

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月24日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22350037

研究課題名（和文）銀シェル金ナノロッドの成長制御と分析技術への応用

研究課題名（英文）Control of growth processes of gold-silver core-shell nanorods and their application for analytical methods

研究代表者

新留 康郎 (NIIDOME YASURO)

九州大学・大学院工学研究院・准教授

研究者番号：50264081

研究成果の概要（和文）：金ナノロッド上に銀シェルを調製する際の再現性と制御性を大きく改善した。銀シェル金ナノロッドを ITO 透明電極上に固定する事に成功した。固定ナノロッドの分光特性と銀シェルの電気化学的酸化・還元挙動を明らかにした。さらに銀シェルの過酸化水素による溶解を酵素反応によって高感度に抑制する系の開発に成功した。

研究成果の概要（英文）：Reproducibility and controllability of preparation of silver shells on gold nanorods have been dramatically improved. We succeeded the deposition of the core-shell nanorods on an ITO plate. Spectroscopic properties of the core-shell nanorods on an ITO plate and electrochemical responses of the silver shell were studied. We also succeeded the developments of a system to suppress the oxidation of silver shells using enzyme reactions.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
22年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
23年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
24年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：化学分析

1. 研究開始当初の背景

金は化学的に安定で生体材料親和性の高い金属であり、そのナノ粒子は実用プローブとして以前から広く用いられている。一方、銀ナノ粒子は金ナノ粒子よりも大きな表面プラズモンバンドを示し、プローブ粒子としての分光学的ポテンシャルは金よりも優れている。しかし、銀ナノ粒子は酸化に対して不安定であり、再現性/定量性を要求される分析には適しない材料であった。

当時我々は棒状の金ナノ粒子：金ナノロッドに銀シェルを付与する新しい方法に取り組んでいた。この方法は、形状均一性に極めて優れた異方性銀ナノ粒子を作製できると期待された。さらに、銀シェル金ナノロッドの特異な分光特性は免疫検出のプローブ粒子に適しており、簡便かつ高感度な新しい免疫検出用のプローブの開発が期待された。

2. 研究の目的

(1) 形状が均一な銀シェル金ナノロッドを再現性高く作製することを最初の目的とした。反応条件を精査し、再現性と制御性の向上を実現する。

(2) 銀シェルの酸化・還元反応が界面活性剤とアニオン種によってどのような影響を受けているかを定量的に検討し、銀シェルの電気化学反応の特徴を明らかにする。

(3) 銀シェルの溶解を分光特性変化として検出する分析手法を確立し、 $10^{-10} \sim 10^{-16}$ mol オーダーの抗原を検出できる免疫定量法を実現する。

3. 研究の方法

(1) 反応温度、溶液調製手順、攪拌速度、反応時間を最適化し、再現性と制御性に優れた銀シェル調製法を確立する。

(2) カチオン性界面活性剤共存下で起こる特異な銀シェル生成のメカニズムを明らかにするために、銀シェルの還元挙動と界面活性剤の種類との相関を電気化学的に解析した。電気化学的手法によって、共存する界面活性剤とアニオンの種類が銀の析出にどのように影響するかを解析する。

(3) 銀シェルの溶解に伴う分光特性変化を利用した分析法の開発を行った。銀シェル粒子のプラズモンバンドは400 nmから800 nmの波長域に存在する(消失係数: $10^{11} \sim 10^{12} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)。銀シェルが酸化されると、このバンドは失われ、金ナノロッドのプラズモンバンドが900 nm付近に出現する(消失係数: $10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 程度)。過酸化水素は銀シェルが酸化・溶解に適している。グルコースオキシダーゼ(GOD)は過酸化水素を生成する酵素としてよく知られており、これを銀シェル粒子に固定することによって、酵素反応が銀シェルを溶解することを期待した。さらに、過酸化水素を分解する酵素であるカタラーゼやHorseradish peroxidase(HRP)を用いると、酵素によって銀シェルの酸化反応を抑制する系を構築することができる。本研究ではこの酵素反応と銀シェルの溶解反応の組み合わせを用いてサンドイッチELISA法などの各種免疫定量法に利用できる比色分析法を実現する。銀シェル金ナノロッドは過酸化水素1 Mに対して $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 以上の吸光係数変化を実現可能であり、 $10^{-10} \sim 10^{-16}$ mol オーダーの抗体を定量する分析法を実現する。

4. 研究成果

(1) 銀シェル調製時の温度、溶液調合手順、温度、攪拌速度などを最適化し、銀シェル金ナノロッド調製の再現性、形状制御性を大幅に改善することができた。この成果は英国化学会 Nanoscale 誌(雑誌論文[1])に報告した。必要な時に必要な形状の銀シェル金ナノロ

ッドを確実に調製できる技術は研究の推進に大きく貢献した。さらに、関西学院大学玉井教授と共同で、銀シェル金ナノロッドの光励起に伴う振動現象を解析し、Journal of Chemical Physics 誌(雑誌論文[2])に報告した。有意な過渡吸収分光測定を行えるほどに、形状が均一な金銀コアシェル粒子は他に例が無く、ナノスケールのコアシェル構造に由来する興味深い挙動が得られた。

(2) 銀シェル金ナノロッドをITO基板に固定し、その分光特性を検討した。一定以上の厚みを有する銀シェル金ナノロッドはITO基板上で立って固定されることを見いだした(図1)。通常ガラス基板上には銀シェル金ナノロッドは横たわって固定される。ITO基板上でのみ立って固定されるというのは大変特異な現象である。その原因はいまだに明らかになっていないが、表面の濡れ性やロッドの形状との相関から一定の知見を得ることができた。さらに、一部の粒子が立っていることを踏まえて、偏光吸収測定によってプラズモンバンドを帰属した。これらの成果はOptics Communication 誌(雑誌論文[6])に報告した。

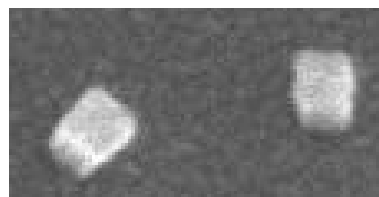


図1 ITO基板上で立って固定されている銀シェル金ナノロッドのSEM像

銀シェル金ナノロッドが示す4つのピークの由来を明らかにするために、University of Technology SydneyのCortie教授と共同で、銀シェル金ナノロッドのプラズモンバンドのシミュレーションを行った。TEM像によって得た平均的なナノ粒子の形状を踏まえて、Discrete Dipole Approximation (DDA)のパッケージを用いて計算を行った。得られたプラズモンの共鳴周波数は、概ね実在粒子の消失スペクトルと一致しており、銀シェル金ナノロッドが示す4つのピークがいずれも表面プラズモン共鳴に由来することがわかった。この成果は米国化学会 Langmuir 誌(雑誌論文[7])に掲載された。

(2) 銀シェルの酸化還元挙動を明らかにするために、まず銀イオンの電極表面での酸化還元挙動を明らかにした。銀の電解析出という古典的な研究対象であるにも関わらず、まったく学術論文は存在せず、水晶発振子マスマバランス法と電気化学測定を組み合わせることで、ハロゲンイオン共存下での銀の酸化還元に関わる新しい知見が得られた。この成果は日本化学会 Chemistry Letters 誌(雑誌論

文[8])に報告した。

銀シェル金ナノロッドをITO基板に固定し、電気化学反応によってどのようにナノ粒子の形状が変化するかを検討した。銀シェルの酸化溶解および銀イオンの還元析出挙動は共存するアニオンに大きく依存することを見いだした。Bromide や Chloride のハロゲン化物イオン共存下では、銀シェルは容易に酸化されて溶液中に拡散し、拡散した銀イオンを還元されると銀シェルではなく銀ナノ粒子が生成することが明らかになった。一方、リン酸緩衝液中で銀シェルを酸化すると不溶性のリン酸銀がロッド表面に析出し、一部は銀シェルとして還元されることがわかった(図2)。一連の成果は米国化学会 Journal of Physical Chemistry C 誌(雑誌論文[9])に報告した。また、銀シェルの酸化溶解に伴う銀シェル金ナノロッドの形状変化を画像解析によって定量的に評価した実験結果を日本化学会 Chemistry Letters 誌(雑誌論文[10])に報告した。一連の研究を通して、銀シェル金ナノロッドを電気化学的に酸化溶解した場合にどのように溶解し、形状変化をするかということについて定量的な知見を得ることができた。

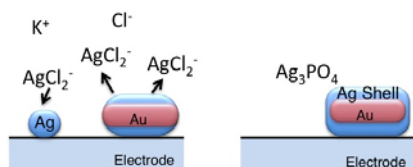


図2 銀シェルの電気化学的溶解と再析出の模式図

(3) 銀シェル金ナノロッドをガラス基板に固定し、さらに GOD の酵素反応により発生する過酸化水素によって銀シェルの溶解を試みた。GOD を溶液中に分散した場合も、基板表面に GOD を固定した場合も有意な銀シェルの酸化を誘起することはできなかった。過酸化水素の生成量が足りないと考えられた。そこで銀シェル金ナノロッド固定化基板を浸漬する溶液の方に過酸化水素を添加し、基板にカタラーゼもしくは HRP を固定することで、酵素反応が銀シェルの酸化を抑制する系を構築した。

両末端スクシンアミドを有する PEG リンカーを用いてカタラーゼを基板表面に固定した。カタラーゼは過酸化水素を水と酸素に不均化する酵素であり、各種酵素の中で最大級の Turn Over 数を有する。酵素活性から固定量は $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ と見積もられた。この基板を過酸化水素溶液(3.3 mM)に浸漬したところ、銀シェルの酸化はほぼ完全に抑制された。図3はカタラーゼを固定した基板(赤線)とカタラーゼの無い基板(青線)の吸光度変化で

ある。カタラーゼが固定されていない基板では過酸化水素による銀シェルの酸化によって、吸光度が減少する。一方、カタラーゼ固定基板では吸光度の変化はほとんど観察されなかった。このことは基板表面に固定された $5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ のカタラーゼが基板表面の過酸化水素濃度を劇的に減少させたことを意味している。

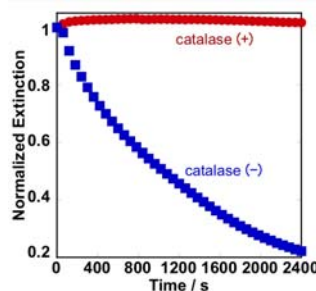


図3 カタラーゼによる銀シェルの酸化溶解の抑制 赤:カタラーゼ固定基板の吸光度変化、青:カタラーゼを固定していない基板の吸光度変化

HRP は、カタラーゼと異なり、還元剤から電子を受け取って、過酸化水素を還元する酵素である。Turn Over 数もカタラーゼ程大きくない為に、酵素活性・系の単純化の為に有利な酵素ではない。しかし、HRP は基質の発色や化学発光による免疫検出に用いられる最も一般的な酵素であり、HRP を結合した抗体は数多く市販されている。HRP は従来の分析法との比較を行うには適した酵素である。ここでは、HRP も同様の手法で基板表面に固定し、過酸化水素溶液に浸漬した。図4は HRP 固定の有無、基質(フェノール)の添加の有無の組み合わせを変えて基板に固定した銀シェル金ナノロッドの吸光度がどのように変化したかを示す図である。

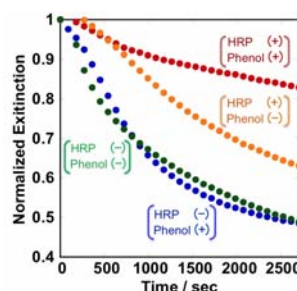


図4 HRP による銀シェルの酸化溶解の抑制 赤:HRP あり・基質あり、橙:HRP あり・基質なし、緑:HRP なし・基質なし

基板を浸漬した溶液には 0.62 mM の過酸化水素を添加した。HRP と基質の両方がそろっている場合に最も吸光度変化が少なく(赤線)、

銀シエルの溶解が最も遅いことがわかる。カタラーゼの系と比較して、酵素の効果がはっきりしないのは、HRPのTurn over数が大きくないこと、さらに、酵素の固定量が4 ng/cm²と少なかったことが原因であると考えられる。

この実験では、4 ng/cm² (9 × 10⁻¹⁴ mol/cm²)のHRP、あるいは5 μg/cm² (2 × 10⁻¹² mol/cm²)のカタラーゼという極めて少ない量の酵素を、肉眼でも識別できるレベルの吸光度変化で検出できることがわかった。今後、実験条件の最適化により、10⁻¹⁶ mol/cm² オーダーの酵素の検出も期待できる。この成果は特許として出願済み(特許[1])であり、いくつかの対照実験を追加して学術論文として投稿する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

1. Yoshifumi Okuno, Koji Nishioka, Ayaka Kiya, Naotoshi Nakashima, Ayumu Ishibashi, Yasuro Niidome
Uniform and Controllable Preparation of Au-Ag Core-Shell Nanorods using Anisotropic Silver Shell Formation on Gold Nanorods.
Nanoscale, **2010**, Vol. 2, No. 8, pp.1489-1494.
DOI: 10.1039/C0NR00130A
2. Li Wang, Ayaka Kiya, Yoshifumi Okuno, Yasuro Niidome, Naoto Tamai
Ultrafast Spectroscopy and Coherent Acoustic Phonons of Au-Ag Core-Shell Nanorods
Journal of Chemical Physics, **2011**, Vol. 134, No. 5, 054501-054501-6.
DOI: 10.1063/1.3533235
3. Yasuro Niidome, Yuki Nakamura, Kanako Honda, Naotoshi Nakashima
Spectral Dependence of Gold Nanorods on the Optical Properties of Substrates and Adsorption of Polypeptides
Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, **2011**, Vol. 221, Nos. 2-3, 204-208.
DOI: 10.1016/j.jphotochem.2011.02.015
4. Kanako Honda, Hirofumi Kawazumi, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niidome
Redispersion of Dried Gold Nanorods in the Presence of 6-Amino-1-Hexanethiol Hydrochloride
Journal of Nanoparticle Research, **2011**, Vol. 13, No. 8, pp.3413-3421.

DOI: 10.1007/s11051-011-0263-9

5. Yuki Nakamura, Yukiko Tsuru, Masanori Fujii, Yumi Taga, Ayaka Kiya, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niidome
Sensing of Oligopeptides Using Localized Surface Plasmon Resonances Combined with Surface-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry
Nanoscale, **2011**, Vol. 3, No. 3, pp. 3793-3798.
DOI: 10.1039/c1nr10519a
6. Yukiko Tsuru, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niidome
Optical properties of Au-Ag core-shell nanorods on glass and ITO substrates
Optics Communications, **2012**, Vol. 285, No. 16, pp. 3419-3422.
DOI: 10.1016/j.optcom.2012.02.103
7. Michael B. Cortie, Fengguo Liu, Matthew D. Arnold, Yasuro Niidome
Multimode Resonances in Silver Nano-cuboids
Langmuir, **2012**, Vol. 28, No. 24, 9103-9112.
DOI: 10.1021/la300407u
8. Yuki Hamasaki, Naotoshi Nakashima, and Yasuro Niidome
Electrochemical Deposition of Silver on Gold Electrodes in the Presence of Halogen Ions
Chemistry Letters, **2012**, Vol. 41, No. 9, pp. 962-964.
DOI: 10.1246/cl.2012.962
9. Electrochemical Oxidation of Silver Shells on Gold Nanorods in Potassium Chloride and Phosphate Buffer Solutions
Yuki Hamasaki, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niidome
Chemistry Letters, in press.

[学会発表] (計64件)

1. Yasuro Niidome, Yukiko Tsuru, Yuki Hamasaki, Ayaka Kiya, Naotoshi Nakashima
Spectroscopic Properties of Au-Ag Core-Shell Nanorods and Their Redox Reactions
221st ECS meeting Seattle
2012.05.0 Invited
2. Yuki Hamasaki, Yukiko Tsuru, Ayaka Kiya, Naotoshi Nakashima, Yasuro Niidome
Cyclic Voltammogram of Au-Ag Core-Shell Nanorods on an ITO Plate and Their Optical Properties
221st ECS meeting Seattle
2012.05.08

3. Yasuro Niidome, Masanori Fujii, Yumi Taga, Naotoshi Nakashima
Surface-Assisted Laser Desorption/
Ionization Mass Spectrometry using Metal
Nano-/Micro-Structures IACIS 2012
(International Association of Colloid and
Interface Scientists) 仙台国際センタ
ー 2012.05.17
4. Yukiko Tsuru, Yasuro Niidome, Naotoshi
Nakashima
Spectroscopic properties of Au-Ag
core-shell nanorods absorbed on the
surface IACIS 2012 (International
Association of Colloid and Interface
Scientists) 仙台国際センター
2012.05.16
5. Yasuro Niidome, Yukiko Tsuru, Ayaka
Kiya, Yuki Hamasaki, Naotoshi Nakashima
Ag-Au Core-Shell Nanorods:
Spectroscopic Properties and Redox
Reactions Yamada Conference 未来科
学館 2012.06.05
Invited
6. Yasuro Niidome
Spectroscopic Changes of Au-Ag
Core-Shell Nanorods during Oxidation of
Silver Shells Gordon Conference, Noble
Metal Nanoparticles Mount Holyoly
College 2012.06.18
7. Yasuro Niidome
Spectroscopic Properties and Chemical
Oxidation of Gold- Silver Core-Shell
Nanorods Gold 2012 京王プ
ラザホテル 2012.09.06
8. Yasuro Niidome
Optical Properties of Au-Ag core-shell
Nanorods on a Solid Surface
JAPS-OSA Joint Symposium 愛媛大
学 2012.09.12 Invited
9. Yasuro Niidome, Masanori Fujii, Naotoshi
Nakashima
Surface-assisted Laser
Desorption/Ionization Mass Spectrometry
Using Gold Nanorods on ITO Plates
MRS Fall Meeting 2012 USA
2012.11.27
10. ○新留 康郎
異方性金属ナノ粒子の調製と生体分子
分析への応用 先端光科学技術
と光機能性材料開発の最前線 横浜国
大 2012.12.21 Invited
11. Yasuro Niidome
Spectroscopic Properties of Silver-Shelled
Gold Nanorods Seventh
International conference on Molecular
Electronics and Bioelectronics (M&BE7)
福岡国際センター 2013.03.18
12. Ayaka Kiya, Naotoshi Nakashima, Yasuro
Niidome
Preparation and Optical Properties of
Anisotropic Core-Shell Metal
Nanoparticles The Fifth International
Conference on Surface Plasmon Photonics
BEXCO 2011.05.17
13. Yasuro Niidome, Yuki Nakamura, Ayaka
Kiya, Yumi Taga, Naotoshi Nakashima
Photoinduced Desorption of metal ions and
organic molecules from gold nanorod
surfaces The Fifth International
Conference on Surface Plasmon Photonics
BEXCO 2011.05.19
14. Yasuro Niidome, Ayaka Kiya, Yukiko
Tsuru, Yuki Nakamura, Naotoshi
Nakashima
Anisotropic Core-shell Au-Ag Nanorods
for Biosensing IUPAC International
Congress on Analytical Science 2011
京都国際会議場 2011.05.22
Invited
15. ○木谷 綾花、新留 康郎、中嶋 直敏
異方性 AuAg コアシェルナノ粒子の調
製および分光特性制御 第63回コロイ
ドおよび界面化学討論会 京都大
学 2011.09.09
16. Yasuro Niidome, Yuki Nakamura, Ayaka
Kiya, Yumi Taga, Masanori Fujii, Naotoshi
Nakashima
Sensing of Oligopeptides using Anisotropic
Metal Nanoparticles 220th ECS
Meeting Boston 2011.10.1
17. Yasuro Niidome, Yuichi Kato, Ayaka Inoue,
Naotoshi Nakashima
Thermodynamic Analysis of Exchange of
Solubilizer Molecules on Single-Walled
Carbon Nanotubes 2011 MRS Fall
Meeting Boston 2011.12.02
18. Yasuro Niidome, Masanori Fujii, Ayaka
Kiya, Yuki Nakamura, Naotoshi
Nakashima
Sensing of Oligopeptides Using Gold
Nanorods for Surface-Assisted Laser
Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass
Spectroscopy 2011 MRS Fall Meeting
Boston 2011.11.30
19. Yasuro Niidome
Rapid Synthesis of Silver Shells on Gold
Nanorods 217th ECS Meeting Canada
2010.05.27 Invited
20. Yasuro Niidome Anisotropic
core-shell metal nanoparticles as a novel
nano-material for green energy technology
Green Energy Workshop Korea
2010.09.15 Invited

21. Yasuro Niidome, Ayaka Kiya, Naotoshi Nakashima
Anisotropic Silver Shell Formation of Gold Nanorods The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies Hawaii Convention Center 2010.12.16
Invited

〔図書〕（計3件）

1. 新留 康郎、プラズモンナノ材料の設計と応用技術 (II)、山田 淳監修 第2章 2節、金銀コアシェルナノ粒子の調製と物性、シーエムシー出版、pp. 19-29.
2. 共著（米澤 徹、代表執筆）最先端材料システム **One Point 7** 微粒子・ナノ粒子、高分子学会
3. 新留 康郎、現代界面コロイド化学の事典、日本化学会編、丸善、7.5章、金ナノロッド pp. 168-169, 2010年5月20日

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：銀シェル金ナノロッドを用いる分析方法

発明者：新留康郎、木谷綾花

権利者：国立大学法人九州大学

種類：特許

番号：特願 2011-196528

出願年月日：2011年9月8日

国内外の別：国内

○取得状況

なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.nanorod.net>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新留 康郎 (NIIDOME YASURO)

九州大学・大学院工学研究院・准教授

研究者番号：50264081

(2) 研究分担者

なし：

(3) 連携研究者

なし