

spICP-MS によるナノ粒子中の多元素の測定

最大 16 元素の NP データを取り込み可能な
高速多元素ナノ粒子解析モード



著者

Michiko Yamanaka,
Takayuki Itagaki
Agilent Technologies, Japan

Steve Wilbur
Agilent Technologies,
USA

はじめに

単一粒子 ICP-MS (spICP-MS) は、液体サンプル中に分散または懸濁したナノ粒子 (NP) の特性解析にきわめて有効な手段です。spICP-MS は比較的新しい分析法ですが、製造品や環境および生体サンプル中の NP の分析に活用される機会は徐々に増えてきています。spICP-MS では、サンプル前処理と希釈を適切に行うことで、プラズマを通過する個々の粒子から発生する元素信号をもとに、NP を検出することができます。粒子数および粒径分布に加え、粒子濃度および対象元素の溶存成分濃度を同時に測定できるのが、この分析法の大きな特徴です。

spICP-MS は、測定する対象元素を選択できる場合、すなわち組成があらかじめわかっている NP の分析において大きな成果をあげています。その一方で、組成が未知または変化する NP の混合物を含む天然サンプルの分析にも関心が集まっています。また、ある金属でできた核を別の金属の殻が覆っているコアシェル粒子のように、複数の金属で構成される NP もあります。多元素からなるこれらのバイメタル粒子の測定は、1 台の検出器でシーケンシャル測定を行う従来の ICP-MS 機器にとって新たな課題となっています。

単一 NP から発生するイオンブームの信号継続時間は粒子のサイズや組成によって異なりますが、通常は 500 μs (0.5 ms) 程度です。また、ICP-MS による単一粒子測定時のドウェルタイム (または積分時間) は数十から数百 μs の範囲で、サンプリングスピードと信号精度の最適なバランスが得られるのは 100 μs 前後です。良好な信号精度を確保し、信号「ノイズ」を正確に定量するためには、ドウェルタイムを十分に長くすることが不可欠です。これは、小さな粒子をバックグラウンドと区別するためです。測定間に遅延時間がなければ、信号継続時間と最適なドウェルタイムにより、粒子から発生する信号ブームの間に複数のシーケンス測定 (ドウェルタイム) を行えるのは明らかです。つまり、各粒子について、選択された質量の信号パルス全体を収集できるため、カウント、ひいては個々の粒子サイズを正確に特性解析することができます。

ところが、各粒子で複数の質量を測定する場合は、イオンブームが機器を通過するときに、分光計を 2 つの質量間で繰り返し切り替えなければなりません。また、四重極を通過するイオンの質量が変化するたびに、次の質量の測定に備えて信号を安定化させるためのセトリング時間も必要です。セトリング時間は、質量変化の大きさに応じて、数十から数百 μs 以上になります。セトリング時間中はどの質量も測定されないため、単一粒子から発生する信号ブームの間に 2 つの質量を測定すると、信号のほとんどを取り込み損ねることになります。原理上は、単一粒子で 2 つの元素を測定することが可能です。例えば、ドウェルタイムを 80 μs 、セトリング時間を 100 μs とした場合、1 つの粒子から発生する 500 μs の信号ブームの間に、2 つの質量にわたって 1 ~ 2 回のスイープを取り込むことができます。ところが実際には、半分以上のカウントがセトリング時間中に見逃されるため、データに大きなばらつきが生じ、よくても定性的な情報しか得られません。サンプリングスピードを上げるためにドウェルタイムを短くすると、質量変化間のセトリング時間は固定されているため、積分時間の短縮に伴って信号カウントが減少し、データ品質はさらに低下します。そのため、粒子群に含まれる複数の元素を確実に分析するには、対象元素の質量ごとに 1 回ずつ、合計 2 回サンプルを分析する必要があります (1)。または、フィールドフロー分離などの手法により粒子をサイズごとに分画してから、ICP-MS で各粒子分画の多元素分析を行うこともできます (2)。

データ品質を損なうことなく、正確な多元素 NP 分析を直接行えるようにするため、アジレントは ICP-MS 用の高速多元素ナノ粒子解析機能を開発しました。この多元素モードは、メインの ICP-MS MassHunter スイートのオプションとして提供される単一ナノ粒子アプリケーションモジュールに含まれています。この多元素 NP アプローチにより、各元素の測定に最適な条件を使用して、1 回のサンプル分析で最大 16 種類の元素のデータを連続的に収集することができます。

ソフトウェアモジュールを使用して、収集された多元素データは、ICP-MS MassHunter の「データ解析 (Data Analysis)」画面のテーブルにまとめられます。このテーブルには、測定された各元素を含有する NP についての情報が包括的に表示されます。ICP-MS MassHunter 多元素

NP アプローチは、従来の単元素 spICP-MS 分析よりも短時間で分析が完了します。また、サンプルバイアルへの 1 回のアクセスで多元素分析を行えるため、サンプルの汚染リスクが低減します。さらに、データ品質が向上し、多元素粒径分布データの比較から元素の相関性を推定することも可能です。

TiO₂ と ZnO は、市販製品で最も広く使用されている 2 つの NP です。TiO₂ または ZnO NP の含有量 (重量 %) は、日焼け止めで 10 ~ 25 %、歯磨き剤で 1 ~ 15 %、化粧品で 0.5 ~ 20 %、食品で最大 1 % であることが報告されています (3)。生産および使用規模の増大を背景に、規制当局および一般市民の間で、NP の曝露による生物系および環境への潜在的影響に対する懸念が高まっています。

根圏地層における生態系の健全性に対する影響は、ZnO NP の方が TiO₂ NP より大きいことが Huang 他により報告されています (4)。ZnO は、溶解して Zn²⁺ を根圏に放出し、これが窒素固定菌である根粒菌 *Rhizobia* やその宿主植物にダメージを与えます。TiO₂ は、ZnO より溶解性が低く、主に物理的に付着することで根圏に影響を与えます。

TiO₂ NP は、安定条件下では Ag や ZnO NP よりも毒性が低いことが報告されています。ただし、高濃度の TiO₂ NP を含むサンプルを紫外線照射に曝露すると、潜在的リスクが高まることを示した論文もいくつかあります (5)。子供用の屋外プールにおける TiO₂ NP の発生状況を評価した最近の研究 (6) では、膨大な数の NP が日焼け止めから水中に放出され得ることが報告されています。

以上のことから、複数の種類および組成の NP を 1 回の分析で特性解析できる、高速で正確、かつ高感度の分析法が求められていることは明らかです。

今回の調査では、日焼け止めに含まれる NP 成分である Al(OH)₃、TiO₂、および ZnO を Agilent 7900 ICP-MS により多元素 spICP-MS モードで測定しました。メソッド設定、データ取り込み、およびデータ解析には、ICP-MS MassHunter の高速多元素ナノ粒子解析機能を使用しました。また、同じメソッドを使用して、スイミングプールから採取したさまざまな水サンプル中の TiO₂ および ZnO NP を測定しました。

実験方法

標準物質およびサンプル

メソッドの真度の確認には、TiO₂ 標準物質 (SRM) NIST 1898 二酸化チタン (米国国立標準技術研究所、米国メリーランド州ケイザーズバーク) を使用しました。NIST 1898 には、50 nm 未満の結晶または一次粒子径の粒子が含まれていますが、水相中に分散した状態では、ナノスケールでの凝集の程度に応じて、粒子サイズは 71 ~ 112 nm になります (7)。粒子カウントが 1 分あたり 500 ~ 2000 になる粒子濃度を計算し、SRM を脱イオン水でこの濃度に希釈しました。その後、超音波処理によりサンプルを均一にしました。

ネブライザ効率の測定には、公称粒子サイズ 60 nm の NIST 8013 金ナノ粒子 RM を使用しました。ネブライザ効率は、検出された粒子数を、リファレンス溶液中に存在することがわかっている粒子数で割ることにより求められる比率です。この値は、粒子数濃度 (1 mL あたりの粒子数) を計算し、測定された粒子信号を NP 質量、さらに粒子サイズに変換するために必要になります (8)。

Al、Ti、および Zn の元素レスポンス係数の測定には、すべての対象成分を含む混合多元素標準物質 (SPEX CertiPrep 社、米国ニュージャージー州メアチエン) を 1% HNO₃ で 10 µg/L に希釈して使用しました。元素レスポンス係数は、生の NP 信号を粒子サイズに変換するための式で必要になるもう 1 つのパラメータです。

3 種類の日焼け止め製品を東京都内の店舗で購入しました。各サンプルの表記成分を表 1 に示します。日焼け止めサンプルは、1% Triton™ X-100 脱イオン水溶液で 50 倍に希釈し、30 分間超音波処理しました。分析用の最終溶液は、サンプルをさらに 0.01% Triton™ X-100 で 100,000 倍に希釈し、30 分間超音波処理して調製しました。

表 1. 3 種類の日焼け止め製品の表記成分

日焼け止め	Al	Ti	Zn
A	Al(OH) ₃	TiO ₂	-
B	-	-	-
C	Al(OH) ₃	TiO ₂	ZnO

Al、Ti、および Zn NP の結果を総元素濃度と比較するために、3 種類の日焼け止めサンプルの分解物も調製しました。各日焼け止めサンプル約 0.2 g を 10 mL の HNO₃ 中で高周波分解しました。分析のため、この分解物溶液をさらに 1% HNO₃ で 1000 倍に希釈しました。

スイミングプールの水サンプルは、東京圏の複数のスイミングプールから採取しました。

装置構成

すべての測定には、Agilent 7900 ICP-MS を使用しました。この装置には、標準のガラス製同軸ネブライザ、石英製スプレーチャンバ、小内径 (1.0 mm) インジェクタ付き石英製トーチ、標準のニッケル製コイルが搭載されています。サンプルは、標準的なペリスタルティックポンプおよびチューブ (内径 1.02 mm) により ICP-MS に直接導入しました。7900 ICP-MS には、サンプリングスピード 100 µs (1 秒間に 10,000 回測定) で元素データを取り込むことのできる高速時間分析 (TRA) モードが搭載されています。測定間のセトリング時間は不要です。

高速多元素ナノ粒子解析:

spICP-MS 用の多元素データ取り込みプログラム

解析には、Agilent ICP-MS MassHunter ソフトウェアの単一ナノ粒子アプリケーションモジュールの高速多元素ナノ粒子解析モードを使用しました。ICP-MS MassHunter のメソッドウィザードでは、画面上の指示に従うことでメソッド設定プロセスを完了でき、必要なメソッドパラメータは自動的に提示または計算されます。

図 1 に、従来の spICP-MS (一度に 1 つの元素を測定) と高速多元素 spICP-MS によるデータ取り込みの概略図を示します。

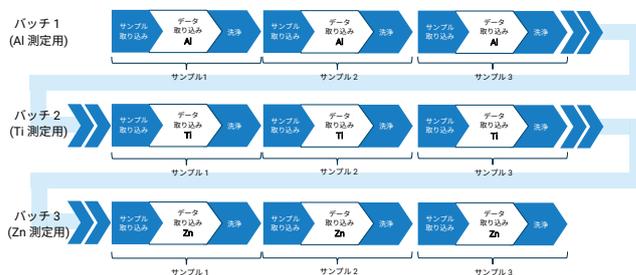


図 1A. 従来の spICP-MS メソッド

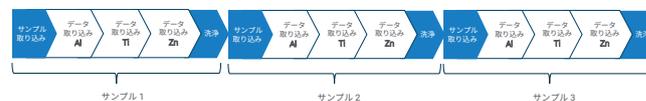


図 1B. ICP-MS MassHunter 高速多元素ナノ粒子解析機能を使用した多元素 spICP-MS メソッド

従来の splICP-MS メソッド (図 1A) では、各バッチで元素が 1 つずつ測定されます。そのため、複数の元素を測定する場合は、サンプルの取り込みステップと洗浄ステップを元素ごとに繰り返す必要があり、時間がかかります。また、各元素の測定のためにサンプルバイアルにアクセスする必要があるため、キャリアオーバーや汚染のリスクが大幅に高まります。

一方、高速多元素ナノ粒子解析モードでは、1 回のサンプル取り込みで多元素データが連続的に収集され (図 1B)、多元素データは 1 つのデータファイルにまとめられます。このアプローチでは、すべての成分の測定に必要なサンプル取り込みおよび洗浄が 1 回で済むため、時間を節約できます。また、サンプルの汚染リスクが大幅に低減し、データ品質も高まります。

今回の調査に使用した Agilent 7900 ICP-MS の使用条件を表 2 に示します。メソッドウィザードでは、Ti に対し、Ca による干渉を受けない質量 47 が自動的に選択されます。⁴⁷Ti は、あらゆる環境、食品、化粧品サンプルの分析に使用できます。ただし、今回の日焼け止めサンプルの調査では、サンプルに Ca が含まれていないため、存在比が最大の Ti 同位体 (質量 48) を選択しました。

表 2. ICP-MS の使用条件

パラメータ	設定値
RF 出力 (W)	1550
サンプリング深さ (mm)	8
キャリアガス (L/min)	0.70
サンプル取り込みレート (mL/min)	0.35
スプレーチャンバ温度 (°C)	2
ドウェルタイム (μs)	100
セトリング時間 (μs)	0
モニタリング対象の質量	²⁷ Al ⁴⁸ Ti (日焼け止めサンプルの場合) ⁴⁷ Ti (スイミングプールの水サンプルの場合) ⁶⁶ Zn
データ取り込み時間 (s/元素)	20
セルガスモード	ノーガス

日焼け止め分解物の総濃度

多元素 splICP-MS の結果と比較するために、Agilent 7900 ICP-MS を使用して、3 種類の日焼け止めサンプルの分解物に含まれる Ti および Zn の総濃度も測定しました。

結果と考察

メソッドの真度

多元素 splICP-MS メソッドの真度を評価するために、NIST 1898 TiO₂ NP 標準物質を 7900 ICP-MS で測定しました。測定により得られた粒子サイズの平均値は 79 nm、中央値は 74 nm で、レーザー回折分光分析 (71 ± 4 nm)、X 線ディスク遠心 (77 ± 7 nm)、および動的光散乱 (112 ± 4 nm) による認証値と良好に一致しました (7)。

日焼け止めサンプル中の NP の分析

多元素 splICP-MS メソッドを使用して、市販の日焼け止め中の Al、Ti、および Zn 含有 NP を同定しました。各元素の時間分解信号を図 2 に示します。

それぞれ Al、Ti、および Zn として測定した Al(OH)₃、TiO₂、および ZnO NP の定量結果を表 3 に示します。サンプル A では、Al(OH)₃ および TiO₂ NP が測定されました。日焼け止め B では、微量の Al(OH)₃ が検出されました。また、日焼け止め C には、Al(OH)₃、TiO₂、および ZnO NP が含まれていました。サンプル B の Al(OH)₃ を除き、この結果はメーカーが提示している成分情報 (表 1) と一致しています。製品の成分ラベルによると、日焼け止め A および B には、UV 吸収剤としてメトキシけい皮酸エチルヘキシルが含まれています。日焼け止め C は、乳児および幼児用の「化学薬品不使用」の日焼け止めですが、有機有効成分ではなく、TiO₂ や ZnO などの鉱物系有効成分が配合されています。

表 3. splICP-MS により測定した日焼け止め中の Al(OH)₃、TiO₂、および ZnO NP の定量結果

日焼け止め	Al(OH) ₃ (重量 %)	TiO ₂ (重量 %)	ZnO (重量 %)
A	0.016	0.713	<DL
B	0.005	<DL	<DL
C	0.588	4.96	10.8

図 3 に、日焼け止め C 中の TiO₂ および ZnO の粒径分布を示します。この日焼け止めには、直径 100 nm 未満の TiO₂ および ZnO 粒子が含まれていることがわかります。多元素 splICP-MS メソッドを使用することで、時間のかかる酸分解を行うことなく、日焼け止めサンプルの定量および定性情報が得られました。

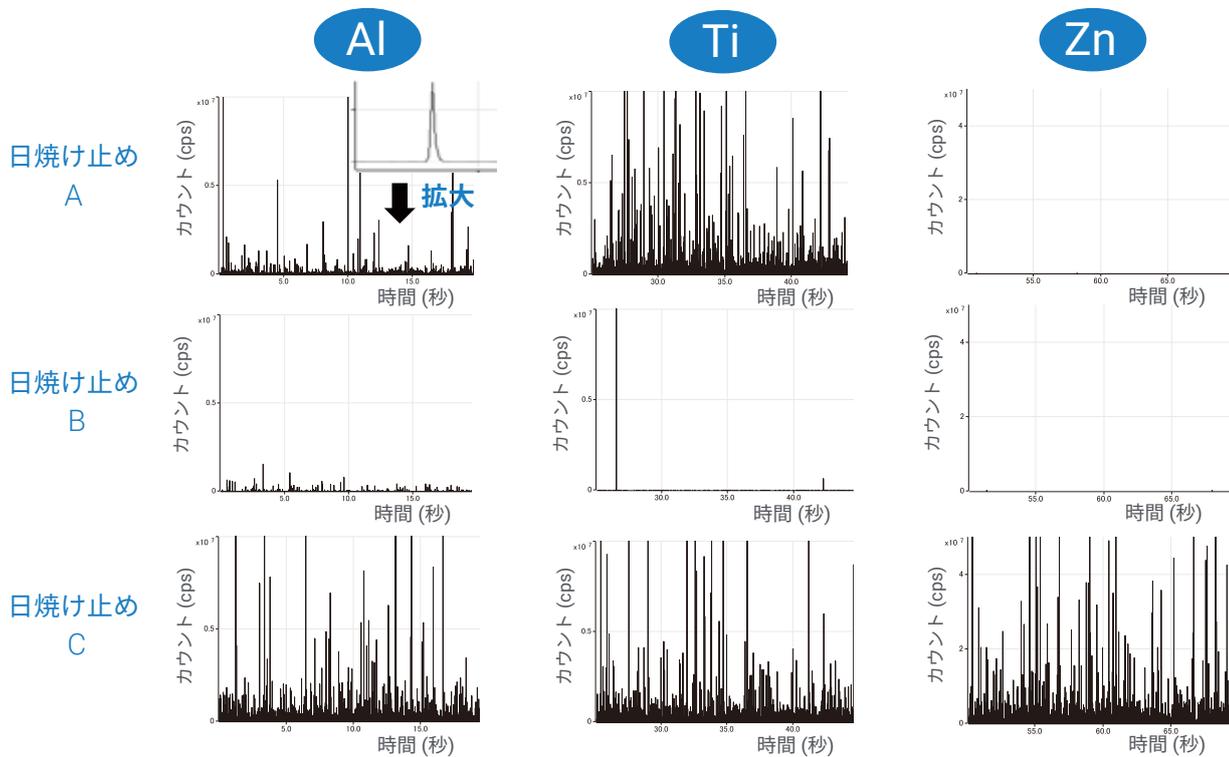


図 2. 3 種類の市販日焼け止め中の Al、Ti、および Zn 含有 NP の時間分解データ

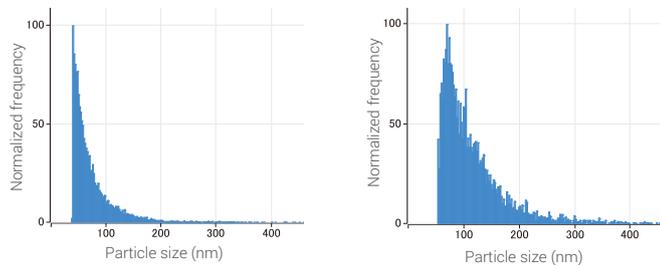


図 3. 日焼け止め C 中の TiO₂ NP (左) および ZnO NP (右) の粒径分布

結果の比較

spICP-MS 分析により測定した日焼け止め C 中の Al、Ti、および Zn NP の濃度を、高周波分解して調製したサンプル中の総金属濃度と比較しました (表 4)。2 つの濃度結果は、3 種類すべての元素についてほぼ一致していました。

表 4 には、定量結果の RSD も示しています。多元素 spICP-MS メソッドによる結果の RSD 値が高いのは、日焼け止めサンプルの分散状態が不均一だったためと考えられます。分散手法をさらに最適化することで、精度は高まるものと思われま

表 4. 日焼け止め C 中の Al、Ti、および Zn 含有 NP の濃度 (spICP-MS で測定) と総元素濃度 (分解後) の比較

	Al(OH) ₃		TiO ₂		ZnO	
	濃度 (重量 %)	RSD (%) n = 6	濃度 (重量 %)	RSD (%) n = 6	濃度 (重量 %)	RSD (%) n = 6
spICP-MS	0.588	22.9	4.96	19.8	10.8	16.3
サンプル分解物	0.714	6.3	5.49	2.5	14.6	2.9
NP 濃度 / 総濃度の比	82%		90%		74%	

スイミングプール水中のナノ粒子

多元素 spICP-MS メソッドを使用して、4 種類のスイミングプール水サンプルの NP 成分を測定しました。図 4 に、3 種類のプール水中の Zn 含有 NP の時間分解データを示します。表 5 に示す結果から、水中の TiO₂ および ZnO NP の濃度が、屋内プールよりも屋外プールの方が高いことがわかります。この結果は、屋外プールの方が、日焼け止めによる汚染の影響が大きいという予測の正しさを裏付けています。NP の濃度は、他のプールよりも大幅に小型で、浄水装置が取り付けられていない子供用プール (屋外プール 3) において最も高くなっています。

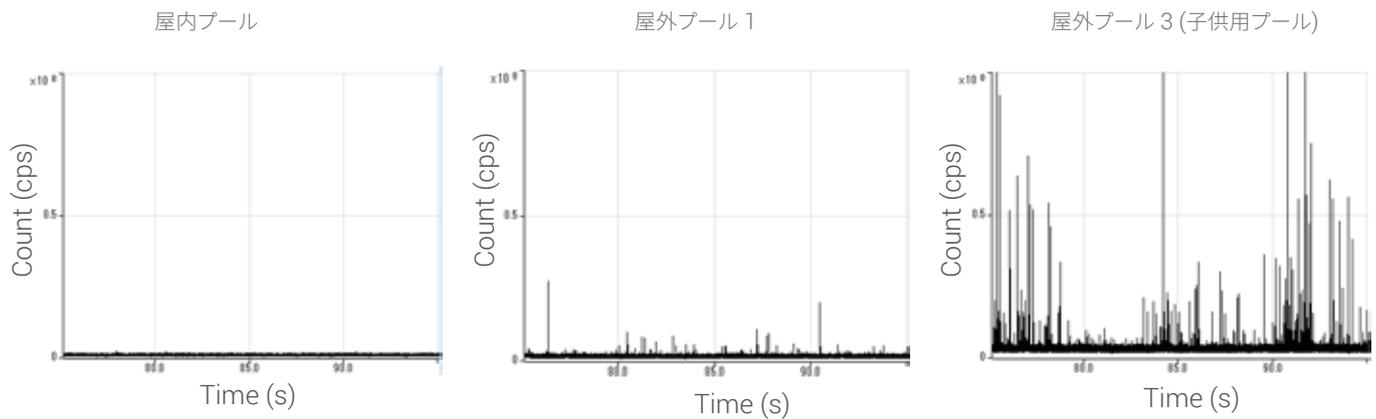


図 4. 3 種類のスイミングプール水サンプル中の ZnO NP の時間分解データ

表 5. スイミングプール水サンプル中の TiO₂ および ZnO NP の濃度

	TiO ₂ (ng/L)	ZnO (ng/L)
脱イオン水	検出されず	検出されず
屋内プール	49	検出されず
屋外プール 1	309	146
屋外プール 2	427	1040
屋外プール 3 (子供用プール)	1100	1610

プール 3 で高濃度の Ti および Zn 系 NP が検出されたことは、子供の肌に塗られていた日焼け止めが有機系の製品ではなく、鉱物系の製品であったことも示唆しています。

結論

多元素 spICP-MS メソッドを使用することで、同一サンプル中の、異なる複数の元素を含有するナノ粒子をすばやく正確に測定することができます。また、ICP-MS MassHunter の高速多元素ナノ粒子解析機能により、さまざまな組成の NP を 1 回の連続的なサンプル分析で解析できます。このメソッドでは、1 回のデータ取り込みで、複数の元素の粒子サイズ、粒子濃度、および粒径分布が得られます。

対象の元素ごとに個別に NP データを取り込む場合と比べ、分析メソッドがシンプルなおうえ、サンプル分析時間を大幅に短縮できます。また、サンプルバイアルへの 1 回のアクセスで複数の元素を測定できるため、汚染のリスクが最小限に抑えられ、データ品質が高まります。今回の調査では、このメソッドを使用して、日焼け止め中の Al、Ti、および Zn 含有 NP、およびスイミングプール水サンプル中の Ti および Zn 含有 NP の多元素分析を行いました。サンプル前処理に時間をかけることなく、有意な定性および定量データが得られました。また、多元素 spICP-MS メソッドで得られた日焼け止めサンプル中の Al、Ti、および Zn NP 濃度の測定結果は、高周波分解を使用して調製した日焼け止めサンプルの分析結果と良好に一致していました。

さらに多くの元素をターゲットとするアプリケーションにおいても、アクセラントの高速多元素ナノ粒子解析モードを使用することで、1 回のサンプルアクセスで最大 16 種類の元素の NP データを取り込むことができます。

参考文献

1. R. C. Merrifield, C. Stephan, J. Lead, Determining the Concentration Dependent Transformations of Ag Nanoparticles in Complex Media: Using SP-ICP-MS and Au@Ag Core–Shell Nanoparticles as Tracers, *Environ. Sci. Technol.* 2017, 51, 3206-3213
2. F. von der Kammer, S. Legros, E. H. Larsen, K. Loeschner, T. Hofmann, Separation and characterization of nanoparticles in complex food and environmental samples by field-flow fractionation, *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 30, No. 3, 2011
3. S. Choi, M. Johnston, G. Wang, C. P. Huang, A seasonal observation on the distribution of engineered nanoparticles in municipal wastewater treatment systems exemplified by TiO₂ and ZnO, *Science of the Total Environment*, **2018**, 625, 1321–1329
4. Y. C. Huang, R. Fan, M. A. Grusak, J. D. Sherrier, C. P. Huang, Effects of nano-ZnO on the agronomically relevant *Rhizobium*–legume symbiosis, *Science of Total Environment*, 2014, 497–498, 78–90
5. S. K. Jeon, E. J. Kim, J. Lee, S. Lee, Potential risks of TiO₂ and ZnO nanoparticles released from sunscreens into outdoor swimming pools, *Journal of Hazardous Materials*, **2016**, 317, 312–318
6. R. D. Holbrook, D. Motabar, O. Quiñones, B. Stanford, B. Vanderford, D. Moss, Titanium distribution in swimming pool water is dominated by dissolved species, *Environmental Pollution*, 2013, 181, 68–74
7. NIST Standard Reference Material 1898 (Titanium Dioxide Nanomaterial) Certificate of Analysis, 2012
8. H. Pace, N. J. Rogers, C. Jarolimek, V. A. Coleman, C. P. Higgins, J. F. Ranville, Determining Transport Efficiency for the Purpose of Counting and Sizing Nanoparticles via Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2011, 83, 9361-9369

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2018
Printed in Japan, October 11, 2018
5994-0310JAJP