

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Государственная публичная научно-техническая библиотека
Сибирского отделения Российской академии наук

Серия «Экология»

Издается с 1989 г.

Выпуск 109

А. И. Сапрыкин, П. П. Самойлов

**ПРОБЛЕМЫ АНАЛИТИКИ НАНОЧАСТИЦ
В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
И ДРУГИХ СЛОЖНЫХ СИСТЕМАХ**

Аналитический обзор

Новосибирск, 2020

ББК 20.18

Сапрыкин А. И., Самойлов П. П. Проблемы аналитики наночастиц в объектах окружающей среды и других сложных системах = Problems of nanoparticles analytics in environmental objects and other complex systems: аналит. обзор / Федер. гос. бюджет. учреждение науки Гос. публич. науч.-техн. б-ка Сиб. отд-ния Рос. акад. наук. – Новосибирск : ГПНТБ СО РАН, 2020. – 70 с. – (Сер. Экология. Вып. 109).

ISBN 978-5-94560-332-5

В предлагаемом обзоре рассмотрены литературные данные за 2010–2020 гг. по всей цепочке проблем наноаналитики – от отбора образцов до фракционирования, отделения и детектирования наночастиц в воздухе, водах, почвах и биологических средах. Основное внимание уделено методам разделения и детектирования, возникшим в конце XX – начале XXI в., среди которых: различные варианты полевого фракционирования потока, анализ траектории наночастиц, методы рентгеновского синхротронного излучения, одночастичная масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой и др. Обсуждены такие онлайн сочетания методов разделения и детектирования, которые позволяют в одном эксперименте определять количества искусственных наночастиц в разных метриках (число частиц и их массовая доля), распределение по размеру, агрегацию и др. Обзор может быть полезен специалистам – экологам, медико-биологам, химикам-аналитикам, имеющими дело с нанообъектами, и студентам, обучающимся по экологическим специальностям.

The review reviews the literature of the last decade along the entire chain of nano-analytical problems – from sampling to fractionation, separation and detection of nanoparticles in air, water, soil and biological environments. The main attention is paid to the methods of separation and detection that emerged in the late twentieth and early twenty-first centuries, including: various varieties of field fractionation of the flow, analysis of the trajectory of nanoparticles, methods of X-ray synchrotron radiation, sp-ISP-MS, and others. Such on-line combinations of separation and detection methods are discussed, which make it possible to determine in one experiment the number of NPLs in different metrics (number of particles and their mass fraction), size distribution, aggregation, etc. The review can be useful for specialists – ecologists, medical biologists, chemical analysts dealing with nanoobjects and students – ecologists.

Ответственный редактор д-р хим. наук, профессор О. В. Шуваева

Обзор подготовлен к печати д-ром пед. наук О. Л. Лаврик
канд. пед. наук Т. А. Калужной
Л. Т. Юкляевской

ISBN 978-5-94560-332-5 © Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственная публичная научно-техническая библиотека Сибирского отделения Российской академии наук (ГПНТБ СО РАН), 2020

ПРЕДИСЛОВИЕ

Предлагаемый обзор научных публикаций посвящен аналитике наноматериалов (НМ) и составляющих их отдельных наночастиц (НЧ) в разнообразных, в том числе и биологических объектах окружающей среды. Хотя уже в конце прошлого века НМ интенсивно синтезировали и использовали, только с 2006 года появились работы о потенциальных рисках создания и использования наноматериалов в отношении здоровья человека и вреда окружающей среде [1–3]. Впервые Всемирный экономический форум включил конкретную тему «токсичность наночастиц» в свои публикации о глобальных рисках в 2006 году [4]. Параллельно с этим были подвергнуты сомнению методологии оценки рисков НЧ, включая аналитические методы [5, р. 18–19; 6, р. 11–12]. В последующие годы было опубликовано несколько статей, в которых излагалось состояние аналитических методов, направленных на решение проблем обнаружения, характеристики и количественной оценки наночастиц [7–19]. Среди них были публикации, сфокусированные на конкретных методах, таких как электронная микроскопия [20], рассеяние света [21], масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой [22], анализ траектории частиц [23] и полевое фракционирование потока [24–26].

В большинстве этих обзоров отмечались преимущества и потенциальные ограничения каждого конкретного метода и предлагались методики и подходы к преодолению как уже обнаруженных, так и ожидаемых проблем. Большинство публикаций первого десятилетия XXI века были в основном ориентированы на характеристику недавно разработанных и синтезированных чистых наноматериалов, что означает работу с высокими концентрациями, однородными образцами в простых матрицах. Методы определения и характеристики природных и искусственных наночастиц в простых матрицах уже были доступны, но методы отслеживания количества попавших в сложные экологические системы модифицированных наночастиц были редко доступны [11]. Причина этого связана с уникальной физической и химической природой наночастиц в качестве аналитов.

Постоянно растущее производство НЧ неизбежно приводит к увеличению выброса в окружающую среду этих материалов и их последующему поглощению организмами. Изучение воздействия НЧ на клетки организмов приобретает все большее значение для понимания сложных функций

НЧ в тканях или клетках [27]. Такое знание НЧ предполагает разработку токсикокинетических и токсикодинамических моделей для определения взаимосвязей доза–ответ и понимания соответствующих вероятностей неблагоприятного исхода. К настоящему времени влияние НЧ внутри организмов изучено недостаточно, особенно с точки зрения биораспределения, локализации и накопления. Большинство исследований, относящихся к присутствию НЧ в биологических средах, проводятся в медицинских целях, и распределение НЧ проверяется с использованием высокой концентрации функционализированных и /или флуоресцентно-меченных НЧ [28, 29]. Модифицированные НЧ, однако, не могут отражать поведение немодифицированных НЧ внутри организмов [30].

В связи с этим в обзоре не рассматриваются статьи из медицинских журналов. (Применению функционализированных и модифицированных искусственных наночастиц (ИНЧ) в медицинских целях, по-видимому, целесообразно посвятить отдельный обзор.)

К сожалению, вопросы аналитики НЧ в окружающей среде и биологических объектах в том числе, практически отсутствуют в русскоязычной литературе. В какой-то степени эти проблемы затрагиваются в 20-м томе серии «Проблемы аналитической химии» «Нанообъекты и нанотехнологии в химическом анализе», под редакцией С. Н. Штыкова, вышедшем в 2015 году [31], но собранные в томе обзорные статьи содержат ссылки на источники лишь до 2013 года.

Нужно отметить, что основное внимание в литературе отводится аналитике искусственных наночастиц как продуктам антропогенной деятельности и новому источнику опасности для окружающей среды. Как следствие, очень мало исследуются природные наночастицы, хотя в некоторых случаях это плохо поддается объяснению. Самым ярким примером может служить ситуация с вулканическим пеплом, хотя при одном извержении в атмосферу и стратосферу попадает до 30 млн тонн пепла, содержащего значительное количество наночастиц. Отметим, что среди пионеров в изучении наночастиц в вулканическом пепле находятся отечественные исследователи М. С. Ермолин, В. К. Карандашев, Н. А. Малик, П. С. Федотов, В. М. Шкинев [32, 33].

За последние годы довольно существенно изменились взгляды на необходимость определения НЧ в реальных условиях и в англоязычной литературе появились работы, в том числе и обзорного характера, несомненно полезные как для исследователей – экологов, так и для студентов и аспирантов, собирающихся работать в этой области.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nel A., Xia T., Madler L., Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel // *Science*. 2006. Vol. 311, № 5761. P. 622–627. DOI: 10.1126/science.1114397.
2. Maynard A. D., Aitken R. J., Butz T., Colvin V., Donaldson K., Oberdoerster G., ... Warheit D. B. Safe handling of nanotechnology // *Nature*. 2006. Vol. 444, № 7117. P. 267–269. DOI: 10.1038/444267a.
3. Wiesner M. R., Lowry G. V., Alvarez P., Dionysiou D., Biswas P. Assessing the risks of manufactured nanomaterials // *Environmental Science & Technology*. 2006. Vol. 40, № 14. P. 4336–4345. DOI: 10.1021/es062726m.
4. Global risks 2006 // World Economic Forum (WEF). Geneva, 2006. 26 p. URL: https://www.preventionweb.net/files/9092_GlobalRiskReport1.pdf (accessed 01.04.2019).
5. Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) modified opinion (after public consultation) on the Appropriateness of Existing Methodologies to Assess the Potential Risks Associated with Engineered and Adventitious Products of Nanotechnologies. [S. 1.], 2006. 79 p. URL: https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihp/docs/scenihp_o_003b.pdf (accessed 01.04.2019).
6. Nanomaterial research strategy / U.S. Environmental Protection Agency. Washington, 2009. 49 p. URL: <https://tinyurl.com/y79o7z3n> (accessed 01.04.2019).
7. Hassellöv M., Readman J. W., Ranville J. F., Tiede K. Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles // *Ecotoxicology*. 2008. Vol. 17, № 5. P. 344–361. DOI: 10.1007/s10646-008-0225-x.
8. Tiede K., Boxall A. B. A., Tear S. P., Lewis J., David H., Hassellöv M. Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment // *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*. 2008. Vol. 25, № 7. P. 795–821. DOI: 10.1080/02652030802007553.
9. Marquis B. J., Love S. A., Braun K. L., Haynes C. L. Analytical methods to assess nanoparticle toxicity // *Analyst*. 2009. Vol. 134, № 3. P. 425–439. DOI: 10.1039/b818082b.
10. Farre M., Gajda-Schranz K., Kantiani L., Barcelo D. Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2009. Vol. 393, № 1. P. 81–95. DOI: 10.1007/s00216-008-2458-1.
11. Howard A. G. On the challenge of quantifying man-made nanoparticles in the aquatic environment // *Journal of Environmental Monitoring*. 2010. Vol. 12, № 1. P. 135–142. DOI: 10.1039/013681a.
12. Yu L., Andriola A. Quantitative gold nanoparticle analysis methods: a review // *Talanta*. 2010. Vol. 82, № 3. P. 869–875. DOI: 10.1016/j.talanta.2010.06.017.
13. Rezić I. Determination of engineered nanoparticles on textiles and in textile wastewaters // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 7. P. 1159–1167. DOI: 10.1016/j.trac.2011.02.017.
14. Weinberg H., Galyean A., Leopold M. Evaluating engineered nanoparticles in natural waters // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 1. P. 72–83. DOI: 10.1016/j.trac.2010.09.006.
15. Farre M., Sanchis J., Barcelo D. Analysis and assessment of the occurrence, the fate and the behavior of nanomaterials in the environment // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 3. P. 517–527. DOI: 10.1016/j.trac.2010.11.014.

16. da Silva B. F., Perez S., Gardinalli P., Singhal R. K., Mozeto A. A., Barcelo D. Analytical chemistry of metallic nanoparticles in natural environments // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 3. P. 528–540. DOI: 10.1016/j.trac.2011.01.008.
17. Fedotov P. S., Vanifatova N. G., Shkinev V. M., Spivakov B. Y. Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 400, № 6. P. 1787–1804. DOI: 10.1007/s00216-011-4704-1.
18. Blasco C., Pico Y. Determining nanomaterials in food // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 1. P. 84–99. DOI: 10.1016/j.trac.2010.08.010.
19. Calzolari L., Gilliland D., Rossi F. Measuring nanoparticles size distribution in food and consumer products: a review. // *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2012. Vol. 29, № 8. P. 1183–1193. DOI: 10.1080/19440049.2012.689777.
20. Dudkiewicz A., Tiede K., Loeschner K., Jensen L. H. S., Jensen E., Wierzbicki R., ... Molhave K. Characterization of nanomaterials in food by electron microscopy // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 1. P. 28–43. DOI: 10.1016/j.trac.2010.10.007.
21. Brar S. K., Verma M. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques // *Trac-Trends in Analytical Chemistry* 2011. Vol. 30, № 1. P. 4–17. DOI: 10.1016/j.trac.2010.08.008.
22. Krystek P., Ulrich A., Garcia C. C., Manohar S., Ritsema R. Application of plasma spectrometry for the analysis of engineered nanoparticles in suspensions and products // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2011. Vol. 26, № 9. P. 1701–1721. DOI: 10.1039/c1ja10071h.
23. Gallego-Urrea J. A., Tuoriniemi J., Hasselov M. Applications of particle-tracking analysis to the determination of size distributions and concentrations of nanoparticles in environmental, biological and food samples // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 3. P. 473–483. DOI: 10.1016/j.trac.2011.01.005.
24. von der Kammer F., Legros S., Larsen E. H., Loeschner K., Hofmann T. Separation and characterization of nanoparticles in complex food and environmental samples by field-flow fractionation // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 3. P. 425–436. DOI: 10.1016/j.trac.2010.11.012.
25. Baalousha M., Stolpe B., Lead J. R. Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: a critical review // *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218, № 27. P. 4078–4103. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.04.063.
26. Williams S. K. R., Runyon J. R., Ashames A. A. Field-flow fractionation: addressing the nano challenge // *Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 83, № 3. P. 634–642. DOI: 10.1021/ac101759z.
27. Holbrook R. D., Murphy K. E., Morrow J. B., Cole K. D. Trophic transfer of nanoparticles in a simplified invertebrate food web // *Nature Nanotechnology*. 2008. Vol. 3, № 6. P. 352–355. DOI: 10.1038/nnano.2008.110.
28. Urban D. A., Rodriguez-Lorenzo L., Balog S., Kinnear C., Rothen-Rutishauser B., Petri-Fink A. Plasmonic nanoparticles and their characterization in physiological fluids // *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*. 2016. Vol. 137. P. 39–49. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2015.05.053.
29. Holt B. D., Dahl K. N., Islam M. F. Quantification of uptake and localization of bovine serum albumin-stabilized single-wall carbon nanotubes in different human cell types // *Small*. 2011. Vol. 7, № 16. P. 2348–2355. DOI: 10.1002/sml.201100437.

30. Monikh F. A., Chupani L., Zuskova E., Peters R., Vancova M., Vijver M. G., ... Peijnenburg W. J. G. M. Method for extraction and quantification of metal-based nanoparticles in biological media: number-based biodistribution and bioconcentration // *Environmental Science & Technology*. 2019. Vol. 53, № 2. P. 946–953. DOI: 10.1021/acs.est.8b03715.
31. Нанообъекты и нанотехнологии в химическом анализе / С. И. Штыков, Л. А. Дыкман, Н. Г. Хлебцов и др. ; под ред. С. Н. Штыкова. Москва : Наука, 2015. 430 с. (Проблемы аналитической химии; т. 20).
32. Ermolin M. S., Fedotov P. S., Karandashev V. K., Shkinev V. M. Methodology for separation and elemental analysis of volcanic ash nanoparticles // *Journal of Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 72, № 5. P. 533–541. DOI: 10.1134/s1061934817050069.
33. Ermolin M. S., Fedotov P. S., Malik N. A., Karandashev V. K. Nanoparticles of volcanic ash as a carrier for toxic elements on the global scale // *Chemosphere*. 2018. Vol. 200. P. 16–22. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2018.02.089.

ВВЕДЕНИЕ

Наноматериалы (НМ) и составляющие их наночастицы присутствуют практически всюду: окружающая среда, продукты питания, косметика, текстиль, лекарства и т. д. Из-за своих уникальных и исключительных свойств НМ могут вести себя как новые химические вещества по сравнению с химически идентичными материалами, и, следовательно, появляется интерес к этому «новому» материалу и его физико-химическим и функциональным свойствам. Наноматериалы все больше используются для разных целей, что вызывает беспокойство с аналитической точки зрения по нескольким причинам. Во-первых, потому что их промышленное / коммерческое производство требует контроля качества произведенного НМ для того, чтобы предложить конечным пользователям продукт с заданным (и известным) качеством. Кроме того, это качество должно воспроизводиться между различными серийными партиями синтезированного продукта. Для этого необходимы надежные схемы контроля качества в процессе производства, основанные на соответствующих аналитических методах, которые обеспечивают необходимую для данного продукта характеристику. Во-вторых, расширение ассортимента и областей применения НМ приводит к их попаданию в различные природные объекты и организмы, распределению в отдельных их частях, как правило, с непредсказуемыми последствиями для этих объектов и организмов. На этом основании можно утверждать, что определение НМ и их концентрации в образцах, представляющих практический интерес, является приоритетной задачей аналитической науки сегодня.

Необходимо отметить, что в аналитике следует рассматривать не только сами НМ как целевые аналиты в конкретных образцах, но и их использование в качестве аналитических инструментов на таких этапах аналитического процесса, как пробоподготовка, обнаружение и разделение.

Кроме того, в последние годы появились аналитические приемы, позволяющие использовать некоторые определенные НМ в качестве детекторов для определения других НМ [1].

В русскоязычной литературе концепции и содержание наноаналитики в ее широком понимании изложены С. Н. Штыковым [2]. Для знакомства с основными терминами и фундаментальными результатами мы отсылаем читателя к коллективной монографии [3], и можно только сожалеть, что

в ней нет главы, посвященной проблемам определения НМ в различных экосистемах. Как правило, НЧ могут быть естественного происхождения (например, наноглины), непреднамеренно сформированными (например, сажа) или полученными для обеспечения конкретных функциональных свойств материалов, обусловленных их размерностью или формой [4]. Эти ИНЧ проявляют уникальные свойства и широко используются в коммерческих продуктах в наши дни. Наиболее распространенные НЧ и их области применения были обобщены, например, A. Lopez-Serrano et al. [5]. В марте 2015 года перечень потребительских товаров содержал 1814 продуктов, содержащих наноматериалы [6]. Среди этих ИНЧ есть НЧ, состоящие из нуль-валентного металла, оксида металла, сульфида металла или других химических форм металлов, и они составляют наибольшую часть от всех ИНЧ [7]. Мы обозначим все содержащие металлы или металлические НЧ, как МИНЧ.

Очень распространенным представителем МИНЧ являются наночастицы диоксида титана – TiO_2 . Они широко используются при изготовлении красок и красителей, в косметической промышленности, а именно для солнцезащитного крема, защищающего от УФ-компоненты солнечного света [4, 5]. Кроме того в строительной промышленности используются слои фотокаталитических TiO_2 НЧ в качестве противообрастающего агента [8, 9]. Будущей областью применения TiO_2 НЧ является «интеллектуальная упаковка для пищевых продуктов» [10]. Широко распространены ИНЧ оксидов таких металлов, как церий, медь, железо, применяемые в энергетической промышленности в качестве катализаторов или для методов визуализации в биомедицине [5, 7]. Группа НЧ с нуль-валентными металлами включает благородные металлы – золото (Au), серебро (Ag), металлы платиновой группы (МПГ) и железо (Fe). Серебро получено в виде наночастиц (AgНЧ) еще с конца XIX века [11], а в настоящее время AgНЧ составляют ~24% всех известных продуктов, содержащих наноматериалы [6]. Они добавляются к текстилю и покрытиям, так как обладают уникальными противомикробными эффектами [7, 12]. Применение AuНЧ обусловлено множеством их уникальных особенностей, таких как химическая инертность в биологических средах, легкая функционализация поверхности, оптические, термические и каталитические свойства. В медицине эти НЧ используются для гипотермической терапии, а также как носитель лекарственных средств или контрастный агент [13, 14]. Известны примеры использования AuНЧ в аналитическом разделении [15] и атомной спектроскопии [16], оптических датчиках [17] и т. д. МПГ известны своими превосходными каталитическими свойствами и применяются в автомобильной, фармацевтической и химической промышленности [18–20] и других химико-технологических приложениях [21].

Рост производства и увеличение объема применения МИНЧ вызвали опасения по поводу возможных рисков для окружающей среды и здоровья населения [5, 22]. В этой связи важно определить потенциальные источники

выбросов и изучить распределение и превращения МИНЧ в окружающей среде. Несмотря на неопределенность в отношении производства и использования будущих МИНЧ, некоторые их источники были четко идентифицированы [23–26]. Например, TiONЧ могут смываться с окрашенных фасадов во время дождя [24] или попадать в воду с кожи пловцов, использующих солнцезащитные средства [27], AgНЧ можно вымыть из тканей [28]. Ожидается, что большинство попадающих окружающую среду МИНЧ будут оставаться в биосолидах во время очистки сточных вод [29–32], и, следовательно, биосолиды могут также быть источником МИНЧ в окружающей среде [33]. Внесение в почву биосолидов (содержащих, например, Fe (0) НЧ) с целью восстановления почв и случайные выбросы МИНЧ из-за промышленных аварий также прогнозировались в работах [34, 35], но совокупные экспериментальные данные в них отсутствуют. Прогностическое моделирование количества и состояния ИНЧ в атмосфере, водах и почве привело к нескольким предварительным оценкам их концентраций в окружающей среде [23, 26]. Ожидалось [23], что предельно допустимые значения концентраций НЧ будут варьироваться от 10 мг/кг TiO_2 и 0,1 мкг/кг Ag в осадках и от 2 нг/л TiO_2 и 0,01 нг/л ZnO в поверхностных водах. Эти прогнозы признаются реалистичными.

Предполагается, что наибольшее количество МИНЧ будет выбрасываться в сточные воды и донные осадки вследствие гомо- или гетероагломерации [24]. Однако на агломерацию и дезагломерацию МИНЧ в природных водах влияют изменения ионной силы, pH, типы катионов, температура, концентрации и тип органического вещества и природных коллоидов (глины, оксиды железа, органические коллоиды и т. д.) [36–39]. Кроме того, покрытие МИНЧ часто нивелируется природным органическим веществом, что приводит к новым поверхностным свойствам [37]. МИНЧ могут реагировать на примесные компоненты воды и, следовательно, подвергаться химическим превращениям, в частности окислению, сульфидированию и растворению [24–40]. Это разнообразие физико-химических процессов, определяющее судьбу НЧ в окружающей среде, является одним из наиболее сложных аспектов в разработке специализированных аналитических методов.

Определение физико-химических свойств НЧ и исследование их структурно-функциональных отношений является сегодня серьезной проблемой. Решение этой проблемы ограничено нашей способностью полностью исследовать область наномасштаба: различные методы определения характеристик основаны на разных физических свойствах, поэтому они дают лишь частичную картину характеристик НЧ. Сами методы определения характеристик могут напрямую влиять на измеряемые величины, еще более усложняя ситуацию.

Проблема определения наноматериалов в экосистемах тесно связана с проблемами нанотоксикологии. Для обычных аналитов основной целью анализа является получение количественной информации (сколько), а также

качественной (иногда включая идентификацию химической формы). Однако, когда аналитом является наночастица, проблема намного сложнее: может потребоваться количественная информация не только в виде численного значения массовой (или молярной) концентрации, но также и о числе частиц определенного размера или величине удельной площади поверхности, а качественная информация может не только включать обнаружение НЧ как таковых, но также предоставлять как химические (состав ядра и покрытия), так и физические характеристики (например, размер, форма, агрегация / агломерация). Более того, когда НЧ внедряются в твердую матрицу или растворяются, необходимо также учитывать выпуск свободных НЧ или ионных компонентов. Необходимость всей этой информации предопределена тем, что все эти химические и физические свойства тесно связаны с возникновением, судьбой и токсичностью наночастиц. Задача аналитиков – разработать новаторские подходы к обнаружению, характеристике и количественному определению ИНЧ в сложных образцах при реальных концентрациях и при наличии природных частиц аналогичного характера. Несмотря на то, что существует ряд методов для характеристики ИНЧ, их применение при переходе к сложным многокомпонентным системам и при работе на уровне следовых количеств ИНЧ в большинстве случаев может оказаться неосуществимым. Эти новаторские подходы в большинстве случаев, прежде всего, требуют использования всего арсенала современных аналитических методов и разработки так называемых комбинированных аналитических методов. Задачи, с которыми сталкиваются аналитики, работающие в области нанотехнологий, следующие:

1) анализ промышленных и потребительских продуктов, содержащих ИНЧ (например, косметика, текстиль, полимеры, продукты питания);

2) проведение лабораторных экспериментов, связанных с выделением ИНЧ из потребительских продуктов, а также их превращениями в разных средах. В случае пищевых продуктов эксперименты *in vitro*, связанные с процессами вскрытия пробы, также включаются в рассмотрение;

3) выполнение экотоксикологических и токсикологических исследований. Транспорт и трансформации ИНЧ, добавленных в образцы для анализа *in vitro* и *in vivo*, должны отслеживаться в испытываемых средах и организмах вдоль всей цепочки анализа;

4) мониторинг возникновения и трансформации ИНЧ в течение их жизненного цикла в окружающей среде и организмах, включая людей.

В этом обзоре дается разработанный к настоящему времени набор основных принципов для исследования и характеристики ключевых параметров, определяющих свойства НЧ, а именно: состав, размер, форма, поверхностный заряд и пористость. Рассматриваются физико-химические характеристики НЧ и влияние каждой из них на функциональные свойства, изложены существующие и специализированные методы, используемые в настоящее время для оценки химического состава, размеров и морфологии наночастиц, и обсуждены их практические преимущества и недостатки.

Предлагаются некоторые рекомендации о том, как рационально исследовать физико-химические параметры наночастиц и как охарактеризовать эти ключевые свойства в различных средах в соответствии с предполагаемым использованием НЧ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lopez-Lorente A. I., Valcarcel M. The third way in analytical nanoscience and nanotechnology: Involvement of nanotools and nanoanalytes in the same analytical process // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2016. Vol. 75. P. 1–9. DOI: 10.1016/j.trac.2015.06.011.
2. Штыков С. Н. Нанообъекты и нанотехнологии в аналитической химии: определения, классификация, история, основные результаты // *Нанообъекты и нанотехнологии в химическом анализе* / С. И. Штыков, Л. А. Дыкман, Н. Г. Хлебцов и др. ; под ред. С. Н. Штыкова. Москва : Наука, 2015. С. 11–41. (Проблемы аналитической химии; т. 20).
3. *Нанообъекты и нанотехнологии в химическом анализе* / С. И. Штыков, Л. А. Дыкман, Н. Г. Хлебцов и др. ; под ред. С. Н. Штыкова. Москва : Наука, 2015. 430 с. (Проблемы аналитической химии; т. 20).
4. Farre M., Sanchis J., Barcelo D. Analysis and assessment of the occurrence, the fate and the behavior of nanomaterials in the environment // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 3. P. 517–527. DOI: 10.1016/j.trac.2010.11.014.
5. Lopez-Serrano A., Munoz Olivas R., Sanz Landaluze J., Camara C. Nanoparticles: a global vision. Characterization, separation, and quantification methods. Potential environmental and health impact // *Analytical Methods*. 2014. Vol. 6, № 1. P. 38–56. DOI: 10.1039/c3ay40517f.
6. Vance M. E., Kuiken T., Vejerano E. P., McGinnis S. P., Hochella M. F., Jr., Rejeski D., Hull M. S. Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory // *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2015. Vol. 6. P. 1769–1780. DOI: 10.3762/bjnano.6.181.
7. Piccinno F., Gottschalk F., Seeger S., Nowack B. Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world // *Journal of Nanoparticle Research*. 2012. Vol. 14, № 9, art. 1109. DOI: 10.1007/s11051-012-1109-9.
8. Lee J., Mahendra S., Alvarez P. J. J. Nanomaterials in the construction industry: a review of their applications and environmental health and safety considerations // *Acs Nano*. 2010. Vol. 4, № 7. P. 3580–3590. DOI: 10.1021/nn100866w.
9. Zhu W., Bartos P. J. M., Porro A. Application of nanotechnology in construction – summary of a state-of-the-art report // *Materials and Structures*. 2004. Vol. 37, № 273. P. 649–658. DOI: 10.1007/bf02483294.
10. Mihindikulasuriya S. D. F., Lim L. T. Nanotechnology development in food packaging: a review // *Trends in Food Science & Technology*. 2014. Vol. 40, № 2. P. 149–167. DOI: 10.1016/j.tifs.2014.09.009.

11. Nowack B., Krug H. F., Height M. 120 years of nanosilver history: implications for policy makers // *Environmental Science & Technology*. 2011. Vol. 45, № 4. P. 1177–1183. DOI: 10.1021/es103316q.
12. Le Ouay B., Stellacci F. Antibacterial activity of silver nanoparticles: a surface science insight // *Nano Today*. 2015. Vol. 10, № 3. P. 339–354. DOI: 10.1016/j.nantod.2015.04.002.
13. Chinen A. B., Guan C. M., Ferrer J. R., Barnaby S. N., Merkel T. J., Mirkin C. A. Nanoparticle probes for the detection of cancer biomarkers, cells, and tissues by fluorescence // *Chemical Reviews*. 2015. Vol. 115, № 19. P. 10530–10574. DOI: 10.1021/acs.chemrev.5b00321.
14. Ajnai G., Chiu A., Kan T., Cheng C-C., Tsai T-H., Chang J. Trends of gold nanoparticle-based drug delivery system in cancer therapy // *Journal of Experimental & Clinical Medicine*. 2014. Vol. 6, № 6. P. 172–178. DOI: 10.1016/j.jecm.2014.10.015
15. Sykora D., Kasicka V., Miksik I., Rezanka P., Zaruba K., Matejka P., Kral V. Application of gold nanoparticles in separation sciences // *Journal of Separation Science*. 2010. Vol. 33, № 3. P. 372–387. DOI: 10.1002/jssc.200900677.
16. Jiang X., Huang K., Deng D., Xia H., Hou X., Zheng C. Nanomaterials in analytical atomic spectrometry // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 39. P. 38–59. DOI: 10.1016/j.trac.2012.06.002.
17. Tokel O., Inci F., Demirci U. Advances in plasmonic technologies for point of care applications // *Chemical Reviews*. 2014. Vol. 114, № 11. P. 5728–5752. DOI: 10.1021/cr4000623.
18. Kalavrouziotis I. K., Koukoulakis P. H. The environmental impact of the platinum group elements (pt, pd, rh) emitted by the automobile catalyst converters // *Water Air and Soil Pollution*. 2009. Vol. 196, № 1–4. P. 393–402. DOI: 10.1007/s11270-008-9786-9.
19. Uibel S., Takemura M., Mueller D., Quarcoo D., Klingelhofer D., Groneberg D. A. Nanoparticles and cars – analysis of potential sources // *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2012. Vol. 7, art. 13. P. 1–5. DOI: 10.1186/1745-6673-7-13.
20. Lloyd S. M., Lave L. B., Matthews H. S. Life cycle benefits of using nanotechnology to stabilize platinum-group metal particles in automotive catalysts // *Environmental Science & Technology*. 2005. Vol. 39, № 5. P. 1384–1392. DOI: 10.1021/es049325w.
21. Gavia D. J., Shon Y.-S. Catalytic properties of unsupported palladium nanoparticle surfaces capped with small organic ligands // *Chemcatchem*. 2015. Vol. 7, № 6. P. 892–900. DOI: 10.1002/cctc.201402865.
22. Bour A., Mouchet F., Silvestre J., Gauthier L., Pinelli E. Environmentally relevant approaches to assess nanoparticles ecotoxicity: a review // *Journal of Hazardous Materials*. 2015. Vol. 283. P. 764–777. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.10.021.
23. Liu H. H., Cohen Y. Multimedia environmental distribution of engineered nanomaterials // *Environmental Science & Technology*. 2014. Vol. 48, № 6. P. 3281–3292. DOI: 10.1021/es405132z.
24. Peijnenburg W. J. G. M., Baalousha M., Chen J., Chaudry Q., Von der kammer F., Kuhlbusch T. A. J., ... Koelmans A. A. A review of the properties and processes determining the fate of engineered nanomaterials in the aquatic environment // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2015. Vol. 45, № 19. P. 2084–2134. DOI: 10.1080/10643389.2015.1010430.
25. Nowack B., Ranville J. F., Diamond S., Gallego-Urrea J. A., Metcalfe C., Rose J., ... Klaine S. J. Potential scenarios for nanomaterial release and subsequent alteration

- in the environment // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2012. Vol. 31, № 1. P. 50–59. DOI: 10.1002/etc.726.
26. Gottschalk F., Sun T., Nowack B. Environmental concentrations of engineered nanomaterials: review of modeling and analytical studies // *Environmental Pollution*. 2013. Vol. 181. P. 287–300. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.06.003.
 27. Labille J., Feng J., Botta C., Borschneck D., Sammut M., Cabie M., ... Bottero J.-Y. Aging of TiO₂ nanocomposites used in sunscreen. Dispersion and fate of the degradation products in aqueous environment // *Environmental Pollution*. 2010. Vol. 158, № 12. P. 3482–3489. DOI: 10.1016/j.envpol.2010.02.012.
 28. Benn T. M., Westerhoff P. Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics // *Environmental Science & Technology*. 2008. Vol. 42, № 11. P. 4133–4139. DOI: 10.1021/es7032718.
 29. Kiser M. A., Ladner D. A., Hristovski K. D., Westerhoff P. K. Nanomaterial transformation and association with fresh and freeze-dried wastewater activated sludge: implications for testing protocol and environmental fate // *Environmental Science & Technology*. 2012. Vol. 46, № 13. P. 7046–7053. DOI: 10.1021/es300339x.
 30. Kaegi R., Voegelin A., Sinnet B., Zuleeg S., Hagendorfer H., Burkhardt M., Siegrist H. Behavior of metallic silver nanoparticles in a pilot wastewater treatment plant // *Environmental Science & Technology*. 2011. Vol. 45, № 9. P. 3902–3908. DOI: 10.1021/es1041892.
 31. Limbach L. K., Bereiter R., Mueller E., Krebs R., Gaelli R., Stark W. J. Removal of oxide nanoparticles in a model wastewater treatment plant: Influence of agglomeration and surfactants on clearing efficiency // *Environmental Science & Technology*. 2008. Vol. 42, № 15. P. 5828–5833. DOI: 10.1021/es800091f.
 32. Kiser M. A., Westerhoff P., Benn T., Wang Y., Perez-Rivera J., Hristovski K. Titanium nanomaterial removal and release from wastewater treatment plants // *Environmental Science & Technology*. 2009. Vol. 43, № 17. P. 6757–6763. DOI: 10.1021/es901102n.
 33. Kim B., Murayama M., Colman B. P., Hochella M. F., Jr. Characterization and environmental implications of nano- and larger TiO₂ particles in sewage sludge, and soils amended with sewage sludge // *Journal of Environmental Monitoring*. 2012. Vol. 14, № 4. P. 1129–1137. DOI: 10.1039/c2em10809g.
 34. Zhang W. X. Nanoscale iron particles for environmental remediation: An overview // *Journal of Nanoparticle Research*. 2003. Vol. 5, № 3–4. P. 323–332. DOI: 10.1023/a:1025520116015.
 35. Karn B., Kuiken T., Otto M. Nanotechnology and in situ remediation: a review of the benefits and potential risks // *Environmental Health Perspectives*. 2009. Vol. 117, № 12. P. 1823–1831. DOI: 10.1289/ehp.0900793.
 36. Petosa A. R., Jaisi D. P., Quevedo I. R., Elimelech M., Tufenkji N. Aggregation and deposition of engineered nanomaterials in aquatic environments: Role of physicochemical interactions // *Environmental Science & Technology*. 2010. Vol. 44, № 17. P. 6532–6549. DOI: 10.1021/es100598h.
 37. Philippe A., Schaumann G. E. Interactions of dissolved organic matter with natural and engineered inorganic colloids: a review // *Environmental Science & Technology*. 2014. Vol. 48, № 16. P. 8946–8962. DOI: 10.1021/es502342r.
 38. Schaumann G. E., Philippe A., Bundschuh M., Metreveli G., Klitzke S., Rakchev D., ... Vogel H.-J. Understanding the fate and biological effects of Ag- and TiO₂-nanoparticles in the environment: The quest for advanced analytics

- and interdisciplinary concepts // *Science of the Total Environment*. 2015. Vol. 535. P. 3–19. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.10.035.
39. Hotze E. M., Phenrat T., Lowry G. V. Nanoparticle aggregation: Challenges to understanding transport and reactivity in the environment // *Journal of Environmental Quality*. 2010. Vol. 39, № 6. P. 1909–1924. DOI: 10.2134/jeq2009.0462.
40. Levard C., Hotze E. M., Lowry G. V., Brown G. E., Jr. Environmental transformations of silver nanoparticles: Impact on stability and toxicity // *Environmental Science & Technology*. 2012. Vol. 46, № 13. P. 6900–6914. DOI: 10.1021/es2037405.

1. МЕТОДЫ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ И ХАРАКТЕРИЗАЦИИ

1.1. Электронная микроскопия

Электронная микроскопия (ЭМ) считается одним из самых мощных методов анализа наноматериалов из-за ее способности визуализировать наночастицы и, следовательно, получать информацию об их размере, форме или состоянии агрегации, а также служить ориентиром для интерпретации результатов других методов [1, 2–4]. Среди различных методов микроскопии обычная просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ) удовлетворяет большинству требований, необходимых для характеристики ИНЧ в сложных матрицах. Только в некоторых случаях ПЭМ с высоким разрешением следует использовать для изучения отдельных наномасштабных особенностей, таких как природа некоторых покрытий наночастиц [5]. Кроме того, введение полевых эмиссионных электронных пушек в сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) позволило успешно использовать сканирующие приборы для характеристики ИНЧ благодаря лучшему пространственному разрешению (менее 1 нм), генерируемому такими типами источников электронов (сканирующая электронная микроскопия полевой эмиссии). Визуализирующая способность СЭМ и ПЭМ дополняется методами энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДРС / EDS) и спектроскопии характеристических потерь энергии электронами (СХПЭЭ / EELS) для получения информации об элементном составе и электронной структуре НЧ.

ЭДРС обычно используется совместно с СЭМ и ПЭМ для обнаружения и количественного определения элементов, более тяжелых чем бор, с неопределенностью 15–20% [6]. ПЭМ может также включать оборудование для спектроскопии характеристических потерь энергии электронами, которая способна давать структурную и химическую информацию, включая электронное состояние элемента, с пространственным разрешением вплоть до атомного уровня в благоприятных случаях. Обе взаимодополняющие спектроскопии (ЭДРС и СХПЭЭ) позволяют определять легкие и тяжелые элементы [6]. Для получения кристаллической структуры наноматериалов обычно используются дифракция электронов в выбранной области или дифракция сходящихся электронных пучков. ПЭМ может создавать изображения светлого или темного поля, которые могут обеспечить

точную информацию о размере частиц, поэтому ПЭМ является наиболее используемым методом измерения размера наночастиц [1]. Электронная микроскопия позволяет определять истинные размеры частиц, но из-за большого числа частиц, подлежащих подсчету, для получения статистически значимых и репрезентативных результатов ЭМ нельзя считать идеальным подходом для количественной оценки. Это обстоятельство делает метод трудоемким и низко производительным, или же необходимо иметь автоматический анализ изображений [7, 8].

Использование ЭМ для характеристики ИНЧ было рассмотрено в обзорах, посвященных различным типам образцов, содержащих наноматериалы в разных потребительских продуктах и природных средах [8–10], в том числе в биоматериалах [2] и пищевых продуктах [9, 11].

Основными проблемами широкого использования ЭМ в экологических исследованиях являются сложные процедуры подготовки образца и наличие необходимых для получения качественных характеристик ИНЧ условий для высокого вакуума. При всем разнообразии процедур подготовки образца использование большинства из них ставит под вопрос сохранность состояния агрегации и распределения частиц по размеру. Кроме того, поверхностные покрытия ИНЧ, такие как белковая оболочка, не видны с помощью стандартной техники просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) из-за низкого контраста в белковом слое. Для визуализации таких структур могут потребоваться специальные методы, такие как крио-ПЭМ [12, 13]. (За разработку криоэлектронной микроскопии была присуждена Нобелевская премия по химии 2017 года.)

Для получения изображения ИНЧ в окружающих их условиях предложена экологическая сканирующая ЭМ, также называемая атмосферной (АСЭМ). В АСЭМ камера с образцом может работать при 10–50 торр по сравнению с 10^{-6} – 10^{-7} торр в обычных приборах. Поэтому визуализация ИНЧ может выполняться в естественном состоянии в условиях влажности до 100% [14]. Ограничение АСЭМ заключается в том, что только тонкий поверхностный слой образца подвергается анализу, и в настоящее время АСЭМ не совместима с энергодисперсионной спектроскопией [15]. Кроме того, при используемых давлениях пространственное разрешение падает до нескольких десятков нанометров. Первое исследование наночастиц в образцах пищи методом АСЭМ было проведено Gatti et al. [16]. Luo et al. [17] исследовали применение АСЭМ для непосредственного описания распределения по размеру ИНЧ в ряде экологических и пищевых матриц. ИНЧ были обнаружены АСЭМ в жидкостях до 30 нм и 1 мг/л (число частиц порядка 9×10^{10} / мл, для 50 нм AuНЧ) [17]. В 2014 г. Tuoriniemi et al. [18] оценили использование СЭМ и АСЭМ для визуализации ИНЧ в почвах. В почвенной матрице частицы размером до 25 нм можно количественно определить при концентрациях вплоть до 10^{11} частиц/м³ (1 мкг/кг для 100 нм AgНЧ).

Многочисленные примеры детектирования ИНЧ различной природы в сложных экологических и биологически системах различными методами, в том числе и ЭМ, можно найти в обзоре [19].

1.2. Методы атомной спектроскопии

Обнаружение неорганических ИНЧ, вероятно, является первым шагом в анализе сложного образца, а специфический для каждого химического элемента метод – наиболее ценный инструмент для достижения этой цели. В этом разделе рассмотрены типичные методы элементного анализа, в том числе электротермическая атомно-адсорбционная спектроскопия (ЭТ-ААС), оптическая эмиссионная спектроскопия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-ОЭС) и масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС), а также методы на основе синхротронного рентгеновского излучения, такие как синхротронное рентгеновское флуоресцентное картирование (СИ-РФК) и синхротронное рентгеновское абсорбционное спектроскопирование (СИ-РАС). Тем не менее пользователи должны знать, что эти методы, используемые сами по себе, не являются специфическими для наночастиц, за исключением одночастичной масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ОЧ-ИСП-МС).

Методы атомной спектроскопии, такие как ЭТ-ААС, ИСП-ОЭС и ИСП-МС, могут использоваться для обнаружения, а также для количественного определения элементов, присутствующих в ИНЧ и образце [20]. В настоящее время, благодаря достигаемым низким пределам обнаружения НЧ (вплоть до нг/л), одним из наиболее распространенных методов идентификации и количественной оценки неорганических ИНЧ является ИСП-МС. ИСП-ОЭС обеспечивает пределы обнаружения НЧ в диапазоне мкг/л, в то время как для ЭТ-ААС пределы обнаружения находятся между таковыми для ИСП-МС и ИСП-ОЭС. В любом случае обычные методы атомной спектроскопии чувствительны к элементу, присутствующему в образце, который содержит ИНЧ, но они не способны предоставлять какую-либо информацию о физико-химической форме элемента (если он присутствует как форма в растворе или в виде частиц) или любую другую информацию, относящуюся к ИНЧ (например, размер, агрегация). Таким образом, эти методы ориентированы на получение общих концентраций элементов в разнообразии образцов, которые включают и образцы для исследования биоаккумуляции и биораспределения ИНЧ [21, 22].

Когда ИСП-МС используется совместно с разделительными устройствами, такими как микрофлюидные каналы на основе полевого фракционирования потока (ПФП), селективность разделения на основе размера или на основе заряда значительно увеличивается [23]. Сочетанная методика ПФП-ИСП-МС позволяет проводить анализ ИНЧ при уровне концентрации мкг/л, которая по меньшей мере в 10–100 раз ниже,

чем концентрация, определяемая методом динамического рассеяния света (ДРС) или УФ-спектроскопией [23, 24].

Для чувствительных к pH или неинертных ИНЧ, таких как Ag, ZnO и Al₂O₃, ОЧ-ИСП-МС способна отличать МИНЧ от других химических форм этих металлов и матриц без агрессивного вскрытия пробы. Распределение частиц по размерам достигается с помощью этой технологии в соответствии с результатами седиментационного ПФП [25]. При рассмотрении в качестве примера AgНЧ было показано, что каждая наночастица серебра в индуктивно-связанной плазме преобразуется в пакет ионов и обнаруживается в виде одного импульса. Его интенсивность пропорциональна количеству атомов Ag в наночастицах, тогда как перешедшие в раствор частицы генерируют импульсы постоянной средней интенсивности [26]. Растворение AgНЧ проявляется как уменьшение диаметра частиц с течением времени и завершается прямым измерением количества Ag⁺ ионов. Кроме того, в это же время отслеживается влияние химического состава воды на процесс растворения. Размер частиц используется в качестве метрики растворения, а не увеличения количества ионов металла в растворе, и размер, очевидно, является более прямым параметром измерения количества AgНЧ.

Сообщается, что минимальный обнаруживаемый размер ИНЧ составляет ~ 18 нм, но пределы определения размера могут варьироваться в зависимости от типов ИНЧ, матриц и условий измерения [25–29]. Преимущества ОЧ-ИСП-МС облегчают ее внедрение в процедуры отслеживания межфазного поведения ИНЧ и изучения судьбы ИНЧ в процессах очистки воды. Поведение ИНЧ в естественной и водопроводной воде было эффективно исследовано с помощью этого метода [27]. Было установлено, что эффективность столкновений играет доминирующую роль в агрегации и ИНЧ, вероятно, при столкновении с природными коллоидами, такими как глина и органические вещества, реагируют с образованием гетероагрегатов в экологически значимых условиях [28]. Разработка быстрых методов ОЧ-ИСП-МС была эффективной для количественной оценки концентрации, распределения по размерам и концентрации растворенных металлических элементов TiO₂, CeO₂, Ag и Au в поверхностных и очищенных водах [29–31].

Кроме того, следует отметить, что на массовую концентрацию частиц ИНЧ может существенно влиять система введения образца в аппаратуру ОЧ-ИСП-МС по причине адсорбционных потерь растворенных НЧ, но она (система) в меньшей степени затрагивает распределение по размеру и концентрацию ИНЧ. Было обнаружено, что количественная оценка редкоземельных оксидов, таких как наночастицы La₂O₃, с помощью ОЧ-ИСП-МС затруднена в связи с потерей ионов La³⁺ [32]. Применение статистических методов в ОЧ-ИСП-МС для оценки вероятности совпадения результатов при измерении полидисперсных ИНЧ затруднено, поэтому дальнейшее улучшение методики необходимо, прежде чем эта технология станет стандартным аналитическим методом для экологических ИНЧ [25].

В исследовании Gschwind et al. [33] сообщается, что количественную оценку ИНЧ с различными размерами и полидисперсностью можно проводить методом ИСП-МС с использованием генератора монодисперсных микрокапель с транспортной эффективностью более 95%. При использовании горизонтального метода введения капель уменьшение временного джиттера¹ в 5 раз сократило время измерения.

Одним из наиболее мощных средств детектирования ИНЧ в природных объектах (почвах, водах, растениях и других биологических пробах) является синхротронное излучение, вернее использующие его методы СИ-РФК и СИ-РАС.

Совместное использование СИ-РФК и СИ-РАС обеспечивает доступ к составу, локализации и химическим формам элементов, предлагая отличный баланс критериев для многоцелевой оптимизации. От ускорения электронов почти до скорости света и, следовательно, до их высоких энергий (несколько ГэВ) на установках синхротронного излучения (СИ) создаются чрезвычайно мощные и сильно коллимированные рентгеновские лучи. Синхротронный источник рентгеновского излучения, по крайней мере, на 11 порядков интенсивнее, чем самые мощные лабораторные источники рентгеновского излучения.

Имеется несколько методов, позволяющих использовать преимущества мощного источника рентгеновских лучей и их взаимодействия с веществом (поглощение, излучение, рассеяние) на установках СИ. Для поглощения рентгеновского фотона его энергия должна быть выше энергии связи электрона на атомной орбитали (энергия связи $K > L > M$ орбиталей). При использовании СИ-РФК из спектра рентгеновских лучей, полученных на источнике СИ, специальными устройствами выделяется практически монохроматическое излучение, и оно используется на специализированных экспериментальных станциях, называемых линиями луча. Рентгеновские фотоны выбивают электроны с атомных орбиталей, затем созданные дырки заполняются электронами с более высоких орбиталей. Во время этого процесса релаксации испускаются рентгеновские фотоны, называемые фотонами флуоресценции. Эти фотоны имеют характеристическую энергию для каждого элемента в периодической таблице и детектируются твердотельными детекторами, чтобы определить элементный состав в освещенной области образца. СИ-РАС – это метод, который интерпретирует особенности, создаваемые модуляцией коэффициента поглощения через энергию связи основного электрона. Это специфический для элемента спектроскопический метод, который предоставляет информацию о состоянии окисления и локальной геометрии окружения поглощающего элемента. Для изучения распределения элементов в различных матрицах все шире

¹ Джиттер (англ. jitter – дрожание или фазовое дрожание цифрового сигнала данных) – нежелательные фазовые или частотные отклонения передаваемого сигнала.

используется в разных областях исследований синхротронная микрорентгеновская флуоресцентная спектроскопия. Этот метод применялся совместно с другими методами синхротрона, чтобы исследовать координационную сферу и химическое состояние элементов, представляющих интерес.

Использование СИ-РФК позволяет достичь высокого пространственного разрешения (от нескольких мкм до десятков нм) и низких пределов обнаружения (фемтограммы) за разумное время сбора данных (± 1 с на пиксель).

В случае СИ-РАС достижение хороших пределов обнаружения (пикограммы) и требуемого спектрального разрешения (доли eV) делает этот метод применимым почти исключительно при наличии синхротронных источников рентгеновского излучения [34].

Учитывая, что анализ проводится на очень малых объемах образца (например, пучок 1 мкм^2 освещает образец толщиной 25–40 нм), СИ-РФК может обнаруживать до фемтограмм интересующего элемента в зависимости от потока, эффективности детектора и матрицы образца. При условии, что плотность биологических тканей близка к воде, содержание фемтограммы в интересующем элементе будет переводиться в локальную концентрацию $\sim 10\text{--}100 \text{ мг/кг}$ в ткани. Например, этот уровень концентрации может быть достигнут одной НЧ 80–100 нм AgНЧ (масса $\sim 1 \cdot 10^{-14} \text{ г}$), присутствующим в объеме образца 25 мкм^3 . Как правило, СИ-РАС эксплуатационного качества требует как минимум в 10 раз более высоких концентраций. Эти методы хорошо известны в науках об окружающей среде благодаря их применимости для исследования содержания элементов и их химических форм в сложных матрицах [35, 36].

1.3. Методы рассеяния света

К технологиям определения ИНЧ, основанным на эффектах рассеяния, относятся динамическое лазерное рассеяние света (ДЛРС), малоугловое рассеяние нейтронов и малоугловое рассеяние рентгеновских лучей. ДЛРС, известное также как фотон-корреляционная спектроскопия, является наиболее часто используемой высокопроизводительной методикой для измерения размера наночастиц в водных суспензиях. ДЛРС измеряет броуновское движение НЧ и через зависящие от времени колебания в интенсивности рассеяния, вызванные конструктивными и разрушительными помехами, связывает это движение с гидродинамическим диаметром НЧ [37]. При наличии мешающих частиц или образцов, содержащих частицы с гетерогенным распределением по размерам, как это обычно имеет место для образцов окружающей среды, полученные данные трудно интерпретировать [38]. Неспособность обнаружить наличие более мелких частиц из-за того, что интенсивность рассеяния зависит от диаметра частиц в шестой степени, является еще одним существенным недостатком этой методики [39].

Кроме того, методы ДЛРС требуют информацию о вязкости и показателе преломления, которая часто недоступна или трудно узнаваема для очень сложных образцов. Прямое сочетание ДЛРС с методами разделения НЧ по размерам, такими как ПФП и гидродинамическая хроматография (ГДХ), может преодолеть проблемы, связанные с полидисперсностью и присутствием мешающих частиц, путем доставки к детектору ДЛРС узких по размерам фракций [40]. Хотя ДЛРС имеет серьезные ограничения для калибровки суспензий наночастиц в сложных матрицах, его применение очень ценно для контролирования агрегации. Например, агрегация AgНЧ, взаимодействующих с синтетическим аналогом желудочного сока человека [41], желудочным соком [42] или речной водой [43], была изучена ДЛРС. Кроме того, этот метод был также использован для доказательства достоверности данных AF4² в потребительских товарах, хотя для некоторых образцов результаты ДЛРС давали несколько больший диаметр частиц по сравнению с результатами AF4 [44].

Многоугловое рассеяние света (МУРС), известное также как статистическое рассеяние света, обеспечивает получение тех характеристик физических свойств, которые можно вывести из измерения угловой зависимости рассеянного частицей света. Усредненные по времени интенсивности рассеяния измеряются при нескольких углах для получения различных параметров размера, включая радиус вращения. Следовательно, МУРС в сочетании с ДЛРС или ПФП может предоставить информацию о форме частиц [45]. Поскольку МУРС требует более чистых образцов, чем ДЛРС, и относительно более глубоких знаний оптических свойств частиц, его использование для характеристики ИНЧ в сложных образцах ограничено и всегда связано с ПФП [46–49].

1.4. Анализ траекторий наночастиц

Развитие технологии рассеяния света привело к появлению дополнительного метода для характеристики судьбы и поведения ИНЧ в природных матрицах – анализу траекторий наночастиц (АТНЧ). Это метод с высоким разрешением, который позволяет улавливать небольшие различия между двумя частицами или совокупностями частиц на основе либо диффузии и броуновского движения, либо интенсивности рассеяния света. Программное обеспечение записывает серию видеофайлов (обычно продолжительностью 30–60 с) просматриваемых частиц, а затем одновременно идентифицирует и отслеживает центр каждой частицы по кадрам. Затем программное обеспечение для анализа изображений определяет среднее расстояние, пройденное каждой частицей в направлениях x и y . Это значе-

² AF4 – асимметрическое фракционирование.

ние позволяет найти коэффициент диффузии частиц (D_t) и, используя уравнение Стокса-Эйнштейна, рассчитать гидродинамический диаметр.

Этот метод позволяет измерять как число частиц, так и распределение их по размерам в пробах окружающей среды [50–53] и находит широкое применение в областях мониторинга окружающей среды и очистки воды. АТНЧ хорошо зарекомендовал себя в качественном и количественном понимании процессов разделения ИНЧ [54]. Была также изучена надежность измерений АТНЧ в сложных матрицах окружающей среды. Сравнение АТНЧ и ИСП-МС показало, что линейная корреляция между двумя методами может быть получена только в пределах концентрации НЧ 10–250 мкг/л, что было выше, чем в большинстве исследований окружающей среды.

Комбинируя АТНЧ с другими методами, включая ДРС, ТЭМ, СЭМ и атомно-силовую микроскопию, можно эффективно наблюдать поведение ИНЧ во всем диапазоне химического состава водной среды, как природной, так и лабораторной [55–58].

Как простой, быстрый и недорогой метод анализа ИНЧ, коммерчески доступный АТНЧ демонстрирует поразительные характеристики, такие как минимальное возмущение и высокое разрешение, однако его применение ограничено низкой чувствительностью для мелких частиц (в частности, 10–50 нм) и / или материалов с низким показателем преломления, высокой зависимостью от оператора, набором статистики измерения и трудностями в вычислениях [50, 59].

1.5. Спектроскопия комбинационного рассеяния

Среди других методов, разработанных для характеристики ИНЧ, повышенное внимание привлекает спектроскопия комбинационного рассеяния (СКР) усиленная поверхностью (СКРУП) [60, 61]. Для наноразмерных частиц СКР довольно чувствительна при обнаружении определенных ИНЧ (например, TiO_2 НЧ) на основе их собственного спектра комбинационного рассеяния (КР) [62, 63]. Быстрая идентификация и характеристика двух типов наночастиц TiO_2 – рутила и анатаза – из сложных матриц была достигнута с помощью СКРУП и описана в исследовании Zhao et al. [63]. Концентрации двух типов наночастиц TiO_2 были определены из соответствующих интенсивностей линий КР. Размер частиц, не зависящий от концентраций TiO_2 НЧ, затем был получен соотношением между интенсивностью комбинационного рассеяния НЧ TiO_2 и интенсивностью СКРУП миррицина – (3, 3', 4', 5, 5', 7-гексагидроксифлон), связанного с НЧ. Чтобы увеличить сигналы КР, можно использовать индикаторы КР, такие как 4-аминониофенол. Они способны к сильному связыванию с ИНЧ и эффективно различают Ag НЧ (20–100 нм, 1–20 мг/л) и Au НЧ (12–60 нм, 1–50 мг/л) от химических форм отличных от ИНЧ в сложных матрицах [64].

Техническое развитие СКРУП привело к разработке различных типов СКР, которые можно обобщенно обозначить как усиленная плазмонном спектроскопия комбинационного рассеяния (УПСКР) [65].

Когда СКР сочетается с другими методами, могут быть сформулированы простые и легкие в эксплуатации способы ее использования [64, 66]. Структура и химические свойства наночастиц CeO_2 были охарактеризованы комбинацией СКР, оптической спектроскопии и импульсной кулонометрии [66]. Эти три метода в совокупности предоставляют информацию о структуре НЧ, их химическом поведении по отношению к некоторым обычным восстановителям и окислителям и агрегации, соответственно. Было отмечено, что полоса в спектре комбинационного рассеяния при 595 см^{-1} обусловлена большим количеством дефектов в кристаллической структуре, что делает эти НЧ более химически реактивными, чем другие с такими же размерами и концентрациями Се (III). Судьба и трансформация ИНЧ в различных типах образцов воды были исследованы с помощью комбинационного спектрального и гиперспектрального анализа изображений. В присутствии материалов для покрытия согласно СКР кажущийся гидродинамический размер ИНЧ увеличился, в то время как основной размер остался неизменным [67].

1.6. Электрофоретическое рассеяние света

Электрофоретическое рассеяние света (ЭФРС) является наиболее распространенным методом, используемым для измерения электрофоретической подвижности диспергированных НЧ. Измеренная в образце электрофоретическая подвижность может быть преобразована в ζ – среднее значение дзета потенциала. Метод ЭФРС имеет большие преимущества: он требует минимальной подготовки образца, пригоден для больших ансамблей частиц, что дает результаты с хорошей статистикой, и при использовании одноразовых капиллярных ячеек свободен от перекрестного загрязнения образцов. Электрофоретическое рассеяние света используется для оценки дзета-потенциала НЧ в суспензии по их электрофоретической подвижности u , определяемой как $u = v / E$, где v – скорость частицы, а E – внешнее приложенное электрическое поле [68]. Дзета-потенциал ζ и электрофоретическая подвижность связаны уравнением Генри:

$$u = \frac{2 \cdot \epsilon \cdot \epsilon_0 \cdot E}{3 \eta} f(\chi \alpha)$$

где ϵ – относительная диэлектрическая проницаемость раствора, ϵ_0 – диэлектрическая проницаемость в вакууме, $f(\chi \alpha)$ – функция Генри и η – вязкость раствора.

Подобно ДРС, луч лазера пропускается через измерительную кювету, и к суспензии частиц прикладывается электрическое поле. Если частицы заряжены, они совершают движение к электроду с противоположным знаком заряда относительно их поверхностного заряда. Движение частиц индуцирует так называемый доплеровский сдвиг частоты рассеянного света, который пропорционален скорости частиц [69]. Это доплеровское смещение и направление движения к положительному или отрицательному электроду затем используется для оценки электрофоретической подвижности частиц в суспензии и, в свою очередь, их дзета-потенциала. Тем не менее ζ зависит от среды, в которой диспергированы частицы, а рН и ионная сила раствора или концентрация частиц сильно влияют на его значение [68]. Как таковой, дзета-потенциал суспензии наночастиц должен характеризоваться в условиях, которые близко имитируют конечную рабочую среду наночастиц. Различные экспериментальные схемы были разработаны для проведения измерений в концентрированных образцах ($> 0,01$ – $0,1\%$ об./об.), где эффекты многократного рассеивания и высокая мутность раствора препятствуют определению электрофоретической характеристики рассеяния света [70]. Определение электрофоретического рассеяния света часто выполняется с помощью тех же инструментов, которые используются для нахождения характеристик методом ДРС.

1.7. Аналитическое ультрацентрифугирование

Аналитическое ультрацентрифугирование (АУЦ) позволяет одновременно определять размер, распределение НЧ по размерам и плотность суспензии наночастиц путем выявления седиментационных свойств наночастиц при воздействии центробежной силы [71]. Оборудование для АУЦ состоит из высокоскоростной центрифуги, оснащенной прозрачной ячейкой и детектором для контроля за динамическим профилем концентрации частиц вдоль оси ячейки во время центрифугирования (скорость седиментации) и конечного термодинамического равновесия (равновесие седиментации) [72]. Во время осаждения частицы разного размера и молекулярной массы отделяются от раствора и оседают с разной скоростью, поэтому могут быть обнаружены мультимодальные распределения образцов по размеру. Чрезвычайно высокая чувствительность АУЦ к изменениям в плотности и массе наночастиц делает этот метод особенно подходящим для исследования покрытия поверхности частиц [73, 74]. Кроме того, возможность интеграции многоволновой оптической характеристики во время осаждения образцов значительно расширяет область применения АУЦ в характеристике наночастиц, позволяя, например, исследовать взаимодействие наночастиц с белками [75] или форму частиц и оптическое поведение набора полидисперсных образцов в одном эксперименте [76]. Однако интерпретация данных и перевод параметров седиментации в информацию о размере и форме

ИНЧ не являются тривиальными и могут зависеть от нескольких факторов, таких как концентрация образца или взаимодействия образца с материалом ячейки. Высокая стоимость измерительного оборудования и длительное время анализа сильно ограничивают широкое применение этого метода.

1.8. Эксклюзионная хроматография

Обычно применяемая для разделения и анализа макромолекул и вирусов, эксклюзионная хроматография (ЭХ) все чаще используется для разделения полидисперсных наборов наночастиц в соответствии с их гидродинамическим радиусом [77]. Разделительная колонка, используемая в ЭХ, заполнена пористыми микрочастицами с различными отверстиями пор в диапазоне от нескольких до сотен нанометров, образуя так называемую твердую фазу колонки. Раствор образца или жидкую фазу затем вводят в колонку и прикладывают давление, чтобы суспензия наночастиц протекала через колонку. Разделение ЭХ использует дифференциальную диффузию наночастиц в структуру пор твердой фазы: частицы с меньшим гидродинамическим радиусом имеют тенденцию больше диффундировать в пористую структуру твердой фазы, в то время как более крупные компоненты поглощения движутся быстрее через колонку из-за более короткой диффузии пути и меньшего взаимодействия с твердой фазой. Эффективное фракционирование образца достигается при элюировании жидкой фазы из колонки. Эксклюзионная хроматография широко использовалась для очистки наночастиц [78–80]. Однако применение этого метода для количественного анализа и характеристики размера частиц имеет многочисленные ограничения. Хотя частицы известных размеров можно использовать для калибровки взаимосвязи между временем элюирования и размером частиц, количественная оценка абсолютного размера и фракционирование могут быть очень сложными [81]. Частицы с различными поверхностными зарядами и формой могут по-разному взаимодействовать с твердой фазой, что затрудняет прогнозирование и перевод времени элюирования в информацию о размере. Однако возможность использования этого метода в промышленном производстве и для характеристики продукции способствует появлению новых работ по исследованию применения ЭХ для количественного анализа размера наночастиц [77, 81, 82].

1.9. Перестраиваемое резистивное импульсное зондирование

Перестраиваемое резистивное импульсное зондирование (ПРИЗ) – это доступный, в том числе и коммерчески, метод для определения размера, дзета-потенциала и концентрации частиц в суспензии с одночастичным разрешением и в сложных условиях среды [83]. ПРИЗ основан на прин-

ципе счетчика Култера, который измеряет изменение ионного тока через микроотверстие (пору) непроводящей перегородки, вызванное частичной блокировкой отверстия вследствие прохождения частицы. Таким образом, ПРИЗ требует использования проводящих растворов для анализа. Данное требование делает эту методику применимой для характеристики НЧ в физиологических буферных условиях для исследования судьбы и взаимодействия наночастиц в сложных средах [84]. ПРИЗ отличается от стандартных измерений резистивных импульсов, так как апертура поры может быть настроена путем растяжения поросодержащей мембраны. Перестраиваемость апертуры пор позволяет как очищать поры в случае засорения, так и адаптировать чувствительность измерения во время сбора данных [85]. Приведенное ниже уравнение описывает поток частиц (число частиц/сек·см²) через пору:

$$\mathbf{J} \approx (\mathbf{J}_{ep} + \mathbf{J}_{eo}) + \mathbf{J}_{pdf} = \frac{C\varepsilon}{\eta} (\zeta_{part} - \zeta_{pore})\mathbf{E} + \frac{C}{A}\mathbf{Q},$$

где \mathbf{J}_{ep} и \mathbf{J}_{eo} представляют электрофоретический и электроосмотический потоки, генерируемые электрическим полем \mathbf{E} , соответственно, и \mathbf{J}_{pdf} указывает управляемый давлением поток с объемной скоростью потока \mathbf{Q} (здесь жирным шрифтом обозначены векторные величины). C – концентрация частиц, ε – диэлектрическая проницаемость раствора и η – вязкость раствора, A – площадь поперечного сечения поры, ζ_{part} и ζ_{pore} – это дзета-потенциалы частицы и поры соответственно. Когда \mathbf{J}_{ep} и \mathbf{J}_{eo} пренебрежимо малы по отношению к \mathbf{J}_{pdf} , концентрацию частиц можно измерить путем расчета скорости зарегистрированных событий, если известен поток, управляемый давлением. Амплитуда изменения индуцированного тока несет информацию о размере частиц и масштабном соотношении размера частиц и апертуры пор. Кроме того, исследование формы индуцированного пика также может предоставить информацию о форме и анизотропии частиц [86]. Наконец, ПРИЗ также можно использовать для измерения поверхностного заряда частиц в растворе. Это свойство может быть получено либо путем изменения приложенного давления и измерения электрического поля через пору, при условии $\mathbf{J} = 0$, либо, если \mathbf{J}_{pdf} известен из калибровки, путем оценки скорости частицы, которая пропорциональна ширине индуцированного пика [85]. Этот последний метод, в частности, позволяет получать измерения поверхностного заряда одной частицы. Хотя обычно предполагается, что амплитуда сигнала линейно масштабируется в зависимости от объема частиц, и эта зависимость отклоняется от линейности, когда размер частиц приближается к размеру апертуры пор или для сильно растянутых пор, которые могут иметь непредсказуемую форму и размер апертуры [83]. Поскольку эти эффекты трудно смоделировать с высокой точностью, можно использовать калиброванные частицы известных размеров для характеристики ПРИЗ измеряемых образцов.

1.10. Флуоресцентная корреляционная спектроскопия

Флуоресцентная корреляционная спектроскопия и флуоресцентная кросс-корреляционная спектроскопия основаны на обнаружении не рассеянного, а испускаемого света [87, 88]. По мере того как флуорофоры диффундируют в ограниченный объем возбуждающего света в установке конфокальной микроскопии и выходят из нее, они излучают флуоресцентный свет, и результирующие флуктуации интенсивности излучаемого света регистрируются детектором. Подобно ДРС, флуктуации интенсивности можно использовать для генерации функции автокорреляции или взаимной корреляции, которая, в свою очередь, позволяет извлекать коэффициенты поступательной диффузии, а сами коэффициенты диффузии зависят от гидродинамического размера частиц [89, 90]. В то же время амплитуда сигнала зависит от количества флуорофоров, присутствующих в объеме возбуждения. Помимо определения коэффициентов диффузии, эти методы также могут быть использованы для исследования химических констант скорости, молекулярных концентраций или, особенно в случае флуоресцентной кросскорреляционной спектроскопии, событий связывания в сложных системах, которые не вызывают существенного изменения массы и, следовательно, диффузионных свойств [91]. Как правило, концентрация должна быть довольно низкой (порядка 5 молекул в любой момент времени в объеме возбуждения). Методика особенно полезна для характеристики небольших динамических систем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Calzolari L., Gilliland D., Rossi F. Measuring nanoparticles size distribution in food and consumer products: a review // *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2012. Vol. 29, № 8. P. 1183–1193. DOI: 10.1080/19440049.2012.689777.
2. Hendrickson O. D., Safenkova I. V., Zherdev A. V., Dzantiev B. B., Popov V. O. Methods of detection and identification of manufactured nanoparticles // *Biophysics*. 2011. Vol. 56, № 6. P. 961–986. DOI: 10.1134/S0006350911060066.
3. Lapresta-Fernandez A., Salinas-Castillo A., de la Llana S. A., Costa-Fernandez J. M., Dominguez-Meister S., Cecchini R., ... Anderson I. S. A general perspective of the characterization and quantification of nanoparticles: imaging, spectroscopic, and separation techniques // *Critical Reviews in Solid State and Materials Sciences*. 2014. Vol. 39, № 6. P. 423–458. DOI: 10.1080/10408436.2014.899890.
4. Sadik O. A., Du N., Kariuki V., Okello V., Bushlyar V. Current and emerging technologies for the characterization of nanomaterials // *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*. 2014. Vol. 2, № 7. P. 1707–1716. DOI: 10.1021/sc500175v.

5. Lewicka Z. A., Benedetto A. F., Benoit D. N., Yu W. W., Fortner J. D., Colvin V. L. The structure, composition, and dimensions of TiO₂ and ZnO nanomaterials in commercial sunscreens // *Journal of Nanoparticle Research*. 2011. Vol. 13, № 9. P. 3607–3617. DOI: 10.1007/s11051-011-0438-4.
6. Williams D. B., Carter C. B. *Transmission Electron Microscopy: a Textbook for Materials Science*. New York : Plenum Press, 2009. 760, XIV p.
7. Howard A. G. On the challenge of quantifying man-made nanoparticles in the aquatic environment // *Journal of Environmental Monitoring*. 2010. Vol. 12, № 1. P. 135–142. DOI: 10.1039/013681a.
8. Hassellöv M., Readman J. W., Ranville J. F., Tiede K. Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles // *Ecotoxicology*. 2008. Vol. 17, № 5. P. 344–361. DOI: 10.1007/s10646-008-0225-x.
9. Tiede K., Boxall A. B. A., Tear S. P., Lewis J., David H., Hassellöv M. Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment // *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*. 2008. Vol. 25, № 7. P. 795–821. DOI: 10.1080/02652030802007553.
10. Bandyopadhyay S., Peralta-Videa J. R., Hernandez-Viezcas J. A., Montes M. O., Keller A. A., Gardea-Torresdey J. L. Microscopic and spectroscopic methods applied to the measurements of nanoparticles in the environment // *Applied Spectroscopy Reviews*. 2012. Vol. 47, № 3. P. 180–206. DOI: 10.1080/05704928.2011.637186.
11. Dudkiewicz A., Tiede K., Loeschner K., Jensen L. H. S., Jensen E., Wierzbicki R., ... Molhave K. Characterization of nanomaterials in food by electron microscopy // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 1. P. 28–43. DOI: 10.1016/j.trac.2010.10.007.
12. Goldberg-Oppenheimer P., Regev O. Exploring a nanotube dispersion mechanism with gold-labeled proteins via Cryo-TEM imaging // *Small*. 2007. Vol. 3, № 11. P. 1894–1899. DOI: 10.1002/smll.200700124.
13. Regev O., Backov R., Faure C. Gold nanoparticles spontaneously generated in onion-type multilamellar vesicles. Bilayers-Particle coupling imaged by Cryo-TEM // *Chemistry of Materials*. 2004. Vol. 16, № 25. P. 5280–5285. DOI: 10.1021/cm049251n.
14. Tiede K., Tear S. P., David H., Boxall A. B. A. Imaging of engineered nanoparticles and their aggregates under fully liquid conditions in environmental matrices // *Water Research*. 2009. Vol. 43, № 13. P. 3335–3343. DOI: 10.1016/j.watres.2009.04.045.
15. Singh G., Stephan C., Westerhoff P., Carlander D., Duncan T. V. Measurement methods to detect, characterize, and quantify engineered nanomaterials in foods // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014. Vol. 13, № 4. P. 693–704. DOI: 10.1111/1541-4337.12078.
16. Gatti A. M., Tossini D., Gambarelli A., Montanari S., Capitani F. Investigation of the presence of inorganic micro- and nanosized contaminants in bread and biscuits by environmental scanning electron microscopy // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2009. Vol. 49, № 3. P. 275–282. DOI: 10.1080/10408390802064347.
17. Luo P., Morrison I., Dudkiewicz A., Tiede K., Boyes E., O'Toole P., ... Boxall A. B. Visualization and characterization of engineered nanoparticles in complex environmental and food matrices using atmospheric scanning electron microscopy // *Journal of Microscopy*. 2013. Vol. 250, № 1. P. 32–41. DOI: 10.1111/jmi.12014.
18. Tuoriniemi J., Gustafsson S., Olsson E., Hasselöv M. In situ characterisation of physicochemical state and concentration of nanoparticles in soil ecotoxicity studies

- using environmental scanning electron microscopy // *Environmental Chemistry*. 2014. Vol. 11, № 4. P. 367–376. DOI: 10.1071/en13182.
19. Laborda F., Bolea E., Cepria G., Gomez M. T., Jimenez M. S., Perez-Arategui J., Castillo J. R. Detection, characterization and quantification of inorganic engineered nanomaterials: a review of techniques and methodological approaches for the analysis of complex samples // *Analytica Chimica Acta*. 2016. Vol. 904. P. 10–32. DOI: 10.1016/j.aca.2015.11.008.
 20. Krystek P., Ulrich A., Garcia C. C., Manohar S., Ritsema R. Application of plasma spectrometry for the analysis of engineered nanoparticles in suspensions and products // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2011. Vol. 26, № 9. P. 1701–1721. DOI: 10.1039/c1ja10071h.
 21. Krystek P. A review on approaches to bio distribution studies about gold and silver engineered nanoparticles by inductively coupled plasma mass spectrometry // *Microchemical Journal*. 2012. Vol. 105. P. 39–43. DOI: 10.1016/j.microc.2012.02.008.
 22. Krystek P., Tentschert J., Nia Y., Trouiller B., Noel L., Goetz M. E., ... de Jong W. H. Method development and inter-laboratory comparison about the determination of titanium from titanium dioxide nanoparticles in tissues by inductively coupled plasma mass spectrometry // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. Vol. 406, № 16. P. 3853–3861. DOI: 10.1007/s00216-013-7580-z.
 23. Pornwilard M. M., Siripinyanond A. Field-flow fractionation with inductively coupled plasma mass spectrometry: past, present, and future // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2014. Vol. 29, № 10. P. 1739–1752. DOI: 10.1039/c4ja00207e.
 24. Bednar A. J., Poda A. R., Mitrano D. M., Kennedy A. J., Gray E. P., Ranville J. F., ... Steevens J. A. Comparison of on-line detectors for field flow fractionation analysis of nanomaterials // *Talanta*. 2013. Vol. 104. P. 140–148. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.11.008.
 25. Reed R. B., Higgins C. P., Westerhoff P., Tadjiki S., Ranville J. F. Overcoming challenges in analysis of polydisperse metal-containing nanoparticles by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2012. Vol. 27, № 7. P. 1093–1100. DOI: 10.1039/c2ja30061c.
 26. Laborda F., Jimenez-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 // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2011. Vol. 26, № 7. P. 1362–1371. DOI: 10.1039/c0ja00098a.
 27. Mitrano D. M., Ranville J. F., Bednar A., Kazor K., Hering A. S., Higgins C. P. Tracking dissolution of silver nanoparticles at environmentally relevant concentrations in laboratory, natural, and processed waters using single particle ICP-MS (spICP-MS) // *Environmental Science-Nano*. 2014. Vol. 1, № 3. P. 248–259. DOI: 10.1039/c3en00108c.
 28. Kim H.-A., Lee B.-T., Na S.-Y., Kim K.-W., Ranville J. F., Kim S.-O., ... Eom I.-C. Characterization of silver nanoparticle aggregates using single particle-inductively coupled plasma-mass spectrometry (spICP-MS) // *Chemosphere*. 2017. Vol. 171. P. 468–475. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.12.063.
 29. Donovan A. R., Adams C. D., Ma Y., Stephan C., Eichholz T., Shi H. Single particle ICP-MS characterization of titanium dioxide, silver, and gold nanoparticles during drinking water treatment // *Chemosphere*. 2016. Vol. 144. P. 148–153. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.07.081.

30. Peters R. J. B., van Bommel G., Milani N. B. L., den Hertog G. C. T., Undas A. K., van der Lee M., Bouwmeester H. Detection of nanoparticles in Dutch surface waters // *Science of the Total Environment*. 2018. Vol. 621. P. 210–218. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.238.
31. Donovan A. R., Adams C. D., Ma Y., Stephan C., Eichholz T., Shi H. Fate of nanoparticles during alum and ferric coagulation monitored using single particle ICP-MS // *Chemosphere*. 2018. Vol. 195. P. 531–541. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.116.
32. Frechette-Viens L., Hadioui M., Wilkinson K. J. Practical limitations of single particle ICP-MS in the determination of nanoparticle size distributions and dissolution: case of rare earth oxides // *Talanta*. 2017. Vol. 163. P. 121–126. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.10.093.
33. Gschwind S., Hagendorfer H., Frick D. A., Guenther D. Mass quantification of nanoparticles by single droplet calibration using inductively coupled plasma mass spectrometry // *Analytical Chemistry*. 2013. Vol. 85, № 12. P. 5875–5883. DOI: 10.1021/ac400608c.
34. Schlesiger C., Anklamm L., Stiel H., Malzer W., Kanngiesser B. XAFS spectroscopy by an X-ray tube based spectrometer using a novel type of HOPG mosaic crystal and optimized image processing // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2015. Vol. 30, № 5. P. 1080–1085. DOI: 10.1039/c4ja00303a.
35. Majumdar S., Peralta-Videa J. R., Castillo-Michel H., Hong J., Rico C. M., Gardea-Torresdey J. L. Applications of synchrotron mu-XRF to study the distribution of biologically important elements in different environmental matrices : a review // *Analytica Chimica Acta*. 2012. Vol. 755. P. 1–16. DOI: 10.1016/j.aca.2012.09.050.
36. Pushie M. J., Pickering I. J., Korbas M., Hackett M. J., George G. N. Elemental and chemically specific x-ray fluorescence imaging of biological systems // *Chemical Reviews*. 2014. Vol. 114, № 17. P. 8499–8541. DOI: 10.1021/cr4007297.
37. Brar S. K., Verma M. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 1. P. 4–17. DOI: 10.1016/j.trac.2010.08.008.
38. Tiede K., Boxall A. B. A., Tear S. P., Lewis J., David H., Hasselov M. Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment // *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*. 2008. Vol. 25, № 7. P. 795–821. DOI: 10.1080/02652030802007553.
39. Calzolari L., Gilliland D., Rossi F. Measuring nanoparticles size distribution in food and consumer products: a review // *Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*. 2012. Vol. 29, № 8. P. 1183–1193. DOI: 10.1080/19440049.2012.689777.
40. Montano M. D., Lowry G. V., von der Kammer F., Blue J., Ranville J. F. Current status and future direction for examining engineered nanoparticles in natural systems // *Environmental Chemistry*. 2014. Vol. 11, № 4. P. 351–366. DOI: 10.1071/en14037.
41. Mwilu S. K., El Badawy A. M., Bradham K., Nelson C., Thomas D., Scheckel K. G., ... Rogers K. R. Changes in silver nanoparticles exposed to human synthetic stomach fluid: Effects of particle size and surface chemistry // *Science of the Total Environment*. 2013. Vol. 447. P. 90–98. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.12.036.
42. Walczak A. P., Fokkink R., Peters R., Tromp P., Rivera Z. E. H., Rietjens I. M. C. M., ... Bouwmeester H. Behaviour of silver nanoparticles and silver ions in an in vitro human gastrointestinal digestion model // *Nanotoxicology*. 2013. Vol. 7, № 7. P. 1198–1210. DOI: 10.3109/17435390.2012.726382.

43. Metreveli G., Philippe A., Schaumann G. E. Disaggregation of silver nanoparticle homoaggregates in a river water matrix // *Science of the Total Environment*. 2015. Vol. 535. P. 35–44. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.058.
44. Hagendorfer H., Kaegi R., Parlinska M., Sinnet B., Ludwig C., Ulrich A. 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 // *Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 84, № 6. P. 2678–2685. DOI: 10.1021/ac202641d.
45. Hasseløev M., Readman J. W., Ranville J. F., Tiede K. Nanoparticle analysis and characterization methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles // *Ecotoxicology*. 2008. Vol. 17, № 5. P. 344–361. DOI: 10.1007/s10646-008-0225-x.
46. Lee W. C., Lee B. T., Lee S., Hwang Y. S., Jo E., Eom I. C., ... Kim S. O. 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 // *Microchemical Journal*. 2016. Vol. 129. P. 219–230. DOI: 10.1016/j.microc.2016.06.030.
47. Yu K. F., Sun C., Zhang B., Hassan M., He Y. L. Size-dependent adsorption of antibiotics onto nanoparticles in a field-scale wastewater treatment plant // *Environmental Pollution*. 2019. Vol. 248. P. 1079–1087. DOI: 10.1016/j.envpol.2019.02.090.
48. Nwoko K. C., Raab A., Cheyne L., Dawson D., Krupp E., Feldmann J. Matrix-dependent size modifications of iron oxide nanoparticles (Ferumoxytol) spiked into rat blood cells and plasma: Characterisation with TEM, AF4-UV-MALS-ICP-MS/MS and spICP-MS // *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2019. Vol. 1124. P. 356–365. DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.06.029.
49. Kato H., Nakamura A., Banno H. Determination of number-based size distribution of silica particles using centrifugal field-flow fractionation // *Journal of Chromatography A*. 2019. Vol. 1602. P. 409–418. DOI: 10.1016/j.chroma.2019.05.055.
50. Gallego-Urrea J. A., Tuoriniemi J., Hasseløev M. Applications of particle-tracking analysis to the determination of size distributions and concentrations of nanoparticles in environmental, biological and food samples // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 3. P. 473–483. DOI: 10.1016/j.trac.2011.01.005.
51. Filipe V., Hawe A., Jiskoot W. critical evaluation of nanoparticle tracking analysis (nta) by nanosight for the measurement of nanoparticles and protein aggregates // *Pharmaceutical Research*. 2010. Vol. 27, № 5. P. 796–810. DOI: 10.1007/s11095-010-0073-2.
52. Luo P., Roca A., Tiede K., Privett K., Jiang J., Pinkstone J., ... Boxall A. Application of nanoparticle tracking analysis for characterising the fate of engineered nanoparticles in sediment-water systems // *Journal of Environmental Sciences-China*. 2018. Vol. 64. P. 62–71. DOI: 10.1016/j.jes.2016.07.019.
53. Saveyn H., De Baets B., Thas O., Hole P., Smith J., van der Meeren P. Accurate particle size distribution determination by nanoparticle tracking analysis based on 2-D Brownian dynamics simulation // *Journal of Colloid and Interface Science*. 2010. Vol. 352, № 2. P. 593–600. DOI: 10.1016/j.jcis.2010.09.006.
54. Lawler D. F., Youn S., Zhu T., Kim I., Lau B. L. T. Comprehensive understanding of nano-sized particle separation processes using nanoparticle tracking analysis // *Water Science and Technology*. 2015. Vol. 72, № 12. P. 2318–2324. DOI: 10.2166/wst.2015.459.

55. Boyd R. D., Pichaimuthu S. K., Cuenat A. New approach to inter-technique comparisons for nanoparticle size measurements, using atomic force microscopy, nanoparticle tracking analysis and dynamic light scattering // *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*. 2011. Vol. 387, № 1–3. P. 35–42. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2011.07.020.
56. Oriekhova O., Stoll S. Investigation of FeCl₃ induced coagulation processes using electrophoretic measurement, nanoparticle tracking analysis and dynamic light scattering: Importance of pH and colloid surface charge // *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*. 2014. Vol. 461. P. 212–219. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2014.07.049.
57. Oriekhova O., Stoll S. Effects of pH and fulvic acids concentration on the stability of fulvic acids – cerium (IV) oxide nanoparticle complexes // *Chemosphere*. 2016. Vol. 144. P. 131–137. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2015.08.057.
58. Petosa A. R., Brennan S. J., Rajput F., Tufenkji N. Transport of two metal oxide nanoparticles in saturated granular porous media: Role of water chemistry and particle coating // *Water Research*. 2012. Vol. 46, № 4. P. 1273–1285. DOI: 10.1016/j.watres.2011.12.033.
59. Gallego-Urrea J. A., Tuoriniemi J., Pallander T., Hasselov M. Measurements of nanoparticle number concentrations and size distributions in contrasting aquatic environments using nanoparticle tracking analysis // *Environmental Chemistry*. 2010. Vol. 7, № 1. P. 67–81. DOI: 10.1071/en09114.
60. Alvarez-Puebla R. A., Liz-Marzan L. M. Environmental applications of plasmon assisted Raman scattering // *Energy & Environmental Science*. 2010. Vol. 3, № 8. P. 1011–1017. DOI: 10.1039/c002437f.
61. Guo H., He L., Xing B. Applications of surface-enhanced Raman spectroscopy in the analysis of nanoparticles in the environment // *Environmental Science-Nano*. 2017. Vol. 4, № 11. P. 2093–2107. DOI: 10.1039/c7en00653e.
62. Thakur P., Chadha R., Biswas N., Sarkar S. K., Mukherjee T., Joshi S. S., Kapoor S. Synthesis and characterization of CdS doped TiO₂ nanocrystalline powder: a spectroscopic study // *Materials Research Bulletin*. 2012. Vol. 47, № 7. P. 1719–1724. DOI: 10.1016/j.materresbull.2012.03.032.
63. Zhao B., Yang T., Zhang Z., Hickey M. E., He L. A triple functional approach to simultaneously determine the type, concentration, and size of titanium dioxide particles // *Environmental Science & Technology*. 2018. Vol. 52, № 5. P. 2863–2869. DOI: 10.1021/acs.est.7b05403.
64. Liou P., Nguyen T. H. D., Lin M. Measurement of engineered nanoparticles in consumer products by surface-enhanced Raman spectroscopy and neutron activation analysis // *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2018. Vol. 12, № 2. P. 736–746. DOI: 10.1007/s11694-017-9687-y.
65. Ding S.-Y., Yi J., Li J.-F., Ren B., Wu D.-Y., Panneerselvam R., Tian Z.-Q. Nanostructure-based plasmon-enhanced Raman spectroscopy for surface analysis of materials // *Nature Reviews Materials*. 2016. Vol. 1, № 6, art. 16021. P. 1–16. DOI: 10.1038/natrevmats.2016.21.
66. Cepria G., Cordova W. R., Cespedes O., Sanchez-Garcia L., Ferrer P., Gianolio D., Castillo J. R. Physical and chemical characterization of cerium(IV) oxide nanoparticles // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2016. Vol. 408, № 24. P. 6589–6598. DOI: 10.1007/s00216-016-9771-x.
67. Badireddy A. R., Wiesner M. R., Liu J. Detection, characterization, and abundance of engineered nanoparticles in complex waters by hyperspectral imagery with enhanced

- darkfield microscopy // *Environmental Science & Technology*. 2012. Vol. 46, № 18. P. 10081–10088. DOI: 10.1021/es204140s.
68. Bhattacharjee S. DLS and zeta potential – what they are and what they are not? // *Journal of Controlled Release*. 2016. Vol. 235. P. 337–351. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017.
 69. Ware B. R., Flygare W. H. The simultaneous measurement of the electrophoretic mobility and diffusion coefficient in bovine serum albumin solutions by light scattering // *Chemical Physics Letters*. 1971. Vol. 12, № 1. P. 81–85.
 70. Xu R. Progress in nanoparticles characterization: Sizing and zeta potential measurement // *Particuology*. 2008. Vol. 6, № 2. P. 112–115. DOI: 10.1016/j.partic.2007.12.002.
 71. Carney R. P., Kim J. Y., Qian H., Jin R., Mehenni H., Stellacci F., Bakr O. M. Determination of nanoparticle size distribution together with density or molecular weight by 2D analytical ultracentrifugation // *Nature Communications*. 2011. Vol. 2, art. 335. P. 1–8. DOI: 10.1038/ncomms1338.
 72. Schuck P., Zhao H., Brautigam C., Ghirlardo R. *Basic Principles of Analytical Ultracentrifugation*. Boca Raton : CRC Press : Taylor & Francis Group, 2015. 324 p.
 73. Kim H., Carney R. P., Reguera J., Ong Q. K., Liu X., Stellacci F. Synthesis and characterization of janus gold nanoparticles // *Advanced Materials*. 2012. Vol. 24, № 28. P. 3857–3863. DOI: 10.1002/adma.201200926.
 74. Krpetic Z., Davidson A. M., Volk M., Levy R., Brust M., Cooper D. L. High-resolution sizing of monolayer-protected gold clusters by differential centrifugal sedimentation // *Acs Nano*. 2013. Vol. 7, № 10. P. 8881–8890. DOI: 10.1021/nn403350v.
 75. Bekdemir A., Stellacci F. A centrifugation-based physicochemical characterization method for the interaction between proteins and nanoparticles // *Nature Communications*. 2016. Vol. 7, art. 13121. P. 1–8. DOI: 10.1038/ncomms13121.
 76. Walter J., Loehr K., Karabudak E., Reis W., Mikhael J., Peukert W., ... Coelfen H. Multidimensional analysis of nanoparticles with highly disperse properties using multiwavelength analytical ultracentrifugation // *Acs Nano*. 2014. Vol. 8, № 9. P. 8871–8886. DOI: 10.1021/nn503205k.
 77. Pitkanen L., Striegel A. M. Size-exclusion chromatography of metal nanoparticles and quantum dots // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2016. Vol. 80. P. 311–320. DOI: 10.1016/j.trac.2015.06.013.
 78. Wei G. T., Liu F. K., Wang C. R. C. Shape separation of nanometer cold particles by size-exclusion chromatography // *Analytical Chemistry*. 1999. Vol. 71, № 11. P. 2085–2091. DOI: 10.1021/ac990044u.
 79. Krueger K. M., Al-Somali A. M., Falkner J. C., Colvin V. L. Characterization of nanocrystalline CdSe by size exclusion chromatography // *Analytical Chemistry*. 2005. Vol. 77, № 11. P. 3511–3515. DOI: 10.1021/ac0481912.
 80. Aspanut Z., Yamada T., Lim L. W., Takeuchi T. Light-scattering and turbidimetric detection of silica colloids in size-exclusion chromatography // *Analytical and Bio-analytical Chemistry*. 2008. Vol. 391, № 1. P. 353–359. DOI: 10.1007/s00216-008-2017-9.
 81. Suess S., Metzger C., Damm C., Segets D., Peukert W. Quantitative evaluation of nanoparticle classification by size-exclusion chromatography // *Powder Technology*. 2018. Vol. 339. P. 264–272. DOI: 10.1016/j.powtec.2018.08.008.
 82. Robertson J. D., Rizzello L., Avila-Olias M., Gaitzsch J., Contini C., Magon M. S., ... Battaglia G. Purification of nanoparticles by size and shape // *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6, art. 27494. P. 1–9. DOI: 10.1038/srep27494.

83. Willmott G. R. Tunable resistive pulse sensing: better size and charge measurements for submicrometer colloids // *Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 90, № 5. P. 2987–2995. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b05106.
84. Pal A. K., Aalaei I., Gadde S., Gaines P., Schmidt D., Demokritou P., Bello D. High resolution characterization of engineered nanomaterial dispersions in complex media using tunable resistive pulse sensing technology // *Acs Nano*. 2014. Vol. 8, № 9. P. 9003–9015. DOI: 10.1021/nn502219q.
85. Weatherall E., Willmott G. R. Applications of tunable resistive pulse sensing // *Analyst*. 2015. Vol. 140, № 10. P. 3318–3334. DOI: 10.1039/c4an02270j.
86. Platt M., Willmott G. R., Lee G. U. Resistive pulse sensing of analyte-induced multicomponent rod aggregation using tunable pores // *Small*. 2012. Vol. 8, № 15. P. 2436–2444. DOI: 10.1002/sml.201200058.
87. Bacia K., Schwille P. A dynamic view of cellular processes by in vivo fluorescence auto- and cross-correlation spectroscopy // *Methods*. 2003. Vol. 29, № 1. P. 74–85. DOI: 10.1016/s1046-2023(02)00291-8.
88. Bacia K., Kim S. A., Schwille P. Fluorescence cross-correlation spectroscopy in living cells // *Nature Methods*. 2006. Vol. 3, № 2. P. 83–89. DOI: 10.1038/nmeth822.
89. Pal N., Verma S. D., Singh M. K., Sen S. Fluorescence correlation spectroscopy: an efficient tool for measuring size, size-distribution and polydispersity of microemulsion droplets in solution // *Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 83, № 20. P. 7736–7744. DOI: 10.1021/ac2012637.
90. Starchev K., Zhang J. W., Buffle J. Applications of fluorescence correlation spectroscopy – particle size effect // *Journal of Colloid and Interface Science*. 1998. Vol. 203, № 1. P. 189–196. DOI: 10.1006/jcis.1998.5470.
91. Zimpel A., Al Danaf N., Steinborn B., Kuhn J., Hoehn M., Bauer T., ... Wuttke S. Coordinative binding of polymers to metal-organic framework nanoparticles for control of interactions at the biointerface // *Acs Nano*. 2019. Vol. 13, № 4. P. 3884–3895. DOI: 10.1021/acsnano.8b06287.

2. ПРОДВИНУТЫЕ МЕТОДЫ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ

В последние годы наноаналитика обогатилась мощными методами характеристики, часть из которых еще не использовалась при изучении экологических систем, но поскольку перспективы применения этих методов очевидны, авторы решили включить их в обзор.

2.1. *In situ* жидкоячеечная ПЭМ и ПЭМ с атомным разрешением

ПЭМ жидких систем *in situ* была разработана для того, чтобы использовать весь потенциал метода в изучении суспензий [1]. Для этого суспензия наночастиц зажимается между двумя электронно-прозрачными окнами, а система герметично закрыта для защиты жидкости от вакуумной среды ПЭМ [2–4]. Этот метод позволяет визуализировать ранее ненаблюдаемые процессы, такие как зарождение и рост наночастиц, а также их взаимодействие и самоорганизованную сборку [2, 5]. Эффективность ПЭМ с жидкостной ячейкой была продемонстрирована при изучении нескольких аспектов синтеза и использования наночастиц золота, а именно измерения скорости их нуклеации [6], а также сборки между «голыми» и функционализированными частицами [7–10]. Просвечивающая электронная микроскопия с атомным разрешением позволяет изучать динамические процессы и обеспечивает реальное наблюдение за ними в препарате на молекулярном уровне с атомной чувствительностью во времени [11, 12]. Использование этого метода в изучении экосистем с наночастицами находится только в начале пути, но оно открывает интересные возможности для исследований, например изучение взаимодействия наночастиц с белками [11].

2.2. Электронная криомикроскопия

За последнее десятилетие область электронной криомикроскопии (крио-ЭМ) была модернизирована серией прорывов в разработке аппаратных средств и вычислительных методов. Крио-ЭМ позволяет получать прямые изображения биологических наночастиц, которые невозможно высушить без повреждений [13]. Хотя достижимое разрешение сильно зависит от

изучаемого объекта (сообщалось о значениях до 2 Å [14]), но в настоящее время значения лучше, чем 10 Å, достигаются относительно регулярно [15]. Чтобы подготовить для анализа методом ПЭМ образцы, которые должны быть аморфными или превращены в стекло, несколько микролитров суспензии наносят на сетку электронного микроскопа, промокают в увлажненной камере, оставляя водную пленку толщиной только ≈ 100 нм, и мгновенно замораживают, с высокой скоростью погружая сетку в жидкий этан или пропан. ПЭМ затем используется для получения 2D проекционных изображений наночастицы, внедренной в стекловидный лед. Эти изображения часто имеют очень низкий контраст, так как электронная плотность органических материалов мало отличается от электронной плотности растворителя [16, 17]. Когда частицы идентичны, такие как определенные типы вирусов или белковых комплексов, применение современных алгоритмов анализа позволяет реконструировать трехмерную структуру из большого набора изображений случайно ориентированных отдельных частиц. Когда частицы не идентичны, проекционные изображения могут предоставлять ценную информацию об их внутренней структуре, размере и распределении по размерам. Если материал способен выдерживать более высокую дозу электронов, можно получить ряд изображений под различными углами, позволяющий реконструировать трехмерную структуру отдельных частиц с помощью криоэлектронной томографии (крио-ЭТ) [16, 18].

Другим ценным методом является криогенная сканирующая электронная микроскопия (крио-СЭМ). Поскольку сигнал в СЭМ выходит в основном с поверхности образца, для получения доступа к наночастицам, залитым в стекловидном льду, требуются другие, чем в крио-ПЭМ, методы подготовки образца. Чтобы превратить в стекло образцы для крио-СЭМ, часто используют замораживание под высоким давлением, что позволяет получить образцы аморфного льда толщиной до нескольких сотен микрометров. Чтобы раскрыть внутренние структуры исследуемого объекта, в одном из подходов разрушают остеклованные блоки способом, известным как замораживание. В качестве альтернативы для изготовления последовательных срезов можно использовать фрезерование поверхности образца сфокусированным ионным пучком (крио-ФИП) или крио-ультрамикротомию. Важным преимуществом крио-СЭМ является то, что стоимость приборов при использовании этого метода значительно ниже, чем при использовании ПЭМ. Широкое поле зрения СЭМ полезно для наблюдения взаимодействия наночастиц с более крупными объектами, такими как целые клетки. Однако достижимое разрешение редко превышает 1 нм [16], что не позволяет так детально описать структуры, как это можно сделать с использованием современной крио-ПЭМ.

2.3. Электронная томография

Томография – лучший подход для предоставления трехмерной информации об объектах. Электронная томография (ЭТ) является наиболее привлекательным методом для изучения трехмерной структуры наночастиц [19–21]. В последнее время этот метод был применен для изучения отдельных нанокристаллов в растворе [22].

В обзоре, опубликованном в 2019 г. [23], подробно обсуждаются исключительные возможности метода ЭТ в структурном, химическом и количественном анализе полоструктурированных наноматериалов. Информация, полученная из анализа ЭТ, выделяется и сравнивается с таковой, полученной традиционными методами анализа.

Однако ЭТ имеет несколько важных ограничений, таких как плохая статистика, очень низкая пропускная способность (для трехмерной визуализации одной наночастицы может потребоваться около одного дня сбора данных и нескольких дней для обработки данных и трехмерной реконструкции) и высокий уровень сложности (особенно томографическая реконструкция трехмерного изображения), которые в совокупности тормозят широкое использование этого метода высококвалифицированными специалистами. Кроме того, при реконструкции и трактовке трехмерного изображения необходимо учитывать изменения объекта во время исследования, вызванные дрейфом частиц и повреждением пучком.

2.4. Наномеханические резонаторы

Микромеханические резонаторы имеют характерную резонансную частоту, которая зависит от колеблющейся массы резонатора. Благодаря чрезвычайно низким инерционным массам резонаторов нано- и микронного размера (от аттограммов к нанограммам инерционной массы) и высоким факторам качества адсорбция частиц на поверхности резонатора вызывает заметный сдвиг резонансной частоты, пропорциональный массе адсорбированной частицы. Эта, основанная на наномеханике, масс-спектрометрия позволяет измерять массу единичных интактных наночастиц независимо от состояния их ионизации от мегадальтона до гигадальтона, что невозможно при стандартных подходах масс-спектрометрии [24, 25]. Этот метод обнаружения может быть распространен на коллоидные суспензии путем встраивания микрофлюидного канала в резонатор, чтобы позволить частицам в растворе пересекать резонатор, сохраняя при этом его колебания в вакуумной среде [26]. Эти устройства, называемые подвесными микроканальными резонаторами, позволили охарактеризовать образцы смесей наночастиц золота диаметром от 10 до 20 нм с детектированием отдельных частиц [27]. Позволяя нескольким частицам течь одновременно через встроженный канал и используя автокорреляционный анализ массового сиг-

нала во временной области, можно распространить разрешающую способность этих устройств на характеристику полимерных частиц нанометрового размера [28]. Этот метод, названный наномеханической масс-корреляционной спектроскопией, был применен для исследования разделения сложных смесей бинарных растворителей с использованием наночастиц мезопористого металл-органического каркаса с различной функционализацией поверхности [29]. Частицы проявляли различные эффективные плотности в растворе в зависимости от функционализации пор и состава растворителя. Это указывает на то, что локальная микросреда в структуре пор пористых наночастиц может не отражать объемный состав растворителя.

С историей создания, совершенствования и применения наномеханических резонаторов можно ознакомиться в обзоре Я. С. Гринберга с соавторами [30].

ЛИТЕРАТУРА

1. Williamson M. J., Tromp R. M., Vereecken P. M., Hull R., Ross F. M. Dynamic microscopy of nanoscale cluster growth at the solid-liquid interface // *Nature Materials*. 2003. Vol. 2, № 8. P. 532–536. DOI: 10.1038/nmat944.
2. Tan S. F., Chee S. W., Lin G., Mirsaidov U. Direct observation of interactions between nanoparticles and nanoparticle self-assembly in solution // *Accounts of Chemical Research*. 2017. Vol. 50, № 6. P. 1303–1312. DOI: 10.1021/acs.accounts.7b00063.
3. Zheng H., Smith R. K., Jun Y.-w., Kisielowski C., Dahmen U., Alivisatos A. P. Observation of single colloidal platinum nanocrystal growth trajectories // *Science*. 2009. Vol. 324, № 5932. P. 1309–1312. DOI: 10.1126/science.1172104.
4. de Jonge N., Houben L., Dunin-Borkowski R. E., Ross F. M. Resolution and aberration correction in liquid cell transmission electron microscopy // *Nature Reviews Materials*. 2019. Vol. 4, № 1. P. 61–78. DOI: 10.1038/s41578-018-0071-2.
5. Parent L. R., Bakalis E., Proetto M., Li Y., Park C., Zerbetto F., Gianneschi N. C. Tackling the challenges of dynamic experiments using liquid-cell transmission electron microscopy // *Accounts of Chemical Research*. 2018. Vol. 51, № 1. P. 3–11. DOI: 10.1021/acs.accounts.7b00331.
6. Loh N. D., Sen S., Bosman M., Tan S. F., Zhong J., Nijhuis C. A., ... Mirsaidov U. Multistep nucleation of nanocrystals in aqueous solution // *Nature Chemistry*. 2017. Vol. 9, № 1. P. 77–82. DOI: 10.1038/nchem.2618.
7. Anand U., Lu J., Loh D., Aabdin Z., Mirsaidov U. Hydration layer-mediated pairwise interaction of nanoparticles // *Nano Letters*. 2016. Vol. 16, № 1, P. 786–790. DOI: 10.1021/acs.nanolett.5b04808.

8. Lin G., Chee S. W., Raj S., Kral P., Mirsaidov U. Linker-mediated self-assembly dynamics of charged nanoparticles // *Acs Nano*. 2016. Vol. 10, № 8. P. 7443–7450. DOI: 10.1021/acsnano.6b01721.
9. Chen Q., Cho H., Manthiram K., Yoshida M., Ye X., Alivisatos A. P. Interaction potentials of anisotropic nanocrystals from the trajectory sampling of particle motion using in situ liquid phase transmission electron microscopy // *Acs Central Science*. 2015. Vol. 1, № 1. P. 33–39. DOI: 10.1021/acscentsci.5b00001.
10. Tan S. F., Anand U., Mirsaidov U. Interactions and attachment pathways between functionalized gold nanorods // *Acs Nano*. 2017. Vol. 11, № 2. P. 1633–1640. DOI: 10.1021/acsnano.6b07398.
11. Nakamura E. Atomic-resolution transmission electron microscopic movies for study of organic molecules, assemblies, and reactions: the first 10 years of development // *Accounts of Chemical Research*. 2017. Vol. 50, № 6. P. 1281–1292. DOI: 10.1021/acs.accounts.7b00076.
12. Gorgoll R. M., Yucelen E., Kumamoto A., Shibata N., Harano K., Nakamura E. Electron microscopic observation of selective excitation of conformational change of a single organic molecule // *Journal of the American Chemical Society*. 2015. Vol. 137, № 10. P. 3474–3477. DOI: 10.1021/jacs.5b00511.
13. Fernandez-Leiro R., Scheres S. H. W. Unravelling biological macromolecules with cryo-electron microscopy // *Nature*. 2016. Vol. 537, № 7620. P. 339–346. DOI: 10.1038/nature19948.
14. Gonen T., Cheng Y. F., Sliz P., Hiroaki Y., Fujiyoshi Y., Harrison S. C., Walz T. Lipid-protein interactions in double-layered two-dimensional AQP0 crystals // *Nature*. 2005. Vol. 438, № 7068. P. 633–638. DOI: 10.1038/nature04321.
15. Cheng Y. Single-particle cryo-EM-How did it get here and where will it go // *Science*. 2018. Vol. 361, № 6405. P. 876–880. DOI: 10.1126/science.aat4346.
16. Stewart P. L. Cryo-electron microscopy and cryo-electron tomography of nanoparticles // *Wiley Interdisciplinary Reviews-Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2016. Vol. 9, № 2. P. 1417–1433. DOI: 10.1002/wnan.1417.
17. Wittmann A., Drechsler M., Talmon Y., Ballauff M. High elongation of polyelectrolyte chains in the osmotic limit of spherical polyelectrolyte brushes: a study by cryogenic transmission electron microscopy // *Journal of the American Chemical Society*. 2005. Vol. 127, № 27. P. 9688–9689. DOI: 10.1021/ja0513234.
18. Patterson J. P., Xu Y., Moradi M.-A., Sommerdijk N. A. J. M., Friedrich H. CryoTEM as an advanced analytical tool for materials chemists // *Accounts of Chemical Research*. 2017. Vol. 50, № 7. P. 1495–1501. DOI: 10.1021/acs.accounts.7b00107.
19. Saghi Z., Midgley P. A. Electron tomography in the (S)TEM: From nanoscale morphological analysis to 3D atomic imaging // *Annual Review of Materials Research*. 2012. Vol. 42, № 1. P. 59–79.
20. Miao J., Ercius P., Billinge S. J. L. Atomic electron tomography: 3D structures without crystals // *Science*. 2016. Vol. 353, № 6306, art. 2157. P. 1380–1389. DOI: 10.1126/science.aaf2157.
21. Bonnaud C., Monnier C. A., Demurtas D., Jud C., Vanhecke D., Montet X., ... Petri-Fink A. Insertion of nanoparticle clusters into vesicle bilayers // *Acs Nano*. 2014. Vol. 8, № 4. P. 3451–3460. DOI: 10.1021/nn406349z.
22. Park J., Elmlund H., Ercius P., Yuk J. M., Limmer D. T., Chen Q., ... Alivisatos A. P. 3D structure of individual nanocrystals in solution by electron microscopy // *Science*. 2015. Vol. 349, № 6245. P. 290–295. DOI: 10.1126/science.aab1343.

23. Song H., Yang Y. N., Geng J., Gu Z. Y., Zou J., Yu C. Z. Electron tomography: a unique tool solving intricate hollow nanostructures // *Advanced Materials*. 2019. Vol. 31, № 38, art. e1801564. DOI: 10.1002/adma.201801564.
24. Sage E., Sansa M., Fostner S., Defoort M., Gely M., Naik A. K., ... Hentz S. Single-particle mass spectrometry with arrays of frequency-addressed nanomechanical resonators // *Nature Communications*. 2018. Vol. 9, № 1, art. 3283. P. 1–8. DOI: 10.1038/s41467-018-05783-4.
25. Sader J. E., Hanay M. S., Neumann A. P., Roukes M. L. Mass spectrometry using nanomechanical systems: beyond the point-mass approximation // *Nano Letters*. 2018. Vol. 18, № 3. P. 1608–1614. DOI: 10.1021/acs.nanolett.7b04301.
26. Burg T. P., Godin M., Knudsen S. M., Shen W., Carlson G., Foster J. S., ... Manalis S. R. Weighing of biomolecules, single cells and single nanoparticles in fluid // *Nature*. 2007. Vol. 446, № 7139. P. 1066–1069. DOI: 10.1038/nature05741.
27. Olcum S., Cermak N., Wasserman S. C., Christine K. S., Atsumi H., Payer K. R., ... Manalis S. R. Weighing nanoparticles in solution at the attogram scale // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014. Vol. 111, № 4. P. 1310–1315. DOI: 10.1073/pnas.1318602111.
28. Modena M. M., Wang Y., Riedel D., Burg T. P. Resolution enhancement of suspended microchannel resonators for weighing of biomolecular complexes in solution // *Lab on a Chip*. 2014. Vol. 14, № 2. P. 342–350. DOI: 10.1039/c3lc51058a.
29. Modena M. M., Hirschle P., Wuttke S., Burg T. P. Mass measurements reveal preferential sorption of mixed solvent components in porous nanoparticles // *Small*. 2018. Vol. 14, № 27, art. 1800826. P. 1–6. DOI: 10.1002/smll.201800826.
30. Гринберг Я. С., Пашкин Ю. А., Ильичёв Е. В. Наномеханические резонаторы // *Успехи физических наук*. 2012. Т. 182, № 4. С. 407–436. DOI: 10.3367/UFNr.0182.201204c.0407.

3. ТЕХНОЛОГИИ НЕПРЕРЫВНОГО РАЗДЕЛЕНИЯ

Несколько разных методов были использованы для разделения частиц на основе различий их размера, свойств поверхности, плотности и характеристик заряда. Если эти методы сопряжены с чувствительными и селективными системами детектирования, они могут обеспечить прочную основу для описания сложных систем частиц [1].

3.1. Фракционирование потока

Полевое фракционирование в потоке (ПФП) (проточное фракционирование в поперечном поле) представляет собой семейство методов разделения, где разделение происходит в тонком удлиненном канале без стационарной фазы, причем это разделение вызвано действием внешнего поля, приложенного перпендикулярно к ламинарному потоку. Основы принципов разделения макромолекул и микро- или наночастиц и подробное описание теории ПФП можно найти в русском переводе работы Й. Янча [2]. В этой же монографии в послесловии для русскоязычного издания отражен вклад отечественных аналитиков в разработку различных вариантов фракционирования потока. ПФП предоставляет: (а) непрерывно информацию о размере НЧ в широком диапазоне размеров (от 1 до 100 мкм, в зависимости от режима разделения), (б) методику разделения НЧ, сохраняющего нативные условия для них, поскольку раствор носителя может быть адаптирован к диспергированной системе наночастиц, (в) возможность онлайн связи с широким спектром детекторов и офлайн изучения фракций, если необходимо [3].

В зависимости от типа применяемого поля выделяются различные подсистемы ПФП. Среди этих подсистем лишь три подсистемы описаны для анализа ИНЧ: седиментационное полевое фракционирование потока (СПФП), в котором применяется центробежная сила, ПФП с поперечным потоком, где используется перпендикулярный поток (поперечный поток) и фракционирование нано- и микрочастиц в мембранных трубках. В англоязычной литературе эти методы получили название Sedimentation Field-Flow Fractionation (SdFFF), Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation (AF4) и Hollow fiber Flow Field-Flow Fractionation (HF5). Хотя СПФП (SdFFF)

особенно подходит для частиц с высокой плотностью (то есть металлических НЧ) относительно большого размера, этот вариант ПФП не получил широкого распространения при анализе ИНЧ, но ряд работ по характеристизации и фракционированию ИНЧ был выполнен [4–11].

В настоящее время все три варианта ПФП являются коммерчески доступными [2]. Несмотря на то, что СПФП (SdFFF) способен обеспечить разделение по размерам наночастиц с более высоким разрешением, вариант AF4 нашел гораздо более широкое использование [12–36]. Этому способствовали больший диапазон размеров ИНЧ, с которыми работает AF4, ограниченный отсечением размещенной на дне канала ультрафильтрационной мембраной (обычно 1–10 кДа), и разделение НЧ, основанное только на их различиях в гидродинамических размерах. Разделение и характеристизация наночастиц ПФП для образцов продуктов питания и окружающей среды были рассмотрены в 2011 г. фон дер Каммером и др. [37]. С тех пор было разработано большое количество приложений для сложных образцов. Целевыми аналитами были наночастицы Ag, Au, Se, SiO₂, TiO₂ и ZnO в разных сложных матрицах: в солнцезащитных средствах [18–20, 25, 30], продуктах питания [12, 16–18, 21, 22, 26, 29, 36], потребительских товарах [18, 22, 23], экологических [24, 31, 33, 35] и биологических образцах [13–15, 27, 28, 30, 34, 36]. В большинстве случаев до разделения с помощью ПФП требуется предварительная обработка дисперсии ИНЧ в растворе или разрушение матрицы. В некоторых случаях возможен выпуск в систему необработанных образцов, как при характеристизации SiO₂ НЧ в кофеварке для кофе [21]. В этом случае было проведено простое разбавление образца в воде, хотя для предотвращения забивания пор мембраны на дне канала рекомендуется фильтрация через мембрану размером 5 мкм. В зависимости от типа матрицы были описаны различные стратегии вскрытия проб (ферментативные, щелочные, на основе гидроксида тетраметиламмония или кислотные процессы). Для твердофазных матриц применяется обработка органическими растворителями и выщелачивание водой, с последующим центрифугированием или стадией фильтрации. Для разрушения агрегатов частиц обычно требуется обработка ультразвуком, хотя было найдено, что в случае НЧ TiO₂ в солнцезащитных кремах оказалось достаточным добавление гексана [19, 20, 30]. В любом случае эти предварительные обработки могут повлиять на последующее разделение НЧ методом ПФП. Так, значительное влияние на элюирование НЧ наблюдалось в присутствии частично деградированной матрицы после ферментативной переработки куриного мяса [16], тогда как водные экстракты из желудочно-кишечного тракта и жаберных тканей толстоголового гольяна (рыба семейства карповых) вызывали значительное загрязнение мембраны (вероятно из-за высокого содержания биомолекул), препятствуя элюированию НЧ [15].

Оптимизация рабочих условий (состав носителя, параметры фильтрационной мембраны и программа поперечного потока) рекомендуется для

каждого типа образца для достижения разделения НЧ на фракции с минимальным возмущением и высоким уровнем извлечения всех химических форм [37]. Неконтролируемые взаимодействия частиц и мембран могут привести к изменениям времени элюирования [38] или низкому извлечению НЧ в случае сильных взаимодействий. Поэтому оптимизация рабочих условий сводит к минимуму эти взаимодействия. Тем не менее даже в оптимальных условиях извлечение НЧ составляло менее 80% [14, 17, 20, 25], что является одним из наиболее серьезных ограничений при количественном определении НЧ в сложных матрицах с использованием ПФП. Хорошее извлечение было получено для AgНЧ в курином мясе [16], НЧ SiO₂ – в сливках для кофе [21] и томатном супе [19], а также для НЧ TiO₂ в солнцезащитных кремах [18].

С учетом степени сложности проанализированных образцов, ПФП обычно сочетается с разными детекторами [38]. ИСП-МС [25] и ЭТ-ААС [11] были описаны как офлайн детекторы. ИСП-МС обычно используется в качестве онлайн элементного детектора [3, 39] из-за ее высокой чувствительности и элементной селективности. Кроме того, количественно определить массы элюированных химических форм можно внешней калибровкой или путем неспецифического изотопного разведения [40], используя растворенные стандарты, если образцы и стандарты ведут себя одинаково в индуктивно-связанной плазме.

Детектирование по электронным спектрам в ультрафиолетовой и видимой областях также широко используется при разделении НЧ методом ПФП, хотя в этом случае чувствительность ограничена концентрациями НЧ в диапазоне мг/л, и селективность при этом относительно низкая (даже когда регистрируются полные спектры). Для лабораторных исследований, проводимых при относительно высоких концентрациях, электронная спектроскопия используется лишь как дополнение к элементным детекторам. Сравнение оценочных пределов обнаружения для различных металлических НЧ с помощью ПФП при использовании разных детекторов (УФ-видимый свет, ДРС, ИСП-МС и ИСП-ОЭС) можно найти в [41]. Совместное использование детектирования электронной спектроскопией и ИСП-МС описано при определении характеристик AgНЧ в ферментативно переработанном курином мясе [16] и в культурах бактерий и клеток, обработанных гидроксидом ТМА [34]. Во всех этих случаях пики серебра в ИСП-МС были соотнесены с AgНЧ с полосой около 400 нм, вызванной их поверхностным плазмонным резонансом. При изучении токсичности AgНЧ для *Daphnia magna* в растворах при разных концентрациях и агрегациях наночастиц серебра также применялось AF4, связанное со спектрометром в ультрафиолетовой и видимой областях [42].

Детектирование и характеристика ИНЧ с использованием рассеяния света широко применялись в методе ПФП, в частности ДЛРС, хотя и МУРС также было описано [12, 36]. Оба метода обеспечивают независимую оценку размеров элюируемых частиц (гидродинамический радиус и радиус

вращения соответственно) и подтверждают правильную работу метода ПФП. Однако сравнительно невысокая чувствительность этих детекторов ограничивает их использование при относительно низких концентрациях ИНЧ. По этой причине тандем ПФП–ДЛРС был описан при разделении НЧ и определении стандартов их размеров для проверки установленной линейной зависимости между гидродинамическим радиусом и временем удерживания, используемой для последующей оценки гидродинамических диаметров НЧ в неизвестных образцах при низких концентрациях [13]. Описано использование АТНЧ в качестве онлайн-детектора для изучения распределения $\text{SiO}_2\text{НЧ}$ в эмбриональной бычьей сыворотке [36].

В качестве метода хроматографии AF4 хорошо подходит для разделения частиц на фракции в соответствии с их гидродинамическими диаметрами. Фактически AF4 – это метод фракционирования, который не может различить тип аналита [43]. Это подразумевает, что в данном методе невозможно отделить частицы от сложных матриц на основе типа частиц. Здесь разделяются аналиты на основе их гидродинамических диаметров, независимо от того, является ли аналит молекулой, белком или ИНЧ. Таким образом, AF4 может уменьшить полидисперсность образца, но не его сложность.

3.2. Электрофорез

Электрофоретические методы, основанные на миграции заряженных частиц под действием приложенного электрического поля, доступны в разных форматах. Двумя электрофоретическими методами, наиболее часто используемыми для разделения и характеристики наночастиц, являются гель-электрофорез (ГЭ) и капиллярный электрофорез (КЭ) [44–46]. Хотя большая часть публикаций, описывающих электрофоретические методы, посвящена разделению и характеристике наночастиц в зависимости от размера, формы и функционализации поверхности, то есть возможности использования электрофореза в качестве диагностического инструмента, практическое применение этих методов в реальных образцах все еще мало. Гель-электрофорез основан на различной миграции аналитов через нанопористый гель, благодаря просеивающему эффекту геля под действием электрического поля. В наиболее часто используемых методах ГЭ применяют полиакриламидный гель (ПААГ), обычно практикуемый для отделения белков, и агарозный гель, который главным образом используется для отделения заряженных биополимеров, таких как ДНК и РНК. Хотя ПААГ и применялся для характеристики НЧ, таких как биоконъюгированные квантовые точки [47], но малый размер пор ПАА-гелей (менее 10 нм) ограничивает его использование для отделения наночастиц. Напротив, наибольший размер пор агарозных гелей (10–100 нм) обеспечивает широкое применение агарозного гель-электрофореза (АГЭ) Возможности АГЭ для

отделения наночастиц разных размеров и форм были продемонстрированы Hanauer et al. [48] с использованием наночастиц серебра и золота, модифицированных путем функционализации полиэтиленгликолями, для контроля их зарядной и электрофоретической подвижности. В связи с этим АГЭ используется почти исключительно для разделения и характеристики целенаправленно функционализированных наночастиц, таких как биоконъюгированные AuНЧ с ДНК и РНК [49], или после дериватизации с использованием различных тиолсодержащих лигандов [50]. Обнаружение наночастиц в приведенных выше случаях основывалось на визуальном анализе гелей [49, 50], спектроскопии оптической экстинкции [48], гиперспектральной визуализации [50] или ПЭМ [48].

В КЭ разделение основано исключительно на различной подвижности заряженных частиц, которые вводятся в тонкий капилляр, заполненный фоновым электролитом, при этом к концам капилляра подводится высокое напряжение. Как и в случае ГЭ, функционализация наночастиц также играет решающую роль в их разделении. В этом смысле биоконъюгированные квантовые точки [51, 52] и взаимодействия белок–наночастицы [53] обычно изучаются КЭ, как более простым методом. Хотя наночастицы металлов и оксидов металлов были разделены с использованием различных неорганических буферов в качестве электролитов, добавление ионных поверхностно-активных веществ представляется наиболее удобным способом разделения металлических наночастиц [44–46]. Например, Liu et al. [54] продемонстрировали, что добавление додецилсульфата натрия в фоновый электролит улучшает разделение AuНЧ по размерам, поскольку заряд НЧ связан с числом молекул адсорбированного поверхностно-активного вещества, которое действует как своего рода агент дериватизации *in situ*. Qu et al. [55] разработали метод определения Au, Pt и Pd НЧ с использованием додецилбензолсульфоната натрия в фоновом электролите. Franze et al. [56] создали метод разделения НЧ золота и серебра и их ионных аналогов, используя додецилсульфат натрия в качестве поверхностно-активного вещества и пенициллина для комплексообразования ионов. Оба метода успешно разделили металлические НЧ до 5 нм.

Наиболее распространенные методы детектирования НЧ в КЭ для неорганических наночастиц – спектрометрия в ультрафиолетовом и видимом свете и флуоресцентная спектрометрия. Как и в ПФП, в КЭ электронная спектроскопия широко применялось для обнаружения НЧ золота и серебра с использованием полосы их поверхностных плазмонных резонансов около 500 и 400 нм соответственно, в то время как для обнаружения квантовых точек используется внутренняя флуоресценция. Описано использование ИСП-МС для определения металлических НЧ в пищевых добавках [55, 56]. Преимущество использования КЭ относительно других методов разделения заключается в достижимости высокого разрешения и способности анализировать как ионные виды, так и НЧ. Однако особое внимание должно быть уделено поверхностным характеристикам НЧ в стандартах и образцах,

поскольку различия в поверхностях могут вызывать разные взаимодействия частиц с поверхностно-активными веществами и приводить к несоместимым поведением миграции.

Кроме того, сложные матрицы, такие как биологические жидкости, содержат различные макромолекулы, которые могут взаимодействовать с НЧ, изменяя их поверхностный заряд, тем самым меняя времена элюирования и пиковое разрешение. Ожидается, что дальнейшая разработка с использованием согласованных по матрицам стандартов НЧ позволит получить более точную информацию о размере, составе и химии поверхности. Существуют три основные проблемы, которые ограничивают использование КЭ в анализе наночастиц. Эти ограничения в целом связаны с характеристиками, свойственными наночастицам, нагревом капилляров и изменением рабочего тока. В КЭ наночастицы разделяются на основании их свойств, связанных с зарядом и размером. Многие наночастицы электро-статически стабилизируются с помощью укупорочных средств, которые влияют на заряды на поверхности наночастиц. Стабилизирующие агенты либо адсорбируются на поверхности частиц (например, цитрат и ДДС – додецисульфат натрия), либо ковалентно связываются с наночастицами (например, тиолы с золотом). Степень ионизации молекул поверхностного покрытия зависит от фонового электролита [57]. Qu et al. провели обширное исследование влияния поверхностного покрытия и матрицы на электрофоретическую подвижность наночастиц золота [57]. Их результаты показывают, что наночастицы золота с физически адсорбированными лигандами с малой молекулярной массой, такими как лимонная кислота и дубильная кислота, демонстрируют линейную зависимость между размером частиц и относительной электрофоретической подвижностью (μ_r). Когда лиганды ковалентно прикреплены к наночастицам или слой полимерного лиганда находится на поверхности наночастиц, нелинейных корреляций не наблюдалось. Кроме того, когда наночастицы, покрытые полиэтиленгликолем (ПЭГ) (размер ядра в диапазоне 15–30 нм), были диспергированы в сыворотке, эффект матрицы был незначительным. Однако наночастицы с другими покрытиями, особенно с лигандами с малой молекулярной массой, такими как цитрат, показали значительное изменение в μ_r .

Был сделан вывод, что электрофоретическое поведение наночастиц тесно связано с химией поверхности наночастиц и окружающей средой. Использование стандартов и матриц соответствующего размера для установления калибровки имеет решающее значение для получения правильной информации о размере неизвестного образца. Последнее замечание о характеристиках наночастиц: наночастица должна быть стабильной в условиях действующего буфера, поскольку нестабильность может привести к агрегации наночастиц и засорению капилляра. Добавление поверхностно-активных веществ, таких как ДДС, которые впоследствии могут адсорбироваться на поверхности наночастиц, в фоновом электролите является эффективной стратегией для сохранения коллоидной стабильности и предотвращения агрегации [58].

При анализе наночастиц методом КЭ поддержание стабильной температуры имеет решающее значение для получения воспроизводимых результатов. Джоулев нагрев, генерируемый током, проходящим через раствор электролита в капилляре во время анализа, влияет на эффективную диффузионную способность и дисперсность частиц и приводит к расширению пика. При повышении температуры из-за джоулева нагрева вязкость растворителя уменьшается, а проводимость увеличивается, что приводит к дальнейшему повышению температуры. Проводимость раствора электролита должна быть как можно ниже, чтобы уменьшить джоулев нагрев. Сам узкий канал капилляра может эффективно рассеивать тепло благодаря большому отношению площади поверхности к объему, и его температуру можно легко контролировать. При сопряжении КЭ с другим детектором, таким как ИСП-МС, контроль температуры является особенно сложной задачей, поскольку часть капилляра находится вне прибора в условиях окружающей среды и может возникнуть градиент температуры вдоль капилляра.

Другой часто встречающейся проблемой при КЭ-анализе наночастиц является низкая точность из-за вариации времени удержания аналита между циклами. Изменение времени удержания является результатом комбинированного воздействия нескольких факторов, включая вариацию электрофоретического потока из-за трансформации внутренней среды капилляра, электрофоретической подвижности аналита, взаимодействия между стенками и аналитом, истощения буфера и нестабильной температуры во времени [59]. Многие методы, такие как кондиционирование капилляра с помощью рабочего буфера перед каждым прогоном, обновление буфера для впускного и выпускного флаконов и коррекция времени удерживания с помощью маркеров мобильности, могут применяться для повышения точности КЭ.

3.3. Гидродинамическая хроматография

В гидродинамической хроматографии (ГДХ) колонки заполнены непористыми бусинами, между которыми имеются проточные каналы, а разделение производится благодаря градиенту скорости в каналах между бусинами, причем более крупные частицы передвигаются быстрее, чем мелкие, поскольку они проводят меньше времени вблизи краев капилляров [60]. Применение ГДХ для определения ИНЧ в сложных матрицах все еще ограничено. Описано применение ГДХ для идентификации различных природных и искусственных НЧ (TiO_2 , SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , Ag и Au) в осадках сточных вод [60, 61], AgНЧ в естественных речных водах [62, 63] и синтетических поверхностных водах [64] и TiO_2 , и ZnO НЧ в коммерческих солнцезащитных кремах [64]. Предварительная обработка, основанная на водной экстракции поверхностно-активным веществом (Triton-X 100)

и фильтрации через 1 мкм фильтр, была проведена до анализа солнцезащитных кремов ГДХ.

Из двух типов имеющихся в продаже колонок чаще всего отдают предпочтение колонке с диапазоном разделения 5–300 нм [60–65], а не 20–1200 нм [62, 64]. Для AuНЧ в диапазоне от 5 до 100 нм наблюдались плохое разрешение и эффекты поверхностного покрытия на время элюирования [65]. Такие явления могут оказаться проблемой при применении ГДХ в сложных матрицах, так как поверхность НЧ может быть модифицирована. Тем не менее именно ГДХ давала высокие степени извлечения (от 77 до 96%) для AuНЧ в том же диапазоне размеров [65]. Использование AuНЧ в качестве внутреннего стандарта в ГДХ было предложено с учетом их высокой стабильности при ряде условий [60]. Попытки количественной оценки концентрации НЧ за счет использования инъекции ионных стандартов как до, так и после колонки оказались безуспешными [61]. Philippe et al. [63] установили, что, когда требуются количественные результаты, состав элюента должен быть оптимизирован для каждого типа образца. Эти авторы подтвердили метод, основанный на ГДХ-ИСП-МС для определения стандартных 10 нм НЧ в моделируемом поверхностном водном растворе, содержащем мягкую воду и гуминовые кислоты в оптимальных условиях.

Сообщалось [63] о применении различных детекторов (ИСП-МС, ДРС, ультрафиолет–видимый свет (УФ-ВС) и флуоресценции), связанных с ГДХ. Сочетание ИСП-МС, ДРС, УФ-ВС и флуоресцентных детекторов оказалось полезным для анализа Ag, TiO₂ и ZnO НЧ в искусственных водах, содержащих большое количество органического вещества [63]. Использование ОЧ-ИСП-МС в качестве метода обнаружения может помочь в определении различий сферических и несферических, а также нетронутых и модифицированных по поверхности НЧ, поскольку ГДХ предоставляет информацию о гидродинамическом диаметре, а ОЧ-ИСП-МС о ядре НЧ [66]. Комбинированный метод (ГДХ-ОЧ-ИСП-МС) редко применялся для анализа НЧ в сложных или реальных матрицах [67].

3.4. Другие методы жидкостной хроматографии

Помимо гидродинамической хроматографии были исследованы другие режимы хроматографического разделения НЧ. Основная проблема применения этих режимов (например, эксклюзионной хроматографии) – это адсорбция НЧ на стационарных фазах, что ограничивает типы колонок, которые могут быть использованы [68]. В последнее время были предложены колонки amino-SEC (размерная эксклюзионная хроматография [69], а также хроматография с обращенной фазой [70] и катионообменные стационарные фазы [71]) для отделения НЧ серебра от ионов серебра (I) с последующей онлайн-количественной оценкой с ИСП-МС. Для улучшения

извлечения AgНЧ из раствора серебро (I) было закомплексовано с тиосульфатом [69, 70] или этаноламином [71]. Разработанные методы были применены при исследовании товаров для здравоохранения [68, 71], очищенных сточных и озерных вод [69], а также процесса выделения серебряных форм из текстиля [69].

3.5. Микрофлюидное разделение

Микрофлюидные технологии используются для обнаружения и разделения НЧ в различных компонентах окружающей среды. Было обнаружено [72], что при движении потока по криволинейному каналу в нем, благодаря так называемым вихрям Дина, происходит фракционирование частиц по размеру. Это явление получило название Dean Flow Fractionation – DFF (диновское фракционирование потока – ДФП). ДФП эффективно и непрерывно отделяет неорганические частицы от сложных матриц [72]. Одностадийные и безбуферные процессы проводились непрерывно, в миниатюрных платформах без особой обработки образцов [73], причем процессы разделения были реализованы как для лабильных, так и для инертных НЧ.

В первом случае микрофлюидике необходимо объединять с внешними полями, что приводит к ПФП [74–76], центробежной микрофлюидике [77], оптическим методам разделения [78], магнитофорезу [79, 80], акустофорезу [81], электрофорезу [82, 83], диэлектрофорезу [84, 85], ионной концентрационной поляризации [86] и электрогидродинамике вихрей [87, 88].

Что касается разделения инертных НЧ, оно может быть достигнуто рядом методов с использованием микрофлюидных платформ [89–93], в которых гидродинамические и поверхностные силы являются доминирующими в механизмах сортировки НЧ [73].

Нужно отметить, что число публикаций по разработке микрофлюидных устройств стремительно растет. Кроме того, идет усложнение аппаратуры за счет совмещения в одном устройстве синтеза, разделения и аналитического контроля НЧ по составу и размеру [94].

ЛИТЕРАТУРА

1. Howard A. G. On the challenge of quantifying man-made nanoparticles in the aquatic environment // Journal of Environmental Monitoring. 2010. Vol. 12, № 1. P. 135–142. DOI: 10.1039/013681a.
2. Янча Й. Проточное фракционирование в поперечном поле. Анализ макромолекул и частиц / под ред. В. Г. Березкина. Москва : Мир. 1992. 294 с.

3. Meermann B. Field-flow fractionation coupled to ICP-MS: separation at the nanoscale, previous and recent application trends // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015. Vol. 407, № 10. P. 2665–2674. DOI: 10.1007/s00216-014-8416-1.
4. Samontha A., Shiwatana J., Siripinyanond A. Particle size characterization of titanium dioxide in sunscreen products using sedimentation field-flow fractionation-inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 399, № 2. P. 973–978. DOI: 10.1007/s00216-010-4298-z.
5. Choi J., Kim D. G., Jung E. C., Kwen H., Lee S. Characterization of CdS-quantum dot particles using sedimentation field-flow fractionation (SdFFF) // *Analytical science and technology*. 2015. Vol. 28, № 1. P. 33–39. DOI: 10.5806/ast.2015.28.1.33.
6. Cascio C., Gilliland D., Rossi F., Calzolari L., Contado C. Critical experimental evaluation of key methods to detect, size and quantify nanoparticulate silver // *Analytical Chemistry*. 2014. Vol. 86, № 24. P. 12143–12151. DOI: 10.1021/ac503307r.
7. Choi J., Kwen H. D., Kim Y. S., Choi S. H., Lee S. γ -ray synthesis and size characterization of CdS quantum dot (QD) particles using flow and sedimentation field-flow fractionation (FFF) // *Microchemical Journal*. 2014. Vol. 117. P. 34–39. DOI: 10.1016/j.microc.2014.06.002.
8. Dou H., Kim B. J., Choi S. H., Jung E. C., Lee S. Effect of size of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles on electrochemical performance of screen printed electrode using sedimentation field-flow fractionation // *Journal of Nanoparticle Research*. 2014. Vol. 16, № 10. P. 1–12. DOI: 10.1007/s11051-014-2679-5.
9. Kim S. T., Kim H. K., Han S. H., Jung E. C., Lee S. Determination of size distribution of colloidal TiO₂ nanoparticles using sedimentation field-flow fractionation combined with single particle mode of inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Microchemical Journal*. 2013. Vol. 110. P. 636–642. DOI: 10.1016/j.microc.2013.07.015.
10. Contado C., Ravani L., Passarella M. Size characterization by sedimentation field flow fractionation of silica particles used as food additives // *Analytica Chimica Acta* 2013. Vol. 788. P. 183–192. DOI: 10.1016/j.aca.2013.05.056.
11. Wagner S., Legros S., Loeschner K., Liu J., Navratilova J., Grombe R., ... Hofmann T. First steps towards a generic sample preparation scheme for inorganic engineered nanoparticles in a complex matrix for detection, characterization, and quantification by asymmetric flow-field flow fractionation coupled to multi-angle light scattering and ICP-MS // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2015. Vol. 30, № 6. P. 1286–1296. DOI: 10.1039/c4ja00471j.
12. Schmidt B., Loeschner K., Hadrup N., Mortensen A., Sloth J. J., Koch C. B., Larsen E. H. Quantitative characterization of gold nanoparticles by field-flow fractionation coupled online with light scattering detection and inductively coupled plasma mass spectrometry // *Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 83, № 7. P. 2461–2468. DOI: 10.1021/ac102545e.
13. Bolea E., Jimenez-Lamana J., Laborda F., Abad-Alvaro I., Blade C., Arola L., Castillo J. R. Detection and characterization of silver nanoparticles and dissolved species of silver in culture medium and cells by AsFIFFF-UV-Vis-ICPMS: application to nanotoxicity tests // *Analyst*. 2014. Vol. 139, № 5. P. 914–922. DOI: 10.1039/c3an01443f.
14. Hawkins A. D., Bednar A. J., Cizdziel J. V., Bu K., Steevens J. A., Willett K. L. Identification of silver nanoparticles in Pimephales promelas gastrointestinal tract and gill tissues using flow field flow fractionation ICP-MS // *Rsc Advances*. 2014. Vol. 4, № 78. P. 41277–41280. DOI: 10.1039/c4ra08630a.

15. Loeschner K., Navratilova J., Kobler C., Molhave K., Wagner S., von der Kammer F., Larsen E. H. Detection and characterization of silver nanoparticles in chicken meat by asymmetric flow field flow fractionation with detection by conventional or single particle ICP-MS // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2013. Vol. 405, № 25. P. 8185–8195. DOI: 10.1007/s00216-013-7228-z.
16. Loeschner K., Navratilova J., Grombe R., Linsinger T. P. J., Kobler C., Molhave K., Larsen E. H. In-house validation of a method for determination of silver nanoparticles in chicken meat based on asymmetric flow field-flow fractionation and inductively coupled plasma mass spectrometric detection // *Food Chemistry*. 2015. Vol. 181. P. 78–84. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.02.033.
17. Contado C., Pagnoni A. TiO₂ in commercial sunscreen lotion: Flow field-flow fractionation and ICP-AES together for size analysis // *Analytical Chemistry*. 2008. Vol. 80, № 19. P. 7594–7608. DOI: 10.1021/ac8012626.
18. Samontha A., Shiwatana J., Siripinyanond A. Particle size characterization of titanium dioxide in sunscreen products using sedimentation field-flow fractionation-inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. Vol. 399, № 2. P. 973–978. DOI: 10.1007/s00216-010-4298-z.
19. Nischwitz V., Goenaga-Infante H. Improved sample preparation and quality control for the characterisation of titanium dioxide nanoparticles in sunscreens using flow field flow fractionation on-line with inductively coupled plasma mass spectrometry // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2012. Vol. 27, № 7. P. 1084–1092. DOI: 10.1039/c2ja10387g.
20. Heroult J., Nischwitz V., Bartzak D., Goenaga-Infante H. The potential of asymmetric flow field-flow fractionation hyphenated to multiple detectors for the quantification and size estimation of silica nanoparticles in a food matrix // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. Vol. 406, № 16. P. 3919–3927. DOI: 10.1007/s00216-014-7831-7.
21. Peters R. J. B., van Bommel G., Herrera-Rivera Z., Helsper H. P. F. G., Marvin H. J. P., Weigel S., ... Bouwmeester H. Characterization of titanium dioxide nanoparticles in food products: analytical methods to define nanoparticles // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014. Vol. 62, № 27. P. 6285–6293. DOI: 10.1021/jf5011885.
22. Hagendorfer H., Kaegi R., Parlinska M., Sinnet B., Ludwig C., Ulrich A. 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 // *Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 84, № 6. P. 2678–2685. DOI: 10.1021/ac202641d.
23. António D. C., Cascio C., Jakšić Ž., Jurašin D., Lyons D. M., Nogueira A. J. A., Rossi F., Calzolari L. Assessing silver nanoparticles behaviour in artificial seawater by mean of AF4 and spICP-MS // *Marine Environmental Research*. 2015. Vol. 111. P. 162–169. DOI: 10.1016/j.marenvres.2015.05.006.
24. Contado C., Pagnoni A. TiO₂ nano- and micro-particles in commercial foundation creams: field flow-fractionation techniques together with ICP-AES and SQW voltammetry for their characterization // *Analytical Methods*. 2010. Vol. 2, № 8. P. 1112–1124. DOI: 10.1039/c0ay00205d.
25. Grombe R., Charoud-Got J., Ertebjerg H., Linsinger T. P. J., Seghers J., Wagner S., ... Allmaier G. Production of reference materials for the detection and size determination of silica nanoparticles in tomato soup // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. Vol. 406, № 16. P. 3895–3907. DOI: 10.1007/s00216-013-7554-1.
26. Hawkins A. D., Bednar A. J., Cizdziel J. V., Bu K., Steevens J. A., Willett K. L. Identification of silver nanoparticles in Pimephales promelas gastrointestinal tract

- and gill tissues using flow field flow fractionation ICP-MS // *Rsc Advances*. 2014. Vol. 4, № 78. P. 41277–41280. DOI: 10.1039/c4ra08630a.
27. Coleman J. G., Kennedy A. J., Bednar A. J., Ranville J. F., Laird J. G., Harmon A. R., ... Steevens J. A. Comparing the effects of nanosilver size and coating variations on bioavailability, internalization, and elimination, using *Lumbricus variegatus* // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2013. Vol. 32, № 9. P. 2069–2077. DOI: 10.1002/etc.2278.
 28. Ramos K., Ramos L., Camara C., Gomez-Gomez M. M. Characterization and quantification of silver nanoparticles in nutraceuticals and beverages by asymmetric flow field flow fractionation coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. 2014. Vol. 1371. P. 227–236. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.10.060.
 29. Lopez-Heras I., Madrid Y., Camara C. Prospects and difficulties in TiO₂ nanoparticles analysis in cosmetic and food products using asymmetrical flow field-flow fractionation hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry // *Talanta*. 2014. Vol. 124. P. 71–78. DOI: 10.1016/j.talanta.2014.02.029.
 30. Poda A. R., Bednar A. J., Kennedy A. J., Harmon A., Hull M., Mitrano D. M., ... Steevens J. Characterization of silver nanoparticles using flow-field flow fractionation interfaced to inductively coupled plasma mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218, № 27. P. 4219–4225. DOI: 10.1016/j.chroma.2010.12.076.
 31. Hoque M. E., Khosravi K., Newman K., Metcalfe C. D. Detection and characterization of silver nanoparticles in aqueous matrices using asymmetric-flow field flow fractionation with inductively coupled plasma mass spectrometry // *Journal of Chromatography A*. 2012. Vol. 1233. P. 109–115. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.02.011.
 32. Koopmans G. F., Hiemstra T., Regelinck I. C., Molleman B., Comans R. N. J. Asymmetric flow field-flow fractionation of manufactured silver nanoparticles spiked into soil solution // *Journal of Chromatography A*. 2015. Vol. 1392. P. 100–109. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.02.073.
 33. Gimbert L. J., Hamon R. E., Casey P. S., Worsfold P. J. Partitioning and stability of engineered ZnO nanoparticles in soil suspensions using flow field-flow fractionation // *Environmental Chemistry*. 2007. Vol. 4, № 1. P. 8–10. DOI: 10.1071/en06072.
 34. Pornwilard M. M., Somchue W., Shiowatana J., Siripinyanon A. Flow field-flow fractionation for particle size characterization of selenium nanoparticles incubated in gastrointestinal conditions // *Food Research International*. 2014. Vol. 57. P. 203–209. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.01.040.
 35. Mudalige T. K., Qu H., Linder S. W. Asymmetric flow-field flow fractionation hyphenated ICP-MS as an alternative to cloud point extraction for quantification of silver nanoparticles and silver speciation: application for nanoparticles with a protein corona // *Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 87, № 14. P. 7395–7401. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b01595.
 36. Bartczak D., Vincent P., Goenaga-Infante H. Determination of size- and number-based concentration of silica nanoparticles in a complex biological matrix by online techniques // *Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 87, № 11. P. 5482–5485. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b01052.
 37. Von der Kammer F., Legros S., Larsen E. H., Loeschner K., Hofmann T. Separation and characterization of nanoparticles in complex food and environmental samples by field-flow fractionation // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 3. P. 425–436. DOI: 10.1016/j.trac.2010.11.012.

38. Baalousha M., Stolpe B., Lead J. R. Flow field-flow fractionation for the analysis and characterization of natural colloids and manufactured nanoparticles in environmental systems: a critical review // *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218, № 27. P. 4078–4103. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.04.063.
39. Pornwilard M. M., Siripinyanond A. Field-flow fractionation with inductively coupled plasma mass spectrometry: past, present, and future // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2014. Vol. 29, № 10. P. 1739–1752. DOI: 10.1039/c4ja00207e.
40. Meermann B., Fabricius A.-L., Duester L., Vanhaecke F., Ternes T. Fraction-related quantification of silver nanoparticles via on-line species-unspecific post-channel isotope dilution in combination with asymmetric flow-field-flow fractionation (AF4)/sector field ICP-mass spectrometry (ICP-SF-MS) // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2014. Vol. 29, № 2. P. 287–296. DOI: 10.1039/c3ja50179e.
41. Bednar A. J., Poda A. R., Mitrano D. M., Kennedy A. J., Gray E. P., Ranville J. F., ... Steevens J. A. Comparison of on-line detectors for field flow fractionation analysis of nanomaterials // *Talanta*. 2013. Vol. 104. P. 140–148. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.11.008.
42. Römer I., White T. A., Baalousha M., Chipman K., Viant M. R., Lead J. R. Aggregation and dispersion of silver nanoparticles in exposure media for aquatic toxicity tests // *Journal of Chromatography A*. 2011. Vol. 1218, № 27. P. 4226–4233. DOI: 10.1016/j.chroma.2011.03.034.
43. Williams S. K. R., Runyon J. R., Ashames A. A. Field-flow fractionation: addressing the nano challenge // *Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 83, № 3. P. 634–42. DOI: 10.1021/ac101759z.
44. Surugau N., Urban P. L. Electrophoretic methods for separation of nanoparticles // *Journal of Separation Science*. 2009. Vol. 32, № 11. P. 1889–1906. DOI: 10.1002/jssc.200900071.
45. Fedotov P. S., Vanifatova N. G., Shkinev V. M., Spivakov B. Y. Fractionation and characterization of nano- and microparticles in liquid media // *Analytical and Bio-analytical Chemistry*. 2011. Vol. 400, № 6. P. 1787–1804. DOI: 10.1007/s00216-011-4704-1.
46. Lopez-Lorente A. I., Simonet B. M., Valcarcel M. Electrophoretic methods for the analysis of nanoparticles // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 30, № 1. P. 58–71. DOI: 10.1016/j.trac.2010.10.006.
47. Wang S. P., Mamedova N., Kotov N. A., Chen W., Studer J. Antigen/antibody immunocomplex from CdTe nanoparticle bioconjugates // *Nano Letters*. 2002. Vol. 2, № 8. P. 817–822. DOI: 10.1021/nl0255193.
48. Hanauer M., Pierrat S., Zins I., Lotz A., Sonnichsen C. Separation of nanoparticles by gel electrophoresis according to size-and shape // *Nano Letters*. 2007. Vol. 7, № 9. P. 2881–2885. DOI: 10.1021/nl071615y.
49. Crew E., Rahman S., Razzak-Jaffar A., Mott D., Kamundi M., Yu G., ... Zhong C.-J. MicroRNA conjugated gold nanoparticles and cell transfection // *Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 84, № 1. P. 26–29. DOI: 10.1021/ac202749p.
50. Beskorovaynyy A. V., Kopitsyn D. S., Novikov A. A., Ziangirova M., Skorikova G. S., Kotelev M. S., ... Perelman L. T. Rapid optimization of metal nanoparticle surface modification with high-throughput gel electrophoresis // *Acs Nano*. 2014. Vol. 8, № 2. P. 1449–1456. DOI: 10.1021/nn405352v.
51. Sang F., Huang X., Ren J. Characterization and separation of semiconductor quantum dots and their conjugates by capillary electrophoresis // *Electrophoresis*. 2014. Vol. 35, № 6. P. 793–803. DOI: 10.1002/elps.201300528.

52. Stanisavljevic M., Vaculovicova M., Kizek R., Adam V. Capillary electrophoresis of quantum dots: minireview // *Electrophoresis*. 2014. Vol. 35, № 14. P. 1929–1937. DOI: 10.1002/elps.201400033.
53. Aleksenko S. S., Shmykov A. Y., Oszwaldowski S., Timerbaev A. R. Interactions of tumour-targeting nanoparticles with proteins: potential of using capillary electrophoresis as a direct probe // *Metallomics*. 2012. Vol. 4, № 11. P. 1141–1148. DOI: 10.1039/c2mt20141k.
54. Liu F. K., Ko F. H., Huang P. W., Wu C. H., Chu T. C. Studying the size/shape separation and optical properties of silver nanoparticles by capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. 2005. Vol. 1062, № 1. P. 139–145. DOI: 10.1016/j.chroma.2004.11.010.
55. Qu H., Mudalige T. K., Linder S. W. Capillary electrophoresis/inductively-coupled plasma-mass spectrometry: development and optimization of a high resolution analytical tool for the size-based characterization of nanomaterials in dietary supplements // *Analytical Chemistry*. 2014. Vol. 86, № 23. P. 11620–11627. DOI: 10.1021/ac5025655
56. Franze B., Engelhard C. Fast separation, characterization, and speciation of gold and silver nanoparticles and their ionic counterparts with micellar electrokinetic chromatography coupled to ICP-MS // *Analytical Chemistry*. 2014. Vol. 86, № 12. P. 5713–5720. DOI: 10.1021/ac403998e.
57. Qu H., Linder S. W., Mudalige T. K. Surface coating and matrix effect on the electrophoretic mobility of gold nanoparticles: a capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry study // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2017. Vol. 409, № 4. P. 979–988. DOI: 10.1007/s00216-016-0012-0.
58. Chadha R., Sharma R., Maiti N., Ballal A., Kapoor S. Effect of SDS concentration on colloidal suspensions of Ag and Au nanoparticles // *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2015. Vol. 150. P. 664–670. DOI: 10.1016/j.saa.2015.06.005.
59. Mayer B. X. How to increase precision in capillary electrophoresis // *Journal of Chromatography A*. 2001. Vol. 907, № 1–2. P. 21–37. DOI: 10.1016/s0021-9673(00)01057-8.
60. Tiede K., Boxall A. B. A., Tiede D., Tear S. P., David H., Lewis J. A robust size-characterisation methodology for studying nanoparticle behaviour in 'real' environmental samples, using hydrodynamic chromatography coupled to ICP-MS // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2009. Vol. 24, № 7. P. 964–972. DOI: 10.1039/b822409a.
61. Metreveli G., Philippe A., Schaumann G. E. Disaggregation of silver nanoparticle homoaggregates in a river water matrix // *Science of the Total Environment*. 2015. Vol. 535. P. 35–44. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.058.
62. Tiede K., Boxall A. B. A., Wang X., Gore D., Tiede D., Baxter M., ... Lewis J. Application of hydrodynamic chromatography-ICP-MS to investigate the fate of silver nanoparticles in activated sludge // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2010. Vol. 25, № 7. P. 1149–1154. DOI: 10.1039/b926029c.
63. Proulx K., Wilkinson K. J. Separation, detection and characterisation of engineered nanoparticles in natural waters using hydrodynamic chromatography and multi-method detection (light scattering, analytical ultracentrifugation and single particle ICP-MS) // *Environmental Chemistry*. 2014. Vol. 11, № 4. P. 392–401. DOI: 10.1071/en13232.
64. Philippe A., Schaumann G. E. Evaluation of hydrodynamic chromatography coupled with uv-visible, fluorescence and inductively coupled plasma mass spectrometry

- detectors for sizing and quantifying colloids in environmental media // *Plos One*. 2014. Vol. 9, № 2. P. 1–9. DOI: 10.1371/journal.pone.0090559.
65. Gray E. P., Bruton T. A., Higgins C. P., Halden R. U., Westerhoff P., Ranville J. F. Analysis of gold nanoparticle mixtures: a comparison of hydrodynamic chromatography (HDC) and asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4) coupled to ICP-MS // *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2012. Vol. 27, № 9. P. 1532–1539. DOI: 10.1039/c2ja30069a.
 66. Pergantis S. A., Jones-Lepp T. L., Heithmar E. M. Hydrodynamic chromatography online with single particle-inductively coupled plasma mass spectrometry for ultratrace detection of metal-containing nanoparticles // *Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 84, № 15. P. 6454–6462. DOI: 10.1021/ac300302j.
 67. Chang Y. J., Shih Y. H., Su C. H., Ho H. C. Comparison of three analytical methods to measure the size of silver nanoparticles in real environmental water and wastewater samples // *Journal of Hazardous Materials*. 2017. Vol. 322. Part A. P. 95–104. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.03.030.
 68. Wei G. T., Liu F. K., Wang C. R. C. Shape separation of nanometer gold particles by size-exclusion chromatography // *Analytical Chemistry*. 1999. Vol. 71, № 11. P. 2085–2091. DOI: 10.1021/ac990044u.
 69. Zhou X.-X., Liu R., Liu J.-F. Rapid chromatographic separation of dissoluble Ag(I) and silver-containing nanoparticles of 1–100 nanometer in antibacterial products and environmental waters // *Environmental Science & Technology*. 2014. Vol. 48, № 24. P. 14516–14524. DOI: 10.1021/es504088e.
 70. Soto-Alvaredo J., Montes-Bayon M., Bettmer J. Speciation of silver nanoparticles and silver(i) by reversed-phase liquid chromatography coupled to ICPMS // *Analytical Chemistry*. 2013. Vol. 85, № 3. P. 1316–1321. DOI: 10.1021/ac302851d.
 71. Hanley T. A., Saadawi R., Zhang P., Caruso J. A., Landero-Figueroa J. Separation of silver ions and starch modified silver nanoparticles using high performance liquid chromatography with ultraviolet and inductively coupled mass spectrometric detection // *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*. 2014. Vol. 100. P. 173–179. DOI: 10.1016/j.sab.2014.08.022.
 72. Yeo D. C., Wiraja C., Zhou Y., Tay H. M., Xu C., Hou H. W. Interference-free micro/nanoparticle cell engineering by use of high-throughput microfluidic separation // *Acs Applied Materials & Interfaces*. 2015. Vol. 7, № 37. P. 20855–20864. DOI: 10.1021/acsami.5b06167.
 73. Salafi T., Zeming K. K., Zhang Y. Advancements in microfluidics for nanoparticle separation // *Lab on a Chip*. 2017. Vol. 17, № 1. P. 11–33. DOI: 10.1039/c6lc01045h.
 74. Janca J. Field-flow fractionation in microfluidic channels of low aspect ratio // *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 2017. Vol. 22. P. 62–71. DOI: 10.1080/1023666X.2016.1232558
 75. Janca J. Characterization of diamond nanoparticles by high-speed micro-thermal field-flow fractionation // *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*. 2015. Vol. 20, № 8. P. 671–680. DOI: 10.1080/1023666x.2015.1081130.
 76. Mudalige T. K., Qu H., Van Haute D., Ansar S. M., Linder S. W. Capillary electrophoresis and asymmetric flow field-flow fractionation for size-based separation of engineered metallic nanoparticles: A critical comparative review // *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 106. P. 202–212. DOI: 10.1016/j.trac.2018.07.008.
 77. Kwon B. H., Kim H. H., Park J. H., Yoon D. H., Kim M. C., Sheard S., ... Go J. S. Separation of different sized nanoparticles with time using a rotational flow // *Japanese Journal of Applied Physics*. 2013. Vol. 52, № 2R, art. 6601. DOI: 10.7567/jjap.52.026601.

78. Luo G. S., Du L., Wang Y. J., Wang K. Recent developments in microfluidic device-based preparation, functionalization, and manipulation of nano- and micro-materials // *Particuology*. 2019. Vol. 45. P. 1–19. DOI: 10.1016/j.partic.2018.10.001.
79. Ezzaier H., Marins J. A., Claudet C., Hemery G., Sandre O., Kuzhir P. Kinetics of aggregation and magnetic separation of multicore iron oxide nanoparticles: effect of the grafted layer thickness // *Nanomaterials*. 2018. Vol. 8, № 8, art. 623. P. 1–29. DOI: 10.3390/nano8080623.
80. Shen F., Park J.-K. Toxicity assessment of iron oxide nanoparticles based on cellular magnetic loading using magnetophoretic sorting in a trapezoidal microchannel // *Analytical Chemistry*. 2018. Vol. 90, № 1. P. 920–927. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b03875.
81. Petersson F., Aberg L., Sward-Nilsson A. M., Laurell T. Free flow acoustophoresis: Microfluidic-based mode of particle and cell separation // *Analytical Chemistry*. 2007. Vol. 79, № 14. P. 5117–5123. DOI: 10.1021/ac070444e.
82. Pumera M., Wang J., Grushka E., Polsky R. Gold nanoparticle-enhanced microchip capillary electrophoresis // *Analytical Chemistry*. 2001. Vol. 73, № 22. P. 5625–5628. DOI: 10.1021/ac015589e.
83. Weiss V. U., Lehner A., Grombe R., Marchetti-Deschmann M., Allmaier G. Chip electrophoresis of gelatin-based nanoparticles // *Electrophoresis*. 2013. Vol. 34, № 15. P. 2152–2161. DOI: 10.1002/elps.201300074.
84. Durr M., Kentsch J., Muller T., Schnelle T., Stelzle M. Microdevices for manipulation and accumulation of micro- and nanoparticles by dielectrophoresis // *Electrophoresis*. 2003. Vol. 24, № 4. P. 722–731. DOI: 10.1002/elps.200390087.
85. Abdallah B. G., Roy-Chowdhury S., Coe J., Fromme P., Ros A. High throughput protein nanocrystal fractionation in a microfluidic sorter // *Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 87, № 8. P. 4159–4167. DOI: 10.1021/acs.analchem.5b00589.
86. Lai T.-S., Chang T.-C., Wang S.-C. Gold nanoparticle-based colorimetric methods to determine protein contents in artificial urine using membrane micro-concentrators and mobile phone camera // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2017. Vol. 239. P. 9–16. DOI: 10.1016/j.snb.2016.07.158.
87. Zhao C., Cao Z., Fraser J., Oztekin A., Cheng X. Optimization of nanoparticle focusing by coupling thermophoresis and engineered vortex in a microfluidic channel // *Journal of Applied Physics*. 2017. Vol. 121, № 2, art. 024902. DOI: 10.1063/1.4973272.
88. Collins D. J., Ma Z., Han J., Ai Y. Continuous micro-vortex-based nanoparticle manipulation via focused surface acoustic waves // *Lab on a Chip*. 2017. Vol. 17, № 1. P. 91–103. DOI: 10.1039/c6lc01142j.
89. Tay H. M., Yeo D. C., Wiraja C., Xu C. J., Hou H. W. Microfluidic buffer exchange for interference-free micro/nanoparticle cell engineering // *Jove-Journal of Visualized Experiments*. 2016. Vo. 113, art. e54327. DOI: 10.3791/54327.
90. Xuan J., Lee M. L. Size separation of biomolecules and bioparticles using micro/nanofabricated structures // *Analytical Methods*. 2014. Vol. 6, № 1. P. 27–37. DOI: 10.1039/c3ay41364k.
91. Di Carlo D., Irimia D., Tompkins R. G., Toner M. Continuous inertial focusing, ordering, and separation of particles in microchannels // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007. Vol. 104, № 48. P. 18892–18897. DOI: 10.1073/pnas.0704958104.
92. Woo Y., Heo Y., Shin K., Yi G.-R. Hydrodynamic filtration in microfluidic channels as size-selection process for giant unilamellar vesicles // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. 2013. Vol. 9, № 4. P. 610–614. DOI: 10.1166/jbn.2013.1543.

93. Regtmeier J., Kaesewieter J., Everwand M., Anselmetti D. Continuous-flow separation of nanoparticles by electrostatic sieving at a micro-nanofluidic interface // *Journal of Separation Science*. 2011. Vol. 34, № 10. P. 1180–1183. DOI: 10.1002/jssc.201100007.
94. Luo G. S., Du L., Wang Y. J., Wang K. Recent developments in microfluidic device-based preparation, functionalization, and manipulation of nano- and micro-materials // *Particuology*. 2019. Vol. 45. P. 1–19. DOI: 10.1016/j.partic.2018.10.001.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ *IN SITU* ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ

Оценка *in situ* становится все более важной при характеристике НЧ, поскольку она не требует специальной подготовки образцов, которая может вызвать артефакты [1].

Обработка образца может привести, например, к потере части частиц или вызвать изменения в состоянии их агрегации. Методы *in situ* можно разделить на методы визуализации и спектроскопии. ПЭМ и СЭМ широко используются для определения характеристик и количественной оценки НЧ в сложных матрицах без разделительной процедуры. СЭМ с энергодисперсионной рентгеновской спектроскопией (СЭМ-ЭДРС) облегчает исследование локализации и химической формы НЧ вплоть до клеточного уровня [2]. Для определения металлических НЧ, локализованных внутри клеток, применимы ПЭМ-ЭДРС и методы, использующие синхротронное рентгеновское излучение [3, 4]. Синхротронная рентгеновская микротомография края поглощения позволяет даже динамически исследовать материалы [5]. ИСП-МС также может быть использована в качестве метода *in situ* для количественной оценки НЧ. Как метод многоэлементного анализа, ИСП-МС дает возможность количественно определять элементы в жидкостях на уровне мкг/л и ниже [6].

Микроскопия когерентного антистоксовского рассеяния (МКАР) – это метод, который отображает структуры НЧ, демонстрируя характерный вибрационный контраст их молекул. Moger et al. [7] использовали методы визуализации этого типа для обнаружения таких металлсодержащих НЧ, как диоксид церия, диоксид титана и оксид цинка в жабрах рыб (радужная форель). Эти авторы показали, что МКАР, используемый без каких-либо меток, обеспечивает превосходный контраст изображения наночастиц оксида металла, находящихся глубоко в биологической структуре. Хотя отдельные частицы не могли быть обнаружены, их локализация на клеточном уровне все же была определена.

Технику двухфотонного лазера [8] использовали для долгосрочного и трехмерного (3D) фиксирования металлических НЧ в живых клетках с нанометровым разрешением. Благодаря быстрому многофокальному сканированию, преимущества трехмерных методов молекулярного тре-

кинга, использующих широкополосную визуализацию, сочетаются с преимуществами двухфотонной микроскопии. Золотые наностержни отслеживались в клетках с точностью 4 нм в плоскости XY и 8 нм в направлении Z [9].

Отдельные наностержни в живых эпителиальных клетках остеосаркомы человека (линия U2OS) можно отслеживать в трех измерениях в течение 30 минут с ограниченной точностью фотонного шума и временным разрешением 50 мс в 2D и 500 мс в 3D.

Двухфотонный лазер, используемый Carozza et al. [9], может следить за агломерированными AuНЧ (наночастицы золота) в теле пятидневных личинок рыбок Данио. Методика позволила качественно определить как агломерированные, так и единичные AuНЧ и динамику их биораспределения. Эти методы в настоящее время разрабатываются для того, чтобы можно было проводить количественную оценку наночастиц, а также обнаруживать НЧ на основе их внутреннего распределения по размерам.

Темнопольная микроскопия является хорошо известным инструментом, используемым для обнаружения и характеристики наноструктур [10]. Использование спектрометра в методе темнопольной микроскопии дает высокое отношение сигнал / шум и высокую чувствительность. Метод работает на основе освещения образцов с использованием падающего луча. Рассеянное излучение от наноразмерных объектов собирается объективом микроскопа и анализируется в спектрометре. Используя этот метод, можно за короткий промежуток времени исследовать НЧ и их свойства, такие как размер, форма и состав на уровне отдельных частиц [11].

В работе [12] описана технология микроскопии темного поля в сочетании со спектрометром для наблюдения плазмонных наночастиц. Техника, разработанная для наблюдения плазмонных наночастиц, широко используется при исследовании металлических [13] и углеродных НЧ [14]. Также сообщалось [15], что этот метод может использоваться для исследования НЧ в сложных матрицах проб окружающей среды. Основное преимущество спектроскопии в темном поле состоит в том, что неокрашенные образцы можно наблюдать из-за несоответствия показателя преломления, который генерирует контраст изображения, хотя часто требуется окрашивание в соответствующий цвет. В 2017 г. Kawano et al. [16] опубликовали статью, в которой описали метод улучшения изображения в темном поле путем добавления трехцветных светодиодов. Эта модификация дала резкое улучшение возможностей метода. В частности, она позволяет исследователям контролировать длину волны света. Тем не менее считается, что спектроскопия в темном поле более применима для поверхностных плазмонных НЧ [17].

Комбинация ИСП-МС с системой лазерной абляции (ЛА) широко используется для прямого элементного анализа твердых образцов [18]. Эта техника была применена для количественной оценки содержания AuНЧ и AgНЧ [19], SiO₂НЧ [20], TiO₂НЧ [21] и Al₂O₃НЧ [22]. В работе [23] был описан метод количественного определения AuНЧ *in situ* в клеточной ли-

нии макрофагов лейкозных моноцитов мыши. Buechner et al. [24] использовали эту методику для количественного определения НЧ Au и их агрегатов в ультраструктуре фибробластных клеток 3Т3. Эти авторы успешно показали, что НЧ Au и их агрегаты накапливаются в перинуклеарных областях клеток. Необходимо отметить, что метод является деструктивным и имеет низкое пространственное разрешение (~10 мкм) [25], что затрудняет его использование для исследований на уровне тканей и организмов. В 2017 г. Malderen et al. [26] сообщили об улучшении разрешения и описали свою методику в работе [27]. Эта методика была протестирована на биологических образцах эмбрионах рыбок Данио для наблюдения за эффектами ZnОНЧ и растворенного Zn (II). Показано, что метод является достаточно чувствительным для изучения накопления в срезах тканей Fe₂O₃НЧ, легированных Eu [28]. Технология ЛА-ИСП-МС была использована для обнаружения AuНЧ и их распределения по размерам в печени мыши [29], а также для определения и визуализации Al₂O₃НЧ, AgНЧ и AuНЧ в организмах *Danio rerio* и *Daphnia magna* [30]. Данные, полученные по этой методике, отражают массовые концентрации. Чтобы сделать результаты полезными для (эко)токсикологических целей, требуется дополнительная информация о размере и форме НЧ в исследуемой биологической ткани.

Синхротронная абсорбционная рентгеновская компьютерная микротомография (САРКМ) имеет репутацию неразрушающего метода для исследования в масштабе длины в несколько сотен нанометров [31]. Поскольку метод неразрушающий, он используется в биологии для выявления трехмерных структур образцов многих организмов, а также тканей человека [32]. Как метод *in situ* САРКМ демонстрирует перспективность количественного определения НЧ в сложных матрицах [33], и особенно для биологических сред, благодаря своей способности получать воспроизводимые результаты в динамическом режиме [34] и исследовать локализованные НЧ в клетках и тканях [35]. САРКМ была использована в качестве метода визуализации для исследования конъюгированных с антителами AuНЧ у живых мышей [35] и для визуализации распределения частиц Fe₂O₃НЧ в мозге мышей [36]. Этот метод также использовался для обнаружения, локализации и биораспределения *ex vivo* НЧ CeO₂ в легких мышей на уровне отдельных клеток [37]. Ключевой проблемой при продвижении методик в практику является то, что в настоящее время типичного разрешения САРКМ (около 2–12 мкм) недостаточно для обнаружения одиночных НЧ. В 2014 г. этот метод был использован для измерения общей массы дисперсии НЧ в сложной среде без учета размера и распределения частиц по размерам [33]. Следовательно, САРКМ может быть более подходящим для количественного определения НЧ в кишечнике или наночастиц, которые адсорбируются на коже или клеточных поверхностях, где можно ожидать их высокой концентрации [38].

ЛИТЕРАТУРА

1. Urban D. A., Rodriguez-Lorenzo L., Balog S., Kinnear C., Rothen-Rutishauser B., Petri-Fink A. Plasmonic nanoparticles and their characterization in physiological fluids // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2016. Vol. 137. P. 39–49. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2015.05.053.
2. Drobne D., Novak S., Talaber I., Lynch I., Kokalj A. J. The biological fate of silver nanoparticles from a methodological perspective // *Materials*. 2018. Vol. 11, № 6, art. 957. P. 1–12. DOI: 10.3390/ma11060957.
3. Szakal C., Roberts S. M., Westerhoff P., Bartholomaeus A., Buck N., Illuminato I., ... Rogers M. Measurement of nanomaterials in foods: integrative consideration of challenges and future prospects // *Acs Nano*. 2014. Vol. 8, № 4. P. 3128–3135. DOI: 10.1021/nn501108g.
4. Castillo-Michel H. A., Larue C., Pradas del Real A. E., Cotte M., Sarret G. Practical review on the use of synchrotron based micro- and nano- X-ray fluorescence mapping and X-ray absorption spectroscopy to investigate the interactions between plants and engineered nanomaterials // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2017. Vol. 110. P. 13–32. DOI: 10.1016/j.plaphy.2016.07.018.
5. Molnar I. L., Willson C. S., O'Carroll D. M., Rivers M. L., Gerhard J. I. Method for obtaining silver nanoparticle concentrations within a porous medium via synchrotron X-ray computed microtomography // *Environmental Science & Technology*. 2014. Vol. 48, № 2. P. 1114–1122. DOI: 10.1021/es403381s.
6. Vanhaecke F. ICP-MS – alternative means for the elimination of interferences // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2002. Vol. 372, № 1. P. 20–21. DOI: 10.1007/s00216-001-1147-0.
7. Moger J., Johnston B. D., Tyler C. R. Imaging metal oxide nanoparticles in biological structures with CARS microscopy // *Optics Express*. 2008. Vol. 16, № 5. P. 3408–3419. DOI: 10.1364/oe.16.003408.
8. Van den Broek B., Ashcroft B., Oosterkamp T. H., van Noort J. Parallel nanometric 3d tracking of intracellular gold nanorods using multifocal two-photon microscopy // *Nano Letters*. 2013. Vol. 13, № 3. P. 980–986. DOI: 10.1021/nl3040509.
9. Carozza S., Culkun J., van Noort J. Accuracy of the detection of binding events using 3D single particle tracking // *BMC Biophysics*. 2017. Vol. 10, art. 3. P. 1–13. DOI: 10.1186/s13628-017-0035-8.
10. Mock J. J., Barbic M., Smith D. R., Schultz D. A., Schultz S. Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles // *Journal of Chemical Physics*. 2002. Vol. 116, № 15. P. 6755–6759. DOI: 10.1063/1.1462610.
11. Liu M., Chao J., Deng S., Wang K., Li K., Fan C. Dark-field microscopy in imaging of plasmon resonant nanoparticles // *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*. 2014. Vol. 124. P. 111–117. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.06.001.
12. Fan J. A., Bao K., Lassiter J. B., Bao J., Halas N. J., Nordlander P., Capasso F. Near-normal incidence dark-field microscopy: applications to nanoplasmonic spectroscopy // *Nano Letters*. 2012. Vol. 12, № 6. P. 2817–2821. DOI: 10.1021/nl300160y.
13. Bashevov M. V., Jonsson F., MacDonald K. F., Chen Y., Zheludev N. I. Hyperspectral imaging of plasmonic nanostructures with nanoscale resolution // *Optics Express*. 2007. Vol. 15, № 18. P. 11313–11320. DOI: 10.1364/oe.15.011313.
14. Lefebvre J. Real time hyperspectroscopy for dynamical study of carbon nanotubes // *Acs Nano*. 2016. Vol. 10, № 10. P. 9602–9607. DOI: 10.1021/acsnano.6b05077.

15. Badireddy A. R., Wiesner M. R., Liu J. Detection, characterization, and abundance of engineered nanoparticles in complex waters by hyperspectral imagery with enhanced darkfield microscopy // *Environmental Science & Technology*. 2012. Vol. 46, № 18. P. 10081–10088. DOI: 10.1021/es204140s.
16. Kawano Y., Namiki K., Miyawaki A., Ishikawa T. Extending whole slide imaging: color darkfield internal reflection illumination (diri) for biological applications // *Plos One*. 2017. Vol. 12, № 1, art. e0167774. P. 1–18. DOI: 10.1371/journal.pone.0167774.
17. Dong X., Jakobi M., Wang S., Koehler M. H., Zhang X., Koch A. W. A review of hyperspectral imaging for nanoscale materials research // *Applied Spectroscopy Reviews*. 2019. Vol. 54, № 4. P. 285–305. DOI: 10.1080/05704928.2018.1463235.
18. Limbeck A., Galler P., Bonta M., Bauer G., Nischkauer W., Vanhaecke F. Recent advances in quantitative LA-ICP-MS analysis: challenges and solutions in the life sciences and environmental chemistry // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015. Vol. 407, № 22. P. 6593–6617. DOI: 10.1007/s00216-015-8858-0.
19. Drescher D., Giesen C., Traub H., Panne U., Kneipp J., Jakubowski N. Quantitative imaging of gold and silver nanoparticles in single eukaryotic cells by laser ablation ICP-MS // *Analytical Chemistry*. 2012. Vol. 84, № 22. P. 9684–9688. DOI: 10.1021/ac302639c.
20. Drescher D., Zeise I., Traub H., Guttman P., Seifert S., Buechner T., ... Kneipp J. In situ characterization of SiO_2 nanoparticle biointeractions using bright silica // *Advanced Functional Materials*. 2014. Vol. 24, № 24. P. 3765–3775. DOI: 10.1002/adfm.201304126.
21. Hsiao I. L., Bierkandt F. S., Reichardt P., Luch A., Huang Y.-J., Jakubowski N., ... Haase A. Quantification and visualization of cellular uptake of TiO_2 and Ag nanoparticles: comparison of different ICP-MS techniques // *Journal of Nanobiotechnology*. 2016. Vol. 14, art. 50. P. 1–13. DOI: 10.1186/s12951-016-0203-z.
22. Boehme S., Staerk H.-J., Meissner T., Springer A., Reemtsma T., Kuehnel D., Busch W. Quantification of Al_2O_3 nanoparticles in human cell lines applying inductively coupled plasma mass spectrometry (neb-ICP-MS, LA-ICP-MS) and flow cytometry-based methods // *Journal of Nanoparticle Research*. 2014. Vol. 16, № 9, art. 2592. P. 1–15. DOI: 10.1007/s11051-014-2592-y.
23. Wang M., Zheng L.-N., Wang B., Chen H.-Q., Zhao Y.-L., Chai Z.-F., ... Feng W.-Y. Quantitative analysis of gold nanoparticles in single cells by laser ablation inductively coupled plasma-mass spectrometry // *Analytical Chemistry*. 2014. Vol. 86, № 20. P. 10252–10256. DOI: 10.1021/ac502438n.
24. Buechner T., Drescher D., Traub H., Schrade P., Bachmann S., Jakubowski N., Kneipp J. Relating surface-enhanced Raman scattering signals of cells to gold nanoparticle aggregation as determined by LA-ICP-MS micromapping // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. Vol. 406, № 27. P. 7003–7014. DOI: 10.1007/s00216-014-8069-0.
25. Wang B., Wang Z., Feng W., Wang M., Hu Z., Chai Z., Zhao Y. New methods for nanotoxicology: synchrotron radiation-based techniques // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2010. Vol. 398, № 2. P. 667–676. DOI: 10.1007/s00216-010-3752-2.
26. Van Malderen S. J. M., Laforce B., Van Acker T., Nys C., De Rijcke M., de Rycke R., ... Vanhaecke F. Three-dimensional reconstruction of the tissue-specific multielemental distribution within *ceriodaphnia dubia* via multimodal registration using laser ablation icp-mass spectrometry and x-ray spectroscopic techniques // *Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 89, № 7. P. 4161–4168. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b00111.

27. Brun N. R., Lenz M., Wehrli B., Fent K. Comparative effects of zinc oxide nanoparticles and dissolved zinc on zebrafish embryos and eleuthero-embryos: Importance of zinc ions // *Science of the Total Environment*. 2014. Vol. 476–477. P. 657–666. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.053.
28. Scharlach C., Mueller L., Wagner S., Kobayashi Y., Kratz H., Ebert M., ... Schellenberger E. LA-ICP-MS allows quantitative microscopy of europium-doped iron oxide nanoparticles and is a possible alternative to ambiguous prussian blue iron staining // *Journal of Biomedical Nanotechnology*. 2016. Vol. 12, № 5. P. 1001–1010. DOI: 10.1166/jbn.2016.2230.
29. Li Q., Wang Z., Mo J., Zhang G., Chen Y., Huang C. Imaging gold nanoparticles in mouse liver by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7, art. 2965. P. 1–7. DOI: 10.1038/s41598-017-03275-x.
30. Boehme S., Staerk H.-J., Kuehnel D., Reemtsma T. Exploring LA-ICP-MS as a quantitative imaging technique to study nanoparticle uptake in *Daphnia magna* and zebrafish (*Danio rerio*) embryos // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2015. Vol. 407, № 18. P. 5477–5485. DOI: 10.1007/s00216-015-8720-4.
31. Jenneson P. M., Gundogdu O. In situ x-ray imaging of nanoparticle agglomeration in fluidized beds // *Applied Physics Letters*. 2006. Vol. 88, № 3, art. 034103. DOI: 10.1063/1.2166486.
32. Mizutani R., Suzuki Y. X-ray microtomography in biology // *Micron*. 2012. Vol. 43, № 2–3. P. 104–115. DOI: 10.1016/j.micron.2011.10.002.
33. Molnar I. L., Willson C. S., O'Carroll D. M., Rivers M. L., Gerhard J. I. Method for obtaining silver nanoparticle concentrations within a porous medium via synchrotron X-ray computed microtomography // *Environmental Science & Technology*. 2014. Vol. 48, № 2. P. 1114–1122. DOI: 10.1021/es403381s.
34. Song S. R., Jones K. W., Lindquist W. B., Dowd B. A., Sahagian D. L. Synchrotron X-ray computed microtomography: studies on vesiculated basaltic rocks // *Bulletin of Volcanology*. 2001. Vol. 63, № 4. P. 252–263. DOI: 10.1007/s004450100141.
35. Eck W., Nicholson A. I., Zentgraf H., Semmler W., Bartling S. Anti-cd4-targeted gold nanoparticles induce specific contrast enhancement of peripheral lymph nodes in X-ray computed tomography of live mice // *Nano Letters*. 2010. Vol. 10, № 7. P. 2318–2322. DOI: 10.1021/nl101019s.
36. Marinescu M., Langer M., Durand A., Olivier C., Chabrol A., Rositi H., ... Wiart M. Synchrotron radiation X-ray phase micro-computed tomography as a new method to detect iron oxide nanoparticles in the brain // *Molecular Imaging and Biology*. 2013. Vol. 15, № 5. P. 552–559. DOI: 10.1007/s11307-013-0639-6.
37. Chaurand P., Liu W., Borschneck D., Levard C., Auffan M., Paul E., ... Perrin J. Multi-scale X-ray computed tomography to detect and localize metal-based nano-materials in lung tissues of *in vivo* exposed mice // *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8, art. 4408. P. 1–11. DOI: 10.1038/s41598-018-21862-4.
38. Hu J., Wang D., Wang J., Wang J. Bioaccumulation of Fe₂O₃(magnetic) nanoparticles in *Ceriodaphnia dubia* // *Environmental Pollution*. 2012. Vol. 162. P. 216–222. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.11.016.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При рассмотрении всего комплекса задач аналитической химии в области наноматериалов его можно условно разделить на три множества. Первое представляет собой совокупность проблем, возникающих при обнаружении, идентификации и характеристике НЧ, то есть исследование НЧ в качестве аналитов. Второе множество, может быть даже более обширное, чем первое, представляет собой совокупность задач по использованию наноматериалов в качестве инструментов для разработки новых аналитических процессов, особенно в обработке образцов (извлечение аналитов, предварительное концентрирование и очистка), а также в детектировании (сенсорные системы). Третье множество в общем смысле представляет собой совокупность первых двух и состоит из задач использования наноматериалов и нанoinструментов для анализа наночастиц. Представленный читателям обзор в какой-то степени затрагивает все проблемы наноаналитики, но сосредоточен в основном на первом множестве. Этому есть простое объяснение – эти задачи уже являются задачами повседневной практики и ознакомление с ними для исследователей, делающих первые шаги в мониторинге и более глубоком изучении наноматериалов в различных компонентах окружающей среды, будет несомненно полезно.

Необходимо отметить, что темпы развития наноаналитики настолько велики, что обзоры не в состоянии успевать за появлением новых результатов. Среди таких, особенно бурно развивающихся областей, несомненно находятся микрофлюидные технологии и методики определения НЧ в биологических системах. По-видимому, новые обобщения в виде обзоров по этим областям появятся в ближайшем будущем.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГЭ	Агарозный гель-электрофорез
АСЭМ	Атмосферная сканирующая электронная микроскопия
АТНЧ	Анализ траекторий наночастиц
АУЦ	Аналитическое ультрацентрифугирование
ГДХ	Гидродинамическая хроматография
ГЭ	Гель-электрофорез
ДДС	Додецисульфат натрия
ДЛРС	Динамическое лазерное рассеяние света
ДРС	Динамическое рассеяние света
ДФП	Диновское фракционирование потока
ИНЧ	Искусственные наночастицы
ИСП-МС	Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
ИСП-ОЭС	Оптическая эмиссионная спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
КР	Комбинационное рассеяние
КЭ	Капиллярный электрофорез
ЛА	Лазерная абляция
МИНЧ	Искусственные наночастицы, содержащие элементы – металлы
МКАР	Микроскопия когерентного антистоксовского рассеяния
МПГ	Металлы платиновой группы
МУРС	Многоугловое рассеяние света
НМ	Наноматериалы
НЧ	Наночастицы
ОЧ-ИСП-МС	Одночастичная масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой
ПААГ	Полиакриламидный гель
ПРИЗ	Перестраиваемое резистивное импульсное зондирование
ПФП	Полевое фракционирование потока
ПЭМ	Просвечивающая электронная микроскопия
САРКМ	Синхротронная абсорбционная рентгеновская компьютерная микротомография

СИ	Синхротронное излучение
СИ-РАС	Синхротронное рентгеновская абсорбционная спектроскопия
СИ-РФК	Синхротронное рентгеновское флуоресцентное картирование
СКР	Спектроскопия комбинационного рассеяния
СКРУП	Спектроскопия комбинационного рассеяния усиленного поверхностью
СПФП	Седиментационное поленое фракционирование потока
СХПЭЭ	Спектроскопия характеристических потерь энергии электронами
СЭМ	Сканирующая электронная микроскопия
УФ-ВС	Ультрафиолет – видимый свет
ЭДРС	Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия
ЭМ	Электронная микроскопия
ЭТ	Электронная томография
ЭТ-ААС	Электротермическая атомно – адсорбционная спектрометрия
ЭФРС	Электрофоретическое рассеяние света
ЭХ	Эксклюзионная хроматография

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Сапрыкин Анатолий Ильич – доктор технических наук, профессор, член бюро Научного совета РАН по аналитической химии и Научного совета РАН по химии высокочистых веществ, член объединенного Ученого совета СО РАН по химическим наукам, тел. (383) 330-69-65, e-mail: saprykin@niic.nsc.ru
- Самойлов Павел Петрович – кандидат химических наук, доцент, главный библиотекарь ГПНТБ СО РАН, тел. (383) 330-61-60, e-mail: samoylov2605@mail.ru

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
Литература	5
ВВЕДЕНИЕ	8
Литература	12
1. МЕТОДЫ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ И ХАРАКТЕРИЗАЦИИ.....	16
1.1. Электронная микроскопия	16
1.2. Методы атомной спектроскопии.....	18
1.3. Методы рассеяния света	21
1.4. Анализ траекторий наночастиц	22
1.5. Спектроскопия комбинационного рассеяния.....	23
1.6. Электрофоретическое рассеяние света	24
1.7. Аналитическое ультрацентрифугирование	25
1.8. Эксклюзионная хроматография	26
1.9. Перестраиваемое резистивное импульсное зондирование	26
1.10. Флуоресцентная корреляционная спектроскопия	28
Литература	28
2. ПРОДВИНУТЫЕ МЕТОДЫ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ	36
2.1. <i>In situ</i> жидкостная ПЭМ и ПЭМ с атомным разрешением.....	36
2.2. Электронная криомикроскопия	36
2.3. Электронная томография	38
2.4. Наномеханические резонаторы	38
Литература	39
3. ТЕХНОЛОГИИ НЕПРЕРЫВНОГО РАЗДЕЛЕНИЯ.....	42
3.1. Фракционирование потока.....	42
3.2. Электрофорез	45
3.3. Гидродинамическая хроматография	48
3.4. Другие методы жидкостной хроматографии	49
3.5. Микрофлюидное разделение	50
Литература	50
4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ <i>IN SITU</i> ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ	59
Литература	62
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	65
СПИСОК ИСПОЛЪЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	66
СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	68

Сапрыкин Анатолий Ильич
Самойлов Павел Петрович

ПРОБЛЕМЫ АНАЛИТИКИ НАНОЧАСТИЦ В ОБЪЕКТАХ
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ДРУГИХ СЛОЖНЫХ СИСТЕМАХ

Компьютерная верстка выполнена Т. А. Калужной

Лицензия ИД № 04108 от 27.02.01

Формат 60×84/16.

Усл. печ. л. 4,1. Уч.-изд. л. 4,5

ГПНТБ СО РАН. Новосибирск, ул. Восход, 15, комн. 304б, ЛИСА.