

## ICP-MS EN MODO DE EVENTO INDIVIDUAL

Martín Resano<sup>1</sup>, Maite Aramendía<sup>1</sup>, Esperanza García-Ruiz<sup>1</sup>, Antonio Bazo<sup>1</sup>, Eduardo Bolea-Fernandez<sup>1</sup>, Ana Rúa-Ibarz<sup>1</sup>, T. Van Acker<sup>2</sup>, Frank Vanhaecke<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Analítica, Instituto Universitario de Investigación en Ingeniería de Aragón (i3a), Universidad de Zaragoza, 50009, Zaragoza, España

<sup>2</sup>Ghent University, Department of Chemistry, Atomic & Mass Spectrometry – A&MS Research Unit, Campus Sterre, Krijgslaan 281-S12, 9000 Ghent, Belgium

### 1. Introducción

Durante muchos años, la mayoría de las técnicas analíticas se han desplegado con el objetivo de conseguir valores de concentración media representativos. Esta estrategia supone que la muestra objetivo presenta suficiente homogeneidad y, por tanto, este valor medio permite evaluar adecuadamente la situación. Sin embargo, aunque esto sigue siendo así en muchas ocasiones, han aparecido nuevas aplicaciones que han cambiado este paradigma. En concreto, existen varias situaciones en las que lo interesante es adquirir información espacialmente resuelta de las micro/nano entidades presentes en una determinada muestra.

Un caso importante es el análisis celular. Las células son estructuras complejas y los cultivos celulares no son necesariamente homogéneos. De hecho, cualquier cultivo suele contener células en diferentes estadios de crecimiento. Por lo tanto, cuando se pretende establecer la captación de un determinado compuesto en una población celular, por ejemplo, el enfoque tradicional para conseguir información promediada es de valor limitado.

El estudio cuantitativo de células individuales, que consiste en el recuento y la clasificación de células, se denomina citometría de flujo y desempeña un papel esencial en las ciencias biomédicas y el diagnóstico actuales. Este hecho es fácil de entender si pensamos en un ejemplo sencillo. En el caso de un tratamiento quimioterapéutico con un determinado compuesto, el éxito del mismo dependerá de que todas las células cancerosas absorban una dosis suficiente de dicho compuesto, siendo así eliminadas, mientras que lo ideal es que las células sanas no absorban nada o absorban lo menos posible, de forma que se minimicen los efectos secundarios. En este tipo de situación resulta fundamental conocer la variación intercelular para establecer la dosis más adecuada. En consecuencia, los métodos de análisis unicelular (*single-cell*), capaces de proporcionar información sobre la variabilidad intercelular, son muy demandados en situaciones como esta y, en general, en biología celular [1-3].

Otro caso importante se relaciona con la caracterización de nanopartículas (NPs). Aunque las nanopartículas ya se utilizan en muchas aplicaciones biomédicas, su presencia cada vez mayor en multitud de productos de consumo va acompañada inevitablemente de su liberación en el medio ambiente y su incorporación a los seres vivos. Como consecuencia, existe una creciente demanda de desarrollo de metodologías capaces de detectar y caracterizar completamente las NPs [4], especialmente en muestras clínicas y ambientales. Dicha caracterización no sólo implica determinar la concentración en masa (masa del elemento en cuestión por unidad de volumen) y el tamaño medio de las NPs, sino también obtener información sobre su distribución de tamaños y la concentración del número de partículas por unidad de volumen (PNC).

La proliferación de microplásticos y nanoplásticos en el medio ambiente es otra amenaza emergente y su evaluación analítica comparte muchas de las características descritas anteriormente. No se puede esperar que una población de partículas plásticas típicamente resultante de la degradación de residuos plásticos sea homogénea. Por lo tanto, es necesario obtener información de las partículas de plástico individuales [5].

El presente trabajo trata de explicar como la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) [6] ha evolucionado en la última década, hasta el punto de ser capaz de ofrecer soluciones en todos estos ámbitos, a partir de una estrategia de trabajo común: la medida en modo de evento individual (*single-event*) [7].

### 2. ICP-MS en modo de evento individual

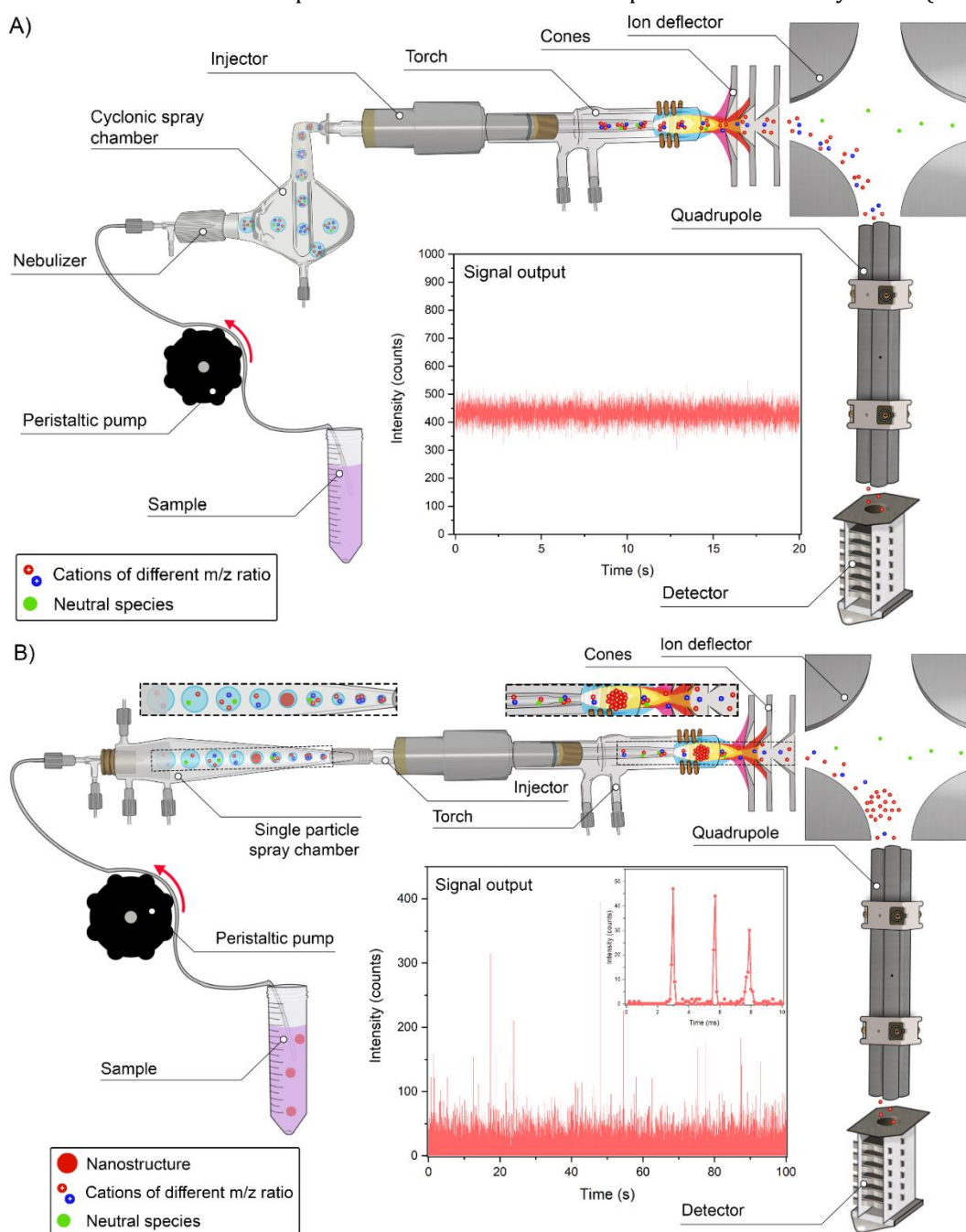
Efectivamente, es interesante observar como la técnica de ICP-MS, una técnica bastante madura, al impulsar la velocidad de adquisición de datos, y tras desarrollar el sustrato teórico correspondiente, ha sido capaz de reinventarse y producir nuevos tipos de información que satisfacen mejor las demandas actuales científicas y sociales.

El principio de la ICP-MS de evento individual se basa en someter a análisis suspensiones altamente diluidas que contienen las entidades de interés (células, micro/nanoplásticos, NPs). De esta forma, durante una fracción considerable de tiempo sólo se aspirará el disolvente y, a menos que el analito se encuentre también en forma disuelta o existan interferencias espectrales, no se generará ninguna señal, salvo el ruido de fondo (BG). En un momento dado, cuando una de estas pequeñas entidades sea aspirada e introducida en el ICP, se producirá un haz de iones en el plasma. Estos iones viajarán de forma bastante compacta hacia el

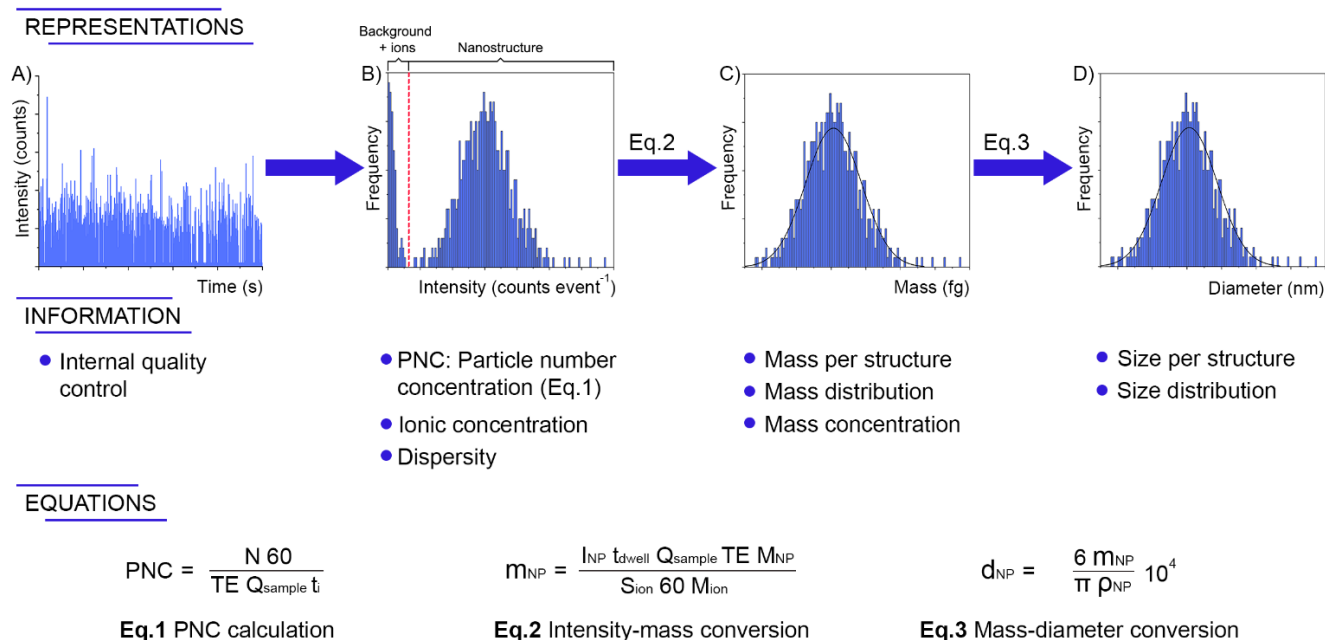
detector, donde los iones del valor  $m/z$  seleccionado que se encuentren presentes producirán una señal de muy corta duración (aprox. 300-500  $\mu$ s).

Así, a diferencia de lo que ocurre en las mediciones ICP-MS convencionales, en las que un flujo *cuasi* constante de iones llega continuamente al detector (véase la Fig. 1A), en el modo de evento individual no se detecta prácticamente ninguna señal, hasta que en un instante un paquete de iones llegue al detector y genere un intenso pulso de señal por encima del BG (Fig. 1B).

De otra manera, en lugar de una señal *cuasi*-estable, se detectan pulsos discretos muy cortos (véase la Fig. 1).



**Fig. 1.** (A) Esquema que muestra los pasos principales de una medición ICP-MS en modo de análisis convencional; (B) Esquema que muestra los pasos principales de una medición ICP-MS en modo de evento individual para el análisis de entidades discretas. Adaptada de la referencia [7]. <https://doi.org/10.1039/D1SC05452J>.



**Fig. 2.** Información que se puede obtener mediante ICP-MS en modo de evento individual. Significado de los símbolos: PNC (concentración de partículas); N (número de eventos detectados por minuto); TE (eficacia de transporte);  $Q_{\text{sample}}$  (flujo de muestra en  $\text{mL min}^{-1}$ );  $m_{\text{NP}}$  (masa de cada partícula en ng);  $I_{\text{NP}}$  (intensidad del evento en cuentas);  $t_{\text{dwell}}$  (tiempo de cada medida en s);  $M_{\text{NP}}$  (masa molar de la partícula);  $M_{\text{ion}}$  (pendiente de la curva de calibrado, donde la señal se representa en cuentas y la concentración en  $\text{ng mL}^{-1}$ );  $M_{\text{ion}}$  (masa molar del analito medido);  $d_{\text{p}}$  (diámetro de la partícula en nm);  $\rho_{\text{NP}}$  (densidad en  $\text{g mL}^{-1}$ ). Adaptada de la referencia [7]. <https://doi.org/10.1039/D1SC05452J>.

Una vez realizadas las medidas, las señales se representan para poder separarlas de las señales continuas, que proceden del BG, de iones disueltos o de interferencias espectrales y, a través de un proceso que requiere una doble calibración (de la sensibilidad y también de la eficacia del transporte), se puede obtener la distribución de masa del analito en las entidades estudiadas (células, micro/nanoplásticos, NPs) y, a partir de ésta, los parámetros que se consideren más representativos (ej. media, mediana o moda). También la concentración de entidades por volumen y, por supuesto, la concentración total del analito por volumen. La Fig. 2 esquematiza el procedimiento que se sigue para obtener los distintos parámetros que ofrece la técnica, junto con las ecuaciones que se utilizan en estos cálculos.

Toda esta información se puede obtener de forma muy rápida, ya que cada medida suele requerir 60-120 s, en las condiciones de dilución adecuadas. Hay que tener en cuenta que, para obtener la relación óptima entre señal y fondo, hoy en día es habitual adquirir datos cada 50-100  $\mu\text{s}$ , por lo que una medida de 60 s produce 600000-1200000 datos, y lo ideal es disponer de 1000-2000 eventos correspondientes a las entidades de interés en cada serie de datos.

Los instrumentos de última generación con detectores de cuadrupolo y sector magnético son capaces de

adquirir datos a esta velocidad, pero generalmente esto supone que sólo se puede monitorizar una única relación  $m/z$  en cada medida. Es decir, sólo se mide un único isótopo en cada medida, a menos que se cuente con analizadores de masa que permitan disponer de más información de forma simultánea. En la práctica, esto supone el uso de analizadores de tiempo de vuelo (ICP-ToF-MS), que todavía están mucho menos extendidos que los anteriores en la espectrometría de masas inorgánica. Estos son los únicos que nos permitirán determinar varios elementos en la misma partícula individual.

Un aspecto a destacar en este tipo de análisis es que la intensidad de la señal obtenida no depende de la dilución de la muestra. Se analizan las entidades individuales y la señal dependerá del número de átomos presentes en cada una de ellas, independientemente de que las muestras se diluyan más o menos. Utilizar una dilución excesiva afecta principalmente al tiempo de medida necesario para obtener un número estadísticamente significativo de eventos, pero no a la intensidad de la señal de cada evento. Por otro lado, es importante diluir lo suficiente como para minimizar la probabilidad de medir dos partículas simultáneamente (evento doble). Un número típico de PNC se sitúa en torno a  $10^8$  entidades por L.

Hay que considerar también que cada una de las diferentes entidades que se pueden estudiar presentan sus peculiaridades. En el caso de que la finalidad sea caracterizar NPs, el objetivo suele ser determinar su tamaño. Normalmente, la técnica se utiliza para caracterizar NPs metálicas. Para ello, es necesario conocer varios aspectos de las NPs, como su forma (usualmente esférica), su composición química exacta (puesto que lo que se determina es sólo la masa de uno de los elementos que la configuran; por ejemplo, es preciso conocer *a priori* si las NPs son de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  o de  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , ya que la técnica sólo monitoriza el isótopo de Fe seleccionado) y la densidad de estas NPs (usualmente se asume que es la misma que la de los compuestos a nivel macro). Sólo conociendo estos parámetros se puede calcular la distribución de diámetros de las NPs. Dicho de otra forma, si nos enfrentamos a unas NPs de composición o forma desconocida, sólo se podrá calcular una distribución de masas para las mismas, ya que, como se ha discutido previamente, el parámetro que se relaciona inequívocamente con la intensidad de cada evento es el número de átomos de elemento presente en cada partícula.

En el caso del análisis celular, por el contrario, el objetivo es calcular como se distribuye un determinado analito en una población celular. En ese caso, los cálculos son, *a priori*, más sencillos. De hecho, la ecuación 2 se puede simplificar eliminando  $M_{\text{NP}}$  y  $M_{\text{ion}}$ . Además, obtener el valor de PNC no suele ser muy relevante porque se puede obtener con facilidad a partir de otras técnicas. Sin embargo, eso no significa que el análisis de células individuales sea más sencillo. En la práctica, no es tan sencillo transportar con eficiencia las células, entre otros motivos porque las cámaras de nebulización (como la ciclónica, que se muestra en la Fig. 1a) fueron originalmente diseñadas para filtrar las partículas grandes (gotas de en torno a  $5 \mu\text{m}$  o mayores), favoreciendo así la estabilidad del plasma, y las células pueden ser bastante más grandes. Además, no es tan sencillo garantizar que las células “sobrevivan” al proceso de nebulización intactas. Es preciso señalar que, en caso de romperse antes de llegar al plasma, liberarían todos los compuestos de su interior dando lugar a señales continuas en lugar de eventos individuales. Por ello, para el análisis de células individuales se utilizan cámaras de nebulización especialmente diseñadas (como la mostrada en la Fig. 1B), que operan con flujos muy bajos (ej.  $5\text{-}10 \mu\text{L min}^{-1}$ ) y con un flujo de Ar auxiliar para evitar que las células se depositen en las paredes. El caso del análisis celular mediante ICP-MS de evento individual es muy interesante porque ha dado lugar a todo un campo de investigación nuevo, como es la citometría de masas. Se trata de una alternativa a la

citometría de flujo que, en lugar de determinar moléculas mediante fluorescencia, lo hace mediante *single-cell* ICP-MS, usando isótopos estables como marcadores selectivos, en lugar de usar los fluoróforos tradicionales de la citometría de flujo. Se trata por tanto de un método igualmente indirecto, ya que a través de las medidas de isótopos de varios elementos (sobre todo de tierras raras), se pueden determinar los marcadores celulares de interés.

Esta técnica ha supuesto una revolución en el campo de la citometría desde el trabajo pionero de Bendall et al. [8], permitiendo la medida simultánea de más de 40 parámetros en células individuales [7,9]. La instrumentación que se utiliza en estos estudios es un ICP-ToF-MS especialmente diseñado para este tipo de aplicación.

Finalmente, la técnica de ICP-MS en modo de evento individual también puede utilizarse para la detección de micro/nanoplásticos. Esta ha sido la última aplicación en desarrollarse y la bibliografía es mucho más limitada que en los casos anteriores. Debido a su novedad, se discutirá esta aplicación con más detalle.

### 3. Detección de nano/microplásticos

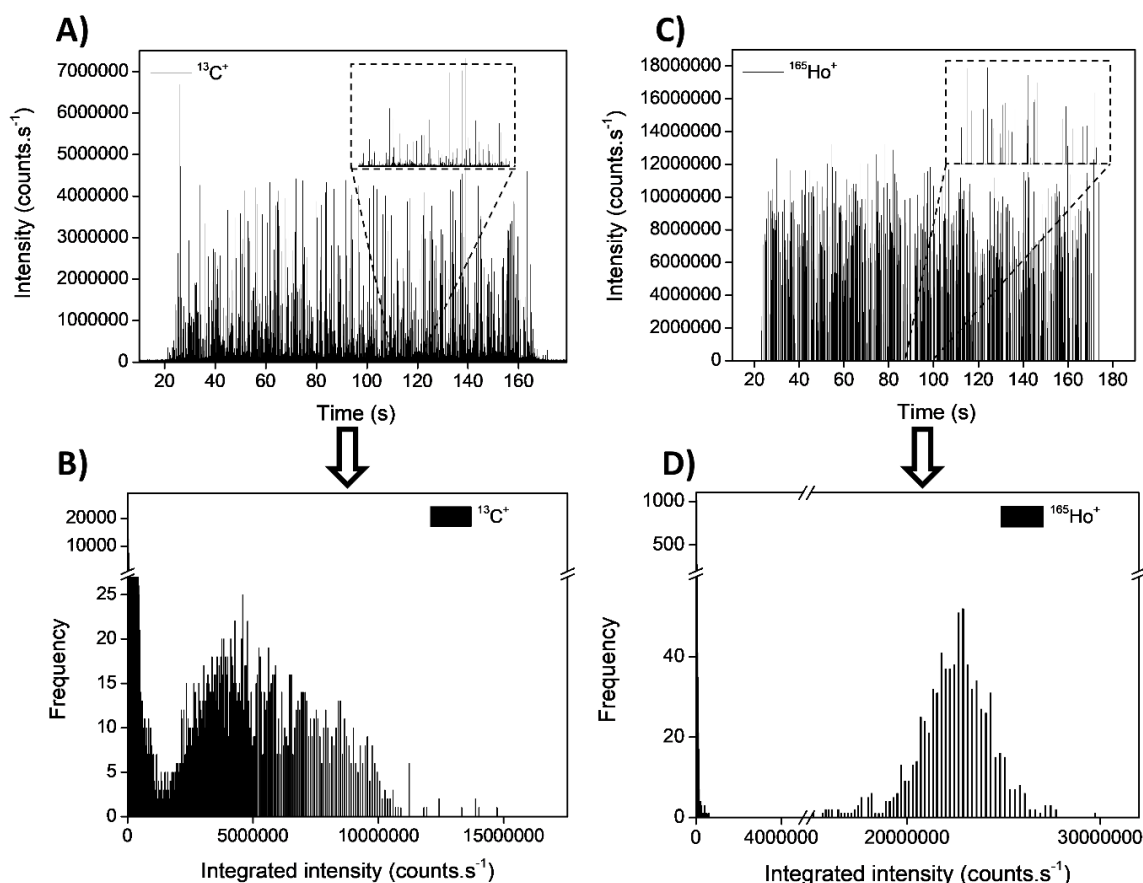
La presencia de microplásticos (MPs) en diversos compartimentos ambientales es actualmente un motivo de gran preocupación. Los MPs son partículas plásticas de un tamaño que oscila entre  $1 - 5000 \mu\text{m}$ , y que se originan principalmente a partir de la degradación de desechos plásticos. A pesar de suponer un mayor riesgo potencial, las partículas más pequeñas ( $<10 \mu\text{m}$ ) se han pasado por alto a menudo en evaluaciones anteriores debido a la falta de metodologías analíticas adecuadas para su caracterización. *A priori*, ICP-MS se había considerado como una técnica no adecuada para la determinación de carbono (C), debido a su alto potencial de ionización ( $11,26 \text{ eV}$ ) y a la presencia ubicua de diferentes especies de C en el ICP, dando lugar a señales de fondo muy elevadas e impidiendo su determinación. En 2020, se demostró por primera vez que la técnica de ICP-MS operada en modo de evento individual tenía la capacidad de detectar y cuantificar MPs de hasta  $1 \mu\text{m}$  [10]. El enfoque se basa en la medición ultra-rápida que caracteriza ICP-MS de evento individual (dwell times =  $100 \mu\text{s}$ ), y que permiten reducir la señal de fondo, mientras se mantiene constante la producida por cada partícula. En una primera parte del trabajo, se utilizaron microesferas de poliestireno (PS) de  $2,5 \mu\text{m}$  de diámetro dopadas con holmio (Ho) para evaluar la detección de los MPs en base a sus señales de C, y proporcionar información sobre su concentración en número de partículas (PNC). Con este objetivo, se comparó el

número de eventos obtenidos mediante la monitorización de C y Ho para diluciones con diferente PNC. Como puede verse en la Tabla 1, no se observaron diferencias significativas en el número de eventos obtenidos mediante la medida de C y Ho, lo cual demostró la posibilidad de detectar MPs utilizando ICP-MS operado en modo de evento individual.

Además de la capacidad para determinar el PNC, la comparación de las distribuciones de C obtenidas para microesferas de PS de 2,5 y 1 µm de diámetro demostró la posibilidad de proporcionar información sobre el contenido de C, y teniendo en cuenta las asunciones mencionadas previamente, el tamaño de las partículas (véase Fig. 3). En este caso, se comprobó que la relación entre las intensidades integradas más frecuentes para las distribuciones de partículas de 2,5 y 1 µm de diámetro ( $15,4 \pm 1,4$ ) coincidieron con la relación de volúmenes calculados teóricamente para esferas de dicho tamaño.

**Tabla 1.** Número de microesferas de PS de 2.5 µm de diámetro dopadas con lantánidos detectadas utilizando ICP-MS operado en modo de evento individual y monitorización de  $^{13}\text{C}^+$  u  $^{165}\text{Ho}^+$ .

	Número de MPs	
	$^{13}\text{C}$	$^{165}\text{Ho}$
Dilución 1:10	393	416
	410	417
	412	406
<b>Media</b>	<b>405</b>	<b>413</b>
<b>SD</b>	<b>10</b>	<b>6</b>
Dilución 1:5	844	825
	792	789
	805	794
<b>Media</b>	<b>814</b>	<b>803</b>
<b>SD</b>	<b>27</b>	<b>20</b>
Dilución 1:1	1998	1997
	2029	1976
	2002	2114
<b>Average</b>	<b>2010</b>	<b>2029</b>
<b>SD</b>	<b>17</b>	<b>74</b>



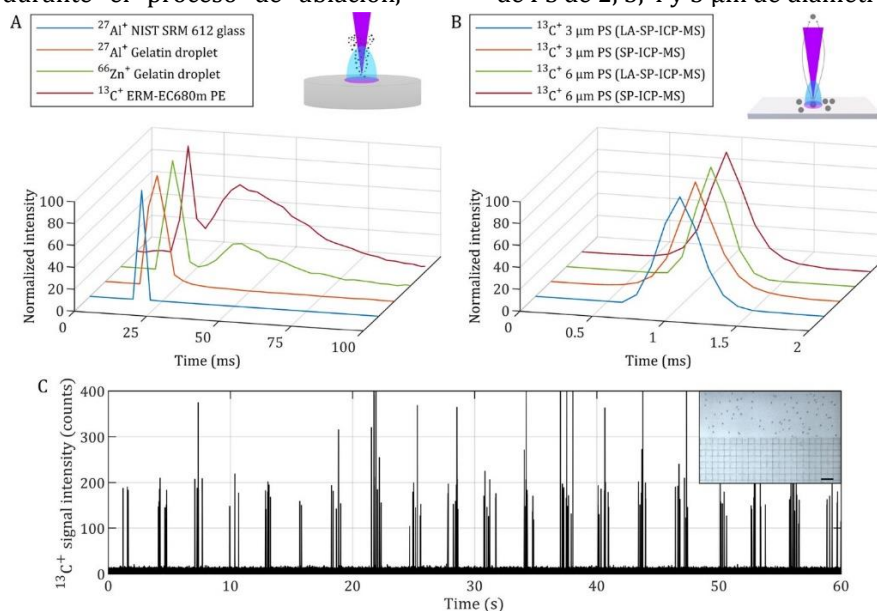
**Fig. 3.** Señales transitorias (A y C) y distribuciones de intensidad integradas (B y D) obtenidas para microesferas de PS dopadas con lantánidos de 2,5 µm de diámetro medidas mediante ICP-MS operado en modo de evento individual a través de la monitorización de  $^{13}\text{C}^+$  u  $^{165}\text{Ho}^+$ . Adaptada de la referencia [10]. <https://doi.org/10.1039/C9JA00379G>

De esta forma se demostró por primera vez el potencial ICP-MS en modo de evento individual para la caracterización de MPs en cuanto a su concentración en número y su tamaño. Desde su publicación, varios

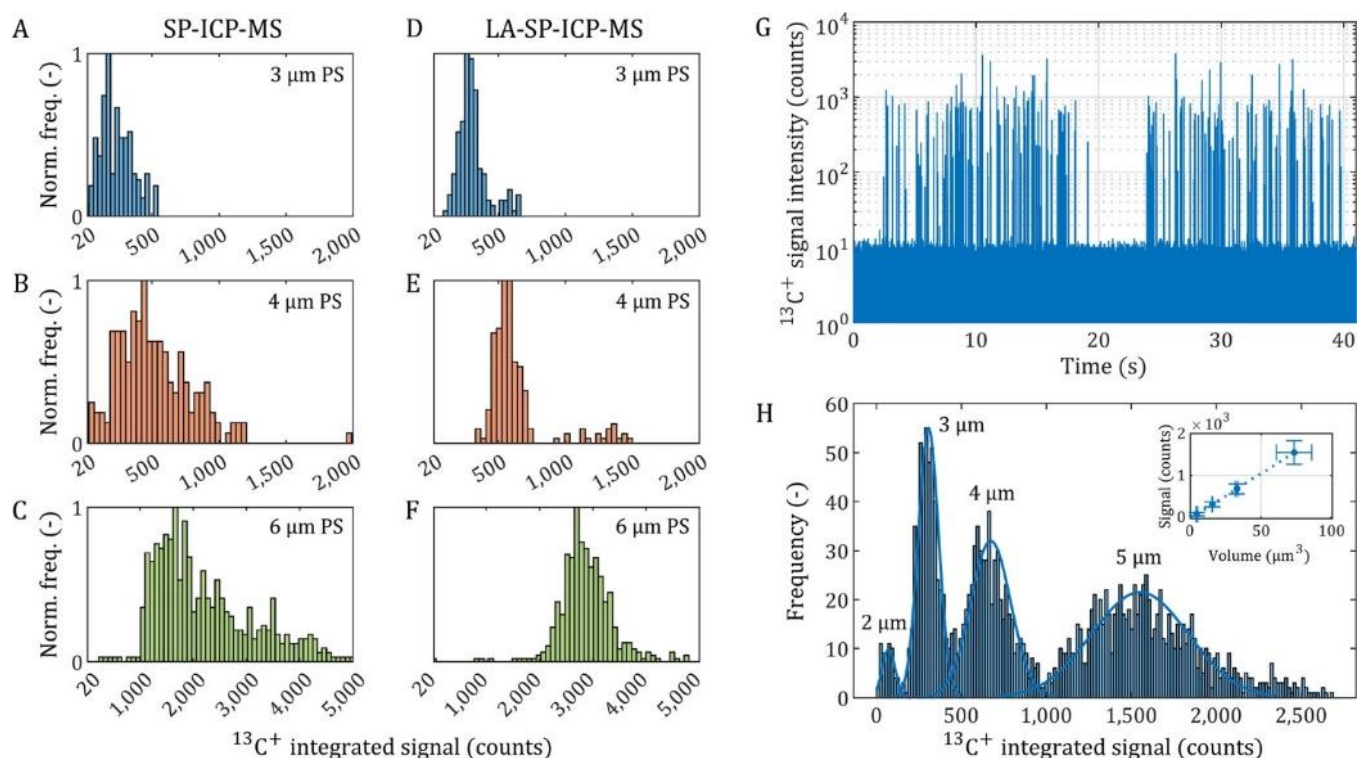
trabajos han reafirmado las conclusiones alcanzadas, lo que ha supuesto la apertura de una nueva línea de investigación para ICP-MS operando en modo de evento individual [11-14].

Sin embargo, esta metodología presenta algunas limitaciones, incluyendo un fondo con alto contenido de C y la necesidad de preconcentrar la muestra debido a las bajas concentraciones de MPs presentes en muestras reales. La filtración es un método común de preconcentración, pero la resuspensión de los MPs para su introducción al ICP y posterior análisis por SP-ICP-MS sigue siendo un desafío. Recientemente, se ha publicado un nuevo trabajo basado en la utilización de ablación láser (LA) como un método para introducir los MPs en el ICP-MS y analizarlos en modo de evento individual (LA-SP-ICP-MS) [15]. Mediante la utilización de esta metodología, lo primero que se quería verificar era si se podían liberar los MPs depositados en un portaobjetos como entidades intactas (véase Fig. 4). Cuando se vaporiza una muestra sólida mediante el impacto del pulso láser, los perfiles temporales de las señales que se obtienen son de varios milisegundos, tal y como puede verse en la Fig. 4A para diferentes matrices, incluyendo un material basado en C (polietileno - PE). Sin embargo, los perfiles temporales obtenidos tras la ablación de los MPs depositados sobre un portaobjetos, son similares a los que se obtienen mediante el análisis de una suspensión por SP-ICP-MS (aproximadamente de 500  $\mu\text{s}$  - Fig. 4B). Lo que parece que está sucediendo es que los MPs se están catapultando como resultado de la onda de choque producida durante el proceso de ablación,

permitiendo que puedan detectarse como entidades individuales en el ICP-MS. De esta forma, se demostró que era posible transportar los MPs de diferentes tipos de polímeros (PS, PMMA y PVC) dentro de un rango de tamaño de 2 a 20  $\mu\text{m}$  de diámetro como entidades intactas. Además, también se demostró que este enfoque era capaz de muestrear directamente MPs depositados en una membrana de un filtro tras un proceso de preconcentración. Por otro lado, se observó que a pesar de obtener duraciones de cada evento similares mediante LA-SP-ICP-MS y SP-ICP-MS, las condiciones del plasma son muy diferentes, ya que se trabaja con plasma seco y plasma húmedo, respectivamente. Esta diferencia se vió traducida en que, para un mismo número de eventos detectados, las distribuciones obtenidas mediante SP-ICP-MS (plasma húmedo) eran más anchas en comparación con las que se obtenían para LA-SP-ICP-MS (plasma seco), tal y como puede observarse en la Fig. 5. Esto puede atribuirse a la hipótesis de que, bajo condiciones de plasma seco, el ICP es más energético y permite vaporizar, atomizar e ionizar partículas grandes más fácilmente, lo que se traduce en distribuciones de señales más estrechas. Este beneficio es muy importante, ya que permite distinguir mezclas de tamaño más fácilmente, tal y como se observa en la Fig. 4H, donde pueden diferenciarse MPs de PS de 2, 3, 4 y 5  $\mu\text{m}$  de diámetro.



**Fig. 4.** (A) Promedio de respuestas de pulso individual - SPRs (N=100) obtenidas tras la ablación de un vidrio de referencia NIST SRM 612 ( $^{27}\text{Al}^+$ , azul), una gota de gelatina dopada con una disolución multielemental ( $^{27}\text{Al}^+$  y  $^{66}\text{Zn}^+$ , naranja y verde), y un PE de referencia ERM-EC680m ( $^{13}\text{C}^+$ , rojo). (B) Perfiles de pico medios para  $^{13}\text{C}^+$  obtenidos al detectar MPs individuales (3 y 6  $\mu\text{m}$  de PS) mediante LA-SP-ICP-MS (azul y verde) y SP-ICP-MS (naranja y rojo). (C) Señal transitoria de  $^{13}\text{C}^+$  tras el análisis de MPs de 4  $\mu\text{m}$  de PS (gota depositada un portaobjetos) mediante barrido lineal con LA-SP-ICP-MS, acompañada de una imagen obtenida con la cámara de la unidad de ablación láser que captura una parte de la gota depositada (escala = 40  $\mu\text{m}$ ). Adaptada de la referencia [15]. Copyright 2023 American Chemical Society.



**Fig. 5.** Distribuciones de la señal integrada de  $^{13}\text{C}^+$  como histogramas de frecuencias normalizadas para MPs de 3, 4 y 6  $\mu\text{m}$  de PS analizados mediante (A-C) SP-ICP-MS (plasma húmedo) y (D-F) LA-SP-ICP-MS (plasma seco). (G) Señal transitoria de  $^{13}\text{C}^+$  monitorizada tras la ablación de una mezcla de MPs de PS de 2, 3, 4 y 5  $\mu\text{m}$  y sus correspondientes distribuciones integradas de  $^{13}\text{C}^+$  con distribuciones normales ajustadas para cada tamaño de partícula. La correlación lineal entre la intensidad de la señal integrada de  $^{13}\text{C}^+$  y el volumen de cada partícula. Adaptada de la referencia [15]. Copyright 2023 American Chemical Society.

### Conclusión

La técnica de ICP-MS en modo de evento individual es un ejemplo de cómo una técnica madura como el ICP-MS aún puede producir nuevos tipos de información, satisfaciendo así las demandas científicas y sociales más actuales. Se puede anticipar que esta modalidad ha llegado para quedarse, y ya se están explorando más aplicaciones más allá de las nanopartículas y las células, como es el análisis de microplásticos descrito en este artículo. Sin embargo, todavía existe la necesidad de mejorar la capacidad de detección que permita el análisis de nanoestructuras de menor tamaño. Igualmente, el instrumento ICP-MS ideal para trabajar en modo de evento individual debería poder realizar una monitorización multielemental simultánea sin sacrificar la sensibilidad y con alta resolución (física o química). Aunque dicha instrumentación no existe en la actualidad, los avances observados durante la última década en el campo de ICP-MS y la rápida evolución de la modalidad de evento individual son cimientos sólidos para un futuro prometedor en este campo

### Agradecimientos

Esta publicación es parte del proyecto PID2021-122455NB-I00, financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y “FEDER una manera de hacer Europa”. Los autores también agradecen la financiación del Gobierno de Aragón (DGA, Construyendo Europa desde Aragón, Grupo E43\_20R). A.B. agradece al Departamento de Ciencia, Universidad y Sociedad del Conocimiento del Gobierno de Aragón por su contrato predoctoral (convocatoria de 2021). A. R.-I. agradece al programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea bajo el acuerdo de subvención Marie Skłodowska-Curie N° 101034288. E. B.-F. agradece la financiación del programa Ramón y Cajal (RYC2021-031093-I) financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y la Unión Europea (NextGenerationEU/PRTR).

## Referencias

- [1] D.D. Carlo, L.P. Lee, *Anal. Chem.* 78 (2006) 7918–7925. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac069490p>
- [2] M. Corte-Rodríguez, R. Alvarez-Fernández, P. García-Cancela, M. Montes-Bayón, J. Bettmer, *Trends Anal. Chem.* 132 (2020) 116042. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116042>
- [3] S. Theiner, K. Loehr, G. Koellensperger, L. Mueller, N. Jakubowski, *J. Anal. At. Spectrom.* 35 (2020) 1784–1813. <https://doi.org/10.1039/D0JA00194E>
- [4] X. Huang, H. Liu, D. Lu, Y. Lin, J. Liu, Q. Liu, Z. Nie, G. Jiang, *Chem. Soc. Rev.* 50 (2021) 5243–5280. <https://doi.org/10.1039/D0CS00714E>
- [5] A.B. Silva, A.S. Bastos, C.I.L. Justino, J.P. da Costa, A.C. Duarte, T.A.P. Rocha-Santos, *Anal. Chim. Acta* 1017 (2018) 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.043>
- [6] T. Van Acker, S. Theiner, E. Bolea-Fernandez, F. Vanhaecke, G. Koellensperger, *Nat. Rev. Dis. Primers*, 3, (2023), 52. <https://doi.org/10.1038/s43586-023-00235-w>
- [7] M. Resano, M. Aramendía, E. García-Ruiz, A. Bazo, E. Bolea-Fernandez, F. Vanhaecke, *Chem. Sci.* 13 (2022) 4436–4473. <https://doi.org/10.1039/D1SC05452J>
- [8] S. S. C. Bendall, E. F. Simonds, P. Qiu, E. D. Amir, P. O. Krutzik, R. Finck, R. V. Bruggner, R. Melamed, A. Trejo, O. I. Ornatsky, R. S. Balderas, S. K. Plevritis, K. Sachs, D. Pe'er, S. D. Tanner, G. P. Nolan, *Sci.*, 332 (2011) 687–695. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1198704>
- [9] A. Delgado-Gonzalez, R.M. Sanchez-Martin, *Anal. Chem.*, 93 (2021) 657–664. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c03560>
- [10] E. Bolea-Fernandez, A. Rua-Ibarz, M. Velimirovic, K. Tirez, F. Vanhaecke, *J. Anal. At. Spectrom.*, 35 (2020) 455–460. <https://doi.org/10.1039/C9JA00379G>
- [11] F. Laborda, C. Trujillo, R. Lobinski, *Talanta*, 221 (2021) 121486. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121486>
- [12] R. Gonzalez de Vega, S. Goyen, T. E. Lockwood, P. A. Doble, E. F. Camp, D. Clases, *Anal. Chim. Acta*, 1174 (2021) 338737. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338737>
- [13] Z. Liu, Y. Zhu, S. Lv, Y. Shi, S. Dong, D. Yan, X. Zhu, R. Peng, A. A. Keller, Y. Huang, *Environ. Sci. Technol. Lett.*, 9 (2022) 50–56. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.1c00888>
- [14] A. Sakanupongkul, K. Sirisinha, R. Saenmuangchin, A. Siripinyanond, *Microchem. J.*, 199 (2024) 110016. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110016>
- [15] T. Van Acker, A. Rua-Ibarz, E. Bolea-Fernandez, F. Vanhaecke, *Anal. Chem.*, 95 (2023) 18579–18586. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c04473>