



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
Corso di Laurea : Scienze Ambientali e Protezione Civile

“QUANTIFICATION OF NANOPARTICLES IN FOOD PRODUCTS:
ANALYSIS USING ICP-MS AND RAMAN SPECTROSCOPY”

“DETERMINAZIONE DI NANOPARTICELLE NEI PRODOTTI ALIMENTARI
MEDIANTE TECNICHE ICP-MS E SPETTROSCOPIA RAMAN”

Tesi di Laurea di:
Sesterzi Maria Rachele

Sessione Autunnale
Anno Accademico 2021\2022

Docente referente:
Prof.ssa Annibaldi Anna

RIASSUNTO

Con il termine **nanoparticelle** si identificano normalmente delle particelle formate da aggregati atomici o molecolari con un diametro compreso indicativamente fra 1 e 100 nm.

Per dare un'idea dell'ordine di grandezza, le celle elementari dei cristalli hanno lunghezze dell'ordine di un nanometro;

la doppia elica del DNA ha un diametro di circa 2 nm.

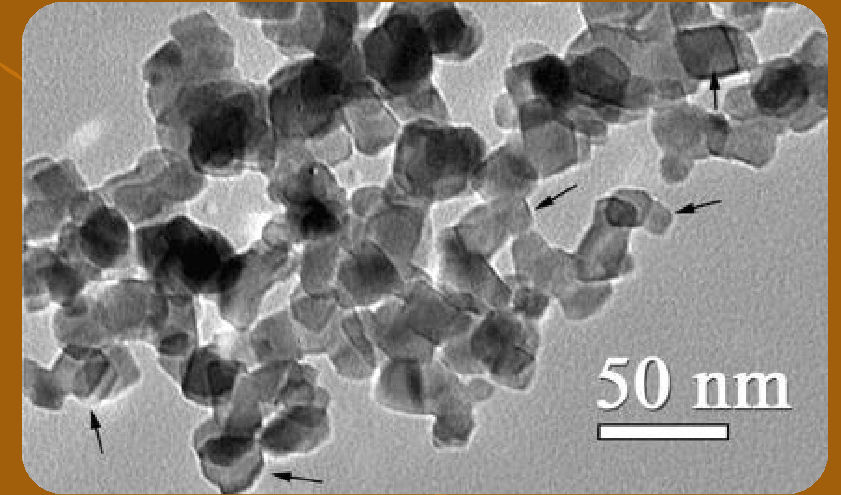
Il **biossido di titanio** (TiO_2) è una sostanza di origine minerale, molto spesso usata come colorante alimentare per migliorare la qualità e l'appetibilità dei prodotti alimentari, ma è anche presente in prodotti per la cura personale, cosmetici, pitture.

In particolare, lo studio condotto nel 2018 ha analizzato la presenza di questa sostanza in 11 differenti prodotti alimentari: tutti contengono nanoparticelle di TiO_2 (21.3-53.7%) sotto forma di anatasio, le dimensioni sono comprese tra 26.9 e 463.2 nm e la loro concentrazione è tra 150 e 4620 ppm.

Questi valori sono stati ottenuti grazie a un'analisi effettuata con l'**ICP-MS**; poi si è usato il **Raman**.

Quindi, si è proceduto all'identificazione e alla caratterizzazione dei prodotti analizzati, studiandone le proprietà chimico-fisiche come la dimensione delle particelle, la distribuzione dimensionale, la forma, la struttura cristallina, lo stato di aggregazione e la concentrazione delle particelle, utilizzando la tecnica analitica ICP-MS.

Lo **scopo** del lavoro è stato quello di testare e confrontare la tecnica suddetta con la spettroscopia Raman, al fine di validare quest'ultima per una migliore caratterizzazione delle nanoparticelle.



Qual è la problematica?

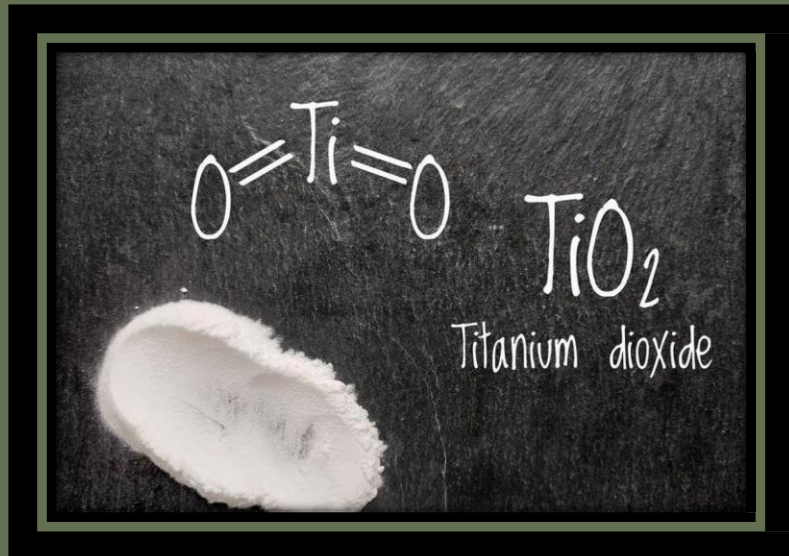
Questo studio si è focalizzato sulla determinazione di nanoparticelle di **biossido di titanio** in prodotti alimentari di largo consumo come :

- crema al caffè
- yogurt
- caramelle
- cioccolato

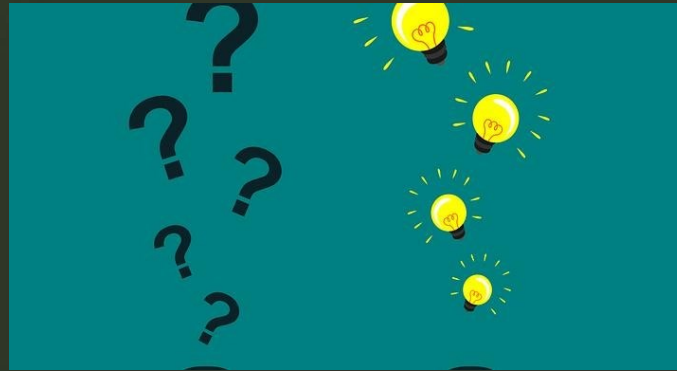
previa digestione acida per l'estrazione delle particelle stesse.

Sono state analizzate e confrontate due diverse tecniche analitiche:

ICP-MS	SPETTROSCOPIA RAMAN
tecnica basata sull'utilizzo della spettrometria di massa abbinata al plasma accoppiato induttivamente	tecnica di analisi dei materiali basata sul fenomeno di diffusione di una radiazione elettromagnetica monocromatica da parte del campione analizzato



Cos' è emerso?



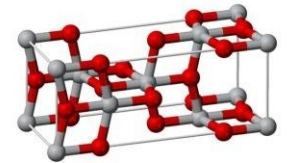
I risultati hanno mostrato che:

- tutti i prodotti contengono nanoparticelle TiO_2 (21.3-53.7%) sotto forma di anatasio, che è una delle 5 forme minerali naturali del TiO_2

- nanoparticelle perché le dimensioni sono comprese tra 26.9 e 463.2 nm
- la loro concentrazione è tra 150 e 4620 ppm
- difficoltà nello ionizzare il TiO_2 con l'ICP-MS, quindi

RAMAN !

per quantificare il biossido di titanio



Biossido di Titanio
Anatasio

Table 1. List of Food Products Investigated in This Study, Summarizing the Particle Size, Size Distribution, and Concentrations (%) of TiO₂

food ID	category	label ^a	particle size (nm) (mean ± SD)	particles with less than 100 nm (%) ^b	particle size distribution (nm) ^c	% TiO ₂ concentration (mean ± SD)			
						ICP-MS	Raman	%RV ₂	%DV
RS01	coffee cream	titanium dioxide (color)	141.7 ± 54.3	24.2	40.3–391.3	0.111 ± 0.005	0.126 ± 0.010	113.5	12.7
RS02	coffee cream	titanium dioxide (artificial color)	131.0 ± 51.0	29.4	33.5–318.4	0.140 ± 0.001	0.152 ± 0.043	108.6	8.2
RS03	cookie	color added	107.8 ± 39.9	49.8	31.1–286.1	0.185 ± 0.003	0.195 ± 0.110	102.0	2.0
RS04	yogurt snack	titanium dioxide	104.8 ± 42.1	53.7	30.7–328.0	0.300 ± 0.002	0.271 ± 0.028	90.3	-10.2
RS05	yogurt snack	titanium dioxide	131.5 ± 49.8	28.3	26.9–348.4	0.192 ± 0.005	0.209 ± 0.026	108.9	8.5
RS06	yogurt beverage	titanium dioxide (E171)	117.0 ± 55.3	41.0	32.2–463.2	0.015 ± 0.001	0.013 ± 0.002	86.7	-14.3
RS07	hard candy	titanium dioxide	125.3 ± 47.9	34.0	36.8–310.4	0.051 ± 0.009	0.057 ± 0.003	111.8	11.1
RS08	hard candy	titanium dioxide (for color)	123.1 ± 47.2	34.8	30.1–307.3	0.275 ± 0.003	0.314 ± 0.013	114.2	13.2
RS09	chocolate	titanium dioxide	103.5 ± 34.3	50.4	29.8–244.0	0.462 ± 0.025	0.403 ± 0.081	87.2	-13.6
RS010	chewy candy	titanium dioxide	147.8 ± 57.9	21.3	37.2–439.2	0.028 ± 0.004	0.032 ± 0.001	114.3	13.3
RS011	chewy candy	titanium dioxide	120.4 ± 48.9	40.3	29.9–326.1	0.025 ± 0.001	0.029 ± 0.001	116.0	14.8


^aLabeling of TiO₂ found on products. ^bTiO₂ nanoparticles with at least one dimension less than 100 nm. The values correspond to TEM results in Figure 2. ^cSize ranges of the smallest and largest TiO₂ particles found on TEM images.



MATERIALI

&

METODI

- 
- soluzioni standard per l'ICP-MS
 - polveri di TiO_2
 - acido nitrico
 - acido fluoridrico
 - perossido di idrogeno
 - etanolo
 - acetone
 - ossido di alluminio
 - ossido di silicio
 - acqua ultrapura di tipo I



- Estrazione di particelle di TiO_2 dai prodotti alimentari
- Diffrazione dei raggi X (XRD)
- Microscopia Elettronica a Trasmissione (TEM)
- Spettrometria di massa al plasma ad accoppiamento induttivo (ICP-MS) :
 - digestore a microonde
 - campione, HNO_3 , HF
 - acqua ultra pura (2 volte) + standard interno
 - kit inerte PFA
 - single mode e cella di collisione a elio
- Spettroscopia Raman

RISULTATI

✓ Analisi di cristallinità, forma, dimensione delle particelle e distribuzione delle dimensioni TEM
XRD

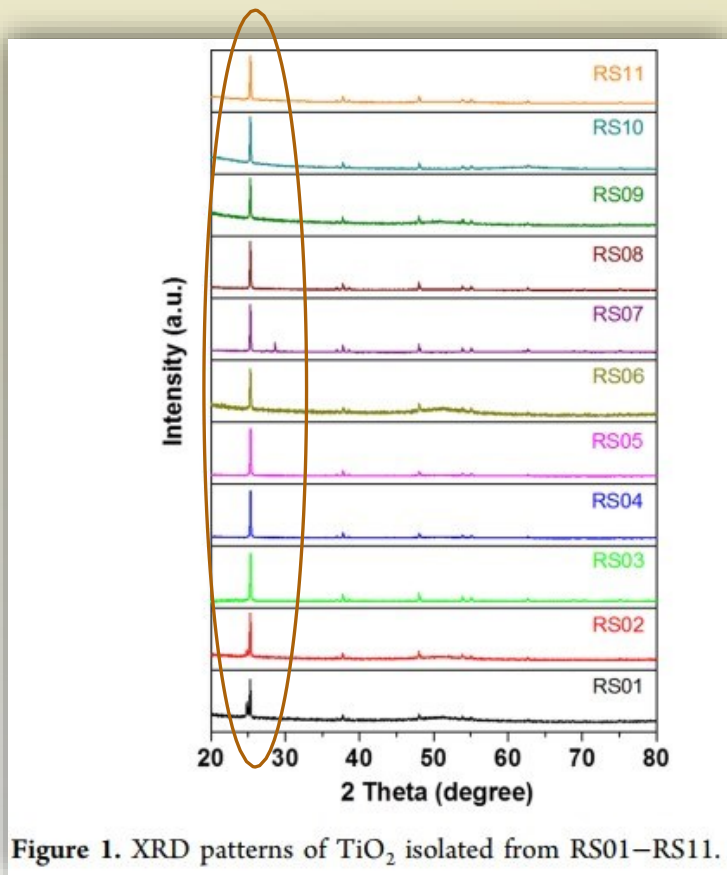


Figure 1. XRD patterns of TiO₂ isolated from RS01–RS11.



le posizioni di picco sono coerenti con il modello di diffrazione standard di anatasio TiO₂

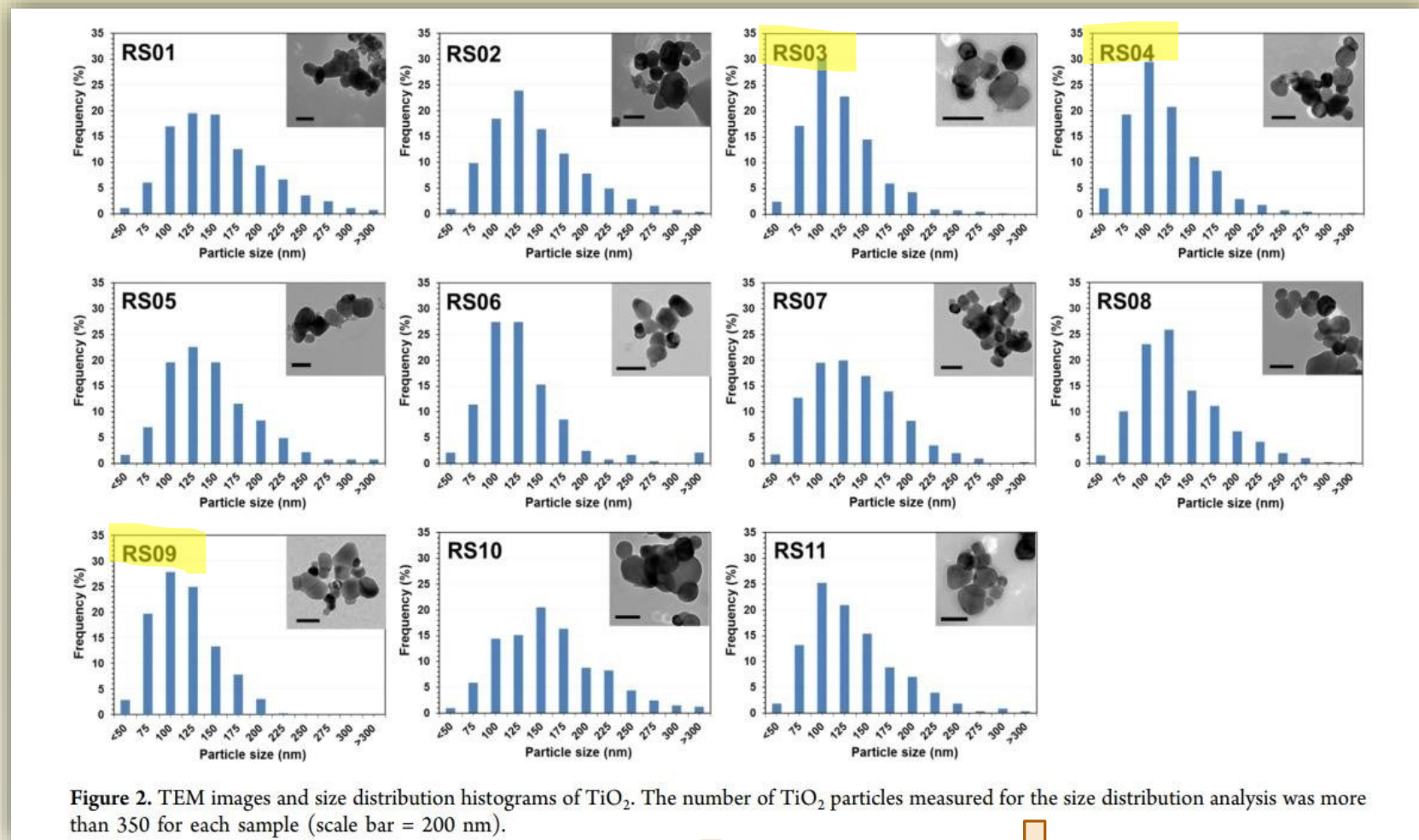


Figure 2. TEM images and size distribution histograms of TiO₂. The number of TiO₂ particles measured for the size distribution analysis was more than 350 for each sample (scale bar = 200 nm).



forma sferica o a bastoncino



molte aggregate : da centinaia di nanometri a micrometri



RS03 (49,8%)
RS04 (53,7%)
RS09 (50,4%)

✓ ICP-MS & RAMAN → CONFRONTIAMOLI ...

La % RV media varia dal 91,9% a 106,3%
e la % DV per i campioni standard risulta
<10%

↓
Gli standard possono essere
applicati alla determinazione
quantitativa usando il Raman

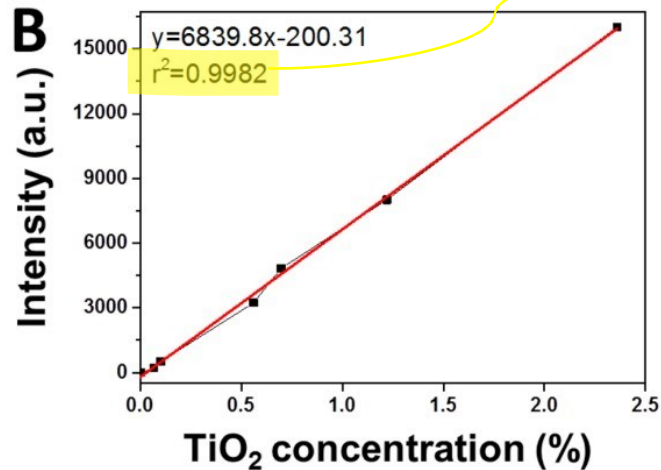
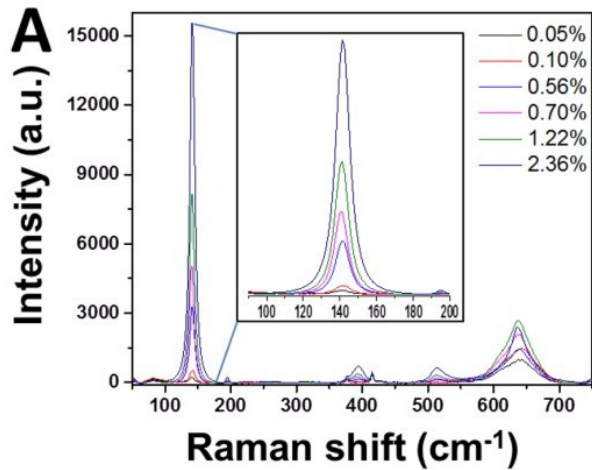
Table 2. Comparison of ICP-MS and Raman Values of TiO₂ Working Standards

standard	standard known value (% TiO ₂)	ICP-MS (mean ± SD)	Raman	%RV ₁	%RV ₂	%DV
1	1.159	1.130 ± 0.001	1.066	91.9	94.3	-5.6
2	1.067	1.030 ± 0.003	1.095	102.6	106.3	6.1
3	1.242	1.260 ± 0.003	1.249	100.5	99.1	-0.5

$$\%RV_1 = ([TiO_2]_{ICP-MS} \div [TiO_2]_{know\ value}) \times 100$$

$$\%RV_2 = ([TiO_2]_{RAMAN} \div [TiO_2]_{ICP-MS}) \times 100$$

$$\%DV = ([TiO_2]_{RAMAN} - [TiO_2]_{ICP-MS}) \div (([TiO_2]_{RAMAN} + [TiO_2]_{ICP-MS} \div 2)) \times 100$$



Buona correlazione lineare

Figure 3. (A) Raman spectra and (B) calibration curve with six independent TiO₂ working standards (anatase phase).

- B) No fluorescenza
 - le posizioni di picco di A) e F) NON sono sovrapposti con D)
- MA
- il picco più forte di D) (143 cm⁻¹) è sovrapposto a E) → interferenza !

▪ Picco a 143 cm⁻¹

Aumentato in proporzione alla concentrazione di particelle

Table 3. Spiked Sample Recovery Test for Raman Analysis

sample	spiked sample known value (% TiO ₂)	Raman results (% TiO ₂)	%RV ₁
1	0.932	1.065	114.3
2	1.161	1.275	109.8
3	1.462	1.711	117.0
4	1.063	1.237	116.3
5	1.120	1.201	107.2
	average		112.9

Efficienza di estrazione

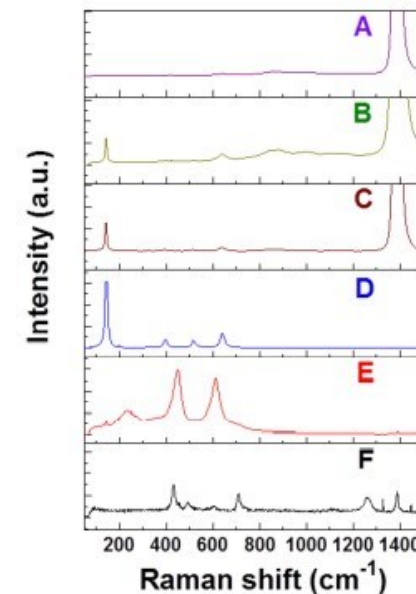


Figure 4. Comparison of Raman spectra: (A) Al₂O₃ matrix, (B) mixture of anatase TiO₂ and SiO₂ in Al₂O₃ (the percent concentration of TiO₂ and SiO₂ is 1.5% and 1.98%, respectively), (C) anatase TiO₂ in Al₂O₃ (1.8% of TiO₂), (D) anatase, (E) rutile, and (F) SiO₂.

- Il recupero del campione addizionato varia tra 107.2% e 117% (valori più alti di ciò che ci aspettava)

CONCLUSIONI

- RAMAN \Rightarrow OTTIMA tecnica (tab.1 : %RV₂, %DV)

MA

<±20%

- Attenzione!
 - miscelazione con matrice Al₂O₃
 - fluorescenza (RS07, RS08, RS10, e RS11)
 - cristallinità
 - eventuali prodotti che rimangono post estrazione

SOLUZIONE:
fotosbiancamento

ATTUALITA' 

- E171 messo al bando dall' UE a partire dal 1 luglio 2022

probabili effetti genotossici (EFSA)



più informazioni sul numero e sui tipi di alimenti che contengono TiO₂ e sulla sua concentrazione

FUTURO

tracciare la fonte delle materie prime e i processi di produzione per identificare il TiO₂ nei prodotti finali