

## ナノ粒子分析のためのシングルパーティクル ICP-MS

小林 恭子

### 1 はじめに

近年、ナノテクノロジーの発展に伴い様々なナノマテリアルが開発され、その応用範囲は半導体関連分野から医療分野まで多岐にわたっており、その使用量も増加している。例えば、半導体ウェーハ表面の研磨に用いる化学機械研磨剤 (SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CeO<sub>2</sub> など)、食品添加物 (SiO<sub>2</sub> など)、化粧品や日用品 (Ag, TiO<sub>2</sub>, ZnO など) などにナノマテリアルが利用されている。このような背景から、ナノマテリアルの特性を把握および評価する必要性が高まっている。ナノマテリアルの粒径とその分布、表面状態や流動性などの特性は最終製品の物性に影響するが、粒径は材料の均一性を示す指標として重要な項目の一つである。また、ナノマテリアルは新規な物質であり、比表面積が大きいことから反応性が高く、その及ぼす環境影響や生体影響が懸念されていることからナノマテリアルの測定ニーズが高まっている。

粒径の測定手法としては、動的光散乱法や電子顕微鏡法が代表的であるが、それぞれに特徴と課題がある。誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-OES) や誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) は、多元素を同時/一斉に測定できる分析手法として広く一般的に用いられている。これらの分析手法は、元素を識別する能力と優れた検出下限値を有しており、現在確立されている ICP-MS によるナノ粒子分析法であるシングルパーティクル ICP-MS (single particle ICP-MS: SP-ICP-MS) では、混在する粒径の異なる金属ナノ粒子のサイズと個数濃度を把握できるとともに、溶存金属成分濃度情報も得ることができる。ICP-OES と ICP-MS は、通常、溶液化した試料溶液中に含まれる元素濃度を計測する手法であるが、1980 年代に ICP-OES を用いてナノ粒子を直接分析した事例が報告された<sup>1)~3)</sup>。これらは大気中のエアロゾルや微粒子を測定する手法として ICP-OES を利用した研究であった。1993 年には ICP-MS を用いたナノ粒子分析が報告された<sup>4)</sup>。このように SP-ICP-MS は環境中に存在するナノマテリアルを計測する手法として発展してきたが、近年では生体試料、一般消費財、工業材料など様々な試料におけるナノ粒子測定方法として適用される分野が拡大している。

### 2 SP-ICP-MS

#### 2.1 SP-ICP-MS の概要とナノマテリアルの定義

SP-ICP-MS では、ナノ粒子を含む懸濁液がネブライザーで霧化され、生成された液滴はスプレーチャンバーを通過する過程で粒径が選別され、トーチを介してイオン源 (Ar プラズマ) に導入される。液滴試料および試料中の元素はプラズマ中で脱溶媒、原子化、イオン化の過程を経る。イオンはインターフェースを介して質量分析計内に取り込まれ、必要に応じてスペクトル干渉が除去される。その後、測定対象元素は質量電荷比 ( $m/z$ ) で区別され、検出器で検出される。

2011 年に欧州委員会が発表したナノマテリアルの規制上の定義は以下のとおりであり、平たく言うと、ナノマテリアルが粒子状である場合には直径 1~100 nm のものがナノ粒子と定義される。

「ナノマテリアル」とは、非結合状態、または強凝集体 (アグリゲート) または弱凝集体 (アグロメレート) であり、個数濃度のサイズ分布で 50 % 以上の粒子について一つ以上の外径が 1 nm から 100 nm のサイズ範囲である粒子を含む、自然の、または偶然にできた、または製造された材料 (マテリアル) を意味する<sup>5)</sup>。

SP-ICP-MS で用いられるネブライザーの内径は一般的に 200~400  $\mu\text{m}$  であり、液体試料は約 100  $\mu\text{m}$  以下の液滴になるが、スプレーチャンバーを通過する過程で選別され、約 10  $\mu\text{m}$  以下の液滴のみがプラズマに導入されると言われている。つまり、数  $\mu\text{m}$  までの粒子が SP-ICP-MS で測定できると考えることができる。

#### 2.2 精確な SP-ICP-MS 測定のための条件

SP-ICP-MS でナノ粒子を精確に測定するために重要なことは、粒子由来のイオンを連続して漏らすことなく検出することである。これにより、一つ一つの粒子を反映した測定結果が得られる。また、実際のサンプルでは溶存成分と粒子成分が混在していることが考えられるため、これらを区別して検出および解析することが必要となる。図 1 には試料中の溶存成分から得られた連続信号 (a) とナノ粒子測定モードにおいてナノ粒子 (60 nm Au ナノ粒子) の連続測定で得られた信号 (b) を示

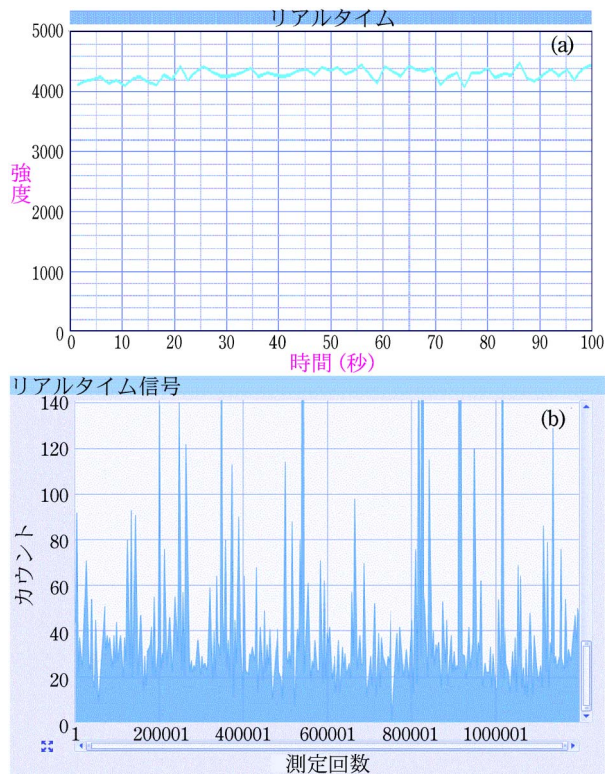


図1 (a) 溶存成分 (Au) から得られた信号と (b) ナノ粒子測定モードにおいて 60 nm Au ナノ粒子から得られた信号 (a, b ともに  $m/z$  197 を測定)

す。溶存成分は水溶液中で均一に存在しているため、得られる信号は一定の強度で安定している。一方で、ナノ粒子は水溶液中に分散しているが均一には分布しておらず、粒子はランダムにプラズマに導入され、その粒子由来のイオンが不均一な間隔でスパイク状の信号として検出される。得られる信号強度が高いほど粒径が大きく、信号の数が多ほど粒子の個数濃度が高いことを意味する。一般的な ICP-MS での信号取り込みは、検出器が信号を検出する“滞在時間 (dwell time)”と、次の測定までに電子制御系を安定させるための“安定化時間 (settling time)”で構成されている。安定化時間の間は信号の取り込みができないが、溶存成分を測定する場合は定常信号が得られるため、安定化時間による信号取り込みの中断は結果に影響を及ぼさない。しかしナノ粒子を測定する場合は、安定化時間が入ることでデータが不連続となりすべてのナノ粒子の情報を取得できないため、正確な分析結果を得ることができない。そのため、SP-ICP-MS では安定化時間無しに測定することが重要である。次に考慮する必要があるのは滞在時間である。図2には 60 nm Au ナノ粒子から得られた信号を示すが、約 10 個の信号で構成されており、それぞれの滞在時間が 50  $\mu$  秒であるため、この信号は約 500  $\mu$  秒の幅を持っていることになる。これよりも長い滞在時間では複数の粒子を検出してしまふ可能性や粒子の一部しか検出できない可能性が生じるが、滞在時間を十分短くす

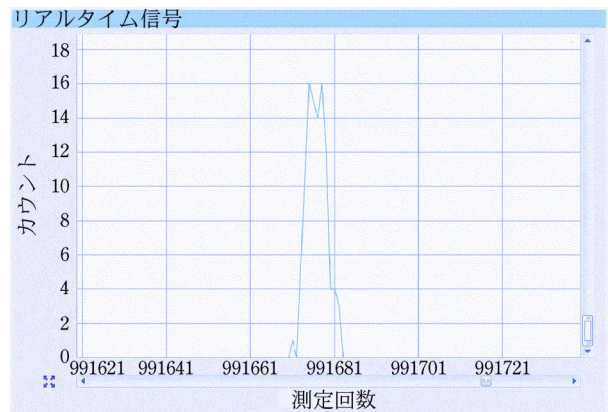
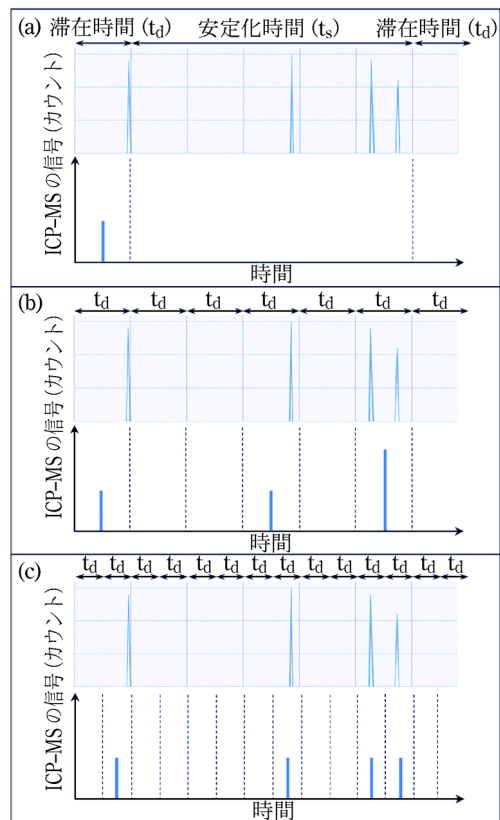


図2 60 nm Au ナノ粒子から得られた信号,  $m/z$  197 を測定



(a) 滞在時間に加えて安定化時間が存在する場合、数え落しが生じる (b) 滞在時間がナノ粒子信号よりも十分長い場合 (安定化時間なし)、2 粒子を 1 粒子として検出している (c) 滞在時間がナノ粒子信号に対して適切 (安定化時間なし) で理想的なケース

図3 滞在時間 ( $t_d$ ) および安定化時間 ( $t_s$ ) が測定結果に与える影響

ることで粒子由来の信号を確実に検出することが可能となる (図3)。C. Stephan らの報告によると、滞在時間を 100  $\mu$  秒以下に設定することで、ナノ粒子の正確な測定が可能となる<sup>6)</sup>。図4には 60 nm の Au ナノ粒子を滞在時間 50  $\mu$  秒および 3000  $\mu$  秒で測定した場合に得られた粒度分布を示す。滞在時間 50  $\mu$  秒では 60 nm Au ナノ粒子の分布のみが得られたが、滞在時間 3000  $\mu$  秒では 78 nm 付近に二つ目の分布が検出された。滞在時間



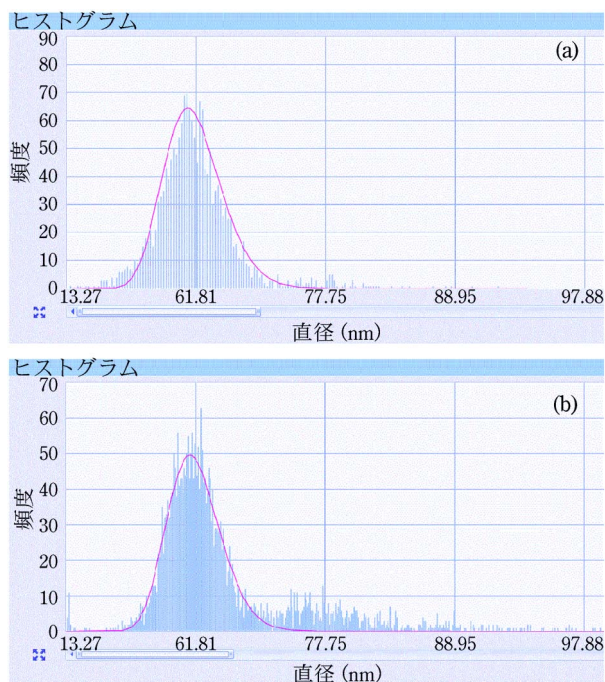


図4 SP-ICP-MSによる60 nm Au ナノ粒子の粒度分布：  
(a)滞在時間 50 μ秒，(b)3000 μ秒

3000 μ秒の際に検出された二つ目の分布は、滞在時間が長いことで1個1個の粒子を区別できずに1個以上の粒子を検出していることが原因と考えられる。このように、ナノ粒子の精確な分析を行うためには、滞在時間100 μ秒以下（通常の定量分析では一般的に数～数十μ秒に設定される）の高速連続測定を行うことが重要である。得られたデータの解析に関しては、従来は表計算ソフトウェアのマクロを用いて解析されていたが、SP-ICP-MS測定専用のソフトウェアが開発され、ナノ粒子の測定から解析までを容易に実施できるまでに至っている。また1回の測定により、ナノ粒子のサイズ（最頻値および平均値）、サイズ分布ヒストグラム、ナノ粒子の個数濃度、溶存成分濃度を得ることが可能である<sup>7)</sup>。なお、SP-ICP-MSの詳しい理論についてはPaceら<sup>8)</sup>やLabordaら<sup>9)</sup>の文献を参照されたい。

### 2.3 SP-ICP-MSにおける検出下限

SP-ICP-MSでナノ粒子分析を行う場合のサイズ検出下限は、装置感度、バックグラウンドノイズ、ナノ粒子を構成する元素もしくは化合物の密度、質量分率に影響を受けると言われている。サイズ検出下限については、Leeらが40元素に対する下限値を実験的に求めており、Ta, Ce, Hfなど7元素では10 nm以下、Ag, Auなど13元素では11～20 nm、Zr, Ni, Cu, Cr, Fe, Al, Tiなど17元素では21～80 nm、Se, Ca, Siでは200 nm以上という結果を得ている<sup>10)</sup>。

SP-ICP-MSでは粒子の個数濃度情報も得られるため、PerkinElmer社のNexION350S ICP-MSを用いて

表1 60 nm Au ナノ粒子標準試料の測定結果と回収率

調製粒子濃度 (粒子/mL)	平均サイズ (nm)		粒子濃度(粒子/mL)	
	測定値	誤差百分率(%)	測定値	回収率(%)
10000	61.2	2	9577	96
1000	61.2	2	953	95
100	61.6	3	70	70
10	60.9	1	18	180

それぞれ、N=2測定の平均値を示す。

個数濃度下限値を検証した結果を表1に示す。なお、実験にはNIST RM 8013 60 nm Au ナノ粒子標準物質を用いたが、本標準物質の粒径参考値は各種測定法により求められており、それぞれ異なる値となっている。そのためここでは便宜上、粒径を60 nmとすることとした。この実験ではナノ粒子標準を10～10000粒子/mLに調製し、調製濃度と実測値との比較を行った。その結果、10000および1000粒子/mLでは調製濃度±10%以内の結果が得られたのに対し、100および10粒子/mLでは調製濃度に対して誤差の大きい結果が得られた。濃度が低い試料ほど希釈倍率が高いため目標濃度と実際の濃度に差が生じている可能性があり、正しい結果を得るためには調製濃度で結果を校正する必要があると考えられる。また実験結果の粒子サイズに着目すると、粒子個数濃度が減少してもサイズ測定値（平均サイズ）には大きな違いは見られず、試料を希釈した場合も1粒子から得られる信号強度が変化しないことがSP-ICP-MSの利点の一つであることが示された。

## 3 SP-ICP-MSの応用事例

### 3.1 環境および生体試料への応用事例

ナノマテリアルの及ぼす環境影響や生体影響に関しては現在においても十分な知見が得られておらず、国際的な課題となっている。環境中に放出されるナノマテリアルとしては、一般消費財に多用されているAgナノ粒子が挙げられる。環境試料への応用事例としては、河川水を含む水試料におけるAgナノ粒子の粒径の経時変動（溶解速度）の検証事例<sup>11)</sup>、浄水処理前後の飲料水におけるAg, Au, TiO<sub>2</sub>ナノ粒子個数濃度の比較および添加回収試験事例<sup>12)</sup>、ZnO, CeO<sub>2</sub>ナノ粒子の河川水および飲料水における測定事例<sup>13)</sup>などがあり、いずれにおいてもSP-ICP-MS法の有用性が示されている。生体試料への応用事例としては、ミミズとミジンコを水酸化テトラメチルアンモニウム（TMAH）で分解しAgおよびAuナノ粒子の添加回収率を検証した事例<sup>14)</sup>、血液試料をTMAHとTriton-100の混合液で希釈しAgナノ粒子およびAuナノ粒子を測定した事例<sup>15)</sup>などが挙げられる。後者では、試料に異なる粒径のナノ粒子（Agナノ粒子：40および60 nm, Auナノ粒子：30および60

nm) を同時に添加し、いずれの粒径においても良好な結果 (サイズおよび粒子個数濃度) を得ている。また、植物試料への応用事例としては、酵素で前処理した植物試料における Au ナノ粒子の測定事例<sup>16)</sup>が挙げられる。本事例では、酵素前処理が Au ナノ粒子の粒径および個数濃度に影響を及ぼさないことを確認しており、植物試料への Au ナノ粒子添加回収試験においても良好な結果が得られている。

### 3.2 一般消費財への応用事例

Ag ナノ粒子は抗菌性を持つことから、多くの一般消費財に利用されている。また、TiO<sub>2</sub> は白色顔料や日焼け防止剤として化粧品に使用されている。これらの背景から、ダイエットサプリメントとして市販されている Ag ナノ粒子の測定事例<sup>17)</sup>や日焼け防止剤に含まれる TiO<sub>2</sub> 粒子の測定事例<sup>18)</sup>などが発表されている。

### 3.3 工業材料への応用事例

工業材料への SP-ICP-MS の利用目的は、主にナノマテリアル製品の品質管理と不純物管理が挙げられる。品質管理を目的とした事例としては、半導体ウェーハ表面の研磨に用いられる化学機械研磨 (chemical mechanical polishing: CMP) スラリー<sup>19)</sup>および様々な用途に使用されている SiO<sub>2</sub> ナノ粒子の測定例<sup>20)</sup>が発表されている。前者では CMP スラリーとして CeO<sub>2</sub> と Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> スラリーを測定し、粒径分布についての議論が行われている。不純物分析への応用事例としては、半導体産業で用いられる高純度試薬 (TMAH, シクロヘキサン, プロピレングリコールモノメチルエーテル: PGME) 中の Fe ナノ粒子測定事例がある<sup>21)</sup>。不純物としてのナノ粒子は個数濃度が低いことが予想されるが、本事例ではシクロヘキサンと PGME の混合液中で約 3000 粒子/mL の Fe ナノ粒子の安定した測定結果が得られている。

## 4 おわりに

SP-ICP-MS は、ICP-MS の持つ元素を識別する能力および感度の高さを利用したナノ粒子分析に有効な手法である。適切な滞在時間および安定化時間を設定できれば、汎用 ICP-MS を用いて迅速かつ簡便なナノ粒子分析が可能である。今後の研究により、応用分野が更に広がっていくことが予想される。

## 文 献

- 1) H. Kawaguchi, N. Fukusawa, A. Mizuike: *Spectrochim. Acta B*, **41**, 1277 (1986).
- 2) 河口広司, 鎌倉勝善, 前田英治, 水池 敦: 分析化学, **36**, 431 (1987).
- 3) U. K. Bocher, W. Dannecker: *J. Aerosol Sci.*, **20**, 1525 (1989).
- 4) T. Nomizu, S. Kaneco, T. Tanaka, T. Yamamoto, H. Kawaguchi: *Anal. Sci.*, **9**, 843 (1993).
- 5) ナノマテリアルの定義に関する欧州委員会勧告 (仮訳), NANO SAFETY Web Site, 産業技術総合研究所, (2011), [https://staff.aist.go.jp/kishimoto-atsuo/201110\\_EU\\_definition\\_J.pdf](https://staff.aist.go.jp/kishimoto-atsuo/201110_EU_definition_J.pdf) (2016年5月10日, 最終確認).
- 6) A. Hineman, C. Stephan: *J. Anal. At. Spectrom.*, **29**, 1252 (2014).
- 7) PerkinElmer Inc. Product Note, 011657A\_01.
- 8) H. Pace, N. Rogers, C. Jarolimek, V. Coleman, C. Higgins, J. Ranville: *Anal. Chem.*, **83**, 9361 (2011).
- 9) F. Laborda, E. Bolea, J. Jiménez-Lamana: *Anal. Chem.*, **86**, 2270 (2014).
- 10) S. Lee, Z. Bi, R. Reed, J. Ranville, P. Herckes, P. Westerhoff: *Environ. Sci. Technol.*, **48**, 10291 (2014).
- 11) D. Mitrano, J. Ranville, A. Bednar, K. Kazor, A. Hering, C. Higgins: *Environ. Sci.: Nano*, **1**, 248 (2014).
- 12) A. Donovan, C. Adams, Y. Ma, C. Stephan, T. Eichholz, H. Shi: *Chemosphere*, **144**, 148 (2016).
- 13) A. Donovan, C. Adams, Y. Ma, C. Stephan, T. Eichholz, H. Shi: *Anal. Bioanal. Chem.*, (2016) article in press.
- 14) E. Gray, J. Coleman, A. Kennedy, J. Ranville, C. Higgins: *Environ. Sci. Technol.*, **47**, 14315 (2013).
- 15) PerkinElmer Inc., Application Note, 011935\_01.
- 16) Y. Dan, W. Zhang, R. Xue, Z. Ma, C. Stephan: *Environ. Sci. Technol.*, **49**, 3007 (2015).
- 17) PerkinElmer Inc., Application Note, 011800\_01.
- 18) Y. Dan, H. Shi, C. Stephan, X. Liang: *Microchem. J.*, **122**, 119 (2015).
- 19) PerkinElmer Inc., Application Note, 011617\_01.
- 20) M. Montanõ, B. Majestic, Å. Jämting, P. Westerhoff, J. Ranville: *Anal. Chem.* (2016), in submitted.
- 21) PerkinElmer Inc., Application Note, 012407A\_01.



小林恭子 (Kyoko KOBAYASHI)

(株)パーキンエルマージャパン EH 分析事業部 無機ビジネス部 アプリケーションリサーチラボ (〒240-0005 神奈川県横浜市保土ヶ谷区神戸町 134)。北里大学大学院衛生学研究科修了。《現在の研究テーマ》ICP-MS を用いた測定法の開発。《趣味》釣り。

E-mail: kyoko.kobayashi@perkinelmer.com