

多功能雙配體金奈米團簇用於檢測水中污染物與 pH 感測器

張家銘、邱泰嘉、胡焯淳*

摘要

在本研究中我們利用含硫醇的小分子與蛋白質合成雙配體金奈米團簇。透過調控 6-氫雜-2-硫胸腺嘧啶 (ATT)，雞蛋蛋白 (CEW)與氫氧化鈉的比例，可以分別合成出具有綠色及紅色螢光的金奈米團簇。發綠色螢光的金奈米團簇在 pH 2-9 有大幅度的螢光變化特性，可以作為一種敏感的 pH 值感測器；且在中性環境下，加入得恩地會使螢光淬滅；其線性範圍在 5-50 ppm， $R^2 = 0.9945$ ，偵測極限為 1.72ppm。發紅色螢光的金奈米團簇，加入汞離子後，汞離子與團簇作用，造成電子轉移使紅色螢光淬滅，其線性範圍在 10-250 μM ， $R^2 = 0.9954$ ，偵測極限為 1.02 μM ；並可利用於試紙反應，快速檢測環境中真實樣品的汞離子含量。

關鍵字：金奈米團簇、雙配體、得恩地、汞離子、pH 感測器

張家銘，國立臺東大學應用科學系學生。E-mail：yy77g8102@gmail.com

邱泰嘉，國立臺東大學應用科學系教授。E-mail：tcchiu@nttu.edu.tw

胡焯淳(通訊作者)，國立臺東大學應用科學系教授。E-mail：cchu@nttu.edu.tw

投稿日期：2020 年 11 月 24 日；修改日期：2020 年 12 月 4 日；通過日期：2020 年 12 月 5 日。

Multifunctional biligand gold nanocluster for detection of pollutants in water and pH sensor

Jla-Ming Jhang, Tai-Chia Chiu, Cho-Chun Hu*

Abstract

This article uses ATT and CEW to synthesize nanoclusters with green fluorescence and red fluorescence. The red nanoclusters have high affinity for mercury ions, with a linear range of 10-250 μM , $R_2 = 0.9954$, and LOD of 1.02 μM . The test paper also has the characteristic of adsorbing mercury ions. The green nanoclusters are sensitive to pH and Thiram. The pH linear range of pH is pH 2 – pH 9, $R_2 = 0.9972$, and the Thiram linear range is 5-50 ppm, $R_2 = 0.9945$, LOD of 1.72 ppm, good recovery rate for real samples, recovery rate is between 90.3% -110.7%, RSD is less than 4.9%, it can be dedicated to the detection of urea in human.

Keyword : gold nanocluster 、Bi-ligand 、CEW 、pH sensing 、metal ions

Jla-Ming Jhang, Student, Department of Applied Science, National Taitung University. E-mail: yy77g8102@gmail.com

Tai-Chia Chiu, Professor, Department of Applied Science, National Taitung University. E-mail: tcchiu@nttu.edu.tw

Cho-Chun Hu (Corresponding Author), Professor, Department of Applied Science, National Taitung University. E-mail: cchu@nttu.edu.tw

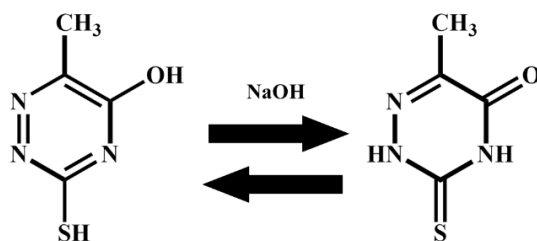
壹、前言

奈米金屬團簇為 2-10 nm 大小的材料，通常為數十個至數千個金屬原子所組成，其性質與金屬奈米粒子不同。如金奈米團簇經過 UV 燈照射後，會有不同的螢光特性；可能原因是量子效應所影響的，當材料大小在奈米等級時，會有重大的物理及化學性質的改變，能階狀態也會產生影響，從連續轉變成不連續，因此經過 UV 燈的照射後，會有螢光的產生。(Yadav et al., 2020; Zhang, Tian, Huang, & Wu, 2020; Zhao et al., 2020)。金屬奈米團簇的合成有許多方法，像是 DNA 或蛋白質的合成，聚合物模板的合成以及硫醇小分子的合成。本研究中我們以雞蛋蛋白(Chicken egg white CEW)與 6-氮雜-2-硫胸腺嘧啶(6-aza-2-thiothymine, ATT)雙配體來合成金奈米團簇。以下先對此兩種配體進行簡單的介紹。

一、雞蛋蛋白

雞蛋蛋白是一種非常便宜，容易取得且富含豐富的蛋白質。雞蛋中的主要成分含有水(88%)剩餘為固形物。固形物中大多為蛋白質(90%)，蛋白質的種類包含：卵白蛋白(ovalbumin ~75%)，卵類黏蛋白(ovomucoid ~15%)，卵黏蛋白(ovomucin ~7%)及伴白蛋(conalbumin ~3%) (Joseph & Geckeler, 2014)。相較牛血清蛋白的昂貴且分離步驟繁雜，我們只需要將市售雞蛋冷凍乾燥，通過此步驟將水份抽離，即可得到我們所需要的雞蛋蛋白質粉末，以利之後實驗。

二、6-氮雜-2-硫胸腺嘧啶 (ATT)



ATT 為含有硫醇之小分子，在加入 NaOH 後，N=N 上的 π 鍵會斷裂，形成 N-N 單鍵；苯環上的 -OH 官能基會變成 C=O；硫醇鍵會形成 C=S 鍵。造成 ATT 開始共振及旋轉，變成一種重排的型態。(Deng et al., 2020; Deng et al., 2017)。因此可利用調控鹼與 ATT 之莫爾比進而調控 ATT 與金團簇的鍵結型式。

三、文獻回顧

2019 年天津師範大學 Fei Zhang 教授和 Yan Li 教授利用了卵清蛋白當作保護劑以一鍋法合成了發紅色螢光的銅奈米團簇；最佳激發 348nm，最佳放射 625nm，量子產率為 3.95%；此探針在 250nm~300nm 有吸收峰的重疊，透過內濾鏡效應用來檢測葉酸。葉酸在 HPLC 中的回收率介於 98.5%~100.8% 在 OVA-Cu NCs 線性範圍為 0.5~200 μM ，偵測極限為 0.18 μM ；在片劑、菠菜、橙汁、尿素也有良好的回收率，回收率介於 96.6%~100.9% 與 HPLC 檢測結果相似，提出一種簡單快速的方式來檢測葉酸。(Li, Wu, Zhang, Zhao, & Li, 2019)。

2019 年王永生教授利用魚精蛋白作為還原劑以一鍋法合成出發黃綠色的金奈米團簇；最佳激發於 300nm，最佳放射於 599nm；量子產率為 20.3% 具有小尺寸與高穩定性。此探針可以用來檢測 UO_2^{2+} 離子，其線性範圍在 20.4nM~9.74 μM ，R 值為 0.9941 與 0.9909，偵測極限為 6.1nM，並且有效的檢測礦井中的水樣，其回收率介於 99.5%~104.8% 開發出一種方便、靈敏且具有選擇性的檢測 UO_2^{2+} 離子的奈米感測器(Huang et al., 2020)。

2019 年 Li Wang 教授利用離胺酸以一鍋法製成藍色放光的碳奈米點與雞蛋白作為還原劑合成出紅色放光的金奈米團簇，將其以 1:1 混和後，得到粉紅色的 CD-AuNCs 材料。此材料使用 390nm 激發後有兩個放射波長，一個為 Lys-CDs 450nm，另一個為 CEW-AuNCs 665nm，再加入 Hg^{2+} 會使得 665nm 處的螢光淬滅，450nm 處的螢光保持不變；其線性範圍為 0.1-90 μM ，偵測極限為 0.063 μM ， $R^2 = 0.999$ ；在偵測湖水和自來水後，發現其回收率介於 95.1%~111%之間， $\text{RSD} \leq 3\%$ 。此材料中使用的離胺酸與雞蛋白都是天然的資源，便宜且對環境負擔小，整個過程既簡便又環保(Liu et al., 2019)。

2020 年 Ji Zhou Yu He, Yong Ye Bin Tang 團隊利用濕式紡絲技術，使海藻酸鈉與 CEW-AuNCs 反應，製作成螢光纖維，其激發波長為 480nm；放射波長為 641nm。在含有 20% CEW-AuNCs 具有最好的機械性能，斷裂伸長率為 4.19%；韌度為 7.09 cN / dtex；且能用於 Cu^{2+} 與 Hg^{2+} 的檢測， Cu^{2+} 線性範圍:0.3 μM -1.5 μM 、 $R^2 = 0.9331$ 、LOD:0.188 μM ； Hg^{2+} 線性範圍:0.1 μM -1 μM 、 $R^2 = 0.9731$ 、偵測極限= 0.082 μM ，並檢測自來水與河水，其回收率介於 88.6%-105.2%；還可以通過濕式紡絲製成螢光纖維用於防偽(He et al., 2020)。

四、研究動機

近年來的有關金屬團簇的研究，大多數都以一種保護劑來合成奈米團簇(Aparna, Devi, Anjana, Nebu, & George, 2019; Ju et al., 2018)，不過此種方式容易受限於單一配體的特性，進而限制了金屬奈米團簇的性質及其應用。為了探討雙配位金屬團簇之性質且增加金屬團簇之應用領域，因此我們選擇雙配體進行金屬團簇之合成。我們利用 6-氮雜-2-硫胸腺嘧啶與雞蛋蛋白來合成雙配體的金奈米團簇；並通過穿透式電子顯微鏡、螢光光譜儀與紫外光/可見光光譜儀鑑定其性質。最後觀察其螢光性質變化，並將其應用於環境污染物與生物樣品之檢測。

貳、材料與方法

一、藥品與試劑

四氯金酸 (Chloroauric acid, $\text{HAuCl}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、其他金屬離子皆購自美國Sigma公司，磷酸(H_3PO_4)、磷酸二氫鈉(NaH_2PO_4)、磷酸氫二鈉(Na_2HPO_4)、磷酸三鈉(Na_3PO_4)購自美國Acros公司，6-氮雜-2-硫胸腺嘧啶(6-aza-2-thiothymine, ATT)購自美國Alfa Aesar，氫氧化鈉(NaOH)購自Honeywell。

二、儀器

螢光光譜儀(RF-6000)購自日本島津科學儀器股份有限公司。紫外光-可見光光譜儀(U-2900)購自日本HITACHI。傅利葉轉換紅外線光譜儀(FTIR)購自美國Perkin Elmer。高速離心機(3K30)購自德國Sigma。超純水製造機(Purity-SP)購自臺灣華夏科學有限公司。電子天平(PX224)，購自上海OHAUS。紫外燈(Compact UV Lamps)，購自美國 UVP公司。酸鹼指示計(sp-701)，購自台灣Suntex公司。

三、實驗方法

先將10mM 4 mL ATT與0.1M 1mL NaOH混和於圓底燒瓶中；另外將10 mM HAuCl_4 、50 mg/mL 4mL CEW、0.1M 1mL NaOH、6mL ddH₂O 置於樣品瓶中，反應五分鐘；反應完後將上述溶液加入圓底燒瓶中，加熱70°C 2 hr，離心10000 rpm 10min；得到綠色螢光之金團簇(Green-AuNCs)。將0.1M 1mL NaOH 改為0.5M 1mL NaOH 得到紅色螢光金團簇(Red-AuNCs)。

四、金團簇穩定性之探討

耐鹽性為取Green-AuNCs和Red-AuNCs溶液200 μL 與不同濃度氯化鈉溶液加

超純水稀釋至2 mL,最終將氯化鈉濃度控制為0.1至1 M,反應30分鐘後Green-AuNCs用340 nm為激發,Red-AuNCs用315 nm 為激發上機偵測。光穩定性實驗方法,將Green-AuNCs 和Red-AuNCs溶液3mL 與27 mL ddH₂O 混和後,在暗室下以365 nm UV燈照射一個小時,每10min上機檢測,觀察是否有螢光衰退的情形。經過穩定性測試後,得知可能發生光化學反應,隨後製作了活性氧測試實驗。先將0.1mM DCFH 500 μ L與 10^{-5} M NaOH 2mL 活化30min,活化完後加入磷酸緩衝溶液10mL pH = 7,取1000 μ L上述溶液加入200 μ L Red-AuNCs剩於補水至2mL照光,每10min測量一次。

五、Green-AuNCs 與 Red-AuNCs 之應用

1. pH 感測與尿素檢測

分別配製磷酸二氫鈉、磷酸氫二鈉、磷酸三鈉水溶液 (0.1 M, 100 mL), 不同比例混合成不同 pH 值 (pH 2~12) 的磷酸緩衝溶液。在離心管中加入1600 μ L 超純水、200 μ L Green-AuNCs和Red-AuNCs 溶液與不同 pH 值的磷酸緩衝液 (0.1 M, 200 μ L), 反應30分鐘後Green-AuNCs用340 nm為激發, Red-AuNCs用315 nm為激發上機偵測。真實樣品實驗方法,是將200 μ L不同濃度尿素,200 μ L 1mg/mL尿素酶與ddH₂O配成2mL溶液,加熱1hr後,離心10000 rpm 10min,取1930 μ L上述溶液再加入70 μ L Green-AuNCs,於搖晃機上反應30 min,上機檢測Green-AuNCs (λ_{ex} 340nm)。

2. 德恩地之偵測

在2mL離心管中加入超純水1400 μ L, pH = 7磷酸緩衝溶液(0.1M 200 μ L), Green-AuNCs和Red-AuNCs 溶液(200 μ L), 之後加入不同的農藥溶液(共18種 10ppm 200 μ L), 於搖晃機上反應30 min, 上機檢測Green-AuNCs (λ_{ex} 340nm)。

3. 汞離子之檢測

在2mL離心管中加入超純水1400 μ L, pH = 7磷酸緩衝溶液(0.1M 200 μ L), Green-AuNCs和Red-AuNCs溶液(200 μ L), 之後加入不同的金屬離子溶液(共18種 10^{-3} M 200 μ L), 於搖晃機上反應30 min, 上機檢測Red-AuNCs (λ_{ex} 315nm)。

參、結果與討論

一、雙配位金團簇之合成與基本性質鑑定

示意圖 1 (scheme 1) 為整個實驗機制圖。ATT 上的硫醇經過 0.1 M 1mL 或 0.5 M 1mL 的氫氧化鈉的解離後，結構會發生改變，使本來的 N=N 上 π 鍵會斷裂的，變成 N-N 鍵；S-H 鍵會跳躍至環上。當完全沒有添加 CEW 時，所得的金團簇會產生微弱的藍色螢光。再加入 0.1 M 1mL NaOH, 20 mM 4mL ATT 與 50mg/mL 4mL CEW 可得綠色螢光之金團簇，綠色螢光金團簇對酸鹼度具有感應並可以應用於尿素之檢測，同時此團簇亦可應用於農藥德恩地的檢測。如將 NaOH 的濃度增高為 0.5 M 1mL NaOH, 20 mM 4mL ATT 與 50 mg/mL 4mL CEW 反應時，可得紅色螢光之金團簇，並且可以應用於汞離子的檢測。最後，綠色放光及紅色放光的金奈米團簇皆可以應用於隱形墨水。

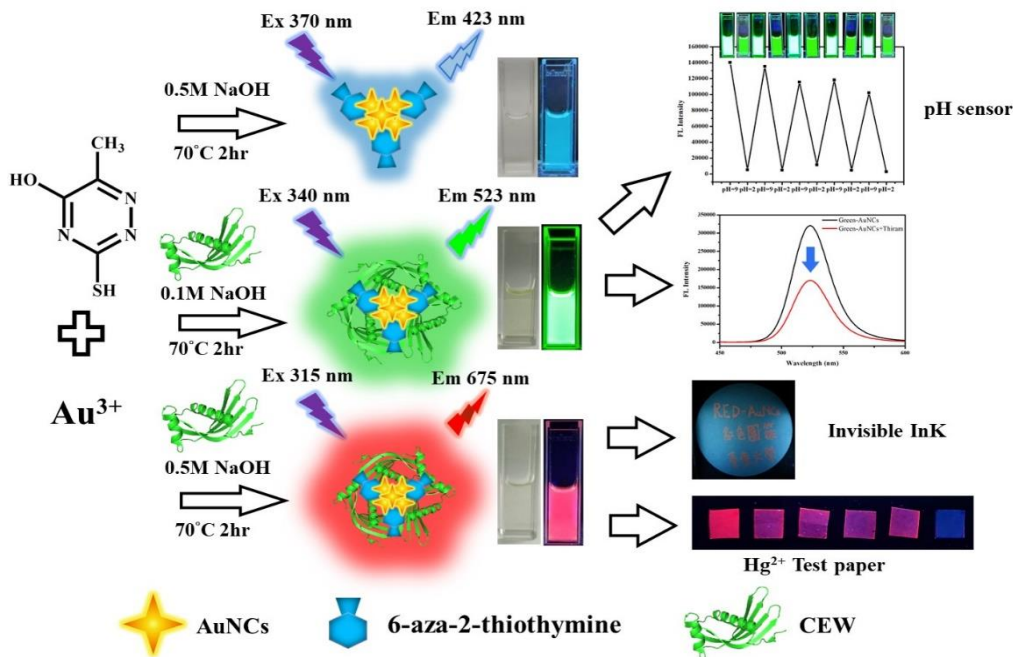


示意圖 1. 綠色奈米團簇和紅色奈米團簇。

圖 1. 為綠色金團簇與紅色金團簇之 UV-Vis 吸收光譜，螢光激發放射與 FT-IR 圖譜。由此圖(a)中可觀察到在 250 nm 到 300 nm 有一個特徵吸收峰，且在 340nm 激發下有 523nm 的綠色螢光。圖上左邊的小圖為可見光燈下的照片，為淡淡的黃色；但在 UV 燈波長 365nm 下有強烈的綠色螢光。圖(b)在 250 nm 到 300nm 有特徵吸收峰，利用 315nm 激發下，於 680nm 有紅色放光，圖上左邊是在可見光下的照片，為透明無色；於 UV 燈波長 365nm 下具有紅色螢光。圖(c)為了證實了 Green-AuNCs 與

Red-AuNCs 都有成功的合成出來。Green-AuNCs 與 Red-AuNCs 的 FT-IR 上可以發現在 $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ 有 N-H 與 O-H 的伸縮震動與 CEW 相符，在 3100 cm^{-1} 附近有 C-H 的震動，並且在 1240 cm^{-1} 可以發與 ATT 與 CEW 相符的 C=O 震動。證明 Green-AuNCs 與 Red-AuNCs 都有成功的被合成出來。圖 2. 為綠色團簇與紅色團簇的 TEM 圖譜。從 TEM 可以發現 Green-AuNCs 與 Red-AuNCs 有良好的分散，且平均粒徑分別為 2.76 nm 與 3.36 nm 。

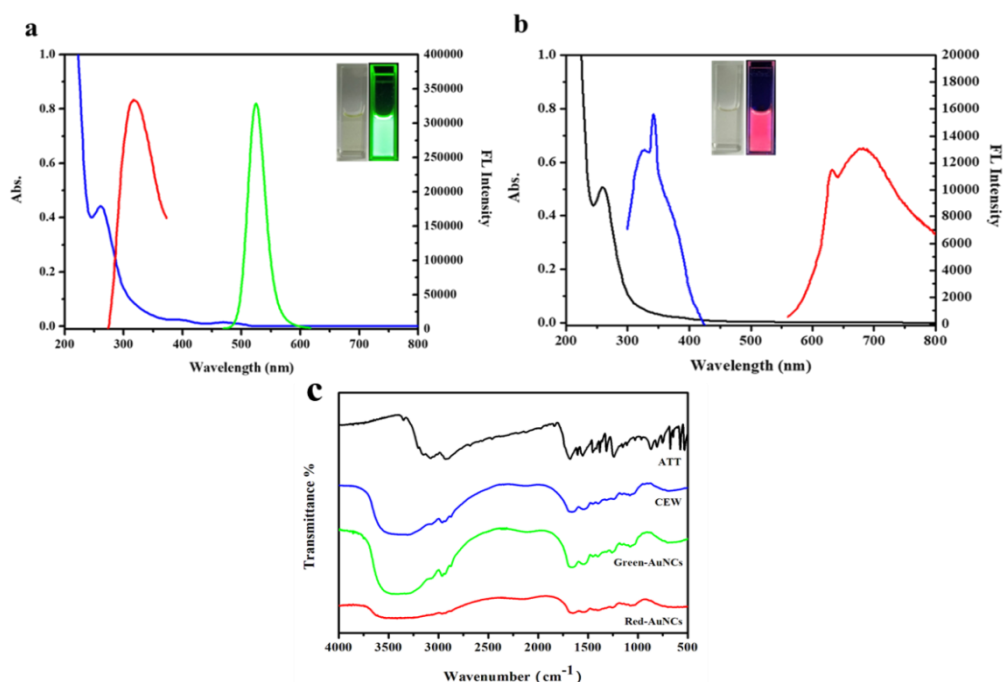


圖 1. (a) Green-AuNCs 的紫外可見光譜以及 Green-AuNCs 的螢光激發和發射光譜。(b) Red-AuNCs 的紫外可見光譜和 Red-AuNCs 的螢光激發和發射光譜。(c) 6 氮雜-2-硫代胸腺嘧啶, CEW, Green-AuNCs, Red-AuNCs 粉末的 FT-IR 光譜。

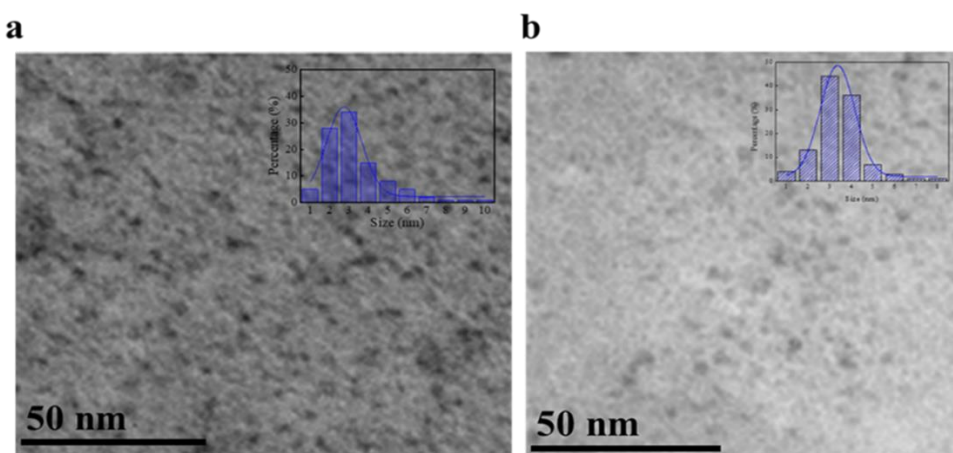


圖 2. (a) Green-AuNCs 的 TEM 圖像。插圖為綠色金團簇的粒徑分布。(b) Red-AuNCs 的 TEM 圖像。插圖為紅色金團簇的粒徑分布

Green-AuNCs 與 Red-AuNCs 都有良好的存放穩定性，在 4°C 冰箱放置 30 天後螢光強度皆不會改變。此兩種團簇在 0.1 M-1 M NaCl 下的離子強度時，螢光也不會受到干擾，具有良好的鹽類耐受性。Green-AuNCs 在經過一個小時的連續照燈下，發現會隨著照射時間增長，螢光強度開始慢慢下降；Red-AuNCs 光穩定性如圖 3 所示，由圖(a)可知在經過 UV 燈照射 10 分鐘後螢光強度大幅下降，隨後趨於平緩。可能經過紫外光照射後 Red-AuNCs 會產生光化學反應。因此藉由加入二氯螢光素 (DCFH) 觀察其光化學反應。DCFH 在具有活性氧(ROS)的環境下，ROS 會將 DCFH 氧化成具有螢光的 DCF，所得之 DCF 會在 488nm 的激發下於 525nm 放出螢光。顯示 DCFH 與 Red-AuNCs 混合照光後，系統中之 DCF 的螢光隨時間而增強，可知 Red-AuNCs 在照光下會產生 ROS。為驗證以上之推論，我們也在系統中再加入乙醯半胱氨酸，乙醯半胱氨酸可以有效抑制活性氧產生，使螢光下降，如圖(b)綠色倒三角形所示。

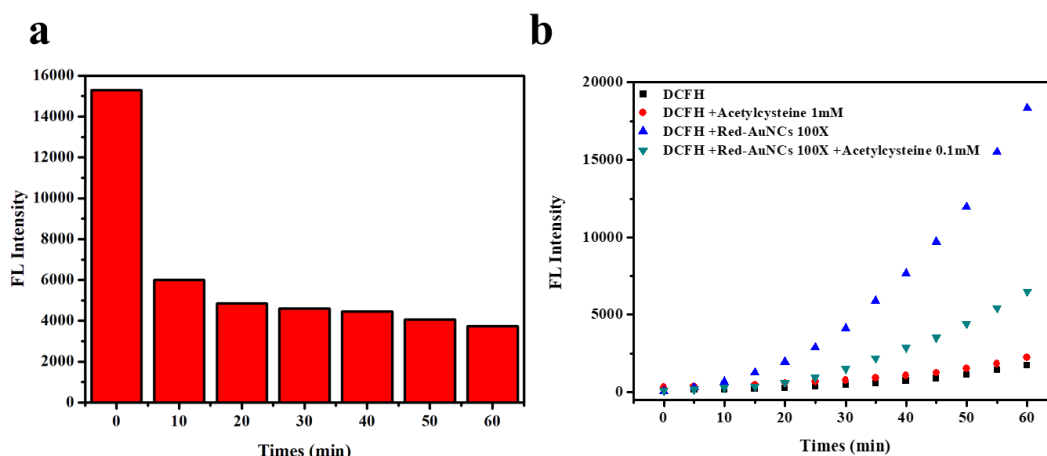


圖 3. (a) Red-AuNC 的光穩定性。(b) 利用 2',7'-二氯螢光素二乙酸酯(DCFH-DA) 使 Red-AuNCs 誘導 ROS 的生成，並加入抗氧化劑“ N-乙醯半胱氨酸”抑制 Red-AuNCs 引起的 ROS。

二、綠色雙配位金團簇(Green-AuNCs)之應用

1. Green-AuNCs 對 pH 與尿素的檢測

不同酸鹼度下 Green-AuNCs 的螢光強度變化圖如圖 4.所示。由圖(a)中可發現當 pH 值慢慢提高時，螢光強度亦隨之增強。可能為 ATT 上的 N = N 上的 π 鍵斷裂，造成 ATT 之鍵結重排，隨後開始共振，因此使螢光增強。從圖(b)可以發現 Green-AuNCs 在 pH 值 2-9 有良好的線性關係， $R^2 = 0.9972$ 。圖(c)為 Green-AuNCs 經過 NaOH 與 HCl 的調控後，在 pH 2 與 pH 9 有良好的循環次數

及螢光變化圖。有此可知 Green-AuNCs 對酸鹼性具有良好的循環性。

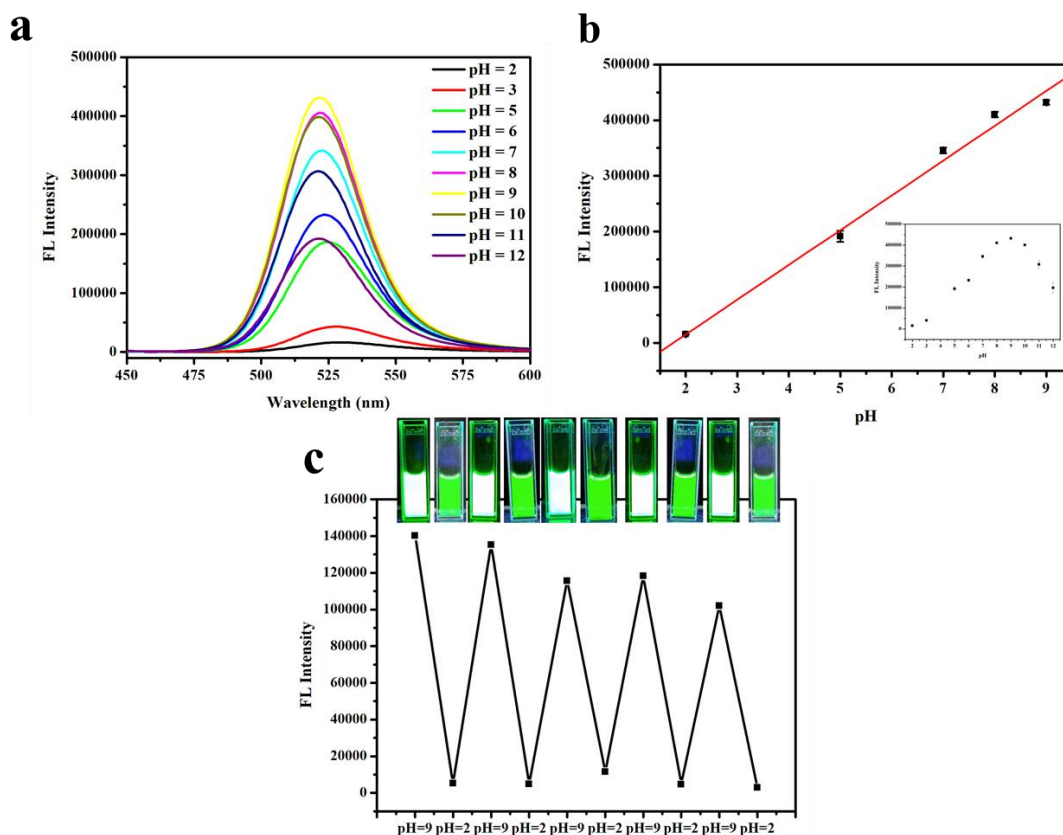


圖 4. (a) Green-AuNCs 的螢光光譜強度與 pH 的關係。(b) 從 pH 2 到 pH 9 的螢光強度的線性關係， $R^2 = 0.9972$ 。(c) 針對 pH 值的變化可以發現在 9.0 至 2.0 之間可以反復變化。

尿素(Urea)是蛋白質與胺基酸轉換成含氮廢物的過程，通過腎臟由尿液或汗液排放出去；檢測尿素的濃度可以知道人體的腎功能是否正常。大部分檢測尿素都是利用尿素酶，通過尿素酶可以將尿素分解成 NH_3 與 CO_2 ，且 NH_3 具有鹼性。(Deng et al., 2016; Deng et al., 2018; Dong et al., 2016)。

利用尿素酶分解尿素產生 NH_3 來改變 pH 值，可以發現螢光對尿素濃度作圖，如圖 5 所示。其線性範圍在 0.1mM 至 1mM， $R^2 = 0.9998$ ，偵測極限為 0.087 mM。插圖為不同濃度尿素對 pH 值作圖。並應用於人體真實尿液中，人體中尿素濃度約為 2.5 μM -7.5 μM ，將人體尿液從 -20 °C 放置室溫，沉澱蛋白質並經由 10000 rpm 離心，離心後稀釋 10 倍做為真實樣品實驗用。從表 3 可以發現我們添加了 0.2mM、0.5mM、0.7mM 的尿素，都具有良好的回收率，回收率介於 90.3% -110.7%，RSD 小於 4.9 %。

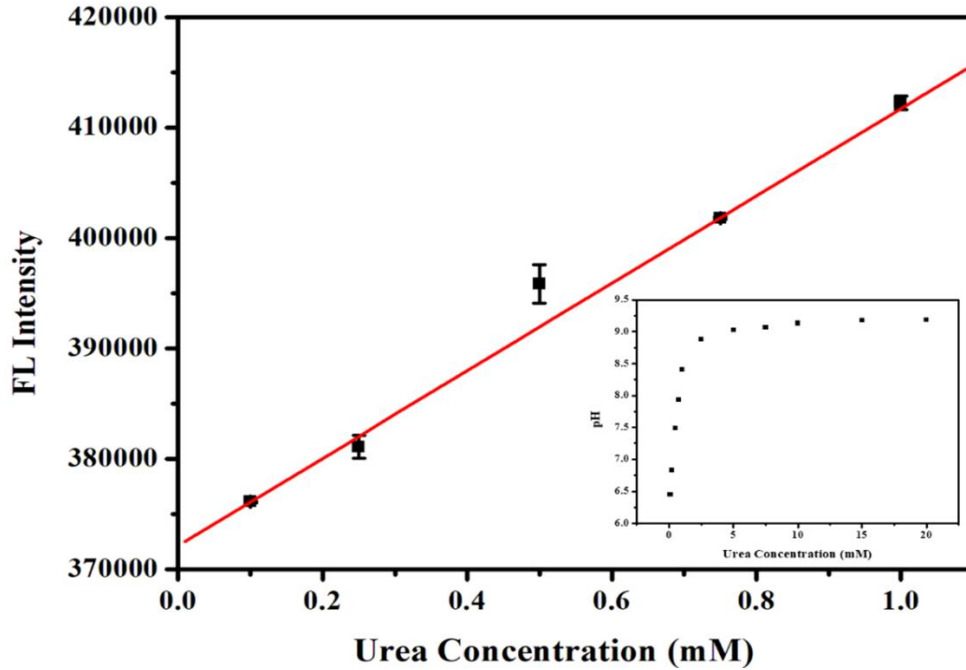


圖 5. Green-AuNCs 與尿素濃度的關係圖。插圖為尿素濃度和 pH 之間的線性關係。

表一
真實樣品中人體尿素之回收率 (n = 3)。

Sample	Add(mM)	Found(mM)	Recovery(%)	RSD(%)
Human Urine	0.2	0.18	90.7	3.7
		0.17	86.8	
		0.19	93.4	
	0.5	0.53	106.2	4.9
		0.55	109.3	
		0.58	116.7	
	0.7	0.78	97.7	4.9
		0.79	99.0	
		0.72	90.2	

2. Green-AuNCs 用於得恩地檢測之應用

得恩地 (thiram)，為台灣常用的農藥之一，其用途常被用於殺蟲劑。但此農藥對人體的傷害不小，誤食得恩地之毒性中等，吸入則會使毒性加強，若暴露在大量得恩地的環性下人體會產生頭痛，眩暈，疲勞，噁心，腹瀉等胃腸道疾病。

Green-AuNCs 對得恩地的檢測，如圖 6.所示。圖(a)不同農藥的測試，發現

Green-AuNCs 對於得恩地有良好的選擇性。圖(b)加入不同濃度的得恩地後，會隨著濃度增加而螢光淬滅。圖(c)其線性範圍在 5-50 ppm， $R^2 = 0.9945$ ，偵測極限為 1.72 ppm。圖(d)DLS 顯示加入得恩地後會使 Green-AuNCs 聚集，造成螢光淬滅。其原因可能為得恩地上的硫醇與金產生鍵結，產生金硫鍵。

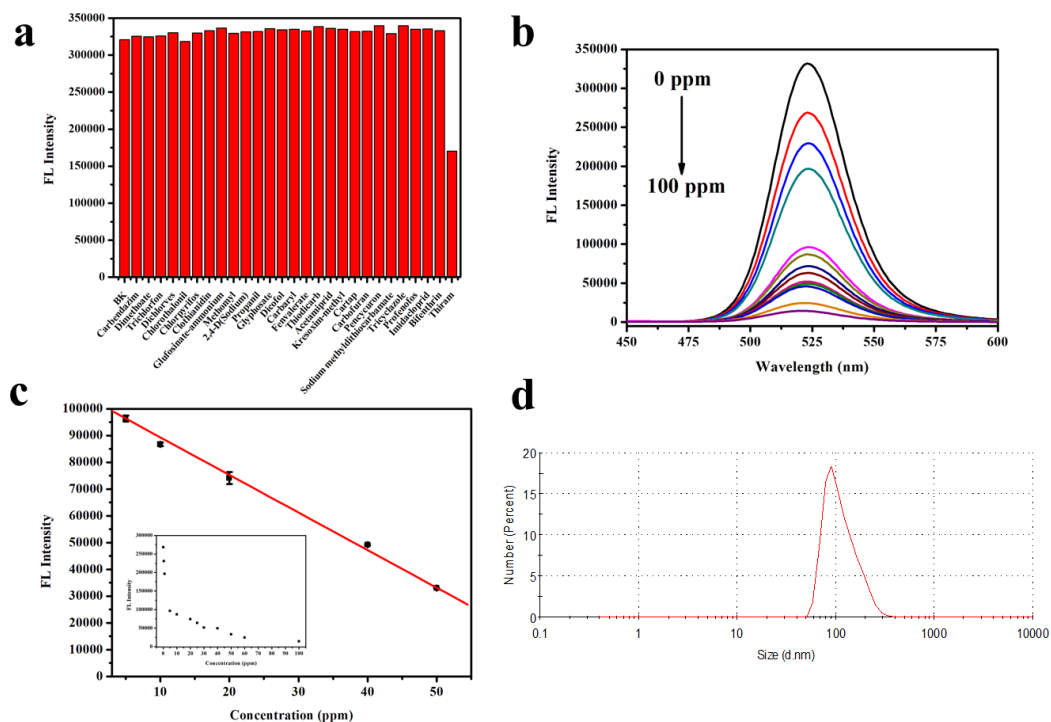


圖 6. (a) 比例螢光系統對不同農藥的選擇性。(b) 加入不同濃度的德恩地後 Green-AuNCs 的比例螢光光譜。(c) 螢光強度與德恩地濃度在 0 -100 μ M 範圍內的圖。該圖顯示出良好的線性關係。(d) Green-AuNCs 在添加德恩地後的 DLS。

三、紅色雙配位金團簇(Red-AuNCs) 應用於汞離子之檢測

重金屬對環境日益嚴重，對人體有害，且會對動物與植物有重大的影響，因此感測重金屬是重要的事情之一，尤其是汞離子。神經系統對汞很敏感。暴露於及高濃度下的汞蒸汽環境下，可能會引起腦、腎、肺的損傷，並可能嚴重損害發育中的胎兒；也會導致咳嗽、胸悶、噁心、嘔吐、腹瀉、皮疹、血壓或心跳上升，以及眼睛刺激性的增加。台灣勞工作業環境空氣中有害物容許濃度標準規定，工作場所中八小時日時量平均容許濃度汞蒸汽及其化合物為 0.05 mg/m^3 ，汞有機化合物為 0.01 mg/m^3 。

Red-AuNCs 對金屬離子的檢測，如圖 7 所示。從此圖(a)可以發現 Red-AuNCs 對 Hg^{2+} 離子有良好的選擇性，其原因可能為 Hg^{2+} 離子與金表面的高親和力($5d^{10}$ -

5d¹⁰), 造成電子轉移使螢光淬滅(Sahu, Mohapatra, & Swain, 2020; Yadav et al., 2020; Yang et al., 2018)。圖(b)為 Hg²⁺ 離子線性，其線性範圍在 10 - 250 μM, R² = 0.9954, 偵測極限為 1.02 μM, 呈現良好的線性關係。在圖(c) Red-AuNCs 添加不同金屬，於 UV 燈下照片。此材料亦可應用於濾紙(Y. Zhang et al., 2020)。將市售濾紙裁剪成 1cm x 1cm 大小，浸泡於稀釋 10 倍的 Red-AuNCs 30min, 取出後在 50 度之烘箱中烘乾。再將這些含金團簇的濾紙分別浸泡於 10⁻⁵ M 不同的金屬離子溶液，浸泡時間為 5 分鐘。從圖(d)可以發現 Red-AuNCs 試紙只會對 Hg²⁺ 離子有反應，具有良好的選擇性，可以用來當作 Hg²⁺ 離子的偵測試紙。圖(e)為不同濃度與浸泡時間的關係，可以發現濾紙浸泡於 10⁻⁷ M 一個小時後，可以使濾紙上的 Red-AuNCs 螢光淬滅，顯示出 Red-AuNCs 的濾紙對汞有吸附效果。

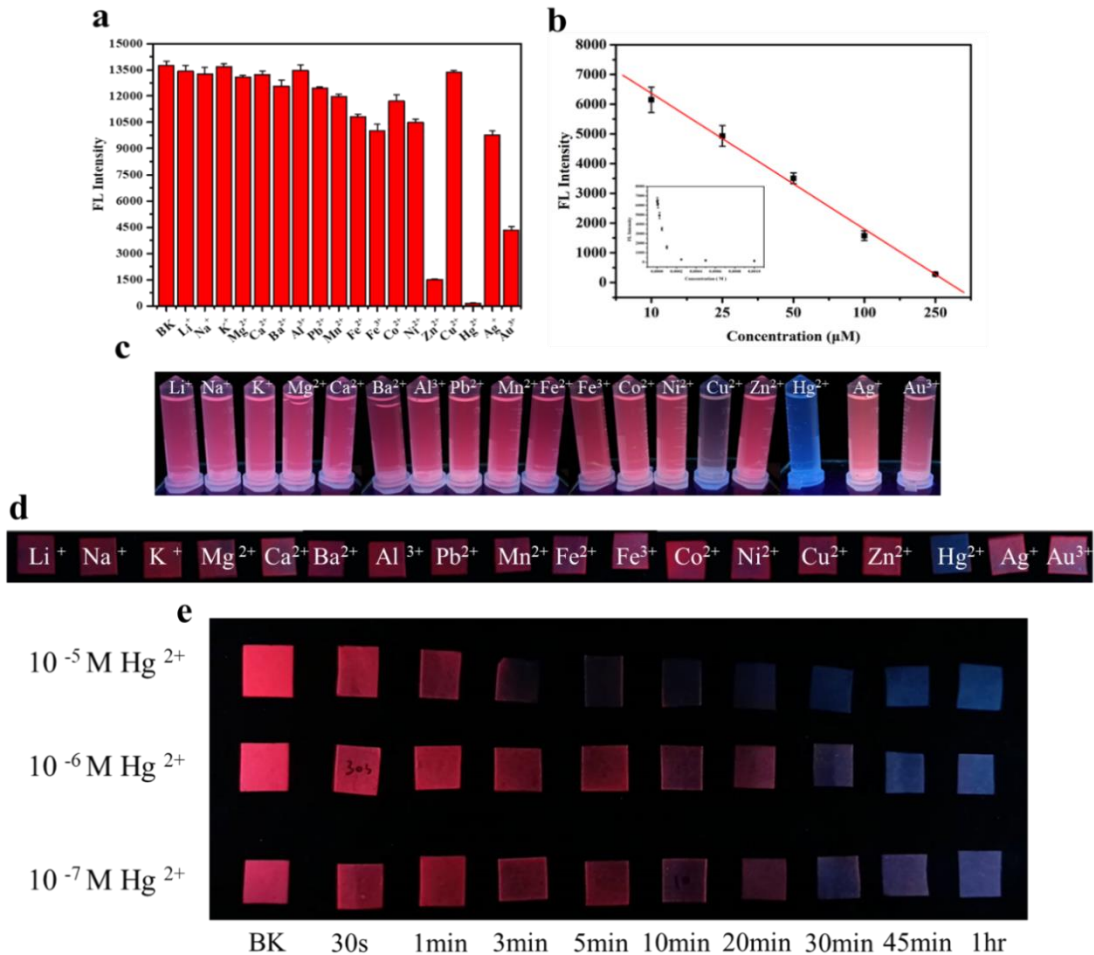


圖 7. (a) 比例螢光系統對不同金屬離子的選擇性。(b) 在不同濃度的 Hg²⁺ 離子存在下 Red-AuNCs 的相對強度。(c) 在紫外線燈照射下，不同金屬離子的 Red-AuNC 的照片。(d) 紫外線 (365 nm) 下濾紙測試的照片。(e) 不同濃度和浸泡時間之間的關係。

四、Red-AuNCs 與 Green-AuNCs 應用於隱形墨水

隱形墨水的應用，如圖 8 所示。可以發現在可見光燈下沒有任何顏色，在 UV 燈的照射下，可以顯示出綠色螢光及紅色螢光。由此可見，此螢光材料可以應用於隱形墨水的製程，有助於防偽的用途。

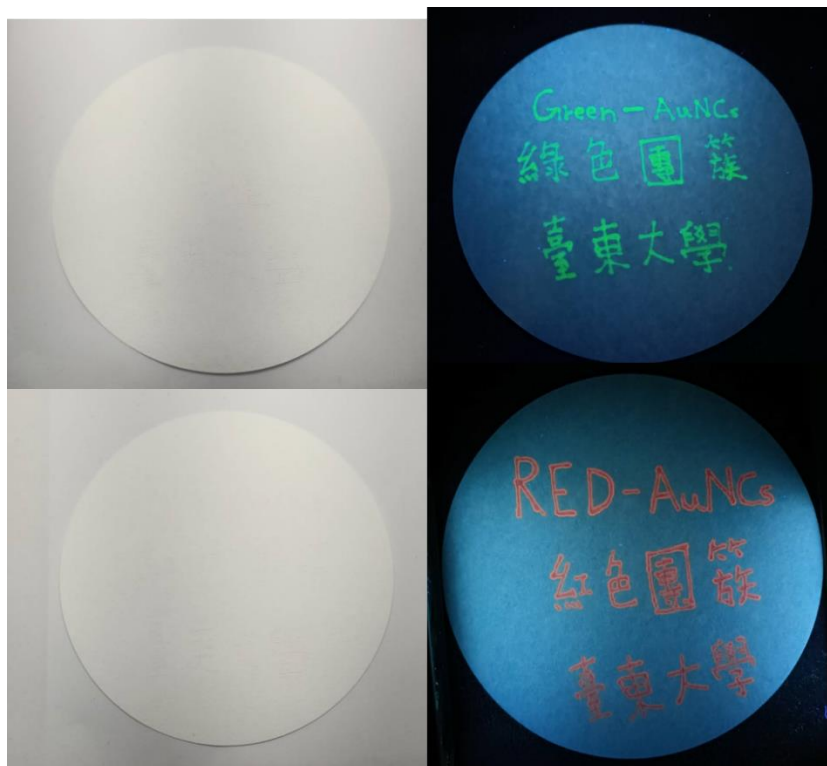


圖 8. 在日光和紫外線下濾紙上手寫的“Green-AuNCs 和 Red-AuNCs”字母的照片。

肆、結論

我們利用 6-氮雜-2-硫胸腺嘧啶 (ATT)與雞蛋蛋白(CEW) 兩配位基，並調控系統之鹼濃度，可以分別合成出具有綠色及紅色螢光的金奈米團簇。綠色金奈米團簇其激發波長為 340nm，放射波長為 523nm。在 pH 2-9 有良好的線性， $R^2 = 0.9972$ 。並應用於人體尿液，真實樣品回收率介於 90.3 % - 110.7 %，RSD 皆小於 4.9 %，可以作為一種敏感的 pH 值感測器。綠色團簇在中性環境下，加入得恩地會因為奈米團簇聚集使螢光淬滅；其線性範圍在 5-50 ppm， $R^2 = 0.9945$ ，偵測極限為 1.72ppm。紅色金團簇螢光激發波長為 315 nm，放射波長為 680 nm。加入汞離子後， Hg^{2+} 離子與金表面的金離子(I)高親和力($d^{10}-d^{10}$)，造成電子轉移使螢光淬滅，其線性範圍在 10-250 μM ， $R^2 = 0.9954$ ，偵測極限為 1.02 μM ，紅色金團簇並可製成試紙，對於 Hg^{2+} 進行偵測。此兩種金奈米團簇均可可用於隱形墨水，具有防偽功能。

引用文獻

- Aparna, R., Devi, J. A., Anjana, R., Nebu, J., & George, S. (2019). Reversible fluorescence modulation of BSA stabilised copper nanoclusters for the selective detection of protamine and heparin. *Analyst*, *144*(5), 1799-1808.
- Deng, H.-H., Hong, G.-L., Lin, F.-L., Liu, A.-L., Xia, X.-H., & Chen, W. (2016). Colorimetric detection of urea, urease, and urease inhibitor based on the peroxidase-like activity of gold nanoparticles. *Analytica Chimica Acta*, *915*, 74-80.
- Deng, H.-H., Li, K.-L., Zhuang, Q.-Q., Peng, H.-P., Zhuang, Q.-Q., Liu, A.-L., Chen, W. (2018). An ammonia-based etchant for attaining copper nanoclusters with green fluorescence emission. *Nanoscale*, *10*(14), 6467-6473.
- Deng, H.-H., Shi, X.-Q., Balasubramanian, P., Huang, K.-Y., Xu, Y.-Y., Huang, Z.-N., . . . Chen, W. (2020). 6-Aza-2-Thio-Thymine Stabilized Gold Nanoclusters as Photoluminescent Probe for Protein Detection. *Nanomaterials*, *10*(2), 281.
- Deng, H.-H., Shi, X.-Q., Wang, F.-F., Peng, H.-P., Liu, A.-L., Xia, X.-H., & Chen, W. (2017). Fabrication of water-soluble, green-emitting gold nanoclusters with a 65% photoluminescence quantum yield via host-guest recognition. *Chemistry of Materials*, *29*(3), 1362-1369.
- Dong, J. X., Gao, Z. F., Zhang, Y., Li, B. L., Zhang, W., Lei, J. L., Luo, H. Q. (2016). The pH-switchable agglomeration and dispersion behavior of fluorescent Ag nanoclusters and its applications in urea and glucose biosensing. *NPG Asia Materials*, *8*(12), e335-e335.
- Gao, P., Li, M., Zhang, Y., Dong, C., Zhang, G., Shi, L., Shuang, S. (2019). Facile, rapid one-pot synthesis of multifunctional gold nanoclusters for cell imaging, hydrogen sulfide detection and pH sensing. *Talanta*, *197*, 1-11.
- Guo, Z., Jiao, Y., Du, F., Gao, Y., Lu, W., Shuang, S., Wang, Y. (2020). Facile synthesis of ratiometric fluorescent carbon dots for pH visual sensing and cellular imaging. *Talanta*, 120943.
- He, Y., Du, E., Zhou, X., Zhou, J., He, Y., Ye, Y., Wang, X. (2020). Wet-spinning of fluorescent fibers based on gold nanoclusters-loaded alginate for sensing of heavy metal ions and anti-counterfeiting. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *230*, 118031.

- Huang, Y.-Q., Zhang, X., Xue, J.-H., Liu, L., Chen, S.-H., & Wang, Y.-S. (2020). Sensitive and selective assay of uranyl based on the aggregation induced fluorescent quenching of protamine capped gold nanoclusters. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 226, 117649.
- Joseph, D., & Geckeler, K. E. (2014). Synthesis of highly fluorescent gold nanoclusters using egg white proteins. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 115, 46-50.
- Ju, Y. J., Li, N., Liu, S. G., Han, L., Xiao, N., Luo, H. Q., & Li, N. B. (2018). Ratiometric fluorescence method for malachite green detection based on dual-emission BSA-protected gold nanoclusters. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 275, 244-250.
- Lakshmi, B. A., & Kim, S. (2019). Quercetin mediated gold nanoclusters explored as a dual functional nanomaterial in anticancer and bio-imaging disciplines. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 178, 230-237.
- Li, X., Wu, X., Zhang, F., Zhao, B., & Li, Y. (2019). Label-free detection of folic acid using a sensitive fluorescent probe based on ovalbumin stabilized copper nanoclusters. *Talanta*, 195, 372-380.
- Liu, J., Xue, H., Liu, Y., Bu, T., Jia, P., Shui, Y., & Wang, L. (2019). Visual and fluorescent detection of mercury ions using a dual-emission ratiometric fluorescence nanomixture of carbon dots cooperating with gold nanoclusters. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 223, 117364.
- Sahu, D., Mohapatra, P., & Swain, S. K. (2020). Highly orange fluorescence emission by water soluble gold nanoclusters for “turn off” sensing of Hg²⁺ ion. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 386, 112098.
- Yadav, A., Verma, N. C., Rao, C., Mishra, P. M., Jaiswal, A., & Nandi, C. K. (2020). Bovine Serum Albumin-Conjugated Red Emissive Gold Nanocluster as a Fluorescent Nanoprobe for Super-resolution Microscopy. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 11(14), 5741-5748.
- Yang, J.-Y., Yang, T., Wang, X.-Y., Chen, M.-L., Yu, Y.-L., & Wang, J.-H. (2018). Mercury speciation with fluorescent gold nanocluster as a probe. *Analytical chemistry*, 90(11), 6945-6951.

Zhang, Y., Yang, M., Shao, Z., Xu, H., Chen, Y., Yang, Y., Liao, X. (2020). A paper-based fluorescent test for determination and visualization of cysteine and glutathione by using gold-silver nanoclusters. *Microchemical Journal*, 158, 105327.

Zhang, Z., Tian, Y., Huang, P., & Wu, F.-Y. (2020). Using target-specific aptamers to enhance the peroxidase-like activity of gold nanoclusters for colorimetric detection of tetracycline antibiotics. *Talanta*, 208, 120342.

Zhao, Y., Pan, M., Liu, F., Liu, Y., Dong, P., Feng, J., Liu, X. (2020). Highly selective and sensitive detection of trinitrotoluene by framework-enhanced fluorescence of gold nanoclusters. *Analytica Chimica Acta*.