

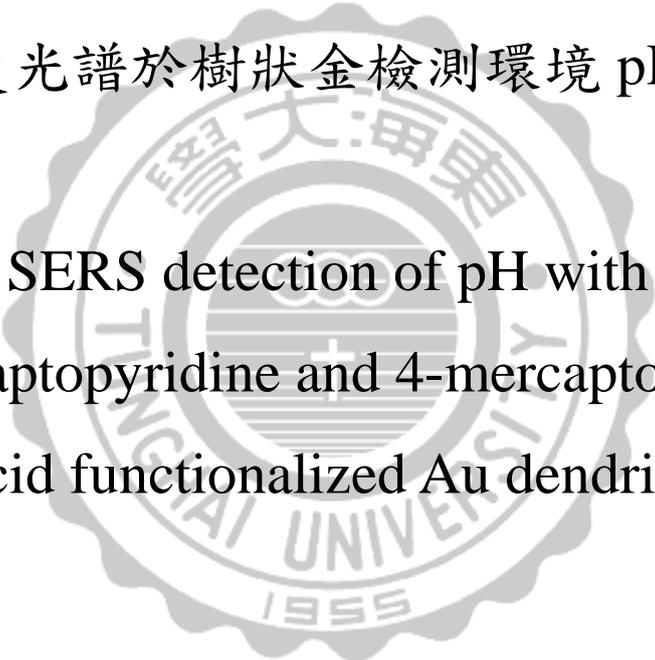
東海大學化學研究所

碩士論文

指導教授：賴英煌 博士

對-巰基吡啶和對-巰基苯甲酸之表面增顯
拉曼光譜於樹狀金檢測環境 pH 值

SERS detection of pH with
4-Mercaptopyridine and 4-mercaptopbenzoic
acid functionalized Au dendrite

The seal of Feng Chia University is a circular emblem with a scalloped border. It contains the university's name in Chinese characters '東海大學' at the top and 'FENG CHIAI UNIVERSITY' in English around the inner circle. The year '1955' is inscribed at the bottom of the seal.

研究生：戴宇君

中華民國 104 年 6 月

東海大學碩士班研究生
論文指導教授推薦書

化學系 碩士班 戴宇君 君所提之論文

對-巰基吡啶和對-巰基苯甲酸之表面增顯拉曼光
譜於樹狀金檢測環境 pH 值

SERS detection of pH with 4-Mercaptopyridine and
4-mercaptopbenzoic acid functionalized Au dendrite

係由本人指導撰述，同意提付審查。

指導教授 賴英煌 (簽章)

104 年 7 月 2 日

東海大學碩士班研究生
論文口試委員審定書

化學系 碩士班 戴宇君 君所提之論文

對-巰基吡啶和對-巰基苯甲酸之表面增顯拉曼光
譜於樹狀金檢測環境 pH 值

SERS detection of pH with 4-Mercaptopyridine and
4-mercaptobenzoic acid functionalized Au dendrite

論文口試委員會 召集人 林宗言 (簽章)

委員

鄭有勳
沈偉修
賴英煌

中華民國 104 年 7 月 2 日

摘要

本實驗嘗試將表面增顯拉曼作為實際應用為研究目的。由於目前在於醫療檢測、農產品檢測以及環境檢測方面對不同種類檢體的之各項生化檢測工作的需求越來越多，但往往限制於儀器、技術及試劑消耗量等問題，傳統分析法已無法解決在於微奈米尺度下的檢測。

利用本實驗樹狀金電極作為電極，在表面增顯拉曼上有著巨大的功效，其奈米金與生物低毒性，而且此電極製程簡單，成本低廉，將其朝向發展醫療檢測或生物檢測相當合適。

此次研究探討結合對 4-Mercaptobenzoic acid (4-MBA) 以及 4-Mercaptopyridine (4-MPy) 其光學活性對於環境酸鹼值的靈敏反應，偵測迅速，以及顯著的拉曼訊號，再配合樹狀金電極，作為全光學的微奈米尺度下的酸鹼偵測器。為將來應用在生醫檢測上。

Abstract

We researched on Raman Enhanced Scattering and tried to apply this theory into practical use. Due to more and more needs on bio-detection in many aspects such as medical, farm production, and environmental test, precisely sensing methods becomes much more important than ever. However, these kinds of detection were so restricted by equipments and technologies before that conventional analysis were useless in nano-scaling generation. By applying gold dendritic substrate, It's has great improvement could be achieved on surface-enhanced Raman scattering (SERS).

We successfully developed an optical sub-micron pH sensor based on advantages of optical activity of 4-mercaptopbenzoic acid (4-MBA) and 4-Mercaptopyridine (4-MPy) in environmental pH value such as precise sensitivity, rapid response, and obvious Raman signal. And this study will play as an fundamental role of biological chips in the future.

目錄

摘要	I
Abstract	II
目錄	III
圖目錄	VI
表目錄	IX
第一章 緒論	1
1-1 簡介	1
1-2 光學檢測方法與其特色	4
1-3 應用 SERS 技術於酸鹼環境偵測	5
1-4 研究動機與目的	6
第二章 原理	9
2-1 電化學沉積	9
2-1-1 脈衝式電化學沉積	9
2-2 三維樹狀金電極 ²⁸	10
2-3 拉曼散射理論	13
2-3-1 拉曼散射歷史	13

2-3-2 拉曼散射原理	14
2-4 表面增顯拉曼	16
2-4-1 表面電漿共振	17
2-4-2 電磁場增顯效應	19
2-4-3 化學增強效應 ³²	20
2-3-4 熱點	22
2-5 LANGMUIR 等溫吸附	23
第三章 實驗步驟與儀器原理	24
3-1 實驗藥品	24
3-2 實驗流程	25
3-3 實驗步驟	26
3-3-1 樹狀金電極製備	26
3-3-2 拉曼樣品準備	27
3-4 儀器原理	27
3-4-1 粉末 X-ray 繞射儀 (powder X-ray diffraction, XRD)	27
3-4-2 X-ray 光能量散佈分析 (Energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS)	28
3-4-3 掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscopy, SEM)	28
3-4-4 穿透式電子顯微鏡 (Transmission Electron Microscopy, TEM)	

.....	29
3-4-5 循環伏安法 (Cyclic voltammetry, CV)	30
3-4-6 拉曼光譜儀 (Raman spectroscopy)	31
第四章 結果與討論	34
4-1 樹狀金結構鑑定	34
4-1-1 不同秒數的樹狀金電極 SEM 圖	34
4-1-2 樹狀金電極 TEM 圖	37
4-1-3 不同秒數的樹狀金電極 XRD	38
4-2 利用樹狀金吸附 4-MPY 以及 4-MBA 分子量測表面增顯拉曼與應用	41
4-2-1 樹狀金電極對 4-MPy 之表面增顯拉曼量測	41
4-2-2 樹狀金電極對 4-MBA 之表面增顯拉曼量測	42
4-2-3 不同 pH 值 4-MPy 之表面增顯拉曼探討	44
4-2-4 不同 pH 值 4-MBA 之表面增顯拉曼探討	49
第五章 結論	54
參考文獻	55

圖目錄

圖 1-1 電磁效應示意圖.....	3
圖 1-2 不同形狀奈米金.....	3
圖 1-3 4-Mercaptobenzoic acid 在 pH4.5 和 pH8.5 的拉曼光譜圖.....	5
圖 1-4 4-Mercaptopyridine 在 pH 3.0 和 pH 9.4 下拉曼光譜圖	6
圖 1-5 將對硫醇苯甲酸 (4-mercaptobenzoic acid, 4-MBA) 作為奈米尺	8
圖 2-1 脈衝式.....	10
圖 2-2 1.0mM HAuCl ₄ 在 0.5M H ₂ SO ₄ 循環伏安	11
圖 2-3 樹狀金脫附半胱胺酸 CV 圖.....	12
圖 2-4 樹狀金生長機制.....	13
圖 2-5 電子遷移能階圖.....	15
圖 2-6 電磁輻射散射光譜	15
圖 2-7 入射光與奈米粒子作用產生表面電漿共振(surface plasmon resonance) 。	19
圖 2-8 電磁場增顯效應示意圖	20
圖 2-9 分子-金屬系統能階圖	21
圖 2-10 電子轉移過程.....	22

圖 2-11 兩金奈米粒子形成熱點之示意圖。	22
圖 3-1 電子束轟擊試片時產生的訊號	29
圖 3-3 電位與時間對應環伏安(CV)圖	31
圖 3-4 (a) 國家同步輻射中心知拉曼光譜儀全貌 (b) 左圖為樣品載台，右 圖為 CCD 偵測器.....	33
圖 4-1 不同秒數樹狀金電極 1 μm scale bar (a) 300s (c) 1000s (e) 1500s (g) 2000s (i) 3000s, 100nm scale bar (b) 300s (d) 1000s (f) 1500s (h) 2000s (j) 3000s	36
圖 4-2 3000s 樹狀金在 0.5M 硫酸溶液中，掃描速率為 50mVs^{-1} ，斜線面積為 金屬還原面積.....	37
圖 4-3 (a) 3000 秒樹狀金 TEM 圖，(b) 3000 秒樹狀金兩分支夾角 TEM 圖，3000 秒樹狀金主幹分支夾角 TEM 圖	38
圖 4-4 fcc 金結構在(111)和(112)示意圖，A 為側視圖 B 為俯瞰圖.....	38
圖 4-5 不同秒數樹狀金的 XRD 圖	39
圖 4-6 玻璃碳電極上樹狀金 EDS 圖	40
圖 4-7 (a)4-MPy 吸附在樹狀金之表面增顯拉曼光譜(b)4-MPy 在樹狀金之等 溫吸附圖.....	42
圖 4-8 (a)4-MBA 吸附在樹狀金之表面增顯拉曼光譜(b)4-MBA 在樹狀金之	

等溫吸附圖	43
圖 4-9 4-MPy 在 pH3.0 和 pH9.0 之 SERS	44
圖 4-10 4-MPy 在 pH1.5~pH9.0 之 SERS	45
圖 4-11 4-MPy 在 pH1.5~pH9.0 之 SERS	46
圖 4-12 4-MPy 之 pH1.5~pH9.0 左圖紅色為 1620 cm^{-1} ，藍色為 1000 cm^{-1} ， 右圖黑色為 1580 cm^{-1} ，綠色為 1100 cm^{-1}	48
圖 4-13 (a)4-MPy 在 pH1.5~pH9 之 1000 cm^{-1} 與 1100 cm^{-1} 強度比例(b) 4-MPy 在 pH1.5~pH9 之 1620 cm^{-1} 與 1580 cm^{-1} 強度比例	49
圖 4-14 4-MBA 在 pH4.0~pH9.0 之 SERS	50
圖 4-15 4-MBA aromatic ring stretching 位移量	51
圖 4-16 4-MBA aromatic ring stretching 位移量	52
圖 4-17 4-MBA 在 pH4.0~pH9.0 之 1400 cm^{-1} (COO)與 1070 cm^{-1} (aromatic ring stretch) 強度比例	53

表目錄

表 4-1 樹狀金含量比例.....	40
表 4-2 4MPy 訊號特徵峰.....	44
表 4-3 4MBA 訊號特徵峰	50



第一章

緒論

1-1 簡介

自從 1960 年雷射發明之後，各種光學技術的應用越來越受科學家矚目，其中，振動光譜（Vibrational spectroscopy）可以提供分子鍵結振動能階之資訊，因此被應用在化學¹、生物²、醫學³、材料⁴等多個科學領域。

拉曼散射為一非彈性散射，亦即散射光能量和入射光能量不同，此過程牽涉到分子的振動能階，可以藉由拉曼光譜來鑑別分子。其優點為^{5,6}：

- (1) 簡化樣品準備
- (2) 不須添加多於反應劑
- (3) 不限制樣品狀態
- (4) 多成分分析
- (5) 即時監控
- (6) 可作定性定量分析

1974 年 Fleischmann 等發現了吡啶（pyridine）分子吸附在粗糙的銀電極表面上，會有很強的拉曼散射，及表面增強拉曼效應（surface-enhance Raman scattering, SERS）。⁷ 由於粗糙的銀電極表面積較大，吸附在上面的吡啶分子數增加，造成訊號增強。隨後許多團隊的研究發現，拉曼訊號增強不只是因為粗糙結構使表面積增加，還包含因為貴重金屬（如金、銀）材質的

奈米結構，使拉曼散射有顯著地增強 (10^{14})。1977 年分別有兩個研究團隊提出了不同的機制，來解釋拉曼訊號在金屬表面為何會增強。一是由 Creighton 等人所提出，⁸ 稱之為化學增強效應(chemical enhancement)，指的是吡啶分子與銀電極間產生新的電荷轉移能階，進而使訊號增強，增強效果約 10~100 倍。另一則是由 Van Duyne 等人所提出，⁹ 稱之為電磁場增強效應(electromagnetic enhancement)，如圖 1-1，Van Duyne 等人藉由實驗和理論計算發現，吸附在銀電極表面的吡啶分子由於表面電漿共振造成拉曼散射，訊號的貢獻是溶液中吡啶分子的 10^6 倍。化學增強效應(chemical enhancement)和電磁場增強效應(electromagnetic enhancement)是被廣泛接受的兩個增強機制。之後許多實驗顯示，在金屬膠體 (metal colloids)、奈米金屬顆粒合成金¹⁰、氧化物上之金屬粒子，均有很強的表面增強效應存在。這些發現提供了介面上分子與微量偵測的一個很好工具。

由於表面增強拉曼效應的現象出現在具有粗糙的金屬表面，因此發展出許多種不同型態的表面基底，來研究對 SERS 的影響。

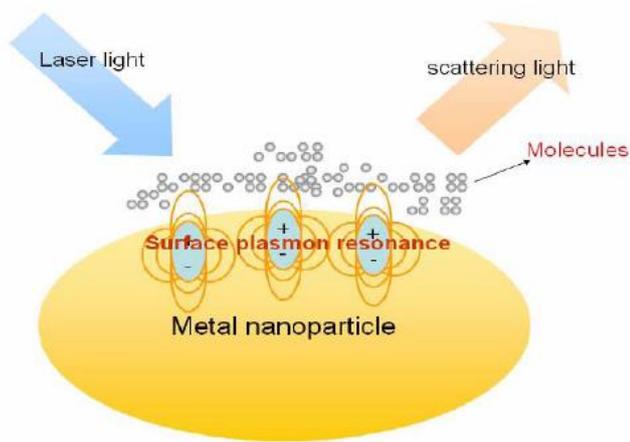


圖 1-1 電磁效應示意圖

金奈米粒子具有獨特物理及化學性質，且容易控制粒徑、高穩定性以及生物相容性等優點，因而可以藉由改變粒子大小及形狀來改變光學性質，因此在許多領域對其有廣泛的應用，例如：光學、電學、催化、感測器、及表面增顯拉曼，至今有很多不同構型¹¹，如圖 1-2，包含粒子、線狀、柱狀、星型，而近年來樹狀做多研究，由於主要的主幹以及分支造成許多尖銳邊緣和稜角，正因為這些結構帶來許多應用。

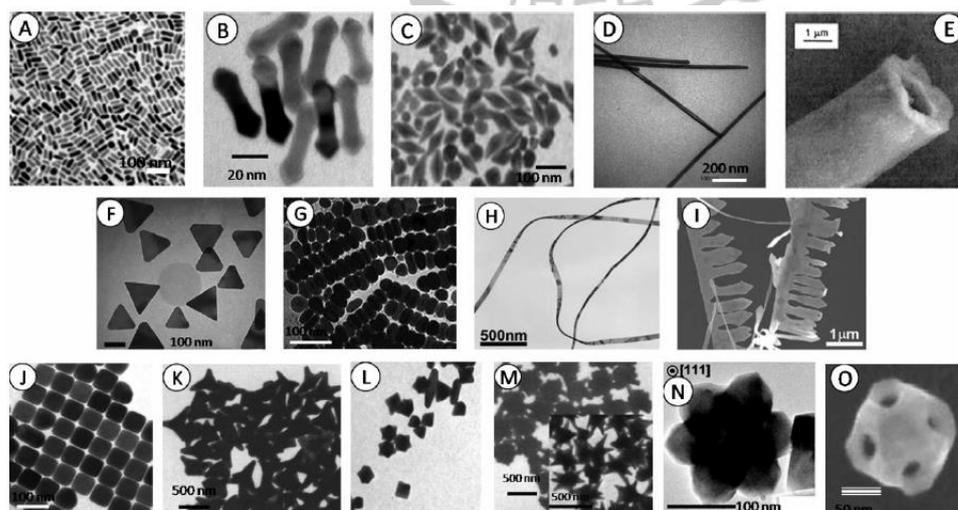


圖 1-2 不同形狀奈米金

表面增顯拉曼 (Surface Enhanced Raman Scattering spectroscopy, SERS) 過去幾年在各領域被廣泛應用，包含分析化學、醫藥化學、以及單分子的檢測¹²⁻¹⁵。且拉曼可以提供結構信息使 SERS 在環境檢測或生物醫學上微量分析且複雜的基質，作為一個有效率的 SERS 基質需要有良好的穩定性以及重複性¹⁶。為了使 SERS 能成為一般分析工具，SERS 應該具有製成容易、價格低廉，而且高靈敏。

1-2 光學檢測方法與其特色

多數傳統檢測方法需要將樣本做前處理、添加反應試劑、乾燥等多個步驟，不僅會破壞樣本原有的特性而使之無法再做其他檢測，也因繁雜的步驟而費時。相較於傳統臨床所使用的方法，使用光學方法檢測的最大優勢在於步驟簡單、省時、數據擷取快速，並可以做多成分之分析。

光學檢測大致分為螢光、吸收光譜、散射光譜等，拉曼光譜和吸收光譜在物理上屬於振動光譜，光譜的頻率差對應分子中不同的能階差，故可以提供分子振動能階訊息。因此，拉曼光譜不只能夠應用於分子的定性與定量，藉由觀察分子結構特性的改變，可監測不同分子間的反應機制與交互作用，對於微觀尺度的生化合成反應之研究，拉曼光譜相當具有潛力。臨床生物分子的研究中，待測分子大多存在於水溶液裡，而在光學檢測方法中，拉曼散射光譜因為它不受水的影響，加上其波峰較窄、鑑別度高，

因此近年來已應用到相當多的生醫領域的研究上¹⁷。

1-3 應用 SERS 技術於酸鹼環境偵測

當分子在不同的酸鹼環境中，質子化以及去質子化的過程，導致影響拉曼相對強度上的變化，而這些特徵峰可用於敏感的 pH 感測上，目前已有許多分子被做為 pH 感測分子，例如 para-mercaptobenzoic acid (p-MBA)，4-Mercaptopyridine (4-MPy)，para-aminothiophenol (p-ATP)，3-amino-5-mercapto-1,2,4-triazole (AMT) 以及 2-aminobenzenethiol (2-ABT)，¹⁸⁻²⁴ 在此研究中，我們使用 4-MBA (4-Mercaptobenzoic acid) 如圖 1-3²⁵ 和 4-MPy (4-Mercaptopyridine) 如圖 1-4²⁶，此物質分子結構簡單，在金表面上可以接合的相當良好，也具有很明顯易判的拉曼訊號，同時光學活性對於外在環境的酸鹼值有著靈敏的反應，於是我們嘗試把 4-MBA、4-MPy 與實驗室金屬基版做結合。

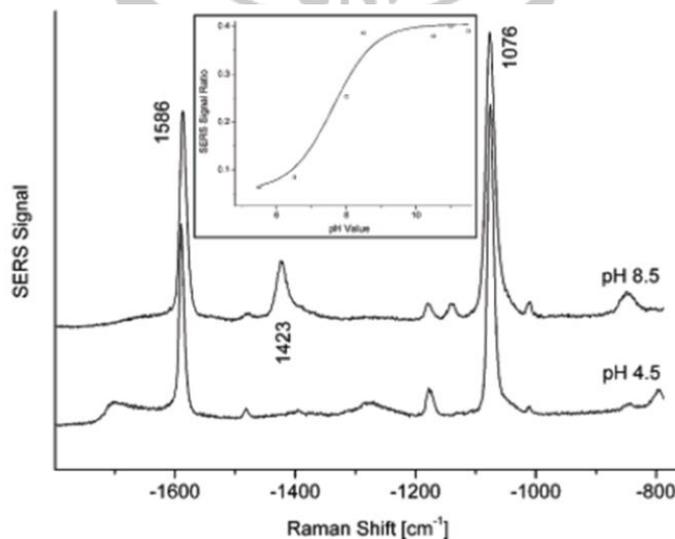


圖 1-3 4-Mercaptobenzoic acid 在 pH4.5 和 pH8.5 的拉曼光譜圖

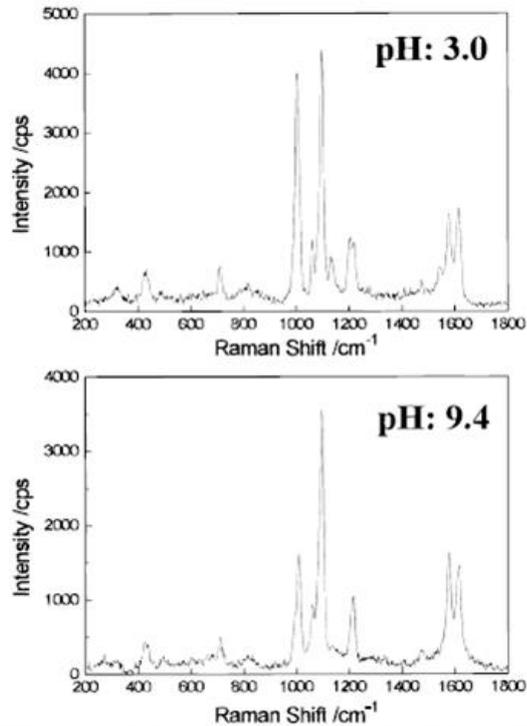


圖 1-4 4-Mercaptopyridine 在 pH 3.0 和 pH 9.4 下拉曼光譜圖

1-4 研究動機與目的

pH meter 在實驗室是一種十分常用的儀器，由於其使用頻率高且常用於量測各式各樣的基質樣品，舉凡化學、生物、物理、生科等等領域皆視為相當重要的一項必備實驗儀器。它的作用原理是，量測牽涉溶液未知 $[H^+]$ 電位與已知參考電位之比較。pH meter 將參考半電池 (reference half-cells) 與偵測半電池 (sensing half-cells) 轉換成 pH 值。

現今，大部分的電極係將參考和偵測半電池做在一起，成複合式電極。當 pH 電極浸入樣品溶液中，其感應玻璃膜 (sensing glass membrane) 將會產生一電位。如果未知溶液是中性，其總固定電位差在玻璃膜 (glass membrane) 內表面和偵測導體 (sensing conductor) 約莫等於玻璃膜 (glass

membrane) 外表面和參考半電池，其結果使總電位差為 0mV，此時 pH 值為 7.0。

在酸鹼溶液，其外部薄膜表面 (outer membrane surface) 電位的改變正比於 $[H^+]$ 濃度，pH meter 測定其電位與未知 $[H^+]$ 濃度的改變可用 Nernst equation 來表示。

雖然 pH meter 被廣泛使用，但是仍存在相當不便的缺點，pH meter 量測時所需的樣品、檢體不能夠太少，無法混相作使用，以及做微奈米尺度的量測，又容易受溫度影響造成量測結果不穩定，在實驗中常常需要等待儀器穩定才可採信，量測時間相當久。

於是我們嘗試發展一項全光學 (All-Optical) 的方法來偵測環境酸鹼值，因為利用的是拉曼光譜儀所以可以達到檢體樣品微量的量測，反應即時，以及偵測靈敏，再者利用實驗室樹狀金基版，製程簡單，有很強的表面增顯拉曼效應，且可彈性的結合各種不同量測系統，運用在生醫檢測上。

如圖 1-5²⁵ 便是將對硫醇苯甲酸接合奈米金，利用奈米金其低生物毒性以及良好的 SERS 效果，應用在細胞體內作為細胞內的酸鹼值感測器。

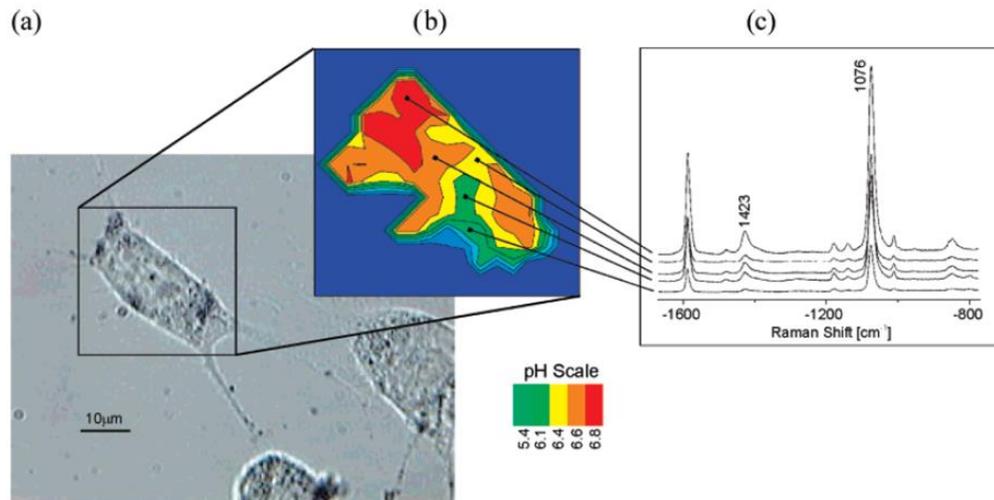


圖 1-5 將對硫醇苯甲酸 (4-mercaptobenzoic acid, 4-MBA) 作為奈米尺度的 pH 偵測器來觀測活體細胞 (a) NIH/3T3 細胞在吞入已經接合 4-MBA 的奈米金 4.5 小時後的光學影像圖 (b) 以軟體經過計算，比較拉曼訊號強度之後換算出來的著色圖，代表細胞的 pH 分佈 (c) 原始的細胞拉曼增顯光譜圖

第二章

原理

2-1 電化學沉積

金屬離子在溶液中藉由外部施加特定電壓，使金屬離子在電極表面還原成金屬。通常分為二極式電化學和三極式電化學。二極系統中，陽極進行氧化反應，電子流出至外部電路；陰極進行還原反應，電子流入電解液。三極式是最常用的，分為工作電極(Working electrode)，進行氧化還原反應；參考電極(Reference electrode)，準確設定工作電極的電位；輔助電極(Counter electrode)，維持溶液中的電中性，通常為白金絲。

一般電化學沉積可分四個步驟：

- (1) 反應離子自電解液擴散至電極表面。
- (2) 反應離子在電極表面經由放電作用形成吸附原子。
- (3) 表面原子開始進行電沉積之成核成長。此過程可能分為兩個路徑：(A) 經由表面擴散至利於成長的位置 (growth site) (B) 形成 cluster 後成為成長中心：(growth center)
- (4) 在電極表面形成連續沉積薄膜。

2-1-1 脈衝式電化學沉積

脈衝式電流電化學沉積法²⁷和一般定電壓或定電流電化學沉積不同在於，極短的時間內在電極表面通過一電流值，當有電流通過時進而快速進

行還原反應，可使得電極表面沉積欲成長之材料。脈衝式電流電化學沉積法之電化學參數如圖 2-1 所示，圖 2-1 中脈衝式 i_p 定義為脈衝電流密度 (pulsed current density)， T_{on} 則是脈衝時間 (pulsed length)，定義為當有電流通過電極的極短時間， $T_{on} + T_{off}$ 表示脈衝週期 (pulsed period)，亦即將有通過電流和沒有通過電流的時間相加起來為一週期，最後 i_m 則是陰極平均電流密度 (cathodic average current density)，此參數目的主要是為了和直流電電化學沉積法 (direct current electrolysis) 的定電流值做比較。由於沉積時間極短又快，故相對於一般電化學沉積之好處在於可以改善成核現象、形成較為小晶體以及減少晶體成長之缺陷。

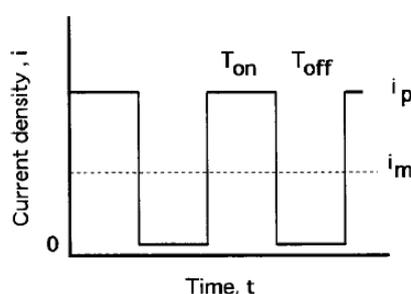


圖 2-1 脈衝式

2-2 三維樹狀金電極²⁸

金的電化學沉積是透過四氯金酸水溶液進行還原所得，其反應機制為：



由圖 2-2 可知第一圈 CV 有一對主要的氧化還原峰在 0.590 V 和 1.077 V，還原峰主要是由 Au (III) 還原成 Au (0)，部分是由 Au (III) 還原成 Au (I)，而第二圈和第三圈 CV 有兩個還原峰在 0.90V 和 0.65V，分別的反應為 $AuCl_2^- + e^- \rightleftharpoons Au(0) + 2Cl^-$ 和 $AuCl_4^- + 3e^- \rightleftharpoons Au(0) + 4Cl^-$ 。主要還原電位為 0.7 V 且當氧化電流為零時，還原反應開始的電位為 0.8 V，因此，要讓金沉積在玻璃碳電極上只需施予比 0.7 V 更負的電位。

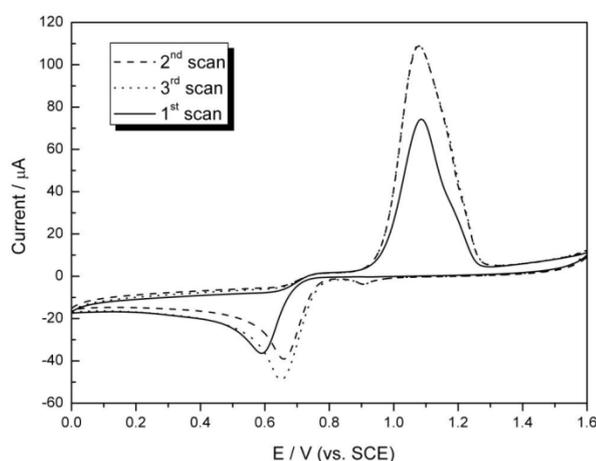


圖 2-2 1.0mM H₂AuCl₄ 在 0.5M H₂SO₄ 循環伏安

實驗中藉由加入半胱胺酸 (Cysteine)，當為保護劑，半胱胺酸中的硫醇官能基可吸附在金表面形成硫金鍵。由文獻可知半胱胺酸可藉由循環伏安進行還原脫附移除²⁸，如圖 2-3。

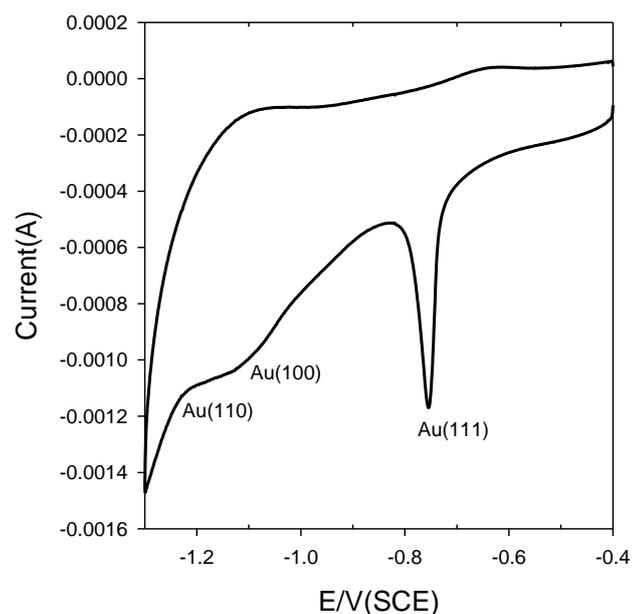


圖 2-3 樹狀金脫附半胱胺酸 CV 圖

由脫附電位可看出半胱胺酸吸附在 (111)、(100)、(110) 上，Ohsaka 等人認為可以藉由電位控制使得金(111)面上的半胱胺酸移除，保留(100)、(110)的半胱胺酸²⁹，由此原理當施加電壓-0.8 V 下，原本吸附在金(111)面上的半胱胺酸會進行還原脫附，並不會影響半胱胺酸吸附在金(110)和金(100)面，且有保護的作用，使得奈米金沿著金(111)面生長而不會沿著金(110)和金(100)面生長，如圖 2-4。

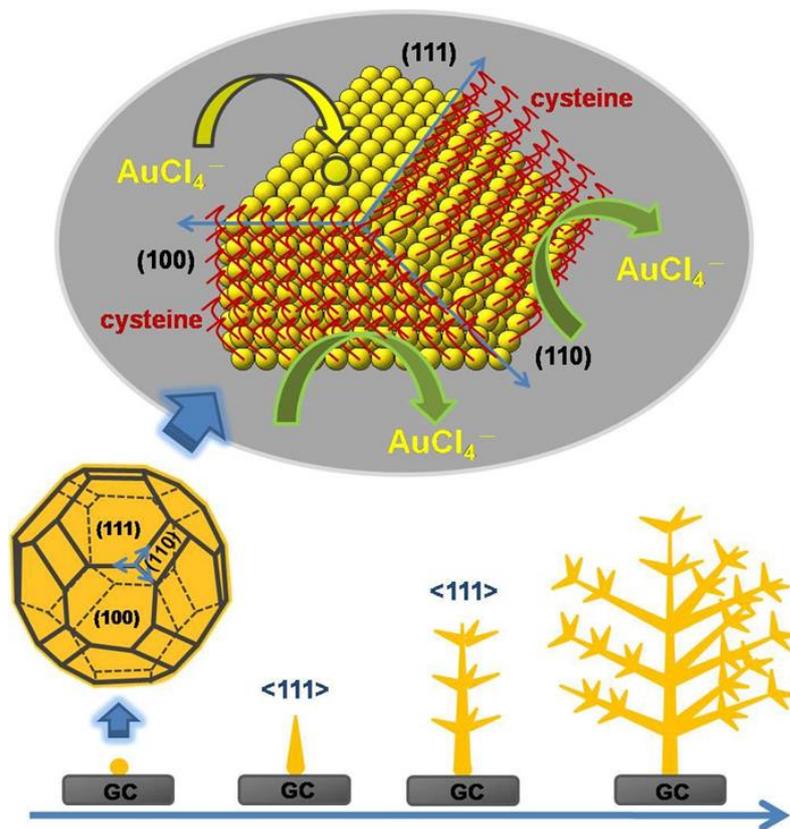


圖 2-4 樹狀金生長機制

2-3 拉曼散射理論

2-3-1 拉曼散射歷史

拉曼散射是於 1928 年，由印度物理學家拉曼（Chandrasekhara Venkata Raman 1888~1970）所實驗證明的。散射是物質與光作用而產生，大多數的入射光波長與散射光波長相同，但少部分的散射波長有位移現象，此波長位移和分子結構式有關，而此種現象稱為拉曼散射（Raman scattering）。由於這個現象的發現，西元 1930 年 C.V Raman 獲得諾貝爾物理獎，由於拉曼散射的發現，確認了當時新興的量子理論，且可以解釋分子結構性質，因此拉曼光譜成為分子結構重要的分析工具³⁰。

拉曼光譜最早應用在分子結構的研究，由於訊號太弱，應用較少。60 年代，雷射發明後，才比較普遍應用。1986 年前，因為拉曼散射強度低、常有螢光干擾訊號、且沒有有效偵測器來偵測此微弱訊號，很少應用在生物醫分析。直到 1986 年後，近紅外光波段雷射 (NIR-laser)、charge couple device (CCD) 的發明、電腦運算技術的增加，使拉曼散射開始應用於生物與化學分析領域³⁰。

在 1974 年，Fleischmann 在電鍍銀電極表面上面吸附吡啶 (pyrimidine) 會有很強的拉曼訊號產生⁷，這是最早發現的表面增強拉曼散射效應 (Surface Enhanced Raman Scattering, SERS)。之後 Jeanmaire⁹、Van Duyne、Moskovits、Creighton 等人也實驗發現此現象，但他們認為訊號增強僅是散射體的數目增加所造成，因而提出分子與金屬表面作用及電場增強機制來解釋此一現象。當時對於此現象的反應機制並不清楚，後來引起各界熱烈研究與討論。

2-3-2 拉曼散射原理

散射可分為兩種，一為彈性散射，另一種為非彈性散射。當光和物質作用放出散射光時，大部分的散射光波長和入射光的波長相同，此種散射光稱為雷利散射 (Rayleigh scatter)，而過程中沒有牽涉到能量轉移，為彈性散射。

反之若過程中有牽涉到能量轉移，為非彈性散射。拉曼散射及為非彈性

散射，又可分為兩種，當散射光頻率較入射光頻率低時，為史托克散射 (Stokes scattering)，當散射光頻率較入射光頻率高時，為反史托克斯散射 (Anti-stokes scattering)。如圖2-5，其光譜圖如圖2-6

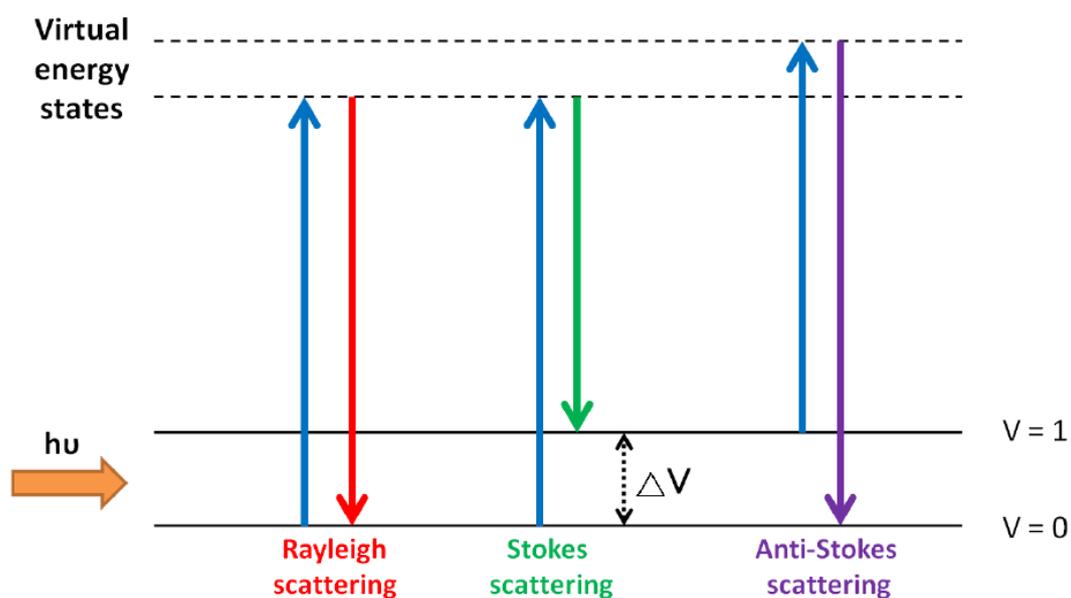


圖 2-5 電子遷能階圖

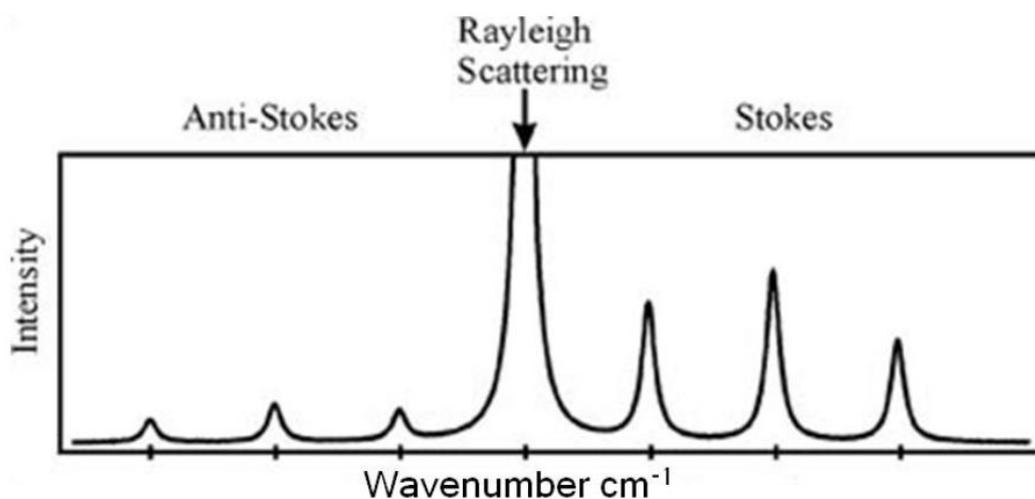


圖 2-6 電磁輻射散射光譜

由古典物理討論散射，當分子的電子雲受到入射光電場的作用產生極化率的改變，形成偶極矩(dipole moment) μ ，其關係式為：

$$\mu = \alpha E \quad (2-4)$$

E 為入射光電場， α 為極化率(polarizability)， α 與位置 r 有關

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_e) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \quad (2-5)$$

α_0 是在平衡核間距 r_e 時的極化率， r 為核間距會因振動頻率而變化，關係式為：

$$r - r_e = r_M \cos(2\pi\nu_M t) \quad (2-6)$$

ν_M 為相對於平衡位置的最大核間距。而電磁輻射的電場變化可以表示為：

$$E = E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \quad (2-7)$$

E_0 為電場的振幅大小， ν_0 為入射光頻率。則偶極矩 μ 可表示為：

$$\begin{aligned} \mu &= \alpha E \\ &= \alpha E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \\ &= [\alpha_0 + (r - r_e) \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right)] [E_0 \cos 2\pi\nu_0 t] = [\alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) r_M \cos(2\pi\nu_M t)] [E_0 \cos 2\pi\nu_0 t] \\ &= \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + E_0 r_M \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) [\cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_M t)] \\ &= \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + 12 E_0 r_M \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_M)t] \\ &\quad + 12 E_0 r_M \left(\frac{\partial \alpha}{\partial r} \right) \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_M)t] \end{aligned} \quad (2-8)$$

由方程式可知有三種不同頻率的光會產生，對應上述相同頻率的瑞利散射、頻率變短的史托克線和頻率變長的反史托克線。

2-4 表面增顯拉曼

1974年Fleischmann發現在粗糙銀電極表面上吸附嘧啶(pyrimidine)，會有很強的拉曼訊號產生，Fleischmann認為拉曼訊號的增強是因為粗糙銀電極

所造成的表面積增加，但Jeanmaire、Van Duyne、Moskovits、Creighton 等人並不認為如此強的訊號增顯僅僅由散射體數目增加所造成，因而提出分子與金屬表面作用和電場增強機制來解釋。在1980年代後，經由實驗發現，分子吸附在奈米級(10-100nm)的粗糙金屬(金、銀、銅)結構表面上，才能有效發生表面增顯拉曼現象。表面增顯拉曼可分為電磁場增顯效應與化學增顯效應兩部分來探討。

2-4-1 表面電漿共振

當電磁波通過金屬奈米粒子，粒子上的電子受到入射電磁波交流電場的驅動而產生振盪。當電磁波的波長接近金屬奈米粒子表面電漿共振波長(λ_{sp})時，會因表面電漿共振而有相當大的現象，如圖 2-7。

對單一球型金屬奈米粒子，其電偶極矩 μ 與外加電場 E 的關係為：

$$\mu = \alpha \varepsilon_m E \quad (2-9)$$

式中 α 為 Clausius-Mossotti 耦極極化率：

$$\alpha = \varepsilon_0 V (1 + \kappa) \left(\frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\varepsilon + \kappa \varepsilon_m} \right) \quad (2-10)$$

$$\varepsilon = \varepsilon_r + i\varepsilon_i \quad (2-11)$$

ε_0 為真空介電係數， ε_m 為粒子周圍物質介電常數， ε 為金屬塊材與光頻率相關介電函數， V 為奈米子體積， κ 為粒子形狀幾何因子，粒子為球型時 $\kappa = 2$ 。

由式 1-11 可知，當 $\varepsilon + \kappa\varepsilon_m = 0$ ，且其虛部極小可忽略，外加電場造成的耦極極化率最大，即：

$$\varepsilon_r|_{SPmax} = -\kappa\varepsilon_m \quad (2-12)$$

金屬的介電函數 ε_r 由 Drude 自由電子模型可得：

$$\varepsilon_r = \varepsilon_\infty - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (2-13)$$

$$\omega_p = \sqrt{\frac{Ne^2}{\varepsilon_0 m_e}} \quad (2-14)$$

式中 ω_p 為金屬塊材的電漿頻率， N 為金屬中電子密度， m_e 為電子質量。由式 2-12 和 2-13 可得：

$$\varepsilon_r|_{SPmax} = -\kappa\varepsilon_m = \varepsilon_\infty - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad (2-15)$$

則表面電漿共振波長 λ_{sp} 為：

$$\lambda_{sp} = 2\pi c \sqrt{\frac{\varepsilon_0 m_e (\varepsilon_\infty + \kappa\varepsilon_m)}{Ne^2}} \quad (2-16)$$

由上式可知，表面電漿共振波長 λ_{sp} 與粒子幾何形狀 κ 、周圍物質介電常數 ε_m 還有金屬本身特性都有關係。

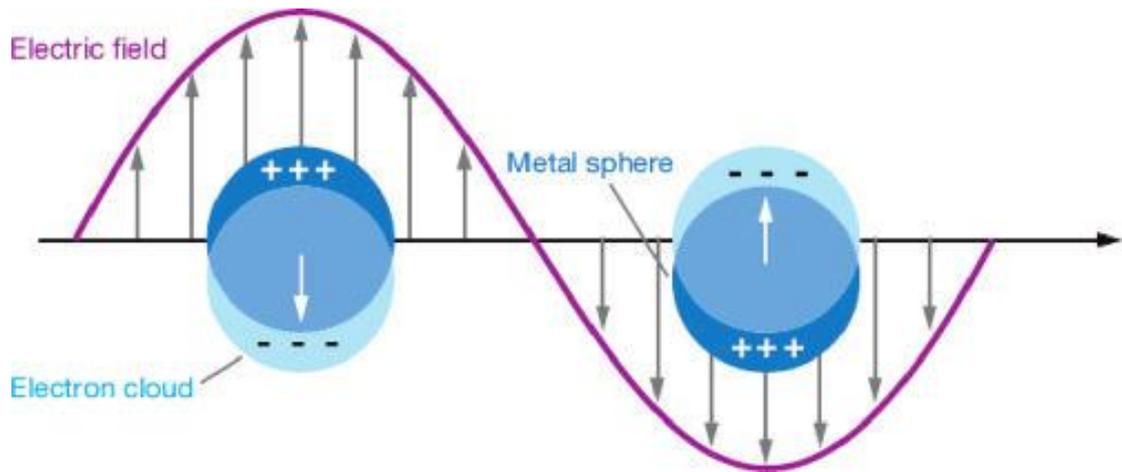


圖 2-7 入射光與奈米粒子作用產生表面電漿共振(surface plasmon resonance)。

2-4-2 電磁場增顯效應

假設有一奈米金屬球與一分子距離為 d 如圖 2-8 所示，金屬球半徑為 r ($r \ll \lambda$, λ 為激發光波長)，介電常數為 ε ，而周圍介質的介電常數為 ε_0 ，電場強度為 E_M ，則電場增強因子 $A(\nu)$ 可表示為：

$$A(\nu) = \frac{E_M}{E} \quad (2-17)$$

而電場 E_M 為入射電場 E_0 和金屬的誘發偶極電場 E_{sp} 的總和。

$$E_M = E_0 + E_{sp} \quad (2-18)$$

$$E_{sp} = r^3 \frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} E \frac{1}{(r+d)^3} \quad (2-19)$$

則 $A(\nu)$ 可近似為：

$$A(\nu) \approx r^3 \frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \frac{1}{(r+d)^3} \quad (2-20)$$

由上式可知，當 ε 等於 $-2\varepsilon_0$ 時，增強因子 $A(\nu)$ 會有最大值，因此散射強度的總電磁強化可近似為：

$$P(v_S) = |A(v_L)|^2 \cdot |A(v_S)|^2 \cong \left| \frac{\varepsilon(v_L) - \varepsilon_0}{\varepsilon(v_L) + 2\varepsilon_0} \right|^2 \left| \frac{\varepsilon(v_S) - \varepsilon_0}{\varepsilon(v_S) + 2\varepsilon_0} \right|^2 \left(\frac{r}{r+d} \right)^{12} \quad (2-21)$$

電磁場增強不需要與分子直接接觸就能產生，但是增強因子會隨著距離 d 增加而減弱，正比於 $\left(\frac{r}{r+d}\right)^{12}$ 。

電磁場效應可以增強 $10^6 \sim 10^7$ ，但是受到金屬粒子形狀不同以及粒子之間距離的影響，一般奈米粒子會聚集成金屬叢 (metal cluster)，金屬叢表面型態也不同，造成表面電場分布不均，使電場強度集中形成熱點 (hot spot)，熱點的尺寸大約幾個奈米，分布位置和金屬叢的幾何型態、激發光波長以及基發光的偏振有關。³¹

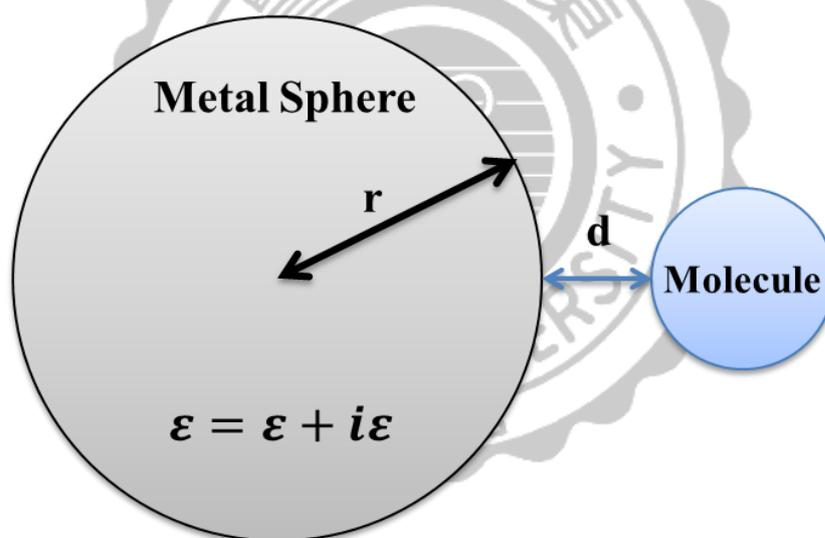


圖 2-8 電磁場增顯效應示意圖

2-4-3 化學增強效應³²

理論上，電磁場增顯效應不會選擇性增強分子的拉曼訊號，但從實驗中發現，相同條件下，偵測 CO 及 N₂，發現兩分子的極化率差不多但是增強幅度卻相差 100 倍，因此證實除了電磁場增顯效應外，還有其他增顯效應。

化學增顯效應為分子吸附在金屬表面，這種接觸使得分子與金屬間產生”分子-金屬”系統，增加了拉曼散射截面積。此外，化學效應還牽涉到分子和金屬的電荷轉移（charge transfer），過程如圖 2-9 包含四個步驟³²，而電子轉移過程³³如圖 2-10

- 1、入射光子激發金屬電子成為熱電子(hot-electron state)。
- 2、熱電子經由金屬的價帶躍遷到分子的 LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)。
- 3、造成分子的振動模式改變後，電子從分子的 LUMO 躍遷回金屬軌域。
- 4、電子由激發態回到基態並放出拉曼散射。

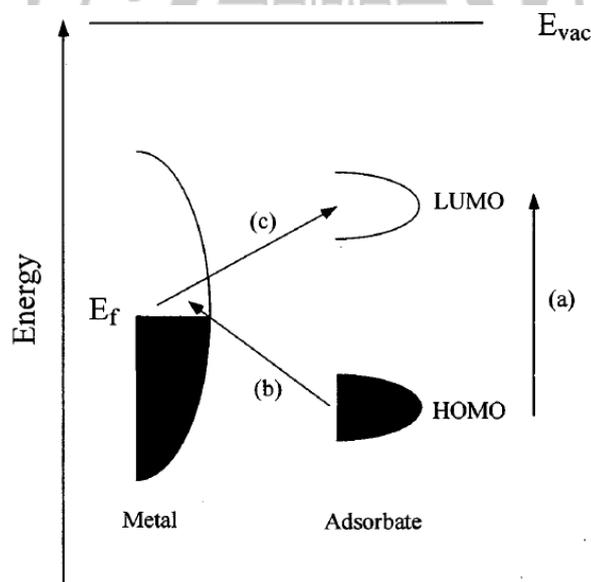


圖 2-9 分子-金屬系統能階圖

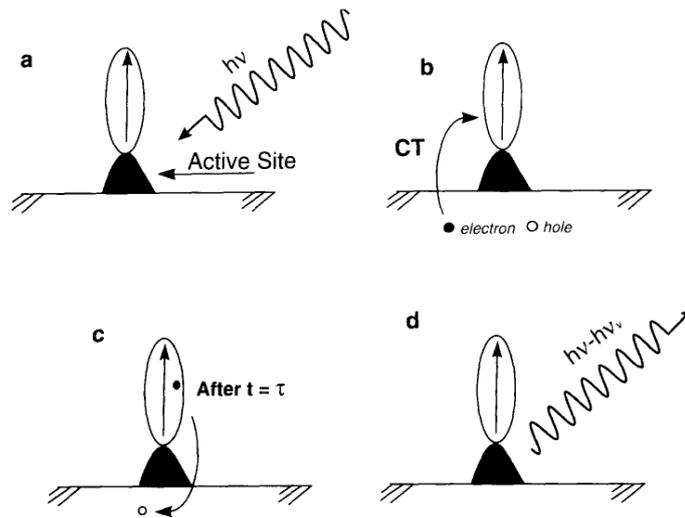


圖 2-10 電子轉移過程

2-3-4 熱點

當兩金屬球，距離非常近時，受到入射光的激發，在兩金屬球間產生局部電場，此局部電場的範圍稱為熱點(Hot spot)，其尺寸大約幾個奈米，能有效的增顯拉曼訊號，隨著兩金屬球距離的增加，增強效應也呈指數性的下降，如圖 2-11³⁴；熱點的增顯效應與兩金屬球大小，形狀，周圍環境介電常數，入射光波長，金屬球距離有關。

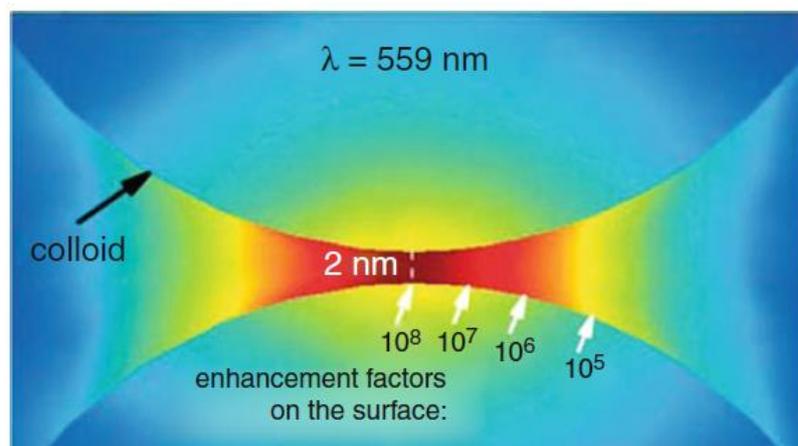


圖 2-11 兩金奈米粒子形成熱點之示意圖。

2-5 Langmuir 等溫吸附

Langmuir 等溫吸附是應用較廣的吸附模型，其基本假設如下：

1. 固體表面具有分佈均勻的活性位(Active site)，每一個活性位只能吸附一個分子。
2. 各吸附位對吸附物之親和力相同。
3. 固體表面吸附之最大容量為單層吸附。
4. 吸附能不受其他被吸附物或吸附位置之影響。
5. 已吸附分子之活性位將不會影響鄰近活性位的吸附行為。

根據 Langmuir 的理論，吸附為一種動態平衡，當吸附速率等於脫付速率時，則吸附反應達到平衡。所以依據上述假設之動力學原理，可推出 Langmuir 等溫方程式：

$$\theta = \frac{\alpha C}{1 + \alpha C} \quad (2-22)$$

θ ：表面覆蓋率

α ：Langmuir 吸附常數

C ：吸附物濃度

第三章

實驗步驟與儀器原理

3-1 實驗藥品

四氯金酸 (Gold(III) chloride trihydrate) : $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 99%, Alfa Aesar ;

CAS : 16961-25-4

半胱氨酸 (L-cysteine) : $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$, Sigma-Aldrich ; CAS : 52-90-4

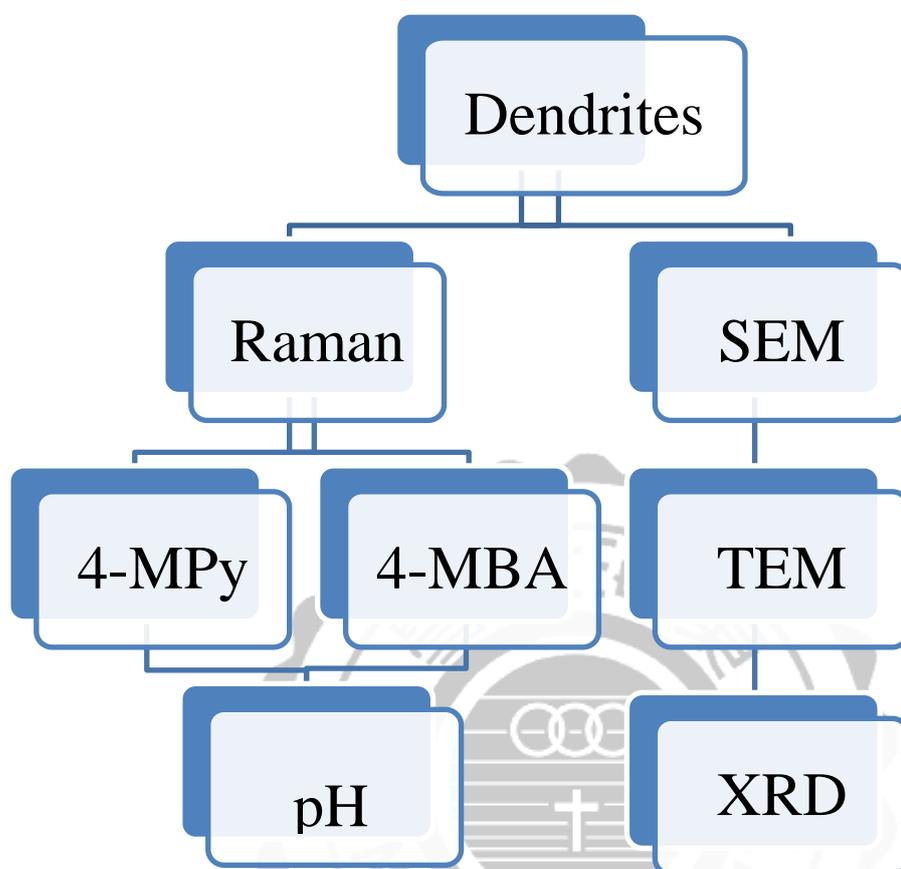
去離子水 (Deionized water) : H_2O , Millipore Milli-Q ; $18.2\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$

硫酸 (Sulfuric acid) : H_2SO_4 , 96%, Merck ; CAS : 7664-93-9

4-巰基吡啶 (4-Mercaptopyridine)(4-MPy) : $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_\text{S}$, Merck ; CAS : 2637-34-5

4-巰基苯甲酸 (4-Mercaptobenzoic acid) (4-MBA) : $\text{HSC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}$, 90% ,
Acros ; CAS : 1074-36-8

3-2 實驗流程



在實驗流程中，我們分為兩大部分，一為結構鑑定，以 SEM 觀察樹狀金結構以及沉積在電極表面的均勻度，TEM 觀察其樹狀金主幹、以及分支的夾角，XRD 確認樹狀金主要的成長晶格方向。

二為表面增顯拉曼光譜應用，以最佳反應條件進行 SERS 上的環境酸鹼偵測，目標分子為 4-MBA 以及 4-MPy，藉由特徵峰消長判斷其酸鹼值。

3-3 實驗步驟

3-3-1 樹狀金電極製備

1. 拋光

先用 0.3 μm 氧化鋁粉拋光，分別以酒精及去離子水超音波震盪 15 分鐘；再用 0.05 μm 氧化鋁粉拋光，分別以酒精及去離子水超音波震盪 15 分鐘。處理過後的玻璃探電極可置於 1:1 的去離子水和酒精中存放。

2. 配置 1 mM 四氯金酸，0.5 M 硫酸水溶液，0.1 mM 半胱胺酸，約 30 毫升。

3. 架設三電極系統，參考電極為甘汞電極；輔助電極為白金；工作電極為玻璃碳電極。

4. 以脈衝式進行電沉積，參數設定：

Step E1(V)/i1(A)	0
Step Time1(s)	0.1
Step E2(V)/i2(A)	-0.8
Step Time2(s)	0.1
Step Segment	30000

5. 將電鍍完成的樹狀金電極取出，並用離子水清洗，再用氮氣吹乾，進行接下來的拉曼量測。

3-3-2 拉曼樣品準備

1. 調配出 pH 2.0 到 pH 9.0 每間格 pH 0.5 一溶液，藉由傳統 pH meter 來校正。
2. 將樹狀金分別泡入 2 毫升 4-MPy 二十分鐘，2 毫升 4-MBA 二十分鐘做等溫吸附圖
3. 將樹狀金分別泡入 10 毫升 5×10^{-4} 4-MPy，10 毫升 5×10^{-4} 4-MBA 放置不同 pH 值一天
4. 將樹狀電極取出、等待量測

3-4 儀器原理

3-4-1 粉末 X-ray 繞射儀 (powder X-ray diffraction, XRD)

1913 年由布拉格父子在晶體結構解析實驗時由散射 X 光分佈的情形得知，入射光可以被晶面反射，此種反射類似於鏡面反射，入射角會等於反射角。而由於相鄰的晶面散射角度相同，只會相差波長整數倍的光程差，因而產生建設性干涉，利用此條件得出布拉格定律：

$$2d \sin \theta = n \lambda$$

由於不同的晶面間距(d)會有所不同，因此得出的繞射角度也會有所不同，利用晶體內組成原子的不同所造成的晶面差異，每一種化合物會得到不同的粉末繞射圖案。測量粉末繞射圖的最主要目的即是和單晶數據所得出的理論粉末繞射圖或是國際資料庫內的粉末繞射圖做比對進行純相與樣品的

判定。

3-4-2 X-ray 光能量散佈分析 (Energy-dispersive X-ray spectroscopy, EDS)

EDS是一種快速的元素分析儀器，其特性為操作簡單，不損傷樣品等。針對高能電子束對原子的內層電子所激發的特性 X 光分析，分析晶體所含的元素種類，當原子的內層電子受到外來電子束激發而脫離原子時，原子的外層電子將很快的遷降至內層電子的空位並釋放出兩個能階差的能量，而被釋出的能量以 X 光的形式釋出，由於各元素之能階差不同，因此分析此 X 光的能量即可鑑定材料的成份組成元素，但是其對輕元素的偵測能力較差，定量能力也不若電子微探分析儀為佳。

3-4-3 掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscopy, SEM)

掃描式電子顯微鏡主要是用來觀察樣品表面及剖面微結(morphology)，其試片製備容易、解析度高及景深大且圖像為三維，放大倍率可達一萬倍以上。

電子束轟擊試片時會產生不同的訊號，如二次電子、背向散射電子、吸收電子、歐傑電子、特徵 X 光...等，如圖 3-1。一般掃描式電子顯微鏡偵測系統上，主要為偵測二次電子及背向散射電子成像。

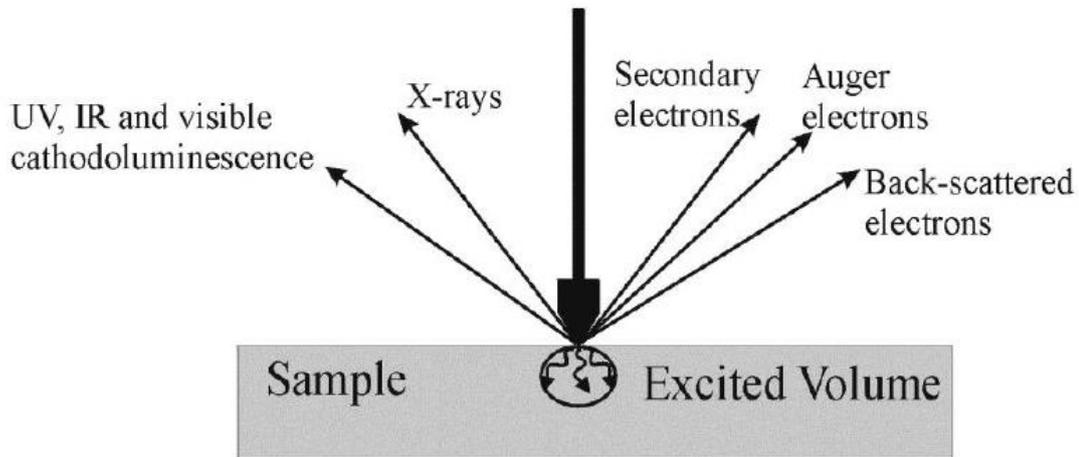


圖 3-1 電子束轟擊試片時產生的訊號

主要工作原理為利用電子槍產生電子束經由 0.2-40KV 電壓加速，在經過電磁透鏡組(condenser lens)使電子束聚焦在試片上。電子束與試片作用激發出二次電子(secondary electrons)和反射電子束(backscattered -electrons)，由於電子束能量低於 50eV，因此只有試片表面下約 5~50nm 的二次電子才有機會脫離試片表面被偵測，這些電子脫離試片表面後，被靜電電場加速至高能再由電子偵測器接收。被偵測器偵測後經過訊號處理再送至顯像管成像。

圖像對比及亮度是根據電子訊號的強度而改變，當電子束的能量低時，產生的訊號深度較淺，訊號強度也較弱；當電子束能量高時，產生的訊號深度較深且訊號強度較強，圖像易受到深訊號干擾。因此，可藉由此種亮點同步成像的方式表現是片的形貌特徵。

3-4-4 穿透式電子顯微鏡 (Transmission Electron Microscopy, TEM)

穿透式電子顯微鏡 (Transmission Electron Microscopy, TEM)是由

電子束打至試片，再放大成像，因此，TEM 樣品的薄度，必需達到電子束能穿透的等級；TEM 的原理為利用電磁透鏡(Electromagnetic Lens)來偏折、聚焦加速的電子，使電子撞擊材料，產生穿透電子束與彈性散射電子束，然後這些電子束再經過電磁透鏡放大、聚焦，最後形成影像或繞射圖形。

3-4-5 循環伏安法 (Cyclic voltammetry, CV)

循環伏安法是一種常用的電化學研究方法，藉由控制電極的電位速率隨時間以三角波形進行多次的反覆掃描，如圖 3-2，並記錄電流-電位曲線如圖 3-3

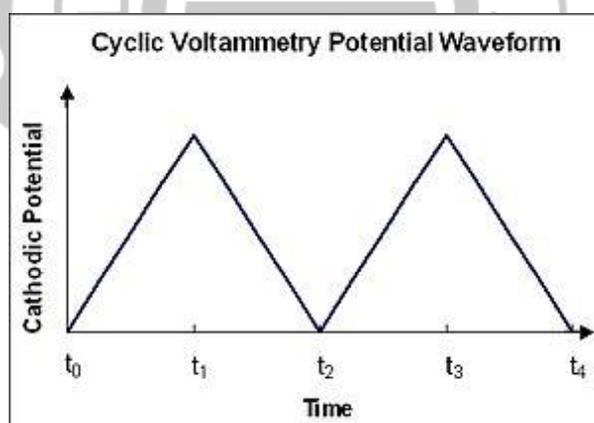


圖 3-2 電位對時間之波形圖

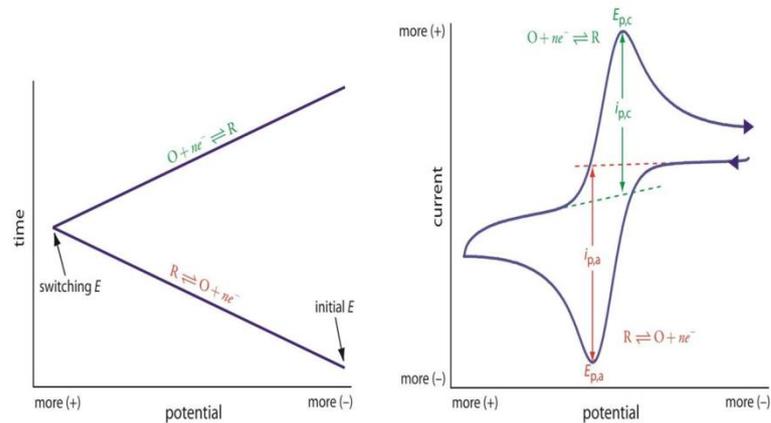


圖 3-3 電位與時間對應環伏安(CV)圖

反應由初始電位開始向負掃描，在負方向掃描時所發生的反應為還原反應，所量測的電位值即為還原電位；當電位往正方向掃描時，所發生的反應為氧化反應，所量測的電位值即為氧化電位。因此，一次三角波掃描，即得一次還原和氧化過程的循環，故稱為循環伏安法。循環伏安法可用於電極反應的性質、機理和電極過程動力學參數的研究。循環伏安法中電壓的掃描過程包括陰極與陽極兩個方向，因此從所得的循環伏安法圖的氧化波和還原波的峰高和對稱性中可判斷電活性物質在電極表面反應的可逆程度。循環伏安法還可研究電極吸附現象、電化學反應產物、電化學...等，對於有機物、金屬有機化合物及生物物質的氧化還原機理研究。

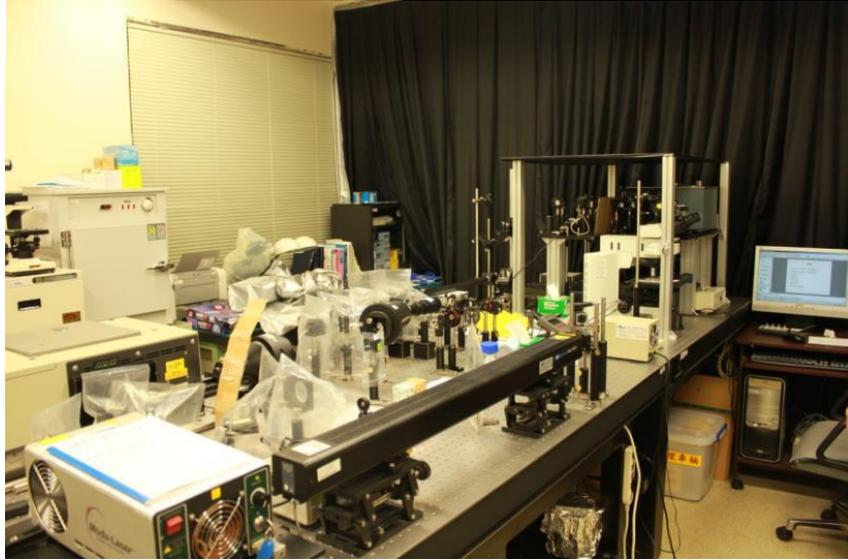
3-4-6 拉曼光譜儀 (Raman spectroscopy)

拉曼光譜(Raman spectra)為光子與物質碰撞所造成的非彈性散射光譜；入射光照射樣品後，其基態、轉動激發態、振動激發態受入射光影響，躍遷至激發虛擬態能階，虛擬態能階不穩定，會迅速返回穩定能階態，並放出散射光，若散色射光能量等於入射光能量，則為彈性散射，又稱雷利

(Rayleigh) 散射；若散射光能量不等於入射光能量，則為非彈性散射，非彈性散射可分為兩種：斯托克斯(Stokes) 散射，虛態電子能階態較初始能階態高時，此時散射光能量比入射光能量低；反斯托克斯(Anti-stokes) 散射，虛態電子能階較初始能階低時，此時散射光能量比入射光能量高。

拉曼光譜藉由偵測樣品的拉曼位移(Raman shift)，即入射光與散射光能量差，得知不同分子的特徵振動、轉動能階圖譜。

本實驗使用國家同步輻射中心 (National Synchrotron Radiation Research Center) 拉曼光譜儀，如圖 3-4，激發光光源為氬-氬雷射系統(25LHR/P928，CVI Melles Griot)。波長為 785 nm，輸出功率最高可達 130 mW，於樣品處雷射功率為 5.30 mW，聚焦在樣品的光點為 1 μ m，聚焦到 40 \times 0.65 N.A 的物鏡上(Plan N, Olympus)，偵測器為冷卻式 CCD(DU406, Andor Technology)，光柵 (1200 l/mm)，以聚苯乙烯 (Polystyrene, PS) 做 X 軸校正 (波峰 1001.4 cm^{-1})，使用強度為 1000 (counts/s)。



(b)

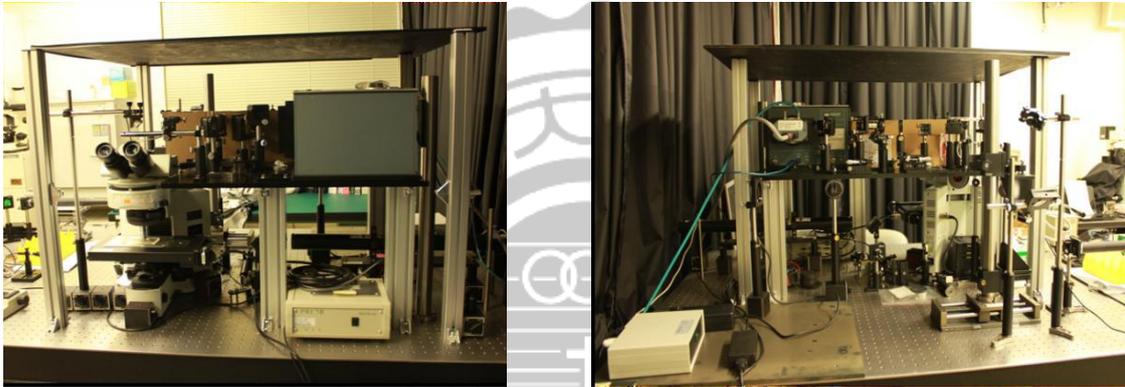


圖 3-4 (a) 國家同步輻射中心知拉曼光譜儀全貌 (b) 左圖為樣品載台，右圖為 CCD 偵測器

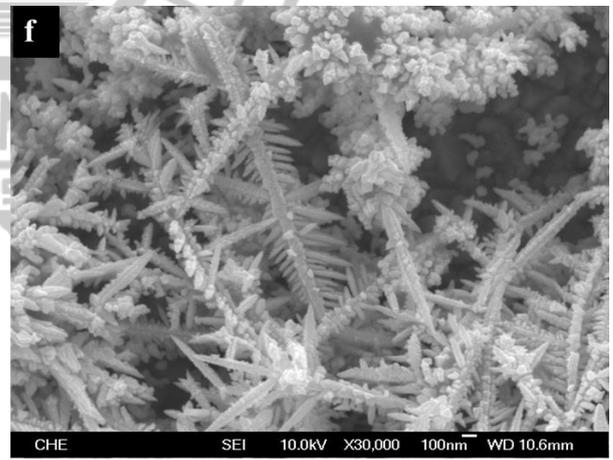
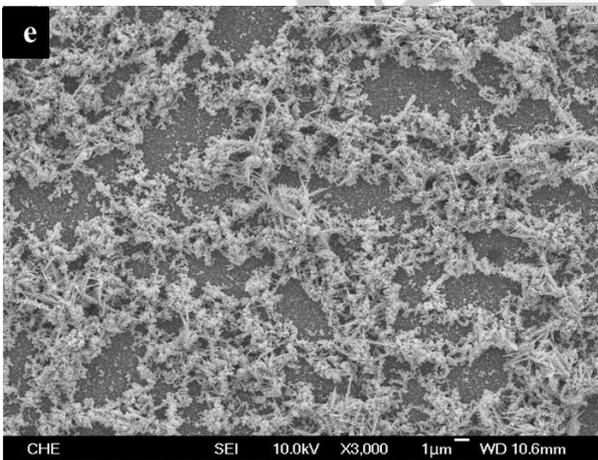
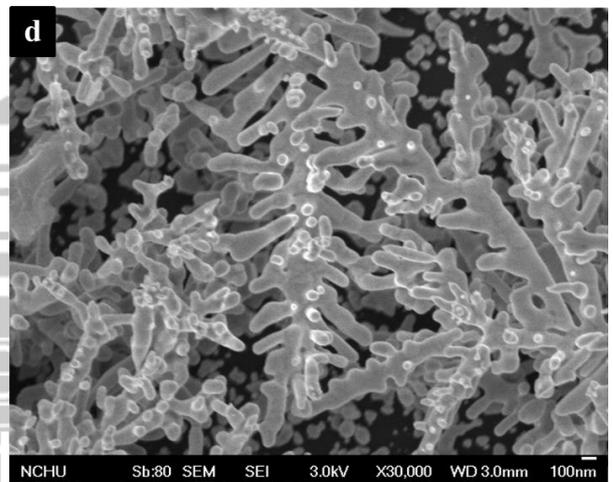
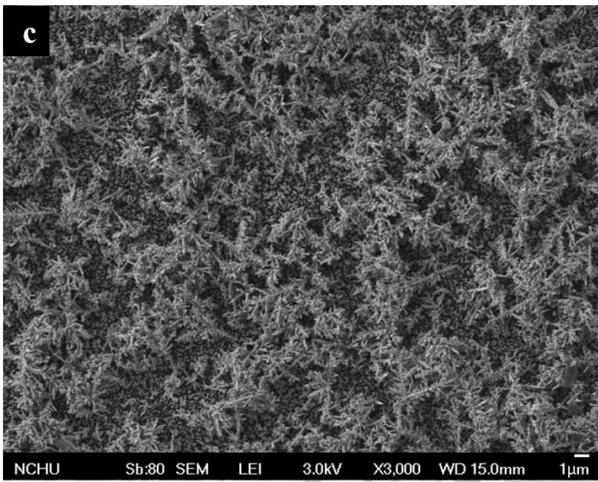
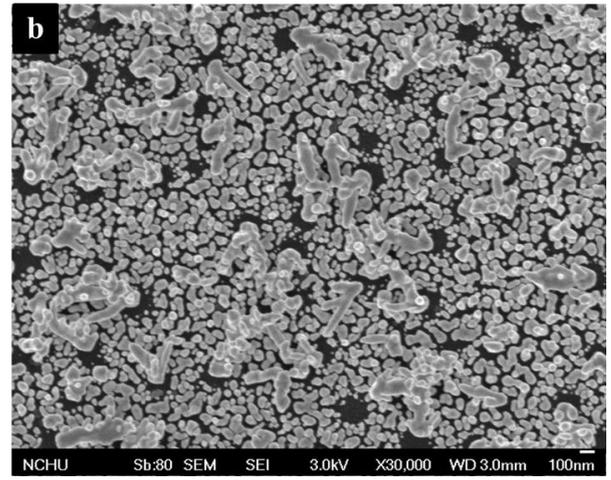
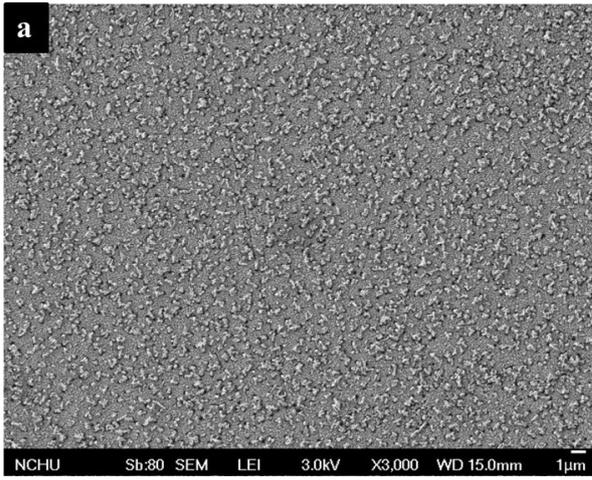
第四章

結果與討論

4-1 樹狀金結構鑑定

4-1-1 不同秒數的樹狀金電極 SEM 圖

為了探討樹狀金結構以及成長機制，分別對沉積不同秒數進行討論，如下圖 4-1，圖 a 中從三百秒的沉積時間可看出金先以成核的方式撲滿玻璃碳電極，隨著時間增加，到一千秒時，可觀察出從成核的金粒子，開始堆疊出類似樹枝狀構型，並且呈現三維對稱。在圖 d 中可看到開始堆疊出主軸其中主幹的大小 $\sim 3\mu\text{m}$ 以及分支的大小 $\sim 250\text{nm}$ ；再將沉積時間拉長到一千五百秒圖 f，更清楚看到主幹以及分支，均為像樹葉狀堆疊成長，主幹的大小 $\sim 5\mu\text{m}$ 以及分支的大小 $\sim 300\text{nm}$ ；由於底層還有許多未成長完成樹狀金因此增加時間到兩千秒，主幹的大小 $\sim 5\mu\text{m}$ 以及分支的大小 $\sim 1\mu\text{m}$ ，從分支上可看出每片葉子平行並且整齊排列，再將沉積時間拉長到三千秒，明確看出三維樹狀結構以及高均勻度，主幹的大小 $5\sim 6\mu\text{m}$ 以及分支的大小 $\sim 2\mu\text{m}$ 。



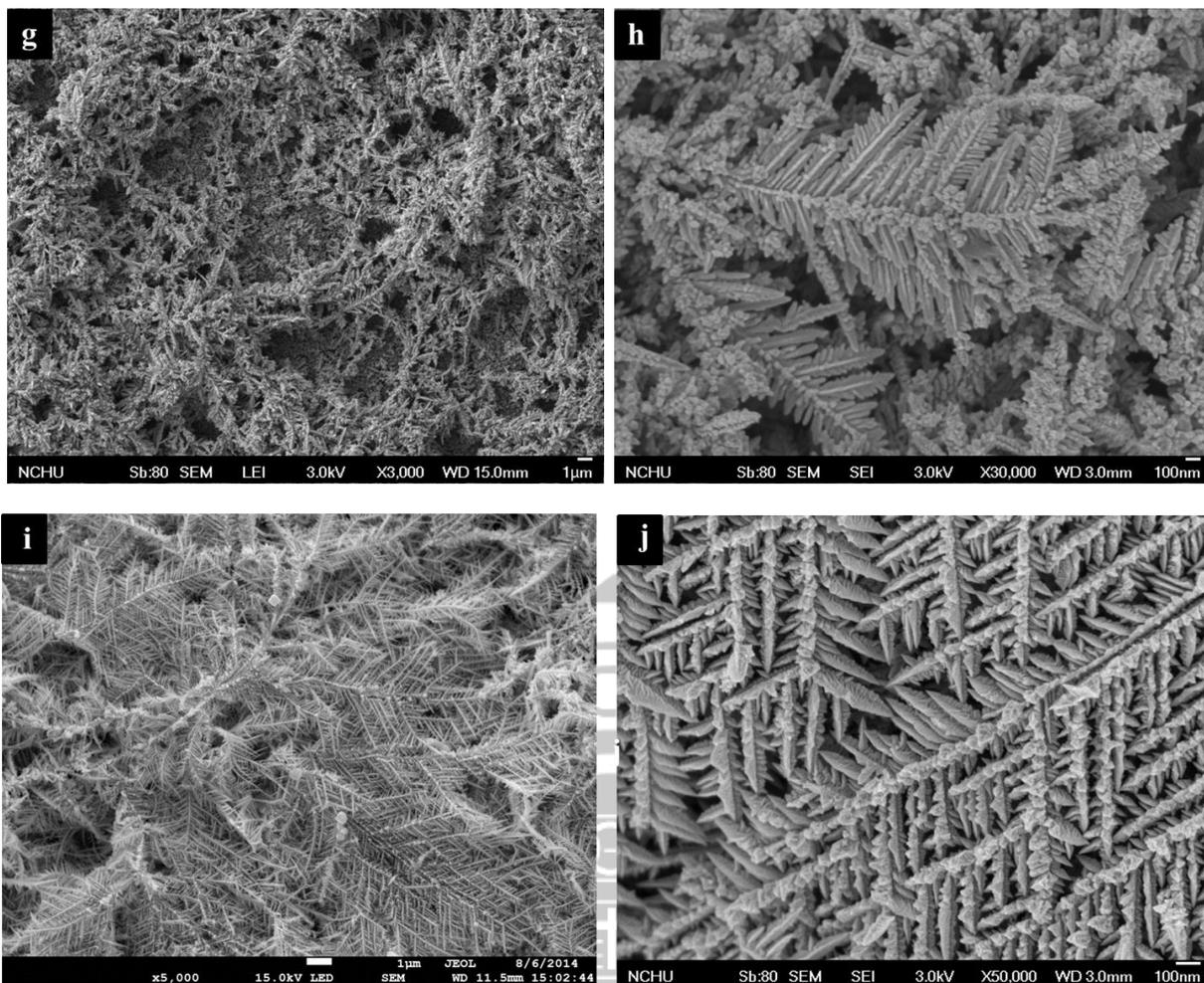


圖 4-1 不同秒數樹狀金電極 1µm scale bar (a) 300s (c) 1000s (e) 1500s (g) 2000s (i) 3000s，100nm scale bar (b) 300s (d) 1000s (f) 1500s (h) 2000s (j) 3000s

計算電化學活性表面積 Electrochemically active surface area (EASA)：

$$EASA = \frac{\int I dU}{a \times L \times v} \quad (4-1)$$

I 與 U 分別為 CV 圖中電流與電壓，a 為金單位面積氧化還原電量 $400 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ ，L 為單位面積金屬負載量，V 為掃描速率。如圖 4-2，計算斜線面積為 $1.087 \text{ mA} \cdot \text{V}$ ，反應面積為 1.5 cm^2 ，帶入式 4-1 得三千秒樹狀金活性表面積為 $4.3 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ 。

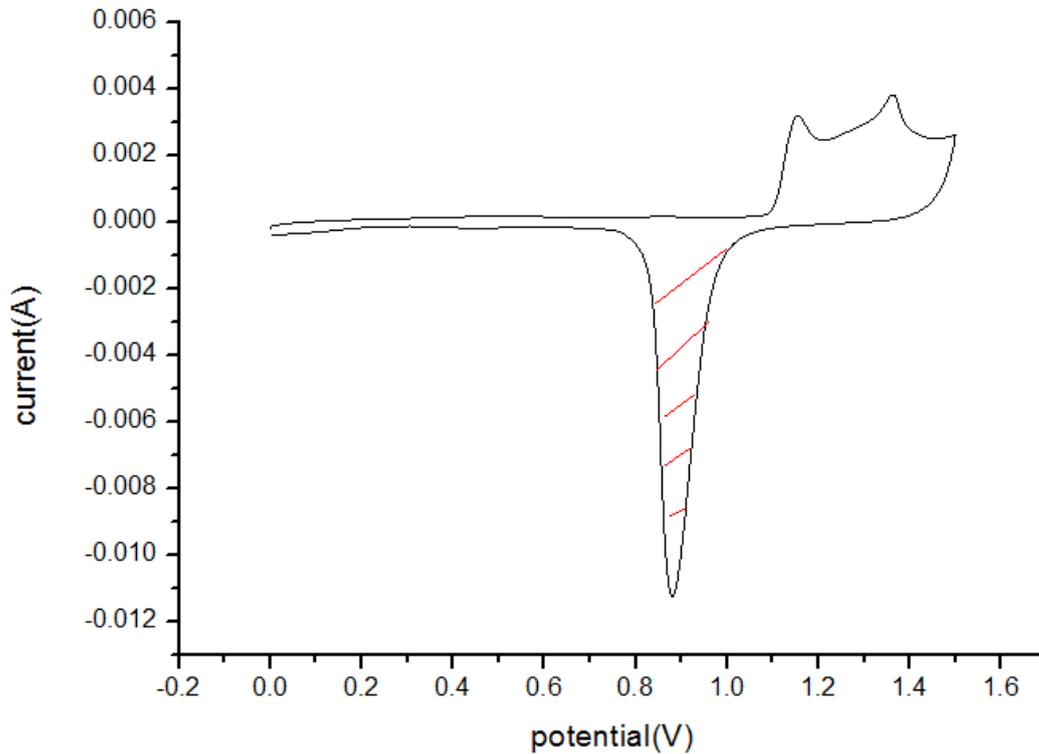


圖 4-2 3000s 樹狀金在 0.5M 硫酸溶液中，掃描速率為 50mVs^{-1} ，斜線面積為金屬還原面積

4-1-2 樹狀金電極 TEM 圖

由於樹狀金三維結構對稱均沿著 (111) 成長，理論上應該為金面心立方每個角度為 70.5° ，但從 TEM 影像圖中，不論是主幹與分支的夾角，或從兩對稱分支的夾角，所量測的角度約為 $66^\circ\sim 70^\circ$ ，圖 4-3 (b) 從主幹兩側分支，分析所夾的角度，約為 135.7° ，圖 4-3 (c) 分析主幹以及分支的夾角，約為 67.75° ，符合從面心立方兩軸 (111) 投影在 (112) 上的角度，如圖 4-4。

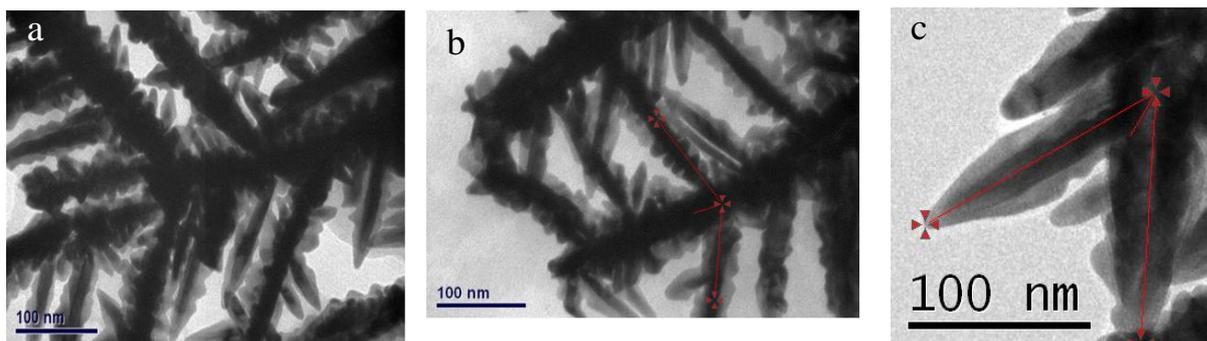


圖 4-3 (a) 3000 秒樹狀金 TEM 圖，(b) 3000 秒樹狀金兩分支夾角 TEM 圖，3000 秒樹狀金主幹分支夾角 TEM 圖

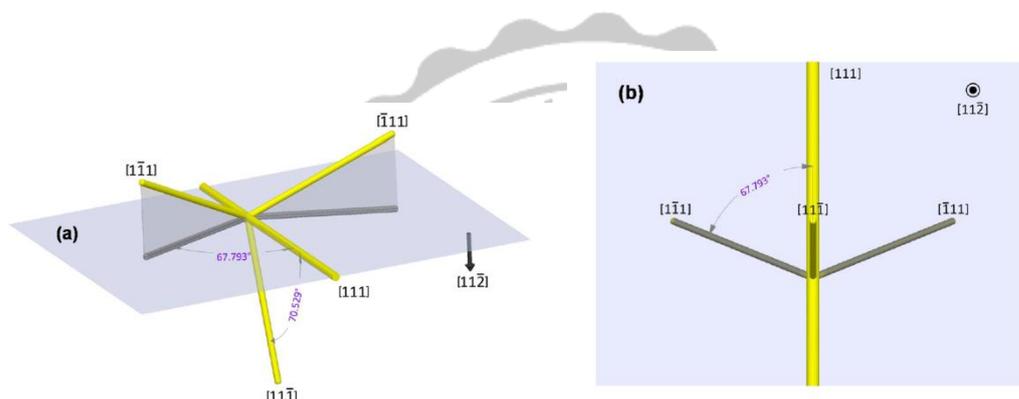


圖 4-4 fcc 金結構在(111)和(11 $\bar{2}$)示意圖，A 為側視圖 B 為俯瞰圖

4-1-3 不同秒數的樹狀金電極 XRD

將不同秒數的樹狀金電極做 XRD 分析，如圖 4-5 深紅色為玻璃碳(GC)背景值的訊號，圖中可看到五個特徵峰的訊號， 2θ 分別為 38.18° 、 44.38° 、 64.57° 、 77.52° 、 81.67° ，而這些所對應的晶格面為 (111)、(200)、(220)、(311)、(222)，明確表示為立方 (fcc) 堆積 (JCPDS Card File, 04-0784)。

而隨著沉積時間的增加，在 38.18° (111) 晶格面，明顯觀察到訊號增強，以及固定狹窄的半高寬中，隨著堆疊的時間越長仍然是以樹狀金穩定堆疊，並非為粒子。而所佔的比例如表 4-1，以玻璃碳當定值，在三千秒時

所佔比值為 1.56，沉積多了快 40 倍，均比其他時間來的高，表示在沉積的過程中隨著(111)方向生長較多，以及選擇性較好，樹枝狀也較為明顯。再由 EDS 圖譜更清楚看出金的純度非常高，如圖 4-6。

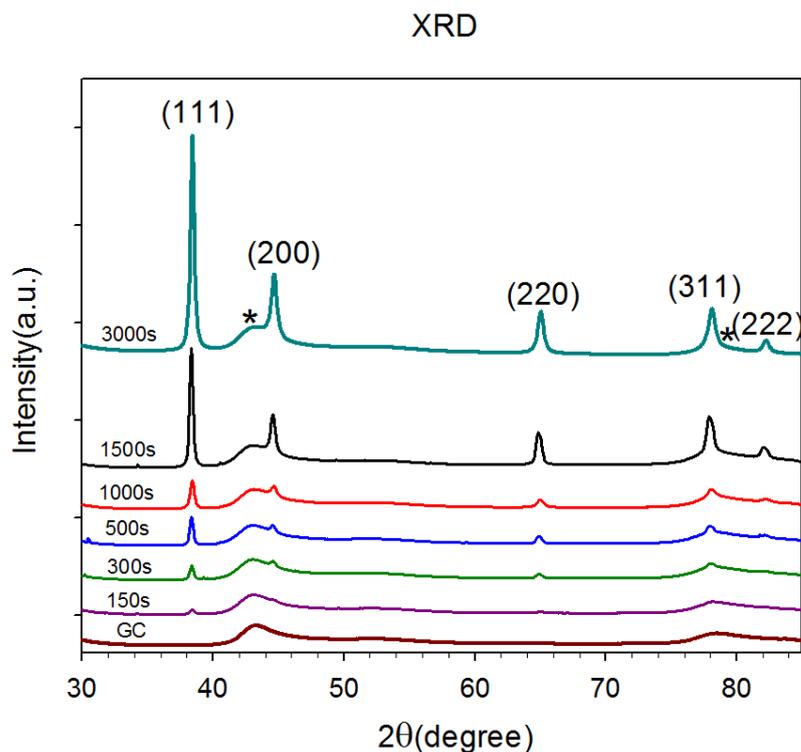


圖 4-5 不同秒數樹狀金的 XRD 圖

表 4-1 樹狀金含量比例

Ratio	(111)	GC	(200)	(220)
3000s	1.56	1	0.69	0.45
1500s	1.07	1	0.42	0.40
1000s	0.30	1	0.11	0.12
500s	0.23	1	0.06	0.09
300s	0.13	1	0.04	0.05
150s	0.04	1	0.006	0.02

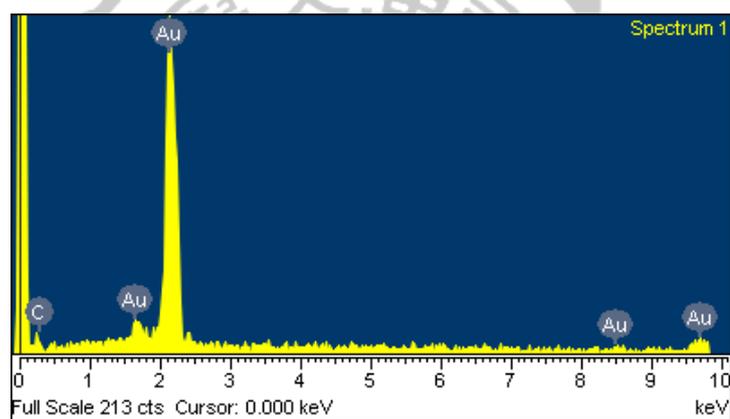


圖 4-6 玻璃碳電極上樹狀金 EDS 圖

4-2 利用樹狀金吸附 4-MPy 以及 4-MBA 分子量測表面增顯拉曼與應用

4-2-1 樹狀金電極對 4-MPy 之表面增顯拉曼量測

如圖 4-7， 1000cm^{-1} ， 1100cm^{-1} ，為 4-MPy 為苯環上 ring breathing 以及 C-S/ring breathing， 1580cm^{-1} ， 1612cm^{-1} 為苯環上 ring stretch 之特徵峰訊號³⁵，所使用的光源為 785 nm，雷射功率為 5.30 mW，積分時間為 3 秒。4-MPy 濃度範圍可由 $500\ \mu\text{M}$ ~ $10\ \text{nM}$ ，最低濃度極限可量測到 $10\ \text{nM}$ ，我們將量測到的 SERS 以 1100cm^{-1} 訊號峰做積分，每個濃度皆取五個點做平均值與誤差值，並以 Langmuir 等溫吸附方程式(式 4-1)計算得到 Langmuir 等溫吸附曲線圖。起初濃度 $500\ \mu\text{M}$ ~ $100\ \mu\text{M}$ 之間為一個持平線，表示此範圍的濃度在樹狀金電極上為一飽和濃度，拉曼訊號強度差異不大；當濃度在 $50\ \mu\text{M}$ 時，開始出現轉折點而往下降，此處約為單層飽和吸附濃度，吸附常數 α 值為 $\alpha = 1.47 \times 10^5$ 。直到 $10\ \text{nM}$ 的最低極限濃度，此之間濃度差成線性斜率快速下降，代表此線性上的濃度為有效量測範圍，在拉曼訊號上的強度成指數性明顯下降。

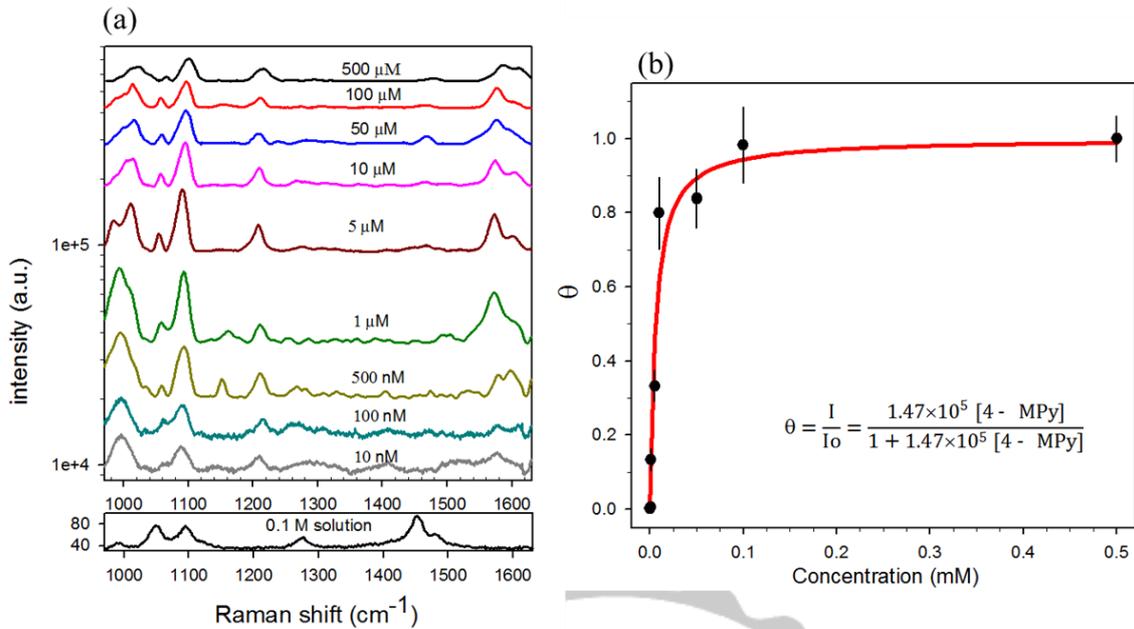


圖 4-7 (a)4-MPy 吸附在樹狀金之表面增顯拉曼光譜(b)4-MPy 在樹狀金之等

溫吸附圖

本段由等溫吸附方程式(Langmuir equation)，探討分子於樹狀金之吸附行為，其公式如下：

$$\theta = \frac{\alpha c}{1 + \alpha c} \quad (4-2)$$

θ 為表面覆蓋分子數正比於拉曼訊號強度， α 為吸附常數， C 為待測物濃度。

4-2-2 樹狀金電極對 4-MBA 之表面增顯拉曼量測

如圖 4-8，在拉曼光譜上 1070 與 1589 cm^{-1} 之特徵訊號峰³⁶，為 4-MBA 苯環上 C-H 及 S-H 伸縮震動與苯環上 C-C 伸縮震動和 C-H 平面彎曲所造成之特徵峰。所使用的光源為 785 nm，雷射功率為 5.30 mW，積分時間為

3 秒。4-MPy 濃度範圍可由 500 μM ~10 nM，最低濃度極限可量測到 10 nM，我們將量測到的 SERS 以 1070 cm^{-1} 訊號峰做積分，每個濃度皆取五個點做平均值與誤差值，並以 (式 4-2) 計算得到 Langmuir 等溫吸附曲線圖。起初濃度 500 μM ~100 μM 之間為一個持平線，表示此範圍的濃度在樹狀金電極上為一飽和濃度，拉曼訊號強度差異不大；當濃度在 50 μM 時，開始出現轉折點而往下降，此處約為單層飽和吸附濃度，吸附常數 α 值為 $\alpha = 1.20 \times 10^5$ 。直到 10 nM 的最低極限濃度，此之間濃度差成線性斜率快速下降，代表此線性上的濃度為有效量測範圍，在拉曼訊號上的強度成指數性明顯下降。

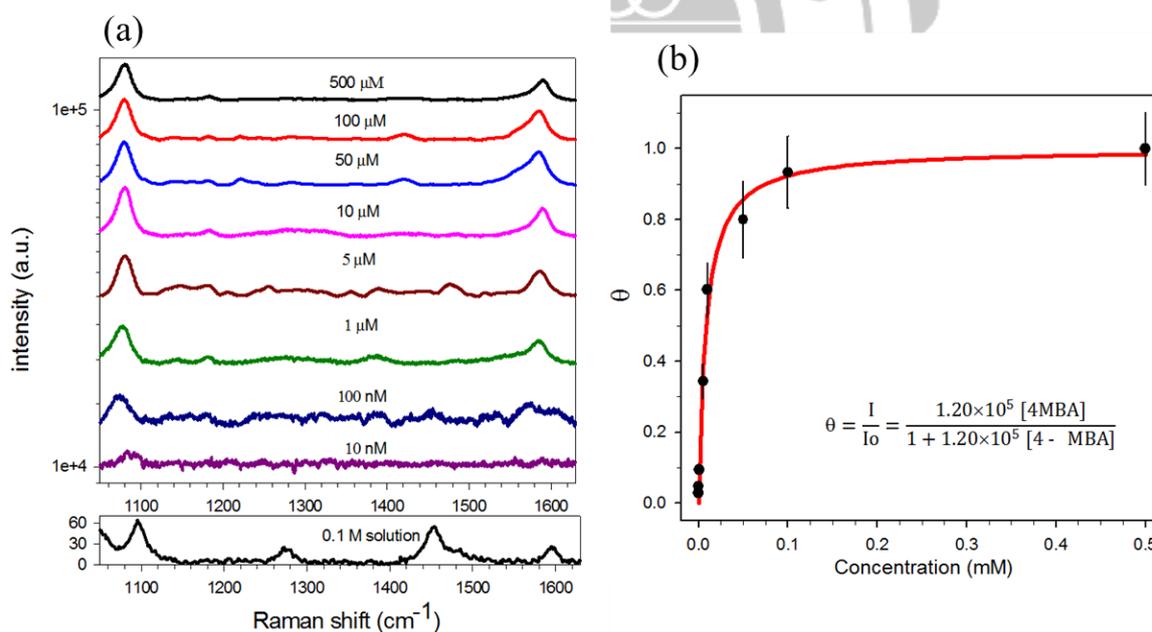


圖 4-8 (a)4-MBA 吸附在樹狀金之表面增顯拉曼光譜(b)4-MBA 在樹狀金之等溫吸附圖

4-2-3 不同 pH 值 4-MPy 之表面增顯拉曼探討

4MPy 的訊號特徵峰在 1000cm^{-1} 為 Ring breathing， 1100cm^{-1} 為 Ring breathing (C-S)，以及 1580cm^{-1} ， 1620cm^{-1} 為 Ring stretching，如表 4-2²⁶，而從酸性環境 (pH3.0) 鹼性環境 (pH9.0)，可看到苯環上的伸縮振動，有明顯的增長以及消長的情形，如圖 4-9，因此之後的探討會以每 0.5 unit 做探討比較。

表 4-2 4MPy 訊號特徵峰

	powder	pH		
		2.5	3.0	9.4
ring breathing	989(s)	1002(s)	1004(s)	1009(m)
X-sensitive	1105(w)	1095(s)	1098(s)	1095(s)
C-H in-plane bending	1199(m)	1254(vw)	1219(m)	1215(m)
N-H deformation		1202(m)	1203(m)	
ring stretch	1604(m) 1619(m)	1616(s)	1615(m) 1577(m)	1576(s) 1615(m)

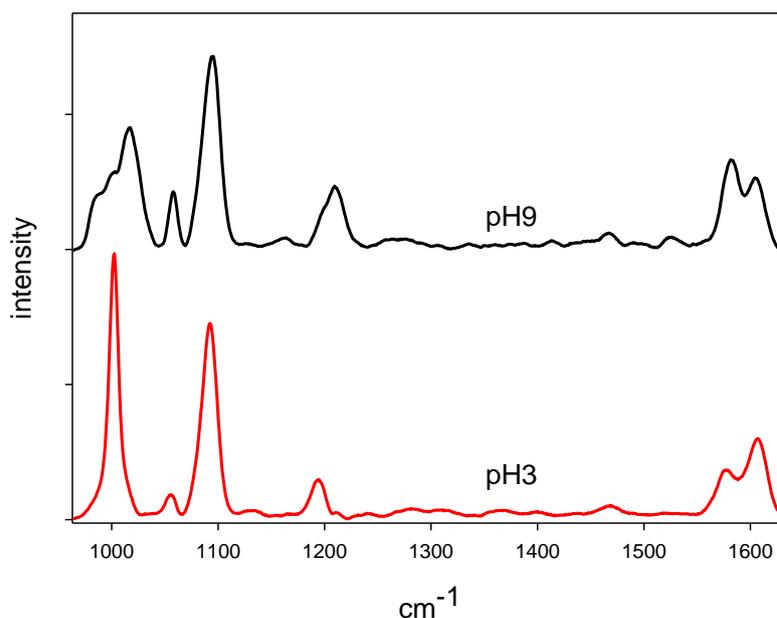


圖 4-9 4-MPy 在 pH3.0 和 pH9.0 之 SERS

在 1000cm^{-1} 為 Ring breathing，可觀察在酸性條件下，有明顯訊號特徵峰，隨著酸性條件到鹼性條件，訊號慢慢下降，因為在改變環境的過程中，質子化所造成環上振動的影響。以及 1100cm^{-1} 為 C-S 端的 Ring breathing，在吸脫附質子的過程中也會造成苯環上雙鍵的振動因而改變訊號比例，如圖 4-10。

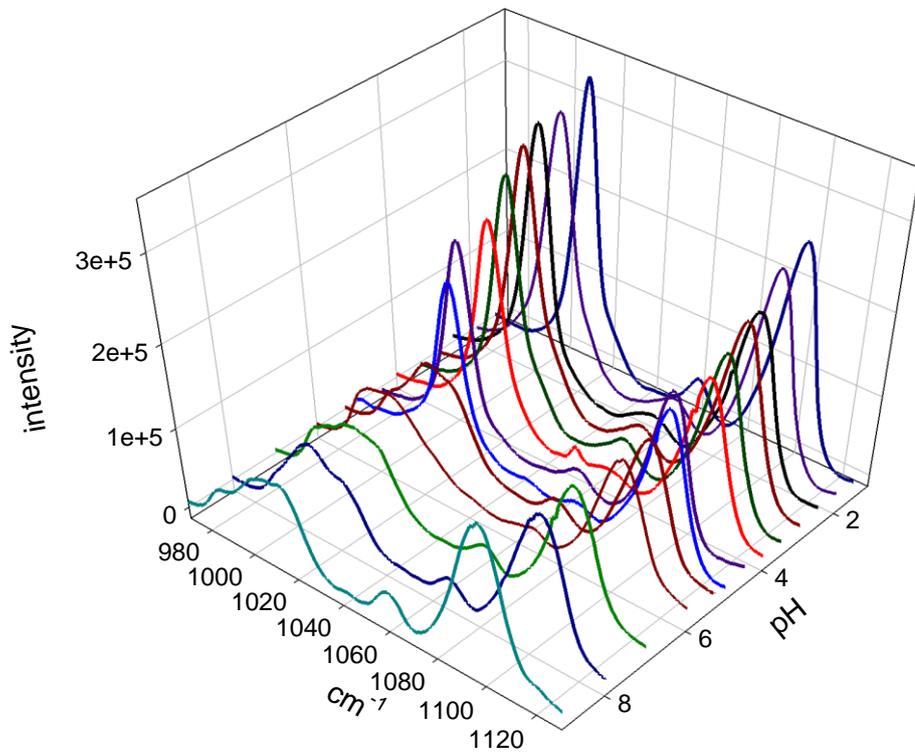


圖 4-10 4-MPy 在 pH1.5~pH9.0 之 SERS

在 1580cm^{-1} ， 1620cm^{-1} 為 Ring stretching， 1580cm^{-1} 訊號隨著酸性環境到鹼性環境，訊號增強，由於苯環上 C=C 震動所造成，而 1620cm^{-1} 訊號隨著酸性環境到鹼性環境，訊號下降，這包含苯環上 C=C 以及 C=N 的振動模式所造成，如圖 4-11。

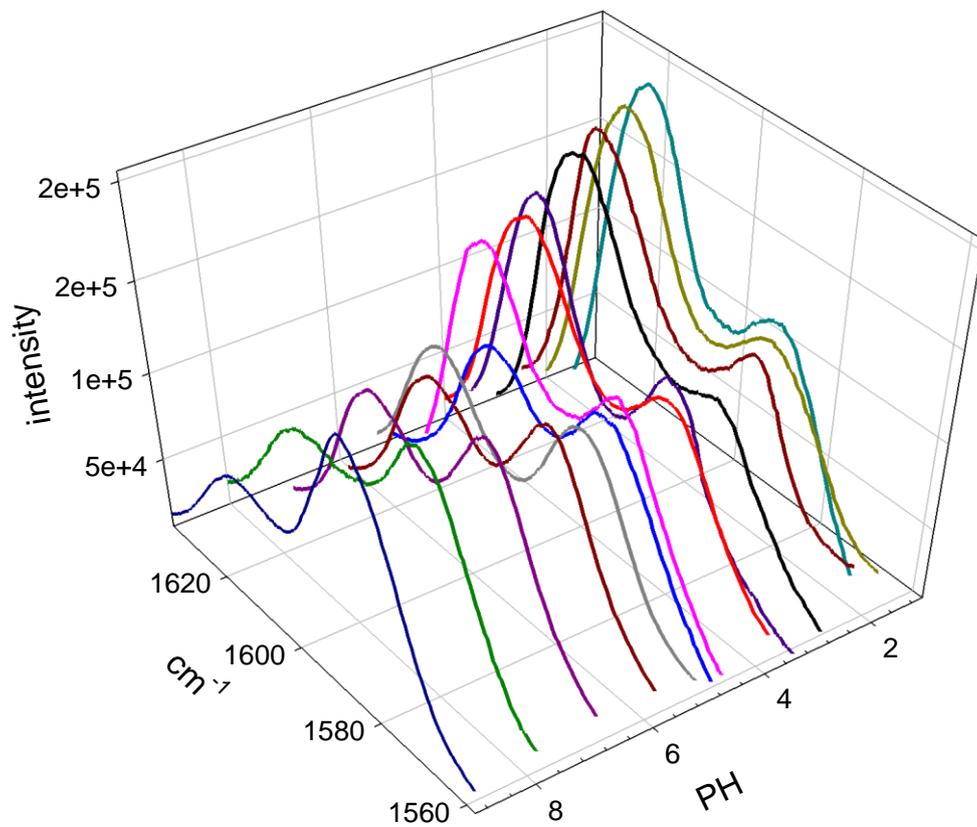


圖 4-11 4-MPy 在 pH1.5~pH9.0 之 SERS

1000cm^{-1} 為 Ring breathing 以及 1620cm^{-1} 為 Ring stretching，從面積分析酸性環境到鹼性環境的變化量，如圖 4-12，以 pH1.5 定量分析，分析相對強度，可觀察出在酸性條件下，強度遞減直到鹼性條件下沒有太大的變化，此圖呈現標準滴定曲線，而 1000cm^{-1} Ring breathing 工作範圍大約在 pH3.0~pH6.0； 1620cm^{-1} Ring stretching 工作範圍大約在 pH3.5~pH9.0，再將兩訊號峰做微分可大約估測 $\text{pKa} \approx 5.3$ 。

1100cm^{-1} 為苯環 Ring breathing (C-S)，以 pH1.5 定量分析，從強度分析酸性環境到鹼性環境的變化量，隨著酸性環境到鹼性環境中，訊號遞減， 1580cm^{-1} 為苯環 Ring stretching，以 pH9.0 定量分析，隨著酸性環境到鹼性環境，訊號遞增，如圖 4-12，而 1100cm^{-1} 和 1580cm^{-1} 兩訊號峰均為遞增遞減到 pH5.3 訊號不再太大變化，而此處預估為 $\text{pKa} \approx 5.3$ 。

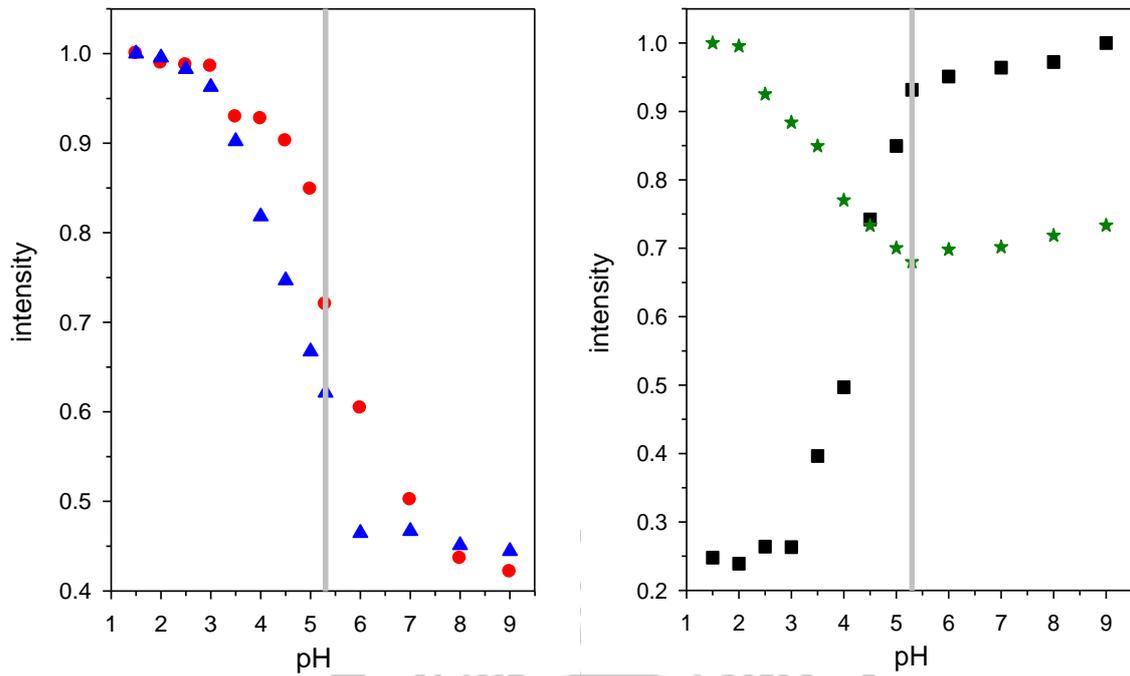


圖 4-12 4-MPy 之 pH1.5~pH9.0 左圖紅色為 1620 cm^{-1} ，藍色為 1000 cm^{-1} ，
右圖黑色為 1580 cm^{-1} ，綠色為 1100 cm^{-1}

再由 1000 cm^{-1} 與 1100 cm^{-1} 做定量分析，以及 1620 cm^{-1} 與 1580 cm^{-1} 定量分析，如圖 4-13，可見其模擬曲線呈現標準滴定曲線，工作範圍約於 pH3.0~H6.0 之間，將滴定曲線做微分則為反曲點，其值為 $\text{pKa} \doteq 5.3$ 。

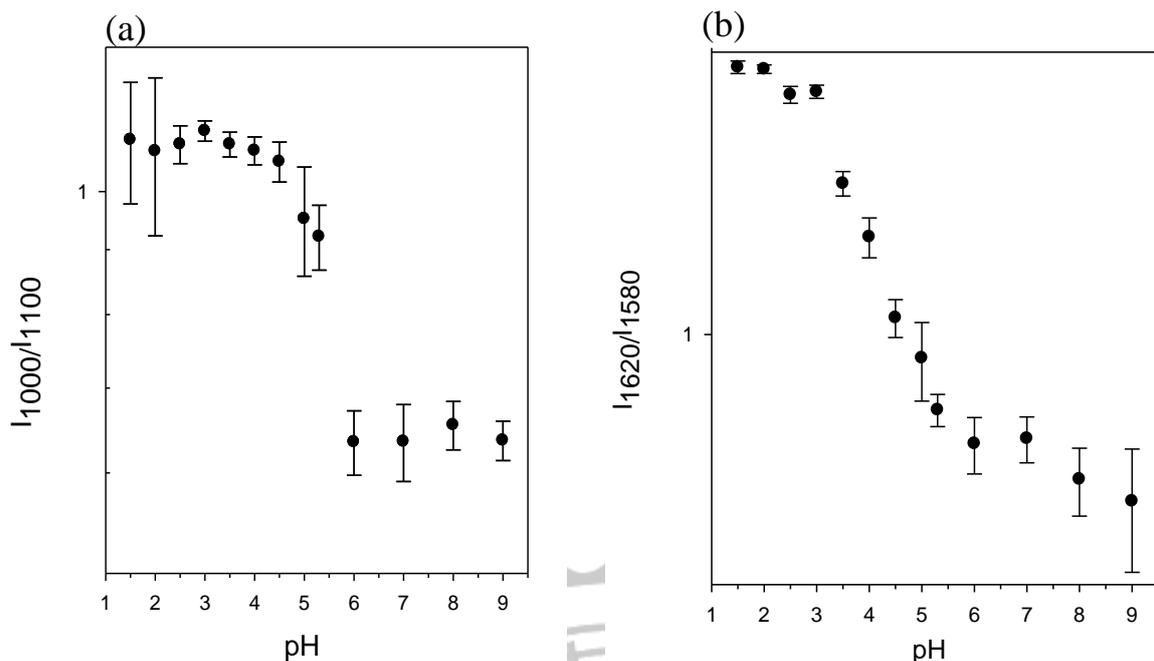


圖 4-13 (a) 4-MPy 在 pH1.5~pH9 之 1000cm^{-1} 與 1100cm^{-1} 強度比例 (b)

4-MPy 在 pH1.5~pH9 之 1620cm^{-1} 與 1580cm^{-1} 強度比例

4-2-4 不同 pH 值 4-MBA 之表面增顯拉曼探討

4MBA 的訊號特徵峰在 1070cm^{-1} 以及 1580cm^{-1} 兩根明顯的訊號，此為苯環上 C-C 伸縮，如表 4-3³⁷，其中在 1390cm^{-1} 羧基，隨著環境的改變從 pH4.0 到 pH9.0 訊號明顯上升，在酸性環境中，由於 4-MBA 的 pKa 值，羧基團仍然會部分解離，在鹼性環境中，多數的羧基團解離，加上共振，因而呈現較高的訊號特徵峰。

而在 1070cm^{-1} 以及 1580cm^{-1} 苯環上 C-C 伸縮，從酸性條件漸漸變成鹼性條件的過程中，我們發現訊號峰有位移的現象，而且偏移量高達 10cm^{-1} 以上。如圖 4-14

表 4-3 4MBA 訊號特徵峰

peak frequency (cm ⁻¹)		assignment ^{a,b}
4-MBA SAM on gold	0.01 M 4-MBA	
1070	1073	$\nu(\text{CC})_{\text{ring}}$
1132	<i>c</i>	$\delta(\text{CH})$
1173	<i>c</i>	$\delta(\text{CH})$
1357	<i>c</i>	$\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$
1575	1575	$\nu(\text{CC})_{\text{ring}}$

^a Assignments from refs 42–44. ^b δ = bend or deformation; ν = stretch; ring = ring breathing mode; a = antisymmetric. ^c Not observed.

4MBA

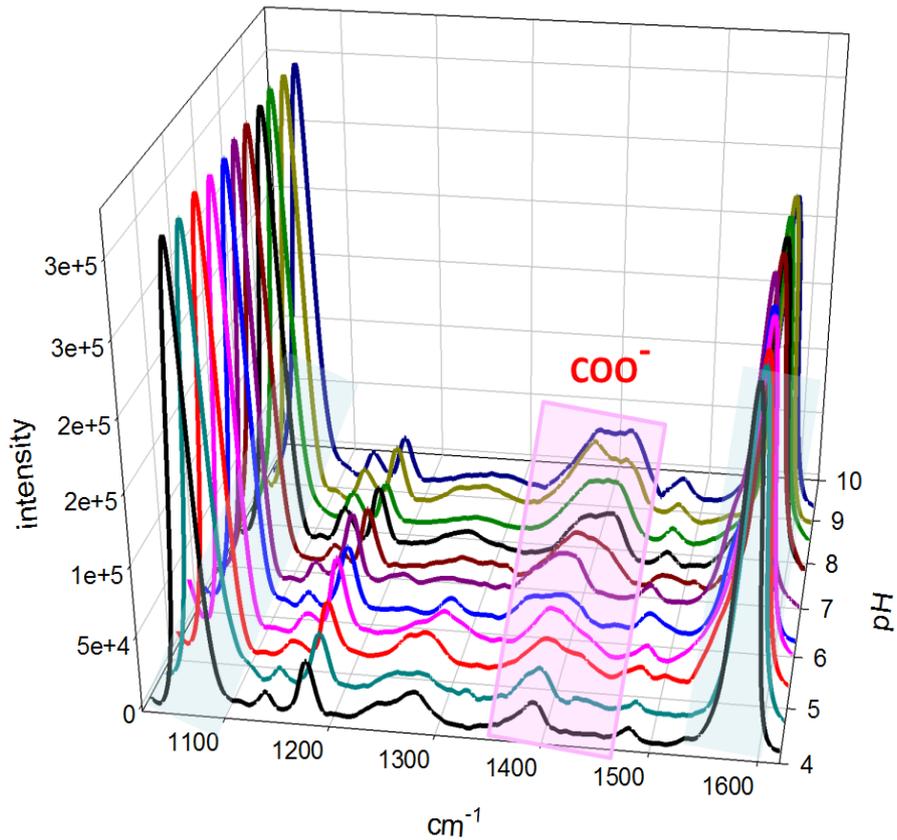


圖 4-14 4-MBA 在 pH4.0~pH9.0 之 SERS

從 1070cm^{-1} aromatic ring stretching 位移量探討，如圖 4-15，我們可以看出在酸性條件到鹼性條件下表現出相當大的差異，其中這個落差高達 13.48cm^{-1} ，但是比較可惜的在於有效線性範圍涵蓋不廣，只從 $\text{pH}6.0\sim\text{pH}8.5$ 。

從 1580cm^{-1} aromatic ring stretching 位移量探討，如圖 4-16，酸性條件到鹼性條件下，拉曼位移有 10.91cm^{-1} ，雖然位移量比 1070cm^{-1} 小，但是所涵蓋的線性範圍比較大，從 $\text{pH}5.0\sim\text{pH}8.0$ 。

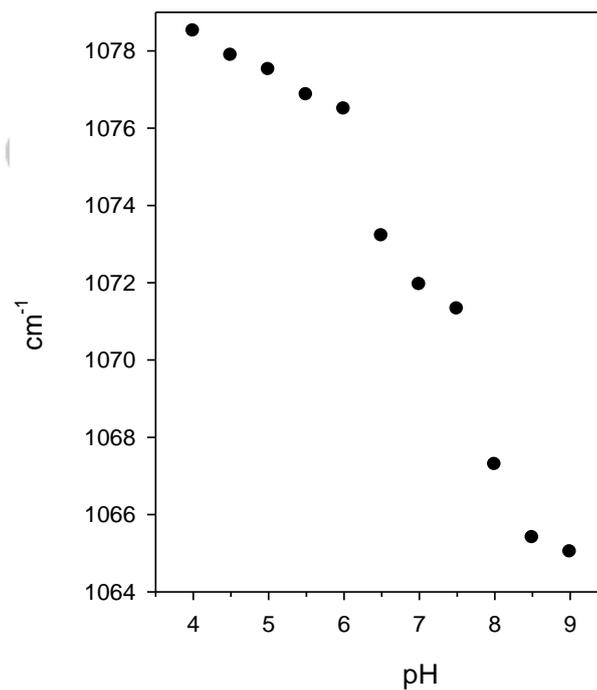


圖 4-154-MBA aromatic ring stretching 位移量

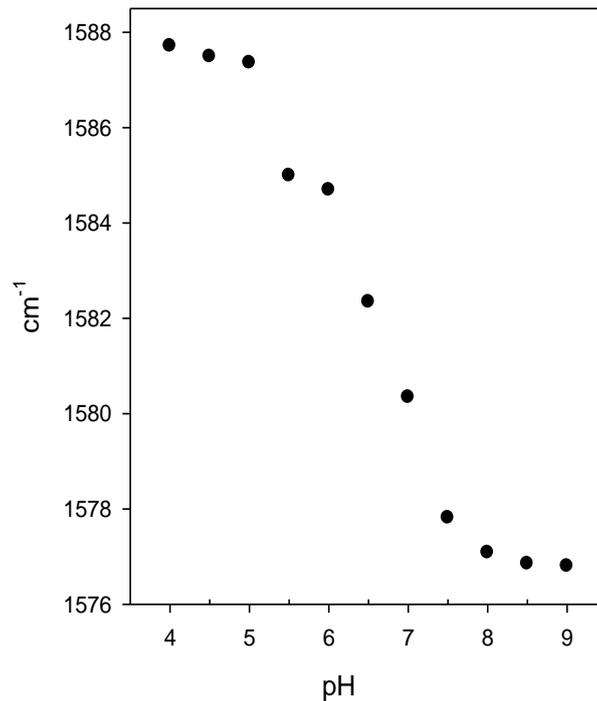


圖 4-16 4-MBA aromatic ring stretching 位移量

最後我們嘗試文獻上所提及，由 COO^- stretch，以及 aromatic ring stretch 做定量分析，如圖 4-17 可看出有效線性範圍在 pH4.0~pH9.0，這涵蓋範圍比用拉曼位移還要來的廣，以及模擬曲線呈現標準滴定曲線，將滴定曲線做微分則為反曲點，其值為 $\text{pK}_a \approx 5.0$ 。而這良好的線性，可以準確且微量做指標性監測環境上 pH 值的變化。

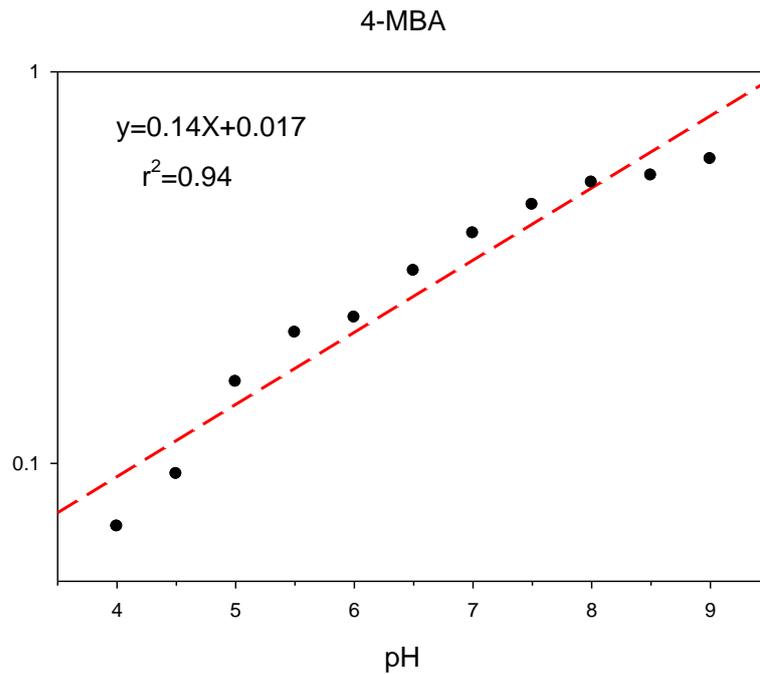
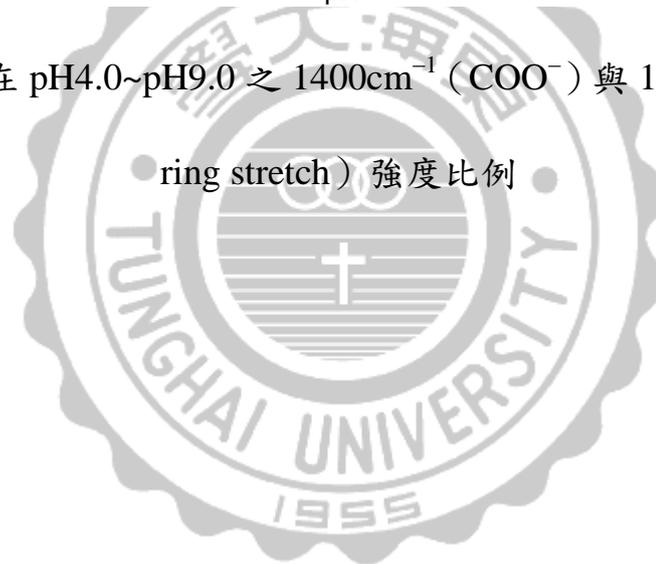


圖 4-17 4-MBA 在 pH4.0~pH9.0 之 1400cm^{-1} (COO^-) 與 1070cm^{-1} (aromatic ring stretch) 強度比例



第五章

結論

電化學沉積是一種快速且具有經濟效益的方法，快速在電極表面沉積樹狀金，沉積三千秒為最佳時間，而且為三維結構，樹狀金電極下，4-MPy 的吸附常數為 1.47×10^5 ，而單層吸附層在 5×10^{-5} ，可量測的濃度範圍 $5 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-8} \text{ M}$ ；4-MBA 吸附常數為 1.20×10^5 ，單層吸附層在 5×10^{-5} ，可量測的濃度範圍 $5 \times 10^{-4} \text{ M} \sim 1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 。

本實驗探討表面增顯拉曼樹狀金電極應用於酸鹼量測當中，使用了 4-MPy 以及 4-MBA 分子，藉由控制溶液中酸鹼值的改變，特徵峰會表現於光譜上，從 4-MPy 分子中，可以初步斷定待測物為酸性或為鹼性，線性工作範圍落在 pH3.0~pH6.0，適用於估算於弱酸條件環境；而 4-MBA 分子，藉由 COO^- 特徵峰和苯環的比例，線性工作範圍落在 pH4.0~pH9.0，其 R 值高達 0.97，固可更精準估算 pH 值。

參考文獻

- (1) Estrera, J. P.; Stevens, P. D.; Glosser, R.; Duncan, W. M.; Kao, Y. C.; Liu, H. Y.; Beam, E. A. *Applied Physics Letters* **1992**, *61*, 1927.
- (2) Lucovsky, G.; Brodsky, M. H.; Chen, M. F.; Chicotka, R. J.; Ward, A. T. *Physical Review B* **1971**, *4*, 1945.
- (3) Gagnon, G.; Houdayer, A.; Currie, J. F.; Azelmad, A. *Journal of Applied Physics* **1991**, *70*, 1036.
- (4) Bour, D. P.; Shealy, J. R.; Ksendzov, A.; Pollak, F. *Journal of Applied Physics* **1988**, *64*, 6456.
- (5) Dou, X.; Yamaguchi, Y.; Yamamoto, H.; Doi, S.; Ozaki, Y. *Vibrational Spectroscopy* **1996**, *13*, 83.
- (6) McMurdy, J. W.; Berger, A. J. *Appl. Spectrosc.* **2003**, *57*, 522.
- (7) Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J. *Chemical Physics Letters* **1974**, *26*, 163.
- (8) Kerker, M.; Wang, D. S.; Chew, H. *Appl. Opt.* **1980**, *19*, 3373.
- (9) Jeanmaire, D. L.; Van Duyne, R. P. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **1977**, *84*, 1.
- (10) Kim, K.; Kim, K. L.; Lee, S. J. *Chemical Physics Letters* **2005**, *403*, 77.
- (11) Sau, T. K.; Rogach, A. L. *Advanced Materials* **2010**, *22*, 1781.
- (12) Porter, M. D.; Lipert, R. J.; Siperko, L. M.; Wang, G.; Narayanan, R. *Chemical Society Reviews* **2008**, *37*, 1001.
- (13) Maher, R. C.; Galloway, C. M.; Le Ru, E. C.; Cohen, L. F.; Etchegoin, P. G. *Chemical Society Reviews* **2008**, *37*, 965.
- (14) Kneipp, K.; Kneipp, H.; Kartha, V. B.; Manoharan, R.; Deinum, G.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. *Physical Review E* **1998**, *57*, R6281.
- (15) Kneipp, K.; Wang, Y.; Kneipp, H.; Perelman, L. T.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. *Physical Review Letters* **1997**, *78*, 1667.
- (16) Li, W.; Camargo, P. H. C.; Lu, X.; Xia, Y. *Nano Letters* **2009**, *9*, 485.
- (17) Trachta, G.; Schwarze, B.; Sägmüller, B.; Brehm, G.; Schneider, S. *Journal of Molecular Structure* **2004**, *693*, 175.
- (18) Bishnoi, S. W.; Rozell, C. J.; Levin, C. S.; Gheith, M. K.; Johnson, B. R.; Johnson, D. H.; Halas, N. J. *Nano Letters* **2006**, *6*, 1687.
- (19) Schwartzberg, A. M.; Oshiro, T. Y.; Zhang, J. Z.; Huser, T.; Talley, C. E. *Analytical Chemistry* **2006**, *78*, 4732.
- (20) Wang, F.; Widejko, R. G.; Yang, Z.; Nguyen, K. T.; Chen, H.; Fernando, L. P.; Christensen, K. A.; Anker, J. N. *Analytical Chemistry* **2012**, *84*, 8013.
- (21) Jensen, R. A.; Sherin, J.; Emory, S. R. *Appl. Spectrosc.* **2007**, *61*, 832.

- (22) Ji, W.; Spegazzini, N.; Kitahama, Y.; Chen, Y.; Zhao, B.; Ozaki, Y. *The Journal of Physical Chemistry Letters* **2012**, *3*, 3204.
- (23) Wang, Z.; Bonoiu, A.; Samoc, M.; Cui, Y.; Prasad, P. N. *Biosensors and Bioelectronics* **2008**, *23*, 886.
- (24) Piotrowski, P.; Wrzosek, B.; Krolikowska, A.; Bukowska, J. *Analyst* **2014**, *139*, 1101.
- (25) Kneipp, J.; Kneipp, H.; Wittig, B.; Kneipp, K. *Nano Letters* **2007**, *7*, 2819.
- (26) Yu, H.-Z.; Xia, N.; Liu, Z.-F. *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 1354.
- (27) Nomura, K.; Shibata, N.; Maeda, M. *Journal of The Electrochemical Society* **2002**, *149*, F76.
- (28) Lin, T.-H.; Lin, C.-W.; Liu, H.-H.; Sheu, J.-T.; Hung, W.-H. *Chemical Communications* **2011**, *47*, 2044.
- (29) Arihara, K.; Ariga, T.; Takashima, N.; Arihara, K.; Okajima, T.; Kitamura, F.; Tokuda, K.; Ohsaka, T. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2003**, *5*, 3758.
- (30) McCreery, R. L. *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*; Wiley, 2005.
- (31) Katrin, K.; Harald, K.; Irving, I.; Ramachandra, R. D.; Michael, S. F. *Journal of Physics: Condensed Matter* **2002**, *14*, R597.
- (32) Champion, A.; Kambhampati, P. *Chemical Society Reviews* **1998**, *27*, 241.
- (33) Brolo, A. G.; Irish, D. E.; Smith, B. D. *Journal of Molecular Structure* **1997**, *405*, 29.
- (34) Etchegoin, P. G.; Le Ru, E. C. *Physical Chemistry Chemical Physics* **2008**, *10*, 6079.
- (35) Silva, R.; Biradar, A. V.; Fabris, L.; Asefa, T. *The Journal of Physical Chemistry C* **2011**, *115*, 22810.
- (36) Nagashree, K. L.; Lavanya, R.; Kavitha, C.; Narayanan, N. S. V.; Sampath, S. *RSC Advances* **2013**, *3*, 8356.
- (37) Orendorff, C. J.; Gole, A.; Sau, T. K.; Murphy, C. J. *Analytical Chemistry* **2005**, *77*, 3261.