

國立交通大學
材料科學與工程研究所
碩士論文

銀蒸鍍於不同基板之表面形貌對表面增強拉曼散射

效應的影響

The influence of silver morphology on different substrates by
1896
evaporation on surface enhanced Raman scattering

研究生：廖晏辰

指導教授：朝春光 博士

劉增豐 博士

中華民國九十八年七月

銀蒸鍍於不同基板之表面形貌對表面增強拉曼散射效應的影響

The influence of silver morphology on different substrates by
evaporation on surface enhanced Raman scattering

研究生：廖晏辰

Student : Yen-Chen Liao

指導教授：朝春光 博士

Advisor : Chuen-Guang Chao

劉增豐 博士

Tzeng-Feng Liu



A Thesis

Submitted to Department of Materials Science and Engineering
College of Engineering
National Chiao Tung University
in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master
in Materials Science and Engineering
2009
Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十八年七月

銀蒸鍍於不同基板之表面形貌對表面增強拉曼散射 效應的影響

學生：廖晏辰

指導教授：朝春光 博士

劉增豐 博士

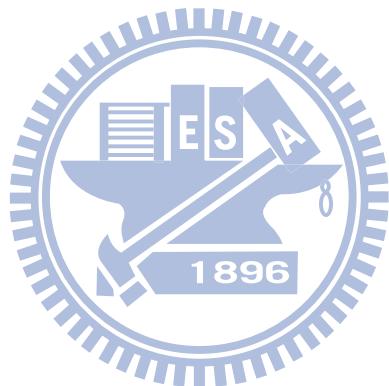
國立交通大學

材料科學與工程研究所



本實驗以銀蒸鍍於 AAO、玻璃基板、碳化矽及氮化鈦等基材，觀察銀在具有不同表面能的材料上所形成的表面形貌之差異，以及鍍銀量的多寡對其表面形貌的影響。經由掃瞄式電子顯微鏡與原子力顯微鏡觀察其表面形貌，與銀之接觸角較大的基板上會形成起伏較大的表面，而各基材最適合拉曼增強效應之鍍銀量亦不同。接著以表面上之奈米銀顆粒為表面增強拉曼散射效應之活化因子，使用氬雷射激發光源的拉曼光譜儀對稀薄濃度之生物染色分子 Rhodamine 6G 進行偵測實驗。探討鍍銀量多寡、分子濃度高低、及分子於偵測基板的吸附時

間長短等變因對於拉曼散射的表面增強效應之影響。從拉曼譜線中發現，偵測該分子最適宜的濃度約為 $1 \times 10^{-5} M$ ，而偵測的濃度極限約為 $1 \times 10^{-6} M$ 。當 SiC 基板表面銀鍍層 30nm 厚，TiN 基板銀鍍層 40nm 厚，銀顆粒之間距近似於顆粒直徑($d \approx 2R$)，且 Rhodamine 6G 分子吸附時間約 30 分鐘時，該分子之各個特徵峰值得到最大的增強效果。



The influence of silver morphology on Different substrates by evaporation on surface enhanced Raman scattering

Student: Y. C. Liao

Advisors: C. G. Chao

T. F. Liu

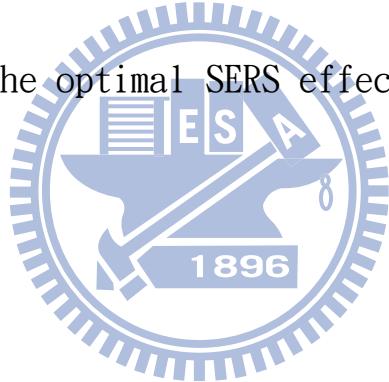
Department of Materials Science and Engineering

National Chiao Tung University



Silver was deposited on the SiC and TiN substrates by thermal evaporation method. The silver morphology on the surface of various substrates was observed by scanning electron microscopy and atomic force microscopy. The morphology was different, owing to the different surface energy of substrates. The nanoscale silver particles on the surface of substrate were defined as an activation factor of Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) effect, then the Raman scattering

spectrometer by using an argon laser was used to detect the Rhodamine 6G molecule, to discuss the influence of silver amount, Rhodamine 6G molecule concentration, and adsorption time of molecules on SERS effect. From the Raman spectrum, it was revealed that the most suitable concentration to detect the Rhodamine 6G molecule is about 1×10^{-5} M, and the utmost concentration is about 1×10^{-6} M. That the thickness of silver on the surface of SiC and TiN substrates were 30nm and 40nm, respectively, had the optimal SERS effect.



謝誌

完成這本論文，碩士生涯終於畫上了一個句點。在交大求學這段日子讓我學到很多，也認識很多人，有你們的陪伴及幫忙才能有這本論文的誕生。要感謝的人很多，所以只有謝天和土地公爺爺是不夠的。

首先要感謝的是我的指導教授朝春光老師，謝謝朝老師在我求學路上的時時提點，幫助我找到研究的方向，並在我實驗上遇到困難與挫折時給予寶貴的意見，老師的諄諄教誨我會謹記於心。

其次是學長姊和學弟妹們，感謝蓉萱、伊茹學姊和兆鼎、高嘉駿、陳維鈞學長在實驗上提供我很多的建議與協助，仁君、建仲、舜哥、國強、士勛、漢宗、浩然、棋淵、阿財、家茵等學長姊也都給我關心和勉勵。感謝同學兼鄰居的清陽在日常生活上也幫了我很多，文翔、欣君、祥溢、柏均、大緯、郁祥、筱媛、仕漢、欣龍、柏叡、佑慈、哲毅、亮延、力銘、鈞富、晟毅、喬立和實驗室所有的伙伴們，有你們的陪伴使我的碩士生活更加充實快樂。

我的女友怡芬，感謝妳一直默默地在我身旁給我鼓勵與支持，是我最重要的精神支柱，也希望妳的論文快快誕生順利畢業。

最後最要感謝的是我的父母親，謝謝你們賜予我生命，含辛茹苦教養我長大成人，無怨無悔無償無限地付出，讓我能無後顧之憂地完成我的學業，謹以這本論文獻給你們。

目錄

中文摘要	I
英文摘要	III
謝誌	V
目錄	VI
表目錄	IX
圖目錄	X



第一章 緒論	1
1.1 引言	1
1.2 研究動機	1
第二章 文獻回顧	3
2.1 接觸角	3
2.2 拉曼光譜學	5
2.2.1 拉曼散射簡介	5
2.2.2 拉曼散射原理	6
2.2.3 拉曼散射的電磁理論	10

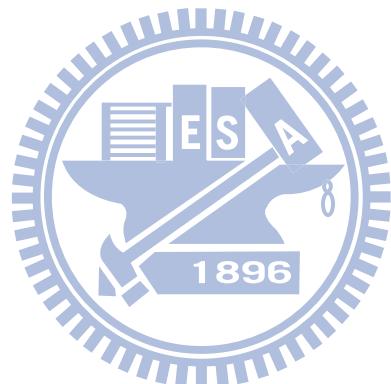
2.2.4 共振拉曼散射	12
2.3 表面增強拉曼散射	13
2.3.1 表面增強拉曼散射簡介	13
2.3.2 表面增強拉曼散射機制	15
2.3.2.1 電磁效應	15
2.3.2.2 化學效應	19
2.3.3 表面增強拉曼散射的應用	21
2.3.3.1 單分子偵測工具	21
2.3.3.2 生物與生醫物質的偵測與辨識	23
2.3.3.3 免疫分析	25
第三章 實驗步驟	26
3.1 實驗方法與流程	26
3.1.1 製備生物分子偵測試片	26
3.1.2 生物分子 Rhodamine 6G 溶液	26
3.1.3 拉曼光譜儀分析	27
3.2 實驗儀器	31
3.2.1 热蒸鍍機	31
3.2.2 場發射掃瞄式電子顯微鏡	31
3.2.3 原子力顯微鏡	32

3.2.4 拉曼散射光譜儀	33
第四章 結果與討論	34
4.1 影響試片表面形貌的因素	34
4.1.1 銀與基材間的表面能	34
4.1.2 SiC 基板上鍍銀量之影響	43
4.1.3 TiN 基板上鍍銀量之影響	47
4.2 偵測 Rhodamine 6G 分子之表面增強拉曼散射線	50
4.2.1 偵測基板的表面形貌對偵測譜線的影響	50
4.2.1.1 以碳化矽為蒸鍍基材	50
4.2.1.2 以氮化鈦為蒸鍍基材	53
4.2.2 Rhodamine 6G 分子濃度的影響與偵測極限	55
4.2.2.1 以碳化矽為蒸鍍基材	55
4.2.2.2 以氮化鈦為蒸鍍基材	58
4.2.3 Rhodamine 6G 分子於試片的吸附時間對拉曼 散射譜線的影響	60
4.2.3.1 以碳化矽為蒸鍍基材	60
4.2.3.2 以氮化鈦為蒸鍍基材	63
第五章 結論	65
第六章 參考文獻	66

表目錄

表 4-1 以 SiC 為基材時表面銀顆粒之參數 44

表 4-2 以 TiN 為基材時表面銀顆粒之參數 47



圖目錄

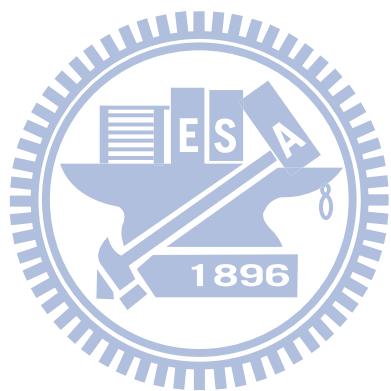
圖 2-1 液滴、模壁、與固體析出物示意圖	4
圖 2-2 液滴、模壁、與固體析出物間表面張力關係圖	4
圖 2-3 三種光散射分類:瑞利散射、斯托克散射、反斯托克散射	
.....	8
圖 2-4 瑞利散射與拉曼散射能階簡圖	8
圖 2-5 拉曼散射之電子態、振動態及轉動態能階簡圖	9
圖 2-6 雙原子分子振-轉動之能階簡圖	9
圖 2-7 共振拉曼散射發生頻率示意圖 ⁹⁶	12
圖 2-8 電磁增強效應之金屬粒子與分子位置關係圖	17
圖 2-9 一連串之銀半圓柱置於銀平板上，其厚度為 ι ，半圓柱 之半徑為 R ，相隔兩半圓柱中心之距離為 d ， $\iota = 2R = 30\text{nm}$	
.....	17
圖 2-10 銀半圓柱表面增強效應之平均值， d 值範圍由 $2R$ 到 $4R$	
.....	18
圖 2-11 銀半圓柱表面位於縫隙處增強效應之平均值， d 值範圍 由 $2R$ 到 $1.2R$	18

圖 2-12 銀半圓柱表面增強效應之平均值， $2R$ 範圍由 15nm 到 600nm	19
圖 2-13 螢光和拉曼散射偵測水相系統中分子之能階及光譜示意圖	22
圖 2-14 表面增強拉曼散射偵測單一分子簡圖	22
圖 2-15 兩種神經傳導物質在銀膠體溶液中之表面增強拉曼散射光譜	24
圖 2-16 表面增強拉曼散射配合混交法判讀 DNA 簡圖	24
圖 2-17 免疫分析標定抗原之示意圖	25
圖 3-1 以影像分析軟體量測試片表面上銀顆粒 d 與 $2R$ 之值	27
圖 3-2 染色分子 Rhodamin 6G 之化學結構式	28
圖 3-3 Rhodamin 6G 之拉曼譜線中各個特徵峰值所代表的意義	29
圖 3-4 實驗流程圖	30
圖 3-5 原子力顯微鏡示意圖	32
圖 3-6 拉曼散射光譜儀簡圖	33
圖 4-1 陽極氧化鋁基板的表面形貌	37
圖 4-2 陽極氧化鋁基板蒸鍍銀 30nm	37
圖 4-3 陽極氧化鋁基板蒸鍍銀 30nm ，在 750°C 下熱處理 100 秒	38

.....	38
圖 4-4 以原子顯微鏡觀察陽極氧化鋁基板蒸鍍銀 30nm，在 750 °C 下熱處理 100 秒之表面形貌	38
圖 4-5 玻璃基板蒸鍍銀 30nm	39
圖 4-6 SiC 基板蒸鍍銀 30nm	39
圖 4-7 TiN 基板蒸鍍銀 40nm	40
圖 4-8 以原子顯微鏡觀察 SiC 基板蒸鍍銀 30nm 之表面形貌	41
圖 4-9 以原子顯微鏡觀察 TiN 基板蒸鍍銀 40nm 之表面形貌	41
圖 4-10 以 SiC 和 TiN 基板偵測濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 之 Rh6G 分子之拉曼 散射譜線	42
圖 4-11 SiC 基板蒸鍍銀 20nm	45
圖 4-12 SiC 基板蒸鍍銀 30nm	45
圖 4-13 SiC 基板蒸鍍銀 40nm	46
圖 4-14 TiN 基板蒸鍍銀 40nm	48
圖 4-15 TiN 基板蒸鍍銀 30nm	48
圖 4-16 TiN 基板蒸鍍銀 50nm	49
圖 4-17 在 SiC 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-5} M$	51

圖 4-18 在 SiC 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-6} M$	51
圖 4-19 在 SiC 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-7} M$	52
圖 4-20 在 TiN 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-5} M$	54
圖 4-21 在 TiN 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-6} M$	54
圖 4-22 在 SiC 基板上，蒸鍍銀之厚度為 30nm 偵測不同濃度之 Rh6G 分子	57
圖 4-23 在 SiC 基板上，蒸鍍銀之厚度為 40nm 偵測不同濃度之 Rh6G 分子	57
圖 4-24 在 SiC 基板上，蒸鍍銀之厚度為 20nm 偵測不同濃度之 Rh6G 分子	58
圖 4-25 在 TiN 基板上，蒸鍍銀之厚度為 40nm 偵測不同濃度之 Rh6G 分子	59
圖 4-26 SiC 基板蒸鍍銀厚度 30nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 溶液時間分別為 5min、30min、60min	62
圖 4-27 SiC 基板蒸鍍銀厚度 30nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 之 Rh6G 溶液時間分別為 5min、30min、60min	62
圖 4-28 TiN 基板蒸鍍銀厚度 40nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 溶液時間分別為 5min、30min、60min	63
圖 4-29 TiN 基板蒸鍍銀厚度 40nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 之 Rh6G	

溶液時間分別為 5min、30min、60min 64



第一章 緒論

1.1 引言

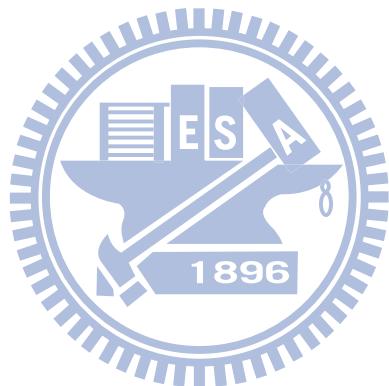
二十一世紀是奈米科技的時代，奈米技術的發展帶領人們進入一個嶄新的研究領域。隨著尺寸的縮小，奈米級的材料通常會展現出迥然於巨觀狀態下不同的性質，電性、磁性、與光學等等性質都會有顯著的差異。針對這些特性的應用使得各式各樣的奈米化產品能夠融入人們的生活當中，例如生活中常見的奈米光觸媒、奈米衣料、和奈米碳管顯示器等都是很好的研發成果。

拉曼散射的表面增強效應也是一個成功的例子，西元1974年Fleischmann的研究團隊觀察到吸附在粗糙銀電極表面的單分子層Pyridine(C_5H_5N)之拉曼光譜，發現到異常高的訊號^[1]，這種因為分子吸附在某些具有奈米級粗糙度的金屬表面而導致拉曼訊號大幅增強的現象，完全改善了傳統拉曼低靈敏度的缺點，使得拉曼光譜更廣泛地被應用在生醫領域的分析和研究上，如生物感測器、藥物研發、及疾病的判斷等都是常見的應用範疇。

1.2 研究動機

拉曼散射之表面增強效應發現至今三十餘年，眾多學者在這個領域已發展出相當好的理論學說及研究成果。但從近年來的文獻中發現到，大部分的研究都是從較實用的面向去深入探討，例如生物分子的

偵測、基因的判讀、以及免疫分析等方向，也就是多從生物及醫學的角度去進行研究發展，針對試片表面形貌對於拉曼散射增強效應之影響的研究較少。因此本實驗希望除了生醫之外，還能夠加入以材料角度為出發點的研究，討論偵測生物染色分子的基板表面形貌之不同對於拉曼散射之表面增強效應的影響。



第二章 文獻回顧

2.1 接觸角

當液體滴在一固體表面上時，固體表面與液滴切線的夾角稱為接觸角。接觸角是一個由三個不同界面的表面張力相互作用而成的系統，而接觸角是這三個表面張力的函數。如圖 2-1，當一液體濕潤模壁時，接觸角與各項表面張力的關係如圖 2-2，可由楊格-拉普拉斯方程式(Young - Laplace equation)來表示：

$$\gamma^{lm} = \gamma^{sm} + \gamma^{ls} \cos \theta \quad (2-1)$$

上式中 γ^{lm} 、 γ^{sm} 、 γ^{ls} 分別為液體和模壁、固體和模壁、及液體和固體間的表面張力， θ 為液滴與模壁間的接觸角。固體/模壁和液體/模壁間的表面能差 $\gamma^{sm} - \gamma^{lm}$ 為液體的「濕潤張力」。當液體/模壁的表面張力大於固體/模壁的表面張力，也就是模壁/固體間的吸引力大於模壁/液體間的吸引力時，模壁/液體間的表面張力會將模壁/固體界面拉伸，因此新形成的固體析出物會在模壁表面擴張而濕潤模壁，此時接觸角 $< 90^\circ$ ；反之當接觸角 $> 90^\circ$ 時，析出物會在固體表面成圓球狀而無法濕潤表面。

若將一水滴落在固體表面其接觸角 $< 90^\circ$ ，我們稱此固體具有親水性；其接觸角 $> 90^\circ$ ，則此固體具有疏水性質。某些高疏水性的物質表面對水的接觸角可高達 150° 或甚至接近 180° ，在這種物質表面

上，水滴與表面的接觸面積非常小，無法使物體表面濕潤，此現象稱之為超疏水，也就是著名的蓮花效應(lotus effect)。

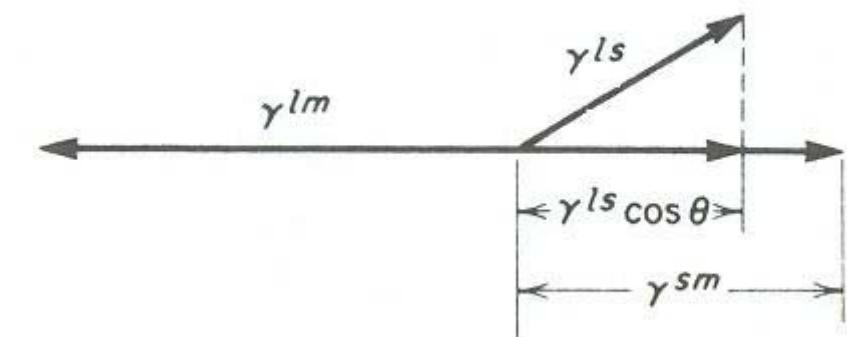
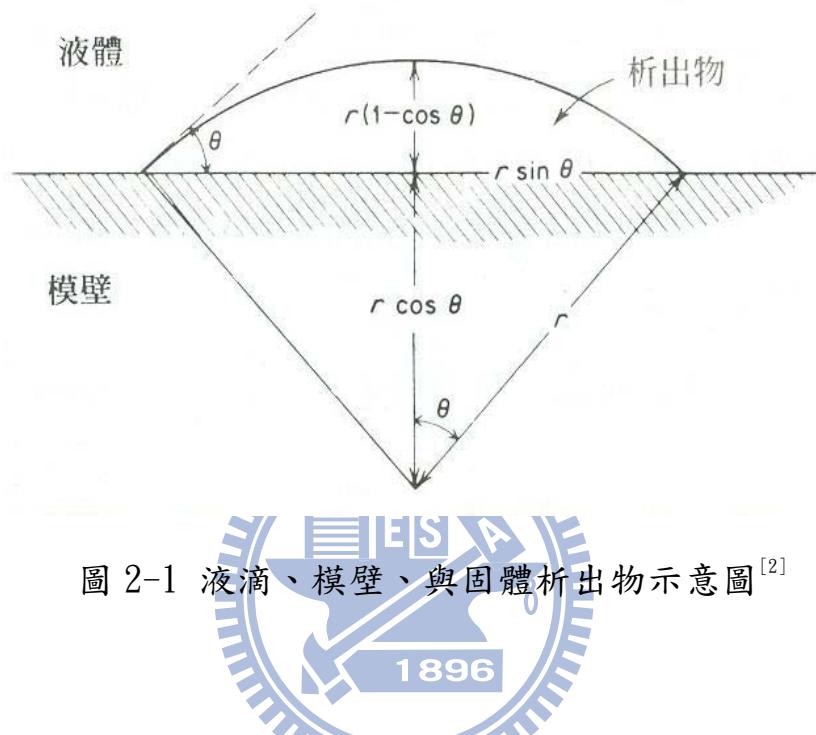


圖 2-2 液滴、模壁、與固體析出物間表面張力關係圖^[2]

2.2 拉曼光譜學

2.2.1 拉曼散射簡介

西元1923年 Smekal 用理論計算推測出光會有非彈性散射的現象發生^[3]，直到1928年印度物理學家 C. V. Raman 及 K. S. Krishnan 發現當一光束入射到特定分子時，被分子散射出來的少部分光波長和入射光束不同^[4]，此入射光與散射光的頻率差被稱為拉曼位移(Raman shift)，通常是以波數(wavenumber, cm^{-1})為表示單位，在散射光譜中數個到數千個波數改變的散射光便被稱為拉曼散射。由此亦可得知拉曼散射是有能量變化之非彈性碰撞。而不同的分子結構擁有其特徵的拉曼位移^[5]，加上拉曼散射所造成的光譜譜帶都很狹窄，所以藉由拉曼散射譜線可以準確的鑑定未知分子的結構來作定性分析。例如對混合物來說，拉曼譜線的強度應該是成分內各種單一物質之特徵拉曼譜線強度的疊加，因此可利用特徵拉曼位移來作定性分析，以得知混合物中所含有的物質種類；另外，也能從散射光的強度來決定散射分子的多寡，可作定量的分析。但由於影響拉曼強度的因素很多，在實驗中要準確測量出拉曼強度有一定的難度，因此拉曼光譜的定量分析通常只有相對意義。

2.2.2 拉曼散射原理^[6,7]

一光束入射到分子，經碰撞後會產生散射，如圖 2-3。大部分的光子與分子間沒有能量的交換，為彈性碰撞，散射後光子頻率不變的部分稱之為瑞利散射(Rayleigh scattering)。但有些許光子會將一部份的能量給予物體分子使其處於振動/轉動或純轉動的激發態；或反之光子由分子處得到能量，使得散射光的頻率產生改變，這種非彈性碰撞即為拉曼散射(Raman scattering)，散射光的光譜稱為拉曼光譜(Raman spectrum)。

圖2-4為瑞利與拉曼散射能階簡圖，設入射光能量為 $E=h\nu_0$ ， ν_0 為入射光之頻率。碰撞過程中，若光子釋放出能量 ΔE 給分子，散射光子能量變為 $E-\Delta E=h(\nu_0-\nu_{\text{vib}})$ ，此被稱為斯托克(stroke)譜線；若光子從分子吸收了能量 ΔE ，散射光子能量變化為 $E+\Delta E=h(\nu_0+\nu_{\text{vib}})$ ，此被稱為反斯托克(anti-stroke)譜線。雖然兩者是一吸一放的相對現象，但是anti-stroke譜線的強度卻比stroke譜線的強度弱很多。根據波茲曼分布(Boltzmann distribution)，室溫時大多數分子處於基態 $n=0$ ，在激發態 $n=1$ 的分子數目很少，使得基態分子吸收能量躍遷到激發態的機率遠大於在激發態的分子放出能量回到基態的機率，因此anti-stroke譜線之強度遠弱於stroke譜線，所以我們通常只採用光譜的stroke譜線部分來分析分子的結構^[8]。

在拉曼散射發生的過程中，分子受光子碰撞會產生振動及轉動的情形，其能階如圖2-5所示。一般拉曼散射並不會使電子到達激發態，而是到達一個介於基態和激發態中間的虛擬態，然後再回到基態的其它振動及轉動能階而有能量的改變。電子最終能階的位置取決於拉曼散射的選擇定則(selection rule)，振動能階的改變 $\Delta v = \pm 1$ ，分別為stoke和anti-stoke兩種情況；轉動能階的改變 $\Delta J = 0, \pm 2$ ，根據波茲曼分佈在一般情況下電子的轉動能階大多位於 $J = 4$ ，在拉曼散射的過程中依照選擇定則，其電子的轉動能階可能有 $J = 4 \rightarrow J = 6$ 、 $J = 5 \rightarrow J = 3$ 或是 $J = 4 \rightarrow J = 4$ 沒有能階改變等情形。



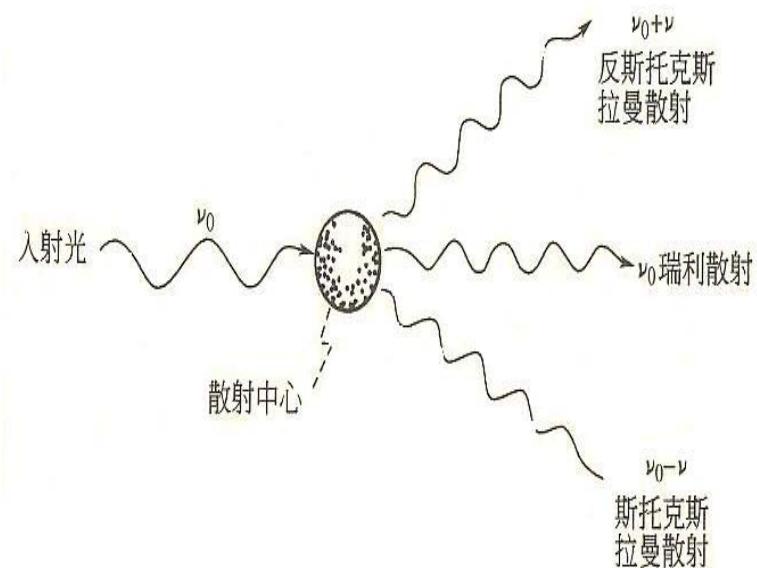


圖 2-3 三種光散射分類:瑞利散射、斯托克散射、反斯托克散射^[9]

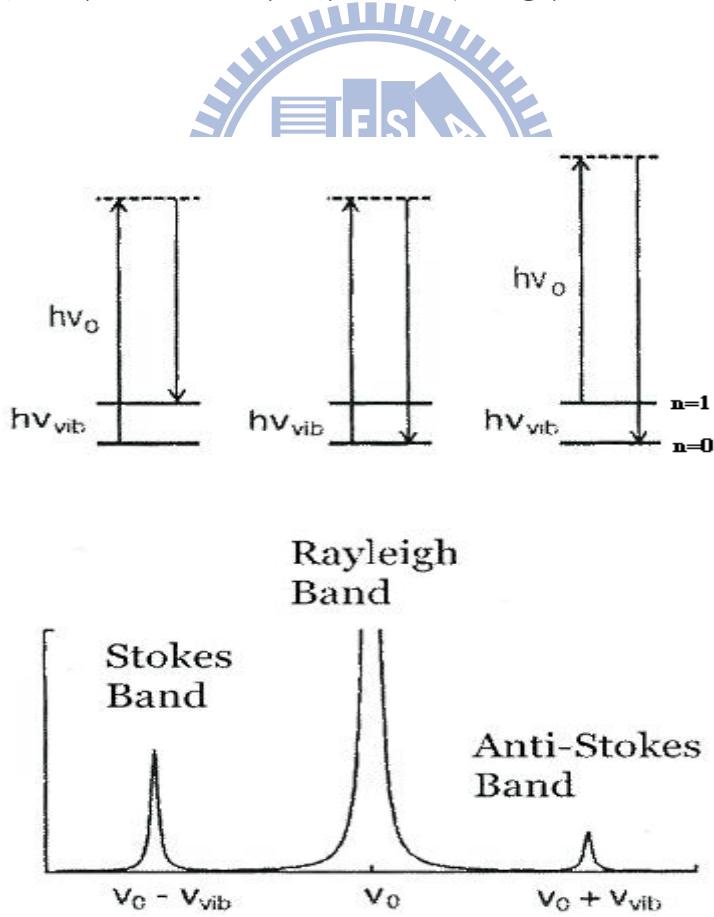


圖 2-4 瑞利散射與拉曼散射能階簡圖^[10]

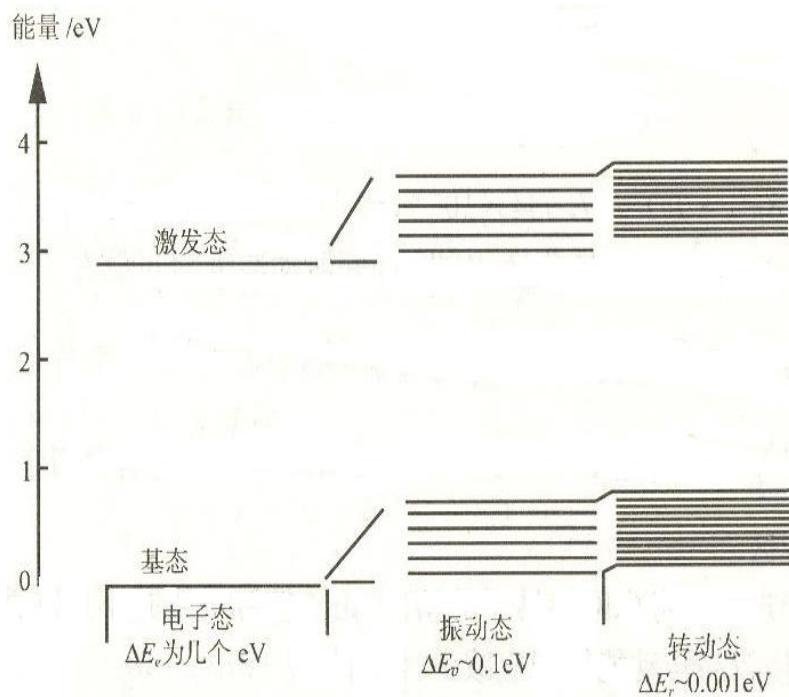


圖 2-5 拉曼散射之電子態、振動態及轉動態能階簡圖^[11]

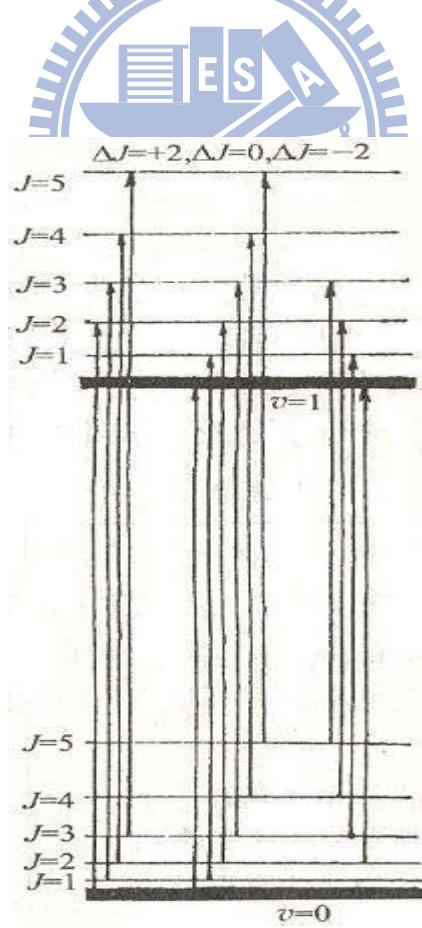


圖 2-6 雙原子分子振-轉動之能階簡圖^[11]

2.2.3 拉曼散射的電磁理論^[9, 10]

當物質分子與入射光之光子相互作用時，光子的電場直接施力於分子的電子與原子核，使得電子相對原子核產生移動，這種極化了的分子具有誘導偶極矩 P ， P 正比於電場強度 E 和極化率 α ，即

$$P = \alpha E \quad (2-2)$$

電場強度是取決於入射光頻率 ν_0 的振動函數：

$$E = E_0 \cos 2\pi \nu_0 t \quad (2-3)$$

E_0 為入射光波之振幅，將(2-3)代入(2-2)可得

$$P = \alpha E_0 \cos 2\pi \nu_0 t \quad (2-4)$$

極化率 α 取決於原子核的位置，為原子核座標的函數

$$\alpha = \alpha_0 + (r - r_{eq}) (\partial \alpha / \partial r) \quad (2-5)$$

就雙原子分子， α_0 為平衡核間距 r_{eq} 時的極化率， r 為任何時刻的核間距。核間距的改變隨著振動頻率 ν_{vib} 改變，可表示為

$$r - r_{eq} = r_m \cos 2\pi \nu_{vib} t \quad (2-6)$$

r_m 為相對平衡位置的最大核間距，將(2-6)代入(2-5)，得到

$$\alpha = \alpha_0 + (\partial \alpha / \partial r) r_m \cos 2\pi \nu_{vib} t \quad (2-7)$$

再將(2-7)代入(2-4)，可得誘發偶極矩的表示式

$$P = [\alpha_0 + (\partial \alpha / \partial r) r_m \cos 2\pi \nu_{vib} t] E_0 \cos 2\pi \nu_0 t \quad (2-8)$$

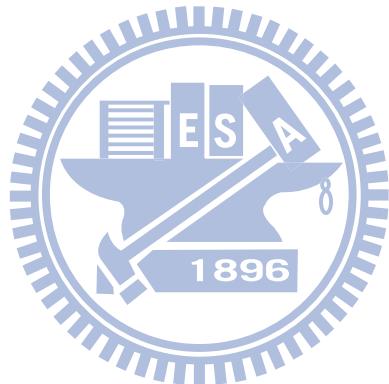
根據三角函數公式 $\cos \theta \cos \phi = 1/2[\cos(\theta + \phi) + \cos(\theta - \phi)]$ ，

(2-8)式可表示為

$$\begin{aligned} P = \alpha E_0 \cos 2\pi \nu_0 t + & 1/2 \{ (\partial \alpha / \partial r) E_0 \cos [2\pi (\nu_0 - \nu_{vib}) t] \\ & + 1/2 \{ (\partial \alpha / \partial r) E_0 r_m \cos [2\pi (\nu_0 + \nu_{vib}) t] \} \end{aligned} \quad (2-9)$$

由(2-9)式可知誘導偶極矩 P 是一個與三個散射種類有關的物理量，

其中第一項對應的是頻率 ν_0 之瑞利散射，第二項是頻率 $(\nu_0 - \nu_{vib})$ 之斯托克散射，第三項則是頻率 $(\nu_0 + \nu_{vib})$ 之反斯托克散射。



2.2.4 共振拉曼散射(Resonance Raman Scattering)

Placzek 在 1934 年發表的有關拉曼散射的量子理論中表示，拉曼譜線的強度層級取決於入射光頻率 ν_0 ，當 ν_0 的大小與電子吸收頻率 ν_a 相同時，如圖 2-6，即符合共振拉曼散射的發生條件，譜線強度將會明顯增強。

共振拉曼散射適用於研究物質的激發狀態，其特點是在量測帶有色團之染色分子的振動譜線時，非帶有色團的其他部分的拉曼譜線不容易被顯現出來，少了這些不需要的雜訊，帶有色團的染色分子譜線相對的就變得顯著，對於染色分子的判定更加有利。因此我們便可以利用共振拉曼散射來偵測這一類的低濃度標的物，濃度可以低至 10^{-4} M 甚至更低^[12]。

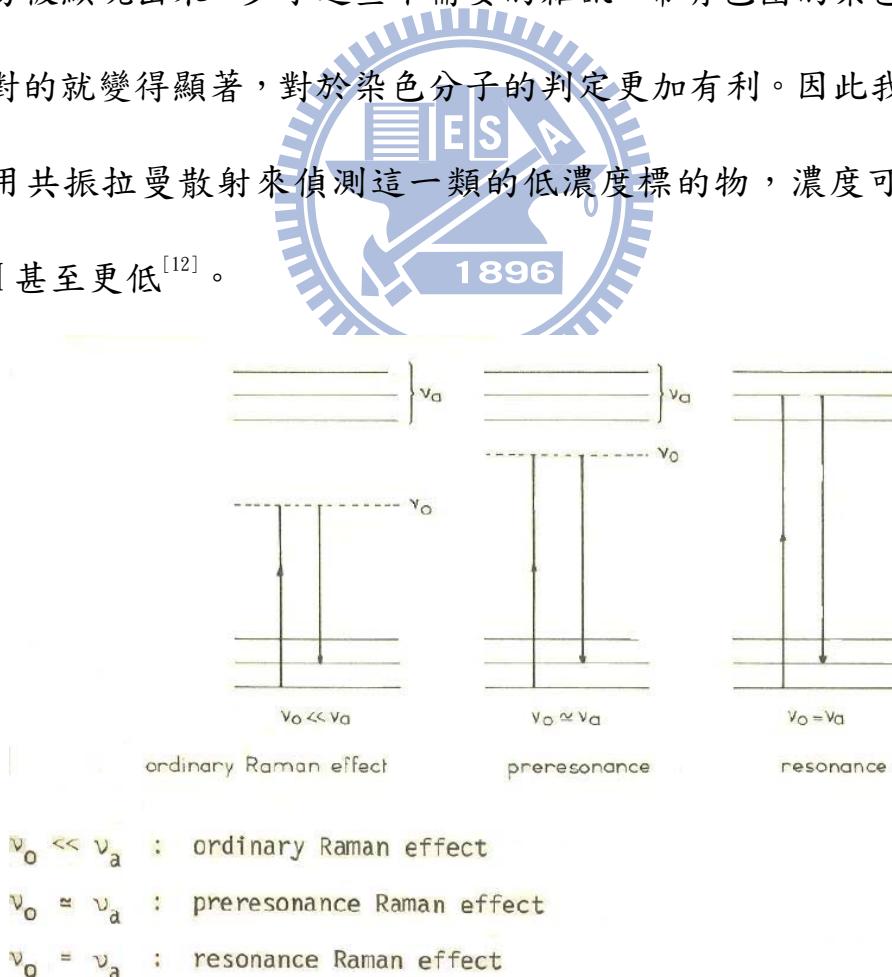


圖 2-7 共振拉曼散射發生頻率示意圖^[13]

2.3 表面增強拉曼散射 (Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS)

2.3.1 表面增強拉曼散射簡介

Raman和Krishnan經由實驗觀察發現，非彈性散射光強度比彈性散射光的強度減弱非常多，通常拉曼散射光強度只有入射光的 10^{-6} ，因為拉曼散射截面積(scattering cross section)比螢光小 $10^{12}\sim 10^{14}$ 倍^[14]，於是拉曼散射訊號的強度太弱造成量測上一個很嚴重的缺點。

直到1974年Fleischmann等科學家觀察到吸附在粗糙銀電極表面的單分子層吡啶(pyridine)之拉曼訊號意外地具有非常高的強度；數年後Van Duyne等科學家也通過實驗以及計算發現，吸附在銀電極表面的吡啶分子的拉曼散射訊號強度是該分子在溶液中的 10^6 倍^[15]。這個現象大幅改善了拉曼散射訊號強度低弱的缺點，提高了拉曼在量測應用上的靈敏度^[16, 17]，稱之為表面增強拉曼散射效應 (SERS-effect)。

1977年，兩個研究團隊分別提出了解釋表面增強拉曼散射發生的機制，其一是Van Duyne等人所提出的電磁效應(electromagnetic enhancement)^[18]，又稱為表面電漿共振效應(surface plasmon resonance)。以一個金屬球狀分子為例，當入射光子與金屬球碰撞，其能量會使金屬的表面電子產生偶極震盪(dipole oscillation)形成局部的表面電漿，而此時產生的電場對於吸附的分子具有表面增強

拉曼散射的效果，增強效果約為 $10^4\sim 10^7$ 倍。另一個機制是Albrecht和Creighton提出的化學效應(chemical enhancement)^[19]，此機制為吸附分子與金屬表面之間產生新的電荷轉移能階，類似共振拉曼散射(resonant Raman scattering)的機制，而有表面增強拉曼散射效果，增強效果約為 $10\sim 10^2$ 倍。由兩機制的增強效果比較可得知，電磁效應是表面增強拉曼散射的主要機制，也是最多科學家研究探討的方向。

在這兩個增強機制的解釋下，能產生表面增強拉曼散射效應的金屬介面須具介觀或微觀的粗糙度^[20]，或規律的島膜、球膜、棒狀膜結構^[21-23]、以及不規則的幾何形狀^[24]、金屬膠體溶液^[25]等條件，這些金屬包括Au, Ag, Cu, Na, K, Fe, Ni^{8等6}。而能產生表面增強拉曼散射效應的分子種類，通常是含有氮、硫、或是共軛芳香環的有機物。

發現表面增強拉曼散射效應的初期，增強強度可以達到 $10^3\sim 10^6$ ，十餘年後科學家在對生物染色分子的表面增強拉曼共振散射光譜上已可得到約 $10^{10}\sim 10^{11}$ 的訊號強度^[26, 27]。1996年Kneipp等人使用新的實驗方法更發現了表面增強拉曼散射之cross section可以達到 10^{-16} $\text{cm}^2/\text{molecule}$ ，相當於訊號強度增強了 10^{14} 數量級^[16]，使拉曼散射和螢光光譜一樣能夠應用於單分子的量測^[28, 29]。

2.3.2 表面增強拉曼散射機制^[41]

表面增強拉曼散射效應發現之後，其訊號的增強機制眾說紛紛，最後由許多研究中歸納出最為人接受的兩種機制，分別為藉由奈米級粗糙金屬表面的電漿共振所導致的電磁效應以及吸附分子與金屬表面化學鍵結之電荷轉移所貢獻的化學效應。藉由這兩個機制拉曼散射的增強一般可達到 6-10 個數量級^[30-37]，而某些單一附著分子的拉曼強度更可增強至 14 個數量級左右^[38-40]。

2.3.2.1 電磁效應(electromagnetic effect)

電磁效應指出表面增強拉曼信號主要來自金屬奈米粒子表面電磁場的增強，而電磁場增強是金屬奈米粒子中的自由電子在一定頻率的可見光或近紅外光激發下所引起之表面電漿共振(Surface Plasmon Resonance, SPR)效應，導致粒子表面的入射光電場以及拉曼散射場都得到很大的增強。

這裡用最簡單的球形粒子與光的相互作用來說明表面電漿共振的條件，如圖2-5。假設一個複數介電常數為 $\varepsilon_m = \varepsilon_R + i\varepsilon_i$ 、直徑為 $2r$ (假設球形粒子尺寸遠小於入射光波長) 的金屬奈米球在一個介電常數為 ε_0 的均勻介質中，欲檢測的分子處於離球心 d ($d > r$) 的地方。此時發生表面增強拉曼散射的機率可表示為：

$$P^{SERS}(\nu_s) = N \sigma^R |A(\nu_L)|^2 |A(\nu_s)|^2 I(\nu_L) \quad (2-10)$$

上式中 $A(\nu_L)$ 及 $A(\nu_S)$ 分別表示入射光與拉曼散射場的增強因子， σ^R 為吸附分子之cross section。表面增強拉曼散射的電磁增強因子 $A(\nu)$ 通過求解 Maxwell 方程可表示成：

$$A(\nu) = \frac{E_M(\nu)}{E_0(\nu)} \sim \frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \left(\frac{r}{r + d} \right)^3 \quad (2-11)$$

上式中 E_M 為分子之電場、 E_0 為入射場。我們可以知道，當 $\varepsilon + 2\varepsilon_0$ 趨近於 0 時，增強因子便可得到很大的數值，這是表面電漿共振產生的前提條件。假設奈米粒子周圍之介質為水，水的介電常數為 1.77，因此對球形金屬奈米粒子產生最佳增強效果的條件是在入射光或散射光頻率處金屬粒子的介電常數的實數部份 ε_R 大約在 -3.54 附近且虛數部分 ε_i 盡可能接近 0。但是表面增強拉曼散射實驗基材上的奈米金屬粒子形狀通常都不是標準的圓球形，實際基材的介電常數實數部分必須比適合球形粒子共振條件的 -3.54 更小^[42]。而由古典電磁理論得知金屬介電常數之虛數部分越大，其散射出的電磁波強度衰減程度越大。在可見光區銀的介電常數虛數部分是最小的，所以用銀來當作表面增強拉曼散射之基材可以得到最佳的增強效果^[43]。

除了金屬的介電常數之外，拉曼散射信號的增強程度也會受到奈米金屬表面型態的影響^[44]。圖 2-6 為文獻中提出解釋表面型態影響表面增強拉曼散射之模型，由圖 2-7 可得知在相同的入射光能量下，當 $d=2R$ ，即相鄰的兩個銀半圓柱間完全沒有間距時，與其它 $d > 2R$ 的情

況比較，整個表面的拉曼散射可得到最佳的增強效應。圖2-8亦顯示銀半圓柱之間的縫隙處其拉曼散射增強最佳的情形仍是當 $d=2R$ 時。此外銀半圓柱之半徑也會影響增強的效應，如圖2-9，銀半圓柱直徑之範圍由15nm到600nm，一樣在相同的入射光能量條件下，可以得到半徑越小增強效應就越大的結果。

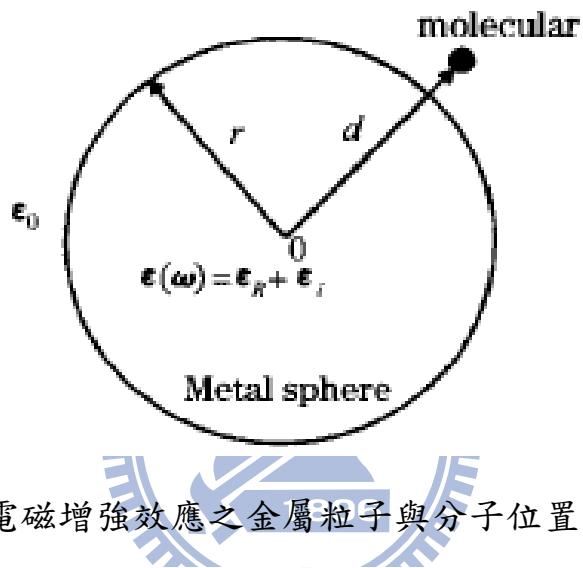


圖 2-8 電磁增強效應之金屬粒子與分子位置關係圖^[42]

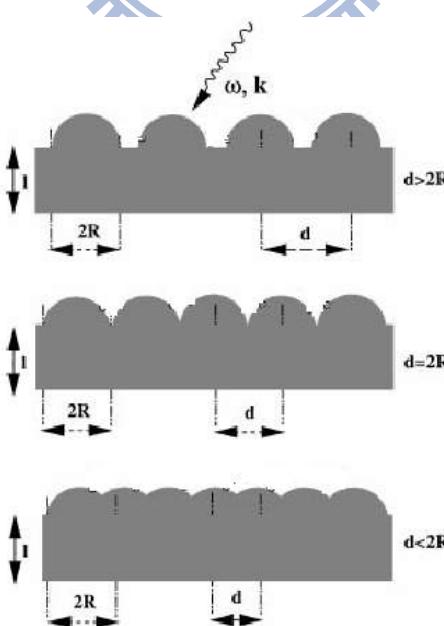


圖 2-9 一連串之銀半圓柱置於銀平板上，其厚度為 l ，半圓柱之半徑為 R ，相隔兩半圓柱中心之距離為 d ， $l=2R=30\text{nm}$ ^[44]

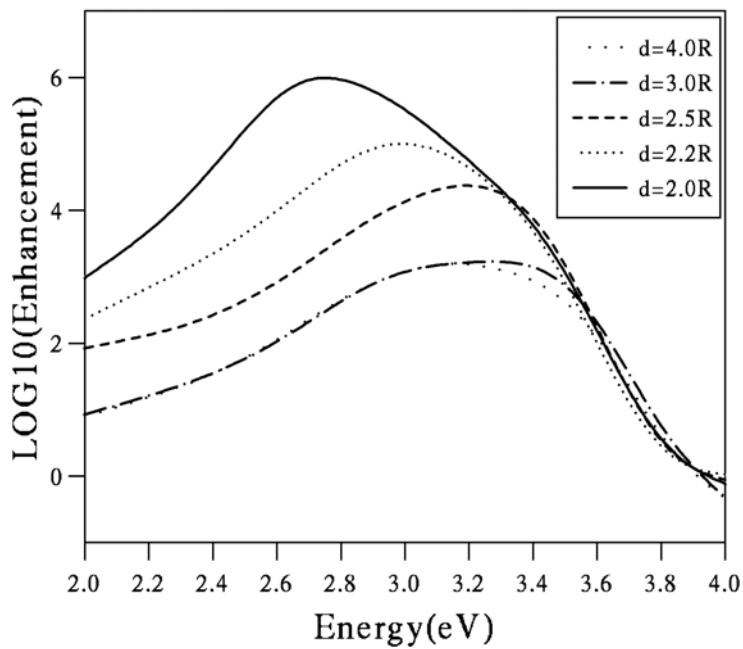


圖 2-10 銀半圓柱表面增強效應之平均值， d 值範圍由 $2R$ 到 $4R$ ^[44]

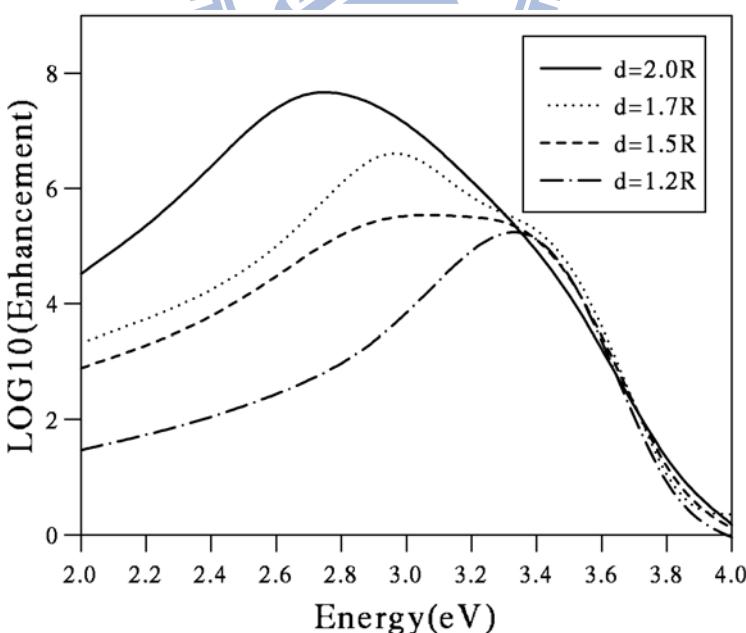


圖 2-11 銀半圓柱表面位於縫隙處增強效應之平均值， d 值範圍由 $2R$ 到 $1.2R$ ^[44]

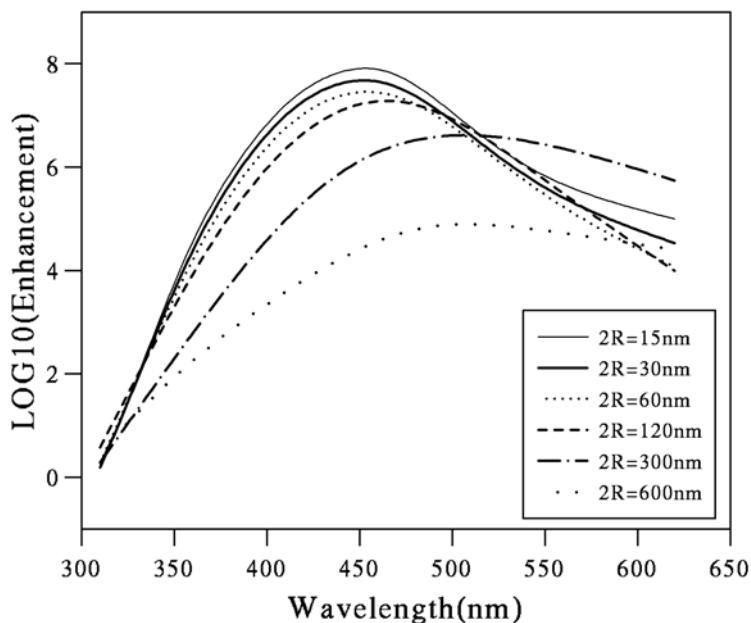


圖2-12 銀半圓柱表面增強效應之平均值， $2R$ 範圍由15nm到600nm^[44]

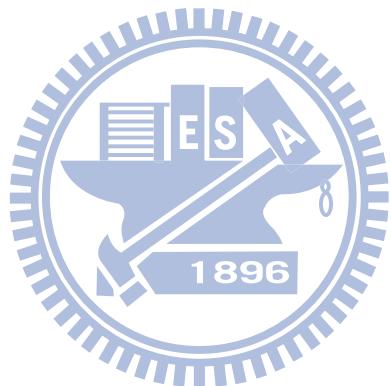
2.3.2.2 化學效應(chemical effect)

化學效應由於需要分子與金屬的直接接觸，故又稱為第一層效應

(first-layer effect)。其可能的機制是吸附分子與金屬間的電子耦合後，形成一吸附分子與金屬表面的複合物，使複合物中吸附分子的拉曼散射截面積比一般拉曼散射實驗中自由分子的截面為大，導致信號強度的增強。

另一種第一層效應的說法為動力的電荷轉移，入射光在金屬中激發出電子-電洞對，電子穿過金屬與分子的位能障壁到達激發態，再降低能量回到金屬並與電洞重合，在這過程中增加的頻率以光輻射出來，造成拉曼散射的增強。但整個系統為無數個粒子組成，微粒間的

交互作用很多，多極子產生的電場必定存在，對於表面增強拉曼散射強化因子的增強會造成許多困難^[45]。



2.3.3 表面增強拉曼散射的應用^[41]

2.3.3.1 單分子偵測工具

發現表面增強散射效應以前，人們通常都使用螢光來進行單分子的量測。因為發射出光子的最大數量反比於電子在激發態的存在時間，而拉曼振動的舒緩時間較短於螢光電子的舒緩時間，每時間間隔內拉曼散射可以放出較螢光多的光子數量達 10^2 - 10^3 ，因此使得表面增強拉曼散射偵測單分子的能力優於螢光。而且在水相系統中待測物螢光光譜的顯示通常是一個寬帶，如圖 2-10，並無法提供我們很多分子結構的訊息；相對的拉曼光譜則會依據一分子的原子組成種類、鍵結強度和排列結構來顯示其振動能階。

表面增強拉曼散射之增強因子可達到 10^{14} 數量級，其對應的散射截面積相當於 $10^{-16} \text{ cm}^2/\text{molecule}$ ，使得表面增強拉曼效應可以偵測到單一分子。圖 2-11 為使用近紅外光源對單分子進行偵測之示意圖，分子吸附的基材使用的是金或銀的膠體群聚結構，此結構可以在乾燥表面或是在水中來進行量測^[46-47]。

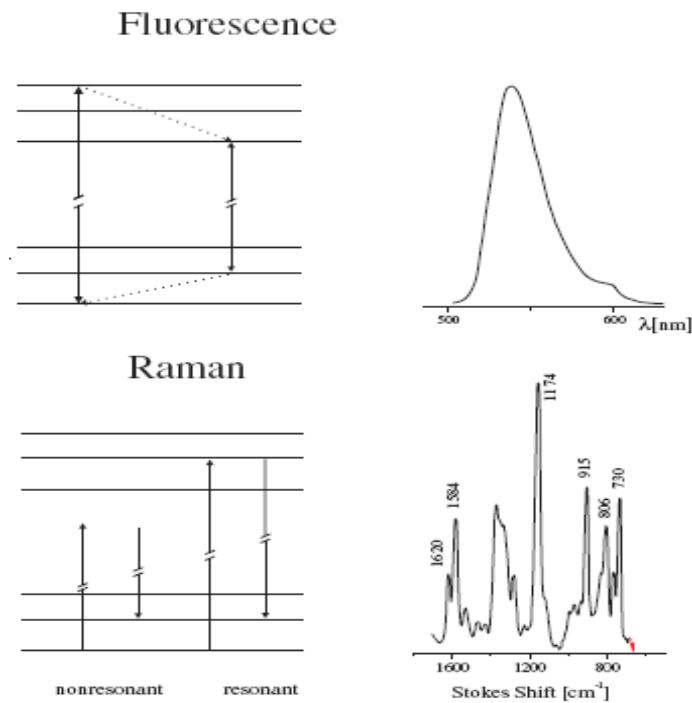


圖 2-13 螢光和拉曼散射之能階及光譜示意圖^[41]

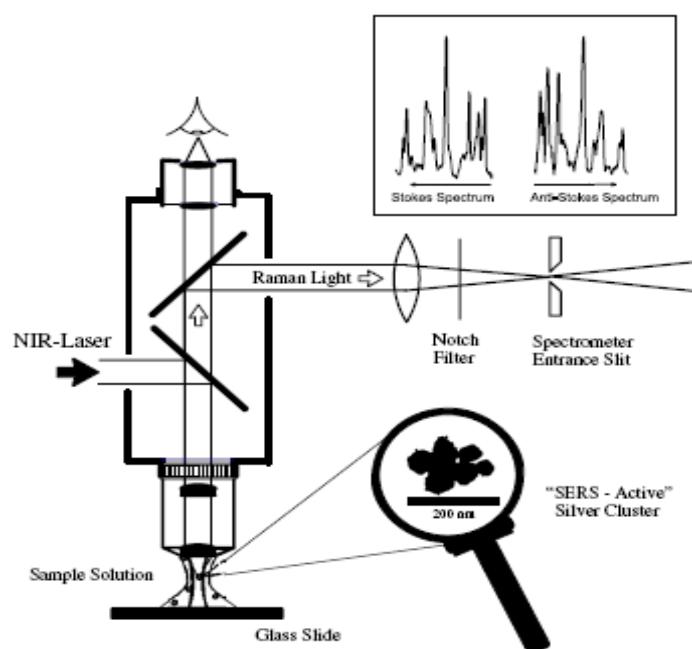


圖 2-14 表面增強拉曼散射偵測單一分子簡圖^[41]

2.3.3.2 生物與生醫物質的偵測與辨識

表面增強拉曼散射的發展至 90 年代已趨於成熟，許多被應用於生物及生醫等領域的研究成果被發表出來^[48-51]，研究的對象範圍包括微生物、紅血球、DNA、葉綠素、蛋白質、嘧啶等。圖 2-12 為一偵測神經傳導物質的例子，一般拉曼散射對人體神經傳導物質的濃度偵測極限大約是 $10^{-1}M$ ，利用表面增強拉曼散射可以將偵測極限再降低數個數量級，圖中多巴胺(dopamine)和正腎上腺素(norepinephrine)的濃度介於 5×10^{-6} 到 $5 \times 10^{-9} M$ 之間，兩者化學結構式只差了一個 C 原子，而透過表面增強拉曼散射的量測便可由光譜中清楚的分辨出來。

另一個應用的例子是利用表面增強拉曼散射來判讀某一片段 DNA 如圖 2-13，因為 DNA 結構是雙股螺旋構造，只要找來與欲測 DNA 互補的另一片段並在上面加特定的標定物後使兩個 DNA 片段混交(hybridization)，如果兩片段有混交現象，在拉曼光譜上則會出現標定物的增強訊號，如此便可以得知待測的 DNA 片段的確是預測中的序列。

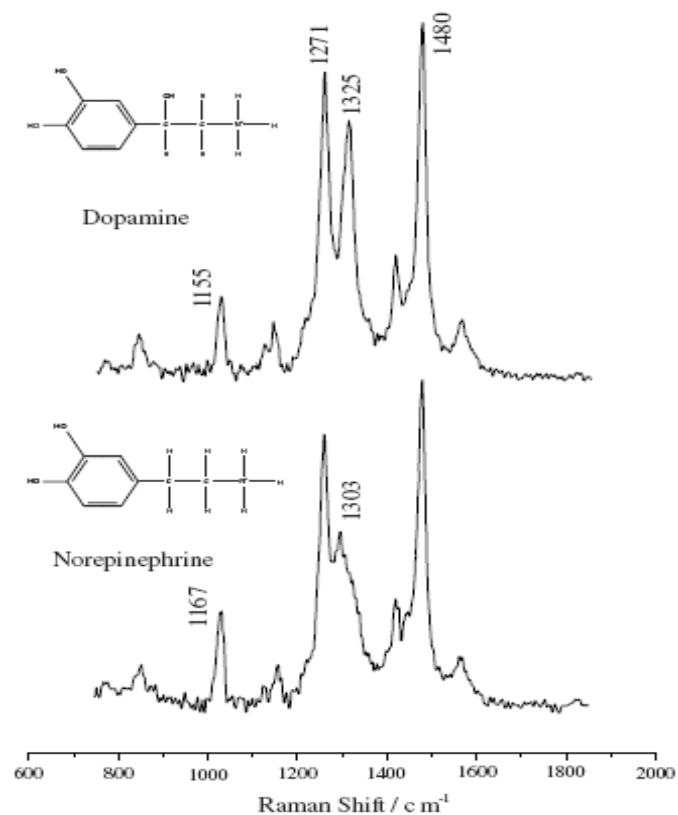


圖 2-15 兩種神經傳導物質在銀膠體溶液中
之表面增強拉曼散射光譜^[52]

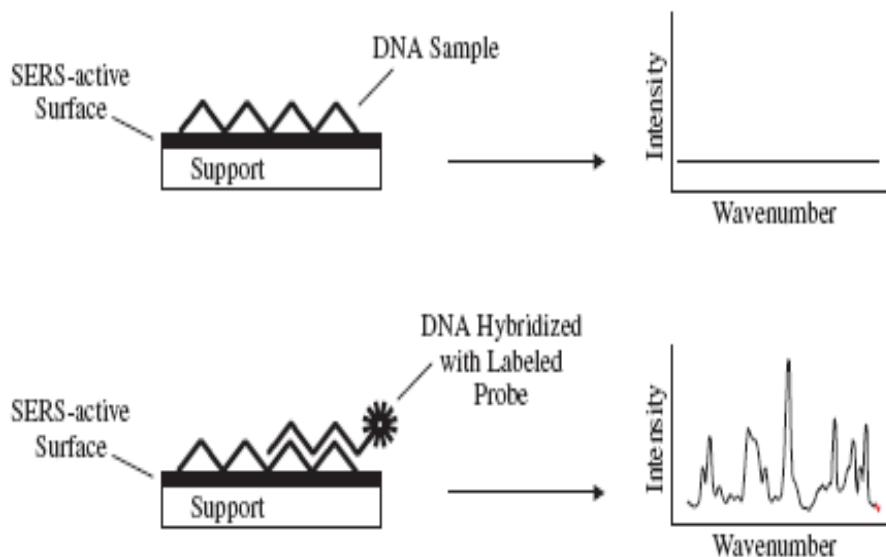


圖 2-16 表面增強拉曼散射配合混交法判讀 DNA 簡圖^[51]

2.3.3.3 免疫分析

免疫分析的原理也是利用標定的方法來檢測出我們想知道是否存在的抗原，但一般而言，免疫分析的過程中需要更多數量的標定物來偵測許多複雜的抗原。圖 2-15 為一免疫分析實驗的示意圖，首先固定許多不同種類的抗體在金基材表面上，然後取金的奈米顆粒，在不同的顆粒上置放不同的特定抗體以及不同標定物(reporters)，特定的抗體可以抓取欲檢測之特定抗原。藉由各種不同標定物的光譜，我們便可得知有哪些抗原的存在。較其他方法一次只能得到一種抗原資訊的情況下，檢測種類的多樣性是表面增強拉曼散射作為免疫分析工具的一大優勢。

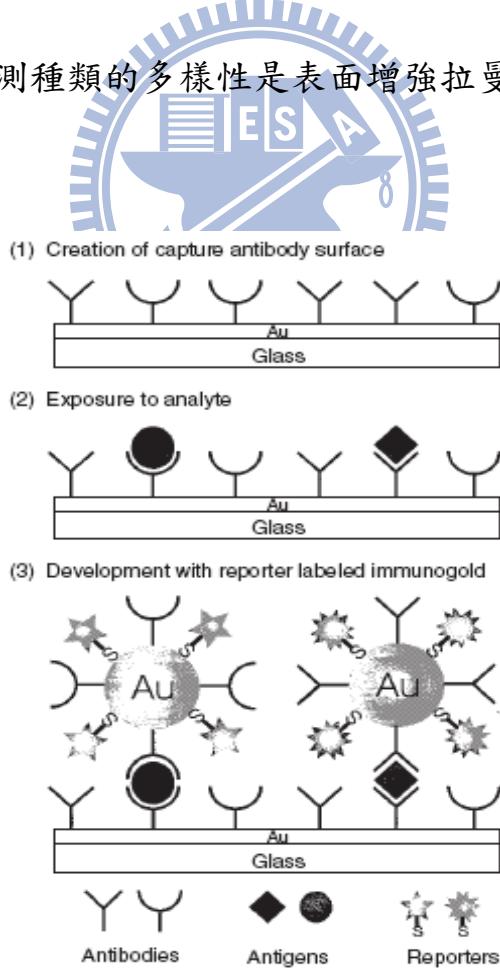


圖 2-17 免疫分析標定抗原之示意圖^[41]

第三章 實驗步驟

3.1 實驗方法與流程

3.1.1 製備偵測 Rhodamine 6G 分子之試片

利用熱蒸鍍的方法將銀鍍於 SiC、TiN、陽極氧化鋁(AAO)以及玻璃等數種基板上。依基板與銀之間不同的接觸角以及控制銀的鍍膜厚度，得到不同的表面形貌，以場發射掃瞄式電子顯微鏡(FE-SEM)及原子力顯微鏡(AFM)來進行觀察，並以影像分析軟體 Image Pro Plus 量測試片表面上銀顆粒之 d 與 $2R$ 的大小如圖 3-1。定義 d 為顆粒與顆粒之間距， $2R$ 為顆粒之直徑。於圖中取數個線段，線段長度除以通過之顆粒數即為 d 之平均值，再量測線段上顆粒直徑之平均值則得到該條件下 $d/2R$ 的比值。

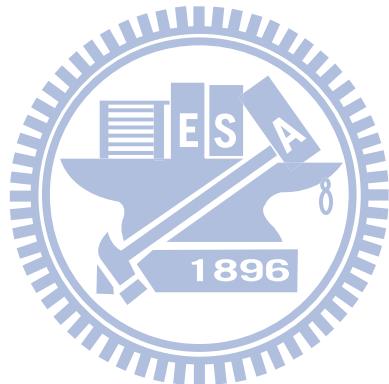


3.1.2 製備生物染色分子 Rhodamine 6G 溶液

單一染色分子 Rhodamine 6G 的化學結構式如圖 3-2，其分子式為 $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ ，分子量為 478.5，常溫時為墨綠色粉末狀。Rhodamine 6G 在水中的溶解度不高^[55]，所以必須用乙醇作為溶劑，溶液呈現暗紅色。配製溶液時約取 0.12g 的 Rhodamine 6G 粉末加入 25ml 的純乙醇中，得到濃度 $1 \times 10^{-2} M$ 的 Rhodamine 6G 溶液，再以去離子水稀釋溶液達到所需要的濃度。

3.1.3 拉曼光譜儀分析

利用拉曼光譜儀來分析不同的表面形貌及分子濃度等條件對於表面增強拉曼散射效應的影響。使用的入射光源為 Ar 雷射，波長為 514.5 nm。圖 3-3 為 Rhodamine 6G 之拉曼譜線中各個特徵峰值所代表的意義，可作為判別待測物是否為 Rhodamine 6G 之依據。



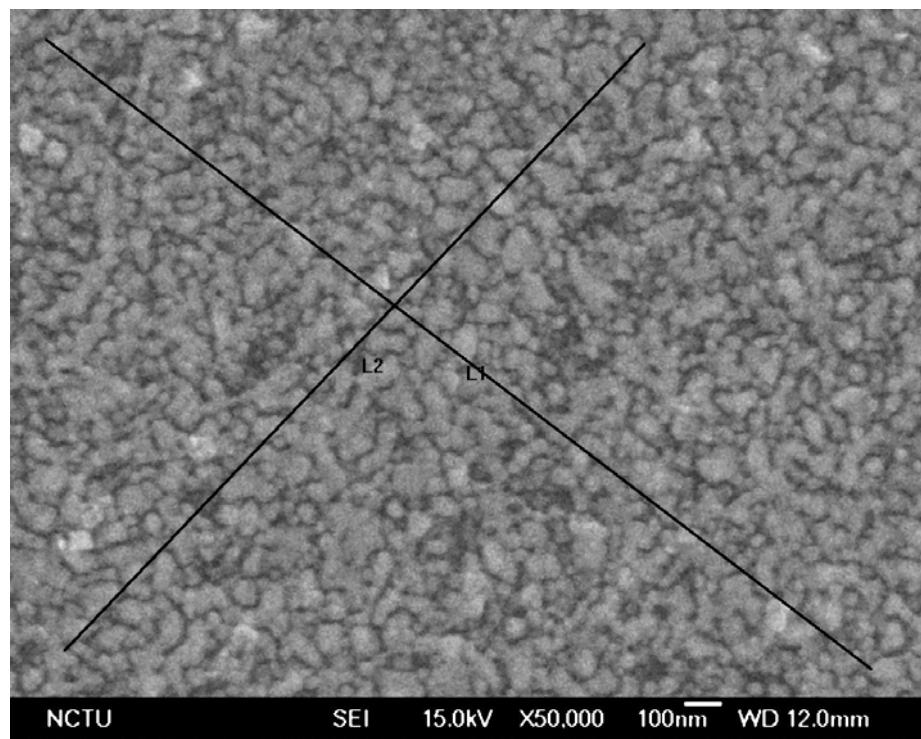


圖 3-1 以影像分析軟體量測試片表面上銀顆粒 d 與 $2R$ 之值

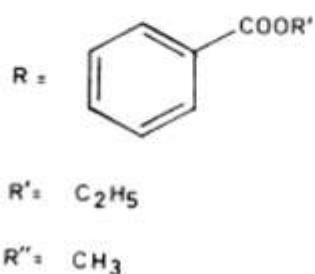
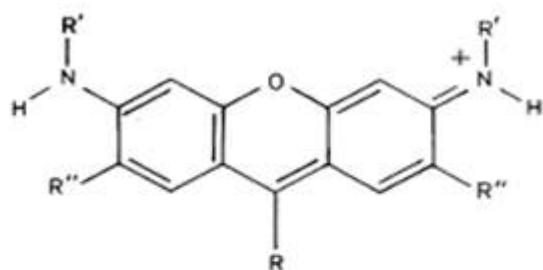


圖 3-2 染色分子 Rhodamine 6G 之化學結構式^[56]

RR (aq soln)	frequency, cm^{-1}		assignment ^b
	R6G/Ag	SERR R6G/Cl ⁻ /Ag	
146	146		
166	164	166	
	235	232	
246	244	240 (?)	Ag-N str
272	268	265	
	313	313	
	361	356	
371	370		
388	380	382	
405	405	405	
459	457	459	
522	522	522	
569	569	569	
614	614	614	C-C-C ring
630	638	638	ip bend
662	662	662	
	704	704	
776	774	773	C-H op bend
937	931	932	
1096	1088	1087	
1131	1129	1127	C-H ip bend
1187	1183	1181	(+C-C str ?)
1204	1200	1200	
1271	1268	1276	C-O-C str
		1294	
1312	1310	1310	
1365	1363	1363	arom C-C str
		1382	C-N str (?)
1419	1419	1419	
	1433	1434	
1446	1445	1446	
	1472	1471	
1509	1509	1509	arom C-C str
		1532	
		1550	
1575	1572	1575	arom C-C str
1600	1597	1598	
1652	1650	1650	arom C-C str

tor: torsional

bend: bending

str: stretching

ip: in-plane

op: out-of-plane

圖 3-3 Rhodamine 6G 之拉曼譜線中各個特徵峰值所代表的意義^[61]

substrate

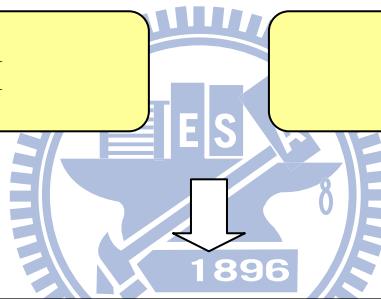


Ag coating by thermal evaporation



AFM

SEM



Adsorption of molecules : Rh6G



Raman Spectrometer

圖 3-4 實驗流程圖

3.2 實驗儀器

3.2.1 热蒸鍍機 (Thermal evaporation system)

以銀為靶材使用熱蒸鍍機將銀蒸鍍於基板上，維持蒸發源的溫度、惰性氣體氛圍的壓力、蒸發源到目標基板的距離等參數不變，控制不同的鍍銀厚度，產生不同表面形貌的試片。

3.2.2 場發射掃瞄式電子顯微鏡 (Field emission scanning electron microscopy, FE-SEM)

場發射掃描式電子顯微鏡利用場發射式的電子槍發射出電子束，施加 5~30 KV 的加速電壓並藉由多組電磁透鏡使其聚焦為一微小的電子束照射試片表面，再利用掃描線圈控制電子束偏折掃瞄試片表面以產生平面影像。電子發射源的操作環境必須維持在至少 10^{-6} Torr 以上的高真真空度避免損傷以延長其使用壽命。此外，掃瞄式電子顯微鏡可搭配具有其他功能性的儀器來得到更多關於該試片的資訊，如電子背向散射繞射裝置 (Electron back scattering diffraction, EBSD) 可對試片材料晶體結構作分析；能量散佈光譜儀 (Energy dispersive spectrometer, EDS) 可對試片材料作元素成分分析。

3.2.3 原子力顯微鏡 (Atomic force microscopy)

原子力顯微鏡是掃描探針顯微技術 (Scanning probe microscopy, SPM) 的代表儀器，可應用於多種材料表面檢測，並能在真空、氣體或液體環境中操作。AFM 之探針一般由成份為 Si 或 Si_3N_4 的懸臂樑及針尖所組成，針尖尖端直徑介於 20 至 100nm 之間。其原理為藉由懸臂上的探針掃描試片表面，當探針與試片表面接近，針尖原子會與試片表面原子產生凡得瓦力 (Van der Waals force) 作用而造成懸臂的彎曲偏折，使得光偏移量偵測器因懸臂的彎曲偏折得到不同的偏折量，再經由電腦的換算將試片的表面形態由影像呈現出來。

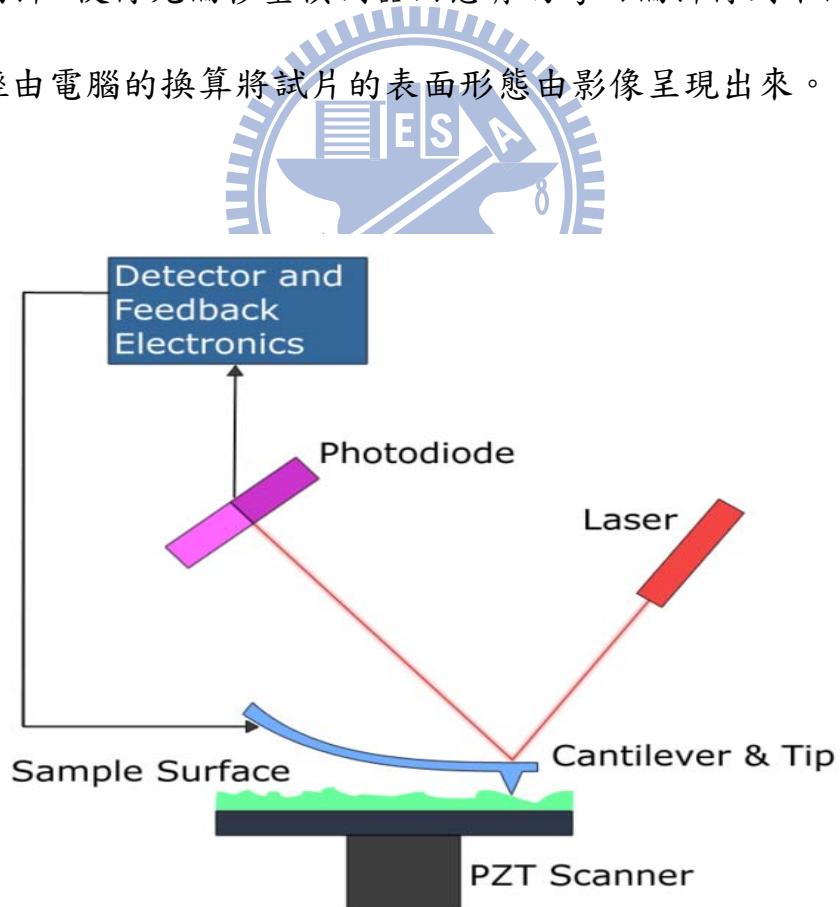


圖 3-5 原子力顯微鏡示意圖

3.2.4 拉曼散射光譜儀 (Raman scattering spectrometer)

實驗使用的拉曼散射光譜儀為 Jobin Yvon LABRAM HR Micro-Raman system，載台使用標準大小之載玻片(25mm x 75mm)，並具有三維之微調基座協助試片定位。搭配 CCD 偵測器和 Ar 雷射光源(514.5nm)，以 Si(520 cm^{-1})作為拉曼位移校正峰，拉曼散射的積分次數為 10 次，積分時間為 1 秒鐘，雷射光源通過之孔洞大小為 $200\text{ }\mu\text{m}$ ，光闌設定之孔洞數為 1200，得到待測分子的拉曼散射譜線。拉曼散射效應影響分子中化學鍵的電子分佈以造成分子暫時的極化，分子是否易於極化則視化學鍵的電子由正常位置發生扭曲的難易來決定，故分子在振動的過程中有極化率(Polarizability)的改變是其具有拉曼活性的決定條件。

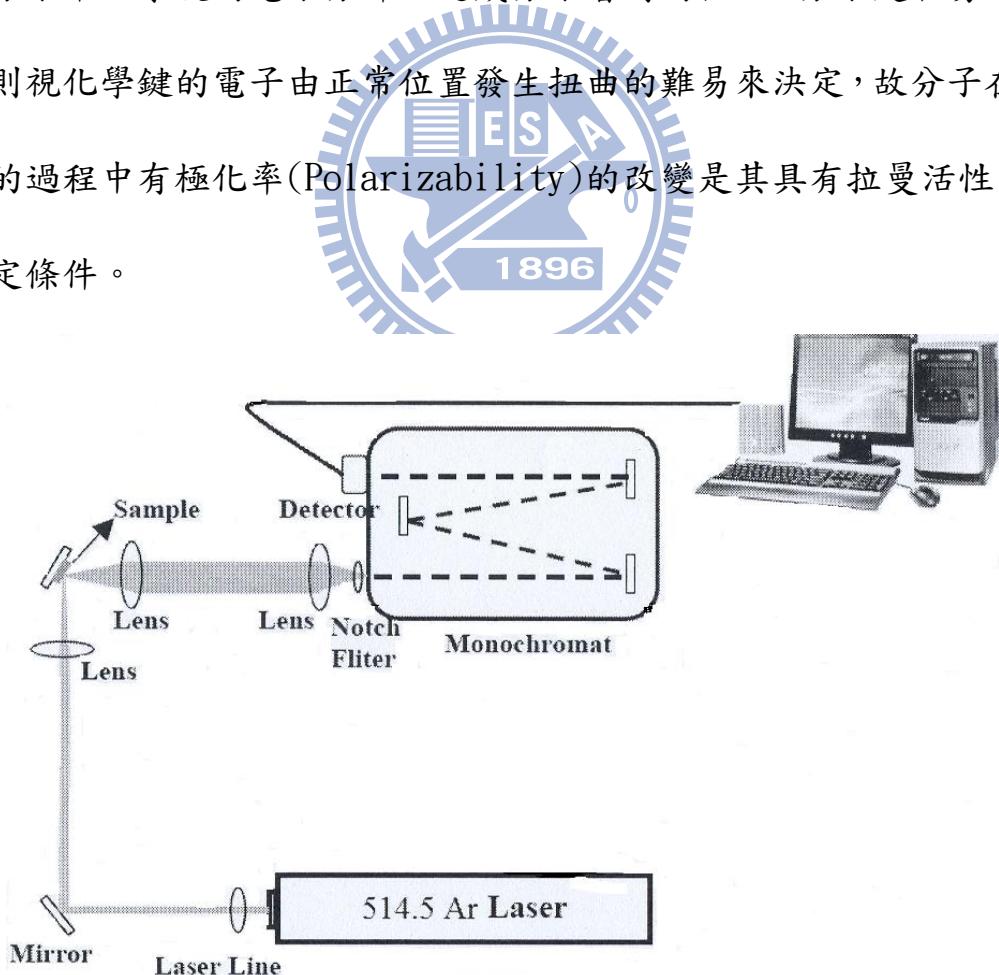


圖 3-6 拉曼散射光譜儀簡圖^[57]

第四章 結果與討論

本實驗以銀蒸鍍在多孔陽極氧化鋁基板、玻璃板、SiC 及 TiN 等具有不同表面能之基材上，銀與各種基材之間有不同的接觸角，能產生不同的表面形貌。並且改變蒸鍍銀的厚度，觀察不同的鍍銀量對於表面粗糙程度的影響。而後使用拉曼光譜儀觀察各試片對於不同條件下之生物染色分子 Rhodamine 6G 的偵測情形。

4.1 影響試片表面形貌的因素

4.1.1 銀與基材間的表面能

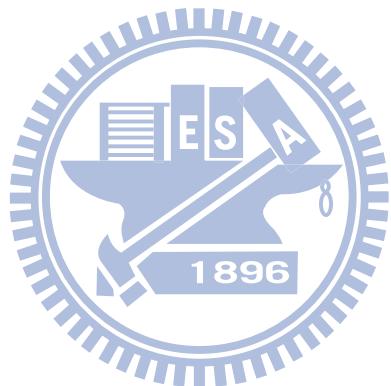
平均孔徑約 250nm 之陽極氧化鋁模板(AAO)，如圖 4-1，實驗希望利用其規律的多孔性質使銀鍍於表面時能產生規律的奈米級粗糙形貌。圖 4-2 顯示蒸鍍後的表面形貌結果，在孔徑周圍的模壁上聚集的銀因為接觸角小於 90° ，並未形成高低起伏的粗糙度效果，而是以趨向濕潤的方式覆蓋在表面上。於是希望藉由熱處理的方式，使覆蓋在陽極氧化鋁基板上的銀能夠重新再成長而生成銀顆粒。其結果如圖 4-3，覆蓋在表面上的銀明顯形成球狀顆粒，但是仍然分佈在孔徑周圍的模壁上，由原子力顯微鏡觀察試片表面的形貌，如圖 4-4 可見顆粒與顆粒之間的間距非常大，間距的地方多為陽極氧化鋁模板孔洞的位置，如此的顆粒分佈使得多孔陽極氧化鋁模板無法對於表面增強效果造成貢獻。

使用玻璃基板作為基材蒸鍍銀的表面形貌如圖 4-5，銀與玻璃的接觸角明顯大於 90° ，因此能在基板上形成許多的銀顆粒。但顆粒大小仍是不均勻，且顆粒與顆粒的間距太大， $d \gg 2R$ 的情況與圖 2-7 中的理想模型仍有一段差距，與多孔的陽極氧化鋁作為模板一樣對於拉曼強度的增強效果影響有限。

銀與 SiC 基材之接觸角為約 120° ^[58]，我們期望蒸鍍銀在 SiC 基板的表面上能夠形成連續起伏的微觀結構。圖 4-6 顯示在碳化矽基板上蒸鍍銀之後的結果，在表面上會形成銀的顆粒起伏。和玻璃基板及多孔陽極氧化鋁模板比較起來，銀的顆粒分佈更加集中且大小亦較均勻。

銀與 TiN 基材之接觸角為約 143° ^[59-60]，圖 4-7 顯示在 TiN 基板上蒸鍍銀之後的結果。和 SiC 基板比較，銀與 TiN 之接觸角較大，理論上在 TiN 基板上形成的銀顆粒應比在 SiC 基板上的銀顆粒的表面起伏更大，具有更大的表面粗糙度。用原子力顯微鏡來觀察這兩種試片的表面形貌如圖 4-8 及 4-9，在 SiC 基板上的銀形成較接近橢圓狀的顆粒，而在 TiN 基板上的銀則趨向形成接近圓球狀表面起伏較大的顆粒。圖 4-10 為 SiC 和 TiN 基板偵測濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 之 Rh6G 分子的拉曼散射譜線，TiN 基板上的銀所形成的表面具較突顯的上下起伏且銀顆粒的大小分佈較均勻，所以 TiN 基板所偵測出的拉曼譜線在 1650 cm^{-1}

和 1363 cm^{-1} 等強度較強的主要峰值處之增強效果顯得較大。



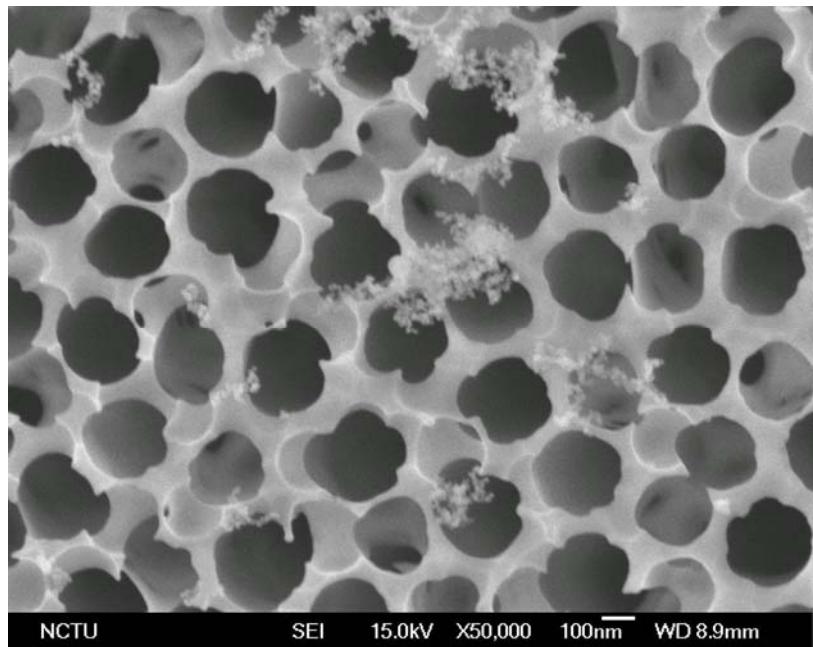


圖 4-1 陽極氧化鋁基板的表面形貌

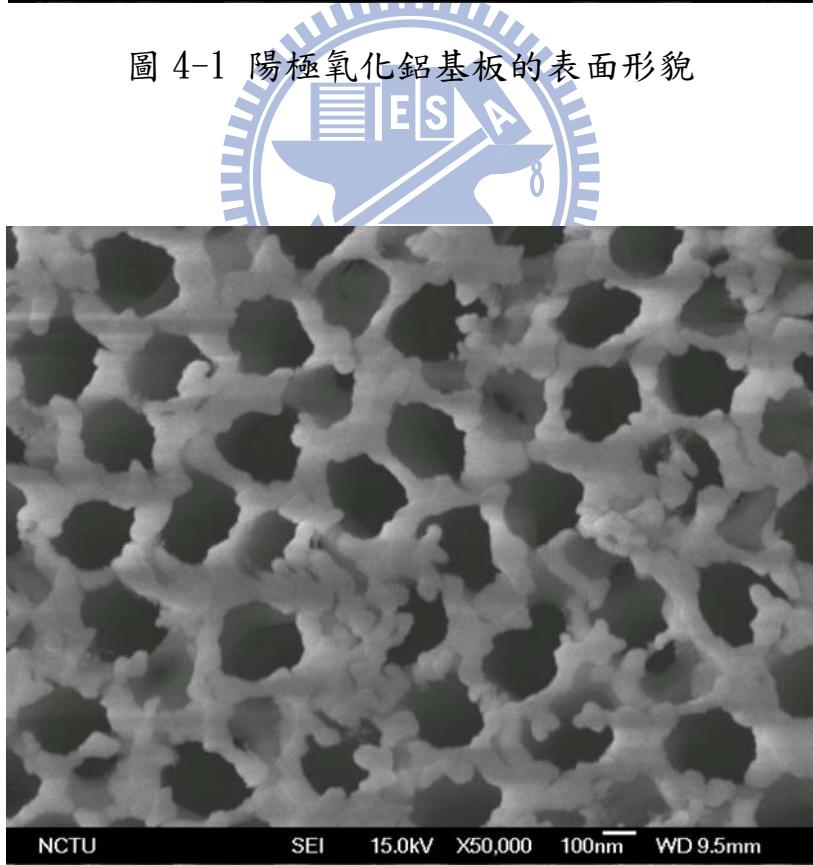


圖 4-2 陽極氧化鋁基板蒸鍍銀 30nm

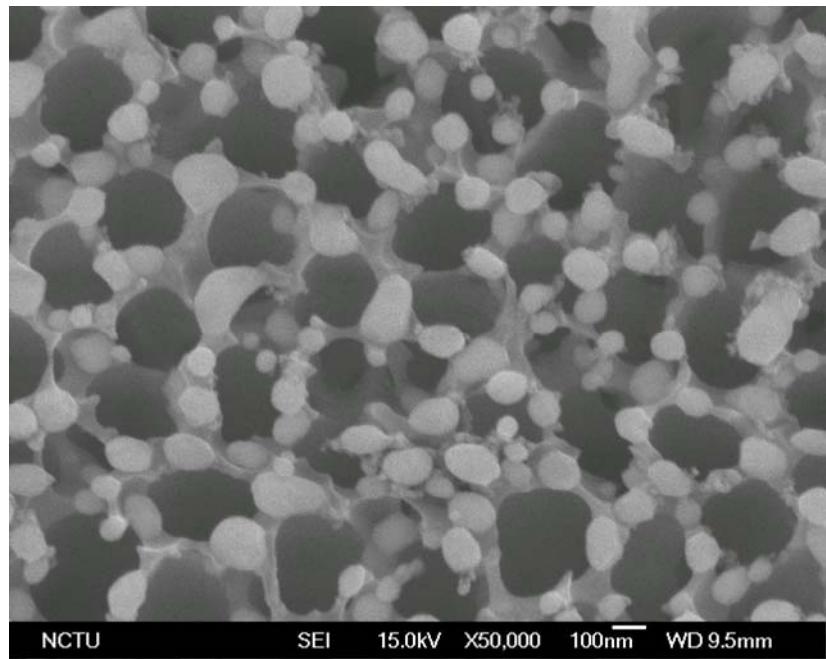


圖 4-3 陽極氧化鋁基板蒸鍍銀 30nm，在 750 °C 下熱處理 100 秒

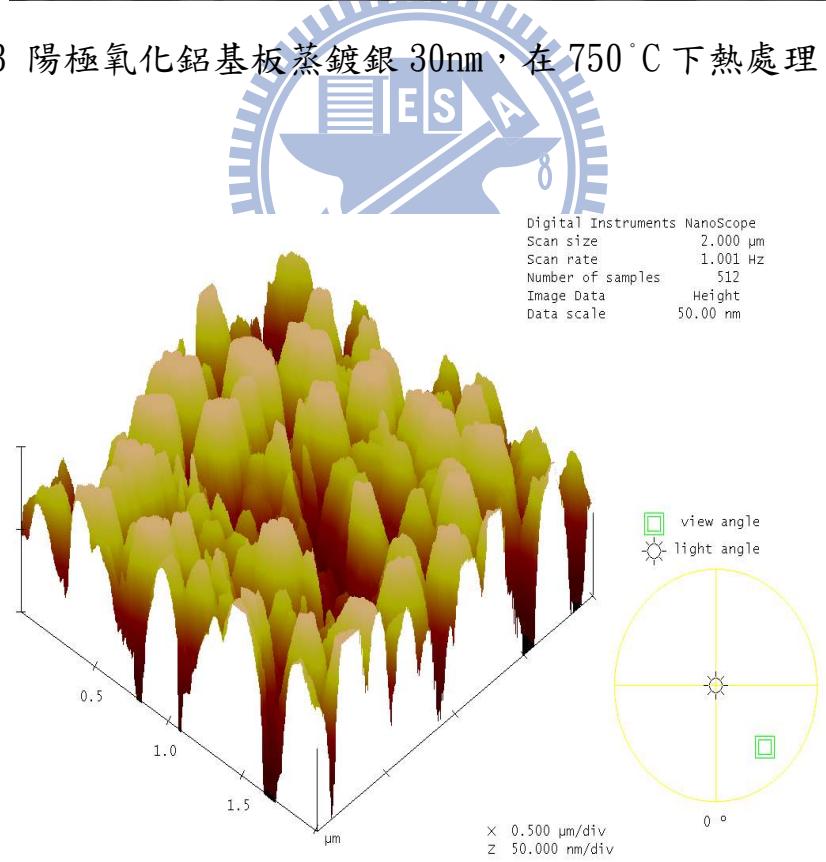


圖 4-4 以原子顯微鏡觀察陽極氧化鋁基板蒸鍍銀 30nm，在 750 °C 下
熱處理 100 秒之表面形貌

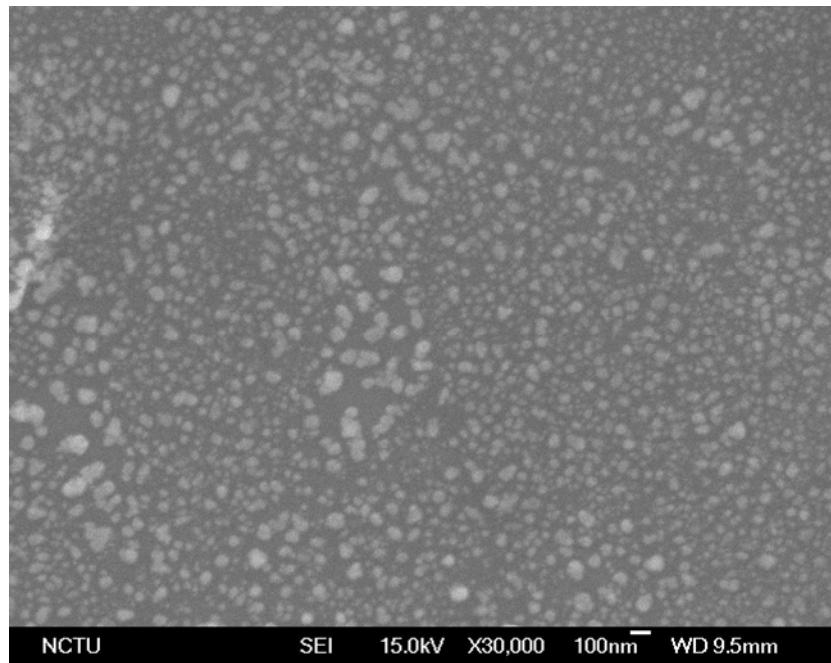


圖 4-5 玻璃基板蒸鍍銀 30nm

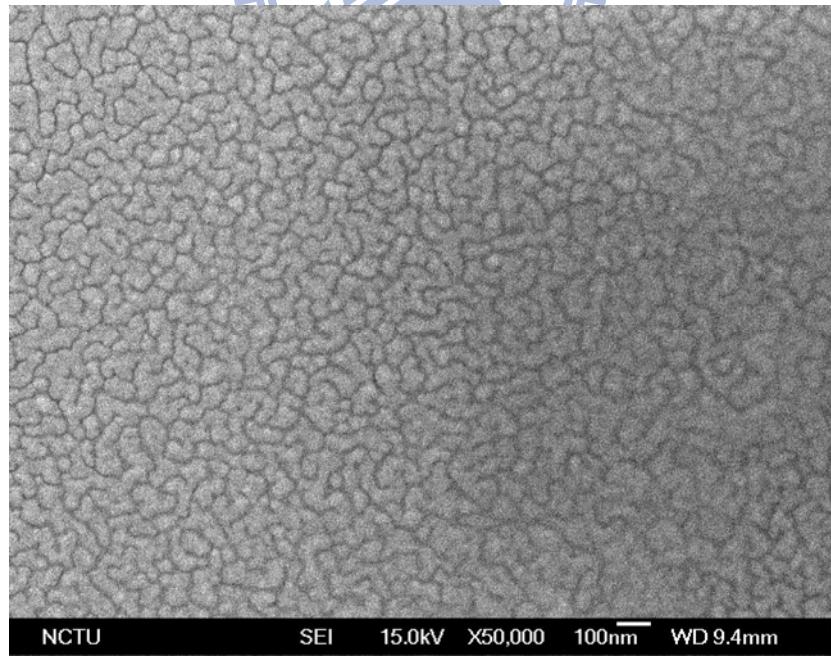


圖 4-6 SiC 基板蒸鍍銀 30nm

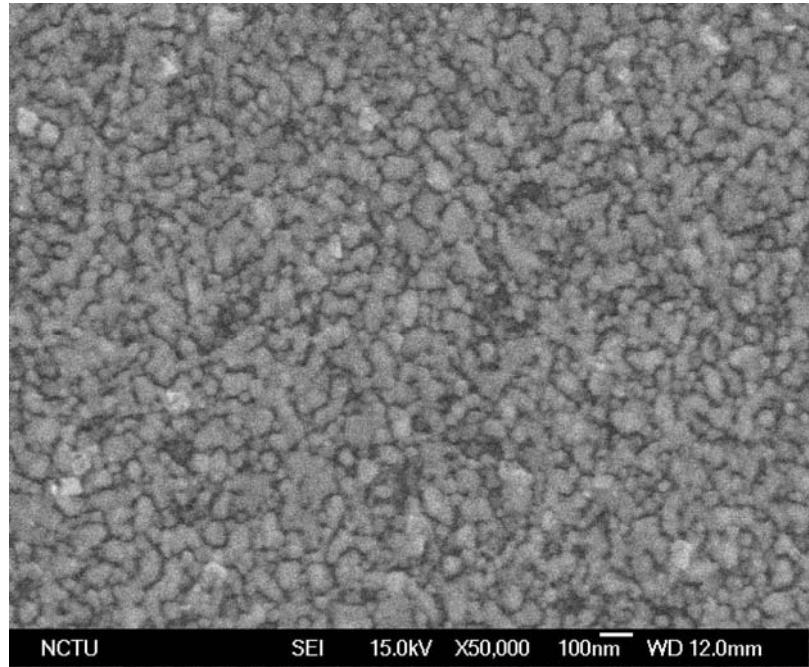


圖 4-7 TiN 基板蒸鍍銀 40nm



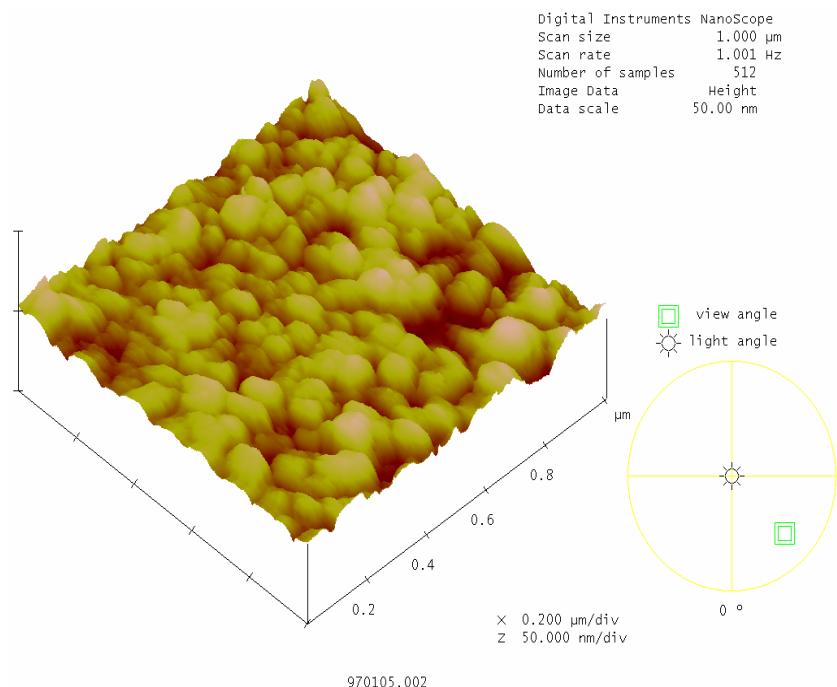


圖 4-8 以原子顯微鏡觀察 SiC 基板蒸鍍銀 30nm 之表面形貌

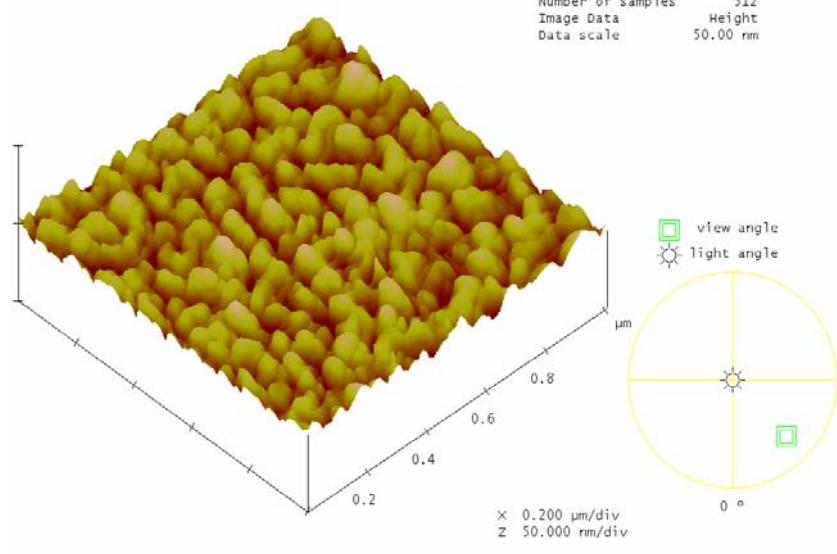


圖 4-9 以原子顯微鏡觀察 TiN 基板蒸鍍銀 40nm 之表面形貌

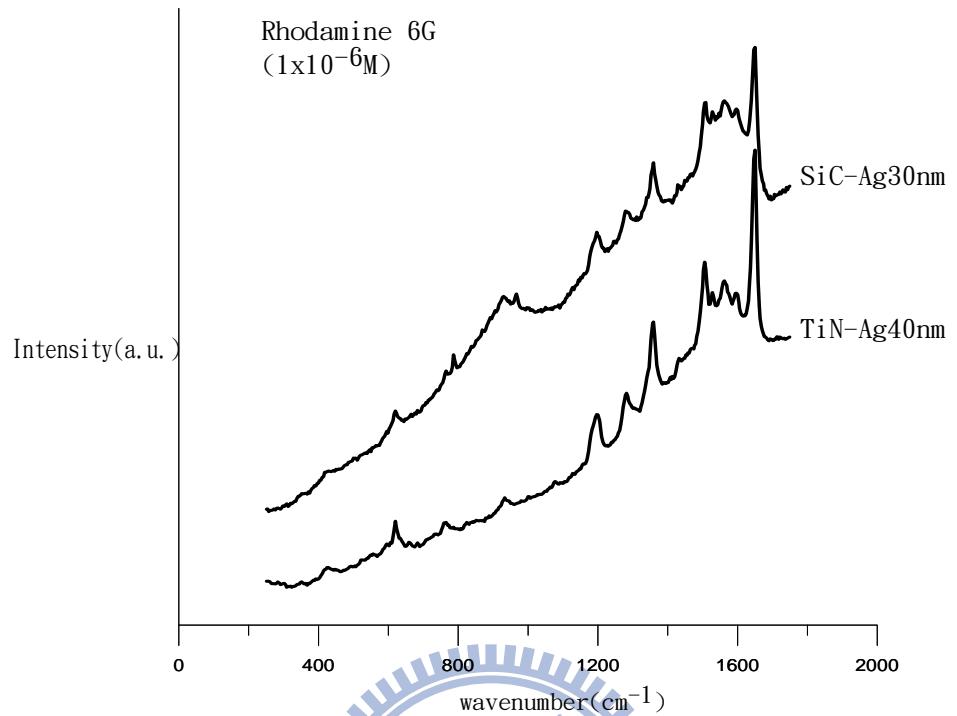


圖 4-10 以 SiC 和 TiN 基板偵測濃度 $1 \times 10^{-6} \text{M}$ 之 Rh6G 分子之拉曼散射

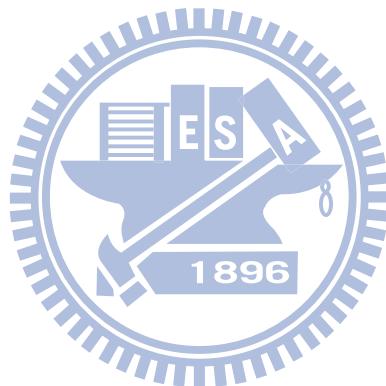


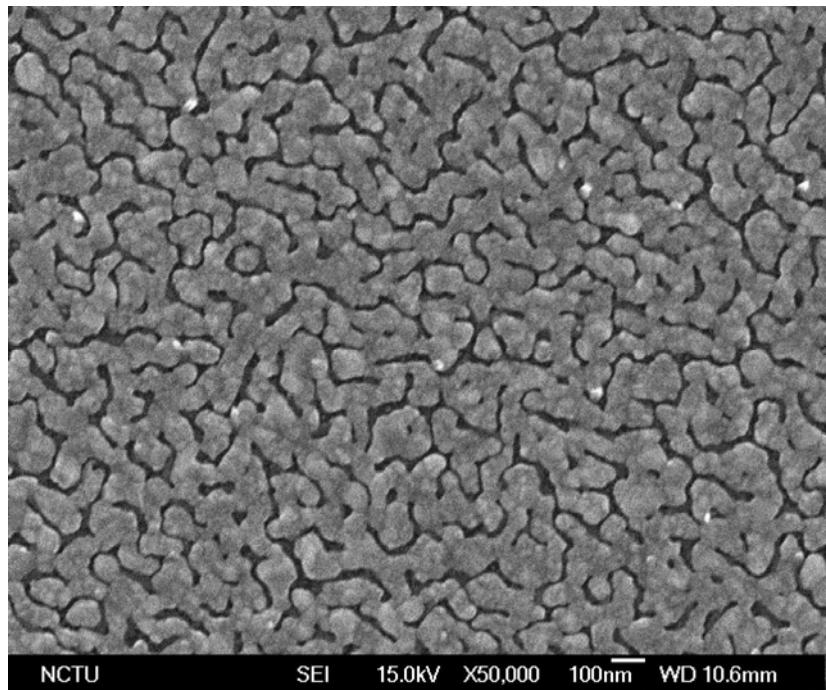
4.1.2 SiC 基板上鍍銀量之影響

在 SiC 基板上之鍍銀厚度分別控制其為 20nm、30nm 及 40nm，觀察其表面銀顆粒的變化，結果如表 4-1。在 SiC 基板上蒸鍍銀 20nm 的表面形貌如圖 4-11，碳化矽基板上的銀顆粒雖三兩相連形成狀似島膜的結構而非顆粒分明地獨立存在，但粒徑大小明顯地較均勻，不會像陽極氧化鋁基板上的銀有分佈不均的情形。因為設定銀蒸鍍的厚度較薄，銀不足以將整個試片表面佈滿顆粒狀起伏，故其顆粒與顆粒之間的空隙會略寬，形成圖 2-7 表面增強效應模型中 $d > 2R$ 的情況，這樣的表面型態雖然非 $d=2R$ 的理想狀態，但已達到能夠對拉曼散射之表面增強效果有所助益的程度。鍍銀的厚度為 30nm 時，如圖 4-12 可見獨立且密集地排列於試片表面的銀顆粒增多，顆粒間的間距較鍍銀 20nm 時更小，為嘗試的厚度參數中最接近 $d=2R$ 的情況，根據理論能在此條件下得到最佳的增強效果。而蒸鍍銀厚度增厚為 40nm 時，如圖 4-13 銀顆粒間的孔隙變小呈現被填滿的情形，顆粒起伏變的不明顯而表面趨於平坦，形成粗糙度較低的表面。根據拉曼表面增強效應的模型，此條件下的表面增強效果將會比蒸鍍銀 30nm 時不理想。

表 4-1 以 SiC 為基材時表面銀顆粒之參數

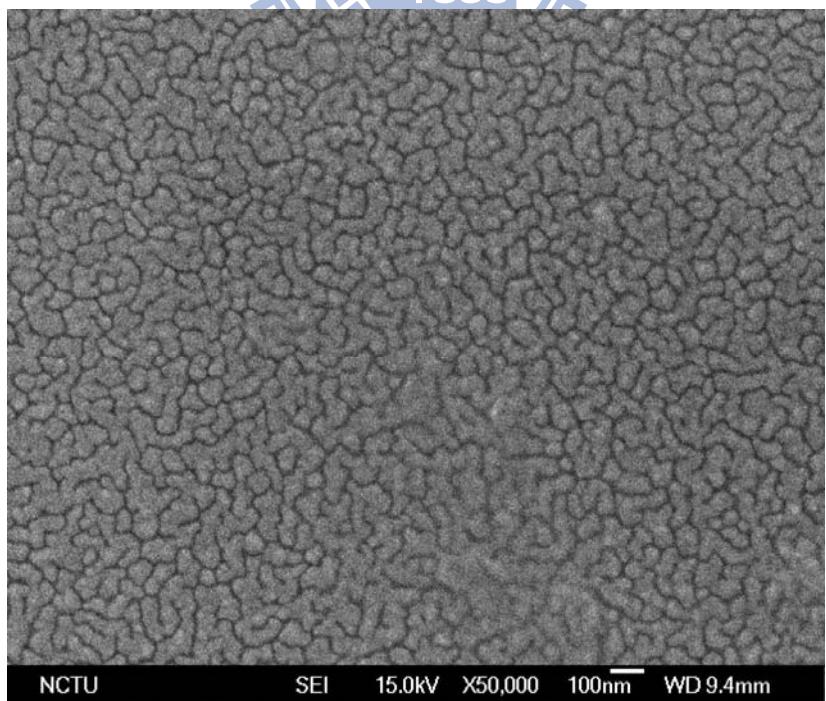
	Ag 20nm	Ag 30nm	Ag 40nm
d(nm)	87.62	53.37	51.96
2R(nm)	61.76	49.67	67.25
d/2R	1.42	1.07	0.77





NCTU SEI 15.0kV X50,000 100nm WD 10.6mm

圖 4-11 SiC 基板蒸鍍銀 20nm



NCTU SEI 15.0kV X50,000 100nm WD 9.4mm

圖 4-12 SiC 基板蒸鍍銀 30nm

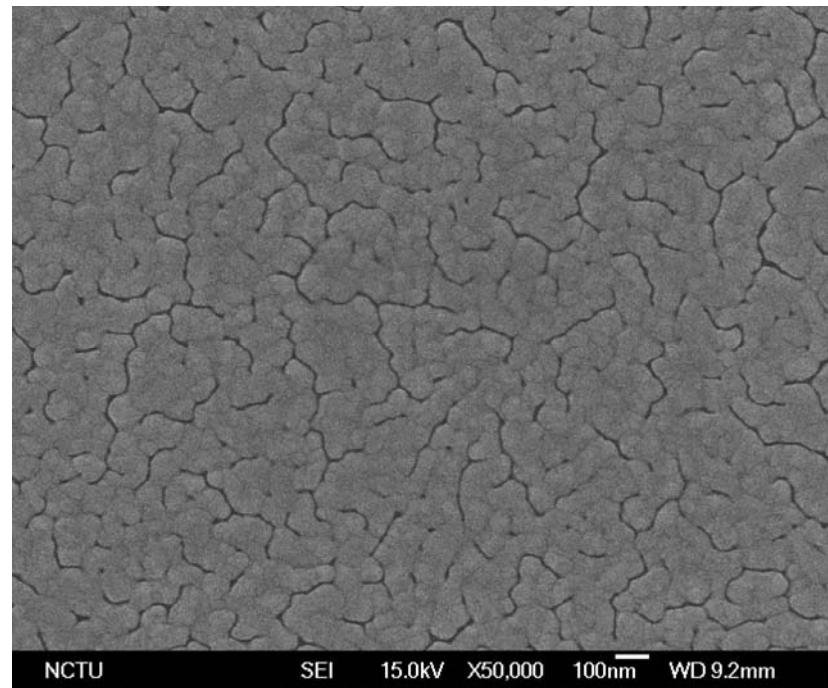


圖 4-13 SiC 基板蒸鍍銀 40nm



4.1.3 TiN 基板上鍍銀量之影響

在 TiN 基板上蒸鍍銀能達到最理想表面形貌的厚度為 40nm，同樣嘗試增加及減少鍍銀的數量，控制厚度分別為 50nm 及 30nm，觀察其表面銀顆粒的改變，結果如表 4-2。鍍銀 40nm 在 TiN 基板上產生的表面形貌如圖 4-14，獨立的銀顆粒均勻分佈於 TiN 基板上，與鍍銀在 SiC 基板的最佳情況比較， $d/2R$ 的比值更接近 1，所以更能夠符合理想的拉曼表面增強模型。而當鍍銀厚度較薄或是較厚時，如圖 4-15 及 4-16 所示，鍍銀厚度較薄(30nm)時的表面形貌其銀顆粒傾向於互相連結，間距也明顯擴大，類似於 SiC 基板鍍銀厚度較小(20nm)時 $d > 2R$ 的情況。鍍銀較厚(50nm)時，由於銀的量較多而填滿顆粒間縫隙的位置，獨立的銀顆粒消失，試片的表面趨向 $d < 2R$ 的情形。

表 4-2 以 TiN 為基材時表面銀顆粒之參數

	Ag 30nm	Ag 40nm	Ag 50nm
$d(\text{nm})$	88.34	48.13	54.99
$2R(\text{nm})$	58.99	49.02	64.1
$d/2R$	1.50	0.98	0.86

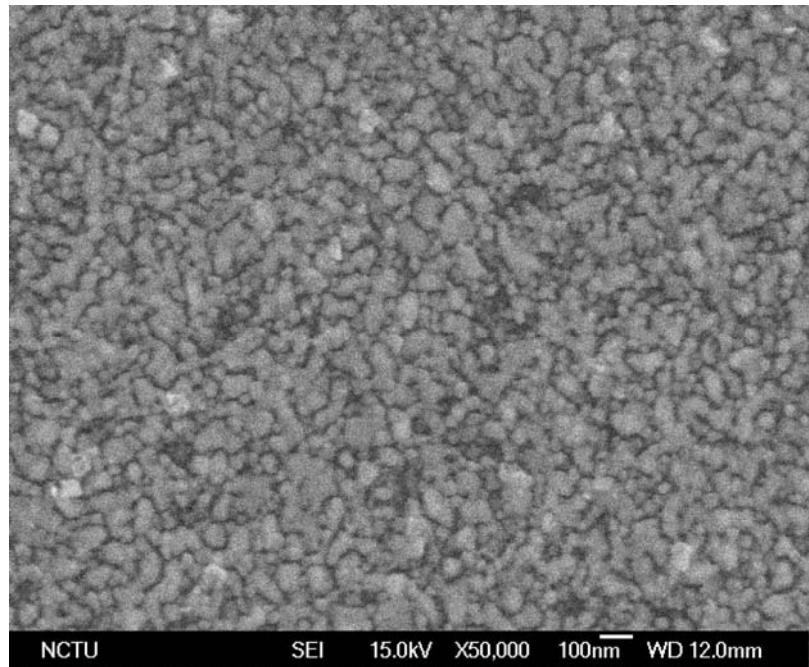


圖 4-14 TiN 基板蒸鍍銀 40nm

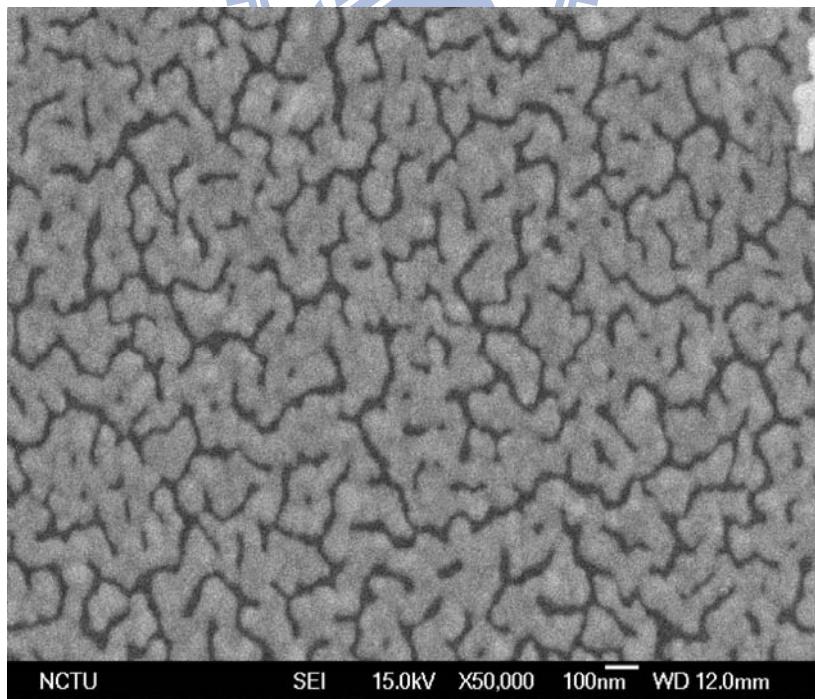


圖 4-15 TiN 基板蒸鍍銀 30nm

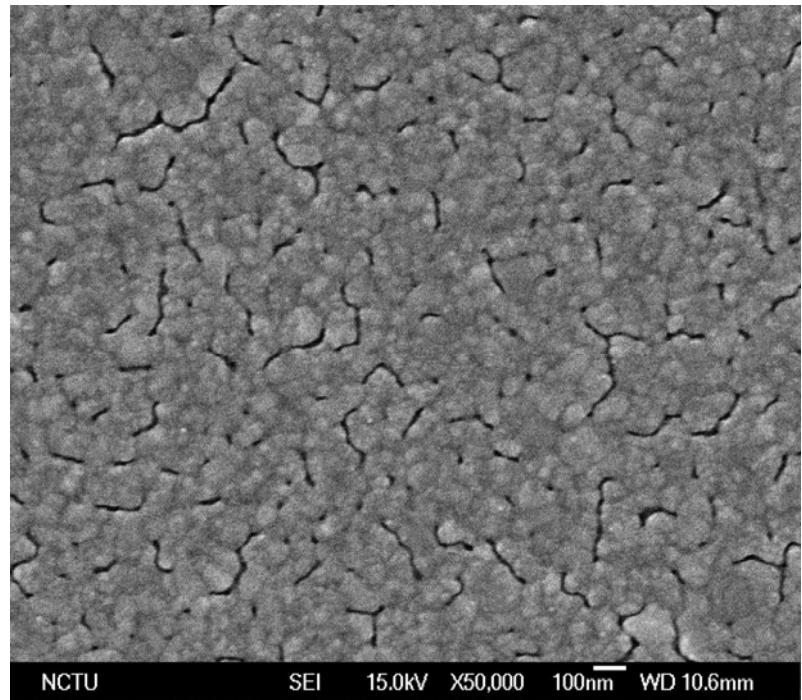


圖 4-16 TiN 基板蒸鍍銀 50nm



4.2 偵測 Rhodamine 6G 分子之表面增強拉曼散射譜線

4.2.1 偵測基板的表面形貌對偵測譜線的影響

4.2.1.1 以碳化矽為蒸鍍基材

控制蒸鍍銀的厚度分別為 20nm、30nm、40nm，染色分子 Rhodamine 6G 的濃度為 $1 \times 10^{-5} M$ 時，拉曼散射圖譜如圖 4-17。由圖中可見，當鍍銀厚度為 30nm 時，出現多個 Rhodamine 6G 的訊號峰，表示在這個條件下，分子可以被成功地偵測。前一小節提到當鍍銀厚度為 30nm 時的表面形貌會最接近表面增強拉曼散射的理想條件，這個結果便顯示當銀表面符合 $d=2R$ 的情況時，偵測分子的訊號峰確實達到較佳的效果。而當鍍銀厚度為 20nm 及 40nm 時，Rhodamine 6G 的訊號峰幾乎都無法明顯地表現出來，可能是因為鍍銀厚度較小，銀顆粒之間的間隙太寬($d > 2R$)；及鍍銀厚度較大而間隙趨向被填滿使得表面粗糙度降低($d < 2R$)，導致電磁效應所需的作用場無法產生，使 Rhodamine 6G 的訊號峰無法明顯增強。圖 4-18 及 4-19 為 Rhodamine 6G 的濃度由 $1 \times 10^{-5} M$ 稀釋至 $1 \times 10^{-6} M$ 以及 $1 \times 10^{-7} M$ 後經過偵測所得到的散射圖譜，結果顯示在偵測不同濃度的 Rhodamine 6G 分子時，皆只有鍍銀 30nm 的試片能夠較明顯地將訊號增強放大。

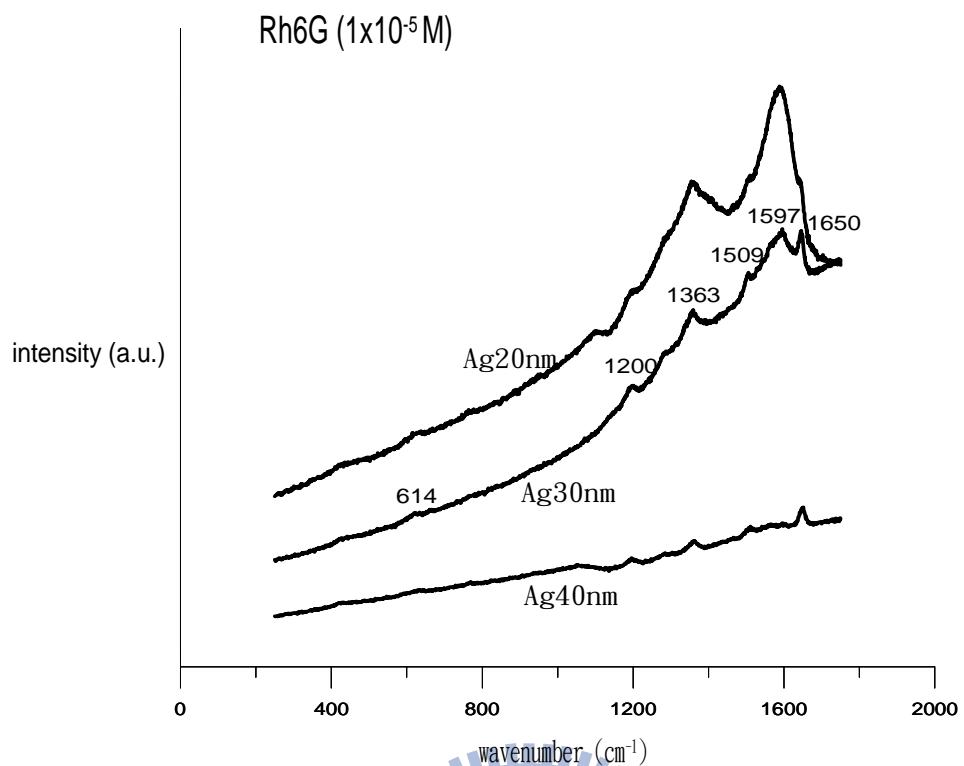


圖 4-17 在 SiC 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-5} \text{ M}$

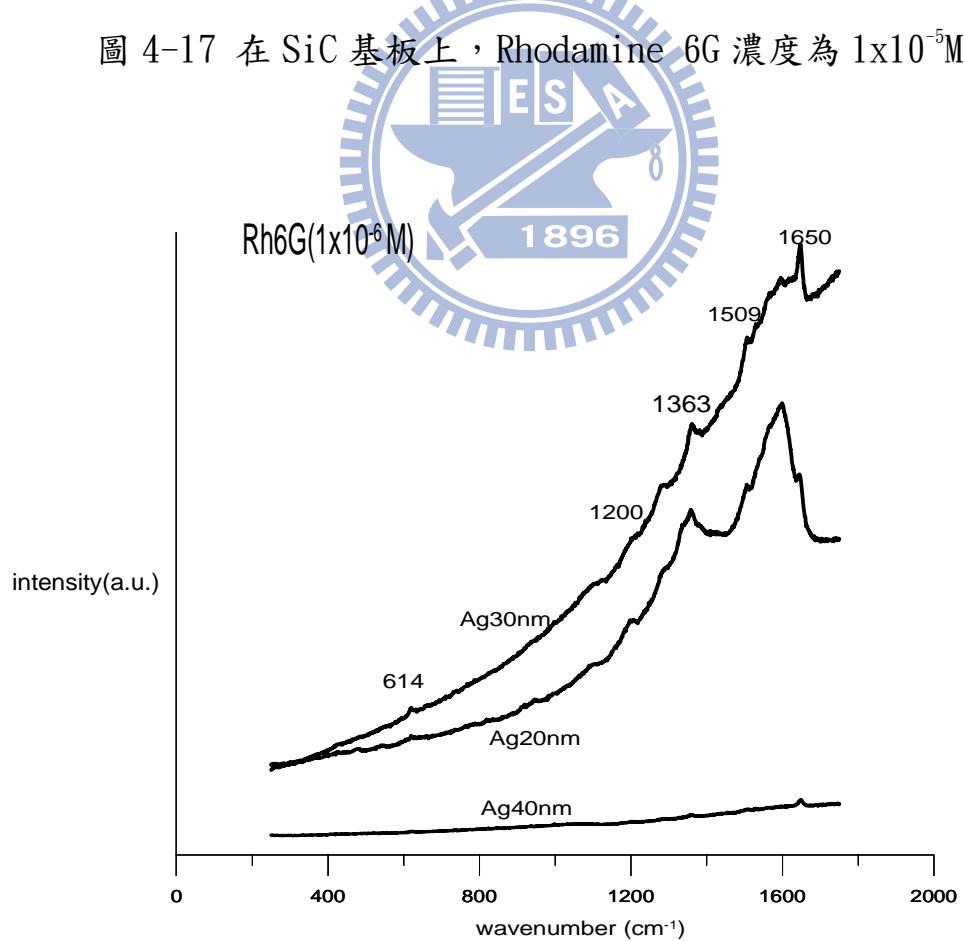


圖 4-18 在 SiC 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$

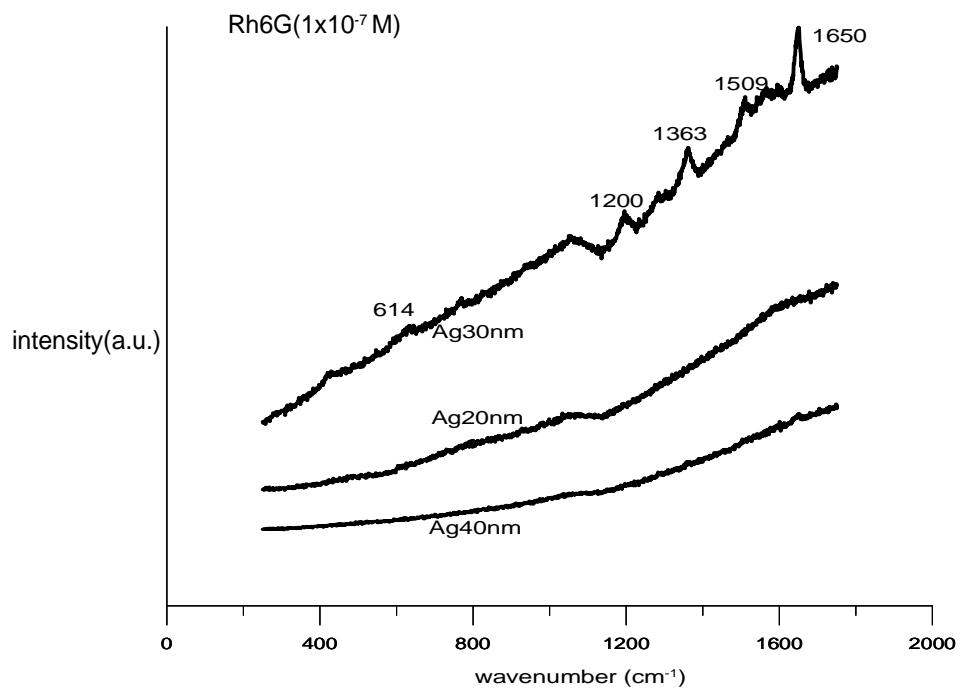


圖 4-19 在 SiC 基板上, Rhodamine 6G 濃度為 1×10^{-7} M



4.2.1.2 以氮化鈦為蒸鍍基材

以氮化鈦作為基板時，控制蒸鍍銀的厚度分別為 30nm、40nm、50nm，分子 Rhodamine 6G 的濃度為 $1 \times 10^{-5} M$ 時，拉曼散射圖譜如圖 4-20。由圖中可見，當氮化鈦基板鍍銀厚度為 40nm 時，數個 Rhodamine 6G 的主要訊號峰都明顯的表現出來，因為其試片表面 $d/2R$ 的比值很接近 1，接近表面增強拉曼散射的理想條件，偵測分子的訊號峰容易判別。而當鍍銀厚度為 30nm 及 50nm 時，包含 Rhodamine 6G 在 1650 cm^{-1} 的最強訊號峰及其他幾個次強訊號峰的強度都大幅的減弱，甚至無法表現出來而不易判斷。

圖 4-21 為 Rhodamine 6G 的濃度由 $1 \times 10^{-5} M$ 稀釋至 $1 \times 10^{-6} M$ 後經過偵測所得到的散射圖譜，結果顯示在偵測不同濃度的染色分子時，鍍銀厚度 40nm 的試片仍能較明顯地將訊號增強放大，鍍銀 30nm 及 50nm 之試片對分子 Rhodamine 6G 的偵測效果則不理想。故鍍銀厚度的大小會導致表面形貌的變化，而表面形貌的變化則會影響拉曼散射的增強效果。

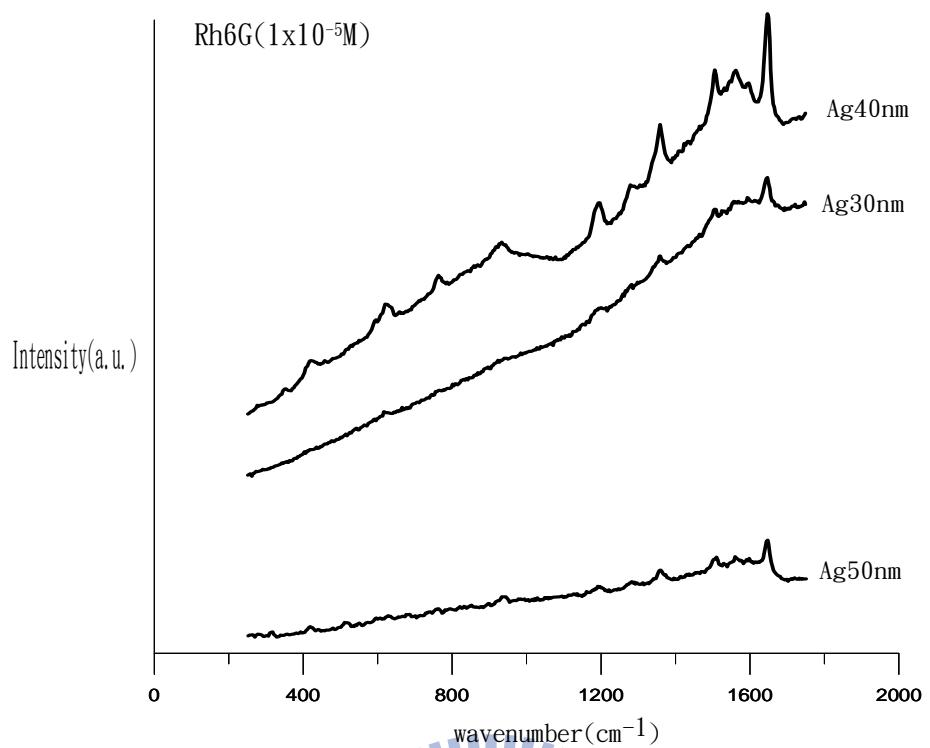


圖 4-20 在 TiN 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-5} \text{M}$

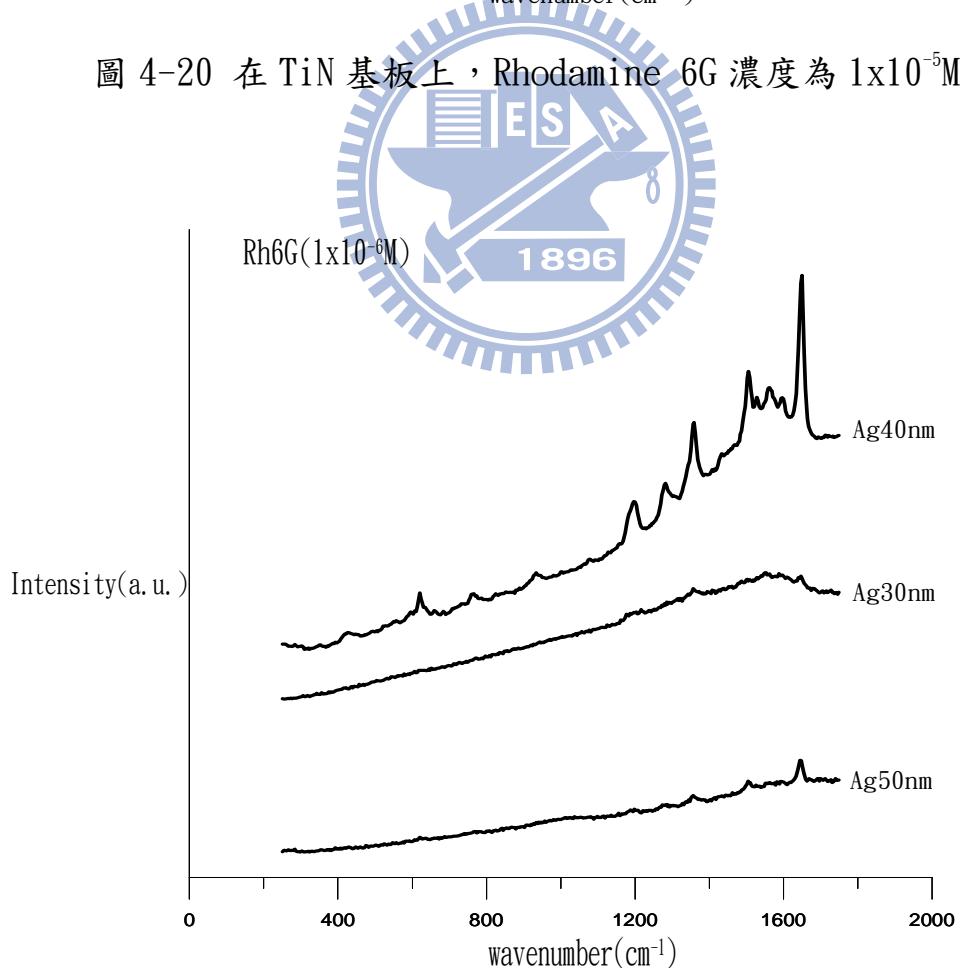


圖 4-21 在 TiN 基板上，Rhodamine 6G 濃度為 $1 \times 10^{-6} \text{M}$

4.2.2 Rhodamine 6G 分子濃度的影響與偵測極限

4.2.2.1 以碳化矽為蒸鍍基材

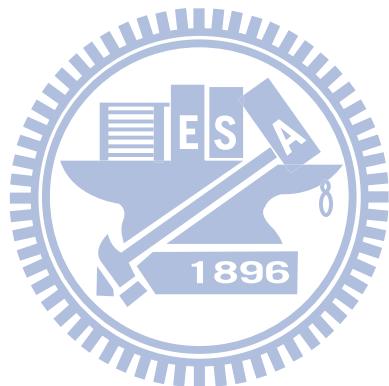
拉曼散射的表面增強效應發現之後，便廣泛地被應用在生醫領域的研究。因為這個發現改善了傳統拉曼散射低靈敏度的缺點，使得待測物的特徵峰值可以被明顯地表現出來。本小節要討論待測染色分子 Rhodamine 6G 濃度的改變對於拉曼散射的增強效應之影響，以及偵測此分子的濃度極限。

圖 4-22 為在 SiC 基板上固定鍍銀厚度 30nm，分別對於三種不同濃度的分子 Rhodamine 6G 進行偵測所得的拉曼譜線。由圖中可見，濃度在 $1 \times 10^{-5} M$ 及 $1 \times 10^{-6} M$ 時，Rh6G 在 1363cm^{-1} 及 1650cm^{-1} 附近較強的兩個峰值皆可被偵測出；而當濃度稀釋至 $1 \times 10^{-7} M$ 時，波峰縮小且變得不明顯而不易判斷。這個結果顯示，雖然拉曼散射的表面增強效應可以將待測物質的訊號提高，但對於待測物濃度較低時仍然會有其偵測的極限。

圖 4-23 為在 SiC 基板上固定鍍銀厚度 40nm 的條件下，分別對於三種不同濃度的分子 Rh6G 進行偵測所得的拉曼譜線，結果與鍍銀厚度 30nm 時接近。由圖中可發現到，雖然濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 之 Rh6G 分子在較強的波峰 1363cm^{-1} 及 1650cm^{-1} 處的增強效果優於 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 分子，但在 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 分子拉曼譜線中的其它各個波峰皆較尖

銳，容易判的別程度會稍微優於較低濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 之 Rh6G 分子，

圖 4-24 為 SiC 基板固定鍍銀厚度 20nm 的偵測結果，對三種不同濃度所偵測到的拉曼譜線，其 Rh6G 分子的特徵峰值皆沒有明顯表現出來，只有在濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 時各個主要峰值處皆有微弱勉強可供判斷的波峰。這個現象可印證前一段所說，使用表面增強拉曼散射判定 Rh6G 分子時，其較佳的濃度約為 $1 \times 10^{-5} M$ 左右。



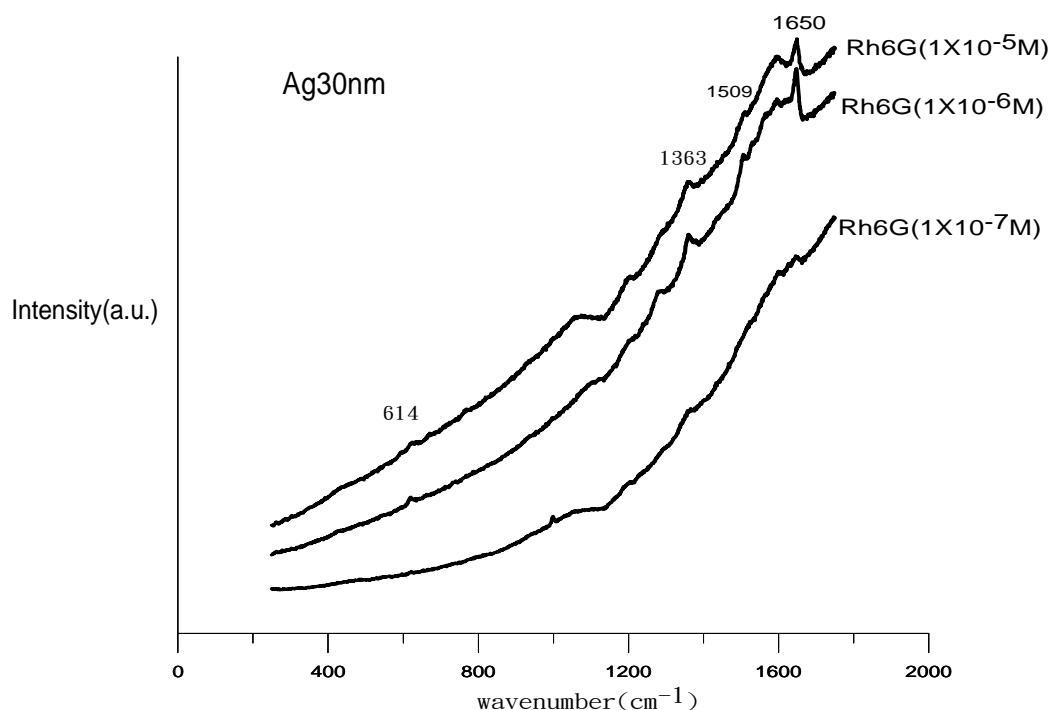


圖 4-22 在 SiC 基板上，蒸鍍銀之厚度為 30nm 偵測不同濃度之 Rh6G

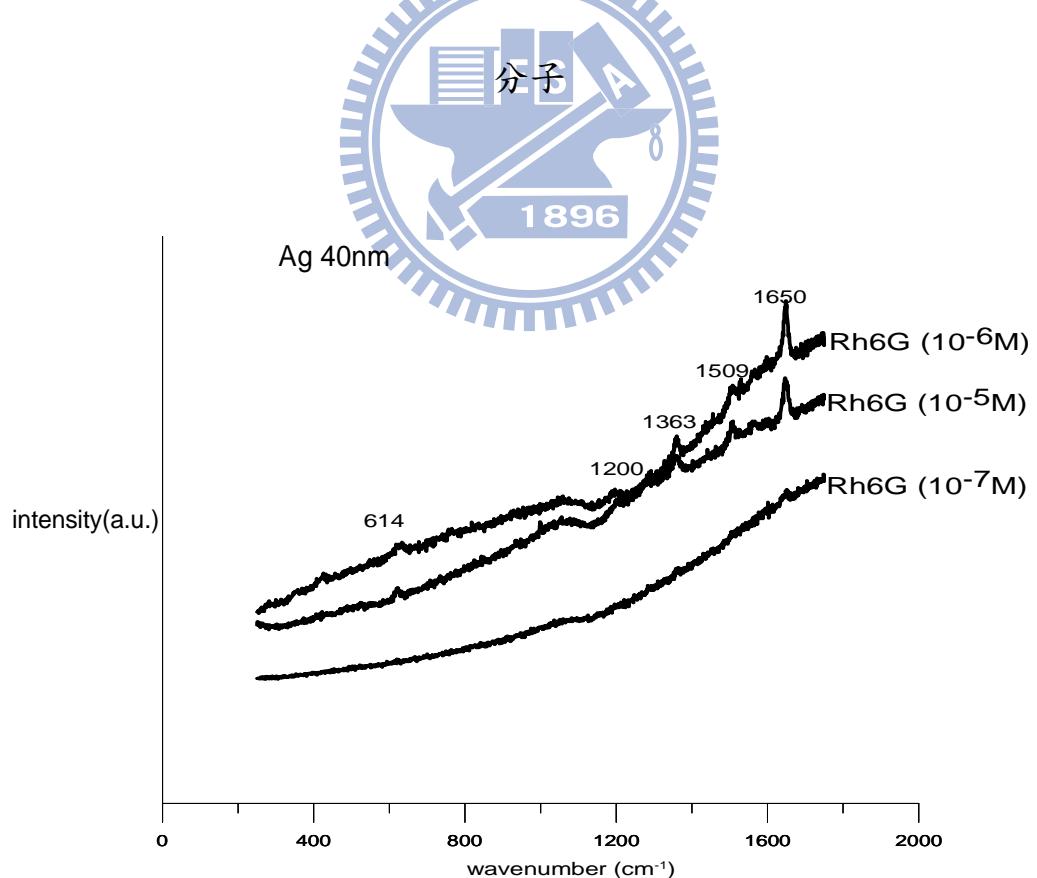


圖 4-23 在 SiC 基板上，蒸鍍銀之厚度為 40nm 偵測不同濃度之 Rh6G

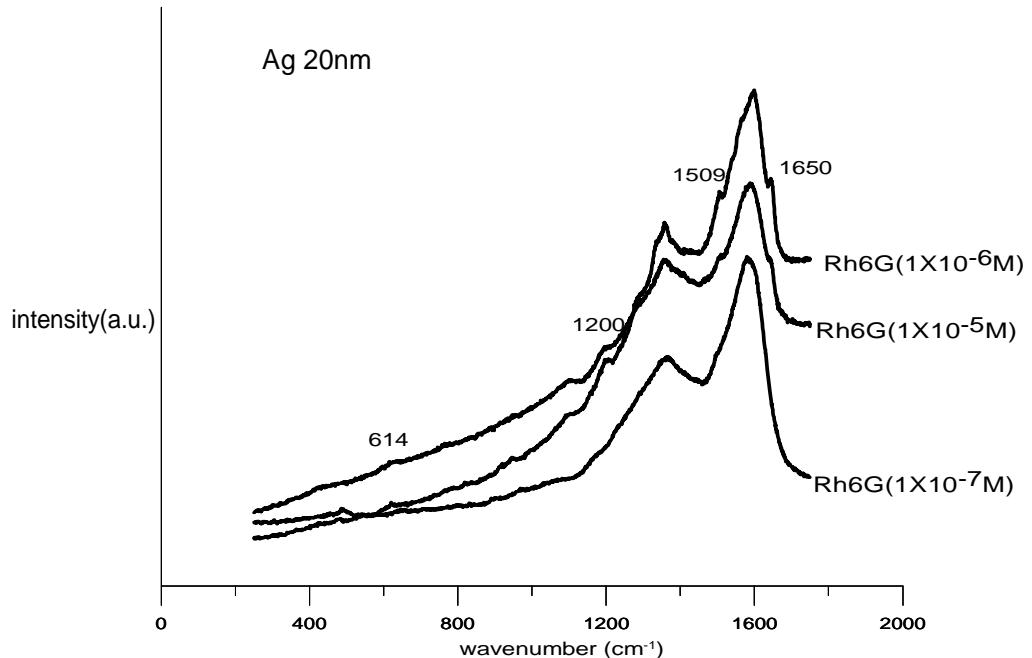


圖 4-24 在 SiC 基板上，蒸鍍銀之厚度為 20nm 偵測不同濃度之 Rh6G



4.2.2.2 以氮化鈦為蒸鍍基材

圖 4-25 為在 TiN 基板上固定鍍銀厚度 40nm，分別對於三種不同濃度的分子 Rh6G 進行偵測所得的拉曼譜線。其結果和 SiC 基板偵測所得之譜線相近，濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 及 $1 \times 10^{-6} M$ 時 Rh6G 特徵峰皆可清楚地被識別，濃度 $1 \times 10^{-7} M$ 時峰值幾乎完全無法顯現，故偵測的濃度極限大約為 $1 \times 10^{-6} M$ 。

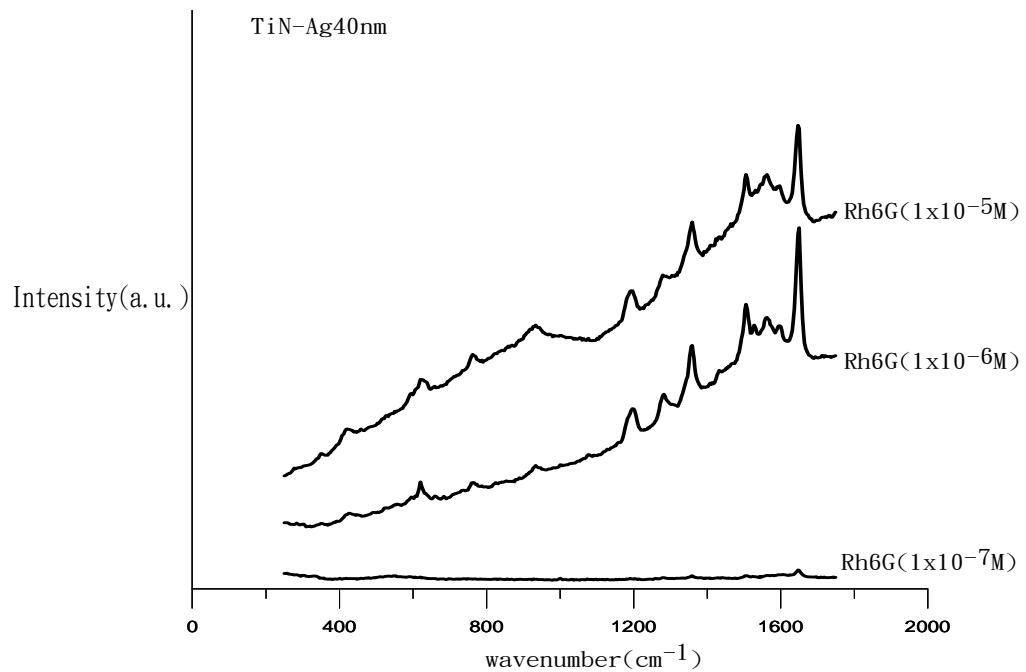
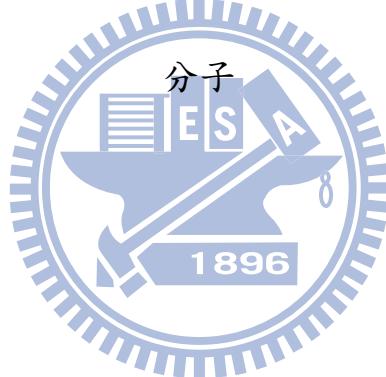


圖 4-25 在 TiN 基板上，蒸鍍銀之厚度為 40nm 偵測不同濃度之 Rh6G



4.2.3 Rhodamine 6G 分子於試片的吸附時間對拉曼散射譜線的影響

因 Rhodamine 6G 分子的吸附是採用將偵測基板浸泡於分子溶液中的方式，為避免溶液久置沉澱，在吸附前溶液均經過數分鐘的超音波震盪使其均勻。故於相同的濃度下浸泡時間若不同，溶液沉澱的情形不同，分子吸附於偵測基板的情形可能亦不相同。本小節欲探討 Rh6G 經由不同時間吸附於鍍銀基板上對於拉曼譜線的影響。

4.2.3.1 以碳化矽為蒸鍍基材

圖 4-26 是以碳化矽基板蒸鍍銀厚度 30nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 溶液，時間分別為 5min、30min、60min 後進行偵測所得的拉曼譜線。由圖中可見，基板浸泡於溶液時間 5 分鐘所得的譜線其峰值都非常的不明顯，這個現象可能是經震盪後分子均勻地懸浮於溶液中，經過 5 分鐘能吸附在基板上的分子數量仍很少的緣故。當浸泡時間拉長至 30 分鐘，偵測分子的拉曼譜線上特徵峰值變得明顯而容易判別。可見經過了較長的一段時間後，Rh6G 分子會逐漸沉澱吸附到基板上，分子數量的增加導致了分子峰值的增強。時間再拉長至 60 分鐘時，除了在 614cm^{-1} 及 1650cm^{-1} 兩處的峰值略為減弱，其它的特徵峰的增強幾乎沒有改變。

將 Rh6G 溶液置換為較低濃度 $1 \times 10^{-6} M$ ，時間一樣分為 5min、30min、60min 進行偵測如圖 4-27。發現當浸泡時間為 30 分鐘時的增

強效果優於 60 分鐘，可能是因為浸泡的時間過久，吸附在基板上局部的分子過多而導致增強效果下降。



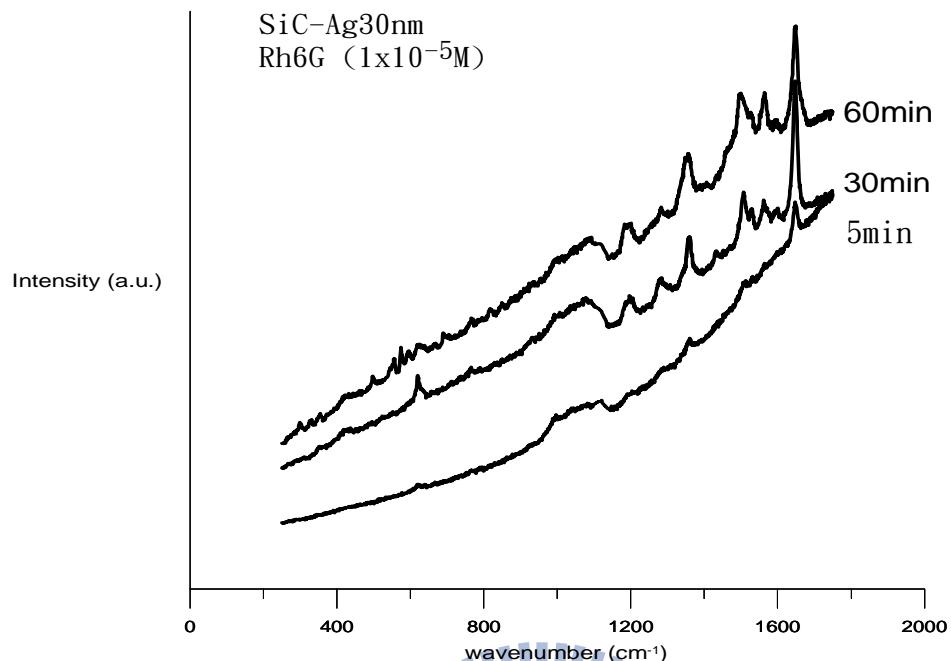


圖 4-26 SiC 基板蒸鍍銀厚度 30nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 溶液

時間分別為 5min、30min、60min

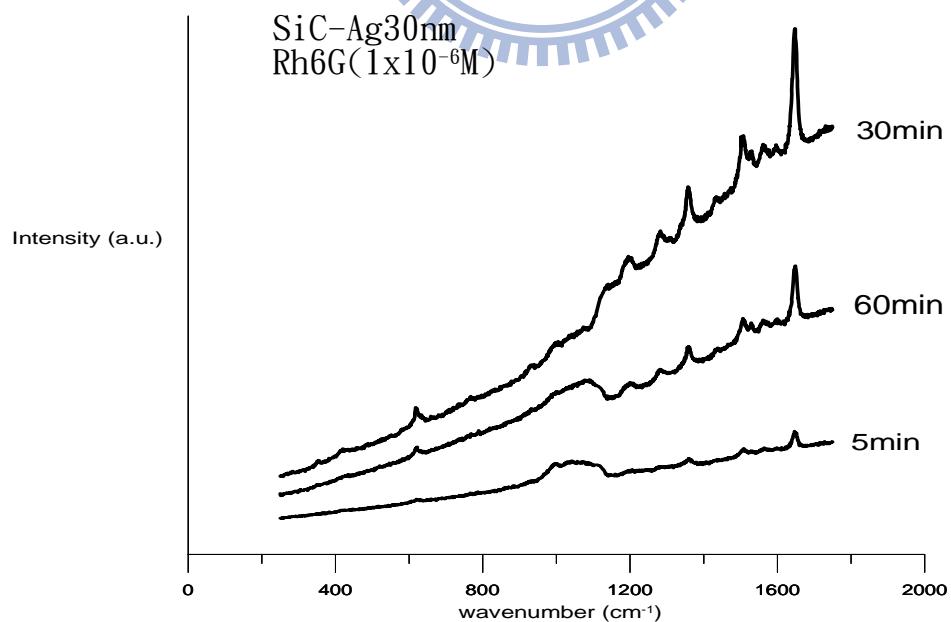


圖 4-27 SiC 基板蒸鍍銀厚度 30nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 之 Rh6G 溶液

時間分別為 5min、30min、60min

4.2.3.2 以氮化鈦為蒸鍍基材

圖 4-28 是以氮化鈦基板蒸鍍銀厚度 40nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 溶液，時間分別為 5min、30min、60min 後進行偵測所得的拉曼譜線。和碳化矽基板比較，氮化鈦基板浸泡時間 5 分鐘的偵測譜線其增強效果明顯較佳，這是因為該表面形貌較適合增強效應的發生。時間拉長至 30 分鐘及 60 分鐘時，峰值皆略為增強，但此時浸泡五分鐘時的偵測譜線已足夠可以對於待測分子進行判別。將 Rh6G 溶液置換為較低濃度 $1 \times 10^{-6} M$ ，時間一樣分為 5min、30min、60min 進行偵測如圖 4-29，可得到相同的結論證實浸泡 30 分鐘之效果較佳。

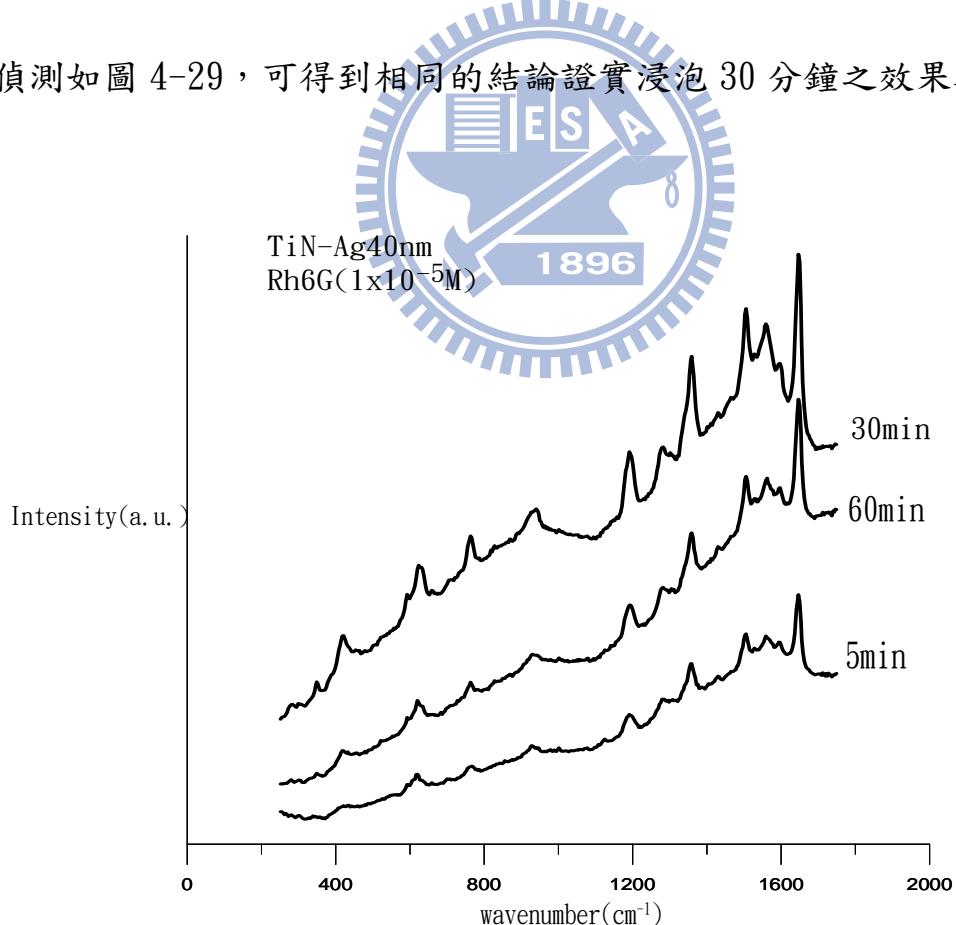


圖 4-28 TiN 基板蒸鍍銀厚度 40nm，浸泡於濃度 $1 \times 10^{-5} M$ 之 Rh6G 溶液時間分別為 5min、30min、60min

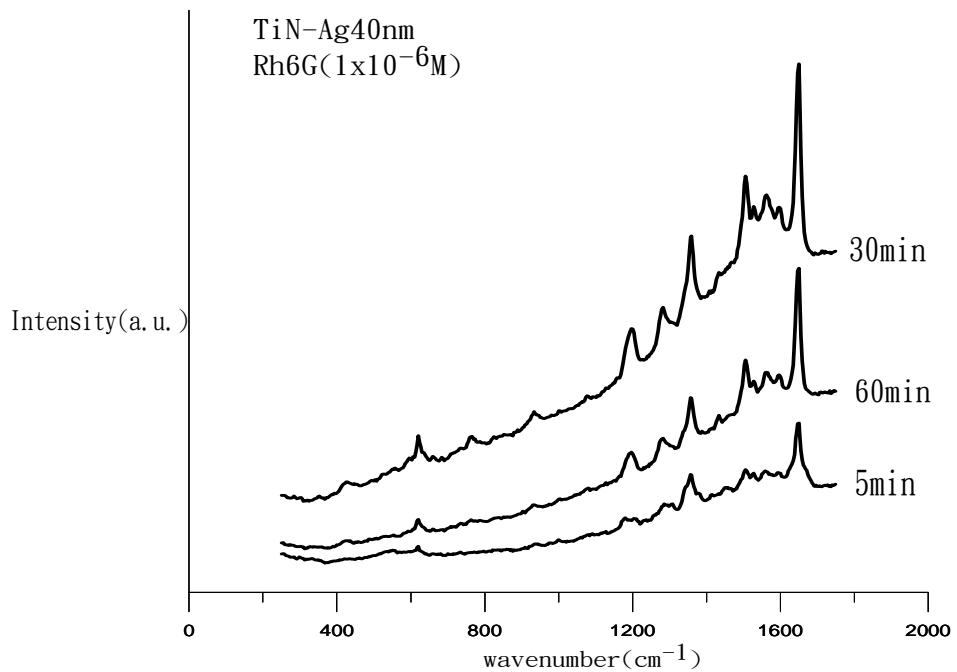


圖 4-29 TiN 基板蒸鍍銀厚度 40nm，浸泡於濃度 1×10^{-6} M 之 Rh6G 溶液



第五章 結論

1. 銀與多孔性陽極氧化鋁(AAO)模板之接觸角小於 90° 無法形成球狀顆粒，且經由熱處理的方法使銀再成長後之顆粒大小與分佈仍然不均勻，故不適宜作為表面增強效應的基板；而相同的鍍銀量於玻璃基板上雖可形成銀的顆粒，但因顆粒間相距太遠，亦無法構成表面增強效應所需之起伏表面。

2. 鍍銀量的變化導致基板上銀表面形貌不同，繼而影響 Rhodamine 6G 分子的量測結果。SiC 基板上控制鍍銀厚度為 30nm 時，拉曼散射的表面增強效應最佳；TiN 基板上控制鍍銀厚度為 40nm 時為最佳。



3. 本實驗製備的偵測基板對於 Rhodamine 6G 分子的偵測極限約為 $1 \times 10^{-6} M$ ，意即利用拉曼散射的表面增強效應能偵測濃度 $1 \times 10^{-6} M$ 以上之稀薄 Rhodamine 6G 分子溶液，可偵測出明顯的特徵峰值而判定其為 Rhodamine 6G 分子，其中又以 $1 \times 10^{-5} M$ 的效果最佳。

4. 待測分子於偵測基板的吸附時間對於表面增強效應會產生影響，因吸附時間不同決定基板上分子數量的多寡。SiC 及 TiN 基板均以浸泡 30 分鐘所吸附之分子數量為最適當，偵測效果最佳。

第六章 參考文獻

- [1] M. Fleischman, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, *Chem. Phys. Lett.*, 26, 163 (1974)
- [2] Robert E. Reed-Hill and Reza Abbaschian, *Physical Metallurgy Principles*, 3rd edition
- [3] A. Smekal, *Naturwissenschaften*, 11, 873 (1923)
- [4] C. V. Raman and K. S. Krishnan, *Nature*, 122, 169 (1928)
- [5] Skoog, " *Principles of Instrumental Analysis* " , 5th edition
- [6] 陳明傑, 銀微粒之拉曼強化效應, (1994)
- [7] 吳國禎, 分子振動光譜學概論, (2001)
- [8] H. M. Cheng, F. Li, and G. Su, *Appl. Phys. Lett.*, 72, 3282, (1998)
- [9] 許以明, “拉曼光譜及其在結構生物學中的應用”, (2005)
- [10] A. T. Tu, “ *Raman spectroscopy in biology: principles and applications* ” , (1982)
- [11] 程光煦, “拉曼 布里淵散射” 2nd edition, (2007)
- [12] F. S. Parker, “ *Applications of Infrared, Raman, and Resonance Raman Spectroscopy in Biochemistry* ” , Plenum Press, New York, (1983)

- [13] T. M. Theophanides, “*Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Molecules*”, D. Reidel Publishing company, (1978)
- [14] 黃銘峰, 李昆鴻, 林宗宏, 江政剛, 張煥宗, 科儀新知, 三十卷一期, 86, (2008)
- [15] D. L. Jeanmaire and R. P. Van Duyne, *J. Electroanal. Chem.*, 84, 1 (1977)
- [16] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, *Phys. Rev. Lett.*, 76, 2444, (1996)
- [17] K. Kneipp, *Exp. Tech. Phys.*, 36, 161, (1998)
- [18] J. T. Golab, J. R. Sprague, K. T. Carron, G. C. Schatz, and R. P. Van Duyne, *J. Chem. Phys.*, 88, 12, 7942 (1988)
- [19] M. G. Albrecht and J. A. Creighton, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 5215 (1977)
- [20] S. V. Gaponenko, A. A. Gaiduk, O. S. Kulakovich, N. D. Strekal, O. A. Prokhorov, and V. M. Shelekhina, *JETP Lett.*, 74, 6, 309, (2001)
- [21] I. Nabiev, R. G. Efremov, and G. D. Chumanov, *Usp. Fiz. Nauk*, 154, 459 (1988) [Sov. Phys. Usp., 31, 241 (1988)]

- [22] A. Feofanov, E. Ianoul, E. Kryukov, *et al.*, *Anal. Chem.*, **69**, 3731 (1997)
- [23] M. Kahl, E. Voges, S. Kostrewa, *et al.*, *Sens. Actuators B*, **51**, 285 (1998)
- [24] W. Kim, V.P. Safonov, V.M. Shalaev, and R.L. Armstrong, *Phys. Rev. Lett.*, **82**, 4811 (1999)
- [25] A.M. Michaels, M. Nirmal, and L.E. Brus, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 9932 (1999)
- [26] A. Bachakashvilli, S. Efrima, B. Katz, and Z. Priel, *Chem. Phys. Lett.*, **94**, 571, (1983)
- [27] B. Pettinger, *Chem. Phys. Lett.*, **110**, 576, (1984)
- [28] K. Kneipp, Y. Wang, H. Kneipp, L.T. Perelman, I. Itzkan, R.R. Dasari, and M.S. Feld, *Phys. Rev. Lett.*, **78**, 1667, (1996)
- [29] C.J.L. Constantino, T. Lemma, P.A. Antunes, and R. Aroca, *Anal. Chem.*, **73**, 3674, (2001)
- [30] Z.Q. Tian, B. Ren, and D.Y. Wu, *J. Phys. Chem. B*, **106**, 9463, (2002)
- [31] J.R. Krenn, A. Hohenau, G. Schider, A. Leitner, and F.R.

- Ausseneegg, *Phy. Rev. B*, **71**, 045430, (2005)
- [32] J. R. Krenn, A. Hohenau, G. Schider, A. Leitner, and F. R. Ausseneegg, *J. Chem. Phys.*, **122**, 011102 (2005)
- [33] K. Kneipp, H. Kneipp, V. B. Kartha, R. Manoharan, G. Deinum, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, *Phys. Rev. E: Stat. Phys., Plasmas, Fluids, Relat. Interdiscip. Top.*, **57**, R6281 (1998)
- [34] K. Kneipp, H. Kneipp, G. Deinum, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, *Appl. Spectrosc.*, **52**, 175 (1998)
- [35] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.*, **4258**, 50, (2001).
- [36] J. P. Kottmann, O. J. F. Martin, D. R. Smith, and S. Schultz, *Chem. Phys. Lett.*, **341**, 1, (2001)
- [37] R P. Van Duyne, J. C. Hulteen, and D. A. Treichel, *J. Chem. Phys.*, **99**, 1 (1993)
- [38] S. Nie and S. R. Emory, *Science*, **275**, 1102, (1997)
- [39] S. R. Emory and S. Nie, *Anal. Chem.*, **69**, 2631 (1997)
- [40] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, *Chem. Rev. (Washington, D.C.)*, **99**, 2957, (1999)

- [41] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan et al. *J. Phys. : Condens. Matter*, **14**, R597, (2002)
- [42] 楊志林, 吳德印, 任斌, 周海光, 田中群, 光譜學與光譜分析, 第 24 卷第 6 期, 682~685, (2004)
- [43] 林宏基, 對表面增強拉曼散射中電磁效應的實驗探討, 碩士論文, (1985)
- [44] F. J. Garcia-Vidal and J. B. Pendry, *Phy. Rev. Lett.*, **77**, 1163, (1996)
- [45] 陳立偉, 銀奈米微粒的拉曼強化效應, 碩士論文, (2005)
- [46] Tuan Vo-Dinh, *trends in analytical chemistry*, **17**, 557, (1998)
- [47] S. W. Joo, S. W. Han, and K. Kim, *Appl. spectrosc.*, **54**, 378, (2000)
- [48] K. C. Lee, M. R. Chen, and W. H. Li, *Chinese J. Phys.*, **35**, 289, (1997)
- [49] C. D. Keating, K. M. Kovaleski and M. J. Natan, *J. Phys. Chem. B*, **102**, 9404, (1998)
- [50] N. R. Isola, D. L. Stokes and T. Vo-Dinh, *Anal. Chem.*, **70**, 1352, (1998)

- [51] T. Vo-Dinh, D. L. Stokes, G. D. Griffin, M. Volkman, U. J. Kim and M. I. Simon, *J. Raman Spectrosc.*, **30**, 785, (1999)
- [52] K. Kneipp, Y. Wang, R. R. Dasari and M. S. Feld, *Spectrochim. Acta A*, **51**, 481, (1995)
- [53] J. Thornton and R. K. Force, *Appl. Spectrosc.*, **45**, 1522, (1991)
- [54] R. Sheng, F. Nii and T. M. Cotton, *Anal. Chem.*, **63**, 437, (1991)
- [55] R. C. Maher, L. F. Cohen, P. Etchegoin, *Chem. Phys. Lett.*, **352**, 378, (2002)
- [56] G. S. S. Saini, Sarpreet Kaur, S. K. Tripathi, C. G. Mahajan, H. H. Thanga, A. L. Verma, *Spectrochimica Acta Part A*, **61**, 653, (2005)
- [57] 劉育伶, ”介孔分子篩 MCM-48 之時間鑑別光激螢光研究”, 中原大學電子工程學系, 民國 93 年
- [58] C. Rado, S. Kalogeropoulou, N. Eustathopoulos, *Materials Science and Engineering A*, **276**, 195, (2000)
- [59] S. V. Dudy and B. I. Lundqvist, *Phy. Rev. B*, **69**, 125421, (2004)

[60] Ping Xiao and Brian Derby, *Acta mater.*, **44**, 1, 307, (1996)

[61] Peter Hildebrandt and Manfred Stockburger, *J. Phys. Chem.*,

88, 5935, (1984)

