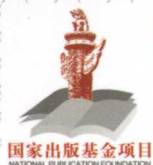


纳米科学与技术



纳米毒理学研究方法 与实验技术

张智勇 等著 柴之芳 审校

 科学出版社

C14009109

TB383
200



国家出版基金项目
NATIONAL PUBLICATION FOUNDATION

纳米科学与技术

纳米毒理学研究方法与技术

张智勇 等著

柴之芳 审校



科学出版社

北京



北航

C1697990

TB 383

200

1010009113

内 容 简 介

本书针对纳米毒理学这一新兴的研究领域,从纳米材料的表征技术、前处理方法、生物样品中纳米材料的检测技术、动物实验研究方法、细胞毒理学研究方法、分子毒理学研究方法、纳米材料与生物大分子的相互作用、定量构效关系研究方法以及纳米材料的环境行为与环境毒理几个方面系统介绍了纳米毒理学研究方法与实验技术,探讨了纳米材料与常规小分子化合物或块体材料毒理学研究方法的差异,归纳了研究中所应注意的问题。这对于规范目前的纳米毒理学研究方法及制定纳米材料安全性评价标准具有参考价值。

本书的主要读者对象是从事纳米毒理学、纳米生物效应研究和纳米技术相关标准制定的科研工作者和相关专业的研究生。

图书在版编目(CIP)数据

纳米毒理学研究方法与实验技术/张智勇等著;柴之芳审校. —北京:科学出版社,2014.1

(纳米科学与技术/白春礼主编)

ISBN 978-7-03-038802-5

I. ①纳… II. ①张… III. ①纳米材料-毒理学-研究方法②纳米材料-毒理学-实验技术 IV. ①TB383-3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 237841 号

丛书策划:杨震 责任编辑:张淑晓 杨新改 / 责任校对:彭涛
责任印制:钱玉芬 / 封面设计:陈敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

http://www.sciencep.com

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2014年1月第一版 开本:720×1000 1/16

2014年1月第一次印刷 印张:22 1/4

字数:430 000

定价:98.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《纳米科学与技术》丛书编委会

顾 问 韩启德 师昌绪 严东生 张存浩

主 编 白春礼

常务副主编 侯建国

副主编 朱道本 解思深 范守善 林 鹏

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

陈小明 封松林 傅小锋 顾 宁 汲培文 李述汤

李亚栋 梁 伟 梁文平 刘 明 卢秉恒 强伯勤

任咏华 万立骏 王 琛 王中林 薛其坤 薛增泉

姚建年 张先恩 张幼怡 赵宇亮 郑厚植 郑兰荪

周兆英 朱 星

《纳米科学与技术》丛书序

在新兴前沿领域的快速发展过程中,及时整理、归纳、出版前沿科学的系统性专著,一直是发达国家在国家层面上推动科学与技术发展的重要手段,是一个国家保持科学技术的领先权和引领作用的重要策略之一。

科学技术的发展和应用,离不开知识的传播:我们从事科学研究,得到了“数据”(论文),这只是“信息”。将相关的大量信息进行整理、分析,使之形成体系并付诸实践,才变成“知识”。信息和知识如果不能交流,就没有用处,所以需要“传播”(出版),这样才能被更多的人“应用”,被更有效地应用,被更准确地应用,知识才能产生更大的社会效益,国家才能在越来越高的水平上发展。所以,数据→信息→知识→传播→应用→效益→发展,这是科学技术推动社会发展的基本流程。其中,知识的传播,无疑具有桥梁的作用。

整个 20 世纪,我国在及时地编辑、归纳、出版各个领域的科学技术前沿的系列专著方面,已经大大地落后于科技发达国家,其中的原因有许多,我认为更主要的是缘于科学文化的习惯不同:中国科学家不习惯去花时间整理和梳理自己所从事的研究领域的知识,将其变成具有系统性的知识结构。所以,很多学科领域的第一本原创性“教科书”,大都来自欧美国家。当然,真正优秀的著作不仅需要花费时间和精力,更重要的是要有自己的学术思想以及对这个学科领域充分把握和高度概括的学术能力。

纳米科技已经成为 21 世纪前沿科学技术的代表领域之一,其对经济和社会发展所产生的潜在影响,已经成为全球关注的焦点。国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)会刊在 2006 年 12 月评论:“现在的发达国家如果不发展纳米科技,今后必将沦为第三世界发展中国家。”因此,世界各国,尤其是科技强国,都将发展纳米科技作为国家战略。

兴起于 20 世纪后期的纳米科技,给我国提供了与科技发达国家同步发展的良好机遇。目前,各国政府都在加大力度出版纳米科技领域的教材、专著以及科普读物。在我国,纳米科技领域尚没有一套能够系统、科学地展现纳米科学技术各个方面前沿进展的系统性专著。因此,国家纳米科学中心与科学出版社共同发起并组织出版《纳米科学与技术》,力求体现本领域出版读物的科学性、准确性和系统性,全面科学地阐述纳米科学技术前沿、基础和应用。本套丛书的出版以高质量、科学性、准确性、系统性、实用性为目标,将涵盖纳米科学技术的所有领域,全面介绍国内外纳米科学技术发展的前沿知识;并长期组织专家撰写、编辑出版下去,为我国

纳米科技各个相关基础学科和技术领域的科技工作者和研究生、本科生等,提供一套重要的参考资料。

这是我们努力实践“科学发展观”思想的一次创新,也是一件利国利民、对国家科学技术发展具有重要意义的大事。感谢科学出版社给我们提供的这个平台,这不仅有助于我国在科研一线工作的高水平科学家逐渐增强归纳、整理和传播知识的主动性(这也是科学研究回馈和服务社会的重要内涵之一),而且有助于培养我国各个领域的人士对前沿科学技术发展的敏感性和兴趣爱好,从而为提高全民科学素养作出贡献。

我谨代表《纳米科学与技术》编委会,感谢为此付出辛勤劳动的作者、编委会委员和出版社的同仁们。

同时希望您,尊贵的读者,如获此书,开卷有益!

中国科学院院长

国家纳米科技指导协调委员会首席科学家

2011年3月于北京

前 言

纳米科技是 20 世纪末才逐步发展起来的新兴科学领域,它的迅猛发展将在 21 世纪促使几乎所有工业领域产生一场革命性的变化。纳米材料是未来社会发展极为重要的物质基础,许多科技新领域的突破迫切需要纳米材料和纳米科技支撑,传统产业的技术提升也急需纳米材料和技术的支持。

随着纳米材料的广泛应用,其安全性问题也引起了各国政府、研究机构和公众的广泛关注。纳米材料由于具有小尺寸效应、量子效应和巨大比表面积等特殊的物理化学性质,与生物体之间的相互作用可能与化学成分相同的常规物质有很大不同,某些纳米材料可能包含人类尚未充分了解的全新生物效应作用机制。特别是那些与人体和生命直接相关的材料,如医用纳米材料或纳米药物,错误使用可能对人类健康造成不利影响。因此,必须开展纳米毒理学与安全性研究,以趋利避害,科学地、负责任地发展纳米科技。目前,纳米毒理学与安全性已经成为多个领域的研究热点,相关报道大量涌现。然而,这些研究结果存在相互矛盾、难以重复等问题,其主要原因是研究方法不标准、不统一、不规范。对于这一新兴的研究领域,急需规范研究方法,统一判定标准,以适应当前研究工作的要求。

目前国际上已有多篇期刊论文讨论了纳米毒理学研究方法与实验技术,几部关于纳米毒理学的书籍也有相关的章节。但由于篇幅所限,并非系统、全面的总结。本书从纳米材料的表征与前处理方法,纳米材料的体内检测技术,动物整体、细胞和分子水平的纳米毒理学研究方法,定量构效关系等几个方面对现有的资料进行总结,探讨了纳米材料与常规材料毒理学研究方法的差异,旨在规范相关研究方法。对一些可用于纳米毒理学与安全性研究但目前未见相关报道的方法,亦进行了介绍。

本书由来自中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室和东南大学公共卫生学院的成员编著,参加撰写的有马宇辉(第 1、2、7 章)、张智勇(第 3 章)、何潇(第 4 章)、李媛媛(第 5、6 章)、唐萌和余小金(第 8 章)、张鹏(第 9 章)。柴之芳院士审阅全书并提出修改意见。

张智勇

2013 年 7 月

目 录

《纳米科学与技术》丛书序

前言

第 1 章 纳米材料的表征	1
1.1 纳米材料的粒度分析	1
1.1.1 电镜观察法	3
1.1.2 离心沉降法	4
1.1.3 激光粒度分析法	6
1.1.4 电超声粒度分析法	7
1.1.5 比表面积法	8
1.1.6 X 射线衍射线宽法	9
1.1.7 X 射线小角散射法	10
1.1.8 拉曼散射法	12
1.1.9 质谱法	12
1.1.10 电泳法	12
1.1.11 颗粒测量新技术及其发展	13
1.2 纳米材料的形貌分析	13
1.2.1 扫描电子显微镜	14
1.2.2 扫描探针显微镜	14
1.3 纳米材料的化学组成分析	17
1.3.1 原子光谱	18
1.3.2 X 射线荧光光谱	20
1.3.3 电感耦合等离子体质谱	20
1.3.4 中子活化分析	21
1.3.5 微区化学组成分析	22
1.3.6 表面化学组成分析	25
1.4 纳米材料的结构和晶形分析	26
1.4.1 X 射线衍射物相结构分析	26
1.4.2 激光拉曼物相分析	28
1.4.3 X 射线吸收精细结构谱	30
1.5 纳米材料表面化学形态分析	32

1.5.1	俄歇电子能谱	32
1.5.2	X射线光电子能谱	33
1.5.3	紫外光电子能谱	35
	参考文献	35
第2章	纳米材料的前处理方法	38
2.1	碳纳米材料的表面修饰与分散	38
2.1.1	富勒烯的表面修饰与分散	38
2.1.2	碳纳米管的表面修饰与分散	43
2.1.3	石墨烯的功能化及分散	49
2.2	量子点的表面修饰与生物毒性	54
2.2.1	量子点的表面修饰	55
2.2.2	量子点的生物毒性	56
2.3	纳米金属和金属氧化物的分散与离子释放	57
2.3.1	纳米金属和金属氧化物的分散	57
2.3.2	金属离子释放及对纳米金属和金属氧化物生物效应的影响	61
	参考文献	63
第3章	生物样品中纳米材料的检测技术	70
3.1	放射性同位素示踪技术	70
3.1.1	碳纳米材料的放射性标记	72
3.1.2	金属和金属氧化物纳米颗粒的放射性标记	77
3.2	无机元素分析方法	84
3.2.1	电感耦合等离子体质谱法	84
3.2.2	同步辐射X射线荧光分析	87
3.3	其他分析方法	90
3.4	基于同步辐射技术的纳米材料转化分析方法	91
3.4.1	X射线吸收精细结构谱	91
3.4.2	微束X射线荧光光谱	93
3.4.3	扫描透射软X射线显微成像	94
	参考文献	96
第4章	动物实验研究方法	101
4.1	急性毒性实验	104
4.1.1	经呼吸道染毒	105
4.1.2	经口染毒	117
4.1.3	经皮肤染毒	125
4.1.4	经注射染毒	129

4.2	长期毒性实验	130
4.2.1	呼吸系统毒性	132
4.2.2	心血管系统毒性	135
4.2.3	神经系统毒性	136
4.2.4	生殖/发育毒性与致畸效应	140
4.2.5	致癌效应	143
4.3	检测指标	145
4.3.1	基本指标	145
4.3.2	血液指标	145
4.3.3	尿液指标	147
4.3.4	肺部毒性指标	147
4.3.5	心血管系统毒性指标	147
4.3.6	肝脏毒性指标	148
4.3.7	肾脏毒性指标	148
4.3.8	神经毒性指标	148
4.3.9	生殖/发育毒性指标	148
4.3.10	致癌性指标	149
	参考文献	149
第5章	细胞毒理学研究方法	157
5.1	细胞毒性的检测	158
5.1.1	细胞形态学观察	158
5.1.2	细胞生长状态观察	170
5.1.3	细胞存活率的测定	171
5.1.4	细胞增殖能力的测定	175
5.1.5	细胞代谢活力的测定	177
5.2	细胞凋亡的检测	180
5.2.1	形态学观察	181
5.2.2	生化指标的检测	183
5.2.3	细胞凋亡时线粒体膜电位改变的测定	188
5.2.4	Caspase 活性的检测	189
5.2.5	流式细胞术	191
5.3	细胞氧化应激的测定	193
5.3.1	ROS 的测定	193
5.3.2	抗氧化生物标志物的检测	195
5.3.3	其他氧化应激生物标志物的检测	198

5.4	炎症细胞因子的测定	200
5.5	纳米材料的细胞内摄分析	203
5.5.1	电子显微镜检测	203
5.5.2	元素含量分析	204
5.5.3	荧光光谱学分析	204
5.5.4	纳米颗粒细胞内摄分析新技术	205
5.6	纳米材料生物效应的高通量筛选方法	206
5.7	纳米颗粒的物理化学特性对体外细胞实验的影响	207
5.7.1	吸附能力	207
5.7.2	光学特性	208
5.7.3	催化活性	208
5.7.4	磁性	208
5.7.5	溶解性	208
5.7.6	纳米颗粒的团聚	209
	参考文献	209
第6章	分子毒理学研究方法	222
6.1	DNA 损伤检测	222
6.1.1	DNA 链断裂的检测	222
6.1.2	DNA 加合物的检测	229
6.2	基因突变的检测	230
6.2.1	Ames 实验	231
6.2.2	<i>hprt</i> 基因正向突变实验	232
6.3	染色体畸变分析	234
6.3.1	G 显带分析	234
6.3.2	荧光原位杂交技术	235
6.3.3	微核实验	237
6.3.4	姐妹染色单体交换	240
6.4	基因表达调控的研究方法	241
6.4.1	基因芯片技术	241
6.4.2	反转录-聚合酶链式反应	243
6.4.3	Northern 印迹杂交	244
6.5	蛋白质组学研究方法	245
6.5.1	双向电泳技术	246
6.5.2	质谱技术	247
6.5.3	蛋白质芯片技术	248

6.6 代谢组学研究	251
参考文献	252
第7章 纳米材料与生物大分子的相互作用	265
7.1 纳米材料与蛋白质的相互作用	266
7.1.1 蛋白冠的形成	266
7.1.2 纳米材料性质对蛋白冠组成的影响	268
7.1.3 蛋白质与纳米材料结合时的构象改变	274
7.1.4 冠状物的分析评价方法	275
7.2 纳米材料与其他生物大分子的相互作用	283
7.2.1 纳米材料与核酸的相互作用	283
7.2.2 纳米材料与脂类的相互作用	284
7.2.3 纳米材料与糖类的相互作用	285
7.3 纳米材料-生物体系相互作用的计算机模拟研究	286
7.3.1 纳米颗粒与生物分子相互作用的模拟结果	287
7.3.2 纳米颗粒的自组装	289
7.3.3 生物体系中的纳米颗粒	290
参考文献	290
第8章 定量构效关系研究方法	299
8.1 定量构效关系	299
8.1.1 概述	299
8.1.2 QSAR 模型研究的基本内容	300
8.2 纳米定量构效关系模型	300
8.2.1 纳米定量构效关系简介	300
8.2.2 纳米定量构效关系模型的特点	301
8.2.3 纳米定量构效关系研究进展	301
8.2.4 纳米定量构效关系模型应用展望	303
参考文献	303
第9章 纳米材料的环境行为与毒理	305
9.1 环境中纳米材料的分离技术	306
9.1.1 膜分离	306
9.1.2 离心分离	308
9.1.3 色谱分离	308
9.2 纳米材料的环境行为	312
9.2.1 人造材料颗粒在大气中的行为	312
9.2.2 人造纳米颗粒在土壤中的行为	313

9.2.3 人造纳米材料在水体中的行为	315
9.3 纳米材料的环境毒理效应	316
9.3.1 大气中的纳米污染物毒理效应	316
9.3.2 土壤中的纳米污染物毒理效应	317
9.3.3 水体中的纳米污染物毒理效应	324
9.4 问题与展望	328
参考文献	329
索引	337

第 1 章 纳米材料的表征

“纳米”是一个长度单位,1 纳米是 1 米的十亿分之一。纳米材料是三维空间中至少有一维处于纳米尺度范围(1~100 nm)或者由该尺度范围的物质为基本结构单元所构成的材料的总称。纳米尺寸的物质具有与宏观物质迥异的表面效应、小尺寸效应、宏观量子隧道效应和量子限域效应,因而纳米材料往往拥有独特的光、电、磁、热、力学等性能,广泛用于机械、电子、化工、医药、能源、国防及日用品等领域。随着应用的日益广泛,人们接触纳米材料的机会大大增加,同时,纳米材料对环境和健康的影响也引起了学术界、政府部门、生产企业和公众的密切关注。

纳米毒理学是在纳米尺度下,研究物质与生物体相互作用的过程以及所产生的生物或健康效应的一门新兴学科。纳米材料的生物效应往往受纳米尺寸、结构和表面性质等在传统毒理学研究中并不需要考虑的因素的影响。因此,为了更好地了解纳米材料的生物效应及其作用机制,需要对纳米材料的物理化学特性进行详尽的表征。目前相关学者一致认为毒理学家应该与熟知纳米材料特性的物理学家、化学家联合起来,制定一系列关于纳米材料特性表征的指导方针和操作规程。很多情况下,纳米材料分析中遇到的问题来源于尺寸与结构的不均匀性以及单个小尺寸材料可控操作上的困难。针对不同的体系,需要选择适用的结构分析与性能研究方法。本章对纳米材料已有的一些分析和表征技术进行了归纳和总结,主要从纳米材料的粒度分析、形貌分析、成分分析、结构分析,以及表面界面分析等方面进行系统的介绍。

1.1 纳米材料的粒度分析

纳米材料的粒度分布与小尺寸效应密切相关,同时也是表征纳米材料特性最重要指标之一。由于纳米颗粒形状的复杂性,很难直接用单一尺度来描述颗粒大小,因此常用等效粒度的概念来描述。纳米颗粒一般指一次颗粒,它的结构可以为晶态、非晶态和准晶态。在晶态的情况下,纳米颗粒可以为多晶体,当粒径小到一定值后则为单晶体。只有纳米微粒为单晶体时,粒径才与晶粒尺寸相同。对于球形颗粒的粒径即指其直径;对不规则颗粒尺寸的定义常为等当直径,如体积等当直径、投影面积直径等。由于粉体材料的颗粒大小分布较广,可以从纳米级到毫米级,因此在描述材料粒度大小时,可以把颗粒按大小分为纳米颗粒、超微颗粒、微

粒、细粒、粗粒等种类^[1],如图 1.1 所示。在纳米材料的分析和研究中,经常遇到的是具有纳米尺度(1~100 nm)的超细颗粒。由于纳米材料的特性和重要性,促进了粒度分析和表征的方法与技术的发展,纳米材料的粒度分析已经发展成为现代粒度分析的一个重要领域。

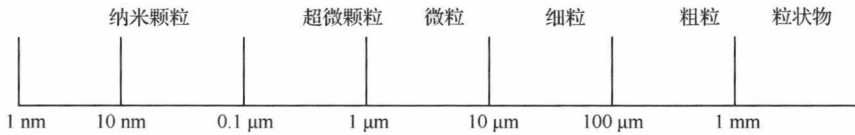


图 1.1 固体材料颗粒度的划分和尺度范围^[1]

目前,纳米材料粒度分析的方法和仪器种类有很多,我们将各种方法汇总于表 1.1 中^[2],并给出了各种方法的优缺点以及在毒理学研究暴露介质(气溶胶和生物体液)中的适用性。由于各种分析方法和仪器的设计对被分析体系有一定的针对性,采用的分析原理和方法各异,因此,选择合适的分析方法和分析仪器十分重要。分析纳米材料粒度的困难在于纳米颗粒之间具有很强的自吸附特征,极易团聚,单分散体系非常少见,两者差异较大。对于纳米材料体系的粒度分析,首先需要分清分析的是颗粒的一次粒度还是二次粒度。一次粒度的分析主要采用电镜的直观观测,根据需求和样品的粒度范围,可依次采用扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微镜(TEM)、扫描隧道电子显微镜(STM)、原子力显微镜(AFM)等,直观得到单个颗粒的原始粒径及形貌。二次粒度的分析按原理有三种典型的方法:高速离心沉降法、激光粒度分析法和电超声粒度分析法。激光粒度分析法按其分析粒度的范围不同,划分为光衍射法和光散射法。光衍射法主要针对微米、亚微米级颗粒;光散射法则主要针对纳米、亚微米级颗粒。而对纳米颗粒的二次粒度分析一般利用激光粒度分析法的动态光散射法。最近发展起来的纳米颗粒跟踪分析(nanoparticle tracking analysis, NTA)是一种新型的在液体中观察和分析颗粒的技术,与布朗运动速度相关,而速度仅仅和液体的黏性相关,颗粒的温度和分布不受颗粒的浓度和折射率影响。电超声粒度分析法是新出现的粒度分析方法,主要针对高浓度体系的粒度分析。另外,也可以通过一些其他的手段,比如测量比表面积、X 射线衍射、扩展 X 射线吸收谱等方法间接得到纳米材料的粒度大小。纳米材料粒度分析的特点是分析方法多,获得的是等效粒径,相互之间不能横向比较。每种分析方法均具有一定的适用范围以及样品条件,应该根据实际情况选用合适的分析方法。下面详细介绍几种常用的纳米材料粒度分布的分析方法。

表 1.1 常用颗粒粒度测量方法及特点^[2]

测量方法	测量范围	优点	缺点	是否可用于暴露介质	
				生物体液	气溶胶
离心沉降法	5 nm~10 μm	利于研究尺寸分布较宽的颗粒	烦琐,费时	是	否
激光衍射法/静态光散射法	40 nm~3 mm	动态范围宽,湿法或干法测量	假设为球形,颗粒形状影响未知	是	否
动态光散射法(DLS)	4 nm~6 μm	宏观方法,可测表面电位	粒径分布宽时,可信度低	是	不一定
静电低压撞击器法(ELPID)	20 nm~10 μm	测量空气动力学直径	低压干法,适用于少量样品	否	是
扫描电子显微镜(SEM)	50 nm~1 cm	应用广,成像范围大	高真空,制样复杂	不一定	否
透射电子显微镜(TEM)	5 nm~500 μm	分辨率高,成像质量好	高真空,对样品有破坏性	不一定	否
原子力显微镜(AFM)	1 nm~8 mm	高分辨力和三维成像能力	只能观察表面,针尖可能引起假象	否	否
尺寸排阻色谱法(SEC)	1 nm~2 μm	高分辨率,样品体积小	分析速度慢,需要标准物	是	否
时间飞行质谱法(TOF)	1 nm~3 μm (100 Da~>100 MDa)	与激光烧蚀联用可分析颗粒的化学组成	制样复杂,昂贵,需要多种测量手段	否	是
电超声法	0.3 nm~5 μm	高浓度体系适用	样品浓度高,分辨率低	是	否
非对称流分离法	2 nm~200 μm	对尺寸分布的分辨率高	需要与其他技术(如光散射)联用	是	否
比表面积法(BET,滴定)	5 nm~10 μm	直观且大多数体系适用	假设粒子为单分散且无孔的球形	仅滴定法是	是
X射线小角散射法(SAXS)	300nm~1mm	操作简单,可真实反映粒度分布	假设粒子为单一材质且无孔的球形	是	是

1.1.1 电镜观察法

电镜法观察纳米材料的粒度及分布是目前比较成熟的方法,也是纳米材料研究最常用的方法。电子与物质相互作用会产生透射电子、弹性散射电子、能量损失电子、二次电子、背反射电子、吸收电子、X射线、俄歇电子、阴极发光和电动力,等

等。电子显微镜就是利用这些信息来对试样进行形貌观察、成分分析和结构测定的。使用 TEM 不仅能分析纳米颗粒的大小和粒度分布,还可以提供纳米晶及其表面上原子分布的真实空间图像^[3]。现在的 TEM 是一种多功能仪器,分辨率高达 0.3 nm,晶格分辨率达到 0.1~0.2 nm,应用也更加广泛,例如:①利用吸收衬度像,对样品进行一般形貌观察;②利用电子衍射、微区电子衍射、会聚束电子衍射等技术对样品进行物相分析,从而确定材料的物相、晶系,甚至空间群;③利用高分辨电子显微技术可以直接“看”到晶体中原子或原子团在特定方向上的结构投影这一特点,确定晶体结构;④利用衍衬像和高分辨电子显微像技术,观察晶体中存在的结构缺陷,确定缺陷的种类、估算缺陷密度;⑤利用 TEM 所附加的能量色散 X 射线谱仪或电子能量损失谱仪对样品的微区化学成分进行分析;⑥利用带有扫描附件和能量色散 X 射线谱仪的 TEM,或者利用带有图像过滤器的 TEM,对样品中的元素分布进行分析,确定样品中是否有成分偏析。

用电镜测量粒径首先应尽量多地拍摄有代表性的纳米微粒形貌像,然后由这些电镜照片来测量粒径。近年来采用综合图像分析系统可以快速而准确地完成显微镜法中的测量和分析。显微镜对被测颗粒进行成像,然后通过计算机图像处理技术完成颗粒粒度的测定。这种方法可以观察到纳米颗粒的平均直径或粒径分布,也是颗粒度观察测定的绝对方法,具有高可靠性和直观性。电镜观察法的缺点是分析的颗粒少,使得测量结果缺乏统计性,难以代表实际样品颗粒的分布状态。对一些在强电子束轰击下不稳定甚至分解的微纳颗粒、制样困难的生物颗粒、微乳等样品则很难得到准确的结果。在自然状态下,因为纳米颗粒的比表面积大,颗粒之间普遍存在范德华力和库仑力,极易团聚,难以得到纳米一次颗粒。制样是电镜分析的关键因素之一,纳米颗粒的分散状况直接影响测量结果的准确性,样品的代表性在很大程度上取决于颗粒尺寸分布是否均匀、杂质颗粒是否干扰等。因此,需要选用合适的分散剂和适当的操作方法对颗粒进行分散。

1.1.2 离心沉降法

沉降法粒度分析是通过颗粒在液体中沉降速度来测量粒度分布的方法。其中适合纳米颗粒粒度分析的主要是离心沉降法,这也是早期实验室中常用的方法。颗粒处于悬浮体系时,本身重力(或所受离心力)、所受浮力和黏滞阻力三者平衡,此时颗粒在悬浮体系中以恒定速度沉降,颗粒大的沉降速度快,颗粒小的沉降速度慢,而且沉降速度与粒度大小的平方成正比,服从斯托克斯(Stokes)定律。值得注意的是,只有满足下述条件才能采用沉降法测定颗粒粒度:颗粒形状应当接近于球形,并且完全被液体润湿;颗粒在悬浮体系的沉降速度是缓慢而恒定的,而且达到恒定速度所需时间很短;颗粒在悬浮体系中的布朗运动不会干扰其沉降速度;颗粒间的相互作用不影响沉降过程。测定颗粒粒度的沉降法有重力沉降法和离心沉降