

◎化學系 學生 饒梓平 / 蔡睿謙 / 陳重佑 / 指導教授 林泱蔚助理教授

金奈米粒子合成、鑑定與應用



摘要：本文主要介紹金奈米粒子 (gold nanoparticles, Au NPs) 之綠色合成法與應用。藉由調控不同比例的還原劑用量合成不同大小之 Au NPs，並且利用紫外光 / 可見光光譜儀 (UV-Vis spectrometry) 及穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscope, TEM) 鑑定粒子大小分布及形狀。在應用方面，藉由奈米粒子表面電漿子共振 (surface plasmon resonance, SPR) 的變化、Au NPs 之靜電作用力和立體排斥概念，成功地開發出以 Au NPs 為主之汞離子感測器及測定蛋白質於 Au NPs 之飽和吸附量。

一、前言

奈米科技之所以能夠成為近年來研究重心的原因之一，即是由於許多材料在奈米尺寸時，因為其尺寸微小、比表面積較大 (表面能也隨之增加) 及量子效應等特性，導致其熱、磁、光、電等性質與其塊材型式有所不同。由於其特殊之功能性，奈米材料已被視為極具發展潛力之材質，目前已被應用在各領域，包括：催化劑、藥物載體、細胞染色及感測器等 [1-6]。近年來綠色永續化學的觀念日益受重視，因此，當化學家提出奈米材料合成方法時，需考量反應試劑毒性及用量、反應時間及能源的消

耗及最後產物是否具有毒性等因素。本文將從綠色化學的角度，介紹金奈米粒子 (gold nanoparticles, Au NPs) 之合成與應用。

Au NPs 是目前最廣泛研究之奈米材料，此乃因 Au NPs 具備生物安全性、穩定性、特殊光學活性、高的表面電漿子共振 (surface plasmon resonance, SPR) 吸收係數 ($10^8 - 10^{10} \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$) 及其表面易於被辨識分子修飾 (和硫醇分子間有較強的 Au-S 作用力) 等優勢。目前合成 Au NPs 之水相合成法，大多採用檸檬酸 (citric acid) 或硼氫化鈉 (NaBH_4) 為還原劑 [7-9]。由於合成是在室溫室壓下進行，因此可避免使用有機溶劑所造成的污染及減少能源的消耗。下文敘述本實驗室 Au NPs 之合成方法及其於毒性高之重金屬汞離子檢測之應用和利用外加鹽類得知蛋白質吸附於 Au NPs 之飽和吸附量。

二、Au NPs 之綠色合成法及鑑定

由於 Au NPs 之合成環境要求高，因此所有實驗器皿須以王水浸潤洗淨表面，再將王水沖洗乾淨不得殘留；配置藥品需使用超純水 (電阻值大於 $15 \text{ M}\Omega$)。Au NPs 以檸檬酸鈉為還原劑，將四氯金酸還原成 Au NPs。



還原過程需持續均勻攪拌以免影響合成製備，此時未反應之檸檬酸根離子和其他帶負電產物，則會吸附在 Au NPs 之表面，而使粒子帶負電荷。在此情形下，Au NPs 之間藉由表面負電荷所產生的靜電排斥作用力，能使 Au NPs 個別穩定存在於溶液中。調控還原劑之用量，以合成不同粒徑之 Au NPs；當檸檬酸鈉 / 四氯金酸比例越高時，製備所得之奈米粒子粒徑越小。Au NPs 最常用紫外光 / 可見光光譜儀 (UV-Vis spectrometry) 及穿透式電子顯微鏡 (transmission electron microscope, TEM) 作為粒子大小分布及形狀鑑定。Au NPs 的表面電漿共振吸收峰，通常與粒子的形狀和大小有關 [10]。在此，我們利用紫外光 / 可見光光譜儀及及穿透式電子顯微鏡來判斷所合成出的 Au NPs 大小。粒徑為 $14.3 \pm 1.9\text{nm}$ 之 Au NPs 於波長 518nm 具備表面電漿共振吸收峰，呈現出肉眼可辨識出之酒紅色；粒徑為 $27.3 \pm 4.7\text{nm}$ 之 Au NPs 於波長 528nm 具備表面電漿共振吸收峰，呈現紫紅色；粒徑為 $57.3 \pm 3.8\text{nm}$ 之 Au NPs 於波長 532nm 具備表面電漿共振吸收峰，呈現紫色（圖一）。

三、Au NPs 之應用

重金屬汞離子偵測

感應耦合電漿質譜儀 (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) 仍為目前測量金屬含量主要技術之一，但受限於造價昂貴及不適合及時分析等缺點，故利用奈米感測器測量水溶液樣品中之金屬含量漸漸受到重視。以金為主之奈米材料可直接於水溶液中進行金屬離子含量之測定，且所需之偵測體積非常微量 (小於 1mL)，因此符合綠色科學的觀念。我們使用 Au NPs 所開發之金屬離子感測器，主要利用當分析物和 Au NPs 所修飾之辨識分子作用時，造成 Au NPs 交聯聚集

而產生表面電漿共振吸收峰變化，即聚集時會造成表面電漿共振吸收峰發生紅位移現象，可直接藉由肉眼觀測溶液顏色改變。

由於羧酸基 (carboxylate) 和重金屬 (鉛、鎘、汞離子) 皆有不錯的鍵結能力，因此將 3- 巯基丙酸 (3-mercaptopropionic acid, 3-MPA) 修飾在 13nm Au NPs 上。當溶液中存在有此類重金屬離子時，便會使 Au NPs 產生聚集而由酒紅色轉變為藍紫色（圖二）。為了增加此金奈米感測器對汞離子之選擇性，我們於溶液中加入和汞有較強鍵結之 2,6- 吡啶二甲酸試劑 (2,6-pyridinedicarboxylic acid, PDCA)（圖三）。由於 PDCA 和汞離子之結合常數高達 20.28 [11]。因此，我們可以藉由此方式，除去鉛及鎘離子之干擾，達到對汞離子具專一性之偵測。在訊號雜訊比 (signal to noise ratio, S/N) 為 3 時，其偵測極限 (detection of limit, LOD) 為 $1.8 \mu\text{M}$ （圖四）。

藉由外加鹽類得知蛋白質吸附於 Au NPs 之飽和吸附量

藉由外加鹽類得知蛋白質吸附於 Au NPs 之飽和吸附量添加高濃度鹽類如氯化鈉於於 Au NPs 溶液中，由於鹽類在水溶液中會解離成鈉離子與氯離子，這些離子會使 Au NPs 表面 zeta 電位 (zeta potential) 降低，進而使 Au NPs 間靜電排斥力降低與嚴重奈米粒子聚集。若相對高濃度鹽類添加於蛋白質吸附的 Au NPs 時，雖然也會造成 Au NPs 表面 zeta 電位降低，但蛋白質之間立體排斥能可使 Au NPs 可以穩定分散於含高鹽類之溶液中；然而當蛋白質分子未完全覆蓋於 Au NPs 表面時，高濃度離子就可能吸附於 Au NPs 上而中和其表面電性，且此時奈米粒子上的蛋白質提供立體排斥也較小，故會造成 Au NPs 些微的聚集。當 Au NPs 聚集程度不同時，Au NPs 其表面電漿帶會有不同程度紅位移的情況產生，而使溶液呈現由紅色到紫色不同程度的改變。

我們添加不同濃度牛血清蛋白 (bovine



serum albumin, BSA) 溶液於 Au NPs 中，待牛血清蛋白吸附於 Au NPs 後，再添加相同濃度的氯化鈉 (200mM)，觀察溶液顏色以決定 BSA 吸附於 Au NPs 之飽和吸附量。吸收光譜圖變化如圖五 (A)，波長 520nm 具備表面電漿共振吸收峰，在分散下會呈現肉眼可辨識的紅色溶液；當 Au NPs 因聚集而開始沉降時，Au NPs 其表面電漿共振吸收峰會有紅位移的情況產生，使溶液呈現紫色。將吸收比值 (A_{520}/A_{650}) 對 BSA 濃度做圖，如圖五 (B)，我們發現在 [BSA]<60nM 時，吸收比值 (A_{520}/A_{650}) 都較低，可知其吸收光波長有明顯變化，有聚集現象發生；當 [BSA] > 60nM 之後，吸收比值 (A_{520}/A_{650}) 上升，表示其顏色沒有變化而不發生聚集，故此點為 BSA 吸附於 Au NPs 之飽和吸附量。而 Au NPs 的濃度為 3nM，故一個 13nm Au NPs 於本實驗反應條件中，其表面約吸附 20 個 BSA 分子。

四、結論

運用簡單且環保的方法，在室溫室壓之水相中成功地合成出 Au NPs。透過表面修飾方式，開發出對汞離子具高靈敏度、高選擇性之金奈米感測器，其偵測極限為 $1.8 \mu\text{M}$ 。利用靜電作用力及立體排斥概念，我們成功測定牛血清蛋白吸附於金奈米粒子之飽和吸附量，故一個 13nm Au NPs 於本實驗反應條件中，其表面約吸附 20 個 BSA 分子。

五、參考文獻

[1] Mori, K.&Yamashita, H. (2011). Design of Colloidal and Supported Metal Nanoparticles: Their Synthesis, Characterization, and Catalytic Application. *Journal of the Japan Petroleum Institute*, 54, 1-14.

[2] Liu, Y. J., Zhang, B.&Yan, B. (2011). Enabling Anticancer Therapeutics by Nanoparticle Carriers: The Delivery of Paclitaxel. *International*

Journal of Molecular Sciences, 12, 4395-4413.

[3] Feng, B., Matsui, H.&Tomizawa, K. (2011). Nanoparticle-based Drug Delivery Systems for Solid Brain Tumors. *Current Nanoscience*, 7, 47-54.

[4] Coto-Garcia, A. M., Sotelo-Gonzalez, E., Fernandez-Arguelles, M., Pereiro, R., Costa-Fernandez, J. M.&Sanz-Medel, A. (2011). Nanoparticles as fluorescent labels for optical imaging and sensing in genomics and proteomics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399, 29-42.

[5] Jaiswal, J. K.&Simon, S. M. (2007). Imaging single events at the cell membrane. *Nature Chemical Biology*, 3, 92-98.

[6] Lobnik, A.&Urek, S. K. (2011). Nano-Based Optical Chemical Sensors. *Journal of Nano Research*, 13, 99-110.

[7] Bastus, N. G., Comenge, J.&Puntes, V. (2011). Kinetically Controlled Seeded Growth Synthesis of Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles of up to 200 nm: Size Focusing versus Ostwald Ripening. *Langmuir*, 27, 11098-11105.

[8] Male, K. B., Li, J. J., Bun, C. C., Ng, S. C.&Luong, J. H. T. (2008). Synthesis and stability of fluorescent gold nanoparticles by sodium borohydride in the presence of mono-6-deoxy-6-pyridinium-beta-cyclodextrin chloride. *Journal of Physical Chemistry C*, 112, 443-451.

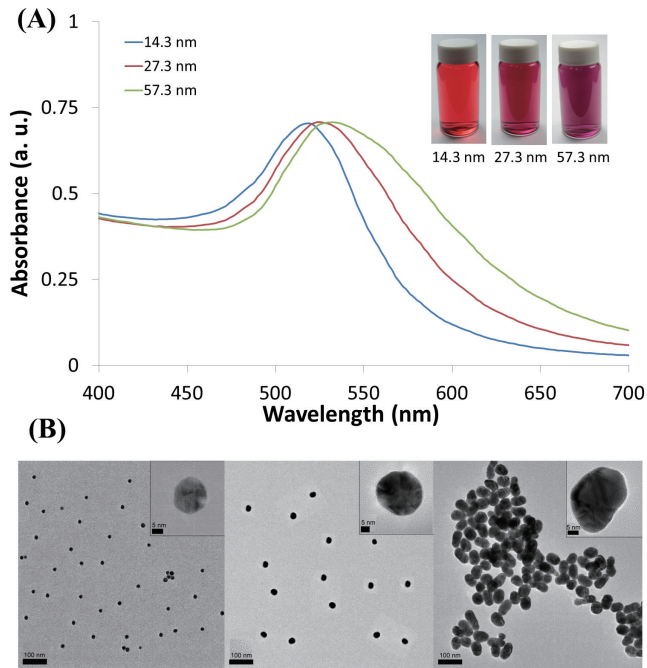
[9] Guo, S. J.&Wang, E. K. (2007). Synthesis and electrochemical applications of gold nanoparticles. *Analytica Chimica Acta*, 598, 181-192.

[10] Nehl, C. L.&Hafner, J. H. (2008). Shape-dependent plasmon resonances of gold nanoparticles. *Journal of Materials Chemistry*, 18, 2415-2419.

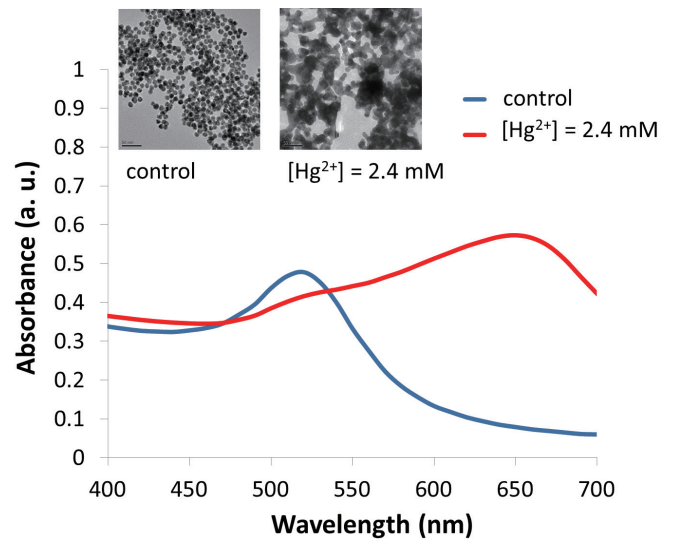
[11] Huang, C. C.&Chang, H. T. (2006). Selective gold-nanoparticle-based "turn-on" fluorescent sensors for detection of mercury(II) in aqueous solution. *Analytical Chemistry*, 78, 8332-8338.

Figure caption:

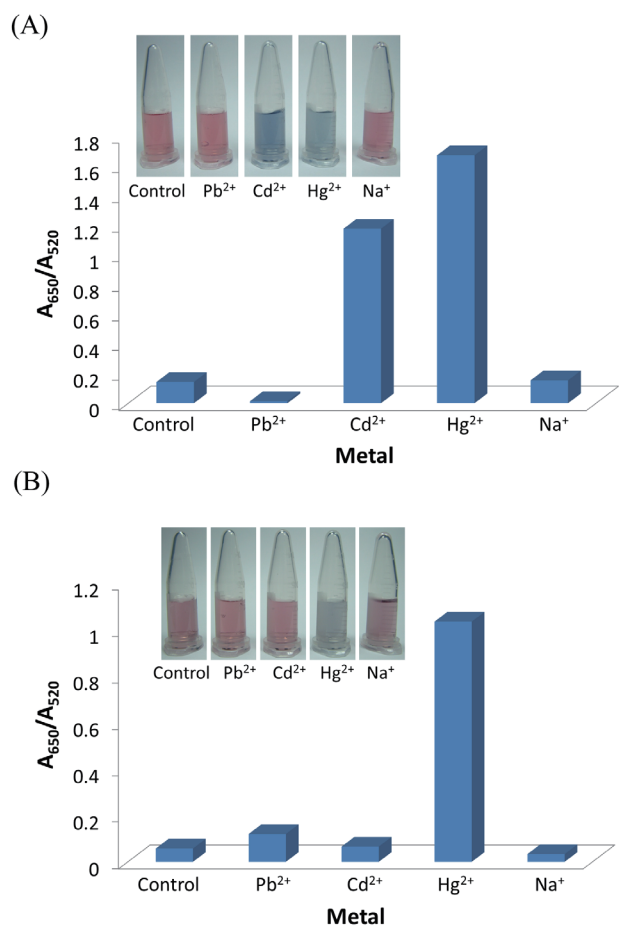
圖一 (A) 14.3 ± 1.9 、 27.3 ± 4.7 及 57.3 ± 3.8 nm Au NPs 之吸收光譜圖及奈米粒子溶液顏色。(B) 14.3 ± 1.9 、 27.3 ± 4.7 及 57.3 ± 3.8 nm Au NPs 之 TEM 圖。



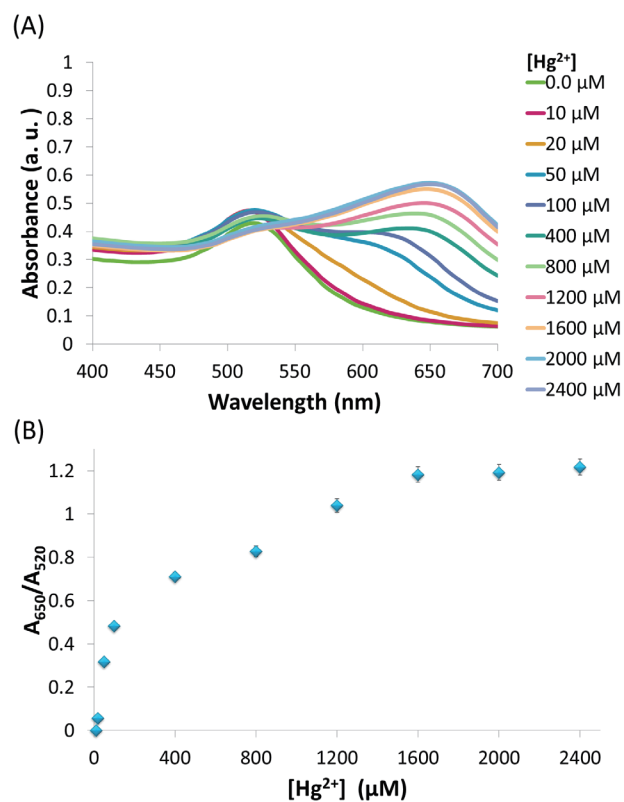
圖二 修飾 3-MPA 之 Au NPs 在有 / 無 Hg^{2+} 離子存在下，吸收光譜圖變化。插圖為修飾 3-MPA 之 Au NPs 在有 / 無 Hg^{2+} 離子存在下之 TEM 圖。



圖三 修飾 3-MPA 之 Au NPs 在 (A)[PDCA] = 0 M 和 (B)[PDCA] = 1.0 M 存在下，對 Hg^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 及 Na^+ 離子之選擇性。



圖四 (A) 不同汞離子濃度對修飾 3-MPA 之 Au NPs 之吸收光譜圖變化。(B) 不同汞離子濃度對吸收比值 (A_{650}/A_{520}) 之變化。



圖五 (A) 200mM 氯化鈉水溶液存在下，不同 BSA 濃度對 Au NPs 之吸收光譜圖變化。(B) 不同 BSA 濃度對吸收比值 (A_{520}/A_{650}) 之變化。

