

中華民國第 59 屆中小學科學展覽會 作品說明書

高級中等學校組 化學科

050209

利用硫醇分子合成之螢光銅奈米團簇偵測三價
鐵離子

學校名稱：國立政治大學附屬高級中學

作者： 高二 周詩宇 高二 孫暉鈞 高二 陳彥佐	指導老師： 姚月雲
---	------------------

關鍵詞：硫醇、銅奈米團簇、 Fe^{3+}

摘要

本研究利用硫代水楊酸(TA)的硫醇基作為配體，合成出螢光銅奈米團簇 TA-Cu NCs。我們改變了硫代水楊酸 (TA) 與銅離子 (Cu^{2+}) 的合成比例，發現當 TA : Cu^{2+} 為 1 : 3 且酒精的體積濃度為 50% 時，擁有最高的螢光強度，為最佳的合成條件。之後我們對 TA-Cu NCs 進行材料的相關分析，得知 TA-Cu NCs 的粒徑大小約為 $3.7 \text{ nm} \pm 0.4 \text{ nm}$ 、量子產率約為 3%。對常見的金屬離子 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ag^+ 、 Pb^{2+} 進行偵測後，發現 TA-Cu NCs 對於鐵離子具有較好的選擇性。加入緩衝液進行探討，發現加入 pH7 的 Tris 緩衝液，是最好的偵測環境，偵測極限為 $9.6 \mu\text{M}$ 。最後我們對小坑溪及碧潭溪水進行鐵離子的偵測，其回收率介於 91%~110%，相對標準偏差小於 3.69%，說明本方法是一個穩定且有效的方法。

壹、研究動機

鐵離子隨處可見，不管是在人體中或是大自然裡，不過過量的鐵離子卻會造成污染。鐵離子的污染可能是土壤或是水，然而檢測土壤中的離子並不容易，依據行政院環保署的規定，水中鐵的濃度要在 10 ppm 以下，因為過多的鐵容易產生臭味，且水會變色產生沉澱物，在工業上使用容易使產品的品質不良。此外鐵離子也是個常見、重要的營養鹽，對於海中藻類的生長影響甚大，而魚類、蝦類、貝類甚至人類都會食用藻類以攝取身體所需的微量的鐵。因此本實驗檢測的重點是水中的三價鐵離子。目前奈米材料具有發展潛力，應用於許多領域中，是國際上的發展重點。不同於塊材，奈米材料有截然不同的物性與化性，於是我們使用硫代水楊酸與銅離子合成金屬奈米團簇，開發出一種能夠偵測鐵離子的材料。銅離子相較於其他貴金屬，例如金、銀離子，擁有許多優勢，價格上便宜許多，此外比起金、銀奈米材料，發展較晚，有更多的發展空間，而使用硫醇分子合成金屬奈米團簇是相對簡單的方法。

在文獻探討中，指出合成奈米團簇通常需要長時間在高溫下的反應及繁雜的實驗步驟，而我們嘗試使用一鍋合成法，並縮短加熱時間及溫度，找出一個更快速合成出奈米團簇的方法。

貳、研究目的




- 一、 合成銅奈米團簇 TA-Cu NCs，並找到最佳的合成條件。
- 二、 對 TA-Cu NCs 進行材料分析與鑑定。
- 三、 探討 TA-Cu NCs 對不同金屬的選擇性。
- 四、 探討 TA-Cu NCs 對 Fe^{3+} 的偵測極限。
- 五、 實際檢測碧潭、小坑溪的鐵金屬離子濃度，並計算其回收率。

參、研究設備及器材

一、 實驗藥品

藥品名稱	化學式	藥品名稱	化學式
硝酸銅	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	氯化鈷	CoCl_2
氯化鎂	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	硝酸鉛	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
氯化鈣	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	硝酸銀	AgNO_3
氯化鐵	FeCl_3	氯化鉀	KCl
氯化銅	CuCl_2	TBE 緩衝液	
硫代水楊酸 (TA)	$\text{HSC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}$	硝酸	HNO_3
鹽酸	HCl	磷酸鈉	Na_3PO_4
磷酸氫二鈉	Na_2HPO_4	去離子水 DI water	H_2O
磷酸二氫鈉	NaH_2PO_4	無水酒精 (99.5%) EtOH	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
磷酸二氫銨	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$		

二、 儀器設備

離心機		試管 振盪器	
螢光 光譜儀		UV-vis 吸收儀	
螢光儀		電子天平	
pH Meter		超音波 震盪器	

肆、研究過程或方法

一、文獻探討

在之前的文獻中可以得知金屬奈米材料是一種大小介於金屬原子與塊材(bulk)之間的材料，此奈米尺度的材料，因其表面積比起塊材大幅增加，許多原子暴露於表面以及介面上，大幅改變材料的物性與化性。由於其奈米等級的大小，具有獨特的尺寸效應(size-dependent properties)、表面效應(surface effects)與量子效應(quantum effects)。使該類材料被廣泛的應用於許多領域，舉凡物理、化學、生物、醫學等等都有相關的研究，在研究上時常作為感測器、藥物載體、催化劑與顯影劑等。



圖一：金屬奈米團簇的應用

當金屬奈米材料的尺寸變小後，金屬中的自由電子會因為空間上的侷限而極化，使其開始產生能隙，此時的銅奈米團簇的物理與化學性質已發生改變，與奈米粒子與金屬原子的性質皆有些微差異，這類新型的金屬奈米材料被稱為金屬奈米團簇(metal nanoclusters)。

貴金屬材料 (Ag、Au、Pt) 導電度高，不易發生化學反應，合成貴金屬奈米材料的步驟較為簡單，且能選用多種配體合成並調控其性質，此種金屬奈米材料具有小而均勻的尺寸，且具有高度生物相容性與光穩定性，使貴金屬奈米材料備受重視。

配體(ligand)影響金屬奈米團簇的放光機制是近年來熱門的研究主題之一，配體與金屬間的作用力會強烈影響奈米團簇的放光能量，其放光牽涉到金屬奈米團簇的金屬核單重態，並透過螢光路徑放光，甚至可能通過系統間跨越到三重態，再回到基態放出磷光。

參考歷屆科展作品，發現 2016 年高中學生利用硫醇小分子 (PA) 合成出金銅奈米團簇，藉由過氧化氫改變團簇表面特性，使螢光強度減弱來進行間接偵測葡萄糖濃度。2018 年高中學生使用牛血清白蛋白 (BSA)、穀胱甘肽 (GSH)、金屬離子合成金奈米團簇，且發現此金奈米團簇在血液中對葡萄糖具有專一性，可穩定進行血糖檢測。

而相較於其他貴金屬，銅在地球上含量較多且具有價格優勢，方便應用於工業商業上。但因為銅奈米團簇容易氧化，難以保存，相較於發展成熟的金與銀奈米團簇，相關的研究與製程方法較少。

雖然銅奈米團簇較晚發展，但已經有相關的合成方法。在相關的文獻報告中可以看到，銅奈米團簇可以依據配體種類分為 DNA 或蛋白質模板、聚合物模板與硫醇小分子合成銅奈米團簇三類，其合成方式比較如下表1。

表一：各種奈米團簇配體種類上的優缺點比較表

配體種類	DNA或蛋白質模板	聚合物模板	硫醇小分子
優點	良好的生物相容性 與豐富的官能基	擁有大量的單一官能基，能使特定的現象或是訊號更容易被觀察到。	合成方法較為簡單，能選擇多種配體合成各式銅奈米團簇。
缺點	在酸性環境中會變質而不穩定	易受到溫度或離子變化的干擾	材料不穩定，難以運用在複雜基質中
應用	生物感測器與細胞顯影	尿液中碘離子檢測	水中小分子與離子檢測

本研究即是主要是透過利用小分子硫代水楊酸(TA)作為配體，結合硫醇基來合成銅奈米團簇，僅使用單一配體且使用一鍋合成法，同時縮短反應時間及溫度，一方面希望能簡化合成方法，也希望能達到低耗能及低耗材。

二、 合成 TA-Cu NCs 並探討最佳化合成比例

(一) 改變 TA 與 Cu^{2+} 的比例

1. 以無水酒精 EtOH 配製 0.05 M 硫代水楊酸溶液 (TA)
2. 以去離子水 DI 配製 0.025 M 硝酸銅水溶液。
3. 加入不同比例 TA、 Cu^{2+} ，改變條件如下表二：

表二：不同 TA : Cu^{2+} 之合成比例 (單位： μL)

	DI	EtOH	TA	Cu^{2+}	TA : Cu^{2+} 莫耳數比
# 1	500	375	25	100	1:2
# 2	500	350	50	100	1:1
# 3	500	300	100	100	2:1
# 4	500	250	150	100	3:1
# 5	500	200	200	100	4:1
# 6	500	150	250	100	5:1
# 7	500	100	300	100	6:1
# 8	500	50	350	100	7:1
# 9	500	0	400	100	8:1

4. 將 # 1, # 2, …… # 9 微量試管，分別在 70 °C 下加熱 4 小時。
5. 使用離心機以 5000 rpm 下離心 1 分鐘，以微量滴管取出上清液，除去沉澱物，得到產物 TA-Cu NCs。
6. 取上清液以螢光光譜儀檢測其螢光強度。

(二) 改變 EtOH、TA 的比例

1. 以無水酒精 EtOH 配製 0.05 M 硫代水楊酸溶液 (TA)
2. 以去離子水 DI 配製 0.025 M 硝酸銅水溶液。

3. 加入不同比例 EtOH、TA 改變條件如下表三：

表三：不同 TA : Cu²⁺ 之合成比例 (單位：μL)

	DI	EtOH	TA	Cu ²⁺	酒精濃度
# 10	700	50	150	100	20%
# 11	600	150	150	100	30%
# 12	500	250	150	100	40%
# 13	400	350	150	100	50%
# 14	300	450	150	100	60%
# 15	200	550	150	100	70%
# 16	100	650	150	100	80%
# 17	0	750	150	100	90%

注：因為 TA 是以 EtOH 作為溶劑，因此在計算酒精濃度時，是以表中「EtOH」與「TA」的體積相加再除以總體積。

4. 將 # 10, # 11, …… , # 17 微量試管分別在 70 °C 下加熱 4 小時。
5. 使用離心機以 5000 rpm 下離心 1 分鐘，以微量滴管取出上清液，除去沉澱物，得到產物 TA-Cu NCs。
6. 取上清液以螢光光譜儀檢測其螢光強度。

三、 TA-Cu NCs 材料鑑定

(一) 紫外光燈

1. 將 TA-Cu NCs 至於紫外光燈下，觀察其螢光。

(二) 量子產率

1. 將 TA-Cu NCs 稀釋到 UV 吸光值介於 0.01 ~ 0.05 之間
2. 計算螢光量子產率(Quantum Yield, QY)、發光峰位置(Emission Wavelength, λ_{em})及其半高寬(Full Width Half Maximum, FWHM)。

(三) 光穩定性

1. 配製 0.1 M TA-Cu NCs 100 μ L
2. 利用螢光儀以波長 340 nm 激發光照射 0.1 M TA-Cu NCs 2小時，並確認其照射時間內螢光強度。

(四) TEM

1. 配製 0.1 M TA-Cu NCs 100 μ L 。
2. 吸取微量 TA-Cu NCs 並滴在鍍碳膜之銅網上數滴，將銅網靜置陰乾。
3. 將銅網送入 TEM 抽真空並拍攝。

(五) 酸鹼環境對 TA-Cu NCs 放光情形的影響

四、 探討不同金屬離子影響 TA-Cu NCs 螢光強度的效果

(一) 探討 TA-Cu NCs 對不同金屬離子的偵測能力

1. 配製 0.01 M 金屬離子鹽酸溶液 (氯化鉀、氯化鎂、氯化鈣、氯化鐵、氯化銅、氯化鈷) 。
2. 配製 0.01 M 金屬離子硝酸溶液 (硝酸銀、硝酸鉛) 。
3. 依序加入 800 μ L DI 、0.1 M TA-Cu NCs 100 μ L 、0.01 M 金屬離子 100 μ L 。
4. 取混合溶液以螢光光譜儀測量其螢光強度 。

(二) 紫外光

1. 配製 0.01 M 硝酸銅水溶液 500 μ L 、0.01 M 氯化鐵水溶液 500 μ L 。
2. 將 0.1 M TA-Cu NCs 100 μ L 分別加入 0.01 M 硝酸銅水溶液 100 μ L 、0.01 M 氯化鐵水溶液 100 μ L 及 DI 100 μ L 共3組 。

3. 將 3 組混合溶液至於紫外光燈下，觀察其螢光。

五、 探討加入緩衝液後 TA-Cu NCs 對金屬離子的辨識效果

(一) 加入磷酸緩衝液系統

1. 配製出皆為 0.4 M 100 mL 的 Na_3PO_4 、 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 水溶液，其 pH 值分別為 12、7.8、4、1.9。
2. 以不同的磷酸緩衝液混合，配製出分別為 pH 3、5、7、9、11 的磷酸緩衝液。
3. 依序加入 700 μL DI、pH 3 的磷酸緩衝液 100 μL 、0.1 M TA-Cu NCs 100 μL 、0.01 M K^+ 混合均勻，並取混合溶液以螢光光譜儀檢測其螢光強度。
4. 承 3. 但改變金屬離子為 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ag^+ 、 Pb^{2+} 。
5. 承 3. 及 4. 但改變 pH 值為 5、7、9、11。

(二) 加入 Tris 緩衝液

1. 配製 pH 7、8、9 Tris-Borate 緩衝液。
2. 依序加入 700 μL DI、pH 7 的 TBE 緩衝液 100 μL 、0.1 M TA-Cu NCs 100 μL 、0.01 M K^+ 混合均勻，並取混合溶液以螢光光譜儀檢測其螢光強度。
3. 承 3. 但改變金屬離子為 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ag^+ 、 Pb^{2+} 。
4. 承 3. 及 4. 但改變 pH 值為 8、9。

六、 探討 TA-Cu NCs 對鐵離子的偵測極限

- (一) 探討 TA-Cu NCs 對鐵離子的偵測極限配製 1×10^{-4} M、 3×10^{-4} M、 5×10^{-4} M、 7×10^{-4} M、 1×10^{-3} M、 2×10^{-3} M、 3×10^{-3} M、 5×10^{-3} M、 8×10^{-3} M、 1×10^{-2} M 氯化鐵水溶液各 100 μL 。

(二) 依序混合 600 μL DI、200 μL TBE緩衝液、0.1 M TA-Cu NCs 100 μL 、氯化鐵水溶液 100 μL 共10組。

(三) 取混合溶液以螢光光譜儀檢測其螢光強度。

七、利用 TA-Cu NCs 偵測河川樣品中的鐵離子

(一) 對河川溪水中金屬離子進行檢測

(二) 取 3 ml 碧潭河水放入離心管，以 12000 rpm 離心 30 分鐘。

(三) 配製 2×10^{-3} M、 4×10^{-3} M、 6×10^{-3} M 氯化鐵水溶液 500 μL 。

(四) 混合 DI 500 μL 、碧潭河水 100 μL 、TBE緩衝液 200 μL 、0.1 M TA-Cu NCs 100 μL 、 2×10^{-3} M 氯化鐵溶液 100 μL ，取混合溶液以螢光光譜儀檢測其螢光強度。

(五) 承 3. 但改變氯化鐵濃度為 4×10^{-3} M、 6×10^{-3} M。

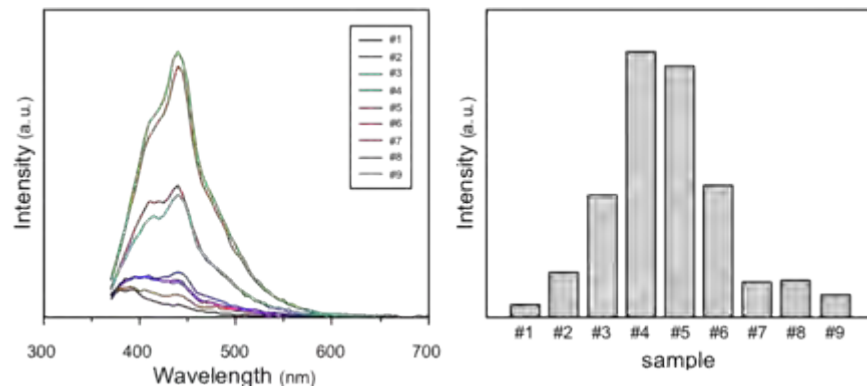
(六) 承 1. 至 4. 但改變河水為小坑溪溪水。

伍、研究結果與討論

一、 合成 TA-Cu NCs 並探討最佳化合成比例

(一) 改變 TA 與 Cu^{2+} 的比例

在合成奈米團簇時，推測 TA 會與銅離子形成共價鍵，因此我們改變 TA 與銅離子的比例，探討最佳的合成條件

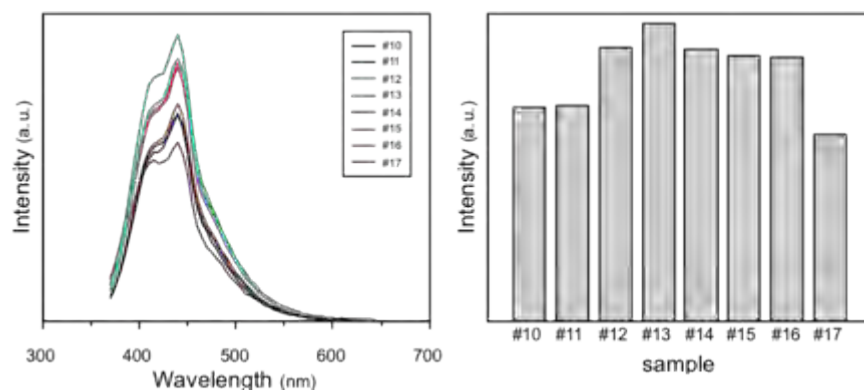


圖二：#1 ~ #9 的螢光光譜圖與螢光強度比例圖。

從圖二，我們可以看到，當 TA： Cu^{2+} 為 3:1 時，其螢光強度明顯較高，因此我們採用這個比例來進行接下來合成條件的探討。

(二) 改變 EtOH 的比例

在合成的過程中，因為 TA 較難溶於水，因此 EtOH 扮演溶劑的角色，在 TA： Cu^{2+} 為 3:1 的固定條件下，改變 EtOH 的濃度，探討溶劑濃度對於螢光強度的影響。



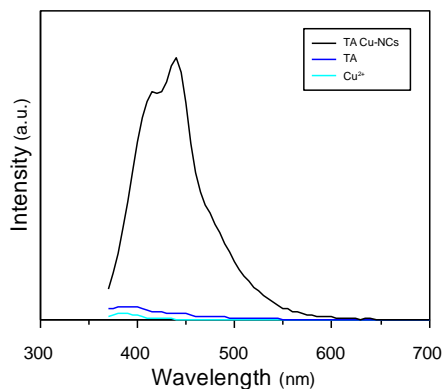
圖三：#10 ~ #17 的螢光光譜圖與螢光強度比例圖

從圖三，我們可以發現，當水與酒精的體積濃度為 50% 時，其螢光強度最高。

從(一)、(二)兩點，我們得知當 TA : Cu²⁺ 為 3 : 1 水與酒精的體積濃度為 50% 時，擁有最高的螢光強度，因此我們將以配方比例，大量合成銅奈米團簇，作為後續實驗使用。

(三) 螢光性質

我們加入以相同濃度與體積，分別加熱 TA 與硝酸銅，以同樣條件下以 70 度加熱四小時，並以螢光光譜儀確認其螢光強度。



圖四：TA、Cu²⁺ 與 TA-Cu NCs 的螢光強度

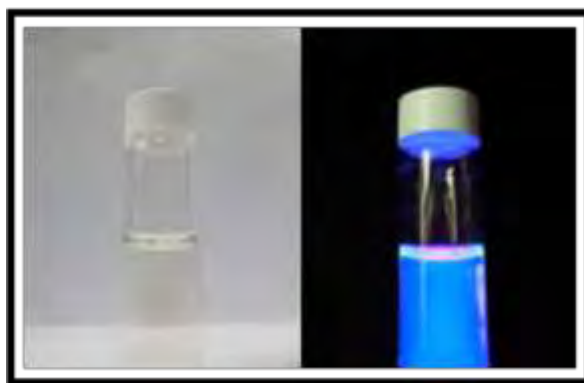
從圖四可得知，TA 與 Cu²⁺ 的螢光強度皆不高，而以一鍋合成法合成的 TA-Cu NCs 具有很高的螢光強度，因此我們可以推定，TA 與 Cu²⁺ 會進行鍵結。而 SH- 硫

醇基比羧酸基與銅離子的鍵結能力強，因此也推測硫醇的孤對電子會與銅離子的空軌域形成配位共價鍵，合成出螢光銅奈米團簇 TA-Cu NCs。

二、 TA-Cu NCs 材料鑑定

(一) 紫外光燈

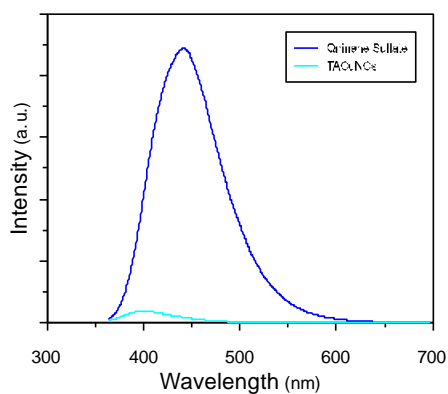
我們的合成出的材料 TA-Cu NCs 在日光燈下呈黃色透明，但透過紫外光的照射下，原先為淡黃色的 TA-Cu NCs 會發出藍色螢光，如圖五，可得知 TA-Cu NCs 具有螢光性質。



圖五：淡黃色的 TA-Cu NCs 在紫外光燈照射下發出藍色螢光

(二) 量子產率

量子產率表示發光的光子數目與被激發光子數的比值，其數值越高表示螢光性質越明顯。量子產率常見的測定法是與硫酸奎寧的量子產率做比較，經過計算即可得知該材料的量子產率。



圖六：硫酸奎寧與 TA-Cu NCs 的螢光光譜曲線圖

圖六的兩條曲線分別是TA-Cu NCs與硫酸奎寧的螢光曲線，將兩條曲線下面積積分後，經過計算可以得到 TA-Cu NCs 的量子產率。

TA-Cu NCs 的螢光光譜資料如下表格，其中發光峰的半高寬 FWHM 代表 TA-Cu NCs 尺寸分布的均勻性，半高寬越窄代表粒徑越均勻，發光波長越集中與放光純度越高。螢光是一種被激發後產生的光，所以當輸入一定的能量後，會激發出一些螢光來，而激發出來的量光量子數，便是量子產率。而螢光量子產率為「發光分子的數目」與「被激發分子的數目」之比值。

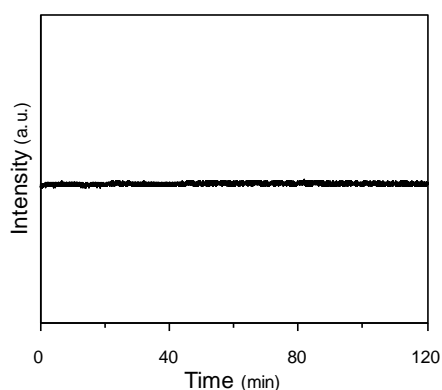
$$\{\text{量子產率}(Q.Y.) = 0.54 \times \frac{\text{奎寧吸收值}(340\text{nm})}{\text{TA-Cu吸收值}(340\text{nm})} \times \frac{\text{TA-Cu螢光面積}}{\text{奎寧螢光面積}}\}$$

	$\lambda_{em}(nm)$	FWHM(nm)	QY(%)
TA-Cu NCs	441.5	69.28	3

經過計算後，TA-Cu NCs 的量子產率約為 3%。雖然我們的量子產率與文獻相較下偏低，但也可推測 TA 扮演著吸收激發光的角色。而硫醇則會促進配體至金屬的電子躍遷而使量子產率上升。且這兩個配體所造成的作用，則可有效的調控 TA-Cu NCs 的螢光性質。

(三) 光穩定性

光穩定性目的在測試具有螢光性質的材料，在長時間的照光之下，其螢光的強度是否維持一定，若螢光強度不容易因為長時間的激發而變化，及說明待測物具有良好的光穩定性。

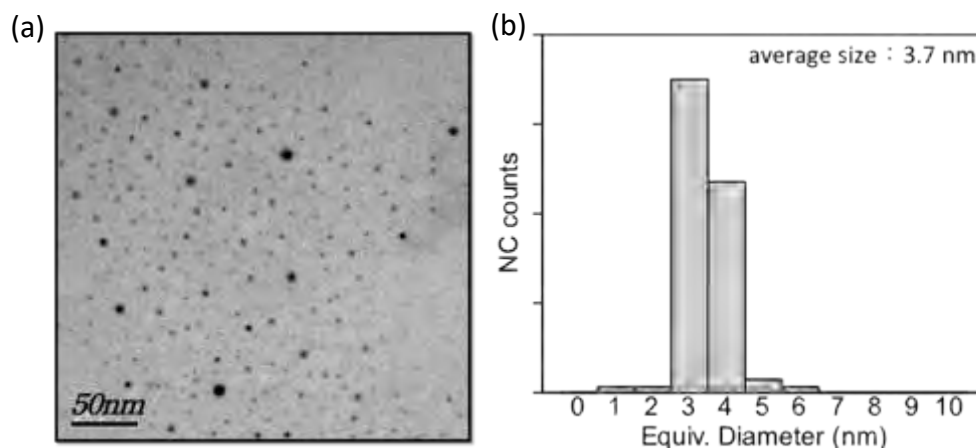


圖七：TA-Cu NCs 在經過 120 分鐘照射下，其螢光強度變化圖

在 120 分鐘內，其螢光強度幾乎不變，可以說明 TA-Cu NCs 不會因為長時間照光而影響螢光性質，即 TA-Cu NCs 具有良好的光穩定性。

(四) TEM

TEM 為穿透式電子顯微鏡，可以在電子的透射下，顯示材料的顆粒，並經過分析與計算，可以得知材料的平均粒徑大小。

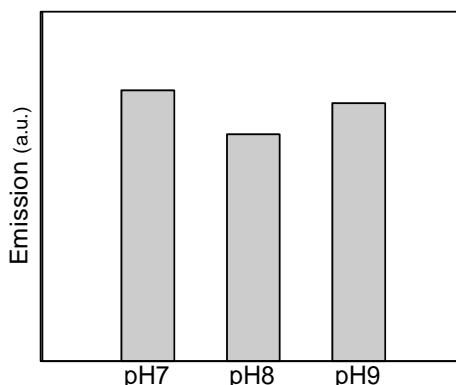


圖八：(a)為電子顯微鏡下拍攝的圖片 (b)為統計123顆粒子的尺寸分佈情形

在經過穿透式電子顯微鏡 TEM 的鑑定及計算後，可以測得 TA-Cu NCs 的平均粒徑大小約為 $3.7 \text{ nm} \pm 0.4 \text{ nm}$ ，粒徑大小分佈情形相當集中，也可說明本材料的性質，不容易因為粒徑大小的不同而有所改變。

(五) 酸鹼環境對 TA-Cu NCs 放光情形的影響

將材料置於不同酸鹼環境下，可以確認其螢光的發光性質是否會因為環境的改變，而大幅影響材料的螢光放光情形。



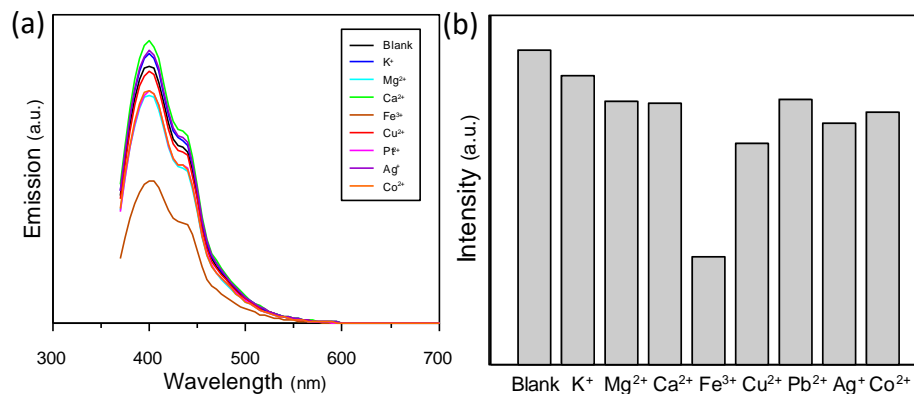
圖九：TA-Cu NCs 置於不同酸鹼環境中其螢光強度比例圖

由圖九我們可以發現在不同酸鹼環境下，其螢光強度皆沒有較大的變化，可以說明本材料 TA-Cu NCs 的螢光性質，不容易受到環境的酸鹼濃度影響。

三、 探討不同金屬離子影響 TA-Cu NCs 螢光強度的效果

(一) 探討 TA-Cu NCs 對不同金屬離子的偵測能力

從文獻可以得知，以硫醇配體合成之螢光銅奈米團簇因為不會因為酸性環境而使團簇的性質發生改變，也能運用於複雜的基質中，因此對於檢測金屬離子有相當的優勢，因此接下來我們將探討本材料對於 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Pt^{2+} 、 Ag^+ 、 Co^{2+} 這些常見的金屬離子的檢測效果，確認不同金屬離子對於 TA-Cu NCs 螢光強度的影響。

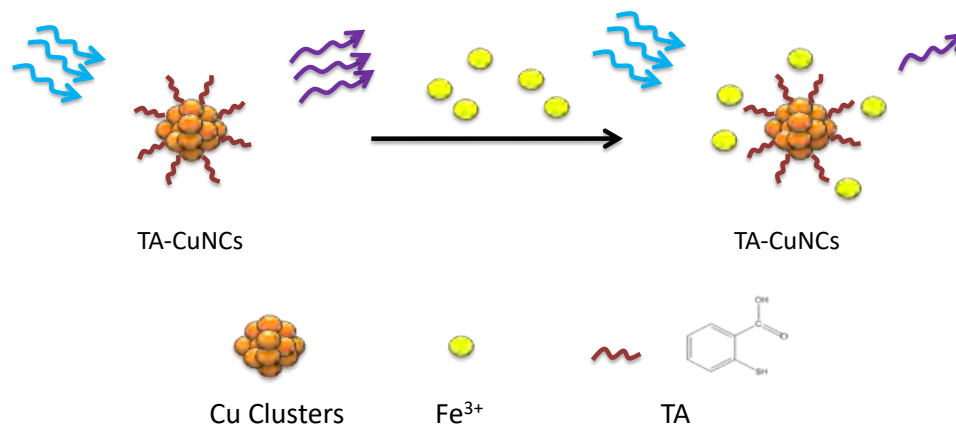


圖十：(a)各加入 0.01M 的金屬離子後的螢光光譜；(b)加入不同金屬離子的螢光強度比例圖。

在材料合成後，希望其作為感測器的同時，也能對於離子具有良好的選擇性，故我們選擇了實驗室常見的金屬離子，進行初步的測試，發現如圖十 (a) 及 (b) ，當加入了不同的金屬離子後，TA-Cu NCs 會與金屬產生螢光淬滅，使螢光強度降低。其中又以鐵離子 (Fe^{3+})，與對照組 Blank進行比較，擁有最顯著的螢光強度變化。

(二) 螢光機制推測

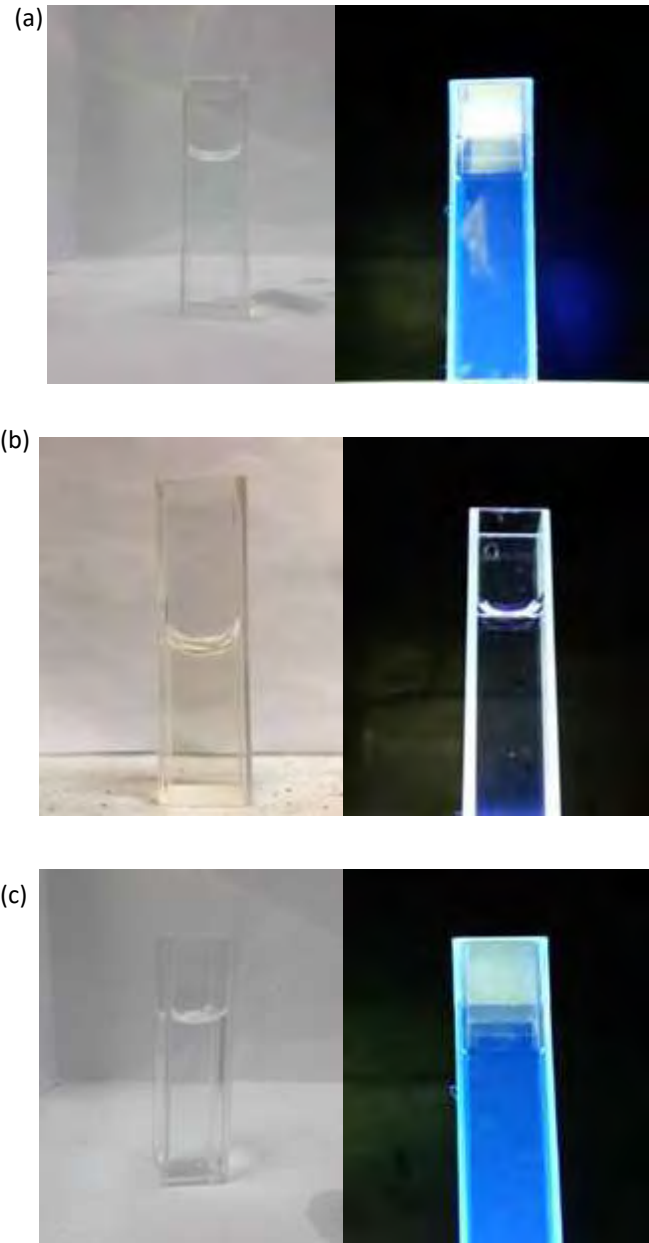
經由文獻探討與比較，當環境存在金屬離子時，會有獨特的螢光內濾鏡效應的產生，由於鐵離子的吸收波長與 TA-Cu NCs 的激發波長相似，因此當鐵離子在環境中，TA-Cu NCs 便會產生螢光淬滅，螢光強度因此降低，其機制圖如圖十一。



圖十一：螢光內濾鏡效應，螢光淬滅機制圖

(三) 紫外光燈

在上步驟可以得知，在加入鐵離子後，TA-Cu NCs的螢光變化相當顯著，因此我們直接將混合溶液放置於紫外光燈的照射下，以肉眼直接觀察螢光是否消失，藉此判斷螢光淬滅與內濾鏡效應的產生與否。



圖十二：紫外光下的 TA-Cu NCs ；圖(a)：未加金屬離子，在紫外光照射下，呈現藍色的螢光；圖(b)：加入鐵離子 10 mM 後，在紫外光照射下，螢光消失；圖(c) 加入銅離子 10 mM 後，在紫外光照射下，螢光仍然存在。

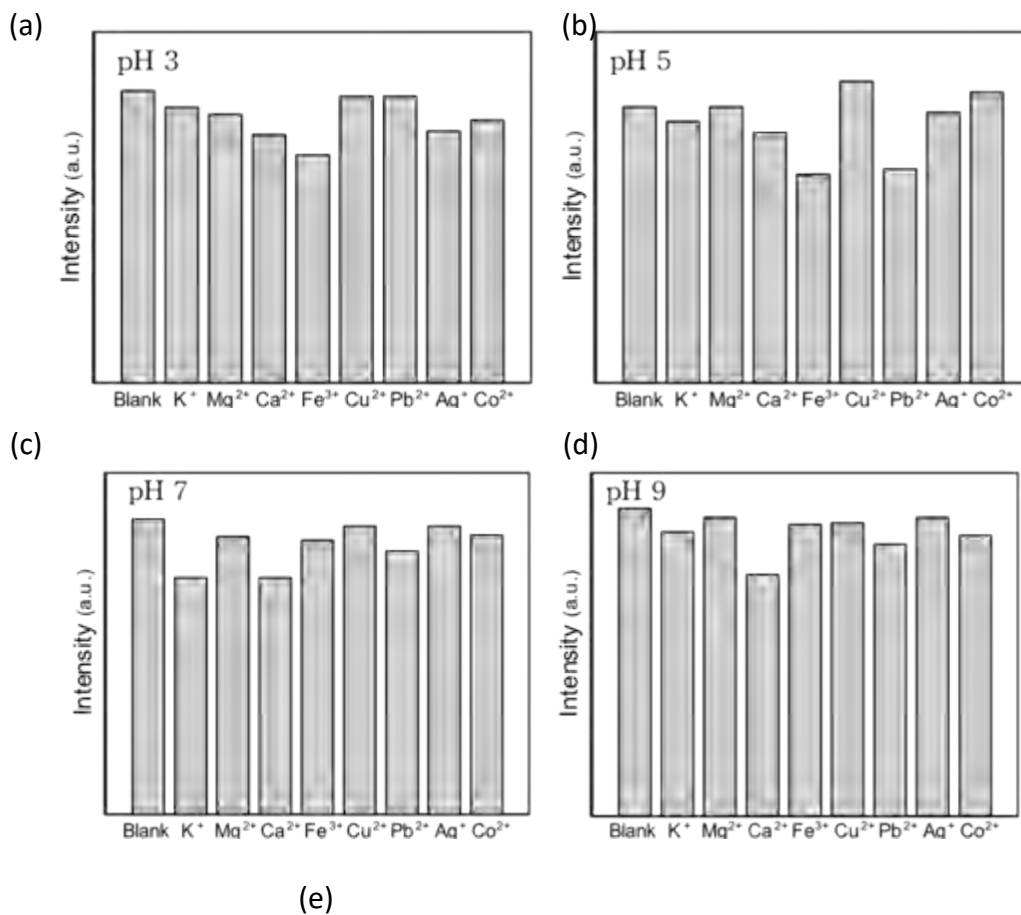
從圖十二的比較圖可以明顯發現，當 TA-Cu NCs 加入鐵離子後，螢光消失，可以佐證螢光光譜儀的結果。同時，加入銅離子後，其螢光仍然存在，可以說明對於鐵離子有相當良好的選擇性。

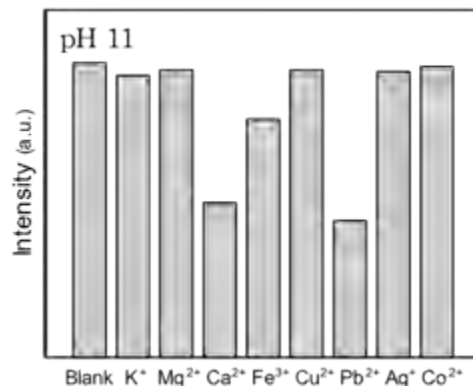
四、 探討加入緩衝液後 TA-Cu NCs 對金屬離子的辨識效果

pH 值是影響光強度的重要因素之一，而調控 pH 值也對於真實樣品的分析效能佔有很重要的關鍵地位，因此我們比較 TA-Cu NCs 在不同 pH 值的緩衝溶液中對各種金屬離子的辨識效果，分別以磷酸緩衝液與 Tris 緩衝液進行添加，其結果如下。

(一) 加入磷酸緩衝液系統

為了確認不同 pH 值對於檢測金屬離子的影響，因此我們選用這個常見的磷酸緩衝液來測試，因為其有效緩衝範圍為 1 ~ 12，pH 範圍相當大，因此我們首先以磷酸緩衝液系統進行測試。由於其緩衝範圍大，因此我們採用 pH 3、pH 5、pH 7、pH 9 以及 pH 11 進行測試。



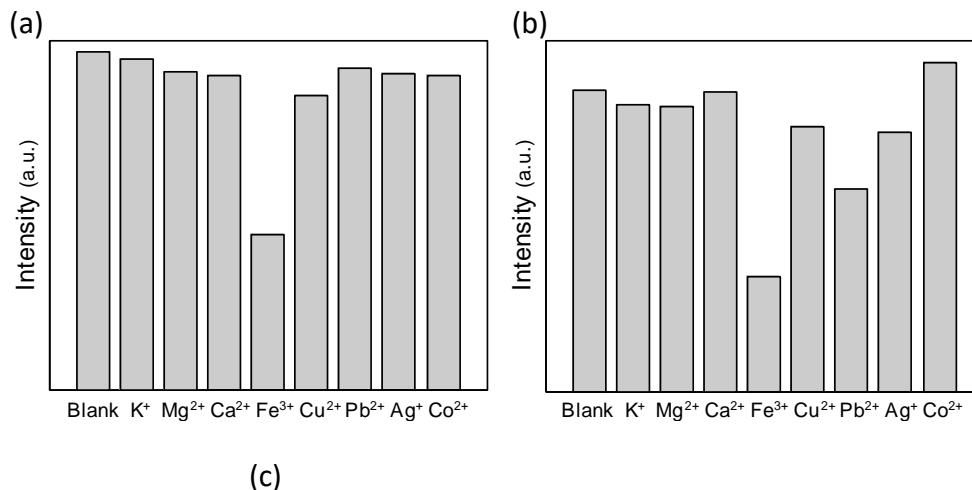


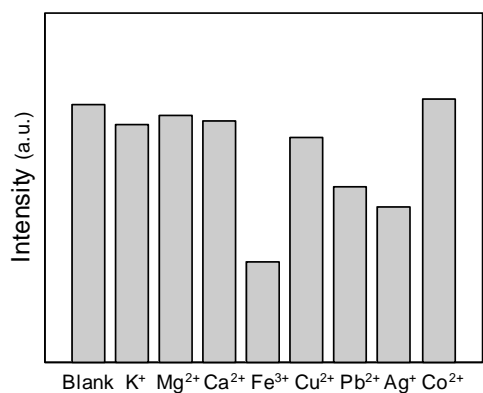
圖十三：在加入不同 pH 值磷酸緩衝溶液後，取放光強度最高 415nm 螢光強度繪製比例圖。(a) 為加入 pH 3 的磷酸緩衝液；(b)為加入 pH 5 的磷酸緩衝液；(c)為加入 pH 7 的磷酸緩衝液；(d) 為加入 pH 9 的磷酸緩衝液；(e)為加入 pH 11 的磷酸緩衝液。

加入磷酸緩衝液後，預測會與未加緩衝液具有相似的結果，但從這五張圖表可以得知，在加入不同酸鹼值的磷酸緩衝液後，其產生的螢光淬滅，與未加緩衝液的情況，有很大的差距，因此我們推測，磷酸會與金屬離子反應，而金屬離子與磷酸緩衝系統間的化學變化機制，我們還在推測中，但無庸置疑的是，磷酸緩衝液系統確實會影響本實驗的判斷及後續研究。

(二) 加入 Tris 緩衝液

為了不讓緩衝液影響偵測金屬離子的效果，因此我們改採用 Tris 緩衝液，其有效緩衝範圍大約在 pH 7~9 之間，因此我們分別以 pH 7、pH 8 與 pH 9 的 Tris 緩衝液進行測試



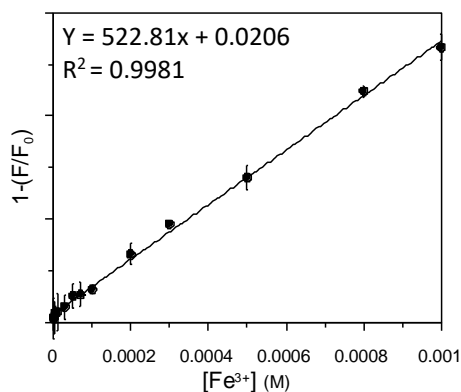


圖十四：加入 Tris 緩衝液後，對不同離子(K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Pt^{2+} 、 Ag^+ 、 Co^{2+})偵測效果的螢光光譜與螢光強度比例圖。圖(a)：為加入 pH 7 的 Tris 緩衝液；圖(b)：為加入 pH 8 的 Tris 緩衝液圖；(c)：為加入 pH 9 的 Tris 緩衝液

我們改用 Tris 緩衝液後的結果如圖十四，在不同酸鹼條件下，加入鐵離子後的螢光變化程度與未加緩衝液有較為相似的結果，而又以 pH 7的條件下，其螢光強度最高，對於鐵離子的選擇性也最好，因此本實驗後續相關的研究將使用 pH 7 Tris 緩衝液，對檢測鐵離子做進一步的探討。

五、 探討 TA-Cu NCs 對鐵離子的螢光變化與偵測極限

從先前的實驗中，我們發現對於鐵離子具有良好的選擇性，於是我們對於鐵離子的偵測極限進行分析，同時繪製檢量線，方便後續檢測環境樣品時進行相關的比較與分析。



圖十五：TA-Cu NCs 偵測鐵離子之檢量線

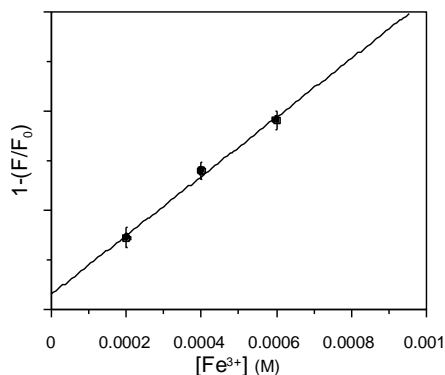
以螢光強度變化的比例繪製，檢測範圍從 1 mM 至 1 μ M，最後得知其偵測極限大約為 1.06 μ M。

六、 利用 TA-Cu NCs 偵測河川樣品中的鐵離子

經過探討 TA-Cu NCs 檢測鐵離子的機制與條件後，將酸鹼值定為 pH 7，激發波長 340 nm，將河水與緩衝液以及 TA-Cu NCs 混合均勻後，並利用標準添加法，使用螢光光譜儀進行分析。

由於螢光強度可能會受到河水中其他吸光物質的干擾，因此採用標準添加法，相較於傳統利用吸光法檢測樣品的水質濃度，標準添加法需要利用三個以上的數據點繪製趨勢線，並利用 X 軸的截距與檢量線進行比較，求得樣品中的濃度。雖每次的實驗都要進行三重覆，但卻減去了傳統檢測樣品時所需進行的複雜前處理。

(一) 利用 TA-Cu NCs 檢測碧潭溪水中的鐵離子濃度



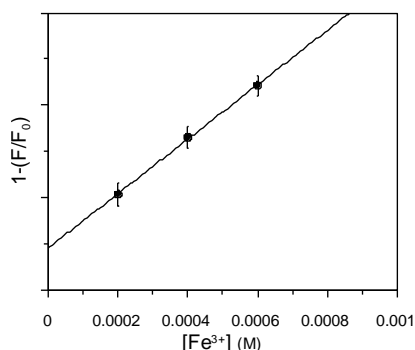
圖十六：利用標準添加法，在將碧潭的 $[Fe^{3+}] < 10^{-4}$ 、 4×10^{-4} 、 6×10^{-4} M 的鐵離子後，TA-Cu NCs 對於三價鐵離子相對螢光強度的線性圖。

表四：利用標準添加法測定碧潭中鐵離子的含量

sample ID	Added (mM)	Detected (mM)	R.S.D. /%	Recovery /%
碧潭 #	0.2	0.18	2.19	91
	0.4	0.41	2.14	110.25
	0.6	0.64	2.81	106.5

我們將碧潭溪水，經過標準添加法進行檢測後，可以測得碧潭溪水的鐵離子濃度約為 1.13 μM ，其回收率介於 91%~110% 之間，R.S.D 小於 2.81%。

(二) 利用 TA-Cu NCs 檢測小坑溪溪水中的鐵離子濃度



圖十七：利用標準添加法，在將小坑溪的溪水加入 2×10^{-4} 、 4×10^{-4} 、 6×10^{-4} M 的三價鐵離子後，TA-Cu NCs 對於三價鐵離子相對螢光強度的線性圖。

表五：利用標準添加法測定小坑溪水中鐵離子的含量

sample ID	Added (mM)	Detected (mM)	R.S.D. /%	Recovery /%
小坑溪#	0.2	0.20	3.02	101.5
	0.4	0.43	3.25	107.25
	0.6	0.65	3.69	109

我們將小坑溪溪水，經過標準添加法進行檢測後，可以測得小坑溪中的鐵離子濃度為 1.27 μM ，其回收率介於 101 %~109 % 之間，R.S.D 小於 3.69 %。

一般進行樣品分析時，實測值與理論值之百分比比值稱為「回收率」。其值愈接近100 %，則顯示分析之準確性愈高。一般環境檢驗可接受之回收率約訂於 80 %~120 %。而相對標準偏差 (R.S.D) 則是標準差與實驗平均值的百分比值，代表在該濃度的誤差波動，比值愈小代表誤差愈小。而本次實驗對於碧潭溪水與小坑溪溪水的檢測，皆具有良好的回收率，較低的 R.S.D 可以說明本材料對於檢測環境中的鐵離子是有效的。

陸、 結論

- 一、 本研究成功地利用硫代水楊酸合成銅奈米團簇 TA-Cu NCs，TA 與 Cu^{2+} 的比例為 3:1 且酒精濃度為 50% 為其最佳化的合成條件。相較於文獻，我們將低了合成溫度也縮短反應時間，節省能源與時間，並符合綠色化學的概念。
- 二、 對 TA-Cu NCs 進行材料鑑定後，發現其粒徑大小約為 3.7nm、量子產率約為 3% 且擁有良好的光穩定性及螢光性質。
- 三、 TA-Cu NCs 對於鐵離子也具有好的選擇性，能夠利用螢光內濾鏡的效應，對於鐵離子進行低濃度的偵測。
- 四、 本研究利用螢光光譜法檢測鐵離子，相較傳統檢測使用吸光測量分析，僅需使用微量的藥品與極短的反應時間，即可對鐵離子進行有效的偵測。成功用於檢測河川中的鐵金屬離子，並獲得良好的回收率以及較低的相對標準偏差，說明本方法對於鐵金屬的檢測具有很高的潛力。

柒、 未來展望

我們以價格相對較便宜的銅離子，並利用硫醇小分子來合成銅奈米團簇，縮短了合成團簇的反應時間與反應的溫度，在這樣的條件下，更能方便快速地進行應用。本研究開發的 TA-Cu NCs 能夠偵測到線性範圍與偵測極限，遠低於法規對於鐵的濃度規範。而鐵離子是個常見的金屬離子，不論是在自然環境中、工廠的廢水裡、生物體內，都有鐵離子的存在，將本材料運用在不同的領域的研究中，是我們未來研究的延伸與應用。

另外，因為利用硫醇小分子來合成銅奈米團簇，不限單一配體種類，因此我們可以使用其他的硫醇配體，來合成銅奈米團簇，相信這個方法能夠開發出更具潛力的金屬奈米團簇。

捌、參考資料及其他

1. 林裕軒，2016，螢光可調控式銅奈米團簇應用於檢測六價鉻，國立臺東大學應用科學系：碩士學位論文。
2. 呂承樺、李承妍(2016)。利用硫醇分子合成之金銅奈米團簇偵測過氧化氫及葡萄糖 (國際科展優勝作品)。
3. 鄭雯文、林靖瑄、呂芊穎(2018)。高分子包覆之牛血清白蛋白/穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料於葡萄糖檢測與應用(國際科展優勝作品)。
4. 曾佩慈、蔣仲安、林秉賢(2015)。半胱胺酸修飾奈米金作為金屬離子的偵測與辨識(全國科展優勝作品)。
5. Yi-Jyun Lin; Po-Cheng Chen; Zhiqin Yuan; Jia-Ying Ma and Huan-Tsung Chang ,The isomeric effect of mercaptobenzoic acids on the preparation and fluorescence properties of copper nanoclusters, 2015.

【評語】 050209

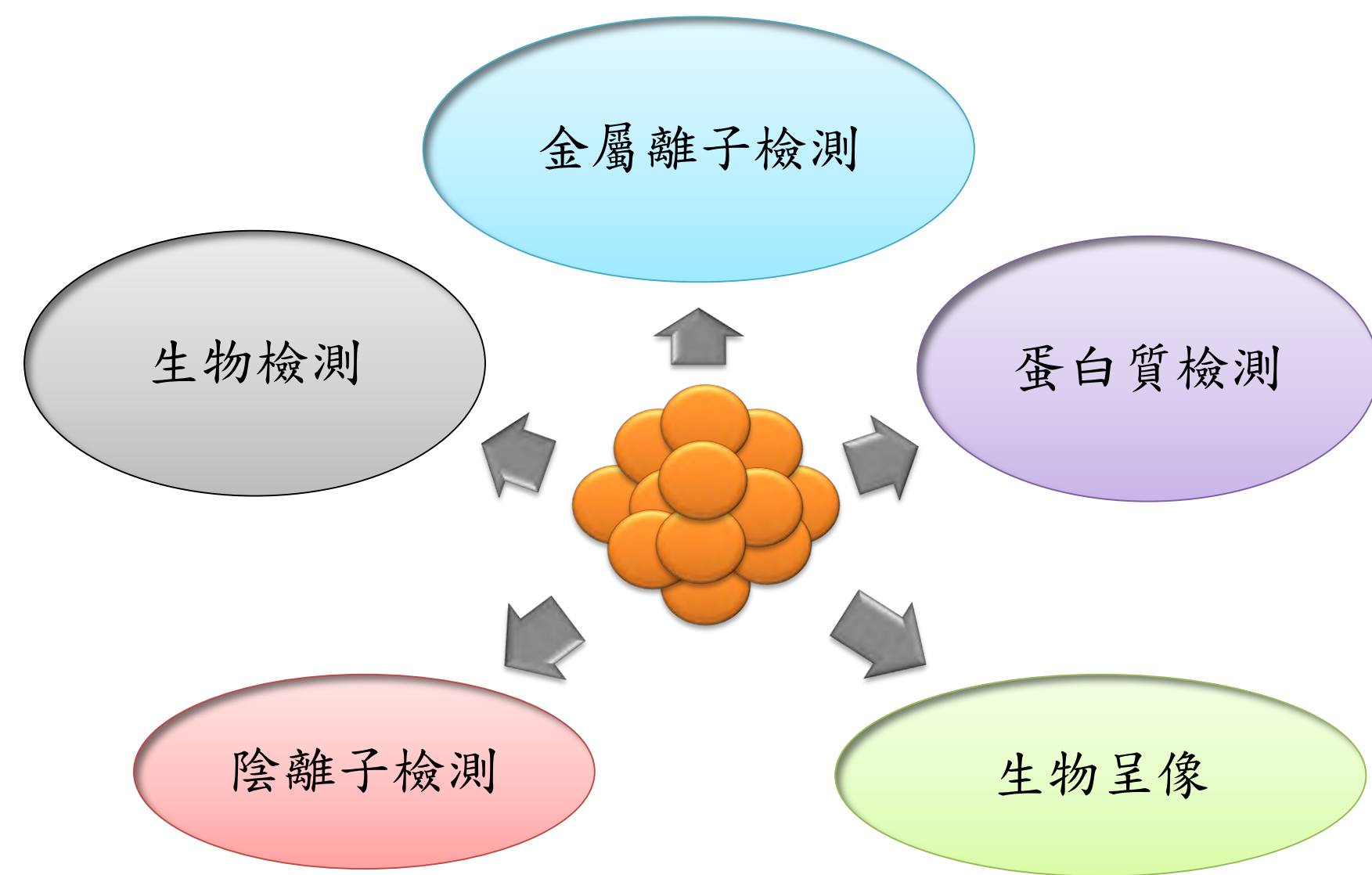
本研究利用硫代水楊酸(TA)的硫醇基作為配體，合成出螢光銅奈米團簇 TA-CuNCs。發現當 TA : Cu²⁺為 1 : 3 且酒精的體積濃度為 50%時，擁有最高的螢光強度，為最佳的合成條件。研究主題清楚，但奈米粒子之量子產率較低。

摘要

本研究利用硫代水楊酸(TA)的硫醇基作為配體，合成出螢光可調控式的銅奈米團簇 TA-Cu NCs。我們改變了硫代水楊酸溶液 (TA) 與銅離子 (Cu^{2+}) 的比例，發現當 TA : Cu^{2+} 的莫耳數比為 3 : 1 且酒精濃度為 50% 時，擁有最高的螢光強度，為最佳的合成條件。之後我們對 TA-Cu NCs 進行材料的相關分析，經過鑑定，發現 TA-Cu NCs 的粒徑大小約為 3.7 nm，在紫光燈與日光燈的照射下也清楚的看到螢光的產生，經過計算後得知 TA-Cu NCs 的量子產率約為 3 %。接下來利用本材料對於常見的金屬離子 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ag^+ 、 Pb^{2+} 進行分析，發現對於鐵離子具有良好的選擇性，同時也加入不同的緩衝液，發現在 pH7 的 Tris 緩衝液下，是最佳的偵測條件，且偵測極限為 $9.6 \mu\text{M}$ 。最後我們實際取河川的水質樣品，進行測定，探討其偵測效果，發現其回收率介於 91 % ~ 110% 之間，相對標準偏差小於 3.69 %，說明本方法是一個穩定且有效的方法。

研究動機

本實驗檢測的重點是水中的三價鐵離子。目前奈米材料具有發展潛力，應用於許多領域中，是國際上的發展重點。不同於塊材，奈米材料有截然不同的物性與化性，於是我們使用硫代水楊酸與銅離子合成金屬奈米團簇，開發出一種能夠偵測鐵離子的材料。銅離子相較於其他貴金屬，例如金、銀離子，擁有許多優勢，價格上便宜許多，此外比起金、銀奈米材料，發展較晚，有更多的發展空間，而使用硫醇分子合成金屬奈米團簇是相對簡單的方法。但依據我們找到的文獻，合成奈米團簇通常需要長時間在高溫下的反應及繁雜的實驗步驟，而我們嘗試使用一鍋合成法，並縮短加熱時間及溫度，找出一個更快速合成出奈米團簇的方法。



配體種類	DNA或蛋白質模板	聚合物模板	硫醇小分子
優點	良好的生物相容性與豐富的官能基	擁有大量的單一官能基，能使特定的現象或是訊號更容易被觀察到。	合成方法較為簡單，能選擇多種配體合成各式銅奈米團簇。
缺點	在酸性環境中會變質而不穩定	易受到溫度或離子變化的干擾	材料不穩定，難以運用在複雜基質中
應用	生物感測器與細胞顯影	尿液中碘離子檢測	水中小分子與離子檢測

研究目的

- 一、合成銅奈米團簇 TA-Cu NCs，並找到最佳的合成條件
- 二、對 TA-Cu NCs 進行材料分析與鑑定
- 三、探討 TA-Cu NCs 對不同金屬的選擇性
- 四、探討 TA-Cu NCs 對 Fe^{3+} 的偵測極限
- 五、實際檢測碧潭、小坑溪的鐵金屬離子濃度，並計算其回收率

研究結果與討論

一. 合成 TA-Cu NCs 並探討最佳化合成比例

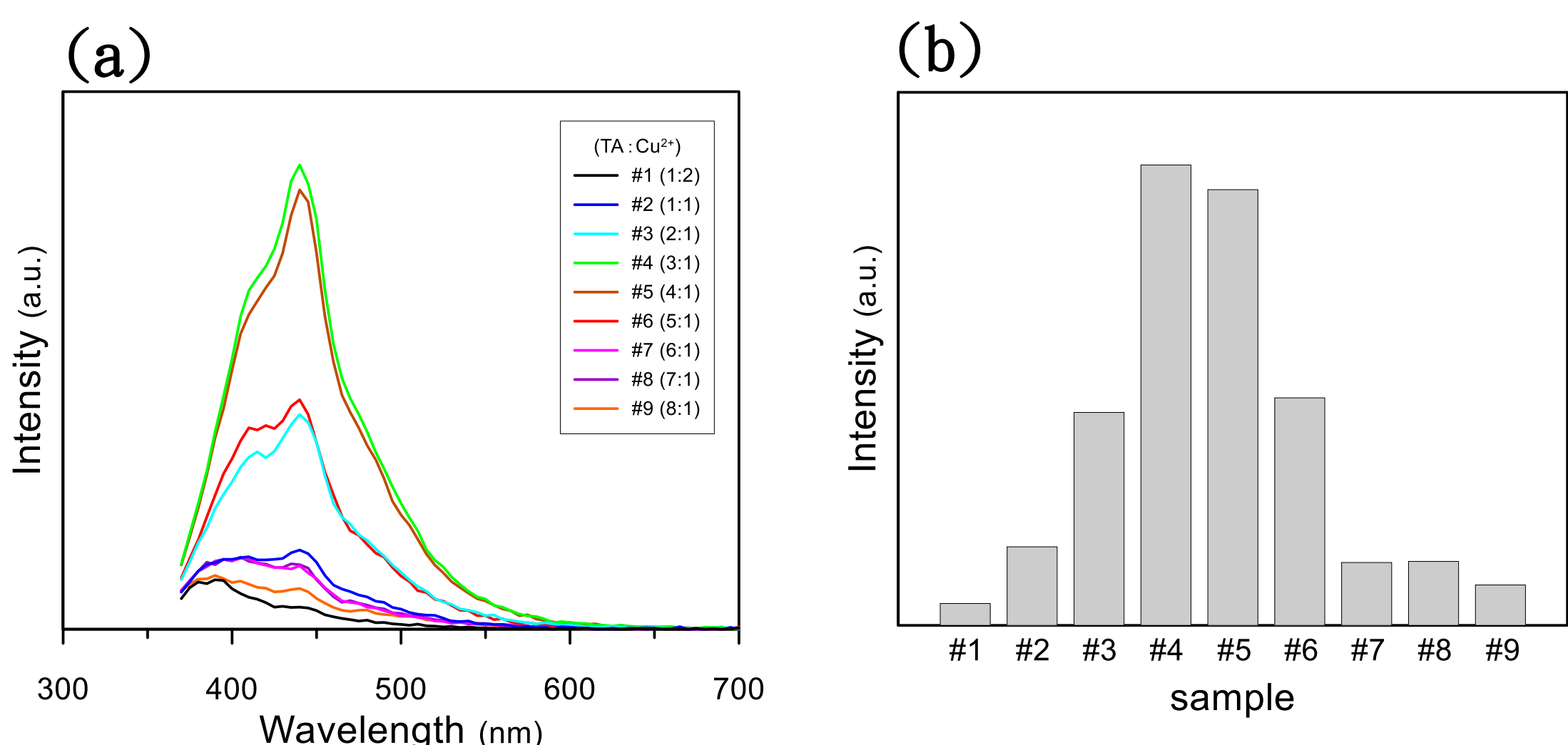


圖1. 配製 TA-Cu NCs 改變 TA 與 Cu^{2+} 的莫耳數比 (a) 螢光強度曲線圖 (b) 螢光強度柱狀圖

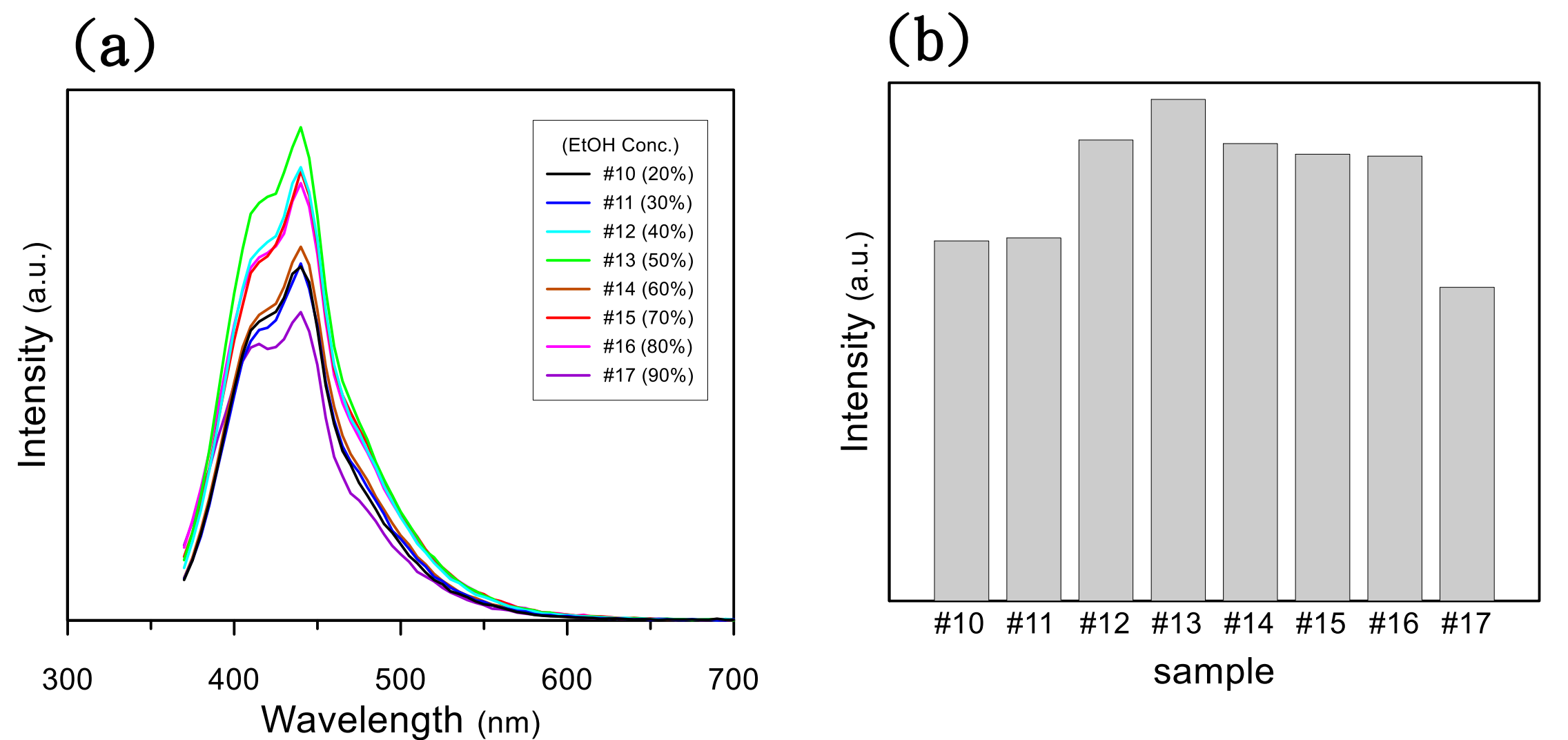


圖2. 配製 TA-Cu NCs 改變酒精體積百分濃度 (a) 螢光光譜曲線圖 (b) 螢光強度柱狀圖

表1. TA-Cu NCs 的最佳化合成條件

	DI	EtOH	TA	Cu^{2+}
濃度			0.05 M	0.025 M
體積	400 μL	350 μL	150 μL	100 μL

由圖1. 與圖2. 我們得知當 TA : Cu^{2+} 莫耳數比為 3 : 1，且當酒精百分濃度為 50 % 時，擁有最高的螢光強度

二. TA-Cu NCs 鑑定

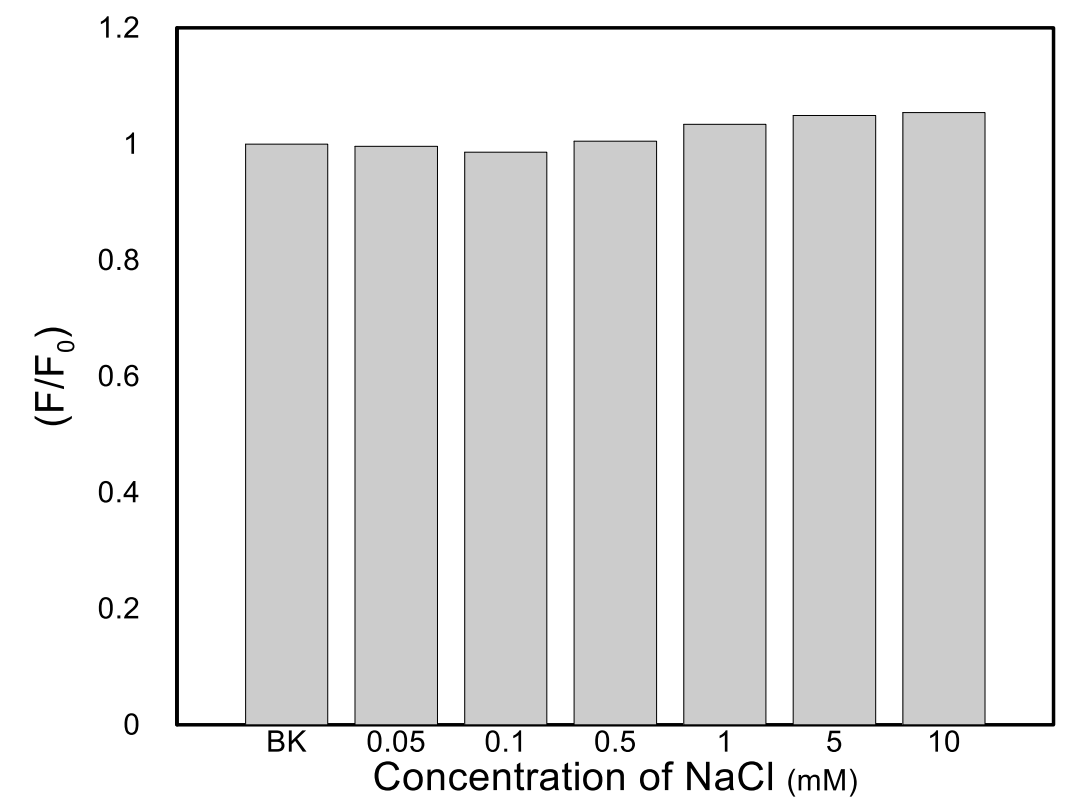
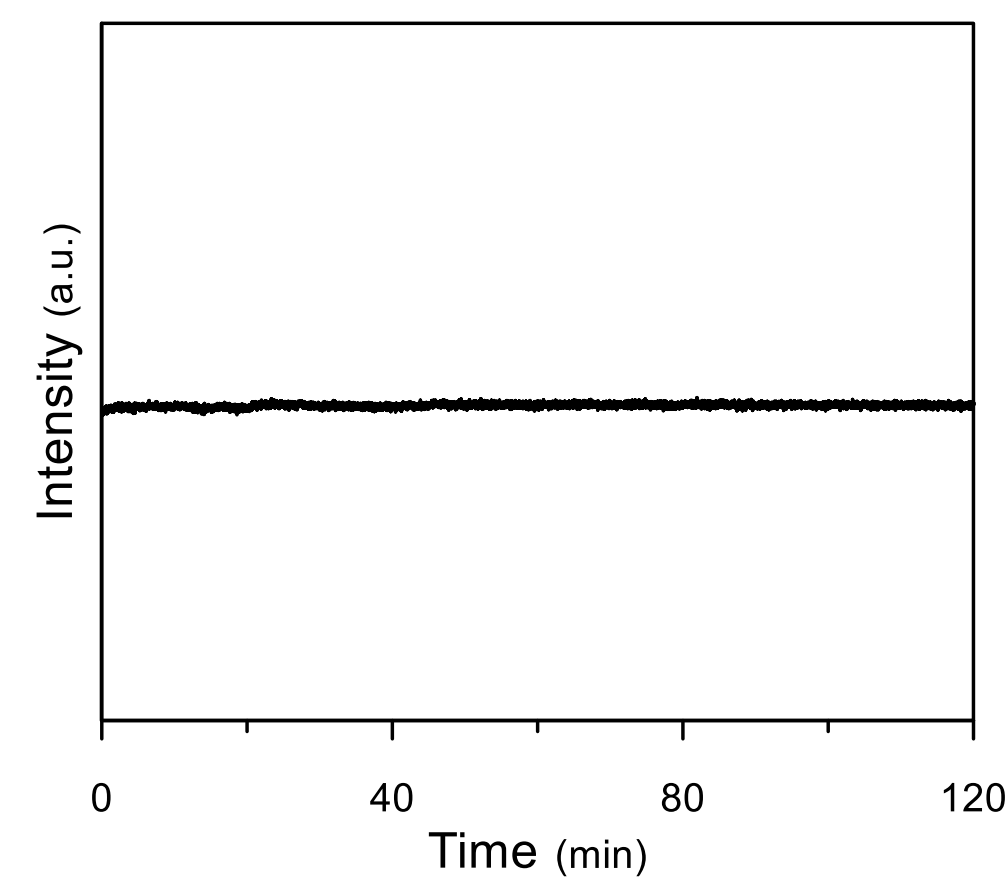
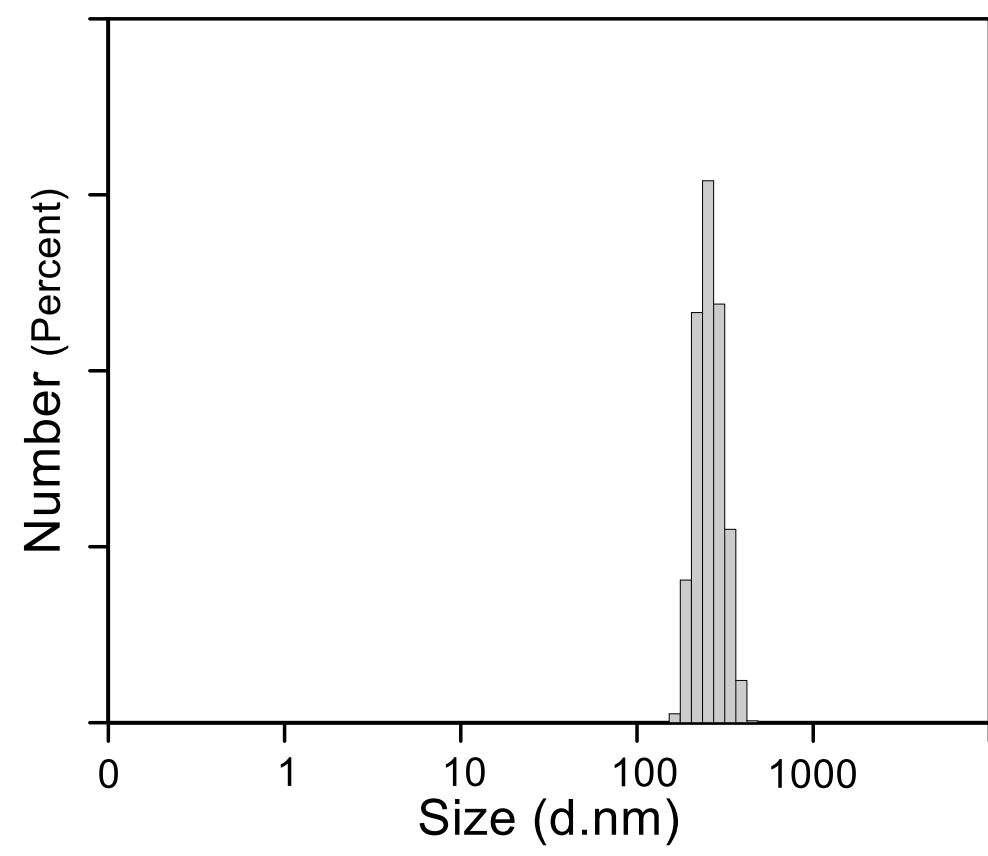
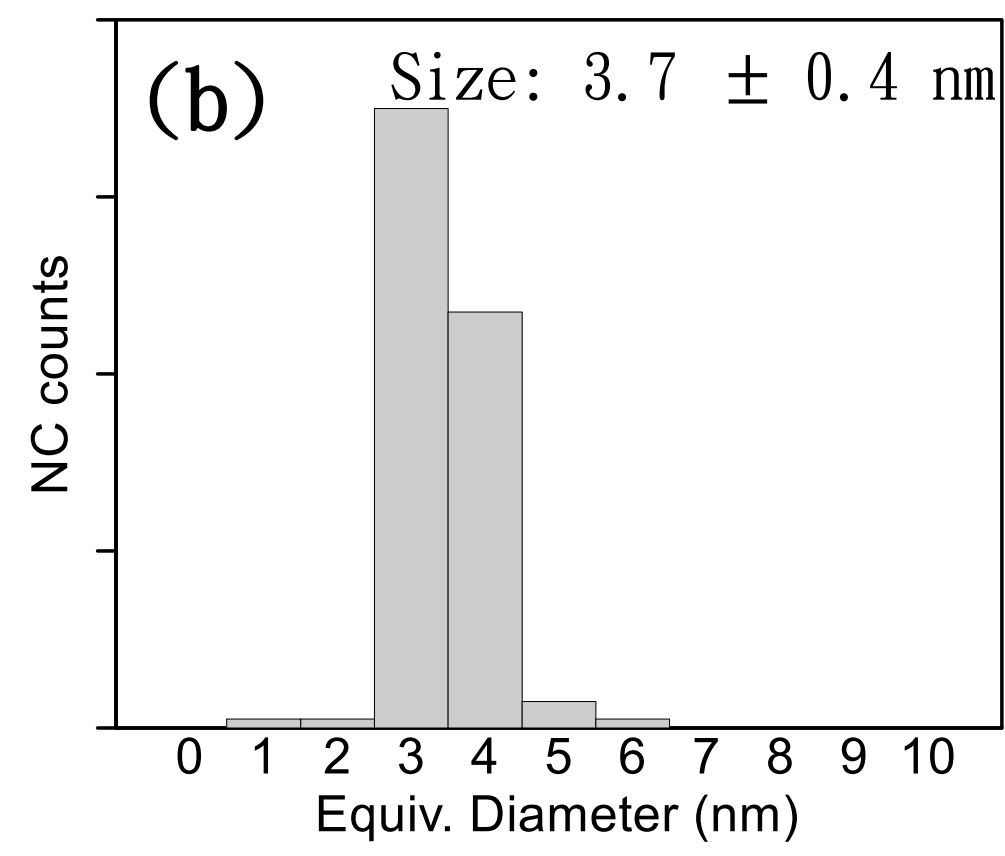
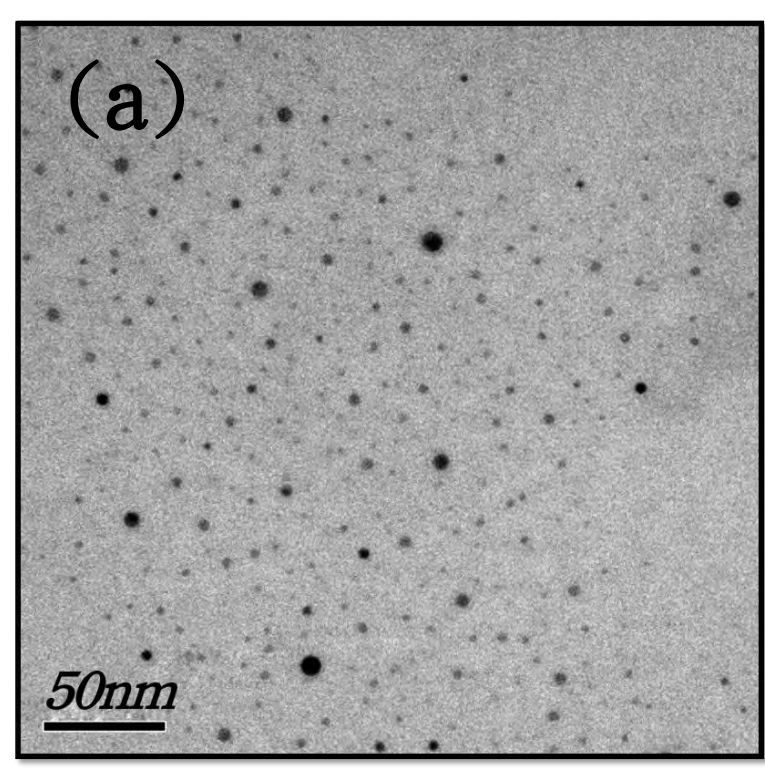


圖3. (a) TEM 拍攝下的 TA-Cu NCs
(b) 統計123顆粒子的尺寸分佈情形

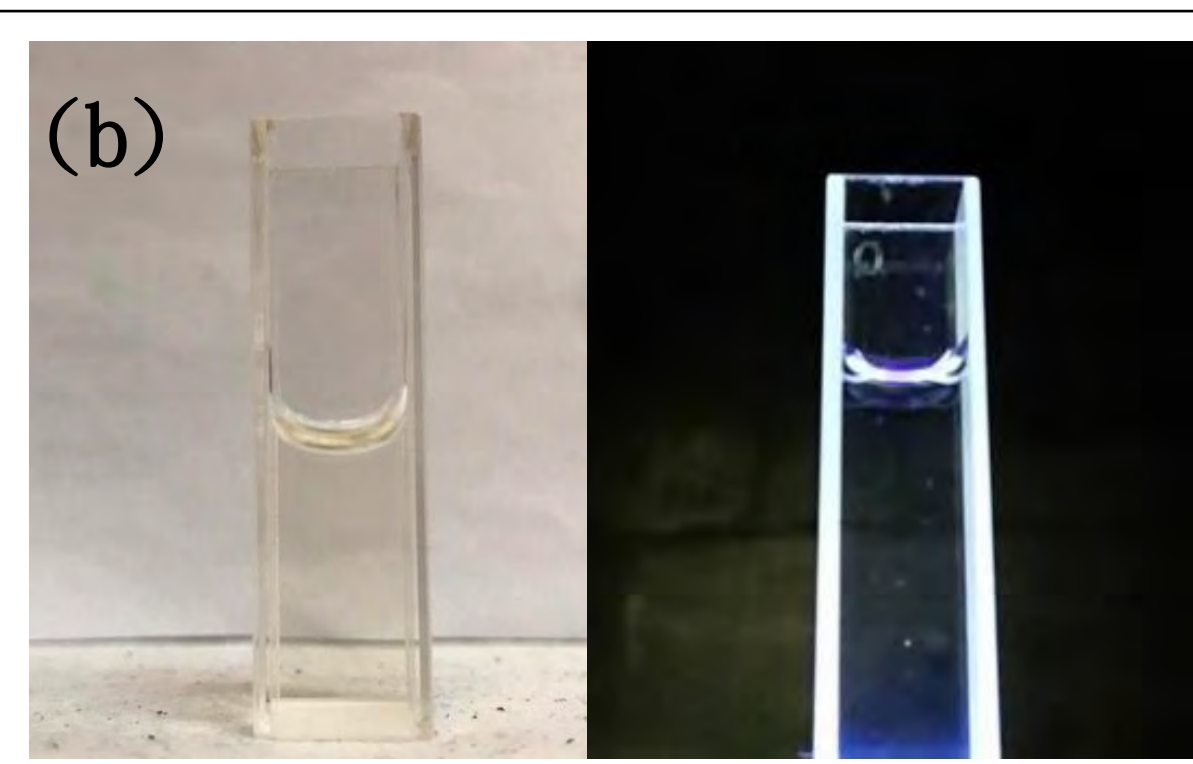
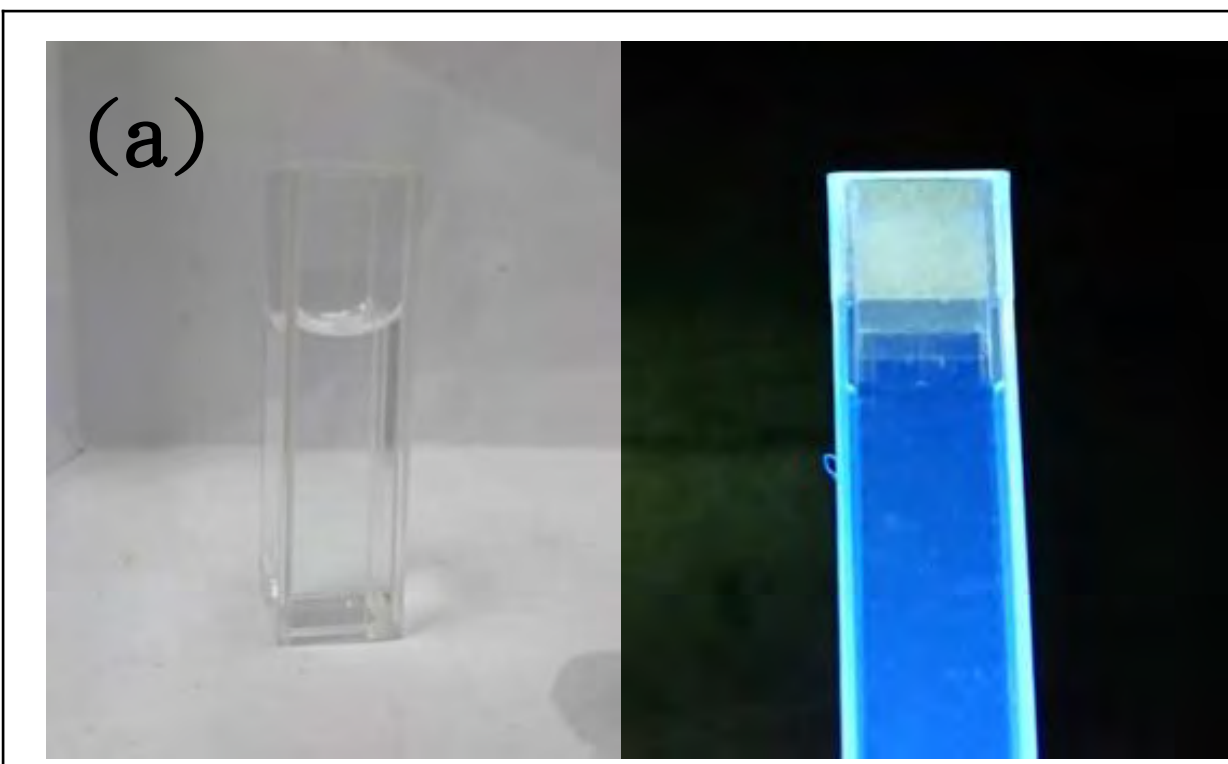
圖4. DLS 掃描下的粒徑分佈

圖5. 長時間照光下的 TA-Cu NCs

圖6. TA-Cu NCs 在不同 NaCl 濃度下的耐鹽性

➢ 對 TA-Cu NCs 材料進行相關鑑定，發現其粒徑大小約為 3.7 nm，光穩定性與耐鹽性皆十分良好，可以說明本材料的螢光性質相當穩定。

三. 探討 TA-Cu NCs 偵測各種金屬離子效果



(a) 未加金屬離子，在紫外光照射下，呈現藍色的螢光

(b) 加入鐵離子 10 mM 後，在紫外光照射下，螢光消失

(c) 加入銅離子 10 mM 後，在紫外光照射下，螢光仍然存在

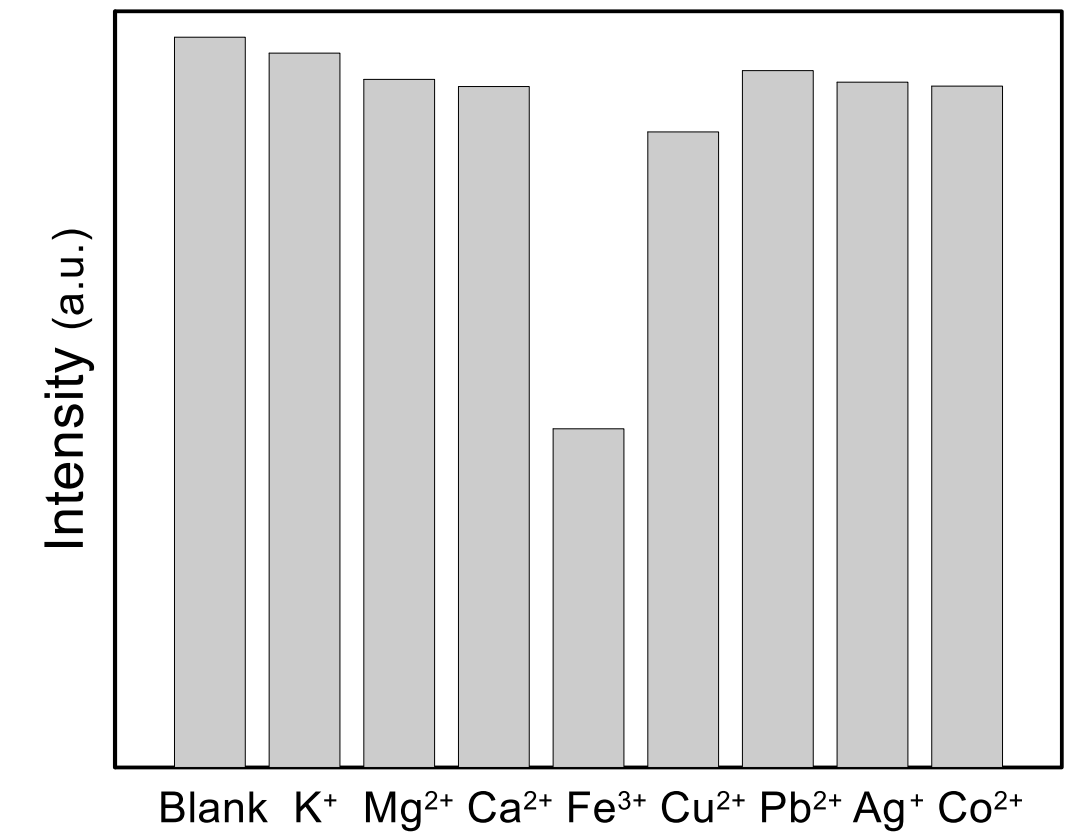


圖8. TA-Cu NCs 偵測不同離子時螢光強度變化

圖7. 比較 TA-Cu NCs 在加入及未加入金屬離子時螢光變化情形

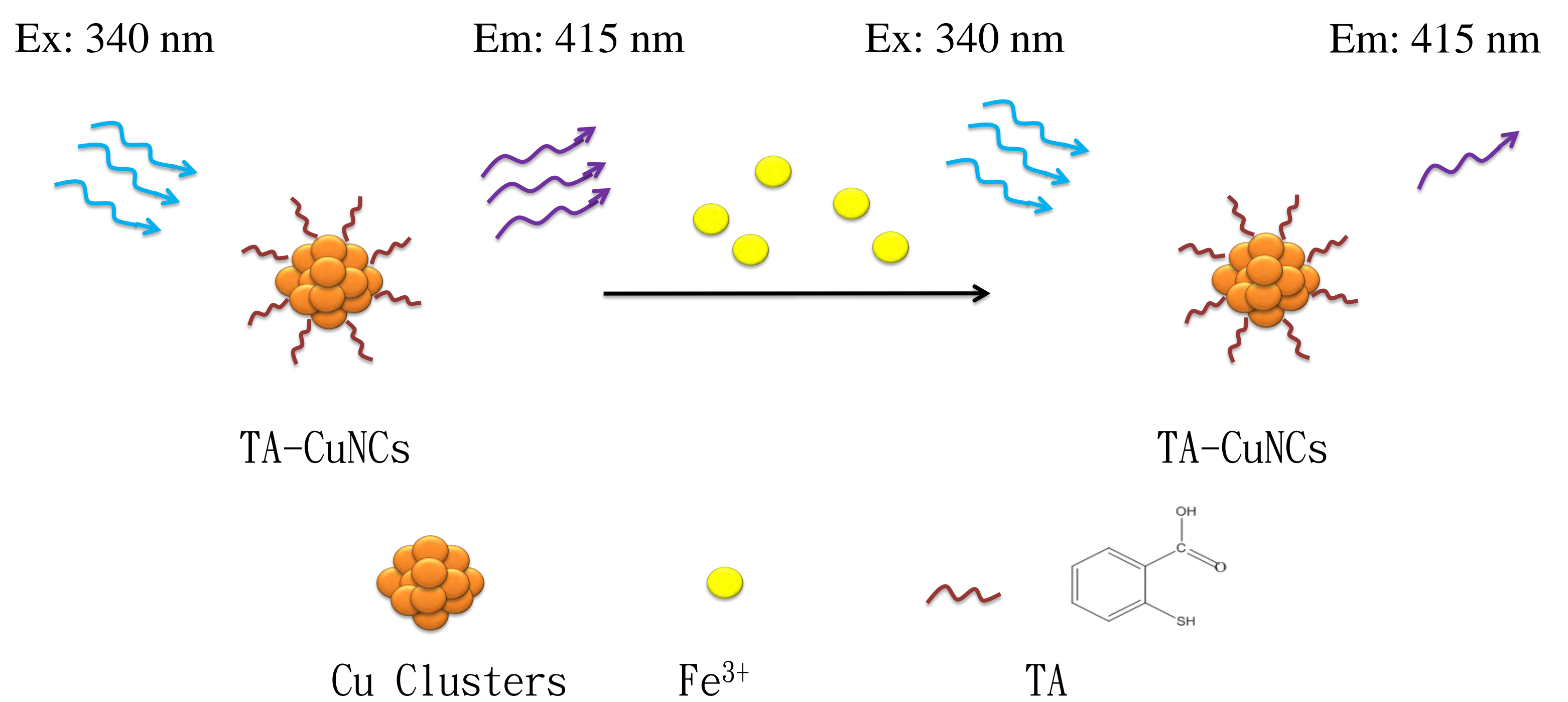
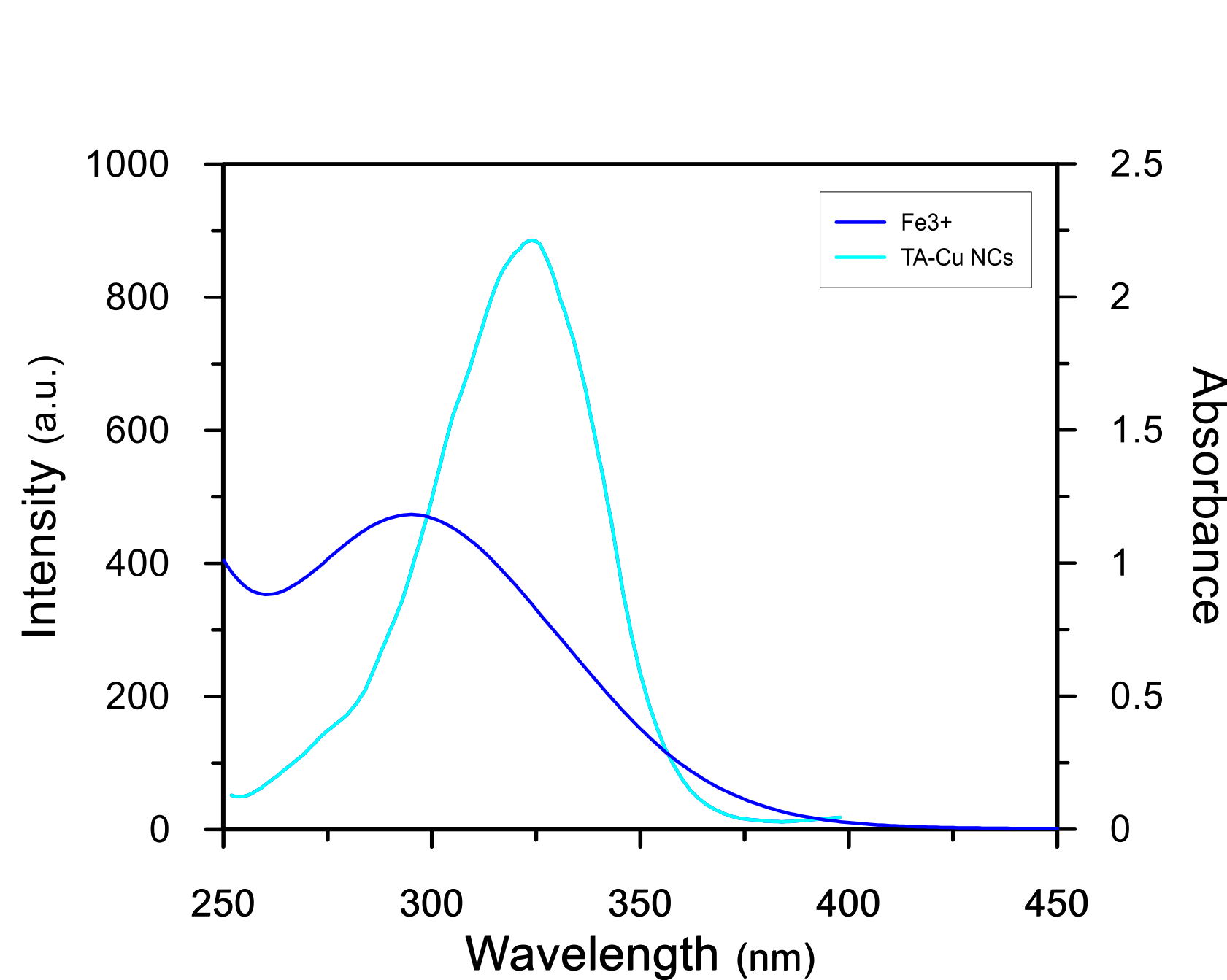


圖9. TA-Cu NCs 與鐵離子吸收波長比較圖

圖10. 螢光內濾鏡效應

➢ 藉由螢光內濾鏡效應的產生，可以說明 TA-Cu NCs 加入鐵離子後螢光強度降低的原因

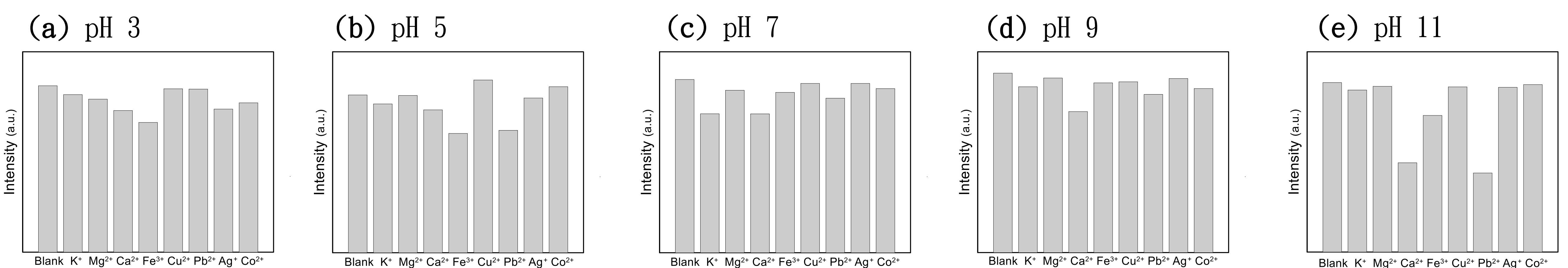


圖11. TA-Cu NCs 在不同酸鹼值的磷酸緩衝液下，檢測金屬離子時螢光強度

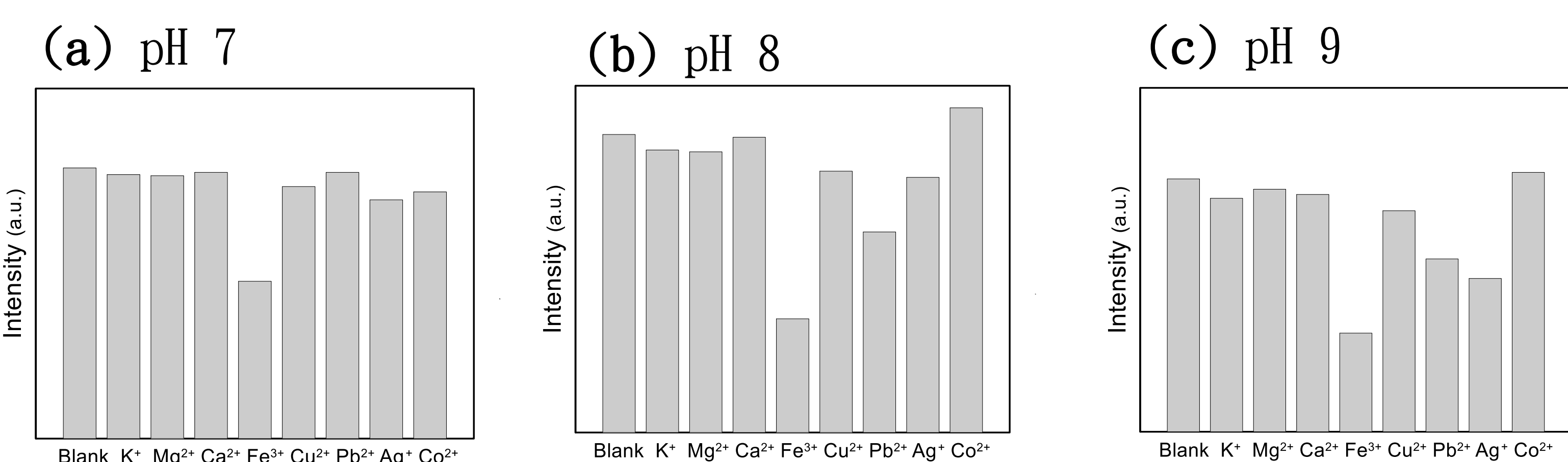


圖12. TA-Cu NCs 在不同酸鹼值的 Tris 緩衝液下，檢測金屬離子時的螢光強度

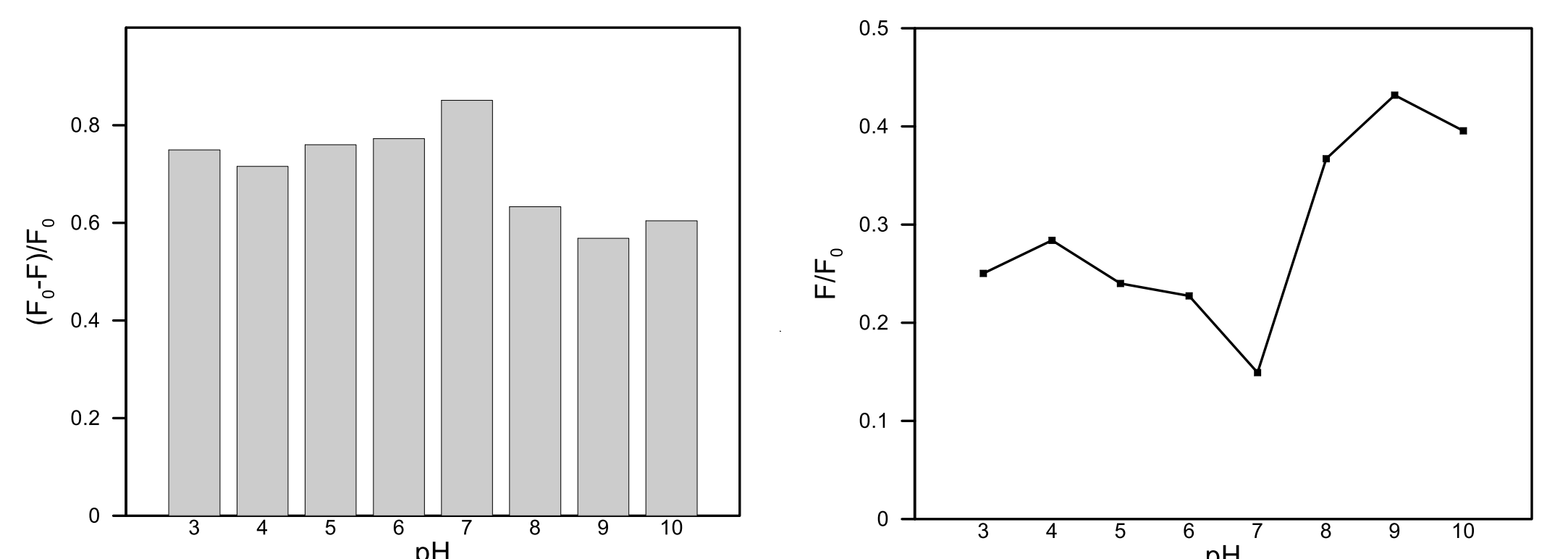


圖13. TA-Cu NCs 加入鐵離子後，在不同酸鹼值下的螢光強度比較圖

➢ 由圖11. 的結果推測當加入了磷酸緩衝液後，緩衝液會與金屬離子產生反應，影響螢光強度

➢ 由圖12. 可以知道，在加入不同pH的 Tris 緩衝液後，鐵離子的螢光皆有明顯的變化

➢ TA-Cu NCs 進行鐵離子的感測時，在 pH 7 的條件下擁有最大的螢光變化比例

四. 探討 TA-Cu NCs 對環境的檢測

1. 繪製檢量線及探討偵測極限

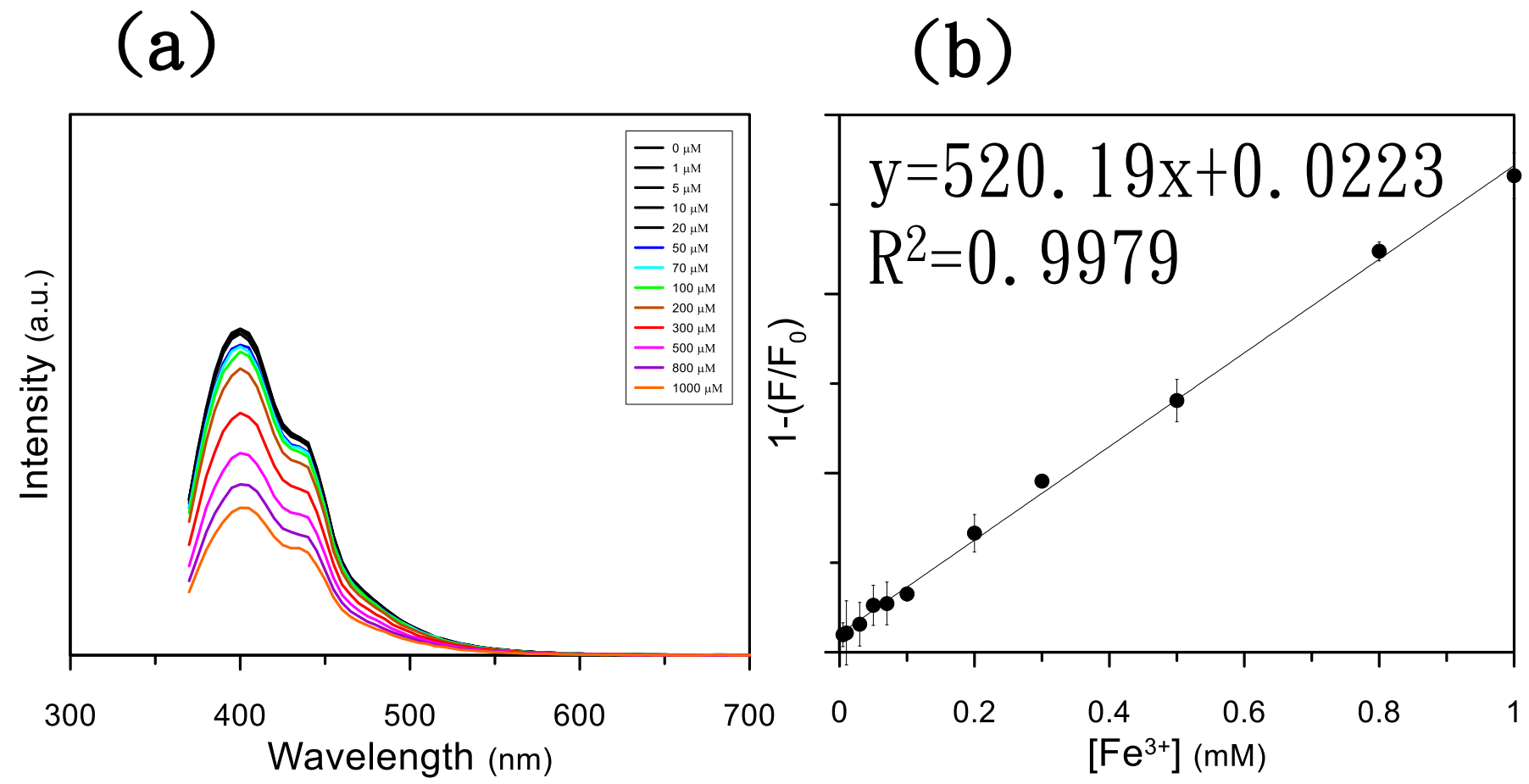


圖14. 用 TA-Cu NCs 偵測鐵離子的
(a) 螢光光譜曲線圖 與 (b) 檢量線圖

➤ 檢量線之線性範圍 $1 \mu\text{M} \sim 1\text{mM}$ ，偵測極限為 $9.6 \mu\text{M}$

2. 以標準添加法檢測樣品

將 $0.1x$ TA-Cu NCs 加入 0.2 mM 、 0.4 mM 、 0.6 mM 鐵離子

加入 Tris 緩衝液與離心後的河川樣品

以螢光儀測量其螢光強度並繪製趨勢線，所得截距即為樣品濃度

$$\text{Detected} = 1 - \frac{\text{添加後樣品之螢光強度}}{F_0 \text{ 螢光強度}}$$

⇒ 代入檢量線

$$\text{Recovery} = \frac{\text{Detected} - \text{測得樣品鐵離子濃度}}{\text{添加之標準品濃度}}$$

圖15. 標準添加法相關公式

表2. 添加鐵離子濃度、回收率及相對標準偏差

sample ID	Added (mM)	Detected (mM)	Recovery (%)	R.S.D. (%)
碧潭 #	0.20	0.18	91.0	2.19
	0.40	0.44	110.3	2.14
	0.60	0.63	106.5	2.81

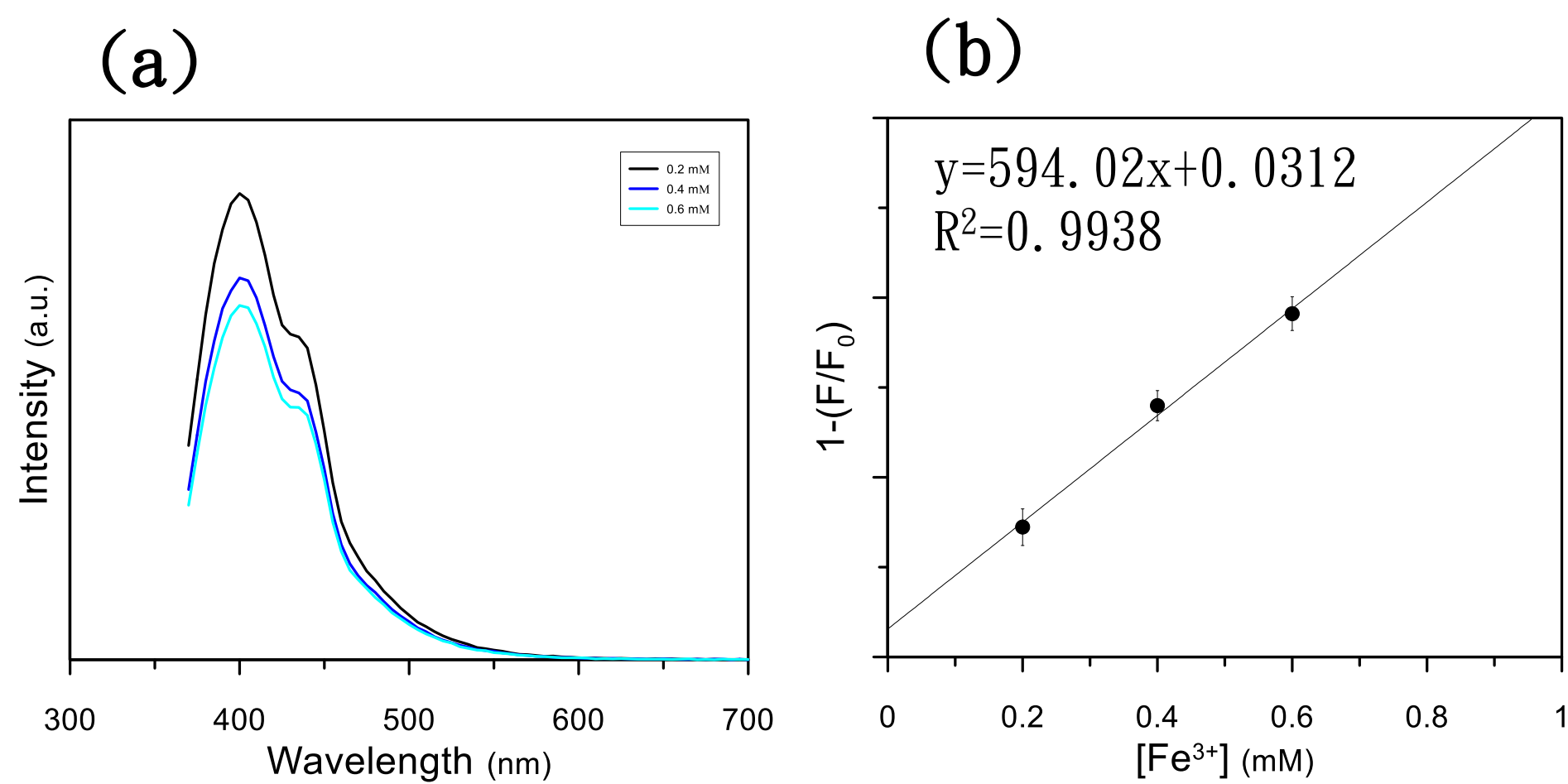


圖16. 以標準添加法檢測碧潭中鐵離子濃度
(a) 螢光光譜曲線圖 與 (b) 趨勢線圖

➤ 碧潭溪水 $[\text{Fe}^{3+}]$ 為 0.053 mM (3.0 ppm)，回收率介於 $91.0 \sim 110 \%$ 相對標準偏小於 2.81%

表3. 添加鐵離子濃度、回收率及相對標準偏差

sample ID	Added (mM)	Detected (mM)	Recovery (%)	R.S.D. (%)
小坑溪 #	0.20	0.20	101.5	3.02
	0.40	0.42	107.3	3.25
	0.60	0.65	109.0	3.69

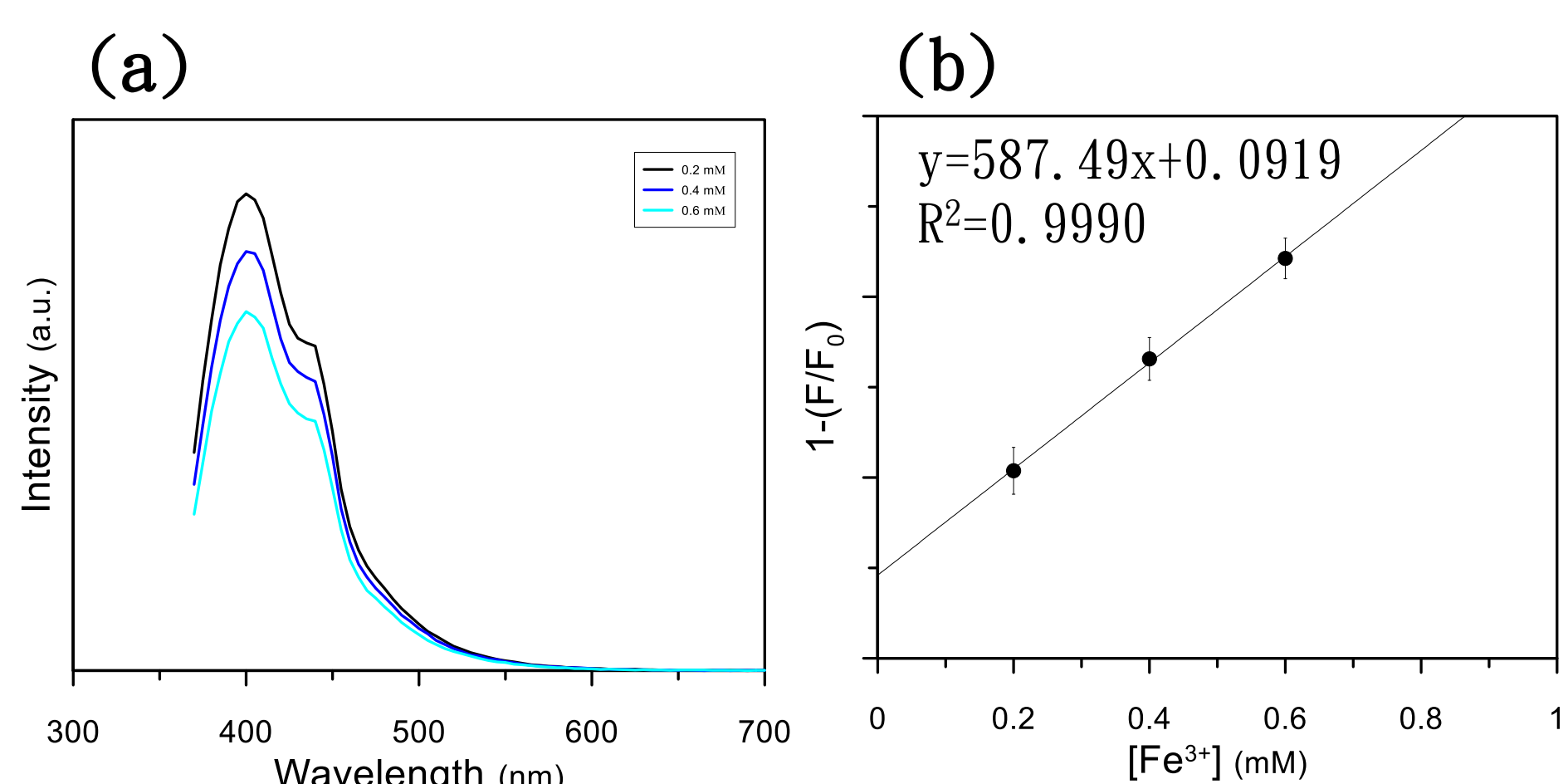


圖17. 以標準添加法檢測小坑溪中鐵離子濃度
(a) 螢光光譜曲線圖 與 (b) 趨勢線圖

➤ 小坑溪水 $[\text{Fe}^{3+}]$ 為 0.157 mM (8.8 ppm)，回收率介於 $101.0 \sim 109.0 \%$ 相對標準偏差小於 3.69%

➤ 本實驗方法與質譜儀所測得的鐵離子濃度結果相似，代表本研究具高度可行性

➤ 結論

- 本研究成功地利用硫代水楊酸合成銅奈米團簇 TA-Cu NCs，TA 與 Cu^{2+} 的比例為 $3:1$ 且酒精濃度為 50% 為其最佳化的合成條件，相較於文獻，縮短了反應時間且降低了反應溫度。
- 對 TA-Cu NCs 進行材料鑑定後，以 TEM 測量其粒徑大小約為 3.7 nm 、量子產率約為 3% 且擁有良好的光穩定性及螢光性質。
- TA-Cu NCs 在 $\text{pH } 7$ 的 Tris 緩衝溶液下，利用螢光內濾鏡的效應，對於鐵離子具有良好的選擇性，其偵測極限最低濃度可到 $9.6 \mu\text{M}$ 。
- TA-Cu NCs 成功用於檢測碧潭與小坑溪中的鐵金屬離子濃度，並獲得良好的回收率以及較低的相對標準偏差，說明本研究對於實際檢測鐵離子具有很高的潛力。

➤ 未來展望

我們以價格相對較便宜的銅離子，並利用硫醇小分子來合成銅奈米團簇，縮短了合成團簇的反應時間與反應的溫度，在這樣的條件下，更能方便快速地進行應用。本研究開發的 TA-Cu NCs 能夠偵測到線性範圍與偵測極限，遠低於法規對於鐵的濃度規範。而鐵離子是個常見的金屬離子，不論是在自然環境中、工廠的廢水裡、生物體內，都有鐵離子的存在，將本材料運用在不同的領域的研究中，是我們未來研究的延伸與應用。

➤ 參考資料

- Yi-Jyun Lin; Po-Cheng Chen; Zhiqin Yuan; Jia-Ying Ma and Huan-Tsung Chang, The isomeric effect of mercaptobenzoic acids on the preparation and fluorescence properties of copper nanoclusters, 2015.
- 林裕軒(2016)。螢光可調控式銅奈米團簇應用於檢測六價鉻，國立臺東大學應用科學系碩士學位論文
- 鄭雯文、林靖瑄、呂芊穎(2018)。高分子包覆之牛血清白蛋白/穀胱甘肽金屬奈米螢光團簇及葡萄糖氧化酶複合材料於葡萄糖檢測與應用(國際科展優勝作品)。