. 23-25.
32. Deng, J.P.a.Y., *Cycloaddition of carbon dioxide to propylene oxide catalyzed by ionic liquids.* New J. Chem., 2001. **25**: p. 639-641.
 33. Rewa Rai, G.A.B., Kamalakanta Behera, Pravakar Mohanty, Narayanan D. Kurur, Siddharth Pandey, *Ionic Liquid-Induced Unprecedented Size Enhancement of Aggregates within Aqueous Sodium Dodecylbenzene Sulfonate.* Langmuir, 2010. **26**(23): p. 17821-17826
 34. Zengwei Guo, H.R., Reinhard Kissner, Takashi Ishikawa, Martin Willeke, Peter Walde, *Vesicles as Soft Templates for the Enzymatic Polymerization of Aniline.* Langmuir, 2009. **25**(19): p. 11390-11405.
 35. Liu, W., Anagnostopoulos, A., Bruno, F. F., Senecal, K., Kumar, J., Tripathy, S. and Samuelson, L., *Biologically derived water soluble conducting polyaniline.* Synthetic Metals, 1999. **101**(1-3): p. 738-741.
 36. Rumbau, V., Pomposo, Jose A., Alduncin, Juan A., Grande, Hans, Mecerreyes, David and Ochoteco, Estibalitz, *A new bifunctional template for the enzymatic synthesis of conducting polyaniline.* Enzyme and Microbial Technology, 2007. **40**(5): p. 1412-1421.
 37. Engberts, J.C.B.a.J.B.F.N., *Polymer–micelle interactions: physical organic aspects.* . Chem. Soc. Rev., 1993. **22**: p. 85-92.
 38. Beyaz, A., W.S. Oh, and V.P. Reddy, *Ionic liquids as modulators of the critical micelle concentration of sodium dodecyl sulfate.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2004. **35**(2): p. 119-124.
 39. R. Nagarajan, E.R., *Theory of surfactant self-assembly: a predictive molecular thermodynamic approach.* Langmuir, 1991. **7**(12): p. 2934-2969.
 40. Tang, J., Jing, Xiabin, Wang, Baochen and Wang, Fosong, *Infrared spectra of soluble polyaniline.* Synthetic Metals, 1988. **24**(3): p. 231-238.
 41. Chandrakanthi, N. and M.A. Careem, *Thermal stability of polyaniline.* Polymer Bulletin, 2000. **44**(1): p. 101-108.
 42. 簡清旭, *雙咪唑鹽與單咪唑鹽離子液體的合成與性質研究.* 2006, 國立中央大學碩士論文.

43. Stadtman, E.R., *Protein oxidation and aging*. Science 1992. **257**: p. 1220-1224.
44. Liu Qingbin, Z.Z.a.Z.F., *Progress in Biocatalytic Reaction in Ionic Liquids*. 2005, Hebei Normal University.
45. Yoon, H., B.S. Jung, and H. Lee, *Correlation between electrical conductivity, thermal conductivity, and ESR intensity of polyaniline*. Synthetic Metals, 1991. **41**(1-2): p. 699-702.
46. Ruckenstein, E. and W. Yin, *Polyaniline co-doped with camphor sulfonic and hydrochloric acids by chemical oxidation in aqueous solution*. Journal of Applied Polymer Science, 2001. **79**(1): p. 80-85.
47. Wei Liu, Jayant Kumar, and, Sukant Tripathy, Lynne A. Samuelson, *Enzymatic Synthesis of Conducting Polyaniline in Micelle Solutions*. Langmuir, 2002. **18**(25): p. 9696-9704
48. Vasudevan V. Namboodiri and, R.S.V., *Solvent-Free Sonochemical Preparation of Ionic Liquids*. Organic Letters, 2002. **4**(18): p. 3161-3163
49. Nishida, T., Y. Tashiro, and M. Yamamoto, *Physical and electrochemical properties of 1-alkyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate for electrolyte*. Journal of Fluorine Chemistry, 2003. **120**(2): p. 135-141.
50. Walde Peter and Guo Zengwei, Zengwei, *Enzyme-catalyzed chemical structure-controlling template polymerization*. Soft Matter, 2010. **7**(2): p. 316-331.