

## sp ICP-MS によるポリスチレンマイクロプラスチックの粒子サイズ分析

Agilent 8900 ICP-QQQ を用いた  $^{13}\text{C}$  のモニタリングによる  
模擬 UV 分解中のプラスチック汚染の研究



### 著者

Yuxiong Huang<sup>1</sup>, Ziyi Liu<sup>1</sup>, Dong Yan<sup>2</sup>, and Shuofei Dong<sup>2</sup>

1. Shenzhen International Graduate School (SIGS), Tsinghua University, Shenzhen 518055, China
2. Agilent Technologies Co., Ltd. (China), Beijing 100102, China

### はじめに

プラスチックは、包装材、保管および食品容器、電子機器、玩具、繊維など、多くの日用品に含まれています。1950 年代以降はプラスチックがコスト効率の高い材料となり、一般消費財や工業、農業、海洋活動、リサイクルセンター、一般廃棄物などに由来する大量のプラスチックが環境を汚染してきました。プラスチックは完全に劣化することがなく、断片化して直径のサイズ範囲がミリメートルからナノメートルの粒子となるため、プラスチック汚染やプラスチック汚染水は憂慮すべき問題です。5 mm から 1  $\mu\text{m}$  のサイズの粒子はマイクロプラスチック (MP) と呼ばれることが多く、1  $\mu\text{m}$  未満の粒子はナノプラスチック (NP) と呼ばれます。マイクロプラスチックがもたらすリスクの全容はまだ不明であり、信頼性の高い粒子分析および粒子サイズ分析メソッドが求められています。また、水、土壌、空気、食品のプラスチック汚染の問題に対する一般社会の認識が、世界中で高まっています (1)。プラスチック汚染の規模とプラスチック汚染物質の挙動に関する知識の格差を考えると、生態系と人間の健康に対するプラスチック粒子の脅威を理解するために、さらに多くの研究が必要です。

MP と NP の環境中での挙動を研究するために、プラスチック粒子のサイズ、量、材料タイプをサンプリングして分析するさまざまなメソッドが開発されてきました。複雑な環境や生体媒体中の MP に関する研究の大半は、比較的大きなサイズの粒子に焦点が当てられてきましたが、5  $\mu\text{m}$  未満の MP を特性解析するマイクロプラスチック分析メソッドはあまり多くありません (2)。

splICP-MS は、金属ベースのナノ粒子の研究に広く使用されており、MP および NP の数とサイズの定量分析にも適用可能です (3)。splICP-MS を利用して、Au コートした合成 MP のサイズと個数濃度をサブ $\mu\text{m}$  サイズスケールで定量した研究があります (4, 5)。ただし、それらの研究で用いられたメソッドは、Au コーティングの間接的な分析に基づいており、多段階のサンプル前処理が必要でした。最近の研究では、 $^{13}\text{C}$  をモニタリングすることにより、splICP-MS でポリスチレン MP の粒子サイズと個数濃度を定量できることが示されています (6-8)。このメソッドは、管理された研究環境で MP を調査する方法として有望です。

本研究ではさらに進めて、ラボシミュレーション環境で  $^{13}\text{C}$  信号をモニタリングすることにより、UV 分解中のポリスチレン MP の粒子数とサイズを定量する splICP-MS メソッドを開発しました。

## 実験方法

### 材料とサンプル前処理

本研究では、ポリスチレン (PS) マイクロビーズを MP として用いました。粒子サイズ 800 nm (部品番号: PL6008-4101、認定平均直径: 805 nm) と 1000 nm (部品番号: PL6010-4101、認定平均直径: 1024 nm) の 2 つの PS マイクロビーズ懸濁液 (球形、10.0 % wt/wt) は、アジレントで用意しました。3 つの異なるサイズの PS (球形、1.8  $\mu\text{m}$ 、3  $\mu\text{m}$ 、5  $\mu\text{m}$ ) を含むマイクロビーズ粉末は、Tesulang Inc. (中国、広東省) から購入しました。これら 3 つの PS マイクロビーズ粉末の平均直径は、走査型電子顕微鏡 (SEM、日立 SU8010、日本) によって測定しました。図 1 に示すように、直径は  $1.82 \pm 0.11 \mu\text{m}$ 、 $2.97 \pm 0.19 \mu\text{m}$ 、 $4.96 \pm 0.14 \mu\text{m}$  でした。MP 懸濁液サンプルはすべて、分析前に (MP 粒子サイズに応じて) 2 ~ 50 mg/L の濃度範囲に調製するか、脱イオン水 (DIW) で希釈しました。

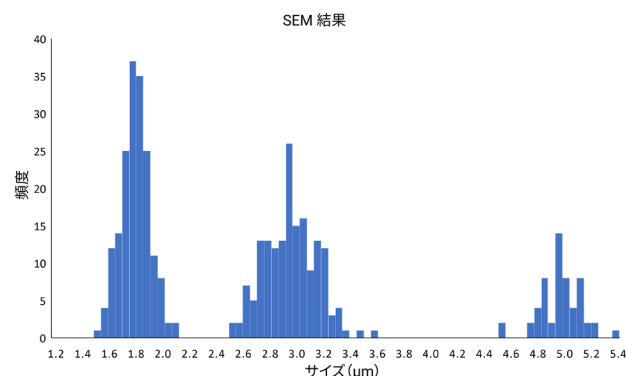


図 1. 本研究で用いた 3 種類のマイクロビーズ粉末の SEM 結果。各粉末で測定された PS のサイズは、それぞれ  $1.82 \pm 0.11 \mu\text{m}$  ( $n=175$ )、 $2.97 \pm 0.19 \mu\text{m}$  ( $n=168$ )、 $4.96 \pm 0.14 \mu\text{m}$  ( $n=55$ ) でした。

### 装置構成

splICP-MS メソッドには、Agilent 8900 トリプル四重極 ICP-MS (ICP-QQQ) を用いました。サンプル導入システムには、内径 1.0 mm インジェクタ付き石英トーチ (部品番号: G3280-80081)、標準的な石英スプレーチャンバ、標準的なガラス同軸ネプライザ、ニッケルチップのインタフェースコーンという構成を用いました。サンプルは、内径 0.51 mm の PTFE チューブ (部品番号: 8003-0689) を用いた負圧吸引によって ICP-MS に導入しました。8900 には、ORS コリジョン/リアクションセル (CRC) の両側に配置された 2 つの四重極 Q1 と Q2 が装着されており<sup>4</sup>、MS/MS モードでの動作が可能となっています。本研究では、Q1 と Q2 の両方を  $m/z = 13$  に設定した MS/MS を用いて、ノーガスモードで  $^{13}\text{C}$  を測定しました。これらの測定条件において、S/N 比が向上し、サイズ検出下限が低くなりました。その要因としては、MS/MS モードで  $^{12}\text{C}$  からのピークテリングオーバーラップを排除したことが考えられます。代表的な計測器の操作パラメータを表 1 に示します。Agilent ICP-MS MassHunter ソフトウェアバージョン 5.1 内の単一粒子モジュールを、データ収集とキャリブレーション、さらにはサンプル中の粒子の個数、濃度、サイズ分布の計算に用いました。

表 1. ポリスチレンマイクロプラスチックの splICP-MS 分析に用いた Agilent 8900 ICP-QQQ の代表的な操作パラメータと取り込み設定

パラメータ	設定値
RF 出力 (W)	1600
サンプリング深さ (mm)	6.0
ネブライザガス流量 (L/min)	0.78
KED (V)	5
サンプル注入流量 (mL/min)	0.08
Q1 → Q2 質量 (m/z)	13 → 13
ドウェルタイム (ms)	0.1
取り込み時間 (秒)	60

### UV 分解処理

MP の UV 分解プロセスを調べるために、PS MP の懸濁液 (5 μm) を、DIW で 10 mg/L に多段階希釈して石英ビーカーで調製しました。MP が均一に分散するよう、懸濁液はガラス攪拌機を用いて混合し、超音波処理した後ボルテックスしました。図 2 に示すように、MP の UV 光分解は、36 W UV ランプ (CNLIGHT、中国) を用いて実施しました。実験中、攪拌により、MP が懸濁液中に十分に分散していることを確認しました (MP のビーカー壁への付着は認められませんでした)。UV 分解された MP は、0、12、16、20 時間後にガラスピペットで収集しました。次に、splICP-MS メソッドを用いてサンプルを分析しました。

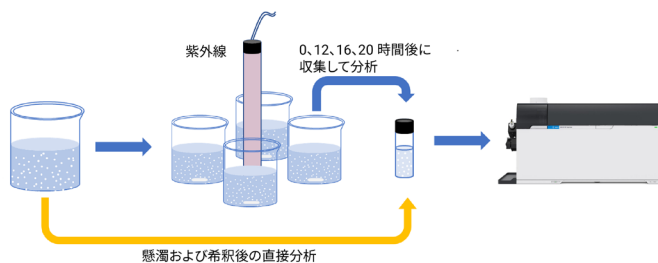


図 2. 実験ワークフローを示す図

### 結果と考察

各懸濁液中の PS MP のサイズと粒子数濃度は、splICP-MS モードで動作する 8900 ICP-QQQ を使用して求めました。<sup>13</sup>C 信号の強度は PS MP のサイズに関連しており、取り込み時間内のピークイベントの数を用いて、MP の粒子数濃度を測定しました。

### PS MP のサイズとサイズ分布の測定

splICP-MS メソッドを用いて <sup>13</sup>C をモニタリングすることにより、さまざまな PS MP 懸濁液 (すなわち 0.8 μm、1 μm、1.8 μm、3 μm、5 μm) のサイズ分布を測定しました。図 3 に示すように、各 PS MP 懸濁液の平均強度値 (カウント/秒、CPS) を、MP の体積 (固体球と見なす) に対してプロットしました。5 つの懸濁液で良好な直線相関性 ( $R^2 = 0.9999$ ) が得られました。これは、この機器が粒子サイズ 0.8 ~ 5 μm の広いダイナミックレンジで PS MP を分析できることを示しています。

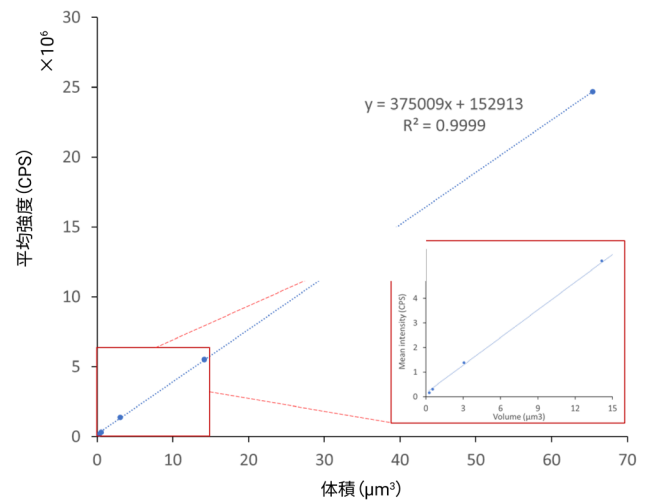


図 3. splICP-MS によって測定した PS MP の粒子サイズの検量線。検量線は、平均強度 (CPS) 対粒子体積 (μm<sup>3</sup>) として表しています。データは表 2 のものです。

1.8 μm、3 μm、5 μm の PS MP を、質量比 1 対 4.6 対 20.1 で混合し、splICP-MS で分析しました。測定した各粒子の CPS 結果と検量線を用いて、粒子サイズデータを計算しました。図 4 に示すように、テストしたサイズ範囲全体で、SEM イメージングによって得られたサイズ分布の統計解析と良好に一致した結果が得られました。

0.8 および 1 μm PS MP のサイズ分布も、図 3 に示す splICP-MS 検量線に基づいて計算しました。平均サイズはそれぞれ  $0.86 \pm 0.11$  および  $1.03 \pm 0.18 \mu\text{m}$  となり、PS マイクロビーズ懸濁液の公称値の範囲内でした。この結果は、splICP-MS メソッドにより PS MP の正確なサイズ分布データが得られることを示しています。

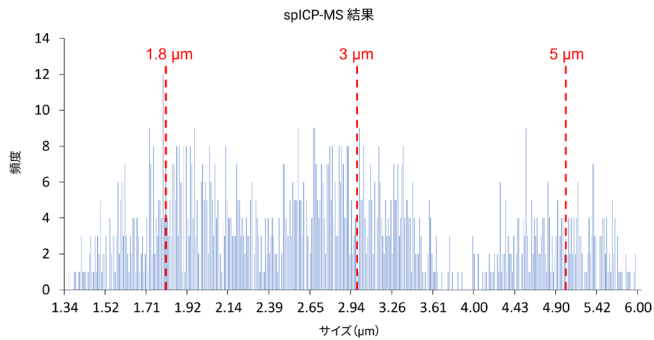


図 4. 異なるサイズの 3 つの PS マイクロビーズ混合粉末の splICP-MS 結果

ネブライザ効率の計算：ネブライザ効率 ( $\eta_{neb}$ ) は、未知のサンプル中の粒子数濃度を計算するために必要となります。本研究では、PS MP の  $\eta_{neb}$  を式 1 に基づいて計算しました。

$$\eta_{neb} = \frac{N_p}{C_{prepared} \times v \times T} \quad (\text{式 1})$$

ここで、 $N_p$  は取り込み時間内に検出された粒子の数です。 $C_{prepared}$  は splICP-MS 分析用に調製した粒子の個数濃度 (個/L)、 $v$  はサンプル注入流量 (L/s)、 $T$  は総取り込み時間 (s) です。

計算結果は、さまざまな PS MP 懸濁液のネブライザ効率が 0.5 ~ 1.9 % の範囲であることを示しています。表 2 は、粒子が大きいほど、 $\eta_{neb}$  の値が小さくなることを示しています。

粒子数濃度の検出下限の計算：粒子数濃度の検出下限 (LOD、個/L) は式 2 に基づいて計算しました。

$$LOD = 3 \times \frac{1}{\eta_{neb} \times v \times T} \quad (\text{式 2})$$

ここで、 $\eta_{neb}$  はネブライザ効率、 $v$  はサンプル注入流量 (L/s)、 $T$  は総取り込み時間 (s) です。

式 2 を用いたところ、splICP-MS メソッドの粒子数 LOD は、MP のサイズに応じて、 $2.0 \times 10^6 \sim 6.9 \times 10^6$  個/L の範囲でした。

ネブライザ効率は、MP の粒子サイズによって大きく異なります。そのため、未知サンプルの MP の個数濃度を計算する際は、各種サイズ分画 (すなわち  $>3 \mu\text{m}$ 、 $1.8 \sim 3 \mu\text{m}$ 、 $0.8 \sim 1.8 \mu\text{m}$ ) に従って  $\eta_{neb}$  を用いる必要があります。このアプローチにより、MP の個数濃度の推定精度が向上します。

表 2. 5 つの異なるサイズの PS MP 分析における splICP-MS メソッドの代表的なネブライザ効率と平均強度

粒子径	ネブライザ効率	平均強度
( $\mu\text{m}$ )	(%)	(CPS)
0.805	1.9	1.67E + 05
1.011	1.5	3.07E + 05
1.8	0.8	1.39E + 06
3	0.8	5.51E + 06
5	0.5	2.47E + 07

### UV 分解中の PS MP のサイズ変化

$5 \mu\text{m}$  PS MP の粒子数とサイズを定量するために開発された splICP-MS メソッドを用いて、ラボシミュレーション環境における UV 分解の影響を調べました。予備検討として、0、12、16、および 20 時間の UV 照射後にサンプルを収集し、splICP-MS によって分析しました。

図 5 に示すように、20 時間の実験中に、UV 分解プロセスによってサブマイクロメートルからマイクロメートルスケールのサイズの二次 MP が生成されることを、splICP-MS 測定は明確に示しています。測定された粒子サイズ分布により、MP 分解プロセスのダイナミクスを詳細に追跡できることが示されています。分解の最初の 12 時間で、平均粒子サイズが  $4.9$  から  $4.1 \mu\text{m}$  に減少し、さらに小さなサイズ ( $<1.8 \mu\text{m}$ ) の MP も検出されました。16 時間および 20 時間における MP 粒子サイズ分布の変化を見ると、平均サイズがそれぞれ  $3.3$  および  $2.2 \mu\text{m}$  に減少し、 $1.8 \mu\text{m}$  未満のサイズの MP が多数生成されたことがわかります。

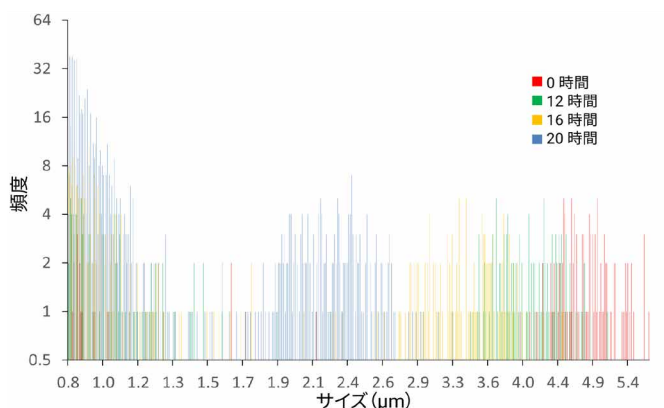


図 5. UV 分解実験における 0、12、16、20 時間後の MP の spICP-MS 粒子サイズ分布の結果

UV 分解プロセスにおける MP 粒子数濃度の変化のダイナミクスを理解するために、当初のサイズが 5  $\mu\text{m}$  であった粒子のサイズ別の粒子数濃度を spICP-MS によって求めました (表 3)。最初の 12 時間は、MP のサイズ分画ごとの粒子数濃度 (>3  $\mu\text{m}$ 、1.8 ~ 3  $\mu\text{m}$ 、および 0.8 ~ 1.8  $\mu\text{m}$ ) にはほぼ変化がありませんでした。16 時間および 20 時間後、中サイズ (1.8 ~ 3  $\mu\text{m}$ ) の MP の粒子数濃度が大幅に増加しました。この増加のタイミングは、より大きなサイズ (>3  $\mu\text{m}$ ) の MP 粒子数濃度が、20 時間後に  $4.6 \times 10^6$  個/L の LOD を下回るまで低下するのと一致しました。また、12 ~ 20 時間の UV への暴露後、小さなサイズの MP (0.8 ~ 1.8  $\mu\text{m}$ ) の粒子数濃度が約  $4.14 \times 10^7$  から  $3.58 \times 10^8$  個/L に著しく上昇しました。小さいサイズの粒子の増加は、UV 分解プロセス中に二次フラグメント化された MP が生成されたことを示しています。

表 3. UV 分解実験における 0、12、16、20 時間後の平均粒子濃度の結果。粒子の元のサイズは 5  $\mu\text{m}$  でした。

時間 (時間)	粒子濃度 (個/L)			
	0.8 ~ 1.8 $\mu\text{m}$	1.8 ~ 3 $\mu\text{m}$	>3 $\mu\text{m}$	合計
0	7.53E + 06	<LOD	1.78E + 08	1.87E + 08
12	4.14E + 07	8.48E + 06	1.63E + 08	2.13E + 08
16	6.08E + 07	9.09E + 07	1.49E + 08	3.01E + 08
20	3.58E + 08	2.13E + 08	<LOD	5.74E + 08

## 結論

Agilent 8900 ICP-QQQ を用いたマイクロプラスチック分析メソッドを開発し、 $^{13}\text{C}$  の測定によりプラスチック粒子の解析を行いました。sp ICP-MS メソッドにより、サブマイクロメートル (0.8  $\mu\text{m}$ ) からマイクロメートル (5  $\mu\text{m}$ ) のスケールをカバーする広いサイズ範囲にわたって、マイクロプラスチックの粒子サイズと個数濃度を正確に定量できました。さまざまなサイズの粒子のネプライザ効率を考慮すると、個数濃度の検出下限は  $2.0 \times 10^6$  から  $6.9 \times 10^5$  個/L の範囲でした。

ポリスチレン MP の UV 光による加速分解ダイナミクスを spICP-MS メソッドによって調べました。20 時間の模擬暴露により多数のナノサイズおよびマイクロサイズの粒子が生成され、時間の経過とともにポリスチレン MP が断片化されることがはっきりとわかる結果が得られました。

本研究では、MP の粒子サイズと個数濃度に関する分解のダイナミクスを調査・定量しました。spICP-MS マイクロプラスチック分析メソッドによって得られたデータは、長期的な二次 MP 生成プロセスと環境中の MP の滞留を推定・予測するために使用できます。これらの知見は、マイクロプラスチックおよびナノプラスチックによる生態系の汚染がもたらす毒物学的リスクを評価するために不可欠です。

## 詳細情報

詳細については次の文献を参照してください。

Ziyi Liu, et al., Quantifying the Dynamics of Polystyrene Microplastics UV-Aging Process. *Environ. Sci. Technol. Lett.* **2022**, 9 (1), 50–56. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.1c00888>

## 消耗品リスト

ポリスチレンマイクロビーズ懸濁液 (球形、10.0 % wt/wt)、粒子サイズ 800 nm (部品番号: PL6008-4101)

ポリスチレンマイクロビーズ懸濁液 (球形、10.0 % wt/wt)、粒子サイズ 1000 nm (部品番号: PL6010-4101)

内径 1.0 mm インジェクタ付き石英製トーチ (部品番号: G3280-80081)

PTFE チューブ、内径 0.51 mm (部品番号: 8003-0689)

## 参考文献

1. K. Kannan and K. Vimalkumar, A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. *Front. Endocrinol.*, **2021**, 12:724989.
2. A.B. Silva, A.S. Bastos, C. I. L. Justino, J. P da Costa, A. C. Duarte, T.A.P. Rocha-Santos, Microplastics in the Environment: Challenges in Analytical Chemistry – A Review. *Anal. Chim. Acta*, **2018**, 1017, 1–19.
3. F. Laborda, A. C. Gimenez-Ingalaturre, E. Bolea, J. R. Castillo, Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry as Screening Tool for Detection of Particles. *Spectrochim. Acta, Part B*, **2019**, 159, 105654.
4. Y. Lai, L. Dong, Q. Li, P. Li, Z. Hao, S. Yu, J. Liu, Counting Nanoplastics in Environmental Waters by Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy after Cloud-Point Extraction and In Situ Labeling of Gold Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* **2021**, 55, 4783.
5. J. Jiménez-Lamana, L. Marigliano, J. Allouche, B. Grassl, J. Szpunar, S. Reynaud, A Novel Strategy for the Detection and Quantification of Nanoplastics by Single Particle Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). *Anal. Chem.* **2020**, 92 (17), 11664–11672.
6. E. Bolea-Fernandez, A. Rua-Ibarz, M. Velimirovic, K. Tirez, F. Vanhaecke, Detection of Microplastics Using Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) Operated in Single-Event Mode. *J. Anal. At. Spectrom.* **2020**, 35 (3), 455–460.
7. F. Laborda, C. Trujillo, R. Lobinski, Analysis of Microplastics in Consumer Products by Single Particle-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Using the Carbon-13 Isotope. *Talanta* **2021**, 221, 121486.
8. R. Gonzalez de Vega, S. Goyen, T. E. Lockwood, P. A. Doble, E. F. Camp, D. Clases. Characterisation of microplastics and unicellular algae in seawater by targeting carbon via single particle and single cell ICP-MS, *Analytica Chimica Acta*, **2021**, 1174, 338737.

[www.agilent.com/chem/8900icp-qqq](http://www.agilent.com/chem/8900icp-qqq)

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

カスタマコンタクトセンタ

**0120-477-111**

[email\\_japan@agilent.com](mailto: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。

DE54853577

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, June 6, 2022

5994-4897JAJP