
鉛離子之金奈米粒子感測器

劉鎮宇¹ 邱泰嘉¹ 張志聰² 胡焯淳^{1*}

¹ 國立臺東大學 應用科學系

² 國立臺東高級中學

壹、前言

重金屬污染是常見的新聞議題。重金屬會透過飲食、呼吸或是直接接觸等路徑進入人體，但是重金屬不像體內的其他毒素可以在肝臟分解與代謝，再排出體外。它極易囤積在大腦和腎臟等器官，漸進式的破壞身體的正常功能。常見的重金屬包括：汞、金、鉻、銅、鎘、鋅和鉛等。鉛汙染對人體所造成的危害，也都是社會大眾關注的議題。鉛進入人體的途徑有許多，如：油性油漆，這些防鏽的油漆中會檢測出含有碳酸鉛、鉻酸鉛及氧化鉛。許多流行病學調查顯示，土壤中的鉛含量大於 500 ppm 以上，居住在此的孩童及居民的血鉛濃度比正常人偏高許多。近期的報導也指出市面上販售的幾種塑膠時用器材，免洗碗、吸管和咖啡攪拌棒，進行重金屬含量檢測，發現其中的一些彩色吸管及咖啡攪拌棒等六樣商品鉛和鎘含量超過標準值。消基會表示黃色和橘色塑膠吸管含有鉛金屬，長期使用對腦神經會造成嚴重的傷害。

近年來金奈米奈米感測器已被廣泛的應用在檢測重金屬，本教材本教材主要為將金奈米粒子 (gold nanoparticles, AuNPs)

表面修飾不同官能基的分子或酵素進行特定的物質的偵測，相關的研究皆顯示具有很好的選擇性及靈敏度。取材于近期的研究成果經過簡化並重新開發設計為高中生或一般大學部學生可操作之實驗課程，可簡便的測出環境中鉛的含量，進而引領學生關注自己的生活環境，提升學子的環保意識。

貳、目的

本實驗利用金奈米粒子的特殊光學性質，藉由金奈米粒子溶液聚集程度不同時，所造成的顏色變化，開發鉛離子金奈米感測器，並用於偵測基質溶液中鉛離子 (Pb^{2+}) 的濃度。將金奈米粒子表面修飾具有硫醇及羧基官能基之特殊分子，增加金奈米粒子對鉛離子的選擇性及偵測靈敏度。整個實驗所需的時間大約為一個半小時，學生能夠在實驗的過程中充分瞭解金奈米粒子特殊的光學性質，並可輕易的以肉眼觀察金奈米粒子溶液聚集時顏色的變化，藉由學習使用紫外線/可見光吸收儀的操作方式及儀器原理，進行鉛離子濃度的定量。

參、原理

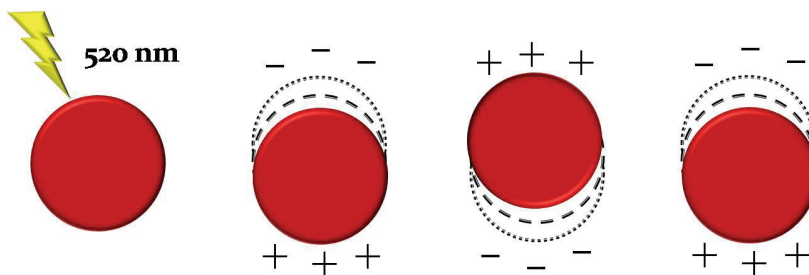
*為本文通訊作者

一、表面電漿共振

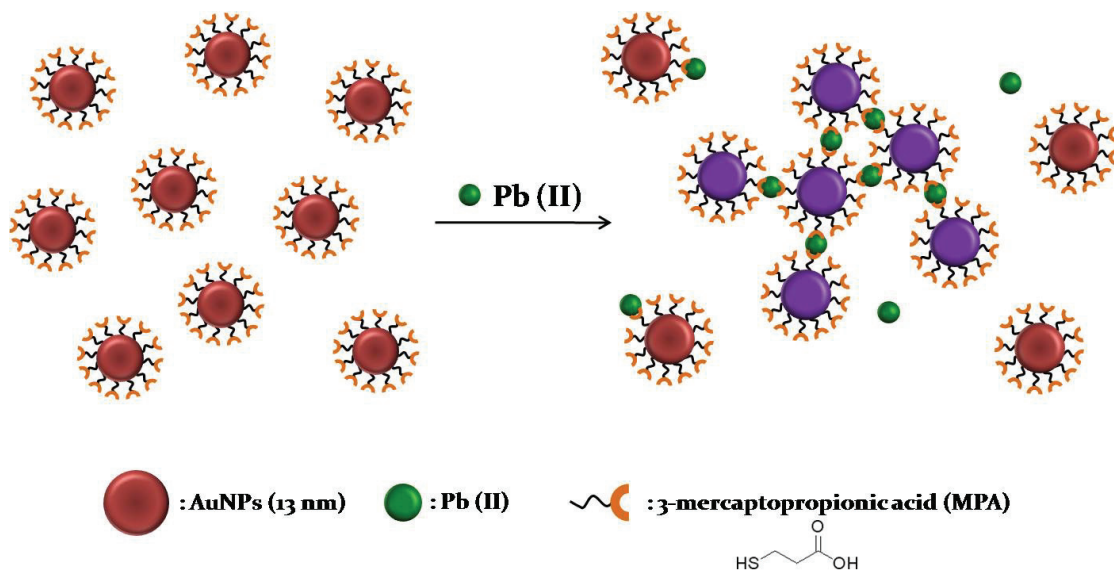
塊材金屬或是較大奈米粒子其傳導帶及價帶能隙很小，因此可以視為連續能階，故不需外加額外的能量，能在常溫下發生電子的躍遷現象。電磁波除了能使自由電子產生電子躍遷的作用外，還有另一項重要的吸收方式稱為「表面電漿共振 (surface plasma resonance, SPR)」，當奈米粒子與外來電場(如：電磁波)作用時，表面的自由電子受到電場的誘導而發生波動，我們稱這些自由的電子為表面電漿，表面電漿的震盪會沿著表面傳遞。在金屬奈米粒子的均勻球型電場下，表面的自由電子會開始平均分散使粒子的整體偶極為零。外來電場誘導表面電子偏移使得粒子整體偶極發生改變，電子因原子核的正電吸引使得偏移的電子回到原本的狀態(圖一)。金奈米粒子的 SPR 波長約在 520 nm 於可見光的區域，其溶液會呈現酒紅色。

二、感測器之機制

根據文獻所知，金與硫會形成金硫鍵，因此將金奈米粒子表面修飾上 3-硫醇丙酸(MPA)，此分子除了具有與金產生鍵結之硫醇官能基外，另一端具有羧基官能基，因此鍵結後能增加金奈米粒子表面的負電荷，有效提升金奈米粒子的耐鹽程度。當溶液中加入鉛離子時，金奈米粒子表面的辨識分子(MPA)藉由其羧基端與鉛離子結合，溶液中鉛離子濃度愈高，吸附鉛離子的金奈米粒子因為表面電荷的減少，而聚集在一起。當金奈米粒子尺寸因聚集而愈來愈大時，導致表面電漿共振的特殊吸收峰會開始往紅位移的方向移動(圖二)。由原本的特徵吸收波長 520 nm 位移至 650 nm，經過紫外線/可見光吸收儀的偵測下，藉由 650 nm/520 nm 吸收值的比值正比於鉛濃度進行鉛離子的偵測。



圖一、電磁波與奈米粒子表面自由電子及體共振產生 SPR 吸收。



圖二、修飾 3-硫醇丙酸的金奈米粒子偵測鉛離子示意圖。(a) 未加鉛離子 (b) 加入鉛離子後金奈米粒子產生聚集的現象。

肆、材料與藥品

0.1 M 四氯金酸溶液	500 μ L
4 mM 三鈉檸檬酸鹽溶液	50 mL
500 mM Tris-borate (TB) (pH 9.0)	100 mL
1 M 硝酸鉛溶液	1 mL
10 mM 3-硫醇丙酸(MPA)	1 mL
圓底雙頸瓶	1 個
冷凝管	1 支
迴流裝置	1 組
電磁加熱攪拌器	1 台
磁攪拌子	1 個
紫外線/可見光吸收儀	1 台

攪拌子先浸泡王水以除去所含之金屬離子。使用加熱迴流系統加熱 50 mL 4 mM 之三鈉檸檬酸鹽溶液置於加熱攪拌器上至沸騰後，快速加入 500 μ L 0.1 M 的四氯金酸至沸騰的檸檬酸鈉溶液中，持續攪拌 15 分鐘後，將熱源移開並將金奈米粒子溶液置於冰浴中冷卻至室溫。反應時溶液的顏色會從原本的透明無色轉變為酒紅色。使用穿透式電子顯微鏡(TEM)及紫外線/可見光吸收儀(圖三) 鑑定。此方法合成的金奈米粒子大小為 13 nm，濃度為 15 nM，將金奈米粒子溶液保存在 4°C 冰箱中。

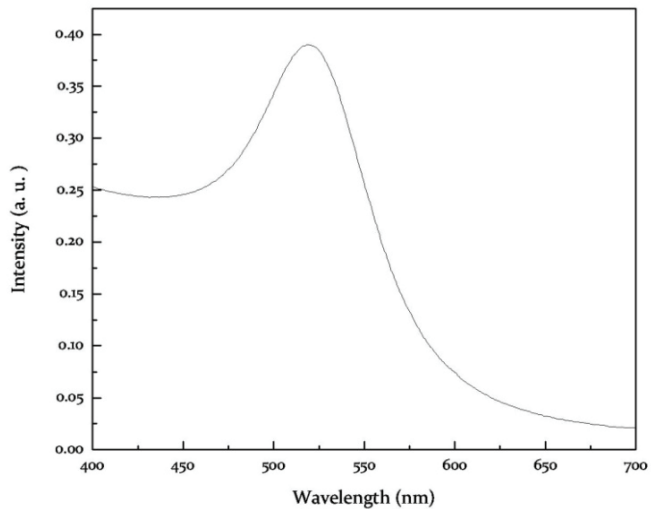
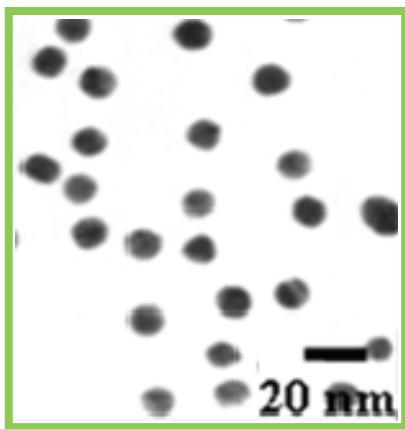
伍、實驗步驟

一、金奈米粒子之合成與鑑定

由於金奈米粒子之合成環境要求高，因此在合成前通常將圓底雙頸瓶及磁

二、金奈米粒子之表面修飾

取出 990 μ L 金奈米粒子溶液與 10 μ L 10-3 M 之 3-硫醇丙酸混和後，持續反應 24 小時。修飾後的 MPA-AuNPs 利用離



(a)

(b)

圖三、金奈米粒子的(a)電子顯微鏡圖與(b)紫外光/可見光吸

心機轉速為 7500 rpm 離心 20 分鐘進行純化兩次，並將金奈米粒子回溶於 4 mM 的檸檬酸鈉鹽溶液中，保存於 4°C 冰箱中。

三、比色法偵測鉛離子

溶液中依序加入 350 μ L 二次水、50 μ L Tris-borate 緩衝液(pH 9.0, 500 mM)及 50 μ L 5 nM MPA-AuNPs，加入不同濃度的 Pb^{2+} (150-500 μ M) 50 μ L，將溶液均勻混合後置於攪拌台上反應時間為一個小時，之後取 500 μ L 的溶液利用紫外線/可見光吸收儀進行偵測，並根據 650 nm/520 nm 之比值判斷 Pb^{2+} 濃度在此系統下的變化。

四、真實樣品分析

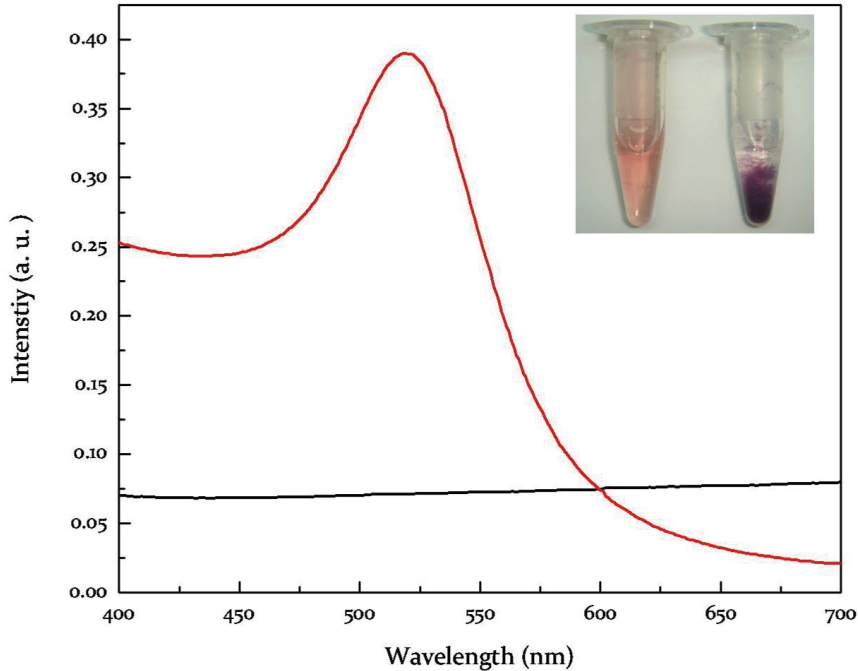
首先將湖水樣品以 0.22 μ m 濾膜過濾，再將湖水樣品 25 μ L 及鉛離子標準品 (150-300 μ M) 50 μ L 靜置混合 15 分鐘

後，依序加入 325 μ L 二次水、50 μ L Tris-borate 緩衝液(pH 9.0, 500 mM)、50 μ L 5 nM MPA-AuNPs，將溶液混合均勻置於攪拌台上攪拌反應一小時後，取 500 μ L 的溶液利用紫外線/可見光吸收儀進行偵測。

陸、實驗教學過程檢討與建議

一、觀察感測器機制

為了證實本實驗的假設，於是設計兩組實驗進行初步的對照觀察。一組實驗為在 TB 緩衝溶液(pH 9.0, 50 mM)中只含有 MPA-AuNPs (0.5 nM)，另外一組則是在緩衝液中混合 MPA-AuNPs (0.5 nM)及 Pb^{2+} (1 mM)，置於攪拌台上攪拌反應一個小時後進行偵測。發現在有 Pb^{2+} 存在時，AuNPs 的特徵吸收波長(520 nm)消失如圖四所示。藉由這樣的結果，初步證實利用此 MPA 修飾的金奈米粒子偵測 Pb^{2+} 是可行的。



圖四、兩組實驗之吸收光譜圖，紅色為原本金奈米粒子容易的吸收光譜圖，黑色為添加 1 mM Pb^{2+} 金奈米粒子容易的吸收光譜圖。附圖中左邊為感測器中未加 Pb^{2+} 之顏色，右邊為感測器內加入濃度為 1 mM 鉛溶液後聚集沉澱後的情形。

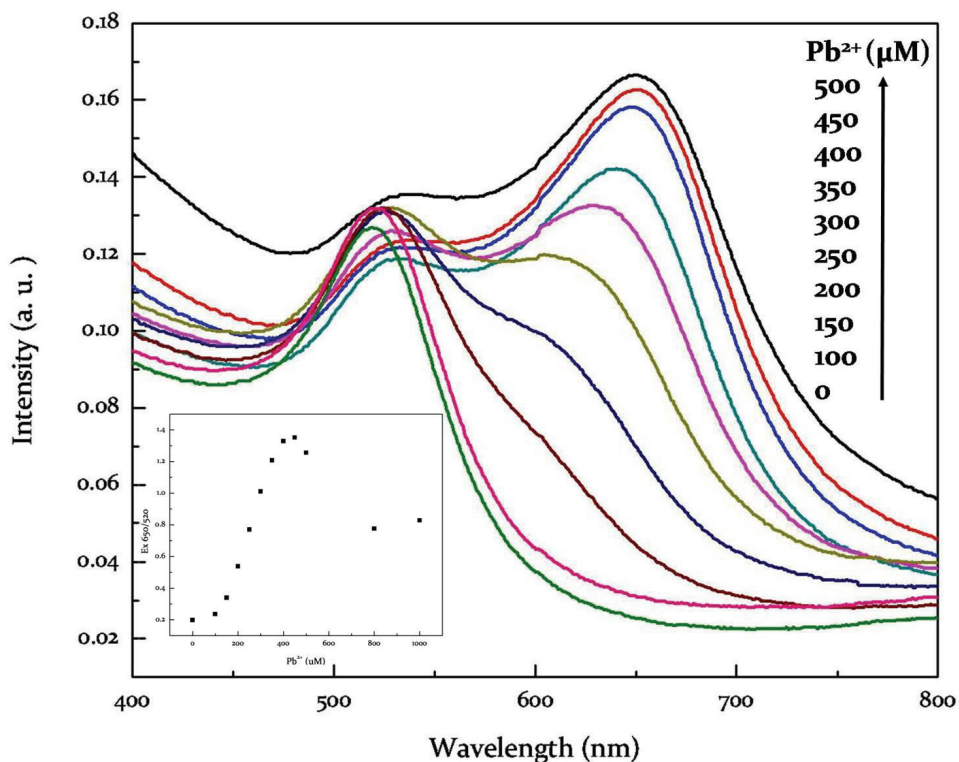
二、感測器偵測 Pb^{2+}

利用最佳化條件 MPA-AuNPs (0.5 nM)、TB 緩衝液(pH 9.0, 50 mM)，進行鉛離子的偵測，結果如圖五所示我們偵測 Pb^{2+} 的線性範圍為 150-400 μM ，可以看出隨著鉛濃度的增加，吸收有逐漸往紅位移的方向移動，且由 650 nm/520 nm 之比值上面可以得到一個明顯的趨勢，證明此感測器能夠準確的偵測鉛離子。在附圖裡我們看到線型圖在鉛離子濃度過高時，650 nm/520 nm 之比值會有明顯的下降現象，因為當鉛離子濃度高於 500 μM 時金奈米粒子聚集程度逐漸嚴重，產生大量的金奈

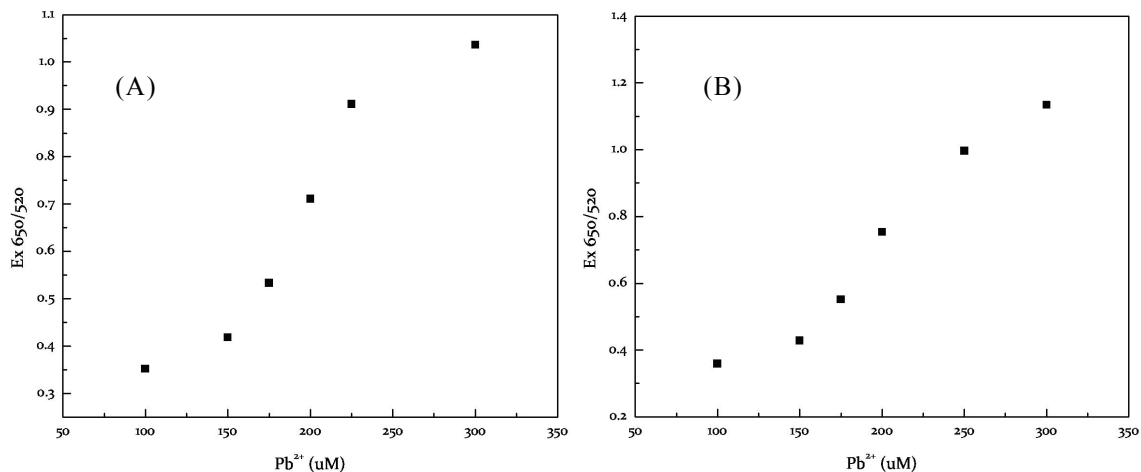
米粒子沉澱及懸浮於離心管中，導致吸收值無法維持線性。

三、偵測真實樣品中的鉛離子

真實樣品取自台東大學知本校區靜心湖以及自來水，利用標準添加法加入鉛離子濃度(150-300 μM)反應 15 分鐘後，加入二次水、TB 緩衝液(pH 9.0, 50 mM)及 MPA-AuNPs (0.5 nM)，置於攪拌台上攪拌反應一個小時後。實驗的結果如圖六所示，可以發現在湖水及自來水的基質中，鉛離子的偵測線性範圍為 150-300 μM 。



圖五、MPA-AuNPs (0.5 nM)在加入鉛離子(150-400 μ M)反應後的吸收光譜圖。附圖為 MPA-AuNPs 對鉛離子之 650 nm/520 nm 比值。



圖六、真實樣品偵測鉛(A)靜心湖樣品；(B)自來水樣品，利用標準添加法加入鉛標準溶液濃度為 150-300 μ M、Tris-borate 緩衝液(pH 9.0, 50 mM)及 MPA-AuNPs (0.5 nM)。

柒、結論

本實驗利用簡單的方法，有效的進行基質溶液中鉛離子之濃度的偵測。首先在金奈米粒子表面修飾 3-硫醇丙酸，藉由其特殊的羧基官能機能夠有效的辨識溶液中鉛離子。當金奈米粒子表面的 3-硫醇丙酸與鉛離子作用之後，造成金奈米粒子的表面電荷減少，使金奈米粒子產生聚集的現象。利用聚集的程度與鉛離子濃度成正比，得到此金奈米粒子感測器的線性範圍為 150-300 μM ，並能偵測真實樣品中的鉛離子。學生可以在此實驗中瞭解奈米感測器的相關知識，金奈米粒子的特殊光學性質及認識紫外線/可見光吸收儀，瞭解如何操作及其工作原理，未來我們將繼續測試不同含鉛的真實樣品與改變奈米粒子上修飾的分子，期望能夠將線性範圍擴大與專一性的辨識。

致謝

本研究承蒙行政院國家科學委員會經費補助 (NSC 97-2627-M-143-001-)，特此致謝。

參考文獻

- Liu, J. & Lu, Y. (2004) Accelerated color change of gold nanoparticles assembled by DNAzymes for simple and fast colorimetric Pb^{2+} detection. *Journal of the American Chemistry Society* 126, 12298-12305.
- Liu, J. & Lu, Y. (2005) Stimuli-responsive disassembly of nanoparticle aggregates for light-up colorimetric sensing. *Journal of the American Chemistry Society*. 127, 12677-12683.
- Huang, C.-C. & Chang, H.-T. (2005). Selective gold nanoparticle-based "turn-on" fluorescent sensors for rapid detection of mercury(II) in aqueous solution. *Analytical Chemistry* 78, 8332-8338.
- Huang, C.-C. & Chang, H.-T. (2007). Parameters for selective colorimetric sensing of mercury(II) in aqueous solutions using mercaptopropionic acid-modified gold nanoparticles. *Chemical Communication*, 1215-1217.