

行政院環境保護署環境檢驗所編印

環境奈米評析與綠色化學檢測技術
研究(3/3)- 評估以拉曼光譜技術現場
檢測空氣中污染物

期末報告
(定稿本)

計畫編號：EPA-106-E3S4-02-01

受託單位：汎錫科藝股份有限公司

計畫主持人：游竟維 博士

執行期間：中華民國 106 年 03 月 30 日至 12 月 31 日

印製年月：中 華 民 國 一 百 零 六 年 十 二 月

「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)-

評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物」

計畫期末報告基本資料表

甲、委辦單位	行政院環境保護署環境檢驗所			
乙、執行單位	汎錫科藝股份有限公司			
丙、年 度	106	計畫編號	EPA-106-E3S4-02-01	
丁、研究性質	☐ 基礎研究	☐ 應用研究	☒ 技術發展	
戊、研究領域	環境科學			
己、計畫屬性	☒ 科技類		☐ 非科技類	
庚、全程期間	106 年 03 月 ~ 106 年 12 月			
辛、本期期間	106 年 03 月 ~ 106 年 12 月			
壬、本期經費	1,400 千元			
	資本支出		經常支出	
	土地建築 0 千元		人事費 630 千元	
	儀器設備 0 千元		業務費 56 千元	
	其他 0 千元		材料費 688 千元	
			其 他 26 千元	
癸、摘要關鍵詞 表面增強拉曼光譜技術(Surface Enhanced Raman Spectroscopy)、有機磷農藥檢測、甲醛檢測、奈米薄膜結構				
參與計畫人力資料：				
參與計畫人員姓名	工作要項或撰稿章節	職稱	參與時間(人月)	聯絡電話及 e-mail 帳號
游竟維	計畫主持、光學分析、撰寫評析報告	計畫主持人、專案經理	3.6	03-5166658 ext. 520 jimyou@phansco.com
李政謙	樣品採樣、農藥 SERS 量測	化學課長	9	03-5166658 ext. 523 paullee@phansco.com
林儀喬	樣品採樣、甲醛 SERS 量測	化學工程師	9	03-5166658 adalin@phansco.com
王緯豪	系統校正及 SERS 驗證	資深光學工程師	9	03-5166658 raymondwang@phansco.com
王永祥	SERS 量測、光學分析	光電課長	9	03-5166658 fredwang@phansco.com

計畫期末報告基本摘要

計畫名稱：環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)- 評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物		審議編號：EPA-106-E3S4-02-01	
主管機關：行政院環保署環檢所		執行單位：汎錫科藝股份有限公司	
計畫主持人：游竟維 博士		聯絡人：游竟維 博士	
聯絡電話：03-5166658 ext. 520		傳真號碼：03-5166663	
期 程：民國 106 年 03 月 30 日至 12 月 31 日			
經 費：1,400,000 元整			
執行情形：一年			
1. 執行進度：	預定(%)	實際(%)	比較(%)
年 度：	100%	100	100
2. 總進度：			
經費支用：	預定(千元)	實際(千元)	支用比率(%)
年度經費：	1,400	1,400	100
總經費：1,400(千元)			
3. 主要執行內容：(每行 28 字，2000 字以內)			
本計畫以表面增強拉曼光譜技術，評估檢測空氣中大利松、巴拉松有機磷農藥及空氣中甲醛污染物之適用性。本計畫已建立大利松及巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜，並利用其主要特徵峰建立檢量線;由研究結果顯示，巴拉松分子在 860 cm⁻¹、1108 cm⁻¹、1161 cm⁻¹、1240 cm⁻¹ 及 1345 cm⁻¹ 處為其 SERS 特徵峰、大利松分子在 608 cm⁻¹、758 cm⁻¹、1005 cm⁻¹ 及 1097 cm⁻¹ 等處為其 SERS 特徵峰。巴拉松分子可利用主要特徵峰 1108 cm⁻¹，建立其強度在各種濃度下之檢量線(MDL 為 0.4805 mg/L);大利松分子可利用主要特徵峰 608 cm⁻¹，建立其強度在各種濃度下之檢量線(MDL 為 0.2708 mg/L)。本計畫同時於室驗室內評估空氣中農藥分子採樣方式，利用 10 mL 甲醇做為吸收液進行回收率測試;巴拉松及大利松在採樣時間 60 分鐘、採樣流速 200 mL/min 下，其回收率分別為 60.0 %及 79.5%。為達上述農藥分子在固定污染源空氣污染物排放標準，本計畫導入快速濃縮的方式，提昇巴拉松分子檢測極限至 0.08 mg/m³、大利松分子 0.0075 mg/m³。此外，為測試空氣中大利松及巴拉松 SERS 檢測方法，本計畫於 106 年 11 月 3 日選擇在新竹某一處稻田進行空氣採樣，並同時進行液相層析／串聯式質譜儀進行比對分析，為防止空氣中其它基質干擾，在採樣完成後，取 5 mL 吸收液通過農藥淨化管柱 (GETech; FaPEX-gen; with 0.2 μm GHP 過濾頭)進行淨化，並完成量測。由			

SERS 光譜量測結果得知，並無量測出大利松分子特徵峰(608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處)及巴拉松分子特徵峰(860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處)，符合上機的檢測結果(巴拉松 MDL= 0.006 mg/L 、大利松 MDL= 0.001 mg/L)。在評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性方面，由於其 S E R S 光譜微弱，無法直接進行 SERS 量測;本計畫同時對 DNPH (2, 4 - Dinitrophenylhydrazine)及 AHMT (4-amino-3- hydrazino-5-mercapto- 1,2,4- triazole) 衍生物進行評估，發現 DNPH 吸收液在 SERS 光譜具有強烈之螢光訊號，此訊號除遮蔽 SERS 基板本身在 520 cm^{-1} 處之特徵峰外，在 $500\text{ cm}^{-1}\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 也同時螢光干擾，此廣波域之螢光干擾將對目標物之 SERS 特徵峰進行嚴重遮蔽。本計畫採用甲醛 AHMT 反應後的產物 MTT(6-mercapto-5-triazolo [4,3-b]-s-tetrazine)進行 SERS 光譜量測來檢測甲醛，並建立其在特徵峰 832 cm^{-1} 之檢量線;在採樣的部份採用公告標準方法 (NIEA A705.12C)的架構，於實驗室進行回收率測試;由結果得知，當添加量 0.133 mg/L 、採樣時間 90 分鐘、採氣流速 150 mL/min 時，其回收率介於 $70.3\%\sim 77.3\%$ 之間。此外，為提昇甲醛分子之檢測極限，本計畫利用特徵峰(1367 cm^{-1} to 1375 cm^{-1})建立濃度 0.15 mg/L 、 0.1 mg/L 、 0.06 mg/L 、 0.02 mg/L 及 0.005 mg/L 之檢測線，並計算其 MDL 值為 0.0032 mg/L 。當甲醛濃度由 0.005 mg/L 改變至 0.15 mg/L 時，特徵峰將由 1206 cm^{-1} 、 1280 cm^{-1} 、 1367 cm^{-1} 、 1463 cm^{-1} (ring breathing vibration and in-plane deformation)產生位移至 1211 cm^{-1} 、 1284 cm^{-1} 、 1375 cm^{-1} 、 1467 cm^{-1} ，而特徵峰 710 cm^{-1} (S-C-N stretching vibrations)及 832 cm^{-1} (N-C-N stretching vibration)並不會產生改變，因此以特徵峰 $1367\text{-}1375\text{ cm}^{-1}$ 建立甲醛檢量線可涵蓋較廣的定量範圍。為測試空氣中甲醛採樣及 SERS 檢測方法，本計畫於 106 年 10 月 16 日選擇在新竹市某一處剛裝潢完室內場所進行測試，並同時委託檢測認證公司利用環保署公告"空氣中氣態之醛化合物檢測方法 (NIEA A705.12C)"方式來進行比較;由 SERS 量測結果得知，吸收液甲醛濃度為 $0.0129\text{ }\mu\text{g/mL}$ ，回推室內空氣中之甲醛濃度為 0.0117 ppm ;利用公告方法 (NIEA A705.12C)檢測結果，檢出空氣甲醛濃度為 0.02 ppm ，低於室內甲醛法規標準 0.08 ppm 。以表面增強拉曼光譜測得之甲醛濃度，在利用 AHMT 為吸收液採樣時其回收率較低(採樣時間 60 分鐘甲醛回收率為 64.8%)，若考量採樣回收率下，與實際標準方法具有 10% 誤差量。本計畫完成評估利用表面增強拉曼光譜法去建立空氣中巴拉松、大利松農藥及甲醛分子在 SERS 檢測的可行性，其檢測極限可達空氣法規的檢測標準。

4. 計畫變更說明：無

5. 落後原因分析：無

6. 解決辦法：(若無法自行解決，請求協助事項)

7. 主管機關管考建議：

預定進度及查核重點

工作內容項目	106 年	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月
一、建立大利松與巴拉松 2 種有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜。		—								
二、評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性			—							
三、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。				—						
四、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性						—				
五、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試								—		
六、選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試									—	
預定進度累積百分比(%)	5	12	24	36	50	65	80	92	100	
查核點	查核點內容說明									
1. 提交第一次進度報告	大利松與巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜建立及評估									
2. 提交期中進度報告	評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性及於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。									
3. 提交期末報告	於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試及選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試									

計畫成果中英文摘要（簡要版）

中文計畫名稱：

環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)- 評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物

英文計畫名稱：

The study of surface-enhanced Raman scattering spectroscopy in air pollutants analysis in situ

計畫編號：

EPA-106-E3S4-02-01

執行單位：

汎錫科藝股份有限公司

計畫主持人（包括共同主持人）：

游竟維 博士

執行開始時間：

106/03/30

執行結束時間：

106/12/31

報告完成時間：

106/12/31

報告總頁數：

90

使用語文：

中文，英文

報告電子檔名稱：

EPA-106-E3S4-02-01.doc

報告電子檔格式：

WORD 2003

中文摘要關鍵詞：

表面增強拉曼光譜、奈米薄膜結構、有機磷農藥、甲醛檢測

英文摘要關鍵詞：

Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS)，Nanostructured thin film，Organophosphorus Pesticides，Formaldehyde detection

中文摘要（約三百至五百字）

本計畫利用表面增強拉曼光譜技術，評估空氣中污染物現場檢測之可行性；本計畫以 785 nm 手持式拉曼系統進行巴拉松及大利松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜量測，巴拉松及大利松農藥分別可利用特徵峰 1108 cm^{-1} 及 608 cm^{-1} 進行檢量線建立，

研究結果顯示，空氣中農藥採樣可利用甲醇做為吸收液，其回收率分別為 60.0 %及 79.5%。此外，本計畫也同時評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性，由於甲醛分子拉曼訊號微弱，必須檢測其與吸收反應劑之 SERS 光譜；本計畫同時對 DNPH (2,4 - Dinitrophenylhydrazine) 及 AHMT (4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole)衍生物進行評估，利用環保署公告方法 "NIEA A705.12C" 之空氣中甲醛的採樣架構，發現 DNPH 吸收液在 SERS 光譜具有強烈之螢光訊號，此訊號除遮蔽 SERS 基板本身在 520 cm^{-1} 處之特徵峰外，在 $500\text{ cm}^{-1}\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 同時具螢光干擾；當甲醛與 AHMT 反應後，其產物 MTT(6-mercapto-5-triazolo [4,3-b]-s-tetrazine)具有明顯 SERS 特徵峰，由研究結果顯示，利用其主要特徵峰 $1367\text{-}1375\text{ cm}^{-1}$ 建立檢量線，方法偵測極限為 0.0032 mg/L ，低於法規標準。

英文摘要：

This project investigates the feasibility of environmental forensics using surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). The SERS spectra of parathion and diazinon were measured at 785 nm by portable Raman system. The calibration curves of parathion and diazinon were characterized by the SERS peaks of 1108 cm^{-1} and 608 cm^{-1} , respectively. The result shows methanol can be used as absorbing solution for the sampling process and the recoveries were found to be 60.0 % for parathion and 79.5% for diazinon, respectively. For the detection of formaldehyde (HCHO) in environment, two kinds of chromogenic agents DNPH (2,4 - Dinitrophenylhydrazine) and AHMT (4-amino -3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole) were investigated. Due to the huge fluorescent of the SERS spectrum within the Raman shift range of 500 cm^{-1} to 1500 cm^{-1} , the chromogenic agent of DNPH is not suitable as the absorbing solution for HCHO. However, one of product MTT (6-mercapto-5-triazolo [4,3-b]-s-tetrazine) can be measured its SERS peak at about $1367\text{-}1375\text{ cm}^{-1}$ for the quantification of HCHO after the derivative reaction with AHMT at room temperature. With the sampling method of "NIEA A705.12C", the result shows the detection limit is 0.0032 mg/L for HCHO using AHMT as the absorbing solution.

目錄

計畫期末報告基本摘要	I
預定進度及查核重點	III
計畫成果中英文摘要（簡要版）	V
目錄.....	VII
圖目錄.....	IX
表目錄.....	XIII
附錄.....	XV
計畫成果摘要(詳細版).....	XVII
第一章 簡介	1
一、背景.....	1
二、代表性化合物	1
三、表面增強拉曼光譜技術	5
第二章 計畫目標與工作內容	8
一、計畫目標	8
二、工作內容	8
第三章 研究方法	9
一、化學藥品的製備	9
二、拉曼光譜儀規格及校正方式	11
三、表面增強拉曼光譜(SERS)實驗架構及流程.....	15
第四章 結果與討論	23
一、SERS 結構功能性量測	23
二、巴拉松之表面增強拉曼光譜量測	25
三、大利松之表面增強拉曼光譜量測	33
四、甲醛之表面增強拉曼光譜量測	41
五、開發方法技術與現有公告方法比較	53
六、實場採樣及方法測試	55
第五章 結論與建議	61
參考文獻.....	63
附錄.....	65

圖目錄

圖一	表面增強拉曼光譜物理架構示意圖.....	5
圖二	斜向角度沉積法示意圖.....	6
圖三	甲醛與 AHMT(a)反應前與(b)反應後之 SERS 光譜.....	7
圖四	可攜式拉曼光譜分析儀硬體規格.....	11
圖五	拉曼光譜系統內部架構圖.....	12
圖六	標準汞氫光源之光譜圖.....	13
圖七	雷射光源輸出功率量測架構.....	13
圖八	拉曼光譜靈敏度量測架構圖.....	14
圖九	矽晶片拉曼訊號與 CCD 感測器 Pixel 相對位置圖.....	14
圖十	拉曼系統波數及感度校正流程圖.....	15
圖十一	SERS 整合平臺架構圖.....	16
圖十二	SERS 載臺連接器.....	16
圖十三	奈米基板有效區域(2mm x 2mm)及外型尺寸.....	17
圖十四	奈米金屬直柱結構規格.....	18
圖十五	SERS 基板結構功能性確認流程圖.....	18
圖十六	農藥分子量測流程.....	19
圖十七	農藥(巴拉松及大利松)分子在實驗室空氣檢測實驗裝置圖	19
圖十八	甲醛分子 SERS 量測流程.....	20
圖十九	甲醛在實驗室空氣檢測實驗裝置圖.....	21
圖二十	SERS 結構背景光譜.....	23
圖二十一	1mg/L Tricyclazole 分子 SERS 光譜圖.....	24
圖二十二	SERS 基板 10 批次實際抽檢情況.....	24
圖二十三	農藥巴拉松濃度(a) 10 mg/L (b) 8 mg/L (c) 6 mg/L (d) 4 mg/L (e) 2	

	mg/L (f) 1 mg/L 及 (g) 0.5 mg/L 之 SERS 光譜圖	29
圖二十四	巴拉松分子檢量線(1108cm^{-1} 特徵峰)	29
圖二十五	巴拉松分子濃度(a)0.5 mg/L 及(b) 1 mg/L 之 SERS 光譜圖(七次重覆量測)	30
圖二十六	0.2 mg/L 巴拉松濃縮 5 倍後之 SERS 光譜圖	32
圖二十七	巴拉松在甲醇吸收液進行 5 倍濃縮後之 SERS 光譜量測圖	33
圖二十八	農藥大利松濃度(a) 10 mg/L (b) 8 mg/L (c) 6 mg/L (d) 4 mg/L (e) 3 mg/L (f) 2 mg/L 及 (g) 1 mg/L 之 SERS 光譜圖	37
圖二十九	大利松分子檢量線(608cm^{-1} 特徵峰)	37
圖三十	大利松分子濃度(a)0.5 mg/L 及(b) 1 mg/L 之 SERS 光譜圖(七次重覆量測)	38
圖三十一	0.05 mg/L 大利松濃縮 30 倍後之 SERS 光譜圖	39
圖三十二	大利松在甲醇吸收液進行 5 倍濃縮後之 SERS 光譜量測圖	40
圖三十三	以 DNPH 為吸收液之 SERS 量測光譜圖	41
圖三十四	甲醛濃度(a) 0.75 mg/L (b) 0.5 mg/L (c) 0.25 mg/L (d) 0.1 mg/L (e) 0.025 mg/L 與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖	42
圖三十五	甲醛分子檢量線(以特徵峰 832cm^{-1} SERS 強度建立)	43
圖三十六	分光光譜儀吸收液中甲醛濃度之檢量線	44
圖三十七	實際添加樣品(a) sample A (b) sample B (c) sample C 之 SERS 量測光譜圖	45
圖三十八	AHMT 與水(無甲醛)以 1:1 比混合後之 SERS 量測光譜圖	46
圖三十九	甲醛濃度(a) 0.15 mg/L、(b) 0.1mg/L、(c) 0.06 mg/L、(d) 0.02 mg/L 及 (e) 0.005 mg/L 與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖	49
圖四十	甲醛分子檢量線(特徵峰 1367cm^{-1} 至 1375cm^{-1})	49
圖四十一	AHMT(無甲醛)之 SERS 光譜圖;其中 AHMT 與水(含 1%檸檬酸鈉)比例為 1:19	50

圖四十二	SERS 強度(1373cm^{-1} 特徵峰)隨 AHMT 與 0.1mg/L 甲醛反應時間關係圖.....	51
圖四十三	SERS 強度(1373cm^{-1} 特徵峰)隨 SERS 滴定時間關係圖.....	51
圖四十四	吸收液含(a) 0.005 mg/L 及(b) 0.0042 mg/L 濃度甲醛與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖(七次重覆量測).....	51
圖四十五	於新竹市某處剛裝潢完室內場所進行空氣中甲醛測試(左)及標準方式採樣(右)	55
圖四十六	於新竹市某處剛裝潢完室內場所進行空氣中甲醛 SERS 採樣架構圖.....	56
圖四十七	室內空氣採樣後吸收液之 SERS 光譜圖.....	57
圖四十八	新竹某一處稻田進行空氣採樣架構圖.....	59
圖四十九	稻田空氣採樣後吸收液之 SERS 光譜圖.....	59
圖五十	稻田空氣採樣後吸收液外添加(a)巴拉松(b)大利松之 SERS 光譜圖.....	60

表目錄

表一	農藥分子 SERS 檢測.....	7
表二	拉曼系統品管標準.....	17
表三	巴拉松濃縮條件參數.....	32
表四	於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中巴拉松農藥.....	33
表五	大利松濃縮條件參數.....	39
表六	於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松農藥.....	39
表七	實驗室空氣甲醛參數設定表.....	43
表八	檢量線配製.....	44
表九	實際添加量之 UV 分析結果.....	45
表十	開發方法技術與現有公告方法比較表.....	54
表十一	室內空氣甲醛參數設定表及待測物之濃度	57
表十二	室內空氣中氣態之醛化合物檢測方法檢測結果	57
表十三	稻田空氣採樣後吸收液上機測試結果.....	59
表十四	稻田空氣採樣後吸收液外添加農藥上機測試結果	60

附錄

附件一	儀器及樣品重覆分析查核.....	65
附件二	「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)-表面增強拉曼光譜 技術應用於環境鑑識技術研究」評選會議審查委員意見回覆	67
附件三	「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)-表面增強拉曼光譜 技術應用於環境鑑識技術研究」期中審查委員意見回覆	71
附件四	「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)-表面增強拉曼光譜 技術應用於環境鑑識技術研究」期末審查委員意見回覆	83

計畫成果摘要(詳細版)

計畫名稱：環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)- 評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物

計畫編號：EPA-106-E3S4-02-01

計畫執行單位：汎錫科藝股份有限公司

計畫主持人：游竟維

計畫期程：106 年 03 月 30 日起 106 年 12 月 31 日止

計畫經費：1,400 千元

摘要

本計畫利用表面增強拉曼光譜技術，評估空氣中污染物現場檢測之可行性；本計畫以 785 nm 手持式拉曼系統進行大利松及巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜量測，巴拉松及大利松農藥分別可利用特徵峰 1108 cm^{-1} 及 608 cm^{-1} 進行檢量線建立，研究結果顯示，巴拉松分子在 860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處為其 SERS 特徵峰、大利松分子在 608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處為其 SERS 特徵峰；本計畫同時於室驗室內評估空氣中農藥分子採樣方式，利用 10 mL 甲醇做為吸收液進行回收率測試；巴拉松及大利松在採樣時間 60 分鐘、採樣流速 200 mL/min 下，其回收率分別為 60.0 % 及 79.5%。為達上述農藥分子在固定污染源空氣污染物排放標準，本計畫導入快速濃縮的方式，提昇巴拉松分子檢測極限至 0.08 mg/m^3 、大利松分子 0.0075 mg/m^3 。此外，為測試空氣中大利松及巴拉松 SERS 檢測方法，本計畫於 106 年 11 月 3 日選擇在新竹某一處稻田進行空氣採樣，並同時進行液相層析／串聯式質譜儀進行比對分析，為防止空氣中其它基質干擾，在採樣完成後，取 5mL 吸收液通過農藥淨化管柱(GETech; FaPEX-gen; with $0.2\mu\text{m}$ GHP 過濾頭)進行淨化，並完成量測。由 SERS 光譜量測結果得知，並無量測出大利松分子特徵峰(608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處)及巴拉松分子特徵峰(860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處)，符合上機的檢測結果(巴拉松 MDL= 0.006 mg/L 、大利松 MDL= 0.001 mg/L)。此外，本計畫也同時評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性，由於甲醛分子拉曼訊號微弱，必須檢測其與吸收反應劑之 SERS 光譜；本計畫同時對 DNPH (2, 4-Dinitrophenylhydrazine) 及 AHMT (4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole) 衍生物進行評估，利用環保署公告方法 "NIEA A705.12C" 之空氣中甲醛的採樣

架構，發現 DNPH 吸收液在 SERS 光譜具有強烈之螢光訊號，此訊號除遮蔽 SERS 基板本身在 520 cm^{-1} 處之特徵峰外，在 $500\text{ cm}^{-1}\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 同時具螢光干擾；當甲醛與 AHMT 反應後，其產物 MTT(6-mercapto-5-triazolo [4,3-b]-s-tetrazine)具有明顯 SERS 特徵峰；本計畫在採樣的部份採用公告標準方法 (NIEA A705.12C) 的架構，於實驗室進行回收率測試；由結果得知，當添加量 0.133 mg/L 、採樣時間 90 分鐘、採氣流速 150 mL/min 時，其回收率介於 $70.3\%\sim 77.3\%$ 之間。此外，為提昇甲醛分子之檢測極限，本計畫利用特徵峰 (1367 cm^{-1} to 1375 cm^{-1}) 建立濃度 0.15 mg/L 、 0.1 mg/L 、 0.06 mg/L 、 0.02 mg/L 及 0.005 mg/L 之檢測線；由研究結果顯示，利用其主要特徵峰 $1367\text{-}1375\text{ cm}^{-1}$ 建立檢量線，其吸收液偵測極限可達 0.0032 mg/L 。當甲醛濃度由 0.005 mg/L 改變至 0.15 mg/L 時，特徵峰將由 1206 cm^{-1} 、 1280 cm^{-1} 、 1367 cm^{-1} 、 1463 cm^{-1} (ring breathing vibration and in-plane deformation) 產生位移至 1211 cm^{-1} 、 1284 cm^{-1} 、 1375 cm^{-1} 、 1467 cm^{-1} ，而特徵峰 710 cm^{-1} (S-C-N stretching vibrations) 及 832 cm^{-1} (N-C-N stretching vibration) 並不會產生改變，因此以特徵峰 $1367\text{-}1375\text{ cm}^{-1}$ 建立甲醛檢量線可涵蓋較廣的定量範圍。為測試空氣中甲醛採樣及 SERS 檢測方法，本計畫於 106 年 10 月 16 日選擇在新竹市某一處剛裝潢完室內場所進行測試，並同時委託檢測認證公司利用環保署公告"空氣中氣態之醛化合物檢測方法 (NIEA A705.12C)"方式來進行比較；由 SERS 量測結果得知，吸收液甲醛濃度為 $0.0129\text{ }\mu\text{g/mL}$ ，回推室內空氣中之甲醛濃度為 0.0117 ppm ；利用公告方法 (NIEA A705.12C) 檢測結果，檢出空氣甲醛濃度為 0.02 ppm ，低於室內甲醛法規標準 0.08 ppm 。以表面增強拉曼光譜測得之甲醛濃度，在利用 AHMT 為吸收液採樣時其回收率較低(採樣時間 60 分鐘甲醛回收率為 64.8%)，若考量採樣回收率下，與實際標準方法具有 10% 誤差量。本計畫完成評估利用表面增強拉曼光譜法去建立空氣中巴拉松、大利松農藥及甲醛分子在 SERS 檢測的可行性，其檢測極限可達空氣法規的檢測標準。

This project investigates the feasibility of environmental forensics using surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). The SERS spectra of parathion and diazinon were measured at 785 nm by portable Raman system. The SERS peaks of Parathion are 860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} and 1345 cm^{-1} . The SERS peaks of Diazinon are 608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} and 1097 cm^{-1} . The calibration curves of parathion and diazinon were

characterized by the SERS peaks of 1108 cm^{-1} and 608 cm^{-1} , respectively. The sampling process of parathion and diazinon in air was verified and analyzed in the laboratory and 10mL methanol was used as the absorbing solution. The sampling time and the flow rate of nitrogen were set to be 60 mins and 200 mL/min, respectively. The result shows the recoveries are 60.0 % for parathion and 79.5 % for diazinon. In order to reach the standard of the stationary air pollution source in Taiwan, the concentration process of the absorbing solution was introduced. The detection limits of parathion and diazinon were found to be 0.08 mg/m^3 and 0.0075 mg/m^3 , respectively. On November 3, 2017, the sampling system was put on the farm side to collect the pesticide residue in air. After the sampling process, the absorbing solution was concentrated for 30 times and the SERS spectrum was measured by portable Raman system. The result shows there is no SERS peak from parathion or diazinon molecular in this sample. For the detection of formaldehyde(HCHO) in environment, two kinds of chromogenic agents DNPH (2, 4 - Dinitrophenylhydrazine) and AHMT (4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole) were investigated. Due to the huge fluorescent of the SERS spectrum within the Raman shift range of 500 cm^{-1} to 1500 cm^{-1} , the chromogenic agent of DNPH is not suitable as the absorbing solution for HCHO. However, one of product MTT (6-mercapto-5-triazolo [4,3-b]-s-tetrazine) can be measured its SERS peak at about $1367\text{--}1375\text{ cm}^{-1}$ for the calculation of the concentrations of HCHO after the derivative reaction with AHMT at room temperature. With the sampling method of "NIEA A705.12C", HCHO was drop into the sampling gas bulbs and the temperature of the bulbs was applied to be $\sim 85^{\circ}\text{C}$ in order to create the evaporation of the HCHO. The sampling time and the flow rate of nitrogen were set to be 90 mins and 150 mL/min, respectively. The recovery of the HCHO was found to be 70.3%~77.3% with the 10mL AHMT absorbing solution. As the concentration of HCHO varies from 0.005 mg/L to 0.15 mg/L , the SERS peaks shifts from 1206 cm^{-1} 、 1280 cm^{-1} 、 1367 cm^{-1} 、 1463 cm^{-1} to 1211 cm^{-1} 、 1284 cm^{-1} 、 1375 cm^{-1} 、 1467 cm^{-1} (ring breathing vibration and in-plane deformation). However, the SERS peaks of 710 cm^{-1} (S-C-N stretching vibrations) and 832 cm^{-1} (N-C-N stretching vibration) are at the same location. Due to the strong

SERS signal, the peak at about $1367\text{-}1375\text{ cm}^{-1}$ is applied for the quantification of HCHO and its detection limit is 0.0032 mg/L for the AHMT absorbing solution. Moreover, the real sample of HCHO residue indoor was collected by the AHMT absorbing solution with the sampling method of NIEA A705.12C. The SERS spectrum was measured and the concentration of the HCHO was found to be 0.0117 ppm by Raman system. The tolerance is around 10% compared with the standard method. The result shows that the SERS method has the potential to achieve the rapid detection in situ for HCHO and pesticide residues in air.

報告大綱:

第一章主要介紹拉曼光譜技術之背景及本計畫代表性化合物之特性，並說明表面增強拉曼光譜原理。第二章說明整體計畫目標與工作內容：（一）評估以表面增強拉曼光譜技術檢測空氣中大利松與巴拉松有機磷農藥之適用性及（二）評估以表面增強拉曼光譜技術檢測空氣中甲醛污染物之適用性。第三章研究方法說明化學藥品的製備、拉曼光譜儀規格及校正方式、實驗架構及流程及農藥、甲醛之量測方法。第四章主要說明實驗結果，如巴拉松、大利松農藥拉曼光譜量測、甲醛與吸收反應之表面增強拉曼光譜量測及實場採樣及方法測試。第五章為計畫研究結果與建議。

第一章 簡介

一、背景

Raman 在 1928 年發現拉曼散射 (Raman scattering)，這是屬於利用光的散射行為來測定分子的振動光譜訊號。但由於分子射截面非常小，造成拉曼訊號測定困難，而逐漸被紅外光吸收光譜取代。在 1960 年雷射發明後，雷射在 1964 年開始應用於拉曼光譜作為激發源，使得訊號得以放大，但拉曼光譜儀還是需要比紅外光譜昂貴許多而限制其發展。在 1974 年，M. Fleischmann 等人發現粗糙的金屬表面可以大幅提高拉曼光譜訊號[1]，此研究將為表面增強拉曼光譜 (surface enhanced Raman spectroscopy, SERS) 技術發展帶來巨大的潛在應用。表面增強拉曼光譜的應用範圍廣泛，如生醫快速感測、蛋白質研究、化學製藥、科學鑑識、生技藥品開發、醫學檢測、健康監控、單分子偵測、空氣污染物檢測、水質安全、農產品檢驗、有機物偵測、環境監控、奈米碳管結構驗證、特用化學、化妝品檢驗等；在現有的檢測方式中，SERS 也被期待去取代氣相色譜法 (Gas chromatography) 及高效液相色譜法 (High performance liquid chromatography, HPLC) 等[2]。在空氣中農藥污染方面，農民常隨意噴撒而造成空氣中農藥漂散；而甲醛用於多種建築材料和黏合劑中，新裝潢的木製櫥櫃、塑料地板、化纖地毯、夾板、隔熱層等壓板製成品，都有明顯甲醛釋放味道，可能得數年才會釋放殆盡，而造成環境污染及民眾生命與健康受到威脅之情形，因此環保署為解決上述問題，已開始進行現況調查與快速檢測開發研究，期望能評估適用於國內空氣污染特性指標物之光學鑑識程序，作為空氣污染源比對查證之參考。

二、代表性化合物

因應環保署環檢所的需要，本次計畫中選定的代表性樣品為巴拉松

(Parathion)、大利松 (Diazinon) 及甲醛 (Formaldehyde)。分別詳述如下。

(一) 巴拉松 (Parathion)

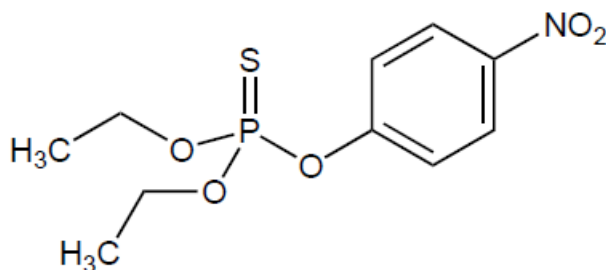
1. 農藥結構及物理化學性質:

普通名稱：巴拉松 (CIPAC No. 10)

化學名稱：O,O-Diethyl-O-4-nitrophenyl phosphorothioate (IUPAC).

O,O-Diethyl-O-(4-nitrophenyl) phosphorothioate (CA; 56-38-2)

化學結構：



分子式：C₁₀H₁₄NO₅PS

分子量：291.3

理化性質：

外觀：黃褐色液體

熔點：6.15°C

沸點：0.8 mbar 下 150°C

蒸氣壓：在 20°C 下 5 mbar

密度：1.265 (4 至 25°C)

溶解度：在 20°C 水中溶解度為 24 mg/L，易溶於大多數有機溶劑中，
例如：乙醇，丙酮，苯及氯仿。微溶於一些礦物油。

2. 劑型：乳劑 (EC)

3. 作用：殺蟲劑

此物質只需輕嗅數次此氣體或蒸氣即可導致死亡，或者其液體會因透過皮膚的接觸而使人致命；控制蚜蟲、小蟲、甲蟲、鱗翅類昆蟲；善跳躍的蚱蜢等昆蟲類；幼蟲期寄居葉內的昆蟲，及其他存於水果、棉花、蔬菜及牛馬飼料中的害蟲；還可控制幾種土壤內的昆蟲例如鐵線蟲，食根的昆蟲及互利共生的昆蟲。

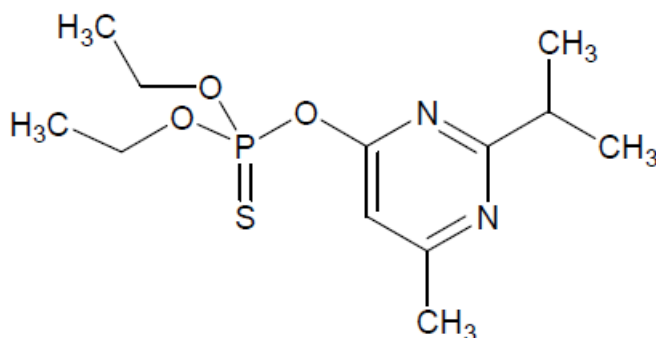
(二) 大利松 (Diazinon)

1. 農藥結構及物理化學性質:

普通名稱：大利松 (CIPAC No. 15)

化學名稱：O,O-diethyl O-2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate
(IUPAC). O,O-diethyl O-[6-methyl-2-(1-methylethyl)-4-pyrimidinyl]
phosphorothioate (CA; 333-41-5).

化學結構：



分子式：C₁₂H₂₁N₂O₃PS

分子量：304.3

理化性質：

外觀：澄清無色油狀 (工業級 95%：黃色油狀)。

沸點：83至84 °C (0.0002mmHg)；125°C (1 mmHg)。

蒸氣壓：0.12 mPa (25°C)。

密度：1.11 (20°C)。

溶解度：在 20°C 水中溶解度為 60 mg/L，易溶於大多數有機溶劑中，
例如：乙醚，乙醇，丙酮，苯，甲苯，正己烷，環己烷，二氯
甲烷及石油。

2. 劑型：粒劑 (GR)、乳劑 (EC)。

3. 作用：殺蟲劑。

本劑對人畜毒性較低，魚毒性比巴拉松強數倍，對蜜蜂毒性極高。本劑適用範圍廣，具接觸毒及胃毒的作用，速效性、燻蒸毒，與巴拉松具有相同的深達性，在植物體內易分解，殘效性比巴拉松差。因蒸氣壓大，高溫時殘效短，對一般作物在以其他有機磷劑易生藥害之蕃茄、果樹，在適當濃度下不生藥害，對水稻黑尾浮塵子及褐飛蟲有效外，對茶白紋毒蛾、香蕉粉介殼蟲、蔬

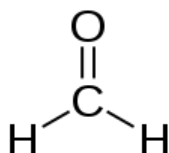
菜小菜蛾等 效果均極優越。此外，家庭衛生害蟲蟑螂及其他昆蟲，牛羊之虱、蟲子有效。 適當使用濃度不生藥害，蘋果在花謝後 20 日左右易生藥害。對綠及黃品種蘋果有藥害現象，一些萵苣品種，也有藥害情形，不可與過石灰波爾多混合使用，殘效性小，與石灰硫黃混合易生藥害，不可與銅劑混合使用。

(三) 甲醛

1. 結構及物理化學性質

化學式：HCHO

化學結構：



分子量：30.03

理化性質：

沸點：-19.5°C

閃點：64°C

自燃點：430°C

密度：0.815 g/mL（液體，-20°C），1.075 至 1.085 g/mL（液體，37%）

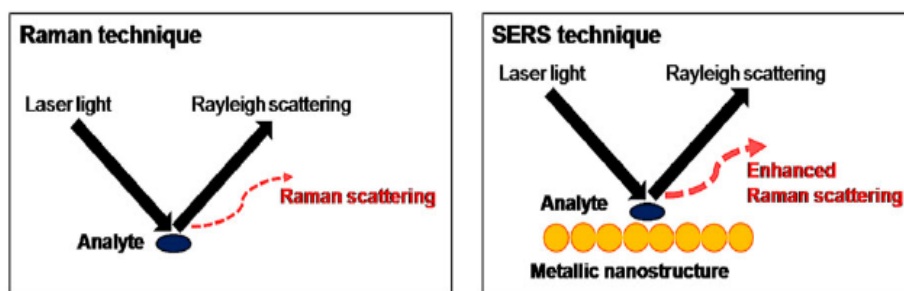
溶解度：極易溶於水，易溶於醇、醚、丙酮，苯等溶液。其 40%的水溶液 通稱福馬林；水溶液中主要以偕二醇的形式存在；一般甲醛溶液中還含有 少量穩定劑和甲醇以防止氧化和聚合。

天然存在的有機化合物，極易溶於水，易溶於醇、醚、丙酮，苯等溶液，水溶液中主要以偕二醇的形式存在，一般甲醛溶液中還含有少量穩定劑和甲醇以防止氧化和聚合。有特殊刺激氣味的無色氣體，對人眼、鼻等有刺激作用。主要用於生產工業樹脂，例如刨花板和塗料。與許多簡單的碳化合物相比，甲醛更為複雜，由於它有幾種不同形式。作為氣體甲醛具有特殊的刺激性氣味，無色的氣體，冷凝時氣體轉換為各種其它形式的甲醛(具有不同的化學式)，更有實用價值。由甲醛生成的產品包括脲甲醛樹脂，三聚氰胺樹脂，酚醛樹脂，聚甲醛塑料，1,4-丁二醇，和亞甲基二苯基氰酸酯；紡織工業用

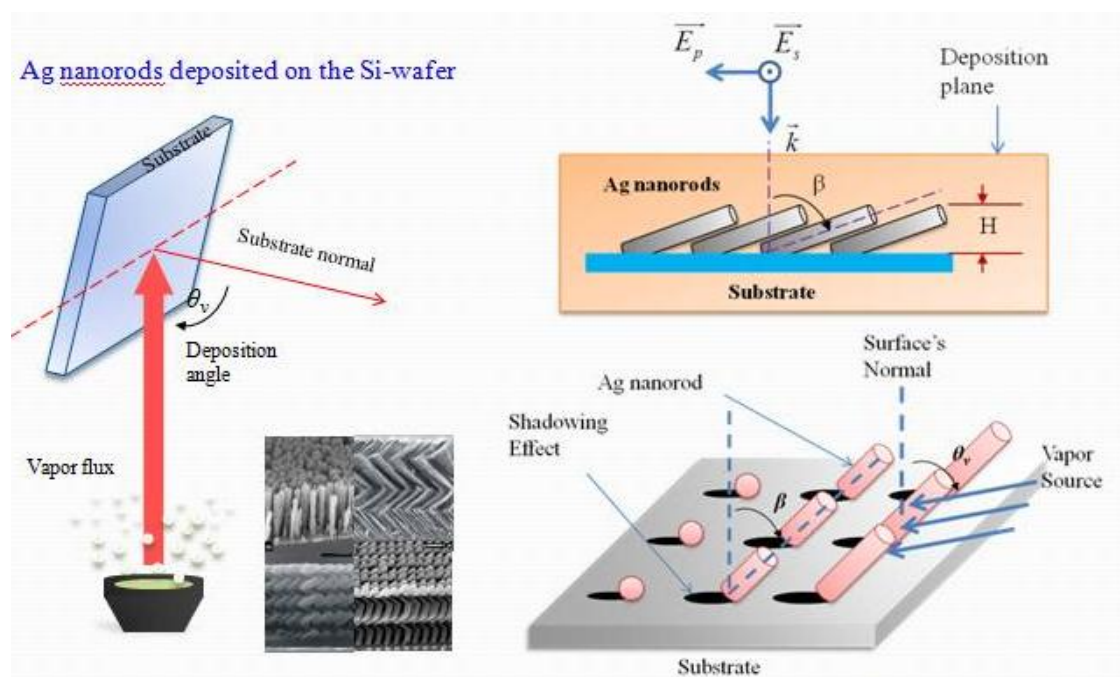
甲醛的樹脂作為整燙使布料防皺。甲醛是汽車製造的關鍵材料，用於製造傳輸系統、電氣系統、發動機缸體、門板、車軸和制動蹄片組件。甲醛是最常見的室內空氣污染毒物，約有三千多種不同建築材料均含有甲醛，主要來源為纖維板、三夾板、隔音板、保麗龍等裝潢材料，目前甲醛已被世界衛生組織確定為致癌和致畸型物質。

三、表面增強拉曼光譜技術

本計畫擬採用表面增強拉曼光譜技術 (Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS) 進行評估檢測空氣中大利松與巴拉松有機磷農藥之適用性及評估檢測空氣中甲醛污染物之適用性;由於奈米金屬結構可以大幅提高有機化合物之拉曼光譜訊號[3]，本計畫利用斜向角度沉積技術 (glancing angle deposition, GLAD)，製鍍大面積金屬奈米結構，做為增強待測分子拉曼訊號之感測器。圖一為表面增強拉曼光譜物理架構示意圖、圖二為斜向角度沉積法示意圖;當待測分子吸附在具粗糙面之金屬表面時，雷射光源在奈米結構具局部電漿共振模態，其局部電場 (localized electric field) 之共振效應可實際增強待測分子之散射訊號，此技術近年也常應用於農藥分子的快速檢測技術上[4,5]。



圖一 表面增強拉曼光譜物理架構示意圖 [3]



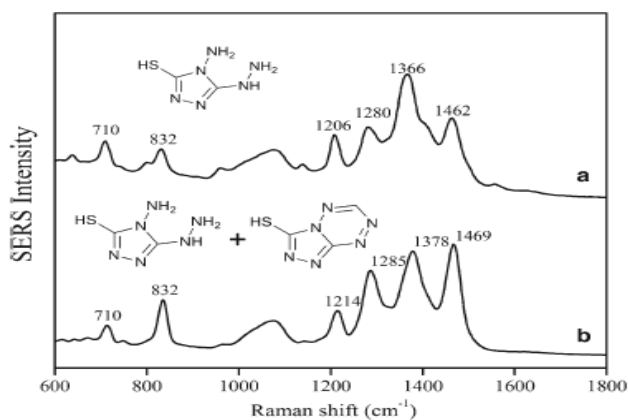
圖二 斜向角度沉積法示意圖

在奈米結構激發電漿共振模態的研究上，在雕刻技術的發展上已可利用大面積、簡單的氣相沉積製程方式達成，如銀奈米柱陣列結構 [6,7,8,9]；由於在奈米結構近場的局部電場強度可有效增強拉曼訊號，銀奈米斜柱陣列與銀鉅齒狀介電質雙層結構已被證明可應用於分子表面增強。農藥分子在 SERS 的檢測上，常用金、銀奈米材料做為增強分子拉曼訊號之結構 (表一)，而 SERS 結構的穩定性決定可否實際在應用上。

表一、農藥分子 SERS 檢測[10]

Analytes	Substrates	LOD*	References
Pesticides:			
Methamidophos	Ag colloids	100 ppb	(Xie and others 2012a)
Chlorpyrifos	Ag-coated Au NPs	70~700 ng/cm ² (fruit)	(Liu and others 2012a)
	Metal-doped sol-gel coated capillaries	~10 ppb	(Shende and others 2004a, b)
4-Methyl parathion	Ag-coated Au NPs	25~100 ng/cm ² (fruit)	(Liu and others 2012a)
	Cyclodextrin decorated 1D Au NPs	ppt level	(Wang and others 2010)
	Metal-doped sol-gel coated capillaries	~10 ppb	(Shende and others 2004a, b)
Azinphosmethyl	Q-SERS™ G1 Au coated substrates	7 ppm (apple)	(Liu and others 2013a)
		3 ppm (tomato)	
Phosmet	Q-SERS™ G1 Au coated substrates	7 ppm (apple)	(Liu and others 2013a)
		3 ppm (tomato)	
Malathion	Ag colloids loaded filter membrane	62 ppb	(Yu and White 2012)
	Metal-doped sol-gel coated capillaries	-	(Shende and others 2004a)
Dimethoate	Ag colloids	2 ppm	(Guerrini and others 2011)
	Metal-doped sol-gel coated capillaries	-	(Shende and others 2004a)
Fonofos	Metal-doped sol-gel coated capillaries	~10 ppb	(Shende and others 2004a, b)
Thiram	Ag-coated Au NPs	1~7 ng/cm ² (fruit)	(Liu and others 2012a)
	Single clusters of self-assembled hydrophobic Ag NPs	24 ppb	(Yuan and others 2011)
	Sandwich nanostructure composed of GO nanosheets and Au/Ag NPs	30 ppb (grape juice)	(Zhang and others 2013)
Tricyclazol	Ag colloids	2 ppb	(Tang and others 2012)
Carbaryl	Q-SERS™ G1 Au coated substrates	5 ppm (apple)	(Liu and others 2013a)
		5 ppm (tomato)	
	Metal-doped sol-gel coated capillaries	~10 ppb	(Shende and others 2004b)

在甲醛SERS檢測方面，由於其SERS光譜微弱，無法直接進行SERS量測，可利用檢測其與4-氨基-3-聯胺-5-巰基-1,2,4-三氮雜茂(AHMT, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole)反應後的產物6-mercapto-5-triazolo[4,3-b]-s-tetrazine (MTT)進行SERS光譜量測[11]，來檢測甲醛 (MTT會增強832cm⁻¹處之拉曼訊號)；圖三為甲醛與AHMT反應前(a)反應後(b)之SERS光譜。汎錫主要採用的SERS結構製程技術為物理氣相沉積技術，此技術具有大面積製鍍之優點，可利用此製程製鍍具奈米金屬直柱結構之穩定SERS基板，並進行待測目標分子之檢測評估。



圖三 甲醛與 AHMT(a)反應前與(b)反應後之 SERS 光譜[11]

第二章 計畫目標與工作內容

一、計畫目標

依據「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)-評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物專案研究計畫」之甄選須知，本計畫之計畫目標為：

- (一) 評估以表面增強拉曼光譜技術檢測空氣中大利松與巴拉松有機磷農藥之適用性。
- (二) 評估以表面增強拉曼光譜技術檢測空氣中甲醛污染物之適用性。

二、工作內容

依據「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)-評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物專案研究計畫」之甄選須知要求，本計畫工作內容至少應包含下列各項：

(一) 農藥類

- 1. 建立大利松與巴拉松 2 種有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜。
- 2. 於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中前述 2 種有機磷農藥項目適用性。
- 3. 選擇 1 處農地進行方法測試。

(二) 甲醛

- 1. 評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性。
- 2. 於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。
- 3. 選擇 1 室內場所進行方法測試

第三章 研究方法

一、化學藥品的製備

(一) 溶劑

1. 超純水: Sigma-Aldrich。
2. 甲醇: J.T.Baker，殘量級，用於標準液配置。

(二) 巴拉松標準液

1. 1000 mg/L，AccuStandard。
2. 取 1000 mg/L 巴拉松標準液 1 μ L，以甲醇定量至 1 mL，得 1 mg/L 巴拉松溶液。

(三) 大利松標準液

1. 1000 mg/L，AccuStandard。
2. 取 1000 mg/L 大利松標準液 1 μ L，以甲醇定量至 1 mL，得 1 mg/L 大利松溶液。

(四) 甲醛標準液

1. Sigma-Aldrich，35 %。
2. 取 35 % 甲醛水溶液 1 μ L，定量至 35mL 超純水，得 10 mg/L 甲醛水溶液。

(五) 吸收液

1. 4- 胺 基 -3- 聯 胺 -5- 疏 基 -1,2,4- 三 氮 雜 茂 (AHMT)，
4-amino-3-hydrazino-5-mercapto -1,2,4-triazole，Alfa Aesar，99+%、氫
氧化鉀(KOH)，Sigma-Aldrich，99.99%。
2. 0.5 N 鹽酸溶液：取鹽酸 4.2 mL，徐徐加入水 80 mL 中，冷卻後再加水
使成 100 mL。

3. AHMT 溶液: 稱取 AHMT 0.5 g, 以 0.5 N 鹽酸溶液 100 mL 溶解, 貯存於暗處。

4. 5N 氫氧化鈉溶液: 稱取氫氧化鉀 28 g, 以水溶解使成 100 mL。

5. 取 5 mL 氫氧化鉀溶液及 5 mL AHMT 溶液混合成吸收液。

(六) 1%檸檬酸鈉溶液:

1. Sigma-Aldrich, 99+%, 用於偵測低濃度甲醛時, 取 19 μ L 檸檬酸鈉水溶液與 1 μ L 吸收液進行混合。

2. 秤取 10 mg, 以超純水定量至 1mL。

(七) 5 mg/L 氯化鈉水溶液:

1. Sigma-Aldrich, 99+%, 用於農藥量測拉曼系統。

2. 取 1 mg 氯化鈉, 以超純水定量至 200mL。

(八) 基板增強效果測試標準液:

1. 三賽唑, Tricyclazole, Chemical Service, 99.5%。

2. 取 1mg Tricyclazole, 以甲醇定量至 995 mL, 得 1 mg/L Tricyclazole 標準液

二、拉曼光譜儀規格及校正方式

(一) 硬體規格

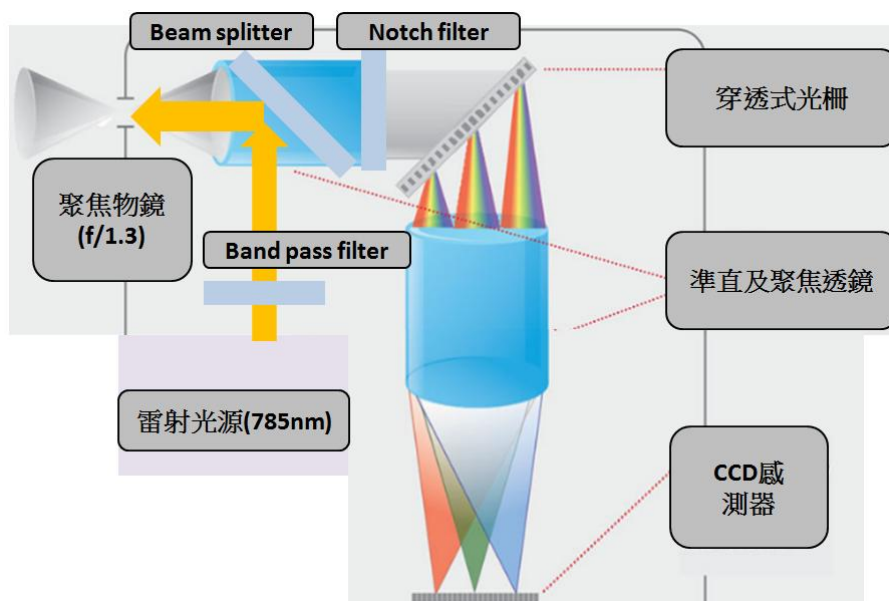
本計畫使用之光譜分析儀，為客製化可攜式拉曼光譜分析儀，此系統使用二極體雷射（波長 785 nm）作為拉曼光譜的激發源，最高功率可達 100 mW，其硬體規格如圖四所示；此光譜儀雷射光源經由物鏡聚焦後之光點尺寸約為 50 μm 。此光譜採整合模組設計，為達微小化尺寸，光源模組及其窄帶濾光片、Notch Filter 等皆整合至同一空間內，雷射光可經由 beam splitter 反射通過物鏡後，聚焦至待測樣品，並由同一物鏡 ($f \# = 1.3$) 收集待測樣品之拉曼訊號進入光譜儀。圖五為拉曼系統內部架構圖，此系統主要利用 VPH (volume phase holographic) 穿透式光柵進行分光，再利用透鏡將光線具焦至 CCD 感測器上；此穿透式架構具有高光通量之優點，而能有效提昇光機整體之感度。

Optical		
	Feature	Detailed Spec
	Design	Lens based spectrograph
	f/#	f/1.3
	Sample Input Format	Free-space
	Working distance	21.95 mm
	Slit diameter	50 μm x 1 mm
	Wavenumber range	200 – 2000 cm^{-1}
	Wavelength range	800 – 940 nm
	Resolution	10 cm^{-1} with 50 μm slit
	Excitation	785 nm
	Diffraction Grating	HD 1624 l/mm VPG
	Peak DE	83%
	Image spot size	10 μm
	Sample spot size	50 μm



Physical Specifications		
	Feature	Detailed Spec
	Size	5" x 6.5" x 2.0" housing
	Weight	1.2 kg
	Power supply weight	0.5 kg

圖四 可攜式拉曼光譜分析儀硬體規格



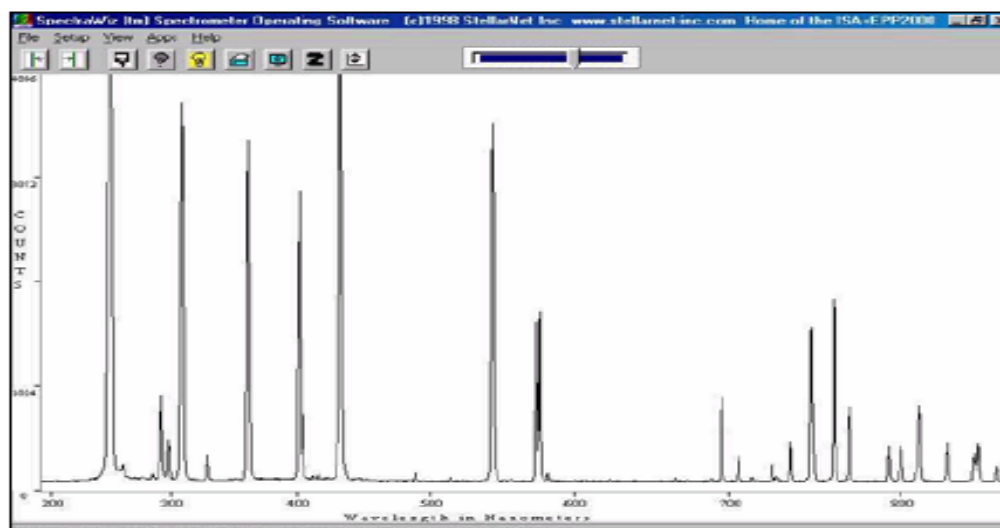
圖五 拉曼光譜系統內部架構圖

(二) 校正流程

本計畫所使用之拉曼光譜儀之感測元件為 1024 pixel linear CCD sensor，為校正光譜儀波數，可使用標準汞氬光源 (Mercury Argon) 進行初步的波數位置確認，此光源可提供波長 253.65 nm 至 1013.98 nm 範圍之特徵峰訊號，如圖六所示，校正公式如下：

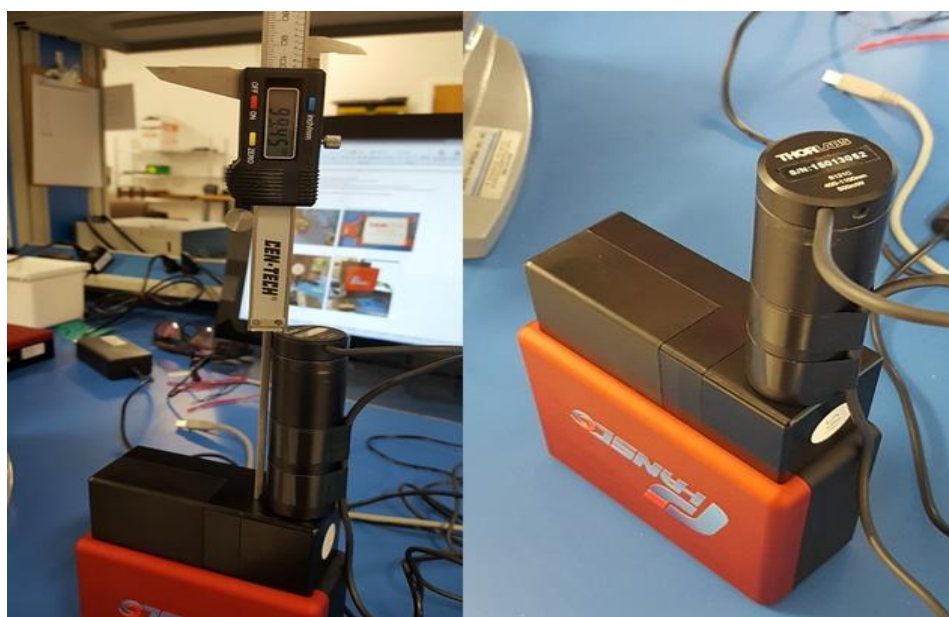
$$\lambda(\text{nm})=C_0+C_1*p+C_2*p^2+C_3*p^3$$

其中 λ 為波長位置、P 為光譜儀 CCD pixel 位置、C0 至 C3 為設定參數。本計畫使用激發光源為 785 nm 之拉曼系統，故在波長之採用校正光源特徵峰選取 826.45 nm、842.47 nm、852.14 nm、866.80 nm 及 912.30 nm，做為感測器分光位置確認，其中上述特徵峰波長誤差在 ± 0.5 nm 以內。



圖六 標準汞氬光源之光譜圖

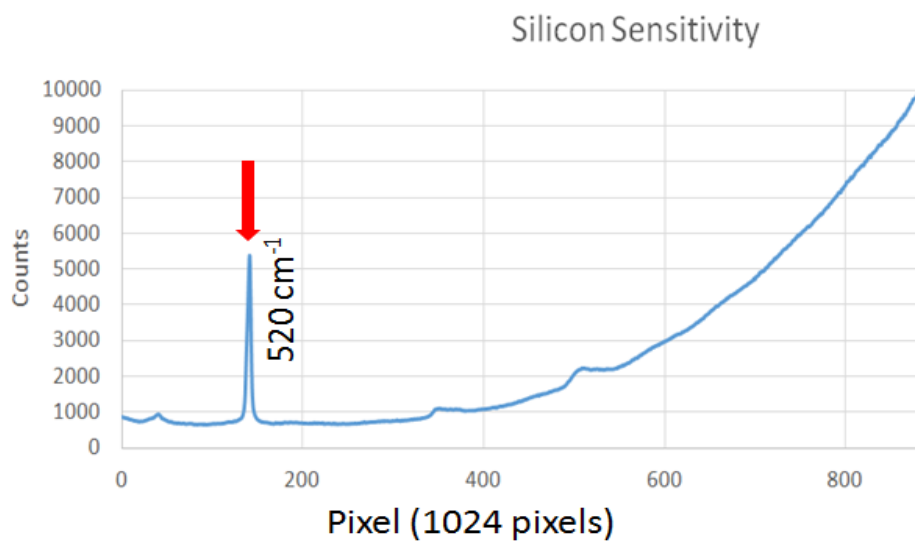
在雷射光源的部份，需確認其輸出功率大小，圖七為雷射光源輸出功率量測架構 (Optical Power Detector: Thorlabs S121C)。此外，在光譜儀靈敏度的確認，可利用在其焦平面上偵測矽晶片 (silicon wafer) 之拉曼光訊號，進行感度的定義，其 520cm^{-1} 之特徵峰訊號強度為 $4500 \pm 15\%$; (Laser: 785nm, output power: 20 mW; 40ms integration time; 16 average)。圖八為拉曼光譜靈敏度量測架構圖、圖九為矽晶片之拉曼光譜圖。拉曼系統波數及感度校正流程圖如圖十所示。



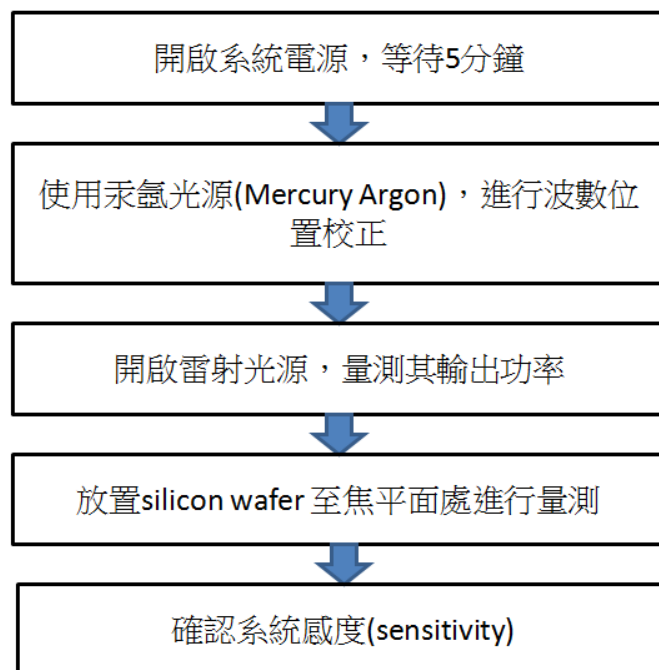
圖七 雷射光源輸出功率量測架構



圖八 拉曼光譜靈敏度量測架構圖



圖九 矽晶片拉曼訊號與 CCD 感測器 Pixel 相對位置圖
(laser: 785nm, output power:20 mW;40 ms integration time; 16 average)



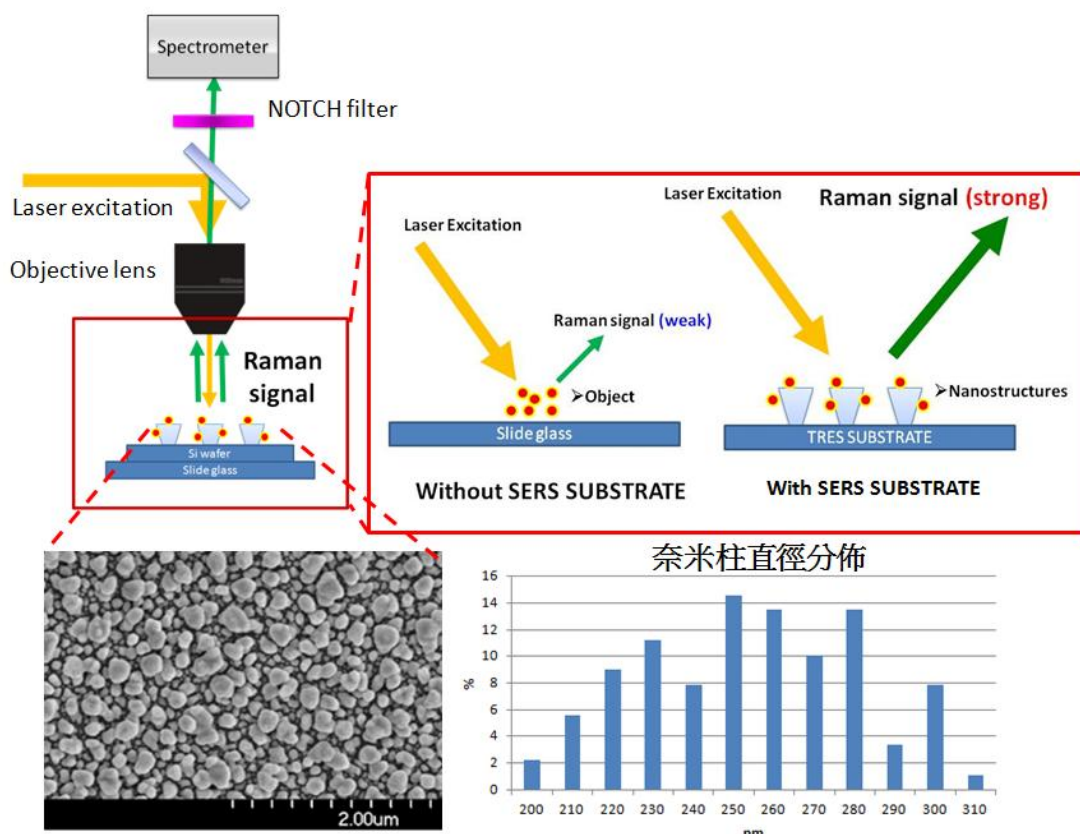
圖十 拉曼系統波數及感度校正流程圖

三、表面增強拉曼光譜(SERS)實驗架構及流程

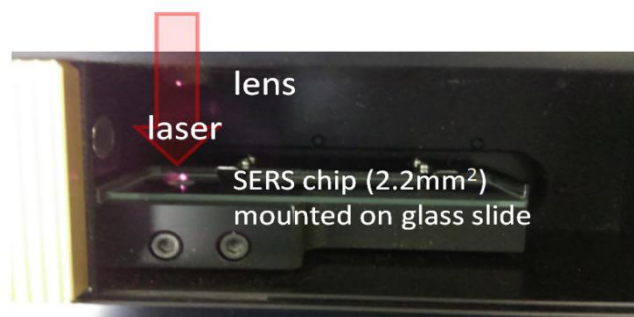
(一) SERS 平臺架構

本計畫所建立之 SERS 整合平臺架構及使用之 SERS 基板結構 SEM (Scanning Electron Microscope; top view) 請見圖十一;在此架構上，主要由 SERS 基板及拉曼光譜儀搭配所組成；其中 SERS 基板為奈米直柱構，其直徑尺寸範圍介於 210 nm 至 300 nm。在此平臺下，單波長雷射 (785nm) 激發光源將由透鏡聚焦至 SERS 基板表面，SERS 基板結構上需事先進行農藥分子的吸附；由於雷射照射在 SERS 基板結構上時，銀奈米結構本身的電漿效應，將實質增強農藥分子的拉曼散射訊號，此拉曼訊號將再被透鏡所收集而進入分光光譜儀做量測分析；圖十二為 SERS 載臺連接器。

Scheme of Raman spectroscopy



圖十一 SERS 整合平臺架構圖(資料來源: Phasnc)



圖十二 SERS 載臺連接器

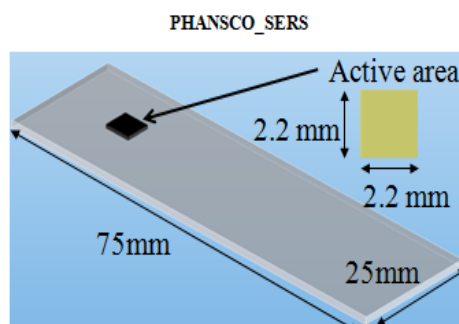
(二) SERS 基板結構功能性確認流程

本計畫使用奈米金屬直柱結構 (nanopillars) ，做為增強待測分子拉曼訊號之感測器;其有效區域為奈米金屬結構沉積在矽晶片 (為 2.2mm x 2.2 mm) 上，並貼合在載玻片上 (75mm x 25mm x 2mm) ;此結構為純金屬結構 (金包覆銀) ，可承受之最大功率 (在 4X 物鏡倍率、50ul 聚焦點照射 1 秒條件下) 可達 100 mW; 圖十三為奈米金屬基板有效區域及外型尺寸、奈米金屬直柱結構規格如圖十四所

示。圖十五為 SERS 基板結構功能性確認流程，包含確認拉曼背景訊號除 520cm^{-1} 處有無其它雜訊、確認其增強倍率是否正常。AQL6.5/3/25 為品管標準，其定義為每批次 25 片 SERS 基板中，抽檢 SERS 基板 3 片做為品管標準，若是在其中有 1 片基板不符合標準，則整批基板皆不能使用。SERS 基板以三賽唑 (tricyclazole, 1 mg/L) 進行功能性測試，選擇三賽唑特徵峰 1368cm^{-1} 進行拉曼強度定義，儀器條件設定雷射波長為 785 nm、積分時間為 500 ms、雷射功率為 85 mW、使用基板為銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、積分平均次數為 16 次，其特徵峰 1368cm^{-1} 拉曼強度在 $17098(\text{a.u.}) \pm 15\%$ 之間的範圍即通過測試。表面增強拉曼系統在可進行分析下之主要品管標準如表二所列。

表二 拉曼系統品管標準

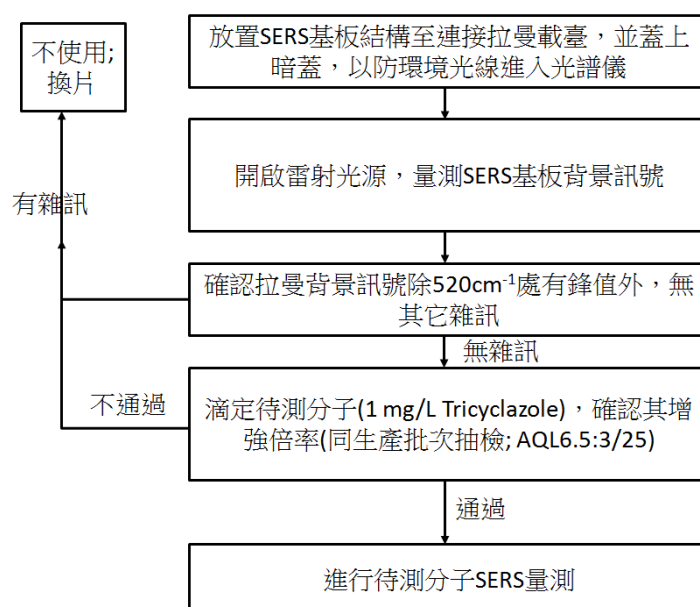
品項	標準
光柵位置	Silicon 特徵峰位於 520cm^{-1} 處;其偏極範圍 $< \pm 2\text{cm}^{-1}$
光機效率	Silicon 特徵峰 520cm^{-1} 強度 $21500 \pm 5\%$;其中雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、平均次數:16。
背景干擾	除 520cm^{-1} 無雜訊。
SERS 基板	tricyclazole (1 mg/L); 特徵峰 1368cm^{-1} 強度在 $17098 \pm 15\%$;雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、平均次數:16
SERS 污染	以超純水與甲醇 1:1 混合,取 $3\text{ }\mu\text{L}$ 進行 SERS 滴定,除 520cm^{-1} 無其它特徵峰。



圖十三 奈米基板有效區域(2mm x 2mm)及外型尺寸

Chips size(active)	2.2mm x 2.2mm, Metal Film Coated on Silicon Wafer
Slide Mount	Glass substrate (75mm x 25mm x2mm)
Material	Silver with Gold Shell
Fabrication	Evaporation (PVD)
Excitation wavelengths	785nm (<100mw;recommend);4X-20X Objective Lens
Limitation of detection(LOD)	Tricyclazole(1ppm)
Film thickness	285±10nm

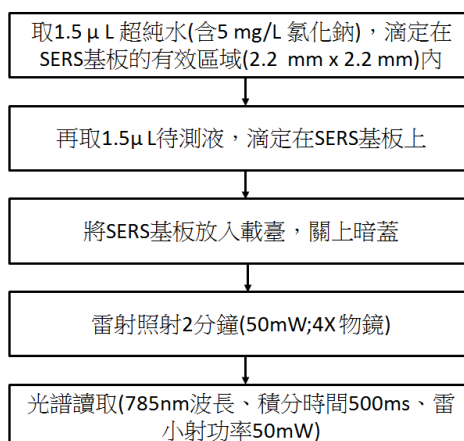
圖十四 奈米金屬直柱結構規格



圖十五 SERS 基板結構功能性確認流程圖

(三) 農藥分子 SERS 量測方式

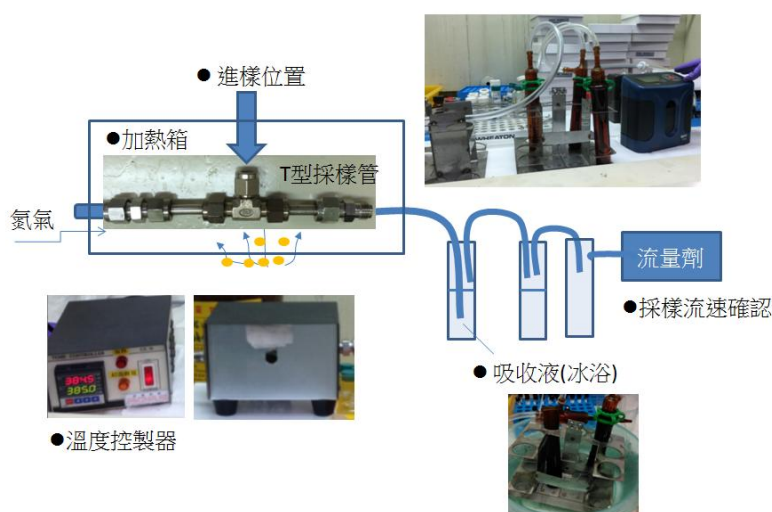
在經過 SERS 基板本身之功能性確認後，可以進行農藥分子 SERS 量測;本計畫在農藥的檢測目標是建立大利松與巴拉松 2 種有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜，其農藥分子量測流程如圖十六所示; 包含取 1.5 μl 超純水 (含 5 mg/L 氯化鈉)，滴定在 SERS 基板的有效區域內，再取 1.5 μl 待測液滴定在 SERS 基板，經由雷射照射後進行 SERS 光譜量測等步驟。



圖十六 農藥分子量測流程

(四) 實驗室測試檢測空氣中農藥之系統架構

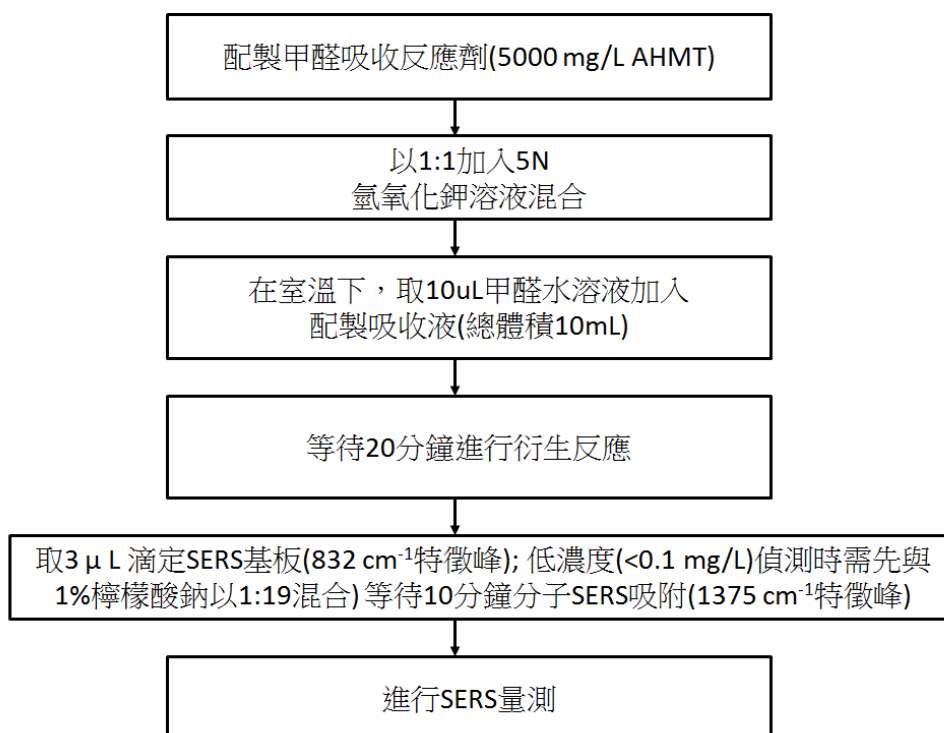
本計畫在空氣中農藥在實驗室測試的採樣架構，請參考圖十七;其中可將農藥滴定至 T 型採樣管內，以加熱箱加熱 T 型管 (可至 450°C) 後，將農藥分子 (巴拉松及大利松) 氣化，再以氮氣將農藥分子吹進含 10 mL 甲醇溶液吸收瓶內; 可經由量測含農藥分子之表面增強拉曼光譜，來對農藥做快速光譜檢測。吸收液裡巴拉松及大利松的濃度含量可經由液相層析／串聯式質譜儀 (LC/MS/MS) 系統 (Agilent 1200 搭配 Sciex API 4000) 進行回收率確認;其中空氣樣品採樣測試及分析委託由工研院綠能所進行分析。



圖十七 農藥 (巴拉松及大利松) 分子在實驗室空氣檢測實驗裝置圖

(五) 甲醛分子量測方式

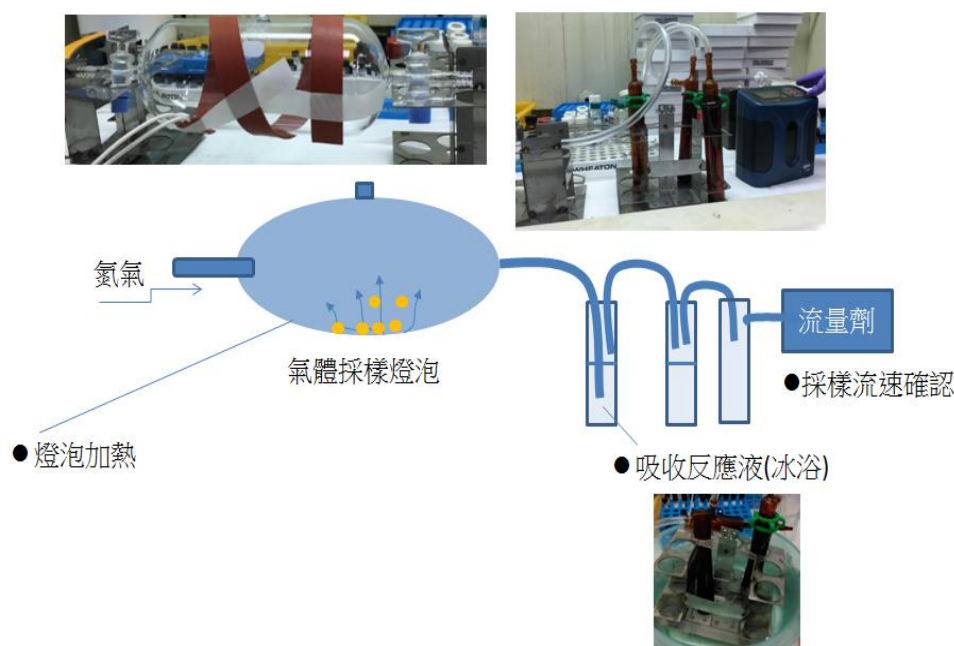
在甲醛 SERS 檢測方面，由於其 SERS 光譜微弱，無法直接進行 SERS 量測，可利用檢測其與 4-胺基-3-聯胺-5-巰基-1,2,4-三氮雜茂 (AHMT, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole) 反應後的產物 (MTT) 進行 SERS 光譜量測，來檢測甲醛。標準甲醛分子量測方式請參考圖十八，其中甲醛吸收反應劑的配製為取 AHMT (5000 mg/L)與 5 N 氫氧化鉀溶液以 1:1 混合，並在室溫下取 10 μ l 甲醛水溶液加入配製吸收液 (建立檢量線時)，等待 20 分鐘進衍生反應。當以 832 cm^{-1} 特徵峰建立檢量測時，可直接取 3 μ l 滴定 SERS 基板量測;當吸收液甲醛濃度低於 0.1 mg/L 時，需先取吸收液與檸檬酸鈉以 1:19 混合，等待 10 分鐘後進行分子吸附後，再進行 SERS 量測。



圖十八 甲醛分子 SERS 量測流程

(六) 實驗室測試檢測空氣中甲醛之系統架構

本計畫在空氣中甲醛在實驗室測試及空氣的採樣方式，可參考部份環保署公告方法"空氣中氣態之醛化合物檢測方法 (NIEA A705.12C)"之取樣方式來進行[12];實際在實驗室測試時，可將甲醛滴定至玻璃容器內，加熱後以氮氣將氣化後之甲醛吹進吸收瓶內;吸收液含衍生劑 (AHMT)，再經由量測甲醛與衍生劑之產物之表面增強拉曼訊號來對甲醛做快速光譜檢測，圖十九為甲醛空氣檢測實驗裝置圖。在實驗室測試時，可將甲醛注入氣體採樣燈泡 (Gas sample bulb) 裡進行測試，吸收液裡甲醛的濃度含量可經由分光光度法[13]來進行比對;空氣樣品採樣測試及分析委託由工研院綠能所協助，採用環署檢字第 1050100612 號公告方法 (NIEA A705.12C)"空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法－以 DNPH 衍生物之高效能液相層析測定法";分析儀器為島津紫外可見光分光光譜儀 (UV-2450)。在採樣燈泡的外添加量實驗，可以依照甲醛在室內空氣中法規標準濃度進行(如在吸收液為 0.133 mg/L 時，空氣中甲醛濃度約為 0.08 ppmv)，再進行拉曼及 UV 量測結果比對。

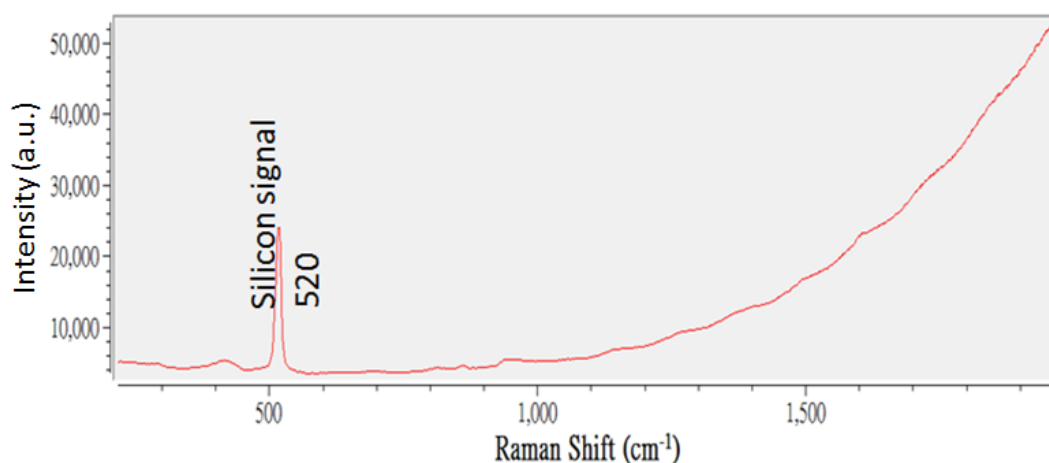


圖十九 甲醛在實驗室空氣檢測實驗裝置圖

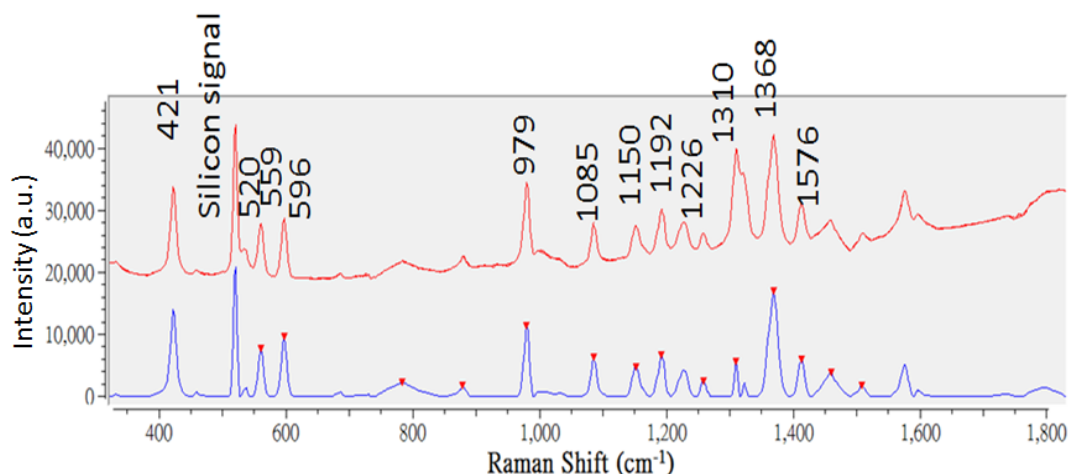
第四章 結果與討論

一、SERS 結構功能性量測

在進行 SERS 量測之前，需先對 SERS 基板結構進行背景及增強效果確認，請參考圖十五流程，以雷射波長 785 nm、積分時間 500 ms、雷射功率 85 mW、使用基板為銀奈米柱結構 (厚度 285nm; 以金包覆) 以及積分平均次數為 16 次之條件下進行功能性測試。圖二十為 SERS 基板結構背景光譜圖，由圖可知除了在 520 cm^{-1} 處之外，圖譜未有雜訊出現。

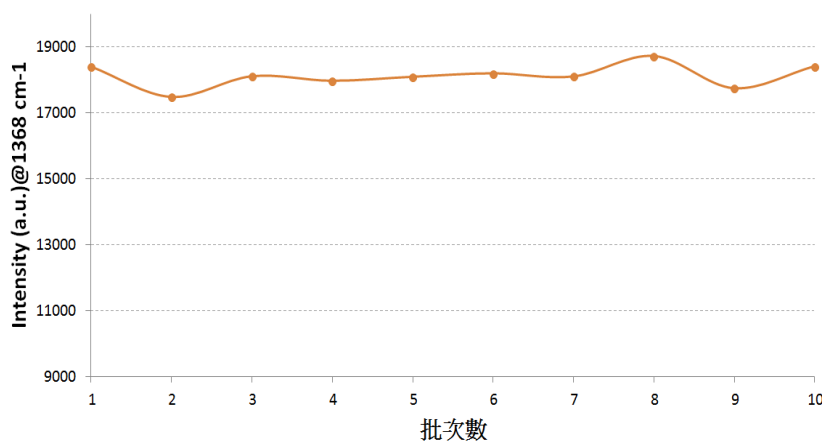


圖二十 SERS 結構背景光譜



圖二十一 1 mg/L Tricyclazole 分子 SERS 光譜圖

SERS 基板結構功能性確認流程，10 批次實際抽檢情況如圖二十二所示;利用 1 mg/L 三賽唑標準試劑進行 SERS 訊號量測抽檢，其中每批次為 25 片 SERS 基板，抽檢 3 片後特徵峰 1368 cm^{-1} 計算平均強度。批次抽檢結果，三賽唑分子的特徵峰平均強度範圍介於 18408~17499 之間。

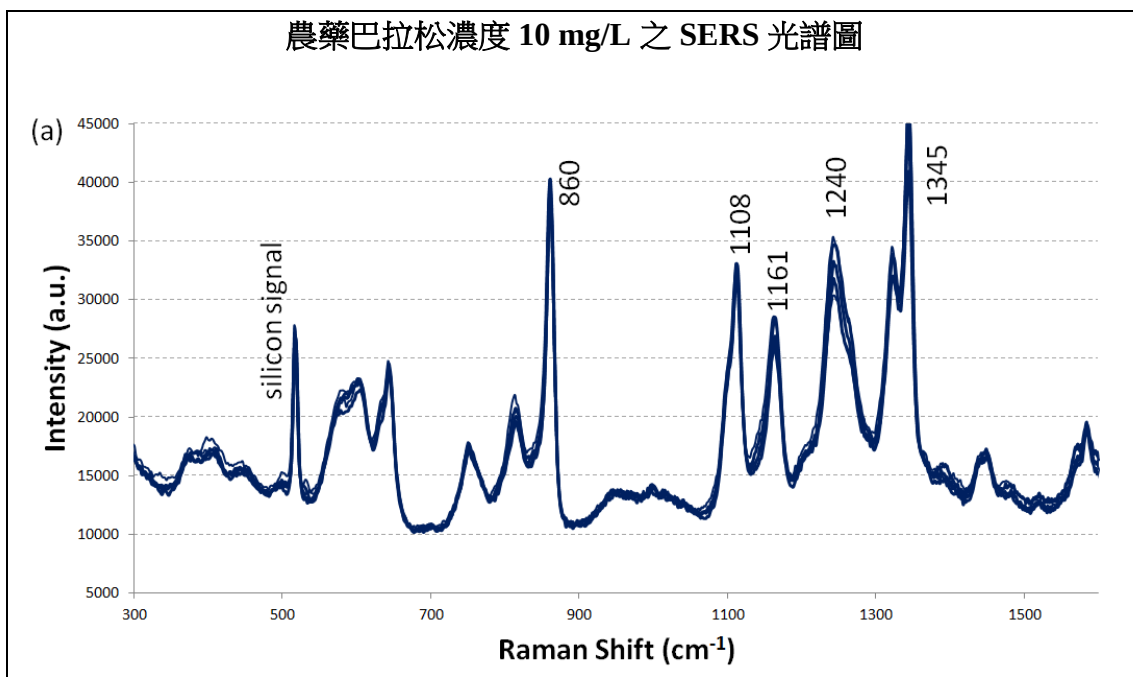


圖二十二 SERS 基板 10 批次實際抽檢情況

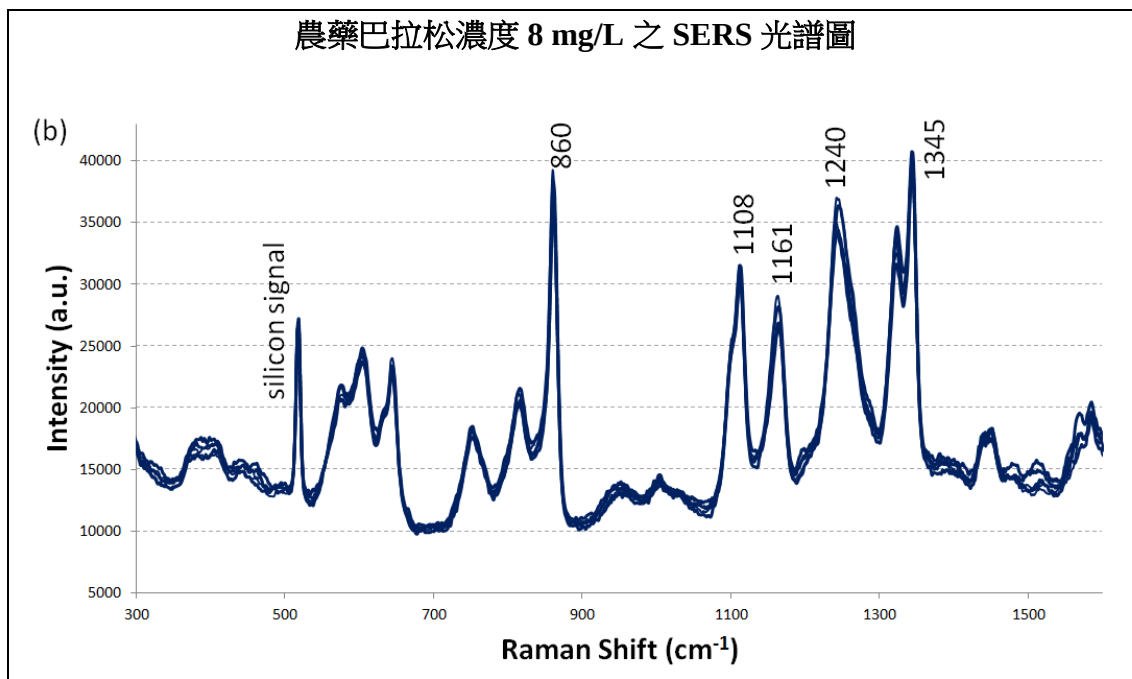
二、巴拉松之表面增強拉曼光譜量測

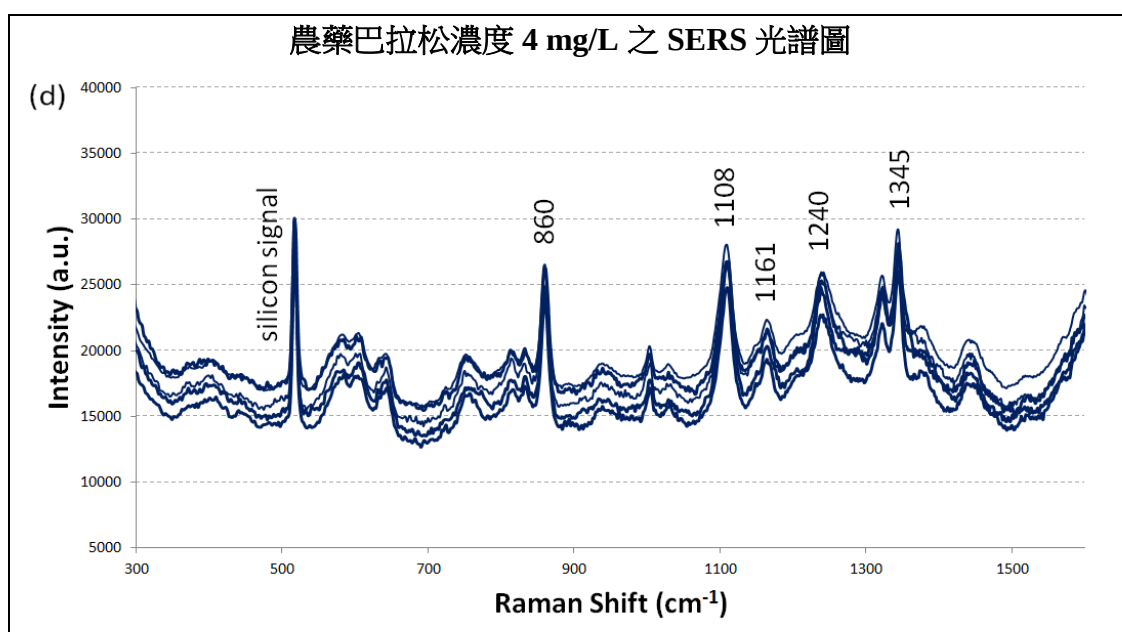
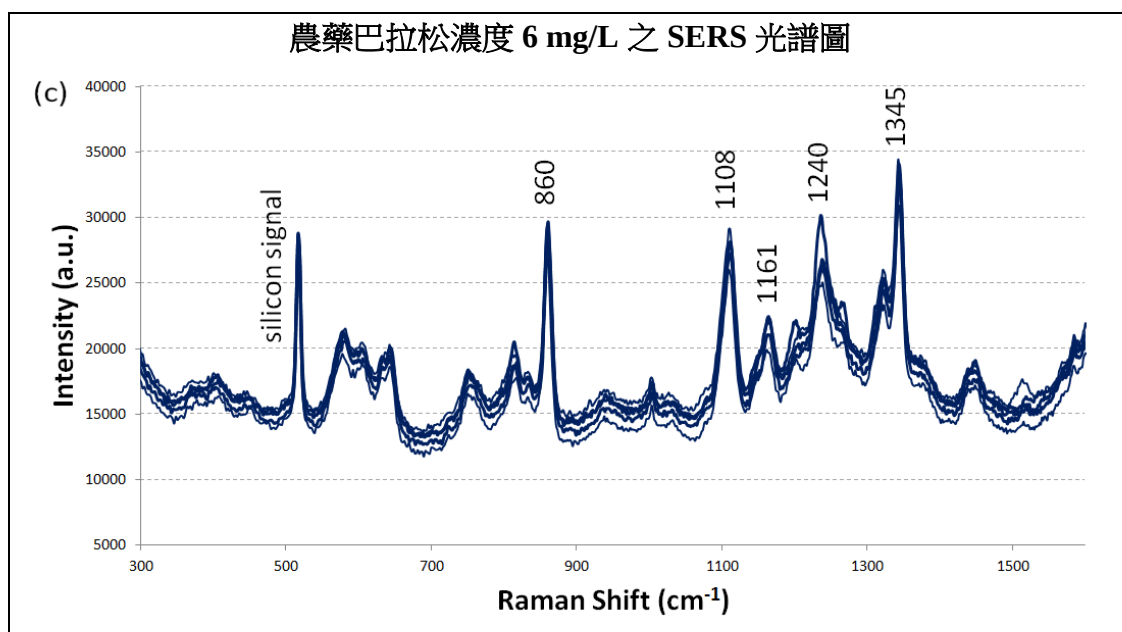
在農藥巴拉松之 SERS 量測方式，首先取 1.5 μl 超純水 (含 5 mg/L 氯化鈉)，滴定在 SERS 基板的有效區域 (2.2 mm x 2.2 mm) 內，再取 1.5 μl 待測液滴定在 SERS 基板上進行拉曼量測，所有量測皆在暗箱裡完成；其中使用基板為銀奈米柱結構 (厚度 285nm; 外殼以金包覆)，量測前需利用雷射照射基板 2 分鐘 (利用 Marangoni 效應提昇訊號) [19]。在此農藥分子量測中，以雷射波長 785 nm、積分時間 500 ms、雷射功率 85 mW、使用基板為銀奈米柱結構 (厚度 285nm; 以金包覆) 以及積分平均次數為 5 次之條件下進行量測，量測結果如圖二十三為巴拉松隨濃度(a) 10 mg/L (b) 8 mg/L (c) 6 mg/L (d) 4 mg/L 及 (e) 2 mg/L (f) 1 mg/L 及 (g) 0.5 mg/L 之 SERS 光譜圖，在積分時間統一使用 500 ms 進行 5 次量測條件下，巴拉松分子在 860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處為其主要 SERS 特徵峰[14,15]。在所有量測中，訊號雜訊比 (Signal-to-noise ratio) 皆大於 12 以上。巴拉松分子在 1108 cm^{-1} 處為主要特徵峰值，以此特徵峰繪製巴拉松分子檢量線結果如圖二十四所示。

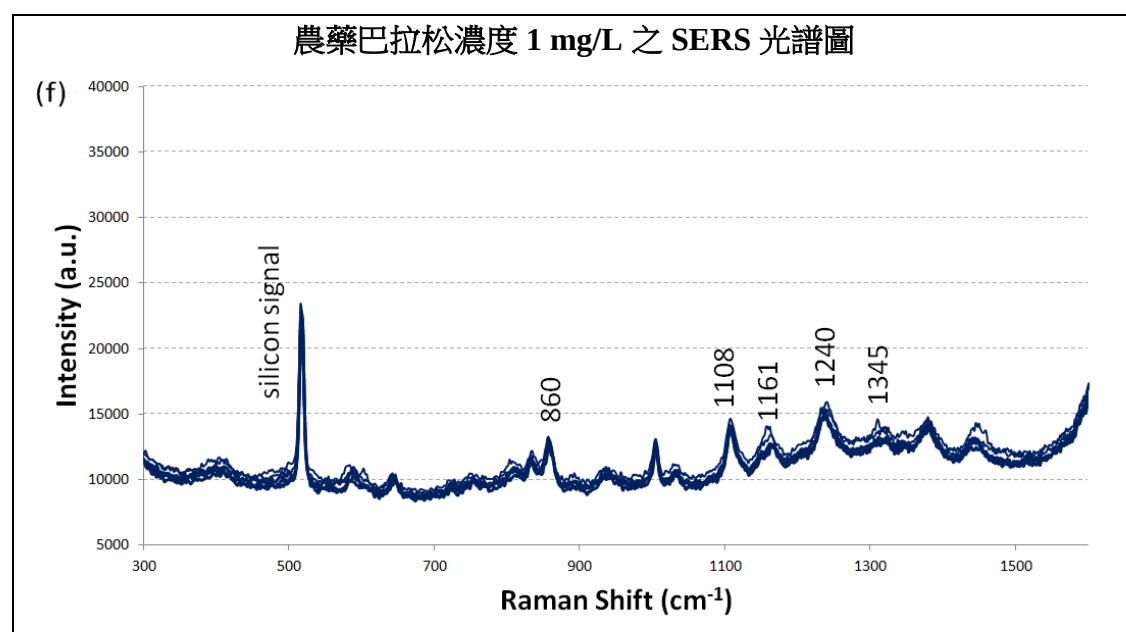
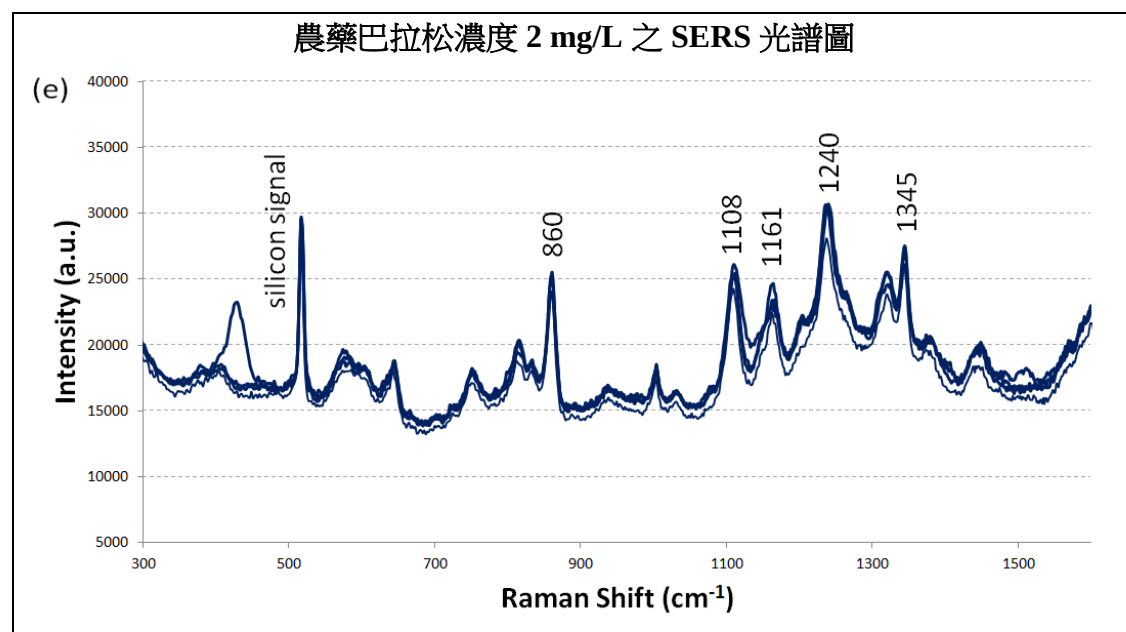
農藥巴拉松濃度 10 mg/L 之 SERS 光譜圖

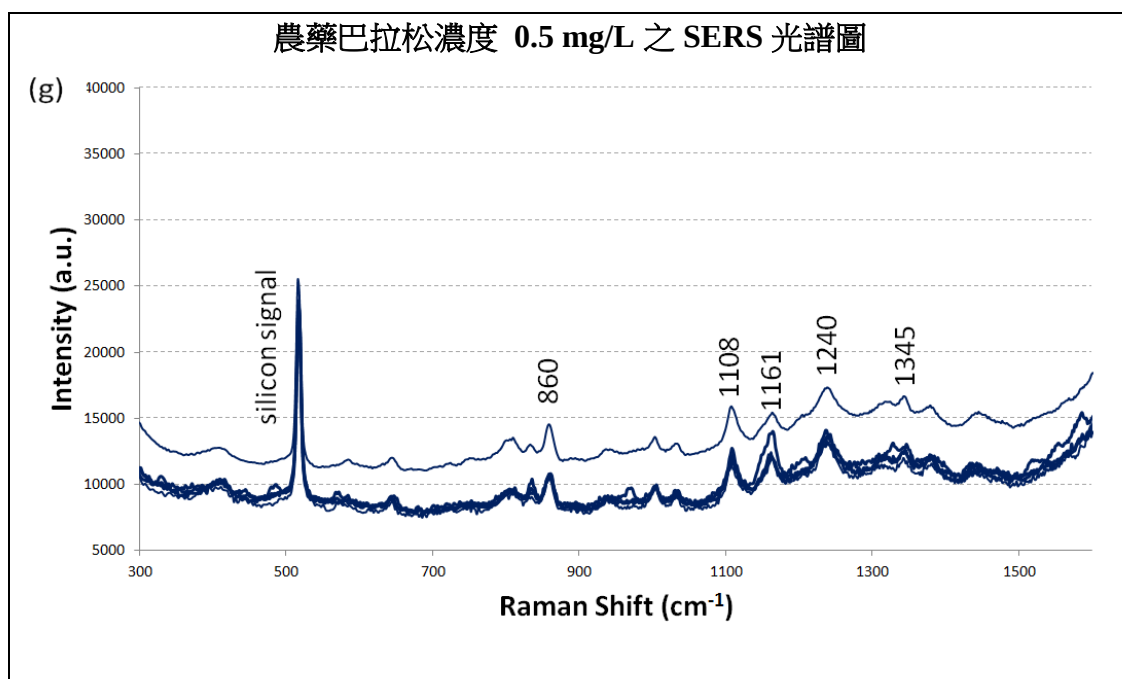


農藥巴拉松濃度 8 mg/L 之 SERS 光譜圖

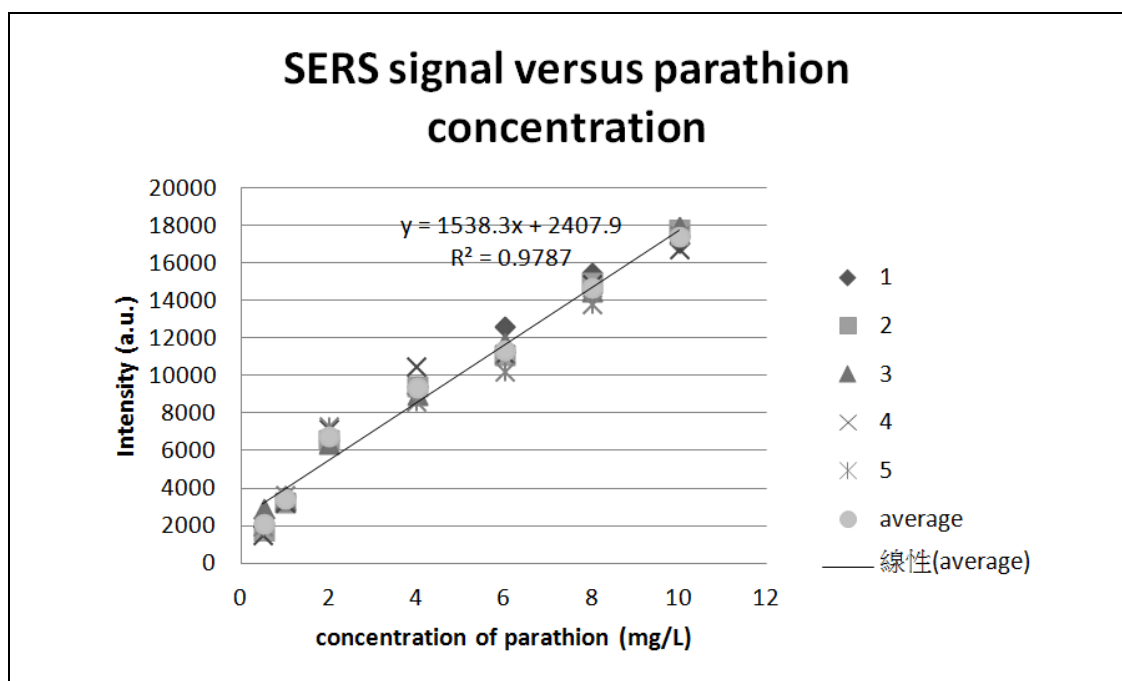






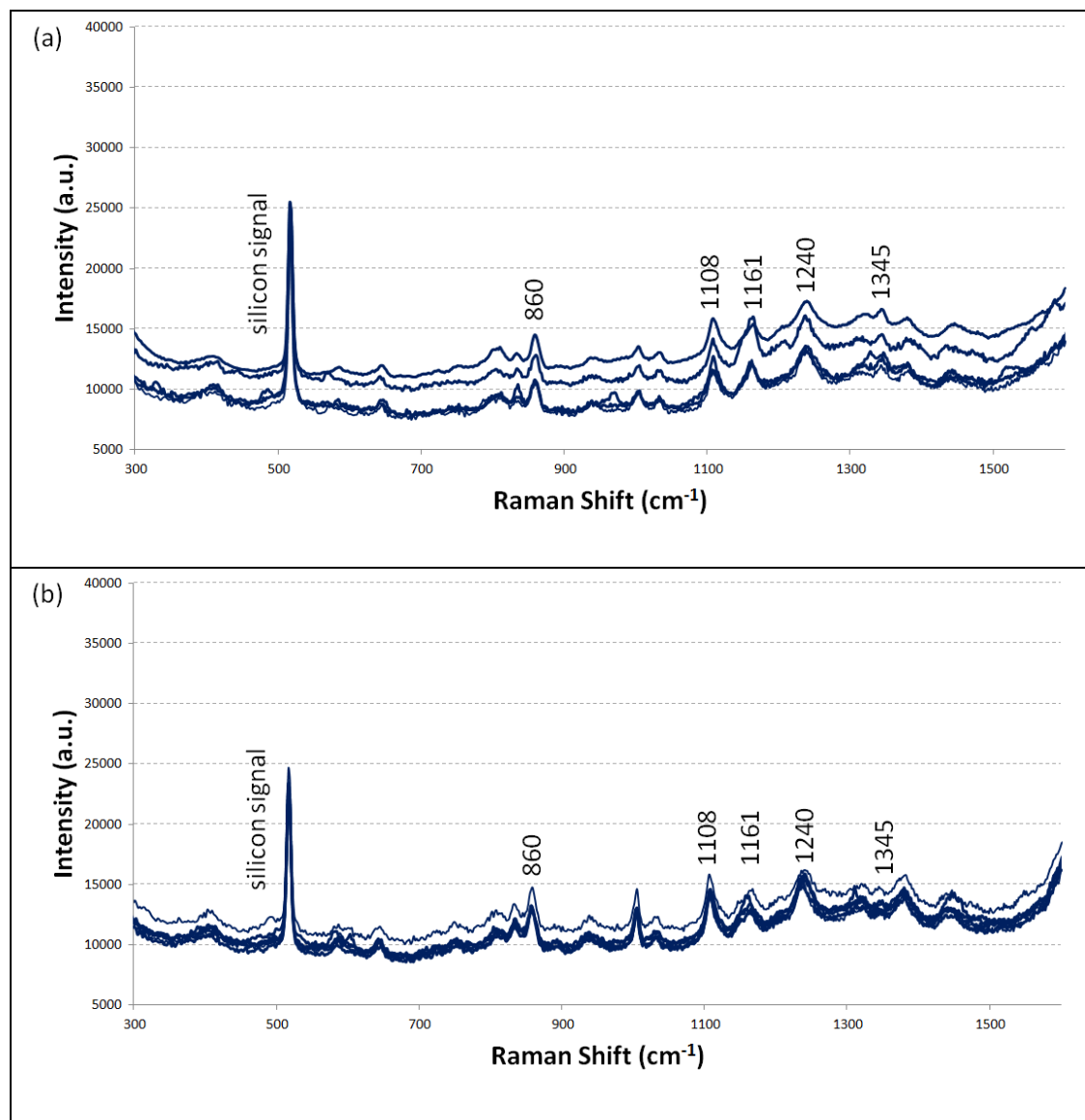


圖二十三 農藥巴拉松濃度(a) 10 mg/L (b) 8 mg/L (b) 6 mg/L (c) 4 mg/L (d) 2 mg/L (f) 1 mg/L 及 (g) 0.5 mg/L 之 SERS 光譜圖



圖二十四 巴拉松分子檢量線 (1108cm^{-1} 特徵峰)

為瞭解巴拉松分子在拉曼系統之方法偵測極限測定，參考環保署環檢所環境檢驗方法偵測極限測定指引 (NIEA-PA107) [17]"計算 MDL 值 (method detection limit)；圖二十五為巴拉松分子濃度(a)0.5 mg/L 及(b) 1 mg/L 之 SERS 光譜圖(七次重覆量測)



圖二十五、巴拉松分子濃度 SERS 光譜圖 (七次重覆量測)

(a) 0.5 mg/L 及 (b) 1 mg/L

得到定值之標準偏差 S_A 及 S_B 計算公式如下：

$$S = \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 / n - 1}$$

其中 X_i = 待測樣品之個別測定值、 $\bar{X}$ = 待測樣品測定值之平均值、 n = 測定次數 (7 次) ; 進而可得 F 比值 $S_A^2/S_B^2=1.1092$; 再計算共同標準偏差 (Pooled

standard deviation, S_{pooled}) :

$$S_{pooled} = \left[\frac{6S_A^2 + 6S_B^2}{12} \right]^{1/2}$$

$S_{pooled}=0.1792$ ，最後之吸收液 MDL 值為 $2.681 \times S_{pooled}=0.4805$ (mg/L)，如下所示。

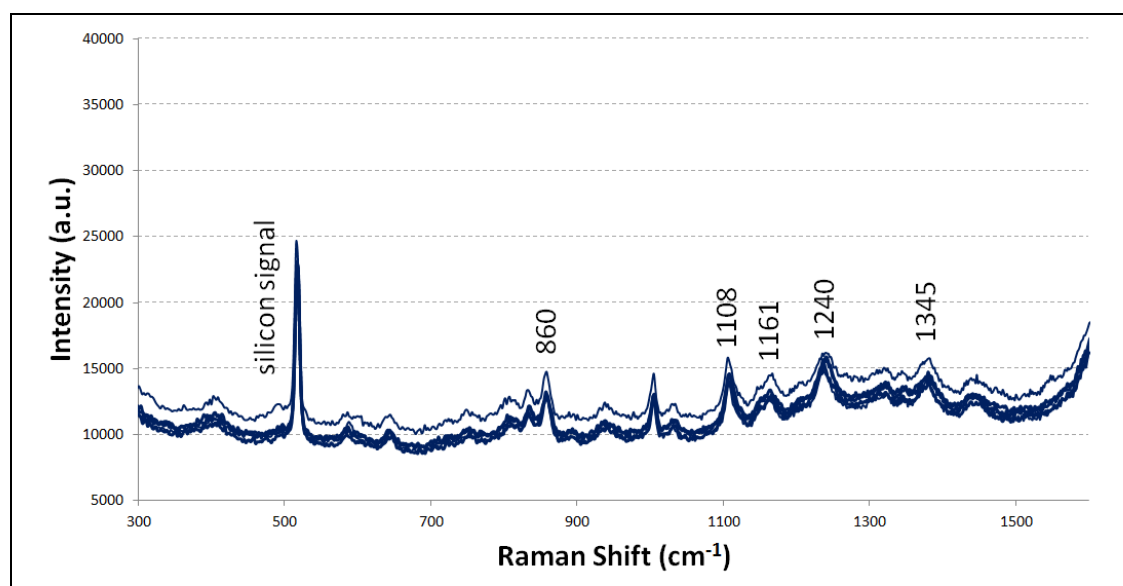
	S_A^2	S_B^2	S_A^2/S_B^2 或 S_B^2/S_A^2	F 比值 ($F < 3.05$)	S_{pooled}	MDL (mg/L)
巴拉松	0.0305	0.0338	1.1092	Pass	0.1792	0.4805

根據固定污染源空氣污染物排放標準[18]，巴拉松農藥在空氣中的容許濃度為 0.1 mg/m^3 ；若以空氣採樣流速 200 mL/min 、採氣 60 分鐘、吸收液體積 10 mL 為例，為達此檢測目標，當吸收液濃縮 5 倍時，則可測得在空氣中含量 0.08 mg/m^3 以上巴拉松農藥。

圖二十六為 0.2 mg/L 巴拉松濃縮 5 倍後之 SERS 光譜圖；其濃縮的方式為取 $100 \text{ }\mu\text{L}$ 至 2 mL 尖底瓶，利用氮氣吹乾(約 6 分鐘)，再加入 $20 \text{ }\mu\text{L}$ 甲醇至離心管震盪回溶(3000 rpm ; 10 秒)；巴拉松濃縮條件參數如表三所示。取 $1.5 \text{ }\mu\text{L}$ 超純水(含 5 mg/L 氯化鈉)，滴定在 SERS 基板的有效區域($2.2 \text{ mm} \times 2.2 \text{ mm}$)內，再取 $1.5 \text{ }\mu\text{L}$ 待測液滴定在 SERS 基板上，以雷射照射 2 分鐘後(50 mW ; $4\times$ 物鏡)，進行光譜讀取(785 nm 波長、積分時間 500 ms 、雷射功率 50 mW 、平均次數:5)。將特徵峰 1108 cm^{-1} 之強度代入巴拉松檢量線公式 ($y=1538.3x+2407.9$)，可得濃度為 1.043 mg/L 。

表三 巴拉松濃縮條件參數

農藥	吹氣速率 (L/min)	濃縮時間 (min)	濃縮倍率	振盪速(rpm)	回溶時間(秒)
巴拉松	0.35	6	5	3000	10



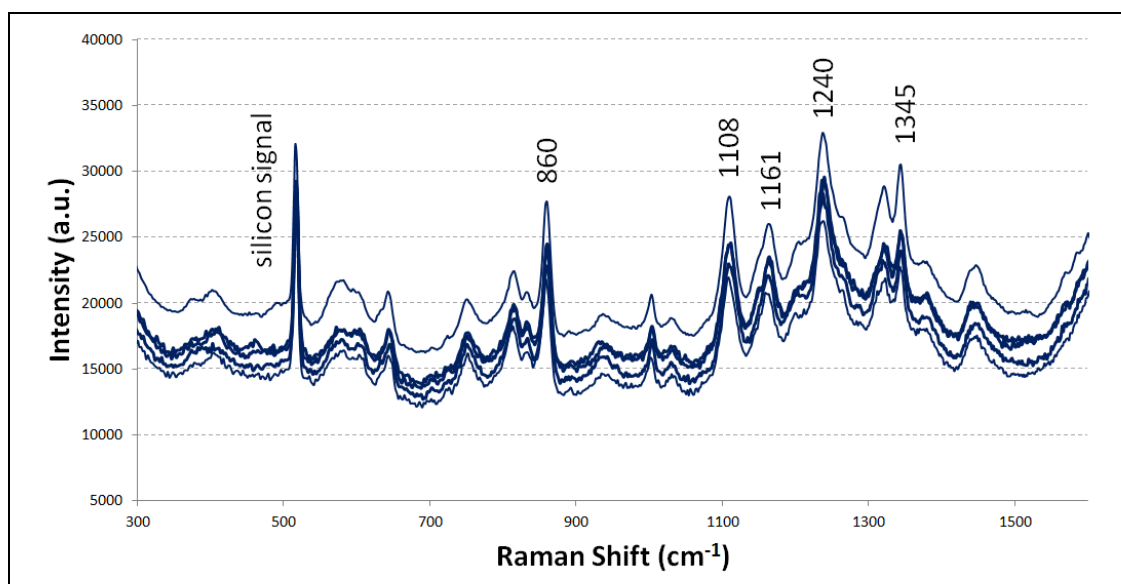
圖二十六 0.2 mg/L 巴拉松濃縮 5 倍後之 SERS 光譜圖

於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣巴拉松之實驗架構請參考圖十七；取巴拉松農藥 60 μL (外添加濃度 100 $\text{ng}/\mu\text{L}$) 滴定至 T 型採樣管內，以加熱箱加熱 T 型管 (至 375 $^{\circ}\text{C}$) 後，巴拉松分子氣化，再以氮氣將農藥分子吹進(流速 200 mL/min)含 10 mL 甲醇溶液吸收瓶內，採樣時間為 60 分鐘；經由量測含農藥分子之吸收液，來對農藥做回收率確認。吸收液裡巴拉松的濃度含量可經由液相層析／串聯式質譜儀 (LC/MS/MS) 系統 (Agilent 1200 搭配 Sciex API 4000) 進行分析，請見表四；由量測結構得知，實驗添加量為 6000 ng 、在甲醇吸收液可得 3601 ng 巴拉松，其回收率為 60%。

表四 於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中巴拉松農藥

農藥	添加濃度(ng/uL)	添加量(uL)	上機濃度(ng/uL)	吸收液(mL)	吸收液樣品重(ng)	實驗添加量(ng)	回收率(%)
巴拉松	100	60	0.379	9.5	3601	6000	60.0
備註	1. Agilent 1200搭配Sciex API 4000 之液相層析／串聯式質譜儀(LC/MS/MS)系統上析分析 2. 工研院綠能所協助量測分析						

經由量測含農藥分子之吸收液，進行 5 倍濃縮後再進行 SERS 光譜量測，如圖二十七所示，並利用特徵峰 1108 cm^{-1} 之強度代入巴拉松檢量線，可得到其濃度為 1.647 mg/L ，故吸收液裡巴拉松濃度為 0.329 mg/L ，與質譜分析值 0.379 mg/L 具有 13% 的誤差值。

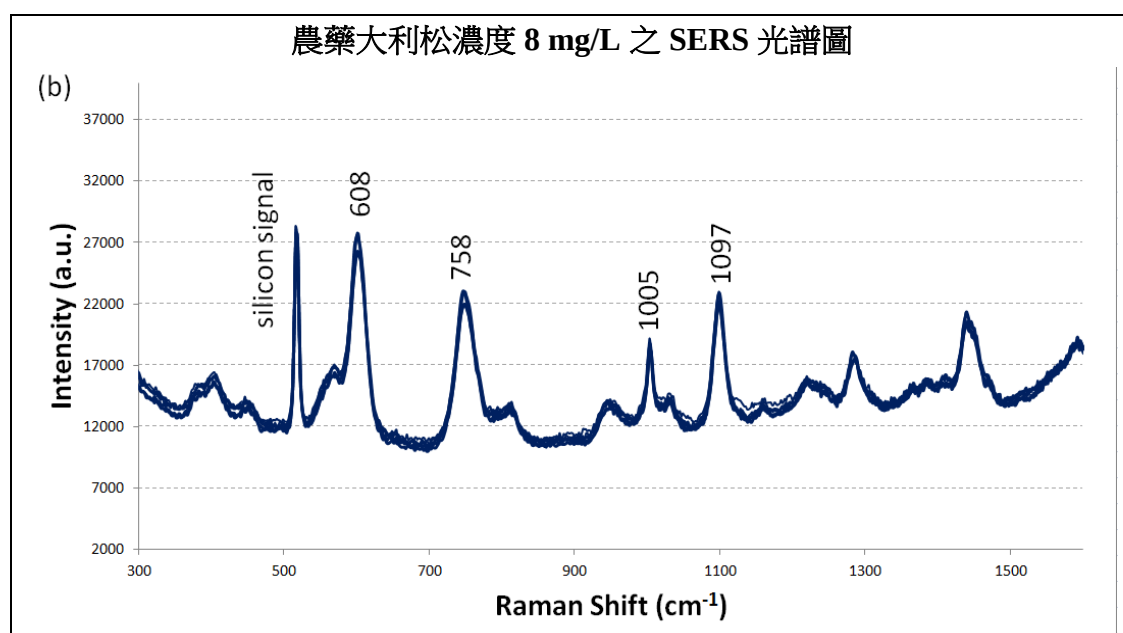
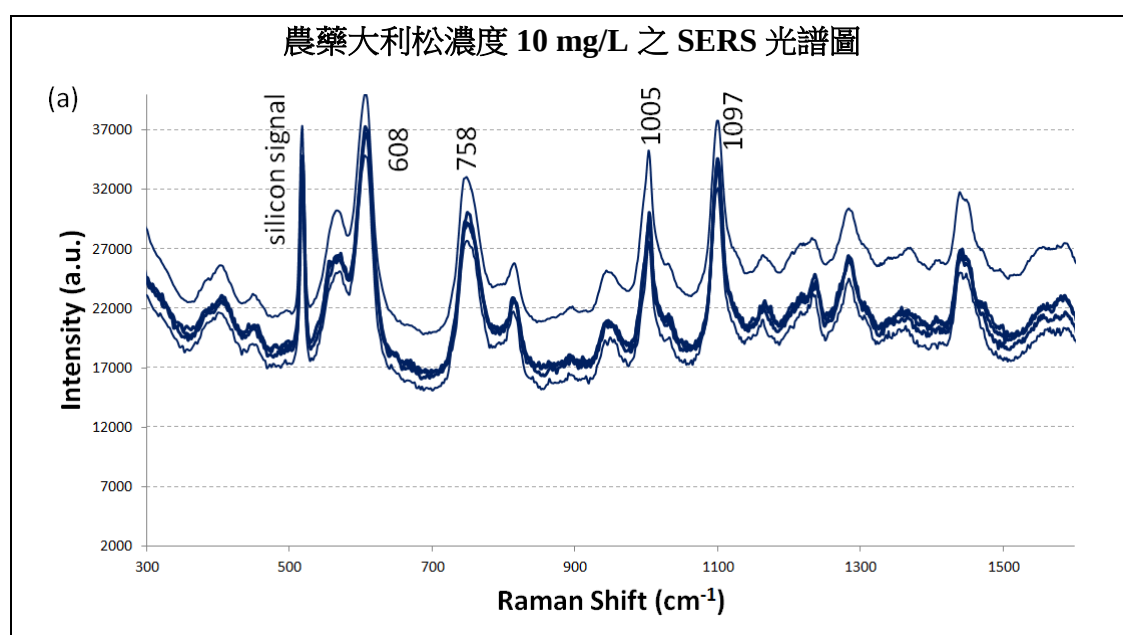


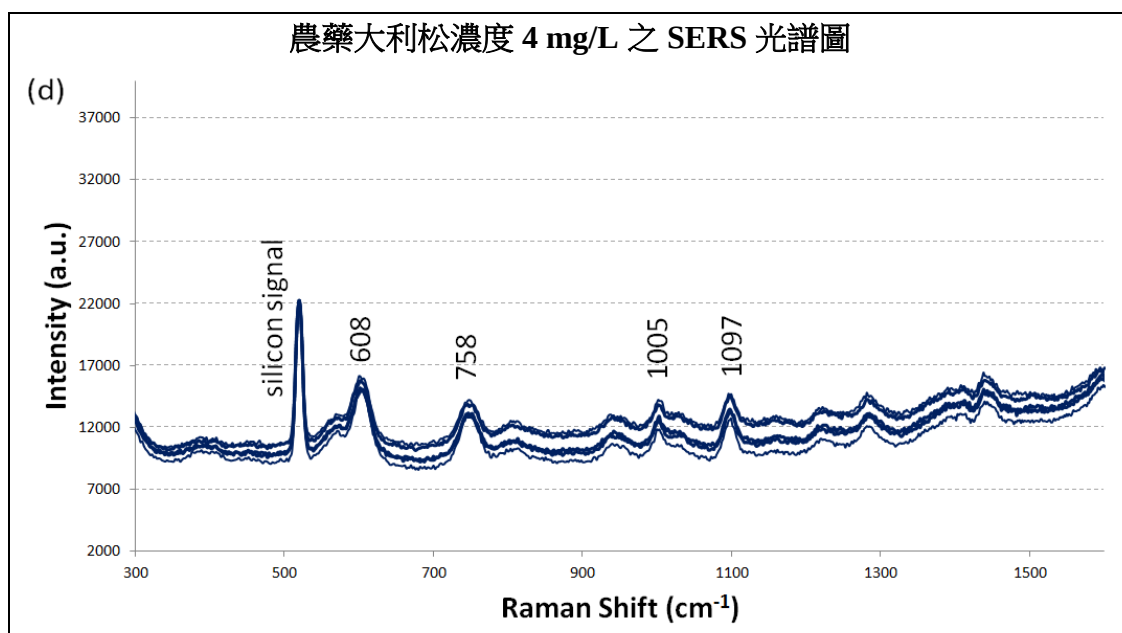
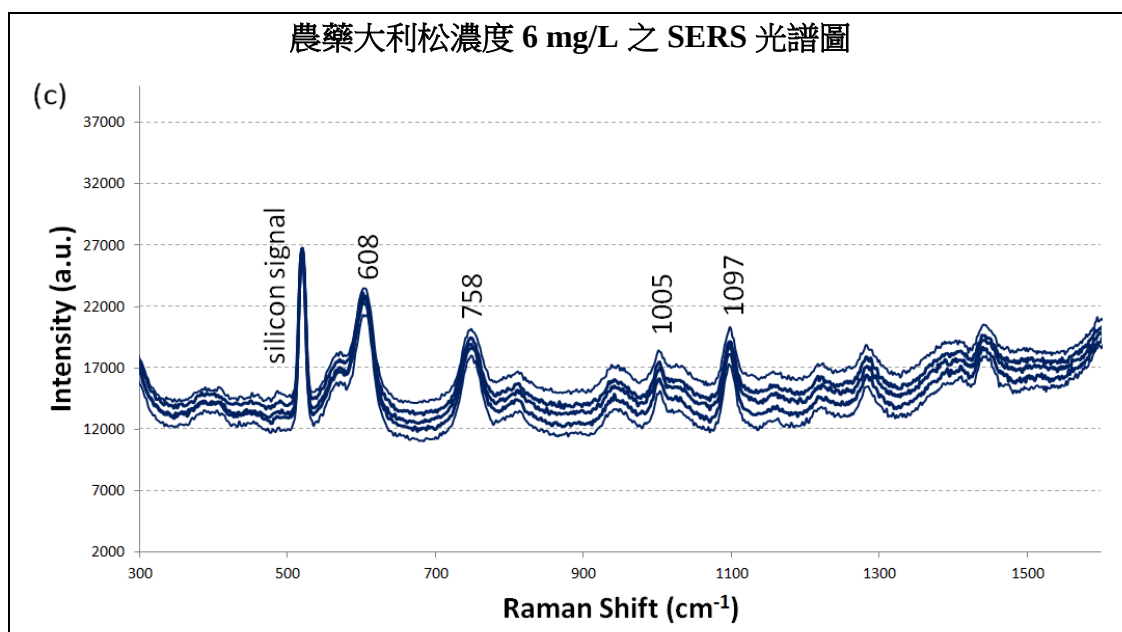
圖二十七 巴拉松在甲醇吸收液進行 5 倍濃縮後之 SERS 光譜量測圖

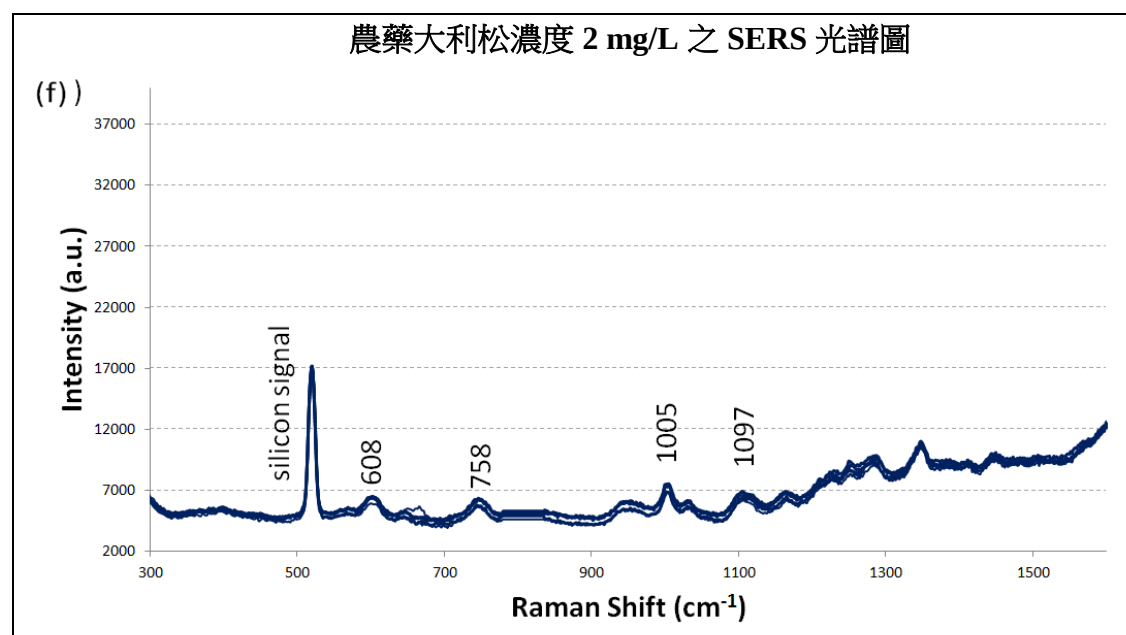
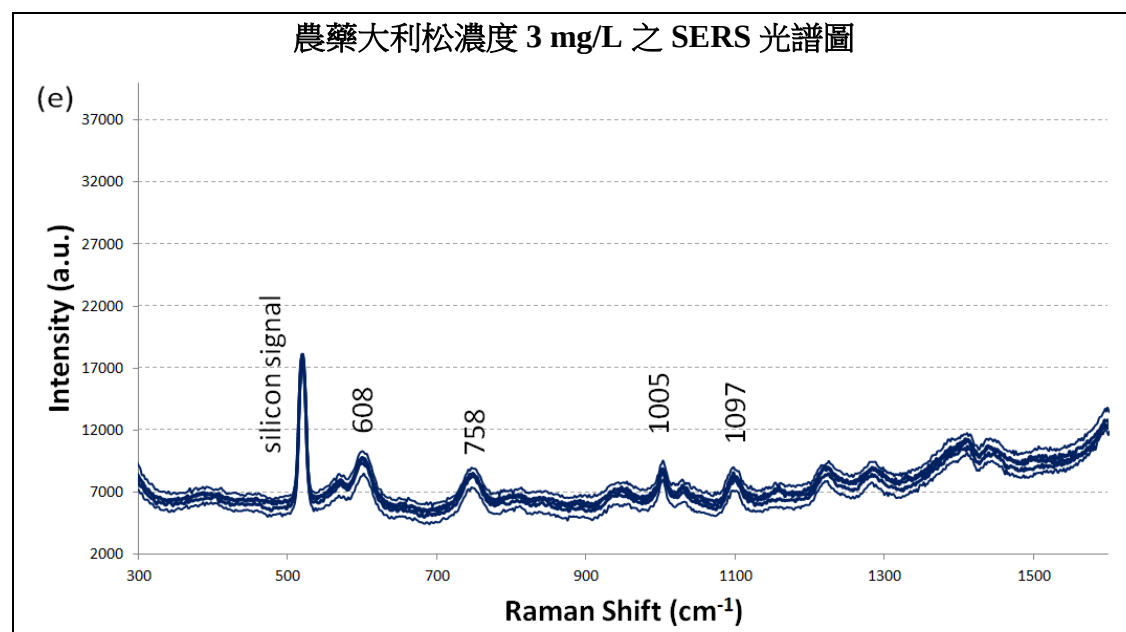
三、大利松之表面增強拉曼光譜量測

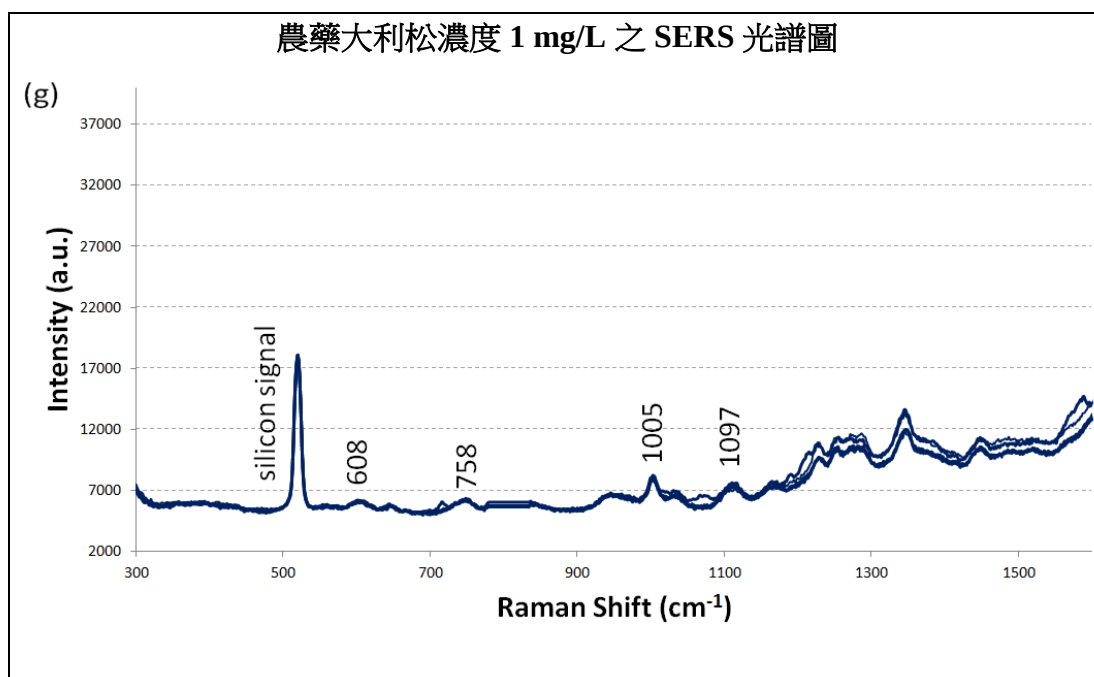
在農藥大利松之 SERS 量測方式，首先取 $1.5\text{ }\mu\text{L}$ 超純水 (含 5 mg/L 氯化鈉)，滴定在 SERS 基板的有效區域 ($2.2\text{ mm} \times 2.2\text{ mm}$) 內，再取 $1.5\text{ }\mu\text{L}$ 待測液滴定在 SERS 基板上進行拉曼量測，所有量測皆在暗箱裡完成；其中使用基板為銀奈米柱結構 (厚度 285 nm ；外殼以金包覆)、在量測前需利用雷射照射基板 2 分鐘(利用 Marangoni 效應提昇訊號)[19]。在此農藥分子量測中，以雷射波長 785 nm 、

積分時間 500 ms、雷射功率 50 mW、使用基板為銀奈米柱結構 (厚度 285nm; 以金包覆) 以及積分平均次數為 5 次之條件下進行量測，其結果如圖二十八所示，為大利松隨濃度(a) 10 mg/L (b) 8 mg/L (c) 6 mg/L (d) 4 mg/L (e) 3 mg/L (f) 2 mg/L 及 (g) 1 mg/L 之 SERS 光譜圖。由圖可知，大利松分子在 608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處為其主要 SERS 特徵峰[16]。在所有量測中，訊號雜訊比皆大於 12 以上。大利松分子在 608 cm^{-1} 處為主要特徵峰值;圖二十九為大利松分子檢量線 (608 cm^{-1} 處拉曼特徵峰強度值隨濃度變化)。

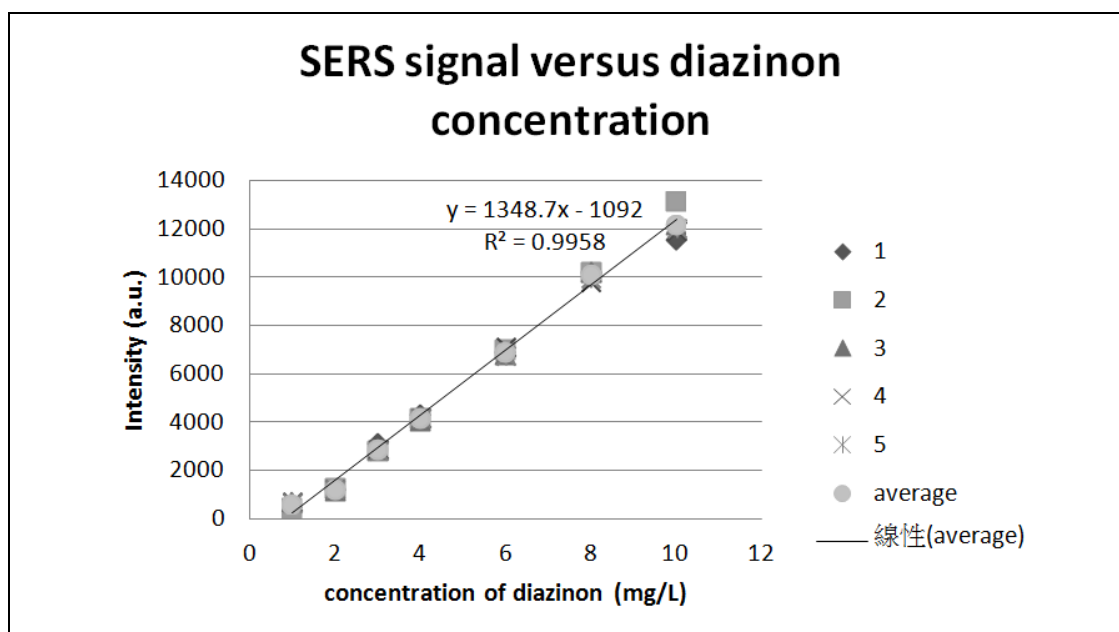




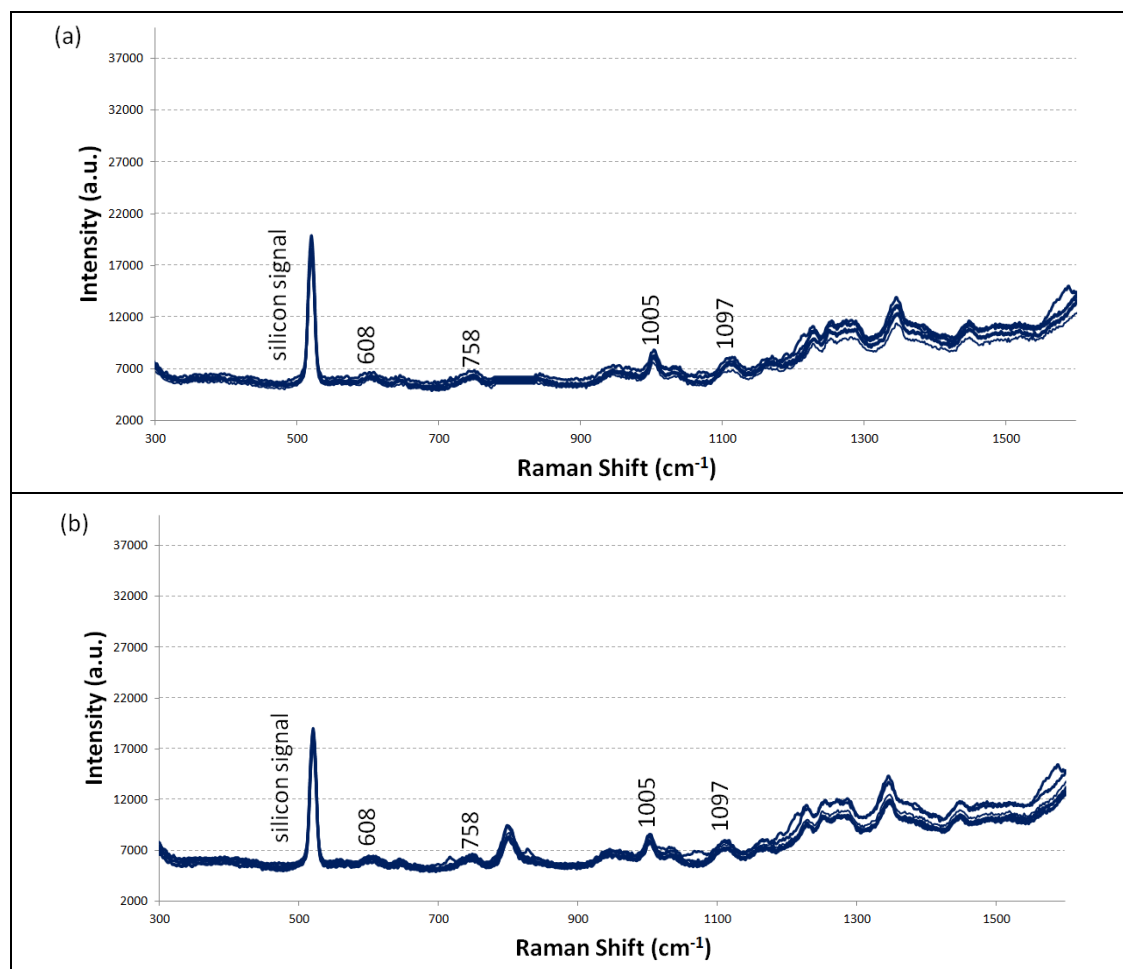




圖二十八、農藥大利松濃度(a) 10 mg/L (b) 8 mg/L (c) 6 mg/L (d) 4 mg/L (e) 3 mg/L (f) 2 mg/L 及 (g) 1 mg/L 之 SERS 光譜圖



圖二十九 大利松分子檢量線 (608cm^{-1} 特徵峰)



圖三十 大利松分子不同濃度之 SERS 光譜圖(七次重覆量測)
(a)0.5 mg/L 及(b) 1 mg/L

圖三十為大利松分子濃度(a)0.5 mg/L 及(b) 1 mg/L 之 SERS 光譜圖(七次重覆量測)。大利松分子在拉曼系統之方法偵測極限測定，利用上述量測結果計算其 MDL 值，可得 F 比值 $S_A^2/S_B^2=2.3466$ 、 $S_{pooled}=0.101$ ，吸收液之 MDL 值為 $2.681 \times S_{pooled}=0.2708$ (mg/L)，如下表所示。

	S_A^2	S_B^2	S_A^2/S_B^2	F 比值 ($F < 3.05$)	S_{pooled}	MDL (mg/L)
			或 S_B^2/S_A^2			
大利松	0.0061	0.0143	2.3466	Pass	0.1010	0.2708

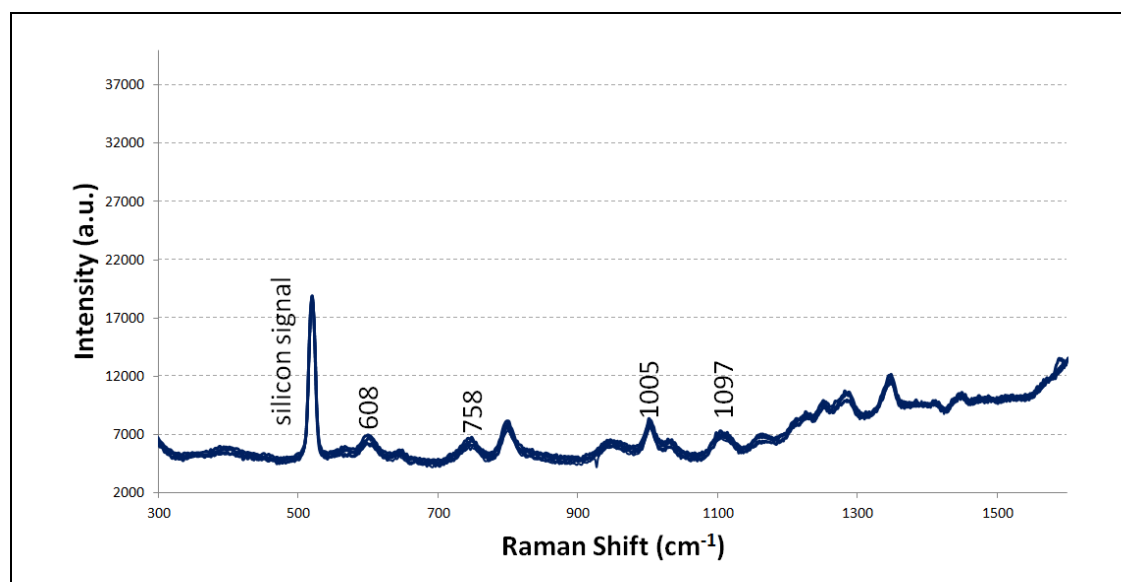
根據固定污染源空氣污染物排放標準[18]，大利松農藥在空氣中的容許濃度為 0.01 mg/m^3 ；若以空氣採樣流速 200 mL/min 、採氣 60 分鐘、吸收液體積 10 mL

為例，為達此檢測目標，當吸收液濃縮 30 倍時，則可測得在空氣中含量 0.0075 mg/m^3 以上大利松農藥。

圖三十一為 0.05 mg/L 大利松濃縮 30 倍後之 SERS 光譜圖；其濃縮的方式為取 $300 \text{ }\mu\text{L}$ 至 2 mL 尖底瓶，利用氮氣吹乾(約 13 分鐘)，再加入 $10 \text{ }\mu\text{L}$ 甲醇至離心管震盪回溶(3000 rpm ;10 秒)；大利松濃縮條件參數如表五所示。取 $1.5 \text{ }\mu\text{L}$ 超純水 (含 5 mg/L 氯化鈉)，滴定在 SERS 基板的有效區域 ($2.2 \text{ mm} \times 2.2 \text{ mm}$) 內，再取 $1.5 \text{ }\mu\text{L}$ 待測液滴定在 SERS 基板上，以雷射照射 2 分鐘後 (50 mW ;4X 物鏡)，進行光譜讀取 (785nm 波長、積分時間 500ms、雷射功率 50mW、平均次數:5)。將特徵峰 608 cm^{-1} 之強度代入大利松檢量線公式 ($y=1348.7x-1092$)，可得濃度為 1.654 mg/L 。

表五 大利松濃縮條件參數

農藥	吹氣速率 (L/min)	濃縮時間 (min)	濃縮倍率	振盪速(rpm)	回溶時間(秒)
大利松	0.35	13	30	3000	10

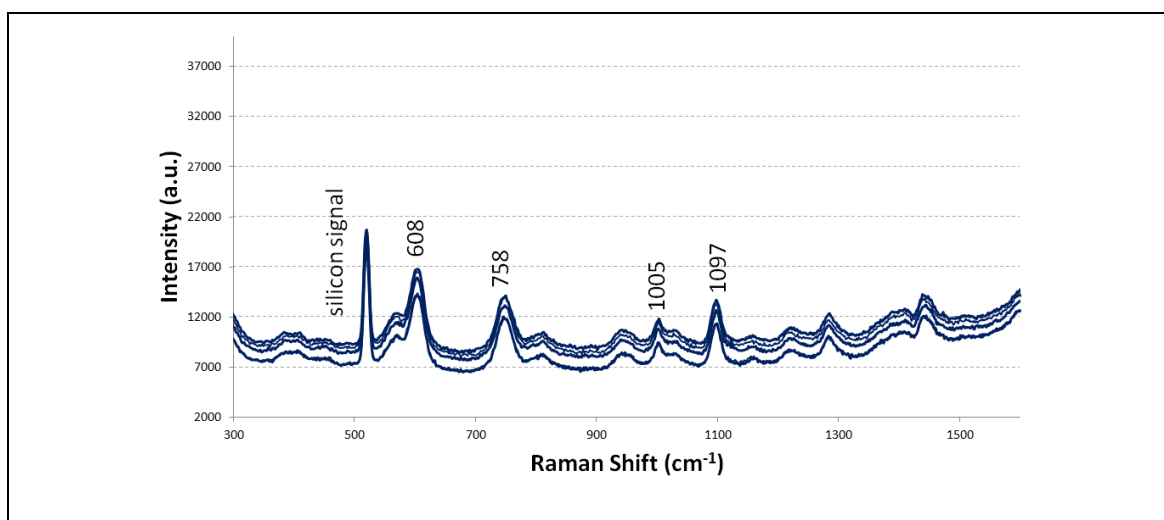
圖三十一 0.05 mg/L 大利松濃縮 30 倍後之 SERS 光譜圖

於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣大利松之實驗架構請參考圖十七；取大利松農藥 100 μL (外添加濃度 100 $\text{ng}/\mu\text{L}$) 滴定至 T 型採樣管內，以加熱箱加熱 T 型管 (至 375°C) 後，大利松分子氣化，再以氦氣將農藥分子吹進 (流速 200 mL/min) 含 10 mL 甲醇溶液吸收瓶內，採樣時間為 60 分鐘；經由量測含農藥分子之吸收液，來對農藥做回收率確認。吸收液裡大利松的濃度含量可經由液相層析／串聯式質譜儀 (LC/MS/MS) 系統 (Agilent 1200 搭配 Sciex API 4000) 進行分析，請見表六；由量測結構得知，實驗添加量為 10000 ng 、在甲醇吸收液可得 7955 ng 大利松，其回收率為 79.5 %。

表六 於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松農藥

農藥	添加濃度($\text{ng}/\mu\text{L}$)	添加量(μL)	上機濃度($\text{ng}/\mu\text{L}$)	吸收液(mL)	吸收液樣品重(ng)	實驗添加量(ng)	回收率(%)
大利松	100	100	0.936	8.5	7955	10000	79.5
備註	1. Agilent 1200搭配Sciex API 4000 之液相層析／串聯式質譜儀(LC/MS/MS)系統上析分析 2. 工研院綠能所協助量測分析						

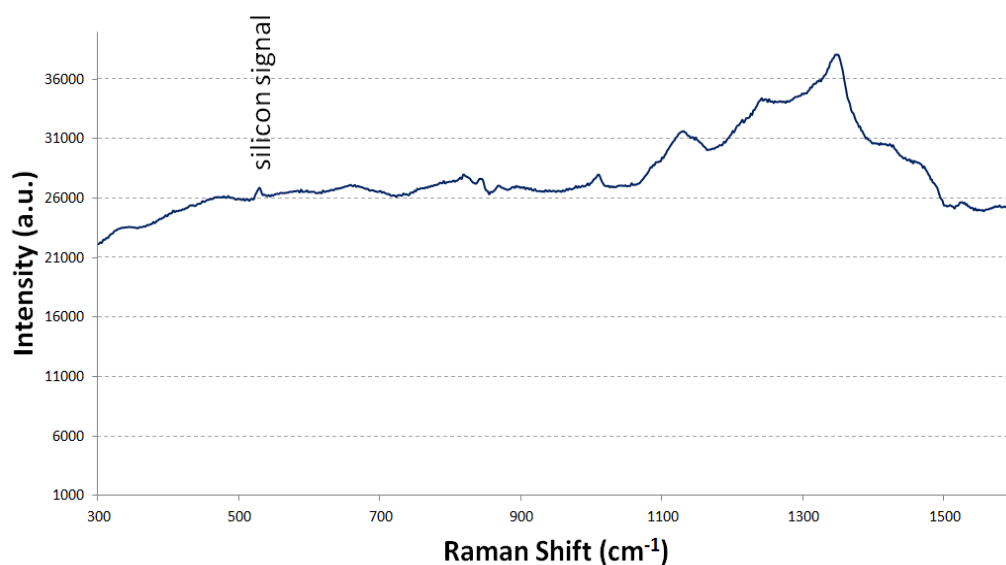
經由量測含大利松農藥分子之吸收液，進行 5 倍濃縮後再進行 SERS 光譜量測，如圖三十二所示利用特徵峰 608 cm^{-1} 之強度代入大利松檢量線，可得到其濃度為 5.46 mg/L ，故吸收液裡大利松濃度為 1.092 mg/L ，與質譜分析值 0.936 mg/L 具有 14.2%的誤差值。



圖三十二 大利松在甲醇吸收液進行 5 倍濃縮後之 SERS 光譜量測圖

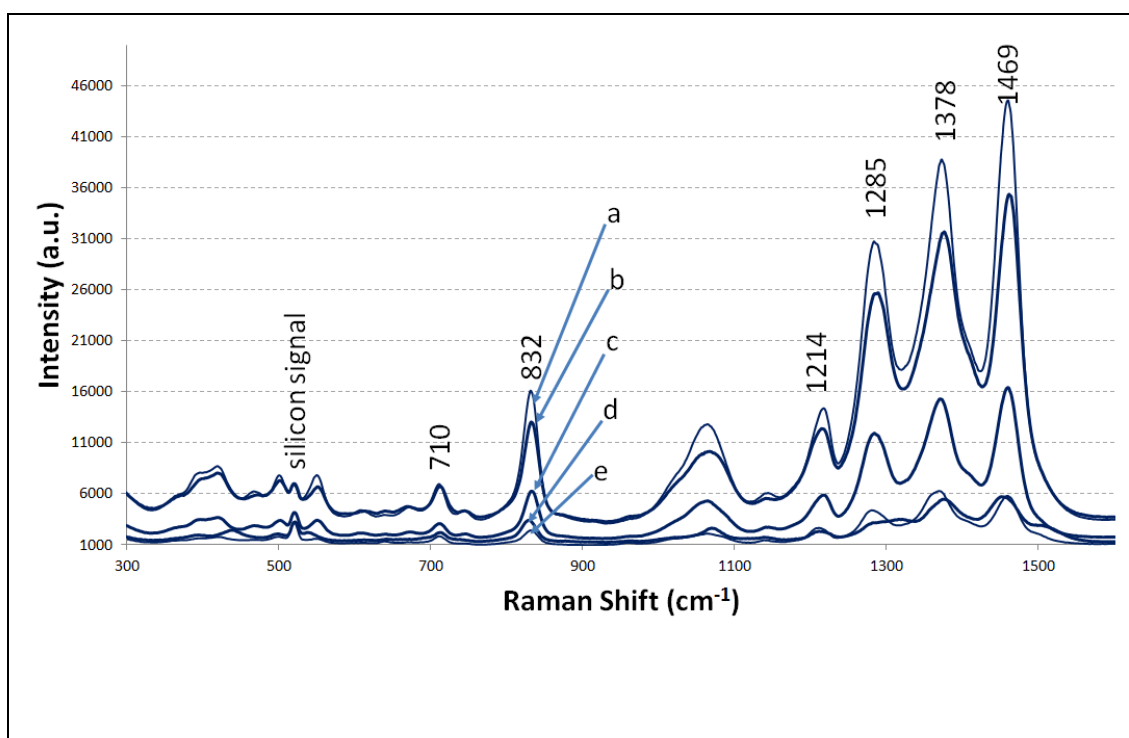
四、甲醛之表面增強拉曼光譜量測

在甲醛 SERS 檢測方面，由於其 S E R S 光譜微弱，無法直接進行 SERS 量測；甲醛在公告標準方法的檢測上，主要以環署檢字第 1050100612 號公告方法(NIEA A705.12C)"空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法－以 DNPH 衍生物之高效能液相層析測定法"及衛署食字第 0900025822 號公告食品中甲醛之檢驗方法(二)為主；其中上述兩種方法所採用的吸收液，分別為 2，4－二硝基代苯肼（2，4－Dinitrophenylhydrazine，DNPH）及 4-胺基-3-聯胺-5-巰基-1,2,4-三氮雜茂(AHMT, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole)；首先評估以 DNPH 為吸收液之 SERS 量測光譜，如圖三十三所示；其中拉曼檢測參數為：雷射波長:785 nm；積分時間:50 ms；雷射功率:85 mW；平均次數:40；使用基板：銀奈米柱結構（厚度 285 nm；外殼以金包覆）、DNPH 吸收液由環檢所提供標準測試樣品。由量測結果得知，DNPH 吸收液在 SERS 光譜具有強烈之螢光訊號，此訊號除遮蔽 SERS 基板本身在 520 cm^{-1} 處之特徵峰外，在 500 cm^{-1} 至 1500 cm^{-1} 也同時螢光干擾；由於廣波域之螢光干擾將對目標物之 SERS 特徵峰進行嚴重遮蔽，故 DNPH 吸收液不適用於在甲醛的 SERS 檢測上。

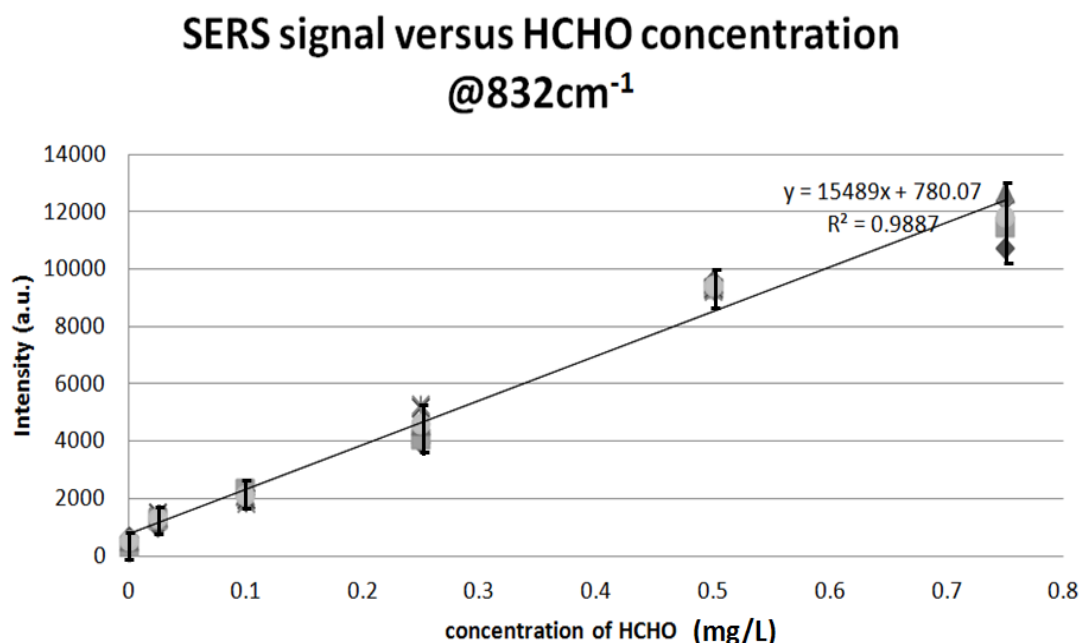


圖三十三 以 DNPH 為吸收液之 SERS 量測光譜圖

利用檢測其與 AHMT (4-amino-3-hydrazino- 5-mercapto-1,2,4-triazole) 反應後的產物 (其它醛類並不會生成此產物) MTT (6-mercapto-5-triazolo [4,3-b]-s-tetrazine) 進行 SERS 光譜量測[11]來檢測甲醛。甲醛分子的 SERS 量測流程請參考圖十八，其中吸收液 (10mL) 含反應劑 AHMT (5000 mg/L)以 1:1 加入 5N 氫氧化鉀溶液混合，在室溫下加入 10 μ L 甲醛水溶液 (依濃度需求配製) 並等待 20 分鐘進行衍生反應後，取 3 μ L 滴定至 SERS 基板上進行量測。圖三十四為甲醛濃度 0.025 mg/L 至 0.75 mg/L 與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖，其中拉曼之檢測參數為:雷射波長:785 nm;積分時間:50 ms;雷射功率:85 mW;平均次數:40;使用基板: 銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 外殼以金包覆)。圖三十五為甲醛分子利用特徵峰 832 cm^{-1} 強度建立之檢量線;其中甲醛濃度分別為(a) 0.75 mg/L (b) 0.5 mg/L (c) 0.25 mg/L (d) 0.1 mg/L (e) 0.025 mg/L 與 AHMT 反應後做五重覆量測。



圖三十四 甲醛濃度(a) 0.75 mg/L (b) 0.5 mg/L (c) 0.25 mg/L (d) 0.1 mg/L
(e) 0.025 mg/L 與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖。



圖三十五 甲醛分子檢量線 (以特徵峰 832 cm⁻¹SERS 強度建立)

在實驗室空氣甲醛的實驗架構請參考圖十九、實驗室空氣甲醛參數設定請見表七，此實驗架構量測之空氣中甲醛的濃度(C)計算如下式所示：

$$C = \frac{760 \times 22.4 \times (273 + T) \times W \times A}{273 \times P \times M \times F \times t} \times 10^3$$

表七 實驗室空氣甲醛參數設定表

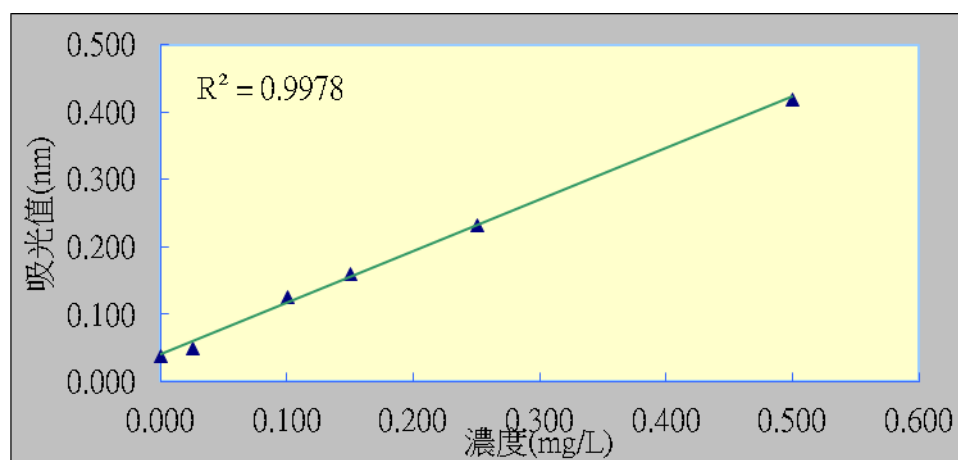
C：空氣中待測物之濃度〔ppm〕	0.08
W：樣品溶液中待測物偵測濃度 (μg/mL)	0.133
A：樣品吸收液定量體積 (mL)	10
F：採氣流率 (mL/min)	150
t：採樣時間 (min)	90
M：待測物分子量 (g/mole)	30.031
P：採樣時大氣壓力 (mmHg)	760
T：採樣時溫度 (°C)	25

在空氣中氣態甲醛化合物檢測 [12,13]之儀器為島津紫外可見光分光光譜儀 (UV-2450) 進行驗證；表七為實驗室空氣甲醛參數設定表、表八為檢量線配製濃度、圖三十六為分光光譜儀所建立之檢量線。表九為實際添加量 UV 之分析

結果，其回收率介於 70.3 至 77.3%;在吸收液為 0.133 mg/L 時，在空氣中約含有 0.08 ppmv 甲醛。圖三十七為實際添加樣品(a) sample A (b) sample B (c) sample C 之 SERS 量測光譜圖，其吸收液拉曼量測含甲醛濃度分別為 0.12 mg/L (sample A)、0.11 mg/L (sample B)及 0.09 mg/L (sample C); 其 UV 量測吸收液實際濃度分別為 0.1028 mg/L (sample A)、0.0971 mg/L (sample B)及 0.0935 mg/L (sample C)，具有 16.73%、13.28%及 3.74%誤差值。

表八 檢量線配製

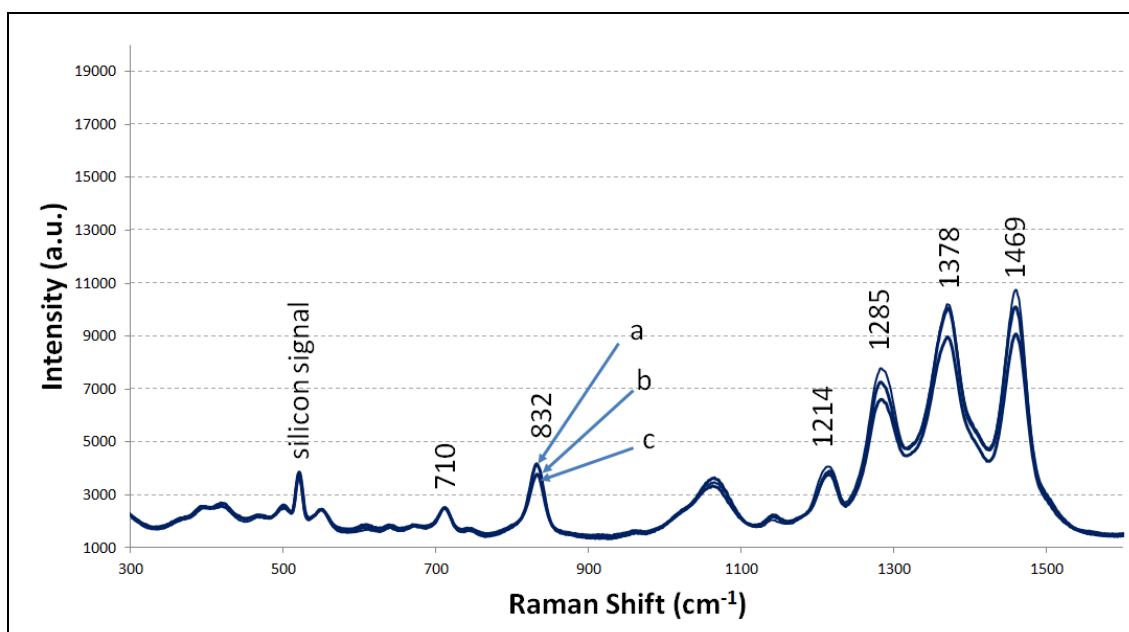
檢量線	濃度(mg/L)	吸光值(550nm)
CS0	0.000	0.03920
CS1	0.025	0.05080
CS2	0.100	0.12680
CS3	0.150	0.16130
CS4	0.250	0.23240
CS5	0.500	0.41950



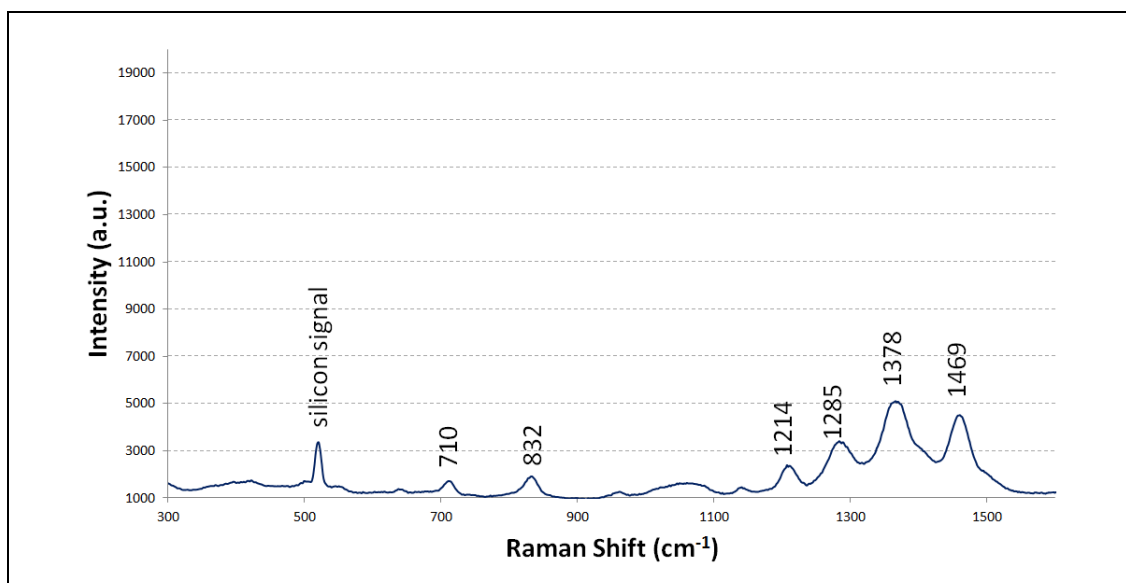
圖三十六 分光光譜儀吸收液中甲醛濃度之檢量線

表九 實際添加量之 UV 分析結果 (重覆分析查核請參考附件一)

Sample	添加量(mg/L)	吸收液中甲醛濃度(mg/L)	回收率(%)
空白樣品	0	ND	-
impinger(sample A)	0.133	0.1028	77.3
impinger(sample B)	0.133	0.0971	73.0
impinger(sample C)	0.133	0.0935	70.3
備註	1. 添加量 0.133 mg/L 約為空氣中含有 0.08 ppmv 2. 工研院綠能所協助量測分析 3. 採樣時間降低至 60 分鐘時，回收率降低至 64.8% 4. 分析儀器:島津紫外可見光分光光譜儀 (UV-2450)		



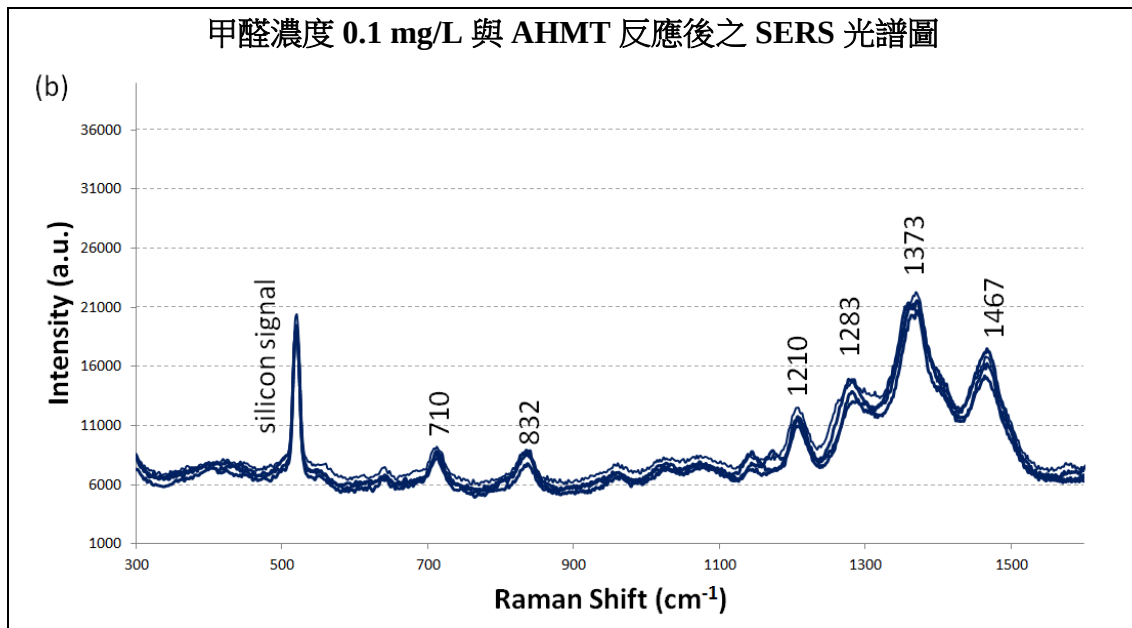
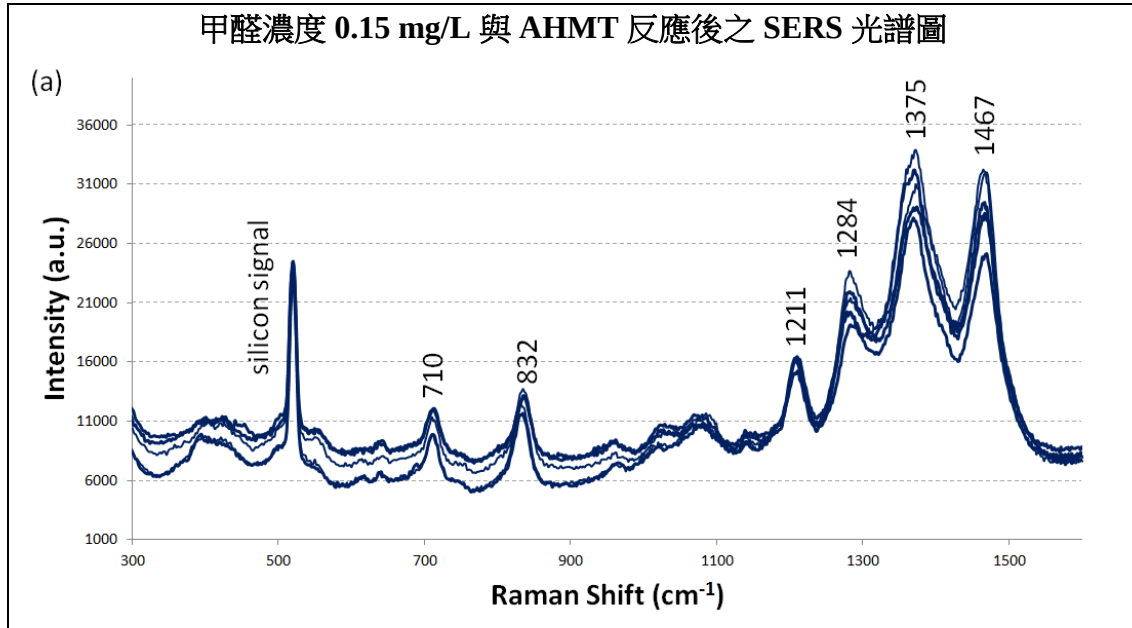
圖三十七、實際添加樣品之 SERS 量測光譜圖(a) sample A (b) sample B (c) sample C



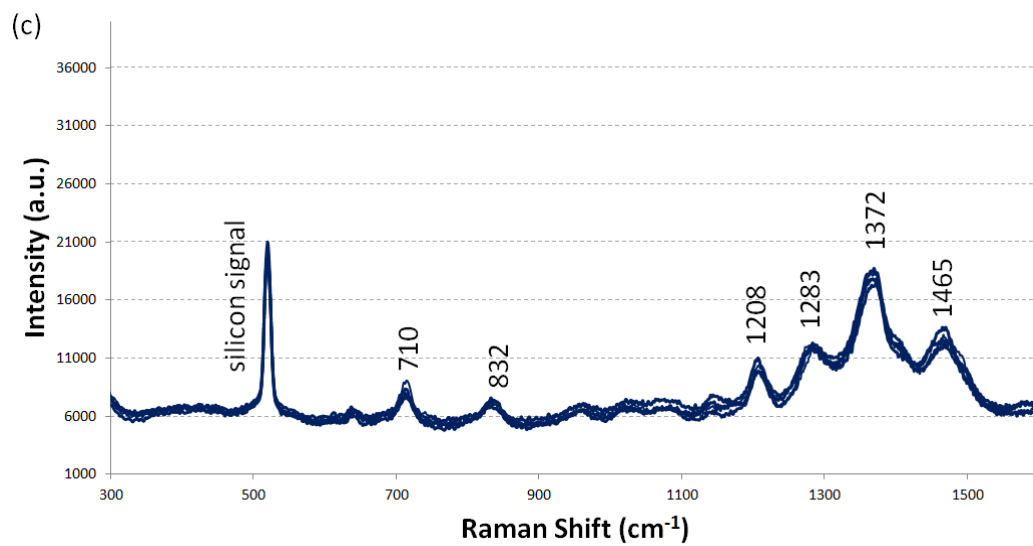
圖三十八 AHMT 與水 (無甲醛) 以 1:1 比混合後之 SERS 量測光譜圖

圖三十八為 AHMT 與水 (無甲醛) 以 1:1 比例混合後之 SERS 量測光譜圖; 其中拉曼之檢測參數為:雷射波長:785 nm;積分時間:50 ms;雷射功率:85 mW;平均次數:40;使用基板:銀奈米柱結構 (厚度 285 nm; 外殼以金包覆)。由圖可知, 當 AHMT 與水混合後, 若直接滴定在 SERS 上量測, 其在 832 cm⁻¹ 特徵峰具有一定強度訊號, 故若甲醛的濃度降低時, 則將無法分辨光譜上訊號的差異。為降低 AHMT 本身之 SERS 光譜強度, 吸收液需先與 1%檸檬酸鈉水溶液以 1:19 混合, 等待 10 分鐘後進行分子吸附後, 再進行 SERS 量測。圖三十九為甲醛濃度(a) 0.15 mg/L、(b) 0.1mg/L、(c) 0.06 mg/L、(d) 0.02 mg/L 及 (e) 0.005 mg/L 時與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖;在上述量測中 AHMT 與甲醛之反應時間為 20 分鐘、SERS 滴定等待時間為 10 分鐘;其中拉曼之檢測參數-雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 50 mW、平均次數:5、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 外殼以金包覆)。由圖可知, 當 AHMT 與甲醛反應後, 除在 710 cm⁻¹、832 cm⁻¹ 具特徵峰, 當甲醛濃度由 0.005 mg/L 改變至 0.15 mg/L 時, 特徵峰將由 1206 cm⁻¹、1280 cm⁻¹、1367 cm⁻¹、1463 cm⁻¹ 產生藍移 (blue shift) 至 1211cm⁻¹、1284 cm⁻¹、1375 cm⁻¹、1467 cm⁻¹ 並得到增強。當甲醛濃度由 0.005 mg/L 至 0.15 mg/L 改變時, 特徵峰 (位置由 1367 cm⁻¹ 位移至 1375 cm⁻¹) 具有相對明顯 (與特徵峰 832 cm⁻¹

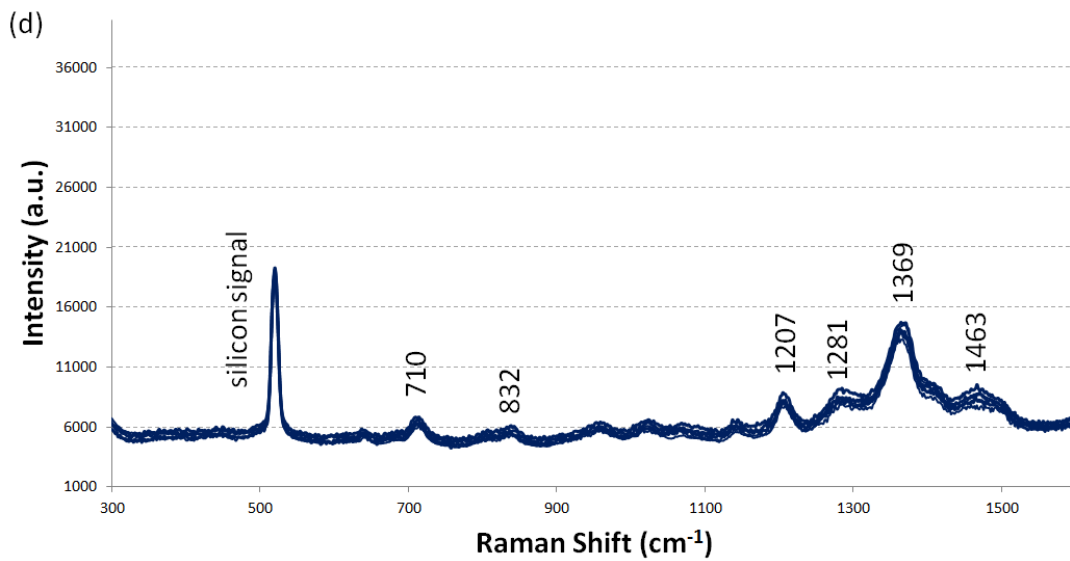
相比) 之散射訊號變化量, 由於甲醛濃度降低至 0.02mg/L 以下時, 其特徵峰 832 cm^{-1} 強度已明顯減弱, 故挑選 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1} 特徵峰進行檢量線建立。圖四十為利用上述特徵峰建立之甲醛分子檢量線。圖四十一為 AHMT(無甲醛)之 SERS 光譜圖, 其中 710 cm^{-1} 、 832 cm^{-1} 、 1206 cm^{-1} 、 1280 cm^{-1} 、 1366 cm^{-1} 及 1462 cm^{-1} 為特徵峰位置、AHMT 與水 (含 1%檸檬酸鈉) 之比例為 1:19。

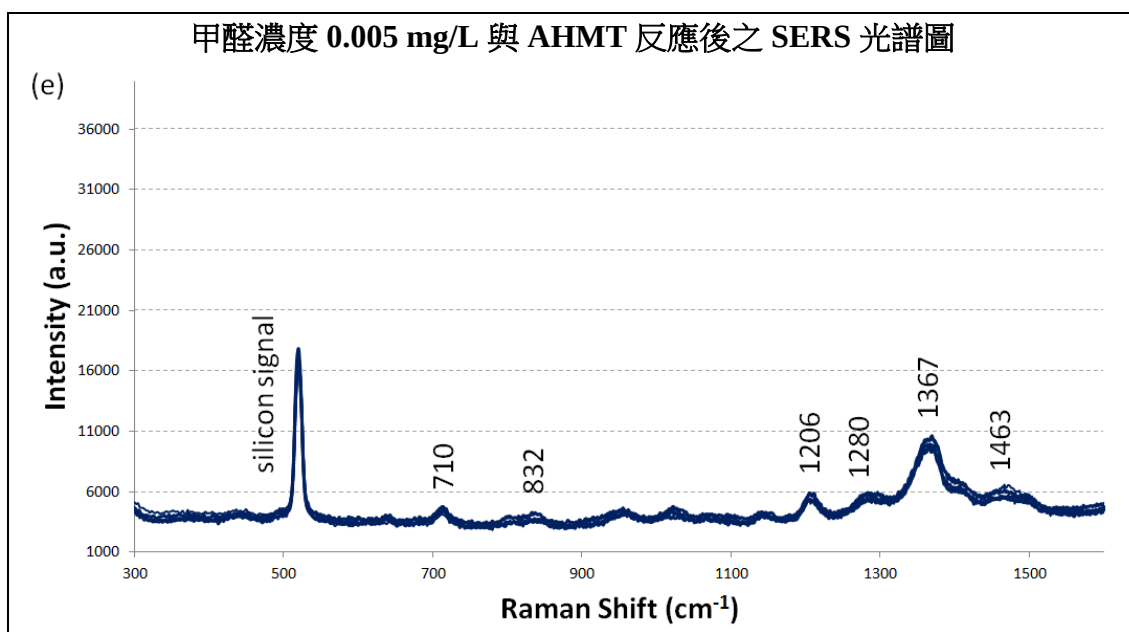


甲醛濃度 0.06 mg/L 與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖



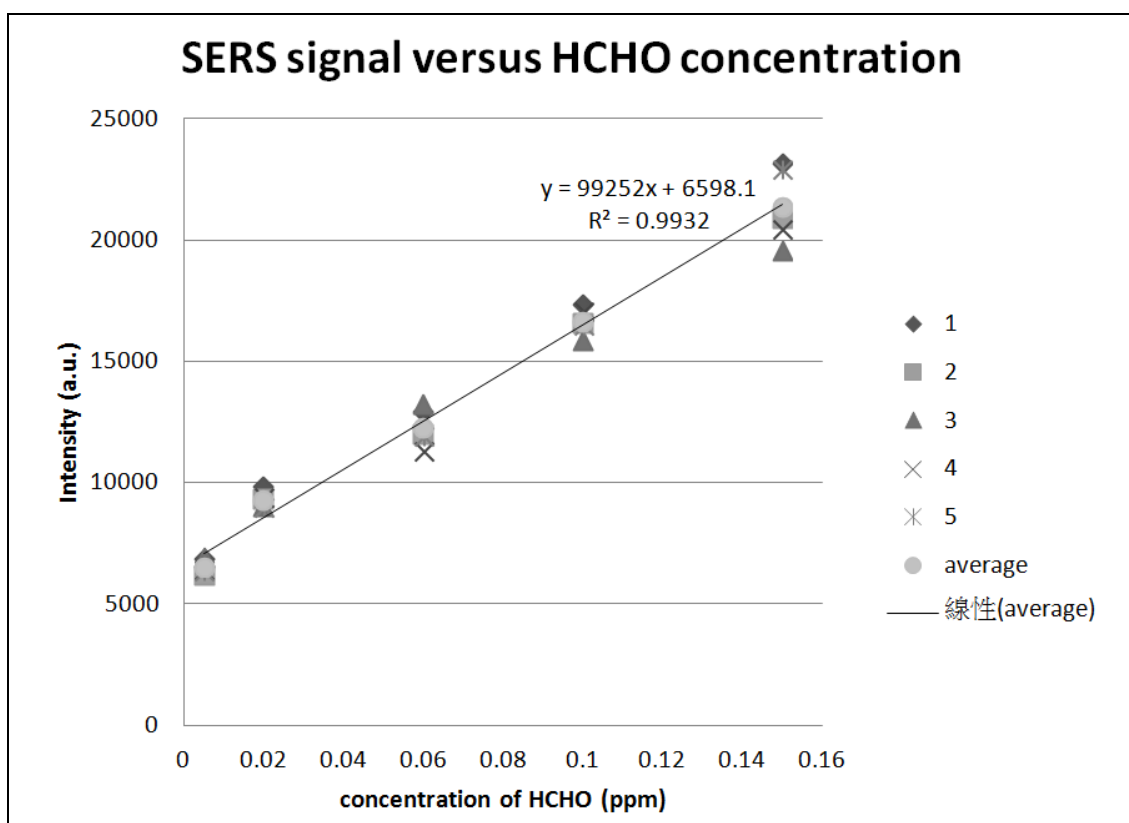
甲醛濃度 0.02 mg/L 與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖

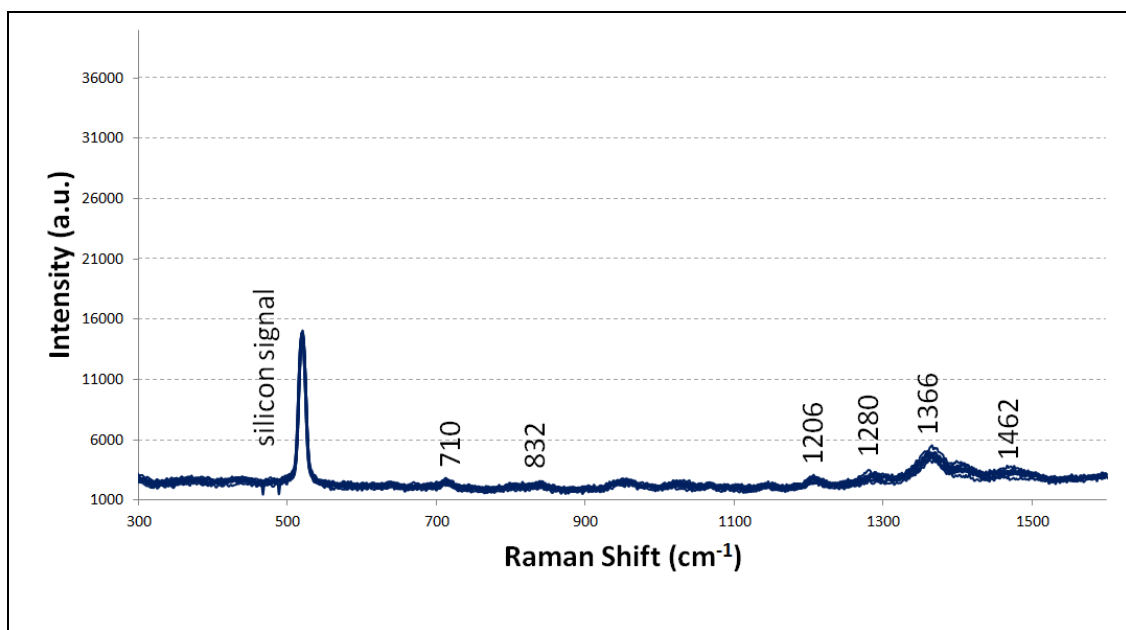




圖三十九、甲醛濃度與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖

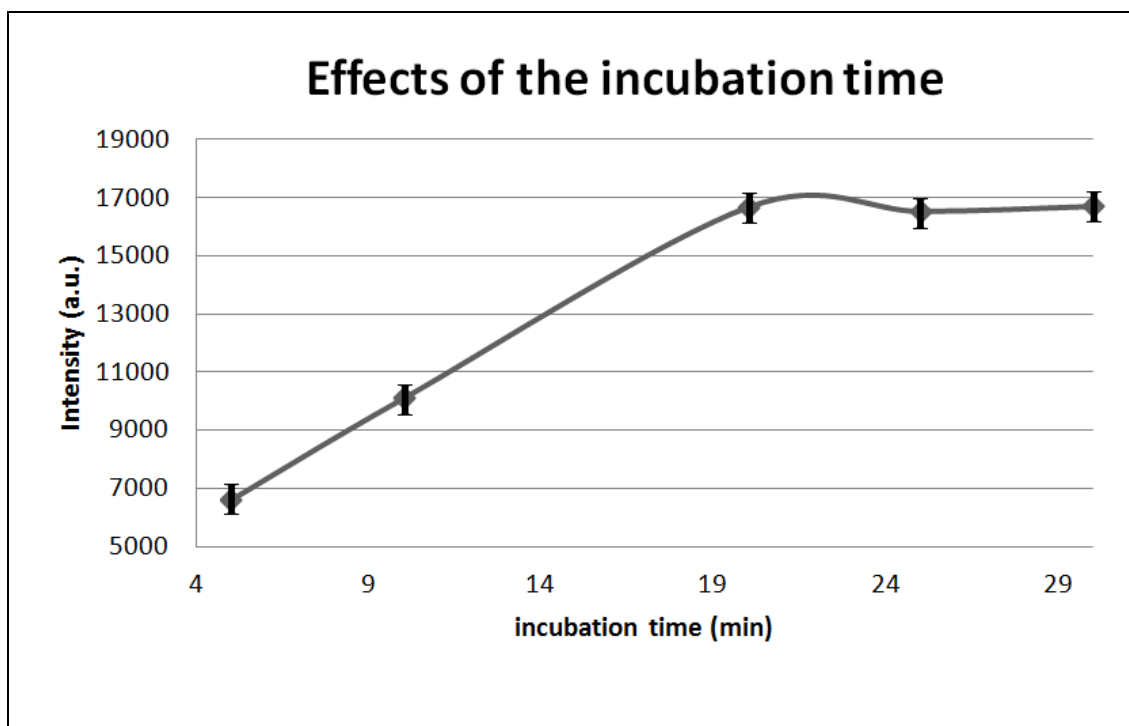
(a) 0.15 mg/L、(b) 0.1mg/L、(c) 0.06 mg/L、(d) 0.02 mg/L 及 (e) 0.005 mg/L

圖四十 甲醛分子檢量線 (特徵峰 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1})

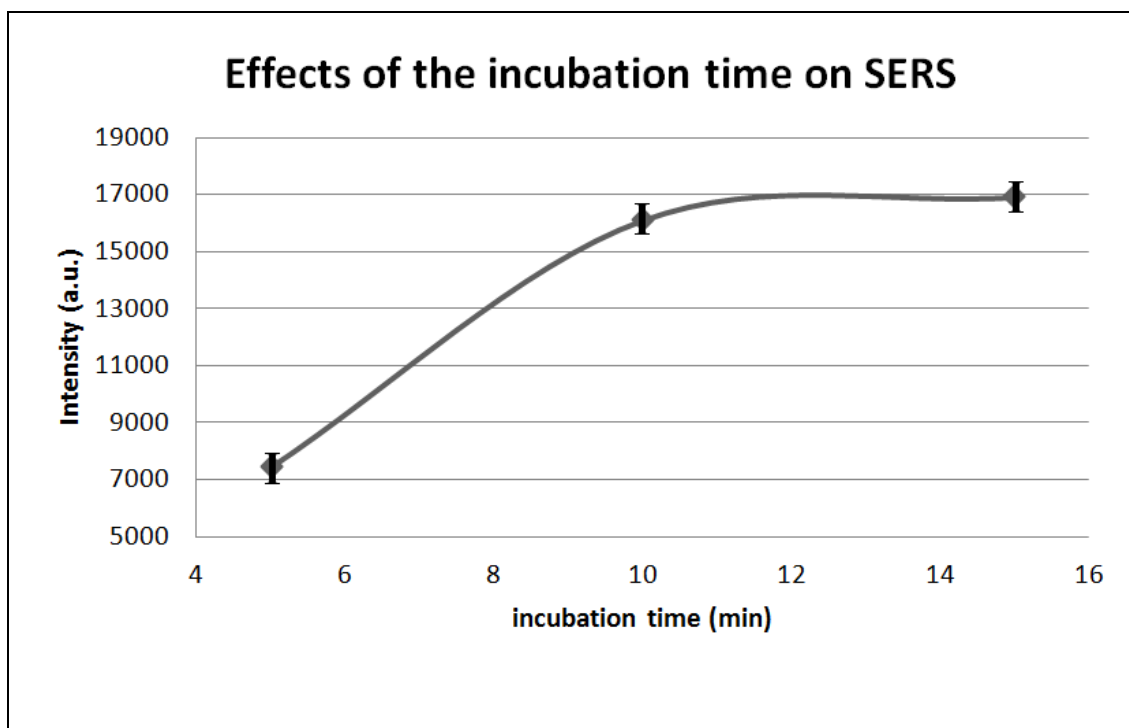


圖四十一、AHMT (無甲醛) 之 SERS 光譜圖；其中 AHMT 與水 (含 1%檸檬酸鈉)
比例為 1:19

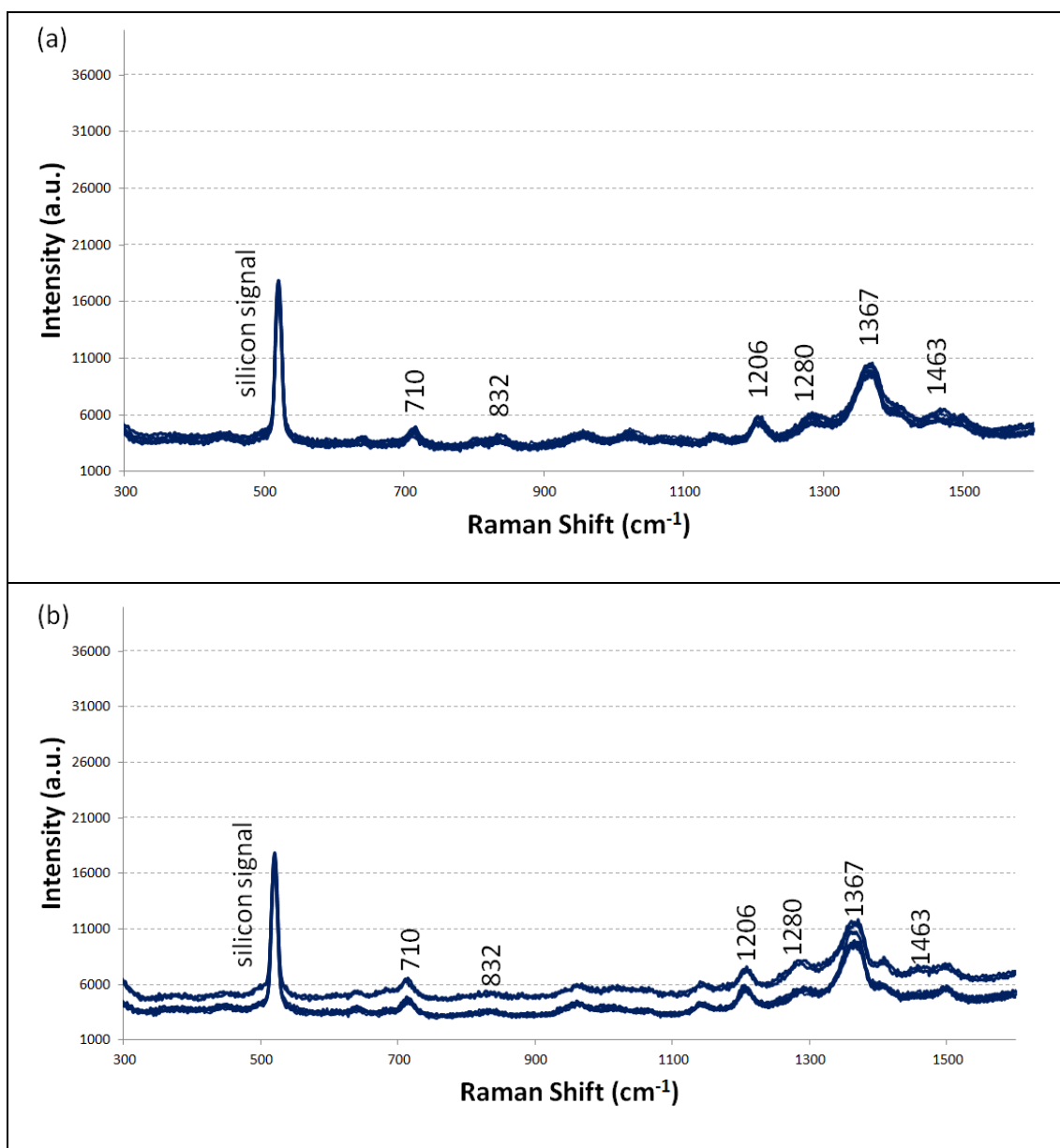
為探討甲醛衍生化反應之最適化條件，可利用 AHMT 與甲醛反應時間隨其在主要特徵峰值 SERS 強度來進行比較；圖四十二為 SERS 強度 (1373cm^{-1} 特徵峰) 隨 AHMT 與 0.1 mg/L 甲醛反應時間 (5、10、20、25 及 30 分鐘) 關係圖，其中反應時之溫度為 24°C (室溫)；由圖可知，當反應時間未達 20 分鐘時，其 SERS 強度隨時間增加而線性上昇；當反應時間到達 20 分鐘後，SERS 強度趨於穩定。圖四十三為 SERS 滴定後等待時間隨 SERS 強度關係圖，其中 AHMT 與 0.1mg/L 甲醛反應時間為 20 分鐘；由圖可知，當 AHMT 與甲醛反應後，在 SERS 基板結構上等待反應時間在 0 至 10 分鐘內時，其 SERS 強度呈線性上昇；當滴定時間到達 10 至 15 分鐘後，反應物可有效吸附於 SERS 基板金屬表面，其 SERS 強度可達穩定值。



圖四十二 SERS 強度 (1373cm^{-1} 特徵峰) 隨 AHMT 與 0.1 mg/L 甲醛反應時間關係圖



圖四十三 SERS 強度 (1373cm^{-1} 特徵峰) 隨 SERS 滴定時間關係圖



圖四十四、甲醛與 AHMT 反應後吸收液之 SERS 光譜圖 (七次重覆量測) (a)0.005 mg/L 及(b) 0.0042 mg/L

為瞭解系統甲醛之方法偵測極限測定，參考參考環保署環檢所環境檢驗方法偵測極限測定指引 (NIEA-PA107) 計算 MDL 值。圖四十四為(a)0.005 mg/L 及(b) 0.0042 mg/L 甲醛與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖，可得到 7 次測定值之標準偏差 S_A 及 S_B ；甲醛分子在拉曼系統之偵測極限測定，可利用上述量測結果計算其 MDL 值，可得 F 比值 $S_A^2/S_B^2=2.5483$ 、 $S_{pooled}=0.012$ ，MDL 值為 $2.681 \times S_{pooled}=0.0032$ (mg/L)，如下表所示。

	S_A^2	S_B^2	S_A^2/S_B^2	F 比值 ($F < 3.05$)	S_{pooled}	MDL (mg/L)
			或 S_B^2/S_A^2			
甲醛	0.0000008	0.0000021	2.5483	Pass	0.0012	0.0032

由上述結果得知，甲醛可用 832 cm^{-1} 及 1370 cm^{-1} 進行建立檢量線定量；若以 832 cm^{-1} 進行定量時，由於 AHMT 本身在 832 cm^{-1} 特徵鋒具有一定的強度，所以較不適合在低濃度使用。對於甲醇的檢測而言，實際上可以直接選定 1370 cm^{-1} 進行定量，不需用使用到兩條檢量線。當取 832 cm^{-1} 特徵鋒做定量時，取 AHMT 與水 1:1 混合吸收液進行衍生反應、當取 1370 cm^{-1} 進行定量時，則需先取 AHMT 吸收液與 1%檸檬酸鈉以 1:19 混合，等待 10 分鐘分子 SERS 吸附。

五、開發方法技術與現有公告方法比較

空氣中甲醛在實驗室測試及空氣的採樣方式，可參考環保署公告方法"空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法－以 DNPH 衍生物之高效能液相層析測定法 (NIEA A705.12C)"之方式，分析儀器為紫外可見光分光光譜儀；利用此方法可以測得空氣中含 0.02 ppm 以上濃度之甲醛分子。巴拉松及大利松農藥使用氣液相層析法(Gas liquid chromatography)為標準檢測方法，分析儀器為液相層析／串聯式質譜儀(LC/MS/MS)系統，其檢測極限可達 0.001 mg/L 左右。本計畫所開發之表

面增強拉曼光譜法，在空氣採樣方面，還需以公告方法 NIEA A705.12C 的架構進行，其中農藥分子可以甲醇做為吸收液、甲醛分子需以 AHMT 做為吸收反應劑；上述所開發技術之方法偵測極限，甲醛為 0.0032 mg/L、巴拉松及大利松分子分別為 0.08 mg/m³ 及 0.0075 mg/m³，開發方法技術與現有公告方法比較請見表十。

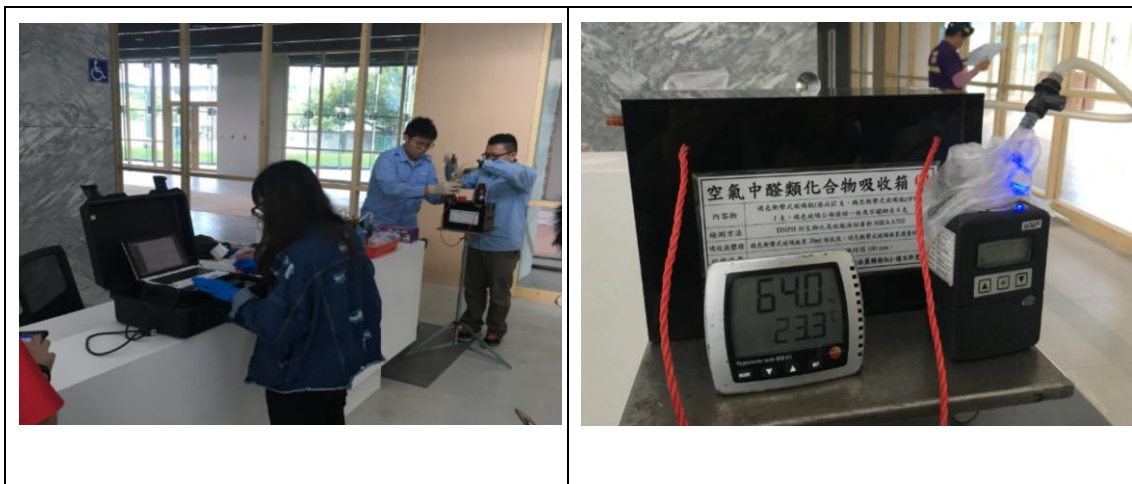
表十、開發方法技術與現有公告方法比較表

現有公告方法				
化合物	現有方法	分析儀器	檢測極限/ r ²	前處理吸收液
甲醛	(NIEA A705.12C)"空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法—以DNPH衍生物之高效能液相層析測定法	紫外可見光分光光譜儀	0.02ppm r ² >0.995	2，4—二硝基代苯肼（2，4—Dinitrophenylhydrazine，DNPH）
巴拉松	環檢所方法 W603.50B 水中殘留農藥檢測方法—液相層析／串聯式質譜儀法	液相層析／串聯式質譜儀	<0.006 mg/L r ² >0.995	N/A
大利松	方法—液相層析／串聯式質譜儀法	(LC/MS/MS)系統	0.001 mg/L r ² >0.995	N/A
本計畫開發之方法				
甲醛	表面增強拉曼光譜法(Surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)	攜帶式拉曼光譜系統 (Portable Raman system); 光譜檢測時間少於 5 分鐘、可現場進行檢測	吸收液 0.0032 (mg/L) r ² =0.9932 (特徵峰 1367 cm ⁻¹ 至 1375 cm ⁻¹)	4-胺基-3-聯胺-5-巯基-1,2,4-三氮雜茂，AHMT，4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole
巴拉松			0.08 mg/m ³ (需濃縮) r ² =0.9787	甲醇
大利松			0.0075 mg/m ³ (需濃縮) r ² =0.9958	甲醇

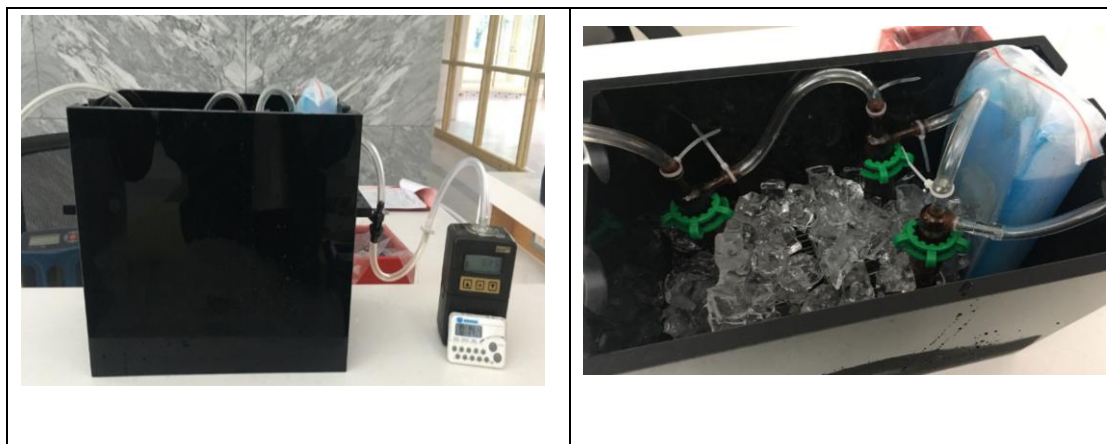
六、實場採樣及方法測試

(一) 於室內場所進行空氣中甲醛方法測試

為測試空氣中甲醛採樣及 SERS 檢測方法，本計畫於 106 年 10 月 16 日上午 10:40 至 11:40 選擇在新竹市某一處剛裝潢完室內場所進行測試，並同時委託檢測認證公司利用環保署公告"空氣中氣態之醛化合物檢測方法 (NIEA A705.12C)"方式來進行比較(請見圖四十五); 其中標準方式採樣時間為 1 小時、採樣高度為 120 cm、室內溫度 23.3℃、溼度 64.0%、採氣流速為 160 mL/min。圖四十六為本計畫在進行 SERS 量測前之採樣架構;其中採樣時間為 1 小時、採樣高度為 120 cm、室內溫度 23.3℃、溼度 64.0%、採氣流速為 150 mL/min、吸收液 (AHMT) 冰浴降溫。

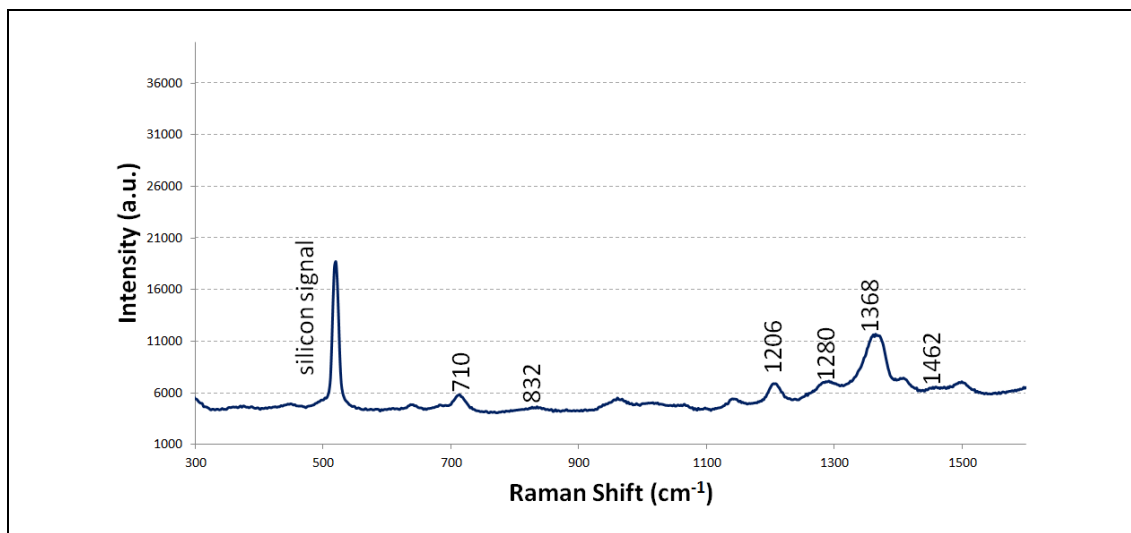


圖四十五 於新竹市某處剛裝潢完室內場所進行空氣中甲醛測試(左)及標準方式採樣(右)



圖四十六 於新竹市某處剛裝潢完室內場所進行空氣中甲醛 SERS 採樣架
構圖

圖四十七為室內空氣採樣後吸收液之 SERS 光譜圖 (五次量測平均)，其中量測參數-雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 50 mW、平均次數: 5、使用基板: 銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 外殼以金包覆)。檢測流程請見圖十八; 利用 1368cm^{-1} 特徵峰強度(去除基線後為 7886 散射強度)，代入甲醛分子檢量線公式 $x=(y-6598.1)/99252$ 可得到吸收液甲醛濃度為 $0.0129\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。表十一為本次室內空氣甲醛參數設定; 由結果可知，室內空氣中採樣之甲醛濃度為 0.0117 ppm 。表十二為標準公告方法(NIEA A705.12C)檢測結果，檢出空氣甲醛濃度為 0.02 ppm ，低於室內甲醛法規標準 0.08 ppm 。由結果得知，以表面增強拉曼光譜去測得之甲醛濃度，在利用 AHMT 為吸收液採樣時其回收率較低(採樣時間 60 分鐘甲醛回收率為 64.8%)，若考量採樣回收率下，與實際標準方法具有 10% 誤差量。



圖四十七 室內空氣採樣後吸收液之 SERS 光譜圖

表十一 室內空氣甲醛參數設定表及待測物之濃度

C：空氣中待測物之濃度〔ppm〕	0.0117
W：樣品溶液中待測物偵測濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	0.0129
A：樣品吸收液定量體積（mL）	10
F：採氣流率（mL/min）	150
t：採樣時間（min）	60
M：待測物分子量（g/mole）	30.031
P：採樣時大氣壓力（mmHg）	760
T：採樣時溫度（ $^{\circ}\text{C}$ ）	23.3

表十二、室內空氣中氣態之醛化合物檢測方法檢測結果
(委託上準環境科技股份有限公司)

專案編號：ER106M1767

報告編號：R1061767M11

是否 經 許 可	檢 測 位 置	新大樓	單 位	標 準 值		檢 驗 方 法	備 註
	檢 驗 項 目						
*	甲醛(HCHO)	0.02	ppm	1小時值	0.08	NIEA A705.12C	

備註：

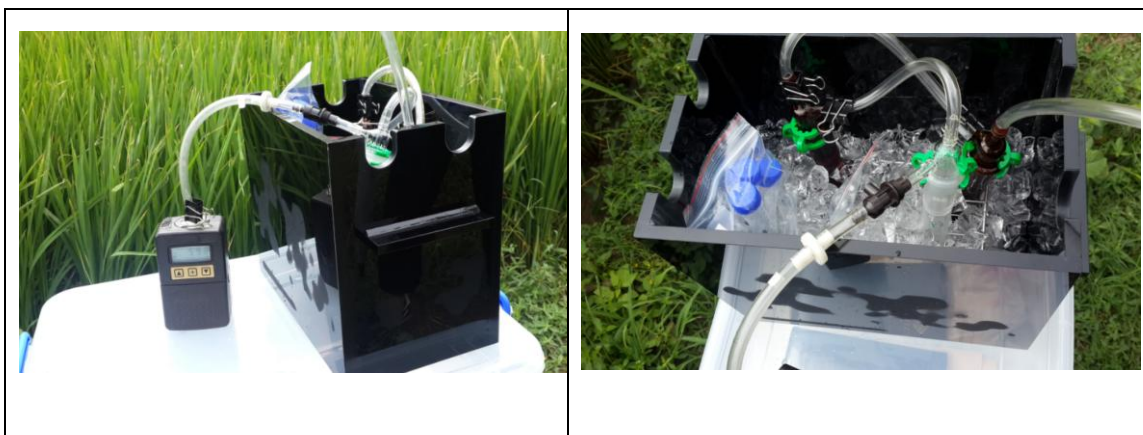
- 1.檢驗項目有標示“*”者係指該檢驗項目經行政院環保署許可，並依其公告之檢驗方法分析。
- 2.檢驗值低於方法偵測極限之測定以“ND”表示，並註明其方法偵測極限值及單位(MDL)。
- 3.檢驗值低於檢量線最低濃度而高於MDL濃度時，以“<”檢量線最低濃度值表示。
- 4.1小時值：指1小時內各測值之算術平均值或1小時採樣之測值。
- 5.本報告已由核可報告簽署人審核無誤，簽署人：陳貝貞(ERO-01)，江瑞欽(ERA-04)。

(二) 於農地進行空氣中巴拉松及大利松農藥方法測試

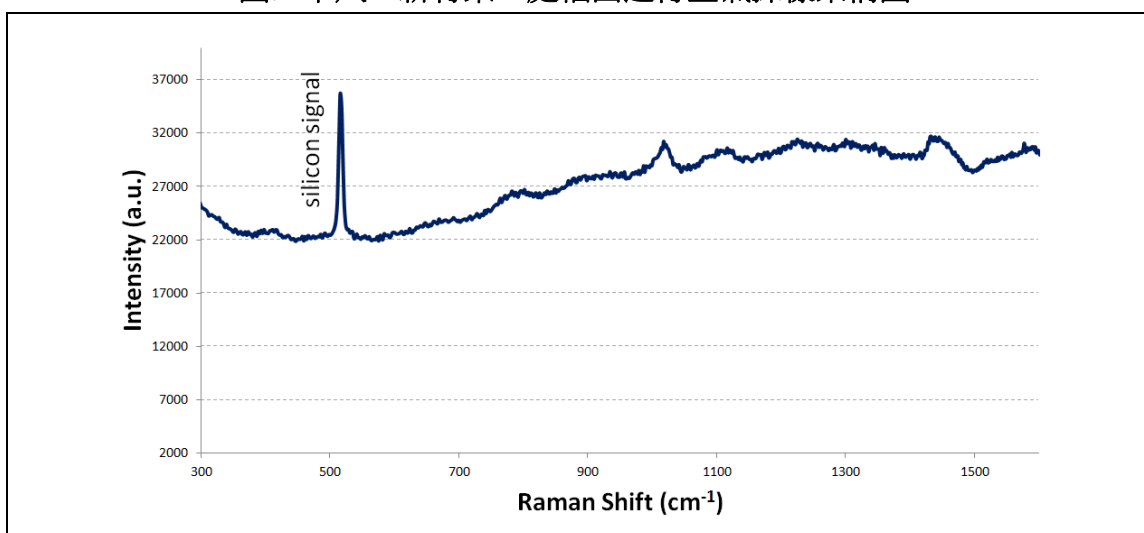
為測試空氣中大利松及巴拉松 SERS 檢測方法，本計畫於 106 年 11 月 3 日上午 10:33 至 11:33 選擇在新竹某一處稻田進行空氣採樣;大利松為米類推薦農藥，根據農藥殘留容許量標準 (衛授食字第 1061301760 號令修正) 其容許量為 0.1 ppm、巴拉松為非推薦農藥。圖四十八為空氣採樣架構圖;其中採樣時間為 1 小時、採樣高度為 120 cm、室外溫度 23.0°C、溼度 78.0%、採氣流速為 200 mL/min、甲醇為吸收液。經由量測含農藥分子之表面增強拉曼光譜，來對農藥做快速光譜檢測。吸收液裡巴拉松及大利松的濃度含量可經由液相層析／串聯式質譜儀 (LC/MS/MS) 系統 (Agilent 1200 搭配 Sciex API 4000) 進行回收率確認;其中農藥空氣樣品採樣結果委託由工研院綠能所進行分析。

在實際稻田空氣採樣時使用甲醇為吸收液，在採樣完成後，取 5 mL 吸收液通過農藥淨化管柱(GETech; FaPEX-gen; with 0.2 μm GHP 過濾頭)進行淨化，以去除空氣中的基質所造成之光譜干擾;吸收液在淨化後，可利用氮氣進行 30 倍濃度，再進行 SERS 量測。圖四十九為在稻田空氣採樣後吸收液之 SERS 光譜圖;其中量測參數-雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 50 mW、平均次數:5、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 外殼以金包覆)。由 SERS 光譜量測結果得知，並無量測出大利松分子特徵峰 (608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處) 及巴拉松分子特徵峰 (860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處)。表十三為稻田空氣採樣後吸收液上機測試結果，其中巴拉松及大利松農藥皆未檢出。圖五十為採樣後吸收液外添加巴拉松及大利松之 SERS 光譜圖;其中量測參數-雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 50 mW、平均次數:5、使用基板:銀奈米柱結構 (厚度 285 nm; 外殼以金包覆)。經由上機測試後其濃度分別為 1.11 mg/L 及 1.07 mg/L (表十四) ;其中巴拉松特徵峰 1108 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式 ($y=1538.3x+2407.9$)，可得濃度為 0.96 mg/L、大利

松特徵峰 608 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式 ($y=1348.7x-1092$)，可得濃度為 0.93 mg/L (巴拉松及大利松實際外添濃度皆為 1 ppm)。



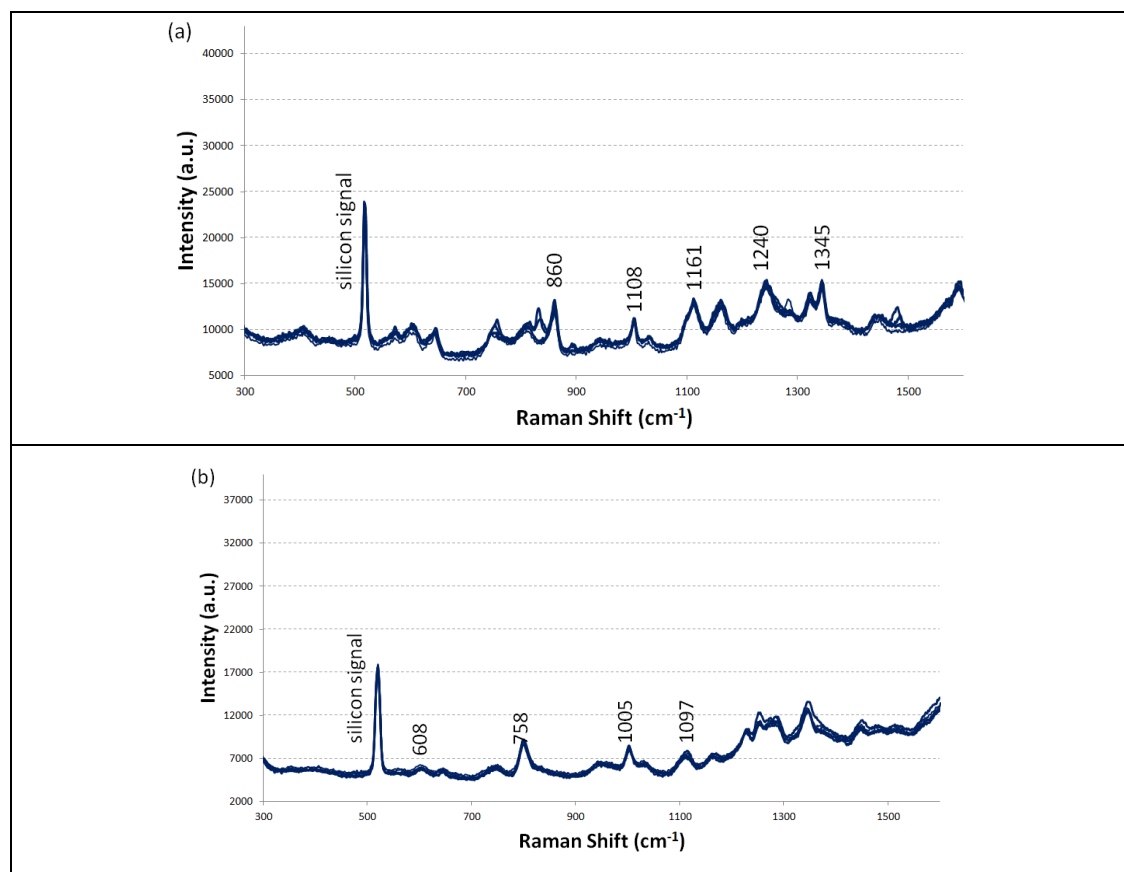
圖四十八 新竹某一處稻田進行空氣採樣架構圖



圖四十九 稻田空氣採樣後吸收液之 SERS 光譜圖

表十三 稻田空氣採樣後吸收液上機測試結果

採樣處	農藥品項	吸收液中濃度(mg/L)
新竹田邊	巴拉松	ND
新竹田邊	大利松	ND
備註	1. Agilent 1200 搭配 Sciex API 4000 之液相層析／串聯式質譜儀 (LC/MS/MS)系統上機分析: 巴拉松 MDL=0.006 mg/L、大利松 MDL=0.001 mg/L 2. 工研院綠能所協助量測分析	



圖五十 稻田空氣採樣後吸收液外添加之 SERS 光譜圖
(a) 巴拉松 (b) 大利松

表十四、稻田空氣採樣後吸收液外添加農藥上機測試結果

採樣處	農藥品項	吸收液中濃度(mg/L)
新竹田邊	巴拉松	1.11
新竹田邊	大利松	1.07
備註	1. Agilent 1200 搭配 Sciex API 4000 之液相層析／串聯式質譜儀 (LC/MS/MS)系統上機分析: 巴拉松 MDL=0.006 mg/L、大利松 MDL=0.001 mg/L 2. 工研院綠能所協助量測分析	

第五章 結論與建議

一、結論

本計畫執行至今，以表面增強拉曼光譜技術評估檢測空氣中大利松與巴拉松有機磷農藥及空氣中甲醛污染物之適用性，可獲得以下結論：

1. 巴拉松分子在 860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處為其主要 SERS 特徵峰，可利用特徵峰 1108 cm^{-1} 建立檢量線 (MDL 為 0.4805 mg/L)。
2. 大利松分子在 608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處為其主要 SERS 特徵峰，可利用特徵峰 608 cm^{-1} 建立檢量線 (MDL 為 0.2708 mg/L)。
3. 空氣中巴拉松及大利松農藥可利用甲醇溶液做為吸收液進行採樣，在實驗室架構下測試其回收率分別為 60% 及 79.5% (採樣時間 60 分鐘、流速 200 mL/min)；吸收液濃縮 30 倍時，可檢測低於固定污染源空氣污染物排放標準 (巴拉松 0.1 mg/m^3 、大利松 0.01 mg/m^3)。
4. 空氣中甲醛的採樣架構，可利用環保署公告方法 NIEA A705.12C” 空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法-以 DNPH 衍生物之高效能液相層析測定法” 進行；但由於 DNPH 吸收液本身具有強烈之螢光光譜訊號，需採用 AHMT (4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole) 做為吸收反應劑。
5. 甲醛分子與 AHMT 進行衍生反應後，可量測得到其產物 MTT(6-mercapto-5-triazolo[4,3-b]-s-tetrazine) 之 SERS 光譜，利用其主要特徵峰 $1367\text{--}1375\text{ cm}^{-1}$ 建立檢量線，其偵測極限為 0.0032 mg/L ，低於法規標準。

二、建議

本計畫已評估利用表面增強拉曼光譜法去檢測空氣中巴拉松、大利松農藥及甲醛分子之可行性，其方法偵測極限可低於目前空氣法規標準;由目前計畫成果顯示，此表面增強拉曼光譜技術方式具有檢測時間短、檢測極限低、使用溶劑少等優勢，搭配攜帶式拉曼光譜儀可在現場進行量測。由於表面增強拉曼光譜法檢測靈敏度高，在使用溶劑及耗材之品管與品保部分須非常嚴謹，以避免造成光譜上干擾及訊號的抑制。本計畫已成功建立巴拉松、大利松與甲醛經衍生之表面增強拉曼圖譜，更進一步將表面增強拉曼光譜分析技術應用於空氣檢測，後續建議可建立其它種類農藥或環保署關切污染物的表面增強拉曼圖譜與資料庫建置，以因應未來各種環境基質樣品的污染物提供快速比對。

參考文獻

1. Fleischmann M. , Hendra P.J. and McQuillan A. J. (1974). Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. Chemical physics letters 26: 123.
2. AOAC (1990) AOAC Official Methods of Analysis. 15th Edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
3. Zheng J., and He, L. (2014). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for the Chemical Analysis of Food. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13: 317-328.
4. Kumar S., Goel P. and Singh J. P. (2017). Flexible and robust SERS active substrates for conformal rapid detection of pesticide residues from fruits. Sensors and actuators B: chemical, 241:577–583.
5. Hao J., Wang Q. K., Weimer W., Abell J., Wilson M. (2015). SERS Spectra of Permethrin on Silver Nanofilm. American journal of nano research and application, 3(1-1): 29-32.
6. Y.-J. Jen, C.-W. Yu, Y.-H. Wang and J.-J. Jhou (2011). Shape effect on the real parts of equivalent permeability of chevron thin films of silver. Journal of Nanophotonics, 5: 0515071-9.
7. Y.-J. Jen, A. Lakhtakia, C.-W. Yu, and C.-T. Lin (2009). Vapor-deposited thin films with negative real refractive index in the visible regime. Optics Express, 17: 7784.
8. Y.-J. Jen, A. Lakhtakia, C.-W. Yu, J.-J. Jhou, W.-H. Wang, M.-J. Lin, H.-M. Wu, and H.-S. Liao (2011). Silver/silicon dioxide/silver sandwich films in the blue-to-red spectral regime with negative-real refractive index. Applied Physics Letters, 99: 181117.
9. Y.-J. Jen, M. Suzuki, Y.-H. Wang, and M.-J. Lin (2012). Near-field simulation of obliquely deposited surface-enhanced Raman scattering substrates. Journal of applied physics, 112: 113111.
10. J. Zheng and Lili He (2014). Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for the Chemical Analysis of Food. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13: 3.
11. P. Ma, F. Liang, D. Wang, Q. Yang, Y. Ding, Y. Yu and D. Gao, D. Song and X. Wang (2015). Ultrasensitive determination of formaldehyde in environmental waters and food samples after derivatization and using silver nanoparticle assisted SERS. Microchimica Acta, 182: 3-4.
12. 空氣中氣態醛類化合物檢驗方法-以 DNPH 衍生化之高效能液相層析測定法，中華民國 105 年 12 月 14 日環署檢字第 1050100612 號公告，自中華民國 106 年 03 月 15 日生效，NIEA A705.12C。

13. 食品中甲醛之檢驗方法(二), 104 年 9 月 3 日部授食字第 1041901505 號公告修正, MOHWA0004.02。
14. Lee, D. et al. (2006). Quantitative analysis of methyl parathion pesticides in a polydimethylsiloxane microfluidic channel using confocal surface-enhanced Raman spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 60: 373–377.
15. J. F. Li, Y. F. Huang, Y. Ding et al. (2010) Shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy. *Nature* 464, 392-395.
16. Vo-Dinh (1995). Surface enhanced Raman scattering (SERS) dosimeter and probe. (US patent 5,400,136)
17. 環境檢驗方法偵測極限測定指引;環署檢字第 0930072069G 號 公告 修正 (NIEA-PA107)
18. 固定污染源空氣污染物排放標準(中華民國 102 年 4 月 24 日行政院環境保護署環署空字第 1020032301 號令修正發佈第二條)
19. Hu, H. and Larson, Ronald G. (2006). Marangoni effect reverses coffee-ring depositions. *The journal of physical chemistry B letters* 110: 7090-709

附錄

附件一、儀器及樣品重覆分析查核

表一、儀器重覆分析查核

Sample	濃度(mg/L)	吸收液中甲醛濃度(mg/L)	回收率(%)
1	0.150	0.1466	98
2	0.150	0.1542	103
3	0.150	0.1479	99
4	0.150	0.1581	105
5	0.150	0.1577	105
6	0.150	0.1580	105
7	0.150	0.1444	96
8	0.150	0.1556	104
STD	-	0.006	3.75

表二、樣品重覆分析查核

Sample	添加量(mg/L)	吸收液中甲醛濃度(mg/L)	回收率(%)
impinger(sample A)	0.133	0.1028	77.3
impinger(sample B)	0.133	0.0971	73.0
impinger(sample C)	0.133	0.0935	70.3
STD	-	-	3.1

資料來源: 工研院綠能所協助量測分析

附件二、「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)-表面增強拉曼光譜技術應用於環境鑑識技術研究」評選會議審查委員意見回覆

	審查意見	答覆說明																																																																																																																											
工作小組	受評廠商工作目標、工作方法以及預期效益符合本案需求，惟預定進度及查核重點因本案 11 月 10 日前應繳交期末報告，服務建議書第 27 頁甘特圖的第六項「選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試」時間軸應修改，請受評廠商受評及格後再行修改。另各項報價經費需求概算合理，惟旅運費與差旅費依「行政院環境保護署委辦計畫經費編列基準」為業務費項下，維護費為 0 不須呈現在經費內	已修改甘特圖的第六項「選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試」時間軸，如下表所示。已提供更新版經費需求表。																																																																																																																											
	<table><tr><th>106 年</th><th>4 月</th><th>5 月</th><th>6 月</th><th>7 月</th><th>8 月</th><th>9 月</th><th>10 月</th><th>11 月</th><th>12 月</th></tr><tr><td>一、建立大利松與巴拉松 2 種有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜。</td><td colspan="2"></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>二、評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性</td><td></td><td colspan="2"></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>三、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>四、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2"></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>五、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2"></td><td></td></tr><tr><td>六、選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td colspan="2"></td><td></td></tr><tr><td>預定進度累積百分比(%)</td><td>5</td><td>12</td><td>24</td><td>36</td><td>50</td><td>65</td><td>86</td><td>100</td><td></td></tr><tr><td>查核點</td><td colspan="4">預定完成時間</td><td colspan="6">查核點內容說明</td></tr><tr><td>1. 提交第一次進度報告</td><td colspan="4">106 年 5 月 18 日</td><td colspan="6">大利松與巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜建立及評估</td></tr><tr><td>2. 提交期中進度報告</td><td colspan="4">106 年 8 月 16 日</td><td colspan="6">評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性及於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。</td></tr><tr><td>3. 提交期末報告</td><td colspan="4">106 年 11 月 10 日</td><td colspan="6">於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性、空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試報告、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試及選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試</td></tr></table>		106 年	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	一、建立大利松與巴拉松 2 種有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜。										二、評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性										三、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。										四、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性										五、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試										六、選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試										預定進度累積百分比(%)	5	12	24	36	50	65	86	100		查核點	預定完成時間				查核點內容說明						1. 提交第一次進度報告	106 年 5 月 18 日				大利松與巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜建立及評估						2. 提交期中進度報告	106 年 8 月 16 日				評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性及於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。						3. 提交期末報告	106 年 11 月 10 日				於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性、空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試報告、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試及選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試				
106 年	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月																																																																																																																				
一、建立大利松與巴拉松 2 種有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜。																																																																																																																													
二、評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性																																																																																																																													
三、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。																																																																																																																													
四、於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性																																																																																																																													
五、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試																																																																																																																													
六、選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試																																																																																																																													
預定進度累積百分比(%)	5	12	24	36	50	65	86	100																																																																																																																					
查核點	預定完成時間				查核點內容說明																																																																																																																								
1. 提交第一次進度報告	106 年 5 月 18 日				大利松與巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜建立及評估																																																																																																																								
2. 提交期中進度報告	106 年 8 月 16 日				評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性及於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。																																																																																																																								
3. 提交期末報告	106 年 11 月 10 日				於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性、空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試報告、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試及選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試																																																																																																																								
汪委	1. 有機磷農藥種類相當多，本方法是否只適用於大利	本方法主要以表面增強拉曼光譜技術(SERS)評估檢測大利松與巴拉松 2 種農藥，上述農																																																																																																																											

員 禧 年	松與巴拉松 2 種?其它有機磷農藥是否會造成干擾? 檢量線下限預期值是否符合所內要求。	藥在 SERS 光譜上具有其獨特之特徵峰，與其它種有機磷農藥做光譜上的區分，可利用演算法辨別去除干擾。大利松與巴拉松在固定污染源空氣污染物排放標準分別為 0.01mg/m^3 及 0.1 mg/m^3 ，本計畫主要評估萃取樣品方式及其吸收液之濃縮程度，至可檢測標準。
	2. 本計畫涉及一般專利檢測方法，此專利是否已經有技術轉移?計畫完成後本專利是否開放使用	本計畫涉及之專利檢測方法，尚未有技術轉移，計畫完成後本專利可開放使用。
王 委 員 家 麟	1. 塗抹衍生後之偶氮甲醛產物的操作重複性必然影響分析誤差，應在初期提出再現的特性說明；此外，本方法之抗干擾性與針對性，尤其是空氣中乙醛非常普遍，故本方法的辨別能力必須展現	衍生後之偶氮甲醛產物的操作流程，將建立其標準化方式，其再現特性將在第一次報告說明；此外，由於甲醛在衍生後(與 AHMT 反應，4-amino-3-hydrazino-5-mercapto -1,2,4-triazole)之產物，在拉曼光譜約 832cm^{-1} 處具有其特徵峰，利用此特徵峰可辨別甲醛並排除乙醛之干擾。
張 委 員 見 聰	1. 本計畫目標之一為評估以表面增強拉曼光譜技術檢測空氣中甲醛之適用性，針對其它醛類之檢測干擾如何排除，請說明之	甲醛在與 AHMT (4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole)反應衍生後之產物，在拉曼光譜約 832cm^{-1} 處及 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1} 特徵峰具有其特徵峰，利用此特徵峰可辨別甲醛並排除乙醛之干擾。
	2. 本案之檢測擬委由工業技術研究院辦理，請說明服務建議書中所提之報價單是否已包含採樣費用?貴公司是否參與採樣作業	本計畫之檢測由工業技術研究院委託部份，包含採樣費用，汎鋸也同時參與採樣作業。
	3. 有關醛類物質之淨化技術如何執行，請說明之。	醛類物質在吸收液與衍生劑進行反應後，若其雜質過多而在光譜上產生干擾時，則可採用修正後 QuEChERS 技術、配合加壓過濾法之淨化方式來達到快速淨化之目的；吸收液可採用甲醇或丙酮，而在淨化之粉末可採用如 C18 來達到淨化雜質的效果；本計畫之採樣方式，除空氣中之甲醛外，也同時適用於其它醛類(如乙醛)；而在醛類物質之辨別，主要利用甲醛與 AHMT 反應後之產物 MTT 之表

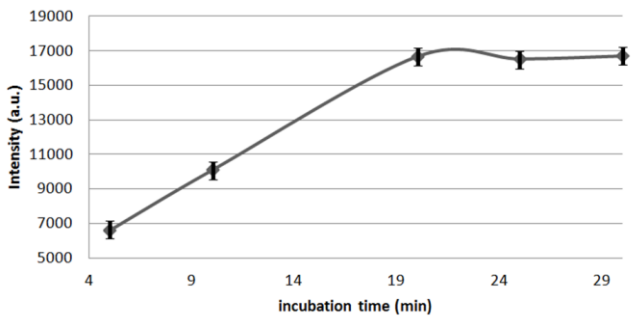
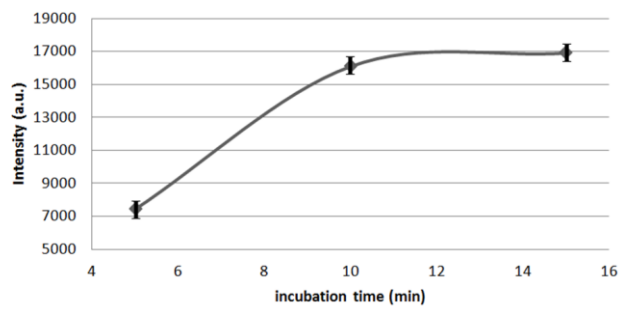
		面增強拉曼光譜來區分。
巫 委 員 月 春	1. 本計畫是否涉及臺灣及美國專利權之使用?有無侵權之虞?後續研究成果之應用有無侵權之虞?	本計畫涉及之專利檢測方法，搭配表面增強拉曼技術，在臺灣及美國尚未有相關檢測手法專利，尤其所搭配之 SERS 基板耗材為本計畫執行單位之既有核心專利，其擁有獨特之光學特性;本計畫完成後研究成果之應用應無侵權之虞。
	2. 本計畫執行甲醛及兩項農藥之研究開發，其測試之目標濃度為何?是否涵蓋管制濃度或環境存在可能濃度等?	依據固定污染源空氣污染物排放管制濃度標準(中華民國 102 年 4 月 24 日行政院環境保護署環署空字第 1020032301 號令修正發布)，大利松與巴拉松在分別為 $0.01\text{mg}/\text{m}^3$ 及 $0.1\text{mg}/\text{m}^3$ 、室內甲醛空氣標準為 0.08ppm (體積濃度)，本計畫執行甲醛及兩項農藥之研究開發，將以此濃度為評估目標。
	3. 執行測試之次數、程序以及測試結果之評析方式為何?建議補充於服務建議書中	本計畫在實驗室對農藥(大利松與巴拉松)及甲醛之測試次數分別為 15 次，其中在吸收液的濃度皆會經過 LCMSMS 或分光光度法分析驗證，測試結果之評析方式分別針對大利松、巴拉松及甲醛(與衍生劑反應後產物)之 SERS 光譜進行特徵峰比對辨別;測試程序如下:
	<pre> graph TD A[1. Dilute the standard to the proper concentration and drop on the top of the gas sample bulb.] --> B[2. Use the NIR lighting to warm the sample bulb.] B --> C[3. Pump the vapor into absorbent liquid (ex. acetone or methanol). *Formaldehyde needs to react with AHMT (4-amino3hydrazino5mercapto-1,2,4-triazol) to produce the SERS signal.] C --> D[4. Analyze the recovery rate of the Formaldehyde/ Parathion/ Diazinon within the absorbent liquid using LCMSMS.] D --> E[5. Clean up the impurities from the absorbent (if necessary).] E --> F[6. Mixed the purification solution with ultra-pure water. Drop 3ul on the top of SERS substrate.] F --> G[7. Insert the substrate into the Raman system and read the SERS spectrum.] </pre>	
	實場測試環境條件及測試結果之評析範圍為何?例如若三種目標物種空氣中存在濃度很低 (例如低於偵測極限)	實場測試的環境，以常施用作物之田邊場域為主，測試時會先確認大粒松與巴拉松農藥已在此場域進行噴撒過，並在不同時間進行現場測試;甲醛之測試主要會在公共場域進

	時，如何評估測試結果？	行；本計畫在實場測試中，盡量尋找濃度可檢測出其 SERS 光譜之場域為目標，做為評估測試結果之依據。												
翁 委 員 英 明	1. 本計畫以 SERS 晶片檢測待測物，其檢測系統之效能基準以及拉曼圖譜特徵峰型態之確認如何規範。	SERS 檢測系統之效能基準，主要在固定量測參數下(雷射功率、積分時間等)，利用 1 mg/L Tricyclazole 標準試劑滴定在 SERS 基板上之增強效果來確認系統之效能；拉曼圖譜特徵之辨別，主要可利用其位置、半高寬及特徵峰相對強度來辨別，需要利用軟體自動演算來定義分析圖譜種類。												
	2. 相對應之化學法品管規範請補充以利評估 SERS 拉曼之效能。	本計畫使用之 LCMSMS 對應分析驗證，主要分析吸收液之濃度，在大利松與巴拉松農藥之品管規範，其檢量線會製作 5 個不同濃度標準液(參考環檢所方法 W603.50B 水中殘留農藥檢測方法－液相層析／串聯式質譜儀法)，其線性相關係數需達 $r^2 > 0.995$ 以上，重複樣品分析時，每樣品需做二重複，重複樣品分析求得相對百分偏差需小於 10%，並可依 CIPAC 農藥成品分析方法確認 Horwitz 方程式可接受之 RSDr 值。在甲醛方面，主要以衛署食字第 0900025822 號公告食品中甲醛之檢驗方法(二)進行，或採環署檢字第 0950042700 號公告方法(NIEA A705.11C)"空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法－以 DNPH 衍生物之高效能液相層析測定法"依據此品管規範來進行化學法分析。												
	3. 空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試工作計畫請列入進度查核。	空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試工作計畫已列入進度查核，如下表所示：												
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>查核點</th><th>預定完成時間</th><th>查核點內容說明</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1. 提交第一次進度報告</td><td>106 年 5 月 18 日</td><td>大利松與巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜建立及評估</td></tr> <tr> <td>2. 提交期中進度報告</td><td>106 年 8 月 16 日</td><td>評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性及於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。</td></tr> <tr> <td>3. 提交期末報告</td><td>106 年 11 月 10 日</td><td>於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性、空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試報告、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試及選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試</td></tr> </tbody> </table>		查核點	預定完成時間	查核點內容說明	1. 提交第一次進度報告	106 年 5 月 18 日	大利松與巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜建立及評估	2. 提交期中進度報告	106 年 8 月 16 日	評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性及於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。	3. 提交期末報告	106 年 11 月 10 日	於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性、空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試報告、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試及選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試
查核點	預定完成時間	查核點內容說明												
1. 提交第一次進度報告	106 年 5 月 18 日	大利松與巴拉松有機磷農藥表面增強拉曼標準圖譜建立及評估												
2. 提交期中進度報告	106 年 8 月 16 日	評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法適用性及於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法檢測空氣中甲醛適用性。												
3. 提交期末報告	106 年 11 月 10 日	於實驗室測試以表面增強拉曼光譜法量測空氣中大利松與巴拉松農藥項目適用性、空氣中化學法農藥及甲醛採樣測試報告、選擇 1 處農地進行大利松與巴拉松 SERS 檢測方法測試及選擇 1 室內場所進行空氣中甲醛 SERS 檢測方法測試												

附件三、「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)- 評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物」期中審查委員意見回覆

	審查意見	答覆說明																												
汪 委 員 禧 年	3. 期中報告基本資料表金額錯植，請修正。	回覆:已修正報告基本資料表金額，謝謝委員。																												
	4. 報告中多處字體模糊不清楚，字型不一致；衍生劑 AHMT 英文有誤；-amino-中文應為「胺」基，請修正。	回覆: 感謝委員指導。已修正報告書內容衍生劑 AHMT 英文名稱：4-amino-3-hydrazino-5- mercapto-1,2,4-triazole、中文名稱:4-胺基-3-聯胺-5-巰基-1,2,4-三氮雜茂; 已更正字體模糊及統一字型。																												
	5. 引用資料部份字體太小或未加註來源。	回覆: 已更新報告引用資料部份字體大小及加源來源。																												
	6. 報告中未說明儀器以及藥品之來源或等級。	回覆: 已更新報告藥品來源/等級，請見第九頁、第十頁。 本計畫採用分析儀器之型號如下: ● 島津紫外可見光分光光譜儀(UV-2450): 甲醇量測分析 ● 液相層析／串聯式質譜儀(LC/MS/MS)系統(Agilent 1200 搭配 Sciex API 4000): 農藥量測分析 ● 可攜式拉曼光譜儀: 客製化，光學規格如下: <table><tr><th>Feature</th><th>Detailed Spec</th></tr><tr><td>Design</td><td>Lens based spectrograph</td></tr><tr><td>f/#</td><td>f/1.3</td></tr><tr><td>Sample Input Format</td><td>Free-space</td></tr><tr><td>Working distance</td><td>21.95 mm</td></tr><tr><td>Slit diameter</td><td>50μm x 1mm</td></tr><tr><td>Wavenumber range</td><td>200 – 2000 cm⁻¹</td></tr><tr><td>Wavelength range</td><td>800 – 940 nm</td></tr><tr><td>Resolution</td><td>10 cm⁻¹ with 50μm slit</td></tr><tr><td>Excitation</td><td>785nm</td></tr><tr><td>Diffraction Grating</td><td>HD 1624 l/mm VPG</td></tr><tr><td>Peak DE</td><td>83%</td></tr><tr><td>Image spot size</td><td>10 μm</td></tr><tr><td>Sample spot size</td><td>50 μm</td></tr></table>	Feature	Detailed Spec	Design	Lens based spectrograph	f/#	f/1.3	Sample Input Format	Free-space	Working distance	21.95 mm	Slit diameter	50μm x 1mm	Wavenumber range	200 – 2000 cm ⁻¹	Wavelength range	800 – 940 nm	Resolution	10 cm ⁻¹ with 50μm slit	Excitation	785nm	Diffraction Grating	HD 1624 l/mm VPG	Peak DE	83%	Image spot size	10 μm	Sample spot size	50 μm
	Feature	Detailed Spec																												
	Design	Lens based spectrograph																												
	f/#	f/1.3																												
Sample Input Format	Free-space																													
Working distance	21.95 mm																													
Slit diameter	50μm x 1mm																													
Wavenumber range	200 – 2000 cm ⁻¹																													
Wavelength range	800 – 940 nm																													
Resolution	10 cm ⁻¹ with 50μm slit																													
Excitation	785nm																													
Diffraction Grating	HD 1624 l/mm VPG																													
Peak DE	83%																													
Image spot size	10 μm																													
Sample spot size	50 μm																													
7. 分析儀器為客製化有何差異?無商業化	回覆:本計畫使用之可攜式拉曼光譜儀，在原型機有商業化的供應;客製化的機臺主要有其規格上差異，如雷射光源(785nm)輸出最高功率範圍(>95mW)、CCD 的雜訊要求																													

供應?奈米金屬柱結構來源？	(dark current noise <1500 counts in 500ms)及其光機感度 (sensitivity, >5000 counts in silicon wafer@ 520 cm⁻¹);本計畫使用之奈米金屬柱結構，由汎錫自主生產製造(US 8898811)，其主要結構為奈米銀柱(金包覆)結構，規格如下: <table><tr><td>Chips size(active)</td><td>2.2mm x 2.2mm, Metal Film Coated on Silicon Wafer</td></tr><tr><td>Slide Mount</td><td>Glass substrate (75mm x 25mm x2mm)</td></tr><tr><td>Material</td><td>Silver with Gold Shell</td></tr><tr><td>Fabrication</td><td>Evaporation (PVD)</td></tr><tr><td>Excitation wavelengths</td><td>785nm (<100mw;recommend);4X-20X Objective Lens</td></tr><tr><td>Limitation of detection(LOD)</td><td>Tricyclazole(1ppm)</td></tr><tr><td>Film thickness</td><td>285±10nm</td></tr></table>	Chips size(active)	2.2mm x 2.2mm, Metal Film Coated on Silicon Wafer	Slide Mount	Glass substrate (75mm x 25mm x2mm)	Material	Silver with Gold Shell	Fabrication	Evaporation (PVD)	Excitation wavelengths	785nm (<100mw;recommend);4X-20X Objective Lens	Limitation of detection(LOD)	Tricyclazole(1ppm)	Film thickness	285±10nm														
Chips size(active)	2.2mm x 2.2mm, Metal Film Coated on Silicon Wafer																												
Slide Mount	Glass substrate (75mm x 25mm x2mm)																												
Material	Silver with Gold Shell																												
Fabrication	Evaporation (PVD)																												
Excitation wavelengths	785nm (<100mw;recommend);4X-20X Objective Lens																												
Limitation of detection(LOD)	Tricyclazole(1ppm)																												
Film thickness	285±10nm																												
8. 巴拉松與大利松光譜是否有探討干擾、MDL 以及基質效應？	回覆: 謝謝委員意見。在實際採樣時使用甲醇為吸收液，在採樣完成後，需先進行快速淨化步驟;取 5mL 吸收液通過快速農藥萃取淨化管柱(FaPEx;gen type with 0.2μm GHP 過濾頭)進行淨化，可去除空氣中的基質所造成之光譜干擾;吸收液在淨化後與水混合後，可進行 SERS 量測;巴拉松與大利松在 SERS 光譜上分別具有 860 cm⁻¹、1108 cm⁻¹、1161 cm⁻¹、1240 cm⁻¹、1345 cm⁻¹ 及 608 cm⁻¹、758 cm⁻¹、1005 cm⁻¹ 及 1097 cm⁻¹ 特徵峰，可藉由特徵峰比對出此兩種農藥。 本計畫除建立巴拉松與大利松兩種農藥之檢量線外，也同時進行 MDL 偵測，如下: <table><tr><td></td><td>S_A²</td><td>S_B²</td><td>S_A²/S_B² 或S_B²/S_A²</td><td>F 比值 (F<3.05)</td><td>S_{pooled}</td><td>MDL (mg/L)</td></tr><tr><td>巴拉松</td><td>0.0305</td><td>0.0338</td><td>1.1092</td><td>Pass</td><td>0.1792</td><td>0.4805</td></tr></table> <table><tr><td></td><td>S_A²</td><td>S_B²</td><td>S_A²/S_B² 或S_B²/S_A²</td><td>F 比值 (F<3.05)</td><td>S_{pooled}</td><td>MDL (mg/L)</td></tr><tr><td>大利松</td><td>0.0061</td><td>0.0143</td><td>2.3466</td><td>Pass</td><td>0.1010</td><td>0.2708</td></tr></table> 其在吸收液之 MDL 分別為 0.4805 mg/L 及 0.2708mg/L。		S _A ²	S _B ²	S _A ² /S _B ² 或S _B ² /S _A ²	F 比值 (F<3.05)	S _{pooled}	MDL (mg/L)	巴拉松	0.0305	0.0338	1.1092	Pass	0.1792	0.4805		S _A ²	S _B ²	S _A ² /S _B ² 或S _B ² /S _A ²	F 比值 (F<3.05)	S _{pooled}	MDL (mg/L)	大利松	0.0061	0.0143	2.3466	Pass	0.1010	0.2708
	S _A ²	S _B ²	S _A ² /S _B ² 或S _B ² /S _A ²	F 比值 (F<3.05)	S _{pooled}	MDL (mg/L)																							
巴拉松	0.0305	0.0338	1.1092	Pass	0.1792	0.4805																							
	S _A ²	S _B ²	S _A ² /S _B ² 或S _B ² /S _A ²	F 比值 (F<3.05)	S _{pooled}	MDL (mg/L)																							
大利松	0.0061	0.0143	2.3466	Pass	0.1010	0.2708																							
9. 甲醛衍生化反應之最適化條件是否有探討？	回覆: 謝謝委員意見。為探討甲醛衍生化反應之最適化條件，可利用 AHMT 與甲醛反應時間隨其在主要特徵峰值 SERS 強度來進行比較;下圖為 SERS 強度(1373cm⁻¹ 特徵峰)隨 AHMT 與 0.1mg/L 甲醛反應時間關係圖，其中反應溫度為 24 度(室溫):																												

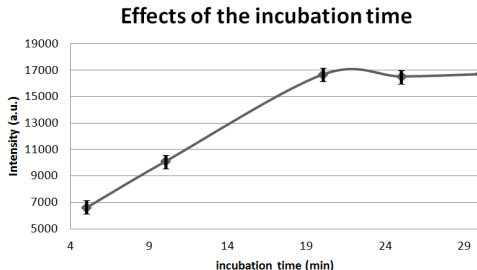
		Effects of the incubation time  由圖可知，當反應時間未達 20 分鐘時，其 SERS 強度隨時間增加而線性上昇;當反應時間到達 20 分鐘後，SERS 強度趨於穩定。 此外，下圖為 SERS 滴定後等待時間隨 SERS 強度關係圖，其中 AHMT 與 0.1mg/L 甲醛反應時間為 20 分鐘: Effects of the incubation time on SERS  由圖可知，當 AHMT 與甲醛反應後，在 SERS 基板結構上等待反應時間在 0-10 分鐘內時，其 SERS 強度呈線性上昇;當滴定時間到達 10-15 分鐘後，反應物可有效吸附於 SERS 基板金屬表面，其 SERS 強度可達穩定值;已增加上述測試結果至計畫內容第五十、五十一頁。
何委員國榮	1. 應檢討數據之呈現是否適當，如圖 19 與圖 21 之範圍宜一致；圖 28 說明不符圖之內容；圖 20 與圖 22 是否為檢量線?R2 是否有改善空間?	回覆:謝謝委員意見。已調整巴拉松(原圖 19)、大利松(原圖 21)SERS 光譜量測範圍一致。已修正甲醛檢量線圖說明(原圖 28)，請參考計畫書內容圖四十；原圖 20 與圖 22 分別為巴拉松及大利松檢量線。已重新選取濃度 10 mg/L、8 mg/L、6 mg/L、4 mg/L、2 mg/L、1 mg/L 及 0.5 mg/L 巴拉松農藥、濃度 10 mg/L、8 mg/L、6 mg/L、4 mg/L、3 mg/L、2 mg/L 及 1 mg/L 大利松建立檢量線，請見圖二十四及圖二十九；其 R^2 分別為 0.9787 及 0.9958。
	2、 甲醛為何不選擇更強的訊號?	回覆: 謝謝委員意見。除特徵峰 832 cm^{-1} ，已建立 SERS 特徵峰(1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1})之檢量線，請見圖四十；其 MDL 值可達 0.0032 mg/L，如下表所示。

	<table><tr><th></th><th>S_A^2</th><th>S_B^2</th><th>S_A^2/S_B^2 或S_B^2/S_A^2</th><th>F 比值 ($F<3.05$)</th><th>S_{pooled}</th><th>MDL (mg/L)</th></tr><tr><td>甲 醛</td><td>0.0000008</td><td>0.0000021</td><td>2.5483</td><td>Pass</td><td>0.0012</td><td>0.0032</td></tr></table> SERS signal versus HCHO concentration Intensity (a.u.) concentration of HCHO (ppm) $y = 99252x + 6598.1$ $R^2 = 0.9932$ ◆ 1 ■ 2 ▲ 3 × 4 ✱ 5 ● average — 線性(average) 甲醛分子檢量線(特徵峰 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1})		S_A^2	S_B^2	S_A^2/S_B^2 或 S_B^2/S_A^2	F 比值 ($F<3.05$)	S_{pooled}	MDL (mg/L)	甲 醛	0.0000008	0.0000021	2.5483	Pass	0.0012	0.0032
	S_A^2	S_B^2	S_A^2/S_B^2 或 S_B^2/S_A^2	F 比值 ($F<3.05$)	S_{pooled}	MDL (mg/L)									
甲 醛	0.0000008	0.0000021	2.5483	Pass	0.0012	0.0032									
3、 圖 19與圖 20 分別以 Counts 和 intensity 表示，兩者之關係為何？	回覆: "counts"為 CCD 光電轉換效率，在本計畫代表 SERS 光譜量測強度，已統一以 "Intensity" 表示。														
4、 MDL 計算有誤請修正。	回覆: 謝謝委員意見。已利用甲醛反應劑後之特徵峰 (特徵峰 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1})建立檢量線，並進行甲醛 0.005 mg/L 及 0.0042 mg/L 濃度進行七重覆光譜量測，可得測定值之標準偏差 S_A 及 S_B ； 甲醛分子在拉曼系統之偵測極限測定，可利用上述量測結果計算其 MDL 值， F 比值為 $S_A^2/S_B^2=2.5483$ 、 $S_{pooled}=0.012$ ， MDL 值為 $2.681 \times S_{pooled}=0.0032\text{ (mg/L)}$ 。														
5、 期末報告建議對 SERS 應用於農藥及甲醛之優缺點進行說明。	回覆: 謝謝委員意見。在空氣中農藥檢測應用方面，SERS 技術可利用攜帶式拉曼光譜，快速偵測農藥分子，其量測時間少於 3 分鐘;但在現階段的採樣方式，還需利用吸收液(甲醇)進行採樣;此外，由於巴拉松及大利松在吸收液 SERS 的檢測極限分別為 0.4805 mg/L 及 0.2708 ，依照空氣法規的標準，還需進行快速氮氣濃縮的步驟才能達到。在空氣中甲醛檢測應用方面，利用與 AHMT 反應後的產物進行 SERS 檢測，在特徵峰 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1} 建立檢量線後，其 MDL 值可達 0.0032 mg/L ，低於標準公告方法;此方法在進行採樣後，等待 20 分鐘後及可進行 SERS 量測;但同樣在採樣的方式還需同現行的公告方法;														

		若能有效縮短空氣中甲醛的採樣時間，則整體的檢測速度將會大幅提昇。											
凌 委 員 永 健	4. 研發新方法宜先建置 FT-Raman、FT-IR 以及 SERS 標準圖譜，並比對其波長、位移、強度改變，作為選定監測波長的參考。	回覆：謝謝委員意見。農藥分子的拉曼訊號微弱，在低濃度下無法直接量測其拉曼訊號；在甲醛分子的標準方式檢測，可透過 DNPH 做為吸收反應液，再進行 UV 光譜量測。本計畫已建立巴拉松農藥及大利松農藥在各濃度下之 SERS 光譜(請參考圖二十三及圖二十八)；其中巴拉松分子在 860 cm^{-1} 、 1108 cm^{-1} 、 1161 cm^{-1} 、 1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處為其主要 SERS 特徵峰、大利松分子在 608 cm^{-1} 、 758 cm^{-1} 、 1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處為其主要 SERS 特徵峰，由 SERS 強度隨濃度的量測結果判斷，可分別選擇有明顯訊號特徵峰 1108 cm^{-1} 及 608 cm^{-1} 做為監測波段。由於甲醛分子無 SERS 訊號，需先與 AHMT 反應後量測其產物之 SERS 光譜(請參考圖三十四)，當甲醛濃度由 0.005 mg/L 改變至 0.15 mg/L 時，特徵峰將由 1206 cm^{-1} 、 1280 cm^{-1} 、 1367 cm^{-1} 、 1463 cm^{-1} (ring breathing vibration and in-plane deformation)產生位移至 1211 cm^{-1} 、 1284 cm^{-1} 、 1375 cm^{-1} 、 1467 cm^{-1} ，而特徵峰 710 cm^{-1} (S-C-N stretching vibrations) 及 832 cm^{-1} (N-C-N stretching vibration)並不會產生改變。本計畫同時評估選擇 832 cm^{-1} 及 1375 cm^{-1} 特徵峰進行檢量線建立；其中利用 1375 cm^{-1} 特徵峰之甲醛檢測極限可達 0.0032 mg/L 。											
	5. SERS 檢測甲醛已有相當數量的文獻報導，宜彙整比對儀器測定條件、使用基材與分析績效。AHMT 衍生法為成熟技術，且為中國大陸國家標準，宜先製備 HCHO-AHMT 衍生物確定其純度，以此	回覆：謝謝委員意見。SERS 在甲醛的檢測應用主要有下列重要的文獻與專利，比較如下： <table border="1"> <thead> <tr> <th>儀器測定條件</th><th>使用基材</th><th>檢測極限</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Portable Raman spectrometer; fiber optic Raman probe laser: 785nm power: 200mW integration time: 10seconds</td><td>AgNPs Synthesis</td><td>Method:SERS Reagent:AHMT LOD(ug/L):0.15 Linear range(ug/L):1-1000</td></tr> <tr> <td colspan="3">P. Ma, F. Liang et al., Microchimica Acta, 182: 3-4. (2015)</td></tr> <tr> <td>Portable Raman</td><td>Au/SiO2</td><td>Method:SERS</td></tr> </tbody> </table>	儀器測定條件	使用基材	檢測極限	Portable Raman spectrometer; fiber optic Raman probe laser: 785nm power: 200mW integration time: 10seconds	AgNPs Synthesis	Method:SERS Reagent:AHMT LOD(ug/L):0.15 Linear range(ug/L):1-1000	P. Ma, F. Liang et al., Microchimica Acta, 182: 3-4. (2015)			Portable Raman	Au/SiO2
儀器測定條件	使用基材	檢測極限											
Portable Raman spectrometer; fiber optic Raman probe laser: 785nm power: 200mW integration time: 10seconds	AgNPs Synthesis	Method:SERS Reagent:AHMT LOD(ug/L):0.15 Linear range(ug/L):1-1000											
P. Ma, F. Liang et al., Microchimica Acta, 182: 3-4. (2015)													
Portable Raman	Au/SiO2	Method:SERS											

標準品製作檢量線，定量添加樣品回收率，確定衍生效率。	spectrometer; DeltaNu; liquid-N2-cooled CCD detector. laser: 785nm power: 48mW integration time: 7seconds	colloid NPs	Reagent: Formaldehyde LOD(ug/L):<0.4 Linear range(ug/L):0.4-4.8
	Zhuomin Zhang et al., Analyst, 139, 3614, (2014)		
	Portable Raman spectrometer; DeltaNu Raman spectrometer laser: 785nm power: 60 mW integration time: 7seconds	Au/SiO2	Method:SERS Reagent: Formaldehyde LOD(ug/L):10 Linear range(ug/L):17.9-179.2
	發明專利 CN 103439160 A		
	Portable Raman spectrometer; DeltaNu Raman spectrometer laser: 785nm power: 50 mW integration time: 7seconds	Au/SiO2	Method:SERS Reagent: Formaldehyde 衍生化 試劑，酚試劑 LOD(ug/L):0.9 Linear range(ug/L):63-760
	發明專利 CN103926232A		

本計畫在甲醛與 AHMT 衍生方法，主要按照"衛署食字第 0900025822 號公告食品中甲醛之檢驗方法(二)"進行(室溫下反應 20 分鐘);此外，本計畫對 SERS 強度(1373cm-1 特徵峰)隨 AHMT 與 0.1mg/L 甲醛反應時間(5、10、20、25 及 30 分鐘)進行量測評估，其中反應時之溫度為 24 度;由圖可知，當反應時間未達 20 分鐘時，其 SERS 強度隨時間增加而線性上昇;當反應時間到達 20 分鐘後，SERS 強度趨於穩定，如下圖所示。

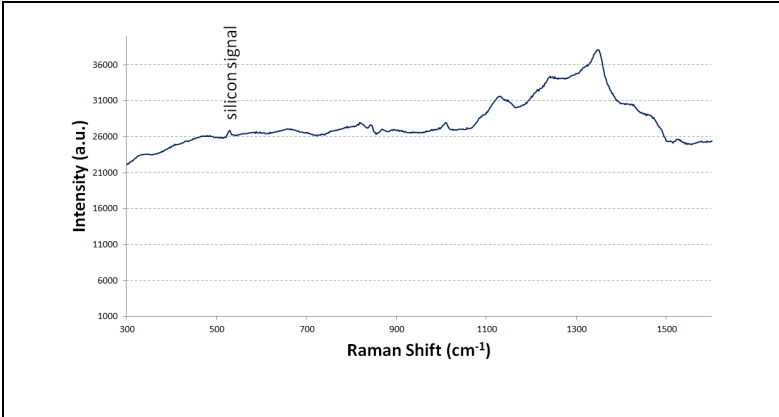
		 SERS 強度隨 AHMT 與 0.1mg/L 甲醛反應時間關係圖
6. SERS 檢測巴拉松文獻不多，大利松之文獻更少，若用於空氣基質檢測宜先瞭解目前空氣中農藥的採樣方法，得到的樣品基質，轉移到 SERS 基材的方式，並參考法規標準，擬定 SERS 的 MDL 目標。提出選擇性的感度不足時的因應措施，以及與現有方法相比的優缺點，供後續規劃參考。	回覆：謝謝委員意見。在空氣中農藥的採樣方式，可利用 Impingers 方式進行，經過特別設計的玻璃起泡管可將空氣傳播的化學物收集到液體介質中，請參考下列文獻： 1. Charles W. Stanley et al., "Measurement of Atmospheric Levels of Pesticides", Environmental Science & Technology 5, 435, 1971. 2. Robert G. Lewis and Kathryn E. MacLeod, "Portable Sampler for Pesticides and Semi-volatile Industrial Organic Chemicals in Air", Anal. Cham. 54, 310, 1982. 因為農藥基本上濃度都屬 ppt 等級，主要殘留在蔬果及土壤上，較少直接在空氣中進行採樣。在 SERS 的 MDL 目標，由於巴拉松在吸收液的 MDL 為 0.4805 mg/L，參考固定污染源空氣污染物排放標準，巴拉松農藥在空氣中的容許濃度為 0.1 mg/m³；若以空氣採樣流速 200 mL/min、採氣 60 分鐘、吸收液體積 10mL 為例，為達此檢測目標，可將吸收液(甲醇)濃縮 5 倍，其可測得在空氣中含量 0.08 mg/m³ 以上巴拉松農藥。大利松在吸收液的 MDL 為 0.2708 mg/L，根據固定污染源空氣污染物排放標準，大利松農藥在空氣中的容許濃度為 0.01 mg/m³；若以空氣採樣流速 200 mL/min、採氣 60 分鐘、吸收液體積 10mL 為例，為達此檢測目標，當吸收液濃縮 30 倍時，則可測得在空氣中含量 0.0075 mg/m³ 以上大利松農藥。在空氣中農藥檢測應用方面，SERS 技術可利用攜帶式拉曼光譜，快速偵測農藥分子，其量測時間少於 3 分鐘；但依照空氣法規的標準，還需進行快速氮氣濃縮的步驟才能達到。	
7. 綜評研發方法的綠色分析化學優點，包括採樣以為後續	回覆：謝謝委員意見。本計畫在農藥分子的採樣，主要使用 10 mL 甲醇為吸收液，在後續的拉曼量測，除在濃縮過程需少量(10~20 µL)甲醇外，拉曼光譜的讀取時間少於 3 分鐘，不需要使用額外的有機溶劑為其優勢。在甲醛分子的檢測上，按照公告方法(NIEA A705.12C)"空氣中氣態	

	規劃參考。	之醛類化合物檢驗方法的採樣架構，但採用 AHMT 為吸收反應液(10 mL)，在採樣完成後等待 20 分鐘，不需額外使用有機溶劑即可進行拉曼測，其檢測時間少於 10 分鐘，為其主要優勢。												
翁 委 員 英 明	1. SERS 基板功能性測試 tricyclazole (1 mg/L) 其確認值如何判定?AQL 之意義為何?系統在 stand by 狀態下各項品管標準請詳列。	回覆: 謝謝委員意見。SERS 基板功能性測試 tricyclazole (1 mg/L), 主要可選擇其特徵峰 1368cm⁻¹ 進行拉曼強度定義;當雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、平均次數:16。可選擇其特徵峰 1368cm⁻¹ 進行拉曼強度確認，當強度在 17098(a.u.) ±15%之間的範圍即可。在確認其增強倍率(1 mg/L Tricyclazole 同生產批次抽檢; AQL6.5:3/25)的意思為在每批次 25 片中，抽檢 SERS 基板 3 片做為品管標準，若是在其中有 1 片基板不符合標準，則整批基板皆不能使用。拉曼系統在 stand by 狀態，主要品管標準表列如下: <table><tr><td>品項</td><td>標準</td></tr><tr><td>光柵位置</td><td>Silicon 特徵峰位於 520cm⁻¹ 處;其偏極範圍<±2cm⁻¹</td></tr><tr><td>光機效率</td><td>Silicon 特徵峰 520cm⁻¹ 強度 21500 ±5%;其中雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285nm; 以金包覆)、平均次數:16。</td></tr><tr><td>背景干擾</td><td>除 520cm⁻¹ 無雜訊。</td></tr><tr><td>SERS 基板</td><td>tricyclazole (1 mg/L); 特 徵 峰 1368cm⁻¹ 強度在 17098±15%;雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、平均次數:16</td></tr><tr><td>SERS 污染</td><td>以超純水與甲醇 1:1 混合，取 3 μL 進行 SERS 滴定，除 520cm⁻¹ 無其它特徵峰。</td></tr></table>	品項	標準	光柵位置	Silicon 特徵峰位於 520cm ⁻¹ 處;其偏極範圍<±2cm ⁻¹	光機效率	Silicon 特徵峰 520cm ⁻¹ 強度 21500 ±5%;其中雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285nm; 以金包覆)、平均次數:16。	背景干擾	除 520cm ⁻¹ 無雜訊。	SERS 基板	tricyclazole (1 mg/L); 特 徵 峰 1368cm ⁻¹ 強度在 17098±15%;雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、平均次數:16	SERS 污染	以超純水與甲醇 1:1 混合，取 3 μL 進行 SERS 滴定，除 520cm ⁻¹ 無其它特徵峰。
	品項	標準												
	光柵位置	Silicon 特徵峰位於 520cm ⁻¹ 處;其偏極範圍<±2cm ⁻¹												
	光機效率	Silicon 特徵峰 520cm ⁻¹ 強度 21500 ±5%;其中雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285nm; 以金包覆)、平均次數:16。												
	背景干擾	除 520cm ⁻¹ 無雜訊。												
	SERS 基板	tricyclazole (1 mg/L); 特 徵 峰 1368cm ⁻¹ 強度在 17098±15%;雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、平均次數:16												
	SERS 污染	以超純水與甲醇 1:1 混合，取 3 μL 進行 SERS 滴定，除 520cm ⁻¹ 無其它特徵峰。												
	2.進樣最適化之工作時間區為何?建議比較訊號的變化量與時	回覆: 謝謝委員意見。在甲醛的 SERS 量測上主要量測其與 AHMT 反應後之 SERS 光譜;在 SERS 的滴定等待時間;下圖為 SERS 滴定後等待時間隨 SERS 強度關係圖，其中 AHMT 與 0.1mg/L 甲醛反應時間為 20 分鐘;由圖可知，												

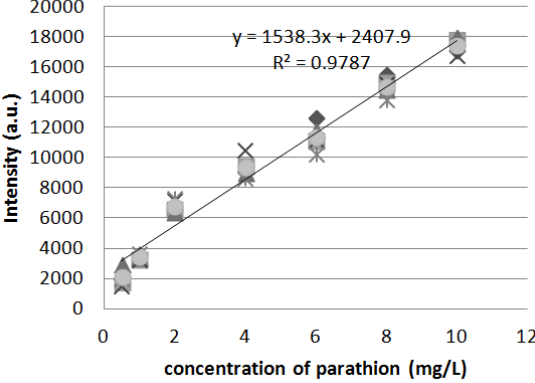
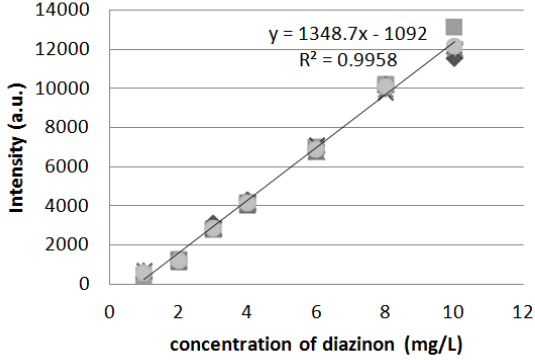
間區間之相關性。	當 AHMT 與甲醛反應後，在 SERS 基板結構上等待反應時間在 0-10 分鐘內時，其 SERS 強度呈線性上升;當滴定時間到達 10-15 分鐘後，反應物可有效吸附於 SERS 基板金屬表面，其 SERS 強度可達穩定值。 <table border="1"> <caption>Data points estimated from the graph</caption> <thead> <tr> <th>Incubation time (min)</th> <th>Intensity (a.u.)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>4</td> <td>~7500</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>~16500</td> </tr> <tr> <td>15</td> <td>~17000</td> </tr> </tbody> </table> SERS 強度(1373cm^{-1} 特徵峰)隨 SERS 滴定時間關係圖	Incubation time (min)	Intensity (a.u.)	4	~7500	10	~16500	15	~17000
Incubation time (min)	Intensity (a.u.)								
4	~7500								
10	~16500								
15	~17000								
3. SERS 基板對不同待測物，其最適化之訊雜比(S/N)如何判定。	回覆: 謝謝委員意見。SERS 基板對不同待測物，可依照各待測物之檢量區間及其 MDL 進行最適化訊雜比(S/N)判定;如巴拉松農藥，其檢量區間 6 mg/L-0.5 mg/L (MDL=0.485 mg/L)、大利松檢量區間 6 mg/L-1 mg/L (MDL=0.2708 mg/L)，依其檢量最低濃度訊號與拉曼系統雜訊範圍可定義其最適化之訊雜比。								
4. 農藥及甲醛檢量線配製方式，實際樣品測試流程及數據表示為空氣濃度之計算式請詳列。	回覆: 農藥及甲醛檢量線配製方式請見第九頁;在甲醛樣品測試流程，如下: <pre> graph TD A[配製甲醛吸收反應劑(5000ppm AHMT)] --> B[以1:1加入5N 氫氧化鉀溶液混合] B --> C[在室溫下，取10uL甲醛水溶液加入 配製吸收液(總體積10mL)] C --> D[等待20分鐘進行衍生反應] D --> E[取3uL 滴定SERS基板(832 cm⁻¹特徵峰); 低濃度(<0.1 mg/L)偵測時需先與1% 檸檬酸鈉以1:19混合) 等待10分鐘分子SERS吸附(1375 cm⁻¹特徵峰)] E --> F[進行SERS量測] </pre>								

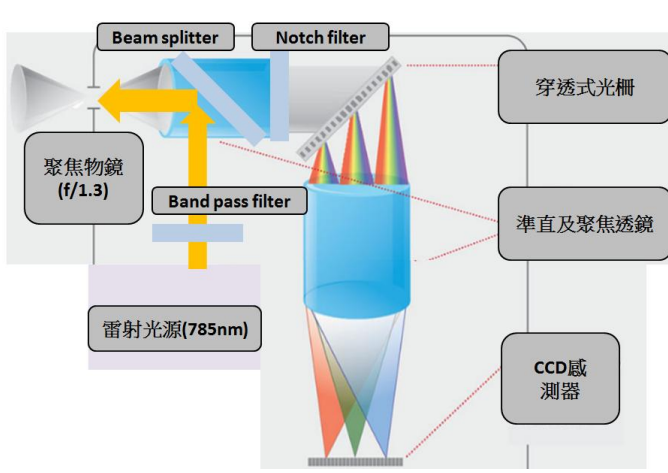
	農藥樣品測試流程，如下： 取1.5ul 超純水(含5ppm 氯化鈉)，滴定在SERS基板的有效區域(2.2 mm x 2.2 mm)內 ↓ 再取1.5ul 待測液，滴定在SERS基板上 ↓ 將SERS基板放入載臺，關上暗蓋 ↓ 雷射照射2分鐘(50mW;4X 物鏡) ↓ 光譜讀取(785nm波長、積分時間500ms、雷射功率50mW) 實際樣品測試流程及數據表示為空氣濃度之計算式，在 甲醛方面可依照下列公式： $C = \frac{760 \times 22.4 \times (273 + T) \times W \times A}{273 \times P \times M \times F \times t} \times 10^3$ 其中參數定義為： <table><tr><td>C：空氣中待測物之濃度〔ppm〕</td></tr><tr><td>W：樣品溶液中待測物偵測濃度（μg/mL）</td></tr><tr><td>A：樣品吸收液定量體積（mL）</td></tr><tr><td>F：採氣流率（mL/min）</td></tr><tr><td>t：採樣時間（min）</td></tr><tr><td>M：待測物分子量（g/mole）</td></tr><tr><td>P：採樣時大氣壓力（mmHg）</td></tr><tr><td>T：採樣時溫度（℃）</td></tr></table> 在農藥吸收液與空氣中濃度(mg/m³)轉換方面，可直接以 吸收液所測到的農藥分子重量，去除以總採樣體積而得 到。	C：空氣中待測物之濃度〔ppm〕	W：樣品溶液中待測物偵測濃度（μg/mL）	A：樣品吸收液定量體積（mL）	F：採氣流率（mL/min）	t：採樣時間（min）	M：待測物分子量（g/mole）	P：採樣時大氣壓力（mmHg）	T：採樣時溫度（℃）
C：空氣中待測物之濃度〔ppm〕									
W：樣品溶液中待測物偵測濃度（μg/mL）									
A：樣品吸收液定量體積（mL）									
F：採氣流率（mL/min）									
t：採樣時間（min）									
M：待測物分子量（g/mole）									
P：採樣時大氣壓力（mmHg）									
T：採樣時溫度（℃）									
5、以線性迴歸 定量是否有考慮 以適合的內標計 量方式比較？	回覆: 謝謝委員意見。目前在農藥及甲醛的檢量線建立， 並無採用內標的方式，而是以 SERS 基板在 520 cm ⁻¹ 處 的特徵峰強度進行強度歸一化，進行比較其主要特徵峰各 濃度的 SERS 強度變化。								
6、計畫成果摘 要中執行單位名 稱請修正。	回覆: 已修正，謝謝委員。								
7、藥品配製大 利松內容請修	回覆: 已修正，謝謝委員。								

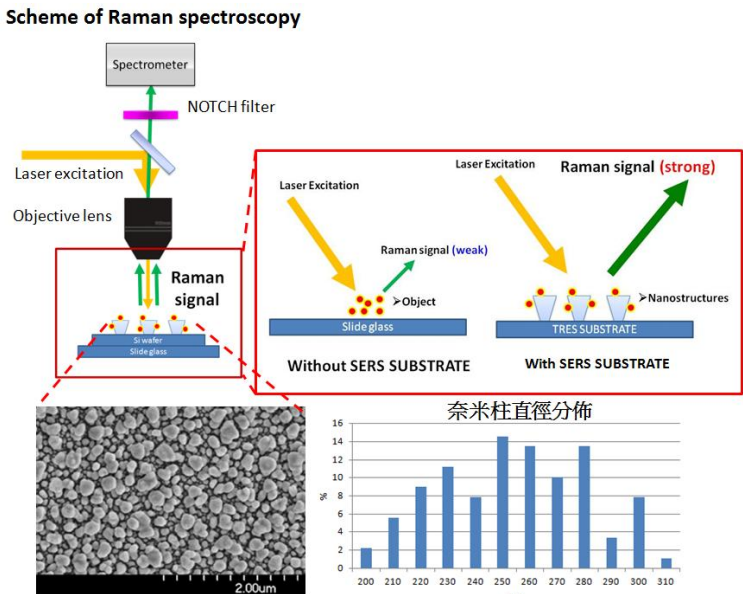
	正。																									
	8、圖 3 甲醛與 AHMT 之 SERS 光譜 a 與 b 未說明。	回覆: 已修正說明, 謝謝委員。																								
郭委員安甫	1、以巴拉松及大利松 SERS 線性曲線, 10 mg/L 以下與 10 mg/L 至 50 mg/L 似乎有不同斜率, 建議多增加幾點觀察其線性現象。	回覆: 謝謝委員意見。當巴拉松及大利松的濃度上昇時, 由於農藥分子在 SERS 基板會進行多層吸附而產生破壞性干涉的現象, 故在濃度 10 mg/L~50 mg/L 會產生非線性檢量取線。本報告內容已重新量測巴拉松檢量區間: 6 mg/L-0.5 mg/L 及大利松檢量區間: 6 mg/L-1 mg/L, 如下: SERS signal versus parathion concentration <table><caption>Data points for Parathion SERS signal</caption><thead><tr><th>Concentration (ppm)</th><th>Intensity (a.u.)</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.5</td><td>2000</td></tr><tr><td>1.0</td><td>3000</td></tr><tr><td>2.0</td><td>6500</td></tr><tr><td>4.0</td><td>9000</td></tr><tr><td>6.0</td><td>11000</td></tr></tbody></table> 巴拉松分子檢量線(1108cm⁻¹特徵峰) SERS signal versus diazinon concentration <table><caption>Data points for Diazinon SERS signal</caption><thead><tr><th>Concentration (ppm)</th><th>Intensity (a.u.)</th></tr></thead><tbody><tr><td>0.5</td><td>500</td></tr><tr><td>1.0</td><td>1200</td></tr><tr><td>2.0</td><td>2800</td></tr><tr><td>4.0</td><td>4200</td></tr><tr><td>6.0</td><td>6800</td></tr></tbody></table> 大利松分子檢量線(608cm⁻¹特徵峰)	Concentration (ppm)	Intensity (a.u.)	0.5	2000	1.0	3000	2.0	6500	4.0	9000	6.0	11000	Concentration (ppm)	Intensity (a.u.)	0.5	500	1.0	1200	2.0	2800	4.0	4200	6.0	6800
	Concentration (ppm)	Intensity (a.u.)																								
0.5	2000																									
1.0	3000																									
2.0	6500																									
4.0	9000																									
6.0	11000																									
Concentration (ppm)	Intensity (a.u.)																									
0.5	500																									
1.0	1200																									
2.0	2800																									
4.0	4200																									
6.0	6800																									
2、甲醛是否進行 DNPH 衍生試劑進行測試, 不採用之理由應於報告中呈現。	回覆: 謝謝委員意見。在甲醛 SERS 檢測方面, 由於其 SERS 光譜微弱, 無法直接進行 SERS 量測; 空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法—以 DNPH 衍生物之高效能液相層析測定法(NIEA A705.12C)"為甲醛檢測之公告標準方法。其中上述所採用的吸收液, 為 2, 4-二硝基代苯肼 (2, 4-Dinitrophenylhydrazine, DNPH); 下圖為評估以 DNPH 為吸收液之 SERS 量測光譜;其中拉曼檢測參																									

	數為:雷射波長:785 nm;積分時間:50 ms;雷射功率:85 mW;平均次數:40;使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 外殼以金包覆)、DNPH 吸收液由環檢所提供標準測試。由量測結果得知, DNPH 吸收液在 SERS 光譜具有強烈之螢光訊號,此訊號除遮蔽 SERS 基板本身在 520 cm⁻¹ 處之特徵峰外,在 500 cm⁻¹~1500 cm⁻¹ 也同時螢光干擾;由於廣波域之螢光干擾將對目標物之 SERS 特徵峰進行嚴重遮蔽,故 DNPH 吸收液不適用於在甲醛的 SERS 檢測上。  以 DNPH 為吸收液之 SERS 量測光譜圖														
3、SERS 基板確認系統感度如達不到預定 counts 時,可能原因為何?如何調整為可以使用?	回覆: 謝謝委員意見。SERS 基板確認系統感度如達不到預定 counts 時,可能原因為 SERS 金屬奈米結構已過度氧化或結構缺陷;當上述兩程狀況發生時,則此 SERS 基板無法再使用;故在 SERS 基板生產時,每批次皆需進行抽檢過程。														
4、 甲 醛 MDL 0.033 mg/L 測試 甲醛最低一點應為 0.1 mg/L 而不是 0.025 mg/L。	回覆: 謝謝委員意見。已增加低濃度甲醛在 SERS 的檢測流程,請見圖十八;在此流程下,利用環境檢驗方法偵測極限測定方式計算 MDL 值;在濃度(a)0.005 mg/L 及(b)0.0042 mg/L 與 AHMT 反應後之 SERS 光譜圖,可得到 7 次測定值之標準偏差 S_A 及 S_B;甲醛分子在拉曼系統之偵測極限測定,可利用上述量測結果計算其 MDL 值,可得 F 比值 S_A²/S_B²=2.5483、S_{pooled}=0.012, MDL 值為 2.681x S_{pooled}=0.0032 (mg/L),如下表所示。 <table><tr><th></th><th>S_A²</th><th>S_B²</th><th>$\frac{S_A^2}{S_B^2}$ 或 $\frac{S_B^2}{S_A^2}$</th><th>F 比值 (F<3.05)</th><th>S_{pooled}</th><th>MDL (mg/L)</th></tr><tr><td>甲醛</td><td>0.0000008</td><td>0.0000021</td><td>2.5483</td><td>Pass</td><td>0.0012</td><td>0.0032</td></tr></table>		S _A ²	S _B ²	$\frac{S_A^2}{S_B^2}$ 或 $\frac{S_B^2}{S_A^2}$	F 比值 (F<3.05)	S _{pooled}	MDL (mg/L)	甲醛	0.0000008	0.0000021	2.5483	Pass	0.0012	0.0032
	S _A ²	S _B ²	$\frac{S_A^2}{S_B^2}$ 或 $\frac{S_B^2}{S_A^2}$	F 比值 (F<3.05)	S _{pooled}	MDL (mg/L)									
甲醛	0.0000008	0.0000021	2.5483	Pass	0.0012	0.0032									

附件四、「環境奈米評析與綠色化學檢測技術研究(3/3)- 評估以拉曼光譜技術現場檢測空氣中污染物」期末審查委員意見回覆

	審查意見	答覆說明
陳委員益佳	1. SERS 方法存在基本偵測靈敏度絕對值的問題，所以建議所得的偵測強度與物質濃度之線性關係，必須對較廣之濃度範圍作圖，方可得正確校正曲線。	回覆：謝謝委員意見。已增加巴拉松及大利松檢量線濃度範圍分別由 10 mg/L ~0.5 mg/L 及 10 mg/L ~1 mg/L;巴拉松及大利松檢量線請見圖二十四及二十九，如下所示。 SERS signal versus parathion concentration  SERS signal versus diazinon concentration 
	2. 須說明為何無法測得農田現場之巴拉松之濃度。	回覆：為測試空氣中大利松及巴拉松 SERS 檢測方法，本計畫選擇在新竹某一處稻田進行空氣採樣，利用甲醇為吸收液進行採樣，在經過淨化管柱(GETech; FaPEX-gen)後進行 SERS 量測;同時，相同樣品的吸收也進行液相層析／串聯式質譜儀(LC/MS/MS)系統上機分析(巴拉松

		MDL=0.006 mg/L;); 吸收液中濃度(mg/L)上機結果顯示為 ND，代表並無巴拉松殘留(濃度<0.006 mg/L); 此外，空氣中採樣後吸收液也同時進行農藥外添加測試，經由上機測試後其濃度分別為 1.11 mg/L 及 1.07 mg/L;其中巴拉松特徵峰 1108 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式($y=1538.3x+2407.9$)，可得濃度為 0.96 mg/L、大利松特徵峰 608 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式($y=1348.7x-1092$)，可得濃度為 0.93 mg/L;SERS 量測光譜請見圖五十。
3、拉曼儀器偵測之靈敏度，缺儀器內部說明、背景干擾之原因，以及為何可以對偵測絕對值得到較小的誤差。		回覆：謝謝委員意見。已增加圖五拉曼儀器內部系統架構圖，如下：  此系統主要利用 VPH(volume phase holographic)穿透式光柵進行分光，再利用透鏡將光線具焦至 CCD 感測器上;此穿透式架構具有高光通量之優點，而能有效提昇光機整體之感度。在進行 SERS 量測時，背景干擾之原因主要來自外部環境光源，故量測必須處於暗箱內進行。在量測農藥或甲醛分子時，SERS 基板結構除增強上述分子之特徵峰外，也將同時增強螢光訊號，故在建立分子檢量線時，需先將背景扣除(baseline)，再取特徵峰之絕對散射訊號強度，以排除螢光隨時間不穩定因素所造成的誤差。
4、AHMT 單獨具有干擾的拉曼訊號，應將其扣除。		回覆：謝謝委員意見。目前甲醛可用 832 cm^{-1} 及 1370 cm^{-1} 進行建立檢量線定量;若以 832 cm^{-1} 進行定量時，由於當 0ppm 甲醛時 (請見圖三十八)832 cm^{-1} 特徵峰還具有一定的強度(此為 AHMT 單獨存在的訊號);若以 1370 cm^{-1} 進行定量，需先進行吸收液以 1:19 進行稀釋，此時 AHMT 本身的拉曼訊號已明顯降低(請參考圖四十一)，可以直接利用此特徵峰來建立甲醛檢。對於甲醇的檢測

		而言，實際上可以直接選定 1370 cm^{-1} 進行定量，不需使用到兩條檢量線，可以有效降低單獨 AHMT 所造成的光譜干擾。																										
5、圖表應把實驗條件寫清楚，如圖三 a、b 哪一個是反應前後。	回覆：謝謝委員意見。已增加圖三說明;其中(a)為甲醛與 AHMT 反應前、(b) 為甲醛與 AHMT 反應後之 SERS 光譜。此外已增加奈米金屬結構之 SEM(Scanning Electron Microscope)圖及其直徑分佈 (210 nm ~300 nm)至圖十一，如下所示。 Scheme of Raman spectroscopy  奈米柱直徑分佈 <table><thead><tr><th>nm</th><th>Frequency</th></tr></thead><tbody><tr><td>200</td><td>2</td></tr><tr><td>210</td><td>5</td></tr><tr><td>220</td><td>8</td></tr><tr><td>230</td><td>10</td></tr><tr><td>240</td><td>8</td></tr><tr><td>250</td><td>14</td></tr><tr><td>260</td><td>13</td></tr><tr><td>270</td><td>10</td></tr><tr><td>280</td><td>13</td></tr><tr><td>290</td><td>3</td></tr><tr><td>300</td><td>8</td></tr><tr><td>310</td><td>1</td></tr></tbody></table>	nm	Frequency	200	2	210	5	220	8	230	10	240	8	250	14	260	13	270	10	280	13	290	3	300	8	310	1	
nm	Frequency																											
200	2																											
210	5																											
220	8																											
230	10																											
240	8																											
250	14																											
260	13																											
270	10																											
280	13																											
290	3																											
300	8																											
310	1																											
1、成果摘要未完整敘述建立技術分析特性，欠缺完整摘要及英文摘要。	回覆：謝謝委員意見。已修改成果摘要，及增加完整摘要及英文摘要於計畫書。																											
凌委員永健 2、目錄仍有「期中」報告及相關內容。文獻表達方式宜依一般格式，而非(主要參考文獻一)，P.2 代表性化合物、P.8 化學藥品的製備、用詞宜參考標準方法、P.9 AHMT 宜補中文名詞。	回覆：已修正相關內容及文獻表達方式。代表性化合物、化學藥品的製備用詞已參考參考標準方法，請見第九、十頁。已補充 AHMT 中文名詞。																											

3、 P.11 校正流程應有允收標準，P.5 AQL 6.5：3/25 宜說明意義；P.20 藍綠於圖二十看不出來、P.25 偵測極限應為方法偵測極限；P.33 200 μ l/L 筆誤，μ l 宜用μ L；P.34 5 倍濃縮方法說明；P.40 以後積分次數宜說明。	回覆：謝謝委員意見。本計畫使用激發光源為 785 nm 之拉曼系統，故在波長之採用校正光源特徵峰選取 826.45 nm、842.47 nm、852.14 nm、866.80 nm 及 912.30 nm，做為感測器分光位置確認，其中上述特徵峰波長誤差在± 0.5 nm 以內。本計畫所使用之拉曼光譜儀之感測元件為 1024 pixel linear CCD sensor，為校正光譜儀波數，可使用標準汞氬光源(Mercury Argon)進行初步的波數位置確認，此光源可提供波長 253.65nm ~ 1013.98nm 範圍之特徵峰訊號'其中λ 為波長位置、P 為光譜儀 CCD pixel 位置、C0-C3 為設定參數。 AQL6.5:3/25 的意思為在每批次 25 片中，抽檢 SERS 基板 3 片做為品管標準，若是在其中有 1 片基板不符合標準，則整批基板皆不能使用。 已修正偵測極限應為方法偵測極限、相關單位表示及積分次數說明。 農藥吸收液的濃縮方式，主要先取甲醇吸收液至 2mL 尖底瓶，利用氮氣吹乾，再加入 20 μL 甲醇至離心管震盪回溶(3000 rpm;10 秒)，濃縮條件如下表所示。 <table><tr><th>農藥</th><th>吹氣速率 (L/min)</th><th>濃縮時間 (min)</th><th>濃縮倍率</th><th>振盪速率 (rpm)</th><th>回溶時間</th></tr><tr><td>巴拉松</td><td>0.35</td><td>6</td><td>5</td><td>3000</td><td>10 秒</td></tr><tr><td>大利松</td><td>0.35</td><td>13</td><td>30</td><td>3000</td><td>10 秒</td></tr></table> 已加入上述說明至計畫內容至巴拉松及大利松之 SERS 光譜量測。	農藥	吹氣速率 (L/min)	濃縮時間 (min)	濃縮倍率	振盪速率 (rpm)	回溶時間	巴拉松	0.35	6	5	3000	10 秒	大利松	0.35	13	30	3000	10 秒
農藥	吹氣速率 (L/min)	濃縮時間 (min)	濃縮倍率	振盪速率 (rpm)	回溶時間														
巴拉松	0.35	6	5	3000	10 秒														
大利松	0.35	13	30	3000	10 秒														
4、 實測未測到巴拉松及大利松，宜用添加實驗補測，並增加一節比較開發方法技術與現有方法以說明其適用性。	回覆：謝謝委員意見。已在空氣採樣後吸收液外添加巴拉松及大利松進行測試;圖五十為其量測之 SERS 光譜圖;其中量測參數-雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 50 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 外殼以金包覆)。經由上機測試後其濃度分別為 1.11 mg/L 及 1.07 mg/L;其中巴拉松特徵峰 1108 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式($y=1538.3x+2407.9$)，可得濃度為 0.96 mg/L、大利松特徵峰 608 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式($y=1348.7x-1092$)，可得濃度為 0.93 mg/L。已在計畫內容第四章-第五節增加開發方法技術與現有方法說明。																		

林
委
員
文
印

1.本計畫已建立大利松及巴拉松農藥表面增強拉曼圖譜，並評估甲醛衍生劑於表面增強拉曼光譜法之適用性。

2. 建議列表比較本計畫研討方法和其他法規方法的量測特性。

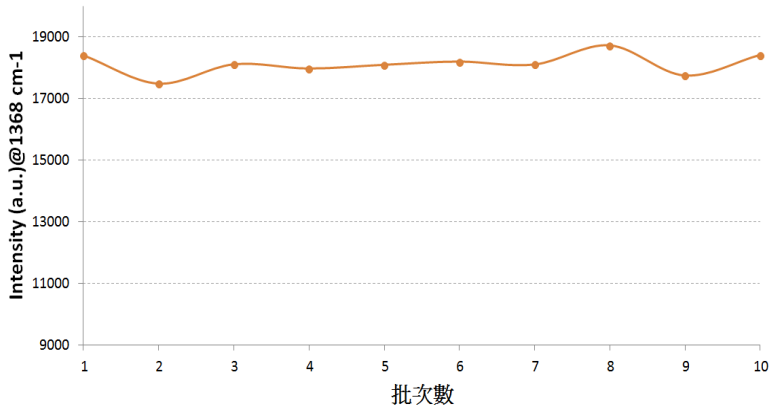
回覆：謝謝委員。

回覆：謝謝委員意見，請參考下列本計畫開發方法與公告法規方法特性比較;已增加至計畫內容第四章-第五節。

現有公告方法				
化合物	現有方法	分析儀器	檢測極限/ r ²	前處理吸收液
甲醛	(NIEA A705.12C)"空氣中氣態之醛類化合物檢驗方法－以DNPH衍生物之高效能液相層析測定法	紫外可見光分光光譜儀	0.02ppm r ² >0.995	2，4－二硝基代苯肼（2，4－Dinitrophenylhydrazine，DNPH）
巴拉松	環檢所方法 W603.50B 水中殘留農藥檢測方法－液相層析／串聯式質譜儀法	液相層析／串聯式質譜儀 (LC/MS/MS) 系統	<0.006 mg/L r ² >0.995	N/A
大利松			0.001 mg/L r ² >0.995	N/A
本計畫開發之方法				
甲醛	表面增強拉曼光譜法(Surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)	攜帶式拉曼光譜系統 (Portable Raman system); 光譜檢測時間少於 5 分鐘、可現場進行檢測	吸收液 0.0032 (mg/L) r ² =0.9932 (特徵峰 1367 cm ⁻¹ 至 1375 cm ⁻¹)	4-胺基-3-聯胺-5-疏基-1,2,4-三氮雜茂，AHMT，4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole
巴拉松			0.08 mg/m ³ (需濃縮) r ² >0.9787	甲醇
大利松			0.0075 mg/m ³ (需濃縮) r ² >0.9958	甲醇

	3. 本研究研討現場檢測空氣中污染物，依目前有限採樣數量，似仍難以瞭解不同現場污染物及環境條件之方法特性。	回覆：本計畫為以 SERS 技術進行空氣中農藥及甲醛現場檢測之評估，目標預計選擇一處室內場所農地做為測試的場域。在甲醛的室內場所量測部份，由結果可知，室內空氣中採樣之甲醛濃度為 0.0117 ppm，與標準公告方法(NIEA A705.12C)檢測結果相比較，檢出空氣甲醛濃度為 0.02ppm，低於室內甲醛法規標準 0.08ppm。以表面增強拉曼光譜去測得之甲醛濃度，在利用 AHMT 為吸收液採樣時其回收率較低(採樣時間 60 分鐘甲醛回收率為 64.8%)，若考量採樣回收率下，與實際標準方法具有 10% 誤差量。在空氣中農藥實場測試方面，雖然巴拉松及大利松農藥皆未檢測出，但在採樣後吸收液同時進行外添加巴拉松及大利松之測試，經由上機測試後其濃度分別為 1.11 mg/L 及 1.07 mg/L;在經過 SERS 光譜檢測後，其中巴拉松特徵峰 1108 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式($y=1538.3x+2407.9$)，可得濃度為 0.96 mg/L、大利松特徵峰 608 cm^{-1} 之強度代入檢量線公式($y=1348.7x-1092$)，可得濃度為 0.93 mg/L。可以藉由上述試驗瞭解現場污染物及環境條件之方法及特性。
翁委員英明	1. 圖三十六 AHMT 與水（無甲醇）與圖三十九 AHMT（甲醛濃度為 0 ppm）之 SERS 圖有何差別請說明。	回覆：本計畫進行甲醇與 AHMT 反應後之特徵峰值建立檢測線之評估，同時對特徵峰 832 cm^{-1} 及特徵峰 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1} 進行偵測極限量測;但利用主要特徵峰(1367 cm^{-1} to 1375 cm^{-1})建立檢測線時，其 MDL 可達 0.0032 mg/L;上述兩種特徵峰的選取，其吸收液 AHMT 與水混合的比例不同;當選取特徵峰 832 cm^{-1} 時，AHMT 與水的比例為 1:1、當選取特徵峰 1367 cm^{-1} 至 1375 cm^{-1} 時，AHMT 與水(含 1%檸檬酸鈉)的比例為 1:19;此兩圖最主要在於呈現其特徵峰在吸收液無甲醇時的 SERS 光譜訊號差別，可評估其在甲醇低濃度時之影響呈度;已增強 AHMT 與混合之比例說明。
	2. 待測物定性及定量是否能量化陳述，另外波數漂移或之間的比值關係規範。	回覆:在農藥定性部份，可利用大利松分子特徵峰(608 cm^{-1}、758 cm^{-1}、1005 cm^{-1} 及 1097 cm^{-1} 等處)及巴拉松分子特徵峰(860 cm^{-1}、1108 cm^{-1}、1161 cm^{-1}、1240 cm^{-1} 及 1345 cm^{-1} 處)進行、甲醇可由特徵峰 710 cm^{-1}、832 cm^{-1}、1206 cm^{-1}、1280 cm^{-1}、1367 cm^{-1}、1463 cm^{-1} 進行定性。在定量的部分，巴拉松特徵峰可利用 1108 cm^{-1}、大利松可利用 608 cm^{-1}、甲醇可利用 1367 cm^{-1} 建立檢量線來進行定量。定性或定量的方式可利用不同特徵峰的相對強度來進行定義，但當濃度過低、或者是待測物拉

		曼訊號較弱時，則相對強度的比較會較難產生規則性。
	3. 拉曼系統波數與感度校正允收值為何？	回覆:拉曼系統在波數(長)的校正方面，採用校正光源特徵峰選取 826.45 nm、842.47 nm、852.14 nm、866.80 nm 及 912.30 nm，做為感測器分光位置確認，其中上述特徵峰波長誤差在 ± 0.5 nm 以內。在光譜儀靈敏度的確認，可利用在其焦平面上偵測矽晶片(silicon wafer) 之拉曼光訊號，進行感度的定義，其 520cm^{-1} 之特徵峰訊號強度為 $4500\pm 15\%$; (Laser: 785nm, output power:20mW;40ms integration time; 16 average)。
	4. 計畫中使用之試劑及材料請詳列，例如參考物質 tricyclazole 之純度等。	回覆: 已增加 Tricyclazole 分子純度等說明至第十頁;計畫中使用之試劑、材料及配製方法已增加至計畫內容第三章-化學藥品製備。
	5. 計畫評選委員意見請列表補充。	回覆:已補充評選委員意見至附錄-附件二。
郭委員安甫	1. P.18 甲醛分子量量測方式部分，以 832 cm^{-1} 特徵峰建立，當吸收液甲醛濃度低於 0.1 mg/L 須再反應用 1375 cm^{-1} 量測，應於該章節補充說明原因。	回覆: 謝謝委員意見。目前甲醛可用 832 及 1370 cm^{-1} 進行建立檢量線定量;若以 832 cm^{-1} 進行定量時，由於 AHMT 本身在 832 cm^{-1} 特徵峰具有一定的強度，所以較不適合在低濃度使用。對於甲醇的檢測而言，實際上可以直接選定 1370 cm^{-1} 進行定量，不需用使用到兩條檢量線。當取 832 cm^{-1} 特徵峰做定量時，取 AHMT 與水 1:1 混合吸收液進行衍生反應、當取 1370 cm^{-1} 進行定量時，則需先取 AHMT 吸收液與 1%檸檬酸鈉以 1:19 混合，等待 10 分鐘分子 SERS 吸附。已增加上述說明至計畫內容"第五章-四、甲醛之表面增強拉曼光譜量測"。
	2、 第五章結論之敘述，似乎為結果討論，建議將部分內容移至本文，結論宜簡潔清楚表達。	回覆: 謝謝委員意見。 已修改第五章結論之敘述及增加建議部份。
	3、 附件二部分期中意見回覆內容，亦將部分資	回覆: 謝謝委員意見。 已將期中意見回覆內容及部分資料補註於本文各章節加以說明。已將 SERS 基板功能性測試說明移至"第三章

料補註於本文各章節加以說明，如 P.64 SERS 基板功能性測試應移至本文說明。	-SERS 基板結構功能性確認流程"。																						
4、文中對於吸收液濃縮之方式和條件未說明，請補充。	回覆: 農藥吸收液的濃縮方式，主要先取甲醇吸收液至 2mL 尖底瓶，利用氮氣吹乾，再加入 20 μL 甲醇至離心管震盪回溶(3000 rpm;10 秒)，濃縮條件如下表所示。 <table><tr><th>農藥</th><th>吹氣速率 (L/min)</th><th>濃縮時間 (min)</th><th>濃縮倍率</th><th>振盪速率 (rpm)</th><th>回溶時間</th></tr><tr><td>巴拉松</td><td>0.35</td><td>6</td><td>5</td><td>3000</td><td>10 秒</td></tr><tr><td>大利松</td><td>0.35</td><td>13</td><td>30</td><td>3000</td><td>10 秒</td></tr></table> 已加入上述說明至計畫內容至巴拉松及大利松之 SERS 光譜量測。	農藥	吹氣速率 (L/min)	濃縮時間 (min)	濃縮倍率	振盪速率 (rpm)	回溶時間	巴拉松	0.35	6	5	3000	10 秒	大利松	0.35	13	30	3000	10 秒				
農藥	吹氣速率 (L/min)	濃縮時間 (min)	濃縮倍率	振盪速率 (rpm)	回溶時間																		
巴拉松	0.35	6	5	3000	10 秒																		
大利松	0.35	13	30	3000	10 秒																		
5、P.15 SERS 基板結構功能性確認流程，實際抽檢情況如何，亦可加以說明。	回覆: SERS 基板結構功能性確認流程，10 批次實際抽檢情況如圖二十二所示;利用 1 mg/L Tricyclazole 標準試劑進行 SERS 訊號量測抽檢，其中每批次為 25 片 SERS 基板，抽檢 3 片後特徵峰 1368 cm⁻¹ 進行強度平均。其中拉曼之檢測參數-雷射波長: 785 nm、積分時間: 500 ms、雷射功率: 85 mW、使用基板:銀奈米柱結構(厚度 285 nm; 以金包覆)、平均次數:16。在 SERS 基板的批次抽檢情況，Tricyclazole 分子的特徵峰平均強度範圍介於 18408~17499 之間。 <table><caption>Figure 22: Average intensity of the 1368 cm⁻¹ peak for Tricyclazole across 10 batches.</caption><thead><tr><th>批次數</th><th>Intensity (a.u.)@1368 cm⁻¹</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>18500</td></tr><tr><td>2</td><td>17800</td></tr><tr><td>3</td><td>18200</td></tr><tr><td>4</td><td>18000</td></tr><tr><td>5</td><td>18100</td></tr><tr><td>6</td><td>18300</td></tr><tr><td>7</td><td>18100</td></tr><tr><td>8</td><td>18600</td></tr><tr><td>9</td><td>17800</td></tr><tr><td>10</td><td>18400</td></tr></tbody></table>	批次數	Intensity (a.u.)@1368 cm ⁻¹	1	18500	2	17800	3	18200	4	18000	5	18100	6	18300	7	18100	8	18600	9	17800	10	18400
批次數	Intensity (a.u.)@1368 cm ⁻¹																						
1	18500																						
2	17800																						
3	18200																						
4	18000																						
5	18100																						
6	18300																						
7	18100																						
8	18600																						
9	17800																						
10	18400																						