

ICP - Mass Spectrometry

作者:

Ciprian-Mihai Cirtiu

Normand Fleury

National Public Health Institute of Quebec
(INSPQ), Canada

Chady Stephan

PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT

利用单颗粒-电感耦合等离子体 质谱 (SP-ICP-MS) 研究 生物体液中纳米粒子的去向

简介

纳米技术正在快速增长，据美国纳米技术消费品目录 (Nanotechnology Consumer Products Inventory)，目前市

场上已有超过1600种以纳米材料为基础的消费品。银和金是消费品和生物医学应用中最常用的纳米材料。由于人类可能通过多种来源（消费品、环境和工作场所）和多种方式（呼吸道，胃肠道，皮肤）接触到纳米材料，所以急需生物体液中纳米材料的定性和定量分析方法。

单颗粒-电感耦合等离子体质谱 (sp-icp-ms) 能够定量区分离子和纳米粒子, 能在一次分析中为用户提供离子浓度(微克/毫升)、颗粒物浓度(颗粒/毫升)及粒径和粒径分布等重要测量结果。此外, SP-ICP-MS可以检测低浓度的颗粒(可能存在于生物体液中), 分析速度快(通常是1-2分钟)。凭借如此非凡的分析能力, SP-ICP-MS正成为研究者们研究纳米颗粒在各种样品基质中去向和衍变的不二之选。

前期工作中, 阐述了如何利用SP-ICP-MS检测血液中的金和银纳米粒子。当前工作在前期工作的基础之上, 深入研究了SP-ICP-MS评估生物体液中纳米粒子的去向, 76小时以上跟踪血和尿液中银和金纳米粒子的去向, 包括粒径的变化、离子浓度和纳米粒子的聚集/团聚。

实验部分

仪器

所有样品均由PerkinElmer NexION 300S/350S ICP-MS分析, 由Syngisix软件中的Nano应用模块负责数据采集和自动数据处理, 仪器条件见表1。为获得最大的银和金离子强度, 对操作条件进行了优化。每个样品之间为了清洗并除去所有残留的纳米粒子, 以冲洗液(1%硝酸 + 1% HCl + 0.1%的Triton-X) 冲洗1分钟, 然后用去离子水冲洗去除酸。

Table 1. NexION 300S/350S ICP-MS Parameters.

Parameter	Value
Sample uptake rate	0.44 mL/min
Nebulizer	Quartz concentric
Spray chamber	Quartz cyclonic
RF power	1600 W
Nebulizer gas flow	Optimized for maximum Ag and Au signal
Dwell time	50 μ s
Analysis time	60 sec

材料和样品制备

取一定量的未接触纳米粒子的人的血液, 用0.5%氨水+0.1%曲拉通(Triton-X)稀释20倍, 即得血液处理样品溶液。取一定量的未接触纳米粒子的人的尿样, 用0.5%硝酸稀释20倍, 即得尿样处理样品溶液。

向稀释过的血液和尿样处理样品溶液中加入一定量经过5分钟超声处理的金或银纳米粒子(Ag - 40和80 nm, Ted Pella Inc., Redding, California, USA; Au - 30和60 nm, NIST. 8012, 8013, National Institute for Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA), 加标浓度为250,000 颗粒/毫升。对照样品(空白)以40 nm的Ag和30nm的Au粒子按照相同的程序制备, 但没有基质(尿液或血液)加入。稀释溶液(血液用氨水和尿用硝酸)的选择理由是它们在血液和尿液中的金属和非金属研究分析中经常使用。对样品进行分析之前, 手动摇匀。

溶解离子的校准曲线(从0到5 ppb) 分别用1000 ppm的金标准溶液(VHG Labs, Manchester, New Hampshire, USA)和10000 ppm的银标准溶液(SCP Science, Baie D'Urfé, Quebec, Canada)制备而成。纳米粒子的校准曲线分别由银纳米粒子(40和60nm)和金纳米粒子(30和60nm)制备, 浓度为250,000颗粒/毫升。

结果和讨论

研究Ag和Au纳米粒子的去向, 可以通过对血液和尿液中的纳米粒子粒径的变化, 以及纳米粒子部分或完全溶解所产生的离子态的浓度进行跟踪。通过长期跟踪每个样品中纳米粒子的浓度, 以期找到纳米粒子浓度与粒径的变化和离子形态浓度的相关性。为了验证纳米粒子粒径和浓度的变化是否是由生物基质(尿液或血液)或稀释液所引起, 以相同方法制备了40 nm的银纳米粒子(40 nm的Ag样品空白)和30 nm的金纳米粒子(30 nm的Au样品空白), 但不添加生物基质(尿液或血液)。

如图1所示, 76小时后血液稀释样中40和80 nm的银纳米粒子粒径减小, 在样品空白中也发现了类似的趋势, 但是减小趋势与血液稀释样相比稍微更明显一些。这表明, 纳米粒子粒径的减小主要是由稀释溶液造成而非基质(血液), 血液反而具有一些轻微的防止银纳米粒子溶解的作用。样品空白中发现银离子(Ag⁺)浓度非常轻微的增加。从这些现象出发并虑及将纳米粒子稀释的复杂介质(血), 可以推测, 在某种程度上粒径小的纳米粒子可以溶解, 而离子也可能再次形成粒径更小的纳米粒子。其他现象如纳米粒子在样品管中沉淀或沉积也可能发生, 尤其在缺少血液基质而造成更不稳定状态的样品空白中。

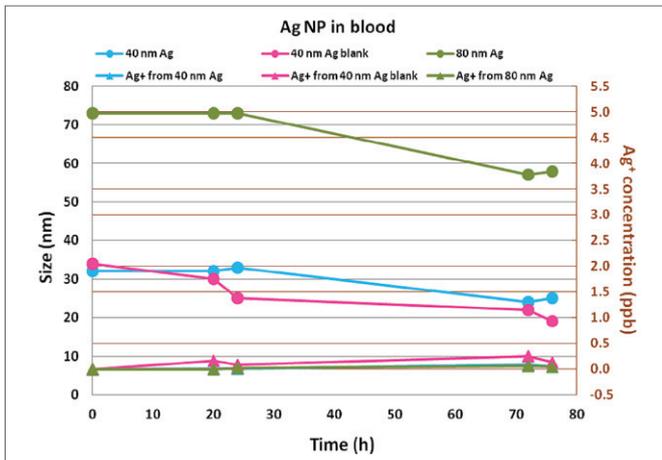


Figure 1. Size change for Ag NPs (40 and 80 nm) and Ag⁺ concentration over time in blood. Ag⁺ from 40 nm Ag appears under Ag⁺ from 80 nm Ag.

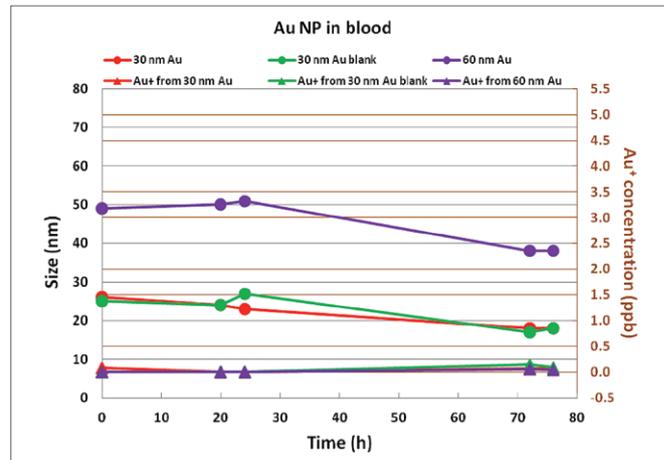


Figure 3. Size change for Au NPs (30 and 60 nm) and Au⁺ concentration over time in blood. Au⁺ from 30 nm Au and Au⁺ from 30 nm Au blank appear under Au⁺ from 60 nm Au.

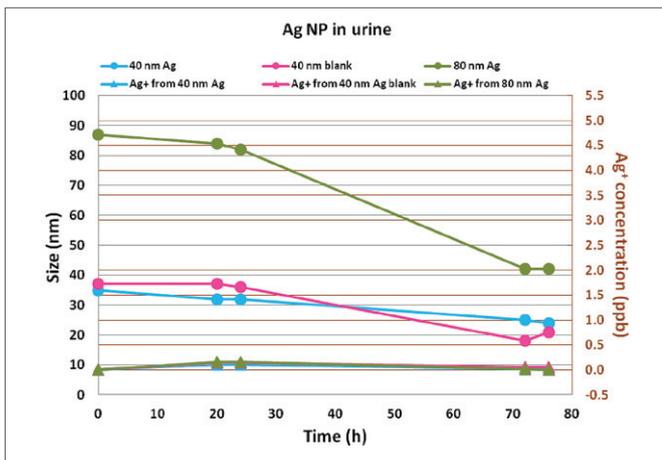


Figure 2. Size change for Ag NPs (40 and 80 nm) and Ag⁺ concentration over time in urine. Ag⁺ from 40 nm Ag and Ag⁺ from 40 nm Ag blank appear under Ag⁺ from 80 nm Ag.

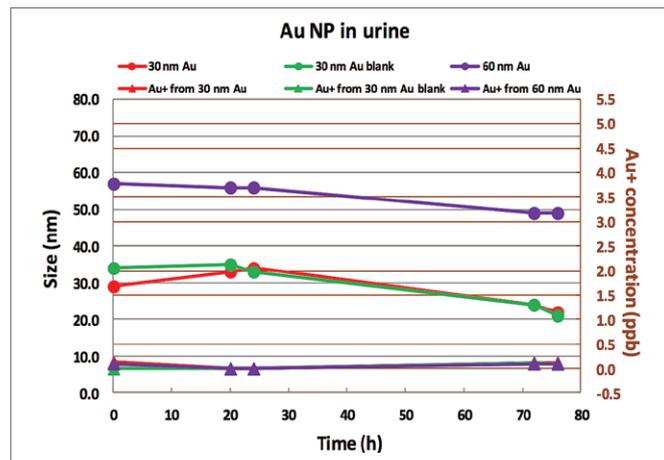


Figure 4. Size change for Au NPs (30 and 60 nm) and Au⁺ concentration over time in urine. Au⁺ from 30 nm Au and Au⁺ from 30 nm Au blank appear under Au⁺ from 60 nm Au.

尿中的银纳米粒子粒径的降低更为明显(图2),特别是80 nm的银纳米粒子。样品空白所受影响似乎稍微大于其他样品,这应该与尿液稀释用的酸性溶液(稀硝酸)所具有的溶出金属元素的能力有关。然而,由于纳米粒子溶解而造成的Ag⁺的增加很低,可以忽略不计。纳米粒子粒径随时间下降的曲线斜率(图1和图2),让我们可以预测在某一基质种纳米粒子的溶解速率。当对比相同纳米粒子曲线的斜率时,例如血液中(图1,斜率: -0.2414, R² = 0.92)和尿中80 nm的银纳米粒子(图2,斜率: -0.6743, R² = 0.96),很显然,纳米粒子在不同基质中溶解速率不同,尿液中的溶解速度是血液中的3倍。

在血液和尿液Au纳米粒子也发现了类似的趋势(图3和图4)。纳米粒子粒径的减小主要是由于稀释溶液,通过在这两种情况下的空白样品可以确认。由于纳米粒子溶解而造成的Au⁺离子的增加也很低,可以忽略不计。再次,当对比相同纳米粒子曲线的斜率时,例如在血液中(图3,斜

率: -0.182, R² = 0.86)和尿液中60 nm的金纳米粒子(图4,斜率: -0.118, R² = 0.97),纳米粒子在不同基质中溶解速率不同,实际上,血液中的溶解速度是尿液中的1.5倍。

结论

生物体液中纳米粒子的去向或衍变对于研究者理解纳米粒子在人体中的行为至关重要。本研究表明SP-ICP-MS有能力评估银和金纳米粒子在血液和尿液中的去向,而从毒理学的角度来看血液和尿液又是两个最重要的体液。通过76小时以上跟踪纳米粒子粒径和离子浓度的变化发现,血液和尿液中纳米粒子粒径都有所减小,而离子浓度变化不一定显著,没有观察到明显的聚集/团聚现象。从样品空白得出的结果来看,纳米粒子粒径的减小是由血液和尿液的稀释溶液引起的,很可能是通过溶解效应。血液和尿液样品的分析需要在稀释完后立即进行,以免纳米粒子发生衍变。

References

1. <http://www.nanotechproject.org/cpi/>
2. M. Ahamed, M.S. AlSalhi, M.K. Siddiqui, Silver nanoparticle applications and human health, *Clin. Chim. Acta* 2010, 411, 1841-1848.
3. L. Dykman, N. Khlebtsov, Gold nanoparticles in biomedical applications: recent advances and perspectives, *Chem. Soc. Rev.* 2012, 41, 2256-2282.
4. Mitrano, D. M.; Ranville, J.; Bednar, A.; Kazor, K.; Hering, A. S.; Higgins, C., Tracking dissolution of silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations in laboratory, natural and processed waters using single particle ICP-MS (spICP-MS) *Environmental Science: Nano* 2014.
5. Mitrano, D. M.; Ranville, J.; Stephan, C., Quantitative Evaluation of Nanoparticle Dissolution Kinetics using Single Particle ICP-MS: A Case Study with Silver Nanoparticles www.perkinelmer.com.
6. Neubauer, K., Stephan, C., Determination of Gold and Silver Nanoparticles in Blood Using Single Particle ICP-MS www.perkinelmer.com.

珀金埃尔默企业管理（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持有者或所有者的财产。