

# 中華民國第 62 屆中小學科學展覽會 作品說明書

---

高級中等學校組 化學科

## 探究精神獎

050213

「銀」光閃閃—魯米諾發光與奈米金屬增強效應

學校名稱：高雄市立高雄高級中學

作者：  高二 謝承磬  高二 蕭皓澤  高二 林子翔	指導老師：  顏瑞宏  謝宜和
---	-----------------------------

關鍵詞：奈米金屬、魯米諾、螢光增強劑

編

## 摘要

本實驗探討 luminol(又稱魯米諾、發光胺)-  $H_2O_2$ -  $K_3[Fe(CN)_6]$ 化學冷光系統在不同氧化劑( $H_2O_2$ )濃度、催化劑( $K_3[Fe(CN)_6]$ )濃度、pH 值和溫度下，對 luminol 發光現象的影響，並加入奈米金屬(奈米銀、奈米銅、奈米氧化鐵)探討其在反應中扮演何種角色。我們以自製螢光偵測裝置蒐集數據，發現奈米金屬可作為此發光系統的催化助劑(catalytic promoter)，並進一步探討最佳濃度和溫度條件，其中奈米銀展現最佳的增強效果，同時討論奈米金屬增強發光的機制。

## 壹、前言

### 一、研究動機

在看 CSI 犯罪現場時，常看到刑事人員用一種特殊藥劑辨識現場中的血液痕跡，上網查資料後得知是 luminol 與血液反應後發光，但往往因 luminol 發光時間及發光強度不夠，需要大量噴灑 luminol 增強，我們想利用現有知識改進發光效益，而以往的作品多半改變多種催化劑來觀察 luminol 發光強度之變化，卻幾乎未跨足奈米領域，於是我們想探討奈米金屬在 luminol 發光系統中扮演的角色與影響。

### 二、研究目的

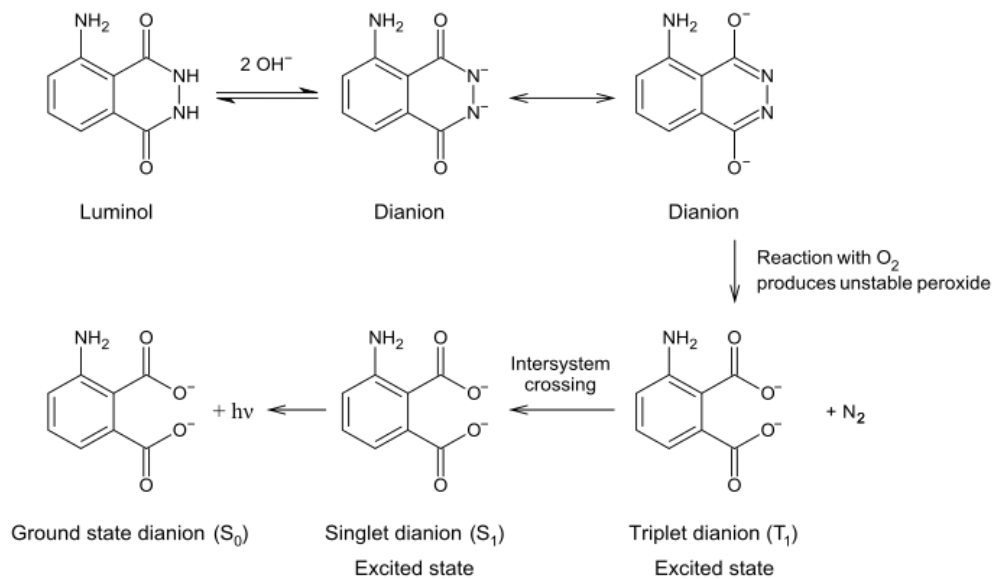
- (一) 自製螢光偵測裝置紀錄 luminol 發光強度與時間
- (二) 合成奈米金屬(奈米銀、奈米銅和奈米氧化鐵)
- (三) 探討濃度因素(雙氧水和赤血鹽)對 luminol 發光現象的影響
- (四) 探討試劑體積因素對 luminol 發光現象的影響
- (五) 探討 pH 值因素對 luminol 發光現象的影響
- (六) 探討奈米金屬濃度對 luminol 發光現象的影響
- (七) 探討溫度因素對 luminol 發光現象的影響
- (八) 探討奈米金屬對 luminol 發光機制的影響

### 三、文獻回顧

- (一) 化學冷光與 Luminol 發光機制(參考資料一、二)

化學冷光定義為透過化學反應產生的能量，將發光分子的基態電子躍遷至激發

態，而當激發態電子回到基態時會伴隨能量以光的形式釋出，此放射出的光即為化學冷光。luminol 是常見的化學冷光試劑之一，廣泛地應用於檢驗犯罪現場血跡之存在，其中以 luminol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-催化劑發光系統在鹼性水溶液中的應用最廣泛，luminol 的發光機制如下圖，透過催化劑分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 產生 O<sub>2</sub>，其中催化劑可為酵素和金屬離子，接著 O<sub>2</sub> 氧化 luminol 的雙陰離子成激發態，隨後回到基態放出波長 425nm 的藍光(圖一)(參考資料一)。



圖(一)

## (二) 放光強度與反應速率(參考資料二)

放光強度計算公式： $I_{CL} = \phi_{CL} \times \frac{dC}{dt}$

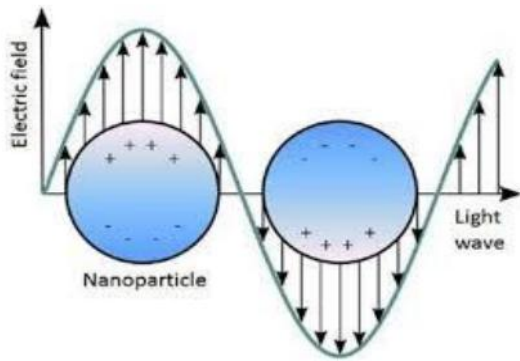
1.  $I_{CL}$ :放光強度(放射光子數/秒)
2.  $\phi_{CL}$ :量子產率(放射光子數/反應分子數)
3.  $dC/dt$ :化學反應速率(反應分子數/秒)

由上述公式可知放光強度正比於反應速率，因此可藉由偵測 luminol 放光強度的變化，定量地應用於分析物濃度的改變。

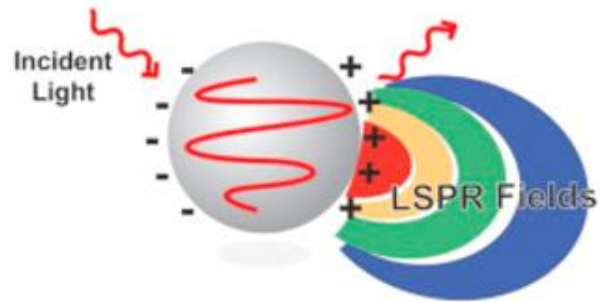
## (三) 奈米金屬螢光增強效應(參考資料三、四、五)

當金屬進到奈米尺度會有許多特性的改變，諸如表面效應使表面原子擁有高活性，而奈米金屬螢光增強效應可從局部場增強效應、能量轉移效應和輻射速率增減看起，

局部表面電漿共振是奈米金屬的非定域電子瞬間極化產生不均勻的電子雲密度(圖二)(黃珮瑜, 2020), 在庫倫力作用下電子雲集體震盪使電場局部性增強, 此種共振模式如同駐波形式可儲存能量。當入射光頻率和奈米金屬表面自由電子頻率相近, 螢光分子會在奈米金屬表面附近受到電場的耦合作用增加其發光強度, 此即局部場增強效應(圖三)(黃珮瑜, 2020)。

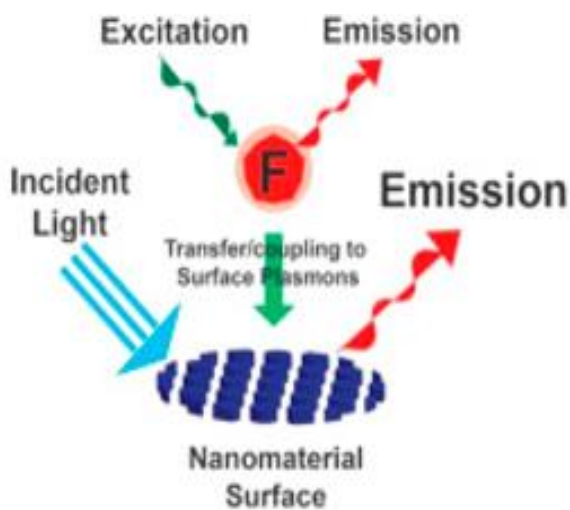


圖(二)

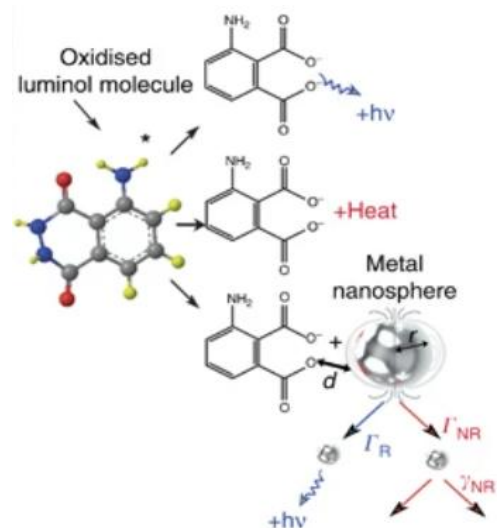


圖(三)

而能量轉移效應(圖四)( YoonJeong et al., 2018)受電場強度和光譜重疊程度影響, 當重疊程度越大對螢光有愈顯著的增強, 另外奈米金屬也會使螢光分子輻射速率和量子產率增加(圖五)(Karabchevsky et al., 2016), 其中距離為奈米金屬螢光增強效應最重要的變因, 距離過近會產生螢光猝滅, 距離過遠則會使增強效應不顯著, 因此將透過實驗找出最佳濃度, 等效於螢光分子與奈米金屬在溶液中的最佳距離。



圖(四)



圖(五)

## 貳、研究設備及器材

### 一、 器材

燒杯、容量瓶、分度吸量管、滴管、比色管、磁石加熱攪拌器、攪拌子、電子天平、刮勺、 樣品瓶、橡皮塞、自製暗箱、光敏電阻偵測裝置(2.3 歐姆)、恆溫水浴槽、照度計 (TES-1334N 數位式照度計)、筆電、酸鹼度計、分光光度計、鋁箔紙

### 二、 藥品

#### (一) Luminol 實驗用

發光胺 Luminol、赤血鹽  $K_3[Fe(CN)_6]$ 、氫氧化鈉 NaOH、雙氧水  $H_2O_2$

#### (二) 奈米製程

##### 1. 奈米銀

硝酸銀  $AgNO_3$ 、檸檬酸鈉  $Na_3C_6H_5O_7$ 、硼氫化鈉  $NaBH_4$ 、溴化十六烷基三甲銨 PVP

##### 2. 奈米銅

醋酸銅  $Cu(CH_3COO)_2$ 、四級銨鹽、乙二胺四乙酸二鈉 EDTA-2Na、 硼氫化鈉  $NaBH_4$

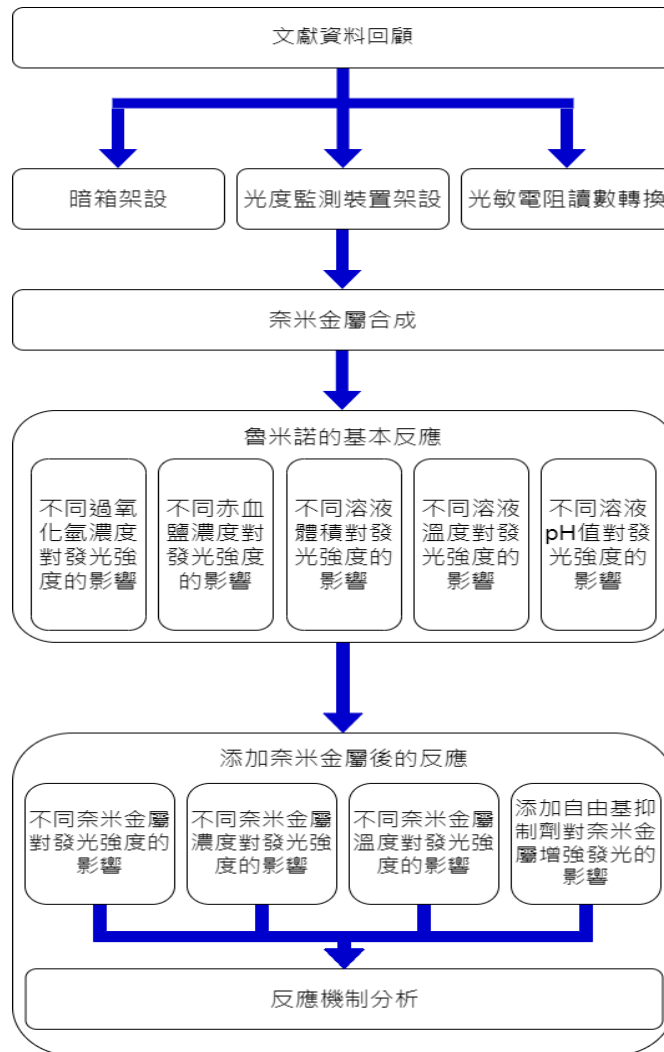
##### 3. 奈米氧化鐵

氯化亞鐵  $FeCl_2$ 、氯化鐵  $FeCl_3$ 、鹽酸 HCl、氫氧化鈉 NaOH、溴化十六烷基三甲銨 CTAB

#### (三) 其他藥品

D-甘露醇 D-mannitol

## 參、研究過程或方法



### 一、 自製發光強度偵測裝置

#### (一) 暗箱製作

1. 選取適當紙箱，並將接口處以膠帶黏接，避免外界光源影響實驗結果(圖六)
2. 內箱:43.3cm×31.3cm×23.0cm，外箱:52.9cm×49.3cm×55.8cm



圖(六)

3. 吸光塗料:將市面上吸光塗料均勻塗於內箱上，經實測獲得良好效果(以手機為光源，並以市售光度計測量亮度，結果如下表)

	無吸光塗料	有吸光塗料
測量亮度(勒克斯 Lux)	90.1	10.3

## (二) 光度計、光敏電阻讀數與 Lux 轉換

原本以市售光度計測量 luminol 發光亮度，但因光度計精度不足，改以光敏電阻(搭配 Arduino)，而輸出數值並非公制單位，故設計讀數與 Lux 轉換以利後續呈現光敏電阻讀數與 Lux 轉換:

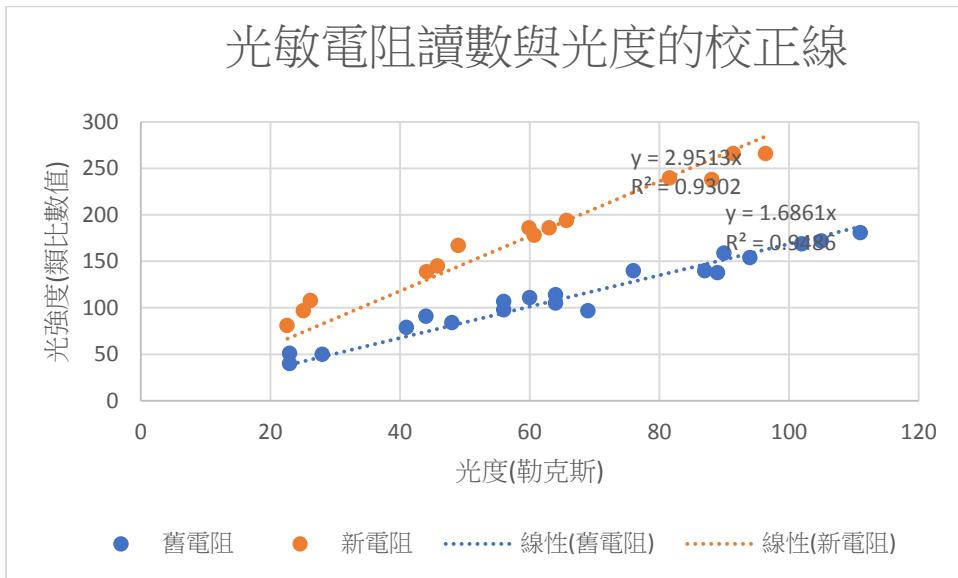
1. 取內壁塗上吸光塗料的暗箱，在兩對面對應位置各鑽一洞，並驗證兩洞在同一直線上，且平行暗箱的一邊。關閉環境光源進行實驗。
2. 在其中一個洞以光源(在此選用手機照明和手電筒)貼在洞口向暗箱內發光，另一洞口以光敏電阻原件感光，並將測得的數值換入電腦記錄。
3. 以同一光源照射，但將另一洞口改用照度計測量，並記錄測得的實際照度(單位: Lux)
4. 更換其他光源，重複進行步驟 2~3。
5. 將測得單種光源的兩種測量數據繪製於圖上



圖(七)



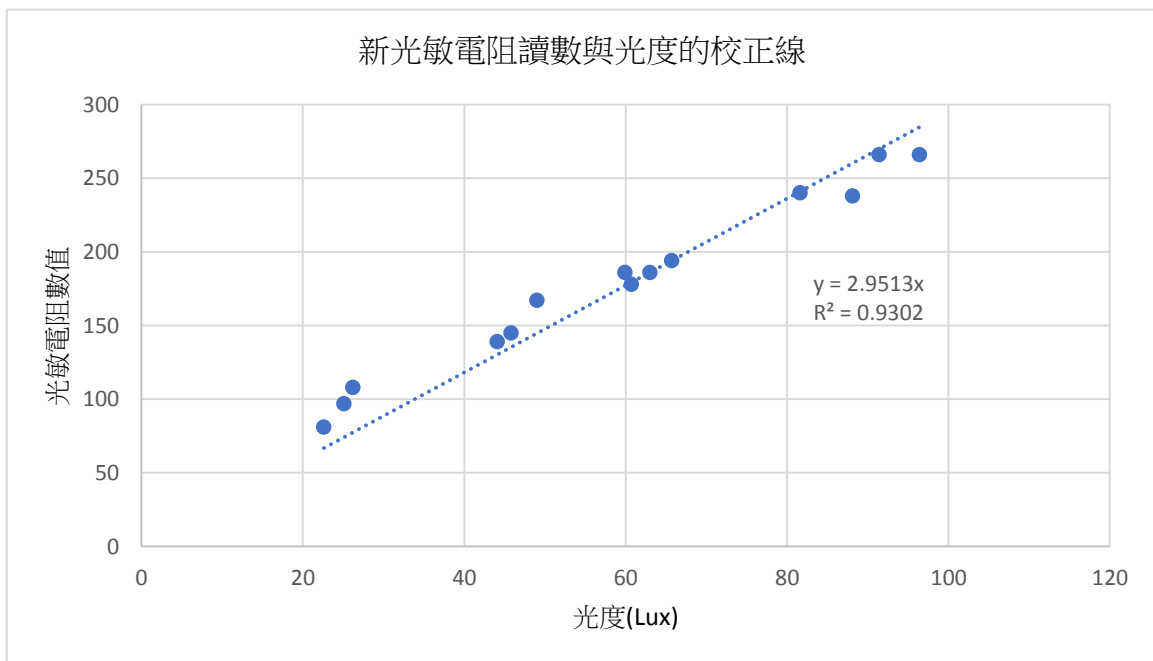
圖(八)



圖(九)

### (三) 光敏電阻更換:

完成光敏電阻讀數與 Lux 轉換後，我們發現原有的 **arduino** 裝置不夠靈敏，故更換電阻，將數值差異放大，結果如圖(十)。



圖(十)

如圖可知，原有電阻可將勒克斯數值放大 1.686 倍，而新電阻可將勒克斯數值放大 2.951 倍，故後續實驗數據採用新電阻轉換公式，以利結果呈現。

### (四) 程式碼(見附錄)



## 二、以化學還原法合成奈米金屬

### (一) 合成奈米銀(參考資料六)

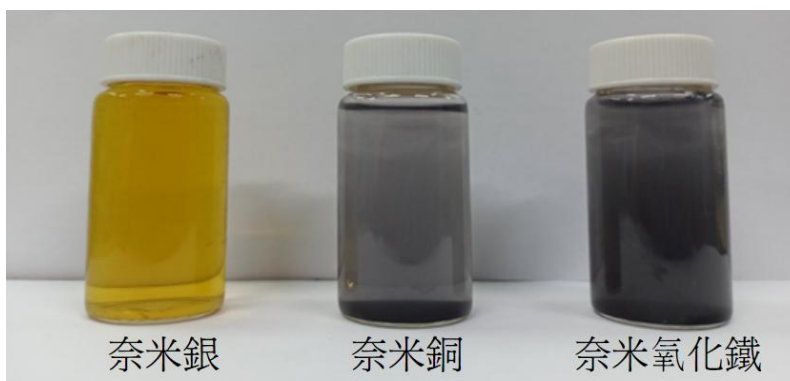
1. 配製硝酸銀溶液  $10^{-3}\text{M}$ 、檸檬酸鈉溶液  $2\times 10^{-3}\text{M}$ 、氫硼化鈉溶液  $2\times 10^{-3}\text{M}$ 。
2. 以分度吸量管吸取硝酸銀溶液 5ml 至包裹鋁箔紙的容量瓶中。
3. 吸取檸檬酸鈉溶液 5ml 和氫硼化鈉溶液 5ml 至容量瓶中。
4. 將容量瓶中的溶液倒入燒杯並加水至 250ml。
5. 放在磁石攪拌器上定速攪拌兩分鐘。
6. 加入聚乙烯吡咯烷酮 PVP 作為保護劑，放入樣品瓶保存。

### (二) 合成奈米銅(參考資料七)

1. 配製醋酸銅溶液  $5\times 10^{-3}\text{M}$ 、EDTA 溶液  $10^{-2}\text{M}$ 、氫硼化鈉溶液  $6\times 10^{-2}\text{M}$ 。
2. 加入醋酸銅溶液 100ml、EDTA 溶液 50ml 和氫硼化鈉溶液 50ml 至燒杯中。
3. 燒杯置於冰浴( $5^{\circ}\text{C}$ )一小時。
4. 加入四級銨鹽作為保護劑，放入樣品瓶保存。

### (三) 合成奈米氧化鐵 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ (參考資料八、九)

1. 配置氫氧化鈉溶液 2M 和鹽酸溶液 2M
2. 取氯化鐵 3.30g 和氯化亞鐵 8.620g 加入燒杯中。
3. 於燒杯中加入鹽酸溶液 41.25ml
4. 將 240ml 氫氧化鈉溶液滴入溶液中並攪拌。
5. 放在磁石攪拌器上定速攪拌一小時。
6. 加入 CTAB 作為保護劑，放入樣品瓶保存。



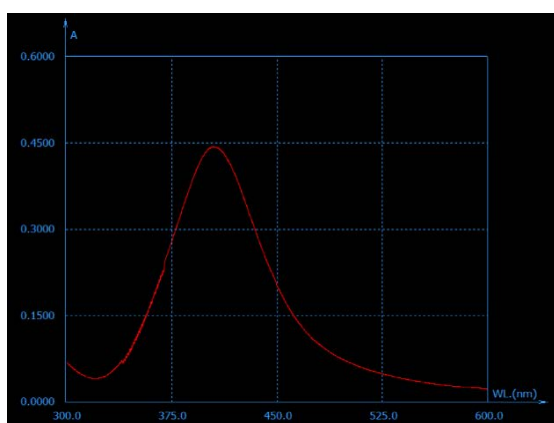
圖(十一)各奈米金屬外觀圖。

#### (四) 濃度計算

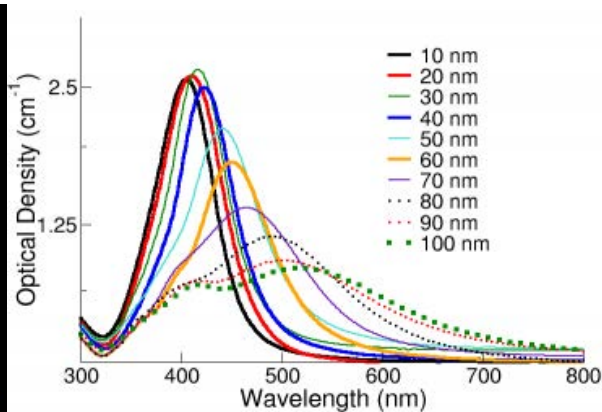
由於奈米金屬之表面電漿共振效應會吸收特定波段，因此能以 UV-Visible spectrometer 測量合成之奈米金屬粒徑大小，由於缺少各奈米金屬不同粒徑的吸收係數資料，因此無法以比爾定律代入計算。將奈米金屬粒子近似為球形估算單位溶液體積內的粒子數。以奈米銀為例，圖(十二)為 UV-Visible spectrometer 測量奈米銀的吸收光波段，再由圖(十三)(Paramelle et al., 2014)可對應找出奈米銀的粒徑，最後帶入濃度計算公式：

$$\text{濃度計算公式: } C = \frac{6W}{\pi R^3 D N_A V}$$

C:濃度 W:金屬質量 R:金屬粒徑 D:金屬堆積密度 V:溶液體積  $N_A:6.022 \times 10^{23}$



圖(十二)



圖(十三)

#### (五) 計算結果:

1. 奈米銀:粒徑 30nm，濃度  $C = \frac{6 \times 10^{-3} \times 0.005 \times 107.87}{3.141 \times (3 \times 10^{-6})^3 \times 0.312 \times 6.022 \times 10^{23} \times 0.25} = 8.1 \times 10^{-10} \text{M}$
2. 奈米銅:粒徑 30nm，濃度  $C = \frac{6 \times 5 \times 10^{-3} \times 0.1 \times 63.55}{3.141 \times (3 \times 10^{-6})^3 \times 0.35 \times 6.022 \times 10^{23} \times 0.2} = 5.3 \times 10^{-8} \text{M}$
3. 奈米氧化鐵:粒徑 70nm，濃度  $C = \frac{6 \times 3.1}{3.141 \times (7 \times 10^{-6})^3 \times 0.84 \times 6.022 \times 10^{23} \times 0.28} = 1.2 \times 10^{-7}$
4. 後續實驗將使用此三種奈米金屬溶液，並配置成不同濃度進行反應。

### 三、 收集 Luminol 發光強度數據

#### (一) Luminol 的基本反應

### 1-1. 不同赤血鹽濃度對 luminol 發光現象的影響

(1) 配置下表中的各溶液，並以微量滴管依下表所示吸取特定體積溶液：

赤血鹽濃度和 lumi-nol 濃度比	1.0:3.0	1.0:2.5	1.0:2.0	1.0:1.5	1.0:1.0	1.5:1.0	2.0:1.0
赤血鹽溶液(M)	0.0013	0.0016	0.0020	0.0027	0.0040	0.0060	0.0081

(2) 取 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混合水溶液 1.0ml 和水 0.5ml 在比色管內充分混合

(3) 將 1.5ml 各濃度赤血鹽水溶液以滴管從同高度滴入上述溶液中並測量光敏電阻數據

### 1-2. 不同雙氧水濃度對 luminol 發光現象的影響

(1) 取 luminol 0.2g、氫氧化鈉 0.998g 配製成 7 瓶 5ml 水溶液

(2) 取赤血鹽 0.1g 配製成 100ml 水溶液

(3) 配製 0.25%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5% 的過氧化氫溶液各 5ml

(4) 使 luminol 和氫氧化鈉混和水溶液和各濃度過氧化氫溶液充分混合

(5) 將赤血鹽水溶液滴入上述溶液中並測量光敏電阻數據

### 1-3. 不同總溶液體積對 luminol 發光現象的影響

(1) 依下表配製各組溶液：

	1.0 毫升組	1.5 毫升組	2.0 毫升組	2.5 毫升組	3.0 毫升組
0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混合水溶液	0.33ml	0.50ml	0.66ml	0.83ml	1.00ml
0.006M 赤血鹽水溶液	0.50ml	0.75ml	1.00ml	1.25ml	1.50ml
水	0.16ml	0.25ml	0.33ml	0.41ml	0.50ml

(2) 將赤血鹽水溶液滴入各組 luminol、氫氧化鈉和雙氧水混合水溶液中，並測量光敏電阻數據。

#### 1-4. 不同溫度對 luminol 發光現象的影響

- (1) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混合水溶液、0.006M 赤血鹽水溶液、及水放入恆溫水浴槽，並分別加熱至 20°C、30°C、40°C、50°C、60°C。
- (2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混合水溶液共 1.0ml 與水 0.5ml 充分混合。
- (3) 將赤血鹽水溶液 1.5ml 加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據

#### 1-5. 不同 pH 值對 luminol 發光現象的影響

- (1) 依下表配製各組溶液：

x	pH=13	pH=13.25	pH=13.5	pH=13.75	pH=14
0.023M luminol、xM 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混和水溶液	0.10M	0.17M	0.32M	0.56M	1.00M

- (2) 將 0.006M 赤血鹽水溶液滴入各組 luminol、氫氧化鈉和雙氧水混合水溶液中，並測量光敏電阻數據。

### (二) 添加奈米金屬的 Luminol 發光增強實驗

#### 2-1. 奈米金屬作為催化劑對 luminol 發光現象的影響。

- (1) 配置  $10^{-10}$ M 之奈米銀、奈米銅、奈米氧化鐵和 0.006M 赤血鹽水溶液。
- (2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水之混合水溶液共 1.0ml 與水 0.5ml 充分混合。
- (3) 將  $10^{-10}$ M 之奈米銀、奈米銅、奈米氧化鐵溶液或 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 分別加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據

#### 2-2. 不同奈米金屬濃度對 luminol 發光現象的影響

- (1) 配置  $0.0625 \times 10^{-10}$ M、 $0.125 \times 10^{-10}$ M、 $0.25 \times 10^{-10}$ M、 $0.5 \times 10^{-10}$ M、 $10^{-10}$ M 之奈米銀、奈米銅、奈米氧化鐵溶液。
- (2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水之混合水溶液共 1.0ml 與各濃度奈米金屬溶液 0.5ml 充分混合。

(3) 將 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據

#### 2-3. 不同溫度對添加 $0.25 \times 10^{-10}$ M 奈米銀的 luminol 發光現象的影響

(1) 配置  $0.25 \times 10^{-10}$ M 之奈米銀溶液。

(2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水溶液、 $0.25 \times 10^{-10}$ M 之奈米銀溶液和 0.006M 赤血鹽水溶液在恆溫水浴槽中加熱至 20°C、30°C、40°C、50°C、60°C。

(3) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水之混合水溶液共 1.0ml 與  $0.25 \times 10^{-10}$ M 之奈米銀溶液 0.5ml 充分混合。

(4) 將 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據

#### 2-4. 不同溫度對添加 $0.5 \times 10^{-10}$ M 奈米銅的 luminol 發光現象的影響

(1) 配置  $0.5 \times 10^{-10}$ M 之奈米銅溶液。

(2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、0.5% 雙氧水溶液、 $0.5 \times 10^{-10}$ M 之奈米銅溶液和 0.006M 赤血鹽水溶液在恆溫水浴槽中加熱至 20°C、30°C、40°C、50°C、60°C。

(3) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水之混合水溶液共 1.0ml 與  $0.5 \times 10^{-10}$ M 之奈米銅溶液 0.5ml 充分混合。

(4) 將 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據

#### 2-5. 是否添加自由基抑制劑對無添加奈米金屬的 luminol 發光現象的影響

(1) 配置 50mM 的 D-甘露醇(自由基抑制劑)水溶液。

(2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水之混合水溶液共 1.0ml 與 50mM 的 D-甘露醇水溶液充分混合。

(3) 將 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據。

#### 2-6. 是否添加自由基抑制劑對添加最佳濃度之奈米銀的 luminol 發光現象之影響

(1) 配置  $0.25 \times 10^{-10}$ M 之奈米銀及 50mM 的 D-甘露醇(自由基抑制劑)水溶液。

(2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混合水溶液共 1.0ml 與  $0.25 \times 10^{-10}$ M 之奈米銀及 50mM 的 D-甘露醇水溶液之混合溶液共 0.5ml 充

分混合。

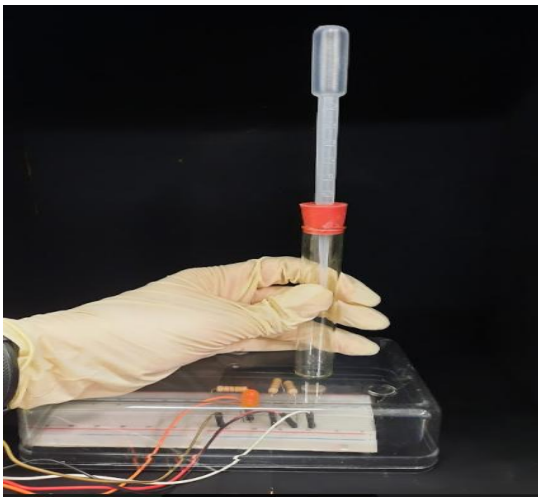
(3) 將 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據。

2-7. 是否添加自由基抑制劑對添加最佳濃度之奈米銅的 luminol 發光現象之影響

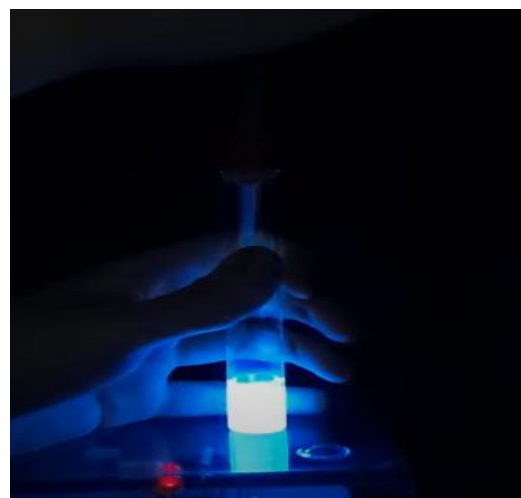
(1) 配置  $0.50 \times 10^{-10}$ M 之奈米銅及 50mM 的 D-甘露醇(自由基抑制劑)水溶液。

(2) 將 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混合水溶液共 1.0ml 與  $0.50 \times 10^{-10}$ M 之奈米銅及 50mM 的 D-甘露醇水溶液之混合溶液共 0.5ml 充分混合。

(3) 將 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 加入上述溶液中，並測量光敏電阻數據。



圖(十四)操作示意圖



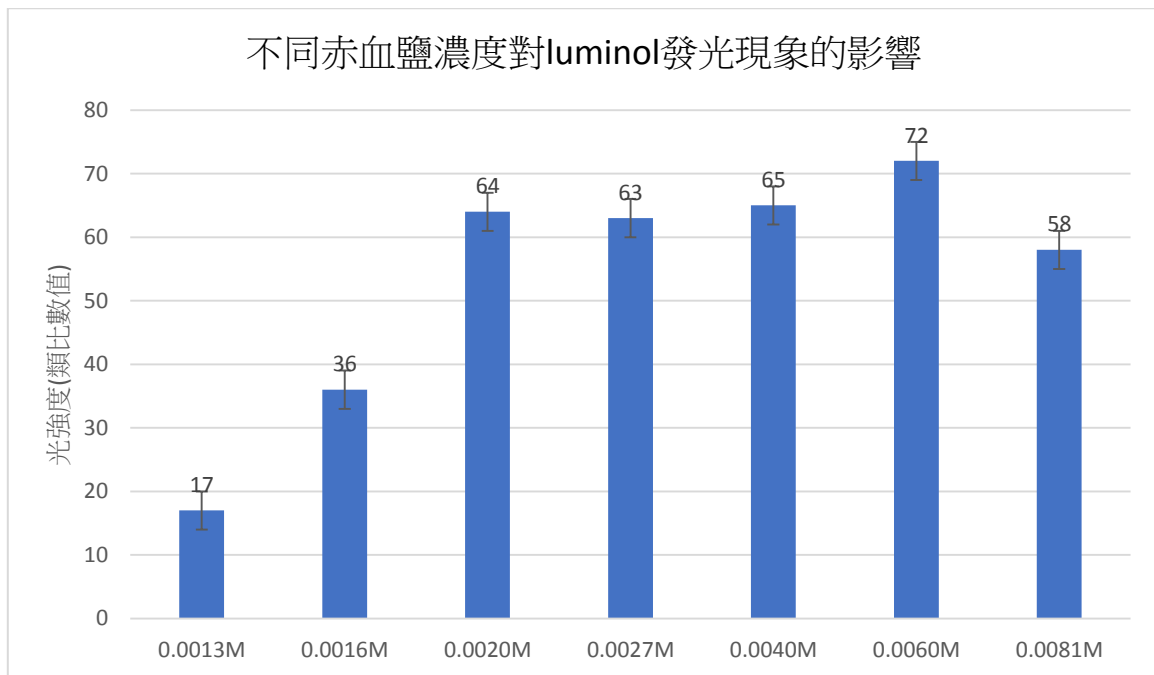
圖(十五)發光示意圖

## 肆、研究結果

### 一、 定義數據判讀

1. 最大發光強度：luminol 溶液在整個發光過程中所達到的最大亮度，對應光敏電阻數值最大值。
2. 發光時間：luminol 溶液發光過程持續的時間，對應光敏電阻數值由第一次出現非 0 數值起，和後來第一次出現數值 0 的前一個數值之間經過的時間。

### 二、 不同赤血鹽濃度對 luminol 發光現象的影響

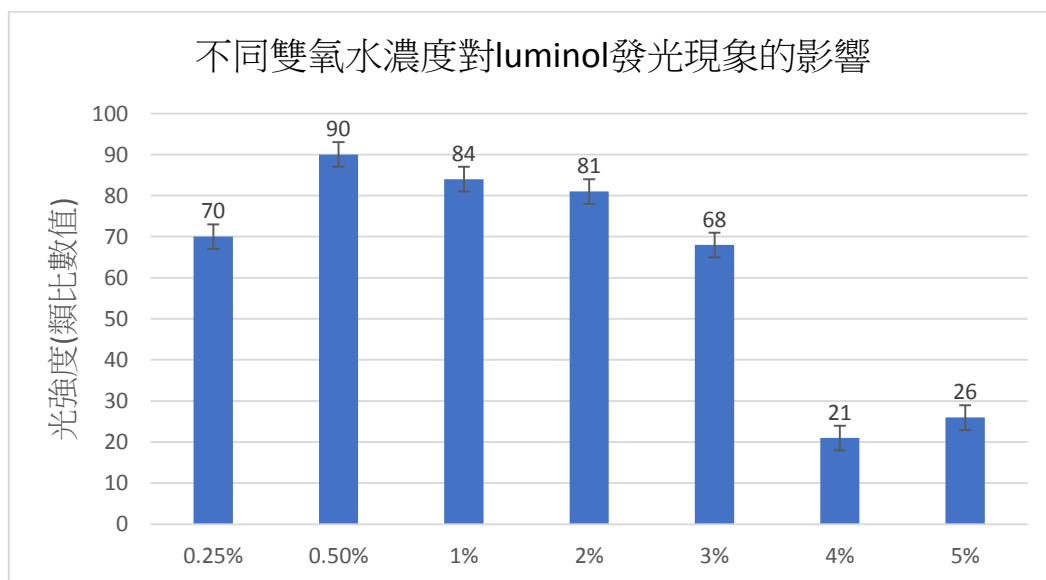


圖(十六)

實驗結果：

1. 以赤血鹽水溶液 0.0060M 組最大發光強度最大，後續實驗以此比例進行。
2. 隨著赤血鹽濃度增加有發光強度增加的趨勢。

### 三、不同雙氧水濃度對 luminol 發光現象的影響

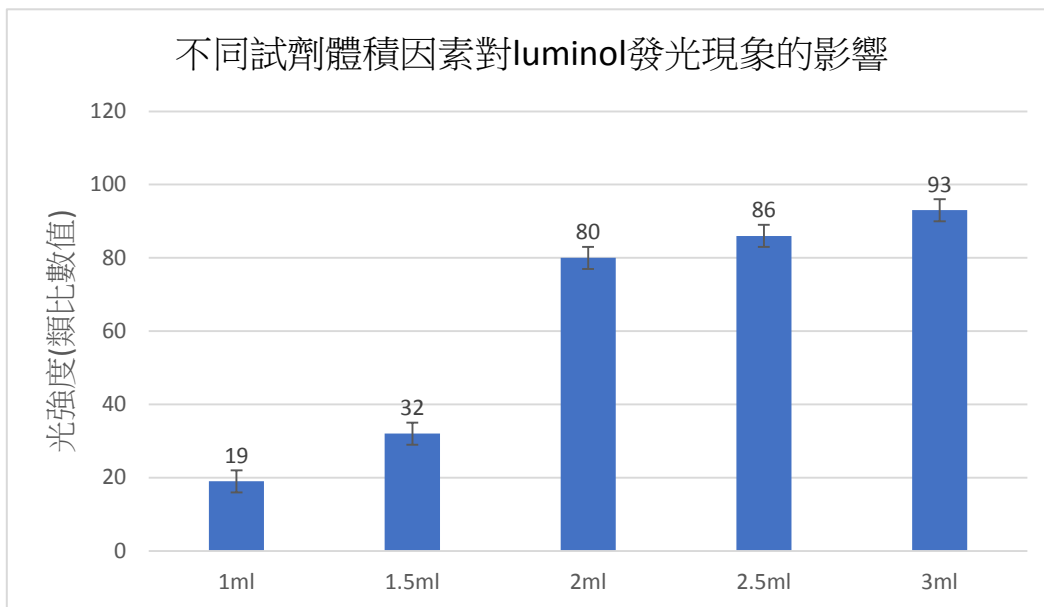


圖(十七)

實驗結果：

以 0.5%過氧化氫溶液組有最大發光強度，後續實驗將以此為濃度配製。

#### 四、不同試劑體積因素對 luminol 發光現象的影響

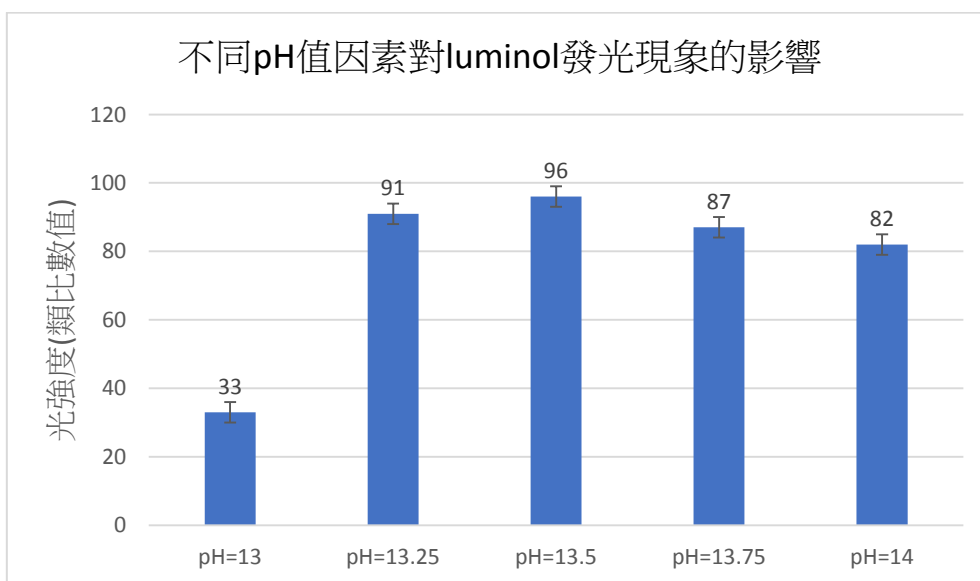


圖(十八)

實驗結果：

隨著試劑體積越大，最大發光強度也越大。往後實驗將以 3ml 為基準進行。

#### 五、不同 pH 值因素對 luminol 發光現象的影響



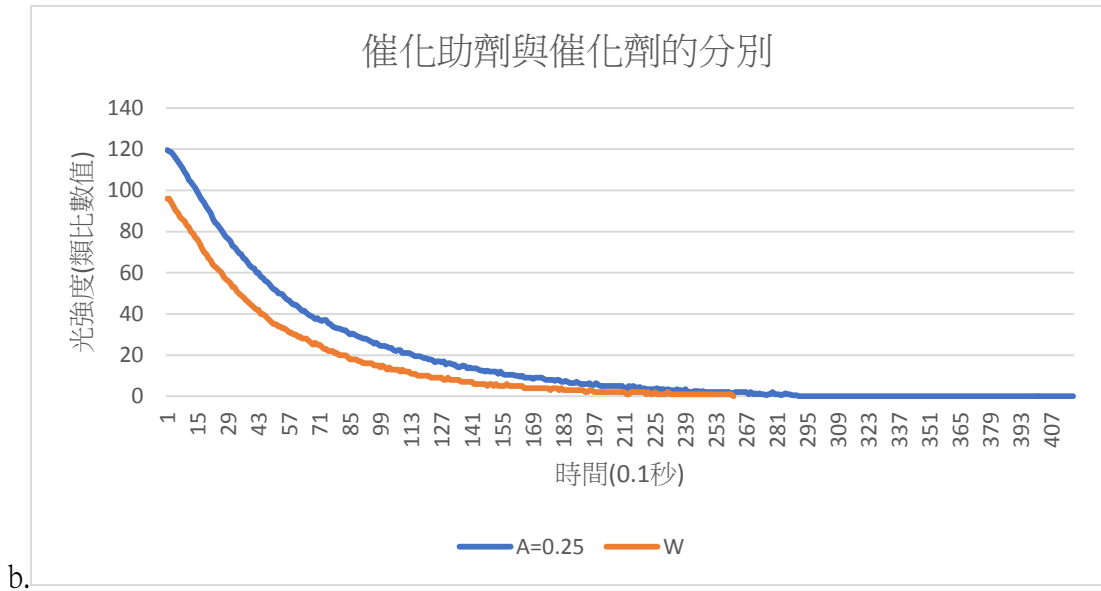
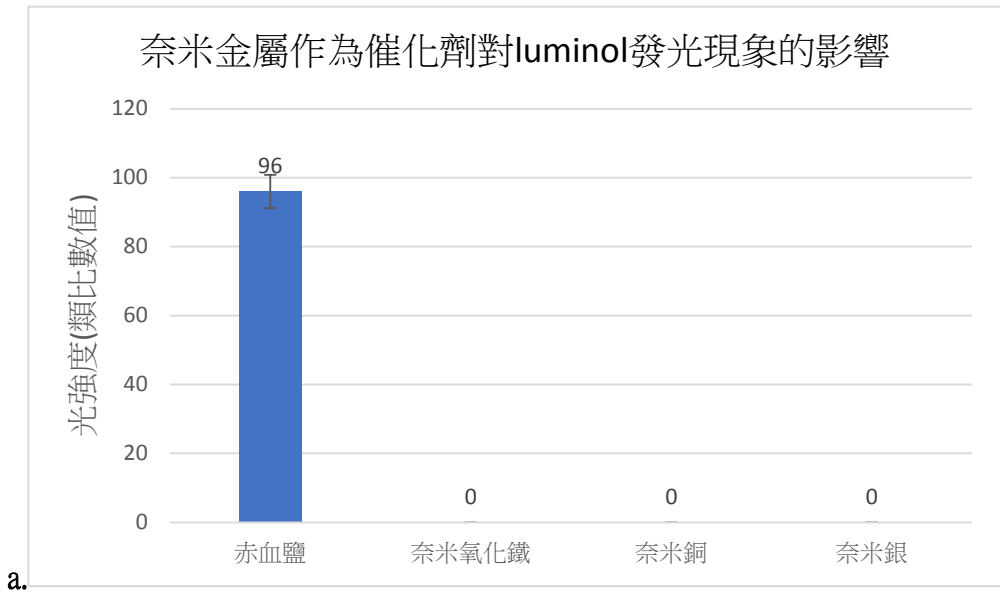
圖(十九)

實驗結果：

最大發光強度以 pH=13.5 組最大，但除 pH=13 組外差距不大。

1. 不同奈米金屬濃度對 luminol 發光現象的影響  
奈米金屬作為催化劑對 luminol 發光現象的影響



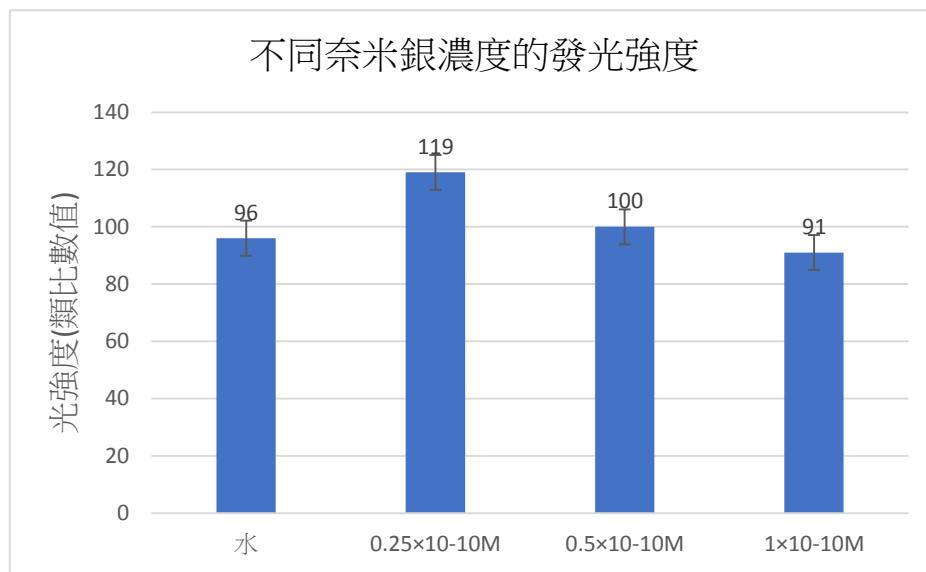


圖(二十)

實驗結果：

由圖(二十)a 可知以奈米金屬取代赤血鹽，將無法觀察到發光反應，表示奈米金屬在 luminol 發光系統中不作為催化劑，後續實驗之唯一催化劑為赤血鹽。而在圖(二十)b 可以觀察到在加入奈米金屬後，催化劑的效果有所增強，故奈米金屬應扮演催化助劑的角色。

## 2. 不同奈米銀濃度的發光強度

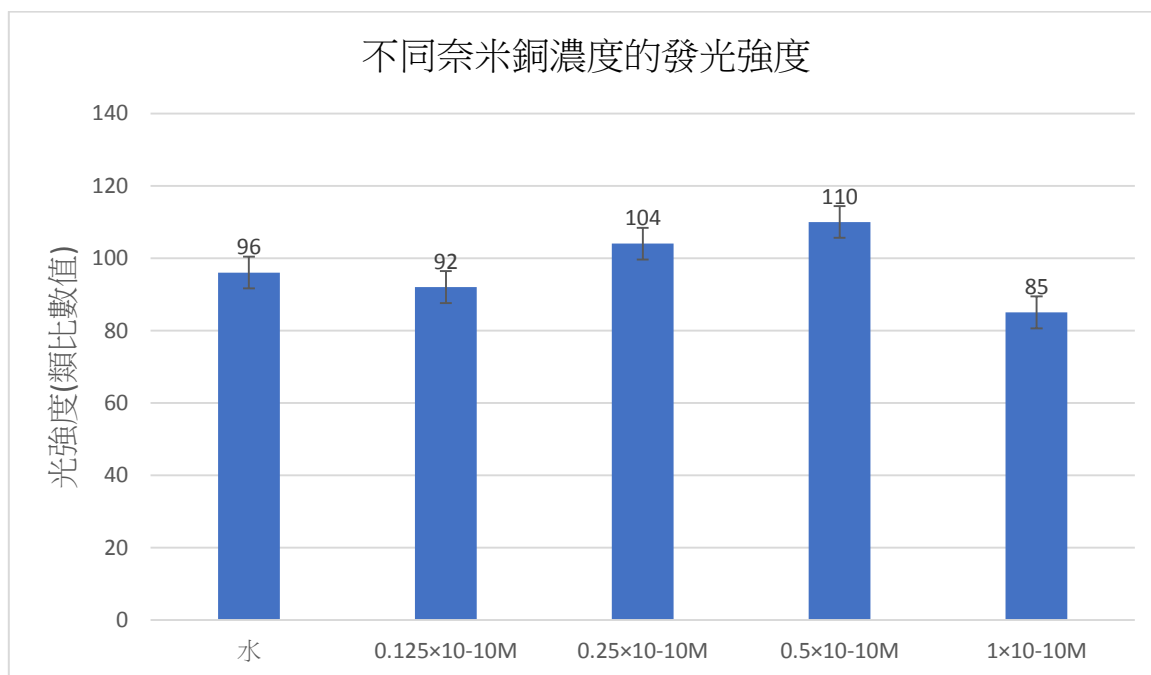


圖(二十一)

實驗結果：

$0.25 \times 10^{-10} \text{M}$  組之奈米銀溶液有最大的發光強度。

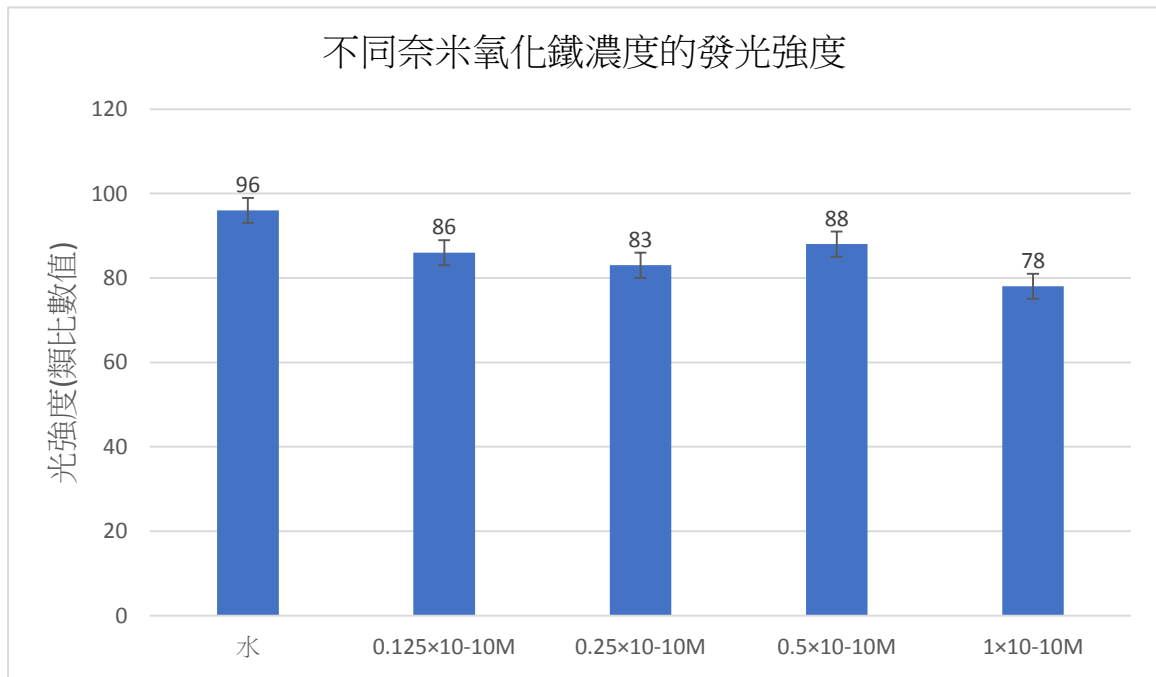
## 3. 不同奈米銅濃度的發光強度



實驗結果：

$0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  組之奈米銅溶液有最大的發光強度。

## 4. 不同奈米氧化鐵濃度的發光強度

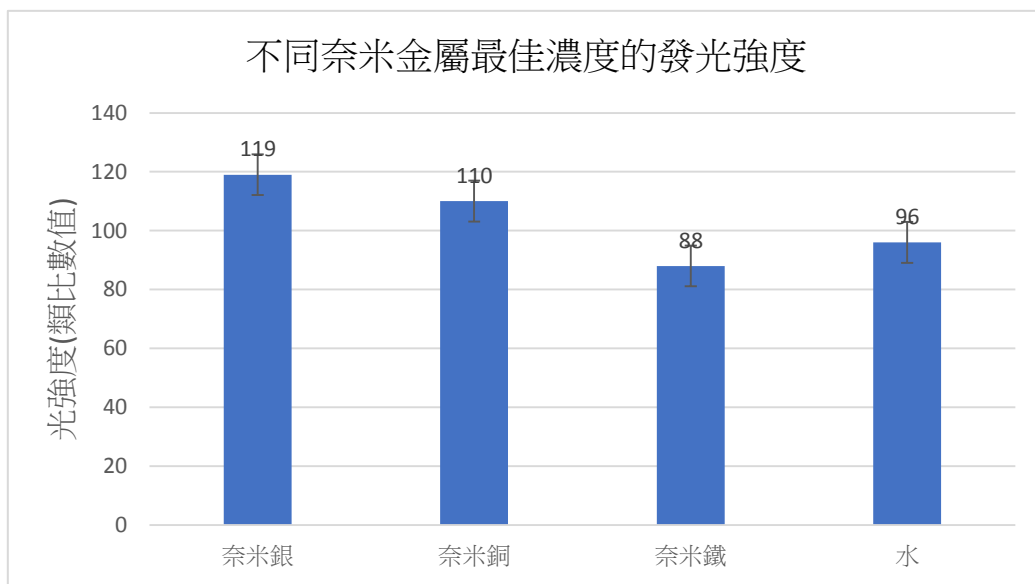


圖(二十三)

實驗結果：

0.5×10<sup>-10</sup>M 組之奈米氧化鐵溶液有最大的發光強度，但與其他組相差不大，增強發光的效果不明顯。

#### 5. 不同奈米金屬最佳濃度的發光強度



	奈米銀	奈米銅	奈米鐵	水
發光強度(類比數值)	119	110	88	96

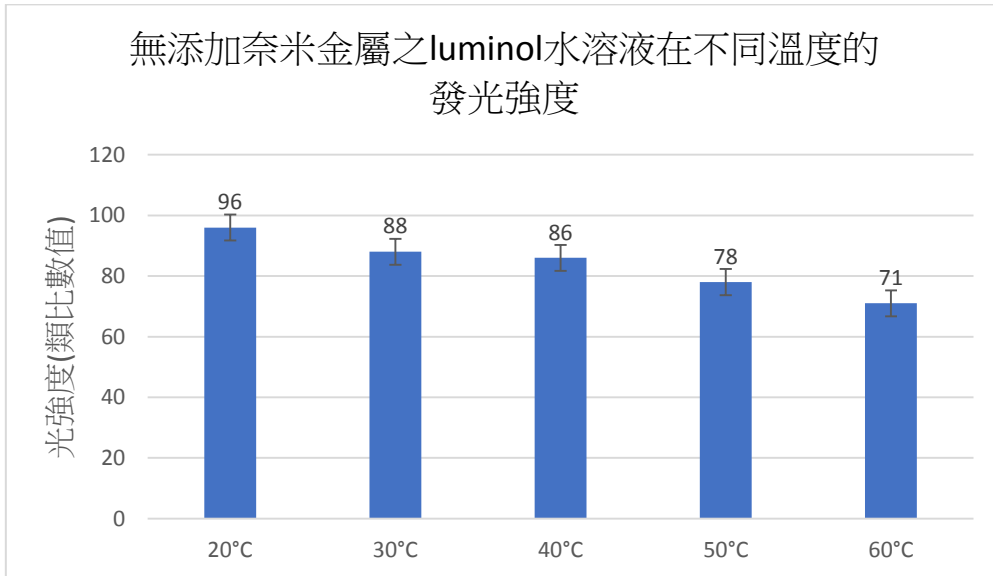
圖(二十四)

實驗結果：

$0.25 \times 10^{-10} \text{M}$  奈米銀溶液有最大的發光強度， $0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  奈米銅溶液次之。

## 六、不同溫度因素對 luminol 發光現象的影響

### 1. 無添加奈米金屬之 luminol 水溶液在不同溫度的發光強度

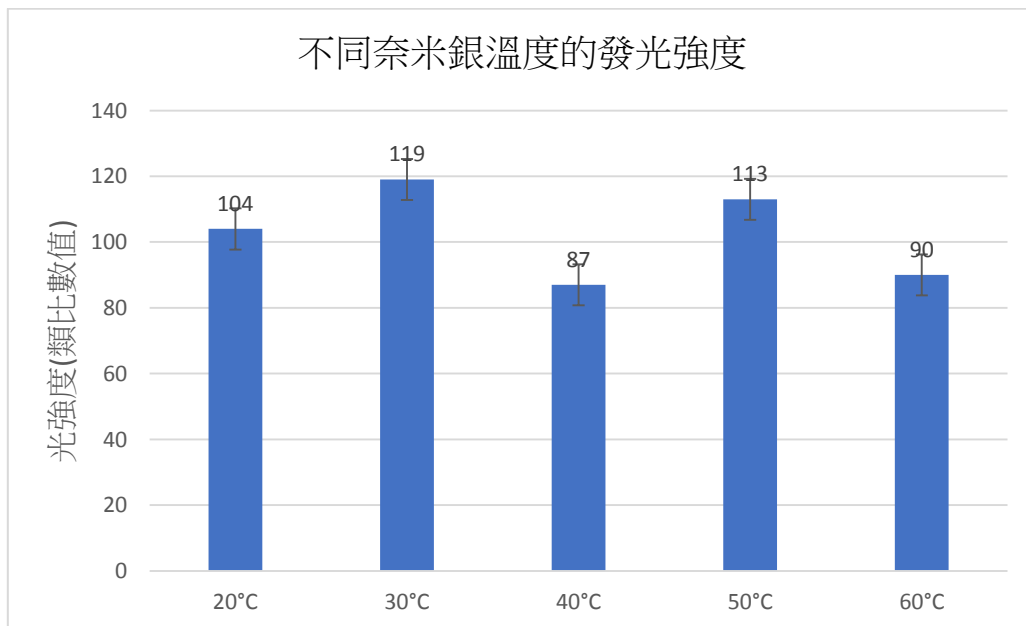


圖(二十五)

實驗結果：

無添加奈米金屬之 luminol 水溶液在 20°C 下有最大的發光強度。

### 2. 不同奈米銀溫度的發光強度

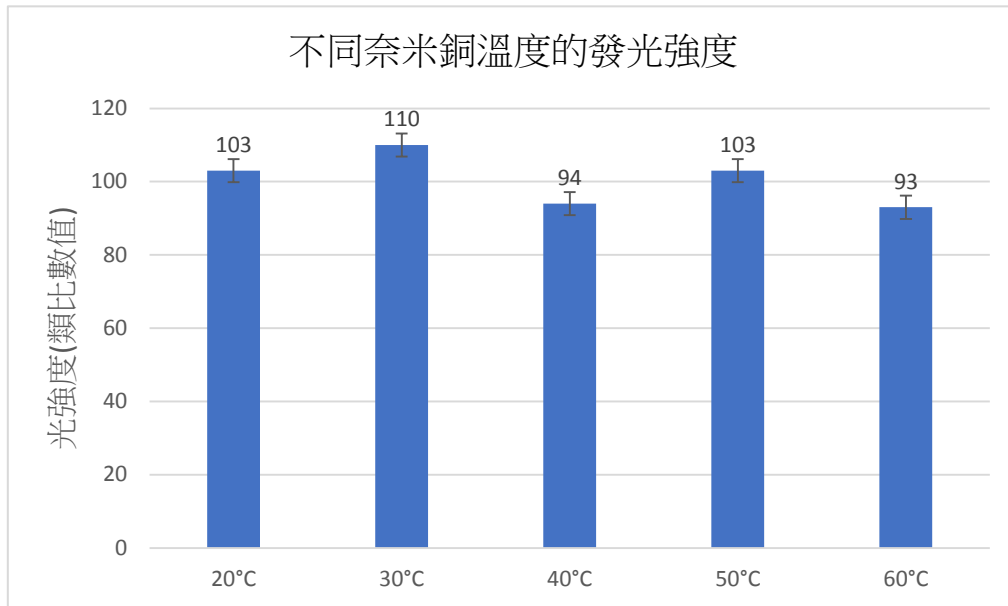


圖(二十六)

實驗結果：

$0.25 \times 10^{-10} \text{M}$  之奈米銀溶液在  $30^\circ\text{C}$  下有最大的發光強度。

3. 不同奈米銅溫度的發光強度

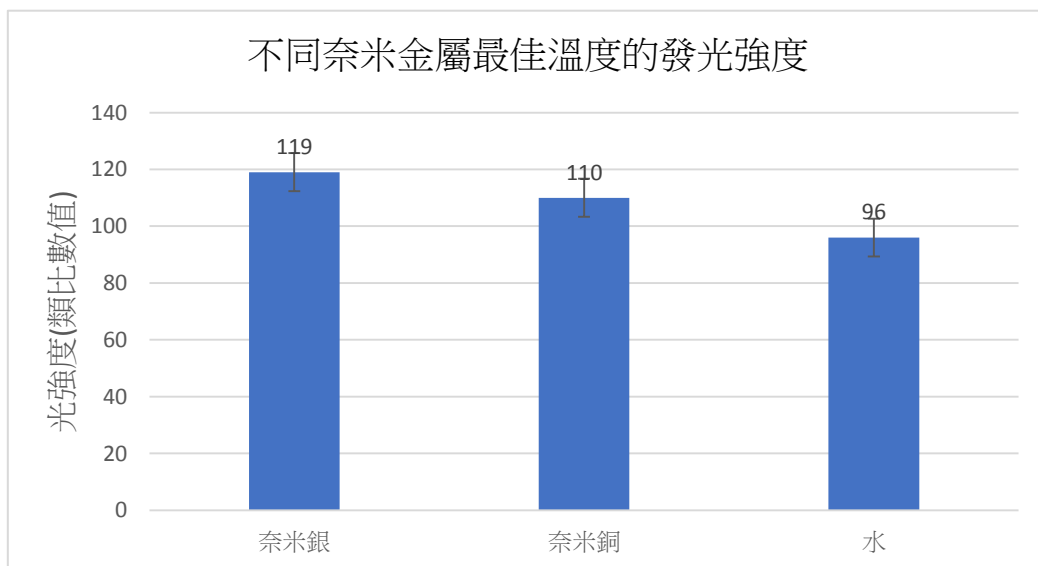


圖(二十七)

實驗結果：

$0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  之奈米銅溶液在  $30^\circ\text{C}$  下有最大的發光強度。

4. 不同奈米金屬最佳溫度的發光強度



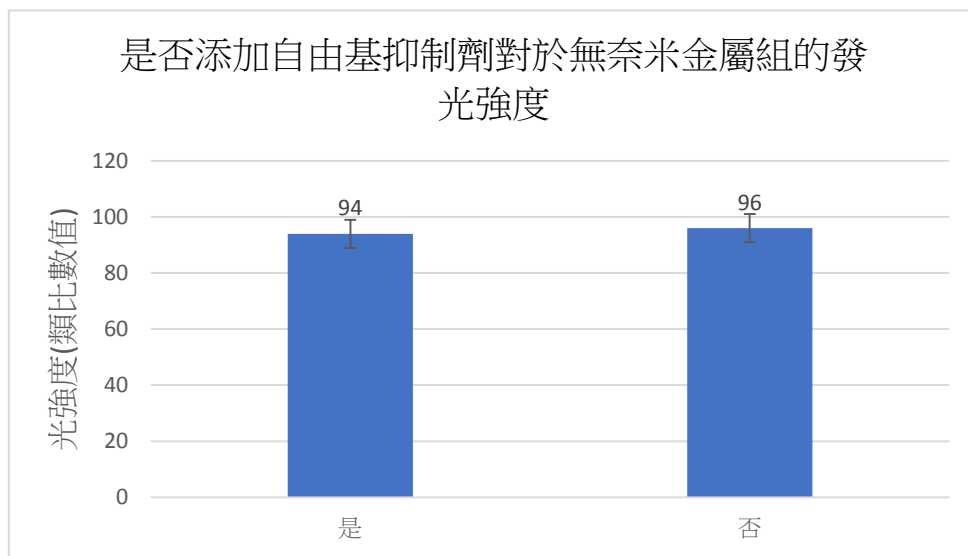
圖(二十八)

實驗結果：

在各自的最佳反應溫度中， $0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  之奈米銅溶液和  $0.25 \times 10^{-10} \text{M}$  之奈米銀溶液皆以  $30^\circ\text{C}$  有最大發光強度，其中以  $0.25 \times 10^{-10} \text{M}$  之奈米銀溶液最好，而  $0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  之奈米銅溶液次之。

## 七、不同奈米金屬對 luminol 發光機制的影響

### 1. 是否添加自由基抑制劑對於無奈米金屬組的發光強度

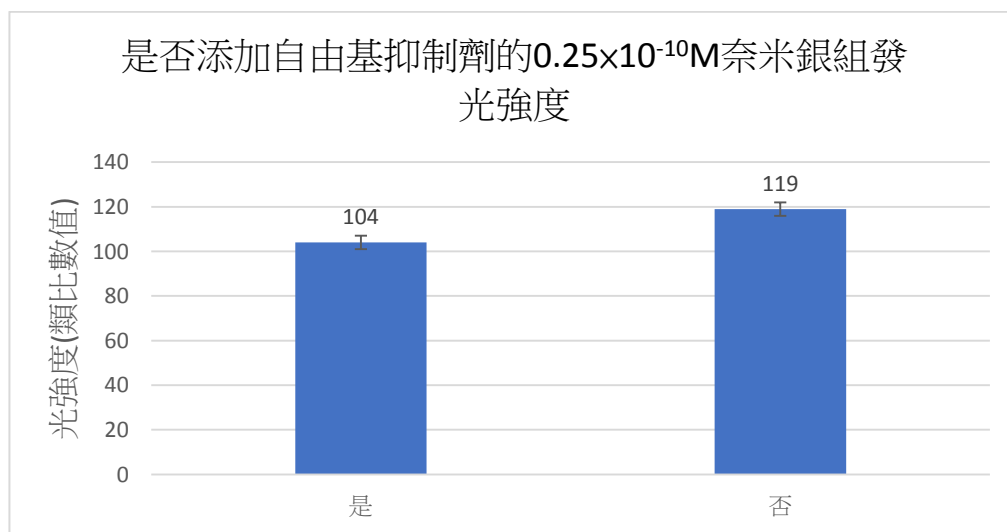


圖(二十九)

實驗結果：

純水組在有無抑制劑的條件下，發光強度未有顯著不同。

### 2. 是否添加自由基抑制劑的 $0.25 \times 10^{-10} \text{M}$ 奈米銀組發光強度

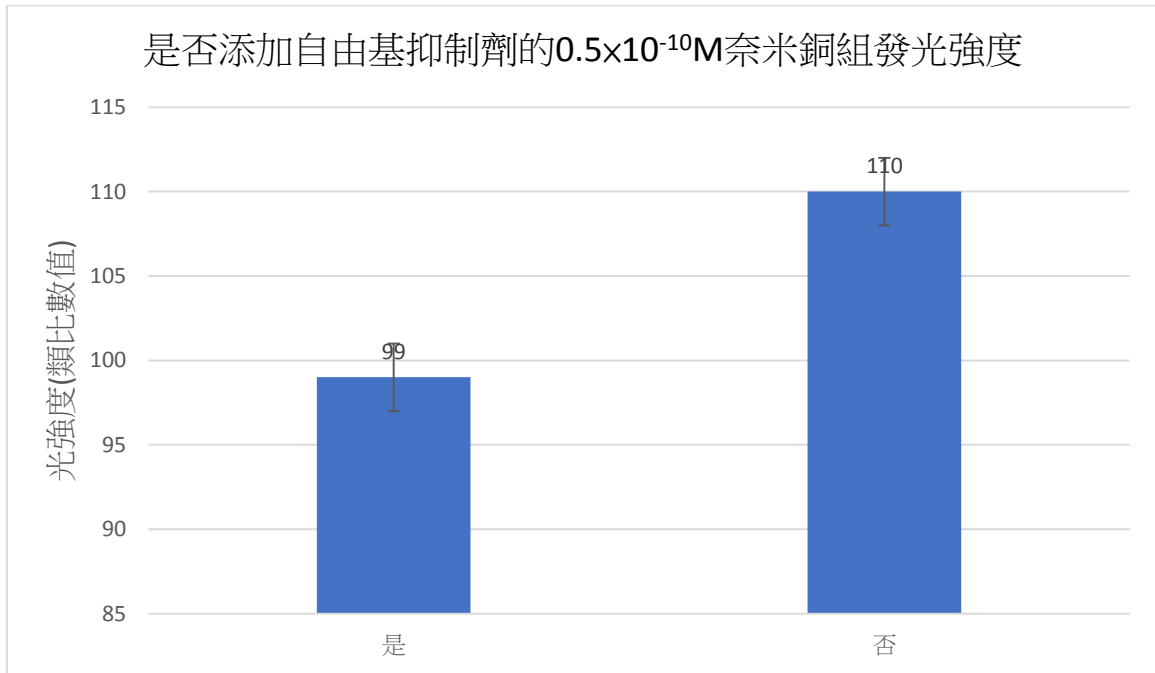


圖(三十)

實驗結果：

$0.25 \times 10^{-10} \text{M}$  奈米銀組在有抑制劑的條件下，發光強度較弱。

4. 是否添加自由基抑制劑的  $0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  奈米銅組發光強度

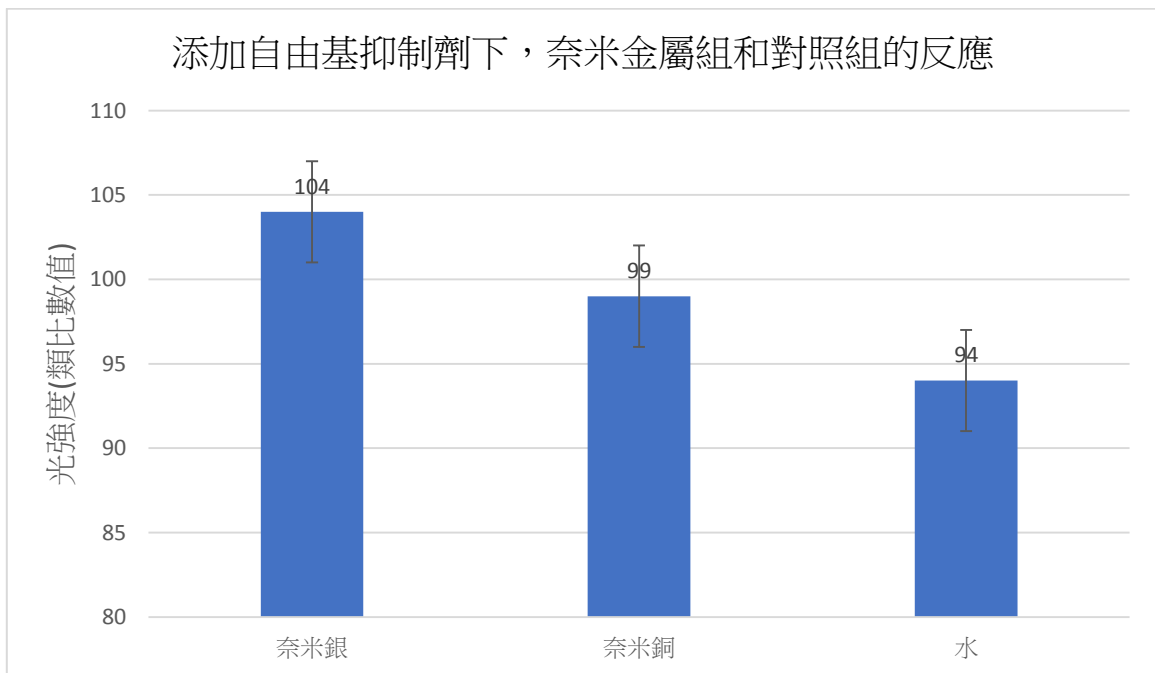


圖(三十一)

實驗結果：

$0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  奈米銅組在有抑制劑的條件下，發光強度較弱。

5. 添加自由基抑制劑下，奈米金屬組和對照組的反應



圖(三十二)

	奈米銀	奈米銅	水
發光強度(類比數值)	104	99	94

實驗結果：

各奈米金屬溶液在有添加自由基抑制劑的條件下，反應均與水相像。

## 伍、討論

### 一、不同雙氧水濃度對 luminol 發光現象的影響

雙氧水受催化劑加速分解產生氧氣，並以其作為與 luminol 反應的氧氣主要來源，實驗測得雙氧水在 0.5% 下有最大的發光強度，推測 0.5% 雙氧水產生的氧氣量，已到達能和 luminol 反應的最大比例，濃度更高的雙氧水反而無更大的發光強度，可能是過多的氧氣阻礙其他反應分子的碰撞。

### 二、不同赤血鹽濃度對 luminol 發光現象的影響

赤血鹽做為 luminol 發光系統的主要催化劑，經實驗觀察到赤血鹽的濃度越大，發光時間越長與發光強度越大，推測其在此發光反應的動力學模型中，濃度上升其催化雙氧水分解速率也隨之增加。

### 三、不同試劑體積對 luminol 發光現象的影響

當比色管中溶液體積越大時(1~3ml)，放光程度也越強，推測原因:溶液內反應的分子數越多，使發光系統單位時間內放出的光子數越多，即放光程度越強，考慮試劑體積越大使比色管內溶液越高，以滴管注入時可能會使溶液混合不均勻，以及為減少實驗藥品用量，因此選用 3ml 作為試劑體積。

### 四、不同 pH 值對 luminol 發光現象的影響

luminol 須在鹼性環境下才可完全溶解於水溶液，且在 pH=13.5 時有最大亮度，推測 pH=13~13.5 時，產生的 luminol 雙陰離子濃度與 OH 濃度有正相關，而 pH >13.5 時亮度下降，推測其改變了雙氧水的分解速率，並影響氧化劑的氧化電位，使其亮度不如 pH=13.5。

### 五、不同奈米金屬濃度對 luminol 發光現象的影響

當 luminol 發光系統僅加入奈米金屬、雙氧水和 luminol 溶液，而無赤血鹽(催化劑)存在下，無觀察到發光反應發生，表示奈米金屬不能作為催化雙氧水產生氧的催化劑，而使用



luminol-  $\text{H}_2\text{O}_2$ -  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 再加入奈米金屬溶液後，發現奈米銀和奈米銅對 luminol 發光強度有顯著的增強效果，顯示其為催化助劑的角色，但加入奈米氧化鐵則無顯著差異，推測可能是不同奈米金屬粒子固有性質的差異所致，也可能是合成出的奈米氧化鐵粒徑過大，影響其奈米金屬螢光增強中的局部場增強效應(黃珮瑜, 2020)，又或是奈米氧化鐵為金屬氧化物之緣故，導致其增益效果不明顯。而奈米銀和奈米銅的增強效應主要原因有二:其一，由實驗 2-7~2-10 可知，奈米金屬能使雙氧水形成活性氧物種(本實驗主要驗證氫氧自由基之存在)，氫氧自由基比氧氣有更高的反應活性，能使發光強度增強，其次，奈米金屬透過金屬螢光增強效應增加發光強度。對於奈米銅和奈米銀各自存在最佳濃度即是因為上述兩原因所致，即在最佳濃度下能產生最多的有效自由基，濃度太稀產生自由基太少，而太濃，則可能發生自由基互撞，同時最佳濃度也等效於奈米金屬螢光增強效應的最佳距離。

#### 六、不同溫度因素對 luminol 發光現象的影響

無加入奈米金屬的 luminol 水溶液之發光強度，在  $20^\circ\text{C}$ ~ $60^\circ\text{C}$  間皆隨溫度上升而下降，以下為推測原因:溫度上升使雙氧水分解越快，單位時間內產生的氧氣量越多，但同時也讓溶氧量下降，使 luminol 無法與足量的氧氣反應，其次，luminol 透過碰撞(非輻射)等分子運動方式轉移能量，使發光(輻射)比率下降。而添加奈米金屬的 luminol 水溶液之發光強度與發光時間，在  $20^\circ\text{C}$ ~ $60^\circ\text{C}$  間也皆隨溫度上升而下降，但其溫度影響較無加入奈米金屬的 luminol 水溶液更顯著，結合實驗 2-7~2-10 所得結論，推測可能原因:由奈米金屬催化產生之自由基運度速率上升，使碰撞頻率增加，導致自由基在溶液中或是奈米粒子表面互撞，造成自由基數量減少，另外溫度上升使分子運動加快，致使奈米金屬粒子與 luminol 分子間的距離變化大，即無法維持奈米金屬螢光增強效應的最佳距離。

#### 七、不同奈米金屬對 luminol 發光機制的影響

由文獻資料得知，奈米金屬能使雙氧水形成活性氧物種(Chen et al., 2007)，推測其增強發光原因與活性氧物種有關，本實驗主要探討氫氧自由基之影響，從文獻發現維生素 C 和 D-甘露醇皆可做為氫氧自由基抑制劑(Ghimire et al., 2018)，但選用 D-甘露醇則是考慮到維生素 C 較 D-甘露醇為更強的還原劑，可能對實驗產生更多的變因。經實驗得知加入 D-甘露醇於奈米金屬與 luminol 的混合溶液中，確實有顯著的發光強度下降現象，且純水組發光強度並

無差異，成功驗證氫氧自由基在奈米金屬存在下產生，但為何以奈米金屬取代赤血鹽(催化劑)的情況下無法發光，可能是在奈米金屬存在下，赤血鹽也會參與形成氫氧自由基的反應，其詳細原因有待進一步的實驗確認，此外由圖(三十三)發現與水作為對照組仍有差異，推測為奈米金屬螢光增強效應所致。

## 陸、結論

- 一、自製螢光裝置相較於光度計能蒐集更精確的發光強度數據，且更換電阻後進一步提升裝置靈敏度。
- 二、在未添加奈米金屬的組別中，我們得知以 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混和水溶液共 1.0ml 與 0.5ml 水組，加入 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 在 30°C 條件下有最大發光強度。
- 三、在有添加奈米金屬的組別中，觀察到發光增強的現象，如以奈米金屬取代赤血鹽則無法發光，顯示其作為催化助劑而非催化劑的角色，且以 0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉、和 0.5% 雙氧水混合水溶液共 1.0ml 與  $0.25 \times 10^{-10}$ M 奈米銀 0.5ml 組，加入 0.006M 赤血鹽水溶液 1.5ml 在 30°C 條件下有最大發光強度，而加入  $0.5 \times 10^{-10}$ M 奈米銅 0.5ml 組在 30°C 下效果次之。添加奈米金屬的組別之發光時間較未添加奈米金屬的組別短。
- 四、在添加 D-甘露醇作為自由基抑制劑的實驗中，成功驗證氫氧自由基為奈米金屬增強發光的原因之一，此外從發光時間增強和發光時間縮短的現象，以及奈米銀有最佳的發光增強效果可看出，奈米金屬螢光增強效應也為原因之一。

## 柒、展望

- 一、改良試劑加入 luminol 溶液的實驗方法，如可採用流動注入方式分析數據，以增加溶液混合的均勻度。
- 二、設計裝置與方法測量 luminol 的發光強度對波長圖形，藉此探討不同添加物對不同發光波長的增強程度。
- 三、提高偵測裝置的偵測極限與精確度，藉此蒐集目視可見但裝置偵測不到的微光數據。
- 四、製備不同粒徑大小和形貌的奈米金屬，並探討對 luminol 發光現象的影響。

五、尋找並探討除奈米金屬外的催化助劑對 luminol 發光現象的影響。

六、設計一可行實驗以 luminol 發光系統測量血氧和血糖濃度。

## 捌、參考文獻資料

1. 黃冠維、張原嘉(2018)。暗箱來找「茶」——利用自製暗箱偵測溶液的抗氧化能力。中華民國第 58 屆中小學科學展覽會。
2. 曾湜雯(2003)。利用 Luminol-Ferricnide/Ferrocyanide 化學冷光系統對蔗糖的流動注射分析。國立中山大學化學研究所碩士論文。
3. 黃珮瑜(2020)。化學鍍法製備銅奈米島狀薄膜及其螢光增強特性分析。國立台灣師範大學化學系碩士論文。
4. 張家瑜(2019)。表面電漿現象及其應用。· 台中:東海大學化學系
5. YoonJeong, Yun-MinKook, KangwonLee, Won-GunKoh(2018).Metal Enhanced Fluorescence (MEF) for Biosensors: General Approaches and A Review of Recent Developments, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea
6. 魏廷伊、蘇玟萍、蔡佩汝、林慧宣(2009)。製備奈米銀之最佳條件與性質探討。中華民國第 49 屆中小學科學展覽會
7. 林翠郁(2005)。以化學還原法製備奈米銅粒子。國立清華大學博碩士論文全文系統。
8. 朱榮聰、丁永強(2000)。奈米氧化鐵粉末之製作。遠東學報第二十七卷第四期
9. A. Shokuhfar, S. Alibeigi, M.R. Vaezi<sup>2</sup> and S.K. Sadrmezhaad (2008), Synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles Prepared by Various Surfactants and Studying their Characterizations.
10. Alina Karabchevsky, Ali Mosayyebi and Alexey V Kavokin(2016), Tuning the chemiluminescence of a luminol flow using plasmonic nanoparticles.
11. Bhagirath Ghimire, Geon Joon Lee, Sohail Mumtaz, and Eun Ha Choia(2018), Scavenging effects of ascorbic acid and mannitol on hydroxyl radicals generated inside water by an atmospheric pressure plasma jet.
12. D. Paramelle, A.Sadovoy, S. Gorelik, P. Free, J. Hobleya and D. G. Fernigb (2014). A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra

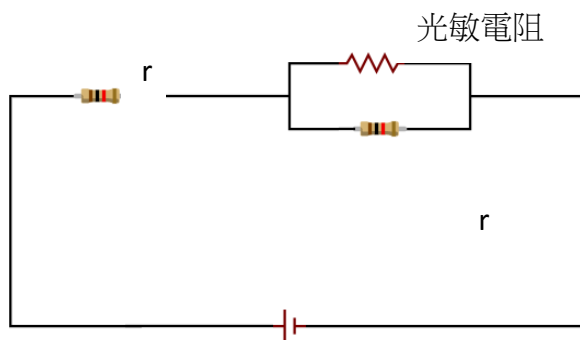
13. Hao Chen, Feng Gao, Rong He, Daxiang Cui(2007). Chemiluminescence of luminol catalyzed by silver nanoparticles.

## 玖、附錄

一、 Arduino 程式碼：

```
void setup() {  
  Serial.begin(9600);  
  pinMode(3,OUTPUT);  
}  
  
void loop() {  
  float sensorValue = analogRead(A0);  
  Serial.println(sensorValue);  
  delay(10);  
}
```

二、 電路圖



所得之類比訊號數值大小即為 Arduino 測到的電壓變化，而光敏電阻工作原理為光強度越強，電阻值越低。而 Arduino 所測的電壓變化受總電阻影響。

$$\Delta R_{\text{total}} = r + \frac{rR_{\text{光敏電阻}}}{r + R_{\text{光敏電阻}}}$$

當  $r$  值與  $R_{\text{光敏電阻}}$  相近時， $\Delta R_{\text{total}}$  受光敏電阻影響越大

## 【評語】 050213

1. 實驗內容豐富，探討 luminol 化學冷光系統在不同氧化劑 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 濃度、催化劑(K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) 濃度、pH 值和溫度下，對 luminol 發光現象的影響，並加入奈米銀、奈米銅、奈米氧化鐵等探討其在反應中扮演的角色。內容紮實完整。
2. 實驗結果發現奈米金屬無法取代 K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 催化劑，但可作為此發光系統的催化助劑(catalytic promoter)，並進一步探討奈米金屬增強發光的機制與 O<sub>2</sub> 與自由基的產生有關。可進一步比較探討傳統鐵離子(Fe<sup>3+</sup>)或其他金屬離子與奈米金屬粒子在催化作用上的差別。
3. 這是已經知道的現象，本研究使用不同赤血鹽濃度、不同雙氧水濃度、不同奈米金屬(催化助劑)濃度對 luminol 發光現象的影響，並無顯著的變化。例如跟加水比較，加最強的奈米銀在最佳溫度的發光強度是 119:96。
4. 是否添加自由基抑制劑的 0.25×10<sup>-10</sup>M 奈米銀組發光強度比是 104:119，可用以驗證氫氧自由基為奈米金屬增強發光的原因但稍弱。

## 作品簡報



# 「銀」光閃閃

魯米諾發光與奈米金屬增強效應



# 前言與研究問題

## 與luminol(又稱魯米諾、發光胺)相關之作品的研究內容

1. 不同催化劑、氧化劑、溶劑及其濃度對luminol發光現象的影響
2. 不同pH和溫度對luminol發光現象的影響
3. 添加染料luminol發光現象的影響
4. 以luminol發光強度繪製抗氧化劑的減量線

## 此作品主要研究內容

1. 不同氧化劑( $\text{H}_2\text{O}_2$ )濃度、催化劑( $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ )濃度、pH值和溫度
2. 添加奈米銀、奈米銅、奈米氧化鐵對luminol發光現象的影響



# 研究架構與實驗方法

## 魯米諾的基礎反應研究

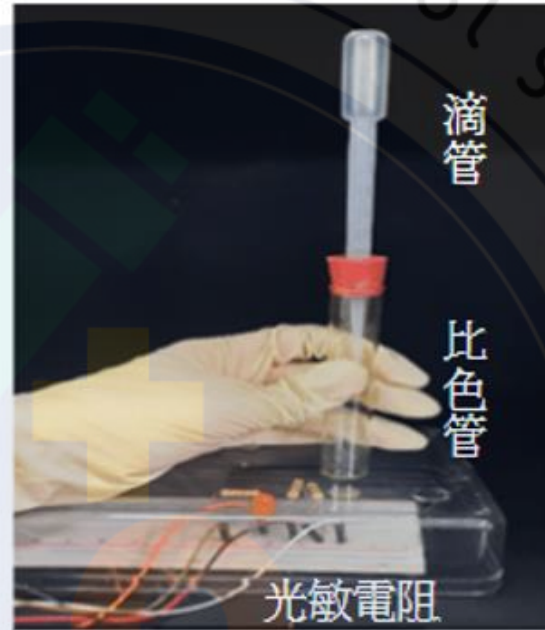
過氧化氫濃度  
赤血鹽濃度  
體積  
酸鹼值  
溫度

## 奈米金屬合成

奈米銀  
奈米銅  
奈米氧化鐵

## 添加奈米金屬後的反應

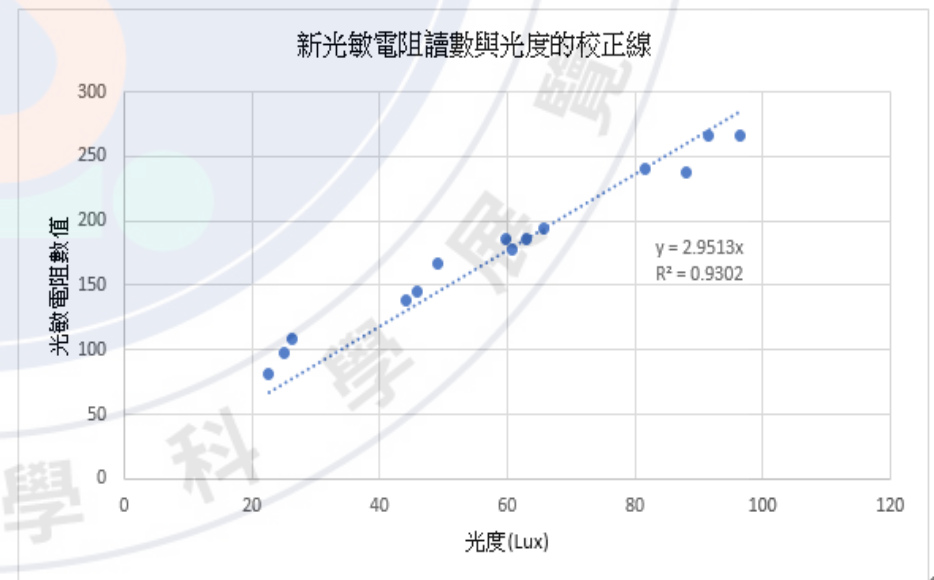
奈米金屬種類  
奈米金屬濃度  
溫度  
自由基抑制劑



自製螢光偵測裝置

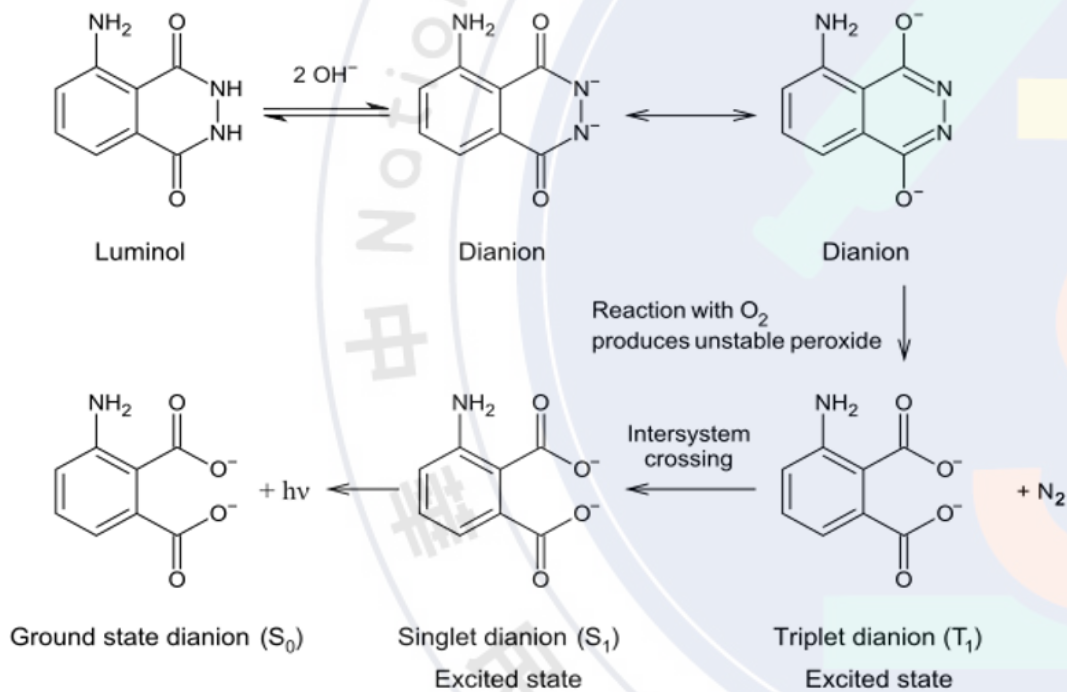


實驗操作示意圖

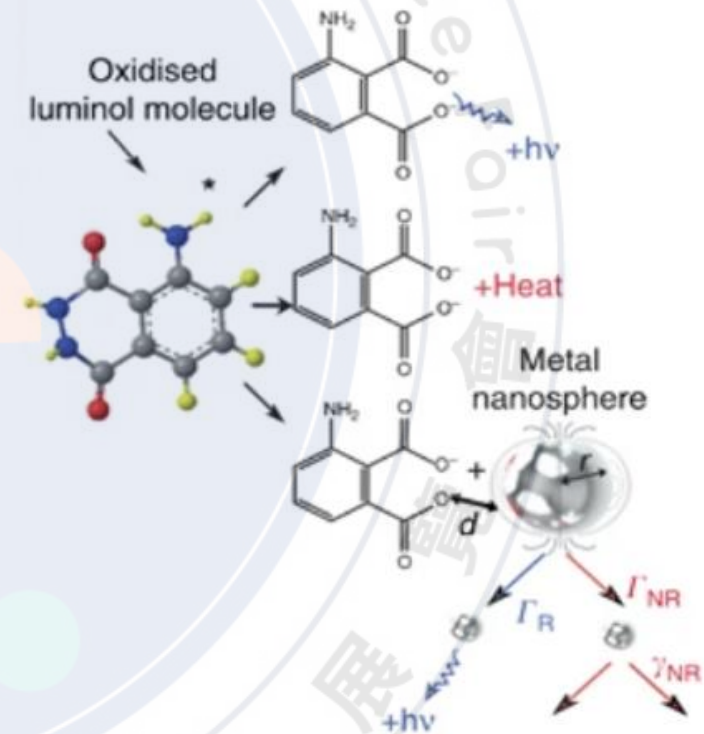


# 實驗原理

## luminol的發光機制



## 奈米金屬螢光增強效應



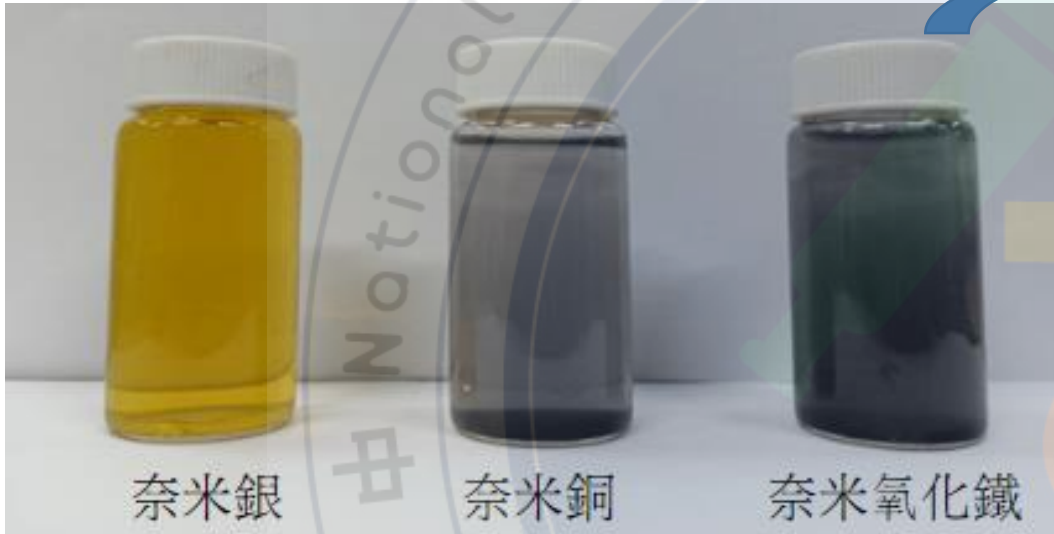
催化劑(酵素或金屬離子)分解 $\text{H}_2\text{O}_2$ 產生 $\text{O}_2$ ，  
接著 $\text{O}_2$ 氧化luminol的雙陰離子成激發態，  
隨後回到基態放出波長425nm的藍光

加入奈米金屬後可見  
其增加反應的放光比率

# 研究方法

## 奈米金屬合成

### UV-Visible Spectrometer 粒徑測量



奈米銀

奈米銅

奈米氧化鐵

濃度計算

以化學還原法製得奈米金屬

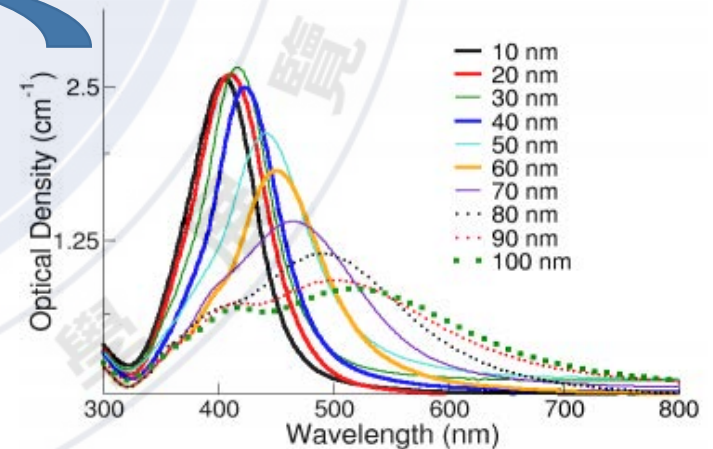
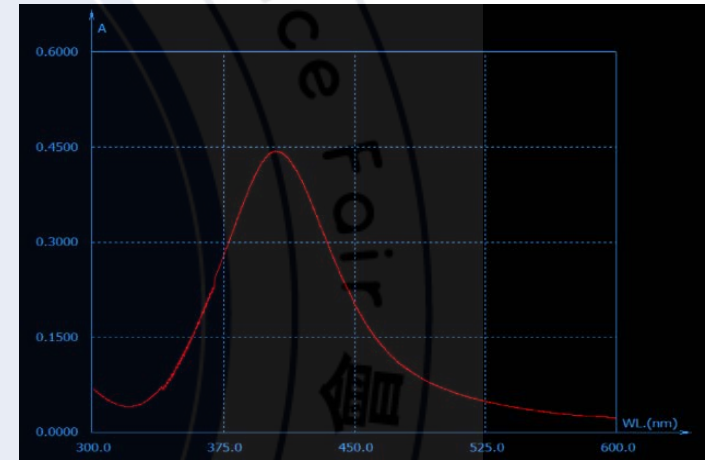
奈米銀:粒徑 30nm, 濃度  $C = \frac{6 \times 10^{-3} \times 0.005 \times 107.87}{3.141 \times (3 \times 10^{-6})^3 \times 0.312 \times 6.022 \times 10^{23} \times 0.25} = 8.1 \times 10^{-10} M$

奈米銅:粒徑 30nm, 濃度  $C = \frac{6 \times 5 \times 10^{-3} \times 0.1 \times 63.55}{3.141 \times (3 \times 10^{-6})^3 \times 0.35 \times 6.022 \times 10^{23} \times 0.2} = 5.3 \times 10^{-8} M$

奈米氧化鐵:粒徑 70nm, 濃度  $C = \frac{6 \times 3.1}{3.141 \times (7 \times 10^{-6})^3 \times 0.84 \times 6.022 \times 10^{23} \times 0.28} = 1.2 \times 10^{-7}$

後續實驗將使用此三種奈米金屬溶液，並配置成不同濃度進行反應。

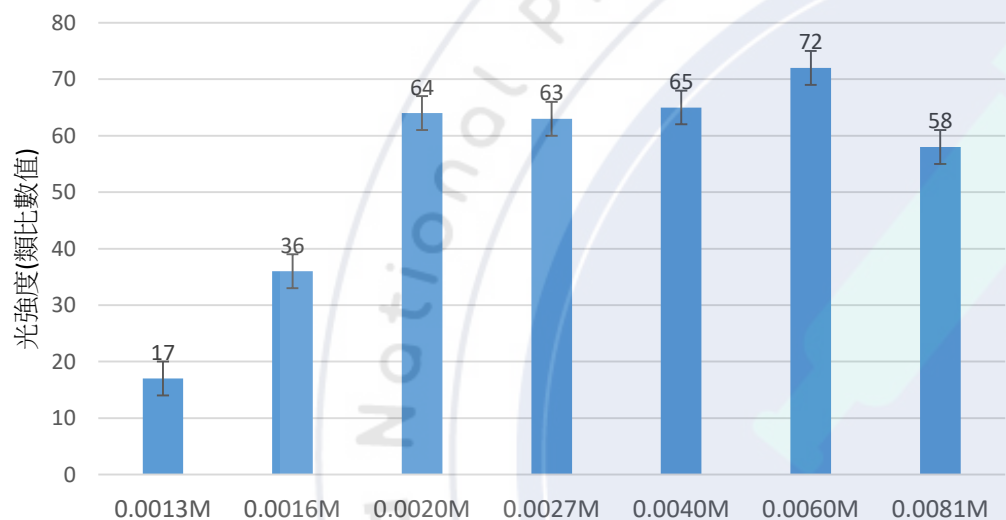
$$C = \frac{6W}{\pi R^3 D N_A V}$$



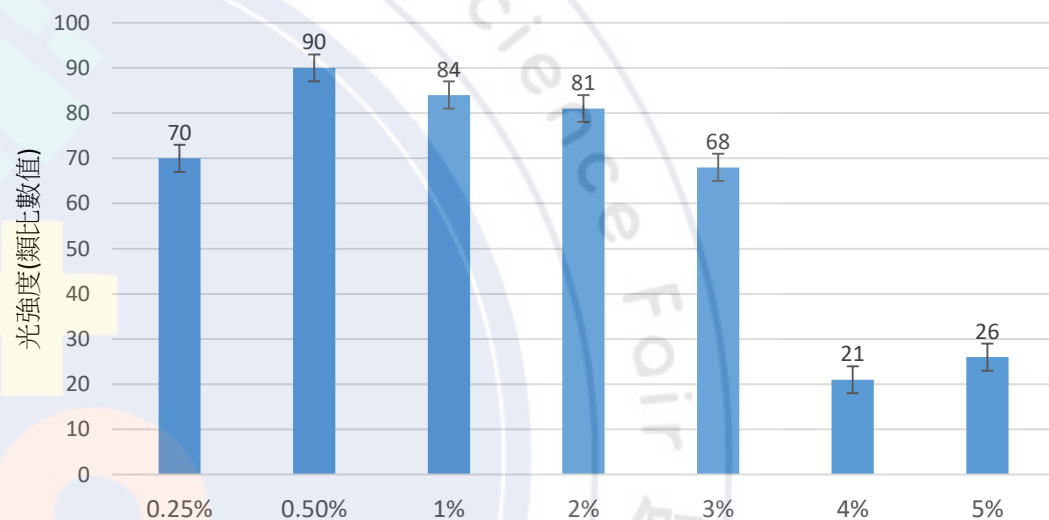
C:濃度 W:金屬質量 R:金屬粒徑 D:金屬堆積密度 V:溶液體積  $N_A:6.022 \times 10^{23}$

# 研究結果與解釋

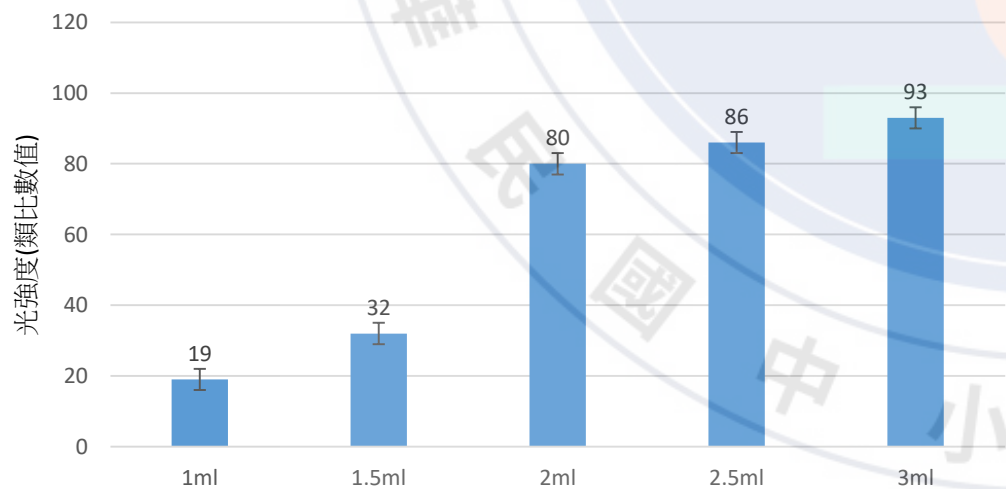
## 不同赤血鹽濃度對luminol發光現象的影響



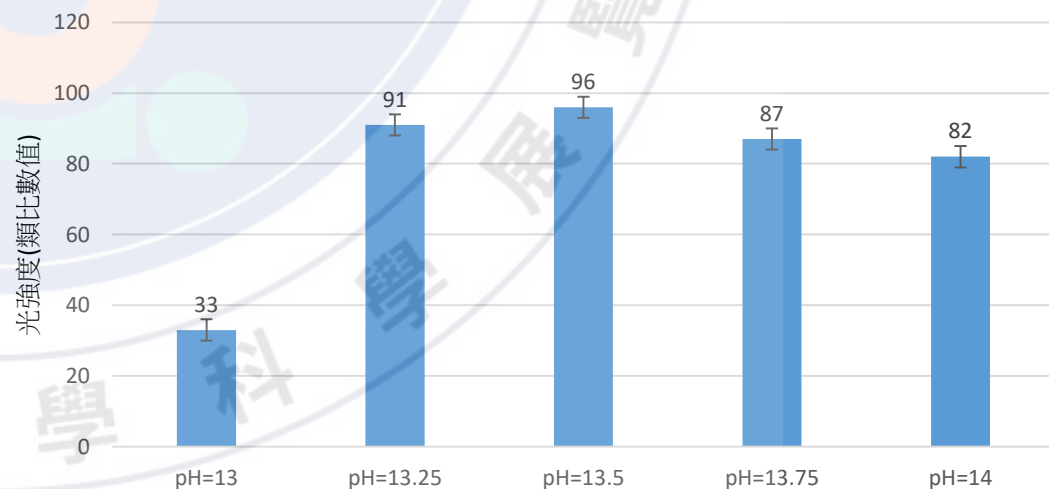
## 不同雙氧水濃度對luminol發光現象的影響



## 不同體積因素對luminol發光現象的影響



## 不同pH值因素對luminol發光現象的影響

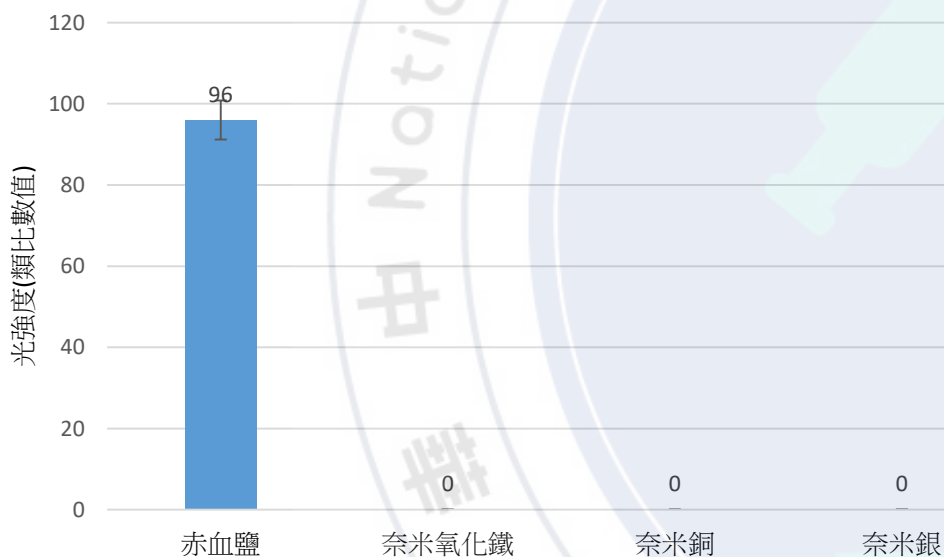




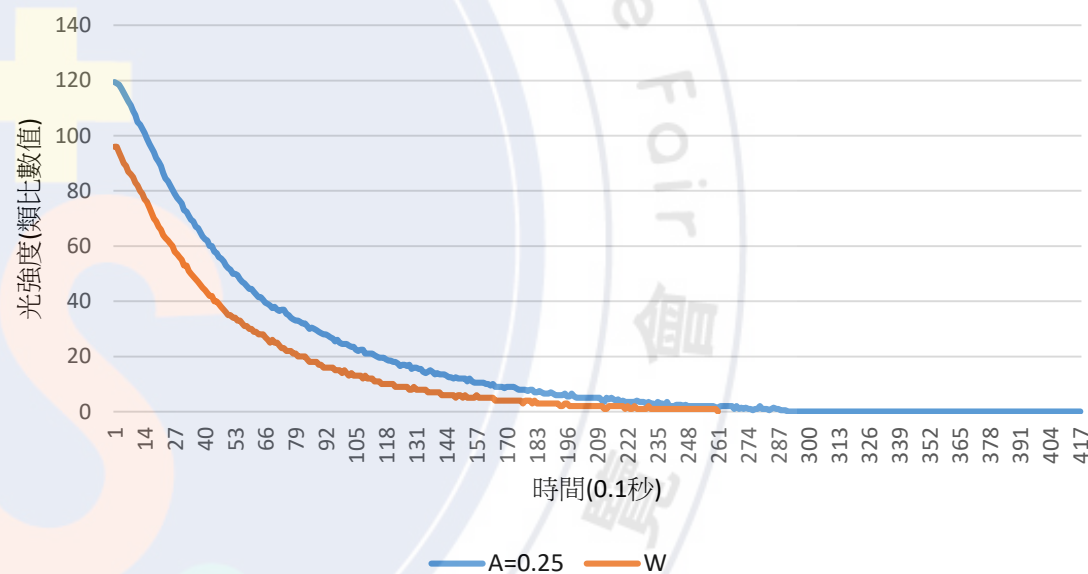
# 研究結果與解釋

## 前導實驗

奈米金屬作為催化劑  
對luminol發光現象的影響



催化助劑與催化劑的分別

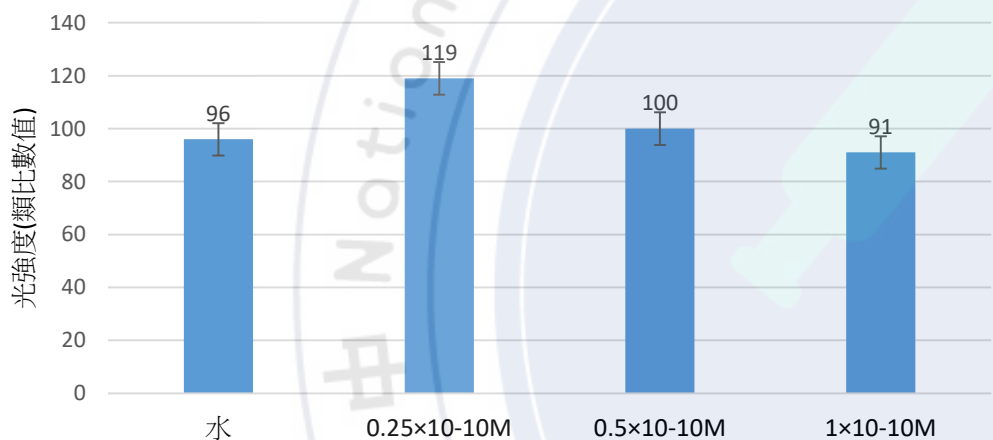


有添加奈米金屬的組別中，觀察到發光增強的現象，如以奈米金屬取代赤血鹽則無法發光，顯示其作為增強劑而非催化劑的角色。

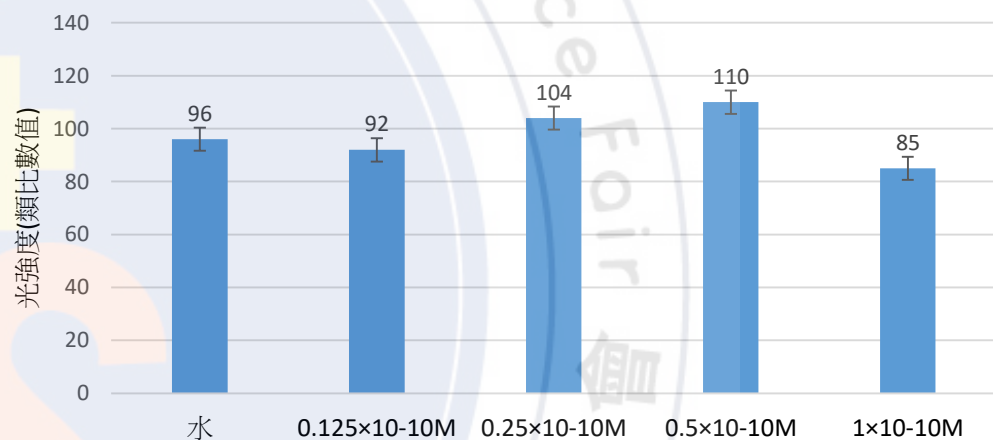
# 研究結果與解釋

## 奈米金屬增強效果

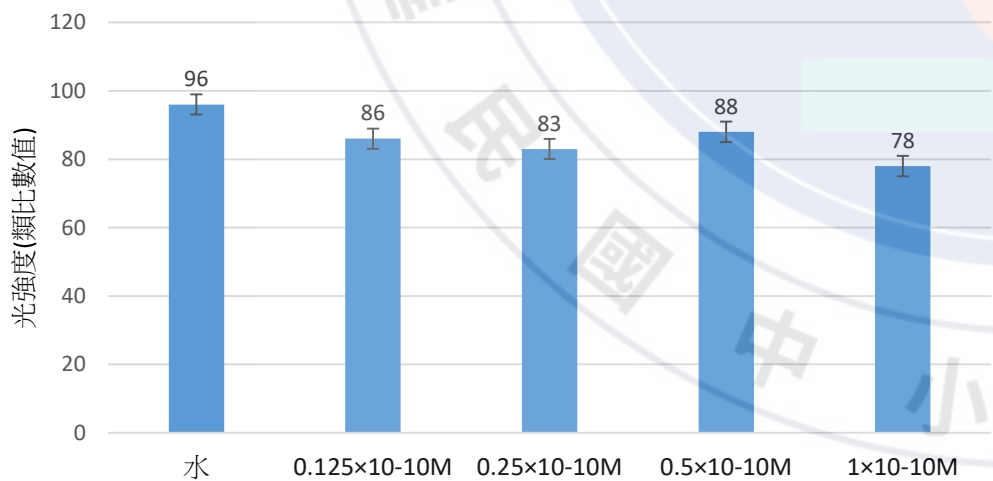
### 不同奈米銀濃度的發光強度



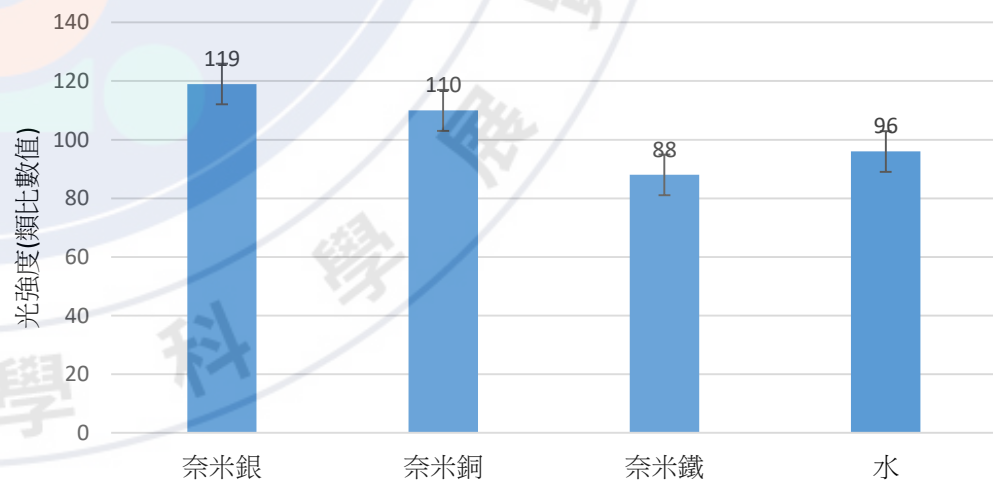
### 不同奈米銅濃度的發光強度



### 不同奈米氧化鐵濃度的發光強度



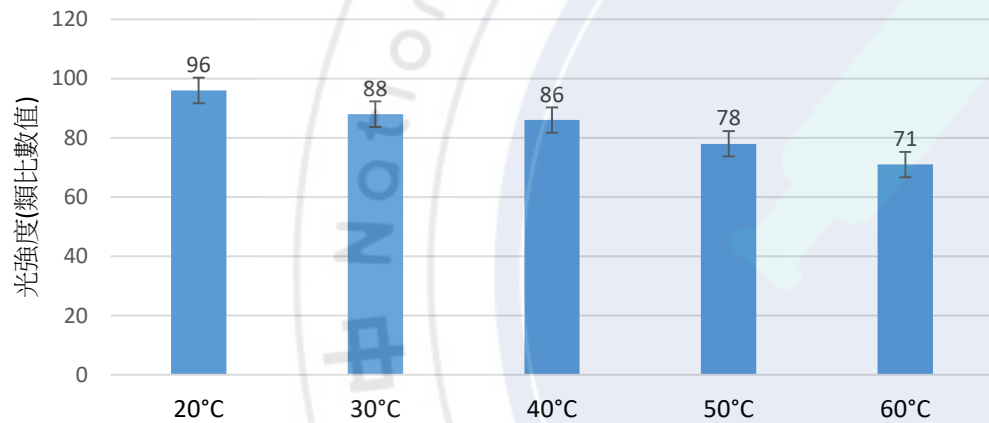
### 不同奈米金屬最佳濃度的發光強度



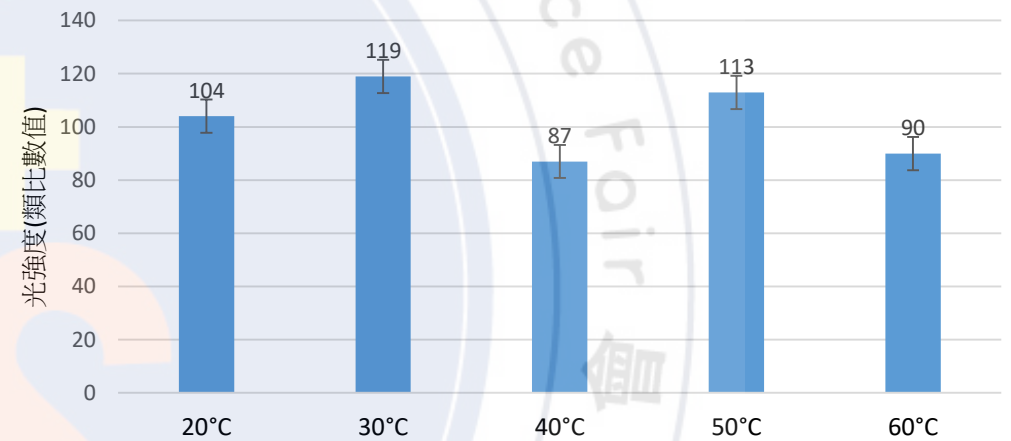
# 研究結果與解釋

## 不同溫度對發光強度的影響

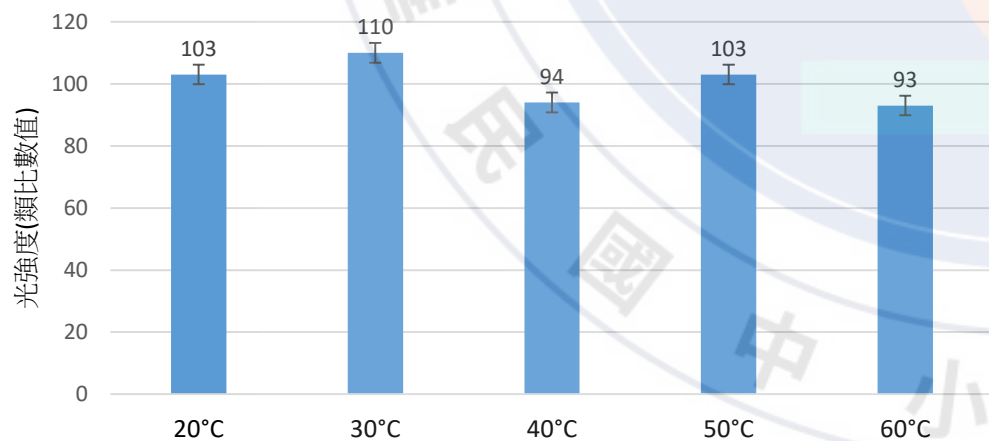
無添加奈米金屬之luminol水溶液  
在不同溫度的發光強度



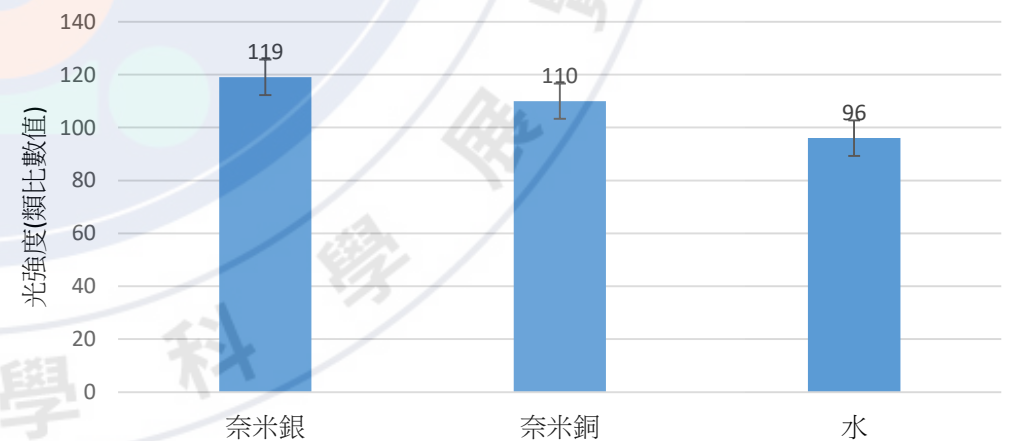
不同奈米銀溫度的發光強度



不同奈米銅溫度的發光強度



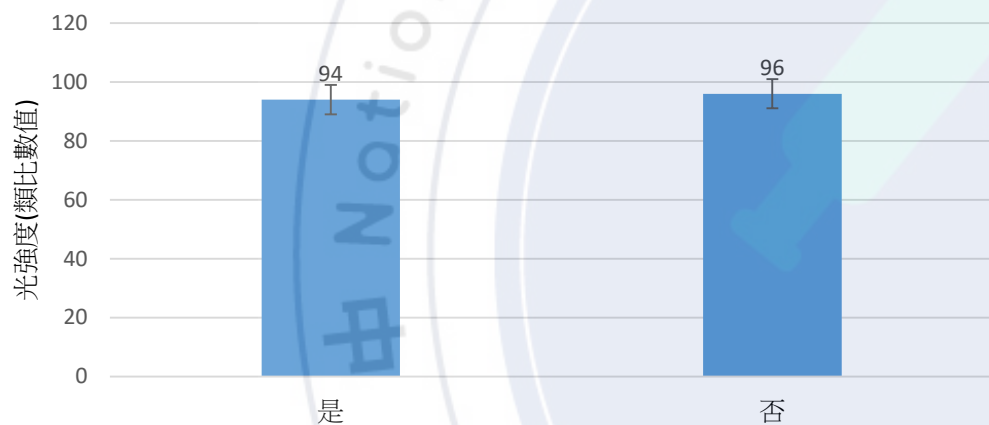
不同奈米金屬最佳溫度的發光強度



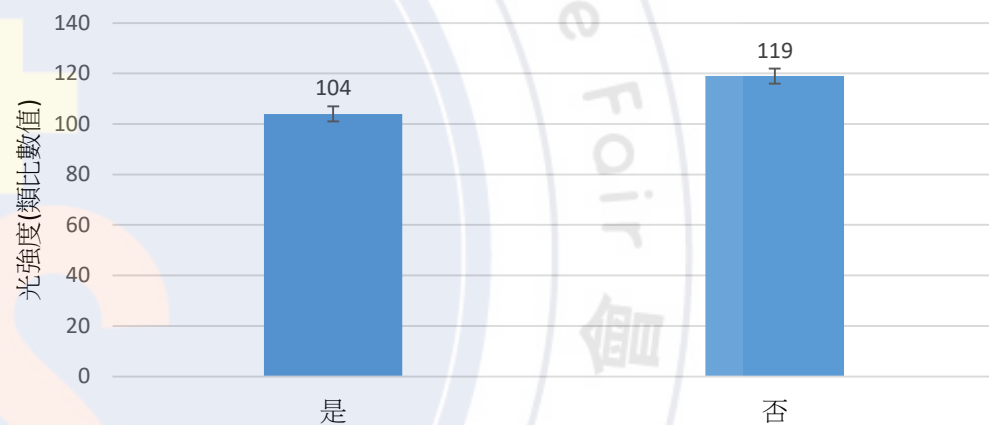
# 研究結果與解釋

## 自由基抑制劑對發光強度的影響

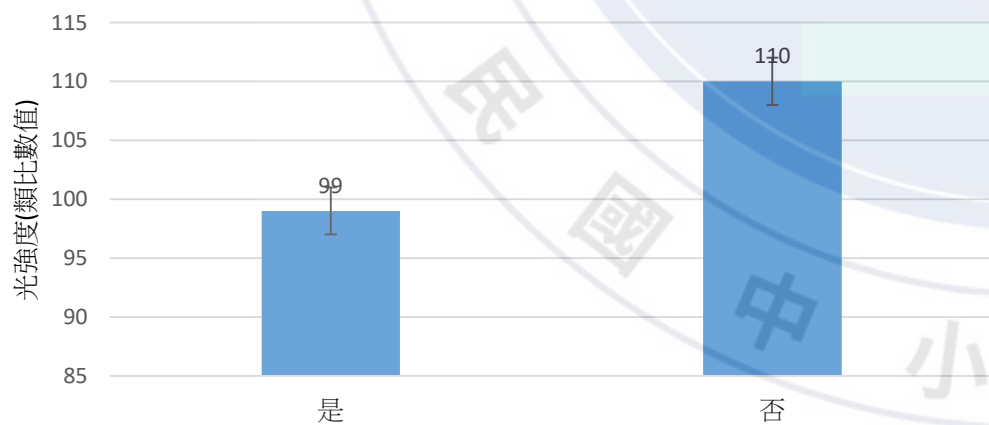
是否添加自由基抑制劑  
對於無奈米金屬組的發光強度



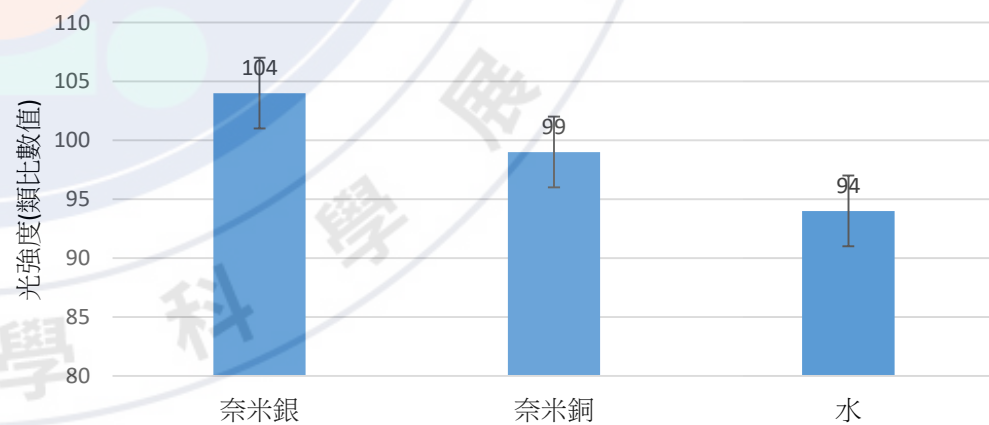
是否添加自由基抑制劑的  
 $0.25 \times 10^{-10} \text{M}$  奈米銀組發光強度



是否添加自由基抑制劑的  
 $0.5 \times 10^{-10} \text{M}$  奈米銅組發光強度



添加自由基抑制劑下，  
奈米金屬組和對照組的反應





# 結論

## 最佳luminol反應條件

0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉  
和0.5%雙氧水水溶液共1.0ml

水0.5ml

0.006M 赤血鹽水溶液1.5ml

溫度為20°C

奈米金屬  
取代赤血鹽  
不可反應

奈米金屬  
(催化助劑)  
增強發光

## 有奈米金屬的最佳反應條件

0.023M luminol、0.499M 氫氧化鈉  
和0.5%雙氧水水溶液共1.0ml

$0.25 \times 10^{-10}$ M 奈米銀0.5ml

0.006M 赤血鹽水溶液1.5ml

溫度為30°C

## 奈米金屬螢光增強效應

溫度

奈米金屬濃度

高溫使分子移動速率  
增快，使奈米金屬與  
luminol距離變化大。

太高:分子距離過近，  
使螢光猝滅

太低:距離過遠無法產  
生效應

## 氫氧自由基 ( D-甘露醇實驗證實有關 )

溫度

奈米金屬濃度

太高:自由基互撞

太高:自由基互撞

太低:碰撞頻率過低

太低:產生自由基過少

# 參考文獻

1. 黃冠維、張原嘉(2018)。暗箱來找「茶」—利用自製暗箱偵測溶液的抗氧化能力。中華民國第58屆中小學科學展覽會。
2. YoonJeong, Yun-MinKook, KangwonLee, Won-GunKoh(2018). Metal Enhanced Fluorescence (MEF) for Biosensors: General Approaches and A Review of Recent Developments, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea
3. 魏廷伊、蘇玟萍、蔡佩汝、林慧宣(2009)。製備奈米銀之最佳條件與性質探討。中華民國第49屆中小學科學展覽會
4. 林翠郁(2005)。以化學還原法製備奈米銅粒子。國立清華大學博碩士論文全文系統。
5. A. Shokuhfar, S. Alibeigi, M.R. Vaezi<sup>2</sup> and S.K. Sadrnezhaad (2008), Synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles Prepared by Various Surfactants and Studying their Characterizations.
6. Bhagirath Ghimire, Geon Joon Lee, Sohail Mumtaz, and Eun Ha Choia(2018), Scavenging effects of ascorbic acid and mannitol on hydroxyl radicals generated inside water by an atmospheric pressure plasma jet.
7. D. Paramelle, A.Sadovoy, S. Gorelik, P. Free, J. Hogleya and D. G. Fernigb (2014). A rapid method to estimate the concentration of citrate capped silver nanoparticles from UV-visible light spectra
8. Alina Karabchevsky, Ali Mosayyebi and Alexey V Kavokin(2016), Tuning the chemiluminescence of a luminol flow using plasmonic nanoparticles.