

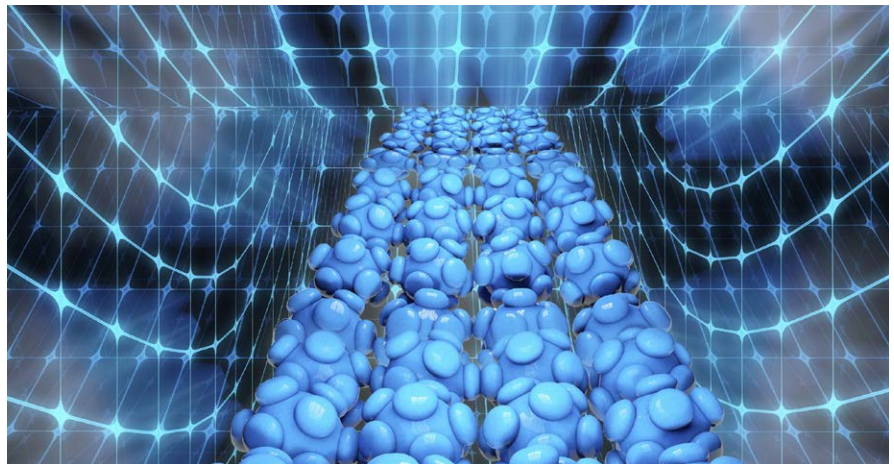
使用 ICP-MS 表征水样中的纳米颗粒

白皮书

作者

Steve Wilbur、
Michiko Yamanaka 和
Sebastien Sannac

安捷伦科技公司



摘要

ICP-MS 已经成为检测和表征溶液中纳米颗粒的首选技术。与其他技术相比，ICP-MS 的独特之处在于它能够在一次快速分析中提供有关纳米颗粒大小、粒度分布、元素组成以及数量浓度的信息。此外，只有 ICP-MS 才能同步测定样品中溶解态分析物的浓度。

ICP-MS 可在两种不同模式下使用：在单颗粒模式下表征单个颗粒，或者与场流分离或毛细管电泳等分离技术联用以表征大批量样品。这两种技术各有优劣，但是配合使用时却能优势互补。



Agilent Technologies

前言

纳米颗粒属于微观颗粒，既可以天然存在，也可以人工制造（工程制造），其尺寸范围为 10^{-9} m 至 10^{-7} m，形状任意 (IUPAC)。工程制造的纳米颗粒在提高半导体材料到食品、药品、化妆品以及消费品等各类产品的性能或性质方面的使用正在迅速增加。由于这些材料具有新颖的物理和化学特性，其环境宿命和毒理学性质的许多细节都依然未知。因此，亟需一种快速、准确且灵敏的技术，用于表征和定量各种类型样品中的纳米颗粒。ICP-MS 最近实现的一些针对特定应用的硬件和软件增强功能表明它能够满足这些要求。

ICP-MS 在检测、表征和定量分析纳米颗粒方面的主要优势体现在它的高灵敏度和特异性，与动态光散射检测等其他技术相比，ICP-MS 可提供更多信息。此外，与扫描电镜或透射电子显微镜 (SEM、TEM)、原子力显微镜 (AFM) 等技术或差速离心等分离技术相比，ICP-MS 分析速度更快，而且几乎不需要样品前处理 [1]。

但是，ICP-MS 分析纳米颗粒本身也存在一些特有挑战。使用 ICP-MS 检测表征纳米颗粒可通过两种不同的方法来实现，每种方法均有自身的优势和挑战。

表 1. 单颗粒 ICP-MS 与联用 ICP-MS 进行纳米颗粒表征的优缺点对比，改编自 Heithmar, 2011 [2]

单颗粒 ICP-MS	联用 ICP-MS
测定颗粒数量浓度 (颗粒/mL)、单个颗粒中金属的质量以及粒度分布	以粒度级别作图, 测定总金属浓度
不提供关于颗粒形状或直径的直接信息	最小粒径不受 ICP-MS 灵敏度的限制
最小粒径受 ICP-MS 灵敏度、背景以及溶解态 (离子) 元素含量的限制	不提供关于颗粒数量或单个颗粒特征的直接信息

单颗粒 ICP-MS

使用 ICP-MS 直接测定和定量分析由引入到等离子体中的单颗粒原子化及离子化产生的信号

它通常被称为“单颗粒模式”。从理论上说，单颗粒模式非常简单。悬浮在雾化液滴中的颗粒（包含在气溶胶液滴中）被导入等离子体中。液滴会依次被脱溶，其内容物会被原子化和离子化，从而生成离子羽流，在进入质谱仪后，可通过荷质比 (m/z) 进行分离，并使用时间分辨分析 (TRA) 采集对其进行检测 (图 1)。如果根据溶液中纳米颗粒的数量对样品进行了充分稀释，那么一次不会有一个以上的颗粒进入到等离子体中。得到的离子羽流被以离散信号脉冲形式测定，信号强度与原始颗粒中所选分析物元素的质量成正比。如果已知颗粒中元素成分的质量和密度，以及基于离子校准标样的元素响应因子，则可以计算出颗粒的理论大小（按球体计算）。此外，如果已知从雾化器到等离子体的传输效率，则可以计算出颗粒的数量浓度 [3]。

但是，还需做出几个其他假设：

- 截至目前的数据分析功能仍需假设颗粒形状为球体
- 颗粒为实心而非空心
- 总元素组成已知或可测得
- 整个颗粒的元素组分分布均匀，即颗粒并非分层结构
- 元素测定不受干扰

- 颗粒在等离子体中得到了充分、一致的原子化和离子化，且不受基质效应影响（其离子化效率与离子校准标样溶液和参比物质的离子化效率相匹配）
- 可准确测定雾化效率，并且雾化效率在参比物质和样品之间保持不变

有些假设虽然有其已知的局限性，但人们通常也可以接受，例如颗粒为球体的假设。对于许多类型的颗粒而言，这种假设通常与事实基本相符。而对于非球体的颗粒（管状、针状、星形等等），了解颗粒的质量和体积仍然非常有用，并且人们明白计算所得的球体体积等效直径只是一种假设。当颗粒形状未知时，可采用辅助技术（电子显微镜或其他方法）验证颗粒形状。

尽管不能对所有假设进行验证，但是我们可以通过缜密的技术和 ICP-MS 仪器的选择和优化应对并最大限度减小或消除一些假设。可控的假设包括：

- 通过使用氦气碰撞模式，大部分元素可以不受干扰。这一方法对大部分多原子干扰来说是通用的，因此可广泛用于测定含多种金属的纳米颗粒。但是，测定多个元素会延长数据采集时间并引入质量跳跃稳定时间，从而减少单纳米颗粒事件所能用到的扫描次数。某些常出现在工程制造纳米颗粒中的元素（例如硅和钛）会受到强烈的多原子干扰，而这些干扰是常规四极杆 ICP-MS 仪器无法完全消除的。在这种情况下，应当使用串联四极杆 ICP-MS 的 MS/MS 功能
- 充分一致的原子化和离子化需要高温和高度稳定的等离子体条件。可通过监测等离子体中难熔氧化物的解离（以 CeO^+/Ce^+ 的比值形式测定）轻松测定等离子体的稳定性。 CeO^+/Ce^+ 为 1% 甚至更低可以证实等离子体的高度稳定性

将初始的分离技术 FFF（通常是不对称场流分离 (AF4)，如图 2 所示）或毛细管电泳 (CE) 与单颗粒模式检测相结合，有可能在一次分析中得到更多信息。

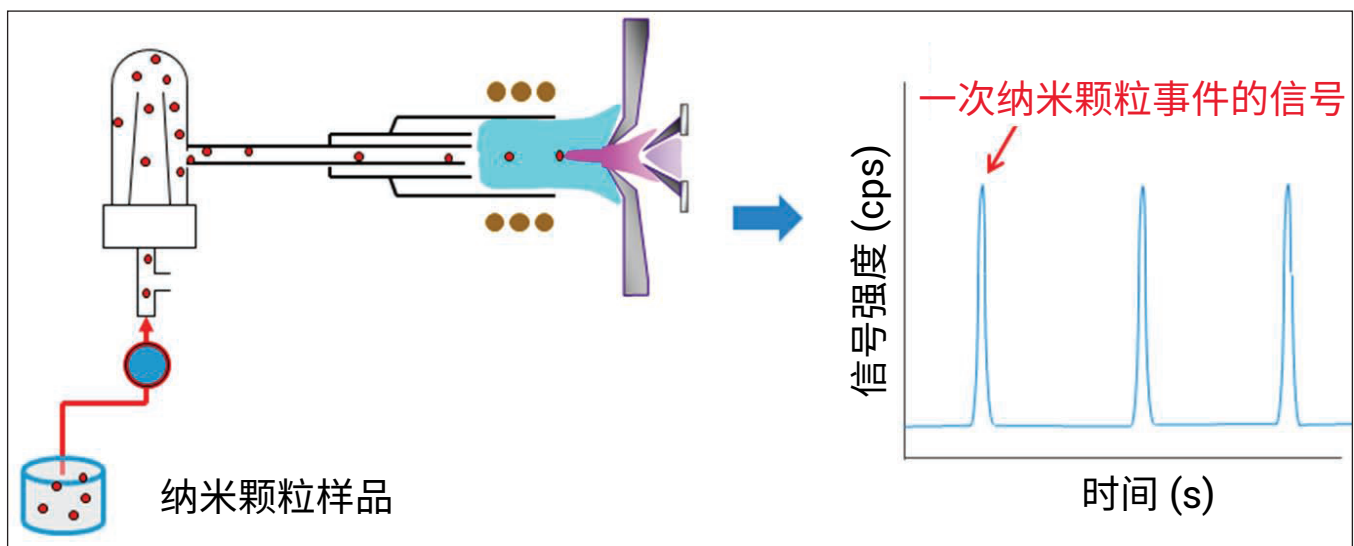


图 1. 颗粒从样品传输到 ICP-MS 接口并通过质谱仪生成时间分辨信号的示意图

联用 ICP-MS

将联用系统的 ICP-MS 用作在线分离步骤后的高灵敏元素特异性检测器

由于场流分离非常适合纳米颗粒的质量和大小范围，因此常用作分离步骤。场流分离 (FFF) 是一种正在发展的在线分离技术，它能够根据大小、化学组成或密度来分离大分子、胶质、纳米颗粒和微粒，并且在几纳米到几微米的范围内均可提供出色的分离度。FFF 可以克服其他分离技术的诸多限制，包括降解、过滤、分离度降低或不必要的吸附。FFF 的原理由 Calvin Giddings 于 1966 年提出。在 FFF 中，通过在空通道中施加一个与样品流垂直的外部分离场来进行分离。不同大小的颗粒以不同的速度逆着这个场进行扩散（最小的颗粒

速度最快），从而在不同流层中实现颗粒的分离（图 2）。层流溶液流的抛物线表明不同的层以不同速度移动，因此，分析物分子或颗粒会依次流出（最小的先流出）。由于 FFF 技术无需使用固定相便能在空通道中表征样品，因此可以消除使用其他技术时与固定相有关的偏差 [4]。

最近，人们将毛细管电泳 (CE) 与 ICP-MS 联用，对膳食补充剂以及其他复杂基质中的各种极小的金属纳米颗粒进行分离，获得了出色的分离度 [5,6]。与 FFF 相比，CE-ICP-MS 的潜在优势表现在：运行时间更短、分离度更高、样品量要求更小。

人们希望能够对上述以及其他联用分离技术做出改进，从而减少现有系统的某些局限。

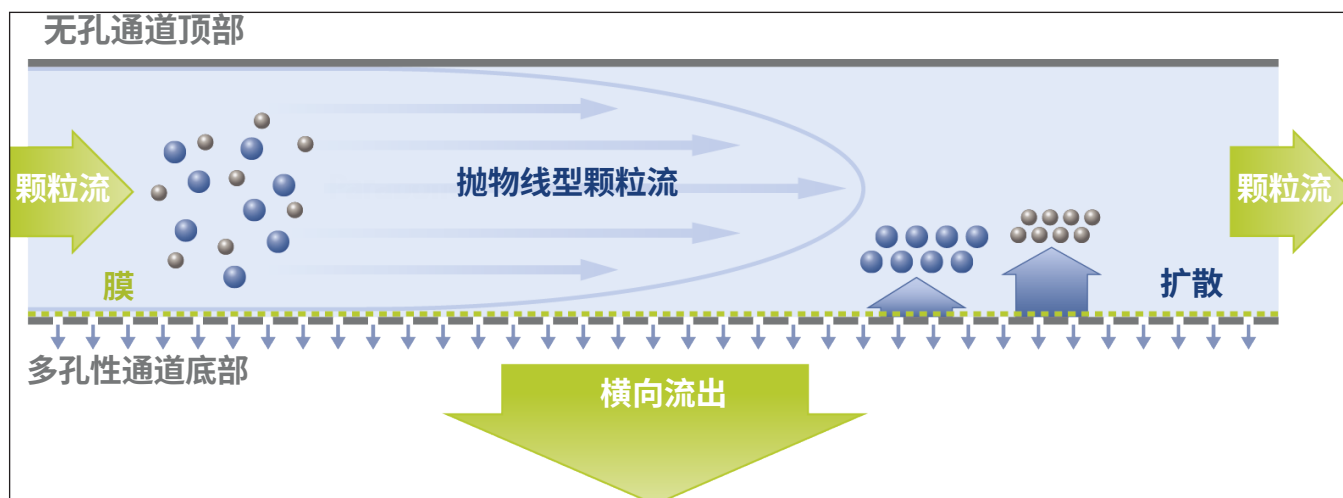


图 2. 场流分离通道示意图 (图由 PostNova Analytics 提供)

最小可测颗粒直径（单颗粒模式）

在这些假设的局限性中，可通过单颗粒 ICP-MS 测定的最小颗粒直径受到信号背景比的严格限制。在使用单颗粒分析的情况下，背景由仪器噪音、光谱干扰以及独特的溶解态离子浓度组成。例如，根据基质组成和样品前处理的不同，银纳米颗粒可能部分溶解于基质中，从而使溶液同时含有溶解态和颗粒态的银（图 3）。因此，在测定颗粒质量之前必须先补偿各种原位质量背景。另外，为了充分了解所研究系统中纳米颗粒的动态，通常需定量分析样品中溶解态离子金属的浓度。

在完全由一种元素（例如银或金）组成的球状纳米颗粒这种简单情况下，颗粒的体积 (v) 等于经背景校正的离子羽流的总质量除以元素密度的值。总质量的测量受仪器灵敏度的限制。当积分时间极短时，这一点更为关键。

由于球体的体积等于 $4/3 \pi r^3$ ，而颗粒体积可通过 ICP-MS 提供的颗粒质量 m_p 除以密度 ρ 计算得出，因此球体体积等效直径 d 可通过以下公式得出：

$$d = \sqrt[3]{\frac{6 \cdot m_p}{\pi \cdot \rho}}$$

由于球体的体积（质量）与其直径的立方正相关，如果颗粒直径减半（例如，从 60 nm 减少到 30 nm），质量会降低 8 倍，继而信号也会降低。15 nm 颗粒的信号仅为 60 nm 颗粒的 1/64。信号随粒径的减小而快速降低是单颗粒模式分析小纳米颗粒 ($< 10 \mu\text{m}$) 的主要障碍，尤其是在积分时间极短或高背景情况下更是如此。对此类分析来说，最高灵敏度和最低背景至关重要。

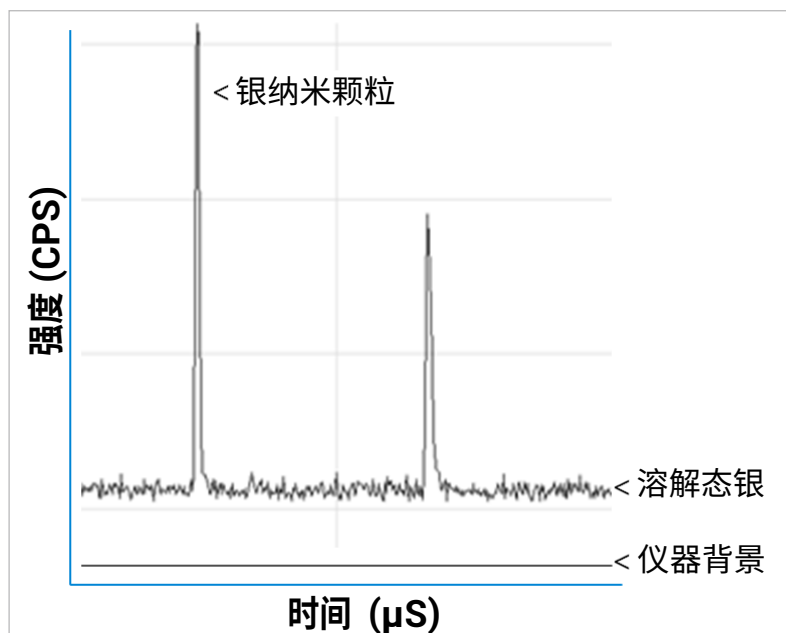


图 3. 两次银纳米颗粒事件的信号放大图。计算纳米颗粒质量之前必须扣除由溶解态银造成的颗粒之间的基线

积分（驻留）时间的影响

有几位作者的研究表明，减少积分时间可检测更小的颗粒，因为在驻留期间总背景计数成比例下降时，来自颗粒羽流的信号并不会降低 [2,8]。因此可获得更高的信噪比。但是，只有在单次驻留期间出现完整的离子羽流时，才会有这种结果。如果驻留时间比羽流持续时间（通常在 $500\ \mu\text{s}$ 左右）短，分析物信号也会随驻留时间的缩短而降低。此外，有时在积分时间极短（短至 $10\ \mu\text{s}$ ）的情况下，计数统计会使测定误差明显增大。例如，驻留时间为 $10\ \mu\text{s}$ 时，0 次计数和 1 次计数之间的差别等于 $100000\ \text{cps}$ 。鉴于上述原因，通过使用最高灵敏度（信噪比）和合适的积分时间来维持统计有效性计数率则非常重要。

另外，如果对多个驻留期间的总信号进行积分时采用了比颗粒羽流持续时间更短的驻留时间，则粒径会出现负偏差，尤其对小颗粒而言更是如此。这是因为在高斯分布的两端无法检测较小的信号（图 6）。一般情况下，最佳积分时间应介于 $100\ \mu\text{s}$ 和 $10\ \text{ms}$ 之间 [7,8]。除了背景信号增加外，驻留时间太长（比羽流持续时间长）的最大局限为可能会在单次驻留期内对多个颗粒进行计数（图 4 和图 5）。因此会产生粒径分布正偏差，以及颗粒数量浓度负偏差。由于这个原因，通过合适的样品流速和/或稀释来控制单位时间进入等离子体中的颗粒数量非常重要。理想情况下，在 10 次驻留期中，应该有 1 次包含一个单颗粒，其余驻留期则可用于准确测定背景信号。对于 $60\ \text{nm Au}$ 颗粒来说，在颗粒浓度为 $250000\ \text{颗粒/mL}$ ，流速为 $300\ \mu\text{L/min}$ ，积分时间为 $50\ \mu\text{s}$ 至 $1\ \text{ms}$ 时，可以得到准确、一致的粒径计算结果 [8]。

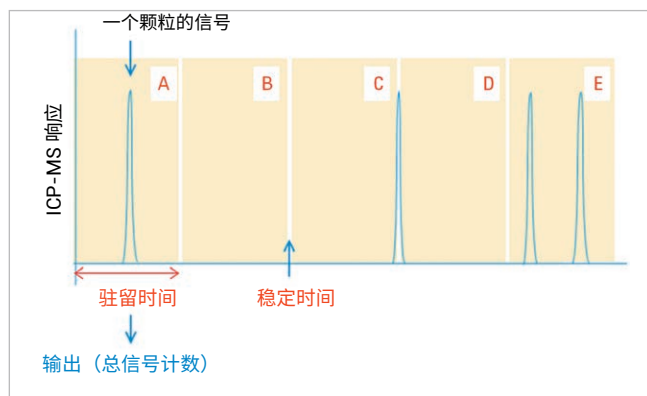


图 4. 驻留时间比颗粒羽流持续时间长得多。A - 理想情况，在积分信号时间内捕获整个单颗粒。B - 可接受，在此驻留时间内未出现颗粒。C - 必须避免，颗粒被分到了两个驻留时间中。E - 必须避免，在单次驻留时间中出现两个颗粒会导致单颗粒的信号倍增

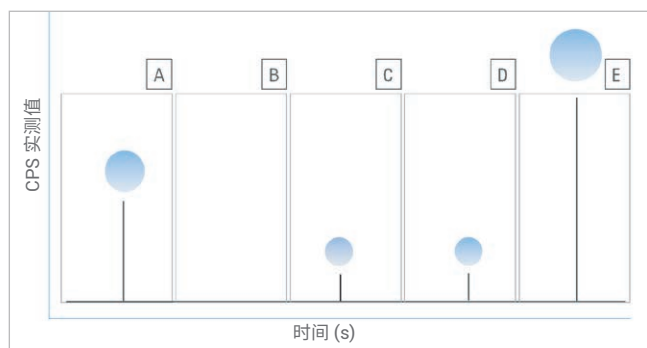


图 5. 图 4 示例生成的质谱图（每个驻留时间的积分信号）以及近似粒径

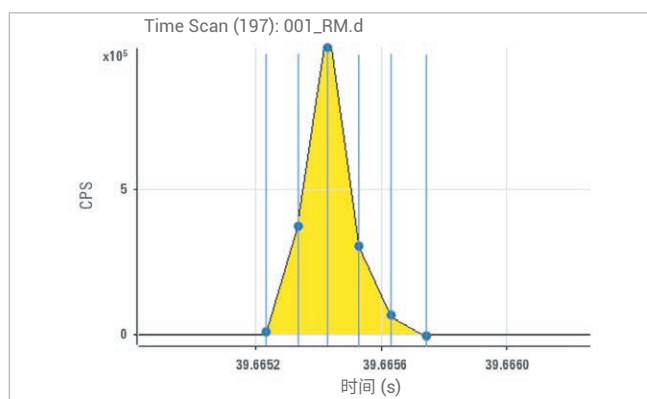


图 6. 采用快速时间分辨分析 (TRA) 模式（驻留时间为 $100\ \mu\text{s}$ ，无稳定时间）时获得的单纳米颗粒事件。阴影区域代表五次驻留期间的总离子计数之和。在不太理想的条件下，最右侧驻留期中的小区域可能会湮没在基线噪音中

单颗粒数据分析的特殊要求

单颗粒数据分析面临着一些挑战。首先，由于通常使用的积分时间极短（50 至 100 μs ），因此会生成大量数据点。当驻留时间为 100 μs 时，每秒会生成 10000 个数据点（每个质量数的时间和强度）。以较高的速度管理和处理这类大型数据文件至关重要。早期的研究人员通常会将数据保存为 CSV 格式以导出到 Microsoft Excel 中进行处理。但是，Microsoft Excel 支持的最大行数有限，限制了能处理的数据文件大小。最近，MassHunter 软件中集成的专业数据分析软件突破了文件大小的限制，可以根据需要实现更高频率的采集，并延长分析时间。

无论在 Microsoft Excel 中还是在集成的仪器软件中进行单纳米颗粒数据分析，都需要按相同步骤执行：

1. 采集数据并将其存储到 TRA 数据文件中，每个数据点代表积分期间所监测质量的实测强度。以强度 (CPS) 对时间作图，TRA 原始数据如图 7a 所示

2. 通过评估纳米颗粒峰之间的信号来测定背景平均值，并将其从原始数据中扣除。采用这种方法，每个纳米颗粒产生的总信号仅与颗粒相关，而与任何溶解态金属或仪器背景信号无关
3. 如果驻留时间比颗粒事件持续时间短，则对颗粒峰内每个驻留期的信号进行积分，从而得到颗粒的总信号
4. 通过对比参比物质的实测颗粒数量与已知颗粒数量可计算出雾化效率。雾化效率也可以通过粒径已知的标准物质计算得出
5. 根据响应对经背景校正后的积分数据进行分类，绘制的图形如图 7b 所示。由于每个积分信号的强度与颗粒质量成正比，因此可以直观地看出粒径的相对分布
6. 根据校正了雾化效率的所测颗粒数量计算出颗粒总数
7. 使用经校正的响应、离子校准标样测得的测定元素的元素响应因子以及测定元素的密度，将响应分布转换为粒度分布图。采用了球体颗粒形状和元素均匀性的假设（图 7c）

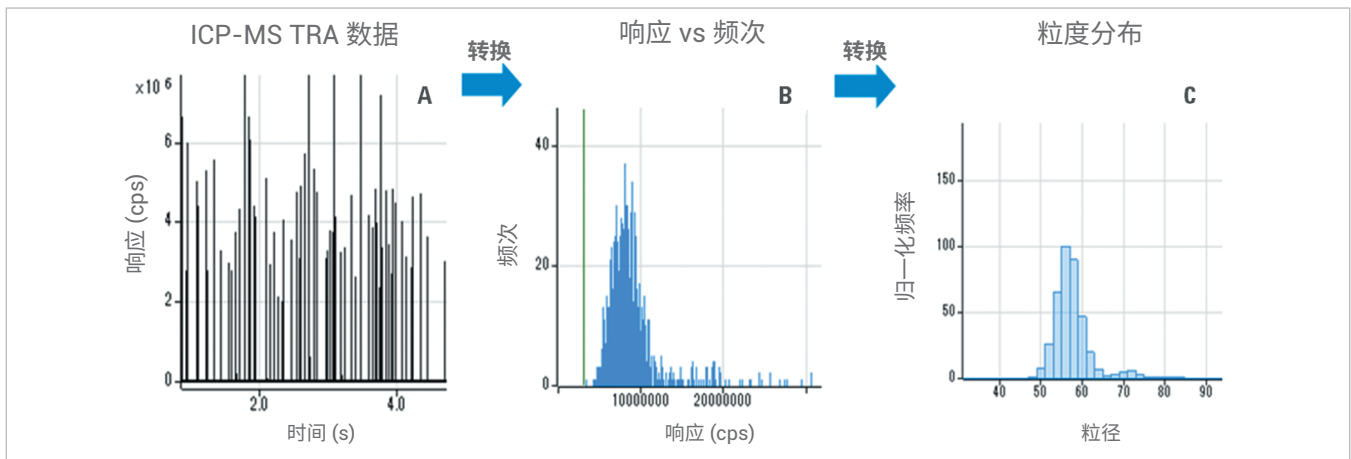


图 7. A. TRA CPS 数据，B. 每个驻留时间按响应分类的 TRA 数据（扣除背景后），C. 计算所得的相似大小颗粒群的粒度分布

MassHunter 单颗粒分析模块的最终报告如图 8 所示。所有标样、参比物质以及样品的表格化结果均以所有 MassHunter 数据分析模块常用的简单易读、交互式“Batch at a Glance”（批处理数据概览）格式表示。通过从表格中选择样品可以查看单个样品的图形化详细结果。此外还提供功能强大的手动数据优化和验证工具，以确保最终能够打印或存档最佳分析结果。

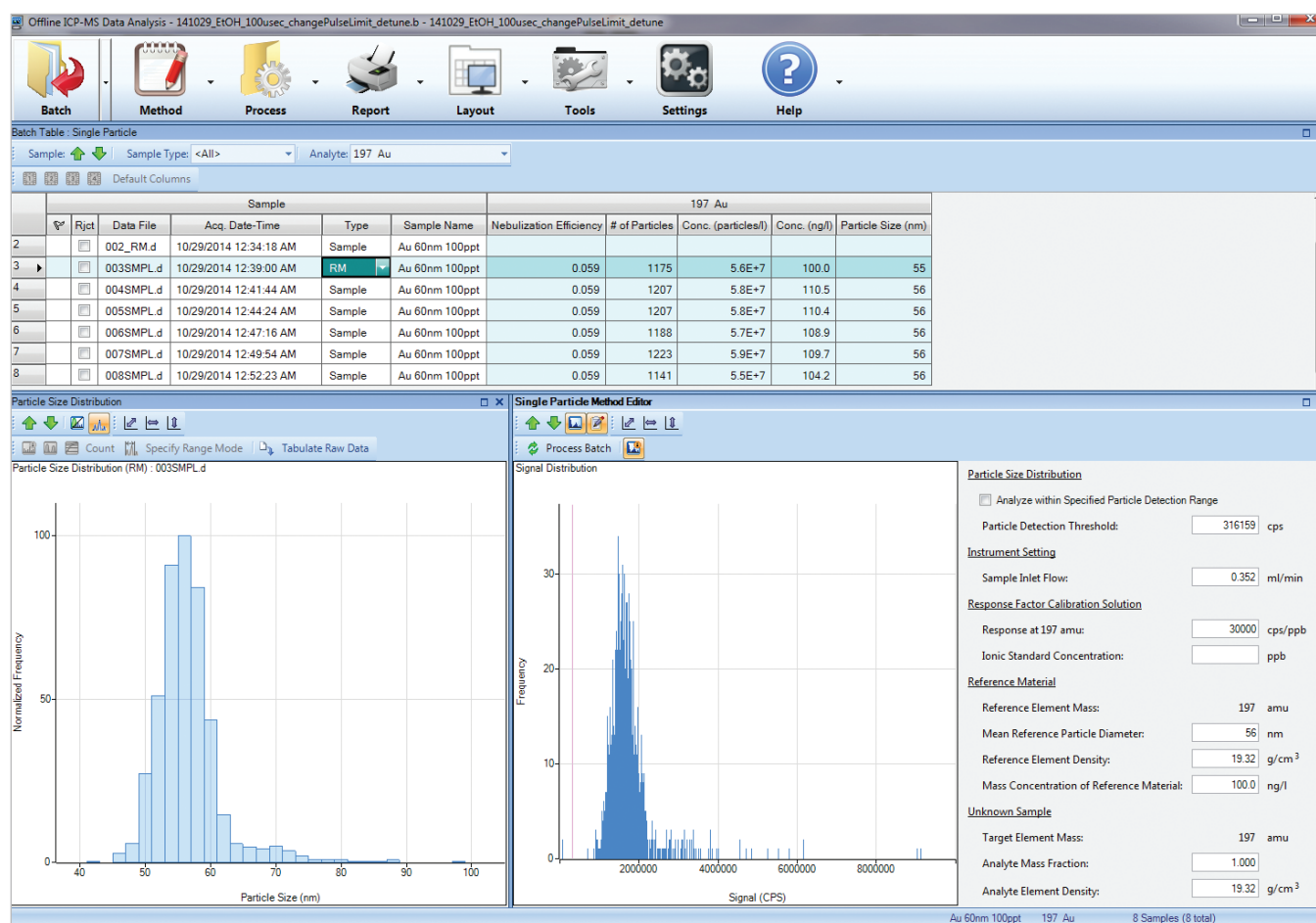


图 8. Agilent MassHunter 单纳米颗粒分析模块的数据视图。所有样品的表格化结果如屏幕上方的批处理数据概览表所示。所选样品（表中突出显示部分）图形化结果显示在下方，其中包括颗粒粒度分布、信号分布和方法参数。TRA 原始数据也可以图形的方式显示。该单颗粒方法表编辑器窗格可对结果进行交互式、图形化评估和优化，并且只需轻点一下按钮即可应用于单个或者整批样品

结论

ICP-MS 是一款测定和表征水样中纳米颗粒的强大工具，只需一次分析即可获得其他技术通常无法提供的各种颗粒及样品信息。

当与场流分离或毛细管电泳等分离技术联用时，ICP-MS 能够提供颗粒群的粒径信息，这些颗粒群由样品中各种组分的大小不同颗粒组成。此外还提供了每种粒径颗粒群的总金属浓度。只要有足够多的颗粒以及合适的分离度，就可以测定粒径较小（无下限）的颗粒。此外，颗粒群中可测的元素数量也没有实际限制。使用单颗粒模式时，ICP-MS 可以测定由样品中单纳米颗粒生成的离子大小（质量）、粒度分布、数量浓度以及化学组成信息。由于这些技术提供的信息略有不同，因此选择最适合您的技术将取决于样品的特性以及所需的信息。当每种技术都无法单独提供所需的信息时，可以将这两种互补的技术结合使用。

在这两种情况下，单纳米颗粒分析时 ICP-MS 的关键性能特征如下：

- 高灵敏度，特别是在单颗粒模式下测定小颗粒时
- 低背景信号，特别是来源于多原子干扰的信号（这些多原子干扰能够增大基线信号、限制可测的最小粒径）
- 能够以足够快的速度扫描以捕获单纳米颗粒的信号，不存在单次驻留期间检测到多个颗粒的风险，也不存在来自离子背景的过多积分信号（单颗粒模式）
- 两次扫描之间的稳定时间最短或为零（单颗粒模式）
- 稳定的等离子体 ($\text{CeO}^+/\text{Ce}^+ < 1\%$) 可确保纳米颗粒能够充分原子化和离子化，同时降低样品和标样之间的基质效应差异
- 集成的数据分析软件能够快速自动化地执行所需的复杂计算，同时可对结果进行简单、可视化的优化和验证（单颗粒模式）

参考文献

1. Sun, X.; Tabakman, S.M.; Won-Seok, S.; Zhang, K.; Zhang, G.; Sherlock, S.; Bai, L; Dai, H.. Separation of Nanoparticles in a Density Gradient: FeCo@C and Gold Nanocrystals. *Ang. Chem.* 2009, 48, 939-942
2. Heithmar, E.M. Screening Methods for Metal-Containing Nanoparticles in Water. *APM* 32; U.S. Environmental Protection Agency, Las Vegas, NV, 2011
3. Pace, H.; Rogers, N.J.; Jarolimek, C.; Coleman, V.A.; Higgins, C.P.; Ranville, J.F. (2011). 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
4. Otte, T. (2012). Introduction to Field-Flow Fraction (FFF) ICP-MS. In *Handbook of Hyphenated ICP-MS Applications*, 2nd Edition; Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, 2012, 112-114 (场流分离 (FFF) ICP-MS 简介, 节选自《ICP-MS 联用技术应用手册》, 第二版); 安捷伦科技公司, 加利福尼亚州圣克拉拉市, 2012 年, 112-114)
5. Haiou Qu; Mudalige, T.K.; Linder, S.W. Capillary Electrophoresis/Inductively-Coupled Plasma-Mass Spectrometry: Development and Optimization of a High Resolution Analytical Tool for the Size-Based Characterization of Nanomaterials in Dietary Supplements. *Anal. Chem.* 2014, 86, 11620-11627
6. Liu, L.; He, B; Liu, Q; Yun, Z; Yan, X; Long, Y; Jiang, G. Identification and Accurate Size Characterization of Nanoparticles in Complex Media. *Ang. Comm.* 2014, 52, 14476-14479
7. Mitrano, D.M.; Barber, A.; Bednar, A.; Westerhoff, P.; Higgins, C.P.; Ranville, J.F. Silver Nanoparticle Characterisation Using Single Particle ICP-MS (SP-ICP-MS) and Asymmetrical Flow Field Flow Fractionation ICP-MS (AF4-ICP-MS). *J. Anal. Atom. Spec.* 2012, 27, 1131-1142
8. Hineman, A.; Stephan, C. Effect of dwell time on single particle inductively coupled plasma mass spectrometry data acquisition quality. *J. Anal. Atom. Spec.* 2014, 29, 1252-1257

www.agilent.com

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本资料中涉及的信息、说明和指标, 如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2017

2017 年 7 月 31 日, 中国出版
出版号: 5991-5516ZHCN