



ПЛОВДИВСКИ УНИВЕРСИТЕТ „ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ“

 Химически Факултет

Катедра „Аналитична химия и компютърна химия“

ДИПЛОМНА РАБОТА

за получаване на образователно-квалификационна степен „Бакалавър“

на тема:

Оценка на възможностите за охарактеризиране на Pt наночастици чрез spICP-MS

Дипломант: Никола Иванов Враджев

Специалност: Медицинска химия

Фак. № 2105571011

Научен ръководител: Гл. ас. д-р Лидия Кайнарова - Кръстева

Пловдив

2025 година

I. Литературен обзор	1
1.1 Масспектрометрия с индуктивно свързана плазма като метод за анализ на единични наночастици (spICP-MS) - принцип на метода и основни количествени връзки.....	1
1.2 Фактори, влияещи върху аналитичните характеристики на spICP-MS метода	3
1.2.1 Влияние на инструменталните параметри при анализ на НЧ.....	3
1.2.2 Време за интегриране и наблюдение.....	5
1.2.3 Влияние на транспортната ефективност при анализ на Pt НЧ	7
1.2.3.1 Изчисляване на транспортната ефективност (η) чрез анализ на суспензия сърс сертифицирани размери.....	7
1.2.3.2 Изчисляване на транспортната ефективност (η) чрез анализ на референтен материал по сертифициране стойност за частичкова концентрация:	8
1.2.3.3 Индиректен подход за оценка на транспортната ефективност (η) чрез “dynamic mass flow” метода	9
1.3 Калибрационни стратегии при охарактеризиране на размер на наночастици, посредством spICP-MS.....	10
1.3.1 Калибрация по референтен материал с добре охарактеризирани размери	10
1.3.2 Калибрация по йонни стандарти.....	11
1.4 Аналитични характеристики на spICP-MS метода.....	12
1.4.1 Подходи за разделяне на домейни от сигнали	12
1.4.2 Граница на откриване по отношение на размери	12
1.4.3 Фонов еквивалентен диаметър	14
II. Цел и задачи на дипломната работа	15
III. Експериментална част.....	16
3.1 Използвана апаратура.....	16
3.2 Използвани реагенти	17
3.3 Подготовка на стандарти разтвори за външна калибрация по йонни стандарти и оценка на работната чувствителност.	17
3.4 Подготовка на сертифицирани референтни материали	17
3.5 Обработка на сигнали	17
IV. Резултати и дискусия.....	19
4.1 Оптимизация на инструменталните параметри при анализ на Pt НЧ.....	19
4.2 Оценка на ТЕ при анализ на Pt НЧ	20
4.3 Охарактеризиране на Pt НЧ чрез калибрация по йонни стандарти	23
4.4 Оценка на аналитичните характеристики на метода.	28
V. Изводи и заключения	29
VI. Използвана литература	30

I. Литературен обзор

1.1 Масспектрометрия с индуктивно свързана плазма като метод за анализ на единични наночастици (spICP-MS) - принцип на метода и основни количествени връзки.

Масспектрометрията с индуктивно свързана плазма (ICP-MS) е сред добре познатите техники за елементен анализ, като позволява количествено определяне на над 70 елемента в голямо разнообразие от проби. Методът се характеризира с редица предимства, като (i) възможност за бърз, многоелементен анализ, (ii) ниски граници на откриване (ng.L^{-1}), (iii) широк линеен диапазон; (iv) висока чувствителност; (v) както и възможност за изотопен анализ. През последните две десетилетия приложението на ICP-MS се развива в ново аналитично направление, насочено към охарактеризиране на наноматериали (НМ) (spICP-MS). Наночастиците (НЧ) се дефинират като частици с размери от 1 до 100 nm поне в едно от трите си измерения - x, y, z. Благодарение на своите уникалните свойства, като добре развита повърхност, , висока електропроводимост, механична якост, възможност за преминаване през клетъчните мембрани, антисептичност и др, те намират широко приложение в различни сфери като медицина –Ag, Au, Pt и Pd НЧ, [1] строителство - НЧ от типа Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , козметика - ZnO и TiO_2 НЧ, електроника - SiO_2 НЧ и др. [2].

Сред аналитичните техники, позволяващи охарактеризиране на различни по състав и размери НЧ електронните микроскопски техники – трансмисионен и сканиращ електронен микроскоп се считат „златен стандарт“. Въпреки възможността за определяне на размер, и геометрия на частиците, тези техники са много скъпи, изискват специализирана лаборатория - и не на последно място, ако се цели определяне на разпределение по размер анализът е много времеемък. За разлика от тях spICP-MS позволява охарактеризиране на метални и метал-съдържащи НЧ за по-малко от порядъка на няколко минути. Методът позволява едновременно определяне на среден, медианен и най-често срещан размер, както и разпределение по размери (при постулиране на сферична форма), определяне на обща масова концентрация, концентрация на НЧ и концентрация на йонни форми на анализа, присъстващи в изследваната суспензия.

В основата на spICP-MS метода е заложена идеята за детекция на НЧ на принципа "частица по частица". За да бъде възможно това е необходимо да бъдат изпълнени две фундаментални условия: i) в състава на НЧ да присъства елемент, детектируем с ICP-MS; и ii) анализираната суспензия да бъде достатъчно разреждана, за да се осигури

последователно постъпване на наночастиците в плазмения източник [3]. Ако тези условия са изпълнени, то всяка НЧ достигнала до високотемпературния плазмен разряд ще преминава през процеси на разкаляване, атомизиране и йонизиране, в резултат на което ще се генерира йонен облак, който при достигане до детектора ще генерира времеви сигнал, ясно различим от този на непрекъснатия фон. Следователно, при въвеждане на достатъчно разрежена суспензия броят регистриран пикове ще бъде равен на броя частици достигнали до детектора, а големината на интензитета е правопропорционална на масата на съответната НЧ. Ако това е изпълнено, то при известни други условия като време за интегриране (t_d), транспортна ефективност (η), дебит на пробния поток (V_s) и фактор на разреждане (DF), съгласно **уравнение 1** [4], от регистрираните сигнали може да бъде изчислена частичкова концентрацията ($\#NPs.mL^{-1}$) на НЧ в анализираната суспензия.

- **Изчисляване на частичкова концентрация, $C \#NPs.mL^{-1}$:**

Уравнение 1
$$C = \frac{N \times DF}{\eta \times V_s \times t_{aqc}}$$

където: N – средния брой детектирани нанчостаци за 60s,

DF – фактор на разреждане,

η – транспортна ефективност,

V_s – дебит на пробния поток, $mL.min^{-1}$

t_{aqc} – време за наблюдение, min

Тъй като интензитетът на всеки сигнал е пропорционален на масата на дадена НЧ, то при постъпване на единична частица до детектора в избраното време за интегриране, големината на всеки регистриран сигнал, може да бъде свързан с масата на частицата, която го генерира чрез **уравнение 2**.

- **Изчисляване маса на наночастица $m_p (fg)$: [5]**

Уравнение 2
$$m_{NP} = I_{NP} \times \frac{1}{s} \times t_d \times V_s \times \eta \times 10^3 \times \frac{1}{60} \times f_a$$

където: m_{NP} – маса на определяемата частица, (fg),

I_{NP} – сигналът генериран от частицата, (cps);

s – работна чувствителност, определена по йонни стандарти, (cps.L.ng⁻¹);

t_d – време за интегриране (ms)

V_s – дебит на пробния поток ($mL.min^{-1}$);

η - транспортна ефективност;

f_a – масова фракция на анализа в материала на наночастиците;

За оценка на работната чувствителност обикновено се използва един йонен стандарт, съдържащ изследвания аналит с известна концентрация.

Масата на всяка частица може да бъде трансформирана в съответния ѝ размер, при известни физикохимични характеристики като плътност на материала, и геометрия на НЧ. Тъй като в специализирания софтуер на spICP-MS е постулирана сферична геометрия на изследваните НЧ, то размерите на всяка частица могат да бъдат изчислени съгласно **уравнение 3** [3].

- **Изчисляване размер на една наночастица, при допускане на сферична геометрия:**

Уравнение 3

$$d_p = \sqrt[3]{\frac{m_{NP} \times 6}{\rho \times \pi}}$$

където: m_{NP} – маса на наночастица,

ρ – плътността на материала.

В настоящата дипломна работа като обект на изследването са подбрани платинови наночастици (Pt НЧ), тъй като те намират широко приложение в редица сфери като медицина, фармация и др. Това се дължи на техните антимикробни, антиоксиданти, противоракови и каталитични свойства.[6, 7].

1.2 Фактори, влияещи върху аналитичните характеристики на spICP-MS метода

1.2.1 Влияние на инструменталните параметри при анализ на НЧ

За разлика от конвенционалния режим на работа на ICP-MS, при който се цели постигане на компромисна чувствителност в целия масов диапазон – леки, средни и тежки маси, при анализ на НЧ, особено, когато те са съставени от един елемент, се предпочита провеждане на насочена оптимизация, която цели постигане на оптимално съотношение сигнал/шум за конкретен аналит. Съгласно представените до момента данни в научната периодика, сред параметрите, оказващи съществено влияние върху нивото и стабилността на сигнала са дебитът на пулверизирания газ (Q_g) и позицията на горелката спрямо самплера. Дебитът на пулверизирания газ е параметър, който е пряко свързан с характеристиките на генерирания аерозол, както и с времето за престой на НЧ

в плазмения източник. Колкото по-фини са аерозолните капчици, което се постига при високи стойности на Q_g , толкова по-голяма би следвало да бъде полезната мас-фракция достигаща разряда. Същевременно по-високата стойност за Q_g , предполага по-бързо преминаване на частиците през плазмата, което ще намали времето им на престой във високотемпературния йонизационния източник. Времето за престой на НЧ в плазмата е пряко свързано с процесите на разкаляване, атомизиране и йонизиране и зависи не само от дебита на пулверизиращия газ, но и от позицията на горелката спрямо смплера. Позицията на смплера е параметър, който се дефинира като разстоянието между плазмената горелка и интерфейса – смплер и скимер. Следователно, колкото е по-голямо отстоянието между тези два компонента, толкова по-дълго НЧ ще престоят във високотемпературната зона.

За НЧ съставени от различни елементи, оптималните стойности за двата изследвани параметъра логично се различават, поради разлика в техните физикохимични свойства, като температура на кипене, температура на топене, както и разлика в йонизационните потенциали на самите елементи. При анализ на Pt НЧ D.Torregrosa et al [8] проучват влиянието на двата параметъра и взаимовръзката между тях. Те установяват, че при фиксираната позиция на смплера 4 mm и вариране дебита на пулверизиращия газ от 0.7 до 1.1 L.min⁻¹ се наблюдава драстичен спад в мониторирания сигнал. Този ефект е логично следствие от по-бързото преминаване на частиците през плазмата при по-високите стойности на Q_g и съответно недостатъчното време на престой в горещата зона на източника, което води до неефективно йонизиране на анализа. Подобни резултати се наблюдават и когато стойността на Q_g се запази постоянна 0.7 L.min⁻¹, а позицията на смплера нараства до 12 mm. В този случай намалената работна чувствителност може да бъде обяснена с възникване на процеси на дифузия/разсейване на йоните от центъра на йонния лъч към периферията и съответно тяхната загуба. Оптимални стойности при анализ на Pt НЧ са постигнати при нисък дебит на пулверизиращия газ 0.7 L.min⁻¹, което осигурява достатъчен престой на частиците в плазмата и ниска стойност за позиция на смплера - 4 mm, което пък е предпоставка за по-слабо изразени процеси на дифузия.

В своето изследване C Gómez-Pertusa et al. [9] постигат максимална чувствителност за Pt НЧ при дебит на пулверизиращия газ 1 L.min⁻¹ и позиция на смплера 8 mm. R.P. Lamsal, A. Hineman, C. Stephan et al.[10] докладват най-добро съотношение сигнал/шум при дебит на пулверизиращия газ в диапазона 0.98-1.02 mL min⁻¹ и позиция на смплера 11 mm. Ниските дебита на Q_g , докладвани от тези автори е резултат от употребата на различен тип пулверизатор, който работи при ниско налягане.

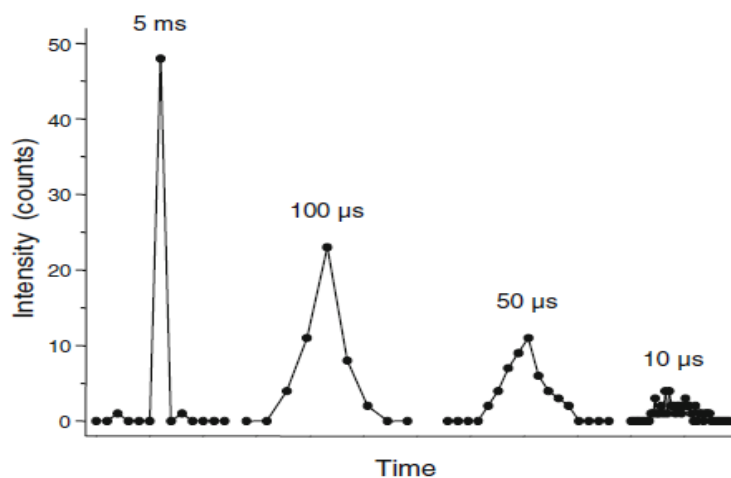
От направения преглед на научната периодика е видно че се наблюдава разнoбой относно установените оптимални стойности и за двата параметъра. Тъй като те силно зависят и от дизайна на пробовъвеждащата система (тип на пулверизатора и пулверизационната камера) се налага тяхната оптимизация за конкретната използвана апаратурна установка.

1.2.2 Време за интегриране и наблюдение

Времето за интегриране (t_d) представлява времето, през което детекторът измерва генерираните от анализа сигнали. За ICP-MS инструментите с единичен квадрупол, t_d е ограничено в милисекундния диапазон. Като се има предвид, че времето необходимо за пълно разкаляване, атомизиране и йонизиране на НЧ с размери под 1 μm е от порядъка на 0.5 ms [11], то при работа с милисекундни времена за интегриране, всеки сигнал от НЧ ще се визуализира като единичен пиков сигнал. Времето за интегриране е важен параметър, който оказва влияние както върху максималния брой частици, които могат да бъдат въведени в плазмата в рамките на избрано време за наблюдение, без сигналите от отделните частици да се припокриват, така и върху разпределението им по размери. Така например, ако t_d е прекалено дълго – над 20 ms, е възможно да се регистрира сигнала за две или повече частици. В резултат от това ще се получи единичен пиков сигнал, със значително по-висок интензитет, което би било причина за занижаване на експериментално изчислената частичковата концентрация. Същевременно, тъй като големината на интензитета е пропорционален на масата на частицата, то по-високите сигнали, генерирани от две НЧ ще резултират в изкуствено завишена маса, съответно диаметри на частиците, което може да бъде причина за изместване на разпределението по размери към по-големи диаметри. В случаите, когато инструменталната техника е ограничена до времена за интегриране на ниво ms или концентрацията на частиците е твърде висока, подходящо решение за справяне с този проблем е пробата да бъде адекватно разредена, като по този начин ще се намали вероятността от едновременно постъпване на две или повече частици в плазмения източник [11].

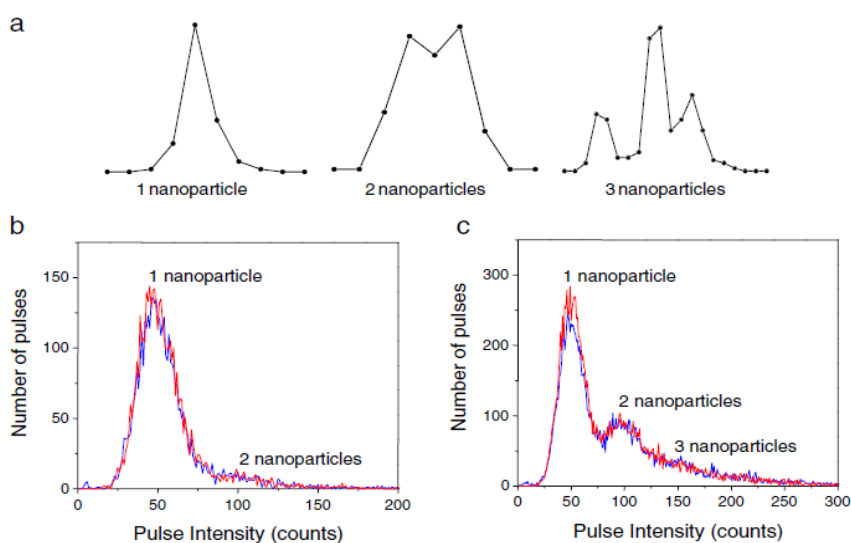
С развитието на технологиите през последните години на пазара се предлагат масспектрометри с по-бързи сканиращи системи, при които времената за интегриране могат да бъдат намалени до около 50 μs . Работата при по-кратки времена за интегриране намалява драстично вероятността от съвпадение на частици, но и усложнява интерпретирането на регистрираните сигнали, тъй като те ще се визуализират като транзитни сигнали, описани с няколко отделни точки. Напр. ако сигналът генериран от

1 НЧ има продължителност около 0.5 ms, то при $t_d = 0.1$ ms този сигнал ще бъде описан с 5 точки (фигура 1).



Фигура 1. Описване на сигналите генерирани от НЧ в зависимост от времето за интегриране [12].

Коректното интегриране на целия пик, принадлежащ на една частица изисква работа със специализирани софтуери, които да позволяват коректна обработка на суровите данните. Сериозен проблем може да бъде невъзможността за коректно разграничаване на два или три транзитни сигнала, генерирани от отделни НЧ, което ще доведе до ефект сходен при милисекундните времена за интегриране – занижена частичкова концентрация и изместване на разпределението по размери към по-големите диаметри. Този ефект е визуализиран на фигура 2.



Фигура 2. Влияние на времето за интегриране върху регистрирания брой частици, а) транзиентни сигнали на 1, 2 и 3 препокрити НЧ; б) 3.10×10^8 и в) $2.2 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ при времена за интегриране $100 \mu\text{s}$ (синя линия) и $50 \mu\text{s}$ (червена линия) [12].

Съгласно представените данни в научната периодика при работа с ICP-MS с единичен квадрупол оптималните времена за интегриране при анализ на Pt НЧ са в диапазона 3-10ms [13][14], докато при бързосканиращите масфилтри най-често анализът се извършва при времена за интегриране от порядъка на $5 \mu\text{s}$ до $100 \mu\text{s}$ [15].

1.2.3 Влияние на транспортната ефективност при анализ на Pt НЧ

Както при ICP-MS, така и при spICP-MS, когато се използват конвенционални системи за въвеждане на проби, само малка част (1–15%) от пулверизираната суспензия ефективно достига до плазмата. Точното определяне на тази фракция, която представлява отношението между аспирираното количество проба и количеството достигнало до плазмата, е известна като транспортна ефективност (η). Тя от съществено значение за коректното изчисляване концентрацията на НЧ в анализираната суспензия, както и при определяне размера на наночастиците, когато се прилага калибрация по йонни стандарти. В научната периодика са познати два основни подхода, за оценка на транспортната ефективност чрез анализ на НЧ със сертифицирани размери и концентрация със spICP-MS [9]:

- i) по сертифициран размер на частиците (TES-метод);
- ii) по честотата на поява (по сертифицирана стойност на частичкова концентрация) (TEF-метод).

1.2.3.1 Изчисляване на транспортната ефективност (η) чрез анализ на суспензия със сертифицирани размери.

При този подход ТЕ може да се изчисли като отношение наклоните на: калибрация по йонни стандарти/калибрация по РМ съгласно **уравнение 4**:

Уравнение 4

$$\eta = \frac{m_{diss}}{m_{NP}},$$

където: m_{NP} - наклон на правата, получена при калибрация по РМ;

m_{diss} - наклон на правата от калибрация по водни стандарти,

За целта са необходими един йонен стандарт на анализа с известна масова концентрация и един РМ на НЧ със сертифицирана стойност за среден размер. Тъй като

при анализ на йонни стандарти регистрирания сигнал ще зависи от ТЕ (количеството йони (маса) на анализа, достигнала до плазмата), докато сигналът генериран от 1 НЧ не зависи от този параметър, то отношението на чувствителностите може да бъде използвано за определяне на ТЕ.

За да бъде ясно кои величини ще оказват влияние при определянето на ТЕ по този подход, уравнение 4 е представено във следния вид:

Уравнение 5:

$$\eta = \frac{\frac{3}{4}\pi \times (d_{Std})^3 \times \rho_{Std} \times f_a \times S \times 60}{I_p \times t_d \times V_S \times 10^{12}}$$

където: d_{Std} – среден размер на НЧ в РМ, nm;

ρ_{Std} – плътност на НЧ, g.cm⁻³; S – сигнал на йонен стандартен разтвор, cps;

I_p – средна стойност на сигналите, генерирани от НЧ в РМ, cps;

t_d – време за интегриране, ms;

V_S – дебит на пробния разтвор, ml.min⁻¹;

f_a – масова фракция на НЧ в РМ.

В случаите, когато ТЕ се изчислява чрез размерите на НЧ е от съществено значение йоните на анализа и наночастиците да се йонизират с идентична ефективност. Частичното разкаляване на НЧ би довело до генерирането на по-нисък сигнал, който ще съответства на по-малка маса и по-малки размери от декларираните в сертификата. Занижаването в размерите на частиците ще се отрази върху наклона на калибрационната права и експериментално изчислената стойността за ТЕ ще бъде фалшиво завишена.

1.2.3.2 Изчисляване на транспортната ефективност (η) чрез анализ на референтен материал по сертифициране стойност за частичкова концентрация:

При определяне на ТЕ по ТЕФ метода е необходим РМ със сертифицирана стойност за частичкова концентрация. Ако такъв РМ е наличен, то ТЕ може да бъде изчислена като отношение на брой регистрирани пикове към общ брой аспирирани частици съгласно **уравнение 6:**

Уравнение 6

$$\eta = \frac{N_{NP}}{V_S \times C_{NP} \times t_{acq}}$$

където: N_{NP} – броят регистрирани частици;

C_{NP} – частичкова концентрация (# NPs.mL⁻¹);

V_s – дебит на пробен поток ($mL\ min^{-1}$);

t_{acq} - време на наблюдение (min);

Коректното определяне на ТЕ по този метод изисква анализираната суспензия да бъде подходящо разреждана, за да се минимизира възможността от съвпадение на частици, както и суспензията да бъде стабилизирана, за да се предотвратят процеси на адхезия на частиците по стените на съдовете и транспортния път [9]. В противен случай и двата ефекта биха довели до загуба на частици и съответно занижаване в ТЕ.

1.2.3.3 Индиректен подход за оценка на транспортната ефективност (η) чрез “dynamic mass flow” метода.

Наскоро S. Cuello-Nunez и съавт. [16] предложиха нов подход, базиран на динамично отчитане на масите доставяни до детектора - „dynamic mass flow” (DMF), който изцяло елиминира необходимостта от РМ за оценка на ТЕ. При този подход, през равни интервали от време, гравиметрично се отчита количеството проба, достигнала до плазмата и общо въведеното количество проба. За целта е необходимо да се осигури непрекъснато аспириране на пробния разтвор в ICP-MS инструмента. Транспортната ефективност се изчислява от наклоните на двете зависимости показващи, количеството проба постъпило в плазмата за единица време и общото количество въведена проба за единица време – $m=f(t)$, съгласно **уравнение 8**: [16]

$$\text{Уравнение 8} \quad \eta = \frac{\text{наклон(количество проба,достигаща до плазмата)}}{\text{наклон(общо количество въведена пробата)}}$$

Методът се счита за алтернативен подход на индиректния waste collection метод, като съществена разлика между двата подхода е, че при DMF метода, капилярата на дренажа се потапя в съда, съдържащ аспирираната проба, което позволява директно да се отчете количеството проба достигнало до плазмата. Друго значително предимство на този подход пред методите, базирани на употребата на сертифицирани РМ на НЧ е възможността за проследимост до системата SI, тъй като се базира на отчитане масите на пробните разтвори.

Въпреки това в скорошна публикация К.Е. Murhy и съавт. [17] докладват, че резултатите за ТЕ, изчислени по DMF метода се различават съществено спрямо тези, изчислени по TEF и TES методите. По-драстични разлики се наблюдават, когато

използваната пулверизационна камера не се охлажда. Авторите считат, че при тези условия DMF метода не може да оцени адекватно полезната мас-фракция, поради процеси на изпарения, които водят до двукратно по-високи стойности за изчислената ТЕ. Друг съществен недостатък, който наблюдават авторите е сериозната невъзпроизводимост в получените стойности за ТЕ, дори в случаите, когато се поддържа постоянна температура на пулверизиращата камера от 2°C, като в някои случаи вариацията в изчислената ТЕ достига до 20%.

От представените в научната периодика данни можем да заключим, че при анализ на Рт НЧ най-широко приложение намират TES и TEF [14][15], тъй като предоставят близки или съпоставими стойности за изчислената транспортна ефективност. Подходът за оценка на ТЕ може да бъде съобразен съгласно целта на анализа - ако основната цел е определяне на размер на НЧ се предпочита да се използва TES метода, докато, ако целта е определяне на частичкова концентрация се предпочита TEF метода [9].

1.3 Калибрационни стратегии при охарактеризиране на размер на наночастици, посредством spICP-MS

За охарактеризиране на размера на НЧ чрез spICP-MS в научната периодика са познати две калибрационни стратегии: i) калибрация по референтен материал с добре охарактеризирани размери; ii) калибрация по йонни стандарти на мониторирувания елемент.

1.3.1 Калибрация по референтен материал с добре охарактеризирани размери

При тази калибрационна стратегия е необходим РМ на НЧ със сертифицирани размери, които да бъдат със същия елементен състав, геометрия и плътност като тези на анализираните НЧ. Тъй като големината на регистрираните сигнали е пропорционална на масата на частиците, достигнали до детектора, масата на всяка частица може да бъде изчислена съгласно **уравнение 2**, а при допускане на сферична геометрия, изчислената от уравнение 2 маса може да бъде трансформирана в съответстващ й диаметър съгласно **уравнение 3**. Това позволява да бъде изведена директна кубична зависимост между сигнала на частицата и нейния диаметър, като колкото повече РМ с различни размери са налични за даден вид НЧ, толкова по-адекватно и надеждно ще бъде дефинирана тази зависимост. За съжаление, тъй като предлагането на такива РМ все още е силно ограничено, в специализирания софтуер на spICP-MS е заложена едноточкова калибрация - по един РМ на НЧ с добре охарактеризирани размери и един йонен стандарт,

необходим за оценка на работната чувствителност.. Липсата на добре охарактеризирани и стабилни във времето РМ за голямо разнообразие от наночастици е сред най-сериозните недостатъци на този тип калибрация и съответно за ограничената ѝ приложимост.[18].

1.3.2 Калибрация по йонни стандарти

За преодоляване на този проблем Расе и съавт. [19] предлагат алтернативен подход, основан на калибрация по йонни стандарти на анализа с известни градиращи концентрации. При този подход стандартно получената калибрационна права, изразяваща зависимостта на интензитет/концентрация на анализа, може да бъде трансформирана в зависимост интензитет/масата на анализа, достигнала до детектора за избрано t_d , съгласно **уравнение 9**.

Уравнение 9
$$m_A = \eta \times t_d \times Vs \times C \times 10^3,$$

където: m_A – масата на анализа, достигнала до детектора за избрано време за интегриране (fg);

η – транспортната ефективност;

Vs – скорост на пробовъвеждащия поток ($mL.ms^{-1}$);

t_d – време за интегриране (ms);

C – концентрация на йонните стандарти ($ng.L^{-1}$)

Това позволява да се изведе калибрационна зависимост между масата на всяка частица, достигнала до детектора и сигналът, който продуцира тя. Приемайки, че анализираниите частици притежават сферична форма, размерът на всяка частица може да бъде изчислен от кубичната зависимост маса/диаметър съгласно уравнение 3, след което да се изведе директна зависимост сигнал/диаметър.

Калибрацията по йонни стандарти намира широко приложение, тъй като позволява охарактеризиране на различни по състав НЧ без необходимост от РМ и позволява по-надеждна оценка на аналитичните характеристики на метода.[13, 14] Въпреки това, за да бъде приложим този подход, е необходимо да бъде доказано сходство в поведението на НЧ и йоните на анализа в разтвора както при тяхното транспортиране, така и в процесите на йонизация и пренос на йонния поток през мас спектрометъра. В противен случай, това би довело до значителни грешки в изчисляването на масата, а от там и размерите на анализираниите НЧ.

1.4 Аналитични характеристики на spICP-MS метода

1.4.1 Подходи за разделяне на домейни от сигнали

При анализ на наночастици чрез използването на spICP-MS се генерират два домейна от сигнали: i) сигнал генериран от НЧ и ii) непрекъснат сигнал, който представлява комбинация от инструменталния фон и сигналите, генерирани от йонните форми на анализа в суспензията. За да бъдат коректно оценени както размерите, така и концентрацията на НЧ в суспензията е необходимо двата домейна от сигнали да бъдат коректно разделени. Един от често използваните подходи се базира на изчисляването на т.нар. граничен критерий, който се представя като средна стойност+3 σ на цялата съвкупност сигнали. Всички стойности, които надхвърлят този критерий се приемат за сигнали, принадлежащи на НЧ и се отделят от общата съвкупност. Тази операция се повтаря докато стойността на критерия не остане постоянна. Всички стойности, които са по-ниски от изчисления критерий се причисляват към съвкупността на постоянния сигнал. [19] С цел намаляване вероятността от допускане на фалшиво положителни грешки, този критерий може да се изчисли на база средната стойност+5 σ или 8 σ . Така например при критична стойност, изчислена като 3 σ ($\alpha=0.00135$), което означава, че 0.135% от всички сигнали ще се считат за частици, докато за критерий 5 σ , появата на фалшиви положителни резултати ($\alpha=3\times 10^{-7}$) ще бъдат значително намалени.[21]

1.4.2 Граница на откриване по отношение на размери

Границата на откриване по отношение на размери LOD_{size} се дефинира като най-малкия размер на наночастици, който може надеждно да се разграничи от постоянния сигнал. Тя зависи от три основни фактора: чувствителността на инструмента към даден елемент, плътността на материала на наночастиците и нивото на фоновия шум в пробната матрица. От **уравнение 3**

$$d_p = \sqrt[3]{\frac{M_p \times 6}{\rho \times \pi}} = \sqrt[3]{\frac{I_{NP} \times 6}{\rho \times \pi \times R \times f_a}} = \sqrt[3]{\frac{I_{NP} \times 6\eta}{\rho \times \pi \times K \times f_a}}$$

където: f_a – масова фракция на анализа в материала на наночастиците,[5]

R – чувствителността на детектора (counts g⁻¹),

I_{NP} – сигналът генериран от частицата,

η – транспортна ефективност

K – наклон на калибрационната крива по йонни стандарти

следва, че по-високата работна чувствителност и по-голямата плътност на наночастиците водят до по-ниски стойности на LOD_{size} , докато по-високият фонов шум увеличава LOD_{size} . Следователно границата на откриване по отношение на размери за НЧ, съставени от различни елементи ще варира. Например, за наночастици от тантал (Ta), уран (U), иридий (Ir), родий (Rh), торий (Th) и церий (Ce), се наблюдават ниски стойности за LOD_{size} - често под 10 nm. За разлика от тях, наночастици, съставени от елементи като селен (Se), калций (Ca) и силиций (Si), имат много по-високи стойности на LOD_{size} , като в някои случаи те надвишават 200 nm. При анализ на Pt НЧ установените в литературата данни за LOD_{size} [13,14,21].

В опитите за подобряване на границите на откриване по отношение на размери, се разглеждат различни аналитични стратегии, като използването на CCT (collision cell technology), която намалява фоновия сигнал чрез разбиване/минимизиране на полиатомните радикали. За целта се използва реакционна/колизионна клетка, която се намира преди квадрупола на масспектрометъра, през която се пропуска реакционен газ (напр. H_2 или NH_3) или колизионен газ (He).[14] Колизионният газ се пропуска в посока перпендикулярна на йонния лъч, като при сблъсък с полиатомните радикали, под действието на удара те се разбиват на съставлящите ги йони, при което променят своята m/z и не достигат до квадрупола. При прилагането на реакционен газ се цели изместване по маси – за анализа или пречещия компонент, чрез взаимодействие с реакционния газ, благодарение, на което се генерира йон с различна m/z от тази на радикалите. По този начин през квадрупола преминава само избраната m/z , съответстваща на анализа. Въпреки това, термохимията осигурява висока степен на специфичност за йон-молекулни реакции, протичащи в реакционна клетка. Оказва се, че въпреки че CCT е ефективен за подобряване границите на откриване за някои елементи, като ванадий, мед и желязо, за други, особено за по-тежките той е по-малко ефективен, а в някои случаи дори контрапродуктивен, поради факта, че сблъсъка между колизионния газ и йоните в йонния лъч става на случаен принцип, т.е. ще се осъществява сблъсък както между He и пречещите йони, така и между He и йоните анализа, което ще намали инструменталната чувствителност.

Друга възможност за подобряването на LOD_{size} е избор на оптимално време за интегриране в микросекундния диапазон, при който фонните сигнали могат да бъдат практически редуцирани почти до 0 за някои елементи.[22]

1.4.3 Фонов еквивалентен диаметър

Фоновият еквивалентен диаметър (BED) е ключов параметър при маспектрометрията с индуктивно свързана плазма в режим на детекция на единични частици (spICP-MS), и представлява средният непрекъснат сигнал генериран от йонната концентрация и показва какъв размер биха имали частиците, които регистрират сигнал равен на фоновия. BED се извлича от фоновата еквивалентна маса (BEM), която представлява минималната маса, която може да бъде разграничена от фоновия шум на инструмента. Приемайки, че формата на частиците е сферична с известен състав, BED може да се изчисли от BEM, предоставяйки представа за чувствителността и възможностите за откриване на инструмента.

BED се влияе от няколко фактора, като чувствителността на инструмента, фоновия шум и физичните и химичните свойства на изследваните наночастици. Повишаването на чувствителността на инструмента и намаляването на фоновия шум може да намали BED, което позволява откриването на по-малки наночастици. Това е особено важно в области като мониторинг на околната среда, безопасност на храните и нанотехнологии, където точното характеризане на наночастиците е от съществено значение.

II. Цел и задачи на дипломната работа

Целта на настоящата дипломна работа е да се охарактеризират размерите и разпределението по размери на Pt НЧ посредством масспектрометрия с индуктивно свързана плазма в режим на детекция на единични наночастици (spICP-MS).

За постигане на поставената цел са формулирани следните изследователски задачи:

- 1 Да се установят оптималните инструментални параметри при анализ на Pt НЧ.
- 2 Да се оцени транспортната ефективност по два независими подхода – чрез РМ със сертифицирани размери; и чрез директен гравиметричен метод;
- 3 Да се оцени влиянието на транспортната ефективност, изчислена по двата метода върху размерите и разпределението по размери при анализ на Pt НЧ чрез калибрация по йонни стандарти.
- 4 Да се оценят аналитичните характеристики на метода.

III. Експериментална част

3.1 Използвана апаратура

Квадруполен масспектрометър с индуктивно свързана плазма ICP-MS Agilent 7700 (Токуо, Япон) със специализиран софтуерен пакет, позволяващ анализ на единични наночастици (spICP-MS). Работните параметри на масспектрометъра са описани в Таблица 1.

Таблица 1. Работни параметри на ICP-MS Aglient

Условия на плазмения разряд	
RF мощност	1.55 kW
Ar охлаждащ поток	15 L min ⁻¹
Ar спомагателен поток	0.9 L min ⁻¹
Ar пулверизиращ поток	1.15 L min ⁻¹
Дебит на пробовъвеждащ поток	0.199 ± 0.003 mL min ⁻¹
Пулверизатор:	MicroMist
Аерозолна камера:	Scott double pass, Peltier cooled 2°C
Конуси на интерфейса (смплер и скимер):	Ni
Настройки на мас-спектрометъра	
Резолюция:	0.8 amu
Режим на наблюдение:	Режим на наблюдение на времеви сигнали
Време за наблюдение (t _{aqc}):	1 min
Време за единично измерване (t _d):	5 ms
Изследвани аналити и монитоприрани изотопи:	¹⁹⁵ Pt и ¹⁰⁷ Ag

Друга използвана апаратура и лабораторни съдове:

- 5 Ултразвукова вана модел Kerry US 54
- 6 Система за ултра чиста вода ELGA Veolia модел PURELAB Chorus 2+
- 7 Електронни везни Kern ABJ 220-4NM с клас на прецизност от 0.1 mg
- 8 Микролитрови пипети VWR и BRAND
- 9 Епруветки с конично дъно и винтова капачка с обем 50 mL и полиетиленови чашки с обем 100 mL

3.2 Използвани реагенти

- Моноелементен стандартен разтвор на Pt с концентрация $99.96 \pm 0.48 \text{ mg L}^{-1}$ в среда от 2% HCl с $d = 1.006 \text{ g/cm}^3$ при 20°C
- Моноелементен стандартен разтвор на Ag с концентрация $100 \pm 0.41 \text{ mg L}^{-1}$ в среда от 2% HNO₃, $d = 1.006 \text{ g/cm}^3$ при 20°C (CPAchem Ltd, Bulgaria)
- Сертифициран референтен материал на цитратно стабилизирани Pt НЧ с размери $50 \text{ nm} \pm 5$ и обща масова концентрация 50 mg L^{-1} , закупени от Sigma Aldrich.
- Сертифициран референтен материал на цитратно стабилизирани Ag НЧ със среден размер $40 \pm 4 \text{ nm}$ и обща масова концентрация 20 mg L^{-1} , закупени от Sigma Aldrich.
- В хода на експеримента са използвани също:
 - 69% HNO₃, ThermoFisher Scientific, TRACEMETAL Grade;
 - Ултрачиста вода (UPW);

3.3 Подготовка на стандарти разтвори за външна калибрация по йонни стандарти и оценка на работната чувствителност.

- За оценка на работната чувствителност са използвани два йонни стандартни разтвора на Ag и Pt с концентрация $1 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. Работните разтвори са приготвени гравиметрично, чрез разреждане с UPW в среда на 0.1% (v/v) HNO₃.
- За калибрацията по йонни стандарти са приготвени серия от калибрационни йонни стандарти на Pt в концентрационен диапазон $0.1 \text{ ng L}^{-1} - 2.0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, в среда от 0.5% (v/v) HNO₃, чрез гравиметрично разреждане с UPW. Концентрациите на йонните стандарти са подбрани така, че да отговарят на Pt НЧ с размери в диапазона 30-80 nm.

3.4 Подготовка на сертифицирани референтни материали

Използваните СРМ на двете суспензии, съдържащи НЧ са разреждени тегловно с UPW до краен фактор $DF = 10^6$ и крайна обща масова концентрация 50 ng L^{-1} за Pt НЧ и 20 ng L^{-1} за Ag НЧ. С цел предотвратяване формиране на агрегати всички работни суспензии са третираны на УЗ вана за 10 мин.

3.5 Обработка на сигнали

Суровите данни, получени от специализирания софтуер на ICP-MS при анализ на НЧ са експортирани в Microsoft Excel. За разделяне двата домейна от сигнали – принадлежащи на НЧ и тези на непрекъснатия сигнал, е използван подходът предложен

от Расе [19]. За целта се изчислява средната стойност ($\bar{x}$) на цялата съвкупност от сигнали и съответстващото им стандартно отклонение. Като threshold критерий се приема $\bar{x}+3\times SD$. Всички сигнали, които надвишават стойността на критерия се преписват към домейна от сигнали на наночастиците, и се отделят от общата съвкупност на сигнали. Операцията се повтаря с останалата извадка, докато останат само сигнали, които не надвишават зададения критерий- $\bar{x}+3\times SD$. Извадката, останала след статистическата обработка се приписва на постоянния сигнал (фонов сигнал + сигнал на йонната форма), а селектираните при всички операции сигнали (бегълци), принадлежат на домейна на наночастиците.

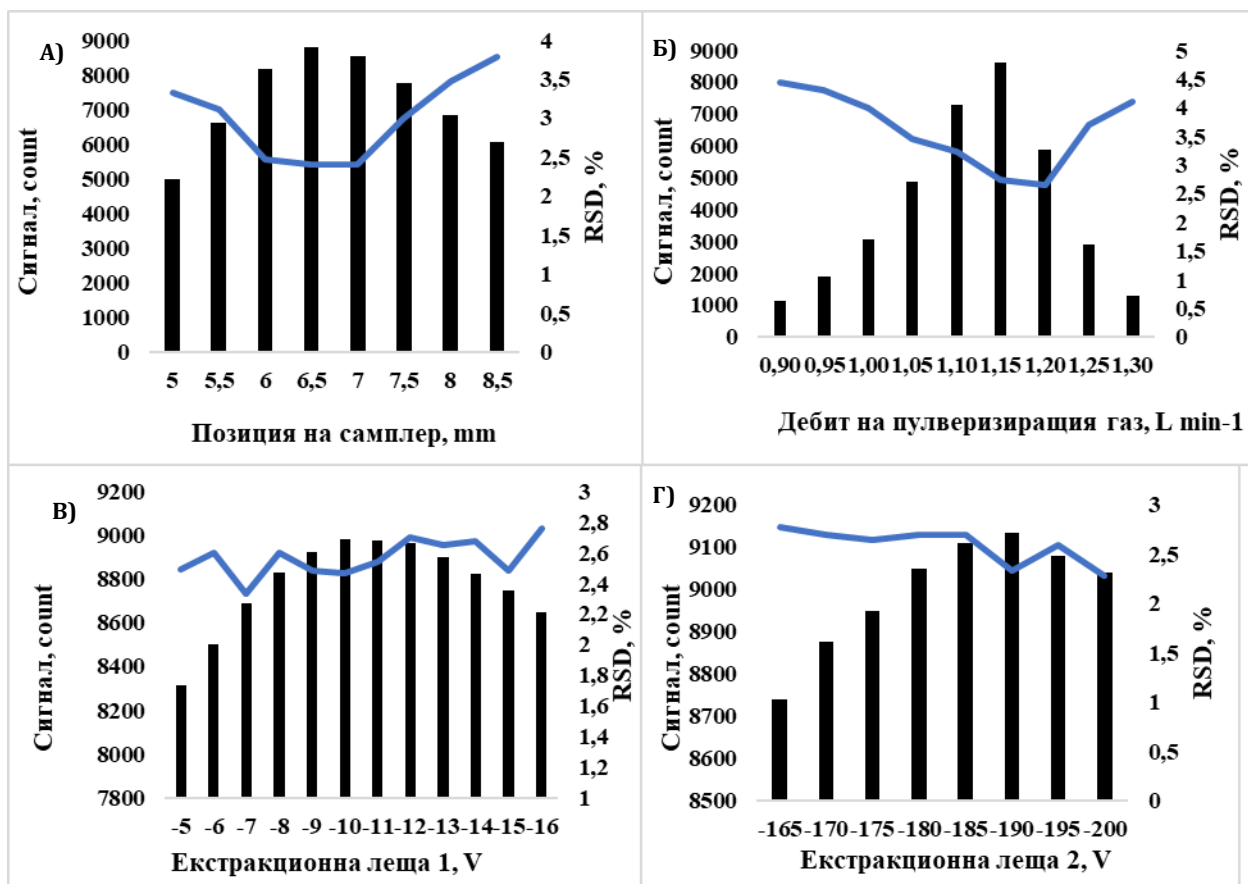
IV. Резултати и дискусия

4.1 Оптимизация на инструменталните параметри при анализ на Pt НЧ

При количествено определяне на повече от един елемент чрез ICP-MS обикновено се провежда оптимизация на инструменталните параметри, с цел постигане на компромисна чувствителност в целия масов диапазон - за леки, средни и тежки маси. За разлика от стандартния режим на работа, при spICP-MS се наблюдава само един изотоп на даден елемент, което позволява да се проведе насочена оптимизация с цел постигане на максимално съотношение сигнал/шум за конкретен аналит. За постигане на оптимална работна чувствителност при анализ на Pt НЧ изследвахме влиянието на някои ключови инструментални параметри, свързани с процесите на йонизация и последващ транспорт на аналита към масфилтъра, като дебит на пулверизиращия газ, позиция на горелката спрямо самплера, екстракционни лещи 1 и 2, върху нивото и стабилността на сигналите, генерирани от ^{195}Pt . За целта проведохме насочена еднофакторна оптимизация като последователно варирахме изследваните параметри при непрекъснато аспириране на йонен стандарт на Pt с концентрация $1\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$. Резултатите са графично представени на фигура 3 А-Г.

Въз основа на експериментално получените резултати можем да заключим, най-съществено влияние оказват дебитът на пулверизиращия газ и позицията на горелката спрямо самплера, което е в съответствие с докладваните в научната периодика данни [8–10]. Позицията на горелката е пряко свързана с времето на престой на НЧ в плазмения източник. По-ниската чувствителност, и нарастването на шума при ниските стойности на позицията на самплера, най-вероятно се дължат на непълна йонизация на Pt, докато при високите стойности, този ефект се дължи на процеси на разфокусиране на йонния лъч. Другият параметър, който оказва съществен ефект върху нивото и стабилността на сигнала е дебита на пулверизиращия газ. Този параметър е свързан не само с времето за престой на аналитите в плазмата, но и с процесите на формиране и транспорт на аерозолните капки, в които се носи аналита. Останалите два изследвани параметъра – потенциалите на екстракционни лещи 1 и 2, оказват незначителен ефект върху нивото и стабилността на сигнала, като за екстракционна леща 1 този ефект е $< 8\%$, а за екстракционна леща 2 $< 5\%$, както може да се види от резултатите, представени на фигура 3 В и Г.

Всички по-нататъшни експерименти са проведени при установените оптимални стойности, а именно 6.5 mm позиция на смплера, 1,15 L min⁻¹ дебит на пулверизация газ, -10 и -190 V за екстракционна леща 1 и 2.



Фигура 3. Оптимизация на: А) позиция на горелката спрямо смплера, Б) дебит на пулверизация газ Ar, потенциали на В) 1-ва екстракционна леща и Г) 2-ра екстракционна леща при въвеждане на йонен стандарт на Pt.

4.2 Оценка на ТЕ при анализ на Pt НЧ

За оценка на ТЕ са приложени два независими подхода: i) чрез анализ на РМ със сертифицирана стойност на размер на НЧ; и ii) чрез динамично отчитане на масите достигнали до детектора.

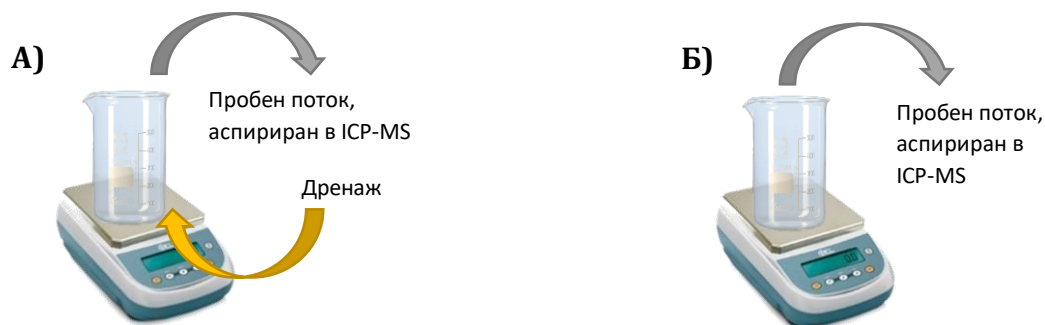
Подходът, базиран на РМ със сертифициран размер е сред най-често използваните методи за оценка на ТЕ. Транспортната ефективност се изчислява като отношение на чувствителностите получени при въвеждане на йонен стандарт на анализа към тази за НЧ в РМ. За оценка на ТЕ в настоящото изследване е използван РМ на Pt НЧ със сертифицирани размери 50±5 nm и един йонни стандарт Pt с концентрация 1 µg L⁻¹. С цел

минимизиране вероятността от едновременно постъпване на повече от една частица в плазмения източник, РМ е предварително разреден гравиметрично с UPW до краен $DF=10^6$ и хомогенизиран на УЗ вана за 10 мин непосредствено преди измерване. ТЕ е изчислена съгласно **уравнение 5**, при следните инструментални параметри $t_d=5\text{ ms}$, $t_{acq}=1\text{ min}$ и $V_s = 0.199\text{ ml min}^{-1}$. Изчислената ТЕ по РМ на Pt НЧ съответства на 0.138 ± 0.01 .

Тъй като на пазара не са налични РМ със сертифициран размер за всички видове НЧ, много често при определянето на ТЕ се използва РМ на НЧ с различен елементен състав, от този на изследваните, като Ag или Au НЧ [16, 22]. В случаите, когато за оценка на ТЕ се прилага подходът, базиран на частичкова концентрация, разликата в елементния състав не би трябвало да оказва влияние, тъй като при този поход ТЕ се изчислява като отношение на въведен брой частици към достигнал брой частици. Когато обаче се прилага методът базиран на размер, и при изчисляване на ТЕ се взема предвид масата на частицата е от критично значение да се постигне пълно разкаляване и ефективно йонизиране на частиците в използвания РМ. Тъй като различните НЧ се характеризират с различни физикохимични свойства като температура на топене и кипене, то логично би било и инструменталните параметри, при които да се наблюдава пълно разкаляване, атомизиране и йонизиране да се различават. Това поставя под въпрос дали използването на РМ от друг материал би се отразило върху изчислената ТЕ, а от там и върху размерите на изследваните Pt НЧ, когато се използва калибрация по йонни стандарти. За да проверим това за оценка на ТЕ използвахме РМ на Ag НЧ с размери $40\pm4\text{ nm}$ и йонен стандарт на Ag с концентрация $1\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$. Експеримент бе проведен при същите инструментални параметри, както при анализ оценка на ТЕ по РМ на Pt НЧ. Изчислената стойност за ТЕ е близка до тази, получена чрез РМ на Pt НЧ – 0.147 ± 0.05 . Близките стойности за експериментално определените ТЕ могат да бъдат обяснени с близките оптимални инструментални параметри при анализ на Ag НЧ, установени от нас в предходни изследвания: 1.2 L.min^{-1} за дебит на пулверизация газ и 7 mm за позиция на смплера, спрямо 1.15 L.min^{-1} , съответно 6.5 mm за Pt.

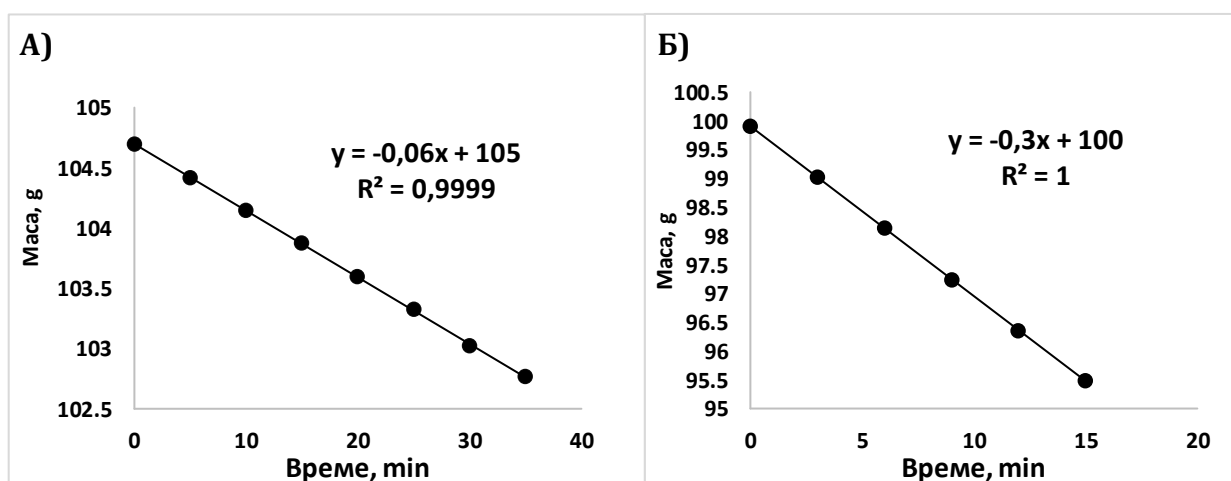
Друг алтернативен подход, наскоро предложен в научната периодика е т. нар. метод на динамично отчитане на масите, достигнали до детектора. При този подход гравиметрично се отчита количеството проба достигнало до детектора и общо въведеното количество проба през определен интервал от време. Следователно, този подход позволява определяне на ТЕ без необходимост от РМ на НЧ. Използваната експерименталната постановка е схематично представена на фигура 4 А и Б, като

количеството проба достигнало до детектора е отчитано на всеки 5 min, а общо въведеното в ICP-MS количество проба на всеки 3 min. Времето за аспириране при отчитане на първия параметър е 35 min, а за втория съответно 15 min. Преди провеждане на експеримента системата е оставена за 30 min при непрекъснато аспириране, с цел нейното кондициониране.



Фигура 4 Експериментална постановка, използвана при: А) отчитане на количеството разтвор, достигнал до плазмата; Б) общо въведено

За оценка на ТЕ най-напред са построени графични зависимости, които показват количеството проба, достигнало до плазмата и общо въведеното в инструмента количество проба, като функция от времето. Графичните зависимости са представени на фигура 5А и Б съответно. ТЕ е изчислена като отношение на наклоните на двете линейни зависимости съгласно **уравнение 8**.



Фигура 5 А) Отчитане на количеството разтвор, достигнал до плазмата на всеки 5 min; Б) Общо въведено количество проба, отчетено на всеки 3 min.

Изчислената ТЕ по този метод съответства на 0.187 ± 0.05 . Полученият резултат е с около 26% по-висок, от ТЕ изчислена по размер на НЧ за двата РМ. По-високите резултати са в съответствие с представените в литературата данни, като възможна причина за това биха били евентуални процеси на изпарение, в резултат на което ТЕ ще бъде изкуствено завишена.

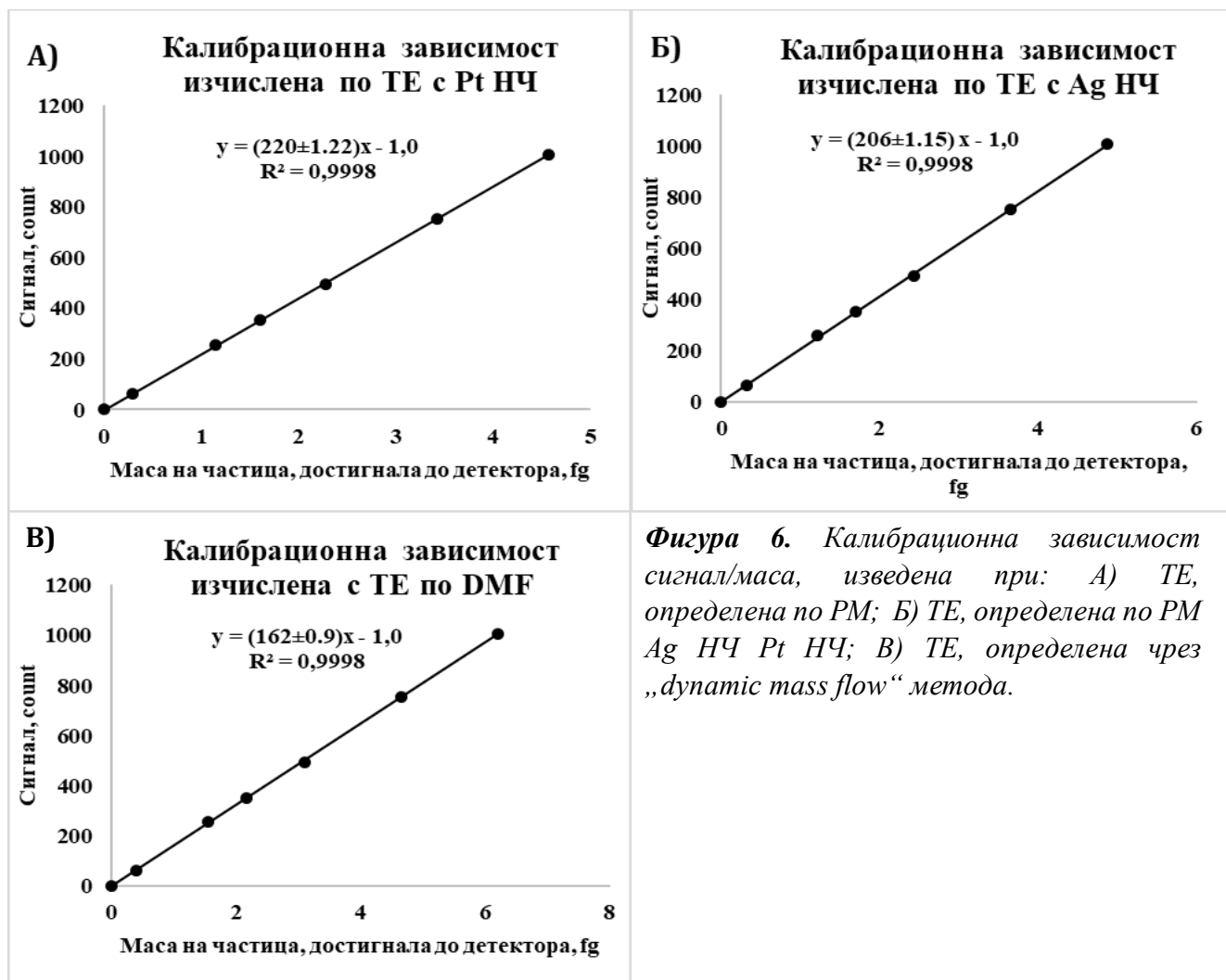
4.3 Охарактеризиране на Pt НЧ чрез калибрация по йонни стандарти

За оценка на размерите и разпределението по размери на изследваните Pt НЧ бе приложена калибрация по йонни стандарти. За целта са подготвени калибрационни йонни стандарти на Pt в концентрационен диапазон $0.1-2.0 \mu\text{g.L}^{-1}$, като концентрациите на работните стандарти са подбрани така, че да съответстват на Pt НЧ с размери от 30 до 80 nm. Подготвените стандартни разтвори са измерени в режим на детекция на единични наночастици при следните условия: $V_s=0,199$, $t_d=5\text{ms}$, $t_{aq}=1 \text{ min}$, след което концентрацията на всеки стандарт е трансформирана в съответстващата му маса (fg) съгласно **уравнение 9**. Изчислените маси при трите транспортни ефективности са представени в таблица 2.

Таблица 2. Маса на платина, достигнала до детектора за избрано време за интегриране при конкретна транспортна ефективност.

C, $\mu\text{g.L}^{-1}$		0	0.13	0.5	0.7	1	1.5	2.0
m, fg	ТЕ по РМ за Pt НЧ	0	0.3	1.1	1.6	2.3	3.4	4.6
	ТЕ по РМ за Ag НЧ	0	0.3	1.2	1.7	2.4	3.7	4.9
	ТЕ по DMF метода	0	0.4	1.6	2.2	3.1	4.7	6.2

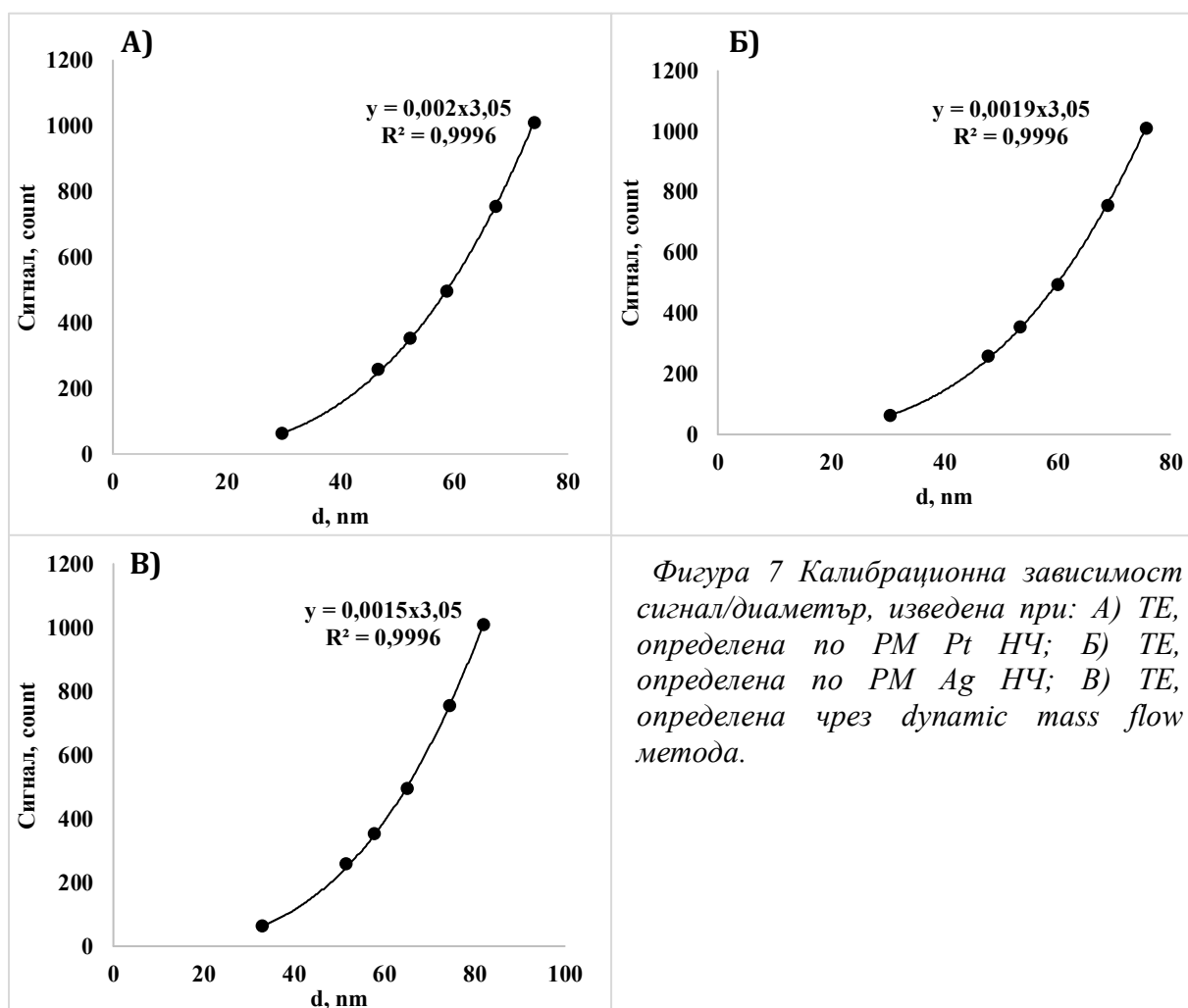
Това позволява да се изведе калибрационна зависимост на сигнала от масата на Pt достигнала до детектора при избраното време за интегриране. За да оценим влиянието на ТЕ, върху масата на Pt доставена до детектора, са изведени три калибрационни зависимости при трите изчислени ТЕ. Получените резултати са графично представени на фигура 6 А, Б и В).



Фигура 6. Калибрационна зависимост сигнал/маса, изведена при: А) ТЕ, определена по РМ; Б) ТЕ, определена по РМ Ag НЧ Pt НЧ; В) ТЕ, определена чрез „dynamic mass flow“ метода.

От наклоните на калибрационните зависимости е видно, че най-висока чувствителност се постига, когато се използва ТЕ, изчислена по РМ със сходен елементен състав като този на изследваните НЧ. По-ниските работни чувствителности, изчислени с ТЕ, получени по останалите два подхода са логично следствие от факта, че на един и същи сигнал се приписва по-голяма маса на анализа, достигнала до детектора. Същевременно високите стойности, получени за коефициент на детерминираност (R^2) са доказателство за добро съответствие между експериментално получените данни и теоретичния модел.

За наночастици с постулирана сферична форма, всяка маса може да бъде трансформирана в съответстващия ѝ диаметър съгласно **уравнение 3**, което позволява да се изведе директна зависимост на диаметъра на НЧ от регистрираните сигнали. Изведените зависимости и при трите транспортни ефективности са представени графично на фигура 7 А,Б и В.



Фигура 7 Калибрационна зависимост сигнал/диаметър, изведена при: А) ТЕ, определена по РМ Pt НЧ; Б) ТЕ, определена по РМ Ag НЧ; В) ТЕ, определена чрез dynamic mass flow метода.

Параметрите на функционалната зависимост показват много добро съответствие на експерименталните данни с теоретичния модел за изчисляване диаметър на НЧ със сферична форма. Същевременно високите стойности на коефициента на детерминираност (R^2) за кубична калибрационна функция сигнал/размер за Pt НЧ са доказателство за добро съответствие на експерименталните данни със съответните регресионните модели в изследвания диапазон. От уравнения на калибрационната зависимост сигнал/диаметър сигналите на калибрационните стандарти са директно трансформирани в съответстващите им диаметри. Оценена е и неопределеността по размер на единични НЧ и е представена като стандартно отклонение. За целта стандартните отклонения на сигналите ($\pm SD$) са директно трансформирани в стандартни отклонения по размер ($\pm SD$). Изчислените диаметри и съответстващите им неопределености са представени в таблица 3.

Таблица 3. Изчислени диаметри на Pt НЧ и съответстващите им интервални оценки, представени като $\pm SD$.

ТЕ по РМ за Pt НЧ	-SD	1.7	1.2	1.3	1.2	1.1	1.1
	d,nm	30	47	53	59	67	74
	+SD	1.5	1.2	1.2	1.1	1.1	1.0
ТЕ по РМ за Ag НЧ	-SD	1.7	1.3	1.3	1.2	1.1	1.1
	d,nm	30	48	53	60	69	75
	+SD	1.5	1.2	1.2	1.1	1.1	1.1
ТЕ по DMF метода	-SD	1.8	1.4	1.4	1.3	1.2	1.2
	d,nm	33	52	58	65	74	82
	+SD	1.6	1.3	1.3	1.2	1.2	1.2

Получени стойности за размер, изчислени чрез калибрация по йонни стандарти, когато ТЕ се определя по РМ са статистически съпоставими, независимо от елементния състав на НЧ в РМ. Наблюдава се нарастване в интервални оценки с намаляване размерите на НЧ, като те са асиметрични, и тази асиметрия е по-ясно изразена при по-малките по размер НЧ. Този ефект е следствие от кубичната зависимост между диаметъра и масата на частиците, тъй като малки промени в масата ще водят до по-големи разлики в размерите. На база получените резултати определихме разделителната способност на метода (на база 1σ критерий и 68% статистическа сигурност), като за наночастици с размер между 30 и 80 nm тя варира в диапазона от 3.4 до 2.2. Разделителната способност на метода позволява да си направи статистически обоснован избор на големината на клъстерите при оценка разпределението по размери.

Изведените кубичните зависимости сигнал/диаметър по трите ТЕ са приложени за оценка размерите и разпределението по размери на Pt НЧ с размери 50 ± 5 nm. Изчислените стойности за размер $\pm SD$ са представени в таблица 4.

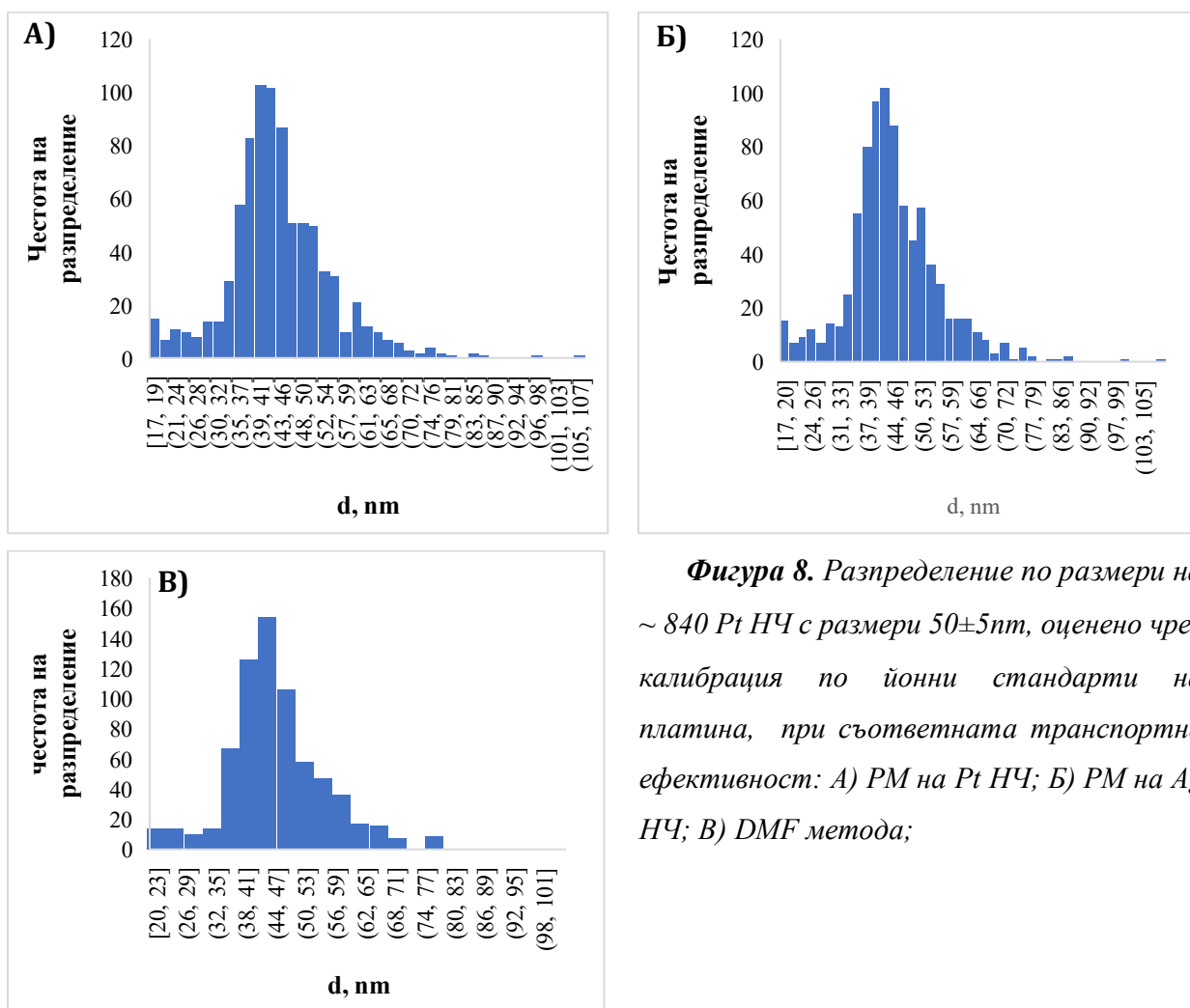
Таблица 4. Оценка на среден размер, най-често срещан размер и медианен размер при анализ на Pt НЧ

	ТЕ по Ag НЧ	ТЕ по Pt НЧ	ТЕ по DMF
Медианен размер	43 ± 2	43 ± 2	47 ± 2
Най-често срещан размер	43 ± 2	42 ± 2	46 ± 2
Среден размер	45 ± 2	45 ± 2	49 ± 2

Въпреки че, от представените данни е видно, съответствие между изчислените стойности за среден размер и посочените стойности в сертификата, независимо от

използвания подход за оценка на ТЕ, впечатление прави, че стойностите получени по DMF метода са с 10% по-високи спрямо средните размери получени по TES метода. Това е в съответствие с публикуваните до момента данни. Въз основа на получените резултати можем да заключим, че ТЕ изчислена по РМ на Ag НЧ е преносима и приложима при охарактеризиране на суспензия, съдържаща Pt НЧ.

На база изчислените интервални оценки е направено разпределение по размери на изследваните частици като за А) и Б) големината на клъстерите съответства на 2 nm, а за В) съответно на 3 nm. . Получените хистограми са представени на фигура 8.



Фигура 8. Разпределение по размери на ~ 840 Pt НЧ с размери 50 ± 5 nm, оценено чрез калибрация по йонни стандарти на платина, при съответната транспортна ефективност: А) РМ на Pt НЧ; Б) РМ на Ag НЧ; В) DMF метода;

Представените хистограми показват разпределение близко до нормалното, като разпределението по размери се характеризира с много голяма дисперсия както може да се види от фигура 8.

4.4 Оценка на аналитичните характеристики на метода.

Аналитичните характеристики на метода - LOD_{size} и BED, са изчислени по получените калибрационни уравнения от зависимостта сигнал/диаметър по трите метода за определяне на ТЕ. Получените резултати за LOD_{size} и BED са представени в таблица 5.

Таблица 5. Оценка на LOD_{size} и BED при анализ на Pt НЧ

	ТЕ по Ag НЧ	ТЕ по Pt НЧ	ТЕ по DMF
LOD_{size} , nm	11	10	12
BED, nm	6	5	6

Получените от нас резултати са съпоставими с тези публикувани в други изследвания на Pt НЧ [14] и можем да кажем че разработения от нас метод за оценка възможностите за охарактеризиране на Pt НЧ чрез spICP-MS е приложим за реални проби.

V. Изводи и заключения

1. Установени са оптималните инструментални параметри при анализ на Pt чрез spICP-MS.
2. Приложени са 2 подхода за оценка на ТЕ, като успешно е оценено влиянието на този параметър върху размерите и разпределението по размери на Pt НЧ.
3. От получените резултати можем да заключим, че ТЕ по РМ на Ag НЧ е преносима при анализ на Pt НЧ.
4. Успешно е приложена калибрация по йонни стандарти при охарактеризирането на Pt НЧ с размери 50 ± 5 nm.
5. Оценени са аналитичните характеристики на spICP-MS метода.

Благодарности: Това проучване е финансирано от Европейския съюз - NextGeneration EU, чрез Националния план за възстановяване и устойчивост на Република България, проект № BG-RRP-2.004-0001-C01.

VI. Използвана литература

1. Gadad, A.P., Kumar, S.V.V., Dandagi, P.M., Bolmol, U.B., Pallavi, N.P.: Nanoparticles and their Therapeutic Applications in Pharmacy.
2. Stark, W.J., Stoessel, P.R., Wohlleben, W., Hafner, A.: Industrial applications of nanoparticles. *Chem Soc Rev.* 44, 5793–5805 (2015). <https://doi.org/10.1039/c4cs00362d>
3. Mozhayeva, D., Engelhard, C.: A critical review of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry-A step towards an ideal method for nanomaterial characterization, (2020)
4. Goenaga-Infante, H., Bartczak, D.: Single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (spICP-MS). In: *Characterization of Nanoparticles: Measurement Processes for Nanoparticles*. pp. 65–77. Elsevier (2019)
5. Goossens, E.: Size detection limits of spICP-MS for analysis of nanoparticles in environmental media.
6. Jeyaraj, M., Gurunathan, S., Qasim, M., Kang, M.H., Kim, J.H.: A comprehensive review on the synthesis, characterization, and biomedical application of platinum nanoparticles, (2019)
7. Pedone, D., Moglianetti, M., De Luca, E., Bardi, G., Pompa, P.P.: Platinum nanoparticles in nanobiomedicine, (2017)
8. Torregrosa, D., Grindlay, G., Gras, L., Mora, J.: Unraveling the role of aerosol transport on nanomaterial characterization by means single particle inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom.* 38, 1874–1884 (2023). <https://doi.org/10.1039/d3ja00134b>
9. Geiss, O., Bianchi, I., Bucher, G., Verleysen, E., Brassinne, F., Mast, J., Loeschner, K., Givélet, L., Cubadda, F., Ferraris, F., Raggi, A., Iaconi, F., Peters, R., Undas, A., Müller, A., Meinhardt, A.K., Hetzer, B., Gräf, V., Montoro Bustos, A.R., Barrero-Moreno, J.: Determination of the Transport Efficiency in spICP-MS Analysis Using Conventional Sample Introduction Systems: An Interlaboratory Comparison Study. *Nanomaterials.* 12, (2022). <https://doi.org/10.3390/nano12040725>
10. Lamsal, R.P., Hineman, A., Stephan, C., Tahmasebi, S., Baranton, S., Coutanceau, C., Jerkiewicz, G., Beauchemin, D.: Characterization of platinum nanoparticles for fuel cell applications by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* 1139, 36–41 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.09.021>
11. Hineman, A., Stephan, C.: Effect of dwell time on single particle inductively coupled plasma mass spectrometry data acquisition quality. In: *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. pp. 1252–1257. Royal Society of Chemistry (2014)
12. Abad-Álvaro, I., Peña-Vázquez, E., Bolea, E., Bermejo-Barrera, P., Castillo, J.R., Laborda, F.: Evaluation of number concentration quantification by single-particle inductively coupled plasma mass spectrometry: microsecond vs. millisecond dwell

- times. *Anal Bioanal Chem.* 408, 5089–5097 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9515-y>
13. Sánchez-Cachero, A., Jiménez-Moreno, M., Fariñas, N.R., Martín-Doimeadios, R.C.R.: Critical evaluation of key parameters in single particle ICP-MS data processing for the correct determination of platinum nanoparticles in complex environmental and biological matrices. *Microchimica Acta.* 190, (2023). <https://doi.org/10.1007/s00604-023-06032-2>
 14. Sánchez-Cachero, A., Fariñas, N.R., Jiménez-Moreno, M., Martín-Doimeadios, R.C.R.: Quantitative analysis and characterization of PtNPs in road dust based on ultrasonic probe assisted extraction and single particle inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc.* 203, (2023). <https://doi.org/10.1016/j.sab.2023.106665>
 15. Gupta, S., Allal, A., Preud'Homme, H.: Multi-screening analysis of single nanoparticles by the first multi-quadrupole ICPMS/MS. *Green Technology, Resilience, and Sustainability.* 3, (2023). <https://doi.org/10.1007/s44173-023-00011-9>
 16. Cuello-Núñez, S., Abad-Álvaro, I., Bartczak, D., Del Castillo Busto, M.E., Ramsay, D.A., Pellegrino, F., Goenaga-Infante, H.: The accurate determination of number concentration of inorganic nanoparticles using spICP-MS with the dynamic mass flow approach. *J Anal At Spectrom.* 35, 1832–1839 (2020). <https://doi.org/10.1039/c9ja00415g>
 17. Murphy, K.E., Montoro Bustos, A.R., Yu, L.L., Johnson, M.E., Winchester, M.R.: Comparison of direct and indirect measures of transport efficiency in single particle inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc.* 212, (2024). <https://doi.org/10.1016/j.sab.2023.106841>
 18. Meermann, B., Nischwitz, V.: ICP-MS for the analysis at the nanoscale-a tutorial review, (2018)
 19. Pace, H.E., Rogers, N.J., Jarolimek, C., Coleman, V.A., Higgins, C.P., Ranville, J.F.: Determining transport efficiency for the purpose of counting and sizing nanoparticles via single particle inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal Chem.* 83, 9361–9369 (2011). <https://doi.org/10.1021/ac201952t>
 20. Wilschefske, S.C., Baxter, M.R.: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clinical Biochemist Reviews.* 40, 115–133 (2019). <https://doi.org/10.33176/AACB-19-00024>
 21. Laborda, F., Gimenez-Inglaturre, A.C., Bolea, E., Castillo, J.R.: Single particle inductively coupled plasma mass spectrometry as screening tool for detection of particles. *Spectrochim Acta Part B At Spectrosc.* 159, (2019). <https://doi.org/10.1016/j.sab.2019.105654>
 22. Lee, S., Bi, X., Reed, R.B., Ranville, J.F., Herckes, P., Westerhoff, P.: Nanoparticle size detection limits by single particle ICP-MS for 40 elements. *Environ Sci Technol.* 48, 10291–10300 (2014). <https://doi.org/10.1021/es502422v>