



國立中山大學機械與機電工程學系

碩士論文

Department of Mechanical and Electro-Mechanical Engineering

National Sun Yat-sen University

Master's Thesis

模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極於尿液

乙醯胺酚電化學檢測

Modular Thread-Based Microfluidic Platform Integrated with

Slidable Pencil Graphite Electrodes for Electrochemical

Analyzing Acetaminophen in Human Urine

研究生：徐賢益

Shian-Yi Hsu

指導教授：林哲信 教授

Prof. Che-Hsin Lin

中華民國 111 年 8 月

August 2022

# 論文審定書

國立中山大學研究生學位論文審定書

本校機械與機電工程學系碩士班

研究生徐賢益（學號：M093020024）所提論文

模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極於尿液乙醯胺酚電化學  
檢測

Modular Thread-Based Microfluidic Platform Integrated with Slidable  
Pencil Graphite Electrodes for Electrochemical Analyzing Acetaminophen in  
Human Urine

於中華民國 111 年 7 月 27 日經本委員會審查並舉行口試，符合  
碩士學位論文標準。

學位考試委員簽章：

召集人 傅龍明 傅龍明 委員 林哲信 林哲信  
委員 郭清德 郭清德 委員 莊承鑫 莊承鑫  
委員 余靈珊 余靈珊 委員 \_\_\_\_\_

指導教授(林哲信) 林哲信 (簽名)

# 致謝

時光飛逝，研究所兩年的時間一轉眼就過去了，在國立中山大學生醫機電實驗室的生活即將畫下句點。還記得當初大學畢業後進入光寶科技工作兩年，擔任設備研發工程師的職務，在工作中體會到自己的獨立思考能力以及邏輯處理能力需要進一步加強後，我毅然決然辭去工作回到校園就讀碩士班。

在研究所的道路上，我遇到了很多充滿挫折的困難題，也碰到了許多開心的事情，很感謝在這個過程中有許許多多貴人的幫助與鼓勵。首先，感謝指導老師林哲信教授這一路走來不厭煩的教導，帶領我逐漸學會如何面對困難，分析並獨力尋求解決之道，並提供充足資源，讓我能做想做的事情，能玩最新的儀器設備等等。此外，老師也非常支持我參加 IEEE MEMS 國際研討會與精密機械與製造科技研討會，讓我拓展國際視野並學習在大場合中發表自己的學術研究。感謝口試委員傅龍明教授、莊承鑫教授、余靈珊教授、郭清德教授，於百忙之中撥空參加學生口試，並給予學生寶貴的改善建議與創新的想法，使本碩士論文能夠更加豐富且更加有深度。

接著感謝我的家人與女友給予我經濟上與精神上的支持，讓我無後顧之憂的專心完成碩士學業。感謝實驗室學長姐高尉馨、劉柏輝、李奕韻、高群智、林永鈞、陳奕勝、邱宗徽教導我儀器的操作並指導研究上所遇到的問題，感謝同屆的何柏賢，跟我一起學習一起玩鬧，互相討論實驗中遇到的難題，給與對方良好的建議並互相加油打氣，也發生很多有趣且開心的事情，減少了研究中的煩悶。感謝學弟劉奕圻、葉柏遠、呂昌奕、李政鎧，協助處理實驗室相關事物，在口試前的每次預報告中給予我很多建議，並且在口試當天安排一切流程順利結束口試，希望各位未來能夠順利畢業，朝向人生的下一個階段邁進。

在研究所期間謝謝大家的幫助，讓我相較於兩年前的自己，在各方面已經有所成長，相信未來進入職場能夠良好運用所學，遇到問題時也更加得心應手。

# 中文摘要

本研究開發了一模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，用於樣品的電泳分離和電化學檢測。研究中使用低成本的聚酯纖維線做為電泳分離樣品之流道，可一次性使用之聚酯纖維線取代傳統玻璃毛細管電泳管道可大幅降低操作時樣本之交叉污染，電化學檢測所使用的電極由氧氣電漿處理之 0.3 mm 鉛筆芯製成，取代過去由濺鍍製程所製造的金屬電極，石墨筆芯電極大大節省了物料成本與製程的時間成本。接著將經過處理之石墨筆芯電極安裝在 3D 列印的可滑動平台上，使得電化學電極之間的間距是可滑動的，並且可以增強傳感性能，此外石墨筆芯電極如果受損或污染，也可以快速換新。

實驗結果表明，與酸洗、鹼洗、有機物浸泡和火烤的表面處理相比，氧氣電漿處理後的石墨筆芯電極表現出良好的電化學響應。經過電漿參數優化後，發現 100 W 10 分鐘處理的石墨筆芯電極有最好的電化學電流響應，其電流值比未經處理的石墨筆芯電極大約 4.22 倍，在放置 18 天後電化學傳感性能保持不變，說明其耐久性極佳，且在連續 100 次的乙醯胺酚標準品的循環伏安測量中，也顯示出很高的重複性，此外開發的石墨筆芯電極也成功地分析了人體尿液樣本中不同濃度的乙醯胺酚藥物。

為了評估本研究設計的可滑動平台的傳感性能，測量了不同電極間距的電流響應，分離結果顯示，窄的電極間距相比於寬的電極間距，其電流響應較高，且電泳分離效果也更有效，經過計算得到的理論板數增加了約 7.18 倍。最後，通過開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，檢測人類尿液樣本中的乙醯胺酚，結果顯示，尿液與乙醯胺酚成功的在聚酯纖維線上進行電泳分離，並且依序被開發的石墨筆芯電極檢測。如上所述，開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極已顯示出其在快速檢測尿液中乙醯胺酚方面的潛力。

關鍵字:石墨筆芯電極、線微流體、乙醯胺酚、電泳分離、電化學檢測

# Abstract

This study develops a modular thread-based microfluidic platform integrated with slidable pencil graphite electrodes (PGEs) for electrochemical analyzing acetaminophen in human urine. Low-cost polyester threads for separating the samples with electrophoresis. And low-cost pencil graphite electrodes for detecting the samples with electrochemical. The PGEs are mounted on a designed slidable platform, therefore the electrochemical electrode gaps are adjustable and the current response can be enhanced. The experimental results show that the PGEs after oxygen plasma treatment at 100 W for 10 minutes, have a good electrochemical response compared with the surface treatments of acid pickling, alkaline pickling, acetone immersion, and torch burned. The current response is about 4.22 times higher than the untreated PGEs, and the electrochemical sensing performance remains identical after 18 days of storage. In addition, the developed PGEs have also successfully analyzed acetaminophen with different concentrations in human urine samples.

To verify the sensing performance of the designed slidable platform, measuring the current response with different electrode gaps. The separation result confirms that the developed adjustable PGEs provide a much bigger current response and were more effective for separation electrophoresis, and the calculated plate number is greater around 7.18 times. Finally, the developed modular microfluidic platform is integrated with slidable pencil graphite electrodes to detect acetaminophen in human urine samples. The results show that urine and acetaminophen are successfully separated by electrophoresis on the polyester thread, and are detected by the developed pencil graphite electrodes.

Keywords: Thread-based microfluidic platform, Slidable pencil graphite electrodes, Acetaminophen, Electrophoresis, Electrochemical

# 目錄

論文審定書 .....	i
致謝 .....	ii
中文摘要 .....	iii
Abstract .....	iv
目錄 .....	v
圖目錄 .....	vii
表目錄 .....	ix
符號表 .....	x
簡寫表 .....	xi
第一章 緒論 .....	1
1.1 研究背景 .....	1
1.2 乙醯胺酚藥物簡介 .....	2
1.2.1 乙醯胺酚的代謝機制 .....	2
1.2.2 乙醯胺酚過量的危害 .....	3
1.3 偵測乙醯胺酚藥物的方法 .....	4
1.3.1 比色檢測法 .....	4
1.3.2 質譜分析法 .....	5
1.3.3 電化學檢測法 .....	6
1.4 微流體晶片系統的種類 .....	7
1.4.1 玻璃微流體晶片 .....	7
1.4.2 高分子微流體晶片 .....	8
1.4.3 紙基微流體晶片 .....	10
1.4.4 線基微流體晶片 .....	10
1.5 研究動機與目的 .....	15
1.6 論文架構 .....	16
第二章 實驗原理與材料特性 .....	17
2.1 毛細管電泳晶片的原理與效能分析 .....	17
2.1.1 毛細管電泳基本原理 .....	18
2.1.2 毛細管電泳的效能分析 .....	20

2.2	電化學檢測之原理與架構.....	21
2.2.1	電化學的氧化還原反應.....	21
2.2.2	標準三電極式電化學系統.....	22
2.2.3	去耦電極對於電化學檢測晶片之功用.....	23
2.3	石墨筆芯電極的簡介.....	24
2.3.1	石墨筆芯電極的特性與其他電極的比較.....	24
2.3.2	石墨筆芯電極的設計.....	25
2.4	電漿的表面改質技術.....	26
第三章 實驗設計與架構.....		28
3.1	模組化線微流體平台的設計與製作.....	28
3.2	可滑動之電極座的設計與製作.....	30
3.3	石墨筆芯電極的製作.....	31
3.4	實驗系統架設.....	32
3.5	實驗流程簡介.....	33
3.6	電化學檢測系統.....	34
3.7	實驗設計與檢測目標.....	35
3.8	實驗溶液配製.....	37
第四章 實驗結果與討論.....		39
4.1	石墨筆芯電極之效能分析.....	39
4.1.1	石墨筆芯電極之表面改質效能.....	39
4.1.2	石墨筆芯電極之表面改質分析.....	42
4.1.3	石墨筆芯電極之電漿參數優化.....	44
4.1.4	石墨筆芯電極之耐久性測試.....	45
4.1.5	石墨筆芯電極檢測乙醯胺酚.....	47
4.2	線微流體平台之效能分析.....	51
4.2.1	電泳分離之效能分析.....	51
4.2.2	可滑動平台之效能分析.....	52
4.2.3	人類尿液中乙醯胺酚的成分分析.....	54
第五章 結論與未來展望.....		57
5.1	結論.....	57
5.2	未來展望.....	59
參考文獻.....		60
論文原創性報告.....		69
自述.....		70

# 圖目錄

圖 1-1 乙醯胺酚的代謝途徑.....	3
圖 1-2 AuNPs@PMo <sub>12</sub> 奈米酶用於乙醯胺酚的比色檢測.....	5
圖 1-3 毛細管電泳聯用質譜法測定尿液中乙醯胺酚代謝物之檢測步驟.....	6
圖 1-4 氧化鐵/石墨烯複合修飾電極對藥物製劑中的乙醯胺酚電化學測定.....	7
圖 1-5 檢測葡萄糖、抗壞血酸、尿酸和乙醯胺酚的玻璃製電泳晶片示意圖.....	8
圖 1-6 檢測乙醯胺酚之聚對苯二甲酸乙二醇酯製電泳電化學晶片示意圖.....	9
圖 1-7 創新之線基微流體電泳電化學晶片示意圖.....	11
圖 1-8 混合之 Cl <sup>-</sup> 、Br <sup>-</sup> 和 I <sup>-</sup> 樣本於線微流體電泳電化學系統中量測之結果圖.....	11
圖 1-9 線微流體平台不同樣本注入與分離方式之參數.....	12
圖 1-10 創新樂高式電極之線微流體晶片示意圖.....	14
圖 1-11 創新樂高式電極之線微流體系統檢測市售能量飲料 Red Bull 在不同時間的質譜圖.....	14
圖 1-12 論文架構圖.....	16
圖 2-1 毛細管電泳系統架構圖.....	18
圖 2-2 毛細管電泳原理示意圖.....	19
圖 2-3 標準三電極式電化學系統.....	22
圖 2-4 電泳電化學晶片與去耦電極(接地電極)示意圖.....	23
圖 2-5 去耦電極對於電泳電化學晶片偵測之背景雜訊與電流響應之關係.....	24
圖 2-6 常見幾種石墨筆芯電極的設計示意圖.....	26
圖 3-1 開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的設計圖.....	29

圖 3-2 可滑動的石墨筆芯電極的設計示意圖 .....	30
圖 3-3 本研究使用之低真空的感應耦合電漿系統 .....	31
圖 3-4 開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的實驗設置 .....	32
圖 3-5 開發之線微流體平台的實驗程序示意圖 .....	34
圖 4-1 使用不同表面處理的石墨筆芯電極測量 10.0 mM 鐵氰化鉀的循環伏安圖 .	41
圖 4-2 SEM 圖像和 XPS 光譜顯示了不同表面處理的石墨筆芯電極的表面形貌和表面原子比 .....	43
圖 4-3 石墨筆芯電極在不同電漿處理功率與時間中的電化學電流響應關係圖 .....	45
圖 4-4 石墨筆芯電極重複 18 天的耐久性測試 .....	46
圖 4-5 石墨筆芯電極 x1000 的 SEM 圖像、EDX 成分分析和石墨筆芯電極上用於防止 KCl 沉積的絕緣塗層橫切面照片 .....	48
圖 4-6 石墨筆芯電極在 1.0 mM 乙醯胺酚溶液中進行 100 次循環伏安掃描 .....	49
圖 4-7 檢測標準溶液（藍色實線）和人體尿液樣本（紅色虛線）中各種濃度的乙醯胺酚的電流響應 .....	50
圖 4-8 0.5 mM 抗壞血酸和 0.5 mM 乙醯胺酚混合溶液的電泳圖 .....	52
圖 4-9 不同電極間距對 10.0 mM 抗壞血酸的電泳圖 .....	54
圖 4-10 檢測人體尿液樣本中各種濃度的乙醯胺酚的電泳圖 .....	56
圖 5-1 未來模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極系統概念圖 .....	59

# 表目錄

表 1-1 美國平均每年乙醯胺酚過量所導致之重症紀錄.....	4
表 1-2 線微流體平台不同樣本注入與分離方式之結果.....	13
表 2-1 不同電極材料之特性比較表 .....	25
表 5-1 歷代電泳晶片的製程與設計比較表.....	58

## 符號表

A	安培	sec	秒鐘
D	樣本的擴散係數	t	樣本遷移時間
E	電場強度	Torr	托
F	法拉第常數	V	伏特
g	公克	$V_{eof}$	樣本移動速度
I	電流	W	瓦
L	公升	$W_{1/2}$	樣本訊號半高寬
M	體積摩爾濃度	$\Delta c$	樣本的濃度差
mA	毫安培	$\Delta x$	電極表面的距離
mg	毫克	$\epsilon$	溶液之介電常數
min	分鐘	$\zeta$	Zeta 電位
mM	毫體積摩爾濃度	$\eta$	黏滯力
m	公尺	$\mu A$	微安培
mm	毫米	$\mu_{eof}$	樣本電滲透流遷移
N	理論板數		率
n	氧化還原的電子轉	$\mu L$	微升
	移數	$\mu M$	微體積摩爾濃度
nA	奈安培	$\mu m$	微米
nM	奈體積摩爾濃度	$^{\circ}C$	攝氏溫度

## 簡寫表

ABS	Acrylonitrile butadiene styrene, 丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物
AP	Acetaminophen, 乙醯胺酚
B	Black, 黑度
CE	Counter electrode, 輔助電極
CE-MS	Capillary electrophoresis-mass spectrometry, 毛細管電泳質譜法
CV	Cyclic voltammetry, 循環伏安法
CPE	Carbon paste electrode, 碳糊電極
DPV	Differential pulse voltammetry, 微分脈衝伏安法
EC	Electrochemical, 電化學
EDX	Energy-dispersive X-ray spectroscopy, 能量散射 X 射線譜
EOF	Electroosmotic Flow, 電滲透流
EP	Electrophoresis, 電泳
FWHM	Full width at half maximum, 半高寬
GCE	Glassy carbon electrode, 玻璃碳電極
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry, 氣相層析質譜法
GSH	Glutathione, 穀胱甘肽
H	Hard, 硬度
ICP	Inductively coupled plasma, 感應耦合電漿
IT	Amperometric i-t curve, 安培偵測法
LC-MS	Liquid chromatography-mass spectrometry, 液相層析質譜法
N	Theoretical plate number, 理論板數
NAPQI	N-acetyl-p-benzoquinone imine, 乙醯對苯亞胺
PDMS	Polydimethylsiloxane, 聚二甲基矽氧烷
PET	Polyethylene terephthalate, 聚對苯二甲酸乙二醇酯

PGE	Pencil graphite electrode, 石墨筆芯電極
PMMA	Poly(methyl methacrylate), 聚甲基丙烯酸甲酯
PTFE	Polytetrafluoroethylene, 聚四氟乙烯
RE	Reference electrode, 參考電極
SEM	Scanning electron microscope, 掃描電子顯微鏡
SPE	Screen-printed electrode, 網版印刷電極
SULT	Sulfotransferase, 磺基轉移酶
TMB	Tetramethylbenzidine, 四甲基聯苯胺
UGT	UDP-glucuronosyltransferases, 葡萄糖醛酸轉移酶
UV-Vis	UV-vis absorption detection, 紫外光/可見光光譜偵測法
WE	Working electrode, 工作電極
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy, X 射線光電子能

# 第一章 緒論

## 1.1 研究背景

乙醯胺酚(Acetaminophen, AP)是生活中最常見的藥物之一，被廣泛用於治療各種疾病，包括頭痛、肌肉疼痛和發燒，其攝入安全劑量是無害的，但若過量服用會導致患者肝損傷、急性肝功能衰竭，甚至死亡，即使是年輕人攝入約 13.0 公克的乙醯胺酚，也會導致嚴重的肝腎細胞壞死，並在數天內死亡。美國國家數據庫的分析中表明，乙醯胺酚過量導致每年約 56000 次急診就診、26000 次住院和約 458 人死亡，因此開發一種快速分析人體尿液中乙醯胺酚的方法是重要的[1]。

現今已開發出多種方法來檢測人體尿液中的乙醯胺酚，包括比色檢測(Colorimetry)、質譜分析(Mass spectrometry)和電化學檢測(Electrochemistry)。比色檢測使用方便、成本低，但存在檢測極限高、靈敏度差、選擇性差等缺點，而質譜分析提供了很高的靈敏度和低檢測極限，然而其設備體積龐大，樣本前處理繁雜，並且檢測成本昂貴。電化學檢測法具有檢測極限低、樣品製備簡單和設備成本低等優點，然而在電化學檢測之前若沒有樣品分離的程序，這種方法的傳感性能也會受到限制。

電泳(Electrophoresis, EP)是一種可以分離液體中不同物質的方法，因此結合電泳分離與電化學檢測於一系統，可以改善電化學沒有樣品分離程序的缺點，以致於長期以來一直被認為是檢測化學或生物樣本的強大技術，像是傳統毛細管電泳電化學或晶片電泳電化學皆是使用這種方法。然而，傳統晶片依賴精密的微製造技術，且如果重複使用，微流體通道將產生樣品前後污染的問題，因此近年來無需精密微加工工藝的線微流體平台受到極大的關注。2014 年楊諭安等人提出了新型聚酯纖維線微流體晶片，聚酯纖維線代替原本的玻璃通道來進行樣品分離並成功地檢測葡萄糖與全血中的尿素氮[2]，微流體通道可以很容易的建立並替換，解決了傳統玻璃製程的缺點，但微製造的電極製程複雜耗時，且有容易損壞與電

極間距過大之缺點。因此，本研究開發了一種簡單而有效的新型線微流體電化學檢測平台，以氧電漿改質的市售鉛筆芯用做電化學檢測的電極，並固定在設計的滑動平台上，使得電極可以任意調整位置，這很大程度的縮小了電極之間的間距，且有效提高電泳分離之效能。電極無需精密的金屬沉積加工工藝即可實現高性能電化學檢測，最後使用開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，成功的檢測人體尿液中的乙醯胺酚。

## 1.2 乙醯胺酚藥物簡介

乙醯胺酚又稱對乙醯胺基酚、普熱息痛，英文名稱 Acetaminophen, Paracetamol，是一種用於退燒、緩解頭痛、牙痛、肌肉痠痛、月經痛等的常見鎮痛與解熱藥物[3]。乙醯胺酚給藥方式有口服、直腸及靜脈注射等方式，其中又以口服給藥最為常見，口服乙醯胺酚大約 37 分鐘後開始出現藥效，並且藥效可以維持約 4 小時。

1948 年生物學家 Brodie 和 Axelrod 發現乙醯胺酚相較於當時的解熱藥物，其副作用低，只有少數人會有紅疹過敏的問題產生，因此他們提倡使用乙醯胺酚代替其他解熱藥物。1955 年，嬌生公司（Johnson & Johnson）首次在美國境內銷售乙醯胺酚藥片，並因其有較小的副作用而流行開來，直至現今已經成為藥局中隨處可得的非處方藥物，像是常聽見的普拿疼、斯斯感冒膠囊、友露安，這些藥品的主要成分皆是乙醯胺酚。由於非常容易取得含有乙醯胺酚的藥物，因此中華民國藥物管理署刊載之文獻中表明，醫療人員與病人應注意藥品包裝上之標示，是否含有乙醯胺酚之成分，一天最多不能服用超過 4.0 公克的乙醯胺酚，如果超過此劑量，即使身體並未感覺不適，也應立即就醫。

### 1.2.1 乙醯胺酚的代謝機制

人體服用之乙醯胺酚藥物會經由胃腸道快速吸收，接著由肝臟代謝並排出體外，乙醯胺酚於肝臟之代謝機制[4]，如圖 1-1 所示。約有 90%的乙醯胺酚由葡萄

糖醛酸轉移酶 (UDP-glucuronosyltransferases, UGT) 和磺基轉移酶 (Sulfotransferase, SULT) 催化，轉化為無毒的葡萄糖醛酸(Glucuronidation)和硫酸化代謝物(Sulfated metabolites)，從尿液中排出體外，而約有 2%在沒有經過任何新陳代謝的情況下以原始狀態從尿液中排出體外，其餘約 10%的乙醯胺酚通過細胞色素 P-450 途徑，代謝成有毒的乙酰對苯亞胺(N-acetyl-p-benzoquinone imine, NAPQI)。而乙酰對苯亞胺在於肝臟的穀胱甘肽(Glutathione, GSH)快速結合下，形成無毒的硫醇鹽(Thiolate)和半胱氨酸化合物(Cysteine compounds)，這些化合物最後依舊從尿液中排出體外。

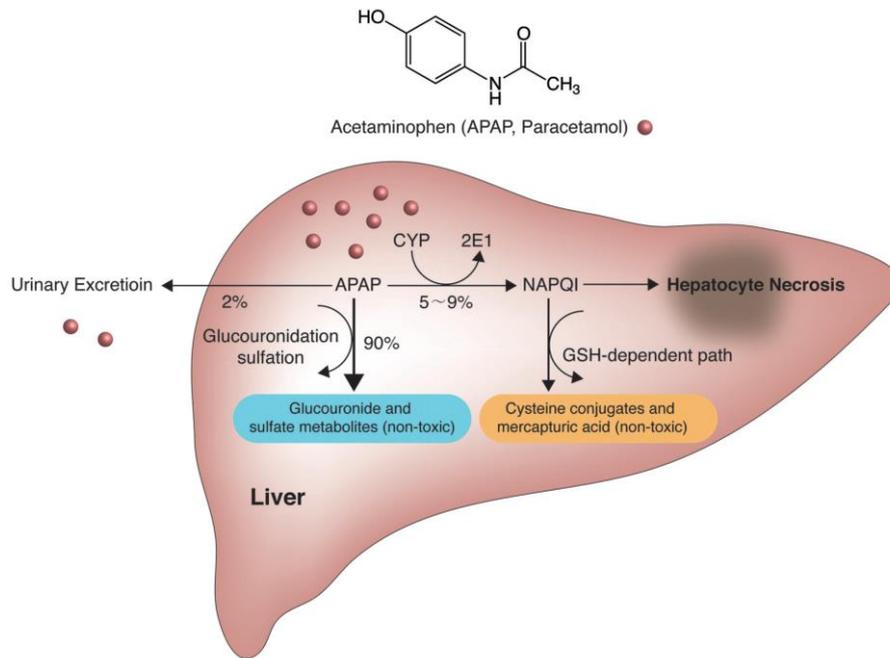


圖 1-1 乙醯胺酚的代謝途徑[4]。

### 1.2.2 乙醯胺酚過量的危害

上一節所述的乙醯胺酚代謝機制為正常藥量服用下的代謝途徑，倘若在服用過量的乙醯胺酚情況下，這些代謝機制將會變得飽和，因此幾乎所有的乙醯胺酚被轉化為具有毒性之乙酰對苯亞胺，並累積於肝臟。這會造成肝損傷、肝衰竭甚至死亡[5-7]，即使是年輕人攝入約 13.0 公克的乙醯胺酚，也會導致嚴重的肝腎細胞壞死並在數天內死亡[8]。根據美國國家數據庫的分析表明，過量服用乙醯胺酚藥物，導致美國每年約有 56000 人至急診室就診、26000 人住院、458 人死亡[1]。

表 1-1 美國平均每年乙醯胺酚過量所導致之重症紀錄[9]。

Data source*	Estimated number of APAP-associated overdoses	
	Total	Unintentional
Poison control calls** (TESS, 2001)	112 809**	NA
Emergency rooms (NHAMCS, averaged for the years 1993–1999)	56 000	12 650
Hospital discharges (NHDS, averaged for the years 1990–1999)	26 000	2240
Deaths (national mortality files, averaged for the years 1996–1998)	458	100

## 1.3 偵測乙醯胺酚藥物的方法

每年都有大量的人有意和無意地服用過量的乙醯胺酚，因此發展高效能的藥物檢測系統對社會有貢獻，而且具有重大意義，目前已開發出多種方法來檢測人類尿液中的乙醯胺酚，包括比色檢測[6]、質譜分析[8, 9]和電化學檢測[10, 11]。比色檢測法使用方便、操作簡單、成本低，但存在檢測限高、線性範圍窄、靈敏度差等缺點，而質譜分析法提供了高靈敏度和低檢測極限，然而其設備體積龐大，樣本前處理繁雜，並且檢測成本昂貴。電化學檢測具有檢測限低、樣品製備簡單和設備成本低等優點，然而在電化學檢測之前若沒有樣品分離程序，這種方法的傳感性能也會受到限制，本章節將詳細介紹這三種檢測方法與他們各自的優缺點。

### 1.3.1 比色檢測法

比色檢測法是常見的檢測技術之一，將分析之溶液和不同濃度的標準溶液進行吸光度(Absorbance)或透光度(Transmittance)之比較，來分析樣本的濃度，而比色法通常結合紫外-可見光譜(UV-vis)來監測溶液的顏色變化[10, 11]。2020 年 Bastami 和 Dabirifar 提出金奈米粒子結合多金屬氧酸鹽(AuNPs@PMO<sub>12</sub>)奈米酶用於乙醯胺酚的比色檢測[12]，如圖 1-2 所示。將不同濃度的乙醯胺酚水溶液分別與 AuNPs@PMO<sub>12</sub> 溶液和四甲基聯苯胺溶液(Tetramethylbenzidine, TMB)混合之後可以發現，溶液會隨著乙醯胺酚濃度的增加而呈現出不同的顏色，未添加乙醯胺酚的溶液呈現黃棕色，隨著添加濃度的提升顏色漸漸轉為紅棕色，最後變為藍色，進一步通過紫外-可見光譜監測溶液的顏色變化，可以計算出系統在乙醯胺酚濃度

為 30.0 mg/L 到 120.0 mg/L 的範圍內有良好的線性特性。比色法檢測法之優點為使用方便、成本低，但存在檢測極限高、線性範圍窄、靈敏度差等缺點[13]。

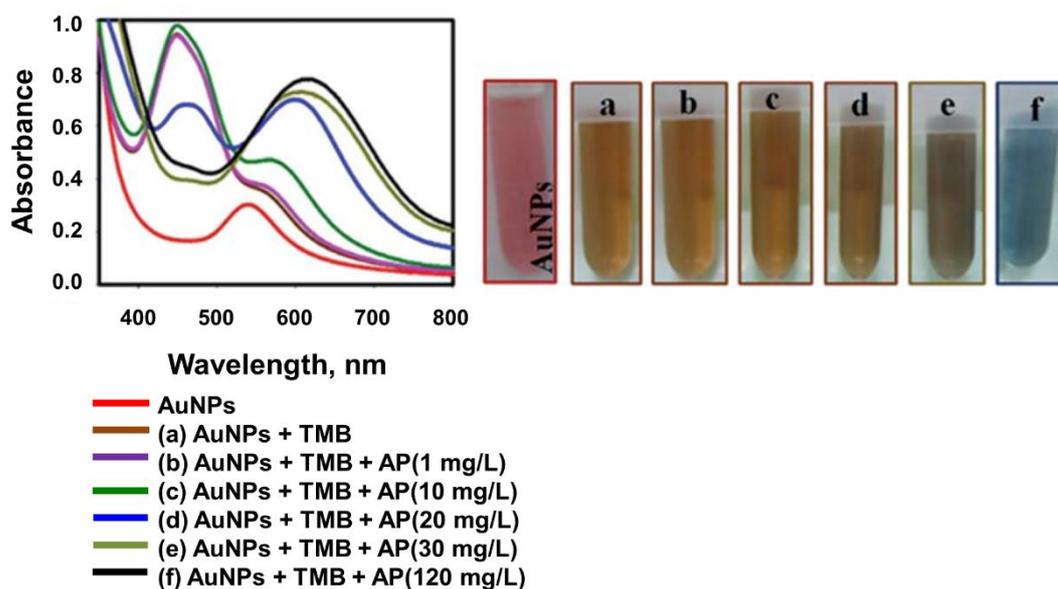


圖 1-2 AuNPs@PMo<sub>12</sub> 奈米酶用於乙醯胺酚的比色檢測[12]。

### 1.3.2 質譜分析法

質譜分析法主要由世界上最靈敏的分析儀器之一的質譜分析儀來進行檢測，因此可以得到非常精準的定量及定性結果，是法律上規定的標準檢測技術之一。質譜法是根據測量物質的質荷比進行判斷的分析技術[14]，而質譜法需要配合一些分離技術，方能提高其檢測靈敏度與檢測極限，常見與質譜聯用之分離技術包括：氣相層析質譜法(Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、液相層析質譜法(Liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)[15-17]、毛細管電泳質譜法(Capillary electrophoresis-mass spectrometry, CE-MS)。2019 年 Lecoer 等人提出毛細管電泳聯用質譜法測定尿液中乙醯胺酚代謝物之檢測[18]，其步驟如圖 1-3 所示。需要經過樣本前處理，包含取樣、離心、稀釋等等，接著將待分析之樣本注入毛細管電泳進行分離，透過高壓電場，使不同物質因為帶電量不同而分離開來，當樣本抵達毛細管尾端時，因為高壓電場的驅使形成一泰勒錐形狀之電噴灑，使樣本游離帶電進入質譜儀，最後被其檢測出來。雖然質譜分析法有著高靈敏度和低

檢測極限，且能夠提供精準的定量及定性分析結果，但由於其設備體積龐大、樣本前處理繁雜，並且檢測成本昂貴[19]，因此一般研究室並不常使用來進行實驗。

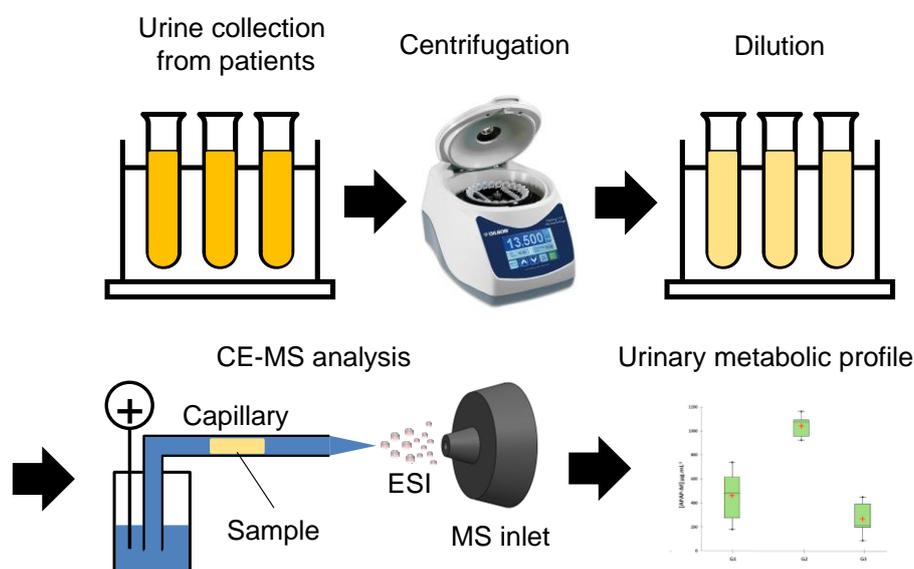


圖 1-3 毛細管電泳聯用質譜法測定尿液中乙醯胺酚代謝物之檢測步驟[18]。

### 1.3.3 電化學檢測法

電化學檢測法通常會搭配恆電位儀(Potentiostat)來使用，透過量測分析物的電化學氧化還原特性，來判定其樣品成分與濃度[20]，常見的檢測方法有循環伏安法(Cyclic voltammetry, CV)[21, 22]、安培偵測法(Amperometric i-t curve, IT)、微分脈衝伏安法(Differential pulse voltammetry, DPV)[23]，這些檢測方法將在之後章節中詳細說明。

在 2020 年 Palakollu 等人提出氧化鐵/石墨烯( $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{RGO}$ )複合修飾電極對藥物製劑中的乙醯胺酚進行電化學檢測[24]，如圖 1-4 所示。使用氧化鐵/石墨烯的奈米複合材料附著於玻璃碳電極表面，來增加電化學電極的靈敏度、選擇性和檢測極限，研究透過循環伏安法及微分脈衝伏安法進行測量，結果顯示，在  $0.1 \mu\text{M}$  到  $74.0 \mu\text{M}$  的範圍內有良好的線性度，且檢測限為  $21.0 \text{ nM}$ ，最後成功量測市售片劑中的乙醯胺酚含量。電化學法與比色法相比，其靈敏度較佳、選擇性較好、檢測極限較低，與質譜法相比，其樣品製備簡單快速且設備成本低。然而，在電化學檢測之前若沒有樣品分離程序，這種方法的傳感性能也會受到限制，因此近年來

結合毛細管電泳與電化學檢測的微流體系統晶片發展迅速，已然成為電泳晶片領域發展的主流系統。順帶一提，本研究就是使用結合電泳分離與電化學檢測的平台進行人類尿液中乙醯胺酚的偵測。

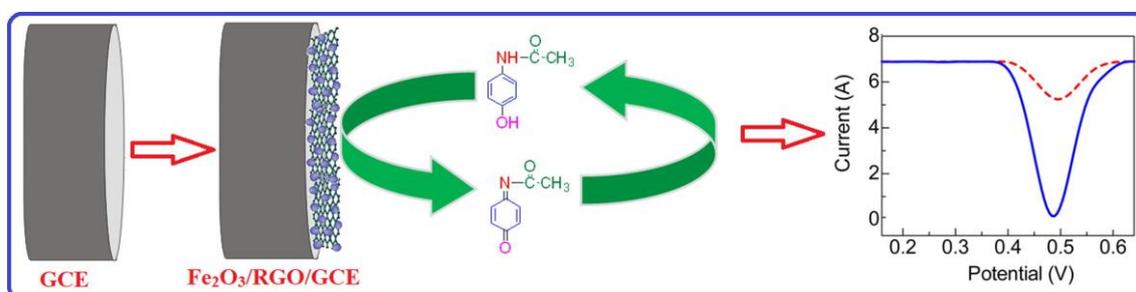


圖 1-4 氧化鐵/石墨烯複合修飾電極對藥物製劑中的乙醯胺酚電化學測定[24]。

## 1.4 微流體晶片系統的種類

微流體晶片系統於 80 年代隨著半導體技術和微機電領域[25]的發展興起，其有晶片體積小、所需液體量小、能量消耗低等特性，而微流體晶片系統是一種精確控制微小流體的技術，在微觀流體中重力不再有主導權，微流體主要受到表面張力與流體阻力的影響。

傳統的微流體晶片系統使用玻璃作為材料，其優點是透光性佳、絕緣特性好、電滲透流(Electroosmotic flow, EOF)穩定、良好的耐化學性及高穩定性[26-28]，然而微流體系統的優勢就是在於其方便、可攜帶、一次性使用且成本低，因此成本高且難以量產的傳統玻璃微流體晶片，逐漸被新開發出的材料與製程取代。微流體晶片發展至今主要由四大材料作為分類，包含玻璃微流體晶片、高分子微流體晶片、紙基微流體晶片與線基微流體晶片，本節將介紹各類型態的微流體晶片與其製作方法。

### 1.4.1 玻璃微流體晶片

如上文所提，最早微流體晶片主要是透過玻璃所製造而成，而玻璃微流體晶片製程主要區分為三大步驟，光刻微影(Photolithographic)來定義出晶片上的流

道、蝕刻(Etching)對晶片進行加工，蝕刻出光刻微影的流道圖案、晶片接合(Bonding)來完成封閉的微流體晶片[29]。2000年Wang等人提出檢測葡萄糖、抗壞血酸、尿酸和乙醯胺酚的玻璃製電泳晶片[30]，如圖1-5所示，使用短吸管連接玻璃晶片的樣本注入孔與儲液槽，用於連接玻璃晶片與待測溶液，接著插入高壓的白金絲電極於玻璃為流道中，進行電泳分離，最後在晶片尾端放置一網版印刷電極用於電化學檢測。由於玻璃微流體晶片的製程跟隨著半導體產業發展，因此製程相當成熟，對於圖案的定義已達到奈米等級，但製程複雜耗時且需要在極為乾淨的黃光無塵室環境下製作，導致晶片成本高且難以量產。

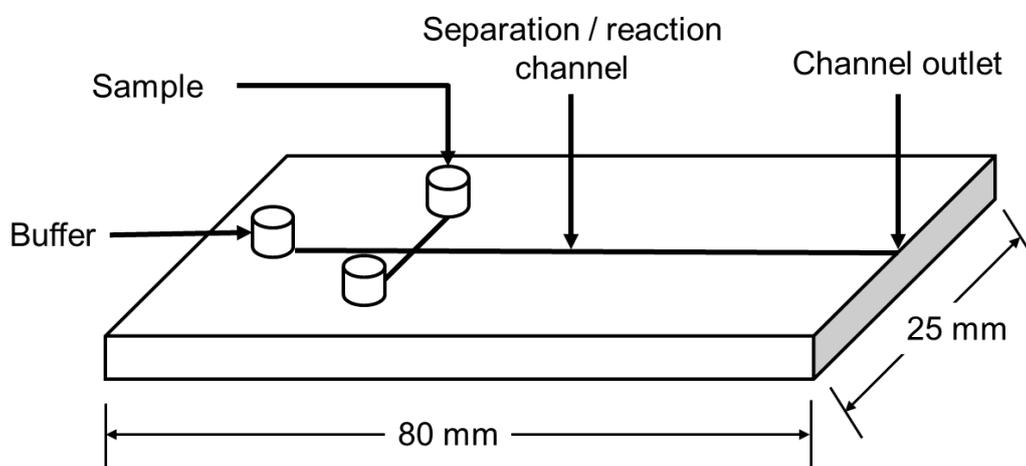


圖 1-5 檢測葡萄糖、抗壞血酸、尿酸和乙醯胺酚的玻璃製電泳晶片示意圖[30]。

#### 1.4.2 高分子微流體晶片

與傳統玻璃材料相比，高分子材料之製程相對簡單快速且適合量產，並且依然保有傳統玻璃材料的透光性與絕緣特性，因此繼玻璃材料後，高分子材料被廣泛使用。高分子材料顧名思義是由高分子質量的化合物聚合而成，不同的高分子材料的聚合單位與方式不同，因此其材料特性也不相同，依其物理性質可以分為兩大類，包含彈性體和熱塑性塑料。彈性體是由聚合物長鏈交聯所組成，其具有彈性，會因為外界施加的力而變形，外力消失後會再變回原本之形狀，其中最常見應用於微流體晶片的彈性體即是聚二甲基矽氧烷(Polydimethylsiloxane, PDMS)，其便宜且與生物相容性好，製程方式是透過翻模成型，母模為凸模是透過黃光玻

璃製程製作，只需要一塊母模，即可翻模成好幾塊凹模的 PDMS 晶片，最後 PDMS 可以再經過電漿處理與其他平板基材接合，形成封閉的微流體通道[31]。

熱塑性塑料由交聯的聚合物緊密的結合所組成，因此其堅固耐用。熱塑性塑料可以使用機械加工出想要之圖案，也可以利用雷射印刷的方式生成[32]，常見應用於微流體晶片的熱塑性材料有，聚對苯二甲酸乙二醇酯(Polyethylene terephthalate, PET)和聚甲基丙烯酸甲酯(Poly (methyl methacrylate), PMMA)，也就是俗稱的壓克力。2006 年 Liu 等人提出檢測乙醯胺酚之聚對苯二甲酸乙二醇酯毛細管電泳電化學晶片[33]，如圖 1-6 所示，利用雷射印表機將碳粉印製於透明 PET 薄膜上，印製出想要之流道圖案，接著再與另外一片表面塗有黏著劑的 PET 薄膜進行熱壓接合，完成微流體通道，乙醯胺酚標準品的檢測結果顯示，在 10.0  $\mu\text{M}$  到 500.0  $\mu\text{M}$  的濃度範圍內呈線性關係，裝置之檢測極限約為 5.0  $\mu\text{M}$ 。

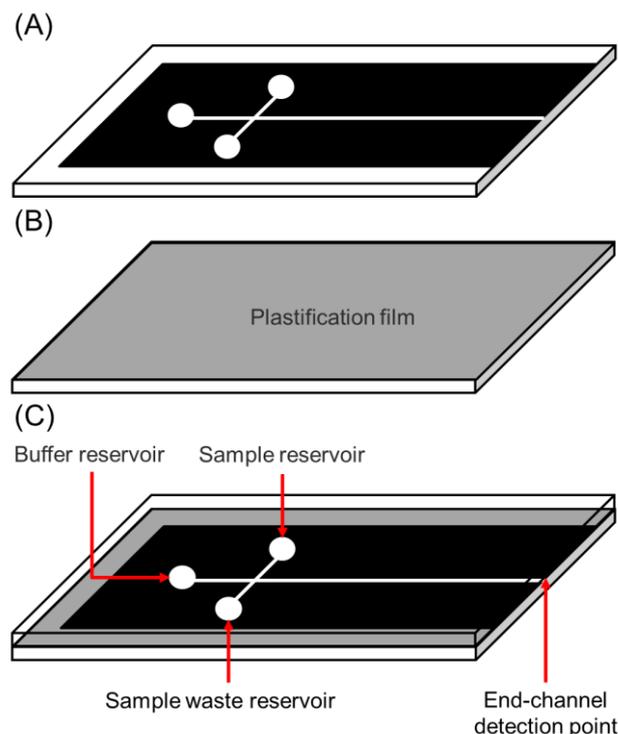


圖 1-6 檢測乙醯胺酚之聚對苯二甲酸乙二醇酯製電泳電化學晶片示意圖[33]。(A) 雷射印表機將碳粉印製於透明 PET 薄膜上製作想要之流道，(B)為表面塗有黏著劑的 PET 薄膜，(C)將印有流道圖案之薄膜與表面塗有黏著劑的薄膜進行熱壓接合，完成微流體通道。

### 1.4.3 紙基微流體晶片

紙為親水材料，因此需要定義親水區、疏水區來製作出想要之微流道，在1949年 Müller 與 Clegg 兩位提出由紙為材料的微流體晶片[34]，將蠟附著在紙片上定義出親水區與疏水區，接著使用紙層析法來分離所要偵測之樣本，為現今紙基微流體奠定了基礎。而定義親水區、疏水區之常見方式有光刻微影製程、蠟打印技術[35]，與直接裁切法[36]，其中光刻微影有著與玻璃微流體晶片相近之製程，因此相比於另外兩種方式有較好的流道圖案解析度，不過光刻微影製程複雜、成本高，且容易折疊損壞，因此未來幾乎都是以蠟打印技術與直接裁切法為主。紙基微流體晶片是未來發展看好的一項技術，與傳統玻璃微流體晶片相比，成本低廉、一次性、製程技術簡單，且紙片本身有毛細作用力作為驅動，可以節省其它動力設備輔助的相關消耗，但其無法定義出像傳統微流體晶片的奈米等級流道，因此偵測極限較高且靈敏度低。

### 1.4.4 線基微流體晶片

線基微流體與紙基微流體的材料相似，也有親水性、低成本、毛細作用力、多孔性以及可撓曲等[37]特性，因此也適合用於製作一次性的微流體晶片，線體本身形狀類似於毛細管，可直接做為一微流道來使用，不需要紙基微流體定義親水與疏水區域的複雜製程，也避免了在製程中可能產生的汙染[38]。本生醫機電研究室在2012年提出了一創新線微流體系統取代傳統玻璃製程，並將電泳分離與電化學檢測系統整合於一晶片[39]，使用聚酯纖維(Polyester)線代替傳統玻璃製封閉型流道作為電泳分離時的載台，並於晶片後端進行電化學偵測，如圖 1-7 所示。製程部分使用低成本之壓克力進行熱壓技術來製作凸出之電極結構，接著利用濺鍍技術(Sputtering)將金、白金、銀三種金屬沉積於電極表面，此外聚酯纖維線本身可以透過氧氣電漿(Plasma)處理，來使線材表面活化並增加表面的親水官能基，進而提升對液體的吸濕能力。透過測量混和之  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Br}^-$  和  $\text{I}^-$  樣本來進行電漿處理

的效能分析，如圖 1-8 所示，經氧氣電漿處理之聚酯纖維線之訊雜比(S/N 值)是未經處理的 6 倍，且計算得到之理論板數也提升了 28%，此創新之線微流體晶片為低成本且快速檢測的電泳電化學晶片奠定了基礎。

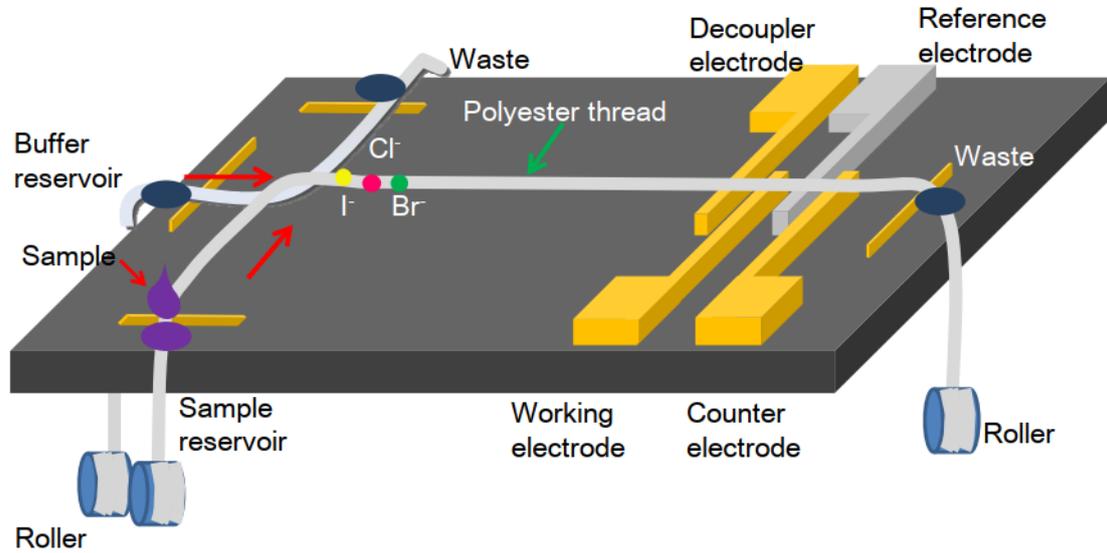


圖 1-7 創新之線基微流體電泳電化學晶片示意圖。由聚酯纖維線電泳與三極式電化學系統所組成[39]。

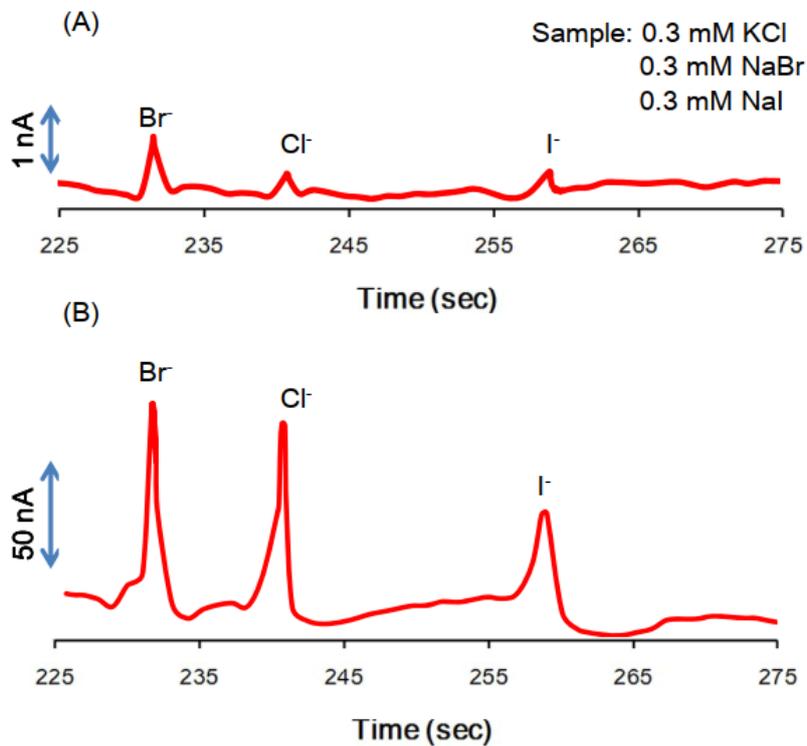


圖 1-8 混合之 Cl<sup>-</sup>、Br<sup>-</sup> 和 I<sup>-</sup> 樣本於線微流體電泳電化學系統中量測之結果圖[39]。

(A) 為未經過電漿處理，(B) 為有經過電漿處理。

2018 年 Cabot 等人對於線微流體的不同電泳電化學架構進行了比較[40]，其中包含四種架構，如圖 1-9 所示，而不同架構之測試結果如表 1-2 所示。(1)為兩條交叉之線微流體分離裝置，縱軸線用來進行樣本注入，橫軸線用來進行樣本分離，在樣本注入時，分離通道不施加電位，從圖片中可以明顯看出，注入之樣本因為分離通道不施加電位而明顯向左右擴散，而在樣本分離時，注入通道不施加電位，從圖片中也可以明顯看出，注入之樣本因為分離通道不施加電位而明顯有樣本拖尾現象產生，使得分離效果不良。(2)之架構與(1)相同，皆是使用兩條交叉之線微流體分離裝置，但是在樣本注入與分離時，另外一側之線上均有施加電位，因此樣本有聚焦功能，且不會產生拖尾現象，測得之半高寬(Full width at half maximum, FWHM)為 0.167。(3)之架構與(2)相同，不同的是其樣本注入通道使用線徑較小的線，因此在樣本分離時比較不會受到注入通道的影響，測得之半高寬為 0.109。(4)為單一線微流體上同時進行樣本注入與分離之裝置，直接將樣本滴於線微流體上並開啟高壓電場進行分離，測得之訊號半高寬為 0.107，相較於前兩種系統，此方式操作簡單、耗能低，且所測得之訊號半高寬也比較窄，因此本研究選擇單一線微流體的架構進行後續的實驗。

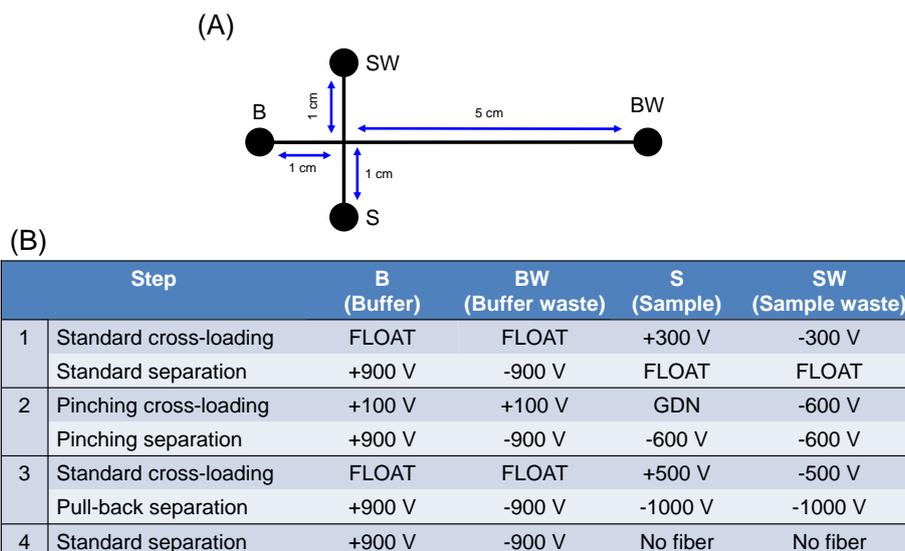
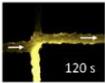
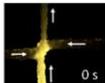
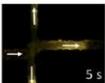
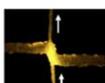
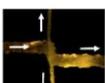


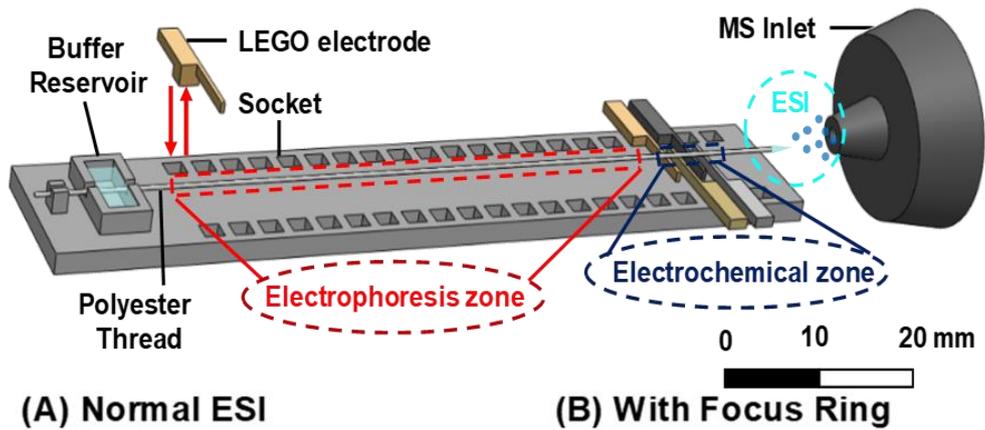
圖 1-9 線微流體平台不同樣本注入與分離方式之參數[40]。(1~3)為兩條交叉之線微流體分離裝置，縱軸線用來進行樣本注入，橫軸線用來進行樣本分離(4)為單一線微流體上同時進行樣本注入與分離之裝置。

表 1-2 線微流體平台不同樣本注入與分離方式之結果[40]。

Loading and separation system		Electropherogram		FWHM	Peak area	
1	a) Standard cross-loading b) Standard separation				—	—
2	a) Pinching cross-loading b) Pull-back separation				0.167	0.1720
3	a) Standard cross-loading using lower diameter b) Pull-back separation				0.109	0.1128
4	a) No thread for injection b) Standard separation				0.107	0.1142

本研究室於 2019 年提出了一創新樂高式電極之線微流體晶片，其整合電泳分離、電化學檢測以及質譜偵測於一線微流體系統[41]，如圖 1-10 所示。此系統使用電漿處理過之聚酯纖維線當作電泳分離的流道，電化學檢測區採用三極式的濺鍍電極來檢測前方電泳分離之樣本，質譜偵測則架設於聚酯纖維線尾端，以高壓電場產生電噴灑，進入質譜儀進行分析。其樂高式電極的設計使電極損壞時，能夠快速的插拔進行電極的更換，解決前人電極損壞無法替換之問題，另外也針對末端電噴灑游離質譜法發展了一線電噴灑聚焦環技術，只需要將環狀電極套住線電噴灑，並施加高電場，即可有效的縮小電噴灑之張角，進而提高質譜儀偵測的離子強度。圖 1-10(A)為未使用電噴灑聚焦環時線電噴灑之張角的實際影像，其電噴灑張角約為  $78^\circ$ ，圖 1-10(B)為加入電噴灑聚焦環並施加  $2.8 \text{ kV/cm}$  的聚焦電場後之線電噴灑張角的實際影像，其電噴灑張角縮小至  $30^\circ$ ，接著量測生物樣本 T7 Peptide 在有無電噴灑聚焦環之情況下的離子強度，結果顯示開發之線電噴灑聚焦環技術，有效提升了 6.8 倍的離子強度，且訊雜比也提升了 3.7 倍。

透過量測市售能量飲料 Red Bull 來證實此裝置之性能，如圖 1-11 所示，其組成物相對複雜，其中含量較多的醣類首先於 2~3 分鐘左右抵達質譜端，而含量較低的物質如維他命 B6、咖啡因等，於 3~5 分鐘有效地被偵測到，結果顯示此創新樂高式電極之線微流體系統可以有效地將樣本分離並被質譜儀所偵測到。此研究結合了電化學檢測與質譜分析兩項技術於一微流體晶片，為食品安全檢測領域提供一簡單且有效之檢測裝置。



(A) Normal ESI

(B) With Focus Ring

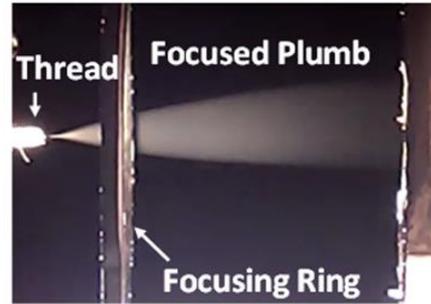
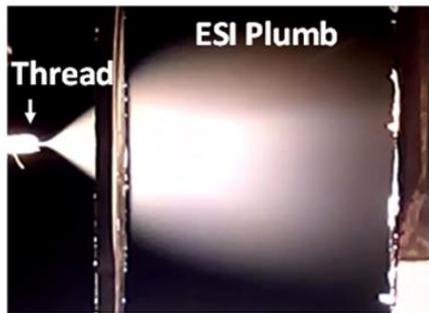


圖 1-10 創新樂高式電極之線微流體晶片示意圖[41]。其整合電泳分離、電化學檢測以及質譜偵測於一晶片，(A)為一般線電噴灑(未增加電噴灑聚焦環)之張角，(B)為增加電噴灑聚焦環後之線電噴灑張角。

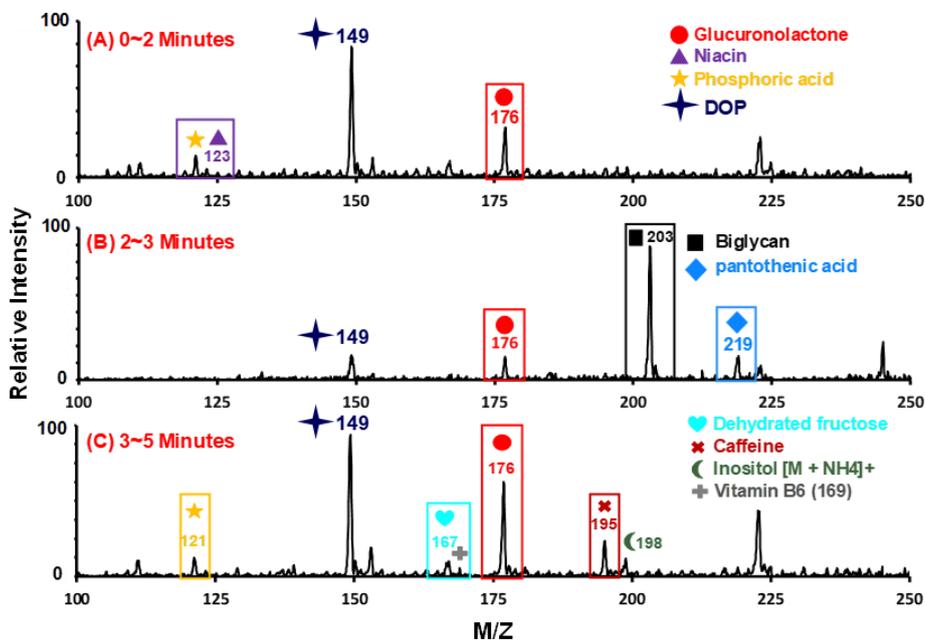


圖 1-11 創新樂高式電極之線微流體系統檢測市售能量飲料 Red Bull 在不同時間的質譜圖[41]。(A)為偵測時間 0~2 分鐘之質譜圖，(B)為偵測時間 2~3 分鐘之質譜圖，(C)為偵測時間 3~5 分鐘之質譜圖。

## 1.5 研究動機與目的

近年來本實驗室致力於應用聚酯纖維線製作電泳微流道晶片，並整合電泳分離與電化學分析，進行藥物檢測與食品安全檢測方面，然而目前已發表之相關研究，採用相對複雜的濺鍍電極製造技術，製程耗時、成本高昂，且電極容易因為長時間的使用而受損，導致整個晶片失效，必須換新。另外所設計之晶片的電極間距過大無法調整，使得無法有效提升電泳分離之效能與電化學偵測之電流響應，而在樣本量極少的情況下更是不易於檢測，導致整體晶片在電化學分析中也有所限制。因此，本研究提出一模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，採用開發的石墨筆芯電極代替原本複雜的濺鍍製造技術，且電極之重複性及耐久性良好，若不幸損壞也能夠簡單替換，無須重新製造晶片本體。設計的可滑動平台可以自由調整電泳分離距離與電極間距，大大增加電泳分離之效能與電化學偵測之電流響應，最後使用本研究開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，成功分析人體尿液中的乙醯胺酚，成為一成本低、電極間距可滑動、電極可替換的多功能檢測裝置。

本研究欲提出一可滑動式的電泳電化學平台並改善上述所提到之電極問題，實驗目的如下：

1. 解決電極製程複雜耗時且損壞後無法更換之問題
  - a. 將石墨筆芯電極進行表面改質，以提高電化學性能。
  - b. 石墨筆芯電極進行耐久性、重複性測試。
  - c. 開發的石墨筆芯電極用於檢測目標物乙醯胺酚。
2. 解決電極間距過大且無法調整之問題
  - a. 滑動式平台之效能分析。
3. 整合石墨筆芯電極與設計的滑動平台並進行廣泛性測試
  - a. 針對標準品、混合物進行分析。
  - b. 針對人類尿液樣品進行分析。

## 1.6 論文架構

本論文整體架構分為五個章節，第一章闡述乙醯胺酚過量造成的危害，還有目前已知的檢測方法，第二章說明實驗原理與石墨筆芯電極特性，第三章詳述滑動式平台的設計與製造還有實驗架構與流程，第四章呈現出開發的石墨筆芯電極之特性與整體滑動式平台的性能分析，第五章則整合上述之研究成果做出結論，並呼應研究動機與目的，完整的架構如圖 1-12 所示。



圖 1-12 論文架構圖。

## 第二章 實驗原理與材料特性

本研究主要的原理包含毛細管電泳分離、電化學檢測技術、電漿表面改質技術三個部分，毛細管電泳分離是讓待測樣本因電泳區之高壓電場進行分離，他會受到電滲透流與電泳兩種作用力所影響而有不同的遷移速率，因此樣本中不同的物質會被分離開來，接著進入電化學區依序進行偵測。而電化學技術則是由標準三電極系統所組成，其偵測方式使用循環伏安法及安培偵測法檢測待測物，循環伏安法所測得的電壓用來分析物質之成分，所測得的電流用以分析物質之濃度，而安培偵測法則以抵達時間與電流值，用以分析物質之成分與濃度。電化學檢測技術所使用之電極材料為石墨筆芯電極，其有一次性、價格低、靈敏度高等優點，已經應用於許多領域如環境分析、藥物臨床分析及食品成分分析等，而電漿表面改質技術則是利用電漿的表面機能化特性來提升石墨筆芯電極的電化學響應。最後，將電泳分離與電化學檢測技術整合於一平台可以有效提升晶片檢測的靈敏度和準確度。

### 2.1 毛細管電泳晶片的原理與效能分析

電泳是分離物質的常用技術，在一均勻電場作用下，樣本中不同粒子在流體中遷移速率會不相同，所以有將物質分離之功能，其主要可以分為兩種類型，平板電泳(Slab electrophoresis)[42]與毛細管電泳(Capillary electrophoresis, CE)[43]，而平板電泳是透過樣本放入半固態的凝膠中，並施加高電壓使樣本分離，此方法多用於生化分析上，但操作複雜、耗時、且散熱效率差。

毛細管電泳系統，如圖 2-1 所示，主要將毛細管作為溶液的通道，施加一高電場於緩衝溶液中，使管內之緩衝溶液推動向前。因為不同的粒子有不同的電荷密度，因此待分析的混和樣本，會以不同之遷移速率在管內移動，最後被分離開來，接著粒子會分別抵達檢測端被偵測到，其遷移速率與方向受到電滲透流與電泳兩種作用力所影響[44]，於下一節將完整介紹這兩種作用力。

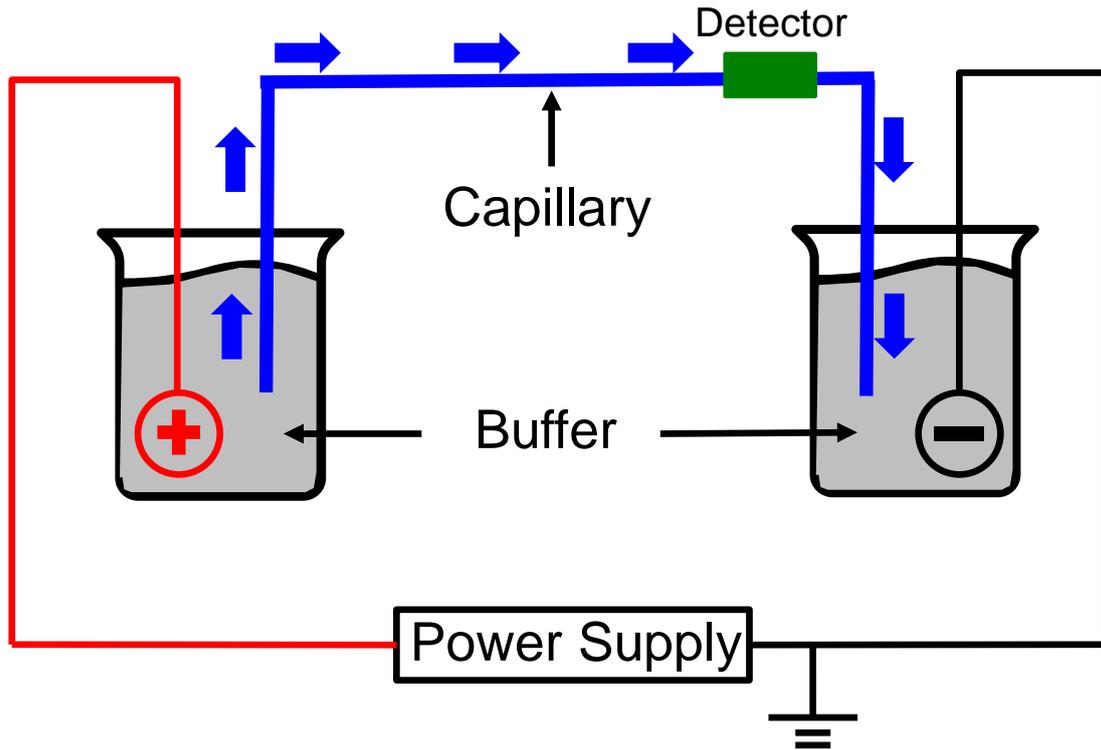


圖 2-1 毛細管電泳系統架構圖。透過施加一高壓電場促使待測物在毛細管中進行分離，最終被感測器偵測到。

### 2.1.1 毛細管電泳基本原理

標準毛細管電泳使用石英玻璃毛細管，而玻璃表面帶有 Si-OH，當注入 pH 值大於 3 之緩衝溶液進入管內時，Si-OH 會解離出氫離子，而玻璃毛細管表面形成帶負電之 Si-O<sup>-</sup>，接著溶液中的陽離子會被帶負電之毛細管壁所吸引並附著在管壁旁，形成擴散狀的電荷層。帶負電的毛細管壁，稱之為固定層，固定層與被負電所吸引的一層正電荷層[45]，合稱為電雙層(Electrical double layer)[46]，而電雙層中間之電位與毛細管中間之電位差則定義為 Zeta 電位(Zeta potential,  $\zeta$ )。形成電雙層現象後，接著在毛細管兩端通上一高壓電場，正電荷會受到高壓電場影響，往負端移動，使得管壁兩旁的溶液會先往前移動，緊接著帶動中間的溶液向前進，最後形成一穩定的電滲透流，如圖 2-2 (A)所示，而電滲透流之遷移速率的計算方式如公式(1)所示，其與電場強度成正比與溶液之黏滯力成反比。

$$V_{\text{eof}} = \mu_{\text{eof}} E = \left( \frac{\epsilon \zeta}{\eta} \right) E \dots \dots \dots (1)$$

$V_{\text{eof}}$  為電滲透流遷移速率， $\mu_{\text{eof}}$  為電滲透流遷移率， $E$  為電場強度， $\epsilon$  為溶液之介電常數， $\zeta$  為 Zeta 電位， $\eta$  為溶液之黏滯力。

電泳流是指在施加一高壓電場下，溶液中帶電之離子會朝向相反電極端移動，帶正電離子往陰極端移動，帶負電離子往陽極端移動，如圖 2-2 (B)所示。在毛細管電泳中遷移速率與方向受到電滲透流與電泳兩種作用力所影響，然而電滲透流速度遠大於電泳流速度[47]，因此在毛細管電泳中，帶負電的離子最終還是會朝向陰極端前進，如圖 2-2 (C)所示，正離子因為電泳流與電滲透流同向，所以最先抵達偵測端，再來是中性離子，其與電滲透流速相同，最後才是電泳流與電滲透流反向之帶負電的離子通過。

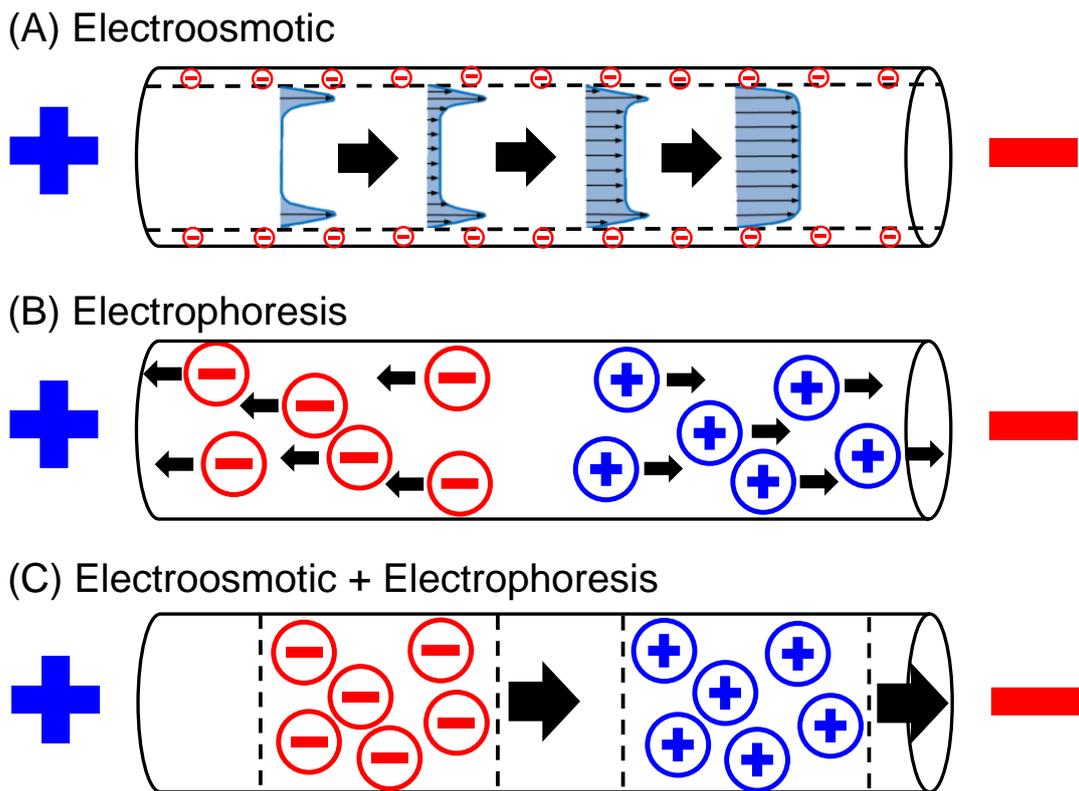


圖 2-2 毛細管電泳原理示意圖。(A)為電滲透流示意圖，管壁兩旁的溶液會受到電場影響而率先前進，接著帶動中間溶液，形成一穩定流場，(B)為電泳原理圖，主要為帶電荷離子會往與自身相反電荷的電極移動，(C)為毛細管電泳示意圖，因為電滲透流速遠大於電泳流速，因此最後形成能將物質分離並依序檢測之電泳。

## 2.1.2 毛細管電泳的效能分析

在實驗中，主要有五項因素會影響毛細管電泳之分離效率，包含樣本體積(樣本帶寬)、緩衝溶液 pH 值、分離管道的長度、電場強度、焦耳熱效應(Joule heating)、電極間距。若注入之樣本體積過大，會造成樣本的區帶範圍過寬，導致出現峰值重疊，無法被有效分離的現象，而緩衝液 pH 值會影響溶液的氫離子解離程度，影響 Si-O<sup>-</sup>之生成，進而影響電滲透流的速率。分離管道長度主要影響樣本之分離距離與時間，若分離長度較長，雖然分離效能有所提升，但時間成本也隨之增加，反之若縮短分離長度，可能導致樣本無法被有效地分離。電場是驅動樣本分離的主要動力，適當的電場強度有助於樣本分離，若電場強度過低，分離效果隨之下降，若電場強度過高，將伴隨著焦耳熱效應的產生，焦耳熱效應會導致毛細管道中之溶液溫度上升，而溶液溫度上升將會增加粒子的擴散速率，使樣本的寬度增加，分離效果下降。因此，在高電場環境下，藉由調整緩衝溶液之濃度來改善焦耳熱效應，降低緩衝溶液濃度能使溶液中之阻抗提升，因而降低毛細管道中之溶液溫度。電極間距影響樣本分離之濃度梯度與樣本停留於電極之時間(訊號寬)，當工作電極上施加之固定電位不變，電極間距越近，電極間之樣本量小，電阻值降低，因而提升電流響應，另外電極間距越近，使得分析物能較快通過檢測區域，因而分析物訊號之半高寬較窄，提高電泳分離效能。

在毛細管電泳領域中以理論板數(Theoretical plate number, N)來定義其分離的效能，理論板數越大分離效能越佳，如公式(2)所示。

$$N = 5.54 \left( \frac{t}{w_{1/2}} \right)^2 \dots\dots\dots (2)$$

N: 理論板數

t: 樣本經過分析器之時間

w<sub>1/2</sub>: 分析物訊號的半高寬

## 2.2 電化學檢測之原理與架構

### 2.2.1 電化學的氧化還原反應

電化學所研究的是電與化學之間的變化關係，是一門快速、簡單且即時的檢測技術，而發生電化學氧化還原反應的過程中也包含反應物的消耗及產物的生成。一般電化學量測所接收的訊號有電壓、電流、電導度等，其中檢測電流值的循環伏安法最為常見，循環伏安法是藉由設定恆電位儀之起使電位與終點電位，並以固定速率進行兩電位之間的循環掃描，當產生氧化還原反應時，電化學恆電位儀進而偵測到反應之電流。當電壓由低電位往高電位移動時，分析之溶液會產生一氧化電流，相反的電壓從高電位往低電位移動時，會產生一還原電流，當電壓再次回到起始電位即形成一個循環，可得到一氧化還原 CV 圖，透過 CV 圖可以得知在多少電位時會發生氧化與還原反應，藉此進行定性分析，且可以經由得到的電流值推算樣本的濃度，進行定量分析。氧化還原產生的電流與電極表面積大小、電子轉移數、樣本的濃度、樣本的擴散係數成正比，與電極表面的距離成反比，如公式(3)所示，在電極的量測線性區域中，當電極的表面距離不變，電極與溶液之間的接觸面積也維持不變，所測量出來的電流值大小即可以經由計算得到溶液的實際濃度值。

$$I = n F A D \left( \frac{\Delta c}{\Delta x} \right) \dots \dots \dots (3)$$

I: 氧化還原峰值電流

n: 氧化還原的電子轉移數

F: 法拉第常數

A: 電極之表面積

D: 樣本的擴散係數

$\Delta c$ : 樣本的濃度差

$\Delta x$ : 電極表面的距離

## 2.2.2 標準三電極式電化學系統

常見電化學檢測系統主要分為二電極式和三電極式兩種，其中三電極式電化學系統之穩定度與重複性均較好，因此近年來標準三電極式電化學系統廣泛應用於電化學檢測領域[48]。三電極式電化學系統的電極可以分為三種，工作電極(Working electrode, WE)、輔助電極(Counter electrode, CE)和參考電極(Reference electrode, RE)，工作電極為主要發生氧化還原反應的電極，其常見的材料為金[49]、白金[50]、碳[51]等，輔助電極常見材料為白金，是負責與工作電極形成一電流迴路的電極，其在三電極式電化學中擔任與工作電極相反的角色。意思就是，當還原反應發生於工作電極時，氧化反應則發生於輔助電極，相反的當氧化反應發生於工作電極時，還原反應則發生於輔助電極。參考電極提供整體電化學系統一穩定電位，其不會受到溶液濃度影響，也不會參與電化學反應[52]，參考電極常見的材料為標準氫電極、氯化銀電極與飽和甘汞電極。

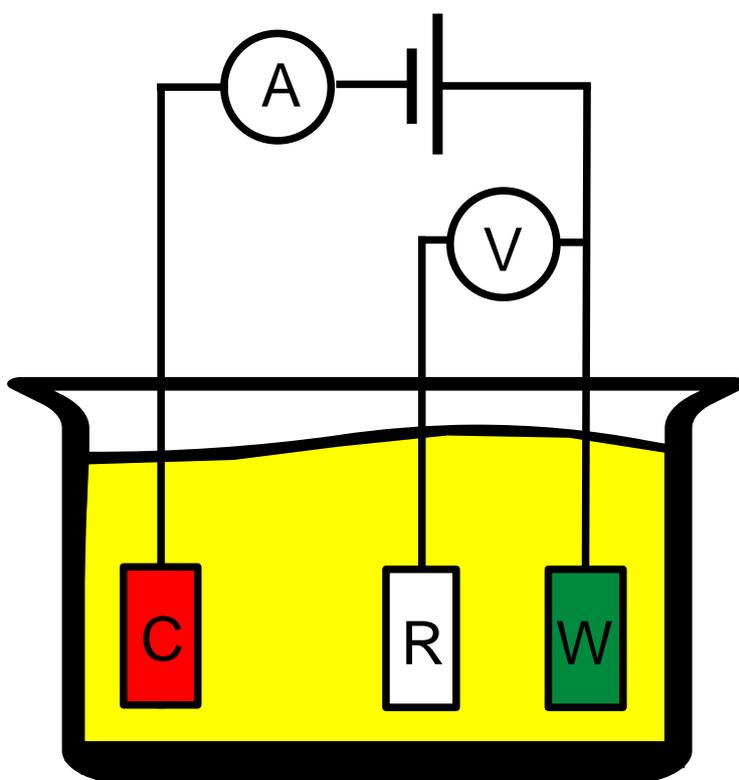


圖 2-3 標準三電極式電化學系統。圖中的 W 代表工作電極、C 代表輔助電極、R 代表參考電極。

### 2.2.3 去耦電極對於電化學檢測晶片之功用

近年來隨著晶片尺寸越來越微小化，標準三極式電化學系統也從傳統的大溶液量測，漸漸發展為微量的樣本檢測，尤其與毛細管電泳結合之電泳電化學晶片最為廣泛。在此微小的晶片中，其電化學量測方式則使用安培偵測法，安培偵測法是量測電流響應對於時間的變化，當混合樣本先經過毛細管電泳分離後，再依序通過三極式電化學系統，施加在工作電極上的固定電位，來使被電泳分離之樣本產生氧化還原反應，進而偵測到電流的改變。

在電泳電化學晶片的架構底下，電泳分離所使用之高電場會干擾下游施加在工作電極上的固定電位而影響檢測，導致靈敏度與穩定度下降，故需隔離電泳分離區與電化學檢測區。2005年 Vickers 和 Henry 為此提出一個改善方式，如圖 2-4 所示，在工作電極前方設計了一去耦電極(Decoupler electrode) [53]，去耦(接地)電極之電位為零，能夠將上游電泳分離之高電場導入地端，以防止下游電化學檢測受到影響。測試結果如圖 2-5 所示，其中左側為背景雜訊比較圖，右側為電流響應比較圖，可以明顯看出增加去耦電極明顯降低了背景雜訊，並且有效提高了主訊號之電流響應。

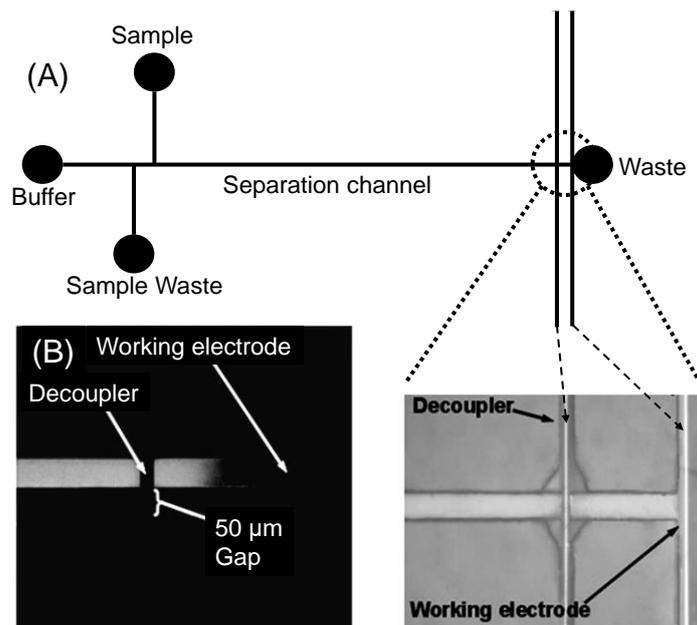


圖 2-4 電泳電化學晶片與去耦電極(接地電極)示意圖[53]。

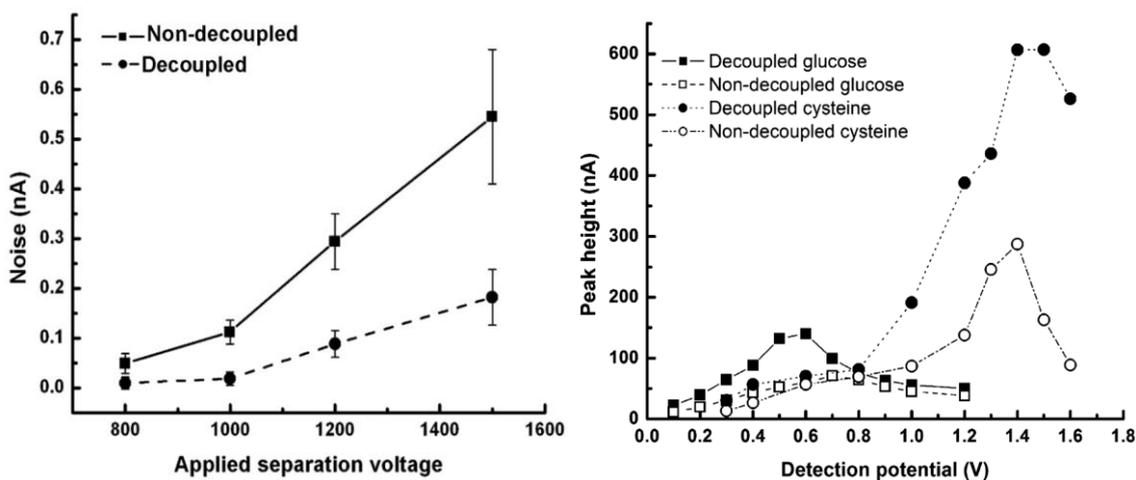


圖 2-5 去耦電極對於電泳電化學晶片偵測之背景雜訊與電流響應之關係[53]。

## 2.3 石墨筆芯電極的簡介

石墨 (Graphite)，是碳的一種同素異形體，具有金屬和非金屬特性，因此可以用來當作電極材料[54]，而鉛筆的主要成分大致上為 70% 石墨、25% 黏土和 5% 黏合劑所組成的複合材料，將這些複合材料擠壓成棒狀並在 100°C 到 300°C 的溫度下脫水，然後在 1000°C 的溫度下燒結而成，整個過程需要在惰性氣體下進行，以避免變形[55]。依照添加黏土的比例越高，鉛筆芯的硬度也會越高，其中最高硬度的鉛筆芯為 9H，HB 適中，最低硬度的筆芯為 9B，H 代表鉛筆芯的硬度，B 代表鉛筆芯的黑度，顏色越黑的鉛筆芯其硬度越低，顏色越淡的鉛筆芯其硬度越高。儘管鉛筆芯中存在非導電的黏土顆粒，但其由大量的石墨烯層所組成，因此導電性良好，而黏土的比例也會影響其電化學特性，不過與鉛筆芯的表面積大小相比其影響範圍較小。

### 2.3.1 石墨筆芯電極的特性與其他電極的比較

常見用於電化學檢測的電極有，金(Au)電極、白金(Pt)電極、玻璃碳電極 (Glassy carbon electrode, GCE)、碳糊電極(Carbon paste electrode, CPE)、網版印刷電極(Screen-printed electrode, SPE)和石墨筆芯電極等。石墨筆芯電極與其他類型的電極相比，有成本低、方便使用、一次性、毒性低且靈敏度高之優點[56, 57]，

如表 2-1 所示，因此近年來石墨筆芯電極發展迅速，已經應用於許多領域如環境分析、藥物臨床分析及食品成分分析等。表 2-1 左側之圖片為本研究所使用之石墨筆芯電極，由 2B 0.3 mm 的市售鉛筆芯（Pentel® Ain STEIN 2B 0.3mm, Pentel®, Japan）所製成。

表 2-1 不同電極材料之特性比較表[57]。



	PGE	GCE	CPE	SPE	Au / Pt
Cost	Low	High	Medium	High	High
Disposable	Yes	No	No	Yes	No
Surface polishing	Not required	Required	Required	Not required	Required
Sensitivity ( $\alpha$ -naphthol)	High	Medium	Medium	--	Low
Casting modification	Difficult	Easy	Easy	Easy	Easy

### 2.3.2 石墨筆芯電極的設計

石墨筆芯電極因為容易斷裂，因此需要設計輔助的支架來保護，並且額外拉一條導線用於傳輸電訊號給電化學恆電位儀，最常見之石墨筆芯電極的設計是將其放入市售自動鉛筆中作為支架，為了保持恆定的電極接觸表面積，因此需要固定石墨筆芯電極凸出自動鉛筆的長度，接下來透過金屬導線纏繞或焊接的方式，將石墨筆芯電極的訊號與電化學恆電位儀相連接[58]，即完成電極製作，如圖 2-6(A)所示。此外，注射針筒、熱縮套管、玻璃毛細管、聚四氟乙烯 (Polytetrafluoroethylene, PTFE)，又稱為鐵氟龍，皆可以當作石墨筆芯電極的固定支架，將石墨筆芯電極與金屬導線相連接，接著穿過支架並用環氧樹脂將石墨筆芯電極與導線一同密封到支架中[59, 60]，即完成電極製作，如圖 2-6(B、C、D)所示，其中圖(D)所設計的鐵氟龍管而外提供了電化學輔助電極與參考電極的插槽，將電化學三電極整合於一裝置中，增加系統檢測的方便性。最後，為了更加節省電極製作成本，少數研究直接將鐵氟龍膠帶纏繞於石墨筆芯電極上，藉此定義出電極深入溶液測量的區域與電極連接電化學恆電位儀的區域，雖然成本有所降低，但包覆方式不美觀且容易發生石墨筆芯電極斷裂損壞的問題。

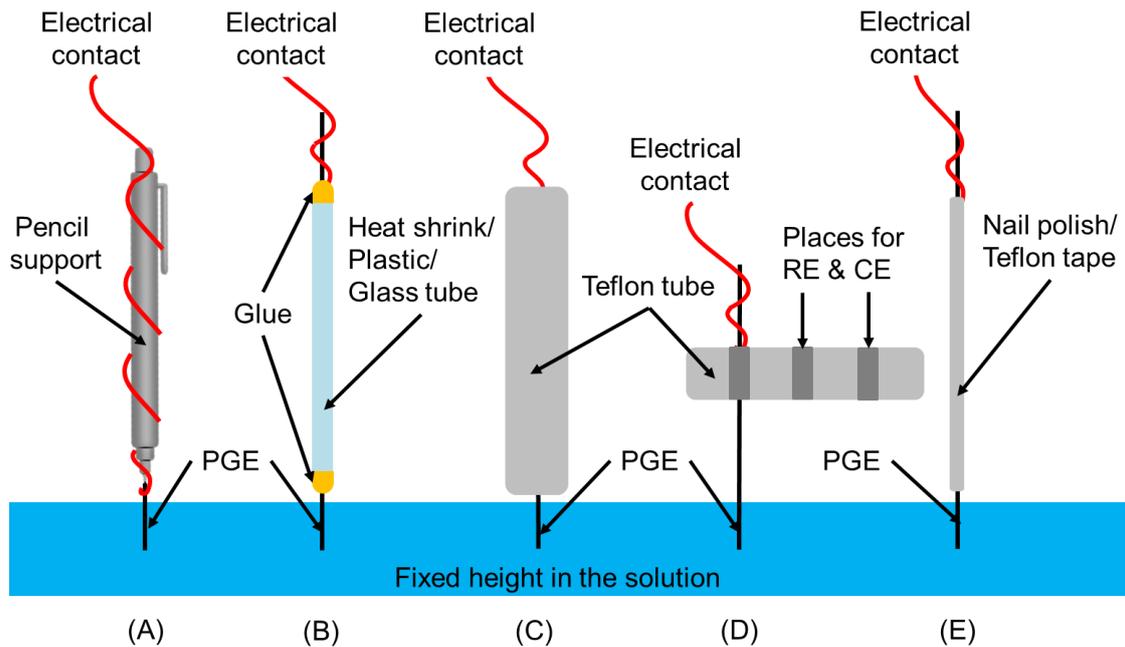


圖 2-6 常見幾種石墨筆芯電極的設計示意圖[61]。(A)固定於自動鉛筆中，(B)插入熱縮套管或玻璃毛細管並用膠水固定，(C)和(D)以聚四氟乙烯管進行包覆，(E)使用聚四氟乙烯膠帶進行纏繞。

## 2.4 電漿的表面改質技術

電漿是一種由電子、帶電離子和中性粒子為主要成分所組成的物質形態，而此型態又被稱作是物質的第四態，電漿態的形狀並不固定，會因為空間和磁場的作用，而不斷的改變。當氣體在經過外界的高溫或是強大磁場的作用後，自由電子會被加速，接著與中性粒子發生碰撞，將其能量傳遞到中性粒子中，導致中性粒子的外層電子受到能量後脫離其原子核，原來的中性粒子變成陽離子，而剛脫離的電子又會再次被加速並碰撞，不斷的重複此過程，最後形成由電子、陽離子、陰離子、中性粒子所組成的電中性物質，稱為電漿。

電漿再進行表面處理過程中，會產生離子、電子、中性粒子、自由基和介穩態物種等等，而這些物質會藉由電漿電場而撞擊代處理物之表面，將能量轉移到代處理物的表面並進行物理和化學反應，以下將介紹四個常見的反應類型，其中包括交聯、蝕刻、沉積和表面功能化。交聯一般選用惰性氣體（如氦氣、氬氣），

是經由離子或介穩態物種，透過碰撞來處理材料表面，其能夠移走材料表面的原子，再透過不同分子鏈之間的連接來提升材料表面的硬度與強度。蝕刻的作用原理有二種，其一是利用離子或電子對材料表面進行物理撞擊而帶走表面原子，其二是利用自由基與材料表面發生化學反應，使材料表面的原子脫離，而沉積是使用聚合特性氣體（如乙炔、乙烯等），這些氣體分子會先與自由基進行聚合反應，接著沈積於基材表面，形成一層緻密的薄膜。最後是表面功能化，表面功能化常使用的反應性氣體（如氧氣、氫氣、氮氣、氨氣），其原理是基材表面較弱的鍵結首先會被破壞，接著被反應性氣體所解離生成的反應性官能基(如-OH、-C=O、-COOH 及-NH<sub>2</sub> 等)所取代[62]，藉此達到改變材料表面的反應活性，其中包含電化學活性、親水性、黏著性等等[63]。在本研究中主要也是利用電漿的表面功能化特性，將含氧官能基連接於石墨筆芯電極表面，以增加電極之電化學響應，以利後續電化學檢測之應用。

## 第三章 實驗設計與架構

本章節首先於第一節詳細說明滑動式線微流體平台的設計與製作，第二節介紹可滑動石墨筆芯電極的設計與製作，第三節與第四節則是將可滑動石墨筆芯電極與線微流體平台進行整合，並針對實驗架設與實驗流程進行介紹。第五節則對於本研究使用之電化學檢測系統進行詳細的介紹，其中主要說明電泳分離之參數與電化學檢測設定之參數，第六節完整說明整體的實驗設計和檢測目標，第七節詳細說明本研究所使用的溶液之配置方式與比例。

### 3.1 模組化線微流體平台的設計與製作

設計的模組化線微流體平台主要分為兩個區域，包括由聚酯纖維線形成的電泳分離區和由石墨筆芯電極所組成的電化學檢測區，如圖 3-1 所示，電泳區主要由緩衝液儲液槽、高壓電極、去耦電極（接地電極）組成，形成分離電位，而電化學檢測區由去耦電極下游的標準三電極系統(工作電極、輔助電極、參考電極)所組成。電泳區之儲液槽用來存放緩衝溶液，讓聚酯纖維線保持濕潤，不會因為高電場產生的焦耳熱效應而燒毀，高壓電極負責傳輸直流高壓電給聚酯纖維線，提供電泳分離之高壓，在高壓電極與去耦電極中會形成一高壓電場，驅使混和樣本進行電泳分離，而去耦電極則是負責將聚酯纖維線上之高壓導向地端，用於保護後方電化學檢測區的石墨筆芯電極不會受到前方高壓電場之干擾。

在去耦電極的保護下，下游電化學區三電極系統得以安穩進行氧化還原反應，而去耦電極和電化學三電極皆是使用開發的石墨筆芯電極，其安裝在所設計的鳩尾滑動槽上，因此可以任意調整電泳分離距離與電化學三個電極之間的電極間距。另外，右側放大圖清楚顯示，聚酯纖維線交錯固定在石墨筆芯電極上，這可以增強電極和聚酯纖維線之間的電接觸，並提高電流響應的傳感性能。最後，三個電化學電極和去耦電極，透過 L 型導電銅膠帶整合成 USB-A，因此可以快速連接到電化學分析儀，大大增加系統方便性。

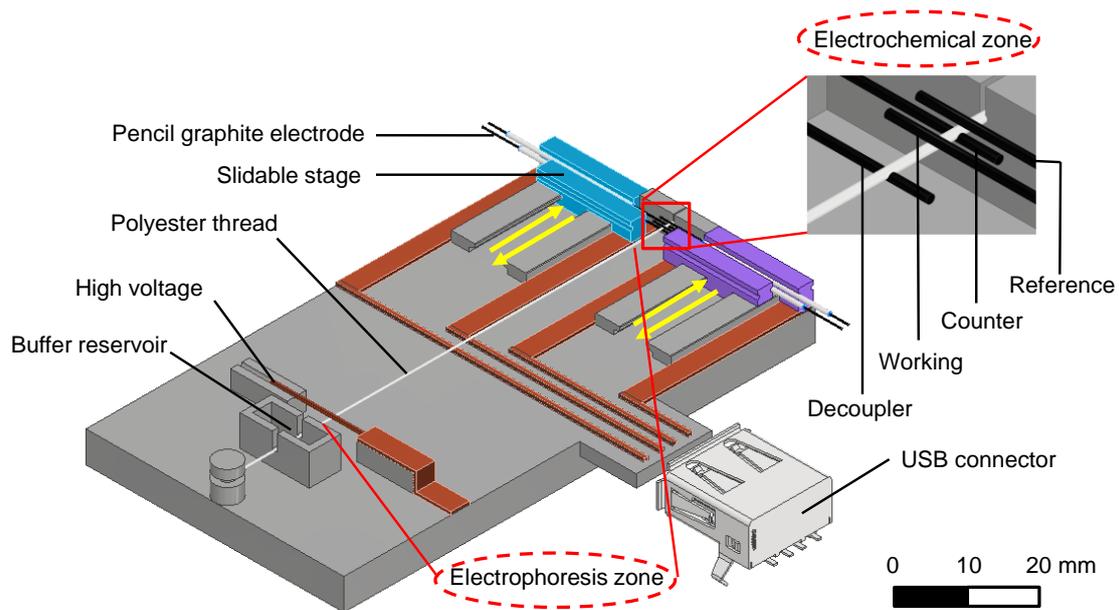


圖 3-1 開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的設計圖。包括用於電泳分離的聚酯纖維線和用於電化學檢測藥物的石墨筆芯電極。

開發之模組化線微流體平台是經由商業 CAD 軟件 (Autodesk® Inventors, Autodesk®, USA) 所設計的，接著將設計之平台轉檔為.gcode 文件，以用於雙噴頭 3D 列印機(Ultimaker 3 Extend, 3DMart, USA)製造，而 3D 列印所使用的平台基板材料為 ABS(ABS Filament 3.0 mm, Ultimaker, USA)，其強度高、硬度高且有很強的耐酸鹼能力，所以非常適合作為微流體晶片的基材。3D 列印機參數設置為噴頭溫度 220°C，加熱板溫度為 60°C，層高品質為 0.06 mm，列印速度為 60 mm/s，支撐材密度為 15%，因為只需要列印單一種材料，因此第二個噴頭溫度設定為 0°C，接著開始進行平台基板列印。

完成 3D 列印後，將平台結構的支撐材移除，接著在黏貼 L 型之導電銅膠帶於平台上，用來傳輸下游四個電極之訊號給 USB-A 輸出，即完成平台製作。最後，為了確認所製作的滑動式線微流體平台的滑動特性與電訊號傳輸性能，結合滑動式電極座測試滑動效果，並且使用三用電表量測 L 型之導電銅膠帶與滑動式電極座的電接觸，滑動式電極座需完整與 L 型之導電銅膠帶接觸並導通，這樣才可以確保有良好之電訊號穩定性。

### 3.2 可滑動之電極座的設計與製作

本研究所開發之可滑動的石墨筆芯電極的結構示意圖，如圖 3-2 所示，主要包含石墨筆芯電極和可滑動的電極座，而可滑動之電極座設計概念就如同一把槍的外觀三大結構，包含槍管(石墨筆芯電極槽)、槍托(傳達石墨筆芯電極之電訊號)與彈夾(鳩尾槽式滑台)。可滑動之電極座使用商業 CAD 軟體 (Autodesk® Inventors, Autodesk®, USA) 進行繪製，設計兩個高度為 3.75 mm 的電極座與兩個高度為 3.35 mm 的電極座，高度較高的電極座用於安裝工作電極與參考電極，高度較矮的電極座用於安裝去耦電極與輔助電極，這樣才能使聚酯纖維線交錯固定在石墨筆芯電極之間，可滑動之電極座的製造方式使用 CNC 加工製造，材料使用導電性極佳的紅銅作為材料進行加工。將製作出的石墨筆芯電極安裝於槍管區域的 15.0 mm 電極槽中，以雙面導電銅膠帶固定，防止石墨筆芯電極鬆動或脫落，並確保石墨筆芯電極和聚酯纖維線之間有良好的電接觸。可滑動之電極座的槍管式電極槽設計可以簡單且快速的更換損壞之電極，而可滑動之電極座的槍托用於傳輸石墨筆芯電極之電訊號給電化學恆電位儀，其與 L 型導電銅膠帶相連接，並經由 USB-A 整合。另外，彈夾區域的鳩尾槽式設計則是負責與平台基板的滑動槽連接，可以任意調整各個電極之位置，達到適當之電泳分離距離與電極間距。

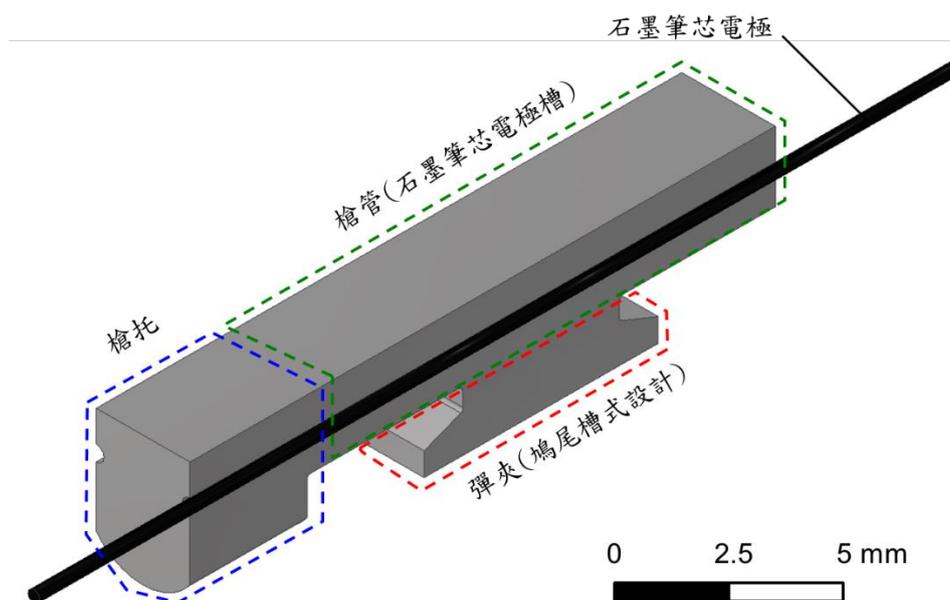


圖 3-2 可滑動的石墨筆芯電極的設計示意圖。

### 3.3 石墨筆芯電極的製作

石墨筆芯電極由商業鉛筆芯 (Pentel® Ain STEIN 2B 0.3mm, Pentel®, Japan) 製成，首先將鉛筆芯固定在傾角 45° 的玻璃治具上，這是為了確保鉛筆芯每個面都能完全被電漿處理到，接著連同治具放入低真空的感應耦合電漿(Inductively coupled plasma, ICP)腔體中，如圖 3-3 所示。關閉腔體並開啟機械幫浦 (Edwards E2M30 Vacuum pump, Edwards, UK)，將腔體抽至  $4.0 \times 10^{-2}$  Torr 到  $5.0 \times 10^{-2}$  Torr，然後放入氧氣，接著再次等待腔體抽至  $4.0 \times 10^{-2}$  Torr 到  $5.0 \times 10^{-2}$  Torr。達到低真空後，打開下方的高頻電源供應器並進行電漿匹配，匹配成功時螢幕中 Match 燈會亮藍燈顯示，最後調整功率旋鈕至 100 W 輸出，並計時 10 分鐘，讓鉛筆芯進行電漿處理，處理結束即可獲得石墨筆芯電極。

開發的石墨筆芯電極只需要將市售的鉛筆芯進行 10 分鐘的氧氣電漿處理即可獲得，而過去的電極製造技術需要使用 3D 列印或熱壓製程進行電極外觀製造，接著還需要將製造出的電極進行濺鍍製程才能得到金屬電極，整體製作步驟繁雜，且濺鍍之腔體需要抽至  $7.5 \times 10^{-6}$  Torr 的極低真空非常耗時。開發的石墨筆芯電極不需要製作電極本體、不需要抽至極低真空所耗費的時間、不需要昂貴的濺鍍靶材(金靶材、白金靶材、銀靶材)，大大節省了電極製作的時間與成本。



圖 3-3 本研究使用之低真空的感應耦合電漿系統。上方為低真空反應腔體搭配派朗尼真空計，下方為高頻電源供應器用於提供上方腔體產生高頻電漿。

### 3.4 實驗系統架設

在介紹完模組化線微流體平台與可滑動的石墨筆芯電極的設計與製作後，將兩者整合並進行整體實驗架設，如圖 3-4 所示。高壓電極使用直徑 1.0 mm 紅銅棒固定於前方的電泳槽位，並與高壓直流電源供應器相連接，而下游的去耦電極、工作電極、輔助電極與參考電極則是使用石墨筆芯電極，去耦電極接至高壓直流電源供應器之接地點，工作電極、輔助電極、參考電極則與恆電位儀相連接。最後，將電化學恆電位儀調整為電流偵測模式，並設定工作電極之恆電位電壓與連續偵測的時間長度。

石墨筆芯電極安裝在可滑動的平台，因此能夠調整電極之間的間距，在移動電極座時應注意電極與電極之間不能有接觸，不然會影響檢測結果。電極與電極之間的間距越小，兩個電極之間的阻抗也就越小，因此當設定之電位相同時，電流響應就會越高，中間放大圖像清楚地顯示，電極之間的間距可以達到約 10.0  $\mu\text{m}$ ，從而大大增強了電化學檢測過程中的電流響應。此外，右側顯面圖清楚地顯示，石墨筆芯電極上下交錯固定聚酯纖維線，這可以增強電極和聚酯纖維線之間的電接觸，且上下石墨筆芯電極之間設計 150  $\mu\text{m}$  的間距，讓電泳能夠輕鬆通過電極進行檢測。

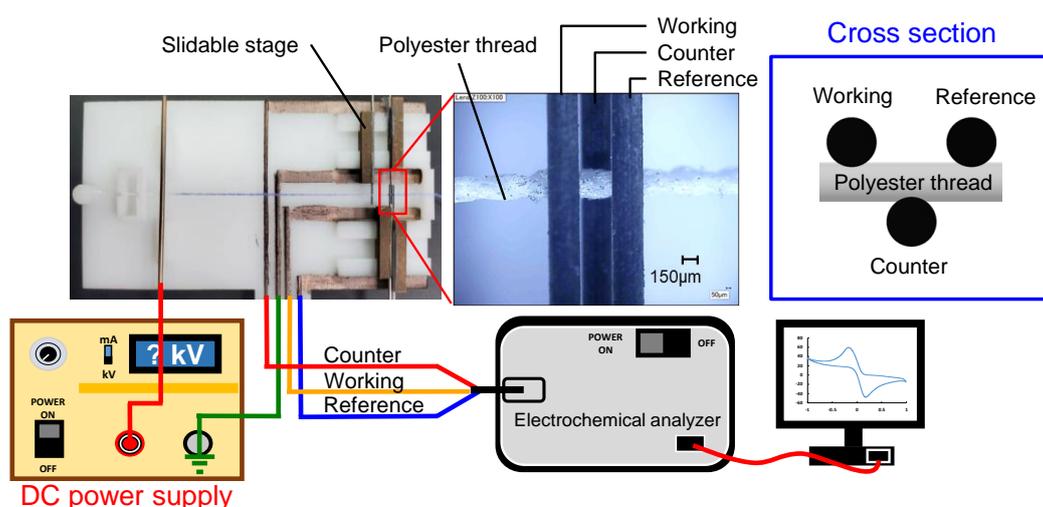


圖 3-4 開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的實驗設置。右側放大圖顯示石墨筆芯電極之間間隙較小，因此有較高的電流響應。

### 3.5 實驗流程簡介

在架設完開發之模組化線微流體平台後，用三用電表確認石墨筆芯電極與電化學恆電位儀之間的連接訊號，及高壓電極與高壓直流電源供應器之間的連接訊號是否正常，才能進行整體實驗操作，操作步驟如圖 3-5 所示，為開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的實驗程序。將直徑為 200.0  $\mu\text{m}$  的聚酯纖維線用噴槍(RK2274 Butane gas micro torch set, Rekrow, Taiwan)處理線體周圍之毛邊，用以防止在進行電泳分離時樣本往毛邊擴散，改善每次替換聚酯纖維線進行實驗時，偵測結果有誤差的問題產生，噴槍處理線體也應注意不應過度處理，這樣會使主要分離幹道的聚酯纖維線受熱變形，阻礙線體流動。接著將聚酯纖維線橫跨於凹字型電漿治具上，而直徑為 0.3 mm 的鉛筆芯放置於傾角 45° 的電漿治具上，將聚酯纖維線和鉛筆芯放入低真空的感應耦合電漿腔體中，並用氧氣電漿處理(功率 100 W，10 分鐘)以激活表面(圖 3-5B)，詳細電漿操作可以參考 3.3 章節。

電漿處理後，將石墨筆芯電極安裝在可滑動之電極座的插槽中，並用雙面導電銅膠帶固定，而聚酯纖維線用 1.0 mM 硼酸鈉緩衝液潤濕，並交錯固定在石墨筆芯電極之間，接著調整適當之電泳分離距離和石墨筆芯電極的間距，調整完後將聚酯纖維線拉直固定(圖 3-5C)。在固定完聚酯纖維線與石墨筆芯電極後，將 1.0 mM 硼酸鈉緩衝溶液填充到前方儲液槽中，以保持聚酯纖維線的濕潤狀態，不會因為稍後進行電泳分離過程中，高電場產生的焦耳熱效應而燒壞。接著開啟高壓電源供應器進行電泳分離，並開啟恆電位儀進行電化學偵測(圖 3-5D)，起初電滲透流尚未形成一穩定流場，因此恆電位儀偵測出的電流會不穩定，需觀察到電化學電流穩定後，在通過市售滴定管取 0.5  $\mu\text{L}$  待測樣品置於聚酯纖維線上進行電泳分離(圖 3-5E)。待測樣本中的粒子，因為帶電量不同和大小不同，所以會被電場分離，被分離之樣本在經過去耦電極後，會失去電場的驅動力，不過流場之慣性力會繼續帶著樣本向前，最後分別抵達電化學區偵測端，被開發的石墨筆芯電極依序進行電化學檢測(圖 3-5F)。

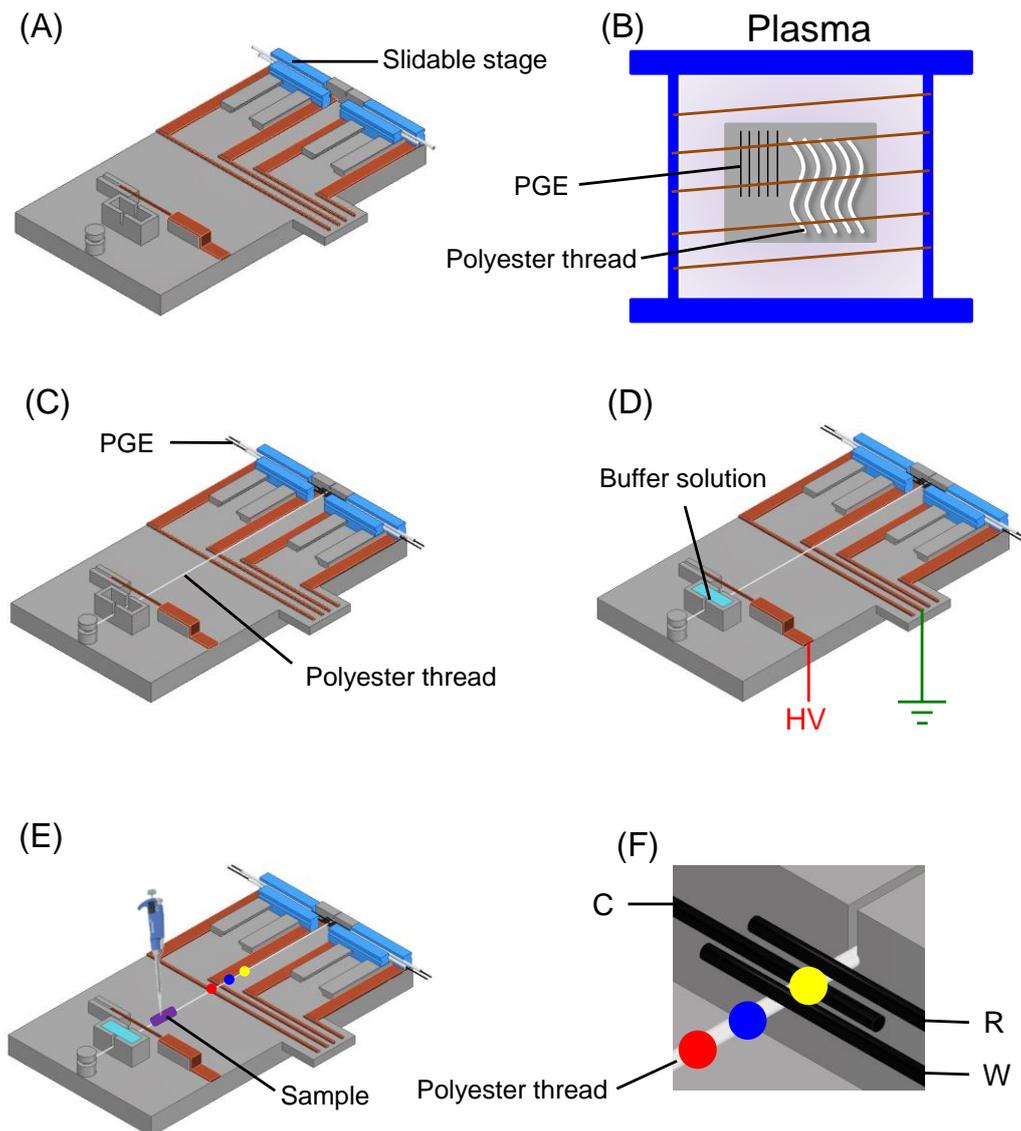


圖 3-5 開發之線微流體平台的實驗程序示意圖。其中使用氧電漿處理聚酯纖維線和鉛筆芯，然後聚酯纖維線用於電泳分離和石墨筆芯電極用於電化學檢測。

### 3.6 電化學檢測系統

本研究所使用之檢測方法為電化學檢測，檢測模式分為循環伏安模式及電流偵測模式，其中循環伏安模式為驗證石墨筆芯電極效能所使用，是將工作電極施加-1.0 V 到+1.0 V 的氧化還原電位，掃描速率為 0.1 V/s，樣本會在工作電極表面發生氧化和還原反應，並透過電化學分析儀偵測其電化學響應。循環伏安模式得出的結果為 CV 圖，縱軸為電流，橫軸為電壓。測得之電流大小與樣本濃度和電極表面積成正相關，樣本濃度值越高電流值越高，電極表面積越大電流值也會越

高，詳細細節如 2.2.1 章公式(3)所示，可以用於進行定量分析。橫軸電壓則表示樣本是在多少電位時產生最高氧化還原峰值，而不同樣本的氧化還原峰值也會不同，這方面可以用於進行定性分析。

電流檢測模式為線微流體平台效能分析所使用，當樣本經過電泳分離後會依序進入到電化學檢測區被電化學分析儀檢測，而電流檢測模式所設定之掃描電位為，樣本經過循環伏安模式偵測後的氧化還原電位，所設定之掃描速率為 0.1 s/次。電流檢測模式的縱軸為電流，其所測得之電流響應與濃度梯度還有電極表面積成正相關，與電極間距成負相關，因此當設定之電位相同時，電極與電極之間的間距越小，兩個電極之間的阻抗也就越小，電流響應就會提升。電流檢測模式的橫軸為時間軸，其與樣本帶寬還有電極間距成正相關，當分離電壓相同時，樣本帶寬窄與電極間距窄，相對樣本停留於電極的時間就會因此縮短，主訊號的半高寬也會縮小，因而提升整體分離效率。除此之外，當樣本停留於電極的時間縮短，而測量之樣本電量不變時，所測得電流響應當然也會隨之提高[64]。

本研究所使用之電化學分析儀為 CH Instrument CHI611E 電化學分析儀(CH Instrument CHI611E, CH Instrument, USA)，此儀器提供使用者多種檢測模式，包含循環伏安模式、電流偵測模式、線性掃描伏安模式及計時電流模式，而儀器可以控制的電位範圍為-10.0 V 到+10.0 V，可以控制的電流範圍為-250.0 mA 到+250.0 mA。另外，在電流檢測方面提供使用者極低之電流測量極限，可以檢測低至 pA 等級的電流，而電極方面支援二電極、三電極及四電極的方式進行測量，而本研究則是使用標準三電極式電化學系統。

### 3.7 實驗設計與檢測目標

為了驗證模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的各項效能，將實驗設計分為五大部分，分別為：(一)石墨筆芯電極的改質效能驗證、(二)石墨筆芯電極的性能測試、(三)可滑動電極的效能分析、(四)線微流體平台的電泳分離效能分析、(五)人體尿液樣本檢測，以下將依依介紹各個實驗設計與檢測目標。

### (一) 石墨筆芯電極的改質效能驗證

為了提高石墨筆芯電極的電化學響應，本實驗對鉛筆芯進行不同表面處理工藝，包含強酸酸洗、強鹼鹼洗、有機物浸泡、火燒及電漿處理，接著將處理過後之石墨筆芯電極利用循環伏安法來量測氧化還原之標準品鐵氰化鉀，做為電化學性能測試。取相同處理工藝的三根石墨筆芯電極浸入鐵氰化鉀溶液，透過循環電壓掃描來量測其氧化還原電流，並分析電流響應值是否有提升，氧化還原峰是否明顯，以判定該處理工藝是否有效提升石墨筆芯電極之電化學性能。注意到，石墨筆芯電極每次浸入溶液之深度必須一致才不會影響檢測結果。

### (二) 石墨筆芯電極的性能測試

在確認完何種表面處理工藝對於石墨筆芯電極有良好效果之後，接著優化石墨筆芯電極的表面處理參數，找出在何種參數底下有最好的處理效果。然後將選定的石墨筆芯電極進行連續 18 天的耐久性測試，若每天的量測結果重複性極高，即可證明開發的石墨筆芯電極再經過 18 天的放置後依然能夠保有相同之效能，以上實驗皆是以循環伏安法量測鐵氰化鉀溶液來進行分析。在確認完鉛筆芯之表面處理參數與耐久性後，以三極式石墨筆芯電極量測目標藥物乙醯胺酚標準溶液與尿液加標乙醯胺酚溶液的電化學響應，若在相同濃度下，標準溶液之電流響應與尿液加標溶液量測結果相同，即可證明本研究所開發之石墨筆芯電極可以準確量測尿液中之乙醯胺酚。

### (三) 可滑動石墨筆芯電極的效能分析

將開發的石墨筆芯電極安裝於模組化線微流體平台上，接著調整電化學恆電位儀為電流偵測模式，使用安培偵測法量測 10.0 mM 抗壞血酸溶液，來判別可滑動石墨筆芯電極之效能，操作方式如 3.5 章節的實驗流程所示。在相同樣本濃度、相同樣本量、相同分離電場下，藉由調整不同之電極間距所得到之電流-時間圖判定可滑動石墨筆芯電極的效能，若電極間距近者的電流訊號明顯大於電極間距較遠者，且所經過之樣本帶寬時間縮小，計算得到

的理論板數增加，則可以證明本研究所設計之可滑動石墨筆芯電極有效提升了電化學電流響應與電泳分離效能。

#### (四) 線微流體平台的電泳分離效能分析

利用安培偵測法來判斷線微流體平台的混和物樣本電泳分離效能，透過量測 0.5 mM 抗壞血酸與 0.5 mM 乙醯胺酚混合溶液來進行分析，操作方式如 3.5 章節的實驗流程所示。若抗壞血酸與乙醯胺酚兩個成分的氧化或還原峰在不同時間有明顯的電流訊號出現，代表混和樣本被施加在聚酯纖維線上的電場分離，即可證明開發的模組化線微流體平台有良好之混合物分離效能。

#### (五) 人類尿液樣本檢測

在確認完開發的模組化線微流體平台的電泳分離效能後，25 歲男性尿液取上清液加標乙醯胺酚溶液，進行人類尿液樣本的檢測，檢測流程如 3.5 章節的實驗流程所示。其中含有未加標之尿液樣本、加標 1.0 mM 乙醯胺酚之尿液樣本與加標 10.0 mM 乙醯胺酚之尿液樣本，共三種樣本進行分析，若未加標之樣本只有尿液成功被檢測出來，未檢測出乙醯胺酚成分，而有加標之樣本成功檢測出尿液成分之氧化或還原峰，且在另一時間成功檢測出加標的乙醯胺酚的氧化或還原峰。三個樣本的尿液抵達時間接近且電流值相似，而另外二個加標乙醯胺酚之尿液樣本的乙醯胺酚抵達時間接近，且 10.0 mM 的電流響應高於 1.0 mM 的電流響應，即可證明所開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極成功分離並且檢測人體尿液中之乙醯胺酚。

### 3.8 實驗溶液配製

- (一) 本實驗表面處理，使用硫酸(Sulfuric acid, HiPoint, Taiwan)，以去離子水(Deionized water, DI water)調配至 1.0 M 濃度。
- (二) 本實驗表面處理，使用氫氧化鈉(Sodium hydroxide, Macron fine chemicals<sup>TM</sup>, USA)，以去離子水調配至 1.0 M 濃度。
- (三) 本實驗表面處理，使用 99.5%丙酮(Acetone, HiPoint, Taiwan)。

- (四) 本實驗電化學量測，使用氧化還原標準樣本鐵氰化鉀(Potassium hexacyanoferrate, Showa, Japan)，俗稱赤血鹽，以去離子水調配至 10.0 mM 濃度。
- (五) 本實驗使用標準品乙醯胺酚(4-Acetamidophenol, 98%, Acros, Belgium)，以去離子水調配至 0.01 mM、0.05 mM、0.1 mM、0.5 mM、1.0 mM、2.0 mM 和 3.0 mM 備用。
- (六) 本實驗使用 25 歲男性尿液樣本取上清液以去離子水稀釋 100 倍並以乙醯胺酚配置濃度 0.01 mM、0.05 mM、0.1 mM、0.5 mM、1.0 mM、2.0 mM 和 3.0 mM 備用。
- (七) 模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極所使用的緩衝液，是硼酸鈉以去離子水調配至 1.0 mM 濃度。
- (八) 本實驗使用標準品抗壞血酸(L(+)-Ascorbic acid for analysis, PanReac AppliChem, Germany)，俗稱維他命 C，以去離子水調配至 10.0 mM 濃度，並使用滴定管施加於聚酯纖維線上。
- (九) 本實驗使用抗壞血酸和乙醯胺酚，以去離子水調配至 0.5 mM 濃度之混合溶液，並使用滴定管施加於聚酯纖維線上。
- (十) 本實驗使用 25 歲男性尿液樣本取上清液以去離子水稀釋 10 倍並以乙醯胺酚配置濃度 1.0 mM、10.0 mM 備用，使用滴定管施加於聚酯纖維線上。

## 第四章 實驗結果與討論

### 4.1 石墨筆芯電極之效能分析

在這一章節中，我們使用不同表面改質技術來對鉛筆芯進行表面處理以提高其電化學響應，其中包含強酸酸洗、強鹼鹼洗、有機溶液浸泡、火烤以及電漿處理，發現電漿處理所產生的石墨筆芯電極，相較於其他處理方式有最好的電化學響應。因此，使用儀器進行表面形貌拍攝與表面成分分析，來了解表面改質技術對於石墨筆芯電極的影響，還有證明為什麼電漿處理所產生的石墨筆芯電極有最好的電化學響應，接下來對於電漿表面改質技術之參數進行優化，找出在多少功率、多少處理時間下，有最佳化的處理效能。

在優化電漿處理參數後，進行石墨筆芯電極連續 18 天的耐久性測試與量測目標化合物乙醯胺酚的連續 100 次重複性測試，以確認電極的耐久性與重複性。最後實際進行人類尿液加標乙醯胺酚的電化學量測，並與標準乙醯胺酚樣品進行比較，觀察到在相同濃度下，兩者所測得之電流響應值非常接近，足以證明開發之石墨筆芯電極有分析尿液中乙醯胺酚成分的能力。以上所有量測方式皆是使用三極式(工作電極、輔助電極、參考電極)石墨筆芯電極浸入檢測溶液中進行檢測，透過電化學循環伏安法掃描來量測其氧化還原電流，以結果判定石墨筆芯電極之電化學性能。請注意實驗中三個電極與溶液之接觸表面積必須固定，這樣才能確保實驗結果不會因為電極接觸面積不同而影響檢測結果。

#### 4.1.1 石墨筆芯電極之表面改質效能

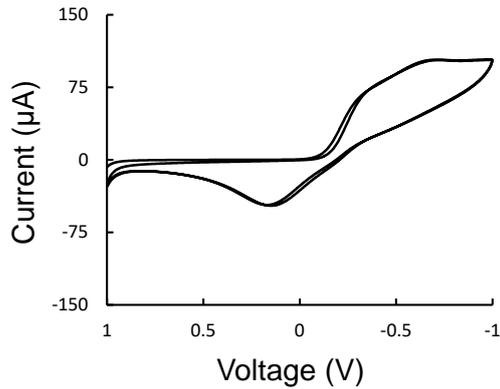
鉛筆芯材料本質上為疏水特性且可能留有原本生產製造時之污染物殘留於表面，因此為了提升電化學量測之效能，對其表面進行處理，以去除製程的污染物並增加其親水特性。因此，本研究對其進行不同表面處理工藝，使用包含強酸酸洗、強鹼鹼洗、有機溶液浸泡、火烤以及電漿處理，其中強酸酸洗、強鹼鹼洗、有機溶液浸泡，分別使用 1.0 M 的硫酸、1.0 M 的氫氧化鈉、99.5%丙酮進行浸泡

完整 8 小時，接著取出石墨筆芯電極並用去離子水反覆沖洗。火烤處理是將鉛筆芯平行於噴槍，並深入火焰中 3.0 cm 進行燒烤 3 秒，接著用去離子水反覆沖洗，應注意到若將火烤時間拉長，電極表面會產生碳燃燒後的白色粉末，而影響電化學量測。最後，電漿處理是將鉛筆芯放置於 45° 的玻璃治具上，接著放入低真空的感應耦合電漿系統中進行 100 W 10 分鐘的氧電漿處理，詳細步驟如 3.3 章節石墨筆芯電極製作所示。

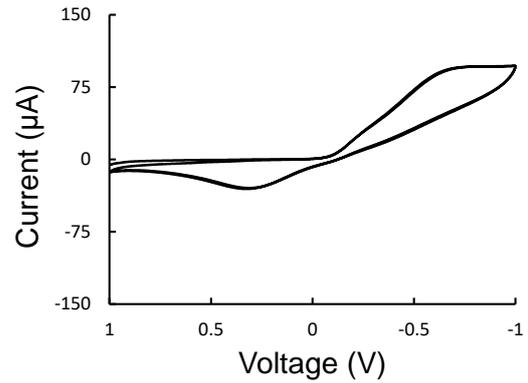
不同表面處理工藝後之石墨筆芯電極，用雙面導電銅膠帶與電化學恆電位儀相連接，進行電化學特性量測，三電極式石墨筆芯電極每次浸入 10.0 mM 的鐵氰化鉀標準溶液中之深度必須相同，這樣才可以確保所測得之電流響應值不會受到電極接觸面積的影響。電化學恆電位儀設定之氧化還原電位由 +1.0 V 開始掃描到 -1.0 V，接著再從 -1.0 V 掃描回去起始電位，得到一循環伏安圖 CV 圖，其縱軸為電流，橫軸為電壓，本實驗設定為兩個循環的 CV 掃描。

測試濃度為 10.0 mM 的鐵氰化鉀標準溶液的循環伏安圖，使用不同表面活化工藝的石墨筆芯電極分別進行測量，包括未處理（圖 4-1A）、1.0 M 硫酸酸洗 8 小時（圖 4-1B），1.0 M 氫氧化鈉鹼洗 8 小時（圖 4-1C），99.5% 的丙酮浸泡 8 小時（圖 4-1D），火烤 3 秒（圖 4-1E），和 100W 氧氣電漿活化 10 分鐘（圖 4-1F）。其中硫酸酸洗、氫氧化鈉鹼洗、丙酮浸泡的石墨筆芯電極幾乎沒有任氧化還原波峰，與未處理之鉛筆芯的循環伏安圖相比，結果幾乎一致，這也進一步驗證了石墨材料具有良好的耐化學性與耐腐蝕性能，是優良的電化學電極[65]。而三秒鐘火烤產生的石墨筆芯電極產生相對對稱的氧化還原波峰，測得之電流響應為 121.82  $\mu\text{A}$ ，但其陽極峰和陰極峰並不明顯，且在接近 -1.0 V 和 +1.0 V 時電流值有不斷上升的問題產生。最後，氧氣電漿 100 W 10 分鐘處理，產生平均電流為 200.07  $\mu\text{A}$  的最佳電化學性能的石墨筆芯電極，陽極峰和陰極峰明顯且對稱，這是由於氧電漿處理有效去除了表面的惰性鈍化層，接著再被高反應性官能基所取代，因而改變材料表面的反應活性，詳情如 2.4.1 章節中電漿表面改質技術所述。結果表明，氧電漿處理產生了最佳的電化學響應，電流比未處理的石墨筆芯電極大 4.22 倍左右。

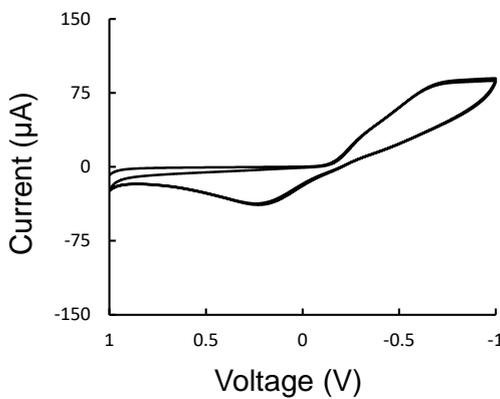
(A) Untreated



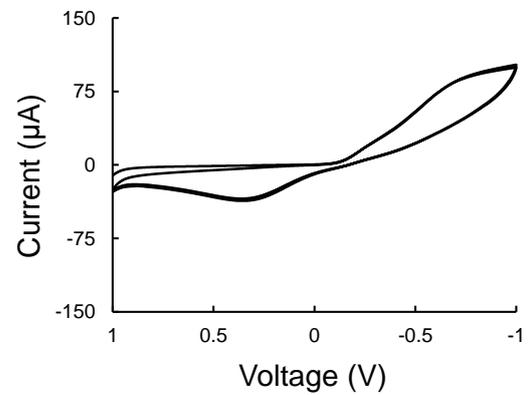
(B) Acid pickling



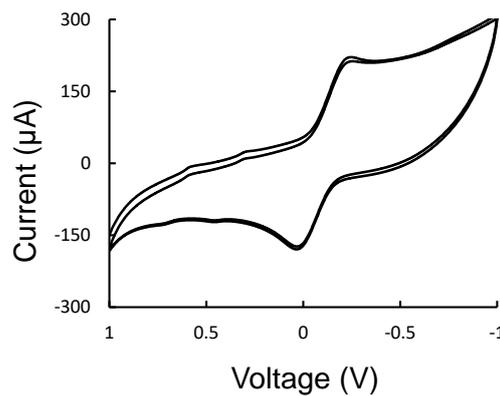
(C) Alkaline pickling



(D) Acetone immersion



(E) Torch burned



(F) Plasma treated

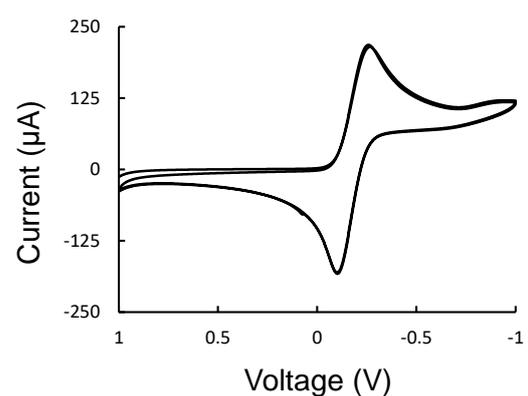


圖 4-1 使用不同表面處理的石墨筆芯電極測量 10.0 mM 鐵氰化鉀的循環伏安圖。

(A)未處理、(B) 1.0 M 硫酸酸洗 8 小時、(C) 1.0 M 氫氧化鈉鹼洗 8 小時、(D)

99.5%丙酮浸泡 8 小時、(E)火烤 3 秒鐘和(F)氧電漿處理 100 W 10 分鐘。

#### 4.1.2 石墨筆芯電極之表面改質分析

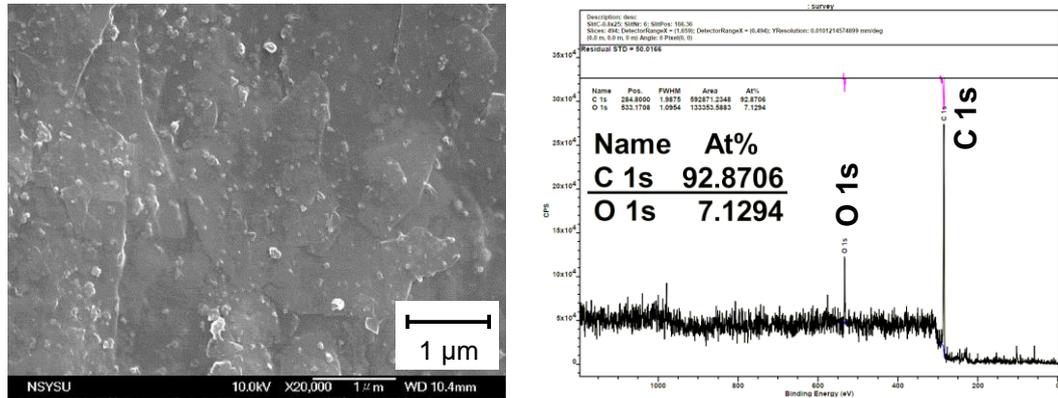
為了瞭解不同處理工藝對於鉛筆芯的表面變化，我們將未處理、火烤 3 秒鐘和氧氣電漿處理 100 W 10 分鐘的鉛筆芯進行掃描式電子顯微鏡(Scanning electron microscope, SEM)表面形貌拍攝和 X 射線光電子能譜(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)表面成分分析。石墨筆芯電極在還沒進入儀器進行分析前，需要放置於乾燥箱中，以保持乾燥，直到進行分析前再取出，接著將石墨筆芯電極切斷成適當大小以放置在儀器載台上固定。另外，進行掃描式電子顯微鏡表面形貌拍攝時，需要將石墨筆芯電極表面鍍金提高導電性，以得到更清晰的影像。

圖 4-2 顯示經過不同表面處理的石墨筆芯電極的 SEM 表面形貌圖像和 XPS 表面光譜，其中包含未處理(圖 4-2A)、火燒 3 秒鐘(圖 4-2B)、氧電漿處理 100 W 10 分鐘(圖 4-2C)。根據 Randels-Sevcik 方程，第 2.2.1 節公式(5)所示，電極的接觸面積越大，電流響應越高，左側 20000 倍放大的 SEM 圖像可以清楚地看到未經處理的石墨筆芯電極表面是平坦的(圖 4-2A)，因此測得之電流響應低。燃燒會使鉛筆芯表面為了釋放熱能而產生破碎裂痕(圖 4-2B)，因此具有較高的電流值，而電漿藉由轟擊筆芯表面，使筆芯表面產生裂紋，達到增加接觸面積之效果(圖 4-2C)，因此同樣具有較高的電流響應[66]。

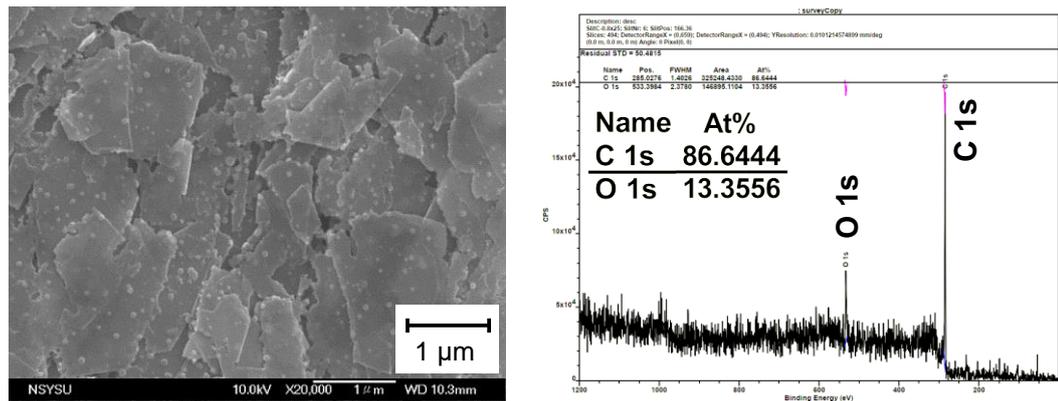
右側 X 射線光電子能譜圖顯示不同表面處理的石墨筆芯電極的表面原子比，未經處理的鉛筆芯的表面碳原子比為 92.87%，氧原子比約為 7.13%，其氧化還原的峰值非常不明顯。燃燒後產生之石墨筆芯電極的表面碳原子比為 86.64%，氧原子比約為 13.35%，相較於未處理之鉛筆芯，其表面氧原子比增加約 1.87 倍，已經有些許氧化還原反應的陽極峰和陰極峰出現，但不明顯。最後，氧氣電漿處理產生的石墨筆芯電極的表面碳原子比為 73.45%，氧原子比增加到 26.55%，與未處理之鉛筆芯的表面氧原子比相比，增加約 3.72 倍，因此具有最好的電化學響應，陽極峰和陰極峰明顯且對稱，XPS 表面成分分析證明了，電漿中之反應性氣體所解離生成的高反應性氧化官能基團，取代原本石墨筆芯電極表面的惰性鈍化層

[67]，使石墨筆芯電極之電化學活性大大提升[68, 69]。如上所述，SEM 表面圖像和 XPS 表面成分分析，充分解釋了氧氣電漿處理是如何提升石墨筆芯電極的電化學響應。

### (A) Untreated



### (B) Torch burned



### (C) Plasma treated

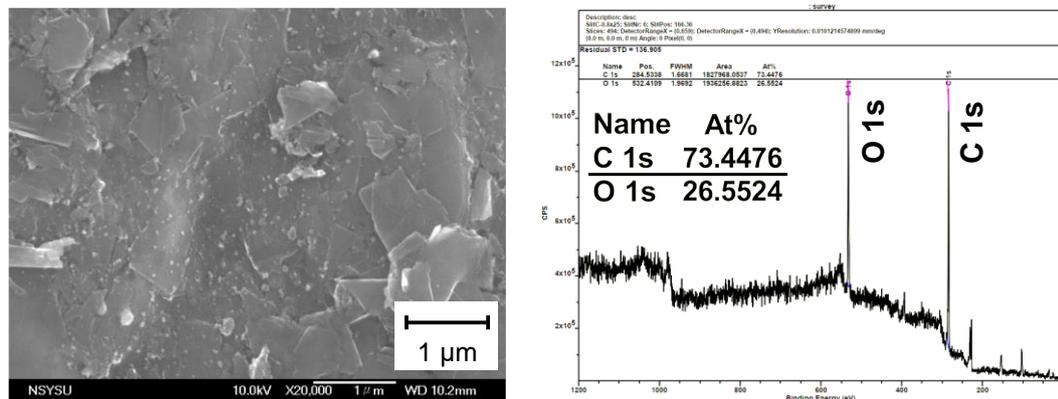


圖 4-2 SEM 圖像和 XPS 光譜顯示了不同表面處理的石墨筆芯電極的表面形貌和表面原子比。(A)未處理(B)火燒 3 秒鐘和(C)氧電漿處理 100 W 10 分鐘。

### 4.1.3 石墨筆芯電極之電漿參數優化

從先前測試結果可以看出，利用氧氣電漿處理之筆芯具有最大的電化學量測時的電流反應，因此本研究進一步對於不同電漿處理條件之筆芯效能進行分析，為了將鉛筆芯的電漿處理效能最大化，對於不同電漿參數進行調整，包刮電漿處理的功率與電漿處理的時間。將鉛筆芯固定於 45° 的玻璃治具上，接著放入低真空的感應耦合電漿系統中進行氧氣電漿處理，詳細步驟如 3.3 章節石墨筆芯電極製作所示。固定處理時間為 10 分鐘，調整電漿功率依序 25 W、50 W、75 W、100 W、125 W 和 150 W 進行處理，接著挑選出最佳功率，並以此功率為固定功率，進行不同處理時間依序 2.5 min、5.0 min、7.5 min、10.0 min、12.5 min 及 15.0 min 的氧氣電漿表面處理，最後選出最佳處理效能的石墨筆芯電極。

製作出的石墨筆芯電極以循環伏安法測量濃度為 10 mM 的鐵氰化鉀標準溶液，得到不同處理參數之氧化還原 CV 圖，每組參數會進行四個循環的氧化還原，接著計算其平均電流值並畫出不同電漿參數與電化學電流響應的關係圖，如圖 4-3 所示。縱軸為電流，橫軸為功率(藍色實線)與時間(紅色虛線)，其中藍色實線表示相同處理時間下，不同處理功率的電流響應曲線，紅色虛線表示相同處理功率下，不同處理時間的電流響應曲線，每個數據點經過四次的循環伏安測試後取平均值。

在固定處理時間為 10 分鐘，調整電漿處理功率，設定為 25 W、50 W、75 W、100 W、125 W 和 150 W 的曲線中可以發現 25 W 的處理功率相較於未處理的鉛筆芯已經有明顯的電流響應提升，從 49.69  $\mu\text{A}$  提升至 136.30  $\mu\text{A}$ ，接著不斷提升功率 50 W、75 W 至 100 W，平均電流響應也隨之增加 163.09  $\mu\text{A}$ 、174.59  $\mu\text{A}$ ，100 W 達到平均電流 200.07  $\mu\text{A}$ 。但當功率提升至 125 W 與 150 W 後，石墨筆芯電極之電流響應並沒有繼續提升，其電流值與 100 W 的電流值差不多，代表即達到石墨筆芯電極電化學反應的極限，因此與 100 W 的效能相同。故將處理功率設定為 100 W，接著調整電漿處理時間，設定為 2.5 min、5.0 min、7.5 min、10.0 min、12.5 min 及 15.0 min 進行實驗，可以發現電流響應曲線與前者大致相同，2.5 min

的處理時間相較於未處理的鉛筆芯已經有明顯的電流響應提升，從 49.69  $\mu\text{A}$  提升至 94.02  $\mu\text{A}$ ，接著不斷提升處理時間 5.0 min、7.5 min 至 10.0 min，平均電流響應也隨之增加 147.52  $\mu\text{A}$ 、166.15  $\mu\text{A}$ ，100 W 達到平均電流 200.07  $\mu\text{A}$ 。但當時間提升至 12.5 min 與 15.0 min 後，因為達到石墨筆芯電極的本身的最大電化學反應極限，因此石墨筆芯電極之電流響應與 10.0 min 的電流響應差不多。故本研究使用 100 W 10 分鐘的最大電漿處理效能，進行後續實驗。

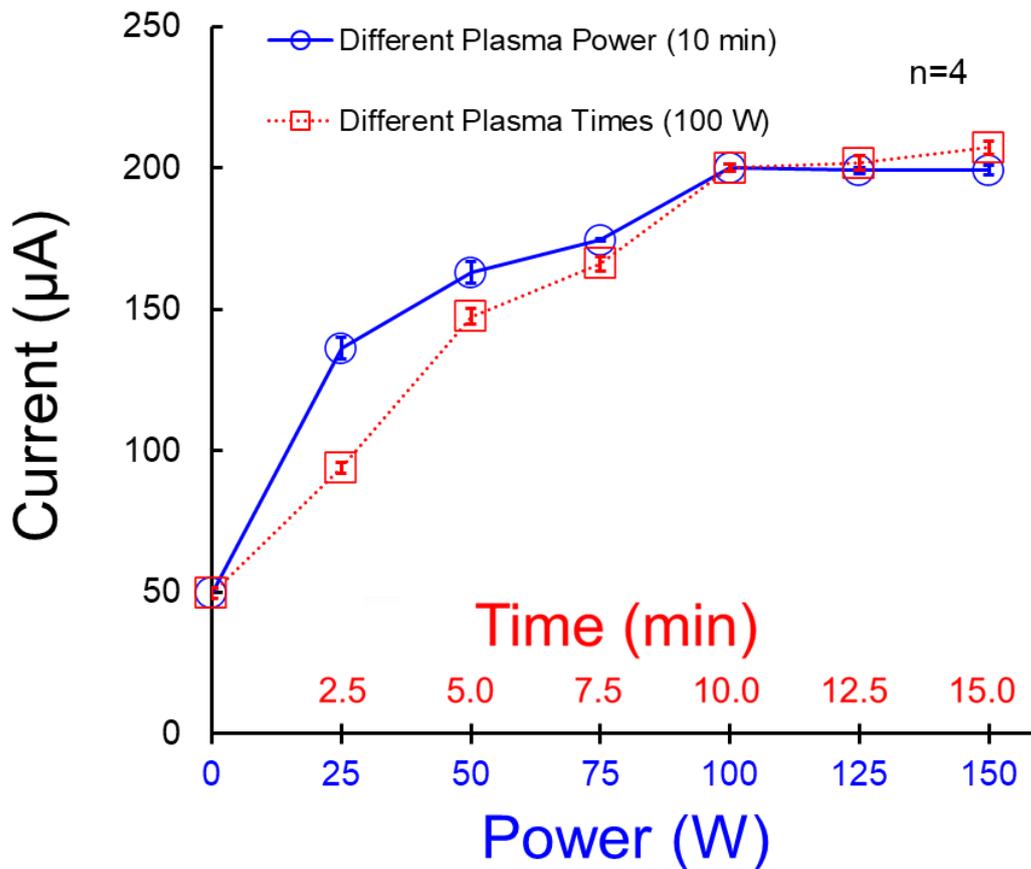


圖 4-3 石墨筆芯電極在不同電漿處理功率與時間中的電化學電流響應關係圖。

結果表明氧電漿處理 100 W 10 分鐘的電極有最好的處理效果。

#### 4.1.4 石墨筆芯電極之耐久性測試

將鉛筆芯電漿處理的效能最大化後，接著進一步評估電漿激活表面後石墨筆芯電極的傳感性能是否會隨著時間而降低也很重要。將鉛筆芯放置於 45° 的玻璃治具上，接著放入低真空的感應耦合電漿系統中進行 100 W 10 分鐘的氧電漿處理，

詳細步驟如 3.3 章節石墨筆芯電極製作所示。電漿激活表面後測量 10.0 mM 鐵氰化鉀標準溶液，並記錄其 CV 圖，接著石墨筆芯電極暴露於大氣中，每隔 24 小時重複性測量 10.0 mM 鐵氰化鉀標準溶液，測試之溶液每天測量前應重新配置，以保證溶液新鮮度，且測量時石墨筆芯電極深入溶液之深度應維持不變，這樣才可以確保所測得之電流響應值不會受到電極接觸面積的影響。結果取其中第 1、6、12 和 18 天之測試結果代表連續 18 天的石墨筆芯電極耐久性，如圖 4-4 顯示，縱座標為電流，橫坐標為電壓，藍色點線為第 1 天之石墨筆芯電極測試結果，紅色短虛線為第 6 天之石墨筆芯電極測試結果，綠色長虛線為第 12 天之石墨筆芯電極測試結果，黑色實線為第 18 天之石墨筆芯電極測試結果。在第 1、6、12 和 18 天重複測試的循環伏安圖中，有良好的重複性及耐久性，氧化電流峰值落於 132.9  $\mu\text{A}$  到 145.4  $\mu\text{A}$ ，氧化電位落於 -0.119 V 到 -0.090 V，還原電流峰值落於 167.0  $\mu\text{A}$  到 181.4  $\mu\text{A}$ ，還原電位落於 -0.280 V 到 -0.307 V，結果表明，石墨筆芯電極經過氧電漿表面活化後，能夠存放至少 18 天，皆不會有效能降低的狀況產生。

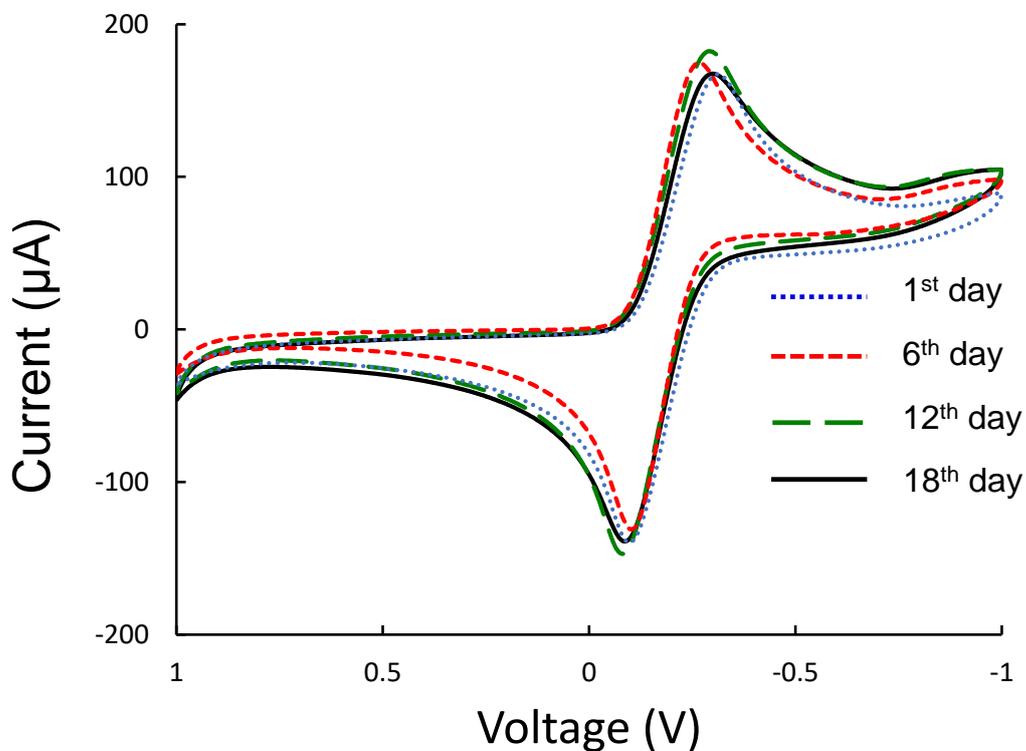


圖 4-4 石墨筆芯電極重複 18 天的耐久性測試。表明氧電漿處理 100 W 10 分鐘的電極具有良好的重複性與耐久性。

#### 4.1.5 石墨筆芯電極檢測乙醯胺酚

為了進一步檢測開發的石墨筆芯電極用於檢測目標化合物的傳感性能，將鉛筆芯放置於 45° 的玻璃治具上，接著放入低真空的感應耦合電漿系統中進行 100 W 10 分鐘的氧電漿處理，詳細步驟如 3.3 章節石墨筆芯電極製作所示。通過將試藥級乙醯胺酚溶解到 0.1 M 氯化鉀溶液中製備了濃度為 1.0 mM 的乙醯胺酚溶液，這是因為純的乙醯胺酚溶液本身電導率極低，因此使用低電化學響應且高電導率的氯化鉀溶液溶解，以提高溶液的電導率。

將三極式石墨筆芯電極直接浸入溶液中進行連續 100 次的長時間重複性測試，結果發現石墨筆芯電極的表面液氣界面會有大量沉積物附著，經過掃描式電子顯微鏡拍攝 1000 倍放大的石墨筆芯電極之表面形貌，結果如圖 4-5(A)、(B)所示。其中圖(A)為尚未經過長時間測試的石墨筆芯電極表面，圖(B)為經過長時間測試的石墨筆芯電極表面，可以清楚的看到經過長時間測試的石墨筆芯電極，表面生成許多方形的沉積物，將方形沉積物進行能量散射 X 射線譜(Energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDX)成分分析後顯示，此物質為氯化鉀(圖 4-5C)，而氯化鉀的沉積會導致溶液的電導率處於不穩定狀態，直接影響了電化學量測的穩定度。

為了解決氯化鉀沉積的問題，用環氧樹脂作為絕緣圖層來覆蓋石墨筆芯電極的暴露區域，首先將石墨筆芯電極插入內徑為 80.0  $\mu\text{m}$  和外徑為 110.0  $\mu\text{m}$  的玻璃毛細管中，然後用環氧樹脂填充玻璃管與石墨筆芯電極之間的空隙，並在室溫下固化 15 分鐘。完成環氧樹脂覆蓋的石墨筆芯電極之橫切面，如圖 4-5(D)所示，最外層為玻璃毛細管，第二層為環氧樹脂，中間為石墨筆芯電極，第二層的環氧樹脂完整填充玻璃毛細管與石墨筆芯電極之間的空隙，使環氧樹脂覆蓋的石墨筆芯電極區域，不會與測試溶液接觸，解決氯化鉀沉積的問題。另外需要注意的是，使用環氧樹脂來覆蓋石墨筆芯電極的暴露區域是為了進行連續 100 次重複的乙醯胺酚循環伏安測試，在實際結合線微流體平台時，因為電泳的驅動，並不會有樣本殘留於電極上的問題產生，因此不需要進行任何環氧樹脂覆蓋的製程。

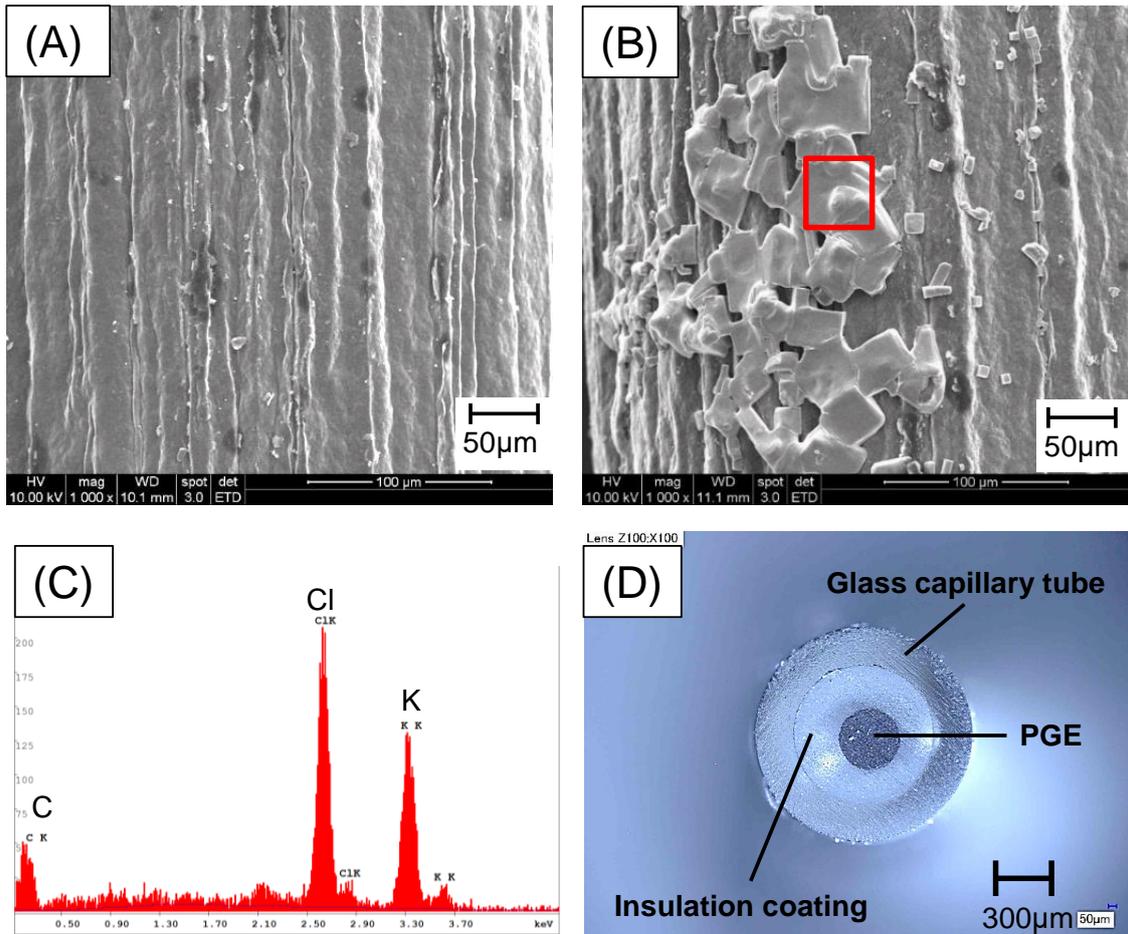


圖 4-5 石墨筆芯電極 x1000 的 SEM 圖像。其中(A)為鉛筆石墨電極的表面，(B)為經過連續 100 次長時間乙醯胺酚重複檢測的石墨筆芯電極之表面的 KCl 沉積，(C)為圖(B)紅框處沉積物的 EDX 分析，(D)照片顯示石墨筆芯電極上用於防止 KCl 沉積的絕緣塗層。

使用環氧樹脂來覆蓋石墨筆芯電極的暴露區域後，解決了氯化鉀沉積的問題，接著將試藥級乙醯胺酚溶解到 0.1 M 氯化鉀溶液中製備了濃度為 1.0 mM 的乙醯胺酚溶液進行測量。將電化學恆電位儀設定之氧化還原電位由 +0.8 V 開始掃描到 0.0 V，接著再從 0.0 V 掃描回去起始電位，得到一循環伏安圖 CV 圖，其縱軸為電流，橫軸為電壓，本實驗設定為 100 個循環的 CV 掃描，取其中第 1、25、50、75、100 次循環之結果代表石墨筆芯電極進行連續 100 次長時間乙醯胺酚檢測的電化學響應及其穩定性，如圖 4-6 所示。其中紅色點線為第 1 次測量的結果，紫色短虛線為第 25 次測量的結果，綠色短虛線為第 50 次測量的結果，藍色長虛線為第 75

次測量的結果，最後黑色實線為第 100 次測量的結果。疊加過後之循環伏安圖表明，石墨筆芯電極在測量乙醯胺酚溶液時表現出良好的電化學響應，連續 100 次的測試也能保有相似的氧化還原結果，可知其穩定性高，氧化電流峰值落於 50.34  $\mu\text{A}$  到 44.53  $\mu\text{A}$ ，氧化電位落於 0.447 V 到 0.429 V。

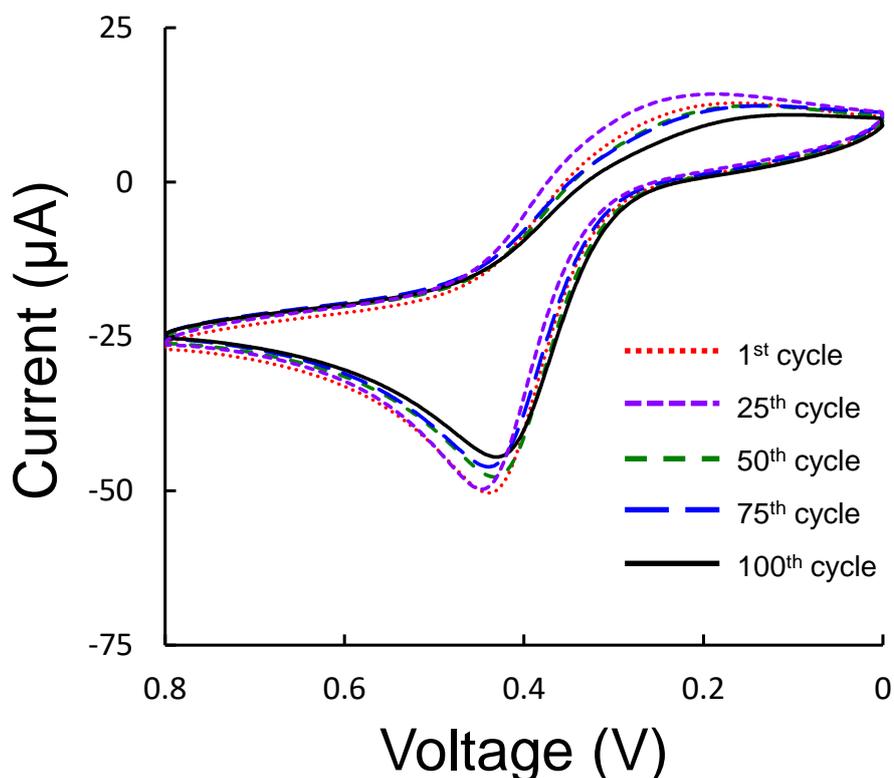


圖 4-6 石墨筆芯電極在 1.0 mM 乙醯胺酚溶液中進行 100 次循環伏安掃描。

在確認過石墨筆芯電極用於檢測標準品乙醯胺酚的傳感性能後，進一步比較標準溶液和人類尿液樣品中各種濃度的乙醯胺酚的電流響應，以評估開發之石墨筆芯電極實際檢測人類尿液樣品中乙醯胺酚的效能。三極式石墨筆芯電極浸入濃度分別為 0.01 mM、0.05 mM、0.1 mM、0.5 mM、1.0 mM、2.0 mM 和 3.0 mM 的乙醯胺酚標準品與人類尿液樣品中進行檢測，尿液樣本來自一名 25 歲男性，並用濃度為 0.1 M 的氯化鉀稀釋 100 倍，這是為了消除尿液中其他氧化還原活性分子的干擾，包含抗壞血酸、尿酸、蛋白質、多巴胺和葡萄糖等等。乙醯胺酚標準品與人類尿液樣品，共 14 個樣品，每個樣品進行 6 次的循環伏安法檢測，其中取氧化峰值，接著將這些數據整理成縱坐標為電流，橫坐標為濃度的線性圖。此外，

因為所檢測之乙醯胺酚濃度範圍寬廣，所以使用對數座標進行表示，如圖 4-7 所示，結果表明，標準乙醯胺酚溶液（藍色實線）和人類尿液樣品添加乙醯胺酚溶液（紅色虛線）皆有很高的線性度，分別為  $R^2=0.9993$  與  $R^2=0.9969$ ，並且兩條校準曲線重疊性很高，證明開發的石墨筆芯電極在測量人類尿液樣品中的乙醯胺酚濃度介於 0.01 mM 到 3.0 mM 之間有良好之線性特性，且與標準乙醯胺酚溶液在相同濃度下有非常接近之電流響應值，石墨筆芯電極即便是在人類尿液中也能精準量測出乙醯胺酚。

仔細看兩條校準曲線即可發現，在較高濃度乙醯胺酚溶液下，尿液樣本與標準乙醯胺酚溶液所測得之電流響應的結果幾乎重疊，而較低濃度乙醯胺酚溶液下，電流響應雖然非常接近，但兩者會有些許的電流差，這是因為尿液中蛋白質干擾的結果，是可以被接受的。另外，在後續將石墨筆芯電極整合到線微流體平台上進行實際檢測時，因為聚酯纖維線電泳有將不同物質分離的效果，因此並不會有尿液中蛋白質干擾檢測的問題產生。

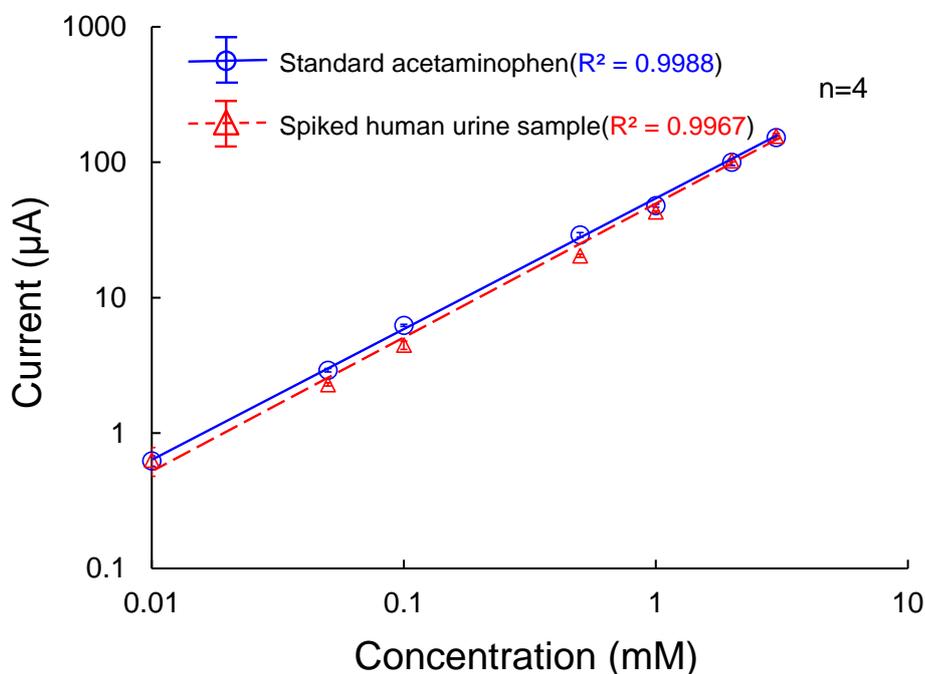


圖 4-7 檢測標準溶液（藍色實線）和人體尿液樣本（紅色虛線）中各種濃度的乙醯胺酚的電流響應。其中包含 0.01 mM、0.05 mM、0.1 mM、0.5 mM、1.0 mM、2.0 mM 和 3.0 mM 濃度的乙醯胺酚。

## 4.2 線微流體平台之效能分析

在上一節確認完石墨筆芯電極性能後，這一章節中將其安裝於開發的模組化線微流體平台上進行分析，將電化學恆電位儀調整為電流檢測模式，樣本滴於聚酯纖維線上，接著進行電泳分離與電化學檢測，詳細實驗步驟如第 3.4 章節之流程圖所示，使用安培偵測法來量測其氧化還原電流，以結果判定模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的電泳電化學性能。為了確認聚酯纖維線的電泳分離效能，使用混合樣品滴入聚酯纖維線前端進行電泳分離，並於後端的可滑動石墨筆芯電極進行檢測，接著評估所設計之可滑動石墨筆芯電極的滑動功能對於電化學檢測效能的影響，在相同分離電場、相同樣本濃度與體積下，比較電極間距寬與電極間距窄對於檢測結果的影響。最後，進行 25 歲男性尿液加標乙醯胺酚的檢測，以證明開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，可以實際應用於量測人類尿液中的乙醯胺酚。

### 4.2.1 電泳分離之效能分析

確認完石墨筆芯電極性能後，將電化學恆電位儀調整為電流檢測模式，接著評估開發的線微流體平台對於分離混和樣品的傳感性能。將石墨筆芯電極與聚酯纖維線放置於相對應的電漿治具上，進行 100 W 10 分鐘的電漿處理，然後石墨筆芯電極安裝於 CNC 製造的可滑動電極座，接著高度較高的電極座用於工作電極與參考電極，高度較矮的電極座用於去耦電極與輔助電極，並依照去耦電極、工作電極、輔助電極、參考電極之順序由左至右滑入模組化線微流體平台，這樣才能使聚酯纖維線交錯固定在石墨筆芯電極之間。

電漿處理過之聚酯纖維線用 1.0 mM 的硼酸鈉緩衝液潤濕並架設於模組化線微流體平台上，開啟直流電源供應器設定 250 V/cm 之分離電場，電化學恆電位儀之檢測時間設定為 350 秒，檢測電位設定為 +0.35 V，此電位設定是將三極式石墨筆芯電極浸入待測混合液中以循環伏安法測得之氧化峰值電位。在滴入樣品開始量

測之前，必須確定電化學恆電位儀所顯示的電流值保持穩定，接著使用市售滴定管取 0.5  $\mu\text{L}$  由濃度為 0.5 mM 的抗壞血酸和乙醯胺酚組成的混合樣品滴在聚酯纖維線上進行電泳分離，並使用石墨筆芯電極進行電流檢測，結果如圖 4-8 所示。縱軸為電流，橫軸為時間，可以清楚的看到，聚酯纖維線電泳成功分離了由抗壞血酸和乙醯胺酚組成的混合樣品，經過單獨檢測乙醯胺酚標準品的結果可以判定，在 42 秒時，石墨筆芯電極檢測到抗壞血酸的氧化還原峰，其電流值為 -5.55 nA，在 173 秒時，石墨筆芯電極檢測到乙醯胺酚的氧化還原峰，其電流值為 -6.50 nA，電泳分離圖譜證明了開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，在分離和檢測混和樣品方面表現出良好的傳感性能。

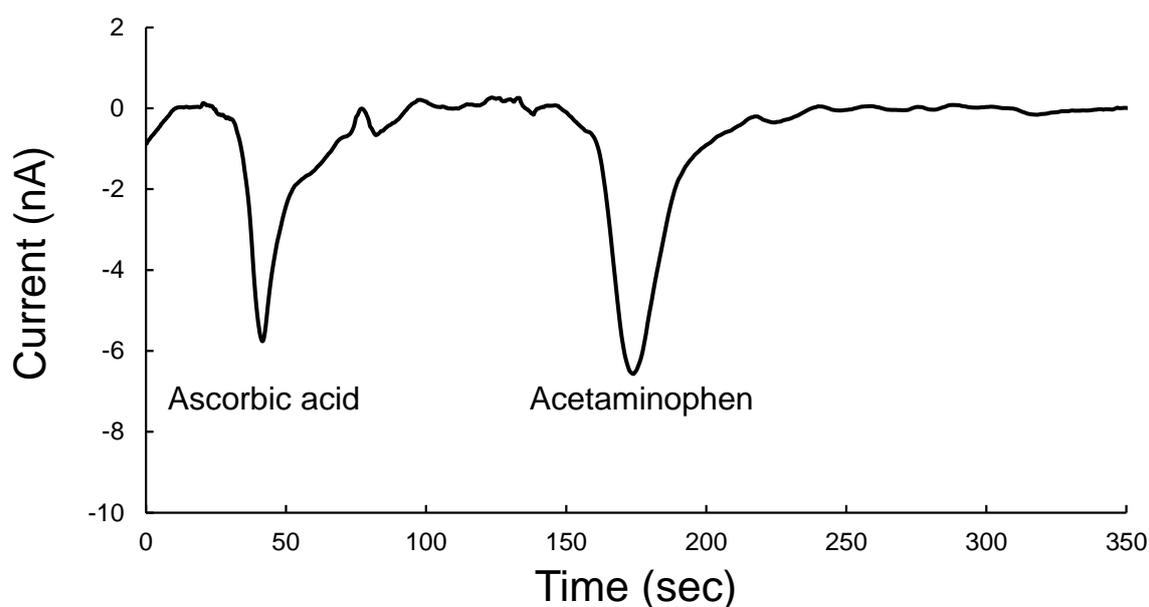


圖 4-8 0.5 mM 抗壞血酸和 0.5 mM 乙醯胺酚混合溶液的電泳圖。條件：緩衝溶液為 1.0 mM 的硼酸鈉，分離電場 250 V/cm，分離距離 5.0 cm，檢測電位 +0.35 V。

#### 4.2.2 可滑動平台之效能分析

為了評估所設計的可滑動平台的傳感性能，測量了不同電極間距對於電流響應之影響，首先，電漿處理過之聚酯纖維線用 1.0 mM 的硼酸鈉緩衝液潤濕並架設於平台上，電極間距設定為 500.0  $\mu\text{m}$ ，開啟直流電源供應器設定 200 V/cm 之分離

電場，電化學恆電位儀之檢測電位設定為+0.3 V，此電位設定是將三極式石墨筆芯電極浸入待測溶液中以循環伏安法測得之氧化峰值電位。在開始量測之前必須確定電流保持穩定，接著使用市售滴定管取 0.5  $\mu\text{L}$  濃度為 10.0 mM 的抗壞血酸樣品滴在聚酯纖維線上，進行電泳分離與電化學檢測。在檢測完 500.0  $\mu\text{m}$  電極間距的電流響應過後，將電極間距調整為 10.0  $\mu\text{m}$ ，進行電泳分離與電化學檢測，需注意分離電場、檢測電位、樣本濃度、樣本量等等的其餘參數皆保持原本之設定值，這樣才能比較不同電極間距對於電流響應之影響。

不同電極間距對 10.0 mM 抗壞血酸的測試結果，如圖 4-9 所示，左側之電流-時間圖為電泳圖譜，右側照片為實際拍攝之電極間距的影像。從右側影像中可以清楚的看到，聚酯纖維線經過噴槍處理後，線體周圍之毛邊已經被去除，此外聚酯纖維線透過電漿 100 W 10 分鐘處理，來使線材表面活化並增加表面的親水官能基，進而提升對液體的吸濕能力，接著將處理過後之聚酯纖維線上下交錯固定於石墨筆芯電極之間，使電極與聚酯纖維線有良好且穩定的電接觸。電泳圖譜顯示 500.0  $\mu\text{m}$  的電極間距在 109 秒時，產生最大之電流響應，峰值為 68.09 nA (圖 4-9A)，10.0  $\mu\text{m}$  的電極間距在 99.7 秒時，產生最大之電流響應，峰值為 127.80 nA (圖 4-9B)。10.0  $\mu\text{m}$  電極間距之電流響應明顯大於 500.0  $\mu\text{m}$  的電流響應，電流值增加 1.88 倍，這是因為，當設定於工作電極之電位不變，電極之間的間距越近，工作電極與輔助電極之間的電阻就越小，因此電流響應也就越高。此外，更近的電極間距使樣本停留於電極區域的時間縮短，獲得電泳圖中更尖銳且更狹窄的峰，這也表明有更好的分離性能，經過計算 10.0  $\mu\text{m}$  電極間距獲得之電泳圖的理論板數比 500.0  $\mu\text{m}$  的理論板數高約 7.18 倍，從 285.43 增加到 2048.82。另外，觀察背景電流的波動可以注意到，10.0  $\mu\text{m}$  電極間距的背景電流波動明顯小於 500.0  $\mu\text{m}$  的背景電流波動，這是由於工作電極與參考電極距離越近，越能降低系統的電流雜訊[70]。如上所述，分離結果證實開發的可滑動的石墨筆芯電極提供了更大的電流響應、更好的分離效能、更低的背景雜訊，對分離電泳更有效。

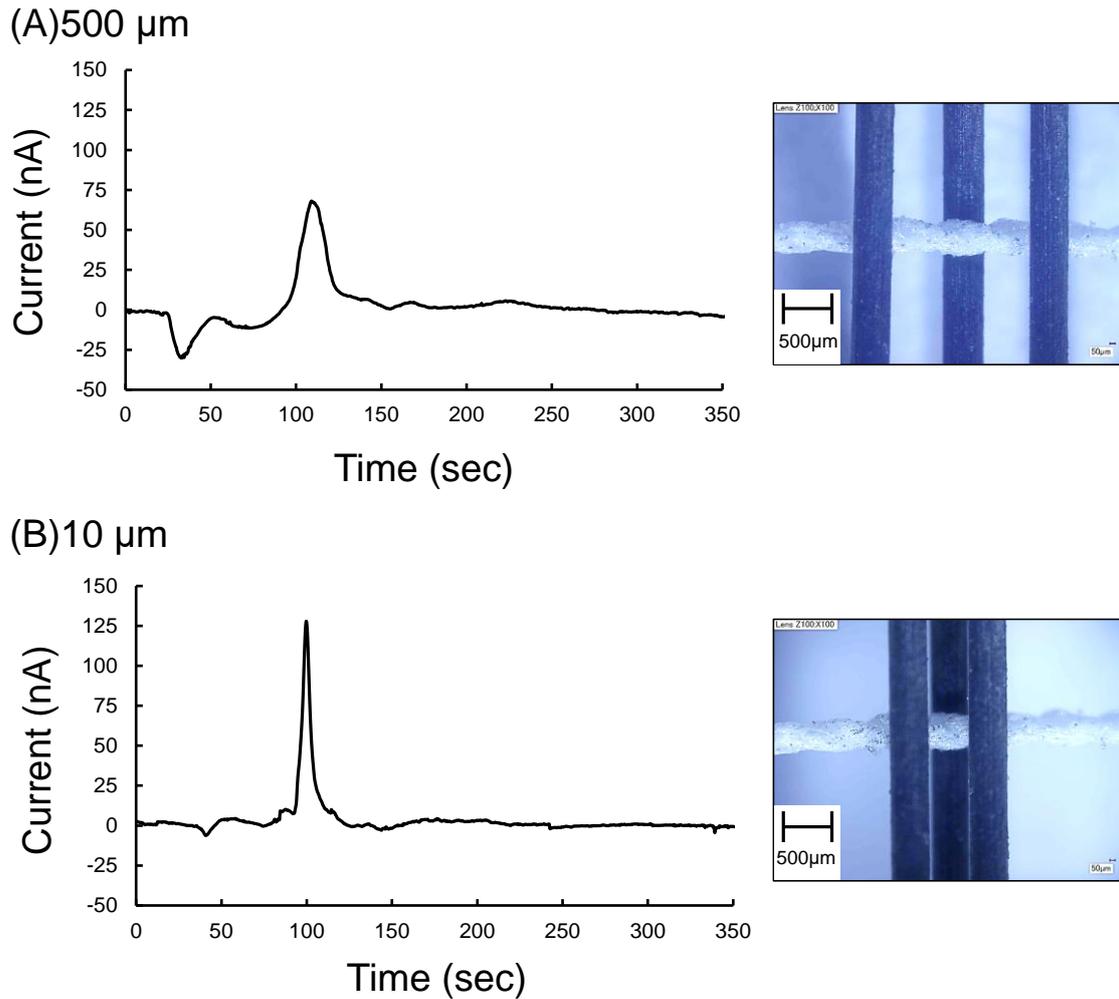


圖 4-9 不同電極間距對 10.0 mM 抗壞血酸的電泳圖。電化學電極之間的間距為 (A)500.0  $\mu\text{m}$ ，(B)10.0  $\mu\text{m}$ ，設置條件：緩衝溶液為 1.0 mM 的硼酸鈉，分離電場 200 V/cm，分離距離 4.0 cm，檢測電位+0.3 V。

#### 4.2.3 人類尿液中乙醯胺酚的成分分析

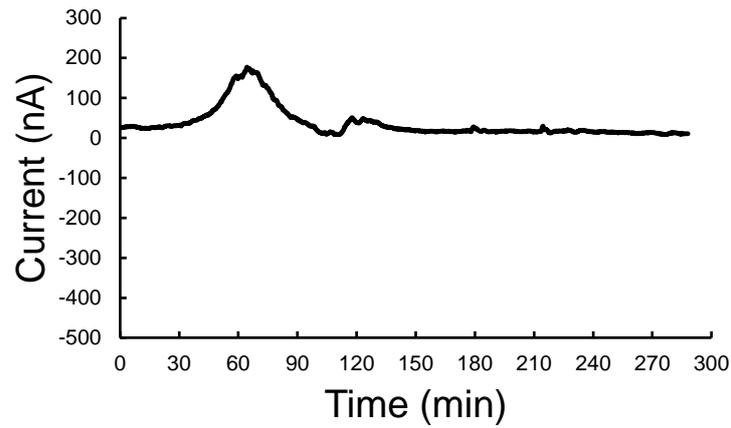
使用開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極檢測加標乙醯胺酚之 25 歲男性尿液，以證明其可以實際應用於量測人類尿液中的乙醯胺酚。聚酯纖維線用噴槍處理以去除毛邊，接著與石墨筆芯電極放置於相對應的電漿治具上，進行 100 W 10 分鐘的電漿處理，然後石墨筆芯電極安裝於模組化線微流體平台，而聚酯纖維線用 1.0 mM 的硼酸鈉緩衝液潤濕，並交錯固定在石墨筆芯電極之間。在架設完模組化線微流體平台後，開啟直流電源供應器設定 150 V/cm 之分離電場，

電化學恆電位儀之檢測時間設定為 350 秒，檢測電位設定為+0.72 V，此電位設定是將三極式石墨筆芯電極浸入待測混合液中以循環伏安法測得之氧化峰值電位。

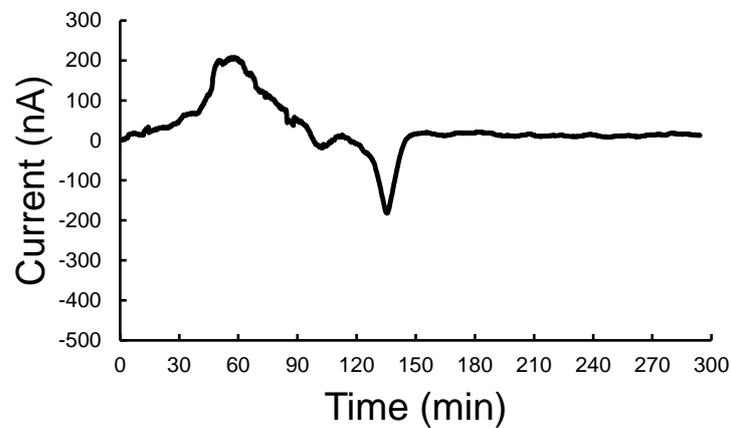
25 歲男性之新鮮尿液存放於 0°C 到 5°C 的冰箱冷藏，需要用到時取尿液溶液之上清液，並用去離子水稀釋 10 倍，這是因為純尿液中的離子濃度很高，因此尿液中之阻抗很低，導致在高電場下進行聚酯纖維線電泳時，會產生高電流，而高電流會間接產生很大的焦耳熱效應，以至於燒毀聚酯纖維線，詳情如 2.1.2 章節所述。接著將稀釋後的尿液添加不同濃度的乙醯胺酚，包含未添加、添加 1.0 mM 的乙醯胺酚、添加 10.0 mM 的乙醯胺酚，三種濃度樣本，接著使用市售滴定管取 0.5  $\mu\text{L}$  樣品滴在聚酯纖維線上進行電泳分離，並使用石墨筆芯電極進行電流檢測，為了確保前後樣本不會有交叉污染的問題而影響檢測，在進行不同樣本注入分析前皆需要更換新的聚酯纖維線。

使用開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極檢測加標乙醯胺酚之 25 歲男性尿液結果如圖 4-10 所示，濃度分別為未添加（圖 4-10A），1.0 mM（圖 4-10B）和 10.0 mM（圖 4-10C），縱軸為電流，橫軸為時間，可以清楚的看到，未經添加乙醯胺酚的尿液樣品中，在 64.3 秒時檢測到尿液之成分，而乙醯胺酚未被檢測出來（圖 4-10A）。而經過添加乙醯胺酚的尿液樣品，成功分離尿液與乙醯胺酚，並且經由石墨筆芯電極準確檢測出人類尿液中的成分與乙醯胺酚成分，其中添加 1.0 mM 乙醯胺酚的尿液樣品，於 57.9 秒時檢測到尿液之成分，其電流值為 208.1 nA，接著於 135.2 秒時，被石墨筆芯電極檢測到乙醯胺酚成分，其電流為 -182.6 nA（圖 4-10B）。而添加 10.0 mM 乙醯胺酚的尿液樣品於 60.7 秒時偵測到尿液之成分，其電流值約為 219.6 nA，接著於 135.5 秒時，被石墨筆芯電極檢測到乙醯胺酚成分，其電流為 -476.1 nA（圖 4-10C）。上述實驗結果顯示，在未經添加乙醯胺酚的尿液樣品中只有尿液成分被檢測出來，而經過添加的尿液樣品，被成功分離並檢測出人類尿液中的乙醯胺酚，證明了開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，可以快速且有效的測量人體尿液中的乙醯胺酚。

(A) No Acetaminophen



(B) 1 mM Acetaminophen



(C) 10 mM Acetaminophen

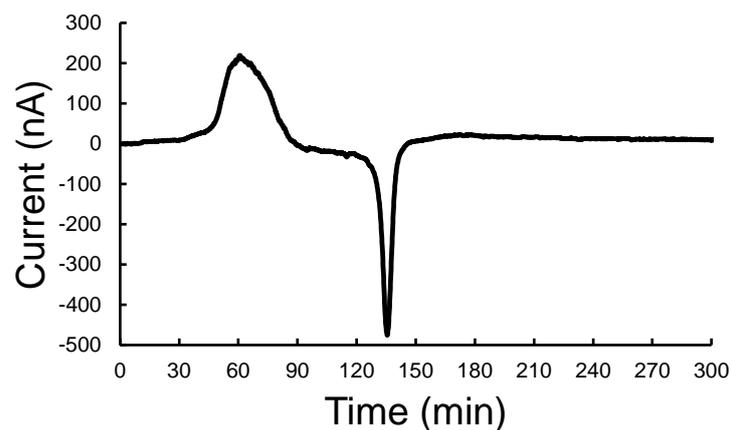


圖 4-10 檢測人體尿液樣本中各種濃度的乙醯胺酚的電泳圖。濃度分別為 (A)未添加 (B)1.0 mM (C)10.0 mM。另外注意，尿液樣品用去離子水(DI)稀釋 10 倍以減少焦耳熱現象的產生，條件：緩衝溶液為 1.0 mM 的硼酸鈉，分離電場 150 V/cm，分離距離 5.0 cm，檢測電位+0.72 V。

## 第五章 結論與未來展望

### 5.1 結論

本研究開發低成本，高性能的線微流體平台配備可滑動的鉛筆芯電化學傳感電極，整合了電泳分離與電化學檢測兩種功能於一平台，使用聚酯纖維線產生開放式物理流體通道用於樣品分離，和使用可滑動的石墨筆芯電極進行電化學感測。生產製造方面使用 3D 列印製造平台基座，CNC 加工製成金屬電極座，製造出來的平台與電極座皆可重複使用，而設計的電極座可以任意調整電泳距離與電極間距，來增加電泳分離效能。此外，石墨筆芯電極如果損壞或污染也可以換新，而聚酯纖維線在檢測之後也可以快速替換，防止前後樣品的污染。

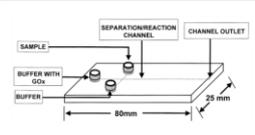
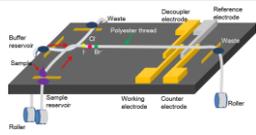
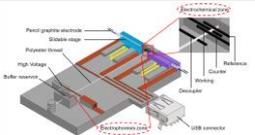
實驗方面，首先對於石墨筆芯電極進行表面改質與效能驗證，實驗結果表明，與酸洗、鹼洗、丙酮浸泡和火烤的表面處理相比，經過氧氣電漿處理之石墨筆芯電極表現出良好的電化學感測性能。從 SEM 表面形貌與 XPS 表面成分分析之結果顯示，電漿處理過後鉛筆芯表面破碎，表面積增加，而 XPS 表面氧原子比增加 3.72 倍，可以良好說明為何氧氣電漿處理能夠提升鉛筆芯的電化學響應。接著，最佳化電漿參數顯示，功率 100 W 10 分鐘的石墨筆芯電極擁有最好的電流響應，與未處理的鉛筆芯相比其電流響應提升 4.22 倍，在儲存 18 天後仍保持相同性能，說明石墨筆芯電極擁有極佳的耐久性，另外在連續 100 次量測目標物乙醯胺酚的循環伏安圖中可以發現，石墨筆芯電極同樣擁有很好的重複性。最後，所開發的石墨筆芯電極也成功地分析了人體尿液樣本中不同濃度的乙醯胺酚常用藥物，其結果與標準乙醯胺酚樣品在相同濃度下有極為相似的電流響應。

在確認完石墨筆芯電極的效能後，將其安裝在設計的滑動式電極座上，進行整體線微流體平台的效能驗證。滴定管取 0.5  $\mu\text{L}$  的 0.5 mM 的抗壞血酸和乙醯胺酚組成的混合樣品於聚酯纖維線上進行電泳分離，結果顯示在 42 秒時檢測到抗壞血酸樣本訊號，在 173 秒時檢測到乙醯胺酚樣本訊號，證明開發的線微流體平台有效分離混和樣品並透過石墨筆芯電極對其依序檢測。

為了評估所設計的滑動電極的傳感性能，10.0 mM 的抗壞血酸滴於聚酯纖維線上，測量了不同電極間距對於電流響應之影響，結果顯示，10.0  $\mu\text{m}$  電極間距之電流響應明顯大於 500.0  $\mu\text{m}$  的電流響應，電流值增加 1.88 倍。此外，經過計算 10.0  $\mu\text{m}$  電極間距獲得之理論板數比 500.0  $\mu\text{m}$  的理論板數高約 7.18 倍，從 285.43 增加到 2048.82。最後，25 歲男性尿液樣品中的乙醯胺酚被成功分離並檢測，其中未添加乙醯胺酚的尿液樣本，只有尿液成分被檢測出來，經添加乙醯胺酚的尿液樣本，成功分離尿液與乙醯胺酚兩個成分，並被開發的石墨筆芯電極檢測到。以上結果證明，本研究開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，已顯示出其快速有效檢測人體尿液中乙醯胺酚的能力。

本研究開發的石墨筆芯電極解決過去電極製程複雜耗時的缺點，並且耐久性與重複性相當良好，就算電極失效也能進行快速更換，不需要重新製作品片，而設計的可滑動平台解決電極間距過大且無法調整之問題，並且有效提升電泳分離效率，最後成功分離並檢測人類尿液樣品中的乙醯胺酚。綜合上述結果，本研究開發的模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，為電泳電化學晶片提供了一種新穎、快速、低成本又有效的檢測方案，在藥物檢測領域有極大的發展潛力。

表 5-1 歷代電泳晶片的製程與設計比較表。

Items	Methods			
Microfluidic channel	Closed	Open 	Open 	
Electrodes position	Can't be removed	Can't be removed	Slidable 	
Electrode material	Au, Pt, Ag	Au, Pt, Ag	Pencil 	
Process	Masking, Screen printing, Sputtering, Plasma treatment, Hot pressing	CNC, Masking, Plasma treatment, Hot pressing, Sputtering	3D printing, CNC, Plasma treatment 	

## 5.2 未來展望

本研究目前所開發之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極，將電泳分離以及電化學檢測整合於一平台上，使用聚酯纖維線產生開放式流道用於樣品分離和使用滑動的石墨筆芯電極進行電化學感測。由於滑動式電極的設計，因此只需要改變電極的位置，就可以針對不同需求做出改變，如進行食品安全的檢測、血液樣本的分析等等，都是未來可以在此架構上簡單實現的。此外，本研究室前人有針對線微流體晶片系統進行與質譜儀整合的研究。在系統進行電泳分離與電化學檢測後，在聚酯纖維線之尾端施加一高壓電場進行樣品的電噴灑游離，並進質譜儀進行樣品監測。另外，在電噴灑周圍結合電噴灑聚焦環，用於控制線電噴灑之張角，使其張角縮小，而有效提升離子強度。若本研究之系統未來能與其進行整合，將質譜偵測技術應用於本研究之模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極的系統，如圖 5-1 所示，勢必能更有效地檢測複雜多樣的樣本，也能因為質譜設備的檢測優勢，而大大提升系統之靈敏度，且檢測極限也能降低。

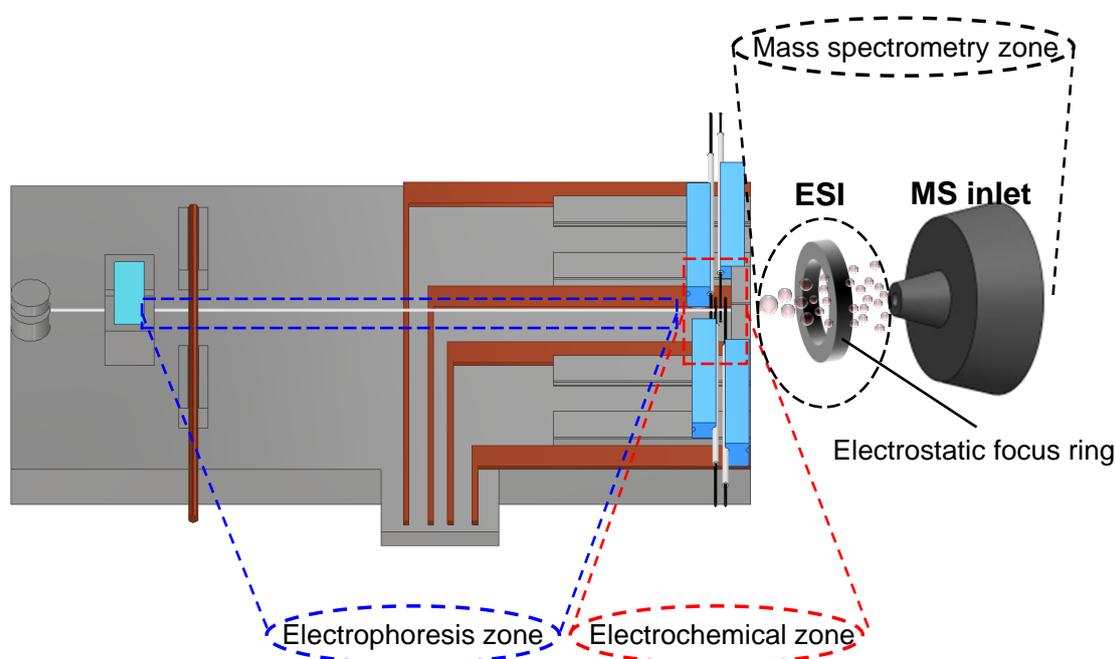


圖 5-1 未來模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極系統概念圖。除了原有的電泳分離與電化學檢測外，還可以結合聚酯纖維線電噴灑質譜法。

## 參考文獻

- [1] P. Nourjah, S. R. Ahmad, C. Karwoski, and M. Willy, "Estimates of acetaminophen (Paracetomal)-associated overdoses in the United States," *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, vol. 15, no. 6, pp. 398-405, 2006.
- [2] Y. A. Yang, C. H. Lin, and Y. C. Wei, "Thread-based microfluidic system for detection of rapid blood urea nitrogen in whole blood," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 16, no. 5, pp. 887-894, 2014.
- [3] B. Ameer and D. J. Greenblatt, "Acetaminophen," *Annals of Internal Medicine*, vol. 87, no. 2, pp. 202-209, 1977.
- [4] E. Yoon, A. Babar, M. Choudhary, M. Kutner, and N. Pysopoulos, "Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update," *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, vol. 4, no. 2, p. 131, 2016.
- [5] M. J. Hodgman and A. R. Garrard, "A review of acetaminophen poisoning," *Critical Care Clinics*, vol. 28, no. 4, pp. 499-516, 2012.
- [6] L. P. James, P. R. Mayeux, and J. A. Hinson, "Acetaminophen-induced hepatotoxicity," *Drug Metab Dispos*, vol. 31, no. 12, pp. 1499-1506, 2003.
- [7] A. M. Larson, "Acetaminophen hepatotoxicity," *Clinical Liver Disease*, vol. 11, no. 3, pp. 525-548, 2007.
- [8] B. McJunkin, K. W. Barwick, W. C. Little, and J. B. Winfield, "Fatal massive hepatic necrosis following acetaminophen overdose," *JAMA*, vol. 236, no. 16, pp. 1874-1875, 1976.
- [9] P. Nourjah, S. R. Ahmad, C. Karwoski, and M. Willy, "Estimates of acetaminophen (Paracetomal)-associated overdoses in the United States," *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, vol. 15, no. 6, pp. 398-405, 2006.
- [10] T. Lin, Z. Li, Z. Song, H. Chen, L. Guo, F. Fu, and Z. Wu, "Visual and colorimetric

- detection of p-aminophenol in environmental water and human urine samples based on anisotropic growth of Ag nanoshells on Au nanorods," *Talanta*, vol. 148, pp. 62-68, 2016.
- [11] S. M. Shaban, B. S. Moon, and D. H. Kim, "Selective and sensitive colorimetric detection of p-aminophenol in human urine and paracetamol drugs based on seed-mediated growth of silver nanoparticles," *Environmental Technology & Innovation*, vol. 22, p. 101517, 2021.
- [12] T. R. Bastami and Z. Dabirifar, "AuNPs@PMo12 nanozyme: Highly oxidase mimetic activity for sensitive and specific colorimetric detection of acetaminophen," *RSC Advances*, vol. 10, no. 59, pp. 35949-35956, 2020.
- [13] F. Shamsa, H. Monsef, R. Ghamooshi, and M. Verdian-rizi, "Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants," *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 32, pp. 17-20, 2008.
- [14] K. A. Johnson and R. Plumb, "Investigating the human metabolism of acetaminophen using UPLC and exact mass oa-TOF MS," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 39, no. 3-4, pp. 805-810, 2005.
- [15] H. Modick, A. Schutze, C. Palmke, T. Weiss, T. Bruning, and H. M. Koch, "Rapid determination of N-acetyl-4-aminophenol (paracetamol) in urine by tandem mass spectrometry coupled with on-line clean-up by two dimensional turbulent flow/reversed phase liquid chromatography," *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, vol. 925, pp. 33-39, 2013.
- [16] M. Spraul, A. S. Freund, R. E. Nast, R. S. Withers, W. E. Maas, and O. Corcoran, "Advancing NMR sensitivity for LC-NMR-MS using a cryoflow probe: Application to the analysis of acetaminophen metabolites in urine," *Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 6, pp. 1536-1541, 2003.

- [17] Q. Y. Tan, R. H. Zhu, H. D. Li, F. Wang, M. Yan, and L. B. Dai, "Simultaneous quantitative determination of paracetamol and its glucuronide conjugate in human plasma and urine by liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry: application to a clinical pharmacokinetic study," *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, vol. 893-894, pp. 162-167, 2012.
- [18] M. Lecoecur, G. Rabenirina, N. Schifano, P. Odou, S. Ethgen, G. Lebuffe, and C. Foulon, "Determination of acetaminophen and its main metabolites in urine by capillary electrophoresis hyphenated to mass spectrometry," *Talanta*, vol. 205, p. 120108, 2019.
- [19] X. Kang, J. Wang, H. Wu, J. Liu, I. A. Aksay, and Y. Lin, "A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol," *Talanta*, vol. 81, no. 3, pp. 754-759, 2010.
- [20] Y. E. Bouabi, A. Farahi, N. Labjar, S. El Hajjaji, M. Bakasse, and M. El Mhammedi, "Square wave voltammetric determination of paracetamol at chitosan modified carbon paste electrode: application in natural water samples, commercial tablets and human urines," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 58, pp. 70-77, 2016.
- [21] M. Keerthi, G. Boopathy, S. M. Chen, T. W. Chen, S. P. Rwei, and X. H. Liu, "An Efficient Electrochemical Sensor Based on Ag Nanoparticle Decorated MnO<sub>2</sub>/reduced Graphene Oxide Ternary Nanocomposite for Detection of Acetaminophen in Human Urine Sample," *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 14, no. 1, pp. 346-358, 2019.
- [22] N. P. Shetti, S. J. Malode, D. S. Nayak, K. R. Reddy, C. V. Reddy, and K. Ravindranadh, "Silica gel-modified electrode as an electrochemical sensor for the detection of acetaminophen," *Microchemical Journal*, vol. 150, p. 104206, 2019.
- [23] G. T. Liu, H. F. Chen, G. M. Lin, P. P. Ye, X. P. Wang, Y. Z. Jiao, X. Y. Guo, Y. Wen,

- and H. F. Yang, "One-step electrodeposition of graphene loaded nickel oxides nanoparticles for acetaminophen detection," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 56, pp. 26-32, 2014.
- [24] V. N. Palakollu, T. E. Chiwunze, C. Liu, and R. Karpoornath, "Electrochemical sensitive determination of acetaminophen in pharmaceutical formulations at iron oxide/graphene composite modified electrode," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 13, no. 2, pp. 4350-4357, 2020.
- [25] P. Abgrall and A. Gue, "Lab-on-chip technologies: making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem—a review," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 17, no. 5, p. R15, 2007.
- [26] J. Wang, "Electrochemical detection for capillary electrophoresis microchips: A review," *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, vol. 17, no. 13, pp. 1133-1140, 2005.
- [27] A. T. Woolley, K. Lao, A. N. Glazer, and R. A. Mathies, "Capillary electrophoresis chips with integrated electrochemical detection," *Analytical Chemistry*, vol. 70, no. 4, pp. 684-688, 1998.
- [28] V. Dolnik, S. Liu, and S. Jovanovich, "Capillary electrophoresis on microchip," *Electrophoresis*, vol. 21, no. 1, pp. 41-54, 2000.
- [29] C. H. Lin, G. B. Lee, Y. H. Lin, and G. L. Chang, "A fast prototyping process for fabrication of microfluidic systems on soda-lime glass," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 11, no. 6, p. 726, 2001.
- [30] J. Wang, M. P. Chatrathi, B. Tian, and R. Polsky, "Microfabricated electrophoresis chips for simultaneous bioassays of glucose, uric acid, ascorbic acid, and acetaminophen," *Analytical Chemistry*, vol. 72, no. 11, pp. 2514-2518, 2000.
- [31] D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. J. Schueller, and G. M. Whitesides, "Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane)," *Analytical*

- Chemistry, vol. 70, no. 23, pp. 4974-4984, 1998.
- [32] F. Y. He, A. L. Liu, J. H. Yuan, W. K. Coltro, E. Carrilho, and X. H. Xia, "Electrokinetic control of fluid in plastified laser-printed poly(ethylene terephthalate)-toner microchips," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 382, no. 1, pp. 192-197, 2005.
- [33] A. L. Liu, F. Y. He, Y. L. Hu, and X. H. Xia, "Plastified poly(ethylene terephthalate) (PET)-toner microfluidic chip by direct-printing integrated with electrochemical detection for pharmaceutical analysis," *Talanta*, vol. 68, no. 4, pp. 1303-1308, 2006.
- [34] R. Müller and D. Clegg, "Automatic paper chromatography," *Analytical Chemistry*, vol. 21, no. 9, pp. 1123-1125, 1949.
- [35] Y. Lu, W. Shi, L. Jiang, J. Qin, and B. Lin, "Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay," *Electrophoresis*, vol. 30, no. 9, pp. 1497-1500, 2009.
- [36] E. M. Fenton, M. R. Mascarenas, G. P. Lopez, and S. S. Sibbett, "Multiplex lateral-flow test strips fabricated by two-dimensional shaping," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 1, no. 1, pp. 124-129, 2009.
- [37] X. Li, J. F. Tian, and W. Shen, "Thread as a Versatile Material for Low-Cost Microfluidic Diagnostics," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 2, no. 1, pp. 1-6, 2010.
- [38] X. Weng, Y. Kang, Q. Guo, B. Peng, and H. Jiang, "Recent advances in thread-based microfluidics for diagnostic applications," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 132, pp. 171-185, 2019.
- [39] Y. C. Wei, S. Y. Su, L. M. Fu, and C. H. Lin, "Electrophoresis separation and electrochemical detection on a novel line-based microfluidic device," in *2012 IEEE 25th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, 2012: IEEE*, pp. 104-107.

- [40] J. M. Cabot, M. C. Breadmore, and B. Paull, "Thread based electrofluidic platform for direct metabolite analysis in complex samples," *Analytica Chimica Acta*, vol. 1000, pp. 283-292, 2018.
- [41] P. H. Li and C. H. Lin, "Gold (Working), Platinum (Counter) and Silver (Reference) Novel Lego®-Concepted Microfluidic Chip for Capillary Electrophoresis Separation, Electrochemical and Mass Spectrometry Detections," in *International Conference on Solid-State Sensors*, 2019: IEEE, pp. 2340-2343.
- [42] J. Kerckaert, "Highly simplified analytical or preparative slab gel electrophoresis," *Analytical Biochemistry*, vol. 84, no. 2, pp. 354-360, 1978.
- [43] C. Gelfi, M. Perego, S. Morelli, A. Nicolin, and P. G. Righetti, "Analysis of antisense oligonucleotides by capillary electrophoresis, gel-slab electrophoresis, and HPLC: a comparison," *Antisense and Nucleic Acid Drug Development*, vol. 6, no. 1, pp. 47-53, 1996.
- [44] C. S. Effenhauser, A. Manz, and H. M. Widmer, "Glass chips for high-speed capillary electrophoresis separations with submicrometer plate heights," *Analytical Chemistry*, vol. 65, no. 19, pp. 2637-2642, 1993.
- [45] T. Bayraktar and S. B. Pidugu, "Characterization of liquid flows in microfluidic systems," *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 49, no. 5-6, pp. 815-824, 2006.
- [46] T. Kaneta, S. Tanaka, and H. Yoshida, "Improvement of resolution in the capillary electrophoretic separation of catecholamines by complex formation with boric acid and control of electroosmosis with a cationic surfactant," *Journal of Chromatography A*, vol. 538, no. 2, pp. 385-391, 1991.
- [47] C. L. Copper, "Capillary electrophoresis - Part I. Theoretical and experimental background," *Journal of Chemical Education*, vol. 75, no. 3, pp. 343-347, 1998.
- [48] L. Ianeselli, G. Greci, C. Callegari, M. Tormen, and L. Casalis, "Development of

- stable and reproducible biosensors based on electrochemical impedance spectroscopy: Three-electrode versus two-electrode setup," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 55, pp. 1-6, 2014.
- [49] E. M. Richter, J. A. Fracassi da Silva, I. G. R. Gutz, C. L. do Lago, and L. Angnes, "Disposable twin gold electrodes for amperometric detection in capillary electrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 25, no. 17, pp. 2965-2969, 2004.
- [50] D. P. Manica, Y. Mitsumori, and A. G. Ewing, "Characterization of electrode fouling and surface regeneration for a platinum electrode on an electrophoresis microchip," *Analytical Chemistry*, vol. 75, no. 17, pp. 4572-4577, 2003.
- [51] A. J. Gawron, R. S. Martin, and S. M. Lunte, "Fabrication and evaluation of a carbon-based dual-electrode detector for poly (dimethylsiloxane) electrophoresis chips," *Electrophoresis*, vol. 22, no. 2, pp. 242-248, 2001.
- [52] W. Vielstich, "Cyclic voltammetry," *Handbook of Fuel Cells*, 2010.
- [53] J. A. Vickers and C. S. Henry, "Simplified current decoupler for microchip capillary electrophoresis with electrochemical and pulsed amperometric detection," *Electrophoresis*, vol. 26, no. 24, pp. 4641-4647, 2005.
- [54] I. G. David, D. E. Popa, and M. Buleandra, "Pencil Graphite Electrodes: A Versatile Tool in Electroanalysis," *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, vol. 2017, p. 1905968, 2017.
- [55] S. Sharma, R. Jain, and A. N. Raja, "Pencil graphite electrode: An emerging sensing material," *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 167, no. 3, p. 037501, 2019.
- [56] R. L. McCreery, "Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry," *Chemical Reviews*, vol. 108, no. 7, pp. 2646-2687, 2008.
- [57] A. N. Kawde, N. Baig, and M. Sajid, "Graphite pencil electrodes as electrochemical sensors for environmental analysis: a review of features, developments, and applications," *Rsc Advances*, vol. 6, no. 94, pp. 91325-91340, 2016.

- [58] I. G. David, A. M. C. Bizgan, D. E. Popa, M. Buleandra, Z. Moldovan, I. A. Badea, T. A. Tekiner, H. Basaga, and A. A. Ciucu, "Rapid determination of total polyphenolic content in tea samples based on caffeic acid voltammetric behaviour on a disposable graphite electrode," *Food Chemistry*, vol. 173, pp. 1059-1065, 2015.
- [59] H. Purushothama and Y. A. Nayaka, "Electrochemical study of hydrochlorothiazide on electrochemically pre-treated pencil graphite electrode as a sensor," *Sensing and Bio-sensing Research*, vol. 16, pp. 12-18, 2017.
- [60] P. Manjunatha, Y. A. Nayaka, B. Chethana, C. Vidyasagar, and R. Yathisha, "Development of multi-walled carbon nanotubes modified pencil graphite electrode for the electrochemical investigation of aceclofenac present in pharmaceutical and biological samples," *Sensing and Bio-sensing Research*, vol. 17, pp. 7-17, 2018.
- [61] I. G. David, M. Buleandra, D. E. Popa, M. C. Cheregi, V. David, E. E. Iorgulescu, and G. O. Tartareanu, "Recent Developments in Voltammetric Analysis of Pharmaceuticals Using Disposable Pencil Graphite Electrodes," *Processes*, vol. 10, no. 3, p. 472, 2022.
- [62] N. Dilsiz, "Plasma surface modification of carbon fibers: a review," *Journal of Adhesion Science and Technology*, vol. 14, no. 7, pp. 975-987, 2000.
- [63] G. Lota, J. Tyczkowski, R. Kapica, K. Lota, and E. Frackowiak, "Carbon materials modified by plasma treatment as electrodes for supercapacitors," *Journal of Power Sources*, vol. 195, no. 22, pp. 7535-7539, 2010.
- [64] C. W. Lin and C. H. Lin, "Capillary electrophoresis and electrospray ionization on a single-thread microfluidic system for rapid mass spectrometry detection," in *2016 IEEE 29th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)*, 2016: IEEE, pp. 485-488.
- [65] W. Zhang, S. Zhu, R. Luque, S. Han, L. Hu, and G. Xu, "Recent development of carbon electrode materials and their bioanalytical and environmental applications,"

Chemical Society Reviews, vol. 45, no. 3, pp. 715-752, 2016.

- [66] S. Wang, K. Chang, and C. J. Yuan, "Enhancement of electrochemical properties of screen-printed carbon electrodes by oxygen plasma treatment," *Electrochimica Acta*, vol. 54, no. 21, pp. 4937-4943, 2009.
- [67] J. Hueso, J. Espinós, A. Caballero, J. Cotrino, and A. González-Elipe, "XPS investigation of the reaction of carbon with NO, O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O plasmas," *Carbon*, vol. 45, no. 1, pp. 89-96, 2007.
- [68] J. F. Pereira, R. G. Rocha, S. V. Castro, A. F. Joao, P. H. Borges, D. P. Rocha, A. de Siervo, E. M. Richter, E. Nossol, and R. V. Gelamo, "Reactive oxygen plasma treatment of 3D-printed carbon electrodes towards high-performance electrochemical sensors," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 347, p. 130651, 2021.
- [69] C. Chen, B. Liang, A. Ogino, X. Wang, and M. Nagatsu, "Oxygen functionalization of multiwall carbon nanotubes by microwave-excited surface-wave plasma treatment," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113, no. 18, pp. 7659-7665, 2009.
- [70] C. Iliescu, H. Taylor, M. Avram, J. Miao, and S. Franssila, "A practical guide for the fabrication of microfluidic devices using glass and silicon," *Biomicrofluidics*, vol. 6, no. 1, p. 016505, 2012.

# 論文原創性報告

模組化線微流體平台整合可滑動石墨筆芯電極於尿液乙醯胺酚電化學檢測

## 原創性報告

**4**%  
相似度指數

**3**%  
網際網絡來源

**1**%  
出版物

**1**%  
學生文稿

## 主要來源

<b>1</b>	<a href="http://etd.lib.nsysu.edu.tw">etd.lib.nsysu.edu.tw</a> 網際網絡來源	<b>1</b> %
<b>2</b>	<a href="http://ndltd.ncl.edu.tw">ndltd.ncl.edu.tw</a> 網際網絡來源	<b>1</b> %
<b>3</b>	Submitted to National Sun Yat-sen University 學生文稿	<b>&lt;1</b> %
<b>4</b>	Submitted to Tunghai University 學生文稿	<b>&lt;1</b> %
<b>5</b>	Takahisa Ohji, Masaaki Sato, Kenji Amei, Masaaki Sakui. "Generation Method of AC Ampere Force Using Eddy Current inside a Non-Magnetic Thin Plate and it's Effect on Electro Dynamic Suspension", IEEJ Transactions on Industry Applications, 2008 出版物	<b>&lt;1</b> %
<b>6</b>	Shian-Yi Hsu, Che-Hsin Lin. "Thread-Based Fluidic Platform with Pencil Graphite Electrodes For Electrochemical Analyzing Medicine Metabolites in Urine", 2022 IEEE	<b>&lt;1</b> %

## 自述

姓名：徐賢益 (Shian-Yi, Hsu)

出生日期：1996/04/04

性別：男

出生地：台中市

電子信箱：3516joejoe@gmail.com

學歷：

國立中山大學 機械與機電工程研究所 碩士 2020/09~2022/06

國立高雄科技大學 機械與自動化工程學系 學士 2014/09~2018/06

臺北市立松山高級工農職業學校 電機系 2011/09~2014/06

發表著作：

國際研討會：

1. **Shian-Yi Hsu**, Che-Hsin Lin, “Thread-based Fluidic Platform with Pencil Graphite Electrodes for Electrochemical Analyzing Medicine Metabolites in Urine” *The 35th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (2022 MEMS)*, Tokyo, Japan, 09-13 January, 2022

國內研討會：

1. **徐賢益** 林哲信, “可調式石墨筆芯電極之線微流體平台於電泳電化學分析人體尿液中的乙醯胺酚” 第二屆精密機械與製造科技研討會(*Precision Machinery and Manufacturing Technology, PMMT*), 屏東, 台灣, 五月, 2022

