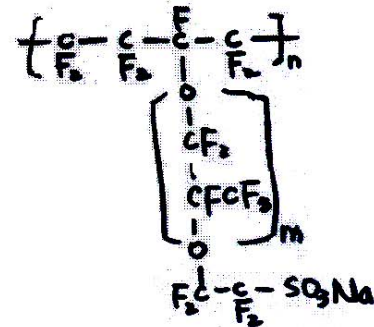
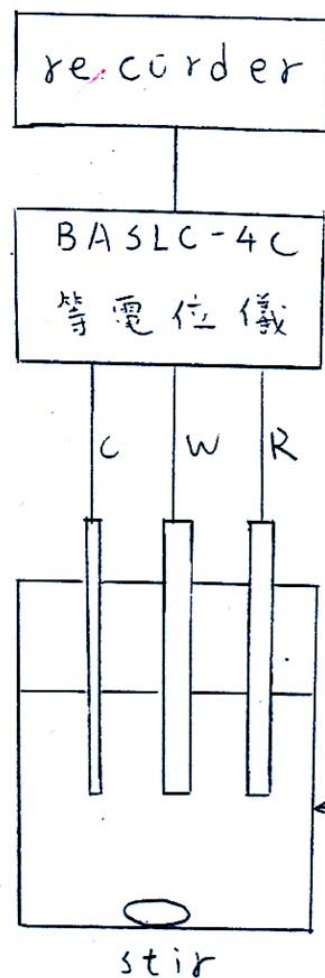




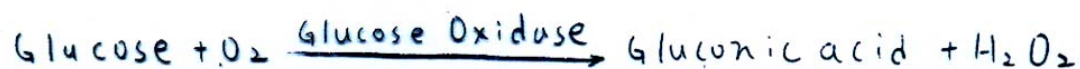


C: 輔助電極 (紅)

W: 工作電極 (黑)

R: 參考電極 (白)

← 10 ml pH=7 磷酸鹽緩衝液



將電極接頭分別接上即可

(紅：輔助電極；黑：工作電極；白：參考電極)。

電極研磨

1. 以水沖洗電極表面，將電極表面的附著物清洗乾淨，之後再以甲醇清洗一次，以拭鏡紙將電極表面吸乾。
2. 以蒸餾水潤溼研磨紙表面，將研磨用的鋁液搖勻，並滴加數滴於研磨紙上。
3. 將電極表面向下，以畫圓的方式輕輕研磨，每隔一段時間將電極移轉 90 度研磨，以防止電極的不平坦。在研磨 1-2 分鐘後以蒸餾水清洗。
4. 可將電極以超音波震盪的方式來移除殘留的研磨顆粒。將電極表面浸置於放有蒸餾水的燒杯當中（水不用太多），以低於 150W 或更低功率的超音波洗淨器來做清潔的工作。時間不要超過 5 分鐘，以免造成過熱而傷害到電極。以蒸餾水再沖洗一次，並將表面的水甩乾。
5. 以甲醇沖洗一次並以拭鏡紙吸乾表面，此時電極即可使用。

注意：

1. 切勿以手指表面碰觸電極。
2. 勿將電極放置於可能與尖銳物碰觸或是任何可能會刮傷電極的物體之上。

四、實驗步驟:

配製藥品:

(一) 配製葡萄糖溶液: (由助教準備)

1.5.10.20.30.40mM 葡萄糖溶液各 50 ml 以 buffer 配

(二) 配製未知濃度葡萄糖溶液樣品(A,B)兩個

各 50 ml (由助教準備)

(三) 配製葡萄糖氧化酵素溶液: (由助教準備)

取 1042 units 葡萄糖氧化酵素溶於 0.5 ml 之 0.05 M, pH 7.0 磷酸鈉緩衝溶液

(四) 配製 0.05M 磷酸鹽緩衝液含 0.1M KCl, 調整 pH 至 7.0 (由助教準備)

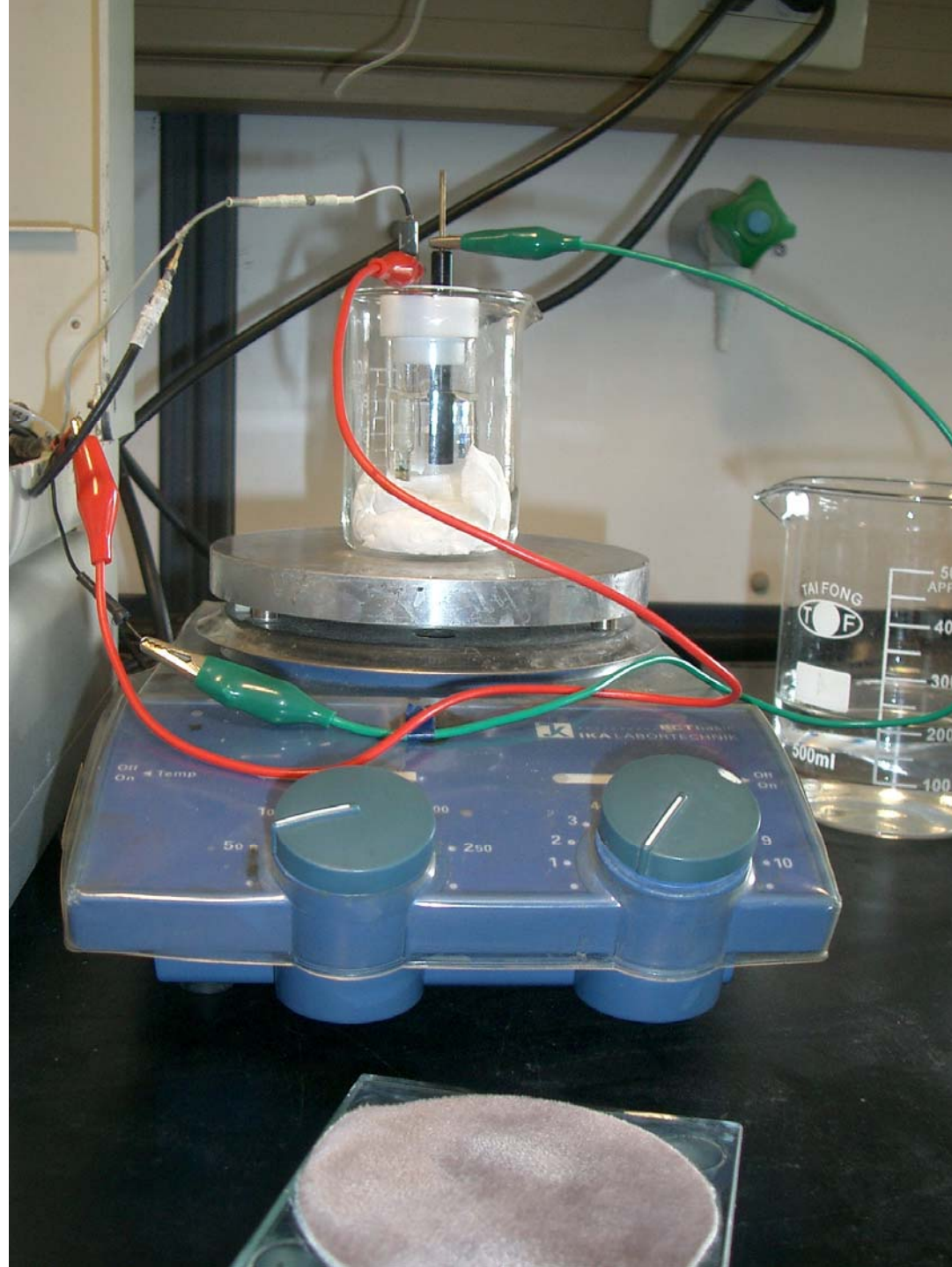
(五) 配製 0.25% Nafion 溶液

(1) 酵素電極製備

1. glassy carbon 電極以去離子水洗淨, 在研磨墊上加少量水與 alumina paste, 將電極在研磨墊上輕輕畫 8 字形一分鐘, 電極再以去離子水洗淨。
2. 取 6 μ l 製備之 0.5 ml, 1042 units 葡萄糖氧化酵素溶液滴在電極上, 自然風乾。
3. 再取 6 μ l 0.25 % Nafion 滴在 glassy carbon 電極表面, 再自然風乾即可。

(2) 分析步驟

- 1 取 9 ml 0.05M 磷酸鹽緩衝液於燒杯放入攪拌子。將酵素電極與 Ag/AgCl 參考電極與白金 counter 電極與等電位計連接 (先不要開等電位計電源)。
- 2 將電極放入燒杯磷酸鹽緩衝液中，等電極位置確定後開等電位計電源，使用 750 mV 施加電壓。
- 3 等訊號穩定時，加入 1ml 已知濃度葡萄糖溶液，觀察電流訊號變化，等訊號穩定時，記錄電流強度。
- 4 將等電位計調到 stanby 位置，將電極取出以去離子水洗淨後，等電極位置確定後再開等電位計電源，重覆 1-4 步驟，同一濃度重複三次，測出所有已知濃度葡萄糖溶液電流強度，製作檢量線。
- 5 重覆 1-4 步驟檢測未知濃度的葡萄糖溶液 A、B 並記錄其電流值。
- 6 分析已知濃度葡萄糖溶液時，分別加入幾滴 ascorbic acid、過氧化氫，與 0.01ml 葡萄糖氧化酵素溶液，觀察電流訊號變化。



BAS Liquid Chromatography

CC-5



BAS

Amperometric Detector

LC-4C

DISPLAY
UP DN



POWER



RANGE
+ -



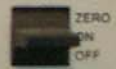
POTENTIAL
+ -



MANUAL OFFSET
+ -



AUTO ZERO
ZERO
ON OFF



MARKER



FILTER
+ -



POTENTIAL
+ -



MANUAL OFFSET
+ -



AUTO ZERO
ZERO
ON OFF



CELL
ON
STBY
TEST





DISPLAY
UP DN



POWER



Amperometric Detector

Range **2.0** μ A

App E **.850** V

Filter **.10** Hz

RANGE



POTENTIAL



MANUAL OFFSET



AUTO ZERO



MARKER



FILTER



CELL



LC-4C

BAS Liquid Chromatography

CC-5



BAS

Amperometric Detector

LC-4C

DISPLAY
UP DN



POWER



Range 2.0 μ A
Output 0.04 μ A
Filter .10 Hz

RANGE



POTENTIAL



MANUAL OFFSET



AUTO ZERO



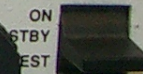
MARKER



FILTER



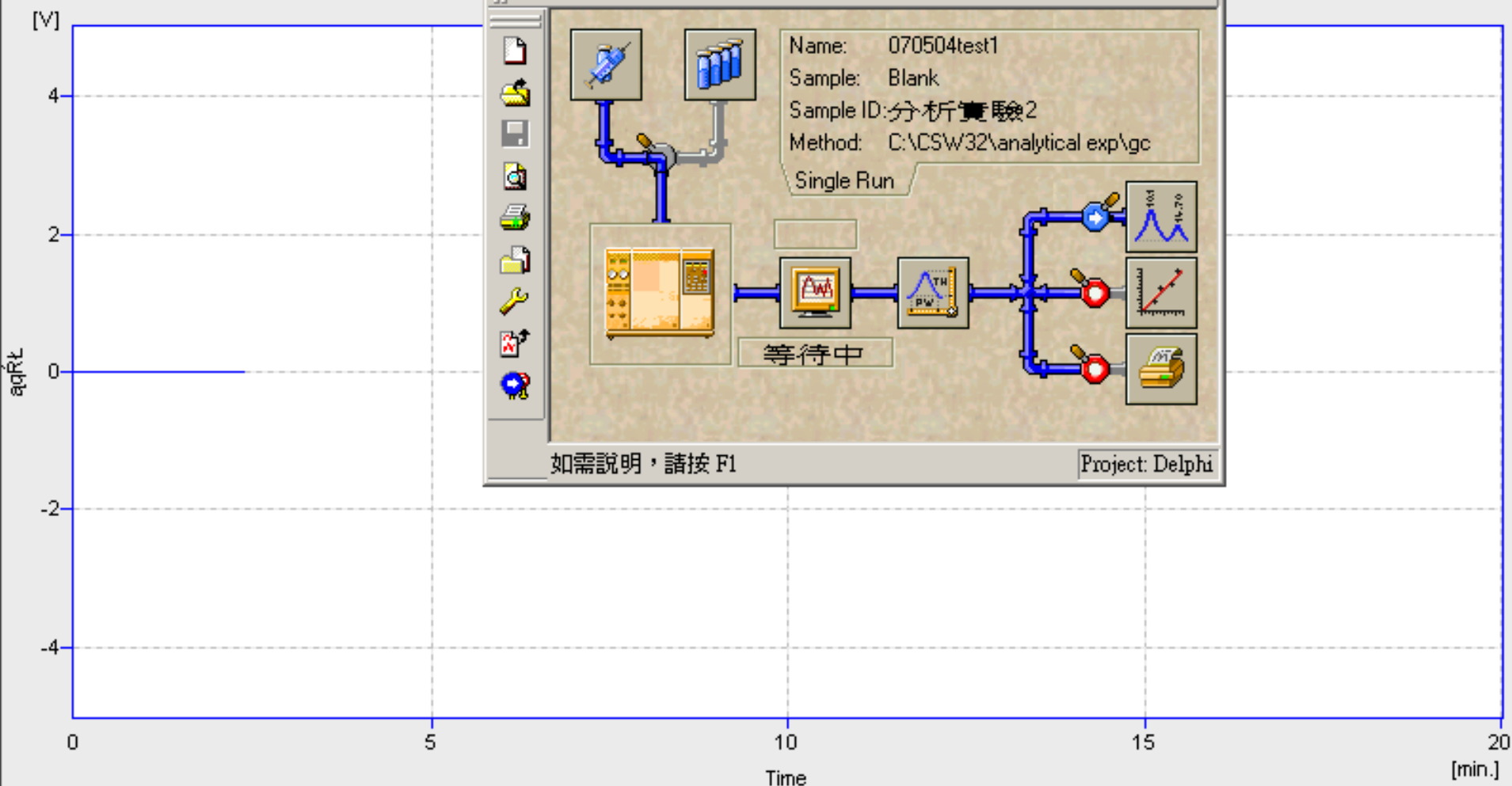
CELL



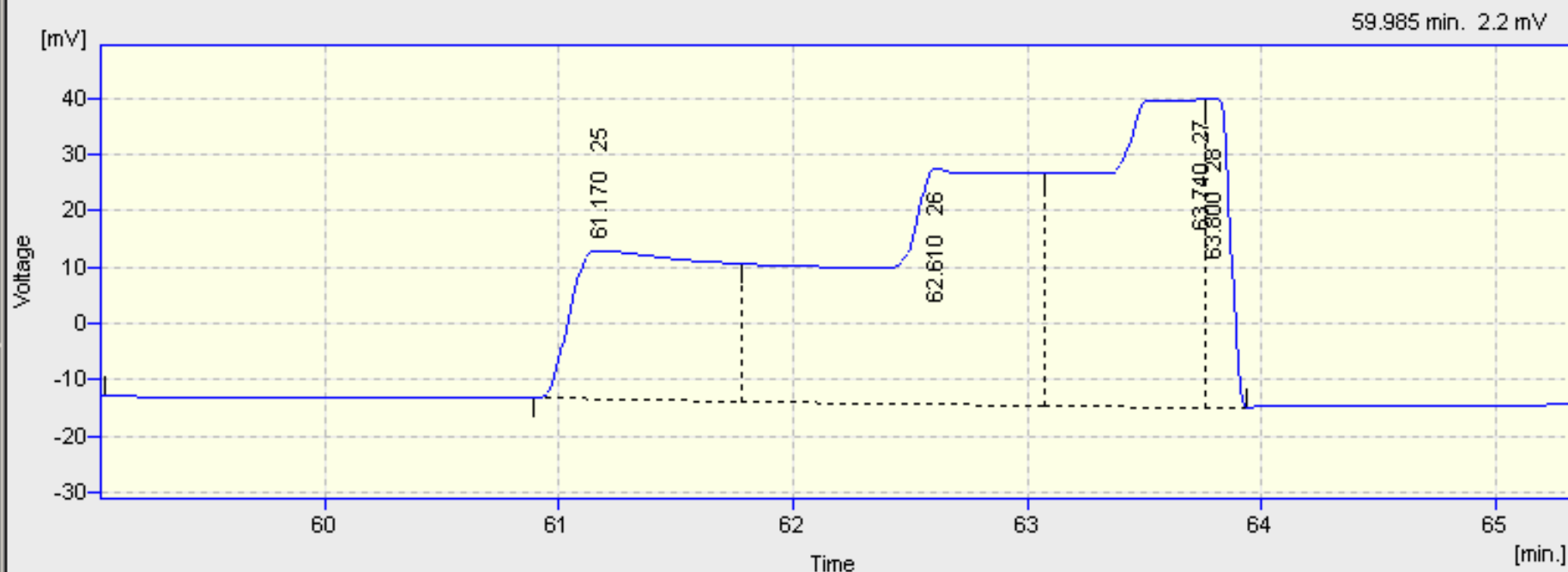
檔案(F) 分析(A) 顯示(D) 檢視(V) 視窗(W) 說明(H)



時間範圍 20 分



檔案(F) 編輯(E) 顯示(D) 層析譜(C) 方法(M) 結果(R) 檢視(V) 視窗(W) 說明(H)



070503test1 <-- Uncal

	滯留時間 [min]	Area [mV.s]	Height [mV]	Area [%]	Height [%]
1	0.470	3020.985	55.346	11.7	9.2
2	7.630	2453.787	12.406	9.5	2.1
3	8.990	1703.466	13.073	6.6	2.2
4	10.840	457.136	22.609	1.8	3.7
5	18.980	7.507	1.777	2.9e-02	0.3

校正檔案 (Peak Table)

(None)

Set...

None

檢視

組態

☒ 所有波峰(P)☐ 所有確認的波峰(D)☐ 所有校正的波峰(C)

Base

☒ 面積(A)☐ 高度(H)

積分參數

☐ Us

Scale Factor

Units After Scaling

Uncal. Response

Amount

結果 / Column Perf. / 積分參數 / 測量組態 / Log /

如需說明，請按 F1

重疊

實驗十 電流式生物感測器(二)

一、目的:

使用碳粉電極與葡萄糖氧化酵素固定化 CPG 之電流式生物感測器在流動注入分析系統(flow injection analysis)中分析葡萄糖

二、藥品與儀器

1 試藥

葡萄糖

固定葡萄糖氧化酵素 CPG

過氧化氫

磷酸鹽緩衝液

Ascorbic acid

2 儀器:

等電位計

carbon paste 電極 4 個

樣品瓶 4 個

六向注入閥 (sample loop 50 or 100 μ l)

蠕動幫浦

reactor 4 個

三、實驗步驟:

▶ 配製藥品:

(一) 配製葡萄糖溶液: (由助教準備)

0.1、0.5、1、2、5、10、20、30 mM 葡萄糖溶液各 50 ml

(二) 配製未知濃度葡萄糖溶液樣品(A, B)兩個

各 100 ml (由助教準備)

(三) 配製 0.05M 磷酸鹽緩衝液，調整 pH 至 7.0(由助教準備)

▶ 電極製備

1 carbon paste (由助教準備)

2 取 carbon paste 少許，填入碳粉電極，在白紙上輕輕畫圓，

磨平電極表面，如果碳粉不足，再取 carbon paste 少許，填

入碳粉電極重複上述步驟，至電極表面極光滑為止。

▶ 葡萄糖氧化酵素 reactor 製備

1. 反應器放入墊片後直立，用滴管吸取固定葡萄糖氧化酵素之

CPG，慢慢滴入，等填滿後，使用乳膠頭排出緩衝液，重複

上述步驟至 CPG 完全填滿反應器後，再放入另一墊片將反應

器放入反應器固定夾中，與 FIA 連接。

分析步驟

- 1 將製備好之碳粉電極與 Ag/AgCl 參考電極與 白金 counter 電極放入 flow cell 並與等電位計連接(先不要開等電位計電源)。
- 2 將 flow cell 與 FIA 連接，打開蠕動幫浦，確定 FIA 無漏液現象與電極位置確定後，開等電位計電源，使用 850 mV 施加電壓。
- 3 等訊號穩定後，從六向注入閥注入已知濃度葡萄糖溶液，觀察電流訊號變化，等訊號穩定時，記錄波峰高度與電流強度。
- 4 重覆 3 步驟，從六向注入閥注入已知濃度葡萄糖溶液，測出所有已知濃度葡萄糖溶液電流強度，製作檢量線，分析未知葡萄糖溶液 A, B 樣品濃度。
- 5 從六向注入閥注入 ascorbic acid、過氧化氫，與 0.01ml 葡萄糖氧化酵素溶液，觀察電流訊號變化。



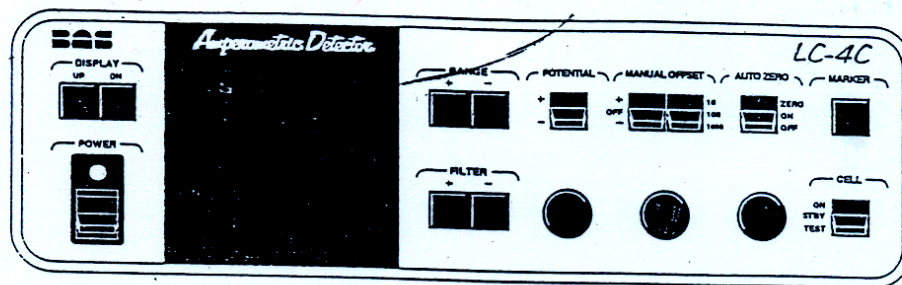


圖 1 BAS LC-4C 等電位儀面板

LC-4C 操作流程

開機：

1. 確定電極裝置（參考 BAS CC-5 flow cell 使用須知電極安裝至第 2 步驟）已確實完成。
2. 確定面板右下方 cell 扳鈕位置在“STAND BY”，此時才可開 power。
3. 設定量測條件（包含 applied potential 及 range）。
4. 按面板左上角的 UP 或是 DN，使螢幕中間出現“output”。
5. 開記錄器。
6. 打開蠕動幫浦，使緩衝液充滿整個管路，此時進行電極裝置的第 3-5

步驟。裝置好後以緩衝液再流洗幾分鐘以確定沒有氣泡產生。之後即可將 cell 切換至 on。

7. 在切換至 on 後，應會出現一極大的 charging current。此時觀察 output 的數值，待穩定之後，做 "Auto Zero" 的動作。
8. 觀察 recorder 的 baseline，待 baseline 平穩後方能經由六向閥注入樣品進行測量。

注意：

1. 若是再未打入緩衝液時將 cell 切換至 on，此時是在電極乾燥時突然施加給電極一個電壓，對電壓計會造成損害。
2. 將緩衝液流入管路時，需確定管路中沒有氣泡，否則在量測時會有 air peak 產生，對實驗的量測將會產生誤差。

關機

1. 將面板右下方 cell 調至 "STAND BY" 位置。
2. 關 POWER，關記錄器。
3. 將緩衝液換成去離子水清洗整個系統 10-15 分鐘。
4. 關蠕動幫浦，並將管子放鬆（避免彈性疲乏）。
5. 電極卸下後：
 - a. 將參考電極浸於 3M NaCl 水溶液中。
 - b. 工作電極與底座分開，以拭鏡紙吸乾。
 - c. 輔助電極吸乾。
 - d. 墊片浸入水中。

附錄三 BAS CC-5 flow cell 使用須知

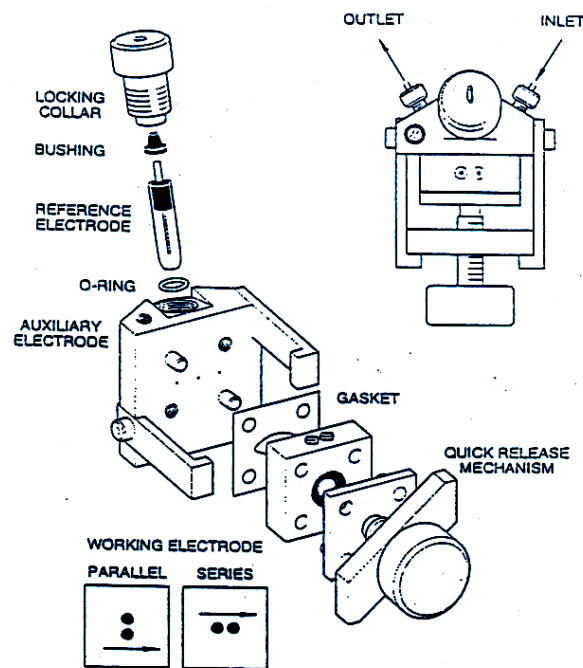


圖 1 BAS CC-5 flow cell 電極安裝簡圖

電極裝置

1. 放上墊片 (用以控制電極間的距離，不讓電極相碰，避免短路。)
2. 將雙孔電極及底座以螺絲旋緊。
3. 打開蠕動幫浦，使緩衝液流滿整個管路 (緩衝液需先 degas!!)。
觀察正上方的孔洞 (放參考電極的位置)，待充滿 80% 的緩衝液時關掉蠕動幫浦。
4. 將參考電極放入孔中，用固定座將電極旋緊。

