

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

自組裝奈米修飾金電極之製作與其在蛋白質生物晶片電化學感應器的應用研究

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2622-E-002-009-CC3

執行期間：91年06月01日至92年09月30日

執行單位：國立臺灣大學化學工程學系暨研究所

計畫主持人：顏溪成

計畫參與人員：王怡珍

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫為提升產業技術及人才培育研究計畫，不提供公開查詢

中 華 民 國 93 年 2 月 20 日

行政院國家科會委員會  
提升產業技術及人才培育計畫成果報告

自組裝奈米修飾金電極之製作與其在蛋白質  
生物晶片電化學感應器的應用研究

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號： NSC91-2622-E-002-009-CC3

執行期間： 91年6月1日至92年9月30日

計畫主持人： 顏溪成 教授

執行單位： 國立台灣大學化學工程學研究所

中華民國九十三年二月

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 自組裝奈米修飾金電極之製作與其在蛋白質 生物晶片電化學感應器的應用研究

The Study of Self-Assembly Nano Modified Gold Electrodes for  
Applications in the Protein Biochips Electrochemical Biosensor

計畫編號：NSC91-2622-E-002-009-CC3

執行期限：91年6月1日至92年5月31日

主持人：顏溪成教授 scyen@ccms.ntu.edu.tw

計畫參與人員：王怡珍 d92524017@ntu.edu.tw

執行單位：國立台灣大學化學工程學研究所

### 一、中文摘要

硫醇在金表面形成的自組裝單分子層除了具有方向性，可使方向控制達分子級程度之外，分子之間的分布間距也能夠達到精確的控制，資料顯示硫醇自組裝單分子層在水溶液中的狀態十分穩定[1]。本研究採取電化學分析技術，並使用旋轉盤電極研究電化學反應的動力學機制。實驗中選擇了三種不同鏈長的烷基硫醇 R-SH ( $R=C_nH_{2n+1}$ ,  $n=4, 8, 12$ )，當金電極表面生成硫醇自組裝單分子層後，隨著碳鏈長度的增加，電極的導電度逐漸下降，氧化還原反應也越來越偏離可逆反應，硫醇金電極對  $Fe(CN)_6^{3-/4-}$  和  $Co(bpy)_3^{3+/2+}$  分子對的擴散係數都會造成抑制的效果。至於反應速率常數的表現則是隨著烷基碳鏈長的增加而反應速率下降，尤其是十二烷硫醇自組裝層的厚度較大，分子間的排列也較緊密，幾乎完全將反應分子隔絕在外。

**關鍵詞：**電化學方法，蛋白質感測器，自組裝單分子層，修飾金電極

### Abstract

In the thesis, alkyl thiols are used to form oriented self-assembly monolayers. Oriented monolayers offer the possibility of precise control of spacing and orientation on a molecular level. It was reported that self-assembly monolayers formed from alkyl thiols are remarkably stable in aqueous solution [1]. This research is mainly carried out by electrochemical analysis techniques. The rotating disk system was applied to study

the electrochemical reaction mechanisms. Three different alkyl thiols R-SH ( $R=C_nH_{2n+1}$ ,  $n=4, 8, 12$ ) were used in this study. As the alkyl chain length of thiols on gold electrode increases, the conductivity of gold electrode will decrease, the redox reaction will deviate from reversible reaction more and more obviously. The inhibition of thiol modified gold electrode to the diffusivities of  $Fe(CN)_6^{3-/4-}$  and  $Co(bpy)_3^{3+/2+}$  couples are also discussed in the study. As the alkyl chain length of thiols on gold electrode increases, the reaction rate constants decrease at the same time. Especially for the dodecanethiol modified gold electrode, the thickness of self-assembly monolayer is larger, and molecule will arrange much closer. As a result, the redox couples are almost kept out of the gold surface.

**Keywords:** electrochemical method, protein sensor, self-assembly monolayer, modified gold electrode

### 二、計劃緣由與目的

近年來生物感測器 (Biosensor) 應用在化學、生化及生醫方面大為增加，隨著電化學的製程技術配合生物化學分析的要求，結合成生物電化學的研發，電極經過修飾以使基因和蛋白質的方位能固定。由於許多文獻都提及硫醇化物在金上面能夠形成方向整齊一致的自組裝單分子層 (Self-Assembly Monolayer, SAM) [2]，並對於其穩定性十分肯定[3]，再加上製備

過程簡便，硫醇自然成為固定基因和蛋白質的不二選擇了。本研究著力於硫醇自組裝單分子層於金電極上的電化學行為、和硫醇的特性表現，期望能為將來的電化學生物感測研究作鋪路。生物化學的要求較為嚴格，系統也更加複雜，有了性能穩定的電化學作為量測系統，對於生物感測器的研究自然是一大幫助，而對於硫醇修飾電極有更深入的了解，則是目前最重要的課題。

### 三、結果與討論

在本實驗中，電極採用旋轉盤電極系統，可應用於測量質傳係數及動力學上之研究。金電極上的硫醇本身不會導電，當電極通有電流時，電子必須通過硫醇間的間隙或是透過穿遂效應才能使溶液中的反應物進行反應，故會有抑制電流和反應速率的現象。但是不同鏈長的烷基硫醇因為分子之間的作用力不同或是分佈密度差異的關係，自組裝層的膜厚不是和實際碳鏈長成線性正比[4]，我們特別將這三種硫醇修飾電極和純金電極在 1mM  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ /0.1M KCl 水溶液中的掃描曲線整理比較，Fig.1 顯示可以明顯看出碳鏈長度對電流值和反應性的影響，烷基中碳的個數越多，電流值受抑制的現象越明顯，反應性和可逆性都會比較差。Fig.2 顯示在 1mM  $\text{Co}(\text{bpy})_3^{3+}$ /0.1MKCl 水溶液中的掃描曲線整理比較，丁烷硫醇的氧化電流居然比純金電極下的氧化電流大，我們推測是  $\text{Co}(\text{bpy})_3^{2+/3+}$  這個分子對的體積較大而移動緩慢，再加上丁烷硫醇的傾斜角度較大，分子排列也比較不縝密，反應分子若進入硫醇分子層會比較不容易擴散出去。

在氧化過電位較大時，電流與轉速的關係可表示成：

$$\frac{1}{i} = \frac{1}{nFk_a C_{\text{Red}}^*} + \frac{1}{0.62nFD_{\text{Red}}^{2/3} \nu^{-1/6} C_{\text{Red}}^*} \left( \frac{1}{\omega^{1/2}} \right) \quad (1)$$

而在還原過電位較大時，電流與轉速的關係可表示成：

$$\frac{1}{i} = -\frac{1}{nFk_c C_{\text{Ox}}^*} - \frac{1}{0.62nFD_{\text{Ox}}^{2/3} \nu^{-1/6} C_{\text{Ox}}^*} \left( \frac{1}{\omega^{1/2}} \right) \quad (2)$$

在高過電位下，由截距可以得到在純金電極系統中的氧化反應常數  $k_a$  和還原反應常數  $k_c$ 。Table 1 表中列出在各個濃度下之反應速率常數，比較特別的是，純金電極在較高濃度 10mM 下氧化速率常數和還原速率常數都呈現較低的數值，在十二烷硫醇電極系統中，溶液中的反應分子被遠遠隔離在外，所以反應速率常數都很小。

高過電位情形下反應速率很快，電流主要是質傳控制，可以由 Levich equation 計算參數：

$$i_L = 0.62048nFD^{2/3} \nu^{-1/6} \omega^{1/2} C^* \quad (3)$$

利用極化曲線量測到的極限電流值  $I_{\text{lim},a}$  或  $I_{\text{lim},c}$  對  $\omega^{1/2}$  作圖計算得到不同濃度下之擴散係數  $D$ ，並將各個濃度下之擴散係數取平均值，在 25 溫度下， $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  的擴散係數  $D = 6.09 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ ，而  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  的擴散係數  $D = 7.06 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ [5]， $\text{Co}(\text{bpy})_3^{3+}$  的擴散係數  $D = 1.45 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ ，Table 2 列出實驗中所有情況下得到擴散係數  $D$ 。由於擴散係數是由極限電流所計算出的，而電流在硫醇電極下會受到抑制，這就是擴散係數降低的原因，而因為有硫醇分子的阻隔，所以反應分子在擴散到金表面的過程中會受到影響，但是我們也可以觀察到擴散係數在丁烷硫醇電極系統中僅受到些微的抑制，這和反應電流只受到少許抑制是相同的。

### 四、計畫成果自評

本計劃迄今我們發現硫醇修飾金電極在  $\text{Co}(\text{bpy})_3^{3+}$  溶液中的電流訊號和反應速率表現與硫醇中碳的個數有較為線性的反比關係，所以從圖形中判斷鏈長會比較正確。不過如果只是要判斷硫醇修飾電極與純金電極的差異，那麼在  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$  溶液中的電流訊號變化和反應速率變化都會較為明顯。

### 五、參考文獻

- [1] Ulman, A. "Self-assembled Monolayers of Thiols" Academic Press, San Diego, Chap 1(1998).
- [2] Nuzzo, R. G. and D. L. Allara, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 4481(1983).

[3] Finklea, H. O., L. R. Robinso, A. Blackburn, B. Richter, D. Allara, and T. Bright, *Langmuir*, **2**, 239(1986).

[4] Marc, D. Porter, Thomas, B. Bright, David, L. Allara, and Christopher, E. D. Chidsey, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 3559(1987).

[5] Bard, A. J. and L. R. Faulkner, "Electrochemical Methods", 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley & Sons, Inc., New York(2001).

Table 1 rate constants on different gold electrodes

C(mM)	Au		
	Co(bpy) <sub>3</sub> <sup>3+</sup>	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-/4-</sup>	
	kc(s <sup>-1</sup> )	ka(s <sup>-1</sup> )	kc(s <sup>-1</sup> )
1	2.49E-02	5.74E-02	1.39E-01
2	4.09E-02	7.99E-02	1.13E-01
5	4.03E-02	7.77E-02	1.08E-01
10	3.58E-02	4.45E-02	7.18E-02

C(mM)	Au-C4		
	Co(bpy) <sub>3</sub> <sup>3+</sup>	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-/4-</sup>	
	kc(s <sup>-1</sup> )	ka(s <sup>-1</sup> )	kc(s <sup>-1</sup> )
1	2.62E-02	3.26E-02	3.02E-02
2	2.61E-02	5.59E-02	3.67E-02
5	2.72E-02	2.96E-02	2.49E-02
10	1.32E-02	1.68E-02	2.02E-02

C(mM)	Au-C8		
	Co(bpy) <sub>3</sub> <sup>3+</sup>	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-/4-</sup>	
	kc(s <sup>-1</sup> )	ka(s <sup>-1</sup> )	kc(s <sup>-1</sup> )
1	5.21E-03	2.31E-02	1.09E-02
2	5.34E-03	2.10E-02	1.30E-02
5	3.71E-03	1.68E-02	1.43E-02
10	4.89E-03	1.40E-02	1.05E-02

C(mM)	Au-C12		
	Co(bpy) <sub>3</sub> <sup>3+</sup>	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-/4-</sup>	
	kc(s <sup>-1</sup> )	ka(s <sup>-1</sup> )	kc(s <sup>-1</sup> )
1	2.15E-03	9.20E-04	7.40E-04
2	2.38E-03	5.41E-04	4.82E-04
5	1.46E-03	6.18E-04	5.96E-04
10	1.10E-03	4.64E-04	3.27E-03

Table 2 diffusivities on different gold electrodes

C	Au-C4		Au-C8	
	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>4-</sup>	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup>	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>4-</sup>	Fe(CN) <sub>6</sub> <sup>3-</sup>
	(cm <sup>2</sup> /s)	(cm <sup>2</sup> /s)	(cm <sup>2</sup> /s)	(cm <sup>2</sup> /s)
1	6.23E-06	6.99E-06	5.88E-06	5.13E-06
2	6.07E-06	7.14E-06	5.61E-06	4.95E-06
5	6.09E-06	7.00E-06	5.59E-06	5.38E-06
10	5.98E-06	7.12E-06	6.33E-06	7.34E-06
D	6.09E-06	7.06E-06	5.85E-06	5.70E-06

C (mM)	Au-C4	Au-C8
	Co(bpy) <sub>3</sub> <sup>3+</sup> (cm <sup>2</sup> /s)	Co(bpy) <sub>3</sub> <sup>3+</sup> (cm <sup>2</sup> /s)
1	1.55E-06	8.84E-07
2	1.48E-06	8.31E-07
5	1.44E-06	5.72E-07
10	1.31E-06	7.36E-07
D	1.45E-06	7.56E-07

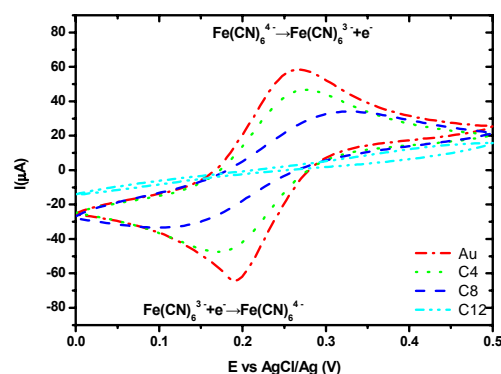


Fig.1 cyclic voltammogram of different gold electrodes in 1mM Fe(CN)<sub>6</sub><sup>3-/4-</sup> / 0.1M KCl

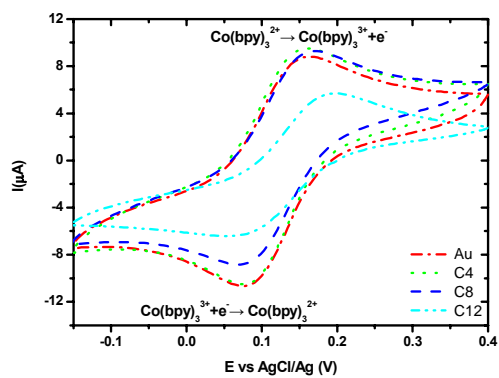


Fig.2 cyclic voltammogram of different gold electrodes in 1mM  $\text{Co(bpy)}_3^{3+}$ /0.1MKCl