

國立臺灣大學理學院化學研究所



碩士論文

Department of Chemistry

College of Science

National Taiwan University

Master Thesis

利用表面增強拉曼光譜法基質在不受光譜干擾的區域
對分子進行研究

Study of Molecules in Optical Interference-Free Spectra
Region with Fabricated SERS Substrate

洪子堯

Zi-Yao Hong

指導教授：江建文 博士

Advisor: Kien Voon Kong, Ph.D.

中華民國 107 年 7 月

July 2018

致謝



在完成這篇論文的過程中，首先是要謝謝指導教授江建文博士，在關於實驗和拉曼的知識上的許多指導，除了在論文上的指導以外，還有在口試之前給的意見和提醒都讓我可以對口試有更完整的準備。此外，老師也常常分享自己工作相關的經驗，讓我的視野更加的寬闊。除了指導教授外，也相當感謝兩位口委游景晴和郭俊宏老師的意見，讓我注意到我的題目有不同的應用面向以及了解到不同領域的知識，並且也提醒了我沒想到的細節及觀念。除了老師之外，在實驗的過程中需要用到許多不同的儀器，感謝電子顯微鏡室的林錦燕女士，楊雅雲小姐，紀素貞女士在電子顯微鏡的原理以及實際操作上的指導，還有在無塵室裡提供機台教育訓練的林順區博士和各個機台的助教，讓我可以了解機台的操作和原理並且完成實驗。也很感謝實驗室的各個同學奇睿，靖育，毅橙，尚偉在實驗上和其他實驗室的事情上的幫忙。除了自己的實驗題目以外，有的時候也會有老師的合作者來做實驗，在帶領他們認識環境，以及使用實驗室儀器的過程中，自己也見識到了很多不同種類的實驗，讓我不會只侷限在自己的實驗上面。此外在研究所的其他課程中，也讓我認識到各種不同領域的化學知識，感謝每個課堂的老師的教導，最後最重要的要感謝我的父母，你們的恩情是不能用三言兩語可以描寫的，未來我會努力回報你們的恩情。



摘要

在 1800 cm^{-1} 到 2500 cm^{-1} 的區域是比較不會受到來自醣類，蛋白質等生物分子干擾的區域，然而許多具有參鍵的分子在這個位置則是有明顯的訊號，因此本論文選擇幾個具有 CC 三鍵或是 CN 三鍵的分子來做測試，分別為 benzonitrile, 4-iodophthalonitrile, (triphenylsilyl)acetylene, 1,2-bis(triphenylsilyl)acetylene，並且測量他們的訊號是否在這個區域，並且在確認了他們在這個區域有 SERS(Surface Enhancement Raman Spectroscopy,SERS)訊號之後，更進一步地把溶液進行稀釋，得到強度對溶液的關係圖，這些圖也符合常見的 SERS 訊號對濃度作圖所得到的吸附曲線。並且也透過測試他們在鍍金 SERS 基質上的作用力來評估他們做為發訊分子的可行性。

除了找尋在 1800 cm^{-1} 到 2500 cm^{-1} 波長範圍有訊號的適當的分子以外，具有靈敏度，再現性等特性的 SERS 基質在感測應用上也是很重要的一環，因此本論文也試著以無遮罩反應式離子蝕刻(maskless reactive ion etching, maskless RIE)製程來製造 SERS 基質，因為最終的 SERS 基質是先透過 RIE 製程，接著再用電子束蒸鍍的方式鍍上金，因此調整 RIE 參數像是蝕刻氣體流速比例，蝕刻功率對於製造出可以產生 SERS 訊號的奈米結構是相當關鍵的，並且所產生的奈米結構可以透過掃描式電子顯微鏡 (scanning electron microscopy, SEM) 影像來確認。最後，我們從自製晶片對於分子訊號的測試顯示了我們成功地製造出具有 SERS 活性的基質。

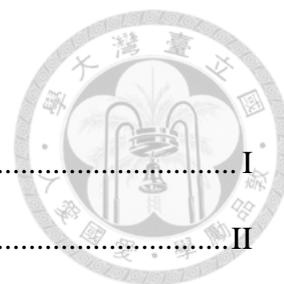
ABSTRACT



The spectral region in 1800~2500 cm^{-1} is well-known for the absence of interference signal from biomolecules such as proteins or carbohydrates. However, molecules with triple bond have signals in this region. So we choose molecules containing CC and CN triple bond that is, benzonitrile, 4-iodophthalonitrile, (triphenylsilyl)acetylene, 1,2-bis(triphenylsilyl)acetylene to test their signal intensity and position. Their signals on the gold chip upon serial dilution also behave like typical adsorption isotherm. Affinity on gold coated SERS substrate is also tested to evaluate the feasibility of using them as reporter molecules.

In addition to looking for appropriate molecules with signal in the 1800~2500 cm^{-1} , SERS substrate with good sensitivity, reproducibility is also a desirable goal for sensing applications. We try to fabricate SERS substrate by a maskless reactive ion etching (RIE) process. Because SERS substrate is fabricated through the RIE procedure followed by e-beam evaporation of Au, it is crucial to adjust the RIE parameters (etching gas ratio, etching power) to get a nanostructure suitable for SERS signal generation, and the fabricated nanostructure could be identified through scanning electron microscopy images of fabricated substrates. Finally, SERS signals of the molecules on the in-house fabricated substrates demonstrate that we successfully fabricate a SERS substrate through a simple maskless process.

目錄



致謝	I
摘要	II
ABSTRACT	III
目錄	IV
圖目錄	VII
表目錄	XI
第一章 緒論	1
1.1 拉曼光譜(Raman spectroscopy).....	1
1.1.1 拉曼(Raman scattering)的發展與特性	1
1.1.2 拉曼(Raman scattering)和雷利散射(Rayleigh scattering)的理論模型.....	3
1.2 表面增強拉曼散射(Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS)的發展與原理	5
1.2.1 電磁增強效應(Electromagnetic Field Enhancement).....	5
1.2.2 化學增強效應(Chemical Enhancement).....	7
1.3 SERS 的基質(SERS substrate)	9
1.3.1 奈米顆粒膠體溶液.....	9
1.3.2 固體 SERS 基質	10
1.3.2.1 微影法(lithography-based method).....	10
1.3.2.2 非微影法(non-lithography-based method).....	12
1.4 研究動機	14
第二章 實驗方法	15
2.1 化學藥品	15



2.2 儀器	16
2.2.1 拉曼光譜儀 (Raman Microscope).....	16
2.2.2 掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope, SEM).....	16
2.2.3 反應式離子蝕刻機 (Reactive Ion Etching System).....	16
2.2.4 氧電漿清洗機(O ₂ plasma cleaner)	17
2.2.5 電子束蒸鍍機 (Electron Beam Evaporator).....	17
2.2.6 精密晶圓切割機 (Precision Dicing Saw).....	17
2.3 實驗步驟	18
2.3.1 拉曼和 SERS 的測量	18
2.3.1.1 Benzonitrile SERS 的測量	18
2.3.1.2 4-Iodophthalonitrile SERS 的測量.....	18
2.3.1.3 (Triphenylsilyl)acetylene SERS 的測量	18
2.3.1.4 1,2-Bis(Triphenylsilyl)acetylene SERS 的測量.....	19
2.3.2 晶片製作.....	20
第三章 結果與討論	21
3.1 分子光譜討論	21
3.1.1 Benzonitrile 的光譜討論	23
3.1.2 4-Iodophthalonitrile 的光譜討論.....	25
3.1.3 (Triphenylsilyl)acetylene 的光譜討論	30
3.1.4 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的光譜討論	33
3.2 晶片製作	36

3.3 自製 SERS 基質的訊號測試.....	44
3.3.1 Benzonitrile 在自製 SERS 基質的訊號測試.....	44
3.3.2 4-Iodophthalonitrile 在自製 SERS 基質的訊號測試.....	45
3.3.3 (Triphenylsilyl)acetylene 在自製 SERS 基質的訊號測試.....	47
3.3.4 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 在自製 SERS 基質的訊號測試.....	48
第四章 結論.....	49
第五章 參考文獻.....	50



圖目錄



圖 1-1 不同散射光所對應的能階躍遷圖	2
圖 1-2 共振拉曼散射示意圖	3
圖 1-3 局域性表面電漿(Localized Surface Plasmon)示意圖	6
圖 1-4 熱點(hot spot)模擬圖	7
圖 1-5 分子-金屬系統的能階圖	8
圖 1-6 利用 EBL 蝕刻出的奈米結構。	11
圖 1-7 六方最密堆積的奈米球遮罩	12
圖 1-8 (a) 金屬薄膜覆蓋在 PS 奈米球上的 SEM [21] (b) 金覆蓋在多孔矽的 SEM [22]	13
圖 1-9 在玻璃基質上修飾奈米粒子流程圖[23]	13
圖 2-1 稀釋溶液方法的示意圖	19
圖 2-2 具有 SERS 活性的奈米結構製作流程圖	20
圖 3-1 (a) 將溶液滴在晶片上示意圖 (b) 本實驗所用之鍍金 SERS 晶片	21
圖 3-2 本實驗所選用之分子結構	21
圖 3-3 本實驗所選用之 SERS 晶片的背景訊號	22
圖 3-4 1 mM Benzonitrile 溶液的 SERS 光譜以及 Benzonitrile 的分子結構	23
圖 3-5 0.5 M Benzonitrile 在液體層測到的訊號	24
圖 3-6 0.5 M Benzonitrile 晶片以溶劑清洗後再測量其 SERS 光譜	24

圖 3-7(a) 4-Iodophthalonitrile 的粉末一般拉曼光譜以及他的分子結構 (b) 4-Iodophthalonitrile 的粉末一般拉曼光譜在 2235 cm^{-1} 左右放大圖	25
圖 3-8(a) 1 mM 4-Iodophthalonitrile 的一般拉曼光譜，以雷射功率 10% 量測 (b) 1 mM 4-Iodophthalonitrile 的一般拉曼光譜，以雷射功率 100% 量測	26
圖 3-9 不同濃度 4-Iodophthalonitrile 的 SERS 光譜	27
圖 3-10(a) 4-Iodophthalonitrile 粉末在 713 cm^{-1} 左右的訊號 (b) 1 mM 溶液的 SERS 在同樣區域的光譜	28
圖 3-11 不同濃度 4-Iodophthalonitrile 的 SERS 訊號對濃度作圖	29
圖 3-12 各濃度 4-Iodophthalonitrile SERS 晶片以溶劑清洗後的 SERS 光譜	29
圖 3-13 (a) 1 mM (Triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 10% 量測和其分子結構 (b) 1 mM (Triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 100% 量測	30
圖 3-14 不同濃度 (Triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 光譜	31
圖 3-15 不同濃度 (Triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 訊號對濃度作圖	32
圖 3-16 用溶劑清洗晶片後，在 $1.0 \times 10^{-3}\text{ M}$ 的濃度時在 2035 cm^{-1} 的訊號	32
圖 3-17(a) 1 mM 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 10% 量測以及其分子結構 (b) 1 mM 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 100% 量測	33
圖 3-18 不同濃度 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 光譜	34
圖 3-19 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的粉末拉曼光譜	34

圖 3-20 不同濃度 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 訊號對濃度作圖	35
圖 3-21 用溶劑清洗晶片後，在 1.0×10^{-3} M 的濃度時在 2107 cm^{-1} 左右的光譜 ..	35
圖 3-22 以表格 3-1 蝕刻後得到的晶圓外觀	36
圖 3-23 在圖 3-21 中白色部分的 SEM	37
圖 3-24 以 70 W 蝕刻 45 分鐘得到的晶圓外觀	39
圖 3-25 (a) 蒸鍍後晶圓外觀 (b) 3 mm×3 mm 的正方形晶圓外觀	39
圖 3-26 (a) 蝕刻比較深，顏色比較黑的部分所得到的光譜 (b) 蝕刻比較淺，顏色 比較不黑的部分所得到的光譜	40
圖 3-27 自行製作品片正面 SEM(左)與側面 SEM(右)	40
圖 3-28 自行製作品片蒸鍍前的奈米結構	41
圖 3-29 自製的晶片(左)和市面上買的晶片(右)的外觀	42
圖 3-30 自製晶片(左)和市面上晶片(右)的 SEM 俯視圖	42
圖 3-31 自製晶片(左)和市面上晶片(右)的 SEM 截面圖	42
圖 3-32 (a) 市面上買的晶片在 520 cm^{-1} 的光譜 (b) 自製的晶片在 520 cm^{-1} 的光譜	43
圖 3-33 1 mM Benzonitrile 在自製晶片的 SERS 光譜	44
圖 3-34 1 mM 4-Iodophthalonitrile 溶液滴在 SERS 晶片上做測試	45
圖 3-35 4-Iodophthalonitrile 在自製晶片和市售晶片上訊號和濃度之間的關係 ...	46
圖 3-36 1 mM (Triphenylsilyl)acetylene 溶液滴在 SERS 晶片上做測試	47



圖 3-37 (Triphenylsilyl)acetylene 在自製晶片和市售晶片上訊號和濃度之間的關係
..... 47

圖 3-38 1 mM 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 分子溶液滴在 SERS 晶片上做測試. 48

圖 3-39 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 在自製晶片和市售晶片上訊號和濃度之間的
關係 48

表目錄



表 2-1 本實驗所使用的各個藥品及其化學式，廠商，純度.....	15
表 2-1 續 本實驗所使用的各個藥品及其化學式，廠商，純度.....	16
表 3-1 蝕刻參數表格-1	36
表 3-2 蝕刻參數表格-2	37
表 3-3 以 145 W，70 W，40 W 蝕刻 20 分鐘後所得到的晶圓外觀.....	38



第一章 緒論

1.1 拉曼光譜(Raman spectroscopy)

1.1.1 拉曼(Raman scattering)的發展與特性

拉曼散射的現象在 1928 年由 Krishna 和 Raman 所發現，但是一直沒有被應用到化學分析上，而這有數個原因，包括拉曼散射本身強度低，螢光干擾，早期訊號收集和偵測比較沒有效率，而這個情況直到 1960 年代因為雷射的引進才有了改善。

當入射光和分子作用後，會將它激發到一個虛擬的能態(virtual state)，此時分子的電子雲受到了入射場電磁波影響而扭曲，當分子從這個狀態回到電子基態時(electronic state)，可能伴隨著振動能態(vibrational state)和轉動能態(rotational state)的改變，因此所產生的散射光有三種可能：和原本的能量相同也就是雷利散射(Rayleigh scattering)，低於原本的入射光能量也就是史托克散射(Stokes Scattering)，高於原本入射光的能量反史托克散射(anti-Stokes Scattering)後面兩者即是所謂的拉曼散射(Raman Scattering)。雷利散射是因為分子放出散射光後回到和原本相同的振動能態，所以能量會和入射光相同。史托克散射是因為分子原本是在振動基態(vibrational ground state)，和入射光作用後回到激發的振動能態(excited vibrational state)，所以放出的散射光的能量比原本的入射光低。反史托克散射是因為分子原本是在激發的振動能態(excited vibrational state)，和入射光作用後回到振動基態(vibrational ground state)，所以放出的散射光的能量比原本的入射光高(圖 1-1)。不論是 Stokes Scattering 還是 anti-Stokes Scattering 它們都和原本的入射光相差一個振動基本頻率(fundamental frequency)也就是他們的頻率位移(frequency shift)和 IR(infrared) 的吸收頻率是一樣的。也因為他們兩個是看分子的振動能態，這和分子內的鍵結有關，所以 IR 和拉曼光譜可以得到分子中特定化學鍵的強弱，長度，兩端的原子種類等訊息，也就是他們提供了分子獨特的結構訊息。值得注意的是，

anti-Stokes Scattering 的強度總是比 Stokes Scattering 還要低，因為 anti-Stokes Scattering 是來自位在振動激發態的分子，但是根據 Boltzmann distribution，位在激發態(excited state)的分子數比在基態(ground state)的還要少，所以產生 anti-Stokes Scattering 的機率比較低，他的強度就會比較弱，也因此一般拉曼儀器中大多是觀察分子的 Stokes Scattering，但是當溫度升高，位在 excited vibrational state 的分子數增加，所以隨著溫度升高，anti-Stokes Scattering 和 Stokes Scattering 的強度比值會增加。

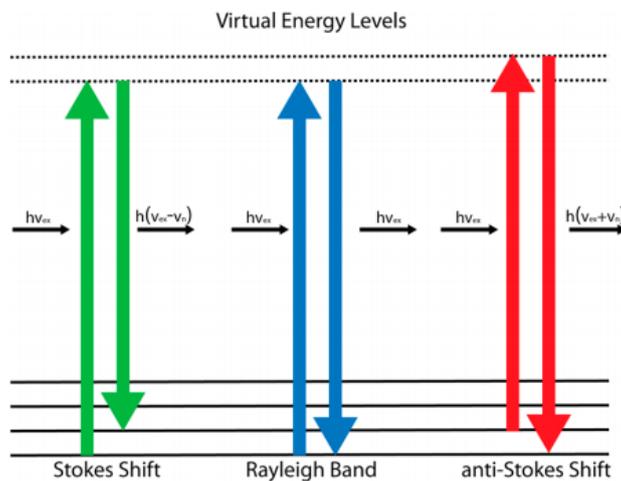


圖 1-1 不同散射光所對應的能階躍遷圖[1]。

拉曼散射又可分为非共振拉曼散射(non-resonant scattering)、共振拉曼散射(resonant scattering)、預共振拉曼散射(pre-resonant scattering)他們是根據入射光能量和電子基態到激發態之間的能量差來區分，如果入射光能量是位在電子基態到激發態之間也就是沒有形成吸收躍遷(absorption transition)，則是非共振拉曼散射(non-resonant scattering)，如果入射光能量有達到電子激發態的某一個振動能階，也就是有形成吸收躍遷，則是共振拉曼散射(resonant scattering)(圖 1-2)，共振拉曼散射的強度相對於非共振拉曼散射有明顯的提升。若是入射光能量接近吸收躍遷則是預共振拉曼散射(pre-resonant scattering)²。

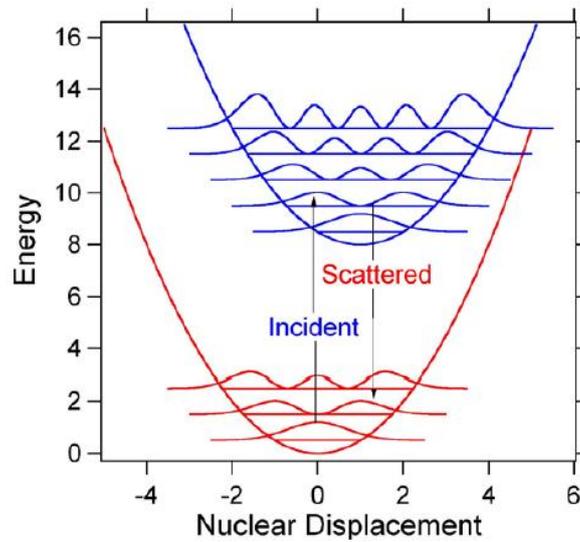


圖 1-2 共振拉曼散射示意圖，入射光將分子從電子基態的振動基態激發到第一電子激發態的振動激發態[2]

1.1.2 拉曼(Raman scattering)和雷利散射(Rayleigh scattering)的理論模型

我們假設入射光的電場強度是 E 那麼他可以用下面的式子來表示

$$E = E_0 \cos 2\pi\nu_0 t \quad (1-1)$$

E_0 是這個波的振幅，當這個電場和分子的電子雲互相作用後，他會誘導一個偶極矩(dipole moment, P)， α 是這個分子的鍵的 polarizability， E 是入射光的電場強度

$$P = \alpha E \quad (1-2)$$

分子的振動是由數個正交模式(normal mode)組成，一個有 N 個原子的分子，他就有 $3N-6$ 個(若是線型分子則有 $3N-5$ 個)振動模式，假設某個振動模式的位移是 Q_j

$$Q_j = Q_j^0 \cos 2\pi\nu_j t \quad (1-3)$$

ν_j 是第 j 個正交模式的簡諧振動頻率(harmonic frequency)電子在分子裡的極化率(polarizability, α)會受到分子振動的影響

$$\alpha = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_j}\right) Q_j + \dots \quad (1-4)$$



所以根據方程式 1-2，誘導偶極矩為方程式 1-1 和 1-4 的乘積，並且把方程式 1-3 代入到方程式 1-4，再利用三角函數的公式 $\cos a \cos b = [\cos(a+b) + \cos(a-b)]/2$ ，並且忽略高次項，得到

$$P = \alpha_0 E_0 \cos 2\pi\nu_0 t + E_0 Q_j^0 \left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_j} \right) \frac{\cos 2\pi(\nu_0 + \nu_j)t + \cos 2\pi(\nu_0 - \nu_j)t}{2} \quad (1-5)$$

從方程式(1-5)就得到了散射光的三種頻率，其中的第一項就是 Rayleigh scattering，他的頻率和入射光的頻率一樣，而且他的值是正比於分子的極化率(polarizability)，第二項是 anti-Stokes Raman scattering 他的頻率是 $\nu_0 + \nu_j$ ，第三項是 Stokes Raman scattering 他的頻率是 $\nu_0 - \nu_j$ ，而 ν_j 是和 IR 吸收相同的頻率值也就是我們的 Raman shift。

從方程式(1-5)我們可以看出以下幾點重要的事：

1. 極化率和散射強度是和雷射強度呈線性關係的。非線性拉曼可以在很強的 E_0 時發生，但是在一般的分析應用裡不會用到。
2. 只有會改變極化率的振動才会有拉曼散射也就是 $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_j}\right) \neq 0$ 。這個是拉曼選擇率(selection rule)的基礎來源。
3. 拉曼位移(Raman shift)可以是正的也可以是負的，也就是有 anti-Stokes shift 和 Stokes shift。
4. $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_j}\right)$ 會隨著不同分子或是分子裡的不同鍵而有很大的不同，所以造成拉曼光譜有很多不同的強度。

雖然從上面的式子中看不出來，但是 $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial Q_j}\right)$ 是遠小於 α_0 的，也就是 Raman scattering 會遠小於 Rayleigh scattering³。



1.2 表面增強拉曼散射(Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS)的發展與原理

表面增強拉曼散射(Surface-Enhanced Raman Scattering, SERS)最早是在 1974 年由 Fleischmann 等人所發現，當時的實驗是改變施加在粗糙銀電極的電壓，並且測量吡啶在粗糙銀電極的拉曼訊號，而在改變施加到粗糙銀電極的電壓的過程中，發現了這個異常強的拉曼訊號⁴。此後經過許多科學家的重複實驗和推理，得出了這麼大的訊號增強並非只是因為粗糙表面所造成的表面積增加而導致吸附在銀電極上吡啶分子增加而已，在 1977 年，分別又由 Jeanmaire 和 Richard P. Van Duyne 提出了電磁場增強的機制⁵以及 M. Grant Albrecht 和 J. Alan Creighton 提出了化學增強機制⁶。接著在 1978 年，又由 M. Moskovits 提出主要是吸附在粗糙電極表面的奈米等級的凸起的分子造成了如此大的訊號增強⁷。時至今日，SERS 增強的機制還是以電磁增強和化學效應增強兩者為主要的兩個解釋。

1.2.1 電磁增強效應(Electromagnetic Field Enhancement)

當電磁波和粒徑遠小於其波長的奈米粒子互相作用時，會帶動奈米粒子表面的傳導電子(conduction electron)產生集體的震盪(collective oscillation)(圖 1-3)，也就是振盪偶極(oscillating dipole)，並且因為奈米粒子的粒徑遠小於電磁波長的關係，而有空間侷限(spatial confinement)的現象，這也造成了量化(quantization)現象，因而有了電漿子(plasmon)，如果電漿子的躍遷頻率和電磁波的頻率一樣時，會有(Localized Surface Plasmon Resonance, LSPR)的現象發生。此時奈米粒子對於入射的電磁波會有最強的吸收，並且造成奈米粒子表面附近的電場增強，位於奈米粒子附近的分子所感受到的電場(雷射的電場加上來自奈米粒子的偶極電場)以及這個分子所發出的散射也都會增強，因此訊號會被放大，因而產生電磁增強效應。在這個增強機制中，分子並不需要和金屬奈米粒子有接觸，但是增強的效果會隨著分子

和金屬奈米粒子表面的距離增加而快速地下降，有文獻計算增強倍率是和距離的12次方成反比，並且跟入射電磁波的電場強度的4次方成正比⁸。因為這個機制的形成和LSPR有關，而LSPR又和奈米粒子的形狀，大小，組成，介電環境(dielectric environment)有關，所以有許多不同形狀和大小的奈米粒子被用在SERS的研究上。

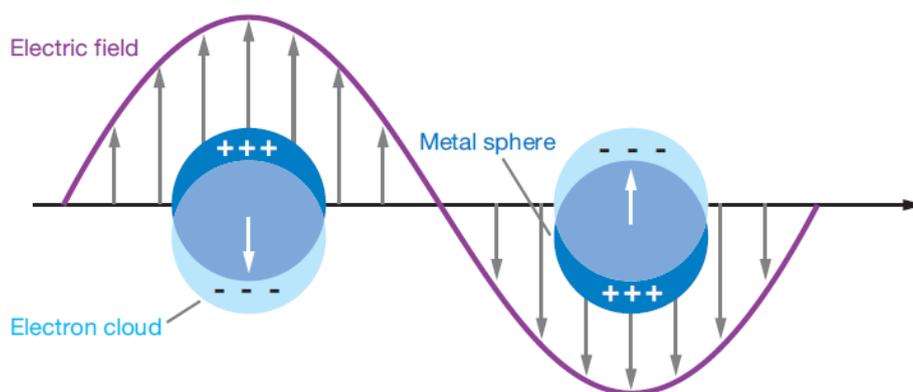


圖 1-3 局域性表面電漿(Localized Surface Plasmon)示意圖。入射電磁場和金屬奈米粒子作用，使得傳導電子的電子雲相對於粒子的中心有位移而產生了局域性表面電漿(Localized Surface Plasmon) [9]

除了分子在一個奈米粒子附近時訊號會受到增強外，當分子位在 hot spot 時(圖 1-4)，所受到的增強也會更多，有文獻定義 hot spot 為兩個電漿活性的物件(plasmonic object)他們其中一個有奈米尺度的曲率，這個時候他們之間的介面，或者他們之間的互相作用則會有 hot spot。這個結構特色可以聚集入射電磁場以及有效地放大奈米結構之間以及其周圍的近場(near field)¹⁰。

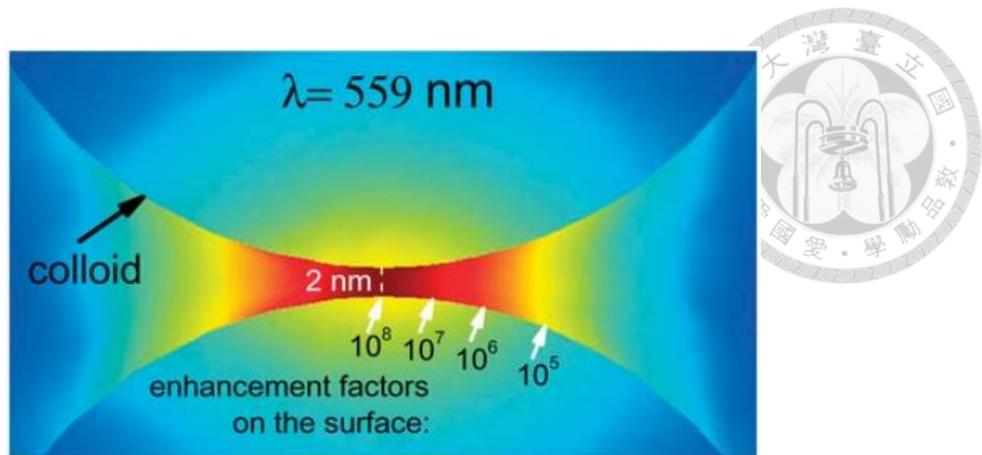


圖 1-4 熱點(hot spot)模擬圖。兩個半徑 30nm，gap 為 3nm 的金膠體，並且以激發光 559nm 為計算的依據，可以看到最大的增強倍率(enhancement factor)為 10^8 ，隨著距離兩個膠體的中心連線愈遠，gap 的距離增加，增強倍率有很大的變化。[11]

1.2.2 化學增強效應(Chemical Enhancement)

如果 SERS 的增強效應只有來自電磁增強效應的話，那麼靠近金或銀奈米結構的每個分子應該都有同樣的訊號增強，可是實驗觀察到許多 SERS 現象和分子特性有關，此外 SERS 的訊號會受到電極上的電位影響也暗示著化學增強的存在。

因為化學增強效應需要分子和金屬有直接的接觸，所以也被稱做第一層效應(first-layer effect)有三大類的解釋⁸：

1. 吸附在金屬上的分子和金屬形成了錯合物，造成吸附後分子的拉曼截面積相較於吸附前的分子來得大。
2. 另一個解釋和共振拉曼效應有關。這是因為吸附分子的電子能階相較於吸附前的分子有位移(shift)或是加寬的現象，或者，吸附分子和金屬形成了分子-金屬錯合物的系統，在這個系統內部發生了電子躍遷，如圖 1-5 所示，路徑(a)為分子態之間的共振拉曼過程，路徑(b)，(c)為分子金屬系統的共振拉曼過程，此外



這個圖也可以解釋當費米能階改變時，路徑(b)，(c)的共振條件也跟著改變，也就是 SERS 效應會隨著電位而變化。

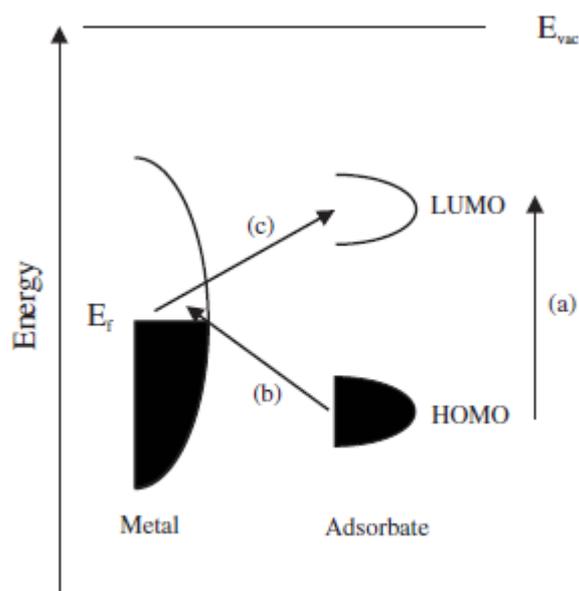


圖 1-5 分子-金屬系統的能階圖，也呈現了分子態之間，路徑(a)以及分子和金屬態，路徑(b)，(c)可能的共振拉曼過程 [8]

3. 動態電荷轉移(dynamical charge transfer)

它包含了以下4個步驟：

- (a) 電子被激發到熱電子態
- (b) 熱電子轉移到分子的LUMO
- (c) 熱電子從分子LUMO回到金屬(伴隨著一些分子內部震動的變化)
- (d) 電子回到原本的狀態，並且產生Stokes光子



1.3 SERS 的基質(SERS substrate)

SERS 的基質一般可分為兩大類，第一：是奈米顆粒的膠體溶液，是屬於 bottom-up 的化學合成方式來製作。第二：具有奈米結構的金屬表面。

1.3.1 奈米顆粒膠體溶液

奈米顆粒的膠體溶液中最典型的的就是球形的金或銀奈米顆粒膠體溶液，它的製作簡單快速，且成本低，例如常見的 Lee 和 Msisel 的方法¹²來製作銀奈米顆粒，以及 Frens's 和 Natan's¹³的方法來製作金奈米顆粒，並且透過改變奈米顆粒的大小或形狀可以調控奈米顆粒的表面電漿共振波長，來使得 SERS 的訊號會最強。並且也已經有透過銀奈米顆粒膠體來達到偵測單分子的 SERS 的文章發表¹⁴，此外因為好的生物相容性，雖然靈敏度不是最佳的，金奈米膠體則是有生物分析的應用。隨後又有為了改善奈米顆粒溶液的穩定性而設計的核殼式奈米顆粒(core-shell nanoparticles)，還有具有尖銳邊緣(sharp edge)或分支(branch)的奈米顆粒，例如 Nanoprisms, Nanocubes, Nanostars¹⁵，這些特殊形狀的奈米顆粒可以聚集電荷而產生比球形奈米顆粒更強的電場。



1.3.2 固體 SERS 基質

為了要得到可靠，可以大量製造，穩定的，以及低成本的 SERS 基質，許多奈米科技相關的方法被發展來製造這類的 SERS 基質。晶片式 SERS 基質一般有以下兩種：一、微影法，二、非微影法¹⁶。

1.3.2.1 微影法(lithography-based method)

微影法是透過許多不同的方法在沒有奈米結構的矽晶圓上創造出奈米圖案，接著再覆蓋上具有 SERS 活性的奈米金屬。創造出奈米結構的方法又有電子束微影(Electron beam lithography, EBL)或者是奈米球微影法(nanosphere lithography, NSL)。

電子束微影可以用電腦軟體像是 AutoCAD 寫出各種圖案，接著再把檔案轉到 EBL 的電腦上，接著在矽晶圓上塗上光阻劑，並且放進 EBL 機台裡便會依據所設計的圖案蝕刻出一開始在 AutoCAD 中設計的圖形，再放入顯影劑中數分鐘，經過清洗後再鍍上 SERS 活性金屬¹⁷。用這個方法雖然可以在晶圓上創造出各式各樣的奈米結構(圖 1-6)，但是受限於機台的成本可能相當貴，而且還要加上光阻劑和曝光劑的成本，所以在製作的數量上可能會有所限制。

除了用電子束微影的機台來蝕刻出奈米結構外，Van Dyne和他的研究團提出了奈米球印刷法(nanosphere lithography, NSL)¹⁸，就是將六方最密堆積(hexagonal close packed, HCP)的自組裝單層奈米球(可能以 polystyrene (PS) 和 silica 當作材料)當作遮罩(mask)，然後沉積金屬在上面，然後用在溶劑裡用超音波震盪移除奈米球，就可以得到在奈米球縫隙形狀的金屬(圖 1-7)。雖然這個方法還是不能像 EBL 可以精準地控制那麼多樣的圖案，但是 NSL 已經大大地降低製造 SERS 基質的成本。

近來有研究團隊利用 RIE 直接對矽晶圓進行蝕刻，接著經過氧電漿清洗後，再用電子束蒸鍍的方式在晶圓鍍上 SERS 活性金屬¹⁹。用這個方法好處是成本比較低，製作過程簡單，快速，但是在同一片晶圓的產率上可能會不太均勻²⁰。

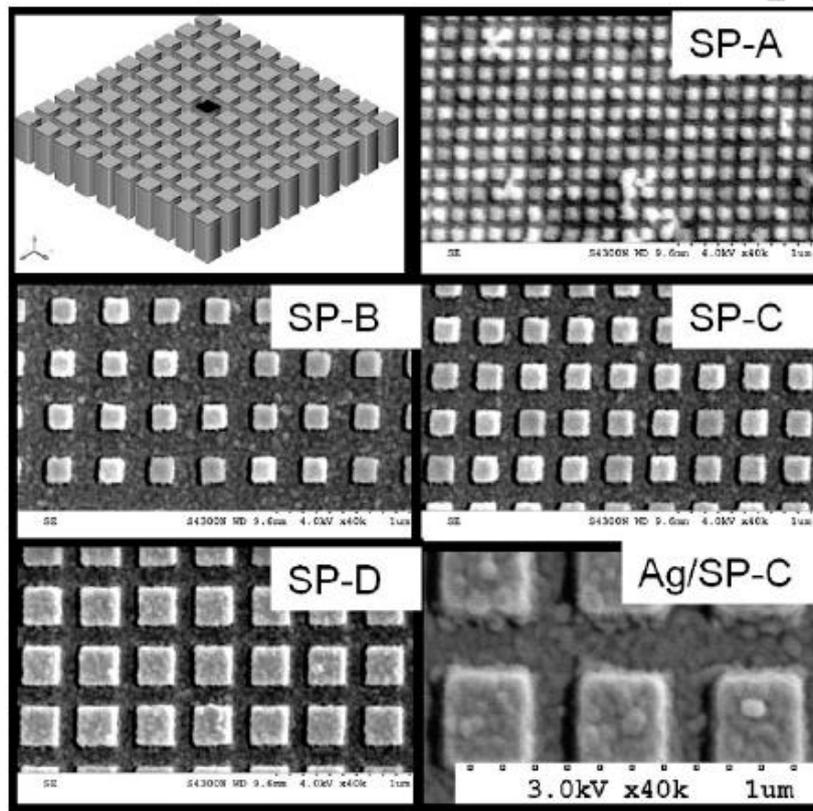
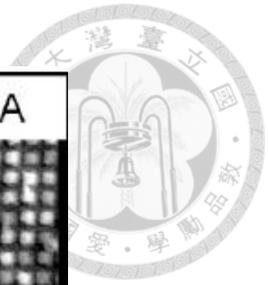


圖1-6 利用EBL蝕刻出的奈米結構。左上為正方形柱(square pillar, SP)的示意圖，其他為各個不同參數所形成圖案的SEM，他們的邊長和間隔分別為100, 50 (SP-A); 200, 200 (SP-B); 200, 150 (SP-C); 300, 150 (SP-D)，Ag/SP-C是用1.0 Å/s的鍍率鍍上25 nm銀的SEM(影像為了清楚有放大處理)，所有SEM放大倍率都是40k。[17]

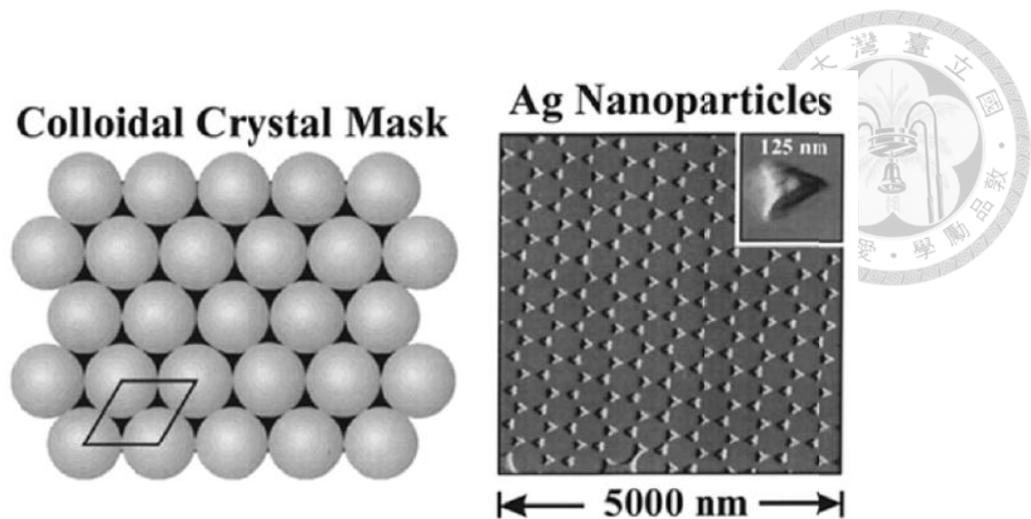


圖 1-7 六方最密堆積的奈米球遮罩(colloidal crystal mask)以及移除奈米球後的銀金屬奈米結構圖案(Ag Nanoparticles)[18]

1.3.2.2 非微影法(non-lithography-based method)

除了微影法之外，還有一些產生SERS基質的方法，像是奈米球上覆蓋金屬薄膜(metal film over nanospheres, MFON)²¹ 可以視為是NSL的簡化版，也就是不需要移除當作模板的奈米球(圖1-8(a))，而覆蓋在奈米球上方的金屬球則是作為SERS活性的來源。或者是在多孔性的基質上覆蓋金屬，方法是先用化學蝕刻的方式先做出多孔性物質，再在上面沉積SERS活性金屬，可以做為多孔性模板的有：Si(圖1-8(b))²²。除此之外，也有先把玻璃片經過清洗後，再把它經過修飾，接著把它交替浸泡在有金的奈米顆粒的溶液和有cross-linker的溶液中²³(圖1-9)，但是這些方法都比較不能得到有規則的圖案，並且還有不一定能得到均勻的表面，還有每次實驗可能不容易重複的問題，這些問題會造成在討論SERS效應上比較困難²⁴。

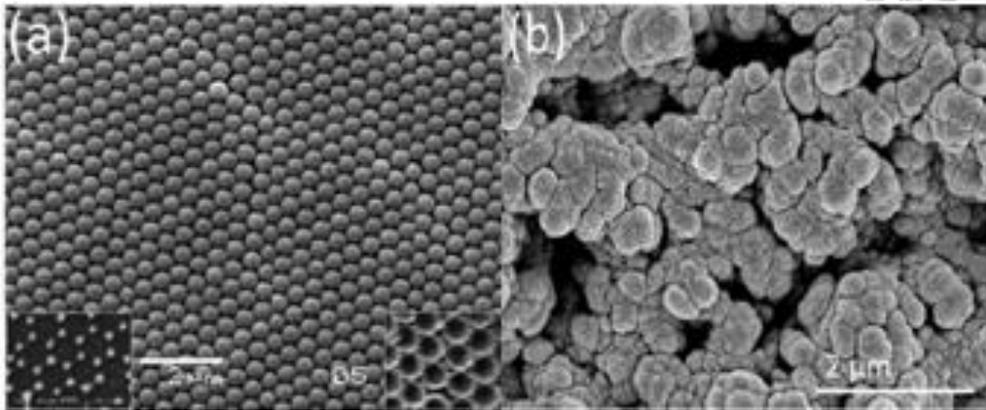


圖 1-8 (a) 金屬薄膜覆蓋在 PS 奈米球上的 SEM [21] (b) 金覆蓋在多孔矽的 SEM [22]

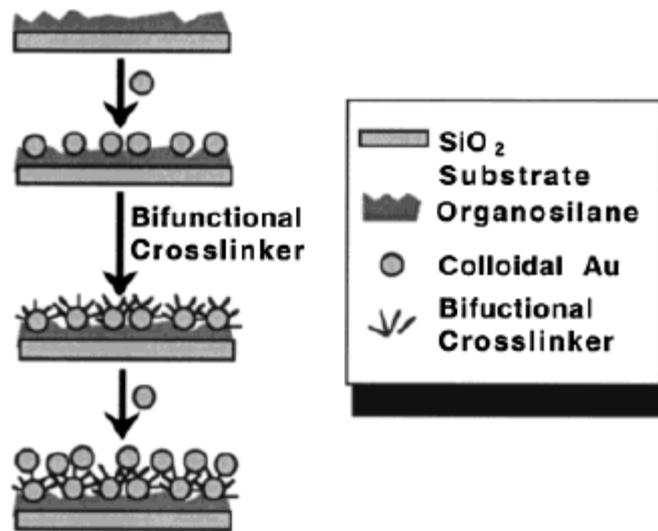


圖 1-9 在玻璃基質上修飾奈米粒子流程圖[23]



1.4 研究動機

位在 $1800\sim 2500\text{cm}^{-1}$ 範圍的拉曼位移(Raman shift)訊號具有許多的應用性，因為在這個範圍沒有來自生物分子的干擾，所以訊號強度也比較不受影響，可以利用這個區域來做檢測或是成像，此外振動光譜的能階差較小，所以相較於螢光光譜而言有比較窄的帶寬(narrow bandwidth)，在一個範圍內可以容納許多的分子訊號。具有 CC 三鍵或是 CN 三鍵的小分子除了有以上的優點以外，還具有可以和細胞內的分子鍵結但是比較不會影響生物活性和目標分子動力學(dynamics)的優點²⁵。為了找尋有機會當作發訊分子(reporter molecule)的化合物，我們找了含有 CN 和 CC 三鍵的小分子，但是除了上述的特色以外，分子還是必須是可以穩定吸附在金屬奈米結構表面才行，因為這樣才能在複雜的環境介質中不容易脫附，不會造成 SERS 增強消失，而導致訊號不穩定。

而接下來因為 SERS 基質的種類主要分為奈米顆粒，以及具有奈米結構的金屬表面，奈米顆粒雖然容易功能化(functionalization)並且進到細胞中進行多樣化的檢測，但是在保存上在常溫下容易聚集，並且表面容易氧化比如銀奈米顆粒，且分析物需要可以誘導其聚集，所以科學家也試著發展具有奈米結構的金屬表面或是稱為 on-chip SERS substrate，在這個部分，有多樣的方法已經被發展，但是仍然受到成本太高的限制，因為製程的電子微影機台可能就要花費相當多的錢，此外作為晶片的材料也有許多限制，可能要避免產生背景值，還有不能被溶劑溶解，為了可以更自由的運用各種 SERS 基質，甚至是可以跟 TERS 達到 gap mode 的搭配，所以嘗試試著自己製造 SERS 晶片，並且希望可以在跳過製造光罩(mask)的情況下製造有良好靈敏度和再現性的 SERS 基質。



第二章 實驗方法

2.1 化學藥品

本論文所使用之化學藥品，在此以表格方式呈現，如表 2-1，其中包含藥品名稱，化學式，廠商，純度。

表 2-1 本實驗所使用的各個藥品以及其化學式，廠商，純度

藥品	化學式	廠商	純度/濃度(%)
Benzonitrile	C_6H_5CN	Merck	99%
4-Iodophthalonitrile	$IC_6H_3-1,2-(CN)_2$	Merck	97%
(Triphenylsilyl)acetylene	$(C_6H_5)_3SiC\equiv CH$	Merck	98%
1,2-Bis(Triphenylsilyl)acetylene	$C_{38}H_{30}Si_2$	Merck	-
Acetone	CH_3COCH_3	Merck	$\geq 99wt\%$
Ethanol	C_2H_5OH	Merck	$\geq 99.9wt\%$
Dimethyl sulfoxide	$(CH_3)_2SO$	Merck	$\geq 99.9\%$
Sulfuric acid	H_2SO_4	AUECC	96.0-97.0wt%
Hydrogen peroxide	H_2O_2	AUECC	30.0-32.0wt%
Buffered Oxide Etch	NH_4F/HF	AUECC	Ammonium fluoride (38.0-42.0wt%) Hydrofluoric acid (<1wt%)

表 2-1 續 本實驗所使用的各個藥品以及其化學式，廠商，純度

藥品	化學式	廠商	純度
4 吋 p-type (100)矽晶圓	Si	宜美材料	
Cr 靶材	Cr	宜美材料	99.99%
Au 靶材	Au	宜美材料	99.99%

2.2 儀器

2.2.1 拉曼光譜儀 (Raman Microscope)

本實驗所使用之拉曼光譜儀為 Renishaw 公司的 *inVia* Raman (UK) microscope，使用的偵測器為 Peltier cooled CCD detector，激發雷射波長為 633 nm，通過 50X 物鏡，曝光時間為 10 s。拉曼光譜是利用 WiRE 4.4 處理。訊號的強度是取自減去 baseline 過後的強度。所有 SERS 光譜除非有特別說明，否則都是用 10% 雷射功率測量。

2.2.2 掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscope, SEM)

蒸鍍金後的樣品 SEM 影像為透過 Hitachi S-4800 所獲得，樣品是透過碳膠帶黏在樣品台(sample holder)上，然後放進機台進行觀察。RIE 之後的樣品因為不導電，所以是鍍過白金後再黏在碳膠帶上以 JEOL JSM-7600F 拍攝。

2.2.3 反應式離子蝕刻機 (Reactive Ion Etching System)

本實驗自己製作的晶圓部分是透過 SAMCO 公司的 RIE-10N。晶圓放入蝕刻機之前必須先放在 120 °C 的烘箱中 5 分鐘以去除水氣。晶圓放在反應台的正中心，調整壓力，蝕刻氣體流量比例，功率，蝕刻時間等參數來對晶圓進行蝕刻。



2.2.4 氧電漿清洗機(O₂ plasma cleaner)

本實驗所使用的氧電漿清洗機為翰揚公司的 PDC-001。正式使用前，須先破真空，才能打開腔體並放進樣品，放進樣品後再抽真空至 2.0×10^{-1} torr。此時可以開啟電漿，若電漿有開啟，可以從腔體的窗戶看到紫色，清洗時間為 1 分鐘，等到清洗時間到了之後，關閉電漿，再次破真空將樣品拿出，拿出樣品後，必須把腔體壓力抽到 $N \times 10^0$ torr。

2.2.5 電子束蒸鍍機 (Electron Beam Evaporator)

本實驗所用之電子束蒸鍍機內部主要構造包含真空腔體，抽氣系統，電子束源，真空計系統，膜厚控制系統，廠牌為 ULVAC。使用前要先破真空，接著放入試片及裝有想要鍍的金屬的坩鍋後，再抽真空，此時要等 1~2 小時的時間，接著便可以打開電子束，開始蒸鍍流程，鉻的蒸鍍速率為 1 \AA/s ，厚度為 1.5 nm，金的蒸鍍速率為 10 \AA/s ，厚度為 180 nm。

2.2.6 精密晶圓切割機 (Precision Dicing Saw)

本實驗所用的晶圓切割機為禾宇公司的 DS-150II。先將晶圓黏在矽晶圓專用的藍色膠帶上，接著放到 95 °C 的烘箱中使其黏性更好，然後放上機台進行切割，切割的大小可為 3 mm×3 mm 的正方形。



2.3 實驗步驟

2.3.1 拉曼和 SERS 的測量

2.3.1.1 Benzonitrile SERS 的測量

配置 1 mM (1.0×10^{-3} M) Benzonitrile 溶液的方式為先以 micropipette 吸取 1.0 mg 液體到 2 ml 小離心管後加入 970 μ L 的乙醇，得到 10 mM (1.0×10^{-2} M)，接著以稀釋的方式(圖 2-1)也就是先加 900 μ L EtOH 到 2 mL 離心管，再抽 100 μ L 的 10 mM 溶液來得到 1 mM 溶液。

配置 0.5 M 的方法為先以 micropipette 吸取 10 mg 液體到 600 μ L 小離心管後加入 194 μ L 的乙醇。

配置好各個濃度之後，再用微量吸管抽取 5 μ L 滴到具有 SERS 活性的晶片上。等到溶劑乾掉後測量 SERS 光譜。

2.3.1.2 4-Iodophthalonitrile SERS 的測量

4-Iodophthalonitrile 常溫常壓下為固體，所以配置溶液的方法為秤取 2.5 mg 粉末，將之溶於 10 mL EtOH，得到 1.0×10^{-3} M 溶液，接著以先加 900 μ L EtOH 到 2 mL 離心管，再抽 100 μ L 的 1.0×10^{-3} M 溶液加入該離心管的方法來得到 1.0×10^{-4} M 溶液，在以同樣的方法得到 1.0×10^{-5} M， 1.0×10^{-6} M， 1.0×10^{-7} M 配置好各個濃度之後，再用微量吸管抽取 5 μ L 滴到具有 SERS 活性的晶片上。等到溶劑乾掉後測量 SERS 光譜，同時也對相同溶液測量拉曼光譜。

2.3.1.3 (Triphenylsilyl)acetylene SERS 的測量

(Triphenylsilyl)acetylene 常溫常壓下為固體，所以配置溶液的方法為秤取 1.4 mg 粉末將之溶於 5 mL Acetone 得到 1.0×10^{-3} M 溶液，接著以先加 900 μ L Acetone 到 2 mL 離心管，再取 100 μ L 的 1.0×10^{-3} M 溶液加入該離心管的方法來得到 1.0×10^{-4} M 溶液。

4 M 溶液。再用同樣的方法從 1.0×10^{-4} M 配置 1.0×10^{-5} M 的溶液。並且 5×10^{-4} M 溶液則是先加 $500 \mu\text{L}$ Acetone 到 2 mL 離心管，再抽 $500 \mu\text{L}$ 10^{-3} M 溶液加入該離心管得到，同樣的方法配置 5×10^{-5} M。配置好各個濃度之後，再用微量吸管抽取 $5 \mu\text{L}$ 滴到具有 SERS 活性的晶片上。等到溶劑乾掉後測量 SERS 光譜，同時也對相同溶液測量拉曼光譜。

2.3.1.4 1,2-Bis(Triphenylsilyl)acetylene SERS 的測量

1,2-Bis(Triphenylsilyl)acetylene 常溫常壓下為固體，所以配置溶液的方法為秤取 1.1 mg 粉末將之溶於 2 mL Acetone 得到 1.0×10^{-3} M 溶液。接著以先加 $900 \mu\text{L}$ Acetone 到 2 mL 離心管，再抽 $100 \mu\text{L}$ 的 1.0×10^{-3} M 溶液加入該離心管的方法來得到 1.0×10^{-4} M 溶液。再用同樣的方法配置 1.0×10^{-5} M， 1.0×10^{-6} M 的溶液。配置好各個濃度之後，再用微量吸管抽取 $5 \mu\text{L}$ 滴到具有 SERS 活性的晶片上。等到溶劑乾掉後測量 SERS 光譜，同時也對相同溶液測量拉曼光譜。

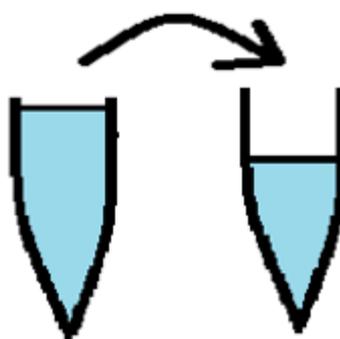


圖 2-1 稀釋溶液方法的示意圖，先吸取適量的溶劑，再加入相對應體積的高濃度溶液



2.3.2 晶片製作

晶片製作的流程如圖 2-2 所示，首先，先將買來的 4 吋，晶向為(100)的 p-type 晶圓放到硫酸與雙氧水以 3:1 混合的溶液中清洗並且吹乾，接著再將它泡入 BOE 中之後，同樣拿出來以水沖洗乾淨，並且吹乾。接著把晶圓放入 120 °C 烘箱中使其乾燥之後，便開始進行 RIE 的製程。在 RIE 之後便以 O₂ plasma 清洗晶圓表面，清洗功率為 11 W，清洗時間為 1 分鐘。接著進行電子束蒸鍍，首先蒸鍍 Cr，以 0.1 Å/s 的鍍率直到膜厚計顯示 1.7 Å，接著蒸鍍金，以 1.0 Å/s 的鍍率蒸鍍，直到膜厚計顯示為 1800 Å。

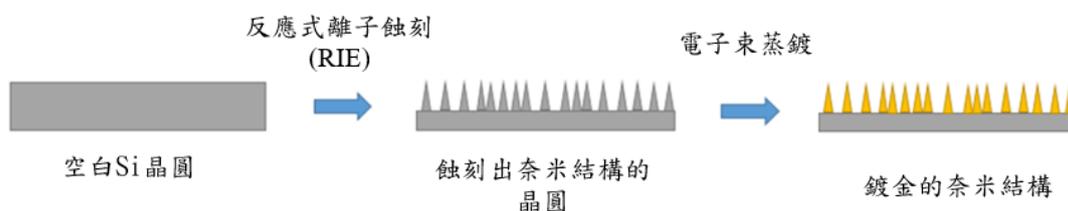


圖 2-2 具有 SERS 活性的奈米結構製作流程圖，先利用 RIE 對晶圓蝕刻出奈米結構後，再用電子束蒸鍍的方式鍍上金，因為是用 RIE 的方式，所以蝕刻後的結果可能會產生分支



第三章 結果與討論

3.1 分子光譜討論

為了知道各個分子的拉曼訊號的位置，以及在晶片上面的表現，我們測量了每個分子的 SERS。SERS 測量是將各個化合物溶在適當的溶劑中，再將溶液用微量吸管(micropipette)吸 5 μL (圖 3-1(a))滴在 SERS 晶片(圖 3-1(b))上。這個方法常用於 SERS 的定量，若是分子和晶片的作用力不強時，用這個方法也可以測到訊號，但是缺點是，當溶劑乾掉後，分子會有不均勻的沉澱或聚集，因而造成在不同點測到的訊號強度變化比較大。

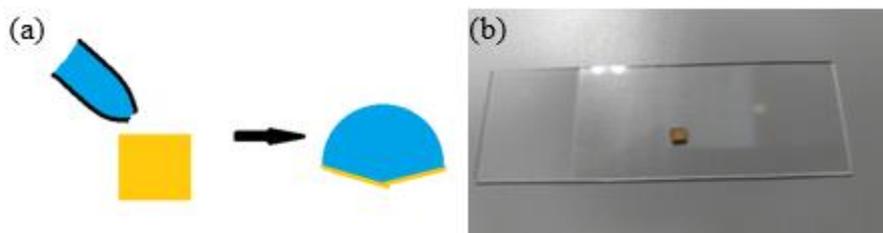


圖 3-1 (a) 將溶液滴在晶片上示意圖 (b) 本實驗所用之鍍金 SERS 晶片

而在本實驗中，我們所選的是如圖 3-2 的四個分子，因為根據參考文獻，CC 和 CN 三鍵的訊號常出現在 $1800\sim 2500\text{cm}^{-1}$ 的區域²⁵⁻²⁶。

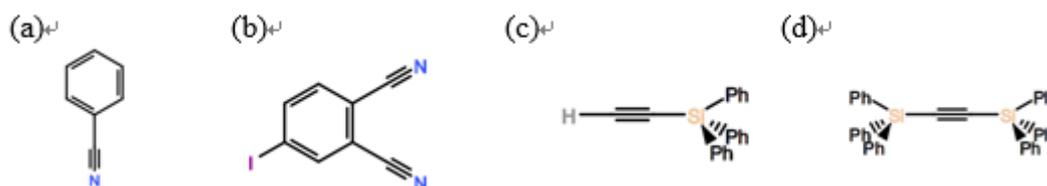


圖 3-2 本實驗所選用之分子結構 (a) Benzonitrile (b) 4-Iodophthalonitrile (c)

(Triphenylsilyl)acetylene (d) 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene

此外，為了避免在光譜的解讀上會不知道訊號是否來自分子，所以也選了數片晶片做了背景的掃描，發現所有晶片在 $2800\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ ， $2100\sim 2200\text{ cm}^{-1}$ ， 1600 cm^{-1} 等區域有背景訊號，而部分晶片在 3000 cm^{-1} ， $900\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ 等區域有背景訊號(圖 3-3)，值得一提的是， $2100\sim 2200\text{ cm}^{-1}$ 的背景訊號其峰值的中心都不會超過 2200 cm^{-1} ，所以之後 SERS 實驗中，若是在這個區域出現訊號，則可以由此推斷他是來自晶片的背景訊號，而非來自分子的訊號。

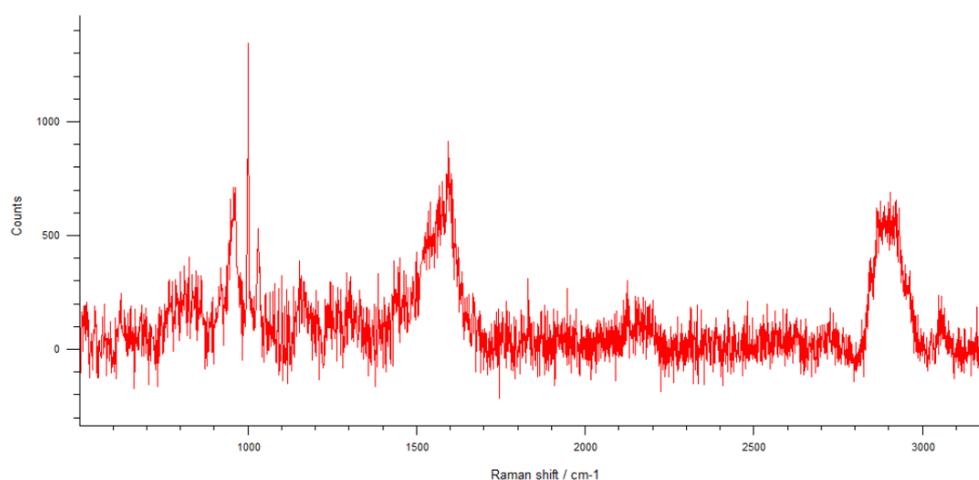


圖 3-3 本實驗所選用之 SERS 晶片的背景訊號



3.1.1 Benzonitrile 的光譜討論

首先，為了測量 Benzonitrile 分子在鍍金晶片上的表現，我們從 1 mM 開始測試起。從 1 mM SERS 光譜發現，在 2230 cm^{-1} 左右的區域並沒有 CN 伸縮的訊號²⁷ (圖 3-4)，並且我們也增加濃度到了 0.5 M，此時，部分區域有相當強的訊號(圖 3-5)。這是因為當溶劑乾掉後晶片表面出現了 benzonitrile 的液體層，這個強的訊號是液體層中大量的 benzonitrile 分子以及液體層底部分子和晶片電漿作用的結果。為了測試這個化合物對鍍金奈米結構表面的作用力，我們將 0.5 M 的樣品溶劑乾掉後的液體層以溶劑清洗再測一次 SERS，發現訊號消失(圖 3-6)，所以推測 benzonitrile 分子對這個晶片沒有很強的作用力。

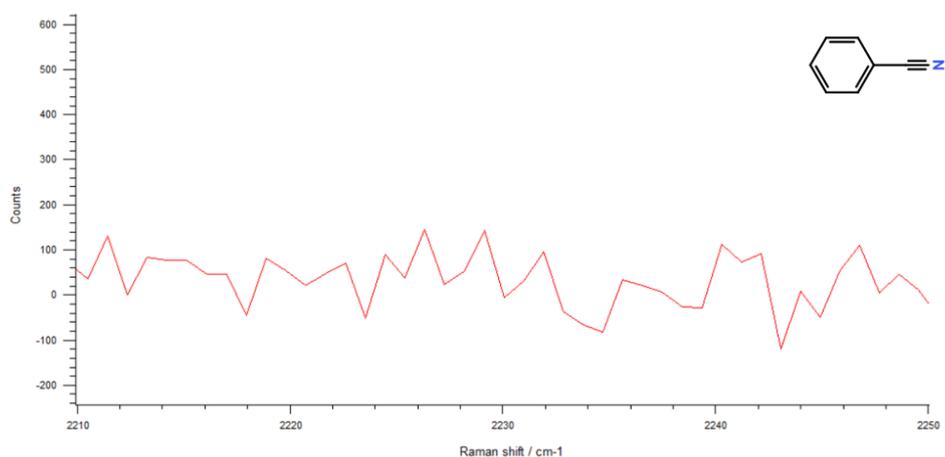


圖 3-4 1 mM Benzonitrile 溶液的 SERS 光譜以及 Benzonitrile 的分子結構

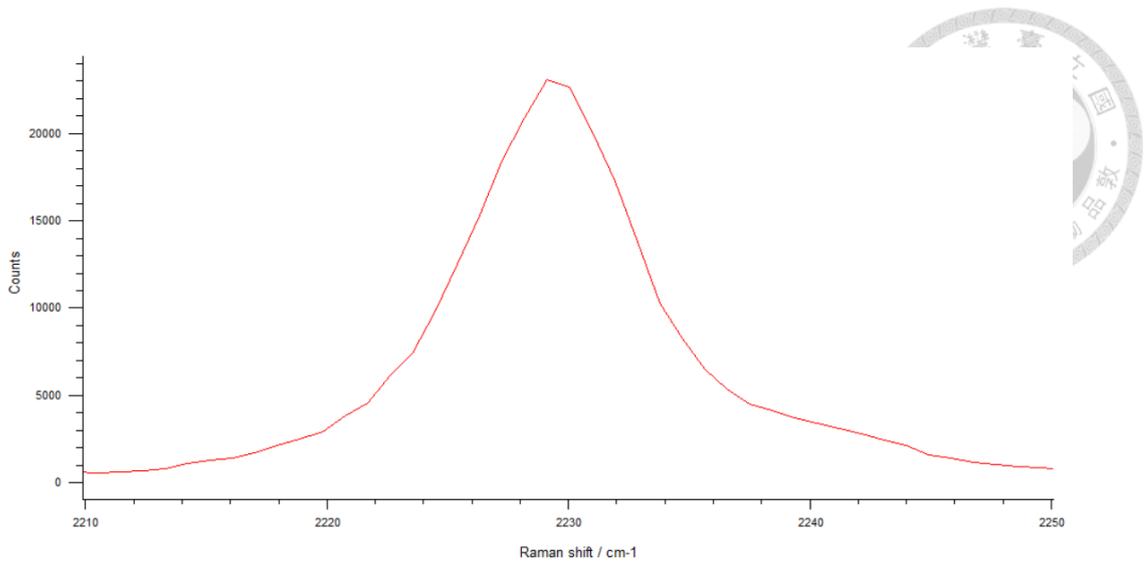


圖 3-5 0.5 M Benzonitrile 在液體層測到的訊號

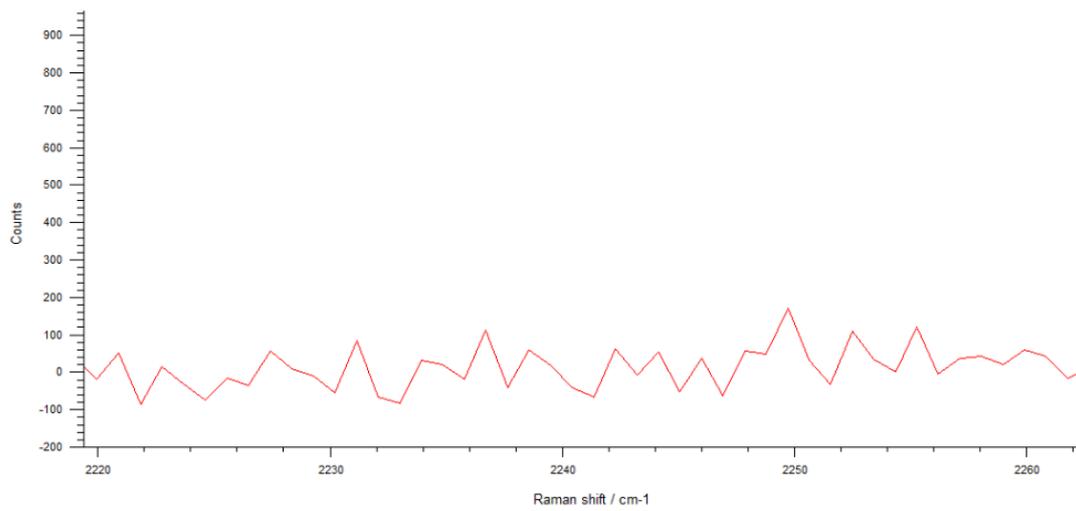


圖 3-6 0.5 M Benzonitrile 晶片以溶劑清洗後再測量其 SERS 光譜



3.1.2 4-Iodophthalonitrile 的光譜討論

接下來我們測試 4-Iodophthalonitrile，因為他的每個分子中有兩個 CN 基團(CN group)，所以我們預期他會有相當強的光譜訊號。為了知道 4-Iodophthalonitrile CN 基團拉曼位移的位置，我們先測量他的粉末的一般拉曼，所得到的粉末一般拉曼的光譜如圖 3-7(a)，CN 伸縮振動的位置也是如同文獻上的值²⁸，而透過光譜在 2235 cm⁻¹ 左右的放大圖(圖 3-7(b))，可以看出該訊號出現了開裂(splitting)，這也符合文獻上所說，他是來自兩個 CN 的對稱伸縮(symmetric stretching)和不對稱伸縮(asymmetric stretching)²⁸。

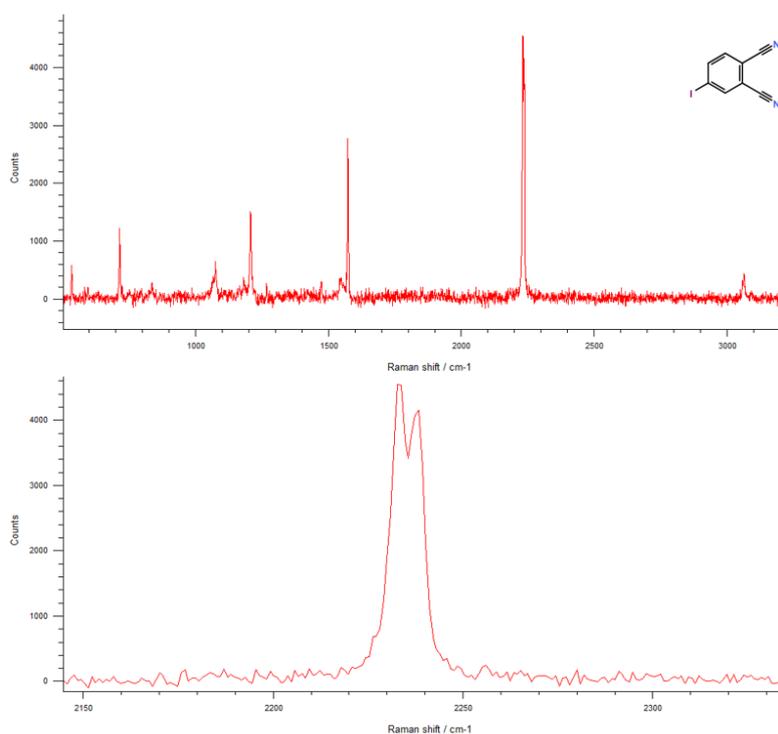


圖 3-7(a) 4-Iodophthalonitrile 的粉末一般拉曼光譜以及他的分子結構 (b) 4-Iodophthalonitrile 的粉末一般拉曼光譜在 2235 cm⁻¹ 左右放大圖

為了和接下來的 SERS 光譜做比較，我們配置了 1 mM 的 4-Iodophthalonitrile 溶液，也為了和 SERS 保持相同的參數，一開始我們先以 10% 雷射做量測，從圖 3-8(a) 可以看到雜訊(noise)相當明顯，並且也看不出任何 CN 拉曼訊號，接著我們將雷射功率調大至 100%，仍然沒有發現拉曼訊號如圖 3-8(b)，可能是拉曼散射本身的強度比較弱的緣故。

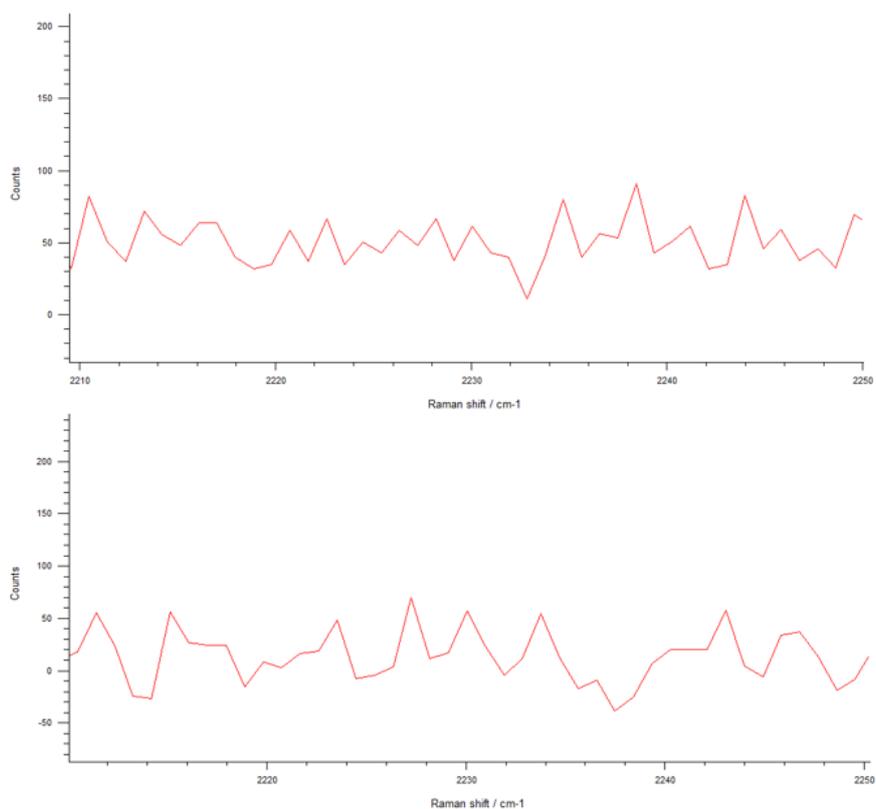
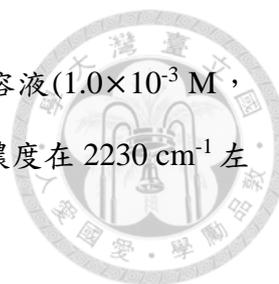


圖 3-8(a) 1 mM 4-Iodophthalonitrile 的一般拉曼光譜，以雷射功率 10% 量測 (b) 1 mM 4-Iodophthalonitrile 的一般拉曼光譜，以雷射功率 100% 量測



接下來測量他的 SERS，我們配置了一系列不同濃度的溶液(1.0×10^{-3} M, 1.0×10^{-4} M, 1.0×10^{-5} M, 1.0×10^{-6} M, 1.0×10^{-7} M)，並且將各濃度在 2230 cm^{-1} 左右的區間疊圖(圖 3-9)。

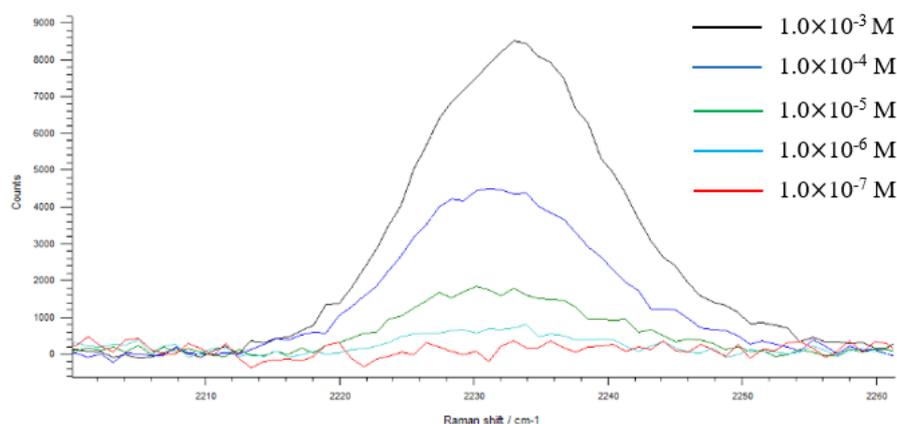


圖 3-9 不同濃度 4-Iodophthalonitrile 的 SERS 光譜發現在 2235 cm^{-1} 左右的位置的訊號強度的確有隨著濃度降低而變小的趨勢

我們可以看到各濃度的 SERS 相較於前面的 1 mM 的一般拉曼(圖 3-8)，的確可以看出 SERS 在訊號強度上的增強效應，此外隨著濃度下降，訊號有下降的趨勢，也提供這個訊號是來自分子的證據。又因為如前面所提到 1600 cm^{-1} 有顯著的背景訊號，並無法很明白的斷定他是否由苯環吸附在表面上，同樣地， 3000 cm^{-1} 以上也是因為有晶片背景訊號的緣故，所以也不能像文獻所說，用 $\text{sp}^2\text{C-H}$ 鍵來斷定是否透過苯環吸附²⁹⁻³⁰。所以接下來就試著從 1000 cm^{-1} 以下的區域來找尋線索，在 713 cm^{-1} 左右的位置(圖 3-10(a))，文獻上的 assignment 是 CCN torsion+CH wag 在粉末的一般拉曼中是一根尖銳的訊號²⁸，但是在 SERS 中(圖 3-10(b))因為加寬而變得比較弱且不明顯，所以我們推測分子透過苯環和表面有一些作用力²⁹。

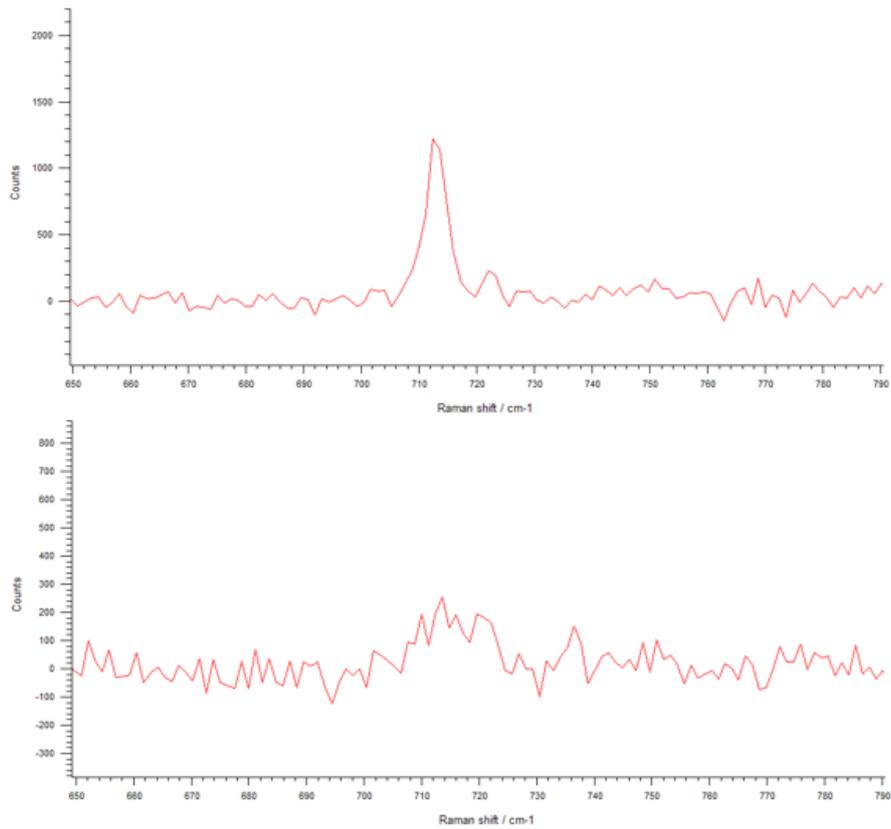


圖 3-10(a) 4-Iodophthalonitrile 粉末在 713 cm^{-1} 左右的訊號 (b) 1 mM 溶液的 SERS 在同樣區域的光譜

接下來我們以訊號強度對不同濃度作圖(圖 3-11)，發現化合物在這個晶片上符合文獻中提到的吸附行為³¹，得到類似文獻所發表的等溫吸附線。從圖中可以看到濃度愈高，訊號會逐漸達到一個極限，這代表具有 SERS 活性的位置逐漸被占滿³²⁻³³。

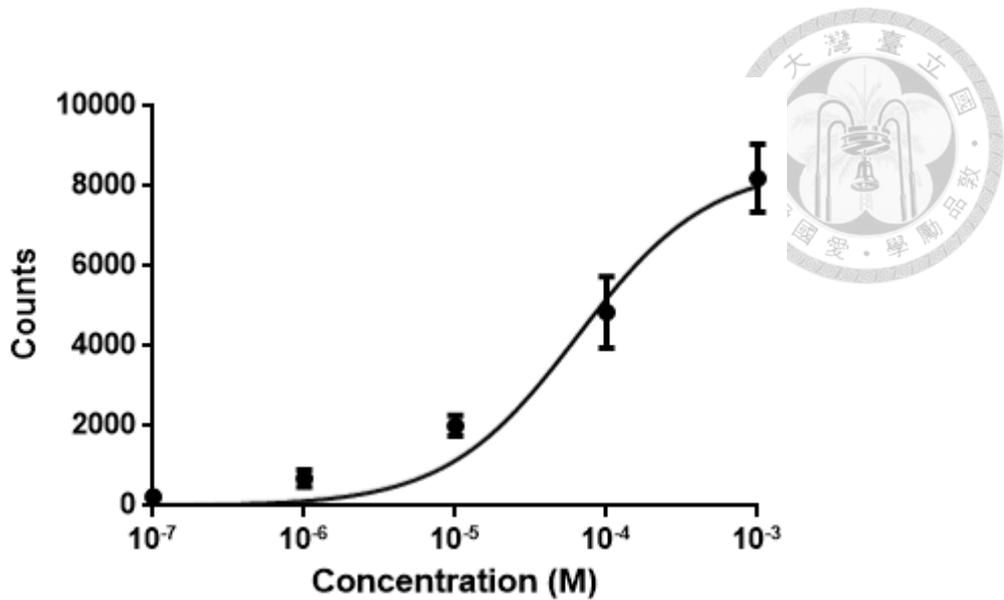


圖 3-11 不同濃度 4-Iodophthalonitrile 的 SERS 訊號對濃度作圖

此外，在測量之後，我們也對晶片用溶劑清洗，清洗過後發現，CN 的訊號仍然存在(圖 3-12)，所以我們認為這個分子對晶片表面的確有相當強的吸附。

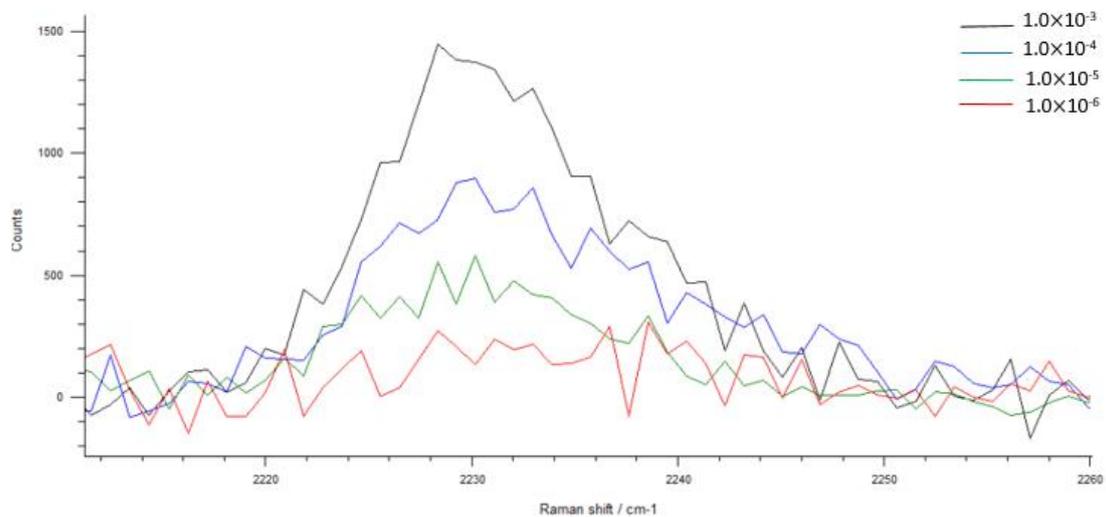


圖 3-12 各濃度 4-Iodophthalonitrile SERS 晶片以溶劑清洗後的 SERS 光譜

從對金表面的作用力以及 1 mM 和更低濃度的訊號強度來看，這個化合物在這個晶片上都勝過前面的分子，有相當好的表現。



3.1.3 (Triphenylsilyl)acetylene 的光譜討論

為了知道 SERS 在強度上的影響以及(Triphenylsilyl)acetylene 在金的表面的吸附情形，我們配置了不同濃度(1.0×10^{-3} M, 5.0×10^{-4} M, 1.0×10^{-4} M, 5.0×10^{-5} M, 1.0×10^{-5} M)的溶液，並且取 1 mM (1.0×10^{-3} M)溶液來測量一般拉曼，以及測量各濃度的 SERS。

先看 1 mM 溶液的一般拉曼，為了和 SERS 同樣條件，一開始先用 10% 雷射功率測量，在 2035 cm^{-1} 左右並沒有發現訊號(圖 3-13(a))，而之後將功率調成 100%，同樣也沒有訊號(圖 3-13(b))可能是拉曼散射本身就很弱的原因。

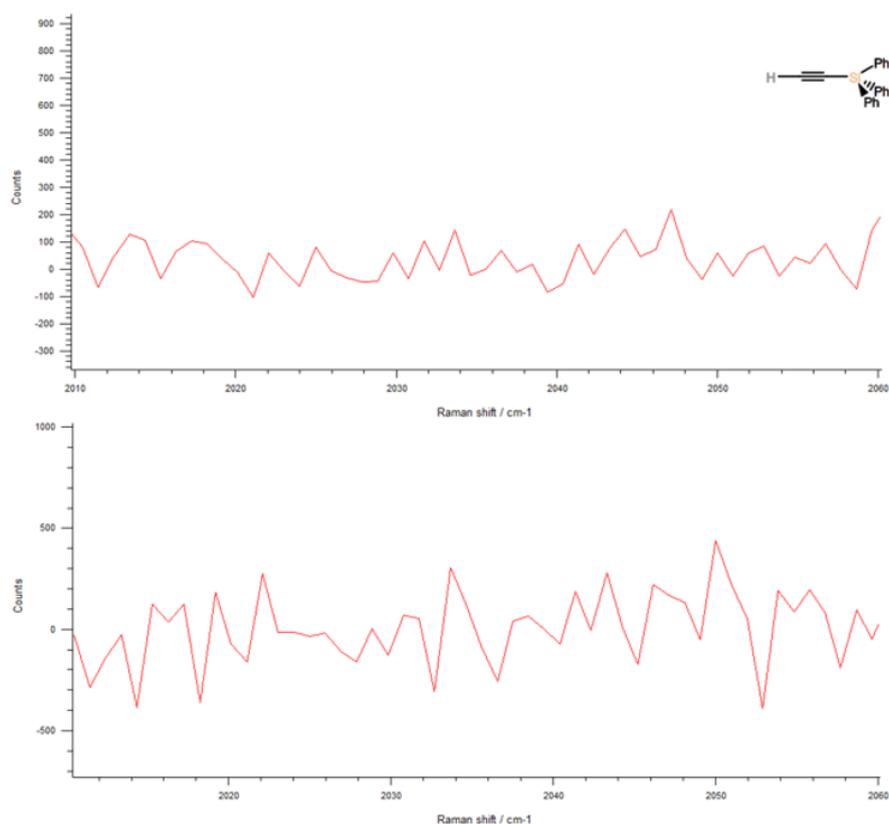


圖 3-13 (a) 1 mM (Triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 10% 量測和其分子結構 (b) 1 mM (Triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 100% 量測

再來觀察 SERS 光譜(圖 3-14)，發現 SERS 光譜在 2035 cm^{-1} 的地方有比較胖的訊號，符合文獻所提及的末端炔 CC(terminal alkyne)參鍵所在的區域²⁶。並且此訊號會隨著濃度而變化，同時，我們以此位置的平均訊號強度對濃度作圖，來測試此化合物在此晶片上不同濃度的訊號(圖 3-15)，發現也展現了在高濃度時訊號強度會呈現飽和的現象³⁴。為了知道這個分子對表面的吸附力強弱，用溶劑洗過晶片再測，在 $1.0\times 10^{-3}\text{ M}$ 就發現原本的訊號消失了(圖 3-16)，因此我們推論此化合物對晶片表面的吸附能力並不強。

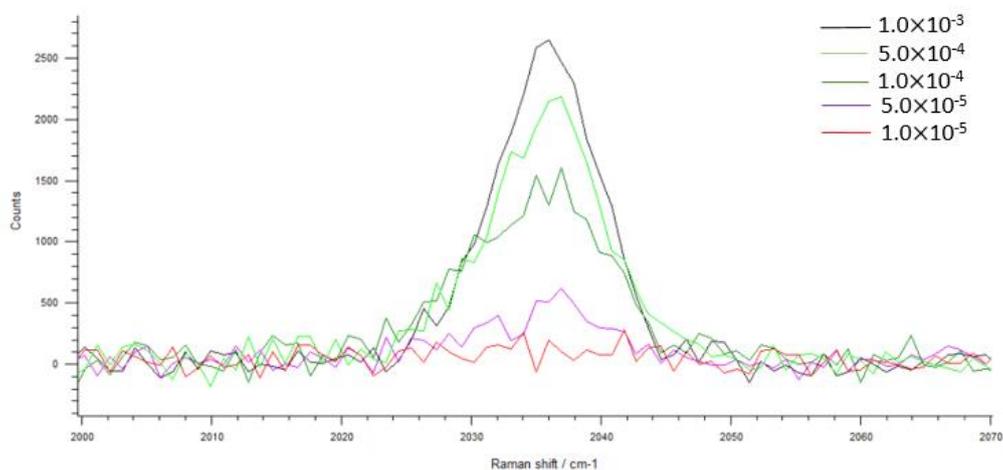


圖 3-14 不同濃度 (Triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 光譜，從中可以看到訊號位置大約都在 2035 cm^{-1} 左右，而且訊號強度隨著濃度而改變

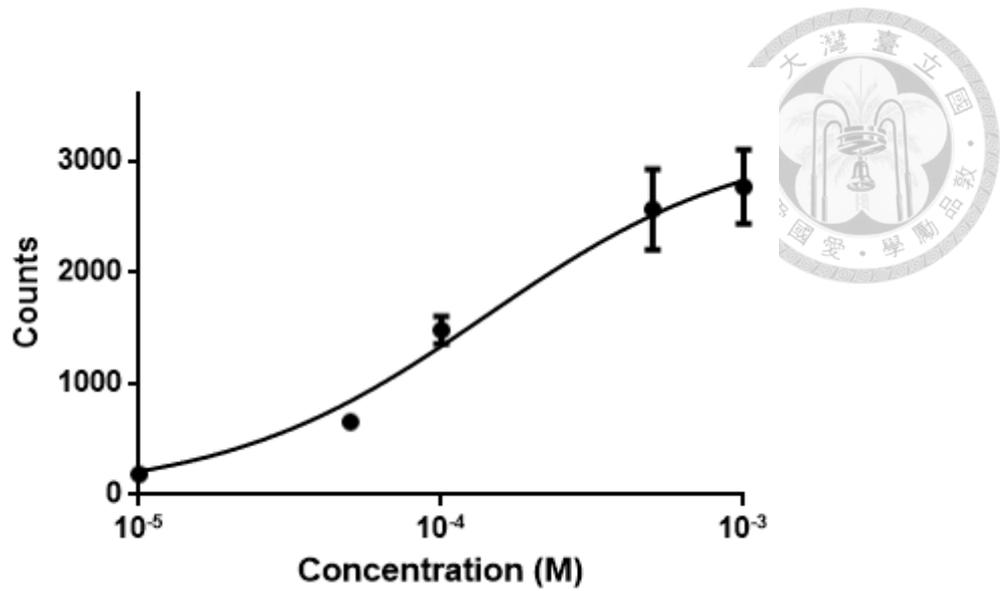


圖 3-15 不同濃度(Triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 訊號對濃度作圖

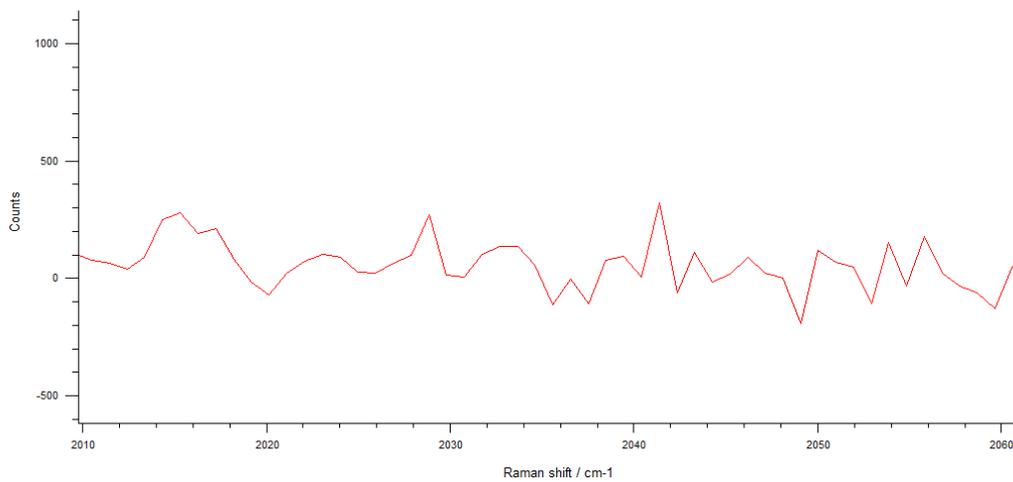


圖 3-16 用溶劑清洗晶片後，在 1.0×10^{-3} M 的濃度時在 2035 cm^{-1} 的訊號



3.1.4 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的光譜討論

因為這個 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的參鍵位在內部(internal alkyne)，如同文獻³³所提到，他的訊號位置比(Triphenylsilyl)acetylene(屬於 terminal alkyne)的波數(wavenumber)來的高，這點在之後的一般拉曼，或是 SERS 都是一致的。

對於這個分子，我們也準備了一系列的濃度(1.0×10^{-3} M, 1.0×10^{-4} M, 1.0×10^{-5} M, 1.0×10^{-6} M)，取 1 mM (1.0×10^{-3} M) 溶液測量他的一般拉曼，以及測量各濃度的 SERS 光譜。先看 1 mM 溶液的一般拉曼，一開始先以雷射功率 10% 量測，在 2107 cm^{-1} 的位置並沒有發現訊號(圖 3-17(a))，接著放大雷射功率為 100%，該處仍然沒有訊號(圖 3-17(b))，同樣可能來自拉曼的散射截面積比較小的緣故。

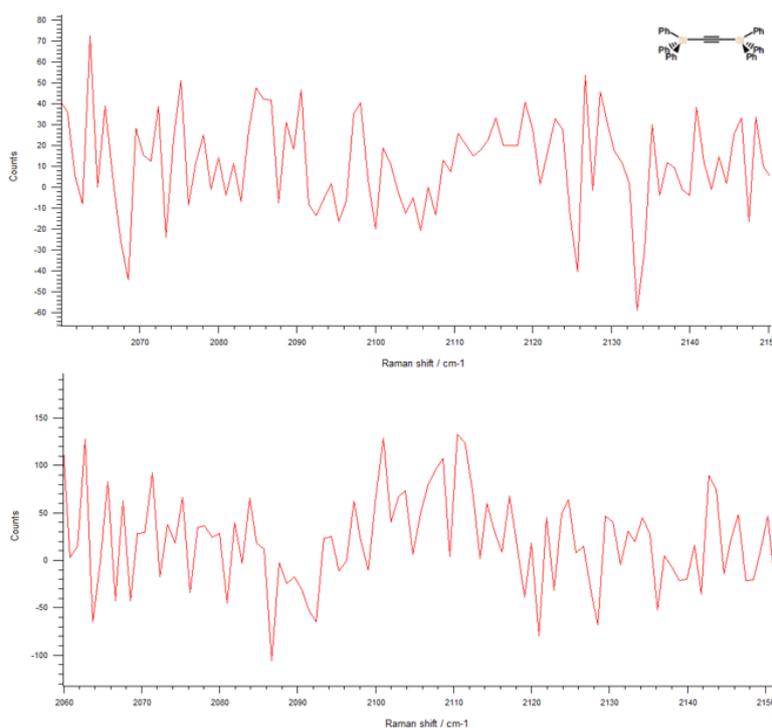


圖 3-17(a) 1 mM 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 10% 量測以及其分子結構 (b) 1 mM 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的一般拉曼光譜，以雷射功率 100% 量測



接下來看各濃度 SERS，發現各個濃度的 SERS 訊號約在 2107 cm^{-1} ，並且隨著濃度減低有強度下降的趨勢(圖 3-18)，這可以證明這個訊號是來自分子的訊號。而不是來自晶片的背景訊號。

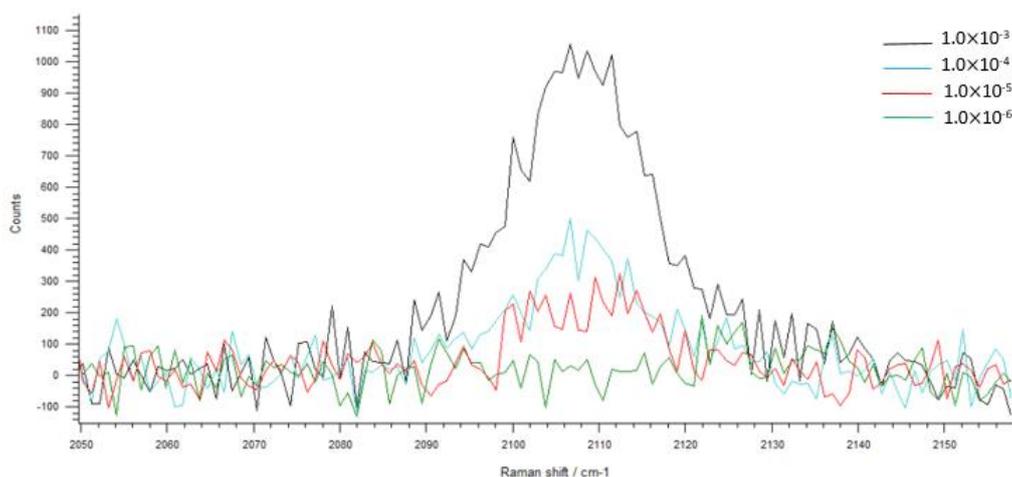


圖 3-18 不同濃度 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 光譜

因為這個訊號靠近晶片的背景訊號($2100\text{ cm}^{-1}\sim 2200\text{ cm}^{-1}$)，為了更進一步確認這是來自分子的訊號，我們也測試了 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的粉末，如圖 3-19，在 2107 cm^{-1} 的地方也是有訊號，因此可以確定在 SERS 的 2107 cm^{-1} 的訊號是來自分子的訊號。

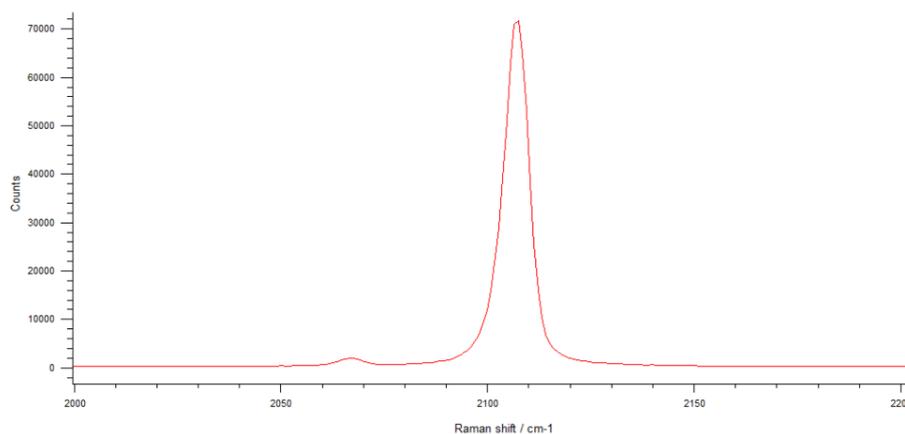


圖 3-19 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的粉末拉曼光譜

接下來將溶液稀釋，以所得平均訊號強度對濃度作圖(圖 3-19)，來測試這個分子在晶片上的吸附行為，同樣地，也展現了高濃度時訊號增加逐漸到一個極限。並且也以溶劑對晶片做清洗後，再測一次 SERS 訊號(圖 3-20)，可以發現在 1.0×10^{-3} M 的濃度下， 2107 cm^{-1} 處的訊號消失了，所以我們推測此分子對金表面的吸附並不強。

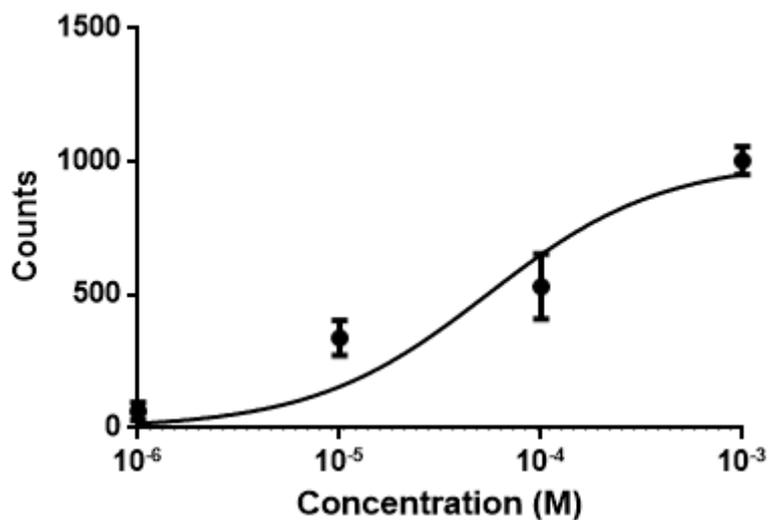


圖 3-20 不同濃度 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 的 SERS 訊號對濃度作圖

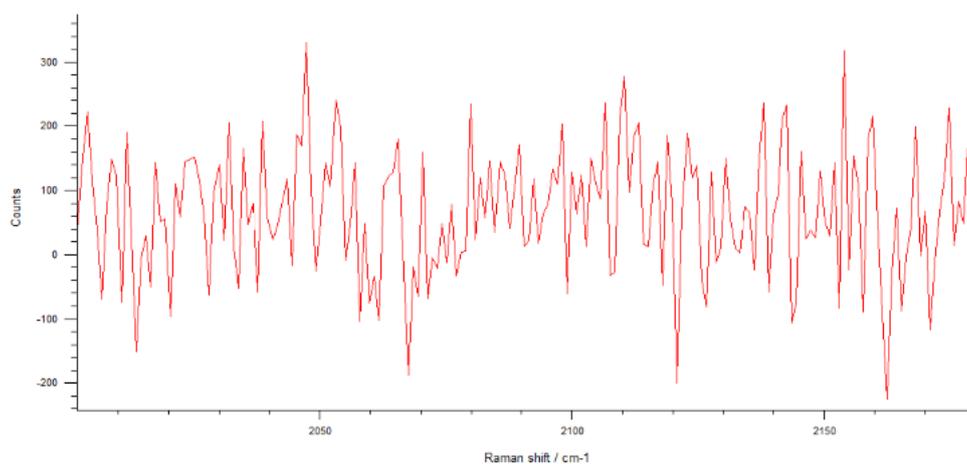


圖 3-21 用溶劑清洗晶片後，在 1.0×10^{-3} M 的濃度時在 2107 cm^{-1} 左右的光譜



3.2 晶片製作

在晶片製作的部分，我們參考文獻的資料³⁵，在製作晶片的過程中，是先將晶圓蝕刻出奈米結構後，再對其以電子束蒸鍍的方式鍍上具有 SERS 活性的金屬，因為要產生 SERS 訊號需要有奈米結構，所以若是沒有蝕刻出奈米結構的話，後面就算有鍍上金，也沒有效果。並且若是有蝕刻出奈米結構的話，具有奈米結構的晶圓部分應該呈現黑色的¹⁹。在晶片製作的部分，透過參數的改變，來尋找可以得到奈米結構的條件。在蝕刻時主要的參數有功率，腔體壓力，SF₆ 和 O₂ 的流速比例和時間。我們用參數測試表格 3-1 的參數來蝕刻，發現如圖 3-22 的外觀，因為其他部分和沒有蝕刻時一樣，不同的地方是白色的部分，為了確認白色部分的表面樣貌，我們便在蝕刻步驟後先拍攝 SEM，所得到的 SEM 如圖 3-23。

表 3-1 蝕刻參數表格-1

功率(W)	壓力(Pa)	SF ₆ :O ₂ (sccm)	時間(分)
70	5	20:2	50



圖 3-22 以表格 3-1 蝕刻後得到的晶圓外觀

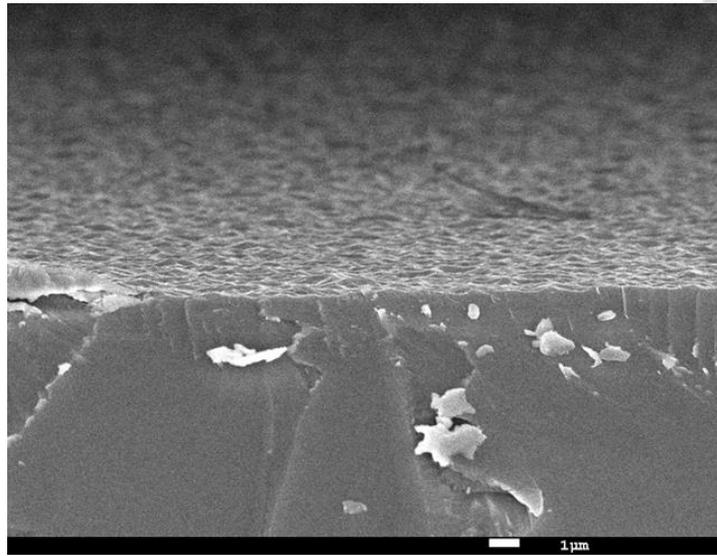


圖 3-23 在圖 3-21 中白色部分的 SEM

從比例尺來看，雖然有些凹洞，但是因為晶圓外觀和文獻所提及有所不同所以也就沒有再鍍金，並且再調整參數。

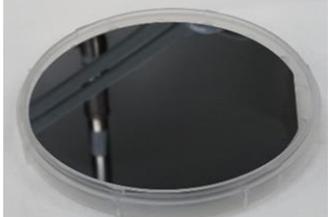
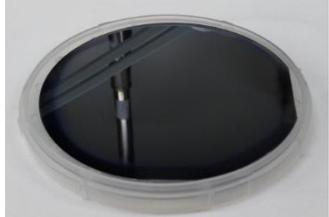
因為從上面的結果中，雖然晶圓的外觀有所變化，但是和文獻所提及的變成黑色有所不同，因此和文獻相比較推測和氣體的流速比例有關係，此外 70 W 有相當大的面積有反應，接下來就以 70 W 為主並且參考文獻的比例來蝕刻，我們先以 20 分鐘為測試，最後再挑選 20 分鐘內蝕刻效果最好的參數來延長時間做蝕刻。接下來我們嘗試參數如表 3-2。

表 3-2 蝕刻參數表格-2

功率(W)	壓力(Pa)	SF ₆ :O ₂ (sccm)	時間(分)
145	5	40:35.7	20
70	5	40:35.7	20
40	5	40:35.7	20

在蝕刻後，以 145 W，70 W，40 W 的功率蝕刻得到的外觀分別如表 3-3。可以看到同樣的時間下，145 W 會造成太大的反射功率，以致蝕刻後沒有效果，這符合儀器訓練時所教導的結果，而 40 W 則可能是功率太小的關係，造成蝕刻效率不如 70 W，以 70 W 得到的蝕刻面積是最大的，但是此時只有部分的面積被蝕刻，所以我們試著延長蝕刻時間來試著增加可以做為 SERS 基質的面積。

表 3-3 以 145 W，70 W，40 W 蝕刻 20 分鐘後所得到的晶圓外觀

		
<p>以 145 W 蝕刻 20 分鐘得到的晶圓外觀</p>	<p>以 70 W 蝕刻 20 分鐘得到的晶圓外觀</p>	<p>以 40 W 蝕刻 20 分鐘得到的晶圓外觀</p>



接下來我們試著將蝕刻時間延長到 45 分鐘，得到了如圖 3-24 的晶圓外觀。可以符合表 3-3 中蝕刻 20 分鐘的晶圓延長蝕刻時間得到的結果。

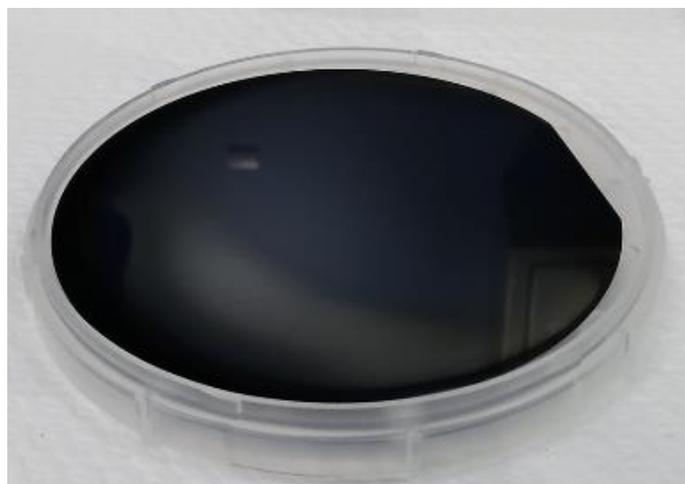


圖 3-24 以 70 W 蝕刻 45 分鐘得到的晶圓外觀

接著我們便以電子束蒸鍍的方式蒸鍍上 180 nm 的金。所得到的晶圓外觀如圖 3-25(a)並且以晶圓切割機將其切割成 3 mm X 3 mm 的正方形(圖 3-25(b))。因為根據文獻，有奈米結構的地方表面比較粗糙，應該是黑色的^{19,36}，所以我們從黑色和比較不是黑色的地方在切割後選幾塊來測試，所得到的光譜分別如圖 3-26(a)和圖 3-26(b)，可以看到的確比較黑色的地方有比較強的訊號，因此之後我們也選取在刻後比較黑的地方來做和市售的晶片比較測試。

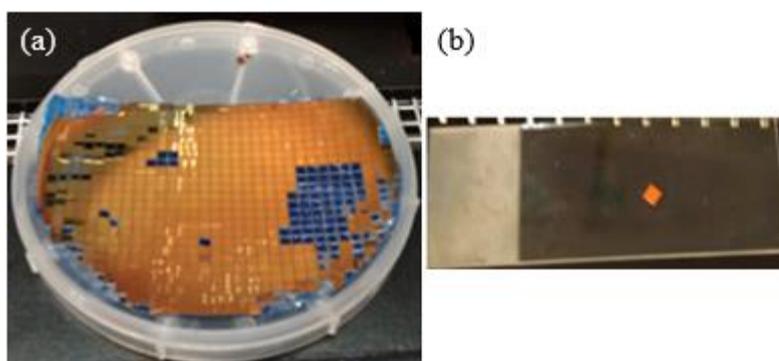


圖 3-25 (a) 蒸鍍後晶圓外觀 (b) 3 mm×3 mm 的正方形晶圓外觀

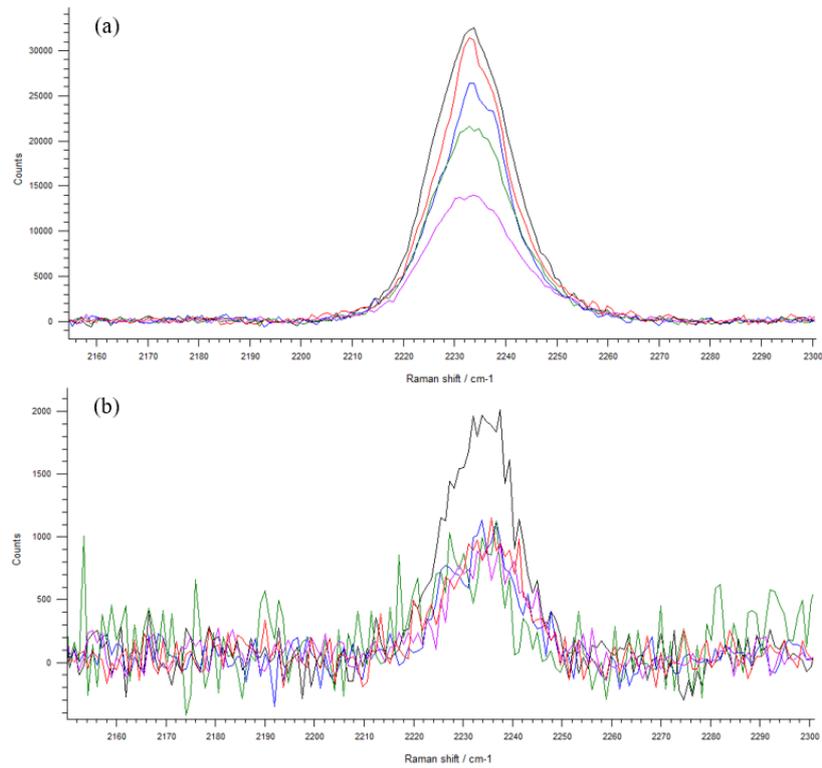


圖 3-26 (a) 蝕刻比較深，顏色比較黑的部分所得到的光譜 (b) 蝕刻比較淺，顏色比較不黑的部分所得到的光譜

為了確認比較黑的區域的表面是否有奈米結構，我們從其中選一塊拍攝 SEM，分別得到正面和側面的 SEM(圖 3-27)。從中可以確認到的確是有奈米結構的。

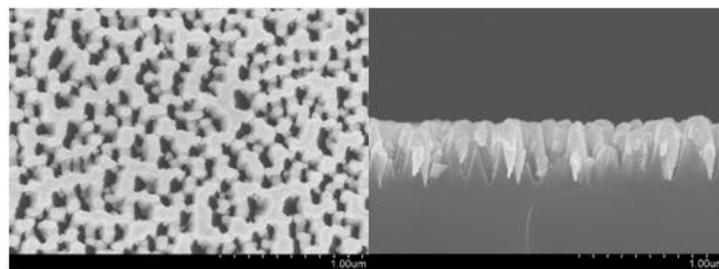


圖 3-27 自行製作品片正面 SEM(左)與側面 SEM(右)

為了幫助更了解 SERS 晶片的奈米結構形狀，我們也拍攝蝕刻後的晶片在以電子束蒸鍍前的 SEM 影像(圖 3-28)，從蒸鍍前後的 SEM 比較，更可以確認 SERS 晶片的奈米結構形狀。

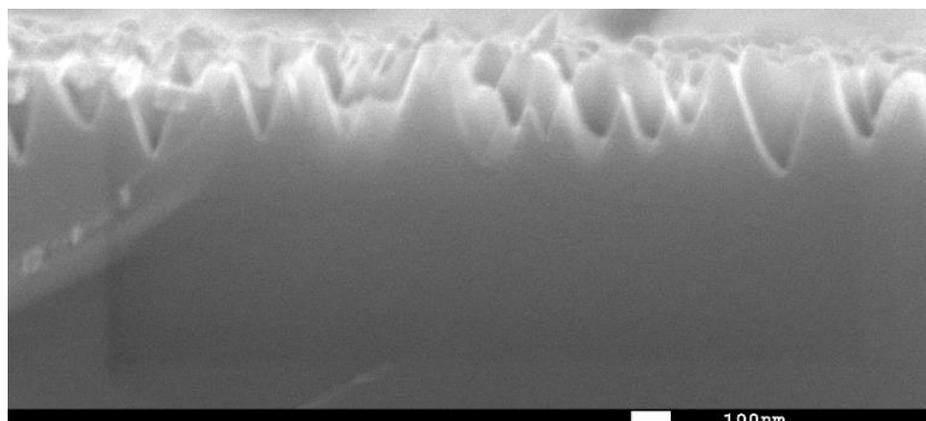


圖 3-28 自行製作品片蒸鍍前的奈米結構

為了更進一步探討奈米結構對於 SERS 基質的影響，我們也拿市面上的 SERS 基質來做比較。從他們的外觀(圖 3-29)來看，左邊是自製的晶片和右邊市面上買的晶片比起來顏色可以看的出來有不同，再從他們的 SEM 的俯視視角 (圖 3-30)來比較，這可能是由於鍍的金屬的厚度不同或者不同的奈米結構造成 LSPR 的位移³⁷⁻³⁸而造成顏色上的不同。而 LSPR 的改變也可能造成分子在基質上得到的訊號強度不同³⁹。從兩者側面同樣倍率的 SEM(圖 3-31)來看，則是可以看出兩者奈米結構的形狀是不同的，而且金也沒有完全蓋住奈米結構，所以我們用曼光譜測試 520 cm^{-1} 的訊號來確定這個情況，從圖 3-32 可以看到的確兩者在 520 cm^{-1} 的位置都有訊號，但是自製晶片的訊號比較強，是因為自製晶片的蝕刻深度比較深而且形狀是三角形的，上半部有鍍金的部分距離比較遠，而容易測到下半部露出來的 Si，造成比較強的 520 cm^{-1} 訊號。在市售晶片的部分因為蝕刻深度比較淺而且形狀比較直，上半部的金可以擋住下面露出來的 Si，所以所測到的 520 cm^{-1} 比較弱。



圖 3-29 自製的晶片(左)和市面上買的晶片(右)的外觀

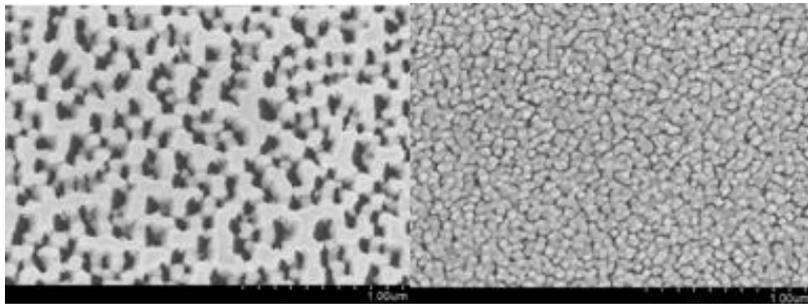


圖 3-30 自製晶片(左)和市面上晶片(右)的 SEM 俯視圖

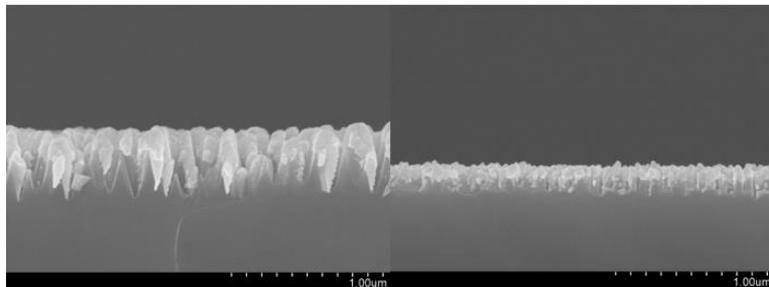


圖 3-31 自製晶片(左)和市面上晶片(右)的 SEM 截面圖

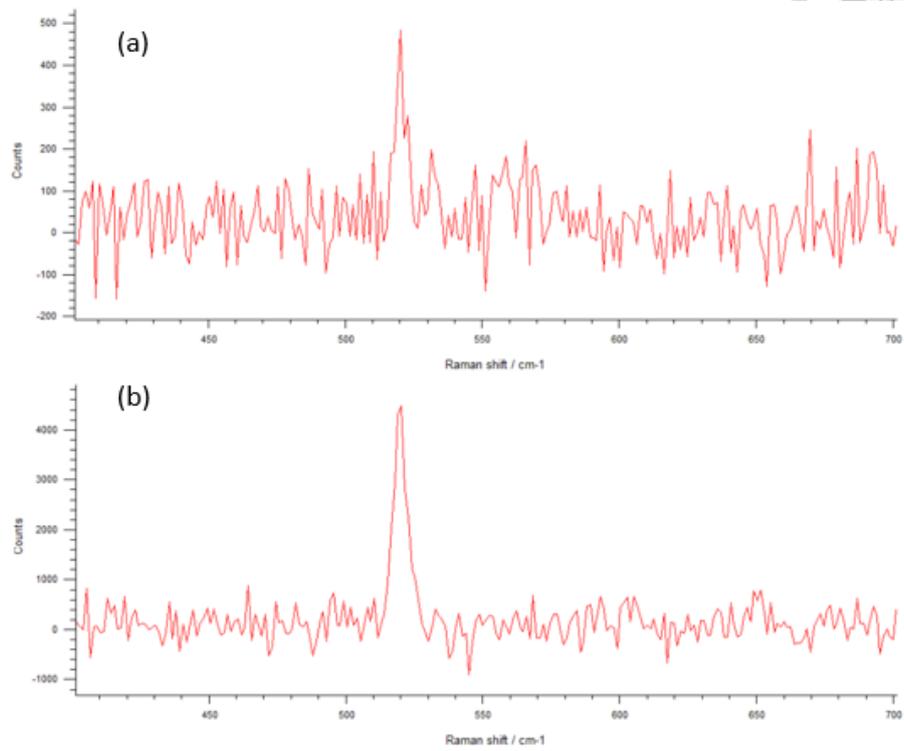


圖 3-32 (a) 市面上買的晶片在 520 cm^{-1} 的光譜 (b) 自製的晶片在 520 cm^{-1} 的光譜



3.3 自製 SERS 基質的訊號測試

為了測試自製晶片和市售晶片的表現，我們也依照之前的方法，將 5 μL 的溶液滴在自製晶片上，等溶劑乾了以後，測他們的拉曼訊號。

3.3.1 Benzonitrile 在自製 SERS 基質的訊號測試

首先先測量 1 mM Benzonitrile 的訊號，所得到的 SERS 光譜如圖 3-33。

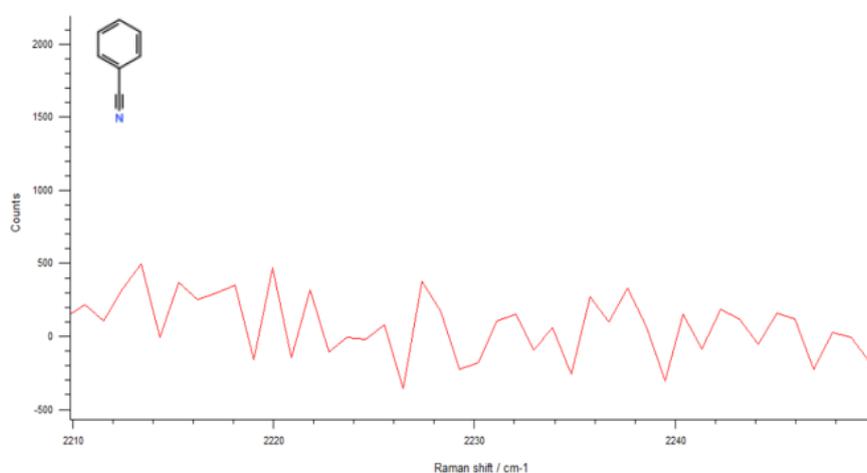


圖 3-33 1 mM Benzonitrile 在自製晶片的 SERS 光譜

從圖 3-33 可以看到在和市售晶片相同的光譜區域同樣沒有訊號，這代表此分子也不適合在這個 SERS 晶片上作測量。



3.3.2 4-Iodophthalonitrile 在自製 SERS 基質的訊號測試

接下來我們同樣先將 1 mM 的 4-Iodophthalonitrile 溶液滴在自製 SERS 晶片上做測試，所得到的訊號經過多次平均後得到的結果和市面上賣的做比較如圖 3-34。可以看到，自製的 SERS 基質在訊號上比市面上賣的還要好一些，但是所得到的訊號變化也比較大。

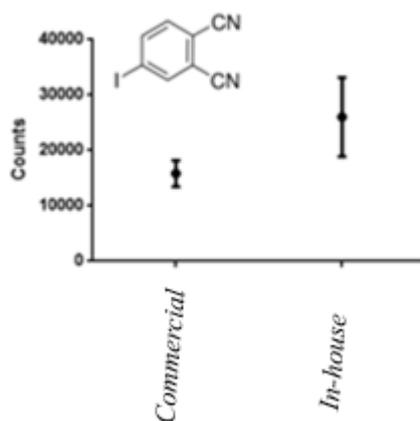


圖 3-34 1 mM 4-Iodophthalonitrile 溶液滴在 SERS 晶片上做測試

因為知道了自製 SERS 基質是可以產生明顯的拉曼訊號的，所以我們也嘗試著將濃度稀釋，測試自製基質的訊號隨著濃度變化的情形，並且為了方便比較，我們把自製的基質所得到的曲線和市面上賣的放在同一張圖，如圖 3-35。

從圖 3-35 可以看到自製晶片對於 4-Iodophthalonitrile 有比較強的訊號。此外自製基質也展現了常見的分子吸附曲線，也就是隨著濃度增加，訊號會逐漸到達一個極限，顯示具有 SERS 活性的位置(SERS active site)逐漸被佔滿。

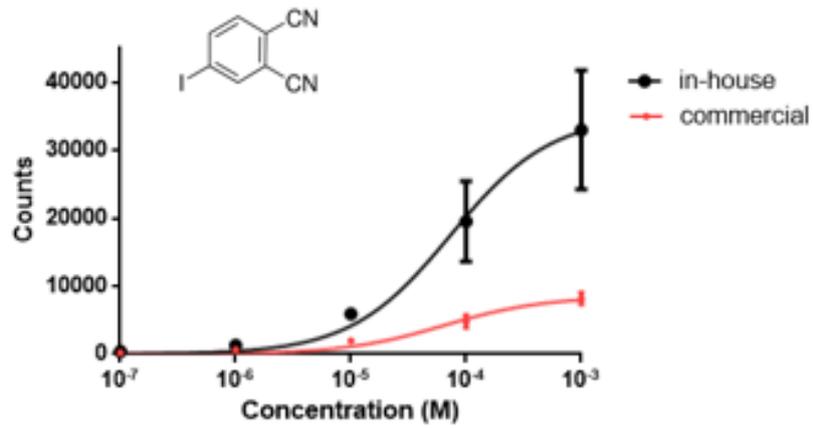


圖 3-35 4-Iodophthalonitrile 在自製晶片和市售晶片上訊號和濃度之間的關係



3.3.3 (Triphenylsilyl)acetylene 在自製 SERS 基質的訊號測試

對於(Triphenylsilyl)acetylene 分子，我們同樣將 1 mM 溶液滴在自製晶片上測試他的訊號，所得到的結果發現也是比市面上賣的還要強(圖 3-36)，因為確認了有訊號的產生所以接下來同樣也是稀釋一系列的溶液並且對他們測量訊號強度(圖 3-37)。

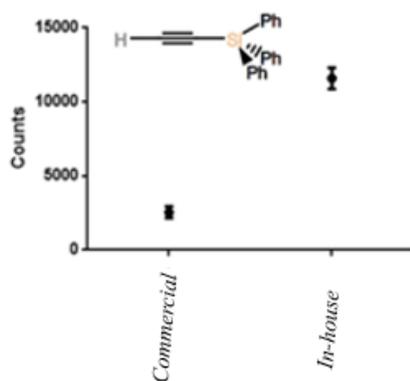


圖 3-36 1 mM (Triphenylsilyl)acetylene 溶液滴在 SERS 晶片上做測試

從圖 3-37 中可以看到自製晶片對於(Triphenylsilyl)acetylene 有比較強的訊號，並且也呈現了和吸附曲線相似的行為。

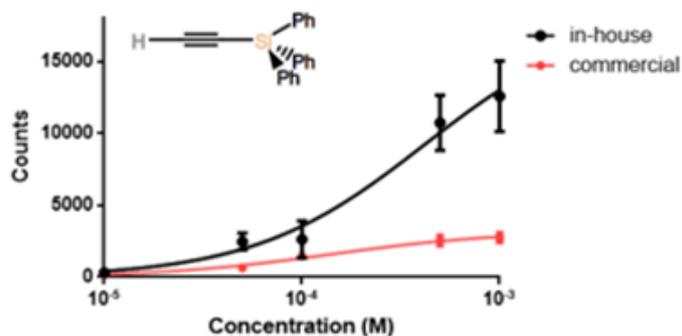


圖 3-37 (Triphenylsilyl)acetylene 在自製晶片和市售晶片上訊號和濃度之間的關係

3.3.4 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 在自製 SERS 基質的訊號測試

對於 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 分子，我們也是依照前面的方法，配置此分子的 1 mM 溶液，並且滴在自製的晶片上測試，所得到的結果如圖 3-38。從圖中可以看到，自製晶片對此化合物仍然具有比較高的訊號強度。

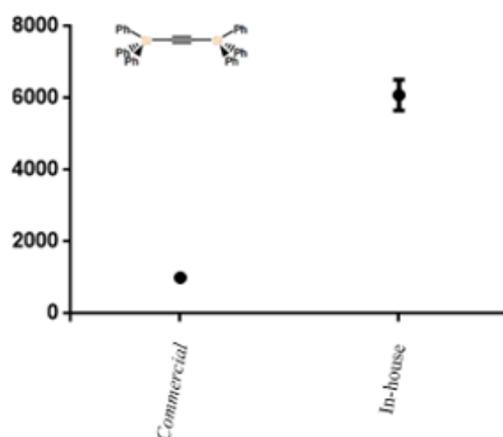


圖 3-38 1 mM 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 分子溶液滴在 SERS 晶片上做測試

接著，我們一樣將溶液做稀釋，並且把自製晶片和市售晶片重疊在一起以方便比較，從圖 3-39 可以看到自製晶片對於 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 有比較強的訊號，而訊號逐漸到達一個飽和值的行為，顯示了 SERS 活性位置逐漸被佔滿的現象。

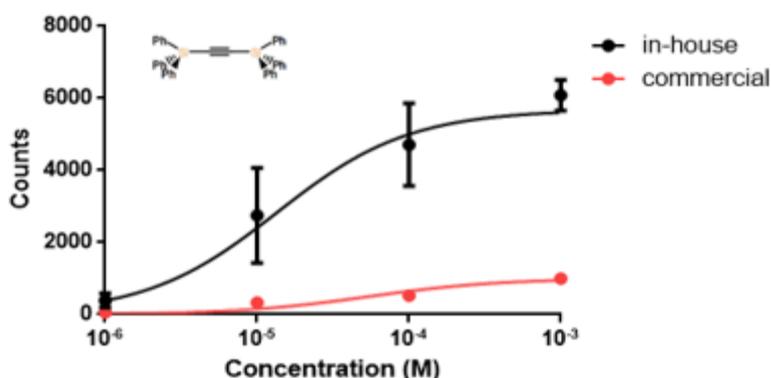


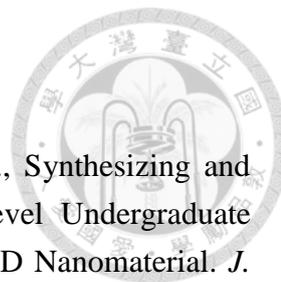
圖 3-39 1,2-Bis(triphenylsilyl)acetylene 在自製晶片和市售晶片上訊號和濃度之間的關係



第四章 結論

在本論文中，我們找到數個分子在不受到來自生物分子的訊號干擾的光譜區域，也就是 $1800\sim 2500\text{ cm}^{-1}$ 的位置有訊號，進一步測試他們在 SERS 晶片上的表現，可以發現符合常見的分子吸附的行為，同時也印證了 SERS 效應在訊號強度上的顯著影響。透過 4-Iodophthalonitrile 的粉末拉曼光譜和其 SERS 光譜的比較，可以看出在 713 cm^{-1} 部分的訊號有變寬的現象，顯示這個分子和鍍金的 SERS 表面有作用力，透過各個分子滴到晶片上，並且以溶劑清洗前後的訊號來看，4-Iodophthalonitrile 對於金奈米結構表面的吸附能力高過其他化合物，這使得這個化合物在其他奈米結構上的應用也有一定的潛力。

在 SERS 基質研究的方面，我們成功地製造具有 SERS 訊號的基質，同時製作的過程也相對應的簡單，這使我們可以快速地得到具有 SERS 活性的晶片，這些晶片的大小和市面上賣的差不多，並且適用於本實驗室所使用的大部分容器的體積。從不同分子在市售和自製晶片上的測試比較，可以觀察到訊號強弱與奈米結構有關，雖然目前自製晶片有初步的成功，但是還是有些地方需要改善，例如晶片的靈敏度，以及整塊晶圓所切割下來的晶片是否能夠都具有均勻的 SERS 活性，這兩個缺點依然是晶片式 SERS 基質所需要克服的問題，但是晶片式 SERS 基質對於化學和生物感測仍然具有相當的潛力。



第五章 參考文獻

- 1.Parobek, D.; Shenoy, G.; Zhou, F.; Peng, Z.; Ward, M.; Liu, H., Synthesizing and Characterizing Graphene via Raman Spectroscopy: An Upper-Level Undergraduate Experiment That Exposes Students to Raman Spectroscopy and a 2D Nanomaterial. *J. Chem. Educ.* **2016**, *93* (10), 1798-1803.
- 2.Raman Spectroscopy
http://www4.ncsu.edu/~franzen/public_html/CH454/lab2/Raman_Spectroscopy.pdf.
- 3.McCreery, R. L., *Raman spectroscopy for chemical analysis*. John Wiley & Sons: 2005; Vol. 225.
- 4.Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J., Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *26* (2), 163-166.
- 5.Jeanmaire, D. L.; Van Duyne, R. P., Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **1977**, *84* (1), 1-20.
- 6.Albrecht, M. G.; Creighton, J. A., Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99* (15), 5215-5217.
- 7.Moskovits, M., Surface roughness and the enhanced intensity of Raman scattering by molecules adsorbed on metals. *The Journal of Chemical Physics* **1978**, *69* (9), 4159-4161.
- 8.Katrin, K.; Harald, K.; Irving, I.; Ramachandra, R. D.; Michael, S. F., Surface-enhanced Raman scattering and biophysics. *J. Phys.: Condens. Matter* **2002**, *14* (18), R597-R624.
- 9.Willets, K. A.; Van Duyne, R. P., Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58* (1), 267-297.
- 10.Kleinman, S. L.; Frontiera, R. R.; Henry, A.-I.; Dieringer, J. A.; Van Duyne, R. P., Creating, characterizing, and controlling chemistry with SERS hot spots. *PCCP* **2013**, *15* (1), 21-36.
- 11.Etchegoin, P. G.; Le Ru, E. C., A perspective on single molecule SERS: current status and future challenges. *PCCP* **2008**, *10* (40), 6079-6089.
- 12.Lee, P. C.; Meisel, D., Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *J. Phys. Chem.* **1982**, *86* (17), 3391-3395.
- 13.Frens, G., Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. *Nature Physical Science* **1973**, *241*, 20-22.
- 14.Nie, S.; Emory, S. R., Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* **1997**, *275* (5303), 1102-1106.
- 15.Wang, X. A.; Kong, X., Review of Recent Progress of Plasmonic Materials and Nano-

- Structures for Surface-Enhanced Raman Scattering. *Materials* **2015**, *8* (6), 3024-3052.
- 16.Xin, S.; Hao, L., A Review: Nanofabrication of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) Substrates. *Current Nanoscience* **2016**, *12* (2), 175-183.
- 17.De Jesús, M. A.; Giesfeldt, K. S.; Oran, J. M.; Abu-Hatab, N. A.; Lavrik, N. V.; Sepaniak, M. J., Nanofabrication of Densely Packed Metal—Polymer Arrays for Surface-Enhanced Raman Spectrometry. *Appl. Spectrosc.* **2005**, *59* (12), 1501-1508.
- 18.Jensen, T. R.; Malinsky, M. D.; Haynes, C. L.; Van Duyne, R. P., Nanosphere Lithography: Tunable Localized Surface Plasmon Resonance Spectra of Silver Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104* (45), 10549-10556.
- 19.Schmidt Michael, S.; Hübner, J.; Boisen, A., Large Area Fabrication of Leaning Silicon Nanopillars for Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Adv. Mater.* **2011**, *24* (10), OP11-OP18.
- 20.Wu, K.; Rindzevicius, T.; Schmidt Michael, S.; Thilsted Anil, H.; Boisen, A., Optimizing silver-capped silicon nanopillars to simultaneously realize macroscopic, practical-level SERS signal reproducibility and high enhancement at low costs. *Journal of Raman Spectroscopy* **2017**, *48* (12), 1808-1818.
- 21.Farcou, C.; Astilean, S., Mapping the SERS Efficiency and Hot-Spots Localization on Gold Film over Nanospheres Substrates. *The Journal of Physical Chemistry C* **2010**, *114* (27), 11717-11722.
- 22.Sun, X.; Wang, N.; Li, H., *Deep etched porous Si decorated with Au nanoparticles for surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS)*. 2013; Vol. 284, p 549-555.
- 23.Musick, M. D.; Keating, C. D.; Lyon, L. A.; Botsko, S. L.; Peña, D. J.; Holliway, W. D.; McEvoy, T. M.; Richardson, J. N.; Natan, M. J., Metal Films Prepared by Stepwise Assembly. 2. Construction and Characterization of Colloidal Au and Ag Multilayers. *Chem. Mater.* **2000**, *12* (10), 2869-2881.
- 24.Abu Hatab, N. A.; Oran, J. M.; Sepaniak, M. J., Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Substrates Created via Electron Beam Lithography and Nanotransfer Printing. *ACS Nano* **2008**, *2* (2), 377-385.
- 25.Yamakoshi, H.; Dodo, K.; Palonpon, A.; Ando, J.; Fujita, K.; Kawata, S.; Sodeoka, M., Alkyne-Tag Raman Imaging for Visualization of Mobile Small Molecules in Live Cells. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (51), 20681-20689.
- 26.Chen, Y.; Ren, J.-Q.; Zhang, X.-G.; Wu, D.-Y.; Shen, A.-G.; Hu, J.-M., Alkyne-Modulated Surface-Enhanced Raman Scattering-Palette for Optical Interference-Free and Multiplex Cellular Imaging. *Anal. Chem.* **2016**, *88* (12), 6115-6119.
- 27.Fleming, G. D.; Golsio, I.; Aracena, A.; Celis, F.; Vera, L.; Koch, R.; Campos-Vallette, M., Theoretical surface-enhanced Raman spectra study of substituted benzenes: I.

Density functional theoretical SERS modelling of benzene and benzonitrile. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2008**, *71* (3), 1049-1055.

28.Halls, M. D.; Aroca, R.; Terekhov, D. S.; D'Ascanio, A.; Leznoff, C. C., Vibrational spectra of halophthalonitriles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **1998**, *54* (2), 305-317.

29.Moskovits, M.; Suh, J. S., Surface geometry change in 2-naphthoic acid adsorbed on silver. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92* (22), 6327-6329.

30.Lee, E.; Yi, S. S.; Kim, M. S.; Kim, K., Adsorption of aromatic nitriles on silver investigated by Raman spectroscopy. *J. Mol. Struct.* **1993**, *298*, 47-54.

31.Tripathi, A.; Emmons, E. D.; Fountain, A. W.; Guicheteau, J. A.; Moskovits, M.; Christesen, S. D., Critical Role of Adsorption Equilibria on the Determination of Surface-Enhanced Raman Enhancement. *ACS Nano* **2015**, *9* (1), 584-593.

32.Green, M.; Liu, F. M., SERS Substrates Fabricated by Island Lithography: The Silver/Pyridine System. *The Journal of Physical Chemistry B* **2003**, *107* (47), 13015-13021.

33.Wang, L.; Sun, Y.; Li, Z., Dependence of Raman intensity on the surface coverage of silver nanocubes in SERS active monolayers. *Appl. Surf. Sci.* **2015**, *325*, 242-250.

34.Lim, J. K.; Joo, S.-W.; Shin, K. S., Concentration dependent Raman study of 1,4-diethynylbenzene on gold nanoparticle surfaces. *Vib. Spectrosc* **2007**, *43* (2), 330-334.

35.Wu, K.; Rindzevicius, T.; Schmidt, M. S.; Mogensen, K. B.; Hakonen, A.; Boisen, A., Wafer-Scale Leaning Silver Nanopillars for Molecular Detection at Ultra-Low Concentrations. *The Journal of Physical Chemistry C* **2015**, *119* (4), 2053-2062.

36.Jansen, H.; Boer, M. d.; Legtenberg, R.; Elwenspoek, M., The black silicon method: a universal method for determining the parameter setting of a fluorine-based reactive ion etcher in deep silicon trench etching with profile control. *Journal of Micromechanics and Microengineering* **1995**, *5* (2), 115-120.

37.Gu, Y.; Zhang, L.; Yang, J. K. W.; Yeo, S. P.; Qiu, C.-W., Color generation via subwavelength plasmonic nanostructures. *Nanoscale* **2015**, *7* (15), 6409-6419.

38.Park, W., Optical interactions in plasmonic nanostructures. *Nano Convergence* **2014**, *1* (1), 1-27.

39.Kahraman, M.; Mullen Emma, R.; Korkmaz, A.; Wachsmann-Hogiu, S., Fundamentals and applications of SERS-based bioanalytical sensing. In *Nanophotonics*, 2017; Vol. 6, pp 831-852.