報 文

光固定した金ナノ粒子を用いる L-システインの表面増強赤外吸収分光分析

久鍋 秀幸¹, 新留 康郎², 高橋 宏信¹, 山田 淳^{®2}

Surface-enhanced infrared absorption spectrometry of L-cysteine on laser-deposited gold nanoparticles

Hideyuki HISANABE¹, Yasuro NIIDOME², Hironobu TAKAHASHI¹ and Sunao YAMADA²

¹ Department of Materials Physics and Chemistry, Kyushu University, 6-10-1, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-8581

² Department of Applied Chemistry, Kyushu University, 6-10-1, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-8581

(Received 28 April 2003, Accepted 3 June 2003)

Gold nanoparticles were successfully deposited onto a poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) membrane filter by pulsed 532-nm laser irradiation in a 2-propanol solution containing HAuCl₄. The resulting membrane filters were used as substrates for infrared (IR) absorption spectrometry. A substantial enhancement in the IR spectrum of L-cysteine was observed by using this substrate. The degree of enhancement was roughly twice compared with the case of PTFE membrane filters without gold nanoparticles.

Keywords : gold nanoparticles; surface enhanced infrared absorption; SEIRA; cysteine; PTFE membrane filter.

1 緒 言

紫外可視域に特有の表面プラズモン (SP) 吸収を持つ金や銀のナノ粒子は、触媒¹⁾や非線形光学材料²⁾はもとより、近年では表面増強ラマン散乱 (SERS) センサー^{3)~8)}や DNA センサー⁷⁾⁸⁾への応用が活発に検討されている。特に、金ナノ粒子を用いる SERS 法などの表面増強分光法は、微量の吸着化学種を高感度かつ選択的に検出する方法としてバイオ分野で期待されている。

著者らは、シクロヘキサミンに分散した金ナノ粒子にパルスレーザー光を照射すると、粒子の成長が起こることを報告した⁹⁾。更にガラス基板などの固体表面へ金ナノ粒子をパルスレーザー光の照射により固定する技術を開発し

た^{10)~12)}。この方法で固定される金ナノ粒子は主に球形の孤立粒子であり、その密度やサイズは照射条件で制御できることも明らかにした¹¹⁾。また、フッ化カルシウム (CaF₂) 基板に金ナノ粒子を固定して表面増強赤外吸収 (SEIRA) スペクトルを測定することにより、金ナノ粒子の表面に吸着しているドデカンチオールの集合状態を明らかにすることができた¹²⁾。

従来の SEIRA スペクトル測定による分析では、真空蒸着した金属薄膜の表面で赤外光が全反射する装置系を用いる場合³⁾⁴⁾がほとんどであり、高価な赤外透過性材料や反射測定用の光学系が必須であった。本研究では、安価なポリテトラフルオロエチレン (PTFE) メンブランフィルターを基材として使い、透過測定用の光学系で赤外吸収 (IR) スペクトルを測定する手法について検討した。PTFE メンブランフィルターに固定した金ナノ粒子の表面増強効果によって高感度な吸着物質の検出が可能になれば、極めて高感度な定性分析が簡便に行える使い捨て型のセンサー

¹ 九州大学大学院工学府材料物性工学専攻: 812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

² 九州大学大学院工学府材料物性工学専攻: 812-8581 福岡市東区箱崎 6-10-1

Fig. 1 Schematic illustration for laser-induced deposition of gold nanoparticles onto a PTFE membrane filter

チップとして実用化できるものと期待される。

2 実 験

実験操作を Fig. 1 に示す。ガラス製の光学セル ($0.5 \times 2 \times 3$ cm) を用いて、PTFE メンブランフィルター (アドバンテック) を塩化金酸の 2-プロパノール溶液 (1 mg/ml) に浸せきした。これに Nd:YAG レーザーの 2 倍波 (532 nm, 6-8 ns, 26 あるいは 35 mJ/pulse, 10 Hz, ~ 0.4 cm²) を 5 分間照射した。パルスレーザー光を照射した部位のみが赤みがかった色に変色し、金ナノ粒子の固定が確認された。フィルターを取り出し、2-プロパノールで洗浄し、乾燥した後、SEIRA スペクトルの測定に用いた。

SEIRA スペクトルの測定にはフーリエ変換赤外分光光度計 (日本分光 FT/IR-620) を用いた。PTFE メンブランフィルターは、光路に対して垂直に固定し、更に直径 6 mm のアパーチャーを前面に固定し、金ナノ粒子が固定された部位のみを測定できるように工夫した。測定試料には、金に対して高い吸着性を示すメルカプト基を含むアミノ酸として、L-システイン (Cys) を用いた。Cys のメタノール溶液 (100 μ M) を金ナノ粒子が固定された部位に 10 μ l ずつ滴下して、滴下量に対応する濃度の Cys が測定部位の中に吸着されるようにした。可視近赤外吸収スペクトルはマルチチャンネル分光器 (Ocean Optics, D1024DW) を用いて測定した。PTFE メンブランフィルターに固定された金ナノ粒子の観察には超高分解能走査型電子顕微鏡 (SEM) (日立 S-5000) を用いた。

3 結果と考察

従来、著者らが行ってきた金ナノ粒子を分散したシクロヘキサン溶液にパルスレーザー光を照射する方法では、保護剤であるドデカンチオールが金ナノ粒子表面に残った状態であるために、ドデカンチオールに由来するアルキル鎖の赤外吸収ピークが明りょうに観察されていた。それに対

Fig. 2 Microscopic photographs of the laser-irradiated PTFE membrane filter

Dark spots are the laser-irradiated areas (actual color is dark wine red): (i) front and (ii) rear surfaces as to the laser irradiation direction. Laser irradiation conditions: 26 mJ/pulse, 5 min

して、本研究では、塩化金酸の 2-プロパノール溶液中に PTFE メンブランフィルターを浸せきし、パルスレーザー光を照射して、光還元により金ナノ粒子を PTFE メンブランフィルターに固定する方法について検討した。その結果、パルスレーザー光が照射された部位にのみ金ナノ粒子を固定することができた。また固定された部位の FT-IR スペクトルを測定した結果、金ナノ粒子に吸着した有機物等に由来するピークは見られなかった。したがって、塩化金酸の 2-プロパノール溶液にパルスレーザー光を照射して金ナノ粒子を固定する方法のほうが化学物質の検出に適していることが分かった。

Fig. 2 に、パルスレーザー光の照射によって金ナノ粒子が固定された PTFE メンブランフィルターの写真を示す。中央部分の赤褐色 (Fig. 2 では中央の暗い部分) のスポットがパルスレーザー光の照射された部位であり、金ナノ粒子が固定されていることを示している。照射部位の表面 (i) とその裏面 (ii) がほぼ同様のパターンと色調を示すことから、PTFE メンブランフィルターの断面全域に金ナノ粒子が固定されていることが分かる。

Fig. 3 に、パルスレーザー光が照射された部位の PTFE メンブランフィルターの SEM 像を示す。多孔質である PTFE メンブランフィルターの繊維構造の表面に、離散的に観察される明るいスポットが、固定された金ナノ粒子である。固定された金ナノ粒子は、孤立粒子が支配的であるが、凝集体も所々に観察される。固定された金ナノ粒子の形状は必ずしも球状ではなく、不定形ではあるが、SEM 像から平均粒径は約 30 nm であった。

Fig. 4 に、パルスレーザー光が照射された部位の PTFE メンブランフィルターの吸収スペクトルを示す。固定された金ナノ粒子に由来するブロードな SP バンドが 530 nm 付近に観察される。孤立粒子の SP バンドと比較して約 10

Fig. 3 SEM image of the laser-irradiated area of the PTFE membrane filter

Bright spots are the deposited gold nanoparticles.

Fig. 4 Absorption spectra of the laser-irradiated areas of the PTFE membrane filters

Laser pulse energy: (a), 26 mJ/pulse; (b), 35 mJ/pulse; Irradiation time, 5 min

nm 長波長シフトし, しかもブロードになっていることから, 金ナノ粒子の凝集体が含まれていることが強く示唆される¹³⁾. また, 照射するパルスレーザー光の強度を大きくすることにより, より多くの金ナノ粒子が固定されることも明らかになった {(a) 26 mJ/pulse < (b) 35 mJ/pulse}.

PTFE メンブランフィルターに 6 nmol の Cys をキャストした際の IR スペクトルを Fig. 5 に示す. (a) は 26 mJ/pulse, (b) は 35 mJ/pulse のパルスレーザー光を用いて金ナノ粒子を固定したときのフィルターであり, (c) は未処理のフィルターである. 1640 cm^{-1} に観測されるピークは Cys の C=O 伸縮振動に由来する. 一方, 1350 cm^{-1} から 1480 cm^{-1} の間に観測される幾つかのピークは, PTFE メンブランフィルターの CF_2 基に由来する強いピークから未処理のフィルターの対応するピークを差し引くときの誤差に由来する. 金ナノ粒子を固定したフィルターの場合 (a, b), キャストした Cys の C=O 伸縮のピークは, 未処理のフィルターにキャストしたもの (c) と比較して若干ブロードである. また, 26 mJ/pulse のパルスレーザー光で金ナノ粒子を固定した試料 (a) が示す信号強度は, 他の 2 つの試料と比較して約 2 倍大きい.

Fig. 5 IR spectra of the PTFE membrane filters after casting 6 nmol of Cys (100 μM in methanol, 60 μl)

Deposition condition of gold nanoparticles: (a), 26, (b), 35 mJ/pulse, Irradiation time, 5 min, (c), membrane filter without gold nanoparticles

Fig. 6 Relationships between signal intensities of C=O band (1640 cm^{-1}) and the concentration of Cys

(a), (b), and (c); see the caption of Fig. 5.

Fig. 6 に, Cys のキャスト量に対する C=O 伸縮振動の信号強度の関係を示している. いずれの試料においても, C=O の信号強度は Cys のキャスト量にほぼ比例して増加した. なかでも, 26 mJ/pulse のパルスレーザー光で金ナノ粒子を固定した場合 (a) は, 他の 2 つのサンプルと比較して約 2 倍の信号強度を示した. このような信号強度の増強は, 金ナノ粒子による表面増強効果に由来していると考えられる. また (a) では, Cys のキャスト量が 8 nmol 以上で信号強度の増加が飽和する傾向を示した. 一方, 他の 2 つの試料 (b), (c) では, このような飽和の傾向は観察されなかった. これらの結果は, 表面増強効果が金ナノ粒子表面のごく近傍で発現することを示唆している. すなわち, Cys を 8 nmol 以上キャストした場合は, フィルターに固着した Cys の量が多く, 金ナノ粒子による表面増強効果の影響が減少する領域にまで広がって Cys が存在するためと考えられる.

吸収スペクトル (Fig. 4) の比較から明らかなように,

35 mJ/pulse のパルスレーザー光で金ナノ粒子を固定した場合 (b) には、26 mJ/pulse で作製した場合 (a) と比較して多くの金ナノ粒子が固定されている。しかしながら、35 mJ/pulse で作製したもの (b) ではほとんど表面増強効果が認められなかった。強い表面増強効果は、金ナノ粒子の凝集体から得られる傾向にあることが知られている⁷⁾⁸⁾。パルスレーザー光の強度が大きい場合には、凝集体が融合して巨大な単一の粒子へと成長することが明らかになっている⁹⁾。すなわち、本研究の場合には、26 mJ/pulse のパルスレーザー光によって大きな表面増強効果を発現する金ナノ粒子凝集体をより多く形成できるものと考えられる。

SEIRA スペクトルで化学物質を検出する場合には、表面増強効果の再現性が非常に重要となる。すなわち、表面増強の程度を再現性よく発現するための金ナノ粒子凝集構造を明らかにするとともに、それを再現性よく構築するための技術開発が必須である。Fig. 3 から明らかなように、本研究で行ったパルスレーザー光の照射条件では、固定粒子のほとんどは孤立した状態であり、凝集状態は少ない。したがって、表面増強効果を更に向上させるためには、厳密に制御された金ナノ粒子の凝集構造を PTFE メンブランフィルターへ再現性よく固定する技術の開発が今後の課題である。

4 結 言

塩化金酸の 2-プロパノール溶液に PTFE メンブランフィルターを浸せきし、パルスレーザー光を照射して、光還元により金ナノ粒子を PTFE メンブランフィルターに固定することに成功した。26 mJ/pulse のパルスレーザー光で固定した場合には、明りょうな表面増強効果が確認された。

本法により、簡便な SEIRA センサーチップの作製が可能であることを実証することができた。

IR スペクトル測定及び SEM 観察は九州大学中央分析センター工学分室及び九州大学大学院工学研究院君塚信夫教授に便宜を図っていただいた。本研究の一部は新エネルギー・産業技術総合開発機構平成 14 年度産業技術研究助成によって行われた。また、アーカイラマエンジニアリング合資会社の福岡氏から貴重なコメントをいただいた。記して感謝します。

文 献

- 1) P. L. Freund, M. Spiro: *J. Phys. Chem.*, **89**, 1074 (1985).
- 2) J. P. Novak, I. Louis C. Brousseau, F. W. Vance, R. C. Johnson, B. I. Lemon, J. T. Hupp, D. L. Feldheim: *J. Am. Chem. Soc.*, **122**, 12029 (2000).
- 3) L. J. Yao, G. P. Pan, K. H. Xue, D. Y. Wu, B. Ren, D. M. Sun, J. Tang, X. Xu, Z. Q. Tian: *Pure Appl. Chem.*, **72**, 221 (2000).
- 4) H. Miyake, S. Ye, M. Osawa: *Electrochem. Comm.*, **4**, 973 (2002).
- 5) S. P. Mulvaney, L. He, M. J. Natan, C. D. Keating: *J. Raman Spectrosc.*, **34** (2), 163 (2003).
- 6) J. Hu, B. Zhao, W. Xu, Y. Fan, B. Li, Y. Ozaki: *Langmuir*, **18**, 6839 (2002).
- 7) C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff: *Nature*, **382**, 607 (1996).
- 8) M. Futamata, Y. Maruyama, M. Ishikawa: *Vib. Spectrosc.*, **30**, 17 (2002).
- 9) Y. Niidome, A. Hori, T. Sato, S. Yamada: *Chem. Lett.*, **2000**, 310.
- 10) Y. Niidome, A. Hori, H. Takahashi, S. Yamada: *Stud. Surf. Sci. Catal.*, **132**, 359 (2001).
- 11) Y. Niidome, A. Hori, H. Takahashi, Y. Goto, S. Yamada: *Nano Lett.*, **1**, 365 (2001).
- 12) Y. Niidome, H. Hisanabe, A. Hori, S. Yamada: *Anal. Sci.*, **17**, i1185 (2001).
- 13) J. J. Storhoff, R. Elghanian, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger: *Langmuir*, **18**, 6666 (2002).

要 旨

金ナノ粒子を分散させたシクロヘキサン溶液にポリテトラフルオロエチレン (PTFE) メンブランフィルターを浸せきし、パルスレーザー光の照射により、PTFE メンブランフィルターの表面及びその内部に金ナノ粒子を固定した。固定された金ナノ粒子の表面に吸着した L-システイン (Cys) の表面増強赤外吸収スペクトルを測定した。透過型の測定方式を用いて、約 2 倍の表面増強効果を観察することに成功した。