

STANOVENÍ ANORGANICKÝCH NANOČÁSTIC V BIOLOGICKÝCH MATERIÁLECH A POTRAVINÁCH ANALÝZOU JEDNOTLIVÝCH ČÁSTIC HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIÍ S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM

DIOMID REVENCO^a, MARTIN LOULA^b, OTO MESTEK^b a RICHARD KOPLÍK^a

^a Ústav analýzy potravin a výživy, ^b Ústav analytické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
koplíkr@vscht.cz

Došlo 21.12.18, přijato 5.4.19.

Klíčová slova: anorganické nanočástice, analýza jednotlivých částic, hmotnostní spektrometrie, biologické materiály, potraviny

Obsah

1. Úvod
2. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
3. Podstata techniky analýzy jednotlivých částic hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (sp-ICPMS)
4. Příprava vzorků biologických materiálů a potravin k analýze anorganických nanočástic technikou sp-ICPMS
5. Využití sp-ICPMS pro stanovení anorganických nanočástic v rámci biologických studií a v analýze potravin
6. Závěry

1. Úvod

Rozvoj nanotechnologií¹ a používání nanomateriálů v různých oblastech techniky, průmyslu a zemědělství a při dalších činnostech nutně vede k průniku nanomateriálů do životního prostředí. Proto je nezbytné se zabývat i možnými toxickými účinky nanomateriálů². Mezi nejčastěji využívané nanomateriály patří nanočástice chemických prvků (např. Ag, Au, Pt, Pd, Fe) a anorganických sloučenin (např. SiO₂, TiO₂, CeO₂)^{3,4}. Nanočástice stříbra, zlata a oxidu titaničitého se při novějších zkoumáních³ pravidelně nacházejí ve složkách prostředí včetně některých organismů. Širší odborná veřejnost českých a slovenských chemiků se v nedávné době mohla seznámit s různými aspekty problematiky nanočástic i na stránkách tohoto časopisu^{2,5–11}.

Ke zkoumání vlastností a chování nanočástic v prostředí, včetně jejich akumulace v biologických systémech, jsou zapotřebí adekvátní analytické metody umožňující detekci a kvantifikaci nanočástic různých anorganických látek a klasifikaci pokud jde o jejich velikost a chemické složení. Kromě řady technik elektronové mikroskopie, technik založených na měření rozptylu světla a elektrochemických způsobů detekce¹¹ je pro tento účel velmi vhodná hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICPMS) a zejména její varianta analýzy jednotlivých částic (single particle inductively coupled plasma-mass spectrometry, sp-ICPMS). Tato práce podává přehled o použití techniky sp-ICPMS při stanovení anorganických nanočástic v biologických materiálech a potravinách.

2. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICPMS) je v současných analytických laboratořích nejběžnější instrumentální technikou pro stopovou a ultrastopovou kvantitativní analýzu prvkového složení mnoha typů vzorků¹². K nejčastějším aplikacím¹³ ICPMS patří prvková analýza vzorků z životního prostředí^{14–16}, lidského biologického materiálu^{17–19}, hornin²⁰, energetických surovin²¹, materiálů pro elektroniku²², jaderných materiálů²³ nebo zemědělských produktů a potravin²⁴. Navíc ICPMS umožňuje měření izotopových poměrů prvků, což má velké uplatnění zejména v geochemii²⁵ a při zpracování jaderného odpadu^{13,23}. Měření izotopových poměrů technikou ICPMS je možné také využít pro vysoce přesné analýzy kvantifikací analytu izotopovým zředěním^{26,27}.

Technika ICPMS je založena na tom, že prvky obsažené ve vzorku se účinně atomizují a ionizují v argonovém plazmatu, do kterého se přivádí vzorek^{12,13,28}. Při kontinuálním přívodu vzorku ve formě aerosolu, který vzniká zmlžováním vodného roztoku vzorku, se vytváří ustálený tok iontů M⁺ jednotlivých nuklidů, který vstupuje do hmotnostního spektrometru. Zde jsou tyto ionty separovány nebo postupně propouštěny podle hodnoty *m/z* a následně detegovány. Získaná intenzita signálu nuklidového iontu je přímo úměrná koncentraci příslušného prvku^{12,13}.

Při konvenční analýze vzorků převedených do pravého roztoku je (u přístrojů s kvadrupólovým analyzátozem a se sektorovým jednonábovým analyzátozem) signál každého vybraného nuklidového iontu měřen v několika až několika desítkách opakování, přičemž délka (dwell time)

každého jednotlivého měření daného nuklidu je nastavena na dobu několika desítek až stovek milisekund. Celková integrační doba pro jeden nuklid se tedy pohybuje nejčastěji v jednotkách sekund. Měření opakované s takovou frekvencí umožňuje získat průměrné hodnoty intenzit ustálených signálů více analytů a také intenzit porovnávacích prvků, které slouží ke korekcím nespektrálních interferencí při kvantifikaci¹³. Ustálenost signálů je dána tím, že zmlžovaný roztok vzorku je homogenní, takže v každé měřicí periodě (např. o délce 20 ms) do přístroje vstoupí určitý malý objem vzorku a jeho stále stejná část se převede na aerosol, z něhož v plazmovém zdroji vzniká patřičný počet iontů, které jsou následně po průchodu hmotnostním analyzátozem zaznamenány detektorem.

ICPMS lze také používat pro analýzu nanočástic kovů a nekovů a jejich sloučenin²⁹ např. spojením se separační metodou, která zajistí frakcionaci částic podle velikosti, přičemž spektrometr má funkci prvkově selektivního detektoru, jehož odezva je úměrná hmotnosti prvku. Nejčastěji využívanou separační technikou, která se pro tyto účely spojuje s ICPMS, je frakcionace tokem v silovém poli (field flow fractionation, FFF nebo asymmetric flow field flow fractionation, AF⁴)^{30–32}. Další možností analýzy nanočástic je použití techniky sp-ICPMS.

3. Podstata techniky analýzy jednotlivých částic hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (sp-ICPMS)

Počátky sp-ICPMS spadají do začátku tohoto století³³, kdy byl tento přístup použit pro charakterizaci koloidních systémů. Technika sp-ICPMS poskytuje informace o počtu nanočástic daného prvku ve vzorku a o distribuci jejich hmotností nebo velikostí. Vzorek určený k analýze musí mít formu zředěné disperze obsahující sledované nanočástice rozptýlené ve vodném prostředí. Ve srovnání s konvenční analýzou roztoků se v sp-ICPMS používá velmi rychlé snímkování intenzity signálu s délkou měřicí doby (dwell time) pouze několika milisekund nebo zlomků milisekund. Práce publikované v posledních letech ukázaly, že k získání objektivních výsledů je třeba používat spíše kratší periodu^{34,35}, tj. cca 0,1 ms. Obvykle se měří pouze jediný nuklid odpovídající materiálu analyzovaných částic. Celková doba měření se pohybuje v jednotkách minut. Při takovém nastavení měřicí periody a celkové doby měření získáme časový záznam intenzity s velmi vysokým časovým rozlišením. Je-li analyzovaná disperze nanočástic ve vodném prostředí dostatečně zředěná, lze v časovém záznamu intenzity nalézt mezi delšími či kratšími úseky s nulovou nebo téměř nulovou intenzitou píky odpovídající jednotlivým nanočásticím. Z počtu zaznamenaných píků lze vypočítat koncentraci počtu nanočástic N [ml⁻¹] ve zmlžovaném vzorku podle vztahu:

$$N = \frac{60 \cdot f}{V \cdot \eta} \quad [\text{ml}^{-1}] \quad (1)$$

ve kterém f [s⁻¹] je průměrný počet píků připadající na jednotku času, tj. celkový počet píků zaznamenaných během měření dělený celkovou dobou měření, V [ml min⁻¹] je průtok vzorku nasávaného do zmlžovače spektrometru a η je transportní účinnost při zmlžování disperze vyjádřená bezrozměrným číslem, přičemž $0 < \eta < 0,15$.

Zatímco z počtu zaznamenaných píků lze odvodit počet (koncentraci) nanočástic, z velikosti (plochy) píku lze určit na základě kalibrace hmotnost nanočástice a za předpokladu kulového tvaru i její průměr. Signál odpovídající jedné nanočástici je ostrý pík nejčastěji o šířce několika set mikrosekund až jedné milisekundy, který vzniká tím, že částice obsahující řádově 10⁴ až 10⁸ atomů příslušného prvku se v plazmatu vypaří a z uvolněných atomů vzniknou ionty, které po průchodu hmotnostním analyzátozem detektor zaznamená. Roztříděním zaznamenaných píků do kategorií podle velikosti plochy a určením četnosti v kategoriích je získána distribuce ploch píků, kterou lze přepočítat na distribuci velikostí (průměrů) částic. U částic kulového tvaru platí pro hmotnost nanočástice m_{NP} [fg], plochu píku signálu nanočástice A_{NP} a průměr nanočástice d_{NP} [nm] vztah vymezený rovnicí:

$$m_{\text{NP}} = \frac{m_{\text{M}}}{w} = \frac{A_{\text{NP}}}{k \cdot w} = \frac{\rho \cdot \pi \cdot d_{\text{NP}}^3}{6} \cdot 10^{-6} \quad (2)$$

ve které m_{M} [fg] je hmotnost detegovaného prvku v nanočástici, w je hmotnostní zlomek detegovaného prvku v materiálu nanočástice, A_{NP} je plocha píku signálu nanočástice vyjadřovaná v jednotkách count, k [count fg⁻¹] je směrnice kalibrační přímky pro kalibraci vztahu A_{NP} versus m_{M} , ρ [g cm⁻³] je hustota materiálu nanočástice a d_{NP} [nm] je průměr kulové nanočástice.

Obvyklý postup při analýze se skládá z následujících kroků.

Spektrometr se seřídí (optimalizuje) na maximální citlivost pro detekci prvku, který tvoří materiál nanočástic.

Zjistí se přesná hodnota průtoku vzorku nasávaného do zmlžovače zvážením úbytku vody odsávané peristaltickým čerpadlem.

Stanoví se transportní účinnost; nejčastěji se k tomu používá měření dostatečně zředěné standardní disperze nanočástic o definované koncentraci počtu nanočástic; zjistí se počet píků x během doby měření t [s], a z hodnoty $f = x/t$ se vypočítá transportní účinnost η podle upravené rovnice (1); transportní účinnost lze zjistit i jinými postupy.

Provede se kalibrační měření, a to buď

a) použitím zředěných disperzí standardů nanočástic s definovaným složením a velikostí (průměrem) nanočástic; při tomto měření se získá distribuce ploch píků a určí se nejčetnější hodnota, která odpovídá nejčetnější velikosti nanočástice ve standardu; protože z průměru nanočástice lze vypočítat její hmotnost podle rovnice (2), je možné sestavit přímku jako graf lineární závislosti mezi nejčetnější plochou píku ze záznamu měření a nejčetnější hmotností částice v populacích částic jednotlivých standardů; kalibrační data pro několik standardů nanočástic o různých velikostech lze také upravit na vztah mezi průměrem

(velikostí) nanočástic a odpovídající plochou píku, jehož grafem je kubická křivka (viz rovnice (2)), nebo b) použitím standardních roztoků obsahujících rozpuštěnou formu příslušného prvku (např. dusičnan kovu); v tomto případě se z hmotnostní koncentrace prvku v kalibračním roztoku c [ng ml^{-1}], známého průtoku vzorku V [ml min^{-1}] a známé transportní účinnosti η vypočítá hmotnost prvku m_0 [fg], která do spektrometru vstoupí během jedné měřicí periody (dwell time) o délce t_d [s]:

$$m_0 = \frac{10^6 \cdot c \cdot V \cdot \eta \cdot t_d}{60} \quad (3)$$

Pokud provedeme měření kalibračního roztoku o koncentraci prvku c [ng ml^{-1}] konvenční technikou ICPMS (tj. s delší dobou „dwell time“ za jinak nezměněných fyzikálních podmínek) a zjistíme odpovídající intenzitu signálu I , můžeme z hmotnosti m_0 [fg] vypočítat hmotnost prvku m_1 [fg], která odpovídá při měření technikou sp-ICPMS jednotkovému signálu, tj. ploše píku jeden count, podle rovnice:

$$m_1 = \frac{m_0}{I \cdot t_d} \quad (4)$$

ve které I [count s^{-1}] je průměrná intenzita signálu odpovídajícího detegovaného nuklidového iontu a t_d [s] je měřicí perioda použitá při měření technikou sp-ICPMS;

z hmotnosti m_1 a plochy píku nanočástice A_{NP} [count], která je zaznamenána při analýze technikou sp-ICPMS, se pak vypočte hmotnost nanočástice m_{NP} nebo hmotnost prvku v nanočástici m_{M} :

$$m_{\text{M}} = m_{\text{NP}} \cdot w = A_{\text{NP}} \cdot m_1 = \frac{10^6 \cdot A_{\text{NP}} \cdot c \cdot V \cdot \eta}{60 \cdot I} \quad [\text{fg}] \quad (5)$$

Provede se měření vzorku a ze zjištěného počtu píků, známé transportní účinnosti a známého průtoku se vypočítá koncentrace počtu nanočástic ve vzorku. Z distribuce ploch píků se určí nejčtenější plocha, které podle kalibrace odpovídá nejčtenější hmotnost, resp. nejčtenější velikost (průměr) nanočástic obsažených ve vzorku.

Pro vyhodnocení dat získaných měření se využívá programové vybavení spektrometru, které umožňuje zpracování velkého počtu hodnot signálu (řádově 10^6 hodnot), integraci zaznamenaných píků, jejich rozřazení do kategorií, proložení získaného histogramu frekvenční funkcí, vyhledání nejčtenější hodnoty, sestavení kalibrací a provedení příslušných výpočtů dle výše uvedených vztahů.

4. Příprava biologických vzorků a potravin k analýze anorganických nanočástic technikou sp-ICPMS

Konvenční prvkové analýze tuhých vzorků technikou ICPMS nebo jinými technikami obvykle předchází převedení vzorku do roztoku realizované nejčastěji rozkladem

kyselinou dusičnou. Pro analýzu nanočástic technikou sp-ICPMS nebo spojením separační techniky s ICPMS je potřebné matrici vzorku solubilizovat, ale zachovat nanočástice ve vzorku obsažené v nezměněném stavu³⁶. Vzhledem k velkému specifickému povrchu jsou nanočástice reaktivnější než makroskopická forma téhož materiálu, takže i za mírných podmínek solubilizace vzorku se mohou nanočástice kovů nebo oxidů kovů a jiných sloučenin rozpustit nebo zmenšit svoji velikost. Odolnější vůči těmto změnám jsou nanočástice zlata nebo platinových kovů. Důsledkem částečného rozpuštění nanočástic během přípravy vzorku k analýze jsou pak zkreslené výsledky analýzy velikostní distribuce i koncentrace nanočástic. Z těchto důvodů autoři některých validačních studií, jejichž cílem je mimo jiné zjistit chování nanočástic při provádění různých analytických operací, pracují se syntetickými anorganickými nanočásticemi, které jsou chráněny polymerním filmem (Ag NP a Au NP s polyvinylpyrrolidonovým povlakem)^{37,38}. Takové výsledky lze ovšem jen částečně využít při analýze nanočástic nechráněných, které mohou být z hlediska původu rovněž umělé nebo mohou vznikat v životním prostředí spontánně z vodných roztoků obsahujících ionty prvku.

Při volbě vhodného postupu přípravy vzorku k analýze nanočástic je nutné zvažovat chemické vlastnosti materiálu nanočástic, chemické složení matrice a rozpustnost matričních složek za různých podmínek a vycházet z odhadu možnosti uvolnění nanočástic z matrice na základě předpokládaných interakcí mezi nanočásticemi a makrosložkami vzorku. Biologické tekutiny a další kapalné vzorky je možné analyzovat přímo po patřičném zředění vodou nebo vodným roztokem stabilizačního činidla. U pevných vzorků biologického původu (části živočišných těl, orgány nebo pletiva rostlin, celá individua drobných vodních organismů) je nutná homogenizace spojená s rozrušením biologických struktur a následná extrakce nebo hydrolýza celého vzorku.

Hydrolýza působením kyselin, případně oxidací organické matrice je možné použít pouze pro analýzu nanočástic téměř inertních anorganických materiálů, jako jsou SiO_2 nebo TiO_2 (cit.³⁶). V těchto případech byla dokonce používána silně reaktivní činidla, jako jsou kyselina dusičná, peroxid vodíku nebo jejich směs. Například rozklad matrice vzorků buněčných kultur zahřevem s 60% HNO_3 byl aplikován před analýzou SiO_2 NP technikou sedimentační frakcionace tokem v silovém poli (SdFFF)³⁹; oxidace matrice vzorků zubní pasty a různých potravin (pečivo, cukrovinky, žvýkačky) koncentrovaným H_2O_2 byla použita jako přípravný krok k analýze TiO_2 NP spojením AF^4 -ICPMS s technikou sp-ICPMS. Pro stanovení SiO_2 NP v rajčatové polévce⁴⁰ technikou AF^4 -ICPMS byl vzorek rozložen směsí $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$.

Vůči nanočásticím kovů a oxidů kovů je šetrnější hydrolýza vzorku v zásaditém prostředí; výjimkou jsou pouze amfoterní prvky a jejich oxidy (např. ZnO), jejichž nanočástice se rozpouštějí i za těchto podmínek. Hydrolýzu je možné uskutečnit zahřevem s roztoky alkalických hydroxidů nebo organických zásad, jako je hydroxid tetra-

methylamonia (TMAH). Při použití NaOH nebo KOH byl však pozorován vznik agregátů původních nanočástic³⁸. Kromě toho je vnesení iontů alkalických kovů do vzorku přidavkem alkalického hydroxidu nepříznivé pro detekci analytu v ICPMS. Vyšší koncentrace iontů alkalických kovů a kovů alkalických zemin totiž snižují účinnost ionizace jiných prvků v argonovém plazmatu¹³, což zhoršuje citlivost detekce nanočástic. Proto se dává přednost použití TMAH, a to zvláště pro solubilizaci živočišných materiálů^{38,41}. Hydrolyza vzorků inkubací s vodným roztokem TMAH po dobu 24 hodin byla např. použita jako příprava vzorků hovězího masa a dále jednotlivých drobných koryšů druhu hrotnatka velká (*Daphnia magna*) a vodních kroužkovic druhu žížalce pestrá (*Lumbriculus variegatus*) pro stanovení Ag NP a Au NP. Jedinci těchto vodních organismů byli po dobu 48 hodin udržováni ve vodě s přidavkem syntetických nanočástic o velikosti 100 nm (Au NP: $c = 98 \text{ ng ml}^{-1}$, $N = 9,7 \cdot 10^6 \text{ ml}^{-1}$, Ag NP: $c = 4,8 \text{ ng ml}^{-1}$, $N = 8,7 \cdot 10^3 \text{ ml}^{-1}$). Pro všechny tyto vzorky byly prokázány uspokojivé hodnoty výtěžnosti při bilanci počtu nanočástic (90–95 % pro Au NP a 83–106 % pro Ag NP) i při hmotnostní bilanci (88–95 % pro Au a 104 až 121 % pro Ag).

Další možností přípravy vzorku k analýze je hydrolyza enzymová. Hlavní výhodou enzymové hydrolyzy je šetrnost a rychlost procesu přípravy vzorku. Pro solubilizaci živočišných tkání^{41–44} se používají zejména proteasy mikrobiálního původu, např. tzv. proteinasa K izolovaná z houby *Engyodontium album* (*Tritirachium album*), která patří mezi nespécifické serinové proteasy a je aktivní v širším rozmezí pH i za zvýšené teploty. V rostlinných materiálech jsou hlavní nerozpustnou součástí biostruktury polysacharidy typu pektinových látek, celulosy a hemicelulos. K jejich solubilizaci je používán enzymový preparát Macerozyme R-10, který se získává z plísní rodu *Rhizopus* a obsahuje pektinasy a další glykosidasy. Enzymový preparát Macerozyme R-10 prokázal dobrou účinnost při izolaci různých kovových nanočástic z pletiv rozličných druhů rostlin, jako jsou rajčata, hořčice, řepička nebo huseníček^{45–48}. K solubilizaci škrobnatých vzorků⁴⁹ je vhodné použití α -amylasy z plísně *Aspergillus oryzae*.

Hydrolyzou získaný upravený vzorek, který má (v ideálním případě) povahu vodné disperze nanočástic v roztoku přeměněných složek matrice, je třeba stabilizovat, aby se zabránilo agregaci nanočástic. Stabilizaci po dobu nutnou k provedení analýzy zajišťuje přídavek povrchově aktivních látek, jako jsou roztoky želatiny, hovězího sérového albuminu nebo Tritonu X-100.

5. Využití sp-ICPMS pro stanovení anorganických nanočástic v rámci biologických studií a v analýze potravin

Práce, které se zabývají stanovením anorganických nanočástic v biologických materiálech a potravinách a využívají ICPMS nebo sp-ICPMS, sledují především

tyto cíle:

- vypracovat analytické postupy pro následné soustavné studium přechodu nanočástic z prostředí do těl organismů,
- vyřešit dílčí analytické problémy (např. efektivní přípravu vzorku nebo kompenzaci rušivých vlivů při měření),
- odhadnout účinnost vstřebávání nanočástic obsažených v potravě a možnosti jejich vstupu a působení ve vnitřních orgánech člověka a zvířat,
- poskytnout přehled o obsahu nanočástic anorganických materiálů v potravinách pocházejících z přídatných látek (TiO_2) a o možnostech kontaminace potravin nanočásticemi z prostředí, veterinárních přípravků, obalových materiálů a pomůcek při zpracování potravin.

Do první skupiny studií patří např. výše zmíněná práce³⁸ sledující technikou sp-ICPMS akumulaci Ag NP a Au NP ve sladkovodních živočiších (perloočka hrotnatka velká a vodní máloštětinatý kroužkovec žížalce pestrá). Protože perloočky jsou organismy přijímající potravu filtrací vody, dosahuje bioakumulační faktor (poměr obsahu NP v sušině organismu k obsahu ve vodě) pro Ag NP hodnot 200–320 a pro Au NP hodnoty 80 (cit.³⁸).

Další práce⁵⁰ podobného charakteru se zabývala příjmem Au NP z vody jednobuněčnou sladkovodní řasou *Cryptomonas ovata* kultivovanou v prostředí s přidávanými ionty Au^{3+} nebo s přidávanými Au NP (60 nm). Použitím principu analogického s technikou sp-ICPMS byl stanoven obsah Au v jednotlivých buňkách buněčné kultury. Proto autoři označují tuto techniku jako „single cell – ICP-MS“. Ve variantách s přidávanou rozpustnou sloučeninou zlata ($1\text{--}3 \text{ ng ml}^{-1}$) se obsah zlata v jedné buňce po 74 hodinách kultivace pohyboval v desetinách fg. U řasových kultur exponovaných nanočásticím zlata byl zjišťován podíl buněk, které obsahují nanočástice. Tento podíl po 77 hodinách kultivace činil cca 40 %, přičemž byly analýzou dále rozlišeny podíly buněk obsahující jednu nanočástici (cca 35 %), dvě nanočástice (3–4 %) a tři nanočástice (cca 1 %).

Řada dalších prací se věnuje vstupu nanočástic z prostředí do rostlin, přičemž ke stanovení příslušného prvku, který je v materiálu nanočástice obsažen, se používá konvenční analýza technikou ICPMS po rozkladu vzorku. Takto byly např. sledovány CeO_2 NP a ZnO NP v rajčatech⁵¹ a okurkách⁵² nebo Ag NP a Ag_2S NP v salátu⁵³.

Některé další studie, týkající se analýzy nanočástic technikou sp-ICPMS v rostlinách, živočišných tkáních a v potravinách, jsou shrnuty v tab. I.

6. Závěry

Technika sp-ICPMS se při stanovení anorganických nanočástic postupně zdokonaluje. Její předností je především možnost detekce a stanovení velikosti i velmi malého

Tabulka I

Některé aplikace techniky sp-ICPMS při analýze anorganických nanočástic v biologických vzorcích a potravinách

Materiál	Částice	Příprava vzorků	Zaměření práce	Lit.
Pomerančová a jablečná šťáva	Ag NP a Au NP s PVP, 30–100 nm	ředění vodou	validace metody stanovení ve šťávách s přidavkem NP	37
Slezina potkanů	Au NP, 60 nm	hydrolyza TMAH nebo enzymová hydrolyza (proteinasa K)	vstup NP do orgánů potkanů po intravenosním podání Au NP	41
Kuřecí maso Játra potkanů	Ag NP, 20–110 nm, Au NP 10–60 nm, SiO ₂ 0,1–2,5 μm TiO ₂ 0,1–1 μm	enzymová hydrolyza (proteinasa K)	metodika měření (kvadrupolový vs. sektorový MS), matriční efekty, vstup Ag NP do jater laboratorních zvířat po orálních podání	44
Kuřecí maso	Ag NP, 60 nm	enzymová hydrolyza (proteinasa K)	validace metody, sledování změn velikosti přidaných NP v mase při skladování	43
Kuřecí maso	Ag NP, 40 nm	hydrolyza digestivními enzymy	změny chemického stavu Ag a velikosti Ag NP při <i>in vitro</i> digesti kuřecího masa	54
<i>Solanum lycopersicum</i> – rajče jedlé	Au NP, 40 nm	enzymová hydrolyza (Macerozym R10)	přechod Au NP do rostliny při hydroponické kultivaci	45
<i>Arabidopsis thaliana</i> – huseníček rolní	Ag NP, 10 nm	enzymová hydrolyza (Macerozym R10)	transfer Ag NP z půdního roztoku do kořenů a nadzemních částí rostliny	46
<i>Sinapis alba</i> – hořčice bílá	Pd NP, 77 nm	enzymová hydrolyza (Macerozym R10)	přechod Pd NP do rostliny při hydroponické kultivaci	47
<i>Sinapis alba</i> a <i>Lepidium sativum</i> – řeřicha setá	Pt NP, 70 nm	enzymová hydrolyza (Macerozym R10)	přechod Pt NP do rostliny při hydroponické kultivaci	48
Kvasinka <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Se NP, 50 a 100 nm (použití pro kalibraci)	enzymová hydrolyza	detekce Se NP v potravních doplncích na bázi kvasnic obohacených selenem	55
Těstoviny	bez přidaných nanočástic	enzymová hydrolyza (amylasa)	stanovení celkového Al a detekce NP obsahujících Al v čínských nudlích	49
Práškový TiO ₂ přidávaný do potravin a různých potravin	bez přidaných nanočástic	rozklad matrice účinkem H ₂ O ₂	určení distribuce velikosti částic TiO ₂ , stanovení celkového Ti ve 24 druzích potravin a v kosmetických přípravcích	56
Žvýkačky	bez přidaných nanočástic	extrakce vodou, sonikace	rušivé vlivy při stanovení Ti, detekce a kvantifikace nanočásticové frakce TiO ₂	57

počtu částic ve vzorku. Dosažitelná mez detekce koncentrace částic se pohybuje kolem 100 ml⁻¹ (cit.⁵⁸). Na druhou stranu sp-ICPMS nemůže konkurovat elektronové mikroskopii v detegovatelnosti nanočástic velmi malého průměru. Například u stříbra mohou současně kvadrupolové hmotnostní spektrometry detegovat pouze částice o průměru cca 15 nm a větší. Technikou sp-ICPMS lze zatím měřit s vysokým časovým rozlišením pouze signál jednoho nuklidu, takže není běžně možné při měření v reálném čase sledovat chemické složení nanočástic obsahujících

více kovů současně. Tento cíl je dosažitelný např. použitím sektorových spektrometrů s multikolektorovým analyzátozem, které však nejsou vzhledem k velmi vysoké ceně běžně používány. Pokrok lze očekávat také v oblasti vývoje programového vybavení určeného ke zpracování dat.

Vypracováno s finanční podporou Grantové agentury České republiky (projekt číslo 1700291S).

Seznam zkratek

AF ⁴	frakcionace asymetrickým tokem v silovém poli
FFF	frakcionace tokem v silovém poli
ICPMS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
NP	nanočástice (zkratka se používá i ve spojení se značkou nebo vzorcem, např. Ag NP a TiO ₂ NP jsou nanočástice stříbra resp. oxidu titaničitého)
PVP	polyvinylpyrrolidon
SdFFF	sedimentační frakcionace tokem v silovém poli
sp-ICPMS	analýza jednotlivých částic hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem
TMAH	hydroxid tetramethylamonia

LITERATURA

- Murty B. S., Shankar P., Raj B., Rath B. B., Murday J.: *Textbook of Nanoscience and Nanotechnology*. Springer/Universities Press (India) Private Ltd., New Delhi 2013.
- Sovová T., Kočí V.: *Chem. Listy* 106, 82 (2012).
- Bäuerlein P. S., Emke E., Tromp P., Hofman J. A. M. H., Carboni A., Schooneman F., de Voogt P., van Wenzel A. P.: *Sci. Total Environ.* 576, 273 (2017).
- Calderón-Jiménez B., Johnson M. E., Montoro Bustos A. R., Murphy K. E., Winchester M. R., Vega Baudrit J. R.: *Front. Chem.* 5, 6 (2017).
- Nováková T., Šváb M., Švábová M.: *Chem. Listy* 103, 524 (2009).
- Dohnalová L., Dohnal V.: *Chem. Listy* 109, 444 (2015).
- Cyrusová T., Podlipná R., Vaněk T.: *Chem. Listy* 109, 276 (2015).
- Vaculíková E., Plachá D., Jampilek J.: *Chem. Listy* 109, 346 (2015).
- Hrivnáková V., Fargašová A.: *Chem. Listy* 110, 440 (2016).
- Šebesta M., Kolenčík M., Matůš P., Kořenková L.: *Chem. Listy* 111, 322 (2017).
- Šebesta M., Matůš P.: *Chem. Listy* 112, 583 (2018).
- Montaser A.: *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Wiley-VCH, New York 1998.
- Thomas R.: *Practical Guide to ICP-MS. A Tutorial for beginners*. 3. vyd., CRC Press, Boca Raton 2013.
- Wolf R. E., Grosser Z. A.: *Atom. Spectr.* 18, 145 (1997).
- EPA Method 200.8 *Determination of trace elements in waters and wastes by inductively coupled plasma mass spectrometry*. Federal Register 59(232) 62546, Dec 5, 1994.
- Falciani R., Novaro E., Marchesini M., Gucciardi M.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 561 (2000).
- Nixon D. E., Moyer T. P.: *Spectrochim. Acta, Part B* 51, 13 (1996).
- Vanhoe H., Vandecasteele C., Versieck J., Dams R.: *Anal. Chem.* 61, 1851 (1989).
- Vaughan M. A., Balnes A. D., Templeton D. M.: *Clin. Chem.* 37, 210 (1991).
- Liang Q., Jing H., Gregoire D. C.: *Talanta* 51, 507 (2000).
- Lord C. J. III: *Anal. Chem.* 63, 1594 (1991).
- Horn M.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 364, 385 (1999).
- Blair P. D.: *TrAC, Trends Anal. Chem.* 5, 220 (1986).
- Nardi E. P., Evangelista F. S., Tormen L., Saint T. D., Curtius A. J., De Souza S. S., Barbosa F.: *Food Chem.* 112, 727 (2009).
- Vanhaecke F., Moens L., Dams R., Taylor P.: *Anal. Chem.* 68, 567 (1996).
- Mestek O., Koplik R., Fingerova H., Suchanek O.: *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 403 (2000).
- Mestek O., Kominkova J., Koplik R., Suchanek M.: *Talanta* 54, 927 (2001).
- Houk R. S.: *Anal. Chem.* 58, 97A (1986).
- Costa-Fernández J. M., Menéndez-Miranda M., Bouzas-Ramos D., Encinar J. R., Sanz-Medel A.: *TrAC, Trends Anal. Chem.* 84, 139 (2016).
- Dubascoux S., Le Hécho, Hassellöv M., Von Der Kammer F., Potin Gautier M., Lespes G.: *J. Anal. At. Spectrom.* 25, 613 (2010).
- Artiaga G., Ramos K., Ramos L., Cámara C., Gómez-Gómez M.: *Food Chem.* 166, 76 (2015).
- Mudalige T. K., Qu H., Linder S. W.: *J. Chromatogr. A* 1420, 92 (2015).
- Degueldre C., Favarger P. Y.: *Colloids Surf., A* 217, 137 (2003).
- Laborda F., Jiménez-Lamana J., Bolea E., Castillo J. R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 28, 1220 (2013).
- Hineman A., Stephan C.: *J. Anal. At. Spectrom.* 29, 1252 (2014).
- De la Calle I., Menta M., Séby F.: *Spectrochim. Acta, Part B* 125, 66 (2016).
- Witzler M., Küllmer F., Hirtz A., Günther K.: *J. Agric. Food Chem.* 64, 4165 (2016).
- Gray E. P., Coleman J. G., Bednar A. J., Kennedy A. J., Ranville J. F., Higgins C. P.: *Environ. Sci. Technol.* 47, 14315 (2013).
- Tadjiki S., Assemi S., Deering C. E., Veranth J. M., Miller J. D.: *J. Nanoparticle Res.* 11, 981 (2009).
- Wagner S., Legros S., Loeschner K., Liu J., Navratilova J., Grombe R., Linsinger T. P. J., Larsen E. H., von der Kammer F., Hofman T.: *J. Anal. At. Spectrom.* 30, 1286 (2015).
- Loeschner K., Brabrand M. S. J., Sloth J. J., Larsen E. H.: *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 3845 (2014).
- Loeschner K., Navratilova J., Købler C., Mølhav K., Wagner S., von der Kammer F., Larsen E. H.: *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 8185 (2013).
- Peters R. J. B., Herrera-Rivera Z., van Bommel G., Marvin H. J. P., Weigel S., Bouwmeester H.: *Anal. Bioanal. Chem.* 406, 3875 (2014).
- Peters R., Herrera-Rivera Z., van der Lee M., Marvin H., Bouwmeester H., Weigel S.: *J. Anal. At.*

- Spectrom. 30, 1274 (2015).
45. Dan Y., Zhang W., Xue R., Ma X., Stephan C., Shi H.: *Environ. Sci. Technol.* 49, 3007 (2015).
 46. Bao D., Oh Z. G., Chen Z.: *Front. Plant Sci.* 7, 32 (2016).
 47. Kińska K., Jiménez-Lamana J., Kowalska J., Krasnodębska-Ostrega B., Szpunar J.: *Sci. Total Environ.* 615, 1078 (2018).
 48. Jiménez-Lamana J., Wojcieszek J., Jakubiak M., Asztemborska M., Szpunar J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 31, 2321 (2016).
 49. Loeschner K., Correia M., López Chaves C., Rokkjær I., Sloth J. J.: *Food Addit. Contam., Part A* 35, 86 (2018).
 50. Merrifield R. C., Stephan C., Lead J. R.: *Sci. Technol.* 52, 2271 (2018).
 51. Wang Q., Ma X., Zhang W., Pei H., Chen Y.: *Metallomics* 4, 1105 (2012).
 52. Zhao L., Sun Y., Hernandez-Viezcas J. A., Servin A. D., Hong J., Niu G., Peralta-Videa J. R., Duarte-Gardea M., Gardea-Torresdey J. L.: *J. Agric. Food Chem.* 61, 11945 (2013).
 53. Doolette C. L., McLaughlin M. J., Kirby J. K., Navarro D. A.: *J. Hazard. Mater.* 300, 788 (2015).
 54. Ramos K., Ramos L., Gómez-Gómez M. M.: *Food Chem.* 221, 822 (2017).
 55. Jiménez-Lamana J., Abad-Álvaro I., Bierla K., Labor-da F., Szpunar J., Lobinski R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 33, 452 (2018).
 56. Peters R. J. B., van Bommel G., Herrera-Rivera Z., Helsper H. P. F. G., Marvin H. J. P., Weigel S., Tromp P. C., Oomen A. G., Rietveld A. G., Bouwmeester H.: *J. Agric. Food Chem.* 62, 6285 (2014).
 57. Candás-Zapico S., Kutscher D. J., Montes-Bayón M., Bettmer J.: *Talanta* 180, 308 (2018).
 58. Loula M., Kaňa A., Koplík R., Hanuš J., Vosmanská M., Mestek O.: *Anal. Lett.*, v tisku, doi: 10.1080/00032719.2018.1459657.
- D. Revenco^a, M. Loula^b, O. Mestek^b, and R. Koplík^a** (^a *Department of Food Analysis and Nutrition*, ^b *Department of Analytical Chemistry, University of Chemistry and Technology, Prague*): **Determination of Inorganic Nanoparticles in Biological Samples and Foodstuffs Using Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**
- Single particle-ICPMS is a powerful analytical technique that enables a detection of inorganic nanoparticles as well as the determination of their size distribution. In the article, the principle of sp-ICPMS is explained. The quantitative relations concerning the calibration of particle number concentration and size are also given. Sample preparation procedures intended for the analysis of biological samples and foodstuffs are briefly mentioned and numerous applications of sp-ICPMS are described. The corresponding studies include e.g. analyses of Ag, Au, Pt or Pd nanoparticles in plants, aquatic organisms or animal tissues.
- Keywords:** inorganic nanoparticles, single particle analysis, mass spectrometry, biological samples, foodstuffs
- Acknowledgements*
This work was supported by the grant from the Czech Science Foundation (project no. 1700291S).