

**NANOCZĄSTKI TLENKU TYTANU(IV) -  
ZASTOSOWANIE W PRODUKTACH  
UŻYTKOWYCH, BADANIA WŁAŚCIWOŚCI  
I OZNACZANIE TECHNIKĄ SPEKTROMETRII MAS  
Z PLAZMĄ INDUKCYJNIE SPRZĘŻONĄ  
PRACUJĄCĄ W TRYBIE POJEDYNCZEJ CZĄSTKI**

**TITANIUM DIOXIDE NANOPARTICLES –  
APPLICATION IN CONSUMER PRODUCTS, STUDY OF  
PROPERTIES AND DETERMINATION BY SINGLE  
PARTICLE INDUCTIVELY COUPLED PLASMA - MASS  
SPECTROMETRY**

**Jakub Gruszka, Julita Malejko,  
Beata Godlewska-Żyłkiewicz\***

*Uniwersytet w Białymstoku, Instytut Chemii  
ul. Ciołkowskiego 1K, 15-245 Białystok  
\*e-mail: bgodlew@uwb.edu.pl*

---

Abstrakt

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Zastosowanie TiO<sub>2</sub>NPs i ich wpływ na organizmy żywe
2. Badania właściwości nanocząstek tlenków metali
3. Technika ICP MS w trybie pomiarowym „pojedynczej cząstki”
4. Problemy przy oznaczaniu TiO<sub>2</sub>NPs techniką sp ICP MS w próbkach biologicznych i środowiskowych

Uwagi końcowe


Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

---


**Mgr Jakub Gruszka** w roku 2017 ukończył studia na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. Tematyka badań realizowanych w ramach pracy dyplomowej dotyczyła analizy specjacyjnej srebra techniką atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją elektrotermiczną. Obecnie jest słuchaczem studiów doktoranckich z chemii na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku, gdzie wykonuje pracę doktorską pod kierunkiem prof. dr hab. Beaty Godlewskiej-Żyłkiewicz. Jego aktualne zainteresowania naukowe skupiają się na analizie specjacyjnej metali w formie nanocząstek oraz jonowej za pomocą spektrometrii mas z płamą indukcyjnie sprzężoną pracującą w trybie pojedynczej cząstki (sp ICP MS).



 <https://orcid.org/0000-0001-7935-7050>

**Dr Julita Malejko** w 2002 roku ukończyła studia na Wydziale Biologiczno-Chemicznym Uniwersytetu w Białymstoku. Pracę doktorską, wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Beaty Godlewskiej-Żyłkiewicz, dotyczącą nowych przepływowych metod oznaczania platynowców wykorzystujących biosorpcję i zjawisko chemiluminescencji, obroniła w roku 2010. Praca ta zdobyła nagrodę Komitetu Chemii Analitycznej Polskiej Akademii Nauk w 2012 roku. Obecnie Autorka jest asystentem w Zakładzie Chemii Analitycznej Instytutu Chemii UwB. Jej zainteresowania naukowe to analiza żywności pod kątem zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej oraz analiza śladowa metali (w tym nanocząstek metali i tlenków metali).



 <https://orcid.org/0000-0002-8835-5775>

**Prof. dr hab. Beata Godlewska-Żyłkiewicz** jest profesorem zwyczajnym w Zakładzie Chemii Analitycznej Instytutu Chemii Uniwersytetu w Białymstoku. Absolwentka Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Filii Uniwersytetu Warszawskiego w Białymstoku. Stopnie naukowe doktora (1995 r.) i doktora habilitowanego nauk chemicznych (2006 r.) oraz tytuł profesora (2013 r.) uzyskała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Przebywała na stażach naukowych na Uniwersytetach w Liverpool (UK), Arystotelesa w Salonikach (Grecja), w Genui (Włochy) i Oviedo (Hiszpania). Zainteresowania naukowe Autorki związane są z metodami wydzielenia, wzbogacania i oznaczania metali śladowych w materiałach biologicznych i środowiskowych oraz analizą specjacyjną metali, w tym metali z grupy platynowców oraz nanocząstek metali. W pracach badawczych rozwija metody analityczne z zastosowaniem nowoczesnych materiałów sorpcyjnych: nanomateriałów węglowych, mikroorganizmów, polimerów z odwzorowanymi jonami oraz chromatografii cieczowej. Jest autorką ponad 100 publikacji naukowych i rozdziałów w monografiach oraz ponad 20 publikacji popularyzujących naukę i dotyczących zarządzania badaniami naukowymi.



 <http://orcid.org/0000-0002-2576-4029>

## ABSTRACT

The rapid growth in the production and use of nanomaterials is observed in recent years. Nanoparticles of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>NPs) are one of the most frequently used nanomaterials. Sunscreens, food additives, food contact materials and textiles are the major fields of current application of TiO<sub>2</sub>NPs. Due to increasing use of nanomaterials in daily life and thus increasing exposure to them, concerns have been raised about their safety. Likely routes of human exposure to released TiO<sub>2</sub>NPs as well as their health and environmental effects are presented in this paper. At present, our knowledge about the risk of nanomaterials is incomplete. However, it is known that toxicity of nanoparticles depends on their size, shape, crystal structure, surface morphology, surface area, charge, concentration and solubility (the possibility of dissolution into ionic forms). Therefore, it is necessary to use several complementary analytical techniques to fully characterize the NPs.

Common approaches used for the characterization of nanomaterials include microscopy based techniques e.g. transmission electron microscopy (TEM), X-ray techniques e.g. X-ray diffraction (XRD), methods based on optical properties e.g. dynamic light scattering (DLS). Separation of nanoparticulate and ionic forms of metal can be accomplished using chromatographic techniques (such as high performance liquid chromatography (HPLC), size exclusion chromatography (SEC), hydrodynamic chromatography (HDC)) or capillary electrophoresis (CE). Size-resolved NPs and dissolved (ionic) fractions can be further characterized by on-line detectors, such as ICP MS.

Recently, single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (sp ICP MS) has been gaining increasing attention as a technique for detection, characterization, and quantification of nanoparticles. This technique provides information on individual particles, including particle size, number size distribution, particle number concentration and mass concentration. In addition, sp ICP MS can distinguish dissolved and nanoparticulate forms of an element. The fundamentals, advantages and limitations of this technique, as well as its application for the characterization and quantification of TiO<sub>2</sub>NPs in different matrices (consumer products, food and environmental samples) are reviewed in this paper.

Keywords: titanium dioxide nanoparticles, separation, hyphenated techniques

Słowa kluczowe: nanocząstki tlenku tytanu(IV), rozdzielanie, techniki łączone

---

---

## WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AFM	–	mikroskopia sił atomowych (ang. <i>Atomic Force Microscopy</i> )
AF4	–	przepływowe frakcjonowanie w asymetrycznym polu sił przepływu (ang. <i>Asymmetric Flow Field Flow Fractionation</i> )
BET	–	technika adsorpcji i desorpcji azotu (skrót utworzony z pierwszych liter nazwisk uczonych: Brunauera, Emmetta oraz Tellera)
BSA	–	albumina surowicy bydłęcej (ang. <i>Bovine Serum Albumin</i> )
CE	–	elektroforeza kapilarna (ang. <i>Capillary Electrophoresis</i> )
CPE	–	ekstrakcja w punkcie zmętnienia (ang. <i>Cloud Point Extraction</i> )
cps	–	liczba zliczeń na sekundę (ang. <i>counts per second</i> )
DF SF ICP MS	–	sektorowy spektrometr ICP MS z podwójnym ogniskowaniem (ang. <i>Double-Focusing Sector Field ICP MS</i> )
DLS	–	dynamiczne rozpraszanie światła (ang. <i>Dynamic Light Scattering</i> )
D <sub>min</sub>	–	granica wykrywalności rozmiaru cząstek (ang. <i>size detection limit</i> )
DR/UV-Vis		spektroskopia rozproszonego odbicia w zakresie UV-Vis (ang. <i>Diffuse Reflectance UV-Vis Spectroscopy</i> )
EDX	–	spektroskopia dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (ang. <i>Energy Dispersive X-ray Analysis</i> )
ELS	–	elektroforetyczne rozpraszanie światła (ang. <i>Electrophoretic Light Scattering</i> )
ESR	–	spektroskopia elektronowego rezonansu spinowego (ang. <i>Electron Spin Resonance Spectroscopy</i> )
ETAAS	–	atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją elektrotermiczną (ang. <i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> )
FFF	–	frakcjonowanie przepływowe w polu sił przepływu (ang. <i>Field Flow Fractionation</i> )
FT IR	–	Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> )
HDC	–	chromatografia hydrodynamiczna (ang. <i>Hydrodynamic Chromatography</i> )
HPLC	–	wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. <i>High-Performance Liquid Chromatography</i> )
ICP MS	–	spektrometria mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ang. <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> )
ICP OES	–	optyczna spektrometria emisyjna z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ang. <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> )

ICP QMS	– spektrometr ICP MS wyposażony w pojedynczy kwadrupol (ang. <i>Inductively Coupled Plasma Quadrupole Mass Spectrometer</i> )
ICP QQQ	– tandemowy spektrometr mas typu potrójnego kwadrupola z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ang. <i>Triple Quadrupole ICP MS</i> )
ICP-TOF MS	– spektrometr ICP MS wyposażony w analizator czasu przelotu (ang. <i>Inductively Coupled Plasma Time-of-Flight Mass Spectrometer</i> )
KED	– pomiar z zastosowaniem komory rozróżniającej jony ze względu na energię kinetyczną (ang. <i>Kinetic Energy Discrimination</i> )
LC	– chromatografia cieczowa (ang. <i>Liquid Chromatography</i> )
LDE	– elektroforeza z laserowym pomiarem ruchliwości cząstek w oparciu o efekt Dopplera (ang. <i>Laser Doppler Electrophoresis</i> )
LD <sub>50</sub>	– medialna (średnia) dawka śmiertelna (ang. <i>median lethal dose</i> )
LOD	– granica wykrywalności (ang. <i>Limit of Detection</i> )
MC ICP MS	– wielodetektorowy ICP MS (ang. <i>Multi-Collector ICP MS</i> )
MNPs	– nanocząstki metaliczne (ang. <i>Metallic Nanoparticles</i> )
m/z	– stosunek masy do ładunku jonów
NDS	– najwyższe dopuszczalne stężenie
NPs	– nanocząstki (ang. <i>nanoparticles</i> )
NTA	– technika śledzenia ruchu nanocząstek (ang. <i>Nanoparticle Tracking Analysis</i> )
ROS	– reaktywne formy tlenu (ang. <i>Reactive Oxygen Species</i> )
SdFFF	– przepływowe frakcjonowanie w polu grawitacyjnym (ang. <i>Sedimentation Field Flow Fractionation</i> )
SEC	– chromatografia wykluczania (ang. <i>Size Exclusion Chromatography</i> )
SEM	– skaningowa mikroskopia elektronowa (ang. <i>Scanning Electron Microscopy</i> )
SERS	– powierzchniowo wzmocniona spektroskopia Ramana (ang. <i>Surface Enhanced Raman Spectroscopy</i> )
SPE	– ekstrakcja do fazy stałej (ang. <i>Solid-Phase Extraction</i> )
sp ICP MS	– spektrometria mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną pracującą w trybie pomiarowym „pojedynczej cząstki” (ang. <i>single particle ICP MS</i> )
SRM, RM	– certyfikowany materiał odniesienia (ang. <i>Standard Reference Material, Reference Material</i> )
TEM	– transmisyjna mikroskopia elektronowa (ang. <i>Transmission Electron Microscopy</i> )
$t_{pom}$	– czas pomiaru (ang. <i>dwell time</i> ( $t_{dwell}$ ), <i>reading time</i> )

TRA	– tryb zbierania danych oparty na pomiarze sygnału zmiennego w czasie (ang. <i>Time Resolved Analysis</i> )
$t_{stab}$	– czas stabilizacji (ang. <i>settling time</i> ( $t_{settling}$ ))
TXRF	– metoda całkowitego odbicia promieniowania rentgenowskiego (ang. <i>Total Reflection X-ray Fluorescence</i> )
UV-Vis	– spektrofotometria absorpcyjna w zakresie nadfioletu oraz światła widzialnego (ang. <i>Ultraviolet-Visible Spectrophotometry</i> )
XPS	– rentgenowska spektrometria fotoelektronów (ang. <i>X-ray Photoelectron Spectroscopy</i> )
XRD	– dyfrakcja rentgenowska (ang. <i>X-Ray Diffraction</i> )
$\eta_{neb}$	– efektywność transportu próbki do strumienia plazmy (ang. <i>analyte transport efficiency</i> )

## WPROWADZENIE

Dynamiczny rozwój nanotechnologii obserwowany w ostatnich dekadach ma na celu poprawę właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych różnego rodzaju materiałów użytkowych. Aktualna liczba nanomateriałów skatalogowanych w bazie „Nano” wydawnictwa Springer Nature wynosi prawie 260 000. Na świecie, wg National Nanotechnology Initiative (USA) ([www.nano.gov](http://www.nano.gov)), miesięcznie wprowadzanych jest na rynek kilkanaście produktów zawierających nanocząstki (NPs) metali, tlenków metali lub materiałów węglowych. W chwili obecnej w „The Nanodatabase” [ 1 ] zarejestrowanych jest ponad 3000 produktów zawierających w swoim składzie nanomateriały. Produkowane są również ogromne ilości (tysiące ton) ultradrobnych materiałów proszkowych zawierających w swoim składzie nanocząstki (np. krzemionki  $\text{SiO}_2$ , korundu  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , tlenku ceru  $\text{CeO}_2$ ). Wraz ze wzrastającą produkcją oraz liczbą zastosowań nanomateriałów rośnie ich niekontrolowana emisja do środowiska przyrodniczego, a także wzrasta narażenie populacji na ich działanie. Liczne badania toksykologiczne wskazują na szkodliwy wpływ nanocząstek metalicznych (MNPs), np.  $\text{AgNPs}$ ,  $\text{CuONPs}$ ,  $\text{CeO}_2\text{NPs}$ ,  $\text{ZnONPs}$  [2] oraz  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  na organizmy żywe występujące w różnych elementach biosfery [3,4], w tym także ludzi. Ich negatywne działanie może mieć m.in. charakter cytotoksyczny, genotoksyczny, neurotoksyczny oraz teratogeny [5,6] związany ze zwiększoną reaktywnością nanocząstek w porównaniu do materiału w skali makroskopowej oraz bardzo małymi rozmiarami umożliwiającymi pokonywanie barier biologicznych (krew-mózg oraz krew-łożysko) [7]. Toksyczność MNPs uzależniona jest od wielu czynników środowiskowych, indywidualnych cech organizmów żywych ekspozowanych na działanie stresora, parametrów geometrycznych NPs (rozmiaru, kształtu), stężenia, rodzaju użytego stabilizatora oraz ilości uwalnianego metalu w postaci jonowej, która może wykazywać wyższą toksyczność niż nanocząstki danego metalu.

Aby oszacować wpływ nanomateriałów na środowisko przyrodnicze, a także ich toksyczny wpływ na organizmy żywe oraz poznać biotransformację w środowisku komórkowym i przyrodniczym, niezbędne jest rozwijanie i zastosowanie czułych oraz dokładnych metod analitycznych pozwalających na jakościowe i ilościowe badanie nanocząstek w różnego typu matrycach. Jedną z najnowocześniejszych metod instrumentalnych, które nie są jeszcze stosowane w badaniach rutynowych, jest spektrometria mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną pracująca w specjalnym trybie pomiarowym „pojedynczej cząstki” (sp ICP MS).

Niniejsza praca ma na celu krótkie przedstawienie obszarów wykorzystania nanocząstek  $\text{TiO}_2$  w produktach użytkowych, jego wpływu na organizmy żywe, a także metod służących do charakterystyki nanocząstek metali. Omówione zostaną również możliwości analityczne techniki sp ICP MS w analizie nanocząstek oraz przykłady zastosowania tej techniki do oznaczania  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  w matrycach środowiskowych i próbkach biologicznych.

## 1. ZASTOSOWANIE $\text{TiO}_2\text{NPs}$ I ICH WPŁYW NA ORGANIZMY ŻYWE

Tlenek tytanu(IV) należy do nanomateriałów produkowanych na świecie w największych ilościach. Do produkcji  $\text{TiO}_2$  na skalę przemysłową wykorzystywane są ilmenitowe koncentraty o niskiej zawartości tytanu, wysokotytanowe rutyle, szlaki tytanowe oraz mieszaniny wymienionych surowców, z których tlenek tytanu(IV) pozyskiwany jest za pomocą metody siarczanowej lub chlorkowej. Światowa produkcja mineralnych koncentratów  $\text{TiO}_2$  (ilmenitowego oraz rutowego) wg. raportu U.S. Geological Survey w 2017 roku została oszacowana na 7,1 mln ton [8]. Ze względu na intensywny biały kolor  $\text{TiO}_2$  stosowany jest w przemyśle papierniczym, włókienniczym i spożywczym oraz jako dodatek do różnego rodzaju farb i pigmentów. Częstki  $\text{TiO}_2$ , których rozmiary w co najmniej jednym wymiarze są mniejsze niż 100 nm, mogą stanowić nawet ~36% składu barwnika spożywczego E171 [9]. Efektywna absorpcja promieniowania UV przez cząstki  $\text{TiO}_2$  szeroko wykorzystywana jest w przemyśle kosmetycznym, np. do produkcji kremów przeciwsłonecznych. Układy zawierające tlenek tytanu(IV) charakteryzują się wysoką aktywnością fotokatalityczną w zakresie promieniowania ultrafioletowego, co znalazło zastosowanie m.in. w fotokatalitycznych reakcjach rozkładu zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych, neutralizacji bakterii, grzybów i wirusów, produkcji powłok samoczyszczących oraz ogniów słonecznych. Wraz ze zmniejszającymi się rozmiarami cząstek rośnie efektywność absorpcji promieniowania UV, hydrofilowość oraz aktywność fotokatalityczna  $\text{TiO}_2$ . Przykładowe zastosowania nanocząstek tlenku tytanu(IV) w gospodarce i produktach codziennego użytku przedstawiono w Tabeli 1.

Szerokie zastosowanie nanocząstek tlenku tytanu(IV) przyczynia się do zwiększenia niekontrolowanej emisji tego nanomateriału do różnych elementów biosfery. Przykładem negatywnego wpływu  $\text{TiO}_2$  na środowisko przyrodnicze może być m.in. wybielanie rafy koralowej, które jest jednym z czynników prowadzących do redukcji populacji organizmów występujących w tych cennych ekosystemach [10].

Tlenek tytanu(IV) powszechnie uważany jest za związek nieszkodliwy oraz obojętny dla zdrowia człowieka. Jego codzienne spożycie wynosi od 0,03 (dorośli > 70 roku życia) do 13 mg/kg masy ciała (dzieci poniżej 10 roku życia) [11]. Jednak liczne badania wskazują na potencjalnie negatywne działanie  $\text{TiO}_2$  występującego w formie nanocząstek m.in. na układ pokarmowy (jelita, okrężnica; powiązanie z nowotworami jelita grubego), powstawanie stresu oksydacyjnego, działanie cytotoksyczne, genotoksyczne oraz zapalne.



Tabela 1. Zastosowanie nanocząstek TiO<sub>2</sub> w przemyśle i produktach codziennego użytku [12,13,14,15,16]  
 Table 1. The use of TiO<sub>2</sub> nanoparticles in industry and everyday products [12,13,14,15,16]

Rodzaj przemysłu	Produkty zawierające tlenek tytanu(IV)	Zalety dodatku TiO <sub>2</sub>
Spożywczy	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ produkty mleczne (sery, jogurty), wyroby cukiernicze, słodczyce (polewy, gumy do żucia, żelki, lody), przetwory rybne (np. surimi), gotowe zupy, buliony, sosy, przyprawy (np. musztarda),</li> <li>➤ suszone warzywa, owoce kandyzowane, orzechy, piwa oraz wina [17],</li> <li>➤ suplementy diety.</li> </ul>	Nadanie produktom pożądanej białej barwy oraz połysku, w niektórych przypadkach wzmocnienie smaku.
	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ materiały opakowaniowe oraz pojemniki służące do przechowywania żywności [18].</li> </ul>	Działanie antydrobnoustrojowe w obecności promieniowania UV o słabym natężeniu.
Farmaceutyczny i medyczny	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ implanty, narzędzia chirurgiczne,</li> <li>➤ materiały stomatologiczne,</li> <li>➤ preparaty do odkażania narzędzi chirurgicznych, cewników, itp.,</li> <li>➤ systemy kontrolowanego dostarczania leków, terapia fotodynamiczna, inżynieria genetyczna, testy biologiczne, obrazowanie komórek [19],</li> <li>➤ biosensory.</li> </ul>	Właściwości bakteriobójcze, zapobieganie infekcjom, przyspieszenie gojenia ran, szybszy wzrost tkanki kostnej, dobra biokompatybilność, stabilność chemiczna oraz termiczna, zwiększenie efektywności fotokatalitycznej; fotouczulanie, np. komórek nowotworowych; poprawa trwałości implantów stomatologicznych.
Kosmetyczny	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ kremy przeciwsłoneczne [20,21,22],</li> <li>➤ pasty do zębów [23], szampony, balsamy, mydła, pomadki, pudry, podkłady, cienie do powiek, farby do włosów, lakiery do paznokci, kremy do pielęgnacji dzieci, preparaty „anti-aging”, dezodoranty.</li> </ul>	Ochrona przed szkodliwym działaniem promieniowania UV; czynnik wybielający, barwnik, środek zagęszczający.
Budowlany	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ powierzchnie samoczyszczące, samosterylizujące, ochronne (szkło [24], nawierzchnie betonowe, marmury [25], drewno [26], pokrycia tynków [27]),</li> <li>➤ farby [28], pigmenty, lakiery, atramenty,</li> <li>➤ tworzywa sztuczne, gumy, materiały ceramiczne,</li> <li>➤ systemy oczyszczania powietrza [29] oraz wody [30] (np. usuwanie pozostałości pestycydów, konwersja CO<sub>2</sub>, rozkład tlenków azotu, usuwanie dymu papierosowego),</li> <li>➤ materiały nanokrystaliczne w fotoaktywnych ogniwach słonecznych.</li> </ul>	Poprawa właściwości powierzchni: wytrzymałości, twardości, współczynnika odbicia światła; działanie antykorozyjne, antystatyczne, hydrofobowe („efekt liścia lotosu” [31]), zwiększenie siły krycia farb, działanie przeciwporostowe, samoczyszczące, antibakteryjne, usuwanie odorów z zamkniętych przestrzeni (fotokatalityczna degradacja zanieczyszczeń).
Motoryzacyjny	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ powłoki ochronne,</li> <li>➤ lusterka samochodowe.</li> </ul>	Ochrona przed promieniowaniem UV, nadawanie połysku, działanie antykorozyjne; właściwości samoczyszczące oraz przeciwmgłowe.
Papierniczy	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ artykuły papiernicze [32,33].</li> </ul>	Biała błyszcząca barwa, zmniejszenie chropowatości powierzchni.
Tworzyw sztucznych	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ artykuły gospodarstwa domowego, żaluzje, rolety, meble ogrodowe.</li> </ul>	Ochrona przed odbarwieniem powierzchni wyeksponowanych na działanie promieniowania słonecznego.
Tekstylny	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ odzież sportowa [34], tkaniny nieprzemakalne oraz samoczyszczące</li> <li>➤ modyfikowane syntetyczne włókna (np. poliestrowe, akrylowe oraz poliamidowe).</li> </ul>	Ochrona przed negatywnym działaniem promieniowania UV, działanie antibakteryjne, poprawa właściwości antystatycznych oraz odporności tkanin na zagniecenia.

TiO<sub>2</sub> wg klasyfikacji Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (ang. *International Agency for Research on Cancer, IARC*) został zaliczony do grupy związków o właściwościach potencjalnie kancerogennych dla ludzi [35,36]. Amerykańska Agencja Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration, FDA*) zaakceptowała jednak stosowanie TiO<sub>2</sub> jako dodatku do żywności (barwnika) w ilościach nieprzekraczających 1% (w/w) oraz dopuściła TiO<sub>2</sub> (jako składnik opakowań) do kontaktu z żywnością [9].

TiO<sub>2</sub> może dostawać się do organizmów żywych w różny sposób, jednak najczęstszą drogą narażenia jest droga inhalacyjna [37]. W badaniach prowadzonych na myszach stwierdzono, że nanocząstki mogą być zatrzymywane w błonie śluzowej obszaru węchowego, a następnie transportowane do centralnego układu nerwowego. Obecność TiO<sub>2</sub> stwierdzono w mózgu badanych myszy [38]. Badania dotyczące porównania toksyczności TiO<sub>2</sub> o różnych rozmiarach, formie krystalicznej i powierzchni przy podaniu dotchawiczym przeprowadzone na szczurach wykazały, że szkodliwość takich cząstek zależy raczej od ich tekstury/morfologii powierzchni, niż od rozmiaru i powierzchni właściwej [39]. Inne badania prowadzone na szczurach pokazały, że długotrwałe narażenie na wdychanie TiO<sub>2</sub>NPs może powodować raka płuc, a efektywność transportu nanocząstek do innych organów wewnętrznych wzrasta wraz ze zmniejszającym się ich rozmiarem [40]. Z kolei badania epidemiologiczne nie potwierdziły związku pomiędzy narażeniem ludzi na TiO<sub>2</sub> a ryzykiem raka płuc lub zmniejszeniem pojemności wentylacyjnej płuc [41]. Wykazano jednak, że osoby chorujące na astmę lub choroby układu krążenia, w przypadku narażenia zawodowego, mogą być bardziej wrażliwe na działanie TiO<sub>2</sub>. Dopuszczalny limit narażenia dla nanocząstek o rozmiarach < 100 nm, wyznaczony przez ekspertów Narodowego Instytutu Bezpieczeństwa i Higieny Pracy (ang. *National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH*), wynosi 0,3 mg m<sup>-3</sup> przez 10 h dziennie podczas 40 godzinowego tygodnia pracy [40,42,43]. Raport przygotowany przez Organizację Rozwoju Nowych Energii i Technologii Przemysłowych (ang. *New Energy and Industrial Technology Development Organization, NEDO*) w Japonii definiuje maksymalne dopuszczalne narażenie na TiO<sub>2</sub>NPs jako 1,2 mg m<sup>-3</sup> w przypadku 8 godzinowego dnia pracy i 40 godzinowego tygodnia pracy [44]. W oparciu o obowiązujące metody wyznaczania wartości normatywów higienicznych w Polsce, oszacowano, że wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) w powietrzu środowiska pracy dla nanocząstek TiO<sub>2</sub> może wynosić 0,3 mg m<sup>-3</sup> [45].

Ludzie mogą być narażeni na działanie TiO<sub>2</sub> również drogą pokarmową (dodatek do żywności) lub przez skórę (kosmetyki i kremy przeciwsłoneczne). Badania toksykologiczne przeprowadzone na szczurach po podaniu doustnym różnych form TiO<sub>2</sub>NPs wskazywały na małą toksyczność badanych nanocząstek lub

jej brak. Średnia dawka śmiertelna ( $LD_{50}$ ) dla szczurów w przypadku mieszaniny nanocząstek (anatazu oraz rutyli) wyniosła  $> 2150$  mg/kg [46].  $TiO_2$ NPs mogą jednak przenikać do układu krążenia, trafiając w ten sposób do wątroby, śledziony, płuc, nerek, a także mózgu [47,48]. Toksyczność  $TiO_2$  uzależniona jest nie tylko od dawki, ale również od formy krystalicznej. Anataz, który jest bardziej reaktywny niż rutil, jest zarazem bardziej toksyczny, gdyż prowadzi do powstania większej ilości reaktywnych form tlenu (ROS) w warunkach naświetlania promieniowaniem UV [9,40]. Na toksyczność nanocząstek mogą wpływać również ich rozmiary. Do tej pory brak jest danych dotyczących toksyczności nanocząstek w wyniku działania na skórę. Prawdopodobnie przenikanie przez skórę możliwe jest jedynie w przypadku jej uszkodzenia (rany, oparzenia). Jednak ze względu na coraz szersze zastosowanie produktów kosmetycznych zawierających  $TiO_2$  powinna zostać przeprowadzona ocena chronicznego (długotrwałego) narażenia ludzi na tego typu produkty oraz badania epidemiologiczne dotyczące narażenia na szkodliwe działanie  $TiO_2$  drogą dermalną.

Z przeglądu literatury wynika, że na efekt toksyczny nanocząstek metali wpływać mogą: struktura krystaliczna, morfologia powierzchni, powierzchnia właściwa, ładunek, kształt, rozmiar i stężenie nanocząstek, a także ich rozpuszczalność oraz zdolność do tworzenia połączeń z substancjami obecnymi w organizmach (np. tworzenie koron białkowych i lipidowych na ich powierzchni), jak również fotoreaktywność. W większości badań toksykologicznych nie podano charakterystyki stosowanych związków, przez co trudno jest wnioskować o korelacjach pomiędzy toksycznością cząstek a ich właściwościami fizykochemicznymi [9]. Badania toksykologiczne powinny być powadzone dla materiałów o dobrze scharakteryzowanych właściwościach, a także produktów ich transformacji.

## 2. BADANIA WŁAŚCIWOSCI NANOCZĄSTEK TLENKÓW METALI

Nanocząstki tlenku tytanu(IV) pochodzenia antropogenicznego mogą mieć kształt m.in. nanosześcianów, nanosfer, nanoprętów oraz nanokwiatów [49]. Nanocząstki tlenków metali w trakcie produkcji oraz użytkowania nanomateriałów uwalniane są najczęściej w swojej pierwotnej formie, ale pod wpływem czynników zewnętrznych mogą ulec przekształceniom. Niektóre nanocząstki (np.  $Zn/ZnO$ ,  $CeO_2$ ,  $Fe_2O_3/Fe_3O_4$ ) mogą ulegać częściowemu rozpuszczeniu tworząc jony metali lub kompleksy metal-ligand ze związkami organicznymi lub nieorganicznymi. W obecności związków biologicznych o właściwościach red-ox (np. cysteina, glutation) mogą zachodzić reakcje przeniesienia elektronu skutkujące zmianą stopnia utlenienia metali w nanocząstkach (np. redukcja  $Fe(III)$ ,  $Ce(IV)$  czy utlenienie  $Ag(0)$ ). Nanocząstki, ze względu na dużą powierzchnię właściwą mają

tendencję do agregacji i aglomeracji oraz oddziałują z otaczającą je matrycą. W wyniku adsorpcji związków biologicznych na powierzchni nanocząstek (np. BSA, apo-transferyny) ulega zmniejszeniu zdolność do aglomeracji niektórych nanocząstek (np.  $\text{TiO}_2$ ), gdyż następuje zmniejszenie energii powierzchniowej, wzrost hydrofilowości oraz stabilności sterycznej nanocząstek. Jednak obecność innych cząsteczek biologicznych, przykładowo cysteiny, może powodować efekt odwrotny, czyli sprzyjać agregacji MNPs [50]. Jak wspomniano wcześniej, oprócz struktury krystalicznej, morfologii powierzchni, powierzchni właściwej, ładunku, kształtu i stężenia na toksyczność nanocząstek wpływać mogą ich rozmiary. Do pełnej charakterystyki NPs niezbędne jest zatem zastosowanie wielu uzupełniających się technik analitycznych.

Do określenia parametrów geometrycznych (rozmiaru, kształtu, rozkładu wielkości), morfologii powierzchni (struktury, pola powierzchni) oraz stopnia agregacji NPs można wykorzystać techniki mikroskopowe, takie jak transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM), skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) lub mikroskopia sił atomowych (AFM). Aparatura wykorzystywana w tych technikach jest bardzo kosztowna, zaś sama analiza czasochłonna i skomplikowana, ponieważ w celu określenia średniego rozmiaru oraz rozkładu wielkości nanocząstek wymagane jest scharakteryzowanie odpowiednio dużej liczby NPs. Dodatkowo, często dochodzi do powstawania artefaktów utrudniających prawidłowe scharakteryzowanie NPs. Do określania rozmiarów NPs stosowane są również technika dynamicznego rozpraszania światła (DLS) oraz śledzenia ruchu nanocząstek (NTA). W obu podejściach wykorzystywany jest pomiar ruchów Browna nanocząstek, których współczynnik dyfuzji (proporcjonalny do prędkości dyfundujących cząstek) jest powiązany za pomocą równania Stokesa-Einsteina z rozmiarem NPs [51]. Technikę NTA oraz metody mikroskopowe (TEM, SEM, AFM) można wykorzystać do wizualizacji nanocząstek obecnych w danej próbce.

Mikroskopy elektronowe (TEM, SEM) można dodatkowo wyposażyć w przystawkę do mikroanalizy rentgenowskiej EDX, która umożliwia przeprowadzenie analizy jakościowej oraz ilościowej nanocząstek obecnych w badanej próbce. W technice EDX wiązka elektronów wytworzona w mikroskopie padając na badaną próbkę oddziałuje z obecnymi w niej atomami. Dochodzi wówczas do wybicia elektronów z wewnętrznej powłoki atomu (K, L, M) i przejścia w powstałe wolne miejsca elektronów z powłok wyższych (bardziej oddalonych od jądra atomu). Konsekwencją opisanych przejść jest emisja charakterystycznego dla danego pierwiastka promieniowania rentgenowskiego. Analiza jakościowa badanych NPs dokonywana jest na podstawie położenia emitowanych linii promieniowania rentgenowskiego, a ilość analitu skorelowana jest z ich natężeniem (wysokością otrzymanego sygnału). Spektroskopia dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego teoretycznie umożliwia identyfikację

pierwiastków o liczbie atomowej większej od 5 oraz mapowanie składu chemicznego próbki. Wiarygodne wyniki analizy ilościowej można uzyskać dysponując odpowiednio dużą objętością litej próbki o płaskiej powierzchni w przypadku, gdy dostępne są odpowiednie wzorce oraz materiały odniesienia [52,53].

Uzyskanie informacji dotyczących struktury krystalicznej, wielkości kryształitów oraz składu fazowego badanego materiału jest możliwe przy zastosowaniu dyfrakcji promieniowania rentgenowskiego (XRD). Technika XRD wykorzystuje zjawisko uginania fal elektromagnetycznych na krystalicznej strukturze badanego materiału, które opisuje prawo Bragga. Faza krystaliczna określana jest poprzez porównanie położenia oraz intensywności poszczególnych refleksów na uzyskanym dyfraktogramie z obrazami dyfrakcyjnymi dostępnymi w specjalistycznych bazach danych (np. *International Center for Diffraction Data* (ICDD)). Wielkość kryształitów wyznaczana jest w oparciu o równanie Scherrera [54].

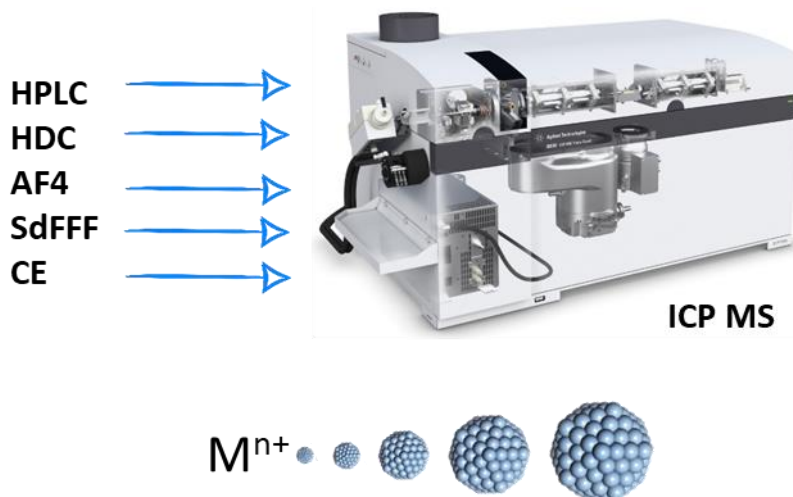
Określenie ładunku powierzchniowego nanocząstek oraz stabilności dyspersji jest możliwe dzięki wyznaczeniu potencjału elektrokinetycznego (Zeta) występującego na powierzchni kontaktu NP z roztworem elektrolitu. Urządzenia stosowane do pomiaru potencjału Zeta wykorzystują elektroforetyczne rozpraszanie światła (ELS) lub połączenie elektroforezy z laserowym pomiarem ruchliwości cząstek w oparciu o efekt Dopplera (LDE). Tlenki metali charakteryzują się strukturą jonową oraz występowaniem nieskompensowanych ładunków elektrycznych na ich powierzchni, która jest konsekwencją częściowej koordynacji anionów tlenu oraz kationów metali. Ładunek powierzchniowy jest wypadkową wielu procesów, które mogą zachodzić w danym środowisku (np. przeniesieniem ładunku przez granicę faz, kompensacji ładunku przez pary jonowe elektrolitu, procesu adsorpcji różnych substancji na powierzchni bądź jej hydroksylacji) i zależy głównie od rodzaju cząstki oraz jej otoczenia (np. obecności stabilizatora - szczególnie w przypadku stabilizacji elektrostatycznej lub elektrosterycznej). Przy odpowiedniej wartości pH, zwanej punktem izoelektrycznym dochodzi do sytuacji, w której ładunki dodatnie i ujemne równoważą się. Wzrasta wówczas tendencja cząstek do tworzenia agregatów oraz aglomeratów, które wykazują minimalną ruchliwość elektroforetyczną. Parametrem definiującym stabilność układów dyspersyjnych jest potencjał Zeta. Dla układów koloidalnych stabilizowanych elektrostatycznie prawdopodobieństwo zachowania stabilności dyspersji jest większe w przypadku wyższych wartości potencjału Zeta. Za wartość graniczną potencjału elektrokinetycznego wyznaczającą stabilność dyspersji w środowisku wodnym przyjęto  $\pm 30$  mV [55]. Istotny wpływ na wartość potencjału Zeta ma pH roztworu oraz stężenie i wartościowość jonów obecnych w próbce, które wpływają na grubość warstwy dyfuzyjnej.

W tabeli 2 krótko przedstawiono metody analityczne służące do charakterystyki nanocząstek tlenków metali na przykładzie  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ .

Tabela 2. Techniki analityczne stosowane do charakterystyki i oznaczania  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  [12,56]

Table 2. Analytical techniques used for characterization and determination of  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  [12,56]

Techniki analityczne	Charakteryzowane właściwości $\text{TiO}_2\text{NPs}$	Lit.	
Mikroskopowe	Mikroskopia sił atomowych (AFM)	Kształt, ładunek powierzchniowy, rozmiar oraz rozkład wielkości cząstek; obrazowanie powierzchni struktur nanometrycznych w 3D	[57]
	Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM)	Kształt, struktura, rozmiar oraz rozkład wielkości cząstek	[58]
	Skaningowa mikroskopia elektronowa (SEM) oraz jej połączenie ze spektroskopią dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDX)	Morfologia powierzchni, kształt, struktura, rozmiar oraz rozkład wielkości cząstek; określenie składu chemicznego nanomateriałów	[59,60]
Rentgenowskie	Dyfrakcja rentgenowska (XRD)	Struktura krystaliczna oraz skład fazowy badanego materiału; skład chemiczny	[61,62]
	Rentgenowska spektrometria fotoelektronów (XPS)	Charakterystyka powierzchni	[63]
	Spektroskopowe	Spektroskopia elektronowego rezonansu spinowego (ESR)	Wykrycie związków posiadających niesparowane elektrony
Spektroskopia UV-Vis		Aktywność fotokatalityczna	[64]
Spektroskopia rozproszonego odbicia w zakresie UV-Vis (DR/UV-Vis)		Charakterystyka struktur	[65]
Spektroskopia Ramana		Identyfikacja poszczególnych struktur krystalicznych (anatazu, rutyłu, brukitu) oraz ich wzajemnego stosunku ilościowego, np. anatazu do rutyłu	[64,66,67]
Powierzchniowo wzmocniona spektroskopia Ramana (SERS)		Charakterystyka modyfikowanych/funkcjonalizowanych $\text{TiO}_2\text{NPs}$ oraz kompleksów $\text{TiO}_2\text{NPs}$ z substancjami organicznymi	[68,69]
Spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT IR)		Skład chemiczny nanomateriału	[62]
Spektrometria mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP MS), optyczna spektrometria emisyjna z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP OES), atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją elektrotermiczną (ETAAS)		Oznaczanie całkowitej zawartości tytanu	[70,71,72]
sp ICP MS; techniki sprzężone: rozdzielania z ICP MS (Rys. 1)		Oznaczanie stężenia liczbowego oraz masowego nanocząstek $\text{TiO}_2$ ; odróżnianie $\text{TiO}_2\text{NPs}$ od rozpuszczalnej frakcji tytanu, określenie rozmiaru NPs, rozkładu wielkości oraz masy NPs	[73,74,75]
Inne	Technika adsorpcji i desorpcji azotu (metoda BET), porozymetria	Pole powierzchni właściwej, objętość porów	[76]
	Dynamiczne rozpraszanie światła (DLS)	Rozmiar oraz rozkład wielkości cząstek	[77]
	Technika śledzenia ruchu nanocząstek (NTA)		
	Elektroforetyczne rozpraszanie światła (ELS), elektroforeza z laserowym pomiarem ruchliwości cząstek w oparciu o efekt Dopplera (LDE)	Wyznaczanie potencjału Zeta, ładunku powierzchniowego, punktu izoelektrycznego oraz stabilności dyspersji	[78]



Rysunek 1. Techniki sprzężone stosowane w analizie specjacyjnej MNPs  
Figure 1. Hyphenated techniques used in speciation analysis of MNPs

Całkowitą zawartość metalu w próbkach po ich rozтворzeniu można oznaczyć technikami spektrometrii atomowej, m.in. techniką atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją elektrotermiczną (ETAAS), optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP OES) lub spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP MS). W takim przypadku utracone zostają jednak informacje dotyczące obecności poszczególnych form specjacyjnych badanego metalu (m.in. udziału formy jonowej, nanometrycznej o różnych rozmiarach cząstek oraz połączeń metalu ze składnikami matrycy).

Oznaczanie różnych form badanego metalu w złożonych próbkach środowiskowych, ze względu na skomplikowaną matrycę próbki (obecność indywiduów, które mogą być potencjalnymi interferentami), ich występowanie na poziomie śladowym oraz polidispersyjność nanocząstek, często wymagają zastosowania etapu wydzielenia, a następnie frakcjonowania poszczególnych form specjacyjnych danego metalu przed oznaczeniem. Do oddzielenia badanego analitu od matrycy próbki w analizie śladowej wykorzystywane są techniki ekstrakcyjne (np. ekstrakcja do fazy stałej (SPE)) lub do punktu zmętnienia (CPE)), chromatograficzne (np. chromatografia cieczerw (LC), wysokosprawna chromatografia cieczerw (HPLC) lub chromatografia wykluczania (SEC)), elektroforetyczne (np. elektroforeza kapilarna (CE)), wykorzystujące frakcjonowanie przepływowe w polu sił przepływu (FFF), ultrawierowanie oraz ultrafiltracja [ 79 ]. Analiza specjacyjna metali w formie nanocząstek oraz rozpuszczalnej/jonowej frakcji jest dużo bardziej skomplikowana niż oznaczenie całkowitej zawartości metalu. Nieodpowiednie przygotowanie próbek, przez

zastosowanie zbyt intensywnej sonikacji czy zakwaszenie roztworu, może prowadzić do zmiany formy badanego analitu (rzeczywistego rozmiaru nanocząstek, przejścia NPs w formę jonową). Skomplikowane, wieloetapowe procedury przygotowania próbek do analizy zwiększają prawdopodobieństwo zanieczyszczenia próbki oraz mogą prowadzić do strat analitu (np. w wyniku adsorpcji na membranach i filtrach). Obecnie jakościowa oraz ilościowa analiza specyjna metali w formie jonowej/rozpuszczalnej oraz nanocząstek prowadzona jest przy użyciu technik sprzężonych (Rys. 1), wykorzystujących najczęściej ICP MS jako technikę detekcji. W tym kontekście na szczególną uwagę zasługują połączenia wysokosprawnej chromatografii cieczonej (HPLC), chromatografii hydrodynamicznej (HDC), przepływowego frakcjonowania w polu sił przepływu (FFF) oraz elektroforezy kapilarnej (CE) z ICP MS [73].

Obecnie często wykorzystywane jest podejście w którym oznaczenie danego metalu/tlenku metalu o różnych rozmiarach cząstek techniką ICP MS poprzedzone jest etapem frakcjonowania przepływowego w polu sił przepływu. W technikach z grupy FFF próbka przepływa przez kanał separacyjny w sposób laminarny tworząc strumień o profilu parabolicznym. Zastosowanie odpowiedniego pola sił działającego na przepływający przez układ analit i zachodząca dyfuzja cząstek prowadzi do dystrybucji frakcji cząstek o tych samych rozmiarach na różnych poziomach kanału separacyjnego. Mniejsze cząstki łatwiej dyfundują, przez co opuszczają kanał separacyjny szybciej niż indywidua o większych rozmiarach. Wśród technik separacyjnych zaliczanych do rodziny FFF można wyróżnić przepływowe frakcjonowanie w polu grawitacyjnym (SdFFF [ 80 , 81 ]), asymetrycznym polu sił przepływu (AF4 [82,83]), gradiencie temperatur oraz pod wpływem działania siły odśrodkowej [84]. Do wyznaczenia rozmiaru nanocząstek wymagane jest wykreślenie krzywej kalibracyjnej sporządzonej dla wzorców posiadających te same właściwości powierzchniowe oraz kształt co badane NPs. Techniki sprzężone z grupy FFF-ICP MS charakteryzują się dużą zdolnością rozdzielczą, zatem teoretycznie możliwa jest separacja i oznaczenie cząstek o rozmiarach w zakresie 1 nm – 1  $\mu$ m [85]. Do wad można natomiast zaliczyć m.in. występowanie strat analitu w wyniku interakcji z membranami i powierzchnią kanału separacyjnego oraz stosunkowo wysokie granice wykrywalności na poziomie  $\mu$ g L<sup>-1</sup> lub nawet mg L<sup>-1</sup> [86].

Ciekawą alternatywę dla wymienionych technik sprzężonych stanowi wykorzystanie spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną pracującą w specjalnym trybie pomiarowym „pojedynczej cząstki”, dedykowanym analizie nanocząstek metalicznych z możliwością jednoczesnego oznaczenia rozpuszczalnej frakcji badanego metalu. Podejście to nie wymaga zakupu dodatkowej aparatury, a jedynie zastosowania specjalnego oprogramowania. Ponadto eliminuje się stosowanie eluentów wymaganych do rozdziału chromatograficznego oraz



potencjalne problemy analizy, takie jak interakcje z membraną, adsorpcję na powierzchni kanału separacyjnego, a także długi czas analizy, które mogą towarzyszyć technikom sprzężonym, np. AF4-ICP MS. Technika sp ICP MS w porównaniu do techniki AF4-ICP MS charakteryzuje się niższymi granicami wykrywalności ( $\text{ng L}^{-1}$  vs  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), ale gorszą zdolnością rozdzielczą oraz wyższymi wartościami  $D_{\min}$ , zwłaszcza w przypadku cząstek tlenków metali, np.  $\text{SiO}_2$ . Istotną różnicę stanowi także rodzaj uzyskanych informacji dotyczący rozmiaru cząstek oraz rozkładu ich wielkości. W technice AF4-ICP MS wyznaczana jest średnica hydrodynamiczna cząstek (masowy rozkład wielkości), natomiast w sp ICP MS średnica geometryczna (liczbowy rozkład wielkości cząstek).

### 3. TECHNIKA ICP MS W TRYBIE POMIAROWYM „POJEDYNCZEJ CZĄSTKI”

Koncepcja wykorzystania spektrometrii mas z plazmą indukcyjnie sprzężoną do analizy pojedynczych cząstek została po raz pierwszy przedstawiona na początku lat 90 ubiegłego wieku przez Claude'a Degueldre'a oraz Johna McCarthy'ego na spotkaniu Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (ang. *International Union of Pure and Applied Chemistry*, IUPAC) w 1991 roku w Davos (Szwajcaria) dotyczącym charakterystyki cząstek w próbkach środowiskowych. Podejście to zostało z powodzeniem zastosowane do oznaczenia zawartości Zn w pojedynczych cząstkach zawieszonych w powietrzu. Układ umożliwiający bezpośrednie wprowadzenie próbki zanieczyszczonego powietrza do strumienia plazmy oraz ulepszony system wykrywania i zliczania jonów pozwoliły na oznaczanie femtogramowych ilości cynku [87,88,89]. Nieoceniony wpływ na rozwój techniki sp ICP MS miały dalsze prace Degueldre'a [90,91,92,93,94], w których zostały przedstawione podstawy teoretyczne oraz zależności matematyczne pozwalające określić rozmiar cząstek oraz ich stężenie liczbowe. Analiza modelowych układów koloidalnych zawierających rutil ( $\text{TiO}_2$ ), getyt ( $\text{FeOOH}$ ) oraz tlenek glinu ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) wskazywała na potencjalną użyteczność techniki sp ICP MS w charakterystyce cząstek pochodzenia naturalnego. Jednak granice wykrywalności rozmiarów cząstek ( $D_{\min}$ ) w przypadku  $\text{TiO}_2$  oraz  $\text{FeOOH}$  wykraczały poza zakres nanometryczny (odpowiednio  $\sim 100$  i  $200$  nm) [90]. Kolejne prace dotyczyły oznaczania układów koloidalnych zawierających  $\text{ZrO}_2$  [91]  $\text{ThO}_2$  [92] oraz Au [94], dla których udało się uzyskać wartości  $D_{\min}$  mieszczące się w przedziale odpowiadającym rozmiarom nanomateriałów (zgodnie z definicją rekomendowaną przez Komisję Europejską [95]), odpowiednio 70, 80 oraz 25 nm.

Od tego czasu prowadzone są badania mające na celu rozwiązanie problemów związanych z małą efektywnością transportu próbki do strumienia plazmy oraz

odróżnieniem sygnału pochodzącego od nanocząstek i rozpuszczalnej frakcji metalu/tła. Udoskonalane są układy wprowadzania próbki oraz systemy zliczania jonów, tworzone są również nowe modele matematyczne i statystyczne stosowane do interpretacji otrzymanych wyników.

Jednoczesna analiza specjacyjna nanocząstek metalicznych oraz rozpuszczalnej frakcji danego metalu techniką sp ICP MS wymaga innego podejścia niż w przypadku oznaczenia całkowitej zawartości analitu. W trybie pomiarowym „pojedynczej cząstki” stosowane są rozcieńczone roztwory zawierające badane indywiduala na poziomie  $\text{ng L}^{-1}$  (stężenie liczbowe nanocząstek wynosi przeważnie  $< 10^9 \text{ L}^{-1}$ ) oraz mała prędkość przepływu roztworu, co umożliwia wprowadzenie do strumienia plazmy pojedynczych cząstek badanego analitu.

Roztwór zawierający analit o stężeniu masowym  $C^M$  wprowadzany jest do strumienia plazmy w sposób ciągły. Otrzymany sygnał  $R$ , wyrażony jako liczba zliczeń jonów o określonym stosunku  $m/z$  przypadająca na sekundę (cps), można przedstawić w postaci równania:

$$R = \eta_{neb} \eta_{ion} \eta_{interf} \eta_{trans} Q_{sam} A \frac{N_{Av}}{M_M} C^M \quad (1)$$

gdzie:

$R$  - sygnał wyrażony jako liczba zliczeń na sekundę [cps],

$\eta_{neb}$  - efektywność transportu nanocząstek do strumienia plazmy,

$\eta_{ion}$  - efektywność jonizacji,

$\eta_{interf}$  - efektywność ekstrakcji i przechodzenia jonów z plazmy do obszaru analizatora mas,

$\eta_{trans}$  - efektywność transmisji jonów przez analizator mas do detektora,

$Q_{sam}$  - szybkość przepływu próbki,

$A$  - rozpowszechnienie mierzonego izotopu pierwiastka,

$N_{Av}$  - liczba Avogadro ( $6,022 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ ),

$M_M$  - masa atomowa metalu  $M$ ,

$C^M$  - stężenie masowe.

Powyższe równanie można podzielić na składowe związane z układem wprowadzania próbek ( $K_{intr} = \eta_{neb} Q_{sam}$ ), charakterystyką spektrometru ( $K_{ICP MS} = \eta_{ion} \eta_{interf} \eta_{trans}$ ) oraz właściwościami oznaczanego pierwiastka ( $K_M = A \frac{N_{Av}}{M_M}$ ). Równanie (1) przyjmuje wówczas postać:

$$R = K_{intr} K_{ICP MS} K_M C^M \quad (2)$$

Dla nanocząstek o geometrii sferycznej, zbudowanych z atomów metalu M, stężenie masowe NPs ( $C_{NP}^M$ ) można wyrazić jako:

$$C_{NP}^M = \frac{4}{3}\pi \left(\frac{d}{2}\right)^3 \rho N_{NP} \quad (3)$$

gdzie:

$d$  - średnica nanocząstki,

$\rho$  - gęstość nanocząstki,

$N_{NP}$  - stężenie liczbowe nanocząstek.

Równanie (2) przyjmuje wówczas postać:

$$R = K_{intr} K_{ICP} K_{MS} K_M K_{NP} N_{NP} \quad (4)$$

gdzie:

$K_{NP} = \frac{4}{3}\pi \left(\frac{d}{2}\right)^3 \rho$  to człon uwzględniający właściwości NP (sferyczny kształt i gęstość metalu/tlenku metalu z którego zbudowana jest nanocząstka).

Zastosowanie odpowiednio dużego rozcieńczenia badanej próbki oraz optymalnych parametrów pomiarowych (m.in. prędkości przepływu roztworu, czasu pomiaru) pozwala na uzyskanie sygnału dla pojedynczej nanocząstki podczas jednego odczytu. W takiej sytuacji strumień wprowadzanych do plazmy nanocząstek ( $Q_{NP}$ ) oraz częstotliwość wykrytych NPs ( $f_{NP}$ ) ściśle zależy od parametrów związanych z układem wprowadzającym próbkę i jest wprost proporcjonalna do stężenia liczbowego nanocząstek.

$$f_{NP} = Q_{NP} = \eta_{neb} Q_{sam} N_{NP} \quad (5)$$

W przypadku gdy każdy rejestrowany sygnał reprezentuje pojedynczą cząstkę prawdziwe staje się równanie (6), a intensywność sygnału nanocząstki ( $r_{NP}$ ) można przedstawić za pomocą równania (7)

$$\eta_{neb} Q_{sam} N_{NP} t_{pom} = 1 \quad (6)$$

$$r_{NP} = K_{ICP} K_{MS} K_M K_{NP} \quad (7)$$

Intensywność sygnału nanocząstki można wyrazić jako funkcję średnicy NP (8) lub masy metalu M z którego zbudowana jest nanocząstka (9).

$$r_{NP} = K_{ICP} K_{MS} K_M \frac{1}{6} \pi \rho d^3 \quad (8)$$

$$r_{NP} = K_{ICP\ MS} K_M m_{NP} \quad (9)$$

Reasumując powyższe rozważania, ilościową analizę NPs można przeprowadzić korzystając z liniowej zależności pomiędzy częstotliwością impulsowych sygnałów a stężeniem liczbowym nanocząstek (równanie (5)). Natomiast na podstawie intensywności sygnału, która jest proporcjonalna do średnicy nanocząstki podniesionej do potęgi trzeciej przy założeniu, że nanocząstka ma geometrię sferyczną, lub masy analitu przypadającej na NP można wyznaczyć odpowiednio rozkład rozmiaru oraz masy NPs obecnych w próbce [96]. Wyznaczenie rozmiaru badanych NPs odbywa się w kilku etapach [97]:

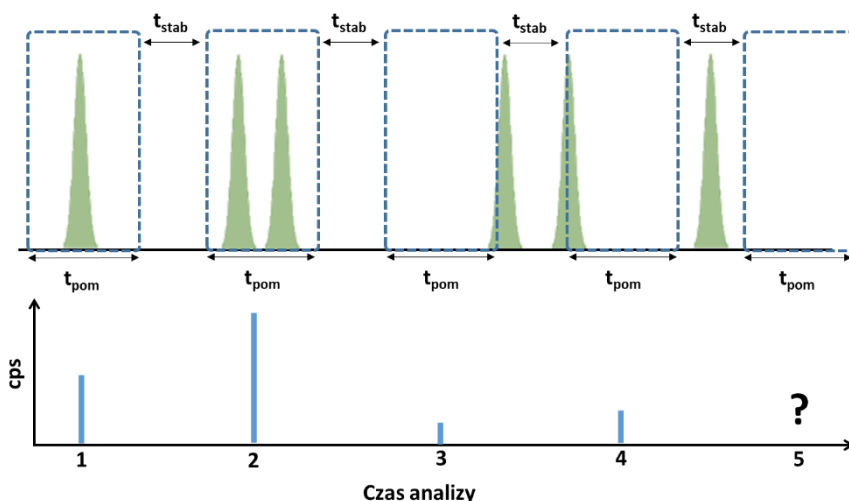
- 1) Rejestrowany jest wykres kalibracyjny dla jonów metalu, czyli zależność intensywności sygnału (cps) od stężenia jonów ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).
- 2) Korzystając z wyznaczonej wartości efektywności transportu próbki ( $\eta_{neb}$ ) wylicza się tzw. strumień masy ( $\mu\text{g s}^{-1}$ ), czyli masę analitu, która jest rzeczywiście transportowana do plazmy w czasie pomiaru ( $t_{pom}$ ), a następnie wykreśla się zależność intensywności sygnału od strumienia masy.
- 3) Zależność ta jest następnie wykorzystywana do wyliczenia masy każdej cząstki trafiającej do plazmy na podstawie intensywności impulsowych sygnałów pochodzących od NPs w badanej próbce.
- 4) Masa nanocząstki jest przeliczana na jej średnicę, przy założeniu sferycznego kształtu cząstek.

Teoretycznie możliwa jest również kalibracja z użyciem dobrze scharakteryzowanych wzorców nanocząstek o różnych rozmiarach, posiadających taką samą budowę jak oznaczane NPs (wygenerowanie bezpośredniej korelacji pomiędzy wielkością cząstek a sygnałem analitycznym). Podejście to, ze względu na słabą dostępność dobrze scharakteryzowanych oraz stabilnych wzorców o jednorodnych rozmiarach NPs jest zdecydowanie rzadziej wykorzystywane niż metody oparte na wyznaczaniu  $\eta_{neb}$  [73]. Zakresy liniowości wykresów kalibracyjnych wykreślonych dla wzorców cząstek metalicznych obejmuje 1-2 rzędy wielkości dla średnicy cząstek oraz  $\sim 3$  rzędy wielkości w przypadku ich masy [98]. Przedział wymienionych zakresów zależy w dużym stopniu od właściwości fizykochemicznych cząstek: gęstości, masy atomowej oraz temperatury wrzenia.

Podczas pomiarów w trybie sp ICP MS stosowany jest tryb zbierania danych oparty na pomiarze sygnału zmiennego w czasie (TRA). W trybie tym wyróżnić można następujące przedziały pracy spektrometru: czas, w którym kwadrupol analizuje określony stosunek masy do ładunku (czas pomiaru,  $t_{pom}$ ) oraz czas przeznaczony na stabilizację detektora, w którym nie odbywa się pomiar jonów o określonym stosunku m/z (czas stabilizacji,  $t_{stab}$ ). Czas analizy [99] jest wielokrotnością czasu pomiaru i stabilizacji, jak to przedstawiono na rysunku 2. W pomiarach całkowitej

zawartości analitu stosowane są czasy integracji od 0,3 do 1s, podczas gdy w przypadku analizy z użyciem trybu *single particle* stosowane są czasy pomiaru wynoszące przeważnie  $\leq 10$  ms, a w spektrometrach wyposażonych w szybsze układy elektroniczne nawet  $\leq 100$   $\mu$ s) [100,101]. Prawidłowo dobrana wartość  $t_{pom}$  jest parametrem krytycznym dla określenia rozmiarów NPs. Zbyt długi  $t_{pom}$  może doprowadzić do sytuacji, w której w jednym oknie pomiarowym zostaną zmierzone  $\geq 2$  nanocząstki, czego konsekwencją będzie przeszacowanie rozmiaru NP. Natomiast w przypadku dobrania zbyt krótkiego czasu może dojść do niedoszacowania rozmiaru NP ( $< 1$  nanocząstka w oknie pomiarowym spektrometru mas) (Rys. 2). Ograniczenie stanowią możliwości dostępnej aparatury, gdyż dla większości kwadropolowych spektrometrów ICP MS minimalny  $t_{pom}$  wynosi kilka milisekund, a przy tym możliwy jest pomiar tylko jednego izotopu w trakcie analizy [102,103].

Istotny wpływ na prawidłowy przebieg analizy nanocząstek ma czas stabilizacji, którego znaczenie jest zdecydowanie mniejsze w tradycyjnych pomiarach całkowitej zawartości metalu, gdzie sygnał ma charakter ciągły.



Rysunek 2. Wpływ czasu pomiaru ( $t_{pom}$ ) oraz stabilizacji ( $t_{stab}$ ) na intensywność sygnału uzyskanego techniką sp ICP MS (na podstawie [99])

Figure 2. Effect of dwell and settling times on signal intensity obtained by sp ICP MS (based on [99])

W technice sp ICP MS nanocząstka trafiająca do strumienia plazmy generuje „chmurę jonów”, która rejestrowana jest jako pik o intensywności proporcjonalnej do rozmiaru NP. Im dłuższy jest czas stabilizacji tym większe prawdopodobieństwo utraty informacji o wygenerowanym „pakiecie jonów”. Całkowity czas zbierania danych powinien być na tyle długi, aby możliwe było zarejestrowanie sygnału dla

odpowiednio dużej liczby NPs (przeważnie wynosi  $\leq 120$  s). Należy przy tym wziąć pod uwagę zwiększone zużycie próbki oraz uzyskanie większej liczby punktów pomiarowych.

Jednym z kluczowych parametrów techniki sp ICP MS jest efektywność transportu próbki do strumienia plazmy ( $\eta_{neb}$ ), którą wyraża się jako stosunek NPs wykrytych do teoretycznie wyliczonych ze stężenia i rozmiaru nanocząstek oraz gęstości metalu/tlenku metalu z którego zbudowane są NPs stosowane do wzorcowania układu [97]. Literaturowe wartości  $\eta_{neb}$  przeważnie wynoszą kilka procent (1-5% [101]) lecz mogą być zdecydowanie wyższe dla systemów wyposażonych w wysokoefektywne rozpylacze (np. *Monodisperse Microdroplet Generator* (MDG),  $\eta_{neb} > 95\%$  [104, 105]), które dodatkowo charakteryzują się mniejszym zużyciem próbki niż konwencjonalne rozpylacze pneumatyczne [106]. Efektywność transportu próbki zależy nie tylko od elementów z których zbudowany jest system wprowadzania próbki (m.in. rozpylacza, komory mgielnej), ale również od parametrów operacyjnych spektrometru (np. prędkości przepływu gazu nośnego) oraz lepkości badanego roztworu. Ze względu na wpływ wymienionych czynników efektywność transportu próbki musi być wyznaczana regularnie, każdorazowo przed prowadzeniem oznaczeń techniką sp ICP MS. Istotny jest również sposób wyznaczenia tego parametru. Pace i wsp. [101] porównali trzy metody wyznaczenia  $\eta_{neb}$ :

- 1) na podstawie różnicy pomiędzy całkowitą objętością próbki wprowadzonej do spektrometru ICP MS a objętością która nie została dostarczona do strumienia plazmy (metoda wagowa; ang. *waste collection method* lub *gravimetric analysis of the aspirated solution*),
- 2) korzystając z materiału odniesienia o zdefiniowanym rozmiarze NPs,
- 3) używając materiału odniesienia o znanej liczbie NPs.

Korzystając z metod opartych na dobrze scharakteryzowanych materiałach odniesienia uzyskano zbliżone rezultaty ( $\eta_{neb} \sim 9\%$ ). Większą efektywność transportu próbki wyznaczono pierwszą metodą  $\sim 14,5\%$ , jednak dalsze badania wykazały, że była to wartość przeszacowana. Dodatkowo była to metoda najbardziej praco- i czasochłonna. W praktyce najczęściej wykorzystywanymi wzorcami NPs w metodach (2) i (3) są materiały odniesienia AuNPs (RM 8012 i RM 8013) wytwarzane przez Narodowy Instytut Standaryzacji i Technologii (ang. *National Institute of Standards and Technology*, NIST) o nominalnych wartościach rozmiaru odpowiednio 30 i 60 nm oraz wartości informacyjnej stężenia NPs. Ze względu na niewielką dostępność materiałów odniesienia NPs, materiały te stosowane są również podczas oznaczania nanocząstek innych pierwiastków, np.  $TiO_2$ NPs (Tabela 3). W takim przypadku rejestrowany jest również wykres kalibracyjny oznaczanego pierwiastka w postaci jonowej, a kalibracja prowadzona jest przy założeniu, że efektywność transportu oznaczanego

pierwiastka do strumienia plazmy jest taka sama jak AuNPs w materiale odniesienia.

Problemy związane z wyznaczeniem efektywności transportu analitu do strumienia plazmy są głównym ograniczeniem metod wykorzystujących sp ICP MS rzutującym na niepewność pomiarów [107].

Kolejny problem w analizie sp ICP MS stanowi odróżnienie sygnału tła oraz rozpuszczalnej frakcji metalu od sygnału generowanego przez małe nanocząstki. Sygnały o wartościach większych niż 3-5 krotna wartość odchylenia standardowego serii pomiarów interpretowane są jako sygnały pochodzące od nanocząstek, natomiast o wartościach poniżej ustalonego progu jak tło, rozpuszczalna frakcja metalu oraz NPs o rozmiarach mniejszych niż  $D_{\min}$ . W technice ICP MS ważnym parametrem wpływającym na wartość granic wykrywalności oraz oznaczalności analitu jest stosunek sygnału do szumu (ang. *signal-to-noise ratio*). Można wyróżnić 2 główne rodzaje zakłóceń: szумы spowodowane przypadkowym zachowaniem jonów w detektorze podczas  $t_{pom}$  (ang. *shot noise*) i zakłócenia wynikające z procesów fizycznych towarzyszących wprowadzeniu próbki do plazmy (np. fluktuacje podczas transportu kropli), dyfuzji jonów w plazmie i spektrometrze mas, fluktuacji podczas procesu jonizacji wynikającej z różnych rozmiarów kropli wprowadzanych do strumienia plazmy (ang. *flicker noise*) [108]. Analizie nanocząstek w próbkach środowiskowych często towarzyszy wysoki poziom zakłóceń związany m.in. z tłem biogeochemicznym, polidispersyjnością NPs, wysokim udziałem rozpuszczalnej frakcji metalu oraz zróżnicowaną lepkością roztworów.

Obecnie podejmowane są próby opracowywania algorytmów umożliwiających dokonanie efektywnej dekonwolucji sygnałów pochodzących od tła, rozpuszczalnej frakcji metalu oraz małych nanocząstek [108]. Narzędzia matematyczne są także wykorzystywane do określenia/wykrywania frakcji nanocząstek, które stanowią zanieczyszczenie jednorodnych mieszanin NPs (ang. *impurity-size nanoparticles*). Niewielki udział nanocząstek o większych rozmiarach może prowadzić do wzrostu stopnia agregacji NPs w zawiesinie. W zespole Westerhoffa [109] opracowano metodę wykorzystującą odpowiedni algorytm grupowania K-średnich (ang. *K-means clustering algorithm*) do ilościowej analizy tego typu zanieczyszczeń występujących w ilościach poniżej 2% masy nanocząstek o rozmiarze dominującym w badanej zawiesinie. Minimalna różnica rozmiarów nanocząstek możliwa do rozróżnienia wyniosła ~20 nm, dla porównania technika DLS umożliwia określenie rozmiaru NPs w mieszaninie, gdy różnice są większe niż 30 nm [110]. Autorzy podkreślili również, że użycie algorytmu grupowania pozwoliło na lepsze rozróżnienie sygnału NPs od tła niż w przypadku tradycyjnego podejścia bazującego na odchyleniach standardowych całego zestawu danych.

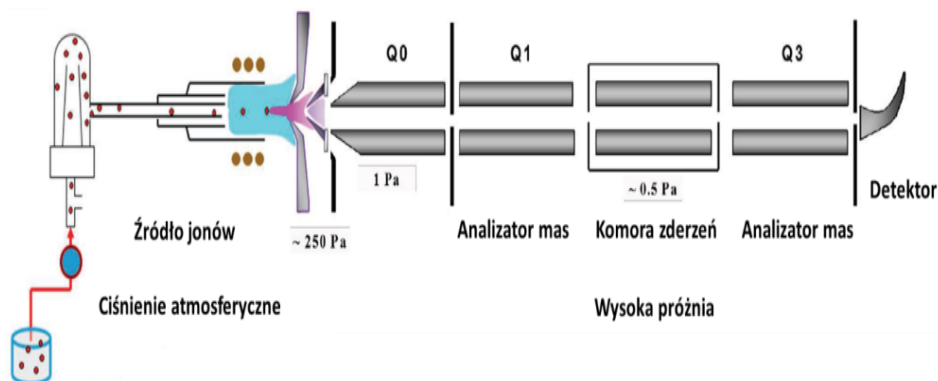
Mimo przedstawionych ograniczeń sp ICP MS jest techniką umożliwiającą proste i szybkie oznaczenie stężenia masowego (na poziomie  $\leq \text{ng L}^{-1}$ ) i liczbowego oraz rozkładu wielkości NPs obecnych w badanej próbce. Możliwe jest również jednoczesne oznaczenie nanocząstek i rozpuszczalnej frakcji danego metalu, co pozwala sądzić, że znajdzie szersze zastosowanie w analizie specyacyjnej metali.

#### 4. PROBLEMY PRZY OZNACZANIU $\text{TiO}_2$ NPs TECHNIKĄ SP ICP MS W PRÓBKACH BIOLOGICZNYCH I ŚRODOWISKOWYCH

Tytan jest dziewiątym pierwiastkiem pod względem rozpowszechnienia w skorupie ziemskiej [111]. W związkach chemicznych występuje przeważnie na IV stopniu utlenienia, rzadziej na II lub III. Występuje w przyrodzie w postaci pięciu stabilnych izotopów  $^{46}\text{Ti}$ ,  $^{47}\text{Ti}$ ,  $^{48}\text{Ti}$ ,  $^{49}\text{Ti}$  oraz  $^{50}\text{Ti}$ , przy czym  $^{48}\text{Ti}$  stanowi 73,7% składu izotopowego tego metalu. Podczas oznaczania tytanu techniką sp ICP MS ważny jest wybór stosowanego do pomiaru izotopu. Naturalna zawartość w przyrodzie wybranego izotopu pierwiastka przekłada się na czułość oznaczenia, ale przy jego wyborze należy również wziąć pod uwagę potencjalne interferencje związane z matrycą badanej próbki oraz gazem nośnym i gazami reakcyjnymi użytymi podczas analizy. Najbardziej rozpowszechniony izotop tytanu ( $^{48}\text{Ti}$ ) obciążony jest licznymi interferencjami wieloatomowymi (np.  $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{14}\text{N}^{16}\text{O}^{18}\text{O}^+$  [112]) oraz izobarycznymi (np.  $^{48}\text{Ca}$ ), które ograniczają jego wykorzystanie w analizie próbek środowiskowych przy użyciu spektrometrów wyposażonych w pojedynczy kwadrupol. Wymusza to konieczność wyizolowania analitu lub pomiaru innego izotopu, np.  $^{47}\text{Ti}$  ( $A = 7,3\%$ ) [75] lub  $^{49}\text{Ti}$  ( $A = 5,42\%$ ) [113]. Zdolność rozdzielcza (R) jest jednym z najważniejszych parametrów opisujących spektrometr ICP MS. Wysokorozdzielcze spektrometry mogą pracować w trzech trybach rozdzielczości: niskiej ( $\leq 400$ ), średniej ( $\sim 4000$ ) oraz wysokiej ( $\sim 10000$ ). Pomiar w trybie średniej rozdzielczości zapewnia eliminację licznych interferencji wieloatomowych, nie rozwiązuje natomiast problemu interferencji izobarycznych związanych z obecnością  $^{48}\text{Ca}$ . Oddzielenie izotopu  $^{48}\text{Ti}$  ( $m/z = 47,948$ ) od  $^{48}\text{Ca}$  ( $m/z = 47,953$ ) wymaga rozdzielczości na poziomie ok. 9590 [114], której nie zapewnia stosowanie spektrometrów ICP MS wyposażonych w pojedynczy kwadrupol ( $R < 400$ ). Efektywną eliminację wpływu matrycy można uzyskać stosując spektrometry o wyższej zdolności rozdzielczej, np. wielodetektorowy ICP MS (MC ICP MS) [115], sektorowy z podwójnym ogniskowaniem (DF SF ICP MS) lub wyposażony w analizator czasu przelotu (ICP-TOF MS). Na szczególną uwagę w kontekście eliminacji interferencji wieloatomowych oraz izobarycznych zasługuje tandemowy spektrometr mas typu potrójnego kwadrupola z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP QQQ). Zastosowanie potrójnego kwadrupola składającego się z dwóch analizatorów mas rozdzielonych komorą



zderzeniową/reakcyjną (Rys. 3) umożliwia efektywne usunięcie interferujących jonów wieloatomowych oraz podwójnie naładowanych posiadających tę samą wartość stosunku  $m/z$  co oznaczany jon, co umożliwia prowadzenie oznaczeń najbardziej rozpowszechnionego izotopu tytanu ( $^{48}\text{Ti}$ ).



Rysunek 3. Budowa spektrometru mas - potrójny kwadrupol (QQQ) (na podstawie [116,117])

Figure 3. Scheme of a mass spectrometer - triple quadrupole (QQQ) (based on [116,117])

Podczas analizy z użyciem ICP QQQ przez pierwszy analizator mas (Q1) przepuszczane są jony o określonym stosunku  $m/z$  (badany analit oraz interferenty). Następnie w komorze zderzeniowej dochodzi do interakcji gazu reakcyjnego (np.  $\text{O}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_3/\text{H}_2$ ) z interferującymi jonami, a ich produkty nie przechodzą przez drugi kwadrupol (Q2) filtrujący jony o tym samym stosunku  $m/z$  co Q1. Możliwe jest również przeprowadzenie w komorze zderzeniowej selektywnej reakcji wybranego gazu z badanym analitem i ustawienie dla Q2 wartości  $m/z$  odpowiadającej produktowi tej reakcji, np. jonowi  $[\text{}^{48}\text{Ti}(\text{}^{14}\text{N}^1\text{H})]^+$  w przypadku zastosowania  $\text{NH}_3$  [114]. Amoniak jest gazem o właściwościach korozyjnych, dlatego w celu zminimalizowania ryzyka uszkodzenia aparatury zalecane jest stosowanie dodatku gazu ochronnego (np.  $\text{H}_2$ ,  $\text{He}$ ), którego obecność może z kolei negatywnie wpływać na czułość oznaczenia.

Trzeba również wspomnieć o innych trudnościach występujących podczas oznaczania  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  techniką sp ICP MS. Nanocząstki tlenku tytanu(IV) charakteryzują się niesferyczną geometrią, co wprowadza błąd podczas wyznaczania ich rzeczywistego rozmiaru na podstawie równań (3) i (4), gdzie rozmiar cząstki wyrażony jest jako ekwiwalent średnicy sferycznej. Dodatkowo  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  trudno ulegają jonizacji [108], a udział masy Ti w cząstce  $\text{TiO}_2$  wynosi jedynie 59,93%, co łącznie wpływa na niską czułość ich oznaczania techniką ICP MS. Wykazują również silną tendencję do agregacji. Dodatkową trudność stanowi brak materiałów odniesienia o dobrze zdefiniowanych rozmiarach NPs,

gdyż dostępne materiały zwykle charakteryzują się dużą polidispersyjnością oraz porowatą strukturą.

Z tego względu w literaturze znajduje się jedynie kilkanaście prac poświęconych tego typu analizie. W tabeli 3 podano warunki aparaturowe i pomiarowe stosowane podczas oznaczania  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  w różnego typu matrycach. Analizując zestawione dane można zauważyć, że w przypadku spektrometrów wyposażonych w pojedynczy kwadrupol (ICP QMS) do oznaczenia  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  częściej wybierane są mniej rozpowszechnione izotopy tytanu ( $^{47}\text{Ti}$  oraz  $^{49}\text{Ti}$ ). Zastosowanie wysokorozdzielczych spektrometrów typu DF SF ICP MS oraz układów wyposażonych w potrójny kwadrupol, ze względu na eliminację wpływu interferentów obecnych w próbkach rzeczywistych, umożliwiło przeprowadzenie oznaczeń dla najbardziej rozpowszechnionego izotopu  $^{48}\text{Ti}$ . W przypadku próbek wzbogaconych w wapń ( $\leq 100 \text{ mg L}^{-1}$ ) najniższe granice wykrywalności rozmiarów cząstek uzyskano stosując wysokorozdzielczy spektrometr DF SF ICP MS ( $D_{\min} = 10\text{-}42 \text{ nm}$ ). Zastosowanie do oznaczenia  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  układu ICP QQQ wykorzystującego komorę reakcyjną ( $\text{NH}_3$ ) w tych samych układach modelowych charakteryzowało się mniejszą efektywnością usuwania interferencji izobarycznych pochodzących od wapnia, czego konsekwencją były kilkukrotnie wyższe wartości  $D_{\min}$  (64-101 nm [114]).

Do tej pory technikę sp ICP MS stosowano najczęściej do oznaczania  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  w wodach (wody powierzchniowe, rekreacyjne, wodociągowe) oraz w ściekach, w których przewidywany poziom stężenia  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  może wynosić od kilku  $\text{ng L}^{-1}$  do kilkudziesięciu  $\mu\text{g L}^{-1}$  [118,119]. Granice wykrywalności Ti wyznaczone dla wody rzecznej wzbogaconej w  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  w formie rutylu i anatazu wyniosły odpowiednio 3,69 oraz 0,058  $\text{ng L}^{-1}$  [75]. Jednak w przypadku analizy próbek wód i ścieków przygotowanie próbek ogranicza się najczęściej do ich przefiltrowania. Do obiektów badań wymagających bardziej skomplikowanej procedury przygotowania (np. ekstrakcji) można zaliczyć produkty spożywcze oraz preparaty do pielęgnacji ciała, np. kremy przeciwsłoneczne, charakteryzujące się dużą zawartością tłuszczu. Ważny jest zatem wybór metody przygotowania odpowiedniej do rodzaju informacji jakie chcemy uzyskać [120]. Należy również pamiętać, że każda procedura przygotowania próbek, np. ich homogenizacja lub ekstrakcja analitu, może spowodować zmianę rozmiaru cząstek obecnych w oryginalnej próbce. W żywności i produktach kosmetycznych rozkład wielkości cząstek  $\text{TiO}_2$  określony techniką sp ICP MS mieścił się w przedziale od 30 do 300 nm, z czego 10-40% całkowitej liczby badanych cząstek miała rozmiary poniżej 100 nm [17,11].

W badaniach środowiskowych istotny problem stanowi odróżnienie  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  pochodzenia antropogenicznego od naturalnego tła biogeochemicznego. Informacje te są istotne w kontekście monitoringu środowiskowego. Badania dotyczące określenia udziału  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  pochodzących z kosmetyków przeciwsłonecznych były

prowadzone w obrębie rekreacyjnych zbiorników wodnych (rzek Clear Creek [113] i Salt River oraz basenów na terenie USA [3]) w sezonie letnim. Stężenia liczbowe nanocząstek  $\text{TiO}_2$  oznaczone w wodach rekreacyjnych z 5 basenów mieściły się w przedziale  $2,8 \cdot 10^6 - 4,4 \cdot 10^6 \text{ L}^{-1}$  i były o rząd wielkości niższe niż zawartość oznaczona w rzece Salt River. Zaobserwowano również 80% wzrost zawartości cząstek zawierających Ti w porównaniu do tła biogeochemicznego występujący w okresie szczytowej aktywności rekreacyjnej. Maksymalne wykryte stężenie masowe cząstek  $\text{TiO}_2$  wyniosło  $659 \text{ ng L}^{-1}$ . Antropogeniczny udział  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  w wodach próbowano również oszacować na podstawie ilości oksobenzonu, występującego w kremach przeciwsłonecznych w ilościach dochodzących do 10% masy, oraz stosunku Zn/Fe (ze względu na częste stosowanie ZnO w tego typu produktach).

Innym zaproponowanym podejściem może być wykorzystanie faktu, że nanocząstki  $\text{TiO}_2$  w celu zwiększenia ich stabilności często pokrywane są warstwą tlenku innego metalu, np.  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Do odróżnienia stabilizowanych w ten sposób NPs od ich naturalnych niemodyfikowanych odpowiedników można zastosować jednoczesny pomiar Al oraz Ti techniką ICP-TOF MS [121] lub wykorzystując spektrometr ICP MS o geometrii Mattaucha-Herzoga [122].

Ciekawym podejściem prowadzącym do zwiększenia wiarygodności wyznaczania stężenia liczbowego nanocząstek jest zastosowanie  $\text{CeO}_2\text{NPs}$  jako wzorca wewnętrznego. Nanocząstki tlenku ceru(IV) posiadają podobną budowę oraz potencjał Zeta do  $\text{TiO}_2\text{NPs}$ , co sprawia, że ich oddziaływania w spektrometrze ICP MS podczas wprowadzenia próbki do strumienia plazmy są bardzo zbliżone [11]. Innym testowanym podejściem było wykorzystanie metody dodatku wzorca nanocząstek tlenku tytanu(IV) o rozmiarze 40 nm do kremów przeciwsłonecznych, w których wykryto  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  o rozmiarach w przedziale 32-40 nm [123]. Uzyskane zaproponowaną metodą wartości w połowie przypadków były niższe niż zawartości podane przez producenta oraz oznaczone w zmineralizowanych próbkach. Związane było to prawdopodobnie z różnicami w budowie krystalicznej i geometrii pomiędzy nanocząstkami dodanymi a obecnymi w próbce.

## UWAGI KOŃCOWE

Szerokie zastosowanie oraz wzrost produkcji nanocząstek tlenku tytanu(IV) przyczyniają się do zwiększenia niekontrolowanej emisji antropogenicznej tych indywidualów do środowiska przyrodniczego. Liczne badania toksykologiczne dowodzą, że  $\text{TiO}_2\text{NPs}$  mogą mieć negatywny wpływ na organizmy żywe, dlatego ważnym zadaniem jest opracowanie metod umożliwiających ich szybkie jakościowe oraz ilościowe oznaczenie w próbkach o zróżnicowanych matrycach. Technika sp ICP MS umożliwia dokonanie oznaczenia stężenia masowego (na poziomie  $\leq \text{ng L}^{-1}$ ) i liczbowego oraz rozkładu wielkości NPs obecnych w badanej

próbce. Możliwe jest również jednoczesne oznaczenie nanocząstek i rozpuszczalnej frakcji danego metalu, co sprawia, że podejście to jest coraz częściej wykorzystywane w badaniach środowiskowych. Główne problemy wpływające na jakość wyników sp ICP MS dotyczą wyznaczenia  $\eta_{neb}$  oraz odróżniania sygnału generowanego przez małe nanocząstki od sygnału tła i rozpuszczalnej frakcji metalu, które mają znaczący udział w budżecie niepewności wyników oraz przekładają się na ograniczenie wykrywalności małych NPs. Dużym problemem w przypadku oznaczania  $TiO_2$ NPs jest brak materiałów odniesienia o zdefiniowanym rozmiarze NPs, oraz polidispersyjność, niesferyczna geometria i porowatość nanocząstek występujących w naturalnych próbkach. Powyższe problemy mogą być rozwiązane w przyszłości poprzez udoskonalenie aparatury pomiarowej, opracowanie nowych modeli matematycznych i statystycznych umożliwiających przeprowadzenie poprawnej dekonwolucji sygnałów oraz otrzymanie dobrze scharakteryzowanych materiałów odniesienia o jednorodnym rozkładzie wielkości NPs. Do pełnej charakterystyki nanocząstek konieczne jest zastosowanie kilku komplementarnych technik analitycznych.

Tabela 3. Analiza TiO<sub>2</sub>NPs za pomocą techniki sp ICP MSTable 3. Analysis of TiO<sub>2</sub>NPs by sp ICP MS technique

Wybrany izotop	Rodzaj spektrometru; tryb pomiarowy; układ wprowadzania próbki	*Sposób wyznaczenia $\eta_{neb}$ ; zastosowane wzorce	$t_{pom}$ [ms]	$\eta_{neb}$ [%]	D <sub>min</sub> [nm]	Rodzaj próbki; dodatkowe uwagi	Lit.	
<sup>48</sup> Ti	ICP QMS (PerkinElmer NexION 300/350D); cyklonowa komora mgielna, rozpylacz Meinharda.	(2); wzorce 50, 80 oraz 100 nm AuNPs (NanoComposix)	0,1	6,87	27-29	Kremy przeciwsloneczne; Przy wyznaczaniu $\eta_{neb}$ wzorce AuNPs rozcieńczono dodając rozcieńczoną próbkę kremu przeciwslonecznego (uwzględnienie matrycy próbki); zastosowano dodatek 40 nm TiO <sub>2</sub> NPs.	[123]	
<sup>48</sup> Ti	ICP QMS (Thermo Fisher Scientific X-Series II); stożkowa komora mgielna, rozpylacz koncentryczny szklany.	(2); NIST SRM 8013 (60 nm AuNPs)	3,0	-	20-50	E171, żywność (ciastka, cukierki, gumy do żucia) oraz produkty do pielęgnacji ciała (pasty do zębów); Scharakteryzowano TiO <sub>2</sub> NPs w szerokiej gamie produktów (7 barwników E171, 24 produkty spożywcze oraz 3 środki do pielęgnacji ciała) za pomocą SEM, AF4-ICP MS oraz sp ICP MS.	[17]	
<sup>48</sup> Ti	ICP QQQ (ThermoScientific iCAP); zastosowanie potrójnego kwadrupola - gaz reakcyjny O <sub>2</sub> ; cyklonowa komora mgielna, rozpylacz MicroMist.	(2); NIST SRM 8012 (30 nm AuNPs)	10,0	5,8	26	Produkty cukiernicze (guma do żucia); Zbadano wpływ różnych gazów kolizyjnych/reakcyjnych (He, O <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub> ) na przebieg oznaczenia TiO <sub>2</sub> NPs; zastosowano pojedynczy oraz potrójny kwadrupol i pojedynczy kwadrupol z KED (gaz kolizyjny He); jako wzorzec wewnętrzny zastosowano CeO <sub>2</sub> NPs (pomiar sekwencyjny).	[11]	
<sup>47</sup> Ti, <sup>49</sup> Ti	ICP QMS (Thermo Fisher Scientific X-Series II); stożkowa komora mgielna, rozpylacz koncentryczny szklany.	(1); 100 nm AuNPs (British Biocell International)	10,0	1,5-2,1	130 ± 28	Woda rzeczna (Verde River, Salt River) i wodociągowa, ścieki komunalne; Określono D <sub>min</sub> dla 40 pierwiastków. Porównano wartości D <sub>min</sub> dla TiO <sub>2</sub> NPs w wodzie dejonizowanej z granicami uzyskanymi w wodach naturalnych oraz wodociągowych (91 vs. 130 ± 28 nm).	[124]	
<sup>47</sup> Ti	ICP QMS (PerkinElmer NexION 300/350D); cyklonowa komora mgielna, rozpylacz Meinharda.	(1) lub (2); wzorce AgNPs, AuNPs (NanoComposix)	0,1	7,5-8,5	65-70	Woda rzeczna (Missouri), woda na różnych etapach procesu uzdatniania; Modelowy system uzdatniania wody – oceniono stopień eliminacji TiO <sub>2</sub> NPs/Ti na różnych etapach uzdatniania.	[125]	
<sup>49</sup> Ti	ICP QMS (Thermo Fisher Scientific X-Series II).	(2); NIST SRM 8013 (60 nm AuNPs)	10,0	-	148 ± 3	Woda rzeczna (Salt River)	Zawartość TiO <sub>2</sub> w wodach rekreacyjnych związaną z emisją antropogeniczną monitorowano równocześnie z poziomem oksobenzenu.	[10]
					173 ± 15	Baseny rekreacyjne		[113]
<sup>49</sup> Ti	ICP QMS (PerkinElmer NexION 300D).	(1) lub (2); wzorzec 60 nm AuNPs (British Biocell International)	3,0	~5	79	Woda rzeczna (Clear Creek)		[113]
<sup>48</sup> Ti	DF SF ICP MS (ThermoScientific Element II); tryb wysokiej rozdzielczości.			-	42			
<sup>48</sup> Ti	ICP QQQ (Agilent 8800), zastosowanie potrójnego kwadrupola - gaz reakcyjny NH <sub>3</sub> . DF SF ICP MS (ThermoScientific Element II); tryb wysokiej rozdzielczości.	Kwarcowa cyklonowa komora mgielna, rozpylacz PFA MicroFlow	(1); wzorzec 60 nm AuNPs (British Biocell International)	3,0	7	64-101	Woda o dużej zawartości Ca (do 100 mg L <sup>-1</sup> ); Zbadano wpływ wapnia na oznaczanie TiO <sub>2</sub> NPs, zastosowano dekonwolucję matematyczną [108]; w rozważaniach matematycznych uwzględniono elipsoidalny kształt TiO <sub>2</sub> NPs.	[114]
<sup>47</sup> Ti	ICP QMS z komorą kolizyjną (Agilent 7900); gaz kolizyjny -4,3 mL min <sup>-1</sup> He; komora mgielna typu Scott, rozpylacz MicroMist.	(2); Wzorce 20 oraz 40 nm AgNPs (Sigma-Aldrich), NIST SRM 8012 (30 nm AuNPs)	10,0	4,7-5,5	55	Woda rzeczna (Sawa) wzbogacona w TiO <sub>2</sub> NPs/Ti(IV); Woda wzbogacona w: Anataz (<25 nm, geometria sferyczna); Rutyl (< 100 nm, nanopreły 10 x 40 nm, 5 wt% SiO <sub>2</sub> ), wzorzec Ti(IV).	[75]	
<sup>48</sup> Ti					37			
<sup>47</sup> Ti	ICP QMS z komorą kolizyjną (Agilent 7700); rozpylacz PEEK Mira Mist	(1) lub (2); Rutyl (<100 nm TiO <sub>2</sub> NPs)	3,0	-	-	Ścieki komunalne	Do obliczeń zastosowano arkusz kalkulacyjny opracowany przez Holenderski Państwowy Instytut Kontroli Jakości Produktów Rolnych (ang. <i>Netherlands State Institute for Quality Control of Agricultural Products</i> , RIKILT).	[126]
			10,0			Osady ściekowe		

\*Wyznaczenie  $\eta_{neb}$ :

(1) korzystając z materiału odniesienia o zdefiniowanym rozmiarze NPs,

(2) używając materiału odniesienia o znanej liczbie NPs.

## PODZIĘKOWANIA

Praca naukowa finansowana ze środków Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach dotacji na badania naukowe lub prace rozwojowe oraz zadania z nimi związane, służące rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich przyznanej Wydziałowi Biologiczno-Chemicznemu Uniwersytetu w Białymstoku (BMN 174).

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] The Nanodatebase, <http://nanodb.dk/en/> [dostęp: 2018-11-30].
- [2] O. Bondarenko, K. Juganson, A. Ivask, K. Kasements, M. Mortimer, A. Kahru, Arch. Toxicol., 2013, **87**, 1181.
- [3] S.N.A. Shah, Z. Shah, M. Hussain, M. Khan, Bioinorg. Chem. Appl., 2017, **2017**, 1.
- [4] L. Ma, J. Liu, N. Li, J. Wang, Y. Duan, J. Yan, H. Liu, H. Wang, F. Hong, Biomaterials, 2010, **31**, 99.
- [5] A.E.W.E. Ghareeb, H. Hamdi, A.E. Bakry, H.A. Hmela, Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci., 2015, **6**, 510.
- [6] J. Sun, Q. Zhang, Z. Wang, B. Yan, Int. J. Mol. Sci., 2013, **14**, 9319.
- [7] E. Rollerova, J. Tulinska, A. Liskova, M. Kuricova, J. Kovriznych, A. Mlynarcikova, A. Kiss, S. Scsukova, Endocr. Regul., 2015, **49**, 97.
- [8] G.M. Bedinger, *Titanium mineral concentrates*, U.S. Geological Survey, Mineral Commodity Summaries, 2018, str. 177.
- [9] A. Weir, P. Westerhoff, L. Fabricius, K. Hristovski, N. von Goetz, Environ. Sci. Technol., 2012, **46**, 2242.
- [10] A.K. Venkatesan, R.B. Reed, S. Lee, X. Bi, D. Hanigan, Y. Yang, J.F. Ranville, P. Herckes, P. Westerhoff, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 2018, **100**, 120.
- [11] S. Candás-Zapico, D.J. Kutscher, M. Montes-Bayón, J. Bettmer, Talanta, 2018, **180**, 309.
- [12] F. Xu, Chemosphere, 2018, **212**, 662.
- [13] K. Kosmala, R. Szymańska, Kosmos, 2016, **65**, 235.
- [14] M. Janus, *Application of titanium dioxide*, IntechOpen, Londyn 2017.
- [15] M.J. Gázquez, J.P. Bolívar, R. Garcia-Tenorio, F. Vaca, Mater. Sci. Appl., 2014, **5**, 441.
- [16] C. Contado, Front. Chem., 2015, **3**, 1.
- [17] R.J.B. Peters, G. van Bommel, Z. Herrera-Rivera, H.P.F.G. Helsper, H.J.P. Marvin, S. Weigel, P.C. Tromp, A.G. Oomen, A.G. Rietveld, H. Bouwmeester, J. Agric. Food Chem., 2014, **62**, 6285.
- [18] H. Bodaghi, Y. Mostofi, A. Oromiehie, Z. Zamani, B. Ghanbarzadeh, C. Costa, A. Conte, M.A. Del Nobile, LWT-Food Sci. Technol., 2013, **50**, 702.
- [19] Z.F. Yin, L. Wu, H.G. Yang, Y.H. Su, Phys. Chem. Chem. Phys., 2013, **15**, 4844.
- [20] T.A. Egerton, I.R. Tooley, Int. J. Cosmet. Sci., 2012, **34**, 117.
- [21] B. Faure, G. Salazar-Alvarez, A. Ahniyaz, I. Villaluenga, G. Berriozabal, Y.R. de Miguel, L. Bergström, Sci. Technol. Adv. Matter, 2013, **14**, 1.
- [22] T.G. Smijs, S. Pavel, Nanotechnol. Sci. Appl., 2011, **4**, 95.
- [23] C. Rompelberg, M.B. Heringa, G. van Donkersgoed, J. Drijvers, A. Roos, S. Westenbrink, R. Peters, G. van Bommel, W. Brand, A.G. Oomen, Nanotoxicology, 2016, **10**, 1404.
- [24] F. Li, Q. Li, H. Kim, Appl. Surf. Sci., 2013, **276**, 390.
- [25] Ch. Kapridaki, P. Maravelaki-Kalaitzaki, Prog. Org. Coat., 2013, **76**, 400.

- [26] G. Rassam, Y. Abdi, A. Abdi, J. Exp. Nanosci., 2012, **7**, 468.
- [27] N. Shandilya, O. Le Bihan, Ch. Bressot, M. Morgeneyer, Environ. Sci. Technol., 2015, **49**, 2163.
- [28] A. Al-Kattan, A. Wischser, R. Vonbank, S. Brunner, A. Ulrich, S. Zuin, B. Nowack, Environ. Sci.: Processes Impacts, 2013, **15**, 2186.
- [29] V. Binas, D. Venieri, D. Kotzias, G. Kiriakidis, J. Materiomics, 2017, **3**, 3.
- [30] M.M. Mahlambi, C.J. Ngila, B.B. Mamba, J. Nanomater, 2015, **2015**, 1.
- [31] A. Kaleta, A. Kołodziej, Roczn. Inż. Bud., 2012, **12**, 25.
- [32] S. El-Sherbiny, F. Morsy, M. Samir, O.A. Fouad, Appl. Nanosci., 2014, **4**, 305.
- [33] I. Chauhan, P. Mohanty, Cellulose, 2015, **22**, 507.
- [34] A.K. Yetisen, H. Qu, A. Manbachi, H. Butt, M.R. Dokmeci, J.P. Hinestroza, M. Skorobogatiy, A. Khademhosseini, S.H. Yun, ACS Nano, 2016, **10**, 3042.
- [35] International Agency for Research on Cancer, *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Carbon Black, Titanium dioxide and Talc.*, 2010, **93**, 1.
- [36] DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health, *Occupational Exposure to Titanium Dioxide*, Cincinnati, 2011.
- [37] M. Shakeel, F. Jabeen, S. Shabbir, M.S. Asghar, M.S. Khan, A.S. Chaudhry, Biol. Trace Elem. Res., 2016, **172**, 1.
- [38] J. Wang, Y. Liu, F. Jiao, F. Lao, W. Li, Y. Gu, Y. Li, C. Ge, G. Zhou, B. Li, Y. Zhao, Z. Chai, Ch. Chen, Toxicology, 2008, **254**, 82.
- [39] D.B. Warheit, T.R. Webb, Ch.M. Sayes, V.L. Colvin, K.L. Reed, Toxicol. Sci., 2006, **91**, 227.
- [40] H. Shi, R. Megaye, V. Castranova, J. Zhao, Part. Fibre Toxicol., 2013, **10**, 1.
- [41] P.M. Hext, J.A. Tomenson, P. Thompson, Ann. Occup. Hyg., 2005, **49**, 461.
- [42] P.A. Schulte, C.L. Geraci, V. Murashov, E.D. Kuempel, R.D. Zumwalde, V. Castranova, M.D. Hoover, L. Hodson, K.F. Martinez, J. Nanopart. Res., 2014, **16**, 1.
- [43] A.R. Ribeiro, P.E. Leite, P. Falagan-Lotsch, F. Benetti, C. Micheletti, H.C. Budtz, N.R. Jacobsen, P.N. Lisboa-Filho, L.A. Rocha, D. Kühnel, D. Hristozov, J.M. Granjeiro, NanoImpact, 2017, **8**, 59.
- [44] Y. Morimoto, N. Kobayashi, N. Shinohara, T. Myojo, I. Tanaka, J. Nakanishi, J. Occup. Health, 2010, **52**, 325.
- [45] A.M. Świdwińska-Gajewska, S. Czerczak, Med. Pr., 2014, **65**, 407.
- [46] Scientific Committee on Consumer Safety, *OPINION ON Titanium Dioxide (nano form) as UV-Filter in sprays (SCCS/1583/17)*.
- [47] B. Pelaz, G. Charron, Ch. Pfeiffer, Y. Zhao, J.M. de la Fuente, X.-J. Liang, W.J. Parak, P. del Pino, Small, 2013, **9**, 1573.
- [48] X. He, W.G. Aker, P.P. Fu, H.-M. Hwang, Environ. Sci.: Nano, 2015, **2**, 564.
- [49] D. Yang, *Titanium Dioxide: Material for a Sustainable Environment*, IntechOpen, Londyn 2018.
- [50] B. Wang, W. Feng, Y. Zhao, Z. Chai, Metallomics, 2013, **5**, 793.
- [51] V. Filipe, A. Hawe, W. Jiskoot, Pharm. Res., 2010, **27**, 796.
- [52] J. Ryczkowski, *Adsorbenty i katalizatory: wybrane technologie a środowisko*, Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów 2012.
- [53] A. Barbacki, *Mikroskopia elektronowa*, Wydawnictwo Politechniki Poznańskiej, Poznań 2003.
- [54] P. de Almeida, J. van Deelen, C. Catry, H. Sneyers, T. Pataki, R. Andriessen, C. van Roost, J.M. Kroon, Appl. Phys. A, 2004, **79**, 1819.
- [55] E. Bęłtowska-Lehman, *Indukowane elektroosadzanie nanokrystalicznych powłok metalicznych i kompozytowych typu Ni-W(Mo)/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*, Polska Akademia Nauk Instytut Metalurgii i Inżynierii Materiałowej, Kraków 2013.
- [56] K. Leopold, A. Philippe, K. Wörle, G.E. Schaumann, Trend. Anal. Chem., 2016, **84**, 107.

- [57] A. Rao, M. Schoenenberger, E. Gnecco, Th. Glatzel, E. Meyer, D. Brändlin, L. Scandella, J. Phys.: Conf. Ser., 2007, **61**, 971.
- [58] T.A. Egerton, I.R. Tooley, Int. J. Cosmet. Sci., 2014, **36**, 195.
- [59] A. Patri, T. Umbreit, J. Zheng, K. Nagashima, P. Goering, S. Francke-Carroll, E. Gordon, J. Weaver, T. Miller, N. Sadrieh, S. McNeil, M. Stratmeyer, J. Appl. Toxicol., 2009, **29**, 662.
- [60] M. Cieślak, D. Puchowicz, I. Kamińska, Fibres Text. East. Eur., 2014, **22**, 47.
- [61] H. Zhang, J.F. Banfield, Chem. Rev., 2014, **114**, 9613.
- [62] V. Parthasarathi, G. Thilagavathi, J. Textil. Appar. Technol. Manag., 2009, **6**, 1.
- [63] B. Erdem, R.A. Hunsicker, G.W. Simmons, E.D. Sudol, V.L. Dimonie, M.S. El-Aasser, Langmuir, 2001, **17**, 2664.
- [64] E.O. Oseghe, P.G. Ndungu, S.B. Jonnalagadda, J. Adv. Oxid. Technol., 2015, **18**, 253.
- [65] M. Hussain, R. Ceccarelli, D.L. Marchisio, D. Fino, N. Russo, F. Geobaldo, Chem. Eng. J., 2010, **157**, 45.
- [66] S. Triebold, G.L. Luvizotto, R. Tolosana-Delgado, T. Zack, H. von Eynatten, Contrib. Mineral. Petrol., 2011, **161**, 581.
- [67] V.H. Castrejón-Sánchez, E. Camps, M. Camacho-López, Superficies y Vacío, 2014, **27**, 88.
- [68] A. León, P. Reuquen, C. Garín, R. Segura, P. Vargas, P. Zapata, P.A. Orihuela, Appl. Sci., 2017, **7**, 1.
- [69] X. Cao, Ch. Ma, Z. Gao, J. Zheng, L. He, D.J. McClements, H. Xiao, J. Agric. Food Chem., 2016, **64**, 9436.
- [70] P. Krystek, J. Tentschert, Y. Nia, B. Trouiller, L. Noël, M.E. Goetz, A. Papin, A. Luch, T. Guérin, W.H. de Jong, Anal. Bioanal. Chem., 2014, **406**, 3853.
- [71] E.J. Dos Santos, M.P. Dos Santos, A.B. Herrmann, R.E. Sturgeon, Anal. Methods, 2016, **8**, 6463.
- [72] M. Golasik, M. Herman, B. Jasiewicz, M. Tęsiorowski, W. Piekoszewski, J. Anal. At. Spectrom., 2014, **29**, 1844.
- [73] B. Meermann, V. Nischwitz, J. Anal. At. Spectrom., 2018, **33**, 1432.
- [74] J.P.F.G. Helsper, R.J.B. Peters, M.E.M. van Bommel, Z.E.H. Rivera, S. Wagner, F. von der Kammer, P.C. Tromp, T. Hofmann, S. Weigel, Anal. Bioanal. Chem., 2016, **408**, 6679.
- [75] J. Vidmar, R. Milačič, J. Ščančar, Microchem. J., 2017, **132**, 391.
- [76] B. Grzmil, M. Gleń, B. Kic, K. Lubkowski, Ind. Eng. Chem. Res., 2011, **50**, 6535.
- [77] Z. Luo, Z. Wang, B. Xu, I.L. Sarakiotis, G. Du Laing, Ch. Yan, J. Zhejiang Univ.-Sci. A (Appl. Phys. & Eng.), 2014, **15**, 593.
- [78] Ch. Zhang, J. Lohwacharin, S. Takizawa, Sci. Rep., 2017, **7**, 1.
- [79] A. López-Serrano, R.M. Olivas, J.S. Landaluze, C. Cámara, Anal. Methods, 2014, **6**, 38.
- [80] A. Samontha, J. Shiowatana, A. Siripinyanond, Anal. Bioanal. Chem., 2011, **399**, 973.
- [81] R.B. Reed, Ch.P. Higgins, P. Westerhoff, S. Tadjiki, J.F. Ranville, J. Anal. At. Spectrom., 2012, **27**, 1093.
- [82] I. López-Heras, Y. Madrid, C. Cámara, Talanta, 2014, **124**, 71.
- [83] [83] J.P.F.G. Helsper, R.J.B. Peters, M.E.M. van Bommel, Z.E.H. Rivera, S. Wagner, F. von der Kammer, P.C. Tromp, T. Hofmann, S. Weigel, Anal. Bioanal. Chem., 2016, **408**, 6679.
- [84] F. von der Kammer, S. Legros, E.H. Larsen, K. Loeschner, T. Hofmann, Trend. Anal. Chem., 2011, **30**, 425.
- [85] D. Mitrano, J.F. Ranville, K. Neubauer, *Inductively coupled plasma – mass spectrometry: an introduction to flow field flow fractionation and coupling to ICP-MS*, White paper PerkinElmer, Inc., Shelton, CT, 2011.
- [86] A.L. Rubio, M.J.F. Rovira, M.M. Sanz, L.G. Gómez-Mascaraque, *Nanomaterials for food applications*, Elsevier, Amsterdam-Kidlington-Cambridge 2019.
- [87] T. Nomizu, S. Kaneco, T. Tanaka, T. Yamamoto, H. Kawaguchi, Anal. Sci., 1993, **9**, 843.
- [88] S. Kaneco, T. Nomizu, T. Tanaka, N. Mizutani, H. Kawaguchi, Anal. Sci., 1995, **11**, 835.



- [89] T. Nomizu, N. Hoshino, S. Kaneco, H. Hayashi, T. Tanaka, H. Kawaguchi, K. Kitagawa, *Anal. Sci.*, 2001, **17**, 61.
- [90] C. Degueldre, P.-Y. Favarger, *Colloids Surf. A*, 2003, **217**, 137.
- [91] C. Degueldre, P.-Y. Favarger, C. Bitea, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **518**, 137.
- [92] C. Degueldre, P.-Y. Favarger, *Talanta*, 2004, **62**, 1051.
- [93] C. Degueldre, P.-Y. Favarger, R. Rossé, S. Wold, *Talanta*, 2006, **68**, 623.
- [94] C. Degueldre, P.-Y. Favarger, S. Wold, *Anal. Chim. Acta*, 2006, **555**, 263.
- [95] *Dz.Urz. UE* 2011 Nr L 275/38 (2011/696/UE).
- [96] F. Laborda, J. Jiménez-Lamana, E. Bolea, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2013, **28**, 1220.
- [97] D.M. Mitrano, A. Barber, A. Bednar, P. Westerhoff, Ch.P. Higgins, J.F. Ranville, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2012, **27**, 1131.
- [98] W.W. Lee, W.-T. Chan, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2015, **30**, 1245.
- [99] Ch. Stephan, K. Neubauer, *Single particle inductively coupled plasma mass spectrometry: Understanding how and why*. White paper PerkinElmer, Inc., Shelton, CT, 2014.
- [100] M. Yamanaka, K. Yamanaka, T. Itagaki, S. Wilbur, E. McCurdy, Application note Agilent Technologies, Inc., 2015, Publication number: 5991-5891EN.
- [101] H.E. Pace, N.J. Rogers, Ch. Jarolimek, V.A. Coleman, Ch.P. Higgins, J.F. Ranville, *Anal. Chem.*, 2011, **83**, 9361.
- [102] A. Hineman, Ch. Stephan, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2014, **29**, 1252.
- [103] J.W. Olesik, P.J. Gray, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2012, **27**, 1143.
- [104] S. Gschwind, H. Hagendorfer, D.A. Frick, D. Günther, *Anal. Chem.*, 2013, **85**, 5875.
- [105] S. Gschwind, L. Flamigni, J. Koch, O. Borovinskaya, S. Groh, K. Niemax, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2011, **26**, 1166.
- [106] B. Franze, I. Strengé, C. Engelhard, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2012, **27**, 1074.
- [107] J. Tuoriniemi, G. Cornelis, M. Hassellöv, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2014, **29**, 743.
- [108] G. Cornelis, M. Hassellöv, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2014, **29**, 134.
- [109] X. Bi, S. Lee, J.F. Ranville, P. Sattigeri, A. Spanias, P. Herckes, P. Westerhoff, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2014, **29**, 1630.
- [110] M. Filella, J. Zhang, M.E. Newman, J. Buffle, *Colloids Surf. A*, 1997, **120**, 27.
- [111] K.J. Schulz, J.H. DeYoung, Jr., R.R. Seal II, D.C. Bradley, *Critical mineral resources of the United States—Economic and environmental geology and prospects for future supply*, U.S. Geological Survey, Professional Paper 1802 (Chapter T), 2017.
- [112] T.W. May, R.H. Wiedmeyer, *At. Spectrosc.*, 1998, **19**, 150.
- [113] R.B. Reed, D.P. Martin, A.J. Bednar, M.D. Montaño, P. Westerhoff, J.F. Ranville, *Environ. Sci.: Nano*, 2017, **4**, 69.
- [114] M. Tharaud, A.P. Gondikas, M.F. Benedetti, F. von der Kammer, T. Hofmann, G. Cornelis, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2017, **32**, 1400.
- [115] S. Yongyang, W. Wei, L. Zhiming, D. Hu, Z. Guoqing, X. Jiang, R. Xiangjun, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2015, **30**, 1184.
- [116] S. Wilbur, M. Yamanaka, S. Sannac, White paper Agilent Technologies, Inc., 2015, Publication number: 5991-5516EN.
- [117] T. Bieńkowski, *Laborant*, 2014, **8**, 7.
- [118] F. Gottschalk, T. Sonderer, R.W. Scholz, B. Nowack, *Environ. Sci. Technol.*, 2009, **43**, 9216.
- [119] N.C. Mueller, B. Nowack, *Environ. Sci. Technol.*, 2008, **42**, 4447.
- [120] V. Nischwitz, H. Goenaga-Infante, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2012, **27**, 1084.
- [121] A. Praetorius, A. Gundlach-Graham, E. Goldberg, W. Fabienke, J. Navratilova, A. Gondikas, R. Kaegi, D. Günther, T. Hofmann, F. von der Kammer, *Environ. Sci.: Nano*, 2017, **4**, 307.
- [122] J.H. Barnes, G.D. Schilling, R. Sperline, M.B. Denton, E.T. Young, C.J. Barinaga, D.W. Koppelaar, G.M. Hieftje, *Anal. Chem.*, 2004, **76**, 2531.
- [123] Y. Dan, H. Shi, Ch. Stephan, X. Liang, *Microchem. J.*, 2015, **122**, 119.

- [124] S. Lee, X. Bi, R.B. Reed, J.F. Ranville, P. Herckes, P. Westerhoff, *Environ. Sci. Technol.*, 2014, **48**, 10291.
- [125] A.R. Donovan, C.D. Adams, Y. Ma, C. Stephan, T. Eichholz, H. Shi, *Chemosphere*, 2016, **144**, 148.
- [126] S.P. Bitragunta, S.G. Palani, A. Gopala, S.K. Sarkar, V.R. Kandukuri, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2017, **98**, 595.

Praca wpłynęła do Redakcji 28 grudnia 2018 r.