

# 國立交通大學

應用化學研究所

碩士論文

水溶性發光量子點之製備與其在生化檢測系統之應用

A study on the fabrication of a plate-based biochemical assay by  
using water-soluble fluorescent quantum dots

研究生：黃靜萍

指導教授：陳登銘 博士

中華民國九十四年一月二十一日

水溶性發光量子點之製備與其在生化檢測系統之應用  
A study on the fabrication of a plate-based biochemical assay by using  
water-soluble fluorescent quantum dots

研究生：黃靜萍

Student : Chin-Ping Huang

指導教授：陳登銘 博士

Advisor : Teng-Ming Chen

國立交通大學  
應用化學系  
碩士論文

A Thesis

Submitted to Department of Applied Chemistry

National Chiao Tung University

in partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master

in

Applied Chemistry

January 2005

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十四年一月

# 國立交通大學

## 論文口試委員會審定書

本校 應用化學 學系碩士班 黃靜萍 君

所提論文 水溶性發光量子點之製備與其在生化檢測系統之應用

合於碩士資格標準、業經本委員會評審認可。

口試委員：\_\_\_\_\_

王光仁

陳登龍

李耀坤

陳月枝

指導教授：\_\_\_\_\_

陳登龍

系主任：\_\_\_\_\_

李耀坤

教授

中華民國 94 年 01 月 21 日

# 水溶性量子點之製備與其在生化檢測系統之應用

研究生:黃靜萍

指導教授:陳登銘 博士

國立交通大學應用化學所

## 摘要

本論文探討水溶性量子點 (QD)之備製與其在生物檢測系統之應用，本研究以利用硫醇乙酸、硫醇琥珀酸、硫醇十一酸與 2-胺基乙硫醇等四種不同包覆試劑取代傳統有機包覆劑十六羥基-2-癸烯酸合成水溶性 CdSe/ZnS 殼核量子點，並應用於生化分析。我們分別探討一鍋合成與兩步驟合成水溶性量子點的製程，並藉由紫外-可見光譜儀、螢光光譜儀對所合成量子點進行分析與鑑定發光特性。本論文亦利用 X 光繞射及穿透式電子顯微鏡測定量子點之晶相微結構及粒徑大小，實驗結果顯示水溶性量子點為六方硫化鋅結構，其粒徑大小為 4 nm；經上述包覆劑表面修飾後，傅氏紅外光譜儀分析顯示，CdSe/ZnS 量子點在波數  $1677\text{ cm}^{-1}$  處具有 C=O 之吸收，此可證明十六羥基-2-癸烯酸確實已成為親水性末端之表面修試劑。

另一方面，本論文也利用傳統的生物鍵結技術，將鏈抗生物素蛋白(SA)與量子點結合以形成 QD-SA 錯合物，並固定不同濃度之 anti-human-IgE-biotin 於硝化纖維玻片，並以 QD-SAv 之螢光作為生物晶片偵測之訊號，再利用共軛焦螢光掃描器進行

anti-human-IgE-biotin-SA-QD 錯合物螢光訊號分析。研究結果顯示利用 QD-SA (0.1 mg/ml) 錯合物可偵測到濃度範圍為 3.3  $\mu\text{g/ml}$  至 100  $\mu\text{g/ml}$  間之 anti-human-IgE-Biotin。因此本研究更確認 Qd-SA 與 biotin 之特異性，此將奠定其於應用於生物為感測器的基礎。

# **Study on the fabrication and characterizations of a plate-based biochemical assay by using water-soluble fluorescent quantum dots**

Student: Chin-Ping Huang

Advisor: Dr. Teng-Ming Chen

Institute of Applied Chemistry  
National Chiao Tung University

## **ABSTRACT**

The research is attempted to investigate the preparation of water-soluble CdSe/ZnS core/shell quantum dots (QDs) and their applications in the biochemical assays. Different capping agents have been used to replace conventional capping agent hexadecylamine (HDA) to form surface-functionalized and water-soluble QDs, which were then used in biochemical analysis. Employing one-pot and two-pot reactions has performed the synthesis of QDs. Optical characterizations of water-soluble and luminescent QDs have been carried out by using UV-Vis and fluorescence spectroscopy. On the other hand, X-ray diffraction (XRD) and transmission electron microscopy (TEM) were also used to determine the microstructure and particle size distribution of QDs. Our investigations revealed that the CdSe/ZnS QDs crystallized in wurtzite structure with diameter of 4 nm. The wavenumber of  $1677\text{ cm}^{-1}$  attributed to C=O stretching has been observed on the surface of capped QDs, indicating successful replacement of HDA by carboxylic-functionalized capping agents.

For the applications of QDs in bio-assays, our method involved a glass plate coated with nitrocellulose (NC), where -human-IgE-biotin at various concentration was immobilized on an NC plate. Luminescent

core-shell CdSe/ZnS QDs-SA conjugates were then used as fluorescent labeling agent to be captured specifically by biotinylated  $\alpha$ -human-IgE immobilized in a micro-array. A confocal laser scanner was used to detect the fluorescence signals from the  $\alpha$ -human-IgE-biotin-SA QD complex. Experimental findings reveal that fluorescence intensity of QD-SA saturated at QD concentrations above 0.4 mg/ml. Moreover, a calibration curve between the fluorescence intensity and the concentration of  $\alpha$ -human-IgE-biotin is plotted. The range of detectable concentrations of biotinylated  $\alpha$ -human-IgE was found to be between 3.3  $\mu$ g/ml and 100  $\mu$ g/ml in the  $\alpha$ -human-IgE-biotin-SA QD complex. Therefore, the results were consistent with the binding specificity in a plate-based biochemical assay, as determined using luminescent QDs as a labeling agent.

## 誌謝

本論文得以順利完成，要感謝許多人給予學生在碩士班的學習生涯中不斷的幫助。首先，學生要誠摯地感謝指導教授陳登銘博士在求學期間啟發學生之研究精神並給予學生足夠空間進行相關研究，使得學生能完成本論文；此外，要感謝李耀坤老師於學生研究方向上，常有獨到之見解，不僅開啟學生之視野，更啟發學生獨立思考之能力。

學生能順利口試而獲得碩士學位，要感謝口試委員們，首先要感謝工研院化工所副所長王先知博士在百忙中抽空給予學生指導與建議，也要感謝陳月枝老師給予學生撰寫論文之相關建議，使論文之內容更為嚴謹與充實。古語說：「以銅為鏡，可以正衣冠，以史為鏡，可以知興替，以人為鏡，可以明得失」。亦有一語：「舜何人也，禹何人也，有為者，亦若是」。由於有老師所立下之模範，讓學生有學習之榜樣與追逐之目標，奠定學生在學問研究及品德涵養上的基礎，感謝老師不辭辛勞的指導學生。

在研究工作上，首先要感謝工研院生醫中心蛋白質體殷立德博士給予學生實驗器材上之支持與給予學生許多意見讓學生在生化領域上能順利完成，也要感謝超雲副研究員及素鳳助理研究員之幫忙；此外要感謝實驗室博士後研究員Laskar、弘偉學長、曉雯學姐、德茹學長、創弘學長政玄學長、彥吉學長在研究工作上之傳授與指導協助。也感謝馨怡、婉甄、怡今、巨澤、佩君、佳臻、繪茹之協助，也要感謝李耀坤老師實驗室可欣學長、晟富學弟之協助；及材料系容萱熱情的協助與鼓勵，感謝你們陪伴我度過這段美好的日子，因為有你們，我的生活更多采多姿。

最後，感謝我的父母、家人與男朋友建尉，所給予的精神支持與關懷鼓勵，在此，願將一切榮耀與成就獻給我所深愛的家人。



# 目錄

中文摘要	I
英文摘要	III
誌謝	V
目錄	VI
圖目錄	VIII
表目錄	XI
第一章 緒論	1
1-1 奈米材料之簡介	1
1-2 奈米材料之特性	2
1-3 奈米材料之製備方法	6
1-4 奈米材料之應用與發展	9
第二章 文獻回顧	10
2-1 II-VI 族量子點之製備方法	10
2-2 量子點表面修飾之方法	12
2-2-1 無機表面修飾(Inorganic surface passivation)	12
2-2-2 有機表面修飾(Organic surface passivation)	12
2-3 水溶性量子點之製備與應用	14
2-4 研究動機與目的	16
第三章 實驗	18
3-1 實驗架構	19
3-2 實驗藥品	20
3-3 實驗設備	24

3-4	實驗步驟	26
3-4-1	CdSe 量子點與 CdSe/ZnS 殼核量子點之合成	26
3-4-2	乙硫醇酸表面修飾 CdSe/ZnS 量子點之合成	28
3-4-3	硫酸琥珀酸表面修飾 CdSe 與 CdSe/ZnS 量子點之合成	29
3-4-4	硫醇十一酸表面修飾 CdSe 與 CdSe/ZnS 量子點之合成	31
3-4-5	二胺基乙硫醇表面修飾 CdSe 與 CdSe/ZnS 量子點之合成	33
3-4-6	水溶性量子點結合鏈抗生物素蛋白 Streptavidin (SA)之製備	34
第四章 結果與討論		35
4-1	硒化鎘及核殼型硒化鎘/硫化鋅量子點發光特性之研究	35
4-2	兩步合成水溶性量子點之特性探討	38
4-2-1	表面修飾乙硫醇酸包覆 CdSe/ZnS 量子點	38
4-2-1-1	pH 值之影響	38
4-2-1-2	吡啶之影響	39
4-2-2	表面修飾硫酸琥珀酸包覆 CdSe/ZnS 量子點	40
4-2-3	表面修飾硫醇十一酸包覆 CdSe/ZnS 量子點	41
4-2-4	兩步合成所得水溶性 CdSe/ZnS 量子點製程之探討	43
4-3	一鍋合成所得水溶性量子點光譜與發光特性之探討	44
4-4	水溶性量子點與鏈抗生物素蛋白與生物素結合特異性之探討	50
第五章 結論		54
參考文獻		56

## 圖目錄

圖 1-1	(a)金屬(b)半導體 原子、奈米粒子與巨相塊材能隙變化圖	59
圖 1-2	理想中(a)塊材(b)量子井(c)量子線與(d)量子點之量子能量與量子密度之關係	59
圖 2-1	(a) CdSe 殼結構(b) CdSe/ZnS 殼核結構之能隙模型。	60
圖 2-2	TOPO 修飾奈米粒子表面之可能模型	60
圖 3-1	CdSe 之合成流程圖	61
圖 3-2	CdSe/ZnS 之合成流程圖	62
圖 3-3	CdSe/ZnS-MAA 之合成流程圖	63
圖 3-4	CdSe/ZnS-MSA 之合成流程圖	64
圖 3-5	兩步合成 CdSe/ZnS-MUA 之合成流程圖	65
圖 3-6	一鍋合成 CdSe/ZnS-MUA 之合成流程圖	66
圖 3-7	CdSe/ZnS-AET 之合成流程圖	67
圖 3-8	CdSe/ZnS-SA 之合成流程圖	68
圖 4-1	CdSe 量子點之紫外/可見光吸收光譜	69
圖 4-2	HDA 包覆 CdSe/ZnS 之紫外/可見光吸收光譜	69
圖 4-3	CdSe 量子點之激發與螢光光譜	70
圖 4-4	CdSe/ZnS 核殼量子點之激發與螢光光譜圖	70
圖 4-5	六方結構 CdSe 之結構示意圖	71
圖 4-6	CdSe 量子點 X-光繞射圖譜	71
圖 4-7	HDA 包覆 CdSe 量子點之穿透式電子顯微鏡影像	72
圖 4-8	pH 值對水溶性 CdSe/ZnS 量子點螢光光譜效應之比較	73
圖 4-9	不同比例吡啶修飾 CdSe/ZnS 量子點螢光光譜之比較	73

圖 4-10	硫醇琥珀酸包覆水溶性 CdSe/ZnS 量子點結構示意圖	74
圖 4-11	HDA 包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於氯仿溶液中之螢光光譜圖	75
圖 4-12	水溶性硫醇琥珀酸包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於去離子水環境中之激發與螢光光譜	75
圖 4-13	HDA 包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於氯仿環境中之紫外-可見光吸收光譜	76
圖 4-14	水溶性硫醇琥珀酸包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於去離子水環境中之紫外-可見光吸收光譜	76
圖 4-15	水溶性 CdSe/ZnS 量子點之螢光特性(a)日光燈與(b)紫外光燈	77
圖 4-16	硫醇十一酸包覆水溶性 CdSe/ZnS 量子點結構示意圖	77
圖 4-17	CdSe/ZnS 和 MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點紫外-可見光吸收光譜之比較	78
圖 4-18	HDA-包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於氯仿環境中之激發與螢光光譜	78
圖 4-19	MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點於去離子水環境中之激發與螢光光譜	79
圖 4-20	(a) HDA-包覆 CdSe/ZnS 量子點 (b) 水溶性 MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點之 TEM 影像	79
圖 4-21	水溶性 MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點之螢光放射(a)日光燈與 (b)紫外燈	80
圖 4-22	一鍋合成所得水溶性 MUA-包覆 CdSe 量子點之紫外-可見光吸收光譜	80
圖 4-23	MUA-包覆 CdSe 量子點穿透式電子顯微鏡影像	81

圖 4-24	MUA-包覆 CdSe 量子點激發與螢光光譜	82
圖 4-25	MUA-包覆 CdSe 量子點之 EDX 分析圖	82
圖 4-26	MUA-包覆 CdSe 及 HDA-包覆 CdSe 量子點之 FT-IR 吸收光譜之比較	83
圖 4-27	MSA-包覆 CdSe 及 HDA-包覆 CdSe 量子點之 FT-IR 吸收光譜之比較	83
圖 4-28	AET-包覆 CdSe 及 HDA-包覆 CdSe 量子點之 FT-IR 吸收光譜之比較	84
圖 4-29	一鍋合成法所得 MUA-包覆 CdSe 量子點表面形貌	85
圖 4-30	一鍋合成法所得 AET-包覆 CdSe 量子點表面形貌	85
圖 4-31	有機分子包覆與水溶性 CdSe 量子點之 XRD 圖譜之比較	86
圖 4-32	MSA-包覆 CdSe/ZnS 量子點之激發與螢光光譜	87
圖 4-33	MSA-包覆 QD 及 QD-SA 錯合物螢光光譜之比較	87
圖 4-34	硝化纖維玻片之 SEM 影像與形貌	88
圖 4-35	不同濃度之 QD-SA 錯合物螢光強度之比較	89
圖 4-36	不同濃度之 QD-SA 螢光強度檢量曲線	89
圖 4-37	利用 10% tris-glycine gel SDS-Page 進行 QD-SA 分子量之分析	90
圖 4-38	QD-SA 與 anti-human-IgE-Biotin 之特異性分析與螢光影像	90
圖 4-39	QD-SA 與 anti-human-IgE-Biotin 特異性之螢光強度校正曲線	91

## 表目錄

表 1	立方體粒子的大小及表面原子比率	92
表 2	銅粒子粒徑與表面能量比率	92
表 3	金屬奈米粒子的熔點及燒結溫度	93
表 4	奈米粒子的應用範圍	93
表 5	半體材料之結晶學與能帶	94
表 6	文獻中量子點合成法之比較	95
表 7	兩步合成所得水溶性量子點之最佳製程條件	96
表 8	一鍋合成所得水溶性量子點製程條件之比較	97
表 9	不同製程所得水溶性量子點之比較	98

# 第一章 緒論

## 1-1 奈米材料之簡介

奈米粒子可稱之為量子點，係因其具如量子狀態般之不連續能階。而奈米粒子之尺寸係介於 1~100 nm 之間，故當物質之粒徑小於數十奈米或幾奈米，其尺寸接近光之波長或激子(exciton) 的平均自由路徑，故其特性亦將與該物質於塊材狀態下之表現特性不同。故隨著粒徑之縮小，所呈現之體積效應、表面效應、及內外交互作用力將會使奈米粒子具異於塊狀材料之諸多物理性質和化學性質。奈米材料與塊狀材料(bulk material)之差異可發生於熔點、沸點、光學性質、擴散能力、機械性質、導電性、比熱、磁性等物理性質的改變<sup>1</sup>。奈米材料所具有之特殊性質可應用於製作微型化及高功能性的微電子元件、特殊活性與選擇性之觸媒、奈米複合材料、光電元件、建築材料、顏料。因其用途廣泛，故奈米技術的開發為現今所有先進國家發展的重點<sup>2</sup>。

## 1-2 奈米材料之特性

當材料由塊材變成奈米級粒子時，在奈米粒子之特性與塊材的特性大大不同，係由於當材料為奈米級時其物理特性會改變，而其物理特性分列如下：

### 表面效應：

物質內部的原子或分子，當受到來自於周圍之原子或分子各方向相等的作用力，保持平衡狀態。但物質表面之原子或分子，由於受到來自內部原子或分子單方向的淨作用力，因而使外部之原子或分子具有較高的能量，稱之為表面能量。

當粒徑小到奈米尺度時，暴露於表層之原子數相對於粒子的總原子數比例大為增加，比起內部，粒子表面之原子或分子的配位數小，而化學鍵屬於不飽和狀態，表面能量高於內部，故奈米粒子之表面活性大於塊狀材料<sup>3</sup>。表 1 所示係粒子尺寸遞減時，表面原子數隨之增加之情形；表 2 所示係粒徑減小時，其表面能量改變之情形。此外，表面效應所造成之影響還包括吸附性質、催化與化學性質、熔點與燒結溫度、成品機械性質的改變，其中熔點和燒結溫度改變之原因在於奈米粒子的組成原子數比較少，表面原子處於不安定之狀態，使其表面晶格振幅較大，所以具有高表面能。當固體具異方向性結晶時，因固態原子不能移動，無法像液體以改變形狀來減少表面能量，導致表



面能量因結晶型態不同而相異。由於凡得瓦力極大量表層原子強化粒子間之黏合性，結晶結構可能因此而改變。

此外，由於奈米粒子具有高表面能，且有極大之表面積使晶粒界面擴散係數(grain boundary diffusivity)為塊狀材料的數百倍，因此奈米粒子易於低溫下燒結，且隨著粒徑變小，其晶格比熱、熔點與燒結溫度隨之下降，表 3 所列係為金屬奈米粒子之熔點與燒結溫度與塊狀材料之比較。

#### **體積效應：**

當粒子體積很大時，可將之視為由無限多個原子組成，但粒子小至由數千個原子組成時，則有些物性會有所改變，此種由體積小所產生之變化稱為粒子體積效應<sup>4</sup>。粒子體積效應所導致之物性改變可發生於磁性性質、電學性質、光學性質及化學鍵性質等方面。其中光學性質之改變包含：奈米粒子之粒徑小於光的波長時，光反射率會下降，成為光吸收體。粒徑愈小，其紫外光可見光(UV-Vis)光譜中所對應之吸收峰將往短波長的方向位移，呈現藍位移(blue shift)現象。奈米粒子之粒徑遠小於光波長，且表面原子之不安定性與入射光產生複雜的交互作用，而產生磷光、螢光、拉曼散射等現象。

#### **量子尺寸效應：**

金屬塊材之能階可視為連續的，而奈米粒子之大小介於原子與塊

材之間，而其電子能階將成為分立狀態，且其能階密度將隨尺寸大小不同而改變，即能階量子化。這種能階之間距隨著顆粒尺寸的縮小而增加；粒子尺寸逐漸下降到原子級時，其能階間之能隙最大；就混成軌域之觀念而言，當晶體之原子數目減少到一定程度時，即粒徑小於激子波爾半徑(exciton Bohr radius)，電子數目將隨之減少而造成電子軌域能階之不連續，導致其能隙變大，而奈米晶體之能隙隨著晶體縮小而產生藍位移(blue-shift)之現象，此現象稱之為量子侷限效應(quantum size confinement effect)。而粒子尺寸於巨觀時，由於物體包含無限個原子，能量相近之能階將逐漸合併成一連續的能帶，如圖 1-1 所示<sup>6</sup>。



當能階間距大於熱能、光子能量、靜電能、磁能等之平均能間距時，將出現一連串與塊材截然不同之特性，稱之為量子尺寸效應。而這種量子尺寸效應導致奈米粒子之磁、光、電、聲、熱以及超導電性特性與塊材顯著不同。而奈米粒子之形狀亦會使量子限量化性質發生改變，如：零維空間之奈米粒子為量子點，一維線狀或棒狀之奈米粒子為量子線，二維層狀之奈米粒子為量子井，三維塊狀為塊材。故使量子狀態之密度可成線狀、不連續狀、階梯狀於連續狀的差異，如圖 1-2 所示<sup>6</sup>。但以量子點而言，因電子受到三個維度之限制，故三個維度均呈現波之性質，就軌域而言，量子點之能隙與粒徑平方成反比：

$$\Delta E \propto \frac{1}{a^2} \quad a \text{ 代表粒徑大小}$$

### 交互作用力:

奈米粒子所呈現之內外交互作用力方面，因奈米粒子表面與內部距離極短，除粒子內層原子與外層原子互相影響外，粒子間之交互作用不僅發生於表面，更擴及到粒子之內部。雖然表面或界面之特有現象大幅影響粒子的特性，但實際上對於奈米粒子之分析與檢測乃是對於整個奈米粉體，所以仍需注意粒子間之相互作用對粒子特性所造成的影響<sup>2,5</sup>。



### 1-3 奈米材料之製備方法

奈米材料依類型可大致分為奈米微粒、奈米纖維、奈米薄膜和奈米塊體四種，其中奈米薄膜和奈米塊體皆來自於奈米微粒，故奈米微粒之製備相當重要。奈米微粒之製備方法大致可分為物理和化學兩種製備方法。物理製備方法可區分為：氣相冷凝法、機械球磨法、物理粉碎法、熱分解法、超臨界流體法等；化學製備方法則可區分為：化學氣相沈積法、溶膠凝膠法、微乳液法、聚合物接枝法、化學沈澱法、水熱合成法、電弧電漿法、聲化學方法等。

物理製備方法：



#### (1) 氣相冷凝法

用真空蒸發、加熱、高頻感應等方法使原料氣化或形成等粒子體，然後驟冷。其特點係純度高、結晶組織好、粒度可控，但技術設備要求高。

#### (2) 物理粉碎法

通過機械粉碎、電火花爆炸等方法得到奈米粒子。其特點係操作簡單、成本低，但產品純度低，顆粒分佈不均勻。

### (3) 機械球磨法

採用球磨方法，控制適當之條件到純元素、合金或復合材料的奈米粒子。其特點係操作簡單、成本低，但產品純度低，顆粒分佈不均勻。

### (4) 熱分解法

利用加熱到高溫之方式將復合物分解以製備奈米複合材料，如在真空狀態下，以約攝氏 300 度的高溫熱分解復合物  $\text{Si}_8\text{O}_{12}\text{H}_6 \cdot (\text{CoCCo}_4)_2$  可得到包含有  $\text{Co}_2\text{C}$  奈米微粒的非晶體矽複合材料。

化學製備方法：



#### (1) 化學氣相沈積法

利用金屬化合物蒸氣之化學反應合成奈米材料。其特點係產品純度高，粒度分佈窄。

#### (2) 沈澱法

把沈澱劑加入到鹽溶液中進行反應後，將沈澱物熱處理後得到奈米材料。其特點係簡單易行，但純度低，顆粒半徑大，適合製備氧化物。

### (3) 水熱合成法

高溫高壓下在溶液或蒸汽等流體中合成，再經分離和熱處理得到奈米粒子。其特點係純度高，分散性好、粒度易控制。

### (4) 溶膠凝膠法

金屬化合物經溶液、溶膠、凝膠而固化，再經低溫熱處理而生成奈米粒子。其特點係反應物種多，產物顆粒均一，過程易控制，適於氧化物和 II~VI 族化合物之制備。


### (5) 微乳液法



兩種互不相溶之溶劑在表面活性的作用下形成乳液，在微泡中經成核、聚結、團聚、熱處理後得奈米粒子。其特點係粒子之單分散和介面性好，II~VI 族半導體奈米粒子多用此法製備。

## 1-4 半導體奈米材料之應用與發展

奈米材料之應用範疇相當廣泛，由於各種不同之奈米材料都具備各自的獨特效應，故導致其處於外加場(如電場、磁場等)的作用下，會呈現不同之特異性能，可應用於高性能催化劑、超導材料、吸波材料(隱形材料)、複合材料、發光材料、特殊塗料、磁記錄材料、以及醫用材料等經濟價值相當高的領域方面。由於奈米材料表現出不同於以往傳統塊狀材料之物理特性，世界各先進國家皆將奈米技術列為關鍵重點開發技術。因未來不論傳統產業或是高科技產業，都極需奈米材料加以配合，奈米材料之研究則須從基礎研究開始慢慢達到所需的要求。我國現階段具備相當多半導體和微電子工業之實力，未來幾年奈米材料和科技領域之發展，將是相關我國未來是否具備全球競爭力之重要關鍵。表 4 所示即為利用奈米粒子之特性在不同方面的應用



2.3。

## 第二章 文獻回顧

### 2-1 II-VI 族量子點之製備方法

合成導體奈米材料時，合成安全性、粒子均勻度以及高螢光量子產率係重要之關鍵技術，而近期已有相當程度之發展分列如下：

1990 年代初期，利用 dimethylcadmium 當作 cadmium 之前驅物，製備單一尺寸分布和高結晶性之 CdSe 奈米晶粒<sup>7-8</sup>，此種有機金屬方法在過去十年已迅速發展，控制 CdSe 奈米晶粒尺寸<sup>9</sup>、形狀<sup>10-12</sup>和尺寸/形狀的分佈。然而，CdTe 和 CdS<sup>13-14</sup>之合成法並無法控制改變奈米晶粒的形狀。而傳統用 dimethylcadmium 在室溫下相當不穩定、毒性強和價格貴，升溫過程中若釋放太多之氣體會有爆炸之危險，故其實驗設備及儀器需嚴苛之要求。故近年來發展出以 CdO、CdCl<sub>2</sub>、CdCO<sub>3</sub> 及 Cd(Ac)<sub>2</sub> 等試劑取代二甲基鎘來合成 CdSe，2001 年 Xiaogang Peng<sup>15</sup> 研究群成功利用 CdO 與十四碳基磷酸(tetradecylphosphonic acid, TDPA)所組成之錯合物取代二甲基鎘試劑，Murray<sup>1</sup>發展利用 TOPO、TBP 之錯合性溶劑為反應系統前提，以穩定性高之 CdO 為前驅物，因 TDPA 於高溫下對 CdO 具有強錯合力而形成無色錯合物，於此狀態下注入(S、Se、Te)/TBP 前驅劑則完成粒徑大小控制之 CdX(X=S, Se, Te)奈米粒子合成。Xiaogang Peng<sup>16</sup> 已成功發展利用多種 Cd 前



驅劑與其對應之錯合試劑備製奈米粒子，如  $\text{Cd}(\text{Ac})_2\text{-SA}$  (cadmium acetate-steric acid)、 $\text{CdCO}_3\text{-SA}$  (cadmium carbonate-steric acid)、 $\text{CdO-SA}$  (cadmium oxide-stearic acid) 或  $\text{CdO-LA}$  (cadmium oxide-lauric acid) 等多種有機錯合性反應系統，此技術亦將  $\text{CdX}$  ( $X=\text{S}, \text{Se}, \text{Te}$ ) 及其衍生之低維度材料的製備推至工業化之階段。

1997 年 Bawendi<sup>17</sup> 利用兩步驟 (Two-Stage) 合成法掌握核 ( $\text{CdSe}$ ) 與層 ( $\text{ZnS}$ ) 間之晶格參數，並依  $\text{CdSe}$  之大小以合成出與其對應的  $\text{CdSe/ZnS}$  粒子。所謂兩步驟 (Two-Stage) 合成法包括第一步驟  $\text{CdSe}$  合成與分離純化，隨後接續以第二步驟之無機  $\text{ZnS}$  層修飾，以此方法合成核層粒子具有粒子大小選擇性控制之優點，意即可依所合成之  $\text{CdSe}$  大小去得到光譜性質接近於此的  $\text{CdSe/ZnS}$  粒子；然而兩步驟 (Two-Stage) 合成之缺點為較費時、費工，同時以晶格常數計算  $\text{CdSe}$  與  $\text{ZnS}$  間劑量關係相當繁瑣。

1996 年 Hines 等人<sup>18</sup> 利用一鍋反應方式成功在  $\text{CdSe}$  粒子表面修飾上  $6\pm 3\text{\AA}$  之無機  $\text{ZnS}$  層。其研究中利用二甲基鎘和  $\text{Se/TOP}$  混合液做為  $\text{Cd/Se}$  之前驅試劑，在高溫下反應，當  $\text{CdSe}$  成核後再進一步將溫度降低，注入  $\text{ZnS}$  反應，此方式可成功合成出  $\text{CdSe/ZnS}$  核殼奈米材料。

## 2-2 量子點之表面修飾

### 2-2-1 無機表面修飾(inorganic surface passivation)

核層結構材料即為無機修飾 (inorganic surface passivation)，其遵循之原理與 Quantum-Well 相同。利用無機修飾，意即利用核與殼之材料之能隙差異，選擇核之材料所屬的能隙較高於殼之能隙，使得多數荷載物得以被局限於能隙邊緣，故降低了荷載物因穿隧或 trapping 所造成之損失，更可提高量子產率；表 5 所示係各種半導體材料之能隙表。圖 2-1 可用以解釋外層被包有 ZnS 之核層可將電子完全 trap 於殼內，遠比單獨只有殼之結構的效率高<sup>18-22</sup>。

### 2-2-2 有機表面修飾(organic surface passivation)

以液相磊晶(liquid-phase epitaxy)方法合成奈米微粒通常需要適當之穩定劑去穩定粒子的結構，如圖 2-2 所示；此界面活性劑之包覆稱之為有機表面修飾(organic surface passivation)。由於表面有機分子之立體障礙以及分子間斥力之影響，使奈米粒子不會有凝聚現象之發生。圖 2-2 中有一些未吸附有穩定劑之原子，此原子稱之為 unpassivated atoms；此種不完整包覆或動態吸附能力不足會造成晶體在堆疊上造成錯誤(stacking faults)而形成晶體缺陷(defect)，這些表面晶體缺陷對表面原子率高之微粒子系統有著重大的影響。

半導體奈米粒子系統中常見之放光機制:能隙放光(band dege

emission), 晶體缺陷放光(deep-trap emission); 能隙放光係遵守電子電洞再結合機制放光; 晶格缺陷放光係因有額外之能階產生, 此係由表面呈裸露狀之原子所提供; 以 CdSe 為例, 係由 Se 所提供, 因傳統所使用之界面活性劑對 Cd 有較強的吸附能力, 是故 Se 常為裸露狀態。這些存在表面中之能隙能階(midgap state)可成為電子的提供者(donor)或是電子接受者(acceptor), 故如此多種之激發態電子能階組態使晶體缺陷放光波寬會較能隙放光寬, 能量也較低。



## 2-3 水溶性量子點之製備與應用

水溶性量子點之合成已有許多學者投入此領域之研究，此外因生物科技蓬勃之發展又加上奈米技術已漸成熟，故許多學者多朝向奈米應用於生物科技之研究發展。

Horst Weller<sup>23</sup> 利用 thioglycolic acid (TGA) 做為奈米粒子之穩定劑，製備 CdTe；並於水溶液中導入液態 NaHTe 與液相中  $\text{Cd}^{2+}$  離子於 pH 14 下加熱回流反應合成出粒子大小可控制之 CdTe 奈米粒子，同時在高 pH 值狀態下螢光量子產率會隨之增強而達到 18% 的強度。

此外 Horst Weller<sup>23</sup> 團隊亦利用不同種類之硫醇有機分子做為水相反應中的微胞系統，而此於 pH11.2 之狀態下經由  $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$  所產生的  $\text{Cd}^{2+}$  離子與 NaHSe 溶液回流反應下同樣生成一序列 CdSe 奈米粒子；2000 年 Roach. 等人<sup>24</sup> 利用檸檬酸鈉鹽 (sodium citrate) 做為合成 CdSe 的微胞穩定系統，同時使用  $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$  與 N,N-dimethylselenourea 混合液做為前驅劑，合成 CdSe 粒子。

1998 年 Bruchez Jr 等人<sup>25</sup> 首先利用 silica-coated core (CdSe)-shell (ZnS or CdS) nanocrystal 將量子點修飾為具有二氧化矽之表面；其係利用 mercaptopropyltris (methoxy)silane (MPS) 與 tetramethylammonium hydroxide in methanol 回流反應，則 MPS 可取代有機包覆試劑，並使量子點表面被矽烷化成為水溶性量子點。

1998年Warren等人<sup>26</sup>合成水溶性量子點材料，利用表面修飾之原理將CdSe/ZnS表面包覆一層親水端分子（-COOH，-OH），其使用之mercaptoacetic acid (MAA)包覆試劑含有thio官能基，利用thio結合於ZnS表面再利用相轉移將量子點從有機相轉至水相，則量子點即可溶於水或緩衝溶液內。

2001年Daniele<sup>27</sup>利用mercaptpropionic acid (MPA)取代TOPO包覆之CdSe/ZnS，其利用1ml *N,N*-dimethylformamide (DMF)與0.1ml mercaptpropionic acid加入CdSe/ZnS粉體，混合溶液反應10-30分鐘直到溶液澄清並於室溫下儲存1-4天，再加入3-7 mL 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP)/DMF (20 mg of DMAP in 1 mL of DMF)，溶液變混濁後再行離心，則MPA包覆之量子點即為水溶性量子點。1998年 Marcel 等人<sup>28</sup>提出利用表面包覆Silica之量子點結合生物分子，並利用生物分子之專一性做為細胞標定之用途。Chan 等人<sup>29</sup>利用表面經由mercaptoacetic acid (MAA)修飾後之量子點直接結合蛋白質，並且可接之應用於HeLa cell之標定。Baoquan等人<sup>30</sup>提出利用表面修飾mercaptosuccinic acid (MSA)之量子點結合IgG並且利用免疫反應偵測抗原，以達到sandwich架構，並利用共軛焦螢光掃描器偵測訊號。

## 2-4 研究動機與目的

依據表6可知已有許多學者大力投入水溶性量子點之製備，多數學者均以沉降或相轉移之方式並以兩步驟 (Two-Stage)合成修飾量子點之表面，進而使量子點表面帶有極性之官能基；少數學者以一鍋合成方式所合成之水溶性量子點均係以金屬鹽類為前驅物，而其缺點無法有效控制粒徑分布；因此在本研究中利用兩步驟 (Two-Stage)合成及一鍋合成法製備水溶性量子點，而本研究中之二鍋合成法係以傳統氧化鎘為前驅物，因此易於調控粒徑分佈，並且比較兩步驟 (Two-Stage)與一鍋合成(One-Pot synthesis)之特性差異。

由於近年來生物科技之進步及奈米技術之成熟發展，因此使許多學者紛紛投入量子點之應用。然而量子點之所以如此熱門，係因量子點可成為新螢光標示取代傳統有機螢光染料<sup>26-27</sup>；其比較分述如下:(1)有機染料在光學系統上必須有嚴格之要求，包括激發光源、濾光片對於一個螢光量測系統相當重要，但有機螢光染料其激發波長之範圍相當窄，放射波長寬，且其史托克(Stokes shift)小，故其激發波長與放射波長近，相較於量子點其吸收波長寬、放射波長窄，而且對稱；因此其光系統相當簡單並可取代有機染料做為螢光標定。(2)量子點具有長時間之光穩定性及光量子產率皆比傳統的有機螢光染料佳。此外，量子點之放射光譜可由改變材料之組成及核粒徑大小，所以可利

用多種顏色之量子點做為多種分析之偵測。

由於水溶性量子點與生物物質之結合已陸續被引用與研製<sup>23-24</sup>，依據文獻回顧可得知大多數學者利用水溶性量子點做為細胞標定，並且利用共軛焦螢光顯微鏡做訊號分析。然而在本研究中將利用量子點做為傳統有機螢光染料並應用於生物晶片之螢光訊號，由於量子點具有可調性之功能因此在本實驗中可利用製程調製將量子點之激發光譜設計於共軛焦螢光掃描器之激發光譜範圍，加以取代生物晶片之螢光訊號，並將量子點實現於生物晶片之應用。

依據上述，本研究之主要目的如下：

1. 水溶性量子點之製備，傳統上均以兩步合成之方式修飾量子點表面，因此在本研究中利用兩步合成及一鍋合成法製備水溶性量子點，並比較其特性之差異。
2. 傳統有機染料其激發波長之範圍相當窄，放射波長寬，且其史托克 (Stokes shift) 小，故其激發波長與放射波長近，相較於量子點其吸收波長寬、放射波長窄，而且對稱；因此其光系統相當簡單並可取代有機染料作為螢光標定。量子點具有長時間之光穩定性及光量子產率皆比傳統的有機螢光染料佳。
3. 文獻回顧得知大多數學者利用水溶性量子點作為細胞標定，並且利用共軛焦螢光顯微鏡做訊號分析。在本研究中將利用量子點作為傳

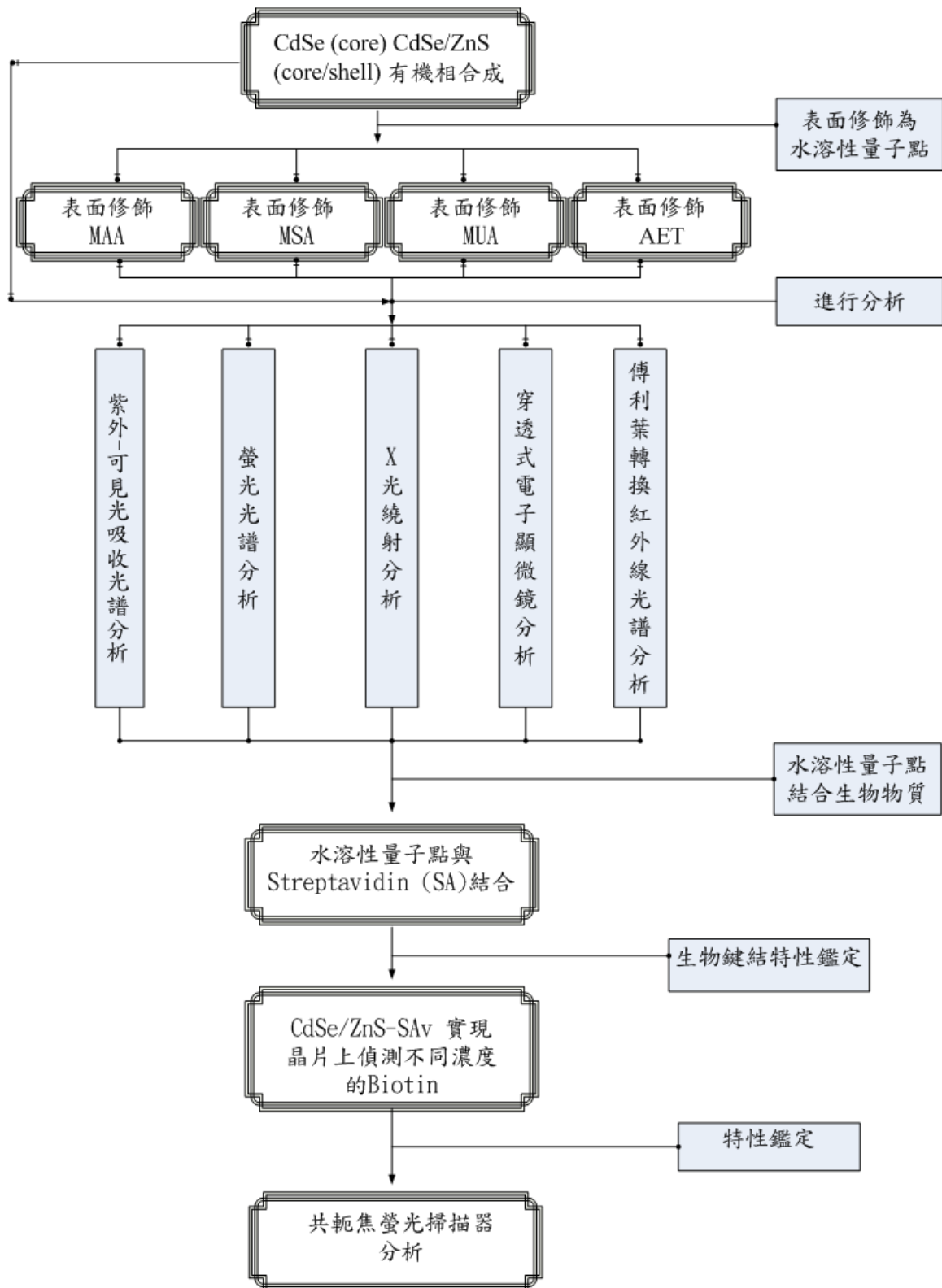
統有機螢光染料並應用於生物晶片之螢光訊號，取代傳統有機染料。





# 第三章 研究方法

## 3-1 實驗架構



### 3-2 實驗藥品與縮寫名

#### 1. 氧化鎘 (Cadmium Oxide)

分子式: CdO                      分子量: 128.40

CAS Number: 1306-19-0

製造商: Aldrich

#### 2. 硒 (Se)

分子式: Se                      分子量: 78.96

CAS Number: 7782-49-2

製造商: Aldrich

#### 3. 三丁基磷化氫 (Tri-n-butylphosphine)

分子式:  $[(\text{CH}_3)_3\text{C}]_3\text{P}$                       分子量: 13716-12-6 縮寫名: TBP

CAS Number: 13716-12-6

製造商: Showa

#### 4. n-十六烷胺 (n-Hexadecylamine)

分子式:  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{NH}_2$                       分子量: 241.46                      縮寫名: HDA

CAS Number: 143-27-1                      純度: 98%

製造商: Lancaster

#### 5. 硬脂酸 (Stearic acid)

分子式:  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$                       分子量: 284.49

CAS Number: 57-11-4

製造商: Lancaster

#### 6. 三庚基磷化物 (Tri-n-octylphosphine oxide)

分子式:  $(\text{C}_8\text{H}_{17})_3\text{PO}$                       分子量: 386.65                      縮寫名: TOPO

CAS Number: 78-50-2

製造商: ACROS

7. 醋酸鋅 (Zinc Acetate dehydrate)

分子式:  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  分子量: 219.50

$2\text{H}_2\text{O}$

CAS Number: 5970-45-6

製造商: Aldrich

8. 硫 (Sulfur powder)

分子式:  $\text{S}_8$  分子量: 32.06

CAS Number: 7704-34-9

製造商: Aldrich

9. 氯仿 (Chloroform)

分子式:  $\text{CHCl}_3$  分子量: 119.38

CAS Number: 67-66-3

製造商: Tedia

10. 甲醇 (Methyl alcohol)

分子式:  $\text{CH}_3\text{OH}$  分子量: 32.04

CAS Number: 67-56-1

製造商: Tedia

11. 乙硫醇酸 (Mercaptoacetic acid)

分子式:  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{S}$  分子量: 92.11

CAS Number: 68-11-1

純度: 98%

縮寫名: MAA

製造商: Acros

12. 硫醇琥珀酸 (D,L-mercaptosuccinic)

分子式:  $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{S}$  分子量: 150.15

CAS Number: 70-49-5

縮寫名: MSA

製造商: Acros

13. 硫醇十一酸 (11-Mercaptoundecanoic acid)

分子式:  $C_{11}H_{22}O_2S$       分子量: 218.36      縮寫名: MUA  
CAS Number: 71310-21-9      純度: 95%      製造商: Aldrich

14. 二氨基乙硫醇 (2- aminoethane thiol)

分子式:  $C_2H_7NS.HCl$       分子量: 113.61      縮寫名: AET  
CAS Number: 156-57-0      製造商: Acros

15. 四甲基氫 (tetramethylammonium hydroxide 25% wt% in methanol)

分子式:  $C_4H_{13}NO$       分子量: 91.15      縮寫名: TMAOH  
CAS Number: 75-59-2      製造商: Acros

16. 吡啶 (Pyridine)

分子式:  $C_4H_9N$       分子量: 79.1  
CAS Number: 110-86-1      製造商: Merck



17. 乙基乙醚 (Ethyl ether)

分子式:  $(C_2H_5)_2O$       分子量: 74.1  
CAS Number: 60-29-7      製造商: Tedia

18. 1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide

分子式:  $C_8H_{17}N_3 \cdot HCl$       分子量: 191.71      縮寫名: EDC  
CAS Number: 25952-53-8      製造商: Sigma

19. N-Hydroxysulfosuccinimide Sodium Salt

分子式:  $C_4H_4NNaO_6S$       分子量: 217.10   縮寫名: NHS

CAS Number: 106627-54- 7      製造商: Sigma

20. 鏈抗生物素蛋白 (Streptavidin)

分子量: 55 kDa      縮寫名: SA

CAS Number: 106627-54- 7      製造商: Sigma

21. 牛血清蛋白 (Bovine serum albumin)

分子量: 66 kDa      縮寫名: BSA

CAS Number: 9048-46-8      製造商: Sigma

22. Anti-human-IgE-biotin

購買於Kirkegaard & Perry Laboratories (Gaithersburg, MD)

23. 硝化纖維玻片 Nitrocellulose (NC) slides

工業技術研究院生醫中心蛋白質體提供



### 3-3 實驗設備


#### 1. 紫外-可見光吸收光譜儀 ( UV-Vis Spectrophotometer )

日本Hitachi所製造，其型號為U-3010，可掃描波長範圍 190nm 到1000nm，可利用分析物對光之穿透度，由Beer's law 測分析物之吸收光譜。

#### 2. 螢光光譜儀 ( Photoluminescence spectrometer, PL 光譜儀 )

美國 Jobin Yvon Instrument S. A. Inc. 公司所製造 Spex Fluorolog-3 螢光光譜儀，配置450 W Xe燈與Hamamatsu Photonic所製造R 928型光電倍增管為偵測器，掃描範圍為200nm到1000nm。

#### 3. X光繞射儀 ( X-ray diffractometer )



德國Bruker axs 所製造其型號為D8 Ad 之X光繞射儀，其光源為銅靶，功率為2.2KW。光源產生之原理係利用40KV的操作電壓，加速撞擊銅靶以激發銅原子，經單光晶體分光，使產生 $1.5405\text{\AA}$ ， $K\alpha_1$ 的X射線，量測時，操作電流為40mA。掃描模式為 $2\theta/\theta$ ，掃描速率為每分鐘20度。利用此儀器可確定分析物晶格結構。

#### 4. 穿透式電子顯微鏡 ( Transmission electro microscope , TEM )

型號為TECNAI 20儀器代碼EM001200，可利用此儀器來判斷奈米粒子之粒徑大小。

#### 4. 霍氏紅外線光譜儀 (FT-IR)

美國Therma 所製造 Nicolet FT-IR spectroscopy，可掃描波長範圍為400nm 到4500nm，可由此儀器鑑定分析物之官能基。

#### 5. 共軛焦螢光掃瞄器

美國AXON Instrument所製造Gene Pix 4000，具有2個channel光源分別為Cy3和Cy5 (535nm，632nm)，可用此儀器以進行生物晶片之訊號分析。



### 3-4 實驗步驟與流程圖

#### 3-4-1 CdSe 量子點 與 CdSe/ZnS 核殼量子點之合成

##### (A) CdSe (Core) 合成 (如圖3-1所示)

1. 取0.6 mmole CdO、3.76 g HDA、0.66 g Stearic acid、5 ml TBP放入三頸瓶，通入氮氣，以磁石均勻攪拌，加熱到250°C，使CdO溶解，溶液澄清，並維持溫度於250°C。
2. 取0.9 mmole Se，加入1.5 ml TBP，以超音波震盪器振盪使Se溶於TBP中。
3. 利用針筒將Se-TBP溶液取出，快速注入CdO-HDA-TBP溶液中，此時反應溶液由澄清轉為暗紅色溶液，並加以降溫至40°C，注入氯仿/甲醇，使量子點沉降並以離心機離心，最後以甲醇清洗沉澱物，重覆此動作5次。



(B) CdSe/ZnS (Core/Shell)量子點之合成(如圖3-2所示)

- 1.取0.6 mmole CdO、3.76 g HDA、0.66 g Stearic acid、5 ml TBP放入三頸瓶，通入氮氣，以磁石均勻攪拌，加熱到250°C，使CdO溶解，溶液澄清，並維持溫度於250°C。
- 2.取0.9 mmole Se，加入1.5 ml TBP，以超音波震盪器振盪使Se溶於TBP中。
- 4.利用針筒將Se-TBP溶液取出，快速注入CdO-HDA-TBP溶液中，此時，反應溶液由澄清轉為暗紅色溶液，並加以降溫於180°C反應。
- 5.取0.025 mmole Zn(Ac)<sub>2</sub> 及0.025 mmole 硫粉，加入1.5 ml TBP，以超音波震盪器振盪使ZnS溶於TBP中。
- 6.將ZnS-TBP 溶液取出，慢慢注入溶液4中，反應1小時，並降溫於40°C，注入氯仿/甲醇，使量子點沉降並以離心機離心，甲醇清洗沉澱物，重覆此步驟5次。

### 3-4-2 乙硫醇酸表面修飾CdSe/ZnS量子點之合成(如圖3-3所示)

1. 取已合成之 HDA 包覆 CdSe/ZnS 粉體 20 毫克。
2. 將上述之粉體溶於 4 ml 之氯仿溶液中，並加入 3 ml 之吡啶。
3. 將 695  $\mu$ l 乙硫醇酸溶於 5 ml 氯仿溶液中，溶液加入上述混合溶液中，並攪拌約 5 分鐘。
4. 利用 tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 調整溶液中之酸鹼值至 pH 11。
5. 在黑暗環境中將此混合溶液以磁石攪拌反應 overnight (O/N)。
6. 反應完後，將溶液加以離心，以 6000 rpm 轉數離心並以甲醇清洗多餘之 MAA 及 HDA，重複此步驟 5 次。
7. 將沉澱物以磷酸鉀緩衝溶液 (PBS) pH 7.4 或去離子水將之回溶並儲存。

### 3-4-3 硫醇琥珀酸表面修飾 CdSe 與 CdSe/ZnS 量子點之合成(如圖 3-4 所示)

#### (A) 兩步驟 (Two-Stage)合成法

1. 取合成好之 CdSe/ZnS-HDA 有機相粉體 30 毫克溶於 10 毫升甲醇溶液，並利用超音波振盪器震盪溶液 10 分鐘。
2. 配置 180 毫克 MSA 於 50 毫升甲醇溶液中。
3. 將 2 溶液加入 1 溶液中，並利用超音波振盪器震盪約 2 分鐘。
4. 利用 tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 作 pH 值校正，使溶液之 pH 值校正為 pH 11。
5. 將溶液 reflux 於 70°C，氮氣環境中，2 小時。
6. 冷卻反應溶液，加入無水乙醚逼沉澱。
7. 利用離心機，6000 rpm 離心，以甲醇洗沉澱物並離心，重複此動作約 5 次。
8. 將上述沉澱物溶於磷酸鉀緩衝溶液(PBS，pH 7.4)，並加以避光儲存。

#### (B) 一鍋合成法

1. 取合成好之 CdSe (core) 溶液 1 ml 於三頸瓶中，加入 2 ml 氯仿，通入氮氣，以磁石均勻攪拌 10 分鐘。
2. 加入 500  $\mu$ l 1 M MSA 與 20  $\mu$ l tetramethylammonium

hydroxide pentahydrate 混合溶液控制 pH 值大於 10。

3. 混合溶液回流並反應 2 小時，於室溫環境中。
4. 將反應溶液離心，利用離心機 6000 rpm 離心，以甲醇/氯仿混合溶液洗沉澱物，並重複此步驟 5 次。
5. 將沉澱物以去離子水回溶，並避光儲存。



### 3-4-4 硫醇十一酸表面修飾 CdSe 與 CdSe/ZnS 量子點之合成

#### (A) 兩步驟 (Two-Stage) 合成法(如圖 3-5 所示)

1. 取合成好之 CdSe/ZnS-HDA 有機相粉體 10 毫克溶於 450  $\mu\text{l}$  吡啶中，並利用超音波振盪器震盪溶液 10 分鐘。
2. 取 5 毫克 MUA 並加入 50  $\mu\text{l}$  的 DMSO，將此溶液加入上述溶液，利用超音波震盪器震盪 1 小時。
3. 加入 12  $\mu\text{l}$  tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 於上述混合溶液，利用超音波震盪器震盪 10 分鐘，並利用離心機 6000 rpm 離心，以甲醇清洗沉澱物，重複此動作 5 次。
4. 將最後沉澱物溶於磷酸鉀緩衝溶液(PBS，pH 7.4)，並加以避光儲存。



#### (B) 一鍋合成法(如圖 3-6 所示)

6. 取合成好之 CdSe (core) 溶液 1 ml 於三頸瓶中，加入 2 ml 氯仿，通入氮氣，以磁石均勻攪拌 10 分鐘。
7. 加入 10  $\mu\text{l}$  tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 於 1 混合溶液。
8. 取 0.05 M MUA 於 50  $\mu\text{l}$  DMSO 中。
9. 將 MUA/DMSO 溶液注入 1 溶液，反應 2 小時。
10. 將反應溶液離心，利用離心機 6000 rpm 離心，並以甲醇/氯仿混合

溶液洗沉澱物，並重複此動作 5 次。

11. 將沉澱物以 D.I 回溶，並避光儲存。



### 3-4-5 二氨基乙硫醇表面修飾 CdSe 與 CdSe/ZnS(如圖 3-7 所示)

1.取合成好之 CdSe/ZnS-HDA 有機相粉體 30 毫克溶於 10 毫升氯仿溶液，並利用超音波振盪器震盪溶液 10 分鐘。

2.0.5 M AET/甲醇溶液加入 10  $\mu$ l tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 並加入上述混合溶液，並控制 pH 值為 pH 7，並且於室溫下反應 2 小時。

3.利用離心機 6000 rpm 離心，以甲醇洗沉澱物即離心，重複此動作約 5 次。

4.將上述沉澱物溶於去離子水中，並加以避光儲存。



#### (A) 一鍋合成法

1.取合成好之 CdSe (core) 及 CdSe/ZnS (core/shell) 1 ml 於三頸瓶中，加入 2 ml 氯仿，通入氮氣，以磁石均勻攪拌 10 分鐘。

2.在 0.5 M AET/甲醇溶液加入 10  $\mu$ l tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 。

3.將 2 混合溶液加入 1 中，反應 2 小時。

4.將反應溶液離心，利用離心機 6000 rpm 離心，以甲醇/氯仿混合溶液洗沉澱物，並重複此動作 5 次。

5. 將沉澱物以去離子水回溶，並避光儲存。

### 3-4-6 水溶性量子點結合鏈抗生物素蛋白 Streptavidin (SA)之製備(如圖 3-8 所示)

1. 取 100  $\mu$ l 的 20 mg/ml 水溶性量子點於離心管中。
2. 加入 EDC (200  $\mu$ l) 與 0.5 mM NHS 於水溶性量子點溶液中。
3. 將上述混合溶液於室溫下反應 20 分鐘。
4. 利用離心機 13000 rpm 離心 10 分鐘。
5. 利用磷酸鉀緩衝溶液(PBS, pH 7.4)洗沉澱物，並離心，重複此動作 3 次，以去除多餘未反應 EDC 與 NHS。
6. 回溶沉澱物於 1 ml PBS，並加入 100  $\mu$ l 的 1 mg/ml streptavidin (SA)。
7. 將反應溶液進行反應 O/N，於 4°C 環境中。
8. 離心此溶液，以 13000 rpm 離心，並以 PBS 洗沉澱物，重複此動作 5 次，以去除多餘之 Streptavidin (SA)
9. 將沉澱物以 1 ml PBS 回溶儲存於 4°C 環境中。





## 第四章 結果與討論

### 4-1 硒化鎘及核殼型硒化鎘/硫化鋅量子點發光特性之研究

由於傳統合成 CdSe 及 CdSe/ZnS 係由二甲基鎘為前驅物，而在高溫之環境下合成量子點，由於二甲基鎘具有以下之缺點如：高毒性、恐火性、昂貴、易爆炸之不穩定性<sup>10,9</sup>，因此吾人利用氧化鎘做為合成量子點之前驅物，並利用 HDA 及 TBP 做為表面包覆劑。傳統上利用 TOPO 及 HDA 之不同重量比之比例來做為表面包覆試劑，由於不同比例之 TOPO:HDA 所包覆之量子點其量子效率較單純利用 TOPO 為包覆試劑較高<sup>16,21,31</sup>，但利用 HDA 可以降低反應之溫度，使前驅物氧化鎘可形成較好之結構，故吾人僅利用 HDA 及 TBP 做為量子點之表面包覆試劑。圖 4-1 及 4-2 分別為 CdSe 及 CdSe/ZnS 之紫外可見光吸收光譜圖，並經由 Yu 於 2003 年發表之論文中所提及到利用下列公式與紫外可見光吸收光譜可推估晶粒之大小

$$D = (1.6122 \cdot 10^{-9})\lambda^4 - (2.6575 \cdot 10^{-3})\lambda^3 + (1.6242 \cdot 10^{-3})\lambda^2 - (0.4277)\lambda + 41.57$$

$$\varepsilon = 1600 \Delta E (D)^3$$

D: 晶粒大小 ;  $\lambda$ : 第一激子之波峰位置

$\varepsilon$ : 半導體之介電係數

$\Delta E$ :  $1240/\lambda$

由圖 4-1 及 4-2 可知其第一吸收峰於 574 nm，計算後可得 CdSe 及 CdSe/ZnS 粒徑大小為 3.63 nm，而介電係數為  $1.65329 \times 10^5$  L/mole-cm。圖 4-3 及圖 4-4 分別為 CdSe 和 CdSe/ZnS 之螢光光譜圖，由圖得知其放光為 599nm 及 603nm 橘紅光特性，因此當 ZnS 包覆於 CdSe 核結構上會產生一些紅位移之效應，其係因量子限量化效應所造成之現象，然由螢光光譜圖可知其半高寬約為 30nm，且由半高寬可得知量子點尺寸分佈係相當均勻的。因 CdSe 於塊材結構時，其晶體為 Wurtzite 結構，屬於六方最密堆積，如圖 4-5 所示，然而當 CdSe 粒徑小於 10nm 以下之量子點時，其晶體結構仍然與塊材相同。圖 4-6 為 CdSe 之 XRD 圖，係利用 CdSe 量子點表面經由 pyridine capping 後，在將 CdSe 量子點溶於 Pyridine 溶液中並將之塗佈於 Silicon wafer 上，以利用 XRD 進行結構分析。然而 Murray<sup>7</sup> 提出當 CdSe 粒徑減小時，在 XRD 分析圖中，20 度與 30 度間之波峰會漸漸變寬，其係由於粒子所含之原子數太少，因而無法形成固定之晶型結構，而粒徑小之 CdSe 在角度介於 30 度到 40 度之間及 55 度的位置若有特徵峰出現則為未反應之 CdO 所引起，然而由圖 4-6 可知，所合成之 CdSe 並未含有 CdO 之特徵峰存在。為了證明 CdSe 之粒徑大小，利用穿透式電子顯微鏡作粒徑大小之分析。將合成好之 CdSe，以氯仿溶液將之稀釋，並利用銅網撈起 CdSe/氯仿溶液，並將銅網以真空抽氣乾燥，

以進行穿透式電子顯微鏡分析用。圖 4-7 為 CdSe 之穿透式電子顯微鏡分析圖，由圖可得知 CdSe 粒徑大小與經由紫外可見光吸收光譜圖理論計算出來之值相近約 3.63nm 大小。



## 4-2 兩步驟 (Two-Stage)合成水溶性量子點之特性探討

### 4-2-1 表面修飾乙硫醇酸包覆 CdSe/ZnS 量子點

在此研究中利用 MAA 取代有機修飾劑 HDA 包覆之 CdSe / ZnS ，將有機相之量子點表面修飾具 COOH 之官能基，使量子點成為水溶性。Chan<sup>26</sup> 指出 MAA 之分子因具 SH 之官能基，故可由此官能基以結合量子點表面，因為 S 可與 Zn 原子及金屬形成鍵結，可取代藉由凡得瓦力之鍵結的 HDA，將有機 capping 之表面修飾劑，取代為具 COOH 之官能基表面修飾劑，使量子點成為水溶性。然而 MAA 為 Lewis 酸，故會造成量子點之結構被破壞而使螢光強度消失，故在此研究中將探討下列之因子，並找尋最佳之合成條件，而探討之因子如下所示：

1. pH 值之影響。
2. 吡啶之影響。

#### 4-2-1-1 pH 值之影響

在此研究中採用文獻所提之 tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 來做為 pH 值的校正，由於 MAA 直接加入會破壞量子點之結構，此係因 MAA 使量子點溶液過酸，而造成量子點之螢光特性被消滅，故無法合成水溶性之量子點。故經由校正不同 pH 值之量子點溶液合成水溶性的量子點實驗之探討，圖 4-8 可得知，當量子點

溶液在 pH 11 的環境中合成，其螢光特性較高，然而在 pH 7 之中性環境其螢光強度相當低，此係因需有適當之 tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 以去除 capping agent 使 MAA 有機會包覆量子點，倘若使溶液太鹼則使量子點產生聚集 (aggregation)，因為太多 tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 會使去 capping 之速率加快，而 MAA 無法快速包覆量子點使量子點無法形成水溶性。反之，當溶液中太少 tetramethylammonium hydroxide pentahydrate 亦無法有效合成水溶性之量子點。

#### 4-2-1-2 吡啶之影響

Peng 提出<sup>32</sup>合成 CdSe/ZnS 時，當合成好之 CdSe 被 HDA 及 TOPO 所 capping 時，為使 ZnS 能完美之包覆於 CdSe，故利用吡啶將有機包覆試劑軟化，進而利用吡啶以取代表面試劑，再將 ZnS 合成於 CdSe 之表面。由於吡啶具有軟化包覆試劑之能力，又溶液去吸附使得 ZnS 能完美之包覆。故本研究中利用吡啶此性質，將有機相之包覆試劑軟化，再將 MAA 包覆於量子點上。圖 4-9 得知，當吡啶 3 毫升加入溶液反應，得到較高之螢光特性。

#### 4-2-2 表面修飾硫酸琥珀酸包覆 CdSe/ZnS 量子點

依據文獻，Sun 等人<sup>30</sup>利用 MSA 包覆量子點，使量子點成為水溶性，並利用 MSA 含有兩個 COOH，以提高生物鍵結之機會。故於此研究中利用 MSA 具有此優點，進行取代有機相 capping reagent，將量子點表面修飾為水溶性之官能基。圖 4-10 所示為水溶性量子點 CdSe/ZnS 包覆 MSA 之模型。由圖 4-10 可明顯得知 MSA 的兩端之 COOH 可有效的應用結合含有胺基之蛋白質或生物物質等等。故為證明量子點經由 MSA 後其量子點發光性質不會改變，可由圖 4-11 及圖 4-12 分別為有機相量子點及水相量子點之螢光光譜圖加以分析，由圖得知其發光性質並無改變，更可由圖 4-13 圖 4-14 之紫外-可見光吸收譜圖以確認其量子點之結構未被改變。圖 4-15 為水溶性量子點於日光燈下與 UV 燈下之發光特性。

#### 4-2-3 表面修飾硫醇十一酸包覆 CdSe/ZnS 量子點

Fabien Pinaud<sup>33</sup> 提出利用 phytochelatin-related peptides 做為有機包覆試劑，取代由 TOPO 等包覆之 CdSe/ZnS，使 CdSe/ZnS 由有機相變成水溶性，係利用 Peptides 中 Cysteines 之 SH 與 CdSe/ZnS 量子點之 Zn 結合而末端則為親水性端故可溶於水溶性中，故於此研究中利用 MUA 將之取代 Peptide 之結構，由於 Peptide 價格昂貴，因此利用 MUA 修飾 CdSe/ZnS 表面，由於 MUA 具有 SH 官能基及 COOH 之官能基故可利用其 SH 與 Zn 結合，而 COOH 有助於水溶性之提升，且可用末端之 COOH 結合蛋白質將量子點應用於生物訊號。由圖 4-16 為水溶性 CdSe/ZnS 包覆 MUA 之模型。由於 MUA 具有多碳之結構，故修飾量子點 CdSe/ZnS 後其溶解性並不高，因其碳鏈之間作用力而使其溶解度降低。圖 4-17 CdSe/ZnS 和 CdSe/ZnS-MUA 之紫外-可見光吸收光譜圖中，當 CdSe/ZnS 經由 MUA 包覆後，其紫外-可見光吸收光譜有些微紅位移之現象，此係因溶劑不同及表面包覆試劑之不同，而造成光譜圖上些微之差異。圖 4-18 及 4-19 為 CdSe/ZnS 和 CdSe/ZnS-MUA 之螢光光譜圖，由圖可得知量子點經由包覆後其激發及放光特性未改變，藉由紫外-可見光譜圖及螢光光譜圖可得知當量子點經由 MUA 包覆後其結構亦不會改變，並由圖 4-20(a) 和 (b) CdSe/ZnS 和 CdSe/ZnS-MUA 之 TEM 圖可得知粒徑大小並未被改

變。圖 4-21 為水溶性量子點於日光燈下與 UV 燈下之發光特性。





#### 4-2-4 兩步合成所得水溶性 CdSe/ZnS 量子點製程之探討

傳統上水溶性量子點之表面修飾與合成方法均利用相轉移或硫醇基取代沉澱法，由於硫醇基之 pKa 值約等於 5，當利用硫醇基直接取代量子點表面之有機包覆試劑並無法成功合成高螢光強度之水溶性量子點；且硫醇基為酸性包覆試劑，因此量子點之結構必會遭受破壞，而影響量子點之發光特性；故利用硫醇基時必須加以利用 TMAOH 做為 pH 值之校正，並有效取代有機相之包覆試劑。表 7 為兩步驟 (Two-Stage) 合成水溶性量子點之最佳化製程；由於不同的包覆試劑均有不同環境才可完全取代及包覆量子點的表面。



### 4-3 一鍋合成所得水溶性量子點光譜與發光特性之探討

Weller<sup>23</sup> 利用 thioglycolic acid (TGA) 做為奈米粒子之穩定劑，製備 CdTe 量子點；係於水溶液中導入液態 NaHTe 與液相中  $\text{Cd}^{2+}$  離子於 pH~14 下加熱回流反應合成出粒子大小可控制之 CdTe 奈米粒子；Weller 也利用不同種類之硫醇有機分子做為水相反應中的微胞系統，而此於 pH 11.2 的狀態下經由  $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$  所產生的  $\text{Cd}^{2+}$  離子與 NaHSe 溶液回流反應下同樣生成一序列 CdSe 奈米粒子；2000 年 Rogach 等人<sup>24</sup> 利用檸檬酸鈉鹽 (sodium citrate) 做為合成 CdSe 之微胞穩定系統，同時使用  $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2$  與 N,N-dimethylselenourea 混合液做為前驅劑，合成 CdSe 粒子；然而這些學者合成水溶性量子點之方法均以一步合成方式，其控制量子點粒徑大小僅能以酸鹼值控制，而所合成出量子點大小分佈範圍也較不均勻，其可經由其螢光光譜圖之放射峰寬度做為粒徑大小分佈之依據，由文獻得知其螢光光譜圖之半高寬較寬(大於 50nm) 其粒徑分佈範圍大，因此無法掌握粒徑大小分佈情形。然而學者們提出利用表面修飾試劑置換之方式將有機相之量子點取代表面包覆試劑，即可成功製備水溶性量子點。1998 年 Bruchez Jr 等人<sup>25</sup> 首先利用 silica-coated core (CdSe)-shell (ZnS or CdS) nanocrystal；其係利用 mercaptopropyltris (methoxy)silane (MPS) 與 tetramethylammonium hydroxide in methanol 迴流反應，則 MPS 可取代有機包覆試劑，並使

量子點表面被矽烷化成為水溶性量子點。1998年Warren等人<sup>26</sup>合成水溶性量子點材料，利用表面修飾之原理將CdSe/ZnS表面包覆一層親水端分子（-COOH，-OH），使用mercaptoacetic acid (MAA) 包覆試劑含有thio官能基，利用thio結合於ZnS表面再利用相轉移將量子點從有機相轉至水相，則量子點即可溶於水或緩衝溶液內。2001年Daniele<sup>27</sup>利用 mercaptopropionic acid 取代 TOPO 包覆之 CdSe/ZnS，其利用 1ml *N,N*-dimethylformamide (DMF) 與 0.1ml mercaptopropionic acid 加入 CdSe/ZnS 粉體，混合溶液反應 10-30 分鐘直到溶液澄清並於室溫下儲存 1-4 天，再加入 3-7 mL of 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP)/DMF (20 mg of DMAP in 1 mL of DMF)，溶液變混濁後再行離心，則 MPA 包覆之量子點即為水溶性量子點。

上述研究利用 TOPO/TOP 先合成之量子點，再利用含有硫醇基之包覆試劑進行表面包覆試劑之轉換，由於傳統上之合成在有機成份先將量子點以甲醇洗掉多餘的包覆試劑，並將量子點沉澱後利用真空將量子點之粉體抽乾以備做為後續之用途。然而在量子點合成後以甲醇逼沉澱係將多餘之包覆試劑即未反應物去除，得到較純之量子點，因此利用以上方法合成之水溶性量子點即為兩步驟 (Two-Stage) 合成法。由於兩步驟 (Two-Stage) 合成法之有機相必須經由甲醇逼沉澱，故會使一些量子點有聚集之行為發生，於本研究中，利用一鍋合

成法來取代兩步驟 (Two-Stage)合成水溶性量子點，先利用HDA/TBP形成有機相CdSe量子點再將包覆試劑MSA、MUA及AET等硫醇基包覆試劑注入量子點溶液中，經反應後以甲醇洗沉澱，儲存於去離子水中。圖4-22 一鍋合成水溶性量子點CdSe-MUA之紫外-可見光吸收光譜圖。由此圖可得知其粒徑大小約3.72nm，再經由TEM做粒徑鑑定，由圖4-23 CdSe-MUA之穿透式電子顯微鏡圖結果顯示兩結果相近。圖4-24 所示係CdSe-MUA 之螢光激發光譜圖，由圖可知其放射光譜為599nm，而其半高寬約為30nm，故其粒徑分布均勻。

圖4-25所示係 CdSe-MUA之EDX分析圖，可得知量子點之成分由Cd和Se所組成，然而在圖中有Cu之存在，其係由於TEM試片係利用鍍碳銅網製作樣品，故在圖中有Cu和C的訊號，因此由圖可證明CdSe-MUA之成分。本研究中利用一鍋合成水溶性量子點係以MUA、MSA、AET做為表面包覆試劑，並利用FT-IR進行表面官能基之鑑定，因此將CdSe-MUA、CdSe-MSA、CdSe-AET溶於DMF溶液中，並將溶液滴於KBr鹽片上分析。

圖4-26所示係 CdSe-MUA 及CdSe之FT-IR光譜疊圖。由FT-IR 圖明顯可比較CdSe修飾為水溶性後不同於CdSe有機相溶液，CdSe-MUA之C=O 伸長擺動於 $1677\text{cm}^{-1}$ ，C-O 於  $1258\text{cm}^{-1}$ ，C-O-H 於 $1390\text{cm}^{-1}$ ，C-H 於 $2924, 2854\text{cm}^{-1}$ 。而CdSe-HDA有機相之IR光譜其

特徵峰於C-H  $2924, 2854\text{cm}^{-1}$ ，N-H  $1646\text{cm}^{-1}$ ， $\text{CH}_2$   $1460\text{cm}^{-1}$ ， $\text{CH}_3$   $1386\text{cm}^{-1}$ 。水溶性之CdSe由於表面包覆MUA，其係由11個C及一端含有SH去接於CdSe表面，另一端COOH使CdSe成為水溶性，所以經由FT-IR圖可得知於1677有一個很強的C=O之峰值，相對於有機相之CdSe無C=O之存在。此係因有機相包覆試劑並無C=O之官能基存在，相較於HDA包覆之CdSe更可經由1258和1390加以證明MUA結構中C-O和C-O-H之存在。而在HDA包覆CdSe之FT-IR光譜中有N-H之峰值，其峰值是MUA包覆CdSe所沒有的，因此藉由FT-IR光譜可加以確定經由有機相之包覆試劑HDA以被MUA包覆試劑取代進而使CdSe成為水溶性量子點。



圖4-27所示係 CdSe-MSA 及 CdSe之FT-IR光譜疊圖。單純MSA之FT-IR光譜特徵峰與CdSe-MSA之FT-IR光譜特徵峰相當接近，不同處係單純MSA因結構上含有硫醇基SH之存在，故可經由光譜 $2351\text{cm}^{-1}$ 為S-H之特徵峰；而CdSe-MSA由於硫醇存在於量子點表面，因此FT-IR光譜中S-H特徵峰並不明顯。然而MSA含有四個碳及兩個COOH一個SH，故經由光譜得知CdSe-MSA在 $1677\text{cm}^{-1}$ 有C=O之官能基， $1258\text{cm}^{-1}$ 為C-O、 $1390\text{cm}^{-1}$ 為C-O-H、 $2924$ 即 $2854\text{cm}^{-1}$ 為C-H之特徵峰，故經由光譜可證明量子點表面已被包覆MSA，亦也可確定MSA完全取代有機相包覆試劑HDA，此係因CdSe-HDA之FT-IR光

譜圖及CdSe-MSA之FT-IR光譜圖差異極大。圖4-28 為CdSe-AET 及CdSe之FT-IR光譜疊，單純AET之FT-IR光譜特徵峰與CdSe-AET之FT-IR光譜特徵峰相當接近，不同處係單純AET結構上含有硫醇基SH之存在，故可經由光譜 $2352\text{cm}^{-1}$ 得知S-H之特徵峰；而CdSe-AET因硫醇基接於量子點表面，故FT-IR光譜中S-H特徵峰並不明顯。但MSA含有2個碳及1個COOH和一個SH，故經光譜得知CdSe-AET在 $3400\text{cm}^{-1}$ 有 $\text{NH}_2$ 之官能基， $2800\text{cm}^{-1}$ 為 $\text{NH}_3^+$ 、 $1500-1700\text{cm}^{-1}$ 為N-H、 $2924$ 即 $2854\text{cm}^{-1}$ 為C-H之特徵峰，故經光譜可証明量子點表面已被包覆AET，亦也可確定AET完全取代有機相包覆試劑HDA，此係因CdSe-HDA之FT-IR光譜圖及CdSe-AET之FT-IR光譜圖差異極大。

粒徑分析不僅可藉TEM等分析外更可用SPM做表面形貌分析，由於TEM分析粒徑大小時其電子束將量子點表面之包覆試劑破壞，故經TEM所得之量子點粒徑大小只有無機結構之大小並不包含表面包覆試劑，但利用SPM可得知量子點及表面修飾後之大小。圖4-29 一鍋合成CdSe-MUA之表面容貌分析及圖4-30 一鍋合成CdSe-AET之表面容貌分析，由於MUA結構含有十一個碳及一個COOH，故CdSe-MUA之粒徑大小約為 $20-22\text{nm}$ 。而AET因具有兩個碳及一個COOH，故CdSe-AET之粒徑大小約為 $10-15\text{nm}$ 。

為證明有機相之CdSe與經由表面修飾試劑取代而成的水相CdSe

其結構上並不會因取代包覆造成量子點型態之改變，圖4-31 有機相量子點與水相量子點之XRD圖。由圖4-31得知當表面修飾試劑取代HDA後，其XRD圖譜於20~30度間之峰值型態有稍微增寬現象比起有機相之CdSe-HDA，係因為包覆試劑之取代時有些微的侵核反應發生，因硫醇基之影響而使CdSe量子點表面的電子會缺陷捕捉，或因硫醇而造成表面原子被侵蝕。因本研究係針對一鍋合成與兩步驟(Two-Stage)合成水溶性量子點之探討，表9水溶性量子點之製程比較，由於一鍋合成之水溶性量子點之優勢在於其合成出之水溶性量子點螢光強度、製程及產率均優於兩步驟(Two-Stage)合成之方法，而其缺點在於純度不高及半高寬較寬。有以上之缺點係因一鍋合成水溶性量子點之方式並無在有機相之量子點加以先純化分離雜質，係直接經由有機相之環境中利用硫醇基之表面包覆試劑直接取代有機相HDA之包覆，即可將量子點表面修飾具有極性之官能基。

#### 4-4 水溶性量子點與鏈抗生物素蛋白與生物素結合特異性之探討

近年來有許多學者紛紛投入量子點應用於生醫檢測、藥物偵測及疾病的追蹤等之研究<sup>34-36</sup>。然而於此領域之學者利用量子點與生物分子結合以備製生物探針，並將之應用於生物檢測上，如將量子點結合多肽 (peptide)<sup>37</sup>、蛋白質 (protein)<sup>38-40</sup>、及 DNA<sup>41-42</sup> 等。量子點在生物標定上具有相當大之優勢，相較於有機染料及螢光蛋白質。由於量子點之放光特性可經由調變粒子大小獲得不同放射波長的量子點，更由於其吸收光譜及放射光譜距離較遠，因此在做為生物分子之螢光訊號上遠比有機染料來的優勢，其所得之訊號也較真實。

文獻上所提及之量子點的生物結合應用大多應用於細胞標定之探討，在本研究中，係利用量子點經由表面修飾使量子點表面含有 COOH 之官能基，然後再利用 EDC 和 NHS 試劑進行穩定 COOH 官能基，並加以結合 Streptavidin (SA)。為證明量子點表面的 SA 之特性，故必須選用適當之靶材以吸附蛋白質於玻璃表面上，傳統上生物晶片之表面必須加以修飾後才可將蛋白質固定於表面上，因此生物晶片表面固定多以 NC、Poly-l-lysine、矽烷化等材料加以修飾；而表面吸附蛋白質係以共價鍵結或物理吸附之方式，而物理吸附之優勢在於不破壞蛋白質之活性，共價鍵結易於破壞蛋白質之活性端而使蛋白質



失去效應。在本研究中利用硝化纖維(NC)片做為吸附蛋白質之靶材，圖 4-34 硝化纖維之表面分佈，由圖可得知 NC 係利用空隙吸附蛋白質，而其空隙大小約 20 nm 與蛋白質之大小差不多，故利用工研院生醫中心蛋白質體組所提供之 NC 片，在 NC 片上固定不同濃度之 anti-human-IgE-Biotin，其濃度範圍為 100  $\mu\text{g/ml}$ ~ 0  $\mu\text{g/ml}$ ，利用 0.1M pH = 9.4 的碳酸鈉緩衝溶液將 anti-human-IgE-Biotin 固定於 NC 片上，並利用 2% BSA/PBS 緩衝溶液覆蓋未固定之空位，以避免訊號干擾。鑑定 SA 和 Biotin 之特異性鍵結，將 QD-SA 與固定於 NC 片上之 Biotin 反應，並利用共軛焦螢光掃描器 532 nm 光源進行分析。

在本研究中，利用 MSA 包覆 CdSe/ZnS 使量子點具有 COOH 之官能基足以結合 SA 之氨基，圖 4-32 為量子點之激發與放射光譜，由其激發光譜圖可知水溶性量子點其激發波長範圍很廣，故可利用之光源也相當多，因生物晶片均利用共軛焦螢光掃描器分析螢光訊號，而其光源只有 532 nm 及 635 nm，故在量子點之激發光源只能利用 532 nm 之 Cy3 波長範圍。圖 4-33 為 QD-MSA 和 QD-SA 之螢光放射圖譜，故由圖可知量子點結合 SA 之後其放光特性不變，故可證明量子點經由一系列之修飾後特性仍然不變，進而用其進行生物訊號之分析。於本研究中，為得到最佳之螢光訊號的條件，並確保 QD-SA 可利用共軛焦螢光掃描器檢測，QD-SA 不同濃度範圍

(0.8mg/ml~0.0026mg/ml)之量子點濃度固定於 NC 片上，並利用共軛焦螢光掃瞄器光源 532 nm 激發光源，作訊號分析。圖 4-35 不同濃度之 QD-SA 之螢光訊號分析，圖 4-36 不同濃度之 QD-SA 螢光訊號的檢量曲線圖，由以上兩圖可得知，QD-SA 之螢光訊號當達到 0.1mg/ml 之濃度以上時，其螢光訊號即達飽和，然而在低於 0.1mg/ml 之 QD-SA 濃度時，其螢光訊號強度也隨其 QD 之濃度減少而降低，因此低於 0.1mg/ml 之 QD-SA 濃度不適合做為生物訊號之檢測。但為減少成本，在本實驗中利用 0.1mg/ml 之 QD-SA 做為生物訊號之應用。

本實驗中，在 SA 結合 QD 時，利用過量之 SA 與 QD 結合並且利用高速離心機離心將多餘之 SA 去除，並利用 10%tris-glycine gel SDS-Page 分析是否有多餘的 SA 在 QD-SA 中，因一個 SA 具有四個色氨酸，當量子點結合 SA 經由去活性後則僅剩下共價鍵結於量子點上之色氨酸，一個色氨酸之質量約為 13 kD，Chan<sup>39</sup> 提出 5 nm 奈米金可結合一個 100kD 之蛋白值估算值約 5 個，依據圖 4-37 SDS-page 可知 QD-SA 中未存在多餘之 SA，故不會產生 QD-SA 和多餘 SA 之競爭反應和 Biotin 之特異性鍵結。故固定不同濃度範圍之 anti-human-IgE-Biotin (0  $\mu$ g/ml~100  $\mu$ g/ml)於 NC 片上，利用 2% BSA/PBS 做為修飾空隙之覆蓋試劑，再利用 0.1 mg/ml QD-SA 覆蓋於 NC 片上，以分析 SA 與 Biotin 之特異性鍵結行為，故利用共軛焦

螢光掃描器分析 QD 之螢光訊號。圖 4-38 共軛焦螢光訊號之不同濃度 Biotin 與 QD-SA 之特異性鍵結，圖 4-38 螢光強度之不同濃度 Biotin 與 QD-SA 之特異性鍵結，由圖可知 QD-SA 與 Biotin 鍵結之專一性強，因為 QD-SAv 不會產生非特異性之鍵結而混亂訊號，然而其可偵測到 3.33 $\mu$ g/ml 之 Biotin 於二抗上之濃度。圖 4-39 可知 QD-SAv 之偵測 Biotin 之能力強，感測能力也相當線性。



## 第五章 結論

在本研究中已利用不同之包覆試劑成水溶性之量子點，而不同包覆試劑修飾量子點均有不同的製程方式，因此在此研究中利用 MAA、MSA、MUA 及 AET 等修飾試劑取代有機包覆試劑 HDA 於量子點表面；且於表面修飾部分嘗試以一鍋合成(one-pot synthesis)及兩步驟 (Two-Stage)合成之方式加以比較其修飾後量子點之特性。此研究中嘗試利用兩種不同製程進行分析發現用一鍋合成之水溶性量子點製程簡單，因為一鍋合成法不需將量子點在有機相時先行純化，逼沉澱再進行包覆試劑之包覆。故一鍋合成可大量減少有機量子點氧化之機會，可提高水溶性量子點之螢光特性。因一鍋合成在有機量子點部份並未經由純化而造成水溶性量子點修飾後溶液中有較多的雜質，但雜質在溶液中並不會影響水溶性量子點特性，其晶格結構及 UV-Visble 光譜和 TEM 鑑定出量子點的大小仍和有機量子點相同。

為證明本研究中所合成之水溶性量子點可直接應用於與生化分子鍵結反應，且反應物可進一步進行生物分子辨認之分析，因此利用水溶性量子點表面 COOH 之官能基可和 SA 之 NH<sub>2</sub> 進行鍵結反應形成 QD-Sa 產物。並先將二抗上有 Biotin 之抗體以不同濃度固定於 NC 片上，利用 NC 片上之孔洞吸附蛋白質，並利用 QD-SA 進行生物特

異性辨認分析，由實驗結果得知 QD-SA 和二抗上之 Biotin 具有相當高之專一辨認性，且本研究所製備之 QD-SA 對於 Biotin 之濃度變化具有線性關係。利用 QD-SA 辨認應可結合免疫反應進一步用於生物晶片之開發。



## 參考文獻

- [1] 葉昭佩, 硒化鎘半導體奈米晶體的合成及其在薄膜製備上的應用, 國立中正大學碩士論文, 台灣(1999)
- [2] 吳明立, 微乳化系統製備雙金屬奈米粒子之研究, 國立成功大學博士論文, 台灣(2001)
- [3] 莊萬發, 超微粒子理論應用, 復漢出版社, 台灣(1995)
- [4] 蘇品書, 超微粒子材料技術, 復漢出版社, 台灣(1999)
- [5] 周靜怡, II-VI 族半導體奈米晶粒(量子點)之合成與光學性質分析, 國立交通大學碩士論文, 台灣(2003)
- [6] A. P. Alivisatos, *Science*, 271 (1996) 933.
- [7] C. B. Murray, D. J. Norris, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.*, 115 (1993) 8706.
- [8] J. G. Breman, T. Siegrist, P. J. Carroll, S. M. Stuczynski, P. Reynders, L. E. Brus, M. L. Steigerwald, *Chem. Mater.*, 2 (1990) 403.
- [9] X. G. Peng, J. Wickham, A. P. Alivisatos, *J. Am. Chem. Soc.*, 120 (1998) 5343.
- [10] X. G. Peng, L. Manna, W. D. Yang, J. Wickham, E. Scher, A. Kadavanich, A. Alivisatos, *Nature*, 404 (2000) 59.
- [11] Z. A. Peng, X. G. Peng, *J. Am. Chem. Soc.*, 123 (2001) 1389.
- [12] L. Manna, E. C. Scher, A. P. Alivisatos, *J. Am. Chem. Soc.*, 122 (2000) 12700.
- [13] T. Vossmeier, L. Katsikas, M. Giersig, I. G. Popovic, K. Diesner, A. Chemseddine, E. Ehmüller, H. Weller, *J. Phys. Chem.* 98 (1994) 7665.

- [14]F. Mikulee, Ph. D. Thesis, MIT, Boston, (1998).
- [15]Z. A. Peng, X. G. Peng, *J. Am. Soc. Chem.* 123 (2001) 183.
- [16]L. Qu, Z. A Peng, X. G. Peng, *Nano. Lett.* 6 (2001) 333.
- [17]B. O. Dabbousi, J. Rodrogez-Viejo, F. V. Mikulec, J. R. Heine, H. Mattoussi, R. Ober, K. F. Jensen, M. Bawendi, *J. Phys. ChemB.* 101 (1997) 9463.
- [18]M. A. Hines, P. Guyot, *J. Phys. Chem.* 100 (1996)468.
- [19]P. Reiss, J. Bleuse, A. Pron, *Nano Lett.* 2 (2002) 781.
- [20]C. F. Hoener, K. A. Allen, A. J. Bard, A. M. Campion, T. E. Mallouk, S. E. Webber, C. B. White, *J. Phys. Chem.* 96 (1992) 3812.
- [21]D. V. Talapin, A. L. Rogavh, A. Komowski, M. Haase, H. Weller, *Nano lett,* 1 (2001) 207.
- [22]H. Zhang, Z. Zhou, B. Yang, M. Gao, *J. Phys. ChemB.* 107 (2003) 8.
- [23]A. L. Rogach, M. Komowski, M. Gao, A. Eychmuller, H. Weller, *J. Phys. ChemB.* 103 (1999) 3065.
- [24]A. L. Rogach, D. Nagesha, J. W. Ostrander, M. Giersig. N. A. Kotov, *Chem. Mater,* 12 (2000) 2676.
- [25]M. Bruchez Jr, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *Science* 281 (1998) 2013.
- [26]W. W. Chan, S. Nie, *Science* 281 (1998) 2016.
- [27]D. Gerion, F. Pinaud, S. C. Williams, W. J. Parak, D. Zanchet, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *J. Phys. Chem. B,* 105 (2001) 8861.
- [28]M. Bruchez, Jr, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, and A. P. Alivisatos, *Science,* 281 (1998) 2013.
- [29]W. C. W. Chan, D. J. Maxwell, X. Gao, R. E. Bailey, M. Han, and S. Nie, *Biotechnology* 13 (2002) 40.

- [30]B. S, W. X, G. Y, D. C, Y. Z, J. C, *J. Immunological. Methods*, 249 (2001) 85.
- [31]L. Qu, X. Peng, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 2049.
- [32]X. Peng, M. C. Schlamp, A. V. Kadavanich, A. P. Alivisator, *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (1997) 7019.
- [33]Fabien Pinaud, David King, Hsiao-Ping Moore, and Shimon Weiss, *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004) 6115.
- [34]E. Klarreich, *Nature* 413 (2001) 450.
- [35]P. Mitchell, *Nat. Biotechnol.* 19 (2001) 1013.
- [36]C. M. Niemeyer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 40 (2001) 4128.
- [37]S. R. Whaley, D. S. English, E. L. Hu, *Nature* 405 (2000) 665.
- [38]M. Bruchez, Jr. M. Moronne, P. Gin, *Science* 281 (1998) 2013.
- [39]W. C. W. Chan, S. Nie, *Science* 281 (1998) 2016.
- [40]H. Mattoussi, J. M. Mauro, E. R. Goldman, *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000) 12142.
- [41]G. P. Mitchell, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999) 8122.
- [42]S. Pathak, S. K. Choi, N. Arneheim et al., *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 4103.
- [43]C. C. Chen, P. C. Yet, N. H. Wang, Y. C. Chao, *Langmuir* 15 (1999) 6845-6850.
- [44]J. A. Kloefer, *Applied and environmental microbiology* (2003) 4205–4213.
- [45]Jose Aldana, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001) 8844-8850.
- [46]Dmitri V, *Colloids and Surfaces* 202 (2002) 145–154.



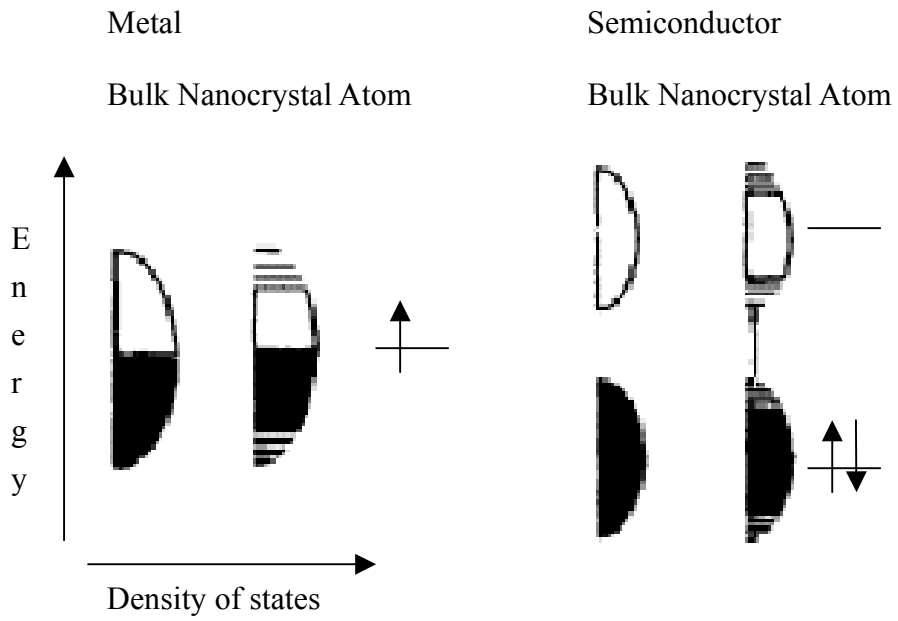


圖 1-1 (a)金屬(b)半導體 原子、奈米粒子與巨相塊材能隙變化圖<sup>6</sup>

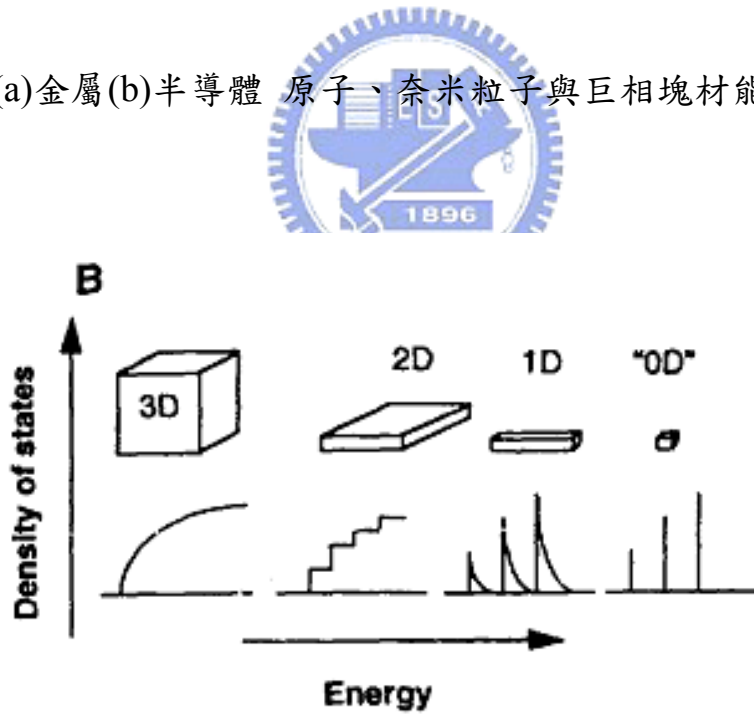


圖 1-2 理想化(a)塊材 (b)量子井 (c)量子線與 (d)量子點之量子能量  
與量子密度之關係<sup>6</sup>

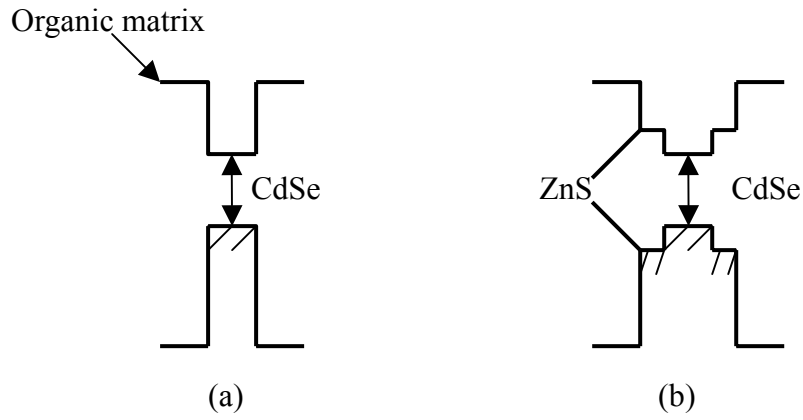


圖 2-1 (a) CdSe 殼結構與 (b) CdSe/ZnS 核殼結構之能隙示意圖[5]

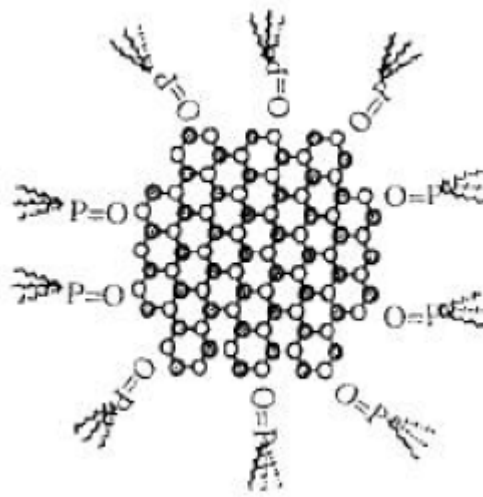


圖 2-2 TOPO 修飾奈米粒子表面之可能模型

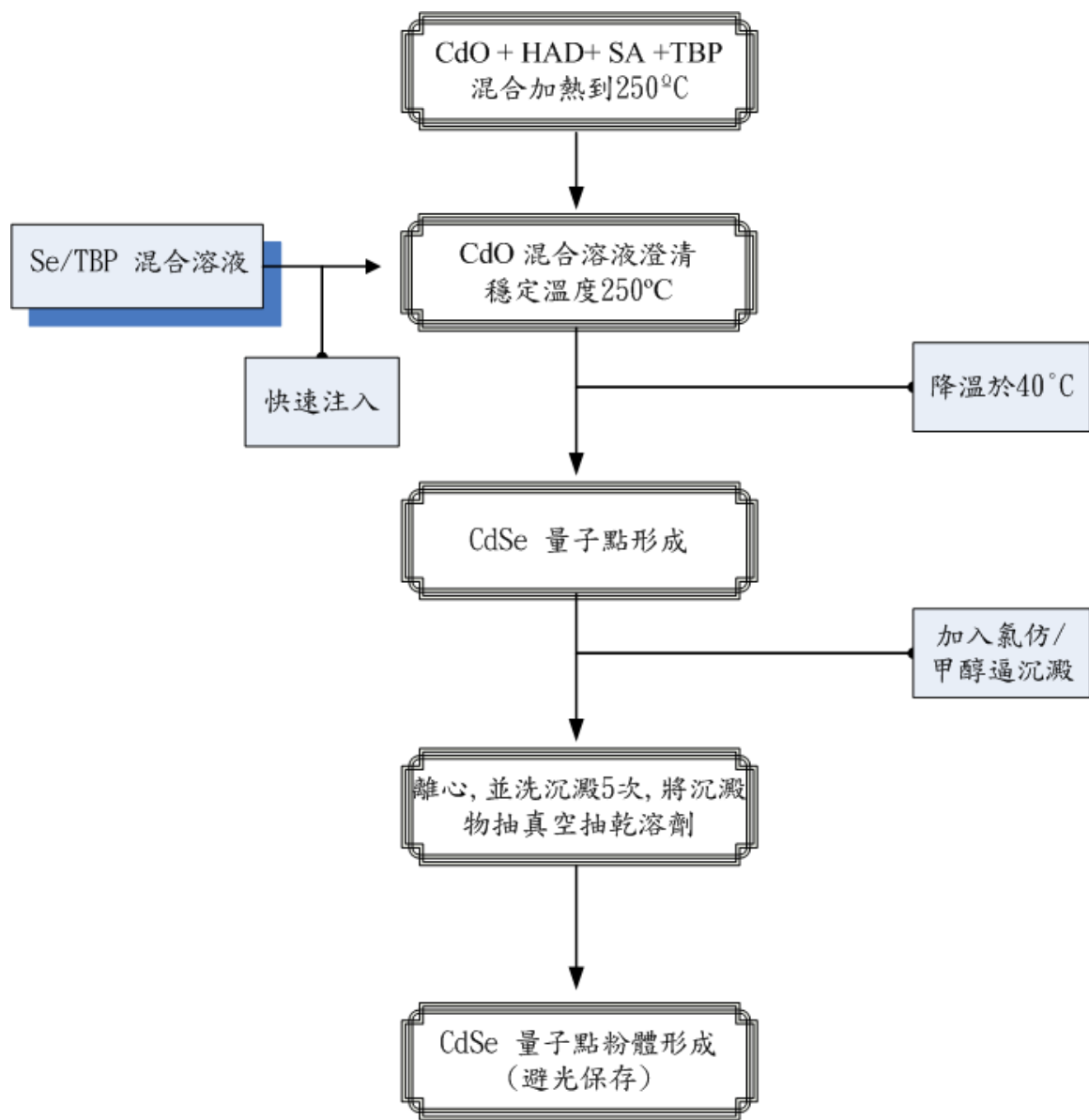


圖 3-1 CdSe 之合成流程圖

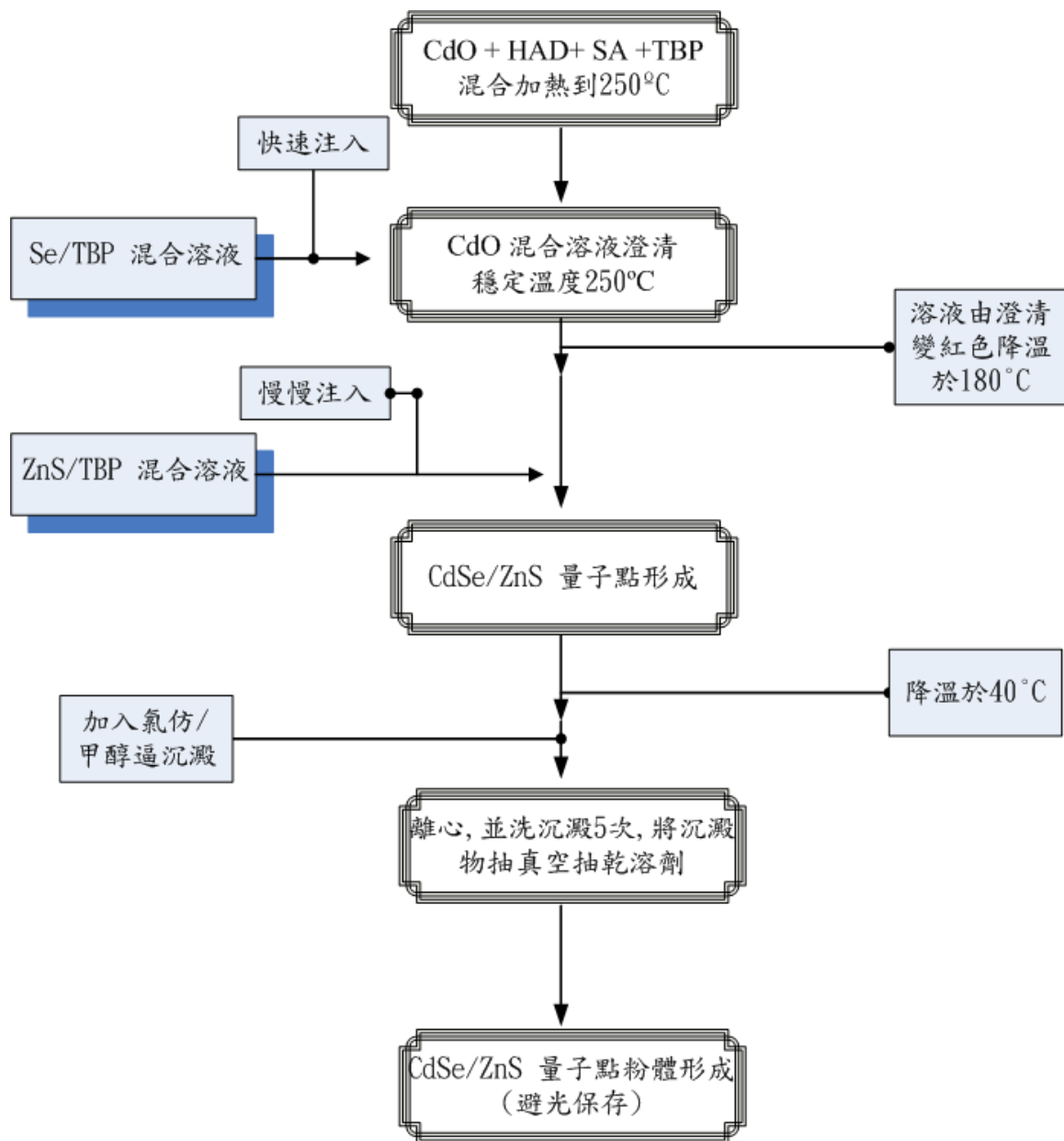


圖 3-2 CdSe / ZnS 之合成流程圖

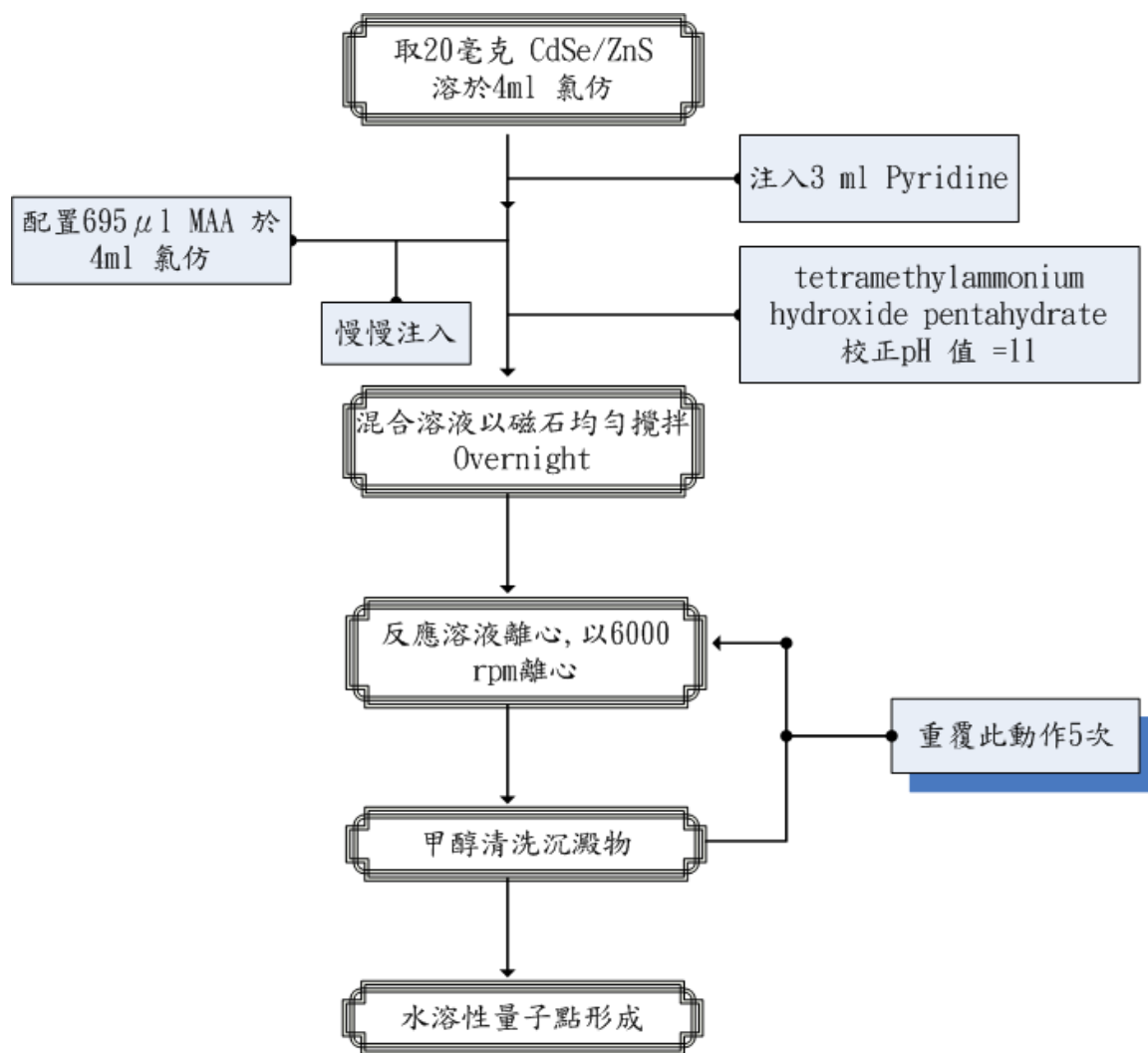


圖 3-3 CdSe / ZnS-MAA 之合成流程圖

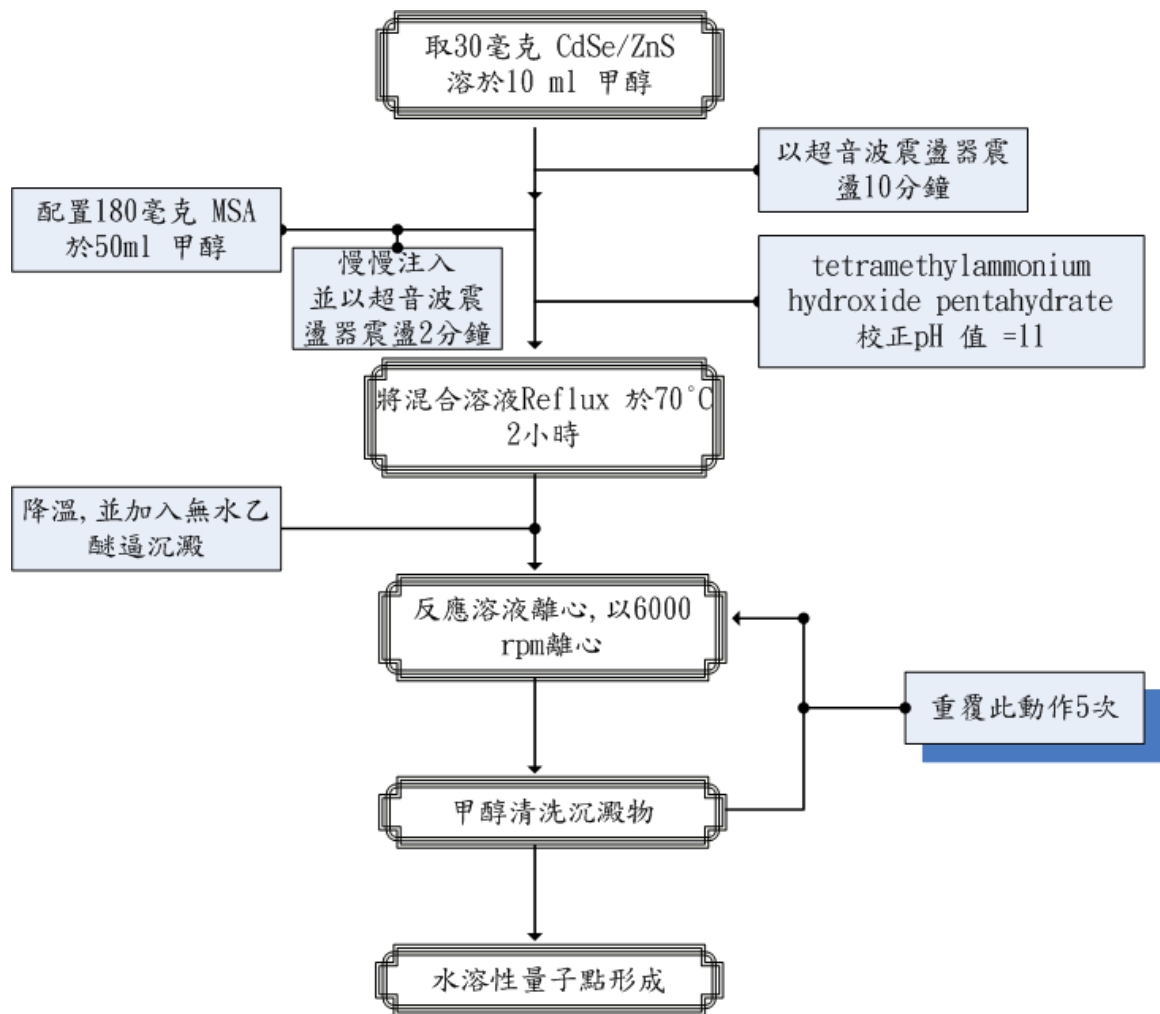


圖 3-4 CdSe / ZnS-MSA 之合成流程圖

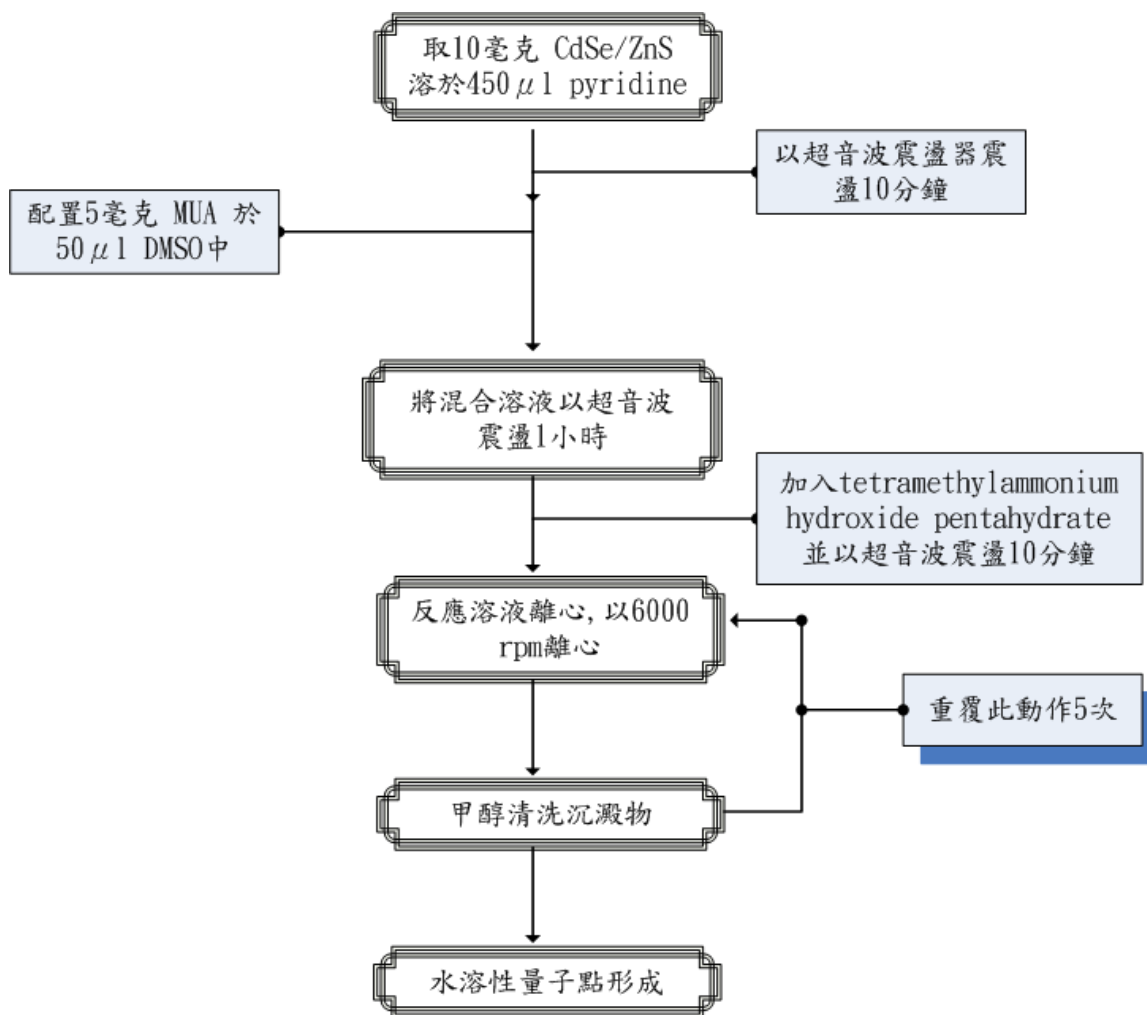


圖 3-5 兩步驟 (Two-Stage) 合成 CdSe / ZnS-MUA 之合成流程圖

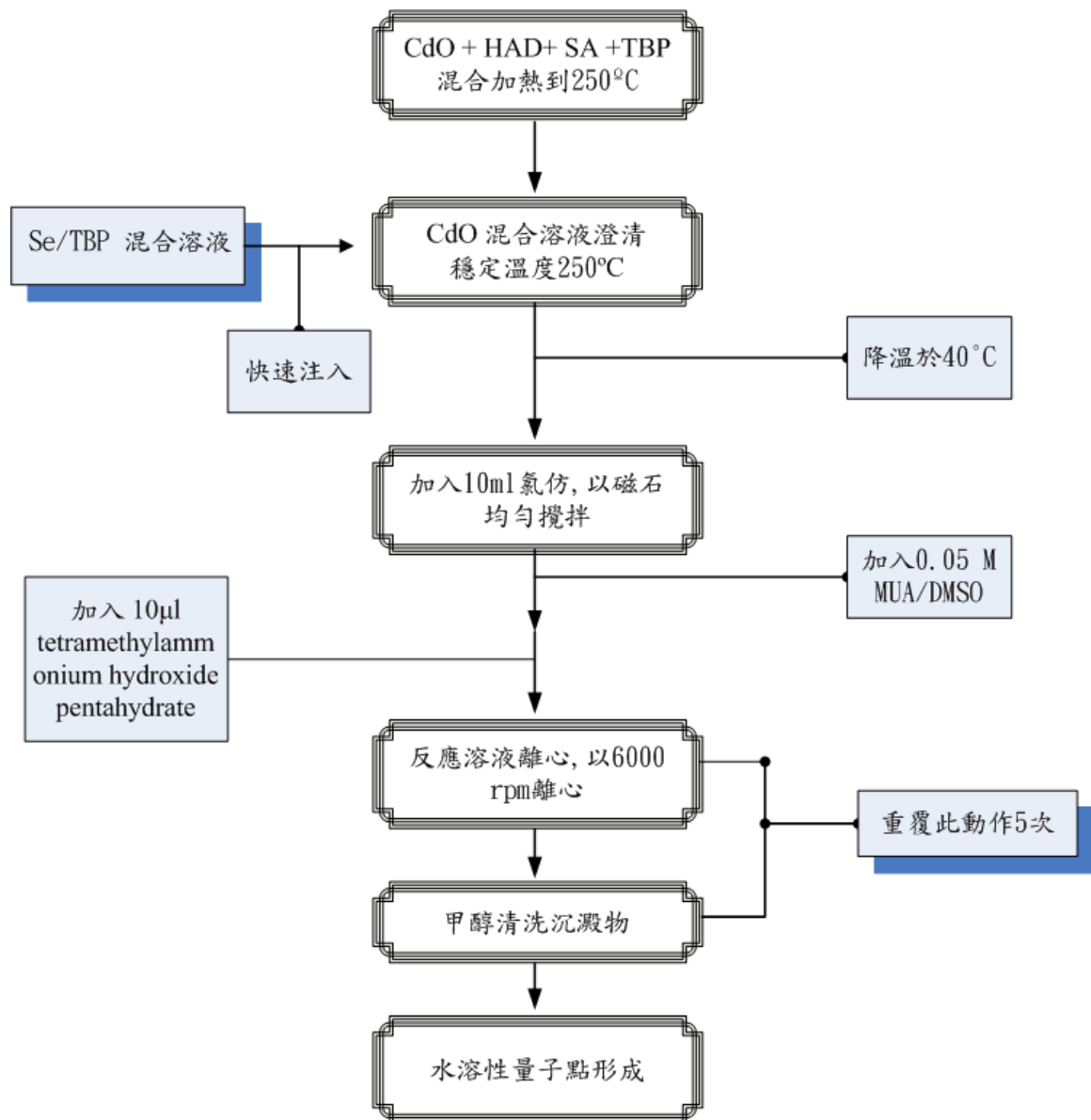


圖3-6 一鍋合成CdSe / ZnS-MUA之合成流程圖



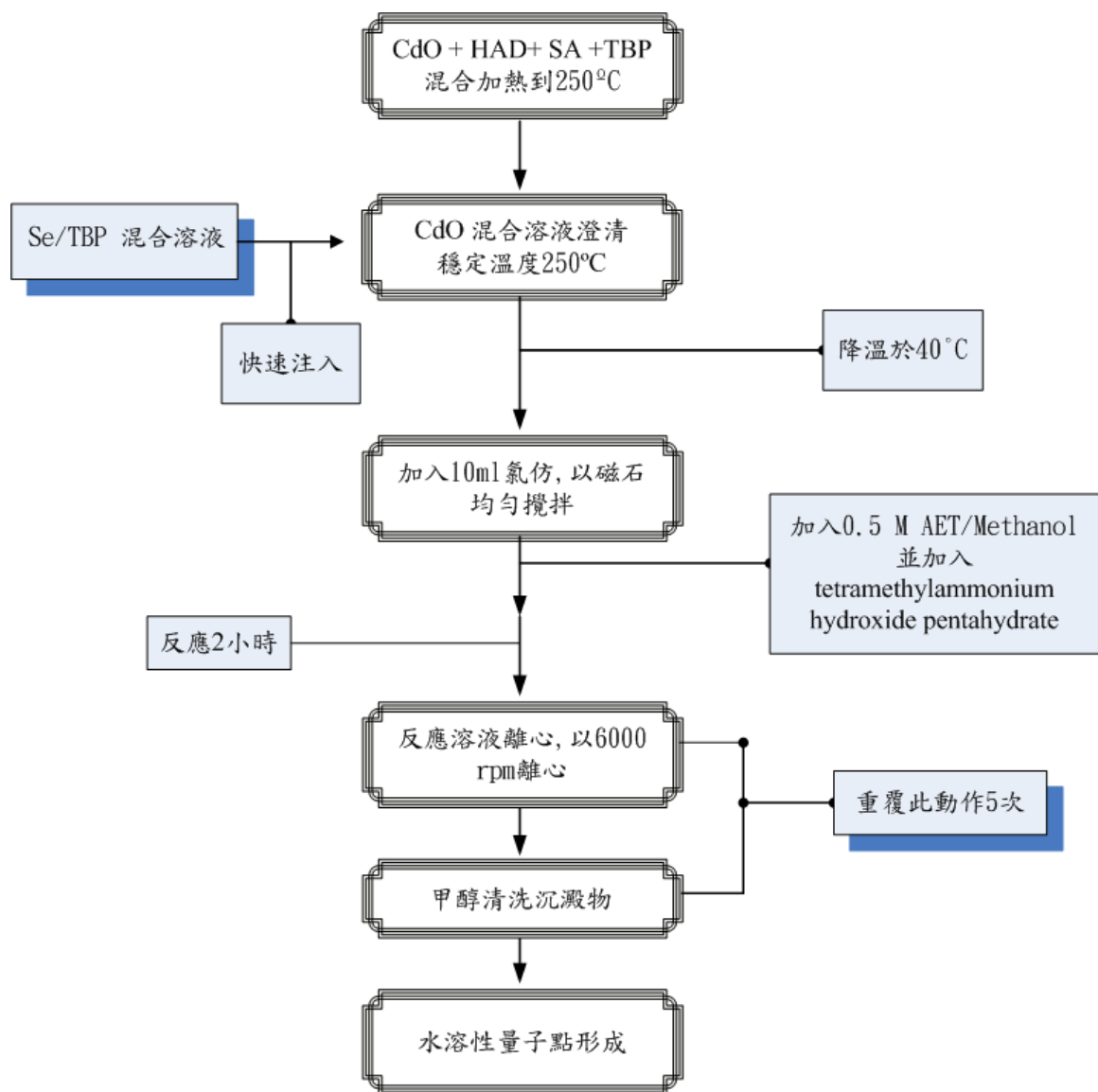


圖3-7 CdSe / ZnS-AET之合成流程圖

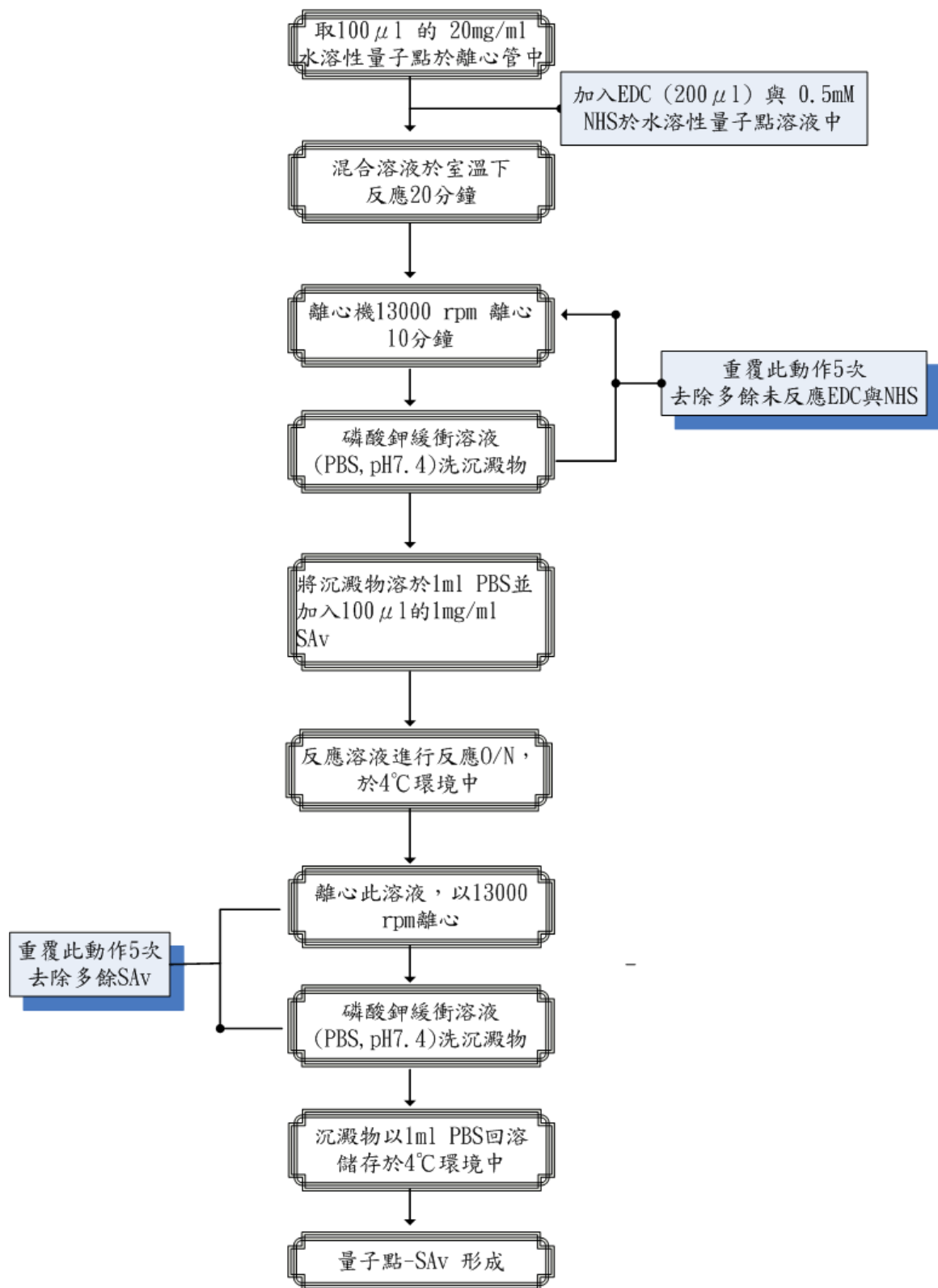


圖3-8 CdSe / ZnS-SA之合成流程圖

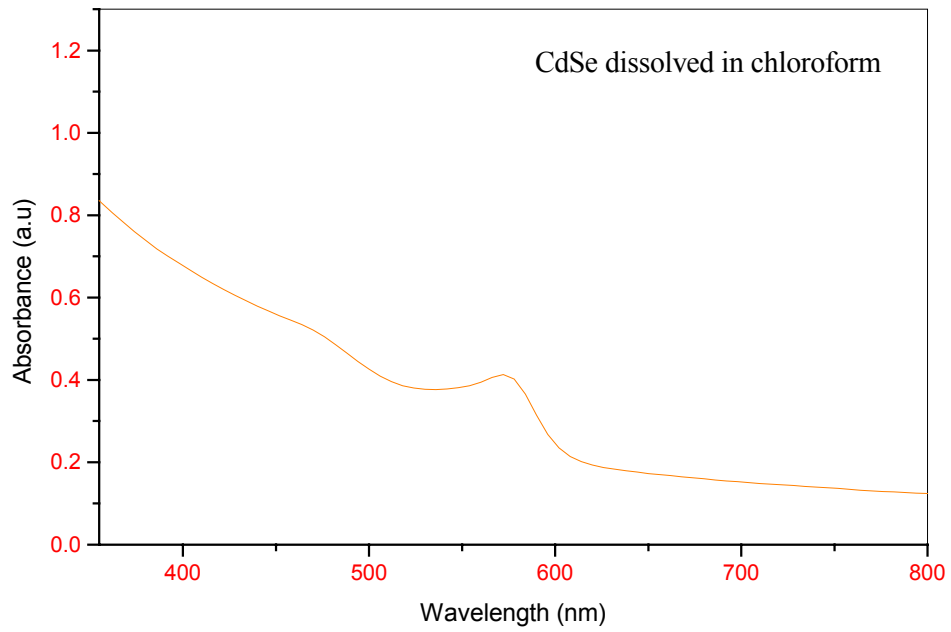


圖 4-1 CdSe 量子點之紫外/可見光吸收光譜

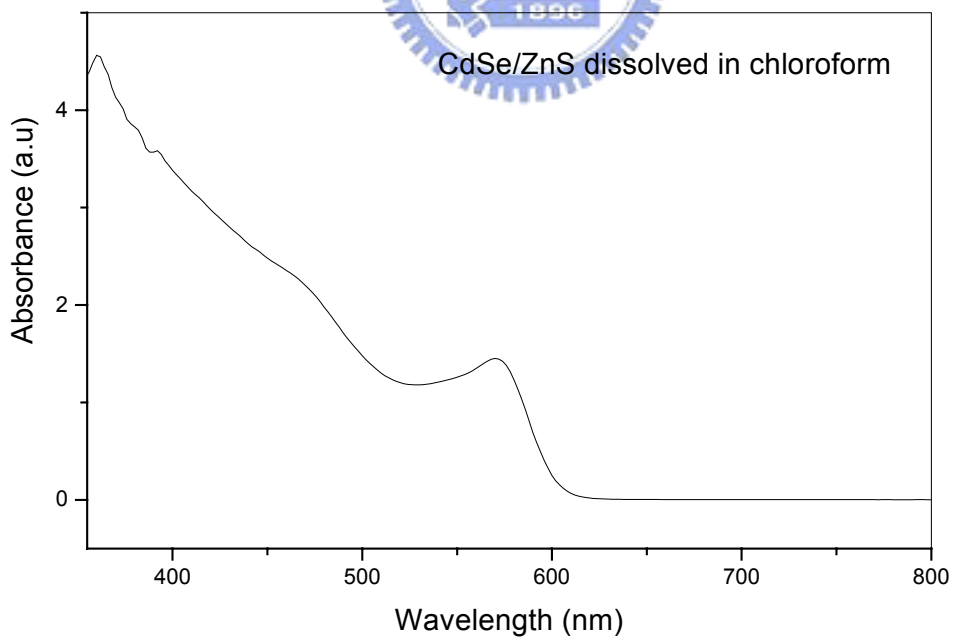


圖 4-2 HDA 包覆 CdSe/ZnS 量子點 之 紫外/可見光吸收光譜

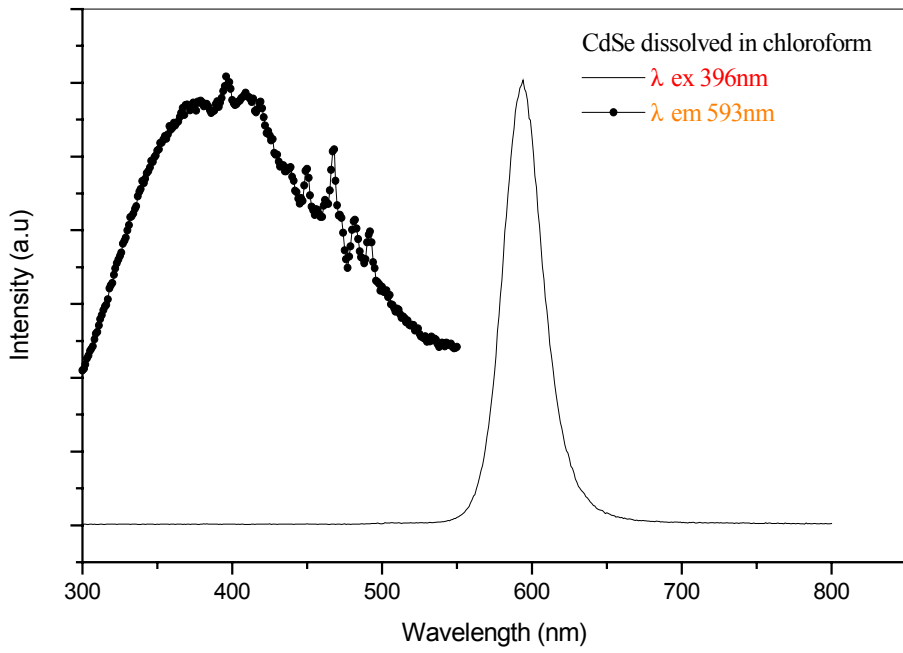


圖 4-3 CdSe 量子點之激發與螢光光譜

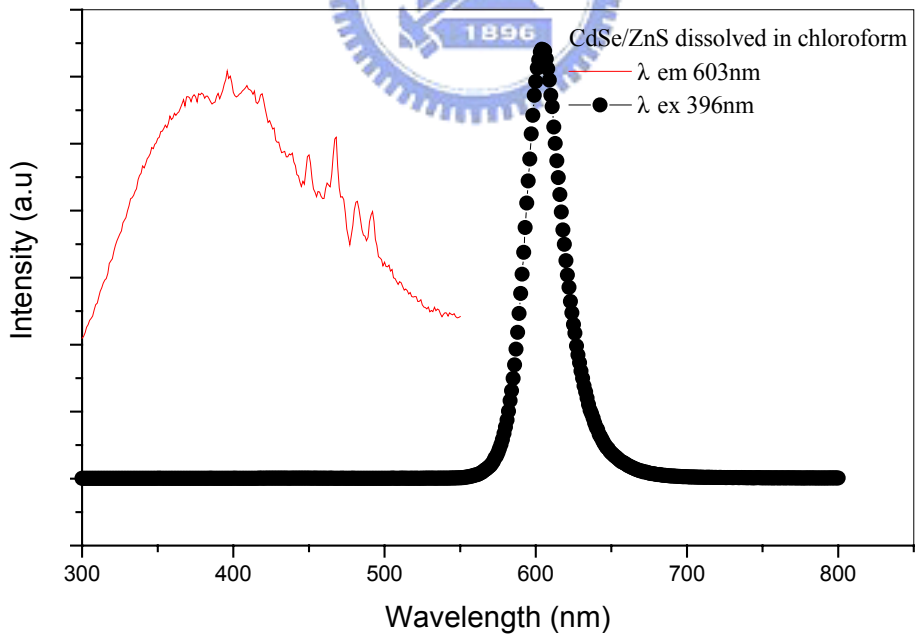


圖 4-4 CdSe/ZnS 核殼量子點之激發與螢光光譜圖

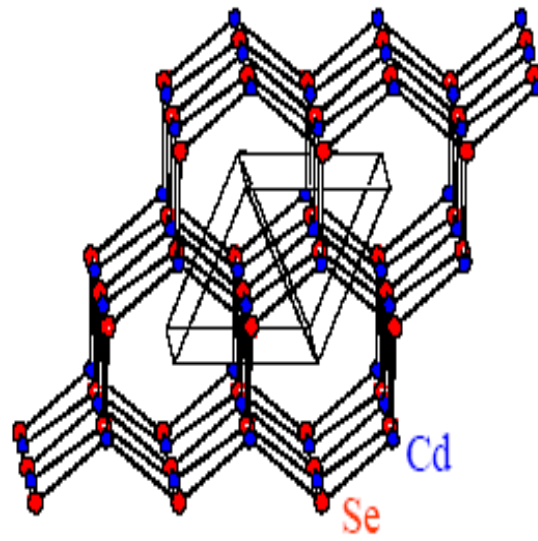


圖 4-5 六方結構 CdSe 之結構示意圖

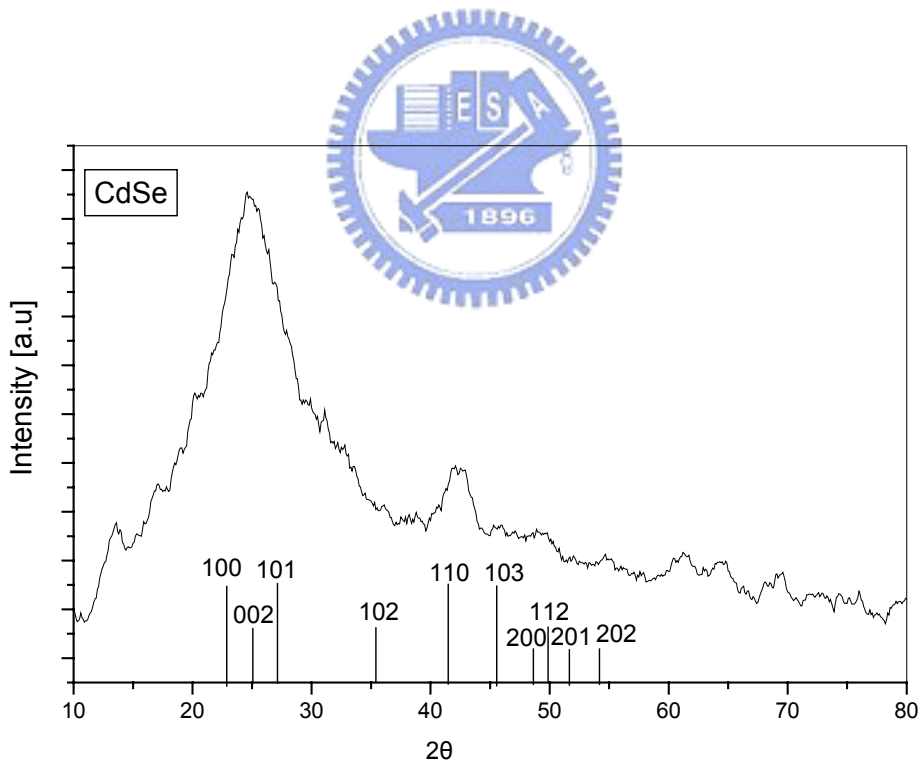


圖 4-6 CdSe 量子點 X-光繞射圖譜

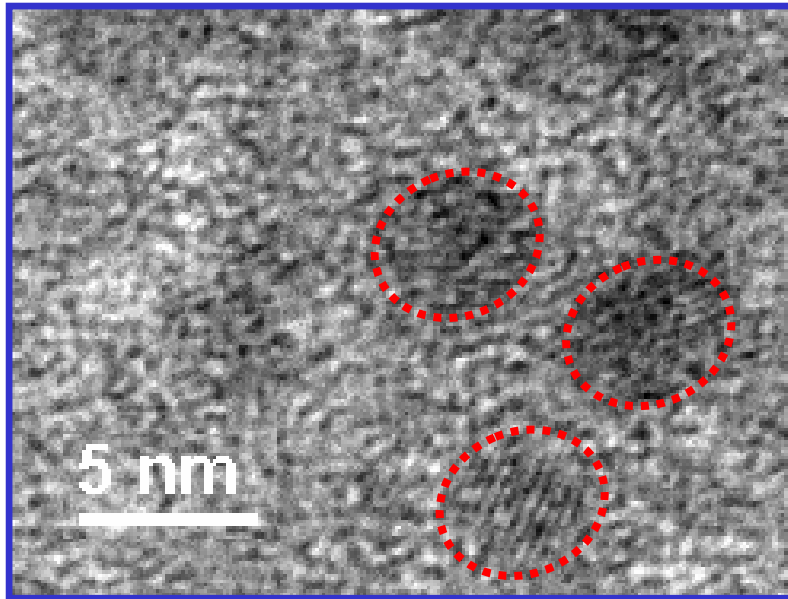


圖 4-7 HDA 包覆 CdSe 量子點之穿透式電子顯微鏡影像



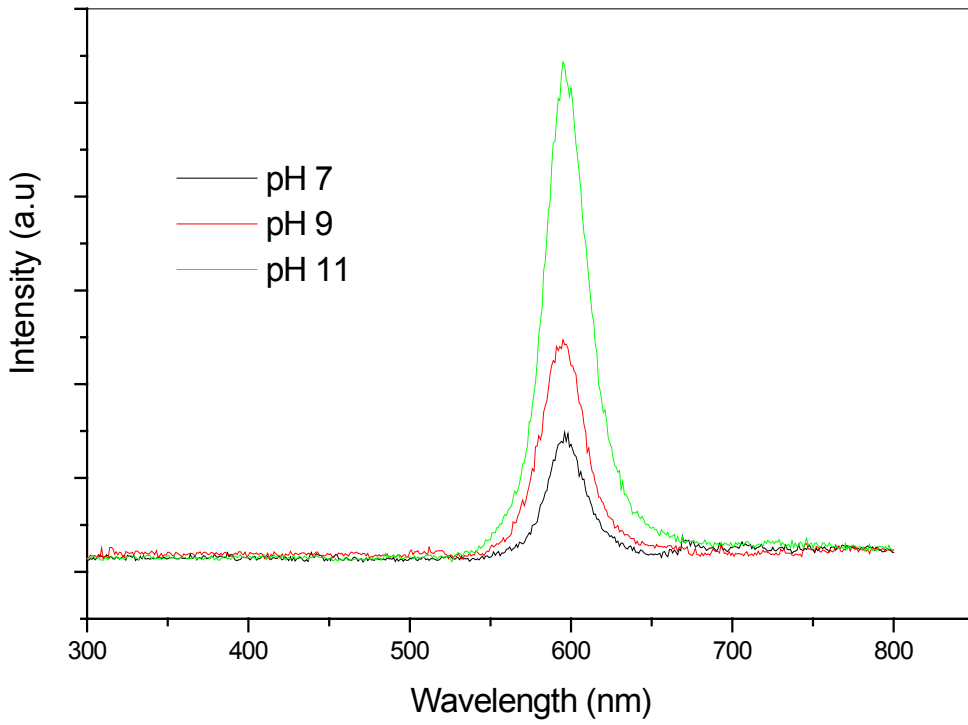


圖 4-8 pH 值對水溶性 CdSe/ZnS 量子點螢光光譜效應之比較

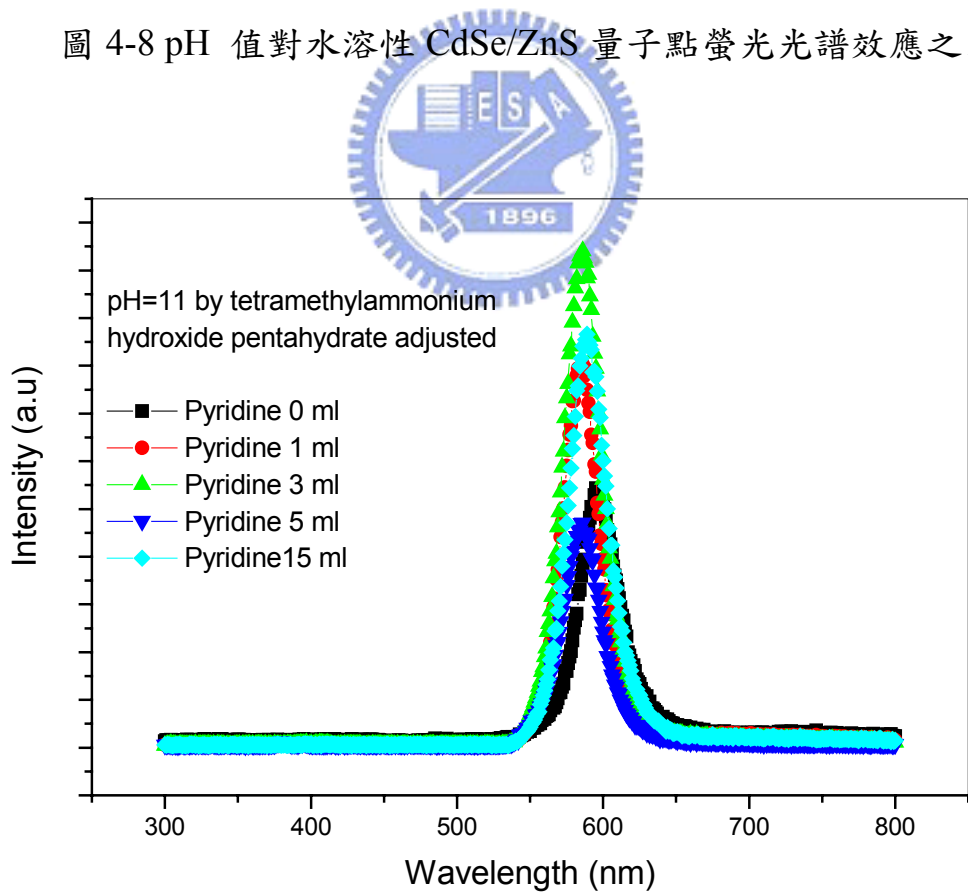


圖 4-9 不同比例吡啶修飾 CdSe/ZnS 量子點螢光光譜之比較

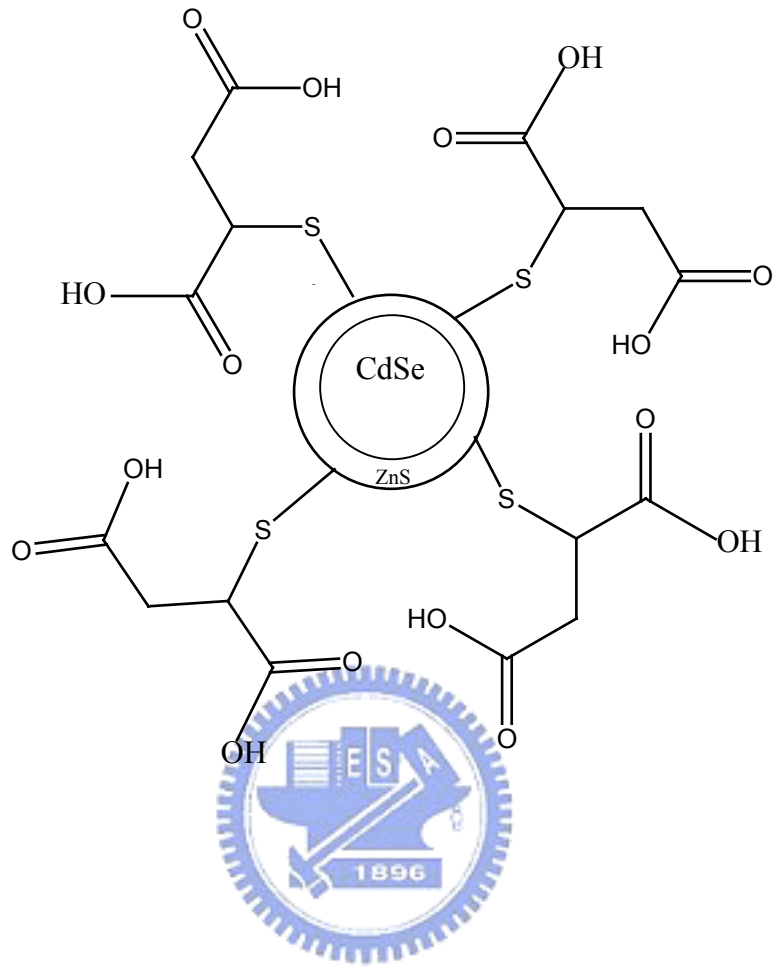


圖 4-10 硫醇琥珀酸包覆水溶性 CdSe/ZnS 量子點結構示意圖



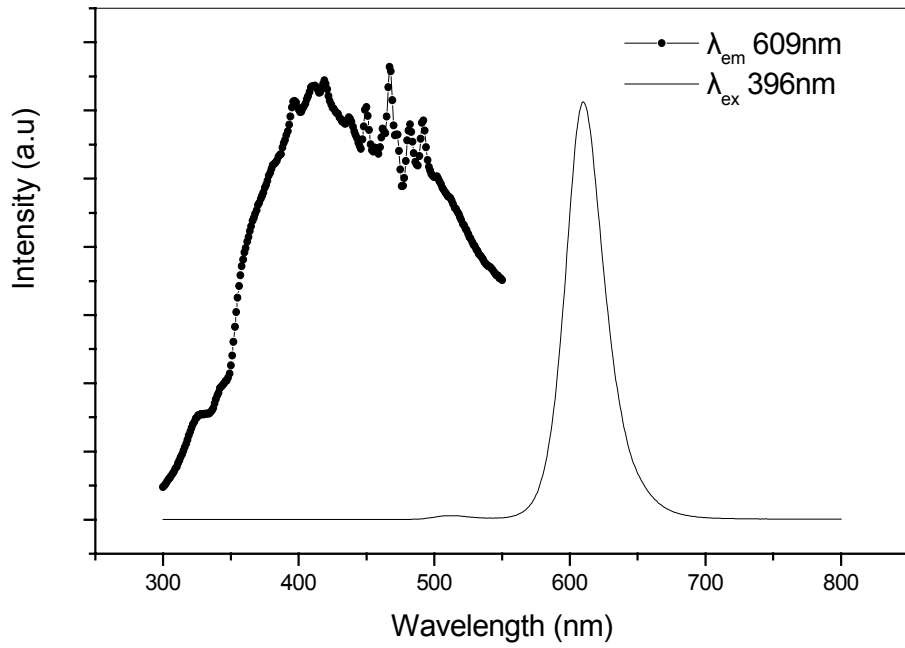


圖 4-11 HDA 包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於氯仿溶液中之螢光光譜圖

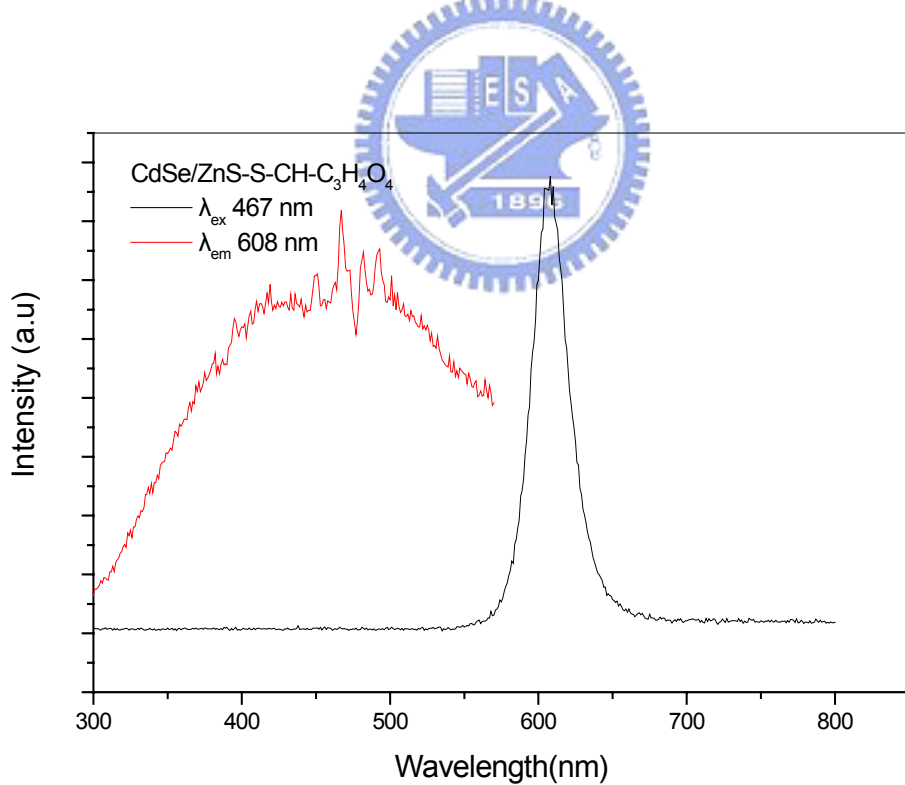


圖 4-12 水溶性硫醇琥珀酸包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於去離子水環境中之激發與螢光光譜

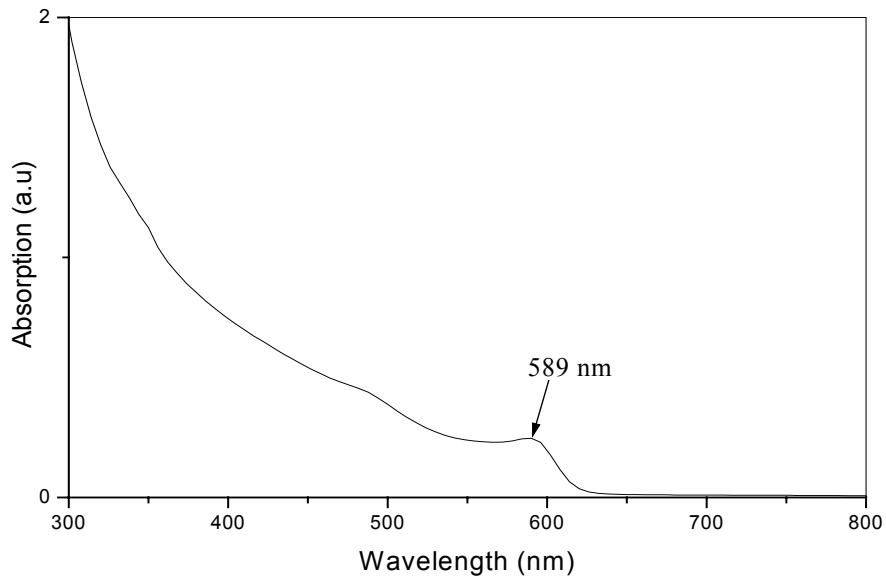


圖 4-13 HDA 包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於氯仿環境中之紫外-可見光吸收光譜

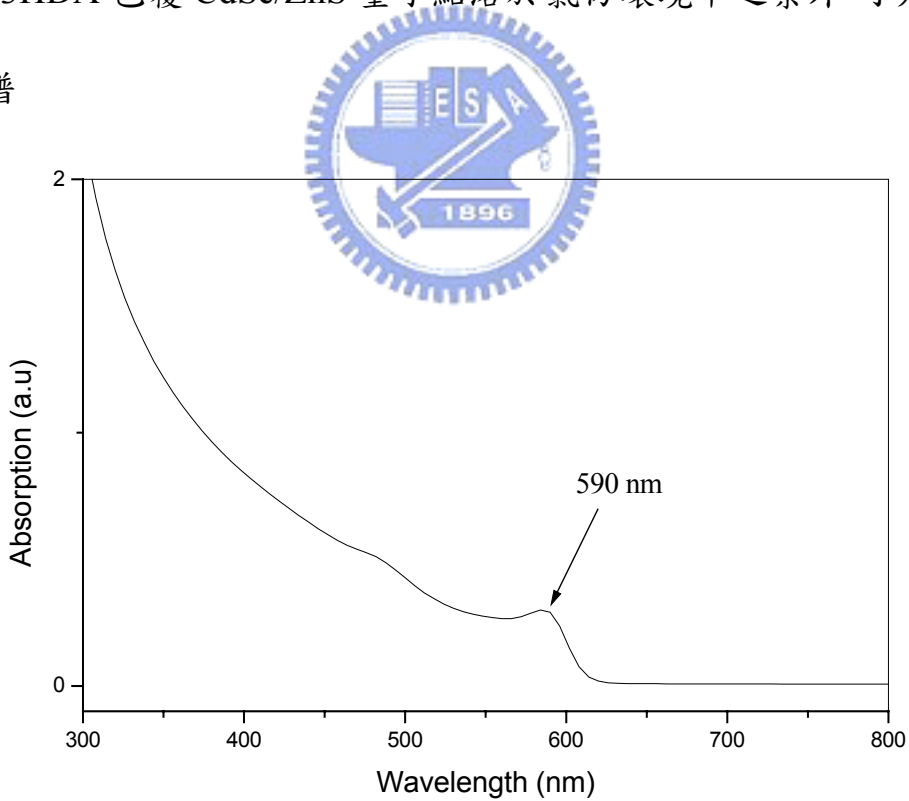


圖 4-14 水溶性硫醇琥珀酸包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於去離子水環境中之紫外-可見光吸收光譜

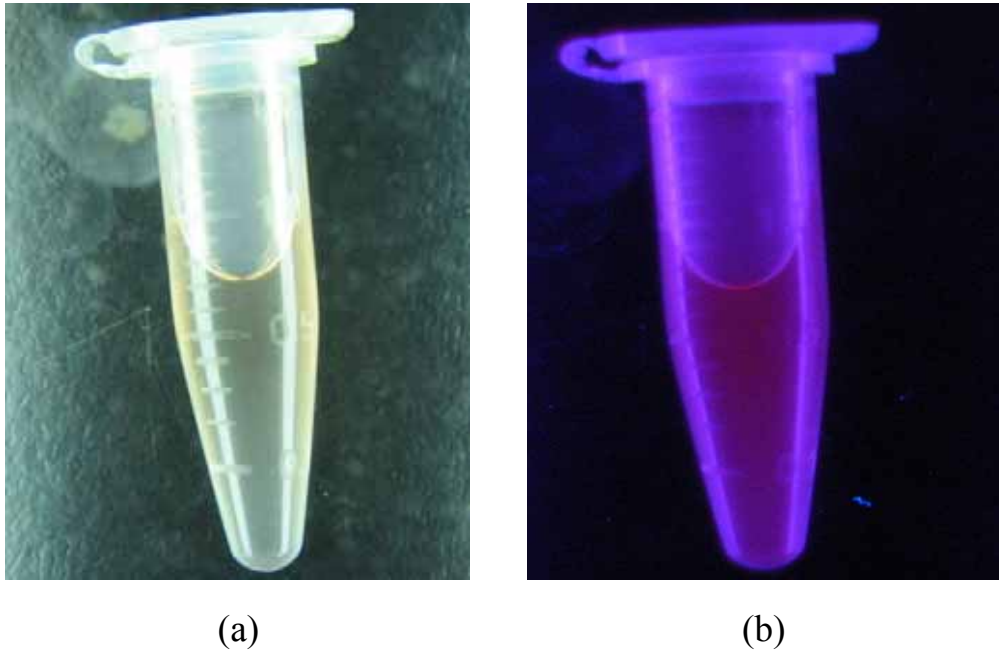


圖 4-15 水溶性 CdSe/ZnS 量子點之螢光特性(a)日光燈與(b)紫外光燈

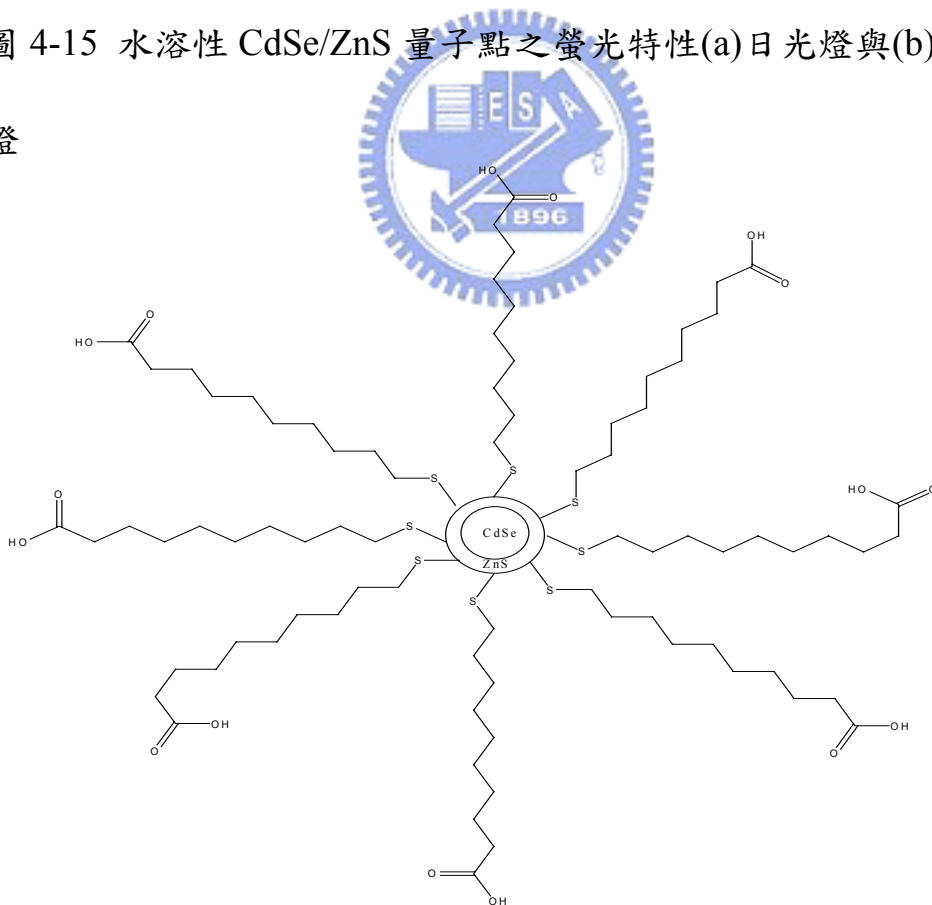


圖 4-16 硫醇十一酸包覆水溶性 CdSe/ZnS 量子點結構示意圖

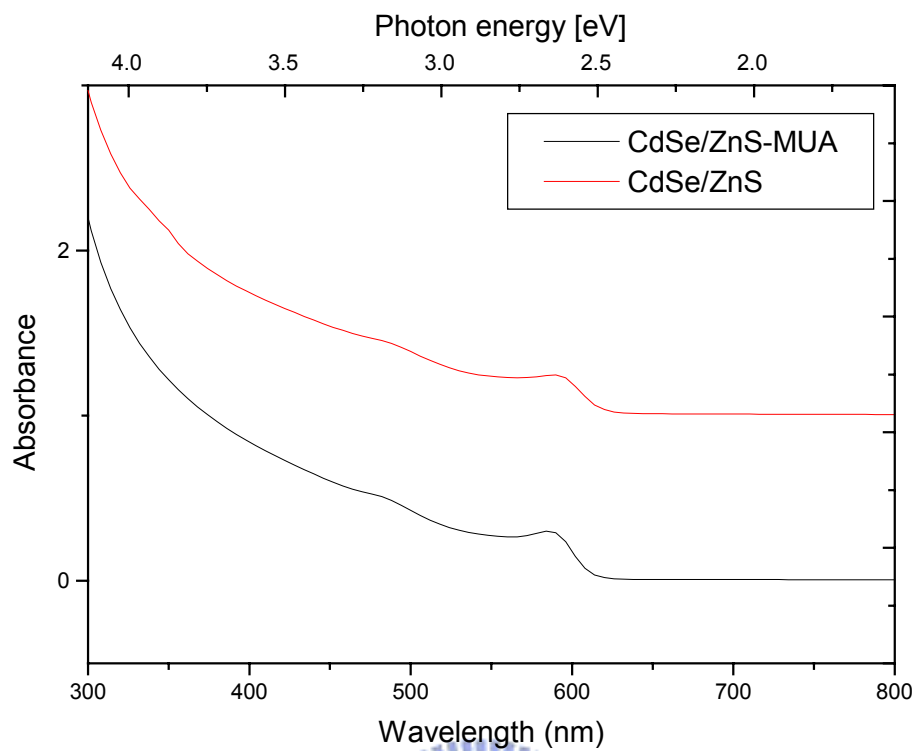


圖 4-17 CdSe/ZnS 和 MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點紫外-可見光吸收

光譜之比較

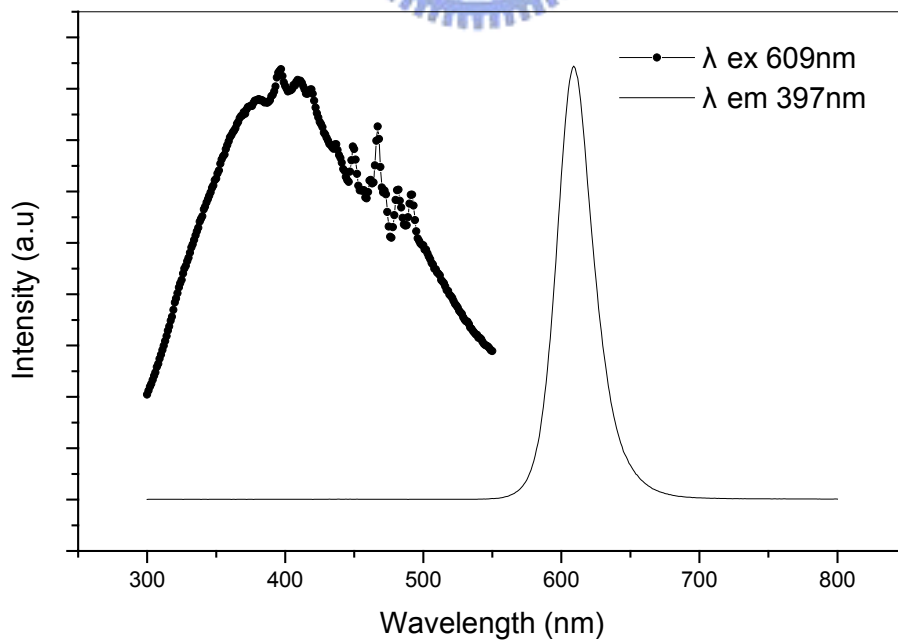


圖 4-18 HDA-包覆 CdSe/ZnS 量子點溶於氯仿環境中之激發與螢光光

譜

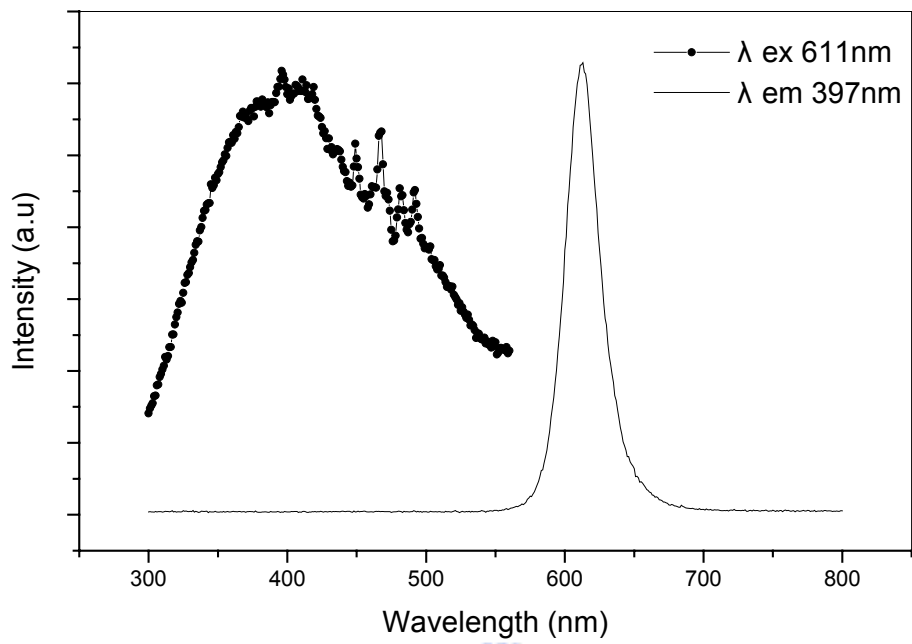


圖 4-19 MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點於去離子水環境中之激發與螢光光譜

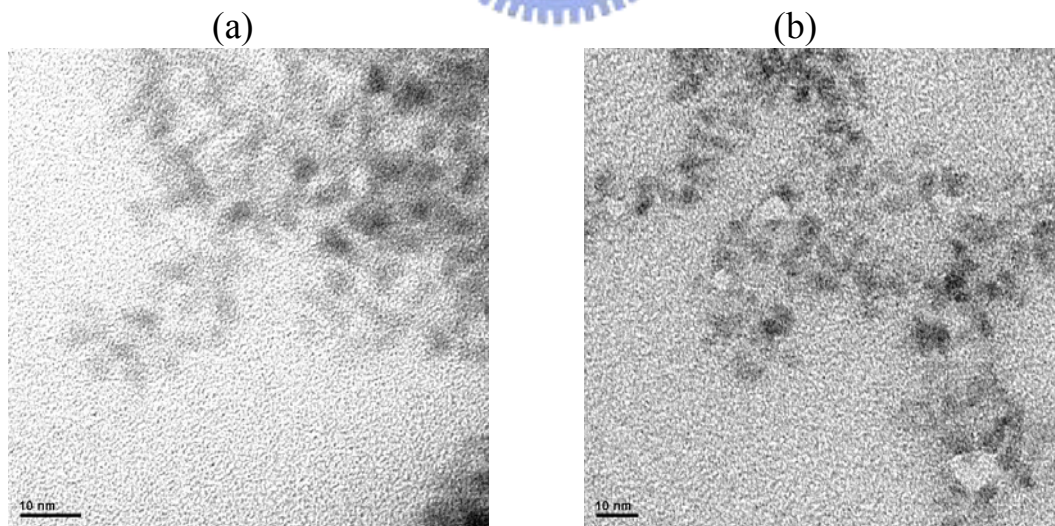


圖 4-20 (a) HDA-包覆 CdSe/ZnS 量子點 (b) 水溶性 MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點之 TEM 影像

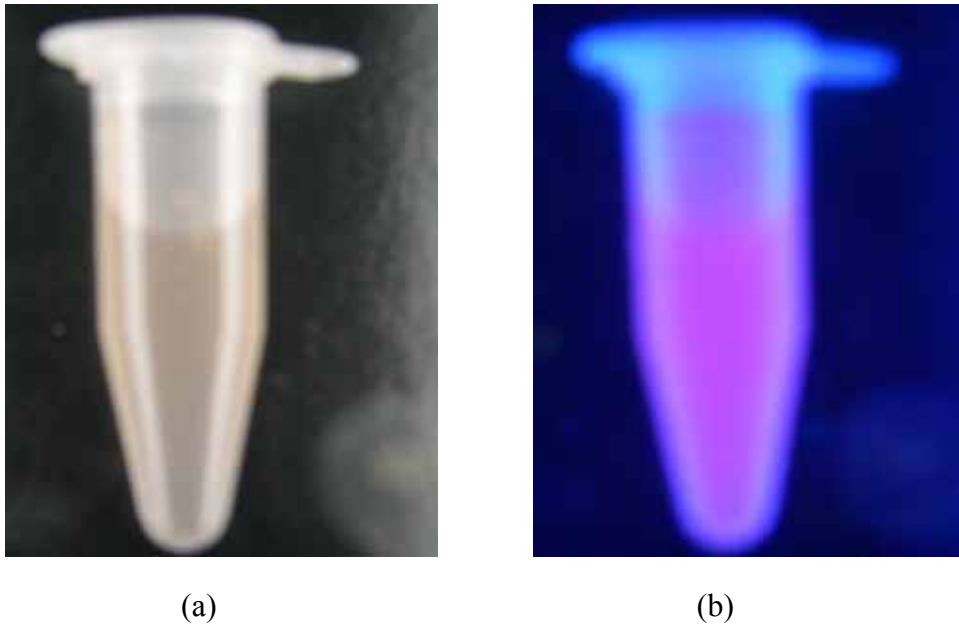


圖 4-21 水溶性 MUA-包覆 CdSe/ZnS 量子點之螢光放射(a)日光燈與  
(b)紫外燈

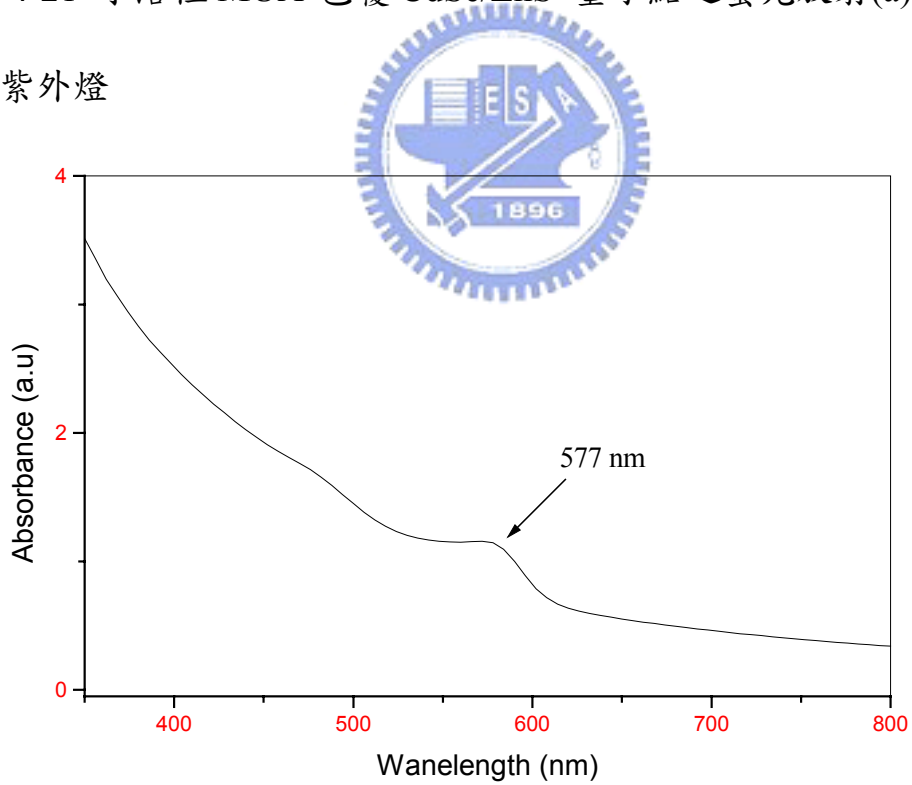


圖 4-22 一鍋合成所得水溶性 MUA-包覆 CdSe 量子點之紫外-可見光  
吸收光譜

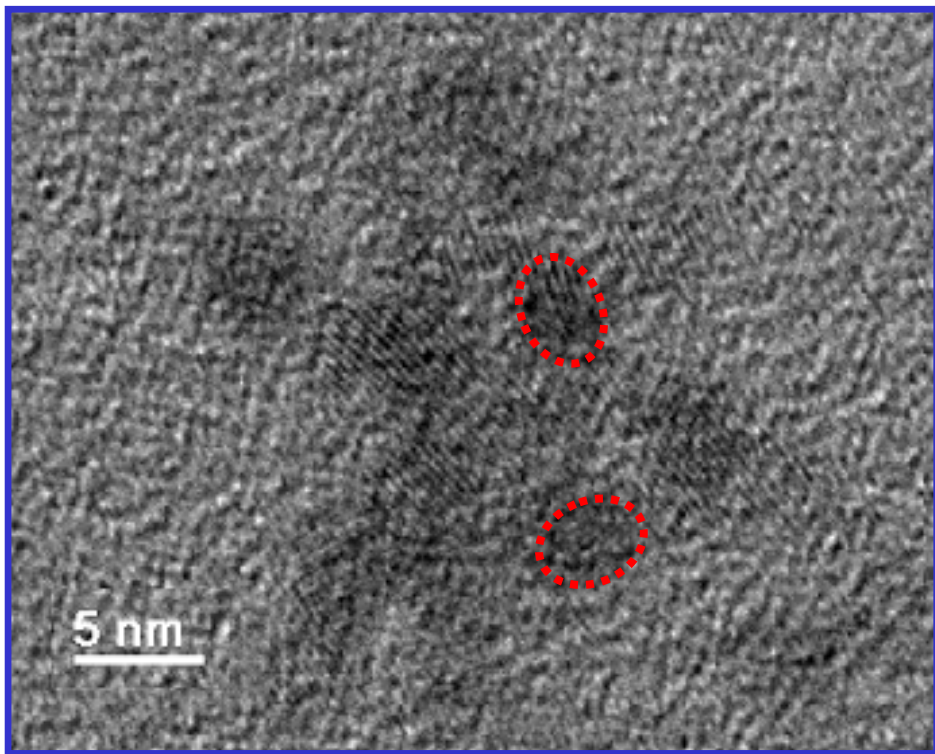


圖 4-23 MUA-包覆 CdSe 量子點穿透式電子顯微鏡影像

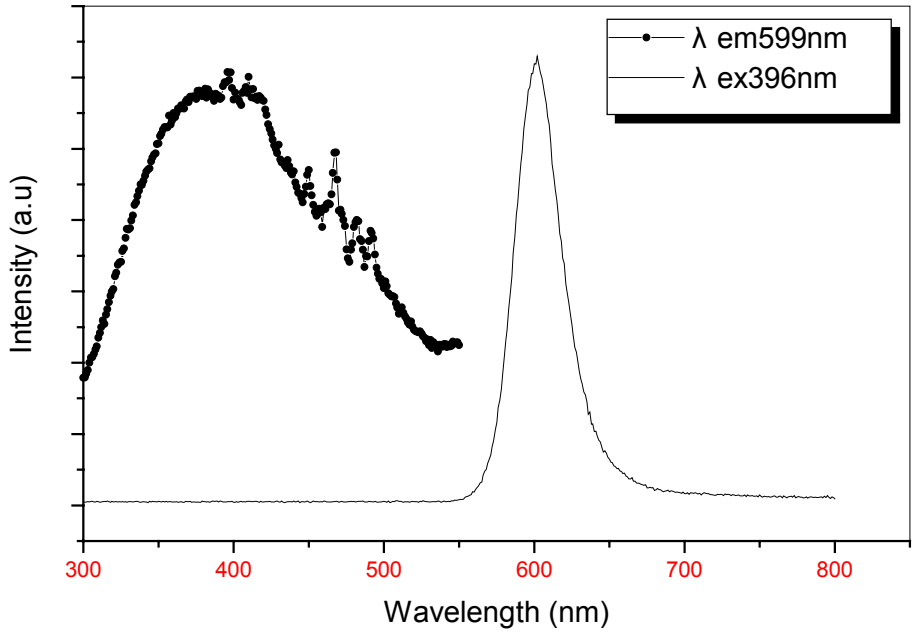


圖 4-24 MUA-包覆 CdSe 量子點激發與螢光光譜

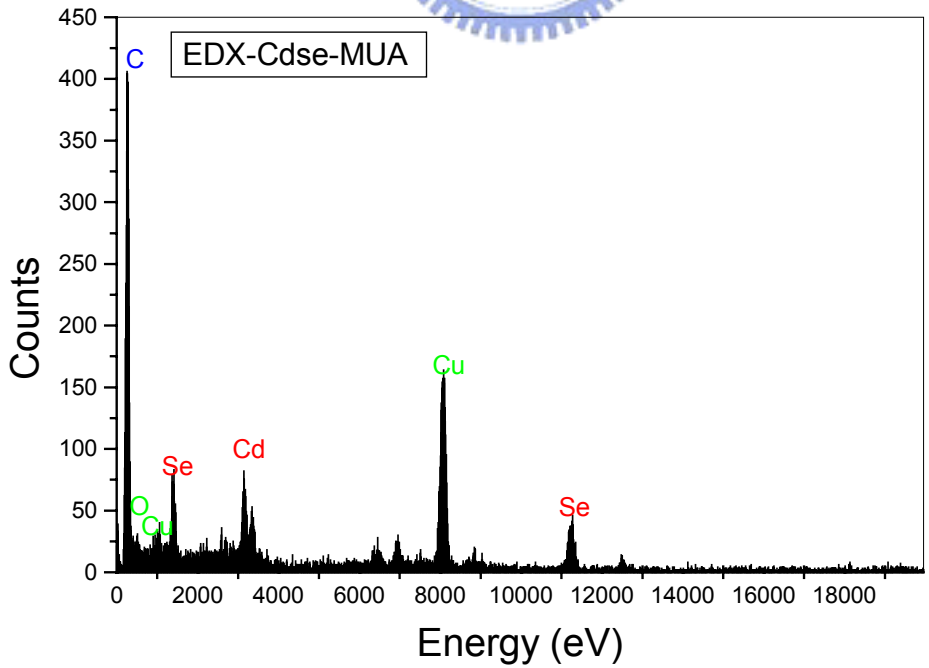


圖 4-25 MUA-包覆 CdSe 量子點之 EDX 分析圖



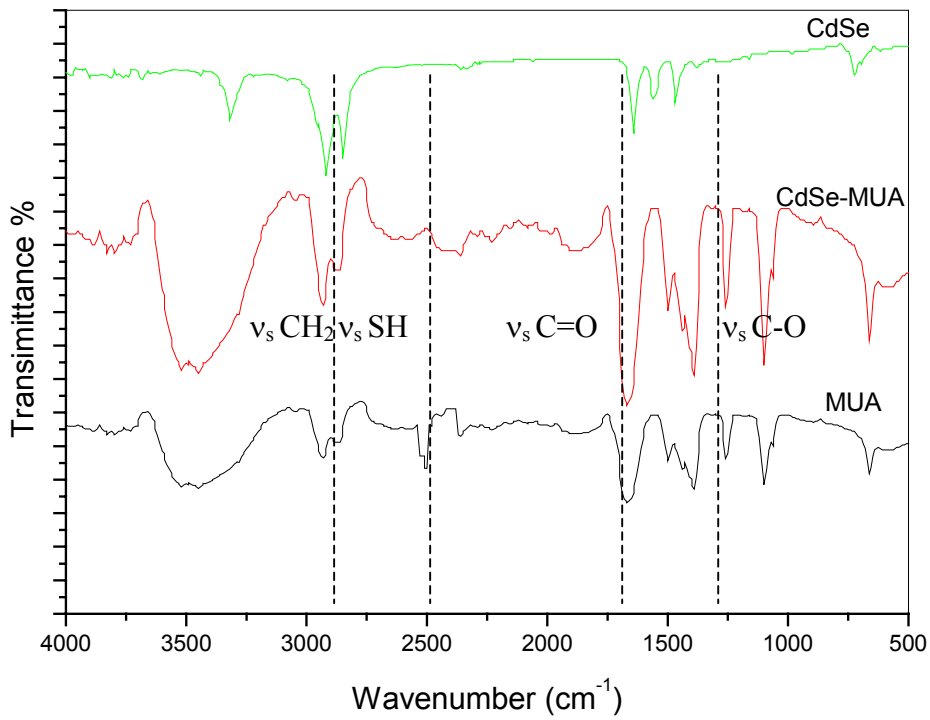


圖 4-26 MUA-包覆 CdSe 及 HDA-包覆 CdSe 量子點之 FT-IR 吸收光譜之比較

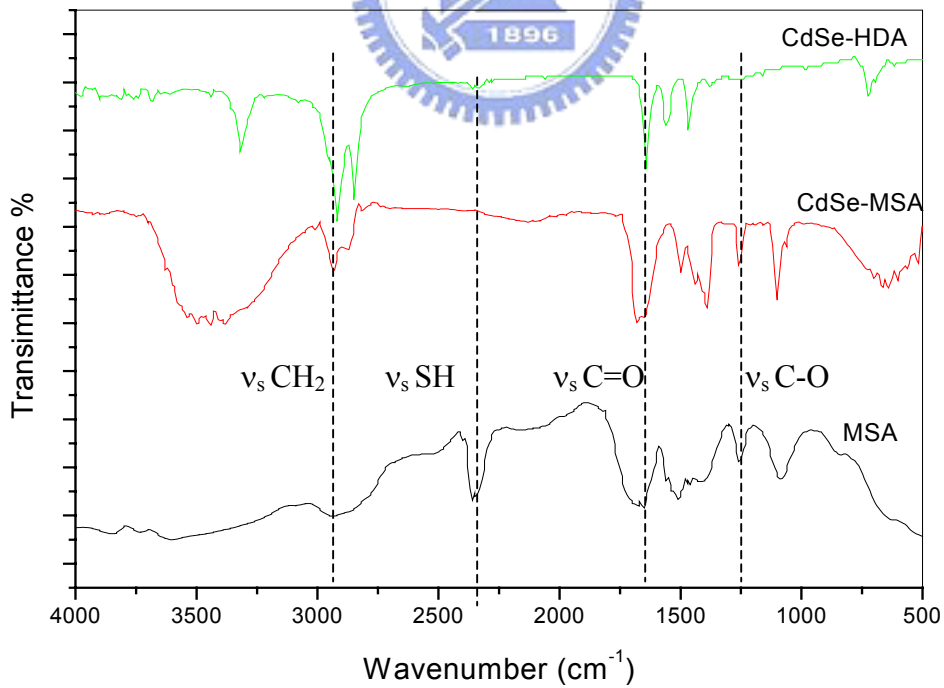


圖 4-27 MSA-包覆 CdSe 及 HDA-包覆 CdSe 量子點之 FT-IR 吸收光譜之比較

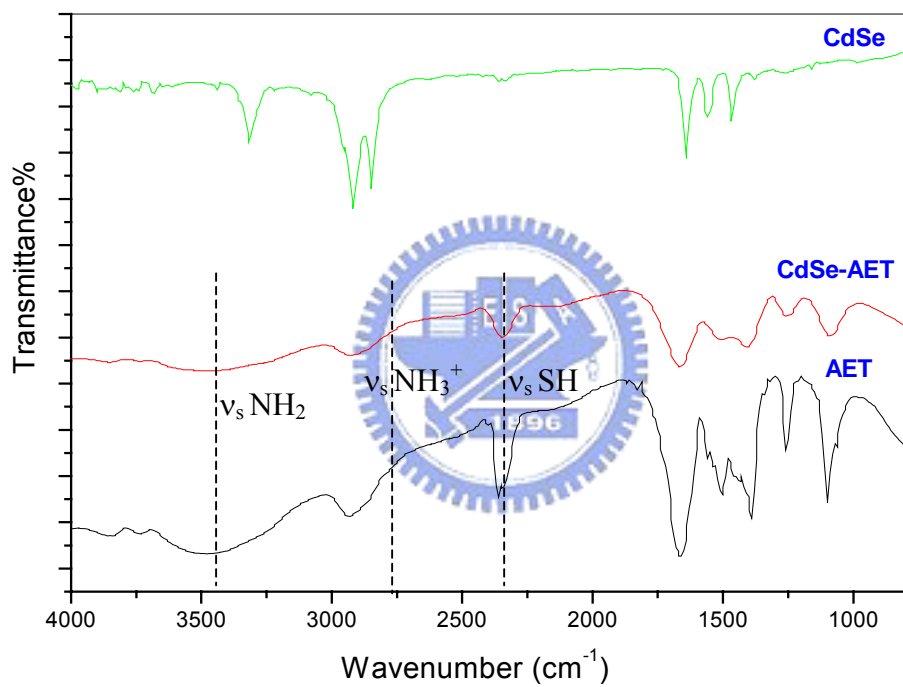


圖 4-28 AET-包覆 CdSe 及 HDA-包覆 CdSe 量子點之 FT-IR 吸收光譜  
之比較

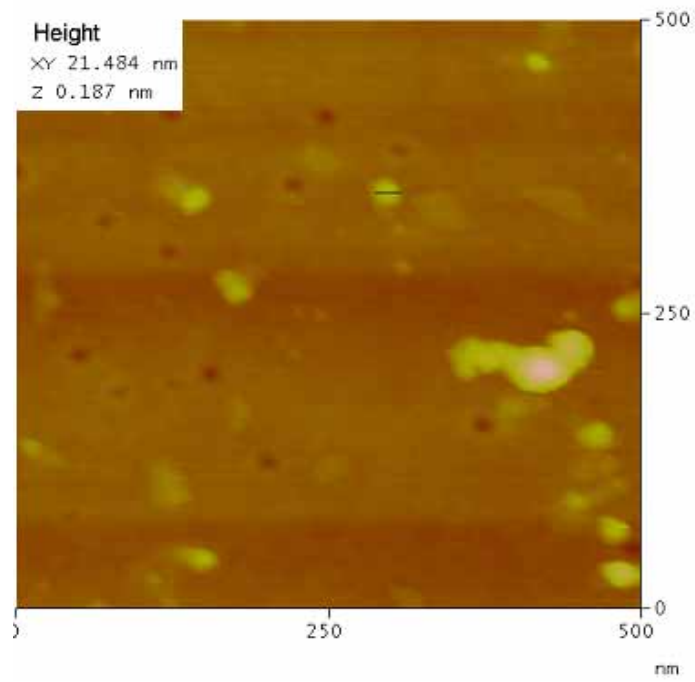


圖 4-29 一鍋合成法所得 MUA-包覆 CdSe 量子點表面形貌

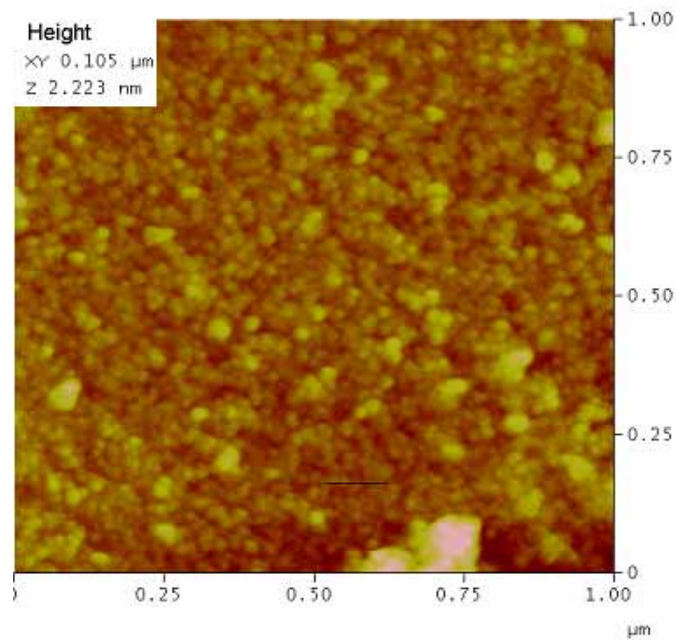


圖 4-30 一鍋合成法所得 AET-包覆 CdSe 量子點表面形貌

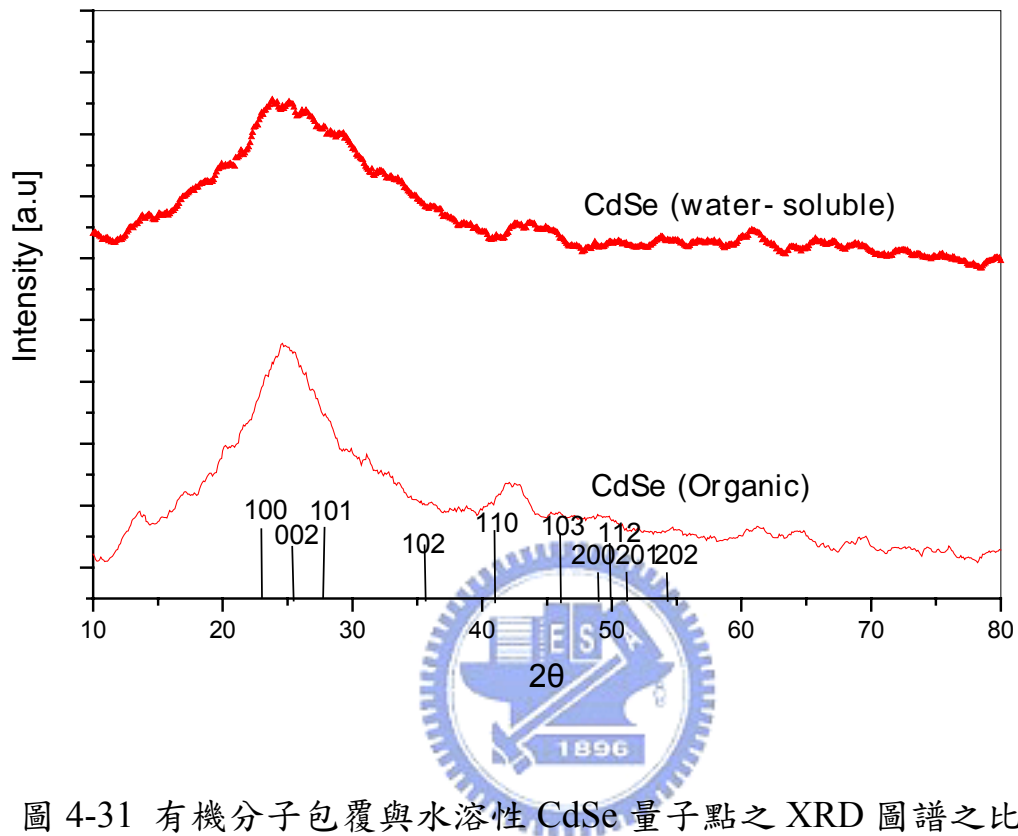


圖 4-31 有機分子包覆與水溶性 CdSe 量子點之 XRD 圖譜之比較

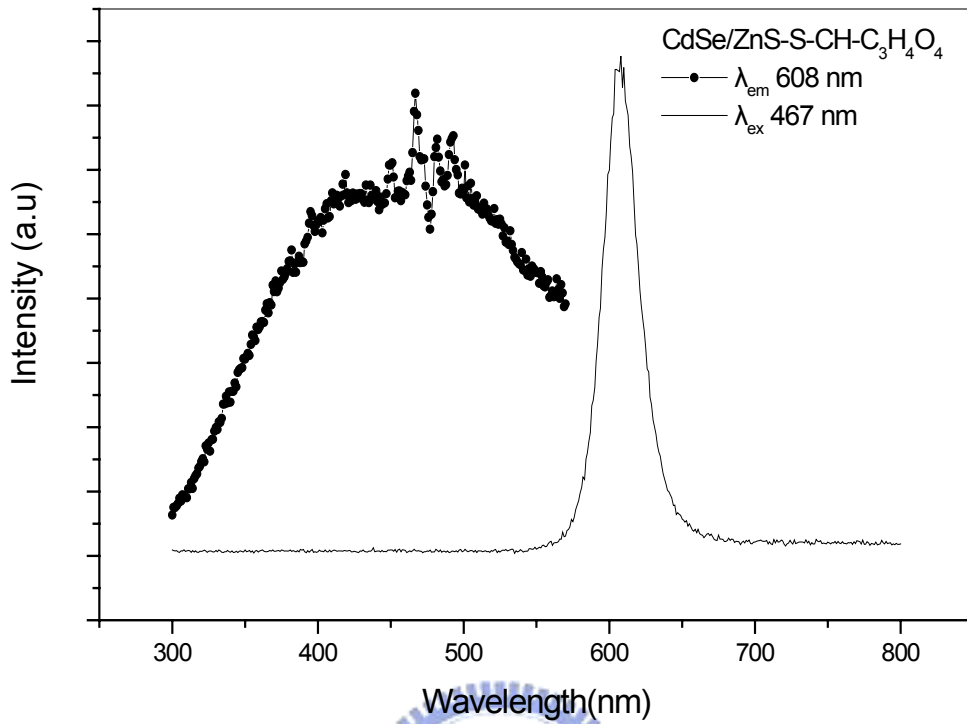


圖 4-32 MSA-包覆 CdSe/ZnS 量子點之激發與螢光光譜

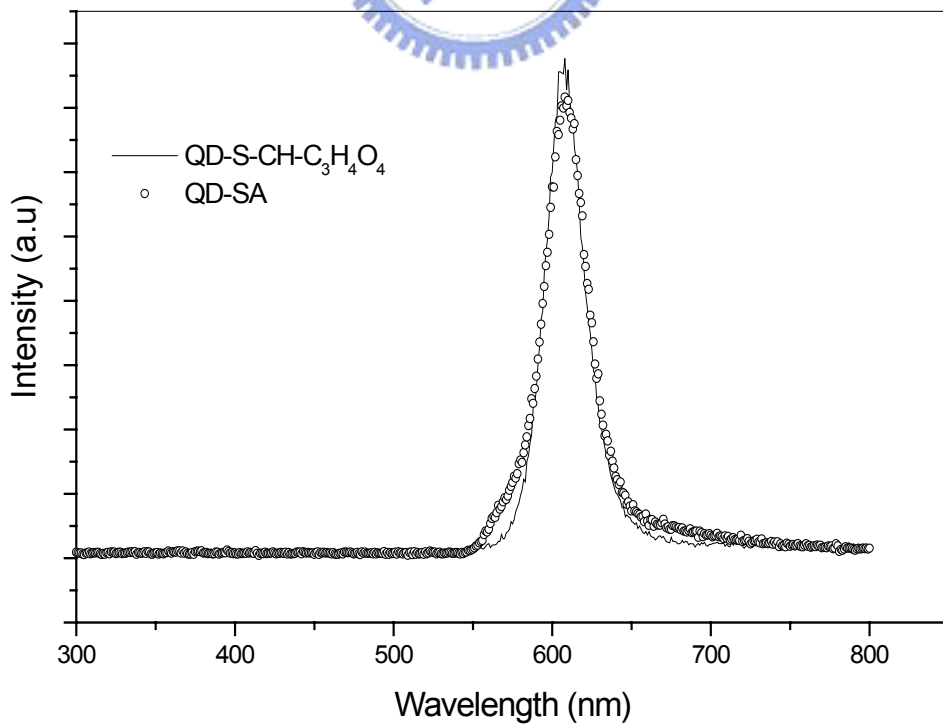


圖 4-33 MSA-包覆 QD 及 QD-SA 錯合物螢光光譜之比較

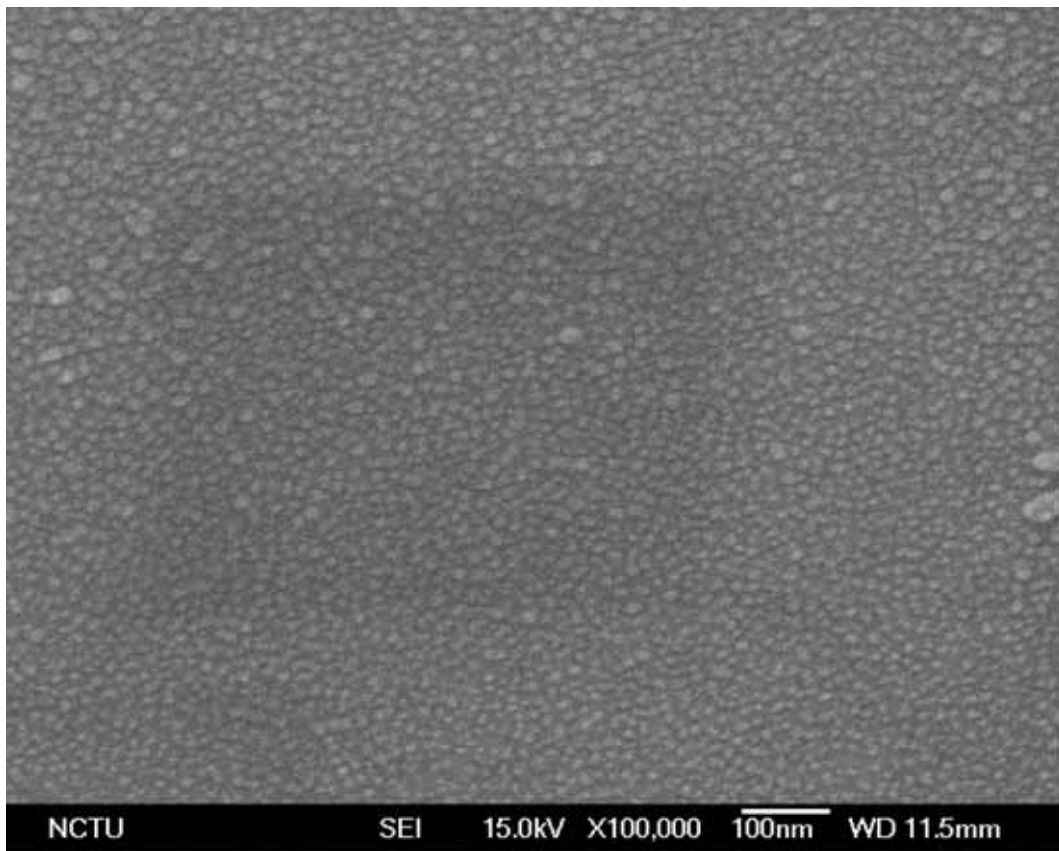


圖 4-34 硝化纖維玻片之 SEM 影像與形貌

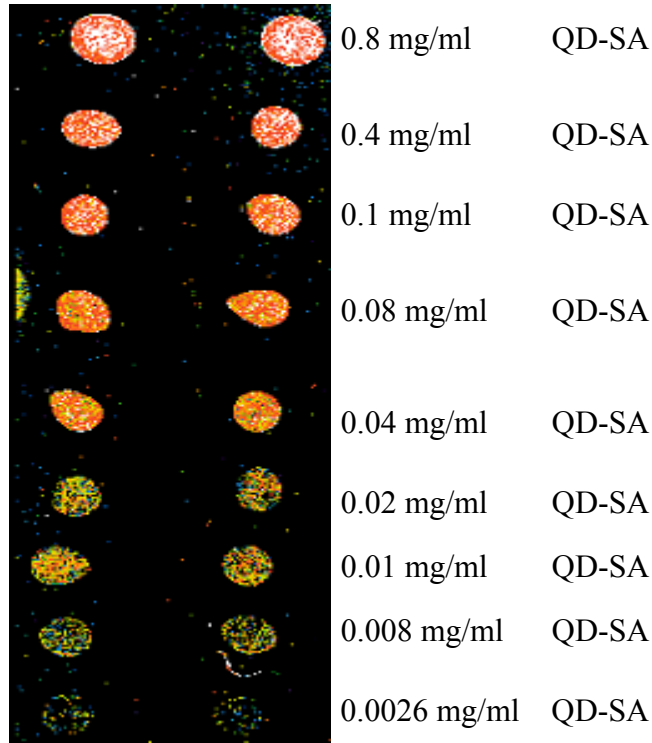


圖 4-35 不同濃度之 QD-SA 錯合物螢光強度之比較

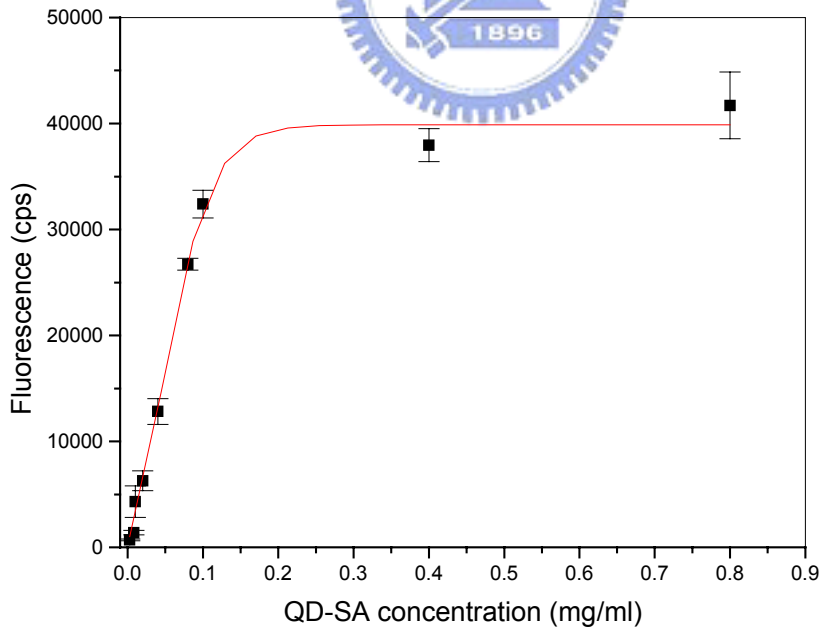


圖 4-36 不同濃度之 QD-SA 螢光強度檢量曲線

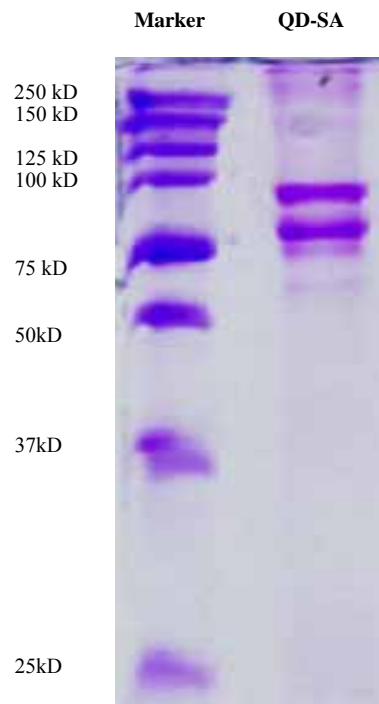


圖 4-37 利用 10% tris-glycine gel SDS-Page 進行 QD-SA 分子量之分析

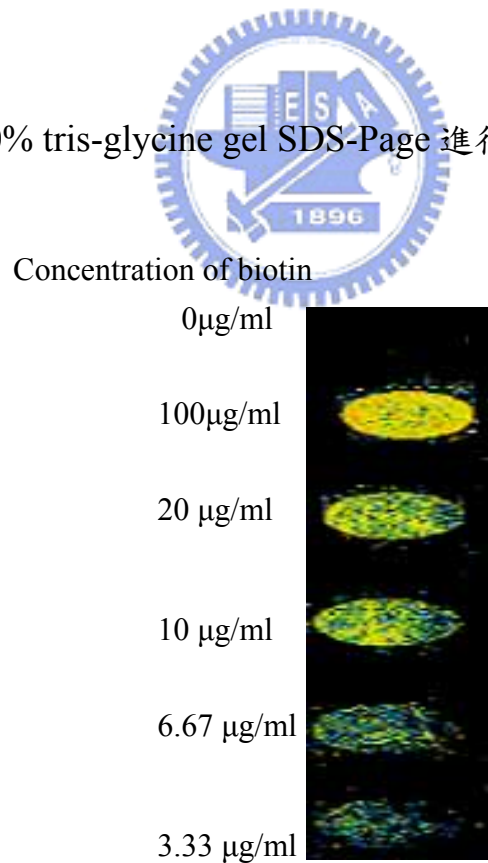


圖 4-38 QD-SA 與 anti-human-IgE-Biotin 之特異性分析與螢光影像



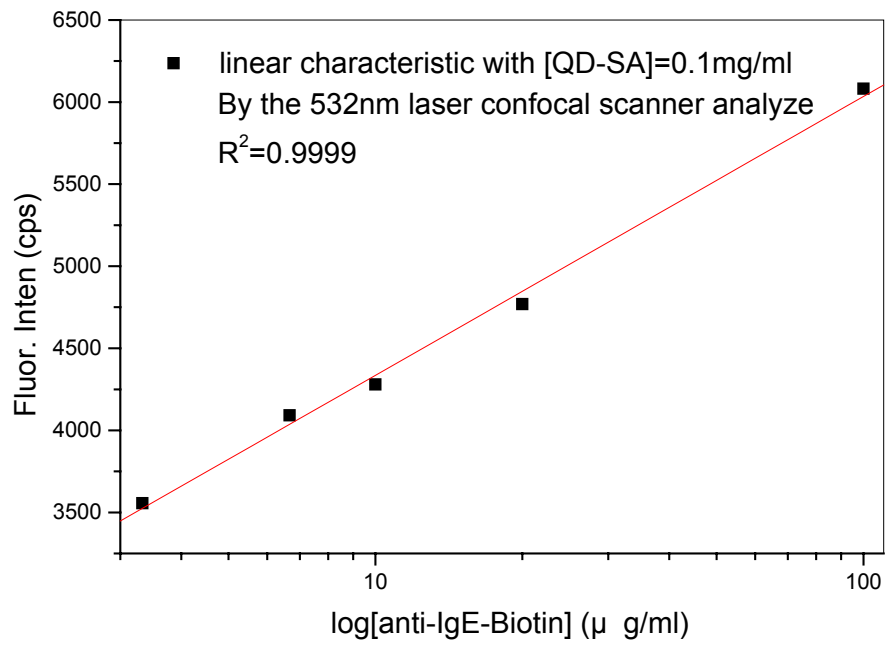



圖 4-39 QD-SA 與 anti-human-IgE-Biotin 特异性之螢光強度校正曲線



表 1 立方體例子的大小及表面原子比率

一邊的原子數	原子數	表面原子數比率
100	1000000	5.88%
50	125000	11.5%
20	8000	27.0%
10	1000	48.8%

表 2 銅粒子粒徑與表面能量比率



粒徑	一克原子中的 粒子數	一個粒子中的 原子數	表面積(cm <sup>2</sup> )	表面能量(erg)
5 nm	$5.69 \times 10^{19}$	$1.06 \times 10^4$	$8.54 \times 10^7$	$1.88 \times 10^{11}$
10 nm	$7.12 \times 10^{18}$	$8.46 \times 10^4$	$4.27 \times 10^7$	$9.4 \times 10^{10}$
100 nm	$7.12 \times 10^{19}$	$8.46 \times 10^7$	$4.27 \times 10^6$	$9.4 \times 10^9$
1 $\mu\text{m}$	$7.12 \times 10^{12}$	$8.46 \times 10^{10}$	$4.27 \times 10^4$	$9.4 \times 10^8$
100 $\mu\text{m}$	$7.12 \times 10^9$	$8.46 \times 10^{13}$	$4.27 \times 10^4$	$9.4 \times 10^7$
1000 $\mu\text{m}$	$7.12 \times 10^6$	$8.46 \times 10^{16}$	$4.27 \times 10^3$	$9.4 \times 10^6$

表 3 金屬奈米粒子的熔點及燒結溫度

性質	奈米粒子(粒徑)	塊狀金屬
熔點	Au (3nm): 900K	1300K
	In (4nm): 370K	430K
燒結溫度	Ni (20nm): ~200°C	>700°C
	W(22nm): ~1100°C	>2000°C

表 4 奈米粒子的應用範圍

物理/化學特性	應用範圍
光學特性	顏料、光敏玻璃、耐蝕玻璃、光纖電纜、透明導電膜、紅外線反射膜、螢光材料、電子照相(感光劑、顯像劑等)
磁性特性	鐵、鈷、鎳磁體、磁性流體、微波吸收材料、垂直紀錄體、高密度磁紀錄體
電氣特性	電極、電阻體、導電塗料、介電質、超導厚膜電路、超薄基層板
機械特性	切割工具、機械元件、耐磨工具、引擎零件、聚合物填充材料、工程陶瓷
化學特性	觸媒、氣體感測器、吸著劑、微細孔濾材、醫藥、化妝品、農藥、塗料

表 5 半體材料之結晶學與能帶

Class	Material	Lattice Constant (Å)	Bandgap (eV)	Absorption edge ( $10^{-6}$ m)	Crystal structure
IV	Diamond	3.56683	5.47	0.226508	D
IV	Si	5.43095	1.12	1.10625	D
IV	Ge	5.64613	0.66	1.87273	D
IV	Sn	6.4892	0.082	15.10976	D
III-V	GaAs	5.6533	1.424	0.870084	Z
III-V	AlAs	5.6605	2.17	0.571494	Z
III-V	InAs	6.0584	0.36	3.441667	Z
III-V	InP	5.8686	1.35	0.917778	Z
III-V	GaP	5.4512	2.26	0.54823	Z
III-V	AlSb	6.1355	1.58	0.784177	Z
III-V	AlP	5.451	2.5	0.4956	Z
III-V	GaN	3.189	3.36	0.36875	W
II-VI	ZnS	5.42	3.68	0.336685	Z
II-VI	CdS	5.832	2.42	0.511983	Z
II-VI	ZnSe	5.65	2.7	0.458889	Z
II-VI	CdSe	6.05	1.7	0.728824	Z
II-VI	CdTe	6.48	1.55	0.799355	Z

表 6 文獻中量子點合成法之比較

Surfactant	Solvent	Base	pH value	Temperature	Reaction Times	Purification Method
4-mercaptobenzoic acid (MBA)	Methanol	tetramethylammonium hydroxide in propanol	-----	57 °C	6-12 h	THF to precipitate [43]
mercaptoacetic acid (MAA)	Dichloromethane	-----	-----	-----	2 h	Centrifugation [44]
mercaptoundecanoic acid (MUA)	Methanol	tetramethylammonium hydroxide pentahydrate	>10	65 °C	Overnight	ethyl acetate and ether to precipitate & centrifuged [45]
1 M <i>N,N</i> -dimethyl-2-mercaptoethylammonium chloride	Methanol/toluene	-----	-----	-----	1 h	Phase transfer [46]
1.0 M D,L-Mercaptosuccinic acid (MSA)	Chloroform	-----	-----	-----	2 h	Phase transfer & centrifuged [30]
3-mercaptopropionic acid	<i>N,N</i> -dimethylformamide	-----	-----	-----	-----	----- [41]
(3-mercaptopropyl)trimethoxysilane	25% dimethyl sulfoxide (DMSO) in methanol	tetramethylammonium hydroxide pentahydrate	10 to 11	-----	2 hours	Precipitated [25]
Glacial mercaptoacetic acid	Chloroform	-----	-----	-----	2 hour	Phase transfer & centrifuged [26]

表 7 兩步驟 (Two-Stage) 合成所得水溶性量子點之最佳製程條件

包覆試劑	溶劑	鹼液	酸鹼值	迴流	反應時間 (小時)	溫度	分離方法
乙硫醇酸 (MAA)	Pyridin/CHCl <sub>3</sub>	TMAOH	11	No	24	RT	離心
硫醇琥珀酸 (MSA)	Methanol	TMAOH	11	Yes	2	70°C	沉澱
硫醇十一酸 (MUA)	DMSO/Pyridine	TMAOH	>10	NO	2	RT	離心
二胺基乙硫醇 (AET)	Methanol/ CHCl <sub>3</sub>	TMAOH	7	NO	2	RT	離心

表 8 一鍋合成所得水溶性量子點製程條件之比較

包覆試劑	溶劑	鹼液	酸鹼值	迴流	反應時間	分離方法
硫酸琥珀酸 (MSA)	Methanol/ CHCl <sub>3</sub>	TMAOH	>10	Yes	2	離心
硫醇十一酸 (MUA)	DMSO/Pyridine	TMAOH	>10	Yes	2	離心
二胺基乙硫醇 (AET)	Methanol/ CHCl <sub>3</sub>	TMAOH	7	Yes	2	離心

表 9 不同製程所得水溶性量子點之比較

	一鍋合成	兩步驟 (Two-Stage)合成
螢光強度	高	低
半高寬	寬	窄
純度	低	高
製程	簡單	困難
產率	高	低

