



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107363265 B

(45)授权公告日 2020.05.15

(21)申请号 201610617457.6

(22)申请日 2016.07.29

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107363265 A

(43)申请公布日 2017.11.21

(73)专利权人 上海艾瑞德生物科技有限公司
地址 201114 上海市闵行区新骏环路188号
5号楼301室

(72)发明人 马亚飞 野末训弘 宁晨曦
黄国栋 王陈成 廖玲妮 叶柳青
陈行

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266
代理人 徐嘉慧 陈详

(51)Int.Cl.

B22F 9/24(2006.01)

B22F 1/00(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

B82Y 40/00(2011.01)

审查员 张艺

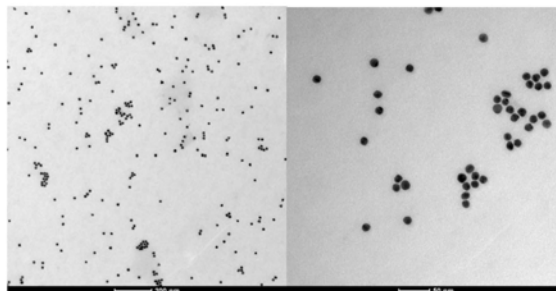
权利要求书3页 说明书6页 附图7页

(54)发明名称

超级纳米金制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种超级纳米金制备方法,所述方法为两步法,包括步骤:提供第一粒径颗粒;制备第二粒径颗粒,以及任选地,制备第三粒径颗粒。本发明制得的胶体金颗粒粒径均一、形态均保持正球形,可满足胶体金免疫检测中所需的较高特异性和较高灵敏度的要求。



1. 一种制备免疫胶体金颗粒的方法,所述方法为两步法,包括步骤:

(1) 提供第一粒径颗粒,所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值 $8 \leq \bar{d}_1 \leq 15\text{nm}$,并且所述 d_1 在 $0.9\bar{d}_1 \leq d_1 \leq 1.1\bar{d}_1$ 范围内的分布率 $\geq 90\%$;

所述步骤(1)包括步骤:97°C-100°C下,将四氯金酸、水、柠檬酸三钠混合搅拌均匀,冷却,得到所述第一粒径颗粒,其中,所述四氯金酸与水的质量体积比为0.08g:100ml-10g:100ml,并且,所述柠檬酸三钠与四氯金酸的质量比为4:1-6:1;

(2) 制备第二粒径颗粒,所述第二粒径颗粒的粒径 d_2 的平均值为 \bar{d}_2 ,且 $15 < \bar{d}_2 \leq 70\text{nm}$;

其中,将所述第一粒径颗粒、四氯金酸、水、L-抗坏血酸钠混合搅拌均匀,得到所述第二粒径颗粒,其中所述第一粒径颗粒与四氯金酸的体积质量比为10ml:3.41e⁻³-7.3e⁻²g,所述四氯金酸:L-抗坏血酸钠的质量比为0.8-1.1;

并且所述第二粒径在 t_2 温度下制备且 t_2 的范围为20-40°C。

2. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述方法还包括步骤:

(3) 制备第三粒径颗粒,所述第三粒径颗粒的粒径 d_3 的平均值为 \bar{d}_3 ,且 $70 < \bar{d}_3 \leq 220\text{nm}$;

其中,将所述第二粒径颗粒、四氯金酸、水、L-抗坏血酸钠混合搅拌均匀,得到所述第三粒径颗粒,其中,所述第二粒径颗粒与四氯金酸的体积质量比为10ml:1.32e⁻³-1.45e⁻²g,所述四氯金酸:L-抗坏血酸钠的质量比为0.8-1.1;

并且所述第三粒径在 t_3 温度下制备且 t_3 的范围为20-40°C。

3. 如权利要求2所述的方法,其特征在于,所述方法还包括步骤:(4) 重复上述步骤(2)和/或步骤(3)。

4. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值 $9 \leq \bar{d}_1 < 13\text{nm}$ 。

5. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值 $10 \leq \bar{d}_1 < 12\text{nm}$ 。

6. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(2)中,所述 t_2 范围为23-37°C。

7. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(2)中,所述 t_2 范围为25-35°C。

8. 如权利要求2所述的方法,其特征在于,所述步骤(3)中,所述 t_3 范围为23-37°C。

9. 如权利要求2所述的方法,其特征在于,所述步骤(3)中,所述 t_3 范围为25-35°C。

10. 如权利要求1所述的方法,其特征在于, \bar{d}_2 范围 $18 \leq \bar{d}_2 < 60\text{nm}$ 。

11. 如权利要求1所述的方法,其特征在于, \bar{d}_2 范围 $20 \leq \bar{d}_2 < 50\text{nm}$ 。

12. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(2)中,所述 d_2 在 $0.9\bar{d}_2 \leq d_2 \leq 1.1\bar{d}_2$ 范围内的分布率 $\geq 80\%$ 。

13. 如权利要求2所述的方法,其特征在于,所述第三粒径颗粒的粒径 d_3 的平均值 \bar{d}_3 范围为 $80 \leq \bar{d}_3 \leq 200\text{nm}$ 。

14. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(2)中,搅拌时间为0.1-5h。

15. 如权利要求2所述的方法,其特征在于,所述步骤(3)中,所述 d_3 在 $0.9\bar{d}_3 \leq d_3 \leq 1.1\bar{d}_3$ 范围内的分布率 $\geq 80\%$ 。

16. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,所述方法包括:

(1) 当合成平均粒径为 $20 \pm 2\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成,稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$,所述金种加入量为95-105ml,加入四氯金酸至浓度为0.084-0.088g/L,加入L-抗坏血酸钠至0.081-0.085g/L,搅拌均匀,即得平均粒径为 $20 \pm 2\text{nm}$ 的胶体金颗粒;和/或

(2) 当合成平均粒径为 $30 \pm 3\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成,且所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值为 $9\text{nm} \leq \bar{d}_1 \leq 11\text{nm}$,稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$,所述金种加入量为95-105ml,添加四氯金酸至浓度为0.315-0.320g/L,添加L-抗坏血酸钠至0.295-0.30g/L,搅拌均匀,即得平均粒径为 $30 \pm 3\text{nm}$ 的胶体金颗粒;和/或

(3) 当合成平均粒径为 $40 \pm 4\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成,且所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值为 $9\text{nm} \leq \bar{d}_1 \leq 11\text{nm}$,稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$,所述金种加入量为95-105ml,添加四氯金酸至浓度为0.679-0.685g/L,添加L-抗坏血酸钠至0.671-0.677g/L,搅拌均匀,即得平均粒径为 $40 \pm 4\text{nm}$ 的胶体金颗粒;和/或

(4) 当合成平均粒径为 $50 \pm 5\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成,且所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值为 $9\text{nm} \leq \bar{d}_1 \leq 11\text{nm}$,稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$,所述金种加入量为95-105ml,添加四氯金酸至浓度为0.70-0.75g/L,添加L-抗坏血酸钠至0.688-0.694g/L,搅拌均匀,即得平均粒径为 $50 \pm 5\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

17. 如权利要求16所述的方法,其特征在于,所述方法还包括:

(6) 当合成平均粒径为 $80 \pm 8\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第二粒径颗粒为金种进行合成,且所述第二粒径颗粒的粒径 d_2 的平均值为 $45\text{nm} \leq \bar{d}_2 \leq 55\text{nm}$,稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$,所述金种加入量为95-105ml,添加四氯金酸至浓度为0.139-0.145g/L,加入L-抗坏血酸钠至0.139-0.145g/L,搅拌均匀,即得平均粒径为 $80 \pm 8\text{nm}$ 的胶体金颗粒;和/或

(7) 当合成平均粒径为 $90 \pm 9\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第二粒径颗粒为金种进行合成,且所述第二粒径颗粒的粒径 d_2 的平均值为 $45\text{nm} \leq \bar{d}_2 \leq 55\text{nm}$,稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$,所述金种加入量为95-105ml,添加四氯金酸至浓度为0.30-0.35g/L,加入L-抗坏血酸钠至0.352-0.358g/L,搅拌均匀,即得平均粒径为 $90 \pm 9\text{nm}$ 的胶体金颗粒;和/或

(8) 当合成平均粒径为 $100 \pm 10\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第二粒径颗粒为金种进行合成,且所述第二粒径颗粒的粒径 d_2 的平均值为 $45\text{nm} \leq \bar{d}_2 \leq 55\text{nm}$,稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$,所述金种加入量为95-105ml,添加四氯金酸至浓度为0.30-0.35g/L,加入L-抗坏血酸钠至0.372-0.378g/L,搅拌均匀,即得平均粒径为 $100 \pm 10\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

18. 一种免疫胶体金颗粒,其特征在于,所述胶体金颗粒由权利要求1或2所述的方法制备。

19. 如权利要求18所述的胶体金颗粒,其特征在于,所述胶体金颗粒的粒径范围为8-220nm。

超级纳米金制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物检测领域,具体地说,本发明涉及一种可用于快速诊断的免疫胶体金颗粒的制备方法及其应用,具体地涉及一种颗粒尺寸均匀、形态均一的胶体金颗粒的制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 免疫胶体金技术是一项快速、便捷的免疫诊断技术,不需特殊设备,结果判断直观等优势,近年来得到快速发展,在生物医学领域特别是医学检验中得到了广泛应用。免疫胶体金技术对胶体金颗粒的大小和粒径均一性要求很高,而目前普遍使用的一步还原法制得的胶体金颗粒粒径范围较窄,尺寸大小不易控制,严重影响了胶体金颗粒在免疫诊断中的应用。

[0003] 因此,本领域迫切需要研发出有效的制得粒径均匀分布、尺寸大小范围适当的制备胶体金颗粒的方法。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种超级纳米金制备方法及其应用。

[0005] 本发明第一方面,提供一种制备免疫胶体金颗粒的方法,所述方法为两步法,包括步骤:

[0006] (1) 提供第一粒径颗粒,所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值 $\overline{d_1} \leq 15\text{nm}$,并且;所述 d_1 在 $0.9\overline{d_1} \leq d_1 \leq 1.1\overline{d_1}$ 范围内的分布率 $\geq 90\%$ (较佳地 $\geq 92\%$,更佳地 $\geq 95\%$,最佳地 $\geq 98\%$);

[0007] (2) 制备第二粒径颗粒,所述第二粒径颗粒的粒径 d_2 的平均值为 $\overline{d_2}$,且 $15 < \overline{d_2} \leq 70\text{nm}$;

[0008] 将所述第一粒径颗粒、四氯金酸、水、L-抗坏血酸钠混合搅拌均匀,得到所述第二粒径颗粒,其中所述第一粒径颗粒与四氯金酸的体积质量比为 $10\text{ml}:3.41\text{e}^{-3}-7.3\text{e}^{-2}\text{g}$,所述四氯金酸:L-抗坏血酸钠的质量比为 $0.8-1.1$;

[0009] (3) 任选地,制备第三粒径颗粒,所述第三粒径颗粒的粒径 d_3 的平均值为 $\overline{d_3}$,且 $70 < \overline{d_3} \leq 220\text{nm}$;

[0010] 将所述第一粒径颗粒和/或第二粒径颗粒、四氯金酸、水、L-抗坏血酸钠混合搅拌均匀,得到所述第三粒径颗粒,其中,所述第一粒径颗粒和/或第二粒径颗粒与四氯金酸的体积质量比为 $10\text{ml}:1.32\text{e}^{-3}-1.45\text{e}^{-2}\text{g}$,所述四氯金酸:L-抗坏血酸钠的质量比为 $0.8-1.1$ 。

[0011] 在另一优选例中,所述方法还包括步骤(4):重复上述步骤(2)和/或步骤(3)。

[0012] 在另一优选例中,所述第一粒径颗粒的粒径 d_1 的平均值 $8 \leq \overline{d_1} < 15\text{nm}$,较佳地为 $9 \leq \overline{d_1} < 13\text{nm}$,更佳地为 $10 \leq \overline{d_1} < 12\text{nm}$ 。

[0013] 在另一优选例中,所述步骤(1)中,所述第一粒径颗粒在 t_1 温度下制备,所述 t_1 范围为 $85-105^{\circ}\text{C}$,较佳地为 $90-100^{\circ}\text{C}$ 。

[0014] 在另一优选例中,所述步骤(1)包括步骤: $97^{\circ}\text{C}-100^{\circ}\text{C}$ 下,将四氯金酸、水、柠檬酸三钠混合搅拌均匀,冷却,得到所述第一粒径颗粒,其中,所述四氯金酸与水的质量体积比为 $0.08\text{g}:100\text{ml}-10\text{g}:100\text{ml}$,并且,所述柠檬酸三钠与四氯金酸的质量比为 $4:1-6:1$ 。

[0015] 在另一优选例中,所述第二平均粒径 $\overline{d_2}$ 范围 $18 \leq \overline{d_2} < 60\text{nm}$, 较佳地为 $20 \leq \overline{d_2} < 50\text{nm}$ 。

[0016] 在另一优选例中,所述步骤(2)中,所述第二粒径颗粒在 t_2 温度下制备,所述 t_2 范围为 $20-40^{\circ}\text{C}$,较佳地为 $23-37^{\circ}\text{C}$,更佳地为 $25-35^{\circ}\text{C}$ 。

[0017] 在另一优选例中,所述步骤(2)中,所述 d_2 在 $0.9 \overline{d_2} \leq d_2 \leq 1.1 \overline{d_2}$ 范围内的分布率 $\geq 80\%$ (较佳地 $\geq 85\%$,更佳地 $\geq 90\%$,最佳地 $\geq 95\%$)。

[0018] 在另一优选例中,所述步骤(2)中,所述搅拌时间为 $0.1-5\text{h}$ 。

[0019] 在另一优选例中,所述第三粒径颗粒的粒径 d_3 的平均值 $\overline{d_3}$ 范围为 $80 \leq \overline{d_3} \leq 200\text{nm}$, 较佳地为 $100 \leq \overline{d_3} \leq 180\text{nm}$ 。

[0020] 在另一优选例中,所述步骤(3)中,所述 d_3 在 $0.9 \overline{d_3} \leq d_3 \leq 1.1 \overline{d_3}$ 范围内的分布率 $\geq 80\%$ (较佳地 $\geq 85\%$,更佳地 $\geq 90\%$,最佳地 $\geq 95\%$)。

[0021] 在另一优选例中,所述步骤(3)中,所述第三粒径颗粒在 t_3 温度下制备,所述 t_3 范围为 $20-40^{\circ}\text{C}$,较佳地为 $23-37^{\circ}\text{C}$,更佳地为 $25-35^{\circ}\text{C}$ 。

[0022] 在另一优选例中,所述步骤(3)中,所述搅拌时间为 $0.1-5\text{h}$ 。

[0023] 在另一优选例中,当合成平均粒径为 $20 \pm 2\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $9\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 11\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $\text{OD}(500) = 1.1$, 所述金种加入量为 $95-105\text{ml}$, 加入四氯金酸至浓度为 $0.084-0.088\text{g/L}$, 加入L-抗坏血酸钠至 $0.081-0.085\text{g/L}$, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $20 \pm 2\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0024] 在另一优选例中,当合成平均粒径为 $30 \pm 3\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $9\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 11\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $\text{OD}(500) = 1.1$, 所述金种加入量为 $95-105\text{ml}$, 添加四氯金酸至浓度为 $0.315-0.320\text{g/L}$, 添加L-抗坏血酸钠至 $0.295-0.30\text{g/L}$, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $30 \pm 3\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0025] 在另一优选例中,当合成平均粒径为 $40 \pm 4\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $9\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 11\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $\text{OD}(500) = 1.1$, 所述金种加入量为 $95-105\text{ml}$, 添加四氯金酸至浓度为 $0.679-0.685\text{g/L}$, 添加L-抗坏血酸钠至 $0.671-0.677\text{g/L}$, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $40 \pm 4\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0026] 在另一优选例中,当合成平均粒径为 $50 \pm 5\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第一粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $9\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 11\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $\text{OD}(500) = 1.1$, 所述金种加入量为 $95-105\text{ml}$, 添加四氯金酸至浓度为 $0.70-0.75\text{g/L}$, 添加L-抗坏血酸钠至 $0.688-0.694\text{g/L}$, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $50 \pm 5\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0027] 在另一优选例中,当合成平均粒径为 $60 \pm 6\text{nm}$ 的胶体金颗粒时,以已合成的第二粒

径颗粒为金种进行合成(较佳地, $45\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 55\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$, 所述金种加入量为95-105ml, 添加四氯金酸至浓度为0.172-0.178g/L, 加入L-抗坏血酸钠至0.192-0.198g/L, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $60 \pm 6\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0028] 在另一优选例中, 当合成平均粒径为 $80 \pm 8\text{nm}$ 的胶体金颗粒时, 以已合成的第二粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $45\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 55\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$, 所述金种加入量为95-105ml, 添加四氯金酸至浓度为0.139-0.145g/L, 加入L-抗坏血酸钠至0.139-0.145g/L, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $80 \pm 8\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0029] 在另一优选例中, 当合成平均粒径为 $90 \pm 9\text{nm}$ 的胶体金颗粒时, 以已合成的第二粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $45\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 55\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$, 所述金种加入量为95-105ml, 添加四氯金酸至浓度为0.30-0.35g/L, 加入L-抗坏血酸钠至0.352-0.358g/L, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $90 \pm 9\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0030] 在另一优选例中, 当合成平均粒径为 $100 \pm 10\text{nm}$ 的胶体金颗粒时, 以已合成的第二粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $45\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 55\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$, 所述金种加入量为95-105ml, 添加四氯金酸至浓度为0.30-0.35g/L, 加入L-抗坏血酸钠至0.372-0.378g/L, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $100 \pm 10\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0031] 在另一优选例中, 当合成平均粒径为 $200 \pm 20\text{nm}$ 的胶体金颗粒时, 以已合成的第二粒径颗粒为金种进行合成(较佳地, $95\text{nm} \leq \overline{d_1} \leq 105\text{nm}$), 稀释金种溶液至浓度为 $OD(500) = 1.1$, 所述金种加入量为95-105ml, 添加四氯金酸至浓度为0.841-0.845g/L, 加入L-抗坏血酸钠至0.97-1.03g/L, 搅拌均匀, 即得平均粒径为 $200 \pm 20\text{nm}$ 的胶体金颗粒。

[0032] 本发明第二方面, 提供一种免疫胶体金颗粒, 所述胶体金颗粒由本发明第一方面所述的方法制备。

[0033] 在另一优选例中, 所述胶体金颗粒的粒径范围为8-220nm。

[0034] 应理解, 在本发明范围内中, 本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合, 从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅, 在此不再一一累述。

附图说明

[0035] 图1显示了直径为10nm的胶体金颗粒TEM图像。

[0036] 图2显示了直径为10nm的胶体金颗粒粒径分析结果。

[0037] 图3显示了直径为30nm的胶体金颗粒TEM图像。

[0038] 图4显示了直径为30nm的胶体金颗粒粒径分析结果。

[0039] 图5显示了直径为60nm的胶体金颗粒TEM图像。

[0040] 图6显示了直径为60nm的胶体金颗粒粒径分析结果。

[0041] 图7显示了直径为90nm的胶体金颗粒TEM图像。

[0042] 图8显示了直径为90nm的胶体金颗粒粒径分析结果。

[0043] 图9显示了直径为100nm的胶体金颗粒TEM图像。

[0044] 图10显示了直径为100nm的胶体金颗粒粒径分析结果。

[0045] 图11显示了直径为200nm的胶体金颗粒TEM图像。

[0046] 图12显示了直径为200nm的胶体金颗粒粒径分析结果。

[0047] 图13显示了对比例1制得的胶体金颗粒粒径TEM图像。

[0048] 图14显示了对比例2制得的胶体金颗粒粒径TEM图像。

具体实施方式

[0049] 本发明人通过广泛而深入的研究,首次意外地发现一种制备胶体金颗粒的方法,采用两步法,所得的颗粒粒径均一,形态规整,并且制得晶种后无需添加保护剂。在此基础上完成了本发明。

[0050] 术语说明

[0051] 除非另外定义,否则本文中所有的全部技术与科学术语均具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0052] 如本文所用,在提到具体列举的数值中使用术语“约”意指该值可以从列举的值变动不多于1%。例如,如本文所用,表述“约100”包括99和101和之间的全部值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0053] 如本文所用,术语“含有”或“包括(包含)”可以是开放式、半封闭式和封闭式的。换言之,所述术语也包括“基本上由...构成”、或“由...构成”。

[0054] 本发明的主要优点在于:

[0055] (1) 本发明采用两步法制备胶体金颗粒,首先制得形态规整的金种,第二步所得的颗粒粒径均一、形态均保持正球形,可满足胶体金免疫检测中所需的较高特异性和较高灵敏度的要求。

[0056] (2) 本发明制备工艺简化,制得金种后无需添加保护剂,大粒径(>60nm)胶体金颗粒的合成使用L-抗坏血酸钠作为还原剂,可以快速还原氯金酸,形成相应粒径的胶体金。

[0057] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数是重量百分比和重量份数。

[0058] 以下实施例中所用的实验材料和试剂如无特别说明均可从市售渠道获得。

[0059] 实施例1:制备10nm胶体金金种

[0060] 向500ml三角烧瓶中加入200ml纯水,搅拌,加热沸腾。向沸腾(100℃)的纯水中加入5ml的0.68% (wt%) 四氯金酸溶液,反应150秒。再加入20ml10.88% (wt%) 柠檬酸三钠水溶液,继续反应14分钟。停止加热,室温下冷却。

[0061] 结果表明,如图1、2所示,可得到直径为10nm、均一的胶体金颗粒。95%的颗粒直径分布在9nm-11nm。

[0062] 实施例2:制备20nm胶体金颗粒

[0063] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例1中制得的10nm的胶体金溶液100ml(浓度OD(500)=1.1),搅拌。称取0.0345g四氯金酸和0.0335g的L-抗坏血酸钠,分别加水定容至400mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为0.56%,抗坏血酸钠的浓度为0.60%。

[0064] 结果表明,可得到直径为10nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在18nm-

22nm。

[0065] 实施例3:制备30nm胶体金颗粒

[0066] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例1中制得的10nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.159g四氯金酸,加水定容至500ml;称取0.149g的L-抗坏血酸钠,加水定容至500mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为1%,抗坏血酸钠的浓度为1.23%,搅拌反应1小时。

[0067] 结果表明,如图3、4所示,可得到直径为30nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在26nm-36nm。

[0068] 实施例4:制备40nm胶体金颗粒

[0069] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例1中制得的10nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.341g四氯金酸,加水定容至500ml;称取0.337g的L-抗坏血酸钠,加水定容至500mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为1%,抗坏血酸钠的浓度为1.23%,搅拌反应1小时。

[0070] 结果表明,可得到直径为40nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在34nm-44nm。

[0071] 实施例5:制备50nm胶体金颗粒

[0072] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例1中制得的10nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.73g四氯金酸,加水定容至1000ml;称取0.691g的L-抗坏血酸钠,加水定容至1000mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为1%,抗坏血酸钠的浓度为1.23%,搅拌反应1小时。

[0073] 结果表明,可得到直径为50nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在44nm-55nm。

[0074] 实施例6:制备60nm胶体金颗粒

[0075] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例5中制得的50nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.0175g四氯金酸,加水定容至100ml;称取0.0195g的L-抗坏血酸钠,加水定容至100mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为0.56%,抗坏血酸钠的浓度为0.60%,搅拌反应1小时。

[0076] 结果表明,如图5、6所示,可得到直径为60nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在54nm-65nm。

[0077] 实施例7:制备80nm胶体金颗粒

[0078] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例5中制得的50nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.0355g四氯金酸,加水定容至250ml;称取0.0355g的L-抗坏血酸钠,加水定容至250mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为0.56%,抗坏血酸钠的浓度为0.60%,搅拌反应1小时。

[0079] 结果表明,可得到直径为80nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在74nm-86nm。

[0080] 实施例8:制备90nm胶体金颗粒

[0081] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例5中制得的50nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.132g四氯金酸,加水定容至400ml;称取0.142g的L-抗坏血酸钠,加水定容至400mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为0.56%,抗坏血酸钠的浓度为0.60%,搅拌反应1小时。

[0082] 结果表明,如图7、8所示,可得到直径为90nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在84nm-96nm。

[0083] 实施例9:制备100nm胶体金颗粒

[0084] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例5中制得的50nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.1325g四氯金酸,加水定容至400ml;称取0.150g的L-抗坏血酸钠,加水定容至400mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为1.0%,抗坏血酸钠的浓度为1.23%,搅拌反应1小时。

[0085] 结果表明,如图9、10所示,可得到直径为100nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在90nm-110nm。

[0086] 实施例10:制备200nm胶体金颗粒

[0087] 30℃下,向500ml三角烧瓶中,加入实施例9中制得的100nm的胶体金溶液100ml(浓度为 $OD(500) = 1.1$),搅拌。称取0.1265g四氯金酸,加水定容至150ml;称取0.151g的L-抗坏血酸钠,加水定容至150mL。30℃下,将上述四氯金酸和L-抗坏血酸钠溶液分别以2mL/min的速度同时滴下,搅拌,使得氯金酸的终浓度为1.0%,抗坏血酸钠的浓度为1.23%,搅拌反应1小时。

[0088] 结果表明,如图11、12所示,可得到直径为200nm、均一的胶体金颗粒。90%的颗粒直径分布在180nm-220nm。

[0089] 对比例1:

[0090] 30℃下,在200ml纯水中,加入2ml体积1%的氯金酸和4ml体积1%的抗坏血酸钠,煮沸5分钟后,冷却。镜检胶体金,如图13所示,所得到的10nm颗粒胶体金均一性极差,形状不规则。

[0091] 对比例2:

[0092] 在煮沸的200ml纯水中,加入2ml体积1%的氯金酸和2ml体积1%的柠檬酸三钠,煮沸5分钟后,冷却,即得到理论值为40nm-50nm纳米金颗粒。镜检胶体金,如图14所示,此种一步法所得到的大颗粒胶体金均一性极差,形状不规则,大部分为椭圆形和哑铃状。

[0093] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

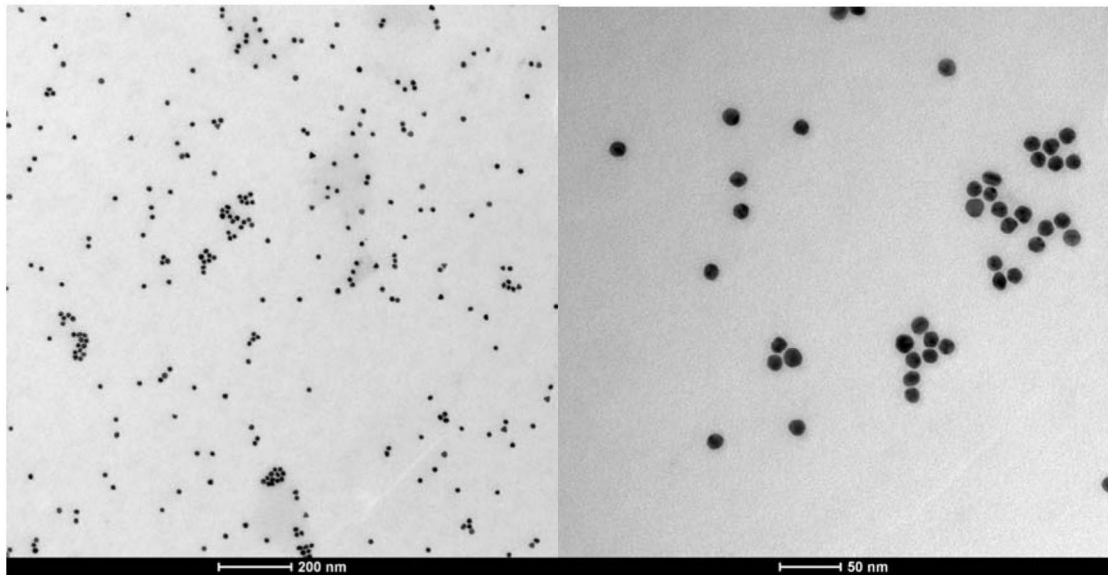


图1

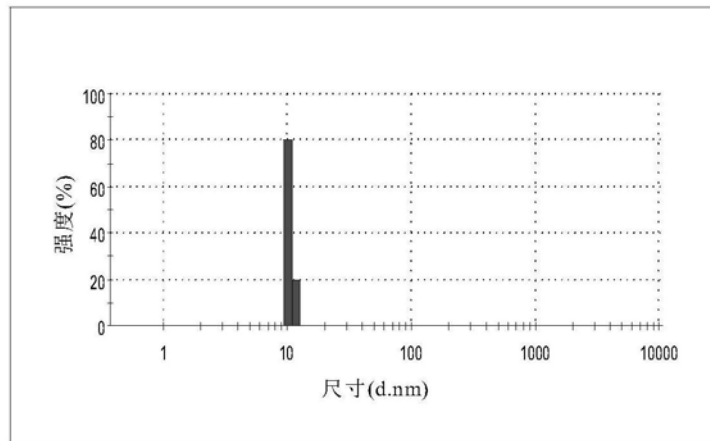


图2

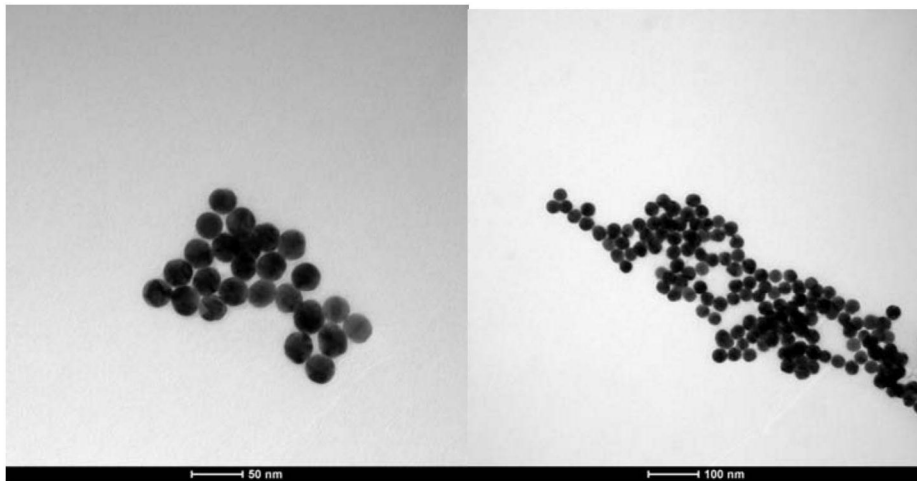


图3

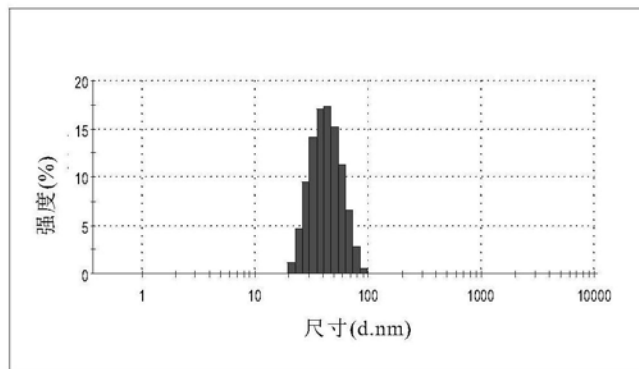


图4

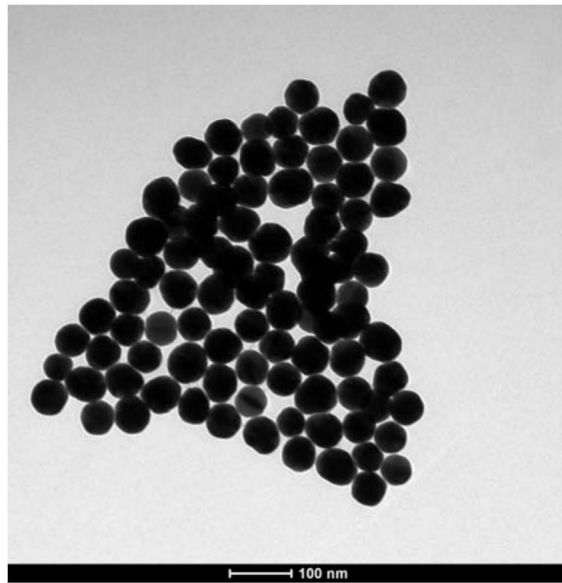


图5

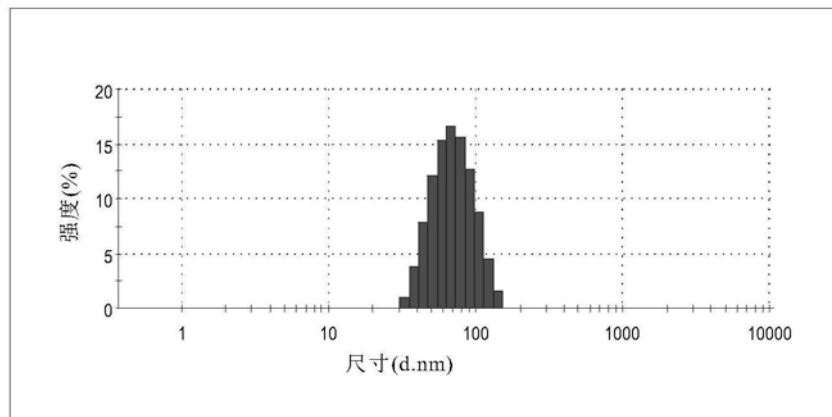


图6

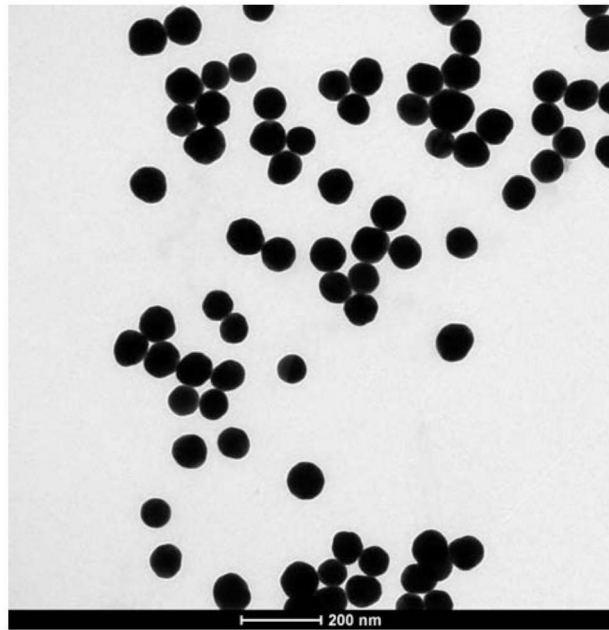


图7

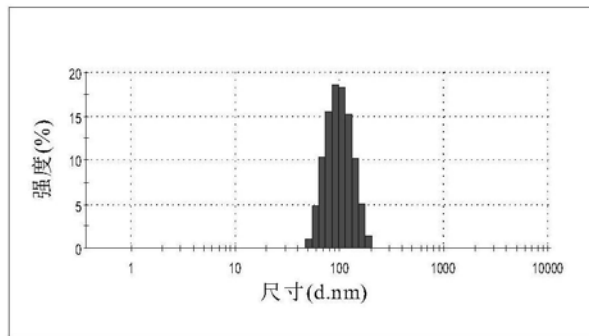


图8

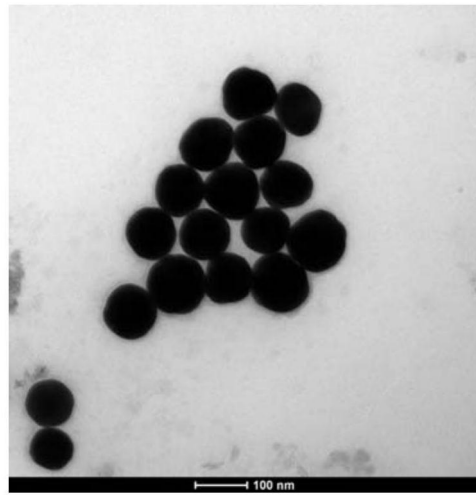


图9

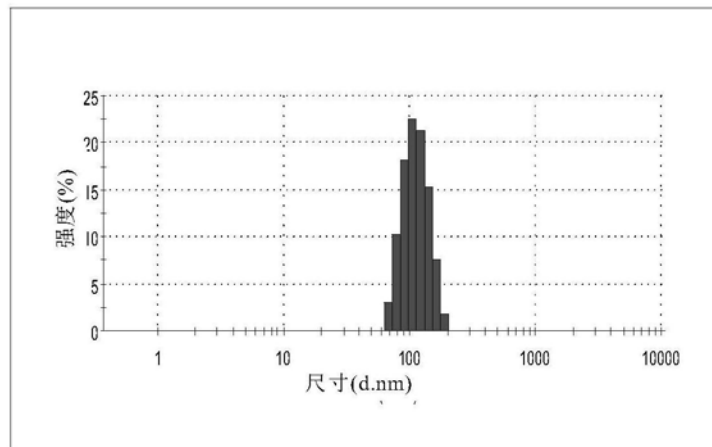


图10

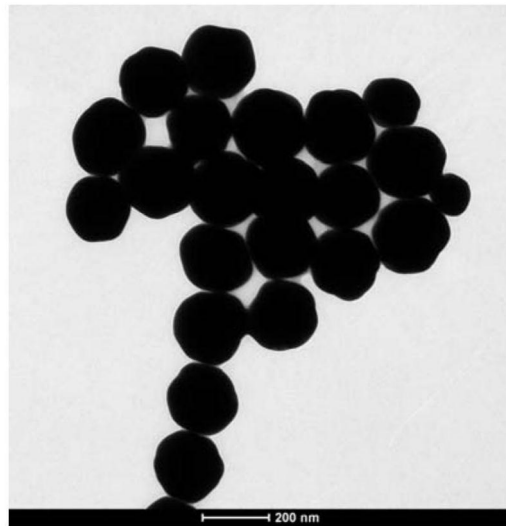


图11

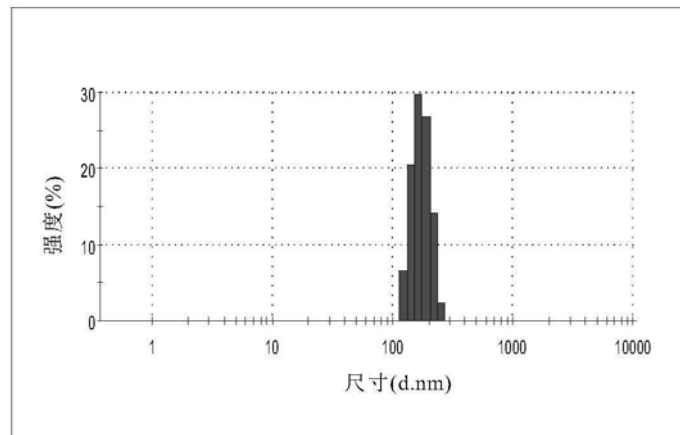


图12

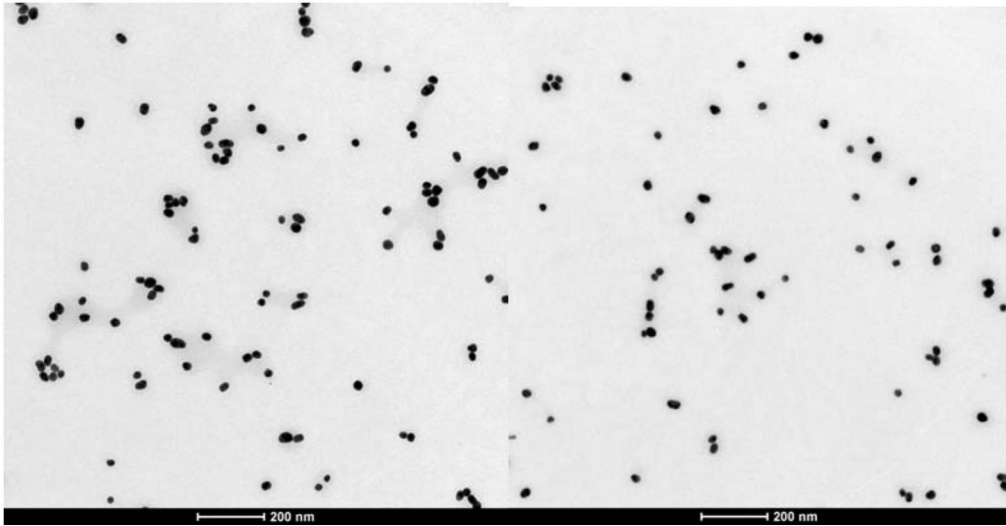


图13

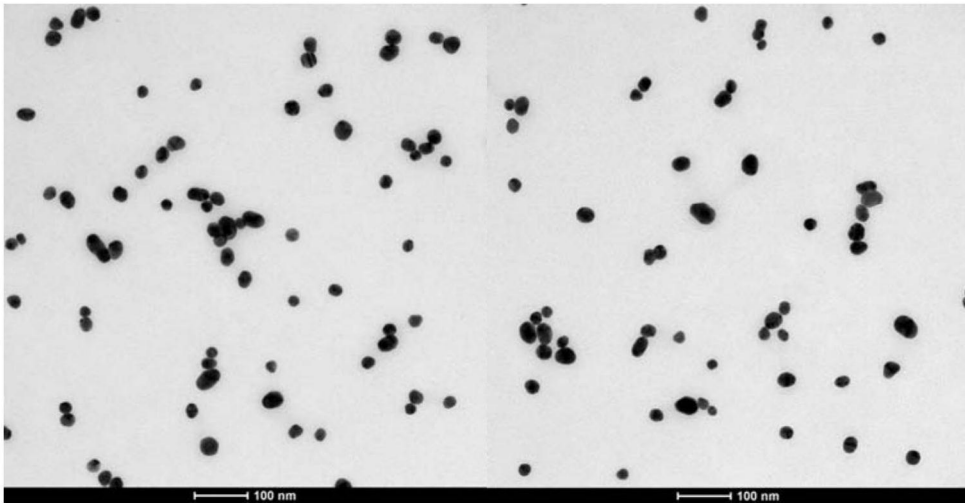


图14

专利名称(译)	超级纳米金制备方法		
公开(公告)号	CN107363265B	公开(公告)日	2020-05-15
申请号	CN201610617457.6	申请日	2016-07-29
[标]申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海艾瑞德生物科技有限公司		
[标]发明人	马亚飞 野末训弘 宁晨曦 黄国栋 王陈成 廖玲妮 叶柳青 陈行		
发明人	马亚飞 野末训弘 宁晨曦 黄国栋 王陈成 廖玲妮 叶柳青 陈行		
IPC分类号	B22F9/24 B22F1/00 G01N33/531 B82Y40/00		
CPC分类号	B22F1/0018 B22F9/24 B82Y40/00 G01N33/531		
代理人(译)	徐嘉慧		
审查员(译)	张艺		
其他公开文献	CN107363265A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种超级纳米金制备方法，所述方法为两步法，包括步骤：提供第一粒径颗粒；制备第二粒径颗粒，以及任选地，制备第三粒径颗粒。本发明制得的胶体金颗粒粒径均一、形态均保持正球形，可满足胶体金免疫检测中所需的较高特异性和较高灵敏度的要求。

