

# Analyse von $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln in Lebensmitteln und Körperpflegeprodukten mittels Einzelpartikel-ICP-QQQ

Verwendung des 8900 ICP-QQQ im  
MS/MS-Massenverschiebungs-Modus  
zur Beseitigung von isobaren  $^{48}\text{Ca}^+$ -Interferenzen  
bei der Messung von  $^{48}\text{Ti}^+$



## Autoren

Janja Vidmar<sup>1</sup>  
Katrin Loeschner<sup>1</sup>  
Raquel Larios<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Food Institute,  
Technical University of Denmark  
(DTU Food), Dänemark

<sup>2</sup>Agilent Technologies, Spanien

## Einführung

Titandioxid ( $\text{TiO}_2$ ) ist in der Europäischen Union (E171) und in den USA (INS171), wo es als Aufhellungs- und Bleichmittel in großem Umfang zum Einsatz kommt, als ein Lebensmittelzusatzstoff klassifiziert. In der EU kann E171 ohne oberen Grenzwert (*quantum satis*) in verschiedenen Lebensmittelkategorien verwendet werden (1). E171 besteht zwar hauptsächlich aus größeren  $\text{TiO}_2$ -Partikeln, es enthält jedoch auch eine Fraktion von Nanopartikeln (NP), bei denen es sich definitionsgemäß um Partikel mit einer oder mehreren Abmessungen unter 100 nm handelt (2).  $\text{TiO}_2$  kommt jedoch auch in Lebensmittelkontaktmaterialien, Kosmetika und Körperpflegeprodukten wie z. B. Zahnpasta zum Einsatz.

Mit der zunehmenden Produktion und Anwendung von Zusatzstoffen auf  $\text{TiO}_2$ -Basis wächst bei Aufsichtsbehörden und Verbrauchern die Besorgnis über die möglichen Auswirkungen bei Menschen, die mit einer Exposition gegenüber  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln verbunden sind. Es wurden zwar verschiedene toxikologische Studien zu  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln durchgeführt (3–5), bezüglich der Effekte von  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln auf biologische Systeme konnte jedoch kein Konsens erzielt werden. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat mehrere wissenschaftliche Gutachten hierzu herausgegeben (6, 7). Die EFSA kam zu dem Schluss, dass die Verwendung von  $\text{TiO}_2$  keinen Anlass zu genotoxischen Bedenken gibt und legte einen NOAEL-Wert (No Observed Adverse Effect Levels) von 2,250 mg/ $\text{TiO}_2$  kg/Körpergewicht pro Tag fest. Die französische Behörde für Lebensmittelsicherheit ANSES kam bei der Prüfung der jüngsten Studien zu

TiO<sub>2</sub> jedoch zu dem Ergebnis, dass keine schlüssigen Ergebnisse zur Sicherheit des Zusatzstoffs E171 vorlägen. Die französische Regierung kündigte im Anschluss an diese Bewertung an, dass der Verkauf von Lebensmitteln, die TiO<sub>2</sub> (E171) enthalten, ab dem 1. Januar 2020 verboten werden soll (8). Die EFSA hat kürzlich ein wissenschaftliches Gutachten herausgegeben, in dem die Notwendigkeit für weitere wissenschaftliche Untersuchungen zur Partikelgrößenverteilung von E171 in Lebensmitteln hervorgehoben wird (9).

Europäische Vorschriften sehen vor, dass alle Inhaltsstoffe, die in Form von technisch hergestellten Nanomaterialien vorliegen, in der Liste der Inhaltsstoffe deutlich angegeben werden müssen. Den Namen solcher Inhaltsstoffe muss das Wort „Nano“ in Klammern nachgestellt werden (10). Die europäische Kommission veröffentlichte im Jahr 2011 eine Empfehlung für die Definition von Nanomaterialien, in der nahegelegt wurde, dass die Größenverteilung und die Partikelanzahlkonzentration von Nanomaterialien für regulatorische Zwecke bekannt sein sollten (11). Um mit den sich entwickelnden Vorschriften Schritt halten zu können, sind für die Charakterisierung von TiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln in einer Reihe von Probenotypen effektive analytische Methoden erforderlich.

ICP-MS ist ein leistungsstarkes Werkzeug zur Charakterisierung von Nanopartikeln und liefert Informationen zur Zusammensetzung als Ergänzung etablierter Verfahren wie Transmissions- und Rasterelektronenmikroskopie (TEM/SEM) sowie der dynamischen Lichtstreuung (DLS). Bei Anwendung im Einzelpartikel-Modus, der durch die Vorsilbe „sp“ für „single particle“ gekennzeichnet wird, ermöglicht spICP-MS die gleichzeitige Bestimmung der Partikelanzahl und der Partikelgrößenverteilung (unter der Annahme kugelförmiger Partikel). Darüber hinaus liefert spICP-MS Konzentrationsangaben sowohl für die Partikel als auch für den gelösten Inhalt selber Elemente bzw. der zu analysierenden Elemente. Die Benutzerfreundlichkeit moderner ICP-MS-Geräte macht dieses Verfahren zur idealen Wahl für regulatorische Zwecke, während seine Flexibilität gewährleistet, dass dasselbe Gerät sowohl für Multielementanalysen als auch für Speziesbestimmungen verwendet werden kann.

Die Messung von Titan mit herkömmlichen Single-Quadrupol-ICP-QMS-Geräten stellt durchaus eine Herausforderung dar. Die von <sup>48</sup>Ca ausgehende isobare Interferenz mit dem häufigsten Isotop <sup>48</sup>Ti können anhand der Massen mit ICP-QMS nicht aufgelöst werden. Das hochauflösende (HR) ICP-MS kann die beiden Elemente <sup>48</sup>Ca und <sup>48</sup>Ti in der höchsten Auflösungseinstellung theoretisch auflösen, da die dafür benötigte Auflösung (M/ΔM) 10.458 beträgt. Allerdings liegt <sup>48</sup>Ca in vielen Lebensmittelproben wie z. B. Milch in hohen Konzentrationen vor, was die Trennung benachbarter Peaks weiter erschwert. Die Kombination aus niedriger Empfindlichkeit bei hoher Auflösung und Peak tailing infolge der unzureichenden Abundanz der HR-ICP-MS bedeutet zudem, dass diese Messung sich in der Praxis häufig nicht realisieren lässt. Andere Elemente wie z. B. Schwefel, Phosphor, Silizium und Kohlenstoff, die in vielen Lebensmitteln ebenfalls in erheblichen Konzentrationen vorliegen, bilden polyatomare Interferenzen, die eine genaue Messung von <sup>48</sup>Ti stören. Die am wenigsten gestörten Isotope <sup>47</sup>Ti oder <sup>49</sup>Ti werden normalerweise

mittels ICP-QMS gemessen. Diese weniger häufig vorkommenden Isotope gehen jedoch mit einer niedrigeren Empfindlichkeit einher, die für den Nachweis kleinerer TiO<sub>2</sub>-Nanopartikel mittels ICP-QMS eine Einschränkung darstellt, sodass für die Größenverteilung Ergebnisse mit einem systematischen Fehler erhalten werden.

Das Agilent 8900 Triple Quadrupole ICP-MS (ICP-QQQ) kann im MS/MS-Modus mit reaktiven Zellgasen betrieben werden, um die spektralen Störungen von <sup>48</sup>Ti, einschließlich der von <sup>48</sup>Ca ausgehenden isobaren Interferenz, zu beseitigen. Der vor der Kollisions-/Reaktionszelle (CRC) positionierte erste Quadrupol Q1 dient als Einheitsmassenfilter, der nur Zielionen mit dem gewünschten m/z in die Zelle eintreten lässt und alle Ionen mit einer anderen Masse abtrennt. Die Auswahl des Analytens durch Q1 ermöglicht eine ausgezeichnete Steuerung der Reaktionschemie in der Zelle. Zudem sind der niedrige Hintergrund, die hohe Empfindlichkeit und die extrem kurzen Verweilzeiten (100 μs) des 8900 ICP-QQQ essentiell, um kleinste Partikel nachweisen zu können.

In der vorliegenden Studie wurden in verschiedenen Lebensmittelproben und Zahnpasten enthaltene TiO<sub>2</sub>-Nanopartikel mittels spICP-MS auf einem Agilent 8900 ICP-QQQ charakterisiert. Die Ergebnisse veranschaulichen die Vorteile, welche die Triple-Quadrupol-Technologie (im MS/MS-Modus) mit O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>-Zellgasen bei der Beseitigung von polyatomaren- und isobaren Interferenzen auf <sup>48</sup>Ti bietet.

## Experimentelles

### Standards und Referenzmaterialien (RM)

Es wurden das NIST 8012 Gold-Nanopartikel-Referenzmaterial (Gaithersburg, MD, USA) und ionische Goldstandards (PlasmaCAL Standard, SCP Science, Baie D'Urfé, QC, Kanada) verwendet. Das Gold-Nanopartikel-Referenzmaterial mit einem mittels TEM bestimmten mittleren Partikeldurchmesser von 27,6 nm und der ionische Goldstandard wurden analysiert, um die Zerstäubungseffizienz zu bestimmen.

Zur Bestimmung des Response-Faktors für Titan wurde der ionische Titanstandard (PlasmaCAL Standard, SCP Science) verwendet. Es wurden Lösungen mit 5 bis 200 ng Ti/ml in 100fach verdünnter Milch (für Milchproben) oder 0,1 % Salpetersäure (für TiO<sub>2</sub>-Nanopartikel in Wasser- und Lebensmittelproben) analysiert.

Anatas und Rutil sind zwei natürlich vorkommende mineralische Formen von TiO<sub>2</sub>. Die Milchproben wurden mit den beiden TiO<sub>2</sub>-Nanomaterialien unterschiedlicher Größenverteilungen versetzt und die Leistung der Methode bestimmt. Zu den Nanomaterialien gehörte das repräsentative TiO<sub>2</sub>-Prüfmaterial JRCNM 10200a (im Weiteren als „JRC-Nanopartikel“ bezeichnet) vom Nanomaterial Repository des Joint Research Centre. Die aus Anatas bestehenden JRC-Nanopartikel enthalten Primärpartikel mit einer Größe von 115 nm. Ebenfalls verwendet wurde das NIST 1898 TiO<sub>2</sub>-Nanopartikel-Standardreferenzmaterial (SRM) (im Weiteren als „NIST-Nanopartikel“ bezeichnet). Das NIST-Nanopartikel-SRM hat eine primäre Größe von < 50 nm und besteht zu 76 % aus Anatas und zu 24 % aus Rutil.

## Proben und Probenvorbereitung

Die Konzentrationen von Ca, S und P in Kuhmilch liegen im Bereich von jeweils 1070–1330 µg/ml, 320 µg/ml und 630–1020 µg/ml (12). Es wurde eine Matrix hergestellt, die eine (100fach) verdünnte Milchmatrix simulierte, indem ionische Ca-, S- und P-Standards (PlasmaCAL-Standards, SCP Science) in Wasser verdünnt wurden. Die abschließenden Konzentrationen betragen 10 µg/ml für Ca, 3 µg/ml für S und 10 µg/ml für P (einzeln und als Gemisch). Darüber hinaus wurden die 100fach verdünnte Milchmatrix und 0,1 % Salpetersäure (HNO<sub>3</sub>) mit 10 ng/ml ionischem Ti versetzt.

Es wurden verschiedene Lebensmittelproben in Geschäften Dänemarks beschafft. Zu den Lebensmitteln gehörten Magermilch mit einem Fettgehalt von 0,1 %, Salatdressing und Kuchendekorationen (essbare goldene Sterne). Ebenfalls analysiert wurde eine handelsübliche Zahnpasta aus einem holländischen Supermarkt, die im Rahmen des EU-FP7-Projektes „NanoDefine“ (13) ausführlich untersucht wurde. Die verschiedenen Probentypen wurden wie folgt vorbereitet:

- Mit TiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln versetzte Milch: Es wurde eine Stammsuspension von 1 mg TiO<sub>2</sub>/ml angesetzt. Nach entsprechender Verdünnung wurde unverdünnte Magermilch mit TiO<sub>2</sub> auf 200 und 400 ng TiO<sub>2</sub>/ml für JRC-Nanopartikel und 15 und 30 ng TiO<sub>2</sub>/ml für NIST-Nanopartikel versetzt.
- Zahnpasta: Hierfür wurde das Protokoll zur Probenvorbereitung von Correia *et al.* (14) übernommen. Es wurden 100 mg Zahnpasta durch Vortexen in 10 ml Reinstwasser dispergiert. Die Lösung wurde mit 0,1 % Natriumdodecylsulfat (SDS, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) bis auf das 10fache weiter verdünnt mit anschließendem Vortexen
- Salatdressing: Es wurden 100 mg Salatdressing in einem Hochleistungs-Zelldisruptor (Branson Digital Sonifier SFX 550) in 5 ml 0,1 % SDS dispergiert. Die Lösung wurde weiter mit 0,1 % SDS auf das 10fache verdünnt mit anschließendem Vortexen.
- Kuchendekorationen: Ein goldener Stern wurde in 5 ml Reinstwasser gegeben und mithilfe eines Hochleistungs-Zelldisruptors aufgelöst. Die Lösung wurde durch Vortexen mit Reinstwasser auf das 10fache weiter verdünnt.
- Alle Proben wurden vor der Analyse mit Reinstwasser verdünnt (Milch auf das 100fache, Zahnpasta auf das 2500fache, Salatdressing auf das 500fache und Kuchendekoration auf das 250fache).

## Geräte

Es wurde ein Agilent 8900 ICP-QQQ (Option 100, erweiterte Konfiguration) mit einem automatischen Probengeber Agilent SPS 4 verwendet. Ausgestattet war das Gerät mit einem konzentrischen MicroMist Zerstäuber, einer Scott double-pass Zerstäuberammer, einer Quarzfackel mit einem Injektorinnenrohrdurchmesser von (1,0 mm) sowie Standardkonden aus Nickel. Die Proben wurden über die standardmäßige peristaltische Pumpe und Standardschläuche direkt auf das ICP-QQQ aufgegeben. Die Betriebsbedingungen des Agilent 8900 ICP-QQQ sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1. ICP-MS-Betriebsbedingungen.

Parameter	Wert
Hochfrequenzleistung (W)	1550
Tiefe der Probenerfassung (mm)	8
Zerstäubergas (l/min)	0,70
Probeneinlassfluss (ml/min)	~ 0,35
Temperatur der Zerstäuberammer (°C)	2
Verweilzeit (ms)	0,1
Absetzzeit (ms)	0
Datenerfassungsmodus	MS/MS (Q1: m/z 48, Q2: m/z 64)
Gasflussraten (ml/min)	O <sub>2</sub> : 0,15 (10 % des Vollskala) H <sub>2</sub> : 7,0
Axiale Beschleunigung (V)	1,0
Oktopol-Vorspannung	-6,0
Energiediskriminierung (V)	-15,0
Aufnahmezeit (s)	60

Die Daten wurden über 60 s mit einer Verweilzeit von 0,1 ms für jede Probe erfasst. Das Hauptisotop von Titan, <sup>48</sup>Ti, wurde im MS/MS-Mass-Shift-Modus mit einem aus Sauerstoff und Wasserstoff bestehenden gemischten Zellgas gemessen. Die Methode wurde verwendet, um alle isobaren Interferenzen, die hauptsächlich von <sup>48</sup>Ca ausgehen, und die matrixbasierten Molekülionen-Interferenzen wie die von C, S und P zu beseitigen. Q1 war auf m/z 48 (die Masse des <sup>48</sup>Ti-Vorläuferions) und Q2 auf m/z 64 (die Masse des Ziel-Produkt-Ions <sup>48</sup>Ti<sup>16</sup>O) eingestellt. O<sub>2</sub> förderte die Bildung des Produkt-Ions <sup>48</sup>Ti<sup>16</sup>O<sup>+</sup> und H<sub>2</sub> trug zur Bildung von <sup>48</sup>Ca<sup>16</sup>O<sup>1</sup>H<sup>+</sup> bei, wodurch <sup>48</sup>Ca<sup>16</sup>O<sup>+</sup>-Interferenzen mit <sup>48</sup>Ti<sup>16</sup>O<sup>+</sup> vermieden werden (Abbildung 1). Die Betriebsparameter des Geräts wurden bereits in einer vorherigen Studie verwendet (15). Das Probenaufgabesystem wurde vor jedem Lauf mit Reinstwasser, verdünnten Säuren und Triton X-100 gespült.

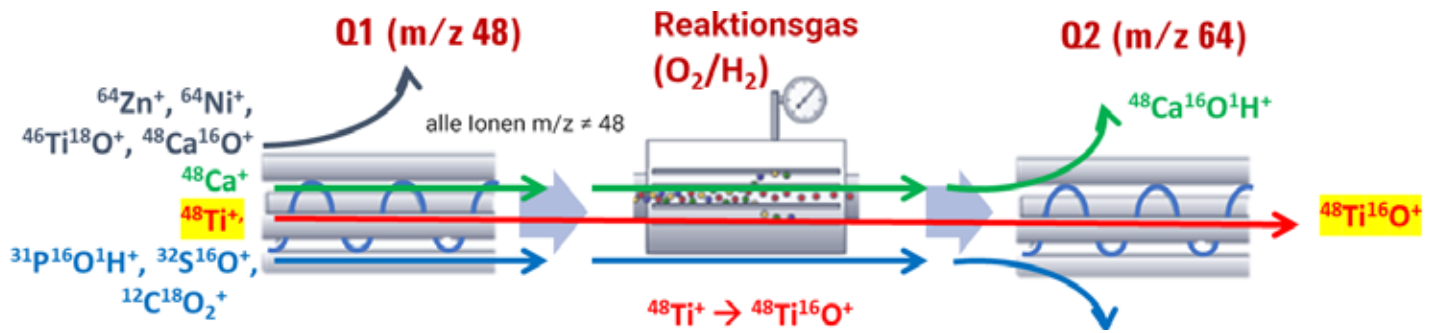


Abbildung 1. Bestimmung von  $^{48}\text{Ti}^+$  über das Produkt-Ion  $^{48}\text{Ti}^{16}\text{O}^+$  mit dem 8900 ICP-QQQ im MS/MS-Mass-Shift-Modus mit den Reaktionszellgasen  $\text{O}_2/\text{H}_2$

Zum Aufsetzen der Methode und zur Datenanalyse wurde das Einzelnanopartikel-Applikationsmodul der Agilent ICP-MS MassHunter-Software verwendet. Die Analyse wurde im Peakintegrations-Modus durchgeführt. Die Partikel-Basislinie wurde automatisch von der Software bestimmt. Die Detektionsschwelle der Partikel wurde manuell angepasst und es wurde derselbe Wert für Proben desselben Typs verwendet. Die Verwendung desselben Schwellenwerts ermöglicht einen direkten Vergleich der Partikel-Massenkonzentrationen und medianen Partikeldurchmesser für die verschiedenen Proben. Für die Berechnungen wurden eine Partikeldichte von  $3,9 \text{ g/cm}^3$  und eine Analytmassenfraktion (Molekülmasse geteilt durch die Analytmass) von 1,67 zu Grunde gelegt. Der Probeneinlassfluss wurde gravimetrisch bestimmt.

## Ergebnisse und Diskussion

### Prüfung von Interferenzen in relevanten Matrizen, die ionisches Ti enthalten

Um zu überprüfen, ob potenzielle Interferenzen auf Ti mithilfe des MS/MS-Mass-Shift-Modus effektiv beseitigt werden können, wurden Lösungen, die einzelne störende Elemente enthielten, und ein Gemisch, das 100fach verdünnte Milch simulierte, analysiert (Tabelle 2). Die scheinbare Ti-Konzentration wurde in allen Lösungen in Form von  $^{48}\text{TiO}^+$  im MS/MS-Modus mit  $\text{O}_2/\text{H}_2$  und in Form von  $^{48}\text{Ti}^+$  ohne Reaktionsgas (in den Single Quadrupol- und MS/MS-Modi) gemessen.

Die Ergebnisse im no-gas-Modus (SQ und MS/MS) weisen in allen Matrizen mit störenden Elementen einen großen positiven Fehler auf, wobei der größte Fehler in der Gegenwart von Ca zu verzeichnen war. Im MS/MS-Modus mit  $\text{O}_2/\text{H}_2$  konnten dagegen alle Interferenzen wirksam reduziert werden, sodass selbst in der Gegenwart von Ca und in der simulierten Milchmatrix eine genaue Messung von Ti möglich war. Die höchste Ti-Empfindlichkeit und die niedrigste Nachweisgrenze (DL) wurden ebenfalls im MS/MS-Modus mit  $\text{O}_2/\text{H}_2$  erzielt. Die Ergebnisse zeigen, dass mit dem 8900 ICP-QQQ im MS/MS-Mass-Shift-Modus mit  $\text{O}_2/\text{H}_2$  kleinere Partikel nachgewiesen werden können als in dem no-Gas-Modus.

### Analyse von Milchproben, die mit $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln versetzt wurden

$\text{TiO}_2$  wurde als Weißmacher für Magermilch in Betracht gezogen (16), obwohl der Zusatz dieses Stoffes in Milch in Europa derzeit nicht erlaubt ist. Um zu überprüfen, inwieweit die Methode eine genaue Messung von  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln unterschiedlicher Größenverteilungen und Konzentrationen ermöglicht, wurden Milchproben mit zwei verschiedenen  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln (JRC und NIST) versetzt. Die JRC-Nanopartikel, die größere Partikel mit einer breiteren Größenverteilung enthalten als die NIST-Nanopartikel, ähneln E171, das hauptsächlich aus Anatas besteht. Die Fraktion der Nanopartikel in E171 erstreckt sich über den Bereich von 17 bis 36 % und die mittleren Durchmesser der Primärpartikel liegen im Bereich zwischen 115 und 145 nm (17).

Tabelle 2. Ergebnisse der Interferenzprüfung für  $^{48}\text{Ti}$  in verschiedenen Matrizen mit und ohne Zellgas.

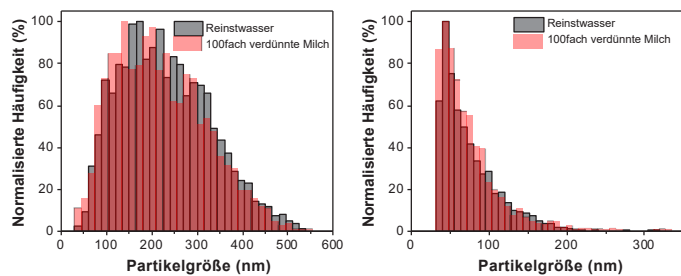
Matrix	Ca 10 µg/ml	S 3 µg/ml	P 10 µg/ml	Gemisch Ca+S+P	10 ng/ml Ti im Gemisch Ca+S+P	10 ng/ml Ti in 0,1 % $\text{HNO}_3$		
Zellmodus	Gemessene scheinbare Ti-Konzentration, ng/ml						Empfindlichkeit <sup>1</sup> (cps/ng/ml)	Nachweisgrenze <sup>2</sup> (ng/ml)
no-gas-MS/MS	35,6	0,395	0,264	36,3	41,7	9,58	207.044	4,1
no-gas-SQ	35,0	0,341	0,224	34,2	45,8	11,1	294.872	8,2
$\text{O}_2/\text{H}_2$ -MS/MS	0,017	0,004	0,012	0,031	10,0	10,2	399.949	0,0075

1. Auf der Grundlage einer Kalibrationskurve mit sechs ionischen Standards von 0,1 bis 50 ng/ml ionisches Ti in 0,1 %  $\text{HNO}_3$

2. Berechnete Nachweisgrenze auf Basis der dreifachen Standardabweichung von vier Blindproben (Gemisch aus Ca + S + P)

Abbildung 2 zeigt den Vergleich der Messung desselben  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel Spikes in verdünnter Milch und Reinstwasser, welche im MS/MS-Modus mit dem Reaktionsgas  $\text{O}_2/\text{H}_2$  analysiert wurden. Die Partikelgrößenverteilungen in Reinstwasser und in der Milchmatrix waren für beide Partikeltypen identisch. Die mittleren Partikeldurchmesser betragen in der Wasser- und Milchmatrix jeweils  $226 \pm 7$  und  $223 \pm 2$  nm (JRC-Nanopartikel) und  $78 \pm 1$  und  $72 \pm 2$  nm (NIST-Nanopartikel). Die Ähnlichkeit der Ergebnisse weist darauf hin, dass die von Ca, S oder P ausgehenden Interferenzen in der Milchmatrix beseitigt wurden.

Die Partikelgrößenangaben stimmen mit den vorhandenen Daten für beide Partikeltypen überein. Laut Analysenzertifikat der NIST-Nanopartikel handelt es sich bei den stabilen nanoskalierten Spezies um ein monomodales Aggregat aus verschmolzenen Kristalliten mit einer modalen Größe von 70 nm. Die JRC-Nanopartikel sind vergleichbar mit NM-100 (18), welche aus Primärpartikeln von 20 bis 300 nm bestehen und Aggregate über den Bereich von 30 bis 700 nm bilden. Der mit TEM bestimmte mittlere Durchmesser betrug 190 nm (18).



**Abbildung 2.** Partikelgrößenverteilungen, die für 4 ng/ml JRC-Nanopartikel (links) und 0,15 ng/ml NIST-Nanopartikel (rechts) in Reinstwasser und 100fach verdünnter Milch im MS/MS-Mass-Shift-Modus gemessen wurden.

Beim Vergleich der beiden zugesetzten Konzentrationen für die zwei Nanopartikeltypen wurden vergleichbare Ergebnisse für die Partikelgröße erhalten (Tabelle 3). Die mittlere Massenwiederfindung, die im Bereich zwischen 71 und 85 % lag, wurde als erfüllt betrachtet.

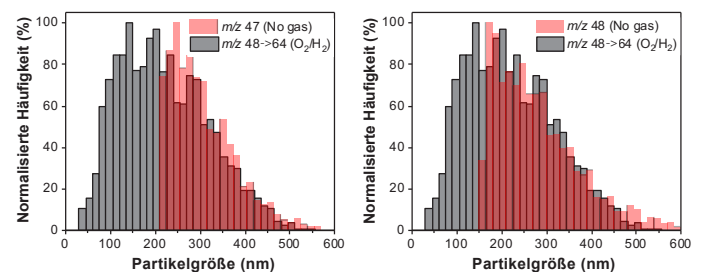
**Tabelle 3.** spICP-MS-Ergebnisse für die Messung von JRC- und NIST-Nanopartikeln in 100fach verdünnter Milch auf zwei verschiedenen Konzentrationsniveaus (n = 3 für jede zugesetzte Konzentration)

	JRC-NP 2 ng/ml	JRC-NP 4 ng/ml	NIST-NP 0,15 ng/ml	NIST-NP 0,30 ng/ml
Zahl der detektieren Partikel (Partikel/min)	917 ± 135	1624 ± 113	1648 ± 199	2988 ± 90
Partikelanzahlkonz. (E+07 Partikel/l)	4,40 ± 0,55	7,80 ± 0,54	7,60 ± 0,92	13,80 ± 0,42
Partikelmassenzkonz. (ng/ml)	1,55 ± 0,26	2,91 ± 0,11	0,13 ± 0,01	0,25 ± 0,02
Massenwiederfindung (%)	76 ± 13	71 ± 6	85 ± 7	81 ± 4
Mediane Partikelgröße (nm)	204 ± 3	210 ± 2	60 ± 2	62 ± 1
Mittlere Partikelgröße (nm)	216 ± 0	223 ± 2	72 ± 2	74 ± 0

## Effekte von Interferenzen auf die Messung von $^{47}\text{Ti}$ und $^{48}\text{Ti}$ im no-gas-Modus

Um die Überlegenheit des MS/MS-Mass-Shift-Modus bei der Störungsbeseitigung gegenüber SQ oder MS/MS im no-gas-Modus zu belegen, wurden  $^{47}\text{Ti}$  und  $^{48}\text{Ti}$  ohne Zellgas in denselben versetzten verdünnten Milchproben gemessen. Die NIST-Nanopartikel waren aufgrund des hohen Hintergrunds von  $^{47}\text{Ti}$  und  $^{48}\text{Ti}$  nicht nachweisbar. Die größeren JRC-Nanopartikel waren zwar nachweisbar (Abbildung 3), die nachweisbare Mindestgröße erhöhte sich jedoch von 40 nm (MS/MS-Mass-Shift-Modus) auf 213 nm ( $^{47}\text{Ti}$ ) und auf 160 nm ( $^{48}\text{Ti}$ ) im no-gas-Modus. Im medianen Durchmesser war ebenfalls ein Anstieg von 210 nm (MS/MS-Mass-Shift-Modus) auf jeweils 292 nm und von 260 nm zu verzeichnen.

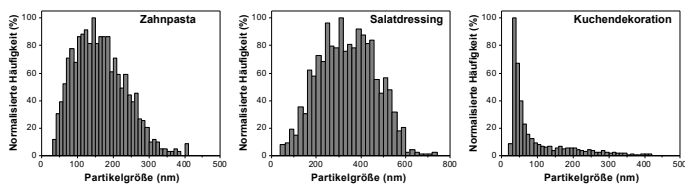
Der hohe (ionische) Hintergrund von  $^{48}\text{Ti}$  konnte auf isobare Interferenzen zurückgeführt werden, die von  $^{48}\text{Ca}$  ausgingen (siehe Tabelle 2). Für  $^{47}\text{Ti}$  wurde sowohl in der versetzten als auch in der nicht-versetzten Milchmatrix ein hoher Partikelhintergrund beobachtet. Da im MS/MS-Mass-Shift-Modus keine Partikel in der nicht versetzten Milchprobe nachgewiesen wurden, liegt der Schluss nahe, dass es sich hierbei nicht um Ti-haltige Partikel, sondern wahrscheinlich um polyatomare-Interferenzen handelte.



**Abbildung 3.** Partikelgrößenverteilungen für 4 ng/ml JRC-Nanopartikel in 100fach verdünnter Milch, die durch die Analyse von  $^{47}\text{Ti}$  im no-gas-Modus (links) und von  $^{48}\text{Ti}$  im no-gas-Modus (rechts) bestimmt wurden. Die im MS/MS-Modus mit  $\text{O}_2/\text{H}_2$ -Gas erhaltene Größenverteilung ist in beiden Diagrammen zu Vergleichszwecken grau dargestellt.

## Analyse von $\text{TiO}_2$ -Nanopartikeln in Zahnpasta, Salatdressing und Kuchendekorationen

Es wurden weitere Produkte analysiert, für die in der Liste der Inhaltsstoffe  $\text{TiO}_2$  angegeben ist. Als Beispiele wurden Zahnpasta, Salatdressing und Kuchendekoration (essbarer goldener Stern) ausgewählt. Die in Abbildung 4 dargestellten Ergebnisse der Partikelgrößenverteilung machen deutlich, dass jede der Proben  $\text{TiO}_2$ -Nanopartikel in unterschiedlichen Größenbereichen enthält. Die Kuchendekoration enthielt die kleinsten Nanopartikel (mediane Größe 54 nm), wogegen die größten Partikel (mediane Größe 334 nm) im Salatdressing zu finden waren. Die in Zahnpasta bestimmten Partikelgrößen (mediane Größe 155 nm) stimmten mit zuvor veröffentlichten Ergebnissen überein (14). Die Fraktion der Partikel von < 100 nm betrug in Zahnpasta 22 %, in Salatdressing 3 % und in Kuchendekoration 70 %. Die mittleren  $\text{TiO}_2$ -Masskonzentrationen lagen im mg/g-Probenbereich.



**Abbildung 4.** Partikelgrößenverteilungen für TiO<sub>2</sub>-Nanopartikel in Zahnpaste (links), Salatdressing (Mitte) und Kuchendekoration (rechts).

## Schlussfolgerungen

Es wurde eine Einzelpartikel-ICP-MS-Methode für die Bestimmung und Charakterisierung von TiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln in Lebensmitteln und Körperpflegeprodukten entwickelt. Für die Studie wurde ein Agilent 8900 ICP-QQQ verwendet, da die hohe Empfindlichkeit und die kurzen Verweilzeiten des Systems für eine kurze Analysendauer und ausgezeichnete Nachweisgrenzen bei der Bestimmung kleiner Partikel sorgen. Dank der fortschrittlichsten Möglichkeiten zur Beseitigung von Interferenzen, die das ICP-QQQ in Verbindung mit MS/MS bietet, war außerdem die Analyse des häufigsten Titanisotops <sup>48</sup>Ti möglich, was wiederum eine genaue TiO<sub>2</sub>-Analyse kleiner Nanopartikel ermöglichte.

Isobare Interferenzen (<sup>48</sup>Ca) und polyatomare-Interferenzen auf <sup>48</sup>Ti ließen sich in Matrizen mit hohen Konzentrationen von P, S und Ca durch den Betrieb des ICP-QQQ im MS/MS-Modus mit O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>-Zellgas erfolgreich beseitigen. Durch die Messung von <sup>48</sup>Ti anstelle weniger häufiger Ti-Isotope konnte für TiO<sub>2</sub>-Nanopartikel eine Partikelgrößen-Nachweisgrenze von 30 nm erreicht werden.

Die Methode wurde zur Charakterisierung von TiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln in Lebensmitteln eingesetzt, von denen bekannt ist, dass sie den Lebensmittelzusatzstoff E171 enthalten, darunter Zahnpaste, Salatdressing und eine Kuchendekoration. spICP-MS ermöglicht die Bestimmung der Elementzusammensetzung und der Partikelgröße in einer Probe und ergänzt somit die Informationen über Partikelgröße und Form, die mithilfe der Elektronenmikroskopie erhalten werden.

Da E171-haltige Lebensmittelprodukte in Frankreich ab dem 1. Januar 2020 verboten werden, ist der Zugang zu zuverlässigen analytischen Methoden zur Charakterisierung von Nanopartikeln von großer Bedeutung. Darüber hinaus wurde von der EFSA der Bedarf für weitere Forschung im Bereich der Partikelgrößenverteilung von TiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln in Lebensmitteln festgestellt.

## Danksagung

Wir danken Luisa Hässmann für ihren Beitrag zu den experimentellen Arbeiten und Michiko Yamanaka (Agilent) für die technische Unterstützung.

## Literatur

1. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16, December **2008** on food additives, Official Journal of the European Union, 2008, L354, 16–33
2. Y. Yang, K. Doudrick, X. Bi, K. Hristovski, P. Herckes, P. Westerhoff, R. Kaegi, Characterization of food-grade titanium dioxide: the presence of nanosized particles. *Environ. Sci. Technol*, **2014**, 3; 48 (11): 6391-40
3. S. Bettini, E. Boutet-Robinet, C. Cartier, C. Coméra, E. Gaultier, J. Dupuy, N. Naud, S. Taché, P. Grysan, S. Reguer, N. Thieriet, M. Réfrégiers, D. Thiaudière, J. -P. Cravedi, M. Carrière, J. N. Audinot, F. H. Pierre, L. Guzylack-Piriou, E. Houdeau, Food-grade TiO<sub>2</sub> impairs intestinal and systemic immune homeostasis, initiates preneoplastic lesions and promotes aberrant crypt development in the rat colon. *Sci Rep*, **2017**, 7: 40373
4. Z. Chen, Y. Wang, T. Ba, Y. Li, J. Pu, T. Chen, Y. Song, Y. Gu, Q. Qian, J. Yang, G. Jia, Genotoxic evaluation of titanium dioxide nanoparticles in vivo and in vitro. *Toxicol. Letter*, **2014**, 3, 314–319
5. R. Liu, X. Zhang, Y. Pu, L. Yin, Y. Li, Small-sized TiO<sub>2</sub> nanoparticles mediate immune toxicity in rat pulmonary alveolar macrophages in vivo. *J. Nanosci. Nanotechnol*, **2010**, 10, 5161–5169
6. Re-evaluation of titanium dioxide (E 171) as a food additive, *EFSA Journal*, **2016**, 14 (9): 4545
7. Evaluation of four new studies on the potential toxicity of titanium dioxide used as a food additive (E 171), *EFSA Journal*, **2018**, 16 (7): 5366
8. Sybille de La Hamaide, Frankreich zum Verbot von Titandioxid-Weißmachern in Lebensmitteln aus dem Jahr 2020, Reuters, April 2017, letzter Zugriff: November 2019, <https://www.reuters.com/article/us-france-food-additive/france-to-ban-titanium-dioxide-whitener-in-food-from-2020-idUSKCN1RT23D>
9. Scientific opinion on the proposed amendment of the EU specifications for titanium dioxide (E 171) with respect to the inclusion of additional parameters related to its particle size distribution, *EFSA Journal*, **2019**, 17 (7): 5760

10. Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 25. Oktober 2011 betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel, *Amtsblatt der Europäischen Union*, **2008**, L304, 16–63
11. Empfehlung der Kommission vom 18. Oktober 2011 zur Definition von Nanomaterialien, *Amtsblatt der Europäischen Union*, **2011**, L275, 38–40
12. Š. Zamberlin, N. Antunac, J. Havranek, D. Samaržija. Mineral elements in milk and dairy products. *Mljekarstvo*, **2012**, 62 (2), 111–125
13. NanoDefine Project Development of Methods and Standards Supporting the Implementation of the Commission Recommendation for a Definition of Nanomaterial (FP7-NMP-2013-LARGE-7, Nr. 604347). Online verfügbar: <http://www.nanodefine.eu> (Zugriff im Oktober 2019)
14. M. Correia, T. Uusimäki, A. Philippe, K. Löschner, Challenges in Determining the Size Distribution of Nanoparticles in Consumer Products by Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation Coupled to Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry: The Example of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub>, and SiO<sub>2</sub> Nanoparticles in Toothpaste. *Separations*, **2018**, 5 (4), 56
15. M. Yamanaka, S. Wilbur, Genaue Bestimmung von TiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln in komplexen Matrizen mit dem Agilent 8900 ICP-QQQ, Agilent Publikation, [5991-8358EN](#)
16. M. B. Frøst, G. Dijksterhuis, M. Martens, Sensory perception of fat in milk. *Food Quality and Preference*, **2001**, 12, 327–336
17. W. Dufou, H. Terrisse, M. Richard-Plouet, E. Gautron, F. Popa, B. Humbert, M.-H. Ropers, Criteria to define a more relevant reference sample of titanium dioxide in the context of food: a multiscale approach. *Food Additives and Contaminants Part A*, **2017**, 34, 653–665
18. K. Rasmussen et al. *Titanium dioxide*, NM-100, NM-101, NM-102, NM-103, NM-104, NM-105 Characterisation and Physico-Chemical properties. *EUR - Scientific and Technical Research Series* (Publications Office of the European Union, 2014)

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2019  
 Gedruckt in den USA, 6. Dezember 2019  
 5994-1633DEE