

私立東海大學化學研究所
碩士論文

指導教授：賴英煌 博士

小角度 X 光散射探討金-銀核殼型
奈米粒子的形成與性質

**Formation and Characterization of Au-Ag Core-Shell
Nanoparticles by Small Angle X-ray Scattering**

研究生：翁志昌 撰

中華民國 100 年 7 月

致謝

在研究學問期間，承蒙賴英煌老師的指導、鼓勵與關懷，培養了我不僅僅只是想法、邏輯與態度上的轉變，更像是修習了一門思考和應用的學問，激起學生極大的漣漪；在此也感謝能百忙中抽空前來擔任學生口委的洪偉修教授與鄭有舜博士，給予學生指導與極大的幫助，修正學生研究論文中不足之處，讓學生的論文能更趨於完善。

在這段時間中，雖然曾經有幾分心痛、憂愁與難過，路途中更有淚水、熬夜與折磨，如今卻是滿懷喜悅、成長與收穫；我非常感謝我所遇見的每個人，謝謝怡君學姐與哲瑋學長對我的百般照顧，謝謝薇婷與翔瑋的扶持，以及教程、宥辰、校偉、厚 亘與庭伊 也謝謝你們的協助與幫忙，讓我的存在由原石逐漸琢磨為璞玉，卻能擁有玉珮般的光彩，當然 還有我也要感謝一直陪伴著我的患難兄弟星憲和怡君學姐能和我共同歡笑、相互激勵以及肝膽相照，更要感謝群仁學長、桂芬、秋瑋學姐與文斌在同步輻射中心各方面的指導與信任，使我能順利的使用儀器完成研究。

最後，我要獻上最大的祝福與感恩給我最偉大的父母親，有你們的支持與關心，才能讓我能更加無憂的完成碩士求學生涯，衷心的感謝你們的付出與照顧，我愛你們。

目錄

目錄.....	I
中文摘要.....	V
英文摘要.....	VI
圖目.....	VIII
表目.....	X
第一章 緒論.....	1
1.1 前言.....	1
1.2 奈米科技發展的重大發展.....	1
1.3 奈米簡介與特性.....	3
1.3-1 奈米特性.....	4
1.4 金屬奈米粒子之製備.....	7
1.4-1 金奈米粒子.....	10
1.4-2 銀奈米粒子.....	10
1.5 核-殼型奈米粒子.....	11
1.5-1 核殼型奈米粒子之製備.....	12
1.6 胺基酸為還原劑.....	12
1.6-1 胺基酸簡介.....	12
1.6-2 胺基酸的分類.....	13
1.6-3 胺基酸的離子性質.....	14

1.7 文獻回顧	17
1.8 研究動機與目的	23
第二章 實驗與儀器	24
2.1 實驗藥品	24
2.1-1 一般實驗儀器與耗材	24
2.2 奈米粒子合成之實驗.....	25
2.2-1 酪胺酸合成銀奈米粒子 (Tyrosine capped Ag nanoparticles)	25
2.2-2 酪胺酸包覆金奈米粒子 (Tyrosine capped gold nanoparticles).....	26
2.2-3 合成核殼型奈米粒子 (Gold Core-Silver Shell nanoparticles).....	27
2.3 銀殼層厚度合成控制與探討之實驗	28
2.3-1 實驗用之儀器 - 截流分光光譜儀.....	28
A. 介紹	28
B. 主要硬體配備	28
C. 硬體配備詳細介紹與說明	29
2.3-2 改變pH值對酪胺酸的酸解離影響.....	33
2.3-3 改變Au ⁰ 與Ag ⁺ 莫耳濃度比值實驗條件設定 (Au-Ag ratio).....	34
2.4 以Stopped-Flow調控合成之事項	35
2.4-1 在不同pH值下還原銀離子生成銀殼層實驗.....	35
針筒擺放位置.....	35
pH對酪胺酸還原性質的影響 – pH值調整方式	36
2.4-2 改變銀離子與金原子莫耳濃度比控制銀殼層厚度	36
針筒擺放位置.....	36

銀離子與金原子莫耳濃度比調配方式與計算.....	37
2.4-3 進行注入Cuvette前的操作.....	37
2.5 儀器原理與理論	38
2.5-1 紫外－可見光吸收光譜儀(UV-Vis Spectroscopy)	38
2.5-2 表面電漿	41
表面電漿共振 (Surface Plasmon resonances, SPR)	41
理論 (Theory).....	42
2.5-3 小角度X光散射儀 (Small Angle X-ray Scattering , SAXS).....	45
2.5-4 小角度X光散射	46
2.5-5 非尋常小角度X光散射	53
(Anomalous small angle x-ray scattering)	53
第三章 結果與討論.....	55
3.1 胺基酸：酪胺酸 (Tyrosine)	55
3.1-1 酪胺酸的酸解離特性	55
3.1-2 酪胺酸的還原機構	56
3.2 各種奈米粒子產物的UV-vis光譜鑑定	57
3.3 小角度X光散射之樣品分析	58
3.3-1 小角度X光散射之契合	58
Ag-Tyr奈米粒子SAXS分析	59
Au-Tyr奈米粒子SAXS分析.....	60
Au-Ag 核殼型奈米粒子的SAXS分析.....	61
3.4 非尋常小角度X光散射分析	63

3.4-1 Ag-Tyr與Au-Tyr的ASAXS比較.....	63
3.4-2 Au-Ag核殼型奈米粒子的ASAXS分析.....	64
3.4-3 金元素於核殼型奈米粒子中所佔比例.....	66
3.5 使用截流分光光譜儀進行合成實驗及產物分析.....	68
3.5-1 改變溶液pH值並以SAXS分析.....	68
實驗中使用到的晶種Au-Tyr.....	68
小角度X光散射儀量測結果.....	68
3.5-2 改變pH值還原銀離子並以UV-vis (TIDASDAQV2.39) 同步量測.....	73
3.5-3 SAXS與UV-vis綜合討論.....	78
3.5-4 改變金原子和銀離子莫耳濃度對銀殼厚度影響-以SAXS量測.....	80
3.5-5 以調控金-銀莫耳濃度比值方式合成奈米粒子加以控制光學性質.....	84
第四章 結論.....	85
參考文獻.....	86

摘要

核殼雙金屬奈米粒子近來備受注目，特別是金和銀雙金屬合成的核殼型奈米粒子，具備有可調性的電子、光學或催化特性。本篇研究以小角度 X 光散射 (Small Angle X-ray Scattering, SAXS) 探討在鹼性條件下，利用酪胺酸為還原劑合成安定的金-銀核殼型奈米粒子，其相關的形狀與粒徑資訊。然而，具有三個 pK_a 的酪胺酸分子，會隨著不同 pH 值擁有不同還原能力。當 pH 值達 10.07 以上時，則酪胺酸上的酚基 (phenolic group) 會解離出質子，形成共軛鹼提供電子轉移到銀離子，合成出金-銀核殼型奈米粒子。結果顯示以硼酸氫鈉還原做為晶種的金奈米粒子平均粒徑約為 4 nm，以此晶種經由酪胺酸的胺基鍵結在表面進行官能化 (Au - Tyr)，在鹼性條件下，混入銀離子並加熱還原形成金-銀核殼型奈米粒子，則平均粒徑是 8.5 nm。使用非尋常小角度 X 光散射 (Anomalous Small Angle X-ray Scattering, ASAXS)，則證實合成出的奈米粒子是金-銀核殼型奈米粒子的形式。

透過快速混合系統，控制溶液 pH 值，於 UV-vis 量測結果得知 pH 值高低直接影響酪胺酸的還原性質；加入不同銀離子量 $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ (C_1) 和 $2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ (C_2) 做比較，由 SAXS 顯示 C_1 殼厚約 1.7 nm， C_2 殼厚約 2.7 nm，即銀離子量越多奈米粒子殼層越厚。最後利用改變晶種與銀離子之間莫耳濃度比，精確控制銀殼層厚度 1.2 ~ 3.0 nm，達到表面電漿吸收波峰在波長範圍介於 414 ~ 518 nm，具有可調控其光學性質之目的。

Abstract

Core-shell structure bimetallic nanoparticles have received much attention, particularly, by combining Au and Ag into a core-shell configuration to provide a new handle for controlling electronic, optical and catalytic properties. In this research, we have studied the amino acid tyrosine as a reducing agent to yield stable Au-Ag core-shell nanoparticles (NPs) under alkaline conditions by using small-angle X-ray scattering (SAXS), including the particle shape and size. However, tyrosine has three pK_a , the proton will be dissociated with different pH values. When the pH value is greater than 10.07, the reducing capability of tyrosine is shown to arise due to ionization of the phenolic group of tyrosine, which by electron transfer to silver ions, then synthesis of Au-Ag core-shell nanoparticles. The results suggest that the spherical Au NPs of the mean size is about 4 nm, synthesized in NaBH_4 reduction procedure. On the other hand, the spherical Au-Ag core-shell NPs of the mean size is 8.5 nm, synthesized via using Au NPs as seed and tyrosine molecules bound to the surface of Au nanoparticles through amine groups may be used to reduce silver ions under alkaline conditions and heat to form a gold-silver core-shell bimetallic structure. Another way, we also confirmed that the synthesized nanoparticles is gold-silver core-shell nanoparticles by anomalous small angle X-ray scattering (ASAXS). Finally, the conditions in experiment to change the pH and the concentration of silver ions to achieve the synthesis of core-shell nanoparticles for control shell thickness is indispensable factor.

Through rapid mixing system, change the pH values of solution can be controlled the reduction properties of tyrosine in the UV-vis measurements. Adding different amount of silver ions 1.0×10^{-4} M (C_1) and 2.0×10^{-4} M (C_2) in reaction for comparison, the result of SAXS shows C_1 shell thickness is 1.7 nm and C_2 shell thickness of 2.7 nm. That mean the more amount of silver ions make the thicker shell nanoparticles.

Finally, change molar concentration ratio between the seed and the silver ion, we can precise control the thickness 1.2 ~ 3.0 nm of silver shell to achieve control their optical properties of surface plasma absorption in the range of 414 ~ 518 nm.

圖目

圖 1-1 奈米粒子幾何結構的分類	4
圖 1-2 分割體積越小，表面積就越多	5
圖 1-3 在原子堆積的粒子中，體積越小，在表面上的原子比率就越高	5
圖 1-4 金奈米粒子尺寸與表面原子所占比率	6
圖 1-5 奈米金屬粒子製備方法之示意圖	7
圖 1-6 奈米材料在三相的化學製備法	8
圖 1-7 化學還原法之分類概圖	9
圖 1-8 (a) Rd 核 – Pt 殼型奈米粒子 (b) Pd與Pt原子隨機分佈合金奈米粒子 ..	11
圖 1-9 胺基酸的基本構造	12
圖 1-10 金包覆銀膠體粒子的不同沉積圖	17
圖 1-11 穿透式電子顯微鏡下的 (A) $Au_{85}Ag_{15}$ (B) $Au_{54}Ag_{46}$ 複合奈米粒子 (nm)	18
圖 1-12 (A)金核奈米粒子 (B)在加入銀離子還原生成金-銀核殼型奈米粒子 ..	18
圖 1-13 (A、C、E)各種不同構型的金-銀核殼型奈米粒子 (B、D、F)金與銀成分 在奈米粒子中散佈的組成情況	19
圖 1-14 為穿透式電子顯微鏡下觀察的圖像 (A)1 天後的Au-Ag奈米粒子 (B)5 天後的Au-Ag奈米粒子 (C)為(B)圖的高解析度穿透式電子顯微鏡圖 (D)20 天後聚集的奈米粒子	20
圖 1-15 透過晶種成長法生成的 15 nm金核之TEM圖.....	21
圖 1-16 含有加入銀離子較多量合成出的金-銀核殼型奈米粒子.....	21
圖 1-17 (A)為金奈米粒子 (B ~ E)銀離子加入量逐漸增加生成的Au@Ag奈米粒 子	22
圖 1-18 (A)單純金奈米粒子 (B ~ E)隨銀離子濃度增加來合成的金-銀核殼型奈 米粒子	22

圖 2- 1 銀奈米粒子合成示意圖	25
圖 2- 2 金奈米粒子合成示意圖	26
圖 2- 3 以Tyrosine包覆金奈米粒子合成示意圖	26
圖 2- 4 金核-銀殼型奈米粒子合成示意圖	27
圖 2- 5 Stopped Flow Spectrophotometer整體儀器配備圖。	28
圖 2- 6 SFM 400 內部管線結構圖	29
圖 2- 7 SFM 400的外觀：存放區位置上皆有標示R1 到 R4.....	30
圖 2- 8 (a)閘門鈕向上：存放區 (Reservoir) → 注射口(Syringe) (b)閘門鈕向 下：注射口 (Syringe) → 混合槽 (Mixer)	30
圖 2- 9 MPS 704 的操作面板	32
圖 2- 10 SFM 400 上，注射口的推進閥	32
圖 2- 11 電子能階的轉移型態	38
圖 2- 12 Cintra 202 UV-Vis Spectroscopy 型分光儀構造.....	40
圖 2- 13 GBC Cintra 202 UV-Vis Spectroscopy	40
圖 2- 14 金屬奈米粒子與入射光作用示意圖	41
圖 2- 15 物質與探測粒子的交互作用	45
圖 2- 16 BL國家同步輻射研究中心高度自動化小角度/廣角度X光散射儀器 ...	46
圖 2- 17 兩個不同位置散射點的散射波的干涉作用示意圖	47
圖 2- 18 散射向量Q 和入射波向量K 及散射波向量 K_f 的關係圖	48
圖 2- 19 改變X光強度對接近Au原子L _{III} 軌域吸收邊緣圖	54
圖 3- 1 不同pH值下，酪胺酸的H ⁺ 解離狀況.....	55
圖 3- 2 酪胺酸於合成反應中的還原機制	56
圖 3- 3 各產物與樣品的UV-vis吸收光譜圖 (a)以NaBH ₄ 還原之Au奈米粒子 (1.0 × 10 ⁻⁴ M) (b)酪胺酸 (1.0 × 10 ⁻³ M) (c)未透析前的Au-Tyr (d) 透析 3 天後的Au-Tyr (e)以酪胺酸還原之Ag-Tyr奈米粒子 (f)、(g)分別以	

	C ₁ 與C ₂ 合成Au core-Ag shell nanoparticles.....	57
圖 3- 4	Ag-Tyr的小角度X光散射圖譜的契合曲線與結果.....	59
圖 3- 5	Au-Tyr的SAXS曲線與分析的契合曲線	60
圖 3- 6	加入不同銀離子濃度合成的Au-Ag奈米粒子和契合分析後的虛線.....	61
圖 3- 7	在不同X光能量下，Ag-Tyr的SAXS圖譜	63
圖 3- 8	Au-Tyr在不同X光能量下，所得ASAXS圖譜	64
圖 3- 9	Au-Ag 核殼型奈米粒子 (含[Ag ⁺] = 1.0 × 10 ⁻⁴ M) 的ASAXS圖	65
圖 3- 10	Au-Ag 核殼型奈米粒子 (含[Ag ⁺] = 2.0 × 10 ⁻⁴ M) 的ASAXS圖	65
圖 3- 11	(a)紅點為金元素在AuTyr強度互扣的比例改變量 (b)金元素在C ₁ 反應 條件下強度互扣的比例改變量 (c)為理論上金元素佔總粒子數 75%時 的比例改變量 (d)金元素在C ₂ 反應條件下強度互扣的比例改變量.....	66
圖 3- 12	Au-Tyr的SAXS與契合曲線(虛線)與分析結果.....	68
圖 3- 13	在SFM 400 快速將Au-Tyr與Ag ₂ SO ₄ (實驗組C ₁) 混合後，進行連續量測 的SAXS圖譜 (A)pH 1.94、(B)pH 9.5、(C)pH 9.7、(D)pH 9.9 和(E)pH 10.12.....	69
圖 3- 14	將Au-Tyr與Ag ₂ SO ₄ (實驗組C ₂)混合後，進行連續量測的SAXS圖譜 (A)pH 1.95、(B)pH 9.5、(C)pH 9.7、(D)pH 9.9 和 (E)pH 10.12.....	70
圖 3- 15	酪胺酸間形成氫鍵示意圖	71
圖 3- 16	加入[Ag ⁺] = 1.0 × 10 ⁻⁴ M，合成Au-Ag Core-Shell nanoparticles，控制pH 值於 (A) 9.53 ；(B) 9.68 ；(C) 9.93 和 (D) 10.23	74
圖 3- 17	加入[Ag ⁺] = 1.0 × 10 ⁻⁴ M，銀離子還原生成銀殼，吸收強度達飽和後的 UV圖譜	75
圖 3- 18	加入[Ag ⁺] = 2.0 × 10 ⁻⁴ M，合成Au-Ag Core-Shell nanoparticles，控制pH 值於 (A) 9.53 ；(B) 9.68 ；(C) 9.93 和 (D) 10.23	76
圖 3- 19	加入[Ag ⁺] = 2.0 × 10 ⁻⁴ M，銀離子還原生成銀殼，吸收強度達飽和後的	

UV圖譜	77
圖 3- 20 酪胺酸示意圖	78
圖 3- 21 酪胺酸包覆金奈米粒子示意圖	78
圖 3- 22 金核利用正負電荷相吸作用，使銀離子包覆於奈米粒子外層	79
圖 3- 23 包覆於粒子外層的銀離子開始還原	79
圖 3- 24 金核-銀殼型奈米粒子示意圖	80
圖 3- 25 (a)用於改變銀離子對銀殼厚度影響實驗的Au-Tyr測得之SAXS圖	80
圖 3- 26 加入不同銀離子後，生成的各組不同銀殼層厚度SAXS圖，虛線為契合 曲線分析結果	81
圖 3- 27 銀殼層厚度、分散度對金/銀莫耳濃度比值作圖	83
圖 3- 28 金與銀以不同莫耳濃度混合後，改變光學性質	84

表目

表 1- 1 二十種胺基酸的分類	13
表 1- 2 各種胺基酸基團的解離及其 pK_a	15
表 1- 3 二十種胺基酸之解離常數	16
表 2- 1 實驗藥品列單	24
表 2- 2 合成金核-銀殼型奈米粒子，兩種不同濃度下加入之條件比例	27
表 2- 3 為SFM 400 內部各管線容量表	31
表 2- 4 每一注射口到Cuvette管線充滿溶液所需的體積	31
表 2- 5 改變pH值實驗中，樣品放置的注射口位置和體積比條件	33
表 2- 6 酸性以 HNO_3 與鹼性用 KOH 控制溶液pH值	33
表 2- 7 每組實驗中銀離子與金原子在總溶液內的濃度	34
表 2- 8 不同pH值還原銀離子實驗中，我們將樣品放置於不同的存放區	35
表 2- 9 Au-Ag ratio 實驗中依序將樣品放置於不同存放區	36
表 2- 10 Au-Ag ratio實驗中， $S_1 \sim S_4$ 為注射口代號，Volume (μL) 為實際溶液注	

入體積量，表格為舉例說明的範例.....	37
表 3- 1 Au-Tyr的SAXS量測數據分析結果.....	60
表 3- 2 兩種不同厚度銀殼的Au-Ag奈米粒子契合分析結果.....	62
表 3- 4 各pH值下，加入銀離子濃度 1.0×10^{-4} M後的吸附飽和時間 (time)、銀殼層厚度 (shell) 與分散度 (polydisp.).....	72
表 3- 5 各pH值下，加入銀離子濃度 2.0×10^{-4} M後的吸附飽和時間 (time)、銀殼層厚度 (shell) 與分散度 (polydisp.).....	72
表 3- 6 各pH值下，還原生成金-銀核殼奈米粒子其銀的最大特徵吸收波峰與還原達飽和時間.....	75
表 3- 7 各pH值下，還原生成金-銀核殼奈米粒子其銀的最大特徵吸收波峰與還原達飽和時間.....	77
表 3- 8 以fitting軟體契合後，所得到在不同 Ag^+/Au^0 比值的分析結果.....	82

第一章 緒論

1.1 前言

「奈米科技」成爲今日科研的顯學其實有點偶然，在 90 年代以後隨著冷戰的結束，也結束了國防工業競爭的時代，各國的研究重點逐漸往高齡化社會相關方向走，自然而然研究經費大量投注在「生物醫學」方面，造成其他基礎與應用科學研究的邊緣化。在各方尋找新研究目標之際，「奈米科技」脫穎而出，因爲他可以涵蓋物理、化學、材料、電子等從基礎到應用科學，成爲各界都可接受的標的，進而成爲當今各國實用科學研究的旗艦計畫。¹

1.2 奈米科技發展的重大發展

奈米技術一路走來，並不是那麼得心應手，有些技術是環環相扣，必須其他相關技術成熟之後才能水到渠成的。以下是近來幾項重要的歷程^{2,3}：

- 1959 年 12 月，著名的美國物理學家費因曼 (Richard Phillips Feynman, 1918-1988) 在美國加州舉行的美國物理學會 (American Physical Society) 年會上進行一個題目爲「底部尚有大量空間」 (There's Plenty of Room at the Bottom) 的演講時，他說：「我絕不懷疑當我們能在如此小的尺寸度上進行操縱時，將可以創造出大量具有獨特性質的物質。」這種創新的奇想就是奈米科技基本概念起源。
- 1962 年，日本物理學家九保亮五 (R. Kubo) 提出了著名的久保理論—「量子侷限理論」 (Quantum Confinement Theory)，用以解釋金屬超微粒所呈現的能量不連續現象。

- 1981 年，國際商業機器公司(IBM)蘇黎世研究實驗室的羅瑞 (Heinrich Rohrer) 博士和賓尼 (Gerd Karl Binnig) 博士共同發明了掃描穿隧顯微鏡 (Scanning Tunneling Microscope, STM)。
- 1990 年 4 月，美國國際商業機器公司 (IBM) 的科學家伊格 (Don M. Eigler) 博士與史維哲 (E. K. Schweizer)，在液氮溫度 (4 K) 下，利用掃描作用力顯微鏡 (Scanning Force Microscope, SFM) 探針，藉由電場吸附與去電場分離，成功地在鎳表面以 35 個氫原子排列成 “IBM” 三個英文字母，每個字只有 5 nm 大。
- 1991 年，日本築波「日本電氣株式會社」(NEC Corporation) 公司的飯島澄男 (Sumio Iijima) 進行石墨電極直流放電，利用電子顯微鏡觀察其產物時，發現了直徑在數奈米至數十奈米，長度達 μm 級，管壁呈現石墨結構的多層壁奈米碳管 (Multi-Walled carbon Nano Tube, MWNT)。
- 1994 年，在美國波士頓召開的 MRS (材料研究學會) 秋季會議上正式提出「奈米材料工程」一詞。
- 2002 年，美國加州羅倫斯利物摩爾國家實驗室的瑞第 (Jean-Yves Raty) 及其同事，利用電腦理論計算模擬出奈米尺度金剛石的微粒模型，一般稱它為「巴克球」(Bucky Ball)。
- 2003 年 5 月，美國國會通過「2003 奈米技術研究發展法案」在未來為奈米科技研究撥款 2 千億美元，以期讓美國在奈米科技領域上擁有領先的地位。
- 2004 年，英國皇家協會與皇家工程學院於七月二十九日公佈了人們期盼已久的報告，報告名稱為“奈米科學與奈米科技的機會與不確定性”，該報告討論了奈米科技的潛在風險與利益，並且建議對奈米微粒與奈米管進行更多的安全測試；該份報告也說明了奈米科技於現在與未來提供許多利益的事實。

- 2006 年，在 2 月 21~23 日於日本東京舉辦的奈米科技展 (Nano tech 2006)，為目前世界最大的奈米科技相關展覽與會議，統計共有 45,800 人以上參加赴展。
- 2007 年，美國環保署成立的跨部門奈米科技工作團隊，完成奈米科技白皮書 (USEPA, 2007)，來確保奈米科技在環境保護工作上發揮效益，並且重視奈米材料暴露於環境中的可能危害。
- 2008 年，美國科學家設計出碳奈米管質譜儀，其原理是測量懸掛碳奈米管吸附氣體分子後的振動頻率變化，藉此得以偵測氣體分子的質量。
- 2010 年 10 月 5 日，諾貝爾物理學獎公佈，任教於英國曼徹斯特大學的俄裔學者海姆 (Andre Geim) 和諾沃謝洛夫 (Konstantin Novoselov) 共同獲獎，兩人發現並研究石墨烯 (Graphene)；石墨烯，硬度是鋼的 100 倍、厚度僅有一個碳原子，傳導速度比矽更快。這種輕薄、堅硬且導電性佳的材質可廣泛應用於生活中，如液晶顯示器及觸控面板。

1.3 奈米簡介與特性

奈米是一個長度單位，1 奈米 (nm) = 10^{-3} 微米 (μm) = 10^{-6} 毫米 (mm) = 10^{-9} 米 (m) = 10 埃 (Å)。奈米科學與技術是研究尺寸在 0.1 ~ 100 nm 物質組成的體系，相關的運動規律和相互作用，以及解決可能在實際應用中出現技術問題的一門科學技術。

奈米材料的基本單元按維數可以分為三類 (如圖 1-1)：零維，指其空間三維均在奈米尺度範圍內，如奈米顆粒、原子簇、人造超原子…等；一維，指其空間有兩維處於奈米尺度範圍內，如奈米絲、奈米棒、奈米管等；二維，指其三維空間中有一維在奈米尺度範圍內，如奈米薄膜…等。因為這些單元往往具有量子性質，所以零維、一維和二維的基本單元又分別有量子點、量子線和量子阱之稱⁴。

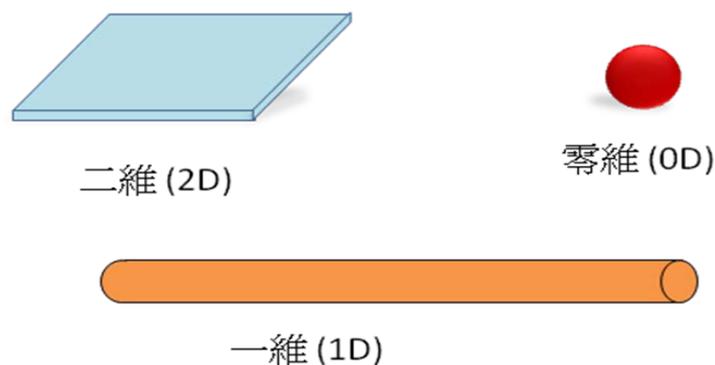


圖 1-1 奈米粒子幾何結構的分類⁵

近十年來，「奈米材料」或「奈米技術」已成為大家爭相研究的方向。在奈米技術的研發中，奈米粒子 (nanoparticle) 是一種極佳的材料，可直接應用在化學工程、製藥及生化技術上，提供多功能或結構複雜的配件及元件，奈米粒子是指利用單一材料所形成小於 100 nm 大小的粒子。

進入奈米尺度後，由於結構尺寸變小，表面原子數相對於體積比例增大，表面位能增加，不飽和鍵結數劇增，使得表面結構易產生重組或與環境中其他成份結合，造成材料性質 (光、電、機械、磁、化學或生物等特性) 隨著尺寸的縮小、組成等變化與結構的不同會有許多新的「奈米特性」產生⁶。

1.3-1 奈米特性

主要可分為以下 4 種基本的特性⁴：

1、小尺寸效應：

當奈米材料的微粒尺寸小到與光波波長或德布羅依波波長 (de Broglie wave) 等物理特徵相當或更小時，由於在非晶態奈米微粒的顆粒表面層附近原子密度減小，這種變化使得材料的聲、光、電、磁、熱、力學等性質出現改變導致新的特性產生，此現象就叫做奈米材料的小尺寸效應。

2、表面效應：

奈米材料由於其組成的材質粒子尺寸較小，微粒表面所占有的原子數目會遠遠多於相同質量的非奈米材料粒子表面所占有的原子數目。隨著微粒子粒徑變小，其表面所占粒子數目呈幾何級數增加（圖 1-2）。單位質量粒子比表面積的增大，表面原子數目的驟增（圖 1-3、圖 1-4），使原子配位數嚴重不足，高比表面積帶來的高表面能，使粒子表面原子極其活躍，很容易與周圍的氣體反應，也容易吸附氣體，這一現象就叫做奈米材料的表面效應。

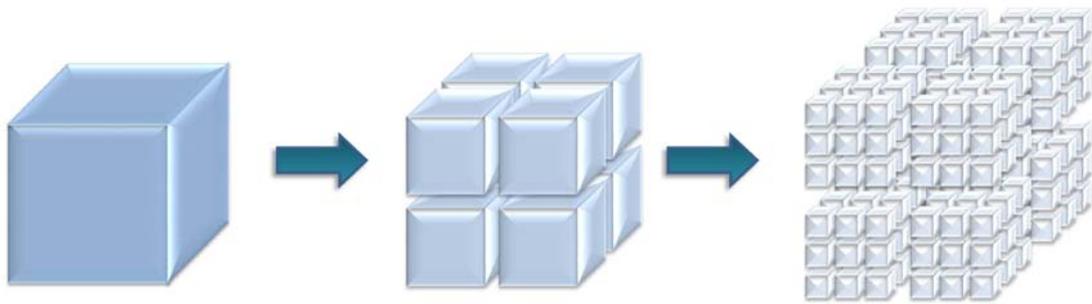


圖 1-2 分割體積越小，表面積就越多

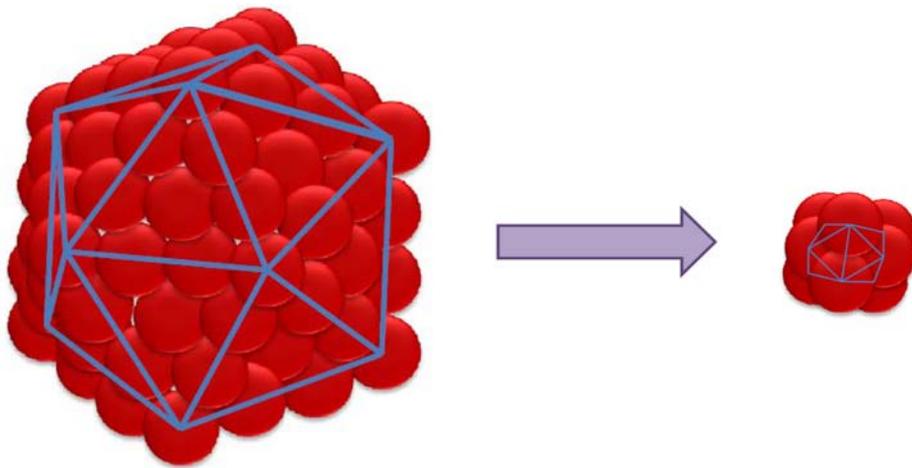


圖 1-3 在原子堆積的粒子中，體積越小，在表面上的原子比率就越高

奈米粒子的直徑 (nm)	金 (Au)	
	粒子中的原子數	表面原子所佔比率 (%)
1	30	99
2	250	64
5	4000	25
10	30000	13
20	250000	6

圖 1-4 金奈米粒子尺寸與表面原子所佔比率

3、量子尺寸效應

當材料由金屬塊材的原子數趨近於無限，降至奈米微粒原子數的有限，因而使金屬費米能階附近的電子能階由連續變為離散，致使奈米半導體微粒存在不連續得最高被占據分子軌域 (HOMO)，以及最低未被占據的分子軌道能階(LUMO) 之間能隙變寬的現象就稱為奈米材料的量子尺寸效應。

4、巨觀量子隧道效應

奈米材料中的粒子具有穿過位能障的能力叫做隧道效應。巨觀物理量的量子相關元件中的隧道效應則稱為巨觀隧道效應。例如磁化強度，具有磁鐵性的磁鐵，其粒子尺寸到達奈米級時，即由磁鐵性變為順磁性或軟磁性。

1.4 金屬奈米粒子之製備

金屬奈米粒子可由兩種不同方式製成，如圖 1-5：

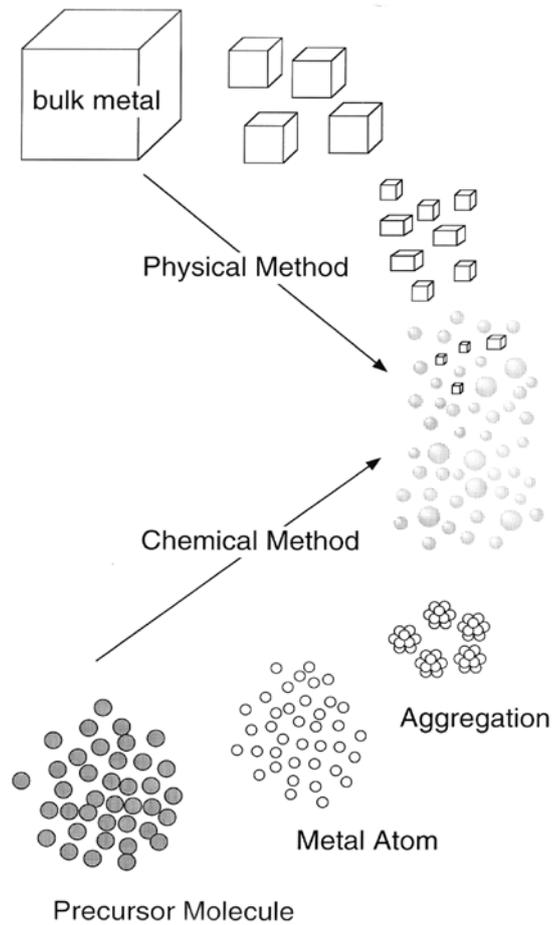


圖 1-5 奈米金屬粒子製備方法之示意圖⁷

圖 1-5，物理法 (Physical Method)：從較大的塊材層級研磨至奈米級的微粒，製程前後其化學組成不變，乃利用機械動力將固體微細化。化學法 (Chemical Method)：從離子層級藉由控制化學反應生成原子成品過程中的聚集條件，以產生奈米微粒²。

其中化學製備方式所得之奈米粒子，比物理製備的產物還要來的更小且尺寸大小也比較平均。因此以化學方式製備時，控制原子之間的聚集現象和操控金屬奈米粒子的尺寸與均一性，便是相當重要的步驟。製備金屬奈米粒子，以下圖 1-6 舉例幾個化學方式在三相中常見的製法：

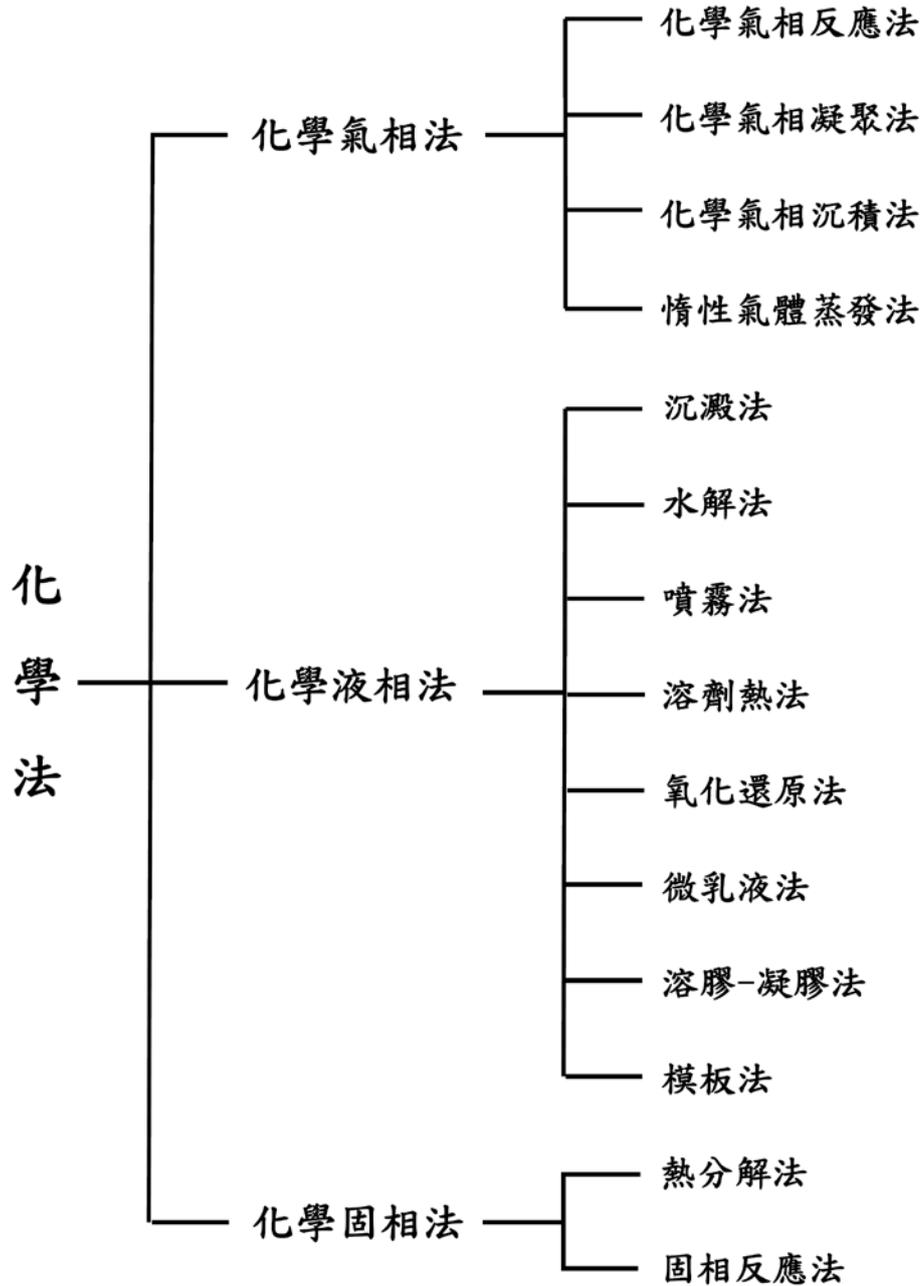


圖 1-6 奈米材料在三相的化學製備法⁴

以化學還原法（氧化還原法）生成奈米粒子，在 2001 年牟中原教授等人⁸，則將其分類為圖 1-7，將各種具有保護基或不具有保護基的溶液中之各種氧化態的金屬離子，藉由還原劑或電化學系統，在自由空間 (free space) 或侷限空間 (confined space) 中還原成零價 (zerovalent) 金屬。

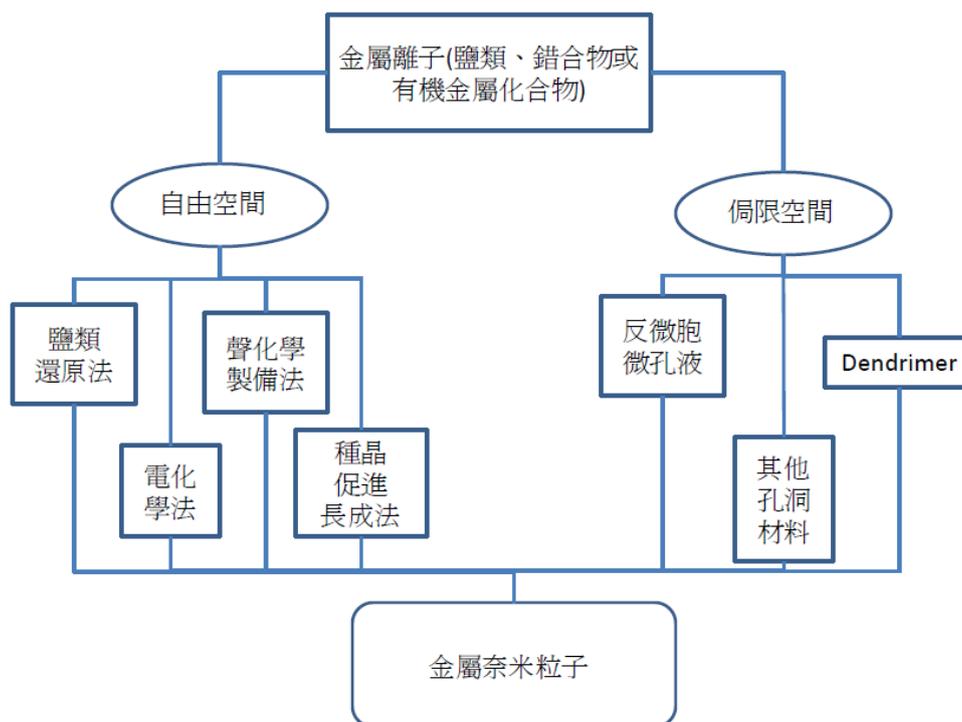


圖 1-7 化學還原法之分類概圖

圖 1-7 中種晶促進長成法是先將待還原之金屬離子溶液，加到事先製備好作為種晶之小粒徑（小於 10 nm）金屬奈米顆粒，再滴加還原劑，還原生成所需大小之金屬奈米顆粒。若預先加入之金屬奈米種晶與欲形成之金屬奈米顆粒為同一金屬，則稱為勻相 (homogeneous) 種晶促進長成；若為不同金屬，則稱為異相 (heterogeneous) 種晶促進長成。

1.4-1 金奈米粒子

人類使用金已經超過 7000 年的歷史，金在 21 世紀奈米時代，肯定是一個極重要的材料。奈米金粒子具有良好的生物相容性，且活性的大幅增加也變成用途很廣的觸媒，除了可以拿來做為防毒面具的活性劑之外，還可以取代昂貴的鉑，運用在汽車排氣管內的觸媒轉化器⁹。

合成金奈米粒子或金的膠體粒子 (colloidal gold solutions)，最早見於 1618 年 Antonii 的書中，當時是用以治病的。1857 年，Faraday 做過在 CS₂ 中用磷還原金的氯鹽 (HAuCl₄)，進而觀察到膠體溶液製成的薄膜，以機械施壓後薄膜顏色由藍紫轉變為綠色的光學特性¹⁰。1951 年 Turkevitch 利用 Citrate 在水溶液中還原 HAuCl₄，成功製備 20 nm 的金奈米粒子¹¹。1973 年，Frens 更利用變化 Trisodium citrate 與金離子的比例，製備出 16 ~ 147 nm 的金奈米粒子¹²。1994 年，Brust -Schiffrin 所發表的方法，是第一個製備出可在空氣中仍相當穩定的奈米金粒子，利用 thiol ligands 鍵結在金的表面，1.5 ~ 5.2 nm 大小的奈米金粒子可以重複地分離或分散於有機溶劑中不會導致聚集或分解¹³。

1.4-2 銀奈米粒子

金屬銀奈米化，由於以傳統機械研磨的極限約 500 nm，且粒徑大小不易控制，很難形成高均勻性的銀奈米粒子溶液。目前要得到高均一性的奈米銀粒子，多採用化學還原的方法，先選擇適當的前驅物 (precursor)，多以銀的硝酸鹽、氯化鹽為主；至於還原劑方面則以聯胺 (N₂H₄)、硼氫化鈉 (NaBH₄)、次磷酸鈉 (NaH₂PO₂)、甲醛 (HCHO)、檸檬酸鹽等，為了避免粒子聚集及控制粒徑成長，曾被使用過的保護劑至少包括：polyvinyl-pyrrolidone (PVP)、gelatin、polyvinyl alcohol (PVA)、polyacrylonitrile (PAN)、potassium polyvinyl sulfate (PVS)等⁶。

銀本身具有預防傷口潰爛和加速傷口癒合的作用，但經過奈米技術處理的奈米銀因表面急劇增大，使其殺菌能力可提高 200 倍左右，而且銀奈米粒子在水中呈中性，能耐酸和弱鹼，對熱和光穩定性良好，故被譽為「永久性的殺菌劑」¹⁴，目前已經逐漸被廣泛使用於一般生活環境中，市面上已陸續出現奈米銀相關性產品，包括繃帶、襪子、飲水器、冷氣機、電冰箱和洗衣機等抗菌產品。

1.5 核-殼型奈米粒子

結合兩種或兩種以上的材料，形成一個新的結構，此類奈米粒子統稱為混合型奈米粒子 (Hybrid Nanoparticles)¹⁵。在雙金屬或核殼型奈米粒子中，依金屬分佈的情況，可分為兩種形式，如圖 1-8 (a) 核殼型 (Core-Shell)，是將 Pd 的奈米級厚度的薄膜層鍍在 Pt 粒子的表面上，另一種則是金屬原子隨機分佈的合金型 (Alloy)，圖 1-8 (b)。

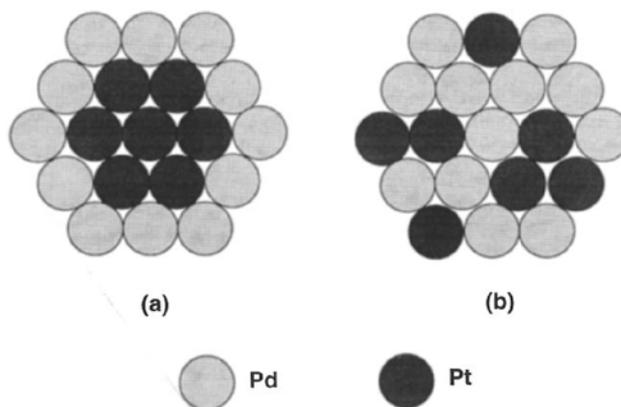


圖 1-8 (a) Pd 核 - Pt 殼型奈米粒子 (b) Pd 與 Pt 原子隨機分佈合金奈米粒子⁷

合金型是指兩種或多種金屬原子以金屬鍵方式結合，金屬原子均勻分布於粒子中，這類的奈米粒子，金屬會失去原本的特性，展現出新的物理、化學性質。核殼型是指其中一種金屬為核，另一種金屬則在核外成長形成殼層，這樣的結構，

不僅保有雙金屬原本的特性，也改變了中心核金屬表面的電性、功能性、活性，讓中心奈米粒子在溶劑中有良好的分散性及穩定性，且因為受到第二元素影響，也會具有先前沒有的電性質、光學性質及觸媒催化等功能。

1.5-1 核殼型奈米粒子之製備

製備核殼形式之奈米粒子，除了由各成分反應成核 (nucleation)、成長 (growth) 速率過大等差異性進行生成以外，即共還原法 (co-reduction) 外，最常見的製備方式還是以兩步驟完成的逐步還原法 (successive reduction)，即是先以一般單成分奈米粒子合成出所需的核粒子，再進一步的以披覆技術產生奈米殼層⁶。

1.6 胺基酸做為還原劑

1.6-1 胺基酸簡介

胺基酸 (Amino acid) 是構成蛋白質的基本單位，賦予蛋白質特定的分子結構形態，使他的分子具有生化活性。胺基酸種類很多，但有共同的基本構造；分子構造的中心為一碳原子，分別在四端加上四個化學基團即可，分子構造的中心為一碳原子，稱為 α 碳 (α carbon)，接在碳上的有一個氨基 ($-\text{NH}_3^+$) 與一個酸基 ($-\text{COOH}$)，故名胺基酸，另外兩個分別為氫原子 (H) 和基團 (R-group)¹⁶，如圖 1-9。

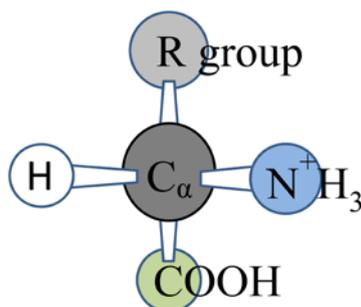


圖 1-9 胺基酸的基本構造

1.6-2 胺基酸的分類

隨著 R 基團的不同，各胺基酸的性質互有差異，組成的二十種胺基酸可分為幾大類，如下表 1-1：

表 1-1 二十種胺基酸的分類¹⁶

分類	名稱		縮寫		R-group
唯一對稱胺基酸	甘胺酸	Glycine	Gly	G	-H (構造最簡單)
含飽和碳氫基團	丙胺酸	Alanine	Ala	A	-CH ₃
	纈胺酸	Valine	Val	V	-C(C) -C
	白胺酸	Leucine	Leu	L	-C-C(C) -C
	異白胺酸	Isoleucine	Ile	I	-C(C) -C-C
含芳香基團	苯丙胺酸	Phenylalanine	Phe	F	-C- [C ₆ H ₅]
	酪胺酸	Tyrosine	Tyr	Y	-C- [C ₆ H ₄] -OH
	色胺酸	Tryptophan	Trp	W	-C- [indole]
	組胺酸	Histidine	His	H	-C- [imidazole]
含額外酸基 (及其醯胺)	天冬胺酸	Aspartic acid	Asp	D	-C-COOH
	天冬醯胺酸	Asparagine	Asn	N	-C-CONH ₂
	麩胺酸	Glutamic acid	Glu	E	-C-C-COOH
	麩醯胺酸	Glutamine	Gln	Q	-C-C-CONH ₂
含額外胺基	離胺酸	Lysine	Lys	K	-C-C-C-C-NH ₂
	精胺酸	Arginine	Arg	R	-C-C-C- [guanidine]
含有醇基	絲胺酸	Serine	Ser	S	-C-OH
	蘇胺酸	Threonine	Thr	T	-C(OH) -C
含有硫	甲基胺酸	Methionine	Met	M	-C-C-S-C
	胱胺酸	Cysteine	Cys	C	-C-SH
環狀的亞胺酸	脯胺酸	Proline	Pro	P	(imino acid)

1.6-3 胺基酸的離子性質¹⁶

- **解離度 (pK_a) :**

質子是化學層次最小的粒子，很容易由一極性基團解離出來，在水溶液中無所不在；其解離難易可以 pK_a 值 表示之。

(a) 質子搶奪： 氫原子若與陰電性大的原子（如酸基 $-\text{COOH}$ 中的氧原子）共價，則其電子易遭搶奪而使質子裸露 ($-\text{COO}^-\text{H}^+$)，進而解離出 H^+ 。

(b) Ampholyte： 胺基酸的酸基易解離出質子（成爲帶負電基團 $-\text{COO}^-$ ），而其胺基又會接受一質子（成爲 $-\text{NH}_3^+$ ）。如此一分子同時帶有正電與負電者，稱爲 Ampholyte。

(c) 質子解離： 解離程度決定於該水溶液的 pH 與分子上解離基團 pK_a 的高低。 pK_a 的大小顯示一個官能基容不容易釋放出 H^+ ， pK_a 越小越容易釋放。

- **等電點 (pI) :**

(a) 胺基酸 α 碳上的胺基及酸基各有一帶電基團，故有二 pK_a ，分別界定胺基及酸基的解離 pH 值。此二者的 pK_a 平均值即爲該胺基酸的 pI (等電點) ($(pK_{a1} + pK_{a2}) \div 2 = \text{pI}$)。

(b) 若環境的 pH 等於某胺基酸的 pI ，則此胺基酸的淨電荷爲零；因爲在此 pH 下，剛好有一正電基團及一負電基團。

(c) 胺基酸的淨電荷是正是負，受環境的 pH 所控制；環境 pH > pI 帶負電，反之則帶正電。

(d) 某些胺基酸的 R 基團，有額外的帶電基團（例：Lys 另有一胺基），則可有三個 pK_a；可解離出 H⁺ 或吸收 H⁺ 的官能基，都有一個 pK_a。這三個 pK_a 中，有兩個 pK_a 的胺基酸帶一個淨正電或淨負電，這兩個 pK_a 值的平均即為其等電點。

各種胺基酸的解離基團及其 pK_a 關係如表 1-2，是各種基團在不同的 pH 值下解離的情況。

表 1-2 各種胺基酸基團的解離及其 pK_a

α -COOH	\rightleftharpoons	α -COO ⁻	+ H ⁺	pK _a = 1.8~2.4
R-COOH	\rightleftharpoons	R-COO ⁻	+ H ⁺	pK _a = 3.9~4.3
His-Imidazole·H ⁺	\rightleftharpoons	His-Imidazole	+ H ⁺	pK _a = 6.0
Cys-SH	\rightleftharpoons	Cys-S ⁻	+ H ⁺	pK _a = 8.3
Tyr-OH	\rightleftharpoons	Tyr-O ⁻	+ H ⁺	pK _a = 10
α -NH ₃ ⁺	\rightleftharpoons	α -NH ₂	+ H ⁺	pK _a = 8.8~11
R-NH ₃ ⁺	\rightleftharpoons	R-NH ₂	+ H ⁺	pK _a = 10~12.5

依據各別胺基酸所帶的官能基，各胺基酸之解離常數如下表 1-3：

表 1-3 二十種胺基酸之解離常數¹⁷

Amino Acid	-NH ₃ ⁺	-COOH	Side chain	pI
Glycine (G)	9.6	2.34	—	5.97
Alanine (A)	9.69	2.35	—	6.02
Valine (V)	9.62	2.32	—	5.97
Leucine (L)	9.60	2.36	—	5.98
Isoleucine (I)	9.68	2.36	—	6.02
Serine (S)	9.15	2.21	—	5.68
Threonine (T)	10.43	2.63	—	6.53
Lysine (K)	8.95	2.18	10.53	9.74
Arginine (R)	9.04	2.17	12.48	10.76
Histidine (H)	9.17	1.82	6.0	7.58
Aspartic Acid (D)	9.82	2.09	3.86	2.87
Asparagine (N)	8.08	2.02	—	5.41
Glutamic Acid (E)	9.67	2.19	4.25	3.22
Glutamine (Q)	9.13	2.17	—	5.65
Phenylalanine (F)	9.13	1.83	—	5.48
Tyrosine (Y)	9.11	2.20	10.07	5.65
Proline (P)	10.60	1.99	—	6.10
Tryptophan (W)	9.39	2.38	—	5.88
Methionine (M)	9.21	2.28	—	5.75
Cysteine (C)	8.33	1.71	10.78	5.02

根據上表酸解離情況，氨基酸上之官能基在丟去質子後，常帶有負電荷的結構式，使得少數氨基酸的結構可具有還原性；過去研究學者就利用此特性，以氨基酸做為還原劑使用，曾研究或使用的有天門冬氨酸 (Aspartic acid)¹⁸、色胺酸 (Tryptophan)¹⁹、精胺酸 (Arginine)²⁰ 和酪胺酸 (Tyrosine)²¹ 等，進行還原生成金屬奈米粒子。

1.7 文獻回顧

在過去合成金-銀核殼型奈米粒子的文獻中，Naoki T. . . 等人²²在2000年，便曾合成出金包覆銀的複合型奈米粒子，其利用加入 HAuCl_4 與檸檬酸鈉至已還原的銀奈米粒子溶液中反應，而生成機制是由沉積步驟進行如圖 1-10，為金包覆銀形式的膠體粒子。

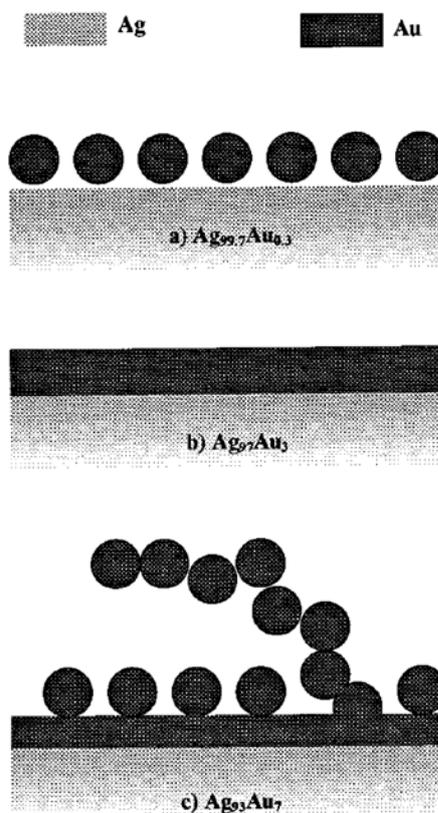


圖 1-10 金包覆銀膠體粒子的不同沉積圖

學者更以此方式，合成出不同金銀比例的銀包覆金複合奈米粒子，以穿透式電子顯微鏡 (Transmission electron microscope, TEM) 觀測，如圖 1-11

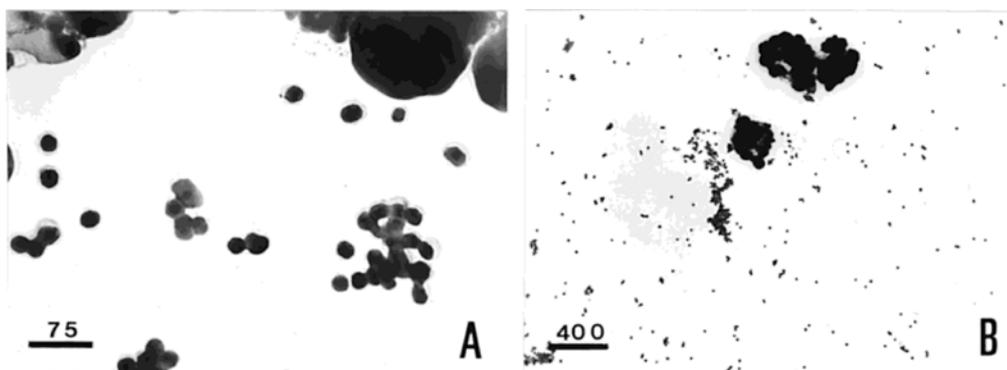


圖 1- 11 穿透式電子顯微鏡下的 (A) $Au_{85}Ag_{15}$ (B) $Au_{54}Ag_{46}$ 複合奈米粒子 (nm)

而影響沉積步驟的因素有沉積的金屬原子種類與沉積量多寡；在銀包覆金複合奈米粒子方面，少量的銀會致使金-銀核殼型奈米粒子生成，相較下大量的銀則偏向個別粒子生成。在金包覆銀奈米粒子方面，少量金加入時會先生成各別的小粒子，由於表面積較大造成的不穩定，會逐漸遷移至銀表面堆積並固定化，直到金加入數量達粒子總原子數的 3 % 以上才真正生成金完整包覆銀粒子的核殼型奈米粒子。

在 2006 年，Masaharu T. … 等人²³，則以 microwave-polyol method 合成出不同構型的 Au@Ag Core-Shell 奈米粒子，圖 1-12：

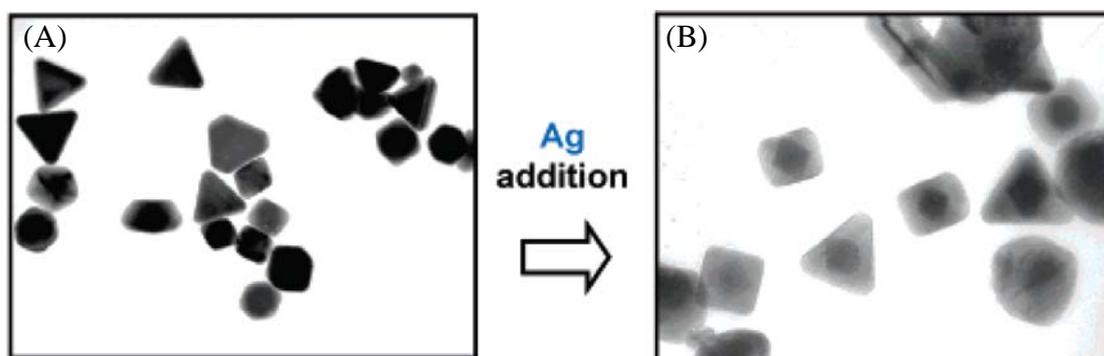


圖 1- 12 (A)金核奈米粒子 (B)在加入銀離子還原生成金-銀核殼型奈米粒子

並進一步的利用 TEM 的能量散佈分析儀 (Energy Dispersive Spectrometer, EDS) 進行分析，如圖 1-13

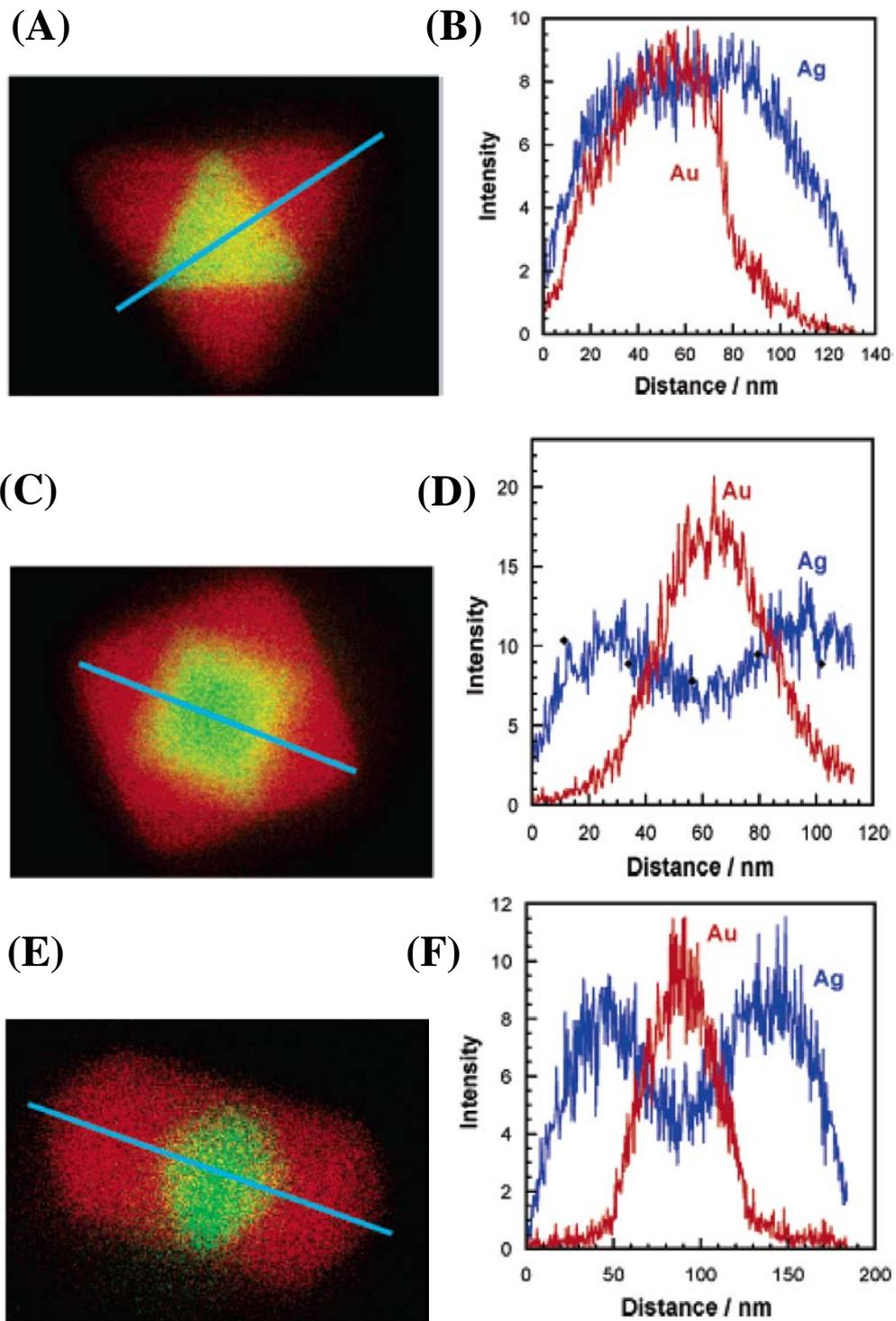


圖 1- 13 (A、C、E)各種不同構型的金-銀核殼型奈米粒子 (B、D、F)金與銀成分在奈米粒子中散佈的組成情況

由圖中(B、D、F)金銀彼此分佈關係是由圖(A、C、E)上線性掃描的量測，可確切得知，在文獻中合成之核殼型奈米粒子確實為金-銀核殼型。

接著 Murugadoss A. …等人²⁴，在 2009 則是以維他命 C (L-ascorbic acid) 為還原劑並用 NaOH 控制 pH 值進行反應，以 HAuCl_4 還原為奈米粒子做為晶種，進一步加入不同量的 AgNO_3 來合成金-銀核殼型奈米粒子；其放置於室溫下 6 天後，則會有明顯金屬奈米纖維生成，這是由於多餘的銀離子會持續還原生成細小銀粒子，以做為膠體 (glue) 黏著大粒徑奈米粒子形成纖維 (如圖 1-14)

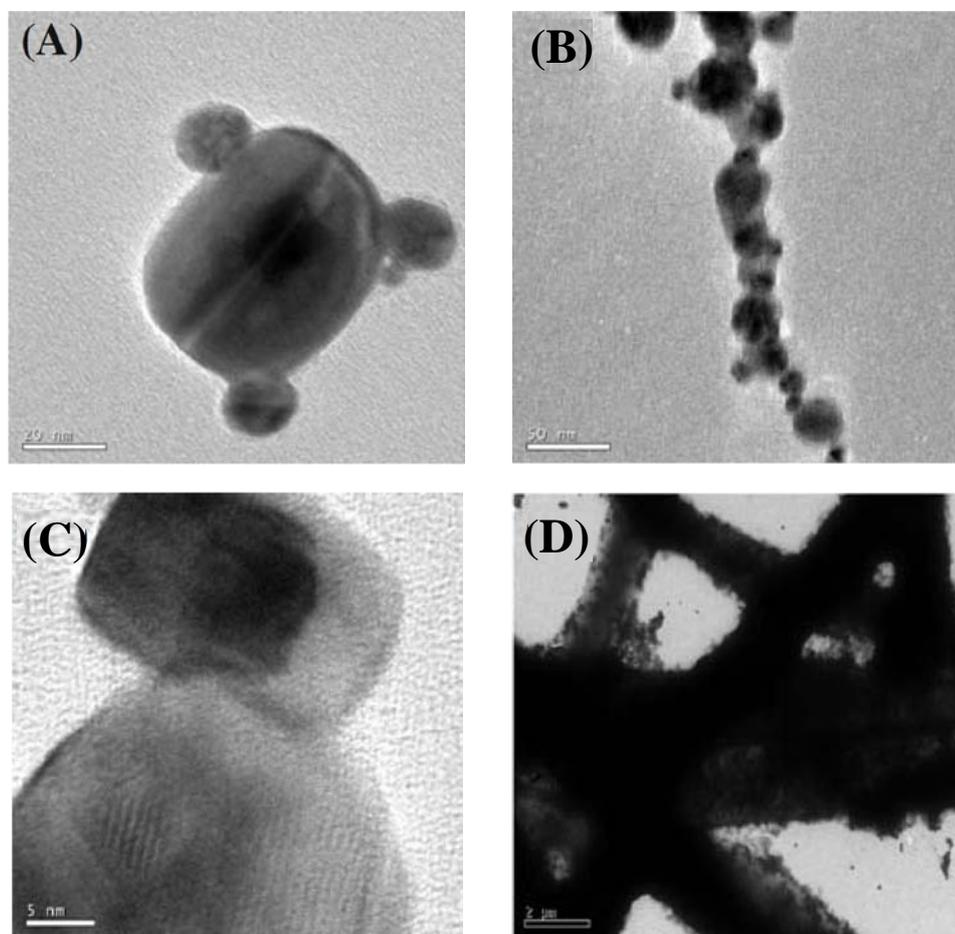


圖 1- 14 為穿透式電子顯微鏡下觀察的圖像 (A)1 天後的 Au-Ag 奈米粒子 (B)5 天後的 Au-Ag 奈米粒子 (C)為(B)圖的高解析度穿透式電子顯微鏡圖 (D)20 天後聚集的奈米粒子

由圖 1-14 中，可以看到粒子在合成後會持續進行後續反應，因而核殼型奈米粒子便聚集形成纖維，其步驟便包括使用 L-ascorbic acid 還原 HAuCl_4 生成 Au 奈米粒子，接著加入 AgNO_3 生成 Au-Ag 核殼型奈米粒子，並自發形成奈米纖維。

在 2011 年 Santanu Pyne... 等人²⁵，則於 Poly vinyl alcohol(PVA) 溶液中成功合成出金核為~15 nm，銀殼厚度大小從 1 nm 到 5 nm 的 Au@Ag core@shell 奈米粒子。此文獻使用種晶成長方式以 HAuCl_4 與 CTAB 混合溶液加入 NaBH_4 還原出細小奈米金粒子，在加入 HAuCl_4 、CTAB 與還原劑 ascorbic acid 利用後續成長生成較大的 15 nm 金核晶種如圖 1-15：

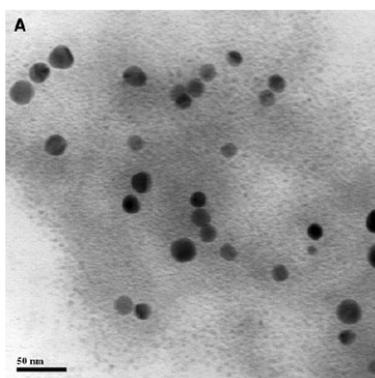


圖 1-15 透過種晶成長法生成的 15 nm 金核之 TEM 圖

再將上述含有晶種的溶液與 PVA 混合，加入 NaOH、維他命 C 與不同量的 AgNO_3 等，還原生成金-銀核殼型奈米粒子圖 1-16 為 TEM 圖像，而溶液外觀如圖 1-17。

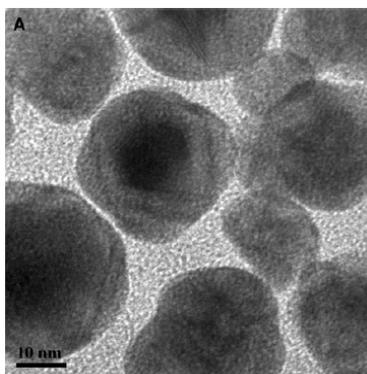


圖 1-16 含有加入銀離子較多量合成出的金-銀核殼型奈米粒子



圖 1-17 (A)為金奈米粒子 (B ~ E)銀離子加入量逐漸增加生成的 Au@Ag 奈米粒子

文獻中將樣品 A ~ E 以 UV-vis 進行量測所得圖譜如圖 1-18

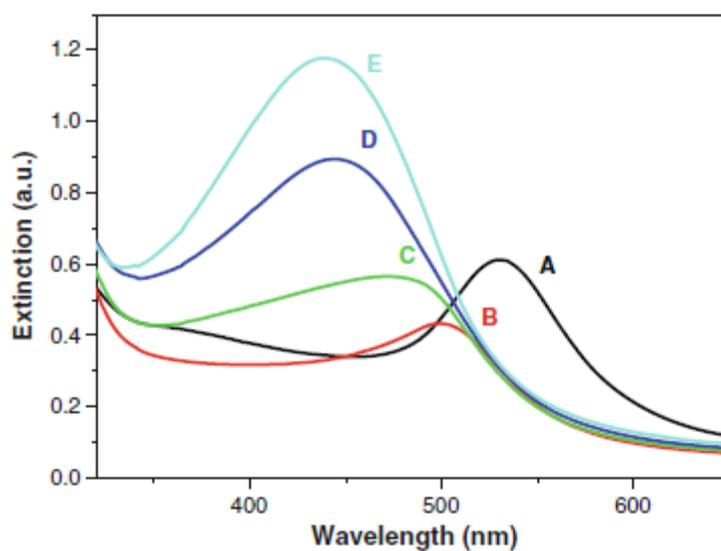


圖 1-18 (A)單純金奈米粒子 (B ~ E)隨銀離子濃度增加來合成的金-銀核殼型奈米粒子

圖 1-18 隨著銀離子加入量增多，溶液顏色從粉紅到亮紅在轉變為金黃色，而金銀之間的不同莫耳濃度合成的金-銀核殼奈米粒子，造成的表面電漿共振吸收反應在 UV-vis 則如圖 1-18，最大吸收波峰由 520 nm 到 410 nm 出現藍位移現象。

1.8 研究動機與目的

由於雙金屬奈米粒子外表包覆另一層金屬物，使原核心金屬更趨穩定外亦讓核心金屬受到外層金屬的特性影響，引發出不同於雙金屬性質的光、電學，進而讓核殼型奈米粒子合成的研究更加熱烈。近年來，降低環境污染與能源再生的觀念，隨著綠色化學的發展逐漸被受重視；以致於在合成方法中，不斷尋求反應試劑、反應條件甚至產物與廢液等，希望能達到無污染、低能量耗損且少廢料排放。過去學者曾以胺基酸裡的天門冬胺酸 (Aspartic acid)和色胺酸 (Tryptophan)做為還原試劑，並穩定金奈米粒子，但這兩胺基酸皆無法使銀離子還原成奈米粒子。

而本實驗使用酪胺酸 (Tyrosine) 為還原劑，是二十種常見胺基酸中，較少部分同時具有 R-group、COOH 和 NH_3^+ 三者 pKa 的胺基酸；其中酪胺酸分子上 NH_3^+ 的 N 與金奈米粒子可形成鍵結穩定金核，並藉由 R-group 上的 OH 基，在鹼性條件下進行解離氫離子提供電子給銀離子還原成銀原子形成銀殼包覆金核奈米粒子等現象，在本實驗室先前的研究中已相當清楚²⁶。

然而過去文獻中，研究奈米粒子的還原機構、成核機制²⁷以及離子行為，一直都是合成奈米粒子技術上探討的重點資訊。因此在本實驗設計的反應溶液中，關於包覆在金奈米粒子外酪胺酸的酸解離性質，對形成奈米殼的銀奈米粒子的影響，相關的解離質子 (deprotonation) 現象、銀離子在溶液中的活動、銀原子在金奈米粒子表面的行為等，更都是直接的證據，證實可以合成出不同銀殼層厚度的核殼奈米粒子，故希望能夠以小角度 X 光散射 (Small angle X-ray Scattering) 與紫外-可見光吸收光譜儀 (UV-Vis Spectroscopy) 進一步比較並加以控制奈米粒子的殼層厚度。

第二章 實驗與儀器

2.1 實驗藥品

表 2-1 實驗藥品列單

英文名稱	化學式	中文名稱	代理公司	CAS. NO.
Tetrachloroauric (III) acid trihydrate	HAuCl_4	四氯金酸	Sigma-Aldrich	10961-25-4
Sodium borohydride	NaBH_4	硼氫化鈉	Merck	16940-66-2
L-Tyrosine	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	酪胺酸	Sigma-Aldrich	60-18-4
Potassium hydroxide	KOH	氫氧化鉀	Merck	1310-58-3
Silver sulfate	Ag_2SO_4	硫酸銀	Merck	10294-26-5
Nitric acid	HNO_3	硝酸	Merck	7697-37-2

(實驗用水皆以 Millipore Milli-Q 純水系統純化，比抗阻值為 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 。)

2.1-1 一般實驗儀器與耗材

1. 電子天平 : DHAUS Adventurer Pro Blance AV264C
2. pH meter : Sartorius PB-10
3. 加熱攪拌器 : IKA C-MAG HS7
4. 透析膜 : Cellu SepT4 , MWCO : 12000-14000

2.2 奈米粒子合成之實驗

2.2-1 酪胺酸合成銀奈米粒子 (Tyrosine capped Ag nanoparticles)

取 10.0 ml 硫酸銀 (1.0×10^{-3} M) 以二次去離子水稀釋至 90 ml，並混合少量體積的 10.0 ml 酪胺酸 (1.0×10^{-3} M)，滴入氫氧化鉀調整 pH 值大於 10.25，此時為一澄清透明的溶液，加熱至沸騰一段時間後，溶液轉變為黃色，便已進行還原反應而生成銀奈米粒子。

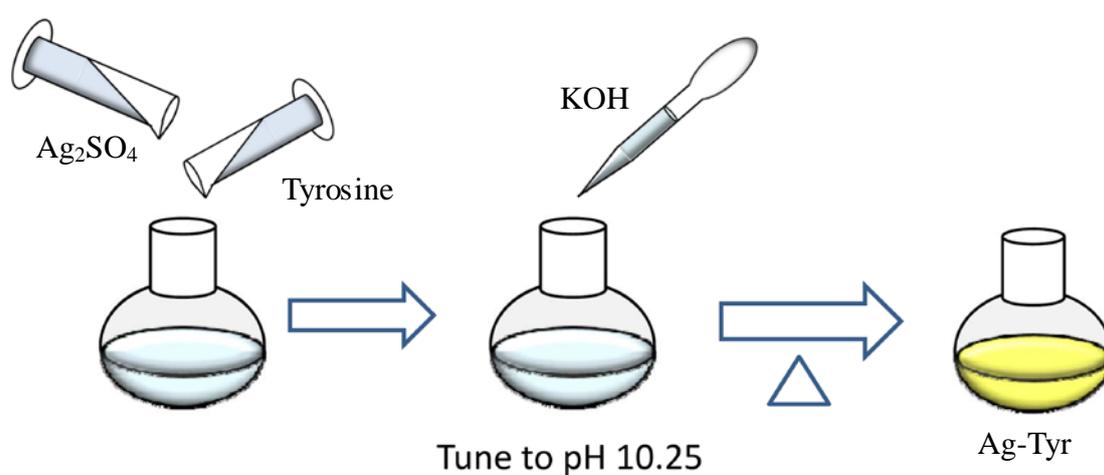


圖 2- 1 銀奈米粒子合成示意圖

2.2-2 酪胺酸包覆金奈米粒子 (Tyrosine capped gold nanoparticles)

配製濃度 1.0×10^{-4} M 的 100.0 ml 四氯金酸 (HAuCl_4) 水溶液加入 0.01 g 的硼氫化鈉 (NaBH_4) 並攪拌均勻進行還原反應，溶液顏色會由淡茶色轉變為茶橘色，接著靜置一天 (24 hours) 待其反應熟成後，顏色會略為轉變成酒紅色。

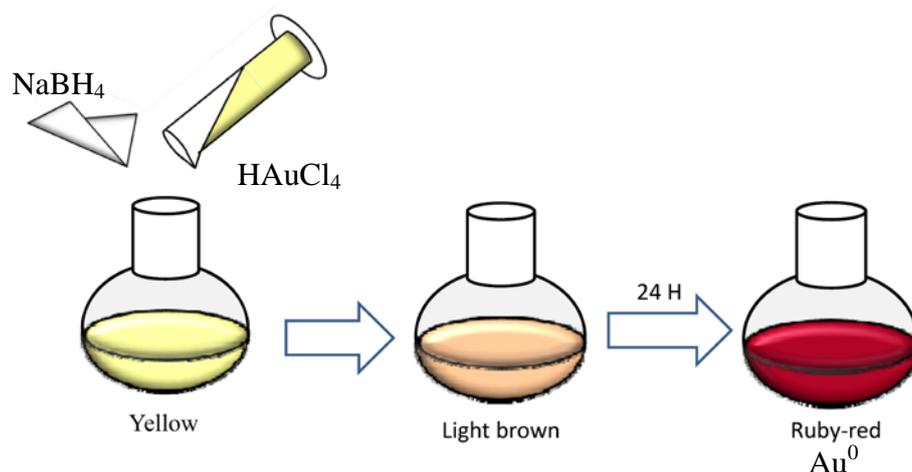


圖 2-2 金奈米粒子合成示意圖

取上述 90.0 mL 的奈米金溶液與 10.0 mL 的酪胺酸溶液 (1.0×10^{-3} M) 攪拌均勻混合，靜置一天 (24 hours)，使酪胺酸分子完全包覆金奈米粒子後，裝入透析膜浸入去離子水中，以 6 ~ 8 小時換水一次持續透析三天 (72 hours)；目的是把未鍵結在金奈米粒子表面上，而分佈在溶液中的酪胺酸分子排除，避免其影響後續反應。

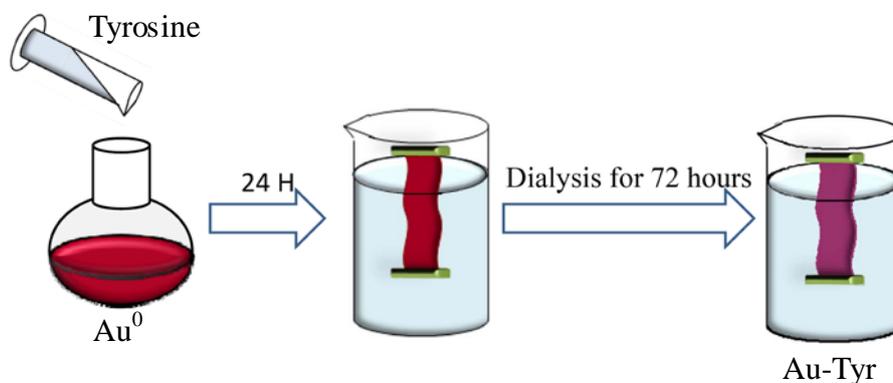


圖 2-3 以 Tyrosine 包覆金奈米粒子合成示意圖

2.2-3 合成核殼型奈米粒子 (Gold Core-Silver Shell nanoparticles)

將已經透析過的酪胺酸包覆奈米金粒子 (Au-Tyr) 溶液以滴入氫氧化鉀 (KOH) 調整 pH 值，使 pH 值大於 10.25，再加入硫酸銀 (Ag_2SO_4) 溶液 (濃度調配見下表 2-2)，迅速攪拌並加熱至沸騰，溶液顏色會由原本僅含有酪胺酸包覆奈米金粒子的紫紅色轉變為亮咖啡色，即是代表已有金核-銀殼型粒子 (Au core - Ag shell) 生成，必須注意的是沸騰必須持續一段時間讓銀離子反應完畢。

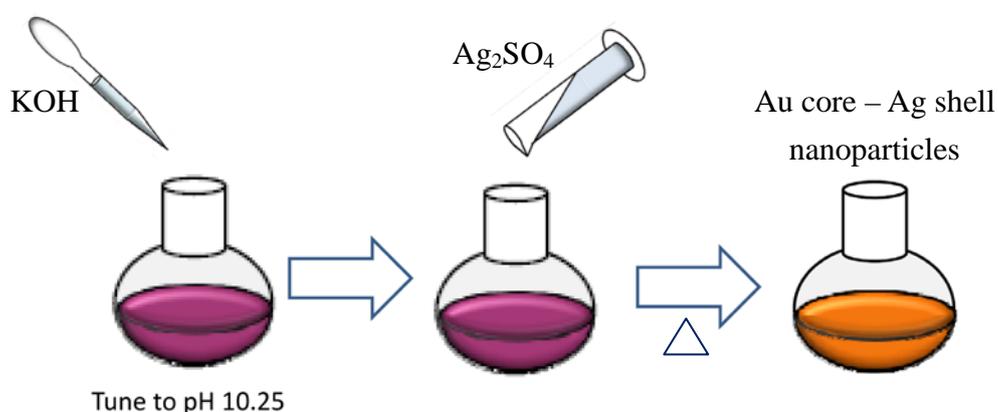


圖 2-4 金核-銀殼型奈米粒子合成示意圖

表 2-2 合成金核-銀殼型奈米粒子，兩種不同濃度下加入之條件比例

Name	Sample	Au-Tyr	Ag_2SO_4
C_1	Vol. Ratio1	9.5	0.5
	Ion Conc	$8.55 \times 10^{-5} \text{ M}$	$1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$
C_2	Vol. Ratio2	9	1
	Ion Conc	$8.00 \times 10^{-5} \text{ M}$	$2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$

2.3 銀殼層厚度合成控制與探討之實驗

2.3-1 實驗用之儀器 - 截流分光光譜儀

A. 介紹

此實驗部分將使用截流系統 (Stopped flow System) 做為適當且精確的量測方式；Stopped flow 大多用在反應速率極快的實驗，提供迅速混合液態樣品的技術，常運用於研究溶液中的反應動力學^{18,27}；在本章節中，將藉由 Stopped flow 進行混合，使金核上的酪胺酸還原銀離子形成金核-銀殼的還原氧化反應，並搭配 UV-vis 進行即時的監測與記錄。

實驗上 Stopped-flow 是使用 TIDAS (MCS UV/NIR) 、SFM 400 、MPS70/4 搭配電腦 (如圖 2-5) 進行：

B. 主要硬體配備

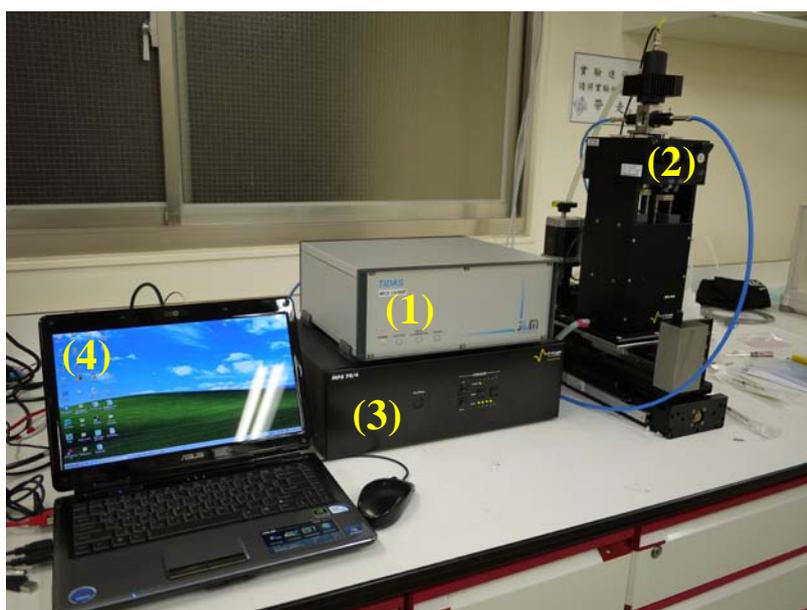


圖 2-5 Stopped Flow Spectrophotometer 整體儀器配備圖。

- (1)、TIDAS：UV-vis 測量與記錄之儀器
- (2)、SFM 400：樣品將於此機台進行混合並提供良好監測之平台
- (3)、電腦 (須 32 位元)：需安裝 TIDASDAQ V2.39 與 Biokine 軟體
- (4)、MPS 70/4：提供操作 SFM 400 驅動之幫浦

C. 硬體配備詳細介紹與說明

在本實驗使用到的硬體配備將依 TIDAS (MCS UV/NIR)、SFM 400、電腦和 MPS70/4 等順序介紹與說明：

➤ **TIDAS** 在本實驗中提供反應動力學量測 UV-vis，可以毫秒 (ms) 的時間規格進行監測與記錄。

➤ **SFM 400** 具有四處反應試劑溶液注入口(以下以存放區稱之)，而這四處存放區在混合系統中各有其不同位置，因此必須先行了解此裝置管線及基本設置，進而才能確保實驗中混合方式的準確度與合理性。

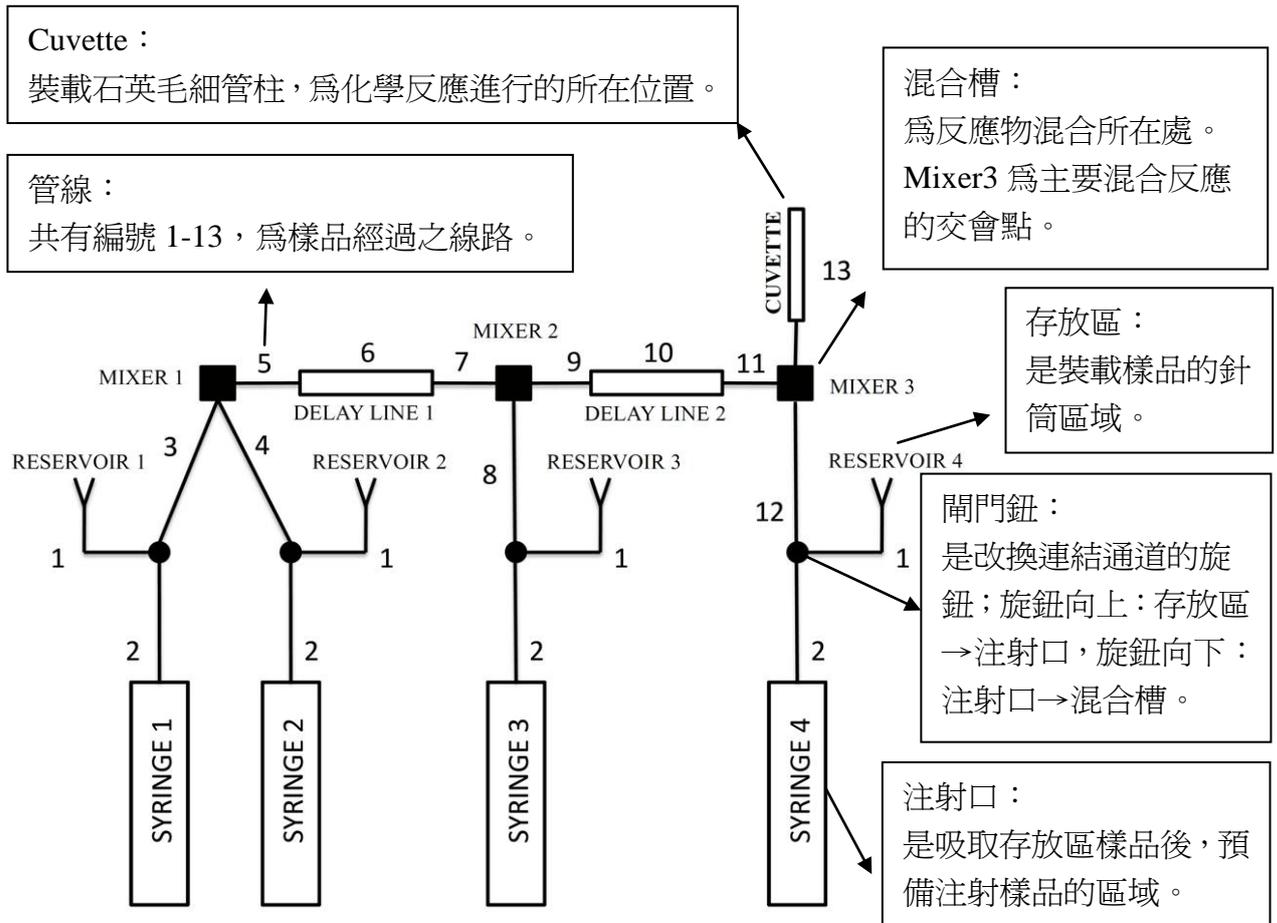


圖 2-6 SFM 400 內部管線結構圖

∞ 存放區、注射口、混合槽與 Cuvette

截流器 (SFM 400) 具有四處樣品存放區 (如圖 2-7 所示), 分別為 Reservoir 1 (R1)、Reservoir 2 (R2)、Reservoir 3 (R3) 及 Reservoir 4 (R4) 是裝載樣品的針筒, 其樣品會在混合前先各別吸入於注射口 Syringe 1 (S1)、Syringe 2 (S2)、Syringe 3 (S3) 和 Syringe 4 (S4) 等待注入混合槽 Mixer 1 (M1)、Mixer 2 (M2) 和 Mixer 3 (M3) 進行混合動作, 最後進入 Cuvette 裝載的石英毛細管中, 行化學反應。

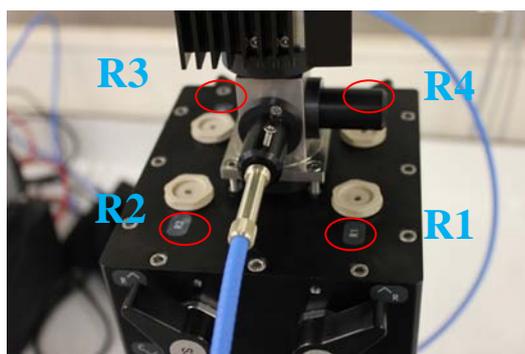
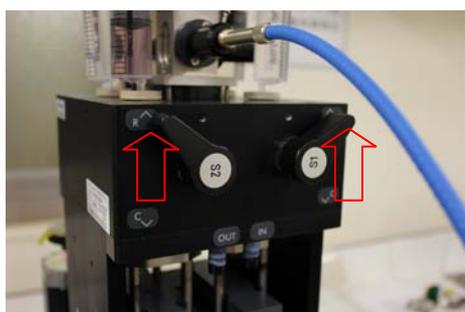


圖 2-7 SFM 400 的外觀：存放區位置上皆有標示 R1 到 R4

∞ 閘門鈕

而閘門鈕是通道轉換旋鈕, 其旋鈕向上 (如圖 2-8(a)) 代表著通道為“存放區 (Reservoir) → 注射口 (Syringe)”, 若旋鈕向下 (如圖 2-8(b)) 則是通道為“注射口 (Syringe) → 混合槽 (Mixer)”, 因此樣品流向便是由閘門鈕決定。

(a)



(b)

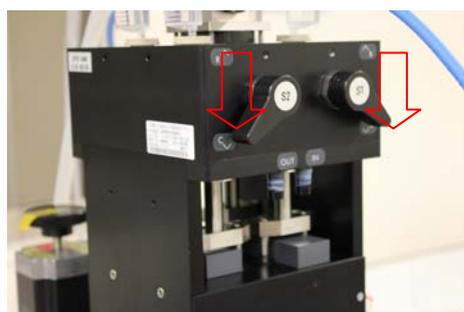


圖 2-8 (a)閘門鈕向上：存放區 (Reservoir) → 注射口(Syringe) (b)閘門鈕向下：注射口 (Syringe) → 混合槽 (Mixer)

管線

在樣品流過管線時，由於必須讓化學反應在 Cuvette 裝載的石英毛細管內進行，所以爲了確保反應物在最後的 Mixer3 混合比例無誤，就要先考慮內部管線 1 (L1) 至管線 13 (L13) 充滿溶液所需的數量，可依照表 2-3 估算：

表 2-3 爲 SFM 400 內部各管線容量表

SFM-400/S FLOW LINE VOLUMES	
Line Number	Flow Line Volume (μL)
1	69
2	7
3	89
4	88
5	7
6	Delay Line 1
7	13
8	94
9	10
10	Delay Line 2
11	19
12	108
13	Cuvette

由圖 2-6 管路搭配表 2-3 容量所示，實驗時的樣品是由各存放區吸入，所以從注射口到存放區的 L1 (69 μl) 與 L2 (7 μl)，在進行溶液注入到混合槽時是無須考量的；屏除無需考量部分，則 S1、S2、S3、S4 到 Cuvette 管線充滿溶液所需的量，加總則分別是 138 μL 、137 μL 、123 μL 和 108 μL ，統整後如表 2-4，：

表 2-4 每一注射口到 Cuvette 管線充滿溶液所需的體積

Line	Route (μL)	Total (μL)
S1→Cuvette	$89 + 7 + 13 + 10 + 19$	138
S2→Cuvette	$88 + 7 + 13 + 10 + 19$	137
S3→Cuvette	$94 + 10 + 19$	123
S4→Cuvette	108	108

爲了確實達到混合比例無誤，各注射口注入到混合槽 M3 的溶液體積就必須大於表 2-4 的 Total 體積量。

➤ **電腦** 必須安裝兩項操作軟體，分別為：

∞ **BIOKINE** ，用於控制 MPS 70/4 之操作軟體。

∞ **TIDASDAQV2.39**  **TIDASDAQ.EXE**
TIDAS Instrument control
J&M Analytik AG，用於操控 TIDAS 之操作軟體，僅能安裝於 32 位元的作業系統。

➤ **MPS70/4** 主要用於**操控注射口的推進閥**：

MPS 70/4 共具有四個推進閥 (圖 2-10)；推進閥的升降控制可由手動操作 (圖 2-9)，或連接電腦並藉由操作軟體：**BIOKINE** 進行操控。

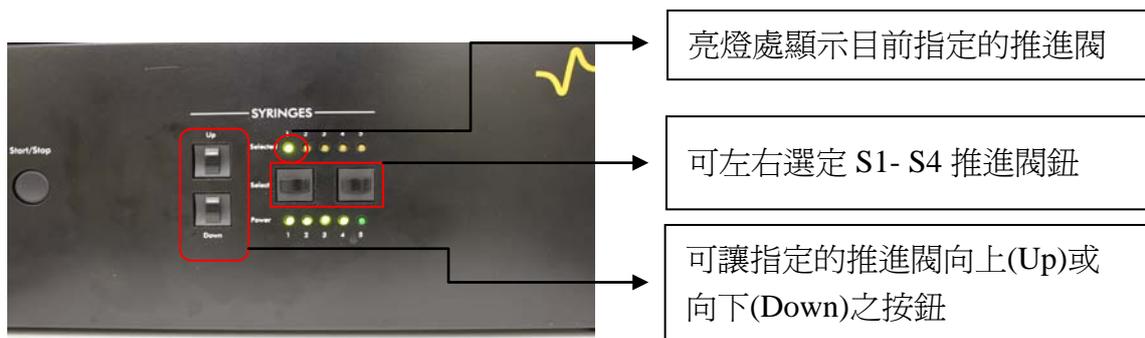


圖 2-9 MPS 70/4 的操作面板

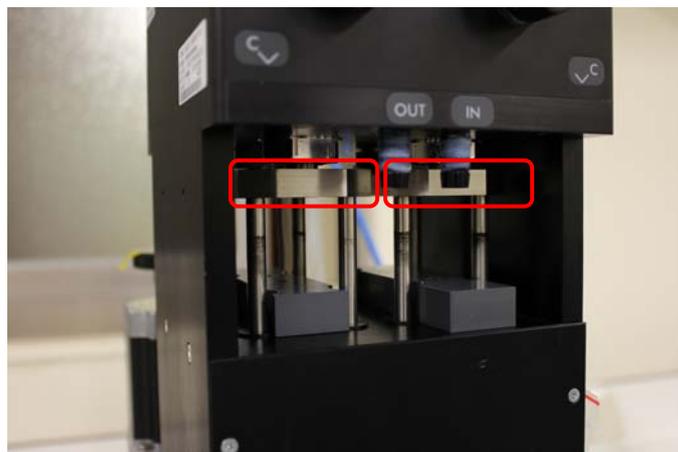


圖 2-10 SFM 400 上，注射口的推進閥

2.3-2 改變 pH 值對酪胺酸的酸解離影響

<實驗條件設定：樣品放置與 pH 值調控>

由於 pH 值對酪胺酸的 pK_a 有很大的影響，爲了探討不同 pH 值對酪胺酸的影響，使用上述 Stopped-flow 進行實驗，樣品離子濃度值換算和 C_1, C_2 配製濃度相同，其各注入口所放樣品、注入體積比，歸納如表 2-5；而兩溶液在合成核殼型奈米粒子過程中調整的 pH 值則如表 2-6。

表 2-5 改變 pH 值實驗中，樣品放置的注射口位置和體積比條件

注入口	S1	S2	S3	S4
Reagent	Au-Tyr (Au^{3+})	H_2O	AIR	$Ag_2SO_4 (Ag^+)$
Vol Ratio	9.5	0	0	0.5
Ion Conc	$8.55 \times 10^{-5} M$	—	—	$1.0 \times 10^{-4} M$
Vol Ratio	9	0	0	5
Ion Conc	$8.00 \times 10^{-5} M$	—	—	$2.0 \times 10^{-4} M$

表 2-6 酸性以 HNO_3 與鹼性用 KOH 控制溶液 pH 值

pH	1.95	9.50	9.70	9.90	10.12
Time (min)	30	10	15	10	10

2.3-3 改變 Au⁰ 與 Ag⁺ 莫耳濃度比值實驗條件設定 (Au-Ag ratio)

此部分實驗，以 Stopped – Flow 技術與小角度 X 光散射儀相互搭配，進行混合均勻且金與銀濃度比例改變的核殼型奈米粒子合成，pH 值固定為 10.25。

最後混合完的溶液內含有的 Au-Tyr 濃度為一定值 $5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ ，加入的銀離子濃度依序為 $1.2 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、 $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 、 $8.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、 $6.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、 $4.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 、 $2.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ 和 $1.4 \times 10^{-6} \text{ M}$ 等，銀離子對金原子的比值就可算得比例從 2.4、2、1.6、1.2、0.8、0.4 到 0.28，統整後如下表 2-7：(體積比例配置詳見附錄二)

表 2-7 每組實驗中銀離子與金原子在總溶液內的濃度

Conc ratio	Sample1	Sample4
$[\text{Ag}^+] / [\text{Au}^0]$	Au-Tyr	$[\text{Ag}^+]$
2.4	$5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$	$1.2 \times 10^{-4} \text{ M}$
2	$5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$	$1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$
1.6	$5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$	$8.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
1.2	$5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$	$6.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
0.8	$5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$	$4.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
0.4	$5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$	$2.0 \times 10^{-5} \text{ M}$
0.28	$5.0 \times 10^{-5} \text{ M}$	$1.4 \times 10^{-6} \text{ M}$

2.4 以 Stopped-Flow 調控合成之事項

上述實驗應用在 Stopped-flow 中，由 SFM 400 具有的四處不同注射口位置，相對的管路與混合處 (Mixer) 用意各不同；便可依照擺放位置做為參考，得知 S1 和 S2 內含的樣品會於 Mixer1 先行混合，於 mixer2 與 S3 注入溶液會合做第二次混合動作，最後再和 S4 注入的樣品於 Mixer3 進行最終混合，接著進入 Cuveete 進行分析並量測。(詳細儀器操做詳見附錄三)

2.4-1 在不同 pH 值下還原銀離子生成銀殼層實驗

➤ 針筒擺放位置

以 SFM 400 做為混合樣品反應平台進行不同 pH 值還原銀離子實驗，其樣品擺放位置，如表 2-8：

表 2-8 不同 pH 值還原銀離子實驗中，我們將樣品放置於不同的存放區

Reservoir	Content
R1	Au-Tyr + KOH (I)
R2	H ₂ O
R3	Au-Tyr + KOH (II)
R4	Ag ₂ SO ₄

在此實驗中，並未調整金離子與銀離子間的濃度比，所以僅是單純兩樣品混合操作。故 S1 與 S3 分別放入的 Au-Tyr 是調整不同 pH 值下的兩組樣品(I)、(II) 組，可在量測完 (I) 組的實驗組後，利用 S2 置入的 H₂O 洗淨管線，便可再進行另一組 (II) 實驗，用以節省時間。

➤ pH 對酪胺酸還原性質的影響 – pH 值調整方式

在調整 pH 值方面，由於樣品會置入針筒中，而後裝載於 SFM 400 上，若由 SFM 400 調控 pH 值較為複雜，且樣品進入到 Cuvette 時，pH 值無法清楚得知，故樣品在置入針筒前就先調控 pH 值至穩定，確保清楚得知 pH 值。控制 pH 值之試劑分別是酸性條件：硝酸 (HNO_3)，鹼性條件：氫氧化鉀 (KOH)。

2.4-2 改變銀離子與金原子莫耳濃度比控制銀殼層厚度

➤ 針筒擺放位置

以 SFM 400 做為混合樣品反應平台的 Au-Ag ratio 實驗，其樣品擺放位置，如表 2-9：

表 2-9 Au-Ag ratio 實驗中依序將樣品放置於不同存放區

Reservoir	Content
R1	Au-Tyr + KOH
R2	H_2O + KOH
R3	Air
R4	Ag_2SO_4

注入口 R2 放入已調控 pH 的去離子水，用意是藉由加入溶劑量搭配另外兩樣品加入的總體積，達到在混合反應時，控制金原子和銀離子濃度的比值。為了避免管線汙染問題，必須注意不可在管線中發生化學反應，僅能在可更換的 Cuvette 中進行反應；本實驗樣品混合流程為 Au-Tyr 放在 S1 預先跟 S2 輸出的去離子水混合，再與 S4 內輸出的 Ag_2SO_4 於 Mixer3 會合，進入 Cuvette 反應並偵測和紀錄。

➤ 銀離子與金原子莫耳濃度比調配方式與計算

Au-Ag ratio 實驗中的濃度比例調整，母液濃度依序為 $[Au^0] = 1.0 \times 10^{-4} M$ 與 $[Ag^+] = 2.0 \times 10^{-3} M$ ；若以 10 mL 假設為注入的總量，三個樣品各別比例值為 Au-Tyr + KOH : H₂O + KOH : Ag₂SO₄ = 5 : 4.5 : 0.5，體積分配便為 Au-Tyr + KOH : 5 mL、H₂O + KOH : 4.5 mL 和 Ag₂SO₄ : 0.5 mL，可換算出 Au 和 Ag 在總溶液中濃度為 $[Au^0] = 5.0 \times 10^{-5} M$ 與 $[Ag^+] = 1.0 \times 10^{-4} M$ ， $[Ag^+]/[Au^0]$ 的比值就等於 2。若將其換成實際注入體積量，整體資訊統整如下表 2-10：

表 2-10 Au-Ag ratio 實驗中，S₁~S₄ 為注射口代號，Volume (μL) 為實際溶液注入體積量，表格為舉例說明的範例

Syringe	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄
Sample	Au-Tyr + KOH	H ₂ O + KOH	AIR	Ag ⁺
Vol. Ratio	5	4.5	0	0.5
Volume (μL)	1575	1417.5	0	157.5
Conc. (M)	$5.0 \times 10^{-5} M$	0	0	$1.0 \times 10^{-4} M$

2.4-3 進行注入 Cuvette 前的操作

1. 在不同實驗組中，由於管線裡含有的物質與下次實驗條件不同，因此在不同組實驗中的一開始便需要以 H₂O 清洗乾淨。

2. 在第一次注入時，管線原先長度的不同，造成各管線的體積有些微差異，會致使樣品在 Mixer3 混合比例有誤。

綜合以上情況就需要在每次下不同組實驗前，先進行清洗管線的動作，並在進行實驗時，預先注入一次實驗設定的混合比例與樣品體積，才再注入第二次，並在注入第二次體積的同時，讓實驗觀測與記錄並行，以達到確切的分析條件。

2.5 儀器原理與理論

2.5-1 紫外—可見光吸收光譜儀 (UV-Vis Spectroscopy)²⁸

紫外光 (Ultraviolet, UV) 及可見光 (Visible, Vis) 吸收光譜法 (Absorption Spectroscopy) 是利用物質分子或離子團，對紫外線及可見光產生的特性吸收光譜圖進行分析的定性定量方法，屬於電子光譜，這種光吸收現象是由分子中鍵結或外層未鍵結電子的能階躍遷而產生。而形成紫外可見光的吸收成因可分為四種型態：

(1) π 、 σ 和 n 電子的吸收：

在有機分子中，包括有三種可區別的電子型態，第一類是飽和鍵中的電子，稱為 σ 鍵，激發 σ 鍵的電子要很高的能量，吸收波長都低於 200 nm 的紫外光區；第二類是不飽和鍵的電子，例如雙鍵或三鍵，而這類不飽和化學鍵可進行 $\pi \rightarrow \pi^*$ 躍遷，所需能量在近紫外區。第三類電子則不被包含在化學鍵中，如氧、硫、氮及鹵素等原子含有未鍵結 n 電子，因為 n 電子可為紫外或可見光輻射所激發進行 $n \rightarrow \pi^*$ 或 $n \rightarrow \sigma^*$ 躍遷，其中 $n \rightarrow \pi^*$ 所需能量最小，故可吸收可見光輻射，如圖 2-11 所示四種不同躍遷形式。

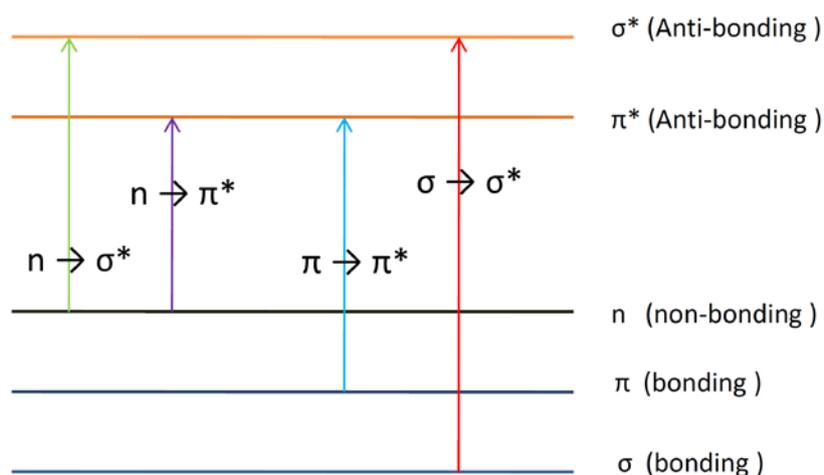


圖 2-11 電子能階的轉移型態

(2) d 和 f 電子的吸收：

大部分過渡金屬離子在紫外光區和可見光區都會有吸收，是屬於 d 與 f 軌域電子的躍遷類型。在鏷系和錒系元素方面，吸收過程是因 4f 和 5f 的電子形成的 f-f 躍遷；而在第一列及第二列過渡元素，則利用 3d 和 4d 電子的 d-d 躍遷為主。

(3) 電荷轉移吸收:

能具有電荷轉移吸收的物種，其莫耳吸光係數非常大 ($\epsilon > 10,000$)，在無機錯合物中，常有此類型吸收，可提供高靈敏度的偵測目標物。在這類錯合物，若由自由基供給電子，而金屬接受電子的特性，便稱為 Ligand-to-Metal Charge transfer (LMCT)。

(4) 表面電漿共振吸收:

當金屬材質尺寸大小為奈米範圍時，表面電子會因入射光照射而極化，產生的表面電漿波被侷限於有限空間內來回震盪，若入射光波長與表面電漿來回震盪的頻率相近時，便會具有共振吸收，是奈米金屬的特殊光學性質。此吸收波長會隨著材料、粒徑、外在環境與形狀不同而有所改變。

典型的分光光度計，主要可分為直接讀取式的單光束設計方式和可做光源輻射補償的雙光束設計；由於本實驗室使用的即是雙光束，因此以雙光束分光儀之儀器說明：雙光束儀器提供的優點是能補償光源在輻射時產生之不穩定現象，並補償傳送過程及放大器的飄移。此外，雙光束設計亦可補償隨著選擇波長改變，而有較大變動的光源強度。圖 2-12 為相對較簡便之雙光束設計 (Cintra 202 UV-Vis Spectroscopy)。

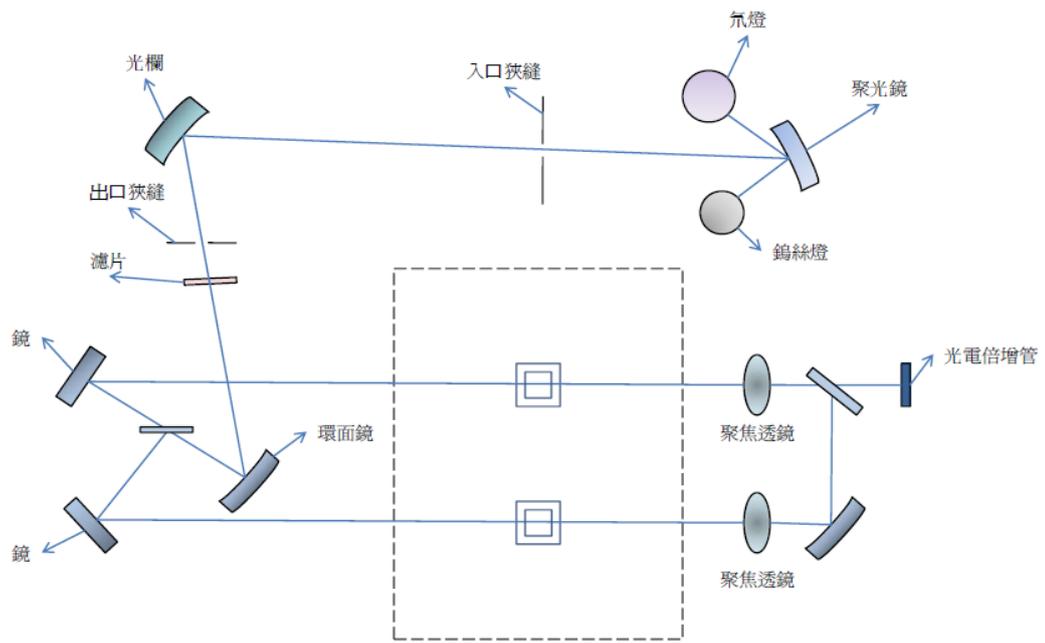


圖 2- 12 Cintra 202 UV-Vis Spectroscopy 型分光儀構造

而本實驗使用的是 GBC 廠牌 Cintra 202 UV-Vis Spectroscopy，儀器外型如圖 2-13，樣品以針對 400.00 ~ 800.00 nm 範圍進行掃描。



圖 2- 13 GBC Cintra 202 UV-Vis Spectroscopy

2.5-2 表面電漿

● 表面電漿共振 (Surface Plasmon resonances, SPR)²⁹

◇ 金屬奈米粒子的 SPR

SPR 係指金屬奈米粒子表面電子受電磁場向量的影響產生作用，此作用可以 Maxwell 理論與半古典模式 (semi-classical model) 清楚說明。共振現象是金屬電荷與電磁場等介質上的電磁模式會侷限於金屬介電介面所造成。而電漿最大值 (λ_{\max}) 則是根據金屬的部分特性：複合介電作用 (complex dielectric function)、皺摺 (corrugation)、粗糙度 (roughness) 和介質的折射率 (refractive index) 等，而有所不同。因此在奈米粒子中，複合介電特性便是入射光與粒子尺寸之間相關頻率的函數。

◇ 半古典模式 (semi classical model)

許多粒子的電漿特性都可以用半古典模式解釋。當粒子尺寸遠小於入射光波長時 ($r < \lambda$)，粒子內的全體導帶電子會被極化，而表現出對晶格離子 (lattice ions) 所固定的正電荷做相對的移動。這些自由電子會在表面呈現出一偏離粒子的電荷群。這樣的負電荷與正電荷在相反方向的吸引會造成一個回復力 (restoring force) (圖 2-14)，因而形成震盪現象。

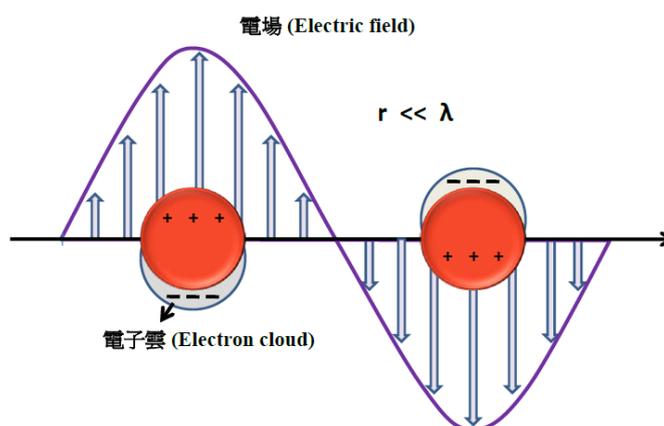


圖 2-14 金屬奈米粒子與入射光作用示意圖

如果入射光波長與表面電漿震盪的頻率相似時，便會形成一系列震盪 (oscillation) 的共振吸收，而產生特徵頻率 (eigenfrequency)，那樣即使再小的激發場也會導致強烈的震盪。共振頻率大多是測量回復力的強度，此作用力與表面電荷分離有關，像是粒子尺寸和極化率或介質間與周遭電荷的介電特性等都會有所影響。

➤ 理論 (Theory)

當入射光照射到金屬奈米粒子，其電場會極化粒子表面導帶的自由電子，而產生表面電將共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR)³⁰。在稀釋且分散的奈米粒子溶液，其共振光譜可利用 Mie theory³¹ 計算。Mie 是第一位以 Maxwell's equation 解釋光與球狀奈米粒子的作用力。假設這些粒子的行為皆與介電介質頻率有關，則 Mie 所述溶液便具有一消光截面積 (Extinction Cross-Section, C_{ext})。對每單位體積下含有 N 個奈米粒子的稀釋膠體溶液而言，測量經過光徑 (d) 的入射光強度 (I_0) 的式子可表示為：

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I_d} \right) = NC_{ext} \left(\frac{d}{2.303} \right) \quad (\text{式 2-1})$$

常見的模組往往取自 bulk solid theories 項目中與尺寸相關的係數，如 Drude's Model³²。根據這個理論，實數項 (ϵ') 和虛數項 (ϵ'') 的介電方程式為：

$$\epsilon' = \epsilon_{inf} - \left[\frac{\omega_p^2}{(\omega^2 + \omega_d^2)} \right] \quad (\text{式 2-2})$$

$$\varepsilon'' = \frac{\omega_p^2 \omega_d}{\omega(\omega^2 + \omega_d^2)} \quad (\text{式 2-3})$$

$$\omega_p^2 = \frac{pe^2}{m\varepsilon_0} \quad (\text{式 2-4})$$

ε_{inf} 是高頻率介電常數，來自於帶間 (interband) 和核內 (Core) 的電子躍遷， ω_p 是巨相的電漿頻率， p 是金屬的自由電子濃度， m 是有效的電子質量和 ε_0 是真空下的介電常數。 ω_d 是回復或阻尼頻率。其與導帶電子的平均自由徑 (l_{bulk})、費米能階 V_f 上的電子速度和作用參數 S 有關的關係式表示如下

$$\omega_d = \frac{Sv_f}{l_{\text{bulk}}} \quad (\text{式 2-5})$$

$$\overline{\omega}_d = \omega_{\text{dbulk}} + \omega_d \quad (\text{式 2-6})$$

當粒子尺寸 $R < l_{\text{bulk}}$ ，表面導帶的電子會被散射。 S 是與粒子介質環境有關的理論作用參數³³。 ω_{dbulk} 代表巨相的碰撞頻率。其代表了很多物理現象，像是電子-電子 (electron-electron)、電子-聲子 (electron-phonon) 和電子-不純作用力 (electron-impurity interactions)。在半古典模式 (semi-classical model) 中， ω_d 描述的是粒子表面的彈性電子散射 (elastic electron scattering) 和吸收誘導共振現象的內部阻尼頻率。因此綜合上述兩項為公式 2-6，就是說明了獨立散射的過程。

在球形粒子中，介電常數與入射光頻率有關的式子為 $\varepsilon = \varepsilon' + i\varepsilon''$ ，將其代
入

介質的介電係數 ε_m 中，消光係數 (C_{ext}) 可寫為：

$$C_{ext} = \frac{2\pi}{K^2} \sum (2n+1) \Re(a_n + b_n) \quad (\text{式 2-7})$$

式子中， $K = 2\pi(\varepsilon_m/\lambda)^{1/2}$ 和 \Re 是 Mie 散射係數 a_n 和 b_n 的真實數， a_n 和 b_n 的計算如下：

$$a_n = \frac{m \times \varphi_n(mx) \times \varphi_n'(x) - \varphi_n(x) \times \varphi_n'(mx)}{m \times \varphi_n(mx) \times \xi_n'(x) - \varphi_n'(mx) \times \xi_n(x)} \quad (\text{式 2-8})$$

$$b_n = \frac{\varphi_n(mx) \times \varphi_n'(x) - m \times \varphi_n(x) \times \varphi_n'(mx)}{m \times \varphi_n(mx) \times \xi_n'(x) - m \times \varphi_n'(mx) \times \xi_n(x)} \quad (\text{式 2-9})$$

相較於 $m = N_{particle}/N_{medium}$ 和 Ricatti-Bessel functions φ_n 與 ξ_n 之中， m 在入射光和粒子的尺寸是強的頻率函數。散射係數 a_n 和 b_n 是 Ricatti-Bessel functions 的團簇半徑 R 和波長 λ 。接將著 C_{ext} 的每單位面積均一化為 Q_{ext} ：

$$Q_{ext} = \frac{C_{ext}}{\pi R^2} \quad (\text{式 2-10})$$

若在可見光範圍內，奈米粒子尺寸遠小於入射光波長 (如 $2R < \lambda$)，且只單獨考慮偶極震盪的因素，則 C_{ext} 可表示為：

$$C_{ext} = \frac{24\pi^2 R^3 \varepsilon_m^{3/2}}{\lambda} \frac{\varepsilon''}{(\varepsilon' + 2\varepsilon_m)^2 + \varepsilon''^2} \quad (\text{式 2-11})$$

此類粒子會反應出光學領域中的介電係數。Westcott 等人則使用巨相金屬介電常數 (bulk metal dielectric constants) 測量固體和核-殼型粒子的吸收和散射截面積³⁴。多數模組是假設粒子尺寸平均皆低於 10 nm 的介電常數。

2.5-3 小角度 X 光散射儀 (Small Angle X-ray Scattering , SAXS)^{35,36}

小角度 X 光散射 (small-angle X-ray scattering, SAXS) 是一種非破壞性且可提供高穿透力並具有分子級解析度的結構研究方法。可探測物質內奈米級的電子密度結構特徵，被廣泛使用在鑑定奈米結構中佔有決定性因子的材料結構、水溶液中的生物分子結構 (envelope morphology)、及奈米粒子等眾多領域的奈米結構研究。

小角度 X 光散射基本的原理是應用 X 光與物質之間的電磁交互作用，主要為光電吸收和來自於原子束縛電子的彈性散射，(如圖 2-15)。而含大原子序物質，因原子內束縛電子較多，因而對 X 光的散射情況就越強，相對的若電子分佈是均勻無序的 (例如：水)，那 X 光的散射便沒有方向性的偏好。而 X 光散射強度與散射空間會與物質的電子雲分佈有關，當材料內部電子密度開始有不均勻的分佈，X 光的散射便會在空間上出現相對的散射強度分佈特徵。分析 X 光散射強度隨散射方向的變化特性，便可獲悉材料內部的電子密度分佈，得知材料的結構資訊。

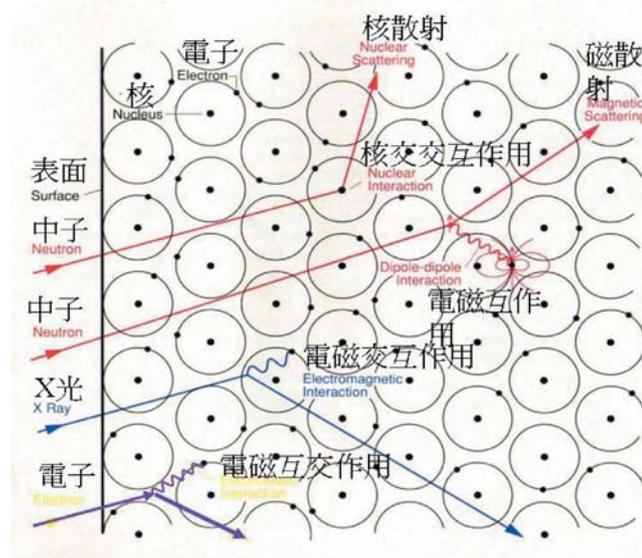


圖 2-15 物質與探測粒子的交互作用³⁵

本實驗的小角度 X 光散射量測完成於財團法人國家同步輻射研究中心 (NSRRC) ³⁷ 的小角度 X 散射實驗站 (BL23A Beamline)，圖 2-16 為此實驗站 (BL23A) 光束線外觀圖。

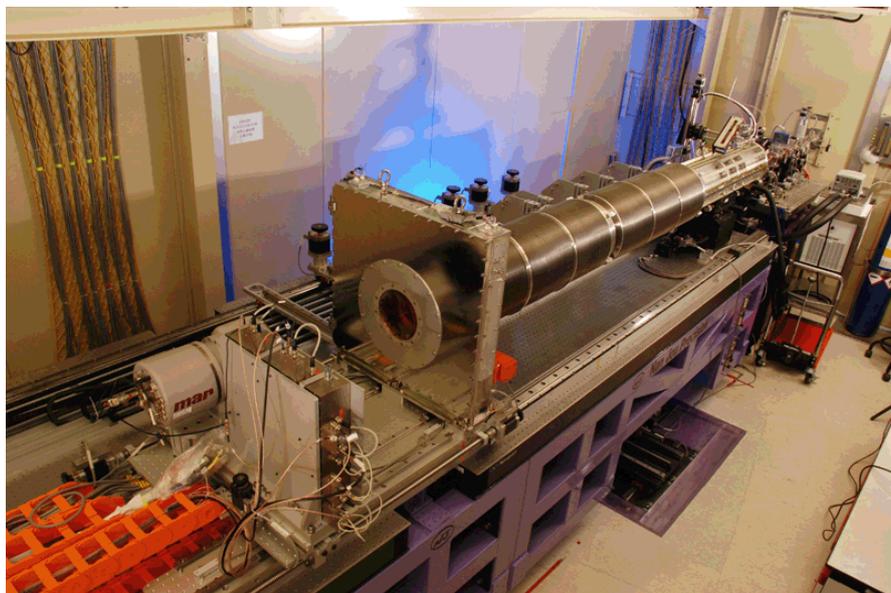


圖 2-16 BL 國家同步輻射研究中心高度自動化小角度/廣角度 X 光散射儀器

2.5-4 小角度 X 光散射 ^{1,36}

X 光散射主要為和電子作用，物質的電子密度越高則散射越強，因此原子序高的電子散射較強，即對重元素的量測較靈敏。而利用同步輻射 X 光源，可以進行共振散射 (resonant scattering / anomalous scattering)，可以針對特定元素進行散射量測。單一電子對非偏振 (unpolarized) X 光的散射可表示為：

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = r_0^2 \left(\frac{1 + \cos^2 \theta}{2} \right) \quad (\text{式 2-12})$$

其中， $d\sigma/d\Omega$ 為散射到 $d\Omega$ 空間角的散射截面，散射角 θ 為散射方向與入射方向的夾角， r_0 為古典電子半徑，等於 $2.82 \times 10^{-15} \text{ m}$ 。

對於小角度散射而言，一般散射角都在很小的範圍（例如 5° 以內），因此公式(2-12)可近似為：

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \approx \Upsilon_0^2 \quad (\text{式 2-13})$$

對單一原子的散射則要依此原子的電子雲（電子密度分佈），將來自不同位置的散射相加，因此原則上散射會隨散射角變化，其變化會反應出電子雲的密度分佈及原子大小，代表原子的形狀因子（atomic form factor）。在小角度範圍內的散射，單原子的散射大致可近似為定值，不大隨散射角變化。對大小幾 Å 的原子而言，其形狀因子的變化影響會出現在較大的散射角度。因此單一原子的小角度範圍散射可表示為：

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \approx b^2 \quad (\text{式 2-14})$$

其中 $b = Zr_0$ ， Z 為原子的原子序。 b 稱為原子的 X 光散射長度（scattering length）。散射的基本原理為來自不同位置的散射波會相互干涉，如圖 2-17 所示，

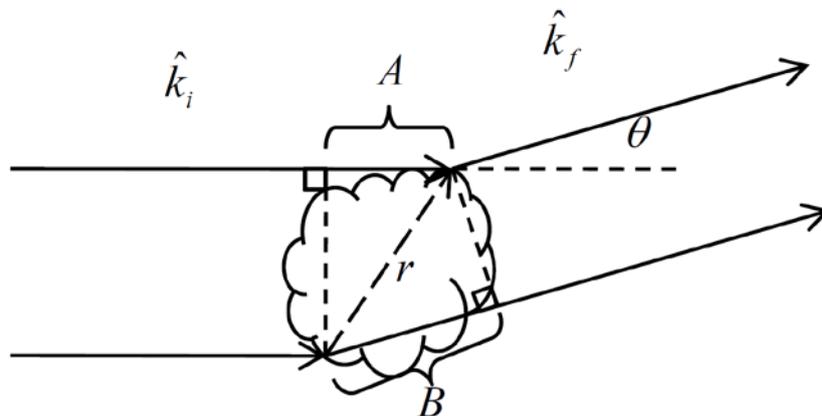


圖 2-17 兩個不同位置散射點的散射波的干涉作用示意圖

入射的平面波經兩個不同位置的散射點散射，如圖 2-17 所示，其路徑差為 B 段長度減去 A 段長度，路徑差可表示為：

$$B - A = \hat{k}_f \cdot r - k_i \cdot r = (k_f - k_i) \cdot r \quad (\text{式 2-15})$$

其中， \hat{k}_i 與 \hat{k}_f 分別為入射波向量 K_i 與散射波向量 K_f 的單位向量。散射波彼此的相位差 $\Delta\phi$ 為路徑差除以波長 λ 再乘上 2π ， $\Delta\phi$ 可以表示為：

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda} (\hat{k}_f - k_i) \cdot r = \left(\frac{2\pi}{\lambda} k_f - \frac{2\pi}{\lambda} k_i \right) \cdot r = (K_f - K_i) \cdot r \equiv Q \cdot r \quad (\text{式 2-16})$$

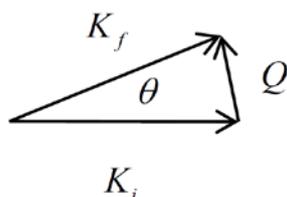


圖 2-18 散射向量 Q 和入射波向量 K_i 及散射波向量 K_f 的關係圖

如圖 2-18 所示，定義散射向量 Q 為：

$$Q \equiv K_f - K_i \quad (\text{式 2-17})$$

將公式 2-17 每項乘以 \hbar 可得 $\hbar Q \equiv \hbar K_f - \hbar K_i$ ，因動量等於 $\hbar K$ ，所以 $\hbar Q$ 代表動量的改變量 (momentum transfer)。Q 的大小可由圖 2-18 以及 $K_f \cong K_i = 2\pi/\lambda$ 得出：

$$Q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (\text{式 2-18})$$

當樣品由許多原子組成時，各原子的散射波正比於 $b \cdot e^{-iQ \cdot r_i}$ ， b_i 為 i 個原子的散射長度， r_i 為該原子的位置向量，每單位樣品體積 V 散射到單位空間角的機率正比於散射波的總強度，各原子的散射波總和的平方，可表示為：

$$I(Q) \equiv \frac{d\Sigma}{d\Omega}(Q) = \frac{1}{V} \left| \sum_i b_i \cdot e^{-iQ \cdot r_i} \right|^2 \quad (\text{式 2-19})$$

因 Q 和散射角 θ 有一對一的關係，小角度散射量測散射機率隨散射角 θ 而變化，但一般將量到的結果轉成 Q 的函數，其優點為和使用的波長無關，用不同 X 光波長量到的結果都可畫在一起比較。

因小角度散射重點在量測大於原子尺度的結構變化，可以將物質看成連續分佈，可將公式 2-19 的疊加變成用積分表示為：

$$I(Q) = \frac{1}{V} \left| \int_V \rho(r) \cdot e^{-iQ \cdot r} \right|^2 \quad (\text{式 2-20})$$

此處 $\rho(r)$ 為在位置 r 處的散射長度密度 (scattering length density)，即原子的單位體積內的總散射長度，等於單位體積的原子數目乘上原子的散射長度。而散射強度是由粒子的散射長度密度 $\rho_p(r)$ 和溶液散射長度密度 $\rho_s(r)$ 的差，即散射對比決定：

$$\Delta\rho(r) \equiv \rho_p(r) - \rho_s(r) \quad (\text{式 2-21})$$

最簡單的例子為溶液中有 N 個大小相同、材質均勻的奈米粒子， V_p 為粒子的體積，且粒子濃度相當稀，彼此幾乎無作用力，即是將公式 2-20 中的 $\rho(r)$ 以散射對比 $\Delta\rho(r)$ 取代公式可分別表示為：

$$I(Q) = \frac{N}{V} \left| \int_{V_p} \Delta\rho(r) \cdot e^{-iQ \cdot r} \right|^2 \quad (\text{式 2- 22})$$

上式可簡化為：

$$I(Q) = n_p P(Q) \quad (\text{式 2- 23})$$

此處 n_p 為粒子密度 (單位元樣品體積內的奈米粒子數目, $n_p \equiv V / N$), $P(Q)$ 稱為粒子的形狀因子, 定義為：

$$P(Q) = \left| \int_{V_p} \Delta\rho(r) \cdot e^{-iQ \cdot r} \right|^2 \quad (\text{式 2- 24})$$

對圓球形粒子而言, 粒子半徑為 R , 依公式 2-24 可求得：

$$P(Q) = (\Delta\rho)^2 V_p^2 \left[\frac{3j_1(QR)}{QR} \right]^2 \quad (\text{式 2- 25})$$

此處 $j_1(QR)$ 為 spherical Bessel fnction

$$j_1(QR) = \frac{\sin QR - (QR) \cos QR}{(QR)^2} \quad (\text{式 2- 26})$$

由公式 2-23 及公式 2-25 可得到在零度角的散射強度 $I(0)$ 為：

$$I(0) = n_p (\Delta\rho)^2 V_p^2 \quad (\text{式 2- 27})$$

由此可見散射強度正比於粒子的濃度、散射對比平方及粒子體積平方, 意即和粒徑的 6 次方成正比。

近年有些研究發展是在奈米粒子上包覆一層不同材質的球殼層，以改變其光電或觸媒特性，此類具核心—球殼 (core-shell) 構造的圓形粒子其散射強度分布可由公式 2-24 求得：

$$I(Q) = n_p \left\{ (\rho_1 - \rho_2) \frac{4}{3} \pi R_1^3 \left[\frac{3j_1(QR_1)}{QR_1} \right] + (\rho_2 - \rho_s) \frac{4}{3} \pi R_2^3 \left[\frac{3j_1(QR_2)}{QR_2} \right] \right\}^2 \quad (\text{式 2-28})$$

此處 ρ_1 及 ρ_2 分別為核心及殼層的散射長度密度 (scattering length density, SLD)， R_1 及 R_2 分別為核心及球殼的半徑。

另外尚須考慮粒子濃度較高時，或是粒子間有相互作用力時，如溶液中帶有電荷的粒子，此時粒子與粒子間的相對位置將不再是完全隨機，而是有一定的排列分佈，各粒子的散射波會相互產生一定的干涉，因此必須考慮此項因素。對粒徑相同的圓形粒子系統，散射強度分佈可表示為：

$$I(Q) = n_p P(Q) S(Q) \quad (\text{式 2-29})$$

此處 $S(Q)$ 稱為粒子間的結構因子 (inter-particle structure factor) 或簡稱結構因子，可表示為

$$S(Q) = \frac{1}{N_p} \left\langle \left| \sum_{i=1}^{N_p} \sum_{i'=1}^{N_p} e^{iQ \cdot (R_i - R_{i'})} \right| \right\rangle \quad (\text{式 2-30})$$

結構因數 $S(Q)$ 為各粒子的散射波相互干涉的結果，反應出粒子間的排列結構，

式中的括號 $\langle \rangle$ 代表各種分佈狀況的時間平均 (ensemble average)。上述式中的 R_i 為第 i 個粒子之位置向量， N_p 為樣品中的總粒子數。如果溶液中粒子數的密度不大且粒子間的作用力很小可忽略時， $S(Q) \approx 1$ ，可使分析變得較簡單。

分析小角度散射數據時，除了整段數據依形狀因子及結構因子的模型作契合外，在 $S(Q) \approx 1$ 的狀況時， Q 很小區域的 $I(Q)$ 可近似成：

$$I(Q) \approx I(0) \cdot e^{-\frac{1}{3}Q^2 R_g^2} \quad Q \ll R_g^{-1} \quad (\text{式 2-31})$$

$$R_g^2 \equiv \frac{\int_{V_p} r^2 \Delta\rho(r) dr}{\int_{V_p} \Delta\rho(r) dr} \quad (\text{式 2-32})$$

公式 2-31 稱為 Guinier 近似方法。對均質的圓球粒子，旋轉半徑和粒子半徑的關係可由公式 2-32 求得 $R_g = \sqrt{3/5}R$ 。由公式 2-31 可看出以 $\ln(I(Q))$ 對 Q^2 作圖，在 $Q < R_g^{-1}$ 的範圍內可以得到一直線，直線的斜率為 $-R_g^2/3$ ，可以快速的求出旋轉半徑 (Radius of gyration, R_g)。

2.5-5 非尋常小角度 X 光散射

(Anomalous small angle x-ray scattering)

典型的非尋常小角度散射主要是用於尋找並鑑定樣品的部分結構因子 (partial structure factors, PSF)。而系統分析的樣品往往需要含有一種以上的元素相，例如本實驗中含有雙金屬的 Ag-Au 核殼型奈米粒子，過去研究者就曾利用此方法探討該類核殼型奈米粒子³⁸。

在一般設定的小角度 X 光散射中，是無法清楚分辨散射貢獻來自於哪一元素。然而每一種元素都有其特徵吸收光譜，當入射光的能量掃描過某一元素的吸收邊界 (absorption edge) 時，他的光譜即呈現急遽的變化，但在其他能量範圍變化則非常平緩，故透過量測 SAXS 強度與改變入射 X 光能量變化尋得樣品其中一成份的吸收邊界 (absorption edge)^{39,40}，就可檢視出此成份在系統中的部分結構因子；本篇論文將以 Au 的 L_{III} 軌域吸收邊界 (如圖 2-19)，依照理論計算^{38,41} 的吸收邊界強度量測。

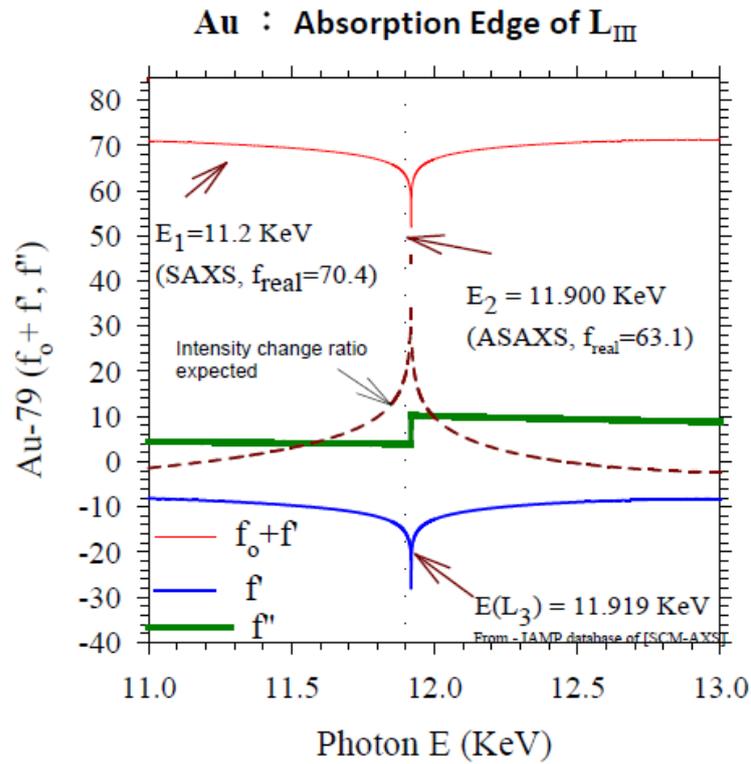


圖 2-19 改變 X 光強度對接近 Au 原子 L_{III} 軌域吸收邊緣圖

圖 2-19，紅色線代表 Au 對不同 X 光能量時，實際散射總強度 f_{real} ，此強度包含兩部分，分別為與入射光能量無關的 f_0 (彈性散射)，和會隨著不同入射光能量而改變散射光強度的 f' (非彈性散射)。 f' 和 f'' 是接近於 Au 的 L_{III} 軌域吸收邊界處有顯著變化的色散修正項 (dispersion correction) 其實部與虛部⁴²。棕色虛線是以 11.20 KeV 下，散射總強度 (f_0+f') 與非彈性散射實際強度 (f') 的比值為零，而繪製出的比值線。

第三章 結果與討論

3.1 胺基酸：酪胺酸 (Tyrosine)

3.1-1 酪胺酸的酸解離特性

酪胺酸 (Tyrosine) 具有三個 pKa 值的特性，使得酪胺酸在不同 pH 值環境下，化學結構皆不同，主要由酪胺酸官能基的羧基 ($-\text{COOH}$, $\text{pKa} = 2.20$)、氨基 ($-\text{NH}_3^+$, $\text{pKa} = 9.11$) 和酚基 (phenolic group, $\text{pKa} = 10.07$) 等解離出氫離子，各別結構式，如圖 3-1：

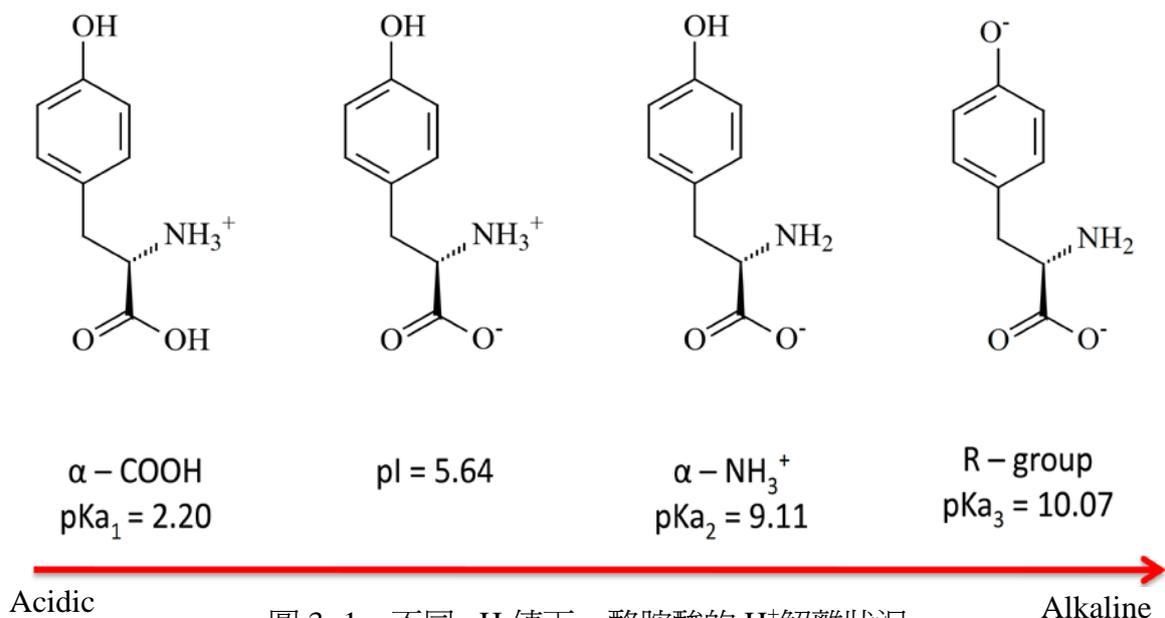


圖 3-1 不同 pH 值下，酪胺酸的 H^+ 解離狀況

- (1) 當溶液 pH 值小於 2.20，為小於羧基的 pKa 值，酪胺酸主要以帶正一價電荷存在；而 pH 值大於 2.20 後，羧基的質子開始大量解離。
- (2) 當溶液 pH 值到 5.64 時， $-\text{COO}^-$ 的負電荷會與 NH_3^+ 的正電荷呈電中性，此時酪胺酸位於等電位點 pI。

- (3) 當溶液 pH 值大於 9.11 後，酪胺酸上的 NH_3^+ 開始解離質子形成胺基 (NH_2)，酪胺酸便帶負一價電荷。
- (4) 當溶液 pH 值大於 10.07，即 R-group 的 pKa，此時 phenol 上的 OH 基會脫去氫形成 phenolate anions，酪胺酸成了帶負二價電荷。

3.1-2 酪胺酸的還原機構

在合成過程中，酪胺酸扮演著重要的角色，一方面可穩定金奈米粒子不致聚集發生，另一方面更可提供電子給銀離子，將其還原成銀原子；而在整體流程中，酪胺酸還原金屬離子時，結構變化如圖 3-2。

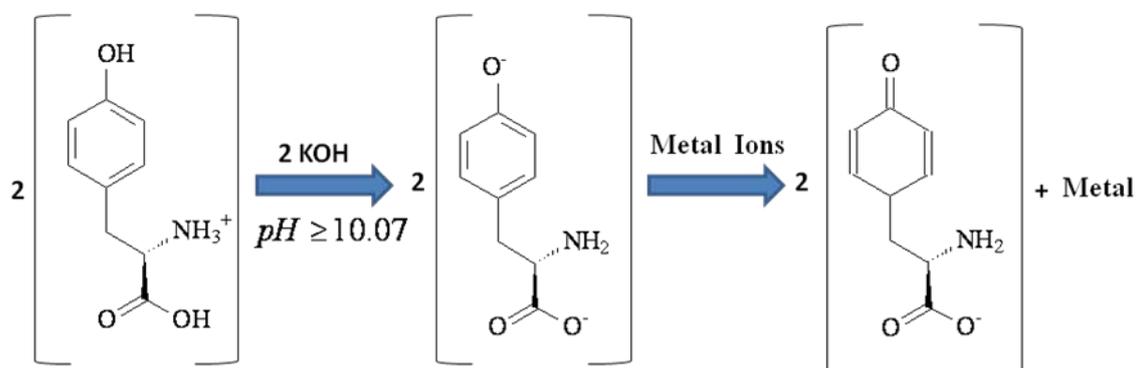


圖 3-2 酪胺酸於合成反應中的還原機制

Tyrosine 溶液加入氫氧化鉀調整 pH 值後，會促使酪胺酸上的 phenol deprotonate，此 phenolate anions 會進行將電子轉移到銀離子上，使銀離子還原成銀原子，因此酪胺酸上的 phenol 最後轉變為 ketone group 的形式，形成 2-amino-3-(4-oxocyclohexa-2,5-dienyl) propanoate²⁶。

3.2 各種奈米粒子產物的 UV-vis 光譜鑑定

實驗中合成的產物皆為金屬奈米粒子，由紫外可見光吸收光譜儀可觀測其具有的表面電漿共振吸收，各合成產物的特徵吸收波峰，則如圖 3-3：

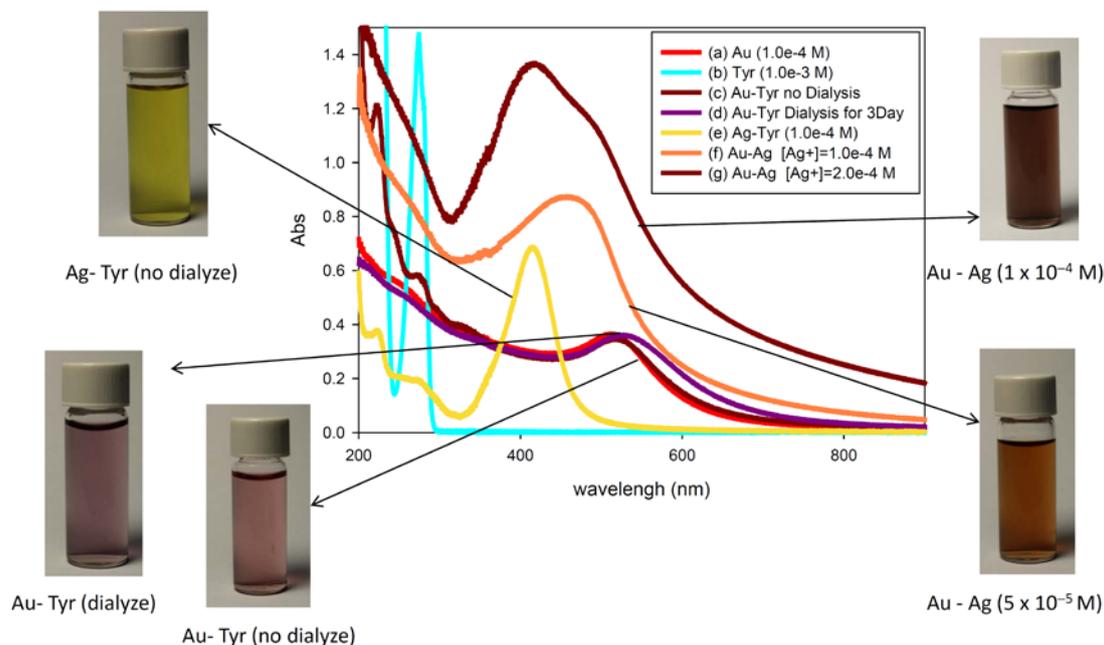


圖 3-3 各產物與樣品的 UV-vis 吸收光譜圖 (a)以 NaBH_4 還原之 Au 奈米粒子 ($1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$) (b)酪胺酸 ($1.0 \times 10^{-3} \text{ M}$) (c)未透析前的 Au-Tyr (d) 透析 3 天後的 Au-Tyr (e)以酪胺酸還原之 Ag-Tyr 奈米粒子 (f)、(g)分別以 C_1 與 C_2 合成 Au core-Ag shell nanoparticles

(a) 以硼氫化鈉還原四氯金酸，並熟成一天生成金奈米粒子，其最大吸收波峰在 511.4 nm。

(b) 此為酪胺酸的苯環上 $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸收，最大吸收波峰為 274.67 nm。

(c) Au 加入 Tyrosine 包覆 24 小時後，在未透析前的結果，最大吸收波峰為 515.7 nm，相較於(a)之波峰略微紅位移，顯示在酪胺酸環繞下，金粒子表面的介質已不同，導致介電常數不一樣所造成的紅位移，並維持彼此間不易接觸而持續聚集成大顆金奈米粒子。

(d) Au-Tyr 在透析 3 天後，最大吸收波峰值為 526 nm，推測可能是溶液中分散的酪胺酸分子減少，溶液 pH 值由 9.6 變為 6.3，奈米粒子表面的負電荷減少，粒子間靜電排斥力減弱導致距離拉近所以出現的紅位移。

(e) 以 Tyrosine 做為還原劑，在 pH 值高於 10.07 下，還原銀離子溶液，吸收波峰為 414 nm 證實已有生成銀奈米粒子。

(f) 和 (g) 在合成中，(f)加入的銀離子量 $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 少於(g)的銀離子量 $2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ ，使得銀原子還原數量較少，銀原子表面電漿貢獻強度較不明顯，最大吸收波峰 456 nm 比(g)的最大波峰更偏向金奈米粒子特徵吸收波峰，而(g)還原的銀原子含量較多，不僅讓金奈米粒子最大吸收波峰產生藍位移外，且波峰幾乎快消失，其最大吸收波峰則落在 418 nm，得知還原的銀原子越多(即銀殼層越厚)，金奈米粒子表面電漿就越被埋沒而偵測不到⁴³。

由以上鑑定之結果可以得知，各金屬奈米粒子產物的最大特徵吸收波峰分別是，以 NaBH_4 還原的金奈米粒子 (Au) 為 511.4 nm，在未透析前酪胺酸包覆金奈米粒子 (Au-Tyr no D)則是 515.7 nm，而透析後酪胺酸包覆金奈米粒子 (Au-Tyr D) 位移至 526.0 nm，酪胺酸還原銀奈米粒子為 414.0 nm，合成的金-銀核殼型奈米粒子 C_1 (Au-Ag C_1)是 456.0 nm，但加入銀離子量多的金-銀核殼型奈米粒子 C_2 ，由於銀原子含量多而偏向銀特徵吸收峰 418 nm。

3.3 小角度 X 光散射之樣品分析

3.3-1 小角度 X 光散射之契合

在這部分的分析，利用小角度 X 光散射測量提供溶液內完整的粒徑資訊。主要以小角度 X 光散射測量溶液中的散射訊號，數據以 $I(\text{cm}^{-1})$ 對 $Q(\text{\AA}^{-1})$ 作

圖，契合 (fitting) 分析方面選用 IGOR SANS Analysis 軟體作為工具，在契合模組上則是採用 poly core-shell ratio model 進行。

此外，由公式 2-28 中，散射長度密度 (SLD) 在散射強度上是有貢獻的；故 SLD 數值則是由 NIST 網站之 Scattering Length Density Calculator 網頁求得，須先定義實驗中，所使用到的 Au： $1.23 \times 10^{-4} \text{ \AA}^{-2}$ 、Ag： $7.75 \times 10^{-5} \text{ \AA}^{-2}$ 、Tyrosine： $1.21 \times 10^{-5} \text{ \AA}^{-2}$ 和 H₂O： $9.46 \times 10^{-6} \text{ \AA}^{-2}$ 等，但由於在實驗中，能確立且固定不變的僅有 Au 與 H₂O，因此在契合數據中將這兩參數設定為定值。

➤ Ag-Tyr 奈米粒子 SAXS 分析

圖 3-4 紅色點曲線為 Ag-Tyr 奈米粒子的 SAXS 圖譜，藍色虛線則以 fitting 軟體分析得到的契合曲線，分析結果 Ag 核的平均粒徑為 25.4 nm，殼層厚為 0.8 nm 是酪胺酸分子之大小，而 polydispersity 為 22.4 %。

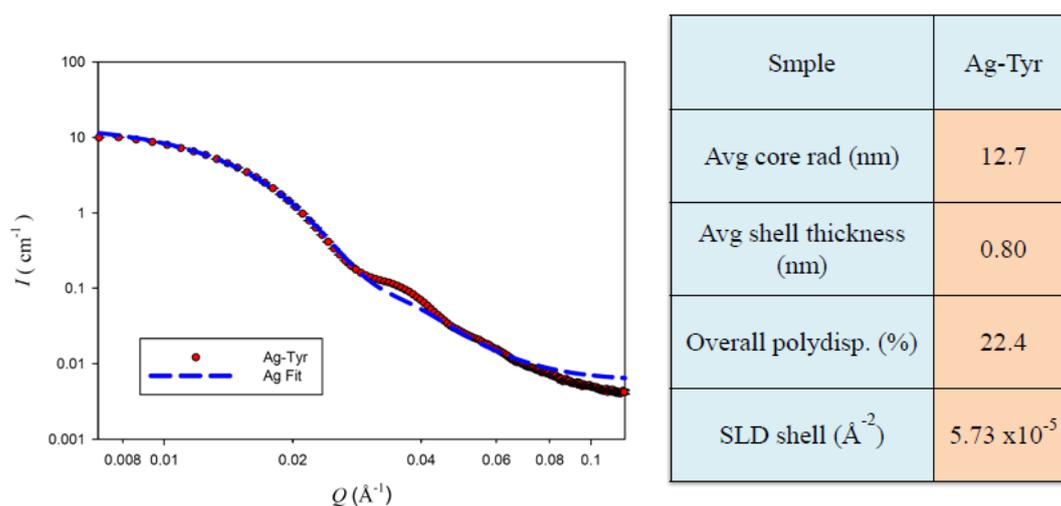


圖 3-4 Ag-Tyr 的小角度 X 光散射圖譜的契合曲線與結果

➤ Au-Tyr 奈米粒子 SAXS 分析

Au-Tyr 奈米粒子在不同時段合成的產物，以小角度 X 光散射測得之圖譜曲線，如圖 3-5 的點狀曲線，契合曲線則以虛線表示。

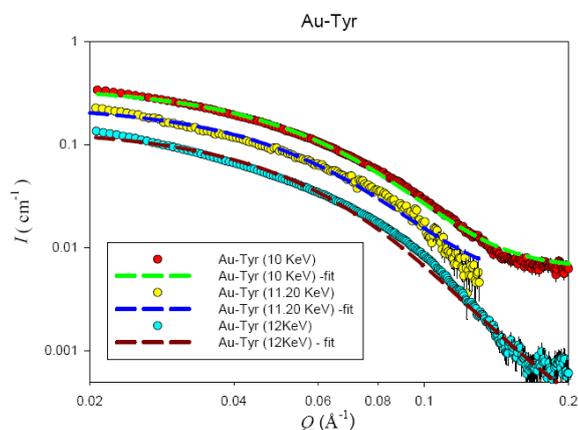


圖 3-5 Au-Tyr 的 SAXS 曲線與分析的契合曲線

不同次合成的 Au-Tyr，在不同次小角度 X 光散射量測（故才會有不同能量上的差異）下，結果顯示 10.0 KeV 量測的金粒子平均半徑 1.85 nm，殼層平均厚度 0.8 nm，分散度 44.3%，而 11.20 KeV 與 12.0 KeV 則分別平均粒子半徑 1.84 nm 與 1.79 nm，平均殼厚 0.8 nm 與 0.8 nm，分散度 47.6% 與 50.3%，Shell 的 SLD 數值較偏向於酪胺酸的 SLD，意謂著酪胺酸為殼層部分；統整後，如下表 3-1。

表 3-1 Au-Tyr 的 SAXS 量測數據分析結果

X-ray Energy	10 KeV	11.2 KeV	12 KeV
Scale	4.68E-06	2.61E-06	1.59E-06
avg core rad (nm)	1.84	1.84	1.79
avg shell thickness (nm)	0.83	0.83	0.79
overall polydisp (%)	44.3	47.6	50.3
SLD shell (Å ⁻²)	1.54×10^{-5}	1.50×10^{-5}	1.15×10^{-5}

分析結果顯示，晶種製備上雖然是不同次合成下的樣品，但在金核粒徑尺寸上相似且整體性質再現性相當好。

➤ Au-Ag 核殼型奈米粒子的 SAXS 分析

合成的金-銀核殼型奈米粒子，以實驗組 C₁ 與 C₂ 為主，供給不同濃度的銀離子 (1.0×10^{-4} M 與 2.0×10^{-4} M) 還原生成不同厚度的銀殼層；在 SAXS 量測的結果，如圖 3-6，紅色點線所示為加入銀離子濃度 1.0×10^{-4} M 與綠色點線加入 2.0×10^{-4} M，這些樣品皆加熱至沸騰使之反應完全。

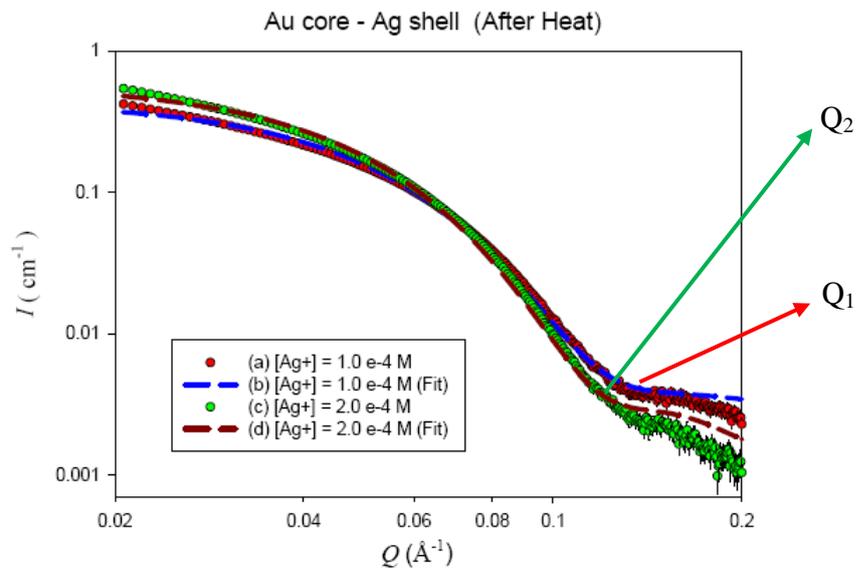


圖 3-6 加入不同銀離子濃度合成的 Au-Ag 奈米粒子和契合分析後的虛線

圖 3-6 中，加入少量銀離子的(a)由於銀殼層生成較薄，奈米粒子整體的尺寸比(c)的核殼型奈米粒子小，此現象可由兩曲線的曲率得知，當粒子尺寸小，曲率下降緩慢因而落點的 Q 值較高 (Q_1)，反之尺寸較大時，則曲率下降快，可以看到曲線向內縮，而 Q 值偏小 (Q_2)。

[Ag ⁺]	1.0 × 10 ⁻⁴ M	2.0 × 10 ⁻⁴ M
Scale	8.35 × 10 ⁻⁶	1.21 × 10 ⁻⁵
Avg core rad (nm)	1.84	1.84
Avg shell thickness (nm)	2.29	2.60
Overall polydisp (%)	18.9	18.8
SLD shell (Å ⁻²)	3.62 × 10 ⁻⁵	3.28 × 10 ⁻⁵

表 3-2 兩種不同厚度銀殼的 Au-Ag 奈米粒子契合分析結果

契合結果統整如下表 3-2，金核方面使用同一來源是固定粒子半徑 1.84 nm 大小；，C₁ 殼層厚為 2.29 nm，C₂ 為 2.60 nm 由於包覆上銀原子生成殼，分散度則降至約 19 %。

其中，酪胺酸殼層方面並未包含在契合數據的核心參數 (Avg core rad)，故僅用套用金核的 1.84 nm 大小，而酪胺酸殼層則被包含在殼層厚度參數 (Avg shell thickness) 中，故殼層上的 SLD 並無鎖定固定值。

而在先前 Ag-Tyr 的契合結果得知，酪胺酸僅包覆一層於金核表面上，所提供的電子來源應無法還原太多的銀離子，但 core-shell 契合數據卻看到還原相當厚的銀殼，推測可能原因是酪胺酸在金表面還原出單層銀原子後，利用其它作用機制持續進行還原動作；如 A. Vvedenskii...等⁴⁴研究者在 2007 年，提及 Ag 會與 OH⁻ 進行反應，生成 Ag₂O 而丟出一電子做為電子供應來源，並且在 Kan-Sen Chou...等⁴⁵研究者則提出 Ag₂O 會即刻轉變為 Ag 並堆積於銀粒子表面上持續生成，而此步驟會消耗 OH⁻ 而讓原溶液變酸。

3.4 非尋常小角度 X 光散射分析

依照 Au 的 L_{III} 軌域吸收邊界的理論計算 (圖 2-19) 中, 挑選一定下降比例的八個不同 X 光能量測定實驗合成的奈米粒子是否為核殼型結構, 選擇由低能量依序挑選到接近金的 L_{III} 軌域吸收邊界能量的 11.919 KeV, 分別為 11.20 KeV、11.49 KeV、11.66 KeV、11.74 KeV、11.81 KeV、11.854 KeV、11.90 KeV、11.915 KeV 等。

3.4-1 Ag-Tyr 與 Au-Tyr 的 ASAXS 比較

首先, 先針對銀奈米粒子 (Ag-Tyr) 進行量測分析, 所得不同能量下的 ASAXS 光譜圖重疊於圖 3-7:

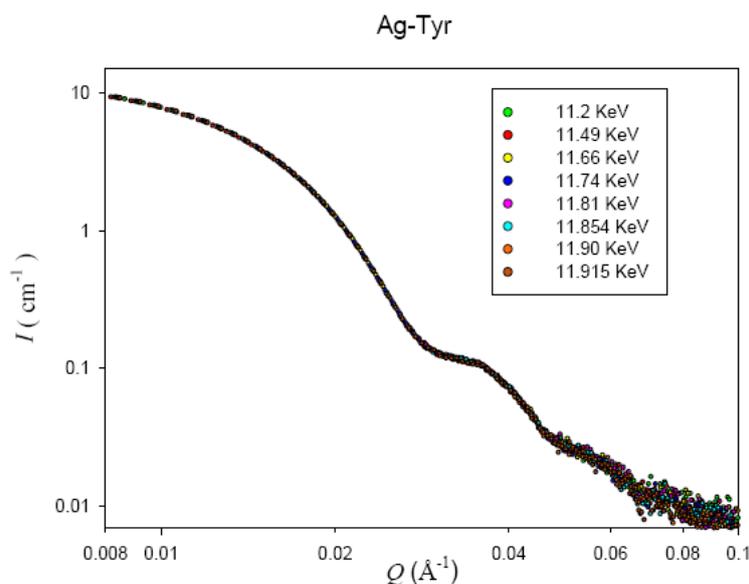


圖 3-7 在不同 X 光能量下, Ag-Tyr 的 SAXS 圖譜

在圖 3-7 中, 不同 X 光能量下, Ag-Tyr 散射強度不受影響, 散射曲線呈現同曲率強度。接著針對 Au-Tyr 的量測結果進行解析, 發現按能量由低到高, 訊號強度明顯不同, 如圖 3-8:

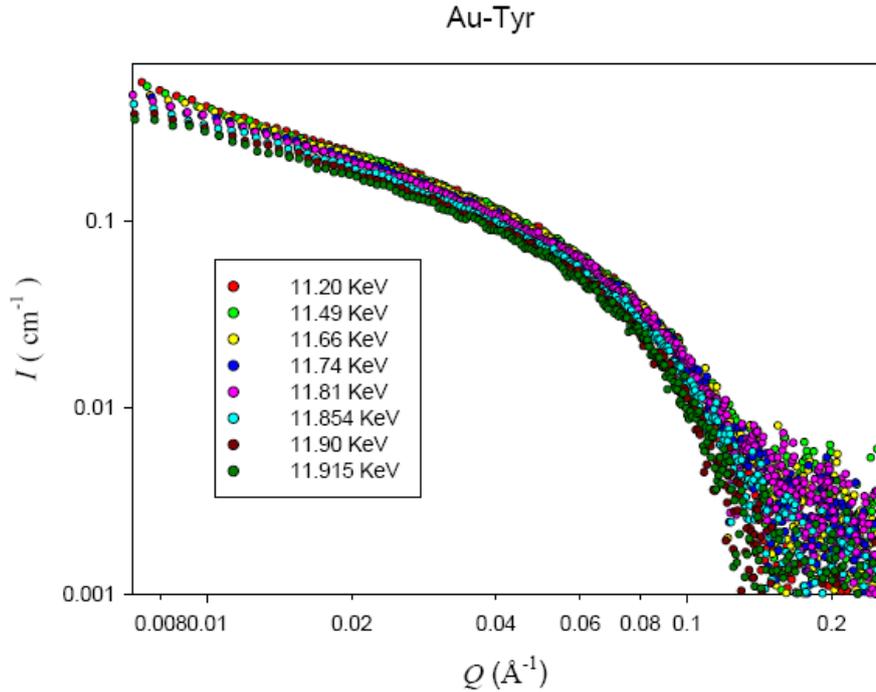


圖 3-8 Au-Tyr 在不同 X 光能量下，所得 ASAXS 圖譜

Au-Tyr 則會隨 X 光能量改變而散射強度不同，當能量越靠近 11.919 KeV 則強度越弱，這是由於 X 光能量就越接近於 Au 的 L_{III} 吸收邊緣，X 光能量被吸收則越多，強度相對減少；而量測 Au-Tyr 樣品時，Au 貢獻散射強度較強，故圖 3-8 中可以看出 SAXS 曲線強度隨能量上升呈現等比例下降，像是在散射曲線強度 11.20 KeV 到 11.90 KeV 整體強度便下降 24.9 %。

3.4-2 Au-Ag 核殼型奈米粒子的 ASAXS 分析

基於上述提及銀奈米粒子以改變 X 光能量量測散射強度不變，但金奈米粒子量測隨能量增強至 11.919 KeV 而散射強度下降的現象，便在合成實驗上，嘗試加入兩種不同銀離子濃度還原生成不同厚度的銀殼層，產物以 ASAXS 觀測如下圖 3-9 (實驗組 C₁) 與圖 3-10 (實驗組 C₂)：

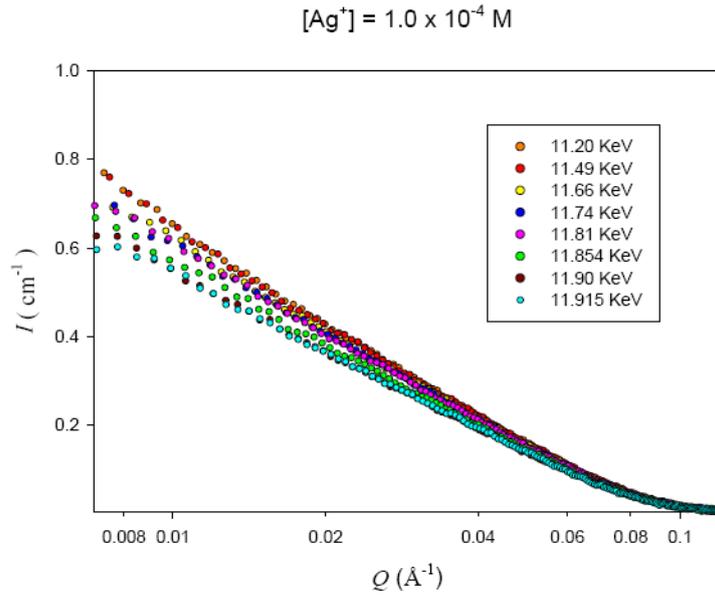


圖 3-9 Au-Ag 核殼型奈米粒子 (含 $[Ag^+] = 1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$) 的 ASAXS 圖

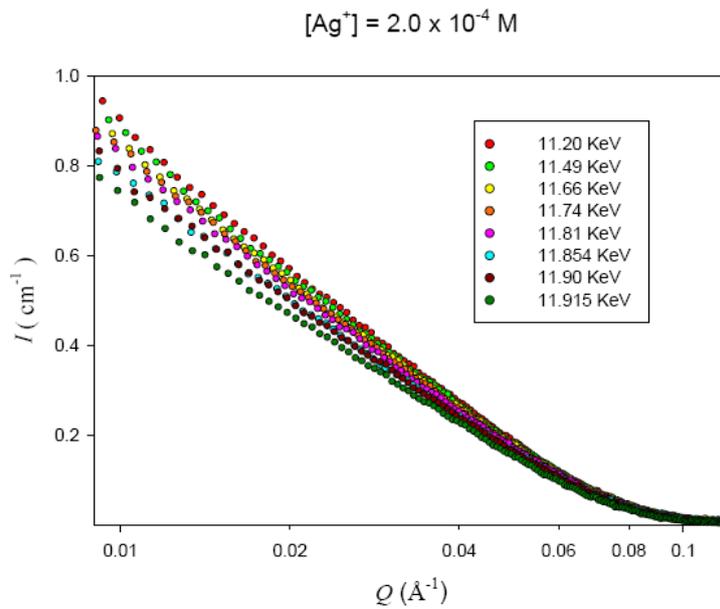


圖 3-10 Au-Ag 核殼型奈米粒子 (含 $[Ag^+] = 2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$) 的 ASAXS 圖

圖 3-9 中，訊號強度在 $Q = 0.012$ 時，11.20 KeV 的 0.589 cm^{-1} 到 11.90 KeV 的 0.487 cm^{-1} 共下降了 17.3 %；在圖 3-10 方面，因為樣品中 Ag 元素含量較多所以強度下降 13.9 %，兩者下降都小於單純金奈米粒子的比例，說明了金元素在粒子中含量越多，則能量吸收的越多測得強度下降越大。

3.4-3 金元素於核殼型奈米粒子中所佔比例

圖 3-9、3-10 的 ASAXS 光譜圖，其散射貢獻強度可由 I_{Au-Ag} 為貢獻強度之總和表示，含有金 (I_{Au0}) 和銀 (I_{Ag0}) 兩者的的散射強度，由於 X 光能量接近金元素的 L_{III} 吸收邊界，故又分為不受能量影響強度的彈性散射 I'_{Au} ，及受能量影響強度的非彈性散射 I_{Au} 。

在相同 Q 值下，將 $I_{(11.20 \text{ KeV})}$ 值與不同能量所測得之強度 I' 進行互扣，並除以 $I_{(11.20 \text{ KeV})}$ 值，便可得到其強度下降的比例改變量，將 Au-Tyr 與 C_1 、 C_2 合成出的核殼型奈米粒子進行比較則如圖 3-11：

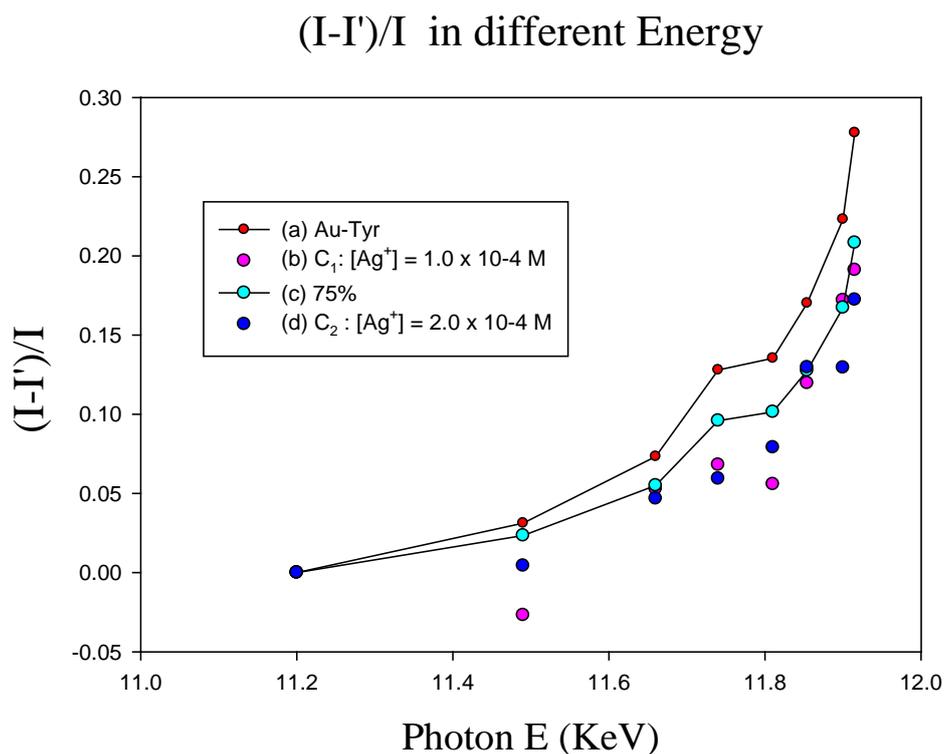


圖 3-11 (a)紅點為金元素在 Au-Tyr 強度互扣的比例改變量 (b)金元素在 C_1 反應條件下強度互扣的比例改變量 (c)為理論上金元素佔總粒子數 75% 時的比例改變量 (d)金元素在 C_2 反應條件下強度互扣的比例改變量

由於在 High Q 時強度的比例改變量偏差較大，故圖中比例改變量取 Q 值接近於 0.01 的比例改變量做比較；理論上藉由體積公式與堆積密度可求得 C_1 與 C_2 的金元素應分別佔有核殼型奈米粒子總原子數的 10.84 % 與 8.37 %，但於圖 3-11 中，假設以全都為金貢獻的 Au-Tyr 強度改變比例量為 100 %，則兩者皆接近於 75 %，與理論計算所得不符，推測可能是因為 ASAXS 量測的 Au-Tyr 為合成核殼型奈米粒子的起始物，因此單一顆 Au-Tyr 相較於單一顆核殼型奈米粒子時，其總原子數量與核殼型奈米粒子相差 11.9 倍之多所造成的原因。

3.5 使用截流分光光譜儀進行合成實驗及產物分析

<相關儀器操作詳見附錄三>

3.5-1 改變溶液 pH 值並以 SAXS 分析

➤ 實驗中使用到的晶種 Au-Tyr

實驗中，使用的金核粒徑大小以 SAXS 量測，並契合曲線分析 (圖 3-12)，

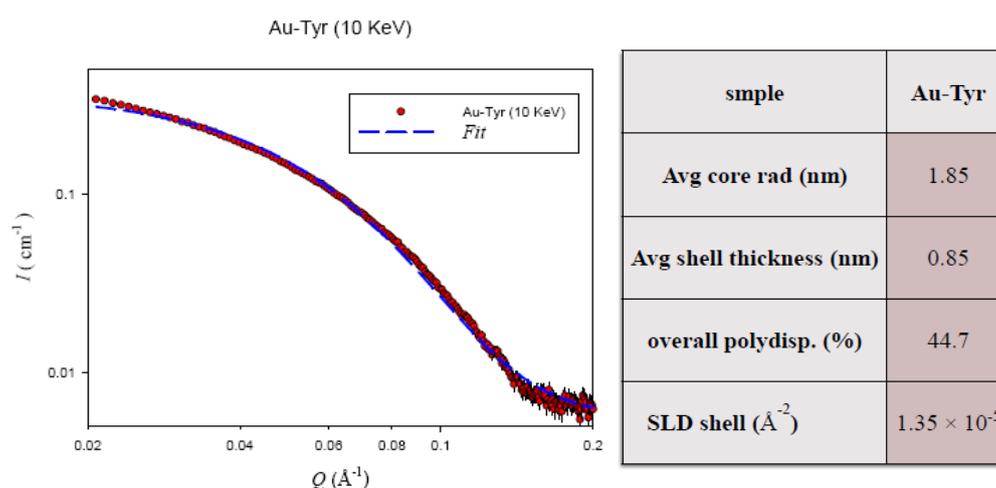


圖 3-12 Au-Tyr 的 SAXS 與契合曲線(虛線)與分析結果

確立使用的金核平均半徑大小為 1.85 nm，外表包覆一層 0.85 nm 厚度的酪胺酸，而分散度為 44.7 %。

➤ 小角度 X 光散射儀量測結果

不同 pH 值下進行樣品合成，Au-Tyr 在反應溶液中體積量佔多數，故必需先調整至實驗設定的 pH 值，才放入 SFM 400 存放區 (針筒) 內，做為後續混合反應的母液。以半徑 1.85 nm 的 Au-Tyr 為晶核，在 C₁ 與 C₂ 實驗組的各 pH 值下進行反應並用 SAXS 同步分析紀錄，圖譜曲線對時間繪製如圖 3-13、圖 3-14。此處 SAXS 量測的積分時間 (Counting time, ct) 礙於偵測器的解析度問題，因而僅能以 12.3 秒以上進行量測。

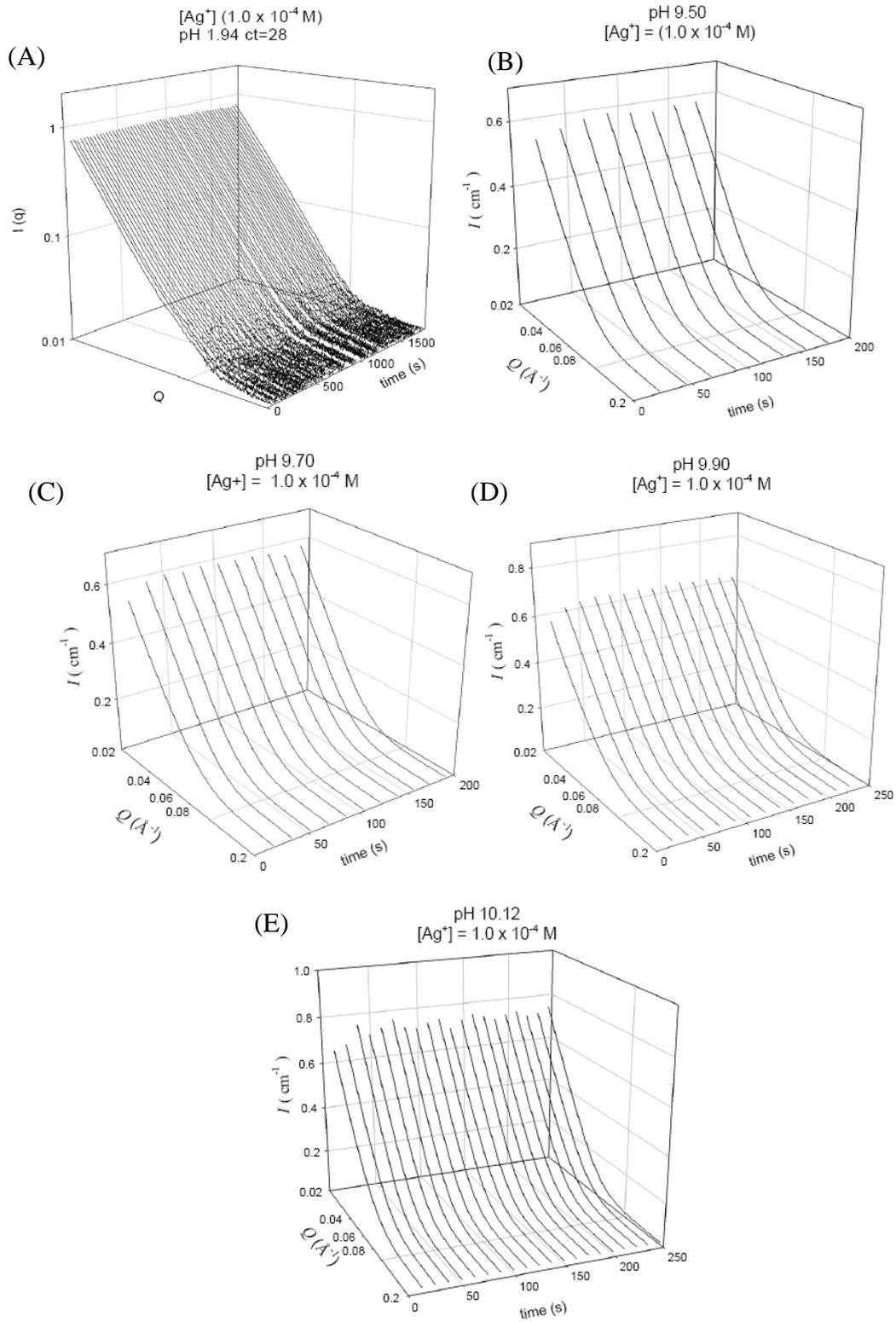


圖 3- 13 在 SFM 400 快速將 Au-Tyr 與 Ag_2SO_4 (實驗組 C_1) 混合後，進行連續量測的 SAXS 圖譜 (A)pH 1.94、(B)pH 9.5、(C)pH 9.7、(D)pH 9.9 和(E)pH 10.12

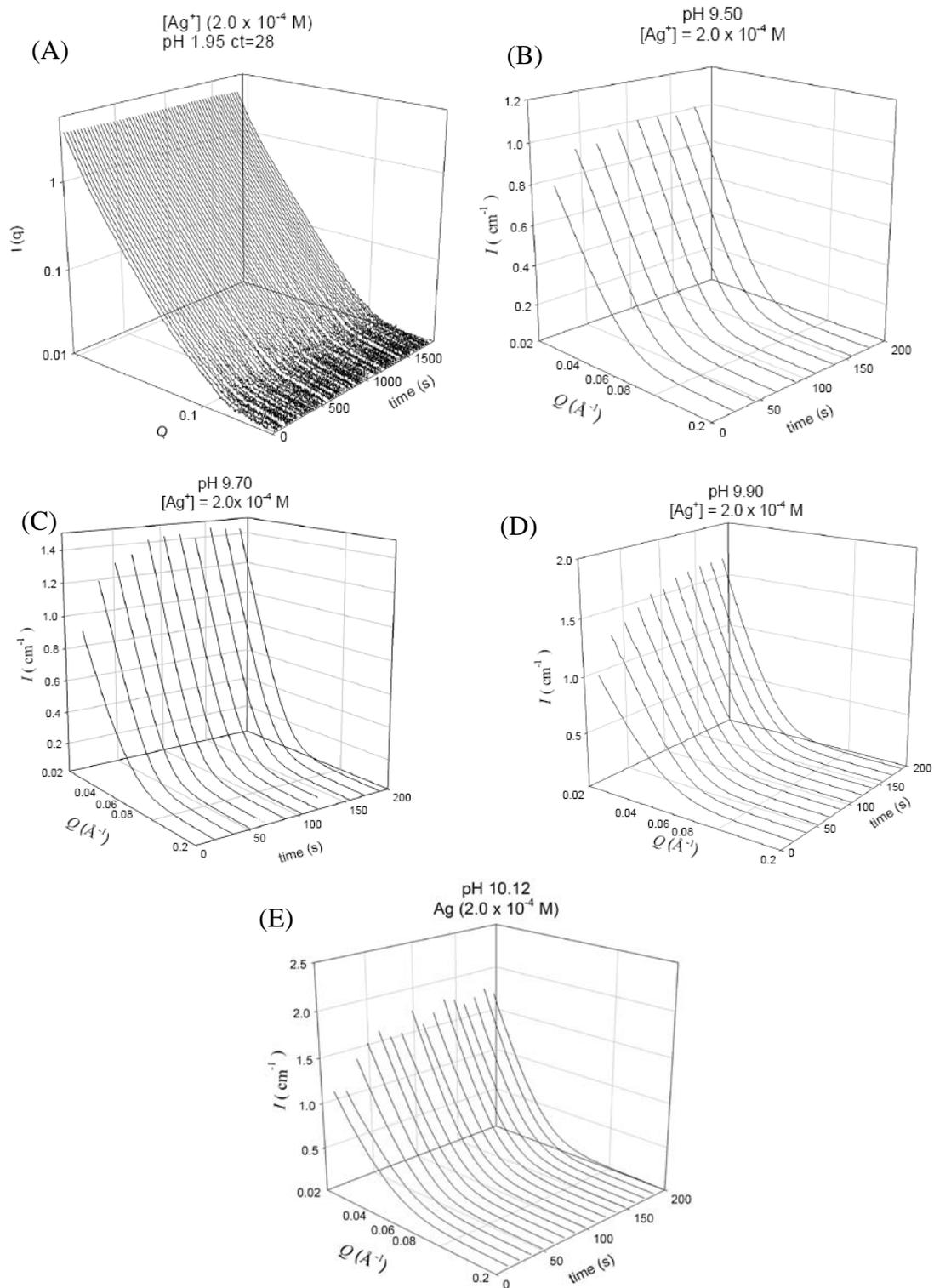


圖 3- 14 將 Au-Tyr 與 Ag_2SO_4 (實驗組 C_2) 混合後，進行連續量測的 SAXS 圖譜 (A)pH 1.95、(B)pH 9.5、(C)pH 9.7、(D)pH 9.9 和 (E)pH 10.12

圖 3-13 與圖 3-14 的圖(A)由於 pKa 值低於-COOH 的 deprotonation，使得 Au-Tyr 晶種間，表面酪胺酸不帶電荷無法順利相互排斥，彼此的-OH 基與-COOH 形成氫鍵 (如圖 3-15)，造成 Au-Tyr 奈米粒子嚴重聚集，產生結構因子，而無法進一步分析。

圖(B) ~ (D) 因為環境溶液處於高 pH 值，使得包覆在金核表面上的酪胺酸至少帶負一價電荷，奈米粒子相互排斥而穩定，再與硫酸銀 (銀離子來源) 混合後，銀離子會迅速吸附在 Au-Tyr 表面，並達到吸附飽和情況 (即 Law Q 範圍散射強度 $I(Q)$ 不再改變)。

最後圖(E)部分，pH 值調控到 10.07 以上，散射強度的曲線在吸附達到飽和後顯得有些漂浮不定，推測可能是酪胺酸在 pH 值 10.07 以上，具有較強的還原能力讓大量銀離子進行還原反應所造成。

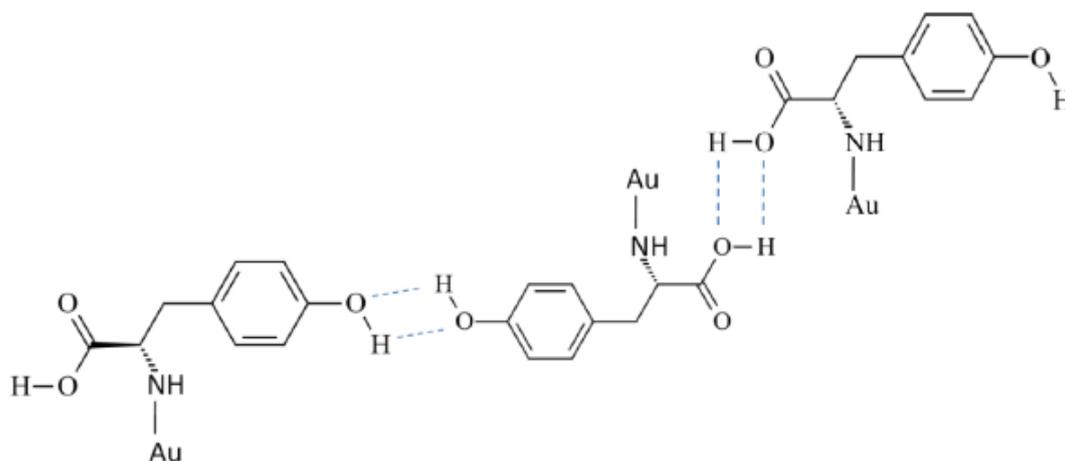


圖 3-15 酪胺酸間形成氫鍵示意圖

把上述兩種加入不同銀離子濃度的 C_1 和 C_2 實驗，於不同 pH 值下進行反應量測的 SAXS 圖譜，其個別反應的銀離子吸附達到飽和時間，及達吸附飽和後散射曲線進行契合分析，所得結果如表 3-4 和表 3-5：

表 3-3 各 pH 值下，加入銀離子濃度 1.0×10^{-4} M 後的吸附飽和時間 (time)、銀殼層厚度 (shell) 與分散度 (polydisp.)

$[\text{Ag}^+] = 1.0 \times 10^{-4}$ M				
pH	9.50	9.70	9.90	10.12
Time (s)	66.9	51.9	69.2	36.9
Shell thickness (Å)	15.21	16.44	18.31	19.49
Polydisp. (0.1)	0.429	0.419	0.396	0.404

表 3-4 各 pH 值下，加入銀離子濃度 2.0×10^{-4} M 後的吸附飽和時間 (time)、銀殼層厚度 (shell) 與分散度 (polydisp.)

$[\text{Ag}^+] = 2.0 \times 10^{-4}$ M				
pH	9.50	9.70	9.90	10.12
Time (s)	111.5	103.8	138.4	98.4
Shell thickness (Å)	29.69	24.92	29.04	26.79
Polydisp. (0.1)	0.323	0.457	0.429	0.4555

由表 3-4，可得知當 pH 值低於 10.07 高於 9.11 時，其達吸附飽和時間很相近，這是由於這三者 pH 值範圍為帶負一價電荷的緣故，但當 pH 值大於 10.07 後，酪胺酸則帶負二價電荷，吸附飽和所需時間相對較短；而飽和之銀殼層厚度分析方面，數值結果為 1.5 ~ 1.9 nm。

表 3-5 的數據也可看見，pH 值大於 10.07 時，也有吸附達飽和時間較短的現象。在 C₂ 實驗組方面，銀殼層的厚度則介於 2.4 ~ 2.9 nm，由此發現改變 pH 值對吸附銀離子的厚度幾乎並無多大變化；此外由兩濃度的吸附飽和時間來看，可以得知銀離子加入量越多時，吸附達飽和所需時間會增長。

以上證實了在剛加入銀離子時，此階段著重於正負電荷吸引為導向，是利用酪胺酸解離質子後，結構上擁有負電荷進行吸引正電荷的方式，促使銀離子無論在 pH = 9.5 或 pH = 10.12 時，都能短時間內就在 Au-Tyr 外表包覆相似厚度；這部分粒徑分散數值約 32.3% ~ 45.7%，推測可能是未進行加熱動作，所以分散情況不佳。

3.5-2 改變 pH 值還原銀離子並以 UV-vis (TIDASDAQV2.39) 同步量測

然而，SAXS 量測得強度是銀離子與銀原子都會有貢獻，因此僅能得知銀離子受到酪胺酸的負電荷吸引而包覆在 Au-Tyr，並無法確切知道銀離子是否還原成銀原子。

所以利用紫外-可見光光譜儀可測量銀奈米粒子的表面電漿共振效應⁴⁶，獲得銀離子還原生成銀原子的資訊。以加入不同銀離子濃度的 C₁ 與 C₂ 實驗組在 SFM 400 混合樣品，為了與上述 SAXS 數據做比較，pH 值的調控由 pH 10.23 依序降至 pH 9.53 並搭配 UV-vis (TIDASDAQV2.39) 偵測並記錄。本量測方法所使用的 UV-vis 儀器為 TIDAS / MCS UV/NIR Spectroscopy，積分時間極限為 4 ms，本實驗積分時間以 25 ms 為單位，以下繪圖部分的吸收曲線則以 SAXS 時間刻度 (12.3 秒以上) 為依據進行繪製。

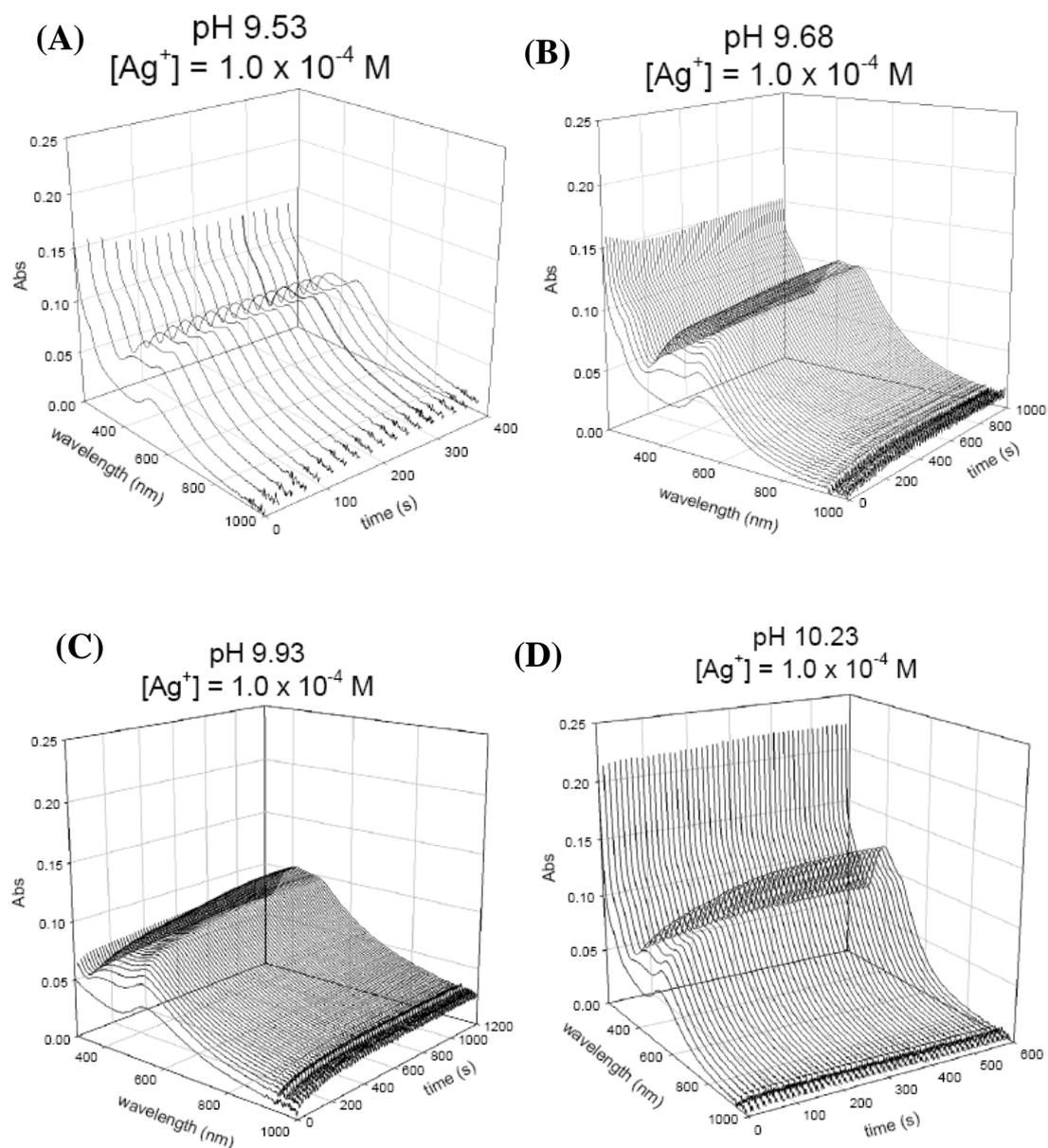


圖 3-16 加入[Ag⁺] = 1.0 × 10⁻⁴ M，合成 Au-Ag Core-Shell nanoparticles，控制 pH 值於 (A) 9.53；(B) 9.68；(C) 9.93 和 (D) 10.23

將圖 3-16 之數據資訊，統整製成表 3-6，為最大銀特徵吸收波峰與強度達飽和時間表，並重疊波峰到達飽和吸收強度的 UV 圖譜，如圖 3-17：

表 3-5 各 pH 值下，還原生成金-銀核殼奈米粒子其銀的最大特徵吸收波峰與還原達飽和時間

pH	9.53	9.68	9.93	10.23
λ_{\max} of Ag (nm)	405.74	418.73	412.73	406.74
Saturation time (s)	151	945	922	548

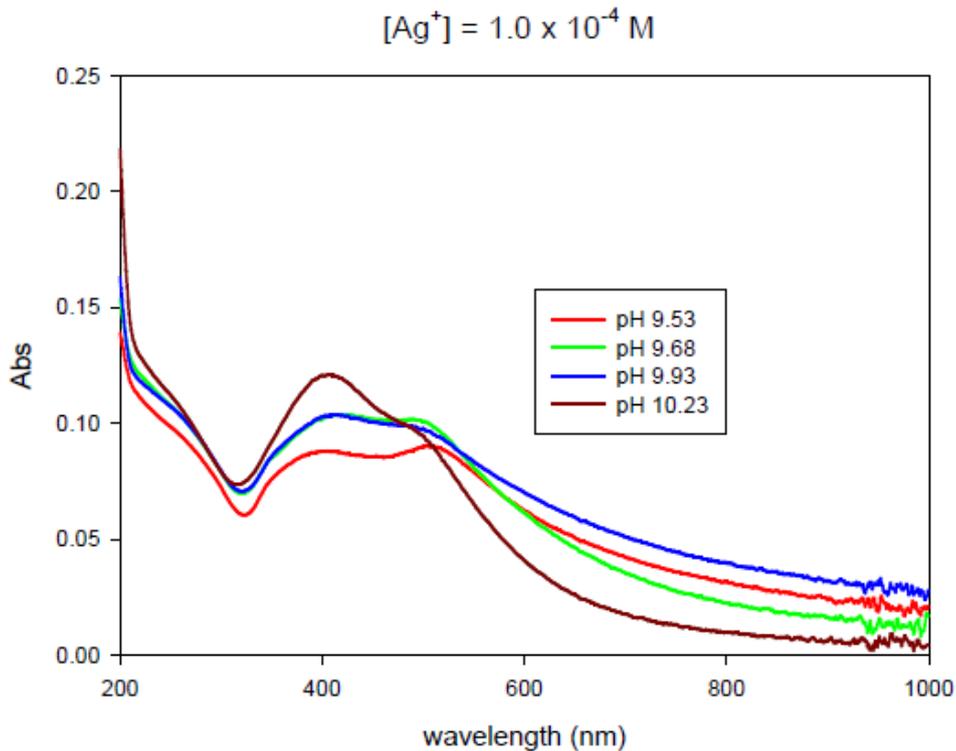


圖 3-17 加入 $[Ag^+] = 1.0 \times 10^{-4} M$ ，銀離子還原生成銀殼，吸收強度達飽和後的 UV 圖譜

圖 3-17(A) ~ (D)，pH 值由 9.53 上升到 10.23 的過程，最大吸收特徵峰強度逐漸增加，顯示酪胺酸在高 pH 值時，比 pH 值低者還原性強，生成的銀原子數量越多，強度就隨之增強；證實酪胺酸在調整 pH 值後，其還原性會受到限制，pH 值低時，還原銀離子數量有限，在一定時間後強度便達到飽和，如表 3-6 內 pH 9.53 達飽和時間就比高 pH 值者少很多；圖 3-17 中，金的特徵吸收波峰藍位移了 14 nm，顯示生成銀殼層時會對金核表面電漿共振造成影響。

接著將加入銀離子的濃度依照 C₂ 實驗組進行，利用 UV-vis 在樣品混合後同時做記錄與偵測，光譜對時間制圖如下：

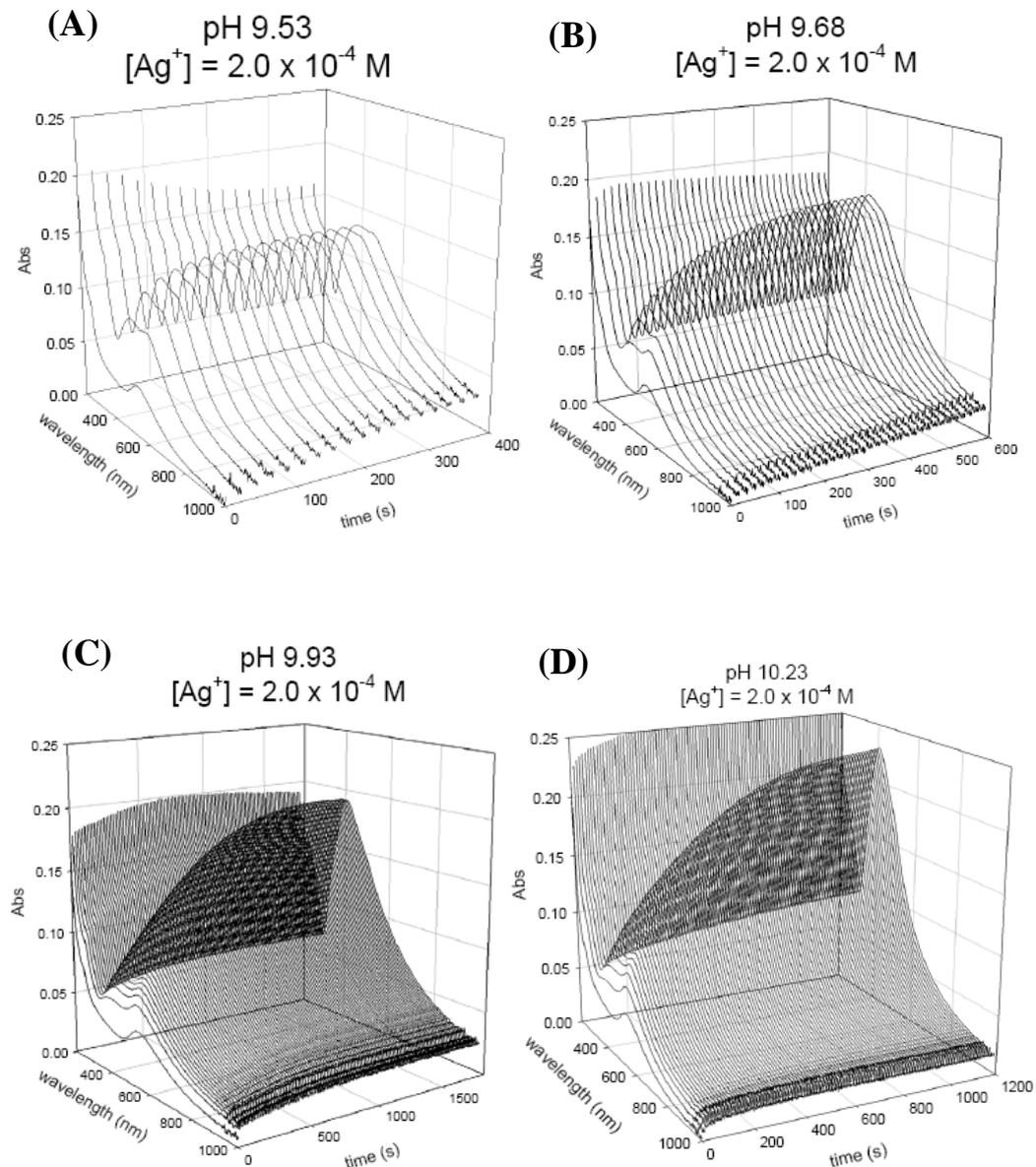


圖 3-18 加入[Ag⁺] = 2.0 × 10⁻⁴ M，合成 Au-Ag Core-Shell nanoparticles，控制 pH 值於 (A) 9.53 ；(B) 9.68 ；(C) 9.93 和 (D) 10.23

將圖 3-18 之數據資訊，統整製成表 3-7，為最大銀特徵吸收波峰與強度達飽和時間表，並重疊波鋒到達飽和吸收強度的 UV 圖譜，如圖 3-18：

表 3-6 各 pH 值下，還原生成金-銀核殼奈米粒子其銀的最大特徵吸收波峰與還原達飽和時間

pH	9.53	9.68	9.93	10.23
λ_{\max} of Ag (nm)	451.69	438.7	429.71	396.75
Saturation time (s)	243	581	1216	1034

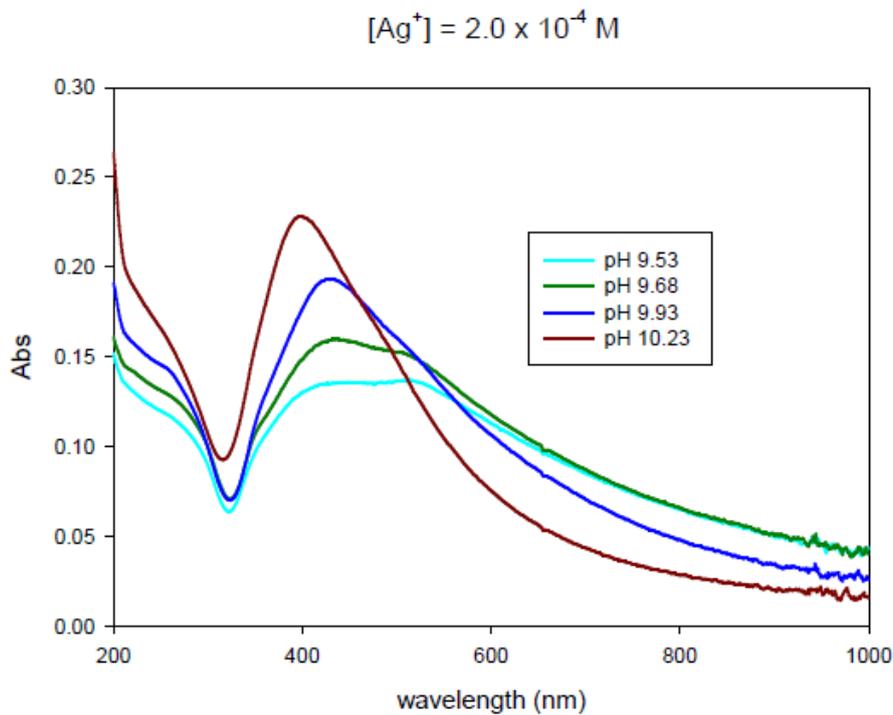


圖 3-19 加入 $[Ag^+] = 2.0 \times 10^{-4} M$ ，銀離子還原生成銀殼，吸收強度達飽和後的 UV 圖譜

圖 3-18 是加入銀離子濃度 $2.0 \times 10^{-4} M$ 合成的實驗，pH 從 9.53 ~ 10.23 改變的過程，可看到當最高吸收強度的提升漸趨緩時，表面電漿共振效應造成的吸收波峰明顯得由兩波峰（金、銀）轉成單一波峰（銀）；主因是隨著 pH 值上升，酪胺酸上的 phenolic group 的氫離子解離增加，銀離子還原數量驟增，銀殼層太厚便將屬於金核部分的表面電漿共振吸收峰覆蓋過去，形成單一波峰的現象；表

3-7 中，pH 值為 10.23，其酪胺酸還原能力最強，還原銀的數量雖多，但吸附飽和時間仍舊較短，而最大吸收波峰最後會偏向銀的特徵吸收波峰；從圖 3-19 中，pH = 9.53 的薄銀殼到 pH = 10.23 的厚銀殼，可以明顯看到吸收波峰由雙波峰轉為單一波峰，證實了殼層厚度對金表面電漿共振有很大的影響。

3.5-3 SAXS 與 UV-vis 綜合討論

實驗一開始使用 NaBH_4 與 HAuCl_4 混合，將金離子還原成金原子，熟成一天生成金奈米粒子⁴⁷。為防止金奈米粒子進一步聚集，加入酪胺酸（如圖 3-20），酪胺酸的氨根含有的 N 與 Au 形成鍵結，完整包覆住金奈米粒子（如圖 3-21），並先透析去除未鍵結的酪胺酸，再以此做為金核來源。

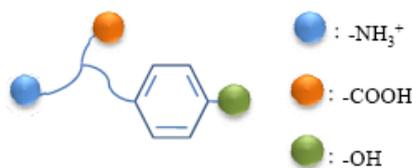


圖 3- 20 酪胺酸示意圖

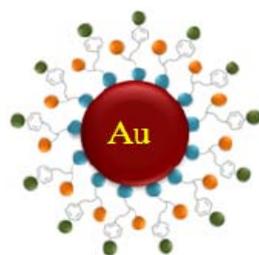


圖 3- 21 酪胺酸包覆金奈米粒子示意圖

接著加入銀離子後，以小角度 X 光散射分析；小角度 X 光散射主要是利用物質與 X 光之間的交互作用，即光電吸收與光受到原子束縛電子的彈性散射，故調控 pH 值的實驗所得散射曲線，其銀殼層厚度大小會相似，原因是 SAXS 分析中，銀離子 (Ag^+) 與銀原子 (Ag^0) 皆可測得散射強度，故 pH 值皆遠高於 $-\text{COOH}$ 解離氫的 pKa 時，酪胺酸處於帶負價電荷狀態，所吸引的銀離子包覆於

金核表面上在 SAXS 測得強度資訊會相似。此方法用以測得核殼型奈米粒子具有貢獻強度的部分會如圖 3-22。

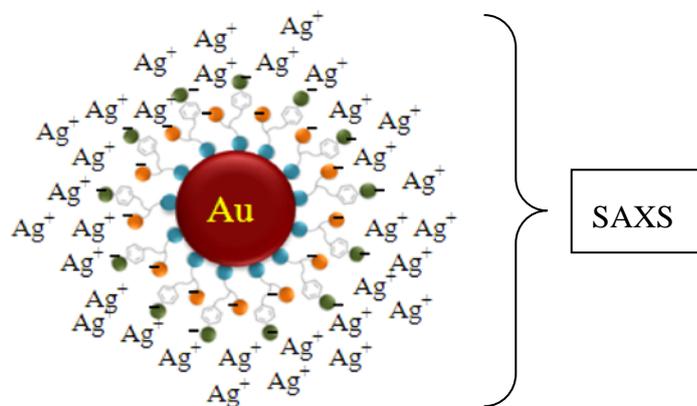


圖 3- 22 金核利用正負電荷相吸作用，使銀離子包覆於奈米粒子外層

利用紫外光(Ultraviolet, UV) 及可見光 (Visible, Vis) 吸收光譜法 (Absorption Spectroscopy)，可針對奈米金屬粒子具有的表面電漿共振吸收特性，以紫外線-可見光吸收光譜圖進行分析還原的銀原子部分，即當有銀原子還原並聚集在金核表面，便具有表面電漿共振的吸收強度，但銀離子方面則是不會有任何貢獻強度，此方法是用以測得核殼奈米粒子已還原的銀原子資訊，如圖 3-23。

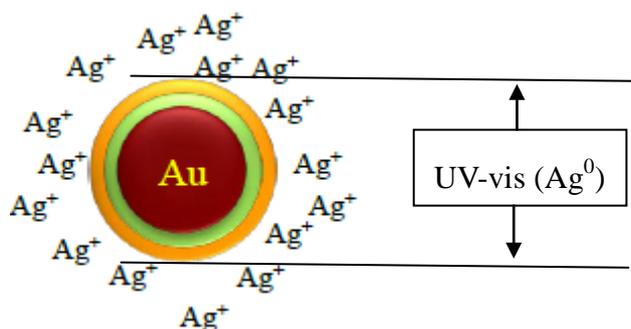


圖 3- 23 包覆於粒子外層的銀離子開始還原

所以當酪胺酸處於 pH 值大於 10.07 的環境溶液下，苯環上的 phenolate anions 就可丟出電子轉移到銀離子使之還原成銀原子，最後在經由加熱會使溶液反應更完全，可見到溶液顏色由酒紅色轉變為亮咖啡色；另一方面由於銀離子受酪胺酸

的負電荷吸引，因此反應僅發生在 Au-Tyr 奈米粒子表面，並直接接受電子轉移而還原，最終生成金核-銀殼型奈米粒子(如圖 3-24)。



圖 3-24 金核-銀殼型奈米粒子示意圖

3.5-4 改變金原子和銀離子莫耳濃度對銀殼厚度影響-以 SAXS 量測

在此實驗中，使用的金核粒徑大小以 SAXS 量測，並進行契合曲線分析 (圖 3-25(a)，分析結果如圖 3-25(b)所示，確定使用的金核平均半徑大小為 2.2 nm。

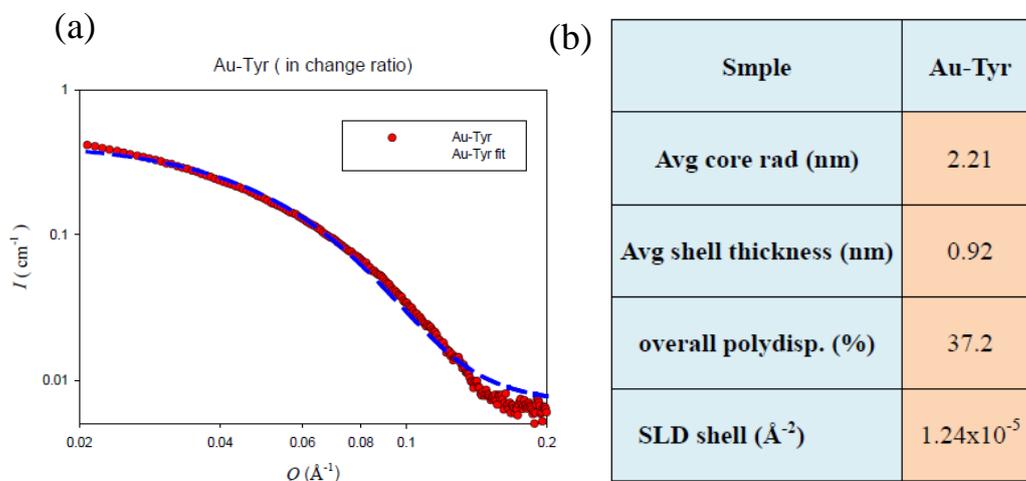


圖 3-25 (a)用於改變銀離子對銀殼厚度影響實驗的 Au-Tyr 測得之 SAXS 圖

(b)契合數據後分析得到的結果

此段實驗，調整 pH 值至 10.25 並未對混合溶液進行加熱動作，樣品在注入後，等待約 100 秒時間，開始以 SAXS 進行分析並將數據記錄下 (counting time = 100 s)，各組所得之 SAXS 圖，整合如圖 3-26：

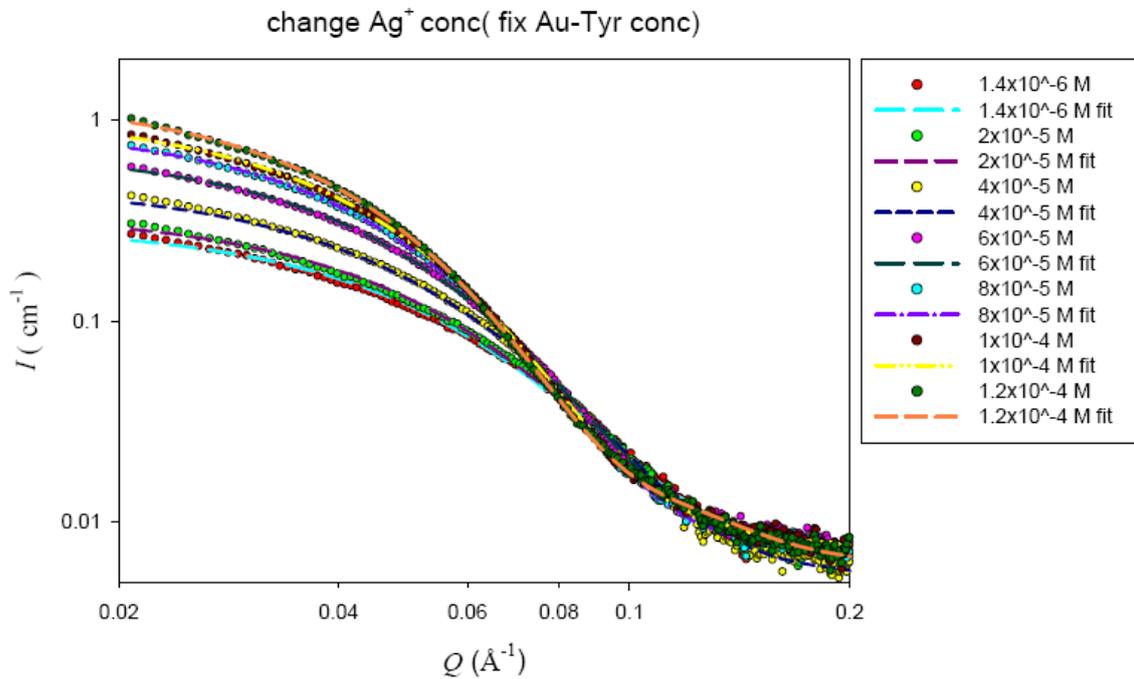


圖 3- 26 加入不同銀離子後，生成的各組不同銀殼層厚度 SAXS 圖，虛線為契合曲線分析結果

圖 3-26，銀離子加入量少時，其曲率下降比較緩慢，曲率落點的 Q 值較高且散射的訊號強度較小，即是銀原子包覆量較少，故生成小尺寸的核殼型奈米粒子，但隨著金原子與銀離子莫耳濃度比值由 0.28 提升到 2.4，散射訊號強度隨趨勢升高，當比值提升到 2.4 時，散射強度為最高，曲線的曲率內縮至低 Q 值，此一現象與稍早加入不同銀離子濃度的 C_1 與 C_2 實驗組合成 Au-Ag 核殼型奈米粒子分析相符合。

以上曲線進一步契合分析（虛線部分），數據結果統整於表 3-8。

表 3-7 以 fitting 軟體契合後，所得到在不同 Ag^+/Au^0 比值的分析結果

Ag^+ conc (M)	1.4×10^{-6}	2.0×10^{-5}	4.0×10^{-5}	6.0×10^{-5}	8.0×10^{-5}	$1. \times 10^{-4}$	1.2×10^{-4}
$[\text{Ag}^+] / [\text{Au}^0]$	0.28	0.4	0.8	1.2	1.6	2	2.4
scale	4.15×10^{-6}	5.11×10^{-6}	7.53×10^{-6}	6.95×10^{-6}	9.75×10^{-6}	1.40×10^{-5}	1.97×10^{-5}
Avg core rad (nm)	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21	2.21
Avg shell thickness (nm)	<u>1.23</u>	<u>1.43</u>	<u>1.67</u>	<u>1.72</u>	<u>2.20</u>	<u>2.59</u>	<u>2.98</u>
overall polydisp. (%)	37.8	36.9	35.5	30.3	26.2	23.1	21.3
SLD shell (\AA^{-2})	1.29×10^{-5}	1.53×10^{-5}	1.75×10^{-5}	3.31×10^{-5}	3.41×10^{-5}	3.06×10^{-5}	2.82×10^{-5}

表 3-8 分析結果隨著銀離子濃度增加，銀殼層厚度從 1.2nm 慢慢增加到 3.0 nm，顯示我們可以從加入銀離子量的多寡進一步控制銀殼層的厚薄情形。此外隨著銀殼層變厚，其分散度亦漸減小，說明了當銀原子還原量越多，粒子間尺寸大小差異就越小，將這兩者關係繪製成圖，如圖 3-27 所示。

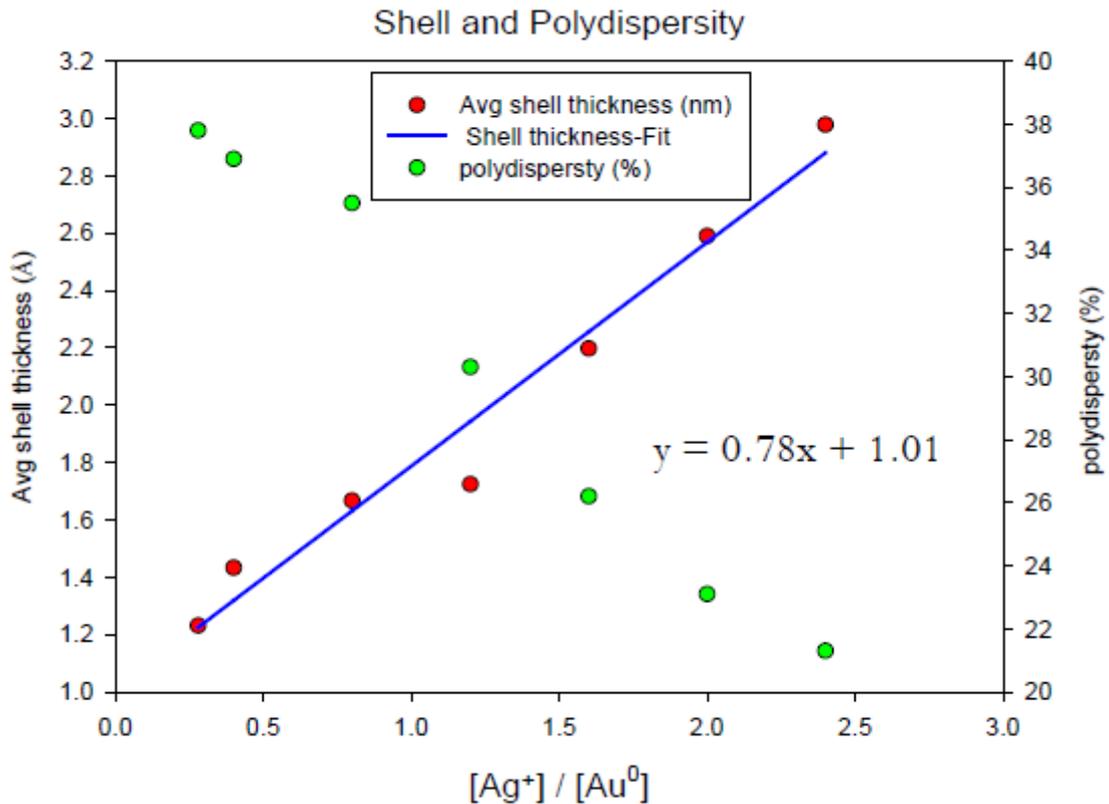


圖 3- 27 銀殼層厚度、分散度對金/銀莫耳濃度比值作圖

圖 3-27，紅色點對應為銀殼層厚度，隨著比例提升厚度呈線性增長，分散度也逐漸下降，意味銀原子還原包覆 Au-Tyr 後，奈米粒子間尺寸大小差異下降。

此外以一次方程契合紅色點可得線性方程式： $y = 7.807x + 10.1$ ，即當 $x = 0$ 時（無加入任何銀離子），則 y 上截距為 1.01 等同於 1.01 nm，此大小與上述契合之晶種表面上的酪胺酸尺寸 0.8、0.9 nm 差異不大，原因是在進行核殼型奈米粒子粒徑契合處理時，應用的核心金屬半徑的參數並未把包覆酪胺酸的大小造成的厚度慮進去，故酪胺酸大小便被包含於銀殼層的厚度中。

3.5-5 以調控金-銀莫耳濃度比值方式合成奈米粒子加以控制光學性質

由 3.5-4 章節的方式，得知可以藉由加入銀離子量的不同自由控制銀殼層厚度，故利用調控 Ag-Au 比例為 0.31、1.16 與 2.50 等，在加熱後，用 UV-vis 測量如下圖 3-28：

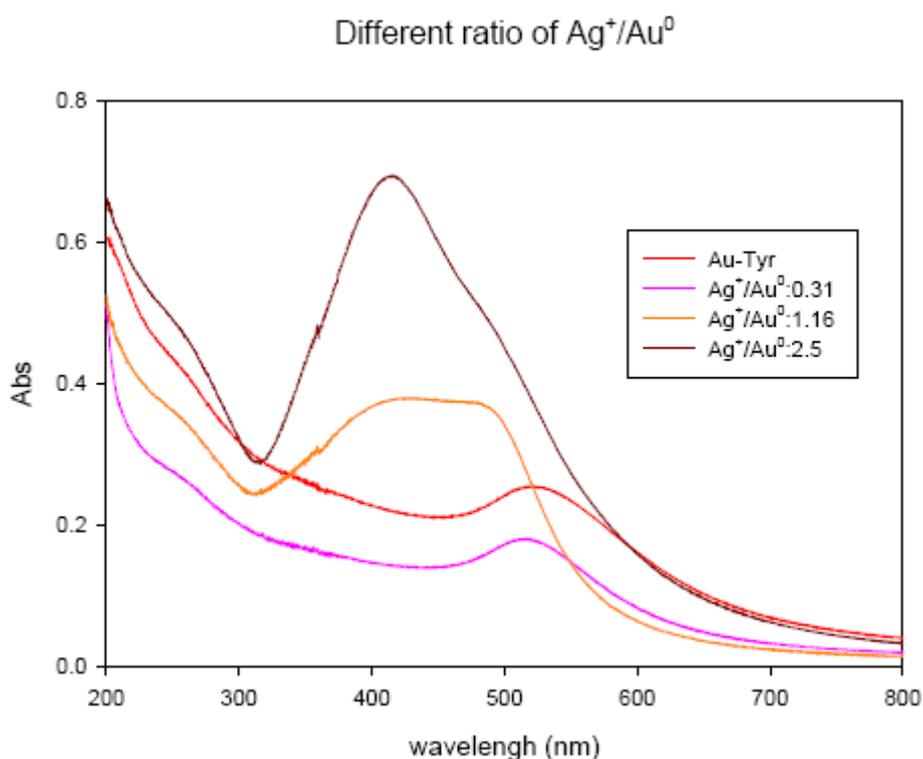


圖 3-28 金與銀以不同莫耳濃度混合後，改變光學性質

由於希望將合成出的核殼型奈米粒子應用在控制光學性質上，此處合成溶液有進行加熱再以 UV-vis 進行分析，如圖 3-28，結果顯示溶液從僅有晶種 (Au-Tyr) 時，依加入不同數量的銀離子還原多寡，就可將屬於金的最大吸收波峰 519 nm 控制到銀的特徵吸收波峰 414.7 nm 的金屬表面電漿共振吸收範圍。

第四章 結論

1. 利用酪胺酸為還原劑，在此篇實驗中不僅可做為穩定 Au 奈米粒子的保護劑，更提供還原銀離子生成銀原子殼層的電子來源。
2. 由非尋常小角度 X 光散射分析，可以證實實驗中合成產物確實為金核-銀殼型奈米粒子，並進一步分析得出加入兩種不同銀離子濃度 $1.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 和 $2.0 \times 10^{-4} \text{ M}$ 的核殼型奈米粒子，金元素在總粒子數上佔有率有所差異。
3. 在金核-銀殼型奈米粒子合成反應中，加熱與否會影響核殼型奈米粒子的尺寸分布；加熱會促使反應更完全，粒徑分散度可達到 18.9%，反之未加熱的話，粒徑分散度則是介於 40.4 % ~ 45.6 %。
4. 改變 pH 值並以小角度 X 光散射量測，得知銀離子能附著於晶種 Au-Tyr 上，是由正負電荷吸引作用主導，且酪胺酸帶負電荷越多所需吸附飽和時間越短。
5. 實驗證實銀殼層厚度的大小，可藉由加入不同銀離子濃度的方式，加以控制；此外，當銀殼層越厚則合成的金-銀核殼型奈米粒子的分散度逐漸減小。
6. 從控制殼層厚度的圖 3-27 分析結果中，更進一步證實在銀殼層生成時，酪胺酸確實包覆在 Au 表面，因而奈米粒子呈現三層夾心的核殼型奈米粒子。
7. 利用加入銀離子濃度的不同，調控金銀莫耳濃度比生成不同殼層厚度得核殼奈米粒子，可自由控制吸收波峰，範圍由金的特徵吸收波峰 519 nm 到銀的特徵吸收波峰 415 nm 的光學性質。

參考文獻

- (1) 伍秀菁; 汪若文 奈米檢測技術, 行政院新聞局: 新竹, 2009,185-195.
- (2) 盧永坤 奈米科技概論, 滄海書局: 台中市, 2008,16-21.
- (3) 孫郁興 中華科技史學會會刊 2005, 8, 45.
- (4) 朱紅 奈米材料化學及其應用, 北京交通大學: 北京, 2009,2-3.
- (5) 王崇人 科學發展 2002, 48.
- (6) 葉瑞銘 奈米科技, 第二版 ; 高立圖書有限公司, 2009,61-64.
- (7) Toshima, N.; Yonezawa, T. *New J. Chem.* 1998, 1179.
- (8) 牟中原; 郭清癸; 黃俊傑 物理雙月刊 2011, 32.
- (9) Daniel, M.-C.; Astruc, D. *Chem. Rev.* 2004, 104, 324.
- (10) Faraday, M. *Philos. Trans.* 1857, 147, 145.
- (11) Turkevitch, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. *Discuss. Faraday Soc.* 1951, 55.
- (12) Frens, G. *Nature: Phys. Sci.* 1973, 20.
- (13) Brust, M.; Walker, M.; Bethell, D.; Schiffrin, D. J.; Whyman, R. J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1994, 801~802.
- (14) 呂晁志; 蔡宜壽 化工資訊與商情 2007, 38.
- (15) Cortie, M. B.; McDonagh, A. M. *Chem Rev* 2011, 111, 3713.
- (16) Nelson, D. L.; Cox, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*; Fifth Edition ed.; W. H. Freeman: New York, 2009.
- (17) Garrett, R. H.; Grisham, C. M. *Biochemistry* second Edition ed.; Saunders College, 1999.
- (18) Mandal, S.; Selvakannan, P. R.; Phadtare, S.; Pasricha, R.; Sastry, M. *Chem. Sci.* 2002, 114, 513.
- (19) Selvakannan, P.; Mandal, S.; Phadtare, S.; Gole, A.; Pasricha, R.;

- Adyanthaya, S. D.; Sastry, M. *J Colloid Interface Sci* 2004, 269, 97.
- (20) Wang, Z.; Zhu, H.; Wang, X.; Yang, F.; Yang, X. *Nanotechnology* 2009, 20, 465606.
- (21) Selvakannan, P.; Swami, A.; Srisathiyarayanan, D.; Shirude, P. S.; Pasricha, R.; Mandale, A. B.; Sastry, M. *Langmuir* 2004, 20, 7825.
- (22) Rivas, L.; Sanchez-Cortes, S.; Garcia-Ramos, J. V.; Morcillo, G. *Langmuir* 2000, 16, 9722.
- (23) Tsuji, M.; Miyamae, N.; Lim, S.; Kimura, K.; Zhang, X.; Hikino, S.; Nishio, M. *Crystal Growth & Design* 2006, 6, 1801.
- (24) Murugadoss, A.; Kar, M.; Pasricha, R.; Chattopadhyay, A. *Plasmonics* 2009, 4, 161.
- (25) Pyne, S.; Sarkar, P.; Basu, S.; Sahoo, G. P.; Bhui, D. K.; Bar, H.; Misra, A. *J Nanopart Res* 2011, 13, 1759.
- (26) 陳怡君 利用酪胺酸為還原劑製備金銀奈米粒子及其性質的探討 2010.
- (27) Abecassis, B.; Testard, F.; Spalla, O.; Barboux, P. *Nano Lett* 2007, 7, 1723.
- (28) 王明光; 王敏昭 實用儀器分析, 合計圖書出版社: 台北市, 2003, 161-127 .
- (29) Gaikwad, A. V. *Nanocatalysts: Properties and Applications*, 2009.
- (30) Creighton, J. A.; Eadon, D. G. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* 1991, 87, 3881.
- (31) Mi, G. *Annalen der Physik* 1908, 3, 377.
- (32) Zh, J. *Physics Letters A* 2005, 339, 466.
- (33) Pinchuk, A.; Kreibig, U.; Hilger, A. *surface science* 2004, 557, 269.
- (34) Westcott, S. L.; Jackson, J. B.; Radloff, C.; Halas, N. J. *Phys. Rev. B* 2002, 66, 155431.

- (35) 鄭有舜 *物理雙月刊* 2004, 26, 417.
- (36) 陳信龍; 鄭有舜 *科儀新知* 2007, 29.
- (37) Jeng, U.; Hsu, C.-H.; Sun, Y.-S.; Lai, Y.-H.; Chung, W.-T.; Sheu, H.-S.; Lee, H.-Y.; Song, Y.-F.; Liang, K. S. *Macromolecular Research* 2005, 13, 511.
- (38) Haug, J.; Kruth, H.; Dubiel, M.; Hofmeister, H.; Haas, S.; Tatchev, D.; Hoell, A. *Nanotechnology* 2009, 20, 505705.
- (39) Yu, C.; Koh, S.; Leisch, J. E.; Toney, M. F.; Strasser, P. *Faraday Discuss* 2008, 140, 283.
- (40) Jeng, U.-S.; Lai, Y.-H.; Sheu, H.-S.; Lee, J.-F.; Sun, Y.-S.; Chuang, W.-T.; Huang, Y.-S.; Liu, D.-G. *Journal of Applied Crystallography* 2007, 40, 418.
- (41) Cromer, D. T.; Liberman, D. *J. Chem. Phys.* 1970, 53, 1891.
- (42) 徐嘉鴻; 湯茂竹; 李信義; 黃志謀; 梁耕三 *國家同步輻射研究中心簡訊* 2005, p16.
- (43) Ma, Y.; Li, W.; Cho, E. C.; Li, Z.; Yu, T.; Zeng, J.; Xie, Z.; Xia, Y. *ACS Nano* 2010, 4, 6725.
- (44) Vvedenskii, A.; Grushevskaya, S.; Kudryashov, D.; Kuznetsova, T. *Corrosion Science* 2007, 49, 4523.
- (45) Chou, K.-S.; Lu, Y.-C.; Lee, H.-H. *Materials Chemistry and Physics* 2005, 94, 429.
- (46) V., G. A.; Gadi, R. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2006, 8, 3669.
- (47) Patil, V.; Malvankar, R. B.; Sastry, M. 1999, 15, 8198.

附錄

附錄一、關於更換毛細管之處理

A、先將 Hard Stop 卸除：以六角起子將螺絲鬆動，再把 Hard stop 卸除。

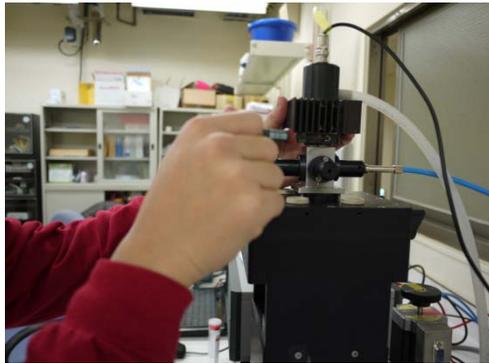


Fig.1-1 轉動側邊螺絲。



Fig.2-1 直接上移。

B、轉開上端黑色蓋子，將 Cuvette 拿出 (如 Fig.3)；Cuvette holder 共有兩種大小，分為可裝載毛細管口徑 1.5 與 2.0 mm 等兩種 Cuvette。



Fig.1-3 轉開蓋子，取出 Cuvette。



Fig.1-4 Cuvette 近照。

C、取出的 Cuvette 具有一上端蓋子，而毛細管則在內部（如紅框所示）。



Fig.1-5 轉開上端蓋子。

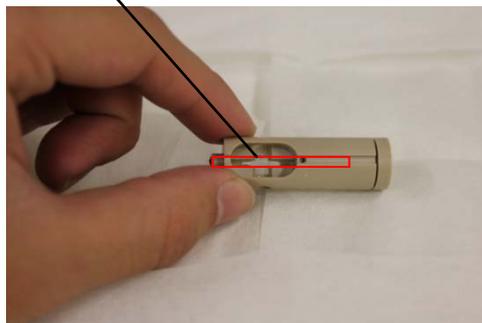


Fig.1-6 毛細管所在位置。

D、接著將內部已破裂之毛細管去除乾淨，並依據 Cuvette 大小慎選毛細管口徑共有 1.5 與 2.0 mm 兩種，並將適當大小之毛細管插入，勿硬插或過度鬆動。



Fig.1-7 毛細管插入圖

E、將插好毛細管的Cuvette置入到切割器具中，並讓刀片輕輕接觸於毛細管上，在旋轉帶動旋鈕。



Fig.1-8 帶動旋鈕所在



Fig.1-9 刀片輕輕靠上

F、切斷後，上端亦依照此方法切斷之，接著便可取出。



Fig.1-10 以刀片削斷下端毛細管



Fig.1-11 削斷上方毛細管

☆ 亦可用手動方式將其切除之，需使用白色專用塑膠刀片。

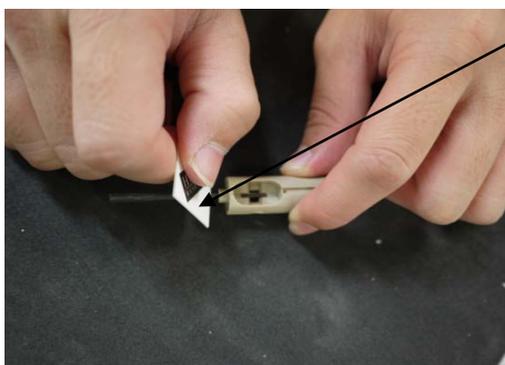


Fig.1-12 刀片輕靠毛細管，轉動 Cuvette。 Fig.1-13 切斷後，如圖管口需平整。

G、可以用刀片之背部粗糙面，必須將毛細管口底部玻璃磨平。



Fig.1-14 於刀片空白面輕放細磨。

H、並將上方突出的毛細管以尖夾子延管口慢慢夾碎，處理至一定長度且讓毛細管口平順，請注意 Cuvette 大小不同其搭配蓋子的口徑大小亦不同，請自行注意。



Fig.1-15 延毛細管壁夾碎。

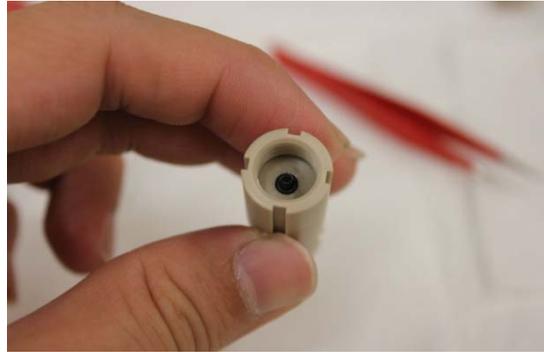


Fig.1-16 長度勿過長，且端口要平。

I、最後再將 Cuvette 蓋子蓋上，放回並組合好即可。

◇ 任何蓋子之旋鈕切勿用力鎖緊，毛細管置入方式因操作者習慣而異，故以上提供參考操做，注意“毛細管材質為石英，價格不斐且極度脆弱請謹慎作業”。

附錄二、金-銀比例於 Stopped-Flow 條件設定

SAXS 100 s	Conc ratio	S1	S2	S3	S4
	Ag / Au	Au-Tyr+KOH	H ₂ O + KOH	AIR	Ag ₂ SO ₄
	Ratio	5	4.4	0	0.6
Ag 6 x 10 ⁻⁵ M	2.4	5 x 10 ⁻⁵ M	0	0	1.2 x 10 ⁻⁴ M
	Ratio	5	4.5	0	0.5
Ag 5 x 10 ⁻⁵ M	2	5 x 10 ⁻⁵ M	0	0	1 x 10 ⁻⁴ M
	Ratio	5	4.6	0	0.4
Ag 4 x 10 ⁻⁵ M	1.6	5 x 10 ⁻⁵ M	0	0	8 x 10 ⁻⁵ M
	Ratio	5	4.7	0	0.3
Ag 3 x 10 ⁻⁵ M	1.2	5 x 10 ⁻⁵ M	0	0	6 x 10 ⁻⁵ M
	Ratio	5	4.8	0	0.2
Ag 2 x 10 ⁻⁵ M	0.8	5 x 10 ⁻⁵ M	0	0	4 x 10 ⁻⁵ M
	Ratio	5	4.9	0	0.1
Ag 1 x 10 ⁻⁵ M	0.4	5 x 10 ⁻⁵ M	0	0	2 x 10 ⁻⁵ M
	Ratio	50	44	5.3	0.7
Ag 7 x 10 ⁻⁷ M	0.28	5 x 10 ⁻⁵ M	0	0	1.4 x 10 ⁻⁶ M

Fig.1 在注入後 100 秒在進行 counting time : 100 秒，上表為溶液比例條件設定

附錄三 截流分光光譜儀之實驗操作步驟與條件

基本操作-以銀離子在金核外還原成殼形成 Au-核 Ag-殼奈米粒子為例

➤ SFM 400 外部線路介紹

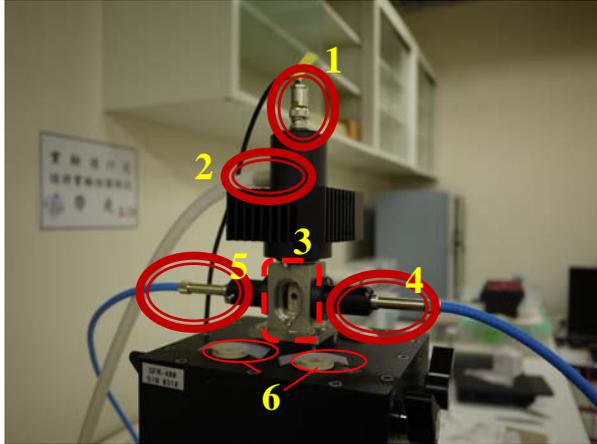


Fig 3-1 SFM 400 之接線部分。

1. 連接到 MPS 70/4
2. 廢液排出口
3. Observation Head 所在位置，內置 Cuvette
- 4、5. 分別是連接至 TIDAS 的光纖線 <進光(4)和收光(5)>
6. 插針孔

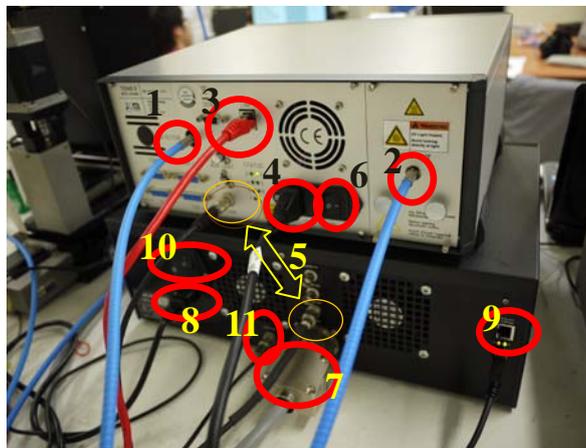


Fig 3-2 MPS70/4 與 TIDAS 背面接線處。

- 1、2. 為 Light out (1)和 Detector (2)
3. 連接至電腦 (網路線)
4. TIDAS 電源線
5. 為 TIDAS 與 MPS 70/4 相互連接線路
6. TIDAS 電源開關
7. 連接 SFM 400
8. MPS 70/4 電源線
9. 連接至電腦 (USB)
10. MPS 電源開關
11. 連接至 Hard Stop (1、2 接的光纖線，千萬不能折到且絕不能摸到線末端孔)

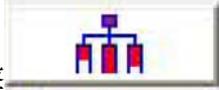
實驗操作

A. 以標準樣品測試 Stopped Flow 之準備工作

(A) 點擊開啓 Biokine 



Fig 3-3 電腦桌面。

(B) 開啓程式後，點擊  (Syringes manual control)

後，MPS70/4 外觀此時為 Fig 3-4 (b)。

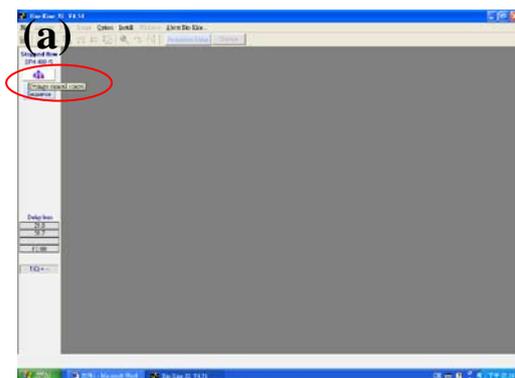


Fig 3-4 (a) BLOKINE 程式介面



(b) MPS 40/7 控制面板外觀。

✧ 點擊 Syringes manual control 若無步驟(c)的視窗回應，可能原因為 MPS 70/4 與電腦接線或連線有問題，請重新開啓 MPS 70/4 電源或檢查接線。

(C) 於視窗(Fig 3-5 (b))中確認預估吸入量為 **Ref ?** 且推進閥處在最上端
(Fig 3-5 (a))，按下 **Reset All** 並按下確定，即是初步歸零。

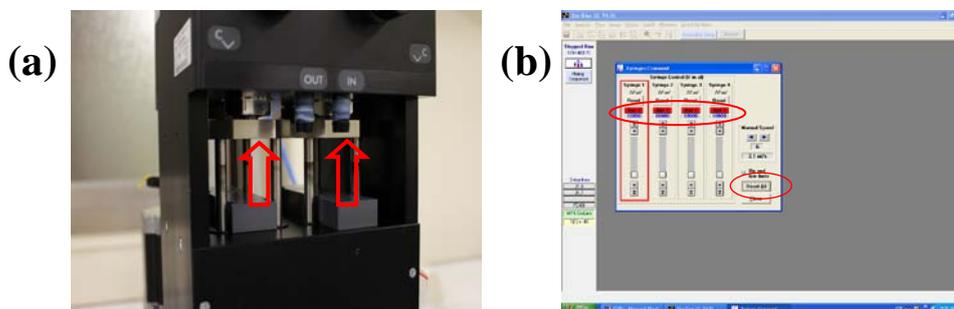


Fig 3-5 (a)SFM 推進閥 (b)BIOCINE 程式介面的 Reset All 。

◇ 若推進閥未達最上端 ~

請先確認 S1-S4 的閘門鈕(Fig 3-6)皆為向上扳。(代表內部管線通道為存放區與注射口連通的狀態)

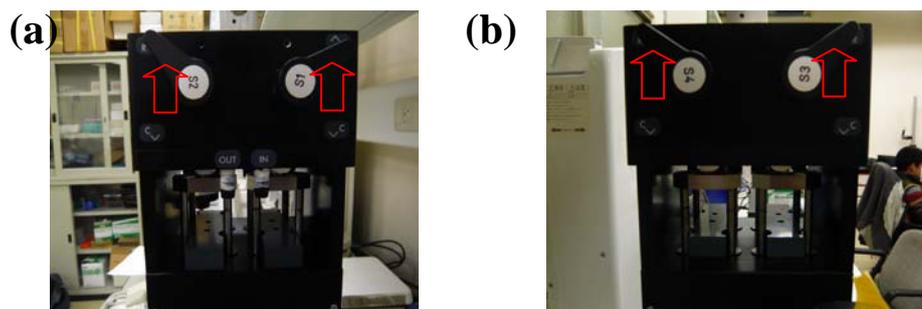


Fig 3-6 (a)S1 與 S2 的閘門鈕向上 (b)S3 與 S4 的閘門鈕向上。

於 MPS 70/4 同時按下雙鍵如 Fig 3-7 (a)，使四燈同時亮起(此動作為指定四個推進閥)，按下 Up 鍵將推進閥上升至最頂，也可單獨指定一處上升，**注意可能會由插針孔噴出液體，可先插入空的針筒接取，若有液體噴出則必須進行清洗存放區。**(若推進閥至最上端時，持續按著 Up 鍵，SFM 400 會不斷發出“喀喀聲”！即為最高處。)

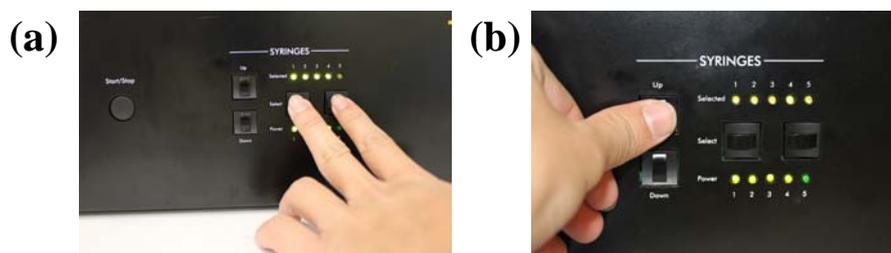


Fig 3-7 (a)同時按下雙鍵 (b)按下 Up 鍵 。

(D) 再插入針筒，共有 R1-R4 等四處。針筒內含物分別以 R1：標準樣品 A、R2：標準樣品 B、R3：標準樣品 B、R4：標準樣品 B 等。

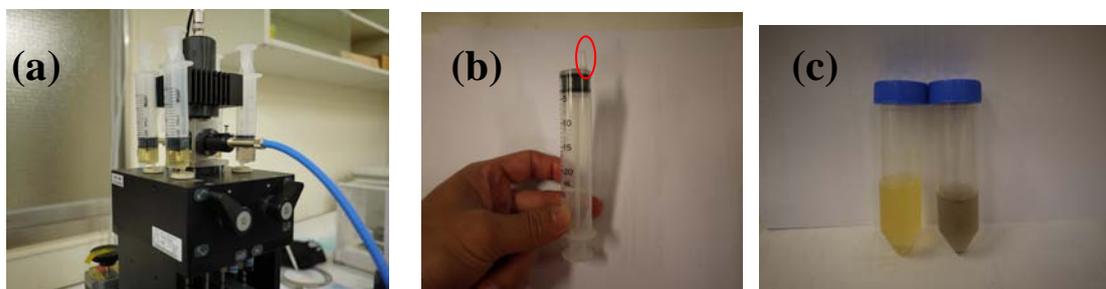


Fig 3-8 (a)針筒裝載完成 (b)針頭必須在側邊 (c)標準樣品。

☆ Fig 3-8：針筒的針頭所在必須在側邊，否則針管部分會與 Hard stop 相互推擠，以致針頭插入口的部分無法順利插入針頭。Fig 3-8 (b)：實驗室購買的 20 mL 容量的針筒，紅圈處即為側邊針頭；而標準樣品，Fig 3-8 (c)以右邊為標準品 A(灰棕色)，左邊為標準品 B(黃色)。

(E) 請先確定閘門鈕為向上扳，再插入 R1 至 R4 等四處針筒，接著調整流量 (詳見下頁註解)，再同時指定四個推進閥，於 MPS 按下 Down 鍵，使樣品由存放區之針筒吸入注射口內 (Fig 3-9 (b)中圈內預估吸入量

8717
10000，8717 μL 代表目前吸入量，10000 μL 為可吸入最大容量)。

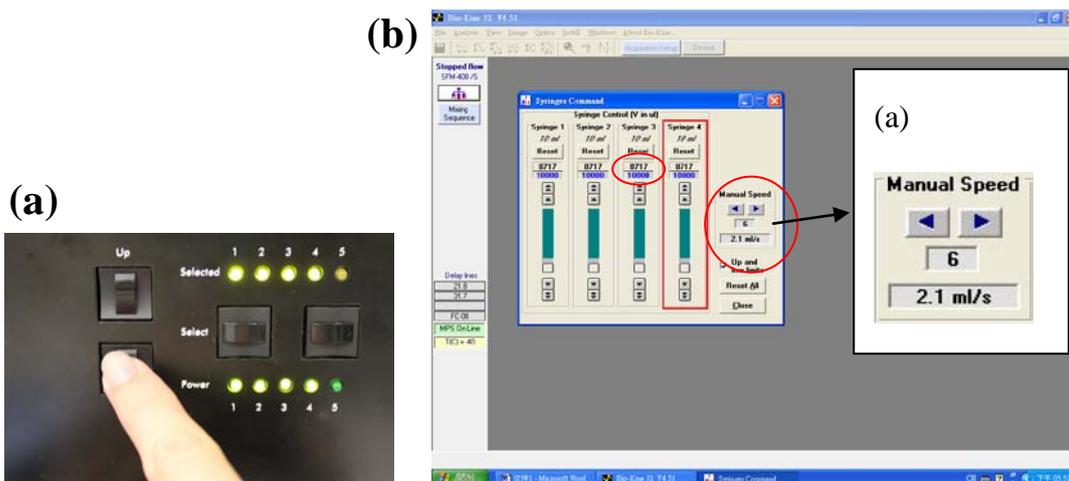


Fig 3-9 (a)按下 Down 鍵吸入樣品 (b)可看見已有部分樣品被吸入(綠色)。

◇ 步驟(E)之註解

1. Fig 3-9 (b)中的小圖 (a) 是調整流速處：調整流速是影響推進閥吸取與排出的速度，可由號碼 1~6 決定流速大小，6 為最高流速 2.1 mL/s。
2. 在 MPS 70/4 按下 Down 鍵後，推進閥會由最上方，見 Fig 3-10 (a)，向下降至下方，見 Fig 3-10 (b)，而針筒內樣品體積會因而減少，便是樣品由存放區的針筒轉移至注射口內。

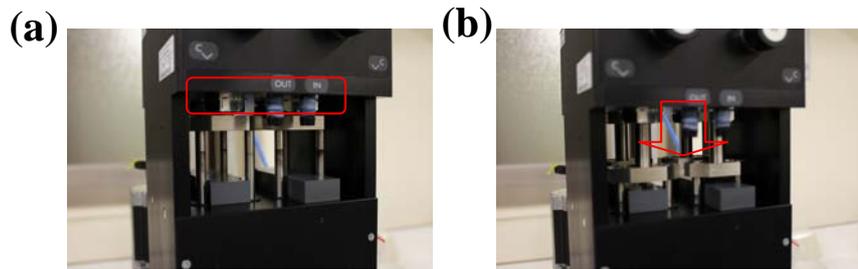


Fig 3-10 (a)推進閥在最上端 (b)推進閥向下降到下端。

3. 若 Fig 3-10 之針筒樣品無減少現象，請檢查 (1) 開門鈕是否為向上扳：若為下扳會導致管線內樣品吸回而汙染注射口樣品 !!! (2) 推進閥是否不動：若不動則可能 SFM70/4 有損壞 (3) 針筒是否未確實插好或針筒軟塞阻力過大：致使原因可能是針筒有毀損，例：有機物腐蝕。

(F) 在吸入一定樣品量後，於 MPS 70/4 按 Up 鍵，便是將樣品由注射口吐回存放區針筒內，此動作會使注射口內殘餘的氣體排出至針筒中，要讓推進閥至最上端處時，已無氣體會排出。

(G) 重覆步驟(E) 吸入 ~ 步驟(F) 吐回，進行“去氣動作”，此動作必須重覆至四個針筒內無氣體由存放區排出為止（即確保貯存區內無任何氣體存在）；再按下 Up 鍵將推進閥上升至最頂，Fig 3-11 (a)。電腦視窗內預估吸入量處，會再次呈現 **Ref ?**，便可再次按下 **Reset All**。

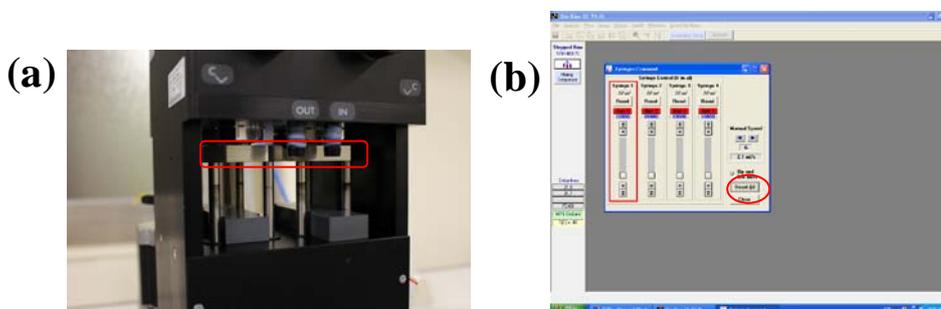


Fig 3-11 (a)推進閥上升至最頂 (b)按下 Reset all 鍵。

(H) 對出現的視窗(Fig 3-12 (a)) 選擇『確定』，按下確定鍵後 **Rel ?** 會轉變為 **0**，即是“最後歸零” !!!

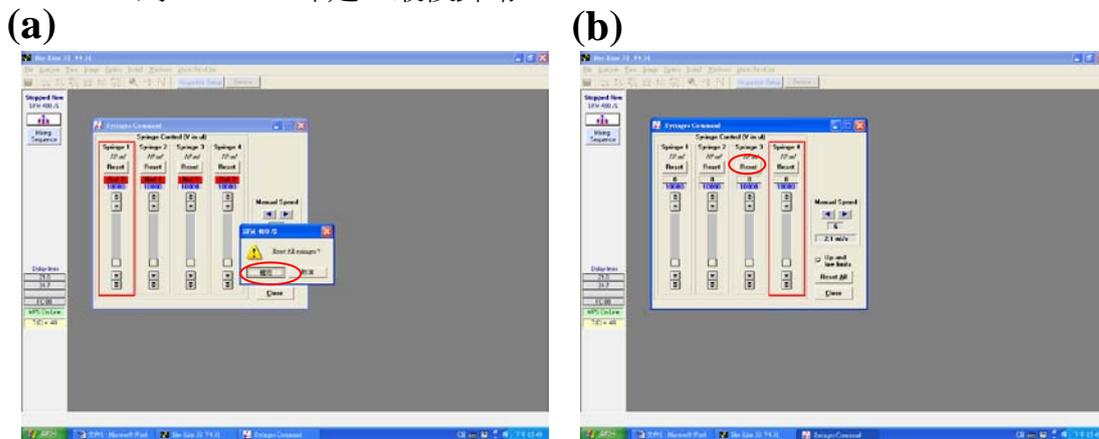


Fig 3-12 (a)按下確定鈕

(b)紅圈內為 Reset 鍵。

✧ 此外亦可按 **Reset** 各別進行歸零動作，即是單一歸零，可用於更換單一樣品時使用。

(I) 接著吸入一定量後，按下 **Mixing Sequence**，叫出體積混合參數視窗。

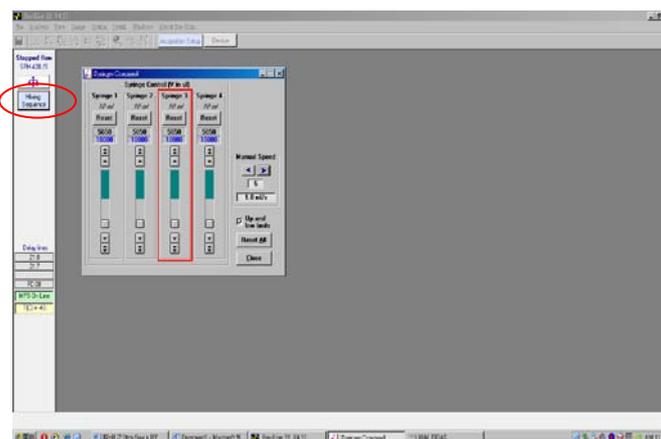
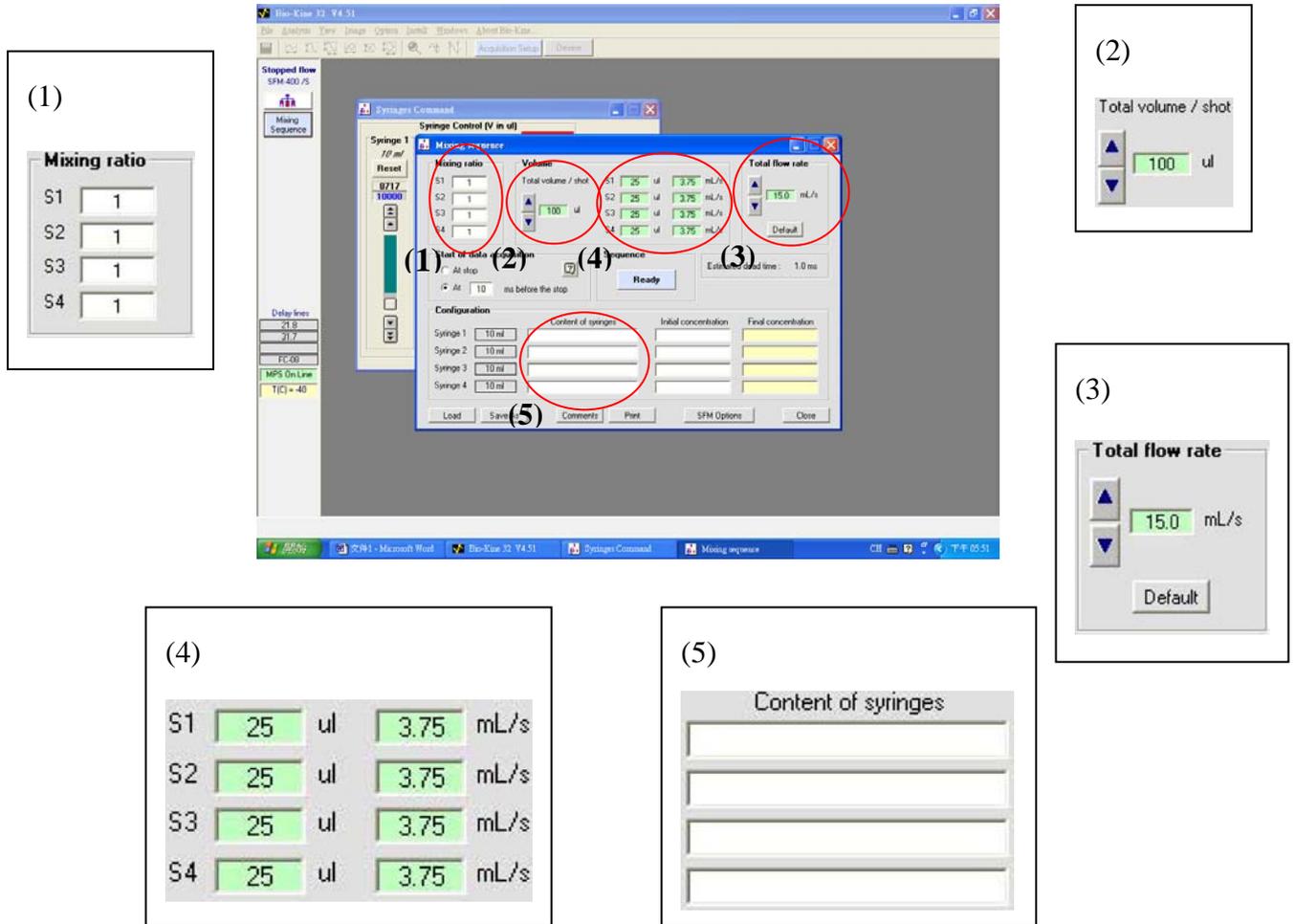


Fig 3-13 紅圈內為 Mixing Sequence 鍵。

✧ 注意切勿吸取過量（即推進閥降到最底部，也會發出喀喀聲！），此舉是避免系統預估的吸入體積量失去真實性。

(J) 接著跳出體積混合參數視窗，首先介紹各個參數意義。



..

Fig 3-14 視窗出現注入樣品體積參數視窗，紅圈內參數代表如下(a) ~ (e)

圖示 (1)可設定 S1 到 S4 彼此之比例值。

(目前比例為體積比 S1 : S2 : S3 : S4 = 1 : 1 : 1 : 1)

(2)可設定四管線加總後的流量。

(目前全部注入體積量為 100 μ L)

(3)可設定流速，是各管流速累計的總合。

(目前全部加總流速為 15.0 mL/s)

(4)代表參數設定完後的資訊值。

(目前為總流量 100 μ L，以 1:1:1:1 比例下，可得知各管預設注入量皆為 25 μ L，且四管流速亦為 3.75 mL/s，加總後便是 15.0 mL/s)

(5)此處可輸入 S1 到 S4 內容物的名稱。(用以避免忘記針筒內所裝之樣品是什麼?)

- (K) 接著測試 Stop flow 是否正常所需要的參數設定(1)~(3)。
- (1)首先以 S1 與 S2 為例，先於 S1 與 S2 鍵入 1，而 S3 與 S4 則為 0 (比例即是 S1 : S2 : S3 : S4 = 1 : 1 : 0 : 0)。
 - (2)而注入體積設定，以 S1 為基準 (體積量需大於 138 μL)，因此提升總體積注入量，共 326 μL (即 163 μL +163 μL)。
 - (3)調控流速，以為 5 ~ 7 mL/s 為主，本實驗固定以 7 mL/s 為主。
(勿流速過快，避免毛細管承受不了壓力而碎裂)
- (L) 待設定完畢後，準備進入注射混合階段，便可按下 **Ready** 。

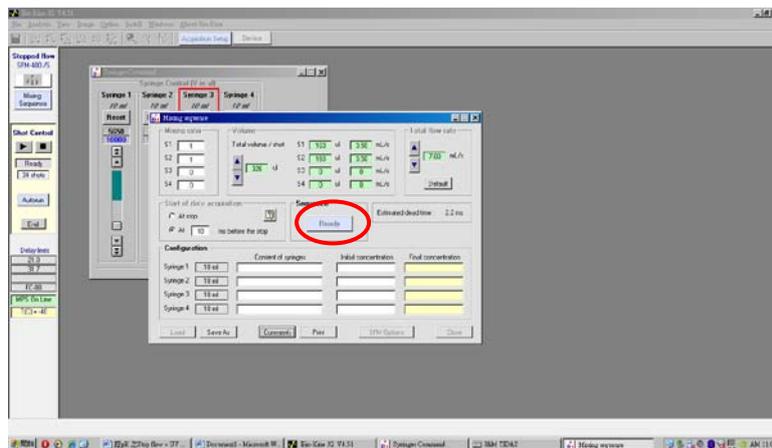


Fig 3-15 紅圈內為 Ready 鍵，此圖為按完 Ready 鍵後的視窗。

- (M) 再將閘門鈕一律往下扳 (如 Fig 3-16) ，即是將通道轉換為注射口 (Syringe) 連通混合槽 (Mixer) 。

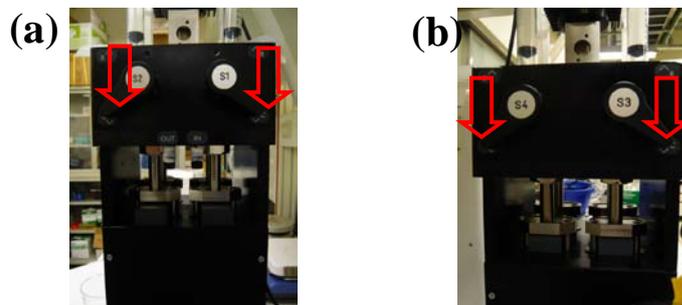


Fig 3-16 (a)將 S1 與 S2 閘門鈕下扳 (b)將 S3 與 S4 閘門鈕下扳。

(N) 執行完(L)步驟後，視窗左方便會跳出新的工具列(Fig 3-17 (b))。

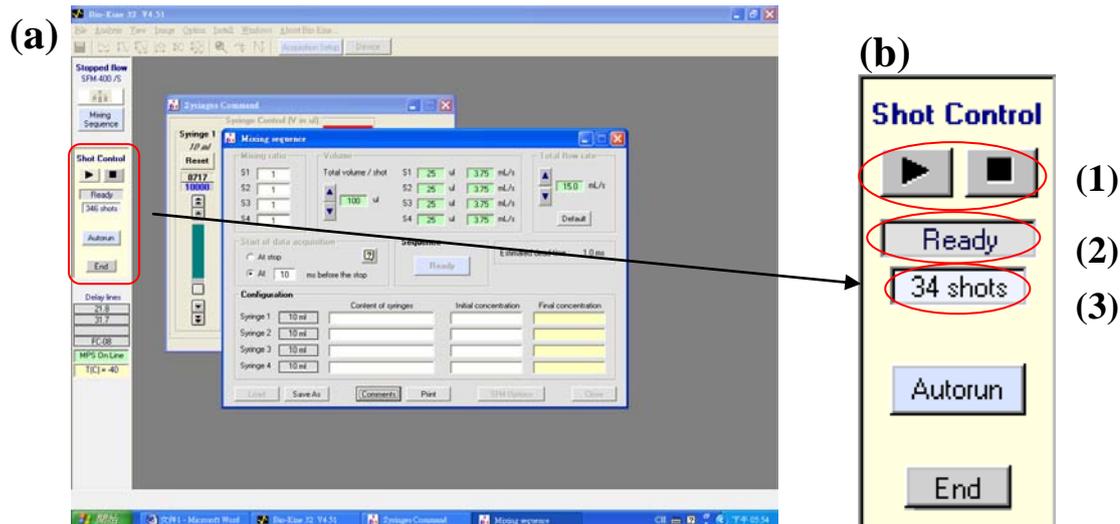


Fig 3-17 (a)紅圈為按下 Ready 鍵後，新出現之工具列

(b)新工具列。

◇ 新工具列解說如下：(1) ~ (3)

- (1) 控制注射 (三角形) 與停止 (正方形)。
- (2) 顯示已準備好可以注射。
- (3) 意指在此參數設定下，同樣條件共可重覆注射 34 次。

(O) 按一下 ，就是進行單次注射；在推進閥推動後，便可在廢液排出口見到充滿管線後剩餘的液體被排出，要注意 Cuvette 部分，溶液要充滿整個毛細管，避免有空氣影響儀器偵測。

(P) 檢查 Stop Flow 是否能正常運作的原理與觀察

原理：在此操作中填入的樣品共有 A 與 B 兩種，而其各自具有不同顏色(A：灰棕色，B：黃色)，而當其以等體積比例為 1：1 混合後，混合溶液即為透明無色。

測試方法：分別以 S1 與 S2、S1 與 S3、S1 與 S4 等組別，混合比例以 1：1 搭配測試各管運作情況。此外，由於溶液必須先行充滿各管線，因此注入方式需做兩次單次注射動作。

觀察：以第二次單次注射後的成果為觀察標的，需注意毛細管內所含溶液是否為透明無色，若為透明無色即代表 SFM 400 正常運作。

B. Stop Flow 搭配 UV-vis (TIDASDAQV2.39)之操作步驟

實驗以銀離子在金核外還原成殼形成 Au-核 Ag-殼奈米粒子為例

➤ Stopped flow 之前置步驟

(A) 請先依照“以標準樣品測試 Stopped Flow 之準備工作”之步驟(A)~(C)操作，並確實做好預估吸入量的歸零動作，視窗如 Fig 3-18。

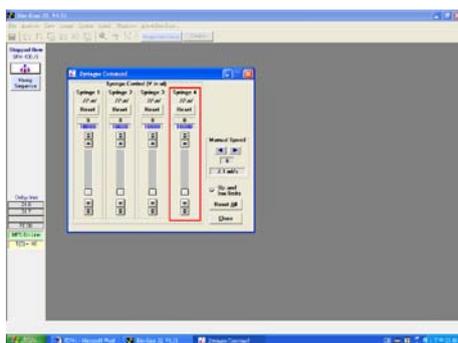


Fig 3-18 電腦視窗介面。

(B) 接著將本實驗之樣品 Au-Tyr、Ag₂SO₄ 和 H₂O，皆以針筒吸取內並依不同注射孔位置搭配，依序為 R1 : R2 : R3 : R4 = H₂O (20 ml) : Au-Tyr (10 ml) : H₂O (20 ml) : Ag₂SO₄ (15 ml)放置，如 Fig 3-19 (b)。

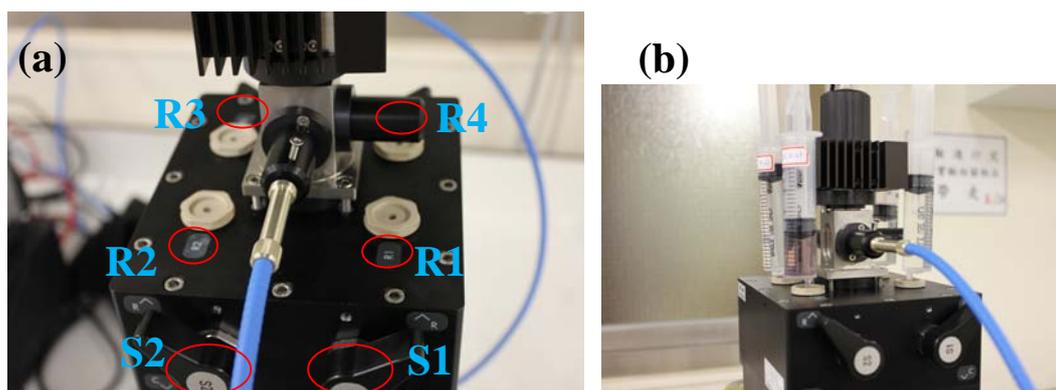


Fig 3-19 (a)注射口位置：SFM 400 的插針口上皆有標示 R1 到 R4，而側邊對應到的閘門鈕便是 S1 到 S4。(b)樣品擺放位置，R1 : H₂O R2 :Au-Tyr R3 : H₂O R4 :Ag₂SO (Au-Tyr 的 pH 值已調整為 pH 10.23)。

◇ 注意需先將針筒內的空氣去除，才插入針筒插入口。

(C) 再次依照“以標準樣品測試 Stop Flow 之準備工作”的步驟(E)~(F)操作，**請確切的執行“去氣動作”**（避免實驗混合時，注入殘餘空氣造成體積有誤差），再做預估吸入量的“最後歸零”動作。

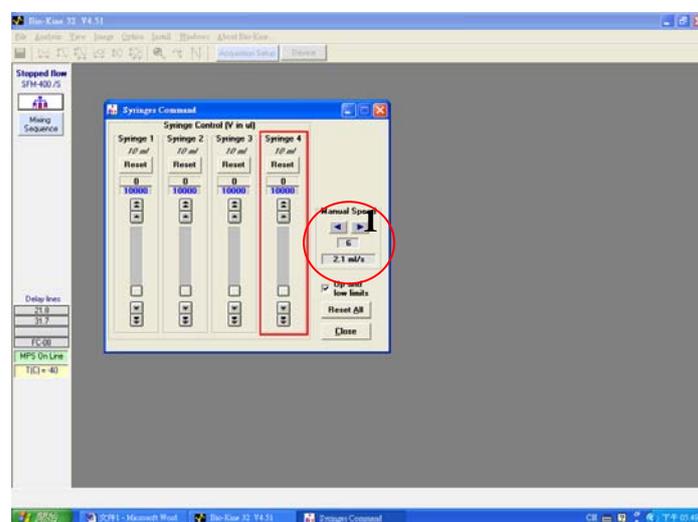


Fig 3-20 視窗中，預估吸入量的數值已歸零。

注意事項：1. **記得調整流速避免過快**（可由不同流速調整吸取速度）。2. 切勿吸入體積過量，**避免超過 10 mL** 造成系統預估體積失真。（若吸入過量，請重新做好最後歸零動作）。

(D) 接著指定好四管並藉由 MPS 70/4 操控吸入樣品；**注意吸取的量，以針筒內最少體積的樣品為吸取限量試劑**，見 Fig 3-21；**請勿吸取超過 10 mL** 或吸入空氣以免系統預估的體積出錯。

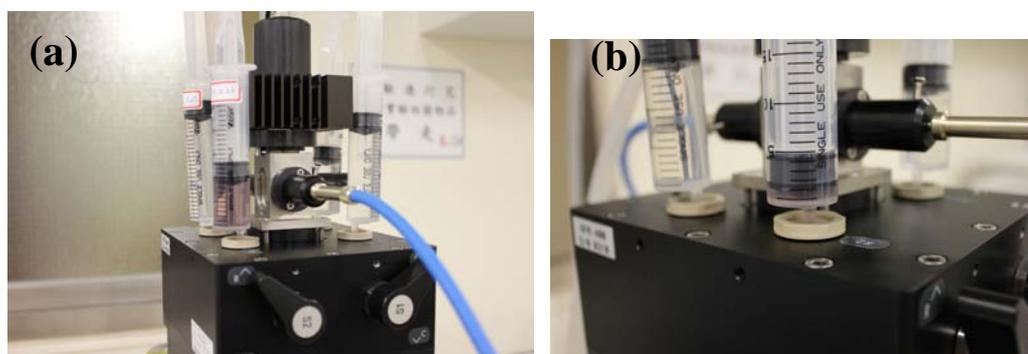


Fig 3-21 (a)注射口吸取前，由於 **Au-Tyr 量最少**，故為**限量試劑** (b)在吸取後，勿讓針筒活塞到底部或是吸入針筒內的空氣！

(E) 在吸取一定量後，便可按下 **Mixing Sequence**；並將所有閘門鈕都向下扳(圖 3-28(b))，使通道轉換為注射口連接混合槽。

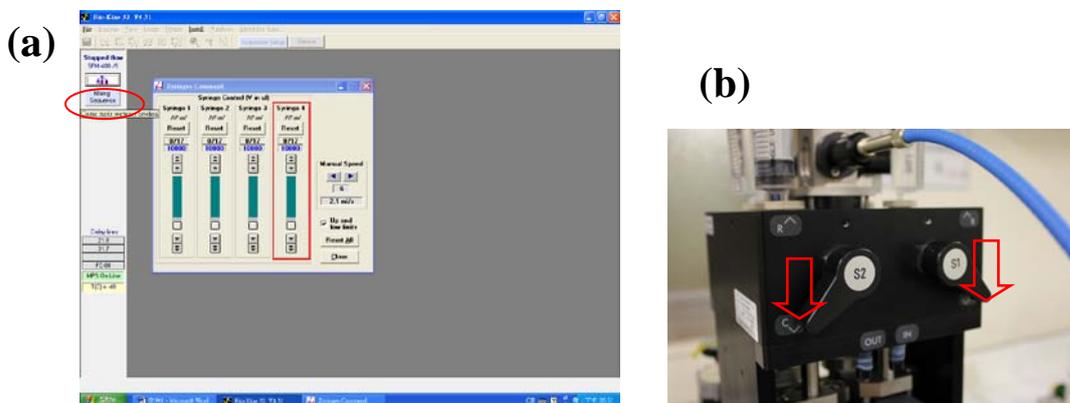


Fig 3-22 (a)按下 Mixing Sequence，進入體積混合參數視窗 (b)將閘門鈕全都像下扳。

(F) 跳出體積混合參數視窗，接著按下 **Ready** 便是 Stopped Flow 前置步驟完成，再將相關視窗介面縮小。(縮小的視窗皆以 Stopped Flow 相關視窗稱之)。

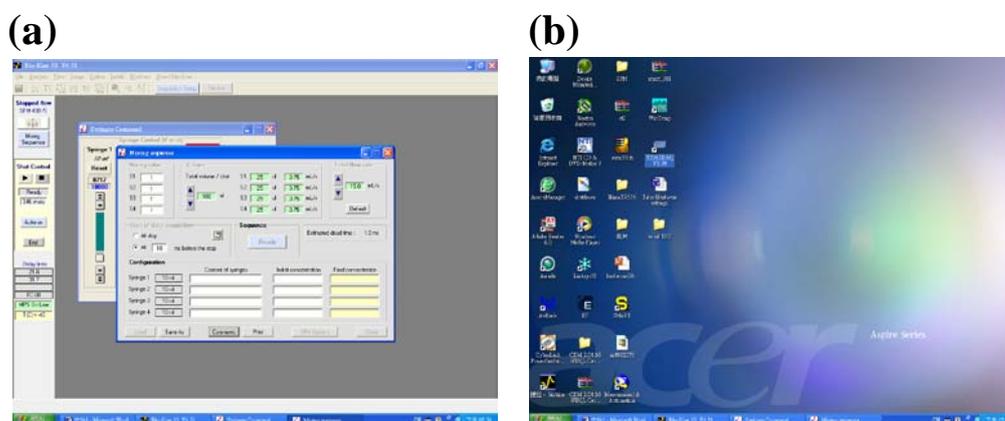


Fig 3-23 (a)按下 Ready 鍵後的電腦畫面 (b)將視窗縮小，各細項說明如下。

✧ Stopped Flow 相關視窗共有 3 項分別代表：

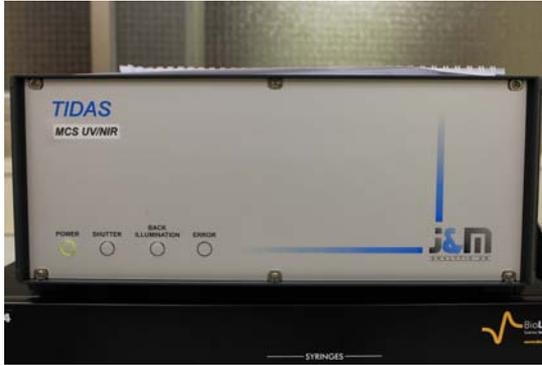
- (a) **Bio-Kine 32 V4.51** 為操控注入混合槽介面。
- (b) **Syringes Command** 為目前存放區內含有多少量樣品。
- (c) **Mixing sequence** 為體積混合參數視窗。

➤ 進入操作 UV-vis 開啟步驟 (G) ~ (H)



(G) 接著開啓 TIDAS (必須讓主機暖機 30 分鐘以上)，點擊桌面捷徑

(a)



(b)



Fig 3-24 (a)圖為 TIDAS 的機體

(b)按下桌面上的捷徑。

(H) 開啓後視窗如下：(後面皆以 UV-vis 視窗稱呼此視窗)

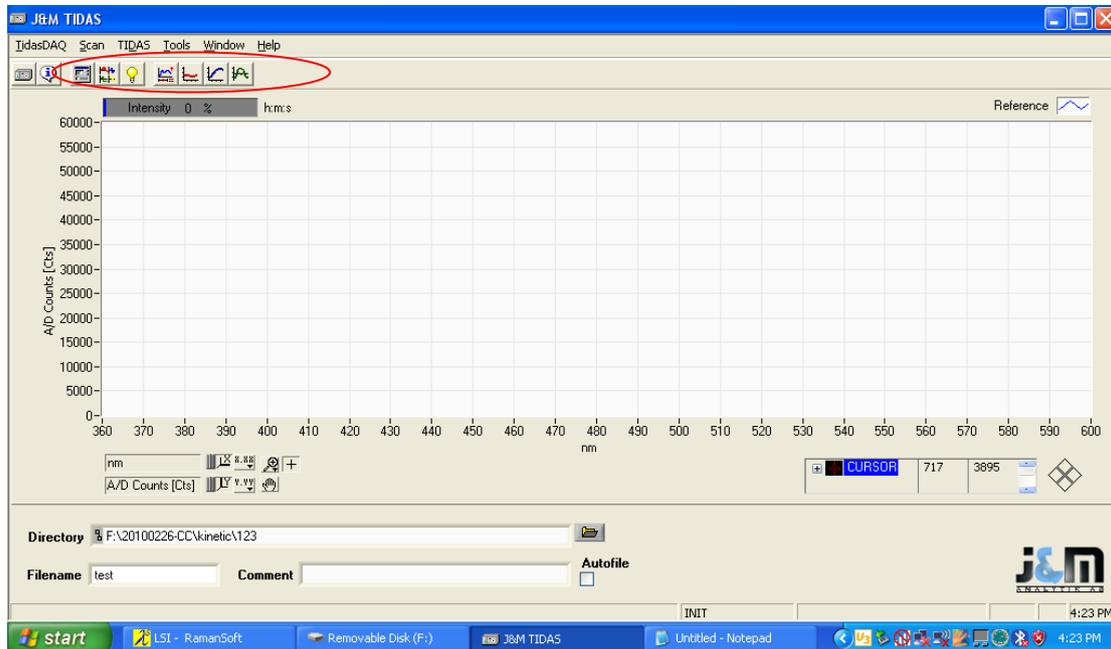


Fig 3-25 要確定圈圈內的小圖示皆為明亮的圖。

➤ 設定數據存檔模式(I)

(I) 選項 **TidasDAQ** 中，選取 “Settings”，接著點 **Themo Galactic Grams (*.SPC)**，存檔形式便是屬 SPC 檔案模式。

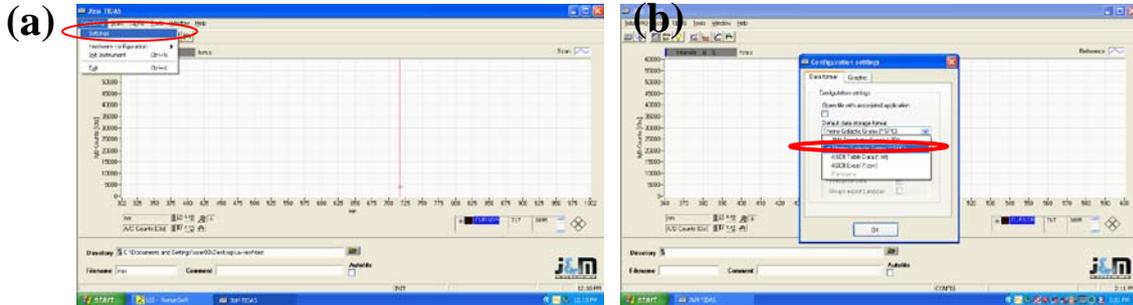


Fig 3-26 (a)選擇圈內的 Settings (b)跳出的視窗中點選 Themo Galactic Grams。

✧ 選用 SPC 存檔模式是爲了以 **Origan8** 直接進行數據轉檔，可一次便將數據轉換出來；此外亦有 **ASCII Table Data (*.txt)**與 **ASCII Excel (*.csv)**，可各別以 **WordPad** 和 **Excel** 表格進行轉檔動作。

➤ 校正 UV-vis 光強之步驟 (J) ~ (R)

(J) 接著先在選項 **Scan** 中選取 “Settings Ctrl+T”，叫出參數設定視窗。

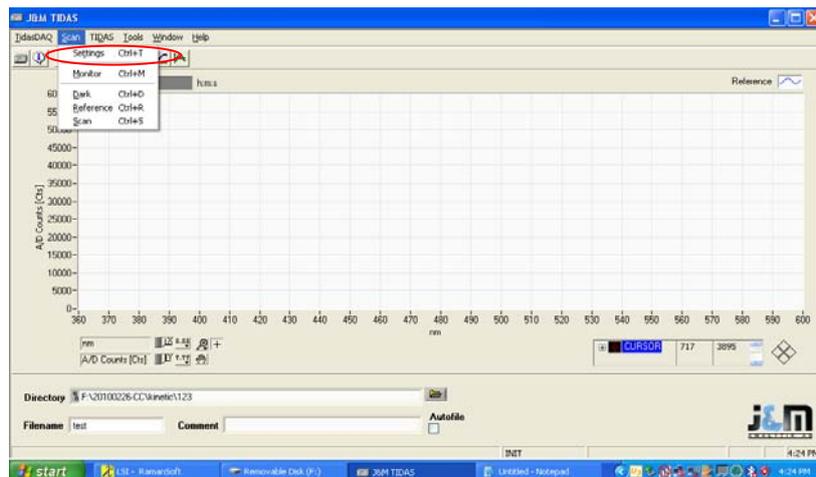


Fig 3-27 選定 Scan 中的 Settings。

(K) 參數設定視窗的第一選項(TIDAS)內容如 Fig 3-28 :

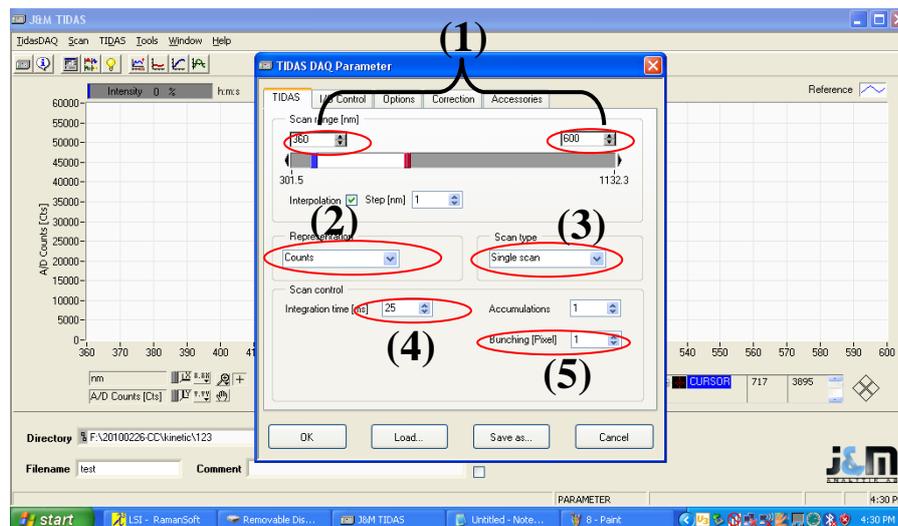


Fig 3-28 視窗中的各項說明如下(1) ~ (5)。

- (1) **Scan range [nm]**: 波長範圍設定，可輸入最低 200 nm 與最高 1300 nm。
- (2) **Representation** : 可設定 Y 軸所需的強度資訊。
- (3) **Scan type** : 用以選擇掃描的類型。
- (4) **Scan control**內的**Integration time [ms]** : 為樣品掃描的積分時間。
- (5) **Bunching [Pixel]** : 設定數值越高，合併的點越多，取的點數越少。

(L) 設定第一選項中的參數：(用於調整強度校正之參數)

Scan range : 至

Representation : (此處以 Count 標示強度用於校正)

Scan type :

Integration time[ms] : (此處設定的時間長短會影響訊號值強度大小)

Bunching [Pixel] :

(M) 參數設定視窗的第二選項(I/O Control)，基本設定，如 Fig 3-29：

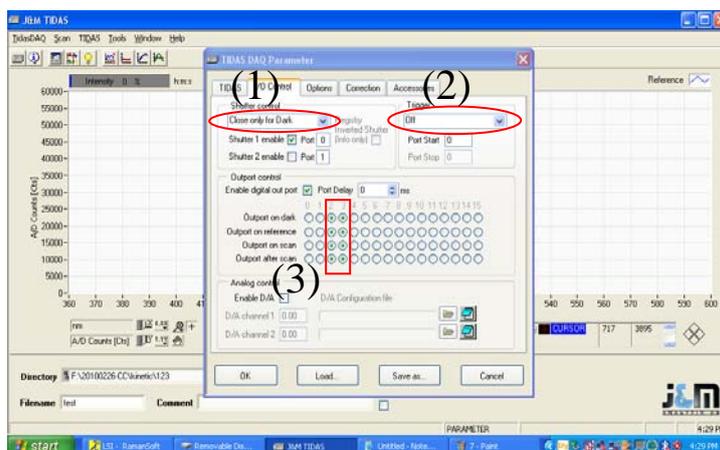


Fig 3-29 視窗中各參數設定如下(a) ~ (c)。

- (1) **Shutter control**：為擋版控制選項，請選定
- (2) **Trigger**：是與 Stop Flow 連接的觸發器，先選定
- (3) **Output control**：是資訊輸出控制，此處都固定選 2 和 3 之位置

(N) 基本設定完成後，按下 ，即完成校正參數設定；接著在視窗的小圖示中，按下  (即 **Monitor**)；校正光源無須放入樣品，一般僅用空的石英毛細管。

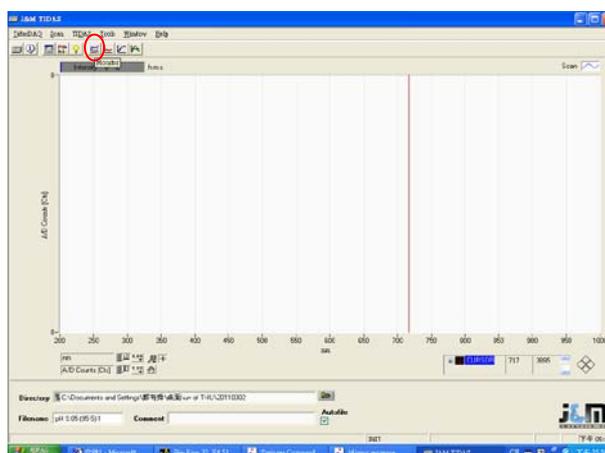


Fig 3-30 按下小圖示的 Monitor 監測訊號強度。

(O) 按下即時監測後，視窗便會出現即時資訊強度，如 Fig 3-31。(此曲線為標準之訊號值)。

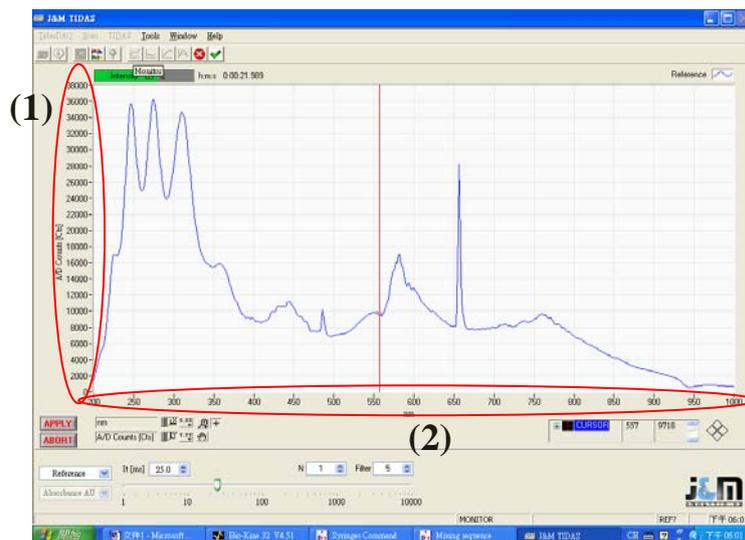


Fig 3-31 (1)Y 軸：為 count 值，單位 Cts。(2)X 軸：為 wavelength，單位 nm。

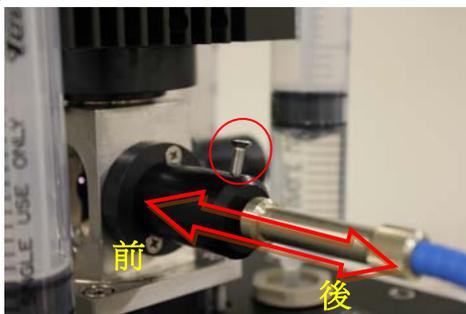
✧ 若圖形非如此，請確認 1. 鏡頭有無沾到汙染物 2. 光線通過有無阻擋物 3.或請把 TIDAS 重新開機並再次設定參數。

(P) 接著調整連接於 MPS 之 UV-vis 光纖接線(如 Fig 3-32)。

調整方式：先將固定 UV-vis 接線之螺絲鬆動，使光纖線能前後拉動，可見到收得訊號強度會達到一個最大值 (即光線聚焦點) 後，強度會再往下降；

而我們所需的即是強度最大值。

(a)



(b)

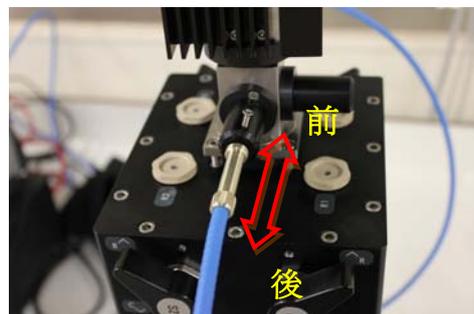


Fig 3-32 光纖線與 Observation Head 接線處 (a)側面照，圈內為固定用螺絲 (b)上方照。

✧ 強度值千萬不可超過 60000 數值；整體強度受積分時間長短而定，時間越長積分強度越高，反之時間短強度亦隨之而低。

(Q) 在調整過程中，可以仔細觀察到每一波段之最大光強所需聚焦距離不同，例如：當光纖線往前，A 波段強度已達最大值並開始下降，但 B 波段強度卻仍舊增強中。因此，調整中我們必須尋找實驗樣品之特徵峰波段的最大光強。

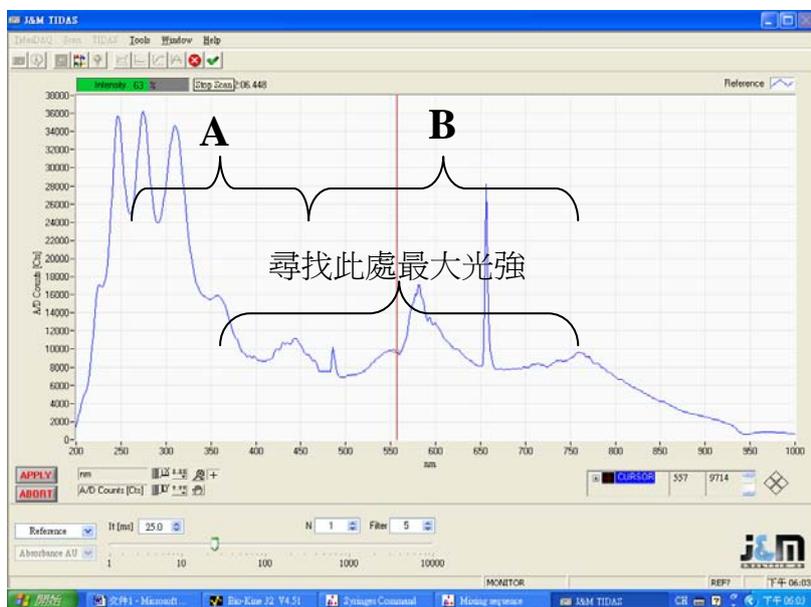


Fig 3-33 本實驗所需波段為 250 ~ 700 nm。

(R) 尋得最高強度後，便可將螺絲鎖緊，勿讓光纖線有滑動之情況，並按下小圖示中的  (**Stop Scan**)，即完成光強校正步驟。

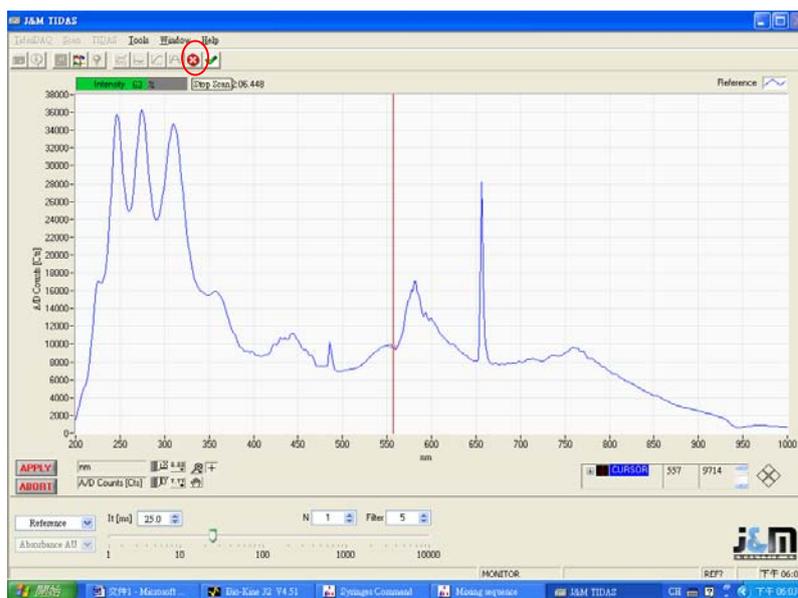


Fig 3-34 校正完後，可按下 Stop Scan。

➤ 樣品實測階段：標準樣品之 Single Scan

量測 H₂O：步驟(S) ~ (X)

(S) 首先量測背景值：H₂O (即樣品基本溶劑)；請重新確認並設定參數，按下選項 **Scan** 中選取 “Settings Ctrl+T”。

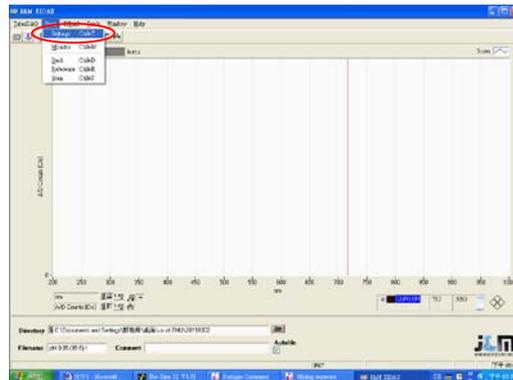


Fig 3-35 由 Scan 中選取 Settings。

(T) 重新確認及檔案命名設定：

第一選項

Scan range : 至

Representation :

Scan type :

Integration time[ms] :

Bunching [Pixel] :

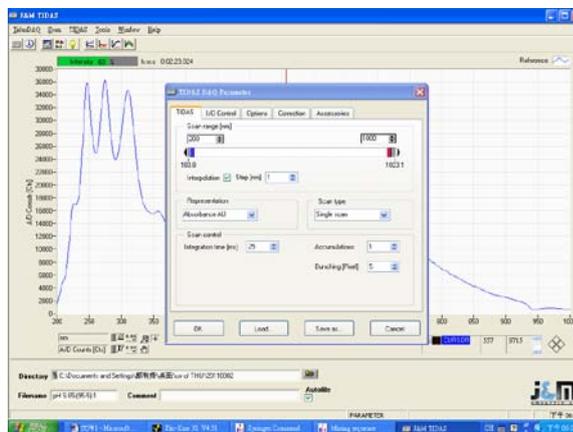


Fig 3-36 參數設定視窗。

第二選項

Trigger：確定為 Shutter controll：確認為

此 Trigger 設定為 off：即是 Stop Flow 打入樣品後，必須另外於 UV-vis 視窗按下開始掃描，TIDAS 才會有所記錄動作的各別操作模式。

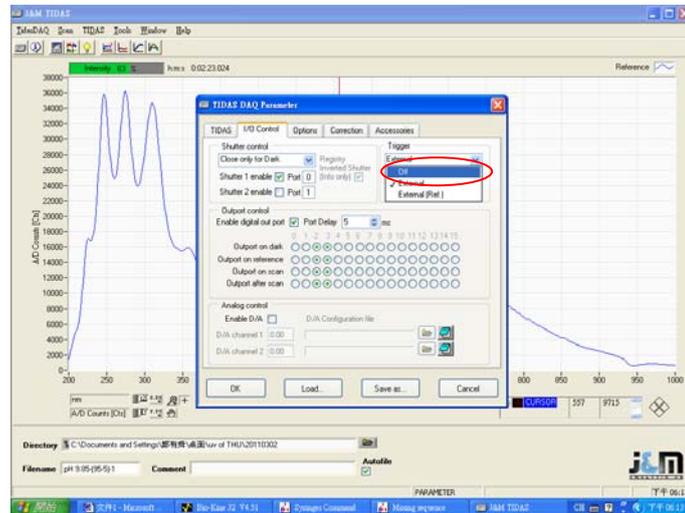


Fig 3-37 Trigger 必須選定 off。

完成參數設定後，按下 ；並於下方按 更改檔案存放處，可於電腦內設置一個新資料夾儲存，範例：(本範例以日期命名)

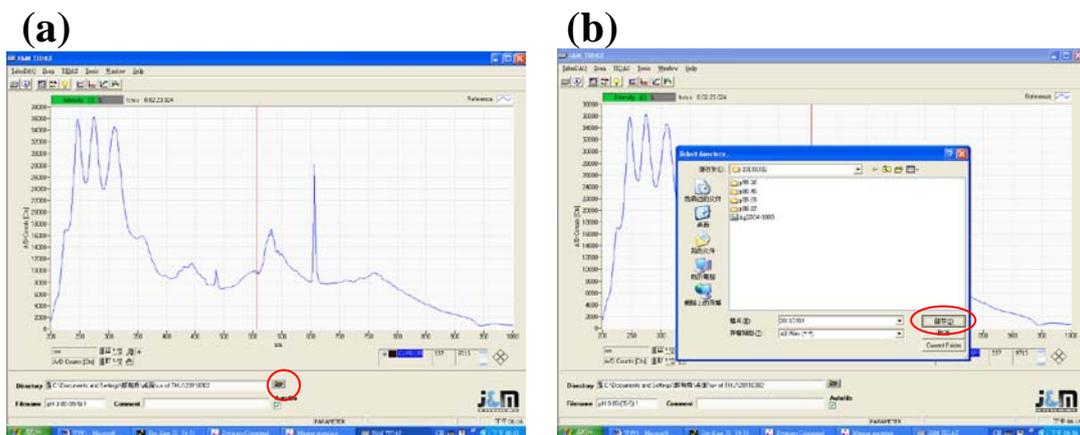


Fig 3-38 (a)點選圈內的資料夾圖示 (b)選取預存檔的資料夾，輸入資料夾名稱在按下儲存。

並可從 Fig 3-39 紅圈的位置進行檔案命名，範例：先測背景值 H₂O，故命名為 **pH10.23-H2O-1**；至此 TIDAS 設定完成。

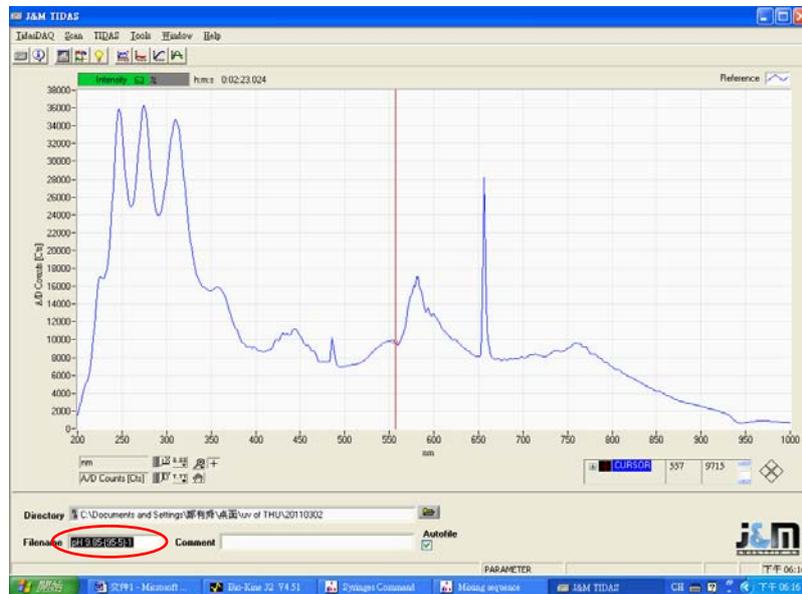
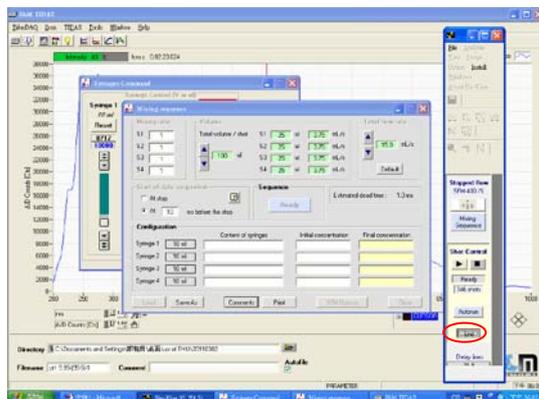


Fig 3-39 先於紅圈內刪除原檔名，再直接輸入欲存檔名稱。

(U) 接著打開操控 MPS 70/4 的 3 個視窗並縮放到適當大小(Fig 3-40(a))，請先按下混合視窗中的 **End**，並將裝載上去的樣品與混合條件 (於下頁說明) 準備妥善，如圖 3-40 (b)，並按下 **Ready**，再按下 **▶** 進行單次注射(至少兩次)。

(a)



(b)

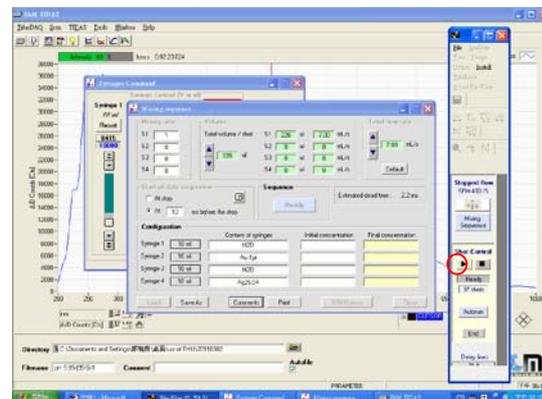


Fig 3-40 (a)先按下視窗中的 End

(b)設定完參數便可直接注射。

條件設定如下：

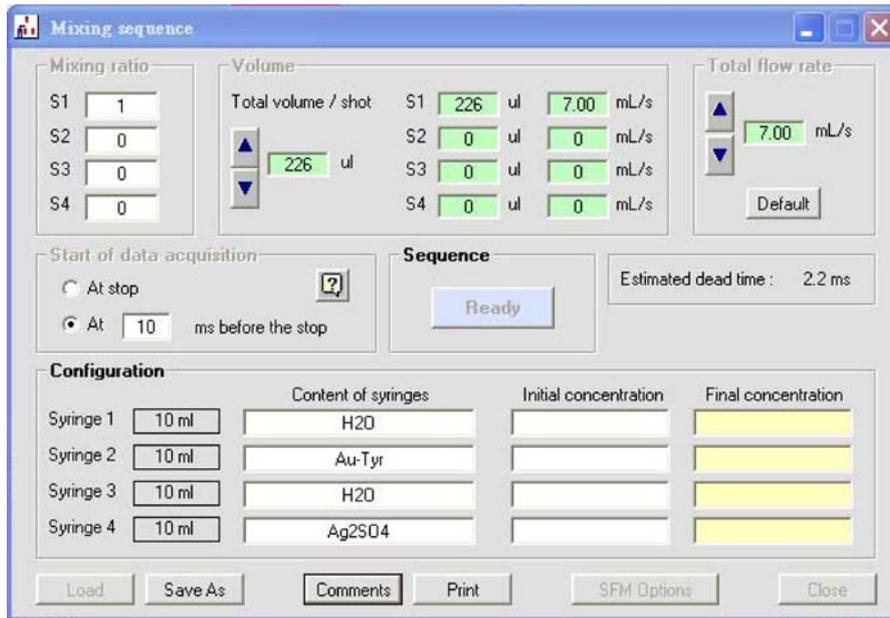


Fig 3-41 注入樣品體積參數視窗。

- (1) 設定 S1 到 S4 彼此之比例值：比例為 1:0:0:0
- (2) 可設定四管加總後的流量：目前為 226 μL
- (3) 可設定流速，是各管流速累計的：目前為 7.0 mL/s
- (4) 為參數設定完後的資訊值，總流量 226 μL 下，以 1:0:0:0 比例，單管流速為 7.0 mL/s。
- (5) 此處可輸入 S1-S4 內容物名稱，S1:H₂O S2:Au-Tyr S3:H₂O S4:Ag₂SO₄

(V) 待注射兩次後，將 Stop flow 操控的三視窗縮小；並於 UV-vis 操作視窗中點選小圖示  (**Dark Scan**)，所得資訊為圖 Fig 3-42。

(a)

(b)

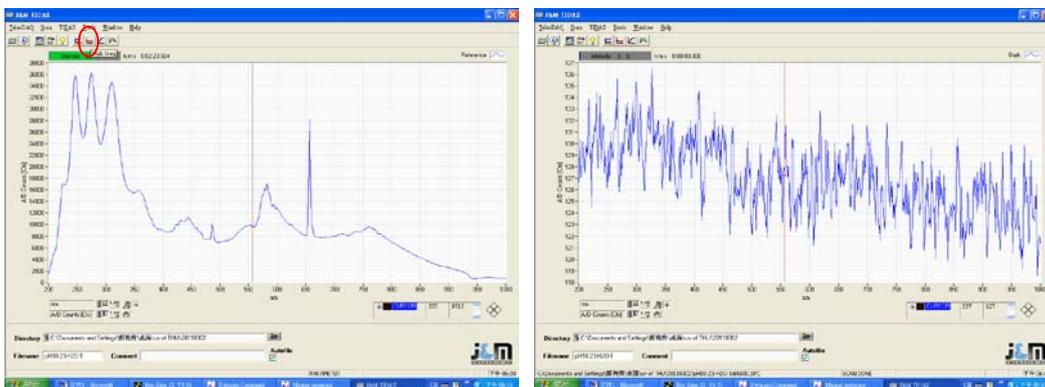
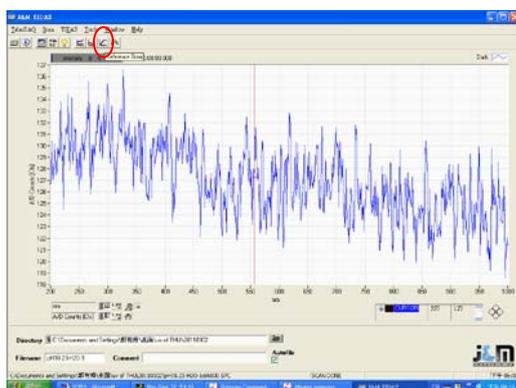


Fig 3-42 (a) 按下圈內小圖示的 Dark Scan (b) 掃得 Dark Scan 後的強度資訊。

(W) 下一步再按下小圖示中的  (**Reference Scan**), 可得到 Fig 3-43 (b)。

(a)



(b)

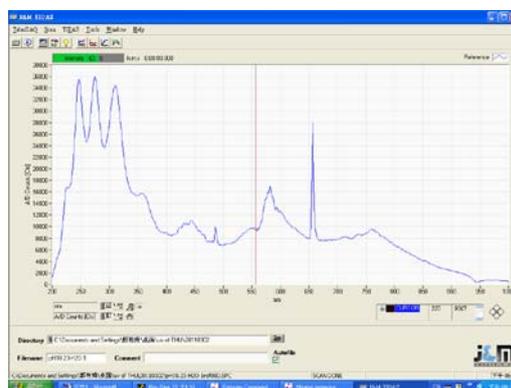
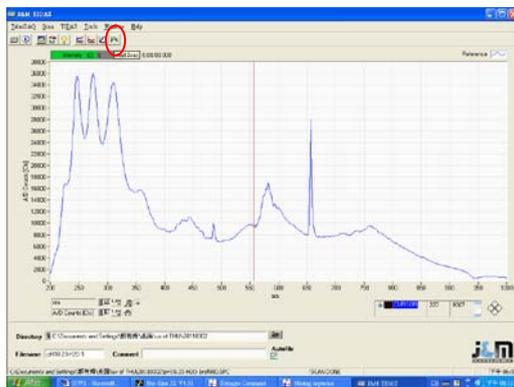


Fig 3-43 (a)按下圈內的 Reference Scan 圖示 (b)按下後, 所得資訊。

(X) 最後點選小圖示  (**Start Scan**), 便可測得 H₂O 之數據 (如 Fig 3-44

(b)), 此訊號數據亦是背景值。

(a)



(b)

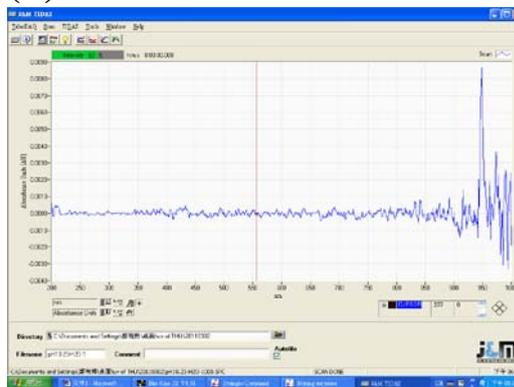


Fig 3-44 (a)按下圈內的 Start Scan 圖示 (b)按下 Start Scan 後, 所得資訊。

◇ 注意事項：

因此, **當要更換不同溶劑做為背景值時, 先注入欲當背景值樣品後, 再操作步驟 (V) ~ 步驟 (W)等, 便可更換背景值; 而若是要持續測定樣品時, 切勿按下 Dark Scan 與 Reference Scan。**

量測 Au-Tyr : 步驟(Y) ~ (Z)

(Y) 以上完成測量 H₂O 後，開啓 Stop flow 視窗，再次設定注入 S2 樣品(Au-Tyr) 所需的參數 (如 Fig 3-45) ，並完成單次注射動作 (至少兩次)。

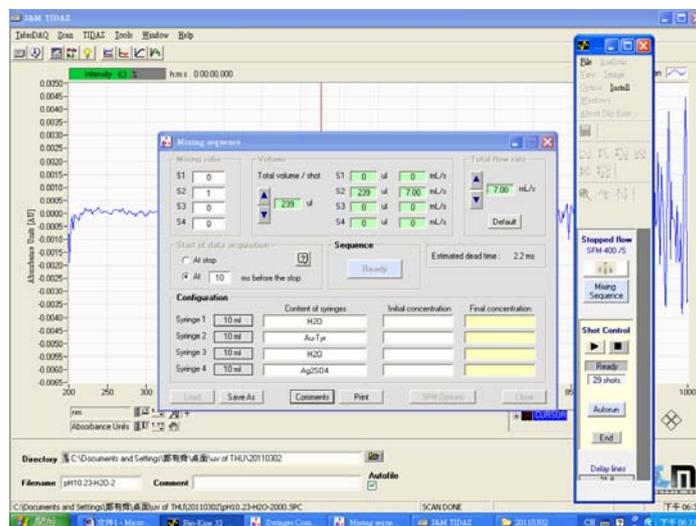


Fig 3-45 開啓 Stopped flow 視窗中的 Mixing sequence 與 Bio-Kine 32 V4.51。

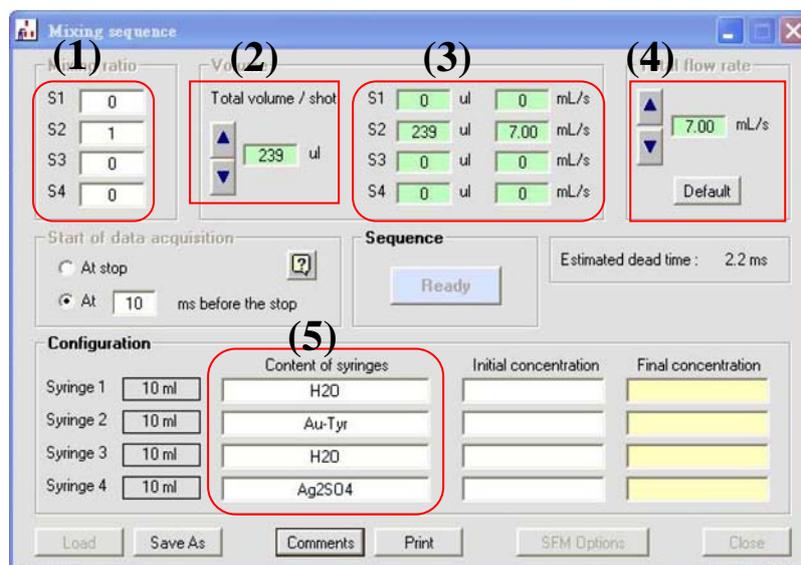


Fig 3-46 體積混合參數視窗的基本設定。

- (1) S1、S2、S3 和 S4 彼此之體積比例為 0:1:0:0
- (2) 四管加總後的流量為 239 μ L
- (3) 參數設定後的資訊值，總流量 239 μ L，以 0:1:0:0 比例，單管流速為 7.0 mL/s。
- (4) 總流速為 7.0 mL/s
- (5) S1 到 S4 內容物名稱，S1 : H₂O S2 : Au-Tyr S3 : H₂O S4 : Ag₂SO₄

(Z) 完成注射混合後，縮小 Stopped Flow 相關視窗；並在 UV-vis 操作視窗中，重新命名樣品數據名稱，此處以 pH10.23-1 命名之，並按下小圖示中的  掃描吸收波峰。所得資訊如 Fig 3-47：

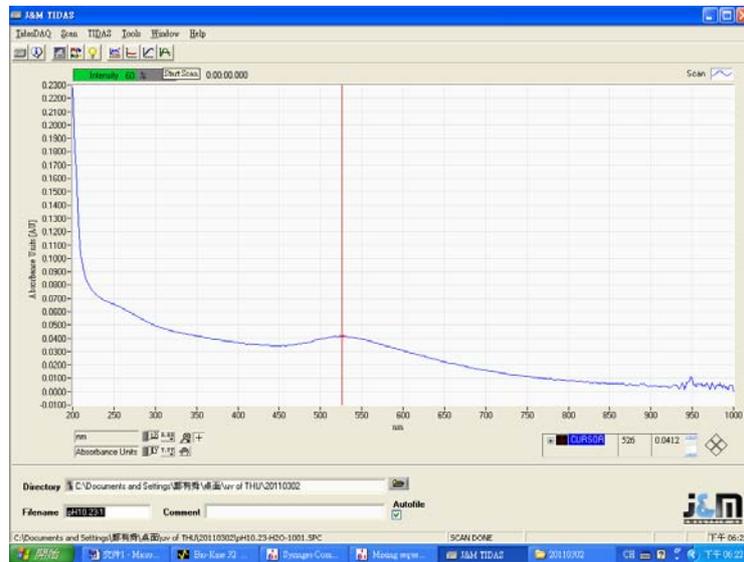


Fig 3-47 Au-Tyr 奈米粒子的特徵吸收波峰所在位置。

➤ 金核和銀離子形成核-殼 奈米粒子之 Kinetic Scan
量測 H₂O 並做為背景值，步驟(A)~(B)

(A) Stopped Flow 視窗設定條件如 Fig 3-48，再進行單次注射（五~十次），此動作是爲了清除毛細管內的原先物，並用於注入 H₂O 並再次測量背景值。

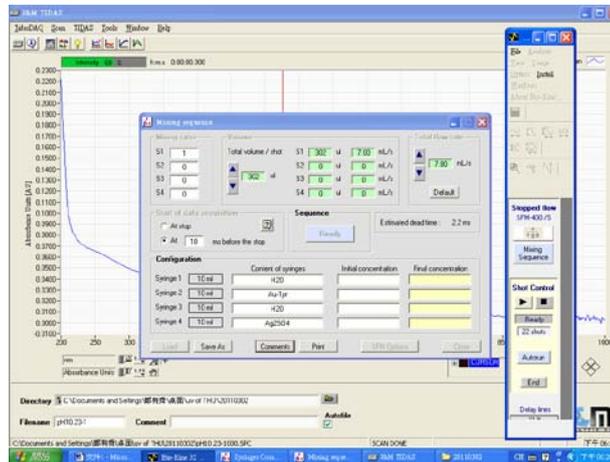


Fig 3-48 開啓 Stopped flow 視窗中的 Mixing sequence 與 Bio-Kine 32 V4.51。

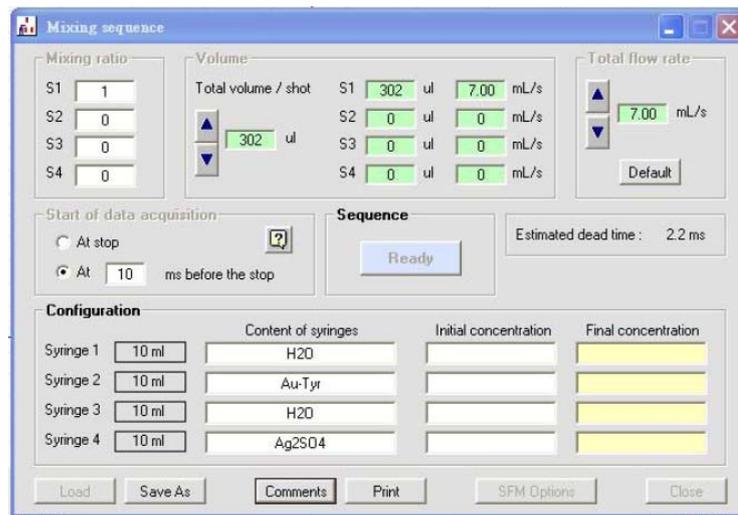


Fig 3-49 體積混合參數視窗的基本設定。

- (a) S1、S2、S3 和 S4 之體積比例值爲 1:0:0:0
- (b) 四管的總流量爲 302 μ L
- (c) 參數設定後的資訊值，總流量 302 μ L，以 1:0:0:0 比例，單管流速爲 7.0 mL/s。
- (d) 流速爲 7.0 mL/s
- (e) S1-S4 內容物名稱，S1 : H₂O S2 : Au-Tyr S3 : H₂O S4 : Ag₂SO₄

(B) 接著注射完成後，將 Stopped Flow 視窗縮小；於 UV-vis 視窗中，更改檔案命名為「pH10.23-H2O-2」並依照量測 H₂O：步驟(R)~(X)進行操作，依序量測 Dark Scan、Reference Scan 和 Start Scan，完成背景之存檔：

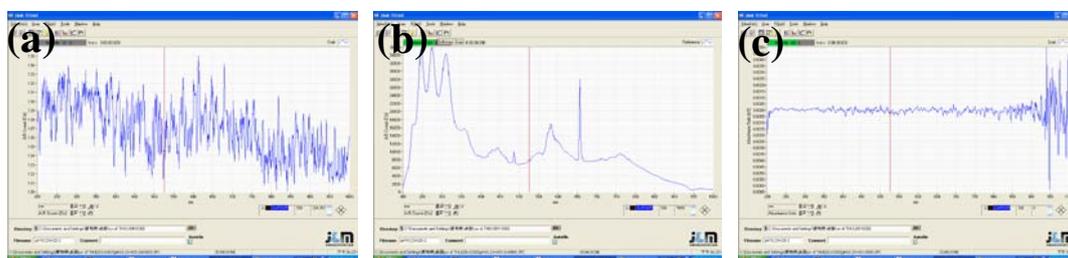


Fig 3-50 (a)Dark Scan 資訊 (b) Reference Scan 資訊 (c) Start Scan 資訊。

量測形成金核-銀殼的奈米粒子之 Kinetic Scan

Au-Tyr 與 Ag₂SO₄ 以 9:1 體積比例混合之量測，步驟(C)~(H)

(C) 接著再開啓 Stopped Flow 之視窗，由於考慮到管線內 L3~L13 再進行混合反應前，必須先將反應物充滿管線，使預計混合的 S2 (Au-Tyr)與 S4 (Ag₂SO₄) 混合比例無誤，所以兩者混合之接觸點要在 Mixer3，必須先設定好混合條件如 Fig 3-51。

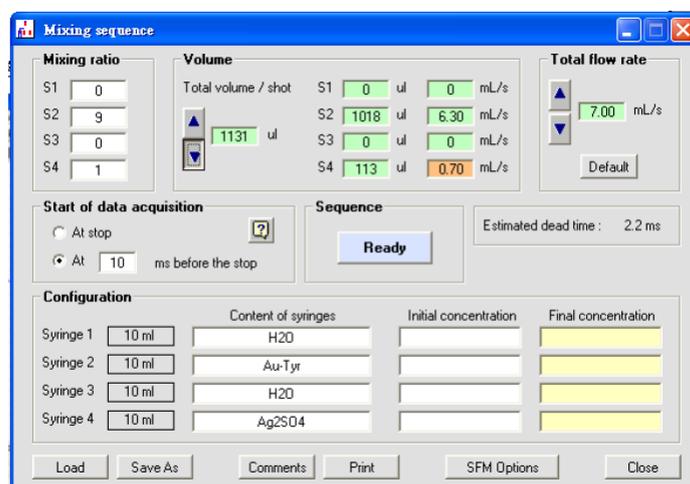


Fig 3-51 注入樣品體積參數視窗條件設定。

需設定的條件：(下頁有注意事項)

- (1)S1、S2、S3 和 S4 之體積比例值為 0:9:0:1
- (2)兩管加總後的流量為 1131 μ L
- (3)流速為 7.0 mL/s

◇ 注意事項：

在圖中可以看到 S4 分配之流速圖示 **0.70**，顏色並非綠色，造成原因是由於混合系統，在此設定的比例條件下，分配之體積量在其流速中，可能造成混合不均的情況，但圖示並無出現紅色底，意即此設定仍為可容許值，因此還是可以繼續進行實驗。

(D) 設定好條件後，先做單次注射一次（用意為先讓管線充滿比例設定之反應溶液），接著縮小 Stopped Flow 相關視窗；重新設定 UV-vis 視窗實驗條件：

1) **Scan** → **Settings** **Ctrl+T**

2) 在第一選項(TIDAS)中，

Scan type → **Kinetic Scan**

確認 **Scan range [nm]** → 為所需的 **200** ~ **1000**

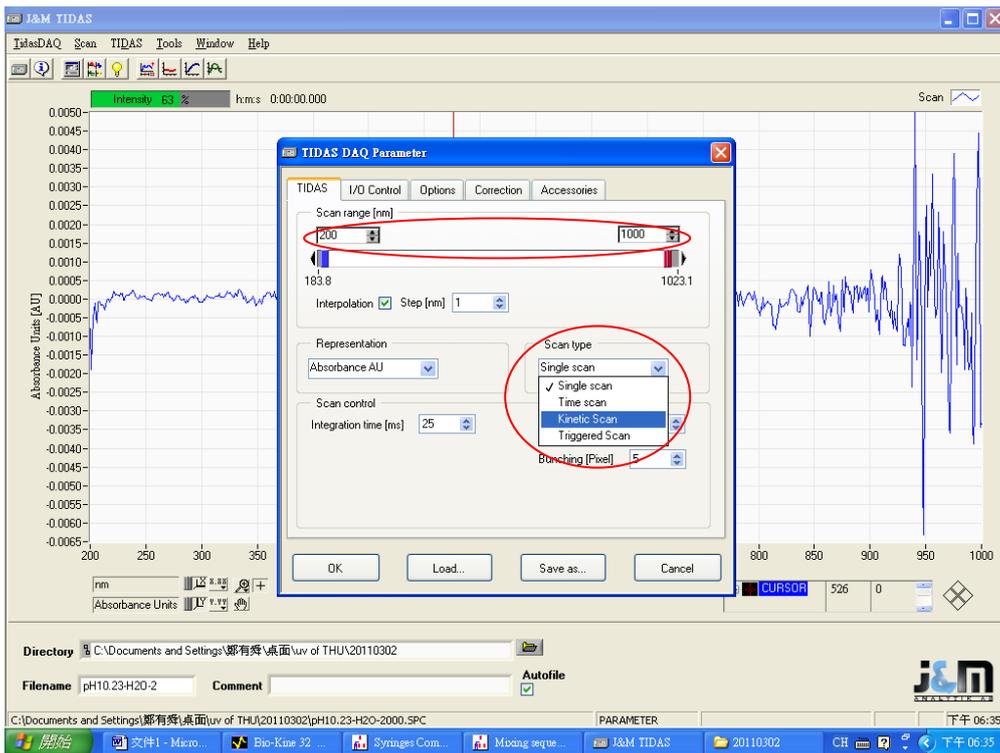


Fig 3-52 先設定好掃描波長並選擇 Kinetic Scan 模式。

3)在選擇 Kinetic Scan 後，視窗如 Fig 3-53，接著設定積分時間 25 (此為每一曲線之積分時間)，而積分曲線數量可由 Scan Table 設定：

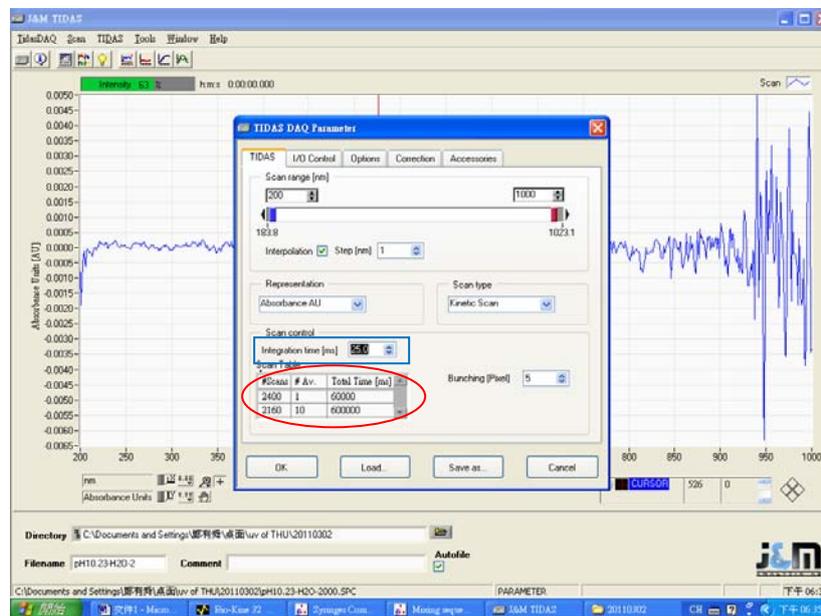


Fig 3-53 藍方框裡為每一數據曲線積分時間的長短。

#Scans	# Av.	Total Time [ms]
2400	1	60000
2160	10	600000

Fig 3-54 為 Fig 3-53 紅圈內的掃描時段設定。

依照表格所示#Scans：預定掃描多少條曲線的數目
 #Av.：多少條曲線合併並平均成一條
 #Total Time [ms]：目前條件設定下整體花費時間

因此在這邊的設定即代表為兩階段：

第一階段：為 2400 條積分曲線，平均一條曲線的積分時間 25 ms

→ 整體所花時間為 60 秒。

第二階段：為 2160 條積分曲線，十條合併平均成一條記錄，積分時間 250 ms

→ 整體花費時間須合併第一階段花費時間，故為 600 秒。

◇ 可於表格中按下滑鼠右鍵，新增延長新一階段或刪除掉原階段設定。

4)接著進入第二選項(I/O Control)中，

確認 Shutter control :

並設定 Trigger :

待設定結束，便可按下 ，完成設定條件

- ◇ Trigger 設定為 External：此設定是等待模式，當 UV-vis 視窗按下 Start Scan 後，系統不會馬上進行測量，而是會等待 MPS 70/4 單次注射完畢後，給予 UV-vis 系統訊號，UV-vis 才有量測之動作。

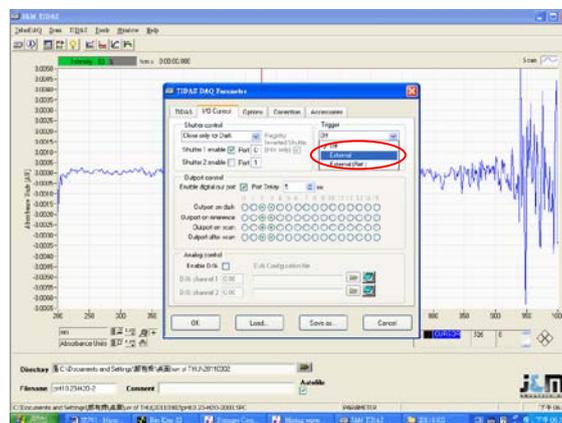


Fig 3-55 此處設定需選用 External。

5)進行更改命名：

此處範例命名為：

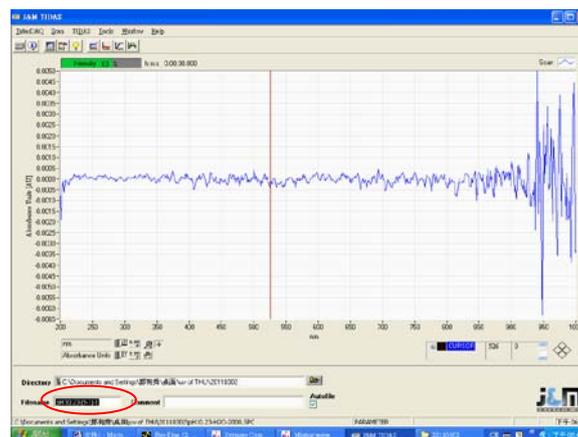


Fig 3-56 於紅圈內輸入欲存檔之檔名。

(E) 接著按下小圖示  (**Start Scan**), UV-vis 視窗會進入等待模式(圖 3-63(b)) :

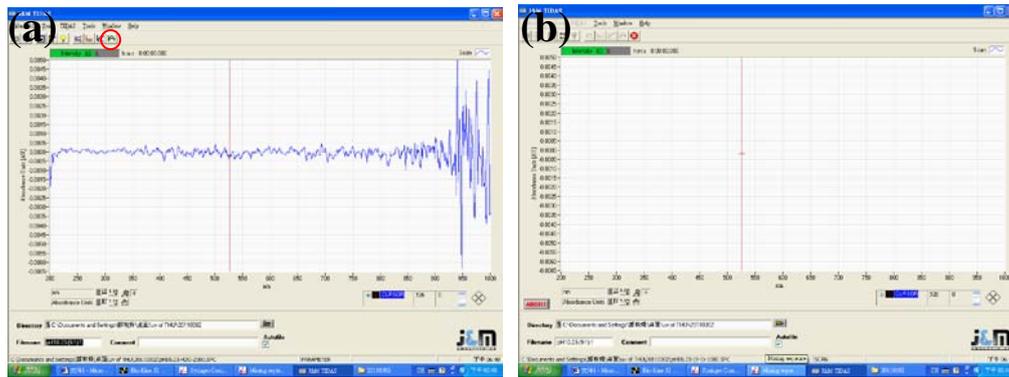


Fig 3-57 (a)按下圈內的 Start Scan 鍵 (b) 進入等待模式視窗。

(F) 再確認 Stopped Flow 視窗條件無誤後，直接進行單次注射；待 SFM 70/4 注射混合後，便可看到後面 UV-vis 視窗出現即時測得之數據。

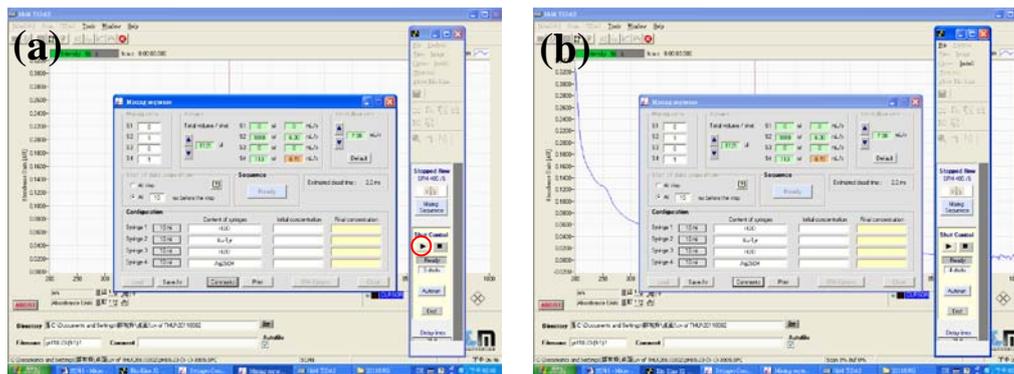


Fig 3-58 (a) 進行單次注射 (b) UV-vis 視窗開始進行量測與記錄。

(G) 接著將 Stop Flow 視窗縮小，可看到 UV-vis 即時監測之數據記錄進行中。

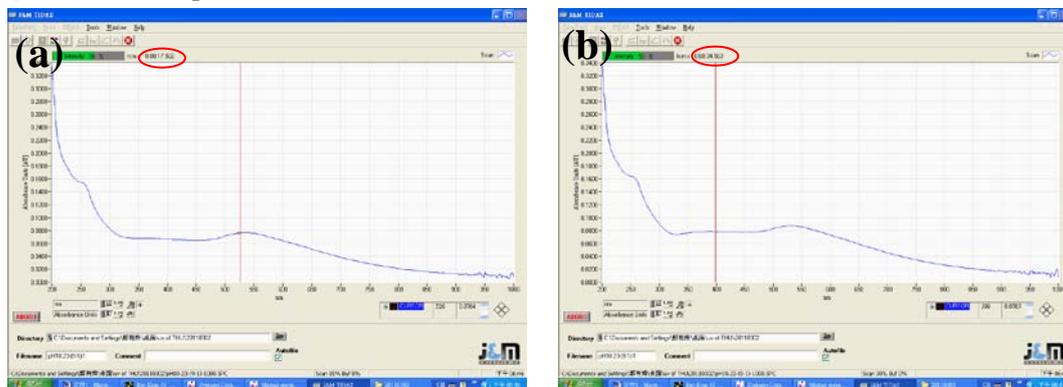


Fig 3-59 (a)時間為 0:00:17.502 (b)時間為 0:00:34.503 。

(H) 等量測時間結束，便可於 Tool → 按下 “Data Viewer”，即會出現新視窗，可觀看量測的數據 (系統在量測過程中，是無法啟動 Data Viewer 的)。

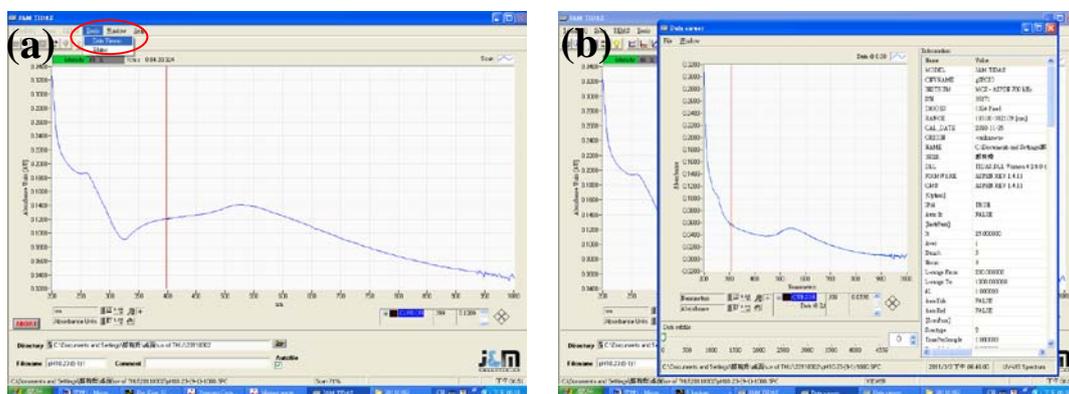


Fig 3-60 (a)點 Tool 後，選 Data Viewer (b)出現新視窗，即 Data Viewer 視窗。

(I) 將 Data Viewer 視窗拉大(如 Fig 3-61)

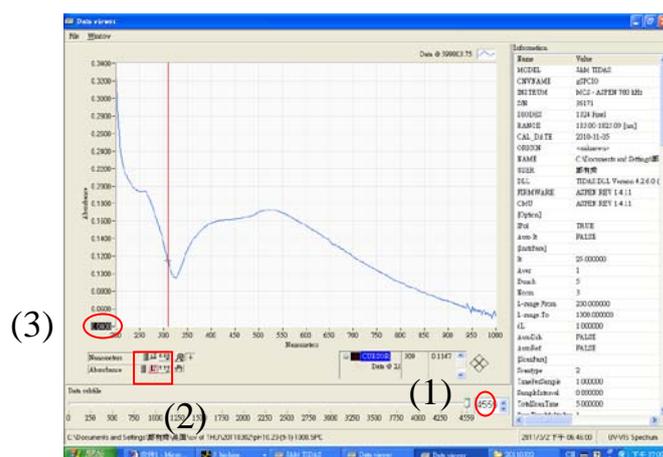


Fig 3-61 Data Viewer 視窗。

(1)可拉動浮標，指定某條吸收曲線，但在此處所代表的曲線並無時間上的標駐，而是僅能觀看依照順序記錄下的各張曲線數據。

(2)而在圖中，是指可用於固定 X 或 Y 軸之刻度範圍，需點擊此方塊，使圖示轉變為紅色就是鎖定其刻度範圍值，如紅色的 Y 軸就是已鎖定。(即 Y 軸數值不會隨數據範圍而隨之更動)。

(3)刻度上，可直接將數字反白，直接輸入數值，系統便會自動更改。

➤ 實驗完成之後續收拾步驟

卸除 SFM 70/4

A. 打開 Stopped Flow 之相關視窗，先在 Bio-Kine 32 V4.51 視窗按下 **End**。

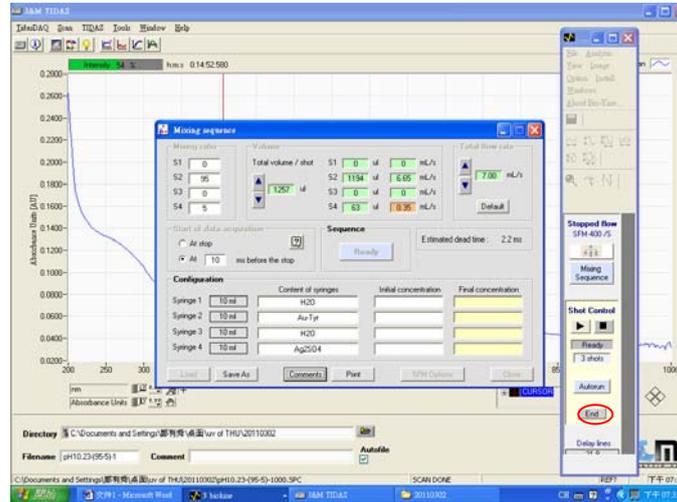


Fig 3-62 開啓 Mixing sequence、Bio-Kine 32 V4.51 與 Syringes Command 等三個視窗，並於 Bio-Kine 32 V4.51 視窗按下 End。

B. 在混合體積參數視窗，依序按 **Close**，接著會跳出視窗詢問是否儲存參數設定值，請按下 **否(N)**。

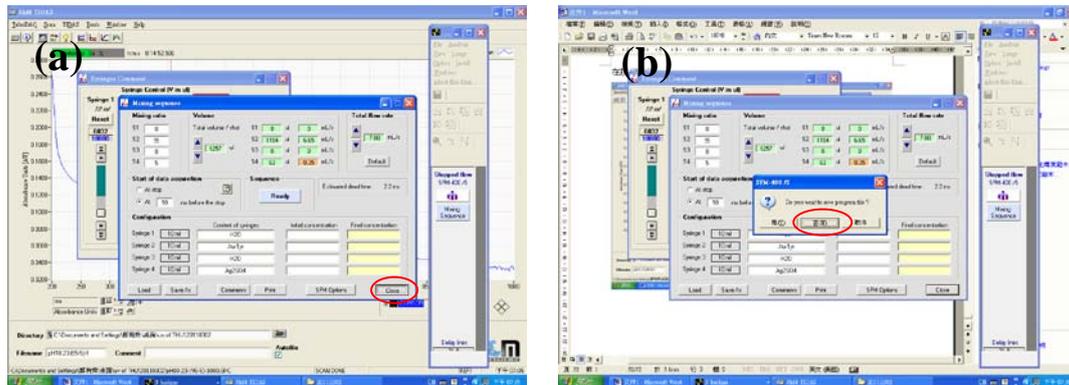


Fig 3-63 (a)接著在混合體積參數視窗按 Close (b)選擇不存檔參數設定，按否。

- C. 接著會剩下兩個視窗，可看到 Syringes Command 視窗，仍含有部分樣品；接著便可將 UV-vis 相關視窗先關閉。

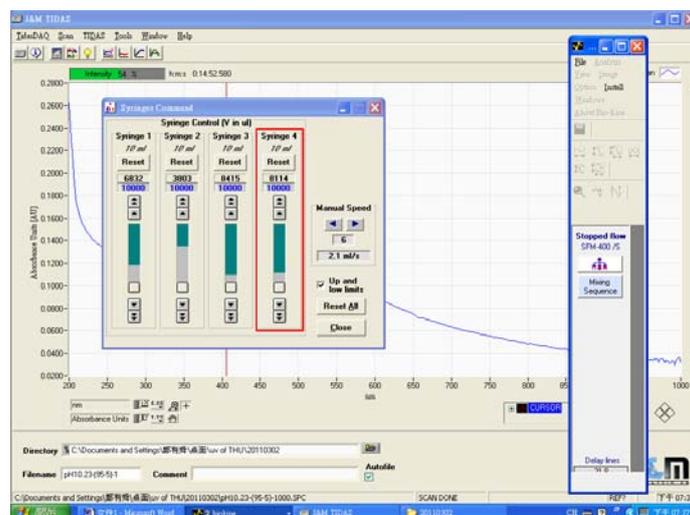


Fig 3-64 可看見 Syringes Command 視窗顯示存放區剩餘多少樣品體積量。

- D. 先將閘門鈕向上扳 (使通道轉為注射口連通存放區)，接著於 MPS70/4 上依序指定各推進閥，按下 Up 鍵，將注射口內的樣品吐回到針筒中回收 (需將推進閥提升至最頂，確保注射口無樣品殘留)，接著卸除各針筒。

(a)



(b)



Fig 3-65 (a)將所有閘門鈕向上扳 (b)樣品由注射口吐回到針筒中，再回收。

➤ 關於 UV-vis 數據轉檔

作業系統：Origin Pro 8

- ☞ 開啟 Origin 8 程式，點選 file → Import → Thermo (SPC, CGM)。
- ☞ 接著選定欲開啟的 SPC 存檔的數據檔案，按下 Add File → OK → OK。
- ☞ 程式便自動將數據轉出，部分電腦無法轉檔請自行測試 (原因不明)。

➤ 清洗 SFM 400 管線

- E. 重新裝上，含有 20 mL 去離子水的四個針筒，進行清洗，注意閘門鈕先向上扳，依序進行去氣動作、歸零動作，吸入一定量體積的去離子水後，再將閘門鈕向下扳。

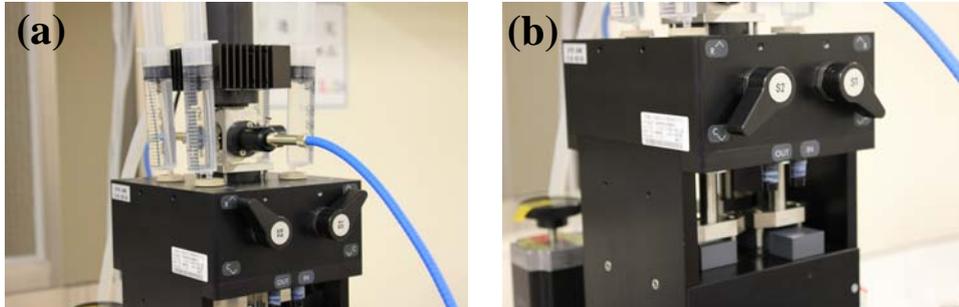


Fig 3-66 (a)於四孔上，重新放置含 20 mL 去離子水的針筒 (b)待吸入去離子水到注射口後，閘門鈕在向下扳。

- F. 接著於電腦的 Syringe Command 視窗，將流速調整至最低（約調整至流速號碼 3~4；避免流速過大，水壓會迫使管壁破裂），並於 MPS 40/7 同時指定四個推進閥，按下 Up 鍵使各注射口皆讓去離子水流過內部管路，最後由廢液排出口流出，以達到清洗目的。
- G. 重複步驟(E)的吸入樣品與步驟(F)的排出，將 20 mL 去離子水消耗完後，便可換裝載另外四管含乙醇的針筒做重複清洗動作，最後乙醇用完換裝入空氣的四管針筒，重覆步驟(E)的吸入樣品與步驟(F)的排出，將內部管線吹乾。
- H. 待清洗完畢，便可將剩餘的兩視窗關閉；並將針筒去除；插針孔以可重複撕貼的透明膠帶 (scotch tape) 覆蓋之，如圖 3-67。

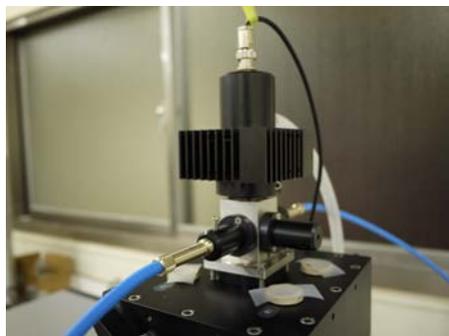


Fig 3-67 已貼上 scotch tape 的四處插針孔。