

形状を自動認識されたマイクロプラスチック粒子のラマン分析



異物

マイクロプラスチックの問題

プラスチックやポリマーの使用量がこの数十年で増加しており、食物連鎖から海洋や水路に至るまで、さまざまな環境で多量のマイクロプラスチックが発見されている。一般に生分解性がないこれらの粒子は、生態系に悪影響を及ぼし得る上に、最終的には人体に入る可能性がある。その毒性を理解し、影響が拡大するのを監視するためには、このような粒子を識別できることが欠かせない。

ラマン分析は、非破壊的で化学的特異性を持つ技術であり、粒子の個別調査を自動的に行える。赤外線など他の技術とは異なり、ラマンには、最小 $1\mu\text{m}$ から数 $100\mu\text{m}$ の粒子径の範囲で分析できるという利点があることに加え、よく似た物質同士の間でも優れた特異性を発揮する。

サンプリング箇所は、自然の水路や海をはじめ、処理された動物の腸、飲料水、大気に至るまで多岐にわたる。

今回は、inVia™ ラマンマイクロスコープと粒子解析ソフトウェアを使用して、ミネラルウォーターに含まれる粒子の組成と形態を特定した。

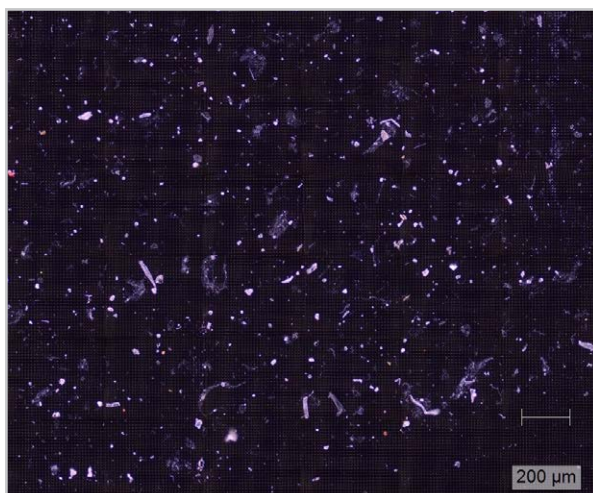


図 1: フィルタ上の粒子を示す暗視野画像。

粒子の認識を自動的に実行

エッチングされたシリコンフィルタ¹と真空ポンプを使用して、ミネラルウォーターをろ過した。当事例では、ろ過工程で非常に高い濃度の粒子が得られたため、フィルタ表面の $2.5\text{mm}\times 2.1\text{mm}$ の領域を、inVia コンフォーカルラマンマイクロスコープで分析した。

1. inVia マイクロスコープの 20 倍対物レンズと 5 メガピクセルの高解像度カメラを使用して、大きな暗視野画像 (図 1) を収集した。その結果、粒子と基板の間で極めて良好な光学的コントラストが得られた。
2. レニショーの粒子解析モジュールを使用して画像を解析し、5,663 個の解析候補粒子を網羅したリストを作成した。
3. 当事例では、フィルタ孔を基準とする粒子の大きさに基づいて解析対象粒子を選択した。粒子の最小面積を $4\mu\text{m}^2$ (直径 $2.3\mu\text{m}$) に制限した結果、生成された粒子は、1,026 個となった。最大の粒子 (図 2) は、アスペクト比が繊維状で、長さが $147\mu\text{m}$ であった。

それぞれの粒子について、 532nm のレーザー励起と 50 倍対物レンズを用いて順に自動解析を実施した。既定のテンプレートを使用してデータ収集パラメータを設定しておいたため、各スペクトルの取得時間はわずか 1 秒だった。繰り返し精度と正確性の高い MS30 ステージが、最適な方向で各粒子に移動し、高い位置精度を確保した。LiveTrack™ フォーカステクノロジーによってフォーカスが自動調整されたため、光学効率の高い 50 倍対物レンズのわずかな集光量で、粒子を正確に位置決めができた。

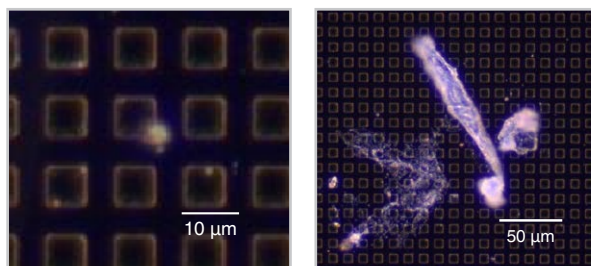


図 2: 解析用に選択された 1,026 個の粒子のうちの 2 個。小さな粒子 (左) のうちの 1 個と大きな粒子 (右)。

データの処理と分析は、ユーザーが事前に定義しておく「Chain」を用いて実施した。この自動処理により、インテリジェントベースライン補正とライブラリ検索を実施した。粒子数が多く、個々の結果を確認することは現実的でなかったことから、ライブラリ検索

HQI (ヒット品質指標) を用いて、確認する粒子の部分集合を短時間で選択した。その後、いくつかの粒子を追加データ収集の対象に選定し、それによってデータの完全性を確保した。

円相当径/ μm	合計	0~4	4~8	8~12	12~16	16~20	20~24	24~28	28~32	32~36	36~40
ポリプロピレン (PP)	183	30	45	40	29	21	10	4	2	1	1
炭酸カルシウム	271	74	111	45	26	8	3	2	1	0	1
ホスタフィンイエロー (黄色染料)	13	5	6	0	1	0	0	0	1	0	0
ルチル (TiO_2)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
β カロチン	154	87	47	13	4	2	0	0	0	1	0
クロモフタルブルー (青色染料)	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
硫化カルシウム	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ポリスチレン (PS)	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
ポリエチレン (PE)	12	6	3	1	0	1	0	0	1	0	0
タルク (水和ケイ酸マグネシウム)	3	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0
ポリウレタン (PU)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ナイロン 6-10	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
ナイロン 12	8	4	3	0	1	0	0	0	0	0	0
アナターゼ (TiO_2)	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
イルガリスブルー (青色染料)	5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0
ナイロン 6-6	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
ホスタパームブルー (青色染料)	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ポリ (テトラフルオロエチレン) (PTFE)	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
その他の物質	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
合計	672	225	223	101	63	32	13	6	5	2	2

図 3: 粒子の化学組成と円相当径の詳細を示す粒子解析モジュールのレポート。さまざまな種類の化学物質の存在を強調しており、タイプとサイズを相互に関連付けられるようになっている。

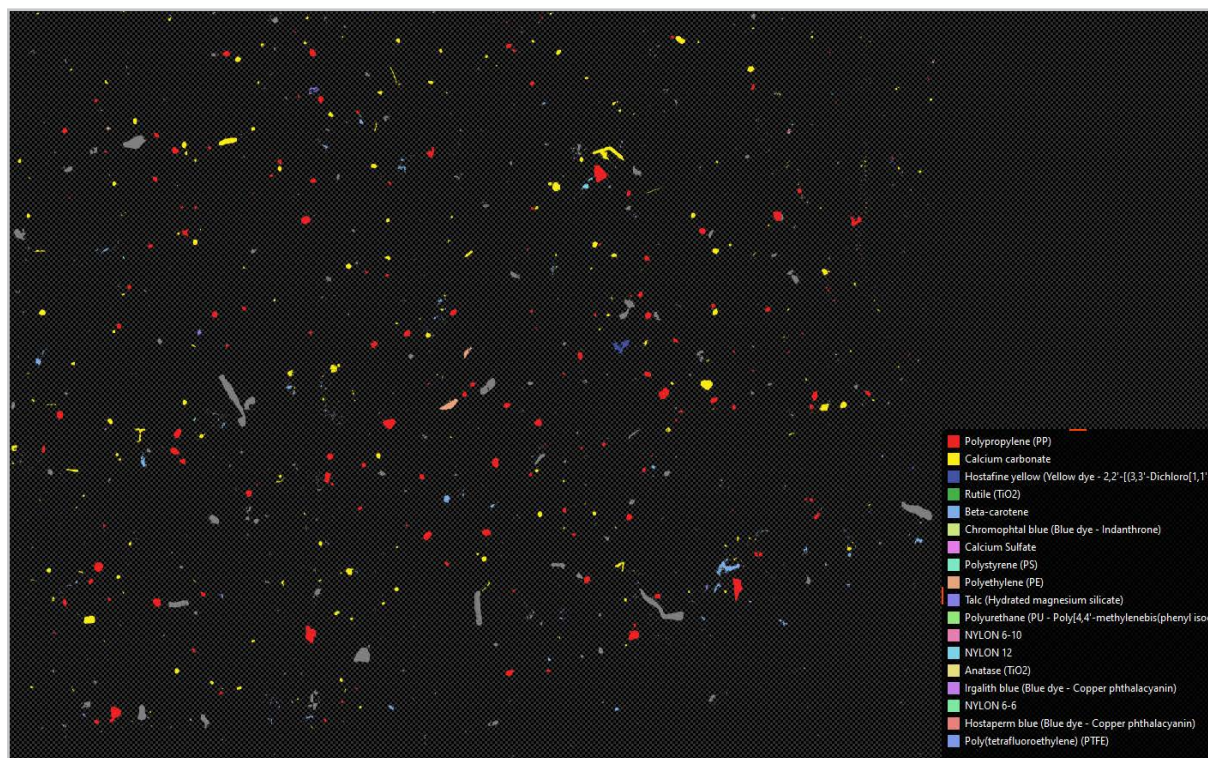


図 4: ラマン分光によって識別された粒子のサイズと組成を示す合成画像。このサンプルに映る一部の粒子は、蛍光が強すぎてこのレーザー波長では識別できなかった。それらの粒子は画像中にグレーで示されており、解析からは除外された。

詳細結果

解析の結果、無機物、顔料、染料、マイクロプラスチックなど 18 種類の物質が含まれていることが判明した。図 3 に、それぞれの物質の円相当径 (ECD) の分布を示す。

粒子は、そのサイズや化学的性質に基づいて画像上で着色できる。これによってデータが見やすくなり、表からは読み取りにくい傾向が明らかになる。図 4 は、8 個のポリマーを含む 18 個の同定物質を示している。

粒子の大半は、ポリプロピレンまたは炭酸カルシウムである。粒子径と組成の関係を解析すると (図 5)、ポリプロピレン粒子と炭酸カルシウム粒子の比率が粒子径によって異なることがわかる。

小粒子 (ECD で最大 8 μm) に関しては、炭酸カルシウムの比率が高い。それ以外には、ポリスチレンやポリウレタンなどのポリマーが、数は少ないものの、このサイズ範囲に属する。粒子径が大きくなるにつれて、ポリプロピレンが、炭酸カルシウムなどのポリマーに比して多く観察されるようになる。16 μm (ECD) を超えると、ポリプロピレンが過半数となる (大型の粒子は数が非常に少ないため、ECD が 32 μm を超えると、割合比較の統計的有意性が失われる)。

粒子の識別と正確性

粒子状物質に加え、染料や顔料を識別してレポートすることもできる。この情報は、ボトル入り飲料水メーカーが戦略を決定する上で大きな判断材料となり得る。顔料または染料だけを含むラマンデータを呈する粒子もあれば、混合スペクトルを示す粒子もある。WiRE ソフトウェア内のレニショーのスペクトラムサーチモジュールを使用すれば、混合スペクトルを複数のライブラリ結果に分割できる。図 6 に、1 個の粒子 (ID59) (赤) から得られた粒子スペクトルを混合分析した結果が示されており、ポリプロピレン (灰色) と TiO₂ (ルチル-緑色) の存在を明らかにしている。

直径わずか 2.6 μm というこの粒子 (図 7) がまさに、このような研究を実施するのに必要な化学的特性、感度、位置精度のレベルの高さを示している。

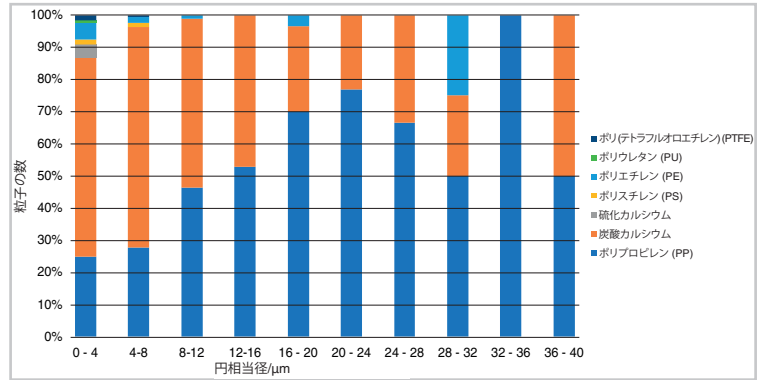


図 5: 粒子径と組成の関係を示すグラフ (エクスポートした粒子解析値を基に Microsoft® Excel で作成)。

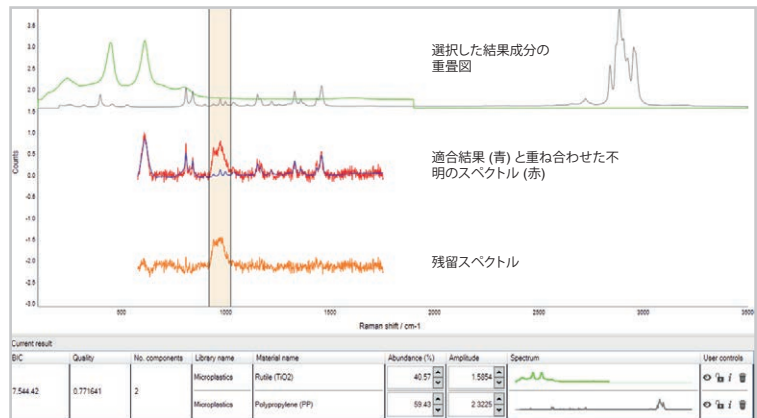


図 6: 粒子スペクトル (赤) に対する混合物解析の結果。ポリプロピレン (灰色) と TiO₂ (ルチル-緑色) の存在を明らかにしている。

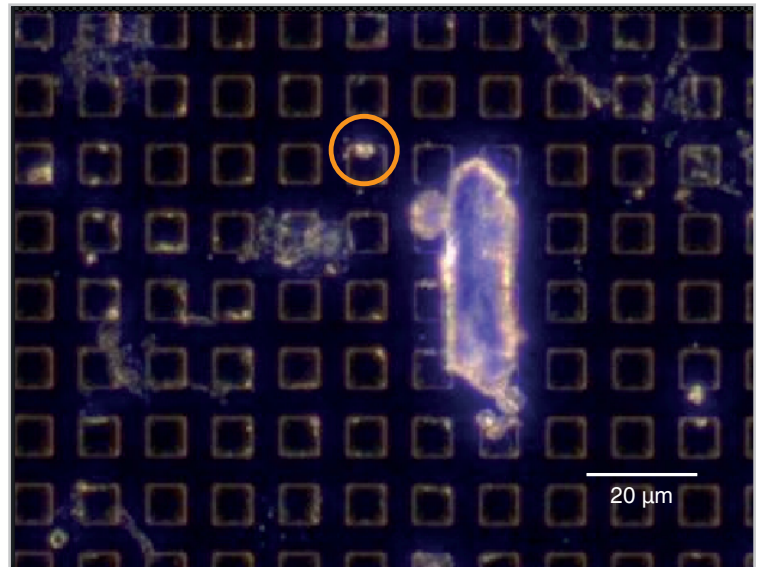


図 7: 図 6 で同定された粒子。



図 8: inVia™ Qontor コンフォーカルラマンマイクروسコープ。

粒子解析を用いた対象マイクロプラスチックの解析

inVia ラマンマイクروسコープは、単にマイクロプラスチックの解析ができるだけのツールではない。その性能と精度は、世界有数の企業の要求にも応える。粒子解析ソフトウェアモジュールは、inVia マイクروسコープに備わっている数々の先進機能を活かす使いやすい専用システムである。詳細な微粒子研究を短時間で自動的に行うのに必要なものがすべて揃っているため、最良のデータが得られるだけでなく、得られた知見を、自信を持ってレポートできる。

粒子分析機能を備えた inVia には、識別されたマイクロプラスチックや微量物質解析に必要なものがすべて揃っている。

参考文献

1 SmartMembranes GmbH Heinrich-Damerow-Str. 4 06120 Halle (Saale), Deutschland (10 mm×10 mm) with a 5 μm hole size.

資料も各種用意しております。詳細については、最寄りのレニショーオフィスまでお問い合わせください。

レニショー: ラマンのイノベータ

レニショーは、高速なケミカルイメージングテクノロジーを搭載したコンフォーカルラマンマイクروسコープ、専門分析装置、走査型電子顕微鏡および原子間力顕微鏡用インターフェース、分光用固体レーザー、そして最先端冷却 CCD 検出器などさまざまな高性能分光関連製品を製造しています。

広範な領域と用途において最高レベルのパフォーマンス、感度、そして信頼性を提供するレニショーの製品は、お客様のニーズに合わせて設計されているため、非常に難しい分析でも自信を持って行っていただけます。

世界各地のレニショー現地法人および販売代理店のネットワークを通して、優れたサービスとサポートをお客様に提供いたします。

詳細については、www.renishaw.jp/raman をご覧ください。

レニショーでは、本書作成にあたり細心の注意を払っておりますが、誤記等により発生するいかなる損害の責任を負うものではありません。

AN235(JA)-01-A 1月 2021 © 2020 Renishaw plc. 無断転用禁止。

仕様は予告なく変更される場合があります。

RENISHAW、RENISHAW ロゴに使用されているブローピンボールおよび Qontor は、英国および他の国における Renishaw plc の登録商標です。

apply innovation ならびにレニショー製品および技術の商品名および名称は、Renishaw plc およびその子会社の商標です。

本文書内で使用されているその他のブランド名、製品名はすべて各々の所有者の商品名、商標、商標、または登録商標です。