

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5077886号
(P5077886)

(45) 発行日 平成24年11月21日(2012.11.21)

(24) 登録日 平成24年9月7日(2012.9.7)

(51) Int.Cl.		F I
GO 1 N 21/65	(2006.01)	GO 1 N 21/65
GO 1 N 33/553	(2006.01)	GO 1 N 33/553
B 8 2 B 1/00	(2006.01)	B 8 2 B 1/00
B 8 2 B 3/00	(2006.01)	B 8 2 B 3/00

請求項の数 6 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2008-29718 (P2008-29718)	(73) 特許権者	301021533
(22) 出願日	平成20年2月8日(2008.2.8)		独立行政法人産業技術総合研究所
(65) 公開番号	特開2009-186443 (P2009-186443A)		東京都千代田区霞が関1-3-1
(43) 公開日	平成21年8月20日(2009.8.20)	(74) 代理人	100102004
審査請求日	平成22年2月10日(2010.2.10)		弁理士 須藤 政彦
		(72) 発明者	砥綿 篤哉
			愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ
			洞2266番地の98 独立行政法人産業
			技術総合研究所中部センター内
		(72) 発明者	飯田 康夫
			愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ
			洞2266番地の98 独立行政法人産業
			技術総合研究所中部センター内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 貴金属ナノ粒子複合体からなる SERS 用粒子及びその製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

貴金属ナノ粒子とマトリックスのアパタイト粒子を気相法又は液相法で混合し、気相法では、溶液を除去することにより予め液滴内での二種成分共在化の場を作ることにより、また、液相法では、界面活性剤やイオン処理剤による処理により添加粒子表面への電荷付加又は核生成により、これらの二つの成分粒子が接した構造の複合体とすることにより貴金属ナノ粒子をマトリックスのアパタイト粒子表面に配置して複合化することを特徴とする貴金属ナノ粒子複合体からなる SERS 用粒子の製造方法。

【請求項 2】

上記貴金属ナノ粒子が、銀、金、又はこれら二成分を含む粒子である、請求項 1 に記載の貴金属ナノ粒子複合体からなる SERS 用粒子の製造方法。

10

【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の製造方法により貴金属ナノ粒子を分散させた状態でマトリックスのアパタイト粒子の表面に配置して複合化させた貴金属ナノ粒子複合体からなる SERS 用粒子であって、該複合体は、貴金属ナノ粒子とマトリックスのアパタイト粒子の二つの成分粒子が接した構造からなり、生体親和性を有し、貴金属ナノ粒子の分散状態を安定して保ち、検出物質を吸着して貴金属ナノ粒子周辺に保持する特性を有することを特徴とする貴金属ナノ粒子複合体からなる SERS 用粒子。

【請求項 4】

上記貴金属ナノ粒子が、銀、金、又はこれら二成分を含むナノ粒子である、請求項 3 に

20

記載の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子。

【請求項5】

上記貴金属ナノ粒子複合体を構成するマトリックスのアパタイトが、ハイドロキシアパタイト、フルオロアパタイト、クロロアパタイト、燐酸三カルシウム、又は燐酸水素カルシウムである、請求項3又は4に記載の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子。

【請求項6】

上記貴金属ナノ粒子複合体が、貴金属ナノ粒子を検出物が溶解する媒体中に分散させた粒子分散液である、請求項3に記載の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、表面増強ラマン散乱(SERS)法による生体分子などの高感度測定を可能とする貴金属ナノ粒子複合体に関するものであり、更に詳しくは、本発明は、プラズモン共鳴の特性を有する粒子に、例えば、ハイドロキシアパタイトを複合化したことを特徴とする貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子及びその製造方法に関するものである。本発明は、例えば、貴金属ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを複合化したナノ粒子複合体であって、生化学分野での分析に重要な表面増強ラマン散乱(SERS)法による生体分子などの高感度定量を可能とするSERS用粒子として有用な機能性複合ナノ粒子を提供するものである。

【背景技術】

20

【0002】

ラマン散乱分光法は、物質の振動モードを識別できる分光分析法であり、例えば、対象が有機物の場合には、化合物に含まれる官能基(例えば、芳香環、アミノ基、水酸基、カルボキシル基など)の存在を識別することができる。上記分析法は、化合物に含まれる官能基の組み合わせから、化合物の構造を特定することが可能であり、夾雑物混在下でも、特別なマーカーを用いることなく、対象化合物の存在を検出できるという利点を有する。

【0003】

ここで、集合構造を持つ貴金属ナノ粒子に物質が吸着すると、その物質のラマン散乱強度の顕著な増強(表面増強ラマン散乱、Surface enhanced Raman scattering = SERS)が起こることが知られており、貴金属ナノ粒子を用いない場合の 10^6 倍の感度を有することができる。このとき、貴金属ナノ粒子の大きさや、形状及び粒子の集合状態や、溶液の屈折率などの違いにより、感度及び吸収スペクトルなどが変化する(非特許文献1~3)。

30

【0004】

貴金属ナノ粒子の製造は、これまで、色々な方法で行われており、平均粒子径がナノメートル・スケールの微細な銀ナノ微粒子の製造方法として、例えば、ガス中蒸発法(気相法)により銀ナノ粒子を製造する方法が知られている(特許文献1)。

【0005】

また、液相法としては、酸化銀を原料とし、液相中における還元反応によって、ナノサイズの粒子径を有する銀ナノ微粒子を調製する方法(特許文献2)や、貴金属のコロイド粒子及び高分子顔料分散剤を含む貴金属コロイド粒子及びその製造方法(特許文献3)や、液相と気相法を組み合わせる金属錯体を熱分解する方法などが知られている(特許文献4)。

40

【0006】

また、粒子のサイズや、形状又は結晶系を制御する方法として、種粒子を利用して棒状の粒子を合成する方法(非特許文献4)、界面活性剤を用いて棒状や平板状に合成する方法などがある(非特許文献5、6)。また、レーザー、電気化学的な反応、マイクロ波、超音波などの外力を使って特徴ある粒子を合成する方法がある(非特許文献7~10)。

【0007】

水溶液中での検出物質の測定には、このようにして作製した貴金属ナノ粒子を水などに

50

分散して、コロイド溶液として測定することが行われる。このとき、貴金属ナノ粒子の集合状態などをコントロールするために、第二相となる物質と組み合わせることが行われてきた。その方法として、例えば、スメクタイト（特許文献５）、ポリビニルアルコールとの複合体（非特許文献１１）や、酸化鉄（非特許文献１２）を用いる方法などが提案されている。

【０００８】

この場合、検出物質が生体に関連した物質である場合には、コロイド溶液の生体親和性を良くすることが望ましい。ここで、生体材料の主なものとして、チタンなどの金属系、また、骨の代替品などに注目されるハイドロキシアパタイトやアルミナなどのバイオセラミック、更に、コラーゲンやポリ乳酸などの高分子系の材料が挙げられる。そのうち、ハイドロキシアパタイトは、優れた生体親和性とイオン交換特性を有する機能性セラミックスとして、生体埋入材料と吸着剤などへ応用されている。

10

【０００９】

また、ハイドロキシアパタイトは、生体高分子に対する親和性と吸着特性を有することから、生体試料の活性を損なわないクロマト分離カラム用充填剤としても、生化学や臨床機器分析の分野で広範囲に利用されている（非特許文献１３）。更に、ハイドロキシアパタイトは、核酸や生物活性タンパク質との親和性が高いため、例えば、ワクチン、血液タンパク、成長ホルモン、食品添加物、インターフェロンなどの精製に应用されている（特許文献６）。しかし、表面増強ラマン散乱測定を指向したナノ複合体の複合材料としてアパタイトが使用できるかどうかについては報告例がない。

20

【００１０】

【特許文献１】特許第２５６１５３７号

【特許文献２】特開２００６－２１９６９３号公報

【特許文献３】特開平１１－０８０６４７号公報

【特許文献４】特開２００４－４３９７７号公報

【特許文献５】特開２００６－１８４２４７号公報

【特許文献６】特開２０００－２６２２８０号公報

【非特許文献１】*J. Phys. Chem. B* (2005) 109, 12544

【非特許文献２】*J. Phys. Chem. B* (2006) 110, 21545

【非特許文献３】*Chem. Phys.* (2007) 332, 27

【非特許文献４】*Nanotechnology* (2007) 18, 115608

【非特許文献５】*Langmuir* (2005) 21, 3334

【非特許文献６】*J. Phys. Chem. B* (2002) 106, 10777

【非特許文献７】*Science* (2001) 294, 1901

【非特許文献８】*Langmuir* (1999) 15, 701

【非特許文献９】*Chem. Lett.* (2004) 33, 370

【非特許文献１０】*Ultrasonics* (1996) 34, 547

【非特許文献１１】*Mater. Chem. Phys.* (2007) 101, 93

【非特許文献１２】*Mater. Lett.* (2005) 59, 3672

【非特許文献１３】北海道立工業試験場報告(1995), 294, 25

30

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【００１１】

このような状況の中で、本発明者らは、上記従来技術に鑑みて、表面増強ラマン散乱法による生体分子などの高感度定量を可能とする新しい機能性ナノ複合体を開発することを目標として鋭意研究を重ねた結果、特定の方法でハイドロキシアパタイトを被覆又は混合して複合化した貴金属ナノ粒子分散液を調製することにより、生体親和性に富み、貴金属粒子の集合状態を適度に保った分散状態を安定して保ち、検出物質を吸着して貴金属ナノ粒子周辺に存在せしめることが可能な貴金属ナノ粒子複合体を創製することができる、と云う新規知見を見出し、本発明に到達した。

50

【0012】

本発明は、貴金属ナノ粒子が特定の距離を保った状態で、検出物質と貴金属ナノ粒子の接近をハイドロキシアパタイトの存在により可能とした貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子を提供すること、また、本発明は、銀、金又は当該二つの成分を含む粒子にハイドロキシアパタイトを含むことを特徴とするSERS用粒子を提供すること、上記貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子の製造方法を提供すること、を目的とするものである。更に、本発明は、貴金属ナノ粒子を媒体中に高濃度で固定した粒子間隔を持って分散させることができ、しかも生体親和性に優れていて、表面増強ラマン散乱(SERS)法による生体分子の高感度定量を可能とする、上記貴金属ナノ粒子複合体を提供すること、を目的とするものである。

10

【課題を解決するための手段】

【0013】

上記課題を解決するための本発明は、以下の技術的手段から構成される。

(1) 貴金属ナノ粒子とマトリックスのアパタイト粒子を気相法又は液相法で混合し、気相法では、溶液を除去することにより予め液滴内での二種成分共在化の場を作ることにより、また、液相法では、界面活性剤やイオン処理剤による処理により添加粒子表面への電荷付加又は核生成により、これらの二つの成分粒子が接した構造の複合体とすることにより貴金属ナノ粒子をマトリックスのアパタイト粒子表面に配置して複合化することを特徴とする貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子の製造方法。

20

(2) 上記貴金属ナノ粒子が、銀、金、又はこれら二成分を含む粒子である、前記(1)に記載の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子の製造方法。

(3) 前記(1)又は(2)に記載の製造方法により貴金属ナノ粒子を分散させた状態でマトリックスのアパタイト粒子の表面に配置して複合化させた貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子であって、該複合体は、貴金属ナノ粒子とマトリックスのアパタイト粒子の二つの成分粒子が接した構造からなり、生体親和性を有し、貴金属ナノ粒子の分散状態を安定して保ち、検出物質を吸着して貴金属ナノ粒子周辺に保持する特性を有することを特徴とする貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子。

(4) 上記貴金属ナノ粒子が、銀、金、又はこれら二成分を含むナノ粒子である、前記(3)に記載の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子。

(5) 上記貴金属ナノ粒子複合体を構成するマトリックスのアパタイトが、ハイドロキシアパタイト、フルオロアパタイト、クロロアパタイト、燐酸三カルシウム、又は燐酸水素カルシウムである、前記(3)又は(4)に記載の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子。

30

(6) 上記貴金属ナノ粒子複合体が、貴金属ナノ粒子を検出物が溶解する媒体中に分散させた粒子分散液である、前記(3)に記載の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子。

【0014】

次に、本発明について更に詳細に説明する。

本発明は、貴金属ナノ粒子を分散させた状態でマトリックスのアパタイト粒子の表面に配置して複合化させた貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子であって、生体親和性を有し、貴金属ナノ粒子の分散状態を安定して保ち、検出物質を吸着して貴金属ナノ粒子周辺に保持する特性を有することを特徴とするものである。本発明は、上記貴金属ナノ粒子が、銀、金、又はこれら二成分を含むナノ粒子であること、上記貴金属ナノ粒子複合体を構成するマトリックスのアパタイトが、ハイドロキシアパタイト、フルオロアパタイト、クロロアパタイト、燐酸三カルシウム、又は燐酸水素カルシウムであること、上記貴金属ナノ粒子複合体が、貴金属ナノ粒子を検出物が溶解する媒体中に分散させた粒子分散液であること、を好ましい実施の態様としている。本発明において、検出物が溶解する媒体とは、例えば、水による溶液が例示されるが、これに制限されるものではなく、検出物質が持つラマン分光スペクトルとは異なる値を示す溶液であれば利用可能であり、非水溶液でも利用することが可能である。

40

50

【 0 0 1 5 】

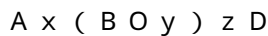
また、本発明は、上記貴金属ナノ粒子複合体からなるS E R S用粒子を製造する方法であって、貴金属ナノ粒子とマトリックスのアパタイト粒子を気相法又は液相法で混合し、これらの二つの成分粒子が接した構造の複合体を作ることにより貴金属ナノ粒子をマトリックスのアパタイト粒子表面に配置して複合化することを特徴とするものである。更に、本発明は、上記の貴金属ナノ粒子複合体からなるS E R S用粒子の点、に特徴を有するものである。

【 0 0 1 6 】

ここで、貴金属ナノ粒子について説明すると、本発明で用いる貴金属ナノ粒子は、一般に知られているプラズモン共鳴を発揮する粒子であって、金ナノ粒子、銀ナノ粒子及びそれらの二成分を含む粒子であれば、特に限定されずに用いることができる。

【 0 0 1 7 】

次に、マトリックスのアパタイト粒子について説明すると、本発明に用いられるアパタイトは、基本的に、次のような一般式によって表すことができる。



【 0 0 1 8 】

上記式において、Aは、Ca、Co、Ni、Al、La、Fe、Mgなどの各種の金属原子を表し、Bは、P、Sなどの原子を表し、そして、Dは、水酸基、ハロゲン原子などである。このようなアパタイトの例としては、アパタイト、ヒドロキシアパタイト、フルオロアパタイト、クロロアパタイト、燐酸三カルシウム、及び燐酸水素カルシウムなどが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【 0 0 1 9 】

本発明において好適に用いることのできるアパタイトは、上記式中のDが水酸基であるヒドロキシアパタイトであり、更に好ましくは、上記式中のDが水酸基であり、かつAがカルシウム(Ca)であるカルシウムヒドロキシアパタイト、すなわち、化学式Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂で表されるリン酸カルシウムの一種である。その種類は、一般型、部分的にカルシウムが水素に置換しているCa欠損型、及びカルシウム置換率が高いCaリッチ型、が挙げられ、いずれでも良く、とりわけ、一般型が好ましい。

【 0 0 2 0 】

次に、本発明を構成する貴金属ナノ粒子複合体を調製する方法について説明する。

上述のプラズモン共鳴を発揮する粒子に、ヒドロキシアパタイトを混合する方法は、気相法及び液相法など、特に限定されない。気相法では、貴金属成分が溶解した溶液にヒドロキシアパタイトを均一に分散し、これを噴霧熱分解法などで液滴内にヒドロキシアパタイトと貴金属ナノ粒子成分が共存した状態から溶液を除去することにより、貴金属ナノ粒子とヒドロキシアパタイトが接した構造の複合体を製造することができる。また、液相法では、界面活性剤処理やイオン処理剤などによりヒドロキシアパタイトの表面の電荷を制御して、その添加粒子表面への電荷付加作用により、パラジウム粒子などを予め粒子表面に担持することにより表面に核を生成し、貴金属ナノ粒子をその核で優先的に成長させたりすることで二つの成分粒子が接した構造の複合体を製造することができる。

【 0 0 2 1 】

本発明において、二つの成分粒子(貴金属ナノ粒子とアパタイト粒子)が接した構造の複合体を作ると言う意味で、気相法では、予め液滴内での二種成分共在化の場を作ること、液相法では、添加粒子表面の近傍で粒子が生成しやすくするために、電荷付加作用、核生成作用を利用すること、が好適である。これらの気相法及び液相法による方法自体は、公知の方法を用いることができる。例えば、一つの方法を以下に示すと、まず、硝酸カルシウム四水和物を水に溶解する。その後、エタノールを加える。一方、リン酸水素アンモニウムを、水、エタノール溶液に溶解する。これらの溶液を混合し、所定の温度で、ホーン型のホモジナイザーにより超音波を照射する。

【 0 0 2 2 】

10

20

30

40

50

得られた微粒子を回収するために、エタノールと水で洗浄した後、乾燥したハイドロキシアパタイト粒子を得る。次に、クエン酸ナトリウムを溶解した溶液に、ハイドロキシアパタイト粒子を添加し、攪拌した後、硝酸銀を加える。更に、硝酸銀を還元するために、水素化ホウ素ナトリウム水溶液を加えて、銀ナノ粒子を合成する。

【0023】

本発明では、貴金属ナノ粒子に、例えば、マトリックスのハイドロキシアパタイトを加えて複合化した場合、ハイドロキシアパタイトを加えない場合と比べて、100倍近く検出ピークが大きくなる。また、紫外線吸収スペクトルは、ハイドロキシアパタイトの添加量を多くするにしたがって、長波長側にピークがシフトし、スペクトルがブロードになり、また、粒子の集合体の大きさは大きくなる。

10

【0024】

本発明の貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子における貴金属ナノ粒子は、約10 - 50 nmであり、ハイドロキシアパタイト添加の場合、透過電子顕微鏡観察で、数ナノメートルの粒子が多く見られる。紫外可視吸収スペクトルでは、510 nmにピークを持っている。ハイドロキシアパタイトの添加により、ラマン散乱スペクトルの検出ピークが増強される。

【0025】

従来、多糖類及び無機物などのマイクロスフェア表面に貴金属ナノ粒子を配置し、生化学分野での分析に重要な表面増強ラマン散乱(SERS)法によるバイオ分子などの高感度定量を目指した研究例は報告されている。これに対して、本発明は、マトリックスとしてハイドロキシアパタイトなどを用いて、貴金属ナノ粒子を複合化することにより、優れた生体親和性に富み、貴金属粒子の集合状態を適度に保った分散状態を安定して保ち、検出物を吸着して貴金属ナノ粒子周辺に存在せしめることを可能としたものであり、しかも、それにより、生体分子の高感度定量を実現可能としたものとして、従来のナノ粒子にない格別の作用効果を奏するものである。

20

【発明の効果】

【0026】

本発明により、次のような効果が奏される。

(1) 貴金属ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを複合化した貴金属ナノ粒子複合体からなるSERS用粒子を提供することができる。

30

(2) 上記貴金属ナノ粒子複合体は、生体親和性に富み、貴金属粒子の集合状態を適度に保った分散状態を安定して保ち、検出物質を吸着して貴金属ナノ粒子周辺に存在せしめることを可能とする。

(3) 銀、金又はこれらの二つの成分を含む粒子にハイドロキシアパタイトを含むSERS用粒子として有用な貴金属ナノ粒子複合体を提供することができる。

(4) ハイドロキシアパタイト粒子などに貴金属ナノ粒子を複合化したナノ粒子複合体からなるSERS用粒子を作製し、提供することができる。

(5) マトリックスのアパタイト表面に貴金属ナノ粒子を配置した、表面増強ラマン散乱測定に有用なナノ複合体からなるSERS用粒子を提供することができる。

(6) 生体分子などの高感度定量を可能とする高生体親和性複合ナノ粒子を提供することができる。

40

(7) 本発明を構成する貴金属ナノ粒子分散液は、貴金属ナノ粒子を媒体中適当な集合状態で微細な分散径で安定に存在させることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0027】

次に、実施例に基づいて本発明を具体的に説明するが、本発明は、以下の実施例によって何ら限定されるものではない。

【実施例1】

【0028】

硝酸カルシウム四水和物50 mmolを水110 mlに溶解し、その後、エタノール9

50

0 gを加えた。一方、リン酸水素アンモニウム 33 mmol を水 280 ml、エタノール 260 g 溶液に溶解した。これらの溶液を、恒温槽内温度 25 にセットした反応容器内で、ホーン型のホモジナイザーにより超音波を照射しながら混合した。得られた微粒子を回収するため、エタノールと水で洗浄した後、乾燥したハイドロキシアパタイト粒子を得た。

【0029】

次に、クエン酸ナトリウム 0.045 g を蒸留水 50 ml に溶解した溶液に、所定のハイドロキシアパタイト粒子を添加し、攪拌した後、硝酸銀 100 mM、0.8 ml を加えた。更に、これに水素化ホウ素ナトリウム水溶液 200 mM、1.6 ml を加えて、銀ナノ粒子を合成した。

10

【0030】

図 1 に、測定物質がローダミン 6 G の場合のラマン散乱スペクトルを示す。測定試料は、ローダミン 6 G、 10^{-6} mol/l、0.4 ml と銀ナノ粒子溶液 0.6 ml 及び KCl 溶液 20 mM、1 ml を混合した溶液とした。図 1 中の試料 1 は、ハイドロキシアパタイトを無添加の場合、試料 2 は、ハイドロキシアパタイトを 10 mg、試料 3 は、ハイドロキシアパタイトを 20 mg、試料 4 は、ハイドロキシアパタイトを 30 mg、試料 5 は、ハイドロキシアパタイトを 40 mg、試料 6 は、ハイドロキシアパタイトを 50 mg 加えた場合である。

【0031】

この図より、試料 1 のハイドロキシアパタイトを加えない場合には、ほとんど検出されないが、試料 4 のハイドロキシアパタイト 30 mg を加えた場合には、その 100 倍近く検出ピークが大きくなっていることが分かった。図 2 に、紫外可視吸収スペクトルを示す。ハイドロキシアパタイトガム添加の場合には、銀ナノ粒子特有の 400 nm 付近をピークとするスペクトルであったが、ハイドロキシアパタイトの添加量を多くするにしたがって、長波長側にピークがシフトし、スペクトルがブロードになった。

20

【0032】

図 3 に、光子相関法による粒度分布を示す。ハイドロキシアパタイトの添加する量を多くするにしたがって、粒子の集合体の大きさが大きくなった。図 4 に、ハイドロキシアパタイトを 30 mg 添加した場合の透過電子顕微鏡写真、図 5 に、エネルギー分散型 X 線分析装置 (EDS) スペクトルを示す。

30

【0033】

上記写真より、銀ナノ粒子は 10 - 50 nm であり、ハイドロキシアパタイトは判別できないが、銀の原子%が 25.32% に対し、カルシウム及びリンは 1.59%、1.85% であり、これらは、一部溶解したと考えられるが、存在していることが分かる。

【実施例 2】

【0034】

実施例 1 で作製したハイドロキシアパタイト粒子を用いて、次に、クエン酸ナトリウム 0.045 g を蒸留水 50 g に溶解した溶液に、ハイドロキシアパタイト粒子 5 mg を添加し、攪拌した後、塩化金酸 50 mM、2 ml を加えた。更に、水素化ホウ素ナトリウム水溶液 200 mM 1 ml を加えて、金ナノ粒子を合成した。

40

【0035】

図 6 に、ハイドロキシアパタイトを添加した場合の透過電子顕微鏡写真、図 7 に、添加、無添加の粒度分布を示す。金ナノ粒子は、およそ 10 nm であり、添加の場合、数ナノメートルの粒子が多く見られた。図 8 に、紫外可視吸収スペクトルを示す。ハイドロキシアパタイトの添加、無添加とも、510 nm にピークを持っていた。

【0036】

図 9 に、測定物質がローダミン 6 G の場合のラマン散乱スペクトルを示す。測定試料は、ローダミン 6 G、 10^{-4} mol/l、0.4 ml と金ナノ粒子溶液 0.6 ml を混合した溶液とした。ハイドロキシアパタイト無添加の場合には、ピークが得られなかったが、ハイドロキシアパタイトを加えた場合には、検出することが可能となった。

50

【実施例 3】

【0037】

実施例 1 で作製したハイドロキシアパタイト粒子を用いて、次に、クエン酸ナトリウム 0.045 g を蒸留水 50 g に溶解した溶液に、ハイドロキシアパタイト粒子 5 mg を添加し、攪拌した後、塩化金酸 50 mM 2 ml を加えた。更に、アスコルビン酸水溶液 200 mM 1 ml を加えて、金ナノ粒子を合成した。

【0038】

図 10 に、ハイドロキシアパタイトを添加した場合の透過電子顕微鏡写真、及び、図 11 に、添加、無添加の粒度分布を示す。金ナノ粒子は、およそ 40 - 60 nm であり、添加の場合、数ナノメートルの粒子が多く見られた。図 12 に、紫外可視吸収スペクトルを示す。ハイドロキシアパタイトの添加、無添加とも、510 nm にピークを持っていた。

【0039】

図 13 に、測定物質がローダミン 6 G の場合のラマン散乱スペクトルを示す。測定試料は、ローダミン 6 G、 10^{-4} mol/l、0.4 ml と金ナノ粒子溶液 0.6 ml を混合した溶液とした。ハイドロキシアパタイト添加、無添加とほぼ同じような値であるが、 1363 cm^{-1} のピークのベースとの強度差を比較すると、107 と 116 で、わずかに添加の方が大きいことが分かる。

【産業上の利用可能性】

【0040】

以上詳述したように、本発明は、貴金属ナノ粒子複合体からなる SERS 用粒子、その製造方法に係るものであり、本発明により、貴金属ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを複合化した貴金属ナノ粒子複合体からなる SERS 用粒子を提供することができる。また、本発明により、生体親和性に富み、貴金属粒子の集合状態を適度に保った分散状態を安定して保ち、検出物質を吸着して貴金属ナノ粒子周辺に存在せしめることができる上記貴金属ナノ粒子複合体を提供することができる。また、本発明により、銀、金又はこれらの二つの成分を含む粒子にハイドロキシアパタイトを含む SERS 用粒子として有用な貴金属ナノ粒子複合体を提供することができる。また、マトリックスのハイドロキシアパタイトに貴金属ナノ粒子を複合化した粒子を作製し、提供することができる。本発明は、検出物質の測定に利用できる高感度で簡便なラマン散乱分光分析が実現される貴金属ナノ粒子とハイドロキシアパタイトを組み合わせた新しいナノ粒子複合体を提供するものとして有用である。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図 1】実施例 1 で得られた銀ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した複合体コロイド溶液のラマン散乱スペクトルである。

【図 2】実施例 1 で得られた銀ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した複合体コロイド溶液の紫外可視吸収スペクトルである。(a) は、試料 1、3、5、(b) は、試料 2、4、6、の場合を示す。

【図 3】実施例 1 で得られた銀ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した複合体コロイド溶液の粒度分布である。(a) は、試料 1、3、5、(b) は、試料 2、4、6、の場合を示す。

【図 4】実施例 1 で得られた銀ナノ粒子にハイドロキシアパタイト 30 mg を添加した複合体の透過電子顕微鏡写真である。

【図 5】実施例 1 で得られた銀ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを 30 mg 添加した複合体のエネルギー分散型 X 線分析装置 (EDS) スペクトルである。

【図 6】実施例 2 で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイト 30 mg を添加した複合体の透過電子顕微鏡写真である。

【図 7】実施例 2 で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した場合、添加しない場合の複合体コロイド溶液の粒度分布である。

【図 8】実施例 2 で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した場合、添加

10

20

30

40

50

しない場合の複合体コロイド溶液の紫外可視吸収スペクトルである。

【図9】実施例2で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した複合体コロイド溶液のラマン散乱スペクトルである。

【図10】実施例3で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイト30mgを添加した複合体の透過電子顕微鏡写真である。

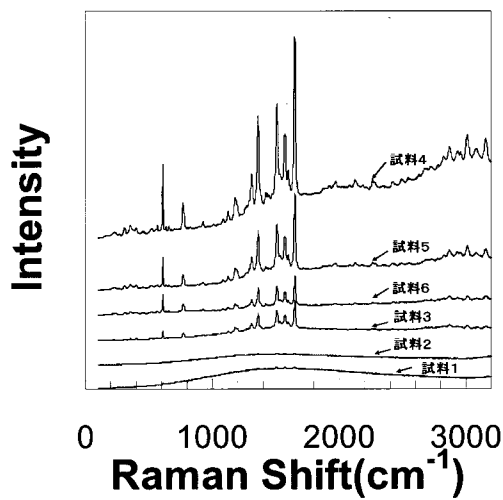
【図11】実施例3で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した場合、添加しない場合の複合体コロイド溶液の粒度分布である。

【図12】実施例3で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した場合、添加しない場合の複合体コロイド溶液の紫外可視吸収スペクトルである。

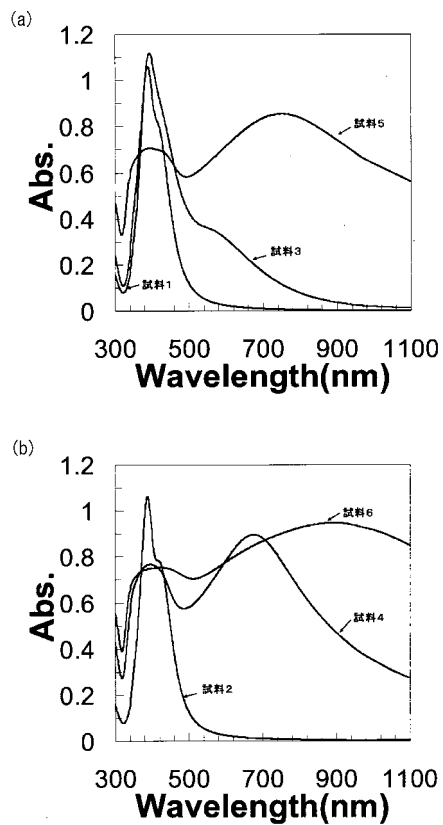
【図13】実施例3で得られた金ナノ粒子にハイドロキシアパタイトを添加した複合体コロイド溶液のラマン散乱スペクトルである。

10

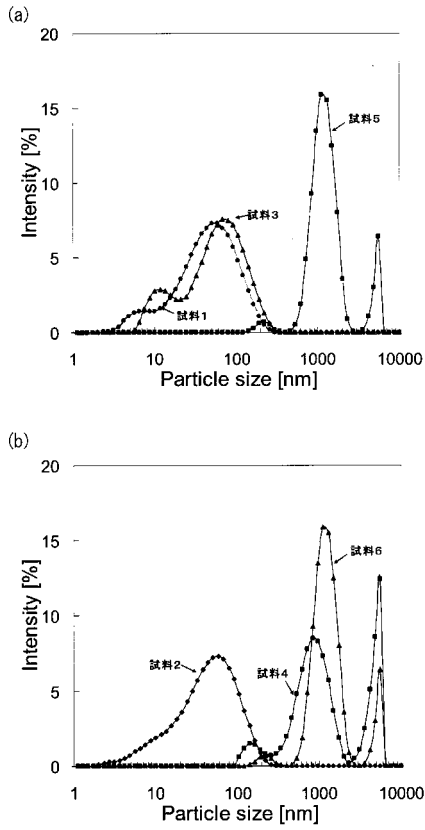
【図1】



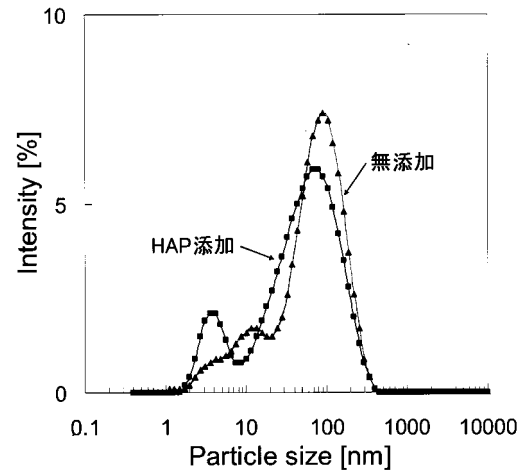
【図2】



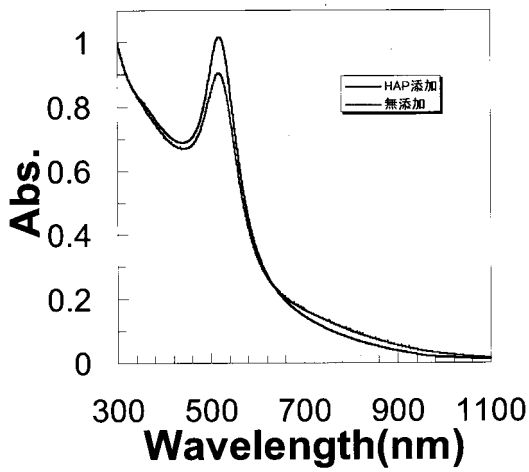
【 図 3 】



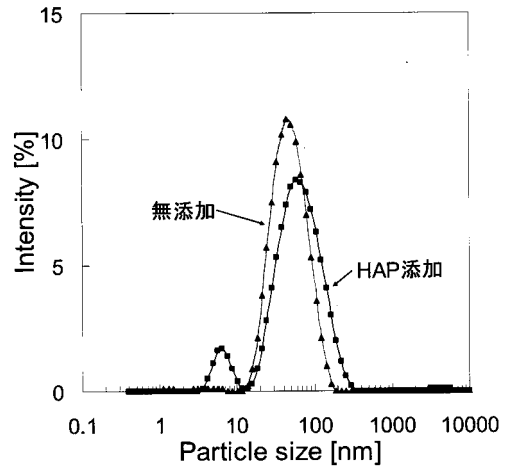
【 図 7 】



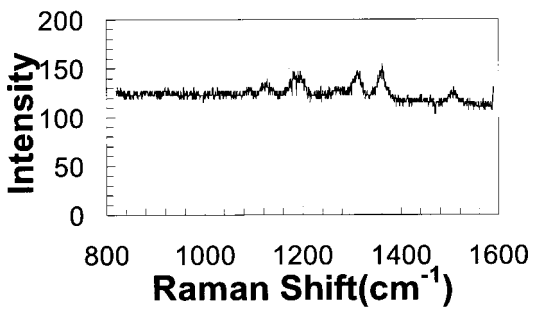
【 図 8 】



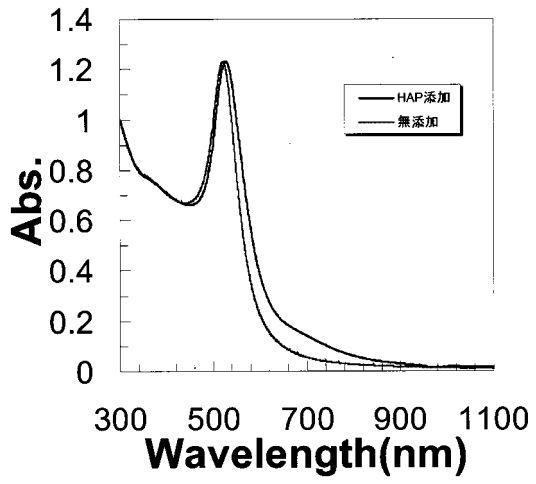
【 図 1 1 】



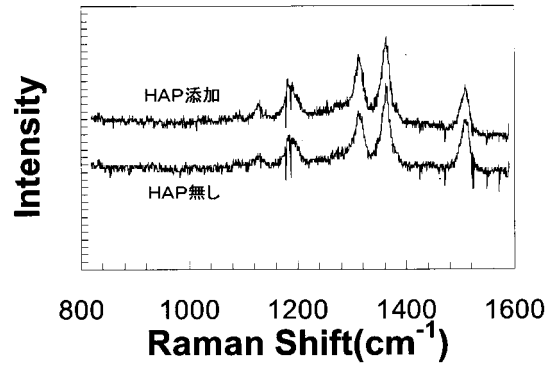
【 図 9 】



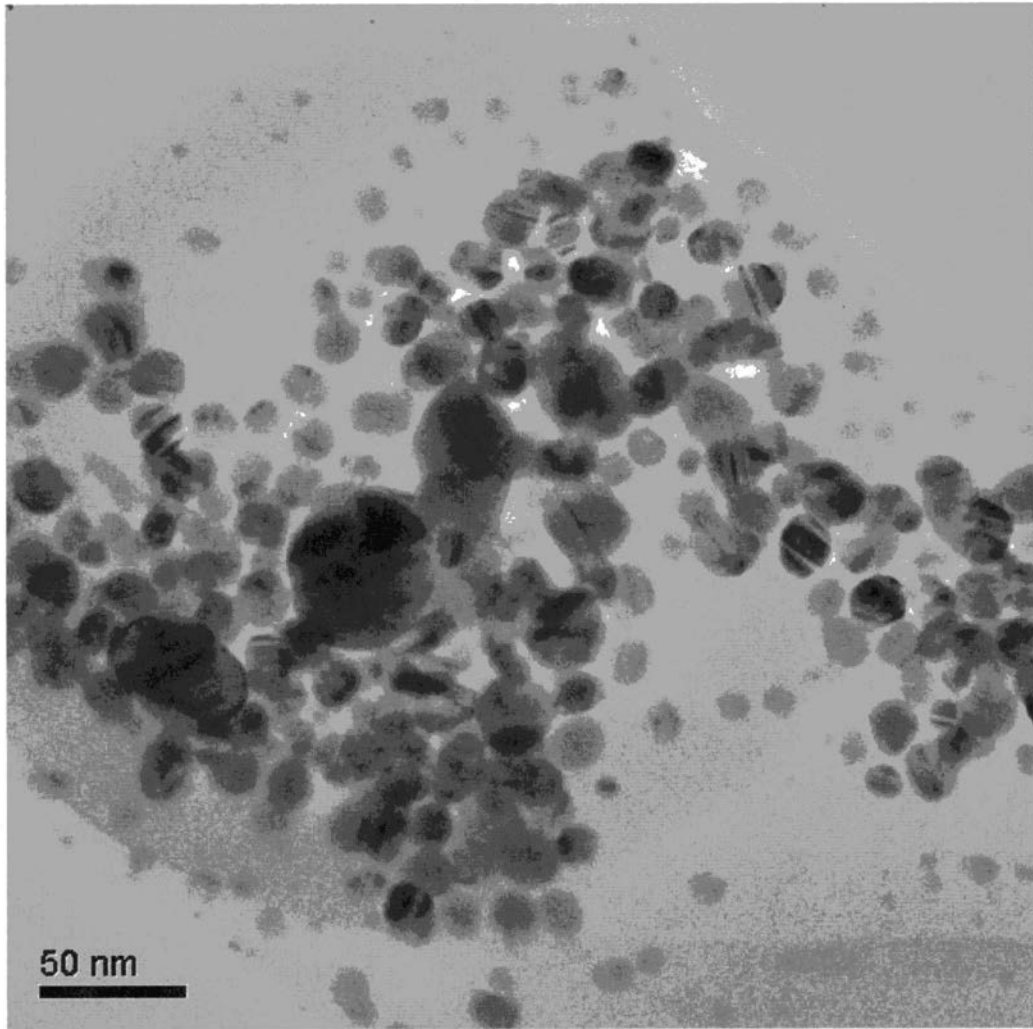
【 図 1 2 】



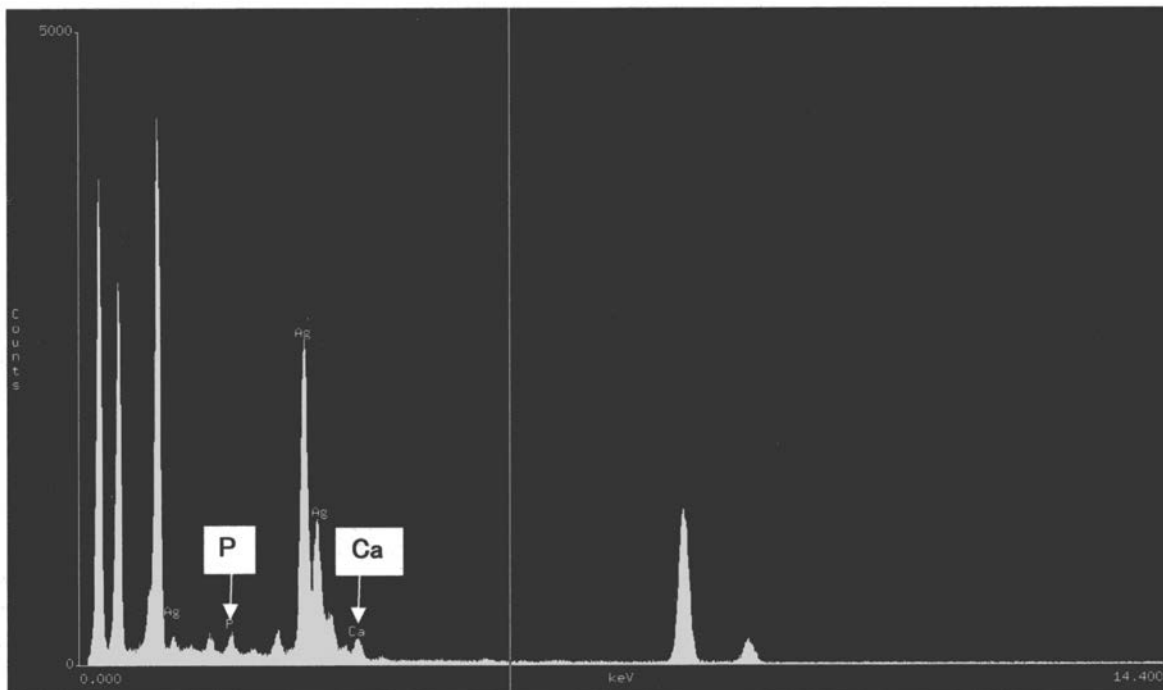
【 図 1 3 】



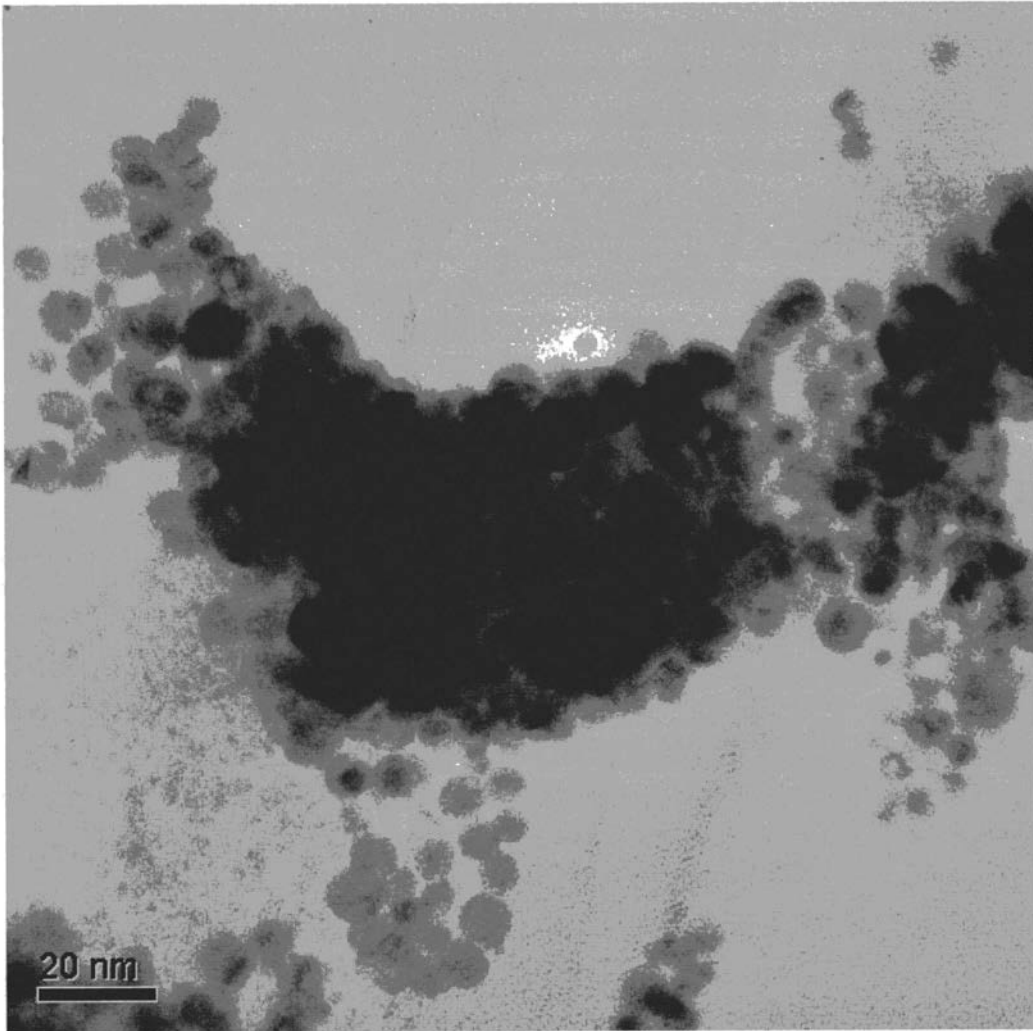
【 図 4 】




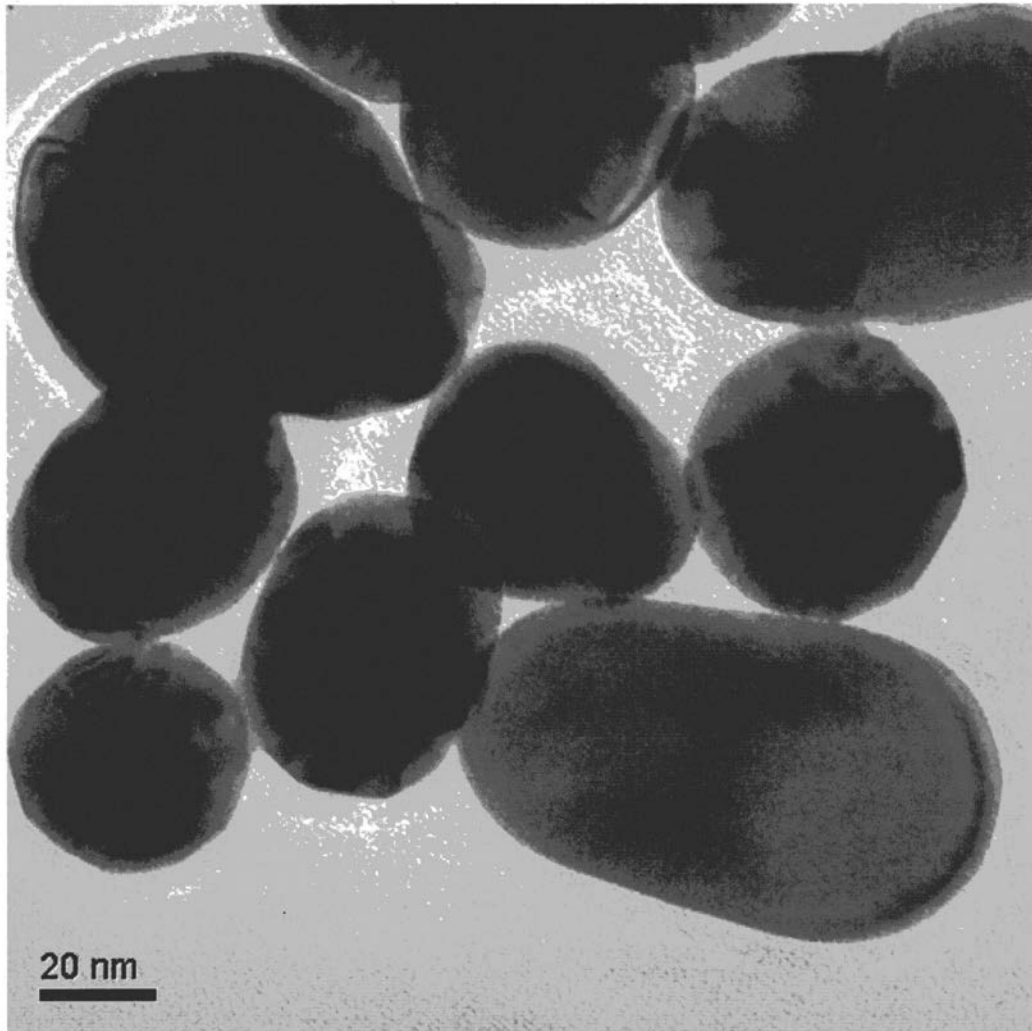
【 図 5 】



【図 6】



【 1 0】



フロントページの続き

- (72)発明者 小塚 晃透
愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ洞 2 2 6 6 番地の 9 8 独立行政法人産業技術総合研究
所中部センター内
- (72)発明者 辻内 亨
愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ洞 2 2 6 6 番地の 9 8 独立行政法人産業技術総合研究
所中部センター内
- (72)発明者 安井 久一
愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ洞 2 2 6 6 番地の 9 8 独立行政法人産業技術総合研究
所中部センター内

審査官 上田 泰

- (56)参考文献 特開平 0 5 - 0 7 8 2 1 8 (J P , A)
特開 2 0 0 7 - 0 2 6 9 1 1 (J P , A)
特開 2 0 0 7 - 3 0 2 5 8 6 (J P , A)
特表 2 0 0 3 - 5 1 1 5 5 7 (J P , A)
特表 2 0 0 8 - 5 0 2 4 0 8 (J P , A)
再公表特許第 2 0 0 2 / 0 7 3 1 6 4 (J P , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

G 0 1 N	2 1 / 1 7	-	2 1 / 7 4
G 0 1 N	3 3 / 0 0		
G 0 1 N	3 3 / 5 0	-	3 3 / 5 5 3
B 8 2 B	1 / 0 0	-	3 / 0 0