

УДК 543

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРОВ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ВОДНЫХ ДИСПЕРСИЯХ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ С ИНДУКТИВНО СВЯЗАННОЙ ПЛАЗМОЙ В РЕЖИМЕ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ОДИНОЧНЫХ ЧАСТИЦ

© 2022 г. З. А. Темердашев<sup>а</sup>, \*, О. А. Галицкая<sup>а</sup>, М. А. Большов<sup>б</sup>, К. А. Романовский<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Кубанский государственный университет  
ул. Ставропольская, 149, Краснодар, 350040 Россия

<sup>б</sup>Институт спектроскопии Российской академии наук  
ул. Физическая, 5, Троицк, Москва, 108840 Россия

\*e-mail: temza@kubsu.ru

Поступила в редакцию 24.06.2021 г.

После доработки 21.07.2021 г.

Принята к публикации 22.07.2021 г.

Обсуждаются особенности выбора условий определения размеров наночастиц серебра в водных дисперсиях методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой в режиме детектирования одиночных частиц (SP-ICP-MS). Показано, что лимитирующими факторами определения размеров наночастиц аналита являются степень разбавления образца и время накопления сигнала в оптимизированных условиях работы масс-спектрометра. Достоверное определение размеров наночастиц серебра 60 и 100 нм при продолжительности анализа 60 и 180 с соответственно достигли при их концентрации 2–4 нг/мл. Продемонстрирована возможность прогнозирования времени накопления сигнала для наночастиц известного размера. На примере полидисперсной смеси наночастиц серебра с размерами 60 и 100 нм при времени накопления сигнала 10 мс показано определение нескольких средних размеров наночастиц.

**Ключевые слова:** наночастицы серебра, анализ размеров наночастиц, MS-ИСП, детектирование отдельных частиц.

**DOI:** 10.31857/S0044450222010145

Наночастицы (НЧ) серебра входят в число часто применяемых наноматериалов и широко распространены благодаря антибактериальным свойствам, хорошей проводимости и каталитической активности [1]. Обширной областью их применения является медицина – обработка ран, терапия заболеваний, доставка лекарств, диагностические исследования и фармакология [2]. Проводниковые свойства НЧ серебра способствовали их использованию в электронике, а антибактериальные свойства сделали их популярной добавкой при производстве косметики, средств гигиены, чистящих средств и иных потребительских товаров [3].

Применение НЧ серебра, с другой стороны, может иметь негативные последствия и быть причиной заболеваний из-за накопления серебра в организме [4]. Факт токсического действия НЧ серебра известен, но вопросы о механизме их отрицательного действия во многом остаются открытыми. Токсическое действие НЧ определяется их физико-химическими характеристиками – размером, формой, зарядом, площадью и

другими показателями [5]. При этом обычно размер НЧ серебра имеет определяющее значение [6].

Для определения размеров НЧ серебра нужны схемы анализа, позволяющие изучать их с достаточной достоверностью и высокой экспрессностью. Из общепринятых подходов к определению размеров НЧ можно выделить следующие:

- методы визуализации – микроскопические [7, 8] и рентгеновские [9]. Они в достаточной мере достоверны, позволяют проводить прямое измерение, но характеризуются длительной и сложной подготовкой образцов;

- методы светорассеяния – динамическое рассеяние света и оптическая спектроскопия позволяют проводить быстрый рутинный анализ, но плохо подходят для полидисперсных образцов [8, 9];

- методы разделения – проточное фракционирование в поперечном силовом поле [8, 10–14] достаточно эффективно предварительно разделяет фракции частиц, но значительно увеличивает продолжительность анализа;

**Таблица 1.** Рабочие параметры масс-спектрометра iCAP RQ

Параметр	Значение
Мощность генератора плазмы, Вт	1200
Поток плазмообразующего Ag, л/мин	14
Поток вспомогательного Ag, л/мин	0.8
Поток пробоподающего Ag, л/мин	1
Скорость потока пробы, л/мин	0.3
Режим сканирования	Разрешение по времени
Время накопления сигнала, мс	0.5–20
Наблюдаемые массы	107

• масс-спектрометрию с индуктивно связанной плазмой в режиме детектирования одиночных частиц (SP-ICP-MS).

Последний метод представляется универсальным для определения размеров НЧ, характеризуется малым временем анализа, хорошей воспроизводимостью и высокой производительностью [13–20]. Производительность анализа (скорость набора данных) и высокая чувствительность SP-ICP-MS позволяют определять статистически значимые количества НЧ при их очень низких содержаниях [15]. Специфика разделения отдельных НЧ во времени при проведении SP-ICP-MS-анализа обуславливает необходимость тщательного выбора параметров работы масс-спектрометров [17, 18]. Развитие SP-ICP-MS расширило сферу применения метода в определении размеров НЧ серебра в объектах окружающей среды [13], коммерческих продуктах [19], биологических объектах [14], при исследовании модельных дисперсий [18] и др. Однако зачастую выбор условий анализа не имеет должного обоснования.

Стандартные дисперсии НЧ серебра являются одними из коммерчески доступных стандартных образцов (RM 8017, NIST, США; № 730777, Sigma-Aldrich, США и др.). Они находят применение при прямом для НЧ серебра и косвенном для НЧ других элементов SP-ICP-MS-определении размеров частиц [17, 20]. Применение НЧ серебра в качестве стандартного образца позволит отработать схему применения метода SP-ICP-MS для дальнейшего использования при характеристике НЧ других материалов в условиях отсутствия стандартных образцов. Корректный подсчет числа НЧ стандартного образца, введенных в систему для определения транспортной эффективности, возможен только в режиме измерения, при котором зарегистрированная интенсивность сигнала — это интенсивность целой НЧ, а не ее фрагмента или нескольких НЧ вместе. Реализация такого режима измерения требует оптимизации его ос-

новных параметров — времени накопления сигнала, скорости потока пробы, концентрации НЧ.

Настоящая работа посвящена применению SP-ICP-MS для разработки методики характеристики стандартных образцов НЧ серебра различных размеров в водных системах с целью дальнейшего ее использования для анализа дисперсий других материалов. В исследовании метод SP-ICP-MS применяли как для характеристики монодисперсий НЧ серебра, так и анализа смесей НЧ серебра различных размеров.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Материалы и реактивы.** В качестве модельного объекта использовали стабилизированные цитратом натрия водные стандартные суспензии НЧ серебра с размерами 60 и 100 нм в исходной концентрации 0.02 мг/мл (Sigma-Aldrich, США). Для приготовления растворов для исследований использовали деионизованную воду (система НПК Медиана-Фильтр, Россия).

**Подготовка модельных суспензий к анализу.** Перед разбавлением стандартные суспензии НЧ серебра подвергали обработке в течение 30 мин при постоянном охлаждении в ультразвуковой ванне ГРАД 40-35 (Град-Технолоджи, Россия) для достижения равномерного распределения НЧ в объеме растворителя. Все приготовленные образцы анализировали в течение часа с момента их приготовления, предварительно подтвердив стабильность размеров НЧ серебра в течение этого времени. Для предотвращения деградации НЧ серебра все образцы готовили в защищенной от света посуде.

**Стабильность размеров наночастиц** в водной суспензии контролировали для каждой серии измерений путем анализа образцов в начале и в конце измерения в идентичных условиях. Сравнивали частотные распределения сигналов образцов в координатах частота сигнала—его интенсивность, эксперимент считали достоверным при идентичности полученных распределений интенсивностей сигналов образца.

**Схема анализа методом SP-ICP-MS.** Исследования проводили на масс-спектрометре с индуктивно связанной плазмой iCAP RQ (Thermo Fisher Scientific, США), параметры работы которого приведены в табл. 1. Сигнал регистрировали на рекомендуемой массе 107, соответствующей изотопу  $^{107}\text{Ag}$  с распространенностью 51.84%. Режим сканирования с временным разрешением позволил регистрировать изменение сигнала на постоянной массе 107 в течение заданного общего времени измерения равными интервалами. Величина единичного интервала определялась временем накопления сигнала на массе 107.

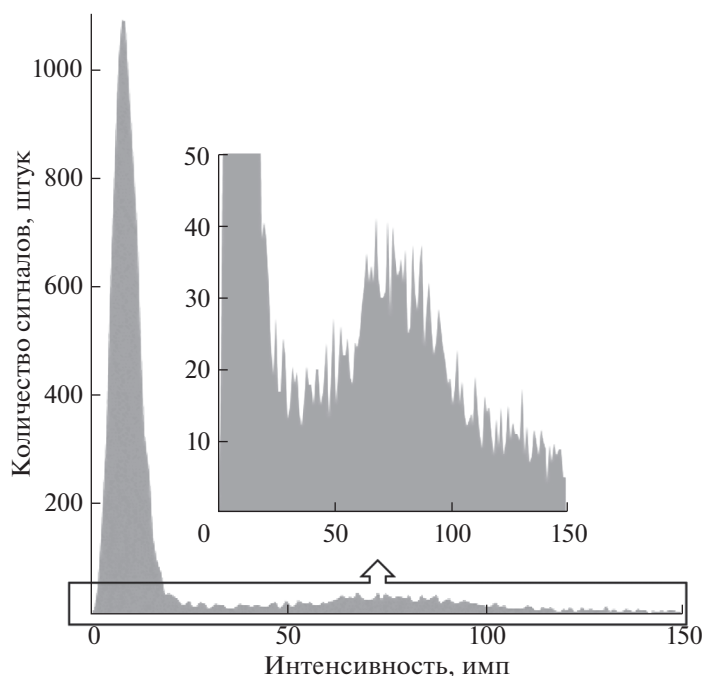


Рис. 1. Полный и масштабированный виды распределения интенсивностей сигналов образца НЧ серебра.

**Обработка результатов анализа.** Полученный массив данных обрабатывали с использованием ПО Microsoft Office Excel. Интенсивности сигналов для каждого отдельного измерения, полученные за время общего измерения, представляли в виде графического распределения (гистограммы) в координатах количество сигналов–интенсивность, где количество сигналов – общее число сигналов с данной интенсивностью (рис. 1). Полученные значения интенсивностей, которые представляли собой отношение числа полученных за один интервал времени накопления сигнала импульсов к величине времени накопления, приводили к абсолютной величине – импульсу, что позволило сравнить распределения сигналов суспензии НЧ серебра, полученных при разном времени их накопления.

Распределения сигналов аналита представлены без коррекции на величину фонового сигнала в исходном виде (для всех представленных рисунков). Представление данных в таком формате позволило комплексно оценить влияние условий анализа на распределение интенсивностей сигналов НЧ серебра и сигналов фона, обусловленного наличием растворенной формы элемента в деионизованной воде. В каждом случае распределения сигналов НЧ серебра масштабировали по оси ординат “Количество сигналов, штук” до удобного для их визуальной оценки масштаба (рис. 1).

**Влияние разбавления образца на функцию распределения размеров наночастиц** изучали для слу-

чаев недостаточного и избыточного разбавления растворов в диапазонах концентраций 0.4–10 и 0.4–20 нг/мл в водных суспензиях НЧ серебра с размерами 60 и 100 нм соответственно (рис. 2). Диапазон недостаточного и избыточного разбавления выбирали таким образом, чтобы полученные распределения позволяли корректно описать вид распределения сигналов в этих условиях. После каждого разбавления образцы подвергали ультразвуковой обработке в течение 5 мин для достижения равномерного распределения НЧ серебра в объеме растворителя. Общее время измерения для каждого образца составило 60 и 180 с для НЧ серебра с размерами 60 и 100 нм соответственно.

**Влияние времени накопления сигнала на функцию распределения размеров наночастиц** изучали с использованием суспензий НЧ серебра с размерами 60 и 100 нм с концентрациями 2 и 0.8 нг/мл. Выбранные концентрации соответствовали требованию изолированного детектирования сигнала каждой отдельной НЧ. При оптимальном разбавлении суспензии не наблюдали наложение сигнала нескольких НЧ в одном интервале сканирования. Диапазон времен накопления 0.5–10 и 5–20 мс для НЧ серебра с размерами 60 и 100 нм обеспечивал возможность оценки изменения функции их распределения при недостаточном и избыточном времени накопления. Общее время измерения составило 60 и 300 с для НЧ серебра размерами 60 и 100 нм соответственно.

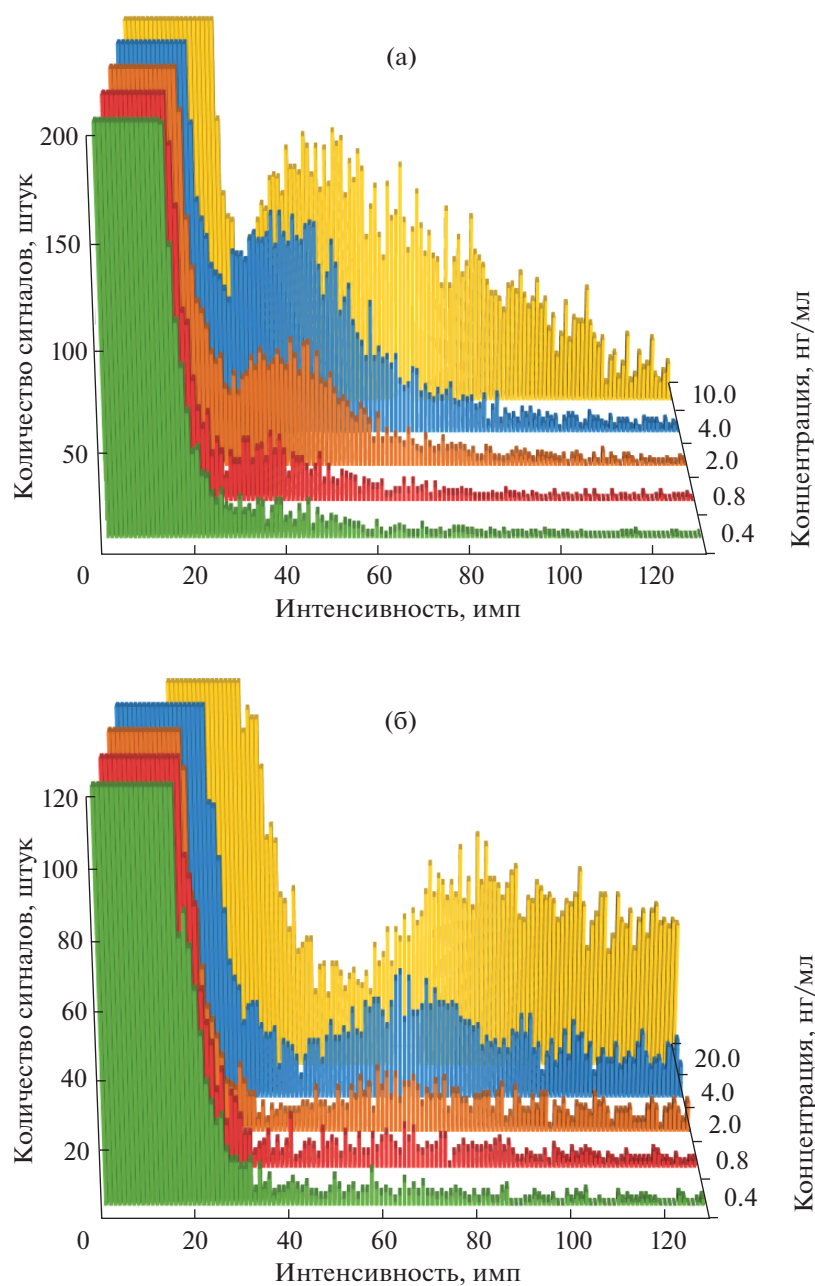


Рис. 2. Распределения интенсивностей сигналов НЧ серебра (60 и 100 нм) в указанном диапазоне концентраций.

**Полидисперсный образец наночастиц серебра** готовили как смесь из суспензий НЧ 60 и 100 нм с концентрациями 0.2 и 2 нг/мл соответственно, которые соответствовали требованию изолированного детектирования каждой отдельной НЧ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Влияние разбавления пробы на функцию распределения размеров наночастиц.** Получение достоверных результатов возможно при соблюдении условия детектирования одной частицы в одном

интервале накопления сигнала [11, 13]. Разрешение частиц по шкале времени (по интервалам накопления сигнала) в спектре достигается в основном существенным разбавлением анализируемой суспензии. Высокая степень разбавления суспензии позволит также скомпенсировать влияние многокомпонентной матрицы при анализе сложных объектов. В идеальном случае равномерно распыляемый в плазму образец по большей части представляет собой растворитель с редкими вкраплениями единичных НЧ.

Монодисперсную суспензию НЧ серебра с размером 60 нм в диапазоне концентраций 0.4–10 нг/мл исследовали с сохранением условий измерения при постоянном времени накопления 3 мс. Полученная в этих условиях сводная диаграмма распределений позволила увидеть изменение функции распределения размеров НЧ серебра при постепенном увеличении степени разбавления исследуемой суспензии (рис. 2). С повышением степени разбавления суспензии увеличивалась вероятность регистрации в спектре интенсивности сигнала, соответствующей сигналу одной НЧ серебра. Снижение степени разбавления (повышение концентрации НЧ в объеме растворителя) приводило к увеличению частоты сигналов большей интенсивности, что выражалось расширением правого края распределения на оси интенсивностей в сторону больших значений для концентрации 4 нг/мл (рис. 2). Правый край распределения становился более пологим, а симметрия распределения нарушалась в большей степени. Данный эффект, по-видимому, вызван одновременным детектированием двух, трех и более НЧ в одном интервале накопления. Увеличение концентрации НЧ серебра приводило также к смещению в сторону больших интенсивностей максимума распределения, что является критичным при определении размеров НЧ. Смещение максимума распределения сигналов НЧ (рис. 2) начинали наблюдать при концентрации выше 4 нг/мл, оно было особенно выражено при максимальных концентрациях диапазонов.

Важным показателем при построении распределения интенсивностей сигналов НЧ является общее количество зарегистрированных НЧ, число которых зависит от разбавления пробы. Экспериментальные данные позволили установить, что для построения распределения с выраженным максимумом достаточно около 1000 зарегистрированных НЧ серебра, хотя максимум распределения начинает проявляться даже при меньших значениях.

Распределение НЧ серебра с размером 60 нм (рис. 2а) при концентрации серебра 0.8 нг/мл имело в достаточной степени выраженный максимум при общем числе зарегистрированных частиц 763 штук (табл. 2). С уменьшением количества зарегистрированных НЧ серебра возможность корректной интерпретации функции распределения их размеров снижалась. При концентрациях ниже 0.8 нг/мл установление максимума для распределений НЧ серебра 60 нм было затруднено, а при разбавлении до 0.4 нг/мл (415 частиц) стало невозможным. Аналогичные зависимости наблюдали и для НЧ серебра 100 нм (рис. 2б). Для этих частиц видимый максимум распределения проявлялся при концентрации 2 нг/мл и общем числе зарегистрированных частиц 1257 штук

**Таблица 2.** Зависимость числа регистрируемых частиц (штук/мин) от концентрации дисперсии НЧ серебра 60 и 100 нм

Размер НЧ серебра, нм	Концентрация НЧ серебра, нг/мл			
	4.0	2.0	0.8	0.4
60 нм	3980	1964	763	415
100 нм	942	419	203	107

(419 штук/мин), который еще отсутствовал при концентрации 0.8 нг/мл и общем числе зарегистрированных частиц 609 штук (203 штук/мин) (табл. 2).

Увеличение степени разбавления с целью сохранения наибольшей вероятности детектирования каждой отдельной НЧ повышает продолжительность анализа. В этих условиях количество зарегистрированных НЧ возможно довести до необходимого уровня, но при этом будет снижаться общая экспрессность анализа.

В случаях проведения массового анализа построение сводных диаграмм разбавлений неудобно и требует дополнительных операций. Наиболее экспрессной представляется визуальная (без дополнительных алгоритмов обработки данных) оценка массива исходных данных – последовательного ряда значений интенсивностей сигналов, зарегистрированных детектором за каждое единичное время накопления. Такой подход позволяет оценить оптимальность разбавления образца без затрат значительного времени на получение полноценного спектра с необходимым числом НЧ. Общее время измерения, состоящее из нескольких десятков единичных интервалов накопления сигнала, например, 0.1 с (100 мс) при времени накопления 1 мс, позволит увидеть превышающие фоновый сигнал сигналы НЧ за счет более высоких значений интенсивностей. Высокие значения интенсивностей сигналов НЧ обязательно должны прерываться несколькими интервалами накопления сигнала с соответствующей фоновому сигналу интенсивностью для соблюдения условия разрешения НЧ во времени.

**Разрешение между сигналами наночастиц на спектре во времени.** Разделяющее сигналы НЧ серебра число единичных интервалов накопления с сигналом фона варьируется в силу неравномерности их поступления в систему. Промежуток со средним значением в десять единичных интервалов накопления, за которые не регистрировался сигнал НЧ серебра, был минимален для удовлетворительного разрешения сигналов НЧ на спектре. При меньших средних значениях промежутка времени повышалась вероятность одновременного детектирования нескольких НЧ серебра в одном интервале накопления сигнала, что недопустимо. Для повышения вероятности

**Таблица 3.** Расчетное разрешение между сигналами НЧ серебра в условиях их равномерного поступления при разном времени измерения, накопления и разбавлении\*

Время накопления сигнала, мс	Время измерения, с				Число частиц в объеме за время измерения, штук
	10	50	100	500	
0.5	2000	10000	20000	100000	10
	200	1000	2000	10000	100
	20	100	200	1000	1000
1	1000	5000	10000	50000	10
	100	500	1000	5000	100
	10	50	100	500	1000
5	200	1000	2000	10000	10
	20	100	200	1000	100
	2	10	20	100	1000
10	100	500	1000	5000	10
	10	50	100	500	100
	1	5	10	50	1000

\* Число интервалов накопления сигнала с интенсивностью на уровне фонового сигнала.

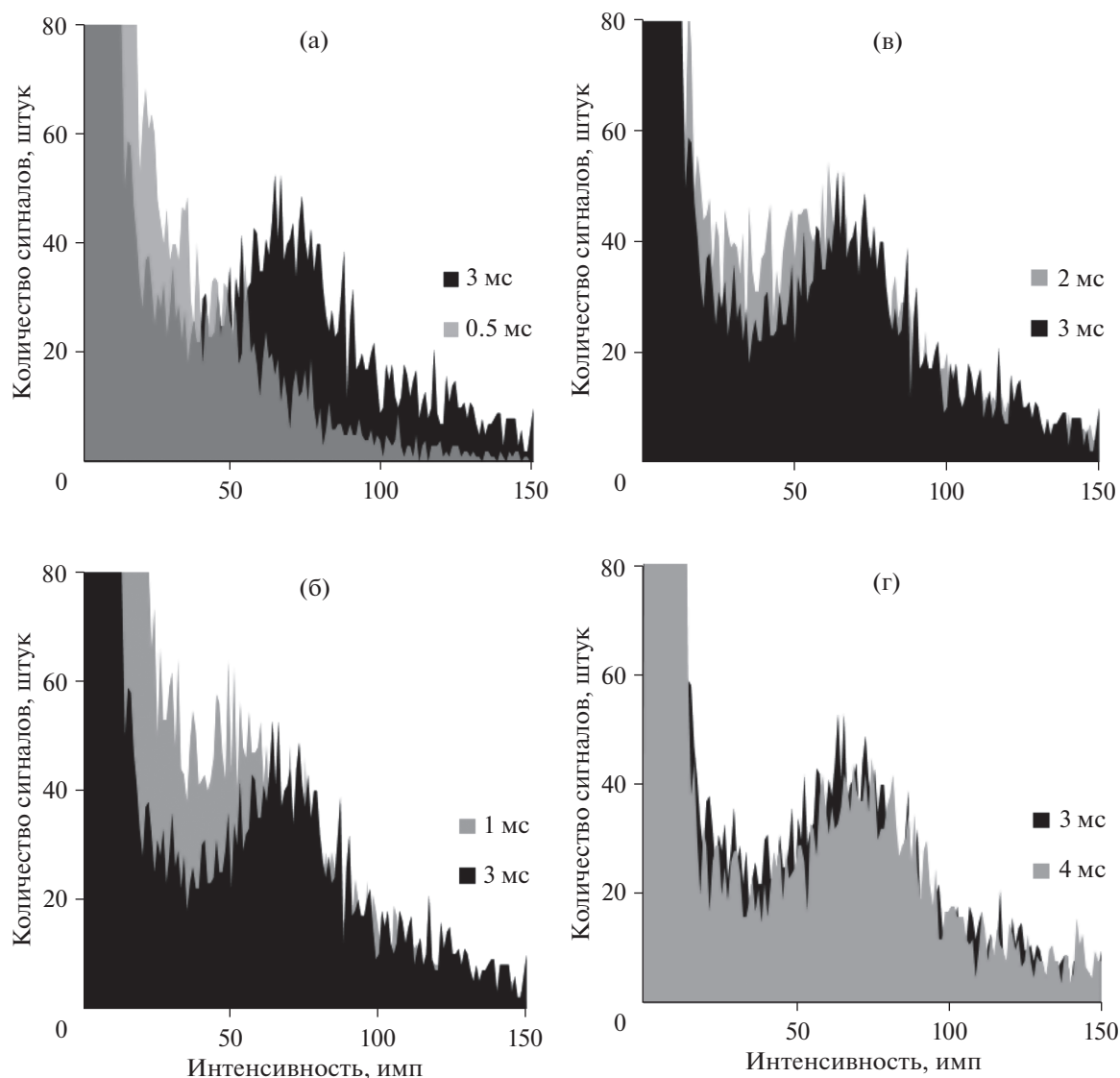
детектирования каждой отдельной НЧ серебра измерение лучше проводить при максимальном разрешении между сигналами отдельных НЧ с сохранением оптимального (удовлетворяющего требованиям) общего времени измерения. Например, анализ суспензии НЧ серебра при времени накопления 1 мс с общим временем измерения 60 с обеспечивал (в условиях равномерного поступления) расчетное разрешение между НЧ в 60 интервалов для получения общего количества зарегистрированных НЧ порядка 1000 штук (верно для концентрации 1 нг/мл, не представлена в табл. 2).

Вероятность детектирования нескольких НЧ серебра в одном интервале времени накопления сигнала повышалась с увеличением числа НЧ в объеме пробы и увеличением продолжительности времени накопления. Предположительное расчетное разрешение между НЧ серебра определялось тремя факторами: используемым временем накопления, выбранным разбавлением и желательным общим временем измерения необходимого минимума НЧ (табл. 3).

При времени накопления 1 мс и общем времени измерения 100 с фиксированное (содержащееся во введенном в систему за все время измерения объеме пробы) количество НЧ серебра в идеальном случае распределяется между 100 000 единичных интервалов накопления сигнала с расчетным разрешением между НЧ 100 интервалов. При времени накопления 10 мс количество НЧ серебра распределяется между 10 000 интервалов с разрешением всего 10 интервалов. При этом общее количество зарегистрированных НЧ серебра в обоих случаях теоретически одинаково. Для сохране-

ния достаточной вероятности детектирования каждой отдельной НЧ серебра в единичном интервале накопления сигнала увеличение времени накопления требует большего разбавления, а значит, и большей общей продолжительности измерения для детектирования нужного количества НЧ. Регистрация 1000 НЧ с минимальным разрешением в 10 интервалов накопления сигнала возможна за 10 с при времени накопления 1 мс; увеличение времени накопления до 5 мс потребует уже не менее 50 с общего времени измерения для получения такого же числа НЧ с аналогичным разрешением. При использовании фиксированной концентрации образца, позволяющей зарегистрировать 100 НЧ за 10 с при времени накопления 10 мс, регистрация 1000 НЧ потребует увеличения времени измерения до 100 с.

**Влияние времени накопления на функцию распределения размеров наночастиц.** Для изучения влияния времени накопления на распределение интенсивностей сигналов суспензии НЧ серебра 60 нм осуществили ее разбавление до концентрации серебра 2 нг/мл, подходящей для времени накопления максимальной величины. Остальные условия измерения оставались постоянными для всего диапазона времен накопления от 0.5 до 10 мс (рис. 3). Частотное распределение сигналов на массе 107 представляло собой бимодальное распределение (рис. 1). Первый максимум соответствовал распределению сигналов фона, второй – распределению сигналов НЧ серебра. Графическая иллюстрация на рис. 3 приведена в масштабе, удобном для оценки распределений сигналов НЧ серебра. При этом максимум рас-



**Рис. 3.** Распределения интенсивностей сигналов НЧ серебра 60 нм: (а) 0.5 и 3 мс; (б) 1 и 3 мс; (в) 2 и 3 мс; (г) 3 и 4 мс; (д) 3 и 5 мс; (е) 3 и 10 мс.

пределения сигналов фона оказывается обрезанным во всех случаях. Полученные при разных временах накопления распределения сигналов НЧ серебра различны (рис. 3). При соблюдении условия “одна НЧ в одном интервале накопления сигнала” распределения разрешены между собой, а максимум распределения сигналов НЧ серебра имеет выраженную форму (рис. 3в–3е). В проведенных экспериментах наиболее оптимальными оказались распределения сигналов НЧ серебра, полученные в интервале накопления 3–4 мс (рис. 3г). Они в достаточной степени соответствовали описанным ранее требованиям. Приняв эталонным распределение сигналов НЧ серебра, полученное при времени накопления 3 мс (присутствует для сравнения на рис. 3а–3е), можно выявить основные закономерности, наблюдае-

мые при изменении величины единичного интервала накопления сигнала.

Интенсивность фонового сигнала пропорциональна времени накопления сигнала. Большое время накопления приводило к большему значению интенсивности фонового сигнала, тогда как генерируемый НЧ серебра сигнал оставался неизменным (при условии, что он регистрировался целиком). Если сигналы НЧ и растворенной формы аналита (фоновый сигнал) регистрируются строго изолированно друг от друга, можно предположить, что увеличение времени накопления может привести к ухудшению соотношения сигнал/шум. Это утверждение оказалось верным для времен накопления менее 1 мс, когда доля интервалов с нулевым фоновым сигналом достаточно



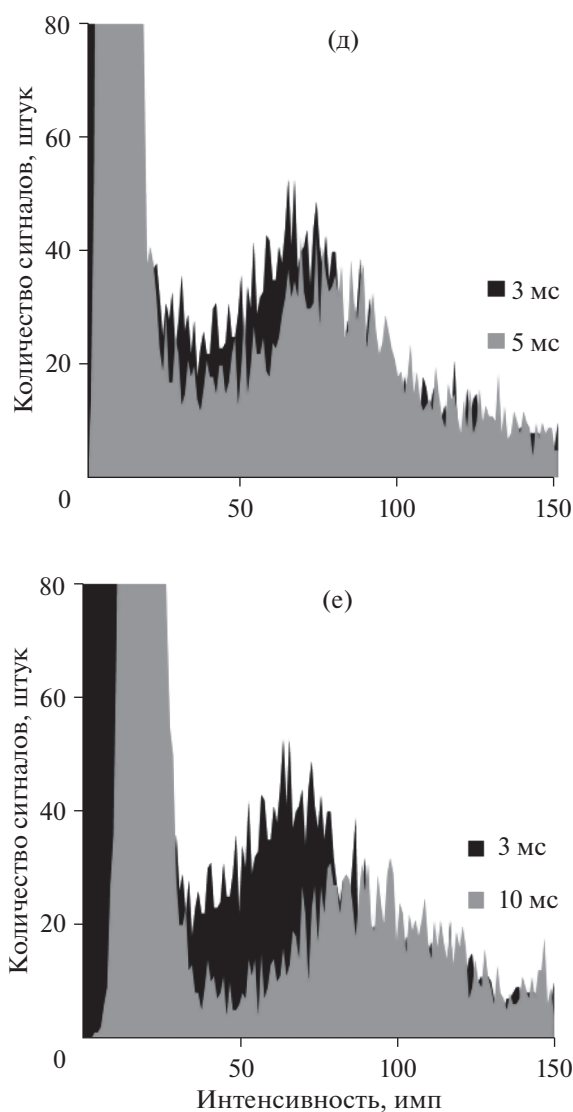


Рис. 3. Окончание.

велика (табл. 4). Из-за роста фонового сигнала при увеличении времени накопления увеличивается вероятность повышения предела определения. При временах накопления более 1 мс количество интервалов с незарегистрированными сиг-

налами крайне мало (табл. 4). Из этого следует, что при накоплении в течение более 1 мс интенсивность сигнала для большей части единичных интервалов (более 95%) характеризует собой интенсивность сигнала фона, а при регистрации сигнала НЧ серебра в этом же интервале – суммарную интенсивность сигнала НЧ и фона.

Таким образом, увеличение вклада интенсивности фонового сигнала в суммарную интенсивность сигнала НЧ серебра и фона приводило к смещению распределения НЧ серебра по оси интенсивностей в сторону больших значений с увеличением времени накопления. На рис. 3 это видно при сравнении распределений сигналов НЧ серебра 60 нм, полученных при времени накопления 5 мс (рис. 3д) и 10 мс (рис. 3е), с распределением, полученным при 3 мс и принятым эталонным. При этом функция распределения менялась несущественно. Смещение распределения по оси интенсивности происходило без его деформации, т.е. изменения его образа, симметрии (рис. 3д, 3е). Изменение образа распределения из-за одновременного детектирования нескольких частиц в одном интервале накопления показано ранее (рис. 2) и визуально выражалось иначе – расширением правого края распределения в сторону больших интенсивностей одновременно с повышением частоты сигналов на правом крае распределения при сохранении положения максимума распределения на оси интенсивностей.

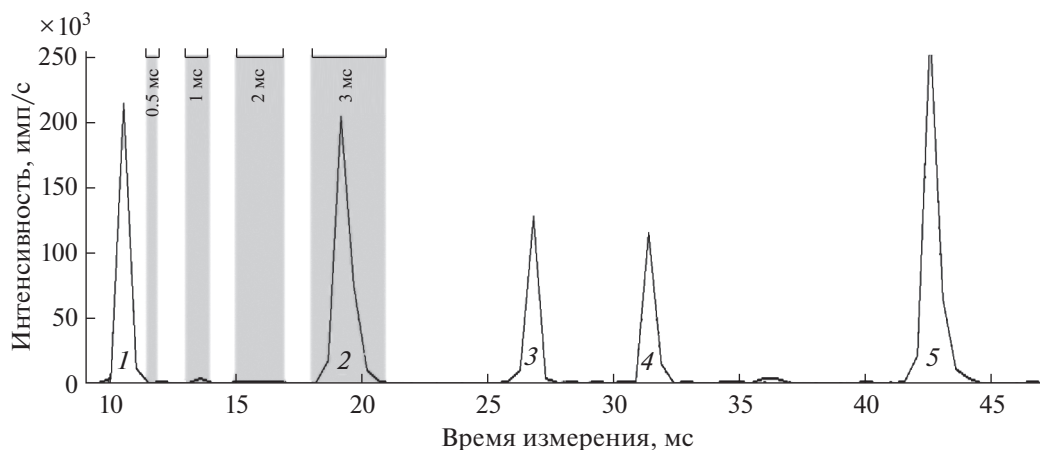
С увеличением времени накопления также улучшалось разрешение между распределениями сигналов фона и НЧ серебра (рис. 3д, 3е). В определенной степени это вызвано меньшим дроблением ионного облака НЧ серебра, которое имеет место при SP-ICP-MS-анализе из-за инструментальных особенностей метода.

**Дробление сигналов наночастиц в SP-ICP-MS.** При исследовании монодисперсного стандарта результаты анализа размеров НЧ серебра представлены достаточно широким распределением сигналов разной величины, а не узким интервалом сигналов близкой интенсивности с малым разбросом, вызванным флуктуациями сигнала из-за системы ввода и доставки образца (верно для всех представленных рисунков). Это обусловлено

**Таблица 4.** Доля интервалов накопления сигнала с интенсивностью 0 имп при различном времени накопления и общем времени измерения 60 с

Число интервалов накопления сигнала, штук	Время накопления, мс					
	0.5	1	2	3	4	5
Всего	121236	60991	30606	20431	15336	12266
В том числе с интенсивностью 0 имп (доля, %)	56773 (46.8)	14021 (23.0)	1510 (4.9)	216 (1.1)	34 (0.2)	0 (0)





**Рис. 4.** Фрагменты спектра с временным разрешением (№№ 1–5) суспензии НЧ серебра 60 нм при единичном времени накопления 1 мс на массе 107. Заштрихованы интервалы накопления различной величины, позволяющие соотнести время регистрации профиля НЧ с величиной интервала накопления сигнала.

определенными специфическими для SP-ICP-MS особенностями детектирования сигнала.

1. Часть сигнала НЧ теряется из-за попадания ионного облака на детектор в момент смены единичных интервалов накопления – интенсивность сигнала может быть неравномерно распределена между несколькими интервалами. Из рис. 4 видно, что для пика 1, соответствующего сигналу одной НЧ серебра, большая часть ее профиля расположена в десятом единичном интервале накопления, и лишь малая часть попадает в одиннадцатый интервал. При времени накопления 1 мс (рис. 4, длина интервала накопления отмечена затемненной областью с меткой 1 мс) результирующая интенсивность сигнала, сгенерированного данной НЧ, будет незначительно занижена, а интенсивность фонового сигнала в последующем интервале – завышена. Описанный эффект отличается от множественного дробления НЧ между единичными интервалами накопления сигнала.

2. Когда длительности интервала накопления сигнала недостаточно для детектирования целой НЧ серебра, ионное облако регистрируется за несколько единичных интервалов, генерируя несколько последовательных сигналов меньшей интенсивности. Из рис. 4 видно, что для пяти пиков во фрагменте спектра с временным разрешением профиль каждой НЧ серебра размером 60 нм в среднем полностью регистрировался детектором в течение от 2 до 3 мс. Чем меньше величина единичного интервала накопления, тем больше вероятность дробления сигнала НЧ. Генерируемый каждой НЧ серебра при времени накопления 0.5 мс сигнал распределялся между 4–6 единичными интервалами накопления, при 1 мс – между 2–3 интервалами, а при 3 мс – регистрировался в одном интервале накопления при отсутствии иной формы дробления (длины интервалов накопле-

ния отмечены на рис. 4 затемненными областями с соответствующими метками). Интенсивность сигнала НЧ, суммарно неизменная во всех случаях, тем меньше, чем на большее число единичных интервалов она поделена.

Результат дробления НЧ серебра между единичными интервалами накопления сигнала наблюдали для распределений, полученных при времени накопления 0.5 и 1 мс (рис. 3а, 3б), в меньшей степени – 2 мс (рис. 3в). При времени накопления менее 1 мс интенсивность пиков раздробленной НЧ серебра была настолько мала, что сливалась с пиками сигнала фона (рис. 3а). Распределение в подобном случае мономодальное, с расширенным пологим правым краем. Времени накопления 1 мс было достаточно для разрешения максимумов распределений сигналов фона и НЧ серебра (рис. 3б). С другой стороны, все еще заметен вклад сигнала раздробленных НЧ серебра в распределение сигналов фона, отражавшийся в его ложном увеличении. Максимум распределения сигналов фона существенно смещался в сторону меньших интенсивностей, а число генерируемых фрагментами НЧ серебра сигналов преобладало над числом сигналов, предположительно характерных для целой НЧ серебра. Дробление НЧ серебра наблюдали и при времени накопления 2 мс (рис. 3в), что выражалось изменением левого края распределения сигналов НЧ, ухудшением разрешения между распределениями сигналов НЧ и сигналов фона, увеличением числа сигналов с меньшей интенсивностью на левом крае распределения сигналов НЧ серебра, а также нарушением симметрии распределения. На рис. 3в также наблюдали ложное уширение правого края распределения сигналов фона, вызванное вкладом сигналов фрагментов НЧ серебра из-за недостаточной величины интервала единично-

го накопления. При этом положение максимума и форма правого края распределения уже идентичны распределению, полученному при большем единичном интервале накопления сигнала.

Визуальная оценка исходного массива данных с последовательностью интенсивностей сигналов для каждого отдельного интервала накопления позволяет установить факт дробления НЧ серебра. В подобном случае сигнал НЧ серебра представляет последовательность сигналов с невысокой интенсивностью, практически не превышающей интенсивность фона, при этом не разделенных диапазоном интервалов накопления с фоновым сигналом. Существенным отличием такой последовательности сигналов фрагментов НЧ от сигналов НЧ при недостаточном их разрешении во времени является величина интенсивности в единичном интервале накопления. В случае дробления НЧ серебра между интервалами накопления интенсивность сигнала занижена относительно интенсивности на максимуме распределения сигналов НЧ, а в случае недостаточного разрешения НЧ серебра между интервалами накопления — завышена.

Исходный графический спектр с временным разрешением также позволяет оценить время, необходимое для детектирования сигнала НЧ серебра (рис. 4). Время, затраченное на детектирование целого профиля НЧ — минимально допустимое при анализе НЧ данного размера. Использование специализированного программного обеспечения позволяет обрабатывать спектры, полученные при любом времени накопления, распознавая уширенный пик как одну НЧ и суммируя сигнал. При ручной обработке результатов, хотя распознавание и не представляет трудности, подсчет суммарной интенсивности практически невозможен.

3. Следствием пространственного разделения ионного облака одной НЧ серебра в системе ионной оптики и масс-анализаторе спектрометра может быть поступление на детектор двух отдельных скоплений ионов, разделенных небольшим промежутком. Пики 3 и 4 на рис. 4 имеют заметно меньшую интенсивность, тогда как суммарная их интенсивность близка к интенсивности пиков 1, 2 и 5. Однако подобные случаи достаточно редки.

4. Часть сигнала НЧ может также быть утеряна из-за попадания фрагмента ионного облака в период настройки детектора — мертвое время, составляющее доли миллисекунды между единичными интервалами сканирования, когда детектор не регистрирует сигнал. Но такое явление критично при микросекундных накоплениях, а при миллисекундах вклад этого явления минимален.

В большинстве случаев скорректировать уширение распределения сигналов НЧ невозможно. Единственный поддающийся коррекции параметр — величина единичного интервала накопле-

ния сигнала. Размер НЧ в пробе является лимитирующим фактором при выборе времени накопления. Величина интервала накопления сигнала должна быть достаточной для детектирования целой НЧ, в лучшем случае — несколько превышать эту величину, но даже выбор избыточного времени накопления сигнала не является гарантией регистрации целой НЧ.

**Прогнозирование времени накопления для наночастиц различных размеров.** Меньшая величина единичного интервала накопления сигнала позволяет получить большее количество единичных актов измерения. Это улучшает разрешение между НЧ и позволяет сократить время, необходимое для измерения каждого отдельного образца, что обеспечивает экспрессность анализа. Определение минимально допустимой величины времени накопления для регистрации НЧ известного размера позволяет прогнозировать необходимое время накопления для НЧ другого размера. Использование в рамках анализа без специализированного программного обеспечения меньшего времени накопления, чем спрогнозированное не позволит получить достоверный результат.

При интерпретации результатов исследования методом SP-ICP-MS используется допущение о сферической форме НЧ. В этом случае масса, диаметр и плотность НЧ согласно общей теоретической концепции МС-ИСП для определения размеров отдельных частиц [17] связаны уравнением (1):

$$m_p = \frac{\pi d^3}{6} \rho, \quad (1)$$

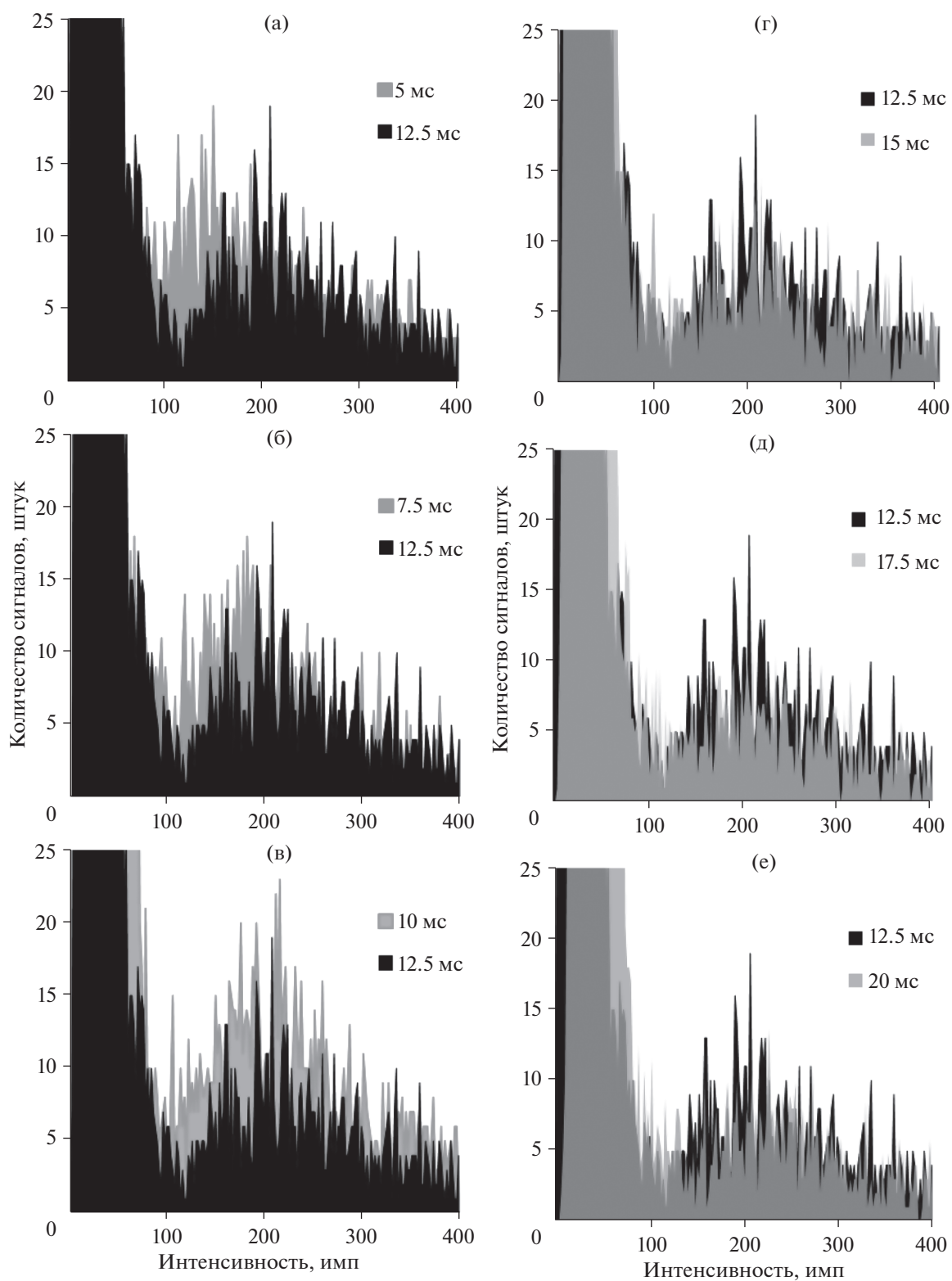
где  $m_p$  — рассчитанная масса наночастицы,  $d$  — диаметр наночастицы,  $\rho$  — плотность наночастицы.

Использование соотношения между диаметром НЧ в третьей степени и минимально допустимым временем накопления позволяет рассчитать необходимое время накопления для НЧ другого размера по уравнению (2):

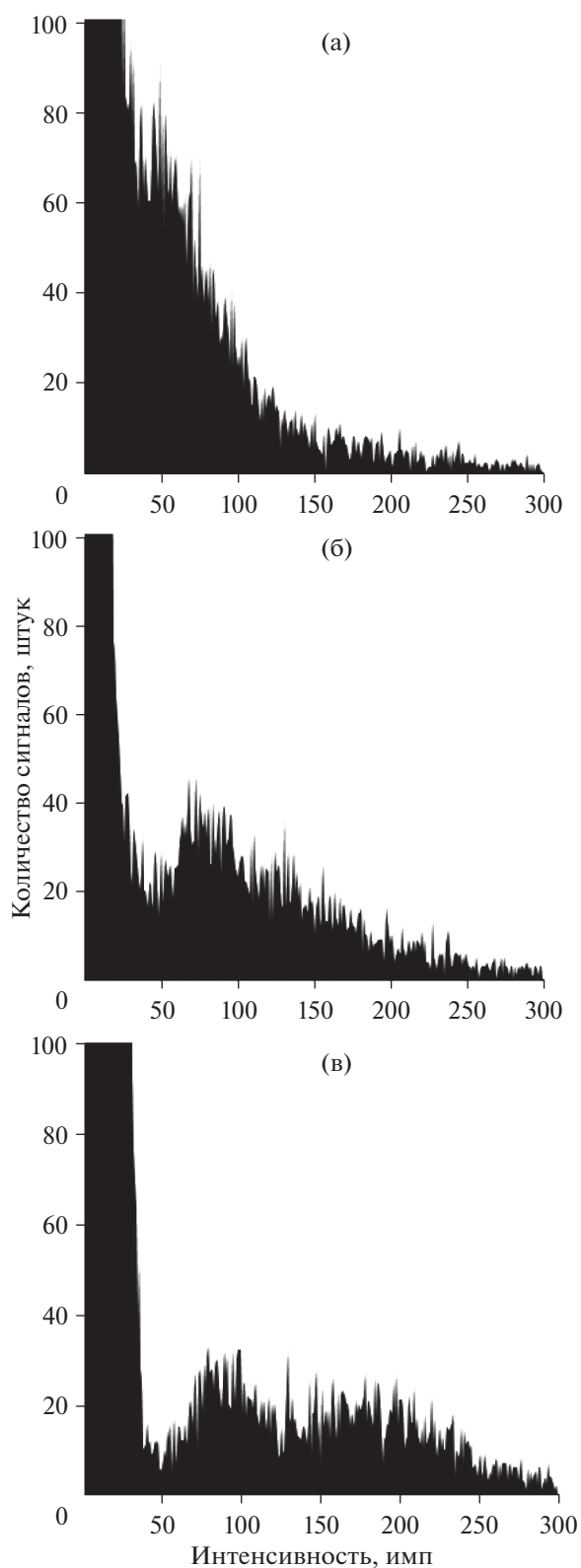
$$\frac{d_1^3}{t \text{ dwell}_1} = \frac{d_2^3}{t \text{ dwell}_2}, \quad (2)$$

где  $d_1$  и  $d_2$  — диаметры НЧ с разным размером,  $t \text{ dwell}_1$  и  $t \text{ dwell}_2$  — время накопления сигналов НЧ с диаметрами  $d_1$  и  $d_2$ .

В обсуждении экспериментального анализа НЧ серебра размером 60 нм был обоснован минимально допустимый интервал накопления сигнала — 2.5–3 мс (показано ранее). С использованием подобного подхода можно спрогнозировать минимально допустимое время накопления 12–14 мс для НЧ серебра размером 100 нм. Для проверки адекватности расчетной величины времени накопления исследовали образец НЧ серебра размером 100 нм с концентрацией 0.8 нг/мл (рис. 5).



**Рис. 5.** Распределения интенсивностей сигналов образца НЧ серебра 100 нм: (а) 5 и 12.5 мс; (б) 7.5 и 12.5 мс; (в) 10 и 12.5 мс; (г) 15 и 12.5 мс; (д) 17.5 и 12.5 мс; (е) 20 и 12.5 мс.



**Рис. 6.** Распределения интенсивностей сигналов смеси дисперсий НЧ серебра 60 и 100 нм при разном времени накопления: (а) 1 мс; (б) 5 мс; (в) 10 мс.

При экспериментальной оценке с учетом описанных выше подходов оптимальным для НЧ серебра размером 100 нм представляется время накопления более 10 мс (рис. 5в–5е). В каждом случае для сравнения приведено распределение при времени накопления 12.5 мс, принятое оптимальным. Для полученного при 10 мс распределения сигналов НЧ серебра на рис. 5в все еще наблюдали некоторое уширение левого края распределения вследствие дробления, хотя оно уже в достаточной степени симметрично. Сравнение полученных при разных временах накопления распределений сигналов НЧ серебра с принятым оптимальным распределением полностью подтвердило описанное выше.

Такой подход может быть использован и для выходящих за наноразмерный диапазон частиц больших размеров. При правильно выбранном времени накопления верхний диапазон определяемых размеров для SP-ICP-MS будет ограничен эффективностью ионизации.

**Анализ полидисперсных образцов.** Фундаментальные ограничения SP-ICP-MS не позволяют определить четкий диапазон размеров НЧ в образце из-за представления результатов в виде распределения, разброс интенсивностей в котором определяется в том числе неполной регистрацией ионного облака НЧ даже при верно подобранных условиях анализа. Результатом анализа служит средний размер НЧ в образце, соответствующий максимуму распределения, а в наиболее полном варианте – всего диапазона размеров.

Для достоверного определения размеров частиц необходимо удостовериться, что выбранные операционные параметры SP-ICP-MS-анализа обеспечивают регистрацию частиц всего размерного диапазона в образце. Логично заключение, что необходимая величина времени накопления лимитируется частицами наибольшего размера. При выборе недостаточного времени накопления полученный результат будет ложным, даже при адекватности визуального вида распределения. В этом случае особого внимания требует выбор достаточной степени разбавления, позволяющей гарантировать изолированное детектирование каждой отдельной частицы, особенно малых размеров. На рис. 6 приведены распределения, полученные при анализе смеси НЧ серебра 60 и 100 нм. Исследование проводили в диапазоне времен накопления 1–10 мс, где нижняя граница диапазона приемлема для НЧ серебра 60 нм, а верхняя – для НЧ серебра 100 нм (рис. 3 и 5). Полученное при времени накопления 1 мс распределение сигналов смеси НЧ серебра 60 и 100 нм (рис. 6а) не имело выраженного разрешения. Ранее показано, что время накопления 1 мс позволяет получить видимый максимум распределения сигналов монодисперсных НЧ серебра 60 нм (рис. 3б). Зная о

присутствии в образце НЧ серебра 100 нм, можно приписать им уширение правого края распределения в сторону больших интенсивностей. Большое количество сигналов на максимуме распределения может быть вызвано существенным дроблением НЧ серебра 100 нм, дающим множество сигналов малой интенсивности, идентичных по величине интенсивности сигналов, генерируемых НЧ серебра 60 нм. При времени накопления 5 мс в гораздо большей степени видно разрешение распределения сигналов фона и НЧ серебра (рис. 6б). Распределение сигналов смеси дисперсий НЧ серебра имеет максимум в районе 80 имп и пологий правый край, существенно расширенный в сторону больших интенсивностей (рис. 6б). Вид такого распределения сигналов позволяет предположить наличие в образце НЧ серебра одного среднего размера, но широкий диапазон размеров НЧ с интенсивностью сигнала от 50 до 200 имп в образце уже заметен. Время накопления 10 мс уже достаточно для регистрации целой НЧ серебра 100 нм, что подтверждается распределением (рис. 6в), позволяющим увидеть два максимума распределения сигналов НЧ. Расположенный приблизительно в области 90 имп на оси интенсивностей первый максимум соответствует НЧ серебра 60 нм, а второй в области 180 имп — НЧ серебра 100 нм. Можно утверждать, что правильный выбор условий анализа позволяет дифференцировать полидисперсные системы. Кроме того, в случае исследования образцов, содержащих частицы в существенно отличающихся и разграниченных друг от друга размерных диапазонах, возможно бимодальное распределение частиц.

\* \* \*

Таким образом, найдены оптимальные условия SP-ICP-MS-определения различных размеров НЧ серебра в водных суспензиях. Лимитирующими факторами определения размеров НЧ анализа являются степень разбавления образца и время накопления сигнала. В оптимизированных условиях работы масс-спектрометра для определения размеров НЧ серебра 60 и 100 нм при продолжительности анализа 60 и 180 с оптимальны концентрации НЧ 2–4 нг/мл. Минимально допустимые значения времени накопления для регистрации НЧ серебра с размерами 60 и 100 нм находились в интервалах 2.5–3 и 12–14 мс соответственно. Правильный выбор условий анализа позволяет также характеризовать полидисперсные системы. Для достоверного определения размеров НЧ необходимо удостовериться, что выбранные операционные параметры SP-ICP-MS-анализа обеспечивают регистрацию НЧ всего размерного диапазона выше предела их определения. Показана возможность анализа полидисперсной сме-

си на примере НЧ серебра 60 и 100 нм. Для образцов, содержащих НЧ в существенно отличающихся и разграниченных друг от друга размерных диапазонах, возможно определение нескольких средних размеров НЧ в одном образце.

*Исследования проводили с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Iavicoli I., Leso V., Piacci M., Cioffi D.L., Guseva Canu I., Schulte P.A.* An exploratory assessment of applying risk management practices to engineered nanomaterials // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2019. V. 16. № 18. P. 3290.
2. *Ahamed M., AlSalhi M.S., Siddiqui M.K.J.* Silver nanoparticle applications and human health // *Clin. Chim. Acta.* 2010. V. 411. № 23–24. P. 1841.
3. *Calderón-Jiménez B., Johnson M.E., Montoro Bustos A.R., Murphy K.E., Winchester M.R., Vega Baudrit J.R.* Silver nanoparticles: Technological advances, societal impacts, and metrological challenges // *Front. Chem.* 2017. V. 5. P. 6.
4. *Cameron S.J., Hosseinian F., Willmore W.G.* A current overview of the biological and cellular effects of nanosilver // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 7. P. 2030.
5. *Jain A., Ranjan S., Dasgupta N., Ramalingam C.* Nanomaterials in food and agriculture: An overview on their safety concerns and regulatory issues // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2018. V. 58. № 2. P. 297.
6. *Zhang L., Wu L., Si Y.* Size-dependent cytotoxicity of silver nanoparticles to *Azotobacter vinelandii*: Growth inhibition, cell injury, oxidative stress and internalization // *PLoS One.* 2018. V. 13. № 12. № e0209020.
7. *Kisterska L.D.* Study of silver and copper nanoparticles by electron and atomic force microscopy // *Powder Metall. Met. Ceram.* 2019. V. 58. № 5–6. P. 257.
8. *Hagendorfer H.* Characterization of silver nanoparticle products using asymmetric flow field flow fractionation with a multidetector approach – A comparison to transmission electron microscopy and batch dynamic light scattering // *Anal. Chem.* 2012. V. 84. № 6. P. 2678.
9. *Meva F.E., Ntumba A.A., Kedi P.B.E.* Silver and palladium nanoparticles produced using a plant extract as reducing agent, stabilized with an ionic liquid: Sizing by X-ray powder diffraction and dynamic light scattering // *J. Mater. Res. Technol.* 2019. V. 8. № 2. P. 1991.
10. *Contado C., Argazzi R., Amendola V.* Sedimentation field flow fractionation and optical absorption spectroscopy for a quantitative size characterization of silver nanoparticles // *J. Chromatogr. A.* 2016. V. 1471. P. 178.
11. *Ермолин М.С., Федюнина Н.Н., Карандашев В.К., Федотов П.С.* Изучение подвижности наночастиц оксида церия в почвах с использованием динамического экстрагирования в микроколонке и вращающейся спиральной колонке // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 8. С. 624. (*Ermolin M.S., Fedotov P.S., Fedyunina N.N., Karandashev V.K.* Study of the mobility of cerium oxide nanoparticles in soil using dynamic extraction in a microcolumn and a rotating

- coiled column // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 8. P. 825.)
12. *Ermolin M.S., Fedotov P.S., Ivaneev A.I., Karandashov V.K., Burmistrov A.A., Tatsy Y.G.* Assessment of elemental composition and properties of copper smelter-affected dust and its nano- and micron size fractions // *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016. V. 23. P. 23781.
  13. *Lee W.-C., Lee B.-T., Lee S.* Optimisation, evaluation and application of asymmetrical flow field-flow fractionation with single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (SP-ICP-MS) to characterise silver nanoparticles in environmental media // *Microchem. J.* 2016. V. 129. P. 219.
  14. *Bocca B., Battistini B., Petrucci F.* Silver and gold nanoparticles characterization by SP-ICP-MS and AF4-FFF-MALS-UV-ICP-MS in human samples used for biomonitoring // *Talanta.* 2020. V. 220. № 121404.
  15. *Meermann B., Nischwitz V.* ICP-MS for the analysis at the nanoscale – A tutorial review // *J. Anal. At. Spectrom.* 2018. V. 33. P. 1432.
  16. *Laborda F., Jiménez-Lamana J., Bolea E., Castillo J.R.* Selective identification, characterization and determination of dissolved silver(i) and silver nanoparticles based on single particle detection by inductively coupled plasma mass spectrometry // *J. Anal. At. Spectrom.* 2011. V. 26. № 7. P. 1362.
  17. *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.* 2011. V. 83. № 24. P. 9361.
  18. *Murphy K.E., Liu J., Guthrie W.F., Gorham J.M.* Use of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry to characterize a new silver nanoparticle reference material / *Nanotechnol. 2014: Graphene, CNTs, Part., Films Compos., Tech. Proc. NSTI Nanotechnol. Conf. Expo.* 2014. V. 1, P. 501.
  19. *De la Calle I., Menta M., Séby F.* Current trends and challenges in sample preparation for metallic nanoparticles analysis in daily products and environmental samples: A review // *Spectrochim. Acta B.* 2016. V. 125. P. 66.
  20. *Liu J., Murphy K.E., Winchester M.R.* Overcoming challenges in single particle inductively coupled plasma mass spectrometry measurement of silver nanoparticles // *Anal. Bioanal. Chem.* 2017. V. 409. № 25. P. 6027.