



(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 I604187 B

(45)公告日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：105122930

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 07 月 20 日

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

G01N21/47 (2006.01)

(71)申請人：行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所(中華民國) AGRICULTURAL CHEMICALS AND TOXIC SUBSTANCES RESEARCH INSTITUTE, COUNCIL OF AGRICULTURE, EXECUTIVE YU (TW)

臺中市霧峰區舊正里光明路 11 號

汎錫科藝股份有限公司(中華民國) PHANSCO CO.,LTD. (TW)

新竹市東區光復路二段 287 號 16 樓

(72)發明人：曾昭銘 TSEN, CHAO-MING (TW)；游竟維 YU, CHING-WEI (TW)；林韶凱 LIN, SHAO-KAI (TW)；徐慈鴻 HSU, TZU-HUNG (TW)；趙偉忠 CHAO, WEI-CHUNG (TW)；文昌榮 WEN, CHANG-JUNG (TW)；王永祥 WANG, YUNG-HSIANG (TW)；李政謙 LI, CHENG-CHIEN (TW)

(74)代理人：陳國璋

(56)參考文獻：

CN 102328809A

CN 102944543B

CN 103822912A

F De Angelis et al, "Breaking the diffusion limit with super-hydrophobic delivery of molecules to plasmonic nanofocusing SERS structures.", Nature Photonics 5, 682-687 (2011).

Yang S et al, "Ultrasensitive surface-enhanced Raman scattering detection in common fluids.", Proc Natl Acad Sci U S A. 2016 Jan 12;113(2):268-73.

審查人員：余家嫻

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：15 共 23 頁

(54)名稱

用以檢驗農藥產品或農作物農藥殘留之表面增強型拉曼光譜檢測方法

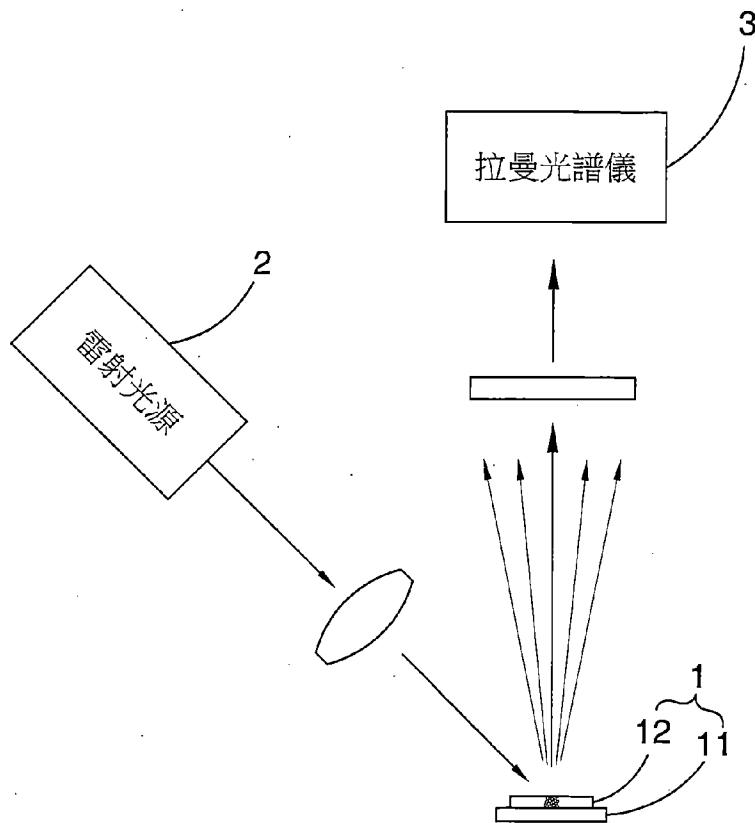
SURFACE-ENHANCED RAMAN SPECTROSCOPY FOR RAPID DETECTION OF ACTIVE INGREDIENTS OF PESTICIDE PRODUCTS AND PESTICIDE RESIDUES IN AGRICULTURAL PRODUCTS

(57)摘要

本發明係關於一種表面增強型拉曼光譜檢測方法，其包括：將萃取淨化後之樣品檢液滴附在一 SERS 基板，以使該樣品檢液之化學分子吸附於該 SERS 基板上。續以高揮發性之有機溶劑滴附於前述吸附有化學分子之 SERS 基板上，以使化學分子復溶於該有機溶劑中，進而浮出該 SERS 基板表面。隨後先以光照射該 SERS 基板，以使該 SERS 基板上之有機溶劑揮發，留下化學分子集中至一濃縮區域；再以雷射光照射該濃縮區域，以使該濃縮區域中之化學分子較深層地吸附於該 SERS 基板，藉以形成固相的一光譜量測區。最後，以雷射光聚焦於該光譜量測區，進行拉曼光譜量測。

This invention relates to a surface-enhanced Raman spectroscopy, which including the following steps: Firstly, a cleaned-up sample is applied onto a SERS substrate and then absorbed into the SERS substrate. Next, a solvent with high volatility is applied onto the SERS substrate to have the sample molecules redissolved into the solvent and out of a surface of the SERS substrate. Later, the SERS substrate is heated with light to have the solvent evaporated and the sample molecules concentrated. The concentrated sample molecules are then illuminated by a laser to enhance the bonding between the sample molecules and the SERS substrate, and finally be subjected to a Raman measurement.

指定代表圖：



符號簡單說明：

- 1 . . . 表面增強型拉曼散射基板
- 11 . . . 矽基板
- 12 . . . 金屬奈米或微米結構
- 2 . . . 雷射光源
- 3 . . . 拉曼光譜儀

第一圖

**公告本**

申請日: 105.11.20

IPC分類:

G01N 21/65 (2006.01)

G01N 21/47 (2006.01)

**【發明摘要】**

【中文發明名稱】 用以檢驗農藥產品或農作物農藥殘留之表面  
增強型拉曼光譜檢測方法

【英文發明名稱】 SURFACE-ENHANCED RAMAN  
SPECTROSCOPY FOR RAPID DETECTION OF ACTIVE INGREDIENTS  
OF PESTICIDE PRODUCTS AND PESTICIDE RESIDUES IN  
AGRICULTURAL PRODUCTS

**【中文】**

本發明係關於一種表面增強型拉曼光譜檢測方法，其包括：將萃取淨化後之樣品檢液滴附在一 SERS 基板，以使該樣品檢液之化學分子吸附於該 SERS 基板上。續以高揮發性之有機溶劑滴附於前述吸附有化學分子之 SERS 基板上，以使化學分子復溶於該有機溶劑中，進而浮出該 SERS 基板表面。隨後先以光照射該 SERS 基板，以使該 SERS 基板上之有機溶劑揮發，留下化學分子集中至一濃縮區域；再以雷射光照射該濃縮區域，以使該濃縮區域中之化學分子較深層地吸附於該 SERS 基板，藉以形成固相的一光譜量測區。最後，以雷射光聚焦於該光譜量測區，進行拉曼光譜量測。

**【英文】**

This invention relates to a surface-enhanced Raman spectroscopy, which including the following steps: Firstly, a cleaned-up sample is applied onto a SERS substrate and then absorbed into the SERS substrate. Next, a solvent with high volatility is applied onto the SERS substrate to have the sample molecules redissolved into the solvent and out of a surface of the

SERS substrate. Later, the SERS substrate is heated with light to have the solvent evaporated and the sample molecules concentrated. The concentrated sample molecules are then illuminated by a laser to enhance the bonding between the sample molecules and the SERS substrate, and finally be subjected to a Raman measurement.

【指定代表圖】 第一圖

【代表圖之符號簡單說明】

表面增強型拉曼散射基板1

矽基板11

金屬奈米或微米結構12

雷射光源2

拉曼光譜儀3

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 用以檢驗農藥產品或農作物農藥殘留之表面  
增強型拉曼光譜檢測方法

【英文發明名稱】 SURFACE-ENHANCED RAMAN  
SPECTROSCOPY FOR RAPID DETECTION OF ACTIVE  
INGREDIENTS OF PESTICIDE PRODUCTS AND PESTICIDE  
RESIDUES IN AGRICULTURAL PRODUCTS

### 【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種農藥檢驗方法，尤其是一種利用表面增強型拉曼光譜技術（Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, SERS）搭配特殊之物質濃縮技術來進行農藥檢驗之拉曼光譜檢測方法。

### 【先前技術】

【0002】 台灣的精緻農業對農藥產品使用氾濫，隱藏了許多農藥殘留過高的問題，過去幾年在稻米類、茶葉及各類蔬果皆被檢出超標的農藥殘留，如何建立農作物上的農藥殘留的現場檢測監控機制，已是一項相當重要的課題。

【0003】 目前能對農藥的成份及濃度做檢測的儀器為液相層析串聯質譜儀（Liquid chromatography tandem mass spectrometer, LC/MS-MS）或氣相層析串聯質譜儀（Gas chromatography tandem mass spectrometer, GC/MS-MS），其具有檢測靈敏度高之優點，但其缺點是僅能在實驗室進行，且耗費時間較長，尤其是儀器在進行檢測前還需先利用 QuEChERS 方法（Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe）對樣品進行萃取及淨化處理，此 QuEChERS 方法大約需花費 2

個小時，才能從樣品中取得所需要的樣品檢液，因此很難在第一時間做監控，阻絕農藥殘留的問題。

【0004】 有別於實驗室之質譜儀檢測，台灣專利第 M506286 號揭露另一種成品農藥檢測裝置，其係利用 SERS 基板搭配拉曼光譜儀達到快速檢出成品農藥的有效成分之目的。一般而言，拉曼光譜技術之成敗最關鍵因素是拉曼訊號之強度。為增強拉曼訊號，該專利在取得拉曼訊號前，待測樣品會先經歷一雷射前置照射程序，也就是增加雷射光照射時間約 2-3 秒，以增進農藥分子與 SERS 基板上的金屬結構之吸附程度，藉此提高拉曼訊號之強度。

【0005】 另一方面，在中國申請之 CN104749159 及 CN104931483 等專利案亦揭露類似之拉曼光譜檢測方法，以應用在農藥殘留之檢驗。其中，為增強拉曼訊號之強度，該些專利係先將該待測樣品之處理液與金屬奈米材料增強劑（例如：銀或金奈米材料）混合而製成，再進行雷射光照射，以得到足夠的拉曼光譜。

#### 【發明內容】

【0006】 有別於先前技術，本發明提供另一種能於農藥或化學物質檢測時增強拉曼訊號的方法，其主要是結合傳統之表面增強型拉曼光譜檢測技術以及獨創之濃縮技術來對農藥有效成份及農作物農藥殘留進行快速的檢測，藉由此特殊之濃縮技術能有效地提升拉曼訊號之強度，大大提高檢測靈敏度及可靠度。

【0007】 具體而言，本發明之表面增強型拉曼光譜檢測方法，包括底下步驟：(a). 對一待測樣品進行萃取及淨化，形成一樣品檢液；(b). 將萃取淨化後之樣品檢液滴附在一 SERS 基板，以使該樣品檢液之化學分子吸附於該 SERS 基板上；(c). 續以高揮發性之有機溶劑滴附於前述吸附有化學分子之 SERS 基板上，以使化學分子復溶於該有機溶劑中，進而浮出該 SERS 基板表面；(d). 以光照射該 SERS 基板，以使該 SERS 基板上之有機溶劑受熱揮發，而留下之化學分子

則逐漸集中至一濃縮區域；(e). 再以較高能量之雷射光照射該濃縮區域，以使該濃縮區域中之化學分子較深層地吸附於該 SERS 基板，與其中的奈米金屬材料緊密結合，藉以形成固相的一光譜量測區；及(f).以雷射光聚焦於該光譜量測區，進行拉曼光譜量測。

【0008】 較佳地，步驟(a)中進行萃取所使用之萃取溶劑係選自丙酮、甲醇、乙腈及含醋酸之乙腈溶液所組成之群組。

【0009】 較佳地，步驟(a)中所進行之淨化係使萃取後之待測液依序通過一淨化管柱以及一微米孔徑之濾膜。

【0010】 較佳地，步驟(c)中所使用之該高揮發性的有機溶劑係由丙酮、甲醇及乙醇中之至少一者稀釋而成。

【0011】 較佳地，該高揮發性之有機溶劑係以去離子水、乙腈及甲醇中之任一者稀釋。

【0012】 較佳地，步驟(d)中所使用的光係紅外線，其波長介於 760nm~2000nm，且其光源之輸出功率大於 1 mW；而步驟(e)中所使用的紅外線之波長介於 760nm~1500nm，且其光源之輸出功率不大於 500 mW。

【0013】 較佳地，步驟(e)中所使用之雷射光係選用單一波長的雷射光。

【0014】 從另一角度觀之，本發明係提供一種化學物質濃縮方法，其包括底下步驟：(a).將一樣品檢液滴附在一金屬基板（例如 SERS 基板或其他純金屬的基板），以使該樣品檢液之化學分子吸附於該金屬基板上；(b). 續以高揮發性之有機溶劑（例如以去離子水稀釋的丙酮容液）滴附於前述吸附有化學分子之金屬基板上，以使化學分子復溶於該有機溶劑中，進而浮出該金屬基板表面；及(c).使該金屬基板上之有機溶劑受熱揮發，留下之化學分子逐漸集中至一濃縮區域。

【0015】 較佳地，步驟(c)係以較低能量之紅外線照射於該金屬基板上，以使該金屬基板上之有機溶劑快速揮發。

【0016】 較佳地，該化學物質濃縮方法更包括在步驟(c)之後，

續以較高能量之紅外線雷射光照射該濃縮區域，使化學分子更加緊密地吸附於該金屬基板上。

【0017】 此化學物質濃縮方法除了可應用在拉曼光譜檢測，但不限於此，亦可以應用在其他的領域。

#### 【圖式簡單說明】

##### 【0018】

第一圖係本發明之拉曼光譜檢測系統的簡易示意圖。

第二圖係本發明之拉曼光譜檢測方法的流程示意圖。

第三至十圖係顯示本發明以 SERS 基板 1 為載具進行化學物質濃縮的過程。

第十一圖係利用本發明方法檢測成品農藥芬殺松（Fenthion）的拉曼檢測光譜圖。

第十二圖係利用本發明方法檢測成品農藥加保利（Carbaryl）的拉曼檢測光譜圖。

第十三圖係利用傳統方法檢測成品農藥三落松（Triazophos）的拉曼檢測光譜圖，其中滴附於 SERS 基板之分子並未經過如第五至十圖所示之復溶濃縮過程。

第十四圖係利用本發明方法檢測成品農藥三落松（Triazophos）的拉曼檢測光譜圖，其中滴附於 SERS 基板之分子有經過復溶濃縮過程。

第十五圖係利用本發明方法檢測溼稻穀中殘留有農藥三落松（Triazophos）及農藥芬殺松（Fenthion）的拉曼檢測光譜圖。

#### 【實施方式】

【0019】 第一及二圖顯示本發明之農藥檢測系統及方法的一個較佳實施例，其中該農藥檢測方法主要是以一表面增強型拉曼散射基板 1（Surface-Enhanced Raman Scattering Substrate，下稱：SERS



基板) 作為檢測載具, 並搭配一雷射光源 2 及一拉曼光譜儀 3 (Raman spectrometer) 來達成現場及時農藥檢測, 又可稱為表面增強型拉曼光譜檢測方法。其中, 該 SERS 基板 1 包括一面積為 2.2 mm x 2.2 mm 的矽基板 11 及利用物理氣相沉積技術成長在之該矽基板 11 上的一金屬奈米或微米結構 12, 其中金屬可選自金、銀、銅等材料, 例如厚度為 320nm 之銀奈米柱結構 (silver nanopillars)。

【0020】 參閱第二圖, 本發明之表面增強型拉曼光譜檢測方法大致可分為前處理、濃縮及量測等三大階段。其中, 前處理階段可利用本發明所述之簡便的萃取淨化 (步驟 201) 方法即可, 或是採用較為費時的傳統 QuEChERS 方法。濃縮階段主要係如第二圖虛線框內所包含之靜置乾燥 (步驟 202)、分子復溶 (步驟 203)、溶劑揮發 (步驟 204) 及附著結合 (步驟 205) 等四個步驟; 而量測階段主要是進行拉曼散射光譜之量測 (步驟 206), 詳如下述:

【0021】 具體而言, 本發明之表面增強型拉曼光譜檢測方法包括底下步驟: 首先, 對一待測樣品 (例如農藥產品或農作物) 進行萃取及淨化 (步驟 201), 形成一樣品檢液。在此步驟中, 可將樣品粉碎或直接取適當樣品數量, 再加入萃取溶劑以振盪或搖晃方式混合。其中, 該萃取溶劑可選自丙酮、甲醇、乙腈及含醋酸之乙腈溶液等有機溶劑。接著, 取 20mL~0.2mL 的萃取液, 並使其依序通過一淨化管柱以及一微米孔徑之濾膜, 以進行淨化得到一樣品檢液, 以完成前處理階段。

【0022】 接著, 如第三圖所示, 將取 10 $\mu$  L~0.2 $\mu$  L 萃取淨化後之樣品檢液 4 滴附在一 SERS 基板 1。待靜置乾燥 (步驟 202) 後, 該樣品檢液 4 之化學分子 41 將分散並吸附於該 SERS 基板 1 上, 與該金屬奈米或微米結構 12 結合, 如第四圖所示。

【0023】 如第五圖所示, 續以高揮發性之有機溶劑 5 滴附於前述吸附有化學分子 41 之 SERS 基板 1 上, 以使化學分子 41 復溶於該有機溶劑 5 中 (步驟 203), 進而浮出該 SERS 基板 1 的表面, 如第六圖所示。其中, 該高揮發性之有機溶劑係由丙酮、甲醇及乙醇

中之至少一者稀釋而成，且稀釋劑可選用去離子水、乙腈及甲醇中之任一者稀釋。

【0024】 緊接著，如第七圖所示，先以光束大但能量較低之紅外線 L1 照射於該 SERS 基板 1 上，以使該 SERS 基板 1 上之有機溶劑 5 受熱揮發（步驟 204），如第八圖所示，而留下之化學分子 41 則逐漸集中至一濃縮區域（未標號），如第九圖所示。其中，該紅外線 L1 之波長可介於 760nm~2000nm，可選用多波長的紅外線，且其光源之輸出功率大於 1 mW，目的在使有機溶劑快速揮發。

【0025】 隨後，參閱第九及十圖，再以光束小但能量較高之紅外線 L2 照射該濃縮區域，以使該濃縮區域中之化學分子 41 較深層地吸附於該 SERS 基板 1，與其中的奈米金屬材料緊密結合（步驟 205），以形成固相的一光譜量測區（未標號），完成濃縮階段。其中，紅外線 L2 之波長可介於 760nm~1500nm，較佳係選用單一波長的紅外線雷射光，且其光源之輸出功率不大於 500 mW，目的在加強化學分子與奈米金屬材料之結合強度。

【0026】 復參閱第一圖，待濃縮階段完成後，便可進入量測階段，也就是以該雷射光源 2 之雷射光聚焦於該光譜量測區，著手進行拉曼光譜量測。當濃縮且吸附於 SERS 基板之奈米銀粒子的化學分子（農藥分子）被雷射聚焦而激發出拉曼光譜，藉由官能基結構差異所表現的拉曼光譜特徵不同，據以判斷化學分子結構。其中，該雷射光之波長可選自 1064nm, 785nm、633nm、532nm 或 514nm 等可見光或近紅外光之範圍，而拉曼光譜之拉曼位移（Raman Shift）量測範圍則介於 200 cm<sup>-1</sup> 至 4000 cm<sup>-1</sup>。

【0027】 綜上所述，當該樣品檢液 4 滴附於 SERS 基板 1 後，檢液中的待測物分子（也就是農藥分子）將會與檢液中的其他非待測物分子競爭吸附於 SERS 基板 1 表面，待靜置乾燥（步驟 202）後，該些分子會廣泛分布並吸附於 SERS 基板 1。隨後再以特定溶劑配比混合之溶液將吸附的待測物分子復溶（步驟 203），並以適當功率之光照進行濃縮（步驟 204-205），藉由此一化學物質濃縮方法，可有

效集中農藥分子，增強拉曼光譜訊號。值得注意的是，復溶時使用之該溶液（也就是高揮發有機溶劑）須兼具可揮發及將待測物分子復溶之特性，並保護待測物分子免於在光照濃縮過程被功率過強的雷射光破壞而降解分子結構，造成訊號強度降低或誤判。

【0028】 藉由上述方法，農作物樣品經由簡易萃取及快速淨化濃縮步驟後，滴附於 SERS 基板進行拉曼光譜檢測，可在現場十分鐘之內完成，並由電腦判讀得知殘留的化學物質種類及含量，可大大增進農藥檢測效率，在第一時間阻絕不合格之農藥品。

【0029】 底下將列舉幾項實例詳細說明：

【0030】 實驗一：成品農藥芬殺松（Fenthion）之檢測

【0031】 請參閱第十一圖成品農藥芬殺松之拉曼檢測光譜圖，其中測試樣品為 50%濃度、廠牌利霸山之芬殺松乳劑（有機磷類）。首先，將該測試樣品利用丙酮將濃度稀釋至 100ppm，迴旋振盪 30 秒後，取 0.5ml 混合液通過一淨化管柱，該淨化管柱含適量之 C18 及 PSA 粉末，且該淨化管柱串接一 0.2  $\mu$  m 孔徑之 Nylon 過濾片，以進行過濾。隨後再利用微量滴管取 2 $\mu$  l 淨化後之樣品檢液滴在 SERS 基板上，等待乾燥。其中，該 SERS 基板具有面積為 2.2 mm x 2.2 mm 之矽基板以及沉積在該矽基板上厚度 320nm 的銀奈米柱結構。乾燥後之農藥分子將吸附在銀奈米柱結構上，再以 2 $\mu$  l 的丙酮:去離子水（1:1,v/v）混合液（也就是高揮發有機溶劑）滴附於 SERS 基板使農藥分子復溶。隨後先以波長 808nm、功率 200 mW~300 mW 的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使有機溶劑快速揮發，留下濃縮的農藥分子。接著，再以波長 785 nm、功率 100 mW 的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使濃縮的農藥分子進一步吸附在銀奈米柱結構上，完成檢品的製備。最後在拉曼光譜量測時，雷射光源係採用 785nm 之波長、使用功率為 80 mW、透鏡倍率 4X、積分時間為 500ms、平均次數為 32 次。由量測結果得知，芬殺松農藥分子之拉曼檢測光譜主要特徵峰值位於 1044  $\text{cm}^{-1}$ 、1224  $\text{cm}^{-1}$ 、1569  $\text{cm}^{-1}$  等處，與標準樣品的光譜一致。值得注意的是，拉曼檢測光譜中之 520

cm-1 處為 SERS 基板下層之矽基板本身之拉曼訊號，並非農藥分子使然。此檢測方式整體檢測時間少於 10 分鐘，可立即定性判斷成品農藥之有效成份種類。

**【0032】 實驗二：成品農藥加保利之檢測**

**【0033】** 請參閱第十二圖成品農藥加保利 (Carbaryl) 之拉曼檢測光譜圖，其中測試樣品為 85%濃度、可溼性粉劑型的加保利農藥 (胺基甲酸鹽類)。首先，將該測試樣品利用丙酮將濃度稀釋至 100ppm，迴旋振盪 30 秒後，取 0.5ml 混合液通過一淨化管柱，該淨化管柱含適量之 C18 及 PSA 粉末，且該淨化管柱串接一 0.2  $\mu$  m 孔徑之 Nylon 過濾片，以進行過濾。隨後再利用微量滴管取 2 $\mu$  l 淨化後之樣品檢液滴在 SERS 基板上，等待乾燥。其中，該 SERS 基板具有面積為 2.2 mm x 2.2 mm 之矽基板以及沉積在該矽基板上之厚度 320nm 的銀奈米柱結構。乾燥後農藥分子吸附在該銀奈米柱結構上，再以 2 $\mu$  l 的甲醇:去離子水 (1:1,v/v) 混合液 (也就是高揮發有機溶劑) 滴附於 SERS 基板使農藥分子復溶。隨後先以波長 808nm、功率 200 mW~300 mW 的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使有機溶劑快速揮發，留下濃縮的農藥分子。接著，再以波長 785 nm、功率 100 mW 的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使濃縮的農藥分子進一步吸附在銀奈米柱結構上，完成檢品的製備。而在進行拉曼光譜量測時，雷射光源係採用 785nm 之雷射波長、使用功率為 100 mW、透鏡倍率 4X、積分時間為 500ms、平均次數為 32 次。由量測結果得知，加保利農藥分子之拉曼檢測光譜主要特徵峰值位於 1385 cm-1 及 1420 cm-1 等處，與標準樣品光譜一致。同樣地，拉曼檢測光譜中之 520 cm-1 處為 SERS 基板下層之矽基板本身之拉曼訊號，並非農藥分子使然。

**【0034】 實驗三：成品農藥三落松有/無濃縮之檢測比較**

**【0035】** 請參閱第十三圖成品農藥三落松 (Triazophos) 之拉曼檢測光譜圖，其中係將農藥成品利用丙酮將濃度稀釋至 10ppm，迴旋振盪 30 秒後，取 0.5ml 混合液通過一淨化管柱，該淨化管柱含適量之 C18 及 PSA 粉末，且該淨化管柱串接一 0.2  $\mu$  m 孔徑之 Nylon

過濾片，以進行過濾。隨後再利用微量滴管取  $2\mu\text{l}$  淨化後之樣品檢液滴在 SERS 基板上，該 SERS 基板具有面積為  $2.2\text{ mm} \times 2.2\text{ mm}$  之矽基板以及沉積在該矽基板上之厚度  $320\text{nm}$  的銀奈米柱結構。乾燥後農藥分子吸附將在該銀奈米柱結構上。此時，若乾燥後直接以拉曼光譜儀量測即可得到如第十三圖所示之拉曼光譜圖。反之，若乾燥後使農藥分子繼續完成復溶濃縮程序再進行拉曼光譜量測，即可得到如第十四圖所示之拉曼光譜圖。換言之，前者的實驗中，樣品檢液沒有進行復溶濃縮程序，可作為後者有進行復溶濃縮程序者之參照。

【0036】 詳而言之，若乾燥後續以  $2\mu\text{l}$  的甲醇:去離子水 (1:1,v/v) 混合液 (也就是高揮發有機溶劑) 滴附於 SERS 基板使農藥分子復溶，隨後再進行照光濃縮。其中，在濃縮過程中係以波長  $808\text{nm}$ 、功率  $200\text{ mW}\sim 300\text{ mW}$  的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使有機溶劑快速揮發，留下濃縮的農藥分子。接著，再以波長  $785\text{ nm}$ 、功率  $100\text{ mW}$  的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使濃縮的農藥分子進一步吸附在銀奈米柱結構上，完成檢品的製備。最後再置入拉曼光譜儀進行 SERS 光譜量測，得到如第十四圖之拉曼光譜圖，其中，拉曼光譜量測之雷射光源係採用  $785\text{nm}$  之波長、使用功率為  $80\text{ mW}$ 、透鏡倍率  $4\times$ 、積分時間為  $500\text{ms}$ 、平均次數為  $32$  次。由量測結果得知，三落松農藥分子之拉曼光譜主要特徵峰值位於  $983\text{ cm}^{-1}$ 、 $1004\text{ cm}^{-1}$ 、 $1410\text{cm}^{-1}$ 、 $1548\text{ cm}^{-1}$ 、及  $1599\text{ cm}^{-1}$  處等，與標準樣品光譜一致。更重要的是，第十四圖之拉曼光譜圖的訊號強度較第十三圖增強將近  $5$  倍，由此可見本發明的復溶濃縮方法確實能增強拉曼訊號，大大提升檢測靈敏度。

【0037】 實驗四：農作物之多種農藥殘留檢測

【0038】 第十五圖係溼稻穀殘留有三落松 (Triazophos) 及芬殺松 (Fenthion) 等農藥之拉曼檢測光譜圖。一般而言，稻穀在烘乾及去殼後，在成為糙米及白米時之農藥殘留濃度將遠少於  $5\text{ppm}$ ，故而在本實驗中，測試樣品是在溼稻穀中添加有  $5\text{ppm}$  的三落松

(Triazophos) 及 5ppm 的芬殺松 (Fenthion)。首先，將上述 10 克測試樣品與 10ml 丙酮混合後，手搖 30 秒並取出 1ml 萃取溶液通過一淨化管柱，該淨化管柱內需同時加入 PSA、C18、MgSO<sub>4</sub> 及 GCB 等粉末，在取得淨化溶液後，取 2 $\mu$ l 該溶液（也就是樣品檢液）滴在如前所述之 SERS 基板（320nm；銀奈米柱結構），等待乾燥，直至農藥分子吸附在該銀奈米柱結構上，再以 2 $\mu$ l 的甲醇:去離子水（1:1,v/v）混合液（也就是高揮發有機溶劑）滴附於 SERS 基板使農藥分子復溶，並先以波長 808 nm、功率 200 mW~300 mW 的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使有機溶劑快速揮發，留下濃縮的農藥分子，再以波長 785 nm、功率 100 mW 的紅外線雷射光照射該 SERS 基板，使濃縮的農藥分子進一步深層吸附在銀奈米柱結構上，完成檢品的製備。最後再進行拉曼光譜量測，其中雷射光係採用 785 nm 之波長、使用功率為 100 mW、透鏡倍率 4X、積分時間為 500ms、平均次數為 32 次。由光譜圖可知，其主要特徵峰值位於 983 cm<sup>-1</sup>，1004 cm<sup>-1</sup> 係三落松標準分子之主要位置，而 1044 cm<sup>-1</sup>、1224 cm<sup>-1</sup>、1569 cm<sup>-1</sup> 為芬殺松農藥標準分子之主要位置，其拉曼峰之強度可做為農藥殘留半定量之判定依據。因此，本發明亦可同時用來檢測農作物上之多種農藥殘留。

【0039】 無論如何，任何人都可以從上述例子的說明獲得足夠教導，並據而了解本發明內容確實不同於先前技術，且具有產業上之利用性，及足具進步性。是本發明確已符合專利要件，爰依法提出申請。

#### 【符號說明】

#### 【0040】

表面增強型拉曼散射基板1

矽基板11

金屬奈米或微米結構12

雷射光源2

拉曼光譜儀3

樣品檢液4

化學分子（農藥分子）41

有機溶劑5

紅外線L1

紅外線L2

## 【發明申請專利範圍】

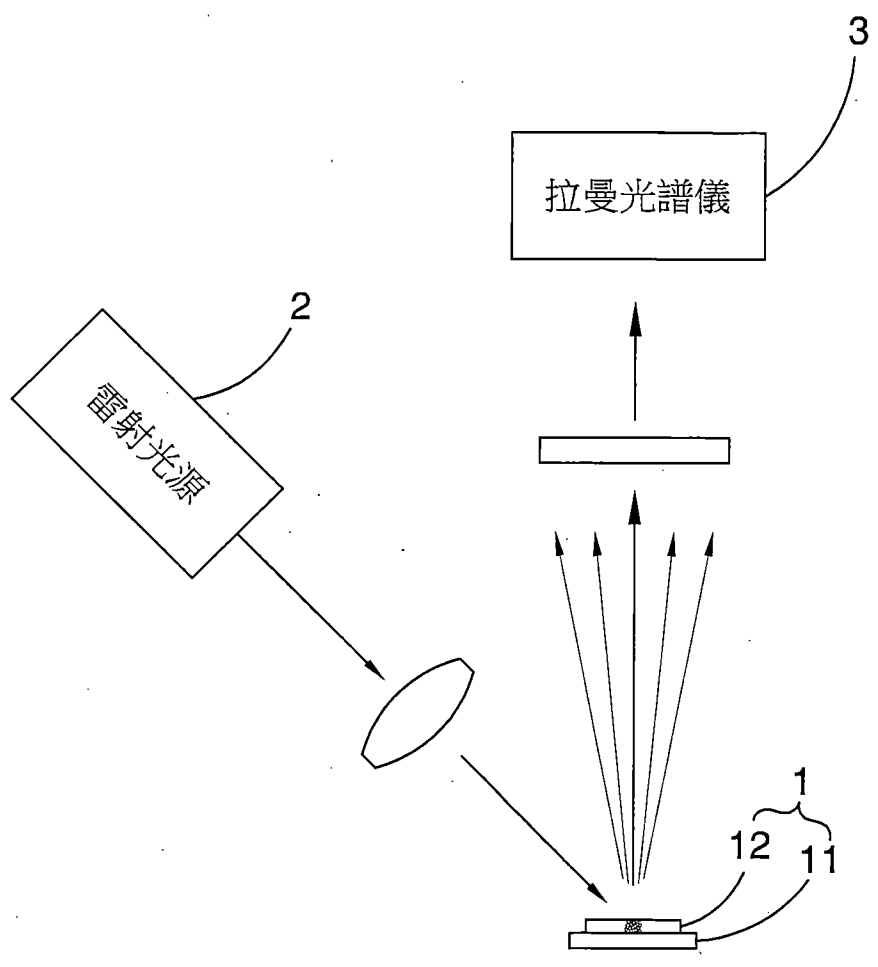
- 【第1項】 一種表面增強型拉曼光譜檢測方法，包括底下步驟：
- (a). 對一待測樣品進行萃取及淨化，形成一樣品檢液；
  - (b). 將萃取淨化後之樣品檢液滴附在一SERS基板，以使該樣品檢液之化學分子吸附於該SERS基板上；
  - (c). 續以高揮發性之有機溶劑滴附於前述吸附有化學分子之SERS基板上，以使化學分子復溶於該有機溶劑中，進而浮出該SERS基板表面；
  - (d). 以光照射該SERS基板，以使該SERS基板上之有機溶劑受熱揮發，而留下之化學分子則逐漸集中至一濃縮區域；
  - (e). 再以雷射光照射該濃縮區域，以使該濃縮區域中之化學分子較深層地吸附於該SERS基板，藉以形成固相的一光譜量測區；及
  - (f). 以雷射光聚焦於該光譜量測區，進行拉曼光譜量測。
- 【第2項】 如申請專利範圍第1項所述之，其中步驟(a)中進行萃取所使用之萃取溶劑係選自丙酮、甲醇、乙腈及含醋酸之乙腈溶液所組成之群組。
- 【第3項】 如申請專利範圍第1項所述之，其中步驟(a)中所進行之淨化係使萃取後之待測液依序通過一淨化管柱以及一微米孔徑之濾膜。



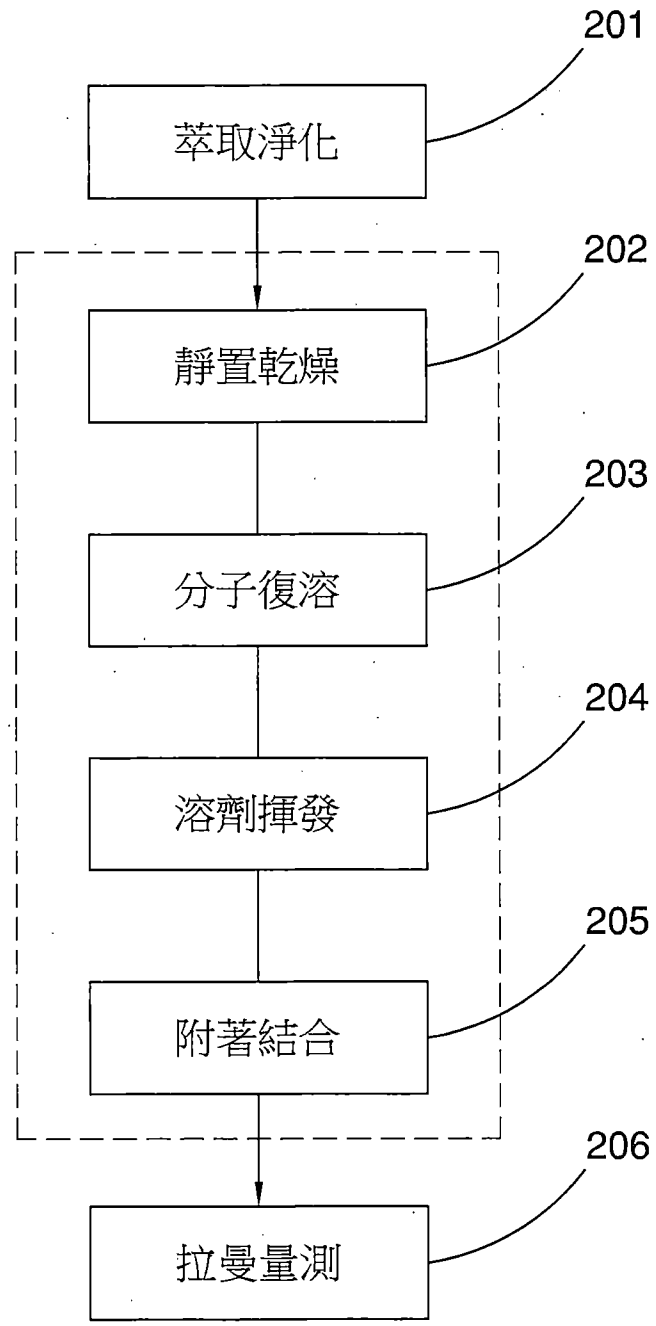
- 【第4項】 如申請專利範圍第1項所述之表面增強型拉曼光譜檢測方法，其中步驟(c)中所使用之該高揮發性的有機溶劑係由丙酮、甲醇及乙醇中之至少一者稀釋而成。
- 【第5項】 如申請專利範圍第4項所述之表面增強型拉曼光譜檢測方法，其中用來稀釋成該高揮發性之有機溶劑的稀釋劑包括去離子水、乙腈及甲醇中之任一者。
- 【第6項】 如申請專利範圍第5項所述之表面增強型拉曼光譜檢測方法，其中步驟(d)中所使用的光係紅外線，其波長介於760nm~2000nm，且其光源之輸出功率大於1 mW；而步驟(e)中所使用的雷射光之波長介於760nm~1500nm，且其光源之輸出功率不大於500 mW。
- 【第7項】 如申請專利範圍第6項所述之表面增強型拉曼光譜檢測方法，其中步驟(e)中所使用之紅外線係選用單一波長的雷射光。
- 【第8項】 一種化學物質濃縮方法，包括底下步驟：
- (a).將一樣品檢液滴附在一金屬基板，以使該樣品檢液之化學分子吸附於該金屬基板上；
  - (b).續以高揮發性之有機溶劑滴附於前述吸附有化學分子之金屬基板上，以使化學分子復溶於該有機溶劑中，進而浮出該金屬基板表面；及
  - (c).使該金屬基板上之有機溶劑受熱揮發，留下之化學分子逐漸集中至一濃縮區域。

- 【第9項】 如申請專利範圍第8項所述之化學物質濃縮方法，其中步驟(c)係以較低能量之紅外線照射於該金屬基板上，以使該金屬基板上之有機溶劑快速揮發。
- 【第10項】 如申請專利範圍第9項所述之化學物質濃縮方法，更包括在步驟(c)之後，續以較高能量之紅外線雷射光照射該濃縮區域，使化學分子更加緊密地吸附於該金屬基板上。

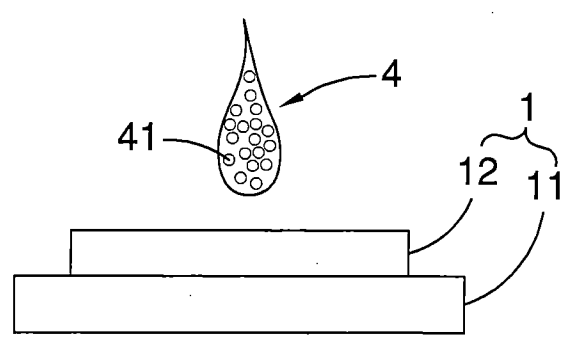
【發明圖式】



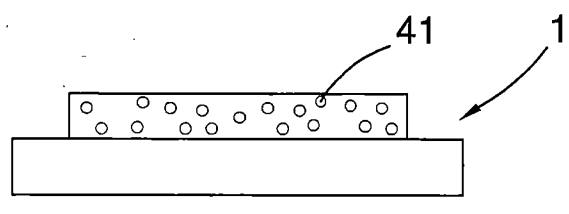
第一圖



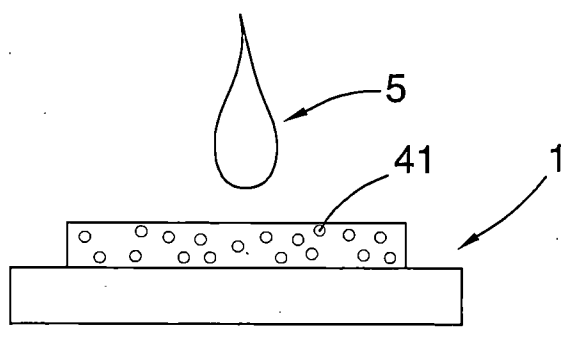
第二圖



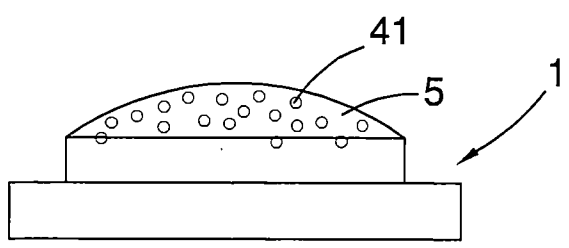
第三圖



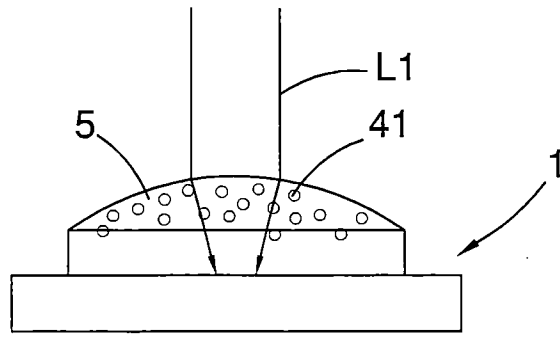
第四圖



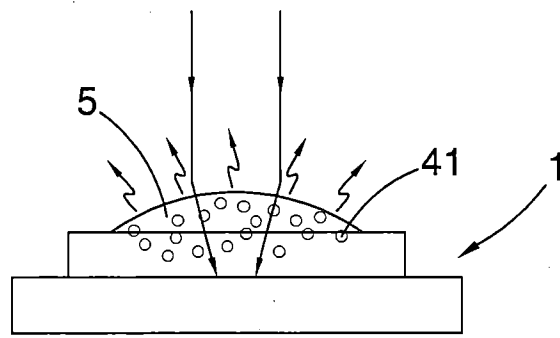
第五圖



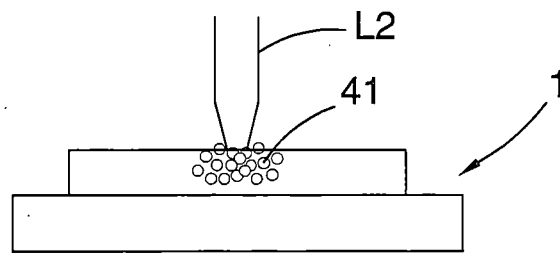
第六圖



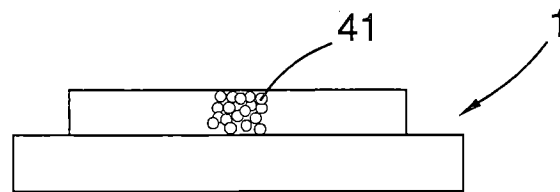
第七圖



第八圖



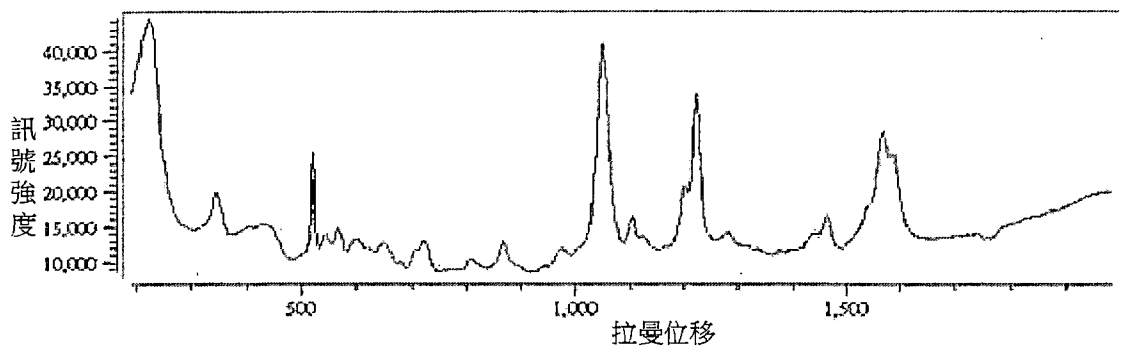
第九圖



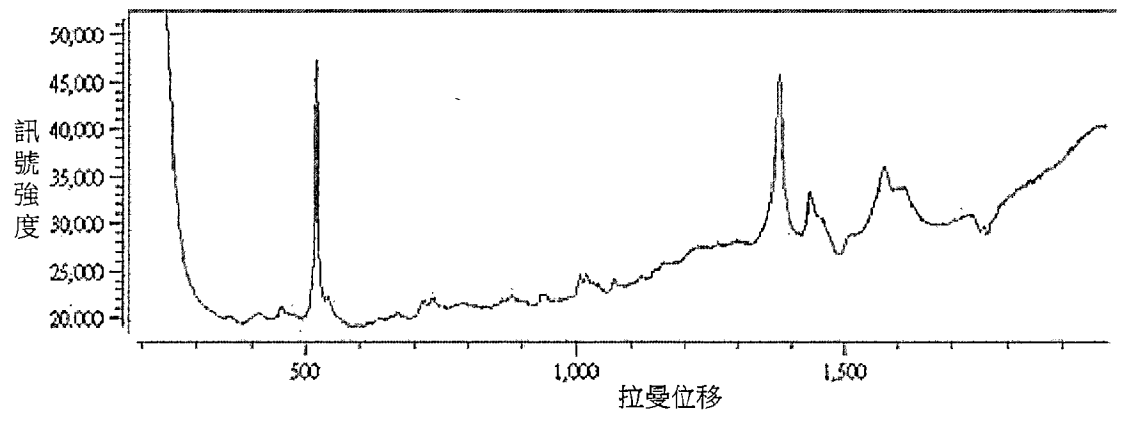
第十圖

10512230

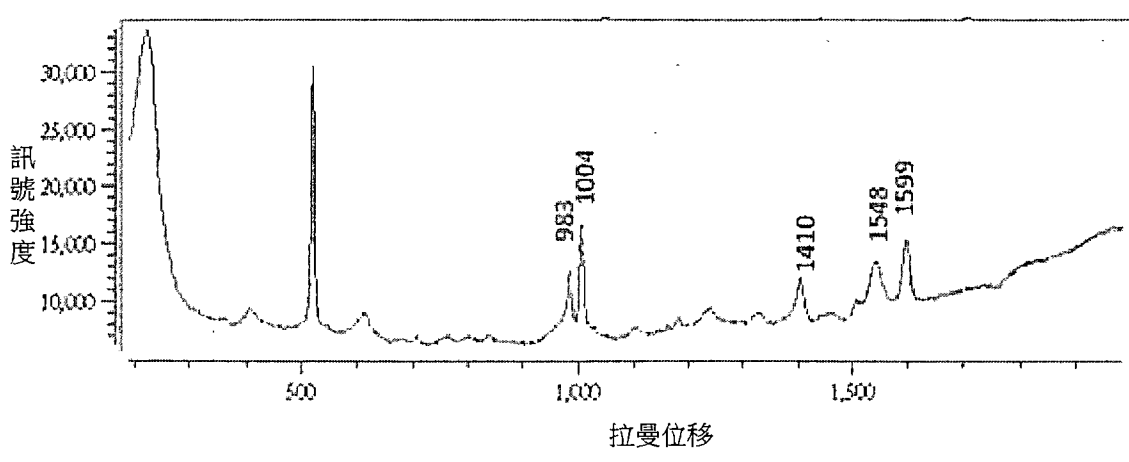
105年8月4日 修正



第十一圖



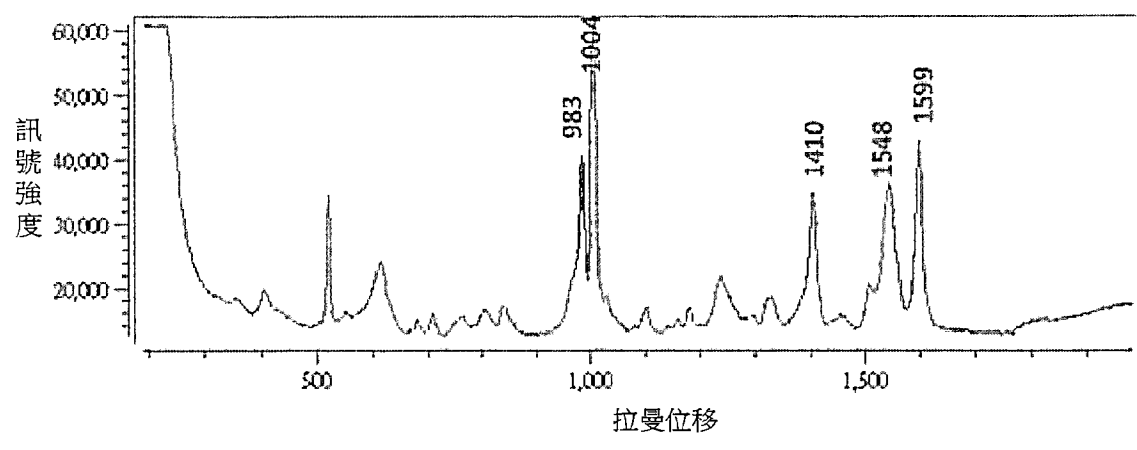
第十二圖



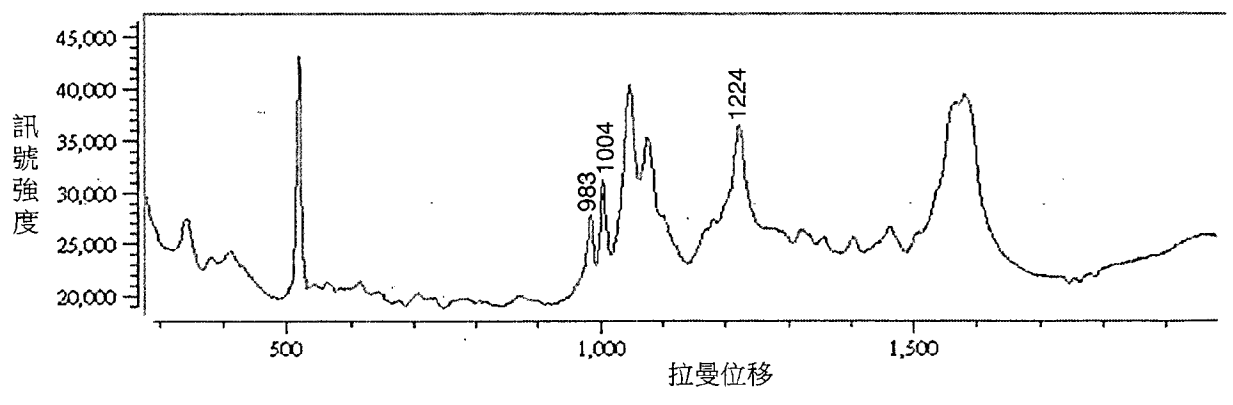
第十三圖



1958年11月修正



第十四圖



第十五圖