应　　用　　文　　章

ICP - Mass Spectrometry

作者:

Evan Gray

Christopher P. Higgins

Department of Civil and Environmental Engineering

James F. Ranville

Department of Chemistry and Geochemistry

Colorado School of Mines, Golden, CO USA

# 运用单颗粒ICP-MS进行生物组织中纳米材料分析

## 简介

随着工程纳米材料 (ENMs) 产量和使用量迅速增加，它们向环境中释放了潜在的危害[1,2]，这些材料很可能通过食品的生产和包装以及废物的处理等进入到环境系统中. ENPs分析的重点是三个指标: 纳米粒子大小，纳米粒子数量和纳米粒子质量分析。这些指标是评估环境非常重要的指标，相关的一些危害，这些指标是非常重要的环境影响评估,并最终与这些材料的使用相关的风险在消费产品。目前，在生物组织中建立大规模的分析测试相对较少，很少有完整的检测方法和表征纳米材料开发,特别是粒子数量和大小分布[4]。

PerkinElmer®
For the Better

分析技术采用最先进的单颗粒电感耦合等离子体质谱法(SP-ICP-MS)，提供了在环境相关领域一种分析方法可直接量化粒子大小、质量和数量分布浓度(ng / L)。此方法是首次将三种指标在同一次测量时一次性完成。这种技术已被证明在废水、EPA中等水质和组织消化等领域有许多实用程序的成功的典型示例[5~8]。

用SP-ICP-MS分析ENPs水系样品中组成的分析是十分便捷的，样品处理只需稀释即可。然而,分析生物组织中的ENPs是更加困难,需要分析前进行消化处理。

传统消化过程是使用强酸溶解释放出组织所需的元素。然而,这种类型的消化方式与ENP分析不相容,ENPs提取物可能会溶解。相反,另一种方法是使用强碱或酶类来消化组织,理想情况下不会改变ENPs。医学界最初开发这些非传统的抽取,分析人工关节磨损颗粒分析。这些提取已经应用于分析ENPs的一次尝试。一种ENP的提取方法是使用氢氧化四甲铵 (TMAH)进行化学消化。一种ENP的提取方法是使用氢氧化四甲氨 (TMAH) 进行化学消化。TMAH提取方法在粒子数量和总质量方面比组织消化使用声波超声法的回收率高,是一种很先进的技术在生物样品纳米材料分析方面。此实验是利用此提取方法并使用珀金埃尔默SP-ICP-MS NexION® 350Q进行分析。

## 实验

### 材料

柠檬酸缓冲溶液 (60到70nm) 悬浮银纳米材料标准采购于NanoComposix (San Diego, CA). 绞碎的牛肉从当地超市购买(Golden, CO)作为哺乳动物的组织。Lumbriculus variegatus(水生物种蠕虫)从水产食品购买(Fresno, CA) 作为环境和毒物学地相关的组织，在SP-ICP-MS分析前所有的纳米材料的提取稀释需要用NanoPure™(NP)净化(水或消化组织)

### 仪器

所有的样品分析需要使用一台NexION 350Q ICP-MS (珀金埃尔默, Shelton, CT).ICP-MS的参数列于表1,Ag采用m/z107，所有的的数据重复采集三次，虽然原始数据显示的是一次测量的值，但颗粒大小分布是三次测量的一个综合值。

### 样品制备

组织进行了消化使用Gray et al . 2013描述的方法[5]。简单来说,有机碱(TMAH)被用来消化组织和释放ENPs从组织中，和溶剂的比例大约20:1。消化TMAH溶液20% TMAH w / w。这个浓度是选择使用模型基于回收率优化来进行测试哺乳动物组织。样品消解时为24小时在室温下进行,所有样品第一个小时进行超声处理。在分析之前TMAH消化组织被稀释到1%。TMAH浓度是维持不变如果需要进一步稀释。

| 参数 | 参数 |
|---|---|
| SP-ICP-MS 仪器 | PerkinElmer NexION 350Q ICP-MS |
| 射频功率 | 1600 W |
| 雾化器 雾室<br>流速 | Meinhard, Cyclonic, 1 mL/min |
| 校准类型 | Particle Size Method |
| 检测质量数 | $^{107}$Ag, $^{197}$Au |
| 延迟时间 | 50 µs |
| 样品读数时间 | 60 sec |

生物体内富集的实验(70nmAg ENPs)使用l . variegatus进行。在EPA适度硬质水浓度5 mg / L。净化时间是24小时 ，使用硅砂每个烧杯中它被用来提供足够的基质的蠕虫。实验是在一个保温箱中进行温度维持在20° C，明暗比为16:8。关于风险,所有的虫子都净化内脏相关分析允许ENPs前24小时被清除。

## 结果和讨论

### 组织回收率

回收实验表明,TMAH成功分解所有的模型前哺乳动物组织分析。图1显示了生成的原始数据为Ag ENP标准相比,水(A)运行相同的加入标准的Ag粒子和从组织中提取(B)。这两个数据清楚地表明同类之间观察到的粒子数量,他们的平均强度,和背景计数意味着(代表溶解Ag)，所观察到的检测脉冲间的相似性在预期之中,因为每个样本中掺入一模一样质量浓度(和粒子数浓度)ENP。此外,TMAH消化不影响粒子通过聚合稳定性和粒子沉降(脉冲)的损失，最后,水基和和提取的组织之间的银色背景信号没有增加标，这表明提取过程没有造成任何ENP损失相比,水的标准。有可能是类似的溶解可能发生在标准和TMAH消化阶段。然而,这并没有被观察到在水粒子标准[12]。

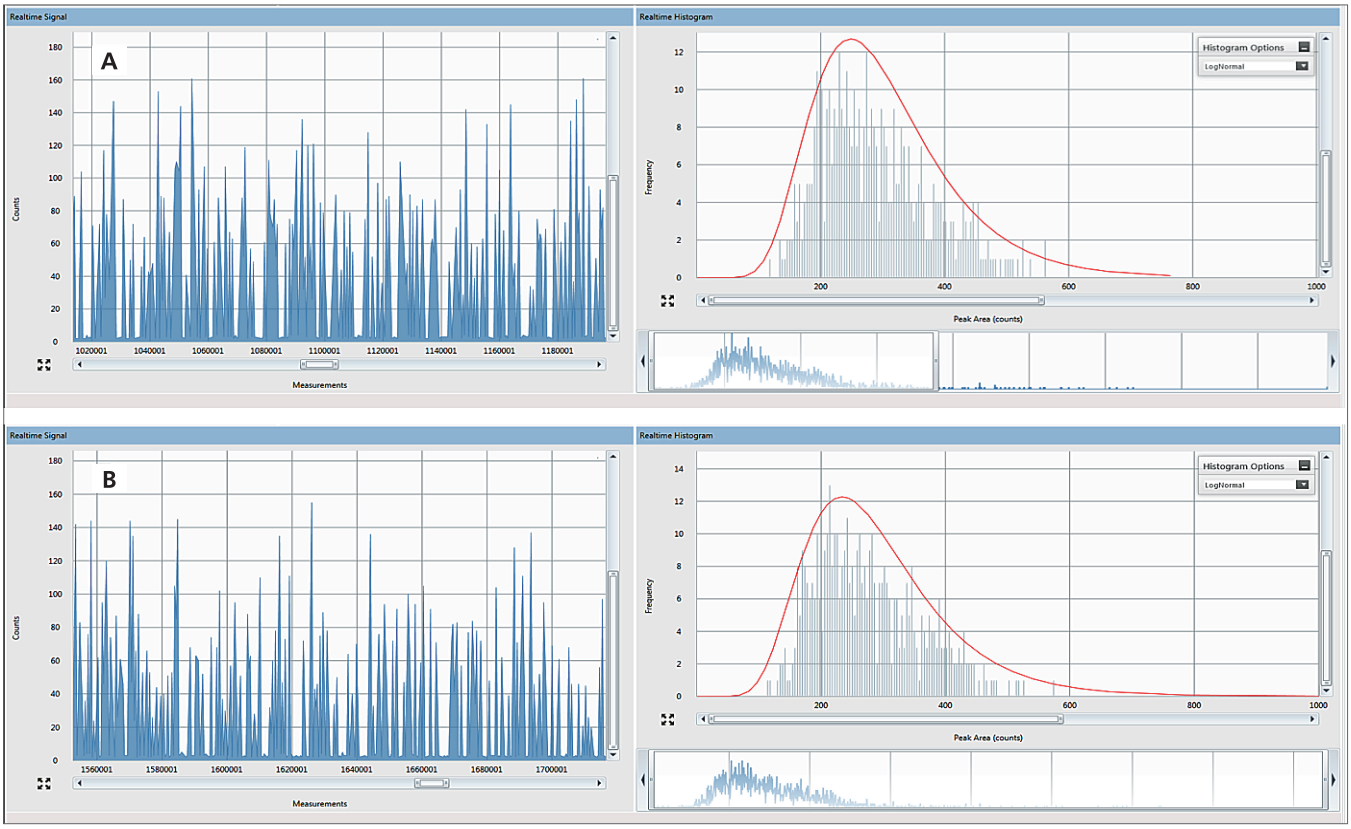


*表1.*Raw counts for 60 nm Ag ENPs spiked into (A) nanopure water and (B) ground beef at an aqueous concentration of 19 µg/L and a tissue concentration of 19 µg/kg w/w tissue.

## 生物样品提取

使用TMAH 法提取L. variegatus是非常容易的，结合SP-ICP-MS对于生物组织的分析，Ag ENPs被发现在L. variegatus净化处理24小时后,证明该技术可以应用于释放和分析生组织中ENPs。观察到的脉冲在图2中,上面可以清楚的观察到一个非常低的Ag+背景。观察到脉冲在图2中被转换为一个粒度分布(图2 b),显示峰值模式55纳米，观察到的大小分布直径略小于制造商公布值。然而,这种大小分布更接近是使用TEM透射电子显微镜分析值(数据未显示)。检测到组织所有的ENPs Ag浓度7.1微克每千克。

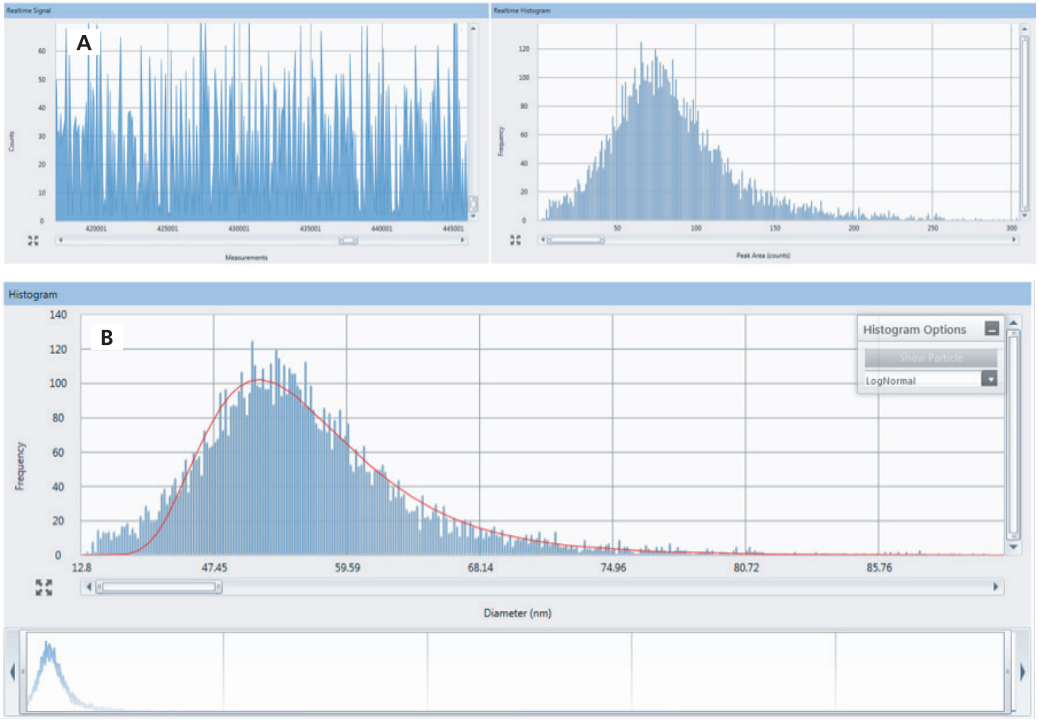


*Figure 2.* Raw counts (A) and size distribution (B) for ENPs that were acummulated by the aquatic worm, L. variegatus. Organism exposure was conducted at 5 µg/L as ENP of 70 nm Ag.

## 结论

这项工作表明,ENPs可以使用SP-ICP-MS从生物组织中提取和分析。此外,这种方法为最有效的分析低含量的ENPs生物组织。与水系提取相比比起来，使用氢氧化四甲铵(TMAH)进行化学消化哺乳动物组织提取过程60 纳米Ag ENP没有明显的损失，也成功提取了L . variegatus 5微克每升 Ag ENPs ，这些实验证明SP-ICP-MS可以用来成功测量从生物组织里ENPs利用TMAH提取方式，ENP可以最终被转换成大小分布,尺寸分布,数量,和质量分布使用这种分析技术。这种消化技术的适用于除了这些组织模型,可以用于研究任何新的生物组织样本。

## 参考文献


1. Klaine, S. J.; Alvarez, P. J. J.; Batley, G. E.; Fernandes, T. F.; Handy, R. D.; Lyon, D. Y.; Mahendra, S.; McLaughlin, M. J.; Lead, J. R. Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 2008, 27, 1825–1851.
2. Nowack, B.; Bucheli, T. D. Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environ. Pollut.* 2007, 150, 5–22.
3. Bednar, A. J.; Poda, A. R.; Mitrano, D. M.; Kennedy, A. J.; Gray, E. P.; Ranville, J. F.; Hayes, C. A.; Crocker, F. H.; Steevens, J. A. Comparison of on-line detectors for field flow fractionation analysis of nanomaterials. *Talanta*. 2013, 104, 140–148, DOI: 10.1016/j.talanta. 2012.11.008.
4. Handy, R. D.; Cornelis, G.; Fernandes, T.; Tsyusko, O.; Decho, A.; Sabo-Attwood, T.; Metcalfe, C.; Steevens, J. A.; Klaine, S. J.; Koelmans, A. A.; et al. Ecotoxicity test methods for engineered nanomaterials: Practical experiences and recommendations from the bench. *Environ. Toxicol. Chem.* 2012, 31, 15–31.
5. Gray, E. P.; Coleman, J. G.; Bednar, A. J.; Kennedy, A. J.; Ranville, J. F.; Higgins, C. P. Extraction and Analysis of Silver and Gold Nanoparticles from Biological Tissues Using Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47, 14315–14323.
6. Loeschner, K.; Brabrand, M.; Sloth, J.; Larsen, E. Use of alkaline or enzymatic sample pretreatment prior to characterization of gold nanoparticles in animal tissue by single-particle ICPMS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2013, 1–7.
7. Loeschner, K.; Navratilova, J.; Kobler, C.; Molhave, K.; Wagner, S.; Kammer, F.; Larsen, E. Detection and characterization of silver nanoparticles in chicken meat by asymmetric flow field flow fractionation with detection by conventional or single particle ICP-MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 2013, 1–11.
8. Schmidt, B.; Loeschner, K.; Hadrup, N.; Mortensen, A.; Sloth, J. J.; Koch, C. B.; Larsen, E. H. Quantitative Characterization of Gold Nanoparticles by Field-Flow Fractionation Coupled Online with Light Scattering Detection and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2011, 83, 2461–2468.
9. Campbell, P.; Ma, S.; Schmalzried, T.; Amstutz, H. C. Tissue Digestion For Wear Debris Particle Isolation. J. *Biomed. Mater. Res.* 1994, 28, 523–526.
10. Baxter, R. M.; Steinbeck, M. J.; Tipper, J. L.; Parvizi, J.; Marcolongo, M.; Kurtz, S. M. Comparison of Periprosthetic Tissue Digestion Methods for Ultra-High Molecular Weight Polyethylene Wear Debris Extraction. *J. Biomed. Mater. Res. Part B-Appl. Biomater.* 2009, 91B, 409–418.
11. Pace, H. E.; Rogers, N. J.; Jarolimek, C.; Coleman, V. A.; Higgins, C. P.; Ranville, J. F. Determining Transport Efficiency for the Purpose of Counting and Sizing Nanoparticles via Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2011, 83, 9361–9369.
12. Mitrano, D. M.; Ranville, J. F.; Bednar, A.; Kazor, K.; Heringd, A. S.; and Higgins, C. P. Tracking dissolution of silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations in laboratory, natural, and processed waters using single particle ICP-MS (spICP-MS). *Environ. Sci.: Nano,* 2014, 1, 248-259.



**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


PerkinElmer®


**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。



011803_CHN_01