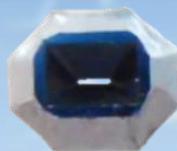
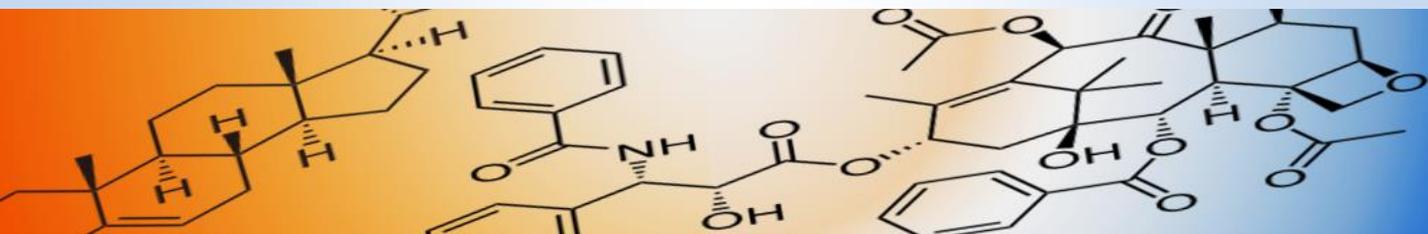
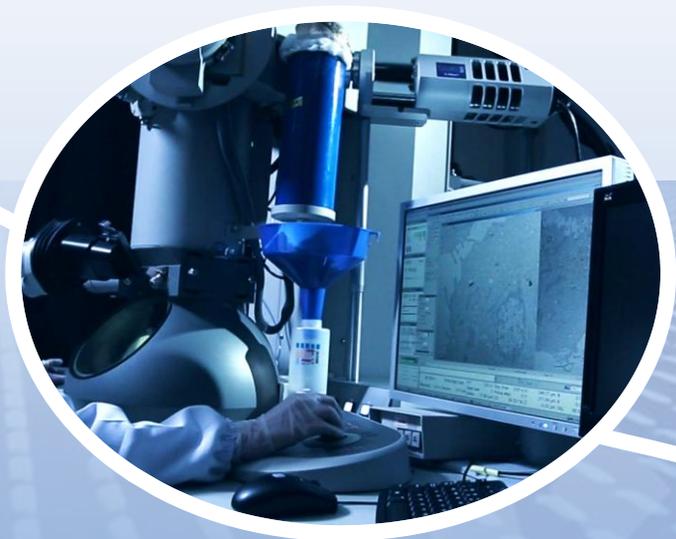
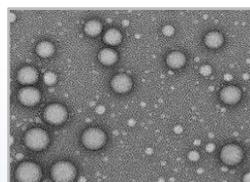
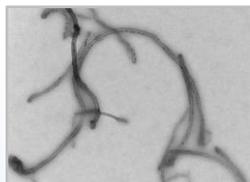
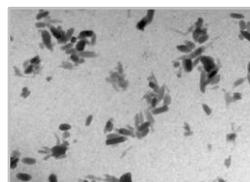
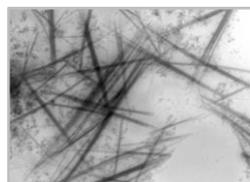
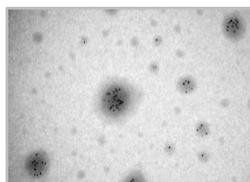
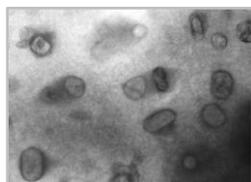


K-kit[®]



液態樣品電子顯微鏡觀測



目錄

產品基本介紹

閎康專利液態樣品電子顯微鏡影像分析技術 K-kit	03
K-kit 與 TEM Grid 使用效果比較	04
K-kit 產品適用性	05
材料與結構的強韌性	06
高品質 TEM 影像	07
樣品製備模式	08
潛力應用市場	09

使用方法與功能特點

出貨包裝及輔助工具	10
K-kit 工具箱	11
K-kit 樣品製備程序	12
K-kit 使用注意事項	13
適用於 TEM 及 SEM 影像觀察	14
多次載入與負染應用	15
EDX 分析方法	16
K-kit 與原位液態樣品桿的優缺點比較	17

應用實例

CMP 研磨溶液內的奈米顆粒分析	18
溶液中的量子點 (QDs) 奈米粒子分析	19
奈米藥劑內的蛋白質顆粒分布觀察	20
老鼠血液中的奈米金顆粒分布觀察	22
牛奶中添加奈米碳酸鈣 (CaCO ₃)	23
防曬乳液內的氧化鋅及氧化鈦顆粒分布觀察	24
即時觀察溶液中奈米粒子的動態變化	25
可實現的 K-kit 重要應用	26

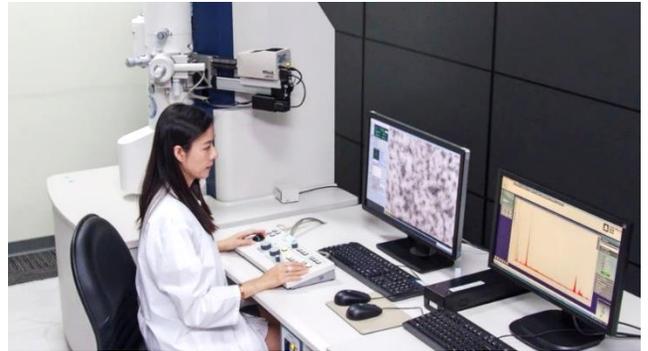
其它

不只是 K-kit	28
分析服務內容	29
關於閎康公司生物科技事業群	30

閎康專利液態樣品電子顯微鏡影像分析技術 K-kit



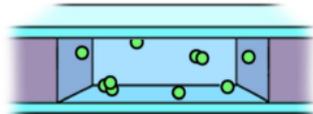
K-kit 是個微型液體樣品槽晶片。其結構採用獨家專利的單體式設計、並以 TEM 標準銅環承載，因此可適用所有廠牌的電子顯微鏡設備進行觀測。藉由 K-kit 的應用，可以在電子顯微鏡腔體內高真空環境下，直接觀測溶液中奈米顆粒的即時動態變化、尺寸外觀與群聚團聚等現象，簡單又快速地實現高品質之液態樣品影像分析。



穿透式電子顯微鏡 (TEM)

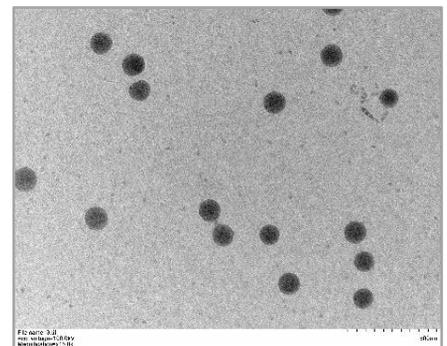


濕式 (Wet)



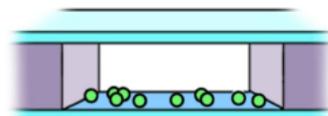
通道內充滿液體樣品

- 液態樣品可以直接注入，在開口處塗膠密封後，即可上機觀察。



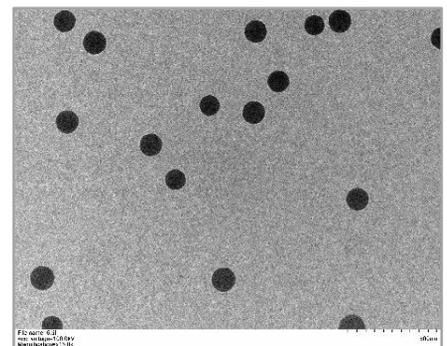
影像品質可接受

乾式 (Thin Layer)



存在薄液層、或完全乾燥

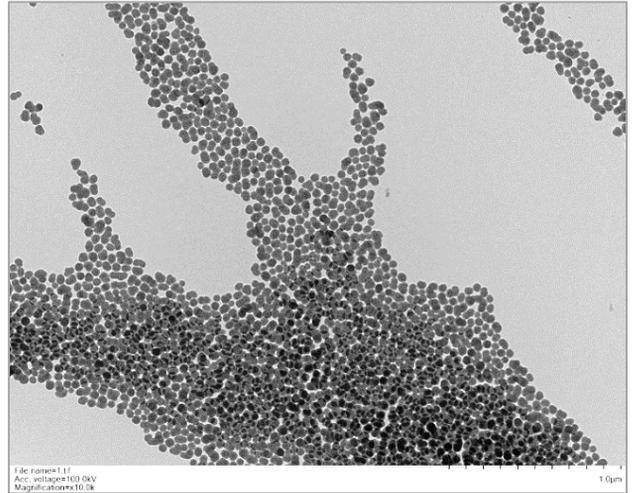
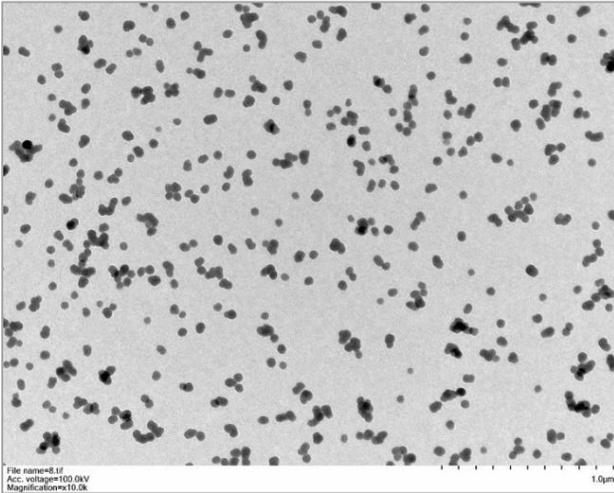
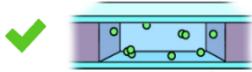
- 樣品經過真空乾燥處理，可在不影響奈米顆粒真實分布狀況下，大幅提高影像解析度。



影像品質極佳

(NIST 100nm 聚苯乙烯粒子)

K-kit 與 TEM Grid 使用效果比較



上圖是利用 K-kit 觀察 CMP 研磨溶液的 TEM 影像結果。藉由 k-kit 的應用，可清楚觀測粒子處於原液環境時的實際外觀尺寸及懸浮分散情形。

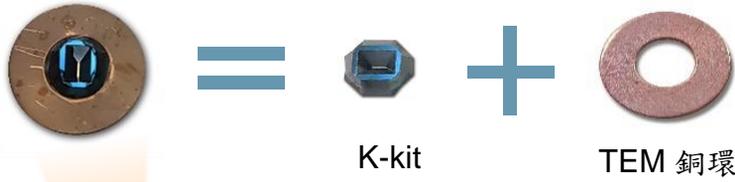
上圖是使用 TEM Grid 於乾燥狀態下觀察 CMP 研磨溶液的結果。由於乾燥過程會使粒子嚴重聚集，其無法針對奈米粒子的真實尺寸及分散情形進行分析。

(✓ 優 Δ 視情況 X 無)

物理及化學參數	K-kit	TEM Grid
1. 組成物質 (Composition)	✓	✓
2. 尺寸 (Size)	✓	✓
3. 外形 (Shape)	✓	✓
4. 尺寸分布 (Size distribution)	✓	Δ
5. 群聚與團聚分析 (Aggregation & agglomeration)	✓	X
6. 顆粒濃度 (Concentration)	✓	X
7. 原液中的影像 (Liquid TEM observation)	✓	X

K-kit 產品適用性

● 適用於各廠牌的 TEM 進行觀測



某些特定品牌型號的 TEM，其在結構設計上電子束於 Z 軸方向的可聚焦距離範圍過小 (例如型號 JEOL 2100 的 TEM，Z 軸焦聚可調範圍僅約 $\pm 120\mu\text{m}$)，此會使得觀測 K-kit 時，該電子束無法順利聚焦於樣品液層上，因此無法獲得良好影像。關於其可能改善或解決作法，請參考官網 www.bioma-tek.com 說明。

● 可應用在各種常見化學溶液之分析



K-kit 結構是由抗酸鹼的矽材組成，而其選用的密封膠 (Torr Seal[®] epoxy) 也與多數化學溶液不反應。下表為 Torr Seal 膠以各類化學溶劑浸泡 24 小時之後，該膠材的 FTIR 量測分析 (是否有溶解反應) 及目視觀察 (是否於溶劑內散佈) 結果。

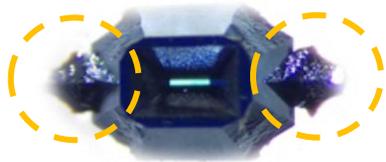
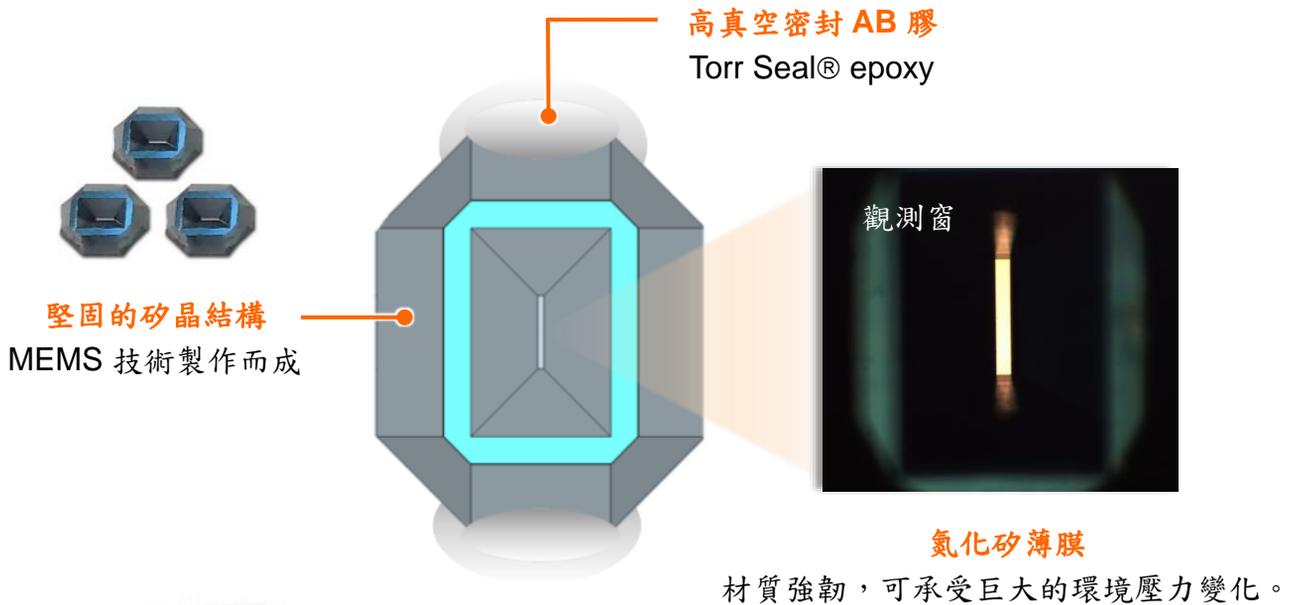
✓- Compatible (FTIR not detected) ▲- Use with care (FTIR detected)

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
✓	✓	✓	▲	▲	▲	

材料與結構的強韌性

K-kit 適用於溫度範圍 -196°C to 120°C

可直接使用在具有加熱或冷卻功能的 TEM 樣品桿上



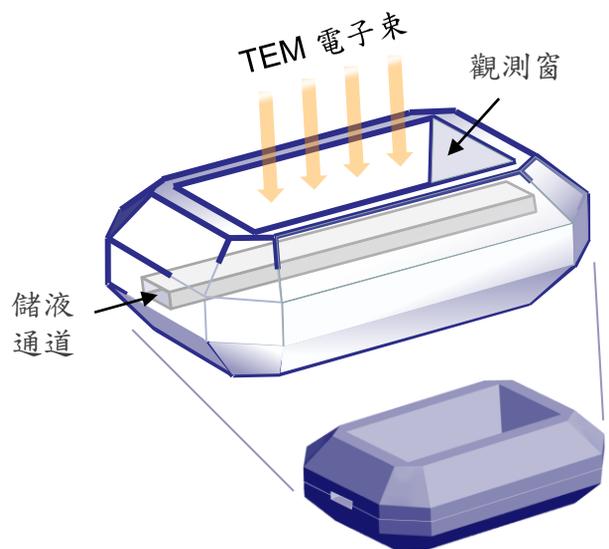
通道密封塊 (Channel tips)

K-kit 兩端各有一密封塊，使微通道維持在真空中，確保其內表面高度潔淨、並具有良好的溶液載入效果。



藉由毛細力載入，效果穩定可靠

無論高黏性、或是油性樣品，大多皆可直接載入，無須稀釋。(可載入黏滯係數大於 3,000 mPa-s 的溶液)



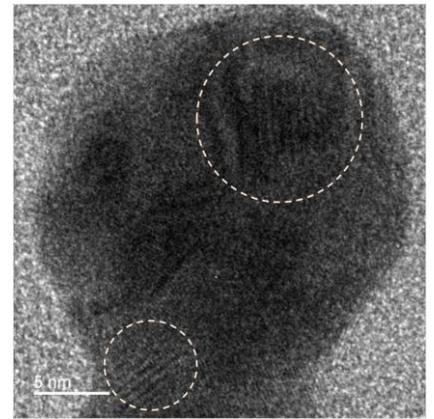
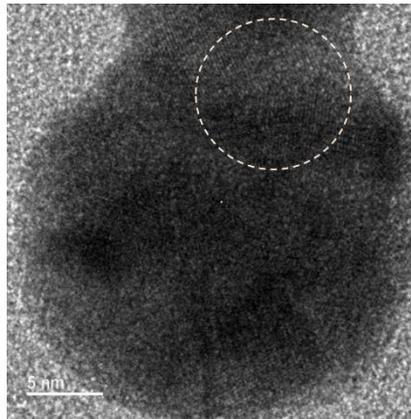
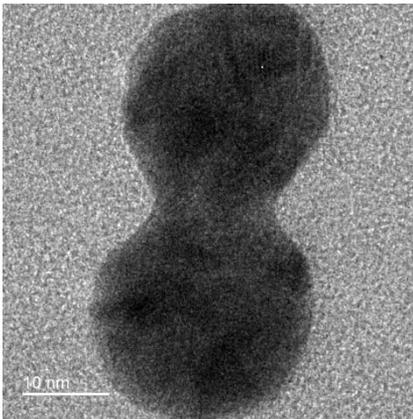
單體式結構 (Unibody structure)

K-kit 是一次性使用的，無交叉汙染問題。而其結構採用單體式設計，使用前無須像組合式的液態樣品桿作法一般，對晶片進行包括清潔、表面處理、組裝及測漏等繁瑣步驟。

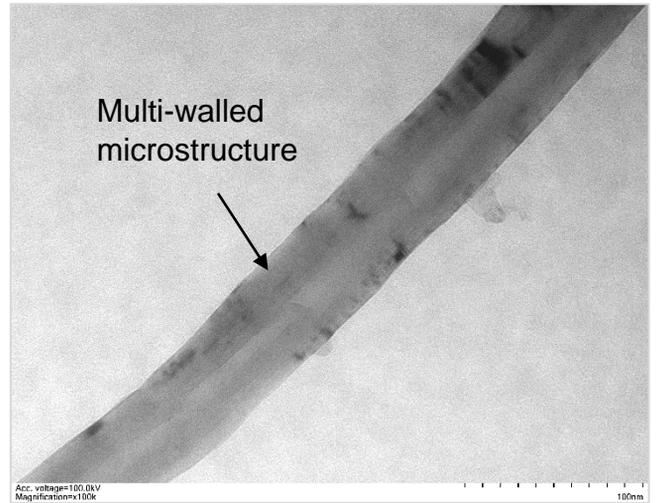
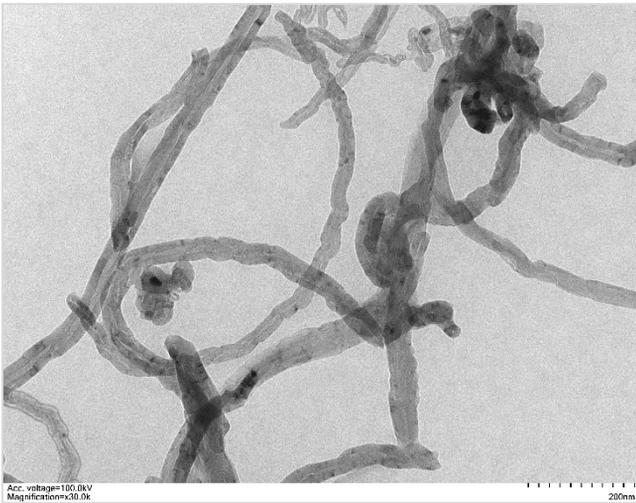
高品質 TEM 影像

● K-kit 在不同樣品製備模式下的 TEM 影像解析度

K-kit 氮化矽 (Si_3N_4) 薄膜厚度	樣品製備	
	濕式 (Wet)	乾式 (Dry)
100nm	< 10nm	< 5nm
30nm	< 5nm	< 2nm

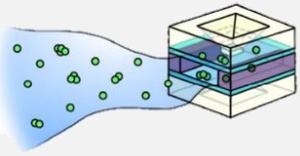
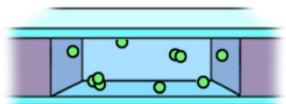
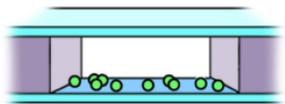
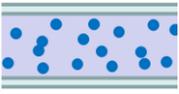
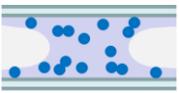
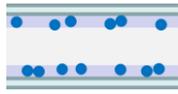
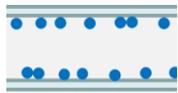


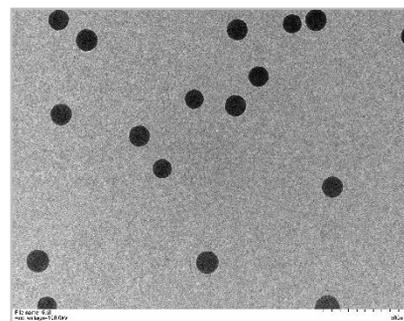
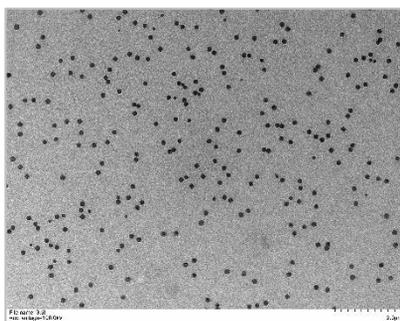
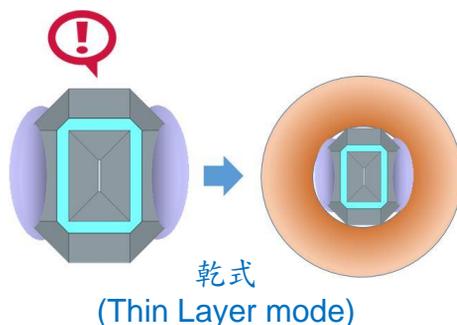
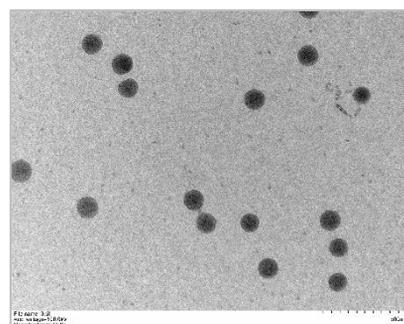
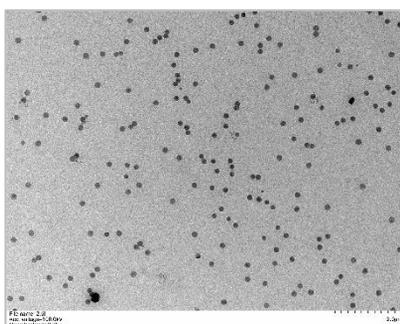
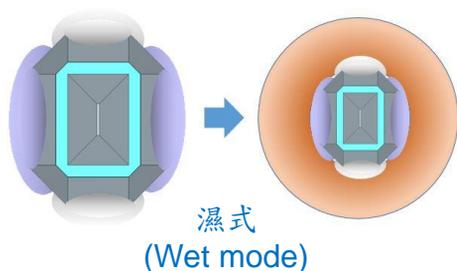
(實例) K-kit 的 TEM 影像品質非常良好。如上圖所示，本例使用薄膜厚度 30nm、通道高度 0.2 μm 的 K-kit，其可清楚觀測到其內氯金酸 (AuCl_4) 溶液與電子束作用所反應生成的奈米金顆粒、及其表面晶格線。(FEI Talos TEM @ 200KV)



(實例) 上圖為多壁奈米碳管 (WMCNT; Multi-walled Carbon Nanotubes) 於純水中的分散狀況。本例使用薄膜厚度 30nm、通道高度 2 μm 的 K-kit，其可清楚觀測到奈米碳管的複壁多層結構。(By Hitachi HT7700 TEM @100KV; WMCNTs: OD 30-80 nm, Length <10 μm , 10wt%)

樣品製備模式

K-kit 樣品製備模式	濕式 (Wet)	乾式 (Thin Layer)
	存在液體 	乾燥 
影像解析度	良好	極佳
適用通道尺寸 (μm)	0.1, 0.2, 0.5	0.5, 1, 2, 5
可載入樣品粒子尺寸 (nm)	< 500	< 3,000
樣品粒子外形	原始樣貌	潛在輕微變形的可能性
電子束作用時潛在發生化學反應、或是粒子受到破壞的風險	高	低
 K-kit 可形成的內部狀態	 完全充滿液體  部份充滿液體	 壁面存在薄液層  乾燥狀態

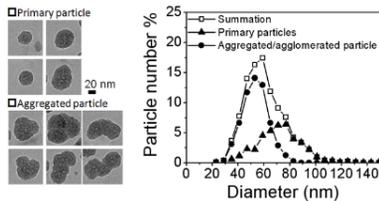
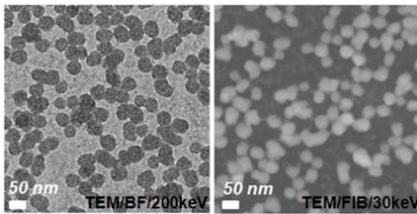


潛力應用市場

協助傳產、電子業、化妝品、食品、生醫等相關產業，分析奈米物體及其群聚與團聚現象 (Nano-objects, Aggregates, and Agglomerates; NOAAs)。

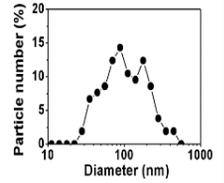
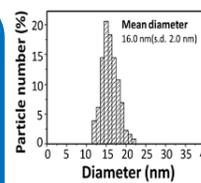
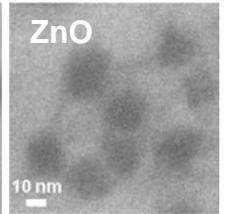
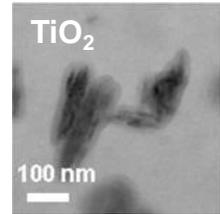
研磨液

- 化學機械研磨液中的氧化矽奈米顆粒



乳液

- 防曬油中的二氧化鈦及氧化鋅



電子業



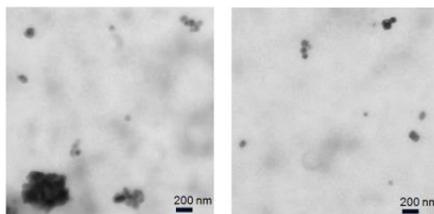
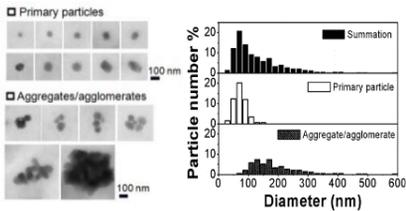
化妝品



食品



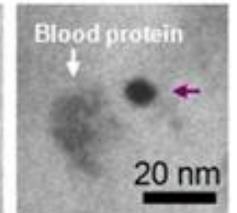
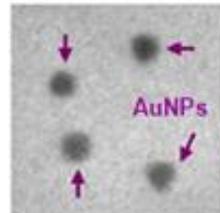
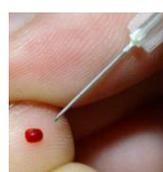
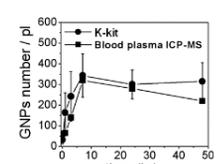
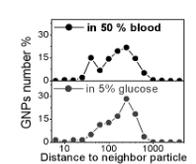
生醫



牛奶

- 牛奶中的奈米碳酸鈣粒子

Aggregation/agglomeration Particle concentration



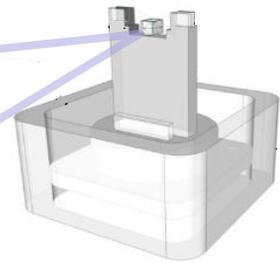
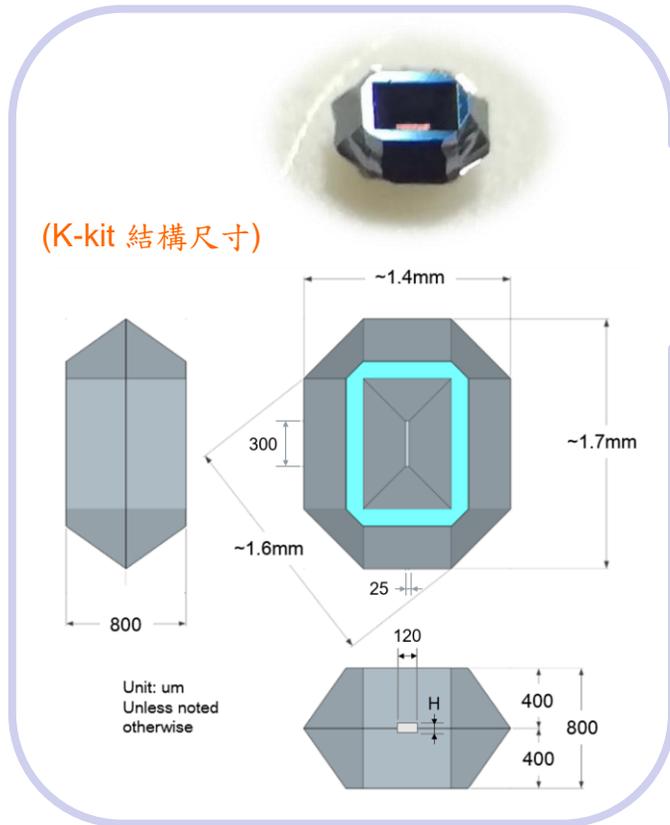
生物組織

- 血液中的奈米金粒子

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.

出貨包裝及輔助工具



(K-kit 產品基座)

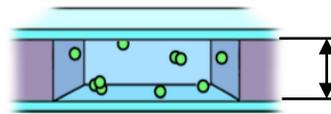


K-kit 黏貼在基座



蓋上透明保護蓋

- K-kit 觀測窗長度 300 μ m、寬度 25 μ m
- 可提供六款通道高度設計 (H)，
標準品: 0.2, 2
客製品: 0.1, 0.5, 1, 5



H = 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5 (μ m)



4 K-kits

(出貨包裝盒)



6 K-kits



銅環

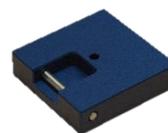


密封塊切斷裝置



密封膠、固定膠、調膠棒、
塗膠用針、密封塊切斷裝置

(選購工具及耗材)



取樣座



塗膠工作站



取樣筆



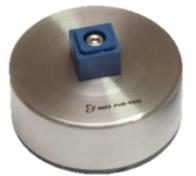
塗膠針筆

K-kit 工具盒

工具盒內容包含取樣筆 (K-kit Holder)、取樣座 (Sample-loading Stage)、塗膠針筆 (Needle Pen)、塗膠工作檯 (Gluing Stand)、玻片盒 (Glass-slide Pack) 及專用膠盒 (Accessory Box) 各一組。



W275 x D150 x H50 (mm)



塗膠工作檯



玻片盒
(盒內隨附 6 片玻片)



取樣座



專用膠盒

(附件盒內放置密封塊切斷裝置與工具備品附件)

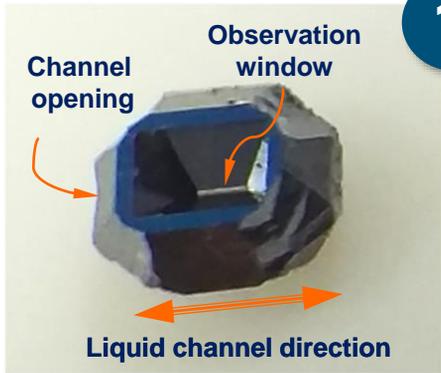


塗膠針筆 & 取樣筆



K-kit 包裝盒
(6 顆裝空盒)

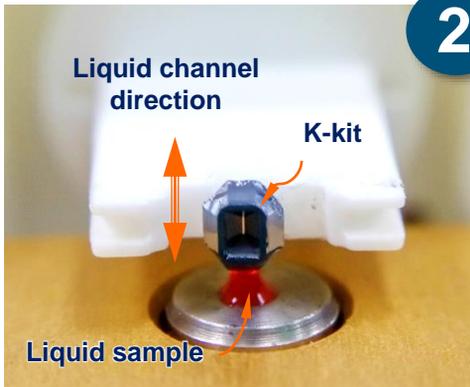
K-kit 樣品製備程序



1

1. K-kit

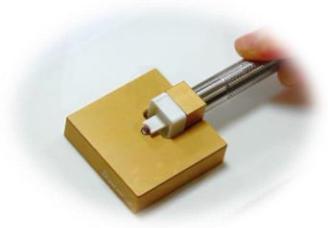
K-kit 是以矽材製作的液態樣品槽晶粒，其於結構的上下兩面皆設置有氮化矽 (Si_3N_4) 薄膜觀測窗，可供各式電子顯微鏡的電子束穿透與成像使用。此觀測窗結構是使用微機電系統 (MEMS) 的非等向濕蝕刻製程技術來形成該凹槽和斜面。



2

2. 注入液態樣品

液體藉由毛細現象注入流道。將 K-kit 輕觸液面，液面會因為附著力的關係而被 K-kit 拉住，保持這種狀態大約 30 秒讓液體充份注入。請勿將 K-kit 接觸液體太深，以避免液體從外面流入視窗中造成汙染，導致 TEM 無法順利成像。



3

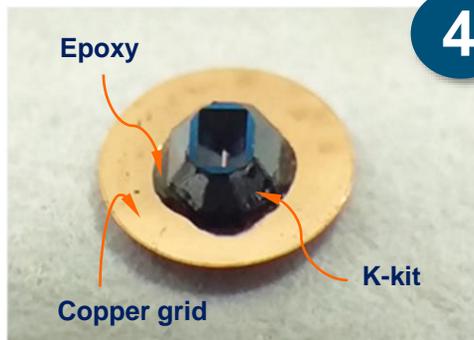
3. 真空膠封口

流道兩端開口皆須使用真空膠 Torr Seal 進行密封。(若欲製備乾燥模式的 K-kit 樣品，請無須進行此真空膠封口步驟)

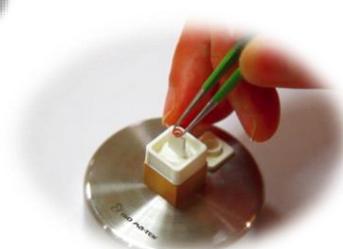


4. 固定於銅網

使用固定膠 (透明) 將 K-kit 黏著於具有開孔的標準銅環上。藉由適當調整，使 K-Kit 晶粒上下對稱、水平地黏貼在銅網中央開孔內。



4



掃瞄 QR code 播放教學影片

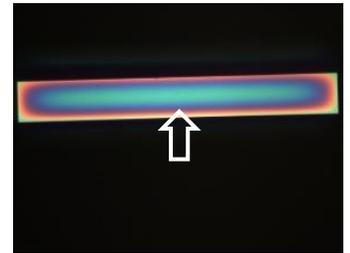
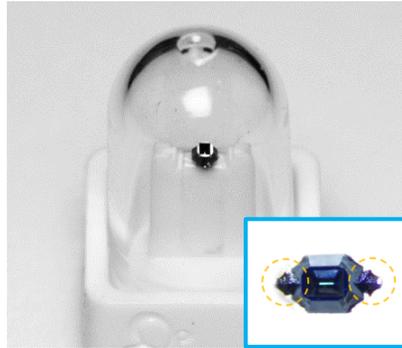
請點選下列連結網址觀看影片：
<https://youtu.be/Hi9TyT4MwEg>



K-kit 使用注意事項

使用前檢查晶片外觀

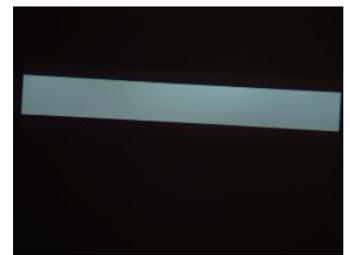
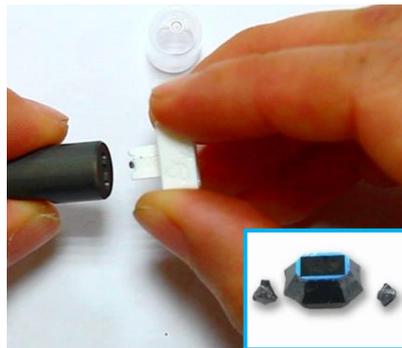
- 確認薄膜上具有彩紋對稱的牛頓環 (確保 K-kit 內部處於真空狀態)。
- K-kit 結構外觀無異常損壞。



具有彩紋對稱的牛頓環
(內部保持真空密封)

移除通道兩端的密封塊

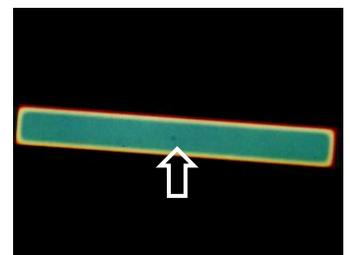
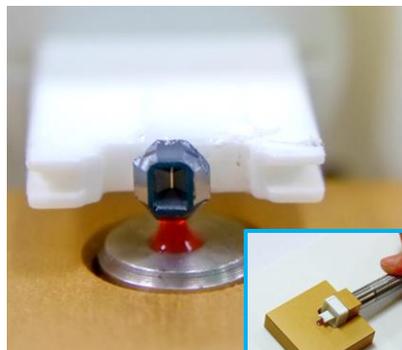
- 使用 K-kit 前須確定已完全移除通道兩端之密封塊。
- 在密封塊移除之後，請盡可能於半小時內載入液態樣品。



移除密封塊後薄膜平坦
(通道與大氣環境連通)

注入液態樣品

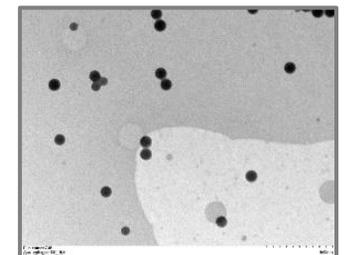
- 為使樣品溶液可完全充滿通道內部，載入溶液時，K-kit 開口端接觸液滴表面至少維持 30 秒。
- 載入時僅輕微接觸液滴表面即可，避免將 K-kit 本體浸入溶液內。



具有不同顏色的彩紋
(載入液體之後)

塗膠步驟

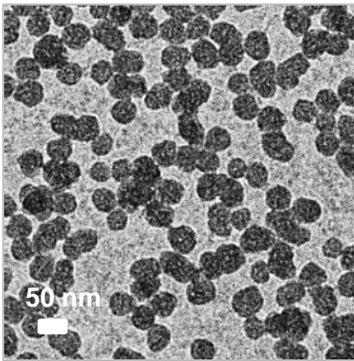
- 載入溶液之後，請在 2 分鐘內完成通道兩端的塗膠密封步驟。
- 若是製備乾式的 K-kit 樣品，通道兩端無須進行塗膠密封。
- 塗膠作業須小心操作，避免膠材流入觀測窗內造成遮蔽或汙染。



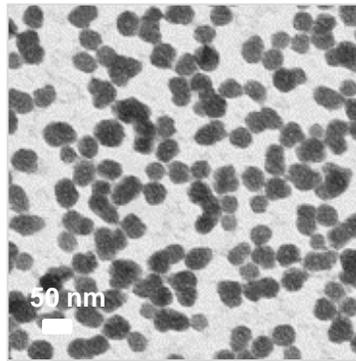
溼式樣品的 TEM 影像
(載入後須盡快塗膠封口)

適用於 TEM 及 SEM 影像觀察

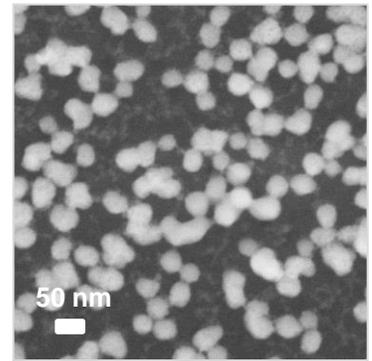
- 可應用於不同的電子顯微鏡設備進行觀測



FEI-TEM @200Kev



Hitachi-TEM @100Kev

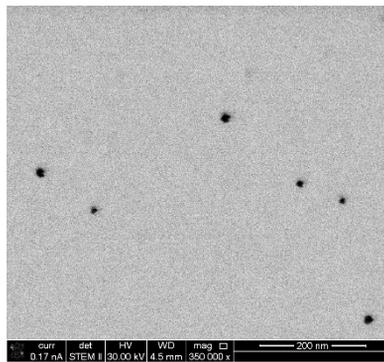


FEI-STEM @30Kev

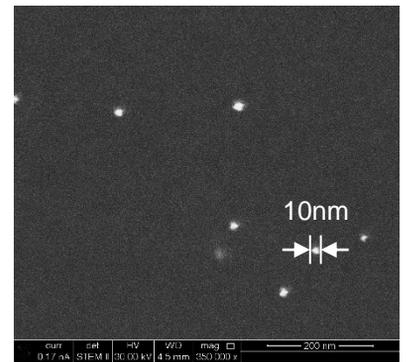
- 可獲得高解析度 SEM 影像結果



使用 SEM 觀察 K-kit 樣品，即使粒子尺寸小於 10nm 也可清楚成像 (本例載入金奈米顆粒)

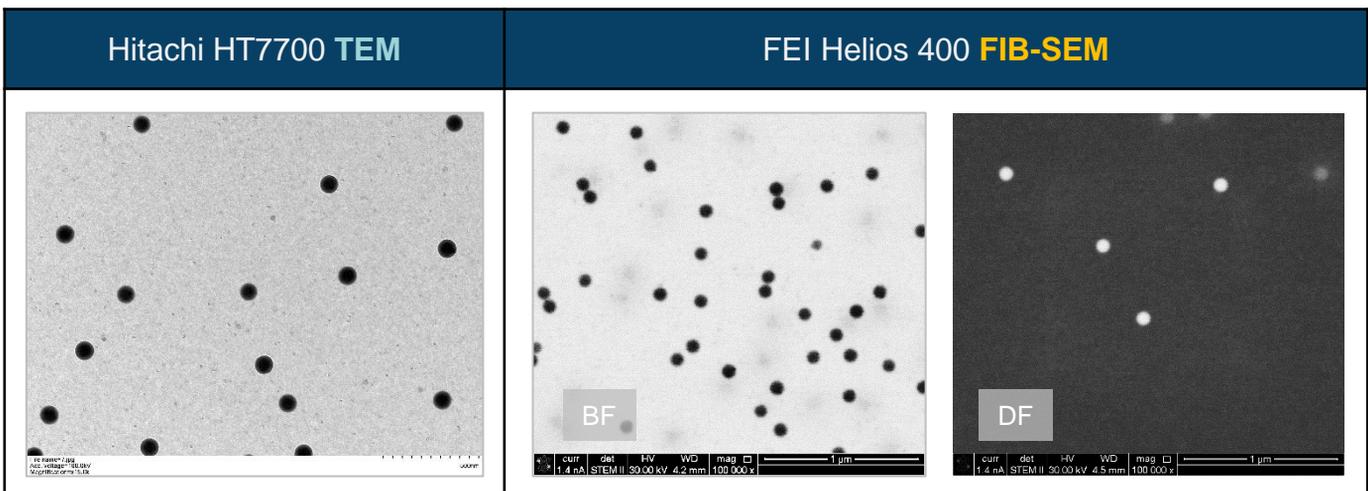


Bright Field (BF)



Dark Field (DF)

- 使用 TEM 及 FIB-SEM 觀測載入 K-kit 的聚苯乙烯 (Polystyrene) 粒子影像比較結果



多次載入與負染應用

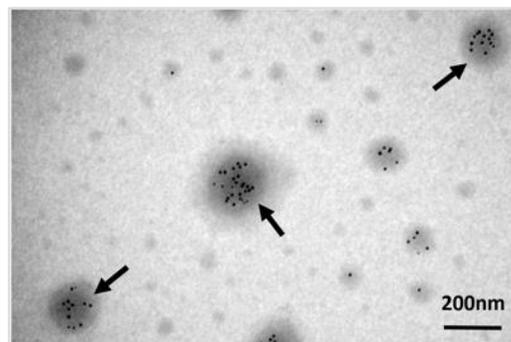
K-kit 不僅是市場上最簡便快速的液態原位電顯影像觀察作法，同時也是唯一可實現多次載入及負染應用的產品。此獨特的產品優勢對於低影像對比度的生物樣品觀察、或是免疫電子顯微學 (Immunoelectron microscopy) 研究等，皆可提供相當大的助益。

● 多次載入 (Multiple loadings)

由於具有單體結構 (Unibody structure) 的優勢特徵，**K-kit** 可使用於需要多次載入不同樣品溶液之相關應用，例如觸媒反應機制、或免疫檢測技術開發等研究。此獨特的功能特點，是市場上其它產品例如兩片式液態樣品槽晶片、或組合式液態樣品桿等無法實現的。

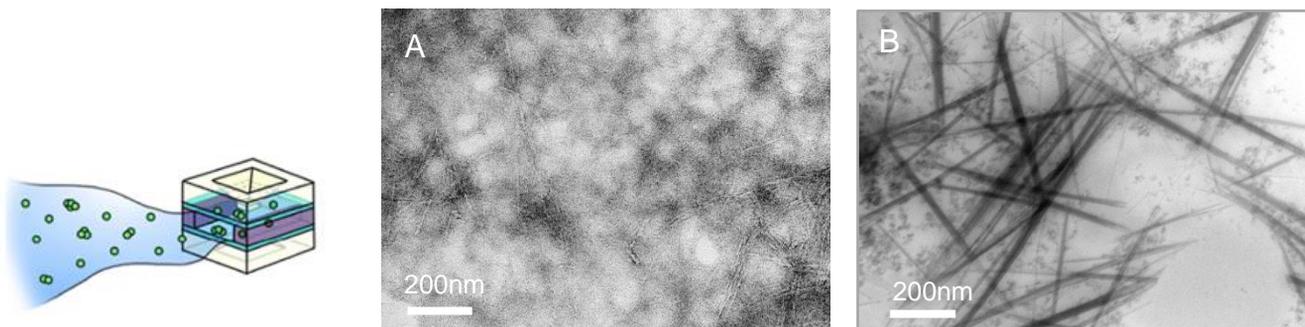


(實例) 右圖是利用 **K-kit** 經過多次載入步驟，成功以奈米金標定血小板釋出物 α 粒子 (α granules) 的 TEM 影像結果。該免疫學樣品製備作法，首先先將 **K-kit** 載入不同溶液，對其內部進行清潔及表面處理，接著分別載入初級抗體 Mouse monoclonal anti-P-selectin antibody 及二級抗體 6-nm gold-conjugated goat anti-mouse IgG antibody，並置於 37°C 溫度下約 2 個小時，使兩抗體發生反應。(Appl. Sci. 2020, 10, 4946)



經過分離處理的血小板 α 粒子，以 **K-kit** 進行抗體免疫金標定之 TEM 影像結果。

● 負染 (Negative staining)

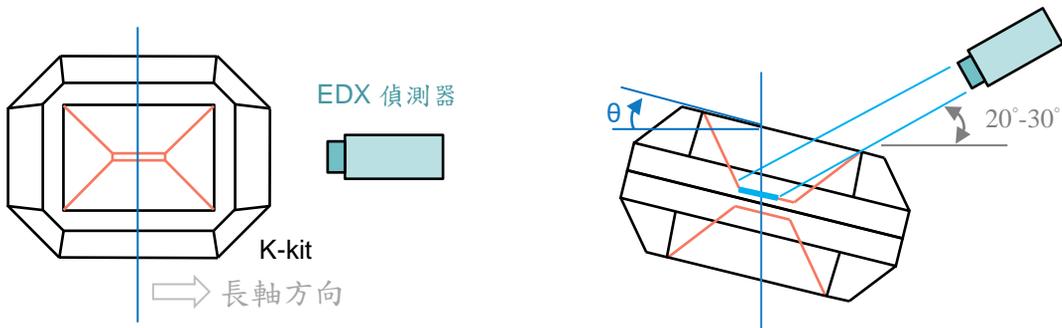


(實例) 膠原蛋白纖維束在銅網及 **K-kit** 上的負染觀測結果。如圖 B 所示，利用濕式 **K-kit** 可清楚觀察到膠原蛋白樣品的束狀結構影像。

EDX 分析方法

● 如何對 K-kit 載入之樣品進行 EDX 成份分析

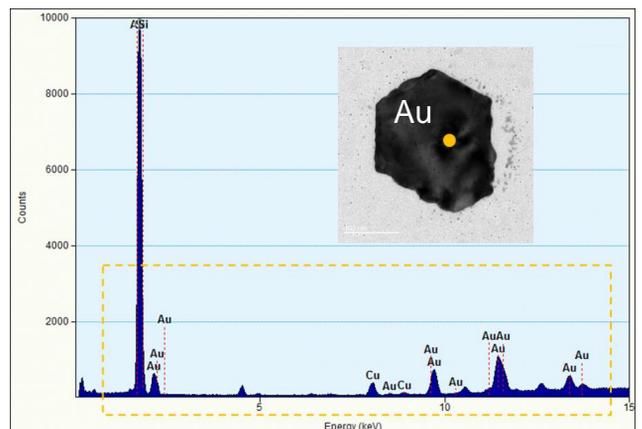
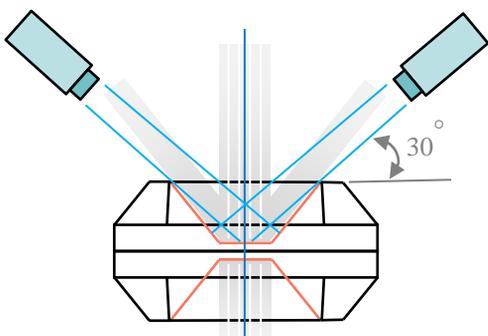
- EDX 偵測器通常裝設於 TEM 腔體內樣品位置的側上方，並與該樣品位置形成約 $10 - 20^\circ$ 的傾斜角。由於 K-kit 觀測窗具有一個深度達 $400\mu\text{m}$ 的大凹槽，當進行 EDX 量測時，由樣品所激發出的 X 光訊號很容易受到該深槽結構的阻擋。因此，當 K-kit 進行 EDX 分析時，必須將其結構的長邊朝 EDX 偵測器的方向擺放，並調整 TEM 樣品桿、使 K-kit 面向該偵測器傾斜 15° 以上，如此 EDX 偵測器即可順利接收到樣品的成份訊號。



1 將 K-kit 長邊朝 EDX 偵測器的方向擺放

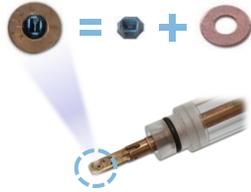
2 朝 EDX 偵測器方向旋轉一傾斜角至少 15°

- 有某些特定廠牌的 TEM 設備，其 EDX 偵測器設置在較高的位置，或是在腔體內同時裝置了多組 EDX 偵測器。若使用該設備進行 EDX 量測，由 K-kit 樣品所激發出的 X 光訊號，將不容易受到凹槽結構阻擋。即使 K-kit 無旋轉任何傾斜角，也可獲得足夠清晰的成份訊號。



K-kit 與原位液態樣品桿的優缺點比較

K-kit 是目前市場上最快速、且最簡單方便的液態電子顯微鏡影像分析應用產品技術。



僅需要 90 分鐘 (製備 10 顆樣品)

10 顆 K-kits 同時載入溶液及塗膠 (70min) + 抽真空 (20min)



至少需要 450 分鐘 (製備 10 顆樣品)

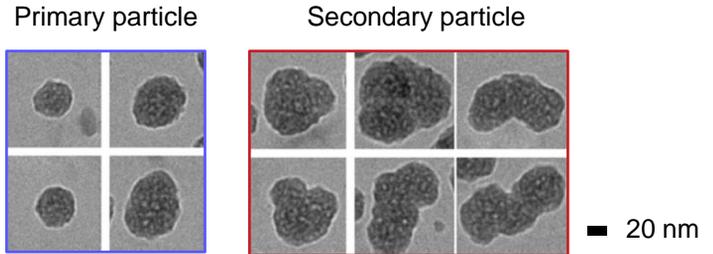
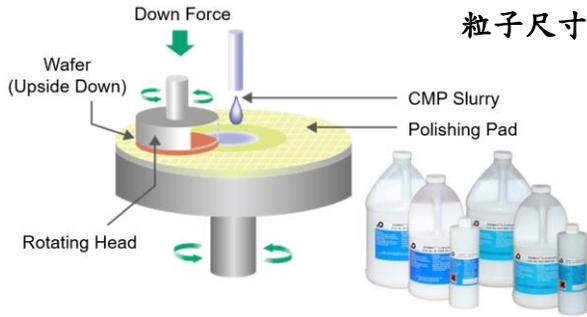
組合式 Liquid Cell 每顆樣品須完成觀測後，才能再進行下一顆組裝。而每次操作至少須包括晶片表面處理、精微組裝、治具測漏、晶片拆卸及管路清潔等步驟，花費時間極長。

產品	K-kit	原位液態樣品桿
晶片尺寸	1.7mm x 1.4mm (Fit in with Ø3 mm grids)	> 2.4mm x 2.4mm
客制化樣品桿	不需要	需要
價格	≤ US\$200	~ US\$100,000
優勢	<ul style="list-style-type: none"> 簡單、快速、便宜 適用於所有廠牌的 TEM 設備 可使用 SEM 觀測 可應用在各種常見化學溶液分析 無交叉汙染問題 (一次性使用) 可實現粒子分佈的量化分析 可應用於高黏性液體 (毛細力載入) 可進行負染及多次載入 適用溫度範圍 -196°C to 120°C 	可研究液體流動及電化學現象
缺點	<ul style="list-style-type: none"> 僅適合靜態液體的分析 無法通電 (無電極設計) 	<ul style="list-style-type: none"> 價格極昂貴 需要繁瑣的清潔及組裝程序 有溶液洩漏風險 (組合式設計) 僅專用於特定廠牌 TEM
客戶群	產業界及學術界	僅適合學術界

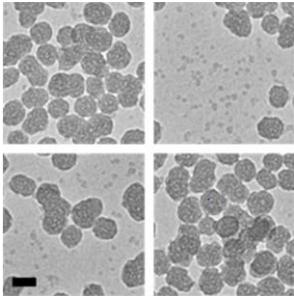
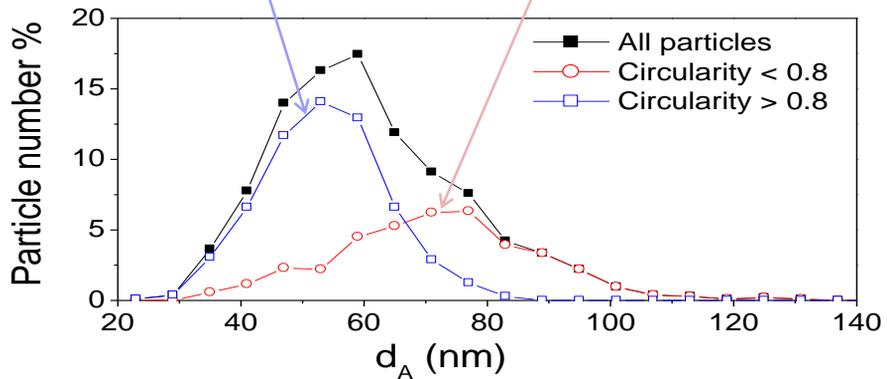
應用實例

CMP 研磨溶液內的奈米顆粒分析

針對 **CMP Slurry** 原液內的一次 (Primary) 與二次 (Secondary) 粒子尺寸分佈及團聚狀態等作實際影像觀察。

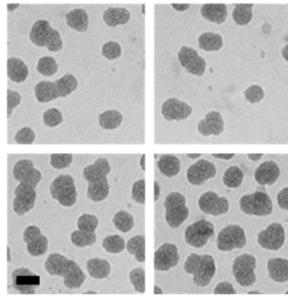


- ▣ 成份
- ▣ 尺寸/尺寸分佈
- ▣ 外形
- ▣ 團聚狀態
- ▣ 表面特性

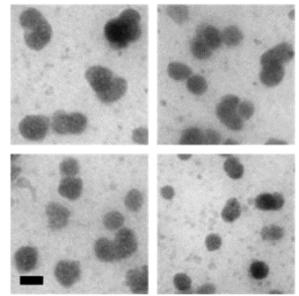


銅網上的乾燥樣品

* Scale bar is 50 nm

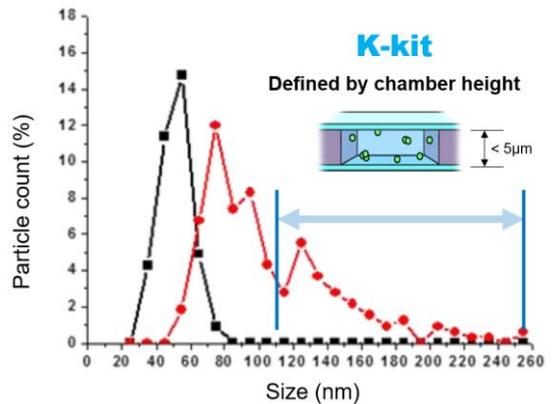
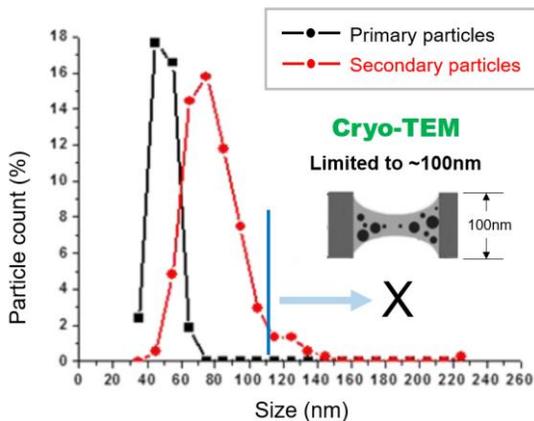


Cryo-TEM 冷凍樣品



K-kit 中的樣品原液

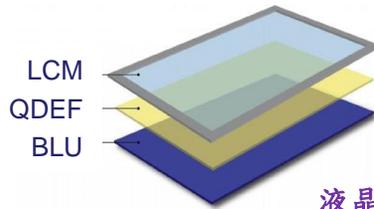
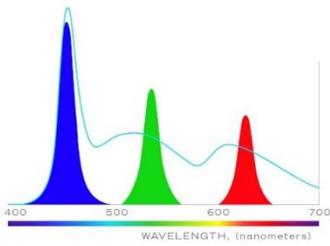
相較於 **Cryo-TEM** 作法，**K-kit** 可分析的粒子尺寸範圍較廣。



應用實例

溶液中的量子點 (QDs) 奈米粒子分析

關於量子點 (Quantum Dots, QDs) 的相關元件市場，預估 2026 年時其產值將超過 110 億美元。

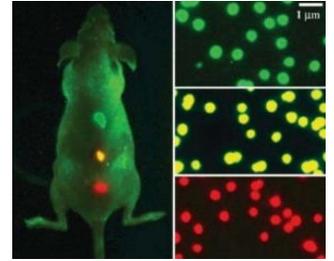


- QD: Quantum Dots
- BLU: Backlight Unit
- LCM: Liquid Crystal Module
- QDEF: Quantum-dot Enhancement Film

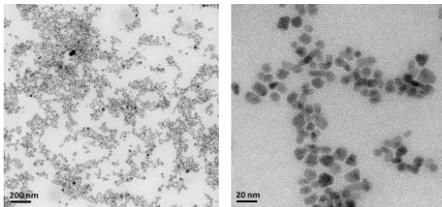
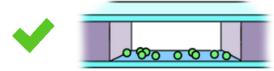
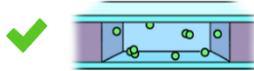
液晶顯示器



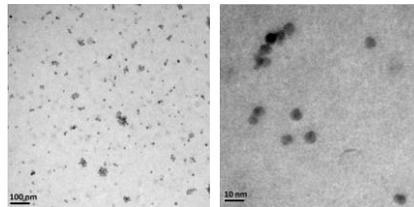
電子印刷用的量子點油墨



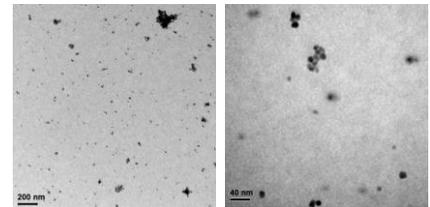
量子點影像診斷應用



銅網上的 QDs 乾燥樣品

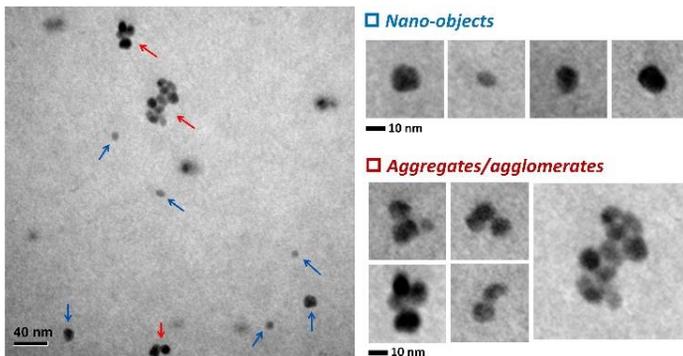


載入 QDs 的濕式 K-kit

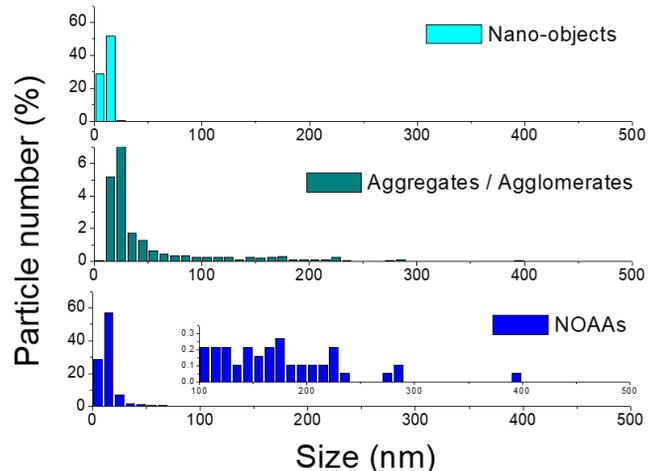


載入 QDs 的乾式 K-kit

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



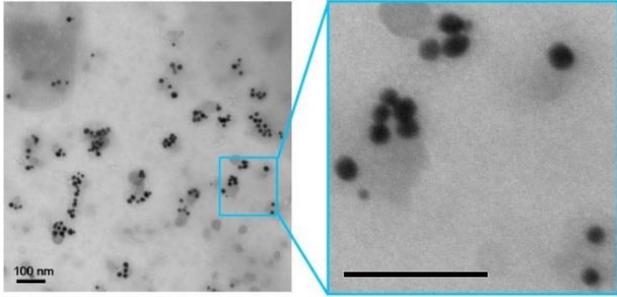
- Sample solution was directly loaded into K-kit
- Nano-objects = Primary particle
- Aggregates/agglomerates = Secondary particle



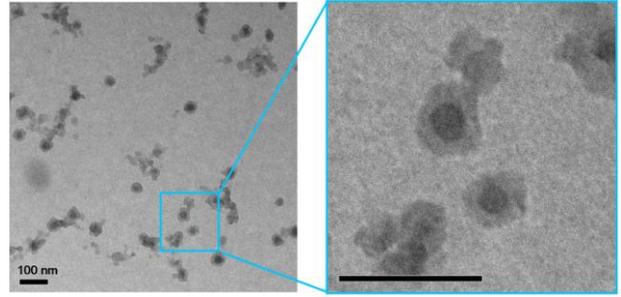
應用實例

奈米藥劑內的蛋白質顆粒分布觀察

藉由 **K-kit** 的使用，可對各種奈米藥劑內的蛋白質顆粒或是賦形劑等，進行包括粒子外形、尺寸及尺寸分佈等的完整影像分析。其可廣泛應用於藥物溶液配方研究、或是關於生體等效性 (Bioequivalence) 之醫藥評估等。

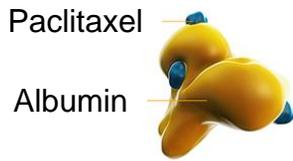


AuroVist® 藥劑溶液直接載入 K-kit 內的 TEM 觀察結果。



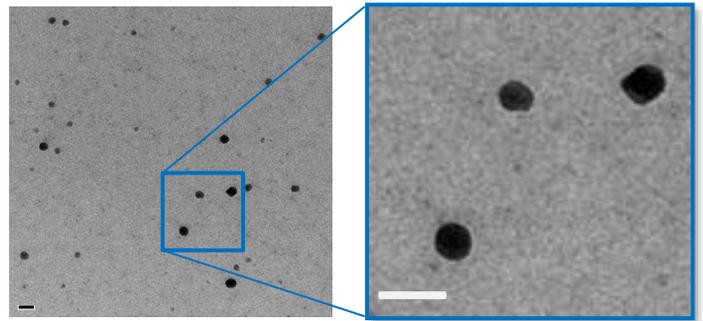
Oil Emulsion 加水稀釋後載入 K-kit 內的 TEM 觀察結果。

使用 K-kit 分析 Abraxane® 藥液中的蛋白質顆粒影像分布情形



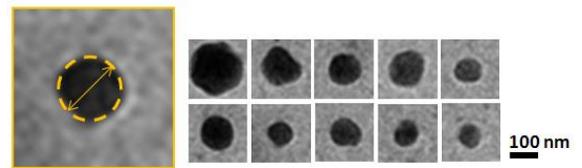
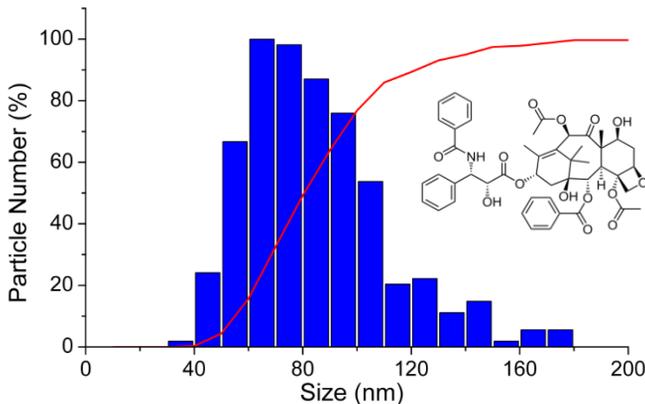
Protein particles in Abraxane®

- 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 是研究奈米藥物最佳的液態電顯觀測應用產品

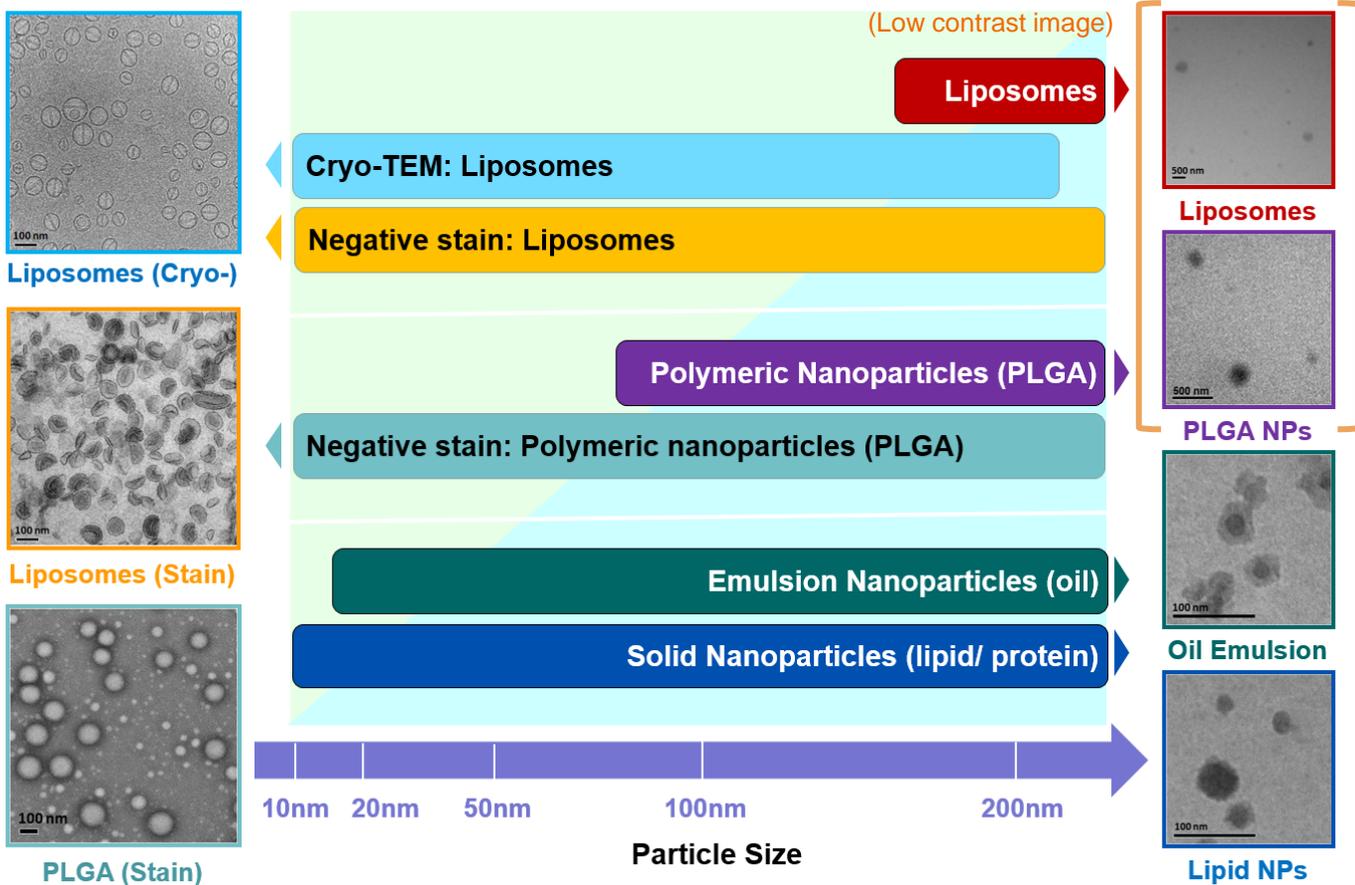
◆ 適合應用 K-kit 進行影像分析的溶液粒子濃度範圍： $10^{11} \sim 10^{14}$ particles/ml

如下表所示，目前大部份的奈米藥劑，其載體粒子濃度皆落在適合應用 K-kit 分析的範圍。因此，K-kit 基本上可載入原液直接觀測、無須再作稀釋，是目前方便快速的液態電顯影像觀測產品。

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 對於奈米藥液的適用性分析及其與傳統電顯觀測作法的效果比較

Cryo-/ Negative Stain ← TEM Applications in Nanopharmaceuticals → Liquid (K-kit)



某些奈米藥物載體例如脂質體 (Liposomes)、外泌體 (exosome) 或是聚乳酸-羥基乙酸共聚物 (PLGA) 等，一般都具有極低的 TEM 影像對比度，無法藉由直接觀測獲得所需結果。對此，K-kit 可藉由獨特的負染技術來作改善，使能夠清楚觀察粒子的外觀尺寸及分散情形等真實影像。

應用實例

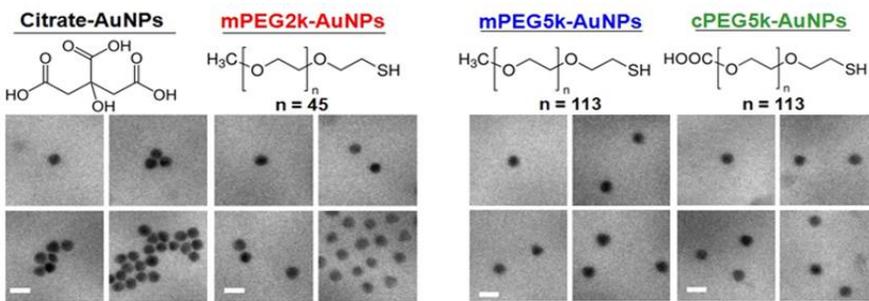
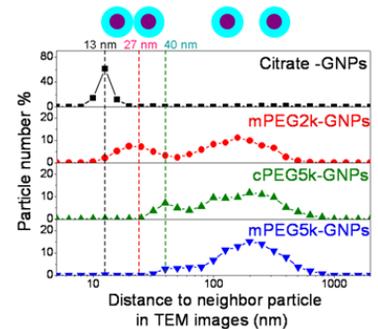
老鼠血液中的奈米金顆粒分布觀察

藉由 **K-kit** 的應用，可對處於原液環境血液樣品中的奈米顆粒作完整的物理化學特性分析。無論是「體外」與「體內」實驗，皆可獲得高品質的 TEM 電顯影像觀察結果。藉由本例研究成果，清楚示範了 K-kit 在人體對藥物的吸收、分布、代謝 (Metabolism) 及排泄 (Excretion) 等相關藥物動力學 (Pharmacokinetic) 或物質毒性 (Toxicity) 研究方面，其具有極大的應用發展潛力。

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

◆ 不同聚合物修飾之金奈米粒子其於血液中群聚與團聚情形的影像分析結果

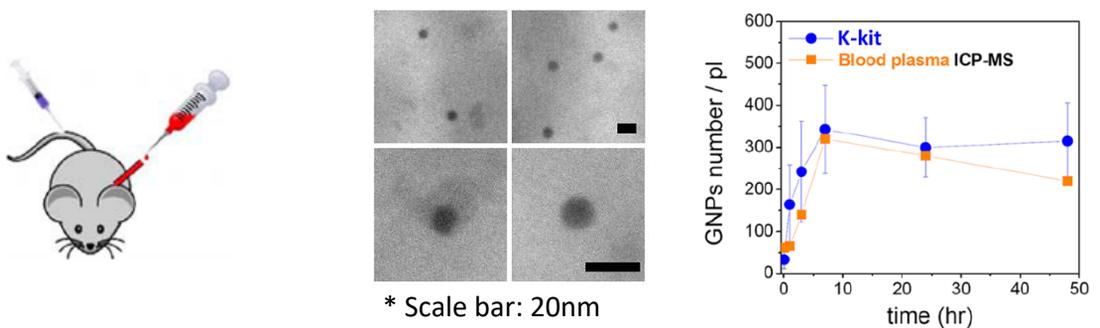
Samples	Particle size			Surface properties		In 50 % Blood
	TEM ^a d (nm)	DLS ^b d (nm)	PDI	Zeta potential ^b ζ (mV)	Surface ligand density ^c PEG (#/nm ²)	Aggregation extents Aggregates (%)
Citrate-AuNPs	13.0 ± 0.9	14.6	0.083	-28.3	non	87.1 ± 6.2
mPEG2k-AuNPs	27.5 ± 2.2	29.5	0.144	-23.0	2.27	28.4 ± 9.2
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)

此實驗是將檸檬酸鹽 (Citrate) 及聚乙二醇 (PEG) 等不同聚合物修飾過之金奈米粒子與血液混合之後，個別載入 K-kit 觀察其粒子分散情形。根據 TEM 影像結果，以檸檬酸鹽修飾之金粒子聚集最嚴重、而 mPEG5k 修飾者分散度最高，此與相關文獻所歸納的結果一致。

◆ 以 PEG 修飾的金奈米粒子其於生體血液中隨時間變化的定量濃度分析 (K-kit vs. ICP-MS)



本例實驗將 cPEG5k 修飾的金粒子注射至老鼠體內，觀察其於血液中的濃度隨時間變化情形，並與 ICP-MS 量測結果相比較。實驗結果顯示，K-kit 影像觀察與 ICP-MS 成份量測所得到的金濃度變化相當一致，此說明了 K-kit 同時具有定性及定量分析的應用潛力。

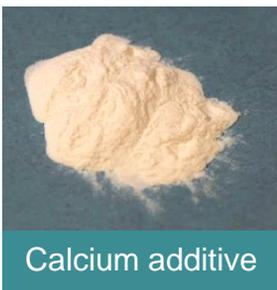
應用實例

牛奶中添加奈米碳酸鈣 (CaCO₃)

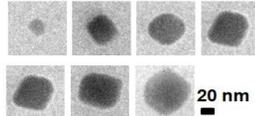


藉由 K-kit 的應用，可真正觀察了解奈米食品添加物「在食品中」的實際奈米特性，以正確評估食物的成分(包含添加色素)及與食物接觸物質是否合乎安全性和管制法規標準。

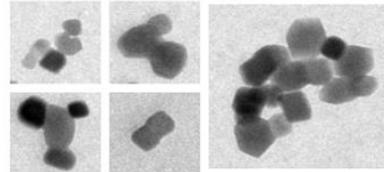
◆ 添加物 (CaCO₃ 粉末)



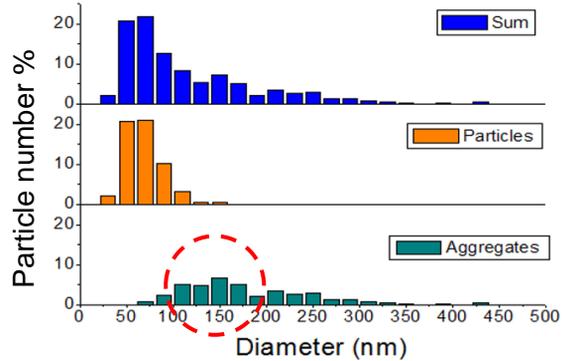
□ NOs (Nano-objects)



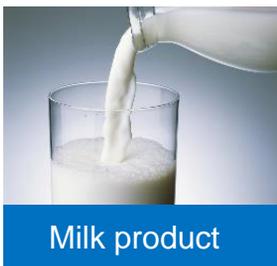
□ AAs (Aggregate/Agglomerate)



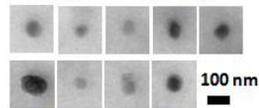
(在純水中添加 4 wt% 奈米碳酸鈣)



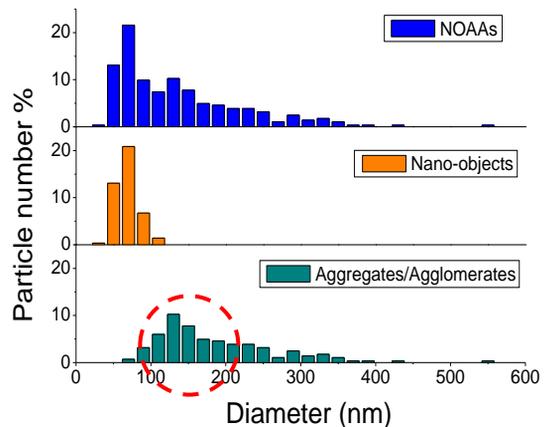
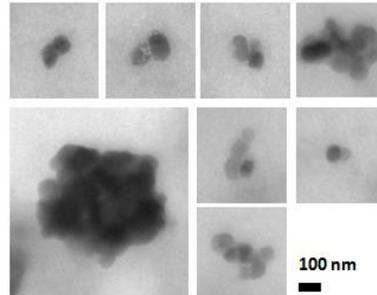
◆ 產品 (加鈣牛奶)



□ NOs (Nano-objects)



□ AAs (Aggregate/Agglomerate)



本例結果顯示，將 CaCO₃ 奈米顆粒分別添加至純水與牛奶中，其粒子於不同溶液中的分散程度會有些微差異。利用 K-kit 可快速便利地分析奈米添加物在「食品溶液」中的實際特性。

原材料完整的物理化學特性分析

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 ± 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

應用實例

防曬乳液內的氧化鋅及氧化鈦顆粒分布觀察

藉由 **K-kit** 的應用，可真正觀察了解含奈米成份的乳狀化妝品「在原液中」之實際奈米特性，正確評估化妝品內奈米材料的安全性及其是否合乎管制法規標準。



◆ 化妝品添加奈米材料的相關法規及法規趨勢

• 2012 年國際化粧品法規合作會議報告 (ICCR)

奈米材料特性 II- 於最終產品中溶解度、生物相容性與粒徑量測。

• 歐盟化粧品法規條文 (No. 1223/ 2009)

化粧品含奈米材料之強制標示，2013 年 7 月 11 日起生效。

• 2012 年美國食品藥物管理局指引

業界指引- 化粧品內奈米材料之安全性。

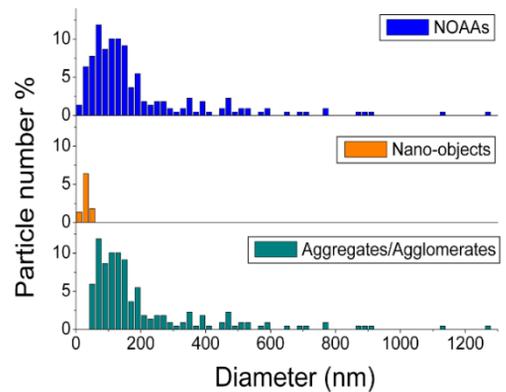
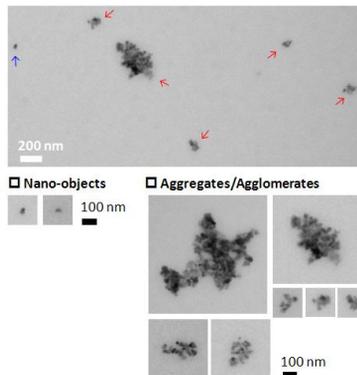
• 2015 年台灣衛福部食品藥物管理署指引 (公告日: 2015 年 7 月 7 日)

業界指引- 含奈米成份化粧品風險評估指引，FDA 器字第 1041602379 號。



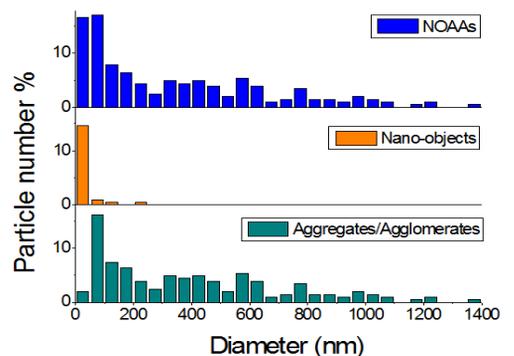
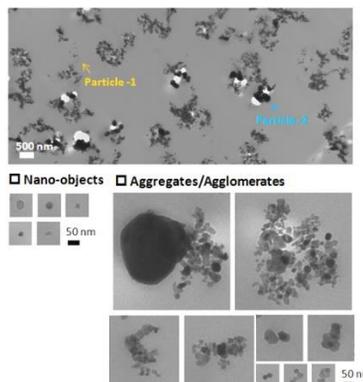
防曬乳產品 A

添加氧化鋅 (ZnO) 奈米顆粒



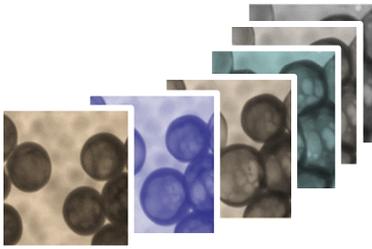
防曬乳產品 B

添加氧化鈦 (TiO₂) 奈米顆粒



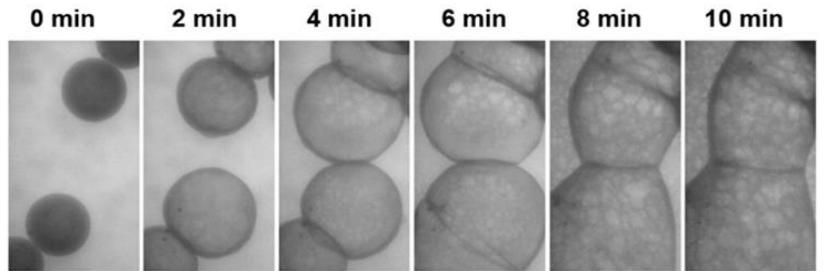
應用實例

即時觀察溶液中奈米粒子的動態變化

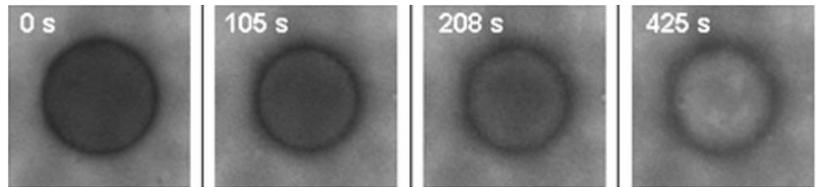


藉由 K-kit 的應用，可即時觀察溶液中奈米粒子隨著時間、區域、溫度、或是沉浸環境等條件改變時的動態變化情形。

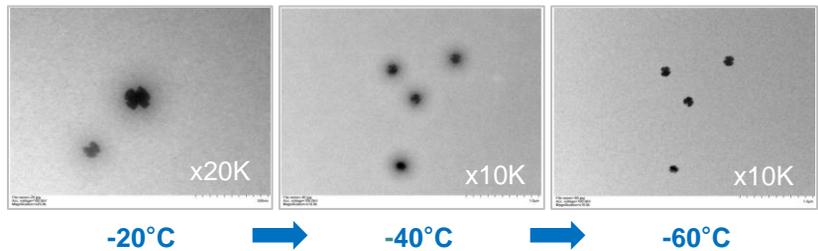
**Exposed electron (100 keV, 4×10^4 A/m²)*



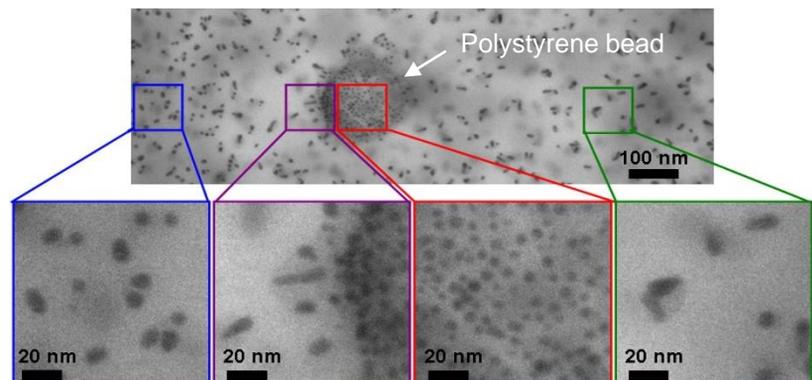
水溶液中的矽酸鹽 (Silicate) 奈米粒子動態變化。



聚苯乙烯粒子於生理鹽水 (PBS) 溶液中的反應變化情形。



二氧化矽奈米粒子隨溫度變化的外觀改變情形。

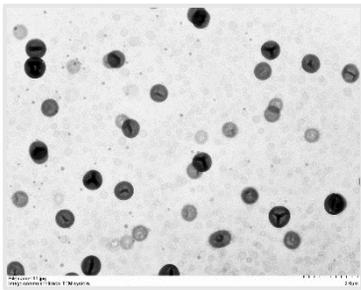


動態觀察氯酸金 (AuCl_4) 溶液中的聚苯乙烯粒子，其在靠近及遠離該表面位置時的金粒子還原反應差異情形。

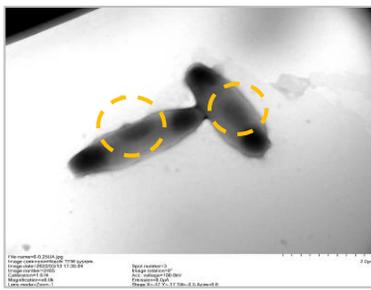
可實現的 K-kit 重要應用

1 保持樣品在原液中觀察

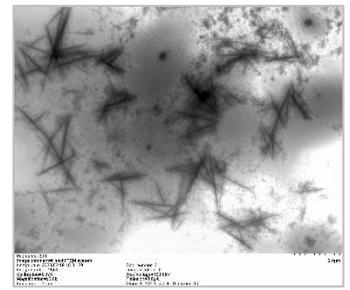
- 可觀察奈米粒子於原液中的實際樣態與分佈情形。



血小板的外泌體 (Exosomes)



大腸桿菌的擬核 (Nucleoid of E.coli)

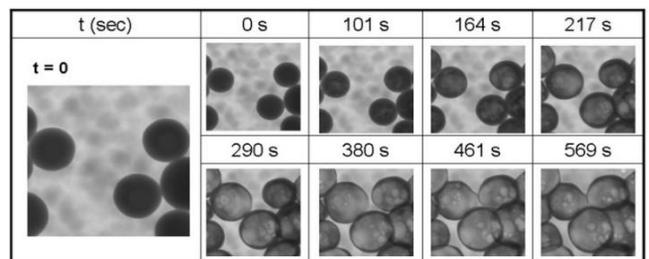


原液中的膠原蛋白 (Collagen)

2 溶液中奈米粒子動態變化

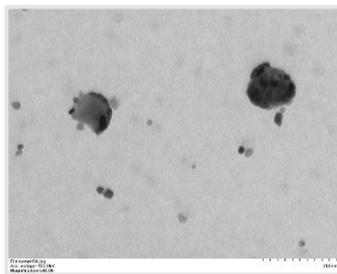
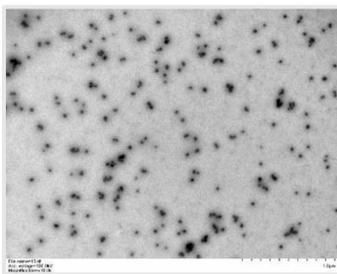
- 可即時觀測樣品溶液在 TEM 電子束作用下的金屬還原成長過程、或相關物化反應，及其隨時間改變的連續動態變化情形。

矽酸鹽 (Silicate) 奈米顆粒的動態變化觀察

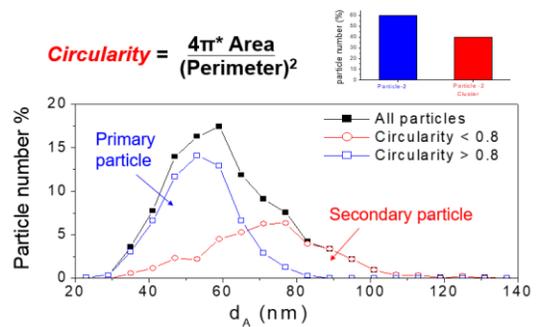


3 粒子尺寸分佈與團聚程度量化分析

- 藉由適當的影像軟體輔助，可達到對於奈米顆粒於溶液內真實分佈情形之定量分析。

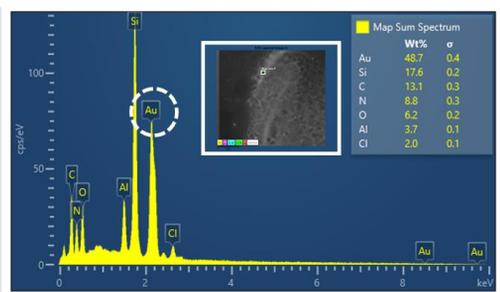
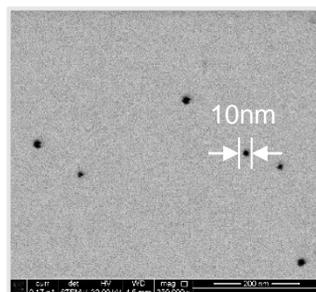


CMP Slurry 的研磨顆粒影像



4 適用 SEM 及 EDX 分析

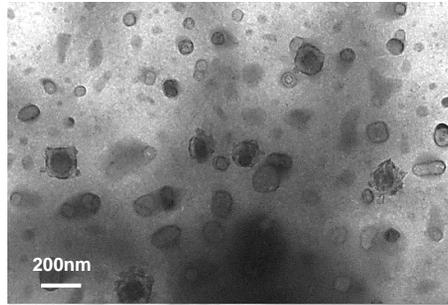
- K-kit 可使用 SEM 進行觀察。經過實際測試，即使尺寸小於 10nm 的金顆粒也能清楚成像。另外，K-kit 也可對樣品成份進行 EDX 分析。



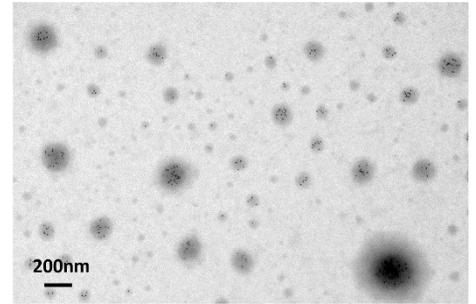
使用 FEI Helios 400 SEM 觀測 K-kit 內的金粒子影像結果

5 負染及多次載入的研究應用

(Appl. Sci. 2020, 10, 4946)



血小板外泌體經過負染處理的 K-kit 影像觀察結果。(使用 UA 金屬染劑)



血小板 α 粒子以 K-kit 進行抗體免疫金標定之觀察結果。(經過多次載入)

- 對於低影像對比度的生物樣品、例如脂質體 (Liposomes) 或外泌體 (Exosome) 等，K-kit 可藉由獨特的金屬負染技術，來強化其 TEM 影像對比度。
- 由於具有單體結構的優勢特徵，K-kit 可使用於需要多次載入溶液的應用，例如免疫電子顯微鏡學 (Immunoelectron microscopy)、或是觸媒與催化反應等相關研究。

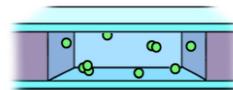
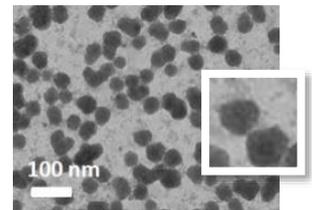
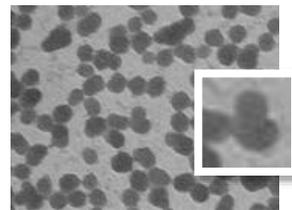
6 濕式與乾式樣品製備

• 濕式 (Wet mode)

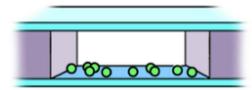
- 通道內充滿溶液樣品。此適用於觀察需要溶液的化學反應例如還原過程，或是粒子保水狀態下的真實外觀等。

• 乾式 (Dry mode)

- 通道壁面存在薄液層、或已完全乾燥，但其不影響奈米顆粒原始的分布情形。此特別適合應用於當樣品溶液與 TEM 電子束作用會產生劇烈氣泡或擾動之觀測。



Wet

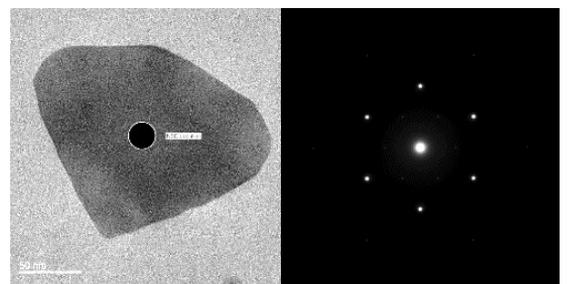


Dry (Thin Layer)

未經稀釋的 CMP (Chemical-Mechanical Polishing) 溶液樣品，其乾式及濕式 K-kit 影像比較結果。

7 TEM 晶格繞射分析

- K-kit 也可應用於需要晶格繞射資訊的奈米溶液相關研究，例如材料分析、或是以繞射圖形來模擬計算並重構影像等。本例是量測載入 K-kit 的氯金酸 (AuCl_4) 溶液，其經與電子束作用所生成金粒子之 TEM 晶格繞射圖形。(By FEI Tecnai TEM @200KV)

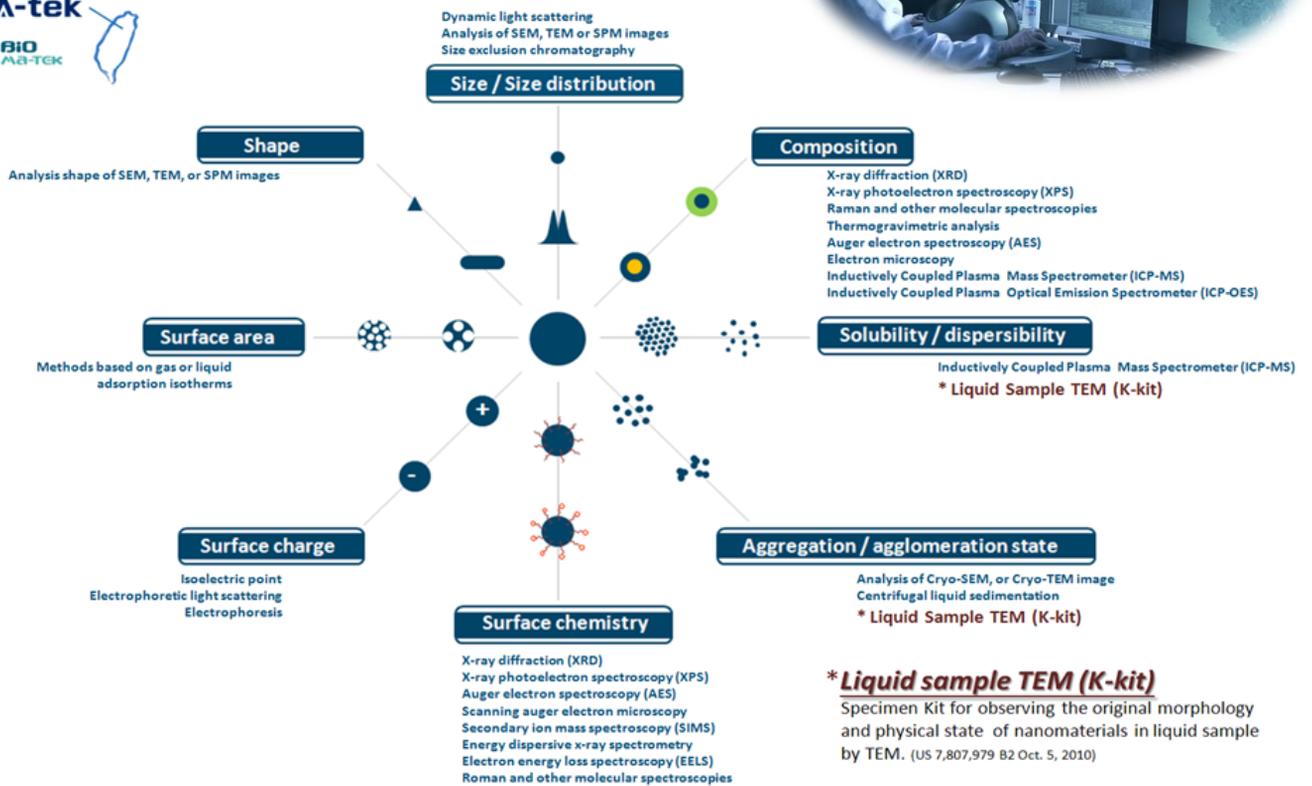
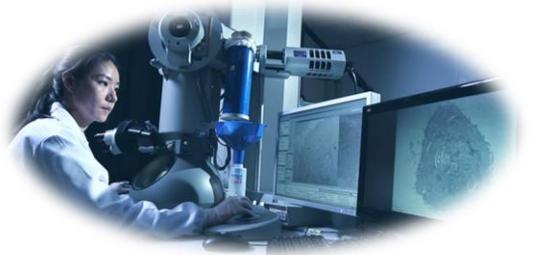


濕式 K-kit 內金奈米粒子的 TEM 微區繞射 (NBD ;Nano-beam diffraction) 影像。

不只是 K-kit

閱康公司生物科技事業群提供全方位電顯及物化分析服務

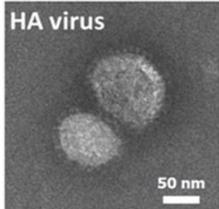
- 閱康公司生物科技事業群基於 ISO/TR13014 所規範的 8 項重要物質特性參數，提供專業完整之優質分析服務。



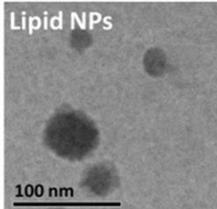
*Liquid sample TEM (K-kit)

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)

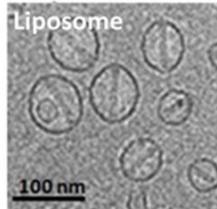
Negative stain/TEM



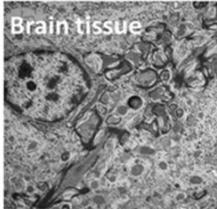
Liquid (K-kit)/TEM



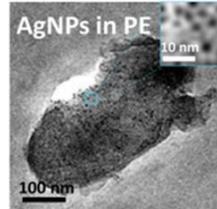
Cryo- /TEM



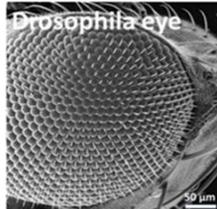
Ultramicrotome/TEM



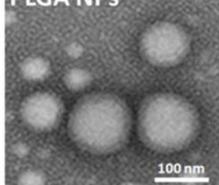
Cryo-ultramicrotome/TEM



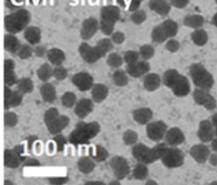
Critical point dryer/SEM



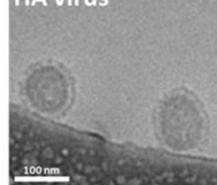
PLGA NPs



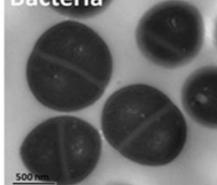
CMP slurry



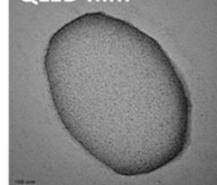
HA virus



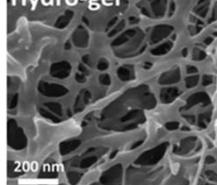
Bacteria



QLED film



Hydro-gel



分析服務內容



本公司的服務可廣泛應用於各產業

- 生物組織與生物材料
- 生技醫藥產業 (奈米劑型、奈米藥物...)
- 疫苗產業 (疫苗製劑、佐劑...)
- 醫療器材產業 (透析膜、敷料...)
- 美容化妝品 (粉餅、乳霜、乳液、面膜...)
- 食品產業 (添加物、包材...)
- 電子產業 (半導體、液晶面板、電路板...)
- 化學原物料產業
- 學校及法人研究單位
- 其他奈米材料與產品



服務項目

物理/化學特性分析

- 粒徑/粒徑分佈分析: DLS
- 表面電位分析: Zeta potential
- 組成成分分析: TGA, DSC, FT-IR, XRD, UPLC, ICP-MS, LC/MS/MS (QQQ)
- 表面化學分析: XPS
- 表面積分析: BET

電子顯微鏡影像分析

- 傳統負染
- 樹脂包埋
- 常溫超薄切片
- 冷凍超薄切片
- 臨界點乾燥系統
- 低溫電子顯微鏡轉換系統
- 液態樣品電子顯微鏡製備
- 透射電子顯微鏡
- 掃描式電子顯微鏡

關於閎康公司生物科技事業群

閎康公司生物科技事業群 (Bio MA-Tek) 其前身為閎康生物科技公司，成立於 2014 年 3 月。秉持『科技產業研發夥伴』的理念，因應產、學、研各界對於「奈米」與「生物」技術日益精進的分析需求，以專業的團隊、先進的技術，依循 ISO TR13014 (奈米生物安全技術報告) 的建議，建構完整的物理化學特性分析服務，並且以各類型的生物樣品製備技術，提供全方位的生物電顯樣品製備與影像觀察分析服務。



願景

成為奈米生物樣品製備與分析的領導品牌。

營運模式

專注核心技術、整合內外資源、提供客戶專業、適切的服務。

定位

奈米生物樣品分析服務的設計師。

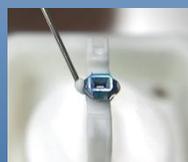
服務範圍

食品、化妝品、醫材、藥劑、疫苗、生物組織等等各方面的奈米生物樣品；提供專業適切的樣品製備與分析服務、顧問諮詢、與委案合作。



BIO MA-TEK

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



閎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