



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I612290 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 01 月 21 日

(21)申請案號：103130033

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 08 月 29 日

(51)Int. Cl. : G01N21/65 (2006.01)

(71)申請人：國立臺灣大學(中華民國) (TW)

臺北市羅斯福路四段一號

(72)發明人：陳學禮 CHEN, HSUEN-LI(TW)；周欣宜 CHOU, SIN-YI(TW)；游振傑 YU, CHEN-CHIEH(TW)；顏好庭 YEN, YU-TING(TW)

(74)代理人：陳紹良

(56)參考文獻：

US 2006/0017918A1

Shao-Chin Tseng, Chen-Chieh Yu, Dehui Wan, Hsuen-Li Chen, Lon Alex Wang, Ming-Chung Wu, Wei-Fang Su, Hsieh-Cheng Han, and Li-Chyong Chen, "Eco-Friendly Plasmonic Sensors: Using the Photothermal Effect to Prepare Metal Nanoparticle-Containing Test Papers for Highly Sensitive Colorimetric Detection", Anal. Chem., 2012, 84 (11), pp 5140-5145 DOI: 10.1021/ac300397h Publication Date (Web): April 30, 2

審查人員：張榮興

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：18 共 43 頁

(54)名稱

表面增強拉曼散射試片及其製備方法

SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING SUBSTRATE AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

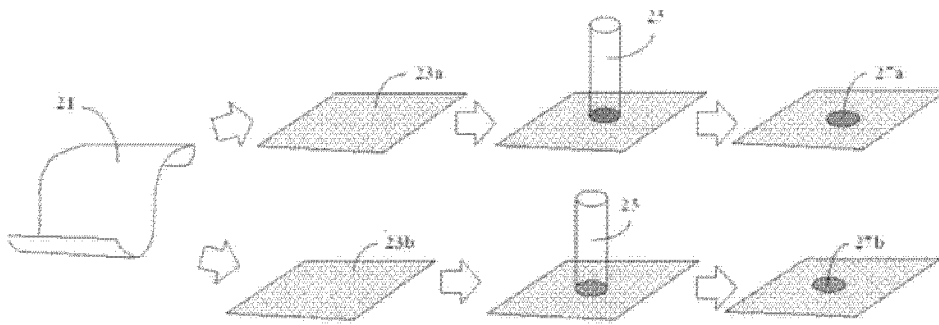
(57)摘要

本發明係提供一種表面增強拉曼散射試片及其製備方法。此表面增強拉曼散射試片包含一低導熱係數基底以及複數個金屬奈米粒子。低導熱係數基底具有一第一表面，該第一表面具有複數個起伏微奈米結構。該等金屬奈米粒子不連續密集排列於該第一表面之該等起伏微奈米結構之上，其中該等金屬奈米粒子沿著該等起伏微奈米結構具有一高低落差，該等金屬奈米粒子形成一具有三維電場增益區域。此表面增強拉曼散射試片之製備方法則包含濺鍍一金屬奈米薄膜於一低導熱係數基底之一表面；雷射轟擊該金屬奈米薄膜成不連續密集排列的複數個金屬奈米粒子。

The present invention provides a Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) substrate and the manufacturing method thereof. The SERS substrate comprises a low thermal conductivity base and a plurality of metal nanoparticles (NPs). The surface of the low thermal conductivity substrate has a first surface, and the first surface has a plurality of ripple micro/nano structures. The plurality of metal NPs are non-continuously densely arranged on the ripple micro/nano structures of the first surface. The metal NPs have a height difference along the ripple micro/nano structures, and form a 3D electric field enhanced region. The manufacturing methods comprises sputtering a metal nano-thin film on a surface of a low thermal conductivity base, and the surface of the low thermal conductivity base has a plurality of ripple micro/nano

structures; using laser to ablate the metal nano-thin film; and forming a plurality of metal NPs, which are non-continuously densely arranged.

指定代表圖：



符號簡單說明：

21 . . . 濾紙

23a . . . 金奈米金屬膜

23b . . . 銀奈米金屬膜

25 . . . 雷射

27a . . . 金的金屬奈米粒子

27b . . . 銀的金屬奈米粒子

【圖2】



公告本

申請日：103. 8. 27

IPC分類：

G01N 21/65 (2006.01)

【發明摘要】

【中文發明名稱】 表面增強拉曼散射試片及其製備方法

【英文發明名稱】 SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING

SUBSTRATE AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

【中文】

本發明係提供一種表面增強拉曼散射試片及其製備方法。此表面增強拉曼散射試片包含一低導熱係數基底以及複數個金屬奈米粒子。低導熱係數基底具有一第一表面，該第一表面具有複數個起伏微奈米結構。該等金屬奈米粒子不連續密集排列於該第一表面之該等起伏微奈米結構之上，其中該等金屬奈米粒子沿著該等起伏微奈米結構具有一高低落差，該等金屬奈米粒子形成一具有三維電場增益區域。此表面增強拉曼散射試片之製備方法則包含濺鍍一金屬奈米薄膜於一低導熱係數基底之一表面；雷射轟擊該金屬奈米薄膜成不連續密集排列的複數個金屬奈米粒子。

【英文】

The present invention provides a Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) substrate and the manufacturing method thereof. The SERS substrate comprises a low thermal conductivity base and a plurality of metal nanoparticles (NPs). The surface of the low thermal conductivity substrate has a first surface, and the first surface has a plurality of ripple micro/nano structures. The plurality of metal NPs are non-continuously densely arranged on the ripple micro/nano structures of the first surface. The metal NPs have a

height difference along the ripple micro/nano structures, and form a 3D electric field enhanced region. The manufacturing methods comprises sputtering a metal nano-thin film on a surface of a low thermal conductivity base, and the surface of the low thermal conductivity base has a plurality of ripple micro/nano structures; using laser to ablate the metal nano-thin film; and forming a plurality of metal NPs, which are non-continuously densely arranged.

【指定代表圖】 圖2

【代表圖之符號簡單說明】

21：濾紙

23a：金奈米金屬膜

23b：銀奈米金屬膜

25：雷射

27a：金的金屬奈米粒子

27b：銀的金屬奈米粒子

height difference along the ripple micro/nano structures, and form a 3D electric field enhanced region. The manufacturing methods comprises sputtering a metal nano-thin film on a surface of a low thermal conductivity base, and the surface of the low thermal conductivity base has a plurality of ripple micro/nano structures; using laser to ablate the metal nano-thin film; and forming a plurality of metal NPs, which are non-continuously densely arranged.

【指定代表圖】 圖2

【代表圖之符號簡單說明】

21：濾紙

23a：金奈米金屬膜

23b：銀奈米金屬膜

25：雷射

27a：金的金屬奈米粒子

27b：銀的金屬奈米粒子

【發明說明書】

【中文發明名稱】 表面增強拉曼散射試片及其製備方法

【英文發明名稱】 SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING SUBSTRATE
AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種表面增強拉曼散射試片及其製備方法，特別是關於一種便宜可拋、製程快速、高靈敏度且再現性高的表面增加拉曼散射試片及其製備方法。

【先前技術】

【0002】 表面增強拉曼散射技術(surface-enhanced Raman scattering, SERS)應用在高靈敏度感測器，可以快速並即時檢測環境中的化學及生物分子，其具備了待測物分子頻譜的獨特性與低濃度檢測偵測的潛力，擁有待測物分子免標籤性與非破壞性、量測訊號的即時性等特性，以及操作簡單和快速檢測的能力。

【0003】 表面增強拉曼散射技術是利用金屬奈米結構的侷域性表面電漿共振現象(localized surface plasma resonance, LSPR)，所引起的局部電場增益而提升拉曼訊號。目前金屬奈米結構的製作，是利用先進的微奈米製程技術，製造出奈米結構應用於其上，例如光學微影製程(optical lithography)、聚焦離子束製程(focused ion beam)、電子束微影製程(electron beam lithography)等製程。這些製程過程繁複且設備價格高昂，難以降低成本而限制了相關實質應用，使得表面增強拉曼散射技術僅限使用於實驗室中。因此為使表面增強拉曼散射技術進一步發展至簡單且便宜的製程，並且能夠應用於日常分析與現場檢測，進而擴大表面增

強拉曼散射技術的應用範圍，極需發展出低成本與簡單製程的表面增強拉曼散射試片。

【發明內容】

【0004】 本發明之目的在於提供一種對環境低污染、應用性廣、靈敏度高、具有高密度金屬奈米粒子之表面增強拉曼散射試片，而此基板之製備方法不僅快速簡易，且可高效率地製成。

【0005】 為達成上述目的，本發明提供了一種表面增強拉曼散射試片，其包含一低導熱係數基底以及複數個金屬奈米粒子。低導熱係數基底具有一第一表面，該第一表面具有複數個起伏微奈米結構。該等金屬奈米粒子不連續密集排列於該第一表面之該等起伏微奈米結構之上，其中該等金屬奈米粒子沿著該等起伏微奈米結構具有一高低落差，該等金屬奈米粒子形成一具有三維電場增益區域。

【0006】 而為製備上述表面增強拉曼散射試片，本發明亦提供了以下製備方法步驟：濺鍍一金屬奈米薄膜於一低導熱係數基底之一表面，其中該低導熱係數基底表面具有複數個起伏微奈米結構；雷射轟擊該金屬奈米薄膜；以及形成不連續密集排列的複數個金屬奈米粒子。

【0007】 為了讓上述的目的、技術特徵和優點能夠更為本領域之人士所知悉並應用，下文係以本發明之數個較佳實施例以及附圖進行詳細的說明。

【圖式簡單說明】

【0008】 圖1係為各種紙基材的拉曼背景訊號圖；

【0009】 圖2係為本發明實施例利用雷射熱退火所引發之光熱效應 (photothermal effect)，分別於鍍有奈米金屬膜之試片上製作金與銀之奈米金屬粒子示意圖；

【0010】圖3(a)~(d)為本發明第一實施例之10nm、20nm、30nm、50nm銀金屬奈米薄膜於紙上在雷射轟擊前之電子顯微鏡影像，而圖3(e)~(h)為本發明第一實施例之四種實施態樣，10nm、20nm、30nm、50nm銀金屬奈米薄膜於紙上在雷射轟擊一下之電子顯微鏡影像；

【0011】圖4(a)~(d)為本發明第一實施例之另外四種實施態樣，10nm、20nm、30nm、50nm銀金屬奈米薄膜於紙上在雷射轟擊三下之電子顯微鏡影像；圖4(e)~(h)為本發明第一實施例之最後四種實施態樣，10nm、20nm、30nm、50nm銀金屬奈米薄膜於紙上在雷射轟擊五下之電子顯微鏡影像；

【0012】圖5(a)~(d)為本發明第一實施例之10nm、20nm、30nm、50nm銀金屬奈米薄膜於在紙上形成之金屬銀奈米粒子之十二種實施態樣的粒徑分析圖；

【0013】圖6為本發明第一實施例之十二種實施態樣的表面拉曼增強基板其上之銀奈米粒子表面覆蓋率；

【0014】圖7(a)~(b)為本發明第二實施例之八種實施態樣，亦即於相同雷射轟擊次數下，銀奈米粒子與金奈米粒子於不同金屬膜厚時，拉曼訊號量測之比較；

【0015】圖8(a)~(b)於本發明第二實施例之六種實施態樣，亦即不同雷射轟擊次數下，銀奈米粒子與金奈米粒子於固定金屬膜厚時，拉曼訊號量測之比較；

【0016】圖9(a)~(b)為本發明實施例之銀奈米粒子與金奈米粒子於膜厚30nm時，雷射轟擊一次的電子顯微鏡圖；

【0017】圖10(a)~(c)為本發明第三實施例之三種實施態樣，20 μ m、8 μ m、2.5 μ m孔洞大小的濾紙於銀金屬奈米薄膜為30nm且雷射轟擊一次的銀奈米粒子電子顯微鏡圖；

【0018】圖11(a)~(c)為本發明第三實施例之三種實施態樣20 μ m、8 μ m、2.5 μ m孔洞大小濾紙的銀奈米粒子粒徑分布，圖11(d)為粒徑綜合比較圖；

【0019】圖12為本發明第三實施例之三種實施態樣 $20\ \mu\text{m}$ 、 $8\ \mu\text{m}$ 、 $2.5\ \mu\text{m}$ 孔洞大小濾紙的銀奈米粒子表面覆蓋率；

【0020】圖13為本發明之第三實施例使用不同孔洞大小的濾紙於金屬膜厚 30nm 時，雷射轟擊一次的銀奈米粒子拉曼光譜圖；

【0021】圖14為雷射波長 633nm 對於不同放大倍率的物鏡景深及光點大小直徑數值；

【0022】圖15(a)~(b)為模擬平面結構2D與本發明第一實施例之最佳實施態樣，表面增加拉曼散射試片放置 30nm 銀金屬奈米粒子，於 633nm 之電場強度圖比較；

【0023】圖16為模擬習知浸泡塗佈法所製成之表面增加拉曼散射試片放置 30nm 銀金屬奈米粒子，於 633nm 之電場強度圖；

【0024】圖17為利用本發明第一實施例之最佳實施態樣參數所製之表面增強散射拉曼基板，所量測 4-胺基苯硫酚(4-ATP)各種濃度的表面增強拉曼散射光譜 (a)銀奈米粒子 (b)金奈米粒子(曲線由上至下分別是 $10^{-6}\ \text{M}$ 、 $10^{-9}\ \text{M}$ 、 $10^{-12}\ \text{M}$ 、 $10^{-15}\ \text{M}$ 、 $10^{-18}\ \text{M}$)；以及

【0025】圖18為本發明第一實施例之最佳實施態樣，銀奈米粒子表面增強拉曼散射基板於羅丹明濃度 $10^{-5}\ \text{M}$ 時，於同一試片中隨機量測不同點所得之拉曼光譜。

【實施方式】

【0026】以下將透過實施例來解釋本發明內容，然而，關於實施例中之說明僅為闡釋本發明之技術內容及其目的功效，而非用以直接限制本發明。本發明

之實施例揭露數個實施態樣，分別採用不同材料製備表面增強拉曼散射試片，下文將併同製備方法詳述。

【0027】本發明係使用低導熱係數基底，藉此將後續製程的雷射能量限制在金屬膜上，而僅有少部分能量會傳導至低導熱係數基底，藉此進一步提高光熱轉換效率，使大部分的雷射所轉換的熱能傳導至金屬膜。紙或氧化物基底（例如玻璃）均可做為此低導熱係數基底，本文實施例則採用紙為說明，但只要具有僅少部分能量傳導至低導熱係數基底，並藉此進一步提高光熱轉換效率的低導熱係數基底，都不脫本發明精神。當量測時，相對低以及空白的拉曼訊號背景值，才不易干擾訊號的量測和判定。因此於一開始對各種紙進行拉曼訊號背景值量測，藉此挑選適當的材料，以避免基材的拉曼背景訊號對待測物訊號造成影響。

【0028】如圖1所示，為本發明對各種紙基材的拉曼背景訊號圖，包括：濾紙(filter paper)、疏水相片紙(hydrophobic photo paper)、親水相片紙(hydrophilic photo paper)、印刷紙(A4 paper)、長纖紙(Delicate Task Wipers)，並對其做拉曼背景值的量測，由圖中可知，印刷紙和疏水相片紙擁有最大的拉曼訊號背景值，而濾紙和長纖紙相較之下，拉曼背景值訊號相當小。長纖紙和濾紙的低背景值，皆是因為成分單純，除了纖維質之外，沒有多餘的加工。除此之外，由於濾紙的功用是過濾雜質而留下所需物質，為了避免污染待測物，因此相當注重其中雜質比例的掌控，於是濾紙的成分當中，去除了大部分紙類的雜質，免去了可能的干擾。而由於長纖紙雖然背景訊號低，造成其品質不穩定，結構過於鬆散，性質過於柔軟，易受破壞，不如商品化濾紙的品質穩定與定量化孔洞大小，基於商品化的濾紙的品質穩定，且具有量化的孔洞大小，因此本文各個實施例將採用濾紙作為各個實施態樣的基底。濾紙本身具有纖維交錯而成的孔洞，微觀而言，可將之視為表面具有複數個起伏微奈米結構，而此等結構的高低落差為100nm~10 μ m。

【0029】 本發明藉由雷射熱退火方式製作金屬奈米粒子，將不同厚度的金屬鍍膜濺鍍於作為低導熱係數基底的濾紙上，再進行雷射熱退火的製程。下述各實施例採用濾紙作為低導熱係數基底，其具有纖維交錯而成的孔洞，因此會影響鍍膜時，金屬濺鍍至紙面上的厚度，金屬奈米粒子係由島膜狀開始形成奈米粒子。

【0030】 本發明所濺鍍之金屬奈米薄膜係採用具有侷域性表面電漿共振現象的金屬材料，因為當金屬奈米結構互相靠近時，奈米結構本身的近場和遠場特性會劇烈地彼此影響，各自的表面電漿共振會耦合，而將共振波段的人射電磁能限制在奈米結構之間的空隙，而產生了一個高度侷限和強度增強的電場，其接觸的區域電場增強的區域，稱之為熱點(hot spot)。金、銀、鉑、鋁或銅的氧化物及其組合的金屬均具有此性質。

【0031】 下文將針對本發明的表面增強拉曼散射試片之基本製備方法及測試實驗進先行詳述。

【0032】 1. 於濾紙之一表面上濺鍍金屬奈米薄膜。由於濾紙本身由纖維所組成，而且表面粗糙，因此當金屬奈米薄膜較薄時，並無法形成金屬膜。但隨著鍍膜厚度增加，沉積於濾紙纖維上的島膜堆高，金屬膜已經能夠包覆濾紙，而完全覆蓋於其上。

【0033】 2. 利用 KrF 準分子雷射波長 248 nm，在 125 mJ/cm^2 的能量密度，於覆蓋一層石英片玻璃之下，對濾紙表面的金屬奈米薄膜進行轟擊，以在濾紙上表面形成不連續地密集排列的複數個金屬奈米粒子。由於金屬膜溫度將會提升至二千多度，遠超過金銀的熔點，足夠使其熔融，因此藉由光熱效應(photothermal effect)，能使金屬薄膜發生了熱退火而形成了不連續密集排列於濾紙表面的金屬奈米粒子，如圖2所示，分別於濾紙21鍍上金奈米金屬膜23a及銀奈米金屬膜23b，並以雷射25進行轟擊，藉此形成不連續地密集排列的複數個金的金屬奈米粒子

27a及複數個銀的金屬奈米粒子27b。而所形成之聚集金屬奈米粒子，由於沿著濾紙表面的複數個起伏微奈米結構不連續地密集排列，而形成熱點，基於起伏微奈米結構具有一高低落差，使得金屬奈米粒子形成一具有三維電場增益區域，而能夠對電場有大幅增益，進而增加拉曼散射訊號。

【0034】 3. 在紙基材試片上，蒸鍍一層脫膜劑形成自組裝膜，而使試片表面疏水。在疏水表面上，液滴與表面的接觸面積會隨著時間，而劇烈變小，而液滴中的溶質高度濃縮到一個很小的範圍，此即所謂的超疏水濃縮效應 (superhydrophobic condensation effect)，便於提高待測物濃度，並將待測物侷限集中於小區域。

【0035】 4. 滴上 20 μL 的不同濃度的待測物。

【0036】 5. 等待待測物自然乾燥，進行拉曼量測，利用 Nikon 10X，數值孔徑為 0.25 的物鏡，積分 5 秒的訊號，而得到拉曼增強訊號。

【0037】 基於上述，下文將針對各變因列舉為表面增強拉曼散射試片之一實施例，並以各實施例中不同情況的實施態樣加以說明。

【0038】 本發明之第一實施例係以鍍膜厚度及雷射轟擊次數作為變因，衍生出十二種不同實施態樣。詳言之，本發明表面增強拉曼散射試片，係藉由雷射熱退火方式製作金屬奈米粒子，故金屬會由島膜狀開始形成奈米粒子，因此金屬膜厚皆於 2~20 nm 之間，而對於紙基材，由於其間有纖維交錯而形成的孔洞，而將會影響到鍍膜時，其濺鍍於其紙上的厚度。因此本實施例挑選了 10 nm、20 nm、30 nm 以及 50 nm 的銀金屬奈米薄膜之鍍膜厚度做為不同實施態樣，濺鍍於滯留孔徑大小為 2.5 μm 的濾紙上以進行後續的雷射熱退火製程。另一方面，對於雷射轟擊次數增加，會提升所形成之金屬奈米粒子的均勻度，本實施例分別提出一下、三下以及五下的雷射轟擊次數之不同實施態樣。基於上述兩種不同變因，本實施例共提出十二種實施態樣。圖 3 (a)~(d)分別為 10 nm、20 nm、30 nm 與 50

nm，於鍍銀膜完成後之電子顯微鏡圖，由上述各圖可以觀察到，由於濾紙本身為纖維所組成，而且表面粗糙，因此當低膜厚時，金屬膜並沒有成膜。但隨著鍍膜厚度增加，沉積於濾紙纖維上的島膜堆高，而當鍍膜厚度達到 50 nm 時，金屬膜則已經能夠包覆濾紙，而完全覆蓋於其上。圖3與圖4為上述實施態樣於轟擊前及轟擊後的低加速電壓(5 kV)電子顯微鏡圖，圖3(e)~(h)與圖4(a)~(h)可觀察得此十二種實施態樣於各個參數下，試片上的銀奈米粒子形貌，圖5則為此十二種實施態樣之粒徑分布圖。

【0039】另一方面，對於雷射轟擊次數，由於轟擊次數的上升，會提升所形成之奈米粒子的均勻度，故本實施例分別提出一下、三下以及五下的雷射轟擊次數之三種實施態樣。雖然雷射轟擊次數增加，會同時增加奈米粒子分布的均勻性和尺寸單一性，但由於金屬薄膜吸收雷射能量後，瞬間高熱產生的不規則形變應力，使奈米粒子往四面八方溢散，故當雷射轟擊次數增加的同時，溢散的奈米粒子比例提高，而使得奈米粒子於紙上的覆蓋面積下降，而影響了奈米粒子之間的間隔。換言之，當雷射轟擊次數提高，奈米粒子的分布越稀疏，而使得奈米粒子的間隔變大，由於粒子之間的耦合電場強度與粒子間距成反比，因此當間隔加大，其粒子之間的電場強度也隨之下降，但拉曼訊號的增益與電場強度成四次方正比，因此較稀疏的奈米粒子，將會造成較低落的拉曼訊號增益。因此即使增加雷射轟擊次數能夠增加粒子均勻性，卻無法製作出高度密集的奈米粒子。因此為了縮小粒子間距以增加電場增益，固定於雷射轟擊一下的實施態樣，能得到最窄的粒子間距。

【0040】綜觀各參數於雷射轟擊後之電子顯微鏡影像與粒徑分布圖，可以發現本實施例各個態樣所形成的銀奈米粒子尺寸主要分布於 10~30 nm 之間，而隨著雷射轟擊次數增加，提供了更多能量給奈米粒子形成更小的奈米粒子，因此可以從電子顯微鏡影像以及粒徑分析圖中觀察到，小粒徑的奈米粒子所佔比例

逐漸增加，除此之外，雷射轟擊次數增加，同時也會增加奈米粒子分布的均勻性和尺寸單一性，及其平均粒徑的下降。但由於金屬薄膜吸收雷射能量後，瞬間高熱產生的不規則形變應力，使奈米粒子會往四面八方溢散，因此當雷射轟擊次數增加的同時，溢散的奈米粒子比例提高，而使得奈米粒子於紙上的覆蓋面積下降，如圖6所列，其為各實施態樣所製作出的表面拉曼增強基板其上之銀奈米粒子表面覆蓋率，雷射轟擊次數與金屬薄膜厚度均影響了奈米粒子之間的時間隔。

【0041】由圖3與圖4中可以觀察得到，當雷射轟擊次數提高，奈米粒子的分布越稀疏，而使得奈米粒子的間隔變大，由於粒子之間的耦合電場強度與粒子間距成反比，因此當間隔加大，其粒子之間的電場強度也隨之下降，但拉曼訊號的增益與電場強度成四次方正比，因此較稀疏的奈米粒子，將會造成較低落的拉曼訊號增益。因此即使增加雷射轟擊次數能夠增加粒子均勻性，卻無法製作出高度密集的奈米粒子。換言之，本發明之雷射轟擊次數具有一上限，於此最高轟擊次數之雷射轟擊下，所得到的金屬奈米粒子雖然粒徑較小且均勻，但此等金屬奈米粒子的分布具有一最小覆蓋率及一最小密度，亦即此時為本發明的最低拉曼訊號增益。

【0042】因此為了縮小粒子間距以增加電場增益，固定於雷射轟擊一下的實施態樣可以得到最窄的粒子間距。接著如圖3(e)~(h)所示，隨著金屬膜厚改變，奈米粒子的覆蓋率和密度會有一個最佳化的參數；換言之，本發明之金屬奈米薄膜具有一最佳厚度，此時金屬奈米粒子具有一最大覆蓋率及一最大密度。於本實施例中，當金屬膜厚增加，由於提供形成金屬奈米粒子的來源變多，造成所形成的金屬奈米粒子數量變多並且密度提高，但當金屬膜厚增加到 50 nm 時，如圖3(e)，由於材料來源太多，因此受到雷射轟擊的金屬膜大部分都形成微米尺寸的金屬粒子，而造成其上剩餘之奈米粒子尺寸下降與分布稀疏。而在金屬膜厚 30 nm 時，金屬奈米薄膜可於濾紙上形成一不連續金屬片狀島膜，且可得較佳效果，

故本實施例之最佳的實施態樣，如圖3(g)所示，紙上的金屬奈米粒子達到最高密度與覆蓋率，其奈米粒子排列十分緊密，金屬奈米粒子之間間隔多小於 5 nm 以下，由於如此緊密且高密度的堆積，將使粒子與粒子間耦合電場大幅增加，將會造成相當的拉曼訊號增益，因此後續實施例將以此本實施例最佳實施態樣——於金屬膜厚 30 nm 時，雷射轟擊一下，所形成之奈米粒子——所得之參數進行後續不同實施態樣之進一步描述。

【0043】於進行拉曼量測之前，前述步驟提及，利用疏水表面，而能夠高度濃縮液滴中的溶質到一個很小的範圍，稱為超疏水濃縮效應，而能夠將其應用於濃縮待測物上，濃縮濃度與限制待測物範圍。因此將在製備完成的紙基材表面增強拉曼基板上，蒸鍍上一層脫模劑——全氟辛基三氯矽烷(PFOTCS)自組裝膜，使其表面疏水。

【0044】因此對於欲進行拉曼訊號的試片，都將先經過蒸鍍脫模劑的步驟，再接著進行拉曼訊號的量測。而為了確認各參數下所製備的奈米粒子作為表面增強拉曼散射試片的優劣，第二實施例將利用由電子顯微鏡影像中，得到的最佳參數——金屬膜厚 30 nm 於雷射轟擊次數一下，將各參數分類為固定金屬膜厚與固定雷射轟擊次數兩部分來比較。

【0045】首先討論固定雷射轟擊次數為一下之不同金屬膜厚實施態樣，本實施例之八種實施態樣的試片製成，係於濾紙之一表面上分別濺鍍金和銀的金屬奈米薄膜，各 10 nm、20 nm、30 nm、50nm。如前一實施例所述，當改變金屬膜厚時，會對所形成的金屬奈米粒子形貌造成影響，此結果會進而影響表面增強拉曼散射試片的表現，而其中拉曼訊號的差異性，藉由量測羅丹明(rhodamine 6G, R6G) 10^{-5} M 濃度的溶液，積分五秒的拉曼訊號進行比較，綜合整理於圖7。

【0046】圖7(a)和圖7(b)分別為起始厚度不同，雷射轟擊一下形成於紙上的銀奈米粒子與金奈米粒子共八種不同實施態樣的結果，從圖中可以明顯觀察到

銀奈米粒子的表面增強拉曼散射效果比金來的好，由於銀擁有較好的金屬性，使得銀奈米粒子的表面增強拉曼散射效果較佳，除了整體訊號強度都大於金之外，銀奈米粒子所製作的表面增強拉曼散射試片的波峰解析度也較好。隨著金屬膜厚增加，使得奈米粒子的覆蓋面積提升，奈米粒子間距縮小，而增加了粒子間的電場耦合，而能夠增益拉曼訊號。

【0047】 其次本實施例所提出的是於濾紙之一表面上分別濺鍍金和銀的金屬奈米薄膜，固定鍍膜厚度為 30 nm，分別以一次、三次及五次不同雷射轟擊次數之實施態樣。如前一實施例所述，雷射轟擊次數會對奈米粒子形貌所造成影響，而此影響進而得到了此六個實施態樣所得到的表面增強拉曼散射試片的不同表現，而其中拉曼訊號的差異性，藉由量測羅丹明(rhodamine 6G, R6G) 10^{-5} M 濃度的溶液，積分五秒的拉曼訊號進行比較，綜合整理於圖8。

【0048】 由圖中可觀察到，雷射轟擊次數為一下的實施態樣中，可得到發揮最強拉曼訊號的銀和金奈米粒子，此乃由於雷射能量造成的形變應力，使於金屬膜於吸收光能之後，形成之奈米粒子將往周圍溢散，造成留在紙基材之上的奈米粒子減少，因此使得耦合電場來源下降，而降低了拉曼訊號。因此隨著雷射轟擊次數的增強，量測到的拉曼訊號強度也隨之下降。除此之外，當雷射轟擊前，單單只是鍍膜完成的試片，由於濾紙表面不平整，並沒有成膜而是形成不連續的島膜此種粗糙的奈米結構。此粗糙奈米結構同樣能夠有熱點效應，而對電場增益，使拉曼訊號強度提升。

【0049】 而由於前述皆為銀奈米粒子於濾紙上的表面形貌的此類實施態樣，為了說明金奈米粒子於相同參數條件下，也能夠得到類似的奈米粒子分布，圖9顯示金屬膜厚 30 nm於雷射轟擊一下時所形成之金奈米粒子及銀奈米粒子，在金屬膜厚 30 nm於雷射轟擊一下時的參數，兩種金屬同樣有相當高密度排列，因此能夠有相當的電場增益，而能夠得到較高的拉曼訊號。

【0050】如前所述，本實施例採用濾紙作為表面增加拉曼散射基底，由於濾紙有多樣化的滯留孔徑大小，故第三實施例則針對濾紙孔徑大小對於利用雷射熱退火方式，於紙上製作之奈米粒子形貌的影響。第三實施例的三個實施態樣，分別挑選了 Whatman® No. 40、No. 41、No. 42 之濾紙，滯留孔徑大小分別為 $8\ \mu\text{m}$ 、 $20\ \mu\text{m}$ 、 $2.5\ \mu\text{m}$ ，為便於說明，下文都將用孔徑大小表示。如前實施例所述，金屬膜厚 $30\ \text{nm}$ 於雷射轟擊次數一下時的此種參數設計，將得到覆蓋面積與密度最高的金屬奈米粒子陣列，由於電場之耦合造成強度提升，而能夠有良好的拉曼增益。故於本實施例的三種態樣，將利用不同滯留孔徑大小的濾紙，於其上濺鍍膜厚 $30\ \text{nm}$ ，雷射轟擊一下後，觀察改變此項參數後，各種實施態樣其奈米粒子於紙上的表面形貌，如圖10所示，由上至下分別是孔徑 $20\ \mu\text{m}$ 、 $8\ \mu\text{m}$ 、 $2.5\ \mu\text{m}$ 之電子顯微鏡圖，圖11為奈米粒子粒徑分布及比較，而圖12則為不同孔徑大小的濾紙，其上之其奈米粒子表面覆蓋率。

【0051】由圖10之電子顯微鏡圖中可觀察到，在相同金屬膜厚，於孔徑較大的濾紙上所形成的奈米粒子，相較之下較稀疏且尺寸較小，這是由於當濾紙的微米等級孔徑越大，金屬膜濺鍍於紙上時，將會把部分金屬膜鍍入孔洞中，分散了表面上之金屬膜。因此使得實際覆蓋於表面上的金屬膜厚相較於理想膜厚來得薄，進而造成奈米粒子來源減少，因此當雷射轟擊後，所形成的奈米粒子較小以及覆蓋率低。而將本實施例其一實施態樣：滯留孔徑大的濾紙上之奈米粒子表面形貌（即圖10(a)）與第一實施例其一實施態樣：滯留孔徑最小，金屬膜厚 $20\ \text{nm}$ ，雷射轟擊次數一下（即圖3(f)），兩種不同實施態樣進行比較，可以發現奈米粒子的分布形貌相當雷同，而進一步比較其粒徑分布圖（即圖5(b)最左與圖11(a)），觀察其粒徑分布比例亦相當相似。

【0052】從圖12可以得知，隨著濾紙的孔徑增加，金屬奈米粒子覆蓋面積的下降，同時代表了金屬奈米粒子之間間距下降，而使得耦合電場大小隨之降

低，因此當分別量測各種孔徑大小所製作的表面增強拉曼散射光譜。而於圖 13 所示，可以觀察到隨著濾紙孔徑大小的上升，形成拉曼訊號增益的下降，驗證了電場增益的減少。由上述各個實施態樣的結果可知，使用孔徑小的濾紙，較能夠控制於紙上鍍膜厚度，避免將金屬膜鍍進孔洞中，而能夠控制雷射熱退火方式製作奈米粒子沉積於濾紙表面形成密集排列的奈米粒子。

【0053】與習知技術相較下，經實際量測，本發明採用濾紙作為表面增強拉曼散射基板，其訊號強度為製作在矽基板與玻璃基板上之表面增強拉曼散射基板的 8 倍與 3 倍，顯示了紙基材上形成奈米粒子所製作的表面增強拉曼散射的良好效果。不同基材間的拉曼訊號差異性如此的大原因，主要是由於各個實施例採用的紙基材特有之纖維結構所影響。從形成奈米粒子的形貌來說，紙基材其上經由雷射熱退火所形成的奈米粒子，其直徑多分布於 10~50 nm，且多數為 10~30nm，而且排列緊密堆積，使得因侷域性表面電漿共振之耦合電場增益大。而於矽基板上形成之奈米粒子，其尺寸多分布於 200~900 nm 之間，其在可見光範圍之侷域性表面電漿共振現象不明顯，而且金屬粒子之間排列分散，間距增大，造成耦合電場並不強，因此整體的電場增益下降。而於玻璃基板上，金屬奈米粒子的密度雖高，但由於其中有很多大尺寸的金屬粒子，因此除了共振現象不明顯之外，小尺寸粒子所造成的熱點數目也因此下降，使得整體的電場增益下降。

【0054】於完全相同的製程條件下，於不同基板上會形成奈米粒子形貌的差異性，主要來自於基材導熱度與粗糙度。矽基板、玻璃基板和紙基板，其之熱傳導係數(thermal conductivity)分別為：142.2 W/mK、0.92 W/mK和 0.15 W/mK，由於奈米粒子在利用雷射熱退火方法形成的過程中，為了將雷射光能轉換成熱能，供給金屬膜能量，因此熱能的傳遞能力扮演了重要角色。因此當基板熱傳導性降低，逸散至基板的熱量減少，可以使得熱量大部分都被侷限於金屬膜中，而提高

了光熱轉換效率。因此推測由於紙基材的本身基材導熱度相當低，且鍍膜後金屬膜通常為不連續之金屬膜，因此熱量無法藉由基材或金屬膜傳導至別處，使得熱能皆能被於金屬膜所吸收，因此其能夠在雷射轟擊一下後，即有足夠能量形成相當高密度的奈米粒子。相較之下，矽基板導熱良好，故雷射轟擊需要至十下，才能夠形成奈米粒子，證實了其低落的光熱轉換效率。除此之外，由於紙基材擁有粗糙纖維結構，因此在鍍膜時，所形成的金屬膜為不連續膜，如圖 3(a)~(d)所示，將於利用雷射轟擊時，使得形成奈米粒子之成核點較多，因此雷射轟擊一下時，即能夠形成密集分布且多的金屬奈米粒子，如與矽與玻璃基板比較，由於其表面較平坦，鍍於其上的將是連續金屬膜，而沒有粗糙區域可為成核點，而需要雷射轟擊多下之後，破壞平整金屬膜，使其膜狀不再連續而出現破損，而使成核點增加，才能夠形成金屬奈米粒子。以上現象說明了基材的粗糙度決定了鍍於其上的金屬膜的粗糙度，而影響了利用雷射熱退火產生金屬奈米粒子的成核點數目。因此本發明於紙基材上利用雷射熱退火製作奈米粒子之各個實施例為快速且有效率的方式，且將此基材應用於表面增強拉曼散射技術能夠有大幅增益。

【0055】 在拉曼量測中，為利用光學顯微鏡聚焦雷射光為一光點，照射於試片上，再收集其散射光得到拉曼散射訊號。因此光學顯微鏡的景深(depth of field, DOF)與聚焦光點大小(spot size)，與試片的交互作用，將會影響到拉曼訊號收集的效果。所謂景深，即是聚焦之後，在焦點平面的某特定範圍中，仍然可以清楚成像的區域，計算公式如後： $DOF = \frac{2\lambda}{NA^2}$ ，其中，DOF 代表景深， n 為入射介質折射率， λ 為入射光波長，NA 為物鏡數值孔徑。而聚焦光點大小，則是其雷射光經過聚焦之後的光點大小，其計算公式則為 $d = \frac{1.22\lambda}{NA}$ ，其中， d 為聚焦雷射光點直徑， λ 為入射光波長，NA 為物鏡數值孔徑。由於光學系統量測的限制，因此當量測拉曼訊號的增益時，在景深範圍中的訊號，才能夠被量測到，可

視其為有效拉曼訊號增益區域。圖14為雷射波長633nm對於不同放大倍率的物鏡景深及光點大小直徑數值。

【0056】由於本文實施例均採用紙作為表面增強拉曼散射試片的基板，紙的特殊纖維結構第一表面是由微纖維所形成之微小起伏的粗糙皺褶的起伏微奈米結構，其起伏之高低落差約為100 nm~500 nm之間，而當利用雷射熱退火方式製作金屬奈米粒子於其上時，金屬奈米粒子將沿著此第一表面粗糙的起伏微奈米結構不連續密集排列，金屬奈米粒子之空間密度分布向濾紙未濺鍍金屬奈米薄膜之第二表面遞減，使金屬奈米粒子的排列形成了一個準三維結構，造成金屬奈米粒子空間密度提高，使得電場不僅如平面結構一樣於xy軸皆能夠耦合，並增加了z軸方向的耦合，形成具有三維電場增益區域，而此三維電場增益區域之電場增益強度係向濾紙未濺鍍金屬奈米薄膜之該表面遞減。此種三維電場增益區域增加了熱點的空間密度，而使得電場增益能夠比平面結構大幅增加，造成拉曼增益係數相當的增加。此外，紙基材上的纖維交錯形成網狀孔洞結構，因此當於其上鍍上金屬膜時，有部分金屬膜會鍍入孔洞中，因此進行雷射熱退火後，除了表面之外的下層纖維也有金屬奈米粒子分佈，由於本文實施例量測所採用的物鏡放大倍率為10X，拉曼量測景深約為5 μm ，如圖14所示，雖然位於焦點平面上金屬奈米粒子所增強訊號貢獻最大，但景深中部分金屬奈米粒子還能夠貢獻電場增益，因此本發明能夠得到更強之拉曼訊號。

【0057】與習知利用浸泡塗佈法(dip coating)於紙基材上所製作之表面增強拉曼散射試片比較，浸泡塗佈法需要花費一天以上的時間，且浸泡造成奈米粒子的分布為佈滿整張濾紙的厚度，而一般濾紙的厚度尺度為毫米(mm)等級，由於拉曼量測景深為數百奈米至微米(μm)等級，如圖14所示，因此分佈於景深以外之奈米粒子，不僅光線無法集中入射使電場耦合增強，也無法收集其拉曼訊號，本發明表面增強拉曼散射試片，大部分的金屬奈米粒子分佈於此三維電場增益

區域之內，在本實施例的景深範圍內，分佈於此三維電場增益區域之內的金屬奈米粒子的數量較未分佈於此三維電場增益區域之未增益金屬奈米粒子的數量多。因此相較於本發明利用雷射熱退火來製作表面增強拉曼散射試片，浸泡塗佈法相當耗時且效率低，因此製程不符合成本效益，對於未來之實質運用，遠不及於本發明所提出之試紙。

【0058】 本發明人提出了模擬結果如圖15所示，平面結構(2D structure)係顯示於圖15(a)，而準三維結構(quasi-3D structure)則顯示於圖15(b)。各自於其上放置30 nm 大小的銀奈米粒子，每顆粒子間隔5 nm 放置，依序放置擺滿整個面為止，利用波長633 nm 的光源進行模擬。由光學模擬結果中，亮度越高的區域，代表了電場振幅越強的區域，由圖15(a)和(b)中，皆可以發現到金屬奈米粒子之間的區域較亮，代表其電場較強，為熱點所在區域。圖15(b)中的三維結構是採用具有1至2微米直徑等級的纖維纖維紙為基底，在其上有起伏的奈米粗糙結構，金屬奈米粒子緊密排列於其上。經由比較不同結構的模擬圖，能夠明顯地看出來，由於紙纖維上準三維結構的存在，使得金屬奈米粒子將沿著準三維結構緊密排列，因此相較於單純的二維平面結構，本文各實施例採用濾紙為基底之金屬奈米粒子在景深中的空間密度較高，意即能夠提升電場增益的熱點密度，而讓電場增益能夠比單純的二維平面結構大。利用光學模擬電場圖能夠更明確地指出本文各實施例利用紙的特殊粗糙纖維結構，能夠使沉積於其上的金屬奈米粒子密度更高，使得熱點數目更加提升而達到良好的拉曼訊號增益效果。此外，由於紙的微纖維結構大小皆在景深大小範圍以內，因此分布於其上的奈米金屬粒子所產生的電場增益，皆能夠被收集到，因此對於拉曼增益能夠達到效果。

【0059】 另外，發明人也利用光學模擬對於浸泡塗佈法(dip coating)於紙基材上所製作之表面增強拉曼散射基板進行了模擬，由於其之奈米粒子分布為佈滿整張濾紙的毫米(mm)等級的厚度之中，於是便將30 nm 大小的銀奈米粒子排

列遍佈於紙纖維中進行模擬，模擬結果如圖16 所示。由圖中可以看到，一般浸泡塗佈法所製作出的試片金屬奈米粒子分佈相當的深，因此當光入射到內部之後，其光強度都有相當程度地減弱，而使得電場增益減小，並且由圖中可看到，當深度大約超過 $1 \mu\text{m}$ 之後，其銀奈米粒子所產生的電場增益相對於表面來說，已經減弱相當多，而隨著深度的增加之後，幾乎沒有電場增加的作用。除此之外，位於景深以外的金屬奈米粒子，無法收到其增益之拉曼訊號，因此分佈於景深以外之金屬奈米粒子，對於拉曼訊號增強沒有幫助。由此模擬可以明顯看出，只有在拉曼量測景深(數百奈米至微米)其中的金屬奈米粒子，能夠對電場能夠有增益，因此藉由光學模擬，證實浸泡塗佈法製作之試片，其金屬奈米粒子利用效率低落，製程不符合成本效益。相較之下，本發明利用雷射熱退火製作表面增強拉曼基板，能夠高效率於紙上製作金屬奈米粒子，且有良好的拉曼訊號增益。

【0060】 本文各實施例採用紙基材製成的表面增強拉曼試片能夠偵測到極小的濃度範圍，利用第一實施例最佳實施態樣之參數，亦即金屬膜厚 30nm 於雷射轟擊一下後，所製備出的試片，進行 4-胺基苯硫酚(4-ATP)各種濃度的拉曼訊號量測，其結果如圖17 所示。拉曼光譜中，即使到了很低濃度 10^{-18}M ，無論是銀奈米粒子或金奈米粒子基材，其 4-胺基苯硫酚的特徵波峰 1077 cm^{-1} 和 1575 cm^{-1} ，依然仍有明顯的訊號。於量測時，為滴上 $20 \mu\text{L}$ 大小的水滴，放置自然乾燥，使其濃縮聚集至直徑約為 4 mm 的小點，若滴上待測物的濃度為 10^{-18}M ，則在此面積中約有 12 個分子左右，因此可視為單分子檢測。

【0061】 此外，本文各實施例的紙基試片表面各處均可得到 2×10^{10} 的超高增益係數，因此即使於更低濃度時待測物溶質分布不均，由於紙基材表面拉曼散射基板擁有高密度且均勻的熱點，仍可藉由拉曼成像(Raman mapping)量測得到待測物訊號。因此證實了，本文各實施例於紙上利用雷射熱退火，所製造出來表面增強拉曼散射基板擁有相當高的靈敏度。而如此優異的拉曼訊號增益，來自於準三

圍結構上緊密排列所導致之金屬奈米等級粒子間距，扮演了電場增益的關鍵因素。

【0062】 一個好的表面增強拉曼散射基板，不僅要有高的訊號增強能力，更要有良好的訊號空間再現性(reproducibility)，對於實質應用才有可行性。因此為了評估本文各實施例紙基材表面增強拉曼散射基板的訊號再現性，以本發明第一實施例之最佳實施態樣所製之試片為基礎，利用 10^{-5} M 的羅丹明(R6G)，收集了來自同一試片，於 $50 \mu\text{m}^2$ 的面積範圍中，隨機挑選了各自間隔 $5 \mu\text{m}$ 之 10個不同區域進行拉曼訊號的量測，如圖18所示。由圖可以觀察到，於紙上試片各處收集到的拉曼訊號擁有相當好的均一性。

【0063】 藉由上述製程所得的表面增強拉曼散射試片可測量至原子級的低濃度(10-18M)，且具備優良的再現性。當採用價格低廉的紙作為低導熱係數基底，因其具有可撓曲、可拋棄式與生物可分解等特性，進而提供了低成本的表面增強拉曼散射試片，在未來商業化，應用於生醫領域均愈具有相當大的潛能。

【0064】 本發明在上文中已以較佳實施例揭露，然熟習本項技術者應理解的是，該實施例僅用於描繪本發明，而不應解讀為限制本發明之範圍。應注意的是，舉凡與該實施例等效之變化與置換，均應設為涵蓋於本發明之範疇內。因此，本發明之保護範圍當以申請專利範圍所界定者為準。

【符號說明】

【0065】

21：濾紙

23a：金奈米金屬膜

23b：銀奈米金屬膜

25：雷射

27a：金的金屬奈米粒子

27b：銀的金屬奈米粒子

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種表面增強拉曼散射試片，包含：

一低導熱係數基底，具有一第一表面和相對的一第二表面，該第一表面具有複數個起伏微奈米結構；以及複數個金屬奈米粒子，不連續密集排列於該第一表面之該等起伏微奈米結構之上，其中該等金屬奈米粒子沿著該等起伏微奈米結構具有一高低落差，該等金屬奈米粒子形成一具有三維電場增益區域，其中該等金屬奈米粒子之空間密度分布由該第一表面向該第二表面遞減，且該三維電場增益區域之一電場增益強度係向該第二表面遞減。

【第2項】如請求項1所述之表面增強拉曼散射試片，其中該等起伏微奈米結構之該高低落差為100nm~10 μ m。

【第3項】如請求項1所述之表面增強拉曼散射試片，其中該低導熱係數基底之熱傳導係數為0.15W/mK。

【第4項】如請求項4所述之表面增強拉曼散射試片，其中該低導熱係數基底為紙或氧化物基底。

【第5項】如請求項4所述之表面增強拉曼散射試片，其中該低導熱係數基底為紙，且具有複數個纖維結構。

【第6項】如請求項1所述之表面增強拉曼散射試片，更包括一未分佈於該三維電場增益區域之複數個未增益金屬奈米粒子，位在三維電場增益區域之複數個增益金屬奈米粒子的數量較該等未增益金屬奈米粒子的數量多。

【第7項】如請求項1所述之表面增強拉曼散射試片，其中位於該三維電場增益區域之該等金屬奈米粒子具有侷域性表面電漿共振現象（localized surface plasmon resonance）。

【第8項】如請求項8所述之表面增強拉曼散射試片，其中該等金屬奈米粒子包含選自金、銀、鉑、鋁、銅的氧化物及其組合的金屬。

【第9項】一種表面增強拉曼散射試片製備方法，包含：

濺鍍一金屬奈米薄膜於一低導熱係數基底之一表面，其中該低導熱係數基底表面具有複數個起伏微奈米結構；

雷射轟擊該金屬奈米薄膜；以及

形成不連續密集排列的複數個金屬奈米粒子，該等金屬奈米粒子沿著該等起伏微奈米結構具有一高低落差，該等金屬奈米粒子形成一具有三維電場增益區域。

【第10項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中該等起伏微奈米結構之一高低落差為100nm~10um。

【第11項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中該低導熱係數基底係為之熱傳導係數為0.15W/mK。

【第12項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中該低導熱係數基底紙或氧化物基底。

【第13項】如請求項13所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中該低導熱係數基底為紙，且具有複數個纖維結構。

【第14項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中各該金屬奈米粒子之一直徑為10~30nm。

【第15項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中該金屬奈米薄膜係為一不連續金屬片狀島膜。

【第16項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中該金屬奈米薄膜之一厚度係不大於50 nm。

【第17項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中雷射轟擊係該金屬奈米薄膜之步驟係於KrF 準分子雷射波長 248 nm且 125 mJ/cm^2 的能量密度下進行。

【第18項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中濺鍍一金屬奈米薄膜之步驟具有一最佳厚度，若濺鍍該最佳厚度之該金屬奈米薄膜時，該等金屬奈米粒子具有一最大覆蓋率及一最大密度。

【第19項】如請求項10所述之表面增強拉曼散射試片製備方法，其中雷射轟擊該金屬奈米薄膜之步驟具有一最高轟擊次數，若雷射轟擊至最高轟擊次數時，該等金屬奈米粒子會具有一最小覆蓋率及一最小密度。