

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：32619

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K21333

研究課題名(和文) 海洋マイクロプラスチックの表面形態観察と分析によるナノ粒子化の機構解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of nanoparticulation of marine microplastics by observation and analysis of their surface morphology

研究代表者

関 宏範 (Seki, Hironori)

芝浦工業大学・SIT総合研究所・准教授

研究者番号：60533396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、非常に小さいため捕集および解析の困難な350 $\mu\text{m}$ 以下サイズのスーパーマイクロプラスチックに焦点を当て、その捕集方法およびナノ分析手法を確立した。この結果として、プランクトンの薬品処理方法について検討した。スーパーマイクロプラスチックの観察および解析手法を得た。顕微ラマン分光装置及び走査型電子顕微鏡及び元素分析などのナノ分析を行い、スーパーマイクロプラスチックに付着する金属元素の判別等を行った。この他、光学観察のための大型デバイスを作製し、光学スキャナーと画像解析ソフトを組み合わせることで大量のマイクロプラスチックの解析手法を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を行ったことにより、サイズが非常に小さいため、水環境から捕集の困難な直径350 $\mu\text{m}$ 以下のスーパーマイクロプラスチックを含むであろう水環境サンプルに対して、低金額で簡単な装置の組み合わせにより大量に捕集することができるようになった。また、得られたサンプルにはプランクトンやセルロースが大量に含まれ分離が必要になるがその薬品処理方法を得た。ナノ分析によりマイクロプラスチックに付着する元素情報の知見を得た。大量のマイクロプラスチックに対して光学観察を行うためのデバイスと得られた画像に対する画像解析手法を得た。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on super microplastics with a size of less than 350  $\mu\text{m}$ , which are very small and therefore difficult to collect and analyze, and established methods for their collection and nanoanalysis. As a result, a chemical treatment method for plankton was discussed. Observation and analysis methods for super microplastics were obtained. We conducted nanoanalysis using a micro-Raman spectrometer, scanning electron microscope, and elemental analysis to identify metallic elements attached to the super microplastics. In addition, we fabricated a large device for optical observation and obtained analysis methods for a large number of microplastics by combining an optical scanner and image analysis software.

研究分野：材料工学

キーワード：マイクロプラスチック 表面分析 ナノ分析 元素分析 水環境 光学観察 画像解析 薬品処理

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、5mm 以下の海洋マイクロプラスチック(MP)による海洋汚染が世界で顕在化し、社会問題化している。MP を核として Ag、SiO<sub>2</sub>、TiO<sub>2</sub> などのナノサイズの無機粒子(NP)が表面に吸着し、浮遊した MP が海洋中を拡散することが海洋環境学の観点から明らかにされ、グローバルな生態系に大きな影響をもたらす懸念がある。とりわけ MP を前駆体として生成すると考えられる、350 $\mu$ m 以下のスーパーマイクロプラスチック(SMP)やナノプラスチック(NP)の海洋中での動態解明と無機ナノ粒子との複合化の調査とモニタリングは、持続可能な社会の構築のために明らかにすべき喫緊の課題である。

### 2. 研究の目的

(1) MP を前駆体とする SMP や NP の生成機構とその動態を明らかにするため、MP 表面のナノスケール形態観察と吸着元素により修飾された表面分析を行う。具体的には SMP の前駆体となる MP に対して高分解能のエネルギー分散型元素分析装置付電解放射走査型電子顕微鏡(EDS 検出器付 FE-SEM)や顕微ラマン装置などによるナノ分析手法を用いてナノ粒子化の機構を多面的に解明する。以上の定量的かつ微視的な分析に基づく取り組みにより、未だ海洋中での動態や性状が不明な NP の生成機構について、材料科学的な側面から知見を得る。

(2) 水環境 SMP には、水環境にて経年する場合、それに付着してバイオフィルムを形成する。また、海洋に漂うプランクトンなど、SMP と判別するにおいて除去しなければいけない。こういった、SPM を観察する上において様々な薬品処理の方法が試みられているが、確立されている方法はない。SMP の観察と分析にあたり最適な薬品処理の手法を検討する。

(3) 水環境 SMP の観察には光学顕微鏡を用いることが一般的である。しかし光学顕微鏡を用いた場合、その非観察対象の個数が多いと画像の取り込みから集計・解析まで一つ一つを撮影するために非常に多くの労力が必要となる。観察用大型デバイスを作製しこれと画像解析手法とを組み合わせることによってこれを改善することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 水環境 SMP のナノ分析を行うにあたり、東京海洋大学の荒川久幸教授より 2021 年 9 月 29 日に東京湾の海上で採取したマイクロプラスチックを含むであろうサンプルを用いた。この他、赤潮フィルター(三晶化学工業製、型式:焼成プレフィルターメッシュサイズ 10 $\mu$ m)と海水用水中ポンプ(工進製、型式:SK-52510 [50Hz])を組み合わせることで簡易的な水環境 SMP の捕集システムを組み上げた。これを用いて 2021 年 7 月 21 日および 2022 年 11 月 28 日に芝浦工業大学付近の豊洲運河にて水環境サンプルの採取を行った。

水環境サンプルのさらなる濃縮にはろ過装置 ホルダー型式:KP-47W アドバンテックメンブレンフィルター:フィルターメッシュサイズ:0.1mm PTFE タイプ(4 フッ化エチレン)を用いた。元素分析検出器付電解放射走査型電子顕微鏡(EDS 付 FE-SEM)には日本電子製の JSM - 7610F を用いた。また、顕微レーザーラマン分光測定装置には株式会社 堀場製作所製の型式 LabRAM HR Evolution を用いた。

(2) 赤潮フィルターを用いて採取した水環境サンプル 3ml に対して、フェントン処理およびアルカリ処理を行った。フェントン処理およびアルカリ処理の処理条件は次のとおりとした。  
・フェントン反応処理: 塩酸 pH3 以下に調整、オキシドール 濃度 30% 5ml 添加、硫酸 2 価鉄 7 水和物 0.01mol/L 4ml 添加後、日光下にて 24 時間放置・アルカリ処理:濃度 1mol/L 5ml 添加後 40 加熱。その後、走査型電子顕微鏡 SEM(日本電子製、型式:JEM - 6010)を用いて観察した。

(3) A4 サイズ(210mm x 297mm)の厚み 1mm のアクリル板を 2 枚重ねその間に厚み 100 $\mu$ m を有する両面テープを 2 重にし流路(長さ 200 mm x 幅 43mm x 深さ 200 $\mu$ m)を作製した。赤潮フィルターを用いて採取した水環境サンプルに対して、ピペットを用いて流路に流し込み、オリジナルの大型のマイクロプラスチックの観察デバイスを作製した。このデバイスに対して、高解像度用光学スキャナ EPSON 製 GT-X980 を用いて一度に取り込みを行った。得られた画像に対して画像解析ソフト(三谷コーポレーション製、WinROOF2018)を用いて SMP の自動解析を実行した。

### 4. 研究成果

(1) 図 1 に、東京海洋大学の荒川久幸教授より頂いたメッシュサイズ 50 $\mu$ m のフィルタ水環境サンプル(北緯 35° 25'11.8"東経 139° 47'48.3"E の地点、2021 年 9 月 29 日)および、図 2 に豊洲河川での採取の様子と得られたマイクロプラスチックの写真を示す。図 3 にこのサンプルに対して EDS 付 FE-SEM を用いて観察した結果の一例を示す。SMP と思われるサンプルに対して元素分析を行ったところ、アルミニウムやシリコンといった金属元素が検出できた。この他のサンプルとしては、金や鉄、マグネシウムといった元素も確認できた。魚類等の内臓から金属元素の検出などが他の研究室者等によってすでに行われているが、今回、マイクロプラスチックにはその漂う経年という過程において SMP を核として金属が付着または析出

する可能性を得た。しかしながら、海中には様々な鉱物が漂っておりそれが金属元素として検出する可能性もあるため、多角的にさらなる調査が必要である。図4に顕微ラマン測定による水環境サンプルに含まれる物質の割合を示す。母数は少ないが東京湾および豊洲運河のサンプルの両方でポリプロピレン、ポリエチレン、PET樹脂の存在を確認した。



図1 東京湾で採取された水環境サンプルと採取場所

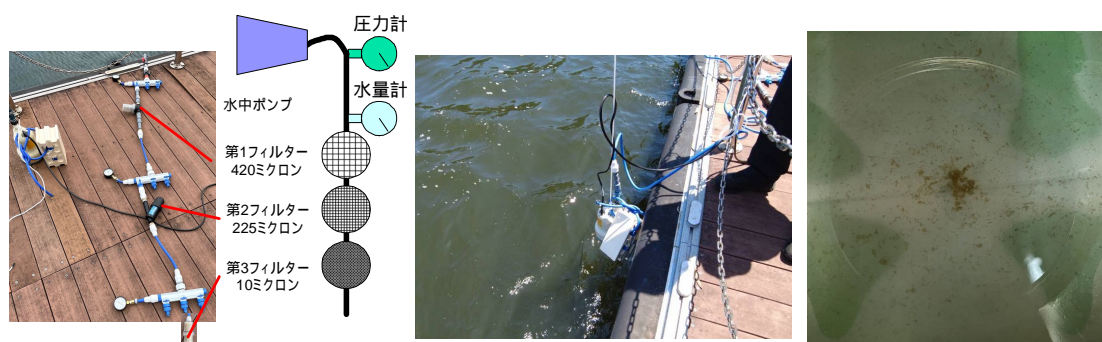


図2 豊洲運河での採取の様子と採取した水環境サンプル（左：作製した水環境サンプル回収システム、中：水中ポンプ投下時の様子、右：10 μm フィルターで採取した水環境サンプル）

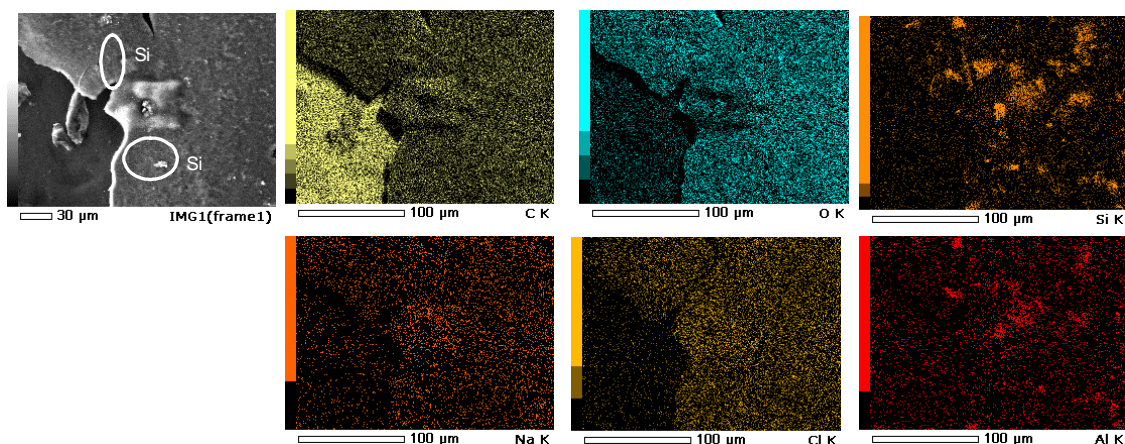


図3 採取した水環境サンプルの電子顕微鏡画像と元素分析結果（左上より SEM 像、炭素、酸素、シリコン、ナトリウム、塩素、アルミニウムの元素マッピング像）

Tokyo Bay (n = 18)

Toyosu Canal (n = 26)

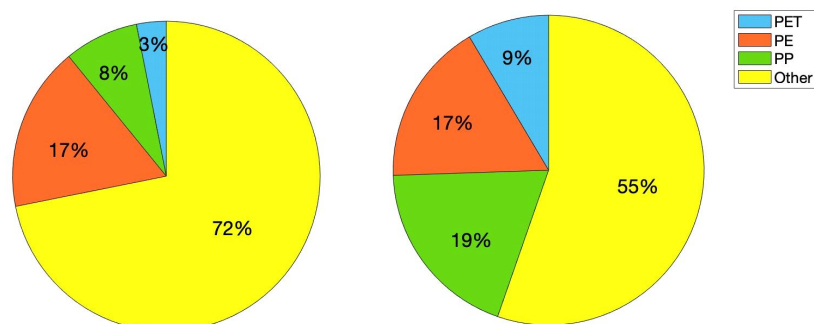


図4 顕微ラマン測定による水環境サンプルに含まれる物質の割合（左：東京湾サンプル、右：豊洲運河サンプル）



(2) 図5に薬品処理を行う前の水環境サンプルの電子顕微鏡写真を示す。図のように珪藻類や微生物など様々なプランクトンを観察することができる。これらの微生物は炭素やケイ素から成り立っているために、元素分析をする際の障害物として働いてしまう。図6に、アルカリ処理後フェントン処理を行ったサンプルを示す。このように肉眼では観察できないほどプランクトンを溶解し、除去することができた。このサンプルに対して減圧ろ過し、濃縮後、電子顕微鏡観察を行ったところ、ほとんど粉のような細かい状態に分解されていることが観察できた。しかし一部では有機物ではないと思われる甲殻のような物質の除去には達していない。一定の成果を得たが、マイクロプラスチックの研究をより発展させるためにもさらなるSMPを除くその他の物質の分解手法を得る必要がある。

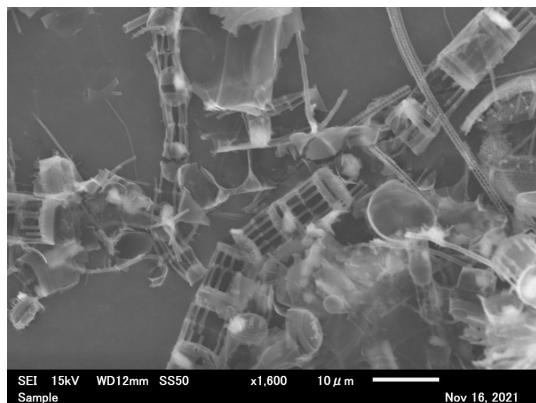


図5 薬品処理を行う前の電子顕微鏡写真。多数のプランクトンを観察ことができSMPの観察の妨げとなる。

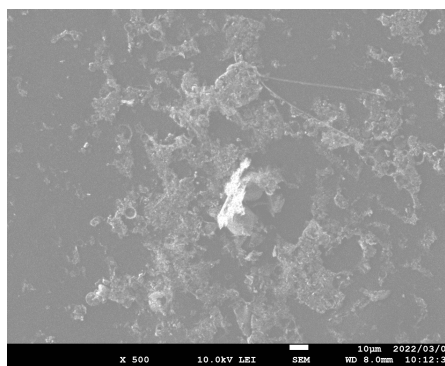


図6 実験時の様子と薬品処理結果（左：減圧ろ過時の作業の様子、中：薬品処理後の水環境サンプルを含む溶液、右：薬品処理後の水環境サンプルの電子顕微鏡写真）

(3) 図7に作製したオリジナルのSMPの大型検鏡プレートを示す。この検鏡プレートは透明度の高いアクリル板で作製しており、光学スキャナーを用いることにより図8のように一度に大面積の画像データを取得することができるようになった。図9および10のように得られた画像データを画像解析ソフトWinroof2018を用いて解析することにより、個数や面積比といったデータ他、個々の粒子の面積や円相当径、周囲長、アスペクト比などSMPを形状で分類するためのデータを短時間で得ることができるようになった。

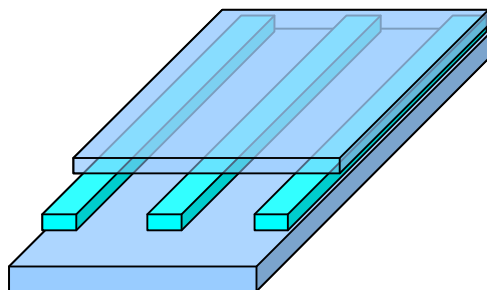


図7 作製した水環境サンプル用大型検鏡デバイスと模式図（左：作製したデバイス、右：模式図 水環境サンプルをアクリル板の隙間に滴下すると毛細管現象により隙間に平面に広がり光学スキャナーでの観察が容易にできる。）

面積	円相当径	半径	周長	円形度	サイズ	線形度	針状比	歪率	座数		
64719.17	287.059	143.53	4373.004	0.032	22.321	39.575	2.42	0.001	1		line
61036.98	278.774	139.387	4099.614	0.035	22.789	17.692	2.76	0.001	1		line
59539.14	275.332	137.666	4780.797	0.023	17.871	42.834	1.971	0.001	1		line
51425.84	255.886	127.943	3666.984	0.036	21.24	24.309	1.59	0.001	1		line
47993.29	247.198	123.599	2603.041	0.072	29.898	27.785	8.488	0.001	1		line
46869.91	244.288	122.144	831.668	0.797	105.509	1.53	1.237	0.001	1		fragment

図8 画像解析の結果の一例。水環境に含まれるSMPを画像とともに面積や円相当径、アスペクト比など一度に解析できるようになった。

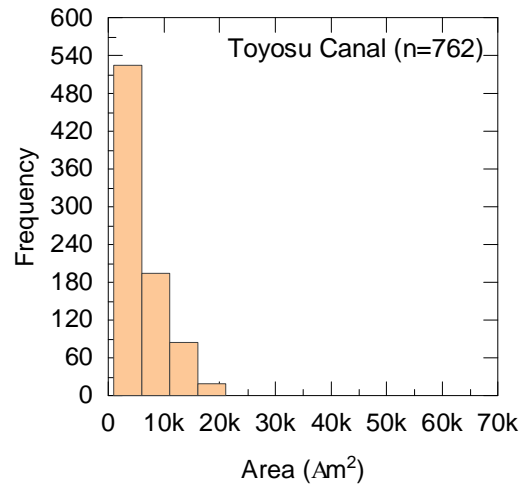
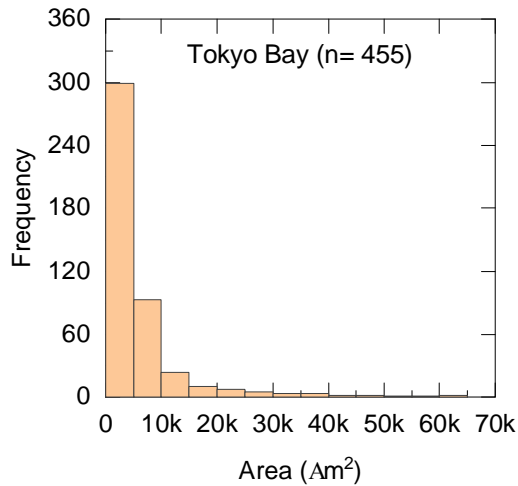


図9 得られた画像解析データから得た面積のヒストグラム(左: 東京湾サンプル、右; 豊洲運河サンプル)

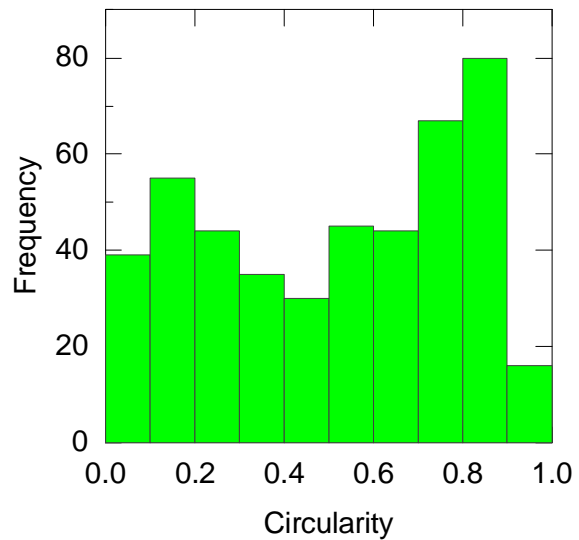
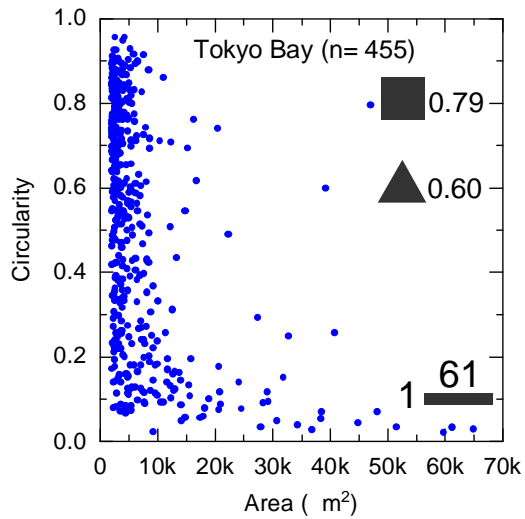


図10 得られた画像解析データから得た面積と円相当径の関係および円相当径のヒストグラム(左: 東京湾サンプル、右; 豊洲運河サンプル)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Seki Hironori, Kawamura Keiya, Hayashi Hidetaka, Ishii Yasuyuki, Puttaraksa Nitipon, Nishikawa Hiroyuki	4. 巻 61
2. 論文標題 Utilizing a photosensitive dry film resist in proton beam writing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SD1006 ~ SD1006
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1347-4065/ac55e1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 関宏範、林秀臣、内田諭、西川宏之
2. 発表標題 水環境中のポリスチレン微粒子の捕集に及ぼす誘電泳動用ピットの影響
3. 学会等名 電気学会A部門大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hironori Seki, Keiya Kawamura, Hidetaka Hayashi, Yasuyuki Ishii, Nitipon Puttaraksa, Hiroyuki Nishikawa
2. 発表標題 Utilizing a photosensitive dry film resist in proton beam writing
3. 学会等名 34th International Microprocesses and Nanotechnology Conference（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 関宏範、松本悠佑、プッタラクサニテイポン、八木一平、内田諭、石井保行、西川宏之
2. 発表標題 水環境中のポリスチレン微粒子の捕集に及ぼす誘電泳動用ピットサイズの影響
3. 学会等名 電気学会A部門大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------