

の反応が起こりにくいと考えられる。しかし、置換基とオゾンが反応し、ナノチューブから置換基が脱離したと予想される。これは、ナノチューブの精製にオゾンを利用した報告があり、オゾンによりアモルファスカーボンなどの不純物が酸化・分解され、ナノチューブが精製されると報告されている。このことは、オゾンがナノチューブの置換基を脱離させた原因の裏付けになると考えられる。エタノールの場合[条件(1)、(4)]、cut_acid_tube にはエポキシド結合が生成したが、cut_bake_tube では生成されなかった。これは、オゾンがエタノールとの反応にほとんど消費されてしまい、酸化力が弱まったため、置換基の存在しない cut_bake_tube にはオゾンが反応せず、エポキシド結合が生成されなかったと考えられる。また、cut_acid_tube の場合は、置換基が存在することで、その部分が反応点となり、エポキシド結合が生成されたと考えられる。四塩化炭素[条件(6)]の場合、四塩化炭素へのオゾンの溶解度は、水と比較すると約 10 倍の差があり非常に高い値を持っているため、ナノチューブ表面にエポキシド結合が生成されたと考えられる。

-フィルター濾過を用いた切断 CNTs のサイズ分離-

図 4 に遠心分離による沈殿物および上澄みの SEM 像を示す。沈殿物の SEM 像を見ると、ナノチューブの凝集体、長いものから短いあらゆる長さのナノチューブが観察された。上澄みの SEM 像を見ると、長いナノチューブはあまり観察されず、ほとんどのナノチューブの長さは、1.0 μm 以下と短いものが多く観察された。

図 5 にそれぞれの PC フィルター上における残留物の SEM 像、ナノチューブの長さ分布、および 0.4 μm -PC フィルター通過物の SEM、TEM 像を示す。それぞれの SEM 像を見ると、1.2 μm 、0.8 μm のフィルター上には、短いナノチューブも観測されるが、ある程度の長さを持ったナノチューブが観察された。0.4 μm のフィ

ルター上では、ほとんどのナノチューブはかなり短く、サイズも揃っているのが観察された。一方、0.4 μm -PC フィルターを通過したものは、ナノチューブがほとんど観察されず、何らかの凝集体がほとんどであった。TEM 像をみると、アモルファス状の炭素物質が観察された。それぞれのフィルターで得た試料において、SEM 観察から得られたナノチューブの長さ分布を棒グラフにし、Gauss 関数分布による平均長さを見積もると、1.2 μm -PC フィルター上では、フィルターのポアサイズよりも短いナノチューブが多く、平均長さは 670nm であった。0.8 μm -PC フィルター上でも同様で、平均長さは 545nm で短いナノチューブが多い。0.4 μm -PC フィルター上では、ナノチューブの長さ分布が狭く、平均長さは 220nm のサイズの揃ったナノチューブが多いのがわかる。

図 6 にそれぞれの PC フィルター上における残留物および 0.4 μm -PC フィルター通過物の IR スペクトルを示す。IR 分析におけるピークは、O-H の振動 (3400 cm^{-1} 付近、1600 cm^{-1} 付近)、C-H 伸縮振動 (2900 cm^{-1} 付近)、C=O 伸縮振動 (1700 cm^{-1} 付近)、C=C 伸縮振動 (1500 cm^{-1} 付近)、C-OH 面角振動 (1400 cm^{-1} 付近)、C-O 伸縮振動または C-CO-C 伸縮振動 (1200~1000 cm^{-1} 付近) を示している。PC フィルター上の残留物の IR スペクトルを見ると、検出されたピークから、カルボキシル基とヒドロキシル基が付加していることがわかる。各ピークの強度比は短いナノチューブが最も高く、長いナノチューブが低いことから、付加している官能基の数が異なることがわかる。このことから、ナノチューブの長さにより、表面構造が異なることがわかる。0.4 μm -PC フィルター通過物の IR スペクトルは、他のスペクトルは異なり、ピークの本数がかかなり多く、複雑なスペクトルとなっている。

表 1 に切断ナノチューブのサイズ分離におけるそれぞれの処理での収率を示す。遠心分離による沈殿物が 40%以上を占め、かなりのナノチューブ量がこの処理により取り除かれているこ

とがわかる。また、一番収率が良かったのは、0.4 μm -PC フィルター上に残留したものであり、その収率は27%であった。

ナノチューブのサイズ分離には、遠心分離とフィルター分離を組み合わせて行ったが、遠心分離による沈殿物量が40%以上を占めており、その中には短いナノチューブも観察されたことから、今回用いた遠心力が大きすぎたと考えられる。遠心力をもう少し抑えることで収率をもっと上げることができると考えられる。それぞれのフィルター上で採取したナノチューブの平均長さは、670nm、545nm、220nm となり、フィルターによるサイズ分離が成功していると考えられる。しかし、1.2 μm 、0.8 μm フィルターでは、ナノチューブの長さ分布が広く、短いナノチューブも多く観察されていた。これは、短いナノチューブが優先的にフィルター上に吸着し、残留してしまうためではないかと考えられる。IR スペクトルからも、サイズ分離したナノチューブは長さによりスペクトルが異なっていることから、ナノチューブの表面構造が異なり、0.4 μm フィルター上のナノチューブは、付加している官能基の数が多く、優先的にフィルターに吸着するのではないかと考えられる。実際に、図2のフィルターのSEM像を見ると、短いナノチューブのみがフィルター上に残留しているのが観察され、このことを裏付ける結果なのではないかと考えられる。サイズ分離による収率が最も高かったのは、0.4 μm -PC フィルター上に残留した試料であり、収率が27%と他のものと比べても非常に高い値であった。このことから、強酸下における超音波処理法によるナノチューブの切断が非常に効率良く行われていると考えられる。

D. 結論

ナノチューブの表面改質、サイズ分離を行った。ナノチューブの表面改質には、湿式オゾン処理を用いることにより、ナノチューブ表面にエポキシド結合を導入することができ、処理前

の試料とは異なる表面構造を持たせることに成功した。オゾン処理の際に、ナノチューブの置換基が減少する傾向が見られたが、これはオゾン酸化による置換基の分解によって起こった現象であると考えられる。このことから、オゾンにはナノチューブの表面を綺麗にする効果もあると推測される。ナノチューブのサイズ分離には、遠心分離とフィルター分離を併用することで行った。その結果、平均670nm、545nm、220nmの長さを持つナノチューブの分離に成功した。収率に関しては、平均長さ220nmのものが非常に多く、ナノチューブが効率良く切断されていることがわかる。また、ナノチューブの長さにより異なる表面構造を持っていることをIRスペクトルから確認した。

2. バイオ用カーボンナノファイバーの開発

A. 研究目的

近年、フラーレン (fullerenes)、カーボンナノチューブ (carbon nanotubes; CNTs)、カーボンナノファイバー (carbon nanofibers; CNFs) などの sp^2 混成軌道で結合された籠状構造を持つ炭素物質が電界電子放出源、複合材料、電池電極などの機能性炭素材料として期待されている。とりわけ、炭素2重結合からなる円筒構造に由来する高強度、高弾性率を持つCNTsの機械特性は、歯根や骨などに代替材料として生体材料分野で興味を持たれており、また、CNTsやCNFsが持つナノサイズの空間と大きな比表面は、「遺伝子導入のためのベクター」、「インターカレーションによる生体過剰イオンの除去」、「機能性糖鎖の吸着」などのナノサイズのキャリヤを用いたドラッグターゲットングに使われる機能としても注目されている。

炭素材料を生体材料に応用する試みは、グラファイトが抗血栓性に優れていることから始まり、その後、主に炭素繊維強化炭素複合材料 (carbon fiber-reinforced carbon composite; C/C

composite) を使った人工心臓弁、人工関節、骨固定具、人工歯根材などを中心に研究されてきた。歯根などのバルクサイズで応用する炭素材料の場合は生体親和性があると報告されているが、ナノサイズの炭素材料を生体に応用する場合には、形状やサイズによる生体適合性を調べなければならない。よって、CNTs、CNFs の生体適合性を調べるためには、それらが水に分散・可溶化することが必須であり、また細胞に取り込まれる大きさにしなければならない。CNTs の水溶化では、グラファイトシートが円筒状に繋ぎ目のない構造を持つことによりグラファイトエッジが露出されず、親水基を付加させるサイトがないために水溶化が困難であること、また水溶化させる界面活性剤は生体内の反応に影響を与え、起こっている反応事象を複雑化するために使用することができないことなどが問題となっている。一方、コーン状グラフィンを重ねた構造を持つ繊維状の CNFs はコーンの端にグラフィンのエッジが存在するため、多くの親水基や特異的な官能基を付加することができる。また、それぞれのコーンは結合力の弱いファンデルワールス結合であり、コーンを切り離すことによって CNFs を切断し、CNFs のサイズを制御することも可能である。

本研究では、CNFs の親水化向上のため、酸化力の強い硫酸と硝酸の混液で CNFs のエッジを酸化し、親水基を付加させた。また、同時に超音波照射を行うことで CNFs の切断を行った。CNFs の形態は走査形電子顕微鏡 (scanning electron microscope; SEM)、透過形電子顕微鏡 (transmission electron microscope; TEM)、X 線回折測定 (X-ray diffraction; XRD) を用いて調べた。CNFs に付加された置換基はフーリエ変換赤外分光測定 (fourier transform infrared spectroscopy; FT-IR) で調べ、CNFs サンプル中に含まれる元素は TEM に装備しているエネルギー分散型 X 線分析 (energy disperse X-ray analysis; EDX) によって調べた。

B. 研究方法

-CNFs の合成・精製-

コーン状グラフィンを重ねた構造を持つ CNFs は、化学気相蒸着法 (chemical vapor deposition; CVD) により Ni 触媒を用いて合成した。Ni 触媒を入れたアルミナポートを石英管に入れ、水平型管状炉に配置した。Ni 触媒は 10% の H₂/He ガスで 600℃、2 分間還元処理を行い、この後、管状炉を 600℃ に保持したまま、C₂H₄/H₂ (4:1) の混合ガスを導入し、4 時間反応させた。上記で合成した CNFs 300 mg を大気中、773 K で 90 分間燃焼した後、燃焼物を 6M-HCL 100 mL に入れ、333 K で 12 時間静置させ Ni 金属微粒子を除去した。この溶液をろ過し、ろ過物を 6M-HNO₃ 100 mL に入れ、333 K で 12 時間静置させた。再度、この溶液をろ過し、ろ過物を大気中、333K で 24 時間乾燥させた。

-CNFs の表面改質・切断処理-

精製した CNFs 100 mg を濃硫酸 (95%) : 濃硝酸 (60%) = 3 : 1 (v/v %) の混合液 100mL に入れ、超音波照射 (200 W、39 kHz) を行った。超音波照射時間による CNFs への置換基付加と切断効果を調べるために、照射時間は 2 時間、4 時間、6 時間行った。照射後、ポアサイズ 0.1 μm の PTFE メンブランフィルターでろ過を行い、ろ液が中性になるまで蒸留水でよく洗浄した。洗浄後、ろ過物は大気中、333 K、24 時間以上乾燥させた。

-評価装置-

SEM 観察は Hitachi S-4100 Scanning Electron Microscope を用い、加速電圧 5kV で行った。TEM 観察では、加速電圧 200kV の Hitachi HF-2000 FIELD EMISSION Transmission Electron Microscope を用いた。EDX は NORAN VANTAGE を装備した透過形電子顕微鏡内で測定した。FT-IR 測定は Thermo Nicolet Ayrar 360

を用い、KBr に試料を混ぜて透過法によって測定した。X 線回折測定は Cu の特性 X 線（波長 0.154 nm）を装備した Rigaku の粉末 X 線回折装置を用い、ガラス製の XRD ホルダーに試料を詰めて行った。

C. 研究結果と考察

図 7 (a)、(b) は CNFs の精製後の SEM 写真と TEM 写真である。未精製 CNFs に観察される少量のアモルファスカーボンは取り除かれ、CNFs が高純度で精製されていることが観察された。形状は曲がりくねった繊維状であり、直径 25 nm – 200 nm、長さ 100 nm – 5.0 μm と広範囲に渡って分布していることがわかった。図 7

(c) の高分解 TEM 写真から観察されるように、CNFs はコーン形をしたグラフィンが繊維軸に沿って重なった構造を持ち、コーンのエッジ部分が繊維軸を頂点にして円錐方向にむき出しになっている。コーングラフィン間の面間隔は約 0.34 nm であり（図 7 (c) の挿入図）、コーンの円錐角は 60° から 120° と様々で、その円錐角は Ni 触媒の形状に依存している。図 7 (d) は精製後の CNFs の TEM-EDX スペクトルである。Al、Cu の検出は TEM サンプルホルダーと Cu 製 TEM グリッドから由来するものである。サンプルからは C と O が検出され、Ni が検出されないことから Ni 触媒金属は取り除かれていることがわかる。

図 8 (a)、(b)、(c) は精製 CNFs を濃硫酸：濃硝酸 = 3 : 1 (v/v %) 混合液中で、それぞれ 2 時間、4 時間、6 時間の超音波照射を行った後の SEM 写真である。2 時間、4 時間、6 時間超音波処理した CNFs の平均長さは 1.5 μm 、800 nm、400 nm であり、超音波照射時間が長くなるにつれて、CNFs の長さが短くなっている。また、未処理 CNFs の長さ分布に比べて、処理後の CNFs は長さ分布のバラツキ度が小さくなっており、超音波照射時間により長さ制御が可能であることがわかった。

図 9 は精製 CNFs を濃硫酸：濃硝酸 = 3 :

1(v/v %) 混合液中で超音波照射を行った後の XRD パターンである。未精製の CNFs では $2\theta = 26.0 \text{ deg.}$ にコーン状グラファイトの (002) 面の回折ピークと、 $2\theta = 44.5 \text{ deg.}$ と $2\theta = 51.8 \text{ deg.}$ に (111) 面と (200) 面の Ni の回折ピークが観測された。 $2\theta = 26.0 \text{ deg.}$ から見積ったコーン状グラファイトの面間隔は 0.342 nm であり、グラファイトの面間隔 0.335 nm より広いことがわかる。この理由は CNFs を構成するコーングラフィンの円錐角やコーングラフィンのカイラリティーが異なることで、上下のグラフィン間での炭素原子の位置が本来のグラファイトの規則正しい位置からずれが生じているためである。一方、精製 CNFs では $2\theta = 26.0 \text{ deg.}$ に (002) 面の回折ピークが強く現れており、Ni の回折ピークは観測されない。Ni が除去されていることがわかる。強酸中で超音波処理を行ったサンプルの (00 l) 面の回折ピークは超音波照射時間が長くなるにつれて、低次側の方にシフトしており、(00 l) 面の面間隔は 0.348 nm (2 時間)、0.3556 nm (4 時間)、0.366 nm (6 時間) と最大 0.018 nm の増加が観測された。超音波照射後のサンプルの面間隔は「硫酸、硝酸分子のコーン状グラファイトへの挿入」あるいは「酸化されたコーン状グラファイト層間の乱れ」の可能性がある。一方、超音波照射時間が長くなるにつれ、回折ピークがブロードしていることから、グラファイト結晶子が微細化されており、コーン状ナノファイバーが短くなっていることが読み取れる。このことは SEM 観察の結果と一致している。通常、濃硫酸：濃硝酸 = 3 : 1(v/v %) 混合液中に浸されるグラファイトは、硫酸、硝酸分子がグラファイト層の第 1 ステージに挿入されて、面間隔が約 3 倍に膨張することが知られている。このような現象を考慮すると、CNFs の切断は湾曲した部分の大きい面間隔をもつ部分に強酸のインターカレントが挿入され、層間が開き、層間の相互作用が弱くなった状態に超音波照射されることによって、層がバラバラに剥離して水中に分散すると推測される。

図10は強酸混合液中で2時間超音波照射を行った切断CNFsの水溶液(濃度 10 mg L^{-1})の2時間放置した写真である。2時間超音波照射を行った切断CNFsは平均の長さ $1.5 \mu\text{m}$ であるが、非常によく水に分散している。図11は濃硫酸：濃硝酸=3：1(v/v %)混合液中で超音波照射を行ったCNFsの赤外吸収スペクトルである。 1584 cm^{-1} 付近に観測される吸収はグラフィン面内の炭素二重結合の伸縮振動であり、すべてのCNFsの赤外吸収スペクトルに現れている。IRによるグラファイトに付加されている官能基の定性は難しく複雑であるが、強酸中で超音波照射を2時間、4時間、6時間行った試料では、水酸基(-OH)が付加したグラフィンの炭素-酸素結合(C-OH)の伸縮振動(1240 cm^{-1})、水酸基(-OH)が付加したグラフィンの面内変角振動(1400 cm^{-1})、カルボキシル基(-COOH)の炭素-酸素2重結合(C=O)の伸縮振動(1720 cm^{-1})の吸収スペクトルと同定された。これらの吸収スペクトルから、濃硫酸と濃硝酸による酸化剤によって、コーン状グラファイトのエッジが酸化され、親水基がCNFsのエッジに付加されていることが示唆される。

D. 結論

CNFsの親水化向上のため、濃硫酸と濃硝酸の混合液中でCNFsのエッジを酸化し、水酸基、カルボキシル基を付加させることで、水溶性CNFsを調製した。同時に強酸中の超音波照射を行うことによってCNFsを切断した。切断されたCNFsの長さは2時間、4時間、6時間の超音波処理に対して、 $1.5 \mu\text{m}$ 、 800 nm 、 400 nm と短くなり、超音波照射時間によって長さ制御が可能であることがわかった。我々は、CNFsをナノバイオマテリアルとして利用するために、一段階で簡便に調製できる「CNFsの切断と水溶性」技術を確立した。

3. 酸化物磁性ナノ粒子の合成と医療応用の検討 -センチネルリンパ節検出法

A. 研究目的

MFHにおける腫瘍細胞への分散性の向上や粒子の発熱効率の向上、ドラッグデリバリーにおける磁性ナノ粒子への薬剤の吸着、標的部位への誘導、薬剤放出位置の検出、医用ビーズのスクリーニング速度の向上などが望まれている。それぞれの応用に対して、磁性ナノ粒子の最適材料、最適粒子径、粒度分布の許容範囲が存在すると思われるが、これまで医療応用のために粒子径、材料、粒度分布などの検討を行っている報告は少ない。医療応用に際して磁性ナノ粒子合成段階においての粒子径、粒度分布制御技術が必要不可欠であり、様々な材料の磁性ナノ粒子を合成することが重要である。

本研究では、医療応用に用いるための磁性ナノ粒子を合成することを目的とした。共沈法によりマグネタイト粒子径を制御した。また、粒子径、粒度分布を制御したコバルトフェライトを酸化法により合成した。酸化法を用いることによりマグネタイトの粒子径、粒度分布も制御可能であると考えられる。また、金属磁性ナノ粒子の医療応用検討のためポリオールを用いて粒子径を制御したコバルト粒子を合成した。センチネルリンパ節は、病巣から最初に転移が起るとされるリンパ節のことである。手術において、病巣だけでなく転移が見られるリンパ節についても摘出することが重要である。現在は色素法、アイソトープ法、これら2つの併用法がセンチネルリンパ節の検出法として知られている。しかし、色素法においては着色物質の移行の判断が難しく、色素法による検出の豊富な経験が必要である。アイソトープ法においては、核医学検査室をもつ施設でしか用いる事ができない。そこで特別な施設を必要とせず、かつ経験によらない客観的な判断を行えるセンチネルリンパ節検出法が望まれている。そこで磁性ナノ粒子を用いたセンチネルリンパ節検出方法として、粒子径 100 nm のマグネタイトを用いた研究が

報告されている。

我々は、最適なリンパ節移行性マグネタイト粒子径についての検討を行う。本研究では、粒子径 40nm のマグネタイトを用いて、リンパ節への移行性について検討した。

B. 磁性ナノ粒子の合成

-共沈法-

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ を 2M HCl にて、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を蒸留水にて溶解し 2 液を混合する。混合液と同量の 5M NaOH 水溶液を 500rpm で攪拌し、混合液を一気に添加する。合成される粒子の平均粒子径は Fe^{2+} と Fe^{3+} のモル比によって変化する。反応プロセスが水溶液中で進行し簡便であるため、最も一般的なマグネタイト粒子の合成法である。図 12 にモル比を変化させたマグネタイトの SEM 写真を示す。

-酸化法-

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_n \cdot n\text{H}_2\text{O}$ と $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ を用いてモル比 $\text{Fe}/\text{Co}=2$ に調整し、酸化剤である KNO_3 と NaOH 水溶液中に溶解したのち加熱攪拌する。 $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ 、 KNO_3 、 NaOH 濃度を変化させて、粒子径を制御した(図 13)。

-ポリオールプロセス-

テトラエチレングリコール (TMEG) に $\text{Co}(\text{II})\text{Acetate Tetrahydrate}$ を溶解し、 200°C にて 30 分間加熱攪拌することによりコバルト粒子の合成を行った。核生成速度を速め粒子径を小さくするために白金を添加した。 $\text{Co}(\text{II})\text{Acetate Tetrahydrate}$ 濃度、白金添加量を変化させることにより粒子径を制御したコバルト粒子を合成した(図 14)。

C. センチネルリンパ節検出法への磁性ナノ粒子の適応実験

共沈法により合成したマグネタイト粒子を検出剤として用いた。粒子材料、粒子径による移行性の検討を行うため、界面活性剤は使用しな

かった。マグネタイト 5.01mg を $\text{PBS}(-)$ (Wako chem. Dulbecco's $\text{PBS pH}=7.4$) $100\ \mu\text{l}$ に添加し超音波処理を 10 分間行い分散させた後、麻酔下のマウス(BALB nu-nu 生後 10~12 週)の盲腸壁(図 15)に注入し、30 分後に盲腸、センチネルリンパ節を切除した。切除した盲腸、リンパ節を標本にして顕微鏡観察を行った。

D. 研究結果と考察

マグネタイト注入 30 分後の盲腸、センチネルリンパ節の組織観察写真を図 15 に示す。図 15 (a)から盲腸壁に、図 16 (b)、(c)からセンチネルリンパ節にマグネタイト粒子が存在することが観察された。この観察結果から、マグネタイト粒子 40nm 程度のものはリンパ管を通してリンパ節に移行することがわかった。しかし、観察により確認できた粒子量は非常に少なかった。この原因として盲腸壁は非常に薄いため、壁内に注入することが非常に難しく、注入時に盲腸内部に磁性ナノ粒子がもれ出てしまったため、盲腸壁に注入できた磁性ナノ粒子量がもともと少なかったのではないかと考えられる。

しかし、注入量が少ないにも関わらず、リンパ節への移行が認められたことから、共沈法により合成した粒子径 40nm 粒子がリンパ節へ移行することが確認された。

E. 結論

共沈法、酸化法、ポリオール法などの粒子合成方法を用いることで、材料、粒子径もさまざまな磁性ナノ粒子の合成が可能である。これらの磁性ナノ粒子により医療分野への適応を検討する際に選択肢が増加すると考えられ、さらなる応用範囲の広がり、高性能化が期待できる。今回の研究においては、共沈法合成マグネタイトをセンチネルリンパ節検出剤として用いたが、酸化法により粒子径を調整したマグネタイトを合成することにより、マグネタイト粒子径によるリンパ節移行性の検討が可能となる。また、コバルト粒子の粒子径制御が可能となったこと

から、各粒子径における生体適合性試験などを行い、医療への応用について検討できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. B. Jeyadevan, K. Urakawa, A. Hobo, C. N. Chinnasamy, K. Shinoda, K. Tohji, D. D. Djayaprawira, M. Tsunoda, and M. Takahashi "Direct Synthesis of fct-FePt Nanoparticles by Chemical Route" *Japanese Journal of Applied Physics*, 42, L350-L352 (2003)
2. B. Jeyadevan, A. Hobo, K. Urakawa, C. N. Chinnasamy, K. Shinoda, and K. Tohji "Towards Direct Synthesis of fct-FePt Particles by Chemical Route" *J. Appl. Phys.* 93, 7574-7576 (2003)
3. C. N. Chinnasamy, B. Jeyadevan, K. Shinoda, and K. Tohji "Polyol Process Derived CoPt Nanoparticles: Structural and Magnetic Properties" *J. Appl. Phys.* 93, 7583-7585 (2003)
4. B. Jeyadevan, C. N. Chinnasamy, K. Shinoda, and K. Tohji "Mn-Zn ferrite with higher magnetization for temperature sensitive magnetic fluid" *J. Appl. Phys.* 93, 8450-8452 (2003)
5. H. Ye, Q. Zhang, F. Saito, B. Jeyadevan, K. Tohji, M. Tsunoda "Method for the synthesis of CrO_2 at ambient pressure and temperature" *J. Appl. Phys.* 93, 6856-6858 (2003)
6. C. N. Chinnasamy, M. Senoue, B. Jeyadevan, Oscar Perales-Perez, K. Shinoda, and K. Tohji "Synthesis of size-controlled cobalt ferrite particles with high coercivity and squareness ratio" *Journal of Colloid and Interface Science* 263, 80-83 (2003)
7. C. N. Chinnasamy, B. Jeyadevan, K. Shinoda, and K. Tohji, D. J. Djayaprawira, M. Takahashi, R. Justin Joseyphus and A. Narayanasamy "Unusually high coercivity and critical single-domain size of nearly monodispersed CoFe_2O_4 nanoparticles" *Appl. Phys Lett.* 83, 2862 (2003)
8. 荒井 健男, 田路 和幸 "ナノテクノロジーを利用したストラティファイド光触媒の調製" *ナノ学会会報 Vol.1 No.2* p.81-88 (2003)

9. 荒井 健男, 咲間 修平, 佐藤 義倫, 篠田 弘造, バラチャンドラン ジャヤデワン, 田路 和幸 "ストラティファイド素材と太陽光を利用した新しい水素製造システムの展望" *資源と素材*, 119, 713-720 (2003)
10. T. Arai, Y. Sato, K. Shinoda, B. Jeyadevan, K. Tohji "Stratified Materials Synthesized in the Liquid Phase" *Morphology-Controlled Materials*, Waseda and Muramatsu (eds) p65-84 (2003)
11. 亘理文夫, 田村一央, 高師則行, 宇尾基弘, 赤坂司, 戸塚靖則, 古月文志, 佐藤義倫, 田路和幸 "微粒子と生体反応" *ナノ学会誌*, 2, 33-37 (2003)
12. A. Kasuya, R. Sivamohan, Y. Barnakov, I. Dmitruk, T. Nirasawa, V. Romanyuk, V. kumar, S. Mamykin, K. Tohji, B. Jeyadevan, K. Shinoda, T. Kudo, O. Terasaki, Z. Liu, R. Belosludov, V. Sundararajan, and Y. kawazoe "Ultra-stable nanoparticles of CdSe revealed from mass spectroscopy" *Nature Materials* 3, 99-102 (2004)
13. Y. Sato, B. Jeyadevan, R. Hatakeyama, A. Kasuya, K. Tohji "Electronic properties of radial single-walled carbon nanotubes" *Chem. Phys. Lett.* 385 323-328 (2004)

2. 学会発表

1. 樋之津 崇, C. N. チナサミー, 篠田弘造, バラチャンドラン・ジャヤデワン, 田路和幸, "ポリオールプロセスを用いたサイズおよび構造制御された磁性ナノ粒子の合成", ナノ学会創立大会講演予稿集, P97 兵庫県, 神戸市 (2003)
2. 篠田弘造, 荒井健男, バラチャンドラン・ジャヤデワン, 粕谷厚生, 田路和幸, "金属硫化物半導体ナノ粒子集合体の局所構造と光触媒特性", ナノ学会創立大会講演予稿集, P107 兵庫県, 神戸市 (2003)
3. 佐藤義倫, 本宮憲一, 篠田弘造, バラチャンドラン・ジャヤデワン, 田路和幸, 石田裕康, 平田孝道, 島山力三, 粕谷厚生, 仁科雄一郎, "アーク放電法による Ce を触媒とした放射状

単層ナノチューブの高効率合成とその特性”、ナノ学会創立大会講演予稿集、P148 兵庫県、神戸市 (2003)

4. 荒井健男、篠田弘造、バラチャンドラン・ジャヤデワン、田路和幸、“可視光におけるストラティファイド CdS 光触媒粒子の反応活性”、ナノ学会創立大会講演予稿集、P199 兵庫県、神戸市 (2003)

5. 佐藤義倫、本宮憲一、篠田弘造、バラチャンドラン・ジャヤデワン、田路和幸、石田裕康、平田孝道、畠山力三、粕谷厚生、仁科雄一郎、“希土類金属を触媒とした放射状単層ナノチューブの高効率合成とその特性”、第 25 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集、P144 兵庫県、淡路 (2003)

6. 大坪 誠、佐藤義倫、橋田俊之、大森 守、篠田弘造、バラチャンドラン・ジャヤデワン、田路和幸、“カーボンナノチューブ焼結体の調製とその特性”、第 25 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集、P174 兵庫県、淡路 (2003)

7. 安藤広海、佐藤義倫、篠田弘造、バラチャンドラン・ジャヤデワン、田路和幸、“籠型炭素材

料へのメカノケミカル効果”、第 25 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集、P175 兵庫県、淡路 (2003)

8. 佐藤義倫、秋本結輝、田路和幸、“バイオ用カーボンナノファイバーの開発”、第 15 回傾斜機能材料国内シンポジウム講演概要集、P33 北海道、札幌市 (2003)

9. 渥美 崇、バラチャンドラン・ジャヤデワン、田路和幸、“磁性ナノ粒子の医療応用”、第 15 回傾斜機能材料国内シンポジウム講演概要集、P37 北海道、札幌市 (2003)

10. 佐藤義倫、石田裕康、平田孝道、畠山力三、田路和幸、“補助プラズマを用いたアーク放電法による放射状単層ナノチューブの合成”、第 26 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集、P101 愛知県、岡崎市 (2004)

11. 秋本結輝、佐藤義倫、篠田弘造、バラチャンドラン・ジャヤデワン、田路和幸、“バイオ応用のためのナノチューブの長さ制御と湿式オゾン処理による表面改質”、第 26 回フラーレン・ナノチューブ総合シンポジウム講演要旨集、P164 愛知県、岡崎市 (2004)

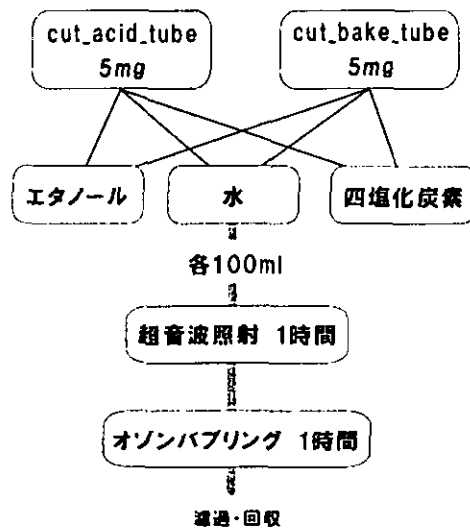


図1 湿式オゾン処理のフローチャート

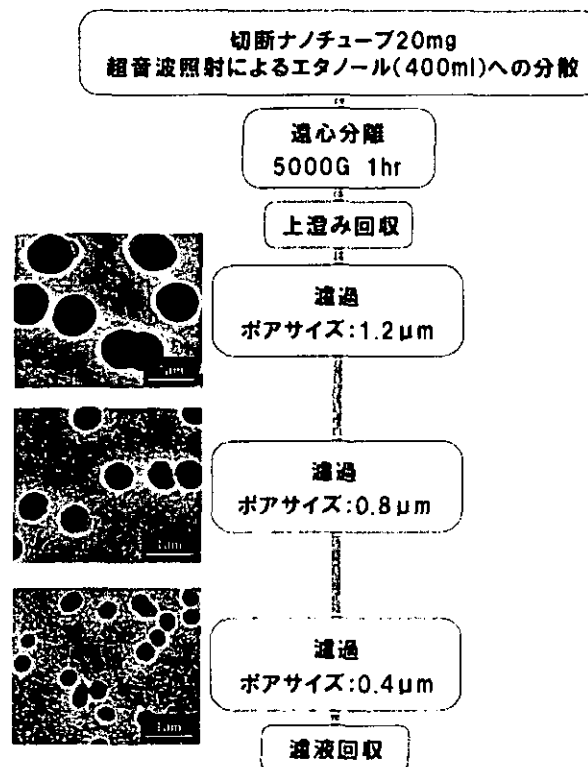


図2 切断ナノチューブのサイズ分離手順

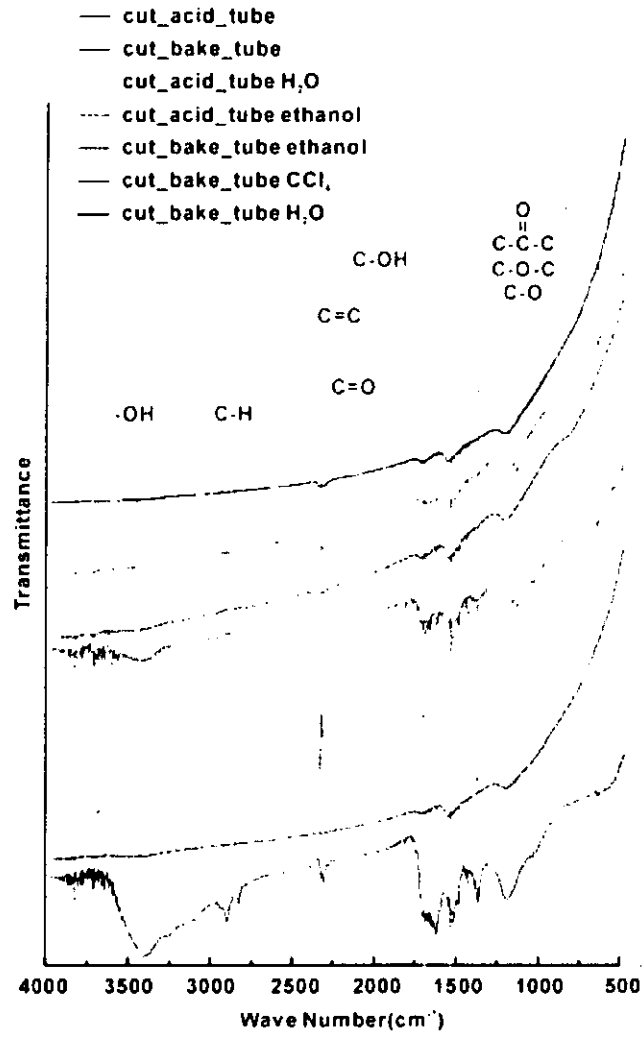
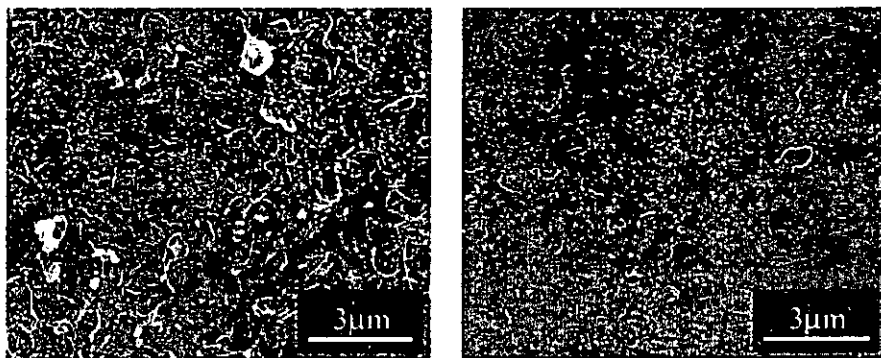


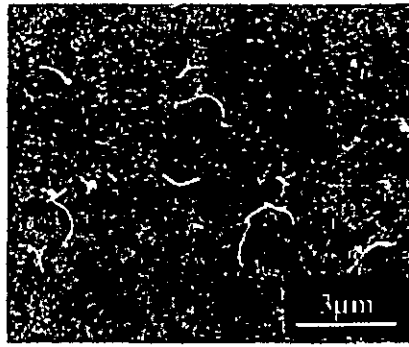
図3 湿式オゾン処理後の IR スペクトル



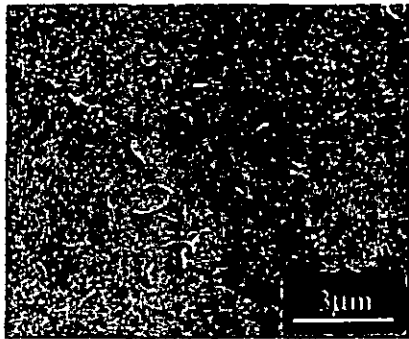
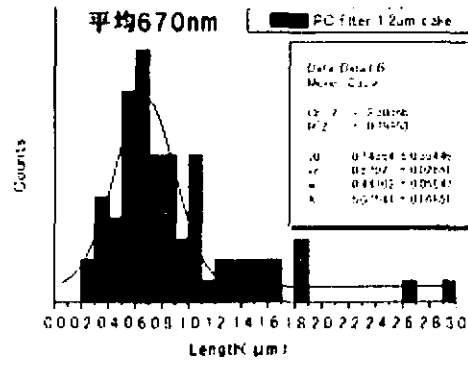
沈殿物

上澄み

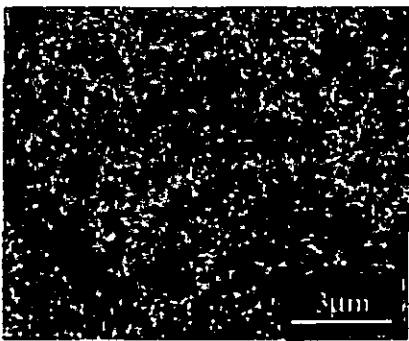
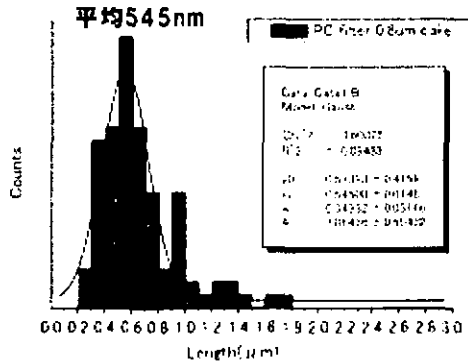
図4 遠心分離による沈殿物および上澄みの SEM 像



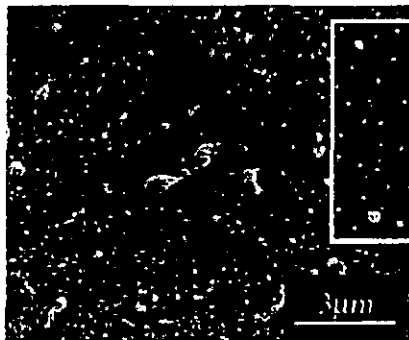
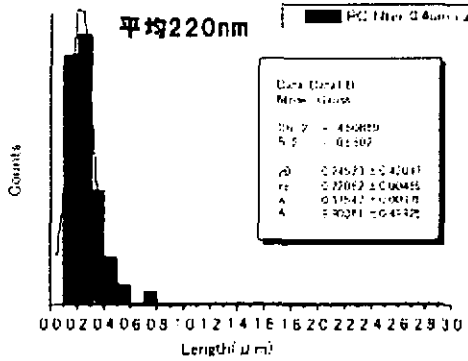
1.2 μm-PCフィルター残留物



0.8 μm-PCフィルター残留物



0.4 μm-PCフィルター残留物



0.4 μm-PCフィルター透過物

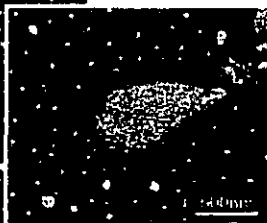


図5 サイズ分離後のSEM像、TEM像およびナノチューブの長さ分布

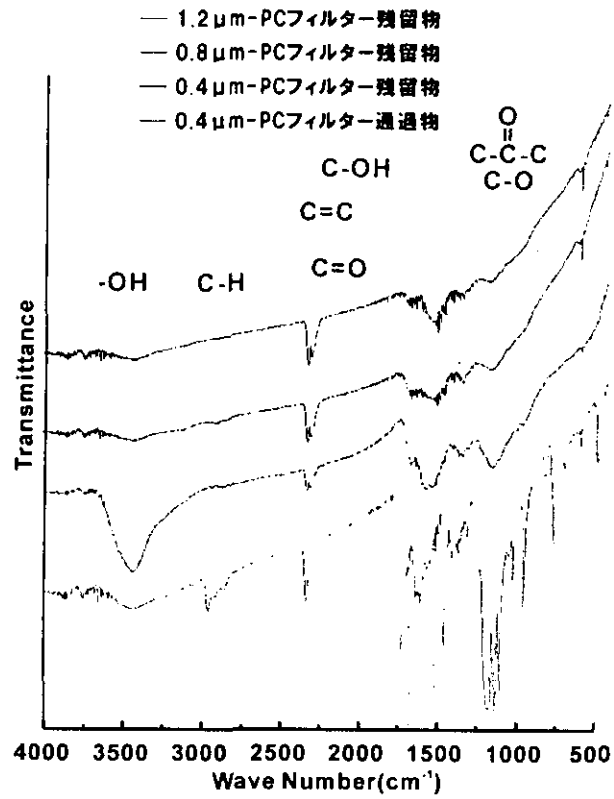


図6 サイズ分離後のIRスペクトル

| | 収率 |
|-----------------|-----|
| 遠心分離沈殿物 | 42% |
| 1.2 μmフィルター上残留物 | 4% |
| 0.8 μmフィルター上残留物 | 9% |
| 0.4 μmフィルター上残留物 | 27% |
| 0.4 μmフィルター透過物 | 3% |

表1 サイズ分離における各処理の収率

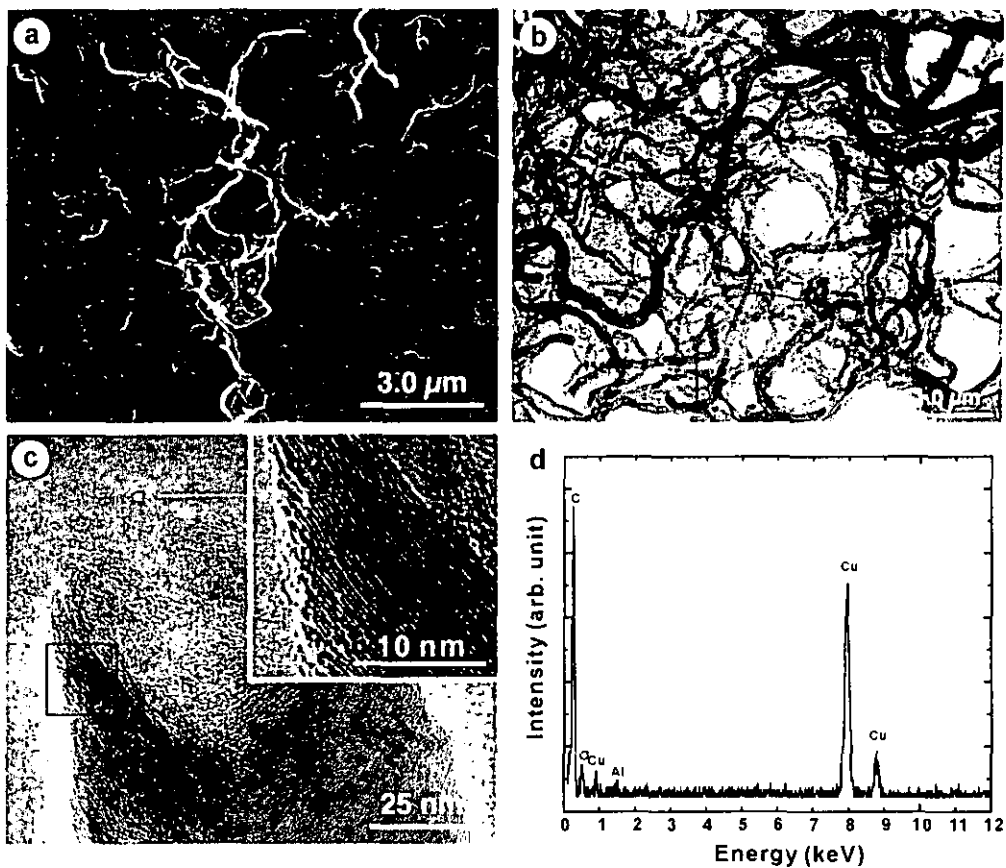


Figure 7. SEM photograph (a), TEM photographs (b and c) of the low magnification and high magnification of the purified cone-stacked carbon nanofibers. Inset shows the lattice image of the cone-graphite layers. EDX spectrum (d) of the purified cone-stacked carbon nanofibers.

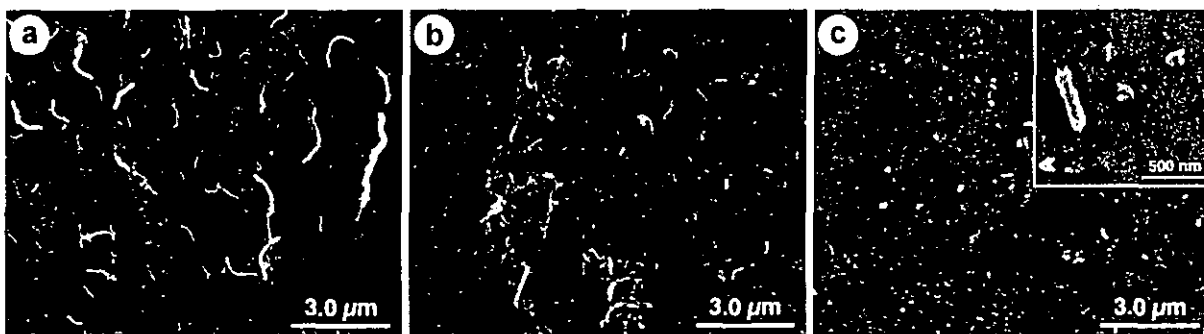


Figure 8. SEM photographs of the cut cone-stacked carbon nanofibers after 2 hrs (a), 4 hrs (b), and 6 hrs (c) of sonication in a mixture of concentrated H_2SO_4 (95%) and HNO_3 (60%).

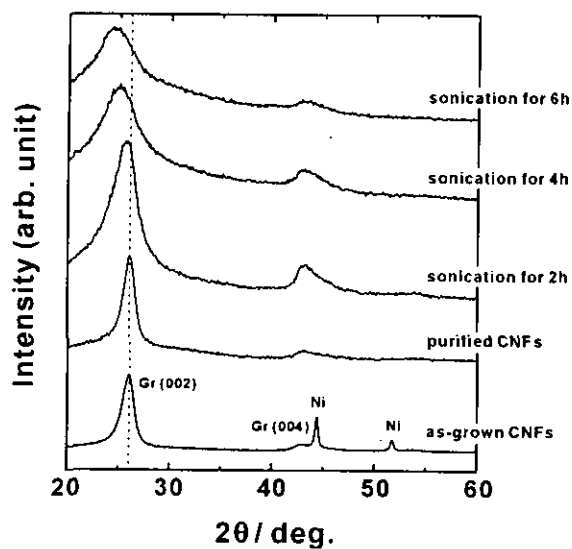


Figure 9. XRD patterns of the CNFs. From bottom, the as-grown CNFs, the purified CNFs, and the sonicated CNFs for 2 hrs, 4 hrs, and 6 hrs.

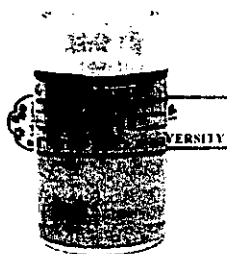


Figure 10. The photograph of the cut CNFs dispersed in water for 2 hrs. The cut CNFs were sonicated in strong acids for 2 hrs. (Concentration of 10 mg L^{-1} in water)

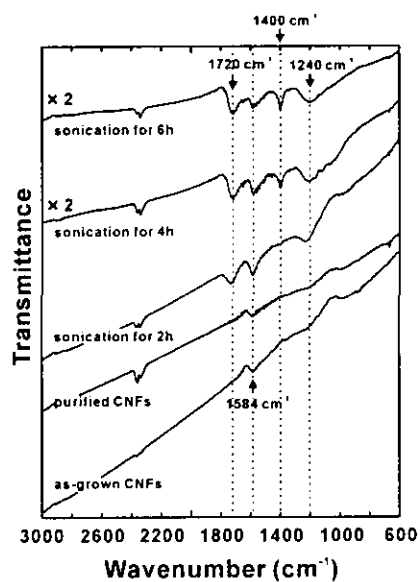


Figure 11. FT-IR spectra of the CNFs. From bottom, the as-grown CNFs, the purified CNFs, and the sonicated CNFs for 2 hrs, 4 hrs, and 6 hrs.

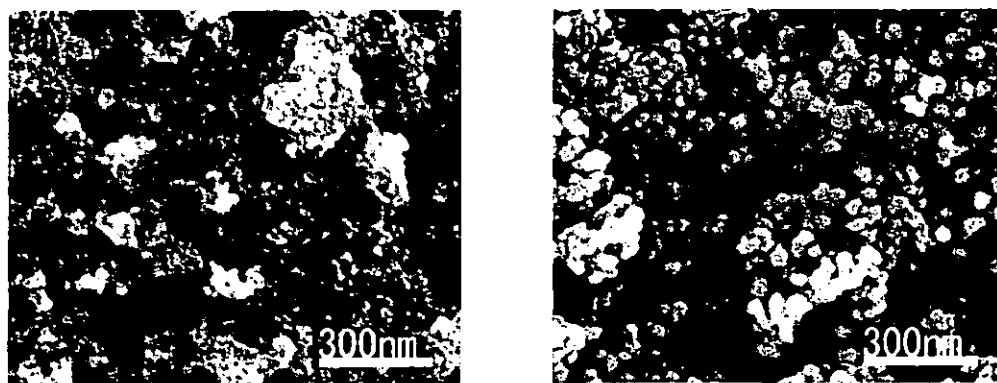


Figure 12. The SEM micrographs of Fe_3O_4 particles synthesized by coprecipitation process. (a) $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}=0.5$, (b) $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}=2$

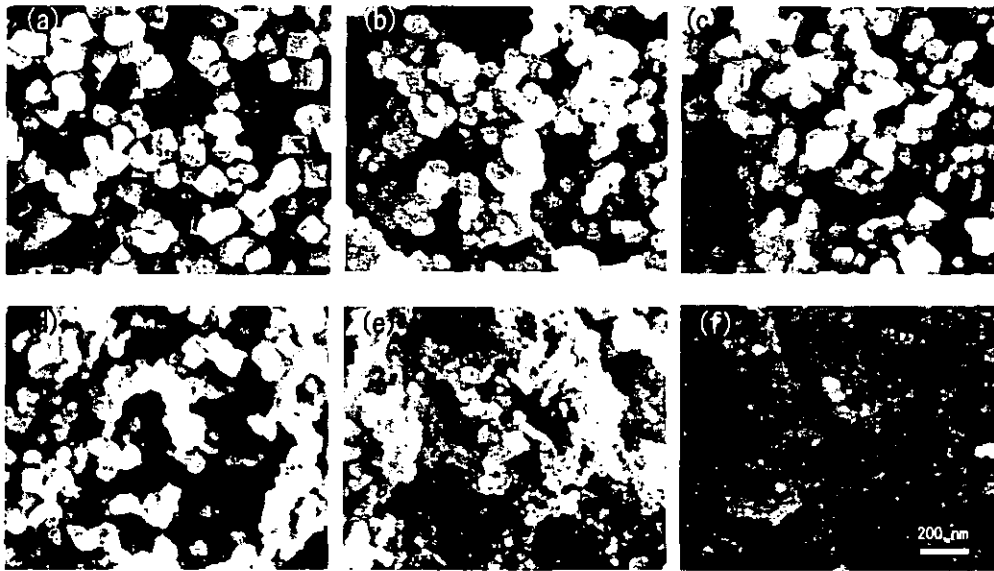


Figure 13. The SEM micrograph of CoFe_2O_4 particles synthesized under ferric ion concentration.

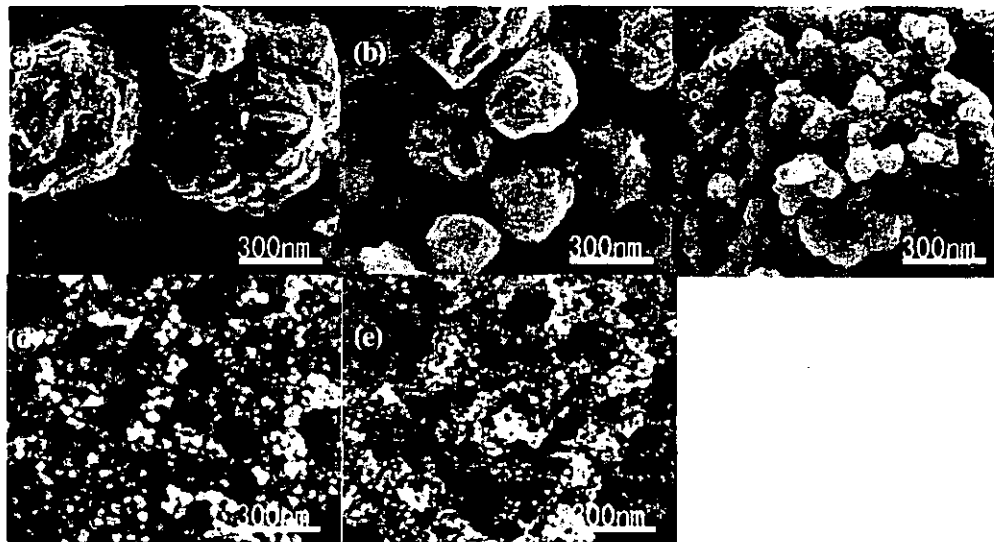


Figure 14. The micrograph of Co particles synthesized under cobalt ion concentration and platinum (a) Co 0.0025 mol (b) Co 0.025 mol (c) Co 0.0125 mol (d) Co 0.0025 mol Pt 0.0125g (e) Co 0.0025 mol Pt 0.05g.



Figure 15. Cecum and Lymph node of mouse.

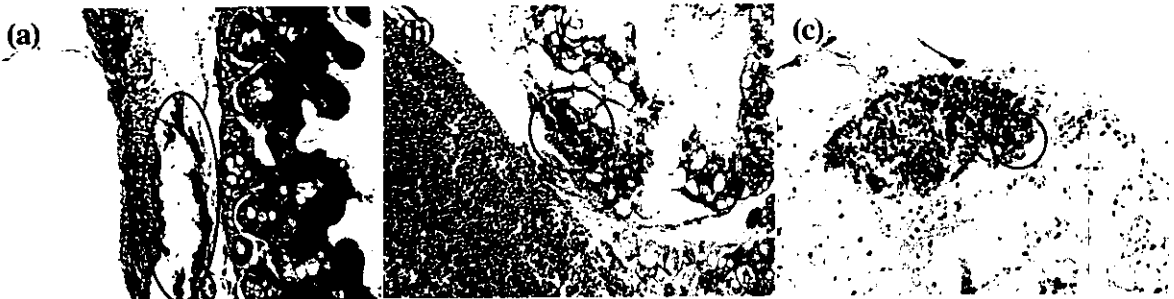


Figure 16. Photograph of (a)Cecum, (b) and (c)Lymph node , 30 min. passed after magnetite injection.

ナノ微粒子の生成・物性および生体に与える電磁気的影響

分担研究者 羽田紘一（石巻専修大学理工学部情報電子工学科教授）

研究協力者 川村 暁（石巻専修大学理工学部情報電子工学科助手）

芳賀信幸（石巻専修大学理工学部生物生産工学科教授）

研究要旨 生体内に様々な形で存在する Fe 等の金属やそのイオンに着目し、主として Fe イオンで構成されるフェライト系磁性微粒子（液相反応法）や金属微粒子（希ガス中蒸発法）を中心に種々合成し、単細胞個体であるゾウリムシ等を対象に組織反応性とバイオ応用への適応を調べるとともに、物性学的観点から殊にナノ化に伴い顕現する特異磁性とその起因に着目して、メスバウアー分光実験による特異物性の探索と計算機シミュレーション実験による検証もとりいれ、研究の展開を図っている。付随して磁性微粒子としての磁気工学的応用も視野に入れて進めている。また本研究班共通の研究対象物質であるカーボンナノチューブ（CNT）についてもゾウリムシを対象に、体内摂取に際しての生体親和性について細胞生存率を指標に予備実験を行い、為害性のないことを得ている。

A. 研究目的

医療技術の分野で磁気は、MRI、心磁測定、脳磁測定、また歯科でいえば口腔内インプラントにおける磁性アタッチメントなどの先端医療として活用されている。一方、ナノサイズの磁性微粒子は生物の体内組織においても合成（ Fe_3O_4 など）され、それぞれの生態上の機能（例えば biomagnetic compasses）をつかさどっていることが知られている。また医療検出用として磁性微粒子で標識した抗原抗体反応物を磁氣的に処理し、ウィルス類の検出への応用の試み（レーザー磁気免疫測定法）もあり、磁性微粒子のバイオ応用への可能性が期待される。

本研究では、磁気を帯びた微粒子を中心に、関連のナノ微粒子や本研究班共通の研究対象物質であるカーボンナノチューブ（CNT）等を含めて、バイオ応用展開を図るための基礎デー

タを集積することを主要目的として研究の展開を図る。殊に磁性微粒子は電磁気学的観点からも生体組織内でのその影響と挙動が注目される点、および磁性微粒子はナノ化に伴う物性面や磁気工学的応用面でも広く関心が寄せられており、そのことも踏まえて研究を進める。

B. 研究方法

以下の各項目について検討を加える。

- (1) ナノ微粒子、マイクロ微粒子の生成
- (2) ナノ微粒子、マイクロ微粒子化により発現する特異物性の究明
- (3) カーボンナノチューブ・微粒子と生体との相互作用 - 単細胞個体（ゾウリムシ）での生体親和性試験 -
- (4) ナノ微粒子、マイクロ微粒子の（磁気）工学的応用の検討

このうち(1)および(2)は、昨年度(H14)に引き継いでの展開であり、新たな実験的検討を加えるとともに、本年度は生成した微粒子や CNT を用いて、(3)についての研究にも着手し有意な結果が得られた。単細胞個体（ゾウリムシ）は古くから遺伝学、生理学、電気生理学、生化学などの分野で高等多細胞生物のモデル生物として用いられてきており、微粒子と生体との相互作用についての知見を得る上での有用性が実証された。

C. 研究結果

ナノ微粒子、マイクロ微粒子の生成に関しては、昨年度に引き継いで金属系微粒子については真空蒸着装置を改良した希ガス中蒸発法、また酸化物系微粒子については液相反応法による合成を進めた結果、種々の物質についての微粒子を生成するに至った。生成された微粒子を対象に、ナノ微粒子・マイクロ微粒子化により発現する特異磁性の究明に関して計算機実験を昨年度に引き継いで更に進展させるとともに、単細胞個体（ゾウリムシ）での生体親和性試験に着手し、以下に示す結果を得た。

C-1 ナノ微粒子、マイクロ微粒子化により発現する特異物性の究明

ナノ粒子の構造と物性を律する要因は、粒子表面層を占める原子（結合配位数がバルク内原子より減少）数の割合が多いことに端を発すると考えられ、これが起因してバルク体とは異なる様々な傾斜機能が発現する。

磁性微粒子の表面・界面における「表面磁気異方性の誘起」の観点から、計算機シミュレーション実験を行い、種々の磁性微粒子についての実測の磁化特性や高磁場下 Mossbauer データ (spin canting 構造)と照合し、有意な結果を得た。

C-1-1. 方法

強磁性体粒子はその粒子径を減少させると、粒子内に磁区の境界 (磁壁) が存在しないほうがエネルギー的により安定となり、一つの粒子が一つの磁区から成るいわゆる単一磁区粒子となる。単(一)磁区粒子の磁区内の磁化状態は、巨視的には磁化の向きは一様で磁気異方性エネルギーを最小にするような特定の方向に向いているとされているが、微視的には磁気に関するエネルギーの総和 (交換・異方性・磁歪・静磁エネルギー等) から導かれることとなる。斯様な単磁区微粒子について計算機実験を行った。

計算機実験には、米国 NIST が開発し public domain で公開している OOMMF(The Object Micro-Magnetic Framework), release 1.2 alpha 3 を用いた。OOMMF は式(1)に示す Landau-Lifshitz - Gilbert の磁化の動力学式に基づいて、印加磁場に対し磁気エネルギーが最小となる状態を計算し磁化曲線を求める手法である。

$$\frac{dM}{dt} = -|\gamma| M \times H_{\text{eff}} - \frac{|\gamma|\alpha}{M_s} M \times (M \times H_{\text{eff}}) \quad (1)$$

ここで、M は磁化、 H_{eff} は有効磁場、

$|\gamma|$ は Landau-Lifshitz 磁気回転比

α は damping 定数、 M_s は飽和磁化

具体的な計算には、仮定の鉄系強磁性物質を想定し、その単磁区粒子の磁化の振る舞いについて諸パラメータを設定し磁気履歴曲線を求め、保磁力値について考察を行った。すなわち粒子サイズを変えると同時に、微粒子表面において、通常バルク体の結晶磁気異方性定数 K_1 とは異なる特異な異方性が界面に垂直方向に作用 (表面磁気異方性 edge K_1) していると仮定し、結果に与える影響を調べた。

仮想的な鉄系強磁性物質 (Table I) を想定し、その単一磁区微粒子内の磁化の振る舞いについて計算機実験を行った。計算機実験に用いた

環境を Table II に示す。

その手法は、円柱状試料 (Fig. 1) を仮定し、対象試料を 2 次元格子状のセルに分割し、各格子でスピンを計算する。試料表面において磁気異方性が界面に垂直方向に作用しておりその異方性定数は、通常のパルクの結晶磁気異方性定数 K_1 とは異なる値 (表面磁気異方性定数 $\text{edge } K_1$) をとっているとした。試料サイズは Z 軸方向を $Z=30 \text{ nm}$ 一定とし、X 軸方向及び Y 軸方向については $X=Y=30, 40, 50 \text{ nm}$ として実験を行った。それぞれの場合において、 $\text{edge } K_1$ ($4.8 \times 10^3 \sim 4.8 \times 10^7 \text{ J/m}^3$) を変数とした。

この仮定に基づき、外部磁場 (X 軸方向) を変化させたときの振る舞いから磁化曲線を求めた。例として、サイズ 30 nm で $\text{edge } K_1 = 4.8 \times 10^6 \text{ J/m}^3$ の試料における各セルの磁化状態とそれに伴う変化の様子を、Fig. 2 から Fig. 4 に示す。

このようにして磁化曲線より固有保磁力値を求めた結果を Fig. 5 に示す。 $\text{edge } K_1$ が内部の異方性定数に比べて増加するにしたがって保磁力が漸次に増加し、また単一磁区微粒子でも粒子サイズが小さいほど保磁力が高くなることが明らかとなり、実測のデータと呼応する結果であることが明らかとなった。

C-2 ナノ微粒子のゾウリムシの生存及び増殖に及ぼす影響

ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) は世界中の淡水域に広く棲息する単細胞性真核生物 (Unicellular eukaryotic organism) で、細胞体は長軸約 $180 \mu\text{m}$ 、短軸約 $50 \mu\text{m}$ の回転楕円体をしている。細胞表面には約 5000 本の繊毛が生えており、この繊毛を用いて、遊泳、摂食、性的細胞認識などを行っている。ゾウリムシは古くから遺伝学、生理学、電気生理学、生化学などの分野で高等多細胞生物のモデル生物とし

て用いられてきた。特に、電気生理学の分野では、「動く感覚細胞」・「動く神経細胞」と呼ばれ、神経興奮の分子メカニズムの解明も進んでいる。また、遺伝情報の保存及び発現システムも基本的にはヒトをはじめとする高等多細胞生物と同じ形式のものを備えている。

ゾウリムシは自然界では枯草菌や大腸菌の仲間を好んで餌とするが、完全合成培地での無菌培養も可能である。従って、外界からの栄養源の取り込みは、粒子性の物質を取り込む食作用 (phagocytosis) と可溶性の物質を取り込む飲作用 (pinocytosis) の両方を状況に応じて使い分けているものと考えられる。

本実験では、ナノ微粒子の影響を見る際、枯草菌を含む培養液と生理食塩水の 2 種類を用いた。培養液の場合には、ゾウリムシは約 8 時間おきに分裂するので、細胞増殖能力を評価するのに適しており、生理食塩水の場合には細胞分裂が停止するので、分裂停止期の細胞のモデルになりうるものと考えられる。

C-2-1. 食胞形成能に対する影響

1) CNT

CNT (ナノロッド、メタル除去) を生理食塩水で 3 度洗い、最終濃度が $50 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ となるように調製し、ゾウリムシ 21 細胞を用いて細胞内への CNT の取り込みを経時的に測定した。CNT の取り込み量は、形成された食胞 (細胞口から取り込まれた粒子性物質を濃縮した膜で包まれた小胞) を数えることによって調べた (写真 a)。食胞形成能力は測定した 3 日間では、なんら阻害されることなく高いレベルにあることがわかった。

2) TiO_2

CNT と比較するために同じ濃度の TiO_2 を用いて同様の取り込み実験を行ったが、両者の間に大きな違いは認められなかった (写真 b)。