

# 金コロイド粒子を用いた新規プラズモニック結晶の創製

## Fabrication of the novel plasmonic crystalline structure of colloidal gold particles

代表研究者	名古屋市立大学	豊玉彰子	Nagoya City University	Akiko TOYOTAMA
協同研究者	名古屋市立大学	菅生行紘	Nagoya City University	Yukihiko SUGAO
	名古屋市立大学	村門愛	Nagoya City University	Ai Murakado

Charged colloidal particles dispersed in water self-assemble into “crystal” structures, when the electrostatic interaction between the particles is sufficiently strong. These colloidal crystals have received considerable attention as potential photonic crystals. In addition, colloidal crystals of precious metals particles, i.e. gold particles, are expected as potential plasmonic materials. Here we report a novel method to fabricate colloidal crystals of gold particles by using the adsorption of ionic surfactants. The crystal structure could be immobilized in polymer gel network to form self-standing materials. We also report the shift of plasmon peak in visible region due to adsorption of molecules onto the gold particles. The adsorption of surfactant and protein (bovine serum albumin) molecules were examined using aqueous dispersions of gold particles, gold particles immobilized in polymer hydrogel, and the particles adsorbed on gel surfaces. On adsorption, the gold particles dispersed in water sometimes became unstable to form aggregates. Thus, the gel immobilized gold particles were useful to study the plasmonic peak shift. The present findings will be useful also to fabricate novel colloidal crystals plasmonic materials for sensing.

### 研究目的

貴金属の表面プラズモン共鳴を用いた物質検出や信号増強技術が、化学・生物・材料科学分野で幅広く応用されている。現在、金微粒子の局在プラズモンを活用した高効率材料の創製が期待されており、粒子の様々な2次元配列構造が検討されている。一方、荷電コロイド粒子は、粒子間に働く静電相互作用が強いとき、水中で3次元な結晶状に規則配列する(Fig. 1に模式図を示す)。本研究では、申請者らは荷電コロイドフォトニック結晶の作製技術を長年にわたり蓄積してきたが、これを活用し、直径50~100 nm程度の金コロイド微粒子を3次元的に規

則配列させ、かつ高分子ゲルで固定した、新規プラズモニック結晶を創製することを目的とする。希薄濃度(1体積%程度)における金コロイド粒子が形成する3次元規則構造は、リソグラフィなど他手法では構築困難な新規構造体である。本結晶を用いることで、2次元から3次元へ規則構造を拡張した場合のプラズモニック特性の変化を検討できる。また、マトリックスの高分子ゲルの変形特性を利用し、圧縮等により粒子間距離を調節することで、光学特性のチューニングが可能であり、基礎的研究に寄与できるものと期待する。

### 研究経過

#### 1. 金微粒子の結晶構造の作成とその固定化

金コロイド粒子の結晶化には、イオン性界面活性剤の吸着の温度依存性を利用した新規手法[発表論文1]を利用した。本手法により親水性・疎水性、有機・無機を問わず、様々な粒子のコロイド結晶が作

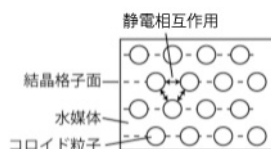


Figure1 Charged colloidal crystal.

製できる。一般に、界面への物質の吸着量は低温ほど多いことが、熱力学により結論される。疎水性粒子の水分散液に、イオン性界面活性剤を添加したとき、一部は粒子表面に結合して電荷  $Z$  を与え、非吸着分は媒体中に低分子イオン（濃度  $C_s$ ）として溶存する（ミセルが生成しない低濃度域を対象とする）。高温では吸着量が少ないため、 $Z$  は小さく、 $C_s$  は大きい。一方、低温では  $Z$  は大きく、 $C_s$  は小さい。粒子間の静電相互作用は、 $Z$  が大きいほど大きく、またイオンによる静電遮蔽のため  $C_s$  が小さいほど大きい。すなわち静電相互作用は、低温ほど強くなる。このため適切な条件を選べば、イオン性界面活性剤を添加したコロイド系は、冷却により結晶化する。

直径 100 nm の金コロイド微粒子（0.006 体積%、田中貴金属工業株式会社製）水分散液にヘキサデカンチオールを添加し、金表面を疎水化修飾した。次に、マイナスの電荷を持つ界面活性剤のオクタデシル硫酸ナトリウム(SOS)を、表面電荷付与のために添加した。SOS は、疎水化された金微粒子に吸着することで、金微粒子の電荷を増加させた。濃度 0.4 体積%程度に遠心濃縮し、結晶構造を得た。構造は、光学顕微鏡により確認した(Fig. 2)。

コロイド結晶構造は、水中で粒子間に働く相互作用によるもので、機械的な強度は非常に小さい。このため特性評価にあたっては、構造を固定する必要がある。モノマー(N-メチルアクリルアミド(N-MAM))、架橋材(メチレンビスアクリルアミド)、光重合開始剤を添加したコロイド試料中でコロイド結晶構造を作成したのち、紫外光照射することでコロイド系全体をゲル固定化した。固定後も金微粒子の結晶構造は保たれた。

濃縮前の金コロイドの濃度が 0.0068 重量%程度であるため、結晶構造を形成する 0.4 体積%まで濃縮するにはおよそ 1000 倍超まで濃縮する必要がある。金微粒子の凝集が生じるために、大量の試料の安定した濃縮は困難であった。また、今回用いた方法では、結晶形成にあたり金粒子に界面活性剤など

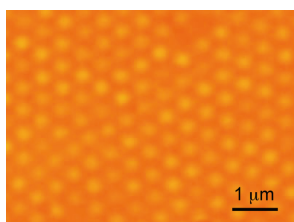


Figure2 Charged colloidal crystal of gold particles.

を吸着しているが、これらが表面プラズモンピークに与える影響などを検討する必要があると考えた。このため本研究では、先ず金微粒子への物質吸着によるプラズモンピークシフトの検討を行った。さらに、高分子ゲルによって固定した金微粒子および、高分子ゲル表面に吸着した金微粒子への物質吸着についての基本的な検討を実施した。

## 2. 金粒子の表面プラズモンを利用したセンシング

### (a) 分散媒の吸光スペクトルへの影響

市販品の金コロイド粒子分散液の分散媒中の低分子が吸着して、プラズモンピークに影響する可能性を検討するため、上澄みの吸光スペクトルを測定した。15 mL 遠沈管に金コロイド分散液を 3 mL 量り取り、2000 rpm, 10 分の条件で遠心分離を行い上澄み 3 mL を採取した。また、このとき得られた沈殿に MilliQ 水 3 mL を加え、超音波洗浄機により再分散させた後 2000 rpm, 10 分の条件で遠心分離を行い上澄み 3 mL を採取した。金コロイド分散液原液、金コロイド分散液原液上澄み(遠心分離により採取したもの)、および金コロイド分散液水置換後上澄みについて吸光スペクトルを測定した。原液および原液上澄みで見られる 300 nm のピークが水置換後の上澄みでは見られないため、1 度分散媒を MilliQ 水で置換した後では、もとの分散媒による吸光スペクトルへの影響は考えないこととした。また、以下の実験は、全て遠心分離によりもとの分散媒を取り除いて得た金コロイド粒子に、MilliQ 水を加えて超音波洗浄機により再分散させて用いた(以下金コロイド水分散液と称する)。

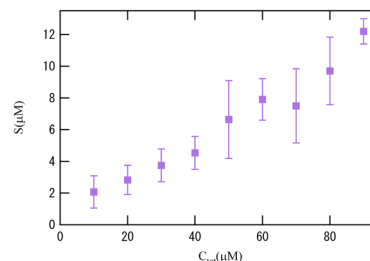


Figure3 Plot of the concentration of added SOS ( $C_{tot}$ ) vs adsorbed amount on gold particles( $S$ ).

### (b) 金コロイド粒子水分散系への界面活性剤吸着挙動

金コロイド粒子と SOS 水溶液を等量混合したときのプラズモンピークシフトを検討した。0, 20, 40, 60,

80, 100, 120, 140, 160, 180  $\mu\text{M}$  の SOS 水溶液それぞれに  $3.0 \times 10^{-3}\text{wt}\%$  金コロイド水分散液 2 mL を添加し 5 分間超音波振動で混合した後、吸光スペクトルを測定した。

金コロイド水分散液と SOS 水溶液を等量添加・混合し SOS 水溶液濃度を  $100 \mu\text{M}$  とした際の吸光スペクトルにおけるピークシフト量は、 $\Delta\lambda_m = 2.32 \pm 0.55 \text{ nm}$  (23.55%) であった。また、ピークシフトを与えたときの SOS 吸着量(S)を定量し、添加した SOS 量(C)に対してプロットした(Fig. 3)。添加する SOS 量の増加に伴い、SOS の吸着量も増加した。実験値と比較するため、以下の関係式を用いて SOS 分子の金コロイド粒子に対する吸着が 1 層であると仮定して、ピークシフトと吸着量の理論値を求めた結果、SOS 分子の炭化水素鎖の長さが長くなるほど断面積が小さくなるため最大吸着量が増加し、ピークシフト量も大きくなることが分かった。そこで SOS の長さが完全に伸びきった鎖の分子長である  $\lambda_{\text{max}} = 2.731 \text{ nm}$  の場合の結果を用いて実験値と理論値を比較したが、ピークシフト量は  $20 \mu\text{M}$  までしかフィッティングできず、吸着量は実験値と大幅に差があることが分かった。このため、今回実験した SOS 濃度範囲における SOS 分子の金コロイド粒子に対する吸着は、1 層ではなく 2 層またはそれ以上の可能性がある。また、SOS 濃度 =  $0 \sim 20 \mu\text{M}$  の範囲についてより詳細な実験を行えば、この範囲では吸着が 1 層であると仮定した場合の理論値と一致する可能性があると考えられる。

#### (d) 金コロイド粒子水分散系への BSA 吸着挙動

金コロイド粒子と BSA 水溶液を等量混合した場合のプラズモンピークシフトを検討した。0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 nM の BSA 水溶液 2 mL を作製し、それぞれに  $3.0 \times 10^{-3}\text{wt}\%$  金コロイド水分散液 2 mL を添加し、超音波振動器で 5 分間混合した後、吸光スペクトルを測定した。さらに、生理的条件下での検討を行うため、金コロイド粒子の分散媒および BSA の溶媒を、 $0.154 \text{ M NaCl}$  水溶液、 $0.154 \text{ M NaHCO}_3$  水溶液として同様の実験を行った。

40 nM BSA 水溶液を添加・混合した際のスペクトルでは、もともと見られていたプラズモンピークが観察されなかった。これは BSA により金コロイド粒子が凝集したためと考えられる。また、 $\text{NaCl}$  水溶液や  $\text{NaHCO}_3$  水溶液においてもプラズモンピークが消

失したことから、今回使用した金コロイド粒子は  $\text{NaCl}$  水溶液や  $\text{NaHCO}_3$  水溶液中で凝集することが明らかとなった。

#### (c) ゲル固定金コロイド粒子への界面活性剤の吸着挙動

金コロイド粒子をゲル固定化した場合のプラズモンピークを検討した。モノマーに  $1.0 \text{ M N}$ -(ヒドロキシメチル)アクリルミド、架橋剤として  $0.01 \text{ M N,N}'$ -メチレンビスアクリルアミド、重合開始剤として  $0.35 \text{ mM}$  2,2-アゾビス[2-メチル-N-(2-ヒドロキシエチル)プロピオンアミド]を用い、 $5.6 \times 10^{-3}\text{wt}\%$  金コロイド水分散液 3 mL を  $10 \text{ mm} \times 10 \text{ mm} \times 40 \text{ mm}$  のディスポセル中で UV 照射によるラジカル重合でゲル固定し、そのまま吸光スペクトルを測定した。その後、120 mL スチロール棒ビンに量り取った  $100 \mu\text{M}$  SOS 水溶液 100 mL 中にディスポセルごとゲルを浸漬して SOS 分子の浸透によるピークシフトを検討した。

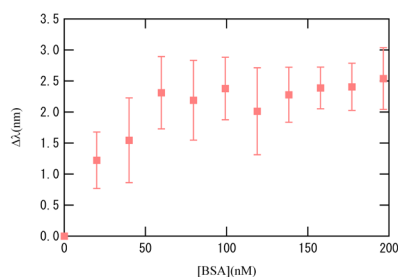
ゲル化剤添加前、ゲル化剤添加後、ゲル固定後、 $100 \mu\text{M}$  SOS 水溶液浸漬後のピーク波長を測定した。ゲル化剤の添加によるピークシフトが観察されたが、SOS 水溶液浸漬によるピークシフトは観察できなかった。実験ではディスポセルごと浸漬したためにゲルの SOS 水溶液に触れる面積が小さくなり、SOS 分子があまりゲル中に浸透しなかった可能性もあるため、今後実験系を再考し再検討する必要があると考えられる。

#### (e) 薄膜ゲル上の金コロイド粒子

金コロイド粒子を吸着させた薄膜ゲルを BSA 水溶液に浸漬した場合のプラズモンピークシフトを検討した。モノマーに  $1.0 \text{ M N}$ -(ヒドロキシメチル)アクリルミド、架橋剤として  $0.01 \text{ M N,N}'$ -メチレンビスアクリルアミド、重合開始剤として  $0.35 \text{ mM}$  2,2-アゾビス[2-メチル-N-(2-ヒドロキシエチル)プロピオンアミド]を用いて UV 照射によるラジカル重合で  $1 \text{ mm} \times 10 \text{ mm} \times 30 \text{ mm}$  の薄膜ゲルを作製した。この薄膜ゲルを  $6.0 \times 10^{-3}\text{wt}\%$  の金コロイド水分散液 15 mL に浸漬することで表面に金コロイド粒子を吸着させた。この試料について、金コロイド粒子の吸着の様子を共焦点レーザーキャノン顕微鏡 C2+型 (Nikon 社製)で観察した。20 nM BSA 水溶液 15 mL に薄膜ゲルに金コロイド粒子を吸着させた試料を

30 分間浸漬することにより BSA を吸着させ、薄膜ゲルのみを水溶液中から取り出して吸光スペクトルを測定した。測定後、BSA 水溶液に 10  $\mu$ M BSA 水溶液を 30  $\square$ L 添加・攪拌して薄膜ゲルを 30 分浸漬するというサイクルを繰り返し、実験を行った。

この実験に用いた、薄膜ゲルに吸着させた金コロイド粒子の顕微鏡画像より、単層でランダムに吸着していることを確認した。



**Figure4** Plasmonic peak shift of the gold particles on addition of BSA.

金コロイド粒子を吸着させた薄膜ゲルを BSA 水溶液に浸漬した際の吸光スペクトル測定では、BSA 添加による凝集を生じることなくプラズモンピークシフトを観察することができた。また、薄膜ゲルのみを BSA 水溶液に浸漬させてもピークおよびそのシフトが確認されなかったことから、薄膜ゲルに対する BSA の吸着はピークシフトに影響を与えないものと考えられる。

プラズモンピークシフト量を浸漬した BSA 水溶液濃度に対するプロットを Fig.4 に示す。用いた薄膜ゲルに金コロイド粒子を吸着させた試料は、BSA を吸着させる前の吸光度が約 0.30 で、水分散系における強度と同程度であった。Fig.4 より、BSA 濃度が薄いところではピークシフト量が浸漬した BSA 水溶液濃度に対応する傾向が見られ、その後一定となることが分かった。

## 結論

本研究により、金コロイドの結晶化とゲル化、またセンシングが可能であることが示唆された。すなわち、金コロイド水分散液と SOS 水溶液の混合系では、SOS 濃度に応じた表面プラズモン共鳴ピークのピークシフトが確認できた。また、金コロイド水分散液と BSA 水溶液の混合系では BSA 添加により凝

集が生じたものの、薄膜ゲル上に金コロイド粒子を吸着させて用いることにより、凝集することなく BSA 濃度に応じた表面プラズモン共鳴ピークシフトが確認できた。

さらに、金コロイド粒子を薄膜ゲル上に吸着させて用いることにより、生理的条件下での実験も可能になると考えられる。金コロイド粒子の分散媒を NaCl 水溶液や NaHCO<sub>3</sub> 水溶液に変えると、BSA を添加しなくても凝集が生じたことから、実験系のイオン濃度を生理的条件と同等にしての実験は困難と思われた。しかし、金コロイド粒子を薄膜ゲル上に吸着させて用いることで BSA による凝集を防ぐことができ、またイオンによる凝集も防ぐことが出来ると考えられる。

本研究で検討した金コロイド粒子を薄膜ゲル上に吸着させた試料は、抗原抗体反応等と組み合わせることにより、簡便な診断チップとして臨床分野での応用が期待される。その際、感度および精度の向上が求められると思われるが、これは粒子間距離を小さくすること、特に金コロイド粒子のコロイド結晶を用いることにより改善できると考えられる。今後は、金コロイド結晶を大量に作成する方法を確立し、今回の研究を発展させていく予定である。

## 研究の発表

### 口頭発表

1. 豊玉彰子, 山本政彰, 中村友紀, 沖塚翔太, 飛永あゆみ, 大橋良章, 岡地真奈美, 奥蘭透, 山中淳平  
イオン性界面活性剤共存下における荷電コロイドの温度誘起結晶化  
第 64 回コロイドおよび界面化学討論会 2013 年 9 月 20 日 (名古屋)
2. 豊玉彰子, 山本政彰, 中村友紀, 奥蘭透, 山中淳平  
界面活性剤の吸着を利用した荷電コロイドの温度誘起結晶化  
第 43 回結晶成長国内会議 2013 年 11 月 8 日 (長野)

### 誌上発表

1. A. Toyotama, M. Yamamoto, Y. Nakamura, C. Yamazaki, A. Tobinaga, Y. Ohashi, T. Okuzono, H. Ozaki, F. Uchida, and J. Yamanaka, Chem. Mater. 26, 4057-4059(2014).