

表面增顯紅外光技術與其在界面科學之應用研究

Surface-enhanced Infrared Absorption Spectroscopy and Its Application on Interface Science Analysis

陳立家、大澤雅俊、張憲彰

Li-Chia Chen, Masatoshi Osawa, Hsien-Chang Chang

表面增顯紅外光技術近年來逐漸受到重視，並應用於界面科學的研究分析。將此技術結合紅外光分析既有的全反射概念，可克服過去紅外光對於水溶液系統在界面分析方面的限制，並大為提升其訊號的強度、縮短量測所需的時間。此外，它更可結合電化學分析，同步量測物質在電極表面的反應。本文將從理論與目前的應用發展兩方面，介紹表面增顯紅外光技術，並對其未來的發展提出新的觀點。

Recently, surface-enhanced infrared absorption spectroscopy (SEIRAS) has been received more attention and applied in the field of surface analysis. Combing SEIRAS with attenuated total reflection configuration (ATR-SEIRAS), it can overcome the limitation of infrared spectroscopy for the measurement of aqueous solution in the past. ATR-SEIRAS can greatly increase the signal intensity and decrease the detection time. Moreover, this technique can measure the infrared spectroscopy of electrode surface simultaneous with electrochemical reaction. Here, we will introduce the theory and application of ATR-SEIRAS, and propose a new perspective for its development in the future.

一、前言

界面科學一直以來都是基礎科學研究重要的一環，利用各種的分析技術，例如 AFM、STM、電阻分析或各式光學技術等，以量測探究材料界面的物理、化學變化。近年來隨著生物技術的發展，更突顯出生物修飾界面層之重要性，即時界面量測技術的發展亦更受到各研究領域的注意與重視。

以前，對於界面科學之研究常是獨立的，亦即無法在界面反應發生的過程中進行同步的量測，因

此無法了解界面反應的動態過程⁽¹⁾。在生物技術領域的發展，生物親合性修飾層的建立，是連接生物有機分子與無機基材的重要界面，亦是後續相關發展的重要基礎。因此，有關於生物親合性修飾層形成的動態研究與分析，一直以來都是研究學者努力的目標。此外，在其它領域方面，例如電化學分析，界面科學亦是提供重要資訊的指標技術。一般的電化學分析技術，都只能提供電流與電壓的相對訊號，進而藉由動力計算與分析，推測其可能的反應過程與機制，缺乏直接有力的證據，證實反應

物、中間產物及產物之間的關係與變化⁽¹⁾。

有學者利用 STM 的技術，對硫醇化物自組裝修飾層進行研究分析，探討隨著時間的變異，欲修飾的有機分子其結構與方向的改變。亦可結合電化學量測，探討在反應進行過程中，電極表面分子排列的變化。然而 STM 只能提供分子結構與排列方式的訊息，無法確切知道分子本身為何種物質，因此對於化學反應的研究仍有其不足之處。亦有學者利用 X-ray 的技術來進行生物有機分子的反應動力研究，然而其最大的困難點在於無法同步的進行量測，而且 X-ray 的高能量對於生物有機分子的結構與性質亦可能造成嚴重而不可恢復的破壞。

分子振動光譜因為能對於分子的型態與結構提供直接有力的證據，且不會對分子本身造成破壞，一直以來都被認為是研究界面現象最有力工具之一，例如拉曼光譜與紅外光譜，但是光譜訊號的強度太弱是最大的問題之一。然而，自從 70 年代開啟表面增顯光譜學的研究領域已來，這個問題以漸漸被改善，其中最廣為人知的，當屬表面增顯拉曼光譜 (surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)⁽²⁾，一直到近年來，表面增顯紅外光 (surface-enhanced infrared spectroscopy, SEIRAS) 的技術，才逐漸的受到重視並應用於各項研究領域。SERS 與 SEIRAS 技術各有其優缺點，雖然 SEIRAS 對於訊號的放大倍率只有 $10^1 - 10^3$ ，然而 SEIRAS 在生物化學方面的應用，對於分子振動光譜的解析，亦扮演不可或缺的角色^(3, 4)。本文即著重於介紹目前 SEIRAS 技術的發展與應用，針對分析生物分子於電極界面的修飾狀態，以及結合電化學分析進行同步量測的技術，引領讀者進一步預見其成為生物醫學工程基礎研究重要技術的未來性與實用性。

二、表面增顯紅外光譜

當有機物質吸附於金屬粒子表面時，分子本身的紅外光譜訊號會有增顯的效果，此現象最早由 Hartstein 所提出⁽⁵⁾，雖然 SERS 的訊號放大倍率遠大於 SEIRAS，然而 SERS 只會發生在金、銀、銅等金屬表面，而 SEIRAS 的現象則可在大部分的過渡金屬中發現，因此 SEIRAS 更具有獨特的應用

性，尤其是在電化學領域⁽⁶⁾。

一般而言，電磁效應 (electromagnetic effect) 及化學效應 (chemical effect) 兩部分被用於解釋 SERS 的現象，然而化學效應在 SEIRAS 系統中可以被忽略，因為在同為量測金屬界面分子吸附的 (infrared reflection adsorption spectroscopy, IRAS) 系統中，分子的紅外光譜訊號並沒有增顯放大的效果因此可推論 SEIRAS 系統中的增顯主要來自於電磁效應的貢獻^(4, 6)。

金屬表面對光譜訊號產生增顯的主要原因，為電磁效應使得表面電漿極化 (surface plasmon polaritons) 所造成，然而電磁效應的強度會隨著與金屬粒子表面的距離增加而快速的下降⁽⁴⁾，且金屬粒子表面的狀態是影響增顯效果的主要因素之一，一般而言，SEIRAS 的量測會使用奈米級的金屬粗糙表面，因為金屬粒子的粒徑小於紅外光波長，金屬粒子本身會因為入射的紅外光而產生極化現象，並在金屬粒子的周圍產生較入射的紅外光強的電磁場效應，此乃金屬粒子表面電漿極化之故，因金屬粒子極化產生的電磁場會進一步引起吸附於金屬粒子表面分子的振動，量測的紅外光譜訊號來源除了吸附於金屬表面分子的振動之外，還有來自於金屬粒子本身共振極化的效應，因此訊號會明顯的增顯放大，因此 SEIRAS 的增顯倍率與表面金屬粒子的極化現象有一定程度的相對關係⁽⁶⁾。

此外，SEIRAS 有兩項值得注意的特性⁽⁶⁾。其一為表面選擇律 (surface selection rule)，因為受到入射紅外光極化產生的電磁場必須與金屬粒子任一點的切面垂直，因此只有與極化電磁場同方向的分子振動模式，才會有訊號增顯的效應，相反的，若分子振動的方向與金屬切面平行，其訊號則無法在 SEIRAS 光譜中顯現。依據表面選擇律，可進一步推知分子在金屬表面吸附的方向性。另一特點為訊號增顯的衰退，紅外光訊號增顯的強度與受極化之金屬粒子的距離 r 呈 $1/r^6$ 的比例關係，因此，吸附於金屬表面的分子，其振動訊號才會有增顯放大的效應，溶液中分子的振動並不會有增顯效應，所以 SEIRAS 光譜能清楚的顯示吸附於金屬表面分子的訊號。

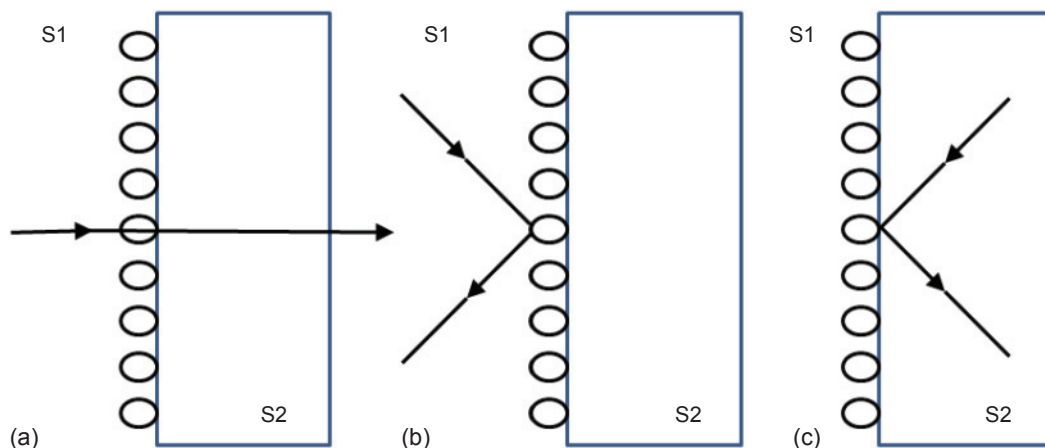


圖 1. 紅外光量測分子吸附於金屬表面的三種模式。

三、紅外光界面量測技術

利用紅外光量測物質吸附於金屬表面的技術架構大致可分為以下三種：(a) 穿透式、(b) 外反射、(c) 內反射，如圖 1 所示。穿透式因紅外光會穿過溶液，所以只能對溶液層極薄的分子吸附模式進行量測。外反射的設計架構和穿透式存在一樣的問題，紅外光需穿過溶液層，在底部的吸附金屬層進行全反射。因為大部分實驗都使用水系的溶液，這兩種實驗的設計，紅外光都必須要穿過水溶液，而水分子本身的振動模式，對於紅外光有很大的吸收效應，因此對於吸附分子的振動訊號量測有極大的影響，造成訊號判讀的困難。內反射式的設計則是讓紅外光經由分子吸附金屬層的底部基材進入，在分子吸附的界面層即產生全反射，紅外光不直接穿

過分子溶液層，因此訊號不受水分子振動的影響而能夠增加量測的靈敏度。

過去，分子吸附的紅外光量測大都使用 IRAS 技術⁽⁷⁾，此技術以外反射式的量測為基礎，並且可以結合電化學分析，其實驗架構如圖 2 所示。然而，如上述所提，因為外反射式的紅外光量測會受到水分子振動的影響，因此必須將實驗的溶液層壓縮的非常薄，約 $1-10\ \mu\text{m}$ ，在這樣的情況下，分子在溶液中的擴散會受到很大的限制，而且溶液中的阻抗會變得很大，使得量測的紅外光訊號及電壓、電流值，皆無法反應出真實的狀況⁽⁶⁾。近年來日本北海道大學的大澤雅俊教授將外反射式的概念與 SEIRAS 的技術結合，架構出 ATR-SEIRAS 的量測系統⁽⁶⁾，對上述的問題提出了解決之道，其實驗的系統架構如圖 3 所示。

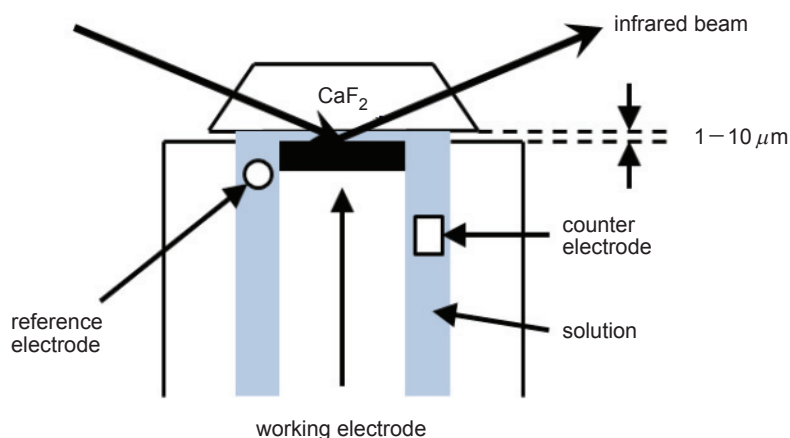


圖 2. IRAS 量測系統之架構圖。

利用外反射式的概念，讓紅外光由基材的底部到達分子吸附的界面而不須穿過分子溶液層，並搭配紅外光表面增顯的效果，除了可以減少水分子振動對於光譜的影響之外，更能提升紅外光訊號的強度，因此對紅外光在水溶液系統量測的靈敏度大為提升。

四、IRAS 與 SEIRAS 之比較

IRAS 的技術在過去常結合電化學反應，以研究分析電極界面的反應，然而此技術仍有上述提出的幾項缺點，因此無法真實的反應出電極表面的狀態。為了更進一步明確的說明 ATR-SEIRAS 的優點，圖4所示分別為利用 IRAS 及 ATR-SEIRAS 系統量測 pyridine 在金表面吸附的行為⁽⁶⁾。由圖中可以明顯發現 ATR-SEIRAS 的紅外光訊號 (1.5×10^{-3} unit) 大約是 IRAS (2×10^{-4} unit) 的 15 倍，又因為 IRAS 的量測所使用的是偏極化光 (p-polarized light)，故 ATR-SEIRAS 的訊號強度應為 IRAS 的 30 倍。而且 IRAS 的量測需使用 D_2O 取代 H_2O ，以去除水分子振動的影響，更增添其不便性。

在 IRAS 的光譜中，同時存在正向及負向的波峰訊號，其中正向的訊號所顯示的為 pyridine 在溶液中的訊號，而負向的訊號則為 pyridine 吸附在金電極表面的訊號。相對於 IRAS，ATR-SEIRAS 的光譜中除了位於 1620 cm^{-1} 的水分子振動訊號之外，其餘皆為正向訊號，而此負向訊號表示原本位於電極表面的水分子會因 pyridine 分子層的吸附而移除。值得一提的是，除了 IRAS 光譜中原本可辨認的訊號之外 ($1400 - 1650\text{ cm}^{-1}$)，更可清楚的發現在 $1000 - 1400\text{ cm}^{-1}$ 的區間有 pyridine 吸附於金電極的訊號，顯示 ATR-SEIRAS 較 IRAS 具有更高的靈敏度，因此 ATR-SEIRAS 可在較短的時間內完成光譜的量測，在界面科學的時間動態研究方面，有其重要的貢獻。

五、金屬界面的製備

就金屬界面的製備方面來說，大都是以化學還原鍍的方法，在矽基材的表面修飾金屬薄層，以做為分子吸附層並增顯紅外光訊號之強度，若結合電化學的分析，更可做為進行氧化還原反應之工作電

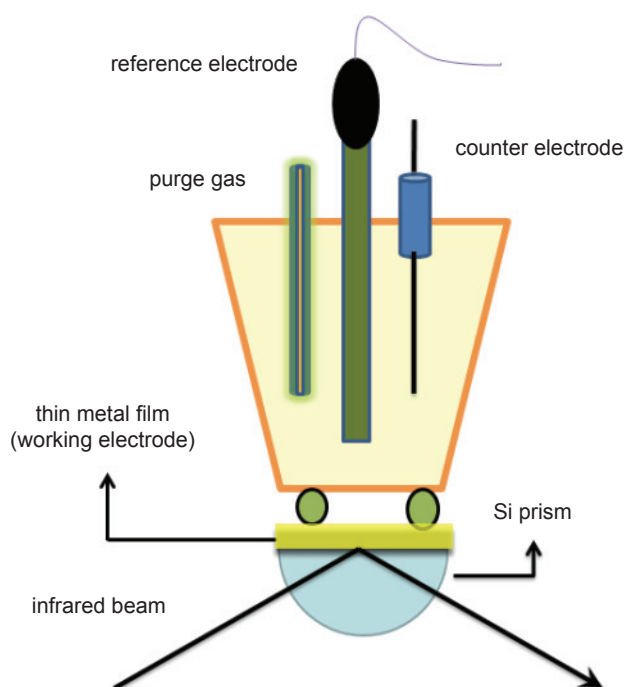


圖 3. ATR-SEIRAS 量測系統之架構圖。

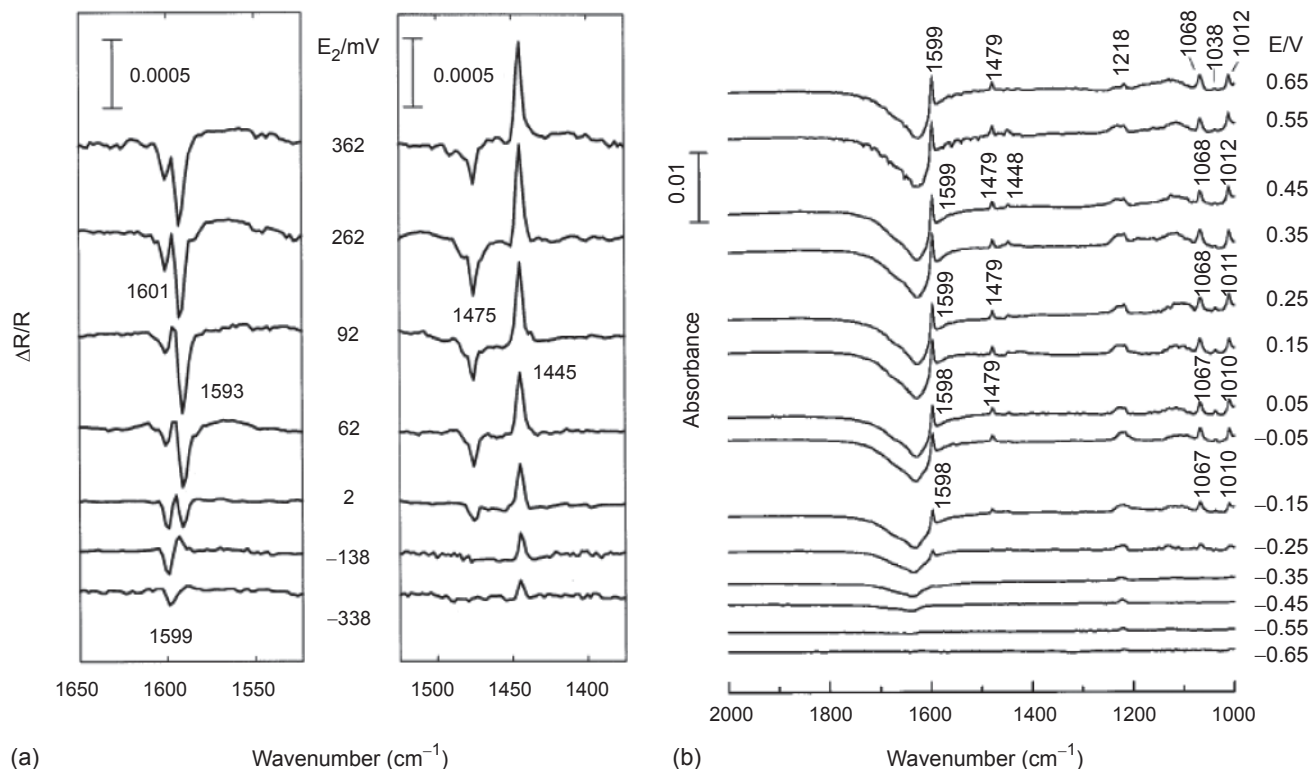


圖 4. 利用 IRAS (a) 與 ATR-SEIRAS (b) 系統量測 pyridine 吸附於金電極表面所得之光譜圖⁽⁶⁾。

極。以下就針對廣為應用於生物化學研究的金薄膜製備過程做介紹。

在金 (Au) 的製備方面⁽⁸⁾，首先將未經任何修飾的矽基材表面清潔乾淨，將矽基材表面浸泡於 40 wt % NH_4F 溶液中以去除矽表面的氧化層，接著將矽基材靜置於鍍液中即可完成金薄膜修飾。金的鍍液為 A、B、C 三種溶液以體積 1:1:1 的比例混合而成，其中 A 為 0.015 M 的 $\text{NaAuCl}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，B 為 0.15 M 的 $\text{Na}_2\text{SO}_3 + 0.05 \text{MNa}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + 0.05 \text{M NH}_4\text{Cl}$ ，C 則為 2% 的 HF。

利用化學還原法製備的金薄膜，其金粒子的粒徑大小約為 300 nm，鍍液修飾 60 秒的金膜厚度約為 50 nm，圖 5 所示為修飾金薄膜的循環伏安圖，可清楚的看到表面金氧化層的形成及還原，當上限電位高於 1.0 V 時，電解質溶液可能會分解產生氧氣進而破壞矽基材表面的金薄膜。經計算可得此金薄膜的有效面積約為其幾何面積的 4 倍，由循環伏安圖亦可發現所製備的金薄膜為多晶的結構。圖 6 所示為利用化學還原法製備的金薄膜在 ATR-SEIRAS 系統中的背景訊號，因為矽基材本身會吸

收光譜範圍小於 1000cm^{-1} 的紅外光，故無法量測訊號位於 1000cm^{-1} 以下的紅外光圖譜。圖 6 中在 1650-1610 及 3000-3500 cm^{-1} 的訊號，分別為金薄膜表面水分子的振動訊號 (δHOH 、 νOH)，位

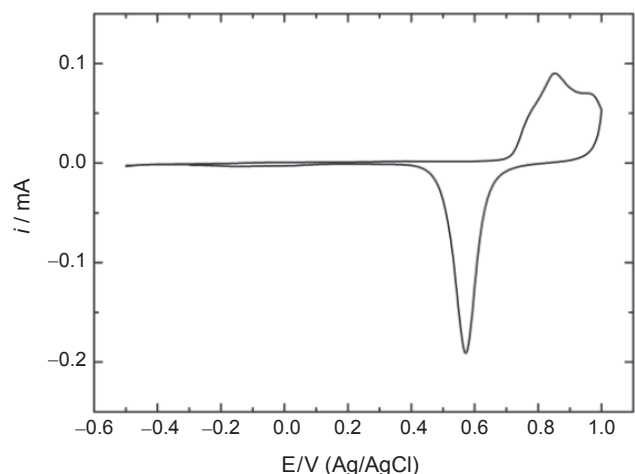


圖 5. 化學還原法製備的金薄膜在 0.1 M 的磷酸鹽緩衝溶液之循環伏安圖。掃描速率為 10mV s^{-1} 。參考電極：銀／氯化銀電極，輔助電極：白金。

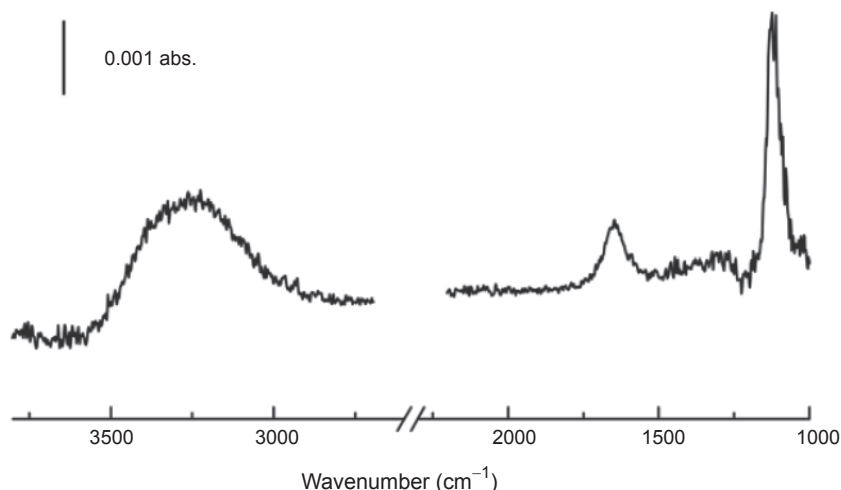


圖 6. 在相對電位為 0.45 V (vs. 銀／氯化銀電極)，金薄膜在 0.1 M 的磷酸鹽緩衝溶液中之 ATR-SEIRAS 光譜圖。

於 1100 cm^{-1} 的強吸收訊號則為溶液中的電解質所貢獻，然而隨著電位增加，金薄膜表面氧化膜的生成，其紅外光譜的基準線亦會隨著偏移。其對於一氧化碳 (CO) 的紅外光譜訊號如圖 7 所示，根據以前 IRAS 的報導，CO 在酸性溶液中的紅外光訊號很弱，然而在 ATR-SEIRAS 的系統中，我們可在 2115 cm^{-1} 的位置清楚的發現一個 CO 吸附於金表面的紅外光譜振動訊號，其訊號強度大約為 IRAS 的 20 倍。

六、ATR-SEIRAS 的應用

目前 ATR-SEIRAS 技術的應用範圍主要在於討論生物酵素界面修飾及動力反應的評估與電化學分子動力反應的研究，以下針對這兩方面做深入的介紹。

利用 ATR-SEIRAS 研究生物酵素界面修飾現象以德國學者 Joachim Heberle 的研究團隊為主⁽⁹⁻¹³⁾，他們利用 ATR-SEIRAS 的技術評估 11-mercaptoundecanoic acid (MUA) 在金薄膜表面形成自組裝修飾層的動態反應機構⁽⁹⁾，依據 MUA 的紅外光譜對於時間的變異，發現當在金薄膜表面吸附的 MUA 分子到達一定的相對數量時，亦即飽和吸附狀態，MUA 分子羧酸端的 H^+ 會產生解離 (deprotonation)，亦發現 MUA 分子彼此之間會藉由羧基的部分 (carboxyl head group) 形成分子間氫鍵。由 ATR-SEIRAS 所得之 MUA 吸附於金表面的

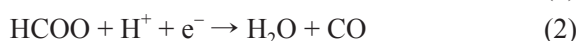
行為，與過去 STM 的研究有所不同。

該研究團隊進一步分析酵素 cytochrome c (cyt c) 在不同時間變因 MUA 分子層的吸附現象，並探討其相對的電化學氧化還原特性。吸附於 MUA 分子層的 cyt c 最主要的紅外光譜分別為 1659 與 1551 cm^{-1} 的 amide I 和 II 訊號，此為 cyt c 與 MUA 分子產生化學鍵結的訊號，依據這兩個訊號的強度可推算表面 cyt c 吸附的濃度。cyt c 的吸附量隨著 MUA 修飾的時間增加而增加，然而修飾在金薄膜表面的 cyt c 之電化學氧化還原特性，並不與其修飾的濃度呈一致的變化，顯示 cyt c 在金薄膜表面的方向會因其濃度變化而改變，進而影響其氧化還原的行為表現。根據上述結果可推知，酵素修飾量並非飽和為最佳。該團隊亦利用 ATR-SEIRAS 的分析技術，研究 cyt c 在不同官能基結尾的自組裝界面層的吸附行為⁽¹⁰⁻¹²⁾，並討論 cyt c 吸附的方向性，發現 cyt c 吸附的特徵訊號不會因自組裝層表面官能基的不同而改變，然而其訊號的強度卻會因此而所差異。

日本北海道大學觸媒研究所大澤雅俊教授的研究團隊則著力於研究 CO 及甲酸的氧化行為，探討相關的反應機制，以做為燃料電池研究開發的基礎⁽¹⁴⁻²⁴⁾。一般普遍認為甲酸的氧化反應可分為 CO 反應以及非 CO 反應兩大路徑，而 CO 又會造成白金電極 (Pt) 的毒化，使其喪失活性。因此，研究如何降低 CO 對於電極的毒化以及甲酸的反應機制，一直以來都是科學家努力的重點。

CO 在 Au 與 Pt 表面有不一樣的吸附行為^(14, 15)，CO 不易吸附於 Au 表面，但卻很容易吸附於 Pt，造成 Pt 的去活化。據研究指出，CO 在 Pt 表面的吸附有線性 (linear bond) 和橋鍵 (bridge bond) 兩種方向性，而大都以線性方向的吸附為主⁽¹⁵⁾。Pt 的表面結構可分為 (111) terrace 和 (110) step，CO 主要吸附在 terrace 的位置，OH 主要吸附在 Pt 表面 (110) step，並與鄰近的 CO 產生氧化反應，在紅外光譜可發現，線性吸附的 CO 其氧化的速度明顯較橋鍵吸附的 CO 快，因此 Pt 結構上的 defects 可能可以幫助表面吸附 CO 的氧化，以減少 Pt 毒化現象⁽¹⁵⁾。

一直以來，hydroxycarbonyl 等一系列的物質都被認為是甲酸氧化過程的中間產物，然而一直沒有直接的證據支持此論點。直到最近，透過 ATR-SEIRAS 的分析量測，大澤教授的研究團隊首先發現，不論反應溶液的 pH 值為何，formate (HCOO) 都為甲酸氧化的主要中間產物⁽¹⁶⁾，同時也是醇、醛類小分子氧化反應的中間產物^(17, 18)。因為溶液的 pH 值會影響 HCOOH 的去氫作用，進而影響 formate 在電極表面的吸附現象，故甲酸氧化最大的反應速率為當溶液的 pH 值接近其 pKa 時⁽¹⁹⁾。該研究團隊以紅外光譜的分析為基礎，配合電化學反應動力的計算，提出一套完整的甲酸氧化反應機制⁽²⁰⁾。



甲酸在氧化反應前會先以 formate 的狀態吸附於電極表面 (eq. 1)，接著再進入 CO 反應以及非 CO 反應兩大路徑，而 formate 的分解即為甲酸氧化的速率決定步驟。當施加的電壓較低時 (Pt, $E < 0.4 \text{ V}$, vs. the reversible hydrogen electrode)，formate 主要會經由去氫作用 (dehydration) 產生 CO (eq. 2)，而 CO 則會進一步氧化為 CO_2 。另一反應的途徑則是相鄰的 formate 分解產生 CO_2 (eq. 3)。

在其它方面，ATR-SEIRAS 亦應用於分析核酸配對的氫鍵鍵結⁽²⁵⁾。實驗先將 6-amino-8-

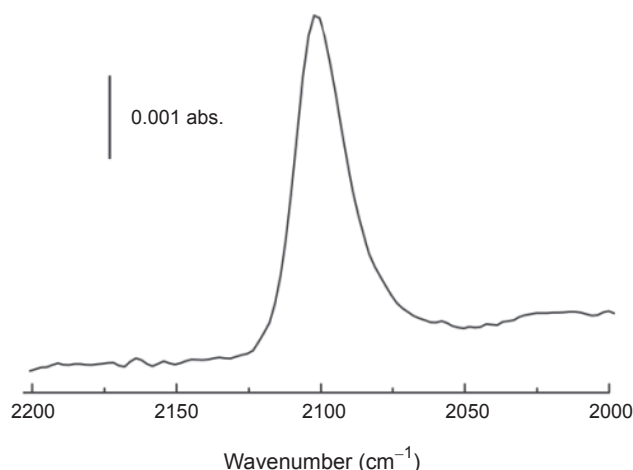


圖 7. 在飽和 CO 的 0.1 M 過氧酸溶液中，電位為 0 V 時之金薄膜的 ATR-SEIRAS 光譜圖。

purinethiol 利用末端硫與 Au 形成 Au-S 鍵結，在光譜中 1700 及 1680 cm^{-1} 處有 $\delta(\text{NH}_2)$ 的振動訊號，依據光譜的分析，此分子的軸向垂直於 Au 表面並呈一角度的偏斜，當於 Au 表面施加電壓變化時，可由光譜的變化推知 6-amino-8-purinethiol 分子方向性的改變。當溶液中加入 thymine，其光譜的變化與電壓調變的結果相似。另外，因為與 Au 表面距離較長的原因，其增顯效果大為降低，故無法從光譜中發現 thymine 的訊號。依據分子結構的立體障礙以及光譜的分析，可推知 purinethiol 與 thymine 分子藉由氫鍵產生的配對鍵結，會隨著不同電壓的調變而改變 purinethiol 的方向，進而影響彼此間氫鍵的形成。

本研究室亦利用 ATR-SEIRAS 的技術，針對胺基酸在電極表面的吸附與氧化行為進行分析研究。首先以結構最為簡單的甘氨酸 (glycine) 為模組⁽²⁶⁾，圖 8 所示為甘氨酸在不同電位變化掃引之下的 ATR-SEIRAS 光譜，在由 -0.5 往 1.0 V 的電位正向掃引過程中，訊號 1400 cm^{-1} 會隨著電位的增加而逐漸明顯，當電位到達 Au 表面氧化區時， 1400 cm^{-1} 的訊號會逐漸消失，進而有其它的光譜訊號出現。進而有其它的光譜訊號出現。當電位由 1.0 往 -0.5 V 掃引，光譜呈現可逆的變化，然而有另一訊號出現在 2120 cm^{-1} ，此訊號的特徵符合 cyanide 的吸附行為。

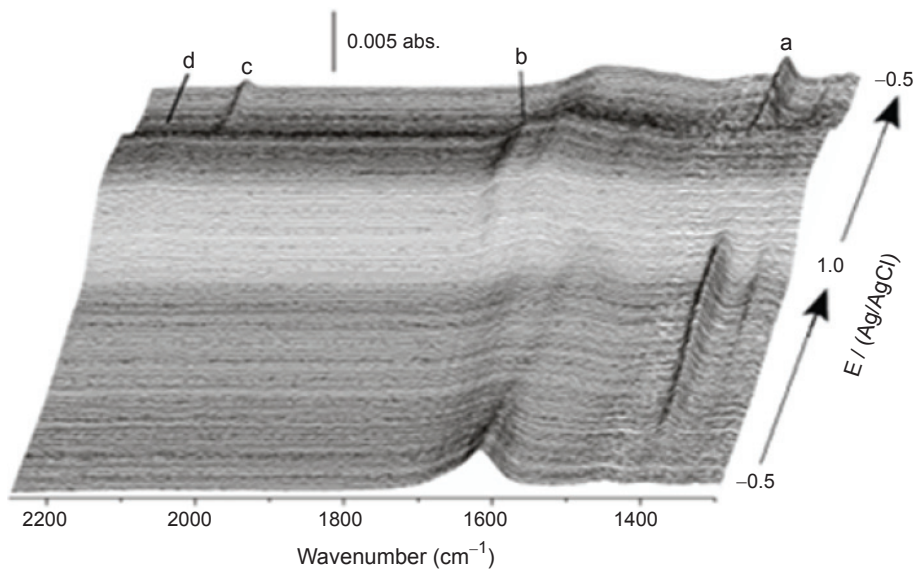


圖 8. 金薄膜在含有 5 mM 0.1 M 磷酸鹽緩衝溶液中，隨電位掃描變化所量測之 ATR-SEIRAS 光譜圖。

為了更清楚呈現甘氨酸的吸附與氧化光譜的差異，圖 9 所示為在 0.45 及 0.95 V 條件下之紅外光譜。在 0.45 V 時，其光譜近似於甘氨酸固態晶體的光譜，在 1590 與 1545 cm^{-1} 的訊號為 $\delta_{\text{as}}(\text{NH}_3^+)$ ，其它位在 1455、1400 及 1335 cm^{-1} 的訊號則分別定義為 $\delta(\text{CH}_2)$ ， $\nu_s(\text{COO}^-)$ 與 $\rho_w(\text{CH}_2)$ 。圖 9 的藍色

線為甘氨酸配製於重水溶液中所得之光譜，分析可得甘氨酸於 Au 表面的吸附結構如圖 10 所示。根據甘氨酸氧化的光譜分析，並與相關的文獻比較，發現尿素為甘氨酸氧化的產物之一，此為先前利用 IRAS 分析所未發現之結果。

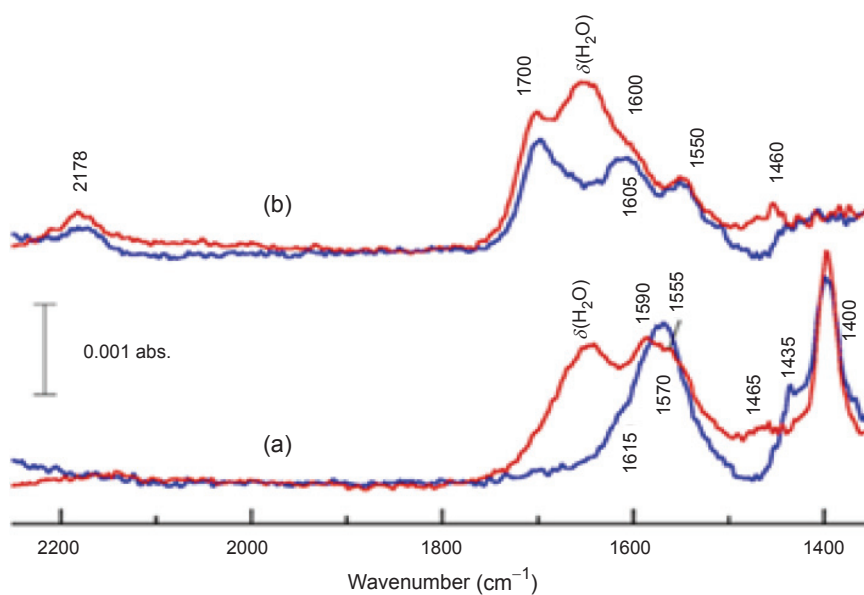


圖 9. 由圖 8 的光譜中挑選電位為 0.45 (a) 及 0.95 V (b) 之圖譜。藍色線所示為在重水溶液中所得之光譜圖。

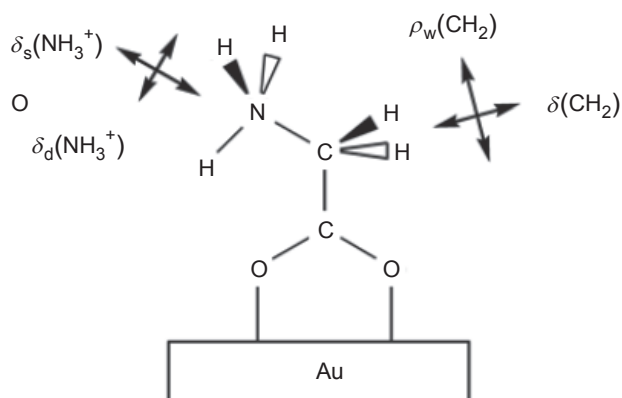


圖 10. 甘氨酸於金薄膜表面之吸附結構圖。

七、結論與未來展望

界面科學的研究一直以來都是工程應用與理論分析的基礎，也是研究學者努力的目標。隨著科技的進步與需求，界面分析的技術也是日新月異，各項的分析也愈趨精密，然而其限制卻也更多，更不易與其它的分析儀器整合，達成同步、即時的量測。本文所提出的 ATR-SEIRAS，改進過去 IRAS 技術的缺點，提供高靈敏度的紅外光量測，不但可以在水溶液系統中量測吸附於金屬界面的分子，排除水分子振動的影響，更可以結合電化學分析，探究分子在電位的調變之下，相對的結構變化與氧化還原反應，相信對於表面生物分子技術的發展以及電化學電極表面的分析研究，都將會是重要的貢獻。目前 ATR-SEIRAS 的技術大都應用於學理的探究分析，應用的層面較少受到注意，未來可就其訊號增顯以及量測快速方便的特性，應用於生醫感測技術，發展微量、快速檢測平台，例如血糖量測、毒品快速篩檢。另一方面，亦可探討生化分子，如酵素、蛋白質等大分子，其結構的變化與作用機制間的關係。

參考文獻

1. S. Ye, T. Kondo, N. Hoshi, J. Inukas, S. Yoshimoto, M. Osawa, and K. Itaya, *Electrochemistry*, **77**, 2 (2009).
2. R. K. Chang and T. E. Furtak (1982).
3. A. Hartstein, J. R. Kirtley, and J. C. Tsang, *Phys. Rev. Lett.*, **45**, 201 (1980).
4. K. Ataka, and J. Heberle, *Anal. Bioanal. Chem.*, **388**, 47 (2007).
5. K. Ataka, S.T. Stripp, and J. Heberle, *Biochim. Biophys. Acta*, **1828**, 2283 (2013).

6. M. Osawa, Wiley-VCH, and Weinheim (2006).
7. R. J. Nichols, J. Lipkowsky, and P. N. Ross (1992).
8. H. Miyake, S. Ye, and M. Osawa, *Electrochem. Commun.*, **4**, 973 (2002).
9. X. Jiang, K. Ataka, and J. Heberle, *J. Phys. Chem. C*, **112**, 813 (2008).
10. K. Ataka, and J. Heberle, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 4986 (2003).
11. K. Ataka, and J. Heberle, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 9445 (2004).
12. H. Krassen, S.T. Stripp, N. Böhm, A. Berkessel, T. Happe, K. Ataka, and J. Heberle, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **1138** (2011).
13. K. Ataka, F. Giess, W. Knoll, R. Naumann, S. Haber-Pohlmeier, B. Richter, and J. Heberle, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 16199 (2004).
14. S.-G. Sun, W.-B. Cai, L.-J. Wan, and M. Osawa, *J. Phys. Chem. B*, **103**, 2460 (1999).
15. G. Samjeske, K. Komatsu, and M. Osawa, *J. Phys. Chem. C*, **113**, 10222 (2009).
16. A. Miki, S. Ye, and M. Osawa, *Chem. Commun.*, 1500 (2002).
17. Y. X. Chen, A. Miki, S. Ye, H. Sakai, and M. Osawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 3680 (2003).
18. G. Samjeské, A. Miki, and M. Osawa, *J. Phys. Chem. C*, **111**, 15074 (2007).
19. J. Joo, T. Uchida, A. Cuesta, M.T.M. Koper, and M. Osawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **135**, 9991 (2013).
20. A. Cuesta, G. Cabello, and M. Osawa, C. Gutiérrez, *ACS Catal.*, **2**, 728 (2012).
21. M. Osawa, K. Komatsu, G. Samjeské, T. Uchida, T. Ikeshoji, A. Cuesta, and C. Gutiérrez, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 1 (2010).
22. G. Samjeské, A. Miki, S. Ye, and M. Osawa, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 16559 (2006).
23. M. Osawa, K. Komatsu, G. Samjeske, T. Uchida, T. Ikeshoji, A. Cuesta, and C. Gutiérrez, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **50**, 1159 (2011).
24. A. Cuesta, G. Cabello, F.W. Hartl, M. Escudero-Escribano, C. Vaz-Dominguez, L.A. Kibler, M. Osawa, and C. Gutierrez, *Catal. Today*, **202**, 79 (2013).
25. Y. Sato, H. Noda, F. Mizutani, A. Yamakata, and M. Osawa, *Anal. Chem.*, **76**, 5564 (2004).
26. L.-C. Chen, T. Uchida, H.-C. Chang, and M. Osawa, *Electrochem. Commun.*, **34**, 56 (2013).



陳立家先生為國立成功大學醫學工程博士，現任國立成功大學生物醫學工程學系博士後研究員。

Li-Chia Chen received his Ph.D. in the Department of Biomedical Engineering from Cheng-Kung University. He is currently a postdoctoral fellow in the Department of Biomedical Engineering at Cheng-Kung University.



大澤雅俊先生為日本國東北大學金屬工學博士，現任北海道大學觸媒研究所教授。

Masatoshi Osawa received his Ph.D. of Engineering in the Department of Metal from Tohoku University, Japan. He is currently a professor in the Catalysis Research Center at Hokkaido University, Japan.



張憲彰先生日本國東北大學應用化學博士，現任國立成功大學生物醫學工程學系教授。

Hsien-Chang Chang received his Ph.D. in the Department of Applied Chemistry from Tohoku University. He is currently a professor in the Department of Biomedical Engineering at Cheng-Kung University.