



Application Note 410000051-B

顕微ラマン分光計によるマイクロプラスチックの測定

Quick identification of environmental microplastic particles

マイクロプラスチックは、長期的な影響については完全には理解されていませんが、環境衛生・安全上の懸念事項となっています。マイクロプラスチックは、大きさが5 mm以下のプラスチックこみと定義され、海洋ゴミの中で最も多い形態です[1,2]。マイクロプラスチックは、一次的なものと二次的なものに分類されます。一次的なマイクロプラスチックには、繊維やヒースなどの小型の製造品が含まれます[3]。二次的なマイクロプラスチックには、物理的、化学的、生物学的プロセスの組み合わせによって形成された破片が含まれます[3]。

研究機関は、環境サンプルから候補となるマイクロプラスチックを日常的に分析する能力を拡大する必要があります。起源の特定を助け、生物学的影響の予測に役立つため、分光技術はポリマーの同定に適しています。実験室でのラマン分光法は、共焦点ラマン顕微鏡やフーリエ変換赤外(FTIR)顕微鏡に代わる、ポリマー材料の迅速な同定を可能にする手法です。しかし、非常に小さなサンプルは、従来のラマン分析には適していません。このアプリケーションノートでは、非常に小さなマイクロプラスチック粒子の同定にラマン顕微鏡を使用しました。

はじめに

ラマン分光法には多くの利点があり、様々な用途に適応できます。ラマン顕微鏡は、マイクロプラスチックの同定に頻繁に使用されるもう一つの技術であるFTIRよりも、小さな粒子(<100 μm)のサンプリングが簡単です。ラマンシステムは、他のほとんどの技術よりも携帯性に優れているため、現場で直接検

査が可能です。

染料による干渉を除けば、ポリマーやプラスチックはラマン分析に適しています。図1は、波長1064 nmの励起光で測定したポリエチレンとポリプロピレンのラマンスペクトルです。スペクトルの特徴から、プラスチックは明確に区別できます。

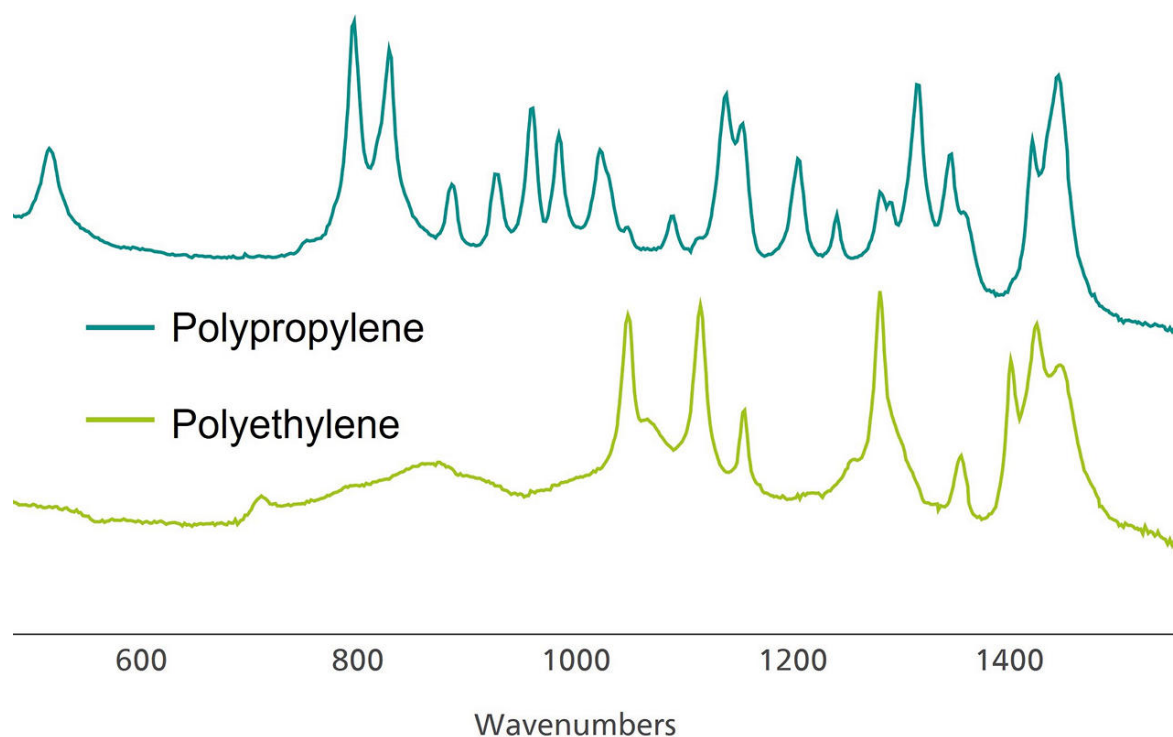


図1. ポリプロピレン（上）およびポリエチレン（下）のラマンスペクトル 視覚的な明確化のためにスペクトルは手動でオフセットされています。

はじめに

このアプリケーションノートでは、河口域の表層水から回収されたマイクロプラスチックの同定に、携

帯型ラマン顕微鏡を使用することを検討します。

水サンプルはテラウェア湾(米国)の表層水から採取しました。その後、ガラス瓶に移し、4%ホルムアルデヒドで固定しました。全サンプルをステンレス製ふるい(5000、1000、300 μm)でサイズ分画しました。

300 μm と1000 μm のサンプルは90° Cで一晩乾燥させました。乾燥後、湿式過酸化水素酸化処理と密度分離処理により、消化された有機物からマイクロフ

ラスチックを分離しました[4]。

マイクロプラスチックを200 μm のニテックスメッシュに集め、乾燥させました。これらのサンプルを実体顕微鏡で観察し、各片にプラスチックの種類(断片、繊維、ヒース、フィルム、発泡体、コムなど)を割り当てました。続いて、ラマン分光法によるプラスチックの同定を行いました。

表1. 実験パラメーター

装置	設定	
i-Raman EX	レーザー出力	<165 mW
BAC151 video microscope	積算時間	30 s–3 min
BWID software	平均化	1

すべての測定には、1064 nmレーザー励起のi-Raman® EXホータフルラマンシステムを使用しました(仕様は表1を参照)。1064 nmレーザー励起は、着色マイクロプラスチック試料の785 nmレーザー励起から生じるスเปクトル蛍光を軽減します。

50倍の対物レンズ(作動距離9.15mm、スホットサイズ42 μm)のBAC151Cヒテオ顕微鏡をマイクロフ

ラスチックの画像化に使用しました。レーザーの出力は、サンプルの焼き付きを避けるため、最大出力の50%以下(<165 mW)に保ちました。BWID®ソフトウェアは、プラスチックスペクトルの参照ライブラリと照合してマイクロプラスチックを同定するために使用しました。

結果

2次マイクロプラスチック

いくつかのマイクロプラスチック試料を分析しました。図2aは、得られたマイクロプラスチック中のサイズの大きい(直径約4.5mm)青いマイクロプラ

スチック片を示しています。この粒子の不規則な形状から、二次的なマイクロプラスチックである可能性が高いといえます。図2bは青いプラスチック片から採取したラマンスペクトルです。

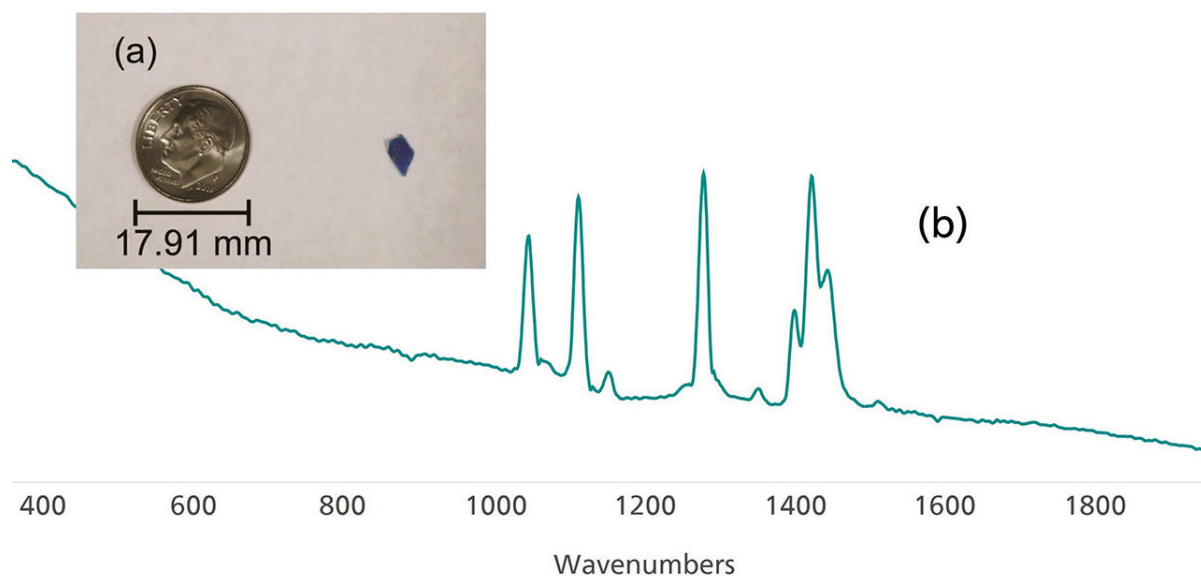


図2. 図2. (a) 青いプラスチック片（比較用のアメリカの10セント硬貨付） (b) サンプルから取得されたラマンスペクトル

BWIDソフトウェアは、未知物質の取得スペクトルを参照物質のライブラリと比較し、相関係数であるヒットクオリティインデックス(HQI)を生成します。計算にはスペクトルに一次導関数が適用されます。スペクトルライブラリの検索結果は、HQIが100から0(最も一致するものから最も一致しないもの)

の)の順にランク付けされます。BWIDは様々なスペクトルライブラリと共に使用でき、カスタムライブラリの構築もサポートしています。

BWID は、図 2a の青い断片を、計算された HQI 95.7 (図 3) のポリエチレン (PE) の参照スペクトルにマッチさせ、強いスペクトル相関を示しました。

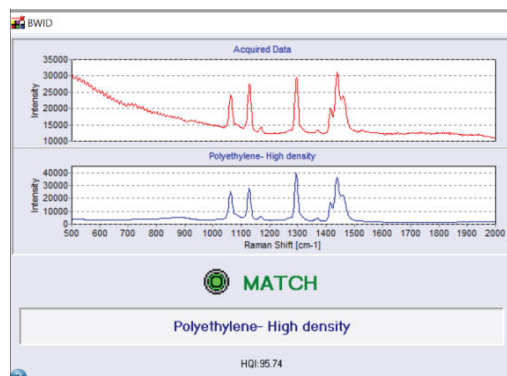


図3. BWIDによるポリエチレンの一致

結果

1次マイクロプラスチック

図4aは、小さな球状ヒース(図4b)から取得されたラマンスペクトルを示しています。このヒースは一次マイクロプラスチックである可能性が高いです。

BWIDは、サンプルスペクトルをポリスチレンのリファレンススペクトルと一致させ、HQIは98.2でした。

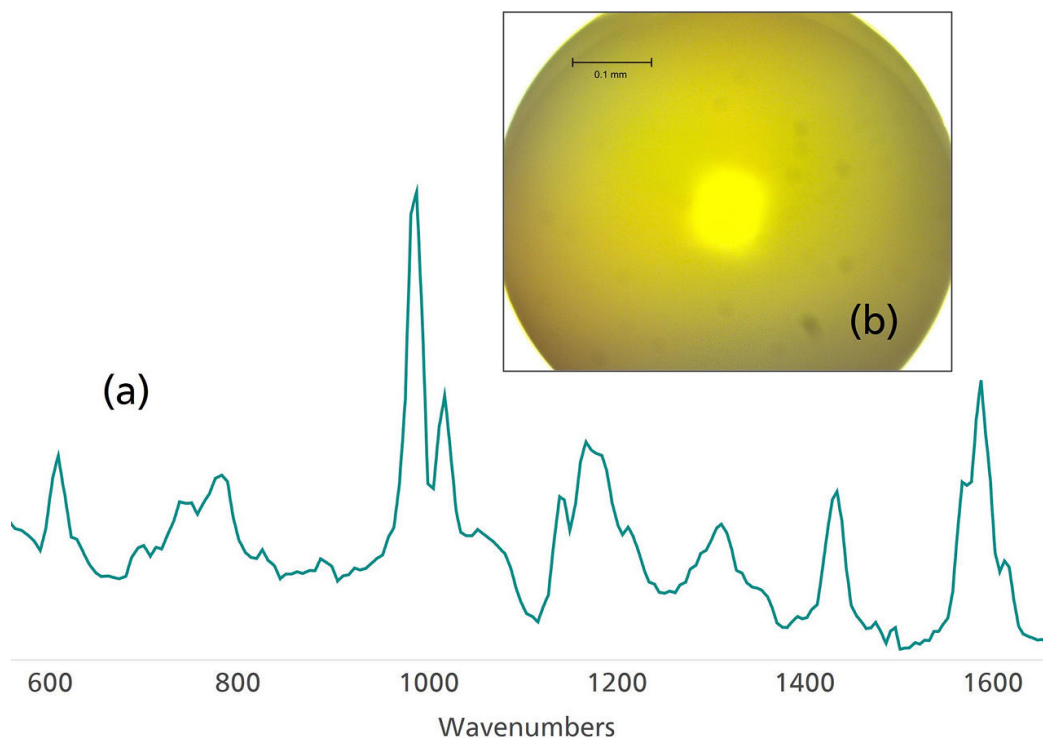


図4. (a) ポリスチレンビーズ (b) から収集されたポリスチレンのラマンスペクトル

繊維はマイクロプラスチック粒子の重要な一般的なサブグループです。図5aは、細い着色繊維(図5b)から収集されたラマンスペクトルを示しています。

BWIDは、サンプルのラマンスペクトルをポリプロピレンのリファレンススペクトルと一致させ、計算されたHQIは74.9でした。

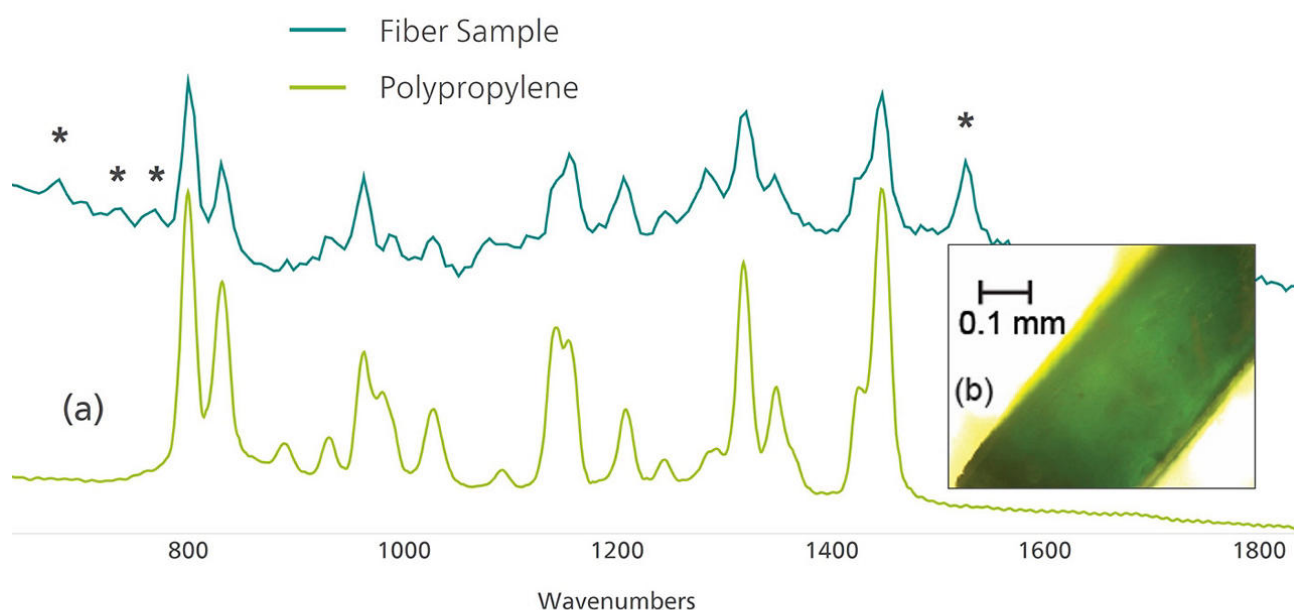


図5. (a)着色繊維（上）のラマンスペクトルとポリプロピレンのリファレンススペクトル（下）の比較、および(b) 着色繊維の顕微鏡画像
アスタリスクは、プラスチックに使用されている着色剤に起因するピークを示しています。

HQIが比較的低い値だったため、サンプルのスペクトルにおいてホリフロヒレンに起因しないピークについてさらに調査を行いました。約1537 cm⁻¹のピークと670-790 cm⁻¹の弱いピークは、塩素化銅フタロシアニングリーン顔料のラマンスペクトルと一致します[5]。これは、試料の起源を決定するための有用な情報です。

マイクロプラスチックの概要

本研究で測定されたマイクロプラスチックを要約す

ると、サンプルは主にホリエチレン、ホリフロヒレン、ホリスチレンで構成されていました(表2)。決定的な結果が得られないものについては、ラマン測定が困難な材料である黒色のマイクロプラスチックです。

サンプルの劣化もまた、観察限界の理由のひとつです。試料の歪みや焼き付きを防ぐため、低いレーザー出力(最大出力の10%程度)を使用する必要があります。

表2. 検出結果の概要.

一致結果	サンプル数
ホリエチレン	11
ホリフロヒレン	4
ホリスチレン	2
不明	5

結論

マイクロプラスチックは、人間の健康と環境に対する潜在的な脅威です。近い将来、マイクロプラスチックの確実な特性評価が重要な研究テーマとなるでしょう。ラマン顕微鏡は、これらのマイクロプラスチックを明確に同定するための効果的なツールです。

謝辞

このアプリケーションノートの共著者であり、マイクロプラスチックサンプルを提供してくれたさったテ

ラウェア大学海洋科学政策学部のショナサン・H・コーエン氏とテイラー・ホフマン氏に感謝します。

参考文献

1. Law, K. L. Plastics in the Marine Environment. *Ann Rev Mar Sci* **2017**, 9, 205–229.
<https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409>.
2. Galloway, T. S.; Cole, M.; Lewis, C. Interactions of Microplastic Debris throughout the Marine Ecosystem. *Nat Ecol Evol* **2017**, 1 (5), 116.
<https://doi.org/10.1038/s41559-017-0116>.
3. Jambeck, J. R.; Geyer, R.; Wilcox, C.; et al. Plastic Waste Inputs from Land into the Ocean. *Science* **2015**, 347 (6223), 768–771.
<https://doi.org/10.1126/science.1260352>.
4. Masura, J.; Baker, J.; Foster, G.; et al. *Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for Quantifying Synthetic Particles in Waters and Sediments*; NOAA Technical Memorandum; Report NOS-OR&R-48; NOAA Marine Debris Division: Silver Spring, MD, 2015.
<https://doi.org/10.25607/OBP-604>.
5. Duran, A.; Franquelo, M. L.; Centeno, M. A.; et al. Forgery Detection on an Arabic Illuminated Manuscript by Micro-Raman and X-Ray Fluorescence Spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* **2011**, 42 (1), 48–55.
<https://doi.org/10.1002/jrs.2644>.

CONTACT

メトロームジャパン株式会社
143-0006 東京都大田区平和島6-1-1
null 東京流通センター アネックス9階

metrohm.jp@metrohm.jp



i-Raman EX

i-Raman® EX は、数々の受賞歴を誇る i-Raman 携帯型スペクトロメーターシリーズの一つであり、特許取得済みの 1.064 nm 励起の CleanLaze® レーザーを搭載したスペクトロメーターです。高感度 InGaAs アレイ検出器と TE 深冷、高ダイナミックレンジ、高スルーフット分光器設計により、自家蛍光を発生させずに高い S/N 比を実現し、天然物、生体サンプル(細胞培養など)、着色サンプルなどを幅広く測定できる携帯型ラマンスペクトロメーターです。

i-Raman EX は、 100 cm^{-1} から 2.500 cm^{-1} までの範囲のスペクトルをカバーしており、指紋の全領域を測定することが可能です。システムの設置面積が小さく、軽量設計、低消費電力で場所を選ばず、研究レベルのラマン分析が可能です。また、解析機能を拡張するために、当社独自の Vision ソフトウェアや多変量解析ソフトウェア BWIQ®、識別ソフトウェア BWID® と組み合わせて使用することかできます。i-Raman EX により、蛍光を伴わない品質分析および定量分析のための高精度のラマンソリューションを常に使用することかできます。

BWS485III



50

マイクロスコープ対物レンズ、無限補正、50倍拡大、作業距離 (mm) = 9.15、焦点距離 (mm) = 4、開口数 (NA) = 0.55。

RML150A