

私立東海大學化學工程與材料工程研究所
論文初稿

指導教授：顧野松 博士
Advisor : Yesong Gu, Ph.D.

改善 SBA-15 製備及探討其潛在應用

The exploration of the potential applications of SBA-15 with improved synthesis
and modification methods

研究生：張育哲撰
Graduate student : Yu Che Chang
中華民國 一百零四年一月
January, 2015

中文摘要

本研究中我們將針對中孔矽材 SBA-15 做一系列的製程改善與修飾，因為 SBA-15 的形貌及分散性的好壞會影響在藥物控制釋放應用及其生物相容性，所以除了探討分散性良好的 SBA-15 之製備條件外，通過對 SBA-15 表面官能化來提升對蛋白質包覆與釋放效果，此外，我們以不同界面活性劑探討 SBA-15 成形的可能性及添加不同溶劑來進一步探討製備階層介孔矽材。為了優化包覆與釋放效果，我們添加交聯劑或改變包覆溶液極性，另外利用 SBA-15 與奈米金粒子(AuNPs) 結合，測試吸附重金屬 Co^{2+} 之能力，最後利用 SBA-15 與辣根過氧化物酶結合後，以酶法聚合成導電高分子之 SBA-15 粒子。

由研究結果發現，調控擴孔劑 TMB 濃度可以提升孔徑外，SBA-15 仍可以製備出分散性良好之球形 SBA-15；添入不同界面活性劑，可以提升孔壁厚度，使其表現更穩定；以有機溶劑添加探討階層介孔分子製備中，僅添加乙醇之產物才有良好成形並呈現均一性。

利用 EDC/NHS 交聯劑添加於氨根官能化 SBA-15 及利用乙腈添加於正辛基官能化 SBA-15 包覆蛋白質皆有提升效果；另外，SBA-15 對重金屬 Co^{2+} 有一定吸附能力，其中氨根官能化 SBA-15 有最佳吸附效果，而且結合奈米金粒子可以明顯提升吸附效果；PANI 於室溫下即可直接聚合於 SBA-15，形成含有導電高分子的 SBA-15，另外

PEDOT 的聚合反應必須利用 80°C 高溫聚合，才能使得 PEDOT 聚合於 SBA-15，並以循環伏安法測定導電性確認產物具有導電性，未來可進一步利用於藥物控制釋放系統。

關鍵字：SBA-15、官能化、奈米金粒子、辣根過氧化酵素、聚苯胺

Abstract

This study, we have investigated to synthesis and modification methods for the potential applications of SBA-15. Due to the morphology and dispersion of carrier particles are considered as the major effects to its biocompatibility and its applications for drug release, we have established an optimum method to synthesize well-dispersed spherical SBA-15 and improve the immobilization and release of protein by functionalizing the surface of SBA-15. Meanwhile, we have tried to use different surfactants for establishing new morphology of SBA-15 and some organic solvents to synthesize Hierarchically Mesostructured Silica Nanoparticles. Furthermore, we added cross-linking agents or alternated the polarity of immobilization solution for better protein immobilization, as well as modified SBA-15 with gold nanoparticles for the adsorption of heavy metal, cobalt. At last, we have attempted to immobilize HRP on SBA-15 for the enzymatic polymerization conductive polymers, polyaniline(PANI) and poly(3,4-ethylene- dioxythiophene) (PEDOT).

According to the results, the pore diameter can be increased by adjusting the concentration of TMB, while maintaining the well-dispersed spherical SBA-15. By mixing two different surfactants, we can obtain the SBA-15 with its surface much thicker, and SBA-15 become more stable. In order to synthesize the Hierarchically Mesostructured Silica Nanoparticles, we added organic solvent in the reaction and found only ethanol could promise SBA-15 with uniform spherical morphology. Both adding cross-linking agents to the amine group of functionalized SBA-15 and adjusting the polarity with acetonitrile for the octyl group of functionalized SBA-15 are able to increase the percentage of immobilization protein. Attaching the gold nanoparticles on the SBA-15 could apparently increase the adsorption of the heavy metal of cobalt. For the polymerization of conductive polymers, we could synthesize PANI with HRP modified SBA-15 under the room temperature, but a heat procedure was required for the synthesis of PEDOT.

Key words : SBA-15 · Functionalization · Gold Nanoparticles · Horseradish peroxidase · Polyaniline

目錄

中文摘要.....	I
Abstract.....	III
目錄.....	IV
圖目錄.....	VIII
表目錄.....	XI
第一章 緒論.....	1
1-1 中孔矽材料發展.....	1
1-1-1 界面活性劑.....	4
1-1-2 SBA-15 合成機制.....	5
1-1-3 SBA-15 官能化.....	9
1-1-4 SBA-15 應用.....	11
1-2 奈米藥物技術.....	12
1-2-1 藥物傳輸系統.....	14
1-2-2 蛋白質介紹—牛血清蛋白.....	15
1-2-3 蛋白質與載體的結合.....	16
1-3 金奈米粒子.....	18
1-3-1 金奈米粒子的特性.....	18
1-3-2 金奈米粒子的光學性質.....	19
1-3-3 金奈米粒子的合成.....	22
1-4 導電高分子.....	23
1-4-1 導電性高分子之導電原理.....	26
1-4-2 導電高分子應用.....	29
1-4-3 聚苯胺.....	31
I. 聚苯胺合成方式.....	34
II. 聚苯胺之性質分析.....	36
1-4-4 聚 3,4-乙烯二氧噻吩.....	38
I. 聚 3,4-乙烯二氧噻吩合成方式.....	40
1-4-5 辣根過氧化酶.....	44
I. 辣根過氧化酶結構.....	44
II. HRP 催化反應機制.....	46
III. HRP 的應用.....	48
IV. 酵素固定化簡介.....	50
第二章 研究動機.....	53
第三章 研究設備與藥品.....	57
3-1 實驗儀器.....	57

3-2	實驗藥品	58
3-3	研究設備簡介	60
3-3-1	掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope ; SEM).....	60
3-3-2	穿透式電子顯微鏡 (Transmission Electron Microscope ; TEM)	61
3-3-3	UV/Vis 分光光度儀.....	61
3-3-4	氮氣等溫吸/脫附儀 (N ₂ Adsorption / Desorption ; BET).....	62
	I. BET (Brunauer-Emmett-Teller) 表面積求法.....	62
	II. BJH (Barrett-Joyner-Halenda) 孔洞大小分布	62
3-3-5	Zeta-potential (ζ 電位).....	64
3-3-6	Bio-Rad 蛋白質定量分析	65
3-3-7	傅立葉轉換紅外光譜 (Fourier Transform Infrared Spectrometer ; FTIR).....	66
第四章	製備介孔奈米矽材.....	67
4-1	實驗目的	67
4-2	實驗原理	68
4-2-1	孔徑調控方法	68
4-2-2	孔洞性質分析	70
4-3	實驗步驟	75
4-3-1	合成過程攪拌影響.....	75
4-3-2	TMB 濃度影響	76
4-3-3	不同界面活性劑影響.....	77
4-3-4	混合不同界面活性劑影響.....	78
4-3-5	有機溶劑添加影響.....	79
4-4	實驗結果與討論	81
4-4-1	合成過程攪拌影響.....	81
4-4-2	TMB 濃度影響	83
4-4-3	不同界面活性劑影響.....	93
4-4-4	混合不同界面活性劑影響.....	95
4-4-5	有機溶劑添加影響.....	100
第五章	SBA-15 官能化	103
5-1	實驗目的	103
5-2	實驗原理	104
5-2-1	交聯劑 EDC/NHS.....	104
5-2-2	改變蛋白質溶液極性.....	105
5-2-3	製備奈米金膠體溶液.....	106
5-3	實驗步驟	107
5-3-1	探討 SBA-15 表面修飾的影響	107
	I. SBA-15 的表面修飾	107

II.	Zeta-potential 測定	108
III.	蛋白質溶液的製備	109
IV.	SBA-15 於不同 pH 值環境下包覆蛋白質	110
V.	蛋白質檢量線分析	111
VI.	樣品中蛋白質定量分析	112
5-3-2	探討交聯劑對蛋白質包覆的影響	113
I.	SBA-15 包覆蛋白質添加交聯劑的步驟	113
II.	包覆蛋白質之 SBA-15 釋放速率	114
5-3-3	探討改變極性對蛋白質包覆的影響	116
5-3-4	探討官能化 SBA-15 對重金屬 Co 吸附	117
I.	製備 5nm 之奈米金粒子	117
II.	製備 SBA-15-AuNPS	117
III.	重金屬 Co 吸附	118
5-4	實驗結果與討論	119
5-4-1	探討 SBA-15 表面修飾的影響	119
I.	SBA-15 的表面修飾	119
II.	蛋白質包覆與 Zeta-potential 測定	126
5-4-2	探討交聯劑對蛋白質包覆的影響	130
I.	蛋白質包覆	130
II.	蛋白質釋放測試	132
5-4-3	探討改變極性對蛋白質包覆的影響	134
5-4-4	探討官能化 SBA-15 對重金屬 Co 吸附	135
第六章	導電高分子	140
6-1	實驗目的	140
6-2	實驗原理	141
6-2-1	HRP 酵素活性測定	141
6-2-2	電化學反應—循環伏安法	142
6-3	實驗步驟	145
6-3-1	測定樣品中 HRP 酵素活性	145
6-3-2	固定 HRP 酵素於 SBA-15	145
6-3-3	探討 DBSA 濃度對 HRP 之活性影響	146
I.	HRP Sol'n V.S. [DBSA] 之活性測定	146
II.	SBA-HRP V.S. [DBSA] 之活性測定	147
6-3-4	製備導電高分子	148
I.	PANI	148
II.	SBA-PEDOT	149
III.	PSS-PEDOT	150
6-3-5	製備碳糊工作電極	151

6-3-6	循環伏安法(CV)分析.....	151
6-4	實驗結果與討論.....	152
6-4-1	探討[DBSA]對 HRP 之活性影響.....	152
6-4-2	導電高分子.....	154
	I. 表面型態與結構分析.....	154
	II. FTIR 分析.....	158
	III. UV/Vis 分析.....	161
	IV. 電化學分析.....	165
第七章	結論與建議.....	167
	參考文獻.....	168
	個人簡歷.....	178

圖目錄

Fig. 1- 1	各種孔洞材料之孔徑分佈圖	3
Fig. 1- 2	各種微胞結構	4
Fig. 1- 3	合成介孔氧化物之主要因素相互作用關係圖	5
Fig. 1- 4	不同 pH 環境下，界面活性劑與矽源在介面處的作用關係	6
Fig. 1- 5	中孔材料的合成流程	7
Fig. 1- 6	矽氧烷在酸性環境下進行縮合聚合的反應機制圖	8
Fig. 1- 7	水熱反應對 SBA-15 孔壁結構的影響	8
Fig. 1- 8	奈米藥物傳輸載體技術關聯圖	13
Fig. 1- 9	BSA 的 3D 立體結構圖	15
Fig. 1- 10	材料表面與蛋白質的相互作用示意圖	17
Fig. 1- 11	金奈米粒子不同粒徑的 UV/Vis 吸收光譜圖	19
Fig. 1- 12	不同大小長短的金奈米粒子呈色與 TEM 圖	21
Fig. 1- 13	金奈粒子組成示意圖	22
Fig. 1- 14	常見導電高分子化學結構式	24
Fig. 1- 15	金屬、半導體、絕緣體與高分子之導電度比較圖	25
Fig. 1- 16	絕緣體、半導體及金屬之能帶間隙	28
Fig. 1- 17	極子與雙極子之能階圖	28
Fig. 1- 18	聚苯胺不同氧化還原態結構通式	31
Fig. 1- 19	聚苯胺的五種氧化還原態	32
Fig. 1- 20	聚苯胺摻雜與去摻雜示意圖	33
Fig. 1- 21	聚苯胺之鹽式中間氧化態示意圖	33
Fig. 1- 22	HRP 催化苯胺形成二聚物之反應機構	35
Fig. 1- 23	EDOT 與 PEDOT 的化學結構圖	38
Fig. 1- 24	不同呈色之 EDOT 系列共聚物	39
Fig. 1- 25	氧化聚合法	40
Fig. 1- 26	PEDOT/PSS 結構	41
Fig. 1- 27	PEDOT 金屬錯化物偶合反應機制	41
Fig. 1- 28	電化學聚合法	42
Fig. 1- 29	酶聚合法	43
Fig. 1- 30	HRP 的三維結構	45
Fig. 1- 31	HRP 活性中心 Heme group 示意圖	45
Fig. 1- 33	HRP 各型態示意圖	47
Fig. 1- 34	四種酵素固定化方法之原理示意圖	52
Fig. 2- 1	中孔矽材 SBA-15 研究架構圖	54
Fig. 2- 2	製備 SBA-15 與修飾流程示意圖	54
Fig. 2- 3	重金屬 Co 吸附流程示意圖	55

Fig. 2- 4	導電高分子聚合流程示意圖	56
Fig. 3- 1	掃描式電子顯微鏡之構造圖	60
Fig. 4- 1	MCM-41 之氬氣吸/脫附曲線.....	71
Fig. 4- 2	MCM-41 與 SBA-15 之 BET 分析	72
Fig. 4- 3	不同擴孔劑比例合成之矽材孔徑大小趨勢圖.....	73
Fig. 4- 4	不同擴孔劑比例合成矽材之氬氣吸/脫附曲線.....	74
Fig. 4- 5	製備過程中攪拌與否製備之 SBA-15 粒子 SEM 圖	82
Fig. 4- 6	不同 TMB 濃度製備之 SBA-15 粒子 SEM 圖	87
Fig. 4- 7	不同 TMB 濃度下製備 SBA-15 之 TEM 圖.....	88
Fig. 4- 8	不同 TMB 濃度下製備 SBA-15 之 TEM 圖.....	89
Fig. 4- 9	不同 TMB 濃度下合成 SBA-15 之氬氣等溫吸脫附曲線	90
Fig. 4- 10	TMB 濃度為 12mmol 合成 SBA-15 之孔徑分布圖	91
Fig. 4- 11	TMB 濃度為 30mmol 合成 SBA-15 之孔徑分布圖	91
Fig. 4- 12	不同 TMB 濃度下合成 SBA-15 之 SAXS 分析圖	92
Fig. 4- 13	不同 TMB 濃度下合成 SBA-15 之 BSA 蛋白質包覆率	92
Fig. 4- 13	不同介面活性劑製備之 SBA-15 粒子 SEM 圖	94
Fig. 4- 14	調整 Tween20/P123 之比例製備 SBA-15 粒子之 SEM 圖.....	96
Fig. 4- 15	調整 Tween20/P123 之比例製備 SBA-15 粒子之 SEM 圖.....	97
Fig. 4- 16	S ₁ (Tween20/P123 = 1) 比例製備之 SBA-15 粒子 TEM 圖	98
Fig. 4- 17	不同 Tween20/P123 比例下合成 SBA-15 之 SAXS 分析圖.....	99
Fig. 4- 18	添加不同比例 Ethanol / Ethyl-ether 製備 SBA-15 之 SEM 圖.....	101
Fig. 4- 19	添加不同比例 Ethanol / Ethyl-ether 製備 SBA-15 之 SEM 圖.....	102
Fig. 5- 1	EDC 與 NHS 活化羧酸基流程圖	105
Fig. 5- 2	金奈米粒子之離子層示意圖	106
Fig. 5- 3	不同官能化的 SBA-15 之 SEM 圖	121
Fig. 5- 4	修飾之 SBA-15 的 EDS 元素分析結果	122
Fig. 5- 5	不同官能化的 SBA-15 之 TEM 圖	123
Fig. 5- 6	不同官能化的 SBA-15 之 FTIR 分析圖	124
Fig. 5- 7	不同官能化的 SBA-15 之 SAXS 圖	125
Fig. 5- 8	SBA-15 等在不同 pH 環境下之 Zeta 電位測試.....	129
Fig. 5- 9	SBA-15 在不同 pH 環境下之包覆率比較.....	129
Fig. 5- 10	利用交聯劑 EDC/NHS 之包覆率比較圖.....	131
Fig. 5- 11	藥物釋放率曲線圖	133
Fig. 5- 12	利用添加不同比例乙腈於包覆溶液之包覆率比較.....	134
Fig. 5- 13	5nm AuNPs 於透明比色槽中之呈色	136
Fig. 5- 14	5nm AuNPs 溶液之 UV 分析圖.....	136
Fig. 5- 15	AuNPs 之 TEM 圖.....	137
Fig. 5- 16	SBA-15 吸附重金屬 Co 之 EDS/mapping 元素 Co 分析圖	139

Fig. 6- 1	典型之參考電極.....	144
Fig. 6- 2	典型循環伏安圖.....	144
Fig. 6- 3	電化學分析儀裝置圖.....	151
Fig. 6- 4	不同 DBSA 濃度 對 HRP 及 SBA-HRP 活性影響.....	153
Fig. 6- 5	利用 SBA-HRP 合成導電高分子之 SEM 圖.....	155
Fig. 6- 6	SBA-HRP 合成導電高分子之 EDS 分析圖譜.....	156
Fig. 6- 7	SBA-HRP 合成導電高分子之 TEM 圖.....	157
Fig. 6- 8	聚苯胺實驗之 FTIR 分析圖.....	159
Fig. 6- 9	聚 3,4- 乙烯二氧噻吩實驗之 FTIR 分析圖.....	160
Fig. 6- 10	利用不同濃度[DBSA]製備 SBA-HRP-PANI 之 UV/Vis 圖.....	163
Fig. 6- 11	利用 SBA-HRP 聚合 PEDOT 之 UV/Vis 圖.....	163
Fig. 6- 12	探討 HRP 酵素影響製備 PEDOT 之 UV/Vis 圖.....	164
Fig. 6- 13	比較碳糊電極感測 10mM $K_3Fe(CN)_6$ 之 CV 圖.....	166

表目錄

Table 1- 1	多孔性材料孔徑大小分類	1
Table 1- 2	常見之中孔材料合成條件比較	3
Table 1- 3	材料表面性質與蛋白質相互作用的關係	17
Table 1- 4	導電高分子應用領域	30
Table 1- 5	四種聚苯胺型態之紫外光可見光吸收波長	36
Table 1- 6	聚苯胺的紅外光吸收光譜	37
Table 1- 7	四種酵素固定化方法之比較	52
Table 4- 1	混合界面活性劑之比例	80
Table 4- 2	混合有機溶劑之比例	80
Table 4- 3	由 TEM 圖計算分析各條件 SBA-15 之孔徑大小	86
Table 4- 4	不同 TMB 濃度利用 BET 分析之容積與孔徑數據	86
Table 5- 1	檸檬酸鈉比例製備不同粒徑之金奈米粒子	106
Table 5- 2	表面修飾之試劑比例	107
Table 5- 3	磷酸鉀緩衝溶液的製備	109
Table 5- 4	EDS 元素分析結果表	122
Table 5- 5	SBA-15 與蛋白質在各 pH 環境下之 Zeta 電位測試	128
Table 5- 6	SBA-15 與蛋白質之間的電位差	128
Table 5- 7	SBA-15/Co 粉末之 EDS 分析數據表	138
Table 6- 1	DBSA 對 HRP 酵素活性探討反應溶液配製表	146
Table 6- 2	DBSA 對 SBA-HRP 酵素活性探討反應溶液配製表	147
Table 6- 3	SBA-HRP 合成導電高分子之 EDS 元素分析表	156
Table 6- 4	氧化電位與電流關係表	166

第一章 緒論

1-1 中孔矽材料發展

根據國際純粹與應用化學聯合會(IUPAC)的定義，對於多孔材料 (porous material) 可依照其孔洞直徑的大小分為三類：孔徑小於 2nm 為微孔(microporous)；孔徑介於 2~50nm 為中孔(mesoporous)；孔徑大於 50nm 為巨孔(macroporous)，其分類與實例如 Table1-1 所示。

Table 1- 1 多孔性材料孔徑大小分類

材料種類	孔洞直徑(nm)	實例
微孔材料	$d < 2$	ZSM-5 沸石、活性碳
中孔材料	$2 \leq d \leq 50$	MCM-41、SBA-15
巨孔材料	$d > 50$	離子交換樹脂

在 1992 年，Mobil oil 研究團隊(JS Beck et al., 1992)率先使用帶正電性的四級銨鹽界面活性劑作為有機模版與帶負電荷矽酸鹽結合，成功地製備出可調整孔徑大小 (1.5~10nm)、具有高表面積(~1000m²/g)、孔徑分布集中、高穩定性等優點的新型中孔徑二氧化矽(SiO₂)分子篩 MCM-41 (Mobile Composite of Matter 41) (Kresge, Leonowicz, Roth, Vartuli, & Beck, 1992)，此類中孔徑分子篩可應用於大分子的催化反應(Corma, 1997)、

巨型分子篩、奈米導線模板、光電材料等多方面應用；在製備 MCM-41 的過程中加入少量的金屬，不僅孔道的主要結構不受影響且使得 MCM-41 具備較佳的催化能力，因此引發許多研究學者興趣與重視 (Lee, Surjadi, & Rathman, 1996; 逢杰斌, 2002)。

1992 年後，有研究指出改變界面活性劑種類或改變合成酸鹼條件而製備之中孔材料例如 HMS、MSU、KIT、SBA 等，其性質差異列於 Table 1-2 及 Fig.1-1 為各種孔洞材料之孔徑分佈圖；中孔矽材 SBA-15 則是在 1998 年由 Stucky 等學者等人以三嵌段共聚物 P123 ($\text{EO}_{20}\text{PO}_{70}\text{EO}_{20}$) 兩性界面活性劑作為合成 SBA-15 的模板，藉共聚高分子中的 PEO、PPO 鏈之相對親水及疏水的特性，在酸性環境下以自身堆聚的方式於水溶液中形成六角柱狀的堆疊，再與無機矽化物 (TEOS) 藉由靜電吸引力、氫鍵作用力與凡得瓦力交互作用下，形成有機—無機中孔徑結構的物質，之後再以鍛燒的方式或有機溶劑萃取將有機模板除去，即可得到以二氧化矽為骨架結構並具有六角形規則排列的中孔洞材料 SBA-15 (Zhao et al., 1998)。SBA-15 與 MCM-41 相較下，同是六角排列、一維孔道的中孔材料 SBA-15 其孔徑大小、孔壁厚度 (3.1~6.4nm) 及孔洞體積 ($>0.85\text{cm}^3/\text{g}$) 皆優於 MCM-41，而且製備容易、水熱穩定性較高、高孔隙率、高表面積與孔徑均一且可調整孔徑尺寸 (4.6~30nm) 等優點，因此更具吸引力。

Table 1- 2 常見之中孔材料合成條件比較(Linssen, Cassiers, Cool, & Vansant, 2003)

	pH	Template	Pathway	Mesophase name
Strong (electrostatic) interactions				
Direct interaction	pH > 7	Ammonium surfactants	S ⁺ T ⁻	KIT-1, PCH, MCM-41, 48
Anion mediated interaction	pH < 7	Ammonium surfactants	S ⁺ XI ⁺	SBA-1, 2, 3
		Triblock copolymers	(S ⁰ H ⁺)XI ⁺	SBA-15, 16
		Ethylene oxides		SBA-11, 12, 14
Weak (van der Waals) interactions				
Hydrogen bonding interaction	pH > 7	Amine surfactants	S ⁰ T ⁰	HMS
Hydrogen bonding interaction	pH = 7	Non-ionic ethylene oxides	N ⁰ T ⁰	MSU- <i>n</i>

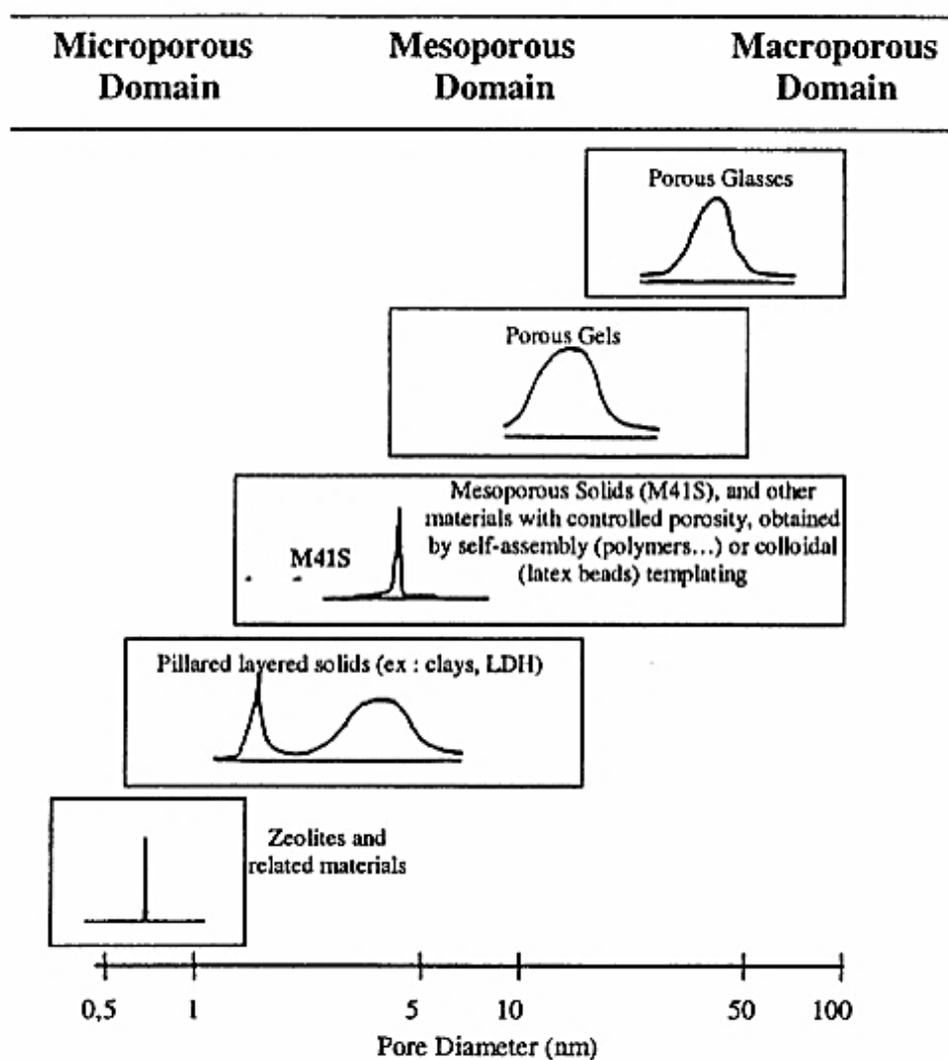


Fig. 1- 1 各種孔洞材料之孔徑分佈圖(G. J. d. A. Soler-Illia, Sanchez, Lebeau, & Patarin, 2002)

1-1-1 界面活性劑

界面活性劑(Surfactant) 依其親水端所帶的電荷不同主要可以分為四大類：(1) 陽離子型界面活性劑(Cationic Surfactant)、(2) 陰離子型界面活性劑 (Anionic Surfactant)、(3)兩性界面活性劑 (Ampholytic Surfactant) 與(4)非離子型界面活性劑 (Nonionic Surfactant)。

界面活性劑是具有兩性(Amphiphilic)構造之化合物，其分子結構包含疏水端(Hydrophobic)與親水端(Hydrophilic)兩個部分，而親水端為具有極性或離子性之分子團，疏水端為具有非極性的飽和或非飽和碳氫鏈構造，因此界面活性劑同時具有親水與疏水兩種特性。

當界面活性劑溶於水中且聚集的濃度超過臨界微胞濃度(Critical Micellar Concentration ; CMC)時，親水端會朝外與水分子接觸而包圍疏水部分以減少和碳氫尾鏈的接觸面積，這聚集體即稱為微胞(micelle)，微胞通常是由數十至數百個界面活性劑分子所組成，其大小與型態隨著系統溫度與界面活性劑濃度的不同而有多種形態，如

Fig. 1-2 所示。

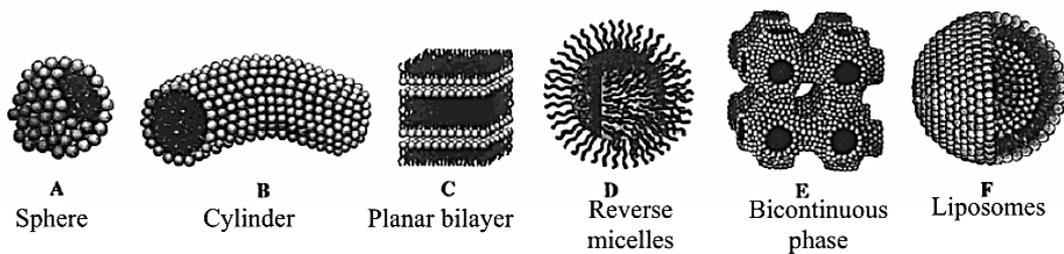


Fig. 1-2 各種微胞結構(G. J. d. A. Soler-Illia et al., 2002)

1-1-2 SBA-15 合成機制

研究中使用的 P123 屬於兩性界面活性劑，以此三嵌段共聚物當作模板合成的介孔氧化物(mesoporous oxides)材料；模板、溶劑與無機源是合成主要的三種因素，藉由彼此間的相互作用可以合成出各種型態的孔洞材料，如 Fig. 1-3 所示；先是溶劑與嵌段共聚物之間的相互作用，嵌段共聚物的親疏水鏈段在溶劑當中進行自組裝形成微胞進而成為模板；接著加入無機源後，模板的界面與無機源之間產生作用力，使無機源可以吸附於模板上。

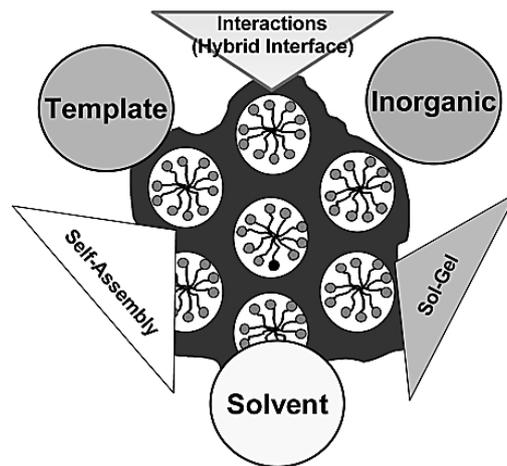


Fig. 1-3 合成介孔氧化物之主要因素相互作用關係圖(G. J. Soler-Illia, Crepaldi, Grosso, & Sanchez, 2003)

以 SBA-15 為例，P123 形成的微胞與二氧化矽之間產生作用力，跟 pH 值有密切的關係，若溶液的 pH 低於二氧化矽的等電點(pI 2~4)，則模板的親水鏈段與二氧化矽的表面都帶正電，這時候是利用溶液中的陰離子作為媒介來吸附於模板表面；當 pH 介於 2~4 時，模板與二氧化矽兩者則是以氫鍵為作用力，同時，無機源在此溶劑中會進行聚

合反應，最後再用鍛燒的方式將模板去除就能得到中孔材料詳情如

Fig. 1-4 所示(G. J. Soler-Illia et al., 2003)。

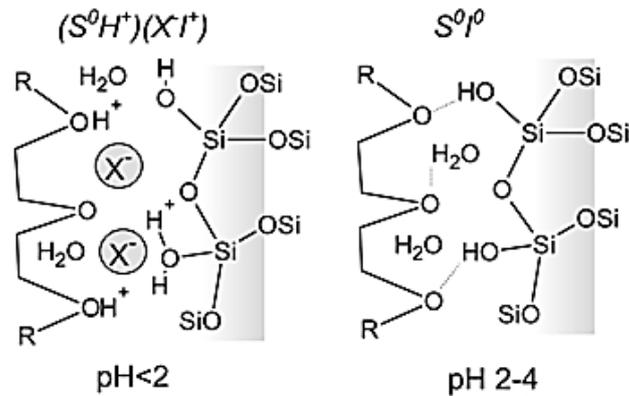


Fig. 1-4 不同 pH 環境下，界面活性劑與矽源在介面處的作用關係(G. J. Soler-Illia et al., 2003)

研究中的 SBA-15 就是由上述原理所製備出來的中孔材料，流程圖如 Fig. 1-5 所示，兩性嵌段共聚物 P123 在溶液當中形成柱狀微胞，微胞與微胞之間因相互作用力而互相吸引靠近，這時加入的矽源 (TEOS) 會進入微胞與微胞之間的縫隙中進行縮合聚合，反應完畢後利用鍛燒的方式去除模板就可以得到中孔材料。TEOS 水解聚合的反應機制如 Fig. 1-6 所示，以氫離子作為催化劑，經過複雜的過度狀態後，生成取代過度狀態 $n=1$ 的產物，當 $n=1\sim 4$ 的起始取代物共混時，將會形成複雜的立體網狀多聚體的結構(sol-gel 過程) (孝恒, 2006)。

此外，在 SBA-15 合成的過程之中，有一個水熱反應(Hydrothermal Reaction)，是在移除模板之前，先將聚合完後的粒子置於高溫環境中，在高溫環境下，嵌段共聚物親水鏈段的極性會減弱，相對地會增加其

疏水性，使得親水鏈段往內收縮，造成 PEO 鏈段與矽材分離，讓孔壁的结构可以更加的完整；若沒有進行水熱反應就移除模板，會造成孔壁上有隙縫的產生，進而會使孔道結構不穩定而造成崩塌，如圖

Fig. 1-7 所示。

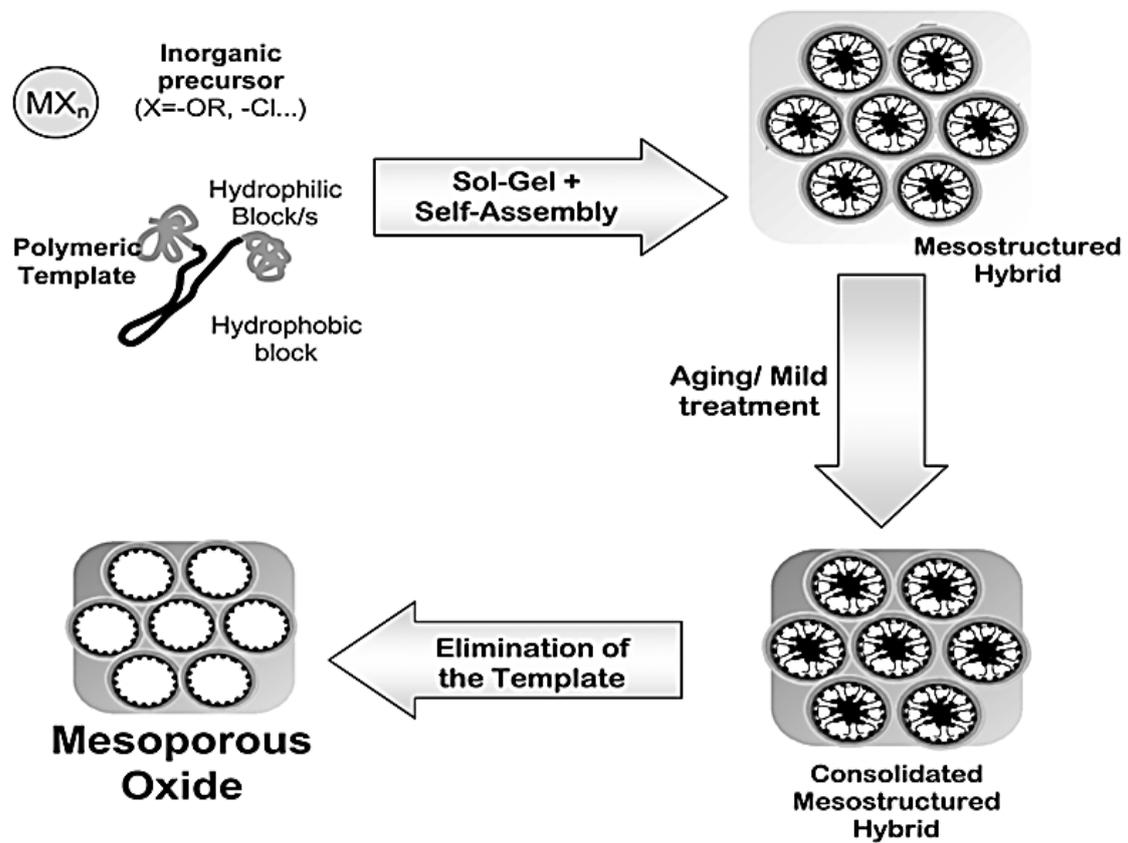


Fig. 1-5 中孔材料的合成流程 (Soler-Illia, 2003)

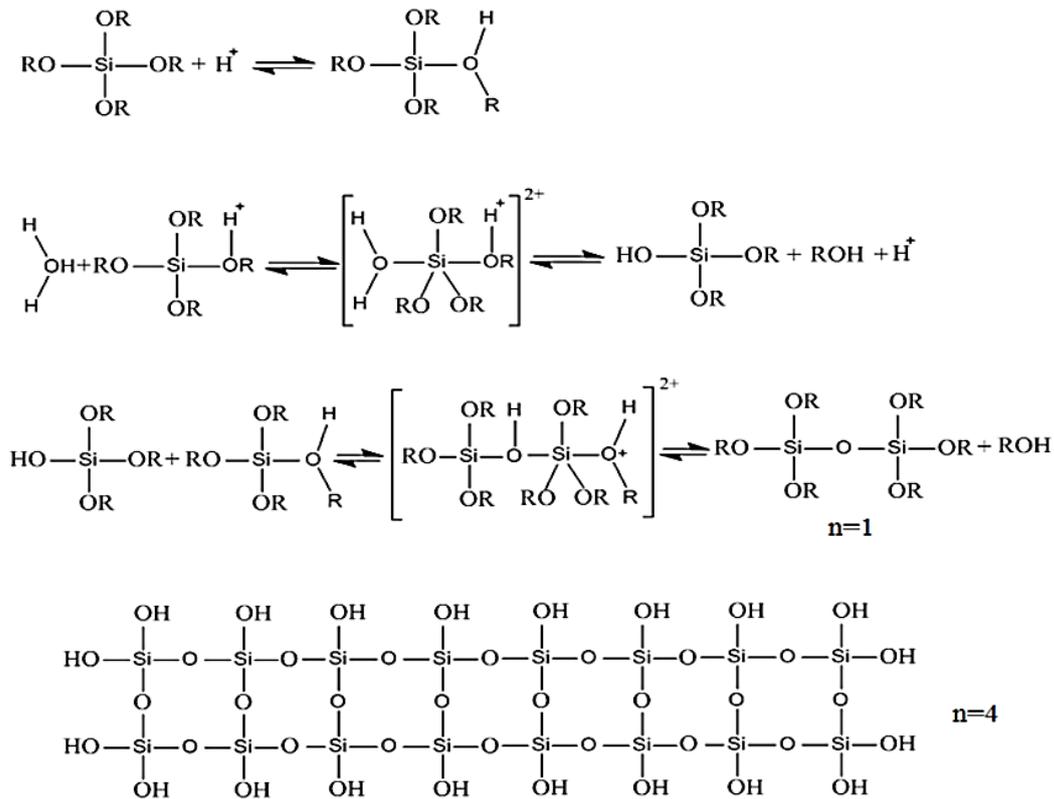


Fig. 1-6 矽氧烷在酸性環境下進行縮合聚合的反應機制圖(孝恆, 2006)

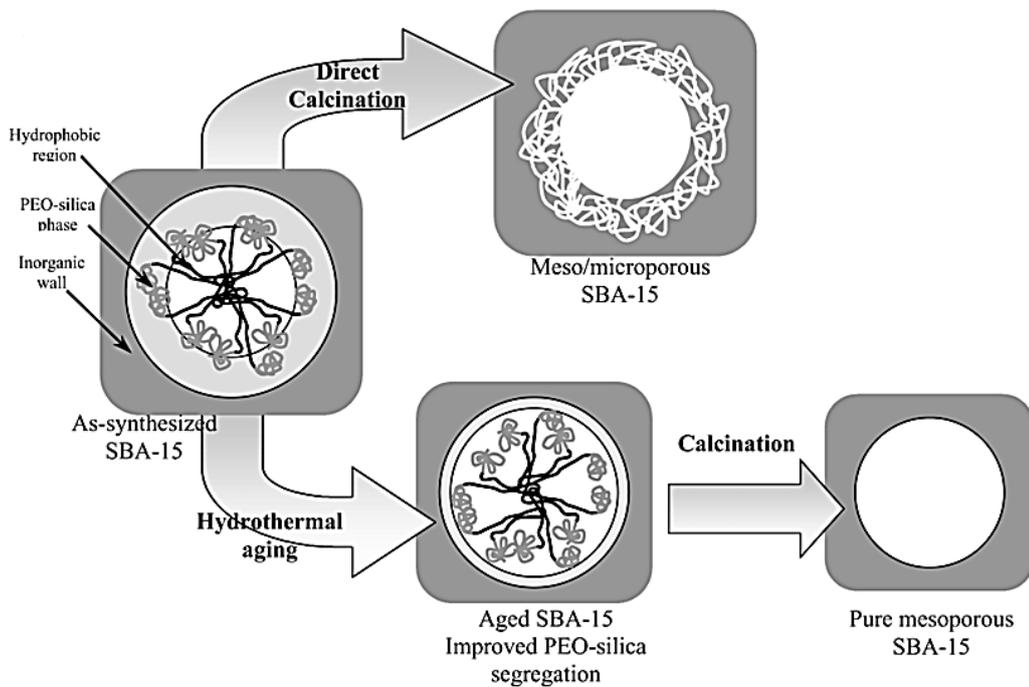


Fig. 1-7 水熱反應對 SBA-15 孔壁結構的影響(孝恆, 2006)

1-1-3 SBA-15 官能化

由於 SBA-15 之良好熱穩定性及高表面積等優點，為了進一步提升 SBA-15 之材料性能通常會將 SBA-15 的內部或表面官能化，利用含有官能基的矽烷經由化學反應產生共價鍵結於中孔材料孔壁與表面上，以改變其表面原有特性，官能化之中孔二氧化矽奈米材料適用於催化、吸附、分離、親和層析與藥物控制釋放等用途 (Du & He, 2011)。

對於 SBA-15 官能化法的方法，主要可以分為下述三種：

1. 共聚合法(co-condensation)：

將矽烷與 TEOS 等的矽前驅物以一定的比例混合進行反應，再加入界面活性劑模板一併反應及結構形成，並且必須使用溶劑萃取法將模板取出，若使用高溫鍛燒法將會使原本結合並存在於管壁的有機官能基一併被燒毀 (Moller & Bein, 1998)。

2. 無水有機溶劑法(silylation)：

將 SBA-15 與不含水的有機溶劑混合，加入矽烷反應即可得已修飾之 SBA-15 (Han, Stucky, & Butler, 1999)。

3. 加水有機溶劑法(coating)：

將矽烷加入反應前先加入適當水分使覆蓋於 SBA-15 表面，再加矽烷進行修飾反應 (Van Rhijn, De Vos, Sels, & Bossaert, 1998)。

我們希望保持 SBA-15 之球形的形貌下，對其修飾官能基於表面及孔壁，如此應該選擇後製備法，也就是在 SBA-15 製備完成後才進行改質，所以研究中選擇了無水有機溶劑法，利用以乾甲苯作為有機溶劑，再以一定比例與官能基團試劑混和，於高溫環境下反應，最後以乾甲苯清洗、收集後，烘乾即可得到官能化之 SBA-15；透過改變 SBA-15 上的官能基團，使其能夠與吸附物之間產生新的鍵結而更有效的結合。

官能基試劑選擇氯甲基(CMTS；Chlormethyltriethoxysilane)、正辛基 (OcTS；Octyltriethoxysilane)、氨基 (APTS；Aminopropyltriethoxysilane) 與 硫醇基 (MPTMS；Mercaptopropyltrimethoxysilane)四種來進行修飾，並且探討氨基結合之 SBA-15(SBA-A)與 BSA 利用交聯劑包覆的效果與釋放情形、正辛基結合之 SBA-15(SBA-O) 利用乙腈調控溶液極性探討 BSA 包覆率及探討 SBA-A 與硫醇基修飾之 SBA-15(SBA-S) 對重金屬 Co 吸附能力比較(Moritz & Łaniecki, 2012; Russo, Ribeiro Carrott, Mourão, & Carrott, 2011)。

1-1-4 SBA-15 應用

SBA-15 中孔矽材的應用廣泛，如當吸水劑、用於不同氣體的分離、核能廢水陽離子的處理、含重金屬工業廢水的淨化作用及用於石化工業上的觸媒等，以下 SBA-15 的主要應用：

1. 扮演觸媒的擔體，當 SBA-15 骨架之中含有 Al、Ga 和 B 等元素時可將其應用在酸性的非均相催化上，含有 V、Ti、Sn 和 Zr 可被應用在選擇性氧化催化(JSUS Beck; Kresge et al., 1992; Mokaya, 2000; Ryoo, Kim, Ko, & Shin, 1996; Sumiya, Oumi, Uozumi, & Sano, 2001; Vartuli et al., 1994)。
2. 用作氣相層析的填充物質，將具有高表面積的中孔矽材填充於管柱中，可依碳水化合物對質子親和力的不同，將其一一分離。
3. 利用中孔矽材具有可調整孔洞大小的優點來當作合成碳奈米管及金屬奈米導線等奈米結構材料的基材。
4. 具有規則結構排列的中孔矽材，不同合成過程可改變其型態成為微米級或是毫米級的特殊形狀。例如於合成過程之中添加無機鹽類來合成薄膜狀產物、改變不同矽源可以合成纖維狀產物、改變酸源來合成螺旋球狀產物等(Zhao, Sun, Li, & Stucky, 2000)。
5. 利用中孔矽材具有高表面積的特性，可利用化學反應產生共價鍵使之接於分子篩的孔壁上以改變其表面特性，以利於分離或催化方面的應用(Diaz, Balkus, Bedioui, Kurshev, & Kevan, 1997)。

1-2 奈米藥物技術

奈米藥物技術是一種新興的藥物技術其融合了奈米科技且同時改良傳統藥物；相較於傳統藥物，奈米藥物技術更能精確的控制藥物作用機制、生理反應、改善藥物動力學與相關製造技術等特性，進而提升藥物的效率、便利性與安全性。

依照奈米藥物技術的應用方面來區分，可以分為奈米新藥與奈米藥物傳輸技術兩方面；奈米新藥是把奈米技術應用在新藥的開發上，將奈米物質特有的性質與致病分子、抑制治病機制與破壞病原體做結合，以減輕或消滅其致病能力，而奈米藥物傳輸技術的發展較多元，主要的發展方向包括了微脂粒技術、高分子聚合應用與奈米碳球等，而應用方向就是針對藥物做劑型的改良，利用奈米技術使藥物能夠更有效的在人體中釋放。

奈米藥物傳輸載體的材料及結構上也有許多的發展方向，例如載體型態的改變、藥物包覆、表面修飾、配位體(ligand)的結合與仿效材料包覆等，這些都能透過不同載體的設計來達到藥物的精確控制釋放與傳輸功能以及良好的生物相容性。如 Fig. 1-8 所示，奈米藥物傳輸載體的技术關聯圖中包含了目前主要的奈米藥物傳輸載體的分類，當中的”其他奈米粒子與奈米結構”這個項目包括了矽質奈米結構(silicon based nanostructure)，正是研究中藥物釋放的奈米矽材載體。

一般來說，大部分的矽質奈米結構不是利用奈米粒子，而是利用結構中的奈米孔道作為藥物儲存及釋放，這些奈米孔洞不只可以應用於小分子藥物也可以裝載胜肽、基因和蛋白質等的大分子藥物。選用矽質奈米結構是因為它的高比表面積與表面可以修飾多種官能基團，提高了與各種藥物結合的可能性及應用方面，同時也擁有良好的生物相容性，使矽質奈米結構材料的研究相當具有前瞻性(曾念國, 2003)。

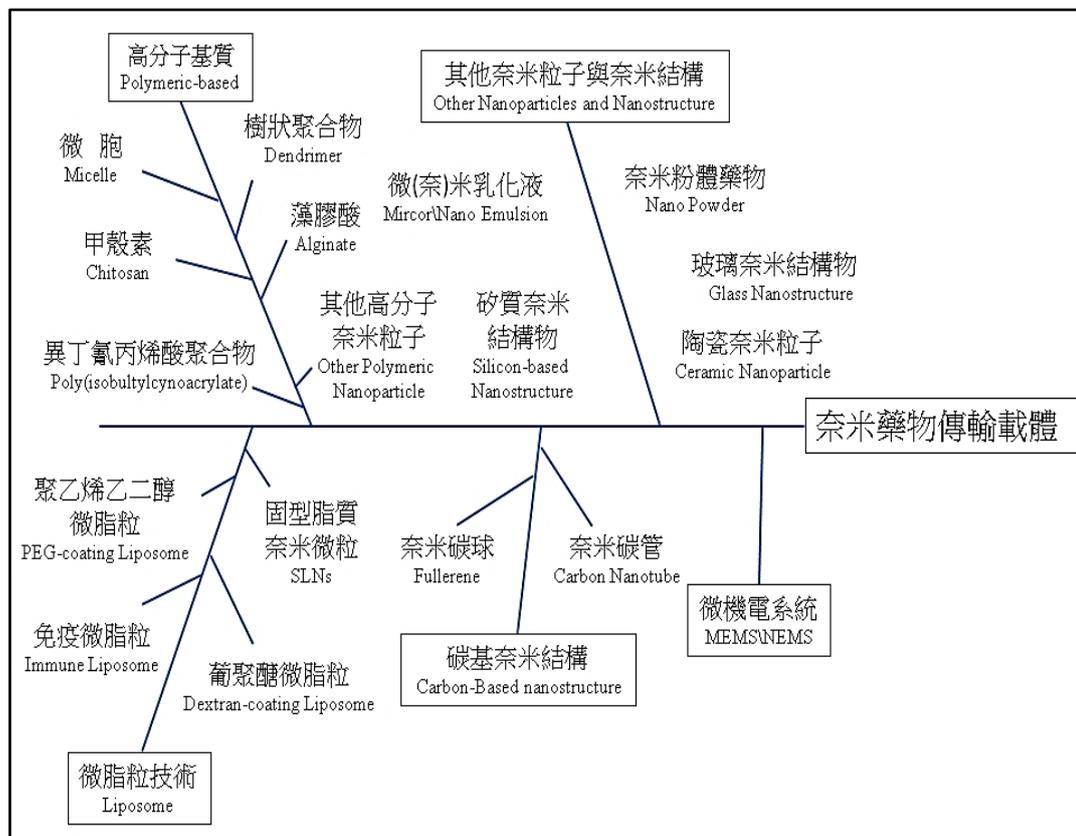


Fig. 1-8 奈米藥物傳輸載體技術關聯圖 (曾念國, 2003)

1-2-1 藥物傳輸系統

藥物傳輸系統(Drug Delivery System, DDS)是指將患者在接受治療的過程中使用不同給藥模式的藥物，在藥劑學上稱之為劑型，如膠囊、注射劑、錠劑、貼片、軟膏與氣霧劑等等，後來研發的控釋劑型能夠使服藥者體內的藥物有效濃度能維持較長的時間而不需頻繁給藥，這改善了大部分需要長期服藥患者的生活品質，除了提高醫療品質同時也減少了患者藥物使用量的負擔。

當前藥物傳輸系統致力於靶向給藥系統的發展，靶向給藥是專門針對癌症患者的給藥模式，主要是將藥物的有效濃度集中在病人的患部，藉此提高療效並降低了抗癌藥物對全身有害的毒副作用；還有結合了生物技術的脈衝給藥，它是一種與生理脈動同步而能根據接收到的回饋訊號自動調整藥物釋放量的給藥技術(Vallet-Regí, Balas, & Arcos, 2007)。

藥物劑型的改變使控制給藥(controlled-release)有突破性的發展，藥物新劑型也能統稱為藥物調控傳輸系統(drug controlled delivery system)，依不同的功能可分為速度性控釋、方向性控釋、時間性控釋和隨症調控式等個體化給藥系統，適當的給藥系統可以提高藥物的療效並且減少副作用，不只增加患者用藥的便利性，同時也提高了藥物的附加價值，使其更有競爭力(陳中成, 1989)。

1-2-2 蛋白質介紹－牛血清蛋白

牛血清蛋白(Bovine serum albumin；BSA)，牛血清中的簡單球蛋白，血液中的主要成分(38 g/100 ml)、分子量為 66.430 kDa、尺寸為 $40\text{\AA} \times 40\text{\AA} \times 140\text{\AA}$ 、等電點為 4.7、含氮量 16 %。 BSA 包含了 583 個氨基酸殘基，其中的 35 個半胱氨酸組合成 17 個雙硫鍵，表面有許多具有胺根的 Lysine，一般用於限制酶或是修飾酶的保存溶液和反應液中做為穩定劑來使用，因為部分的酶在低濃度的狀態下不穩定或活性偏低，BSA 可以起到”保護”或”載體”的作用，不少酶類在添加了 BSA 之後能夠大幅度的增加酶的活性；當然，若此酶類不需要靠加入 BSA 來增加活性，添加 BSA 也不會對此酶類造成什麼不利的影響，Fig. 1-9 為 BSA 的 3D 立體結構圖。

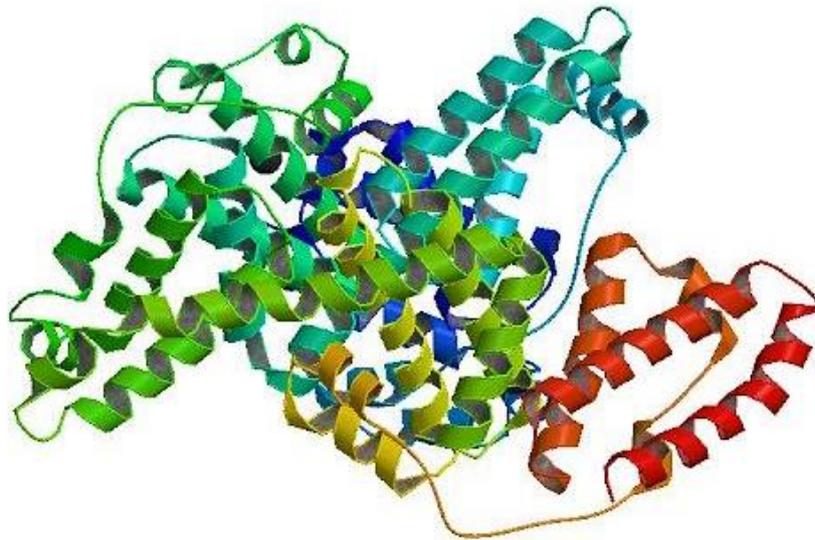


Fig. 1-9 BSA 的 3D 立體結構圖

1-2-3 蛋白質與載體的結合

在藥物調控釋放系統中，首要考慮的就是蛋白質如何與載體作結合，而材料表面上的性質對蛋白質的吸附與脫附有很大的影響，所以只要改變載體表面上的親疏水性、帶電性與特殊基團等性質，就會對蛋白質的吸脫附造成明顯的影響另外，載體的立體空間結構(steric structure)與表面的粗糙度(surface roughness)也是需要多加考慮的因素之一；對於中孔材料來說，恰當的孔徑大小能更有效的穩定蛋白質的結構，這就等於維持了藥物的活性；而適當的表面粗糙度則能夠增加載體與蛋白質之間的結合面積，材料表面性質與蛋白質的相互作用請參考 Table 1-3(Temenoff & Mikos, 2008)。

蛋白質主要的組成成分有 20 多種的胺基酸，而且組合序列多變常使蛋白質的分子結構外圍同時會具有多種的化學作用力，如疏水作用區、極性作用區以及離子作用區等，因此載體的表面性質可以配合所要包覆的蛋白質藥物分子來進行改質；研究中所使用的 SBA-15 的等電點約 2~4，而其表面在中性溶液的環境下會帶負電，所以和 pI 值較高的蛋白質會以靜電吸引力來吸附，載體表面與蛋白質相互作用的關係圖如 Fig. 1-10 所示。

Table 1-3 材料表面性質與蛋白質相互作用的關係(Temenoff & Mikos, 2008)

表面性質	作用
形貌(粗糙度)	多皺褶表面與蛋白質相互作用區域多
組分(修飾基團)	化學組成決定分子之間作用力的類型，進而控制材料與蛋白質間的作用力
疏水性	疏水表面能結合更多的蛋白質
異質性	表面特性的非均一性會產生與蛋白質相互作用於不同的區域
電位	表面電位影響溶劑中的離子分布以及與蛋白質的相互作用

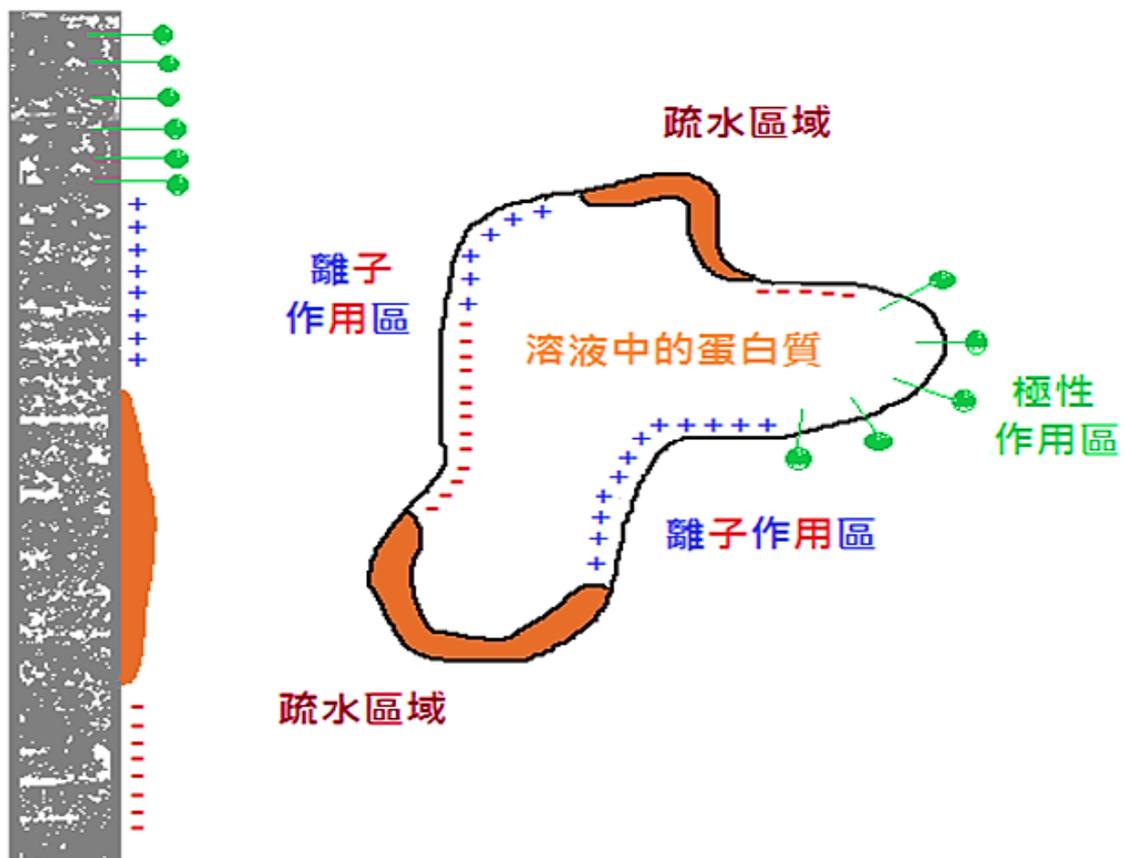


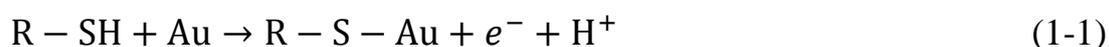
Fig. 1-10 材料表面與蛋白質的相互作用示意圖(Temenoff & Mikos, 2008)

1-3 金奈米粒子

現今奈米研究發展中，金奈米粒子也成為了最新主流之一，具備特殊功能的金奈米粒子常被應用於生物醫學領域上，例如提升檢測的敏感度或生物體結構的顯像技術以及電化學感測器，其理由在於金奈米粒子獨特的光學特性、多樣化的表面修飾及高度的生物相容性 (Ghadiali & Stevens, 2008; Katz & Willner, 2004; Murphy et al., 2008; Myroshnychenko et al., 2008; Sokolova & Epple, 2008; Stewart et al., 2008)。

1-3-1 金奈米粒子的特性

金奈米粒子(gold nanoparticles, AuNPs；膠體金)的研究早在 1857 年就已經出現，英國學者法拉第(Michael Faraday)發現了膠體金的變色現象，在兩相系統中利用磷 (phosphorus)將 AuCl_4^- (chloroaurate) 水溶液還原，得到了深酒紅色的奈米金膠體溶液，打破大眾對金固有顏色的認識(Faraday, 1857)。在 1983 年 Nuzzo 及 Allara 等人提出硫化合物在金表面形成自我聚集單層膜的方法，將硫化合物溶於乙醇溶液使其容易在金膜上自我聚集，而硫化合物溶液通常只需要很低的濃度，如式 1-1，硫化合物與金反應會形成很強的金硫鍵，金硫鍵是很強的一種鍵結，通常在一般的環境條件下是不會被破壞的，在表面化學改質上常利用羧基硫化合物單層膜作基材，因為羧基官能基容易與許多偶合劑反應。



1-3-2 金奈米粒子的光學性質

Turkevich 及 Doremus 提出金奈米粒子的光學性質與其粒徑大小有關，他們所整理出來的數據如 Fig. 1-11，明確的說明金奈米粒子的大小的確改變了其光學性質，特別是小粒徑的金奈米粒子。

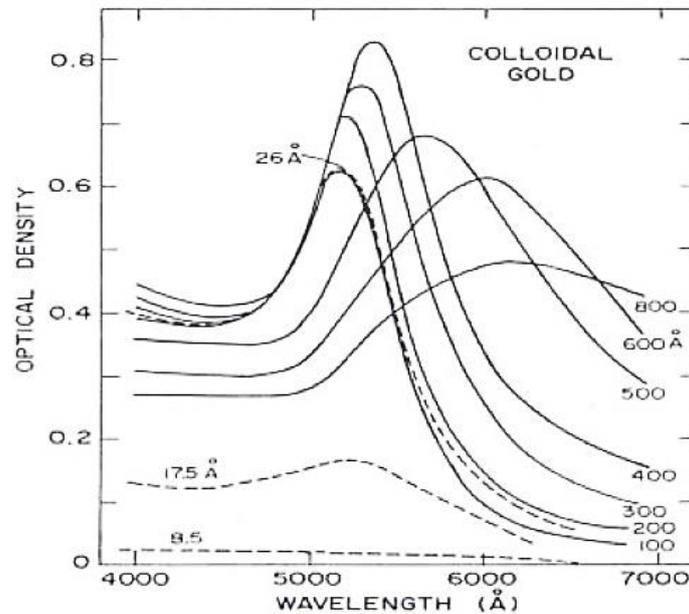


Fig. 1- 11 金奈米粒子不同粒徑的 UV/Vis 吸收光譜圖 (Bohren & Huffman, 2008)

金奈米粒子的光學性質是量子效應之一例，從可見光與金奈米粒子的相互作用關係來看，當粒徑等於或是大於入射光的波長時，粒子會吸收及散射入射光；當粒徑遠小於入射光的波長時，吸收的效應就相對地大多了。由於可見光的波長範圍大約在 400nm~700nm，這些波長比金奈米粒子的直徑都長，但是金奈米粒子並不會吸收所有的可見光，它會特別與 500nm 波長附近的光發生共振，吸收這些光的能量之後，金奈米粒子的自由電子雲會因而被極化，隨著光波的頻率震

盪，因為吸收了較多的綠光以及藍光，所以分散在水溶液之中的球型奈米金粒子會呈現清楚的紅色。

金奈米粒子的大小範圍在 2.6 nm ~ 10 nm 時，在可見光($\lambda_F=520$ nm)有一相當高的吸收值，而金奈米粒子此粒徑範圍內的光學性質與其粒徑大小是無關的(Bohren & Huffman, 2008)；當金奈米粒子的粒徑大於 10 nm 時，可見光的吸收值會大幅降低且可見光波長會紅移(red-shift)到長波長(long-wavelength)處。因此，若金奈米粒子的粒徑由數十個奈米增加到大約 80 nm，則我們由肉眼所觀察到的金奈米粒子溶液會由紅紫色變成藍灰色。較小粒徑的金奈米粒子(2-5 nm)溶液是呈橘黃色，一般粒徑範圍的金奈米粒子(10-20 nm)溶液是呈紅紫色，而大粒徑的金奈米粒子(30-64 nm)溶液則是呈藍灰色。

Granqvist 和 Hunderi 發現奈米粒子的形狀也會影響到它的光學性質，特別是若奈米粒子聚集而形成串狀，會使得吸收強度降低及吸收波長紅移。金奈米粒子的聚集會伴隨著金奈米粒子溶液顏色的改變以及金奈米粒子出現沉澱的現象。一般奈米粒子的形狀會隨著大小而改變，像較小粒徑的奈米粒子基本上都是呈圓形，而較大粒徑的奈米粒子(~100 nm)則會有不同的形狀(Jin et al., 2001)，如 Fig. 1-12 所示。

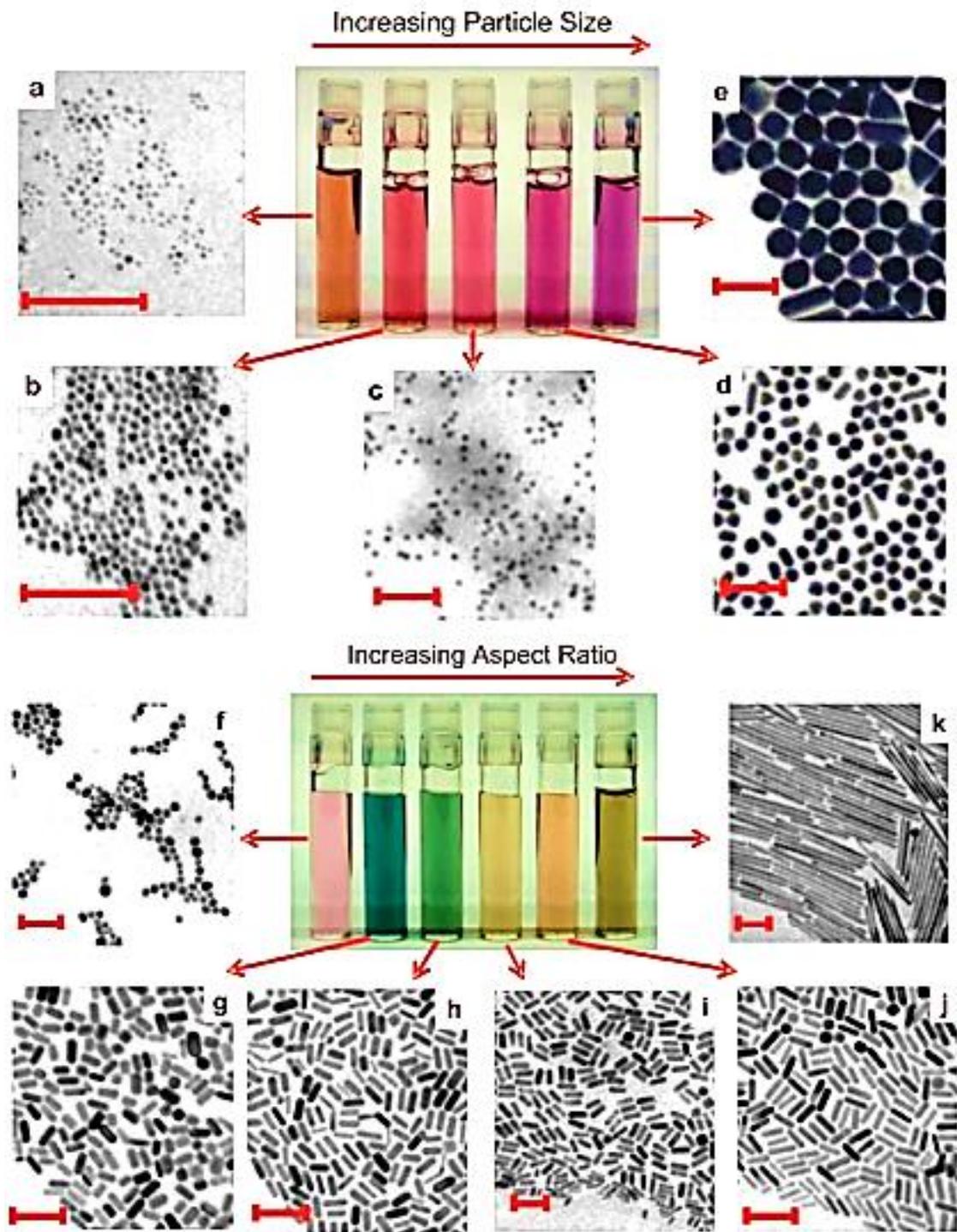


Fig. 1- 12 不同大小長短的金奈米粒子呈色與 TEM 圖 (Murphy et al., 2008)

1-3-3 金奈米粒子的合成

在 1973 年 Frens 提出一簡單合成金奈米粒子的方法，使用檸檬酸鈉還原法來製備粒徑均一的金奈米粒子溶液，此一方法提出後，馬上被應用於生物上的研究，同樣使用類似的方法亦有 Faulk 和 Taylor 等人使用 white phosphorus，以及 Stathis 和 Fabrikas 等人使用 sodium ascorbate 來還原四氯金酸溶液來生產金奈米粒子；這些方法所合成出來的金奈米粒子皆是內層由奈米金球所構成，外層則是包覆了一層帶負電荷的離子層，所以這些金奈米粒子會因為靜電排斥而分散於溶液相中，如 Fig. 1-13 示(Handley, 1989)。

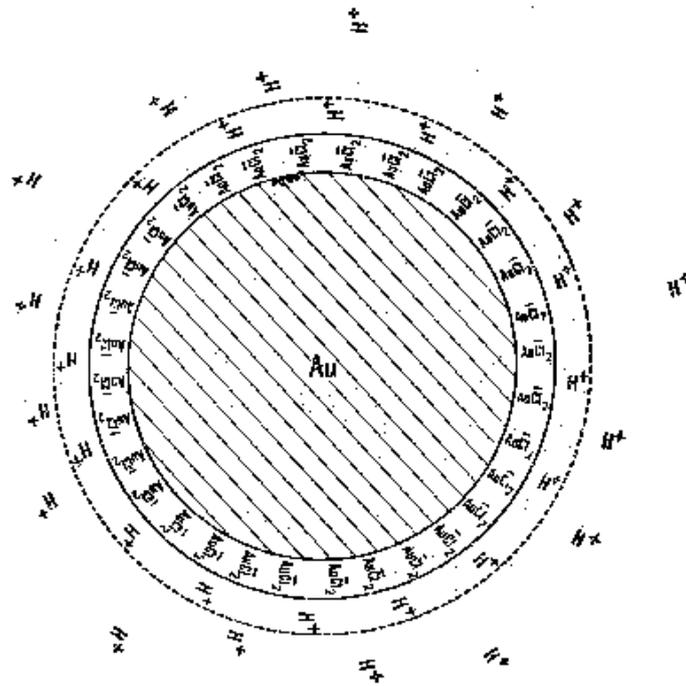


Fig. 1-13 金奈粒子組成示意圖(Hayat, 2012)

1-4 導電高分子

大部分的有機高分子為絕緣體(導電度小於 10^{-12} S/cm)，主因在於其碳氫化合物所組成的共價單鍵長鏈高分子結構中並沒有可以自由移動的電荷，因此須經由添加金屬、石磨粉末或纖維等導電性材料來提高導電度；而導電高分子的主鏈則是由單鍵與雙鍵交替的共軛雙鍵組成，使得 π 電子沿著分子鏈移動來傳導電流。

關於共軛導電性高分子的發展史，最早在 1958 年 Natta 利用 Ziegler-Natta 為觸媒，成功將乙炔氣體聚合成聚乙炔(polyacetylene, PA)。1977 年由 Alan Heeger 等學者研究發現將聚乙炔經由碘和五氟化砷摻雜(doping)後，能有效提升聚乙炔的導電度並得到 P 型及 N 型半導體，此後導電性高分子逐漸受到世界各國學術界以及工業界重視 (Heeger, 2001; Shirakawa, Louis, MacDiarmid, Chiang, & Heeger, 1977)。

目前廣泛被研究的導電高分子有聚苯胺(polyaniline, PANI)、聚吡咯(polypyrrole, PPy)、聚乙炔(polyacetylene, PAc)、聚噻吩(polythiophene, PT)、聚對苯(poly-para-phenylene, PPP)等均可經由摻雜來提升其導電度，如 Fig. 1-14 所示。

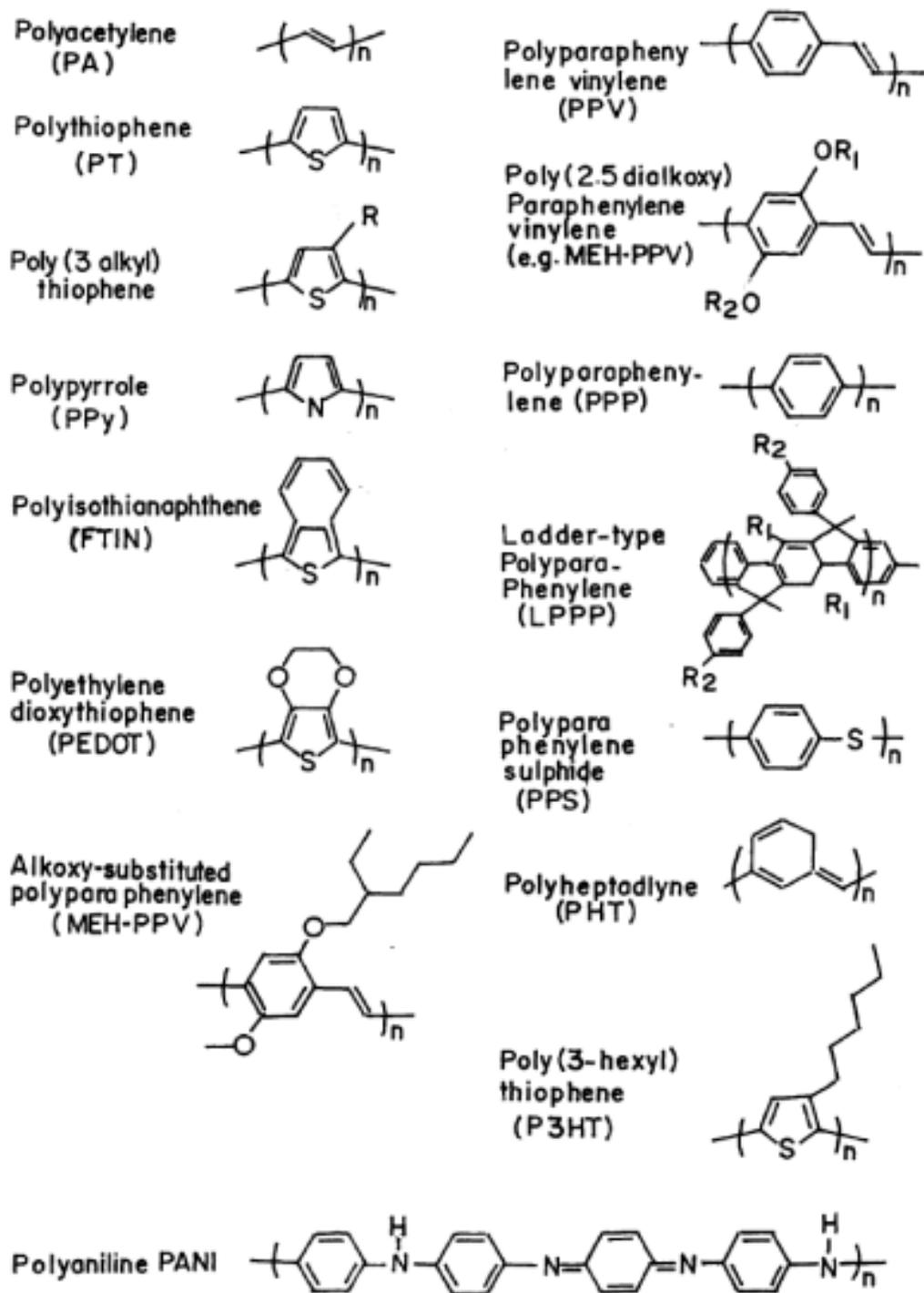


Fig. 1- 14 常見導電高分子化學結構式(Saxena & Malhotra, 2003)

導電高分子可經由摻雜處理後，從絕緣體轉變成半導體或是導體；在未摻雜之前的導電度介於 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ S/cm，摻雜之後的導電度最高可提升為 10^3 S/cm，相差了 $10^{12} \sim 10^{15}$ 倍之多，依照摻雜程度的不同可製成半導體及導體，如 Fig. 1-15 所示。

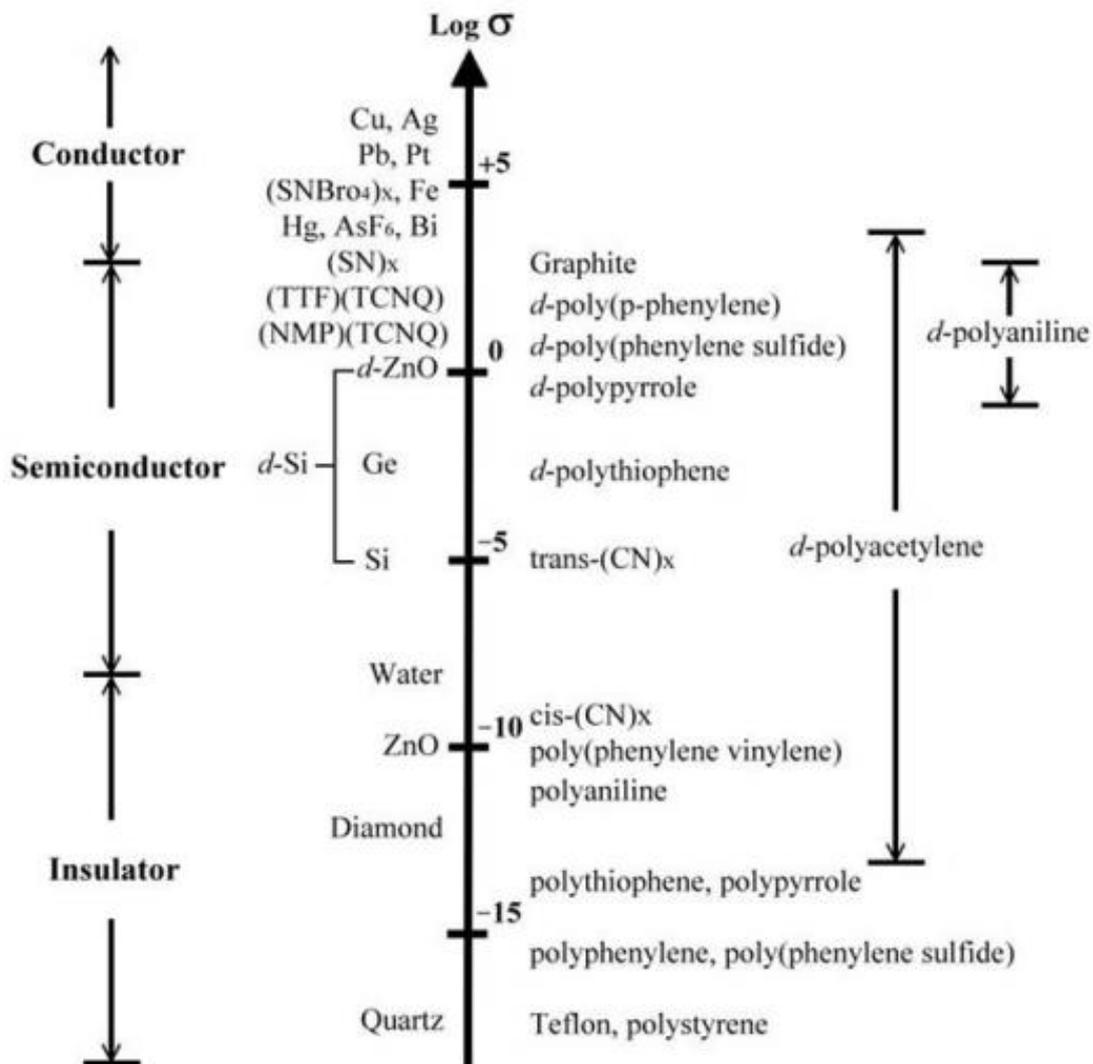


Fig. 1- 15 金屬、半導體、絕緣體與高分子之導電度比較圖(Cao, Smith, & Heeger, 1992)

1-4-1 導電性高分子之導電原理

物質的導電性質取決於其電子結構，一般可以用電子能帶理論 (band theory) 來解釋；固體狀態時，由每一個原子的原子軌域重疊組成的分子軌域，其能量狀態為類似連續性的能帶 (energy band)，能帶中的電子數以及最高電子所佔有之分子軌域 (highest occupied molecular orbital ; HOMO) 和最低無電子軌域 (lowest occupied molecular orbital ; LOMO) 之能帶位置，是依原子軌域包含的電子數與軌域的能量有關。價電子所佔有之能帶稱為價帶 (valence band ; VB)，在基態時無電子佔有之能帶稱為傳導帶 (conduction band ; CB)，而價帶之最高電子能量與傳導帶之最低電子能量之間的能量間隔稱為能帶間隙 (band gap ; EG) (Kanatzidis, Wu, Marcy, DeGroot, & Kannewurf, 1990)。

傳統材料的電子性質由能帶的填充情況而定，當能帶完全被填滿或全空時，無任何電荷傳遞發生。絕緣體的價帶與傳導帶之間的能帶間隙非常大，電子不能在室溫下被激發越過能帶間隙，反觀金屬的能帶間隙為零，因此電子可以自由跳要到鄰近能階而具有高導電度，而半導體的能帶間隙介於絕緣體與金屬之間，電子在室溫下可以從價帶被熱激發到傳導帶，絕緣體、半導體及金屬的能帶間隙如 Fig. 1-16 所示。

一般而言，導電高分子的導電度約在半導體與絕緣體之間，經摻雜後因為電子的狀態改變使得導電度提升到導體與半導體之間。在摻雜中，一個電子的移動在能帶間隙產生一個電子—電洞對(electron-hole pair)或自由基陽離子(radical cation)，固態物理學稱之為極子(polaron)，隨著摻雜程度的增加，會有極子轉變成為雙極子(bipolaron)。極子或者雙極子可以在電場作用下，藉由共軛結構而沿著分子鏈移動；在高度摻雜下，產生更多雙極子並堆疊，使得能帶間隙產生較窄的雙極子能帶(bipolaron bands)，如 Fig. 1-17 所示。

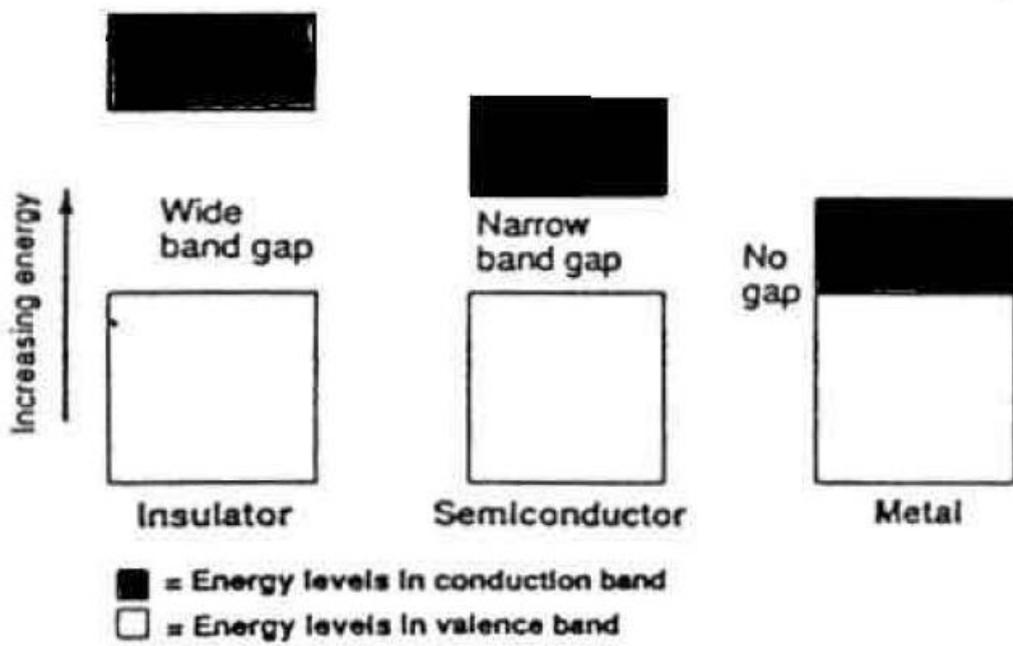


Fig. 1-16 絕緣體、半導體及金屬之能帶間隙(Kanatzidis et al., 1990)

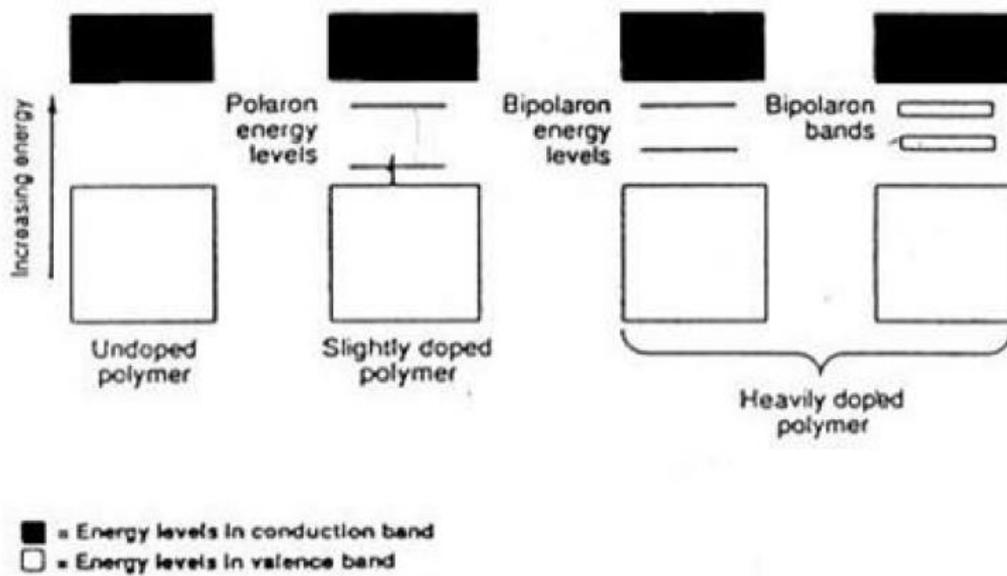


Fig. 1-17 極子與雙極子之能階圖(Kanatzidis et al., 1990)

1-4-2 導電高分子應用

導電高分子在摻雜前為非導體，經摻雜後其導電度可於導體與半導體之間做調整，故可利用其導電度可改變的特性來應用於靜電防護 (Anti-static)、靜電放電(Electrostatic discharge ; ESD) 及電磁波遮蔽 (Electro-Magnetic Interference shielding) 等材料。摻雜與去摻雜的過程中會伴隨能量的儲存與釋放，故可應用於電容器(Capacitor)與可充電電池(Rechargeable battery) 的電池極板製備，其良好的電化學氧化還原與可摻雜一去摻雜性質可應用於化學感測器及生物感測器的感測元件。由於不同的摻雜程度與氧化狀態會改變導電性高分子的電子結構而顏色會隨之改變，所以可用於智慧窗戶(Smart window) 與致電變色顯示器(Electrochromic display) 的應用。

導電性高分子主鏈上的共軛結構可以改變其導電度，而側鏈結構又會影響主鏈上的共軛情形，故可利用光、電或磁場等方式來改變側鏈結構，以達到改變高分子的導電度，可應用於光電開關 (Photoelectricity switch)。近年來關於導電高分子各方面的研究與應用不斷的被提出，並經實驗印證可行，Table 1-4 為目前導電高分子應用領域與項目整理。

Table 1- 4 導電高分子應用領域(陳建中, 2009)

Applications	Contents
Electrical conduction	<ul style="list-style-type: none"> •Anti-static •Electrostatic discharge •EMI shielding
Sensor	<ul style="list-style-type: none"> •Chemical sensor •Biosensor
Electrical field protection	<ul style="list-style-type: none"> •Cable shielding •Radar shielding
Electronic devices	<ul style="list-style-type: none"> •Smart window •Solar cell •Light emitting diode •Electrochromic display •Field effect transistor
Chemical potential protection	<ul style="list-style-type: none"> •Anti-corrosion
Charge storage	<ul style="list-style-type: none"> •Capacitor •Rechargeable battery
Semiconductor	<ul style="list-style-type: none"> •Lithography •Via-hole electroplating
Other (Miscellaneous)	<ul style="list-style-type: none"> •Gas separation membrane •Plastic welding •Conductive adhesive •Conductive gasket

1-4-3 聚苯胺

聚苯胺(Polyaniline, PANI)為導電高分子的一種，它的結構分成氧化態與還原態兩個部分，再依其不同的比例而形成不同的氧化還原態，如 Fig. 1-18 所示(MacDiarmid et al., 1989)。主鏈中， $1-y$ 部分為氧化單位(oxidation unit)，包含一個苯環(benzenoid)和一個醌環(quinoid)； y 部分為還原單位(reduction unit)，包含兩個苯環。

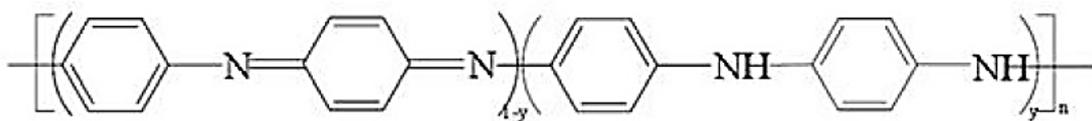
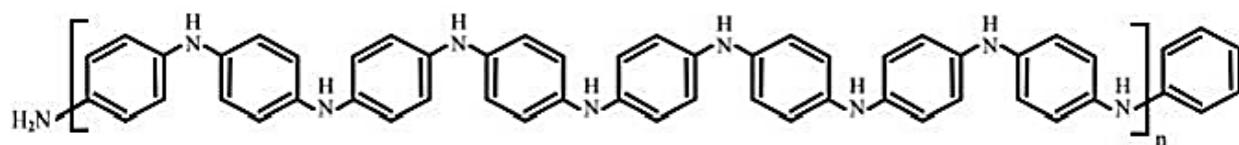
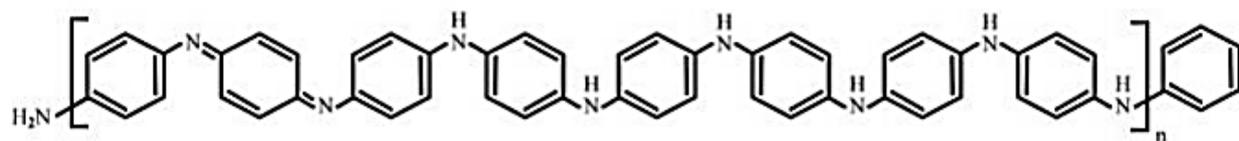


Fig. 1-18 聚苯胺不同氧化還原態結構通式(當 $y=0$ 、 1 及 0.5 時，聚苯胺的型態分別為 pernigraniline、leucoemeraldiner、emeraldine)

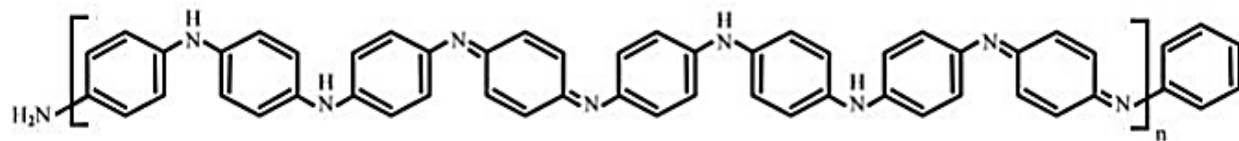
聚苯胺的結構在未摻雜(undoping)以及摻雜的情況下，會呈現出不同顏色的變化，當完全還原單位的狀態稱為 Leucoemeraldine，完全還原態，呈現淡黃色；組成 25% 為氧化單位的狀態為 Protoemeraldine，顏色為淡藍色，經摻雜後呈現黃綠色；組成 50% 為氧化單位的狀態為 Emeraldine，顏色為藍色，經摻雜後呈現深綠色；組成 75% 為氧化單位的狀態為 Nigraniline，顏色為深藍色，經摻雜後呈現藍色；組成完全氧化單位的 Pernigraniline，摻雜前後顏色皆呈現紫色，以上五種不同氧化還原態結構如 Fig. 1-19 所示。



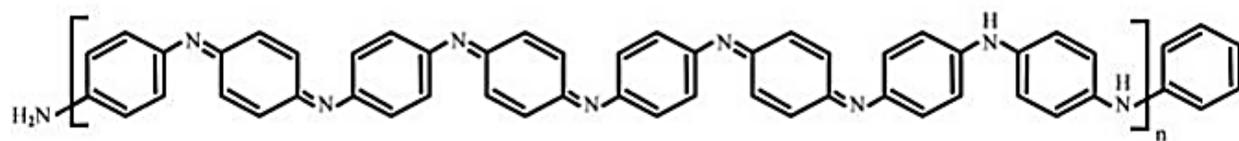
Leucoemeraldine(完全還原態, 0% imine)



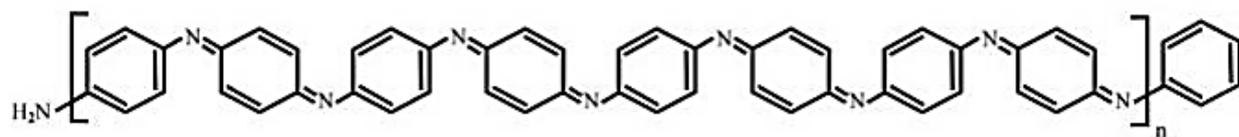
Protoemeraldine(25% imine)



Emeraldine Base(鹼式中間氧化態, 50% imine)



Nigraniline(75% imine)



Pernigraniline(完全氧化態, 100% imine)

Fig. 1- 19 聚苯胺的五種氧化還原態(吳俊鈺, 2002)

聚苯胺可藉由酸和鹼的添加來進行摻雜和去摻雜的可逆反應，來改變其導電度，如 Fig. 1-20 所示。鹼式中間氧化態(Emeraldine base, EB)經摻雜之後會變成導電性較高的鹽式中間氧化態(Emeraldine salt, ES)，結構如 Fig. 1-21 所示。這五種氧化還原態之中，完全氧化態(Pernigraniline)不具導電度，而深綠色的鹽式中間氧化態(Emeraldine salt, ES) 導電性最高。

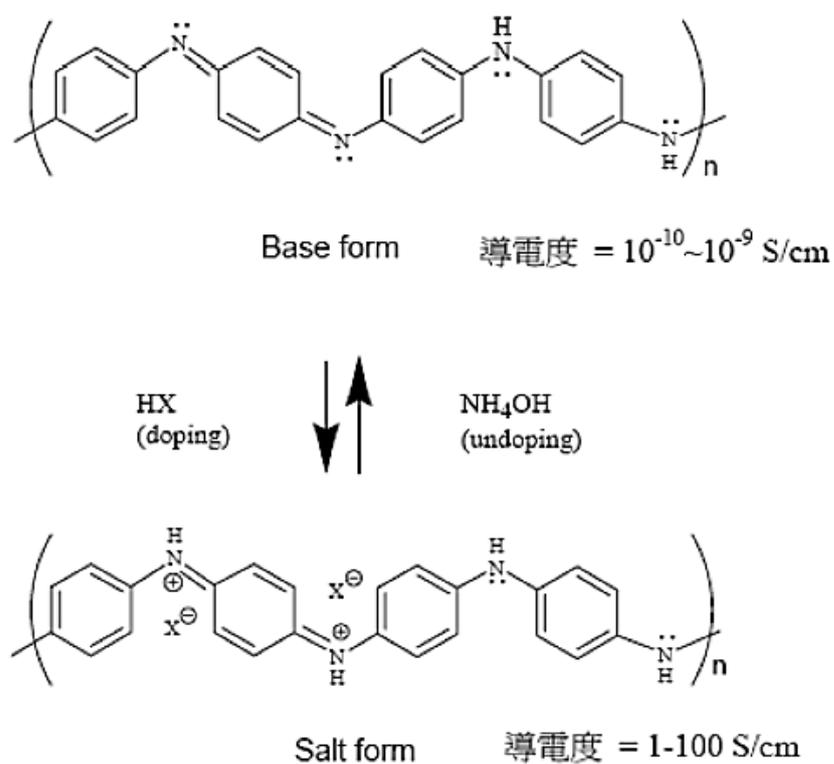


Fig. 1- 20 聚苯胺摻雜與去摻雜示意圖(詹偉成, 2003)

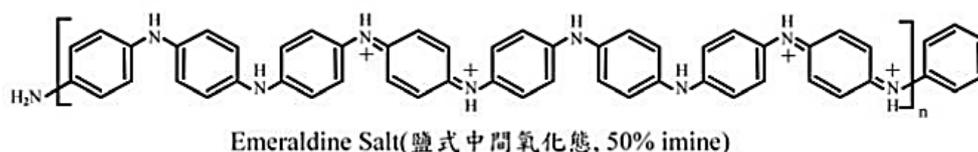


Fig. 1- 21 聚苯胺之鹽式中間氧化態示意圖

I. 聚苯胺合成方式

聚苯胺的合成方式大致上可分成三種：化學聚合法、電化學合成法與酵素催化合成法。

1. 化學聚合法：

將苯胺單體溶於酸性溶液中，再加入強氧化劑進行氧化聚合反應，一般常見的氧化劑有過硫酸銨 $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、過硫酸鉀 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、過氧化氫 H_2O_2 、重鉻酸鉀 K_2CrO_7 等。

2. 電化學合成法：

將苯胺單體溶於酸性溶液中，利用陽極氧化的方式在電極上將苯胺單體氧化聚合成聚苯胺。電化學合成法一般可分成定電流法(Galvanostatic)、定電壓法(Potentiostatic)與循環伏安法(Cyclic voltammetry, CV)，其中定電流法合成聚苯胺的結構型態為顆粒或短纖維狀；定電壓法合成聚苯胺的結構型態為鬆散粉末狀；循環伏安法合成聚苯胺的結構為均勻薄膜。

3. 酵素催化合成法：

將苯胺單體溶於適合酵素活性的緩衝溶液中，再加入氧化劑(如過氧化氫 H_2O_2)和酵素進行催化聚合反應，接著苯胺單體上的胺根會自由基化，兩個自由基化後的苯胺會互相結合形成二聚物(dimers)，而二聚物會繼續與帶有自由基的胺根結合，進而形成

聚合物，如 Fig. 1-22 所示。聚合出的導電高分子其主鏈有可能產生彼此交聯或是有支鏈生成的情況產生，而非是單一直鏈的結構，因此聚合物的電化學性質與密度會受其影響。

In aqueous phase

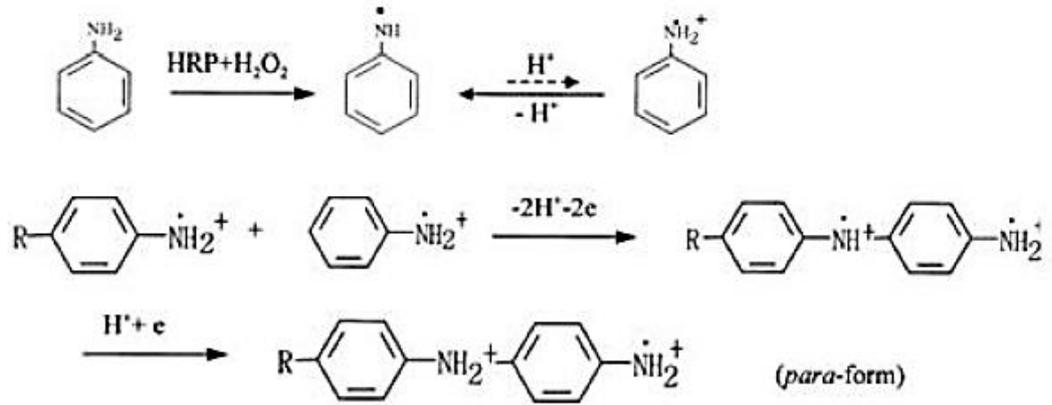


Fig. 1-22 HRP 催化苯胺形成二聚物之反應機構(Lim & Yoo, 2000)

II. 聚苯胺之性質分析

Table 1-5 為四種聚苯胺氧化型態的紫外光可見光吸收波長，完全還原態聚苯胺在 330nm 附近有吸收峰；完全氧化態聚苯胺在 330 與 500nm 附近有吸收峰；鹼式中間氧化態聚苯胺在 330 與 600nm 附近有吸收峰，後者乃是分子鏈上醌環(quinoid ring) 的激子(excitation)吸收所引起，當聚苯胺氧化程度增加時，此吸收峰會出現偏移而往更低的波長靠近，接近完全氧化態的波長；有質子酸摻雜的鹽式中間氧化態聚苯胺在 750、420 與 330nm 附近有波峰，此 750nm 吸收峰乃是鹼式中間氧化態聚苯胺經過質子摻雜後，聚苯胺主鏈上的電子形成非定域化(delocalization) 情形使共振現象提升，降低電子躍遷所需的能量，另外 420nm 吸收峰源自於自由基陽離子，因此可由這些初步判斷聚合而成的聚苯胺型態。

Table 1-5 四種聚苯胺型態之紫外光可見光吸收波長

名稱	吸收波長(nm)
Leucoemeraldine	330
Emeraldine base	330、600
Pernigraniline	330、500
Emeraldine salt	330、420、750

Table 1-6 為醞式中間氧化態主要的紅外光吸收光譜，聚苯胺的紅外光譜中吸收波長位於 1510cm^{-1} 與 1587cm^{-1} 附近會有很強的波峰產生，分別代表苯環與醞環結構的拉伸模式。隨還原程度的增加，這兩個吸收峰的強度比($A_{1587\text{cm}^{-1}}/A_{1510\text{cm}^{-1}}$)會逐漸下降，且吸收峰位置會往高波數偏移。鹽式中間氧化態的聚苯胺其 $\text{N}=\text{Q}=\text{N}$ 及 $\text{N}-\text{B}-\text{N}$ 吸收波比起醞式中間氧化態的聚苯胺要像低波數偏移，吸收強度大致相同； $\text{N}=\text{Q}=\text{N}$ 的吸收峰自 1140cm^{-1} 附近移至 1120cm^{-1} 附近(Tang, Jing, Wang, & Wang, 1988; Trchová, Šeděnková, Tobolková, & Stejskal, 2004)。

Table 1- 6 聚苯胺的紅外光吸收光譜(Tang et al., 1988)

吸收波長 (cm^{-1})	振動模式
3460	NH_2 asymmetric stretching
3380	NH_2 asymmetric stretching, NH stretching stretching
3310	H-bonded NH stretching
3170	=NH stretching
1587	stretching of C=N in $\text{N}=\text{Q}=\text{N}$
1510	stretching of C=C in $\text{N}=\text{B}=\text{N}$
1450	stretching of benzene ring
1380	C-N stretching in QBtQ
1315	C-N stretching in QBcQ, QBB, BBQ
1240	C-N stretching in BBB
1140	a mode of $\text{N}=\text{Q}=\text{N}$
1105	C-H in-plane bending on 1,4-ring
1060	C-H in-plane bending on 1,2,4-ring
895	C-H out-of-plane bending on 1,2,4-ring
800 ~ 850	aromatic, para-disubstituted, C-H out-of-plane bending
740	C-H out-of-plane bending on 1,2-ring
530	aromatic ring deformation

Q : quinonoid unit , B : benzenoid unit , B_t : trans-benzenoid unit
B_c : cis-benzenoid unit

1-4-4 聚 3,4-乙炔二氧噻吩

1988 年德國拜耳公司研發出一種新的聚噻吩衍生物—聚 3,4-乙炔二氧噻吩(Poly(3,4-ethylenedioxythiophene), PEDOT)，PEDOT 結構如 Fig. 1-23，因為乙炔二氧基位於噻吩環的 3,4-位，讓單體乙炔二氧噻吩(EDOT)無法隨意聚合在噻吩環上，因此更能有效的控制高分子形成時的結構(F Jonas & Schrader, 1991)。

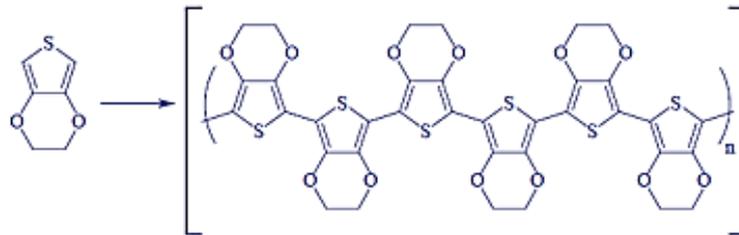


Fig. 1- 23 EDOT 與 PEDOT 的化學結構圖(葉國良, 黃功勳, & 張學明, 2010)

PEDOT 的能隙較低所以擁有優良的導電性($10\sim 10^5\text{S/cm}$)，在通過一系列的氧化聚合過程使聚合物顏色產生多種變化，如 Fig. 1-24；因此具有明顯的電致變色特性、色彩對比、高穿透性與熱穩定性等以上特性使 PEDOT 得以運用在抗靜電塗層光電二極管與傳感器上，但由於其不溶與不熔的性質也限制了其應用性，為此學者們研究後發現利用乙炔磺酸(PSS)與聚 3,4-乙炔二氧噻吩相結合，可以得到一種穩定的 PSS/PEDOT 均勻懸浮液，因此大幅增加了 PEDOT 的應用性(F Jonas & Morrison, 1997; Friedrich Jonas, Krafft, & Muys, 1995; Nikolou & Malliaras, 2008)。

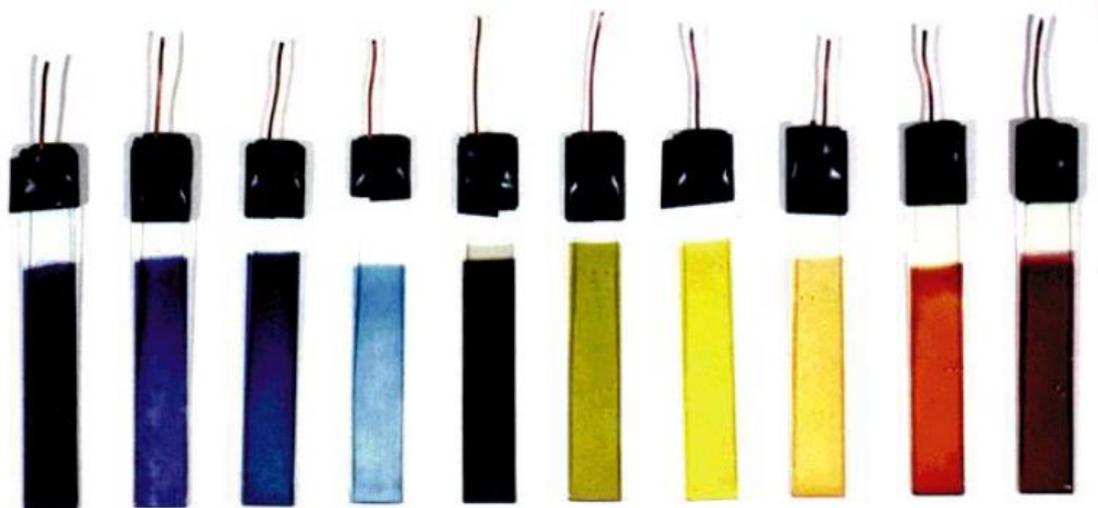


Fig. 1- 24 不同呈色之 EDOT 系列共聚物(Groenendaal, Jonas, Freitag, Pielartzik, & Reynolds, 2000)

I. 聚 3,4-乙炔二噻吩合成方式

聚 3,4-乙炔二噻吩的合成方式可分為四種：氧化聚合法、金屬錯化物偶合法、電化學法、酶法。

1. 氧化聚合反應

EDOT 是噻吩的衍生物，故可以利用氧化劑(FeCl_3 或 $\text{Fe}(\text{Tos})_3$)來進行氧化聚合反應，合成出黑色不溶的固體 PEDOT，如 Fig. 1-25。

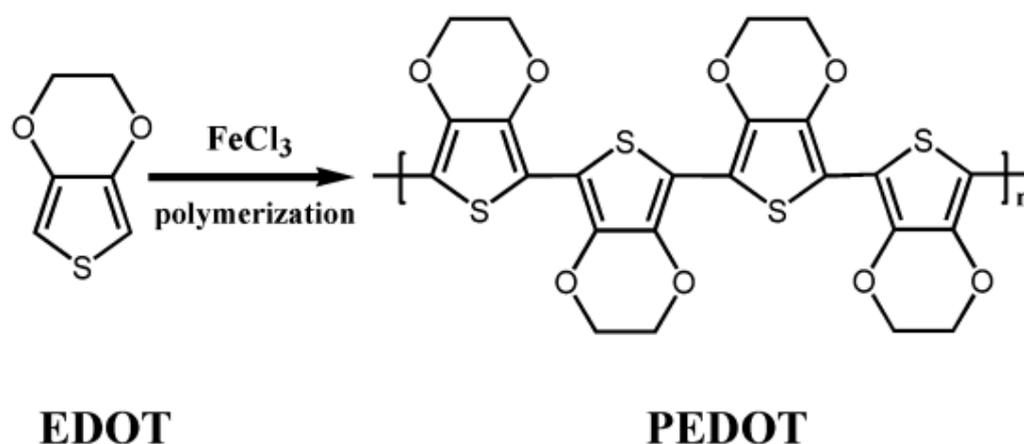


Fig. 1- 25 氧化聚合法

由於產品不溶於許多溶劑，導致無法更進一步的分析，針對這點有兩種解決辦法，第一是由 Kumar 和 Reynolds 研究發現，將 EDOT 的分子結構加入長碳鏈(>10C)，合成出可以溶解在一般有機溶劑的 PEDOT 的衍生物，並可進一步分析；第二是 BAYTRON P synthesis，德國拜耳公司將 EDOT 分散在 PSS 溶液中，以 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 作為氧化劑在室溫下反應，形成分散性良好的藍黑色 PEDOT/PSS 水溶液 — Baytron P，該溶液經過乾燥可以得到高導電度、高穿透度及耐加工的

PEDOT/PSS，結構詳見 Fig. 1-26(F Jonas & Schrader, 1991; A. Kumar & Reynolds,

1996)。

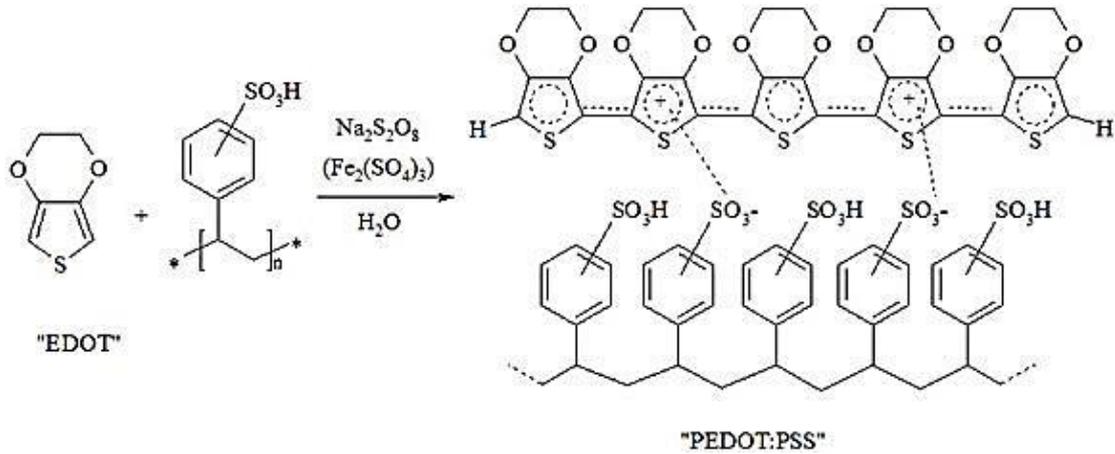


Fig. 1- 26 PEDOT/PSS 結構(Vanmaele)

2.金屬錯化物偶合反應

EDOT 可以利用金屬錯化物為催化劑($\text{Ni}(\text{dppp})\text{Cl}_2$ 或 $\text{Pd}(\text{dppp})\text{Cl}_2$)

進行偶合反應聚合成 PEDOT，反應機制如 Fig. 1-27(Yamamoto & Abla,

1999)。

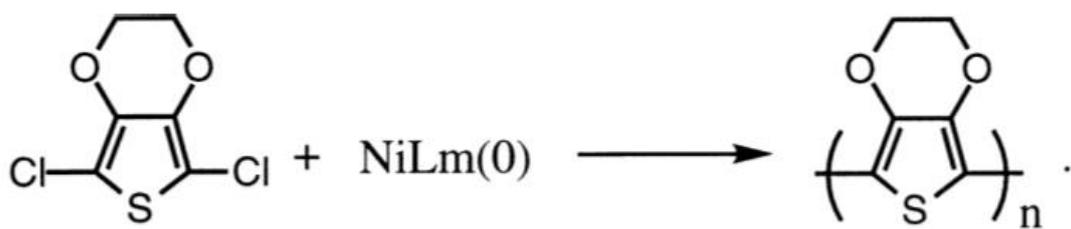


Fig. 1- 27 PEDOT 金屬錯化物偶合反應機制

3.電化學法

電化學法將 EDOT 單體溶於電解液中，使用三電極系統(工作電極、輔助電極與參考電極)中電解溶液的方法，在氧化電位下進行氧化摻雜聚合反應。單體在工作電極表面氧化形成自由基陽離子，自由基陰離子發生偶聯得到二聚物，二聚物繼續發生氧化偶聯，當分子量達一定程度成形時會直接沉積在電極表面上呈現網狀結構，反應機制如 Fig. 1-28(Cho, Yun, Nam, Son, & Lee, 2008; Sotzing, Reynolds, & Steel, 1997)。

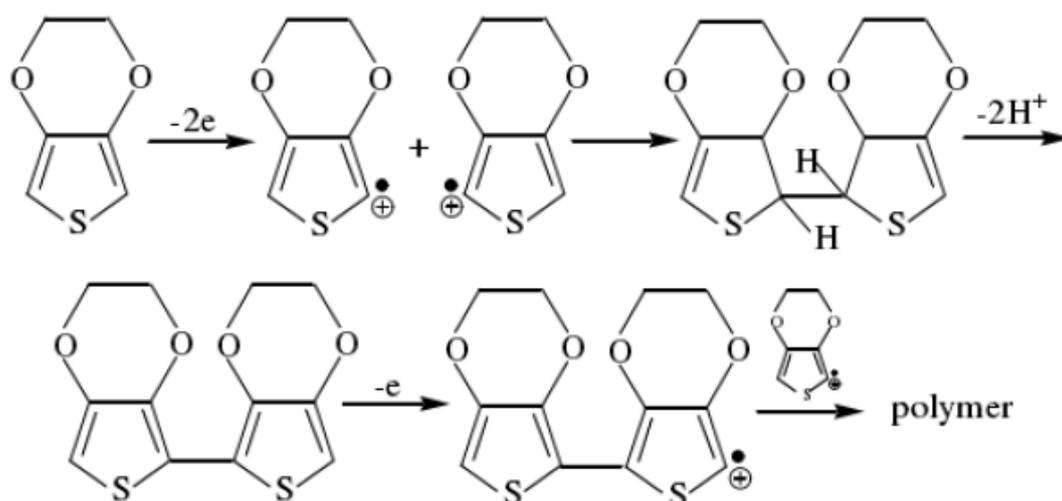


Fig. 1-28 電化學聚合法(Guimard, Gomez, & Schmidt, 2007)

電化學法是合成 PEDOT 較常見的方法，少量的單體就能在短時間內完成，能控制聚合物的膜厚且方法簡單，在電解的同時對聚合物進行摻雜可增加導電性，但是電化學合成時 EDOT 不溶於電解質溶液，且氧化電位比其他聚合物高，合成 PEDOT 膜附著在電極表面難以撥離也難於實現產物對主鏈的共價修飾(Guimard et al., 2007)。

4. 酶法

利用氧化還原酶催化具有不飽和基團的 EDOT 單體聚合，需氧化劑(e.g. 過氧化氫) 或引發劑(e.g. α -三聯噻吩)參與，酶促使 EDOT 脫去一個氫形成自由基陽離子，在模板（一般是帶有負電荷的直鏈高分子）存在下，EDOT 自由基在存在下，EDOT 自由基在模板上相連聚合形成 PEDOT 的過程，反應步驟如 Fig. 1-29(Rumbau et al., 2007)。

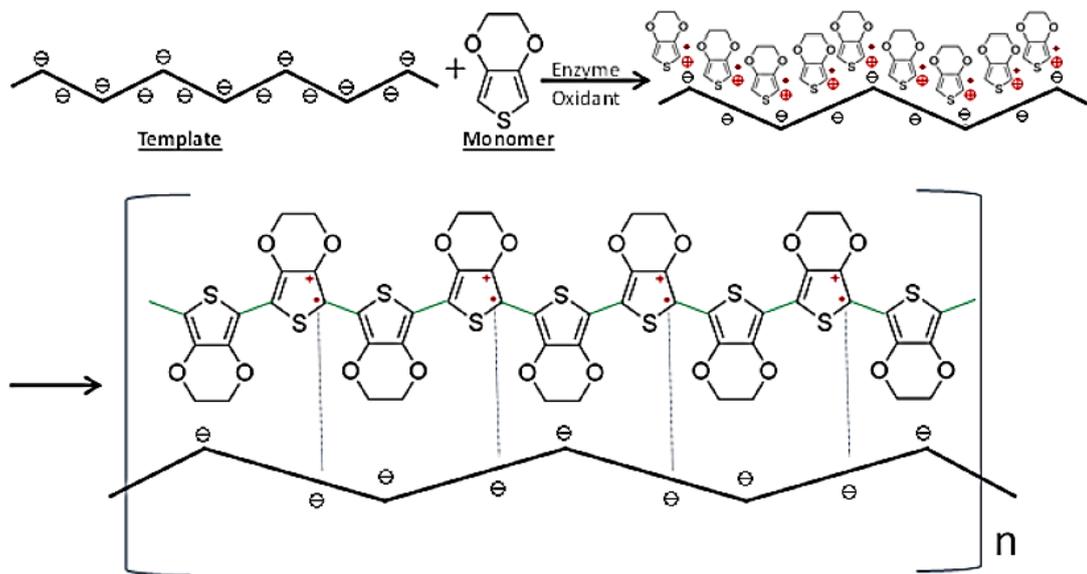


Fig. 1- 29 酶聚合法(周光瑩, 2014)

用氧化還原酶合成 PEDOT，由於酶具有活性中心的特殊結構，EDOT 單體可以快速形成自由基陽離子，提高聚合速度並縮短反應時間，並且反應過程中不需要太強的氧化劑，只需要挑選合適的模板，做好後期分離純化就可以改善 PEDOT 的應用。

1-4-5 辣根過氧化酶

辣根過氧化酶 (Horseradish peroxidase, HRP, EC 1.11.1.1.7) 為一中心帶有血紅素蛋白 (hemoprotein) 的氧化還原酶，其來源為植物辣根(Horseradish)的根部所得，分子量約為44KDa，等電點介於pH3.0 ~ 9.0，並在波長403nm下有特徵吸收波峰(Carlsson, Nicholls, Svistunenko, Berglund, & Hajdu, 2005; Glazer, 1996)。HRP在生物體的生理代謝過程中扮演重要角色並在生物化學領域有著廣泛地運用，主要是因為它具有將微弱信號放大、增強靶標分子可檢測度能力、價格較便宜、取得方便、穩定性佳等許多優點，使得HRP成為研究中最常被使用的過氧化酶。

I. 辣根過氧化酶結構

一個HRP分子的多肽鏈由308個氨基酸殘基組成，其三維結構中包含活性中心的血紅素輔基(heme group)是其催化和電活性中心，中心離子是高自旋的正三價鐵離子與肽鏈His側鏈上的N原子結合，另外有兩個鈣離子，如Fig. 1-30及Fig. 1-31所示；結構中兩個鈣離子藉由氫鍵與活性中心結合，根據研究顯示其並不參與酵素催化反應，但對於酵素結構與活性的穩定有很大的影響。HRP的活性點會與部分物質結合，進而影響到酵素的活性，包括有一氧化碳、氰化物、疊氮化物、氟化物、甲酸鹽、醋酸鹽等(Carlsson et al., 2005; Tsaprailis, Chan, & English, 1998)。

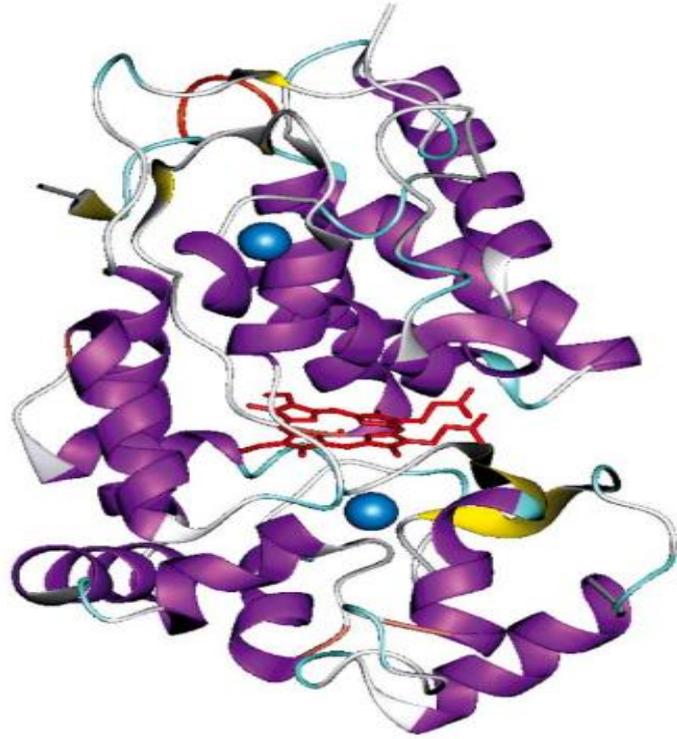


Fig. 1- 30 HRP 的三維結構，網狀部分為活性中心，球形為鈣離子，螺旋狀為 α 螺旋，箭頭處為 β 螺旋 (Veitch, 2004)

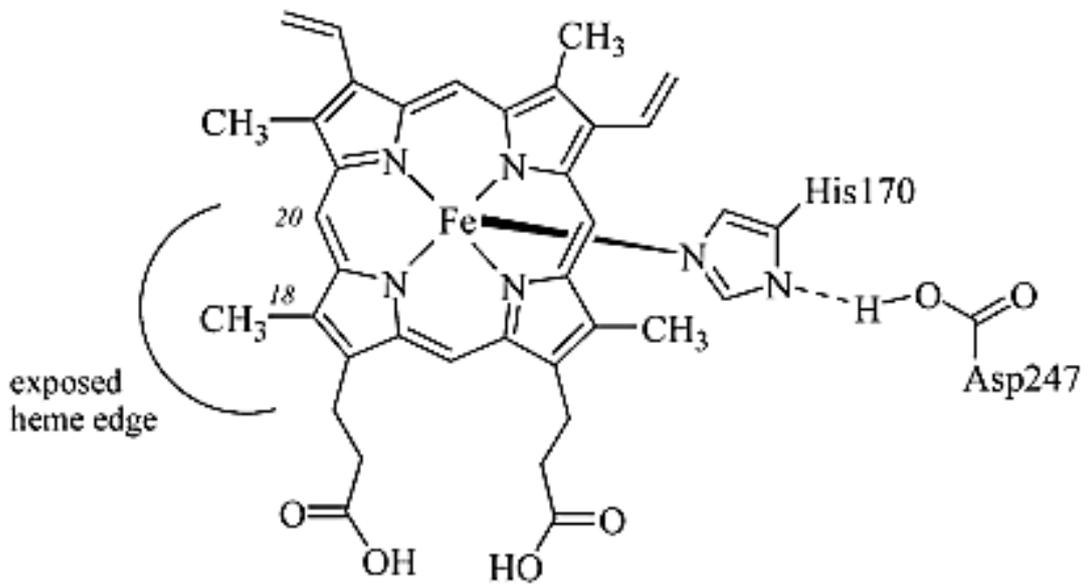
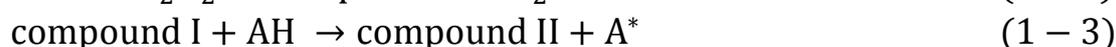


Fig. 1- 31 HRP 活性中心 Heme group 示意圖 (Veitch, 2004)

II. HRP 催化反應機制

HRP 對於反應受質的差異性不大，在反應中藉由添加過氧化氫以催化進行氧化反應，包括酚類(phenols)、芳香胺類(aromatic)、硫代苯甲醚(thioanisoles)、碘化物(iodide)、NADH、NADPH 等(賴奕成 & 林松池, 2002)。

HRP 在過氧化氫參與下催化受質的反應機制如下：



其中 compound I 與 compound II 為 HRP 中間型態，AH 為被氧化的受質，A* 為帶有自由基的產物(Everse, Grisham, & Everse, 1990)。

上述反應中，HRP 首先由正三價鐵離子活性中心與過氧化氫反應生成中間態 compound I，compound I 為含氧並具正四價活性中心且帶一正電荷，此時若有受質(AH) 加入，會與 compound I 反應脫去氫而成自由基產物(A*)，而 compound I 則會變成 compound II；compound II 為一含氧的正四價活性中心。之後 compound II 將繼續與受質反應而還原成帶正三價鐵離子活性中心；各種型態的 HRP 如 Fig. 1-32 所示。HRP 除了可以與過氧化氫反應催化多數受質外，亦可催化過氧化氫分解成水和氧氣，但此反應速率較慢。

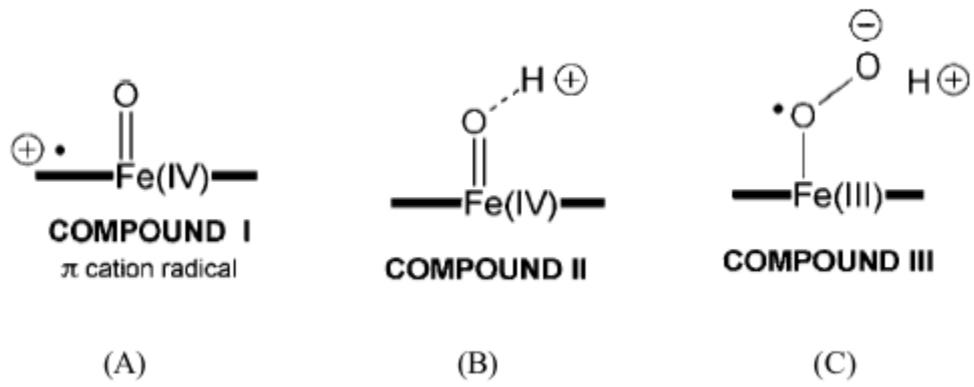


Fig. 1- 32 HRP 各型態示意圖，(A)為 compound I 中間態，(B)為 compound II 中間態(C)HRP 原型態(Carlsson et al., 2005)

III. HRP 的應用

HRP 具有催化轉化率高及熱穩定性佳等優點，在各領域的應用主要有下列幾個方面：

1. 抗體免疫檢測(ELISA)

ELISA 為一種酵素連結免疫吸附分析 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) 方法；分別將固定於基材上的抗體和與 HRP 酵素連結的抗原作混合，利用抗原與抗體會產生專一性結合之特性，清除未與抗體結合的抗原，接著加入可被 HRP 催化的底物進行催化反應，並將所得成色產物定量後，反推出抗原量的多寡(Bhunia, Durani, & Wangikar, 2001)。

2. 生物感測器

電化學生物感測器為將 HRP 固定於載體上，並針對目標物質進行催化反應，其催化氧化還原反應所產生的電流訊號藉由載體傳送，進而被電化學儀器測得；通常電流訊號會隨著目標物質濃度增加而逐漸改變。目前 HRP 電化學感測器，主要透過電流式 (amperometric) 或電壓式(pontentiometric) 兩種偵測訊號方式。除了應用於感測過氧化氫外，另外在感測葡萄糖、乙醇、體外腫瘤檢測、一氧化氮等物質上已有相當程度的研究成果(Casero, Darder, Pariente, & Lorenzo, 2000)。

3. 高分子合成

HRP 亦可應用於高分子合成方面，主要應用為催化苯胺及酚類聚合反應；以合成聚苯胺為例，一般聚合條件須在較嚴苛的環境條件下(如低 pH 值)才能進行聚合反應，而酵素催化聚合反應其最大優勢為可在溫和條件下進行，而且反應速率快、專一性高、產物分子量大、溶解度高且副產物少(Joo, Yoo, & Dordick, 1998)。

4. 廢水處理

使用 HRP 酵素處理水污染物主要優點是反應條件溫和、速率快、經固定化的酶可重複利用而降低成本且可適用的污染環境條件範圍較廣(如：pH 值、溫度、污染物濃度)，反應後不會產生有毒產物造成二次環境污染；HRP 已被證實對於去除廢水中酚類、氯酚類有害物質有極佳效果。

IV. 酵素固定化簡介

酵素固定化為在不顯著影響活性的情況下，將酵素固定於不可溶性載體，其主要優點有：(1)可重複使用酵素以及用於連續製程中而降低成本；(2)增加酵素活性的穩定性，使其在溫度、酸鹼等環境下維持活性，適用區間範圍擴大(賴奕成 & 林松池, 2002)。

常見固定化方法有下列幾種：

1. 吸附法(adsorption method)

吸附法可藉由生物分子與載體之間的凡得瓦爾力、氫鍵、偶極力以及靜電力等作用力將生物分子固定在載體上。此種方法的優點是操作方式最為簡單，對於生物分子結構與活性的影響最小，其缺點為吸附結合力容易受到環境的溫度、pH、離子濃度以及酵素的使用次數所影響而逐漸減弱。

2. 包埋法(entrainment method)

包埋法為將生物分子包埋多孔性載體中，常用來當載體的材料有明膠(gelatin)醋酸纖維素(cellulose acetate)、聚乙烯醇(polyvinyl alcohol)、聚氟烯磺酸(nafion)、聚氯乙烷(polyvinyl chloride)等高分子膜。此種方法的優點有操作簡單且固定的生物分子不易脫落，其缺點為生物分子的活性可能會被覆蓋而降低其催化能力。

3.化學鍵結法(chemical conjugation method)

化學鍵結法是藉由添加額外的物質同時與生物分子結構上的官能基及載體上的官能基產生反應並鍵結而達到固定效果，為廣泛運用的研究方法之一。此種方法的優點是鍵結力強且不易脫落，而缺點是鍵結效率差，平均每克載體只能固定約 0.02 克的酵素，且容易因為改變生物分子的結構而導致失活。

4.薄膜包覆法(membrane confinement method)

薄膜包覆法為將生物分子包覆在具有半透膜(semipermeable) 功能的薄膜之中，此方法優點為能使酵素維持較好的活性，但缺點是花費較貴，另外反應的底物及產物必須能夠穿透薄膜才可以得到產物。上述酵素固定化之原理示意圖如 Fig. 1-34 所示及綜合比較如 Table 1-7 所示(Chaplin, 2014)。

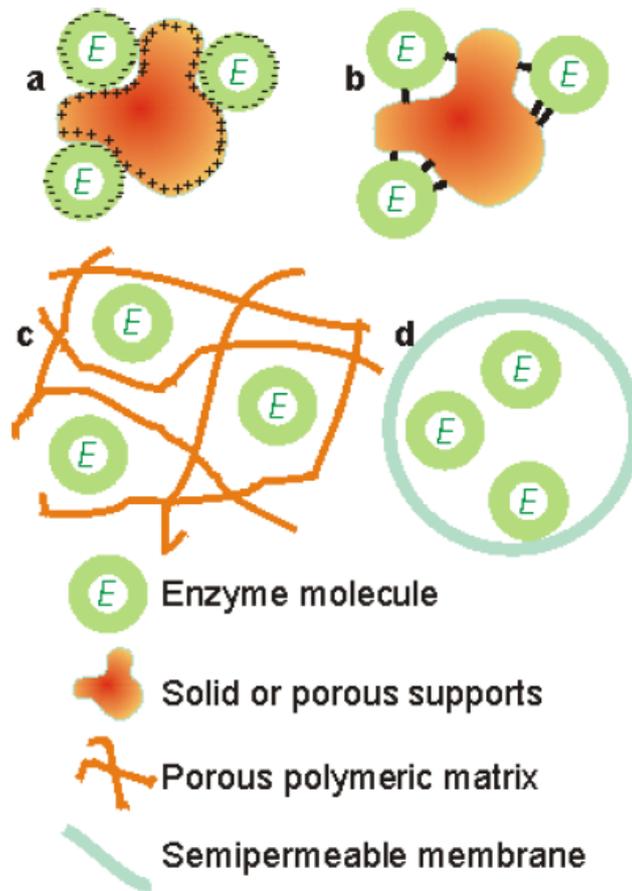


Fig. 1- 33 四種酵素固定化方法之原理示意圖，(a)吸附法；(b)化學鍵結法；(c)包埋法；(d)薄膜法(Chaplin, 2014)

Table 1- 7 四種酵素固定化方法之比較(Chaplin, 2014)

種類	吸附法	包埋法	化學鍵結法	薄膜包覆法
製備流程	簡易	困難	困難	簡易
成本	低	中等	高	高
結合力	不一定	弱	強	強
酵素穩定性 ^a	差	差	佳	佳
酵素殘餘活性	高	低	低	高
應用性	廣	廣	專一性	極廣

^a 酵素穩定性為酵素與載體結合後是否容易脫落。

第二章 研究動機

中孔矽材 SBA-15 具有高表面積、孔徑可調且均一、孔徑分佈集中與水熱穩定性高等優點，使得 SBA-15 在催化、分離技術、藥物傳輸系統等許多應用都有不錯的表現，實驗架構如 Fig. 2-1 所示。

本研究中將探討 SBA-15 製備與修飾的改善，文獻中利用兩種不同的界面活性劑可以製備出高度有序及立方對稱性良好的奈米矽材，所以在研究中我們利用不同界面活性劑進行製備改善(Kapoor & Inagaki, 2002; Ko, 1999)；此外，文獻中在製備二氧化矽奈米矽材中添加乙醇/乙醚等有機溶劑，依比例不同得到具有階層性或是不同孔徑分布之奈米矽材，在研究中我們也一併探討可能性(Du & He, 2010)，流程圖如 Fig. 2-2 所示。

為了提升希望添加提升其蛋白質包覆率及釋放效果，研究中我們添加交聯劑或改變包覆溶液極性利用官能化之 SBA-15 進行討論；此外，在進步的時代中，重金屬汙染更是不可忽視的，許多研究利用氨根與硫醇基探討重金屬吸附測試，我們選擇以氨根與硫醇基之 SBA-15 探討對重金屬 Co 離子的吸附程度，更進一步添加奈米金粒子探討吸附影響，流程圖如 Fig. 2-3 所示。最後，利用 SBA-15 作為良好載體之性能，將 HRP 酵素包覆於 SBA-15 中並以酵素催化法聚合導電高分子，探討其催化性能及可能性，流程圖如 Fig. 2-4 所示。

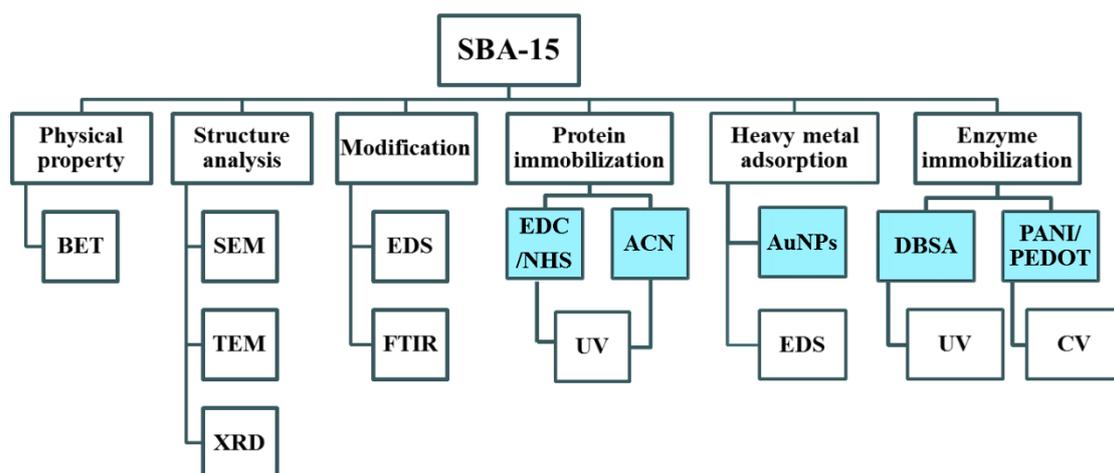


Fig. 2-1 中孔矽材 SBA-15 研究架構圖

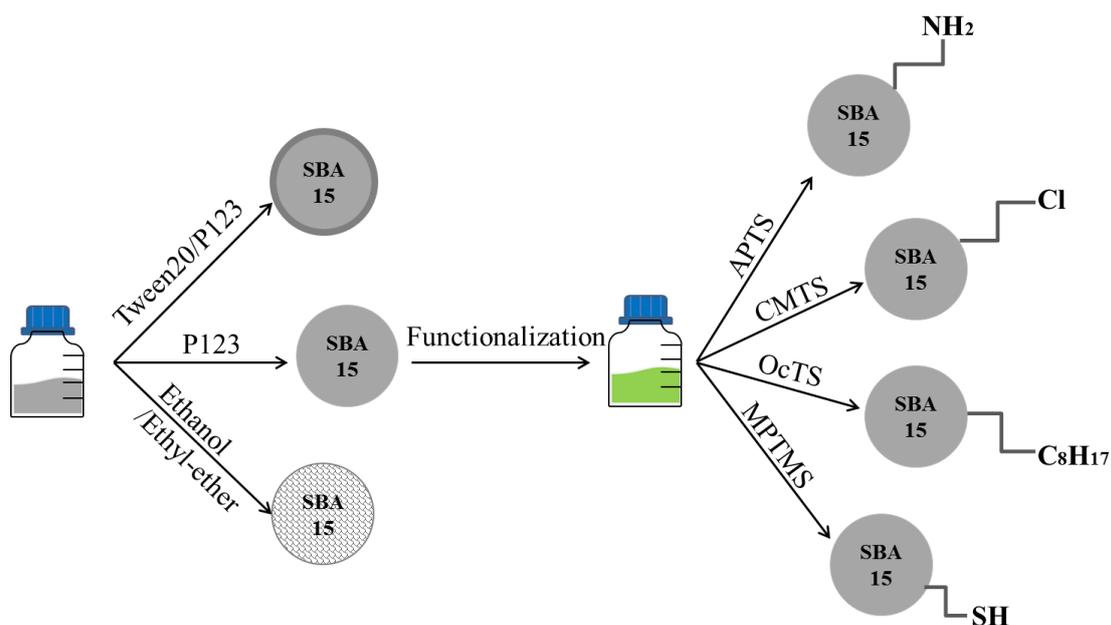


Fig. 2-2 製備 SBA-15 與修飾流程示意圖

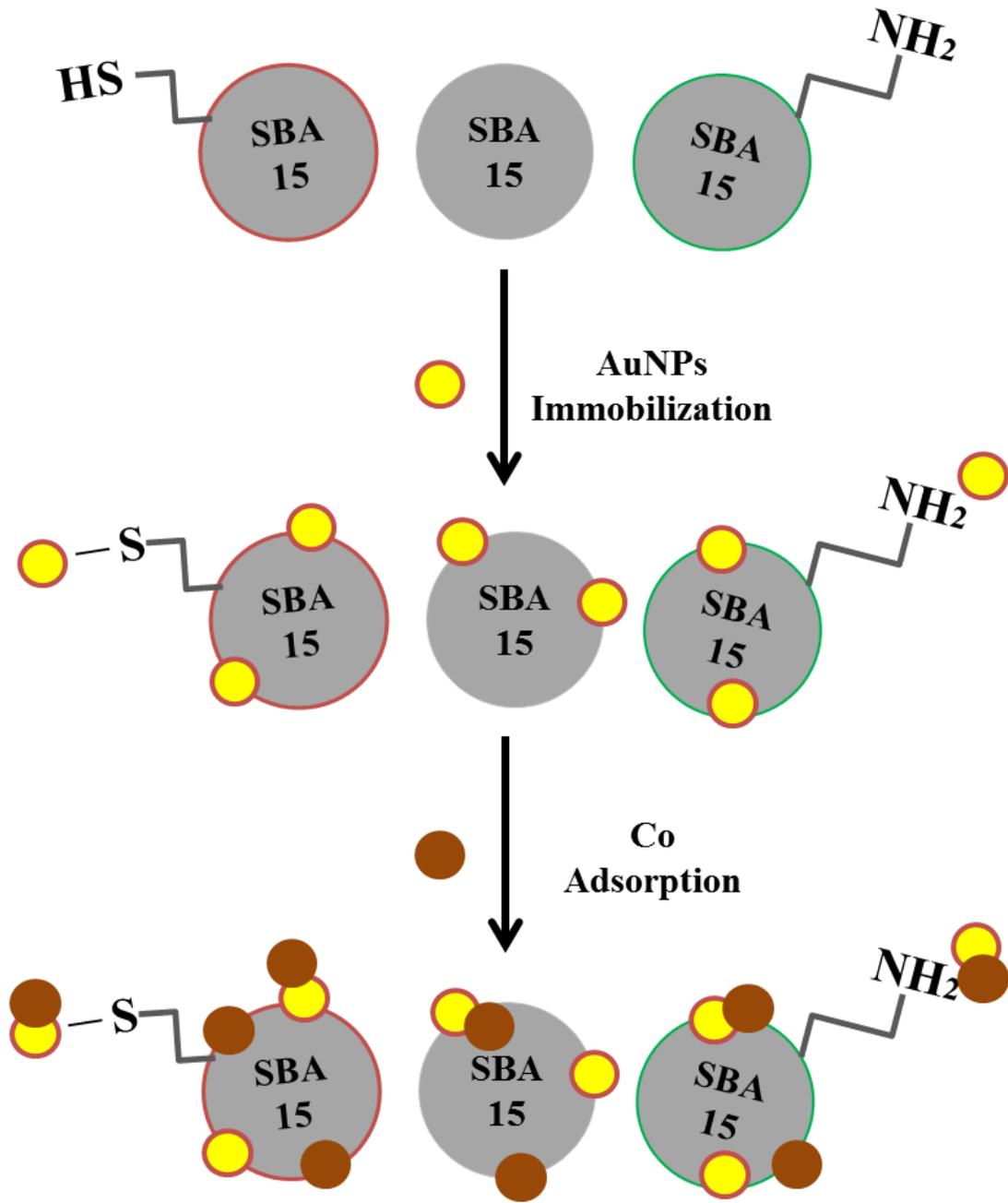


Fig. 2- 3 重金屬 Co 吸附流程示意圖

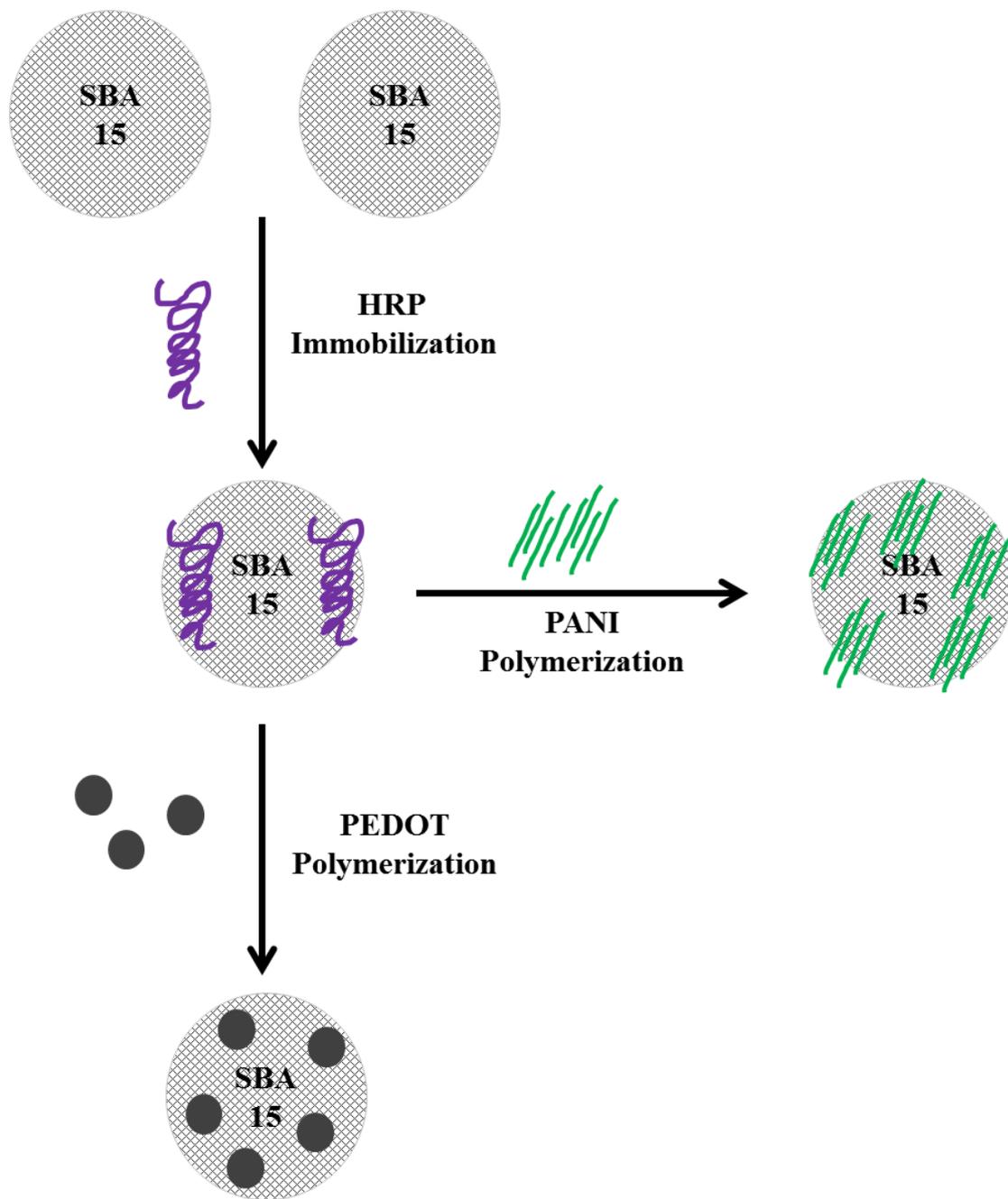


Fig. 2-4 導電高分子聚合流程示意圖

第三章 研究設備與藥品

3-1 實驗儀器

本研究中所使用儀器之出廠公司與型號如下：

儀器名稱	出廠公司	型號
一般冰箱(4°C)	TECO(Taipei, Taiwan)	RE7222
低溫冰箱(-20°C)	Fisher&Paykel (Queensland, Australia)	Standard H160
超純水機	Barnstead(Dubuque, Iowa, USA)	D4741
試管震盪器	Scientific Industries (New York, USA)	VORTEX-2
恆溫水浴槽	FIRSTEK(Taipei, Taiwan)	B206
烘箱	DENG YNG(Taipei, Taiwan)	DOV30
酸鹼度計	Suntex(Taipei, Taiwan)	SP-701
微量電子天秤	OHAUS(New Jersey, USA)	AR1530
紫外線/可見光光譜儀	Spectronic(New York, USA)	Genesys 2
高速離心機	Eppendorf(Hamburg, Germany)	Centrifuge 5840R
滅菌釜	Trident(California, USA)	EA-635
磁石攪拌器	Corning(Taipei, Taiwan)	PC-420D
電化學分析儀	CH Instruments(Austin, USA)	CHI621B
掃描電子顯微鏡	JEOL(Tokyo, Japan)	JSM-7000F
穿透式電子顯微鏡	JEOL(Tokyo, Japan)	JEM-2100
高溫爐	NEY (U.S.A.)	3-130
金屬濺鍍儀	JEOL (Tokyo, Japan)	1200
氮氣等溫吸脫附儀	Micrometrics (Norcross, U.S.A)	ASAP2020
傅立葉轉換紅外線 分光光度計	Bomem(Switzerland)	DA8.3
超音波洗淨器	Branson(U.S.A)	3200
垂直面低掠角 X 光繞 儀	Bruker(U.S.A)	D8
微量移液吸取器	Eppendorf(Hamburg, Germany)	Research 1000/200/100/10
粒徑分析儀	Malvern(West Midlands)	Mastesizer3000HSa

3-2 實驗藥品

本研究中所使用藥品皆為試藥級以上的純度，其廠商與產品編號如下：

Chemical	Company	CAS#
2, 3-dihydrothieno [3,4- <i>b</i>]-1,4-dioxin	Sigma	126213-50-1
Mesitylene (1,3,5-Trimethylbenzene , TMB)	Sigma	108-67-8
Poly(ethylene glycol) –block -poly(propylene glycol)-block- poly(ethylene glycol) ,P123	Sigma	9003-11-6
Tetraethoxysilan, TEOS	Sigma	13-190-3
Hydrochloric acid	Merck	7647-01-0
Hydrogen Peroxide	Merck	7722-84-1
Aniline	Merck	62-53-3
Gold chloride hydrate	Sigma	16903-35-8
Sodium citrate	Sigma	6132-04-3
Poly(styrene sulfonic acid) sodium salt, M.W.300,000 (PSS)	Alfa Aesar	25704-18-1
Potassium chloride	Merck	7447-40-7
Bio-Rad Protein Assay Kit	Bio Rad	7664-38-2
Albumin, Bovine (BSA)	Sigma	9048-46-8
Cobalt(II) chloride, anhydrous (Cl ₂ Co)	Alfa Aesar	7646-79-9
1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride ,EDC	Sigma	25952-53-8
N-Hydroxysuccinimide, NHS	Thermo	6066-82-6
Chloromethyltriethoxysilane	Sigma	15267-95-5
n-Octyltriethoxysilane	Alfa Aesar	2943-75-1
(3-Aminopropyl)triethoxysilane	Alfa Aesar	919-30-2
(3-Mercaptopropyl)trimethoxysilane	Sigma	4420-74-0
Toluene	Tedia	108-88-3
Ethyl ether	Sigma	60-29-7
Ethanol	Sigma	64-17-5
Acetonitrile	Sigma	75-05-8
Graphite	Fluka	7782-42-5
Critic acid	Sigma	77-92-9
Horseradish peroxide	Sigma	9009-99-0
Sodium phosphate dibasic	Sigma	7558-79-4
Sodium phosphate monobasic	Sigma	7758-80-7

Sodium hydroxide	Merck	1310-73-2
1-Step™ ABTS	Thermo	30931-67-0
Paraffin oil	Fluka	8012-95-1
Pt wire		

3-3 研究設備簡介

3-3-1 掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope ; SEM)

掃描式電子顯微鏡的基本構造可以參考 Fig. 3-1，成像原理主要是由電子槍發射出電子束，經過一組磁透鏡聚焦，聚焦後用遮蔽孔徑來選擇電子束的尺寸，通過一組控制電子束的掃描線圈，再透過物鏡聚焦後將電子束打在試片上，經由試片上側裝的訊號接收器，可以擷取二次電子或是背向散射電子進而產生成像。

使用程序：(待測樣品觀測前需利用烘箱方式乾燥 12 小時)

將碳雙面膠黏貼於銅柱載台上，接著以牙籤沾取少量樣品沾附於碳膠帶上，並用吹球將未沾附的樣品去除→樣品固定後，用濺鍍機將銅柱濺鍍上一層白金(濺鍍條件:20 mA、80 秒)，濺鍍白金後，即將銅柱送入機台進行觀測。

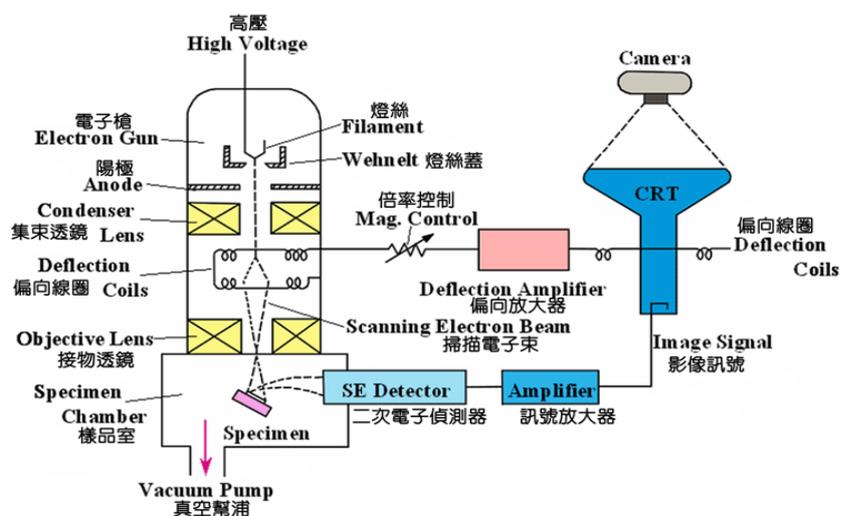


Fig. 3-1 掃描式電子顯微鏡之構造圖

3-3-2 穿透式電子顯微鏡 (Transmission Electron Microscope ; TEM)

以加速和聚集的電子束投射到非常薄的樣品上，電子與樣品中的原子碰撞而改變方向，從而產生立體角散射；散射角的大小與樣品的密度、厚度相關，因此可以形成明暗不同的影像，影像將在放大、聚焦後在成像器件上顯示出來。

使用程序：樣品需與 70% 乙醇混合，並放入超音波震盪 20 分鐘，取 1 μ l 混合液滴於專用銅網上，並於室溫下乾燥，待銅網呈現乾燥狀態後，將銅網與載具組裝後移至機台進行觀測。

3-3-3 UV/Vis 分光光度儀

當分子中的電子間遭受到光線的照射時，會吸收特定的能量，一般而言，不同的光線能量會造成不同的電子躍遷，在紫外光/可見光的範圍，即形成 UV/VIS 光譜；蛋白質與 BioRed 指示劑反應後，會在波長 595nm 時有明顯的吸收峰，因此研究中可以利用 UV/VIS 光譜儀來檢測蛋白質的含量。

使用程序：開啟儀器熱機 30 分鐘→將儀器轉為 PC control→由電腦開啟程式 UVProbe2.33，並且與儀器連線→由電腦程式上面設定波長與檢測條件→將樣品放入樣品槽內，蓋上蓋子後即可掃描→樣品的處理步驟同 5-3-1 VI. 之實驗步驟。

3-3-4 氮氣等溫吸/脫附儀 (N₂ Adsorption / Desorption ; BET)

氮氣吸附的方法是利用液態氮在 77 K 的時候對樣品進行物理吸附，在不同的分壓之下對氮氣吸附量的差異進行運算，最後得到樣品的等溫吸附曲線、比表面積、孔體積與孔徑分布等物理性質。

I. BET (Brunauer-Emmett-Teller) 表面積求法

在適當的 P/P₀ 的範圍中，根據 3-1 式作圖，便可求出樣品的表面積。

$$\frac{p}{V(p_0-p)} = \frac{1}{V_m C} + \frac{(C-1)p}{V_m C p_0} \quad (3-1)$$

其中 V 為氣體在壓力 P 時的吸附體積；V_m 為氣體在固體上到達單層吸附之氣體體積；P 為實驗溫度下之壓力；P₀ 為實驗溫度下吸附氣體之飽和蒸氣壓；C 是常數。

II. BJH (Barrett-Joyner-Halenda) 孔洞大小分布

樣品的孔洞大小分析是依照在特定相對壓力(P/P₀)時，氣態的被吸附物以毛細凝結現象被吸入樣品的圓柱型孔洞之中，由相對壓力的值代入 Kelvin equation (3-2)

$$\ln \frac{P}{P_0} = - \left(\frac{2\gamma v \cos\theta}{r_k RT} \right) \quad (3-2)$$

其中 P/P₀ 為相對壓力，γ 為冷凝液體的表面張力，v 為吸附物冷凝在物質表面之莫爾體積，θ 為冷凝表面與孔壁的接觸角，r_k 為冷凝表面的曲率半徑。

若以氮氣為吸附質，則方程式可改寫成：

$$r_k = \frac{4.15}{\log\left(\frac{P_0}{P}\right)} \quad (3-3)$$

根據 t 與 r_k 值可求得孔洞半徑 r ，即 $r=t+r_k$ 。針對不同的相對分壓下，可以計算出 t 值與 r_k 值，再根據這些數據並配合不同分壓下的吸附量作圖可獲得孔洞大小的分布圖。

使用程序：

1. 秤取 0.2~0.5 g 的樣品置於石英管中，以專用的管塞塞住，防止樣品流入儀器內。
2. 將石英管放置於除氣(degases)處抽真空，並用加熱包加熱來去除樣品表面的水分與雜物。
3. 完成上述步驟，將樣品秤重並連接石英管至樣品分析處。
4. 將石英管慢慢浸入液態氮中，接著設定好裝置後，由電腦操作即可開始偵測。

3-3-5 Zeta-potential (ζ 電位)

由於 SBA-15 在中性環境下帶負電可藉由靜電作用力吸引帶正電的蛋白質分子；因此，想藉由 ζ 電位的量測找出適當的 pH 環境，以提高載體與蛋白質之間的靜電吸引力，進而提高蛋白質藥物的吸附量。

使用程序：

1. 各種條件準備 5 mg 的 SBA-15 與欲檢測之蛋白質，分別溶於 30 ml 各 pH 的磷酸鉀緩衝液中。
2. 準備 3 支 10 ml 針筒分別注射樣品、去離子水與酒精(去離子水與酒精是作為清洗儀器管件用)。
3. 每一組樣品感測前後需先用酒精洗管件，再用去離子水清洗，皆須清洗 3 次。
4. 注射 5 ml 欲檢測之樣品，由儀器檢測其濃度訊號是否恰當，若合宜則可以開始進行檢測，每個樣品檢測 3 次。
5. 所有樣品檢測完畢之後，需用大量的去離子水清洗管件避免樣品殘留，並且在最後注入酒精作為管件保存液即可關閉儀器。

3-3-6 Bio-Rad 蛋白質定量分析

以 Bradford protein-binding assay 方法為基礎的 Bio-Rad 蛋白質分析試劑，利用 Coomassie Brilliant Blue G-250 與蛋白質結合，G-250 會從紅棕色轉變成藍色，同時最大吸收波長會從 465nm 轉為 595nm，因此可以在 595nm 的波長下進行蛋白質的定量分析。

Fig.3-4 其反應機制示意圖，Coomassie G-250 分子在酸性環境下與蛋白質側鏈上的鹼性或芳香基團形成複合物而有顏色上的變化，因此可以定量蛋白質。優點是 G-250 與蛋白質結合的反應時間短(約 2 分鐘)，且結合後的複合物(complex)可以長時間(約 1 小時)的維持在溶液中，偵測靈敏度為 1 ug/ml 的蛋白質濃度。但是須注意蛋白質在溶液中的 pH 值，鹼性的環境會影響偵測結果。

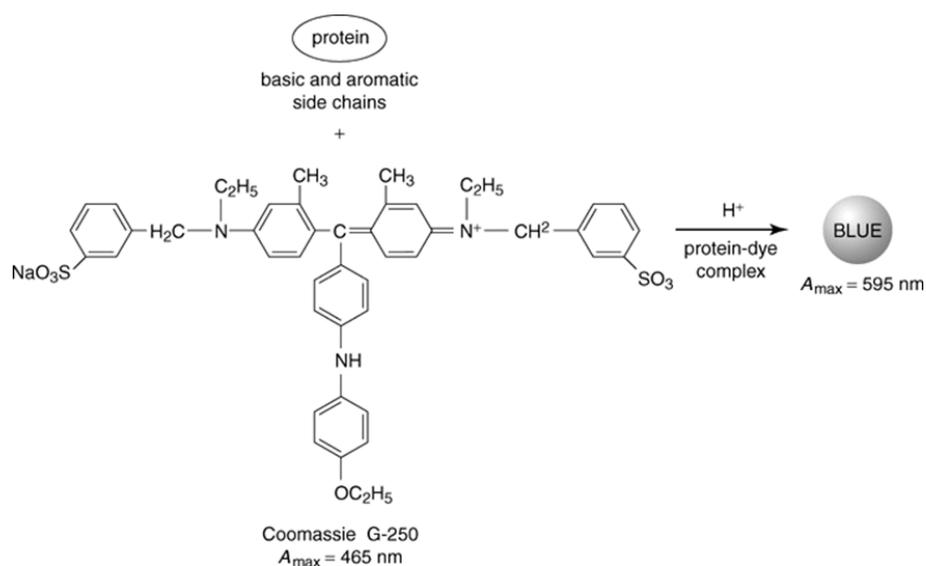


Fig. 3-1 Coomassie Blue G-250 與蛋白質結合反應示意圖

3-3-7 傅立葉轉換紅外光譜 (Fourier Transform Infrared Spectrometer ; FTIR)

紅外線光譜學是研究某一化學物種如分子、離子、或自由基等，吸收紅外線電磁波的能量或在受激態時發射紅外線輻射，所產生此化學物種在電子基態時純轉動、純振動或轉動-振動的能量變化；由於紅外線光譜能提供分子特性的資料，而且除了光學異構物外，幾乎沒有二個有機化合物的光譜完全一樣。因此藉助紅外線光譜的研究，我們可以決定分子的結構，分子振動鍵的性質以及了解某些分子性質，同時也可以鑑定或分析某一化合物的存在與含量，應用範圍甚廣。

使用程序：

1. 預先將溴化鉀(KBr)研磨成粉，並置於烘箱中保存。
2. 將 KBr 粉末研磨後，置於錠劑成型器內，壓錠成型後即可放入 FTIR 儀器中測定背景值。
3. 將欲檢測之樣品取適量與 KBr 粉末混合研磨，置於錠劑成型器內，壓錠成型後即可放入 FTIR 儀器中進行檢測分析。

第四章 製備介孔奈米矽材

4-1 實驗目的

介孔奈米矽材之形成一般機制乃利用有機界面活性劑(surfactant)為模板(template)，以有機－無機分子間的自我組裝或自我形成(self-assemble or self-organization) 孔洞結構(Suzuki, Ikari, & Imai, 2004)。介孔奈米矽材孔徑調控是成為有效工具的主因之一，增大孔徑大小不僅可以擴大它對金屬氧化物大分子、大體積功能基團選擇入孔的範圍，而且為包覆於孔道內的離子或原子簇提供了較大的空間，有利於反應物和溶劑分子在孔道中擴散(屈玲 & 佟大明, 2002)。由 He 等的研究發現，利用不同比例的乙醇/乙醚助溶劑在製備階層奈米矽材(Hierarchically Mesoporous Silica Nanoparticles, HMSNs)過程中添加，可以依比例得到不同型態且有良好孔洞結構的階層奈米矽材，其中 HMSNs 有助於奈米粒子包覆、催化反應進行、物質和分子運輸與表面官能化等可能優點(Du & He, 2010)。

本研究主要是以鹽酸為溶劑，利用三嵌段共聚高分子(P123)為界面活性劑，主要分三部分，第一部分為調控擴孔劑(TMB)濃度研究孔徑大小變化，第二部分是利用 Tween20 / Tween80 / Triton X-100 等三種不同非離子性界面活性劑以不同比例製備介孔奈米矽材，第三部分為添加有機溶劑嘗試製備出不同孔洞結構之中孔矽材。

4-2 實驗原理

4-2-1 孔徑調控方法

本研究是利用添加有機擴孔劑—非極性分子 TMB 來調整孔徑大小，進一步探討 TMB 濃度影響孔徑的變化。

1. 調節界面活性劑碳鍊長度

MCM-41 的孔徑大小與所用界面活性劑分子的烷基鏈長有關，其孔徑隨著界面活性劑碳鍊長度增加而增大 (Huo, Margolese, & Stucky, 1996)。使用季銨鹽界面活性劑 $C_nH_{2n+1}(CH_3)_3NBr$ ($n=8、10、12、14、16、18$) 可合成出大小介於 1.8~3.8 之間的 MCM-41，而且每增加一個碳會使孔徑增加 0.22nm (Luca, MacLachlan, Hook, & Withers, 1995)。

2. 合成後處理法

Khushalani 等發現晶格參數和孔徑的增大膨脹效果可由後處理法來實現，他利用兩步合成法，在 70°C 合成出的 MCM-41 接著再 150°C 下反應 1~10 天後，其孔徑逐漸增加，即合成水熱處理調節孔徑的方法使介孔結構發生重排的過程，進而獲得大孔徑結構有序的 MCM-41 (Khushalani et al., 1995) (Sayari, Liu, Kruk, & Jaroniec, 1997)，雖然此法合成高質量、可調孔徑的 MCM-4，方便又有效的方法且在合適的溫度和時間下，可有效地避免由於擴孔而產生的結構有續性下降問題，但是擴孔後只可達 6.5nm。

3. 添加有機擴孔劑

在界面活性劑膠團中加入增溶疏水性有機分子，可改變膠團的大小和形狀，明顯增大介孔奈米矽材孔徑；添加的有機分子可以是極性分子也可以是非極性分子。

- (a) 非極性分子：通過添加 1,3,5-均三甲苯(TMB)或直鏈烷烴等非極性分子，在界面活性劑水溶液中加入非極性有機物質由於發生了增溶作用而使膠束脹大。
- (b) 極性分子：通過添加叔戊醇進入兩親區域，增大了疏水區的體積，使膠團從球狀向棒狀變進而增大膠團體積，達到擴孔效果。
- (c) 混合助模板劑：Blin 等發現使用癸烷和三甲苯同作為膨脹劑擴孔，其濃度與晶化時間對產品最終結構有很大影響(Blin, Otjacques, Herrier, & Su, 2000)。

4-2-2 孔洞性質分析

中孔材料之孔洞性質分析可透過等溫吸/脫附儀來進行，於適當條件下讓氣體分子在分析材料上達到分子完全吸附之吸附量，再根據吸附的條件、吸附分子的大小與吸附量來計算比表面積、孔洞體積及孔徑大小。

中孔材料的等溫吸/脫附曲線會隨著分析材料的孔洞性質不同而有所變化，Fig. 4-1 為不同孔徑之中孔材料 MCM-41 以 Ar 氣體進行等溫吸脫附分析的吸附曲線圖，由圖中可看出於吸附曲線的部分，孔徑越大的中孔材料達完全吸附狀態須於較大分壓方能完成。當壓力上升時，進行吸附的氣體分子開始在孔洞內凝結而產生毛細現象 (capillary condensation)，造成吸附量急劇增加，而孔徑越大須於較大的壓力下方能產生毛細現象；在脫附曲線部分，中孔材料的脫附曲線常具有遲滯現象(hysteresis)產生，此遲滯程度會隨著所吸附材料的孔徑大小成正比關係，如 Fig. 4-1 中之脫附曲線所示，隨著孔徑增加，其脫附曲線越偏離吸附曲線代表遲滯現象越明顯。

另一方面，由吸/脫附曲線亦可看出中孔材料的孔徑大小關係，Fig. 4-2 (a) 為 MCM-41 與 SBA-15 於氮氣分子下進行之等溫吸/脫附曲線圖，圖中可明顯看出孔徑較大的 SBA-15 比 MCM-41 有較明顯的遲滯現象產生，且 SBA-15 之脫附曲線呈現兩段斜率，代表所分

析之 SBA-15 中孔材料同時存在兩種不同孔徑，如 Fig. 4-2 (b) 所示。

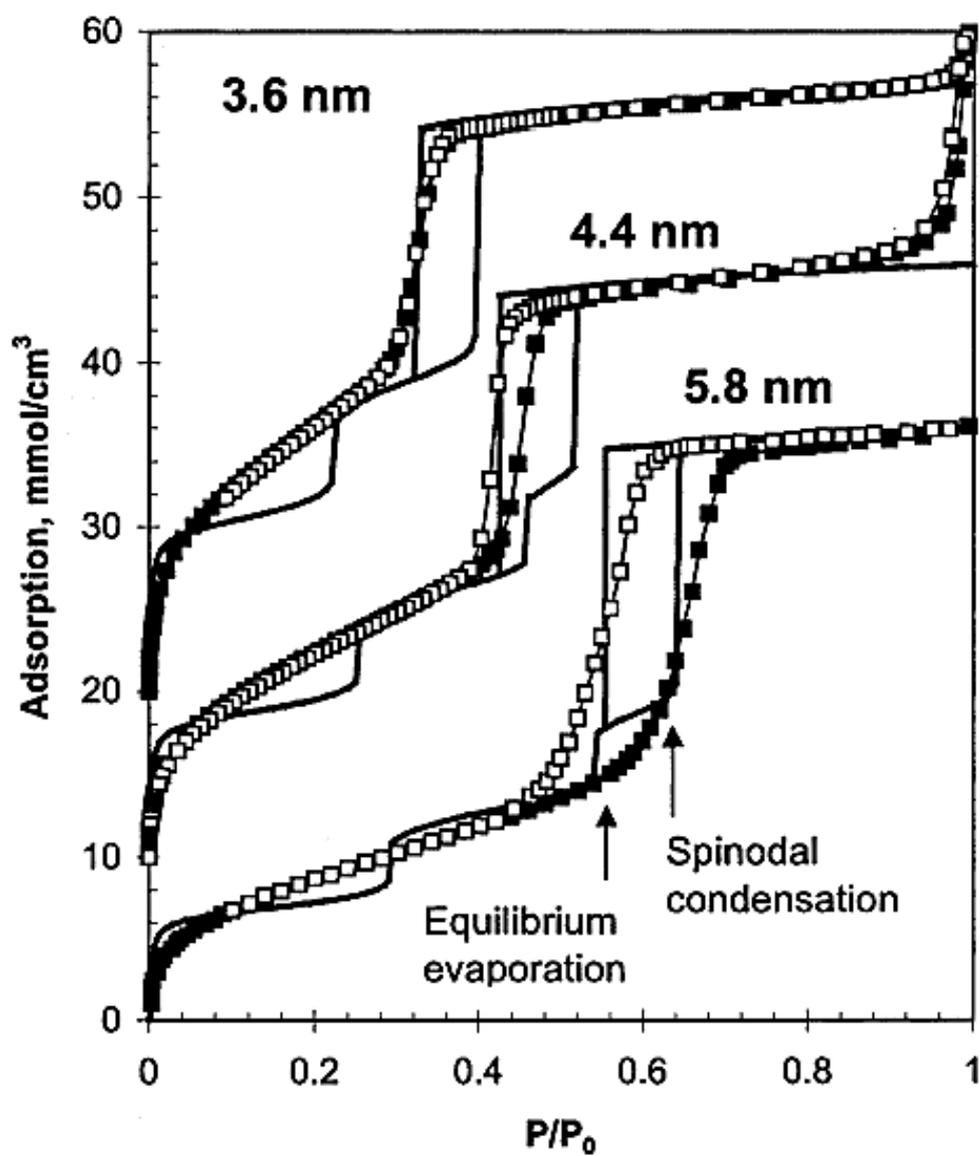


Fig. 4- 1 MCM-41 之氫氣吸/脫附曲線(Ravikovitch and Neimark 2001)

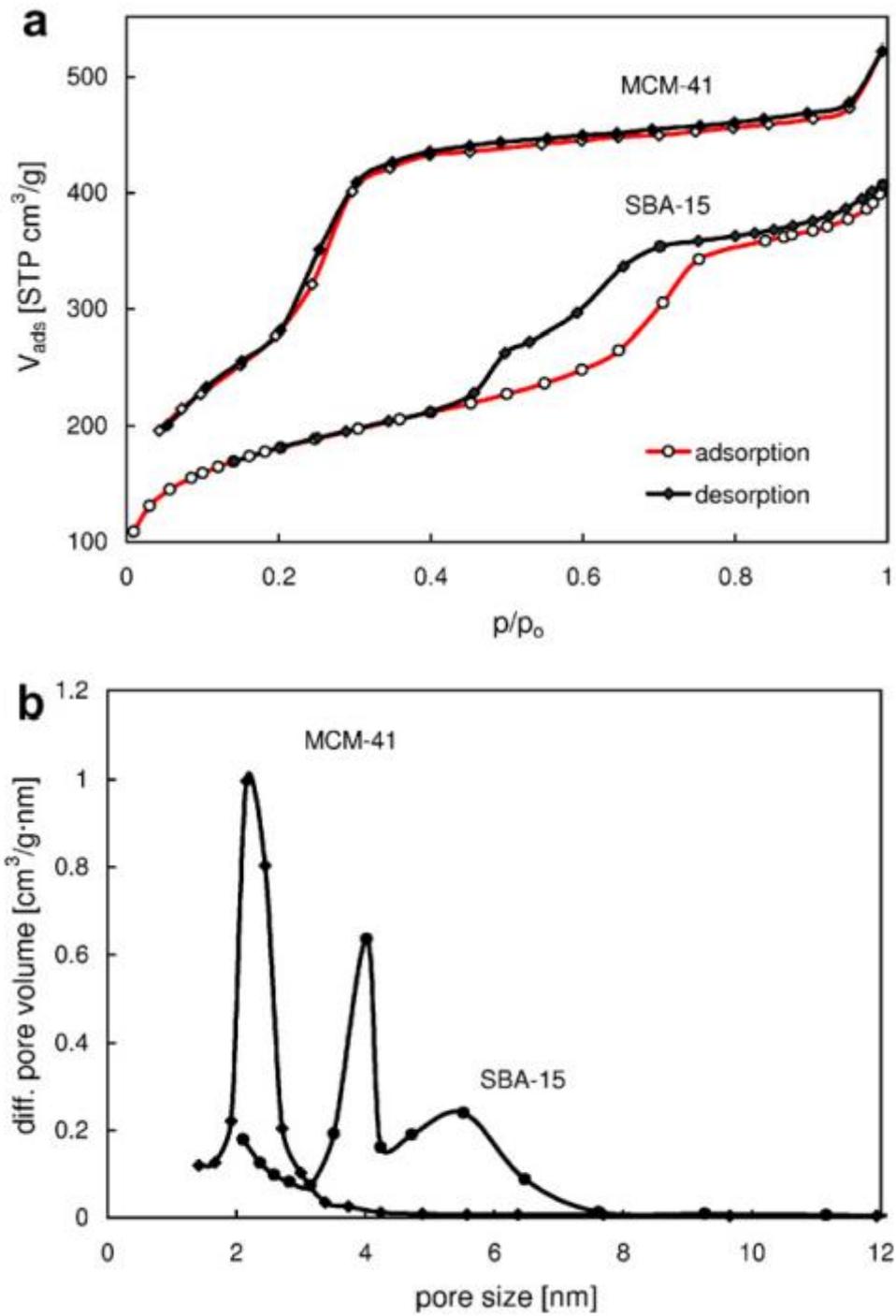


Fig. 4- 2 MCM-41 與 SBA-15 之 BET 分析

(a)氮氣吸/脫附曲線(b)孔徑分布圖 (Makowski and Kustrowski 2007)

SBA-15 之孔徑大小與孔洞結構，可經由合成過程中添加擴孔劑來調整。根據文獻中，Lettow 等人的研究指出，使用三甲基苯為擴孔劑添加於合成溶液中，其孔徑大小會隨三甲基苯添加量呈正比關係，如 Fig. 4-3 所示，圖中孔徑大小與擴孔劑添加量呈現兩段線性正比關係，第一段為擴孔劑添加量介於 0~20wt% ，於此添加量區間所合成孔洞結構為直孔洞，孔徑大小介於 6~12nm，其 BET 等溫吸脫附曲線分析結果如 Fig. 4-4(a) 所示；當擴孔劑添加量介於 30~50wt% ，孔洞結構為球形且大小介於 22~42nm ，其 BET 等溫吸脫附曲線形代如 Fig. 4-4 (C) 所示，由於此類型之孔洞型態有別於添加量介於 0~20wt% 之直孔洞，故將這類之中孔矽材料另命名為 MCF (Mesocellular foam)系列；擴孔劑添加量介於 20~30wt% 區間屬於過度區域，孔洞結構型態會介於兩者之間(Lettow et al.2000)。

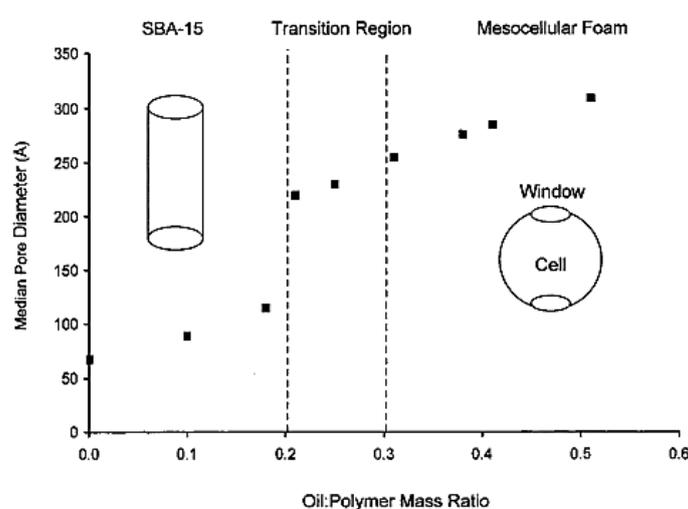


Fig. 4-3 不同擴孔劑比例合成之矽材孔徑大小趨勢圖 (Lettow et al.2000).

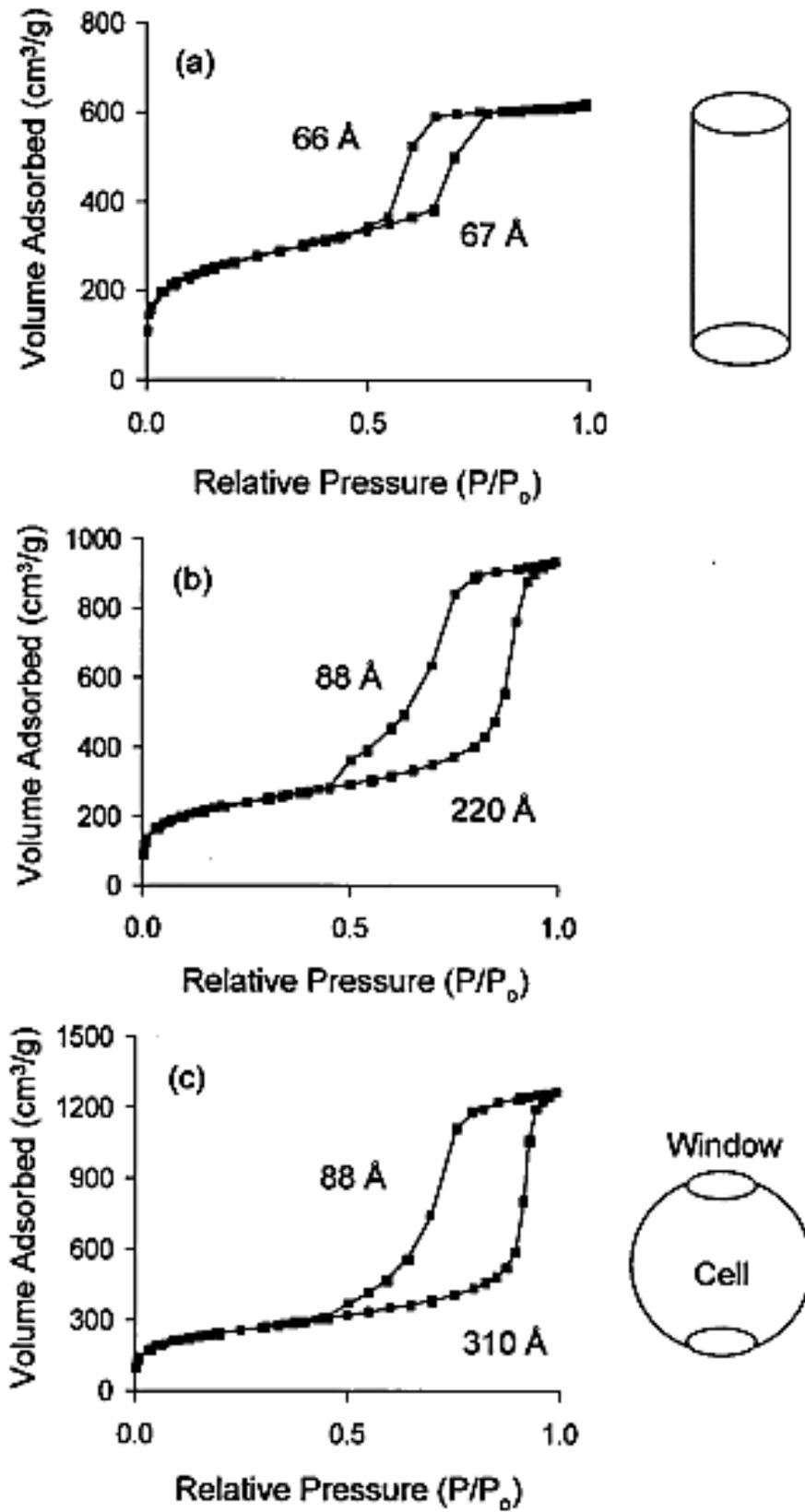


Fig. 4-4 不同擴孔劑比例合成矽材之氮氣吸/脫附曲線

(a) 0.00 (b) 0.21 (c) 0.50 (Lettow et al.2000)

4-3 實驗步驟

4-3-1 合成過程攪拌影響

1. 秤取 1.49 g KCl 加入 60 ml 2 M HCl 溶液於 100 ml 血清瓶中，待 KCl 溶解後加入 2 g P123，將其置於 35°C 夾套式水浴中攪拌使 P123 完全溶解。
2. 加入 1.77 ml TMB(98%) 並持續攪拌 2 小時後，接著加入 4.65 ml TEOS (98%) 劇烈攪拌 10 分鐘後，於 35°C 下靜置 24 小時。
3. 經過 24 小時的合成後，將其移至 100 °C 的烘箱中進行水熱反應 24 小時(須將瓶蓋旋緊避免水分散失)。
4. 將血清瓶移至抽風櫃中待其降至室溫，進行抽氣過濾，以大量的去離子水(約 800 ml)清洗並收集產物，將收集到的產物進行真空乾燥(60 °C，5 小時)。
5. 將乾燥後的產物倒入氧化鋁坩鍋，並移至鍛燒爐利用鍛燒來去除模板，以 2°C/min 的升溫速率升至 500°C 後，進行鍛燒 6 小時(鍋蓋虛掩使氣體可以排出並防止異物掉入)，收集鍛燒後的白色粉末，即為合成過程靜置之 SBA-15。
6. 將步驟 2 “靜置”改為“持續攪拌”，其餘步驟相同，即為攪拌條件下所製備出的 SBA-15。

4-3-2 TMB 濃度影響

1. 秤取 1.49 g KCl 加入 60 ml 2 M HCl 溶液於 100 ml 血清瓶中，待 KCl 溶解後加入 2 g P123，將其置於 35°C 夾套式水浴中攪拌使 P123 完全溶解。
2. 加入 1.77 ml TMB (98%) 並持續攪拌 2 小時後，接著加入 4.65 ml TEOS (98%) 劇烈攪拌 10 分鐘後，於 35°C 下靜置 24 小時。
3. 經過 24 小時的合成後，將其移至 100 °C 的烘箱中進行水熱反應 24 小時(須將瓶蓋旋緊避免水分散失)。
4. 將血清瓶移至抽風櫃中待其降至室溫，進行抽氣過濾，以大量的去離子水(約 800 ml)清洗並收集產物，將收集到的產物進行真空乾燥(60 °C，5 小時)。
5. 將乾燥後的產物倒入氧化鋁坩鍋，並移至鍛燒爐利用鍛燒來去除模板，以 2°C/min 的升溫速率升至 500°C 後，進行鍛燒 6 小時(鍋蓋虛掩使氣體可以排出並防止異物掉入)，收集鍛燒後的白色粉末，即為合成過程靜置之 SBA-15。
6. 重複步驟 1~5，並將步驟 2 中 TMB 的添加量改為 2.21 ml、2.95 ml 及 4.43 ml (15、20、30mmol)。

4-3-3 不同界面活性劑影響

1. 秤取 1.49 g KCl 加入 60 ml 2 M HCl 溶液於 100 ml 血清瓶中，待 KCl 溶解後加入 2 g P123，將其置於 35°C 夾套式水浴中攪拌使 P123 完全溶解。
2. 加入 1.77 ml TMB(98%) 並持續攪拌 2 小時後，接著加入 4.65 ml TEOS (98%) 劇烈攪拌 10 分鐘後，於 35°C 下靜置 24 小時。
3. 經過 24 小時的合成後，將其移至 100 °C 的烘箱中進行水熱反應 24 小時(須將瓶蓋旋緊避免水分散失)。
4. 將血清瓶移至抽風櫃中待其降至室溫，進行抽氣過濾，以大量的去離子水(約 800 ml)清洗並收集產物，將收集到的產物進行真空乾燥(60 °C，5 小時)。
5. 將乾燥後的產物倒入氧化鋁坩鍋，並移至鍛燒爐利用鍛燒來去除模板，以 2°C/min 的升溫速率升至 500°C 後，進行鍛燒 6 小時(鍋蓋虛掩使氣體可以排出並防止異物掉入)，收集鍛燒後的白色粉末，即為合成過程靜置之 SBA-15。
6. 重複步驟 1~5，並將步驟 1 中“P123”改為 Tween20 / Tween80 / Tween85 / Triton X-100。

4-3-4 混合不同界面活性劑影響

1. 秤取 1.49 g KCl 加入 60 ml 2 M HCl 溶液於 100 ml 血清瓶中，待 KCl 溶解後加入 2 g 界面活性劑 S_0 ，界面活性劑如 Table 4-1，將其置於 35°C 夾套式水浴中攪拌使界面活性劑完全溶解。
2. 加入 1.77 ml TMB(98%) 並持續攪拌 2 小時後，接著加入 4.65 ml TEOS (98%) 劇烈攪拌 10 分鐘後，於 35°C 下靜置 24 小時。
3. 經過 24 小時的合成後，將其移至 100 °C 的烘箱中進行水熱反應 24 小時(須將瓶蓋旋緊避免水分散失)。
4. 將血清瓶移至抽風櫃中待其降至室溫，進行抽氣過濾，以大量的去離子水(約 800 ml)清洗並收集產物，將收集到的產物進行真空乾燥(60 °C，5 小時)。
5. 將乾燥後的產物倒入氧化鋁坩鍋，並移至鍛燒爐利用鍛燒來去除模板，以 2°C/min 的升溫速率升至 500°C 後，進行鍛燒 6 小時(鍋蓋虛掩使氣體可以排出並防止異物掉入)，收集鍛燒後的白色粉末，即為合成過程靜置之 SBA-15。
6. 重複步驟 1~5，並將步驟 1 中“ S_0 ”改為 $S_{0.5}$ / S_1 / $S_{1.5}$ / S_∞ ，比例參考 Table 4-1。

4-3-5 有機溶劑添加影響

1. 秤取 1.49 g KCl 加入 40 ml 2 M HCl 與 20ml 有機溶劑 E₀ 於 100 ml 血清瓶中，待 KCl 溶解後加入 2 g P123，將其置於 35°C 夾套式水浴中攪拌使 P123 完全溶解。
2. 加入 1.77 ml TMB (98%) 並持續攪拌 2 小時後，接著加入 4.65 ml TEOS (98%) 劇烈攪拌 10 分鐘後，於 35°C 下靜置 24 小時。
3. 經過 24 小時的合成後，將其移至 100 °C 的烘箱中進行水熱反應 24 小時(須將瓶蓋旋緊避免水分散失)。
4. 將血清瓶移至抽風櫃中待其降至室溫，進行抽氣過濾，以大量的去離子水(約 800 ml)清洗並收集產物，將收集到的產物進行真空乾燥(60 °C，5 小時)。
5. 將乾燥後的產物倒入氧化鋁坩鍋，並移至鍛燒爐利用鍛燒來去除模板，以 2°C/min 的升溫速率升至 500°C 後，進行鍛燒 6 小時(鍋蓋虛掩使氣體可以排出並防止異物掉入)，收集鍛燒後的白色粉末，即為合成過程靜置之 SBA-15。

重複步驟 1~5，並將步驟 1 中“E₀”改為 E_{0.5} / E₁ / E_{1.5} / E_∞，比例參考

Table 4-2。

Table 4-1 混合界面活性劑之比例

Type	Tween20(g)	P123(g)	The volume ratio of Tween20 to P123
S_0	0	2	0
$S_{0.5}$	0.67	1.33	0.5
S_1	1	1	1
$S_{1.5}$	1.2	0.8	1.5
S_∞	2	0	∞

Table 4-2 混合有機溶劑之比例

Type	Ethanol(ml)	Ethyl-ether(g)	The volume ratio of Ethanol to Ethyl-ether
E_0	0	20	0
$E_{0.5}$	6.7	13.3	0.5
E_1	10	10	1
$E_{1.5}$	12	08	1.5
E_∞	20	0	∞

4-4 實驗結果與討論

4-4-1 合成過程攪拌影響

首先探討合成 SBA-15 過程中是否攪拌對產物形成是否影響粒子分散性及形態；製備條件為在 2M HCl 溶液中，加入 1.49 g KCl、2 g P123、1.77 ml TMB 及 4.65 ml 的 TEOS。由 Fig. 4-5 (a)、(b)，可以看出合成 SBA-15 的過程中如果持續攪拌會造成粒子形狀不規則，使得粒子有嚴重團聚亦有破碎現象出現，更導致粒徑增加至數十微米；比較 Fig. 4-5 (c) (d) 兩張圖，相反地在製程中使其合成反應靜置，可以獲得粒子分散性良好、粒徑較小且均一、形狀統一且趨於球型，但是還有少部分團聚現象出現，其中單顆微球粒徑範圍介於 2~3 μm 。

由 SEM 結果分析能推斷在 SBA-15 合成過程中，作為矽源之 TEOS 會依附於微胞周圍行縮合聚合反應，在反應中攪拌反應會影響粒子間連續性的縮和聚合反應導致粒子碰撞或聚集，而聚集現象提供更多接觸面積使得粒子碰撞機率提升導致團聚現象，過度碰撞更造成粒子破碎現象出現。相反地，如果在聚合反應時靜置反應則能減少粒子間碰撞的機會，使粒子合成依照微胞自身聚集與 TEOS 依附在微胞上聚合的共同效應，相對降低了粒子間聚集現象，使合成 SBA-15 粒子趨於球形外，粒子大小均一且分散性佳，相對破碎現象也減少了。

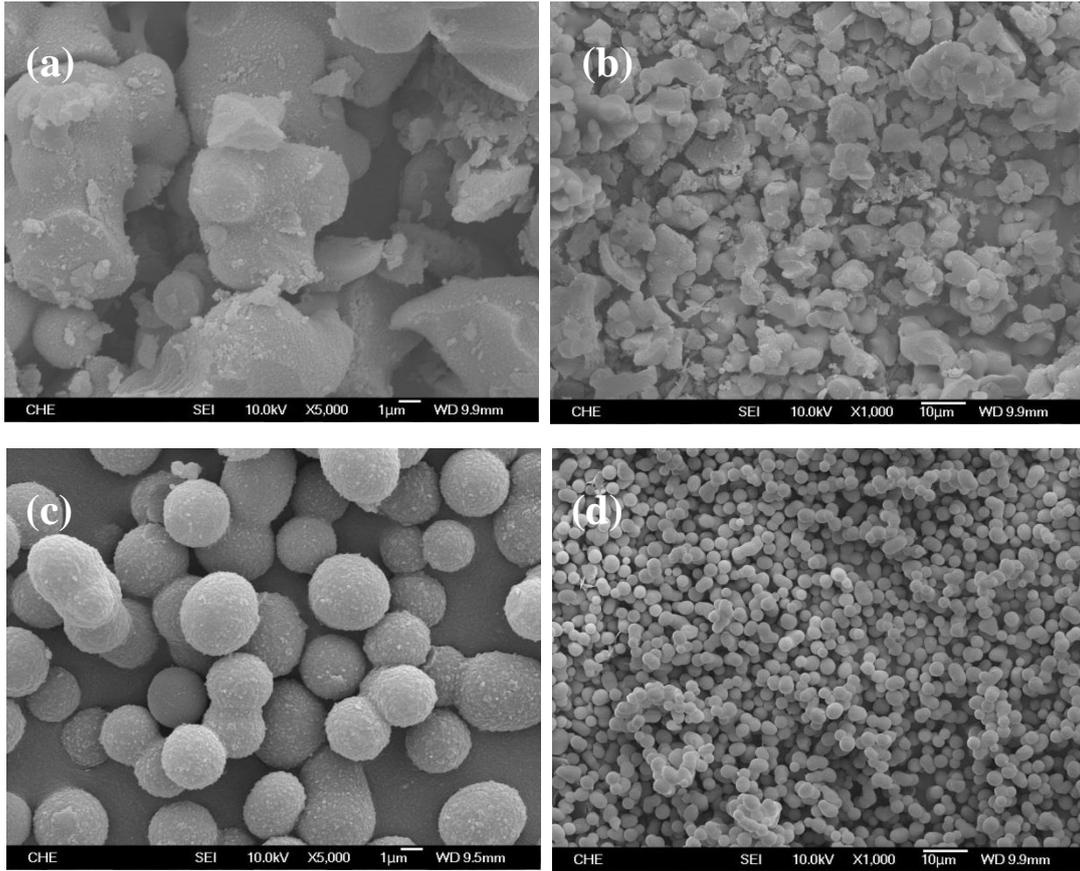


Fig. 4-5 製備過程中攪拌與否製備之 SBA-15 粒子 SEM 圖，
攪拌(a)5000X (b)1000X；靜置(c)5000X (d)1000X。

4-4-2 TMB 濃度影響

製備 SBA-15 粒子的過程中，我們會加入擴孔劑 TMB 調整 SBA-15 粒子的孔徑大小，而控制孔徑大小在藥物控制釋放系統與篩選藥物都是重要的因素之一。接著我們探討不同擴孔劑的濃度(12、15、20、30mmol)對球形 SBA-15 孔徑控制範圍的改變範圍及其應用，在靜置製備過程中，反應條件為 60 ml 2 M HCl、1.49 g KCl、2 g P123 及 4.65 ml TEOS。

由 Fig. 4- 6 SEM 結果我們可以看出 SBA-15 表現形態與分散性的表現，TMB 濃度 12mmol 以上的皆可形成完整球形 SBA-15 粒子，濃度提高也並不會影響球形的成形，產物都可以表現分散性良好且大小均一分散的 SBA-15 粒子。由 Fig. 4-7 與 Fig. 4-8 的 TEM 結果可以看出孔洞結構分布，孔洞形狀大多是擴大型六角形或是圓形，孔洞呈現蜂窩狀且大致均一，而孔道結構如泡棉一樣由許多孔洞相互連結而彼此相通著，這特性可以使得在藥物釋放中避免藥物突釋；而且初步我們可以藉著在各條件下的 TEM 結果取數個孔洞量測大小以後取平均值，進而得到粗略的孔徑大小，可以看到孔徑變化特性為何，計算結果如 Table 4-3，可以明顯看出隨著 TMB 濃度提升，孔徑都有上升的趨勢。

另外，根據學長郭華良之 BET 測量結果可以得知 TMB 添加量低濃度時(3mmol)，SBA-15 粒子孔徑分布較不一；當 TMB 濃度逐漸增加 6~12mmol 都可以得到孔道均一的結果，且孔徑分布窄；造成原因推論是 TMB 濃度低時，並不足以使得每個微胞都含有 TMB，而造成了孔徑不一的現象。

取 TMB 濃度 12 與 30mmol 做深入比較，由 Fig. 4-9 氮氣等溫吸-脫附曲線分析得知脫附曲線皆有遲滯現象產生，這是中孔材料常出現的現象，其中圖中(a)曲線可以看到脫附曲線呈現兩段斜率，代表有不同孔徑大小存在，圖(b)之脫附曲線呈現單一斜率，對照 Fig. 4-10 與 4-11 孔徑分布圖，可以推論斜率可以代表孔徑的集中性，可以看到 TMB 濃度為 30mmol 之斜率單一旦孔徑分布較為集中。

由 Table 4-4 孔徑分析數據結果得知 TMB 濃度為 12mmol 之平均孔徑為 11.27nm，TMB 濃度為 30mmol 之平均孔徑為 15.88nm，初步可得知隨著 TMB 濃度的提升可以明確增加孔徑大小，但是由 Fig. 4-10 與 4-11 孔徑分布圖來看，孔徑主要分布於 20~30nm，TMB 濃度為 12mmol 之孔徑 23nm 有最大體積 0.5610，TMB 濃度為 30mmol 之孔徑 25nm 有最大體積 0.5550，與 TEM 計算結果比較，TMB 濃度為 30mmol 明顯比 12mmol 製備之 SBA-15 孔徑大，雖然沒有如 TEM 計算之結果擴孔徑至 32nm，但仍有一定的擴孔效果，我們判定 TMB

濃度為 12mmol 可製備出孔徑 23nm SBA-15 而 30mmol 可製備出孔徑 25nm SBA-15。

接著我們利用 XRD 鑑定 SBA-15 粒子的晶格與孔徑大小，XRD 分為大小角度兩種分析方式，大角度 XRD 可以得到元素分析而小角度 XRD 可以得到晶格以及孔徑大小；通常 Small angle X-ray scattering (SAXS) 的結果顯示角度在 0.35~0.5 之間出現的波峰為該材料的臨界反射角，通常典型孔徑為六角型且排列整齊有序的 SBA-15 以得到 (100)、(110)、(200)三種晶格的波峰出現，而由我們的分析結果 Fig. 4-12 來看，每個樣品都有兩到三個波峰出現，但由於在 0.5 以前出現的波峰屬於 SiO_2 臨界反射角，所以第一個波峰要從 0.5 以後開始標註。由於我們調整孔徑大小以及與典型製成有所差異，這些因素都會破壞六角形孔洞以及孔洞的有序整齊排列，導致樣品結果出現的波峰僅有一兩個，所以由 XRD 結果我們得知經由擴孔徑調控大小的 SBA-15 粒子會改變有序整齊的孔洞排列，導致 XRD 分析結果不如預期。

最後我們利用不同濃度製備之 SBA-15 比較對 BSA 蛋白質的包覆率，結果如 Fig. 4-13 所示，結果並不如預期呈現線性的上升趨勢，可能 [TMB]=30mmol 孔徑才有明顯增大，有機會使得更多 BSA 包覆於 SBA-15，而其餘低濃度之孔徑相差不大所以導致包覆率相近。

Table 4- 3 由 TEM 圖計算分析各條件 SBA-15 之孔徑大小

TMB(mmol)	12	15	20	30
平均孔徑大小 (nm)	20.26	23.53	24.67	32.14

Table 4- 4 不同 TMB 濃度利用 BET 分析之容積與孔徑數據

TMB(mmol)	12	30
平均容積(ml)	1.68213	1.420519
平均孔徑大小(nm)	11.27	15.88

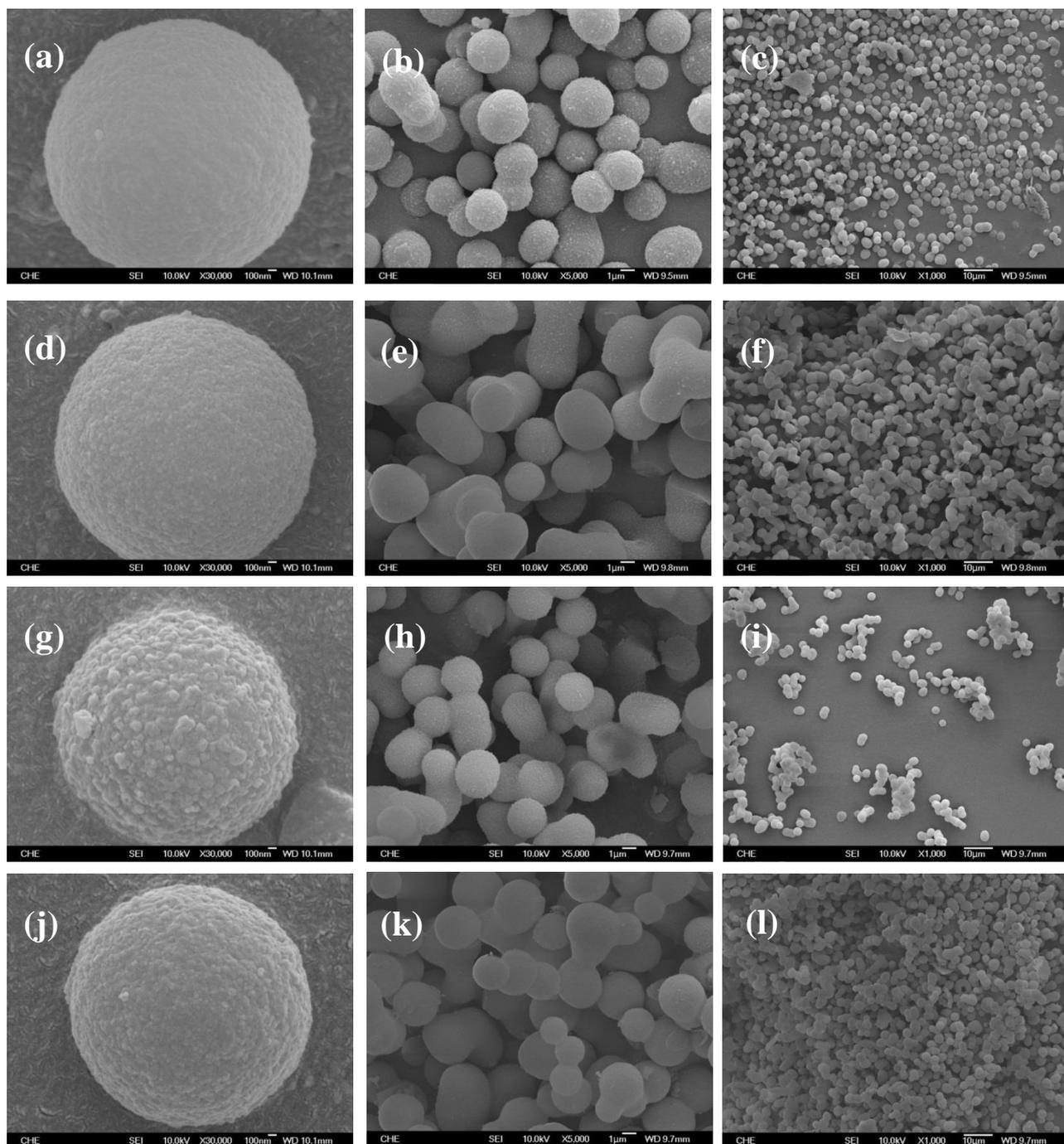


Fig. 4- 6 不同 TMB 濃度製備之 SBA-15 粒子 SEM 圖，

12mmol (a)30000X (b)5000X(c)1000X ；

15mmol (a)30000X (b)5000X(c)1000X ；

20mmol (a)30000X (b)5000X(c)1000X ；

30mmol (a)30000X (b)5000X(c)1000X 。

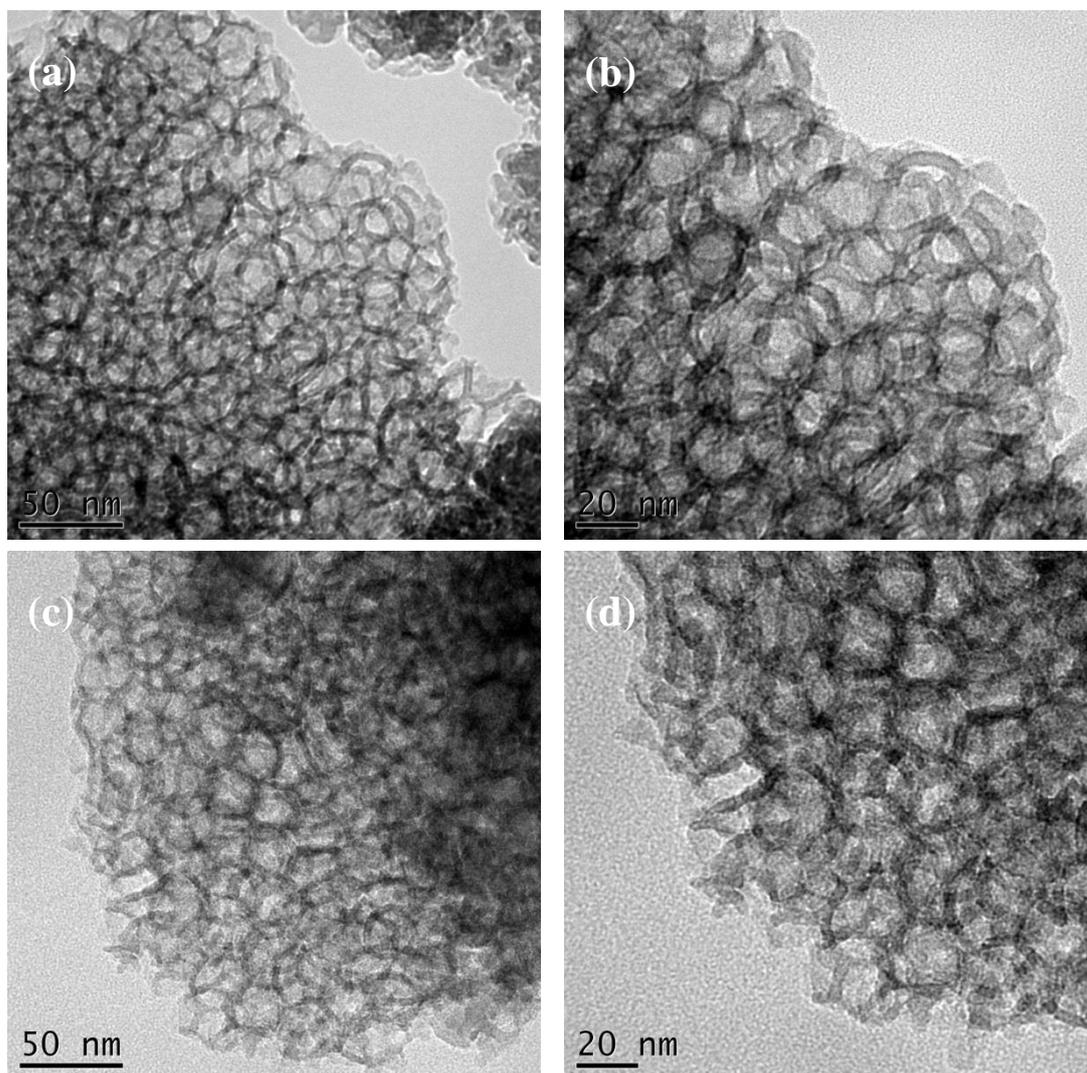


Fig. 4-7 不同 TMB 濃度下製備 SBA-15 之 TEM 圖，
(a) (b)12mmol；(c) (d)15mmol。

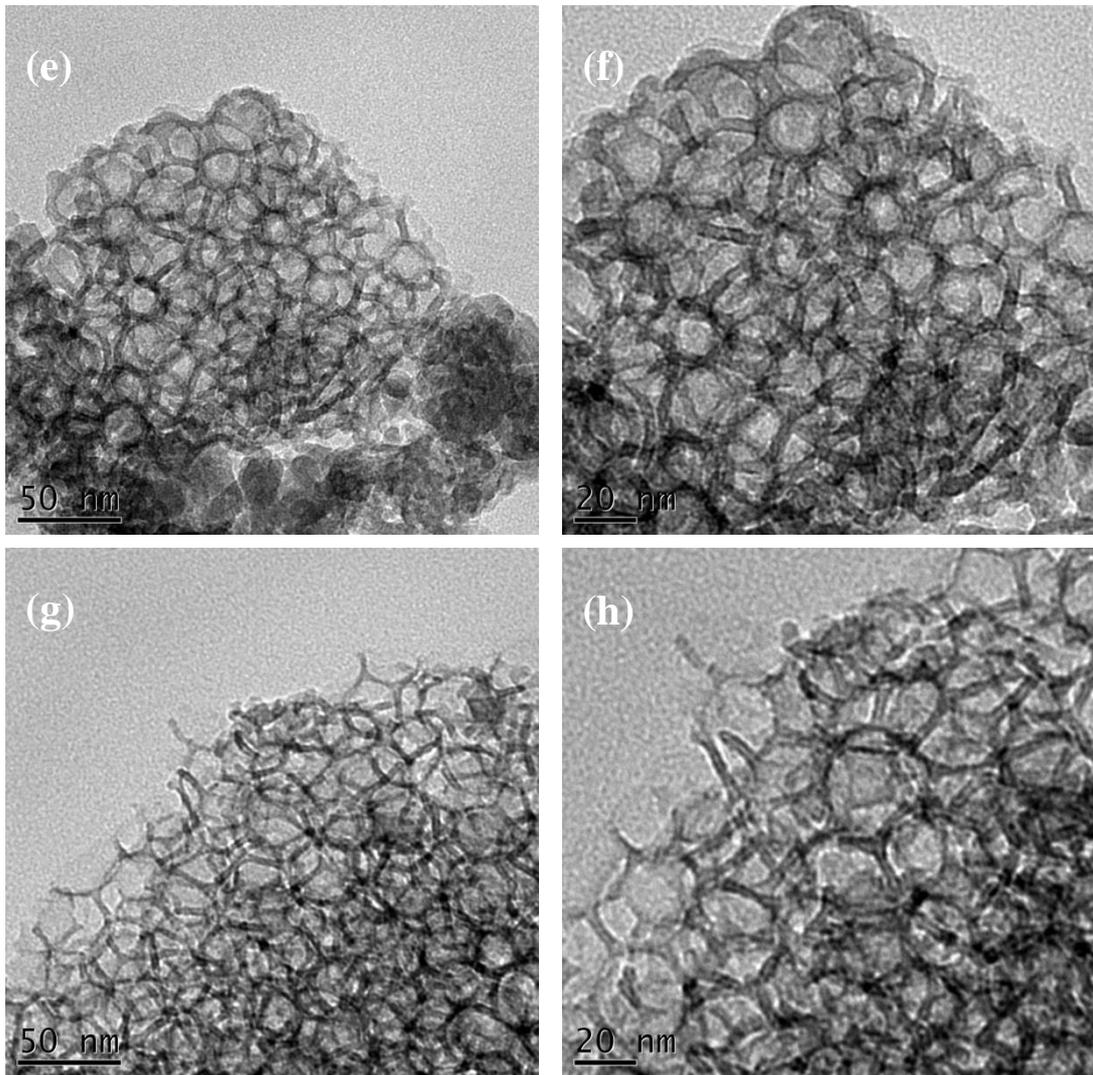


Fig. 4-8 不同 TMB 濃度下製備 SBA-15 之 TEM 圖，

(e) (f) 20 mmol ; (g) (h) 30 mmol 。

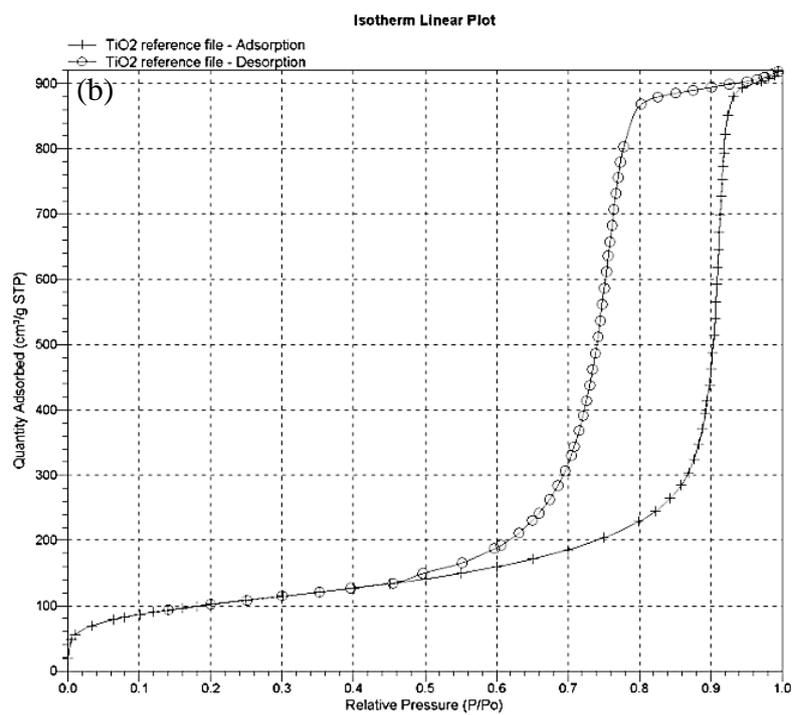
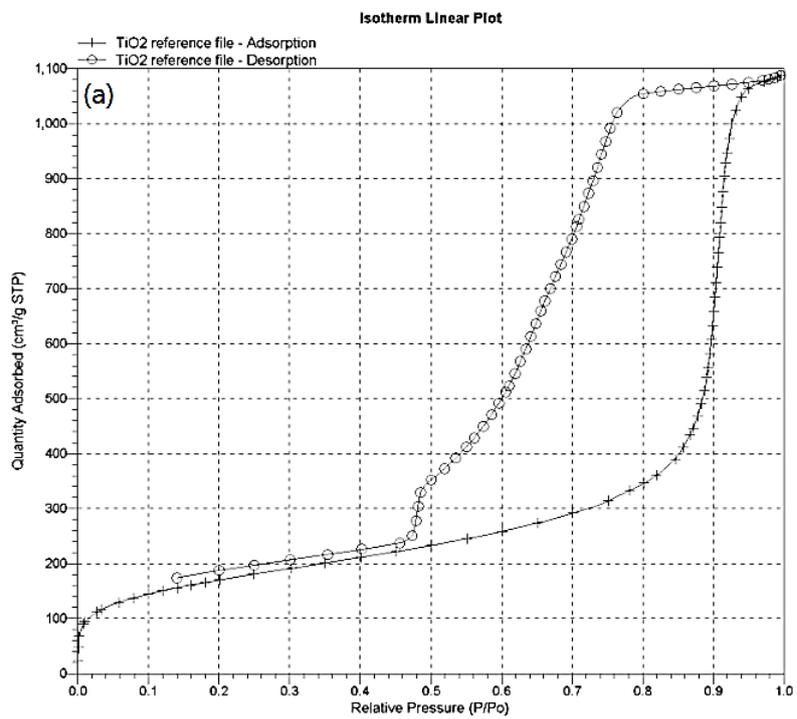


Fig. 4-9 不同 TMB 濃度下合成 SBA-15 之氮氣等溫吸脫附曲線，

(a) 12 mmol ; (b) 30 mmol

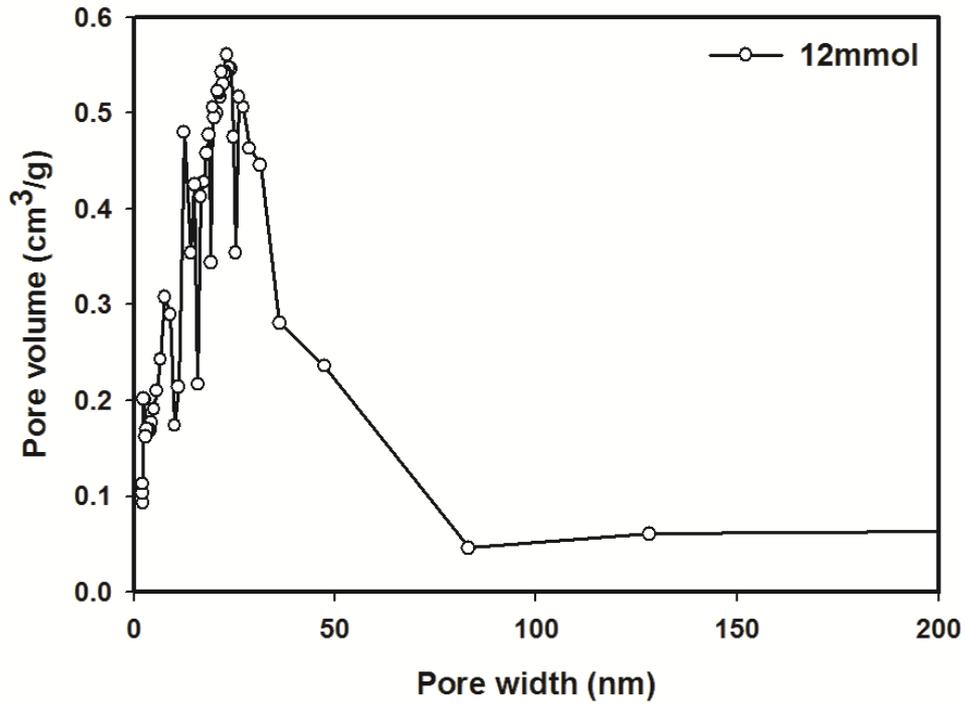


Fig. 4- 10 TMB 濃度為 12mmol 合成 SBA-15 之孔徑分布圖

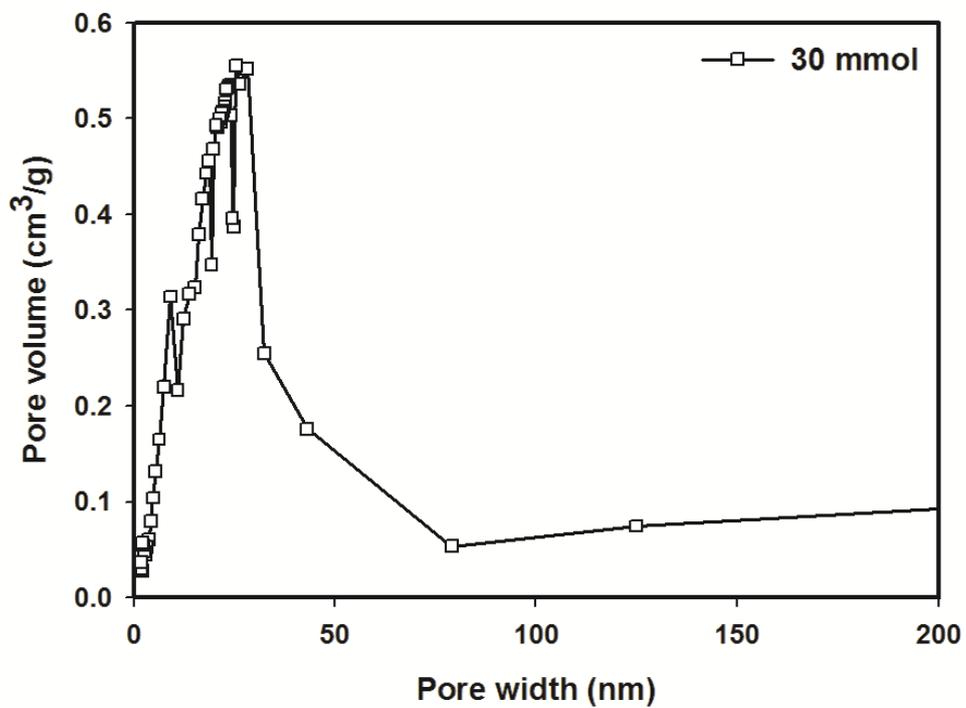


Fig. 4- 11 TMB 濃度為 30mmol 合成 SBA-15 之孔徑分布圖

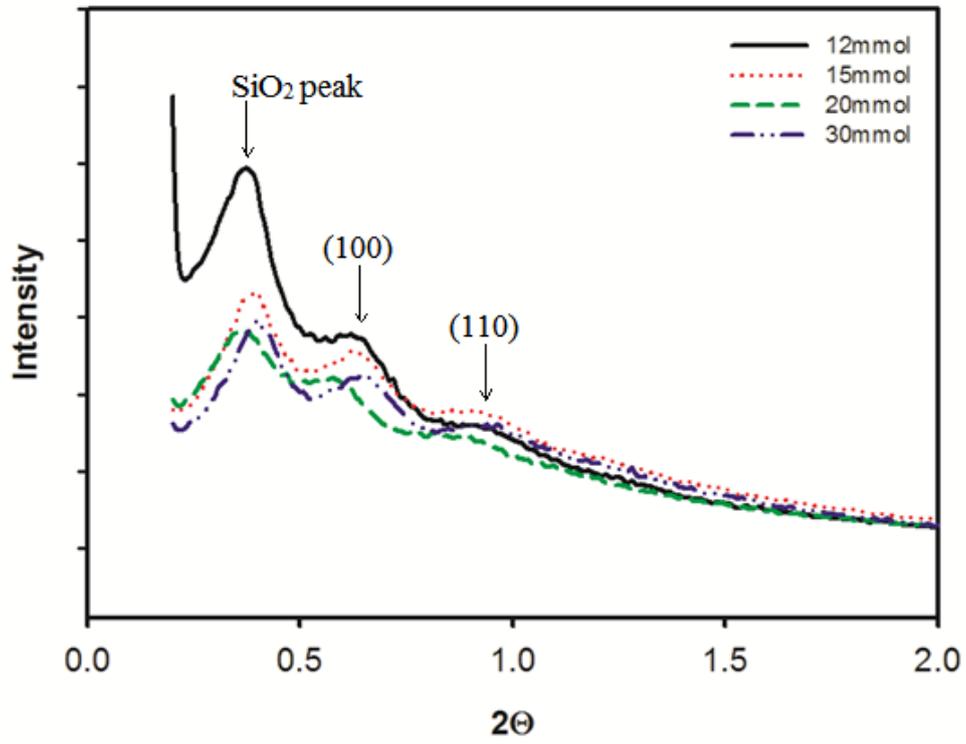


Fig. 4- 12 不同 TMB 濃度下合成 SBA-15 之 SAXS 分析圖

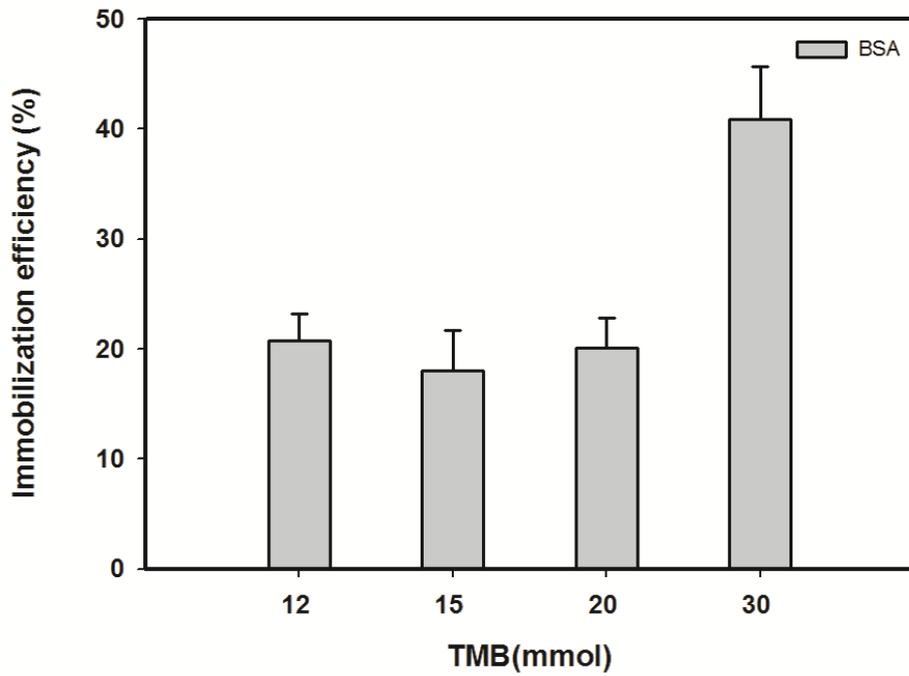


Fig. 4- 13 不同 TMB 濃度下合成 SBA-15 之 BSA 蛋白質包覆率

4-4-3 不同界面活性劑影響

希望藉由不同界面活性劑也能製備出與 SBA-15 有相同大小及孔徑大小之粒子，甚至可以製備出孔洞孔道結構一致且有序排列的結構，不僅可以降低成本也可以提高製備效率及操作性。

由 Fig. 4-14 SEM 圖一一說明各界面活性劑所製備出之結果，首先第一種 Tween20，可以製備出良好完整球形結構、分散性良好的粒子，但是均一性不是很好，SBA-T20 粒子大小介於 2~10 μm ，而且粒子表面型態有些平滑有些粗糙，如欲應用統一性比較難掌握；第二種 Tween80，結果與 Tween20 相較下其均一性較佳，SBA-T80 粒子大小介於 2~5 μm ，粒子表面結構大部分平滑偶有粗糙粒子；第三種是 Triton-X100，由 Triton 製備出之粒子呈現方塊狀且表面平滑，但在大小均一性上面也是表現較差，粒子大小介於 3~7 μm 。

經由 SEM 分析後，希望製備產物可以有良好大小均一性、大小控制在 5 μm 以下與表面型態具一致性，所以我們改變製備原則，在下一小節中以 P123 為主 Tween20 為輔，調控不同比例製備探討結果。

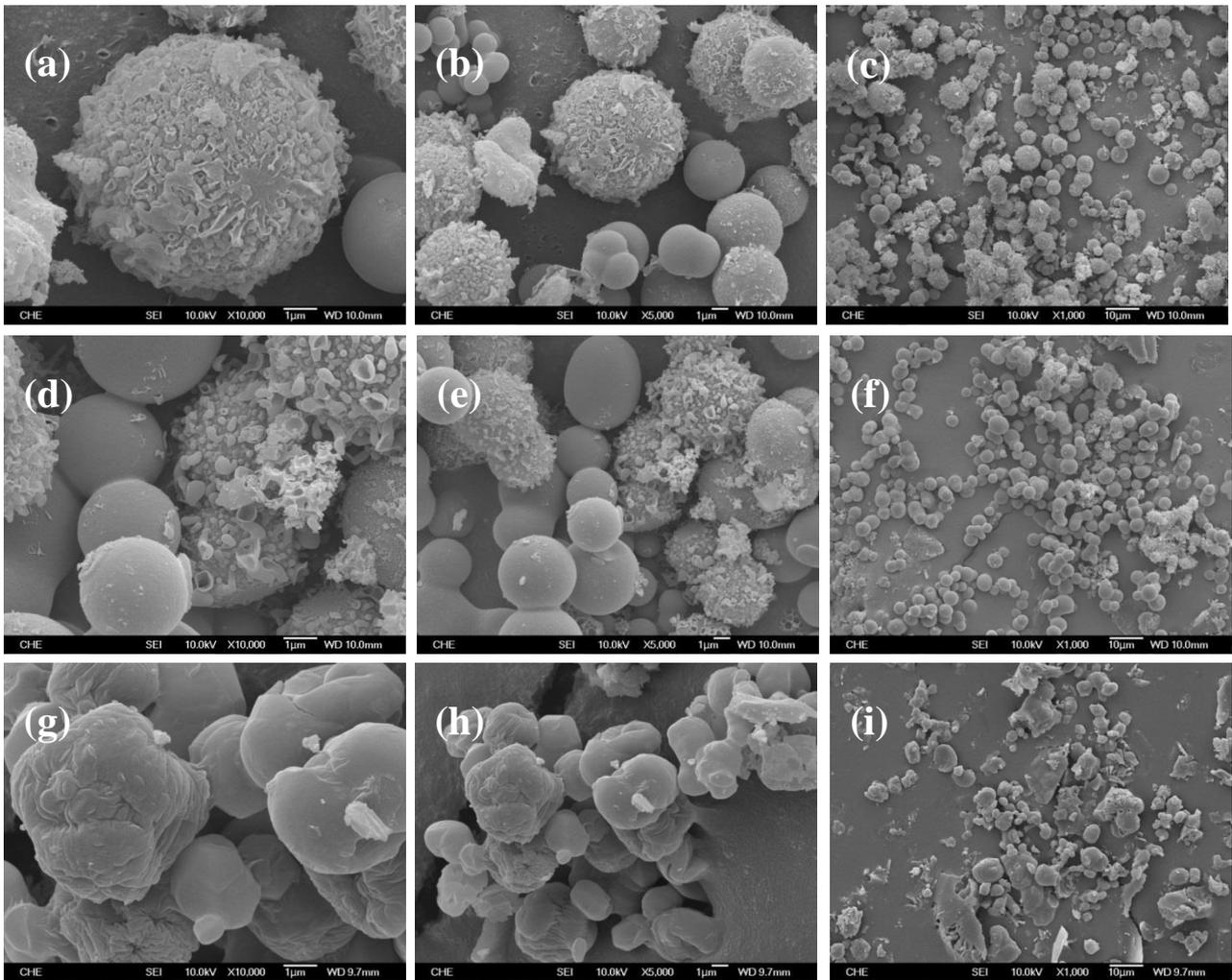


Fig. 4- 14 不同介面活性劑製備之 SBA-15 粒子 SEM 圖，

Tween20 (a)10000X (b)5000X(c)1000X ；

Tween80 (d)10000X (e)5000X(f)1000X ；

Triton-X100(g)10000X (h)5000X(i)1000X 。

4-4-4 混合不同界面活性劑影響

此小節 SBA 製備之界面活性劑是以 P123 為主 Tween20 為輔，調控不同比例製備探討結果，欲得到尺寸小於 $5\mu\text{m}$ 、孔洞一致且表面型態均一之粒子。由 Fig. 4-15 與 4-16 SEM 圖可以看到各製備比例之粒子結構與表面型態，大體來說都可以保有穩定的球狀型態，除了 S_{∞} (only Tween20) 以外的其餘比例製備之粒子皆有一致性表現，在表面型態來說，一致表面的平滑亦或是較為粗糙的表面，較為粗糙的表面可能提供更高表面積來提升物質吸附率；粒子尺寸大小相近，相差約 $1\mu\text{m}$ 。

以 TEM 分析 S_1 比例之 SBA，可以由 Fig. 4-17 看出孔洞結構一致性，尤於瑪瑙鉢研磨後樣品碎片有些是粒子邊緣或中心，並且取數個孔洞求得孔徑大小約為 16nm ，接著看到 Fig. 4-17 (a) 可觀察到邊緣的部分都呈現較深色且不透光，看不清楚孔洞的結構，這代表此處厚度較高而光束無法完全穿透，可判斷有較厚的表層形成，可以保護欲包覆於孔道內的藥物等物質。最後我們利用 SAXS 分析經格與孔洞排列情況，由 Fig. 4-18 看出除了 S_{∞} 都可以明顯有兩個晶格波峰出線，證明在利用不同界面活性劑欲維持一定孔洞結構還是得以原界面活性劑 P123 為主，再進一步混摻其他界面活性劑來進行製備，就可以得到孔洞結構相似，並大致孔徑排列有序之粒子生成。

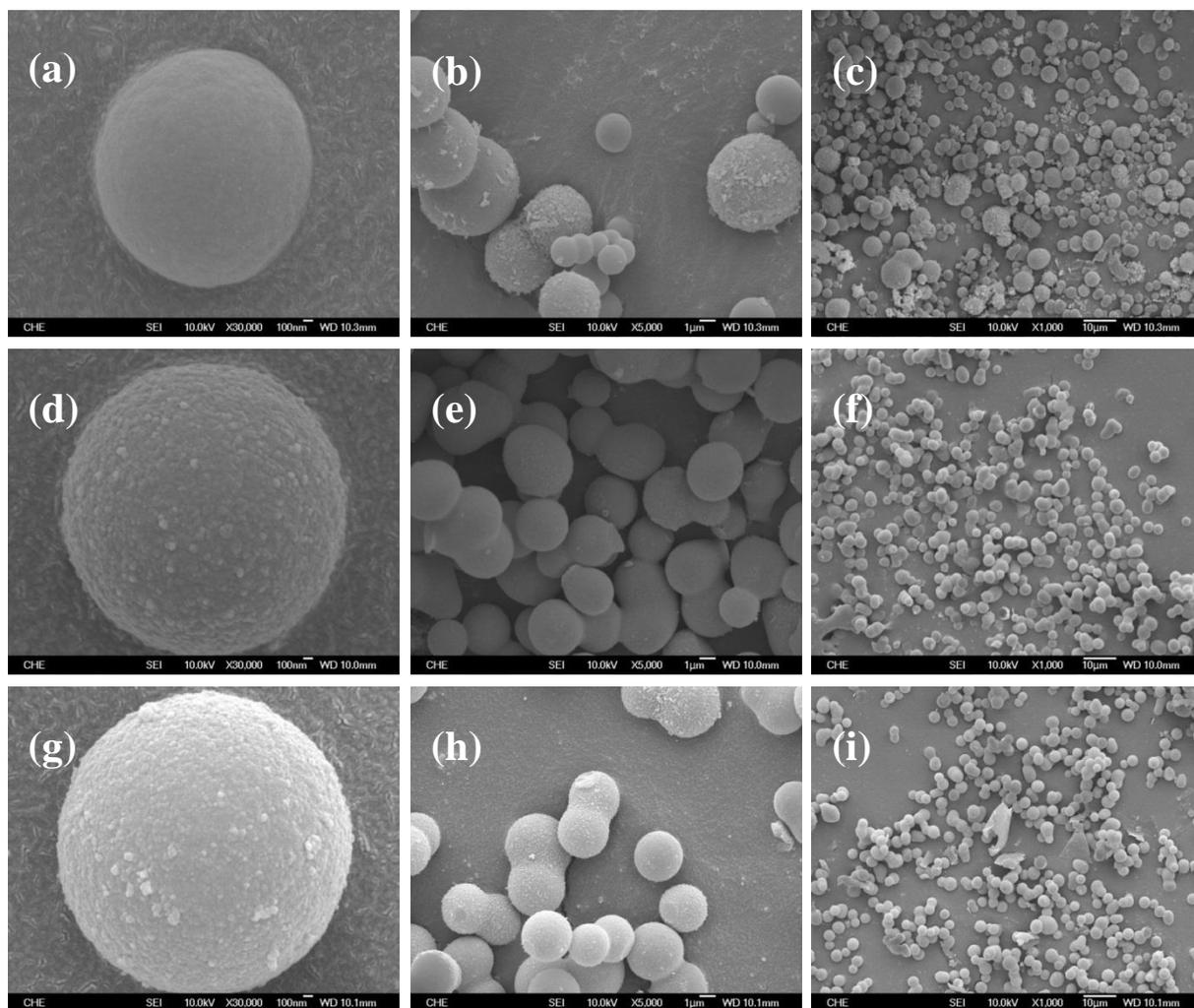


Fig. 4- 15 調整 Tween20/P123 之比例製備 SBA-15 粒子之 SEM 圖，

S_{∞} (Tween20) (a)30000X (b)5000X(c)1000X ；

$S_{0.5}$ (d)30000X (e)5000X(f)1000X ；

S_1 (g)30000X (h)5000X(i)1000X 。

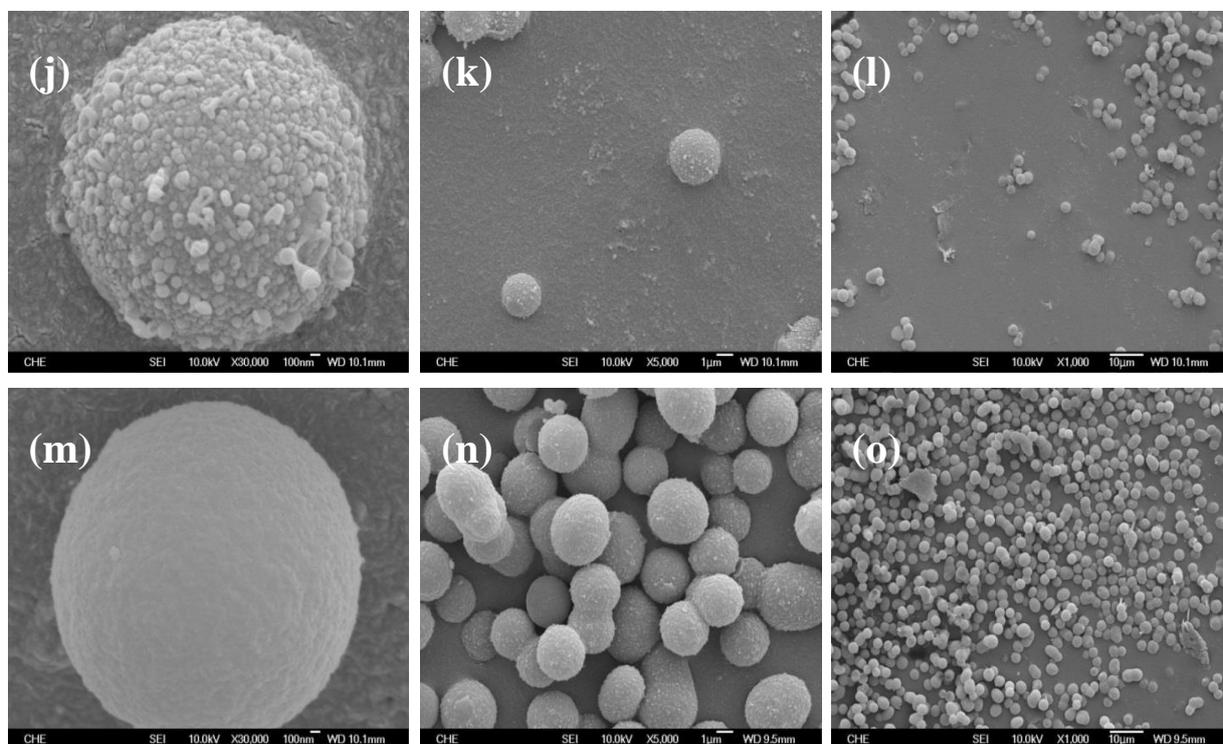


Fig. 4- 16 調整 Tween20/P123 之比例製備 SBA-15 粒子之 SEM 圖

$S_{1.5}$ (j)30000X (k)5000X(l)1000X ;

S_0 (P123) (m)30000X (n)5000X(o)1000X 。

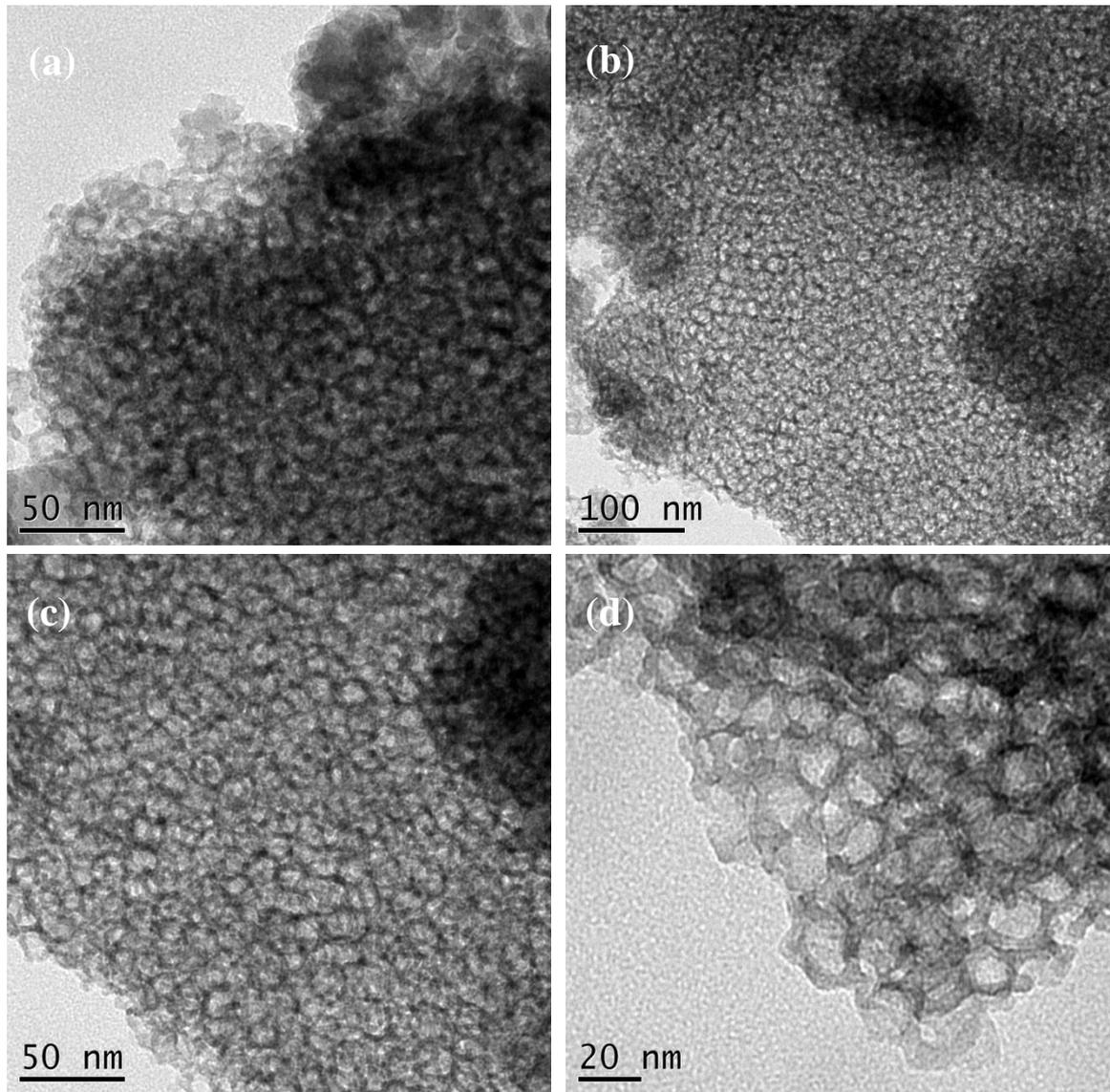


Fig. 4- 17 S_1 (Tween20/P123 = 1) 比例製備之 SBA-15 粒子 TEM 圖

(a)粒子邊緣；(b) (c) (d) 粒子中心

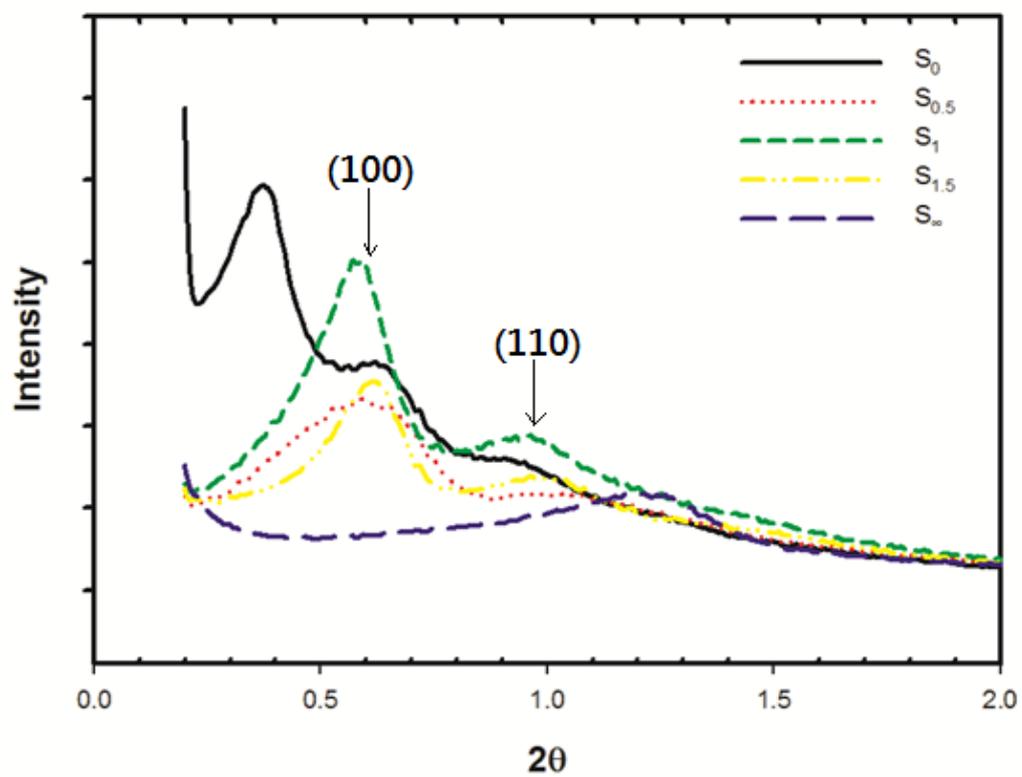


Fig. 4- 18 不同 Tween20/P123 比例下合成 SBA-15 之 SAXS 分析圖

4-4-5 有機溶劑添加影響

本小節利用不同比例的乙醇/乙醚助溶劑在製備奈米矽材過程中添加，欲製備出有良好孔洞結構的階層奈米矽材(HMSNs)，本小節測試了有機溶劑的添加是否影響粒子的製備。

由 Fig. 4- 19 與 Fig. 4- 20 SEM 圖可看出添加乙醇/乙醚混合比例之助溶劑所製備出產物皆呈現破碎狀，可能是兩種溶劑溶液極性影響，造成界面活性劑分子無法形成一個個微胞，以致產物成形失敗。單純僅有乙醚或酒精的添加之產物會有奈米粒子出現，在單純添加乙醇進行改善製備實驗中，可由 Fig. 4-19(b) 看到產物有良好均一性及分散性，雖然不如原先之球形 SBA-15，但是成形有一定完整度，鮮少團聚現象、表面具有一定粗糙度而且粒子成形趨於球狀，尺寸約 2~3 μm ，未來可進一步分析判定其應用性；單純添加乙醚製備之產物雖然有奈米粒子出現，但是均一性不如乙醇的添加效果佳，一部分有粒子一部分呈現聚集且破碎狀，判定乙醚的添加對微胞形成更為不易。

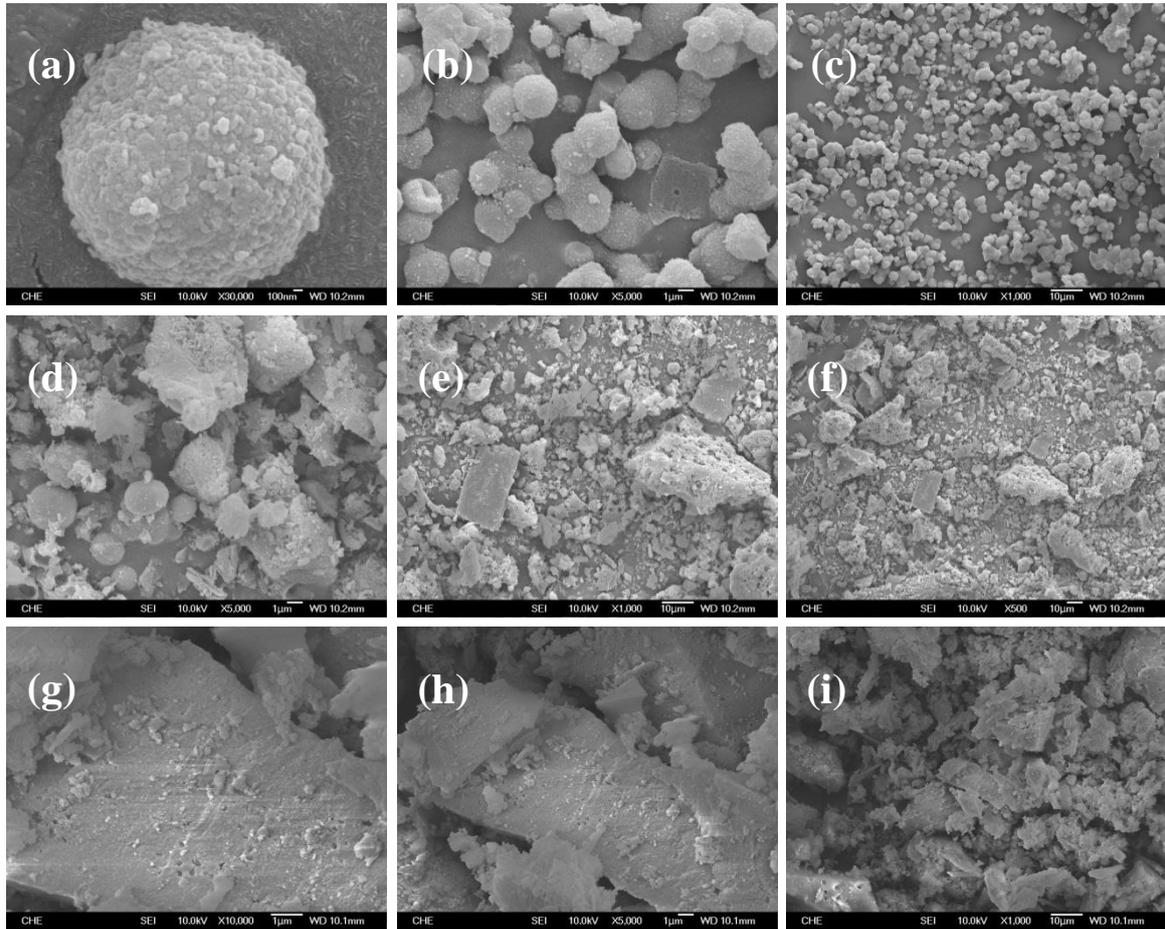


Fig. 4- 19 添加不同比例 Ethanol / Ethyl-ether 製備 SBA-15 之 SEM 圖

E_{∞} (乙醇) (a)30000X (b)5000X(c)1000X ;

$E_{0.5}$ (d)5000X (e)1000X(f)500X ;

E_1 (g)10000X (h)5000X(i)1000X 。

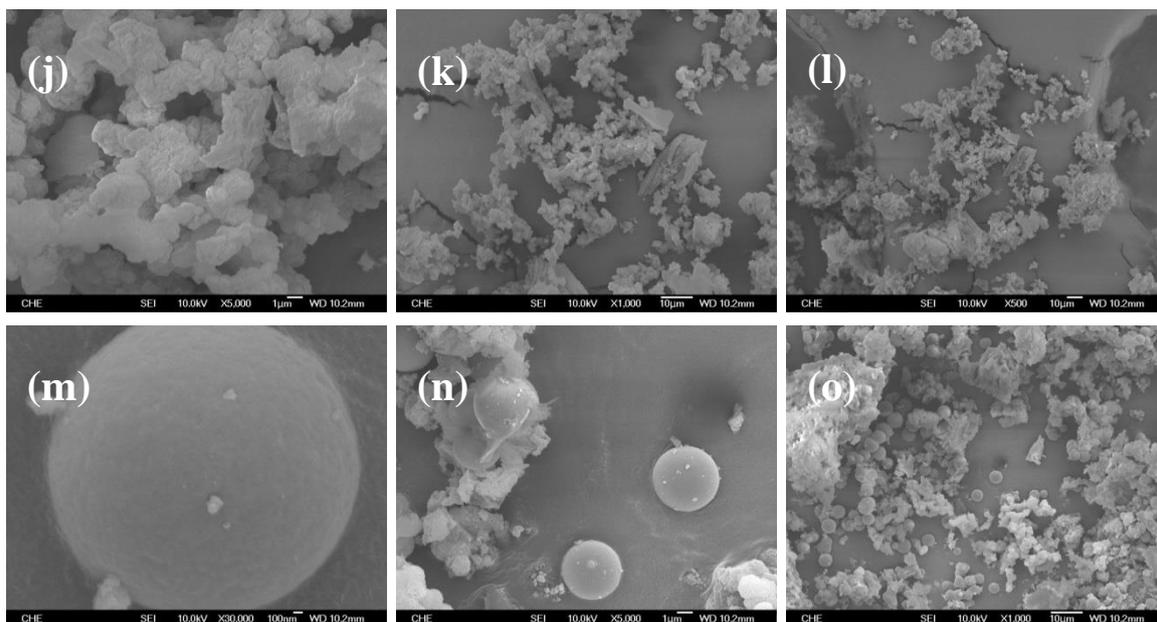


Fig. 4- 20 添加不同比例 Ethanol / Ethyl-ether 製備 SBA-15 之 SEM 圖

E_{1.5} (j)5000X (k)1000X(l)500X ;

E₀ (乙醚) (m)30000X (n)5000X(o)1000X 。

第五章 SBA-15 官能化

5-1 實驗目的

透過表面修飾法，將含有官能基的矽烷經由化學反應產生共價鍵結於中孔矽材表面及孔壁上，進而改變表面原有特性來提升蛋白質包覆與藥物緩釋的效果。此外我們利用了交聯劑及有機溶劑針對特定官能化 SBA-15 粒子來提升包覆率測試，希望可以讓蛋白質包覆率提升。

另外，目前全球經濟迅速發展的同時也造成了日趨嚴重的環境汙染問題，重金屬汙染也越來越嚴重；許多學者研究官能化 SBA-15 進行重金屬吸附研究，利用氨基、巰基修飾 SBA-15 對重金屬離子 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cr^{3+} 、及 Zn^{2+} 吸附，重金屬鈷 Co 會惡化土壤環境質量、影響農作物產量和品質，更嚴重危害了生態並威脅著人類的生存環境。在各種重金屬中，高濃度的鈷明顯抑制植物生長發育，因此土染中的鈷汙染備受人們關注，鈷含量高的農產品也會損害人和動物的健康(吳勝舉, 張冰如, 李風亭, & 魏詩輝, 2009; 李玲玲, 2012; 謝洪科 et al., 2013)。

5-2 實驗原理

藥物釋放緩釋之關鍵在於如何穩定的固定蛋白質在 SBA 載體上，鍵結方式來說形成共價鍵比氫鍵或物理吸附等方法都要來的穩固，因此將蛋白質通過共價鍵固定在 SBA 載體上為最合適的方式；以何種共價鍵鍵結則由 SBA 載體與蛋白質之官能基決定，而生成共價鍵難易程度也是主要的考量因素。

5-2-1 交聯劑 EDC/NHS

本研究首先在 SBA 載體上修飾氨基(-NH₂)，利用 1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl) (EDC) 官能基媒合活化劑與輔助媒合劑 N-Hydroxysuccinimid (NHS) 活化羧酸基後，讓 SBA 載體與蛋白質彼此以羧酸基與氨基形成醯胺鍵結(Amino bond) (Sehgal and Vijay,1994)。EDC 與 NHS 交互作用後將羧酸基與氨根形成共價鍵之流程圖，如 Fig. 5-1 所示，從圖中可以看到含有羧酸基的 Protein(BSA)，先與 EDC 進行反應後形成一個不穩定的反應中間體，接著再與 NHS 反應形成一個半穩定之中間體，最後加入含有氨基之 BSA 與半穩定之中間體反應，結果在兩者之間形成肽鍵並將兩分子以共價鍵連結，形成一個穩定的型態。

研究中藉由 EDC 和 NHS 活化蛋白質-COOH 官能基後，就可以和修飾 APTS 的 SBA-15 其-NH₂ 端官能基來產生共價鍵結，透過交聯

反應，使其能夠與更多蛋白質有效鍵結並在釋放達到良好的緩釋效果。

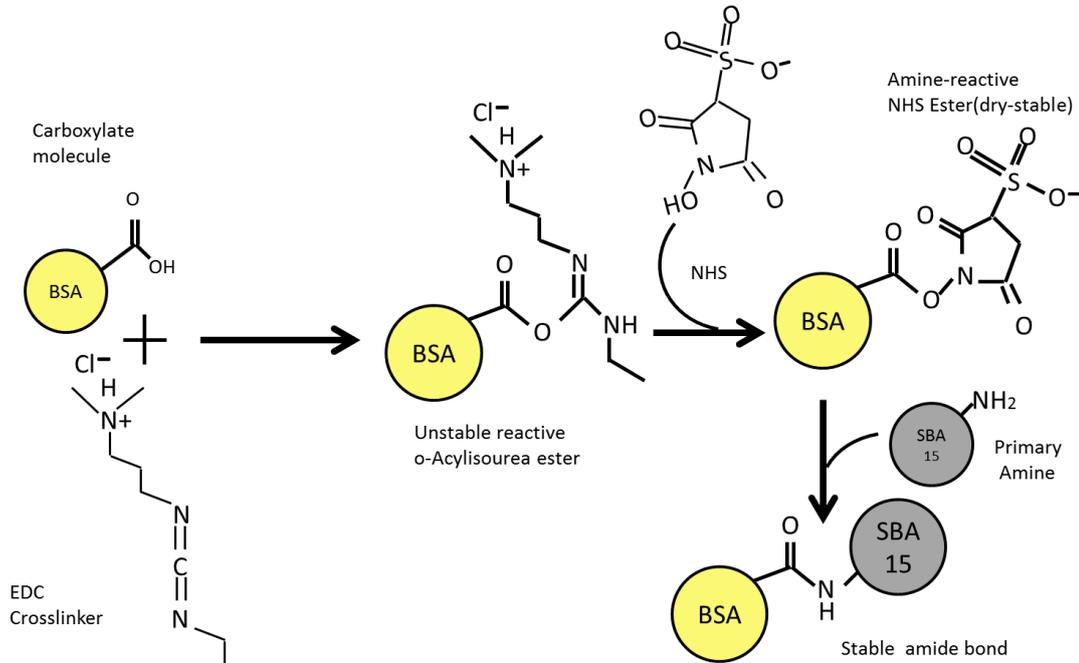


Fig. 5-1 EDC 與 NHS 活化羧酸基流程圖

5-2-2 改變蛋白質溶液極性

乙腈 Acetonitrile (ACN) 又名氰化甲烷，分子式為 CH_3CN ，分子量為 41.1，熔點 $44\sim 47^\circ\text{C}$ ，沸點 81.6°C ，比重 0.79；乙腈是重要的化工原料且為常用的極性非質子溶劑，可與水任何比例混合。

研究中藉由 ACN 改變蛋白質溶液的極性，由於 SBA-OcTS 修飾正辛基使其呈現非極性，利用改變極性後的蛋白質溶液與 SBA-OcTS 進行蛋白質包覆實驗，希望提升蛋白質包覆效果，利用相似相溶原理包覆更多蛋白質。

5-2-3 製備奈米金膠體溶液

本研究利用檸檬酸鈉還原法來製備金奈米粒子，以檸檬酸鈉 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) 為還原劑將四氯金酸 ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 還原，提高檸檬酸鈉的比例，可製得較小粒徑之奈米金粒子，如 Table 5-1。

Table 5-1 檸檬酸鈉比例製備不同粒徑之金奈米粒子

0.01% $\text{HAuCl}_{4(\text{aq})}$ (ml)	1% $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_{7(\text{aq})}$ (ml)	Diameter (nm)
50	1	16
50	0.5	41
50	0.3	71.5

在反應中，金的離子會被檸檬酸鈉還原成金原子，於成核時溶液中的檸檬酸根會與金奈米粒子表面尚未完全還原的 Au 形成離子層，使這些金奈米粒子會因為靜電排斥而分散於溶液中，如 Fig. 5-2 所示。

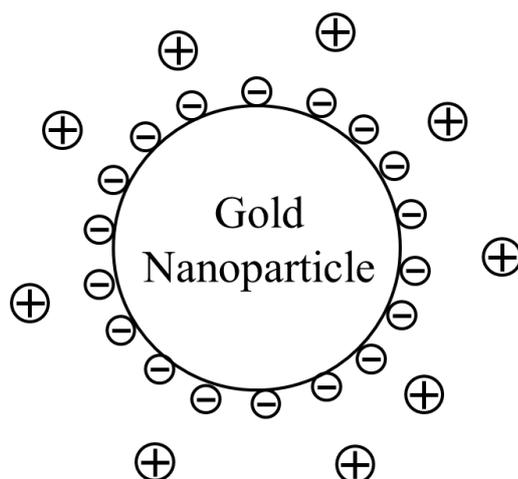


Fig. 5-2 金奈米粒子之離子層示意圖

5-3 實驗步驟

5-3-1 探討 SBA-15 表面修飾的影響

I. SBA-15 的表面修飾

改變 SBA-15 表面上的官能基團來改善且優化蛋白質(BSA)的包覆效果，並希望能夠達到控制藥物釋放的目的及其他用途性。

1. 秤取 1 g SBA-15 於樣品瓶中，加入 10 ml 乾甲苯(dry toluene)作為溶劑，依照比例加入試劑(Table 5-2)並劇烈攪拌 10 分鐘。
2. 攪拌後，將樣品瓶置入 100 °C 烘箱中 24 小時。
3. 24 小時後，利用抽氣過濾收集產物，並以乾甲苯反覆清洗。
4. 將產物置於 100°C 烘箱中乾燥 24 小時，乾燥後所得產物即為官能化 SBA-15。

Table 5-2 表面修飾之試劑比例 (1 g SBA-15 : 試劑)

試劑	加入試劑之比例(ml)
CMTS	1.03
OcTS	0.75
APTS	0.60
MPTMS	0.72

II. Zeta-potential 測定

1. 各種條件準備 5 mg 的 SBA-15(未修飾之 SBA-15，與 3 種修飾不同官能基團後的 SBA-15，共 4 種)，與欲檢測之蛋白質(BSA)。
2. 分別溶於 30 ml 各 pH 的磷酸鉀緩衝液中(pH 分別為 5.8、6.4、7.0、7.4 和 8.0)。
3. 準備 3 支 10 ml 針筒分別注射樣品、去離子水與酒精(去離子水與酒精是作為清洗儀器管件用)。
4. 每一組樣品感測前後需先用酒精洗管件，再用去離子水清洗，皆須清洗 3 次。
5. 注射 5 ml 欲檢測之樣品，由儀器檢測其濃度訊號是否恰當，若合宜則可以開始進行檢測，每個樣品檢測 3 次。
6. 所有樣品檢測完畢之後，需用大量的去離子水清洗管件避免樣品殘留，並且在最後注入酒精作為管件保存液即可關閉儀器。

III. 蛋白質溶液的製備

1. 配製 6 種不同 pH(5.8、6.4、6.8、7.0、7.4、8.0) 0.1 M 的磷酸鉀緩衝溶液(溶液配方請參考 Table 5-3)。
2. 分別用 6 種 pH 值配製濃度為 1 mg/ml 的蛋白質 BSA 溶液。

Table 5- 3 磷酸鉀緩衝溶液的製備(0.1 M)

pH 值	Volume of 1M K ₂ HPO ₄ (ml)	Volume of 1M KH ₂ PO ₄ (ml)
5.8	8.5	91.5
6.0	13.2	86.8
6.2	19.2	80.8
6.4	27.8	72.2
6.6	38.1	61.9
6.8	49.7	50.3
7.0	61.5	38.5
7.2	71.7	28.3
7.4	80.2	19.8
7.6	86.6	13.4
7.8	90.8	9.2
8.0	94.0	6.0

磷酸鉀緩衝溶液製備步驟：

1. 分別配置 1M 的 K₂HPO₄ 與 KH₂PO₄ 溶液
2. 依照上述 pH 值比例混合兩者並以去離子水稀釋到 1000ml

IV. SBA-15 於不同 pH 值環境下包覆蛋白質

1. 秤取 10 mg 的 SBA-15 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中，加入 1ml 的蛋白質溶液，並於 4 °C 下旋轉攪拌 2 小時。
2. 將試管用微量離心機進行離心，保留上清液另做 UV 檢測。
3. 選用與蛋白質溶液 pH 相同的 PBS buffer 取 1 ml 清洗沉澱並再次離心去除上清液，以去除未包覆於 SBA-15 的蛋白質。
4. 將步驟 3.結果進行冷凍乾燥後，所得到的產物即為包覆蛋白質的 SBA-15 粉末。
5. 重複步驟 1~4，步驟 2 改加入其他 pH 值的蛋白質溶液。

V. 蛋白質檢量線分析

使用牛血清蛋白(BSA)為測定標準品，求得於不同蛋白質濃度下之吸收值線性關係，其實驗步驟如下：

1. 秤 10mg BSA 溶於 10ml 的磷酸緩衝液(0.1M, pH5.8)中，配製成濃度為 1mg/ml 的儲備溶液(Stock solution)，並以 vortex 振盪器將 BSA 溶液混合均勻。
2. 自 Stock 中取出牛血清蛋白溶液稀釋為 1.2~10 μ g/ml 等不同濃度的 BSA 溶液並利用 vortex 振盪器充分混勻。
3. 分別從不同濃度的牛血清蛋白溶液取出 800 μ l 加入比色槽中，再加入 200 μ l Bio-Rad Protein Assay 試劑，使用封口膜蓋住比色槽口並混勻，於 25 $^{\circ}$ C 下靜置 5 分鐘，利用紫外光/可見光分光光度計量測波長 595nm 下之吸收值。
4. 依據各個不同蛋白質濃度下所測得之吸收值對蛋白質濃度作圖，建立蛋白質檢量線。

VI. 樣品中蛋白質定量分析

取適量蛋白質樣品溶液於比色槽中，使用 0.1M 磷酸緩衝液 (pH5.8) 將體積稀釋到 800 μ l 並加入 200 μ l Bio-Rad Protein Assay 試劑，使用封口膜蓋住比色槽口並混勻，於 25 $^{\circ}$ C 下靜置 5 分鐘，利用紫外光／可見光分光光度計量測波長 595nm 下之吸收值。

5-3-2 探討交聯劑對蛋白質包覆的影響

I. SBA-15 包覆蛋白質添加交聯劑的步驟

1. 取 40 μ l EDC(2mM) 與 1ml BSA stock 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中，以 vortex 將溶液混合均勻後，在 4 $^{\circ}$ C 下旋轉攪拌 15 分鐘。
2. 加入 62.5 μ l NHS(5mM) 與 10mg SBA-15，以 vortex 將溶液混合均勻後，在 4 $^{\circ}$ C 下旋轉攪拌 2 小時。
3. 將試管用微量離心機進行離心，保留上清液另做 UV 檢測。
4. 選用與蛋白質溶液 pH 相同的 PBS buffer 取 1 ml 清洗沉澱並再次離心去除上清液，以去除未包覆於 SBA-15 的蛋白質。
5. 將步驟 4.結果進行冷凍乾燥後，所得到的產物即為添加交聯劑包覆蛋白質的 SBA-15 粉末。
6. 重複步驟 1~5，NHS 直接與 EDC 於步驟 1 中加入一同進行反應。
7. 重複步驟 1~6，將步驟 2 “SBA-15”換成“SBA-A”。

II. 包覆蛋白質之 SBA-15 釋放速率

根據不同的實驗目的來調整釋放條件，探討不同條件下的 SBA-15 於正常人體環境(pH 7.4)之釋放效果。

i. 釋放條件—1

1. 取包覆蛋白質的 SBA-15 粉末，並置於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中，取 8 管。
2. 加入 pH 7.4 的緩衝溶液 1 ml，並置於 37 °C 環境下取樣，取樣時間分別為 0.5、1、2、4、8、12、24、48 小時。
3. 取樣時先離心取上清液 500 ul 於新的 eppendorf 試管中，再取 pH7.4 的緩衝溶液 500 ul 加入原試管中，繼續釋放測試。
4. 自上清液中取出取 5ul 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中，加入 795 ul 的去離子水及 200 ul 的 Bio-Rad 指示劑，反應 5 分鐘。
5. 反應後將溶液吸取至比色槽中，利用 UV/Vis 分光光度計檢測，在 595 nm 的波長下檢測蛋白質的吸收值；將吸收值經由蛋白質標準線換算即可知道釋放濃度。

ii. 釋放條件—2

1. 取包覆蛋白質的SBA-15粉末，並置於1.5 ml的eppendorf試管中，取8管。
2. 加入pH 7.4的緩衝溶液1 ml，並置於37 °C環境下取樣，取樣時間分別為0.5、1、2、4、8、12、24、48小時。
3. 取樣時先離心取上清液5 ul於eppendorf試管中，加入795 ul的去離子水及200 ul的Bio-Rad指示劑，反應5分鐘。
4. 反應後將溶液吸取至比色槽中，利用UV/Vis分光光度計檢測，在595 nm的波長下檢測蛋白質的吸收值；將吸收值經由蛋白質標準線換算即可知道釋放濃度。

5-3-3 探討改變極性對蛋白質包覆的影響

1. 配製含有 5、20、40、60% 等不同乙睛比例的蛋白質溶液。
2. 秤取 10 mg 的 SBA-15 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中，加入 1ml 的蛋白質溶液，並於 4 °C 下旋轉攪拌 2 小時。
3. 將試管用微量離心機進行離心，保留上清液另做 UV 檢測。
4. 選用與蛋白質溶液 pH 相同的 PBS buffer 取 1 ml 清洗沉澱並再次離心去除上清液，以去除未包覆於 SBA-15 的蛋白質。
5. 將步驟 4.結果進行冷凍乾燥後，所得到的產物即為調控極性包覆蛋白質的 SBA-15 粉末。
6. 重複步驟 1~5，步驟 2 改加入其他比例的蛋白質溶液。

5-3-4 探討官能化 SBA-15 對重金屬 Co 吸附

I. 製備 5nm 之奈米金粒子

1. 取 100ml 的 0.01% $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 於兩頸圓底燒瓶中煮沸，加熱攪拌器以 250°C 加熱並以冷凝管加速沸騰。
2. 取 2ml 的 1% 檸檬酸鈉溶液與 0.45ml 的 1% 丹寧酸溶液混合。
3. 待四氯金酸溶液沸騰後，緩慢加入步驟 2.預先混合好的溶液，持續攪拌並加熱 15 分鐘。
4. 停止加熱後，持續攪拌待溶液冷卻至室溫後，置於 4°C 冰箱中冷藏保存。
5. 奈米金溶液顏色變化由淡黃色→深橘紅色。
6. 奈米金粒子大小可以 TEM 佐證。

II. 製備 SBA-15-AuNPS

1. 取 10mg SBA-15 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中加入 1ml 奈米金溶液，經由 Vortex 混勻後，利用旋轉混勻機反應 2 小時。
2. 反應完，將離心管離心後取出上清液，胚壘即為 SBA-15-Au，接著可進行重金屬吸附及樣品檢測分析。
3. 將步驟 1 “SBA-15”改為 SBA-A/SBA-S，重複步驟 1~2。

III. 重金屬 Co 吸附

1. 秤取 10mg SBA-15 於 1.5ml 的 eppendorf 試管中，加入 1ml 0.01M 的 CoCl_2 重金屬溶液並利用旋轉攪拌機反應兩個小時。
2. 反應完，將離心管離心後取出上清液。
3. 經由冷凍乾燥處理即可得到吸附完重金屬的 SBA-15，接著可利用 SEM/EDS 檢測。
4. 將步驟 1 “SBA-15”改為 SBA-A/SBA-S/SBA-A-Au/SBA-S-Au 重複步驟 1~3。

5-4 實驗結果與討論

5-4-1 探討 SBA-15 表面修飾的影響

I. SBA-15 的表面修飾

我們利用後製備方式—無水有機溶劑法來進行 SBA-15 粒子表面修飾，希望提升蛋白質等物質包覆率以及 SBA-15 粒子的應用性。

首先，在修飾完成後我們利用 SEM 先檢視 SBA-15 粒子表面是否會受影響，如 Fig. 5-3，可以見到每個官能化修飾以後並不會影響到原先粒子的表面、尺寸及其分散性更不會造成聚集現象產生，另外以 EDS 分析各產物粒子元素，如 Table 5-4 & Fig. 5-4 所示，在各種不同修飾下，都有該元素的出現，如氨根修飾之 SBA-15 (SBA-A)有氮元素的出現、氣甲基之 SBA-15 (SBA-C)有氯的出現與硫醇基之 SBA-15 (SBA-S)有硫元素的出現，而正辛基修飾之 SBA-15 (SBA-O)也可以明顯看到氧元素的比例較高，以此為證；接著我們利用 TEM 檢視孔洞情形，每一組樣品之結果皆呈現良好孔洞結構，並沒有造成孔洞崩壞情形出現，孔徑也相近沒有相差甚大，如 Fig. 5-5 所示。

使用 FTIR 分析 SBA-15、SBA-A、SBA-O、SBA-C 與 SBA-S 之化學鍵結與成分，分析結果如 Fig. 5-6 所示，由圖中(a)可發現 SBA-15 於 1060-1260、820 與 500 cm^{-1} 處為 Si-O-Si 鍵之特徵波峰(Saikia, Satyarthi, Srinivas, & Ratnasamy, 2007; Shon et al., 2007)；利用 APTS 是修飾氨根之 SBA-15，

圖中(b)在 1523cm^{-1} 處為 N-H 鍵結所產生之波峰；再來，圖中(c)為 OcTS 修飾正辛基之 SBA-15，可於 2861 與 2932cm^{-1} 處發現 C-H 鍵結；利用 CMTS 修飾氯甲基之 SBA-15 在圖中(d)，通常 $550\sim 850$ 處會有 C-Cl 鍵結之波峰出現，而巯基是利用 MPTMS 修飾而得，我們可以在圖中(e)分析，通常在 2400cm^{-1} 處有 S-H 鍵結，可是氯甲基及硫醇基修飾之特徵峰並未明顯出現，儘可觀察出 SBA-15 之特徵峰(Shi et al., 2013)；在 FTIR 分析中，最主要我們可以清楚看到各修飾之 SBA-15 其特徵峰，正辛基與硫醇基皆有 C-H 鍵結之吸收峰出現，而硫醇基及氯甲基之特徵峰並未明顯出現可能在製作壓錠時該重複幾次，以確認結果。

最後以 SAXS 分析孔洞結構分析詳見 Fig. 5-7，可以看出各官能化之粒子都與 SBA-15 有類似的波峰位置出現，代表後製備並不會影響原先製備之 SBA-15 粒子孔洞排列；綜合以上，這樣不僅可以具備 SBA-15 粒子原先特性還有官能化來提升其應用性。

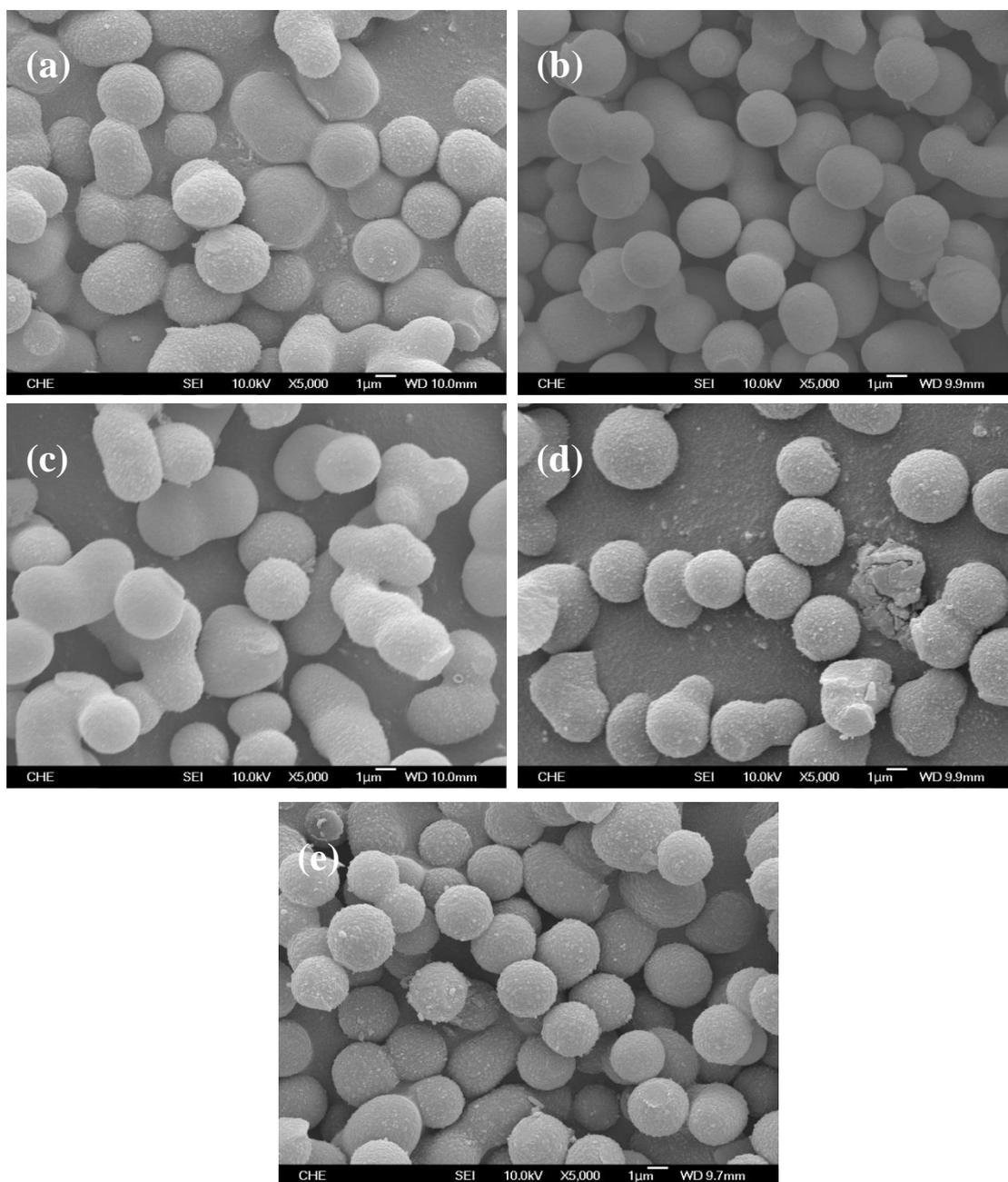


Fig. 5-3 不同官能化的SBA-15之 SEM圖，(a) SBA-15；(b) SBA-A；
(c) SBA-O；(d) SBA-C；(e) SBA-S。

Table 5-4 EDS 元素分析結果表

Element	O	Si	N	Cl	S	Total(wt%)
SBA-15	55.08	44.92	0	0	0	100
SBA-A	47.28	46.56	6.16	0	0	100
SBA-O	59.15	40.85	0	0	0	100
SBA-C	48.99	47.81	0	3.20	0	100
SBA-S	55.41	41.49	0	0	3.11	100

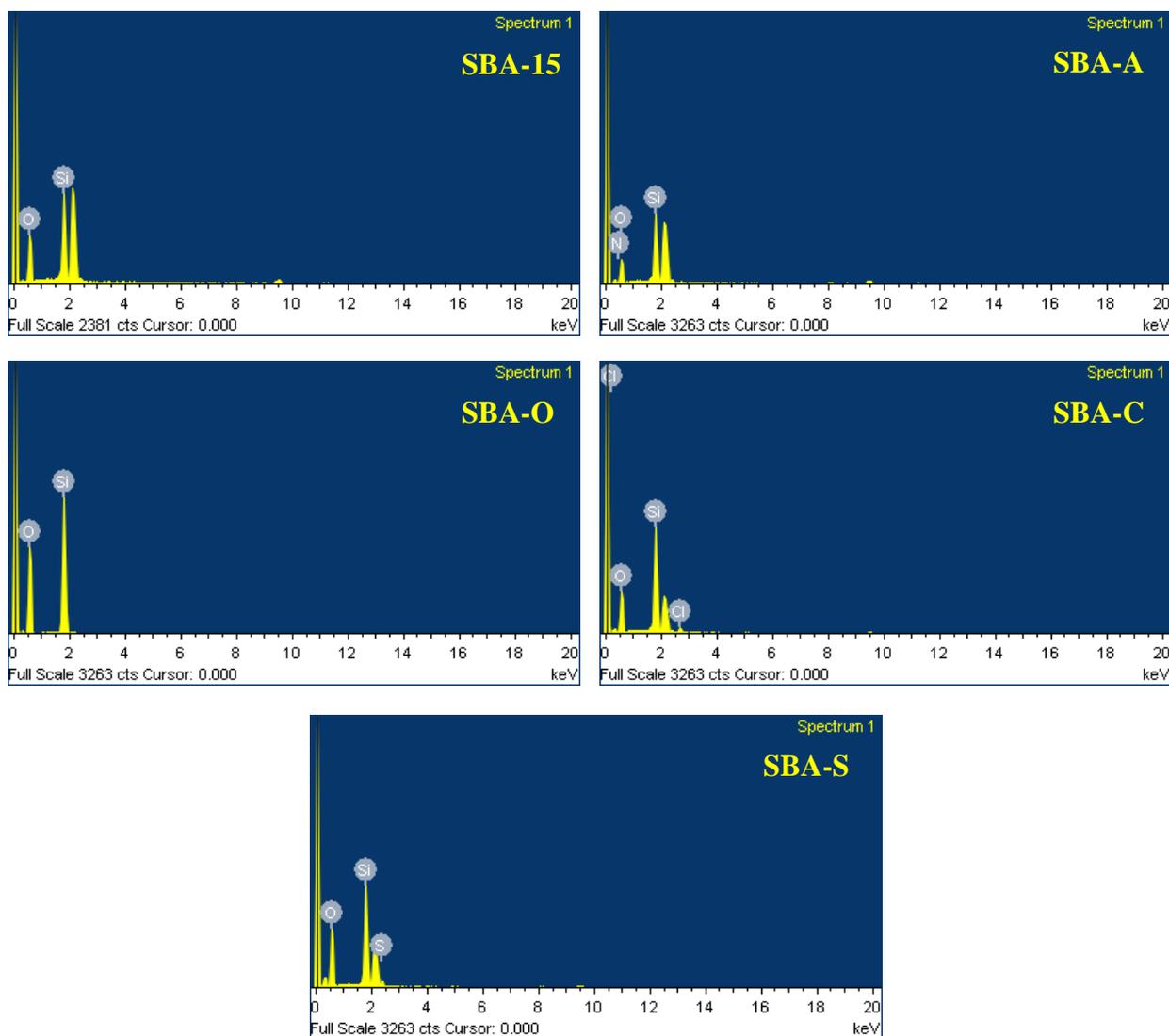


Fig. 5-4 修飾之 SBA-15 的 EDS 元素分析結果

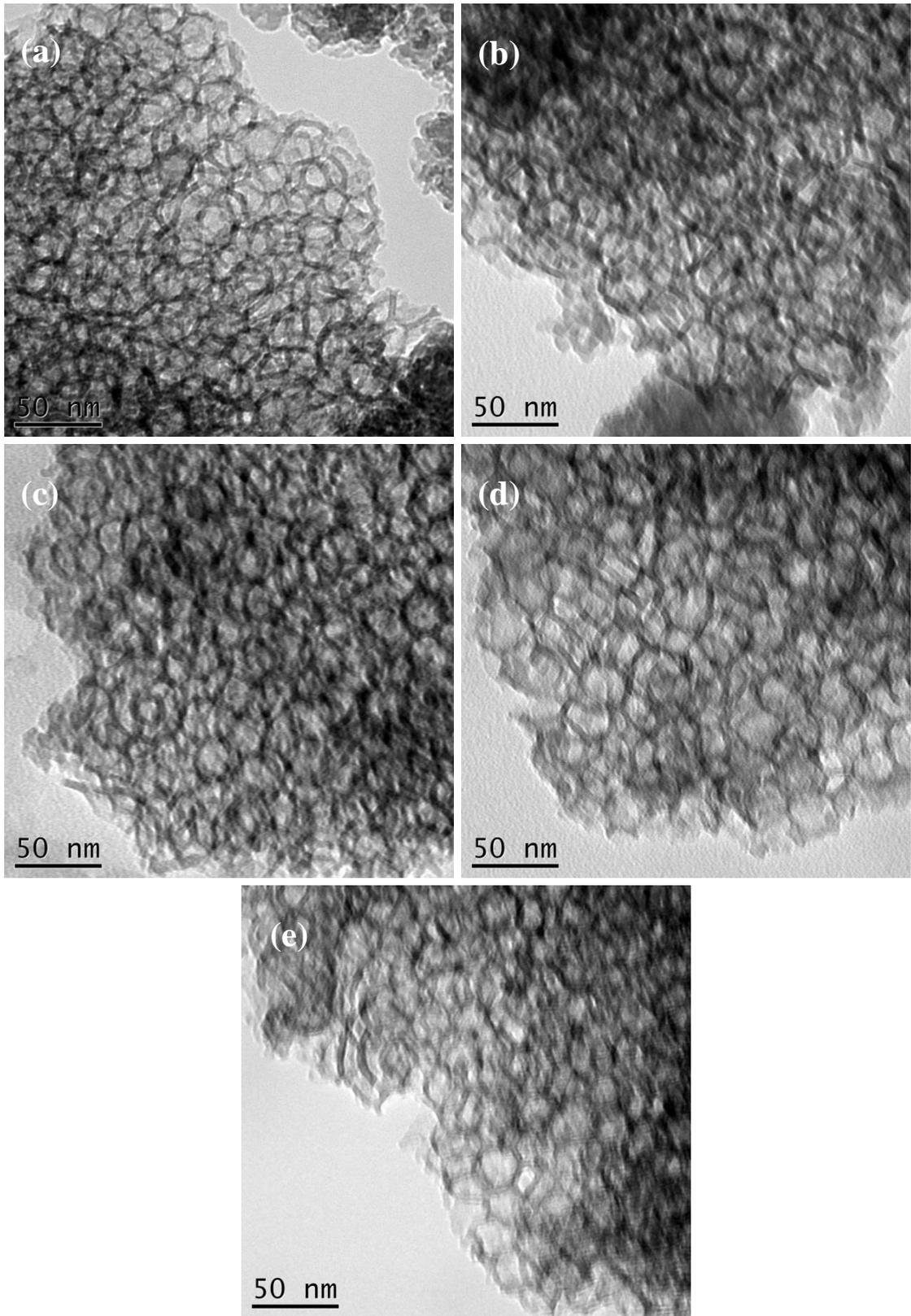


Fig. 5- 5 不同官能化的 SBA-15 之 TEM 圖，(a) SBA-15；(b) SBA-A ；
(c) SBA-O ；(d) SBA-C ；(e) SBA-S 。

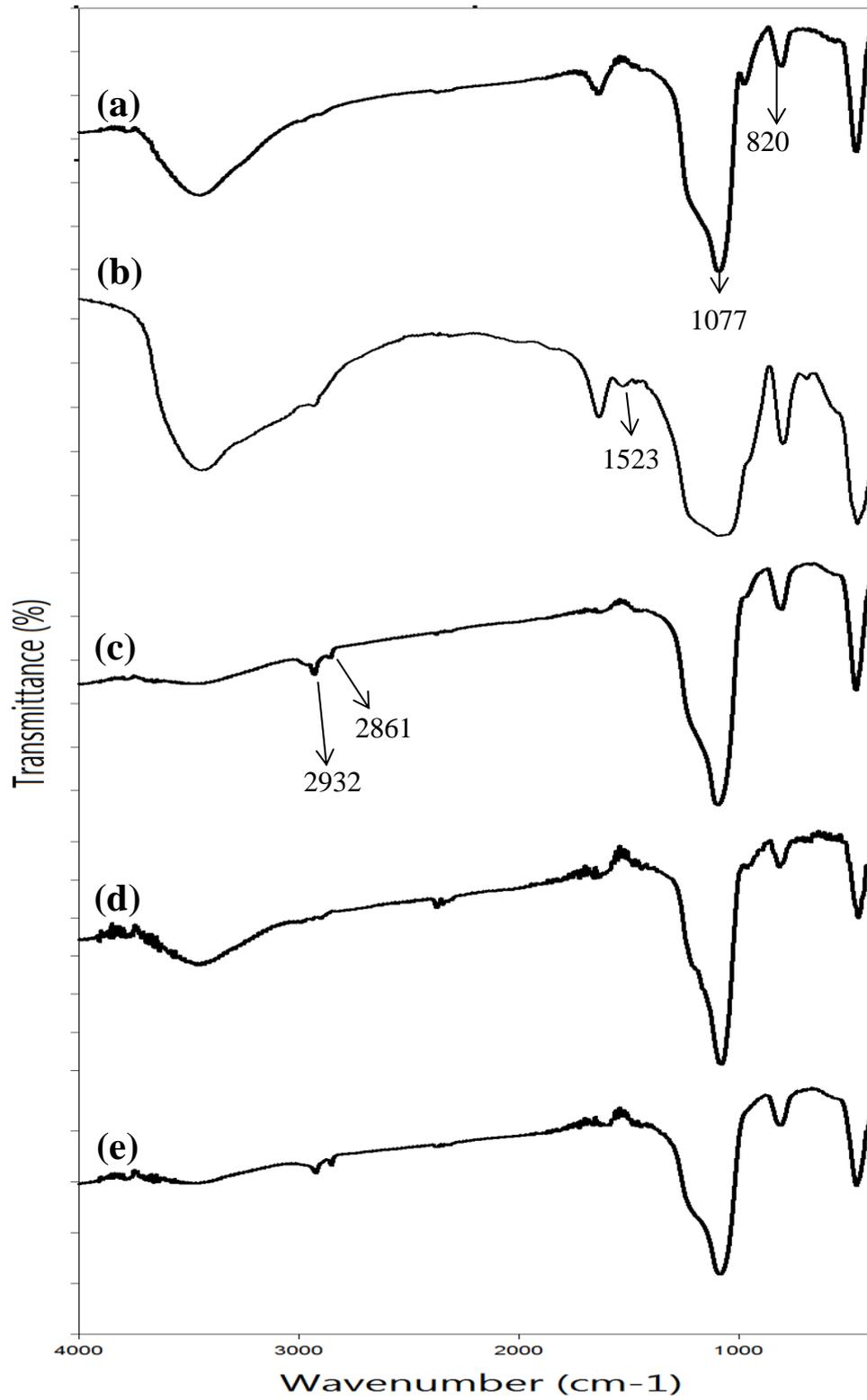


Fig. 5-6 不同官能化的 SBA-15 之 FTIR 分析圖，(a) SBA-15；(b) SBA-A；(c) SBA-O；(d) SBA-C；(e) SBA-S。

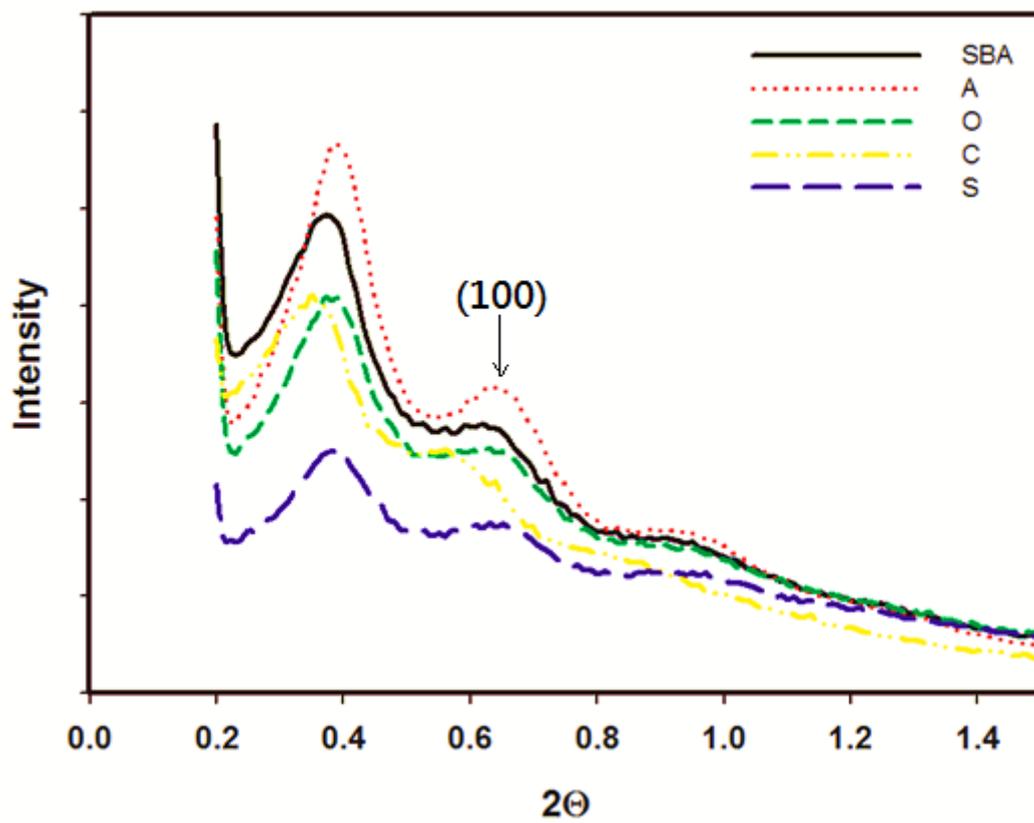


Fig. 5-7 不同官能化的 SBA-15 之 SAXS 分析圖

II. 蛋白質包覆與 Zeta-potential 測定

為了瞭解 pH 環境對 SBA-15 粒子包覆蛋白質(BSA)的影響，這裡將對 SBA-15 及 BSA 進行 Zeta-potential 測試，Zeta 電位值的正負代表該物質在該 pH 環境所帶的陽離子與陰離子的量，若 Zeta 電位為正則該物質帶陽離子，值為負則該物質帶陰離子，數字大小則代表該物質帶陰/陽離子量的多寡，這數值可以表示材料表面的帶電程度。

Table 5-5 是計算 SBA-15 粒子與 BSA 間的 Zeta 電位差，可以由 ΔZ 推算出 SBA-15 粒子與蛋白質之間的吸引力大小，當 ΔZ 為正值表示彼此間吸引，負值表示彼此間排斥；以 SBA 與 BSA 為例， $\Delta Z_{\text{SBA-BSA}}$ 為負值，這表示 SBA-15 與 BSA 之間都是帶負電荷的情況下，彼此之間是存在著排斥力的，造成在包覆量上偏低的情形，當 pH 值慢慢降低使 SBA-15 與 BSA 所帶的負電荷減少，彼此間的排斥力也相較降低，因此在包覆量的表現上，低 pH 值的環境是有利於 BSA 的包覆；這裡也將 Zeta 電位分析的結果繪製成 Fig.5-8，方便去比較其中之電位差，由於氨根($-\text{NH}_2$)能接受溶液中的 H^+ 所以在偏酸性之溶液中可以具有鹼性性質並帶有正電荷($-\text{NH}_3^+$)，所以測得知電位為正。SBA-15 在不同 pH 環境下包覆 BSA 之包覆率分析圖，如 Fig. 5-9，在低 pH 環境下可以得到最佳包覆效果。

綜合上述結果，可以知道包覆蛋白質藥物時，SBA-15 孔徑的選

擇與包覆環境的條件都是必須要納入考慮的，在這裡利用了 BSA 作為低 pI 值(4.7)的藥物模型，研究中說明了 BSA 適合低 pH 值的包覆環境，因此往後再進行其他種低 pI 值或是在溶液中與 SBA-15 帶同性電荷的蛋白質藥物包覆時，必須選擇低 pH 值的環境下進行包覆提高包覆效果，所以在未來 SBA-15 於藥物釋放系統的應用當中，可以針對蛋白質藥物本身的性質來選擇合適的包覆條件，除了可以提高 SBA-15 在這方面的應用性，也能節省蛋白質藥物的用量，使 SBA-15 在藥物控制釋放系統當中更有其醫療價值。

Table 5- 5 SBA-15 與蛋白質在各 pH 環境下之 Zeta 電位測試

pH	5.8	6.4	6.8	7.0	7.4	8.0
SBA-15	-8.0	-13.8	-15.4	-16.1	-21.1	-26.6
SBA-A	9.20	6.60	-0.80	-4.90	-6.60	-12.10
SBA-O	-6.20	-9.20	-16.90	-14.60	-22.70	-24.10
SBA-C	-7.30	-10.90	-17.70	-19.70	-24.60	-29.70
BSA	-5.31	-6.10	-6.60	-6.88	-8.14	-12.10

Table 5- 6 SBA-15 與蛋白質之間的電位差

pH	5.8	6.4	6.8	7.0	7.4	8.0
$\Delta Z_{\text{SBA-BSA}}$	-13.3	-19.9	-22.0	-23.0	-29.2	-38.7
$\Delta Z_{\text{A-BSA}}$	3.9	0.5	-7.40	-11.8	-14.7	-24.2
$\Delta Z_{\text{O-BSA}}$	-11.5	-15.3	-23.5	-21.5	-30.8	-36.2
$\Delta Z_{\text{C-BSA}}$	-12.6	-17.0	-24.3	-26.6	-32.7	-41.8

ΔZ 為正值表示彼此間吸引，負值表示彼此間排斥

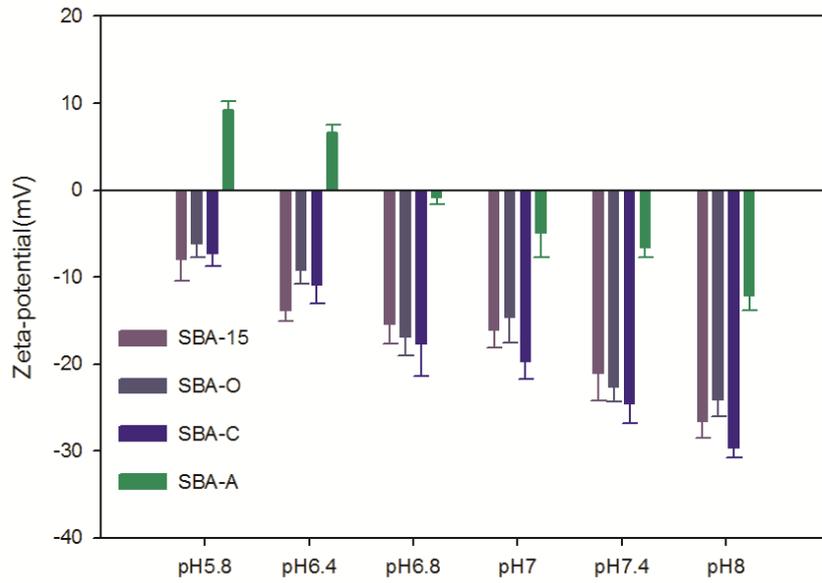


Fig. 5- 8 SBA-15 等在不同 pH 環境下之 Zeta 電位測試

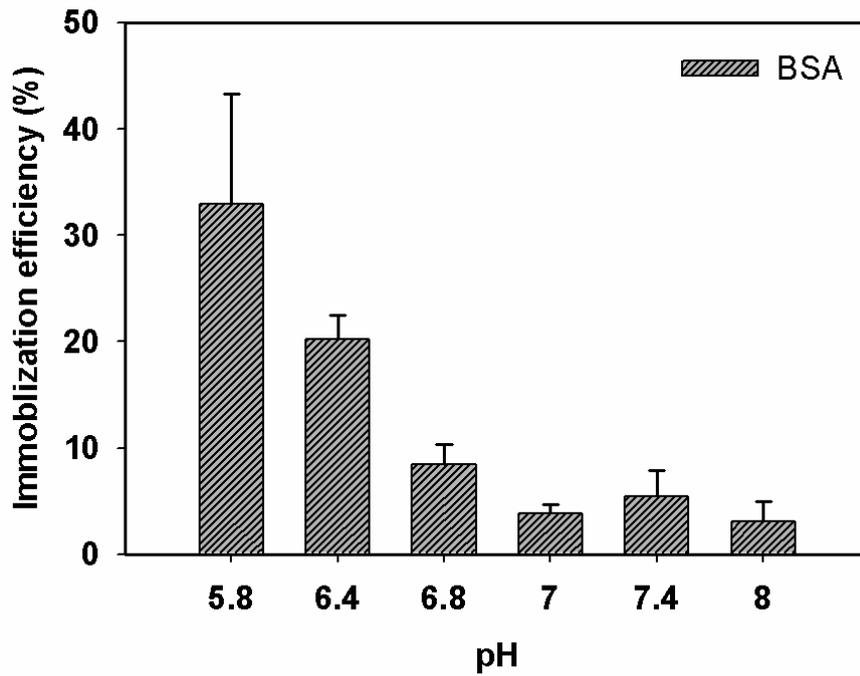


Fig. 5- 9 SBA-15 在不同 pH 環境下之包覆率比較

5-4-2 探討交聯劑對蛋白質包覆的影響

本小節利用交聯劑 EDC/NHS 來幫助氨基官能化之 SBA-15 (SBA-A)

提升包覆率，並希望在釋放測試中可以達到緩釋的效果。

I. 蛋白質包覆

首先，包覆結果如 Fig. 5-10 所示，SBA-15 並不會受 EDC/NHS 影響包覆率，因為 SBA-15 表面並沒有任何氨基可以與交聯劑反應，所以不論包覆過程之交聯劑添加程序如何，其包覆率結果相近；而 SBA-A 在利用交聯劑包覆 BSA 之包覆率看來，分批加入兩樣交聯劑反應會比同時加入之包覆率來的高出許多，判斷有幾項原因是同時加入交聯劑會影響此結果，第一，減少了 SBA-A 之表面氨基與 BSA 之羧酸基結合反應，因為 BSA 本身也含有氨基，有機會與另外一個 BSA 分子結合，導致蛋白質自身結合降低包覆率；第二，有可能是因為 BSA 與 SBA-A 孔道口附近氨基結合堵住了進入孔道的機會，降低了包覆率。

由此看來，交聯劑在幫助 SBA-A 與 BSA 結合有明確提升，往後再利用氨基與羧酸基之結合也可多利用此反應機構。

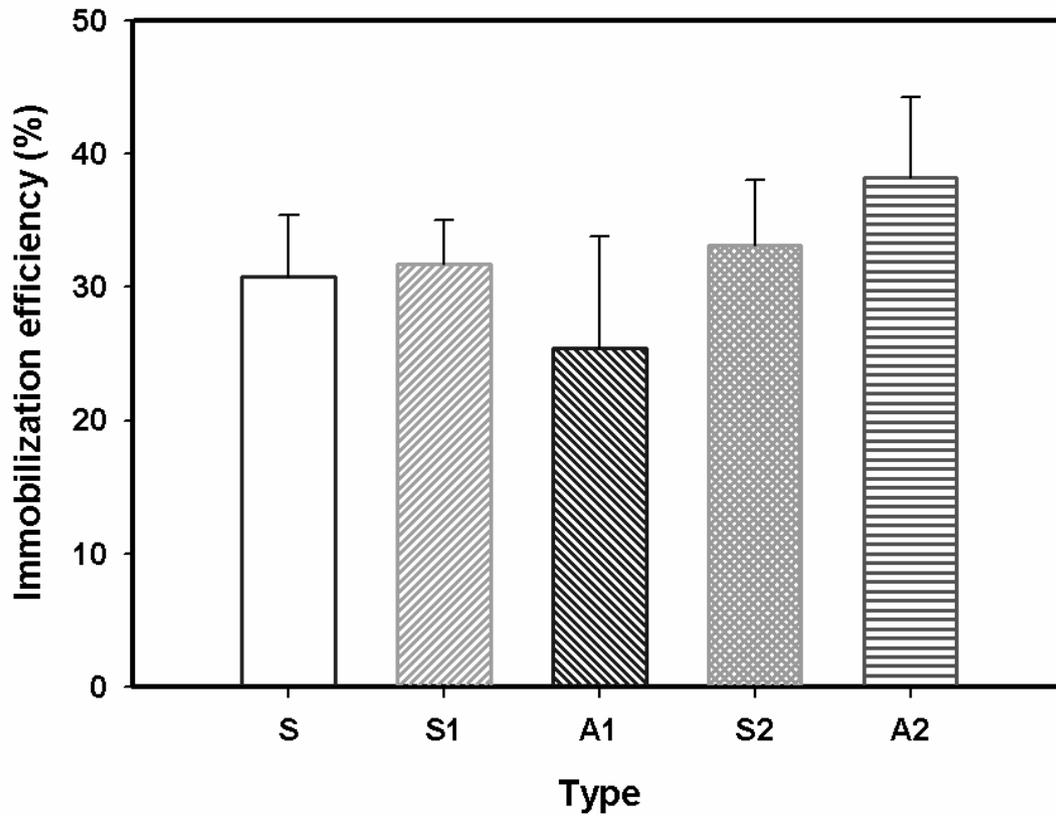


Fig. 5-10 利用交聯劑 EDC/NHS 之包覆率比較圖(S 為 SBA-15、A 為 SBA-A、1 為同時加入 EDC/NHS、2 為分批加入 EDC/NHS)

II. 蛋白質釋放測試

利用包覆蛋白質之 SBA-15 進行兩種釋放測試，比較不同投藥環境中之藥物釋放情形，藥物釋放環境為模擬人體體液之 pH 7.4 PBS buffer，第一種環境會定時更新溶液，第二種是在一固定環境中進行釋放；如 Fig. 5-11 所示，從第一種釋放測試中可以觀察到的趨勢是藥物在一投入環境中，即有最大釋放量，前八小時緩慢降低釋放量，隨之沒有任何釋放跡象，依總釋放量來看僅達兩成，可能需要更長時間釋放亦或由於交聯劑之結合過強，使得在緩衝溶液中不易釋放；第二種釋放測試也可以看出，藥物投入到環境中皆為立即釋放，漸漸達到最高釋放量以後，由於固定環境中無添入新緩衝液促使其釋放，隨著持續旋轉混合有可能部分蛋白質又回到了 SBA-15 孔道之中，所以曲線呈現先升後降，爾後持平不再多加變化。

在藥物釋放的效果中，為了達到有效的控制效果，使蛋白質藥物能在患部長時間的維持在有效濃度，對其釋放速度的控制就是主要的研究目標，而在這部分的實驗中發現了無論利用交聯劑包覆蛋白質為否，皆可有緩釋地效果，交聯劑主要幫助了蛋白質包覆率的提升，但是在釋放過程並沒有直接的幫助緩釋。針對目標蛋白質藥物來選擇載體是否需要修飾或利用交聯劑，以及蛋白質的包覆與釋放條件來達到最佳的效果是很重要的一環，也值得在未來能更深入的研究與探討。

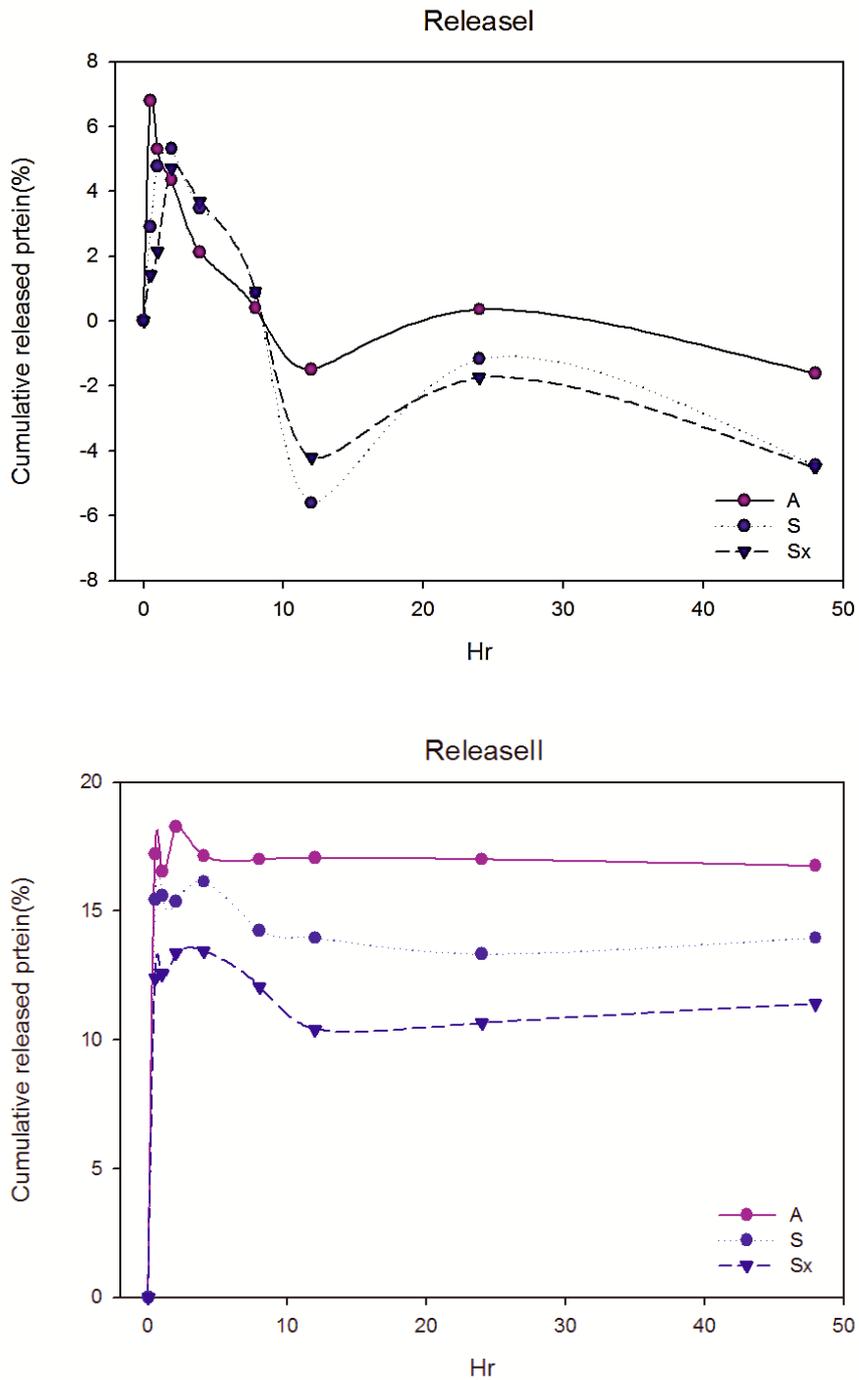


Fig. 5- 11 藥物釋放率曲線圖，ReleaseI (環境會不斷更新 buffer)，ReleaseII (固定環境溶液)，Buffer 為 pH 7.4 PBS；Sx 為 SBA-15 包覆 BSA、S 與 A 代表 SBA-15 與 SBA-A 利用交聯劑包覆 BSA 之釋放。

5-4-3 探討改變極性對蛋白質包覆的影響

針對非極性正辛基官能化之 SBA-O 探討包覆率，利用 5、20、40、60% 等四種比例之乙腈添加於蛋白質溶液進行包覆率提升測試；如 Fig. 5-12 所示，添加一定比例 ACN 可以提升 SBA-O 的蛋白質的包覆率，其中在蛋白質溶液中添加 20%ACN，可以最適當改變蛋白質包覆溶液的極性而使 SBA-O 與 SBA-15 相較下得到最佳的包覆效果。可是添加 ACN 比例為 40% 起，蛋白質溶液非極性程度偏高，反而導致 SBA-O 較 SBA-15 之蛋白質包覆率低，甚至添加比例 60%ACN，更無法有確切的包覆結果，故 Fig. 5-12 中並沒有 60% ACN 參與比較；如欲改變蛋白質包覆溶液極性來提升包覆率，添加溶劑是可行的，但是濃度的調控是必須的，過高的比例攪和會導致溶液極性/非極性過強且會影響蛋白質等藥物的活性。

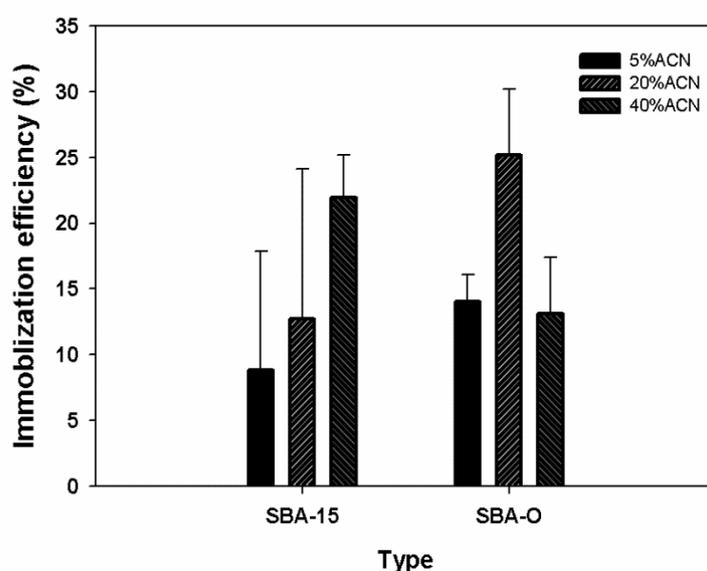


Fig. 5-12 利用添加不同比例乙腈於包覆溶液之包覆率比較

5-4-4 探討官能化 SBA-15 對重金屬 Co 吸附

在重金屬 Co 吸附測試中，我們利用氨根與硫醇基官能化之 SBA-15 粒子進行測試；此外，有研究利用奈米金粒子檢測重金屬 Hg，在這我們也結合奈米金粒子來探究是否提升重金屬 Co 吸附效果。

如 Fig. 5-13 所示，5nm 之奈米金溶液呈現橘紅色，代表製備出之球型奈米金粒子分散於溶液中，並沒有聚集；接著看 Fig. 5-14 UV 分析圖，吸收波峰坐落於 525nm 可證實我們與文獻之吸收波峰落於 524~526nm 相符，我們再利用 Fig. 5-15 TEM 圖佐證我們的奈米金尺寸大小約 5~6nm 之間(Cheng & Wang, 2004; Jana, Gearheart, & Murphy, 2001)。

包覆完重金屬以後，我們利用 SEM 中的 EDS(Mapping)功能，檢測樣品中元素含量比例來檢測吸附成效，元素分析結果如 Table 5-7，可見不論是否有金奈米粒子結合，SBA-A 皆有最佳吸附效果，在重金屬溶液中彼此吸引力最強，而且在結合奈米金粒子以後的重金屬吸附有提升的效果，此外可以看出硫醇基和奈米金有良好的鍵結能力，彼此會形成硫金鍵，可看出三種粒子與奈米金結合當中，SBA-S 有最高的比例。

此外，我們可以見 Fig.5-16 樣品之 mapping 結果，在相同載體下相互比較有無奈米金粒子所影響的重金屬吸附結果，左側為 SBA 粒子，右側為與奈米金結合之 SBA 粒子，圖中白點越多代表 Co 的比

例越高，我們可以輕易看出右側皆較左側的白點結果來的多，代表奈米金在提升重金屬吸附能力上有助益。

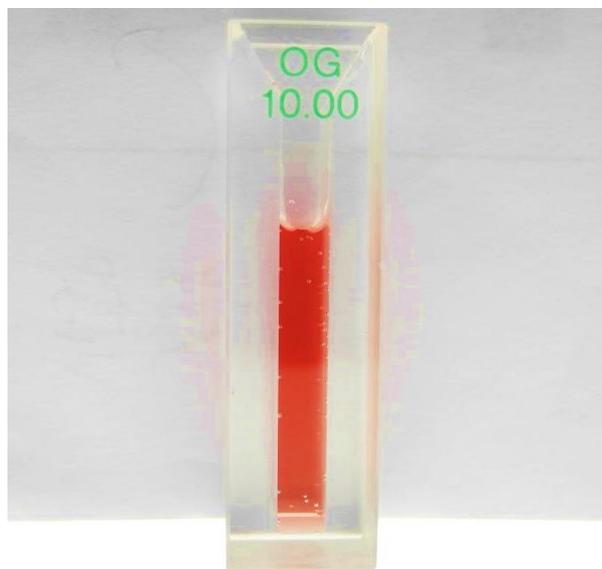


Fig. 5- 13 5nm AuNPs 於透明比色槽中之呈色

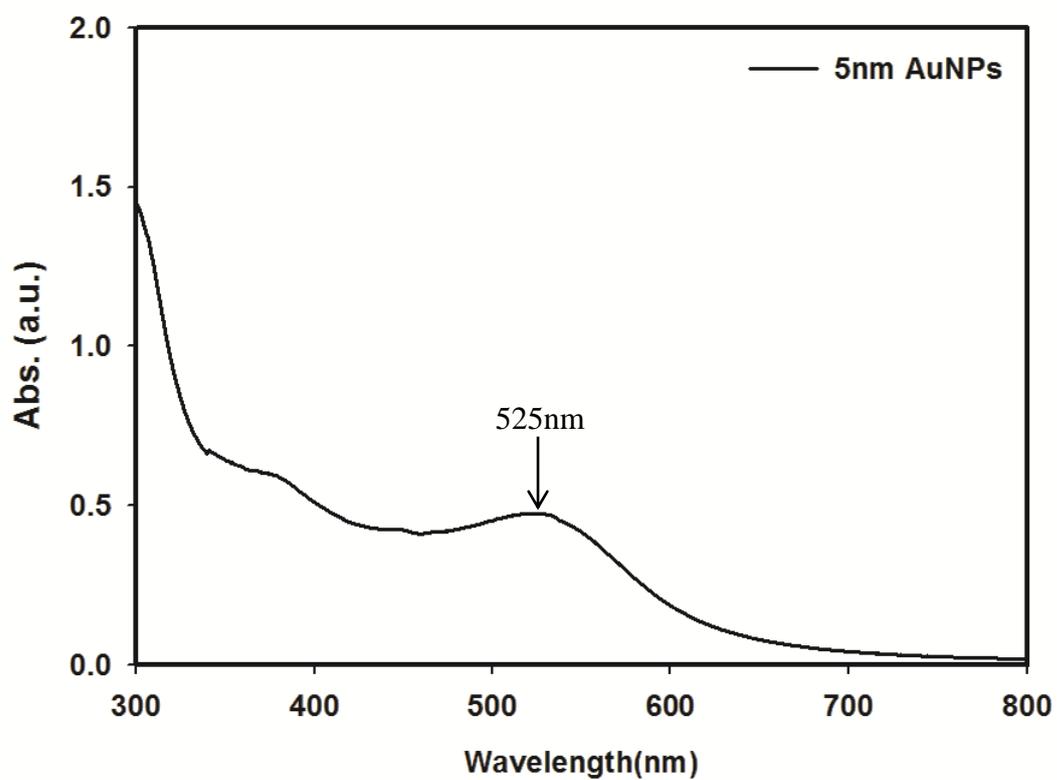


Fig. 5- 14 5nm AuNPs 溶液之 UV 分析圖

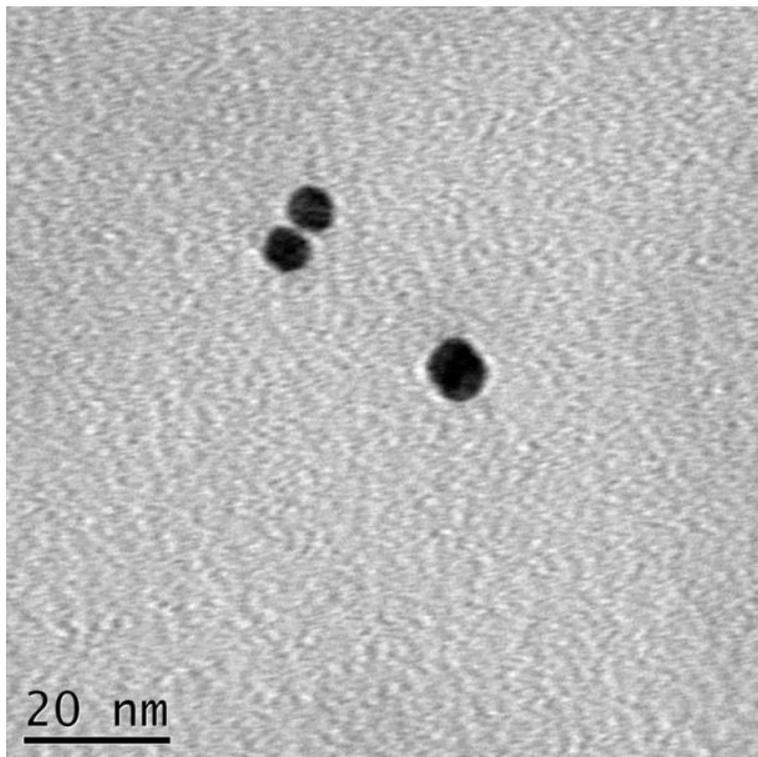
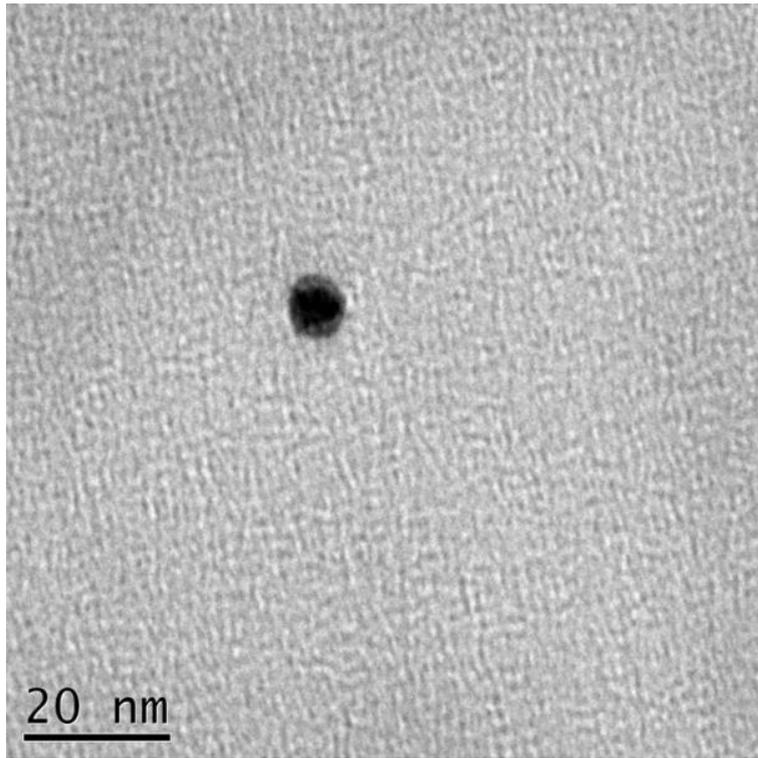


Fig. 5- 15 AuNPs 之 TEM 圖

Table 5- 7 SBA-15/Co 粉末之 EDS 分析數據表，重金屬溶液[CoCl₂]=0.01M

Element	C	O	Si	Co	N	S	Au	Total
SBA-15	5.19	59.18	35.36	0.27	0	0	0	100
SBA-A	8.11	51.67	23.57	0.43	3.00	0	0	100
SBA-S	5.08	57.04	36.72	0.10	0	1.06	0	100
SBA-15-Au	12.64	48.58	36.26	0.57	0	0	1.94	100
SBA-A-Au	13.41	41.96	34.80	2.05	3.15	0	4.63	100
SBA-S-Au	12.60	38.27	30.74	1.88	0	3.19	13.31	100

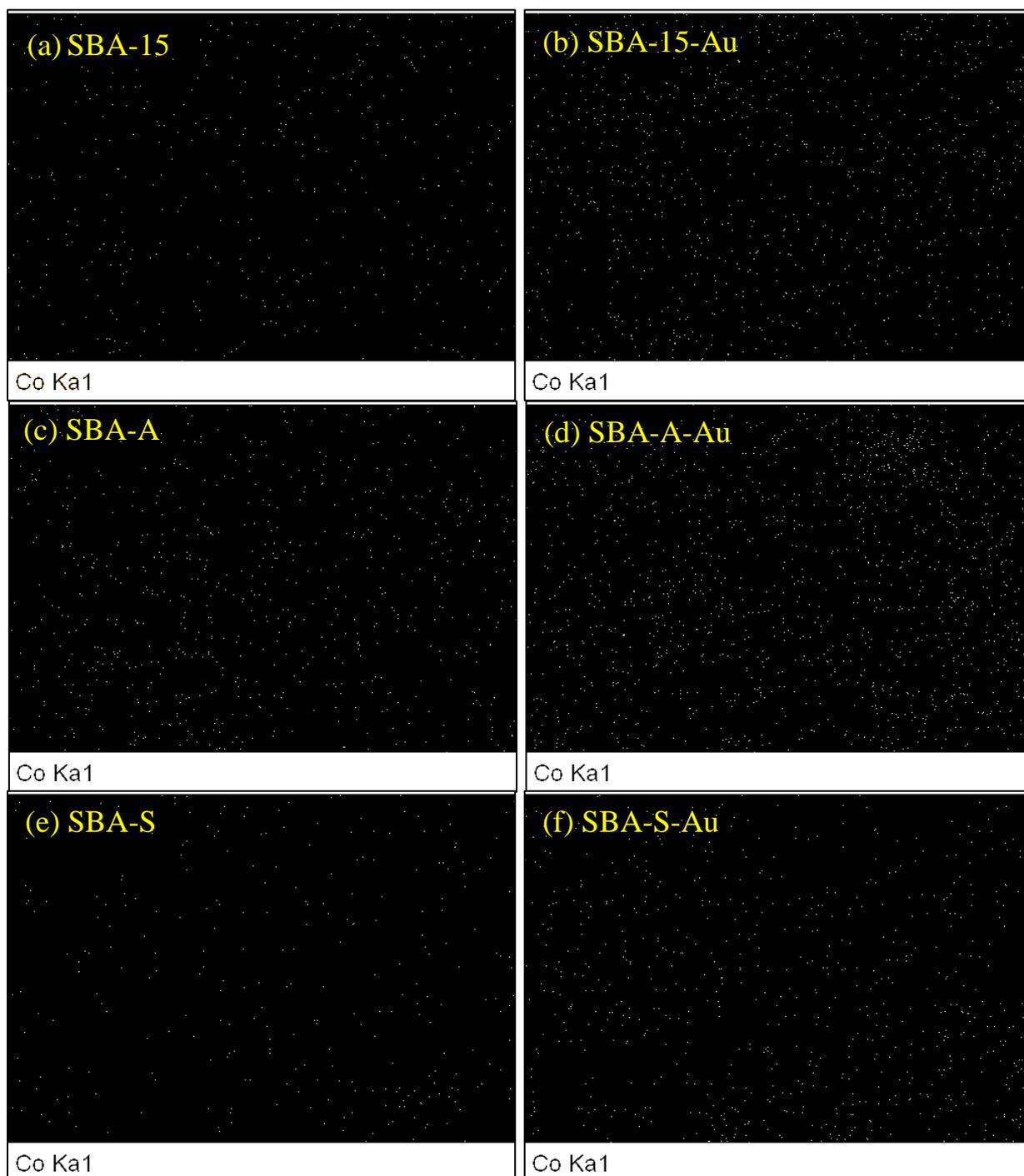


Fig. 5- 16 SBA-15 吸附重金屬 Co 之 EDS/mapping 元素 Co 分析圖

第六章 導電高分子

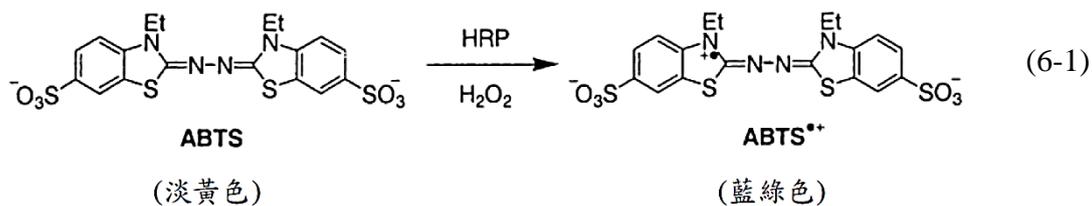
6-1 實驗目的

利用SBA-15作為良好載體的性能，將HRP酵素包覆於SBA-15並以酶聚合法作為苯胺與3,4-乙烯二氧噻吩兩者聚合反應的催化劑，一般直接利用HRP酵素催化聚合聚苯胺及聚3,4-乙烯二氧噻吩，在熱穩定性與導電性的表現尚有待改善；因此我們藉由SBA-15-HRP 與過氧化氫催化後，帶有自由基之單體從SBA-15孔洞內部聚合，沿著孔道延伸到外部形成較長直鏈型態之聚合物，其中PANI利用十二烷基苯磺酸(DBSA)為摻雜劑以獲得穩定性與導電性較佳之聚苯胺，而PEDOT 聚合反應除了探討聚合於SBA-15-HRP之反應溫度，也討論了利用SBA-15-HRP催化之EDOT自由基，在加入PSS後的聚合反應會不會因為不同形式之HRP催化而影響聚合PEDOT。

6-2 實驗原理

6-2-1 HRP 酵素活性測定

在過氧化氫存在環境下，HRP 與 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS)可進行反應，將 ABTS 催化成自由基陽離子型態($ABTS^{\cdot+}$)，反應溶液顏色變化由淡黃色轉為藍綠色，並於波長 410 與 750nm 下有波峰出現，如 (6-1)式所示。本研究中 HRP 酵素活性測定方法為利用紫外光 - 可見光分光光度計，量測($ABTS^{\cdot+}$)於波長 410nm 處之吸收值(Kadnikova & Kostić, 2002)。



6-2-2 電化學反應－循環伏安法

電化學反應(electrochemical reaction) 是一種伴隨電荷轉移的化學反應，電荷轉移必須發生在兩個不同相的介面上，其一是靠離子的移動達到導電，稱為電解質(electrolyte)，電解質本身可以是液態或固態，它們的共通性為離子導電體；另一相則由電極(electrode) 所構成，在電極上導電方式主要是靠電子的移動來完成。

在電化學系統中，最常使用的是三極電解槽，分別為工作電極(working electrode, WE)、相對電極(counter electrode, CE)及參考電極(reference electrode, RE)，分述如下。

1. 工作電極：欲研究與測試之電極，此電極的電位值會隨著時間函數而呈現出線性變化，且不固定為陽極或陰極，視反應的不同而定。導體材質可以是惰性金屬、碳材質、半導體材料。
2. 相對電極：相對應於工作電極，所以可為陰極或陽極，此電極的功用是將電流傳到工作電極上；一般常用白金絲、白金線圈來作相對電極。
3. 參考電極：理想的參考電極其電位值應該是準確、已知、固定的且不會對分析溶液中的成分反應，電極之電位值都應該維持固定；常用參考電極有甘汞電極(Calomel electrode, SCE)與銀/氯化銀電極(silver/silver chloride electrode, Ag/AgCl electrode)，如 Fig. 6-1。

循環伏安法(Cyclic voltammetry, CV)是較為常見的電分析方法之一，它是個卓越的方法，此法控制電極電位以不同的速率，隨時間以三角波形一次或多次反覆掃描，電位範圍是使電極上能交替發生不同的氧化與還原反應，並記錄電流—電位曲線。根據曲線型狀可以判定電極反應的可逆程度，中間體、相界吸附或新相形成的可能性，以及耦合反應的性質等。常用來測量電極反應參數，判斷其控制步驟和反應機理，並觀察整個電位掃描範圍內可發生哪些反應，及其性質如何。

如 Fig. 6-2 所示，一個典型的 CV 圖形我們可以得到陽極峰值電流(I_{pc})、陰極峰值電流(I_{pa})、陽極峰值電位(E_{pc})及陰極峰值電位(E_{pa})，此外我們從一個實驗中得到氧化和還原波峰的峰高和對稱性中可判斷電活性物質在電極表面反應的可逆程度。若反應是可逆的，則曲線上下對稱；若反應不可逆，則曲線上下不對稱。

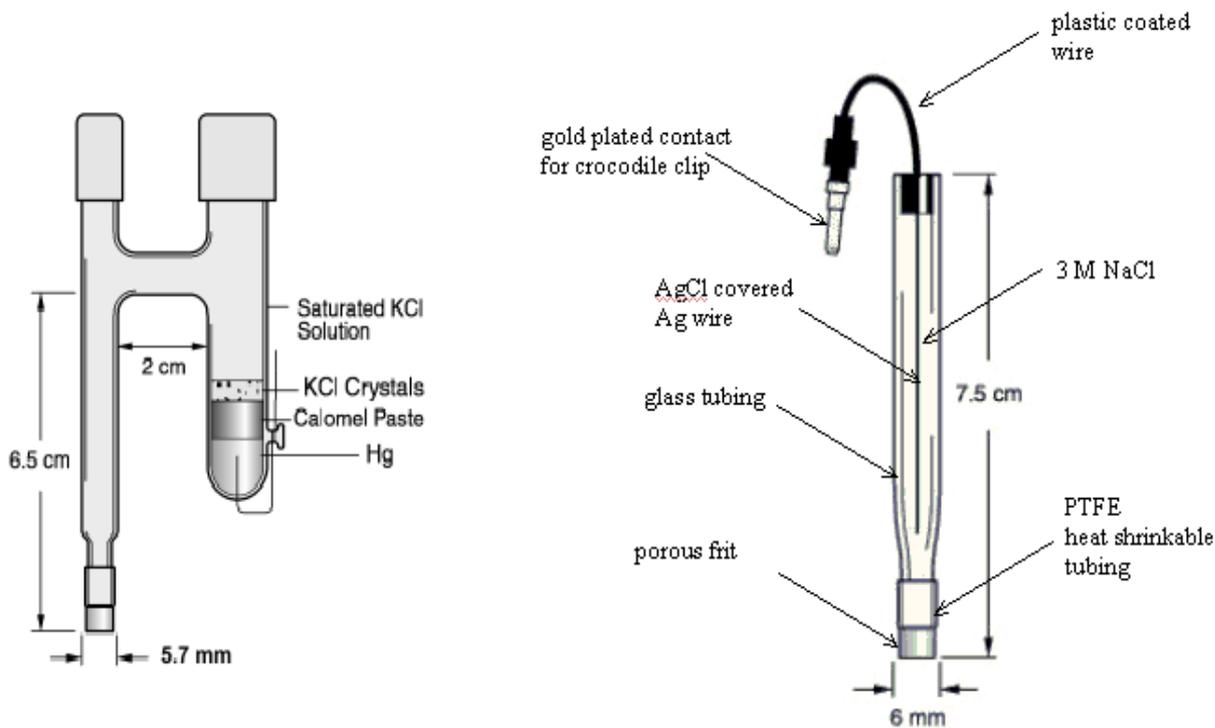


Fig. 6-1 典型之參考電極；(a)SCE，(b)Ag/AgCl electrode

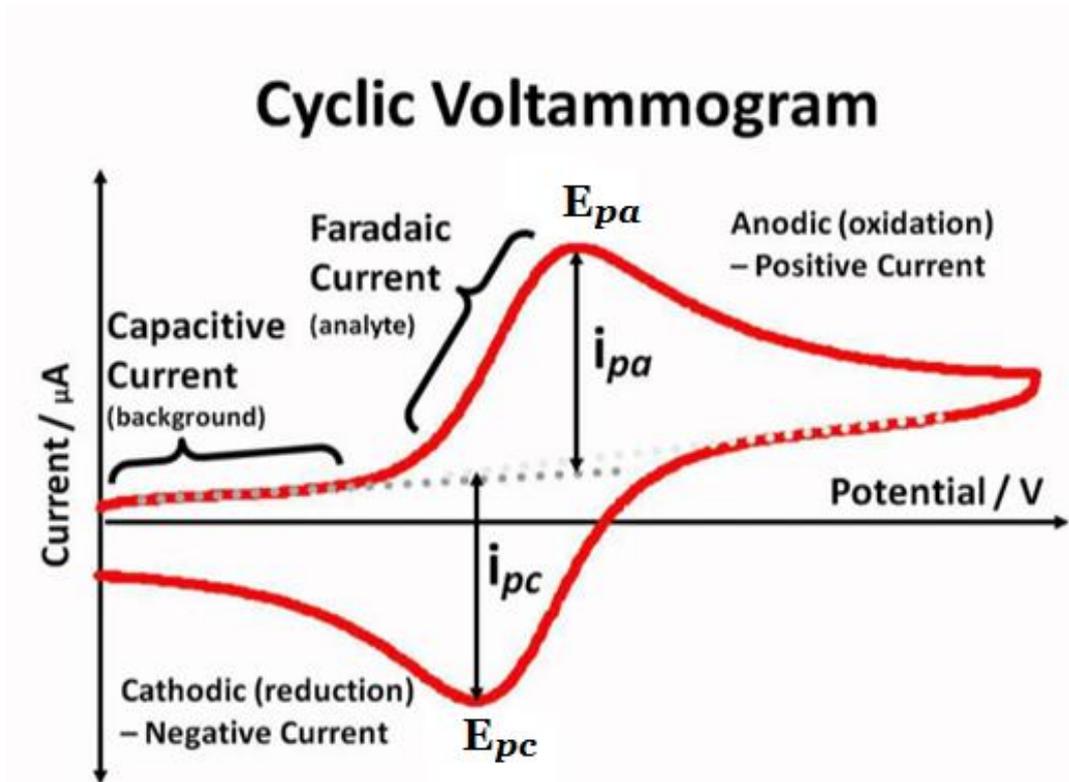


Fig. 6-2 典型循環伏安圖

6-3 實驗步驟

6-3-1 測定樣品中 HRP 酵素活性

1. 取適量含有 HRP 酵素之樣品溶液，加入去離子水將體積稀釋到 925 μ l 加入比色槽中。
2. 於比色槽中加入 75 μ l ABTS 試劑，利用封口膜蓋住比色槽以混合均勻，於室溫下靜置反應 5 分鐘。
3. 使用紫外光-可見光分光光度計量測波長 410nm 下之吸光值(吸收值)。

6-3-2 固定 HRP 酵素於 SBA-15

1. 取 0.2g SBA-15 粉末，加入 5ml 0.1M 檸檬酸磷酸鈉鹽緩衝液，混合以後利用超音波器進行震盪 30 分鐘。
2. 配製 25ml 0.02mg/ml HRP 並置於 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。
3. 震盪完，加入步驟 2 之 HRP 溶液，利用 Vortex 混勻後，於 4 $^{\circ}$ C 冰箱中旋轉混合 2 小時，最後置於 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存。
4. 如欲取用 SBA-HRP Sol'n，每次先將 SBA-HRP stock 混勻後，吸取 SBA-HRP stock 離心分離上清液以後，胚壘即為 SBA-HRP。

6-3-3 探討 DBSA 濃度對 HRP 之活性影響

I. HRP Sol'n V.S. [DBSA] 之活性測定

1. 配製 0.02 mg/ml HRP Sol'n、10mM DBSA、0.2M 檸檬酸磷酸鈉鹽緩衝液(C.A.P)。
2. 根據 Table 6-1 配製不同濃度 0/0.5/1/3/5 mM DBSA。
3. 取 1ml HRP stock 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中，加入 DBSA 溶劑，並於 4 °C 冰箱中，旋轉攪拌反應 30 分鐘。
4. 反應完，加入 75 μ l ABTS 進行 HRP 活性測定。
5. 重複步驟 3~5，將[DBSA]改為 0.5/1 /3/5 mM。
6. 重複步驟 1~5，將步驟 3 之反應 30 分鐘改為立即測定活性。

Table 6- 1 DBSA 對 HRP 酵素活性探討反應溶液配製表(unit : μ l)

	[DBSA]mM				
	0	0.5	1	3	5
0.02mg/ml HRP	100	100	100	100	100
pH4 C.A.P	200	200	200	200	200
10mM DBSA	0	50	100	300	500
DI H ₂ O	625	575	525	325	125
ABTS	75	75	75	75	75
Total	1000	1000	1000	1000	1000

II. SBA-HRP V.S. [DBSA] 之活性測定

1. 利用 0.02 mg/ml HRP Sol'n 配製 SBA-HRP stock，並配製 10mM DBSA、0.2M 檸檬酸磷酸鈉鹽緩衝液(C.A.P)。
2. 取 1ml SBA-HRP stock 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中，將試管利用微量離心機離心後分離上清液，將胚壘進行實驗。
3. 如 Table 6-2，加入 DBSA 溶劑等溶液並於 4 °C 冰箱中，旋轉攪拌反應 30 分鐘。
4. 反應完，加入 75 μ l ABTS 進行 HRP 活性測定。
5. 重複步驟 2~5，將[DBSA]改為 0.5/1/3/5 mM。
6. 重複步驟 1~5，將步驟 2 之反應 30 分鐘改為立即測定活性。

Table 6-2 DBSA 對 SBA-HRP 酵素活性探討反應溶液配製表(unit : μ l)

	[DBSA]mM				
	0	0.5	1	3	5
SBA-HRP					
pH4 C.A.P	250	250	250	250	250
10mM DBSA	0	50	100	300	500
DI H2O	675	625	575	375	175
ABTS	75	75	75	75	75
Total	1000	1000	1000	1000	1000

6-3-4 製備導電高分子

I. PANI

1. 取適量 SBA-HRP 於 1.5 ml 的 eppendorf 試管中。
2. 加入 90 μ l 0.1M 的 Aniline、200 μ l 0.1M 的 C.A.P (pH 4.0) 、 625 μ l DI H₂O 與 10 μ l 3mM 的 DBSA 充分混勻。
3. 最後加入 10 μ l 1M 的 H₂O₂ 進行反應，於 4 °C 冰箱中，旋轉攪拌反應 2 小時。
4. 反應完，離心分離上清液於心的試管留作 UV 分析用，而胚壘進行冷凍乾燥。
5. 冷乾完，所得粉末即為聚合 PANI 之 SBA-15 粉末。
6. 重複步驟 1~5，在步驟 2. 加入 10 μ l 20mM 的 HCl。

II. SBA-PEDOT

1. 取適量 SBA-HRP 於 50 ml 的離心管中，加入 17730 μ l DI H₂O、9000 μ l 1M 的 C.A.P (pH 2.03)混勻以後，利用超音波器震盪 10 分鐘。
2. 加入 479 μ l 9.4M 的 EDOT，再利用超音波器震盪 10 分鐘。
3. 加入 1141 μ l 1M 的 H₂O₂ 進行反應，在室溫下旋轉攪拌 16 小時。
4. 取適量留作 UV/Vis 檢測，繼續利用 60°C 水浴加熱 4 小時。
5. 再取適量進行第二次 UV/Vis 檢測，再利用利用 80°C 水浴加熱 4 小時。
6. 再取適量進行第三次 UV/Vis 檢測，利用離心分離上清液後將胚壘冷凍乾燥，乾燥完之粉末即為聚合 PEDOT 之 SBA-15 粉末。
7. 重複步驟 1~6，將步驟 3. 改為 2 小時。
8. 重複步驟 1~7，將步驟 1. SBA-HRP 改為 SBA-15(不含酵素)。

III. PSS-PEDOT

1. 取適量 SBA-HRP 於 50 ml 的離心管中，加入 17730 μ l DI H₂O、9000 μ l 1M 的 C.A.P (pH 2.03)混勻以後，利用超音波器震盪 10 分鐘。
2. 加入 479 μ l 9.4M 的 EDOT，再利用超音波器震盪 10 分鐘。
3. 加入 1141 μ l 1M 的 H₂O₂ 進行反應，在室溫下旋轉攪拌 16 小時。
4. 離心取出上清液於新的離心管並加入 14400 μ l 2.15×10^{-4} M PSS (MW 300,000)
5. 取適量留作 UV/Vis 檢測，繼續利用 60 $^{\circ}$ C 水浴加熱 4 小時。
6. 再取適量進行第二次 UV/Vis 檢測，再利用利用 80 $^{\circ}$ C 水浴加熱 4 小時。
7. 再取適量進行第三次 UV/Vis 檢測，利用離心分離上清液後將胚壘冷凍乾燥，乾燥完之粉末即為聚合 PSS-PEDOT 粉末。
8. 重複步驟 1~7，將步驟 3. 改為 2 小時。
9. 重複步驟 1~8，將步驟 1. SBA-HRP 改為 SBA-15(不含酵素)。

6-3-5 製備碳糊工作電極

1. 秤取 0.16g 石磨碳粉(Graphite) 與 0.04g 聚合物粉末，利用瑪瑙鉢研磨兩者混合均勻。
2. 混勻後加入 0.067g 石蠟油(paraffin oil) 使之充分混合，再將粉末填入事先製作好的電極管模具中，壓實後完成。
3. 將碳糊工作電極配合白金絲輔助電極與 Ag/AgCl 3M NaCl 參考電極，如 Fig. 6-3 ，設定電位範圍掃描，掃描速率 20mV/S，藉聚合物氧化還原峰的變化可比較聚合物之導電性。

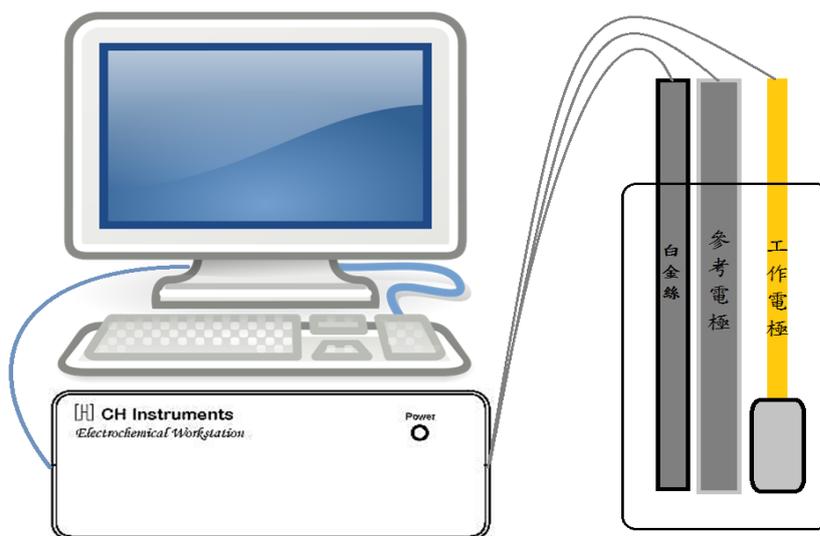


Fig. 6-3 電化學分析儀裝置圖

6-3-6 循環伏安法(CV)分析

1. 使用填充式 CPE 電極在 0.01M 赤血鹽中，掃描速率為 20mV/S。
2. 以 CV 感測 SBA-15(HRP)/PANI、SBA-15(HRP)/PANI/HCl、SBA-15(HRP)/PEDOT 等三者導電度變化。

6-4 實驗結果與討論

6-4-1 探討[DBSA]對 HRP 之活性影響

由UV/Vis實驗結果看來，十二烷基苯磺酸(DBSA)的存在對於酵素活性有不良的影響，經由ABTS活性測定分析後，利用 (6-2)式求得在不同DBSA濃度下之HRP酵素殘餘活性。

由Fig. 6-4 看出若DBSA與HRP長時間共存會導是酵素活性下降，濃度0.5 mM的DBSA便使得酵素活性掉了75%，而且可以知道界面活性劑十二烷基苯磺酸鈉DBSA可能造成HRP的摺疊結構之破壞，使得酵素HRP的活性區受到了影響，導致HRP的活性下降，對催化苯胺的聚合也會產生影響。

相同反應時間下，我們可以看出包覆於SBA之HRP酵素，經由酵素活性測定，在低濃度到高濃度的DBSA環境中，都可以保留比未包覆於SBA之HRP酵素活性來的高，證明SBA具有一定保護的作用，可以避免所包覆之藥物酵素受環境影響而失活。

$$\text{殘餘活性} = \frac{\text{樣品測得平均吸收值}}{\text{0mM DBSA 測得之平均吸收值}} \times 100\% \quad (6-2)$$

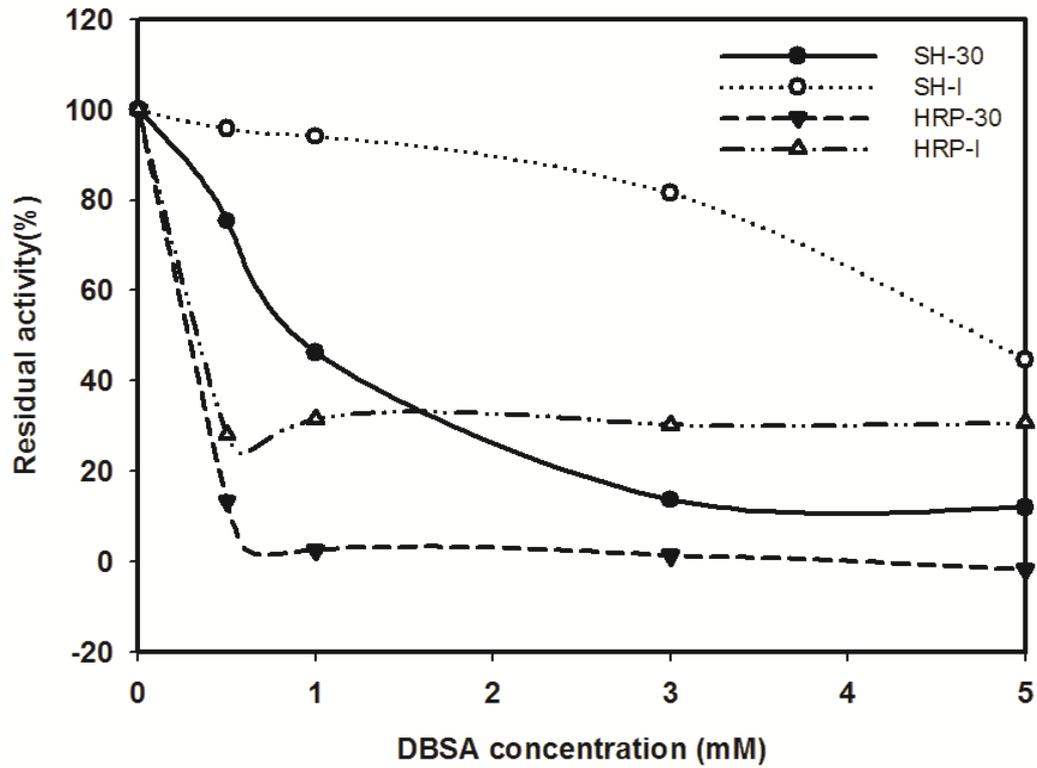


Fig. 6-4 不同 DBSA 濃度 對 HRP 及 SBA-HRP 活性影響

(SH 為 SBA-HRP 即包覆 HRP 酵素之 SBA-15，

I 為立即反應，30 為反應 30 分鐘)

6-4-2 導電高分子

I. 表面型態與結構分析

如 Fig. 6-5 所示，利用 SBA-15-HRP 催化聚合之導電高分子，會在 SBA-15 孔道與表面聚合高分子，使得 SBA-15 表面像是包裹一層物質且粗糙度上升；此外，利用 SEM 觀察 SBA-15-PEDOT 表面型態時，發現 PEDOT 之受熱性不佳，會因為電子束的打擊表面而不斷於表面出現裂痕或者熱變質。接著利用 EDS 分析樣品中元素，如 Fig. 6-6 及 Table 6-3 所示，由元素比例可以看出的確有 PANI 或 PEDOT 聚合於 SBA-15。為了證實導電高分子是由孔道孔徑聚合，接著在 SBA-15 表面聚合導電高分子，我們利用了 TEM 來佐證，如 Fig. 6-7 所示，我們可以與之前 SBA-15 之 TEM 圖 Fig. 5-5(a)比較，PANI 與 PEDOT 之 TEM 圖兩者都可以看出孔洞結構，但是清晰度遠不如聚合前，代表孔道與表面有某種物質影響 TEM 拍攝，故由此推斷導電高分子聚合於孔道及表面上。

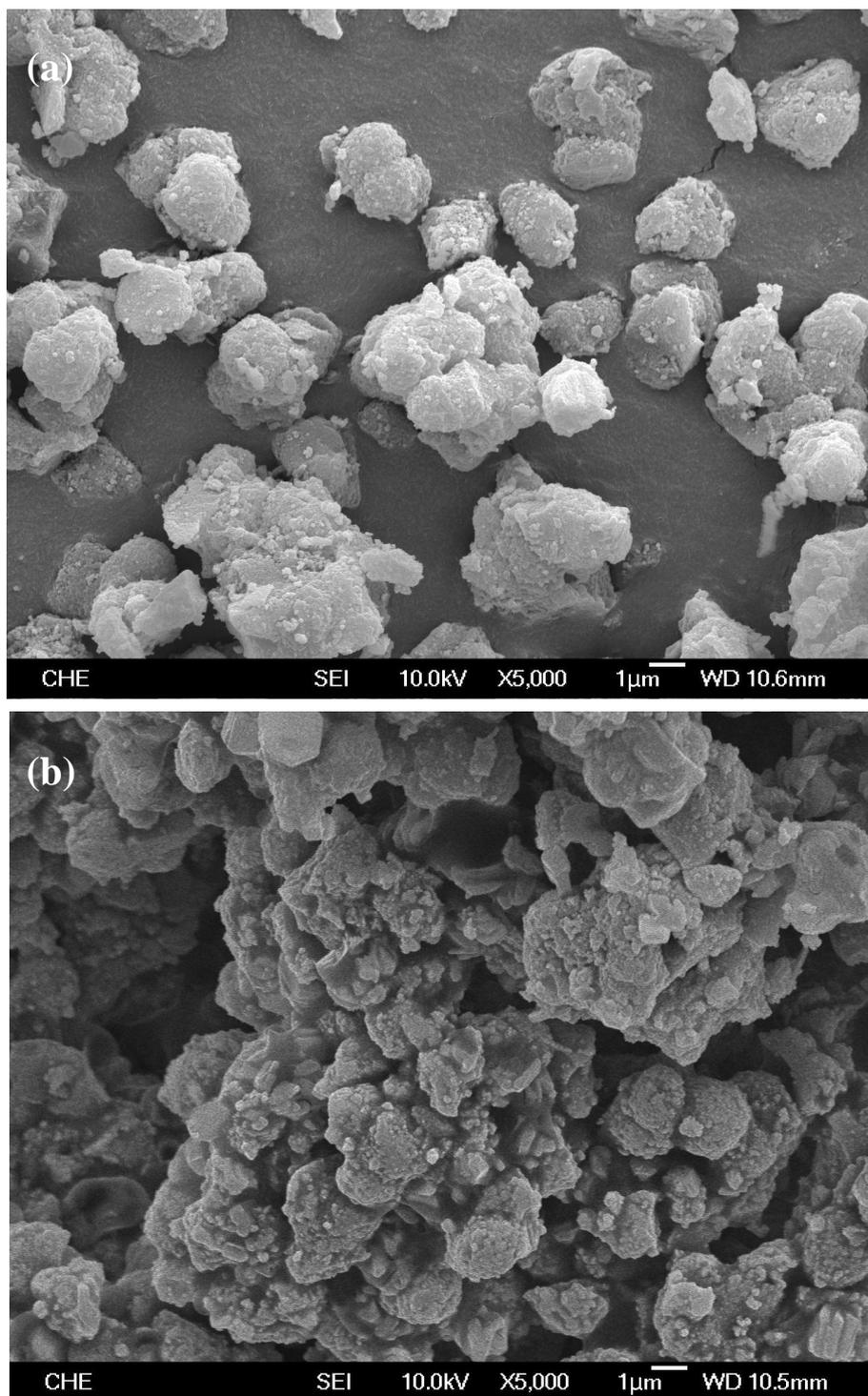


Fig. 6-5 利用 SBA-HRP 合成導電高分子之 SEM 圖

(a)PANI ; (b)PEDOT

Table 6-3 SBA-HRP 合成導電高分子之 EDS 元素分析表

Item	Element					Total
	C	O	Si	S	N	
PANI	11.49	57.90	26.97	0	3.65	100.00
PEDOT	29.44	40.11	24.69	5.76	0	100.00

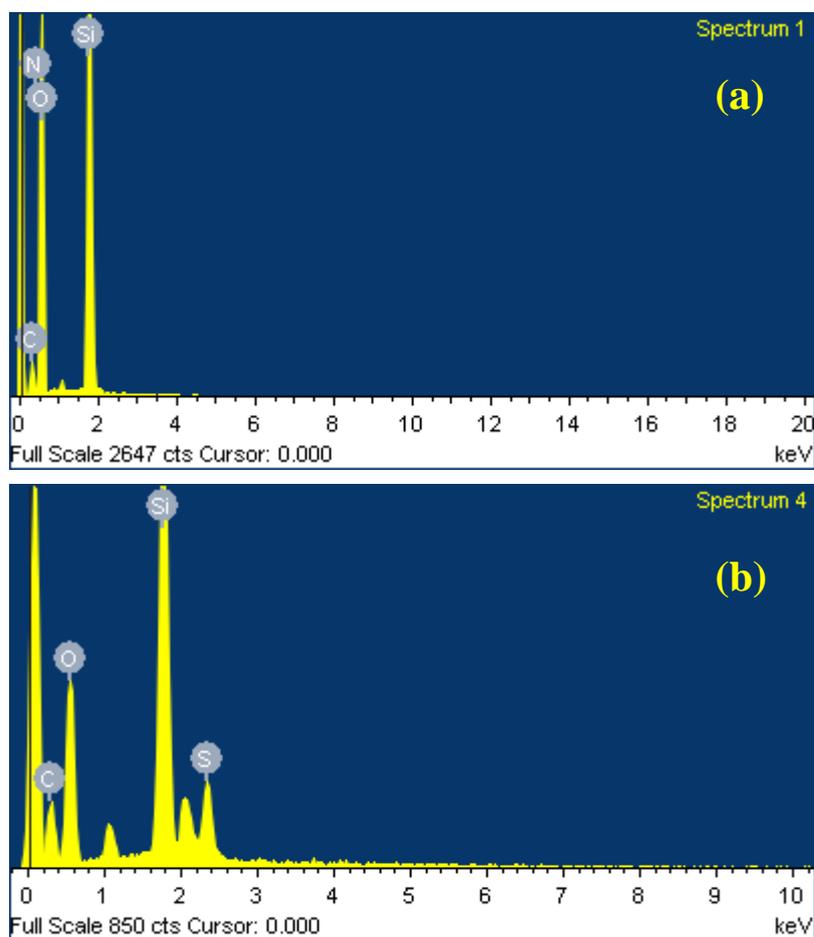


Fig. 6-6 SBA-HRP 合成導電高分子之 EDS 分析圖譜

(a)PANI ; (b)PEDOT

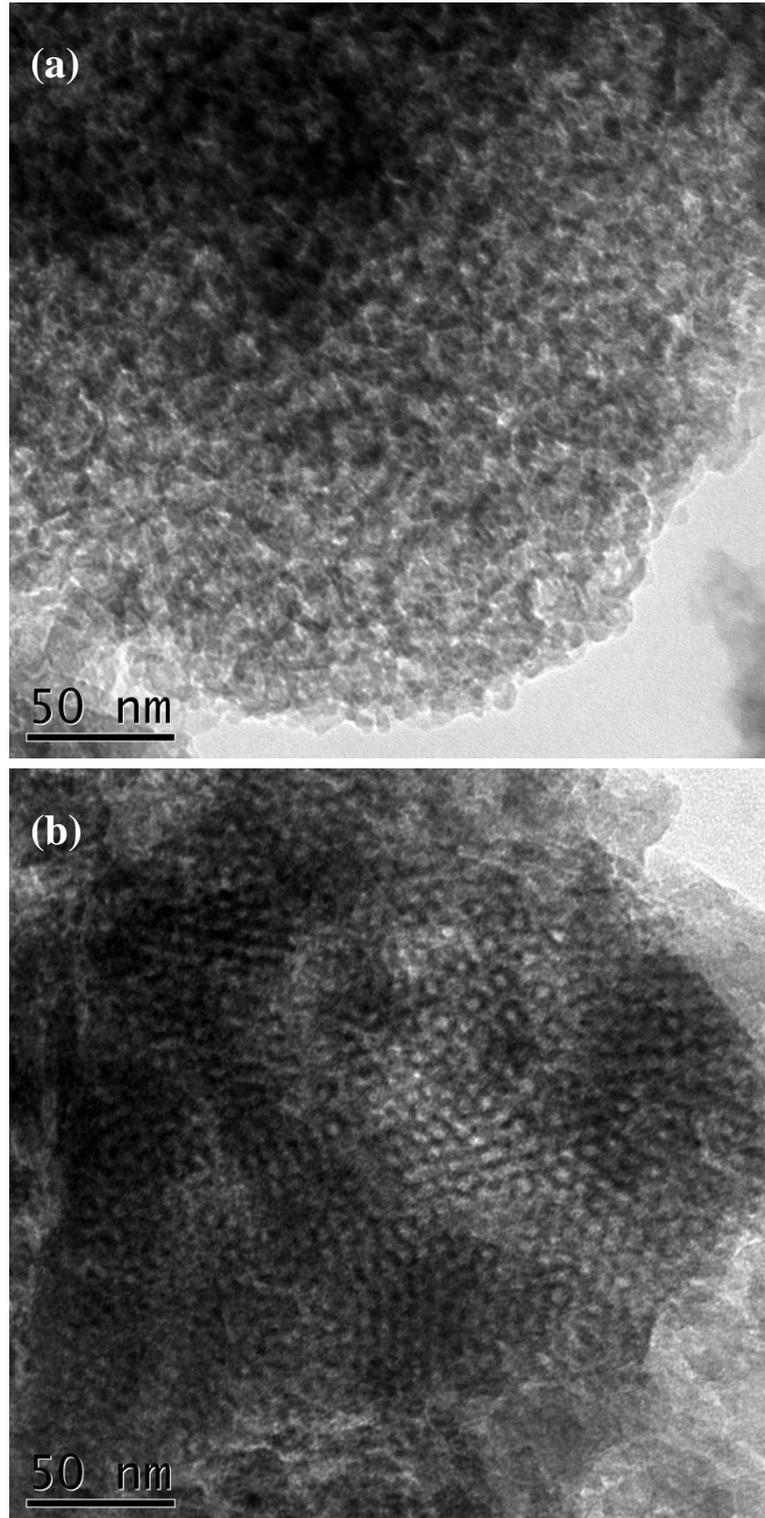


Fig. 6-7 SBA-HRP 合成導電高分子之 TEM 圖

(a)PANI ; (b)PEDOT

II. FTIR 分析

使用 FTIR 分析第一種導電高分子聚苯胺其中 SBA-15、SBA-HRP、SBA-HRP-PANI 與 SBA-HRP-DBSA-PANI 之化學鍵與成份，分析結果如 Fig. 6-8 所示，由圖中(a)可發現 SBA-15 於 1060-1260、820 與 500 cm^{-1} 處為 Si-O-Si 鍵之特徵波峰(Saikia et al., 2007; Shon et al., 2007)。HRP 在 1655 cm^{-1} 處為-CONH-醯胺鍵所得到之特徵峰，如圖中(b)；由 SBA-HRP 聚合出之 PANI 在 1506 cm^{-1} 處為 C=C 之特徵峰，並於 830 cm^{-1} 處之特徵峰為 C-H 鍵結，如圖中(c)；摻雜 DBSA 模板之 SBA-HRP-DBSA-PANI 也在 830 cm^{-1} 處有特徵峰為 C-H 鍵結與 1506 cm^{-1} 處為 PANI 之 C=C 特徵峰(Chang & Tang, 2014)。

第二種導電高分子聚 3,4-乙炔二氧噻吩其中 SBA-15、SBA-HRP、SBA-HRP-PEDOT 與 PSS-PEDOT 之化學鍵與成份，分析結果如 Fig. 6-9 所示，模板 PSS 主要特徵峰是 1190 cm^{-1} 處為 S=O 鍵結、1000~1300 cm^{-1} 處為 O-S-O 對稱伸縮、800 cm^{-1} 處為芳香環中 C-H 鍵結與 3000~3900 cm^{-1} 處為 O-H 鍵結(S. S. Kumar, Kumar, Mathiyarasu, & Phani, 2007)。

PEDOT 中之 C-S 鍵結會於 1527、1413 與 1334 cm^{-1} 處有特徵峰，而且 C-O-C 於 1121 以及 1037 cm^{-1} 處有特徵峰(Selvaganesh, Mathiyarasu, Phani, & Yegnaraman, 2007)。由上述與參照第一部分分析之 SBA-15 與 SBA-HRP 結果，可以由圖中(c)與(d)得到各特徵峰所對應之結果。

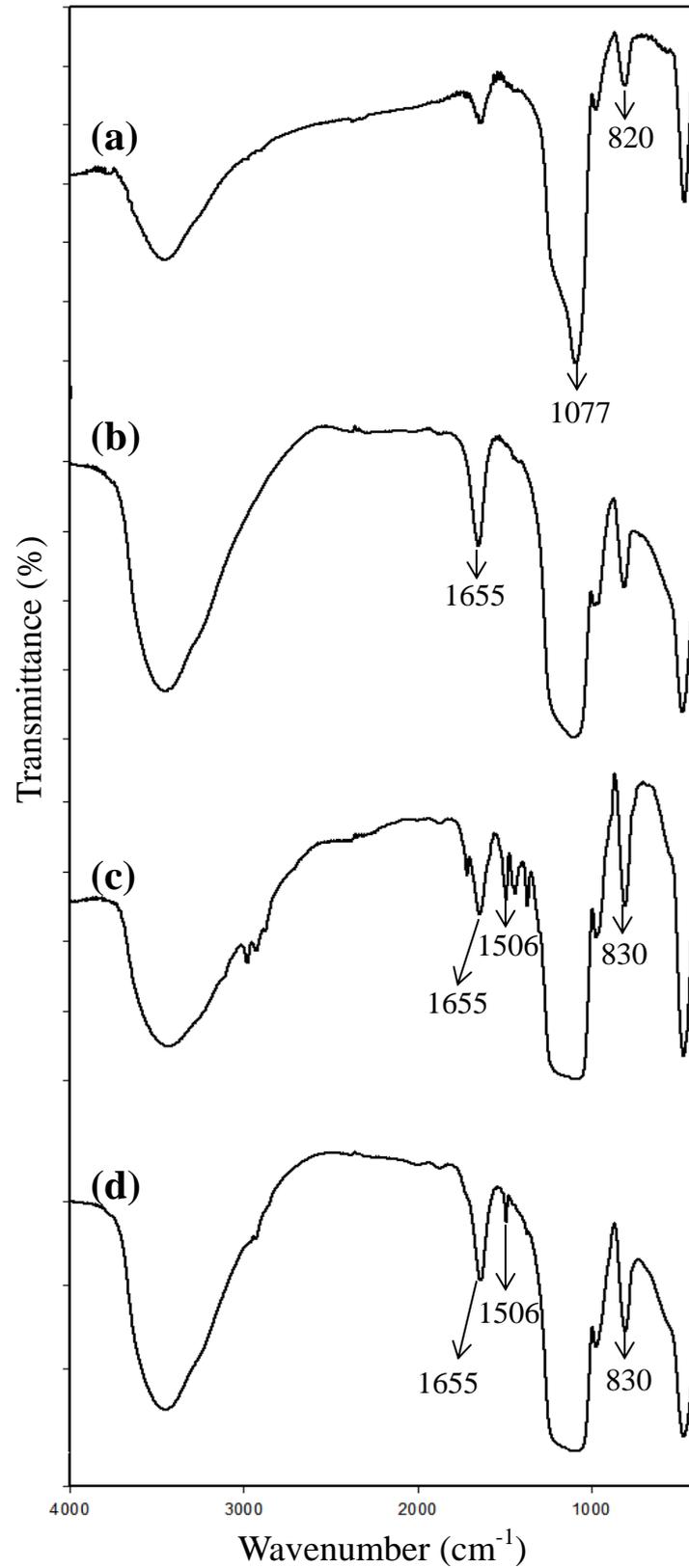


Fig. 6-8 聚苯胺實驗之 FTIR 分析圖，(a) SBA-15；(b)SBA-HRP；
(c) SBA-HRP-PANI；(d)SBA-HRP-DBSA-PANI。

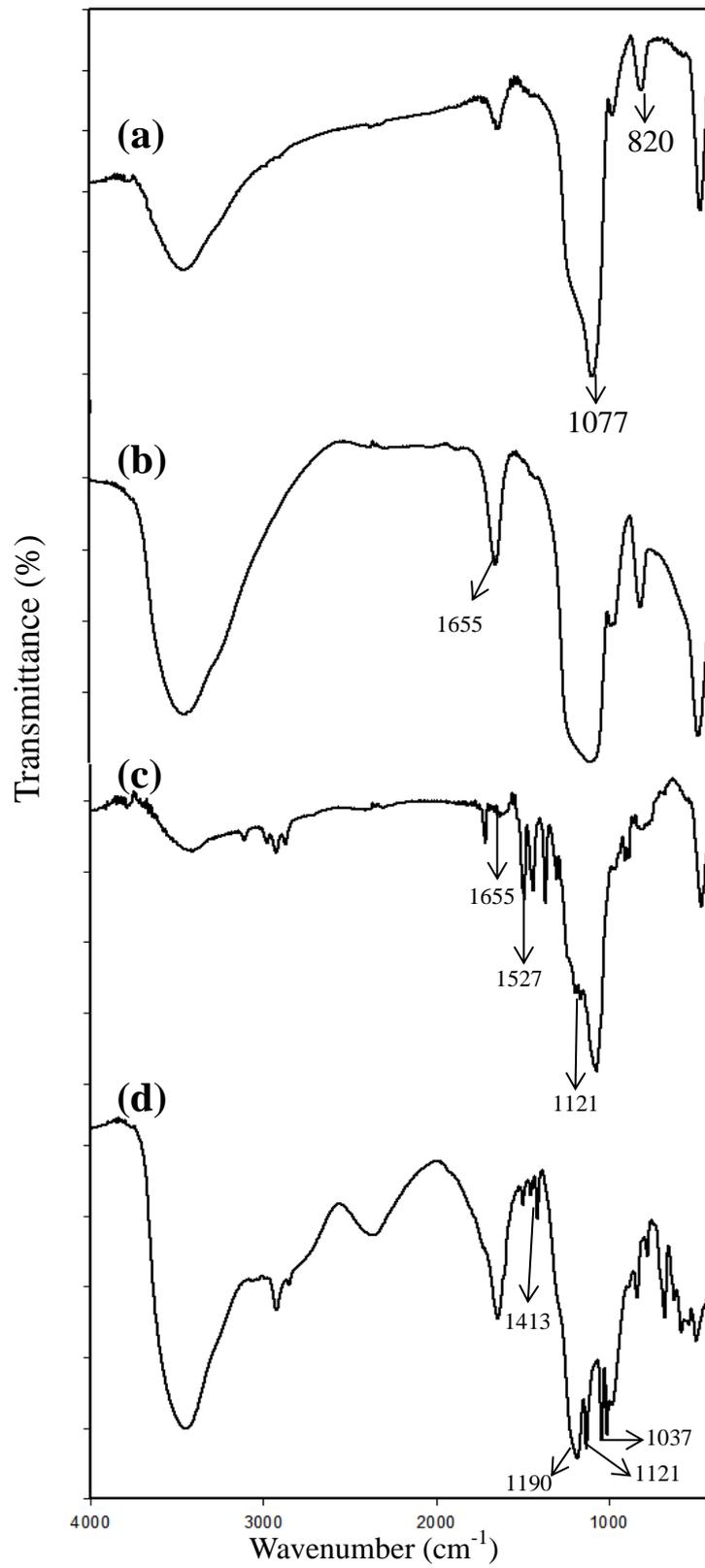


Fig. 6-9 聚 3,4-乙炔二噻吩實驗之 FTIR 分析圖，(a) SBA-15；
(b)SBA-HRP；(c) SBA-HRP-PEDOT；(d)PSS-PEDOT。

III. UV/Vis 分析

(1)比較不同[DBSA]製備之 PANI

利用 SBA-HRP 與 H_2O_2 催化合成聚苯胺，並添加不同濃度 DBSA 以獲得穩定性與導電性較佳之聚苯胺，利用 UV/Vis 分析結果如 Fig. 6-10 所示，在波長 420nm 波值最高者為[DBSA]=3mM，判斷摻雜最適濃度為 3mM，因此我們在電化學分析上會利用 3Mm 聚合之聚苯胺。

(2)比較 SBA 與 PSS 製備 PEDOT

利用 SBA-HRP 催化 EDOT 為自由基以後，一部分直接加熱聚合，一部分分離出上清液加入模板 PSS 接著加熱聚合 PEDOT，並以 UV/Vis 分析結果如 Fig. 6-11 所示。在沒有 PSS 之加熱聚合 PEDOT 實驗中，於 60°C 加熱後溶液仍呈現澄清且 SBA 粒子仍是白色，所以我們進而利用 80°C 加熱，得到黑色溶液與黑色 SBA，判定為 PEDOT 聚合形成。添加 PSS 之加熱聚合 PEDOT 實驗中，雖然在 60°C 後溶液較沒添加 PSS 者顏色較深，但仍沒有完全形成 PEDOT，進一步加熱後溶液也完全呈現黑色。如 Fig. 6-11 所示，添加 PSS 之波峰較無添加 PSS 者較高，由於 PSS 提供了更多的模板得以使 PEDOT 形成以致結果，但是我們也得到在 SBA-15 孔道及表面聚合之 PEDOT，進一步利用電化學分析。

(3)探討 HRP 酵素影響

如 Fig. 6-12 所示，在聚合 SBA-15-PEDOT 時，我們利用 UV/Vis 檢測 SBA-15 與 SBA-15-HRP 聚合 PEDOT 之結果，一開始催化 EDOT 反應為 16 小時，而兩者波峰幾乎相重疊，代表其中有包覆 HRP 酵素之 SBA 並沒有明顯在此實驗中幫助催化，有可能因為酵素在低 pH 並無法長時間維持活性以催化，所以 16 小時的自由基催化並不會有太大差異，再以 80°C 高溫聚合 PEDOT 之產物量仍相當。

所以，我們試著調控催化自由基形成時間由 16 小時改為 2 小時，再透過加熱以後可以看到由 SBA-15-HRP 酵素催化 PEDOT 之結果有較為突出，證明 SBA-HRP 在酸性環境中，催化作用時間較短；在短時間形成自由基的比較結果上可得知 HRP 具有一定催化效果。

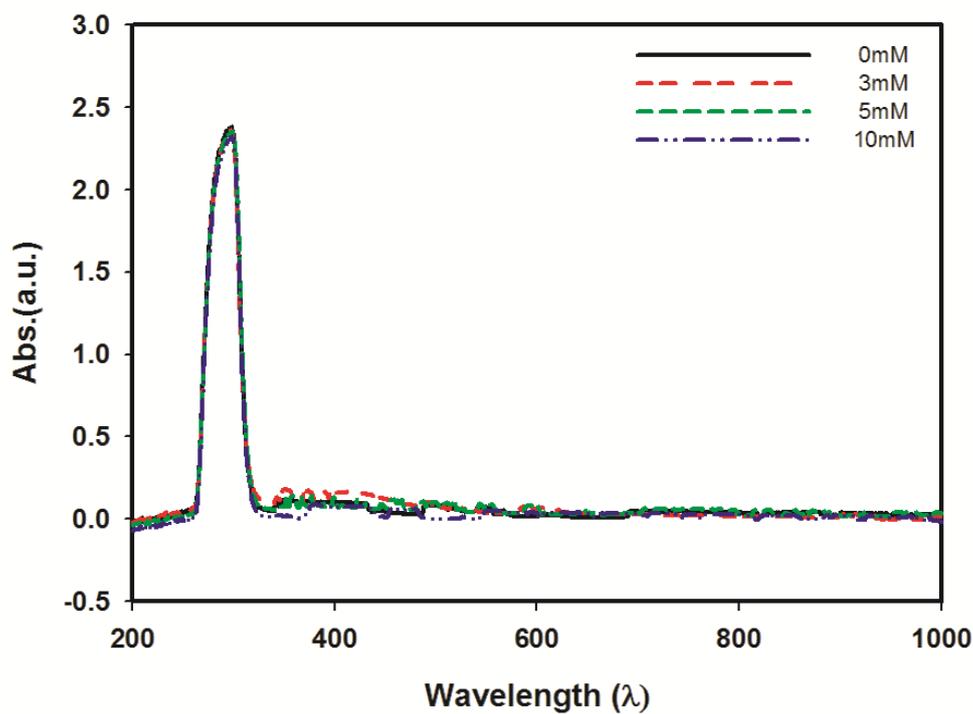


Fig. 6- 10 利用不同濃度[DBSA]製備 SBA-HRP-PANI 之 UV/Vis 圖

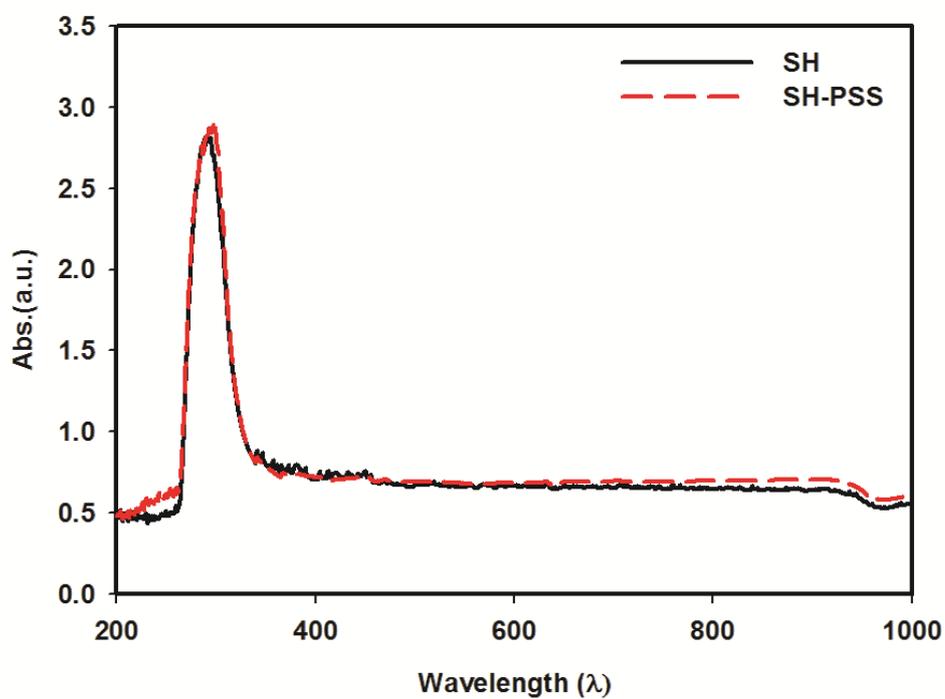


Fig. 6- 11 利用 SBA-HRP 聚合 PEDOT 之 UV/Vis 圖

(—)SBA-HRP-PEDOT，(--)PSS-PEDOT。

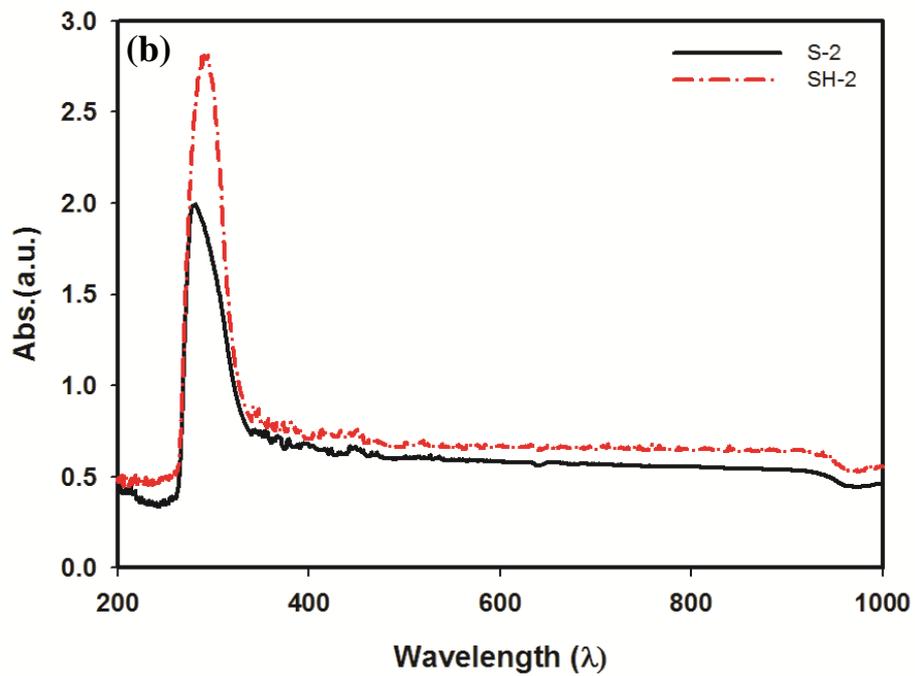
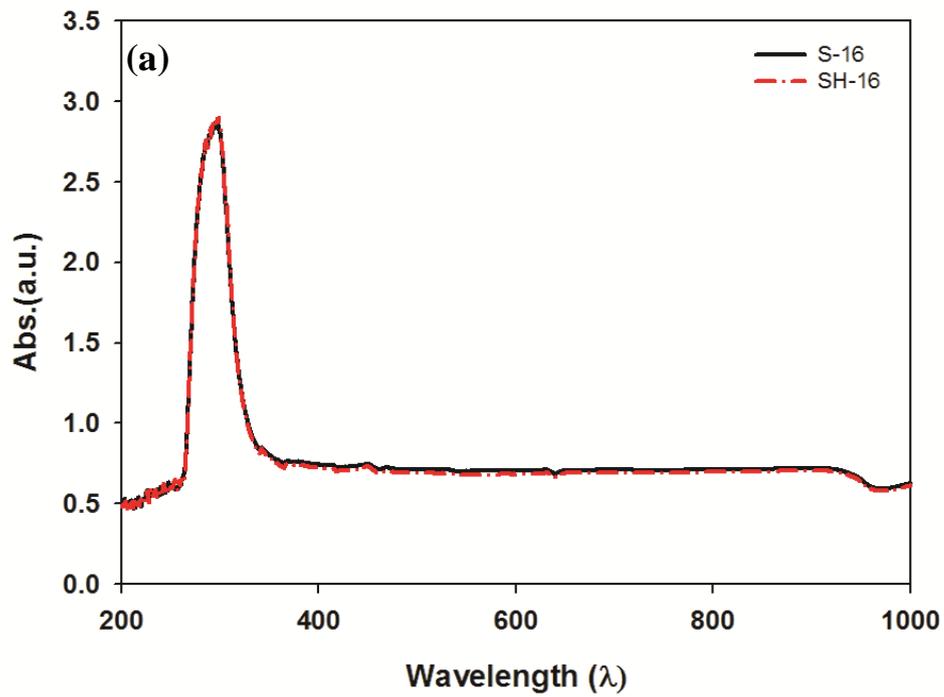


Fig. 6- 12 探討 HRP 酵素影響製備 PEDOT 之 UV/Vis 圖；

比較自由基反應時間(a)16 小時；(b)2 小時

(S 為 SBA-15，SH 為包覆 HRP 酵素之 SBA-15)

IV. 電化學分析

將 SBA-PANI、SBA-PANI-HCl 與 SBA-PEDOT 與碳糊以一定比例製備成碳糊高分子電極以後，利用電化學分析法之循環伏安法，掃描速率 20mV/S，電壓範圍-0.5~0.8V，分析溶液 10mM 赤血鹽(檢測前利用 N₂ 除氣 30 秒，避免氧氣等雜訊出現)。

分析結果如 Fig. 6-13 與 Table 6-4，跟純碳糊電極相比，在添加 PEDOT 與 PANI 之電極有更好的導電性，而意外的是有摻雜 HCl 之 PANI 導電度並沒如預期可以提升 PANI 導電度，可能原因是同時添加 DBSA 與 HCl 反而影響彼此摻雜能力，也有可能添加的時機點或是濃度需要更進一步改善才有機會得到更高導電度之 PANI，我們由 SBA 所聚合之導電聚合物在未來可以有更廣的應用。

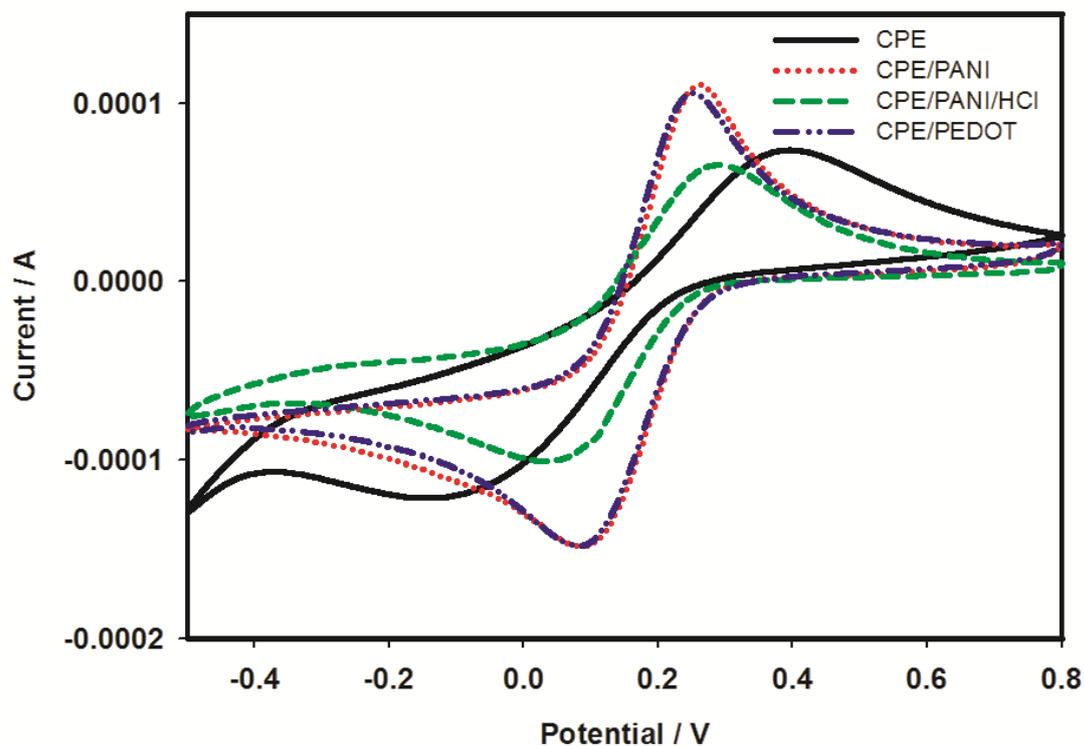


Fig. 6- 13 比較碳糊電極感測 10mM $K_3Fe(CN)_6$ 之 CV 圖

(掃描速率 20mV/S，電壓範圍-0.5~0.8V；

CPE 為碳糊電極，導電高分子：CPE=1：4)

Table 6- 4 氧化電位與電流關係表

Sample	電位(V)	電流(μA)
CPE	0.352	25.67
CPE : SBA-15(HRP)/PANI=4 : 1	0.261	148.5
CPE : SBA-15(HRP)/PANI/HCl=4 : 1	0.284	61.17
CPE : SBA-15(HRP)/PEDOT=4 : 1	0.252	145.67

第七章 結論與建議

研究中以球形 SBA-15 為基礎，探討改善介孔矽材之製備與修飾，以不同界面活性劑的調控可以製備出擁有更厚壁面的 SBA-15，有機會提供更好的保護效果；利用有機溶劑添加欲得到階層奈米矽材發現，僅添加單一種有機溶劑才能使得微胞順利形成，才有機會進一步探討階層奈米矽材的變化，所以未來可以調控酒精添加的比例以得到更好的結果，或是利用不同的有機溶劑進行測試。

SBA-15 表面修飾不僅改善了包覆蛋白質效果，也使 SBA-15 與物質產生更穩固的鍵結，像是研究中加入了交聯劑，使得蛋白質更穩固的包覆於 SBA-15，還有改變包覆溶液的極性讓非極性官能化之 SBA-15 也能提升蛋白質包覆率，最後利用奈米金粒子，使得 SBA-15 對重金屬 Co^{2+} 有更佳的吸附能力，未來也可以利用吸附重金屬 Co^{2+} 的 SBA 作為催化劑進行深入探討可行性或是探討不同重金屬之吸附率，此外，硫醇基與奈米金粒子在鍵結上的能力也在研究中得到驗證，未來可以利用兩者鍵結能力來加以應用於研究(Wang, Noguchi, Takahashi, & Ohtsuka, 2001)。

利用 SBA-15 包覆 HRP 酵素，作為酵素載體進一步以酶聚合法探討導電高分子合成，SBA-15 作為載體有良好的保護效果，而包覆 HRP 所提供的催化效果有限，未來可能在精緻製備會有更好的前景。

參考文獻

- Beck, JS, Vartuli, JC, Roth, WJ, Leonowicz, ME, Kresge, CT, Schmitt, KD, . . . Sheppard, EW. (1992). A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates. *Journal of the American Chemical Society*, 114(27), 10834-10843.
- Beck, JSUS. Patent 5,057,296, 1991. *There is no corresponding record for this reference.*
- Bhunia, Anirban, Durani, Susheel, & Wangikar, Pramod P. (2001). Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes. *Biotechnology and Bioengineering*, 72(5), 562-567.
- Blin, JL, Otjacques, C, Herrier, G, & Su, Bao-Lian. (2000). Pore size engineering of mesoporous silicas using decane as expander. *Langmuir*, 16(9), 4229-4236.
- Bohren, Craig F, & Huffman, Donald R. (2008). *Absorption and scattering of light by small particles*: John Wiley & Sons.
- Cao, Yong, Smith, Paul, & Heeger, Alan J. (1992). Counter-ion induced processibility of conducting polyaniline and of conducting polyblends of polyaniline in bulk polymers. *Synthetic Metals*, 48(1), 91-97.
- Carlsson, Gunilla H, Nicholls, Peter, Svistunenko, Dimitri, Berglund, Gunnar I, & Hajdu, Janos. (2005). Complexes of horseradish peroxidase with formate, acetate, and carbon monoxide. *Biochemistry*, 44(2), 635-642.
- Casero, E, Darder, M, Pariente, F, & Lorenzo, E. (2000). Peroxidase enzyme electrodes as nitric oxide biosensors. *Analytica chimica acta*, 403(1), 1-9.
- Chang, Qing, & Tang, Heqing. (2014). Immobilization of horseradish peroxidase on NH₂-modified magnetic Fe₃O₄/SiO₂ particles and its application in removal of 2, 4-dichlorophenol. *Molecules*, 19(10), 15768-15782.
- Chaplin, Martin (Producer). (2014, 8 6). Methods of immobilisation. *Enzyme Technology*. Retrieved from <http://www1.lsbu.ac.uk/water/enztech/immmethod.html>
- Cheng, Wenlong, & Wang, Erkang. (2004). Size-dependent phase transfer of gold nanoparticles from water into toluene by tetraoctylammonium cations: a wholly electrostatic interaction. *The*

- Journal of Physical Chemistry B*, 108(1), 24-26.
- Cho, MS, Yun, YY, Nam, JD, Son, Y, & Lee, Y. (2008). Effect of magnetic field on electrochemical polymerization of EDOT. *Synthetic Metals*, 158(21), 1043-1046.
- Corma, Avelino. (1997). From microporous to mesoporous molecular sieve materials and their use in catalysis. *Chemical reviews*, 97(6), 2373-2420.
- Diaz, J Felipe, Balkus, Kenneth J, Bedioui, Fethi, Kurshev, Vadim, & Kevan, Larry. (1997). Synthesis and characterization of cobalt-complex functionalized MCM-41. *Chemistry of materials*, 9(1), 61-67.
- Du, Xin, & He, Junhui. (2010). Fine-tuning of silica nanosphere structure by simple regulation of the volume ratio of cosolvents. *Langmuir*, 26(12), 10057-10062.
- Du, Xin, & He, Junhui. (2011). Hierarchically mesoporous silica nanoparticles: extraction, amino-functionalization, and their multipurpose potentials. *Langmuir*, 27(6), 2972-2979.
- Everse, Johannes, Grisham, Matthew B, & Everse, Kathleen E. (1990). *Peroxidases in chemistry and biology* (Vol. 1): CRC press.
- Faraday, Michael. (1857). The Bakerian lecture: experimental relations of gold (and other metals) to light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 145-181.
- Ghadiali, James E, & Stevens, Molly M. (2008). Enzyme-responsive nanoparticle systems. *Advanced Materials*, 20(22), 4359-4363.
- Glazer, AN. (1996). Bioconjugate Techniques, by GT Hermanson. *Nature*, 381(6580), 290-290.
- Groenendaal, L, Jonas, Friedrich, Freitag, Dieter, Pielartzik, Harald, & Reynolds, John R. (2000). Poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) and its derivatives: past, present, and future. *Advanced Materials*, 12(7), 481-494.
- Guimard, Nathalie K, Gomez, Natalia, & Schmidt, Christine E. (2007). Conducting polymers in biomedical engineering. *Progress in Polymer Science*, 32(8), 876-921.
- Han, Yong-Jin, Stucky, Galen D, & Butler, Alison. (1999). Mesoporous silicate sequestration and release of proteins. *Journal of the American Chemical Society*, 121(42), 9897-9898.

- Handley, Dean A. (1989). Methods for synthesis of colloidal gold. *Colloidal gold: principles, methods, and applications, 1*, 13-32.
- Hayat, M Arif. (2012). *Colloidal gold: principles, methods, and applications*: Elsevier.
- Heeger, Alan J. (2001). Semiconducting and metallic polymers: the fourth generation of polymeric materials (Nobel lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, 40(14), 2591-2611.
- Huo, Qisheng, Margolese, David I, & Stucky, Galen D. (1996). Surfactant control of phases in the synthesis of mesoporous silica-based materials. *Chemistry of Materials*, 8(5), 1147-1160.
- Jana, Nikhil R, Gearheart, Latha, & Murphy, Catherine J. (2001). Seeding growth for size control of 5-40 nm diameter gold nanoparticles. *Langmuir*, 17(22), 6782-6786.
- Jin, Rongchao, Cao, YunWei, Mirkin, Chad A, Kelly, KL, Schatz, George C, & Zheng, JG. (2001). Photoinduced conversion of silver nanospheres to nanoprisms. *Science*, 294(5548), 1901-1903.
- Jonas, F, & Morrison, JT. (1997). 3, 4-polyethylenedioxythiophene (PEDT): Conductive coatings technical applications and properties. *Synthetic Metals*, 85(1), 1397-1398.
- Jonas, F, & Schrader, L. (1991). Conductive modifications of polymers with polypyrroles and polythiophenes. *Synthetic Metals*, 41(3), 831-836.
- Jonas, Friedrich, Krafft, Werner, & Muys, Bavo. (1995). *Poly (3, 4-ethylenedioxythiophene): Conductive coatings, technical applications and properties*. Paper presented at the Macromolecular Symposia.
- Joo, Hyun, Yoo, Young Je, & Dordick, Jonathan S. (1998). Polymers from biocatalysts. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 15(4), 362-374.
- Kadnikova, Ekaterina N, & Kostić, Nenad M. (2002). Oxidation of ABTS by hydrogen peroxide catalyzed by horseradish peroxidase encapsulated into sol-gel glass.: Effects of glass matrix on reactivity. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 18(1), 39-48.
- Kanatzidis, Mercouri G, Wu, Chun Guey, Marcy, Henry O, DeGroot, Donald C, & Kannewurf, Carl R. (1990). Conductive polymer/oxide bronze nanocomposites. Intercalated polythiophene

- in vanadium pentoxide (V₂O₅) xerogels. *Chemistry of Materials*, 2(3), 222-224.
- Kapoor, MP, & Inagaki, S. (2002). Synthesis of cubic hybrid organic-inorganic mesostructures with dodecahedral morphology from a binary surfactant mixture. *Chemistry of materials*, 14(8), 3509-3514.
- Katz, Eugenio, & Willner, Itamar. (2004). Integrated nanoparticle–biomolecule hybrid systems: synthesis, properties, and applications. *Angewandte Chemie International Edition*, 43(45), 6042-6108.
- Khushalani, Deepa, Kuperman, Alex, Ozin, Geoffrey A, Tanaka, Kaoru, Coombs, Neil, Olken, Michael M, & Garcés, Juan. (1995). Metamorphic materials: Restructuring siliceous mesoporous materials*. *Advanced materials*, 7(10), 842-846.
- Ko, ChangáHyun. (1999). Synthesis of highly ordered MCM-41 by micelle-packing control with mixed surfactants. *Chemical Communications*(15), 1413-1414.
- Kresge, CT, Leonowicz, ME, Roth, WJ, Vartuli, JC, & Beck, JS. (1992). Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *nature*, 359(6397), 710-712.
- Kumar, Anil, & Reynolds, John R. (1996). Soluble alkyl-substituted poly(ethylenedioxythiophenes) as electrochromic materials. *Macromolecules*, 29(23), 7629-7630.
- Kumar, Shanmugam Senthil, Kumar, Chinnaiah Siva, Mathiyarasu, Jayaraman, & Phani, Kanala Lakshminarasimha. (2007). Stabilized gold nanoparticles by reduction using 3, 4-ethylenedioxythiophene-polystyrenesulfonate in aqueous solutions: nanocomposite formation, stability, and application in catalysis. *Langmuir*, 23(6), 3401-3408.
- Lee, Yoon Seob, Surjadi, Dede, & Rathman, James F. (1996). Effects of aluminate and silicate on the structure of quaternary ammonium surfactant aggregates. *Langmuir*, 12(26), 6202-6210.
- Lim, Chul Hyun, & Yoo, Young Je. (2000). Synthesis of ortho-directed polyaniline using horseradish peroxidase. *Process Biochemistry*, 36(3), 233-241.
- Linssen, T, Cassiers, K, Cool, P, & Vansant, EF. (2003). Mesoporous templated silicates: an overview of their synthesis, catalytic activation and evaluation of the stability. *Advances in colloid and interface science*, 103(2), 121-147.

- Luca, Vittorio, MacLachlan, Dugald J, Hook, James M, & Withers, Ray. (1995). Synthesis and characterization of mesostructured vanadium oxide. *Chemistry of materials*, 7(12), 2220-2223.
- MacDiarmid, AG, Asturias, GE, Kershner, DL, Manohar, SK, Ray, A, Scherr, EM, . . . Epstein, AJ. (1989). *The Polyanilines-Processing, Molecular-Weight, Oxidation-State and Derivatives*. Paper presented at the ABSTRACTS OF PAPERS OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY.
- Mokaya, R. (2000). Synthesis of mesoporous aluminosilicates with enhanced stability and Ion-exchange capacity via a secondary crystallization route. *Advanced Materials*, 12(22), 1681-1685.
- Moller, Karin, & Bein, Thomas. (1998). Inclusion chemistry in periodic mesoporous hosts. *Chemistry of Materials*, 10(10), 2950-2963.
- Moritz, Michał, & Łaniecki, Marek. (2012). SBA-15 mesoporous material modified with APTES as the carrier for 2-(3-benzoylphenyl) propionic acid. *Applied Surface Science*, 258(19), 7523-7529.
- Murphy, Catherine J, Gole, Anand M, Stone, John W, Sisco, Patrick N, Alkilany, Alaaldin M, Goldsmith, Edie C, & Baxter, Sarah C. (2008). Gold nanoparticles in biology: beyond toxicity to cellular imaging. *Accounts of Chemical Research*, 41(12), 1721-1730.
- Myroshnychenko, Viktor, Rodríguez-Fernández, Jessica, Pastoriza-Santos, Isabel, Funston, Alison M, Novo, Carolina, Mulvaney, Paul, . . . de Abajo, F Javier García. (2008). Modelling the optical response of gold nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 37(9), 1792-1805.
- Nikolou, Maria, & Malliaras, George G. (2008). Applications of poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) doped with poly (styrene sulfonic acid) transistors in chemical and biological sensors. *The Chemical Record*, 8(1), 13-22.
- Rumbau, Valérie, Pomposo, Jose A, Eleta, Aitziber, Rodriguez, Javier, Grande, Hans, Mecerreyes, David, & Ochoteco, Estibalitz. (2007). First enzymatic synthesis of water-soluble conducting poly (3, 4-ethylenedioxythiophene). *Biomacromolecules*, 8(2), 315-317.
- Russo, PA, Ribeiro Carrott, MML, Mourão, PAM, & Carrott, PJM. (2011). Tailoring the surface chemistry of mesocellular foams for protein adsorption. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and*

- Engineering Aspects*, 386(1), 25-35.
- Ryoo, Ryong, Kim, Ji Man, Ko, Chang Hyun, & Shin, CH. (1996). Disordered molecular sieve with branched mesoporous channel network. *The Journal of Physical Chemistry*, 100(45), 17718-17721.
- Saikia, L, Satyarthi, JK, Srinivas, D, & Ratnasamy, P. (2007). Activation and reactivity of epoxides on solid acid catalysts. *Journal of Catalysis*, 252(2), 148-160.
- Saxena, Vibha, & Malhotra, BD. (2003). Prospects of conducting polymers in molecular electronics. *Current Applied Physics*, 3(2), 293-305.
- Sayari, A, Liu, P, Kruk, M, & Jaroniec, M. (1997). Characterization of large-pore MCM-41 molecular sieves obtained via hydrothermal restructuring. *Chemistry of materials*, 9(11), 2499-2506.
- Selvaganesh, S Vinod, Mathiyarasu, J, Phani, KLN, & Yegnaraman, V. (2007). Chemical synthesis of PEDOT–Au nanocomposite. *Nanoscale Research Letters*, 2(11), 546-549.
- Shi, Yupeng, Zhang, Heng, Yue, Zhenfeng, Zhang, Zhaomin, Teng, Kar-Seng, Li, Mei-Jin, . . . Yang, Mengsu. (2013). Coupling gold nanoparticles to silica nanoparticles through disulfide bonds for glutathione detection. *Nanotechnology*, 24(37), 375501.
- Shirakawa, Hideki, Louis, Edwin J, MacDiarmid, Alan G, Chiang, Chwan K, & Heeger, Alan J. (1977). Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene,(CH) x. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*(16), 578-580.
- Shon, Jeong Kuk, Yuan, Xingdong, Ko, Chang Hyun, Lee, Hyung Ik, Thakur, Santosh Singh, Kang, Min, . . . Kim, Ji Man. (2007). Design of mesoporous solid acid catalysts with controlled acid strength. *JOURNAL OF INDUSTRIAL AND ENGINEERING CHEMISTRY-SEOUL-*, 13(7), 1201.
- Sokolova, Viktoriya, & Epple, Matthias. (2008). Inorganic nanoparticles as carriers of nucleic acids into cells. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(8), 1382-1395.
- Soler-Illia, Galo J, Crepaldi, Eduardo L, Grosso, David, & Sanchez, Clément. (2003). Block copolymer-templated mesoporous oxides. *Current opinion in colloid & interface science*, 8(1), 109-126.
- Soler-Illia, Galo J de AA, Sanchez, Clément, Lebeau, Bénédicte, & Patarin, Joël. (2002). Chemical strategies to design textured

- materials: from microporous and mesoporous oxides to nanonetworks and hierarchical structures. *Chemical Reviews*, 102(11), 4093-4138.
- Sotzing, Gregory A, Reynolds, John R, & Steel, Peter J. (1997). Poly (3, 4-ethylenedioxythiophene)(PEDOT) prepared via electrochemical polymerization of EDOT, 2, 2'-Bis (3, 4-ethylenedioxythiophene)(BiEDOT), and their TMS derivatives. *Advanced Materials*, 9(10), 795-798.
- Stewart, Matthew E, Anderton, Christopher R, Thompson, Lucas B, Maria, Joana, Gray, Stephen K, Rogers, John A, & Nuzzo, Ralph G. (2008). Nanostructured plasmonic sensors. *Chemical reviews*, 108(2), 494-521.
- Sumiya, Sadanobu, Oumi, Yasunori, Uozumi, Toshiya, & Sano, Tsuneji. (2001). Characterization of ALSBA-15 prepared by post-synthesisaluminum with trimethylaluminum. *J. Mater. Chem.*, 11(4), 1111-1115.
- Suzuki, Keisei, Ikari, Kenichi, & Imai, Hiroaki. (2004). Synthesis of silica nanoparticles having a well-ordered mesostructure using a double surfactant system. *Journal of the American Chemical Society*, 126(2), 462-463.
- Tang, Jinsong, Jing, Xiabin, Wang, Baochen, & Wang, Fosong. (1988). Infrared spectra of soluble polyaniline. *Synthetic Metals*, 24(3), 231-238.
- Temenoff, Johnna S, & Mikos, Antonios G. (2008). *Biomaterials: the intersection of biology and materials science*: Pearson/Prentice Hall Upper Saddle River, NJ, USA.
- Trchová, Miroslava, Šeděnková, Ivana, Tobolková, Eva, & Stejskal, Jaroslav. (2004). FTIR spectroscopic and conductivity study of the thermal degradation of polyaniline films. *Polymer Degradation and Stability*, 86(1), 179-185.
- Tsaprailis, George, Chan, Doreen Wing Sze, & English, Ann M. (1998). Conformational states in denaturants of cytochrome c and horseradish peroxidases examined by fluorescence and circular dichroism. *Biochemistry*, 37(7), 2004-2016.
- Vallet-Regí, Maríá, Balas, Francisco, & Arcos, Daniel. (2007).

- Mesoporous materials for drug delivery. *Angewandte Chemie International Edition*, 46(40), 7548-7558.
- Van Rhijn, WimáM, De Vos, DirkáE, Sels, BertáF, & Bossaert, WimáD. (1998). Sulfonic acid functionalised ordered mesoporous materials as catalysts for condensation and esterification reactions. *Chemical communications*(3), 317-318.
- Vanmaele, Luc.). Conducting Polymer Materials for Flexible OPV Applications: Orgacon™ PEDOT : PSS.
- Vartuli, JC, Schmitt, KD, Kresge, CT, Roth, WJ, Leonowicz, ME, McCullen, SB, . . . Schlenker, JL. (1994). Effect of surfactant/silica molar ratios on the formation of mesoporous molecular sieves: inorganic mimicry of surfactant liquid-crystal phases and mechanistic implications. *Chemistry of Materials*, 6(12), 2317-2326.
- Veitch, Nigel C. (2004). Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. *Phytochemistry*, 65(3), 249-259.
- Wang, Ye, Noguchi, Masato, Takahashi, Yoshimoto, & Ohtsuka, Yasuo. (2001). Synthesis of SBA-15 with different pore sizes and the utilization as supports of high loading of cobalt catalysts. *Catalysis Today*, 68(1), 3-9.
- Yamamoto, Takakazu, & Abla, Mahmut. (1999). Synthesis of non-doped poly (3, 4-ethylenedioxythiophene) and its spectroscopic data. *Synthetic metals*, 100(2), 237-239.
- Zhao, Dongyuan, Feng, Jianglin, Huo, Qisheng, Melosh, Nicholas, Fredrickson, Glenn H, Chmelka, Bradley F, & Stucky, Galen D. (1998). Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores. *science*, 279(5350), 548-552.
- Zhao, Dongyuan, Sun, Jinyu, Li, Quanzhi, & Stucky, Galen D. (2000). Morphological control of highly ordered mesoporous silica SBA-15. *Chemistry of Materials*, 12(2), 275-279.
- 吳俊鈺, &黃淑絹. (2002). 聚苯胺及其衍生物的氧化及分子量研究:

國立東華大學.

- 吴胜举, 张冰如, 李风亭, & 魏诗辉. (2009). 介孔吸附剂在去除水体中重金属离子中的应用. *石油学报 (石油加工)*, 25(A02),

134-140.

孝恒. (2006). 奈米材料化學: 五南圖書出版股份有限公司.

李玲玲. (2012). SBA-15 介孔材料的制备, 改性及吸附性能研究 [D].

武汉理工大学.

周光瑩. (2014). 建立酵素催化導電性高分子 PEDOT 的合成反應條件.

台中市: 私立東海大學.

屈玲, & 佟大明. (2002). 介孔分子篩孔径調變技術. 化工進展, 21(11), 855-859.

逢杰斌. (2002). 中孔材料的研究進展 I: 合成. 無機材料學報, 17(3), 407-414.

陳中成, & 張天鴻. (1989). 藥物控制釋放劑型與市場分析. 臺北市:

財團法人生物技術開發中心.

陳建中. (2009). 以導電性聚苯胺建構過氧化氫生物感測器之技術及

其性質探討.

曾念國. (2003). 全球奈米藥物產業現況與發產趨勢: 經濟部.

葉國良, 黃功勳, & 張學明. (2010). 導電性高分子鋁質固態電容器技

術發展現況. 工業材料雜誌, 66-72.

詹偉成. (2003). 聚苯胺酵素修飾碳粉電極對 L-麩胺酸鹽及 L-天門冬

醯胺酸之分析. 花蓮縣: 國立東華大學.

賴奕成, & 林松池. (2002). 固定化 HRP 於工業廢水處理之應用: 國

立中興大學.

谢洪科, 邹朝晖, 彭选明, 邓钢桥, 陈浩, 黄敏, ... 张乐平. (2013).

重金属钴污染土壤的修复研究进展. 现代农业科技(7), 222-223.

個人簡歷

姓 名 : 張育哲
籍 貫 : 台灣省 台中市
生 日 : 1990/01/29
學 歷 :



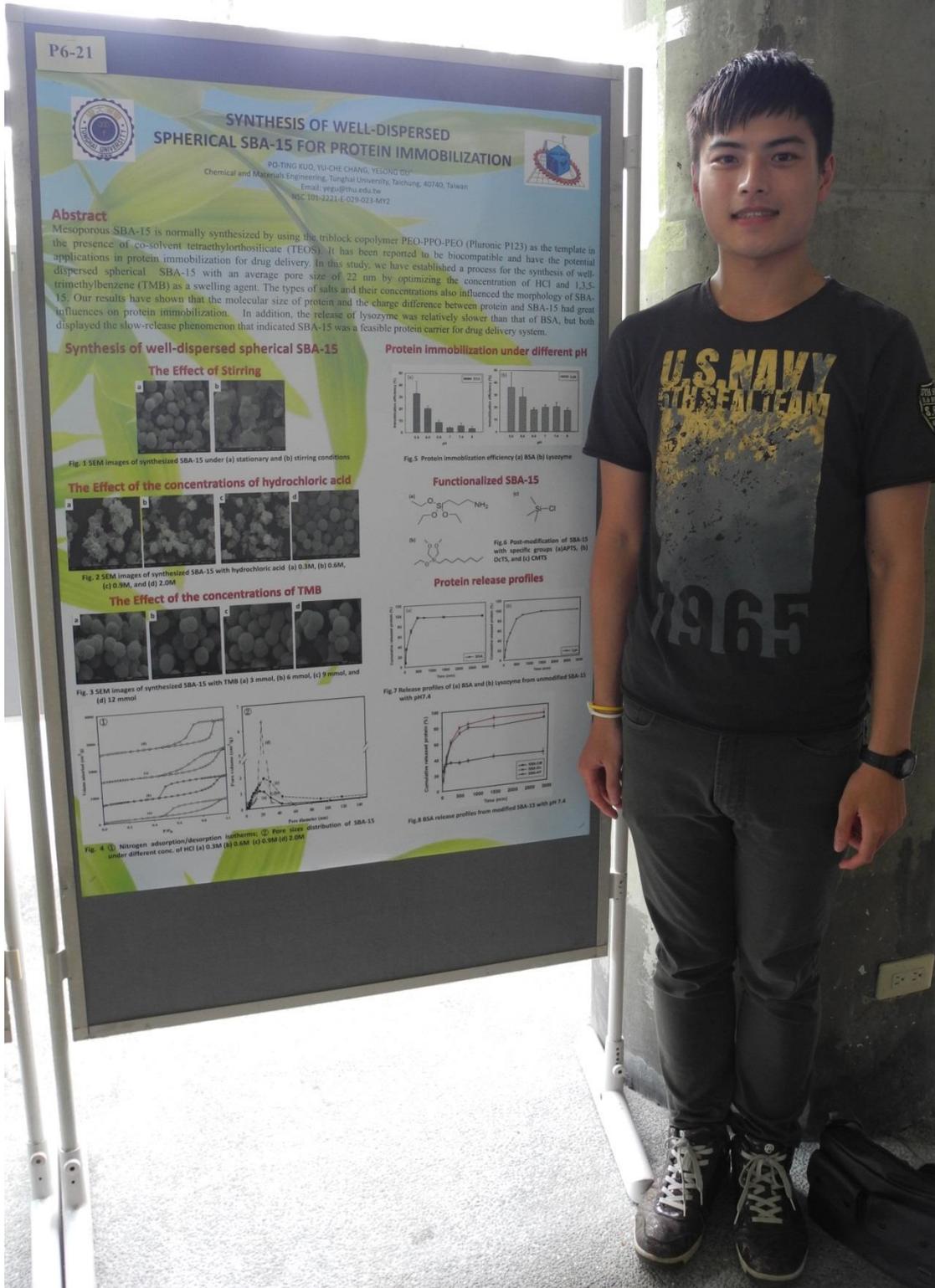
東海大學化學工程與材料工程所

東海大學化學工程與材料工程學系，民國 101 年 06 月畢業

經 歷 :

東海大學化學工程與材料工程學系助教

2014 年 BEST 生物技術暨生物工程研討會海報投稿



P6-21



SYNTHESIS OF WELL-DISPersed SPHERICAL SBA-15 FOR PROTEIN IMMOBILIZATION

PO-TING KUO, YU-CHE CHANG, YUE-ONG DU*
 Chemical and Materials Engineering, Tonghai University, Taichung, 40740, Taiwan
 Email: yueo@thu.edu.tw
 NSC 101-2221-E-029-023-MY2



Abstract

Mesoporous SBA-15 is normally synthesized by using the triblock copolymer PEO-PPO-PEO (Pluronic P123) as the template in the presence of co-solvent tetraethylorthosilicate (TEOS). It has been reported to be biocompatible and have the potential applications in protein immobilization for drug delivery. In this study, we have established a process for the synthesis of well-dispersed spherical SBA-15 with an average pore size of 22 nm by optimizing the concentration of HCl and 1,3,5-trimethylbenzene (TMB) as a swelling agent. The types of salts and their concentrations also influenced the morphology of SBA-15. Our results have shown that the molecular size of protein and the charge difference between protein and SBA-15 had great influences on protein immobilization. In addition, the release of lysozyme was relatively slower than that of BSA, but both displayed the slow-release phenomenon that indicated SBA-15 was a feasible protein carrier for drug delivery system.

Synthesis of well-dispersed spherical SBA-15

The Effect of Stirring

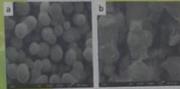


Fig. 1 SEM images of synthesized SBA-15 under (a) stationary and (b) stirring conditions

The Effect of the concentrations of hydrochloric acid

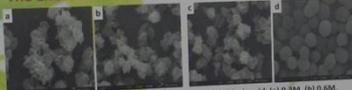
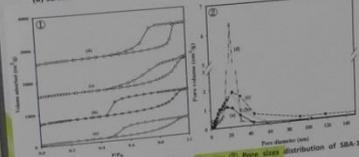


Fig. 2 SEM images of synthesized SBA-15 with hydrochloric acid (a) 0.3M, (b) 0.6M, (c) 0.9M, and (d) 2.0M

The Effect of the concentrations of TMB



Fig. 3 SEM images of synthesized SBA-15 with TMB (a) 3 mmol, (b) 6 mmol, (c) 9 mmol, and (d) 12 mmol



Protein immobilization under different pH

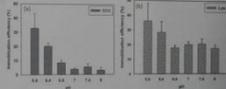


Fig. 5 Protein immobilization efficiency (a) BSA (b) lysozyme

Functionalized SBA-15



Fig. 6 Post-modification of SBA-15 with specific groups (a) APTES, (b) Octyl, and (c) CMTS

Protein release profiles

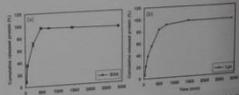


Fig. 7 Release profiles of (a) BSA and (b) lysozyme from unmodified SBA-15 with pH 7.4

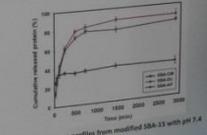


Fig. 8 BSA release profiles from modified SBA-15 with pH 7.4