

中華民國第 63 屆中小學科學展覽會
作品說明書

高中組 化學科

佳作

050203

超臨界流體製備韭菜籽萃取物碳化微胞及其潛在應用

學校名稱：新北市立北大高級中學

作者： 高二 阮煒豪 高二 陳宣帆 高二 李芷嫻	指導老師： 羅葳
---	-----------------

關鍵詞：韭菜籽、微胞、超臨界流體

摘要

本研究利用二氧化碳超臨界流體萃取韭菜籽並進行分析，主成分為脂肪酸，以亞油酸比例最高而棕櫚酸次之。再利用綠色合成方法製備碳化韭菜籽萃取物，其有豐富的官能基、激發波長相關光致放光之特性相似碳點。此碳點於適當的條件下，在水中會自組裝形成分散性、穩定性均佳的碳化韭菜籽萃取物微胞 (CLSEMs)。以 ABTS 進行抗氧化測試，證實微胞具有自由基清除與抗氧化效果；對 Co^{2+} 有最佳的感測選擇性，最低偵測極限為 $1.7 \mu\text{M}$ ，且成功首創將抗癌藥物順鉑修飾於碳點所形成的微胞上，鉑金屬載量最高可達 4.7%。因 CLSEMs 具有有機長碳鏈，有機會提高藥物穿過細胞膜之能力，以利順鉑與 DNA 鍵結，有發展成新型抗癌藥物之潛能。

壹、前言

一、 研究動機

韭菜屬百合科蔥屬植物(*Allium tuberosum* Rottl.)的乾燥成熟種籽，又名韭菜籽(Chinese chive seed, Tuber Onion Seed)，為中國傳統的中藥材，具暖腰膝、壯陽固精之功效，臨床上主治陽痿遺精、腰膝酸軟、遺尿頻尿、自濁帶下等症。韭菜籽萃取物中富有生物鹼、核苷酸及甾體皂苷類等，其成分可以有效清除超氧陰離子自由基等，可作為優良的抗氧化劑，用於發展新型抗氧化保健品及藥物，具有重要價值。

因韭菜籽萃取物的營養與商業價值，引起學界與業界的關注與發展，萃取韭菜籽油的常用方法有壓榨法與有機溶劑萃取法，但壓榨法油得率(oil extraction)低，而溶劑萃取法存在溶劑回收和殘留等問題，且顯少研究以低極性有機溶劑萃取韭菜籽並探討萃取物特性與結構。有鑑於此，本研究利用對環境友善的二氧化碳超臨界流體萃取技術(Supercritical Fluid Extraction, 簡稱 SFE)，於室溫下萃取韭菜籽後，進行碳化並製備微胞材料，並探討其結構與特性。進一步可將之應用於抗氧化、離子感測、奈米藥物載體等方面。

而抗癌藥物—順鉑(Cisplatin)為現今最具有潛力的抗癌藥物之一，最常應用於乳癌、肺腺癌與卵巢癌，在 1978 年時，成為鉑化合物中第一個被 FDA 認證的抗癌藥物。但順鉑的親水、親油性不佳，使得順鉑藥物包覆率偏低。

故本研究利用綠色合成的方式以韭菜籽萃取物製備出碳點，因碳點本身具良好之光穩定性、豐富之表面官能基、低毒性與極佳的生物相容性，我們首創合成出具有極性端與非極性端的韭菜籽碳點，在水中碳點可自組裝形成穩定分散的微胞，並成功將順鉑修飾於碳化萃取物微胞的表面上，嘗試作為新型抗癌藥物之可能。

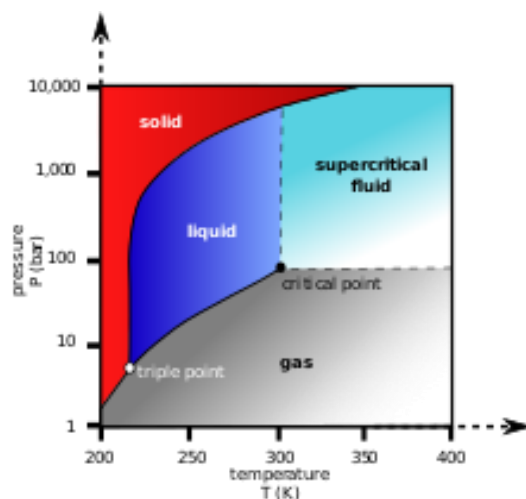
二、 研究目的

- (一) 以超臨界流體二氧化碳技術萃取韭菜籽，與萃取物成分之分析。
- (二) 製備未碳化/碳化韭菜籽萃取物微胞，並探討其結構與性質。
- (三) 探討碳化韭菜籽萃取物微胞的應用。

三、文獻回顧

(一) 超臨界二氧化碳萃取(Supercritical carbon dioxide extraction)

當二氧化碳氣體在臨界點(31.3 °C、壓力 72.9 atm) 以上時，會介於氣體與液體間並達成一個均勻相之低極性流體，為超臨界流體。在圖一相圖中，臨界點就是液態和氣態邊界。

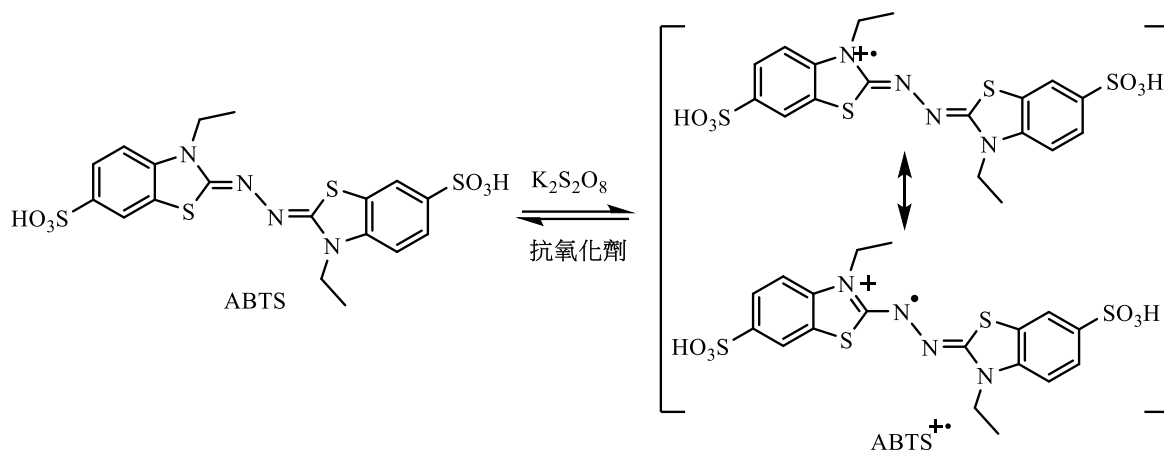


圖一：二氧化碳相圖(資料來源：維基百科)

超臨界流體具有氣體的擴散性及液體的溶解能力兩種優點，也具有低黏度和低表面張力的特性，使超臨界流體能夠滲透進入物質的孔隙，因此用於萃取時，它的萃取速率比液體更快且更有效。在分離或反應後藉由減壓就可以輕易的與反應物分離，不會產生任何溶劑殘留而有安全上的疑慮，係對於環境友善之綠色化學技術。

(二) ABTS 抗氧化原理機制

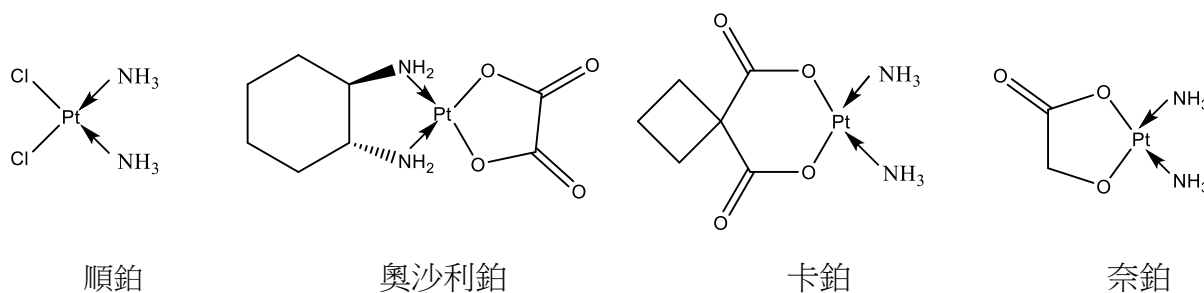
ABTS 經與過硫酸鉀於室溫避光下反應 16 小時後會形成藍綠色水溶性的 ABTS 陽離子自由基($ABTS^{\bullet+}$)(如圖二)，該陽離子自由基於於吸收光譜中 734 nm 位置有最大吸收值。經與抗氧化劑反應後， $ABTS^{\bullet+}$ 陽離子自由基被還原成無色中性化合物造成 734 nm 處吸光值下降，溶液顏色由藍綠色開始退色，因此可藉由 $ABTS^{\bullet+}$ 溶液顏色褪色或特徵峰下降程度以判定抗氧化效果，抗氧化越好，褪色越強烈。原理機制如下圖二所示。



圖二：ABTS 抗氧化機制

(三) 順鉑(Cisplatin)與奈米微胞藥物載體

如圖三之鉑金屬錯合物為基因遺傳毒性物質(genotoxic agent)，是目前最有潛力的化療藥物之一，可單獨或搭配其他抗癌藥物一起使用治療多種癌症。常見抗癌藥品包括順鉑、奧沙利鉑(Oxaliplatin)、卡鉑(Carboplatin)、及奈鉑(Nedaplatin)等，可直接鍵結於 DNA 上，透過阻斷 DNA 複製以抑制癌細胞生長。

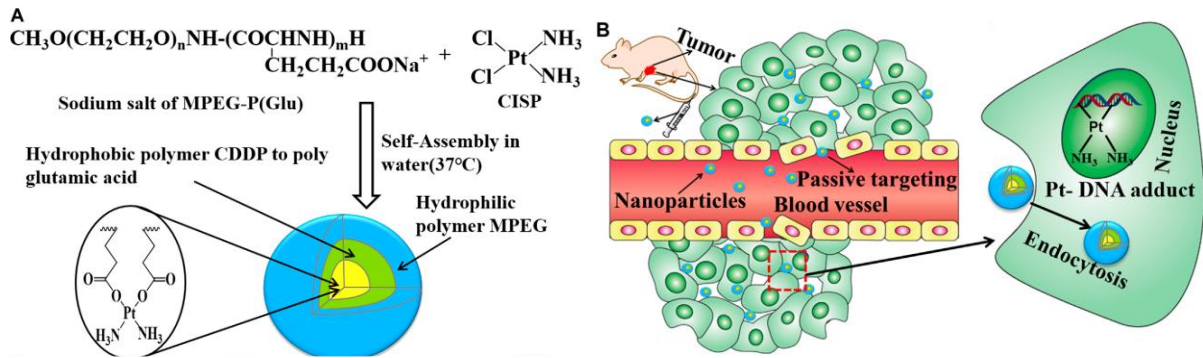


圖三：常見含鉑金屬化療藥物的結構

然而，治療的結果常會伴隨抗藥性與副作用，對於含鉑藥物的抗藥性常起因於對癌細胞穿透性變差，且容易被細胞內的還原劑，如甲硫胺酸(methionine)、穀胱甘肽(glutathion)、金屬硫蛋白(metallothionein)等影響而失去活性。

其中一個可以克服抗藥性與降低毒性的方法，就是將含鉑的藥物以奈米級的藥物載體運送，因為奈米粒子可以改善藥物動力學、增加細胞對藥物的吸收、提升藥物的穩定度等。但是順鉑或奧沙利鉑因為缺乏表面官能基，不易接於奈米粒子上；且其親水及親油性均不佳，不易進行藥物的包覆。

因此為了解決這個問題，根據 Zhcheng Wang 等人的研究發現^[4]，如圖四可以將順鉑修飾上共聚物 MPEGP(Glu)，其共聚物包含親水端與疏水端，當疏水端的羧基配位至順鉑後，在水中可以自組裝形成疏水端在內、親水端在外的微胞結構。而非極性的高分子鏈，可增加對細胞的穿透性與藥物在腫瘤細胞內的滯留性，相較於單純的順鉑藥物，修飾後的奈米順鉑藥物抗癌藥效果更好、也減低腎毒性和對其他器官組織的危害。



圖四：(A)製備順鉑的奈米微胞 CISP-NPS (B) CISP-NPs 進入體內後的過程^[4]

貳、研究設備及器材

一、設備與器材

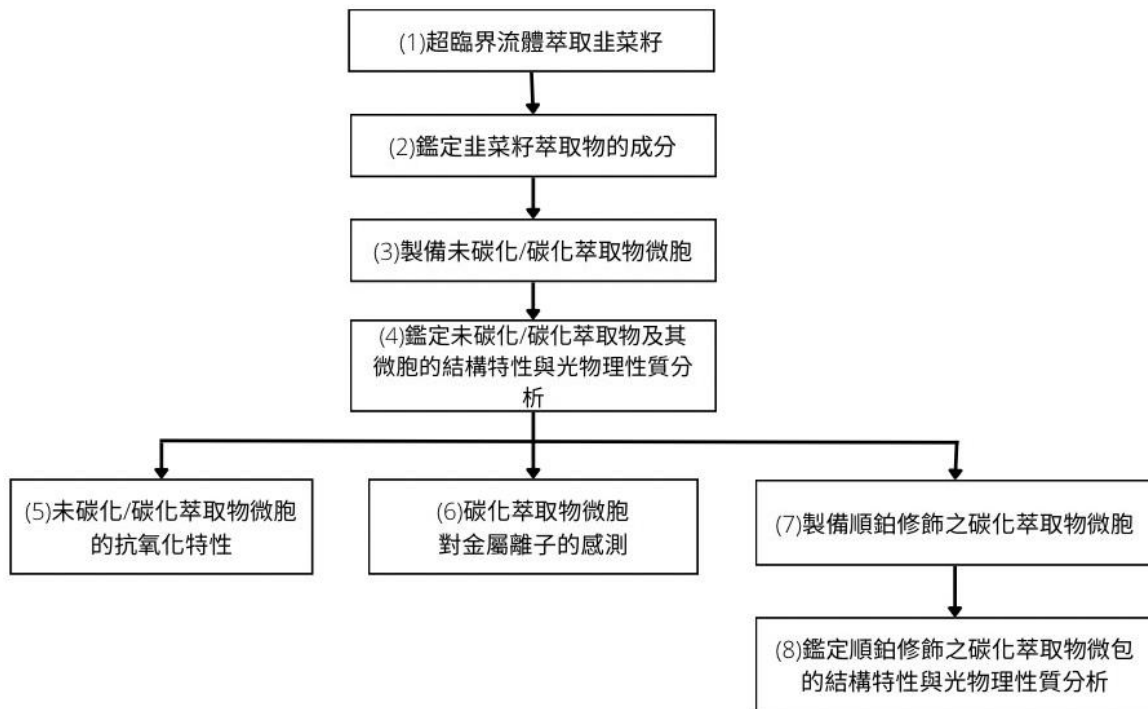
1. 粉碎機，CS-700。
2. 烘箱式萃取爐，OV-SCF。
3. 二氧化碳增壓模組，PM-10000C。
4. 冷卻循環恆溫水槽，UNISIS RC-10。
5. 空氣壓縮機，OF-1100。
6. 螢光、紫外光吸收光譜儀，VSP-FUV。
7. 超純水製造機，DIRECT-Q3。
8. 離心機，LF-15E。
9. 烘箱，D030 烘箱。
10. 超音波清洗機，超音波清洗機 KUDOS。
11. pH 值感測器，PH-BTA。
12. 電磁攪拌器，CORNING PC420D。
13. 紅外線光譜儀，Nicolet—iS5。
14. 螢光放光光譜儀，Bio Tek—Synergy 1。
15. UV-Visible 分光光度計，Agilent Technologies Cary series UV-Vis-NIR。
16. 穿透式電子顯微鏡，JEOL JEM—2100F。
17. 動態光散射儀，Zetasizer Nano series。
18. 感應耦合電漿，PerkinElmer Optima 8300。
19. 傅立葉轉換紅外線光譜儀，FT-IR spectrum 3。
20. 氣相層析質譜儀，Agilent 6890N/5975MSD。
21. 微量吸管
22. 針筒過濾器
23. 針筒
24. 分光比色槽
25. 分液漏斗

二、藥品

1. 韭菜籽，新豐南蔘藥行
2. 超純水，DIRECT-Q3
3. 乙酸乙酯，Fisher Chemical
4. 無水乙醇, 99.8 %，Fisher Chemical
5. 2,2-聯氮-二（3-乙基-苯並噻唑-6-磺酸）二銨鹽（ABTS），Combi-Blocks
6. 過硫酸鉀，Acros
7. 甲基吡咯烷酮(N-Methyl-2-pyrrolidone)，Fisher Chemical
8. 氫氧化鈉，CHONEYE
9. 順-二氯二胺合鉑(II) (cisplatin)，AK Scientific
10. 葡聚糖凝膠(Sephadex G-100)，Sigma Aldrich
11. 硝酸銀，Acros
12. 硝酸汞，CHONEYE
13. 硝酸銅，CHONEYE
14. 硝酸鐵，CHONEYE
15. 硝酸鋅，Acros
16. 硝酸鋁，CHONEYE
17. 硝酸鉛，CHONEYE
18. 硝酸鎳，CHONEYE
19. 硝酸鈷，CHONEYE

參、研究過程或方法

一、研究流程



圖五：研究流程圖

二、研究方法

(一) 超臨界流體萃取韭菜籽

1. 取 600 g 韭菜籽以研磨機磨成韭菜籽粉。
2. 韭菜籽粉再以孔徑為 20 至 100 目(0.850-0.150 mm)的篩子過篩。
3. 過篩後的韭菜粉放置於萃取槽內再移至烘箱式萃取爐，以二氧化碳氣體於 60 °C、5000 psi 條件下萃取 8 小時。
4. 可得淡黃色液體的韭菜籽萃取物。



圖六：超臨界二氧化碳萃取韭菜籽流程圖

(二) 鑑定韭菜籽萃取物的成分

1. 取 50 μL 的韭菜籽萃取物，溶於 500 μL 的乙醇。
2. 以氣相層析質譜儀進行分析(Agilent 6890 N/5975MSD)搭配 DB-5 的毛細管管柱 (L \times I.D.:30.0 m \times 0.25 mm; film thickness: 0.25 μm)，以電子碰撞模式 70 eV，質譜掃描範圍從 40-550 amu.

(氣相層析條件如下：注射腔溫度為 295 $^{\circ}\text{C}$ ，管柱溫度由 135 $^{\circ}\text{C}$ 維持 0.5 分鐘，接著以每分鐘上升 70 $^{\circ}\text{C}$ 的速率，上升至 300 $^{\circ}\text{C}$ ，最後維持 12.5 分鐘，載流氣體為氦氣，流量為 1.0 mL min $^{-1}$ 。)

(三) 製備未碳化/碳化萃取物微胞(Uncarbonized/ Carbonized-leek seed extracts micelles)

1. 未碳化萃取物微胞
 - (1) 取三份各 1 g 的淡黃色韭菜籽萃取物，每份萃取物加入 1 mL 100 mM NaOH 水溶液及 4 mL 超純水後，於 60 $^{\circ}\text{C}$ 下分別以超音波震動 30、60 及 120 分鐘。
 - (2) 再各加入 5 mL 乙酸乙酯和 5 mL 超純水震盪萃取。經靜置後至兩相分層，去除上層有機層，保留含白色微胞的水溶液層。
 - (3) 水層微胞以凍乾機進行冷凍乾燥，此作實驗對照組，係未經高溫碳化韭菜籽萃取物微胞(Uncarbonized-leek seed extracts micelles，下稱：**UnCLSEMs**)固體。
2. 碳化的萃取物微胞
 - (1) 韭菜籽萃取物於 200 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱內烘烤 3 天。
 - (2) 將高溫碳化的韭菜籽萃取物分成 3 份各 1 g，其餘步驟同上述未碳化萃取物微胞步驟(1)、(2)、(3)，可得到高溫碳化韭菜籽萃取物微胞(下稱：**CLSEMs**)固體。

(四) 鑑定未碳化/碳化萃取物及其微胞的結構特性與光物理性質分析

1. 未碳化/碳化萃取物

- (1) 將萃取物溶於乙酸乙酯(濃度為 100 mg L^{-1})，以紫外光-可見光分光光度計量測定吸收光譜。
 - (2) 將萃取物溶於乙酸乙酯(濃度均為 25 g L^{-1})，分別以波長 300 至 450 nm 為激發波長，量測其螢光光譜。
 - (3) 以反射式傅立葉紅外線光譜儀量測材料表面化學鍵結。
2. 碳化/未碳化萃取物微胞粒徑分析
- (1) 各取 80 mg CLSEMs 與 UnCLSEMs 分散於 5 mL 的超純水中(濃度 16 mg mL^{-1})。
 - (2) 經 40 倍稀釋後以 DLS 量測其微胞粒徑大小，探討碳化過程、水解時間 (30、60 及 120 分鐘)與微胞粒徑關係。
3. 碳化萃取物微胞(CLSEMs) 的結構特性與光物理性質分析
- (1) 取 80 mg CLSEMs 分散於超純水後(濃度 8 mg mL^{-1})，上述微胞液滴至銅網後，於 40°C 下烘乾，以 TEM 進行拍攝，研究其結構外貌。
 - (2) 用螢光分光光譜儀量測上述分散液 (濃度 1.6 mg mL^{-1})之光物理性質，分別以波長 300 至 450 nm 為激發波長，量測其螢光光譜。
 - (3) 紫外光-可見光分光光度計量測上述分散液(濃度 0.16 mg mL^{-1})之吸收光譜。
 - (4) 反射式傅立葉紅外線光譜儀量測材料表面化學鍵結。

(五) 未碳化/碳化萃取物微胞的抗氧化特性

1. 各取 85 mg 的 UnCLSEMs 與 CLSEMs 分散於 5 mL 超純水中(濃度為 17 mg mL^{-1})。
2. 再將溶液稀釋成 1000 ppm、500 ppm、250 ppm、100 ppm、25 ppm、5 ppm。
3. 各取 1 mL 上述 UnCLSEMs、CLSEMs 稀釋液與 1mL、濃度 $100 \mu\text{M}$ 之 ABTS 均勻混合後，分別靜置 2 小時。
4. 將溶液以紫外光-可見光分光光度計量測其吸收光譜。
5. 比較 ABTS 在 734 nm 的特徵吸收峰之吸收強度。

(六) 碳化萃取物微胞對金屬離子的感測

1. 選擇性的測試

- (1) 九種金屬離子包含 Zn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ag^{+} 及 Hg^{2+} 等，分別由購置的金屬鹽配製成濃度 5 mM 母液，再用超純水稀釋至金屬離子濃度為 200 μM 。
- (2) 上述金屬離子液(150 μL ，200 μM)分別與 CLSEMs 溶液(150 μL ，3.2 mg mL^{-1})於室溫下混和。
- (3) 量測螢光光譜(激發波長 300 nm)，進行金屬離子感測選擇性評估。

2. 對金屬鈷離子的感測能力

- (1) 由濃度 5 mM 的鈷離子(Co^{2+})液，用超純水稀釋至鈷離子濃度為 2、3、5、10、15、20、30、40、50、60、80 μM 。
- (2) CLSEMs 溶液(150 μL ，3.2 mg mL^{-1})分別與不同濃度(2–80 μM ，150 μL)鈷離子液混合。
- (3) 以 300 nm 為激發波長，量測其螢光光譜，以評估 CLSEMs 對鈷離子感測能力。

(七) 製備順鉑修飾之碳化萃取物微胞

1. 順鉑水合物溶液製備

- (1) 取 67.6 mg AgNO_3 固體溶於 10 mL 超純水(濃度 40 mM)。
- (2) 取順鉑 30 mg 溶於 10 mL 超純水(濃度 20 mM)中。
- (3) 將上述 AgNO_3 水溶液緩慢滴入順鉑水溶液內並於 50°C 避光下攪拌反應 1 小時，產生淡白色氯化銀沉澱。
- (4) 以針筒過濾器過濾氯化銀，收集順鉑水合物溶液。

2. 順鉑修飾 CLSEMs

- (1) 取 400 mg CLSEMs 分散於 25 mL 超純水中(濃度 16 mg mL^{-1})。
- (2) 取部分 5 mL CLSEMs 溶液分別加入 0 mL、1 mL、1.5 mL、2 mL 及 3 mL

前述順鉑水合物溶液。

(3) 再加超純水稀釋至總體積 9 mL 後於 25°C 避光下反應 1 小時。

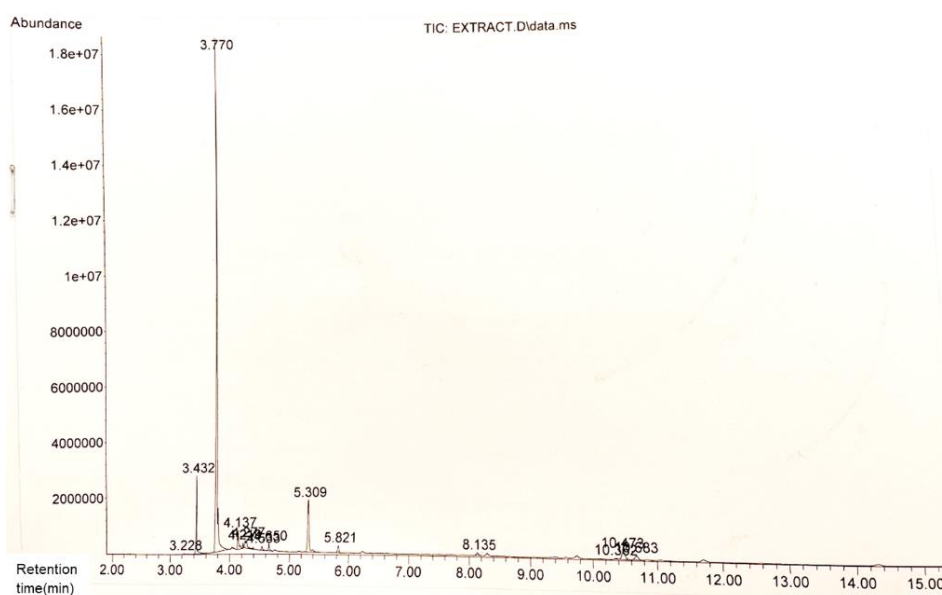
(4) 透過凝膠過濾層析管柱純化順鉑修飾 CLSEMs，得到各不同順鉑當量數修飾之 CLSEMs。

(八) 鑑定順鉑修飾之碳化萃取物微胞的結構特性與光物理性質分析

1. 取順鉑修飾之 CLSEMs，將上述微胞液滴至銅網後，於 40°C 下烘乾，以 TEM 進行拍攝，研究其結構外貌。
2. 各不同順鉑當量數修飾之 CLSEMs 經 40 倍稀釋後以 DLS 量測其水合粒徑大小。
3. 反射式傅立葉紅外線光譜儀量測材料表面化學鍵結。
4. 各不同順鉑當量數修飾之 CLSEMs 經 5 倍稀釋後，分別以波長 300 至 450 nm 為激發波長，量測其螢光光譜。
5. 各不同順鉑當量數修飾之 CLSEMs 經 50 倍稀釋後，以紫外光-可見光分光光度計量測上述分散液之吸收光譜。
6. 各不同順鉑當量數修飾之 CLSEMs 經 50 倍稀釋後，以感應耦合電漿光學發射光譜儀分析 CLSEMs 內之鉑金屬含量。
7. 不同順鉑當量數修飾與未修飾之 CLSEMs，各取 1 mL 分別加入 1 mL 乙酸乙酯震盪萃取，並將水層的微胞經 50 倍稀釋後，以感應耦合電漿光學發射光譜儀分析 CLSEMs 內之鉑金屬含量。

肆、研究結果與討論

一、超臨界流體萃取韭菜籽之萃取物成分



圖七：韭菜籽萃取物之 GC-MS 分析圖

經由超臨界流體萃取韭菜籽油得率(oil extraction)約為 2.76%，為淡黃色的澄清液體。圖七顯示經 GC-MS 分析，利用峰面積分對各成分進行定量分析，共鑑定出 11 種成分，如下表一。

表一：超臨界流體萃取韭菜籽成分

峰號	成分	保留時間 (min)	分子式	相似度 (0~100)
1	n-Hexadecanoic acid	3.432	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	99
2	9(Z),12(Z)-Octadecadienoic acid	3.752	C ₃₆ H ₆₄ O ₄	99
3	Octadecanoic acid	3.779	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	99
4	(Z,E)-7,11-Hexadecadien-1-yl acetate	4.137	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	90
5	Eicosanoic acid	4.219	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	97
6	Butyl 9,12-octadecadienoate	4.533	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	95
7	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	4.650	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	93
8	9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-, 2-hydroxy-1-(Hydroxymethyl)ethyl ester	5.309	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	99
9	Squalene	5.821	C ₃₀ H ₅₀	99
10	Vitamin E	8.135	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	99
11	Cholesterol	8.299	C ₂₇ H ₄₆ O	99

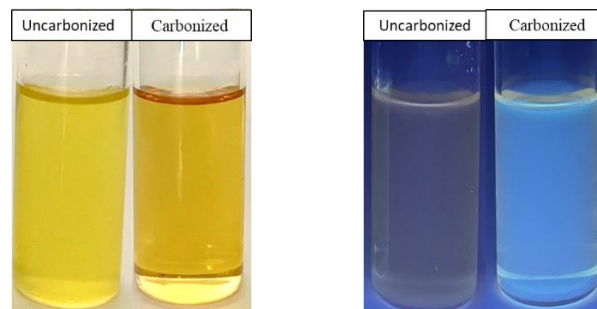
結果顯示，韭菜籽油的主要成分為脂肪酸，飽和脂肪酸以棕櫚酸(n-Hexadecanoic acid)為主，約占萃取物的 7.84%，不飽和脂肪酸以亞油酸(9(Z),12(Z)-Octadecadienoic acid)為主，約占 68.5%，其餘成分包含硬脂酸、鯊烯、維生素 E、不飽和酯類等。

由於超臨界流體具有黏度小、滲透力強等性質，可與韭菜籽充分接觸，將脂溶性成分完全萃取，避免其揮發和分解，且可保持萃取物之穩定性和完整性。

二、鑑定未碳化/碳化韭菜籽萃取物及其微胞的結構特性與光物理性質分析

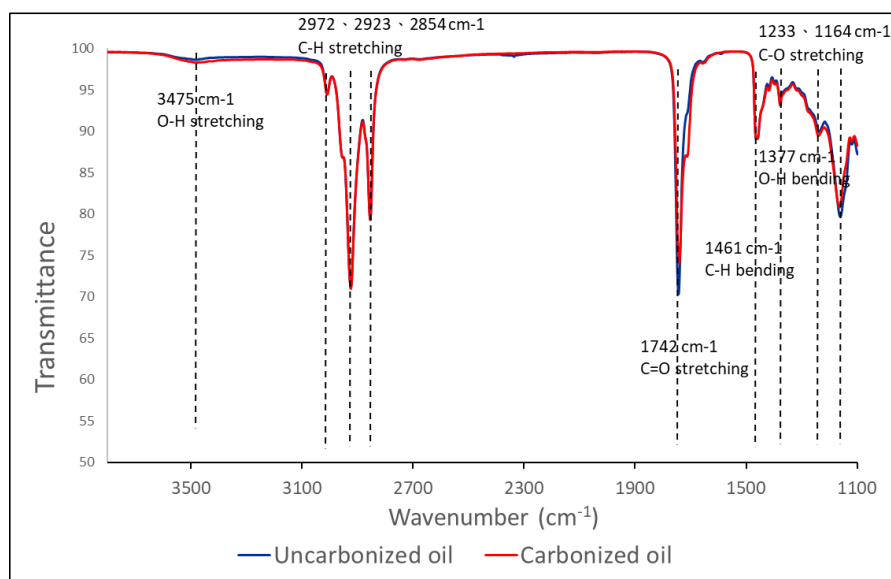
(一) 未碳化/碳化韭菜籽萃取物的結構特性與光物理性質分析

1. 未碳化/碳化韭菜籽萃取物之外觀



圖八：未碳化(左)/碳化(右) 韭菜籽萃取物在白光與紫外光下之外觀

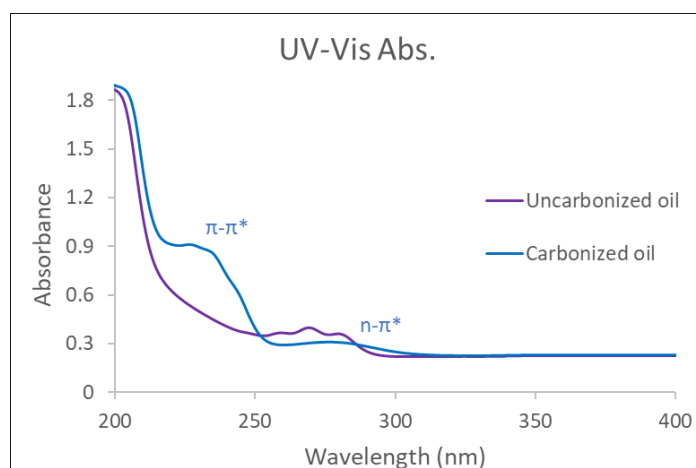
2. 反射式傅立葉紅外線光譜



圖九：未碳化/碳化韭菜籽萃取物之紅外線光譜圖

碳化與未碳化韭菜籽萃取物兩者 IR 光譜幾乎完全重疊，顯見兩者材料表面仍充滿相似的化學官能基團。

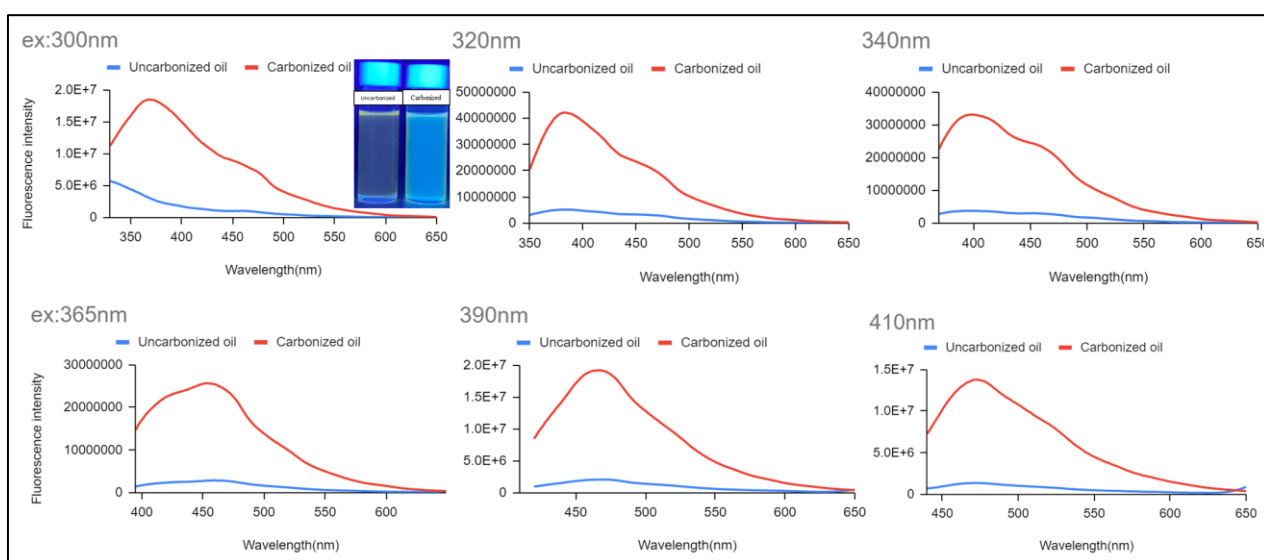
3. 紫外光-可見光吸收光譜



圖十：未碳化/碳化韭菜籽萃取物之吸收光譜圖

圖十顯示韭菜籽萃取物經高溫碳化後產生較多共軛性 π 電子結構，於 232 nm 附近多了一個強吸收峰，應屬於碳化韭菜籽萃取物共振骨架中 C=C 鍵的 $\pi-\pi^*$ 電子躍遷；而位於 286 nm 附近的小吸收峰推測是碳化萃取物表面孤對電子 (lone pair) 轉移至共振骨架 C=O 之 $n-\pi^*$ 電子躍遷，相較於未經高溫碳化前之吸收峰(273 nm)有顯著紅移狀況發生。

4. 螢光放光光譜

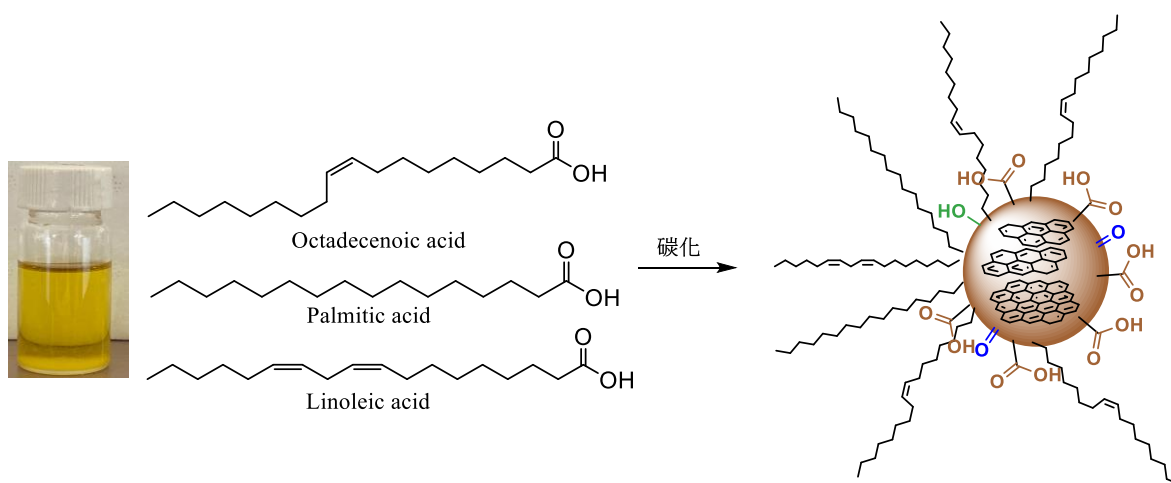


圖十一：未碳化/碳化韭菜籽萃取物之螢光光譜圖。

圖十一為各激發波長(300 至 410 nm)下兩者材料所得之螢光光譜，顯示經高溫碳化後之韭菜籽萃取物具有較強螢光放光，且當激發波長為 300 至 410 nm 時，放光波長由 370 nm 紅移到 460 nm，係為激發波長相關現象 (excitation wavelength

dependence))，與目前所發表之碳點螢光特性相似；而未碳化之韭菜籽萃取物於光激發下具有微弱螢光，此應係萃取物分子本身螢光特性。

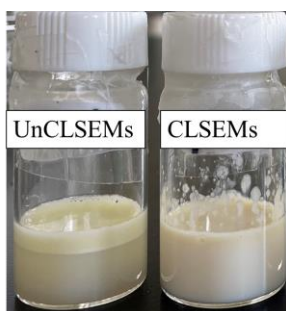
如圖十、十一所示，當韭菜籽萃取物經高溫碳化後其吸收光譜及螢光光譜有顯著之改變，且由表一可知，韭菜籽萃取物主要成分為脂肪酸，其中含量前三名為亞油酸(9(Z),12(Z)-Octadecadienoic acid)、棕櫚酸(n-Hexadecanoic acid)、油酸(Octadecanoic acid)，化學結構中含有 C=C 及 COOH 等官能基，於高溫下進行反應，透過鍵結、聚合及碳化等過程產生所謂之碳點。碳點中心結構主要以晶型或非晶結構的 sp^2/sp^3 碳團簇組成，且根據 IR 光譜圖可知，其表面與原來的萃取物具有相似的官能基，故我們推測碳點的結構如下圖十二。



圖十二：推測碳點的結構圖。

(二) 碳化/未碳化萃取物微胞粒徑分析

1. CLSEMs 及 UnCLSEMs 之奈米微胞

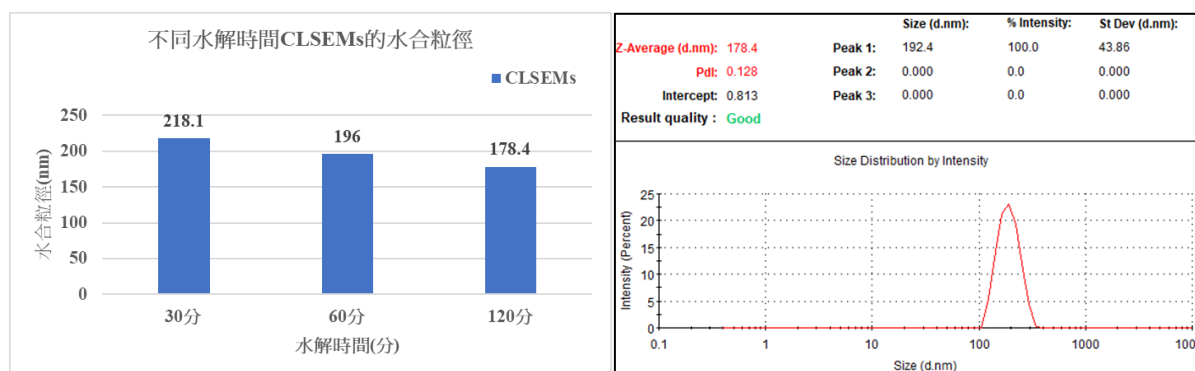


圖十三：CLSEMs 及 UnCLSEMs

圖十三所示為 CLSEMs 及 UnCLSEMs 在反應 120 分鐘後，靜置 30 分鐘之外觀，從圖可知 UnCLSEMs 於水溶液中分散情況不佳(顯著分層)，而 CLSEMs 外觀上分散狀況良好。

由於韭菜籽萃取物經碳化後產生碳點結構，且材料特性與及結構較為均勻一致，再透過鹼與材料表面之 COOH 或 COOR 等反應，讓其產生 COO⁻ (羧酸鹽)，因此在材料結構上產生部分親油端及部分親水端，故碳化韭菜籽萃取物在水溶液中可穩定形成微胞結構 CLSEMs；未經高溫碳化韭菜籽本身為混合物且以分子狀態呈現，經鹼與原本萃取物上所具有之 COOH 或 COOR 等反應產生 COO⁻，於水中時因萃取物混合物特性造成微胞不均勻且分層等狀況，因此後續研究皆以 CLSEMs 進行為主軸。

2. CLSEMs 之水解條件與微胞水合粒徑分析

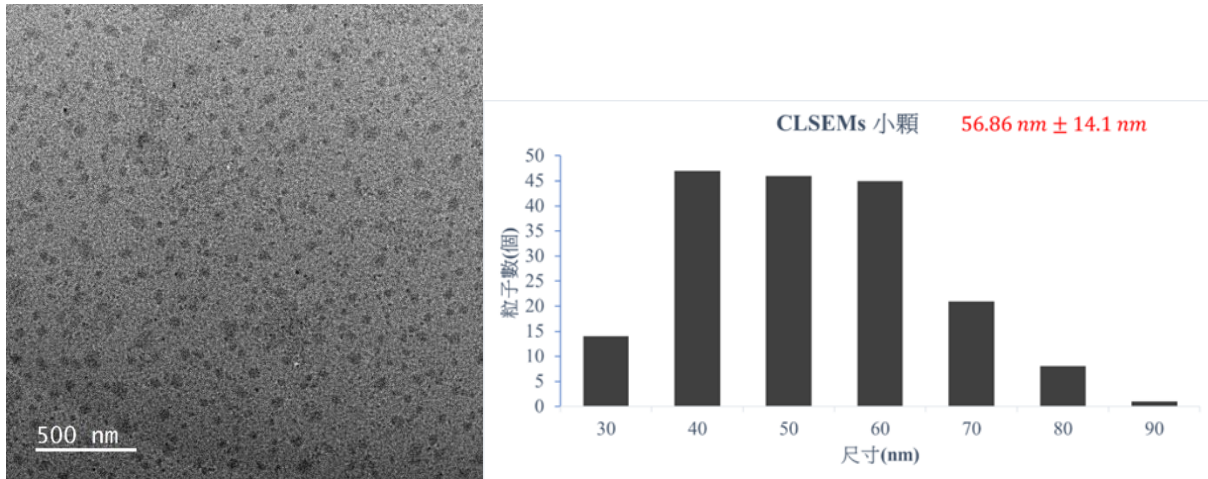


圖十四：不同水解時間 CLSEMs 之水合粒徑大小 圖十五：CLSEMs 之 DLS 量測數據

圖十四為 CLSEMs 與氫氧化鈉反應經超音波震動 30、60 及 120 分鐘後製備之 CLSEMs 粒徑大小，可知隨著反應時間增長，CLSEMs 粒徑由 218.1 nm 減少為 178.4 nm，且圖十五所示 DLS 所量測之粒徑大小均勻，為確保合成條件一致，後續研究之 CLSEMs 反應時間皆為 120 分鐘。

3. 碳化萃取物微胞(CLSEMs)的結構特性與光物理性質分析

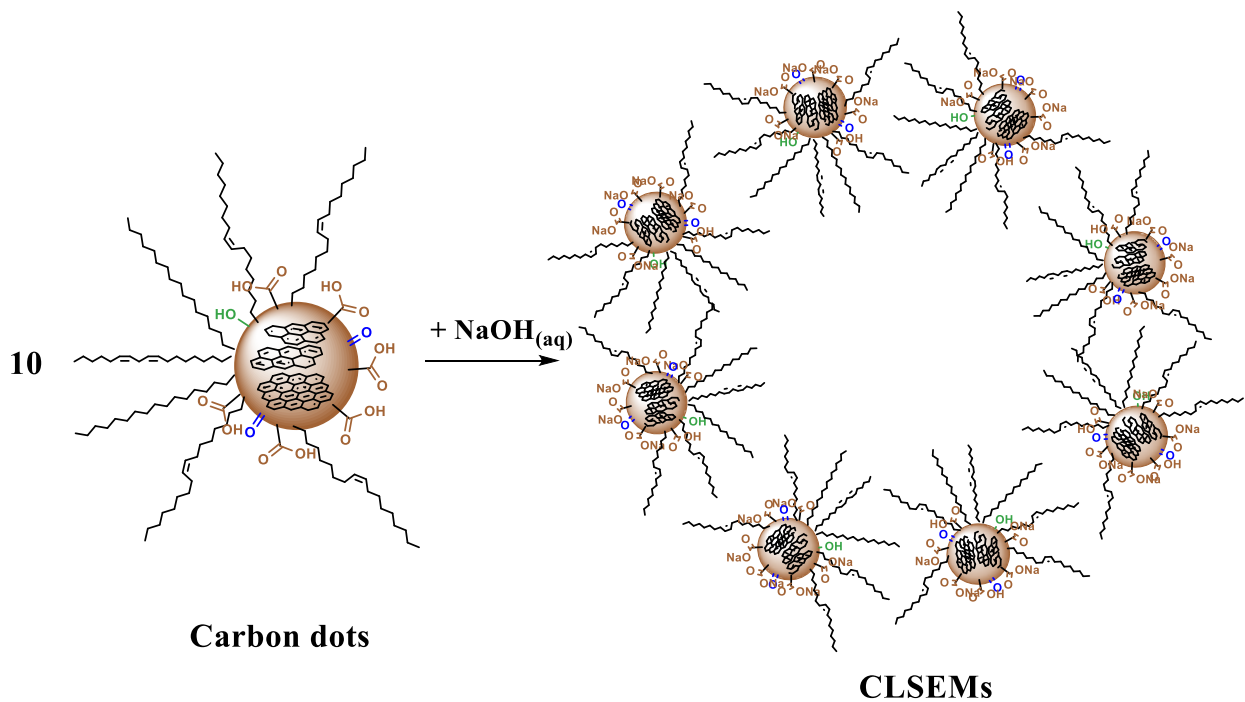
(1) CLSEMs 之 TEM 成像



圖十六：CLSEMs 之 TEM 圖與粒徑分布圖

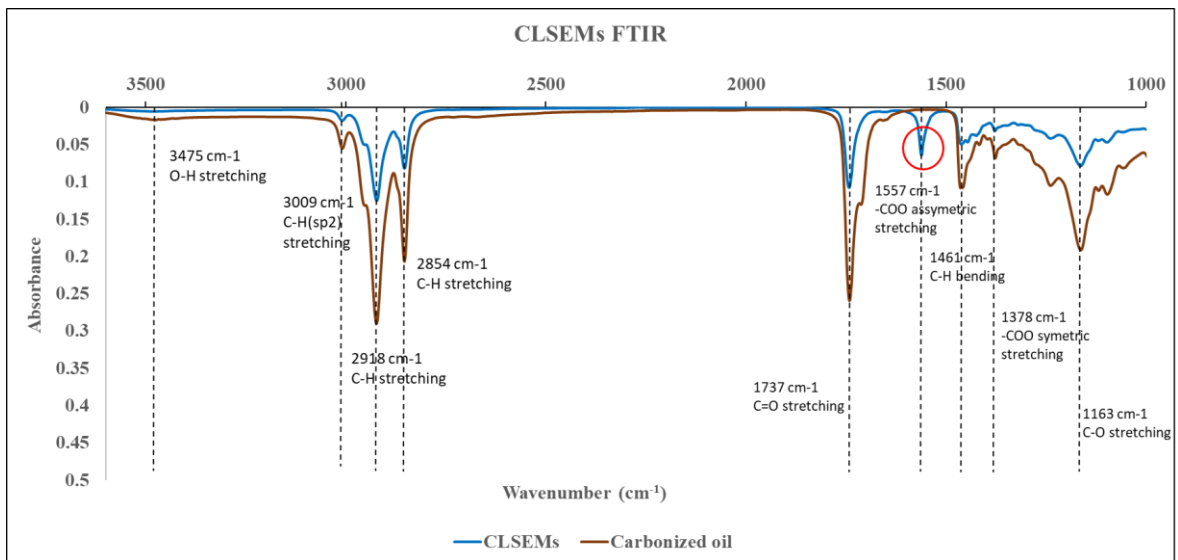
圖十六為 CLSEMs 之 TEM 圖，由於乾燥抽真空後微胞結構破壞，結果顯示單顆的碳點結構為球型，均一性佳，粒徑範圍為 30 至 80 nm，平均粒徑經計算為 56.9 ± 14.1 nm。

經由 TEM 圖及微胞水合粒徑大小，我們可推測 CLSEMs 於水中結構。由 TEM 所知單顆韭菜籽萃取物碳點平均粒徑為 56.9 nm，而微胞的水合粒徑大小平均為 178.4 nm，故經推算一顆 CLSEMs 於水中結構係由約 10 顆韭菜籽萃取物碳點聚集而成，形成親水端在外、親油端在內的微胞結構，如圖十七所示。



圖十七：推測 CLSEMs 之結構圖。

(2) CLSEMs 之反射式傅立葉紅外線光譜

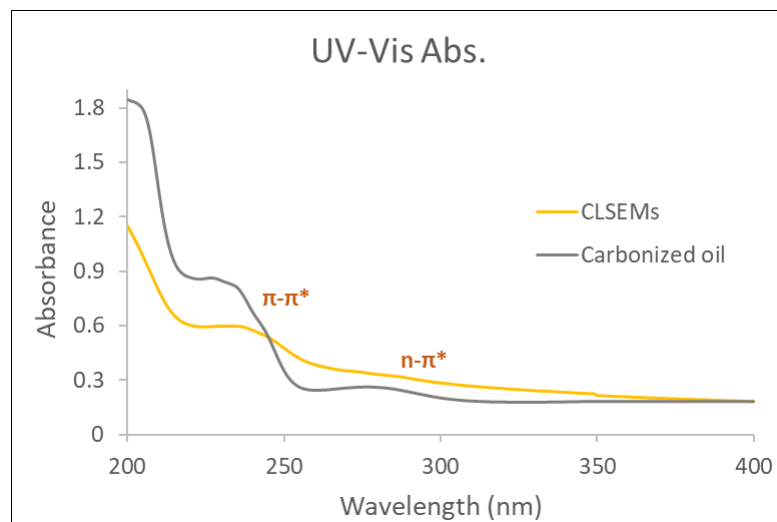


圖十八：CLSEM 之紅外線光譜圖

圖十八為 CLSEMs 之 IR 圖，結果顯示 CLSEMs 於 3475 cm⁻¹ 處有個微弱的 OH 延伸振動訊號(stretching)、於 3009、2918 及 2854 cm⁻¹ 均為 CH 延伸振動訊號、於 1737 及 1557、1378、1163 cm⁻¹ 均為 CO 延伸振動訊號，1461 cm⁻¹ 為 CH 彎曲振動訊號 (bending)。

當碳化韭菜籽萃取物在鹼性下製備微胞 CLSEMs，原本 COOH 的氫被鹼中和後形成 COO⁻¹，因此相較於碳化萃取物的 IR 光譜，CLSEMs 的 3475 cm⁻¹ OH 訊號消失，且產生了 1557 cm⁻¹ COO⁻¹ 的不對稱延伸振動訊號。

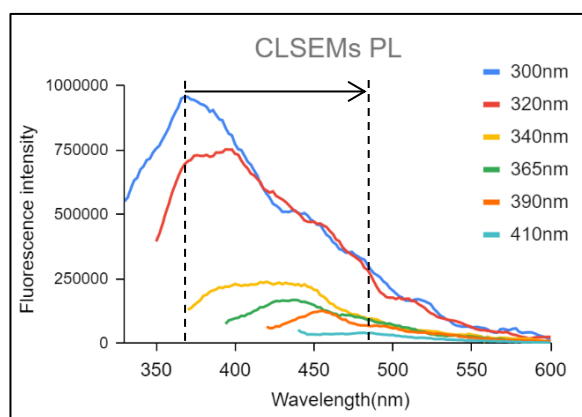
(3) CLSEMs 之紫外光-可見光吸收光譜



圖十九：CLSEMs 之吸收光譜圖

圖十九顯示 CLSEMs 於 240 nm 處有一吸收峰及一個介於 265-320 nm 間的吸收拖尾，分別係 $\pi \rightarrow \pi^*$ 及 $n \rightarrow \pi^*$ 電子躍遷所致。從圖中看出碳化萃取物形成微胞後，因鹼性下產生 COO^{-1} ，造成負電增加、電子密度變大，進而提供至 $\pi \rightarrow \pi^*$ 及 $n \rightarrow \pi^*$ 系統，產生訊號紅位移的現象。

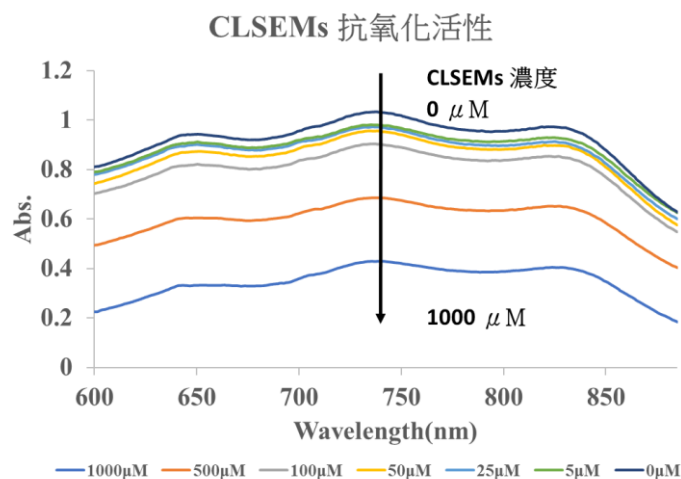
(4) CLSEMs 之螢光放光光譜



圖二十：CLSEMs 之螢光光譜圖

圖二十為 CLSEMs 之 PL 圖，量測結果顯示，當激發波長為 300 至 410 nm 時，放光波長由 370 nm 紅移到 480 nm，係為激發波長相關現象。

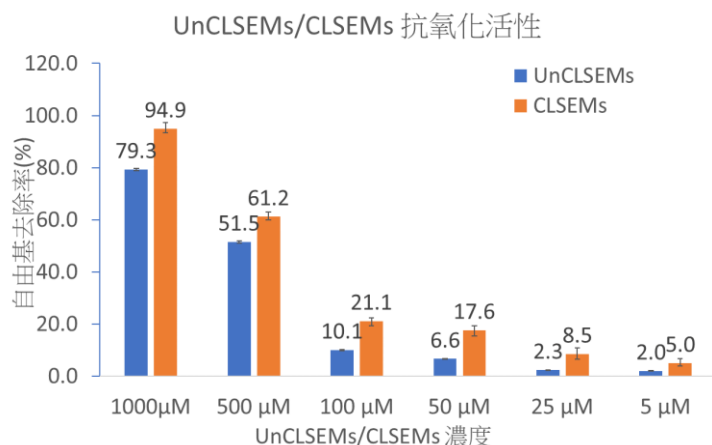
三、 UnCLSEMs、CLSEMs 抗氧化特性



圖二十一：CLSEMs 對 ABTS 之抗氧化能力 UV-Vis 吸收光譜圖

圖二十一呈現 CLSEMs 還原 ABTS 自由基之能力，實驗結果顯示反應 2 小時後，ABTS 陽離子自由基之特徵吸收峰 734 nm 下降。隨 CLSEMs 濃度由 5 uM 提高至 1000 uM 後，自由基除去率由 5.0% 提高至 94.9%，顯見 CLSEMs 有提供電子的能力，具有抗

氧化活性，推測應係 CLSEMs 表面上之 OH 基或碳核中 sp^2 共軛雙鍵之碳原子所提供之電子。



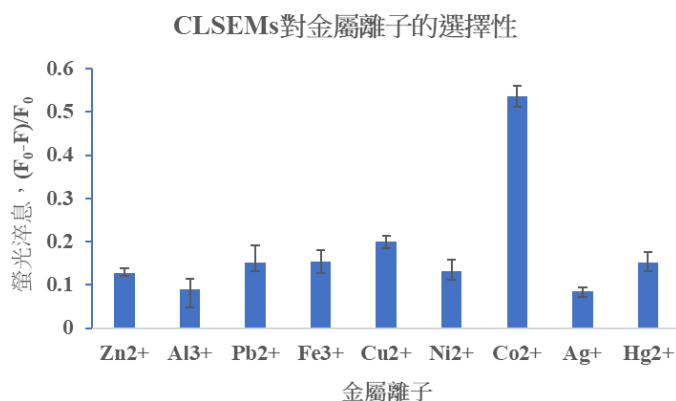
圖二十二：UnCLSEMs、CLSEMs 對 ABTS 自由基去除率比較圖

圖二十二呈現不同濃度 CLSEMs 與 UnCLSEMs 還原 ABTS 自由基之能力，實驗結果顯示反應 2 小時後，不論在什麼濃度下，CLSEMs 對 ABTS 自由基去除率皆較高。推測是由於碳化後的 CLSEMs 具有較多共軛的雙鍵，更易提供電子，因此對於 ABTS 自由基還原能力較好，抗氧化效果較佳。

四、 CLSEMs 對金屬離子的感測

(一) 選擇性的測試

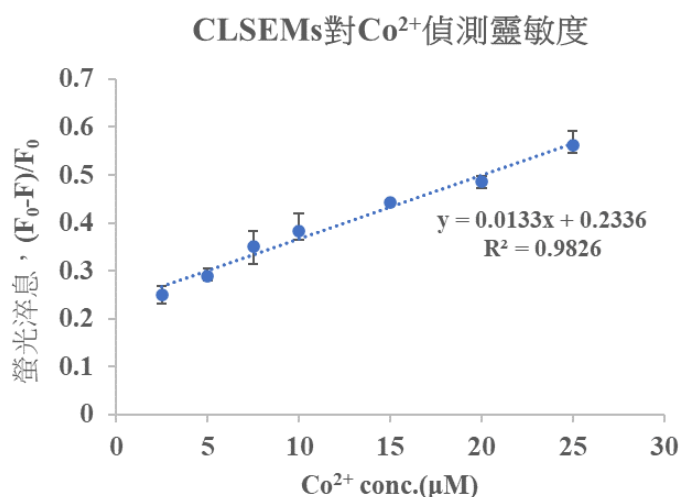
圖二十三顯示，CLSEMs 對不同金屬離子 (Zn^{2+} 、 Al^{3+} 、 Pb^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ag^+ 、 Hg^{2+}) 在相同的條件下選擇性測試結果。CLSEMs 有高的金屬離子選擇性，對於 Co^{2+} 呈現顯著的螢光淬息，其他離子則無顯著的螢光淬息或增強。



圖二十三：CLSEMs 對各種金屬離子的選擇性測試

(二) 對特定金屬鈷離子的感測能力

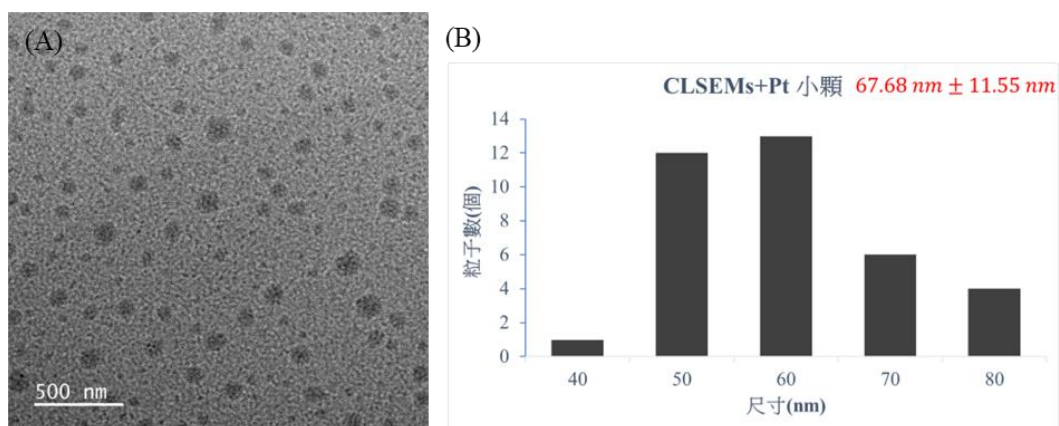
不同濃度的 Co^{2+} 對 CLSEMs 螢光淬息能力如圖二十四所示，其線性範圍介於 2.5 至 25 μM ，最低偵測極限依 $3\delta/m$ 計算 (δ 為空白標準偏差； m 為線性關係斜率) 得 1.7 μM 。



圖二十四：CLSEMs 對金屬離子 Co^{2+} 靈敏度測試

五、 鑑定順鉑修飾之碳化萃取物微胞的結構特性與光物理性質分析

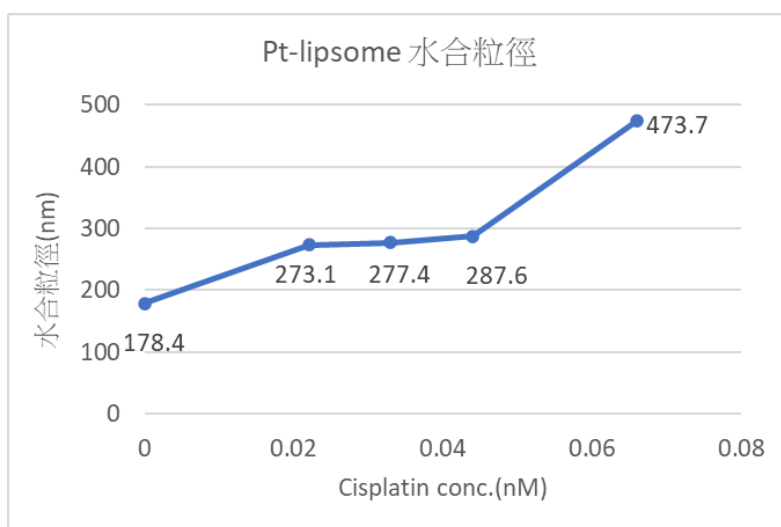
(一) 順鉑修飾 CLSEMs 之 TEM 成像



圖二十五：(A)順鉑修飾 CLSEMs 之 TEM 圖、(B)粒徑分布圖

圖二十五(A)為順鉑修飾 CLSEMs 之 TEM 圖，顯示結果為球型，均一性佳，圖二十五(B)為尺寸分布圖，其粒徑範圍為 40 至 80 nm，平均粒徑經計算為 67.8 ± 11.6 nm，與原先之 CLSEMs 粒徑及形狀相當。

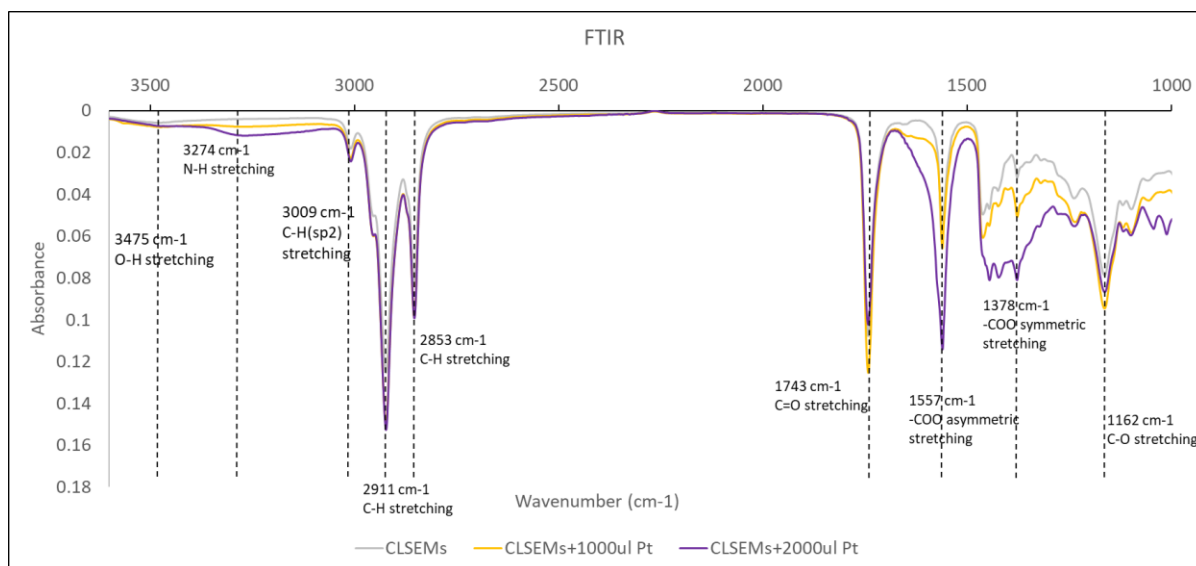
(二) 順鉑修飾 CLSEMs 之水合粒徑大小



圖二十六：順鉑修飾 CLSEMs 之 DLS 微胞水合粒徑分布

圖二十六為不同濃度順鉑修飾 CLSEMs 之水合粒徑大小，當修飾上鉑的 CLSEMs 粒徑由 178.4 nm 增加至 280 nm 左右，惟當順鉑濃度提高至 0.066 nM 時，粒徑突然增加至 473.7 nm，並開始聚集沉澱無法以微胞形式穩定分散於水中。

(三) 順鉑修飾 CLSEMs 之反射式傅立葉紅外線光譜



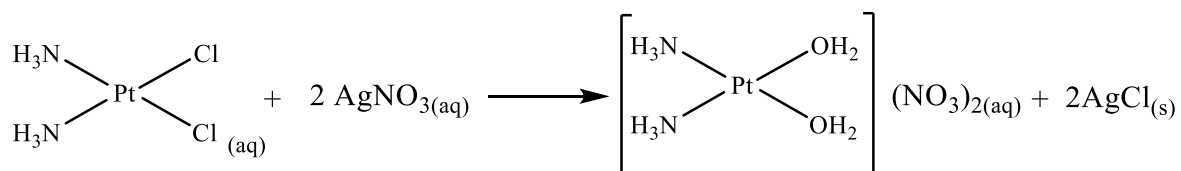
圖二十七：順鉑修飾 CLSEMs 之紅外線光譜圖

圖二十七為不同順鉑當量數修飾 CLSEMs 之 IR 圖，當修飾鉑當量數提高時，IR 於 3274、1557 及 1378 cm⁻¹ 處訊號有顯著提升或改變，分別係鉑水合錯合物上的 NH 延伸振動訊號(stretching)、CLSEMs 上 COO⁻¹ 的不對稱延伸振動訊號及 COO⁻¹ 的對稱延伸振動訊號。

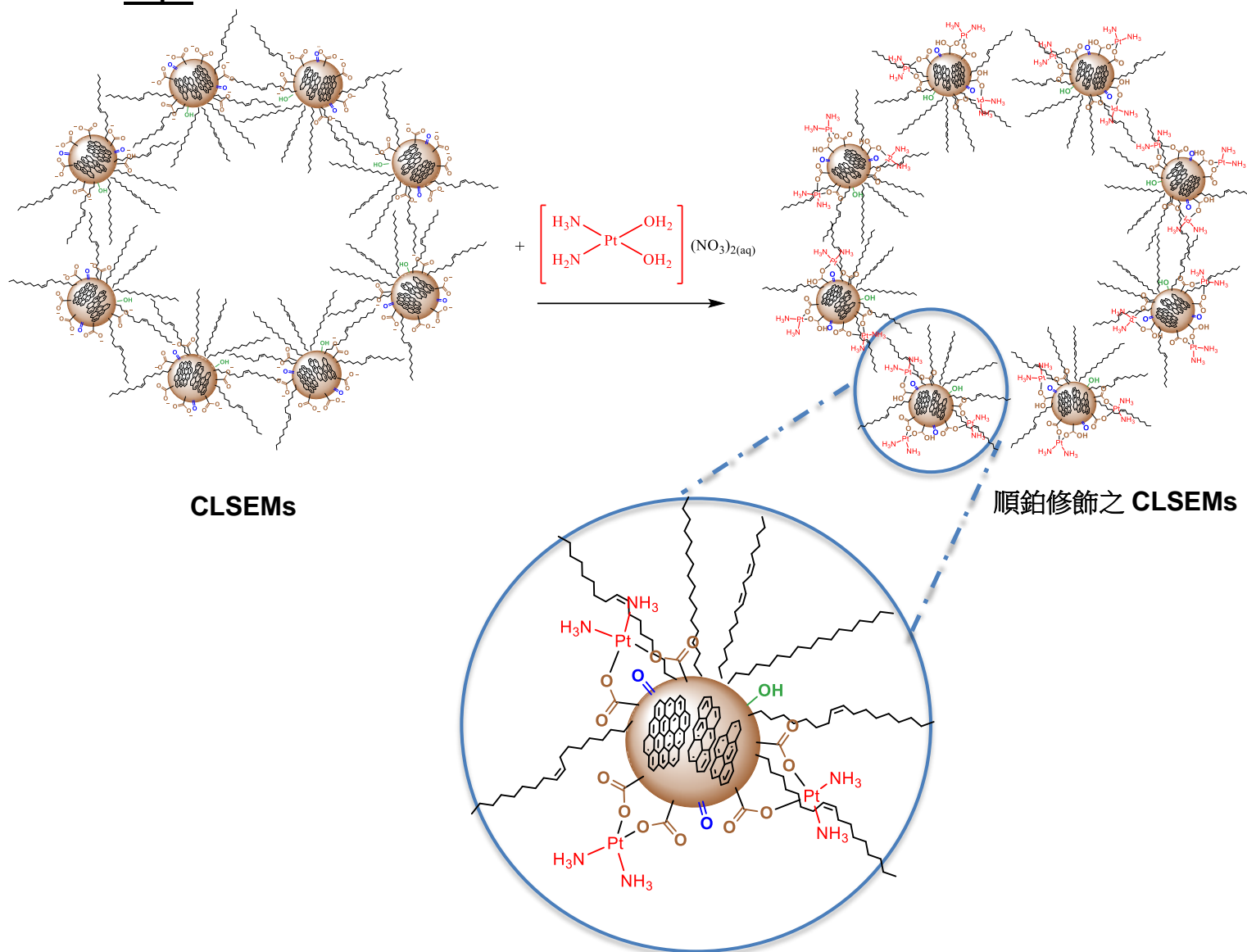
且根據文獻^{[7][8]}，羧酸鹽與 Pt 配位應是屬於單芽基配位(unidentate)，當 COO⁻¹ 與 Pt 錯合後，COO⁻¹ 之 O(氧原子)的電子對共振至 CO 上減弱，因而造成 COO⁻¹ 的不對稱延伸振動訊號(1557 cm⁻¹)、對稱延伸振動訊號(1378 cm⁻¹)均增強。因此由 IR 光譜可證明順鉑有成功修飾至 CLSEMs 上。

進一步推測順鉑修飾於 CLSEMs 之反應機制與結構圖如下：

Step.1

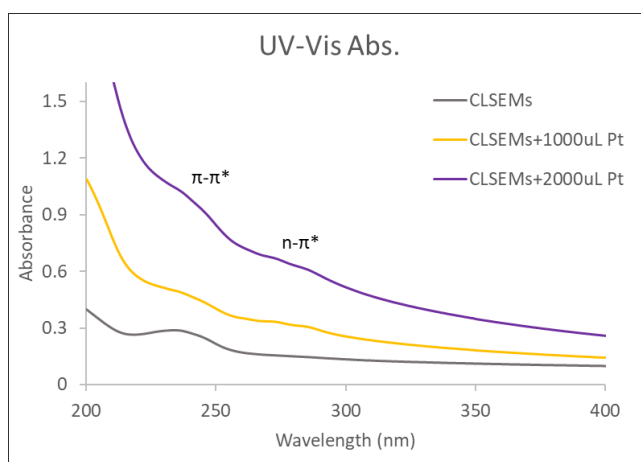


Step.2



圖二十八：順鉑修飾於 CLSEMs 之反應機制與結構圖

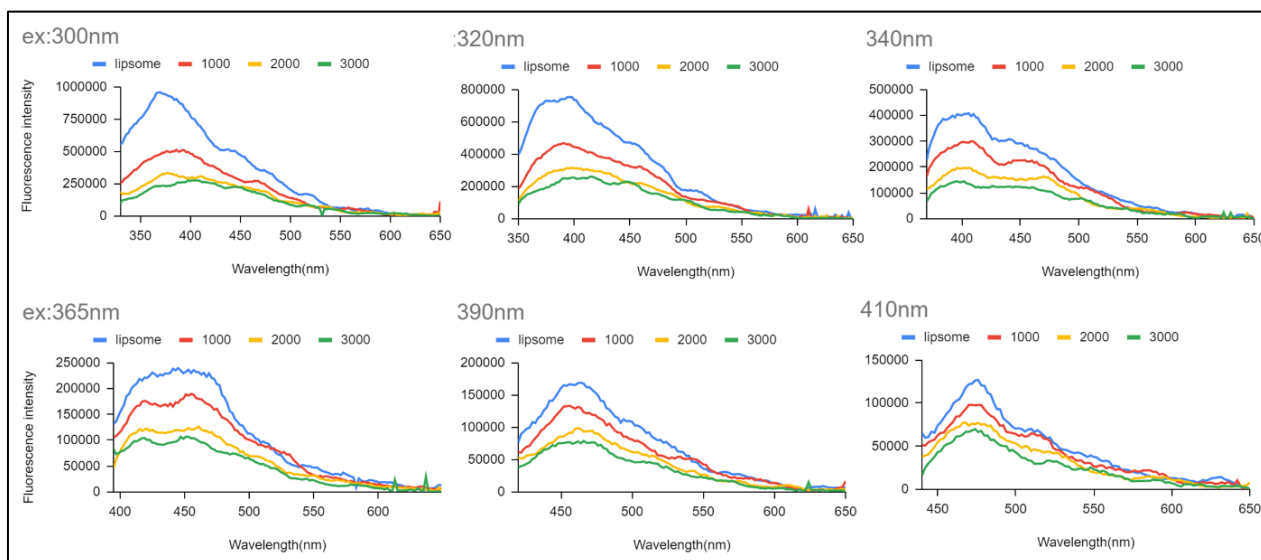
(四) 順鉑修飾 CLSEMs 之紫外光-可見光吸收光譜



圖二十九：順鉑修飾 CLSEMs 之吸收光譜圖

圖二十九顯示順鉑修飾 CLSEMs 於 240 nm 處有一吸收峰及一個介於 265-320 nm 間的吸收拖尾分別係 $\pi \rightarrow \pi^*$ 及 $n \rightarrow \pi^*$ 電子躍遷所致。修飾上順鉑的當量數越多時，推測因接上 Pt 後，偶極矩增強造成 UV 吸收值變大。

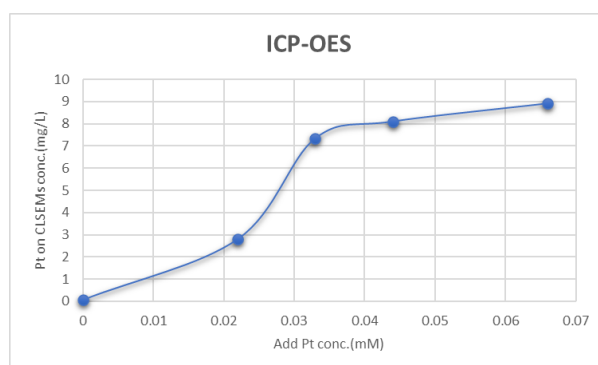
(五) 順鉑修飾 CLSEMs 之螢光放光光譜



圖三十：順鉑修飾 CLSEMs 螢光放光光譜圖

圖三十為不同順鉑當量數修飾 CLSEMs 於各激發波長之 PL 圖，結果顯示當修飾鉑當量數提高時，CLSEMs 之螢光強度顯著下降，主要應係鉑錯合物鍵結於 CLSEMs 表現官能基上，進而干擾螢光放光效率。

(六) 順鉑修飾 CLSEMs 之感應耦合電漿光學發射光譜儀分析鉑金屬含量

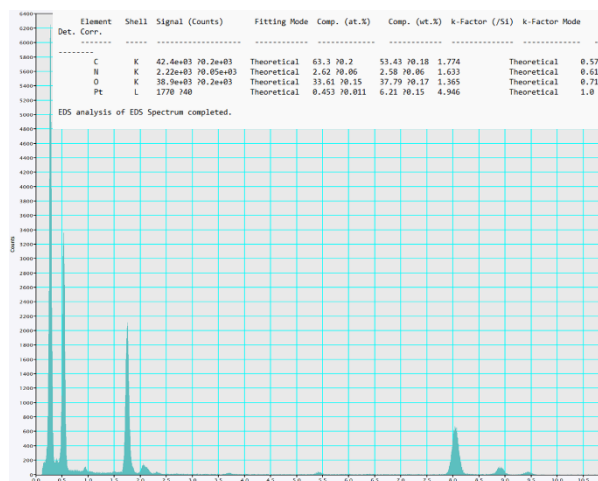


圖三十一：順鉑修飾 CLSEMs 之 ICP-OES 分析鉑金屬含量圖

圖三十一以 ICP-OES 量測不同順鉑當量數修飾 CLSEMs 內之鉑金屬濃度，結果顯示當順鉑反應條件當量數提高時，濃度為 178 mg L^{-1} 之 CLSEMs 所測得之鉑含量從 0 提高至 8.9 mg L^{-1} ，藉由重量換算，可推測鉑於 CLSEMs 微胞上的重量百分比為 4.76%，顯見順鉑當量數提高時鍵結於 CLSEMs 表面上之順鉑也會增加。但當順鉑反應濃度達 0.04 mM 時，CLSEMs 表面上之順鉑也趨近反應位置飽和，所得鉑之重量百分比為 4.36%，與表二利用 TEM 量測能量散射 X 射線譜(EDS)元素分析所得結果 6.21% 接近。

表二：順鉑修飾 CLSEMs 之 EDS 元素分析




Element	Comp.(wt%)
C	53.42
N	2.58
O	37.79
Pt	6.21



圖三十二：EDS 元素分析結果光譜

(七) 順鉑修飾/未修飾 CLSEMs 之親水親油性的測定

表三：順鉑修飾 CLSEMs 與 CLSEMs 對水和乙酸乙酯之溶解度比較

	CLSEMs+ 0.03 mM 順鉑	CLSEMs+ 0.02 mM 順鉑	CLSEMs
外觀	微胞結構穩定分散於 水層 	微胞結構穩定分散於 水層 	水層微胞結構瓦解， 溶於有機層 
原水層中 Pt 含量	5.560 mg/L	3.431 mg/L	0 mg/L
加入 EA 後 Pt 含量	4.810 mg/L	2.497 mg/L	0 mg/L
水層剩下微胞的比例	86.51%	72.78%	0%
對水的親合力	大 \longrightarrow 小		

表三為不同順鉑當量數修飾 CLSEMs 於水層與乙酸乙酯有機層的溶解度比較，從外觀結果可看出當修飾順鉑當量數提高時，CLSEMs 親水性增加，且仍以微胞的形式分散於水中；反之，未修飾順鉑的 CLSEMs，對乙酸乙酯的溶解度增加，溶於有機層後微胞的結構瓦解。

接著以 ICP-OES 針對加入有機溶劑乙酸乙酯前後，水層中 CLSEMs 之 Pt 含量進行分析，以推測水層中微胞的含量的變化。由實驗結果發現當加入順鉑的濃度為 0.03 mM 時，微胞中 Pt 的含量從原來 5.560 mg/L 下降至 4.810 mg/L，推測出水層剩下微胞的比例為 86.51%；當加入順鉑的濃度為 0.02 mM 時，微胞中 Pt 的含量從原來 3.431 mg/L 下降至 2.497 mg/L，推測出水層剩下微胞的比例為 72.78%。由此結果可知當修飾上的順鉑量越多，微胞的親水性增加，推測係由於鉑錯合物上 NH_3 配位基數量隨著修飾上順鉑的量增加而增加，可與水形成的氫鍵數量變多，因此更穩定分散於水中。

伍、結論與未來展望

一、 結論

- (一) 利用超臨界二氧化碳萃取韭菜籽，不需加入共溶劑即可萃取。而萃取物經分析後其主要成分為脂肪酸，以亞油酸比例最高(68.5%)、棕櫚酸次之(7.84%)，其餘成分包含亞油酸甘油酯、硬脂酸、鯊烯、維生素 E 等。
- (二) 利用快速且符合綠色化學的方式，以高壓釜乾燒韭菜籽萃取物製備出碳化韭菜籽萃取物，實驗探討發現碳化韭菜籽萃取物表面仍有豐富的官能基團，具有激發波長相關光致放光之特性相似碳點。
- (三) 碳化韭菜籽萃取物，在鹼性下水解可製備出碳化韭菜籽萃取物微胞(CLSEMs)，在水中的分散性與穩定性佳。透過 ABTS 抗氧化活性測試結果，可證實 CLSEMs 具有自由基清除與抗氧化的效果，且相較於未碳化的韭菜籽萃取物微胞，其抗氧化效果更好。
- (四) CLSEMs 具有激發波長相關光致放光之特性，其最佳的放光波長為 386 nm。在九種金屬離子中，對 Co^{2+} 具有最佳的感測選擇性，可造成微胞螢光淬息的現象。而針對 Co^{2+} 的感測，其線性範圍介於 2.5 至 25 μM ，最低偵測極限為 1.7 μM 。
- (五) 本研究成功將不同當量數的抗癌藥物順鉑修飾於 CLSEMs 上，其所含鉑金屬最高可達 4.7%，且修飾上順鉑的 CLSEMs，其微胞結構在水中的穩定度更佳，在後續抗癌效果的實驗中有良好的發展潛力。

二、 未來展望

由於奈米藥物具有高載藥量並能有效降低藥物的副作用，本研究所合成製備之順鉑修飾 CLSEMs 可均勻分散於水中且所含鉑金屬達 4.7%，另 CLSEMs 本身具有長有機碳鏈有機會提高藥物穿越細胞膜之能力，有利後續順鉑與 DNA 鍵結機會，以抑制癌細胞生長。同時亦可嘗試在 CLSEMs 內部包覆其他的抗癌藥物，以期能進行合併療法，提升抗癌效果，惟後續實驗需仰賴大學以上或研究所之資源與設備，並投入醫學與生物領域人員才能對本研究所開發之順鉑修飾 CLSEMs 進行完整評估。

陸、參考文獻資料

1. 紀程中(2018)以超臨界二氧化碳自生薑黃中萃取 6-薑醇與抗氧化活性之研究。台北科技大學。碩士論文。
2. 盧怡廷(2016)開發搭載親水性藥物順鉑及疏水性藥物厚朴酚複合性高分子載體應用於癌症治療。台灣科技大學。碩士論文。
3. 馬志虎、侯喜林、湯興利(2010)。超臨界 CO₂ 萃取韭菜籽油成分的 GC-MS 分析。 *西北植物學報*, 30(2), 0412-0416。
4. Wang, Z., Li, Y., Zhang, T., Li, H., Yang, Z., & Wang, C. (2021). Effect of Micelle-Incorporated Cisplatin With Sizes Ranging From 8 to 40 nm for the Therapy of Lewis Lung Carcinoma. *Front Pharmacol*, 12, 632877. doi:10.3389/fphar.2021.632877
5. Hu, G., Ge, L., Li, Y., Mukhtar, M., Shen, B., Yang, D., & Li, J. (2020). Carbon dots derived from flax straw for highly sensitive and selective detections of cobalt, chromium, and ascorbic acid. *J Colloid Interface Sci*, 579, 96-108. doi:10.1016/j.jcis.2020.06.034
6. Pourmadadi, M., Eshaghi, M. M., Rahmani, E., Ajalli, N., Bakhshi, S., Mirkhaef, H., . . . Díez-Pascual, A. M. (2022). Cisplatin-loaded nanoformulations for cancer therapy: A comprehensive review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 77. doi:10.1016/j.jddst.2022.103928
7. Hay, M. B., & Myneni, S. C. B. (2007). Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. Part 1: Infrared spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 71(14), 3518-3532. doi:10.1016/j.gca.2007.03.038
8. Jia, X., Ma, J., Xia, F., Xu, Y., Gao, J., & Xu, J. (2018). Carboxylic acid-modified metal oxide catalyst for selectivity-tunable aerobic ammoxidation. *Nat Commun*, 9(1), 933. doi:10.1038/s41467-018-03358-x

【評語】 050203

本研究利用二氧化碳超臨界流體萃取韭菜籽並進行分析，不需加入共溶劑即可萃取。而萃取物經分析後其主要成分為脂肪酸，以亞油酸比例最高(68.5%)。利用高壓釜乾燒韭菜籽萃取物製備出碳化韭菜籽萃取物，發現表面仍有豐富的官能基團，具有激發波長相關光致放光之特性。碳化韭菜籽萃取物在鹼性下水解可製備出碳化韭菜籽萃取物微胞(CLSEMs)。透過 ABTS 抗氧化活性測試，證實 CLSEMs 具有自由基清除與抗氧化的效果，並成功將不同當量數的抗癌藥物順鉑修飾於 CLSEMs 上，其所含鉑金屬最高可達 4.7%。因 CLSEMs 具有有機長碳鏈，有機會提高藥物穿過細胞膜之能力，以利順鉑與 DNA 鍵結，有發展成新型抗癌藥物之潛能。唯只要是適合鏈長的脂肪酸，都會形成微胞 (CLSEMs)，不一定要用碳化韭菜籽萃取物。且市面上已經有治療用的攜帶抗癌藥如 Doxorubicin 的微脂體(Lipo-Dox)。

作品海報



超臨界流體製備韭菜籽萃取物 碳化微胞及其潛在應用

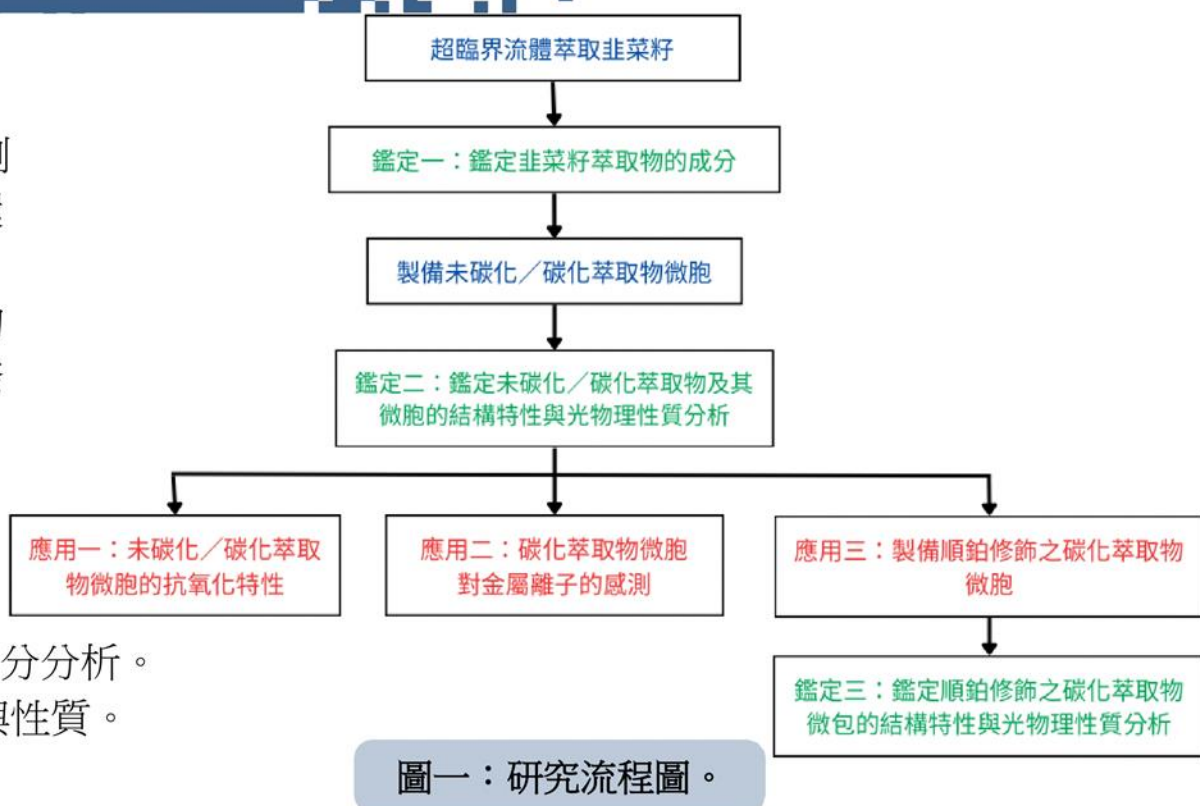
壹、前言

研究動機：

常見萃取法如壓榨法得油率較低，而有機溶劑萃取法有溶劑回收及殘留的問題，故我們使用對環境友善之技術—超臨界流體萃取法萃取韭菜籽，再進行碳化與製備成微胞，並探討其結構特性與光物理性質，進一步應用於抗氧化能力、離子感測及奈米藥物載體等用途。

研究目的：

1. 以超臨界二氧化碳技術萃取韭菜籽，與萃取物成分分析。
2. 製備未碳化 / 碳化萃取物微胞，並探討其結構與性質。
3. 探討碳化韭菜籽萃取物微胞之應用。



圖一：研究流程圖。

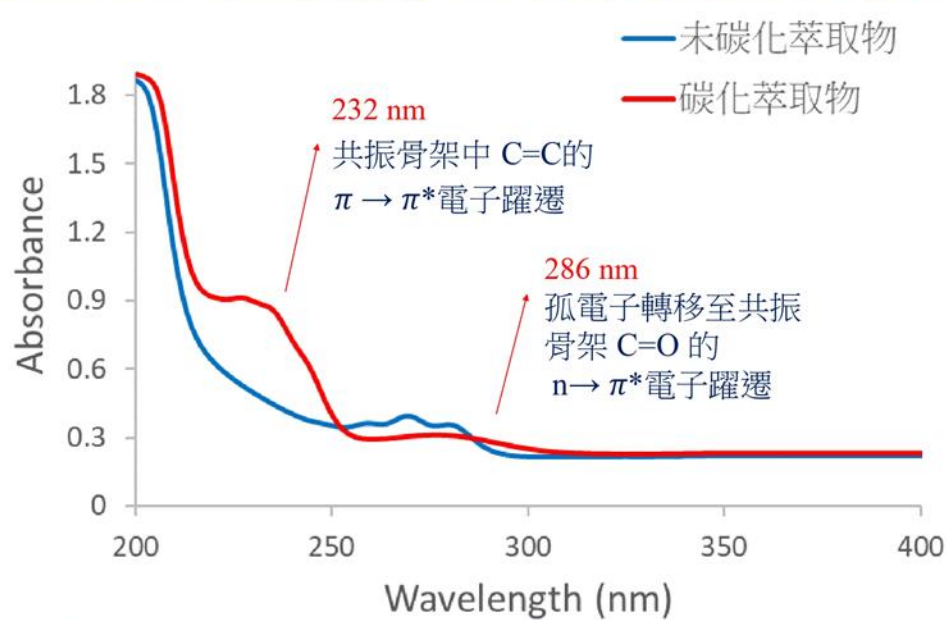
貳、研究結果與討論

一、韭菜籽萃取物成分、未碳化 / 碳化萃取物之結構與性質分析

表一：超臨界流體萃取韭菜籽成分。

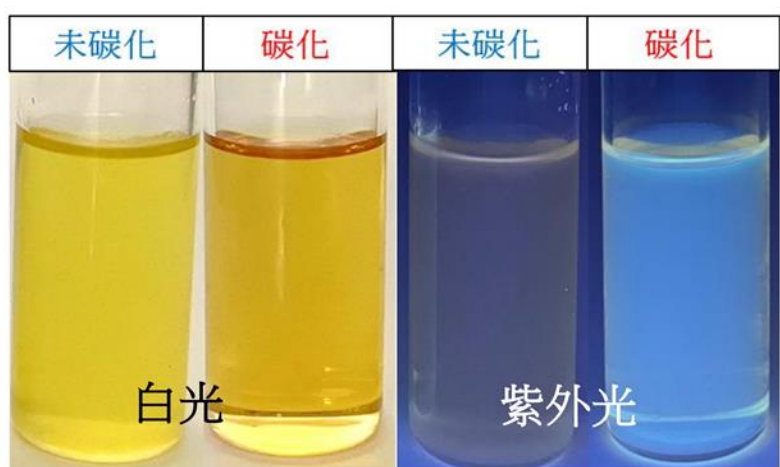
峰號	成分	分子式	吻合度 (0~100)
1	n-Hexadecanoic acid 棕櫚酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	99
2	9(Z),12(Z)-Octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	99
3	Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	99
4	(Z,E)-7,11-Hexadecadien-1-yl acetate	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	90
5	Eicosanoic acid 亞油酸	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	97
6	Butyl 9,12-octadecadienoate	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	95
7	Hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	93
8	9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-, 2-hydroxy-1-(Hydroxymethyl)ethyl ester	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	99
9	Squalene	C ₃₀ H ₅₀	99
10	Vitamin E	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	99
11	Cholesterol	C ₂₇ H ₄₆ O	99

- 超臨界流體萃取條件：60°C、5000 psi
- GC-MS鑑定萃取物成分：主要以**脂肪酸**為主。

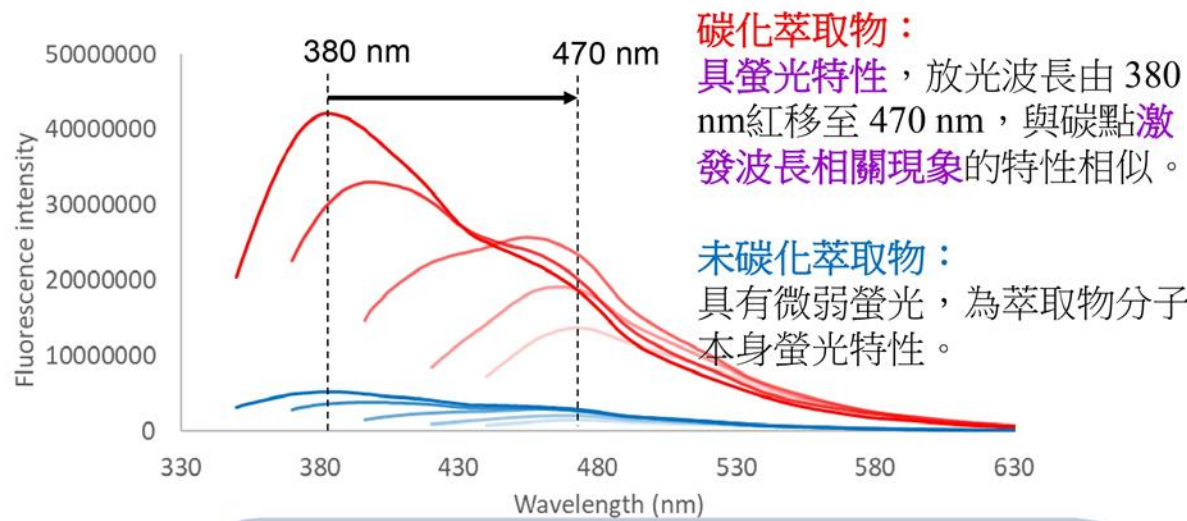


圖二：未碳化 / 碳化韭菜籽萃取物之吸收光譜圖。

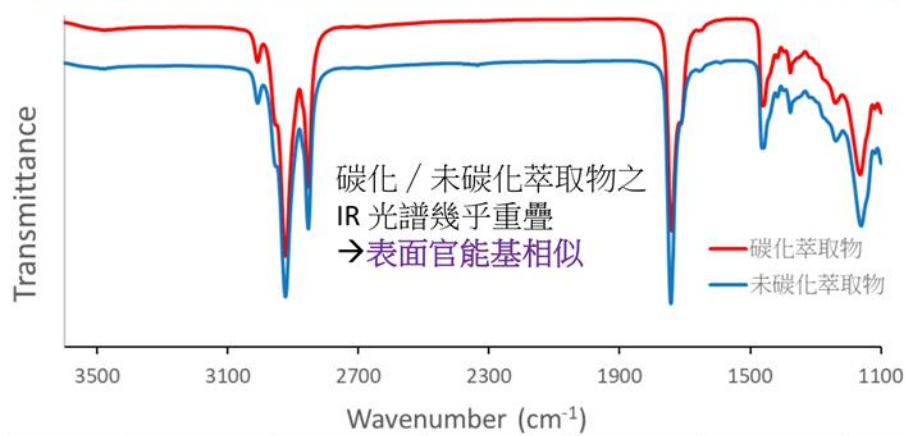
- 高溫碳化後，會產生碳核，具有較多共軛性π電子結構，可看到**C=C的π → π*電子躍遷**、材料表面**C=O之n → π*電子躍遷**。



圖三：韭菜籽萃取物之外觀，未碳化(左) / 碳化(右)。



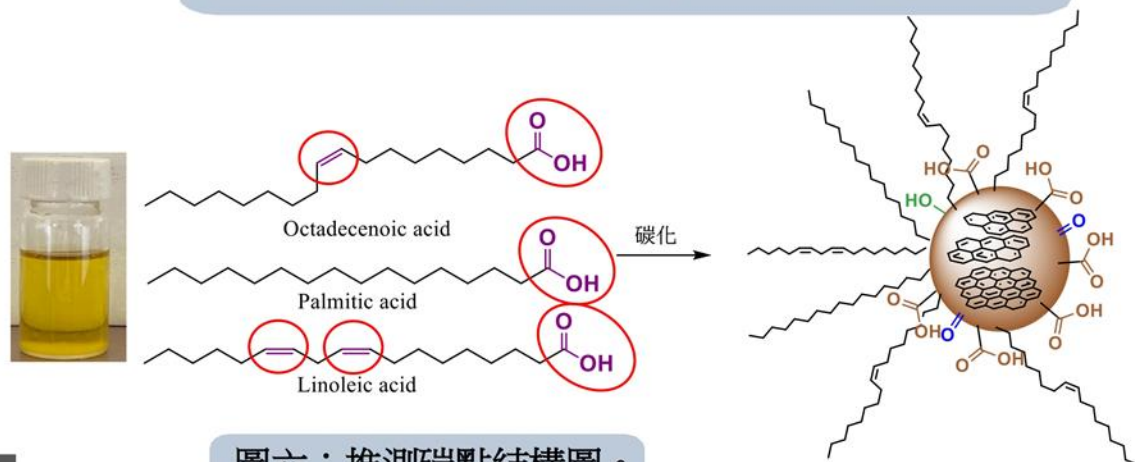
圖四：未碳化 / 碳化韭菜籽萃取物之螢光放光光譜。



碳化 / 未碳化萃取物之 IR 光譜幾乎重疊
→ 表面官能基相似

官能基	O-H stretching	C-H stretching	C=O stretching	C-H bending	O-H bending	C-O stretching
吸收頻率 (cm ⁻¹)	3475	2972、2923、2854	1742	1459	1377	1233、1164

圖五：未碳化 / 碳化韭菜籽萃取物之紅外線光譜圖。

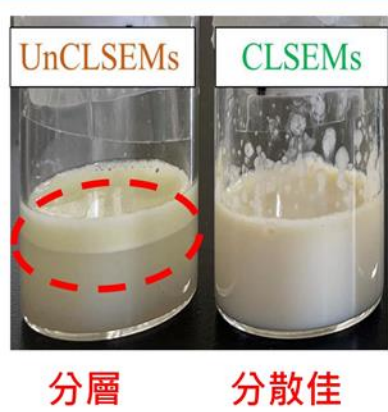


圖六：推測碳點結構圖。

萃取物主要成分的化學結構含有**C=C**及**COOH**等官能基，**透過鍵結聚合及碳化產生碳點**。

- 碳核：晶型或非晶型的sp² / sp³碳團簇組成
- 碳點表面：具與未碳化萃取物相似的官能基

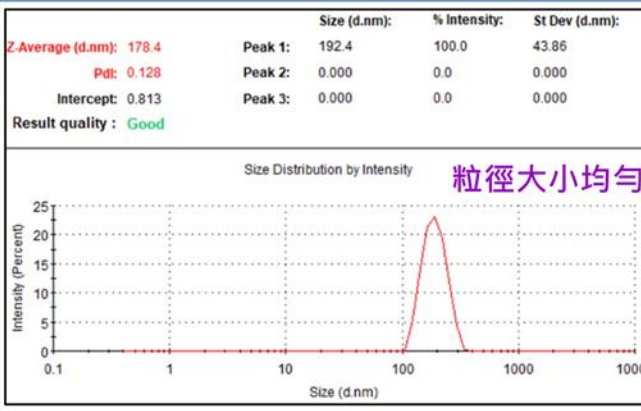
二、碳化 / 未碳化萃取物微胞(CLSEMs / UnCLSEMs)之粒徑分析



分層 分散佳



圖八：不同水解時間CLSEMs之水合粒徑大小。

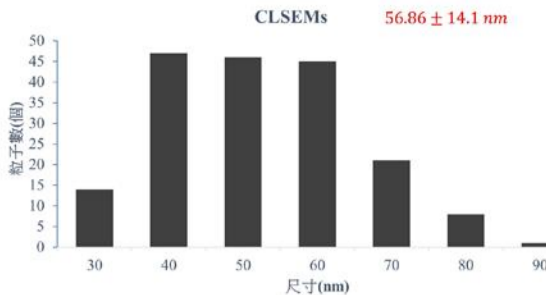
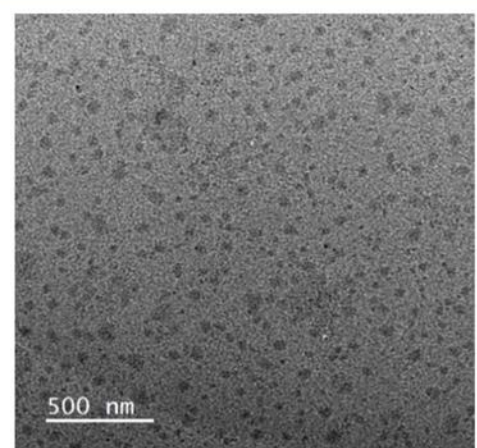


圖九：CLSEMs之DLS量測數據。

碳化後的碳點材料及結構較為均勻，透過鹼與材料表面之COOH或COOR等反應，讓其產生COO⁻。因此在材料結構上產生部分親油端及部分親水端，故碳化韭菜籽萃取物在水溶液中可自組裝形成穩定微胞結構CLSEMs。

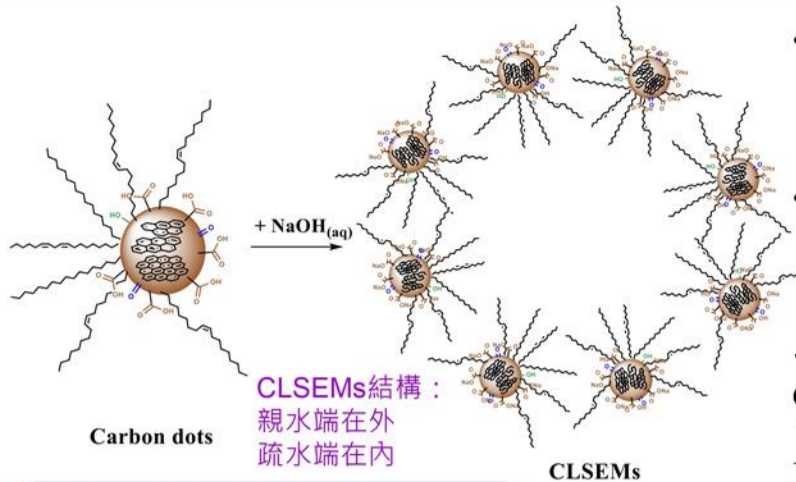
圖七：韭菜籽微胞之外觀，未碳化(左) / 碳化(右)。

三、CLSEMs之結構特性與光物理性質



圖十一：CLSEMs之粒徑分布圖。

- 碳點結構：球型，均一性佳
- 碳點平均粒徑：56.9 ± 14.1 nm

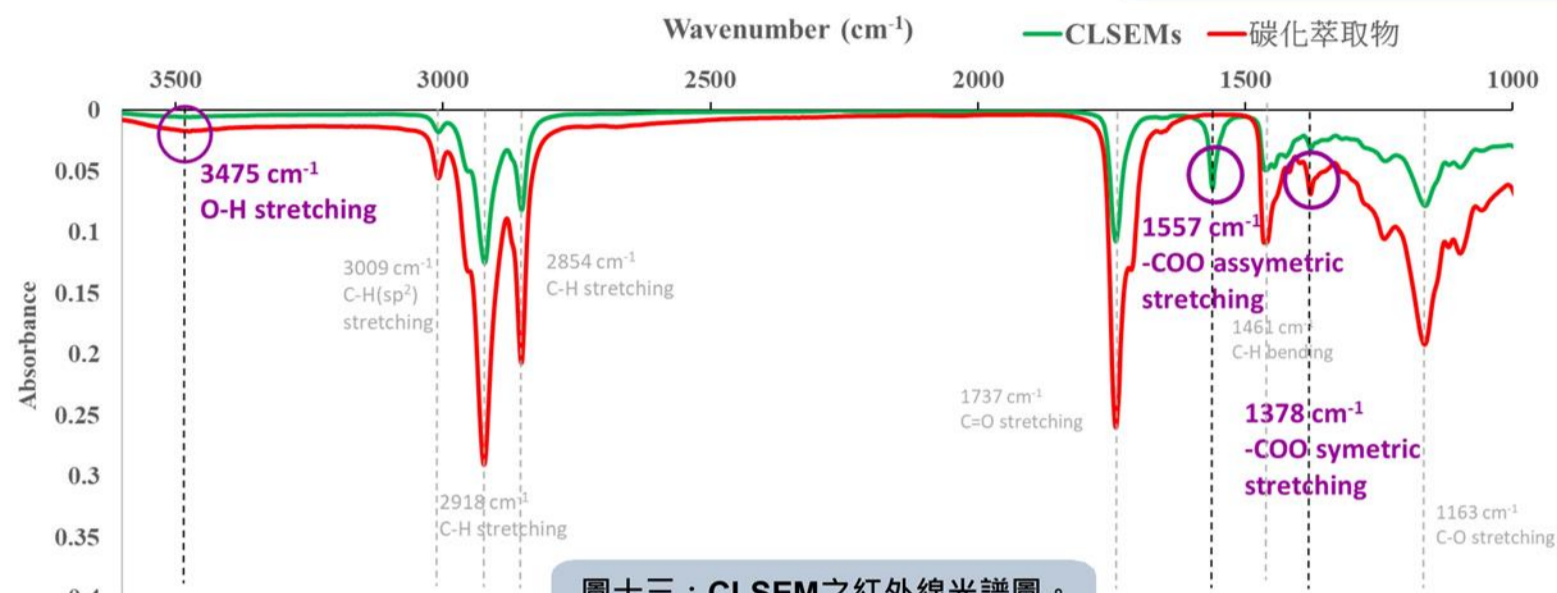


圖十二：推測CLSEMs之結構圖。

- 韭菜籽萃取物碳點平均粒徑：56.9 nm
- 微胞的水合平均粒徑：178.4 nm

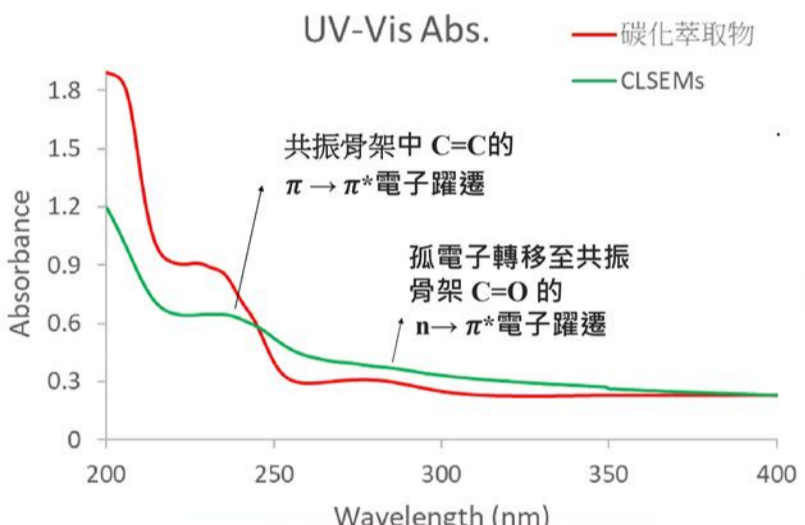
→推算一顆CLSEMs約由18顆韭菜籽萃取物碳點聚集而成。

圖十：CLSEMs之TEM圖。



圖十三：CLSEM之紅外線光譜圖。

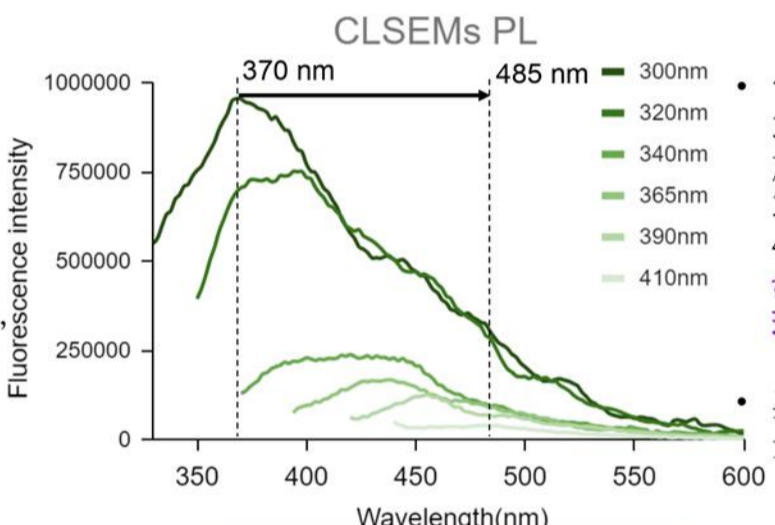
碳化韭菜籽萃取物在鹼性下製備CLSEMs，使得COOH的氫被鹼中和後形成COO⁻，因此相較於碳化萃取物的IR光譜，CLSEMs的OH訊號消失，且產生了COO⁻的不對稱延伸振動訊號。



圖十四：CLSEMs之吸收光譜圖。

共振骨架中C=C的π→π*電子躍遷
孤電子轉移至共振骨架C=O的n→π*電子躍遷

• 碳化萃取物形成微胞後，因鹼性下產生COO⁻，造成負電增加、電子密度變大，進而提供π→π*及n→π*系統，產生訊號紅位移的現象。

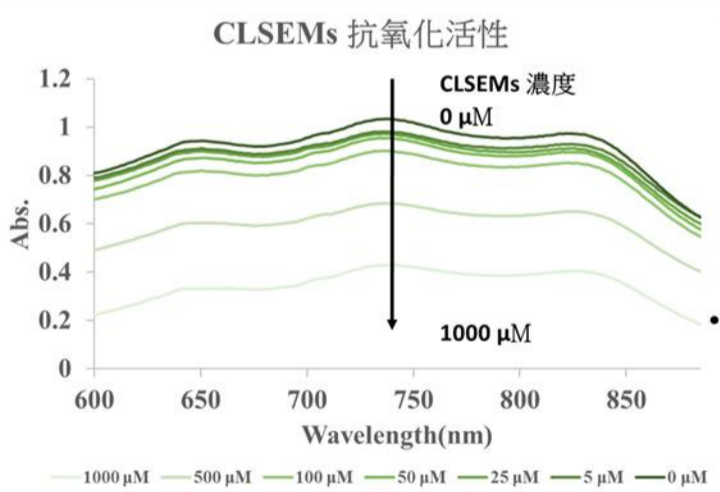


圖十五：CLSEMs之螢光光譜圖。

- 當激發波長為300至410 nm時，放光波長由370 nm紅移到485 nm，係為激發波長相關放光現象。
- 與碳點結構的放光特性相似。

四、碳化韭菜籽萃取物微胞之應用

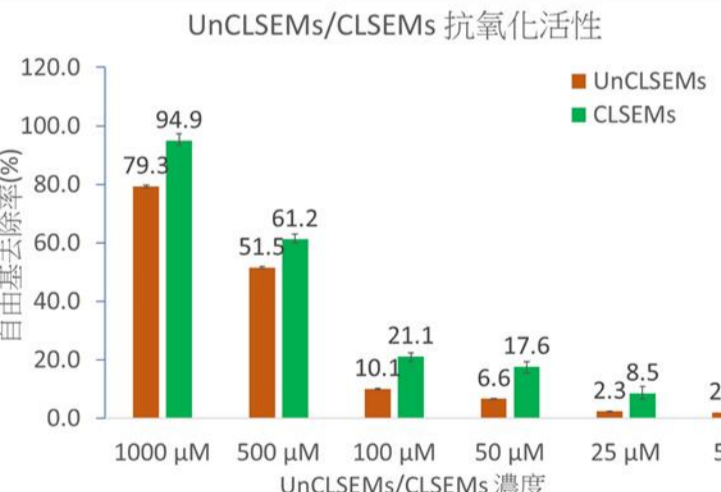
(一) CLSEMs、UnCLSEMs之抗氧化特性



圖十六：CLSEMs對ABTS之抗氧化能力UV-Vis吸收光譜圖。

CLSEMs 濃度	自由基去除率
5 μM	5.0%
1000 μM	94.9%

• 推測應係CLSEMs表面新增上之OH基或碳核中sp²共軛雙鍵之碳原子所提供之電子，增強抗氧化活性。

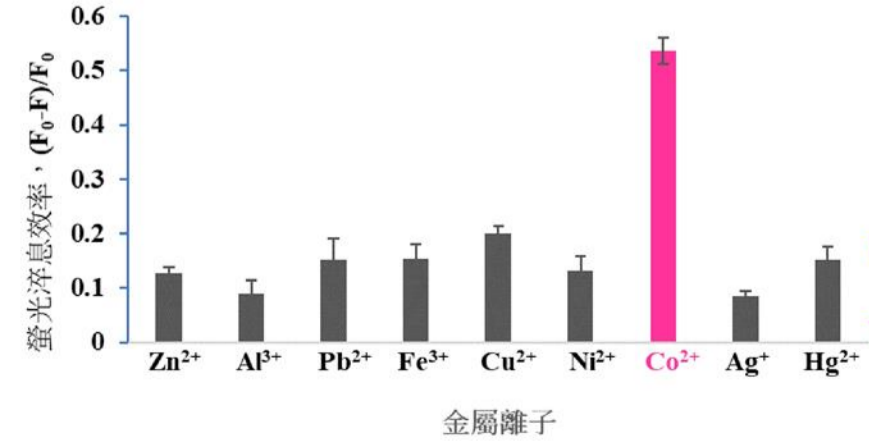


圖十七：UnCLSEMs、CLSEMs對ABTS自由基去除率比較圖。

- 相較UnCLSEMs，CLSEMs對ABTS自由基去除率較高、抗氧化活性較好。
- CLSEMs經碳化後產生較多共軛雙鍵，更容易提供電子，造成自由基還原能力較好。

(二) CLSEMs對金屬離子感測

CLSEMs對金屬離子的選擇性

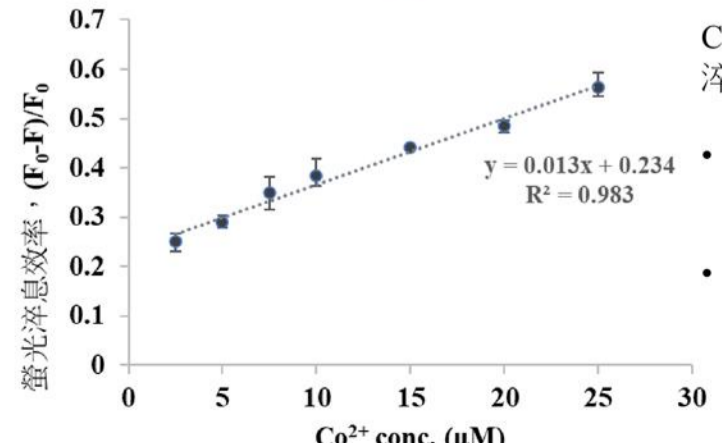


CLSEMs對九種不同金屬離子選擇性測試：

對於Co²⁺呈現顯著的螢光淬息，具有有高的金屬離子選擇性。

圖十八：CLSEMs對各種金屬離子的選擇性測試。

CLSEMs對Co²⁺偵測靈敏度



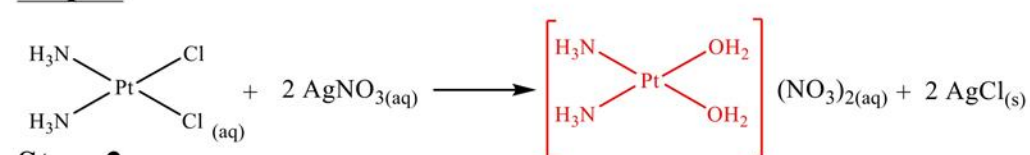
CLSEMs的螢光淬息結果：

- 線性範圍：2.5至25 μM
- 最低偵測極限：1.7 μM

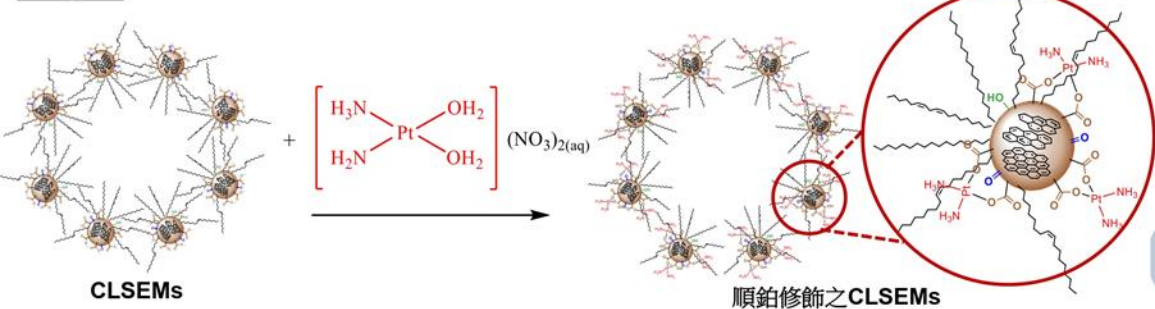
圖十九：CLSEMs對Co²⁺靈敏度測試。

(三) 順鉑修飾 CLSEMs 之合成與特性

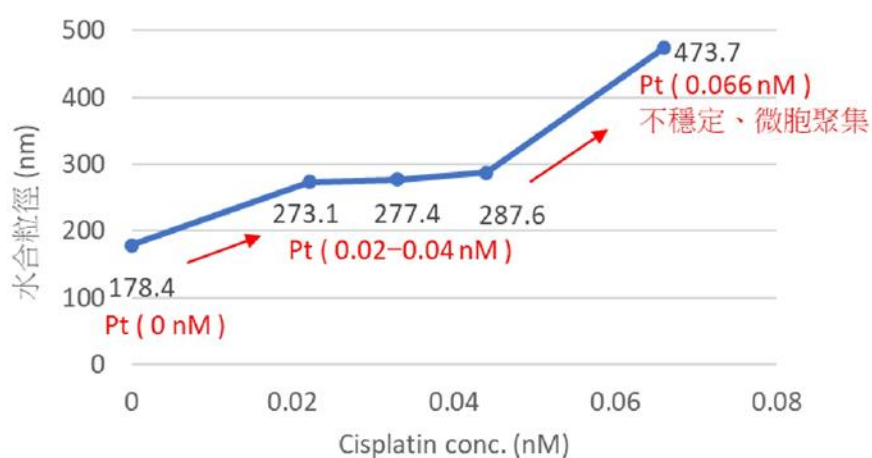
Step. 1



Step. 2

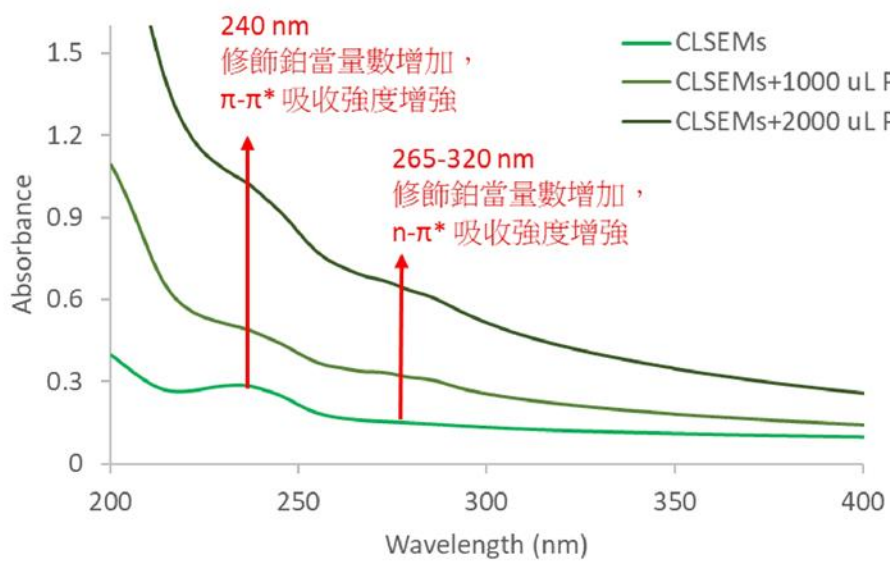


圖二十：順鉑修飾於CLSEMs之反應機制與結構圖。



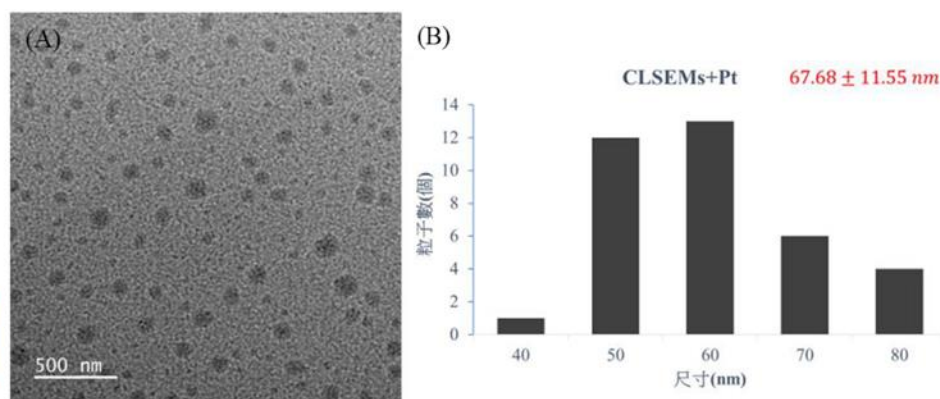
圖二十二：順鉑修飾CLSEMs DLS 水合粒徑分布圖。

- CLSEMs 修飾上鉑後，粒徑由178.4 nm增加至280 nm左右，但當順鉑濃度提高至0.066 nM時，粒徑遽增、開始聚集沉澱。



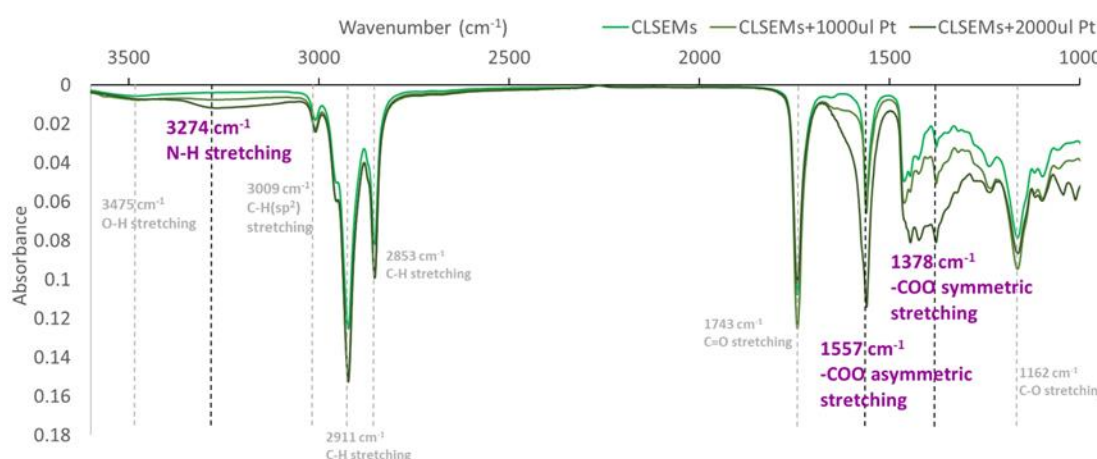
圖二十四：順鉑修飾CLSEMs之吸收光譜圖。

- 推測因接上Pt後，偶極矩增強造成。



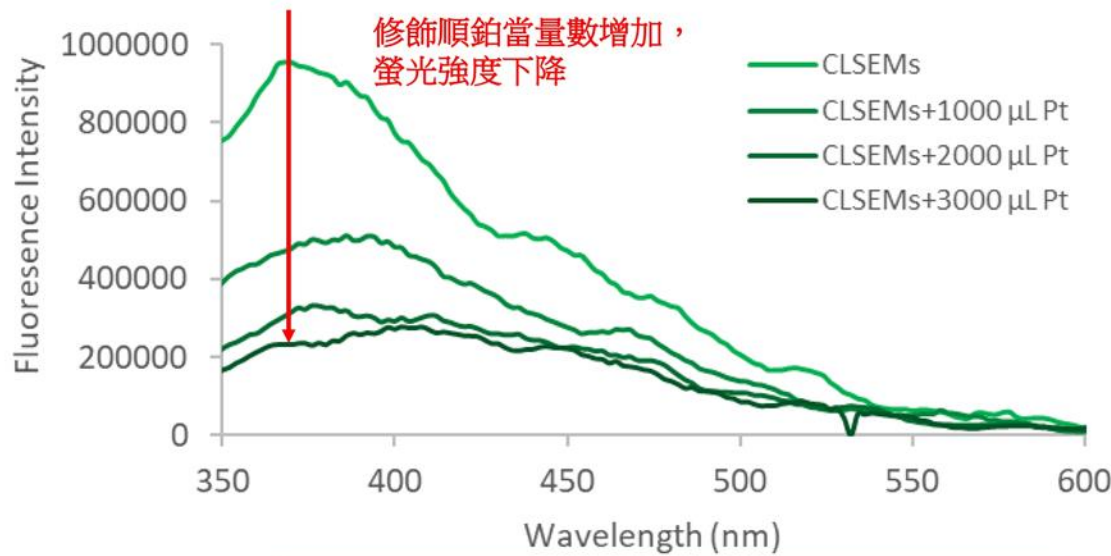
圖二十一：(A)順鉑修飾CLSEMs之TEM圖、(B)粒徑分布圖。

- 順鉑修飾CLSEMs結構：球型，均一性佳。
- 順鉑修飾CLSEMs平均粒徑：67.7±11.6 nm。



圖二十三：順鉑修飾CLSEMs之紅外線光譜圖。

- 當修飾鉑當量數提高時，鉑水合錯合物上的NH延伸振動訊號、CLSEMs上COO⁻的對稱、不對稱延伸振動訊號，訊號有顯著提升或改變。



圖二十五：順鉑修飾CLSEMs 螢光放光光譜圖。

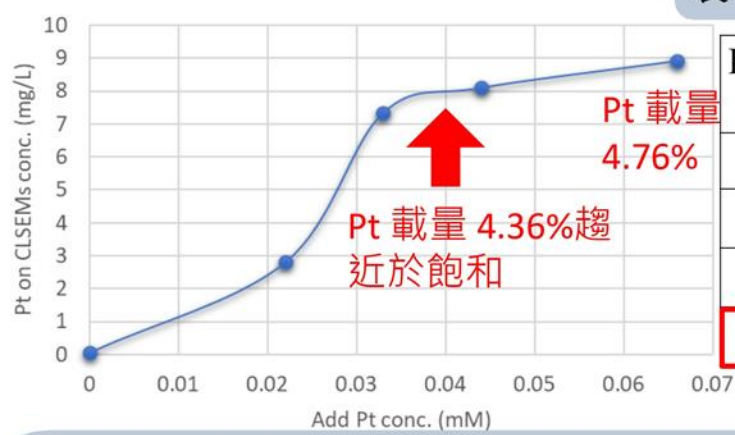
- 推測應係鉑錯合物鍵結於CLSEMs表現官能基上，進而干擾螢光放光效率。

表二：EDS元素分析表。

Element	Comp. (wt%)
C	53.4
N	2.6
O	37.8
Pt	6.2

表三：順鉑修飾CLSEMs對水和乙酸乙酯之溶解度比較表。

	CLSEMs+ 0.03 mM 順鉑	CLSEMs+ 0.02 mM 順鉑	CLSEMs
原水層中Pt含量	5.560 mg/L	3.431 mg/L	0 mg/L
加入EA後Pt含量	4.810 mg/L	2.497 mg/L	0 mg/L
水層剩下微胞的比例	86.51%	72.78%	0%
對水的親合力	大 → 小		



圖二十六：順鉑修飾CLSEMs之 ICP-OES 分析鉑金屬含量圖。

- 當順鉑當量數提高時，CLSEMs之鉑含量從0提高至8.9 mg L⁻¹，可推測鉑於微胞上的重量百分比為4.76%。
- 當順鉑反應濃度達0.04 mM時，已趨近反應位置飽和，所得鉑之重量百分比為4.36%，與EDS元素分析所得結果6.2%接近。

- 以ICP-OES針對加入有機溶劑乙酸乙酯前後，水層中CLSEMs之Pt含量進行分析，以推測水層中微胞的含量的變化，結果可看出當修飾順鉑當量數提高時，CLSEMs親水性增加。

參、結論與未來展望

- 利用超臨界二氧化碳萃取韭菜籽，經分析後其主要成分為脂肪酸，其中亞油酸比例最高(68.5%)、棕櫚酸次之(7.84%)。
- 利用快速且符合綠色化學的方式製備出碳化韭菜籽萃取物，該材料表面具多種的官能基團，且具有激發波長相關光致放光之特性。
- 韭菜籽萃取物微胞(CLSEMs)在水中分散性與穩定性佳，透過ABTS抗氧化活性測試結果證實CLSEMs具有清除自由基與抗氧化效果，優於未碳化的韭菜籽萃取物微胞，其抗氧化效果更好。
- CLSEMs經9種金屬離子測試，發現對Co²⁺具有最佳的感測選擇性，其線性範圍介於2.5–25 μM，最低偵測極限為1.7 μM。
- 本研究成功將不同當量數的抗癌藥物順鉑修飾於CLSEMs上，所含鉑金屬最高可達4.7%。因CLSEMs具有長有機碳鏈，有機會提高藥物穿越細胞膜之能力，有利後續順鉑與DNA鍵結機會，未來亦可嘗試包覆其他的抗癌藥物於CLSEMs內部，期能進行合併療法，提升抗癌效果。