



Application Note AN M144

顕微FT-IRと顕微ラマンを用いた マイクロプラスチックの分析事例

マイクロプラスチック汚染への関心がここ数年高まってきており、遍在的な発生要因や将来の展望などが現在の研究対象となっています。マイクロプラスチック粒子 (Micro-Plastics Particles; MPP) は、特に海洋などの環境中に拡散した5mm未満の直径を有する微小なプラスチック粒子を指します。MPPは起源に応じて、一次粒子と二次粒子に分類されます。一次粒子は、洗剤や化粧品に含まれる研磨剤などの工業的に製造された粒子です。二次粒子は、プラスチック部品や容器など比較的大きなプラスチック片が海洋を漂流するうちに、紫外線による化学的分解や波浪による物理的分解などによって微小化された全ての粒子を指します。プラスチック廃棄物の分解には非常に長い時間がかかるため、環境中のMPPの量は着実に増加しています。特に、世界の海洋汚染は深刻な問題であり、現在のMPPの年間排出量は、1人あたり210g、合計約1.5メガトンと推定されています。^[1] 魚類をはじめとする海洋生物が、可塑剤や有害物質などを含むMPPを摂取することで汚染の食物連鎖が起こり、生態系のバランスが崩れてしまうことが懸念されています。さらには、その魚類を食べた人間にも影響が及ぶと予想されています。

キーワード	装置及びソフトウェア
マイクロプラスチック	HYPERION FT-IR 顕微鏡
粒子分析	SENTERRA II ラマン顕微鏡
ポリマー	OPUS ソフトウェア

MPPを詳細に分析することで、MPPの起源と形成の両面について結論を導き、汚染の程度を判断する取り組みがなされています。一般的に、MPPの濃度は比較的低く、サンプリング中にキチン、綿繊維または砂粒などの、典型的な生物由来の粒子や無機物に由来する粒子も含まれるため、多くの点で分析が困難となります。したがってまず初めに、物理的なふるい分け、密度分離法、さらには分析の妨げとなる有機成分を除去するための酸化処理工程または酵素的工程などの複合的な手法による試料の前処理が必要となります。分離後、化学的に同定するために様々な分析方法が用いられます。スクリーニング的に分類評価するための1つのシンプルな方法は、MPPの密度および炭素：水素：窒素比の分析です。^[2] しかし、この方法ではポリマー種の明確な決定は不可能であり、より小さな粒子を分析することはできません。

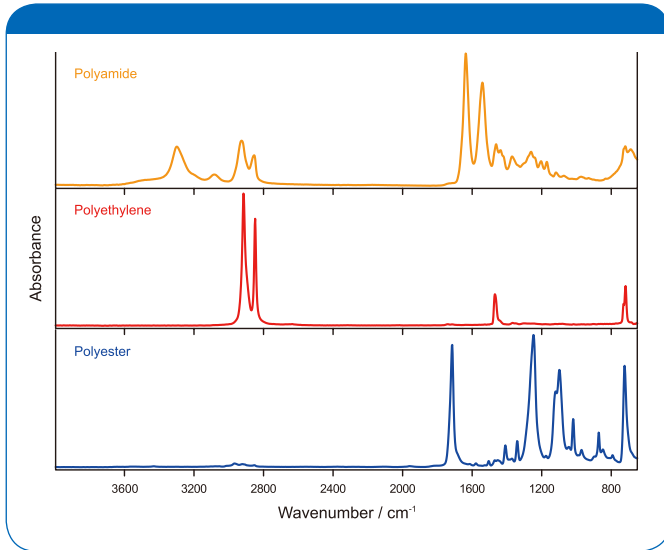


図1:異なるポリマー種のIRスペクトル

他の分析法としては、質量分析と組み合わせた熱分解ーガスクロマトグラフィーがあります。^[3] この方法からは、ポリマー種について信頼性の高い測定結果が得られます。しかし、粒子を手作業で熱分解試料管に入れなければならず、分析の処理能力を著しく低下させます。

顕微赤外分光法および顕微ラマン分光法は、分析の処理能力が高く、非常に小さな粒子でさえも信頼性の高い同定解析を可能とします。両分析法はさまざまな試料に対して適用が可能であり、数マイクロメートルサイズの粒子一つひとつを選択的に分析することができます。MPPのより大きな蓄積物についても、自動化されたイメージング測定によって迅速な分析が可能です。

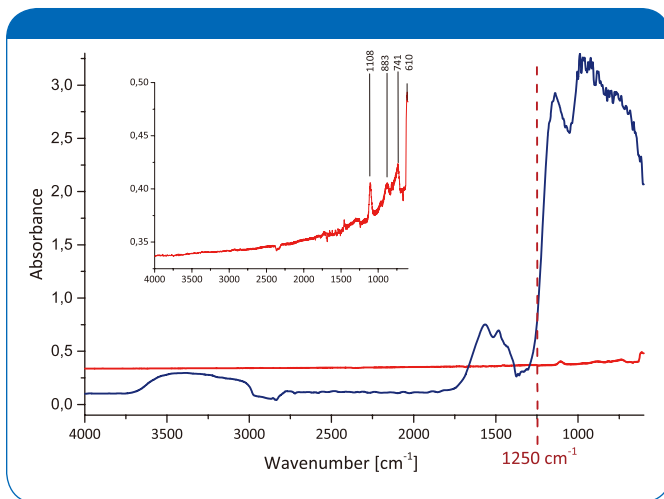


図2:シリコン(赤色)とアルミナフィルター(青色)の比較スペクトル[6]

FT-IR分光法によるマイクロプラスチックの分析

フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) は、ポリマー種の同定において実績のある分析法です。その物質が天然物由来か、合成物かを確実に識別できます (図1)。同定は、スペクトルライブラリを用いることで自動的に実行されます。

一般的なFT-IRでも、比較的大きな粒子は容易に分析することができます。さらに顕微FT-IRでは、数マイクロメートル程度の単一粒子の分析が可能で、一定の大きさをもつ試料においては1つの粒子について複数個所の測定を行うこともできます。FT-IRには試料の形体に応じて、さまざまな測定手法がありますが、MPPの分析で最もよく使用される測定手法は透過法です。この手法は、測定する試料を赤外光に透過性のある基板の上に調製する必要があり、また試料が厚い場合は、スペクトルの飽和により分析精度が低下してしまうため、薄片化等の前処理が必要となります。試料を載せる基板としては、 3800cm^{-1} から 1250cm^{-1} の範囲に強い赤外吸収をもたない酸化アルミニウムフィルターがよく用いられ、調製したMPPをフィルター上に採取することで直接測定できます。^[4,5] 比較的新しく有効なフィルターとしては、スペクトル範囲に制限のないシリコンに、フォトリソグラフィエッチングプロセスによって $10\mu\text{m}$ 程度の細孔を加工したのがあります。比較のため図2に、従来のアルミナフィルターとシリコンフィルター (赤色) の赤外透過スペクトルを示します。^[6]

顕微FT-IR測定では、試料片上の着目する位置 (ポイント) を指定して順次測定する方法と、一定の領域内をアレイ検出器により一度に測定するイメージング法とがあり、これらは2種類の検出器を切り替えにより使い分けることができます。特筆すべきは、後者の場合に用いられるフォーカルプレーンアレイ (FPA) 検出器です。FPA検出器は、通常 64×64 程度の受光素子からなるマトリックスで構成され、一度の測定で4096本の赤外スペクトルを取得することができます。この方法を用いることで、数分程度の短い時間で、数十 μm から数百 μm 四方の広い領域を測定することができます。

ブルカーのHYPERION 3000 赤外顕微鏡 (図3) にはFPA検出器が装備されています。その空間分解能は、光の回折によってのみ制限されるため、数 μm の粒子を捉えることができます。また、拡張性に優れたHYPERIONは、ATR法、透過法、反射法、GIR法による測定が可能です。試料の形体や目的に合わせてさまざまな測定手法を選択することができます。また、FPA検出器と電動ステージを組み合わせることにより、連続的にイメージング測定を行うことができるため、短時間でさらに広い領域を解析することも可能です。



図3： TENSOR II FT-IR分光器と連結した
HYPERION 3000イメージング赤外顕微鏡

解析事例：MPPの誤検出

Gerdttsらは、塩化亜鉛溶液 ($\rho = 1.5\text{g} / \text{cm}^3$) を用いてMPPを密度分離した場合でも、分離後の粒子の大部分が無機化合物であるにも関わらず、MPPの含有量が実際よりも非常に高いという誤った結果が導き出されたケースについて報告しています。^[7] HYPERION 3000赤外顕微鏡とFPA検出器によるイメージング測定を行った結果、実際には粒子のわずか1.4%のみがMPPであることが確認されました。残渣粒子のほとんどは、原理的には約 $2.65\text{g} / \text{cm}^3$ の密度で分離できるはずの石英 (図4) であることが分かりました。振動分光分析は、このような誤った判断をすることなく確実に同定可能であることから、いかに重要な分析法かが証明されています。

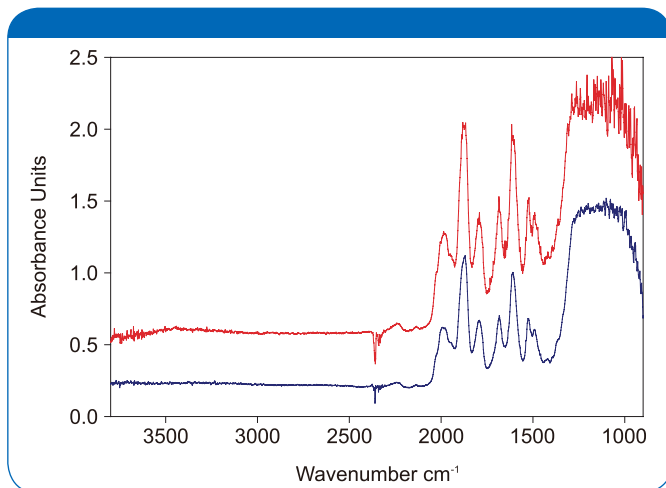


図4：石英の参照スペクトル(青色)と典型的な残渣粒子(赤色)のスペクトル比較 [7]

解析事例：フィルター濾過されたMPPの自動解析

広い表面積をもつ試料の分析事例が、Gerdttsおよびその共同研究者によって報告されています。^[5] 彼らは、ドイツ湾の堆積物を分析しました。MPPを塩化亜鉛溶液で分離し、濾過および酵素精製した後、さらに密度分離プロセスを加えた試料をアルミナフィルターに通して濾集しました。FPA検出器を使用しイメージング測定することで、直径25mmのアルミナフィルター全体を分析し、そのスペクトルを自動解析しました。専用のソフトウェアを使用することで、最大100万のスペクトルデータを元に評価し、結果をグラフィック表示することができます。図5に、分析された粒子のサイズおよびポリマー種を表示したイメージを示します。

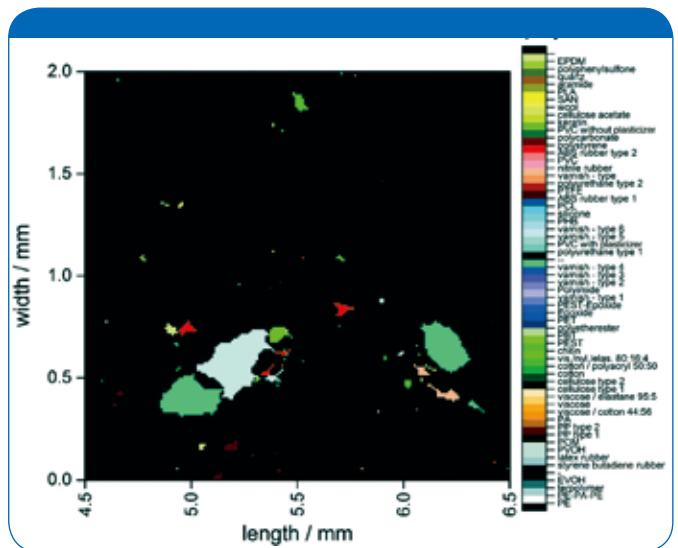


図5：アルミナフィルター上のポリマー種を色分けした解析結果 [5]

測定事例：ビスコースレーヨンとセルロースの識別

人工的に合成されたビスコースレーヨンと天然に存在するセルロースはいずれも多糖化合物であり、ともに β -1,4結合を有した β -D-グルコース単位から成ることから、化学的側面から識別することは容易ではありません。ところが、これらの赤外スペクトルを比較すると、識別に用いることができる特異的な違いが存在します。図6に、ビスコースレーヨン繊維(赤色)とセルロース繊維(青色)のIRスペクトルを示します。Lendlらの研究によれば、ATR法を用いて測定されたIRスペクトルにおいて、ビスコースレーヨン繊維とセルロース繊維の識別が可能であることが確認されています。^[8] セルロース繊維は、ビスコースレーヨン繊維には見られない、または、弱くしか現れないバンド (1425 、 1105 、 1051cm^{-1}) を有します。なお、このときの各繊維に含まれる水分は、同定の障害とはなりません。

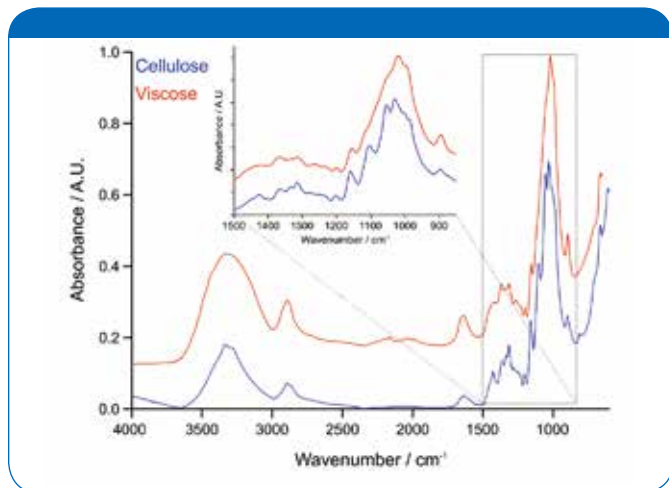


図6：合成されたビスコースレーヨン繊維（赤色）と天然のセルロース繊維（青色）のATRスペクトル

ラマン分光法によるMPPの分析

顕微FT-IR分光法の相補的な分析方法として、顕微ラマン分光法があります。顕微ラマン分光法では、試料を前処理することなく非接触で測定することが可能です。試料にレーザー光を照射し、その非弾性散乱光をCCD検出器等で受光して分析することで、ラマンスペクトルが得られます。一般的には、532nmまたは785nmの可視および近赤外レーザーを使用するため、赤外顕微鏡と比較すると、ラマン顕微鏡の空間分解能は高く、より小さなミクロンサイズの粒子を識別することができます。また、試料が無機化合物の場合、ラマン分光法はより優れた識別性を示します。しかしながら、この手法の欠点は、測定時に多くの試料から発せられる蛍光にあります。蛍光シグナルは、典型的に強く且つブロードに現れるため、試料のラマンシグナルを覆ってしまい、この場合、解析に有効なラマンスペクトルを得ることができません。蛍光の影響を回避するためには、長波長のレーザーを使用する必要があります。ブルカーのSENTERRA IIラマン顕微鏡は、波長1064nmの近赤外レーザーを含む最大4つの励起レーザーを使用することができ、それぞれの試料に対して最適な励起波長を選択することができます。ラマン顕微鏡を使用した研究例としては、Janssenとその共同研究者による、深海底堆積物中のMPPの分析があります。^[9] ラマン顕微鏡を用いて測定した結果、25cm²あたり最大1つのMPPが検出、同定されました。

まとめ

FT-IR顕微鏡は、MPPの標準的な分析方法として確立されています。さまざまな試料に対して適用することができ、すべてのポリマー種についてより正確な同定が可能です。さらにFPA検出器を用いたイメージング測定は、完全に

自動化された分析方法で、何千ものMPPを迅速に同定することが可能です。一方、ラマン顕微鏡は、蛍光の問題はあるものの、FT-IRでは困難なミクロンサイズの小さな粒子でさえ測定することができる、相補的な分析方法です。両方の手法を使い分けることで、より詳細かつ確実なMPP分析が可能であると言えます。

参考文献

- [1] J. Boucher, D. Friot, Primary Microplastics in the Oceans: A Global Evaluation of Sources. 2017, Gland, Switzerland: IUCN.
- [2] S. Morét-Ferguson, K.L. Law, G. Proskurowski, E.K. Murphy, E.E. Peacock, C. M. Reddy. The size, mass, and composition of plastic debris in the Western North Atlantic Ocean. Marine Pollution Bulletin, 2010, 60(10), 1873–1878.
- [3] E. Fries, J.H. Dekiff, J. Willmeyer, M.T. Nuelle, M. Ebert, D.Remy, Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. Environmental Science-Processes & Impacts, 2013, 15(10), 1949–1956.
- [4] M. G. J. Löder, M. Kuczera, S. Mintenig, C. Lorenz, G. Gerdts, Focal plane array detector-based micro-Fourier-transform infrared imaging for the analysis of microplastics in environmental samples. Environ. Chem. 2015, 12, 563–581.
- [5] S. Primpke, C. Lorenz, R. Rascher-Friesenhausen, G. Gerdts, An automated approach for microplastics analysis using focal plane array (FPA) FTIR microscopy and image analysis. Anal. Methods, 2017, 9, 1499–1511
- [6] A. Käppler, F. Windrich, M. G. J. Löder, M. Malanin, D. Fischer, M. Labrenz, K. J. Eichhorn, B. Voit, Identification of microplastics by FTIR and Raman microscopy: a novel silicon filter substrate opens the important spectral range below 1300 cm⁻¹ for FTIR transmission measurements. Anal. Bioanal. Chem., 2015, 407, 6791–6801
- [7] M. G. J. Löder, G. Gerdts in: Marine Anthropogenic Litter Eds.: M. Bergmann, L. Gutow, M. Klages), Springer Open, Heidelberg, New York, Dordrecht, London, 2017, p. 201
- [8] I. R. Comnea-Stancu, K. Wieland, G. Ramer, A. Schwaighofer, B. Lendl, On the Identification of Rayon/Viscose as a Major Fraction of Microplastics in the Marine Environment: Discrimination between Natural and Manmade Cellulosic Fibers Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Applied Spectroscopy, 2016, 71(5), 939–950
- [9] L. Van Cauwenberghe, A. Vanreusel, J. Mees, C. R. Janssen, Microplastic pollution in deep-sea sediments, Environ. Poll., 2013, 182, 495–499

● Bruker Optik GmbH

Ettlingen · Deutschland
Phone +49 (7243) 504-2000
Fax +49 (7243) 504-2050
info.bopt.de@bruker.com

www.bruker.com/optics

Bruker Optics is continually improving its products and reserves the right to change specifications without notice.
© 2016 Bruker Optics BOPT-4001218_01

ブルカー・ジャパン株式会社 オプティクス事業部

〒221-0022 神奈川県横浜市 神奈川区守屋町 3-9
Phone 045-450-1601
Fax 045-450-1602
info.bopt.jp@bruker.com

[大阪オフィス] 〒532-0004 大阪府大阪市淀川区西宮原 1-8-29
テラスキ第2ビル
Phone 06-6394-8118
Fax 06-6394-9003