

# Retos de la Nanometrología Analítica



**Ángel Ríos Castro**

*Universidad de Castilla – La Mancha. Ciudad Real.*



Ávila, 26-29 Septiembre 2022

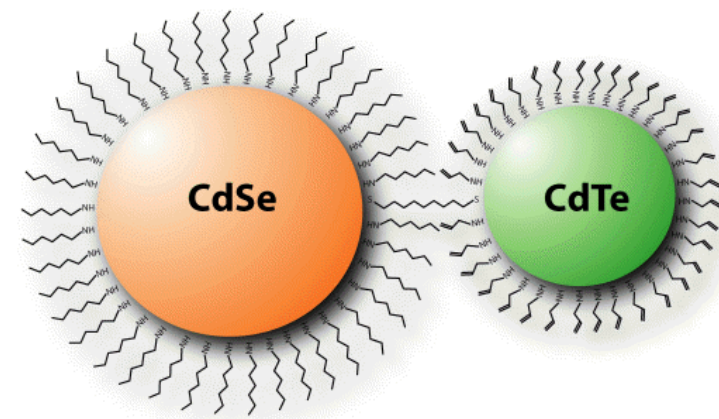
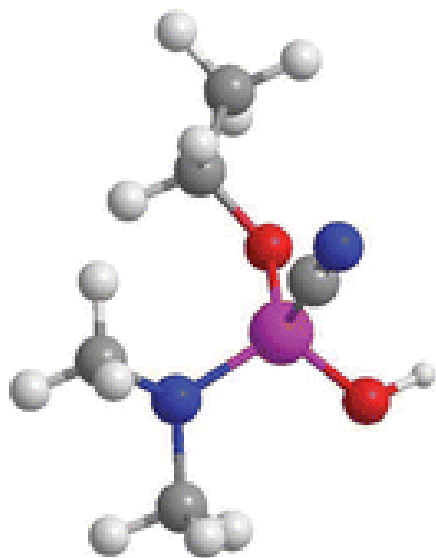


# EL NANO-MUNDO

MEDIDAS

En la nano-escala

Sobre el nano-mundo



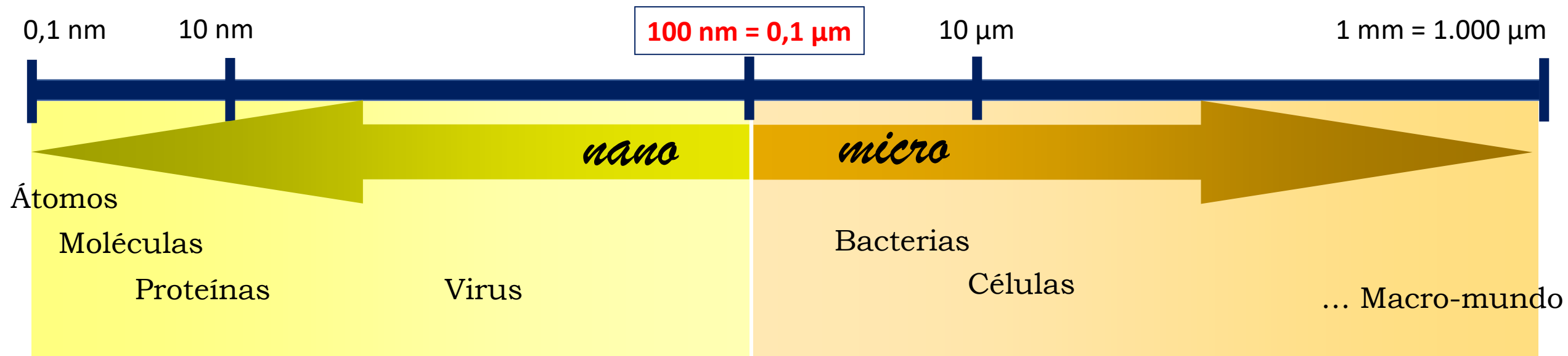
# EL NANO-MUNDO

NANO-MATERIALES



MATERIALES

(Reducción de tamaño)



## NANOCIENCIA & NANOTECNOLOGIA

**Propiedades al nivel de la nano-escala  $\neq$  Propiedades en la micro(macro) escala**

Excepcional propiedades de los NMs asociadas a:

- Reducción del tamaño de partícula.
- Aumento de la relación superficie/volumen (muy elevada superficie específica).

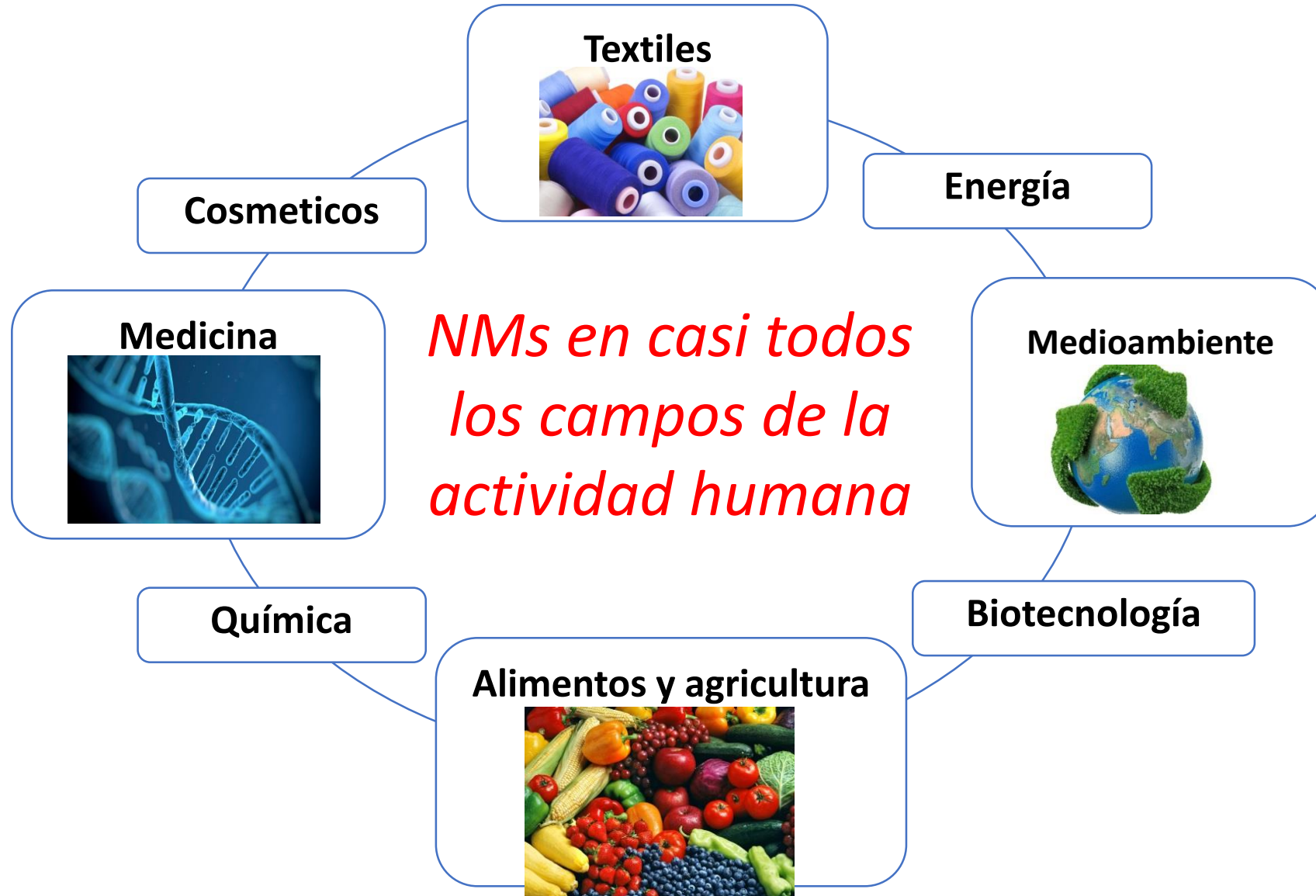
**“Efecto cuántico” debido al tamaño**

Nuevos estados cuánticos discretos

**Superficie más reactiva**

Mayor número de átomos en la superficie  
(aumento generalizado de la reactividad)

**Nuevas  
propiedades**



## *NMs según la Recomendación de la Comisión Europea (2011/696/EU)*

‘...natural, incidental or manufactured material containing particles, in an unbound state or as an aggregate or as agglomerate and where, for 50% or more of the particles, with one or more external dimensions is in the size range 1nm-100nm...’...meaning that the following characteristics should be determined:

- **Particle concentration by number (i.e. number of objects within a size range/number of objects in total)**
- **Particle size**

*La Recomendación excluye materiales no sólidos (líquidos o gases), como por ejemplo micelas o nano-gotas en emulsión o spray.*

*Se indica la urgente necesidad de desarrollar métodos de referencia y materiales de referencia (RMs) para nanomateriales:*

- *Calibración de instrumentos.*
- *Validación de métodos (CRMs tipo matriz)*

## Existen RMs de nanomaterials inorgánicos en suspensión:

Colloidal Silica in water ERM-FD100 - **Equivalent spherical diameter** (20 nm)

Colloidal Silica in aqueous solution ERM-FD304 - **Equivalent spherical diameter** (30 nm)

Mixture of Silica nanoparticles in aqueous solution: ERM-FD102 - **Equivalent diameter** (20 nm, 80 nm)

NIST RM 8011, 8012, 8013 Colloidal Au nanoparticles - **Nominal diameter** (10, 30, 60 nm) –  
30nm and 60 nm expired in 2018 with no further release)

NIST RM 8017 PVP-Ag nanoparticles - **Nominal diameter** (75 nm)



COMAR database:

<https://rrr.bam.de/RRR/Navigation/EN/Reference-Materials/COMAR/comar.html>

## ... ¿Y CRMs tipo matrix?

Algunos sometidos a comparaciones inter-laboratorio

> Fumed SiO<sub>2</sub> NP in tomato soup (40 nm, median particle size, Si mass fraction) – NanoLyse 09 and 10.

> AgNP in chicken paste (Ag mass fraction, size and size distribution)



Todavía no existen CRMs tipo matrix comercializados !!

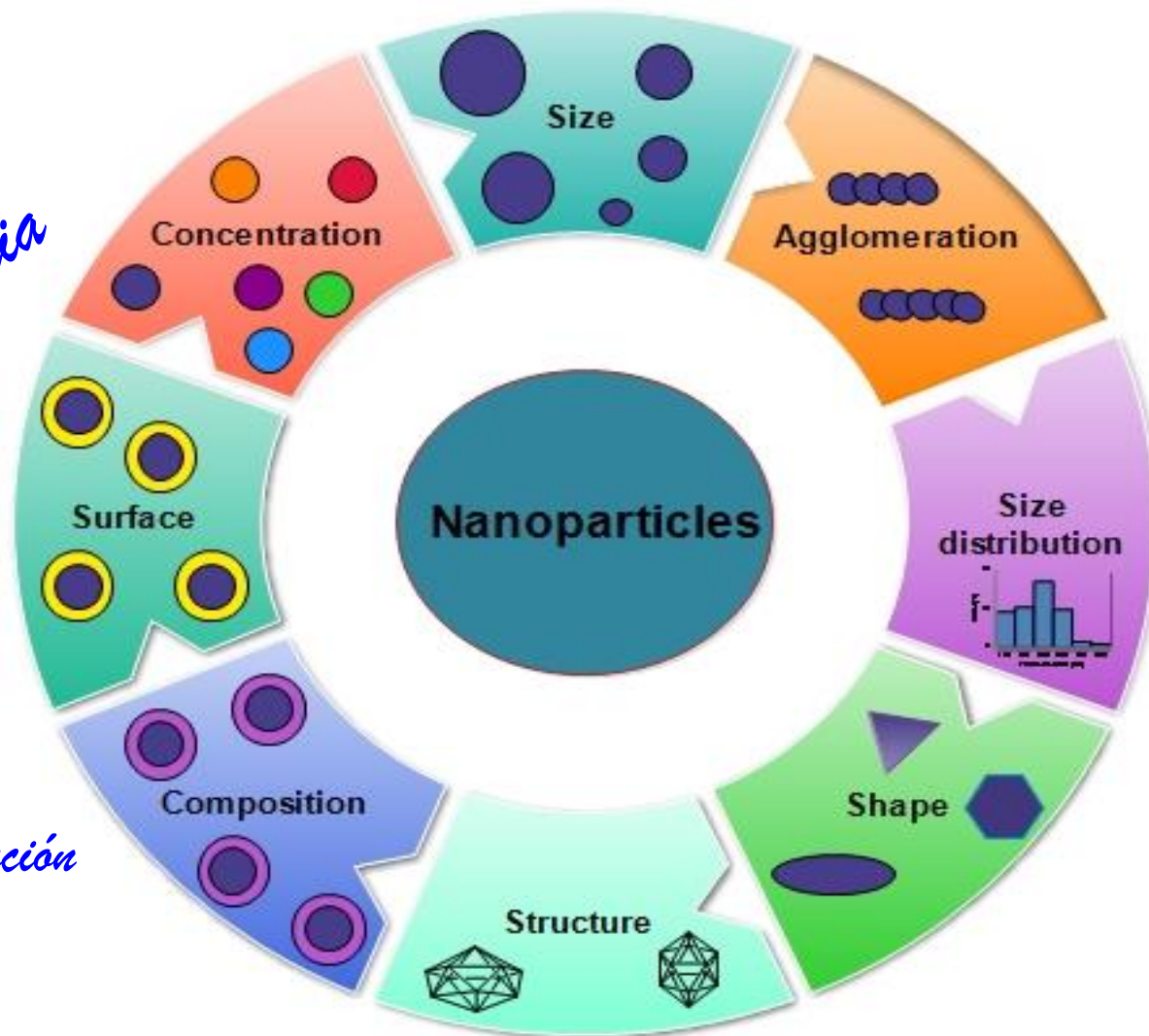
*Desarrollo de metodologías analíticas para  
el control de nanomateriales en muestras  
pertenecientes a muchos campos de la actividad humana*

## El papel analítico...

- En la propia caracterización de los NMs que se emplean en la industria (sintéticos o naturales).
- En el CC de productos que contienen nanomateriales.
- La detección/determinación de NMs en muestras de interés.

## Información completa. . . ?

*Caracterización de los  
nanomateriales que se  
utilizan en la industria*



**MICROSCOPIA ELECTRÓNICA**

**ESPECTROSCOPIA**

**TÉCNICAS DE DIFRACCIÓN**

**TÉC. INSTRUMENTALES SEP.**

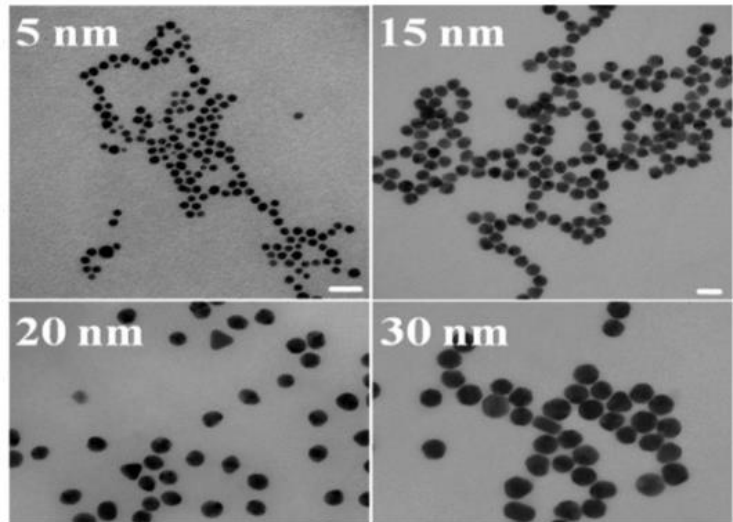
**TÉCNICAS HIBRIDADAS**

*Control de calidad en la producción*

# CARACTERIZACION DE NANOMATERIALES

# TÉCNICAS MICROSCÓPICAS

TEM: Transmission Electron Microscopy

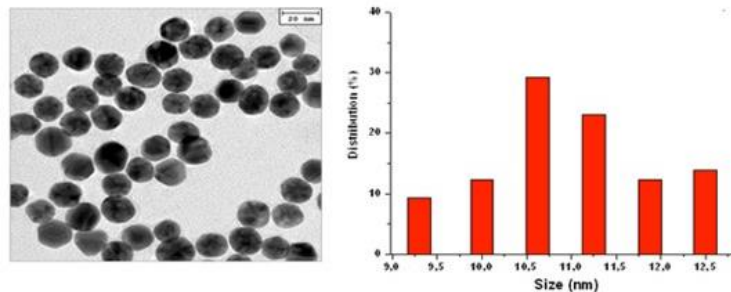


Stereology / morphology

Size / size distribution

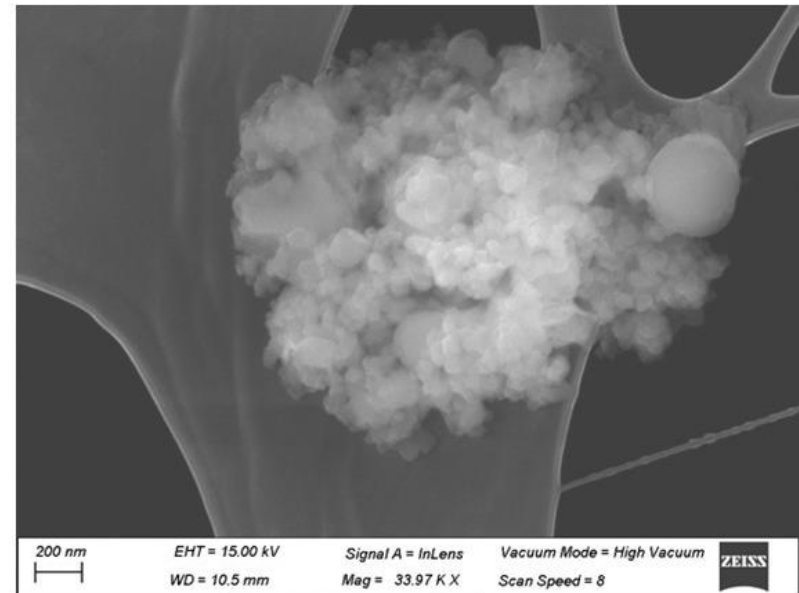
Agglomeration

Shape



AuNPs

SEM: Scanning Electron Microscopy



SiO<sub>2</sub>NPs

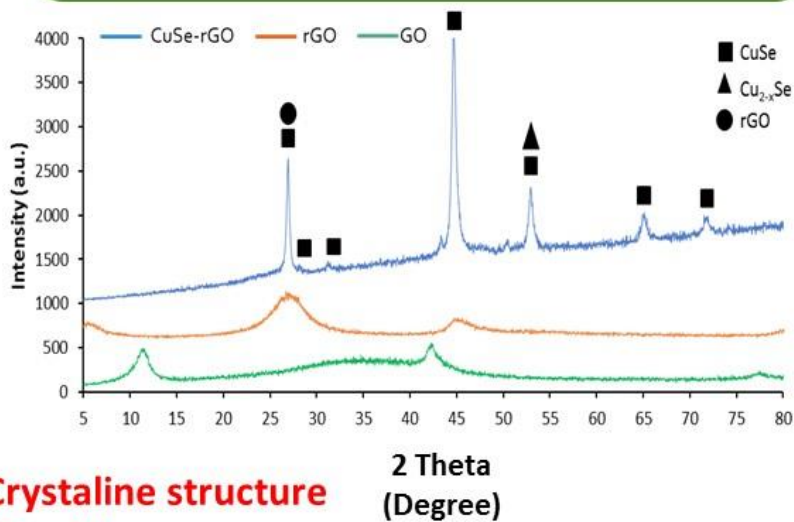
# TÉCNICAS DE DIFRACCIÓN Y DISPERSIÓN

SOLID

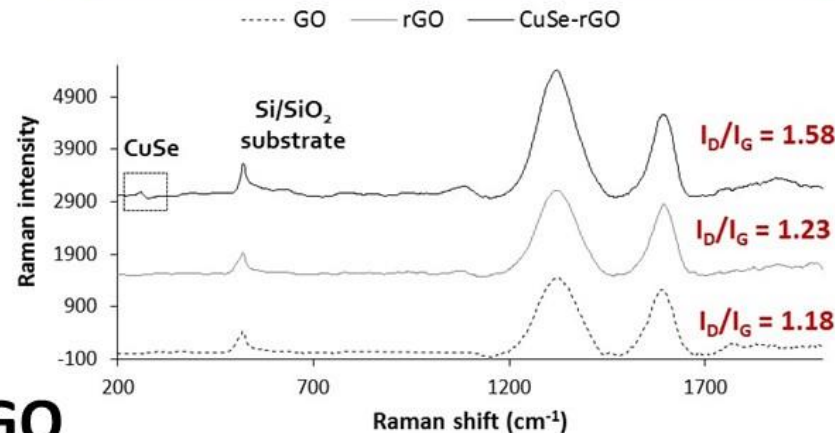
**XRD: X-Ray Diffraction**

Composition  
Structure

**RS: Raman Spectroscopy**  
**SERS: Surface-enhanced RS**



Crystalline structure  
Size / shape

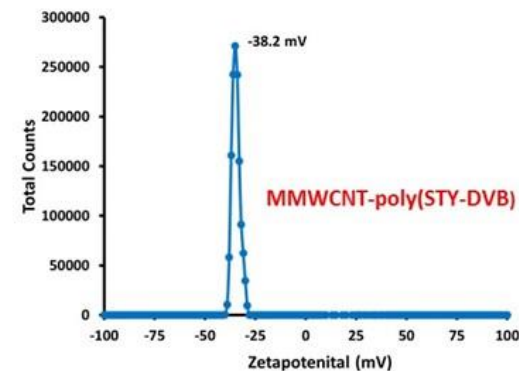
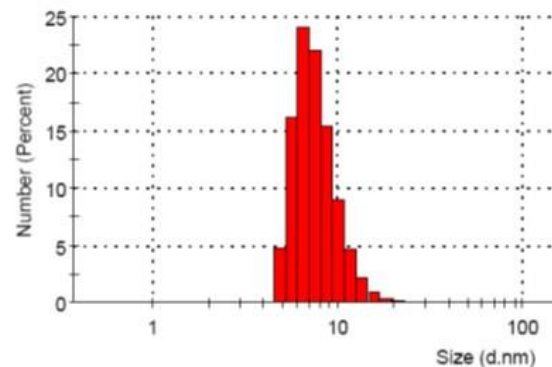


CuSe-rGO

LIQUID

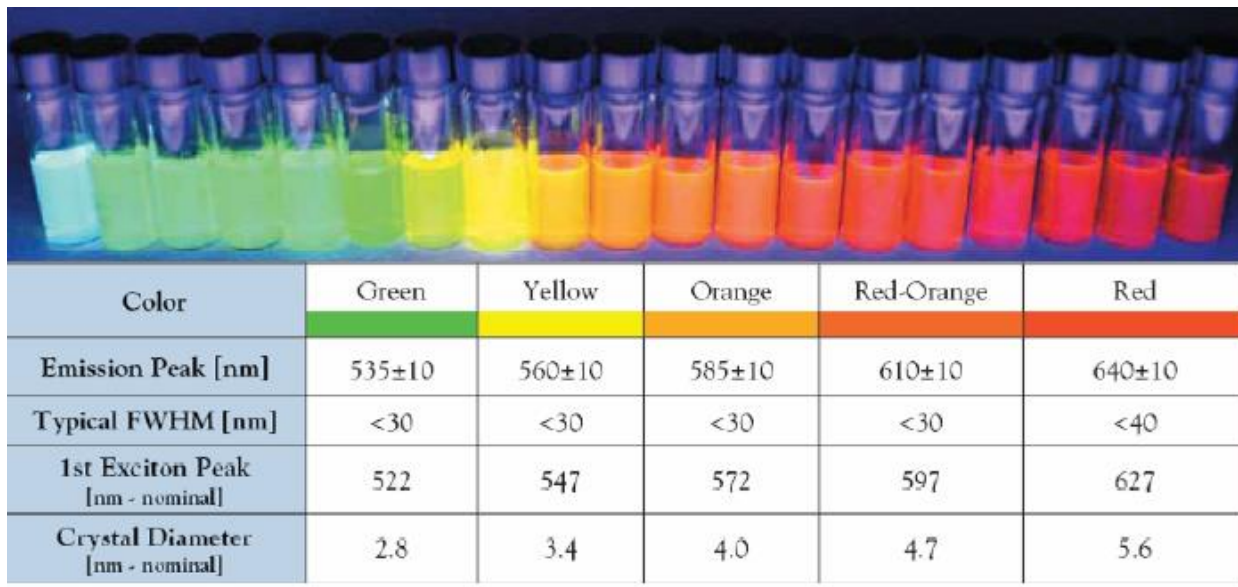
**DLS: Dynamic Light Scattering**

Size / size distribution (hydrodynamic)  
Zeta-potential



# TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

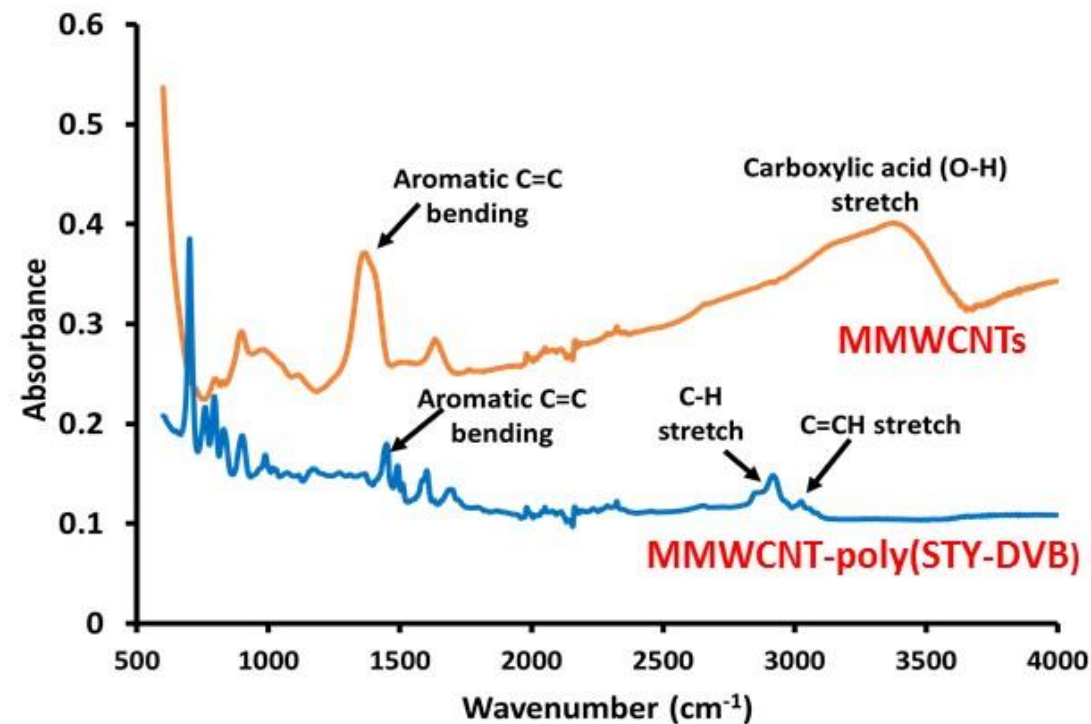
*Espectroscopía UV-Vis*  
*Espectroscopía de fluorescencia*



CdSe/ZnS core-shell nanoparticles  
(Evident Technologies: <http://www.evidenttech.com/> )

**Size / size distribution**  
**Concentration**

*FTIR: Espectroscopía de IR con transformadas de Fourier*

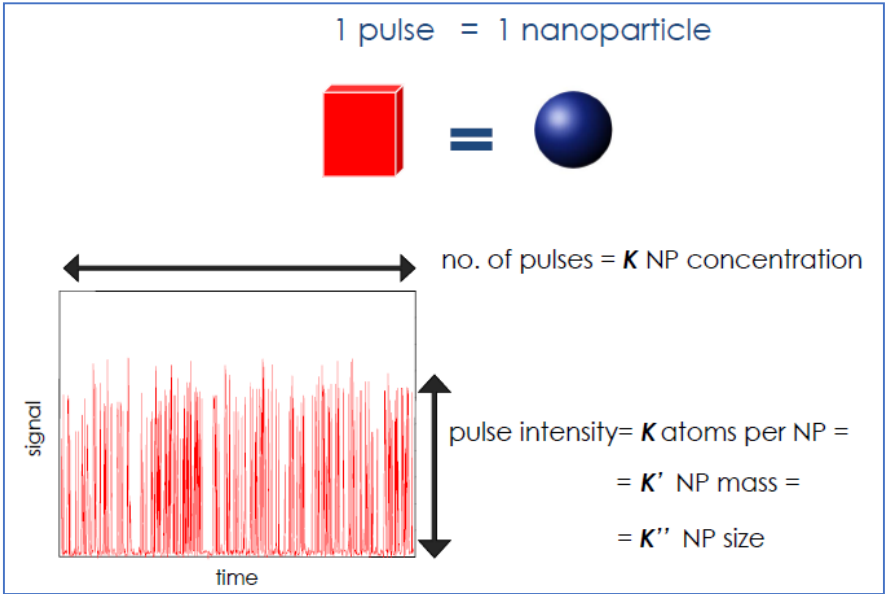
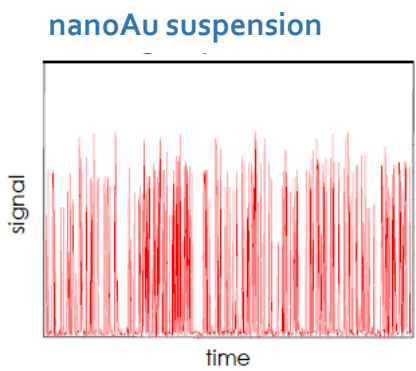
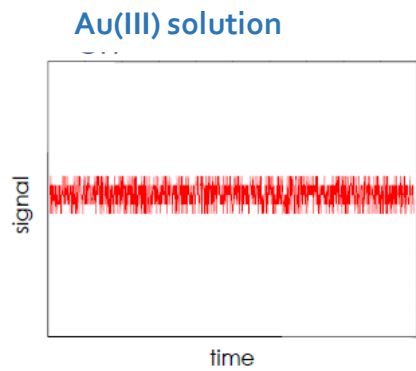


**Composition**  
**Structure**

# TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

ICP-MS: Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry

sp-ICP-MS

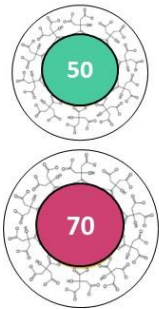
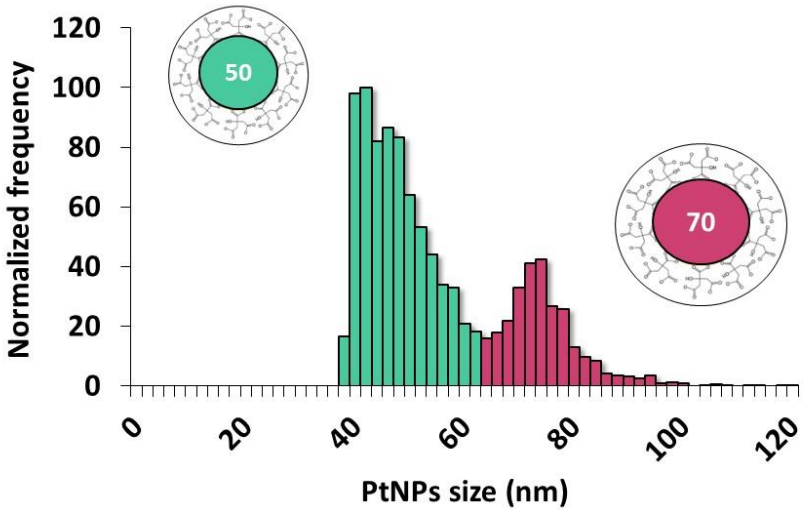


Diferenciación entre la forma iónica y la particulada sin separación previa.

**PtNPs** **sp-ICP-MS**

**Characterization of platinum nanoparticles in human and blood serum by single particle-inductively coupled plasma-mass spectrometry (sp-ICP-MS)**

S. Fernández-Trujillo, M. Jiménez-Moreno, Á. Ríos, R.C. Rodríguez Martín-Doimeadios  
 Talanta 231 (2021) 122370



Number based particles L <sup>-1</sup>			Mass based ng L <sup>-1</sup>		
Nominal Value	Measured Value	Recovery (%)	Nominal Value	Measured Value	Recovery (%)
1.83E+08	1.68E+08 ± 3.08E+06	91.8 ± 1.7	300	304 ± 6	101.3 ± 2.0
6.92E+07	6.73E+07 ± 2.92E+06	97.2 ± 4.2	300	302 ± 7	100.6 ± 2.3

# TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE SEPARACIÓN

(Hidrodinámicas)

*Hydrodynamic  
Chromatography (HDC)*

*Size Exclusion  
Chromatography (SEC)*

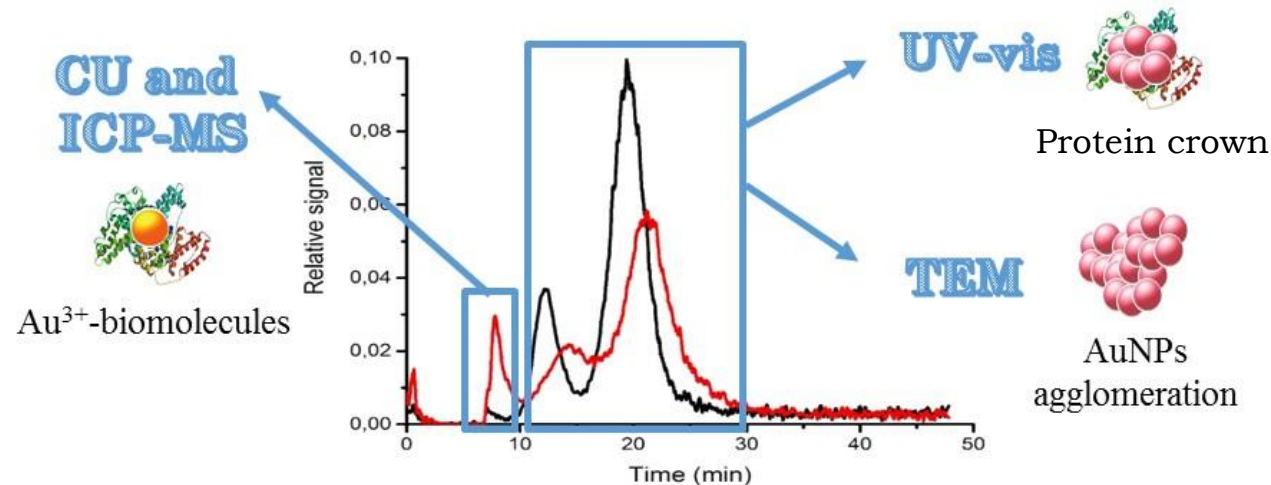
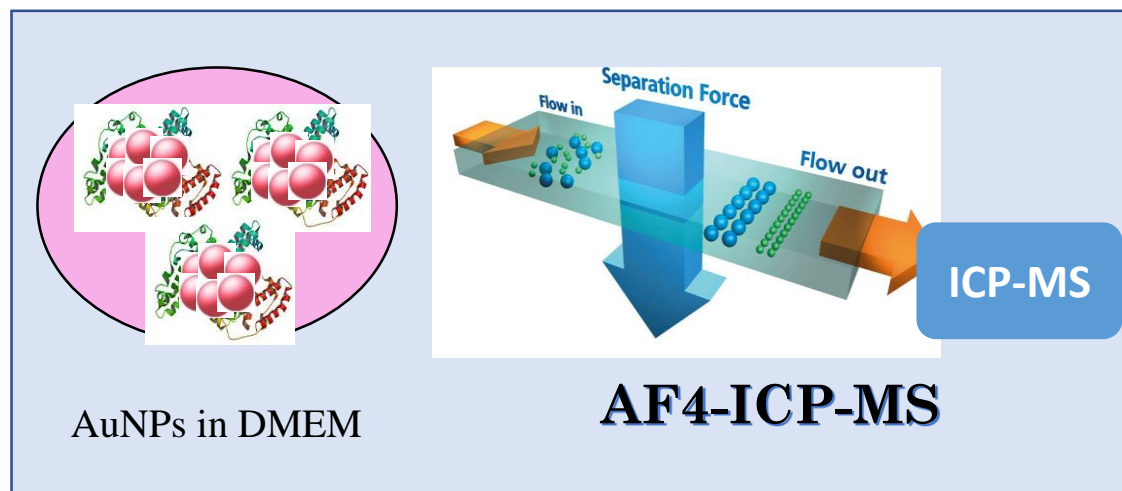
*Capillary Electrophoresis  
(CE)*

*Field Flow Fractionation  
Techniques (FFF)*

(Técnicas híbridadas - acopladas)



Estrategia analítica para estudiar la transformación de AuNPs en medios de cultivo celulares basado en el acoplamiento de fraccionamiento de flujo asimétrico (AF4) con ICP-MS



## ¿ Y la NANOMETROLOGÍA ANALÍTICA ?

*(según la Recomendación de la Comisión Europea 2011/696/EU)*

- Concentración de partículas en número (i.e., número de nanopartículas dentro de un intervalo de tamaño / número de partículas en total).
- Tamaño de partícula (distribución).

*¿ Qué es la Nanometrología Analítica, ANM ?*

*ANM es la metrología aplicada a los nanomateriales con fines analíticos*

ANALITOS (NMs) en  
MUESTRAS DE INTERÉS  
(características específicas  
para ser detectados)

TÉCNICAS ANALÍTICAS  
(calibración)

MÉTODOS ANALÍTICOS  
(validación)



**TRAZABILIDAD**

# Principales técnicas para la ANM

**DLS: *Dynamic Light Scattering***

**ICP-MS y sp-ICP-MS**

**Técnicas acopladas:  
HDC-ICP-MS  
AF4-ICP-MS  
CE-ELSD y CE-MS**

Por ejemplo...

## Nanomateriales sintéticos en alimentos

(reducción de sal, azúcar y grasa sin afectar al sabor; clarificación de vinos y cervezas;  
Prevención contaminación microbiana, etc.)

**Aditivos:  $\text{SiO}_2$  (E551),  $\text{TiO}_2$  (E171),  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (E172), Nisina (E234)**

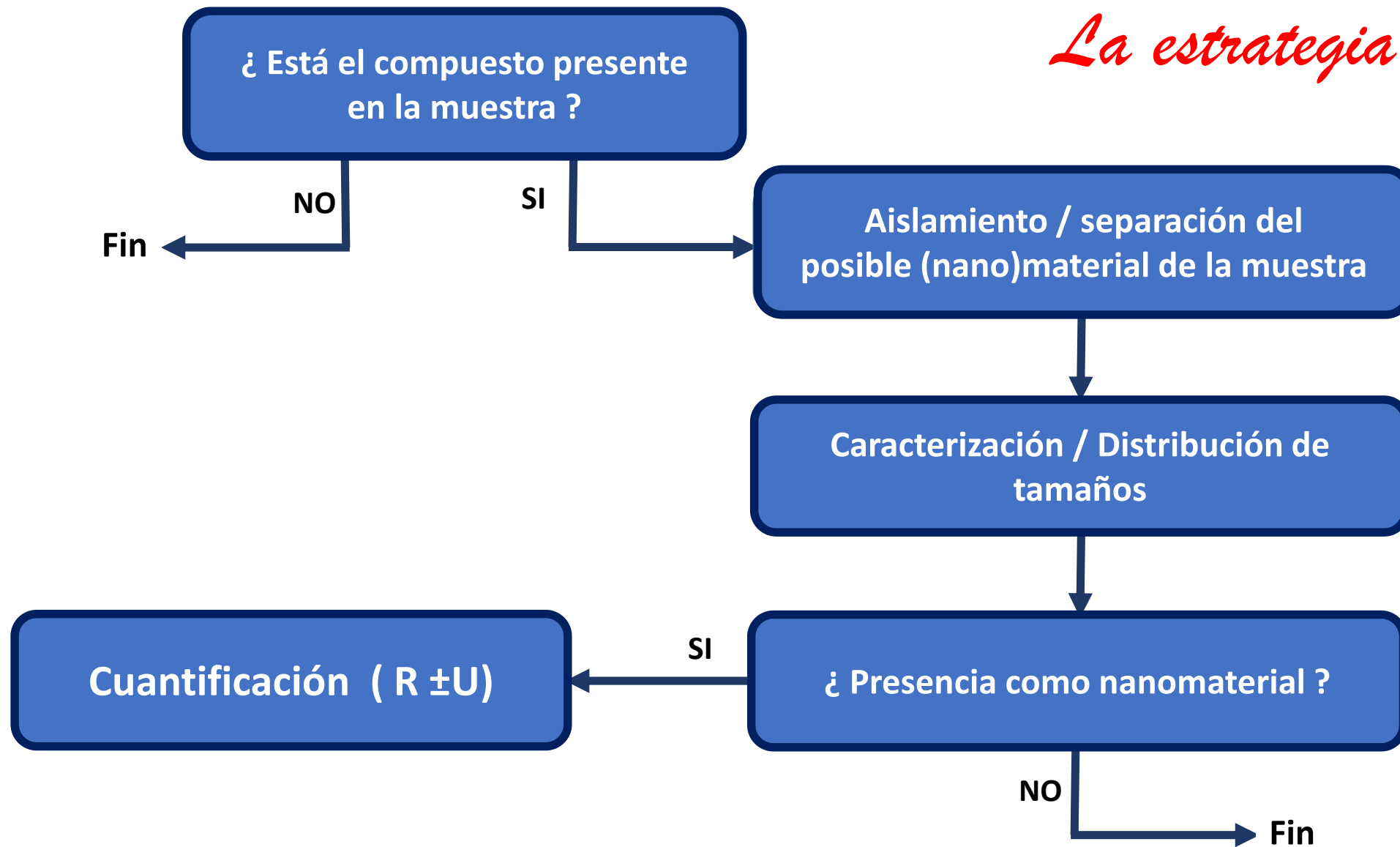
**Embalaje: AgO, ZnO, quitosano, nisina**

**Suplementos: nanoencapsulamiento de proteínas, vitaminas, nutrientes...**

... ..

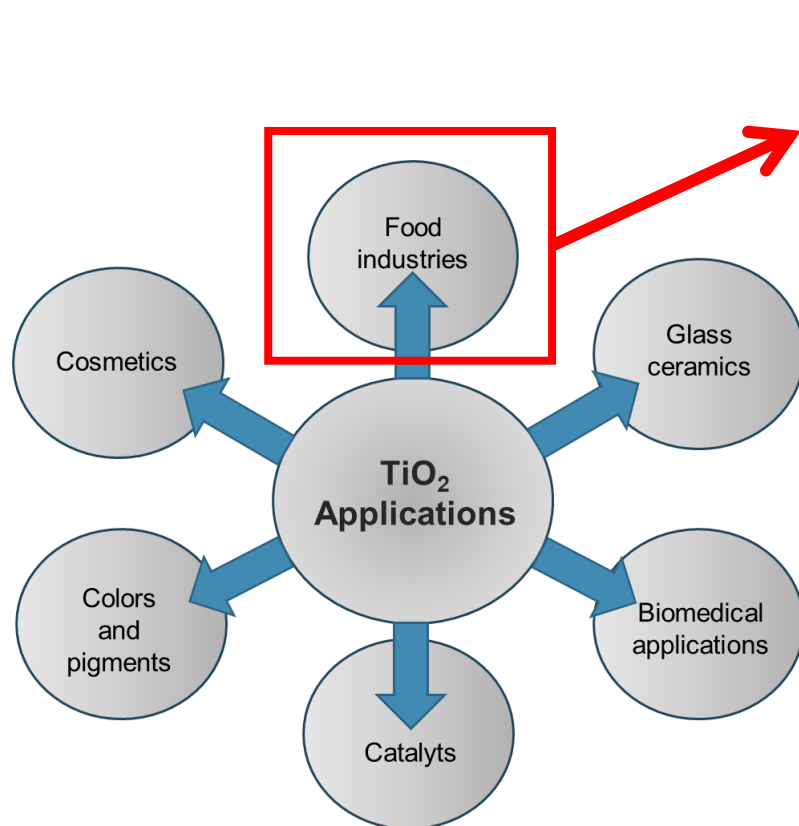
*Precaución por su seguridad – efectos nocivos – toxicidad*

*La estrategia analítica*



# Análisis de alimentos azucarados que contienen nanopartículas de $TiO_2$

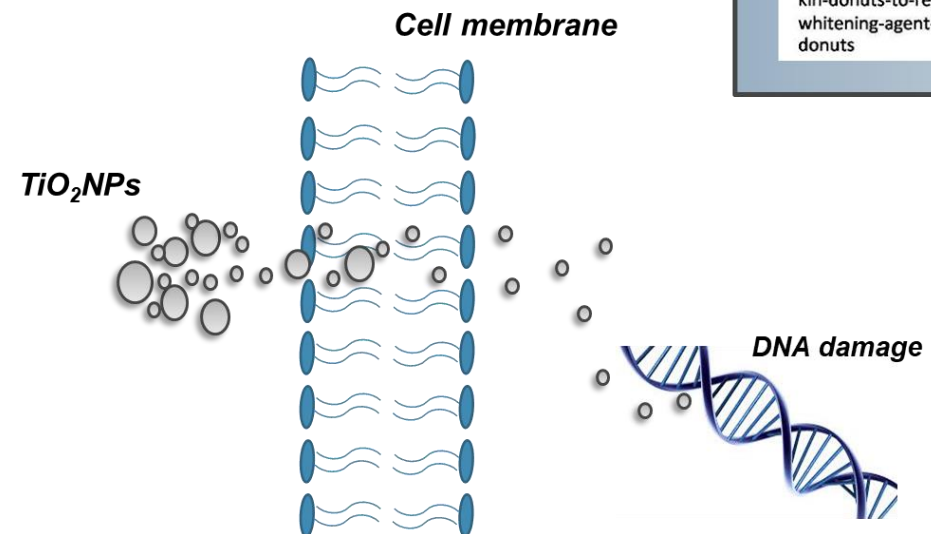
$TiO_2$  NPs: (i) por ingestión pasa a la sangre y la linfa y llega a órganos sensibles como huesos, cerebro, hígado y corazón; (ii) por inhalación se ha encontrado que es tan tóxico como el asbesto y la silicona (inflamación y efectos en el ADN).



Food-grade  $TiO_2$

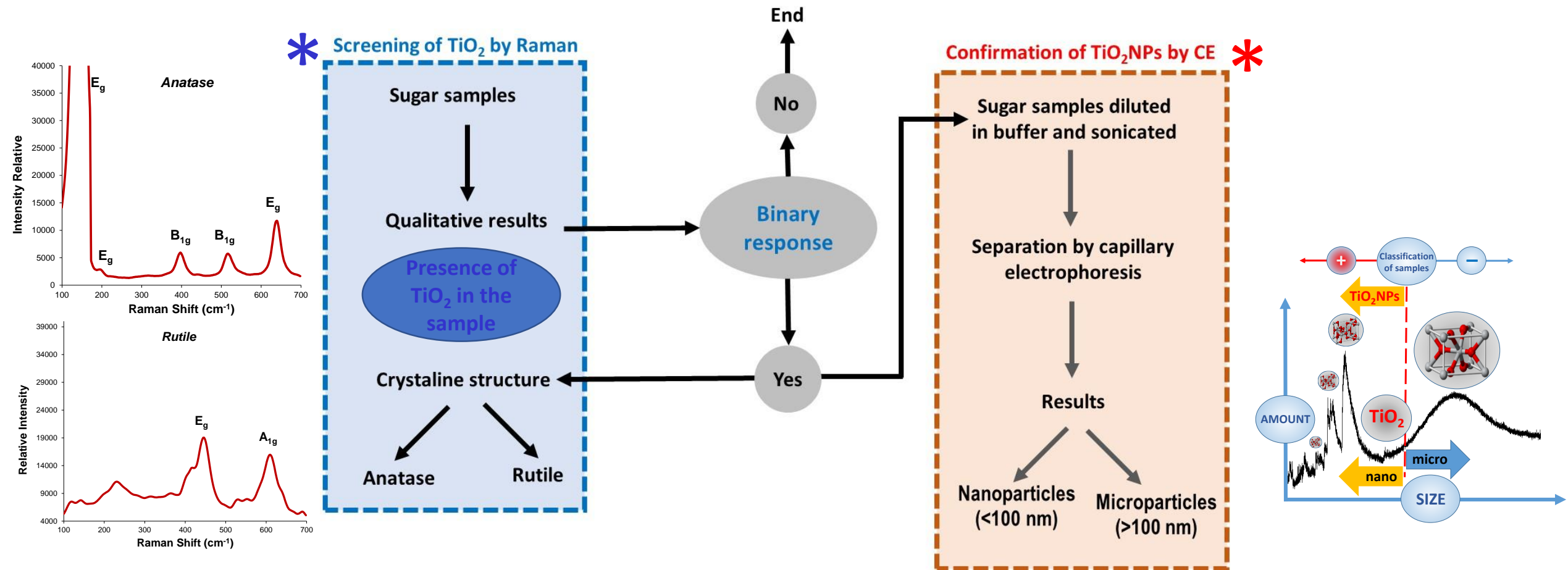
Additive E171

NANOTEC News Friday, February 19, 2016	Dunkin' Donuts to remove titanium dioxide from donuts
For additional info: <a href="http://www.theguardian.com/sustainable-business/2015/mar/11/dunkin-donuts-to-remove-whitening-agent-from-donuts">http://www.theguardian.com/sustainable-business/2015/mar/11/dunkin-donuts-to-remove-whitening-agent-from-donuts</a>	
Dunkin' Donuts announced on Tuesday it is removing titanium dioxide, a whitening agent, from its powdered donuts. The move comes after "As You Sow" an organization promoting corporate accountability, pressured the fast food chain to remove the chemical over concerns that it might be a toxic nanomaterial. The science on the toxicity of nanomaterials remains inconclusive.	

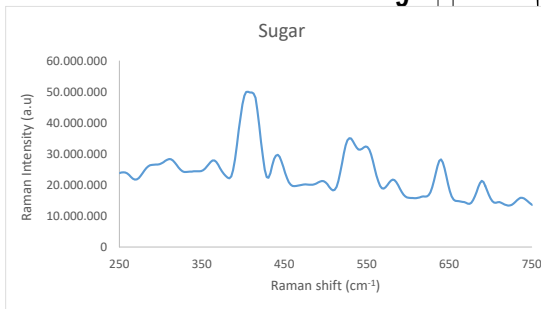
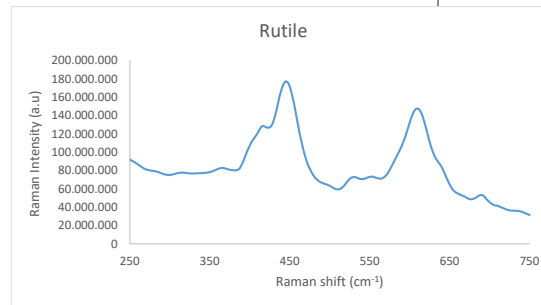
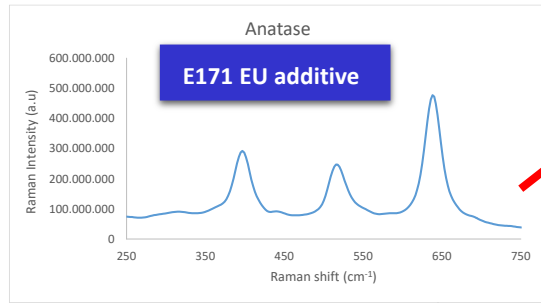


**Cytotoxic, genotoxic and carcinogenic**

# Análisis de alimentos azucarados que contienen nanopartículas de $TiO_2$ mediante espectroscopía Raman y Electroforesis Capilar



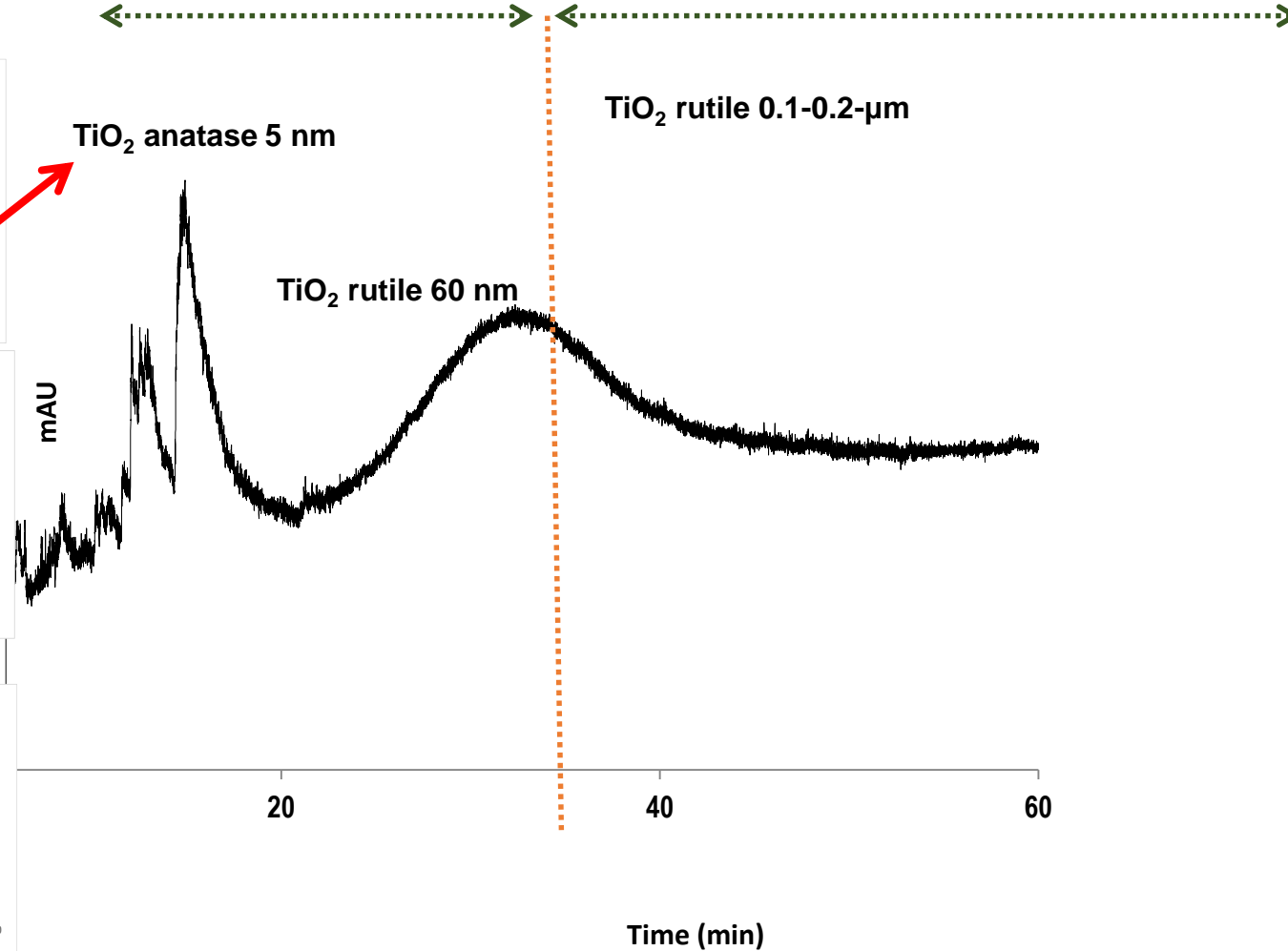
Screening of TiO<sub>2</sub> NPs by Raman spectroscopy



Raman cut-off: 0.1 µg/g

Nanoparticles <100nm

Particles >100 nm

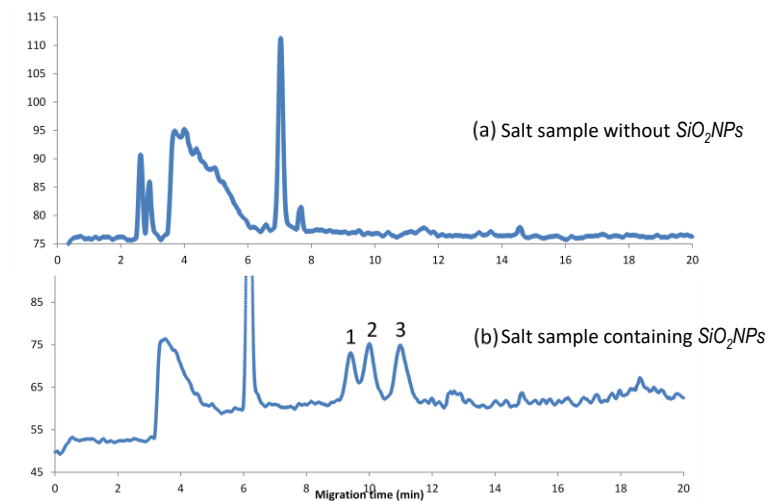
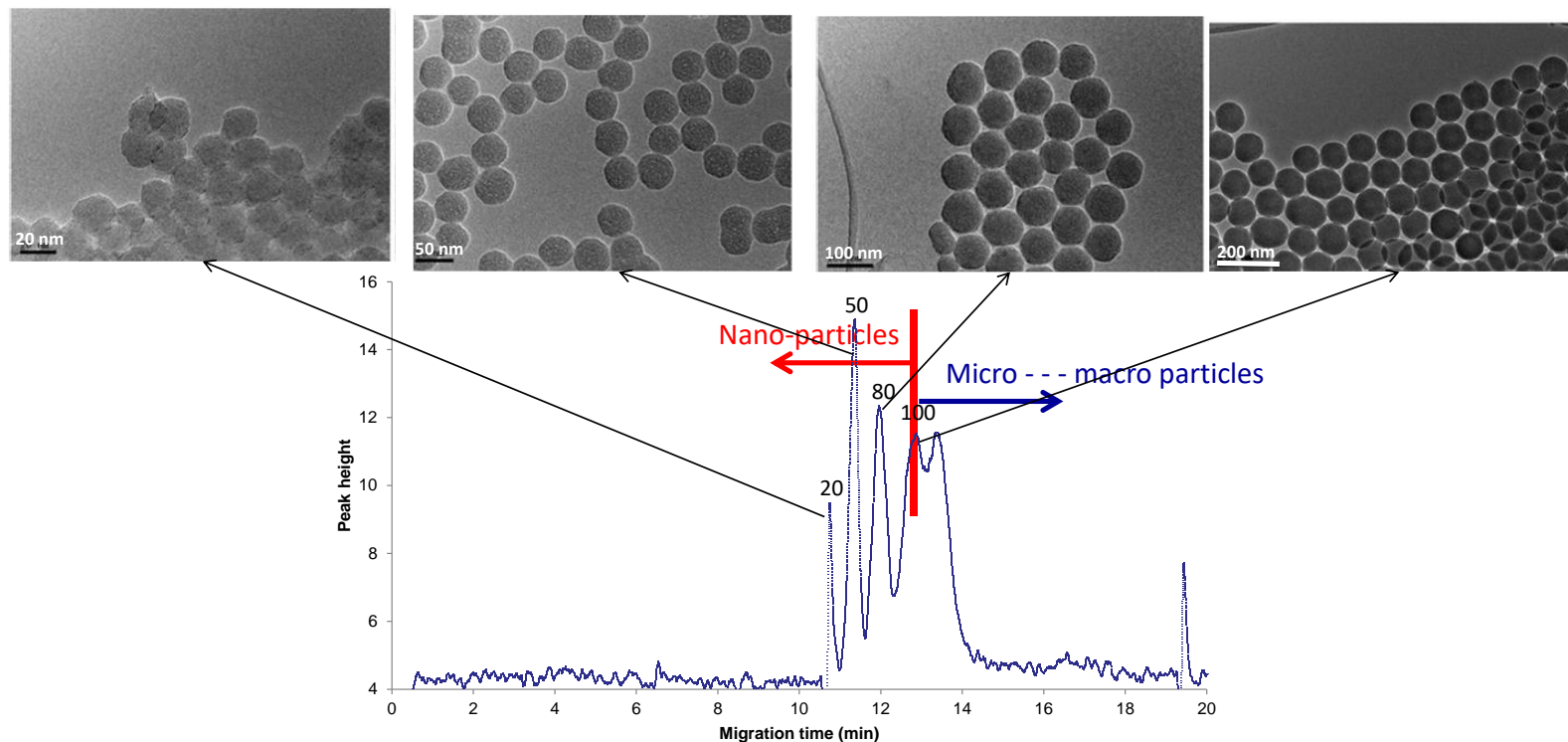


Buffer: Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> at pH = 9.5; analytical range: 0.1 – 0.5 µg/g

FDA: TiO<sub>2</sub> levels must not exceed 1% of the food weight

## **Control de nanopartículas de sílice mediante electroforesis capilar y detector de dispersión de luz**

Aditivo autorizado por la EU (E551) – Nivel máximo depende del tipo de matriz.  
Algunos estudios demuestran potenciales riesgos durante el embarazo y de coagulación.  
(clarificación del vino y la cerveza, aditivo en pastas y en sal)



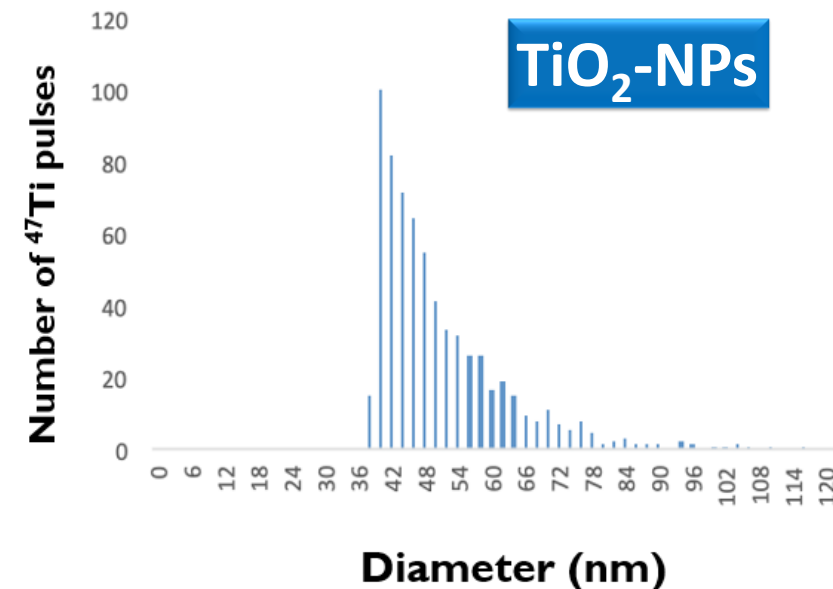
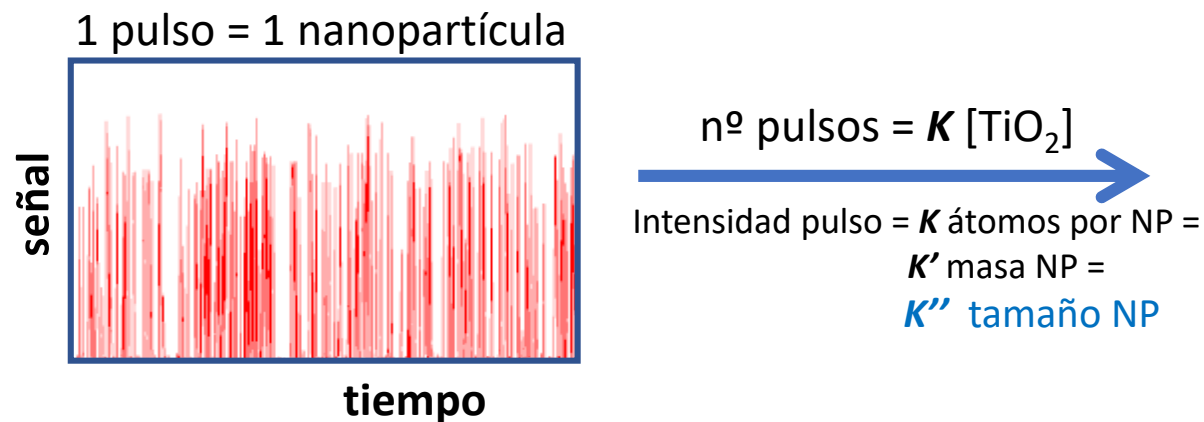
# La opción spICP-MS para la nanometrología analítica

Detección individual de NPs.

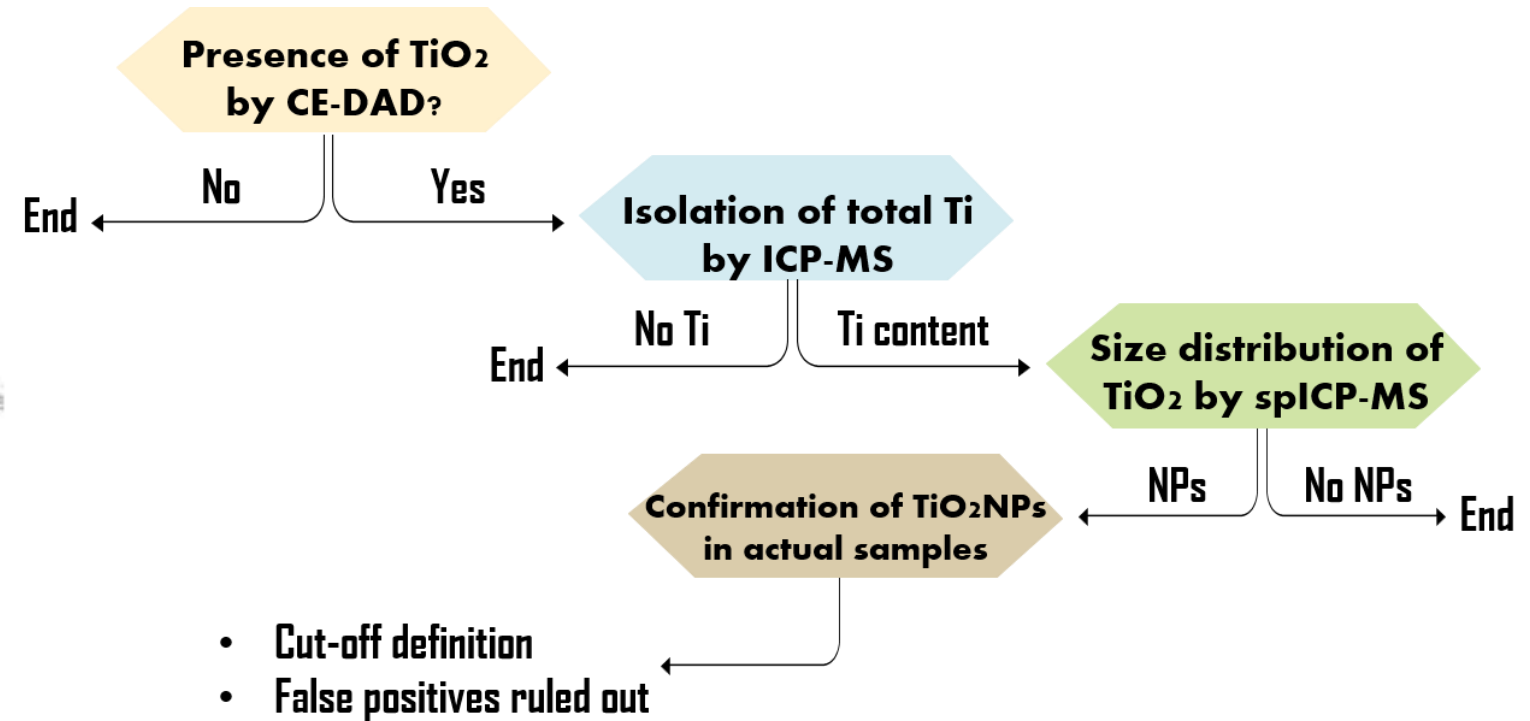
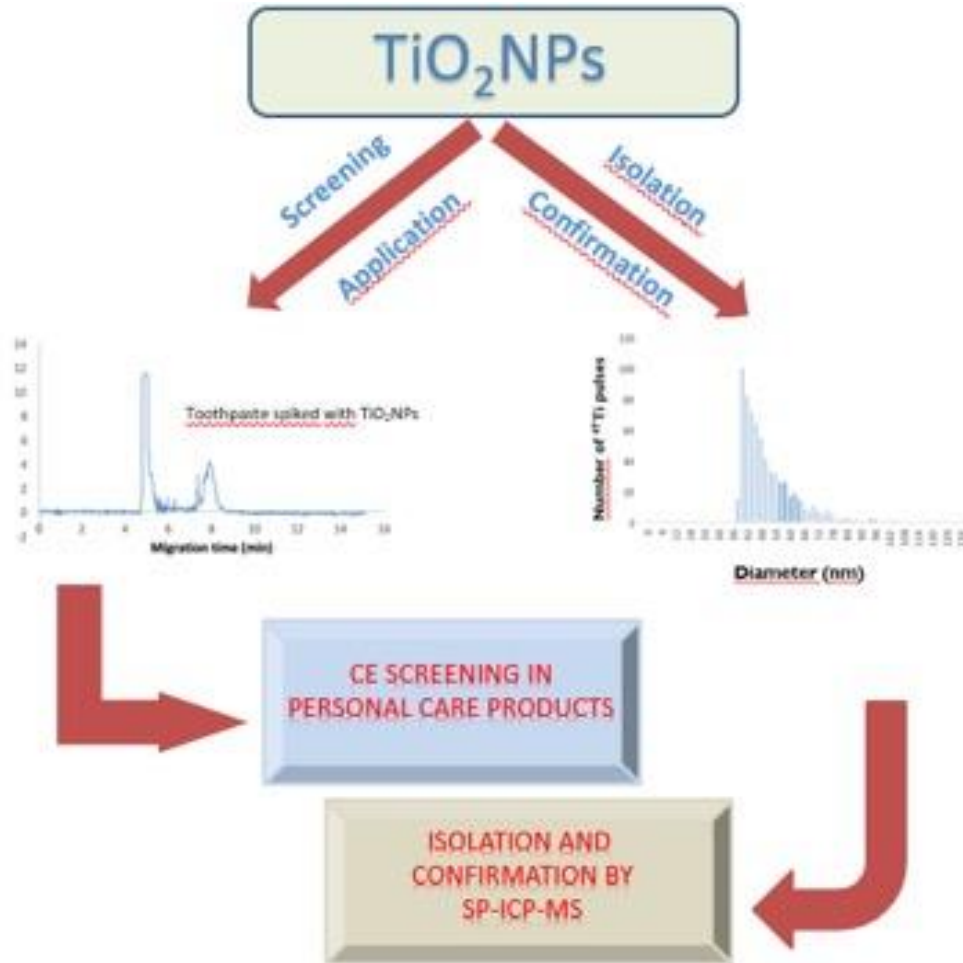
**Diferenciación entre la forma iónica y la particulada sin separación previa.**

Es específico respecto al elemento, y proporciona información sobre la composición, concentración iónica y particulada, tamaño y distribución de tamaño.

Alta sensibilidad.



# Nanometrología analítica para el control de $TiO_2$ -NPs en productos de cosmética por CE-spICP-MS



# Consideraciones

- Cada vez más los nanomateriales son empleados en casi todos los campos de la actividad humana.
- Su utilidad debe contrastarse con aspectos relacionados con la toxicidad o el daño ambiental. Realmente existe una desproporción entre la inversión destinada al desarrollo de nuevos nanomateriales respecto a la que se dedica a estudios de su toxicidad.
- **Analíticamente, ofrecen interesantes oportunidades incorporándolos en métodos analíticos como herramientas metrológicas. Sin embargo, en la actualidad es un reto importante el desarrollo de metodologías analíticas para la determinación fiable de los nanomateriales en muestras concretas donde están presentes (nanometrología analítica).**

## *Nanometrología Analítica*

Dificultades para su utilidad en laboratorios  
analíticos de rutina/control

*Identificación de problemas reales (nano-componentes en muestras específicas).*

*Tratamiento de muestra que asegure la integridad de los nano-componentes.*

*Promover el desarrollo de sistemas de screening (respuesta rápida).*

*Necesidad de patrones de calidad.*

*Necesidad de programas de garantía de calidad para la validación de métodos para NPs.*



CTQ2016-78793-P  
PID2019-104381GB-I00



**Castilla-La Mancha**

Junta de  
Comunidades de  
Castilla-La Mancha  
(SBPLY/17/180501/  
000262)



MINISTERIO  
DE TRABAJO, MIGRACIONES  
Y SEGURIDAD SOCIAL

INSTITUTO NACIONAL  
DE SEGURIDAD Y SALUD  
EN EL TRABAJO  
2017-18 (PA 1/2018)

## AGRADECIMIENTOS

[www.saman.uclm.es](http://www.saman.uclm.es)

Prof. Ángel Ríos  
Prof. Rosa C. Rodríguez  
Dr. Mohammed Zougagh  
Dr. Ana M. Contento  
Dr. María J. Villaseñor  
Dr. F. Javier Guzman  
Dr. Nuria Rodríguez  
Dr. María Jimenez  
Dr. Fernando de Andrés

Dr. Carlos Adelantado  
Dr. Virginia Moreno  
Dr. Sara López-Sanz  
Dr. Ana I. Corps  
Dr. Cristina Montes

Dr. Sergio Fernández  
M.Sci. Esther Pinilla  
M.Sci. Manuel Bartolomé  
M.Sci. Armando Sánchez  
M.Sci. Elena Briñas  
M.Sci. Natalia Villamayor  
M.Sci. Claudia López  
M.Sci. Pablo Montoro



**UCLM**  
Universidad de Castilla – La Mancha  
Ciudad Real (Spain)



University of Castilla – La Mancha

2020-GRIN-28882  
2021-GRIN-30967

*Muchas gracias  
por su atención*

*Ángel Ríos Castro*