

DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA POR spICP-MS**Fabio S. Bazilio^{a,*}, Cristiane B. Silva^a, Lísia M. G. dos Santos^a, Santos A. Vicentini Neto^a, Silvana do C. Jacob^a e Shirley de M. P. Abrantes^a**^aDepartamento de Química, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz), Rio de Janeiro – RJ, Brasil

Recebido em 10/11/2020; aceito em 12/02/2021; publicado na web em 12/03/2021

DETECTION AND QUANTIFICATION OF SILVER NANOPARTICLES BY spICP-MS. The growing interest in nanotechnology has led to an increase in the production and application of nanoparticles worldwide. Due to the unique functional properties of nanoparticles, these materials are being used by many industries, including the agricultural and food sectors. Among the commercially available nanomaterials, it is possible to highlight those produced with silver nanoparticles. One of the most promising techniques for the analysis of metallic nanoparticles is the Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) performed in single particle mode (spICP-MS). However, the use of the technique in the detection and measurement of nanoparticles requires that the equipment be operated differently than when used to analyze dissolved metal solutions. Thus, this article presents the use of the spICP-MS technique for the measurement and quantification of nanoparticles, as well as their validation. The method proved to be adequate for the purpose, presenting a satisfactory result for the selectivity test and recovery of 83.7% (40 nm) and 77.6% (80 nm). The detection limits, determined for the most frequent size, dissolved silver concentration and particle concentration, were 17.5 nm, 0.736 ng mL⁻¹, 146 particles mL⁻¹, respectively. Thus, the results obtained indicated the possibility of using the technique to determine the size and concentration of silver nanoparticles.

Keywords: spICP-MS; silver nanoparticles; validation.

INTRODUÇÃO**Nanotecnologia**

O conceito de nanotecnologia foi introduzido por Richard Feynman em 1959, em uma reunião da Sociedade Americana de Física. Desde então, tornou-se um campo multidisciplinar da ciência e da tecnologia aplicada. A nanotecnologia é a capacidade de trabalhar em uma escala de cerca de 1-100 nm, com o objetivo de compreender, criar, caracterizar e utilizar estruturas materiais, dispositivos e sistemas com novas propriedades derivadas de suas nanoestruturas.¹

Devido ao grande número de diferentes definições referentes aos processos, materiais, produtos e aplicações nanotecnológicas, existe a necessidade de harmonização sobre as definições que se relacionam com os setores agrícola e alimentício. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura/ Organização Mundial da Saúde (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization) - FAO/WHO, baseada em opiniões da Organização Internacional para Padronização (International Organization for Standardization) – ISO, Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (European Food Safety Authority) – EFSA e Comitê Científico dos Riscos para a Saúde Emergentes e Recentemente Identificados (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks) - SCENIHR, adotou a seguinte terminologia para nanopartículas: “entidades discretas que apresentam todas as três dimensões em nanoescala”.²

A Recomendação da Comissão n° 2011/696/EU de 18 de outubro de 2011, da União Europeia, estabelece que para fins de regulação, com o objetivo de determinar se o material pode ser classificado como nanomaterial, deve ser avaliada a distribuição de tamanho das partículas. De acordo com a recomendação, um nanomaterial deve

ser constituído por 50% ou mais de partículas compreendidas entre 1 nm e 100 nm.³

Nanomateriais

O crescente interesse em nanotecnologia levou ao aumento da produção e aplicação de nanopartículas em todo o mundo.⁴ Devido às propriedades funcionais exclusivas das nanopartículas, esses materiais estão sendo utilizados por muitas indústrias, incluindo os setores agrícola e alimentício. Assim, um número crescente de produtos de consumo contendo nanopartículas já pode ser encontrado no mercado. Esses incluem eletrônicos, produtos de limpeza, tintas e revestimentos, produtos esportivos e têxteis, cosméticos e produtos de cuidados pessoais e produtos alimentícios.⁵⁻⁷

Dentre os nanomateriais disponíveis comercialmente, é possível destacar os produzidos com nanopartículas de prata.^{8,9} O Projeto sobre Nanotecnologias Emergentes (Project on Emerging Nanotechnologies) - PEN mantém um inventário com produtos nanotecnológicos de consumo, introduzidos no mercado. No inventário são listados 1833 nanomateriais, dentre os quais, 443 (24%) contêm nanopartículas de prata.¹⁰

Nanopartículas de prata são adicionadas aos materiais em várias formas, por exemplo, como zeólitos de prata, incorporados ao material plástico. Os zeólitos são cristais de alumino-silicatos com elementos da primeira e da segunda família de metais da tabela periódica, nos quais uma porção dos íons do metal é substituída em geral por íons prata, que são liberados gradualmente no alimento.¹¹ A forma iônica da prata exibe atividade bactericida pela inibição de uma série de processos biológicos de bactérias, principalmente, gram-negativas.¹² A liberação sustentada de íons Ag⁺, pelas nanopartículas de prata, danifica a membrana celular microbiana, causando a interrupção da função de enzimas e grupos de ácidos nucleicos nas proteínas e no DNA bacteriano.^{13,14} Diversos nanocompósitos de nanopartículas de prata têm sido descritos na literatura.¹⁵

*e-mail: fabio.bazilio@incqs.fiocruz.br

Determinação da concentração e tamanho de nanopartículas

Uma das técnicas mais promissoras para a análise de nanopartículas metálicas é a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) executada no modo de detecção individual (single particle – sp) - spICP-MS.^{5,16–20} A técnica é capaz de determinar características como: composição inorgânica, concentração, dimensão e distribuição de tamanho.^{5,16} Assim, existe evidente crescimento no interesse pela técnica nos últimos anos, com um crescente número de laboratórios investindo recursos no seu desenvolvimento e aplicação.²¹

A utilização da técnica de ICP-MS na detecção e medição de nanopartículas requer que o equipamento seja operado de forma diferente do que quando utilizado para análise de soluções de metais dissolvidos.²² O princípio básico da técnica de spICP-MS consiste na detecção individual de nanopartículas, introduzidas em suspensões diluídas com alta frequência de medidas do detector, fazendo com que estatisticamente apenas uma nanopartícula por vez entre no plasma. As nanopartículas que chegam ao plasma formam uma massa de íons, proporcional ao seu tamanho, e ao chegar ao detector, geram um pulso com intensidade superior à medição contínua do metal dissolvido. O tamanho de cada nanopartícula pode então ser calculado por meio da intensidade do pulso correspondente.^{22–26}

Diante desse cenário, este artigo tem como objetivo apresentar a utilização da técnica de spICP-MS para a medição e quantificação de nanopartículas, assim como a sua validação.

PARTE EXPERIMENTAL

Padrões e reagentes

Para o preparo das soluções de prata dissolvida, foi utilizado um padrão multi-elementar contendo 10.000 µg L⁻¹ de prata (Perkin Elmer, Massachusetts, EUA). As soluções de nanopartículas foram preparadas a partir de padrões de nanopartículas esféricas de prata de 30, 40 e 80 nm (Sigma Aldrich, Missouri, EUA), contendo 1,6 × 10¹¹, 7,2 × 10¹⁰ e 7,4 × 10⁹ partículas mL⁻¹, respectivamente. No ensaio de seletividade, foi utilizada como matriz para o preparo das soluções de nanopartículas de prata, água mineral alcalino-terrosa fluoretada (Pureza Vital, Nestlé, Vevey, Suíça).

Equipamentos

A medição e quantificação das nanopartículas de prata em suspensão foi realizada em um espectrômetro de ICP-MS, equipado com um nebulizador concêntrico de vidro, câmara de nebulização ciclônica de vidro e cone do tipo hiper-skimmer (NexION 300D, Perkin Elmer, Massachusetts, EUA). O ICP-MS foi operado no modo de detecção de partícula individual - SP, com potência RF de 1600 W e vazões de gás no nebulizador, plasma, e auxiliar de: 1,1 L min⁻¹, 13 L min⁻¹ e 0,7 L min⁻¹, respectivamente. O tempo de análise por replicata foi de 100 s, o “*dwell time*” de 50 µs e a vazão de amostra de 0,20 mL min⁻¹. Para obtenção da água desionizada, utilizada nos ensaios, foi utilizado o sistema de purificação de água modelo Simplicity (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Preparo da curva analítica

Soluções de trabalho foram preparadas medindo-se alíquotas apropriadas de uma solução intermediária de 100 µg L⁻¹ de prata dissolvida. As soluções de trabalho foram preparadas em água desionizada, em sete níveis de concentração entre 1,5 e 20 µg L⁻¹. Em seguida, as soluções de trabalho foram analisadas no ICP-MS e,

com os dados obtidos para os padrões analisados, foi construída uma curva analítica de prata dissolvida, que é convertida, pelo software do equipamento, na relação entre a intensidade de sinal (*counts*) e fluxo de massas (µg mL⁻¹).

Determinação da vazão de amostra (V)

A vazão de amostra (V) foi definida como o volume de amostra (va) aspirado por unidade de tempo (minutos), calculado pela diferença entre o volume inicial da amostra (va_i) e o volume restante (va_f) após o tempo de 60 segundos de aspiração, com a rotação da bomba em -20 RPM. Foram realizadas três medições e a vazão de amostra foi determinada pela média dos resultados.

Determinação da eficiência de transporte

Foi preparada uma solução de nanopartículas de prata com 30 nm (S₃₀) contendo 99.200 partículas mL⁻¹. Um branco, contendo somente água desionizada, isenta de nanopartículas de prata, foi analisada no ICP-MS e a Eficiência de Transporte - TE foi definida através da análise da solução S₃₀. Segundo Pace e colaboradores a TE é a razão entre a quantidade de analito que entra no plasma e a quantidade de analito aspirado.²⁷

Determinação dos limites de detecção

Limites de detecção de tamanho e concentração de prata dissolvida

Para a determinação dos limites de detecção de tamanho e de concentração de prata dissolvida – LOD_T e LOD_d, respectivamente, foram realizadas quinze medidas de um branco (água desionizada, isenta de nanopartículas de prata). Com os resultados obtidos, foram calculados a média e o desvio padrão do tamanho mais frequente encontrado para as medidas realizadas. O LOD_T foi calculado conforme descrito pela equação 1, para um nível de confiança de 95% (α = 0,05).²⁸

$$LOD_T = \bar{T} + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s_T, \quad (1)$$

em que: \bar{T} = média dos tamanhos mais frequentes determinados para os brancos, t = abscissa da distribuição de Student, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança, s_T = desvio padrão dos tamanhos mais frequentes determinados para os brancos.

Foram calculados também a média e o desvio padrão da concentração de prata dissolvida encontrada para as medidas realizadas. O LOD_d foi calculado conforme descrito pela equação 2, para um nível de confiança de 95% (α = 0,05).

$$LOD_d = \bar{D} + t_{(n-1, 1-\alpha)} \cdot s_C, \quad (2)$$

em que: \bar{D} = média das concentrações de prata dissolvida, em ng mL⁻¹, determinadas para os brancos, t = abscissa da distribuição de Student unicaudal, dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança, s_C = desvio padrão das concentrações de prata dissolvida, em ng mL⁻¹, determinadas para os brancos.

Limite de detecção de concentração de partículas

Segundo Laborda e colaboradores, o limite de detecção de concentração de partículas - LOD_p é associado à capacidade do método de contar 3 partículas.²⁹ Assim o LOD_p, em partículas mL⁻¹, foi determinado pela equação 3.

$$LOD_p = \frac{3}{V \times t_a} \cdot \frac{100}{TE} \quad (3)$$

em que: TE = eficiência de transporte em%, V = vazão de amostra em mL ms⁻¹, t_a = tempo de análise em ms,

Seletividade

Para a avaliação da seletividade do método, foram preparadas soluções de nanopartículas de prata, com tamanhos de 40 (S_{s40}) e 80 nm (S_{s80}), contendo 100.800 e 100.147 partículas mL⁻¹, respectivamente, confeccionadas a partir de soluções intermediárias. Adicionalmente, foi preparada uma solução mista (S_{s40+80}) contendo nanopartículas de 40 e 80 nm, com concentrações de 52.800 e 50.320 partículas mL⁻¹, respectivamente.

Para o preparo das soluções intermediárias foram medidas alíquotas de 15 µL de padrões de nanopartículas de prata de 40 (Silver Nanospheres – 40 nm, Sigma Aldrich) e 80 nm (Silver Nanospheres – 80 nm, Sigma Aldrich), com concentrações iguais a 0,02 mg mL⁻¹, equivalentes a $7,2 \times 10^{10}$ e $7,4 \times 10^9$ partículas mL⁻¹, respectivamente. Os volumes finais das soluções foram ajustados com matriz água mineral. Segundo Laborda e colaboradores,³⁰ água mineral pode ser utilizada como matriz para a avaliação da seletividade.

Em seguida as soluções de nanopartículas S_{s40} e S_{s80} foram preparadas medindo-se alíquotas de 21 e 203 µL das soluções intermediárias de 40 e 80 nm, respectivamente. Para o preparo da solução mista e S_{s40+80} foram medidas alíquotas de 11 e 102 µL das soluções intermediárias de 40 e 80 nm, respectivamente. Os volumes das alíquotas foram medidos com o auxílio de micropipetas calibradas de 100 e 1000 µL e os volumes finais das soluções foram ajustados a 15 mL com matriz água mineral. Foram determinadas as concentrações finais das soluções, em número de partículas mL⁻¹, através da concentração da solução intermediária e dos volumes das alíquotas e volumes finais.

As soluções S_{s40}, S_{s80} e S_{s40+80} foram analisadas por ICP-MS no modo sp e a quantidade de partículas determinada para cada padrão foi comparada. Os histogramas obtidos foram avaliados visualmente.³⁰

Determinação da concentração e distribuição de tamanho de nanopartículas

Foi analisada, por spICP-MS, uma solução de nanopartículas de prata, em água desionizada, com tamanho e concentração de partículas desconhecida. Em seguida, de acordo com os tamanhos de partículas apresentados para a amostra, foram definidas faixas (Tabela 1) de tamanho de nanopartículas. Por meio dos resultados apresentados, para a contagem e tamanho das partículas medidas para a amostra, foi determinado o número total de partículas mL⁻¹ para cada faixa definida e foi calculada a distribuição percentual de cada faixa em relação à concentração total.

Tabela 1. Faixas de tamanho selecionadas

Faixa de tamanho (nm)
0-20
20-40
40-60
60-80
80-100
100-120
>120

Recuperação

Para avaliação da recuperação do método, foram preparadas soluções de nanopartículas de prata, de 40 (S_{r40}) e 80 nm (S_{r80})

conforme descrito para as soluções S_{s40} e S_{s80}, no ensaio de seletividade. Contudo, todas as soluções foram preparadas em água desionizada.

As soluções S_{r40} e S_{r80} foram analisadas cinco vezes por spICP-MS e a quantidade de partículas média determinada para cada padrão foi comparada com a esperada. A equação 4 apresenta a recuperação calculada $R\%$.

$$R\% = \frac{\overline{Cd}}{Cs} \cdot 100, \quad (4)$$

em que: \overline{Cd} = média das concentrações, em número de partículas por mL, determinadas para a solução, Cs = concentração, em número de partículas por mL, calculada para a solução preparada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Curva analítica

Como parte dos resultados da análise por spICP-MS, a curva analítica é apresentada na forma da relação entre a concentração de prata dissolvida e a intensidade do sinal medido (*counts*) e na forma da relação entre fluxo de massas (µg/evento). Contudo, para um maior conhecimento da técnica de spICP-MS é importante o entendimento dos cálculos matemáticos empregados. Inicialmente, através da curva analítica de prata dissolvida, é feita a correlação entre a concentração de prata e a intensidade de sinal medida no equipamento. Em seguida, a concentração de prata dissolvida é correlacionada à quantidade de massa de prata referente a cada leitura (*dwell time*).²⁷ A equação 5 apresenta a relação entre a concentração da prata em µg mL⁻¹ e a massa de prata em cada evento (µg/evento). A relação é ainda ajustada pela eficiência de transporte TE medida (6,17238%). As Figuras 1 e 2 apresentam as curvas analíticas construídas.

$$M = \frac{TE}{100} \cdot V \cdot t_{dt} \cdot C, \quad (5)$$

em que: M = massa de prata em cada evento (µg/evento), TE = eficiência de transporte em%, V = vazão de amostra em mL ms⁻¹, C = concentração da prata dissolvida em µg mL⁻¹, t_{dt} = tempo de leitura “*dwell time*” em ms.

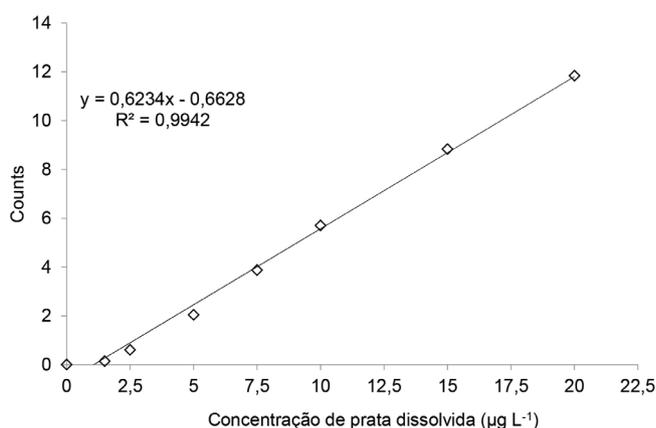


Figura 1. Curva analítica de prata dissolvida

Limites de detecção de tamanho, concentração de prata dissolvida e concentração de partículas

Os limites de detecção de tamanho e de concentração foram obtidos por meio dos desvios padrão calculados para os quinze

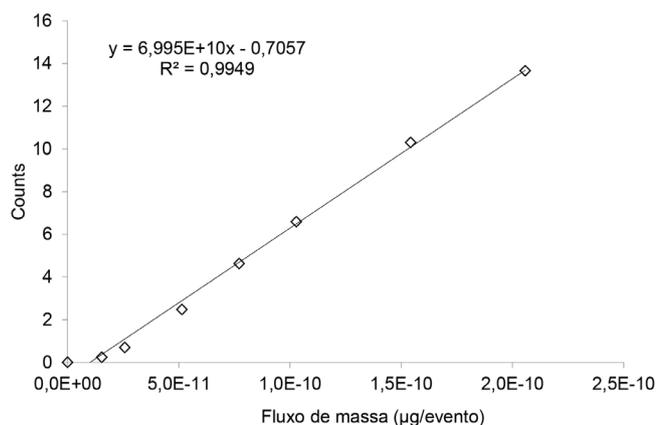


Figura 2. Curva analítica de fluxo de massas

brancos analisados. A Tabela 2 apresenta as médias e os desvios padrão calculados e a Tabela 3 apresenta os limites obtidos.

Tabela 2. Médias e desvios padrão calculados

Replicata	Tamanho mais frequente (nm)	Concentração de prata dissolvida (ng mL ⁻¹)
1	17,5	0,750
2	17,4	0,723
3	17,5	0,718
4	17,6	0,723
5	17,4	0,723
6	17,4	0,721
7	17,5	0,727
8	17,5	0,719
9	17,4	0,720
10	17,4	0,718
11	17,4	0,718
12	17,4	0,718
13	17,4	0,717
14	17,4	0,716
15	17,3	0,717
Média	17,4	0,722
Desvio Padrão	0,1	0,008

Tabela 3. Limites de detecção calculados

	LOD _r (nm)	LOD _d (ng mL ⁻¹)	LOD _p (partículas mL ⁻¹)
Limite de Detecção	17,5	0,736	146

O limite de detecção de tamanho representa o menor tamanho de partícula capaz de gerar um sinal superior ao ruído. Assim, nas condições dos ensaios realizados, o método não é capaz de detectar partículas menores que 17,5 nm.

O LOD_p foi determinado com uma vazão de amostra de 0,2 mL min⁻¹ e TE igual a 6,17238%. O tamanho das partículas presentes na solução analisada e a concentração de partículas são apresentados nos resultados do ensaio por spICP-MS. A concentração em número de partículas mL⁻¹ é calculada a partir do número de partículas (eventos) determinado para cada faixa de tamanho, levando em consideração o volume total de solução aspirado durante o tempo de análise (Equação 6).

$$N = \frac{n}{F \cdot t_a} \cdot \frac{100}{TE}, \quad (6)$$

em que: N = Concentração em número de partículas mL⁻¹, n = Número de partículas (eventos), TE = eficiência de transporte em %, F = vazão de amostra em mL ms⁻¹, t_a = tempo de análise em ms.

Para a determinação do tamanho das partículas presentes na solução analisada, é possível correlacionar, por meio da curva de fluxo de massas (Figura 2), a intensidade do sinal medido para uma partícula com a sua massa e assim calcular o seu tamanho. De uma forma geral, assumindo que a partícula possui forma esférica, o seu tamanho pode ser calculado pela equação 7.^{27,31}

$$d = \sqrt[3]{\frac{6m_p}{\pi\rho}} \cdot 10^7, \quad (7)$$

em que: d = diâmetro da partícula em nm, ρ = densidade da partícula em µg cm⁻³, $m_p = \frac{(I_p - I_{branco}) - b}{a}$, massa da partícula obtida por interpolação na curva de fluxo de massas, em µg, I_p é a intensidade do sinal medido para a partícula, I_{branco} é a intensidade média do sinal do branco, b é o intercepto da curva e a é a inclinação da curva.

Uma vez que os dados utilizados para o cálculo do tamanho da partícula são ajustados pelo TE, deve-se dar atenção especial para a sua medição. Assim como a curva analítica de prata dissolvida deve ser preparada apropriadamente e com máxima precisão. Medições imprecisas nessas determinações podem causar erros sistemáticos na determinação do tamanho da partícula.

Seletividade

Nos histogramas de distribuição de tamanho das partículas, apresentados para as soluções Ss₄₀ e Ss₈₀, a distribuição observada indica a predominância de partículas de um tamanho em cada solução, com médias de 37,4 e 73,3 nm, respectivamente. Os tamanhos de partículas determinados experimentalmente são condizentes com os declarados pelo fabricante, sendo iguais a 93,5 e 91,6% dos declarados para os padrões de 40 e 80 nm, respectivamente. Os resultados apresentados indicam a capacidade do método em determinar o tamanho das partículas mesmo na presença da matriz. As Figuras 3 e 4 apresentam os histogramas da distribuição de tamanho das soluções.

Para a solução Ss₄₀₊₈₀, preparada com nanopartículas de 40 e 80 nm, foram observadas duas distribuições normais, indicando a presença de dois tamanhos médios de partículas. A Figura 5 apresenta o histograma de distribuição de partículas para a solução. Os resultados apresentados demonstram a capacidade do método em diferenciar “populações” de partículas com diferentes tamanhos, indicando seletividade adequada com relação ao tamanho.

Determinação da concentração e distribuição de tamanho de Nanopartículas

A solução contendo nanopartículas apresentou um tamanho mais frequente de partículas de prata de 66 nm, e concentração de 8,0 x 10⁴ partículas mL⁻¹. A Tabela 4 apresenta a distribuição de número de partículas mL⁻¹ por faixa de tamanho.

Recuperação

Foram determinadas as concentrações médias de partículas nas replicatas das soluções. A solução Ss₄₀ apresentou uma concentração experimental de 83.870 partículas mL⁻¹, correspondendo a uma recuperação de 83,7%. Enquanto a solução Ss₈₀ apresentou uma

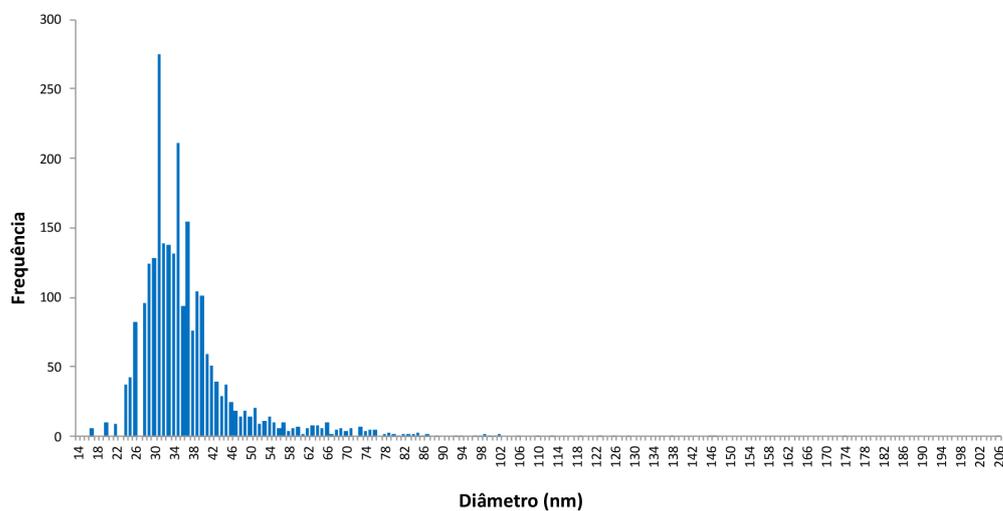


Figura 3. Histograma da distribuição de tamanho de partícula da solução Ss_{40}

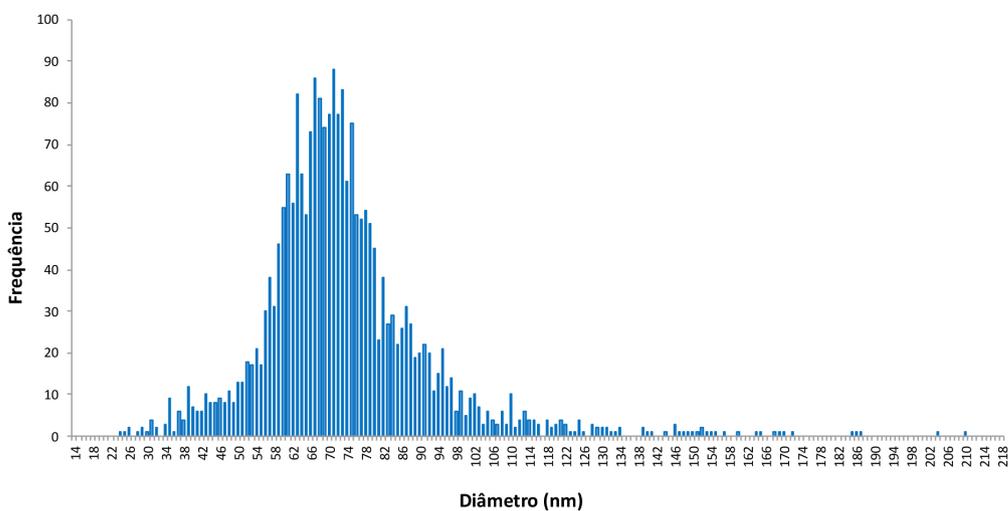


Figura 4. Histograma da distribuição de tamanho de partícula da solução Ss_{80}

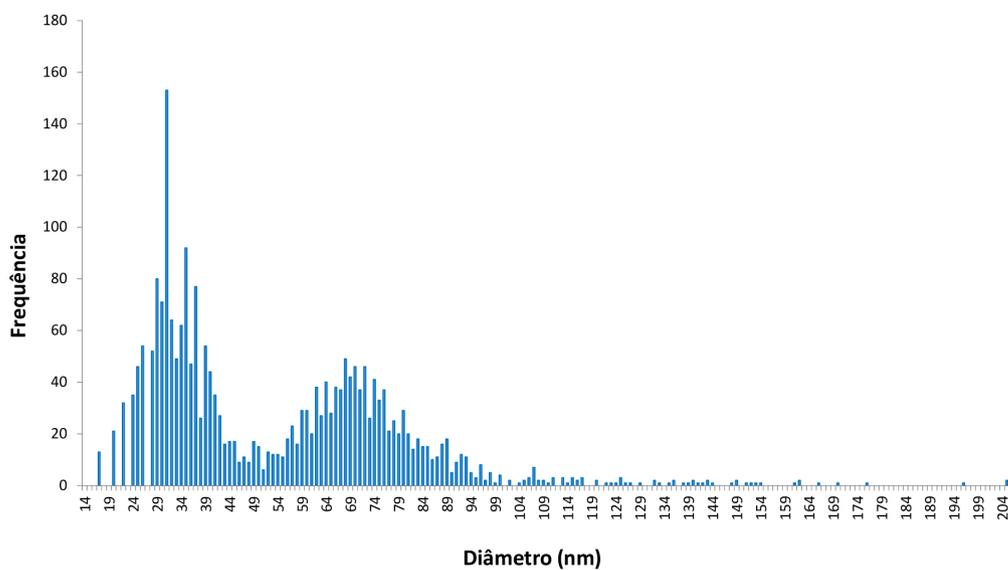


Figura 5. Histograma da distribuição de tamanho de partícula da solução Ss_{40+80}

concentração experimental de $78.147 \text{ partículas mL}^{-1}$, correspondendo a uma recuperação de $77,6\%$. Os resultados são compatíveis com os apresentados por Naasz e colaboradores,³¹ sendo obtida recuperação

de 83% para uma solução de prata com 60 nm . Segundo esses autores, são reportadas na literatura recuperações entre 14 e 73% , quando analisadas matrizes complexas.

Tabela 4. Distribuição de número de partículas mL⁻¹ por faixa de tamanho

Faixa de tamanho (nm)	Número de Partículas em 100 s	Número de partículas mL ⁻¹	Distribuição das partículas (%)
0-20	12	5,8 x 10 ²	0,73
20-40	72	3,5 x 10 ³	4,38
40-60	338	1,6 x 10 ⁴	20,55
60-80	961	4,7 x 10 ⁴	58,42
80-100	200	9,7 x 10 ³	12,16
100-120	33	1,6 x 10 ³	2,01
>120	29	1,4 x 10 ³	1,76
Total	1645	8,0 x 10 ⁴	100

CONCLUSÕES

A técnica de spICP-MS apresentou resultados seletivos e recuperação adequada, compatível com o apresentado na literatura. Os resultados obtidos demonstram a sua capacidade de estimar o tamanho de nanopartículas de prata e ainda determinar a sua concentração tanto em número de partículas por mililitro de solução, quanto em percentuais de nanopartículas de determinados tamanhos em relação ao total de partículas. Assim, os resultados obtidos indicam a possibilidade de utilização da técnica para determinação do tamanho e concentração de nanopartículas de prata.

A água mineral é uma matriz utilizada na literatura para verificação da seletividade do método, e foi utilizada neste estudo. Contudo, é necessário verificar as condições de aplicação da técnica na rotina do laboratório. Assim, para determinações de nanopartículas de prata em matrizes mais complexas, pode ser necessária a verificação da seletividade do método nessas matrizes.

A obtenção dos resultados exige diversos cálculos, muitos dos quais realizados pelo software do equipamento. Porém a compreensão dos cálculos envolvidos se faz importante para um maior entendimento da técnica.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Programa Fiocruz de Fomento à Inovação (INOVA/Fiocruz) pelo suporte financeiro. O estudo foi financiado, em parte, pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- de Azeredo, H. M. C.; *Food Res. Int.* **2009**, *42*, 1240.
- Joint FAO/WHO activities on Nanotechnologies, *FAO/WHO expert meeting on the application of nanotechnologies in the food and agriculture sectors: potential food safety implications: meeting report*, FAO/WHO: Roma, 2010.
- Comissão Europeia; *Recomendação da Comissão de 18 de Outubro de 2011 sobre a definição de nanomaterial (2011/696/EU)*, 2011.
- Kulthong, K.; Srisung, S.; Boonpavanitchakul, K.; Kangwansupamonkon, W.; Maniratanachote, R.; *Part. Fibre Toxicol.* **2010**, *7*, 8.
- Peters, R. J. B.; Rivera, Z. H.; Van Bommel, G.; Marvin, H. J. P.; Weigel, S.; Bouwmeester, H.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, *406*, 3875.
- Addo Ntim, S.; Norris, S.; Scott, K.; Thomas, T. A.; Noonan, G. O.; *Food Control.* **2018**, *87*, 31.
- Capelezzo, A. P.; Mohr, L. C.; Dalcanton, F.; Barreta, C. R. D. M.; Martins, M. A. P. M.; Fiori, M. A.; De Mello, J. M. M.; *Quim. Nova* **2018**, *41*, 367.
- Vance, M. E.; Kuiken, T.; Vejerano, E. P.; McGinnis, S. P.; Hochella, M. F.; Rejeski, D.; Hull, M. S. *Beilstein J. Nanotechnol.* **2015**, *6*, 1769.
- Peters, R.; Brandhoff, P.; Weigel, S.; Marvin, H.; Bouwmeester, H.; Aschberger, K.; Rauscher, H.; Amenta, V.; Arena, M.; Botelho Moniz, F.; Gottardo, S.; Mech, A.; *EFSA Support. Publ.* **2017**, *11*.
- <http://www.nanotechproject.tech/cpi/>, acessada em fevereiro 2021.
- Oliveira, L. M.; Oliveira, P. A. P. L. V. *Braz. J. Food Technol.* **2004**, *7*, 161.
- Sondi, I.; Salopek-Sondi, B.; *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *275*, 177.
- Liu, G.; Haiqi, G.; Li, K.; Xiang, J.; Lan, T.; Zhang, Z.; *J. Colloid Interface Sci.* **2018**, *514*, 338.
- Masood, N.; Ahmed, R.; Tariq, M.; Ahmed, Z.; Masoud, M. S.; Ali, I.; Asghar, R.; Andleeb, A.; Hasan, A.; *Int. J. Pharm.* **2019**, *559*, 23.
- Duncan, T. V.; *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, *363*, 1.
- Stephan, C.; Hineman, A.; *Iron Nanoparticles by SP-ICP-MS: Overcoming Spectral Interferences Using Universal Cell Technology*, Waltham, 2014.
- Hayder, M.; Wojcieszek, J.; Asztemborska, M.; Zhou, Y.; Ruzik, L.; *J. Sci. Food Agric.* (2020), DOI:10.1002/jsfa.10558.
- Donovan, A.; Shi, H.; Stephan, C.; *Spectroscopy* **2018**, *33*, 46.
- Streng, I.; Engelhard, C.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2020**, *35*, 84.
- Laborda, F.; Bolea, E.; Cepriá, G.; Gómez, M. T.; Jiménez, M. S.; Pérez-Arategui, J.; Castillo, J. R.; *Anal. Chim. Acta* **2016**, *904*, 10.
- Bustos, A. R. M.; Winchester, M. R.; *Anal. Bioanal. Chem.* **2016**, *408*, 5051.
- Stephan, C.; Neubauer, K.; *Perkin Elmer* **2014**, *1*.
- Mozhayeva, D.; Engelhard, C.; *J. Anal. At. Spectrom.* (2020), DOI:10.1039/C9JA00206E.
- Meermann, B.; Nischwitz, V.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2018**, *33*, 1432.
- Bolea-Fernandez, E.; Leite, D.; Rua-Ibarz, A.; Liu, T.; Woods, G.; Aramendia, M.; Resano, M.; Vanhaecke, F.; *Anal. Chim. Acta.* **2019**, *1077*, 95.
- Laborda, F.; Bolea, E.; Jiménez-Lamana, J.; *Trends Environ. Anal. Chem.* **2016**, *9*, 15.
- Pace, H. E.; Rogers, N. J.; Jarolimek, C.; Coleman, V. A.; Higgins, C. P.; Ranville, J. F.; *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 9361.
- INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia Normalização e Qualidade Industrial), *Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos DOQ-CGCRE-008 Revisão 09*, 2020.
- Laborda, Francisco; Jiménez-Lamana, Javier; Bolea, Eduardo; R. Castillo, J.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28*, 1220.
- Laborda, F.; Jiménez-Lamana, J.; Bolea, E.; Castillo, J. R.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2011**, *26*, 1362.
- Naasz, S.; Weigel, S.; Borovinskaya, O.; Serva, A.; Cascio, C.; Undas, A. K.; Simeone, F. C.; Marvin, H. J. P.; Peters, R. J. B.; *J. Anal. At. Spectrom.* **2018**, *33*, 835.