

2018 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 030024

參展科別 化學

作品名稱 高分子包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料
於葡萄糖檢測與應用

得獎獎項 大會獎：四等獎

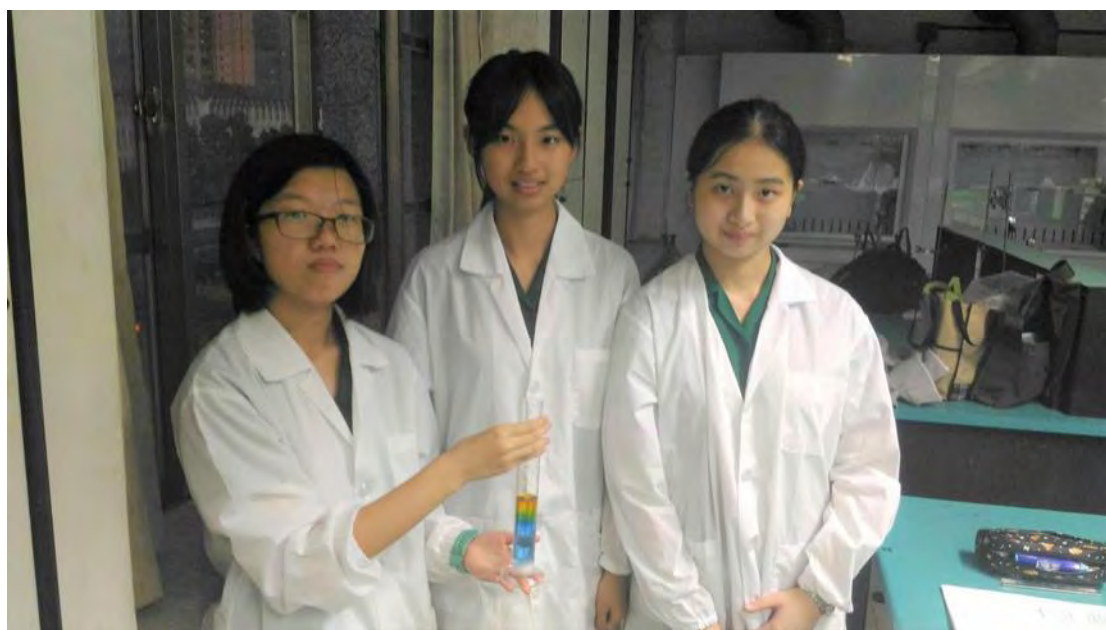
就讀學校 臺北市立第一女子高級中學

指導教師 張煥宗、楊國珠

作者姓名 鄭雯文、林靖瑄、呂芊穎

關鍵詞 奈米團簇、葡萄糖、正電高分子

作者簡介



大家好！我們是就讀北一女中學生，鄭雯文、林靖瑄和呂芊穎。因為抱持著對化學與實驗的熱忱，於是一起做了這份研究。我們很幸運能在大學實驗室學習到許多平常難以接觸的知識，還有各種精密儀器的操作，藉由這份研究，不僅學到了嚴謹與正確的科學方法，更學到了團隊合作的精神。在此我們特別感謝教授、老師、學校行政人員、實驗室學長姐以及這一路上給我們鼓勵的每個人。這次科展讓我們對科學研究更有興趣，也在這過程中得到豐厚的收穫。

摘要

本研究使用牛血清白蛋白 (BSA)、穀胱甘肽 (GSH)、金屬離子合成金屬奈米螢光團簇，並以正電高分子包覆金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶 (GOx) 形成複合材料。此複合材料中的葡萄糖氧化酶與葡萄糖反應，製造出過氧化氫，以過氧化氫改變金屬奈米螢光團簇表面特性，使螢光強度減弱，間接偵測葡萄糖濃度。

本研究探討出合成金屬奈米螢光團簇之最佳條件——以穀胱甘肽輔助之牛血清白蛋白金奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 可產生最佳螢光效果，並分析出金屬奈米螢光團簇之螢光淬滅效果與葡萄糖濃度成對數函數，其檢量線之相關係數為 0.994，且金奈米團簇在血液中對葡萄糖具有專一性，可穩定進行血糖檢測。另外，本研究找出最適當的正電高分子殼聚糖 (chitosan) 及其最佳包覆濃度 0.05%，用於包覆金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶。最後以殼聚糖包覆之牛血清白蛋白/穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料 (BSA/GSH-Au NCs / GOx @ chitosan) 進行葡萄糖檢測，其螢光強度變化量與葡萄糖濃度之對數檢量線相關係數為 0.971。本研究開發出一套靈敏、快速、穩定的葡萄糖檢測材料，並期待未來能運用於實際的人體血糖檢測上。

Abstract

In this research, bovine serum albumin (BSA), glutathione (GSH), and metal ions are used to synthesize fluorescent metal nanoclusters. Positive polymer is used to coat fluorescent metal nanoclusters and glucose oxidase (GOx) to form a composite material. The glucose oxidase in the composite interacts with glucose to produce hydrogen peroxide. Then hydrogen peroxide is used to change the surface properties of the fluorescent metal nanoclusters, and thus reduce the fluorescence intensity. Therefore, we can indirectly detect the glucose concentration.

Our research explored the optimized fluorescence metal nanoclusters, BSA/GSH-Au NCs. After analyzing the quenching effect of glucose on BSA/GSH-Au NCs, we found that BSA/GSH-Au NCs can effectively detect glucose. The fluorescence intensity changes logarithmically with glucose concentration, and the correlation coefficient of the logarithmic calibration curve is 0.994. Besides, BSA/GSH-Au NCs have the specificity associated with glucose, which means it can be stable when detecting glucose. In addition, we found that 0.05% chitosan is the best polymer conditions to coat BSA/GSH-Au NCs and glucose oxidase. We then apply BSA/GSH-Au NCs / GOx @ chitosan with the optimum conditions to glucose detection. The fluorescence intensity of the composite material also changes logarithmically with glucose concentration. The lowest detectable concentration of glucose is 0.01mM. The correlation coefficient of the logarithmic calibration curve is 0.971.

During this research, we successfully synthesized the composite material, which can detect the concentration of glucose stably and accurately. For further study, this material will be modified and hopefully apply to blood glucose monitoring in human body.

壹、前言

一、研究動機

現今全球罹患糖尿病的人口逐年上升，而快速且精準地檢測血糖是控制糖尿病病情的重要方法之一。目前血糖檢測需要較多血量，許多病人對扎針的痛苦感到恐懼，而本實驗期望開發快速且穩定之複合材料試劑，藉由複合材料中的葡萄糖氧化酶與葡萄糖作用產生過氧化氫，並利用過氧化氫淬滅金屬奈米團簇之螢光而達到偵測血糖濃度。我們將以少量牛血清白蛋白及穀胱甘肽輔助合成螢光奈米團簇與葡萄糖氧化酶來合成奈米團簇，不僅能縮短反應時間，也不會有過多蛋白質參與合成反應，可初步節省成本。再藉由正電高分子包覆形成複合材料，期望能快速檢測葡萄糖，也盼可開發出簡便、穩定且成本較低的血糖檢測試劑。此外，運用了螢光靈敏的特性，可以減少檢測時所需血量，能有效降低患者採血時的痛苦。

二、研究目的及研究問題

- (一) 探討牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇之合成條件對其螢光效果之影響。
- (二) 分析牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇應用於過氧化氫與葡萄糖檢測之效果。
- (三) 探討適合包覆金屬奈米螢光團簇與葡萄糖氧化酶的帶正電高分子種類及其最佳包覆濃度。
- (四) 分析高分子包覆之牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料用於過氧化氫與葡萄糖檢測之效果。

貳、研究方法或過程

一、研究設備及器材

(一) 實驗器材

盤式吸收螢光儀：Synergy™ 4 Multi-Mode Microplate Reader (Biotek Instruments, USA)



圖一實驗器材

(二) 藥品

牛血清白蛋白 bovine serum albumin (BSA)、穀胱甘肽 glutathione (GSH)、四氯金酸 HAuCl_4 、硝酸銀 AgNO_3 、硝酸銅 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、葡萄糖 glucose、葡萄糖氧化酶 glucose oxidase (GOx)、聚乙烯亞胺 polyethylenimine (PEI)、殼聚糖 chitosan

二、研究原理

- (一) 實驗金屬奈米團簇具有光致發光特性，利用葡萄糖與葡萄糖氧化酶進行反應後產生之過氧化氫，可改變奈米團簇表面特性，而使金屬奈米團簇產生螢光淬滅，可經由量測其螢光值變化來偵測過氧化氫之濃度，進而達到檢測葡萄糖之目的。
- (二) 金屬奈米團簇中的牛血清白蛋白、穀胱甘肽及葡萄糖氧化酶皆含帶負電之官能基，因此選用帶正電的高分子以進行包覆。

三、 研究方法

(一) 牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇合成條件之探討

1. 合成牛血清白蛋白金屬奈米螢光團簇 (BSA -Au NCs)

- (1) 配製 50 mg/ml 的牛血清白蛋白溶液、10 mM 的金屬離子溶液、1 M 的 NaOH 溶液。
- (2) 加入 10 mM 500 μ L 的金屬離子溶液 (Au^{3+})，並以 vortex 震動混勻。
- (3) 加入 1 M 50 μ L 的 NaOH 溶液，並以 vortex 震動混勻。
- (4) 將混合溶液放入加熱板，於 70°C 反應 75 分鐘。
- (5) 稀釋 10 倍，放入盤式吸收螢光儀。

2. 合成牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇 (BSA/GSH -Au NCs)

- (1) 配製 20 mM 的穀胱甘肽溶液、120 μ M 的牛血清白蛋白溶液、20 mM 的金屬離子溶液、1 M 的 NaOH 溶液。
- (2) 加入 20 mM 250 μ L 的穀胱甘肽溶液、120 mM 250 μ L 的牛血清白蛋白溶液、375 μ L 去離子水，並以 vortex 震動混勻。
- (3) 加入 100 μ L 20 mM 的金屬離子溶液 (Au^{3+})，並以 vortex 震動 5 分鐘混勻。
- (4) 加入 25 μ L 1 M 的 NaOH 溶液，並以 vortex 震動混勻。
- (5) 將混合溶液放入加熱板，於 70°C 反應 75 分鐘。
- (6) 稀釋 10 倍，放入盤式吸收螢光儀。

3. 以不同金屬離子合成牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇 (BSA/GSH-metal NCs)

- (1) 配製 20 mM 的穀胱甘肽溶液、120 μ M 的牛血清白蛋白溶液、20 mM 的金屬離子溶液、1 M 的 NaOH 溶液。
- (2) 加入 20 mM 250 μ L 的穀胱甘肽溶液、120 mM 250 μ L 的牛血清白蛋白溶液、375 μ L 去離子水，並以 vortex 震動混勻。

- (3) 加入 100 μL 20 mM 的金屬離子溶液 (Au^{3+} 、 Ag^+ 、 Cu^{2+})，並以 vortex 震動 5 分鐘混勻。
- (4) 加入 25 μL 1 M 的 NaOH 溶液，並以 vortex 震動混勻。
- (5) 將混合溶液放入加熱板，於 70°C 反應 75 分鐘。
- (6) 稀釋 10 倍，放入盤式吸收螢光儀。

(二) 牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇應用於過氧化氫與葡萄糖檢測之螢光淬滅效果分析

1. 探討不同反應時間長度對牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇進行葡萄糖檢測之影響
 - (1) 配製 200.0 mM 的緩衝溶液 (pH 6.0)、5.0 mM 的葡萄糖溶液、100 unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液。
 - (2) 加入 15 μL 200.0 mM 的緩衝溶液 (pH 6.0)、30 μL 100unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液，並以 vortex 震動混勻。
 - (3) 分別加入不同濃度的葡萄糖溶液，並以 vortex 震動混勻，使得溶液中的葡萄糖濃度分別為 0.0 mM、0.01 mM、0.05 mM、0.1 mM、0.5 mM、1.0 mM、2.0 mM、3.0 mM、4.0 mM、5.0 mM。
 - (4) 加入去離子水，至溶液總體積為 300 μL 。
 - (5) 將五管溶液置於恆溫培養箱中，於 37 °C 分別反應 15 分鐘、30 分鐘、60 分鐘、90 分鐘、120 分鐘。
2. 探討牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇在血液中的穩定性
 - (1) 配製 200.0 mM 的緩衝溶液 (pH 6.0)、5.0 mM 的血液成分 (如表一)、100 unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液。
 - (2) 加入 15 μL 200.0 mM 的緩衝溶液 (pH 6.0)、30 μL 100 unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液，並以 vortex 震動混勻。

- (3) 分別加入 30 μ L 5.0mM 的血液成分溶液，並以 vortex 震動混勻，使得溶液中的血液成分濃度為 0.5 mM。
- (4) 加入去離子水，至溶液總體積為 300 μ L。
- (5) 將五管溶液置於恆溫培養箱中，於 37°C 反應 30 分鐘。

醣類	glucose, maltose, mannose, galactose, fructose, lactose
蛋白質	BSA
胺基酸	cysteine, glutathione, homocysteine

表一 血液成分

(三) 合成高分子包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ polymer)

1. 合成以 PEI 包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ PEI)

- (1) 配製 0.10% 及 1.00 % 的 PEI、100 unit/mL 與 1000 unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液、200mM 的緩衝溶液、BSA/GSH- metal NCs。
- (2) 加入 15 μ L 200 mM 的緩衝溶液。
- (3) 分別加入 30 μ L 100 unit/mL 與 1000 unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液、15 μ L 與 150 μ L BSA/GSH- metal NCs，並以 vortex 震動混勻。
- (4) 分別加入 0.10% 與 1.00% 的 PEI (如表二)
- (5) 加入去離子水，至溶液總體積為 300 μ L。
- (6) 靜置於室溫中 2 小時

PEI (%)	溶液 (μL)	PEI		GOx		BSA/GSH-metal NCs	200 mM Phosphate buffer (pH 6.0)	去離子水
	μL	原始濃度(%)	μL	原始濃度 (unit/mL)				
0.01	30	0.10	30	100	15	15	210	
0.05	150	0.10	30	100	15	15	90	
0.10	30	1.00	30	100	15	15	210	
0.50	150	1.00	30	100	15	15	90	
0.05	15	1.00	30	1000	150	15	90	
0.10	30	1.00	30	1000	150	15	75	
0.20	60	1.00	30	1000	150	15	45	
0.30	90	1.00	30	1000	150	15	15	

表二 合成 BSA/GSH- metal NCs / GOx @ PEI 之濃度條件

- (7) 以 8000 rpm 離心 20 分鐘。
 - (8) 抽去上層澄清液，補 20 mM Phosphate buffer (pH 6.0) 至總體積 300 μL。
 - (9) 以超音波震盪器或 vortex 震動混勻。
2. 合成以 chitosan 包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ polymer) (BSA/GSH- metal NCs / GOx @ chitosan)
- (1) 配製 0.150 %與 0.600 %的 chitosan、250 unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液、200 mM 的緩衝溶液、BSA/GSH- metal NCs。
 - (2) 加入 30.0 μL 200 mM 的緩衝溶液。
 - (3) 加入 30.0 μL 250 unit/mL 的葡萄糖氧化酶溶液、150.0 μL BSA/GSH- metal NCs，並以 vortex 震動混勻。
 - (4) 分別加入 0.150 %與 0.600 %的 chitosan (如表三)
 - (5) 加入去離子水，至溶液總體積為 300.0 μL。

溶液 (μL) chitosan (%)	chitosan		250 unit/mL GOx	BSA/GSH- metal NCs	200 mM Phosphate buffer (pH 6.0)	去離子水
	μL	原始濃度 (%)				
0.010	20.0	0.150	30.0	150.0	30.0	70.0
0.025	50.0	0.150	30.0	150.0	30.0	40.0
0.050	25.0	0.600	30.0	150.0	30.0	65.0
0.750	37.5	0.600	30.0	150.0	30.0	52.5
0.100	50.0	0.600	30.0	150.0	30.0	40.0

表三 合成 BSA/GSH- metal NCs / GOx@ chitosan 之濃度條件

- (6) 靜置於室溫中 2 小時
- (7) 以 8000 rpm 離心 20 分鐘。
- (8) 抽去上層澄清液，補 20 mM Phosphate buffer (pH 6.0) 至總體積 300.0 μL 。
- (9) 以超音波震盪器或 vortex 震動混勻。

(四) 利用高分子包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ polymer)進行葡萄糖檢測

1. 配製 200 mM 的緩衝溶液 (pH 6.0)、5 mM 的葡萄糖溶液、BSA/GSH- metal NCs / GOx @ polymer。
2. 加入 30 μL BSA/GSH- metal NCs / GOx @ polymer
3. 分別加入不同濃度的葡萄糖溶液，並以 vortex 震動混勻，使得溶液中的葡萄糖濃度分別為 0.000 mM、0.010 mM、0.025 mM、0.050 mM、0.075 mM、0.100 mM、0.250 mM、0.500 mM、0.750 mM、1.000 mM、2.000 mM、3.000 mM、4.000 mM、5.000 mM。
4. 加入 20 mM 的緩衝溶液 (pH 6.0)，至溶液總體積為 300 μL 。
5. 將五管溶液置於恆溫培養箱中，於 37°C 反應 90 分鐘。

(五) 檢測溶液螢光光譜

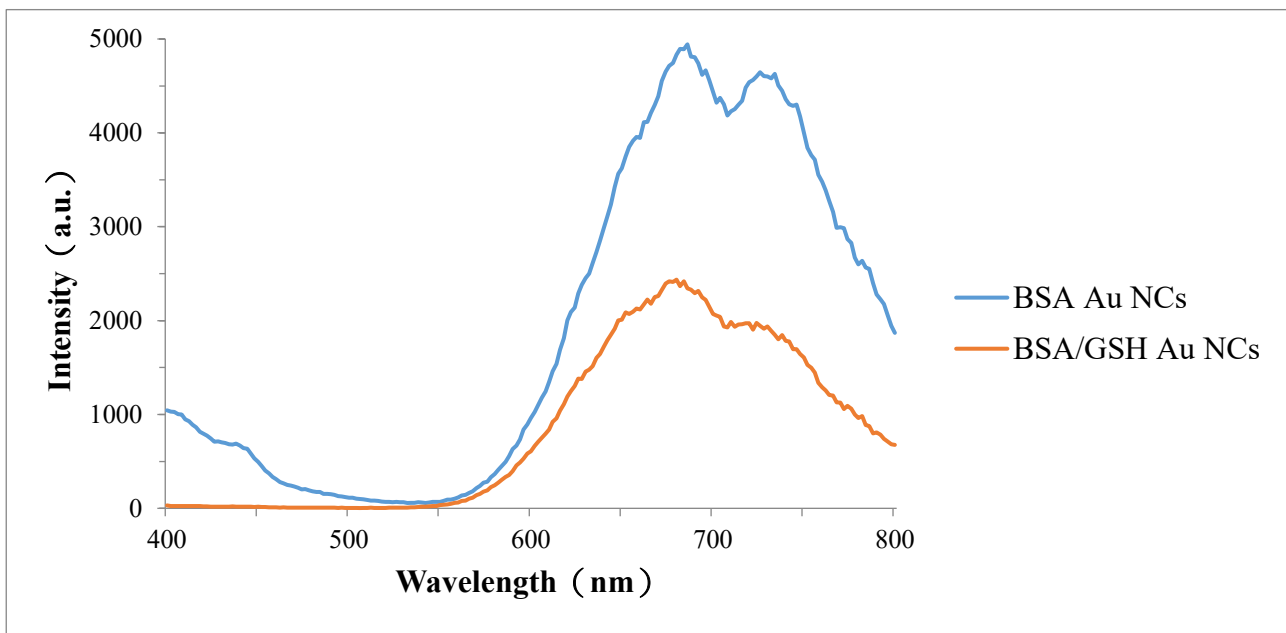
1. 設定激發波長為 330 nm。
2. 取 200 μL 放入螢光光譜儀中檢測。

參、研究結果與討論

一、 合成牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇合成條件之探討

(一) 探討牛血清白蛋白金屬奈米螢光團簇 (BSA-metal NCs) 及牛血清白蛋白／穀胱甘肽金奈米螢光團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 之差異性

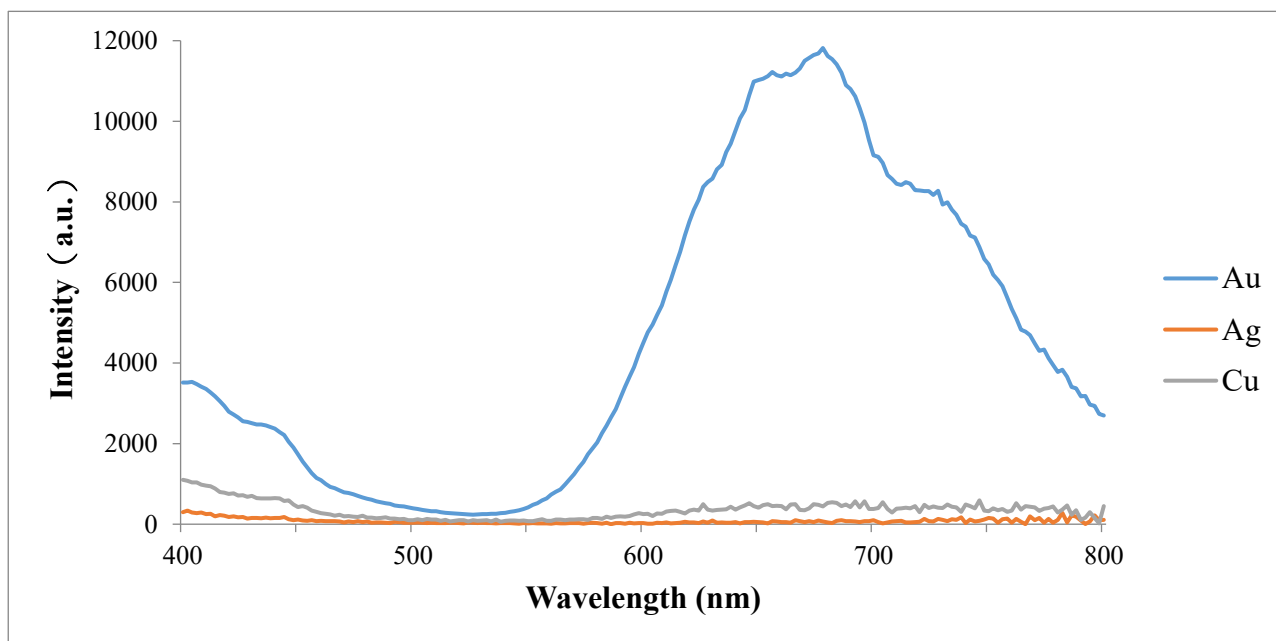
根據圖二可以看出，牛血清白蛋白金奈米螢光團簇以及以穀胱甘肽輔助的牛血清白蛋白金奈米螢光團簇，在放光波長為 680 nm 時皆有放光高峰，顯示出就算在以穀胱甘肽輔助的牛血清白蛋白金奈米螢光團簇中牛血清白蛋白的用量較小，還是可以使材料發出具有一定強度的螢光。



圖二 BSA-Au NCs 和 BSA/GSH-Au NCs 螢光光譜

(二) 以不同金屬離子合成牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇 (BSA/GSH-metal NCs)

根據圖三可以看出，合成出的牛血清白蛋白／穀胱甘肽銀奈米螢光團簇、牛血清白蛋白／穀胱甘肽銅奈米螢光團簇所發出的螢光微弱，且不穩定。而牛血清白蛋白／穀胱甘肽金奈米螢光團簇可發出穩定且高強度的螢光，所以後續實驗皆使用牛血清白蛋白／穀胱甘肽金奈米螢光團簇。

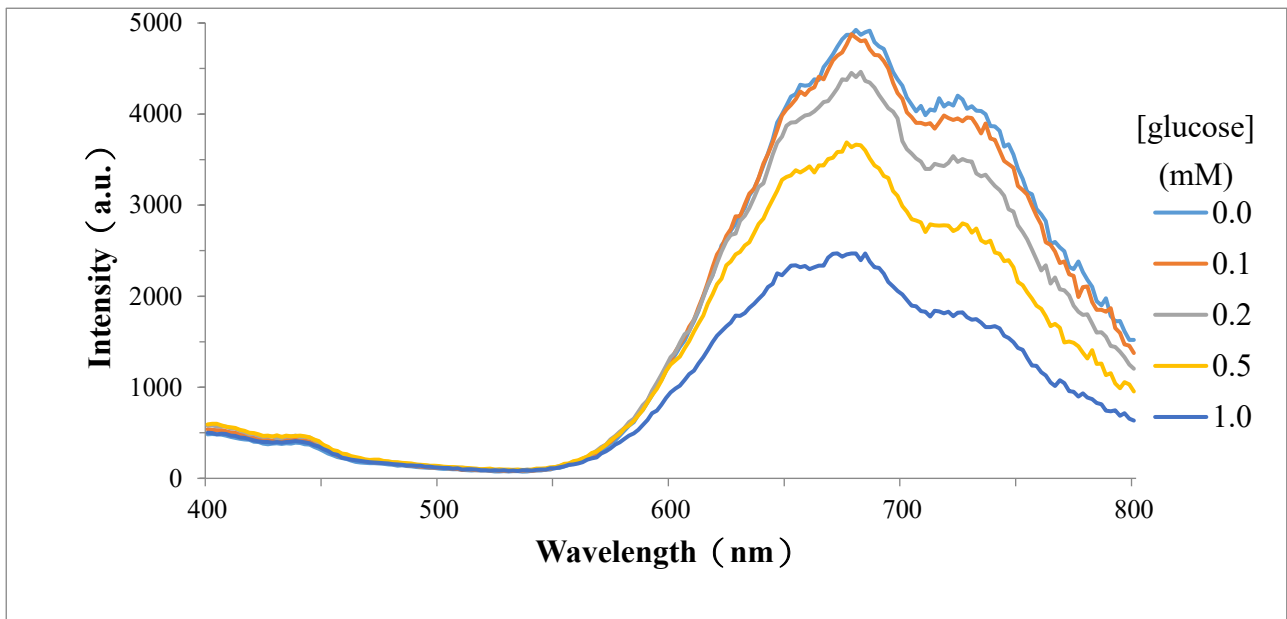


圖三 BSA/GSH-Au NCs、BSA/GSH-Ag NCs、BSA/GSH-Cu NCs 之螢光光譜

二、牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇應用於過氧化氫與葡萄糖檢測之螢光淬滅效果分析

(一) 利用牛血清白蛋白金屬奈米螢光團簇進行葡萄糖檢測

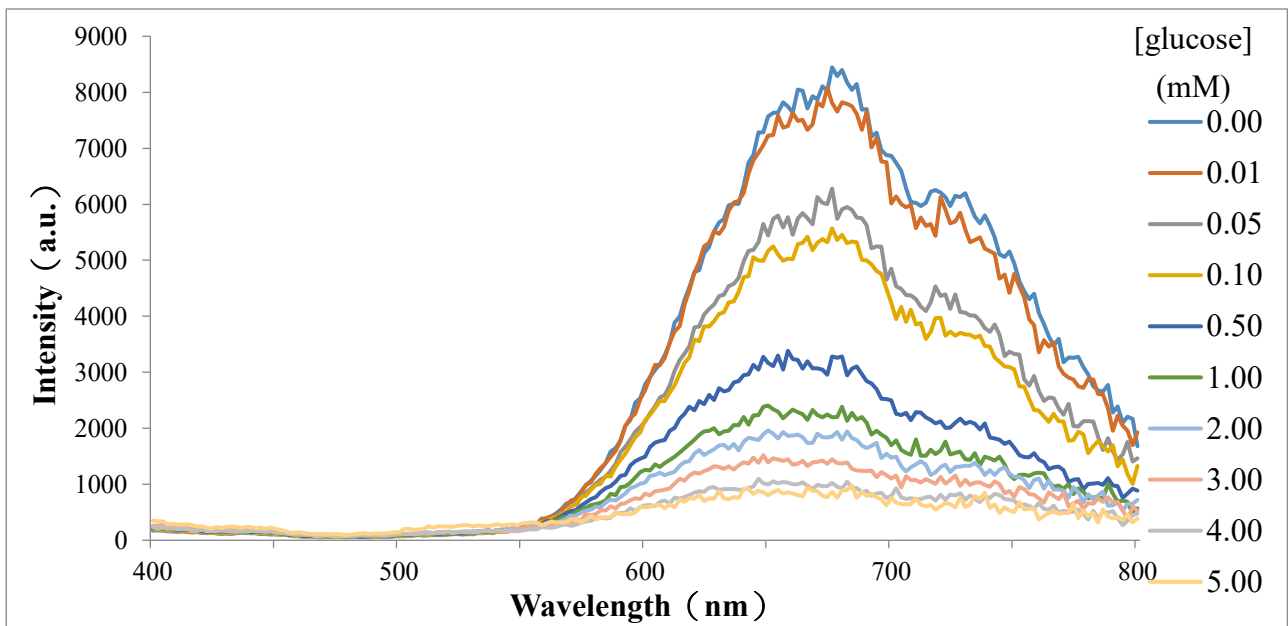
根據圖四可以看出，葡萄糖會對牛血清白蛋白金奈米螢光團簇造成螢光淬滅。



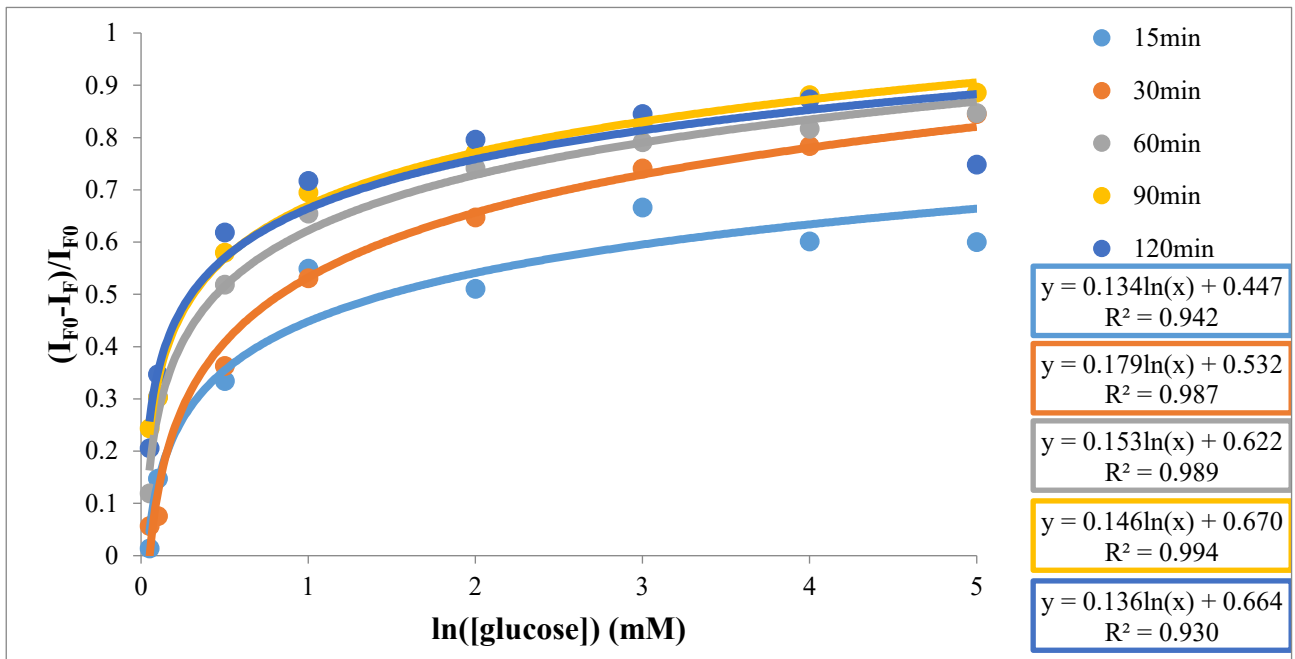
圖四 BSA-Au NCs 檢測葡萄糖之螢光光譜

(二) 利用牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇進行葡萄糖檢測，並探討不同反應時長對金奈米螢光團簇進行葡萄糖檢測之影響

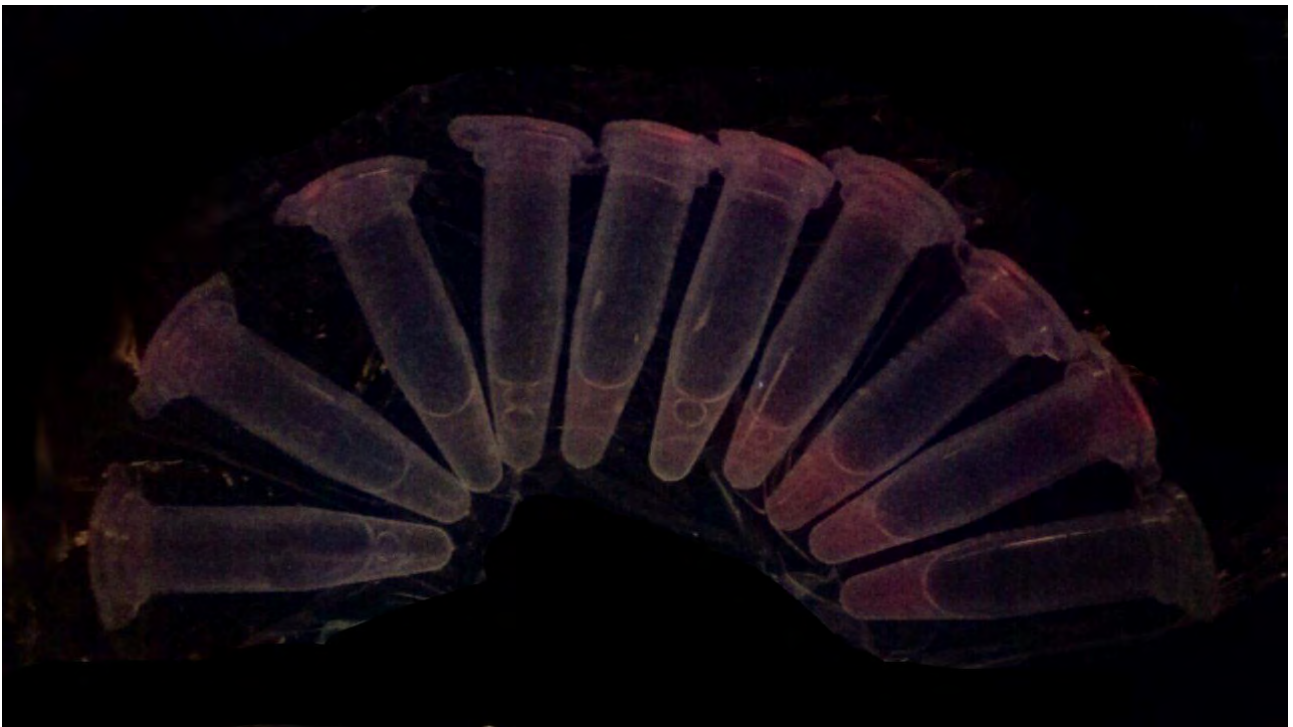
根據圖五可以看出，隨著葡萄糖溶液濃度漸增，螢光強度遞減，證實我們成功的合成出可以檢測葡萄糖的材料，並且根據圖六可以看出螢光強度變化與葡萄糖濃度成對數關係，且最佳反應時間為 90 分鐘，其相關係數為 0.994，所以可以確實的檢測葡萄糖的各種濃度。



圖五 BSA/GSH-Au NCs 檢測葡萄糖之螢光光譜



圖六 葡萄糖濃度對放光波長為 680 nm 時放光強度的對數檢量線

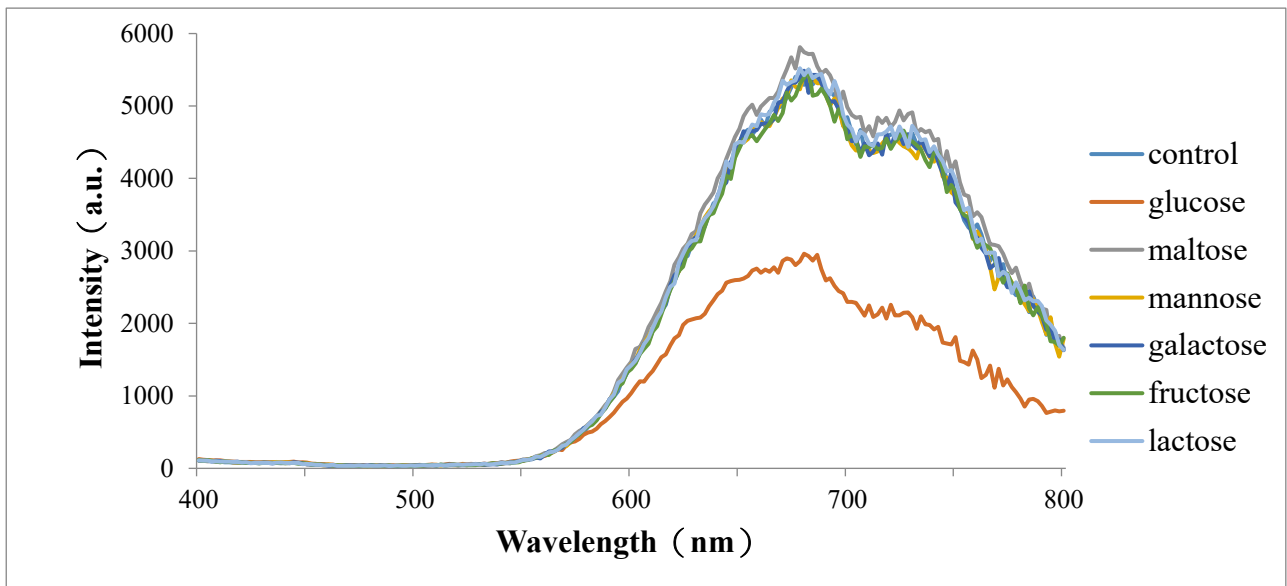


圖七 牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇對不同葡萄糖濃度所產生的
螢光淬滅效果（以 UV 光激發）

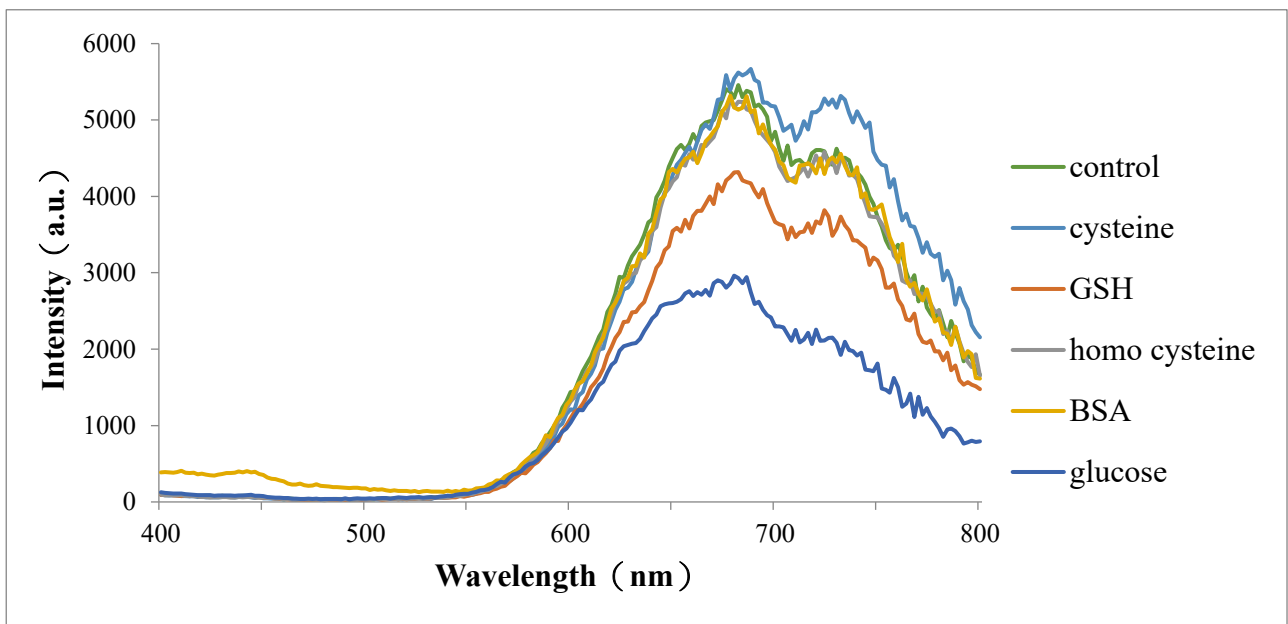
（葡萄糖濃度由右至左分別為 0.00 mM、0.01 mM、0.05 mM、0.10 mM、0.50 mM、
1.00 mM、2.00 mM、3.00 mM、4.00 mM、5.00 mM）

(三) 探討牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇在血液中的穩定性

除了葡萄糖外，血液中實際上還含有一定量的果糖和半乳糖，但只有葡萄糖的濃度水平可以作為代謝調節的信號，根據圖八可以看出以穀胱甘肽輔助的牛血清白蛋白金奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶材料對葡萄糖具有專一性，其他的醣類並不會對材料造成螢光淬滅；在圖九中顯示出複合材料在血液成分中大致穩定，但除了葡萄糖外，穀胱甘肽也會對材料產生螢光淬滅的反應，而依據文獻資料，血液中的穀胱甘肽濃度很低，因此穀胱甘肽對於材料螢光淬滅的影響並不大。



圖八 BSA/GSH-Au NCs 檢測不同醣類之螢光光譜

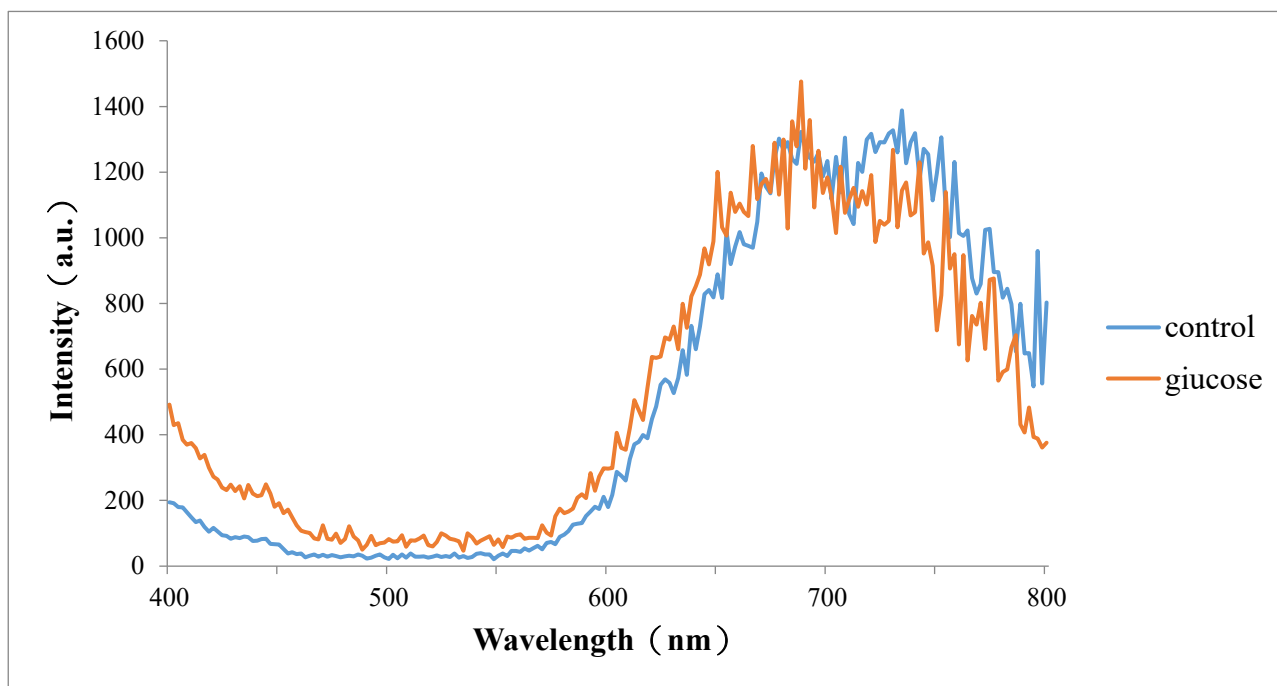


圖九 BSA/GSH-Au NCs 檢測不同血液成分之螢光光譜

三、 合成高分子包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ polymer)

(一) 合成以 PEI 包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ PEI)

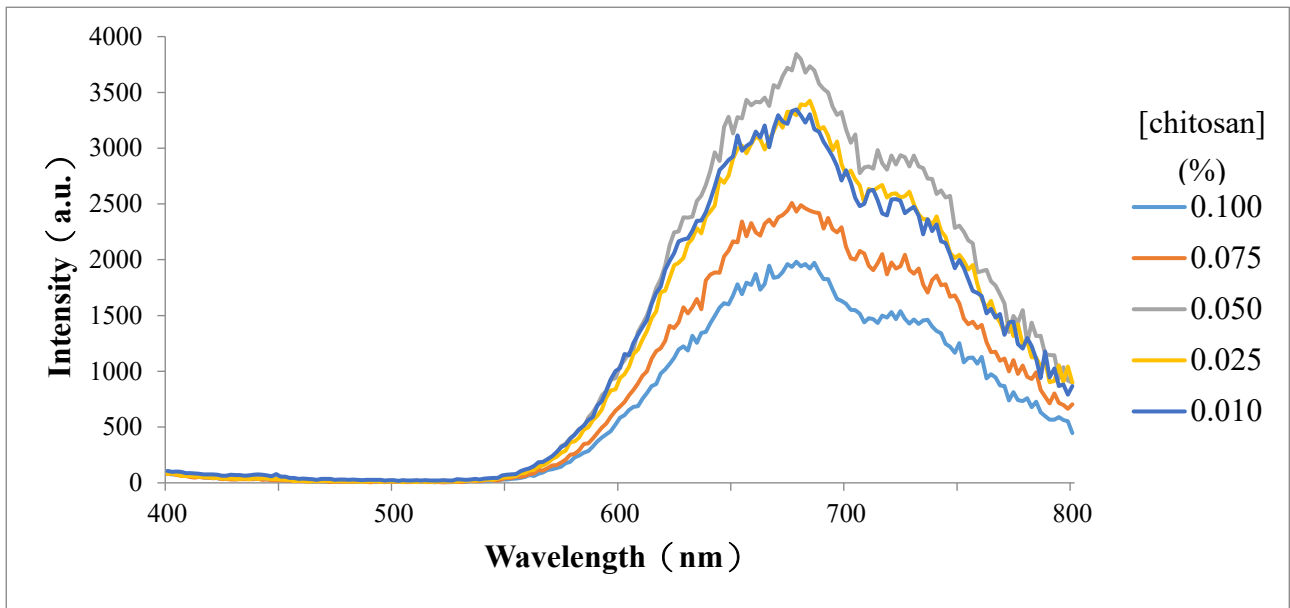
根據圖十可以看出以 PEI 包覆的材料放光訊號很不穩定，且檢測葡萄糖的效果也不佳，所以後續皆不採用。



圖十 BSA/GSH-Au NCs / GOx @ PEI 之螢光光譜

(二) 合成以 chitosan 包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ chitosan)

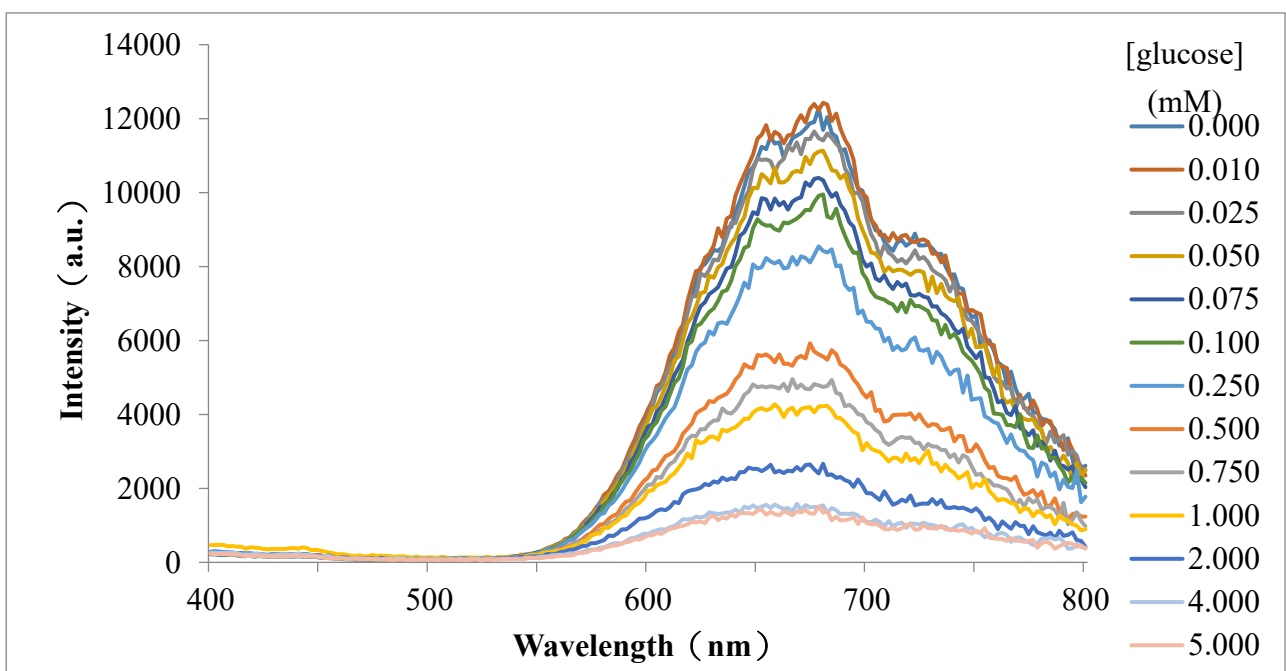
根據圖十一可以看出 chitosan 濃度為 0.05%時放光強度最強，另外兩個較低濃度則相對較弱，但 chitosan 濃度提高為 0.10%時，在純化的過程中材料就無法溶解在溶液中，也使得螢光強度偏低，所以我們推測過高或過低濃度的 chitosan 比較無法包覆出適合檢測葡萄糖的材料。



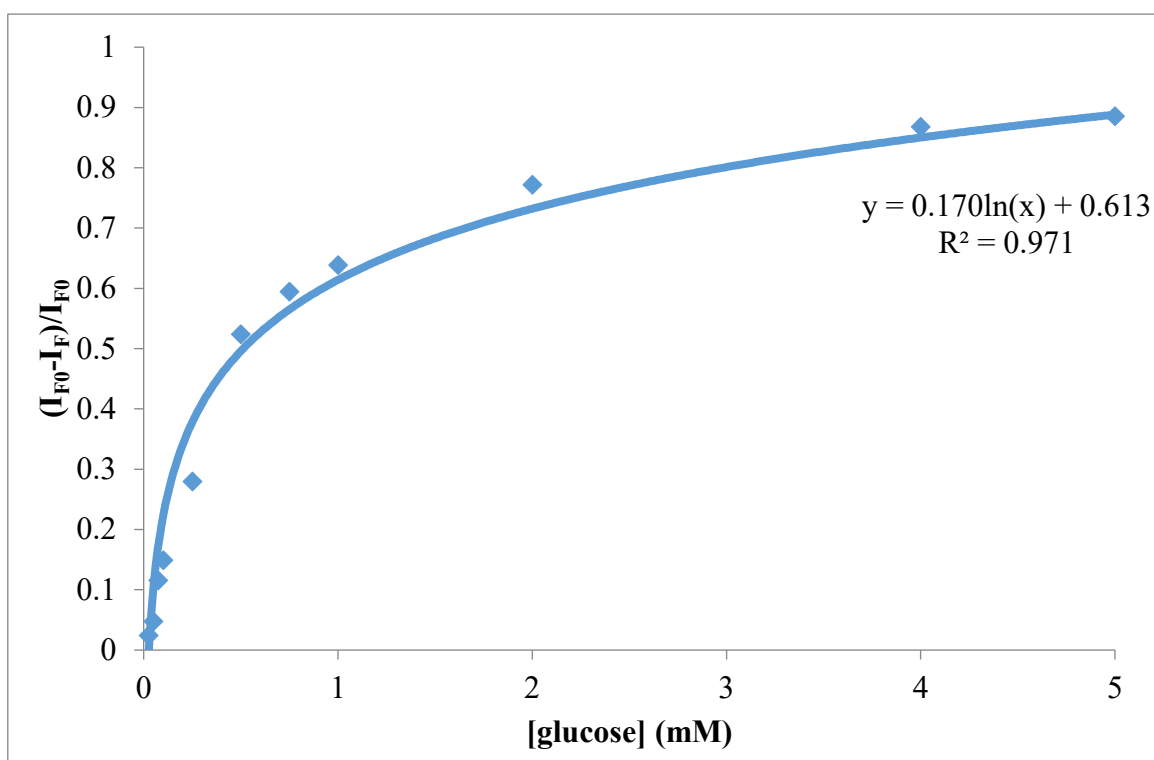
圖十一 BSA/GSH-AuNCs @ chitosan 之螢光光譜

四、 利用高分子包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料(BSA/GSH- metal NCs / GOx @ chitosan)進行葡萄糖檢測

根據圖十二顯示，chitosan 包覆之材料的螢光強度變化隨葡萄糖濃度增加而遞減。圖十三顯示螢光強度變化量與葡萄糖濃度成對數關係，其檢量線相關係數為 0.971，且最低可偵測到 0.01 mM，證實此複合材料具有極高的靈敏度。



圖十二 BSA/GSH-Au NCs @ chitosan 檢測葡萄糖之螢光光譜 (chitosan 濃度為 0.05%)



圖十三 葡萄糖濃度對放光波長為 680 nm 時放光強度的對數檢量線

肆、結論與應用

一、 探討牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇之合成條件對其螢光效果之影響

(一) 利用少量的 BSA 及 GSH 輔助合成具光致發光特性的螢光奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs)，相較於牛血清白蛋白金屬奈米團簇 (BSA-Au NCs)，可以有效降低 BSA 用量，由低濃度蛋白質模板製備，不單節省成本，在檢測時也不會有過多蛋白質干擾，而影響偵測效果。

(二) 選用最適當的金屬離子—— Au^{3+} 製備團簇，可達到具有穩定性的螢光強度，而牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽銀奈米團簇 (BSA/GSH-Ag NCs)、牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽銅奈米團簇 (BSA/GSH-Cu NCs) 則螢光較弱、較不穩定。

二、 分析牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇應用於過氧化氫與葡萄糖檢測之效果

(一) 牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 可有效檢測葡萄糖，且螢光強度變化與葡萄糖濃度成對數關係，而最佳反應時間為 90 分鐘，其對數檢量線之相關係數為 0.994。

(二) 我們探討牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 在血液中的穩定性，由實驗結果顯示，可知葡萄糖外的其他醣類不對材料造成螢光淬滅，而其他血液中的蛋白質亦幾乎不造成影響。

三、 探討適合包覆金屬奈米螢光團簇與葡萄糖氧化酶的帶正電高分子種類及其最佳包覆濃度

(一) 以 PEI 包覆牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 及葡萄糖氧化酶複合材料時，螢光效果不佳，也無法進行葡萄糖檢測。

(二) 以 chitosan 包覆牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 及葡萄糖氧化酶複合材料時，螢光效果佳，而由實驗結果顯示，chitosan 濃度 0.05 % 為包覆金奈米螢光團簇的最佳條件。

四、 分析高分子包覆之牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料用於過氧化氫與葡萄糖檢測之效果

以 chitosan 包覆牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 及葡萄糖氧化酶複合材料可有效檢測葡萄糖，其對數檢量線之相關係數為 0.971。

以正電高分子包覆牛血清白蛋白 / 穀胱甘肽金奈米團簇 (BSA/GSH-Au NCs) 及葡萄糖氧化酶合成複合材料，可提供穩固平台以進行螢光淬滅反應，讓葡萄糖氧化酶與葡萄糖反應所產生的過氧化氫能及時與奈米團簇作用，使得反應更穩定而快速。

伍、 討論與後續方向

一、將高分子包覆複合材料應用至葡萄糖檢測：

找到最佳化條件的高分子包覆複合材料後，希望能將其應用於葡萄糖檢測，並找到葡萄糖濃度的偵測極限，並且將血糖檢測模組與市售血糖機做比較，最後能實踐於實際血糖檢測。

二、 實驗結果分析及檢討改善：

人體血糖的濃度範圍約為 4~6 mM，而目前我們可偵測葡萄糖的最低濃度為 0.01 mM，因此可知以殼聚醣包覆之牛血清白蛋白／穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料（BSA/GSH-Au NCs / GOx @ chitosan）具有偵測低濃度葡萄糖的能力，運用螢光靈敏的特性，我們可以有效降低偵測所需的採血量，未來若運用於實際血糖檢測，採血針可做的更細小，降低病人扎針的痛苦指數，同時分析葡萄糖濃度的偵測極限與人體血糖值的差距，並且將血糖檢測模組與市售血糖機做比較，對於不足的部分，未來將做進一步的探討與改善。

陸、參考資料（文獻）及其他

- 一、李丞凱（2014）。螢光鈾/金奈米團簇之合成與血糖偵測 Synthesis of Fluorescent Cerium/Gold Nanoclusters as glucose Sensors，國立台灣大學化學系專題研究報告
- 二、項燕君（2009）。發光金奈米點之生物應用 Bioapplications of Luminescent Gold Nanodots（碩士論文）
- 三、陳亞拿（2011）。蛋白質-金屬奈米團簇：合成與應用 Protein-Metal Nanoclusters: Synthesis and Applications，國立台灣大學化學系專題研究報告
- 四、葉庭吟（2013）。螢光碳奈米複合材料之生物應用 Bioapplications of Photoluminescent Carbon Nanocomposites（碩士論文）
- 五、Z Yang; C-K Chiang; H-T Chang, Synthesis of fluorescent and photovoltaic Cu₂O nanocubes, 2008.
- 六、Prathik Roy; Zong-Hong Lin; Chi-Te Liang; Huan-Tsung Chang, Synthesis of enzyme mimics of iron telluride nanorods for the detection of glucose, 2012
- 七、呂承樺、李承妍（2016）。利用硫醇分子合成之金銅奈米團簇偵測過氧化氫及葡萄糖（國際科展優勝作品）

【評語】 030024

1. 本作品以 Chitosan 高分子包覆牛血清白蛋白/穀胱甘肽金屬奈米團簇作為葡萄糖檢測之應用。
2. 由於血糖偵測儀研發極具競爭性，建議本作品應針對模擬體液取得對照實驗數據，較具說服力。
3. 作者對於螢光光譜的原理、說明光譜分析能力可再加強。