

Primjena spektrometrije masa s induktivno spregnutom plazmom za analizu nanočestica

Remar, Karla

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:428910>

Rights / Prava: [In copyright](#)/Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Karla Remar

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

Primjena spektrometrije masa s induktivno spregnutom plazmom za analizu nanočestica

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju

Mentor rada: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

Zagreb, 2023.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

1. srpnja 2023.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

8. rujna 2023.

Mentor rada: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

Potpis:

Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VI
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. ANALIZA NANOČESTICA IZ UZORAKA.....	2
2.1. Nanočestice	2
2.1.1. Podjela nanočestica s obzirom na porijeklo	3
2.1.2. Podjela nanočestica s obzirom na dimenzije	3
2.1.3. Podjela nanočestica prema kemijskom sastavu	4
2.1.4. Zakonska i pravna regulativa primjene nanočestica	5
2.2. Analitičke metode za analizu nanočestica.....	6
2.2.1. Načelo metode ICP-MS.....	7
2.2.2. Metoda sp-ICP-MS za analizu nanočestica	8
2.2.3. Priprema uzoraka	10
2.2.4. Analiza nanočestica metodom sp-ICP-Q-MS.....	11
2.2.5. Analiza nanočestica metodom sp-ICP-QQQ	13
2.2.6. Analiza nanočestica metodom sp-ICP-SF-MS.....	14
2.2.7. Analiza nanočestica metodom sp-ICP-TOF-MS.....	17
2.3. Spregnute tehnike sp-ICP-MS	19
2.3.1. Metoda CPE-sp-ICP-MS.....	20
2.3.2. Metoda FFF-sp-ICP-MS	21
2.4. Zaključak.....	24
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XXV
§ 4. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA.....	XXIX

§ Sažetak

Nanočestice su sveprisutne tvari koje se koriste u svrhu poboljšanja materijala i potrošačkih proizvoda, pri čemu najveći broj potrošačkih proizvoda sadrži upravo nanočestice srebra. Općenito je otpuštanje nanočestica u prirodu opasno za sve žive vrste (uključujući i ljude). Kako bi se precizno procijenila njihova štetnost na ljudsko zdravlje i okoliš, potrebno je uvesti standardne analitičke metode pomoću kojih se može utvrditi njihov kemijski sastav, morfologija, reaktivnost i veličina. U okviru ovog završnog rada dana je podjela nanočestica prema raznim svojstvima, te pregled najčešće korištenih tehnika spektrometrije masa uz induktivno spregnutu plazmu za kvantitativnu i kvalitativnu analizu nanočestica u realnim uzorcima.

§ 1. UVOD

Nanočestice su čestice u kojima je, barem jedna od tri dimenzije (x, y, z), veličine u rasponu od 1 do 100 nm.¹ Iako se koriste još od doba starog Egipta u prošlom je stoljeću došlo do ubrzanog razvoja u njihovoj sintezi i primjeni u cilju poboljšanja svojstava materijala: čvrstoće, elastičnosti, toplinskog kapaciteta i sl. Osim što se nanočestice mogu biti prirodno prisutne u okolišu i nalaze se posvuda oko nas, svjesnim ili nesvjesnim ljudskim djelovanjem mogu se naći u gotovo svim prehrambenim proizvodima (npr. mlijeko, morski plodovi), kozmetici (kreme za sunčanje, kreme u borbi protiv starenja i sl.) i okolišu (prirodne i otpadne vode, biljni i životinjski svijet). Na globalnoj razini, uvelike se istražuju posljedice dugotrajnog izlaganja nanočesticama, a najbitniji parametri za određivanje njihove toksičnosti su njihov broj te udio različitih veličina nanočestica. Kako bi se dobili navedeni podatci o nanočesticama primjenjuju se brojne metode kao što su primjerice mikroskopija i atomska spektrometrija, te danas jedna od najčešće korištenih preciznih metoda za pojedinačne čestice, spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (engl. *Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, sp-ICP-MS). Prednost navedene metode sp-ICP-MS je što se njezinom primjenom mogu u samo jednoj analizi prikupiti svi potrebni podatci o broju i veličini nanočestica.^{2,3}

§ 2. ANALIZA NANOČESTICA IZ UZORAKA

2.1. Nanočestice

Prema Međunarodnoj organizaciji za standardizaciju (eng. *International Organization for Standardization*, ISO), nanočestice se definiraju kao čestice u kojima je barem jedna od tri dimenzije u smjeru osi (x, y, z) veličine u rasponu od 1 do 100 nm.¹

Iako je moderna ciljana primjena nanočestica relativno nova, korištene su još u vrijeme starog Egipta (4 000 godina pr. Kr.). „Egipatsko plavo“ prvi je sintetski priređen pigment, dobiven usitnjavanjem $\text{CaCuSi}_4\text{O}_{10}$ i SiO_2 do razine nanočestica. Još jedan primjer primjene nanočestica je i Likurgov pehar iz 4. st. u čije je staklo ugrađeno koloidno srebro koje doprinosi neprozirnoj zelenoj boji ukoliko je pehar obasjan izvana, a kada je obasjan iznutra, pehar je prozirne crvene boje (Slika 1).⁴



Slika 1. Prikaz Likurgovog pehara (lijevo) i Egipatskog plavog (desno) kao jednih od prvih primjera uporabe nanočestica. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ^{5,6}.

1857. godine Michael Faraday objavio je rad o pripremi koloidne otopine nanočestica srebra, što je prvi znanstveni opis postupka pripreme nanočestica. Također, otkrio je kako se optičke karakteristike koloidnog srebra razlikuju ovisno o udjelu srebra u otopini. Richard Feynman prvi je znanstvenik koji je 1959. godine skrenuo pozornost na nanotehnologiju, a 1974. godine Norio Taniguchi je prvi upotrijebio izraz „nanotehnologija“ i to u izradi poluvodiča. Tek 1981. godine nakon što je izumljen skenirajući tunelski mikroskop (engl. *Scanning tunneling microscope*, STM) postalo je moguće promatrati tvari na nanoskali što je to omogućilo daljnji razvoj nanotehnologije.

Današnje nanočestice mogu uvelike poboljšati određene karakteristike materijala kao što su: tvrdoća, provodljivost, izdržljivost i slično. Činjenica da je u 2019. godini ukupna dobit od korištenja nanočestica u područjima kao što su tehnologija, kozmetika i medicina iznosila 64,2 milijardi USD, govori o njihovoj širokoj upotrebi.³

Nanočestice se klasificiraju prema nekoliko parametara pa je najčešća podjela s obzirom:

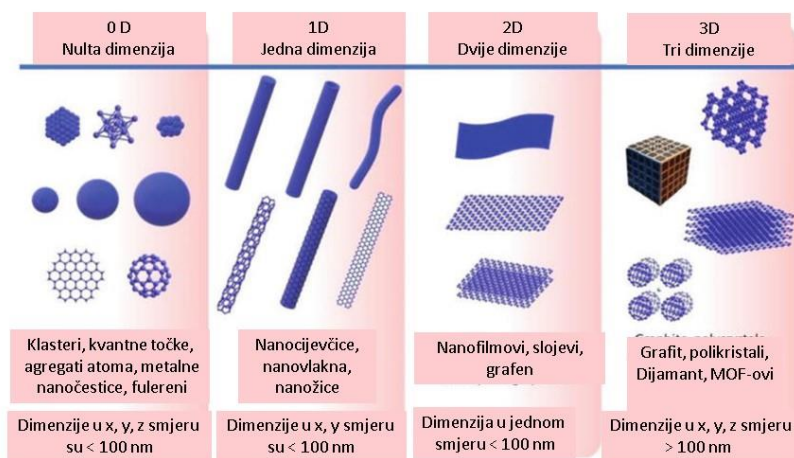
1. porijeklo,
2. dimenzije,
3. kemijski sastav,
4. potencijalnu toksičnost.

2.1.1. Podjela nanočestica s obzirom na porijeklo

Nanočestice mogu s obzirom na porijeklo biti antropogene ili prirodne. Antropogene nanočestice mogu se podijeliti na one koje su nastale slučajno i one koje su nastale kao rezultat ljudskog djelovanja. Nanočestice nastale prirodnim ili slučajnim antropogenim putem nazivaju se ultrafine čestice, a njihovo podrijetlo vezano je uz vulkanske erupcije, pješčane oluje, šumske požare i sl. Pojedine nanočestice nalaze se u živim organizmima, a neki od primjera su feritin i kalcijev hidroksiapatit. Antropogene nanočestice nastaju često kao rezultat ljudskog djelovanja, iz motora s unutarnjim izgaranjem, raznih spalionica, procesa transformacije (očuvanja) hrane, dima cigareta i sl. Za razliku od prirodnih nanočestica, ciljano sintetizirane nanočestice imaju kontrolirani oblik, veličinu i sastav.^{3,4}

2.1.2. Podjela nanočestica s obzirom na dimenzije

Obzirom na dimenzije nanočestice se dijele prema veličini u smjeru osi (x, y, z) u rasponu od 1 do 100 nm. S obzirom na navedeno, postoje nultodimenzionalne (0D), jednodimenzionalne (1D), dvodimenzionalne (2D) i trodimenzionalne (3D) nanočestice. Primjeri nanočestica različitih veličina prikazani su na slici 2.³



Slika 2. Podjela nanočestica prema različitim dimenzijama u smjeru osi (x, y, z) u rasponu od 1 do 100 nm. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ⁷.

2.1.3. Podjela nanočestica prema kemijskom sastavu

Podjela nanočestica prema kemijskom sastavu prikazana je u tablici 1.

Tablica 1. Podjela nanočestica prema kemijskom sastavu uz primjere realnih uzoraka. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnih izvora ^{3,8,9}.

Kemijski sastav nanočestice	Primjer	Uporaba
Metal	Ag	Antibakterijsko sredstvo Pročišćivač zraka Perilice rublja
	Cu	Katalizator Vodič Antibakterijsko sredstvo
Metalni oksid	TiO ₂ , ZnO	Kozmetika Katalizator
	Fe ₂ O ₃ , Fe ₃ O ₄	Medicini

Silikati, karbonati, nitridi	Mg-Al silikat Zeolit Kalcij karbonat Silicijev nitrid	Katalizatori Molekulska sita
Ugljik	Grafen Nanocjevčice Nanovlakna	Elektrode za solarne ćelije Elektroničke komponente Senzori Kozmetika u borbi protiv starenja

Na temelju primjera iz tablice 1 može se zaključiti kako nanočestice različitog kemijskog sastava imaju široku i različitu primjenu.

2.1.4. Zakonska i pravna regulativa primjene nanočestica

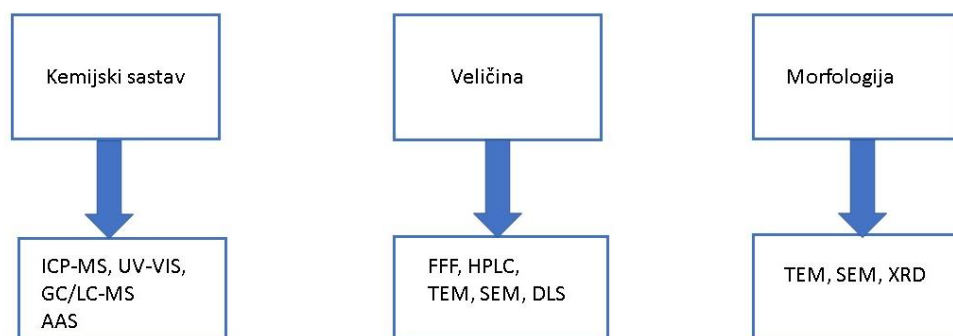
Nanočestice TiO_2 su dodatno klasificirane kao prehrambeni aditivi u prehrambenim proizvodima unutar Europske unije (E171) i u Sjedinjenim američkim državama (INS171). Najčešće se koriste kao izbjeljivači hrane kako bi se postigla bijela boja ili neprozirnost proizvoda, primjerice u prehrambenim proizvodima koji su posebno popularni među djecom, kao što su sladoled, slatkiši, čokolada i žvakaće gume.¹⁰ U Europskoj Uniji, za korištenje E171 nisu propisane gornje granice prisutnosti u proizvodu, ali je Europska agencija za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority*, EFSA) objavila kako postoji potreba za detaljnijim istraživanjima raspodjele veličine čestica E171 prisutnih u hrani.¹¹ Francuska vlada je u potpunosti zabranila prodaju prehrambenih proizvoda koji sadrže TiO_2 (E171).¹² S obzirom na činjenicu da se i TiO_2 i ZnO smatraju potencijalno kancerogenim pri udahu, ne preporučuje se njihovo korištenje u obliku pudera ili sprej-proizvoda npr. krema za sunčanje u spreju.¹³ Nadalje, EFSA je 2021. godine donijela odluku kako se titanijev dioksid (E171) ne može smatrati sigurnim ako se upotrebljava kao prehrambeni aditiv zbog nemogućnosti isključivanja genotoksičnosti koja je nedovoljno istražena.¹⁴ Međutim, Europska regulatorna agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA) ukazala je na potrebu uporabe TiO_2 u čvrstim i polučvrstim oralnim farmaceutskim oblicima brojnih osnovnih lijekova. Kako bi se izbjegla nestašica lijekova za vrijeme pronalaženja alternative za TiO_2 (E171), Uredbom je propisano da će privremeno ostati na popisu odobrenih aditiva. Europska komisija (*European*

Commission, EC) se obvezala da će u roku od tri godine od datuma stupanja na snagu ove Uredbe (14. siječanja 2022. godine) preispitati potrebu zadržavanja TiO_2 na popisu prehrambenih aditiva ili kao bojila u lijekovima.¹⁵

Prema Uredbi EC br. 1129/2011¹⁶ dozvoljeno je korištenje elementarnog srebra (E174) za ukrašavanja slatkiša, u alkoholnim pićima, čokoladi i ostaloj hrani. Uz navedeno, nanočestice srebra se zbog svog antimikrobnog djelovanja sve više koriste u pakiranjima za hranu, no još uvijek nisu uvrštene u popis dozvoljenih tvari.¹⁷ Iako E174 spada u kategoriju uslovno sigurnih aditiva, EFSA je 2011. godine objavila kako su za dodatnu zakonsku regulativu potrebna dodatna istraživanja, primjerice o udjelu veličine čestica, otpuštanju Ag^+ iz Ag te o toksičnosti E174.¹⁸

2.2. Analitičke metode za analizu nanočestica

Nanočestice se mogu analizirati na temelju raznih svojstva, kako bi se, između ostalog, utvrdila njihova sigurnost za uporabu i utjecaj na okoliš. Neki od svojstva uključuju kemijski sastav, veličinu, oblik, specifičnu površinu i kemijsku površinu, odnosno morfologiju. Tehnike koje se koriste za određivanje različitih svojstava nanočestica prikazane su na shematskom prikazu (slika 3).



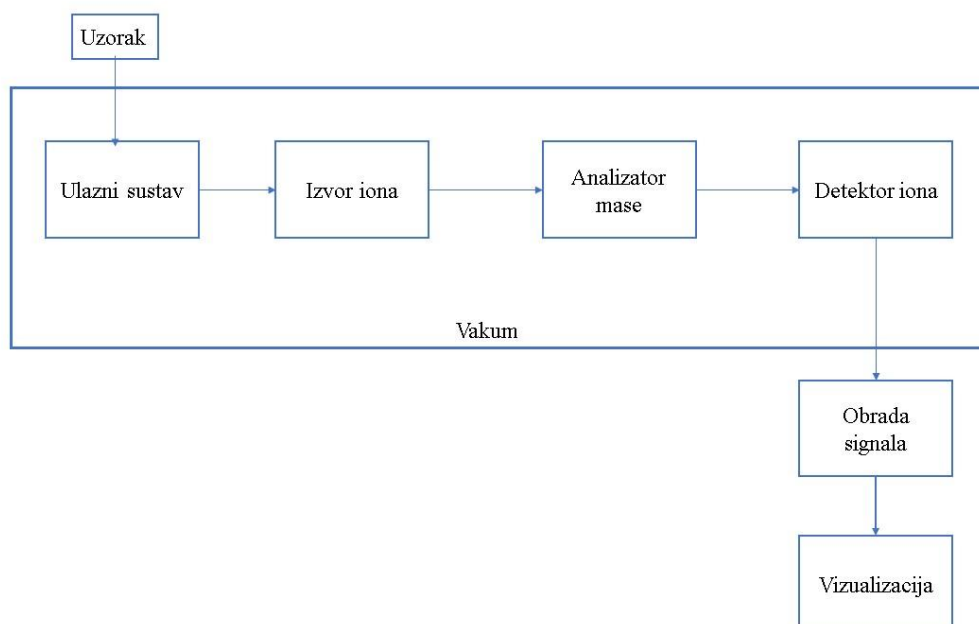
Slika 3. Tehnike za određivanje različitih svojstva nanočestica. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora³.

Mikroskopske metode omogućuju prikupljanje informacija o veličini, obliku i stupnju agregacije nanočestica. Uz elektronski mikroskop, najkorištenije optičke sprave su STM i mikroskop atomskih sila (engl. *Atomic force microscopy*, AFM). STM dodatno opisuje i strukturu površine na atomskoj razini te prikazuje sliku rasporeda atoma u realnom prostoru.

Za analizu nanočestica u otopini koriste se metode raspršenja svjetla: dinamičko raspršenje svjetla (engl. *Dynamic light scattering*, DLS) i višekutno raspršenje svjetla (engl. *Multi-angle light scattering*, MALS). Uz navedene metode, jedna od najčešće korištenih tehnika je spektrometrija masa s induktivno spregnutom plazmom (engl. *Inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS).³

2.2.1. Načelo metode ICP-MS

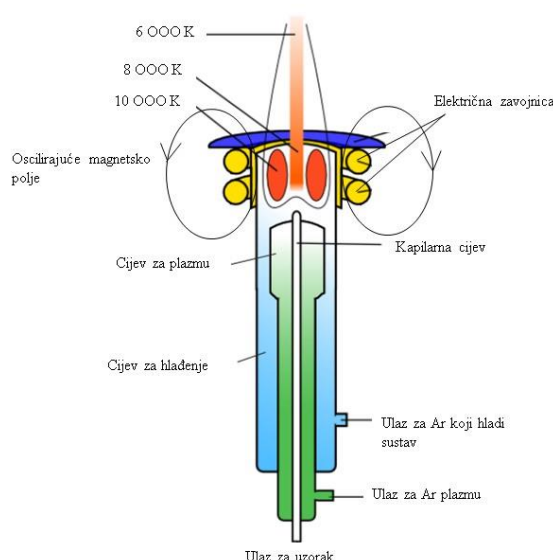
Spektrometar masa je instrument u kojem nastaju ioni, odnosno različiti fragmenti, iz analizirane tvari/ analita. Ioni se zatim odvajaju na temelju različitog omjera mase i naboja (m/z) i određuju na analizatoru masa. Slika 4. prikazuje osnovne dijelove spektrometra masa.



Slika 4. Osnovni dijelovi spektrometra masa. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora¹⁹.

Svrha ulaznog sustava, najčešće raspršivača, je unošenje vrlo malog volumena uzorka (mikrolitri) u izvor iona na kojem se uzorak prevodi u ione u plinovitom stanju bombardiranjem elektronima, fotonima, ionima ili molekulama. Ioni potom dolaze do analizatora masa koji ih razdvaja na temelju različitog omjera m/z (slika 4.). Primjena različitih analizatori masa: kvadrupolni (engl. *Quadrupole*, Q), trostruki kvadrupolni (engl. *Triple quadrupole*, QQQ), sektorski (engl. *Sector field*, SF) i analizator vremena leta (engl. *Time of flight*, TOF) utječe na preciznost analize uzorka.¹⁹

Prema definiciji, plazma je plinovito stanje koje sadrži visoku koncentraciju iona i elektrona. Induktivno spregnuta plazma (ICP) je sustav koji desolvatira, pobuđuje i ionizira atome u plinovitom stanju pri visokim temperaturama (7000-8000 K). Osim za spektrometriju masa, ICP se koristi za pobudu atoma za atomsku emisijsku spektroskopiju (AES). Sam instrument sastoji se od tri cijevi, napravljene od kvarca, kroz koje prolazi plinoviti argon brzinom između 11 i 17 L/min. Na vrhu cijevi nalazi se električna zavojnica. Uzorak, pomiješan s plinovitim argonom, dolazi do plazme pomoću kapilare. Oscilirajuća radio-frekvencija u električnim zavojnicama stvara oscilirajuće magnetsko polje zbog kojeg se ioni argona i elektroni kreću po kružnoj putanji. Korištenjem sustava ICP, desolvatacija i isparavanje analita je potpuno, a atomizacija učinkovita (slika 5).¹⁹

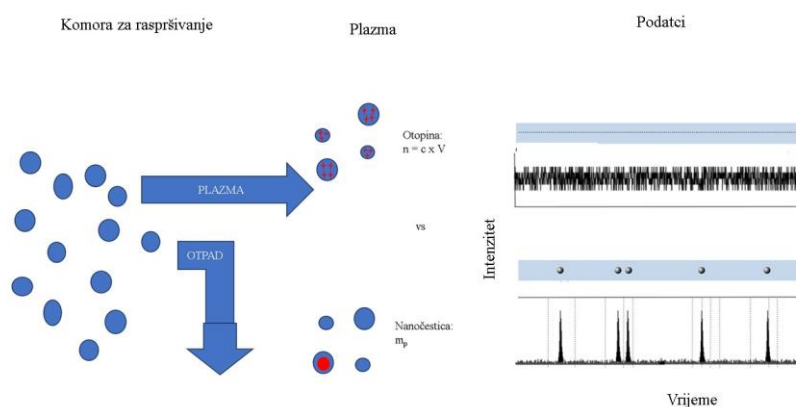


Slika 5. Shematski prikaz nastajanja induktivno spregnute plazme. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora²⁰.

2.2.2. Metoda sp-ICP-MS za analizu nanočestica

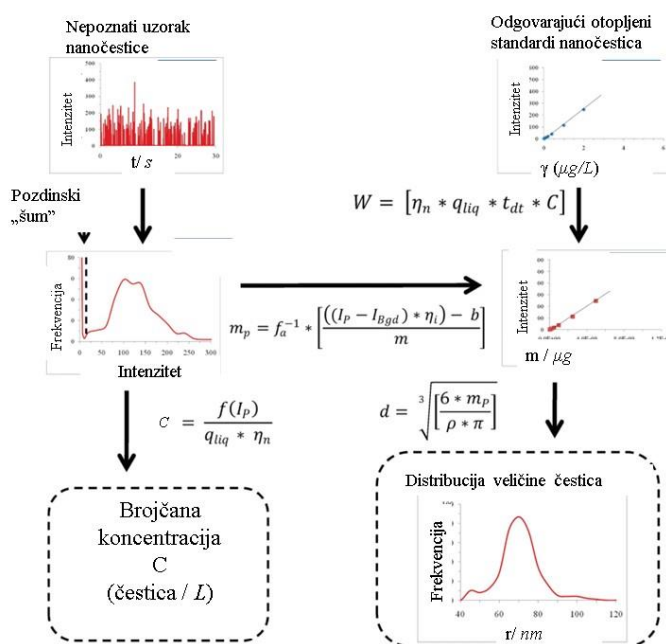
U otopini su čestice homogeno raspoređene čak i pri vrlo niskim koncentracijama, zbog čega je masa elementa koji ulazi u plazmu konstantna, a dobiveni signal stalan. Suprotno tome, kada

otopina sadrži nanočestice one nisu homogeno raspoređene već se radi o odvojenim skupinama čestica različitih veličina (slika 6.).²¹



Slika 6. Razlike u unosu otopine „klasičnog“ uzorka i uzorka nanočestica u plazmu te odgovarajući spektri masa. Preuzeo i prilagođeno iz literaturnih izvora ^{21,22}.

U spektrometriji masa s induktivno spregnutom plazmom pojedinačnih čestica (engl. *Single particle -Inductively coupled plasma mass spectrometry*, sp-ICP-MS) svaki pojedini signal odgovara jednoj nanočestici, frekvencija signala je proporcionalna koncentraciji nanočestica dok je intenzitet svakog signala proporcionalan masi elementa i broju atoma u pojedinoj nanočestici. Za kvantifikaciju nanočestica koristi se kalibracijski pravac otopljenih otopina standarda nanočestica s atomima najbližim onima iz uzoraka nanočestica.²¹ Postupak obrade i usporedbe rezultata prikazan je na shemi (slika 7).

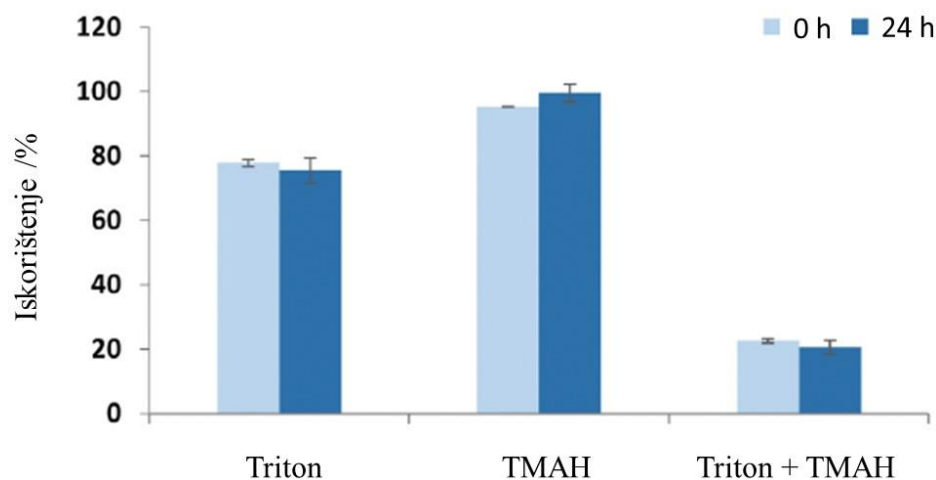


$f(I_p)$ - frekvencija pulsa, q_{liq} - brzina protoka uzorka, η_n - učinkovitost prijenosa, m_p - masa čestice, I_p - intenzitet individualnog pulsa, I_{Bgd} - prosječni pozadinski signal, η_i - efikasnost ionizacije, f_a^{-1} - maseni udio čestice, C – broj čestica/L

Slika 7. Obrada podataka za dobivanje broja čestica i raspodjele veličine nanočestica u uzorku koristeći kalibracijski pravac. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ²¹.

2.2.3. Priprema uzoraka

Iako se priprema tekućih uzoraka za analizu metodom sp-ICP-MS sastoji gotovo isključivo od razrjeđenja²³⁻³⁰, Fernandez-Trujillo i sur. proučavali su učinkovitost uporabe tetrametilamonijeva hidroksida (engl. *Tetramethylammonium hydroxide*, TMAH) i 2-[4-(2,4,4-trimetilpentan-2-il)fenoksi]etanola (eng. 2-[4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenoxy]ethanol, Triton X-100) pri različitim koncentracijama za ekstrakciju i stabilizaciju nanočestica platine iz uzoraka mokraćne. Nakon dodatka reagensa, uzorci su sonificirani kako bi se postigla što bolja homogena disperzija nanočestica platine u uzorku. Za određivanje stabilnosti veličine i koncentracije, otopine su analizirane odmah i nakon 24 sata inkubacije (slika 8).



Slika 8. Utjecaj 5%-tnog TMAH i/ili 0,1%-tni Triton X na stabilizaciju nanočestica platine.

Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ³¹.

Najbolju učinkovitost pokazao je 1%-tni TMAH, koji je u daljnjoj analizi korišten za stabilizaciju uzoraka nanočestica platine.³¹ Za kompleksnije uzorke, kao što su prehrambeni proizvodi, najčešće se prvo koristi 20%-tni TMAH kako bi se uzorak razorio, a zatim slijedi razrjeđenje uz 1%-tni TMAH i 0,1%-tni Triton X-100.³²⁻³⁵

2.2.4. Analiza nanočestica metodom *sp-ICP-Q-MS*

Kvadrupolni analizator masa najčešće je korišten analizator masa zbog relativne jednostavnosti i cijene. Sastoji se od četiri cilindrične šipke, a primjenom izmjeničnog i istosmjernog napona duž zajedničke osi moguće je filtrirati ione ovisno o vrijednosti m/z . Glavni nedostatak je propuštanje iona samo jednog m/z i manja rezolucija u odnosu na ostale analizatore.¹⁹

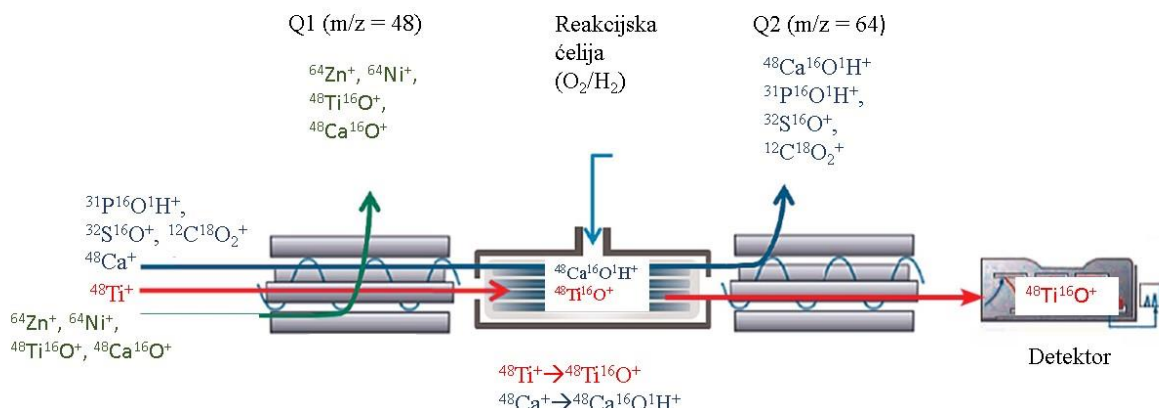
Tablica 2. Primjena metode sp-ICP-Q-MS za analizu nanočestica iz uzoraka pri čemu je detekcijska granica (engl. *Limit of detection*, LOD) najmanja veličina nanočestice koja je određena.

Nanočestica	Uzorak	LOD/nm	C (broj čestica/ L)	$\gamma/\mu\text{g mL}^{-1}$	Autori
Pt	Ljudski urin	21,6	$1,9 \cdot 10^5$	/	Fernández-Trujillo i sur. 31
TiO ₂	Kreme za sunčanje	25	/	0,6	Bocca i sur. 36
ZnO	Kreme za sunčanje	50	/	0,03	
TiO ₂	Prehrambeni proizvodi	27	/	/	Givelet i sur. 37
TiO ₂	Farmaceutski proizvodi	25	/	/	Givelet i sur. 37
TiO ₂	Konzervirana riba	35	$1,3 \cdot 10^6$	/	Grasso i sur. 38
Ag	Konzervirana riba	20	$1,3 \cdot 10^6$	/	Grasso i sur. 32
Ag	Destilirana voda	20	$8 \cdot 10^4$	/	Yang i sur. ²⁵

2.2.5. Analiza nanočestica metodom sp-ICP-QQQ

Rezultati analize nanočestica metodom sp-ICP-MS uvelike ovise o kompleksnosti i sastavu realnog uzorka. Iz tog razloga, mjerenje koncentracije i veličine nanočestica ^{48}Ti u uzorcima je otežano zbog smetnji nastalih uslijed prisutnosti ^{48}Ca . Metoda ICP-MS visoke razlučivosti (HR-ICP-MS) teoretski može razlikovati ^{48}Ca i ^{48}Ti , međutim kada je ^{48}Ca prisutan u velikim udjelima (u kravljem mlijeku) odjeljivanje signala koji odgovara ^{48}Ca i ^{48}Ti dodatno je otežano. Osim kalcija, i ostali elementi koji se nalaze u raznim prehrambenim proizvodima, kao što su primjerice S, P, Si, C, tvore poliatomne ione koji također otežavaju precizno mjerenje ^{48}Ti . Kako bi se doskočilo ovom problemu, Vidmar i sur. su 2019. godine analizirali nanočestice titanija uz prisutnosti izobarnih smetnji pomoću ICP-QQQ koji djeluje na temelju dva kvadrupolna analizatora mase pri čemu svaki detektira različiti omjer m/z (slika 9.). Postignuta je LOD od 30 nm pri koncentraciji Ca od 10 mg/mL, što je zadovoljavajuće s obzirom na kompleksnost uzoraka.³⁹

Wojcieszek i sur. su 2020. godine prvi istraživali unos, raspodjelu i potencijalne transformacije nanočestica TiO_2 u rotkvici (*Raphanus sativus L.*) pomoću metode sp-ICP-QQQ. Uspješno optimiziranje uvjeta u reakcijskoj ćeliji (najviše brzina protoka O_2 i H_2), omogućilo je smanjenje pozadinskih signala te povećanje osjetljivosti analize. Posljedično, LOD za nanočestice TiO_2 u destiliranoj vodi iznosi 15 nm, a u uzorku koji sadrži 50 mg/L Ca je 21 nm.⁴¹



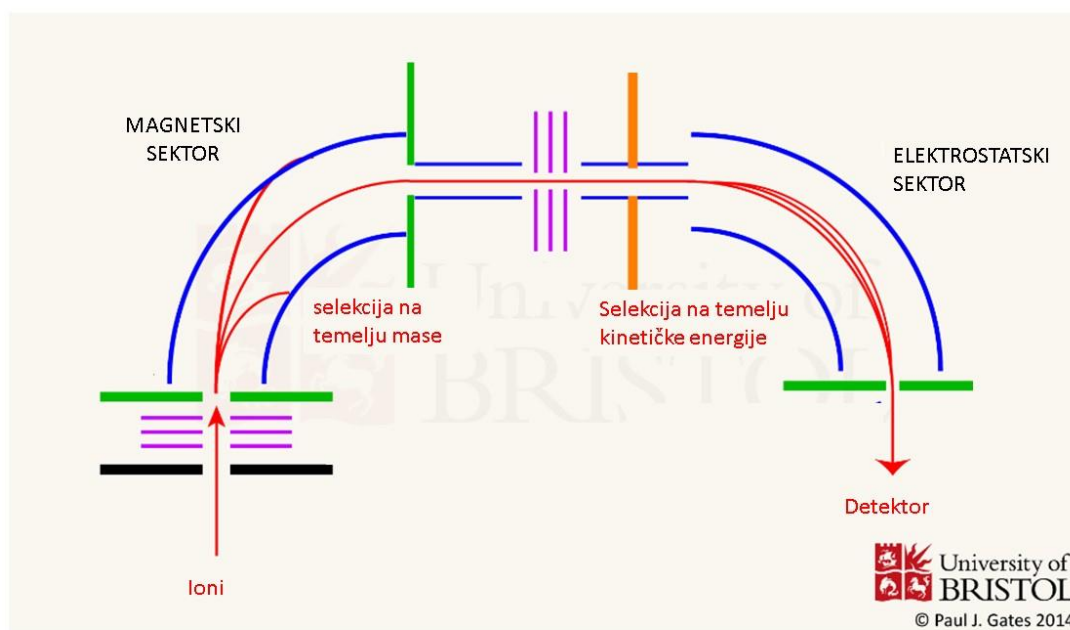
Slika 9. Određivanje $^{48}\text{Ti}^+$ u obliku $^{48}\text{Ti}^{16}\text{O}^+$ koristeći ICP-QQQ. Preuzeto i prilagođeno iz referenci ^{39,40}.

Rua-Ibarz i sur. istraživali su različite metode sp-ICP-MS-a za karakterizaciju nanočestica željezovog oksida- Fe_3O_4 uz interferenciju ArO^+ . Uspoređeni su rezultati analize dobiveni instrumentom sp-ICP-MS s jednim (sp-ICP-Q-MS), s tri kvadrupolna analizatora masa (ICP-QQQ) te sektorskim analizatorom masa (sp-ICP-SF-MS). Zaključeno je kako su sva tri instrumenta pogodna za analizu nanočestica Fe_3O_4 , uz prisutne različite interferencije, ukoliko su njihove dimenzije oko 50 nm.⁴²

2.2.6. Analiza nanočestica metodom sp-ICP-SF-MS

U sp-ICP-SF-MS, ioni ulaze prvo u analizator masa s magnetskim sektorom gdje bivaju otklonjeni isključivo po masi. Kako bi se postigla dobra rezolucija, odnosno kako bi svi ioni s istim omjerom m/z bili uključeni pod isti signal, ioni moraju biti i odvojeni na temelju kinetičke energije što se odvija u elektrostatskom sektoru.¹⁹

Shema rada sektorskog analizatora masa prikazana je na slici 10.

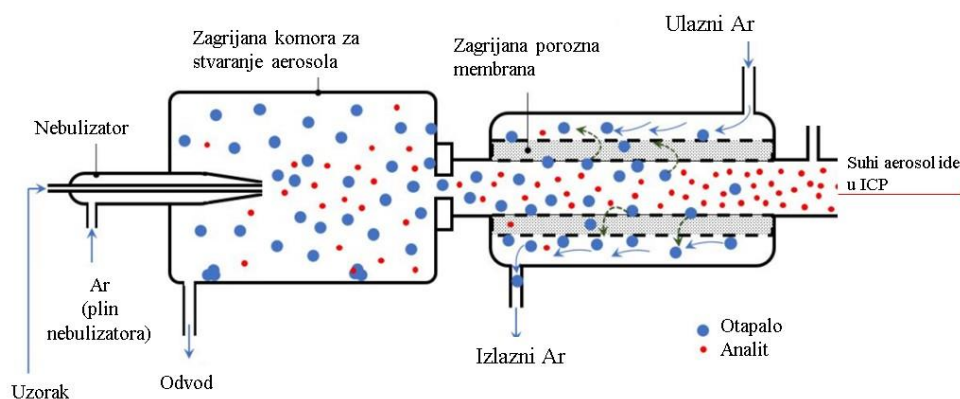


Slika 10. Shema rada sektorskog analizatora masa. Preuzeto i prilagođeno iz literarnog izvora ⁴³.

Raspršivač je instrument koji unosi uzorak u ICP u obliku aerosola, suhog ili mokrog. Načelo nastajanja suhog aerosola uzorka temelji se na visokoj temperaturi (oko 140 °C) u raspršivaču pri kojoj dolazi do desolvacije uzorka. Hadioui i sur. te Jreije i sur. proučavali su utjecaj unošenja uzorka nanočestica u obliku suhog i mokrog aerosola u sustav ICP-SF-MS u svrhu postizanja nižih detekcijska granica za određivanje veličine nanočestica u uzorcima losiona za sunčanje, kišnica i bazenskih voda. Analiza u ova dva istraživanja provedena je metodama ICP-Q-MS i ICP-SF-MS, a dobiveni rezultati su uspoređeni. Uočeno je kako je korištenjem desolvacijskog raspršivača postignut učinkovitiji prijenos nanočestica u plazmu, te zatim iz plazme na detektor masa pri čemu je uspješno snižena LOD za određivanje veličine nanočestica u uzorcima.^{44,45} Rezultati su prikazani u tablici 3, a načelo rada desolvacijskog raspršivača na slici 11.

Tablica 3. Detekcijske granice (LOD) za određivanje veličine nanočestica ovisno o korištenoj metodi (ICP-Q-MS i ICP-SF-MS). Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ^{44,45}.

Nanočestice	LOD/nm		
	ICP-Q-MS	ICP-SF-MS	
		Mokri aerosol	Suhi aerosol
Ag	16,3 ± 2,1	4,9 ± 0,2	3,5 ± 0,4
TiO ₂	/	19,2 ± 0,6	12,1 ± 1,3
Au	19,0 ± 1,0	4,4 ± 0,1	2,8 ± 0,1
CeO ₂	16,8 ± 1,1	4,0 ± 0,2	2,3 ± 0,2



Slika 11. Načelo rada desolvacijskog raspršivača. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ⁴⁴.

U drugom istraživanju, Amiri i sur. određivali su veličinu nanočestica srebra prisutnim u soku od naranče i mliječnim pripravcima za dojenčad koristeći metodu SP-ICP-SF-MS. Postigli su detekcijsku granicu od 4,9 nm.⁴⁶

2.2.7. Analiza nanočestica metodom sp-ICP-TOF-MS

Iako najkorišteniji, kvadrupolni analizator, nije bez svojih nedostataka: u vremenu može analizirati i prikupiti informacije samo o jednom omjeru m/z . Međutim, i antropogene i prirodno prisutne nanočestice pronađene u realnim uzorcima vode imaju kompleksniji sastav, odnosno sadrže više elemenata.⁴⁷ Navedeni problem potaknuo je istraživanje Mehrabija i sur. koji su proveli multielementnu analizu nanočestica metodom sp-ICP-MS. Koristili su analizator vremena leta čije se načelo rada temelji na generiranju iona, ubrzavanju i iona te mjerenju „vremena leta” čestica. Tijekom procesa ubrzavanja, ioni imaju istu kinetičku energiju, a različite brzine ione posljedica su različitih omjera m/z . Kada se odredi putanja leta, moguće je izračunati omjer m/z za pojedini ion mjerenjem „vremena leta“ koristeći jednadžbe:

$$v = \sqrt{\frac{2zeV}{m}}$$
$$t = \frac{s}{v} = \sqrt{\frac{m}{2zeV}} \cdot L$$
$$\frac{m}{z} = \left(\frac{t}{L}\right)^2 \cdot 2zV$$

pri čemu je:

v - brzina iona

z - naboj iona

e - naboj elektrona

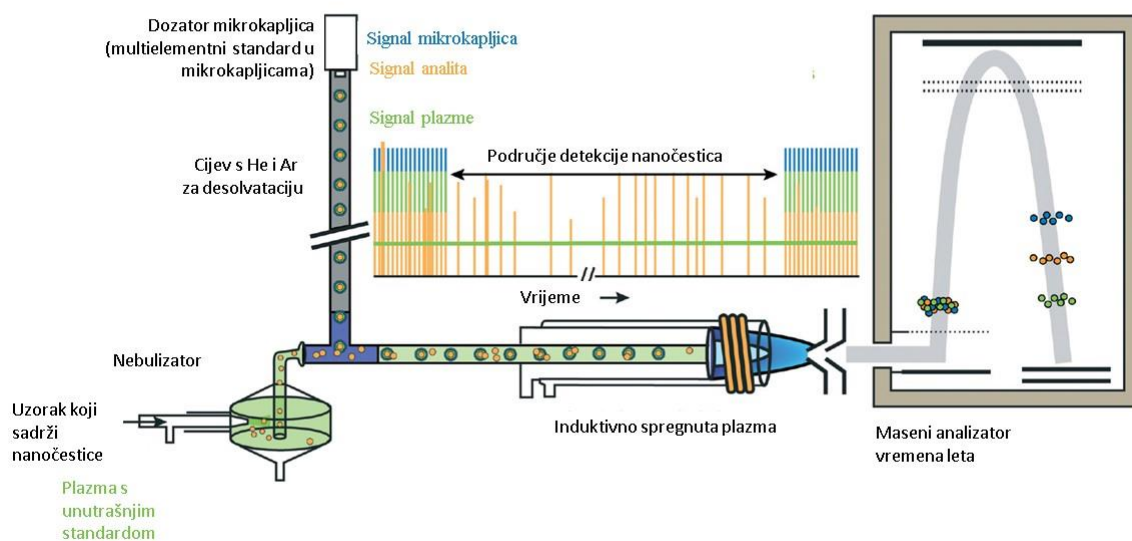
V - napon

m - masa iona

t - vrijeme leta

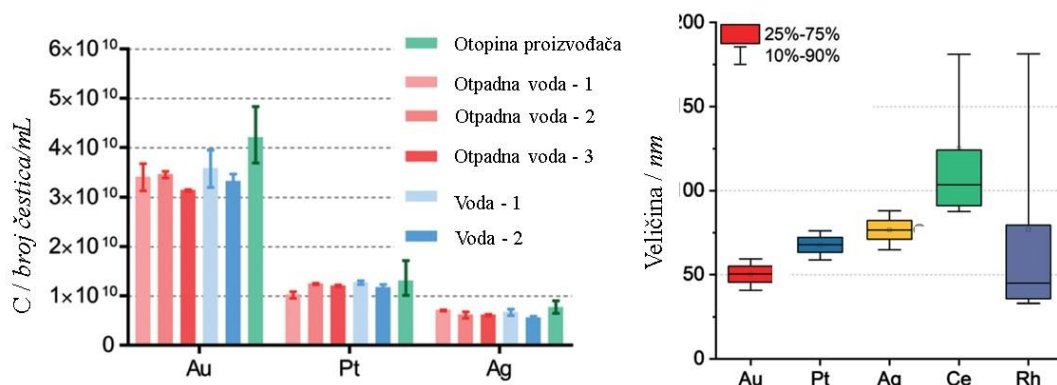
L - udaljenost koji ion prođe

Na temelju kalibracije pomoću signala mikrokapljica raspršenih u plazmi, analita i signala plazme te uporabom analizatora vremena leta omogućena je simultana kalibracija za masu i broj nanočestica pri čemu se koristi multielementni standard s mikrokapljicama, što pojednostavljuje postupak. Na slici 12 shematski je prikaz uređaja sp-ICP-TOF-MS s dva ulaza: jedan za uzorak s nanočesticama, a drugi za standard s mikrokapljicama.



Slika 12. Shematski prikaz sp-ICP-TOF-MS uređaja s dva ulaza: jedan za uzorak s nanočesticama, a drugi za standard s mikrokapljicama. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ⁴⁸.

U uzorke destilirane, otpadne vode i otopine standardnih otopina nanočestica dodane su otopine poznatih koncentracija Au, Pt i Ag nakon čega je slijedila njihova simultana analiza u svrhu određivanja njihova broja u uzorku. Dodatno je potvrđena i mogućnost simultanog određivanja i veličine različitih nanočestica u uzorku otpadnih voda. U navedenim uzorcima otkrivene su i nanočestice Ce i Rh⁴⁸ (slika 13.).



Slika 13. Rezultati određivanja broja različitih nanočestica metodom sp-ICP-TOF-MS u uzorcima voda (lijevo) te rezultati određivanja veličine nanočestica metodom sp-ICP-TOF-MS u uzorku otpadne vode. Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ⁴⁸.

Analizirajući kišnicu metodom ICP-TOF-MS, Jreije i sur. su odredili čak $1,5 \cdot 10^6$ nanočestica Ce po litri uzorka. Također su pokazali kako čak trećina nanočestica iz kišnice pripada antropogenim nanočesticama CeO_2 .⁴³

Tian i sur. uspoređivali su mogućnosti metoda ICP-Q-MS i ICP-TOF-MS za analizu izotopa ^{107}Ag i ^{109}Ag u nanočesticama srebra u cijanobakterijama koje su bile izložene nanočesticama srebra. Dobiveni omjer $^{109}Ag : ^{107}Ag$ uspoređen je s omjerom $^{109}Ag : ^{107}Ag$ koji prirodno prisutan u okolišu. Ranije je navedeno kako kvadrupolni analizator masa može istovremeno mjeriti samo jedan omjer m/z , međutim autori su uspjeli doskočiti ovom problemu na način da su podesili postavke prema kojima se izmjenjuju dva omjera m/z koja se prati i određuju ioni Ag. Usprkos prilagodbi metode ICP-Q-MS, metoda sp-ICP-TOF-MS se ponovno pokazala kao preciznija i točnija za određivanje Ag u nanočesticama u cijanobakterijama.⁴⁹

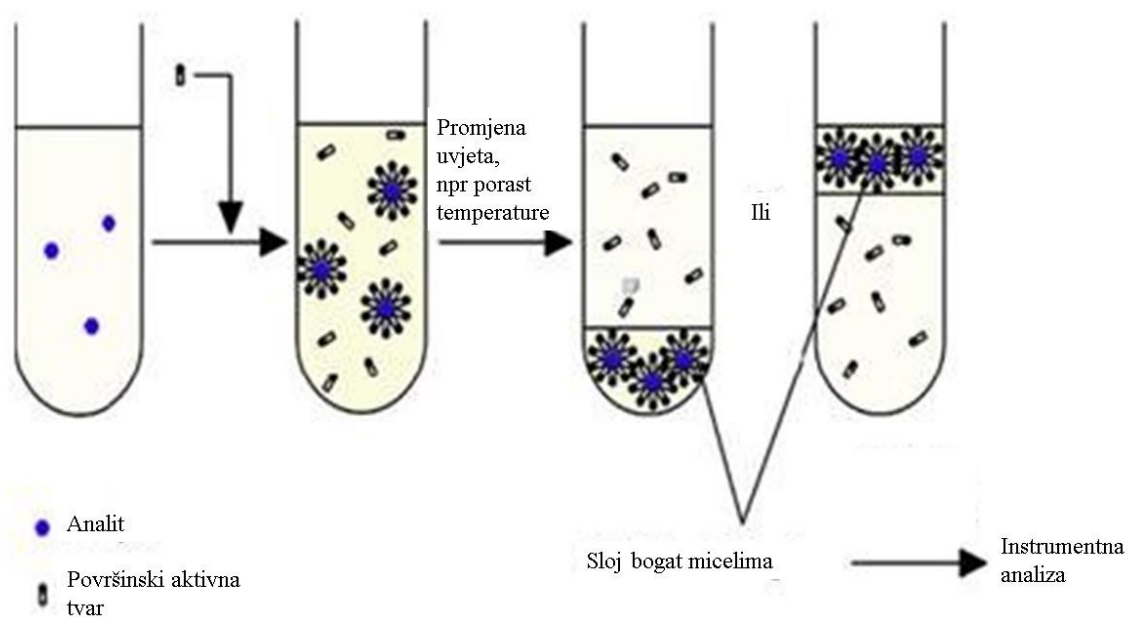
2.3. Spregnute tehnike sp-ICP-MS

S obzirom da se nanočestice Ti, Ag, Zn i SiO_2 u prirodi nalaze pri niskim koncentracijama (ng/L), njihovo proučavanje je otežano zbog prisutnosti otopljenih ionskih vrsta navedenih

metala. U takvim uvjetima, dobiveni rezultati imaju veliki „pozadinski šum“ što posljedično povisi detekcijske granice za određivanje nanočestica. Kako bi se riješio ovaj problem, u istraživanjima metodom sp-ICP-MS koriste se i razne tehnike u svrhu pročišćavanja uzorka i poboljšanja detekcijske granice.⁵⁰

2.3.1. Metoda CPE-sp-ICP-MS

Mayan i sur., Wimmer i sur. te Yang i sur. koristili su ekstrakciju do točke zamućenja (engl. *Cloud point extraction*, CPE) kao metodu pripreve uzorka prije analize. Osnovna ideja korištenja ove metode je ukoncentrirati i ekstrahirati nanočestice iz vodenih okolišnih uzoraka. Zagrijani uzorci miješaju se s neionskim površinski aktivnim tvarima, npr. Triton X-100, u dovoljno velikim koncentracijama kako bi nastale micelle, čija je svrha „zarobljivanje nanočestica“ i njihovo učinkovito odvajanje. Nastaju dva vidljivo odvojena sloja: vodeni sloj i sloj u kojem se nalaze micelle. Nakon odvajanja sloja u kojem se nalaze micelle, slijedi analiza nanočestica (slika 14.).⁵⁰



Slika 14. Načelo ekstrakcija do točke zamućenja (CPE). Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora⁵¹.

Mayan i sur. kvantificirali su nanočestice TiO_2 iz uzoraka bazenskih voda. Nakon optimizacije parametara za CPE: 0,03 % (w/v) Triton X-114 i 2,5 mM NaCl i razaranja sloja koji sadrži

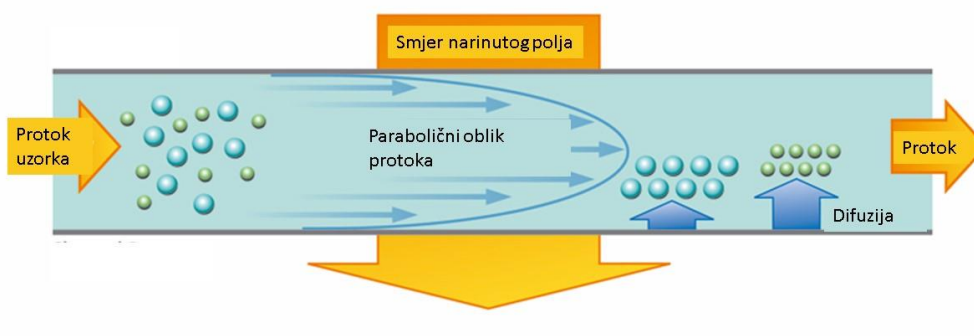
micele s HNO_3 i H_2O_2 u ultrasoničnoj kupelji 10 min pri $60\text{ }^\circ\text{C}$, dobivena je detekcijska granica za nanočestice TiO_2 od $0,13\text{ }\mu\text{g/L}$. Zatim su analizirani uzorci bazenskih voda i dobiveni su masene koncentracije TiO_2 u rasponu od $3,5\text{-}5\text{ }\mu\text{g/L}$.⁵²

Wimmer i sur. dodatno su unaprijedili ovu metodu koristeći 1 M otopinu natrijeva acetata, 1,25 M otopinu octene kiseline te 10% (*w/w*) Triton X-100. Dodatno, upotrijebili su zasićenu otopinu EDTA kako bi nastali hidrofilni kompleksi Ag-EDTA. Za kraj, nakon inkubiranja otopine u trajanju od 30 min pri $40\text{ }^\circ\text{C}$, slojevi su odvojeni dekantiranjem. S obzirom na činjenicu da nanočestice u prirodi većinom postoje u dimenzijama $< 20\text{ nm}$ (što je detekcijska granica za metodu sp-ICP-MS), upotrebom ovakve poboljšane metode CPE-sp-ICP-MS, s detekcijskom granicom od $4,5\text{ nm}$, može se zaključiti kako je ova metoda pogodna za analizu nanočestice TiO_2 iz vodenih okolišnih uzoraka.⁵⁰

Yang i sur. optimizirali su parametre za CPE prije analize nanočestica ZnO prisutnim u vodovodnoj i otpadnoj vodi te riječnim stajaćicama i tekućicama metodom CPE-sp-ICP-MS. Za lakše odvajanje nanočestica ZnO od Zn^{2+} , korišten je β -merkaptetanolin. Iako i EDTA i β -merkaptetanolin kompleksiraju s ionima metala, u ovom istraživanju je izabran β -merkaptetanolin kao bolji izbor radi manje promjene pH. Postignuta je detekcijska granica od $0,06\text{ }\mu\text{g/L}$ za određivanje nanočestica ZnO u vodenim uzorcima.⁵³

2.3.2. Metoda FFF-sp-ICP-MS

Metoda frakcioniranja uzorka na temelju narinutog polja (eng. *Field flow fractionation*, FFF) omogućuje odvajanje makromolekula, koloida, nano- i mikročestica prema veličini, kemijskom sastavu ili gustoći u rasponu od nekoliko nanometara do nekoliko mikrona. Odvajanje komponenata odvaja se u praznoj cijevi primjenom vanjskog polja okomitog na smjer pružanja uzorka. Čestice različitih veličina difundiraju nasuprot narinutog polja u različitim vremenima. Najmanje čestice najbrže difundiraju i prve se pojavljuju na fraktogramu.¹⁹ Shematski prikaz načela metode frakcioniranja uzorka na temelju narinutog polja prikazano je na slici 15.



Slika 15. Shematski prikaz načela metode frakcioniranja uzorka na temelju narinutog polja.

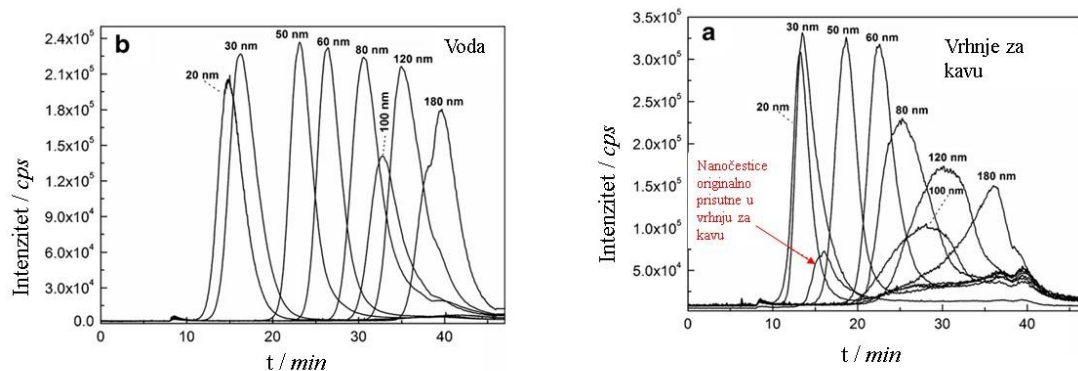
Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ⁵⁴.

S obzirom kako je optimizacija parametara asimetričnog frakcioniranja uzorka na temelju narinutog polja (engl. *Asymmetric flow field flow fractionation*, AF4) vremenski zahtjevna i skupa, Cascio i sur. prethodno optimizirane podatke za analizu nanočestica srebra, stabiliziranih citratom, primjenili za analizu u antimikrobnim proizvodima. Usporedili su veličinu nanočestica srebra u antimikrobnim proizvodima dobivenih različitim metodama (CLS, TEM i AF4-ICP-MS). Potvrđeno je postojanje nanočestica srebra u pet od šest analiziranih uzoraka, a rezultati su prikazani u tablici 4.

Tablica 4. Veličine nanočestica srebra (nm) u antimikrobnim proizvodima dobivene različitim metodama (CLS, TEM i AF4-ICP-MS). Preuzeto i prilagođeno iz literaturnog izvora ⁵⁵.

Veličina nanočestica srebra /nm						
Metoda	Proizvod A	Proizvod B	Proizvod C	Proizvod D	Proizvod E	Proizvod F
CLS	17,4	13,3	12,1	/	12,6	13,6
TEM	15,1 ± 4,5 42,2 ± 11,6	12,4 ± 5,7	11,9 ± 5,1	/	11,6 ± 4,4	13,6 ± 5,6
AF4-ICP-MS	33,8 47,3	16	16	/	18,5	17,4

Li i sur. predložili su učinkovitu ekstrakciju nanočestica SiO₂ i određivanje veličine i mase metodom AF4 u uzorcima vrhnja za kavu. Različite veličine nanočestica SiO₂ određene u vrhnju za kavu uspoređene su s modelnim vodenim otopinama u koje je dodano 50 µg/mL standarda nanočestica SiO₂ različitih veličina. Određeno je najviše nanočestica veličine 36,5 nm, a njihov broj iznosio je $2,9 \cdot 10^{11}$ čestica/ mL. Na slici 16. prikazani su udjeli nanočestica različitih veličina u vodenoj otopini sa standardima različitih veličina i njihov udio u uzorku vrhnja za kavu.⁵⁶



Slika 16. Udio nanočestica SiO₂ u vodenoj otopini sa standardima različitih veličina (lijevo) i u uzorku vrhnja za kavu (desno). Preuzeto i prilagođeno iz reference ⁵⁶.

U drugom istraživanju, autori su proučavali granice detekcije za određivanje nanočestica srebra prisutnih u mlijeku metodama AF4-sp-ICP-MS i sp-ICP-MS. Dobiveni rezultati pokazali su nešto višu LOD 3,2 µg/L za AF4-sp-ICP-MS za određivanje nanočestica srebra u mlijeku u usporedbi s 0,5 µg/L s metodom sp-ICP-MS.⁵⁷

2.4. Zaključak

Zbog prirode ljudskog djelovanja, nanočestice su postale neizbježan dio naše svakodnevnice. Nalaze se u hrani, kozmetici, zraku, vodi, okolišu i dr. Radi zaštite ljudskog zdravlja te biljnog i životinjskog svijeta, potrebno je provesti dodatna istraživanja kako bi se produbila saznanja o toksičnosti nanočestica. Iako se koriste različite istraživačke metode, za analizu nanočestica u realnim uzorcima najboljom se pokazala metoda sp-ICP-MS zbog mogućnosti simultanog određivanja broja i udjela veličine nanočestica koji su ključni faktori za određivanje utjecaja nanočestica na okoliš. Kompleksnost uzorka, opremljenost laboratorija i preciznost analize odlučujući su faktori koji se trebaju uzeti u obzir prilikom odabira metode za analizu nanočestica.

§ 3. LITERATURNI IZVORI

1. <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:iso:ts:80004:-2:ed-1:v1:en> (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
2. S. J. Klaine, P. J. J. Alvarez, G. E. Batley, T. F. Fernandes, R. D. Handy, D. Y. Lyon, S. Mahendra, M. J. McLaughlin, J. R. Lead, *Environ. Toxicol. Chem.* **27** (2008) 1825–1851.
3. M. Vladitsi, C. Nikolaou, N. P. Kalogiouri, V. F. Samanidou, *Methods Protoc.* **5** (2022) 1-10.
4. K. Kuzmec, *Nanočestice i Utjecaj Na Zdravlje*, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjstva I tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, 2017., str. 2-10.
5. The Romans may have first come across the colorful potential of nanoparticles by accident but they seem to hav... | Ancient technology, Ancient romans, Nanotechnology (pinterest.com) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
6. egyptain blue | Ancient egypt history, Egyptian, Blue pigment (pinterest.com)
7. Low Dimensional Nanostructures: Measurement and Remediation Technologies Applied to Trace Heavy Metals in Water | IntechOpen (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
8. P. I. Dolez, *Nanoengineering: Global Approaches to Health and Safety Issues*, Elsevier, 2015, str. 3–40.
9. Z. Jerković, G. Pavlović, *Ekološki Aspekti Primjene Nanomaterijala-Nanoekologija*, TEDI 5 (2015) 68-72.
10. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives (Text with EEA relevance) (legislation.gov.uk)
11. Scientific opinion on the proposed amendment of the EU specifications for titanium dioxide (E 171) with respect to the inclusion of additional parameters related to its particle size distribution - - 2019 - EFSA Journal - Wiley Online Library) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
12. France to ban titanium dioxide whitener in food from 2020 | Reuters (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
13. untitled (europa.eu) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)

14. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2021.6585> (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
15. <https://www.iusinfo.hr/EU-zakonodavstvo/EU721S3C32022R0063#:~:text=Uredba%20Komisije%20%28EU%29%202022%2F63%20%D0%BE%2014.%20sije%20C4%8Dnja%202022.,171%29%20kao%20prehrambenog%20aditiva%20%28Tekst%20zna%20C4%8Dajan%20za%20EGP%29> (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
16. Commission Regulation (EU) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives (Text with EEA relevance) - Publications Office of the EU (europa.eu) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
17. B. Daas, S. Tripathy, J. Adhikary, S. Chattopadhyay, *J. Biol. Inorg. Chem.* **22** (2017) 893-918.
18. Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterialText with EEA relevance (europa.eu) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
19. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, Cengage Learning, 2006.
20. File:ICP-Brennerduese.png - Wikimedia Commons (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
21. F. Laborda, E. Bolea, J. Jiménez-Lamana, *Anal. Chem.* **86** (2014) 2270–2278.
22. H. E. Pace, N. J. Rogers, C. Jarolimek, V. A. Coleman, C. P. Higgins, J. F. Ranville, *Anal. Chem.* **83** (2011) 9361–9369.
23. J. Vidmar, T. Zuliani, R. Milačič, J. Ščančar, *Water (Switzerland)* **14** (2022) 963.
24. L. Fréchette-Viens, M. Hadioui, K. J. Wilkinson, *Talanta* **200** (2019) 156–162.
25. Y. Yang, C. L. Long, H. P. Li, Q. Wang, Z. G. Yang, *Sci. Total Environ.* **563–564** (2016) 996–1007.
26. I. Jreije, A. Azimzada, M. Hadioui, K.J. Wilkinson, *Molecules* **25** (2020) 5516-5531.
27. M. Hadioui, G. Knapp, A. Azimzada, I. Jreije, L. Frechette-Viens, K.J. Wilkinson, *Anal Chem* **91** (2019) 13275–13284.
28. C. Adelantado, Á. Ríos, M. Zougagh, *Talanta* **219** (2020) 1-7
29. M. Witzler, F. Küllmer, K. Günther, *Anal. Lett.* **51** (2018) 587–599.
30. I. López-Heras, Y. Madrid, C. Cámara, *Talanta* **124** (2014) 71–78.

31. S. Fernández-Trujillo, M. Jiménez-Moreno, Á. Ríos, R. del C.R. Martín-Doimeadios, *Talanta* **231** (2021) 1-6.
32. A. Grasso, M. Ferrante, G. Arena, R. Salemi, P. Zuccarello, M. Fiore, C. Copat, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **18** (2021) 1-17.
33. C. Copat, A. Grasso, G. Arena, A. Cristaldi, G. Oliveri Conti, M. Ferrante, *Eur. J. Public Health* **31** (2021) 1-2.
34. A. Grasso, M. Ferrante, A. Moreda-Piñeiro, G. Arena, R. Magarini, G. Oliveri Conti, A. Cristaldi, C. Copat, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **231** (2022) 1-17.
35. Q. Zhou, L. Liu, N. Liu, B. He, L. Hu, L. Wang, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **198** (2020).
36. B. Bocca, S. Caimi, O. Senofonte, A. Alimonti, F. Petrucci, *Sci. Total Environ.* **630** (2018) 922–930.
37. L. Givélet, D. Truffier-Boutry, L. Noël, J. F. Damlencourt, P. Jitaru, T. Guérin, *Talanta* **224** (2021) 1-30.
38. A. Grasso, M. Ferrante, P. Zuccarello, T. Filippini, G. Arena, M. Fiore, A. Cristaldi, G.O. Conti, C. Copat, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **17** (2020) 1-2.
39. https://backend.orbit.dtu.dk/ws/files/200739437/application_TiO2_np_icp_qqq_8900_5994_1633en_us_agilent.pdf(datum pristupa 19. lipnja 2023.)
40. Simultaneous quantitation of peptides and phosphopeptides by CapLC-ICP-QQQ (nxtbook.com) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
41. J. Wojcieszek, J. Jiménez-Lamana, L. Ruzik, M. Asztemborska, M. Jarosz, J. Szpunar, *Front Environ Sci* **8** (2020) 100-112.
42. A. Rua-Ibarz, E. Bolea-Fernandez, G. Pozo, X. Dominguez-Benetton, F. Vanhaecke, K. Tirez, *J. Anal. At. Spectrom.* **35** (2020) 2023–2032.
43. Mass Spectrometry Facility | Sector (bris.ac.uk) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
44. M. Hadioui, G. Knapp, A. Azimzada, I. Jreije, L. Frechette-Viens, K. J. Wilkinson, *Anal. Chem.* **91** (2019) 13275–13284.
45. I. Jreije, A. Azimzada, M. Hadioui, K. J. Wilkinson, *Molecules* **25** (2020).
46. N. Amiri, M. Hadioui, A. Chalifoux, K. J. Wilkinson, *Measurement: Food* **8** (2022) 100061.
47. Z. Meng, L. Zheng, H. Fang, P. Yang, B. Wang, L. Li, M. Wang, W. Feng, *Processes* **11** (2023) 1237.

48. K. Mehrabi, A. Gundlach-Graham, D. Günther, A. Gundlach-Graham, *Environ. Sci. Nano* **6** (2019) 3349–3358.
49. X. Tian, H. Jiang, M. Wang, W. Cui, Y. Guo, L. Zheng, L. Hu, G. Qu, Y. Yin, Y. Cai, G. Jiang, *Anal. Chim. Acta* **1240** (2023) 1-9.
50. A. Wimmer, A. Urstoeger, T. Hinke, M. Aust, P. J. Altmann, M. Schuster, *Anal. Chim. Acta* **1150** (2021) 238198.
51. (PDF) A review: Developments in extraction procedures of analytes from biological samples (researchgate.net) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
52. J. López-Mayan, M. C. Barciela-Alonso, M. R. Domínguez-González, E. Peña-Vázquez, P. Bermejo-Barrera, *Microchem. J.* **152** (2020).
53. Y. Yang, X. Liu, L. Luo, W. Wei, Q. Wang, J. Zhang, *Adsorpt. Sci. Technol.* **2021** (2021).
54. FFF_separation_principle_in_asymmetric_flow_field-flow_fractionation_(AF4).jpg (800×287) (wikimedia.org) (datum pristupa 19. lipnja 2023.)
55. C. Cascio, O. Geiss, F. Franchini, I. Ojea-Jimenez, F. Rossi, D. Gilliland, L. Calzolari, *J. Anal. At. Spectrom* **30** (2015) 1255–1265.
56. B. Li, S. L. Chua, A. L. Ch'ng, D. Yu, S. P. Koh, H. Phang, P. K. T. Chiew, *Anal. Bioanal. Chem.* **412** (2020) 5499–5512.
57. B. Li, S.L. Chua, D. Yu, S. H. Chan, A. Li, *Molecules* **27** (2022).

§ 4. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

AAS - Atomska apsorpcijska spektrometrija (engl. *Atomic absorption spectroscopy*)

AES - Atomska emisijska spektrometrija (engl. *Atomic emission spectroscopy*)

AFM - Mikroskop atomskih sila (engl. *Atomic force microscopy*)

AF4 – asimetrično frakcioniranje uzorka na temelju narinutog polja (engl. *Asymmetric flow field flow fractionation*)

CLS - Centrifugalna tekućinska sedimentacija (engl. *Centrifugal liquid sedimentation*)

CPE - Ekstrakcija točke zamućenja (engl. *Cloud point extraction*)

DLS - Dinamičko raspršenje svjetla (engl. *Dynamic light scattering*)

EC - Europska komisija (engl. *European Commission*)

EFSA - Europska agencija za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority*)

FFF - frakcioniranje uzorka na temelju narinutog polja (engl. *Field flow fractionation*)

GL/LC-MS - Plinska kromatografija spregnuta s tekućinskom kromatografijom i masenom spektrometrijom (engl. *Gas chromatography/Liquid chromatography–mass spectrometry*)

HPLC - Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High-performance liquid chromatography*)

ICP-MS - spektrometrija masa s induktivno spregnutom plazmom (engl. *Inductively coupled plasma mass spectrometry*)

LOD - limit detekcije (engl. *Limit of detection*)

MALS - Višekutno raspršenje svjetlosti (engl. *Multi-angle light scattering*)

SEM - Pretražni elektronski mikroskop (engl. *Scanning electron microscope*)

sp-ICP-MS - spektrometrija masa s induktivno spregnutom plazmom jedne čestice (engl. *single particle -Inductively coupled plasma mass spectrometry*)

sp-ICP-Q-MS - spektrometrija masa (s kvadrupolnim analizatorom masa) s induktivno spregnutom plazmom jedne čestice (engl. *single particle -Inductively coupled plasma mass spectrometry with a quadrupole mass analyzer*)

sp-ICP-QQQ - spektrometrija masa (s tri kvadrupolna analizatora masa) s induktivno spregnutom plazmom jedne čestice (engl. *single particle -Inductively coupled plasma mass spectrometry with a tripple quadrupole mass analyzer*)

sp-ICP-SF-MS - spektrometrija masa s induktivno spregnutom plazmom jedne čestice (engl. *single particle -Inductively coupled plasma mass spectrometry with a sector field analyzer*)

sp-ICP-TOF-MS - spektrometrija masa s induktivno spregnutom plazmom jedne čestice (engl. *single particle -Inductively coupled plasma mass spectrometry with a time-of-flight mass analyzer*)

STM -skenirajući tunelski mikroskop (engl. *Scanning tunneling microscope*)

TEM - Transmisijski elektronski mikroskop (engl. *Transmission electron microscopy*)

TMAH - Tetrametilamonijev hidroksid (engl. *Tetramethylammonium hydroxide*)

UV-VIS - spektrometrija u ultraljubičastom i vidljivom dijelu elektromagnetskog zračenja (engl. *Ultraviolet-visible spectroscopy*)

XRD - Rentgenska difrakcijska analiza (engl. *X-ray diffraction*)