

ICP - Mass Spectrometry

作者:

Kenneth Neubauer

Chady Stephan

PerkinElmer, Inc.

Shelton, CT

单粒子-ICPMS 分析血中金和 银纳米粒子

引言

纳米技术及其潜在应用在临床研究中的快速发展, 引起了纳米粒子 (NPs) 对人类健康方面负面影响的顾虑。小尺寸的纳米粒子由于其单位体积里具有更大的表面积而意味着具有增强的反

应性。在这种属性可以加强预期效果的同时, 也有引入新的、未知的有害的影响的可能性。两种金属纳米粒子--金和银粒子, 金粒子由于其具有高化学稳定性、易于控制颗粒大小和实现表面功能化被广泛应用于研究, 银粒子具有抗菌效果经常被用于伤口灭菌、医学部件和假体涂层, 以及商品化的纺织品、化妆品和日用商品²。由此, 越来越多的银纳米粒子将经过绷带或医疗部件被引入开放性创口, 直至迁移进入血液循环系统。近期的论文已经开始考虑纳米粒子被暴露性接触的器官直接吸收, 并经由血液系统至第二级器官, 例如中枢神经系统, 可能影响到胚胎神经前驱细胞的生长特性³。

因此, 科研人员需要检测和测量血中纳米粒子的分析方法。本文研究了单粒子 ICP-MS(SP-ICP-MS)测定血中金和银纳米粒子的分析能力。

实验

样品和样品前处理

血液标准物质 (Seronorm™ Trace Elements in Whole Blood, Level 1), 采用四甲基氢氧化铵 (TMAN) +0.1% Triton-X 稀释20倍后待测。金和银纳米粒子 (金颗粒-30nm和/或60nm, NIST®8012\8013; 银颗粒-40和/或60nm, Ted Pella™ Inc.) 按不同浓度加入到血样中。为了打碎结块的粒子, 储备液需要超声5min后再加入到血样中。制备好的血样摇匀后测定。

仪器

样品使用PerkinElmer公司的NexION®350D ICP-MS, 配有Nano Application Module 软件模块。仪器条件如下表1。采用溶解和悬浮金或银建立标准曲线, 表2为建立标准曲线的标准信息。两部淋洗, 样品间采用1% HCl + 0.1% Triton-X淋洗两次去除残留的金粒子, 之后用去离子水入去除残留HCl。采用1% HNO₃ + 0.1% Triton-X 作为银粒子冲洗液。这两步淋洗方法是必要步骤, 这是由于残留酸可以溶解样品中的粒子。每步淋洗需1min。

Table 1. NexION 350 ICP-MS Parameters.

Parameter	Value
Nebulizer	Glass concentric
Spray Chamber	Glass cyclonic
RF Power	1600 W
Nebulizer Gas Flow	Optimized for maximum Au signal
Dwell Time	100 µs
Quadrupole Settling Time	0 µs
Data Acquisition Rate	10,000 points/sec
Analysis Time	60 sec

Table 2. Calibration Standards for Au and Ag Nanoparticle Analysis.

Gold				
Particle Standard	Particle Size (nm)	Approx. Particle Concentration (Particles/mL)	Dissolved Standard	Concentration (µg/L)
1	10	100,000	1	1
2	30	100,000	2	1.5
3	60	100,000	3	5
Silver				
Particle Standard	Particle Size (nm)	Approx. Particle Concentration (Particles/mL)	Dissolved Standard	Concentration (µg/L)
1	40	100,000	1	1
2	60	100,000	2	5

结果

初步实验采用金纳米粒子。图1为加入30nm和60nm金NPs (每种约100,000个粒子/mL)的血样, 如图所示, 可以清晰的区分两种粒子的粒径分布, 表明这两种大小的金纳米粒子可以被分析检测。样品连续测定3次, 测定的粒子大小结果见表3, 表明方法的准确性和重复性。

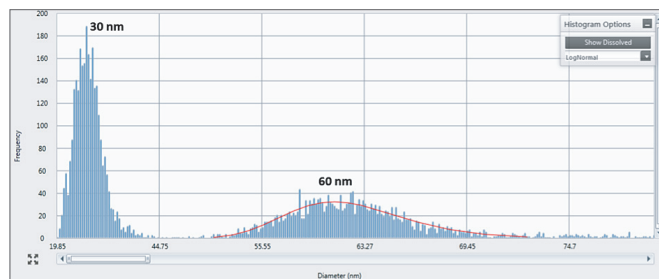


Figure 1. Size distribution of 30 and 60 nm Au nanoparticles (100,000 particles/mL each) in blood (20x dilution).

Table 3. Analysis of 30 and 60 nm Au Nanoparticle Mixture in Blood.

Replicate	Nominal Size (nm)	Most Frequent Size (nm)	Mean Size (nm)	Particle Concentration (Particles/mL)
1	30	30	31	108,710
	60	61	62	107,490
2	30	31	31	102,878
	60	61	62	101,294
3	30	31	32	102,017
	60	61	62	103,467

接下来, 将40nm和60nm的银NPs加入到血样中, 使每毫升样品中总粒子浓度约为200,000个。图2显示出检测得到的粒子分布, 表4为连续测定3次的分析结果。从图2可以看出, 样品中40nm粒子数量比60nm粒子多, 除此之外, 测定结果对两种粒子均具有好的准确性和重复性。

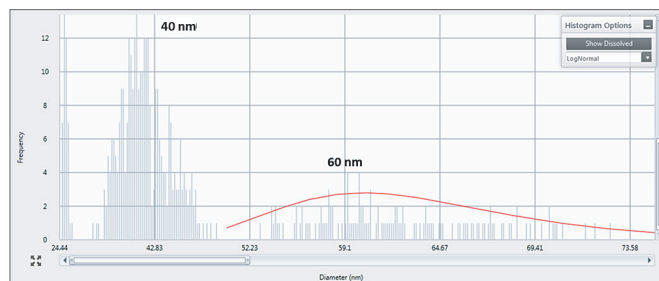


Figure 2. Size distribution of 40 and 60 nm Ag nanoparticles (100,000 particles/mL each) in blood (20x dilution).

Table 4. Analysis of 40 and 60 nm Ag Nanoparticle Mixture in Blood.

Replicate	Nominal Size (nm)	Most Frequent Size (nm)	Mean Size (nm)	Particle Concentration (Particles/mL)
1	40	41	42	100,024
	60	60	63	97,483
2	40	41	42	101,967
	60	61	63	98,957
3	40	41	42	102,263
	60	60	63	99,069

为考察血样中低粒子浓度也可以被检测，将40nm银NPs加入到血样中，使每毫升样品中约含有50,000个粒子，是前面实验浓度的一半。图3为粒子分析结果，同时，表5中数据表明，即使是低浓度的银NPs采用本文方法检测也可以得到好的准确性和重复性。

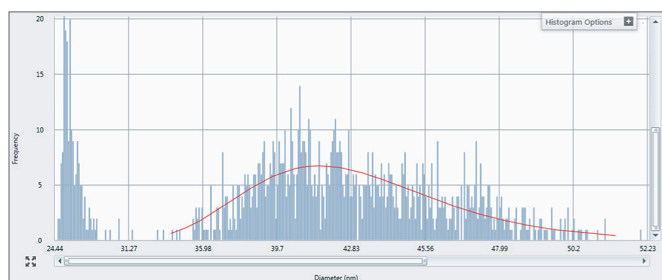


Figure 3. Size distribution of 40 nm Ag nanoparticles in blood, at a concentration of 50,000 particles/mL.

Table 5. Analysis of 40 nm Ag Nanoparticles in Blood at 50,000 Particles/mL.

Replicate	Nominal Size (nm)	Most Frequent Size (nm)	Mean Size (nm)	Particle Concentration (Particles/mL)
1	40	42	43	50,242
2	40	42	43	50,775
3	40	42	43	50,486

本文方法用于科学研究，不适用于医疗诊断。

结论

本文证明SP-ICP-MS具有快速准确的检测和分析血样中金、银纳米粒子，适用于低粒子浓度和多种粒子混合物。这一方法只需要简单的样品制备方法（只需稀释），采用PerkinElmer的NexION 350 ICP-MS和SyngistixNano Application 软件模块，为科研应用提供持续的数据采集、瞬时粒子计数和粒子大小测定。

Reference

- Chen X, Schluesener HJ (2008) Nanosilver: a nanoparticle in medical application. *Toxicol Lett* 176: 1–12.
- Sintubin L, Verstraete W, Boon N (2012) Biologically produced nanosilver: Current state and future perspectives. *Biotechnol Bioeng* 109: 24222–22436.
- Soderstjerna E, Johansson F, Klefbohm B, Johansson UE (2013) Gold- and Silver Nanoparticles Affect the Growth Characteristics of Human Embryonic Neural Precursor Cells. *Plosone* 8-3:58211.

Consumables Used

Component	PerkinElmer Part #
Green/orange peristaltic pump tubing	N0777042
Meinhard™ Type C0.5 glass nebulizer	N8145012
Baffled glass cyclonic spray chamber	N8145014
Quartz ball joint injector, 2.0 mm	WE023948
Quartz torch	N8122006
Nickel sampler cone	W1033612
Nickel skimmer cone	W1026356

珀金埃尔默仪器（上海）有限公司
 地址：上海 张江高科技园区 张衡路1670号
 邮编：201203
 电话：021-60645888
 传真：021-60645999
 www.perkinelmer.com.cn



要获取全球办事处的完整列表，请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2014, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自所有者或所有者的财产。