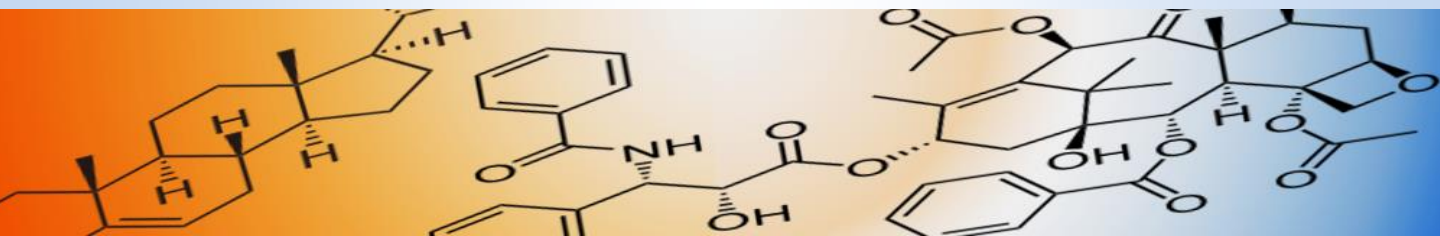
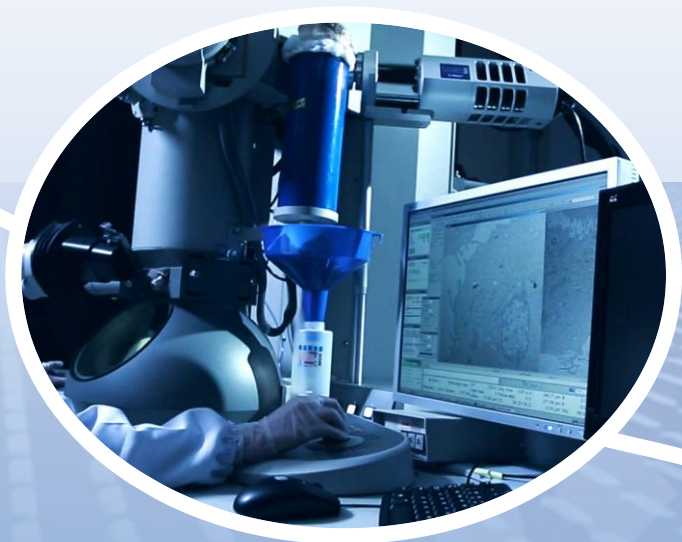
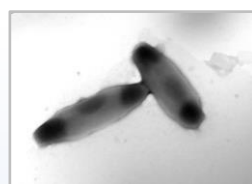
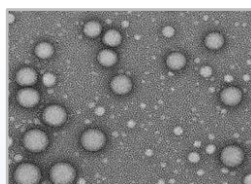
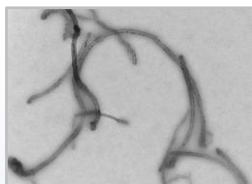
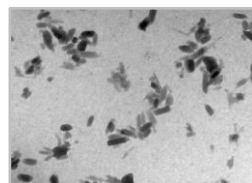
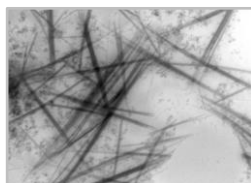
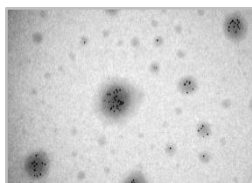
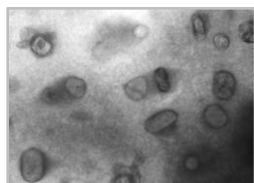


K-kit[®]



液态样品电子显微镜观测



目录

产品基本介绍

闵康专利液态样品电子显微镜影像分析技术 K-kit	03
K-kit 与 TEM Grid 使用效果比较	04
K-kit 产品适用性	05
材料与结构的强韧性	06
高质量 TEM 影像	07
样品制备模式	08
潜力应用市场	09

使用方法与功能特点

出货包装及辅助工具	10
K-kit 工具箱	11
K-kit 样品制备程序	12
K-kit 使用注意事项	13
适用于 TEM 及 SEM 影像观察	14
多次加载与负染应用	15
EDX 分析方法	16
K-kit 与原位液态样品杆的优缺点比较	17

应用实例

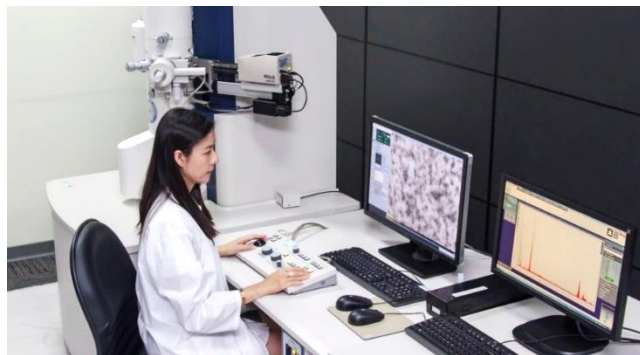
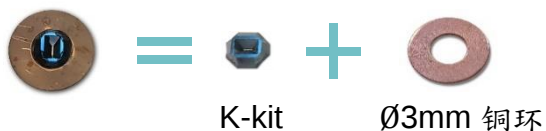
CMP 研磨溶液内的纳米颗粒分析	18
溶液中的量子点 (QDs) 纳米粒子分析	19
纳米药剂内的蛋白质颗粒分布观察	20
老鼠血液中的纳米金颗粒分布观察	22
牛奶中添加纳米碳酸钙 (CaCO_3)	23
防晒乳液内的氧化锌及氧化钛颗粒分布观察	24
实时观察溶液中纳米粒子的动态变化	25
可实现的 K-kit 重要应用	26

其它

不只是 K-kit	28
分析服务内容	29
关于闵康公司生物科技事业群	30

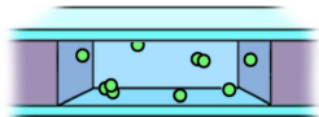


K-kit 是个微型液体样品槽芯片。其结构采用独家专利的单体式设计、并以 TEM 标准铜环承载，因此可适用所有厂牌的电子显微镜设备进行观测。藉由 K-kit 的应用，可以在电子显微镜腔体内高真空环境下，直接观测溶液中纳米颗粒的实时动态变化、尺寸外观与群聚团聚等现象，简单又快速地实现高质量之液态样品影像分析。



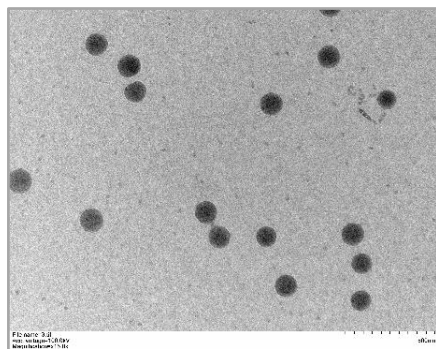
穿透式电子显微镜 (TEM)



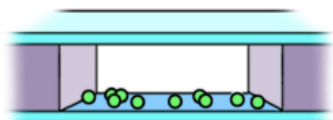


通道内充满液体样品

- 液态样品可以直接注入，在开口处涂胶密封后，即可上机观察。

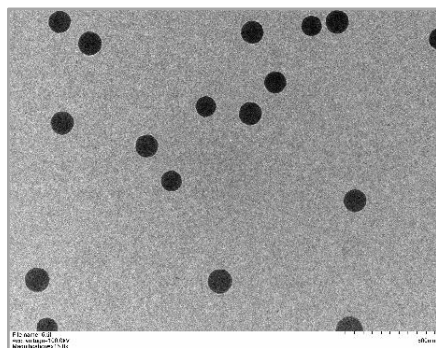


影像质量可接受



存在薄液层、或完全干燥

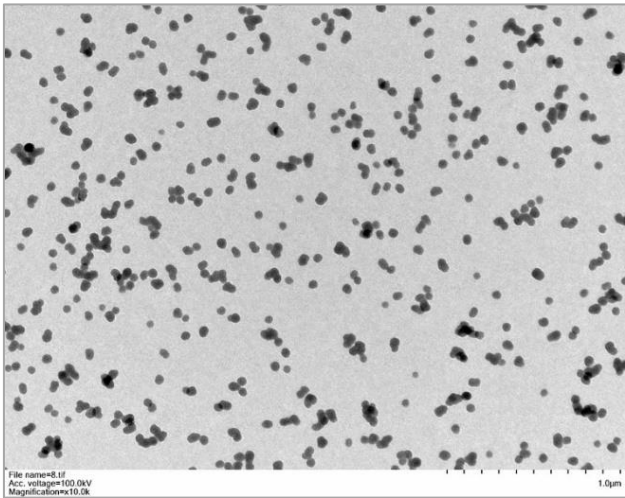
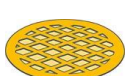
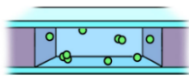
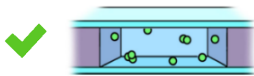
- 样品经过真空干燥处理，可在不影响纳米颗粒真实分布状况下，大幅提高影像分辨率。



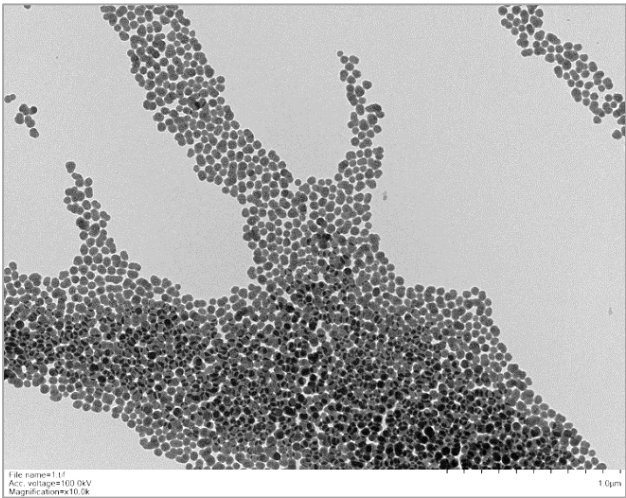
影像质量极佳

(NIST 100nm 聚苯乙烯粒子)

K-kit 与 TEM Grid 使用效果比较



上图是利用 K-kit 观察 CMP 研磨溶液的 TEM 影像结果。藉由 k-kit 的应用，可清楚观测粒子处于原液环境时的实际外观尺寸及悬浮分散情形。



上图是使用 TEM Grid 于干燥状态下观察 CMP 研磨溶液的结果。由于干燥过程会使粒子严重聚集，其无法针对纳米粒子的真实尺寸及分散情形进行分析。

(√ 优 Δ 视情况 X 无)

物理及化学参数	K-kit	TEM Grid
1. 组成物质 (Composition)	√	√
2. 尺寸 (Size)	√	√
3. 外形 (Shape)	√	√
4. 尺寸分布 (Size distribution)	√	Δ
5. 群聚与团聚分析 (Aggregation & agglomeration)	√	X
6. 颗粒浓度 (Concentration)	√	X
7. 原液中的影像 (Liquid TEM observation)	√	X

K-kit 产品适用性

● 适用于各厂牌的 TEM 进行观测



某些特定品牌型号的 TEM，其在结构设计上电子束于 Z 轴方向的可聚焦距离范围过小 (例如型号 JEOL 2100 的 TEM，Z 轴焦聚可调范围仅约 $\pm 120\mu\text{m}$)，此会使得观测 K-kit 时，该电子束无法顺利聚焦于样品液层上，因此无法获得良好影像。关于其可能改善或解决作法，请参考官网 www.bioma-tek.com 说明。

● 可应用在各种常见化学溶液之分析



K-kit 结构是由抗酸碱的硅材组成，而其选用的密封胶 (Torr Seal® epoxy) 也与多数化学溶液不反应。下表为 Torr Seal 胶以各类化学溶剂浸泡 24 小时之后，该胶材的 FTIR 量测分析 (是否有溶解反应) 及目视观察 (是否于溶剂内散布) 结果。

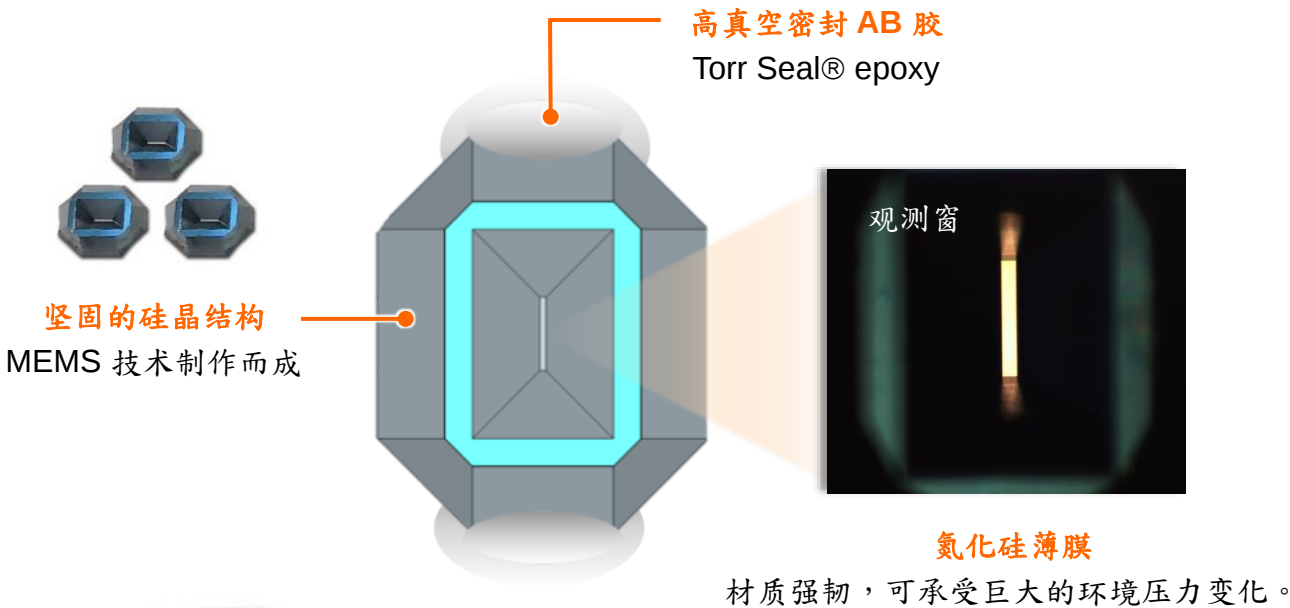
✓ - Compatible (FTIR not detected) ▲ - Use with care (FTIR detected)

Compatibility (FTIR)	Water	PEG400	DMSO	Ethanol	0.1N HCl	0.1N KOH
	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Toluene	NMP	ACN (CH ₃ CN)	Chloroform (CHCl ₃)	1% NH ₄ OH	0.1N HNO ₃
	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Hexane	IPA	Methanol	DCM	THF	Acetone
	✓	✓	✓	▲	▲	▲

材料与结构的强韧性

K-kit 适用于温度范围 -196°C to 120°C

可直接使用在具有加热或冷却功能的 TEM 样品杆上



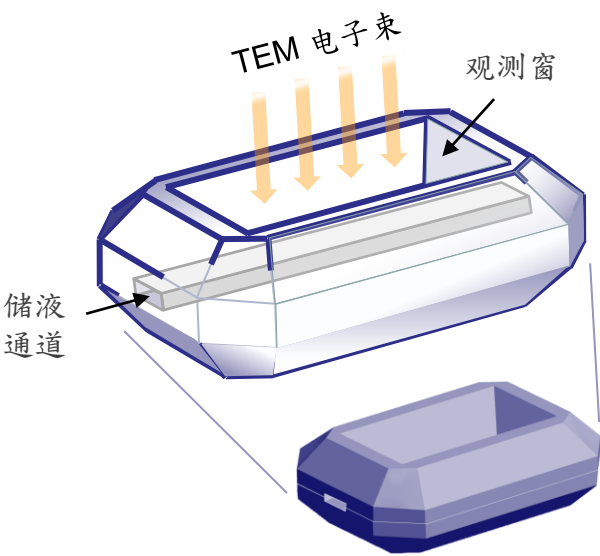
通道密封块 (Channel tips)

K-kit 两端各有一密封块，使微通道维持在真空中，确保其内表面高度洁净、并具有良好的溶液加载效果。



藉由毛细力载入，效果稳定可靠

无论高黏性、或是油性样品，大多皆可直接加载，无须稀释。(可载入黏滞系数大于 $3,000\text{ mPa}\cdot\text{s}$ 的溶液)



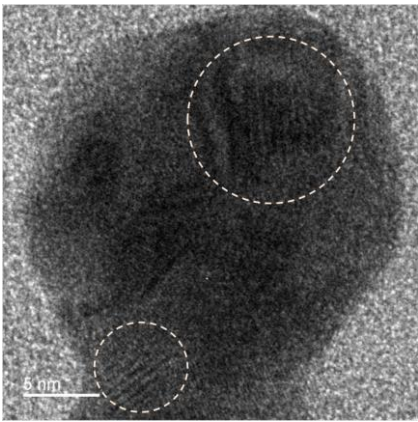
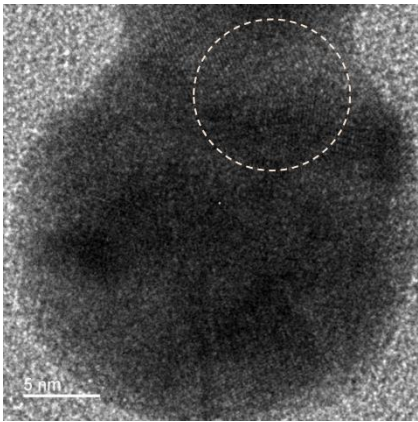
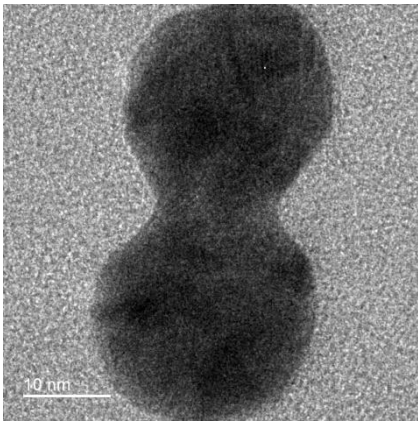
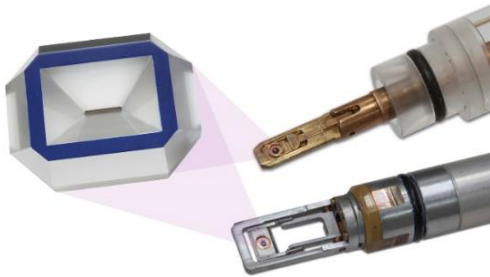
单体式结构 (Unibody structure)

K-kit 是一次性使用的，无交叉污染问题。而其结构采用单体式设计，使用前无须像组合式的液态样品杆作法一般，对芯片进行包括清洁、表面处理、组装及测漏等繁琐步骤。

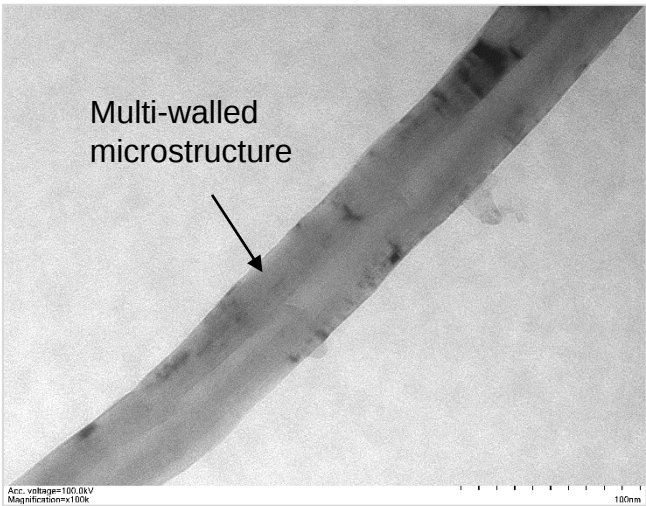
高质量 TEM 影像

● K-kit 在不同样品制备模式下的 TEM 影像分辨率

K-kit 氮化硅 (Si ₃ N ₄) 薄膜厚度	样品制备	
	湿式 (Wet)	干式 (Dry)
100nm	< 10nm	< 5nm
30nm	< 5nm	< 2nm

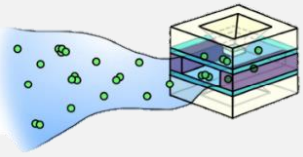
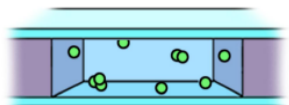
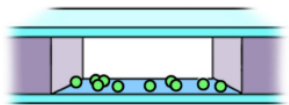
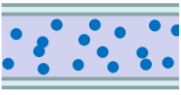
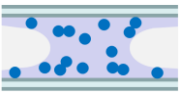
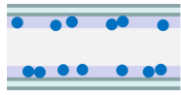
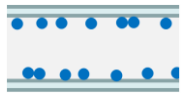


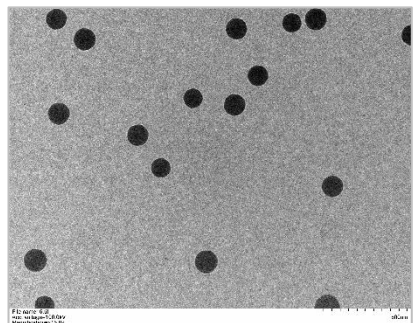
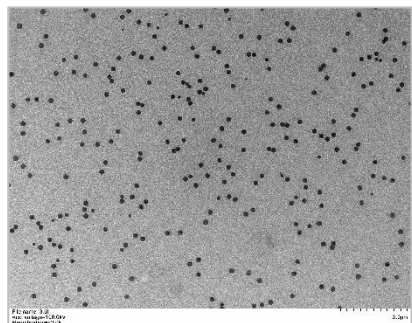
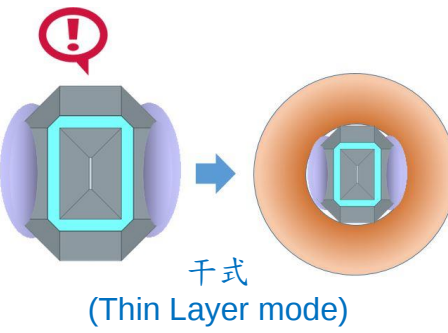
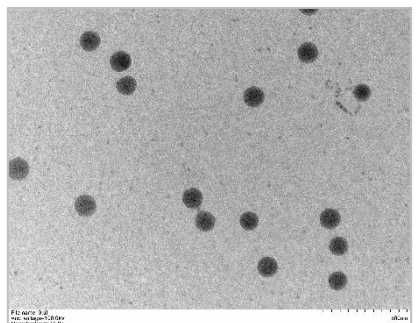
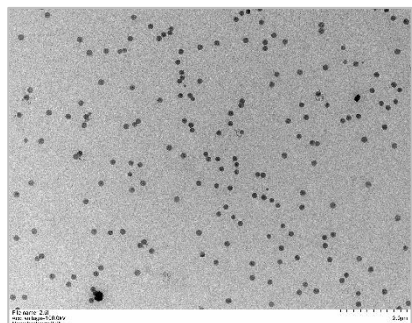
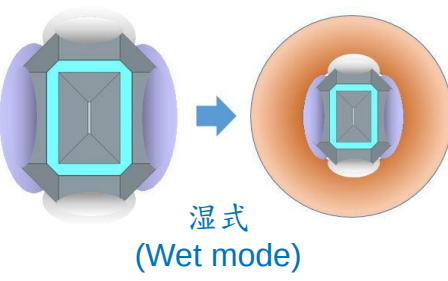
(实例) K-kit 的 TEM 影像质量非常良好。如上图所示，本例使用薄膜厚度 30nm、通道高度 0.2μm 的 K-kit，其可清楚观测到其内氯金酸 (AuCl₄) 溶液与电子束作用所反应生成的纳米金颗粒、及其表面晶网格线。(FEI Talos TEM @ 200KV)



(实例) 上图为多壁纳米碳管 (WMCNT; Multi-walled Carbon Nanotubes) 于纯水中的分散状况。本例使用薄膜厚度 30nm、通道高度 2μm 的 K-kit，其可清楚观测到纳米碳管的复壁多层结构。(By Hitachi HT7700 TEM @100KV; WMCNTs: OD 30-80 nm, Length <10 μm, 10wt%)

样品制备模式

K-kit 样品制备模式	湿式 (Wet)	干式 (Thin Layer)
		
影像分辨率	良好	极佳
适用通道尺寸 (μm)	0.1, 0.2, 0.5	0.5, 1, 2, 5
可载入样品粒子尺寸 (nm)	< 500	< 3,000
样品粒子外形	原始样貌	潜在轻微变形的可能性
电子束作用时潜在发生化学反应、或是粒子受到破坏的风险	高	低
 K-kit 可形成的内部状态	 完全充满液体  部份充满液体	 壁面存在薄液层  干燥状态

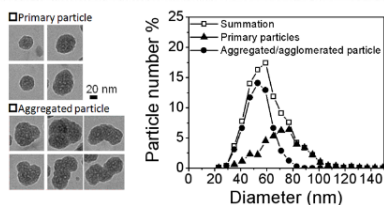
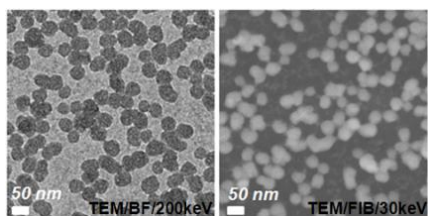


潜力应用市场

协助传产、电子业、化妆品、食品、生医等相关产业，分析纳米物体及其群聚与团聚现象 (Nano-objects, Aggregates, and Agglomerates; NOAAs)。

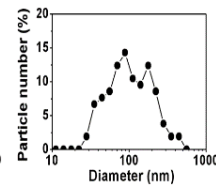
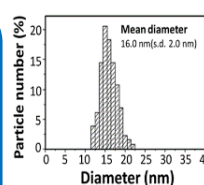
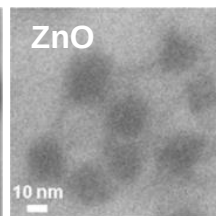
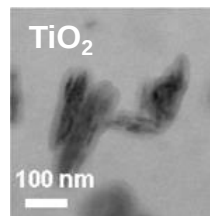
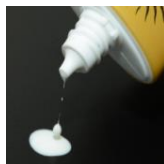
研磨液

- 化学机械研磨液中的氧化硅纳米颗粒



乳液

- 防晒油中的二氧化钛及氧化锌



电子业



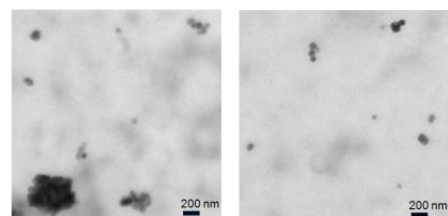
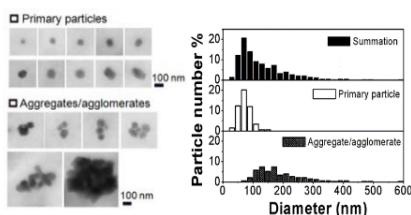
化妆品



食品



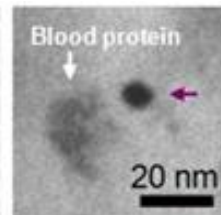
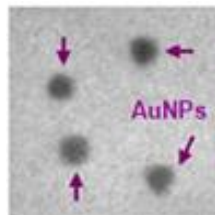
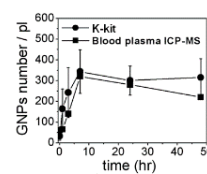
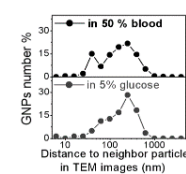
生医



牛奶

- 牛奶中的纳米碳酸钙粒子

Aggregation/agglomeration Particle concentration



生物组织

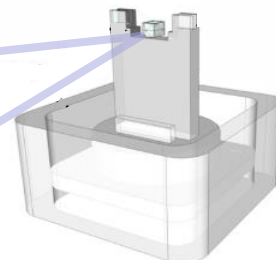
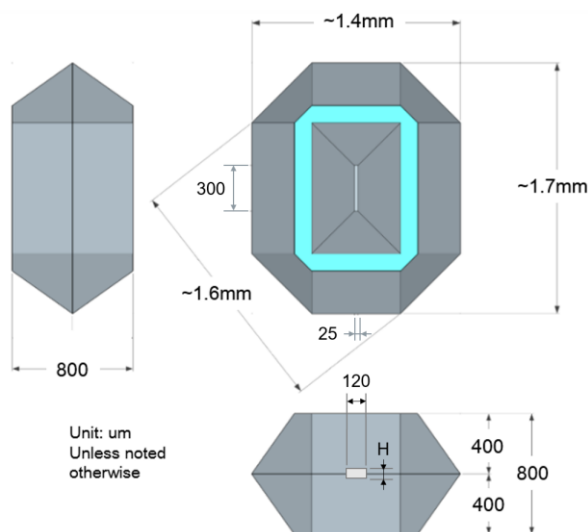
- 血液中的纳米金粒子

Reference :

1. US FDA 2012, Guidance for Industry – Safety of Nanomaterials in Cosmetic Products.
2. EU/JRC July 2012, Requirements on Measurements for the Implementation of the European Commission Definition of the Term “Nanomaterials”.
3. ISO/TR13014: 2012, Nanotechnologies -- Guidance on physico-chemical characterization of engineered nanoscale materials for toxicologic assessment.
4. ICCR 2012, Characterization of Nanomaterials II - Insolubility, Biopersistence and Size Measurement in Complex Media.

出货包装及辅助工具

(K-kit 结构尺寸)



(K-kit 产品基座)

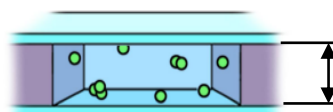


K-kit 黏贴在基座



盖上透明保护盖

- K-kit 观测窗长度 300µm、宽度 25µm
- 可提供六款通道高度设计 (H)，
标准品: 0.2, 2
客制品: 0.1, 0.5, 1, 5



H = 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5 (µm)



4 K-kits



6 K-kits

(出货包装盒)



铜环

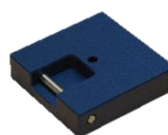


密封块切断装置



密封胶、固定胶、调胶棒、
涂胶用针、密封块切断装置

(选购工具及耗材)



取样座



涂胶工作台



取样笔



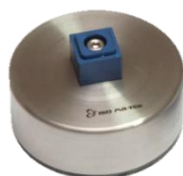
涂胶针笔

K-kit 工具箱

工具箱内容包含取样笔 (K-kit Holder)、取样座 (Sample-loading Stage)、涂胶针笔 (Needle Pen)、涂胶工作台 (Gluing Stand)、玻片盒 (Glass-slide Pack) 及专用胶盒 (Accessory Box) 各一组。



W275 x D150 x H50 (mm)



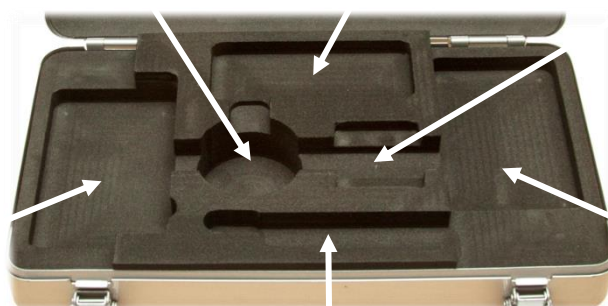
涂胶工作台



玻片盒
(盒内随附 6 片玻片)



取样座



专用胶盒

(附件盒内放置密封块切断装置与工具备品附件)



涂胶针笔 & 取样笔



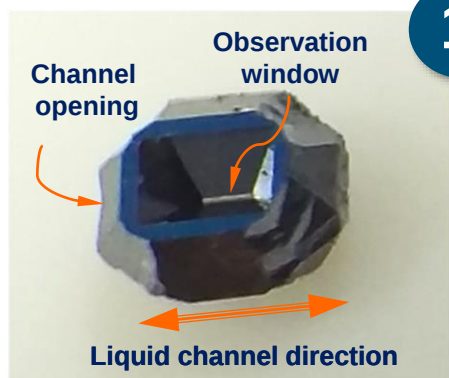
K-kit 包装盒
(6 颗装空盒)

K-kit 样品制备程序

1

1. K-kit

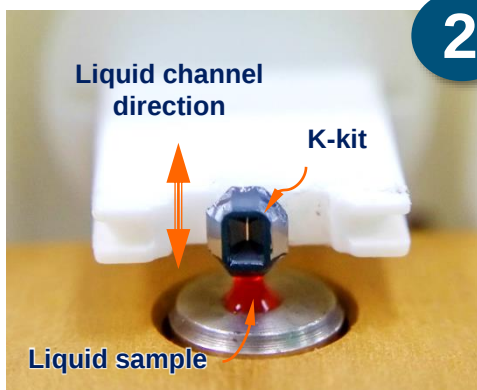
K-kit 是以硅材制作的液态样品槽晶粒，其于结构的上下两面皆设置有氮化硅 (Si_3N_4) 薄膜观测窗，可供各式电子显微镜的电子束穿透与成像使用。此观测窗结构是使用微机电系统 (MEMS) 的非等向湿蚀刻制程技术来形成该凹槽和斜面。



2

2. 注入液态样品

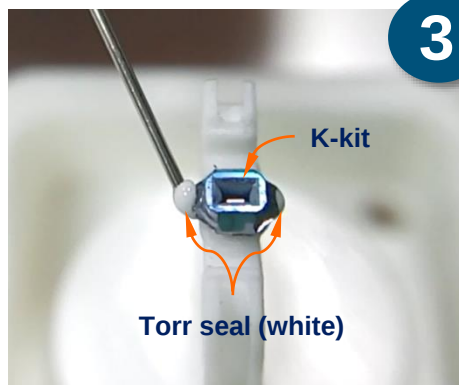
液体藉由毛细现象注入流道。将 K-kit 轻触液面，液面会因为附着力的关系而被 K-kit 拉住，保持这种状态大约 30 秒让液体充份注入。请勿将 K-kit 接触液体太深，以避免液体从外面流入窗口中造成污染，导致 TEM 无法顺利成像。



3

3. 真空胶封口

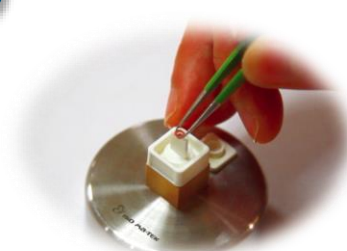
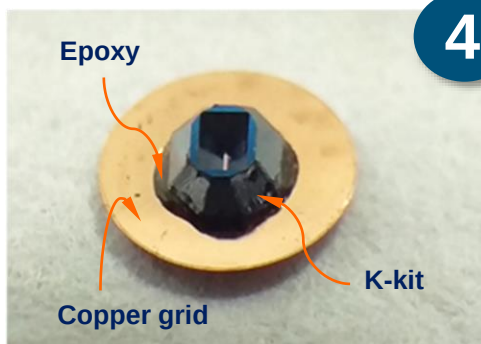
流道两端开口皆须使用真空胶 Torr Seal 进行密封。(若欲制备干燥模式的 K-kit 样品，请无须进行此真空胶封口步骤)



4. 固定于铜网

使用固定胶 (透明) 将 K-kit 黏着于具有开孔的标准铜环上。藉由适当调整，使 K-Kit 晶粒上下对称、水平地黏贴在铜网中央开孔内。

4



扫描 QR code 播放教学视频

请点选下列链接网址观看视频:

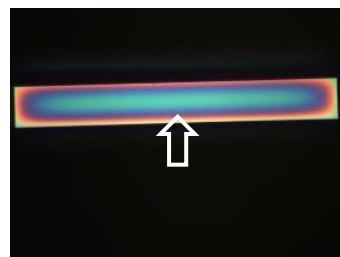
<https://youtu.be/Hi9TyT4MwEg>



K-kit 使用注意事项

使用前检查芯片外观

- 确认薄膜上具有彩纹对称的牛顿环 (确保 K-kit 内部处于真空状态)。
- K-kit 结构外观无异常损坏。



具有彩纹对称的牛顿环
(内部保持真空密封)

移除通道两端的密封块

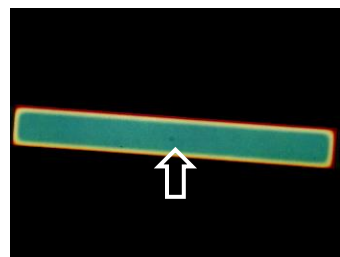
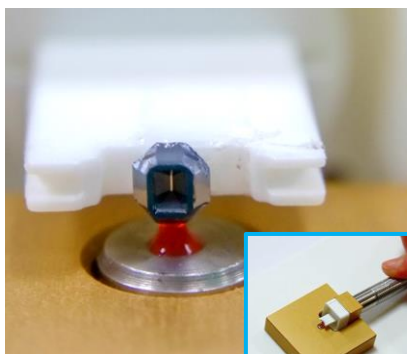
- 使用 K-kit 前须确定已完全移除通道两端之密封块。
- 在密封块移除之后，请尽可能于半小时内载入液态样品。



移除密封块后薄膜平坦
(通道与大气环境连通)

注入液态样品

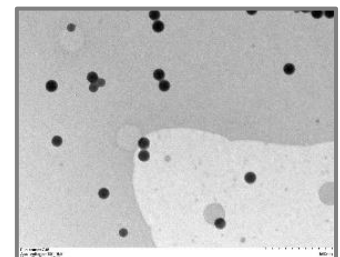
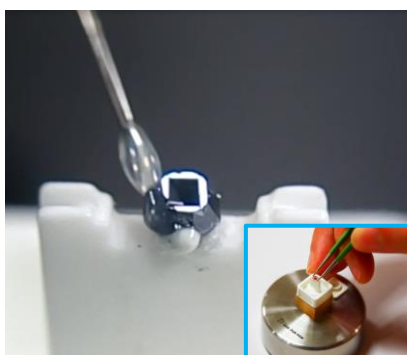
- 为使样品溶液可完全充满通道内部，加载溶液时，K-kit 开口端接触液滴表面至少维持 30 秒。
- 载入时仅轻微接触液滴表面即可，避免将 K-kit 本体浸入溶液内。



具有不同颜色的彩纹
(载入液体之后)

涂胶步骤

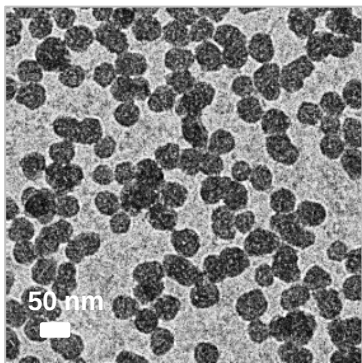
- 载入溶液之后，请在 2 分钟内完成通道两端的涂胶密封步骤。
- 若是制备干式的 K-kit 样品，通道两端无须进行涂胶密封。
- 涂胶作业须小心操作，避免胶材流入观测窗内造成遮蔽或污染。



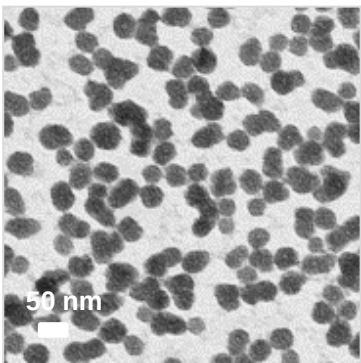
湿式样品的 TEM 影像
(载入后须尽快涂胶封口)

适用于 TEM 及 SEM 影像观察

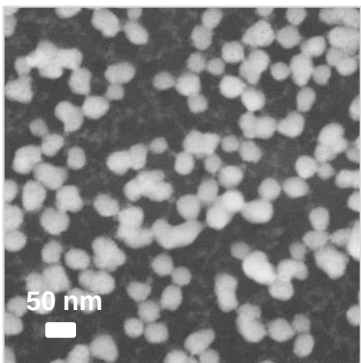
- 可应用于不同的电子显微镜设备进行观测



FEI-TEM @200Kev



Hitachi-TEM @100Kev

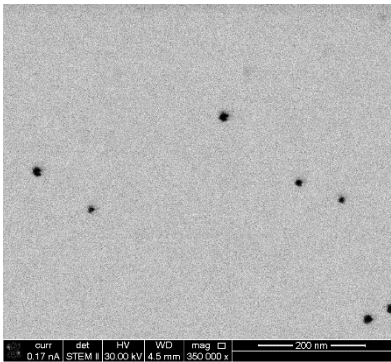


FEI-STEM @30Kev

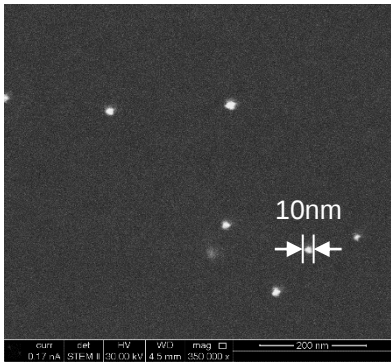
- 可获得高分辨率 SEM 影像结果



使用 SEM 观察 K-kit 样品，即使粒子尺寸小于 10nm 也可清楚成像 (本例载入金纳米颗粒)



Bright Field (BF)



Dark Field (DF)

- 使用 TEM 及 FIB-SEM 观测载入 K-kit 的聚苯乙烯 (Polystyrene) 粒子影像比较结果

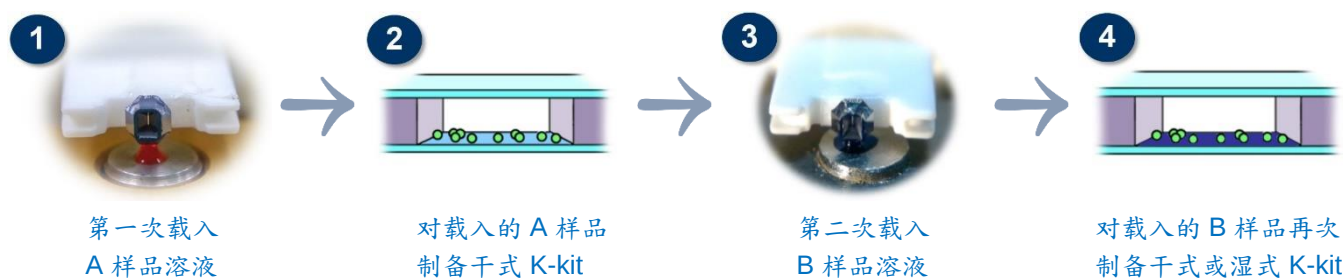
Hitachi HT7700 TEM	FEI Helios 400 FIB-SEM	

多次加载与负染应用

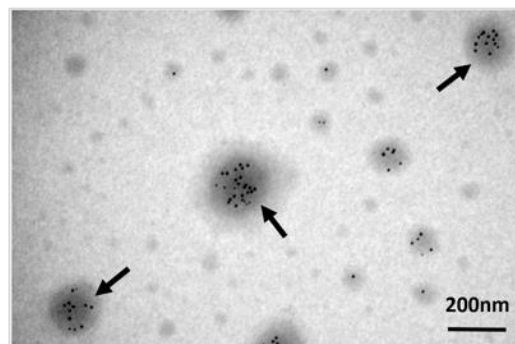
K-kit 不仅是市场上最简便快速的液态原位电镜影像观察作法，同时也是唯一可实现多次加载及负染应用的产品。此独特的产品优势对于低影像对比度的生物样品观察、或是免疫电子显微学 (Immunoelectron microscopy) 研究等，皆可提供相当大的帮助。

● 多次载入 (Multiple loadings)

由于具有单体结构 (Unibody structure) 的优势特征，K-kit 可使用于需要多次加载不同样品溶液之相关应用，例如触媒反应机制、或免疫检测技术开发等研究。此独特的功能特点，是市场上其它产品例如两片式液态样品槽芯片、或组合式液态样品杆等无法实现的。

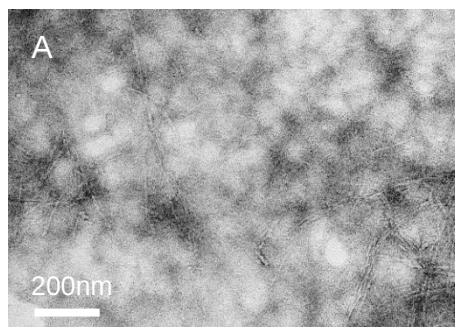
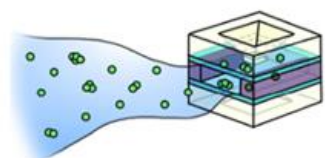


(实例) 右图是利用 K-kit 经过多次载入步骤，成功以纳米金标定血小板释出物 α 粒子 (α granules) 的 TEM 影像结果。该免疫学样品制备作法，首先先将 K-kit 加载不同溶液，对其内部进行清洁及表面处理，接着分别加载初级抗体 Mouse monoclonal anti-P-selectin antibody 及二级抗体 6-nm gold-conjugated goat anti-mouse IgG antibody，并置于 37°C 温度下约 2 个小时，使两抗体发生反应。(Appl. Sci. 2020, 10, 4946)

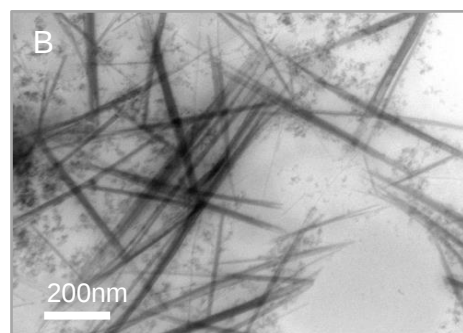


经过分离处理的血小板 α 粒子，以 K-kit 进行抗体免疫金标定之 TEM 影像结果。

● 负染 (Negative staining)



铜网 (干燥状态)



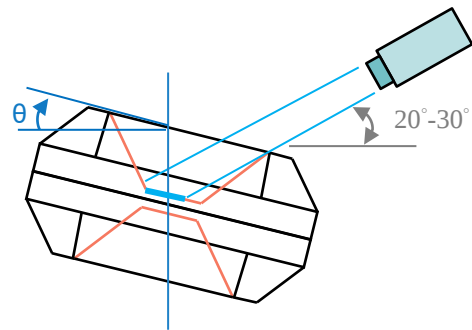
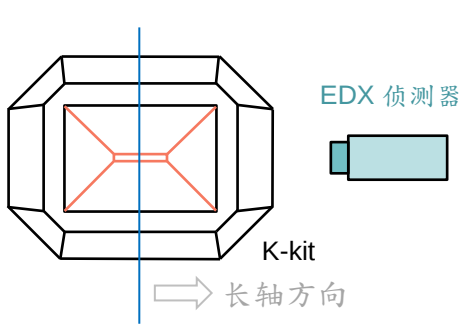
K-kit (溶液环境)

(实例) 胶原蛋白纤维束在铜网及 K-kit 上的负染观测结果。如图 B 所示，利用湿式 K-kit 可清楚观察到胶原蛋白样品的束状结构影像。

EDX 分析方法

● 如何对 K-kit 加载之样品进行 EDX 成份分析

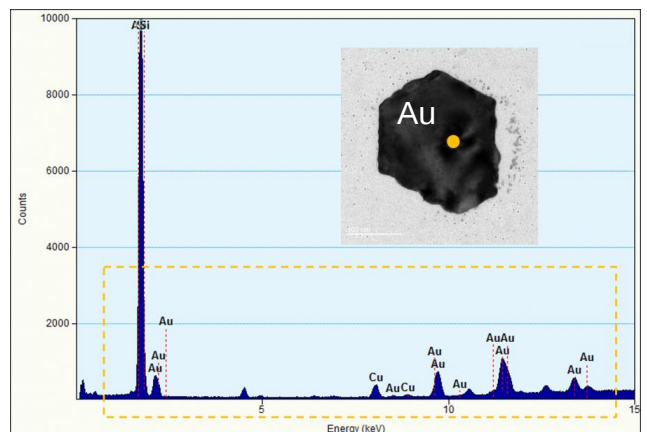
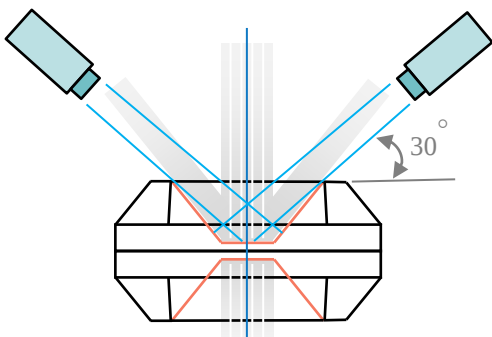
- EDX 侦测器通常装设于 TEM 腔体内样品位置的侧上方，并与该样品位置形成约 $10 - 20^\circ$ 的倾斜角。由于 K-kit 观测窗具有一个深度达 $400\mu\text{m}$ 的大凹槽，当进行 EDX 量测时，由样品所激发出的 X 光讯号很容易受到该深槽结构的阻挡。因此，当 K-kit 进行 EDX 分析时，必须将其结构的长边朝 EDX 侦测器的方向摆放，并调整 TEM 样品杆、使 K-kit 面向该侦测器倾斜 15° 以上，如此 EDX 侦测器即可顺利接收到样品的成份讯号。



1 将 K-kit 长边朝 EDX 侦测器的方向摆放

2 朝 EDX 侦测器方向旋转一倾斜角至少 15°

- 有某些特定厂牌的 TEM 设备，其 EDX 侦测器设置在较高的位置，或是在腔体内同时装置了多组 EDX 侦测器。若使用该设备进行 EDX 量测，由 K-kit 样品所激发出的 X 光讯号，将不容易受到凹槽结构阻挡。即使 K-kit 无旋转任何倾斜角，也可获得足够清晰的成份讯号。



K-kit 与原位液态样品杆的优缺点比较

K-kit 是目前市场上最快速、且最简单方便的液态电子显微镜影像分析应用产品技术。



仅需要 90 分钟（制备 10 颗样品）

10 颗 K-kits 同时载入溶液及涂胶 (70min) + 抽真空 (20min)



至少需要 450 分钟（制备 10 颗样品）

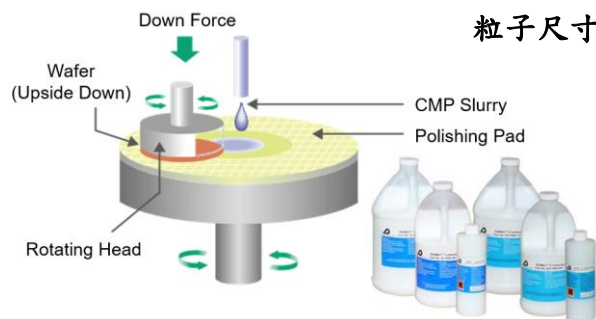
组合式 Liquid Cell 每颗样品须完成观测后，才能再进行下一颗组装。而每次操作至少须包括芯片表面处理、精微组装、治具测漏、芯片拆卸及管路清洁等步骤，花费时间极长。

产品	K-kit	原位液态样品杆
芯片尺寸	1.7mm x 1.4mm (Fit in with Ø3 mm grids)	> 2.4mm x 2.4mm
客制化样品杆	不需要	需要
价格	≤ US\$200	~ US\$100,000
优势	- 简单、快速、便宜 - 适用于所有厂牌的 TEM 设备 - 可使用 SEM 观测 - 可应用在各种常见化学溶液分析 - 无交叉污染问题 (一次性使用) - 可实现粒子分布的量化分析 - 可应用于高黏性液体 (毛细力载入) - 可进行负染及多次加载 - 适用温度范围 -196°C to 120°C	可研究液体流动及电化学现象
缺点	- 仅适合静态液体的分析 - 无法通电 (无电极设计)	- 价格极昂贵 - 需要繁琐的清洁及组装程序 - 有溶液泄漏风险 (组合式设计) - 仅专用于特定厂牌 TEM
客户群	产业界及学术界	仅适合学术界

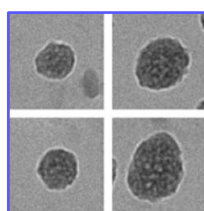
应用实例

CMP 研磨溶液内的纳米颗粒分析

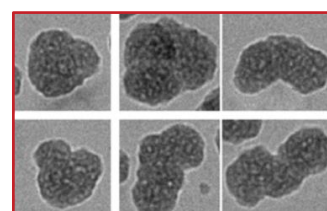
针对 CMP Slurry 原液内的一次 (Primary) 与二次 (Secondary) 粒子尺寸分布及团聚状态等作实际影像观察。



Primary particle

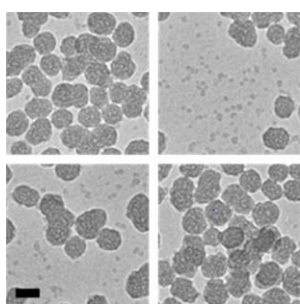
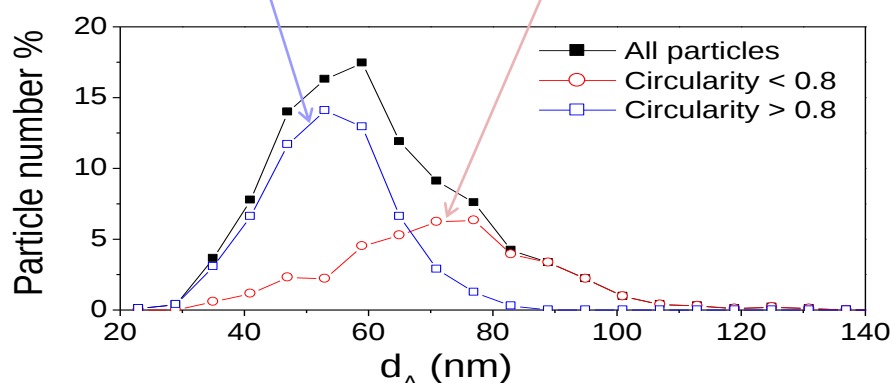


Secondary particle



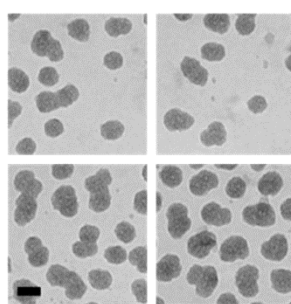
■ 20 nm

- 成份
- 尺寸/尺寸分布
- 外形
- 团聚状态
- 表面特性

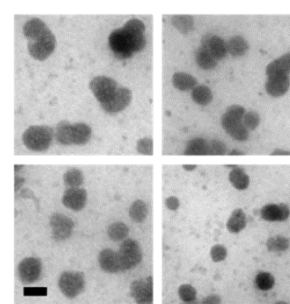


铜网上的干燥样品

* Scale bar is 50 nm

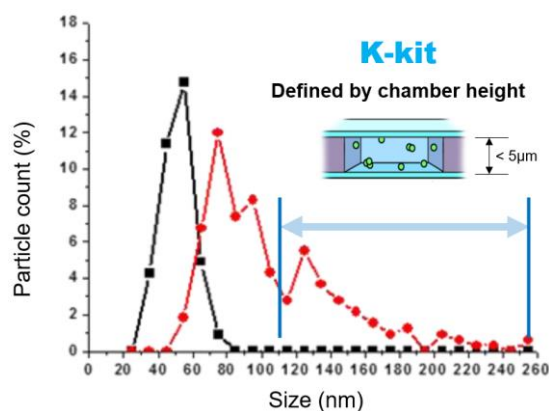
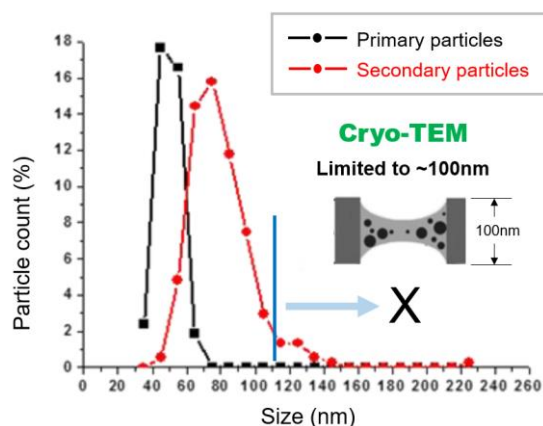


Cryo-TEM 冷冻样品



K-kit 中的样品原液

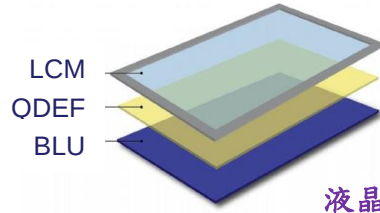
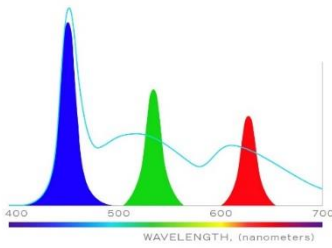
相较于 Cryo-TEM 作法，K-kit 可分析的粒子尺寸范围较广。



应用实例

溶液中的量子点 (QDs) 纳米粒子分析

关于量子点 (Quantum Dots, QDs) 的相关组件市场，预估 2026 年时其产值将超过 110 亿美元。

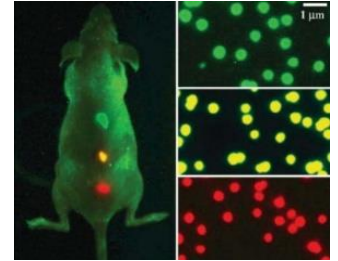


- QD: Quantum Dots
- BLU: Backlight Unit
- LCM: Liquid Crystal Module
- QDEF: Quantum-dot Enhancement Film

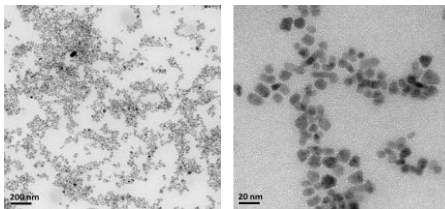
液晶显示器



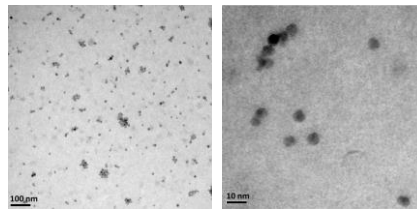
电子印刷用的量子点油墨



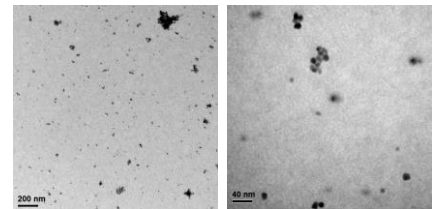
量子点影像诊断应用



铜网上的 QDs 干燥样品

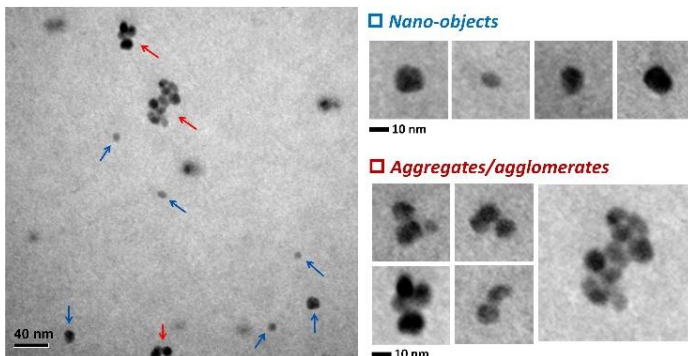


载入 QDs 的湿式 K-kit

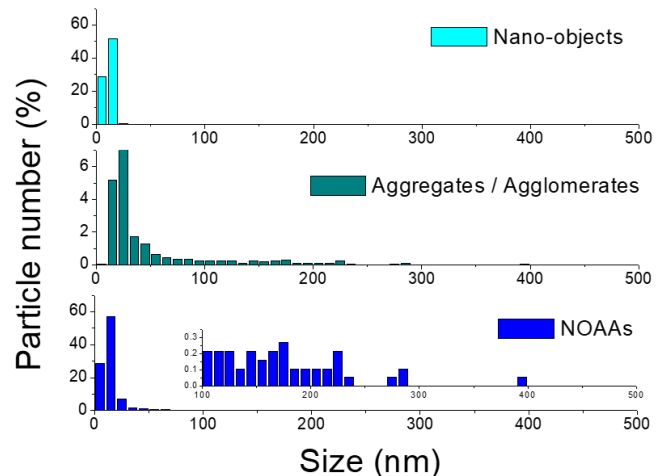


载入 QDs 的干式 K-kit

使用 K-kit 分析三氯甲烷 (Chloroform) 中量子点的尺寸及尺寸分布情形



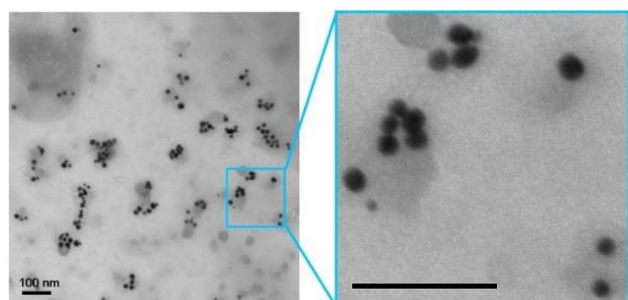
- Sample solution was directly loaded into K-kit
- Nano-objects = Primary particle
- Aggregates/agglomerates = Secondary particle



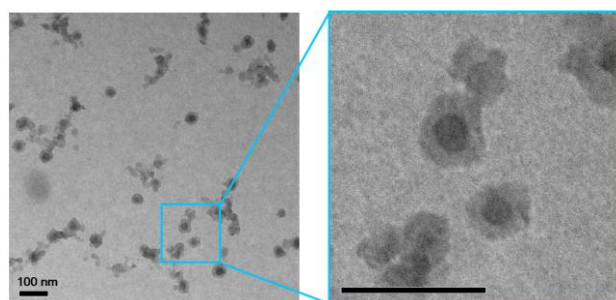
应用实例

纳米药剂内的蛋白质颗粒分布观察

藉由 **K-kit** 的使用，可对各种纳米药剂内的蛋白质颗粒或是佐剂等，进行包括粒子外形、尺寸及尺寸分布等的完整影像分析。其可广泛应用于药物溶液配方研究、或是关于生体等效性 (Bioequivalence) 之医药评估等。



AuroVist® 药剂溶液直接加载 K-kit 内的 TEM 观察结果。



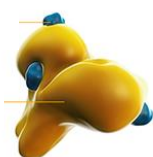
Oil Emulsion 加水稀释后载入 K-kit 内的 TEM 观察结果。

使用 K-kit 分析 Abraxane® 药液中的蛋白质颗粒影像分布情形



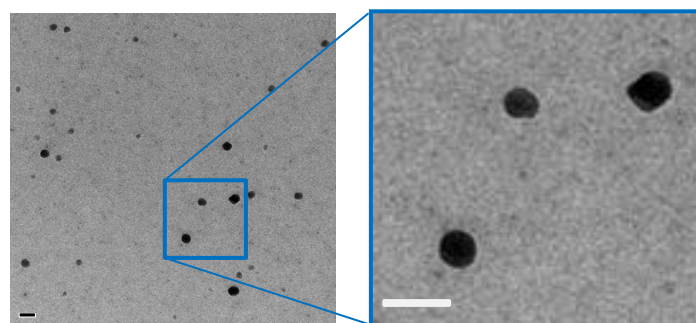
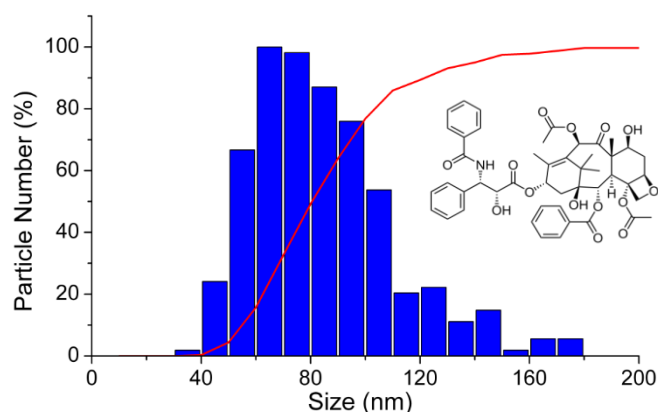
Paclitaxel

Albumin



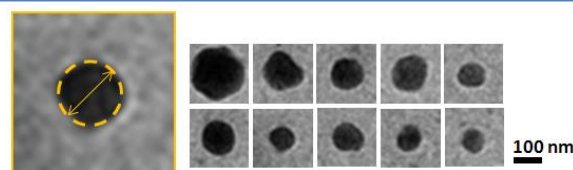
Protein particles in Abraxane®

- Total calculated particle #: 319
- Average size: 85.1 nm
- Standard deviation: 27.0 nm



* Scale bar: 200 nm

Albumin 粒子尺寸及尺寸分布 (D10/ D50/ D90)



Parameter	Size (nm)
D 10	55.6
D 50	80.1
D 90	122.2
Span: (D ₉₀ - D ₁₀) / D ₅₀	0.831

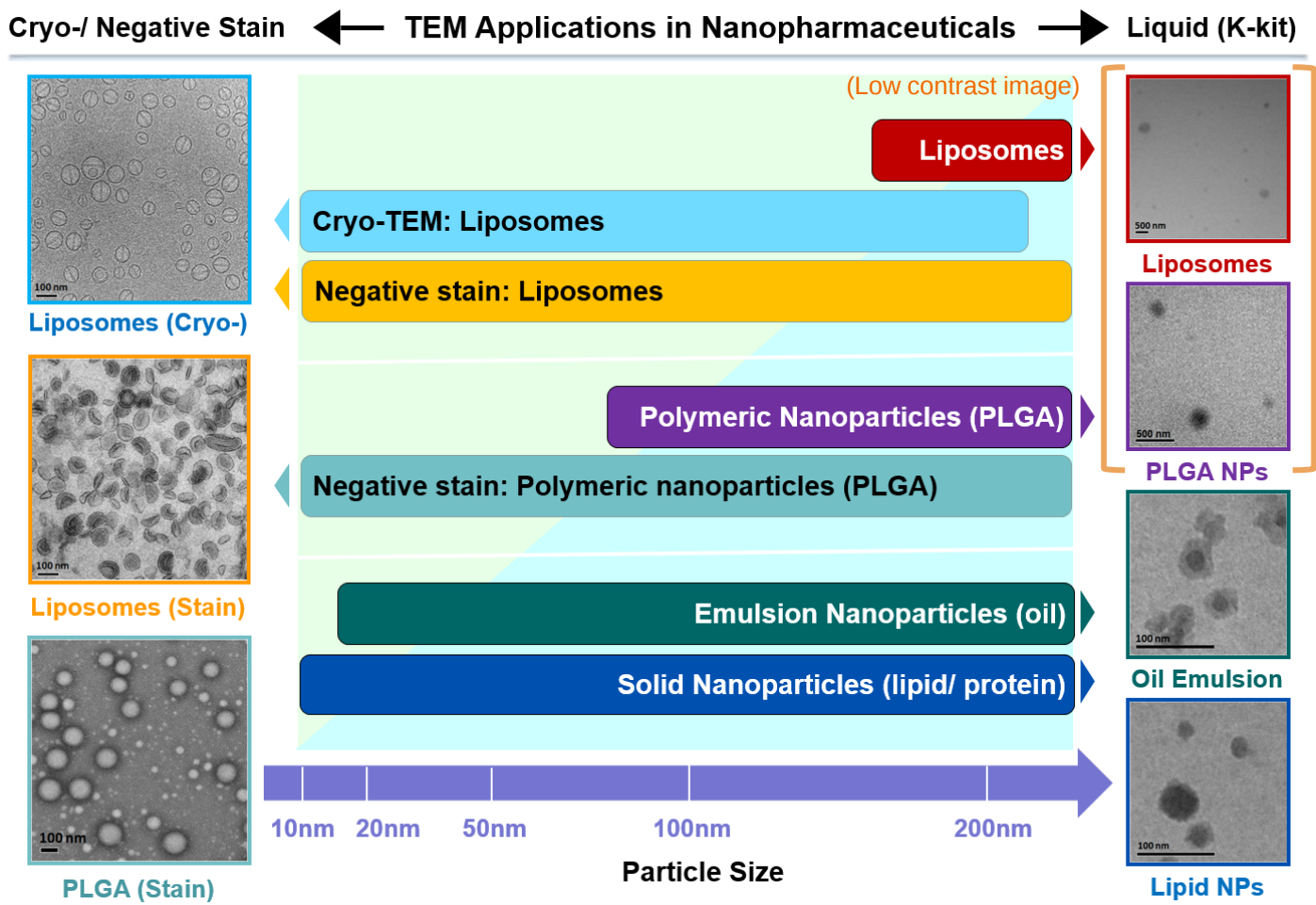
K-kit 是研究纳米药物最佳的液态电镜观测应用产品

◆ 适合应用 K-kit 进行影像分析的溶液粒子浓度范围： $10^{11}\sim10^{14}$ particles/ml

如下表所示，目前大部份的纳米药剂，其载体粒子浓度皆落在适合应用 K-kit 分析的范围。因此，K-kit 基本上可加载原液直接观测、无须再作稀释，是目前方便快速的液态电镜影像分析产品。

Brand Name of Pharmaceuticals	Doxil® (1995 approved)	Abraxane® (2005 approved)	Aurimune® (Phase II)	Resovist®	Rexin-G® (Phase II)
Particle Size	80-100 nm	~ 130 nm	~ 27 nm (AuNPs core), ~ 30-40 nm as hydrated	~ 45-60 nm (Hydradynamic diameter)	~ 100 nm
Particle Concentrations	1.0×10^{14} liposome /ml	4.3×10^{13} albumin particles /ml	$\leq 1.7 \times 10^{12}$ gold particles /ml	1×10^{14} particles /ml	$1-4 \times 10^{11}$ cfu

◆ K-kit 对于纳米药液的适用性分析及其与传统电镜观测作法的效果比较



某些纳米药物载体例如脂质体 (Liposomes)、外泌体 (exosome) 或是聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 等，一般都具有极低的 TEM 影像对比度，无法藉由直接观测获得所需结果。对此，K-kit 可藉由独特的负染技术来作改善，使其能够清楚观察粒子的外观尺寸及分散情形等真实影像。

应用实例

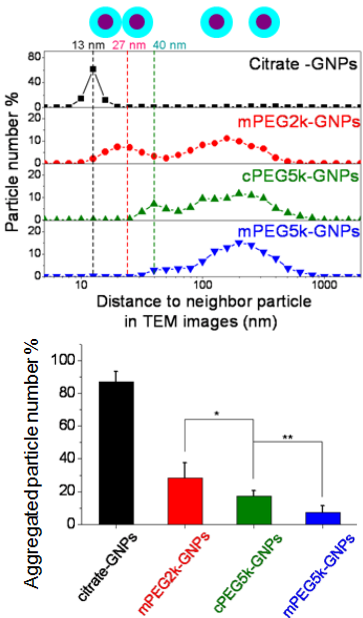
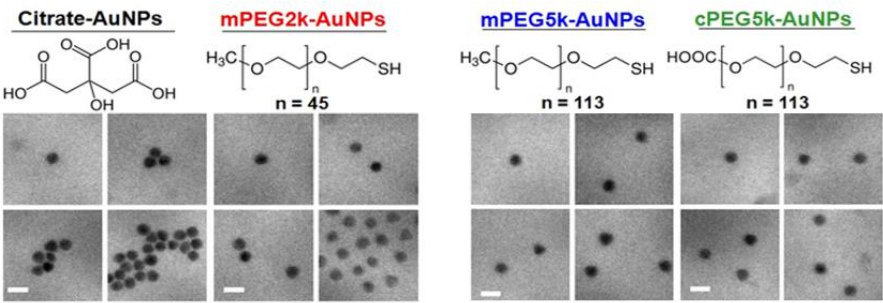
老鼠血液中的纳米金颗粒分布观察

藉由 K-kit 的应用，可对处于原液环境血液样品中的纳米颗粒作完整的物理化学特性分析。无论是「体外」与「体内」实验，皆可获得高质量的 TEM 电镜影像观察结果。藉由本例研究成果，清楚示范了 K-kit 在人体对药物的吸收、分布、代谢 (Metabolism) 及排泄 (Excretion) 等相关药物动力学 (Pharmacokinetic) 或物质毒性 (Toxicity) 研究方面，其具有极大的应用发展潜力。

(Tai et al. Anal. Chem. 2012, 84: 6312-6316)

◆ 不同聚合物修饰之金纳米粒子其于血液中群聚与团聚情形的影像分析结果

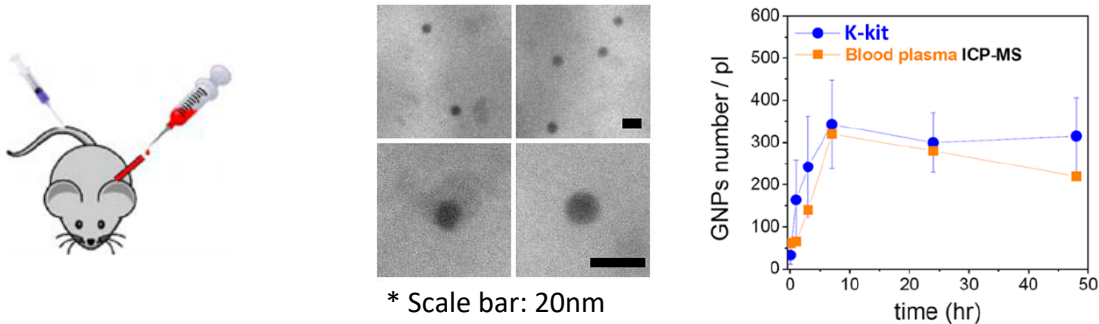
Samples	Particle size			Surface properties		In 50 % Blood
	TEM ^a d (nm)	DLS ^b d (nm)	PDI	Zeta potential ^b ξ (mV)	Surface ligand density ^c PEG (#/nm ²)	Aggregation extents Aggregates (%)
Citrate-AuNPs	13.0 ± 0.9	14.6	0.083	-28.3	non	87.1 ± 6.2
mPEG2k-AuNPs	27.5 ± 2.2	29.5	0.144	-23.0	2.27	28.4 ± 9.2
mPEG5k-AuNPs	39.9 ± 2.8	39.6	0.071	-18.9	1.63	7.1 ± 3.9
cPEG5k-AuNPs	39.6 ± 3.0	39.3	0.093	-35.5	0.82	17.3 ± 3.4



(TEM images of PEGylated gold nanoparticles in the 50% diluted blood)

此实验是将柠檬酸盐 (Citrate) 及聚乙二醇 (PEG) 等不同聚合物修饰过之金纳米粒子与血液混合之后，个别载入 K-kit 观察其粒子分散情形。根据 TEM 影像结果，以柠檬酸盐修饰之金粒子聚集最严重、而 mPEG5k 修饰者分散度最高，此与相关文献所归纳的结果一致。

◆ 以 PEG 修饰的金纳米粒子其于生体血液中随时间变化的定量浓度分析 (K-kit vs. ICP-MS)



本例实验将 cPEG5k 修饰的金粒子注射至老鼠体内，观察其于血液中的浓度随时间变化情形，并与 ICP-MS 量测结果相比较。实验结果显示，K-kit 影像观察与 ICP-MS 成份量测所得到的金浓度变化相当一致，此说明了 K-kit 同时具有定性及定量分析的应用潜力。

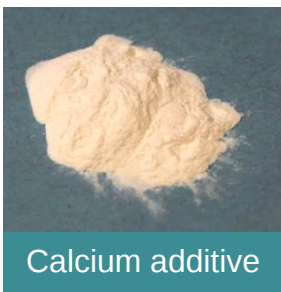
应用实例

牛奶中添加纳米碳酸钙 (CaCO_3)

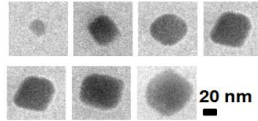


藉由 K-kit 的应用，可真正观察了解纳米食品添加剂「在食品中」的实际纳米特性，以正确评估食物的成分(包含添加色素) 及与食物接触物质是否符合安全性和管制法规标准。

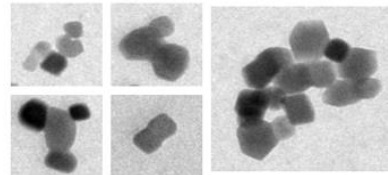
◆ 添加物 (CaCO_3 粉末)



□ NOs (Nano-objects)



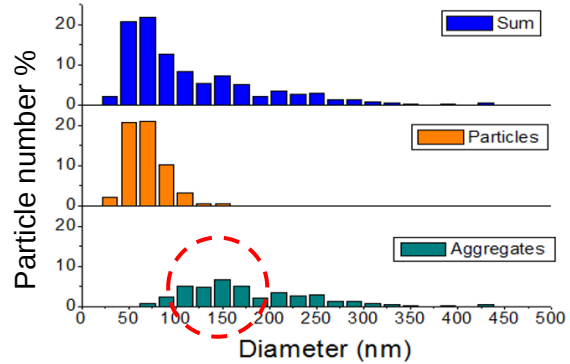
□ AAs (Aggregate/Agglomerate)



(在纯水中添加 4 wt% 纳米碳酸钙)

原材料完整的物理化学特性分析

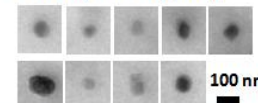
Parameter	Results	Methods
1 Composition	Calcite CaCO_3	TEM/EDX, XRD
2 Size / size distribution	Average Diameter / Standard deviation	
Crystal particle size	36 / 4 nm	XRD
Primary particle size	73 / 26 nm	TEM
Powder size	17 / 10 μm	SEM
3 Shape	Cubic	TEM
4 Aggregation/Agglomeration in relevant media	Average diameter / Standard deviation	K-Kit / TEM
NOAAs	115 / 73 nm	(4wt% in DI water)
Nano-Objects	68 / 20 nm (number 58%)	
Aggregations / Agglomerations	180 / 70 nm (number 42%)	
5 Solubility/Dispersibility	< 0.01% in Ca^{2+} form	ICP/MS
	Dispersed in DI water > 4 wt%	K-Kit / TEM
	(20 ~ 450 nm)	
6 Surface charge	-23.4 $\pm$ 1.3 mV (in DI water)	Zeta potential
7 Surface chemistry	Surface atom:	XPS
	C (35%), O(48%), Ca(16%)	
8 Specific surface area	18.14 m^2/g	BET



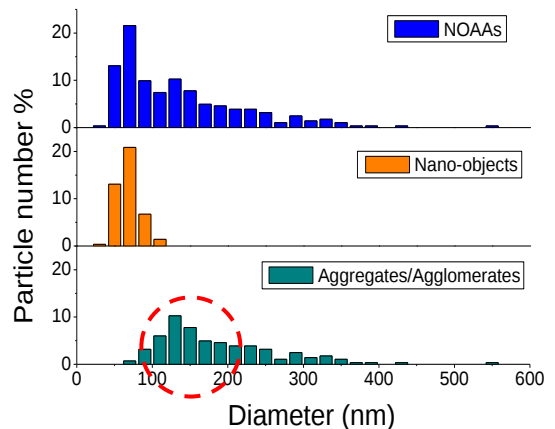
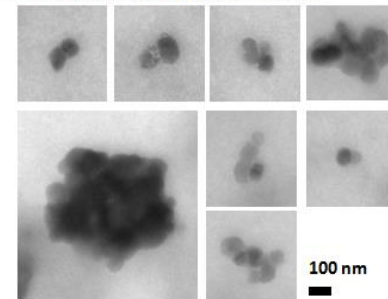
◆ 产品 (加钙牛奶)



□ NOs (Nano-objects)



□ AAs (Aggregate/Agglomerate)



本例结果显示，将 CaCO_3 纳米颗粒分别添加至纯水与牛奶中，其粒子于不同溶液中的分散程度会有些微差异。利用 K-kit 可快速便利地分析纳米添加物在「食品溶液」中的实际特性。

应用实例

防晒乳液内的氧化锌及氧化钛颗粒分布观察

藉由 K-kit 的应用，可真正观察了解含纳米成份的乳状化妆品「在原液中」之实际纳米特性，正确评估化妆品内纳米材料的安全性及其是否合乎管制法规标准。



◆ 化妆品添加纳米材料的相关法规及法规趋势

• 2012 年国际化妆品法规合作会议报告 (ICCR)

纳米材料特性 II- 于最终产品中溶解度、生物兼容性与粒径量测。

• 欧盟化妆品法规条文 (No. 1223/ 2009)

化妆品含纳米材料之强制标示，2013 年 7 月 11 日起生效。

• 2012 年美国食品药品监督管理局指引

业界指引- 化妆品内纳米材料之安全性。

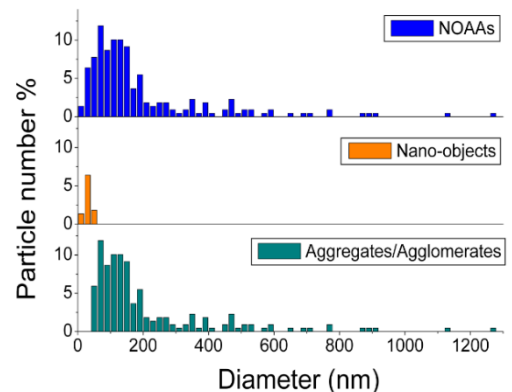
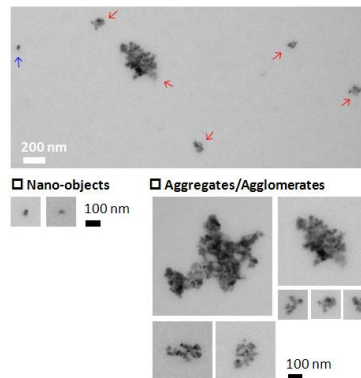
• 2015 年台湾卫福部食品药品监督管理局指引 (公告日: 2015 年 7 月 7 日)

业界指引- 含纳米成份化妆品风险评估指引，FDA 器字第 1041602379 号。



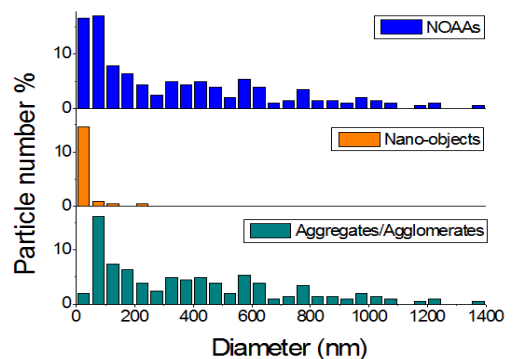
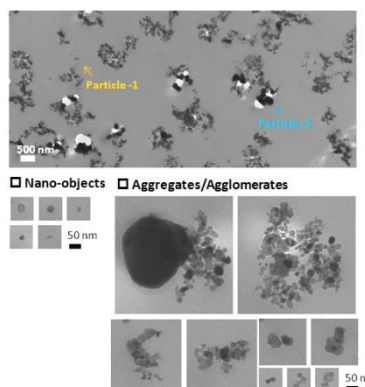
防晒乳产品 A

添加氧化锌 (ZnO) 纳米颗粒



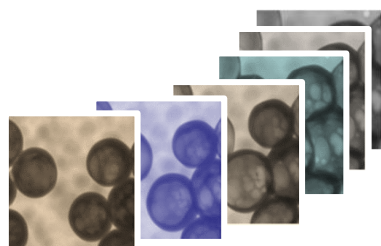
防晒乳产品 B

添加氧化钛 (TiO₂) 纳米颗粒

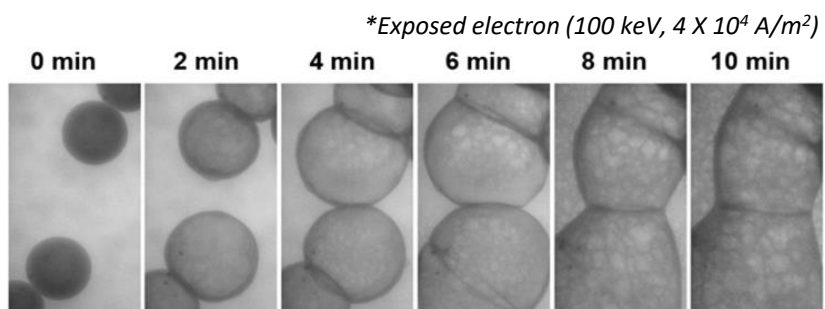


應用實例

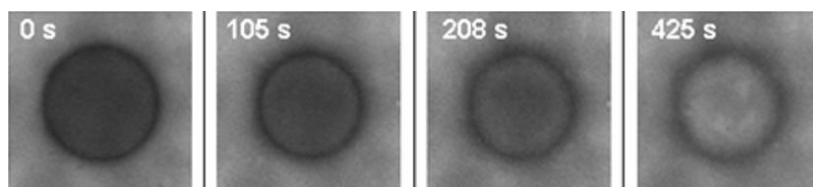
实时观察溶液中纳米粒子的动态变化



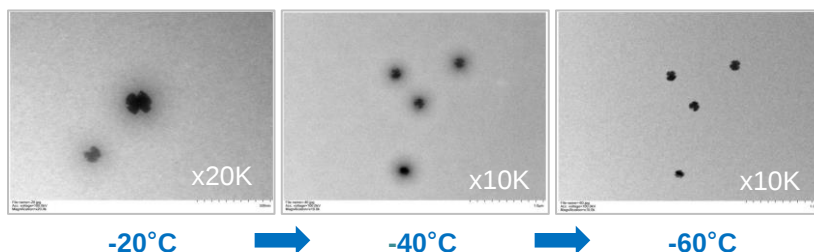
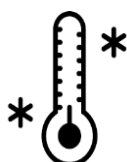
藉由 K-kit 的应用，可实时观察溶液中纳米粒子随着时间、区域、温度、或是沉浸环境等条件改变时的动态变化情形。



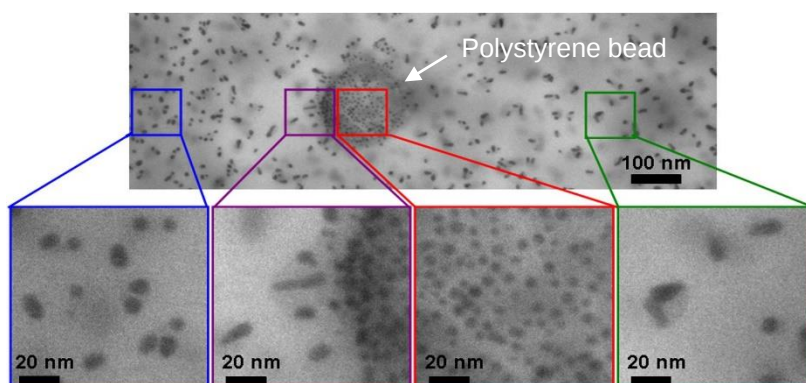
水溶液中的硅酸盐 (Silicate) 纳米粒子动态变化。 200nm



聚苯乙烯粒子于生理盐水 (PBS) 溶液中的反应变化情形。



二氧化硅纳米粒子随温度变化的外观改变情形。

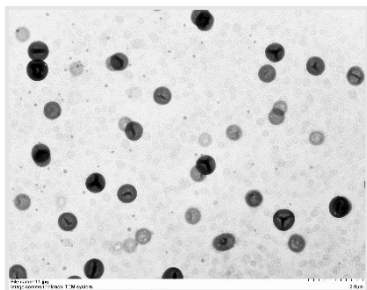


动态观察氯酸金 (AuCl_4) 溶液中的聚苯乙烯粒子，其在靠近及远离该表面位置时的金粒子还原反应差异情形。

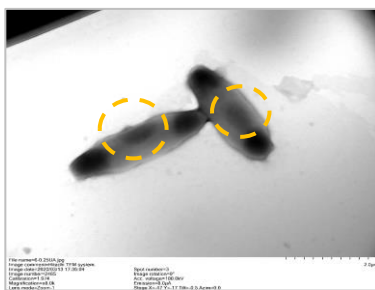
可实现的 K-kit 重要应用

1 保持样品在原液中观察

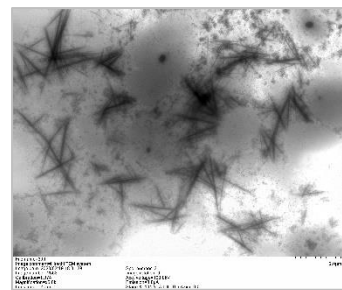
- 可观察纳米粒子于原液中的实际样态与分布情形。



血小板的外泌体 (Exosomes)



大肠杆菌的拟核 (Nucleoid of E.coli)

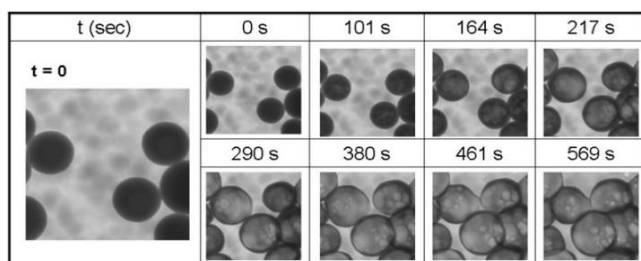


原液中的胶原蛋白 (Collagen)

2 溶液中纳米粒子动态变化

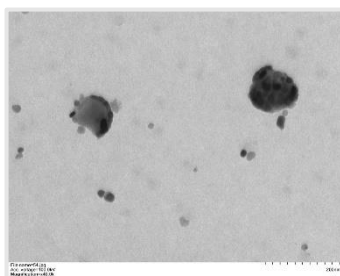
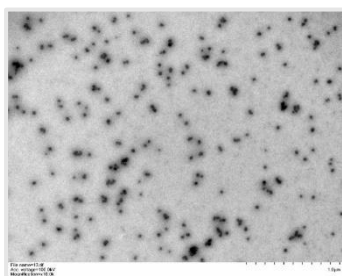
- 可实时观测样品溶液在 TEM 电子束作用下的金属还原成长过程、或相关物化反应，及其随时间改变的连续动态变化情形。

硅酸盐 (Silicate) 纳米颗粒的动态变化观察

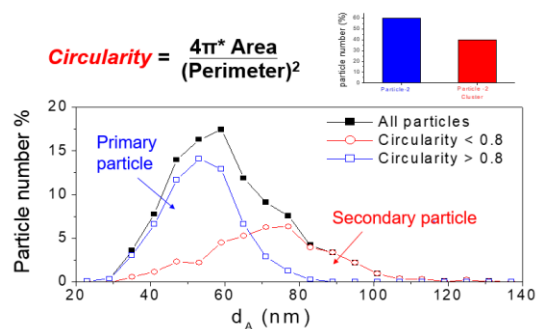


3 粒子尺寸分布与团聚程度量化分析

- 藉由适当的影像软件辅助，可达到对于纳米颗粒于溶液内真实分布情形之定量分析。

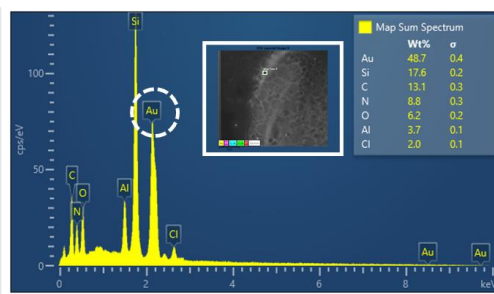
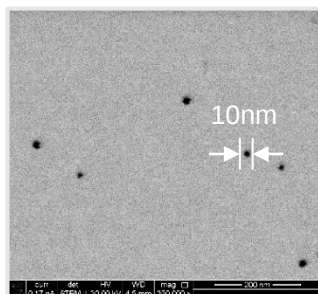


CMP Slurry 的研磨颗粒影像



4 适用 SEM 及 EDX 分析

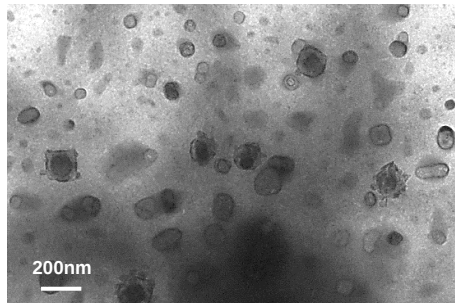
- K-kit 可使用 SEM 进行观察。经过实际测试，即使尺寸小于 10nm 的金颗粒也能清楚成像。另外，K-kit 也可对样品成份进行 EDX 分析。



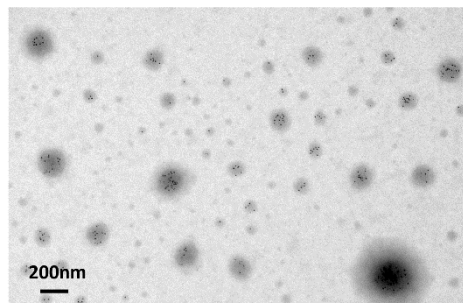
使用 FEI Helios 400 SEM 观测 K-kit 内的金粒子影像结果

5 负染及多次加载的研究应用

(Appl. Sci. 2020, 10, 4946)



血小板外泌体经过负染处理的 K-kit 影像观察结果。(使用 UA 金属染料)



血小板 α 粒子以 K-kit 进行抗体免疫金标定之观察结果。(经过多次载入)

- 对于低影像对比度的生物样品、例如脂质体 (Liposomes) 或外泌体 (Exosome) 等，K-kit 可藉由独特的金属负染技术，来强化其 TEM 影像对比度。
- 由于具有单体结构的优势特征，K-kit 可使用于需要多次加载溶液的应用，例如免疫电子显微镜学 (Immunoelectron microscopy)、或是触媒与催化反应等相关研究。

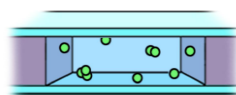
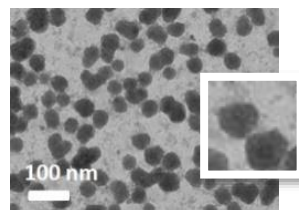
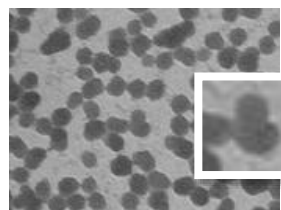
6 湿式与干式样品制备

• 湿式 (Wet mode)

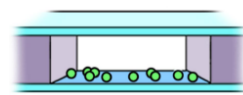
- 通道内充满溶液样品。此适用于观察需要溶液的化学反应例如还原过程，或是粒子保水状态下的真实外观等。

• 干式 (Dry mode)

- 通道壁面存在薄液层、或已完全干燥，但其不影响纳米颗粒原始的分布情形。此特别适合应用于当样品溶液与 TEM 电子束作用会产生剧烈气泡或扰动之观测。



Wet

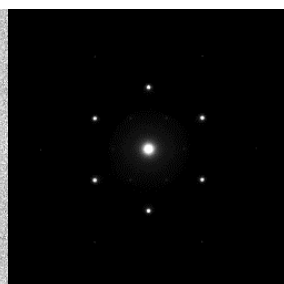
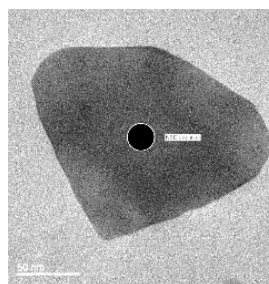


Dry (Thin Layer)

未经稀释的 CMP (Chemical-Mechanical Polishing) 溶液样品，其干式及湿式 K-kit 影像比较结果。

7 TEM 晶格衍射分析

- K-kit 也可应用于需要晶格衍射信息的纳米溶液相关研究，例如材料分析、或是以衍射图形来仿真计算并重构影像等。本例是量测载入 K-kit 的氯金酸 (AuCl_4) 溶液，其经与电子束作用所生成金粒子之 TEM 晶格衍射图形。(By FEI Tecnai TEM @200KV)

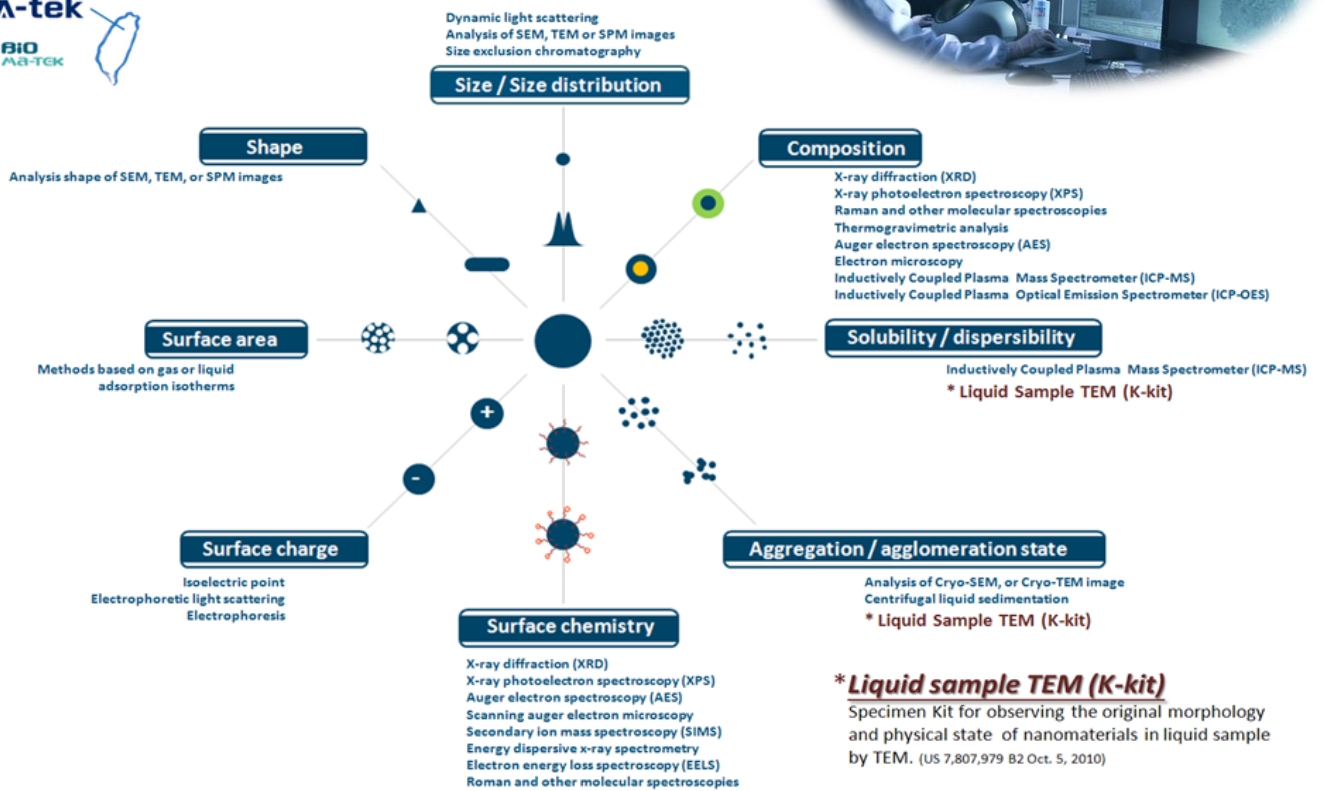
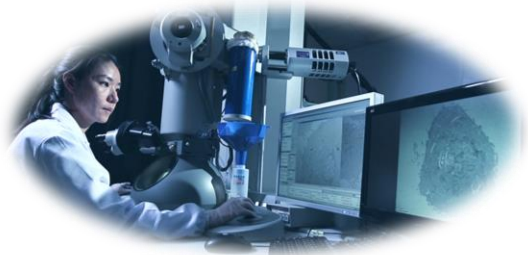


湿式 K-kit 内金纳米粒子的 TEM 微区衍射 (NBD ; Nano-beam diffraction) 影像。

不只是 K-kit

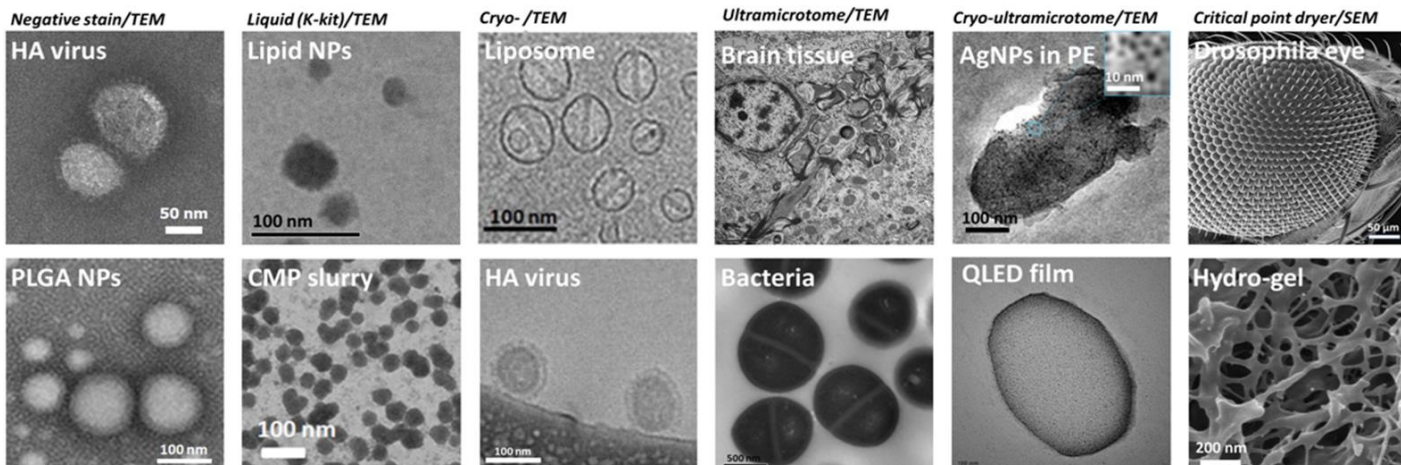
闵康公司生物科技事业群提供全方位电镜及物化分析服务

- 闵康公司生物科技事业群基于 ISO/TR13014 所规范的 8 项重要物质特性参数，提供专业完整之优质分析服务。



*** Liquid sample TEM (K-kit)**

Specimen Kit for observing the original morphology and physical state of nanomaterials in liquid sample by TEM. (US 7,807,979 B2 Oct. 5, 2010)



分析服务内容



本公司的服务可广泛应用于各产业

- 生物组织与生物材料
- 生技医药产业 (纳米剂型、纳米药物...)
- 疫苗产业 (疫苗制剂、佐剂...)
- 医疗器材产业 (透析膜、敷料...)
- 美容化妆品 (粉饼、乳霜、乳液、面膜...)
- 食品产业 (添加物、包材...)
- 电子产业 (半导体、液晶面板、电路板...)
- 化学原物料产业
- 学校及法人研究单位
- 其他纳米材料与产品



服务项目

物理/化学特性分析

- 粒径/粒径分布分析: DLS
- 表面电位分析: Zeta potential
- 组成成分分析: TGA, DSC, FT-IR, XRD, UPLC, ICP-MS, LC/MS/MS (QQQ)
- 表面化学分析: XPS
- 表面积分析: BET

电子显微镜影像分析

- 传统负染
- 树脂包埋
- 常温超薄切片
- 冷冻超薄切片
- 临界点干燥系统
- 低温电子显微镜转换系统
- 液态样品电子显微镜制备
- 透射电子显微镜
- 扫描式电子显微镜

关于闽康公司生物科技事业群

闽康公司生物科技事业群 (Bio MA-Tek) 其前身为合康生物科技公司，成立于 2014 年 3 月。秉持『科技产业研发伙伴』的理念，因应产、学、研各界对于「纳米」与「生物」技术日益精进的分析需求，以专业的团队、先进的技术，依循 ISO TR13014 (纳米生物安全技术报告) 的建议，建构完整的物理化学特性分析服务，并且以各类型的生物样品制备技术，提供全方位的生物电镜样品制备与影像观察分析服务。



愿景

成为纳米生物样品制备与分析的领导品牌。

营运模式

专注核心技术、整合内外资源、提供客户专业、适切的服务。

定位

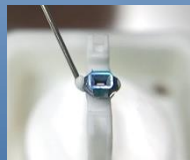
纳米生物样品分析服务的设计师。

服务范围

食品、化妆品、医材、药剂、疫苗、生物组织等等各方面的纳米生物样品；提供专业适切的样品制备与分析服务、顾问咨询、与委案合作。



Bio MA-tek, the best R&D partner for Your Success !



闕康科技股份有限公司 生物科技事業群

- 總公司：302 新竹縣竹北市台元街 26-2 號 1 樓
- 實驗室：300 新竹市科學工業園區力行一路 1 號 1A3

Tel: +886-3-611-6678 product@ma-tek.com

Fax: +886-3-563-0777

www.ma-tek.com

Materials Analysis Technology Inc. (MA-tek)

- Office: 1F, No. 26-2, Tai-Yuen St.,
Jubei City,
Hsinchu County, 302, Taiwan
- Lab: 1A3, No. 1, Li-Hsin Rd. 1,
Science-Based Industrial Park,
Hsinchu City, 300, Taiwan