

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Štěpánka Sýkorová

Stanovení nanočástic TiO_2 v minerálních opalovacích krémech

Determination of TiO_2 nanoparticles in mineral compound-based sunscreens

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Eliška Nováková, Ph.D.

Praha, 2025

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně, a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 9.5.2025

Podpis:

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Elišce Novákové, Ph.D. za její odborné vedení a cenné rady. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za jejich podporu a trpělivost během celého procesu psaní této práce.

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zaměřuje na stanovení koncentrace a velikosti nanočástic oxidu titaničitého (TiO_2) v pěti komerčně dostupných opalovacích krémech různých značek (Uriage, Nivea, Ladival, Sebamed a Garnier). Pro extrakci TiO_2 z krémových matric byly použity tři různé metody převzaté z literární rešerše, které využily různá extrakční činidla (methanol, methanol/hexan, Triton-X100). Extrahované obsahy TiO_2 byly porovnány s mikrovlnným rozkladem vzorků. Výsledky ukázaly, že metody extrakce poskytly výrazně odlišné koncentrace TiO_2 , přičemž nejlepší účinnost vykazala metoda methanol/hexan. U velikostí částic bylo zjištěno, že mediány velikostí převyšují hranici 100 nm, což znamená, že částice nelze považovat za nanočástice podle formální definice. Přesto je pravděpodobné, že nanočástice jsou přítomny ve formě agregátů. Výsledky také potvrzují, že koncentrace TiO_2 ve všech vzorcích neporušují legislativní limity stanovené pro kosmetické přípravky. Tato práce přináší efektivní metodiku využití režimu spICP-MS v kombinaci s optimalizovanými extrakčními technikami pro analýzu nanočástic v komplexních kosmetických produktech a podává důkazy o bezpečnosti uvedených vzorků v souladu s platnou legislativou.

Klíčová slova

Opalovací krém, nanočástice, ICP-MS, oxid titaničitý

Abstract

This bachelor thesis is focused on determining the concentration and size of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in five commercially available sunscreens of different brands (Uriage, Nivea, Ladival, Sebamed and Garnier). Three different methods taken from a literature search were used to extract TiO₂ from the cream matrices using different extraction reagents (methanol, methanol/hexane, Triton-X100). The extracted TiO₂ contents were compared with microwave digestion of the samples. The results showed that the extraction methods gave significantly different TiO₂ concentrations, with the methanol/hexane method showing the best efficiency. For the particle sizes, the median sizes were found to exceed the 100 nm limit, indicating that the particles cannot be considered nanoparticles according to the formal definition. Nevertheless, it is likely that the nanoparticles are present in the form of aggregates. The results also confirm that the concentrations of TiO₂ in all samples do not violate the legislative limits set for cosmetic products. This work presents an efficient methodology for the use of the spICP-MS mode combined with optimised extraction techniques for the analysis of nanoparticles in complex cosmetic products and provides evidence for the safety of these samples in accordance with current legislation.

Key words

Sunscreen, nanoparticles, ICP-MS, titanium dioxide

Seznam zkratek

BEC	koncentrace ekvivalentní pozadí (angl. „background equivalent concentration“)
DL	detekční limit
EU	Evropská unie
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci
PNC	koncentrace počtu částic (angl. „particle number concentration“)
PTA	analýza sledování částic (angl. „particle tracking analysis“)
R	koeficient korelace
spICP-MS	analýza jednotlivých částic hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
SPF	ochranný sluneční faktor
UV	ultrafialové záření

Obsah

1.	Cíl práce	9
2.	Teoretická část	10
2.1.	Nanočástice	10
2.1.1.	Nanočástice TiO ₂	11
2.1.1.1.	Toxicita	12
2.1.1.2.	Dopad na životní prostředí	13
2.2.	Opalovací krémy	13
2.3.	ICP-MS	15
2.4.	Princip metody	16
2.4.1.	Princip metody spICP-MS	17
3.	Experimentální část	18
3.1.	Seznam použitých chemikálií	18
3.2.	Instrumentace	18
3.3.	Příprava roztoků	18
3.3.1.	Mikrovlonný rozklad vzorků	18
3.3.2.	Extrakce dle Kaňa et al.	19
3.3.3.	Extrakce dle Cantado et al	19
3.3.4.	Extrakce pomocí Tritonu X-100	19
3.4.	Stanovení celkové koncentrace TiO ₂	20
3.4.1.	Měření vzorků pomocí ICP-MS	20
3.4.2.	Přepočet výsledků z měření ICP-MS	20
3.5.	Stanovení koncentrace a velikosti nanočástic v opalovacích krémech	21
3.5.1.	Optimalizace podmínek	21
3.5.2.	Lineární dynamický rozsah spICP-MS	22
3.5.3.	Měření koncentrace a velikosti nanočástic	22
3.5.4.	Přepočet výsledků měření v nanočásticovém módu	23
4.	Výsledky a diskuse	24
4.1.	Celková koncentrace TiO ₂ v opalovacích krémech	24
4.2.	Optimalizace podmínek pro měření v nanočásticovém módu	27
4.3.	Stanovení koncentrace a velikosti částic TiO ₂ v opalovacích krémech v nanočásticovém módu	27
5.	Závěr	31
6.	Zdroje	32

7. Přílohy práce..... 36

1. Cíl práce

Cílem práce je stanovení obsahu a velikosti částic oxidu titaničitého používaného v opalovacích krémech jako fyzikální bariéra UV záření.

2. Teoretická část

2.1. Nanočástice

Podle Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO) jsou nanočástice objekty, které mají alespoň jeden vnější rozměr v rozmezí 1 až 100 nanometrů, kde se délky nejdelší a nejkratší osy nanoobjektu výrazně neliší. [1] Podle doporučení Evropské komise z 18. října 2011 se za nanomateriál považuje přírodní, vedlejší produkt reakce nebo uměle vyrobený materiál, který obsahuje částice v nesloučené formě nebo ve formě agregátů či aglomerátů za podmínky, že alespoň jeden rozměr musí být menší než 100 nm [2].

Tyto částice jsou jedinečné svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi, které vyplývají z jejich malé velikosti a velkého specifického povrchu. Jejich optické vlastnosti závisí na rozměrech, což ovlivňuje absorpci ve viditelném spektru a propůjčuje jim různé barvy. Reaktivita, odolnost a další charakteristiky nanočástic úzce souvisejí s velikostí, tvarem a strukturou. Díky vysoké povrchové energii, která je činí reaktivnějšími v porovnání s objemnějšími materiály stejného složení, je třeba zvážit stabilitu suspenzí nanočástic při skladování, manipulaci, uchovávání a jejich přípravě [3, 4].

Nanočástice mohou mít různé tvary, například kulovité, válcovité, kuželovité, trubicovité nebo nepravidelné. Z hlediska struktury mohou být krystalické, a to buď monokrystalické nebo multikrystalické, nebo také mohou být amorfní. Vyskytují se jako volné částice nebo ve formě aglomerátů [5].

Nanočástice mohou být homogenní, nebo mohou mít vícevrstvou strukturu. V případě vícevrstvé struktury se obvykle skládají z několika vrstev: povrchová vrstva, která obvykle obsahuje malé molekuly, kovové ionty, povrchově aktivní látky nebo polymery, obalová vrstva, jež je tvořena materiálem chemicky odlišným od základní vrstvy, a jádrová vrstva, která tvoří centrální část nanočástice.

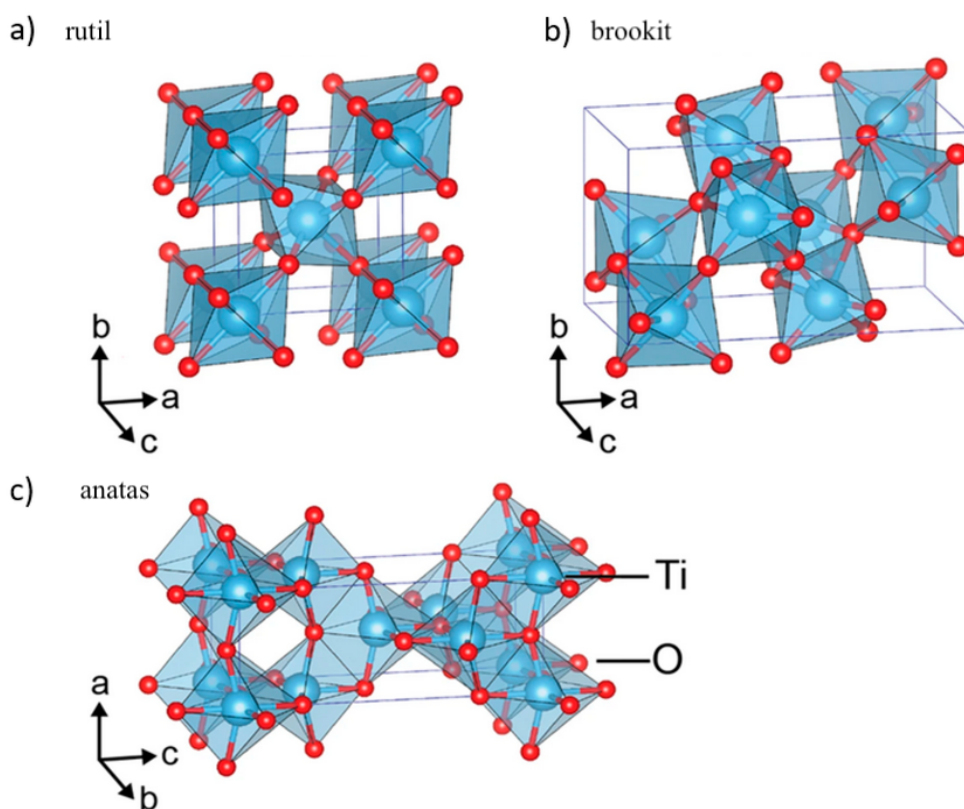
Na základě složení se nanočástice obecně dělí na organické, uhlíkové a anorganické [6]. Anorganické nanočástice neobsahující uhlík jsou biokompatibilní s živými systémy a zároveň jsou oproti organickým nanočásticím stabilnější. Anorganické nanočástice se dělí na nanočástice chemických prvků (Au, Ag, Pt, Fe) a na nanočástice jejich sloučenin (SiO₂, TiO₂, ZnO) [7]

Nejdůležitější parametr při analýze nanočástic je jejich velikost. K jejímu měření se používá elektronová mikroskopie, a to jak transmisi, tak i skenovací. Dále se používají metody jako dynamický rozptyl světla, analýza sledování částic (particle tracking analysis,

PTA), odstředivá sedimentace částic, frakcionace průtokem v poli a také hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). ICP-MS je metoda použitelná pro měření nanočástic, která poskytuje informace o jejich početní koncentraci a distribuci rozměrů na úrovni hmotnostní koncentrace v řádu detekovaného kovového prvku v ng/l [4].

2.1.1. Nanočástice TiO₂

Oxid titaničitý je anorganická sloučenina s chemickým vzorcem TiO₂. Jedná se o jemný bílý prášek, který se běžně vyskytuje v půdě, písku, rudách a prašných polích. V přírodě se TiO₂ vyskytuje ve třech polymorfních formách: anatas, rutil a brookit (viz Obrázek 1). Anatas a rutil se používají jako pigmenty, protože mají vysoký index lomu, což jim umožňuje efektivně odrážet a rozptylovat viditelné světlo.



Obrázek 1 Krystalické struktury oxidu titaničitého (upraveno) [8]

TiO₂ se využívá jako bílý pigment v barvách, tiskařských inkoustech, plastech, papíru, syntetických vláknech, pryži, kondenzátorech, pastelkách, keramice, elektronických součástkách, ale i v potravinách (pod označením E171) a kosmetice. Dále se TiO₂ používá v antimikrobiálních aplikacích, katalyzátorech pro čištění vzduchu a vody, lékařských technologiích a systémech pro ukládání energie.

V Evropské unii je použití oxidu titaničitého v potravinách zakázáno od srpna 2022 kvůli jeho možné toxicitě, v jiných zemích mimo EU se používá. V EU zůstává běžně využíván v průmyslu včetně kosmetického. Ve srovnání s jinými anorganickými pigmenty TiO_2 vyniká vysokou chemickou stabilitou, optickými vlastnostmi a nízkou cenou.

Velikost a tvar částic TiO_2 je v mnoha aplikacích rozhodující. Existují dvě hlavní velikosti, ve kterých se TiO_2 vyrábí: mikrometrová velikost (250-400 nm) a nanometrová velikost (<250 nm). Velikost a rozdělení velikosti částic lze určit pomocí transmisního elektronového mikroskopu, dynamického rozptylu světla nebo laserové difrakční spektrometrie.

Oxid titaničitý ve formě nanočástic nachází široké uplatnění díky svým jedinečným fyzikálně-chemickým vlastnostem. Využívá se v různých průmyslových odvětvích, včetně papírenského, plastikářského a gumárenského průmyslu. Své místo má také ve fotovoltaice, například v Grätzelových článcích, a v kosmetice, kde se přidává do opalovacích krémů jako ochrana proti UV záření a jako pigment. Pigmentový TiO_2 , jehož optimální velikost je přibližně 250 nm, představuje 98 % veškeré výroby. Materiály TiO_2 nanometrové velikosti, které tvoří méně než 2 % celkové spotřeby, jsou obvykle účinnější jako fotokatalyzátory nebo filtry UV záření. Dále se používá jako potravinářská přísada mimo EU, ve stavebnictví pro výrobu nátěrů, ve zdravotnictví, kdy snižují toxicitu barviv ve farmaceutických léčivech a pro detekci plynů [9-13].

2.1.1.1. Toxicita

Toxicita nanočástic TiO_2 je ovlivněna krystalickou strukturou, povrchovými vlastnostmi a velikostí. Tyto faktory určují míru agregace, povrchový náboj a sedimentaci částic, což může vést k závažným biologickým účinkům a potenciálně fatálním dopadům na živé organismy. Místo akumulace nanočástic závisí na způsobu vstupu do těla a na jejich velikosti. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) zařadila TiO_2 jako karcinogen skupiny 2B, tedy jako pravděpodobně karcinogenní pro člověka.

Do lidského těla se nejčastěji dostávají konzumací potravin, inhalací nebo skrz kůži. Při vdechnutí se usazují na plicních sklípkách, kde reagují s plynným kyslíkem za vzniku volných radikálů. Tyto vysoce reaktivní molekuly iniciují řetězové reakce, které nejen poškozují plicní sklípky, ale vedou i k rakovině plic. Při kontaktu s kůží míra absorpce závisí na velikosti částic a době expozice. Například u částice TiO_2 o velikosti 4 nm dochází

k pronikání až do bazálních buněk epidermu, zatímco při dlouhodobé expozici nanočástic o velikosti 10-60 nm došlo k projevům systémové absorpce

Nanočástice TiO_2 mohou narušovat buněčný cyklus a spouštět apoptózu. Také poškozují DNA tím, že přeruší vlákna DNA, což je důsledkem velmi malé velikosti částic, která jim usnadňuje vstup přímo do buněčného jádra. Dalším mechanismem je jejich reakce s kyslíkem za vzniku kyslíkových radikálů, které způsobují oxidativní stres. Nanočástice rovněž interagují s epitelem střev a způsobují nadměrné vstřebávání živin, což vede ke gastrickým poruchám [2, 14, 15].

2.1.1.2. Dopad na životní prostředí

Nanočástice TiO_2 používané v potravinách, spotřebním zboží a průmyslu se dostávají do odpadních vod, které následně vstupují do čistíren odpadních vod. Ačkoli čistírny dokáží odstranit většinu nanočástic TiO_2 , v přečištěných odpadních vodách byly stále nalezeny částice o velikosti 4 až 30 nm. Tyto nanočástice se uvolňují v povrchových vodách, kde mohou interagovat s živými organismy. Navíc nanočástice TiO_2 navázané na bakterie se mohou dostat do půdy, pokud je biomasa z čistíren použita jako hnojivo.

Rovněž se kumulují v suchozemských i vodních organismech a přenášejí se směrem nahoru potravním řetězcem cestou primární a sekundární konzumace. Jejich přítomnost v životním prostředí ovlivňuje fytoplankton a pobřežní ekosystémy, které jsou klíčové pro rybolov a rekreační aktivity.

Řasy se používají jako biologický indikátor ve vodních ekosystémech ke studiu biologické toxicity znečišťujících látek. Nanočástice TiO_2 inhibují řasy tím, že způsobují deformaci membránové struktury v důsledku zvýšené peroxidace lipidů. Forma nanočástice TiO_2 známá jako anatas vykazuje větší buněčnou toxicitu než rutil, což je spojeno s produkcí většího množství intracelulárních reaktivních forem kyslíku. Interakce anatasu s extracelulárními polymerními látkami řas vede k vyšším toxicitě než u rutilu. Přítomnost nanočástic inhibuje rychlost růstu sladkovodních řas, např. *Scenedesmus quadricauda*. Kombinace anatasu a rutilu navíc vykazuje větší toxicitu a antagonistický účinek na sladkovodní řasu *Chlorella* [16,17].

2.2. Opalovací krémy

Opalovací krém je komerční výrobek prodáváný spotřebitelům na ochranu lidské pokožky před ultrafialovým zářením, které způsobuje stárnutí, spálení a případně rakovinu kůže. UV záření se dělí podle vlnové délky na UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm)

a UVC (100-290 nm). UVC záření je odfiltrováno z atmosféry, protože stratosférický molekulární kyslík pohlcuje vlnové délky menší než 242 nm za vzniku ozonu. Stratosférický ozon dokáže částečně absorbovat UVB záření, ale většina zbývajících UVB společně s UVA paprsky se dostanou do naší kůže a způsobí biologické a metabolické reakce. Krátkodobé reakce slunečního záření, lze z velké části připsat UVB záření, zahrnují syntézu cholekalciferolu (vitaminu D) a při vyšších dávkách je možnost zarudnutí kůže. Mezi dlouhodobé účinky patří degenerativní změny kůže, například aktinické keratózy a rakovina kůže.

Účinnost opalovacích krémů se měří jejich schopností chránit pokožku před UV zářením. Schopnost chránit pokožku před slunečním zářením se vyjadřuje pomocí faktoru nazývaného ochranný sluneční faktor (SPF). SPF se měří dvěma způsoby v laboratoři, tj. v simulovaném prostoru s živým organismem anebo metodou aplikace přímo na kůži. Ve standardní metodě je SPF faktor definován jako poměr mezi energií potřebnou k vyvolání nejmenší odezvy na lidské kůži s použitím a bez použití opalovacích přípravků pomocí UV záření z umělého zdroje.

Opalovací krémy obsahují jeden nebo více UV filtrů, které mohou být minerální, organické nebo jejich kombinace. Mimo to obsahují další látky, jako jsou změkčovadla, konzervační látky nebo stabilizátory, emulsifikátory, vonné látky a barviva. UV filtry jsou specifické sloučeniny, které brání průchodu ultrafialového záření.

Rozdělují se na dvě skupiny podle způsobu interakce s UV zářením nebo podle složení, kdy podle interakce se dělí na chemické a fyzikální a podle složení na organické a anorganické. Chemické UV filtry pohlcují UV záření a přeměňují ho na tepelnou energii, mezi ně patří organické látky s konjugovanými dvojnými vazbami. Naopak fyzikální UV filtry UV záření odráží, řadí se sem především oxidy kovů. UV filtry se nevyskytují pouze ve spotřební kosmetice jako je make-up, laky na nehty, šampony atd., ale také se používají v průmyslu k ochraně proti fotodegradaci, například v plastech, barvách a tmelech.

UV filtry se dělí podle chemického složení na anorganické (minerální) a organické. Minerály jako oxid zinečnatý (ZnO) a oxid titaničitý (TiO₂) se používají jako anorganické fyzikální blokátory UV záření. Opalovací krémy obsahující anorganické UV filtry mají několik výhod oproti organickým, jako jsou nepřítomnost podráždění a senzibilizace pokožky, inertnost složek, omezené pronikání do kůže a ochrana v širším spektrálním

intervalu než u organických filtrů. Mezi organické UV filtry patří například oktokrylen, oktinoxat, avobenzon a ensulizol.

Podle nařízení Evropské unie je oxid titaničitý schválen jako UV filtr v opalovacích krémech s nejvyšší možnou koncentrací 25 % v přípravku. TiO_2 se nemá používat v aplikacích, jež mohou vést k expozici plic konečného uživatele. Dále jsou povoleny pouze nanomateriály, které jsou ve formě rutilu, nebo směsi rutilu s maximálně 5 % anatasu, střední velikost nanočástic podle velikostního rozdělení ≥ 30 nm a nanočástice, které jsou fotostabilní. Tato regulace je stanovena v příloze VI nařízení (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích, ve znění nařízení (EU) 2024/996 ze dne 4. dubna 2024.

Použití nanočásticového TiO_2 přináší výhody a nevýhody, mezi výhody lze zařadit větší transparentnost opalovacího krému na kůži, kdy opalovací krémy nezanechávají na pokožce bílý film. Další výhodou malých částic je větší schopnost rozptylovat UV záření, kdy zvětšováním částic ubývá schopnost chránit pokožku před zářením. Mezi nevýhody se řadí jejich větší poměr povrchu a objemu, čímž se nanočástice stávají více (bio)reaktivní, což vyvolává obavy z jejich potencionální toxicity. [12, 18-21].

2.3. ICP-MS

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je jedna z instrumentálních technik pro prvkovou analýzu, která umožňuje stanovit ultrastopové množství kovů a metaloidů v široké škále vzorků. ICP-MS nabízí mnoho výhod, jako je vysoká citlivost, široký lineární dynamický rozsah a možnost současného měření více prvků a také měření izotopických poměrů. Provoz při vysoké teplotě plazmového zdroje kolem 7000 K umožňuje snadné rozbití všech chemických vazeb přítomných v organických a anorganických sloučeninách, což zajišťuje účinnou atomizaci. ICP-MS má i nevýhody, mezi ně patří výskyt spektrálních (polyatomických a izobarických interferencí) a nespektrálních interferencí.

Polyatomické interference pochází z plazmového plynu, matrice vzorku, atmosférického plynu nebo roztoku rozpouštědla a znamenají vznik polyatomických adduktů, které se shodují v poměru hmotnosti a náboje s analytem. K potlačení izobarických interferencí se používají podmínky studeného plazmatu, matematické korekční rovnice a zdokonalení hmotnostních analyzátorů, jako je ICP-MS se sektorovým polem (SF-ICP-MS) a použití technologie kolizně-reakčních cel. Cely DRC jsou plněny kolizním plynem o nízkém tlaku a spektrální interference se odstraňují buď selektivní reakcí

analytu a/nebo interferujícího iontu s reaktivním plynem, nebo srážkami iontů s nereaktivním plynem v kombinaci s diskriminací kinetické energie.

Metoda ICP-MS se rutinně využívá napříč celým spektrem prvkové analýzy, počínaje rozbory vod, přes metalurgii, geologii, v různých odvětvích průmyslu, například v potravinářském, chemickém a jaderném průmyslu, pro analýzu vzorků životního prostředí a v medicíně. Kromě stanovení celkového obsahu kovů se tato metoda využívá také jako citlivý a selektivní detektor při speciální analýze, kde je hmotnostní spektrometr ICP-MS on-line propojen s kapalinovou chromatografií. Ve spojení s laserovou ablací pak může ICP-MS sloužit i k vysoce citlivé analýze povrchů [22,23].

2.4. Princip metody

ICP-MS je analytická technika, která kombinuje indukčně vázané plazma jako zdroj kladně nabitých iontů a hmotnostní spektrometrii pro separaci a detekci iontů. Klíčové komponenty přístroje zahrnují plazmový hořák, mlžnou komoru a hmotnostní spektrometr, jenž se skládá z iontové optiky, hmotnostního analyzátoru a detektoru. Pro zajištění správné funkce je celý systém udržován ve vakuu pomocí výkonných čerpadel, což umožňuje efektivní přenos iontů z plazmatu do analyzátoru a minimalizuje rušivé vlivy částic ve vzduchu [24].

Princip metody ICP-MS spočívá v atomizaci a ionizaci prvků obsažených ve vzorku pomocí argonového plazmatu. Vzorek je kontinuálně přiváděn ve formě aerosolu, přičemž vzniká stabilní proud iontů M^+ jednotlivých nuklidů. Tyto ionty vstupují do hmotnostního spektrometru, kde jsou separovány nebo postupně propouštěny podle hodnoty poměru hmotnosti a náboje (m/z) a následně detekovány. Intenzita signálu iontu příslušného nuklidu je přímo úměrná koncentraci daného prvku ve vzorku.

Během konvenční analýzy vzorků rozpuštěných v kapalném médiu je signál konkrétního iontu měřen opakovaně, obvykle v desítkách cyklů. Doba měření jednotlivého nuklidu (dwell time) se pohybuje v rozmezí desítek až stovek milisekund, přičemž celková integrační doba na jeden nuklid je typicky několik sekund. Taková frekvence měření umožňuje získat průměrné hodnoty intenzit signálů analyzovaných prvků a referenčních nuklidů, které slouží k opravám nespektrálních interferencí při kvantifikaci. Stabilita signálu je zajištěna homogenitou rozprašovaného vzorku, což vede k rovnoměrné tvorbě aerosolu. Výsledkem je konzistentní produkce iontů v plazmatu, které jsou následně analyzovány a detekovány [25].

2.4.1. Princip metody spICP-MS

Technika analýzy jednotlivých částic hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (spICP-MS) se začala rozvíjet na počátku 21. století, kdy byla poprvé využita pro charakterizaci koloidních systémů. Metoda spICP-MS využívá výhod zavedené prvkové techniky ICP-MS, ale měření provádí po jednotlivých částicích. Tato metoda umožňuje získat informace o počtu nanočástic určitého prvku a o hmotnostní a velikostní distribuci. Nanomateriály na bázi uhlíku jsou vyloučeny, protože mají příliš nízkou citlivost v ICP-MS. Pro správnou analýzu musí být vzorek ve formě dostatečně zředěné disperze, ve které jsou sledované nanočástice rovnoměrně rozptýleny ve vodném prostředí.

Na rozdíl od konvenční analýzy roztoků se v spICP-MS využívá extrémně rychlé snímání intenzity signálu s měřicí dobou v řádu milisekund nebo i kratší. Pro zajištění přesnosti měření se obvykle volí měřicí perioda kolem 0,1 ms. Analýza se zpravidla zaměřuje na jediný nuklid prvku odpovídající materiálu zkoumaných částic. Celková doba měření se pohybuje v rozmezí několika minut, což umožňuje získat časový záznam intenzity signálu s vysokým časovým rozlišením. Pokud je disperze nanočástic dostatečně zředěná, v časovém záznamu se objevují části s nulovou nebo téměř nulovou intenzitou signálu, mezi nimiž lze identifikovat píky odpovídající jednotlivým nanočásticím.

Jednotlivé nanočástice generují diskrétní pulzy iontů s odpovídajícím poměrem hmotnosti a náboje (m/z) s dobou trvání v řádu několika set mikrosekund a odezvou nad kontinuálním pozadím. Po kalibraci systému je odezva úměrná hmotnosti nanočástic. Velikost nanočástic lze vypočítat z jejich hmotnosti, pokud se předpokládá hustota specifická pro daný prvek a kulová geometrie částic. Frekvenci detekovaných signálových pulzů lze vztáhnout ke koncentraci počtu částic (PNC) v suspenzi. Celkově spICP-MS umožňuje během několika minut měření získat průměrnou velikost, distribuci velikosti a PNC ve vzorku.

I když je metoda spICP-MS relativně nová vznikající metodika, její současné aplikace zahrnují různé oblasti: detekci a kvantifikaci nanočástic v koncentracích relevantních pro životní prostředí, stanovení velikosti a distribuce velikosti nanomateriálů, studium stability nanočástic, migraci a rozpouštění nanočástic v maticích [4, 25, 26].

3. Experimentální část

3.1. Seznam použitých chemikálií

- Kyselina dusičná Analpure 68% (Analytika, ČR)
- Dvakrát deionizovaná voda o měrném odporu 18,2 MΩcm vyrobená zařízením MilliporePLUS (Millipore, USA)
- Směsný kalibrační standard AMN 010 (Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr, Ti, Te, V, Zn; 100 mg/l Analytika, ČR)
- Kalibrační standard pro Au (1000 mg/l, Analytika ČR)
- Standard nanočástic zlata, 60 nm (nanoComposix, Inc, USA)
- Argon čistoty 99,9990 % (SIAD, ČR)
- Helium čistoty 99,99990 % (SIAD, ČR)
- Kyselina chlorovodíková 37% (Analytika, ČR)
- Kyselina fluorovodíková 48% (Sigma-Aldrich, USA)
- Kyselina boritá (Lach-Ner, ČR)
- Methanol (VWR, USA)
- n-Hexan 99% p.a. (Penta, ČR)
- Oxid titaničitý, anatas, 99,8% (Sigma-Aldrich, USA)
- Oxid titaničitý, nano ~21 nm, trace metal basis (Sigma-Aldrich, USA)
- Triton X-100 (Millipore, USA)

3.2. Instrumentace

- ICP-MS Agilent 7900 (Agilent, USA) s kvadrupólovým analyzátozem
- Mikrovlnný rozkladný systém Speedwave XPERT (Berghof, Německo)
- Ultrazvuková lázeň Elmasonic (Elma Schmidbauer GmbH, Německo)
- Analytické váhy Sartorius RC210D (Sartorius, Německo)

3.3. Příprava roztoků

3.3.1. Mikrovlnný rozklad vzorků

Vzorky opalovacího krému byly naváženy na analytických vahách v duplikátech do teflonových mističek. Požadovaná hmotnost pro analýzu byla méně než 0,2000 g. Rozklad probíhal v sadě pěti vzorků v duplikátech se dvěma blanky. Po navážení byly vzorky přeneseny do rozkladných teflonových patron pomocí pinzety a následně byly ke vzorkům přidány 4 ml 65% HNO₃, 3 ml 37% HCl a 1 ml 40% HF. Jako blanky

sloužila pouze směs kyselin. Následně byl zapnut program pro totální rozklad opalovacích krémů.

Po proběhnutí programu byly patrony vyjmuty z přístroje a otevřeny. Po vychladnutí a vytěkání par oxidů bylo k roztokům v patronách přidáno 8 ml nasyceného roztoku H_3BO_3 , aby došlo k neutralizaci přebytečné kyseliny fluorovodíkové. Pro neutralizaci byla použita metoda „Complexation with Boric Acid“. Po ukončení neutralizace byl obsah z patron kvantitativně převeden do 50ml centrifugačních zkumavek a doplněn po rysku dvakrát deionizovanou vodou.

3.3.2. Extrakce dle Kaňa et al

Vzorky opalovacích krémů byly naváženy na analytických vahách v duplikátech do 15ml centrifugačních zkumavek. Pro extrakci byla potřeba navážka o hmotnosti 0,05 g. K navážkám bylo přidáno 5 ml 0,1% methanolu a necháno sonikovat 25 minut. Po sonikaci byly připravené roztoky ještě 100x zředěny dvakrát deionizovanou vodou. Jako blank byl použit roztok 0,1% methanolu. Tento extrakční postup vychází z práce Kaňa et al [28].

3.3.3. Extrakce dle Contado et al

Pro extrakci byl využit upravený postup dle Contado et al [29]. Bylo naváženo 0,05 g opalovacích krémů v duplikátech do 50ml centrifugačních zkumavek. K naváženým opalovacím krémům bylo přidáno 20 ml dvakrát deionizované vody a necháno 25 minut sonifikovat. K sonifikovaným roztokům bylo přidáno 20 ml methanolu a necháno 10 minut sonifikovat. Po sonifikaci bylo k roztokům přidáno 10 ml hexanu a 1 minutu byly roztoky ručně protřepávány a nechány 1 hodinu ustálit, aby došlo k rozdělení fází. Po ustálení byla vodná fáze odsáta pomocí injekční stříkačky do 15ml centrifugační zkumavky. Odebraná vodná fáze byla pro měření 50x zředěna dvakrát deionizovanou vodou. Jako blank byl použit roztok 1 % methanolu.

3.3.4. Extrakce dle Shi et al

Jako poslední extrakční metoda, ze které bylo vycházeno je metoda dle Shi et al [30]. Pro extrakci bylo naváženo 0,05 g opalovacích krémů v duplikátech do 15ml centrifugačních zkumavek, k navážkám bylo přidáno 5 ml 1% Tritonu X-100. Roztok byl 25 minut sonikován. Sonikované roztoky vzorků byly 1000x zředěny

dvakrát deionizovanou vodou na potřebnou koncentraci 0,001% Tritonu X-100; 0,001% Triton X-100 byl použit i jako blank.

3.4. Stanovení celkové koncentrace TiO₂

3.4.1. Měření vzorků pomocí ICP-MS

Měření bylo prováděno pomocí hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem, který byl řízen softwarem MassHunter. Tento program sloužil nejen k ovládání přístroje, ale také k následnému zpracování a vyhodnocení neměřených dat. Před každým měřením byla provedena optimalizace pracovních podmínek přístroje prostřednictvím funkce ladění, která je součástí softwaru. Optimalizace probíhala za použití ladícího roztoku obsahujícího 1 mg/dm³ Li, Y, Tl Co, Mg, Ce a jejím cílem bylo nastavení přístroje na maximální citlivost a optimální rozlišení. Po ladění byl automaticky vygenerován protokol obsahující přehled finálního nastavení přístroje a dosažené hodnoty citlivosti a rozlišení.

Následně byly proměřeny kalibrační roztoky o koncentracích 0, 20, 50, 100, 250 a 500 µg/l titanu, na jejichž základě byly sestrojeny kalibrační závislosti, které popisují vztah mezi intenzitou signálu a koncentrací jednotlivých analytů. Tyto kalibrační křivky byly poté použity pro kvantitativní vyhodnocení koncentrací sledovaných prvků ve vzorcích.

Roztoky připravené mikrovlnným rozkladem byly před měřením v ICP-MS 1000x zředěny 2% kyselinou dusičnou. Celková koncentrace TiO₂ byla nejdříve měřena v no gas módu a poté i v heliovém kolizním módu. Heliový kolizní mód byl použit k redukci případných polyatomických interferencí.

3.4.2. Přepočet výsledků z měření ICP-MS

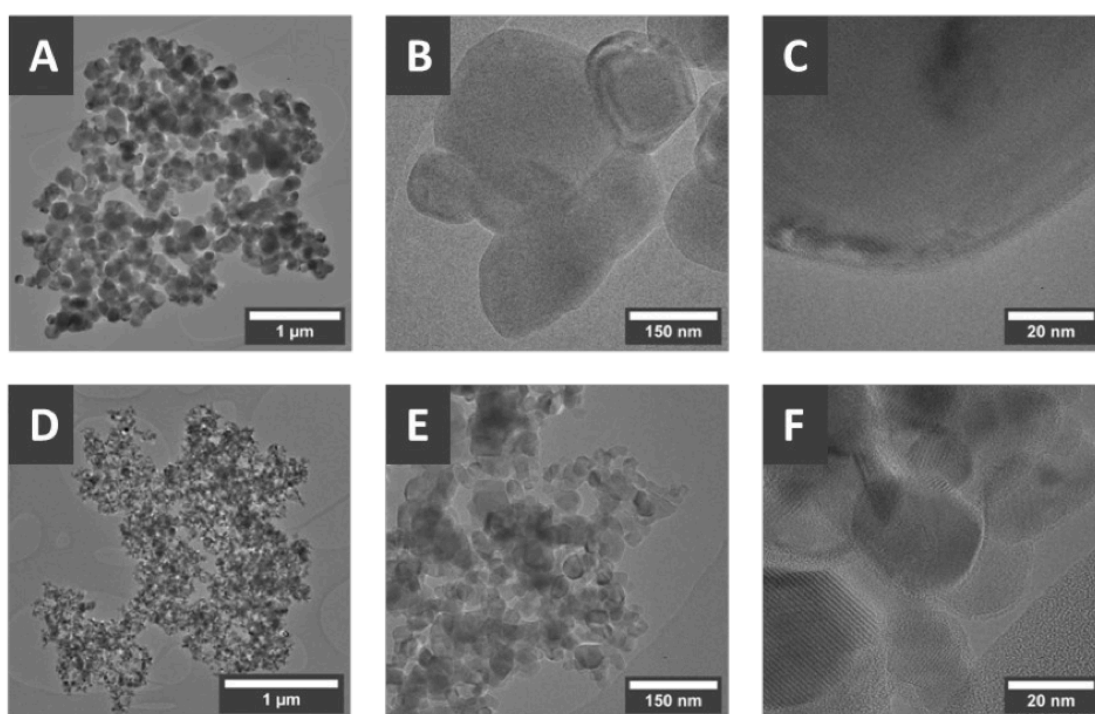
K přepočtu skutečné koncentrace TiO₂ v roztoku vzorku byl nejdříve od naměřené koncentrace odečtena hodnota rozkladného blanku, koncentrace vynásobena ředěním, dále přepočtena na hmotnost prvku rozpuštěného v 50 ml vzorku. Vypočtený obsah byl ve vzorku přepočtený na hmotnost připadající na gram opalovacího krému. To bylo docíleno vydělením vypočtené hmotnosti navázkou vzorku. Tato vypočtená hodnota vypovídá o titanu jako kovu ne jako oxidu. Pro zjištění koncentrace oxidu byla hodnota vypovídající o samotném Ti vynásobena poměrem

relativní atomové hmotnosti titanu a relativní molekulové hmotnosti oxidu titaničitého. Vycházím z předpokladu, že ve vzorku se nenacházel Ti v jiné formě než TiO_2 .

3.5. Stanovení koncentrace a velikosti nanočástic v opalovacích krémech

3.5.1. Optimalizace podmínek

Pro optimalizaci podmínek měření v nanočásticovém módu ICP-MS byly připraveny roztoky nanočástic oxidu titaničitého o deklarované velikosti 20 nm a dále částice s odhadovanou velikostí 200 nm. Tato větší velikost byla určena na základě analýzy obrazového záznamu z transmisní elektronové mikroskopie (TEM), který je uveden na Obrázku 2. Uvedený mikroskopický snímek pochází z diplomové práce Bc. Natálie Remperové a sloužil jako podklad pro odhad rozměrů těchto částic.



Obrázek 2 TEM snímky: TiO_2 anatas o střední velikosti částic přibližně 200 nm (A–C) a nanočástice TiO_2 o velikosti přibližně 20 nm (D–F) [27]

Pro přípravu roztoků určených k optimalizaci měřících podmínek v nanočásticovém módu bylo naváženo 0,1700 g oxidu titaničitého o velikosti 20 nm a 0,7479 g oxidu titaničitého o velikosti částic 200 nm. Obě navážky byly kvantitativně přeneseny do plastových nádobek kalibrovaných na 100 ml a doplněny po rysku dvakrát deionizovanou vodou. Takto připravené suspenze měly koncentrace částic $1 \cdot 10^{16}$ částic/l pro 20 nm částice a $1 \cdot 10^{14}$ částic/l pro 200 nm částice. Pro měření

v režimu spICP-MS bylo nutné tyto koncentrace zředit dvakrát deionizovanou vodou na $1 \cdot 10^9$ částic/l pro 20 nm částice a na $2,5 \cdot 10^9$ částic/l pro 200 nm částice.

Déle byly připraveny roztoky iontových standardů, blanku a referenčního materiálu. Jako iontový standard pro titan bylo použito 1 mg/l směsného standardu pro titan v 5% kyselině dusičné, jako iontový standard pro referenční materiál 1 mg/l zlata v 5% kyselině chlorovodíkové a jako referenční materiál byl připraven roztok nanočástic zlata o velikosti 60 nm s koncentrací částic $9,2 \cdot 10^6$ částic/l.

3.5.2. Lineární dynamický rozsah spICP-MS

Pro nalezení rozsahu lineární kalibrační závislosti měření koncentrace částic byly připraveny roztoky TiO_2 o koncentracích částic PNC: $7,5 \cdot 10^6$, $1 \cdot 10^7$, $5 \cdot 10^7$, $1 \cdot 10^8$, $1 \cdot 10^9$ a $1 \cdot 10^{10}$ částic/l, kdy pomocí spICP-MS se hledal lineární rozsah závislosti odezvy přístroje ku připravené koncentraci. Pro přípravu roztoků byla použita disperze nanočástic TiO_2 o velikosti přibližně 200 nm připravené v předešlém kroku. Jako standardy a referenční materiál byly použity stejné roztoky jako v předešlém kroku. Jako vhodný rozsah koncentrací pro další měření byl vybrán rozsah: $5 \cdot 10^7$ - $1 \cdot 10^9$ částic/l.

3.5.3. Měření koncentrace a velikosti nanočástic

Pro měření koncentrace a velikosti nanočástic v opalovacích krémech byl použit heliový mód s průtokem 1 ml/min helia. Nanočástice byly detekovány prostřednictvím sledování ^{48}Ti , protože je zastoupen ze 74 % a tudíž poskytne větší citlivost než ^{47}Ti se zastoupením 7 %. Pro kalibraci měření byly využity roztoky iontových standardů zlata a titanu o koncentraci 1mg/l a referenční materiál zlata o velikosti 60 nm a PNC $9,2 \cdot 10^6$ částic/l.

Roztoky potřebné pro měření byly připraveny ve stejné matici jako roztoky připravené extrakcí, aby došlo k eliminaci případných vlivů matrice. Tudíž pro měření roztoků extrahovaných v 0,1% methanolu byly roztoky iontových standardů a referenční materiál připraveny v 0,1% methanolu. Pro měření vzorků připravených reextrakcí v hexanu byly roztoky připraveny v 1% methanolu a pro měření vzorků extrahovaných v Tritonu X-100 byly roztoky iontových standardů a referenčního materiálu připraveny ve dvakrát deionizované vodě, díky možné reakci iontových forem s Tritonem X-100.

3.5.4. Přepočet výsledků měření v nanočásticovém modu

I v blanku bylo možné identifikovat nízkou koncentraci částic TiO₂. mohlo se jednat, jak o kontaminaci TiO₂ tak i o přetrvávající polyatomickou interferenci. Proto byl v každé sérii experimentů měřen i blank odpovídající složením extrakčního činidla a získaná PNC byla od vzorků odečítána. Pro přepočet výsledků obsahu TiO₂ v opalovacích krémech byla od změřené koncentrace částic odečtena hodnota blanku. Následně byl výsledek vynásoben ředěním pro jednotlivé způsoby extrakce, kdy tato hodnota byla vynásobena střední hmotností jedné částice za předpokladu, že šlo o kulové částice. Nakonec byl získaný výsledek vynásoben navázkou a vydělen objemem roztoku. Tím byla získána přibližná koncentrace TiO₂ pro porovnání s úplným rozkladem.

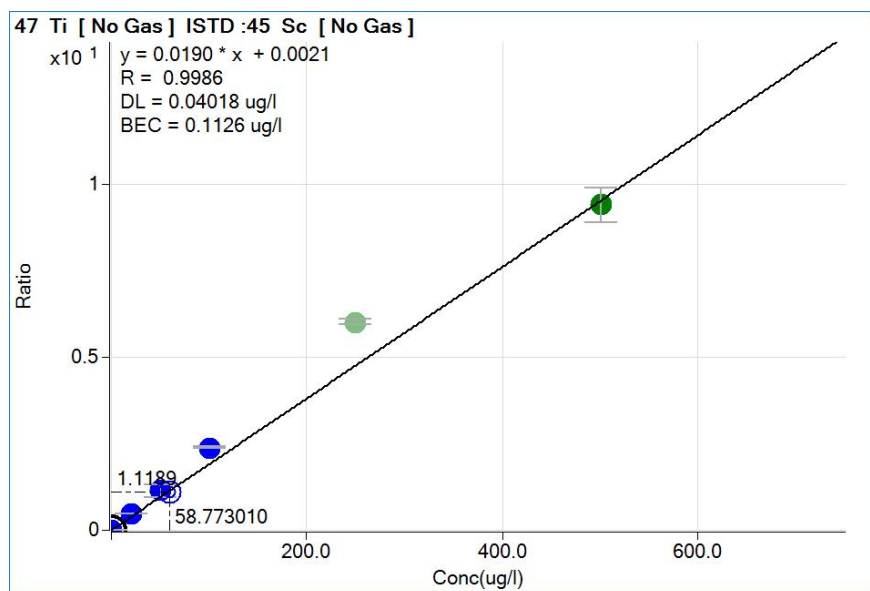
4. Výsledky a diskuse

Pro stanovení oxidu titaničitého v opalovacích krémech bylo použito 5 komerčně dostupných opalovacích krémů od značek: Uriage, Nivea, Sebamed, Ladival a Garnier. Všechny opalovací krémy dle složení obsahovali TiO_2 ve formě nanočástic a jednalo se o krémy s vysokým SPF (30-50). Vzorky byly měřeny v duplikátech.

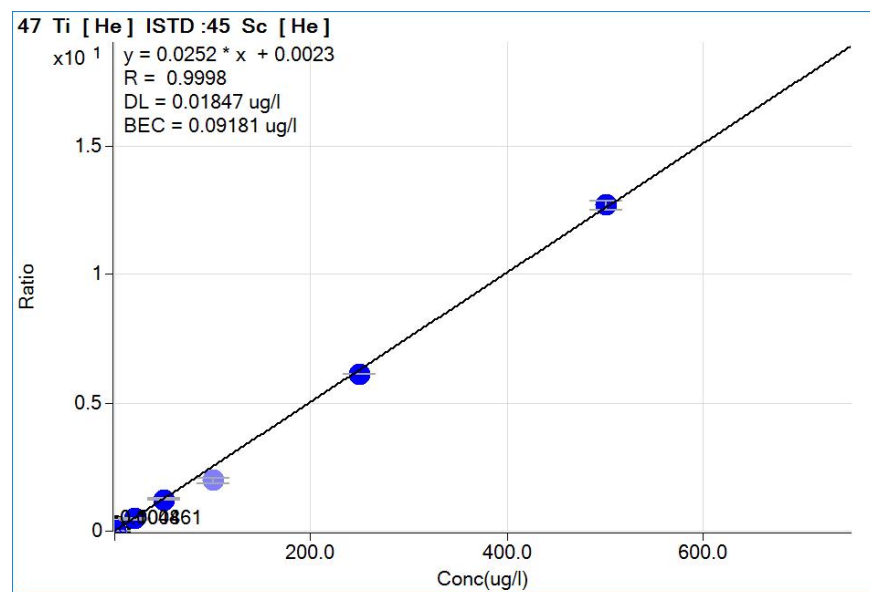
4.1. Celková koncentrace TiO_2 v opalovacích krémech

Vzorky opalovacích krémů byly rozloženy pomocí mikrovlnného zařízení ve směsi minerálních kyselin. Po dokončení mineralizace byla ke vzorkům přidána kyselina boritá, která sloužila k neutralizaci přebytečné kyseliny fluorovodíkové a současně zajišťovala komplexaci interferujících iontů. Výsledkem byl roztok Ti^{+III} a Ti^{+IV} iontů, zbavený organických složek, které by mohly způsobovat zanášení systému ICP-MS nebo nepřesnosti při měření. Z důvodu vysoké koncentrace iontů, která by rovněž mohla negativně ovlivnit stabilitu signálu a přesnost analýzy, bylo nutné vzorky před měřením vhodně naředit.

Na základě měření kalibračních roztoků titanu byla sestavena kalibrační závislost intenzity signálu izotopu ^{47}Ti na jeho koncentraci, korigovaná na odezvu interního standardu ^{45}Sc . Kalibrační křivky byly vytvořeny jak pro režim „no gas“, tak pro heliový kolizní mód (viz Graf 1 a Graf 2). Použití korekce na interní standard zajišťovalo eliminaci případných vlivů nestability plazmatu nebo kolísání vstříkovaného objemu. Obě kalibrační závislosti vykazovaly linearitu v celém rozsahu měřených koncentrací, přičemž při použití heliového módu byla dosažena nižší hodnota tzv. background equivalent concentration (BEC), což ukazuje na efektivnější potlačení šumu a interferencí v tomto režimu.



Graf 1 Kalibrační závislost odezvy signálu na koncentraci ⁴⁷Ti v „no gas“ módu



Graf 2 Kalibrační závislost odezvy signálu na koncentraci ⁴⁷Ti v heliovém módu

Vzorky byly nejprve měřeny v režimu „no gas“ a následně v heliovém kolizním módu. Většina vzorků vykazovala vyšší hodnoty koncentrací v režimu „no gas“ (viz Tabulka 1 a Tabulka 2), což je dáno vyšší citlivostí měření v tomto režimu. Helium v kolizní módu sice účinně redukuje polyatomické interference, avšak dochází tím ke

snížení absolutní odezvy a tedy i citlivosti. Rozdíly byly v řádu jednotek mg/g vzorku a tedy zanedbatelné a přihlídnutím, že vzorky nemusí být dokonale homogenní. Výjimku tvořil vzorek opalovacího krému značky Sebamed, u kterého byla naměřena vyšší koncentrace v heliovém módu. Jelikož byl vzorek výrazně mastnější než ostatní, to znamená, že obsahoval více olejů. Vliv tzv. uhlíkové interference, tj: zvýšení citlivosti detekce analytu v důsledku ionizace interakcí s C⁺ byl minimalizován použitím interního standardu v obou módech a ani by nebyl, vzhledem k nízkému prvnímu ionizačnímu potenciálu Ti, očekáván. Není zřejmé, proč by vzorek měl vykazovat jinou úroveň polyatomických interferencí. Za důvěryhodnější považují výsledky z He módu.

Tabulka 1 Naměřené koncentrace Ti ve vzorcích v "no gas" a heliovém módu

	Ti (no gas)		Ti (He mode)	
	Průměrný obsah ve vzorku [mg/g]	Kombinovaná směrodatná odchylka [mg/g]	Průměrný obsah ve vzorku [mg/g]	Kombinovaná směrodatná odchylka [mg/g]
Ladival	14,06	1,01	11,50	0,42
Sebamed	23,21	6,33	27,25	1,40
Nivea	18,61	0,93	15,68	0,67
Uriage	103,17	4,93	84,39	1,08
Garnier	11,95	0,74	8,70	0,68

Tabulka 2 Přepočítané hodnoty koncentrací TiO₂ v opalovacích krémech

	TiO ₂ (no gas)		TiO ₂ (He mode)	
	Průměrný obsah ve vzorku [mg/g]	Kombinovaná směrodatná odchylka [mg/g]	Průměrný obsah ve vzorku [mg/g]	Kombinovaná směrodatná odchylka [mg/g]
Ladival	23,47	1,68	19,19	0,69
Sebamed	38,73	10,56	45,49	2,34
Nivea	31,05	1,55	26,17	1,12
Uriage	172,18	8,24	140,85	1,81
Garnier	19,94	1,24	14,51	1,13

Z přehledu výsledků vyplývá, že nejvyšší obsah oxidu titaničitého byl zjištěn u vzorku opalovacího krému značky Uriage, a to 172,18 mg/g v režimu „no gas“ a 140,85 mg/g v heliovém módu. Tyto hodnoty představují nejvyšší zjištěné koncentrace v rámci analyzovaných vzorků, ani jedna z nich nepřesahuje maximální povolený limit stanovený nařízením (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích, ve znění nařízení (EU) 2024/996 ze dne 4. dubna 2024, které povoluje maximální koncentraci oxidu titaničitého v opalovacích krémech ve výši 25 % (tj. 250 mg/g). Výsledky tedy potvrzují, že žádný

z analyzovaných produktů neporušuje legislativní limity pro obsah TiO₂ v kosmetických přípravcích

4.2. Optimalizace podmínek pro měření v nanočásticovém módu

Měření v nanočásticovém módu bylo optimalizováno pomocí měření standardu částic oxidu titaničitého o známé velikosti, která byla odhadnuta na 200 nm na základě obrázku z transmisního elektronového mikroskopu (viz. Obrázek 2). Nanočástice o velikosti 20 nm nebyly detekovatelné s potřebnou mírou přesnosti pomocí spICP-MS, a proto nebylo možné jejich použití. K optimalizaci průtoku helia byla využita suspenze obsahující 200 nm částice o koncentraci $2,5 \cdot 10^9$ částic/l, přičemž byly testovány průtoky 0; 0,5; 1 a 2 ml/min.

Při nárůstu průtoku helia bylo pozorováno postupné snižování detekované koncentrace částic a zároveň nárůst jejich naměřené velikosti (viz Tabulka 3). Například při průtoku 0 ml/min byla detekována nejvyšší koncentrace odpovídající očekávané, ale velikost částic byla nižší. Naopak při průtoku 2 ml/min byla velikost částic vyšší, zatímco detekovaná koncentrace klesla. Nejvhodnějším kompromisem mezi stabilitou koncentrace a přesností velikosti se ukázal být průtok helia 1 ml/min, protože lze předpokládat, že při nižším průtoku helia jsou výsledky ovlivněny polyatomickou interferencí. Tento průtok byl proto zvolen pro následná měření.

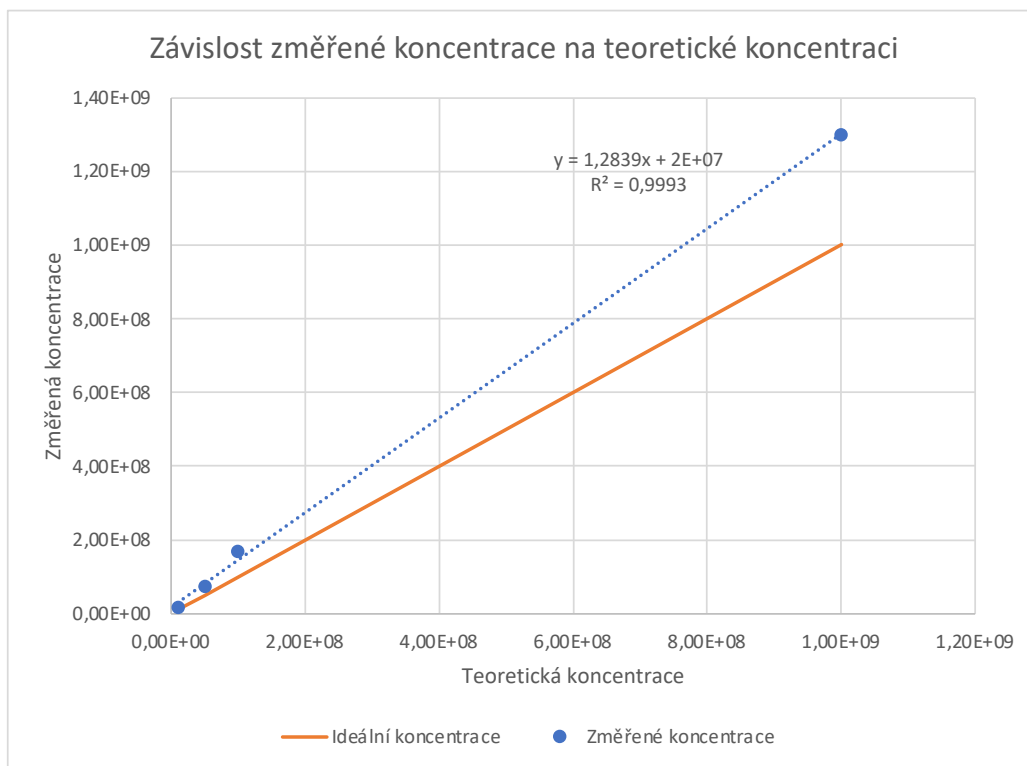
Tabulka 3 Přehled změny koncentrace částic a jejich velikosti při nárůstu průtoku helia

Průtok He [ml/min]	Koncentrace částic ($\cdot 10^9$)[částice/l]	Velikost [nm]
0,0	240	181
0,5	200	186
1,0	200	199
2,0	180	214

4.3. Stanovení koncentrace a velikosti částic TiO₂ v opalovacích krémech v nanočásticovém módu

Pro stanovení koncentrace a velikosti byl nejprve určen optimální rozsah měření koncentrací, kdy byly změřeny koncentrace částic o velikosti 200 nm při hodnotách $1 \cdot 10^7$, $5 \cdot 10^7$, $1 \cdot 10^8$ a $1 \cdot 10^9$ částic/l. Na základě těchto měření byl určen vhodný rozsah koncentrací a mez kvantifikace (LOQ). Naměřené koncentrace částic se lišily od očekávaných koncentrací o 1,2x, jak je znázorněno v Grafu 3. Mez kvantifikace byla

stanovena na $7,5 \cdot 10^6$ částic/l a za horní okraj linearity lze považovat koncentraci $1,0 \cdot 10^9$ částic/l.



Graf 3 Porovnání změřené koncentrace s ideální koncentrací

Pro stanovení nanočástic v opalovacích krémech byly testovány tři různé metody extrakce a následně srovnány mezi sebou a s referenční metodou mikrovlnného rozkladu.

První metodou byla extrakce pomocí 0,1% roztoku methanolu dle Kaňa et al [28]. Touto metodou bylo možné zpracovat všechny vzorky s výjimkou vzorku značky Uriage, který zůstal nerozpustný a s vodou nemísitelný. Tento výsledek naznačuje, že složení krému Uriage je výrazně odlišné, pravděpodobně hydrofobní. Druhá testovaná metoda, převzatá dle Contado et al [29], zahrnovala extrakci ve vodě a 1% methanolu, následnou reextrakcí v hexanu. Tato metoda umožnila úspěšné zpracování všech vzorků včetně Uriage, což poukazuje na její vyšší univerzálnost a schopnost uvolnit TiO_2 i z komplikovanějších matic obsahujících s vodou nemísitelné složky. Třetí metodou byla extrakce za použití 1% roztoku neiontového tenzidu Triton X-100 dle Shi et al [30]. Všechny výsledky byly opět

možné zpracovat kromě Uriage. To potvrzuje, že i tato metoda má omezenou účinnost u vysoce hydrofobních látek.

Naměřené koncentrace částic TiO₂ byly výrazně odlišné v závislosti na použité metodě (viz. Tabulka 4). Nejnížší hodnoty pro jednotlivé vzorky byly obecně zaznamenány při extrakcích pomocí 0,1% methanolu. Metoda Contado poskytla o něco vyšší hodnoty, přičemž Triton X-100 vykazoval nejvyšší účinnost extrakce u většiny vzorků, a to především u značek Ladival, Garnier a Nivea.

Tabulka 4 Přehled změřených koncentrací částic získaných různými extrakčními postupy

	koncentrace částic ($\cdot 10^9$) [částice/l]		
	Kaňa	Contado	Shi
Ladival	1,51	2,25	2,82
Sebamed	2,92	2,60	3,15
Garnier	5,07	4,55	5,80
Nivea	3,12	2,20	2,20
Uriage	-	2,90	-

Referenční metodou byl mikrovlnný rozklad, který poskytl výrazně vyšší hodnoty koncentrací TiO₂ ve všech vzorcích (viz Tabulka 5). To naznačuje, že běžné extrakční metody uvolňují pouze volně vázané a snadno extrahované nanočástice, zatímco významná část oxidu titaničitého zůstává pevně vázaná v matrici krému a je dostupná až po úplném rozkladu.

Tabulka 5 Přehled naměřených obsahů TiO₂ získaných různými extrakčními postupy

	Kaňa	Contado	Shi	mikrovlnný rozklad
	průměrný obsah TiO ₂ ve vzorku [mg/g]	průměrný obsah TiO ₂ ve vzorku [mg/g]	průměrný obsah TiO ₂ ve vzorku [mg/g]	průměrný obsah TiO ₂ ve vzorku (He mode) [mg/g]
Ladival	$4,50 \cdot 10^{-4}$	$4,00 \cdot 10^{-4}$	$7,62 \cdot 10^{-3}$	19,19
Sebamed	$1,02 \cdot 10^{-2}$	$1,58 \cdot 10^{-2}$	$2,03 \cdot 10^{-3}$	45,49
Garnier	$9,05 \cdot 10^{-4}$	$1,70 \cdot 10^{-3}$	$2,36 \cdot 10^{-3}$	14,51
Nivea	$8,47 \cdot 10^{-4}$	$2,51 \cdot 10^{-3}$	$5,43 \cdot 10^{-3}$	26,17
Uriage	-	$1,24 \cdot 10^{-3}$	-	140,85

Kromě obsahu oxidu titaničitého byla u jednotlivých extraktů určena i velikost částic (v nanometrech). V Tabulce 6 jsou uvedeny mediány velikostí částic získané pomocí jednotlivých extrakčních metod. Z výsledků vyplývá, že velikost částic závisí na použité metodě extrakce. Nejmenší částice byly obecně detekovány v extraktech dle Contado, což může být způsobeno kombinací vodního prostředí a reextrakce v hexanu, která může extrahovat menší částice z matice. Největší částice byly naopak zaznamenány v metodě Kaňa, zejména u vzorku Sebamed, což může být způsobeno aglomerací během extrakce nebo přítomností větších agregátů.

Tabulka 6 Medián velikostí částic jednotlivých vzorků získaných různými extrakcemi

	Velikost částic [nm]		
	Kaňa	Contado	Shi
Ladival	231,0	117,5	230,5
Sebamed	538,0	379,5	309,0
Garnier	200,5	150,0	122,5
Nivea	238,0	217,5	224,0
Uriage	-	154,0	-

Je důležité poznamenat, že za nanočástice jsou dle definice považovány pouze částice, které mají alespoň jeden rozměr v intervalu 1-100 nm. Vzhledem k tomu, že všechny hodnoty mediánu velikostí částic překračují tuto hranici, nelze na základě těchto dat jednoznačně potvrdit přítomnost nanočástic ve smyslu této definice. Je však možné, že nanočástice v extraktech přítomny jsou, ale tvoří větší agregáty, čímž se jejich efektivní velikost posouvá mimo nano rozsah. Druhou možností je, že jsou v krémech použity částice o větších rozměrech a výrobci kosmetiky se jejich označením jako nanočástic jistí pro případ zpřísnování a vymáhání evropské legislativy. Pro přesnější posouzení by bylo vhodné provést detailnější analýzu distribuce velikostí (např. pomocí dynamického rozptylu světla nebo transmisního elektronového mikroskopu).

5. Závěr

V rámci této práce byly analyzovány koncentrace a velikosti částic TiO_2 v pěti komerčně dostupných opalovacích krémech s cílem ověřit přítomnost nanočástic TiO_2 a porovnat různé přístupy jejich stanovení. Pro celkovou kvantifikaci TiO_2 byla využita metoda mikrovlnného rozkladu v kombinaci s ICP-MS, která poskytla celkový obsah oxidu titaničitého ve vzorku včetně pevně vázaných nebo jinak nedostupných forem.

Pro stanovení nanočástic byla testována tři různá extrakční média (methanol, směs methanol/hexan a Triton X-100), přičemž nejúčinnější metodou se ukázala být extrakce dle Contado, při které byla využita směs methanol/hexan, schopná zpracovat i hydrofobní vzorek Uriage. Výsledky ukázaly výrazné rozdíly v extrahovaném množství TiO_2 mezi jednotlivými metodami, přičemž běžné extrakce byly schopné uvolnit pouze malou část celkového oxidu titaničitého, což poukazuje na pevné vázání částic v matrici krémů.

Analýza velikostí částic odhalila, že mediány změřených velikostí u všech vzorků převyšují hranici 100 nm, což formálně vylučuje jednoznačnou identifikaci nanočástic dle definice (alespoň jeden rozměr mezi 1-100 nm). Je však pravděpodobné, že nanočástice jsou ve vzorcích přítomny, avšak ve formě agregátů, které zvyšují jejich efektivní velikost. Pro přesnější ověření by bylo vhodné doplnit analýzu o techniky jako je dynamický rozptyl světla nebo transmisní elektronová mikroskopie, které umožňují lepší charakterizaci distribuce velikostí částic.

Celkově lze uzavřít, že výskyt TiO_2 v analyzovaných opalovacích krémech neporušuje legislativní limity. Použitá metoda spICP-MS je efektivním nástrojem pro screening přítomnosti a odhad částicové koncentrace a rozměrů částic TiO_2 v opalovacích krémech, ale je nutno dotáhnout postup extrakce tak, aby se zvýšila jeho účinnost a závěry nebyly vyvozovány z malé frakce vzorků.

6. Zdroje

- [1] ISO 80004-1:2023. *Nanotechnologies – Vocabulary – Part 1: Core vocabulary*, Geneva: International Organization for Standardization. Dostupné z: <https://www.iso.org/standard/79525.html>
- [2] DOHNALOVÁ, L., DOHNAL, V. Nanočástice a jejich toxicita. *Chemické listy*. 2015, **109**, 444-450. ISSN 0009-2770. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/360>
- [3] KHAN, I., SAEED, K., KHAN, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*. 2019, **12**, 908-931. ISSN 1878-5352. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- [4] MOZHAYEVA, D., ENGELHARD, C. A critical review of single particle inductively coupled plasma mass spectrometry – a step towards an ideal method for nanomaterial characterization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2020, **35**, 1740–1783. ISSN 1364-5544. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c9ja00206e>
- [5] LABORDA, F., JIMÉNEZ-LAMANA, J., BOLEA, E., CASTILLO, J. R. Critical considerations for the determination of nanoparticle number concentrations, size and number size distributions by single particle ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2013, **28**, 1220–1232. ISSN 1364-5544. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C3JA50100K>
- [6] JOUDEH, N., LINKE, D. Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*. 2022, **20**, 262. ISSN 1477-3155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01477-8>
- [7] ALSHAMMARI, B. H., LASHIN, M. M. A., MAHMOOD, M. A., AL-MUBADDEL, F. S., ILYAS, N., RAHMAN, N., SOHAIL, M., KHAN, A., ABDULLAEV, S. S., KHAN, R. Organic and inorganic nanomaterials: fabrication, properties and applications. *RSC Advances*. 2023, **13**, 13735–13785. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/D3RA01421E>
- [8] Haggerty, J. E. S., Schelhas, L. T., Kitchaev, D. A. a kol. High-fraction brookite films from amorphous precursors. *Scientific Reports*. 2017, **7**, 15232. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15364-y>
- [9] WU, Xiaoping. Applications of Titanium Dioxide Materials. In: *Titanium Dioxide – Advances and Applications*. London: IntechOpen, 2022. ISBN 978-1-83969-476-9. Dostupné z: <https://doi.org/10.5772/intechopen.99255>
- [10] HAIDER, A. J., JAMEEL, Z. N., AL-HUSSAINI, I. H. M. Review on: Titanium Dioxide Applications. *Energy Procedia*. 2019, **157**, 17–29. ISSN 1876-6102. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.11.159>

[11] WEIR, A., WESTERHOFF, P., FABRICIUS, L., HRISTOVSKI, K., VON GOETZ, N. Titanium Dioxide Nanoparticles in Food and Personal Care Products. *Environmental Science & Technology*. 2012, **46**, 2242–2250. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/es204168d>

[12] GHAMARPOOR, R., FALLAH, A., JAMSHIDI, M. Investigating the use of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on the amount of protection against UV irradiation. *Scientific Reports*. 2023, **13**, 9793. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37057-5>

[13] AYORINDE, T., SAYES, C. M. An updated review of industrially relevant titanium dioxide and its environmental health effects. *Journal of Hazardous Materials Letters*. 2023, **4**, 100085. ISSN 2666-9110. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.hazl.2023.100085>

[14] KORÁBKOVÁ, E., KAŠPÁRKOVÁ, V., JASENSKÁ, D., MORICOVÁ, D., DAĐOVÁ, E., TRUONG, T. H., CAPÁKOVÁ, Z., VÍCHA, J., PELKOVÁ, J., HUMPOLÍČEK, P. Behaviour of Titanium Dioxide Particles in Artificial Body Fluids and Human Blood Plasma. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**, 10614. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms221910614>

[15] MANZOOR, Q., SAJID, A., ALI, Z., NAZIR, A., SAJID, A., IMTIAZ, F., IQBAL, S., YOUNAS, U., ARIF, H., IQBAL, M. Toxicity spectrum and detrimental effects of titanium dioxide nanoparticles as an emerging pollutant: A review. *Desalination and Water Treatment*. 2024, **317**, 100025. ISSN 1944-3986. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100025>

[16] WAGHMODE, M. S., GUNJAL, A. B., MULLA, J. A., et al. Studies on the titanium dioxide nanoparticles: biosynthesis, applications and remediation. *SN Applied Sciences*. 2019, **1**, 310. ISSN 2523-3963. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0337-3>

[17] VIJAYARAJ, V., LINÉ, C., CADARSI, S., SALVAGNAC, C., BAQUÉ, D., ELGER, A., BARRET, M., MOUCHET, F., LARUE, C. Transfer and Ecotoxicity of Titanium Dioxide Nanoparticles in Terrestrial and Aquatic Ecosystems: A Microcosm Study. *Environmental Science & Technology*. 2018, **52**, 12757–12764. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02970>

[18] SABZEVARI, N., QIBLAWI, S., NORTON, S. A., FIVENSON, D. Sunscreens: UV filters to protect us: Part 1: Changing regulations and choices for optimal sun protection. *International Journal of Women's Dermatology*. 2020, **6**, 197–202. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2020.05.017>

[19] U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. *Ultraviolet (UV) Radiation and Sun Exposure*. [online] Washington, D.C.: U.S. Environmental

Protection Agency, 2022. Dostupné z: <https://www.epa.gov/radtown/ultraviolet-uv-radiation-and-sun-exposure> [citováno 2025-03-12]

[20] SMIJS, T.; PAVEL, S. Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnology Science and Applications*. 2011, **4**, 95–112. ISSN 1178-9401. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/NSA.S19419>

[21] EVROPSKÁ UNIE. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. *Úřední věstník Evropské unie*. 2009, **L 342**, s. 59–209. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32009R1223> [citováno 2025-03-26].

[22] SUÁREZ-OUBIÑA, C., HERBELLO-HERMELO, P., BERMEJO-BARRERA, P., MOREDA-PIÑEIRO, A. Exploiting dynamic reaction cell technology for removal of spectral interferences in the assessment of Ag, Cu, Ti, and Zn by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 2022, **187**, 106330. ISSN 0584-8547. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.sab.2021.106330>

[23] MESTEK, O. *Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem* [online]. Praha: VŠCHT, 2010. Dostupné z: http://old.vscht.cz/anl/josef/LabAtom/Navod_ICP-MS_2010.pdf [citováno 2025-03-25]

[24] MIHALJEVIČ, M., STRNAD, L., ŠEBEK, O. Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii. *Chemické listy*. 2004, **98**, 123-130. Dostupné z: <http://w.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/2151>

[25] REVENCO, D., LOULA, M., MESTEK, O., KOPLÍK, R. Stanovení anorganických nanočástic v biologických materiálech a potravinách analýzou jednotlivých částic hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem. *Chemické listy*. 2019, **113**, 478–484. Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3431>

[26] LABORDA, F., BOLEA, E., JIMÉNEZ-LAMANA, J. Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: A Powerful Tool for Nanoanalysis. *Analytical Chemistry*. 2014, **86**, 2270-2278. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ac402980q>

[27] REMPEROVÁ N., 2023. *Photocatalysed Se Volatile Species Generation*. Diplomová práce. Praha: Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/181117> [citováno 2025-04-25]

[28] KANTOROVÁ, V., LOULA M., KAŇA A. a kol. Determination of silver nanoparticles in cosmetics using single particle ICP-MS. *Chemical Papers*. 2021, **75**, 5895–5905. ISSN 1336-9075. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01763-z>

[29] CONTADO, C., PAGNONI A. TiO₂ in Commercial Sunscreen Lotion: Flow Field-Flow Fractionation and ICP-AES Together for Size Analysis. *Analytical Chemistry*. 2008, **80**, 7594–7608. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ac8012626>

[30] DAN, Y., H. SHI, STEPHAN C., LIANG X. Rapid analysis of titanium dioxide nanoparticles in sunscreens using single particle inductively coupled plasma–mass spectrometry. *Microchemical Journal*. 2015, **122**, 119–126. ISSN 1095-9149. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.04.018>

7. Přílohy práce



Fotografie 1 a 2 Použitá opalovací krémy a jejich složení



Fotografie 3 a 4 Využití opalovací krémy a jejich složení



Fotografie 5 a 6 Využitě opalovací krémy a jejich složení



Fotografie 7 a 8 Využitě opalovací krémy a jejich složení



Fotografie 9 a 10 Využití opalovací krémy a jejich složení