

課題名	C-1002ディーゼル起源ナノ粒子内部混合状態の新しい計測法(健康リスク研究への貢献)
課題代表者名	藤谷 雄二 (独立行政法人国立環境研究所環境リスク研究センター健康リスク研究室研究員)
研究実施期間	平成22～24年度
累計予算額	59,492千円(うち24年度15,129千円) 予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード(5～10個以下程度) ナノ粒子、超微小粒子、沿道大気試料、集束イオンビーム質量顕微鏡、凝集体、透過型電子顕微鏡、粒子表面積、ハザード比、266 nmレーザーイオン化、多環芳香族炭化水素類

研究体制

- (1)新しい計測法に最適なディーゼルナノ粒子の試料作成方法の確立((独)国立環境研究所)
- (2)ディーゼルナノ粒子の内部構造分析(無機)(工学院大学)
- (3)ディーゼルナノ粒子の内部構造分析(有機)(東京工業大学)

研究概要

1. はじめに(研究背景等)

2009年9月に微小粒子状物質PM_{2.5}に係る環境基準について告示が公示され、その基準は粒子状物質の質量濃度で規定されている。またPM_{2.5}の範疇に含まれているナノ粒子(粒径<50nm)の健康影響の可能性も指摘されているが、ナノ粒子は、その小ささからPM_{2.5}の質量濃度にはほとんど寄与しない。環境中におけるナノ粒子の最も大きな発生源としてディーゼル車が挙げられる。環境中においても自動車排出ガス測定局のSPM濃度は年々減少傾向が見られるが、個数濃度としては、さほど減少傾向が見られていないのが現状である。ナノ粒子は粒径が小さいために、質量濃度としては低くても、存在する個数が多いこと、比表面積が大きいことが特徴である。その為、ナノ粒子の毒性評価は従来の質量を基準とした粒子状物質の毒性評価とは異なる考え方で評価しなければならない。粒子状物質を吸入した場合、その粒子の空気力学的な挙動に応じて体内での沈着部位が異なるが、肺胞領域における沈着率はナノ粒子が最大となる(粒径20 nmにおいて50%の沈着率)。肺胞に、ある閾値以上の粒子が沈着すると、慢性的な炎症等の呼吸機能への影響が起こると考えられるが、それに加えて粒子が低溶解性の場合には細胞を透過して血流に移行し多臓器に悪影響を及ぼす可能性がある。この場合、影響の大きさは低溶解性の粒子の化学種、個数、表面積などに依存すると思われる。一方、粒子が高溶解性の場合、溶解成分が細胞内に広がり炎症等を引き起こす原因となり、影響の大きさは化学種と溶解量に関係すると考えられる。内部に低溶解性の粒子があり、外部に高溶解性の成分が付着した内部混合状態の場合は、肺胞に沈着後に粒子の外側のみが溶解して、さらに粒径が小さい低溶解性の粒子として残れば、細胞透過性が増すことになる。したがって生体との相互作用、毒性の評価を考える上で、粒子の個数や質量だけではなく、ディーゼルナノ粒子の構造(大きさ、表面積)や成分(構成原子、分子)、さらにはそれらの内部混合状態のミクロな情報が必要になる。

2. 研究開発目的

ディーゼルナノ粒子に対して、新しい計測法“集束イオンビーム質量顕微鏡”を適用し、従来の分析手法では明らかになっていない一粒子単位の化学成分や、その内部混合状態の情報を獲得する為の手法を確立し、ディーゼルナノ粒子の毒性評価、健康リスク研究に、その情報を提供することを目的とする。集束イオンビーム質量顕微鏡とは、集束イオンビーム二次イオン質量分析装置(FIB-SIMS)、走査型電子顕微鏡(SEM)とレーザーイオン化法を融合した手法である。目的を達成するため、大きく分けて次の4つの課題を行う。1)集束イオンビーム質量顕微鏡の観察の為に最適な粒径別の試料作成法を確立する。2)確立した方法を用いてディーゼルナノ粒子および沿道大気中ナノ粒子を対象として試料を作成し、集束イオンビーム質量顕微鏡および透過型電子顕微鏡(TEM)観察を行う。3)ディーゼルナノ粒子に含まれていると考えられる有機化合物をレーザーイオン化するのに

最も適切なレーザー波長を成分別に選定し、有機物の一粒子単位で検出する。4)TEMを用いてナノ粒子の形態観察、形態解析を行い、粒子表面積の肺表面積あたりの曝露量に着目し、ヒト健康リスク評価を行う。

3. 研究開発の方法

(1) 新しい計測法に最適なディーゼルナノ粒子の試料作成方法の確立

ナノ粒子を含めたディーゼル粒子 (DEP) の試料は国立環境研究所ナノ粒子健康影響曝露施設で採取した。長期規制対応の8Lエンジンの高アイドル運転および高負荷運転で排出されるナノ粒子を分析対象とした。本研究では粒子状物質の吸入時のヒト健康リスク研究に貢献するため、粒子状物質の性状と沈着部位を関連付ける必要がある。

よって、実粒径よりも空気力学粒径のような相当径が重要であり、相当径に応じて分級、捕集することが必要である。図1に示すように、本研究では粒径100 nm以上の粒子の捕集には多段型

低圧インパクタを用いた。正確に分級捕集するためには、本来ナノ粒子が捕集される捕集段に、それより大きな粒径の粒子が混入して捕集される問題に対応する必要がある。また、分析時に必要な条件(表面鏡面、導電性)を満たす捕集基板の選定を行った。一方粒径100 nm以下の試料については微分型電気移動度分析器(DMA)で分級して静電捕集装置(EP)で捕集する方法を採択した。走査型粒子径別個数測定装置(SMPS)を用いて捕集対象粒径とDMAの電圧の関係を明らかにし、捕集法を確立した。これらの確立させた手法により、ディーゼルナノ粒子試料および2012年1月に大型ディーゼル車の混入率が高い川崎市内の道路沿道環境中の大気試料を採取した。TEM(JEM-2010、JEOL)により、これらの各試料について50-100粒子を20万倍の倍率で個別に撮影して画像処理・解析を行った。凝集体について構造解析し、凝集体を構成する一次粒子の粒径、個数および凝集体三次元表面積に関する解析を行った。ナノ粒子の毒性は表面積との関連が示唆されている。よってヒト健康リスク評価を行うため、道路沿道環境中におけるナノ粒子の粒子表面積としての曝露量を求めた。曝露量の算出には道路沿道環境中で測定したSMPSの粒径別個数濃度データとTEMの形態観察から求めた凝集体三次元表面積を組み合わせて求めた。ヒトの肺における粒径別の沈着率は国際放射線防護委員会(ICRP)沈着モデルで求めた。また、バルクの化学分析結果、集束イオンビーム質量顕微鏡およびTEMによる形態観察結果を総合してディーゼルナノ粒子の粒子モデルを推定した。

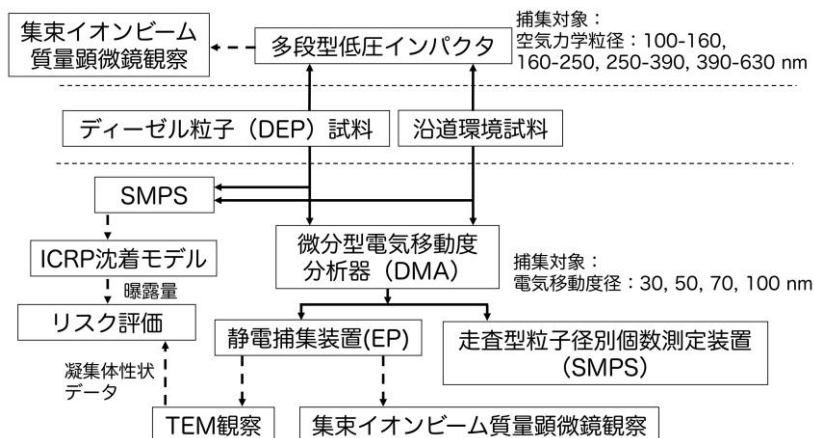


図1 捕集対象、捕集法および研究の流れ

(2) ディーゼルナノ粒子の内部構造分析(無機)

集束イオンビーム質量顕微鏡にてナノ粒子を分析する際の手順を確立した。特定のナノ粒子を顕微鏡視野下に収めるためにSEMによる非破壊観察を利用するが、その精度を高めた。また、基板の種類などサブテーマ1と連携しながら最適化した。ディーゼルナノ粒子は装置の分解能限界に迫るサイズであるため、振動やドリフトといった外乱要素がこれまでよりも大きく作用することが予想されるため解決を図った。DEP試料の分析について粒径範囲ごとにイメージング分析を行った。また、粒子の表面と内部を区別して成分をマッピングすることにより、粒子の構造に関する知見を得る分析を行った。

(3) ディーゼルナノ粒子の内部構造分析(有機)

従来、主に無機化合物で構成された材料や粒子の分析に用いられてきたFIB-SIMSに対しレーザーイオン化法を組み合わせることで、ディーゼルナノ粒子中の有機化合物を分析することを目的とした。はじめに、DEPに含まれると考えられる有機物をイオン化するのに適したレーザー波長を選定した。また、選定した最適波長のレーザーを用いて測定対象分子の1つであるピレン(C₁₆H₁₀、質量数202)の純試料を気相中でイオン化することで、レーザーイオン化における検出下限、強度依存性を確認した。次に、選定したレーザーを集束イオンビーム質量顕微鏡と組み合わせて、実試料であるDEPを測定した。レーザー強度を変えて質量スペクトルを測定することで、レーザー強度依存性を確認した。また、DEP中の有機化合物の質量マッピングを試みた。S/N比向上のための装置改良を行った。

4. 結果及び考察

(1) 新しい計測法に最適なディーゼルナノ粒子の試料作成方法の確立

集束イオンビーム質量顕微鏡で試料を観察する為には、表面鏡面があり導電性を持つ材質に試料を載せる、すなわち粒子状物質を捕集基板に捕集することが必要である。それらの条件を満たす捕集基板としてシリコンウエハが最適と考えられた。また、シリコンウエハの厚みもたらず捕集粒径の設計値からの変位の可能性について考察し、その影響は小さいことが確認された。また、DMAでの分級捕集に関しては、分級後はEPで捕集するため、やはり捕集基板は導電性の材質で出来ていることが必要である。シリコンウエハおよびTEM観察試料用の銅グリッドは導電性の条件を満たす。DMAにより様々な粒径の粒子が存在する多分散分布状態から目的の粒径にピークを持つ単分散粒子のみを通過させる印可電圧条件を決定した。以上のようにナノ粒子を捕集するための手法を確立し、試料を作成してTEMによる形態観察を行った。

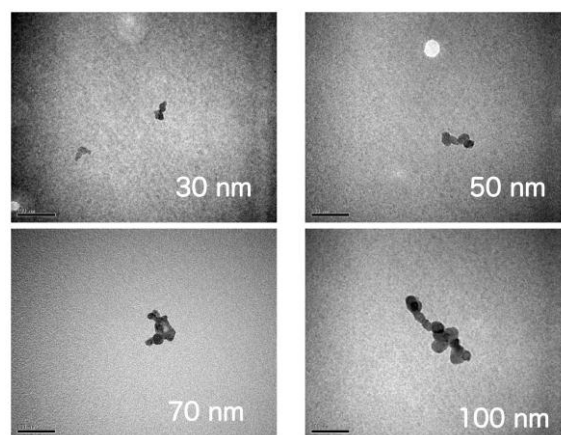


図2 高アイドル運転条件で発生した凝集体の代表的な形状のTEM画像

図2に高アイドル運転条件で発生した凝集体の代表的な形状の各粒径試料のTEM画像を示す。凝集体を構成する一次粒子が凝集して粒子を構成している様子が分かる。凝集体を解析した結果、DEPの一次粒子径は17.2-29.8 nmとなっていた。一次粒子個数は約10-40個の範囲であり、凝集体粒径が大きくなるほど多く含まれていた。図3に各種粒子、各粒径の粒子について、同一粒径の球形粒子の表面積に対する凝集体粒子の表面積比を示す。この比については、各種粒子、各粒径とも球形よりも表面積が大きい結果になっていることが分かる。

次にTEM観察結果で得られた粒子の形態情報からヒト健康リスク評価を行った結果について述べる。表面積を計算するにあたり、A:エアロゾルが全て球形の場合、B:一部が凝集体の場合(環境中の凝集体混入率の実測値)、C:凝集体のみの場合(高負荷運転時:ワーストケース)を考えた。また、サブテーマ2の凝集体粒子の集束イオンビーム質量顕微鏡観察により、体内で凝集体が体内沈着後に分解される場合も示唆されたことからその場合も想定した。

図4に粒径別沈着量を積分し、一日あたりの単位肺表面積あたりの曝露量に換算した結果を示す。AとBの場合の曝露量は大差なかった。Cの場合の曝露量はA、Bの場合の約2倍となった。ここで、炎症が発症する閾値として、毒性が低い物質で構成された粒子の場合に1 cm²-粒子表面積 / 1cm²-肺表面積が提案されている。この考え方に基くと縦軸がちょうどハザード比になる。閾値と比べると、環境中のナノ粒子の表面積の存在量から推定される曝露量とワーストケースである凝集体のみの場合(C)を考慮してもハザード比は0.013となり、リスクとしては小さいということになる。ただし、これは粒子成分による影響を無視した場合であり、炎症をエンドポイントに置いた場合であることに注意が必要である。次に体内で分解された場合をB2、C2とする。B2はBとほとんど変わらない結果となった。これは小粒径側での凝集体の存在が少ないことに起因する。一方、C2の場合は粒径60 nm以下の表面積の増大の寄与が大きく、分解されない場合に比べてハザード比が2倍、さらに球体粒子の曝露時のハザード比と比べて4倍高まることが明らかとなった。

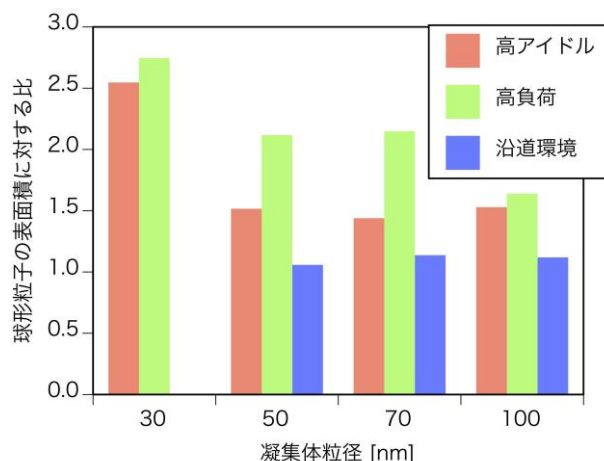


図3 TEMによる凝集体表面積の解析結果

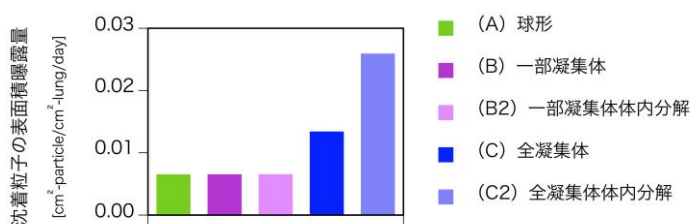


図4 一日あたりの粒子表面積の曝露量

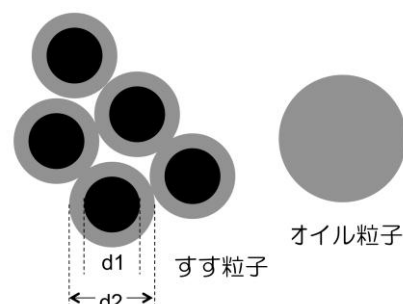


図5 すず粒子とオイル粒子の模式図

サブテマ2の集束イオンビーム質量顕微鏡の観察結果から、粒径100 nm以下のディーゼル粒子には、主にすす粒子とエンジンオイル粒子の2種が外部混合して存在することが分かった。図5に両者の模式図を示す。ここでは、すす粒子を構成している一次粒子中の炭素コア(図5中d1)が元素状炭素(EC)で構成されており、その周囲に有機炭素(OC)が覆っているモデル粒子を考えた。これまでの知見を総合すると、炭素コアが8.6-17.4 nm、OCシェルの厚みが4.7-5.6 nmと推定された。肺胞に沈着後に凝集体が分解し、さらに一次粒子中のシェルが溶け出すと、炭素コアが残るが、元の一次粒子の粒径より、35-57%小さなコアが残ることになる。これは元の一次粒子に比べてさらに細胞透過率が増すことが示唆される。このモデル粒子の結果は肺胞への沈着後のナノ粒子の体内動態を考える上で重要である。また、オイル粒子の存在が明らかになったが、エンジンオイルに含まれる成分自体も肺の炎症との関連が示唆されており、オイル成分で構成される粒子の毒性評価も必要と考えられる。

(2) ディーゼルナノ粒子の内部構造分析(無機)

本研究でターゲットとする粒子は集束イオンビーム質量顕微鏡の面方向分解能である40 nm近傍であるため、振動対策等を施し、十分な性能が発揮できるよう工夫した。その結果、50 nmの粒子まで個別に識別できるマップ画像を得ることができた。面分解能の限界に迫るサイズであるが、粒子は近接しておらず、適度に分散しているため、個別粒子の可視化と質量スペクトルデータの取得は可能であった。

図6は粒径390-630 nm試料の典型的なマップデータである。分級後の捕集基板表面ではあるが、大別して3種類の粒子が存在した。一つは「染み」であり、カルシウムと炭素が検出された(図6中の破線円内)。液滴のように広がっている様子と炭素が検出されたことから、「染み」は油分であり、とくにカルシウムはエンジンオイルの添加剤として含まれているため、エンジンオイルの液滴が基板上に付着したものと思われる。見かけの径はマイクロメートルオーダーであるがこれは液滴の衝突痕であり、排ガス中ではより小さな液滴であったと考えられる。次に「塊状粒子」(図6中実線四角内)は炭素が強く検出されたことから、典型的な房状に連なったすす粒子である。炭素の信号はオイ

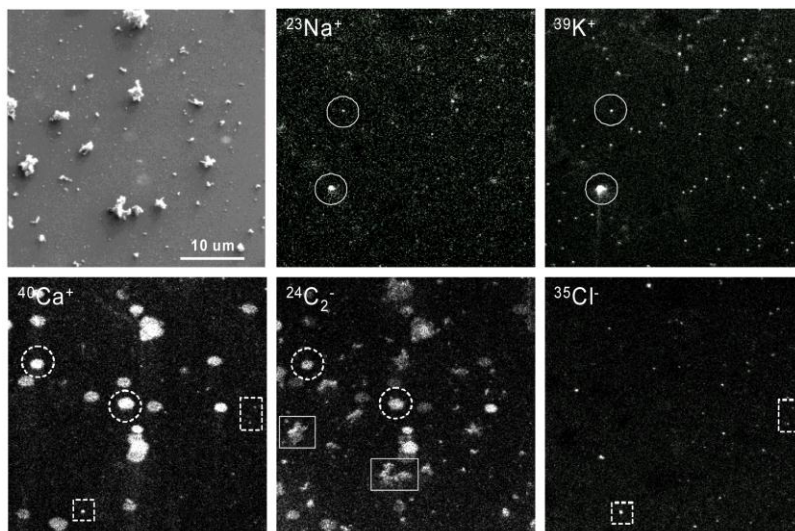


図6 DEPの成分マップ(粒径390-630 nm試料)

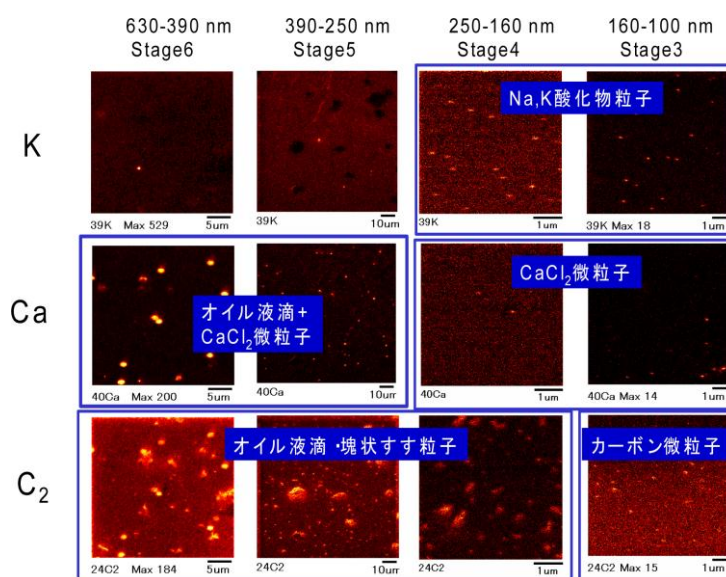


図7 各粒径試料における成分マップと粒子

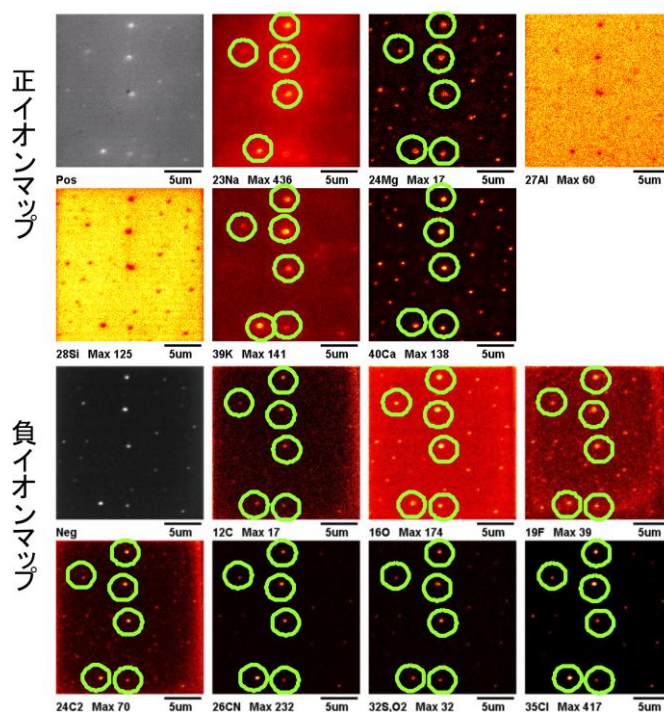


図8 DEP100 nm試料の二次イオンマップ

ルからも検出されるが、 C_2^- や C_3^- 、 C_4^- などの多原子イオンが見られたことから、無機炭素であることがわかった。これら大粒子のほかに、3番目のタイプとして100 nm程度の「小粒子」(図6中実線円内)が数多く見られた。小粒子はナトリウムやカリウムから成るものと、塩素と図では見えにくいカルシウムから成るものがあった。ナトリウムやカリウムは燃料やエンジンオイルの不純物としても考えられるが、エンジンが吸気した大気中のエアロゾルが排出されたものである可能性もある。なお、集束イオンビーム質量顕微鏡ではこうしたアルカリ金属類は極めて感度が高い(ケイ素の数十倍)ため、ナトリウム、カリウム(の酸化物、塩など)が主成分なのかどうかははっきりしない。一方、カルシウムは前述のようにエンジンオイルの添加剤由来と思われるが、マッピング結果は塩化カルシウムの化合物であることを示している。なぜ塩化物なのかは不明であるが、上記理由と同様に、吸気した大気中の例えば塩化ナトリウムが塩素の供給源になっていることも考えられた。

粒径100-630 nm試料の観察結果の概要を図7に示す。小粒径側になるにつれて「染み」や「塊状粒子」といった大粒子はみられなくなり、「小粒子」が大半を占めるようになった。小粒子については粒径、組成パターンともに捕集ステージによる大きな差異は見られなかった。

DEP100 nm試料の観察の結果(図8)、やや大きめの粒子とそれよりも小さい粒子の2種類に大別できることが判った。大きめの粒子(Type1:図8中円で囲んだ粒子)はNa、Mg、K、Ca、C、O、F、Clを含み、小さい粒子(Type2)はC、Fが検出され、成分が異なることが判った。Type1ではカルシウムが検出され、また、形状も立体的ではなく、液滴状であったため、エンジンオイル由来の粒子であると推測された。一方、Type2の方は炭素が主成分であり、立体的粒子であることから、すす粒子であると考えられる。次に、これらの粒子の内部構造を分析した。イオンビームを表面に照射し、表面から内部に向かって徐々に剥いでいく方法で表面と内部の差異を観ることとした。1回目から3回目にかけて粒子ごとにカルシウム、マグネシウム、カリウムの組成比(輝度)が変化することはなかった(図9)。これは、Type1の粒子が表

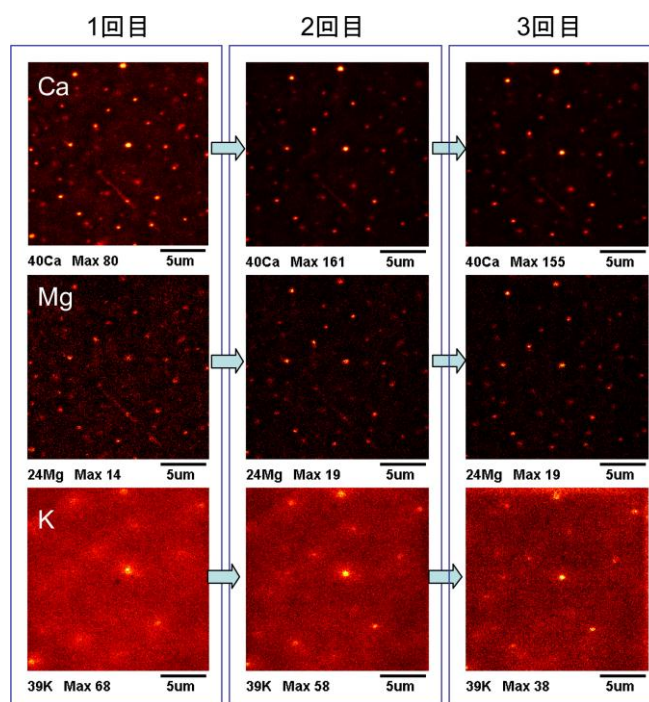


図9 DEP100nm試料において繰り返し測定した結果

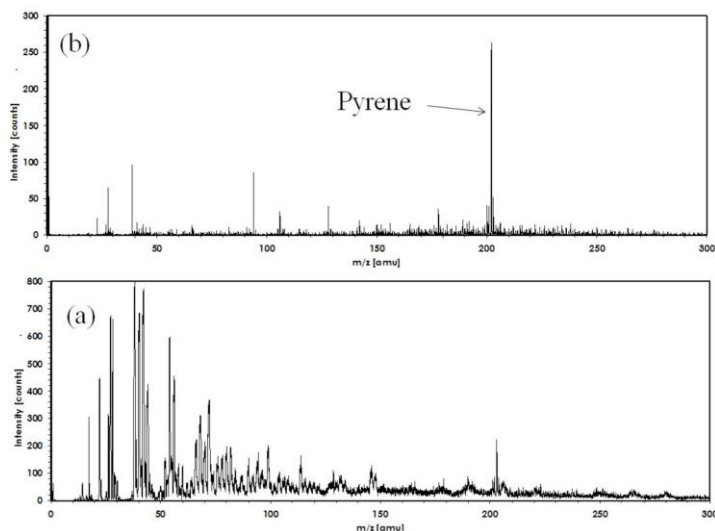


図10 質量スペクトルにおけるSIMS信号の除去(a)改良前(b)改良後

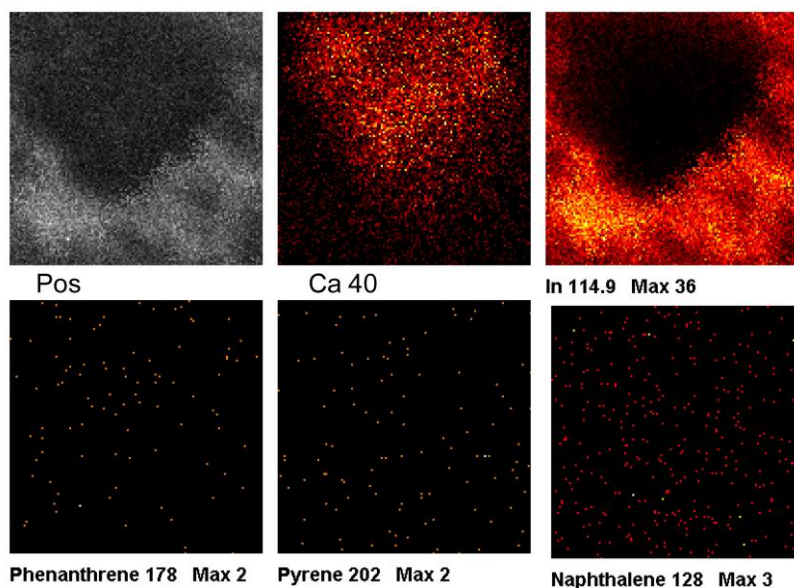


図11 DEP試料中の無機物および有機化合物の質量マッピング

面から内部に至るまで、均質であることを意味しており、Type1の粒子がエンジンオイル由来の粒子であるとする推定とも整合性がある。一方、より小さい粒子(Type2)では、1回目から3回目にかけてフッ素が著しく減る(消滅する)のに対し、炭素は殆ど変化していないことから、Type2がすす粒子であるとすれば、すす粒子については表面にのみフッ素が付着していることが分かった。

(3) ディーゼルナノ粒子の内部構造分析(有機)

はじめにDEPに含まれており健康影響を与えると考えられる有機化合物である揮発性有機化合物(Volatile Organic Compounds:VOCs)や多環芳香族炭化水素(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons:PAHs)とキノン類について、266 nmと118 nmの2種類のレーザー波長を用いて各化合物の標準ガスのレーザーイオン化を試みその検出感度を比較した。266 nmレーザーによるイオン化では、多くのVOCsやPAHについて数10ppbv程度の検出感度が得られたもののキノン類については全くイオン化することができなかった。これはVOCsやPAHsが266 nmの波長領域に吸収帯をもっており、また、266 nmの光子を2光子吸収することでイオン化ポテンシャルを超えるエネルギーを獲得しイオン化したからだと考えられる。一方、キノン類は266 nm2光子分のエネルギーではイオン化ポテンシャルを超えることができないためイオン化されなかったのではないかと考えられる。次に118 nmレーザーによるイオン化を行ったところ、VOCsについては数10から数100ppbv程度、PAHsについては数100ppbvから数ppmv程度、キノン類については数100ppbvから数ppmv程度の検出感度が得られた。118 nmでのレーザーイオン化では多くの化合物についてイオン化可能であったが全体的に検出感度が266 nmより悪い結果となった。そこで今後は感度の良い266 nmレーザーでのイオン化法に集中して研究を推進することとした。

次に266 nmレーザーのパワーを変化させてその際のピレン($C_{16}H_{10}$ 、質量数202)の検出下限を測定することでレーザーパワー依存性を確認した。レーザーパワーを20 μ J、30 μ J、40 μ Jと変化させて検出下限を測定したところ、それぞれ27ppbv、14ppbv、8ppbvとなった。以上のことから、レーザーパワーが大きいほうが検出下限が低くなり実際の微粒子測定にも適していると考えられる。

次に266 nmレーザーをサブテーマ2で使用している集束イオンビーム質量顕微鏡と組み合わせて実際のDEP中の有機化合物検出を試みた。レーザーを用いずに集束イオンビーム質量顕微鏡のFIB-SIMSのみで有機物検出を試みた場合(図10a)と比べて、レーザーを使用した場合は、はっきりとピレンのピークが検出された(図10b)。DEP分析におけるレーザーイオン化の有効性が示された。さらに、266 nmレーザーイオン化を用いてDEP中の有機化合物の質量マッピングを試みたが、明瞭な質量マッピング像を得ることはできなかった。そこで266 nmレーザーのパワーおよび繰り返し周波数を改善することで検出感度を向上させた。また、イオン電極部分を改良することによりイオン検出の際のノイズを軽減させた。改良した装置を用いて、DEPと同様の有機化合物が含まれると期待されるたばこ灰の質量マッピングを行ったところ数種の有機化合物と考えられる質量数での質量マッピングが観測された。しかし同様の方法でDEPの質量マッピングを試みたが明瞭な画像は観測されなかった(図11)。これはDEPではたばこ灰と比べて有機化合物の含有量が少なく、また、他と比べて格段に濃度が濃くなっている部分が無く有機化合物が全体に薄く広がっているためであると考えられる。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

1. エアロゾル工学で確立されたナノ粒子の捕集方法を材料工学で確立された分析法に適用するために技術的な問題点を確認・クリアしたことにあり、この方法論は他の粒子状物質でも普遍的に利用できるものである。また、エアロゾル研究分野に新たな計測手法である集束イオンビーム質量顕微鏡が利用できることを示した。
2. 電子顕微鏡観察により、ディーゼルナノ粒子の一粒子単位の化学組成、内部混合状態の情報を獲得する手法を確立し、ディーゼルナノ粒子の内部混合状態の把握は世界初である。ディーゼルナノ粒子はオイル粒子と炭素粒子が外部混合していることが初めて明らかになった。オイル成分は肺の炎症との関連が指摘されており、オイルナノ粒子の存在を明らかにしたことは重要である。
3. 凝集体の構造解析から健康リスク評価を行った初めての例である。成分による影響を無視した炎症をエンドポイントに置いた場合に、沿道環境中に存在する粒子表面積ではハザード比は低いことが分かった。
4. 比較的大きな粒径の凝集体がナノ粒子のキャリアになりうるということが明らかになった。凝集体粒子が体内で分解された場合、分解されない場合に比べてハザード比が約2倍、球形粒子に比べて約4倍高まることが分かった。粒径60nm以下の凝集体の存在量がハザード比に大きく影響することが明らかになった。
5. これまでの科学的知見を総合して粒子モデルの推定を行い、エアロゾルとしての相当径が42 nmの大きさの凝集体粒子が体内に沈着し分解した場合、実粒径8.6 nmのコアが残ることが推定された。したがって、体内動態研究においては、その大きさの粒子を考慮する必要があることが明らかになった。

6. 毒性の大きい微量化学成分は個別の粒子に局在することなく、多くの粒子に薄く存在することが集束イオンビーム質量顕微鏡で明らかになった。従って今後のディーゼルナノ粒子の健康リスク評価としては、化学成分まで明らかになる集束イオンビーム質量顕微鏡のスペックは必要ない。粒子の構造が明らかになる汎用的な透過型電子顕微鏡と多段インパクト等で粒径別に捕集した試料を従来法で化学成分を定性、定量する手法を組み合わせた方法でも評価できることが明らかになった。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

今後、環境省水・大気環境局ナノ粒子検討会を通じて、行政に対して本成果の広報・普及に務める予定である。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究で得られた成果の一つとして、すす粒子は凝集体であり、同一の相当径の場合には、凝集体は球形に比べ一粒子あたりの粒子表面積は最大で2.5倍大きくなり、吸入により炎症が発症するハザード比は2倍になることが明らかになった。また、一次粒子径としては約20 nmの一次粒子が一つの凝集体に最大40個程度存在しており、体内で沈着後に分解された場合に凝集体はナノ粒子のキャリアになりうるということが明らかになった。この粒子形態に着目した解析手法や研究成果は、自動車排ガスや工業ナノマテリアルの粒子状物質の吸入時の粒子表面積に着目した健康リスク評価時に参考になると考えられる。また、本研究で凝集体の毒性が高くなる可能性を見いだしたことは、自動車由来のナノ粒子を対象とした個数濃度の排ガス規制の導入の是非の議論に一石を投じるものと考えられる。国内では自動車排ガスの個数濃度の排ガス規制がないが、国連欧州経済委員会-自動車基準調和国際フォーラム-排ガス専門分科会-PMP (Particulate Measurement Programme) インフォーマル会議において、粒子質量規制に加えて粒子個数規制が開始されることが決定され、2011年9月より、EURO規制として、新型ディーゼル乗用車の型式認証に 6×10^{11} 個/kmという規制が加わった。日本は粒子個数規制の導入に慎重であるが、個数だけでなく、本研究の表面積を指標とした議論も加えて排ガス基準の導入の是非を議論すべきである。また、現在市販されているガソリン車には、国内にはそもそも排ガス規制がないが、近年燃費の良さを売りにして市場投入が急速に進んでいる直噴ガソリン車は、すす粒子を多く排出するという報告がある。粒子個数の排出源としても無視できず、欧州の粒子個数規制では急遽ガソリン車への規制値が決定され、最新規制対応ディーゼル車よりも緩い規制値が設定される状況になっている。現状の未規制状態が続く場合には、自動車からの排出量は削減どころか増加に転ずる可能性もある。さらに、直噴ガソリン車から主に排出される粒子は、すす粒子であるため健康リスクという観点からも大きなインパクトを与える可能性がある。よって国内の環境行政としては直噴ガソリン車に対しても早急な対応が必要であると考えられる。本研究成果は今後の自動車排ガス対策を講ずるにあたり、どのような観点で対策を必要とするのか、どの程度の対策を必要とするのか、といった際の資料として活用されることが見込まれる。

6. 研究成果の主な発表状況 (別添・作成要領参照)

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) Y. FUJITANI, T. SAKAMOTO and K. MISAWA: Civil & Environmental Engineering, S1-002 (2012)
“Quantitative determination of composition of particle type by morphology of nanoparticles in diesel exhaust and roadside atmosphere.”

(2) 主な口頭発表 (学会等)

- 1) 三澤健太郎、松井好子、今城尚志、石内俊一、藤井正明：日本分析化学会第59年会 (2010)
「レーザーイオン化法を用いた芳香族炭化水素の高感度分析—分子種ごとの最適なレーザー波長の選定」
- 2) Kentaro Misawa, Jun Matsumoto, Kotaro Tanaka, Hiroyuki Yamada, Yuichi Goto, Shun-ichi Ishiuchi, Masaaki Fujii: Pacificchem2010 (2010)
“Molecular selective and real-time analysis for automobile exhaust using laser ionization methods”
- 3) 三澤健太郎、松井好子、今城尚志、石内俊一、藤井正明：日本化学会第91春季年会 (2011)
「多環芳香族炭化水素のレーザーイオン化分析における検出感度のレーザー波長依存性」
- 4) Kentaro Misawa, Yoshiko Matsui, Takashi Imajo, Shun-ichi Ishiuchi, Masaaki Fujii: IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011 (2011)
“Quantification analysis of VOCs and PAHs using laser ionization methods”

- 5) 三澤健太郎、坂本哲夫、藤谷雄二：日本分析化学会第60年会（2011）
「レーザーイオン化法によるディーゼル微粒子中の多環芳香族炭化水素の分析—適切なレーザー波長の選定」
- 6) 三澤健太郎、君澤侑亮、松沢英世、藤井正明：第5回分子科学討論会（2011）
「共鳴多光子イオン化法によるp-tert-オクチルフェノールの電子スペクトルの観測—安定構造の決定」
- 7) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎：第28回エアロゾル科学・技術研究討論会（2011）
「ディーゼル起源ナノ粒子内部混合状態の新しい計測法」
- 8) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎：第28回エアロゾル科学・技術研究討論会（2011）
「ディーゼルナノ粒子の内部混合状態計測への挑戦」
- 9) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎：第52回大気環境学会年会（2011）
「ディーゼル起源ナノ粒子内部混合状態の新しい計測法」
- 10) Fujitani Y., Sakamoto T., Misawa K.: American Association for Aerosol Research 30th Annual Conference (2011)
“Novel method for investigation of internal mixture of diesel nanoparticle”
- 11) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎：第7回エアロゾル学会若手フォーラム（2011）
「FIB-SIMSを用いたディーゼル粒子の内部混合状態の計測」
- 12) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎：第11回PM測定・評価部門委員会（2012）
「FIB-SIMSを用いたディーゼル粒子の内部混合状態の計測」
- 13) Fujitani Y., Sakamoto T., Misawa K.: International symposium on aerosol studies explored by electron microscopy (2012)
“Internal mixture of diesel nanoparticles from FIB-SIMS microscopy”
- 14) 三澤健太郎、君澤侑亮、松沢英世、藤井正明：日本化学会第92春季年会（2012）
「環境微粒子中の多環芳香族炭化水素の分析を目指したレーザーイオン化法の確立」
- 15) 三澤健太郎、君澤侑亮、松沢英世、藤井正明：第72回分析化学討論会（2012）
「2波長レーザーイオン化法による多環芳香族炭化水素の異性体分離分析」
- 16) 三澤健太郎、坂本哲夫、藤谷雄二、藤井正明：日本分析化学会第60年会（2012）
「レーザーイオン化SIMSによるディーゼル微粒子分析」
- 17) Kentaro Misawa, Kenji Ohishi, Norihito Mayama, Tetsuo Sakamoto, Masaaki Fujii: 11th International Symposium on Advanced Technology (2012).
“Individual particle analysis of PAHs in SPM using FIB-TOF-SIMS with laser ionization”
- 18) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎:第53回大気環境学会年会（2012）
「大気中ナノ粒子の内部混合状態の測定」
- 19) 坂本哲夫、三澤健太郎、藤谷雄二：日本化学会第92春季年会（2012）
「高分解能TOF-SIMSによるディーゼルナノ粒子の粒別分析」
- 20) Tetsuo SAKAMOTO, Kentaro MISAWA and Yuji FUJITANI: International Symposium on Aerosols in East Asia and Their Impacts on Plants and Human Health (2012)
“Individual analysis of diesel nano-particles using high resolution TOF-SIMS”
- 21) 堀江智子、三澤健太郎、今城尚志、藤井正明:日本化学会第93春季年会（2013）
「266nmレーザーイオン化によるハロゲン化多環芳香族炭化水素の質量分析」

7. 研究者略歴

課題代表者: 藤谷 雄二

北海道大学工学部卒業、博士(工学)、現在独立行政法人国立環境研究所・環境リスク研究センター・健康リスク研究室・研究員

研究参画者

(1): 藤谷 雄二(同上)

(2): 坂本 哲夫

横浜国立大学工学部卒業、東京大学環境安全研究センター助教授、現在、工学院大学工学部教授

(3): 三澤 健太郎

東京工業大学理学部卒業、博士(理学)、現在、東京工業大学資源化学研究所特任助教

C-1002 ディーゼル起源ナノ粒子内部混合状態の新しい計測法(健康リスク研究への貢献)**(1) 新しい計測法に最適なディーゼルナノ粒子の試料作成方法の確立**

(独) 国立環境研究所

環境リスク研究センター 健康リスク研究室

藤谷 雄二

平成22～24年度累計予算額：20,182千円（うち、平成24年度予算額：5,129千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

粒子状物質吸入時の生体との相互作用、毒性の評価を考える上で、粒子の構造や成分、さらにはそれらの内部混合状態の情報が必要になる。本研究ではディーゼルナノ粒子に対して、新しい計測法“集束イオンビーム質量顕微鏡”を適用し、従来の分析手法では明らかになっていない一粒子単位の化学成分、内部混合状態の情報を獲得する為の手法を確立する。吸入時の曝露量を考える必要があるため、実粒径ではなく、空気中の相当径が重要になるため、分級して捕集することが重要である。また、顕微鏡観察には、表面が鏡面であり、かつ導電性を有する基板の上に粒子が過度に重ならず捕集する必要があるため、本研究では顕微鏡観察のための分級試料を最適化して捕集する技術を開発した。その結果、粒径100 nm以下の粒子は微分型電気移動度分析器 (DMA) で分級して静電捕集法で捕集すること、粒径100 nm以上の粒子は低圧インパクトに分級捕集することが最適と分かった。最適化した手法により、ディーゼルナノ粒子および2012年1月に大型ディーゼル車混入率25%の交差点における環境中ナノ粒子について捕集した。集束イオンビーム質量顕微鏡の観察結果やバルク分析値を総合すると、ディーゼルナノ粒子に関しては、毒性の強い遷移金属や多環芳香族炭化水素 (PAH) 類等の有機物が特定の一粒子に集中して存在している訳ではないことが明らかになった。そこで、凝集体に関して透過型電子顕微鏡を用いた一粒子単位の構造解析を行い、凝集体表面積の肺表面積あたりの沈着量に着目し、ヒト健康リスク評価を行った。凝集体の表面積を考慮した環境中ナノ粒子の曝露量の場合のハザード比は0.0065であった。また、ワーストケースを想定して、環境中ナノ粒子の全てが凝集体として存在し、曝露された場合にはハザード比は0.013となった。成分による影響を無視した炎症をエンドポイントにおいた場合には、環境中ナノ粒子の曝露量による健康リスクは小さいことが分かった。

[キーワード]

ディーゼルナノ粒子、凝集体、透過型電子顕微鏡、粒子表面積、ハザード比

1. はじめに

2009年9月に微小粒子状物質PM_{2.5}に係る環境基準について告示が公示され、その基準は粒子状物質の質量濃度で規定されている。またPM_{2.5}の範疇に含まれているナノ粒子（粒径<50 nm）の健康影響の可能性も指摘されているが、ナノ粒子は、その小ささからPM_{2.5}の質量濃度にはほとんど寄与しない。環境中におけるナノ粒子の最も大きな発生源としてディーゼル車が挙げられる。環境中においても自動車排出ガス測定局のSPM濃度は年々減少傾向が見られるが、個数濃度としては、さほど減少傾向が見られていないのが現状である¹⁾。ナノ粒子は粒径が小さいために、質量濃度としては低くても、存在する個数が多いこと、比表面積が大きいことが特徴である。その為、ナノ粒子の毒性評価は従来の質量を基準とした粒子状物質の毒性評価とは異なる考え方で評価しなければならない。粒子状物質を吸入した場合、その粒子の空気力学的な挙動に応じて体内での沈着部位が異なるが、肺胞領域における沈着率はナノ粒子が最大となる（粒径20 nmにおいて50%の沈着率）²⁾。肺胞に、ある閾値以上の粒子が沈着すると、慢性的な炎症等の呼吸機能への影響が起ると考えられるが、それに加えて粒子が低溶解性の場合には細胞を透過して血流に移行し多臓器に悪影響を及ぼす可能性がある。この場合、影響の大きさは低溶解性の粒子の化学種、個数、表面積などに依存すると思われる。一方、粒子が高溶解性の場合、溶解成分が細胞内に広がり炎症等を引き起こす原因となり、影響の大きさは化学種と溶解量に関係すると考えられる。内部に低溶解性の粒子があり、外部に高溶解性の成分が付着した内部混合状態の場合は、肺胞に沈着後に粒子の外側のみが溶解して、さらに粒径が小さい低溶解性の粒子として残れば、細胞透過性が増すことになる。したがって生体との相互作用、毒性の評価を考える上で、粒子の個数や質量だけではなく、ディーゼルナノ粒子の構造（大きさ、表面積）や成分（構成原子、分子）、さらにはそれらの内部混合状態のミクロな情報が必要になる。

2. 研究開発目的

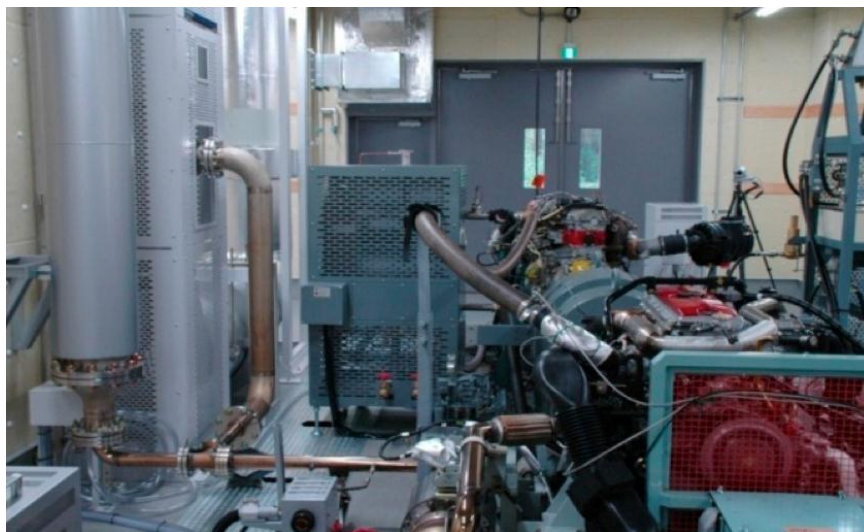
粒径50 nm程度のディーゼルナノ粒子に対して、新しい計測法“集束イオンビーム質量顕微鏡”を適用し、従来の分析手法では明らかになっていない一粒子単位の化学成分や、その内部混合状態の情報を獲得する為の手法を確立し、ディーゼルナノ粒子の毒性評価、健康リスク研究に、その情報を提供することを目的とする。集束イオンビーム質量顕微鏡とは、集束イオンビーム二次イオン質量分析装置（FIB-SIMS）、走査型電子顕微鏡(SEM)とレーザーイオン化法を融合した手法である。そのうち、本サブテーマでは主に次の4つの課題を行う。1) 集束イオンビーム質量顕微鏡の観察の為に最適な粒径別の試料作成法を確立する。2) 確立した方法を用いてディーゼルナノ粒子および沿道大気中ナノ粒子を対象として試料を作成し、サブテーマ2に集束イオンビーム質量顕微鏡観察に供する。3) 透過型電子顕微鏡（TEM）観察により、ナノ粒子の形態観察、形態解析を行う。4) 粒子表面積の肺表面積あたりの曝露量に着目し、環境中ナノ粒子のヒト健康リスク評価を行う。

3. 研究開発方法

(1)ディーゼルナノ粒子捕集法の最適化

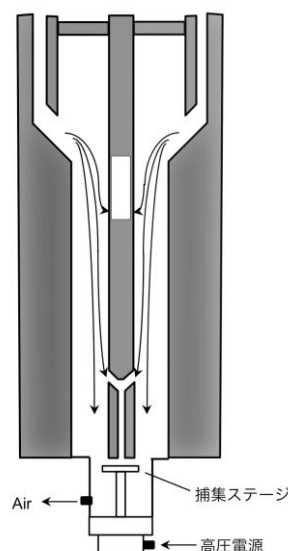
ナノ粒子を含めたディーゼル粒子（DEP）の試料は国立環境研究所ナノ粒子健康影響曝露施設（図(1)-1）で採取した。本施設は長期規制対応の8Lエンジン、エンジンダイナモメータ、希釈システムを備えている³⁾。ナノ粒子が多く含まれるエンジンの稼働条件である高回転無負荷の運転条件（高アイドル：2000 rpm、0 Nm）で排出されるナノ粒子を主な測定対象とした。この運転条件で

発生する排気を用いて、小動物の吸入曝露実験による毒性評価も多く行われている⁴⁻⁹⁾。明記がない場合はこのエンジン運転条件で排出された粒子を指すこととする。



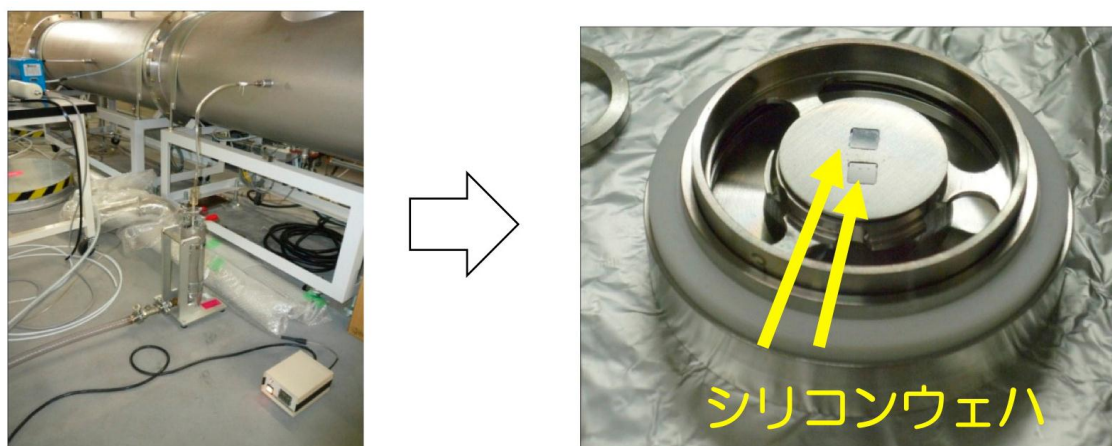
図(1)-1 国立環境研究所ナノ粒子健康影響曝露施設ディーゼルエンジン

本研究では粒子状物質の吸入時のヒト健康リスク研究に貢献するため、粒子状物質の性状と沈着部位を関連付ける必要がある。よって、実粒径よりも空気力学粒径のような相当径が重要であり、相当径に応じて分級、捕集することが必要である。本研究では多段型低圧インパクタを用いて、空気力学粒径別に粒子状物質を捕集することとし、多段型低圧インパクタにはDEKATI社製のDLPI (Dekati Low pressure impactor、DEKATI) を用いた。インパクタは粒子状物質をその持つ慣性力に応じて分級し、捕集基板に慣性衝突を利用して捕集する。上段の捕集段から下段の捕集段に行くにつれ、空気の通過するノズルの径が小さくなり、粒子を含んだ空気の通過速度が速くなるため、上段から順次、より慣性力の小さな粒子が捕集されていく。捕集対象粒径は空気力学粒径 (D_{ae}) 30-60 nm、60-100 nm、100-160 nm、160-250 nm、250-390 nm、390-630 nmの6粒径区分とした。本来ナノ粒子が捕集される捕集段に、それより大きな粒径の粒子が混入して捕集される問題（多段型インパクタ特有の問題である再飛散現象や捕集基板の厚みによる分級効率変化）がある¹⁰⁾。これらの問題を回避し、さらに、分析時に必要な条件（表面鏡面、導電性）を満たす捕集基板の選定を行った。研究開始当初は空気力学粒径100 nm以下の試料捕集にもDLPIを適用したが、実験過程で粒子同士が重なって捕集されることや捕集スポットが局在するため高倍率では電子顕微鏡で観察しにくい問題が発覚した。そこで、空気力学粒径100 nm

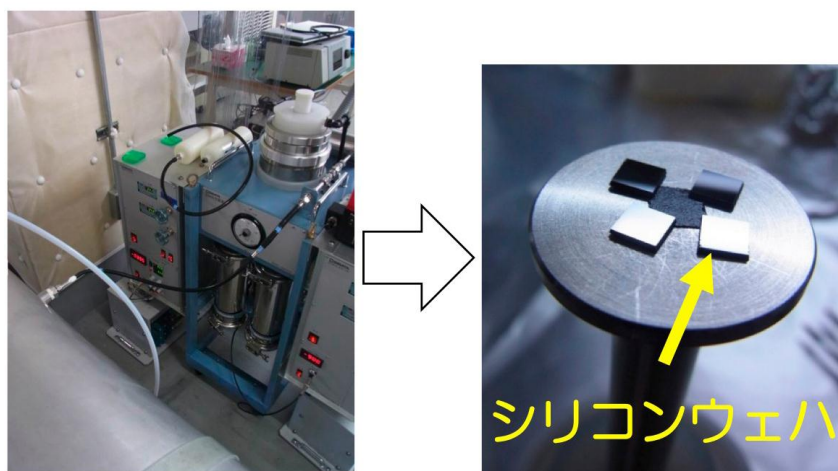


図(1)-2 微分型電気移動度分析器 (DMA) と静電捕装置 (EP) の断面図

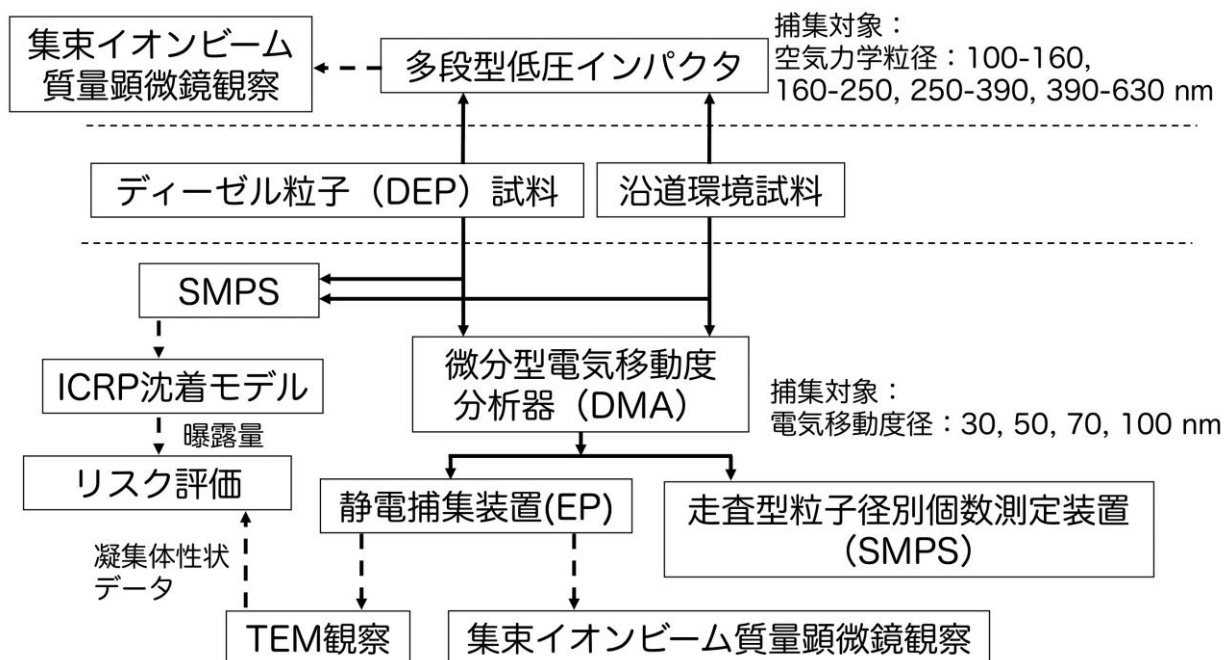
以下の試料については微分型電気移動度分析器（DMA）で分級して静電捕集装置（EP）で捕集する方法に転換することとし、その捕集法の確立をした。なお、DMAで分級される粒径は電気移動度径（ D_{eq} ）となる。図(1)-2にDMAとEP捕集装置の構造を示す。DMAはステンレスの二重管になっており、内側には清浄空気、外側には多分散粒子を含んだ空気が流れている。DMAに導入前に中和器を通過させることにより、多分散粒子を電氣的に中和しておく。DMAの内管には負電位にしておき、正荷電に帯電した粒子が内側に引きつけられていく。電気移動度は粒径の関数であり、形状、流量条件、電圧により、決められた粒径のみ内管のスリットを通り抜け、単分散の粒子のみがDMAを通過することになる。このようにして分級された粒子はEPに導入され、静電気力により捕集基板に捕集される。本研究での対象は電気移動度径30, 50, 70, 100 nmの粒子とし、あらかじめ走査型粒子径別個数測定装置（SMPS：Scanning Mobility particle sizer, TSI, Model 3034）でターゲットの粒径とDMAの電圧の関係を明らかにした。DMAの分級分解能を保つため、通常はシース流量（DMA内側を流れる清浄空気流量）と試料流量（DMA外側を流れる流量）を10:1の流量比に設定するが、本研究でもその流量比を採用した。本研究で採用した捕集基板は、DLPIではシリコンウェハ、DMA-EPではシリコンウェハおよびTEMグリッドとした。図(1)-3および図(1)-4に捕集時の様子を示す。また、図(1)-5に捕集対象、捕集法および研究の流れを示す。



図(1)-3 DLPIによる分級捕集の様子



図(1)-4 DMA-EPによる分級捕集の様子



図(1)-5 捕集対象、捕集法および研究の流れ

(2) 環境中ナノ粒子捕集

ダイナモ上のディーゼル粒子の特徴を相対化する為に大型ディーゼル車の混入率が25%と卓越する道路沿道環境中の大気試料を採取した。捕集法はディーゼルナノ粒子捕集で確立した方法とし、空気力学粒径100 nm以上をDLPI、電気移動度径100 nm以下をDMA-EPで分級・捕集した。捕集日は2012年1月23日、24日、25日の早朝、午後の時間帯にそれぞれ行った。採取場所は川崎市池上新町にある川崎臨港警察署前交差点の一角にある国立環境研究所が管理している長期モニタリング小屋において行った(図(1)-6)。この小屋では2004年から連続して長期のナノ粒子および汚染物質のモニタリングや詳細な観測を行っている¹¹⁻¹³⁾。測定項目、機種を表(1)-1に示す。この交差点は東西に産業道路があり、南北には川崎駅と工場地帯を結ぶ道路がある。これらの道路が直交する交差点である。さらに産業道路に並行して首都高の高架道路がある。平日5日間の平均として24時間の総交通量52000台である。また捕集量が心配されるため、分級しない試料もEPにより捕集した。



図(1)-6 川崎市池上新町における川崎臨港警察署前交差点

表(1)-1 長期モニタリング小屋における測定項目、機種

Measured parameter	Type, manufacturer
CO	APMA-360, HORIBA
SO ₂	Model 43C, Thermo Environmental Instrument
NO _x / NO/ NO ₂	Model 42C, Thermo Environmental Instrument
SPM	APDA-361, HORIBA
Particle number concentration	SMPS3034, TSI

(3) ディーゼルナノ粒子等のバルク試料採取および分析

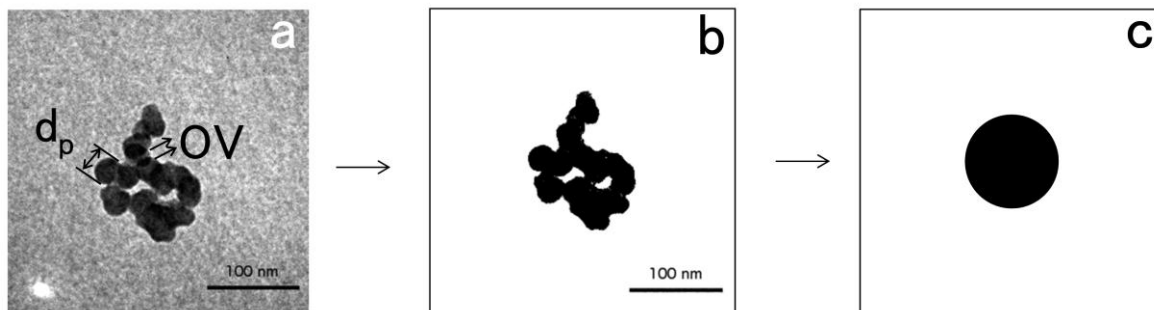
個別粒子の元素の由来を把握するためや一粒子単位の分析時の参考とするため、石英繊維フィルターおよびテフロンフィルターにより、ディーゼルナノ粒子のバルク（粒径別に分級しない）捕集を行った。また、エンジンベンチ室の室内空気も捕集した。エンジンはエンジンベンチ室の空気を吸引し、排気として吐き出す。粒子中の化学成分の由来として、主として燃焼生成物、未燃燃料、エンジン潤滑油が考えられるが、それ以外に吸気中に含まれる空気中および粒子の化学成分も影響することが考えられる為である。フィルターによる捕集はエンジンのインタークーラーの冷却水のミスト噴射が行われる近くとエンジン吸気口の近くで行った。バルク試料の質量の秤量には最小表示0.1 μgの電子天秤（UM2, メトラー・トレド）を用いた。バルク試料の炭素成分、水溶性成分、金属成分、有機成分の分析にはそれぞれカーボンアナライザー（DRI、Model2001）、イオンクロマトグラフ（Metrohm、Compact IC 761およびPersonal IC 790）、ICP-MS（Thermo Scientific、X series2）、GC-MS（島津製作所、GC-2010およびQP-2010）を用いた。さらに、軽油、使用済みエンジン潤滑油、未使用エンジン潤滑油、軽油輸送用のチューブ、エンジンベンチ室の試料採取を行った。軽油および潤滑油はICP-MSにより含有金属の分析を行った。

(4) ディーゼルナノ粒子および環境中ナノ粒子のTEM観察およびヒト健康リスク評価

ディーゼルナノ粒子試料および川崎市池上新町臨港警察署前交差点付近の環境試料についてTEM（JEM-2010, JEOL）による形態観察を行った。観察対象試料はTEM用コロジオン膜銅グリット（日新EM）上に分級後（電気移動度径30、50、70、100 nm）に捕集したものである。また、形態の解析および形態情報を利用したリスク評価を行った。

ディーゼルナノ粒子試料の観察対象は2種（高アイドル（2000 rpm、0 Nm）、高トルク（1000rpm、300 Nm））の運転条件でディーゼルエンジンから排出されたものとした。環境試料は2012/1/25午前中に捕集されたものとした。また、2012年1月の同時間帯の代表性を確認するために連続測定データの解析を行った。各試料について50-100粒子を20万倍の倍率で個別に撮影して画像処理・解析を行った。図(1)-7にTEM画像の処理・解析過程を示す。各種粒子・粒径について投影断面積からその面積と等しい投影面積を持つ円の直径（投影面積径）を求めた（図(1)-7c）。凝集体についてはBrasilら¹⁴⁾の手法を参考に、凝集体を構成する一次粒子の性状および三次元の表面積に関する解析を行った。すなわち、二次元画像から一次粒子径（図(1)-7a中 d_p ）および一次粒子同士が重なっている距離（図(1)-7a中0V）を求め、それらから“重なり係数”を計算する。重なり係数から三次元の重なり係数を推定し、さらに、投影断面積（図(1)-7b）および一次粒子投影断面積

から一凝集体に含まれる一次粒子個数を求めた。凝集体三次元表面積は一次粒子個数、三次元重なり係数、全一次粒子表面積から推定した。

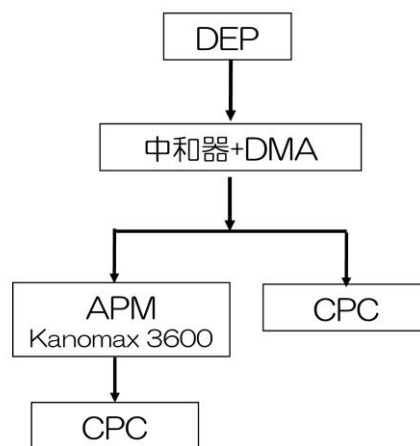


図(1)-7 TEM画像の解析過程

ヒト健康リスク評価のため、環境中におけるナノ粒子の曝露量を求めた。曝露量の算出には長期モニタリング小屋のSMPSのデータを用いた（表(1)-1）。また、形態観察から求めた凝集体三次元表面積を考慮して粒子表面積ベースの曝露量を求めた。ヒトの肺における粒径別の沈着率は国際放射線防護委員会(ICRP)沈着models²⁾をベースとした“Simple Code for Aerosols via the Respiratory Route to Estimate Deposition in the Lung”¹⁵⁾を用いて計算した。計算対象は成人男性の軽運動時とし、呼吸量は $1.5\text{ m}^3\text{ hour}^{-1}$ 、ヒト肺表面積を 30 m^2 として計算した。

(5)ディーゼルナノ粒子モデル推定

バルクの化学分析結果、集束イオンビーム質量顕微鏡およびTEMによる形態観察結果を総合してディーゼルナノ粒子の粒子モデルを推定した。ディーゼルナノ粒子モデルの妥当性の検証には、国立環境研究所ナノ粒子健康影響曝露施設ディーゼルエンジンから排出されるナノ粒子を用い、一粒子単位による粒子質量に関して粒子モデルから推定される値と実測値の比較を行うことで評価した。一粒子単位の質量測定はDMA-エアロゾル粒子質量分析器 (APM) -凝縮核計数器 (CPC) 法により測定した（図(1)-8）。APMは静電気力と遠心力の釣り合いを利用し、質量に応じて粒子を分級することが可能である¹⁶⁾。DMAと組み合わせて使用すれば、原理的には目的の粒径の粒子で特定の質量を持つ粒子のみに分離することが可能となる。APMの遠心力を生み出す回転数を一定にして、静電気力を制御する印可電圧を走査すれば、電圧に応じた静電気力と遠心力が釣り合う質量を持つ粒子がAPMを通過することになる。通過した個数濃度をCPCで計測することにより、質量分布を知ることができる。本研究では回転数を一定にして印可電圧を変動させた時に、最も粒子が通過する条件をその粒子の質量とした。



図(1)-8 一粒子単位質量の測定系

4. 結果及び考察

本研究で得られた試料の一覧を表(1)-2に示す。なお、ID143-147は本研究期間外に捕集したものであるが、解析は本研究期間内に行った。

表(1)-2 試料一覧

捕集日	ID	対象	捕集方法	粒径	サンプリング時間	サンプル流量
				[nm]	[min]	[lpm]
2011/1/18	ID1	トンネルBG	LPI Stage6	390-630	2	10
2011/1/18	ID2	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage6	390-630	0.5	10
2011/1/18	ID3	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage6	390-630	2	10
2011/1/18	ID4	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	0.5	10
2011/1/18	ID5	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	2	10
2011/1/18	ID6	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	0.5	10
2011/1/18	ID7	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	2	10
2011/1/18	ID8	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	0.5	10
2011/1/18	ID9	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	2	10
2011/1/18	ID10	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	0.5	10
2011/1/18	ID11	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	2	10
2011/1/18	ID12	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	0.5	10
2011/1/18	ID13	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	2	10
2011/1/18	ID14	Blank				
2011/2/16	ID15	トンネルBG	LPI Stage1	30-60	60	10
2011/2/16	ID16	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage6	390-630	4	10
2011/2/16	ID17	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage6	390-630	10	10
2011/2/16	ID18	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	4	10
2011/2/16	ID19	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	10	10
2011/2/16	ID20	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	4	10
2011/2/16	ID21	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	10	10
2011/2/16	ID22	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	4	10
2011/2/16	ID23	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	10	10
2011/2/16	ID24	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	4	10
2011/2/16	ID25	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	10	10
2011/2/16	ID26	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	4	10
2011/2/16	ID27	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	10	10
2011/2/16	ID28	Blank				
2011/5/17	ID29	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage6	390-630	10	10
2011/5/17	ID30	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage6	390-630	15	10
2011/5/17	ID31	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	6	10
2011/5/17	ID32	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	10	10
2011/5/17	ID33	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	6	10
2011/5/17	ID34	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	10	10
2011/5/17	ID35	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	10	10
2011/5/17	ID36	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	15	10
2011/5/17	ID37	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	10	10
2011/5/17	ID38	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	15	10
2011/5/17	ID39	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	10	10
2011/5/17	ID40	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	15	10
2011/5/17	ID41	blank				
2011/5/17	ID42	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	10	10
2011/5/17	ID43	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	30	10
2011/5/17	ID44	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage2	60-100	60	10

表(1)-2 試料一覧 続き

捕集日	ID	対象	捕集方法	粒径	サンプリング時間	サンプル流量
				[nm]	[min]	[μ m]
2011/5/17	ID45	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	10	10
2011/5/17	ID46	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	30	10
2011/5/17	ID47	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage1	30-60	60	10
2011/6/20-22	ID48	DEP2000rpm0Nm	SSPM	bulk	816	20
2011/6/24,26	ID49	DEP2000rpm0Nm	SSPM	bulk	432	20
2011/6/27	ID50	トンネルBG	LPI Stage2	60-100	120	10
2011/6/27	ID51	blank				
2011/8/16	ID52	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	50	30	2.4
2011/8/16	ID53	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	70	30	2.4
2011/8/16	ID54	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	100	60	2.4
2011/8/16	ID55	blank				
2011/12/5	ID56	blank	テフロンフィルター			
2011/12/5	ID57	室内BG@吸気口	テフロンフィルター	bulk	120	19
2011/12/5	ID58	稼働時室内@吸気口	テフロンフィルター	bulk	120	19
2011/12/5	ID59	稼働時室内@インタークーラー	テフロンフィルター	bulk	120	18
2011/12/5	ID60	blank	テフロンフィルター			
2011/12/5	ID61	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	50	30	2.4
2011/12/5	ID62	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	100	60	2.4
2011/12/5	ID63	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	30	30	2.4
2011/12/5	ID64	blank				
2011/12/28	ID65	粉体DEP	ガラス瓶に採取			
2012/1/23	ID66	川崎	LPI Stage3	100-160	60	10
2012/1/23	ID67	川崎	LPI Stage4	160-250	60	10
2012/1/23	ID68	川崎	LPI Stage5	250-390	60	10
2012/1/23	ID69	川崎	LPI Stage6	390-630	60	10
2012/1/23	ID70	川崎	LPI Stage3	100-160	20	10
2012/1/23	ID71	川崎	LPI Stage4	160-250	20	10
2012/1/23	ID72	川崎	LPI Stage5	250-390	20	10
2012/1/23	ID73	川崎	LPI Stage6	390-630	20	10
2012/1/24	ID74	川崎	LPI Stage3	100-160	10	10
2012/1/24	ID75	川崎	LPI Stage4	160-250	10	10
2012/1/24	ID76	川崎	LPI Stage5	250-390	10	10
2012/1/24	ID77	川崎	LPI Stage6	390-630	10	10
2012/1/24	ID78	川崎	LPI Stage3	100-160	5	10
2012/1/24	ID79	川崎	LPI Stage4	160-250	5	10
2012/1/24	ID80	川崎	LPI Stage5	250-390	20	10
2012/1/24	ID81	川崎	LPI Stage6	390-630	20	10
2012/1/24	ID82	川崎	LPI Stage3	100-160	10	10
2012/1/24	ID83	川崎	LPI Stage4	160-250	10	10
2012/1/24	ID84	川崎	LPI Stage5	250-390	20	10
2012/1/24	ID85	川崎	LPI Stage6	390-630	20	10
2012/1/24	ID86	川崎	LPI Stage3	100-160	10	10
2012/1/24	ID87	川崎	LPI Stage4	160-250	10	10
2012/1/24	ID88	川崎	LPI Stage5	250-390	20	10
2012/1/24	ID89	川崎	LPI Stage6	390-630	20	10
2012/1/25	ID90	川崎	LPI Stage3	100-160	8	10
2012/1/25	ID91	川崎	LPI Stage4	160-250	8	10
2012/1/25	ID92	川崎	LPI Stage5	250-390	20	10

表(1)-2 試料一覧 続き

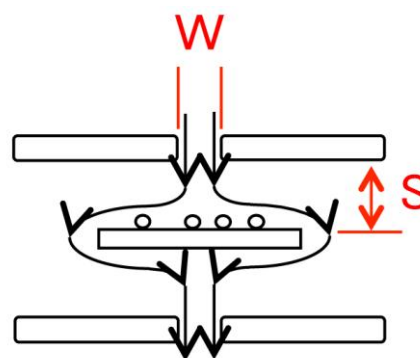
捕集日	ID	対象	捕集方法	粒径	サンプリング時間	サンプル流量
				[nm]	[min]	[μ m]
2012/1/25	ID93	川崎	LPI Stage6	390-630	20	10
2012/1/25	ID94	川崎	LPI Stage3	100-160	8	10
2012/1/25	ID95	川崎	LPI Stage4	160-250	8	10
2012/1/25	ID96	川崎	LPI Stage5	250-390	18	10
2012/1/25	ID97	川崎	LPI Stage6	390-630	18	10
2012/1/23	ID98	川崎	DMA-EP	30	30	10
2012/1/23	ID99	川崎	DMA-EP	50	30	10
2012/1/23	ID100	川崎	DMA-EP	100	60	10
2012/1/23	ID101	川崎	EP	bulk	120	10
2012/1/23	ID102	blank				
2012/1/24	ID103	川崎	DMA-EP	50	815	
2012/1/24	ID104	川崎	DMA-EP	30	60	
2012/1/24	ID105	川崎	DMA-EP	50	60	
2012/1/24	ID106	川崎	DMA-EP	100	60	
2012/1/24	ID107	川崎	EP	bulk	90	
2012/1/24	ID108	blank				
2012/1/24	ID109	川崎	DMA-EP	30	60	
2012/1/24	ID110	川崎	DMA-EP	50	60	
2012/1/24	ID111	川崎	DMA-EP	100	60	
2012/1/24	ID112	川崎	EP	bulk		
2012/1/24	ID113	blank				
2012/1/25	ID114	川崎	DMA-EP	100	750	
2012/1/25	ID115	川崎	DMA-EP	30	60	
2012/1/25	ID116	川崎	DMA-EP	50	60	
2012/1/25	ID117	川崎	DMA-EP	100	60	
2012/1/25	ID118	川崎	EP	bulk		
2012/1/25	ID119	blank				
2011/11/4	ID120	使用済みエンジンオイル				
2012/1/17	ID121	未使用オイル				
2012/1/16	ID122	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	200	60	
2012/1/16	ID123	DEP2000rpm0Nm	DMA-EP	300	60	
2012/1/16	ID124	blank				
2012/1/31	ID125	軽油@エンジン入口採取				
2012/1/31	ID126	オイル用チューブ 破片				
2012/8/9	ID127	DEP2000rpm0Nm	DMA	50	30	2.4
2012/8/10	ID128	DEP2000rpm0Nm	DMA	100	60	2.4
2012/8/1-14	ID129	DEP2000rpm0Nm	SSPM	bulk	8396	20
2012/8/14-17	ID130	DEP2000rpm0Nm	SSPM	bulk	4270	20
2012/8/21	ID131	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	6	10
2012/8/21	ID132	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	3	10
2012/8/21	ID133	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage3	100-160	1.5	10
2012/8/21	ID134	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	6	10
2012/8/23	ID135	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage5	250-390	3	10
2012/8/23	ID136	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	3	10
2012/8/23	ID137	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	1.5	10
2012/8/23	ID138	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage4	160-250	1	10
2012/8/23	ID139	DEP2000rpm0Nm	LPI Stage6	390-630	3	10
2012/8/23	ID140	blank				

表(1)-2 試料一覧 続き

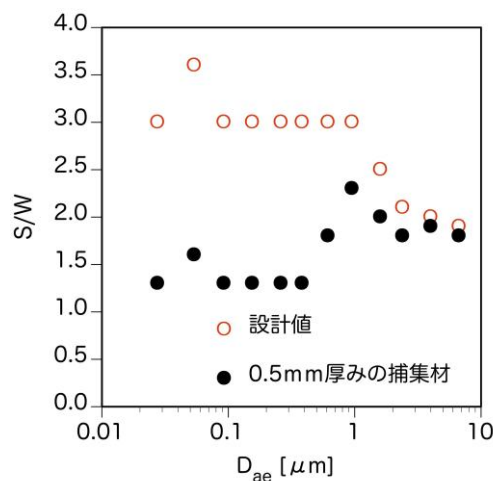
捕集日	ID	対象	捕集方法	粒径	サンプリング時間	サンプル流量
				[nm]	[min]	[μm]
2012/10/16	ID141	DEP2000rpm0Nm	テフロンフィルター	bulk	60	15
2012/10/17	ID142	DEP2000rpm0Nm	石英フィルター	bulk	60	15
2008/5/9	ID143	DEP2000rpm0Nm	NanoMOUDI	10-10000, 13 粒径区分	120	10
2009/12/28	ID144	DEP1000rpm300Nm	DMA-EP	30	10	2.4
2009/12/28	ID145	DEP1000rpm300Nm	DMA-EP	50	10	2.4
2009/12/11	ID146	DEP1000rpm300Nm	DMA-EP	70	10	2.4
2009/12/11	ID147	DEP1000rpm300Nm	DMA-EP	100	10	2.4

(1) ナノ粒子捕集法の最適化

集束イオンビーム質量顕微鏡で試料を観察する為には、表面鏡面があり導電性を持つ材質に試料を載せる、すなわち粒子状物質を捕集基板に捕集することが必要である。それらの条件を満たす捕集基板としてシリコンウエハが最適と考えられた。捕集基板自体の洗浄度を改善して捕集を行った。シリコンウエハ（ニラコ社製）を1辺6 mm以内に分割し、ジクロロメタンに漬けて1時間の超音波洗浄、乾燥機で200度2時間加熱したものがバックグラウンドとして最も低減されることが実験過程で明らかになった。次に正しく空気力学粒径を評価する上で必要な情報と考えられるため、シリコンウエハの厚みがもたらす捕集粒径の設計値からの変位の可能性について考察した。これは空気通過するノズルの径(W)と上段の捕集段ノズルの下端から捕集基板上端までの距離(S)の比(クリアランス比S/W)で判断することができる(図(1)-9)。クリアランス比が1以下になると捕集粒径が設計値よりも大きい粒径に変位することが言われている¹⁷⁾。図(1)-10に各捕集段における設計値とシリコンウエハの厚み0.5 mmを考慮した場合のクリアランス比を示す。DLPIのクリアランス比の設計値は約2-3.5であり、シリコンウエハの厚みを考慮すると、各捕集段においてクリアランス比が約1.3-2.5に低下するが、1を下回ることはない。したがって、シリコンウエハの厚みによる空気力学粒径の変位は計算



図(1)-9 インパクト断面図

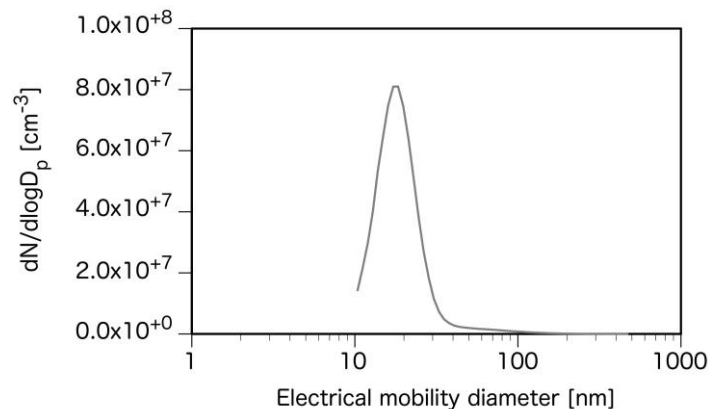


図(1)-10 各ステージのクリアランス比

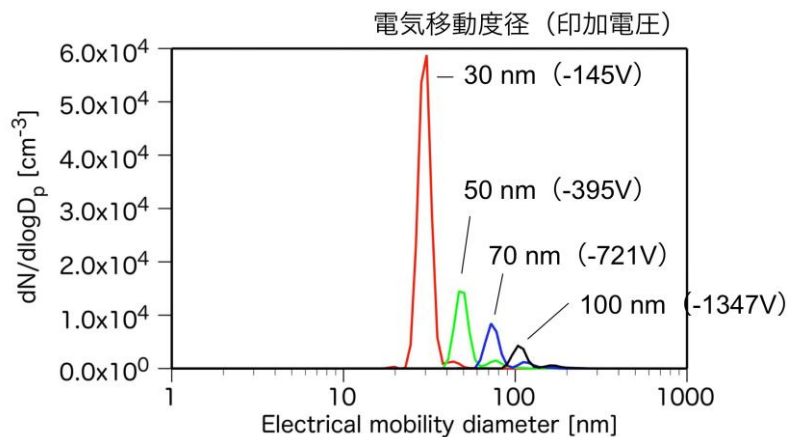
上起こらないことが確認できた。シリコンウエハが分析時にも、DLPIの捕集基板としても問題ないことが確認された。その他のカスケードインパクトの捕集時の問題としては、再飛散および跳ね返りが原因で起こる設計と異なる粒径粒子の混入がある。通常はそれらの問題を防ぐために捕集基板の表面にグリースを塗布するが、本研究では分析時に妨害成分になることを防ぐため使用しないこととした。捕集対象粒径以外の捕集段には石英繊維フィルターを捕集基板として使用して再飛散や跳ね返りを防ぎ¹⁸⁾、捕集対象とする粒径の捕集段にシリコンウエハをセットして、一

粒径区分毎に捕集することとした。

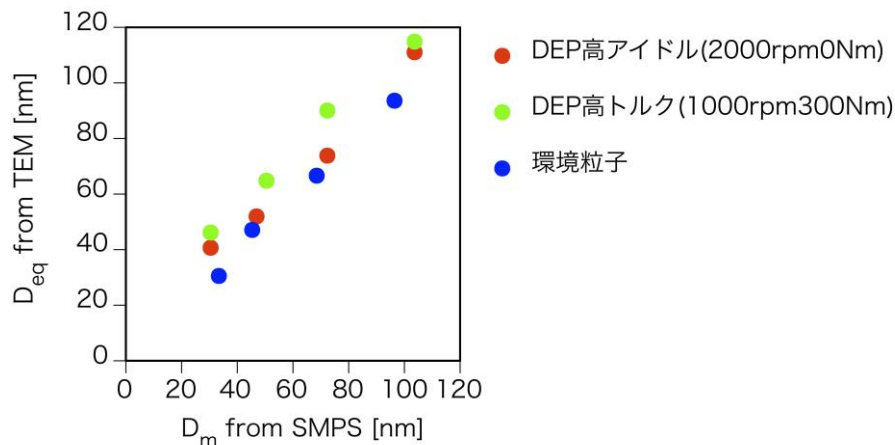
次にDMAでの分級捕集の検討結果について述べる。分級後はEPで捕集するため、やはり捕集基板は導電性の材質で出来ていることが必要であり、シリコンウエハはその条件を満たす。またTEM観察試料用の銅グリッドも導電性の条件を満たす。次に設定粒径に分級するためのDMA印可電圧を探索した結果について述べる。高アイドル運転条件（2000 rpm、0 Nm）で排出される粒子の分級前の粒径分布を図(1)-11に示す。電気移動度径20 nmをピークとする分布であるが、分布に幅がみられる。DMAを通過した後の粒径分布をSMPSで確認した結果とその際のDMAの分級条件（電圧）を図(1)-12に示す。様々な粒径の粒子が存在する多分散分布状態からDMAを通過させると目的の粒径にピークを持つ単分散粒子のみを通過させることができた。これを各種粒子で設定した。次にDMA通過後の各粒径粒子の試料をTEMグリッド上に捕集してTEMにより観察し、図(1)-7のように画像解析した。図(1)-13にDMAで分級後のSMPSで測定された粒子の電気移動度径の幾何平均径（ D_m ）とTEM観察から求めた投影面積径（ D_{eq} ）の比較を、環境粒子、2種の運転で排出されたDEPについて示す。両者はおおむね一対一の直線にのっている。過去の報告¹⁹⁻²⁰でも同様の報告がされており、DMAによる分級に問題がないことが確認された。なお、集束イオンビーム質量顕微鏡によるDLPIの空気力学粒径100 nm DEP試料の観察結果は投影面積径と同等であった。このことは、この粒径領域においては、電気移動度径は空気力学粒径と同等であることが示唆される。従って、粒径100 nm以上と以下で分級・捕集方法が異なり、粒径の定義が異なるが、等価として扱って問題ないと考えられる。以降は単に粒径と表記する。



図(1)-11 高アイドル運転条件（2000rpm、0Nm）で排出される粒子の分級前の粒径分布



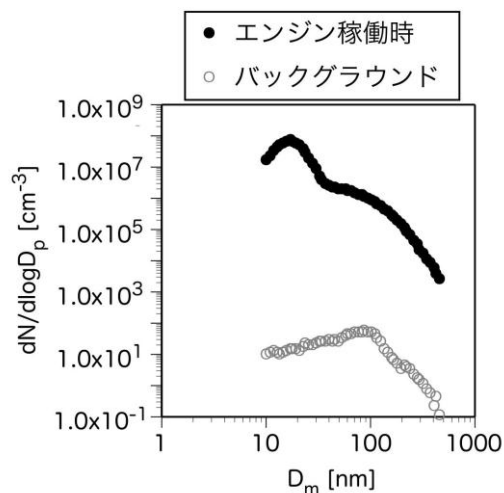
図(1)-12 DMA分級後の粒径分布と分級条件



図(1)-13 各種粒子の幾何平均径 (D_m) と投影面積径 (D_{eq}) の比較

(2) ディーゼルナノ粒子捕集

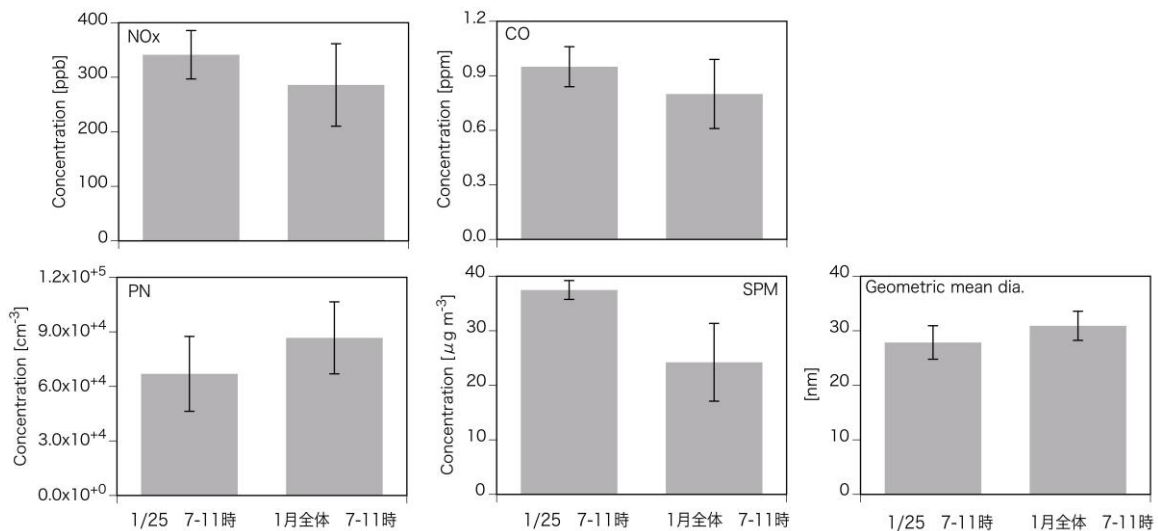
DLPIによる捕集時間は30秒-60分間としたが、観察の結果から10分間程度の試料が最も観察しやすい数密度であった。捕集時にSMPSによる測定も行った。高アイドル運転条件 (2000rpm, 0Nm) 時の試料空気中の粒子は個数濃度 1.9×10^7 個 cm^{-3} 、個数モード径 17 nm、幾何標準偏差 1.5 であった。図(1)-14に示す粒径分布をみると、粒径 40 nm 付近に肩がある粒径分布となっており、これまでの知見では、この粒径付近を境に化学組成が違ふことが示唆されている。サーモデニューダを用いた測定では、粒径 40-60 nm は不揮発性の成分が多く²¹⁾、粒径 30 nm 以下の粒子は容易に揮発する結果²²⁾が得られている。したがって粒径 40 nm 以上の粒子はいわゆるスス粒子が主体となっていて、燃焼により生じた凝集体が多く存在することが示唆され、一方粒径 30 nm 以下は凝縮生成した揮発性を持つ成分で構成された粒子が卓越すると考えられる。本研究の観察対象は粒径 30 nm 以上の為、観察する最も小さい粒子は揮発性粒子の大粒径側に相当することになる。一方で、エンジンが稼働していない時の一次希釈空気のバックグラウンドでは 30 個 cm^{-3} 、個数モード径 82 nm、幾何標準偏差 2.0 であった。エンジン稼働時はバックグラウンド時に比べ個数濃度が圧倒的に多いため、観察時のバックグラウンド粒子の影響は小さいと考えられる。



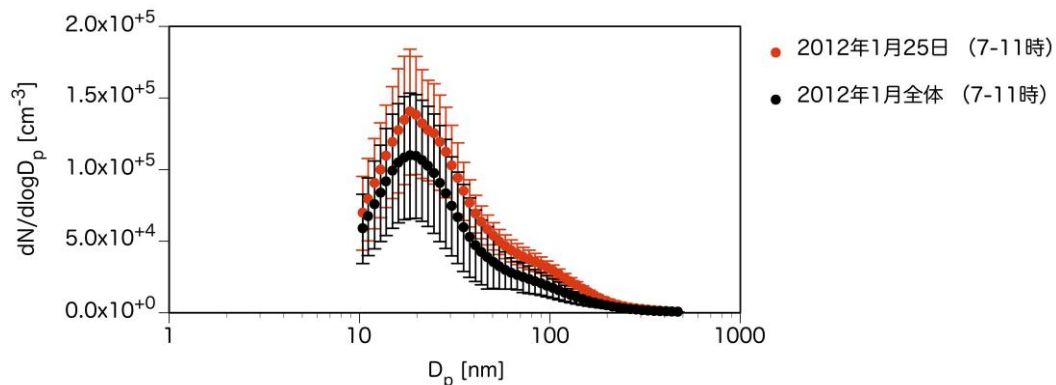
図(1)-14 希釈トンネル内のディーゼルエンジン稼働時とバックグラウンド時の粒径分布

(3) 環境中ナノ粒子捕集

観察した試料の代表性について述べる。NO_x、CO、粒子数 (PN)、浮遊粒子状物質 (SPM)、幾何平均径 (Geometric mean dia.)、粒径分布について、観察試料を採取した2012年1月25日7-11時と2012年1月全体の7-11時の比較をした。各データについて両者は変動の範囲内で一致した (図(1)-15、図(1)-16) ため、試料の代表性は問題ないと考えられる。



図(1)-15 観察試料採取日と2012年1月の各汚染物質濃度の平均値と標準偏差



図(1)-16 観察試料採取日と2012年1月の粒径分布の平均値と標準偏差

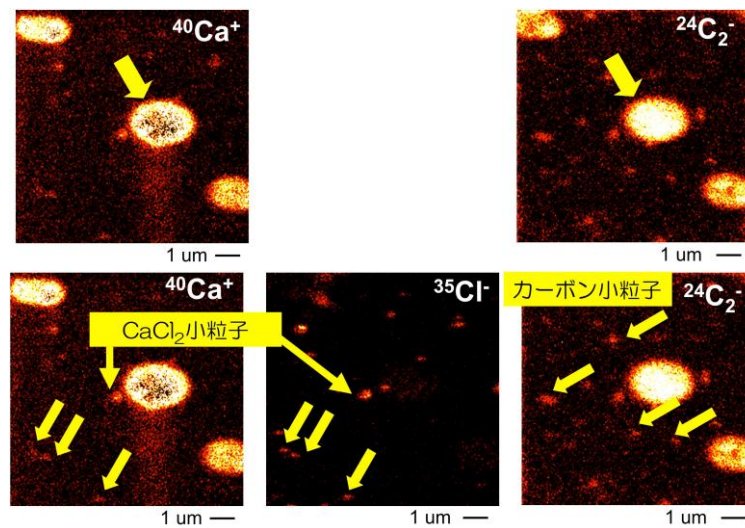
(4) ディーゼルナノ粒子等のバルク試料分析結果

DEPのバルク試料の化学組成について考察した。全炭素が質量濃度の80%を占め、そのうち有機炭素が60%を占めていた。水溶性成分、金属成分は合わせて質量濃度の3-10%を占めていた。表(1)-3にバルク試料の水溶性成分および金属成分分析結果を示す。集束イオンビーム質量顕微鏡で主に検出された成分、バルク粒子試料およびエンジン潤滑油に主に含まれていた成分について、粒子バルク試料中濃度、エンジン潤滑油および軽油中の含有量を示す。水溶性成分の主成分はPO₄³⁻であり、水溶性成分の53-59%を占めていた。大気中で多く見られるSO₄²⁻はPO₄³⁻の半分ほどの濃度であった。主に検出された元素は亜鉛、カルシウム、リンであり、これらの成分で総元素量の56%

を占めていた。これらの元素はエンジン潤滑油にも多く含まれる結果であった。これらの元素は添加剤に含まれていると考えられ、粒子バルク試料で検出された濃度分は潤滑油由来と考えられる。図(1)-17は粒径390-630 nm DEP試料の集束イオンビーム質量顕微鏡による観察結果である。やはりカルシウムが主に検出された。炭素のマッピングと重なっており、円形となっていることからエンジン潤滑油のミストが観察されたと考えられる。カルシウムはバルク試料でも検出され、また、エンジン潤滑油にも多く含まれることから、粒子試料においてエンジン潤滑油の良い指標になると考えられる。一方、塩化物イオンも集束イオンビーム質量顕微鏡で主に検出されているが、エンジンオイルおよび軽油中の含有量が少ない。よって、これは室内空気由来と考えられた。エンジンベンチ室内のバルク捕集の結果、エンジン稼働時のインタークーラー付近 (ID-59) の濃度が $4.77 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となり、エンジン非稼働時の部屋のバックグラウンド (ID-57: $3.28 \mu\text{g}/\text{m}^3$) およびエンジン稼働時のエンジン吸気側 (ID-58: $3.17 \mu\text{g}/\text{m}^3$) を上回ることが明らかになった。冷却水のミスト噴射により、インタークーラーが冷却されるが、冷却水のミストが蒸発して冷却水に含まれる成分が空气中に漂うことが予想される。さらに、インタークーラー付近 (ID-59) の塩化物イオン濃度は、インタークーラーの付近で 16 ng m^{-3} ほどの濃度が検出された。冷却水には消毒液 (塩素) が含まれているが、粒子に含まれる塩化物イオンはこの冷却水に含まれる消毒液由来である可能性が示唆された。また、粒子相の有機物ではn-アルカンが多くを占め、C20が最も多く含まれていた²³⁾。PAH類に関しては、 $m/z=202$ のPyrene、Fluoranthene はそれぞれ320、69 ng m^{-3} であった。一方 $m/z=252$ のbenzo[e]pyrene、benzo[a]pyrene、benzo[b, j, k]fluorantheneはそれぞれ15、11、8 ng m^{-3} であった。Peryleneは4 ng m^{-3} 以下であった。キノン類に関しては粒子相の1,4-benzoquinoneは3 ng m^{-3} 以下であった。9,10-phenanthrenequinoneは180 ng m^{-3} 、1,2-naphthoquinoneは100 ng m^{-3} 以下であった。これらの有機物の濃度は金属成分と同程度であることが分かった。

表(1)-3 水溶性成分および金属成分のバルク試料分析結果

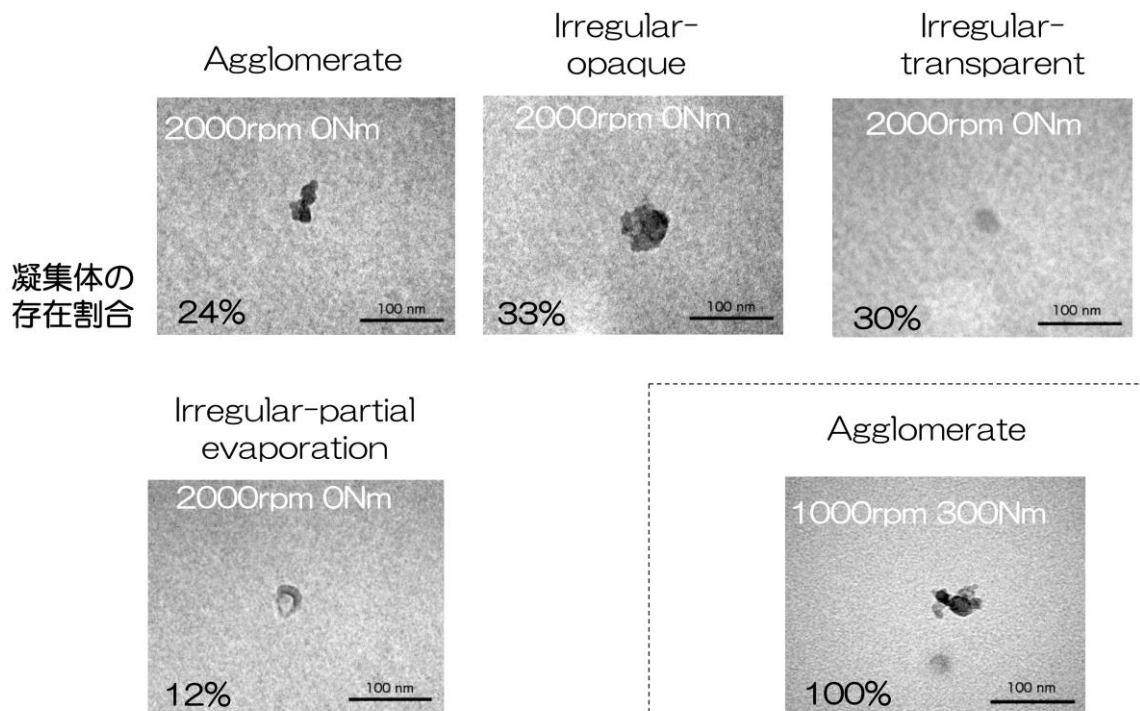
		DEPバルク試料	エンジン潤滑油	軽油
		ng/m3	ppm	ppm
集束イオンビーム質量顕微鏡による 個別粒子観察で主に検出された成分	Na	61.1	2	<5
	Cl	NM	34	NM
	Cl ⁻	150	NM	NM
	K	35.2	1	<100
	Ca	478	2220	<1
バルク粒子試料、エンジン潤滑油に 多く含まれていた成分	P	1607	1020	<10
	PO ₄ ³⁻	530	NM	NM
	S	NM	2600	6
	SO ₄ ²⁻	240	NM	NM
	Ca	478	2220	<1
	Zn	461	1250	<1
			NM	未測定



図(1)-17 粒径390-630 nm DEP試料の集束イオンビーム質量顕微鏡画像

(5)ディーゼルナノ粒子および環境中ナノ粒子のTEM観察結果

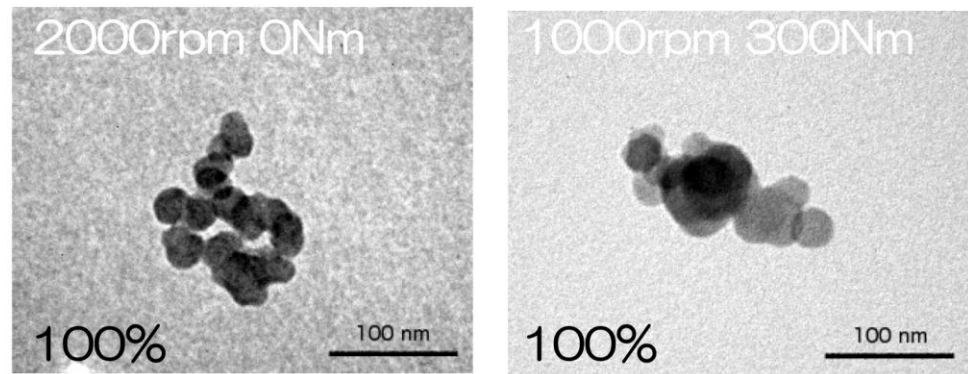
図(1)-18に粒径30 nm DEP試料で観察された代表的な形状を示す粒子のTEM画像を示す。形状だけでなく、化学成分と関連があると考えられる電子像の濃淡²⁴⁻²⁵⁾や観察中の揮発²⁶⁾が著しい粒子でも分類した。高アイドル (2000 rpm 0Nm) で排出される粒子は凝集体 (Agglomerate)、非球形で影が濃い粒子 (Irregular-opaque), 非球形で影が薄い粒子 (Irregular-transparent), 非球形で観察中に一部が揮発する粒子 (Irregular-partial evaporation) の4種が観察された。観察した試料数に対する凝集体の存在割合としてはそれぞれ24, 33, 30, 12 %であった。一方で、高トルク (1000 rpm 300Nm) 運転で排出された粒子は観察した粒子の全てが凝集体であった。



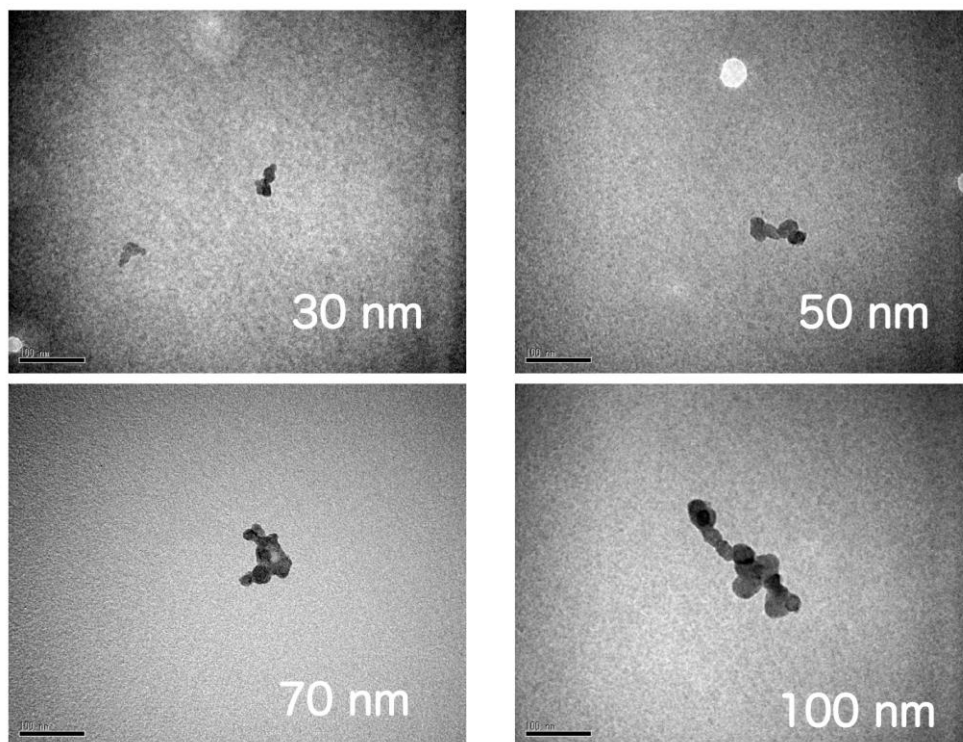
図(1)-18 粒径30 nm DEP試料の代表的な形状を示す粒子のTEM画像

次に図(1)-19に粒径100 nm DEP試料のTEM画像を示す。この粒径試料はどちらの運転による排出粒子も観察した粒子の全てが凝集体であった。次に図(1)-20に高アイドル運転条件(2000 rpm 0Nm)で発生した凝集体の代表的な形状の各粒径試料のTEM画像を示す。凝集体を構成する一次粒子が凝集して粒子を構成している様子が分かる。また、電気移動度径が大きくなるにつれて、一次粒子の数が増えている様子が分かる。

凝集体の
存在割合

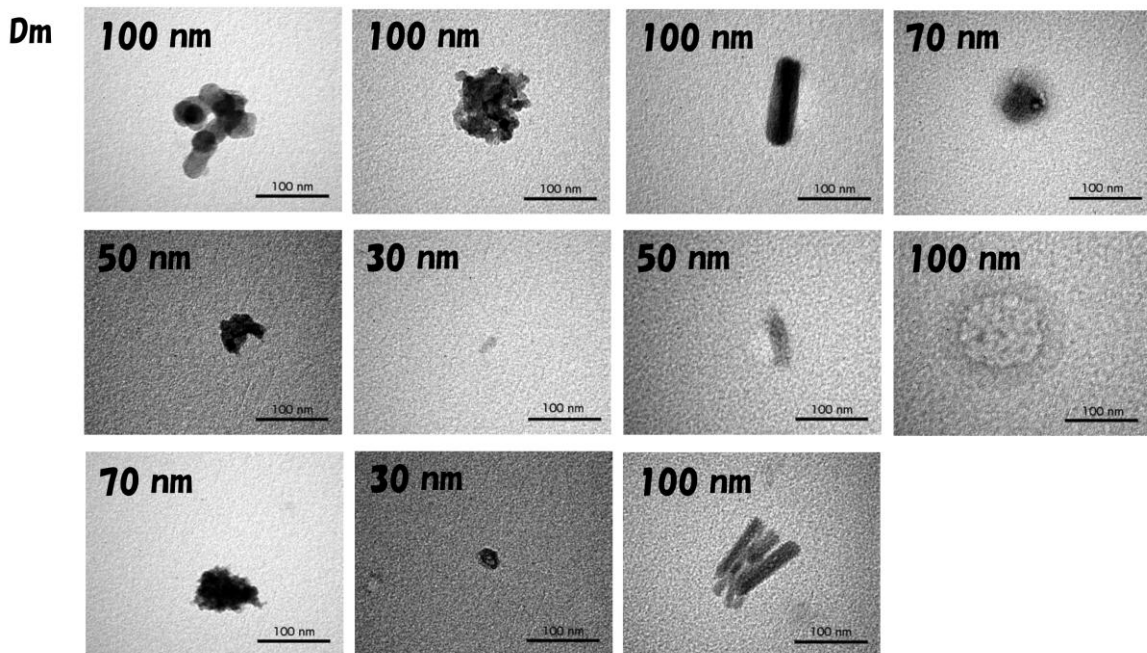


図(1)-19 粒径100 nm DEP試料の代表的な形状を示す粒子のTEM画像



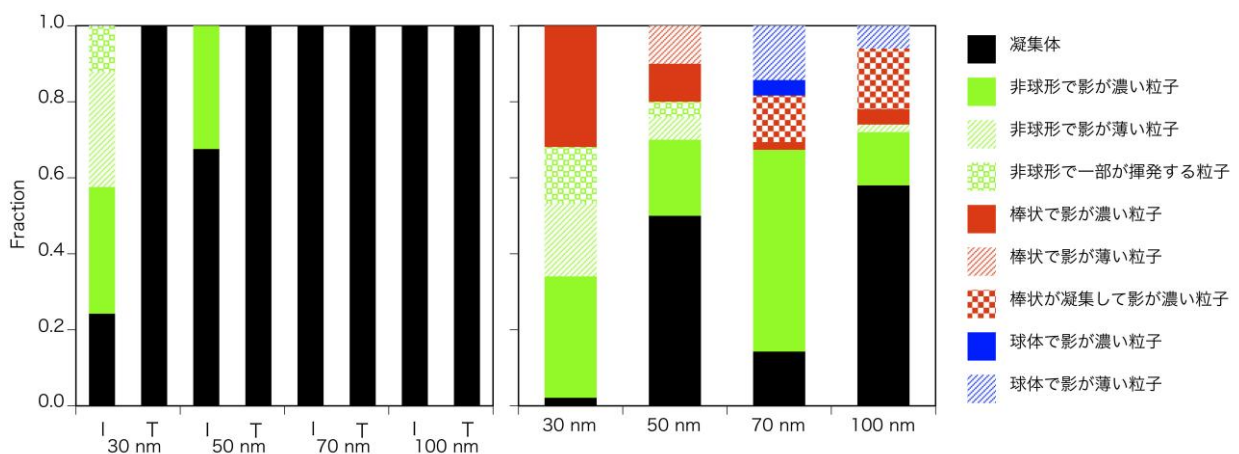
図(1)-20 高回転無負荷の運転条件(2000 rpm 0Nm)試料の代表的な形状を示す粒子のTEM画像

図(1)-21に環境中ナノ粒子で観察された形態の一例を示す。DEPで観察された粒子形態の他に棒状の粒子(Bar)や液滴痕(Round)が見られた。



図(1)-21 環境試料の代表的な形状を示す粒子のTEM画像

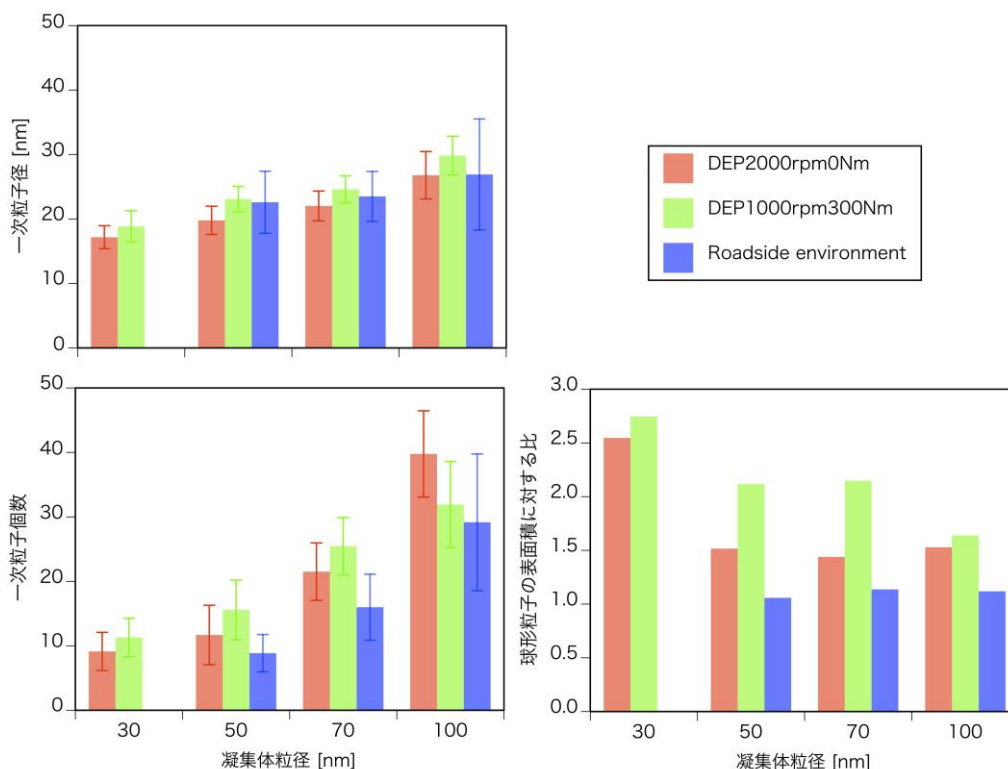
図(1)-22に各種粒子、各粒径試料の形態別の存在割合を示す。DEPでは粒径が大きくなるにつれて凝集体の存在割合が増えた。環境粒子は粒径50 nmは例外であるが、粒径が大きくなるにつれて凝集体の存在割合が増える傾向にある。凝集体について非球形の粒子が多かった。DEPの粒径70 nm、100 nm粒子はエンジンの運転によらず凝集体のみであった。環境中において仮に凝集体の発生源がDEPのみとすると、それらの粒径における環境中粒子のうちDEPがそれぞれ14 %、58 %以上寄与しているという見方もできる。環境中の試料では、全ての粒径において、棒状の粒子 (Bar) が観察された。一方、DEPではそのような形状の粒子は観察されていないことから、この粒子は他の発生源由来の粒子と考えられる。亜鉛リッチな金属酸化粒子は棒状の形状に近い多角形の形状をしており、そのような粒子は都市大気や工場地帯でしばしば観察されている²⁷⁾。この環境試料の捕集地域は工場地帯にあるため、そのような粒子が飛来して捕集された可能性がある。



図(1)-22 各種粒子、各粒径試料の形態別の存在割合 左：DEP試料 右：環境試料
 I: 高回転無負荷の運転条件 (2000 rpm 0Nm) T: 高負荷運転条件 (1000 rpm 300Nm)

次に凝集体に着目した解析結果について示す（図(1)-23）。各種粒子、各粒径の粒子について、凝集体を構成している一次粒子径、一凝集体に含まれる一次粒子個数、三次元における球形粒子の表面積に対する凝集体粒子表面積比を示す。何れの粒子種も一次粒子径については凝集体の粒径が大きくなるにつれて大きくなる傾向である。一次粒子個数も同様の傾向である。DEPの一次粒子径は17.2-29.8 nmとなっており、これまでの15-30 nmという報告²⁸⁻²⁹⁾と矛盾しない。一次粒子径について高アイドル運転条件（2000 rpm 0Nm）と高負荷運転条件（1000 rpm 300Nm）で比較すると、高負荷運転条件の方が1.1倍大きくなっており、どの凝集体粒径でも同じ関係であった。試料空気中の全炭化水素ガス濃度の関係性も1.16倍になっており、排気が冷やされたときに全炭化水素の一部が凝縮すると考えられるが、その凝縮量が全炭化水素濃度と関連している可能性がある。環境試料はDEP試料よりも長い滞留時間を経ていて、様々な化学反応を経ている可能性が高いと考えられる。ところが、興味深いことに一次粒子径はDEPで得られた結果の範囲内である。このことは、ディーゼル排気中の凝集体の一次粒子径は環境中でも変化を受けないことを示唆している。

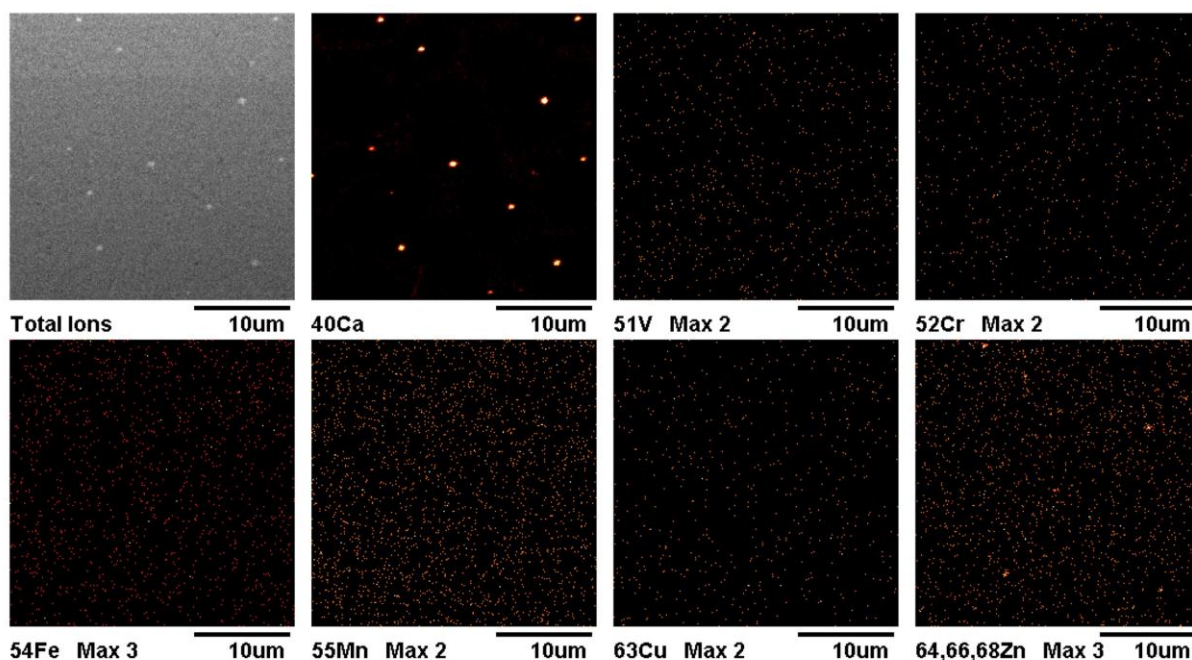
次に本研究で推定される三次元表面積は“アクティブな”表面積と考えられる。アクティブな”表面積とはモーメント、エネルギー、物質がガスと粒子の相互作用をおよぼすのに有効な表面積と定義される³⁰⁾。例えば毒性の大きい物質が表面積に吸着する場合は、アクティブ表面積が大きい方が毒性が大きくなることを意味する。図(1)-23の表面積比は、同一粒径の球形粒子の表面積に対する凝集体粒子の表面積の比を示しているが、この比については、各種粒子、各粒径とも球形よりも表面積が大きい結果になっていることが分かる。また、DEPでは粒径が小さくなるにつれて表面積比が大きくなっており、小さい粒径ほど表面積比が大きい結果となった。同じ凝集体粒径について比較すると、環境粒子はDEPに比べて表面積比が小さい。これは凝集体が環境中で滞留する間に凝縮性成分が凝集体表面に凝縮して覆ったためと推測される。



図(1)-23 凝集体に着目した解析結果

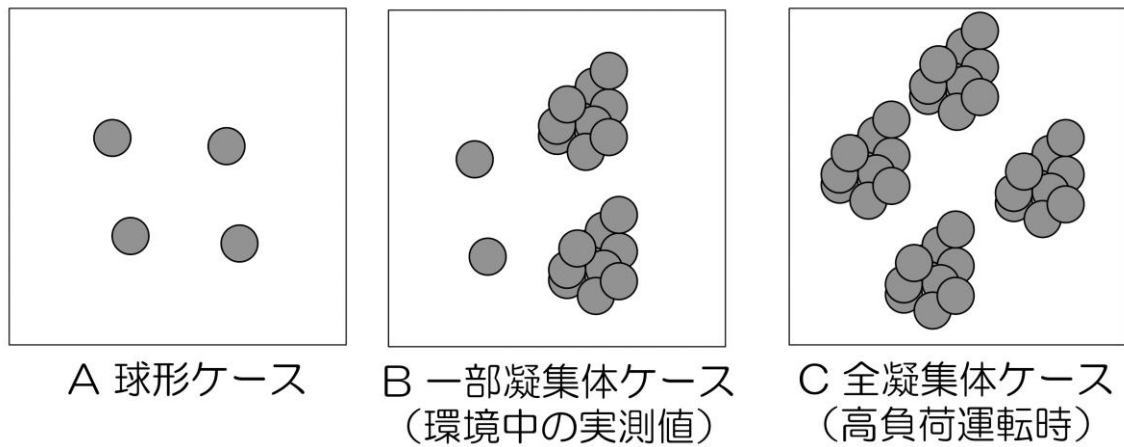
(6) 形態に着目したリスク評価

遷移金属は生体内でフリーラジカルを発生させると考えられており、毒性が報告されている³¹⁻³²⁾。ディーゼル粒子は元々炭素成分に比べて金属成分の含有量は低い。例えば、ニッケルが 0.1 ng m^{-3} 、クロムが 0.8 ng m^{-3} 程度である。ただ、バルク濃度としては低いが、仮に純度の高い金属粒子がわずかでも存在する場合は、そのような粒子が沈着した部位において、局所的にその金属成分の影響が強くと予想される。そのような場合には、例えば遷移金属の化学成分に着目したリスク評価が重要と考えられる。集束イオンビーム質量顕微鏡を本研究に適用する意義は、純度の高い金属粒子が存在する外部混合状態か、それとも複数の粒子にまたがって、薄く広く金属成分が存在する内部混合状態かを判別することである。ここで、金属成分の分級試料（粒径100-180 nm）濃度と粒径100 nmの粒子数濃度から、純粋な金属粒子が存在する確率を試算した。仮に粒径100 nmの純粋なバナジウム粒子が存在すると仮定すると0.003%の存在割合と試算された。一方で図(1)-24に示すように、粒径100 nm DEP試料の集束イオンビーム質量顕微鏡の観察結果の一例であるが、本研究では純度の高い金属粒子が検出されることはなかった。従って、遷移金属としては多くの粒子に広く薄く分布する外部混合状態として存在すると考えるのが妥当と考えられる。

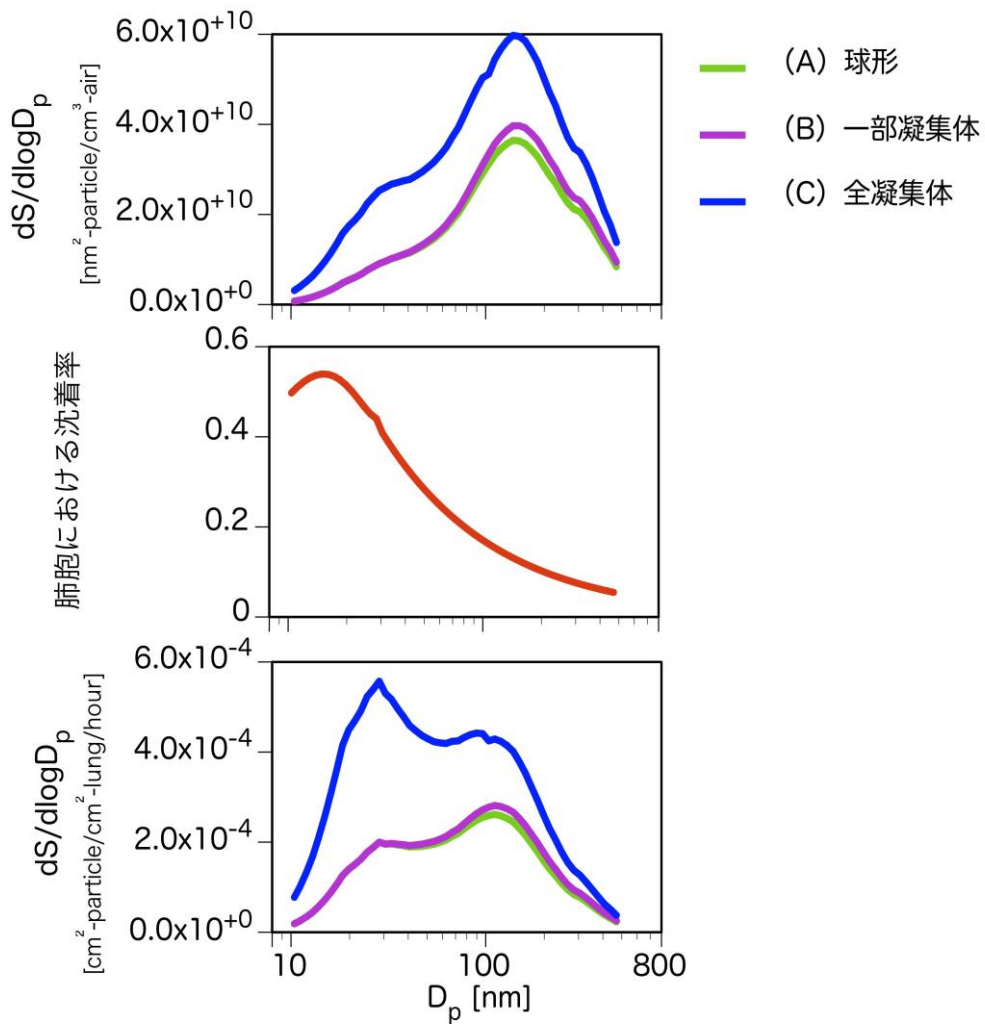


図(1)-24 粒径100 nm DEP試料の集束イオンビーム質量顕微鏡画像

よって、本研究ではリスク評価には集束イオンビーム質量顕微鏡の結果は適用せず、TEM観察結果で得られた粒子の形態情報からヒト健康リスク評価を行った。ナノ粒子の毒性は表面積との関連が示唆されている³³⁻³⁴⁾ことから毒性の指標として粒子表面積を取り上げた。表面積を計算するにあたり、A:エアロゾルが全て球形の場合、B:一部が凝集体の場合（環境中の凝集体混入率の実測値）、C:凝集体のみ場合（高負荷運転時：ワーストケース）を考えた（図(1)-25）。



図(1)-25 リスク評価を行った3つのケース



図(1)-26 粒径分布、肺胞沈着率および粒径別曝露量

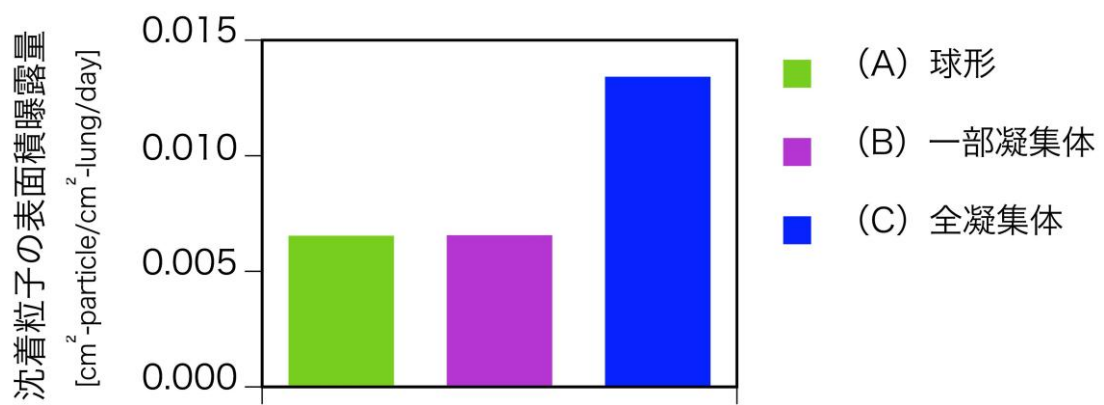
粒子表面積曝露量の計算条件は次の通りである。Bの場合の凝集体とそれ以外の粒子の存在比率は環境試料のTEM観察結果を使用した。凝集体以外は、その粒径の球形粒子を仮定した。また、凝集体の表面積はTEM観察結果を使用した。データがない粒径はTEM観察結果を補間して得た。

図(1)-26に川崎市池上新町臨港警察署前交差点においてSMPS（2012/1/25 7-11時の平均値）で測定された表面積の粒径分布（A）を示す。その粒径分布に凝集体の表面積も考慮したB、Cそれぞれの場合について得られた分布も示す。合わせて、ICRP沈着モデルで得られた粒径別の肺泡領域における沈着率、それらを掛け合わせて得られた単位時間、単位肺表面積あたりの粒子表面積沈着量分布を示す。Aの場合、エアロゾルとしての表面積は粒径100-200 nmでピークとなっているが、沈着率を考慮すると沈着量分布は粒径20 nmでもピークが見られる。また、凝集体の表面積を考慮すると、Cの表面積分布は全体的に増加するが、中でも粒径30nm付近でも肩がある分布になる。沈着率を考慮した沈着量分布は、粒径20 nmが最も大きなピークとなる。

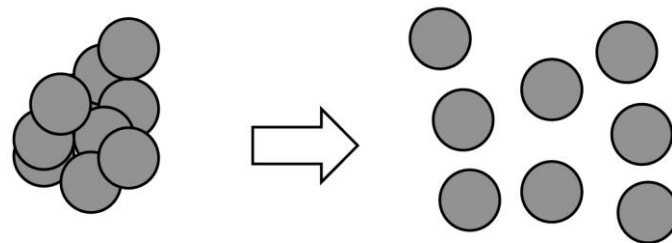
図(1)-27に粒径別沈着量を積分し、一日あたりの曝露量に換算した結果を示す。AとBの場合の曝露量は大差なかった。Cの場合の曝露量はA、Bの場合の約2倍となった。ここで、炎症が発症する閾値として、毒性が低い物質で構成された粒子の場合に 1 cm^2 -粒子表面積/ 1 cm^2 -肺表面積が提案されている³⁵⁾。この考え方に基くと縦軸がちょうどハザード比になる。ワーストケースである凝集体のみの場合（C）でもハザード比は0.013となり、リスクとしては小さいということになる。ただし、これは粒子成分による影響を無視した場合であり、炎症をエンドポイントに置いた場合であることに注意が必要である。また、肺泡領域に沈着した粒子の排出速度の半減期はヒトで半年から数年と言われている³⁵⁾。よって沈着速度と排出速度のバランスによってはハザード比が1を上回る可能性がある。

次に、体内で凝集体が体内沈着後に分解される場合を想定した（図(1)-28）。凝集体粒子の集束イオンビーム質量顕微鏡による観察によると、観察中にイオンビームの照射で凝集体粒子が収縮することや、表面から炭素が検出されることから、凝集体粒子は油分で覆われていると考えられる。図(1)-29はエレクトロスプレーで非常に微細な有機溶媒液滴を凝集体粒子に噴霧させた場合（右）と、噴霧無しの場合（左）を比較したものである。噴霧無しの場合、二次電子像の凝集体粒子の位置に脂肪族炭化水素（ C_4H_7 ）のシグナルが重なっている様子が分かる。ディーゼル粒子はエンジンオイルや未燃の軽油、あるいはそれらの燃焼物で構成されているため脂肪族炭化水素が検出される。一方で噴霧した場合の二次電子像を見ると、粒子本体は小さな粒子に分解され、粒子の周囲に染みが広がっている様子が分かる。また、炭化水素のマッピングを見ると、染みと重なっていることから、粒子を覆っていた成分が溶け出したと考えられる。

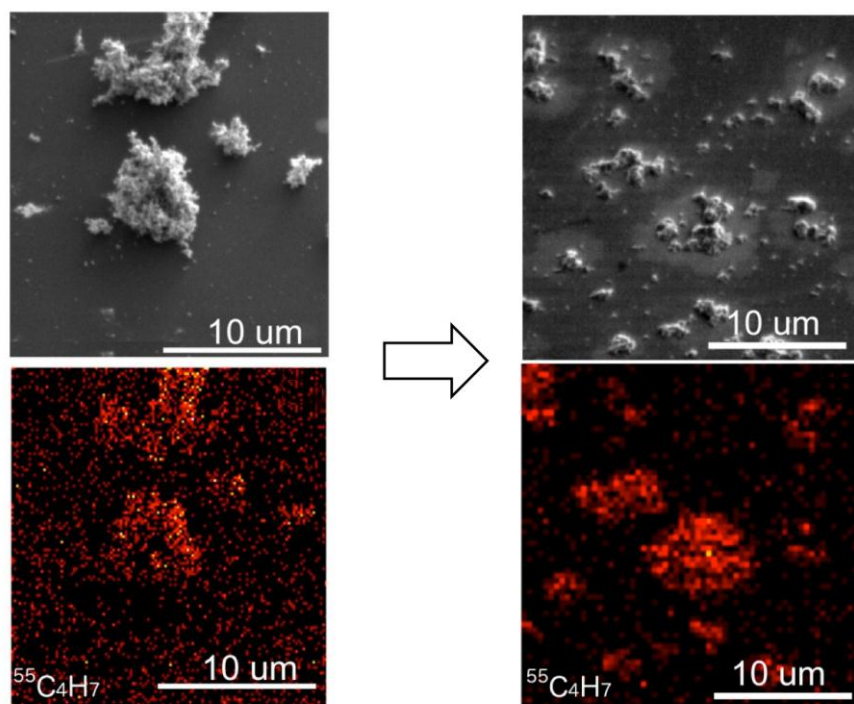
以上の結果から凝集体が油分に覆われていること、また、肺泡の表面を覆っているサーファクタントは疎水性であること、を考え合わせると、粒子が肺泡に沈着し、肺泡の表面を覆っているサーファクタントと接触した際に、より小さな粒子に分解される可能性が考えられる。比較的大きな粒径の凝集体粒子でも、構成している一次粒子径はナノ領域の粒径である。よって、比較的大きな粒径の凝集体粒子でも肺泡内で分解されることにより、ナノ粒子のキャリアになりうることを示唆された。



図(1)-27 一日あたりの粒子表面積の曝露量



図(1)-28 体内で凝集体が分解される場合の模式図



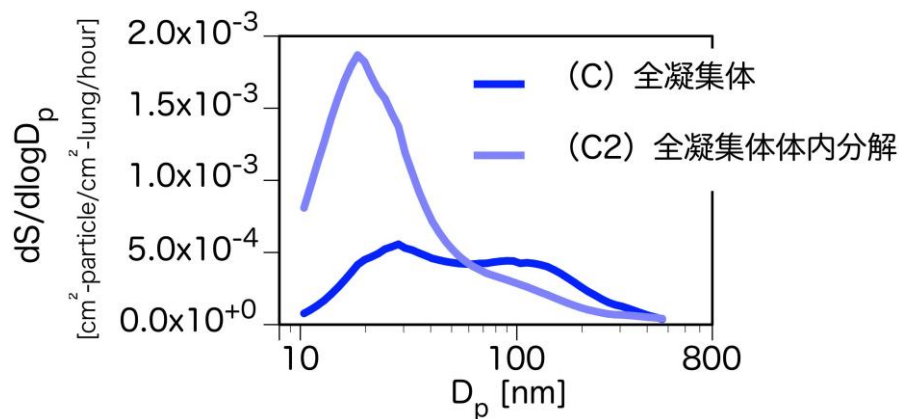
図(1)-29 凝集体の集束イオンビーム質量顕微鏡画像

左：有機溶媒の噴霧なし 右：噴霧有

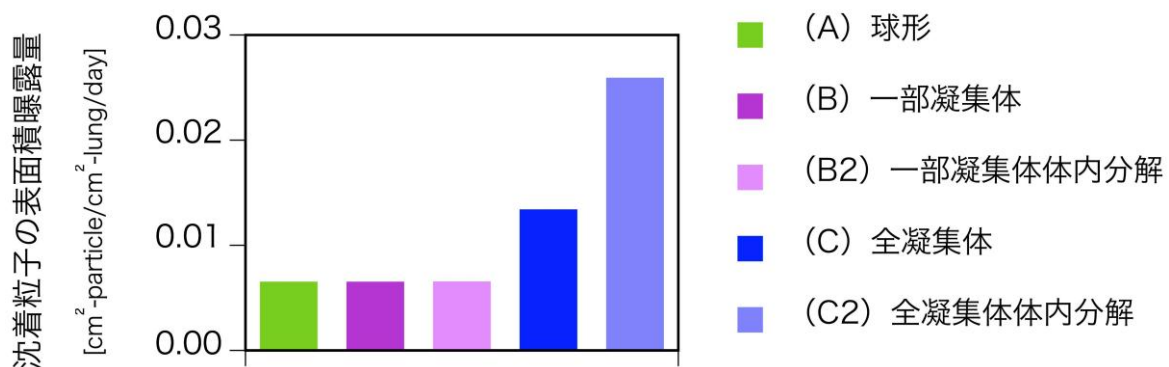
体内で凝集体が分解されることの影響として考えられることは、分解された方が元の凝集体に比べて表面積が増えることがまず挙げられる。また、粒子数が多くなるほど粒子がマクロファージに回収されずに残り、マクロファージの食食能自体も落ち、細胞に酸化ストレスを与えやすい状態になる³⁴⁾。したがって、体内で凝集体が分解されることは影響が大きくなると推測される。

体内で凝集体が体内沈着後に分解される場合を想定した際の計算条件は次の通りである。凝集体が分解された場合、粒径が20 nmの一次粒子に分解されると仮定した。また、凝集体に含まれる一次粒子個数はTEM観察結果を使用した。データがない粒径はTEM観察結果を補間して得た。

図(1)-30に、Cの場合とCの場合に体内で一次粒子に分解した場合(C2)の粒径別の単位時間、単位肺表面積あたりの粒子表面積沈着量分布を示す。また図(1)-31に、粒径別の沈着量を積分して一日あたりの曝露量に換算した結果を示す。体内で分解された場合をB2、C2とする。Bの場合は、BとB2は同じ結果となった。これは小粒径側での凝集体の存在が少ないことに起因する。一方、C2の場合は、Cの場合に比べて粒径60 nm以下の表面積の増大が大きいことが分かる。エアロゾルを全て凝集体として考えた場合、体内で凝集体が分解されることによって、分解されない場合に比べてハザード比が2倍、さらに球体粒子の曝露時のハザード比と比べて4倍高まることが明らかとなった。



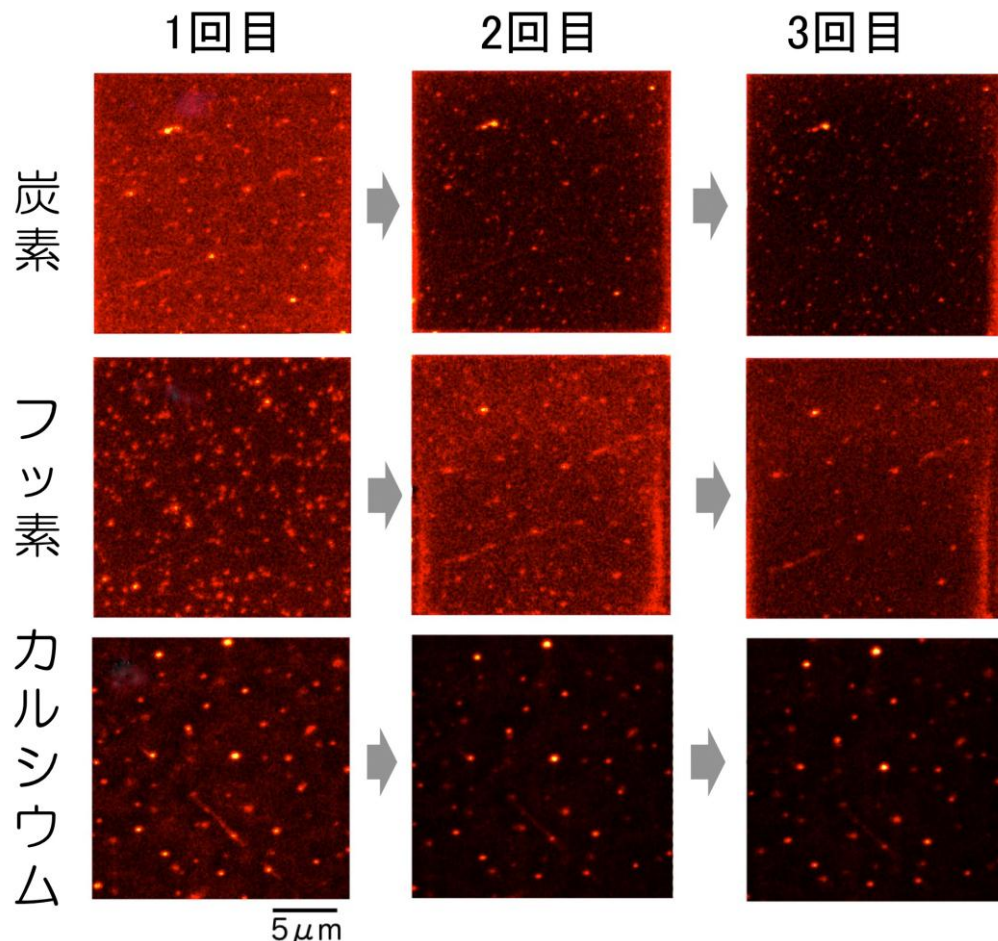
図(1)-30 体内での凝集体の分解も想定した粒径別曝露量



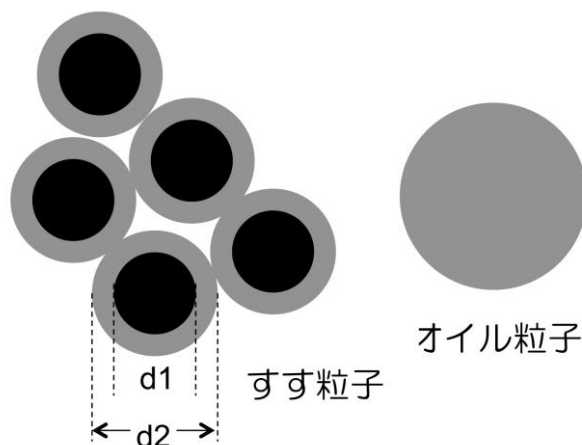
図(1)-31 体内での凝集体の分解も想定した一日あたりの粒子表面積の曝露量

(7)ディーゼルナノ粒子モデル推定

粒子モデルの推定と検証した結果について述べる。図(1)-32は集束イオンビーム質量顕微鏡により粒径100 nmのディーゼルナノ粒子試料を同一の視野で3回繰り返し測定した結果である。一度測定することで、最表面が削り取られることになり、回数を経るほど、粒子の内側を観察することになる。炭素、フッ素、カルシウムで見られる輝度が高く数密度が少ない粒子は、回数を経ても輝度の変化が小さい。これは粒子の中身が均質であることを意味し、輝度が高く数密度が少ない粒子はオイル成分で構成された粒子（オイル粒子）と考えられる。一方、炭素およびフッ素で見られる輝度が低く数密度が大きい粒子がある。これらの粒子については回数を経るほどフッ素のみ輝度が増加している。輝度が低く数密度が大きい粒子は炭素粒子であり、フッ素が炭素粒子の最表面に付着していたと考えられる。また、TEMの観察結果で得られたように、炭素粒子は凝集体粒子（すす粒子）であると考えられる。ここには示されていないが粒径50 nm試料でも同様の結果であった。したがって、粒径100 nm以下のディーゼル粒子には、主にすす粒子とオイル粒子の二種が外部混合して存在することが分かった。図(1)-33に両者の模式図を示す。



図(1)-32 粒径100 nm DEP試料の集束イオンビーム質量顕微鏡画像
同一の視野で繰り返し測定した結果



図(1)-33 すず粒子とオイル粒子の模式図

ここでは、すす粒子を構成している一次粒子中の炭素コア（図(1)-33中d1）が元素状炭素（EC）で構成されており、その周囲に有機炭素（OC）が覆っているモデル粒子を考えた。そして、以下の計算手順、計算条件によって炭素コアの大きさとOC膜の厚みを推定した。

まず、オイル粒子のOC量を、オイルの指標元素であるカルシウム含有率2174 ppm（実測値）と粒子中カルシウム量から推定した。オイル中と粒子中でカルシウム含有量（組成）が同じであると仮定した。そこからオイル粒子中のオイル成分量が算出され、有機物/OC比としてn-アルカンを想定して1.33を用いてオイル粒子中OC量を推定した。OC測定量からオイル粒子中OC量を差し引いた残りのOC量が、すす粒子中のOC量とした。次にEC測定量とすす粒子中OC量を、それぞれEC密度を 2 g cm^{-3} 、OC密度を 0.8 g cm^{-3} ²⁰⁾として、質量から体積に変換し、ECとOCの体積比を算出した。この体積比とTEMの一次粒子径実測値（d2）から炭素コアの大きさとシェル厚みを得た。粒子に含まれる各空気力学径の粒子中のカルシウム、OC、EC量はNano-MOUDIによる分級捕集試料の実測値を用いた³⁶⁾。粒子成分は炭素成分のみ考慮した。

表(1)-4に推定結果を示す。炭素コアが8.6-17.4nm、シェルの厚みが4.7-5.6 nmと推定された。肺胞に沈着後に凝集体が分解し、さらに一次粒子中のシェルが溶け出すと、炭素コアが残るが、元の一次粒子の粒径より、35-57 %小さなコアが残ることになる。これは元の一次粒子に比べてさらに細胞透過率が増すことが示唆される。

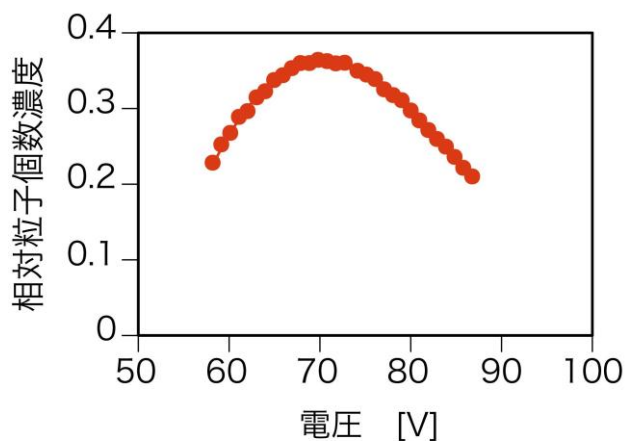
表(1)-4 各粒径範囲におけるコアとシェルの大きさの推定値

空気力学径	56-32	100-56	nm
Soot一次粒子直径実測値: d2	19.8	26.8	nm
Soot EC 直径: d1	8.6	17.4	nm
OC シェル厚み	5.6	4.7	nm

次に粒子モデルの妥当性を、粒子の一粒子あたりの質量をDMA-APM-CPC法で実測して評価した（図(1)-8）。図(1)-34に粒径100nm粒子を測定対象とし、APMの回転数を4343 rpmで固定し、APMで印可電圧を走査した場合の相対粒子濃度（APM通過前のCPC測定値に対するAPM通過後のCPC測定値）との関係を示す。この曲線を多項式で近似、微分して最も粒子が通過したピークに相当する電圧値を求めたところ67 Vであった。次式に示すように、電圧と質量が一对一の関係にあることからこのようにピーク電圧を求めて一粒子あたりの質量に換算した。

$$m = \frac{eV}{0.5(r_1 + r_2)\ln(r_1/r_2)} \times \frac{1}{0.5(r_1 + r_2)\omega^2}$$

ここで、e:電気素量、V: APM印可電圧、m: 粒子質量、r1: 円筒外径、r2: 円筒内径、 ω : 角速度である。他の粒径についても同様に求め、その結果を表(1)-5に示す。例えば粒径100 nmの一粒子単位の質量は約0.51 fgであった。



図(1)-34 粒径100 nm DEPのAPMによる電圧走査結果

表(1)-5 1粒子あたりの質量による粒子モデルの検証結果

Target diameter	30	50	70	100	nm
DEPのAPM実測値	0.0124	0.0674	0.1898	0.5124	fg
モデル粒子推定値の重み付け平均値	0.0138	0.0457	0.1355	0.4507	fg
オイルモデル粒子の推定値	0.0113	0.0524	0.1437	0.4189	fg
すすモデル粒子の推定値	0.0217	0.0426	0.1355	0.4507	fg

一方、表(1)-5中のオイル粒子、すす粒子のモデル粒子は、モデル粒子中のEC密度を 2 g cm^{-3} 、OC密度を 0.8 g cm^{-3} ²⁰⁾として算出した。コアシェルに分配して、モデル粒子の一粒子あたりの質量を算出した。オイル粒子、すす粒子それぞれの質量を算出した。またそれらの重み付け平均値は、TEMで得られたオイル粒子とすす粒子の存在割合を考慮して計算した。APM実測値と重み付け平均値を比較すると30 %以内で一致した。質量ベースでみるとモデル粒子の妥当性が確認されたと考えられる。

さらに、APMの測定結果とTEM観察結果との関係性について考察した。有効密度 (ρ_{eff}) はDMA分級される電気移動度径 d_m と質量 m から以下の式で算出される。

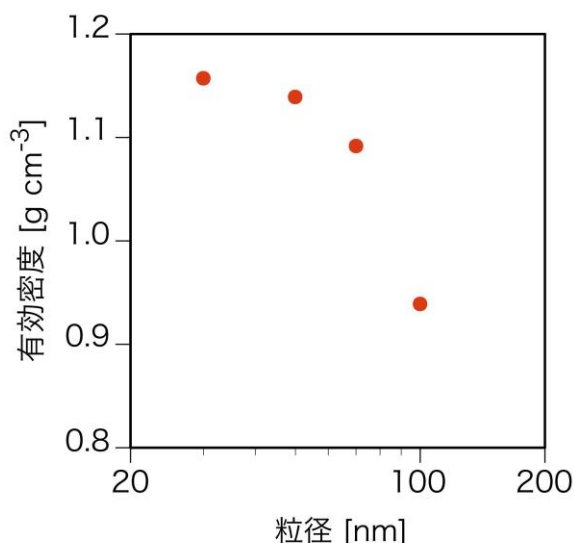
$$\rho_{\text{eff}} = \frac{6m}{\pi d_m^3}$$

図(1)-35に粒径別の有効密度を示す。有効密度の粒径の依存性をみると、 D_m の増大とともに有効密度が下がる傾向が見られる。これは一つの粒子が、複数の、より小さな一次粒子が集まって構成されているためであり、隙間が存在することを意味する。有効密度の粒径依存性の定量的な指標としてフラクタル次元 D_f があるが、以下の式³⁷⁾で求めることができる。

$$r_{\text{eff}} = C d_m^{D_f - 3}$$

ここで C は定数である。図(1)-35の結果から、 D_f は2.7であった。一方、TEM観察でも凝集体が観察されていた(図(1)-20)。図(1)-23の凝集体の一次粒子個数と一次粒子粒径から、各粒径について空隙を含めない凝集体としての体積を求め、一次粒子の成分(物質密度)は凝集体の粒径別に同じであると仮定してフラクタル次元を求めたところ、2.5となった。なお、このフラクタル次元は過去の文献³⁸⁾でも報告されており、アイドリング時に発生するDEPの値は2.5と報告されている。TEMとAPMという独立した手法で求められたフラクタル次元がほぼ一致した。以上の結果からフラクタル次元を介したAPMの測定結果とTEM観察結果の妥当性が確認された。

このモデル粒子の結果は肺胞への沈着後のナノ粒子の体内動態を考える上で重要である。すなわちこのモデル粒子のように、凝集体としての空気力学径が32-56 nm(相加平均42 nm)であったとしても、沈着して分解・溶解された場合には、実粒径が8.6 nmの炭素コアの存在を想定して体内動態を評価する必要がある。また、集束イオンビーム質量顕微鏡の観察によって、オイル粒子の存在が明らかになった。エンジンオイルに含まれる成分自体も肺の炎症との関連が示唆されており³⁹⁾、オイル成分で構成される粒子の毒性評価も必要と考えられる。



図(1)-35 DEP (2000rpm 0Nm) 粒子の粒径別有効密度

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1. エアロゾル工学で確立されたナノ粒子の捕集方法を材料工学で確立された分析法に適用するために技術的な問題点を確認・クリアしたことにあり、この方法論は他の粒子状物質でも普遍的に利用できるものである。また、エアロゾル研究分野に新たな計測手法である集束イオンビーム質量顕微鏡が利用できることを示した。
2. 電子顕微鏡観察により、ディーゼルナノ粒子の一粒子単位の化学組成、内部混合状態の情報を獲得する手法を確立し、ディーゼルナノ粒子の内部混合状態の把握は世界初である。ディーゼルナノ粒子はオイル粒子と炭素粒子が外部混合していることが初めて明らかになった。オイル成分は肺の炎症との関連が指摘されており、オイルナノ粒子の存在を明らかにしたことは重要である。
3. 凝集体の構造解析から健康リスク評価を行った初めての例である。成分による影響を無視した炎症をエンドポイントに置いた場合に、沿道環境中に存在する粒子表面積ではハザード比は低いことが分かった。
4. 比較的大きな粒径の凝集体がナノ粒子のキャリアになりうることが明らかになった。凝集体粒子が体内で分解された場合、分解されない場合に比べてハザード比が約2倍、球形粒子に比べて約4倍高まることが分かった。粒径60 nm以下の凝集体の存在量がハザード比に大きく影響することが明らかになった。
5. これまでの科学的知見を総合して粒子モデルの推定を行い、エアロゾルとしての相当径が42 nmの大きさの凝集体粒子が体内に沈着し分解した場合、実粒径8.6 nmの炭素コアが残ることが推定された。したがって、体内動態研究においては、その大きさの粒子を考慮する必要があることが明らかになった。
6. 毒性の大きい微量化学成分は個別の粒子に局在することなく、多くの粒子に薄く存在することが集束イオンビーム質量顕微鏡で明らかになった。従って今後のディーゼルナノ粒子の健康リス

ク評価としては、化学成分まで明らかになる集束イオンビーム質量顕微鏡のスペックは必要ない。粒子の構造が明らかになる汎用的な透過型電子顕微鏡と多段インパクト等で粒径別に捕集した試料を従来法で化学成分を定性、定量する手法を組み合わせる方法でも評価できることが明らかになった。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

今後、環境省水・大気環境局ナノ粒子検討会を通じて、行政に対して本成果の広報・普及に務める予定である。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本研究で得られた成果の一つとして、すす粒子は凝集体であり、同一の相当径の場合には、凝集体は球形に比べ一粒子あたりの粒子表面積は最大で2.5倍大きくなり、吸入により炎症が発症するハザード比は2倍になることが明らかになった。また、一次粒子径としては約20 nmの一次粒子が一つの凝集体に最大40個程度存在しており、体内で沈着後に分解された場合に凝集体はナノ粒子のキャリアになりうるということが明らかになった。この粒子形態に着目した解析手法や研究成果は、自動車排ガスや工業ナノマテリアルの粒子状物質の吸入時の粒子表面積に着目した健康リスク評価時に参考になると考えられる。また、本研究で凝集体の毒性が高くなる可能性を見いだしたことは、自動車由来のナノ粒子を対象とした個数濃度の排ガス規制の導入の是非の議論に一石を投じるものと考えられる。国内では自動車排気の個数濃度の排ガス規制がないが、国連欧州経済委員会-自動車基準調和国際フォーラム-排ガス専門分科会-PMP (Particulate Measurement Programme) インフォーマル会議において、粒子質量規制に加えて粒子個数規制が開始されることが決定され、2011年9月より、EURO規制として、新型ディーゼル乗用車の型式認証に 6×10^{11} 個/kmという規制が加わった⁴⁰⁾。日本は粒子個数規制の導入に慎重であるが、個数だけでなく、本研究の表面積を指標とした議論も加えて排ガス基準の導入の是非を議論すべきである。また、現在市販されているガソリン車には、国内にはそもそも排ガス規制がないが、近年燃費の良さを売りにして市場投入が急速に進んでいる直噴ガソリン車は、すす粒子を多く排出するという報告⁴¹⁾がある。粒子個数の排出源としても無視できず、欧州の粒子個数規制では急遽ガソリン車への規制値が決定され、最新規制対応ディーゼル車よりも緩い規制値が設定される状況になっている。現状の未規制状態が続く場合には、自動車からの排出量は削減どころか増加に転ずる可能性もある。さらに、直噴ガソリン車から主に排出される粒子は、すす粒子であるため健康リスクという観点からも大きなインパクトを与える可能性がある。よって国内の環境行政としては直噴ガソリン車に対しても早急な対応が必要であると考えられる。本研究成果は今後の自動車排ガス対策を講ずるにあたり、どのような観点で対策を必要とするのか、どの程度の対策を必要とするのか、といった際の資料として活用されることが見込まれる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Y. FUJITANI, T. SAKAMOTO and K. MISAWA: Civil & Environmental Engineering, S1-002 (2012)

“Quantitative determination of composition of particle type by morphology of nanoparticles in diesel exhaust and roadside atmosphere.”

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 空気清浄、50, 3, 50-51 (2012)
「ディーゼル粒子の内部混合状態を探る1」
- 2) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 空気清浄、50, 4, 75-76 (2012)
「ディーゼル粒子の内部混合状態を探る2」
- 3) Y. FUJITANI, T. SAKAMOTO and K. MISAWA: Technical reports of the meteorological research institute 68, 20-21 (2013)

“Internal mixture of diesel nanoparticles from FIB-SIMS microscopy”

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 第28回エアロゾル科学・技術研究討論会 (2011)
「ディーゼル起源ナノ粒子内部混合状態の新しい計測法」
- 2) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 第28回エアロゾル科学・技術研究討論会 (2011)
「ディーゼルナノ粒子の内部混合状態計測への挑戦」
- 3) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 第52回大気環境学会年会 (2011)
「ディーゼル起源ナノ粒子内部混合状態の新しい計測法」
- 4) Fujitani Y., Sakamoto T., Misawa K.: American Association for Aerosol Research 30th Annual Conference (2011)

“Novel method for investigation of internal mixture of diesel nanoparticle”

- 5) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 第7回エアロゾル学会若手フォーラム (2011)
「FIB-SIMSを用いたディーゼル粒子の内部混合状態の計測」
- 6) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 第11回PM測定・評価部門委員会 (2012)
「FIB-SIMSを用いたディーゼル粒子の内部混合状態の計測」
- 7) Fujitani Y., Sakamoto T., Misawa K.: International symposium on aerosol studies explored by electron microscopy (2012)

“Internal mixture of diesel nanoparticles from FIB-SIMS microscopy”

- 8) 藤谷雄二、坂本哲夫、三澤健太郎: 第53回大気環境学会年会 (2012)
「大気中ナノ粒子の内部混合状態の測定」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない

(6) その他

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

- 1) 平成24年度自動車から排出される粒子状物質の粒子数等排出特性実態調査、平成24年度環境省委託業務結果報告書（2013）
- 2) ICRP, Human respiratory tract model for radiological protection. ICRP Publication 66: Pergamon Press, Oxford (1994)
- 3) Y. Fujitani, S. Hirano, S. Kobayashi, K. Tanabe, A. Suzuki, A. Furuyama and T. Kobayashi: Inhalation Toxicology, 21, 3, 200-209 (2009)
"Characterization of dilution conditions for diesel nanoparticle inhalation studies."
- 4) K. I. Inoue, H. Takano, R. Yanagisawa, S. Hirano, T. Kobayashi, Y. Fujitani, A. Shimada and T. Yoshikawa: Toxicology, 238, 2-3, 99-110 (2007)
"Effects of inhaled nanoparticles on acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice."
- 5) T. T. Win-Shwe, S. Yamamoto, Y. Fujitani, S. Hirano and H. Fujimaki: Neurotoxicology, 29, 6, 940-947 (2008)
"Spatial learning and memory function-related gene expression in the hippocampus of mouse exposed to nanoparticle-rich diesel exhaust."
- 6) C. M. Li, S. Taneda, K. Taya, G. Watanabe, X. Z. Li, Y. Fujitani, Y. Ito, T. Nakajima and A. K. Suzuki: Inhalation Toxicology, 21, 8-11, 803-811 (2009)
"Effects of inhaled nanoparticle-rich diesel exhaust on regulation of testicular function in adult male rats."
- 7) T. T. Win-Shwe, D. Mitsushima, S. Yamamoto, Y. Fujitani, T. Funabashi, S. Hirano and H. Fujimaki: Inhalation Toxicology, 21, 8-11, 828-836 (2009)
"Extracellular glutamate level and NMDA receptor subunit expression in mouse olfactory bulb following nanoparticle-rich diesel exhaust exposure."
- 8) C. M. Li, X. Z. Li, J. Jigami, C. Hasegawa, A. K. Suzuki, Y. H. Zhang, Y. Fujitani, K. Nagaoka, G. Watanabe and K. Taya: Inhalation Toxicology, 24, 9, 599-608 (2012)
"Effect of nanoparticle-rich diesel exhaust on testosterone biosynthesis in adult male mice."
- 9) T. T. Win-Shwe, S. Yamamoto, Y. Fujitani, S. Hirano and H. Fujimaki: Nanotoxicology,

- 6, 5, 543-553 (2012)
- "Nanoparticle-rich diesel exhaust affects hippocampal-dependent spatial learning and NMDA receptor subunit expression in female mice."
- 10) Hinds, W.C.: *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. 2nd Edition. Wiley, New York. (1999)
- 11) S. Hasegawa, M. Hirabayashi, S. Kobayashi, Y. Moriguchi, Y. Kondo, K. Tanabe and S. Wakamatsu: *J Environ Sci Heal A*, 39, 10, 2671-2690 (2004)
- "Size distribution and characterization of ultrafine particles in roadside atmosphere."
- 12) A. Fushimi, S. Hasegawa, K. Takahashi, Y. Fujitani, K. Tanabe and S. Kobayashi: *Atmos Environ*, 42, 5, 949-959 (2008)
- "Atmospheric fate of nuclei-mode particles estimated from the number concentrations and chemical composition of particles measured at roadside and background sites."
- 13) Y. Fujitani, P. Kumar, K. Tamura, A. Fushimi, S. Hasegawa, K. Takahashi, K. Tanabe, S. Kobayashi and S. Hirano: *Science of the Total Environment*, 437, 339-347 (2012)
- "Seasonal differences of the atmospheric particle size distribution in a metropolitan area in Japan."
- 14) A. M. Brasil, T. L. Farias and M. G. Carvalho: *Journal of Aerosol Science*, 30, 10, 1379-1389 (1999)
- "A recipe for image characterization of fractal-like aggregates."
- 15) Suzuki K.: "Simple Code for Aerosols via the Respiratory Route to Estimate Deposition in the Lung" <http://unit.aist.go.jp/riss/crm/mainmenu/3-3.html> (2005)
- 16) K. Ehara, C. Hagwood and K. J. Coakley: *Journal of Aerosol Science*, 27, 2, 217-234 (1996)
- "Novel method to classify aerosol particles according to their mass-to-charge ratio - Aerosol particle mass analyser."
- 17) V. A. Marple and B. Y. H. Liu: *Environmental Science & Technology*, 8, 7, 648-654 (1974)
- "Characteristics of laminar jet impactors."
- 18) Y. Fujitani, S. Hasegawa, A. Fushimi, Y. Kondo, K. Tanabe, S. Kobayashi and T. Kobayashi: *Atmos Environ*, 40, 18, 3221-3229 (2006)
- "Collection characteristics of low-pressure impactors with various impaction substrate materials."
- 19) S. N. Rogak, R. C. Flagan and H. V. Nguyen: *Aerosol Science and Technology*, 18, 1, 25-47 (1993)
- "The mobility and structure of aerosol agglomerates."
- 20) K. Park, D. B. Kittelson and P. H. McMurry: *Aerosol Science and Technology*, 38, 9, 881-889 (2004)
- "Structural properties of diesel exhaust particles measured by transmission electron microscopy (TEM): Relationships to particle mass and mobility."
- 21) T. Ronkko, A. Virtanen, J. Kannosto, J. Keskinen, M. Lappi and L. Pirjola: *Environmental Science & Technology*, 41, 18, 6384-6389 (2007)

"Nucleation mode particles with a nonvolatile core in the exhaust of a heavy duty diesel vehicle."

22) D. B. Kittelson, W. F. Watts and J. P. Johnson: *Journal of Aerosol Science*, 37, 8, 913-930 (2006)

"On-road and laboratory evaluation of combustion aerosols - Part 1: Summary of diesel engine results."

23) Y. Fujitani, P. Kumar, K. Tamura, A. Fushimi, S. Hasegawa, K. Takahashi, K. Tanabe, S. Kobayashi and S. Hirano: *Science of the Total Environment*, 437, 339-347 (2012)

"Seasonal differences of the atmospheric particle size distribution in a metropolitan area in Japan."

24) K. Okada and J. Heintzenberg: *Journal of Aerosol Science*, 34, 11, 1539-1553 (2003)

"Size distribution, state of mixture and morphology of urban aerosol particles at given electrical mobilities."

25) T. L. Barone and Y. F. Zhu: *Atmos Environ*, 42, 28, 6749-6758 (2008)

"The morphology of ultrafine particles on and near major freeways."

26) U. Mathis, R. Kaegi, M. Mohr and R. Zenobi: *Atmos Environ*, 38, 26, 4347-4355 (2004)

"TEM analysis of volatile nanoparticles from particle trap equipped diesel and direct-injection spark-ignition vehicles."

27) L. Tumolva, J. Y. Park, J. S. Kim, A. L. Miller, J. C. Chow, J. G. Watson and K. Park: *Aerosol Science and Technology*, 44, 3, 202-215 (2010)

"Morphological and elemental classification of freshly emitted soot particles and atmospheric ultrafine particles using the TEM/EDS."

28) M. Wentzel, H. Gorzawski, K. H. Naumann, H. Saathoff and S. Weinbruch: *Journal of Aerosol Science*, 34, 10, 1347-1370 (2003)

"Transmission electron microscopical and aerosol dynamical characterization of soot aerosols."

29) M. M. Maricq: *Journal of Aerosol Science*, 38, 11, 1079-1118 (2007)

"Chemical characterization of particulate emissions from diesel engines: A review."

30) A. Keller, M. Fierz, K. Siegmann, H. C. Siegmann and A. Filippov: *J Vac Sci Technol A*, 19, 1, 1-8 (2001)

"Surface science with nanosized particles in a carrier gas."

31) J. J. Schauer, G. C. Lough, M. M. Shafer, W. F. Christensen, M. F. Arndt, J. T. DeMinter and J. Park: *Health Effects Institute*, 133, (2006)

"Characterization of metals emitted from motor vehicles."

32) J. G. Charrier and C. Anastasio: *Atmospheric Chemistry and Physics*, 12, 19, 9321-9333 (2012)

"On dithiothreitol (DTT) as a measure of oxidative potential for ambient particles: evidence for the importance of soluble transition metals."

33) G. Oberdorster: *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series*

- a-Mathematical Physical and Engineering Sciences, 358, 1775, 2719-2739 (2000)
"Toxicology of ultrafine particles: in vivo studies."
- 34) K. Donaldson, V. Stone, A. Clouter, L. Renwick and W. MacNee: Occupational and Environmental Medicine, 58, 3, 211-216 (2001)
"Ultrafine particles."
- 35) K. Donaldson, P. J. A. Borm, G. Oberdorster, K. E. Pinkerton, V. Stone and C. L. Tran: Inhalation Toxicology, 20, 1, 53-62 (2008)
"Concordance between in vitro and in vivo dosimetry in the proinflammatory effects of low-toxicity, low-solubility particles: The key role of the proximal alveolar region."
- 36) A. Fushimi, K. Saitoh, Y. Fujitani, S. Hasegawa, K. Takahashi, K. Tanabe and S. Kobayashi: Atmos Environ, 45, 35, 6326-6336 (2011)
"Organic-rich nanoparticles (diameter: 10-30 nm) in diesel exhaust: Fuel and oil contribution based on chemical composition."
- 37) K. Park, F. Cao, D. B. Kittelson and P. H. McMurry: Environmental Science & Technology, 37, 3, 577-583 (2003)
"Relationship between particle mass and mobility for diesel exhaust particles."
- 38) S. Nakao, M. Shrivastava, A. Nguyen, H. J. Jung and D. Cocker: Aerosol Science and Technology, 45, 8, 964-972 (2011)
"Interpretation of secondary organic aerosol formation from diesel exhaust photooxidation in an environmental chamber."
- 39) J. D. McDonald, I. Eide, J. Seagrave, B. Zielinska, K. Whitney, D. R. Lawson and J. L. Mauderly: Environ Health Persp, 112, 15, 1527-1538 (2004)
"Relationship between composition and toxicity of motor vehicle emission samples."
- 40) 平成24年度粒子状物質の粒子数等に係る測定法に関する調査、平成24年度環境省委託業務報告書 (2013)
- 41) 小林伸治、近藤美則、伏見暁洋、藤谷雄二、齊藤勝美、高見昭憲、田邊潔：自動車技術会論文集, 43, 5, 1009-1014 (2012)
"直噴ガソリン車の粒子状物質排出特性"

(2) ディーゼルナノ粒子の内部構造分析（無機）

工学院大学 工学部

坂本 哲夫

平成22～24年度累計予算額：19,656千円（うち、平成24年度予算額：5,001千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

新規に開発した集束イオンビーム質量顕微鏡(FIB-TOF-SIMS)を用い、ディーゼルナノ粒子の粒別分析を行った。ディーゼル粒子はインパクトで分級された各捕集段について行い、“粗大”粒子としてはディーゼル油滴、塊状のディーゼル煤粒子が見られた。塊状のディーゼル煤粒子は表面が油分に覆われ、その内部に無機炭素から成る煤本体、およびそれに混合したカルシウムが観察された。カルシウムはディーゼルオイル中の添加剤と見られることから、煤粒子に付着した油分はディーゼルオイルと推定された。一方、100 nm前後の”微小”粒子は数多く見られ、それらはCaCl₂、炭素、Na/K主成分粒子の3タイプに分類された。100 nm以下のナノ粒子についてはオイル液滴と煤粒子に大別され、粒径範囲ごとの有意な差異は観られなかった。実環境（沿道）で捕集した粒子について、前年度までのFIB-SIMSによる観察・分析に加え、冷陰極型の高分解能FE-SEMを用いてナノ粒子の観察も行い、実環境においても、上記タイプのナノ粒子が存在することを確認した。

【キーワード】 ディーゼル、微粒子、SIMS、イメージング、集束イオンビーム

1. はじめに

ディーゼル起源微粒子はナノメートルからマイクロメートルの幅広い粒径範囲をもち、各粒径範囲ごとに粒子の発生メカニズムや健康へのリスクが異なる可能性があり、種々の研究が進められている。この種の研究には粒子の組成や構造を把握するための分析手法が必要であるが、現状ではそれに堪えられる実用的分析手法はなかった。本研究では独自に開発した集束イオンビーム質量顕微鏡(FIB-TOF-SIMS)を用い、最小で数10 nmの”微小”粒子の組成・内部構造を分析し、混合状態を明らかにすることによって健康リスク研究に対し、これまでになかった情報を提供する。装置の概観を図(2)-1に示す。

このTOF-SIMS装置は粒子個々の質量スペクトルが取得できるが、数多くの粒子を分析し、統計的な情報を得ることは一般には難しい。そこで、粒子が数10から100個程度存在する視野においてTOF-SIMSマッピングを行い、マップデータから個々の粒子のスペクトルを抽出することとした。ここで得られた個別粒子の成分データを多変量解析の一種である階層的クラスター分析により、組成の似たグループ（クラスター）に分別し、粒径範囲ごとの粒子グループの寄与率を求めることとした。

2. 研究開発目的

前述のように、FIB-TOF-SIMSにより、ディーゼル微粒子の混合状態に関する分析を行い、新たな情報を提供することを目的とする。具体的には、各粒径範囲ごとに捕集されたディーゼル微粒

子についてイメージング分析を行い、粒子ごとの組成の差異を明らかにする。さらに、粒子の表面と内部を区別して分析することにより、粒子内部での混合状態を探る。FIB-TOF-SIMSは世界最高の40 nm空間分解能を有するが、目的とする粒径分布のうち、数10 nm領域は空間分解能に匹敵するほど小さいため、分解能の劣化が起こらないよう、外乱への対策を施す必要があり、この点も研究項目とした。

3. 研究開発方法

(1) ナノ粒子分析手法の確立

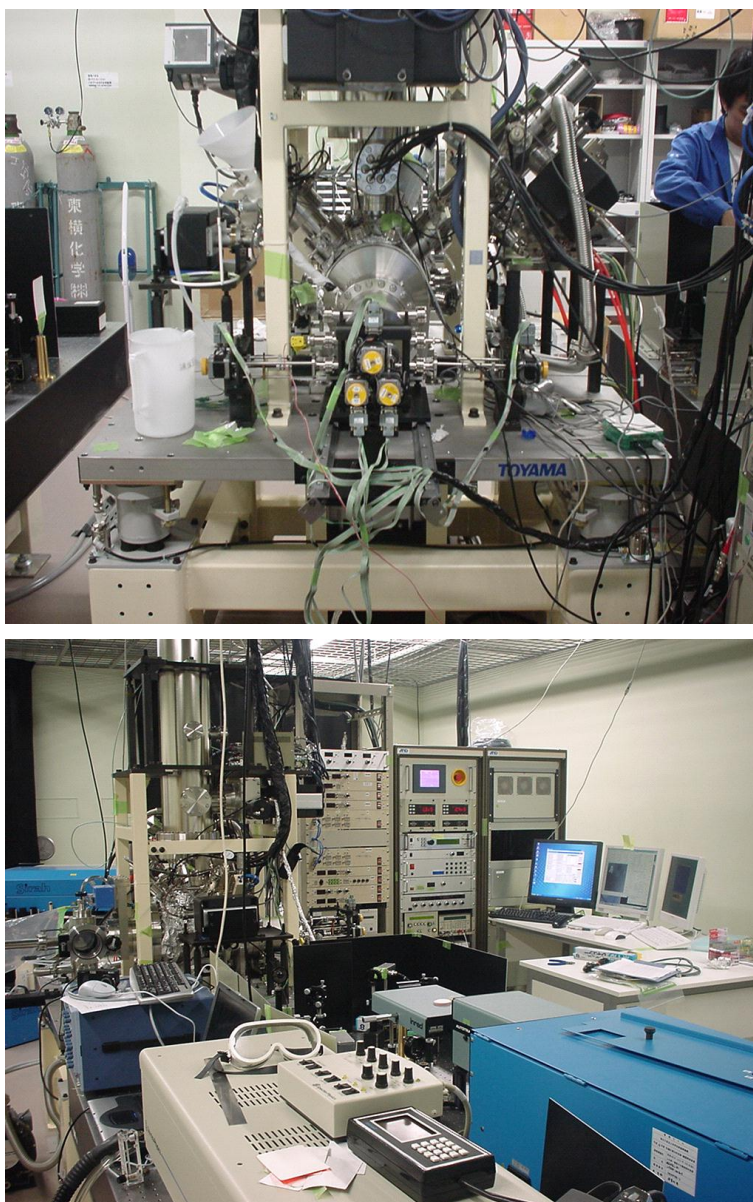
- ・FIB-TOF-SIMSにてナノ粒子を分析する際の手順を検討した。具体的には特定のナノ粒子を顕微鏡視野下に収めるために非破壊観察（SEM）を利用するが、その精度を現状よりも高める必要がある。また、基板の種類などサブテーマ1と情報交換しながら、最適化した。
- ・実際の分析に着手した。ディーゼルナノ粒子は装置の分解能限界に迫るサイズであるため、振動やドリフトといった外乱要素がこれまでよりも大きく作用することが予想されるため、適宜解決を図った。
- ・実際のディーゼル微粒子の分析を開始。ディーゼル微粒子はサブテーマ1においてSiウエハ上に捕集したものをを用い、粒径範囲ごとにイメージング分析を行った。

(2) ディーゼル微粒子中の”微小”粒子の分析

サブテーマ1から提供されたディーゼル微粒子をFIB-TOF-SIMSにより、”微小”粒子（100 nm以下）の分析を進めた。また、粒子の表面と内部を区別して成分をマッピングすることにより、粒子の構造に関する知見を得る分析を行った。

(3) 実環境試料の分析

ディーゼル微粒子の分析を行った。また、形態観察として高分解能SEMを導入した。サブテーマ1で実環境中で捕集した微粒子中から、ディーゼル微粒子で見られたような形態の粒子を確認した。また、TOF-SIMSのマッピングデータから個々の粒子の成分データを抽出し、クラスター分析によって粒子のタイプ分けを行った。

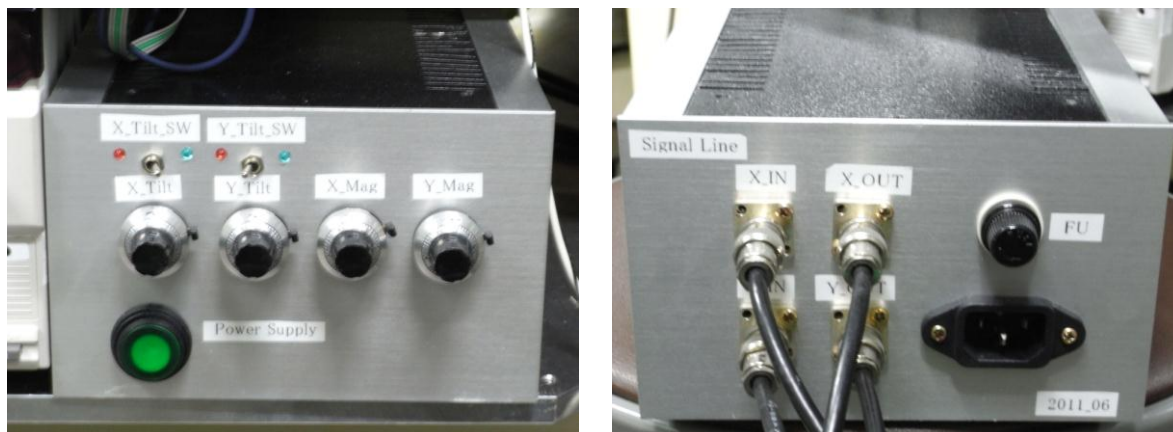


図(2)-1 集束イオンビーム質量顕微鏡装置（上：試料室付近、下：全体）

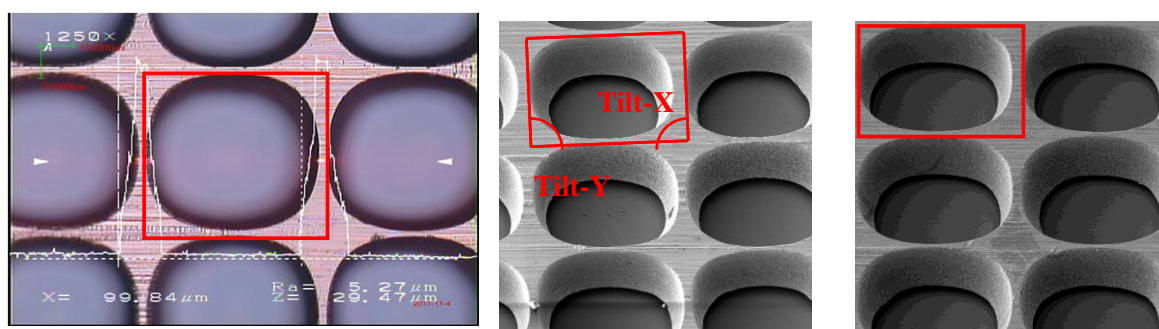
4. 結果及び考察

(1) ナノ粒子分析手順の確立

捕集基板上に散在するナノ粒子を非破壊で選定し、分析を行うため、分析装置に備えたSEMと分析に用いるイオンビーム(FIB)にて、正確に同一視野を捕らえる必要がある。このため、SEM制御部に倍率微調整ならびに菱形補正機能を追加した。図(2)-2に装置の概観を示す。SEM画像は細く絞った電子ビームを並行平板からなる偏向電極により、X、Y方向に走査することにより得られる。



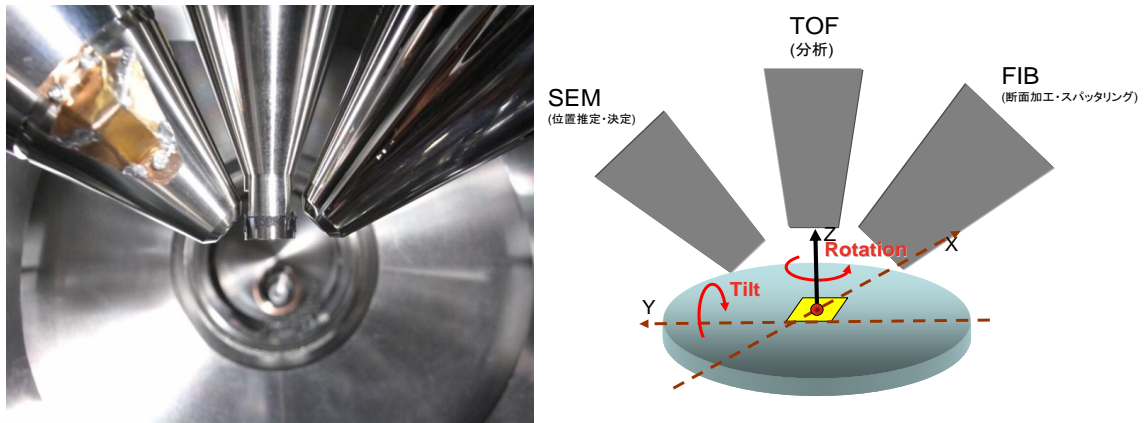
図(2)-2 SEM画像の倍率、傾き補正装置

レーザー顕微鏡による
倍率校正用試料グリッド測長図(a) (b)
SEM像 (a)補正前、(b)補正後図(2)-3 傾き補正の結果。左は光学顕微鏡による標準グリッドの測長画像。
中央は同グリッドをSEM観察した結果。右は傾き補正後のSEM画像。

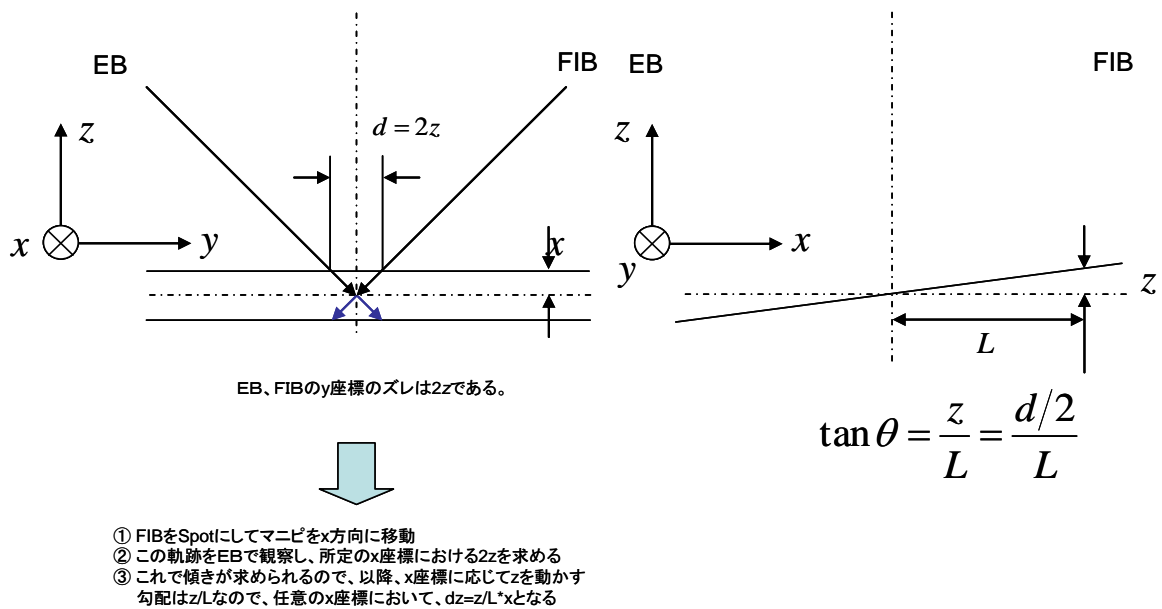
現実には並行平板の組み立て精度や電気信号の誤差等により、画面に歪みが生ずる。標準試料を観察しながら、画面の歪みやFIBとの精密な倍率合わせが可能となった。図(2)-3にその効果を示す。精密に作られた金属製のインデックスグリッドを用い、レーザー顕微鏡により測長した。同グリッドを装置に導入し、SEM観察した結果が図(2)-3(a)である。この図のように画面に傾きが見られたが、同(b)に見られるように、傾き補正装置により画面の歪みが解消されたことがわかる。

SEMにより分析箇所を特定した後、FIBにより分析を行うが、一度場所決めしたあとに試料台をX-Y面内で移動させるとSEM観察位置と分析箇所とに差異が生じた。図(2)-4に本装置の試料台近傍のビームレイアウト図を示す。このように、SEMとFIBは試料が所定の位置(高さ)にあることを想定して交点を結ぶように設計されている。この状況において、基板表面がSEMおよびFIBに対して僅かに傾斜していた場合、上記のような誤差が生じることがわかった。そこで、基板表面上の複数箇所にてSEMとFIBの交点が合致する基板の高さ(Z)を計測し、基板の傾きを計算する制御プログラムを作成し、誤差を数分の1にまで抑えることができた。補正の原理を図(2)-5に示す。単純な幾何学的計算に基づくものであるが、大変効果的であった。

次いで、捕集基板の検討を行った。ナノ粒子を画像内で判別するには、基板表面が十分に平滑でなければならない。図(2)-6に、一般大気から捕集したエアロゾル粒子のSEM画像を示す。同図

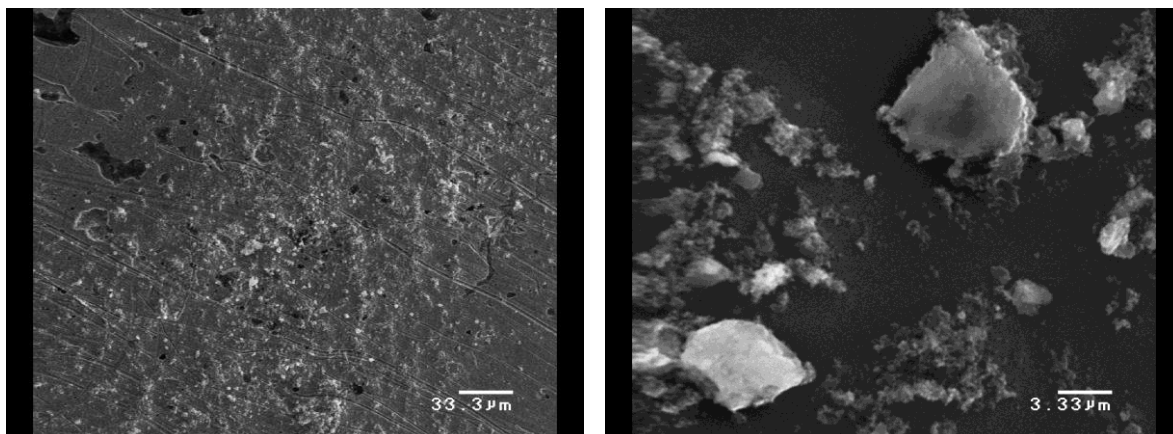


図(2)-4 (左) FIB-TOF-SIMS装置の試料台近傍のビームレイアウト。(右) 試料台の移動自由度および周辺レイアウト。



図(2)-5 試料台または試料表面の傾きによるビーム照射位置のずれを補正する原理。

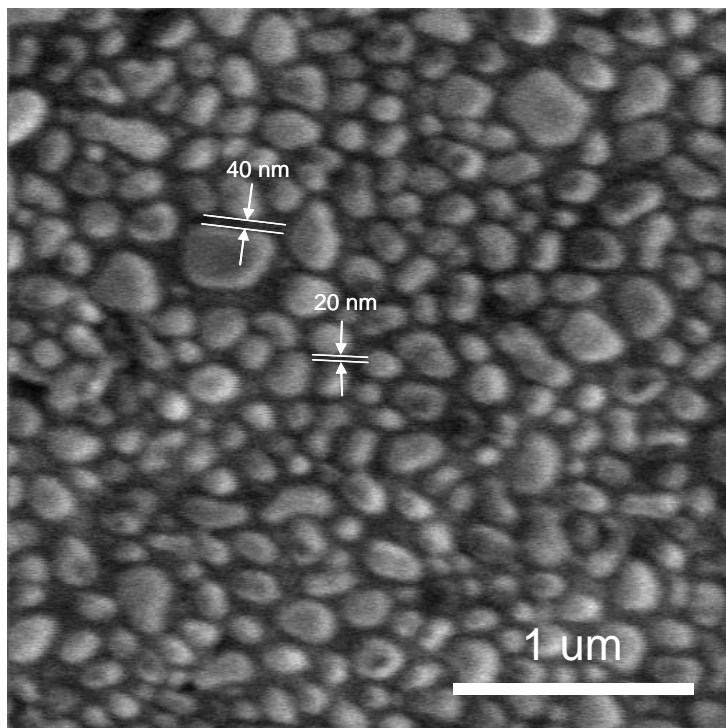
左のようにプレスして平滑化したインジウム板においても粒子を判別し難くする凹凸が残っており、分析には支障がある。一方、同図右に示すように研磨されたSiウエハがこの要求に堪えることがわかった。基板材料がSiであるため、ナノ粒子にSiが含まれている場合はスペクトル信号上は区別ができないが、イメージング（マッピング）において粒子は立体的に陰影が現れるため、実質的に基板材料がSiであることの問題点は小さいことがわかった。



図(2)-6 (左) インジウム板上に捕集したエアロゾルのSEM画像、(右) Siウエハ上に捕集したエアロゾルのSEM画像

ナノ粒子を分析するためには、分析装置がもつ高分解能である特長を十分に発揮させる必要がある。そのため、分解能低下につながる振動等外乱の原因調査と対策を施した。本装置は床からの振動を除去するための除振機構を備えている。そのため、床面からの振動は数Hzの低周波数領域を除いてはほぼその影響はないと見られる。したがって、除振機構よりも上部について振動対策を行った。具体的には装置に繋がるケーブル類の固定方法の改善や振動源となる機器の設置方法を見直す作業を行った。図(2)-7に、金微粒子を用いたFIB励起二次電子像を示す。粒子と粒子の

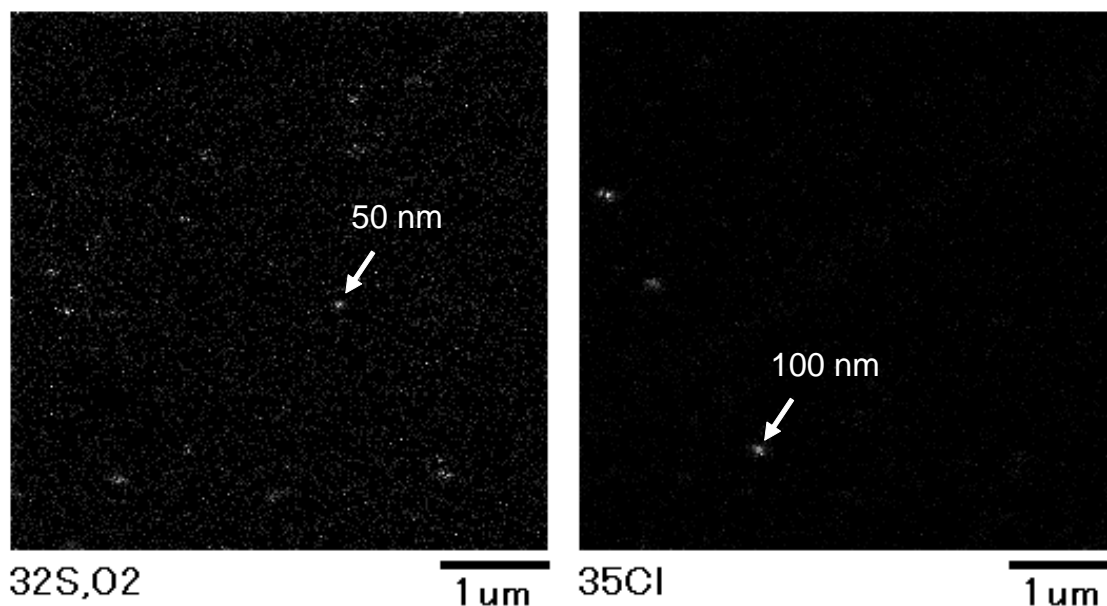
CL=30kV, 上段AP No.3, 下段AP No.3, 試料電流 10pA



Field of view 3.0um SPEED 0.156fps

図(2)-7 FIB励起二次電子像による分解能の検証

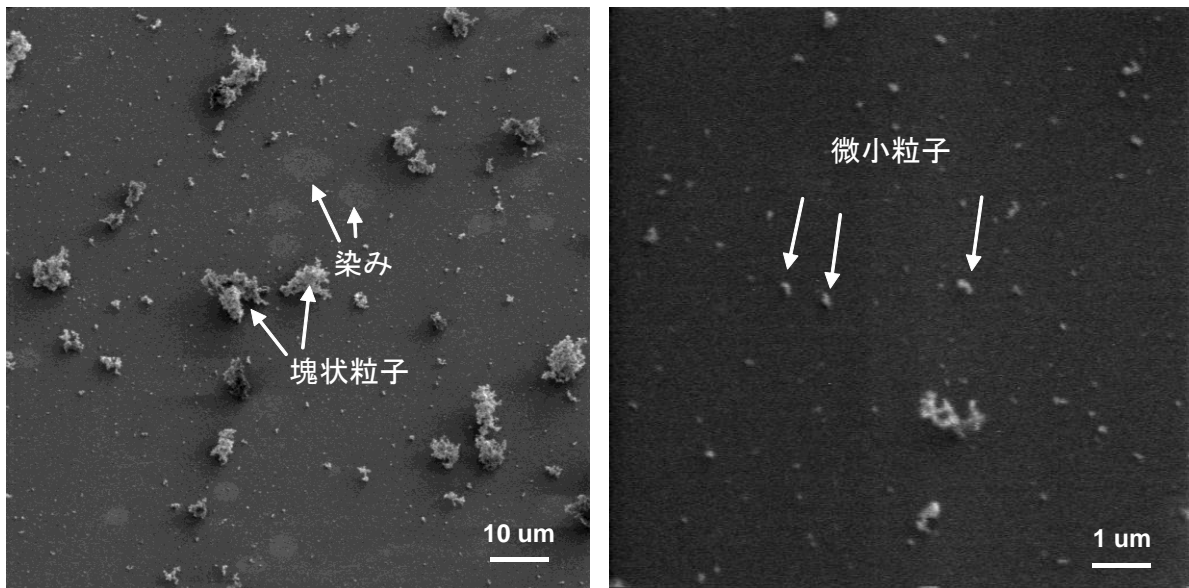
ギャップから、20 nm以下の分解能が得られていることが判る。一方、成分マッピングにおいても図(2)-8に示すように最小で50 nmのナノ粒子の成分マッピングに成功した。本装置の公式な面方向分解能は40 nmであるが、サブテマ1による粒子サンプリングの結果、50 nm級の粒子は相互に十分な距離があるため、個別粒子マッピングにおいては粒子を識別するという点においては十分な分解能が得られることがわかった。



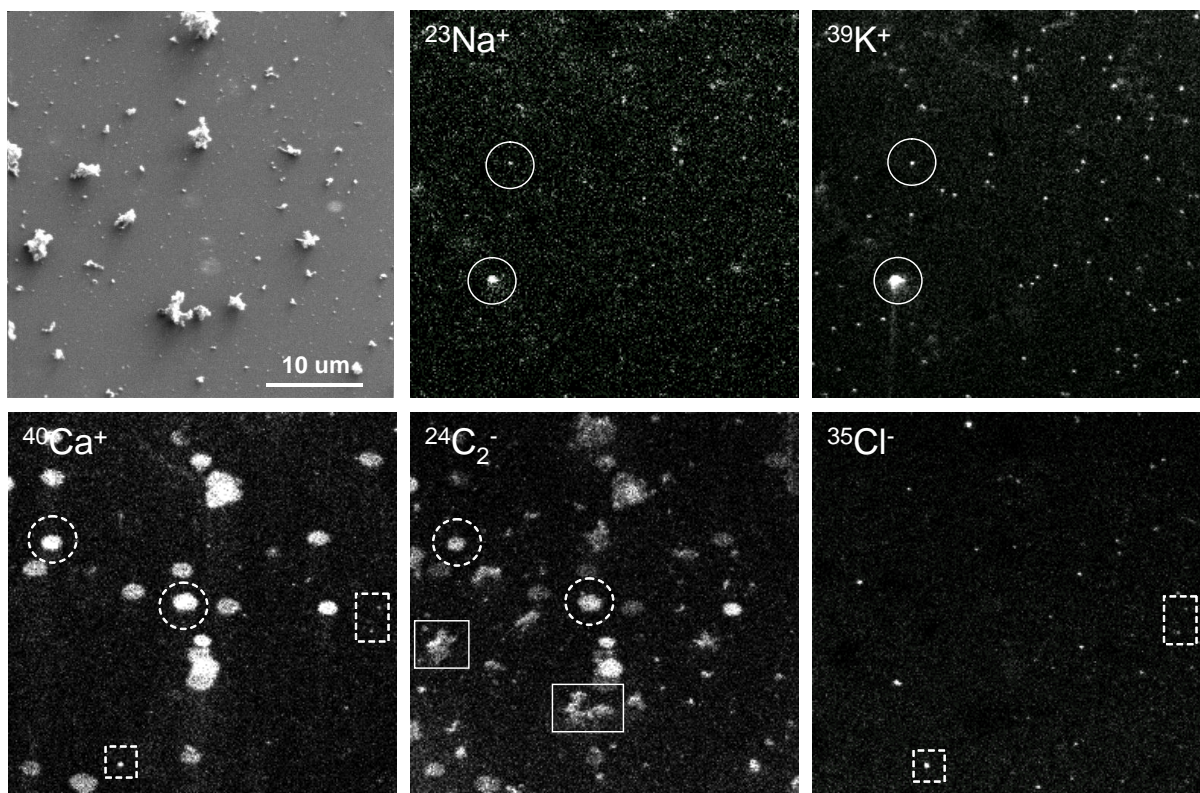
図(2)-8 ディーゼルナノ粒子の成分マップ
(左: $^{32}\text{O}_2^-$ 、右: $^{35}\text{Cl}^-$)

サブテマ1より提供された粒径範囲毎に捕集されたディーゼル粒子をイオン励起二次電子像として観察した。図(2)-9に示すように基板が平滑なSiウエハであるため、大小の粒子が明瞭に観察できた。また、表面全体が何らかの物質で覆われているように、イオンビーム照射後に急激に画面の明るさが変化した。経験上、このような場合は炭化水素類等のコンタミが表面に存在することが多いことから、今回の試料も排ガス中に含まれるガス状有機物が表面全体に吸着しているものと思われた。

比較的粒径が大きいステージ (390~630 nm) では図(2)-8中に記したように「塊状粒子」、「染み」、および100 nm前後の「“微小”粒子」の3種が見られた。塊状粒子はインパクトのカットオフ粒径よりも遥かに大きい、幾分か紛れ込んでいることを示している。「染み」は基板上的円形の明るいエリアであり、粒子というよりは液滴が基板上で広がった跡と見られる。「“微小”粒子」は100 nmから、小さいものでは画像の分解能以下のものも含まれていると思われ、本研究における第一の解析対象粒子がこれらであると思われる。但し、これらの“微小”粒子も分級取得範囲よりも小さく、本来の解析対象ではない。なお、下段ステージ (より粒径が小さいステージ) においては「塊状粒子」と「染み」は殆ど見られず、「“微小”粒子」のみが見られた。



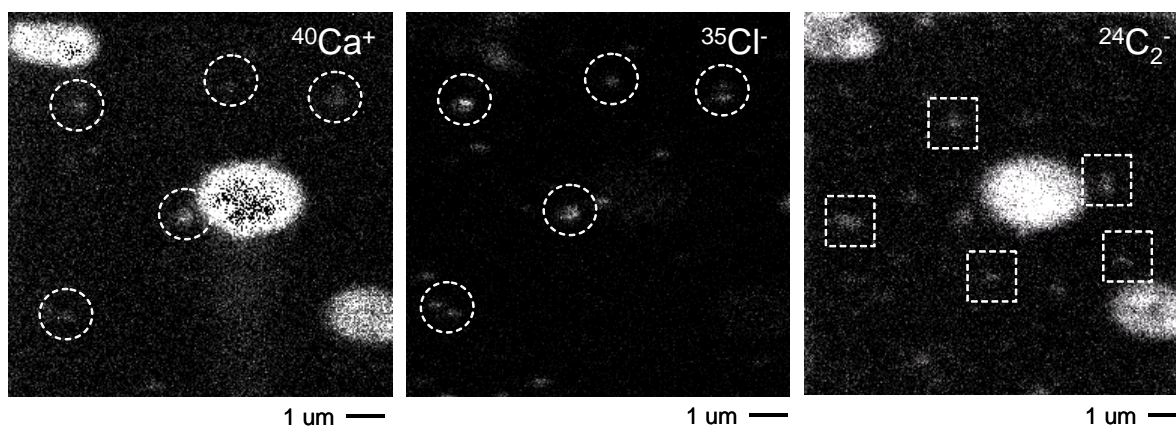
図(2)-9 捕集されたディーゼル粒子のイオン励起二次電子像
(捕集ステージ6, 粒径範囲390-630 nm)



図(2)-10 Siウエハ上に捕集したディーゼル排ガス粒子の成分マップ (広域)
(捕集ステージ6, 粒径範囲390-630 nm)

次に実際にディーゼル排ガス中から捕集したナノ粒子分析を試行した。図(2)-10に比較的広域(視野40 μm)の成分マップを示す。TOF-SIMSでは正または負イオンマッピングにおいて全成分を同時に記録することができる。今回のマッピングにおいても種々の成分が見られたが、図には代表的かつ同定が確実なイオン種を表示している。結果を見ると概ね図(2)-8の二次電子像観察と同様に3種類の粒子が存在したことが判る。一つは「染み」であり、カルシウムと炭素が検出された(図中の破線円内)。液滴のように広がっている様子と炭素が検出されたことから、「染み」は油分であり、とくにカルシウムはディーゼルオイルの添加剤として含まれているため、ディーゼルオイルの液滴が基板上に付着したものであると思われる。見かけの径はミクロンオーダーであるがこれは液滴の衝突痕であり、排ガス中ではより小さな液滴であったと考えられる。

次に「塊状粒子」(図中実線四角内)は炭素が強く検出されたことから、典型的な房状に連なったディーゼル粒子である。炭素の信号はオイルからも検出されるが、 C_2^- や C_3^- 、 C_4^- などの多原子イオンが見られたことから、無機炭素であることがわかった。これら”粗大”粒子のほかに、3番目



図(2)-11 Siウエハ上に捕集したディーゼル排ガス粒子の成分マップ(”微小”粒子)
(捕集ステージ6, 粒径範囲390-630 nm)

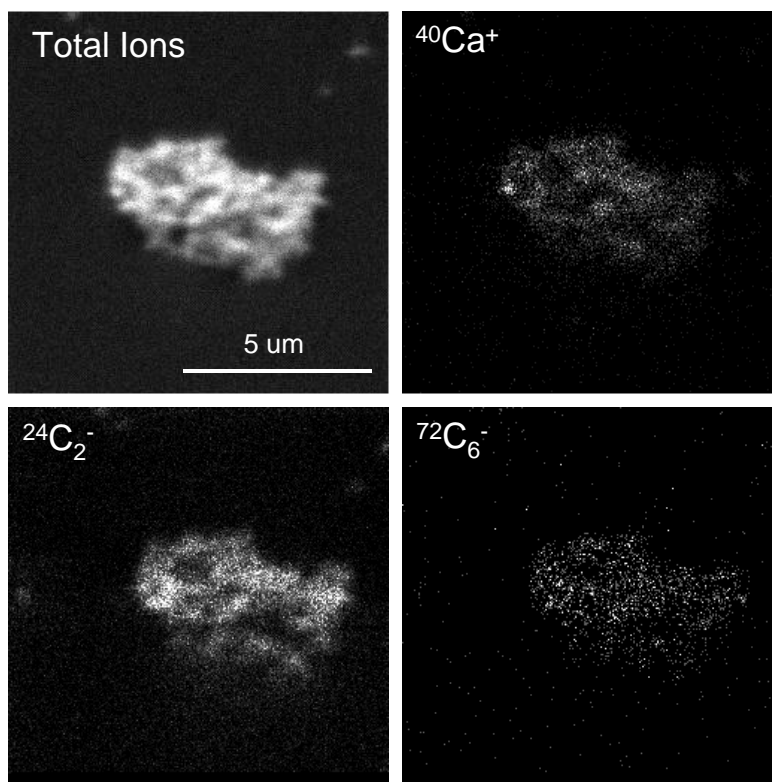
のタイプとして100 nm程度の「微小」粒子(図中実線円内)が数多く見られた。”微小”粒子はNaやKから成るものと、Clと図では見えにくいCaから成るものがあった。NaやKは燃料やエンジンオイルの不純物としても考えられるが、もう一つはエンジンが吸気した大気中のエアロゾルが微小化して排出されたものである可能性もある。なお、TOF-SIMSではこうしたアルカリ金属類は極めて感度が高い(Siの数10倍)ため、本当にNa, K(の酸化物、塩など)が主成分なのかどうかははっきりしない。一方、Caは前述のようにエンジンオイルの添加剤由来と思われるが、マッピング結果は CaCl_2 の化合物であることを示している。なぜ塩化物なのかは不明であるが、上記理由と同様に、吸気した大気中の例えばNaClが塩素の供給源になっていることも考えられた。

次に、更に倍率を上げてマッピング分析を行った。結果を図(2)-11に示す。 CaCl_2 粒子は広域マップでははっきりしなかったが、図中破線円内に確認できた。同図中の塩素を含まない明るいCa領域がエンジンオイル液滴である。また、広域マップでは確認できなかったが、これとは別に炭素のみから成る”微小”粒子も見られることがわかった。これは図(2)-8で「塊状粒子」として分類した煤粒子のうち、小径のものであると考えられる。塊状粒子は粒径数10 nmの煤粒子の集合体で

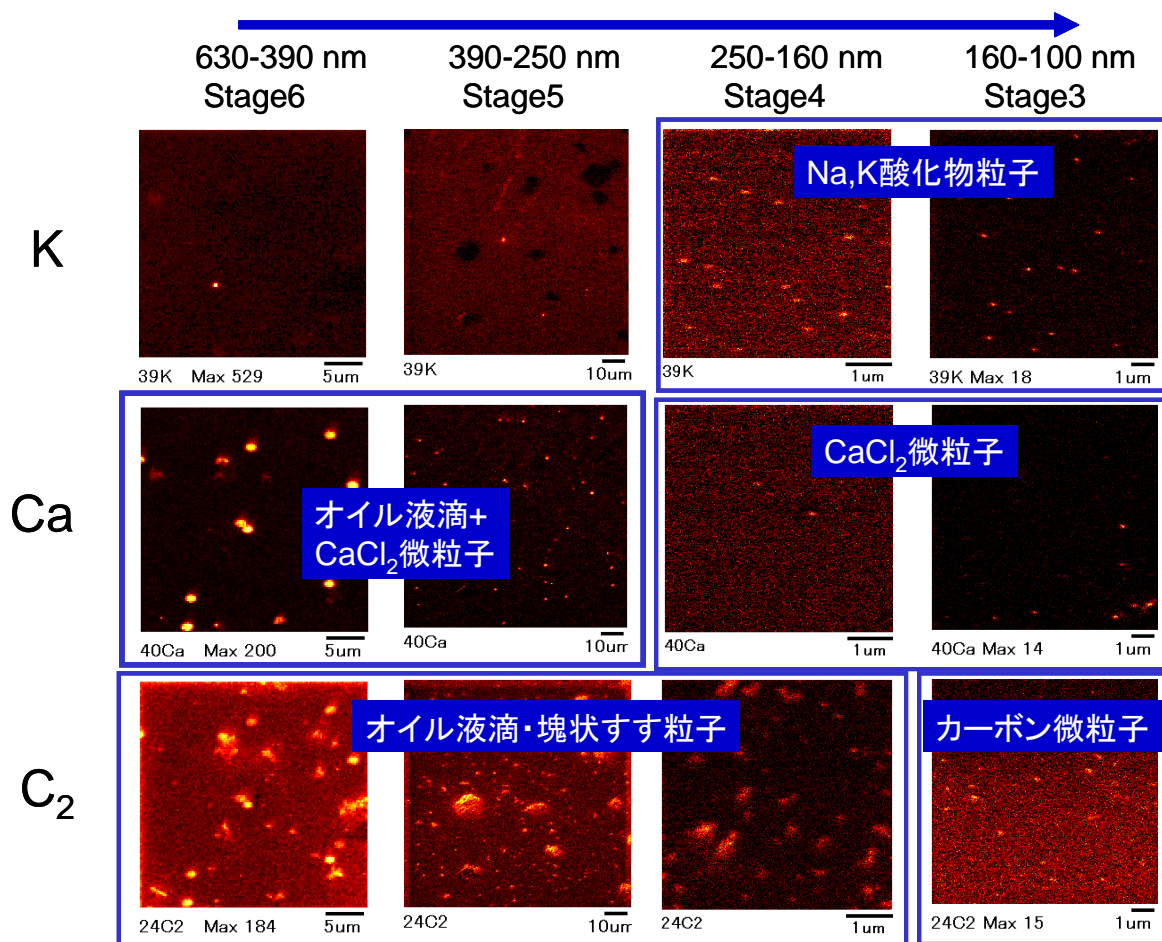
あり、粒子数の多いものは「塊状粒子」として、少ないものあるいは単独のものは「微小煤粒子」として観測されたと考えられる。

最後に”粗大”粒子である「塊状粒子」についてマッピングを行った。図(2)-12に示すように炭素が主成分とみられるが、併せてカルシウムも検出されており、オイル添加剤の成分であると思われる。また、炭素は C_6 といったクラスターも比較的明瞭に検出されたことを踏まえると、油分の炭素ではなく、無機炭素（すす）であると考えられる。また、図示は難しいが、塊状粒子はイオンビームや電子ビームを照射すると、急速に変形（収縮）することから、多分に油分も多く含んでいると思われる。なお、図(2)-12のマッピングは表面の油分をイオンビーム照射で除去したあとに行った。

ここまでの結果は捕集ステージ6（想定粒径範囲390-630nm）であった。さらに”微小”粒子側のステージも分析を行い、その概要を図(2)-13に纏めた。ステージが下段（粒径小）側になるにつれて「染み」や「塊状粒子」といった”粗大”粒子はみられなくなり、「”微小”粒子」が大半を占めるようになった。”微小”粒子については粒径、組成パターンともに捕集ステージによる大きな差異は見られなかった。これは、3タイプの”微小”粒子（ $CaCl_2$ 、C、Na/K）が何れのステージにも存在することから個数割合を求めていく必要がある。また、”微小”粒子は粒径100 nm前後であるため、TOF-SIMS装置の分解能からすれば容易ではないが、”微小”粒子の表面・内部構造の分析も今後進めていく必要がある。また、”微小”粒子は粒径100 nm前後であるため、TOF-SIMS装置の分解能からすれば容易ではないが、次に述べるように、成分マッピングにおいて僅かずつ表面が削られる現象を利用し、実施した。



図(2)-12 「塊状粒子」の成分マップ



図(2)-13 各分級ステージにおける典型的な成分マップと粒子タイプ

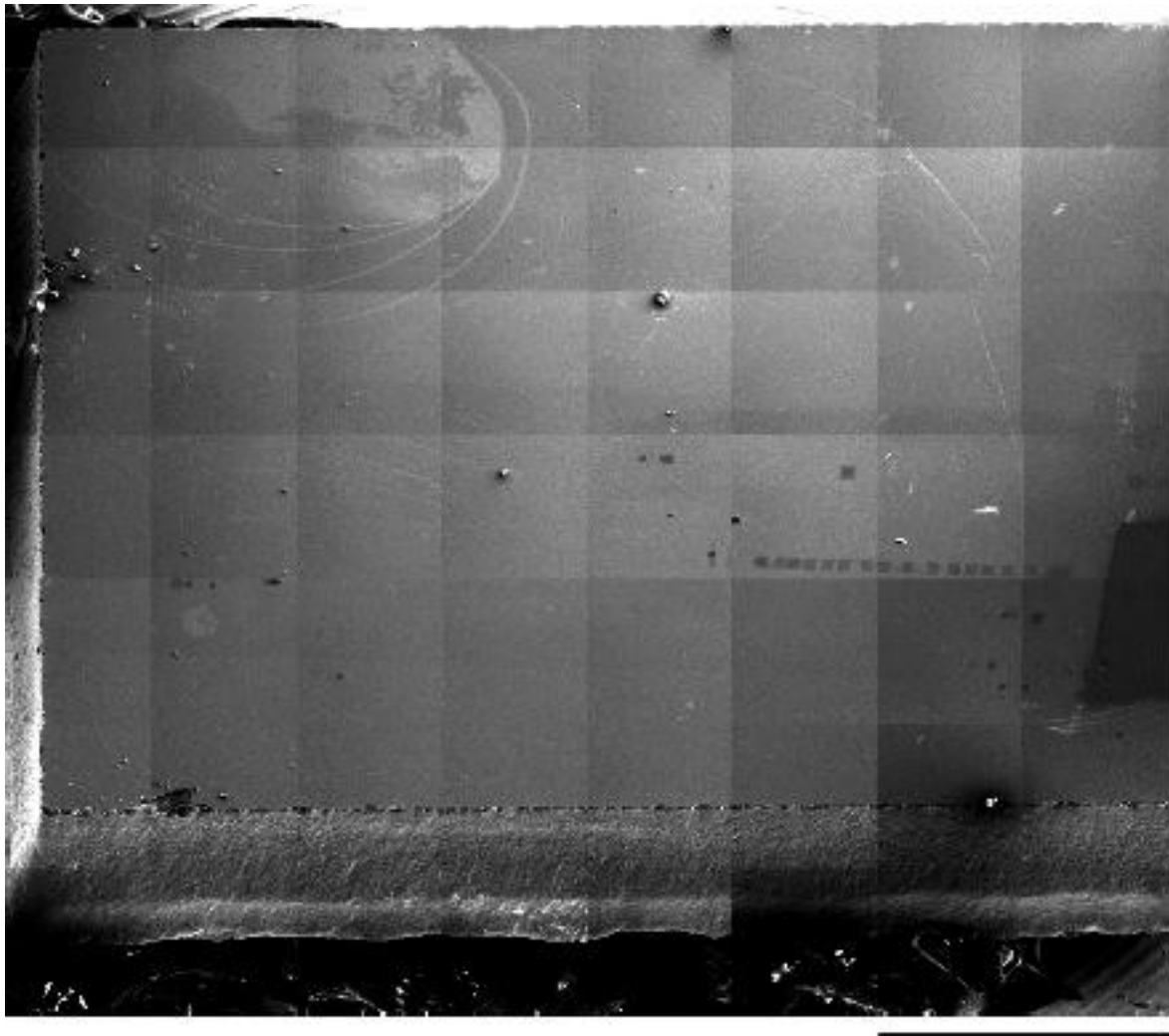
(2) ディーゼル微粒子中の”微小”粒子の分析

試料はサブテマ1より供給されたディーゼルナノ粒子を用いた。試料の条件を表(2)-1に示す。

表(2)-1 分析に使用したディーゼルナノ粒子試料

エンジン条件	粒径 [nm]	試料番号
2000 rpm, 0 Nm	50	ID52
	70	ID53
	100	ID54
	50	ID61
	100	ID62
	30	ID63

図(2)-14に例としてSiウエハの広域SEM像を示す。この観察倍率では個々のナノ粒子は見えないが、一部のコンタミネーションを除き、基板上全体に粒子が分散して捕集されていることが確認できた。

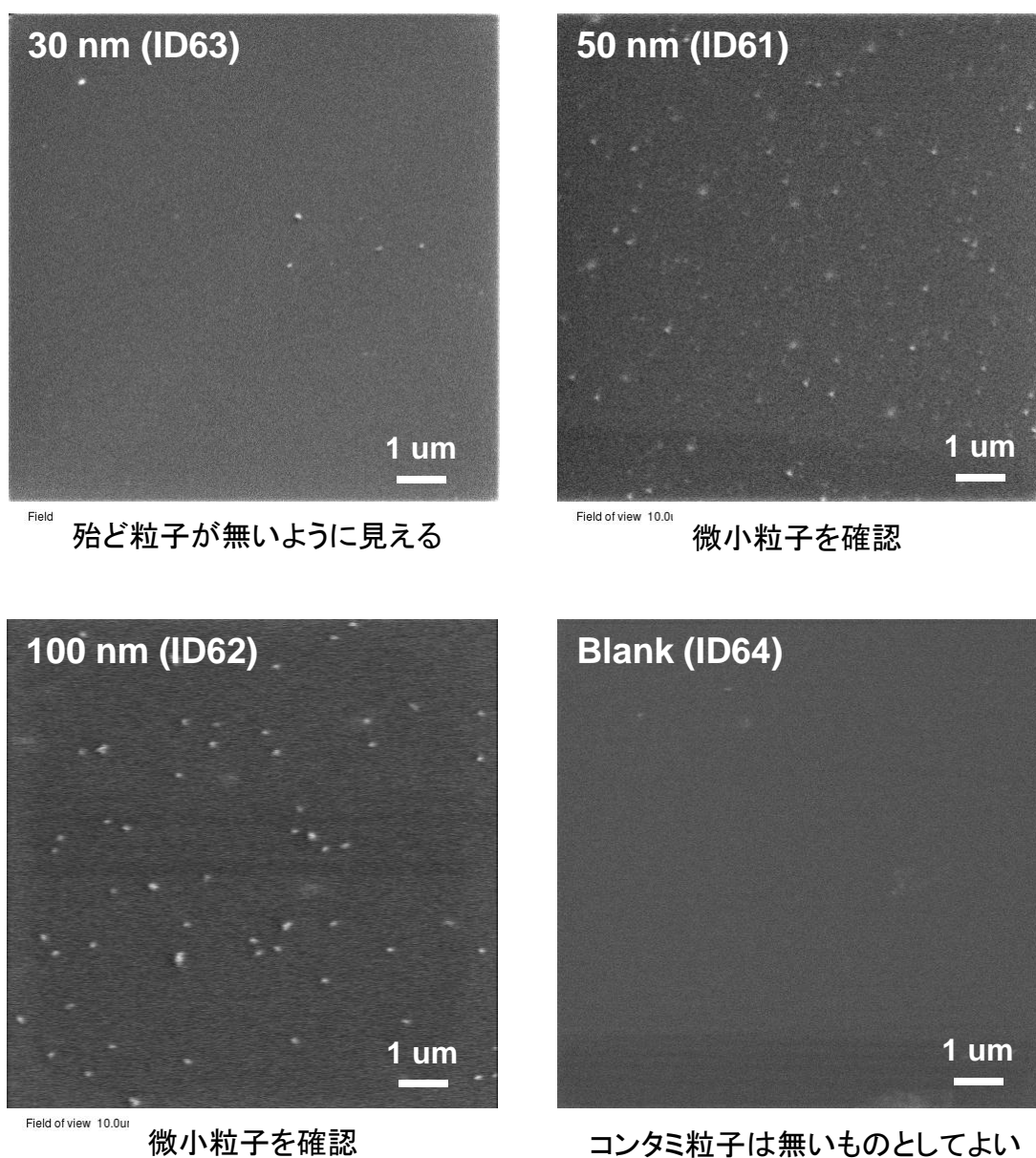


* この視野ではナノ粒子は見えない。

1 mm

図(2)-14 捕集後の基板の広域SEM像 (ID61, 50 nm)

次に、各粒径試料における二次電子像観察の結果を図(2)-15に示す。30 nm (ID63)においてはコンタミネーションと思われる粒子以外は見られなかったため、以降の分析は行わなかった。また、ブランク (ID64)については粒子等は見当たらず、捕集基板であるSiウエハの清浄性は確保できていることが判る。50 nm (ID61)と100 nm (ID62)を比較すると、概ね数値上の違い程度の大きさの違いが見られた。100 nm (ID62)の画像について画像処理を行い、粒径分布を算出すると、200 nm近辺が中央値となったが、これは二次電子像のボケ及び画像処理における二値化の閾値によって左右される値でもあるため、粒径分別は概ね良好に行われたと考えてよい。次いで、成分分析を行った。視野 $20 \times 20 \mu\text{m}^2$ において正二次イオンおよび負二次イオンでマッピングした結果を図(2)-16に示す。試料はID62(100 nm)である。多くの粒子が観察されたが、精査すると、やや大きめの粒子とそれよりも小さい粒子の2種類に大別できることが判った。大きめの粒子(Type1)は

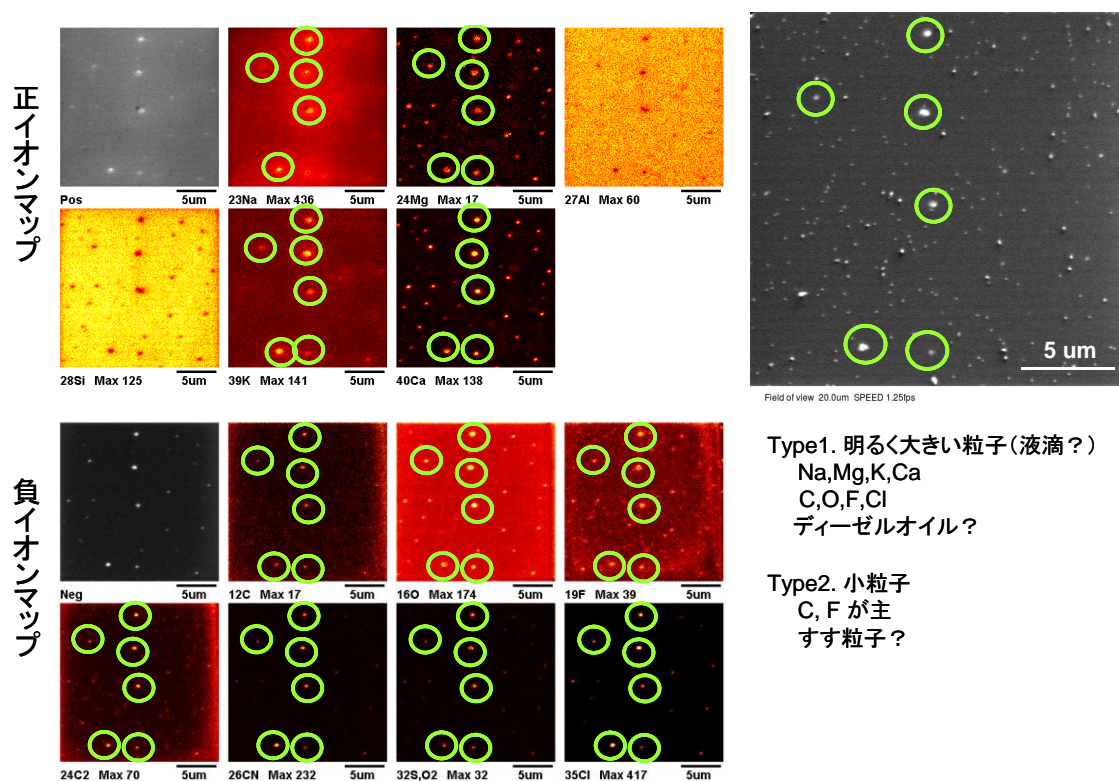


図(2)-15 各分級条件における粒子の二次電子像

Na, Mg, K, Ca, C, O, F, Clを含み、小さい粒子(Type2)はC, Fが検出され、成分が異なることが判った。

Type1ではCaが検出され、また、形状も立体的ではなく、液滴状であったため、ディーゼルオイルであると推測された。一方、Type2の方はCが主成分であり、立体的粒子であることから、すす粒子であると考えられるが、Fについてはその起源が明確ではない。燃料、ディーゼルオイル、エンジン内部に発生源がある可能性と、大気エアロゾルにもフッ素を含むものが多いため、吸気由来する可能性もある。

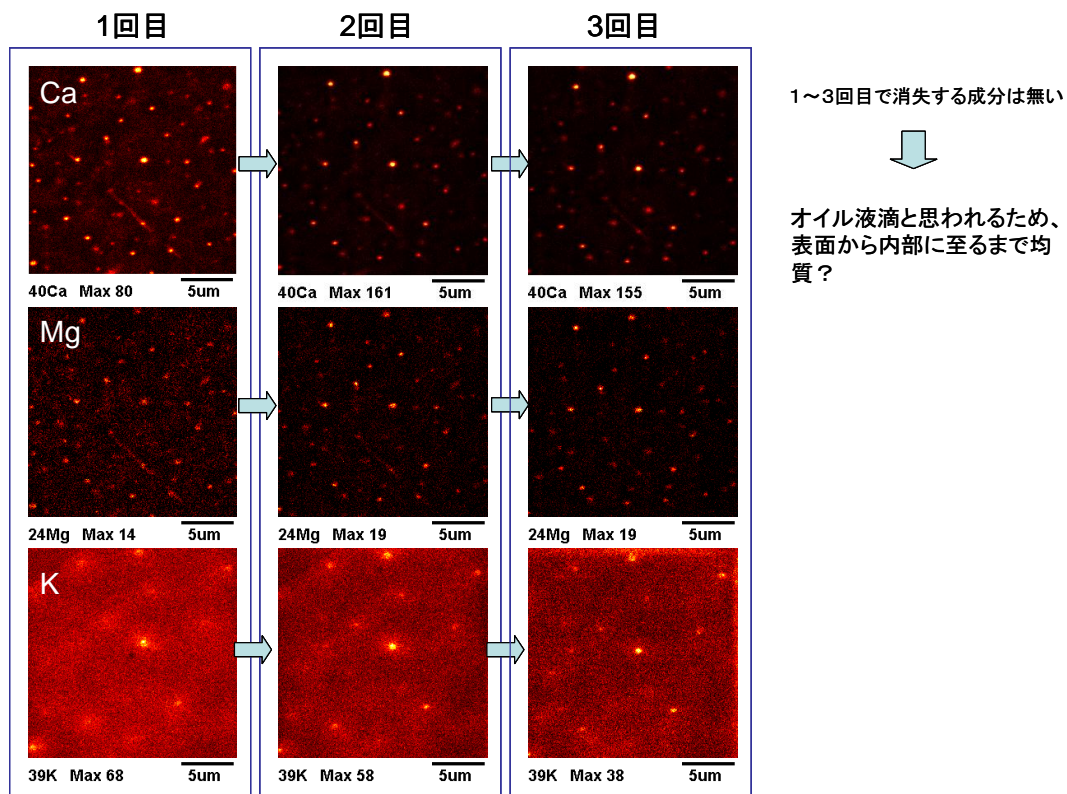
次に、これらの粒子の内部構造を分析した。今回、粒子がきわめて小さいため、イオンビームを用いた断面加工は困難であった。そのため、イオンビームを表面に照射し、表面から内部に向かって徐々に剥いでいく方法で表面と内部の差異を観ることとした。図(2)-17に正イオンマッピングの結果を示す。検出された元素のうち、Ca, Mg, Kのマップを示している。1回目から3回目にかけて多少の分布の変化は見られるものの、概ね、粒子ごとにCa, Mg, Kの組成比（輝度）が変化することはなかった。これは、Type1の粒子が表面から内部に至るまで、均質であることを意味しており、Type1の粒子がオイル液滴であるとする推定とも整合性がある。一方、負二次イオンの測定において、同様に繰返しマッピングを行った結果を図(2)-18に示す。この場合、主としてType2の粒子が映っている。この結果から、次の二つのことが言える。まず、図中○印で示した粒子はType1のオイル液滴と思われる粒子であるが、1回目から3回目にかけてフッ素と塩素がともに残ることが判る。これは、オイル液滴中にフッ素と塩素が均質に溶け込んでいることを示している。一方、より小さい粒子(Type2)では、1回目から3回目にかけてフッ素が著しく減る（消滅する）の



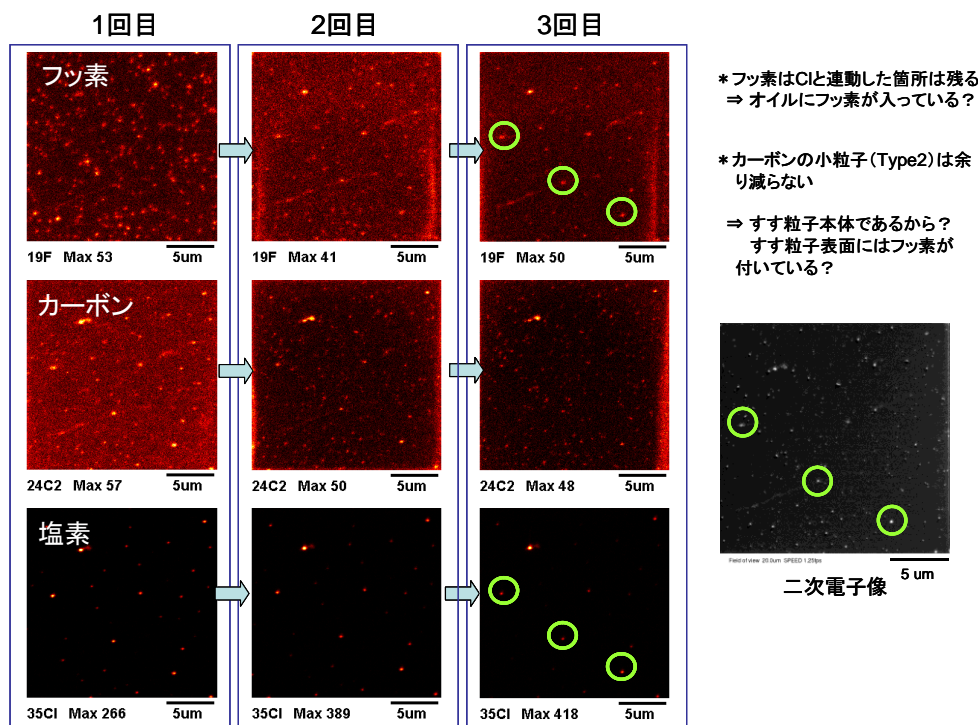
図(2)-16 ID62 (100 nm)の二次イオンマップ及び二次電子像。○印の粒子はType1、それ以外をType2とした。

に対し、炭素は殆ど変化していないことから、Type2がすす粒子であるとすれば、すす粒子については表面にのみフッ素が付着していることがわかる。

以上述べた傾向は、ID61 (50 nm)の試料においても見られた (図(2)-19) ことから、少なくともこの粒径領域ではディーゼルオイル液滴とすす粒子が粒子の大半を占めることがわかった。

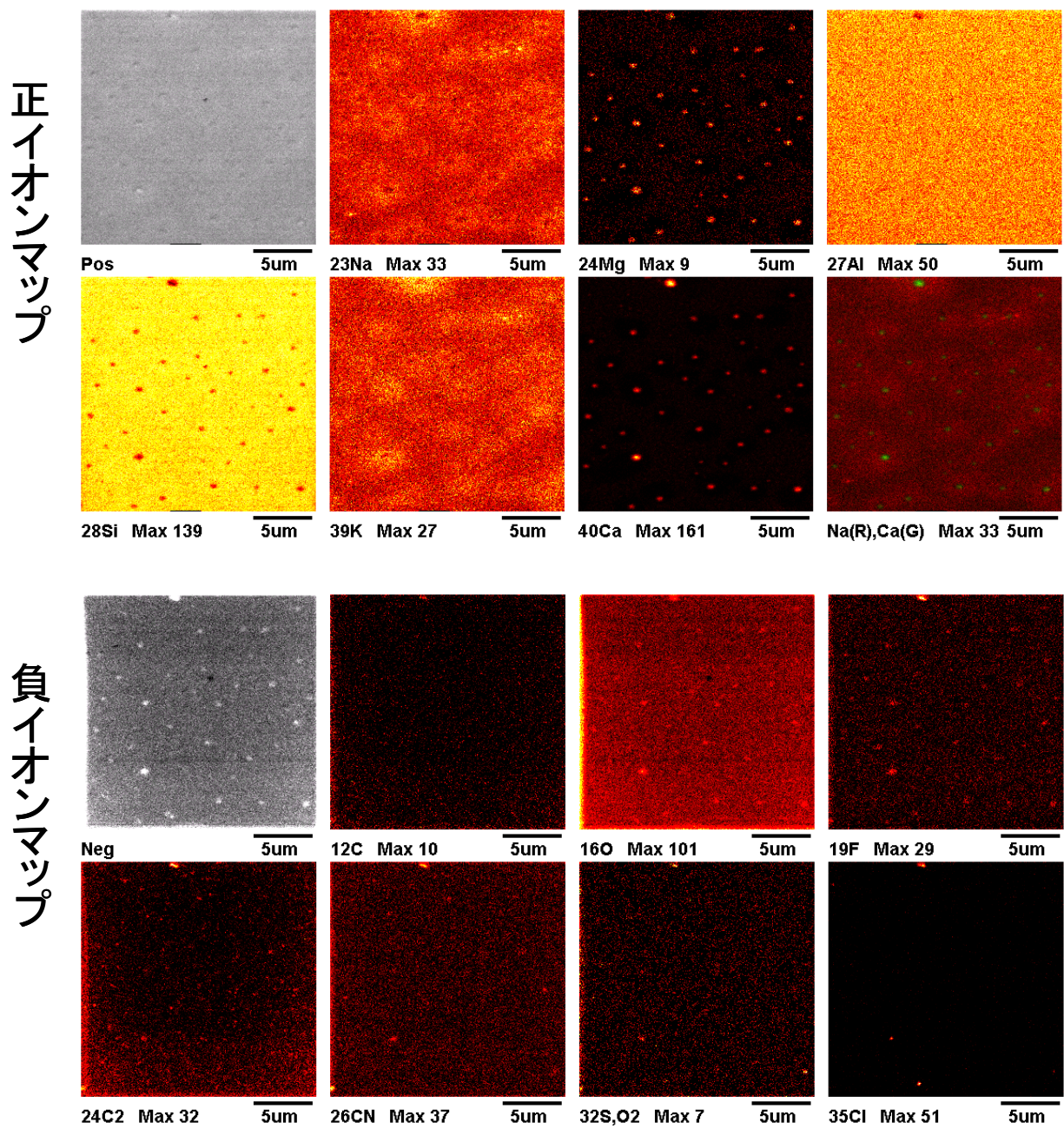


図(2)-17 ID62 (100 nm) 試料において、同一箇所にて3回マッピングを繰り返した結果。(正二次イオン測定)

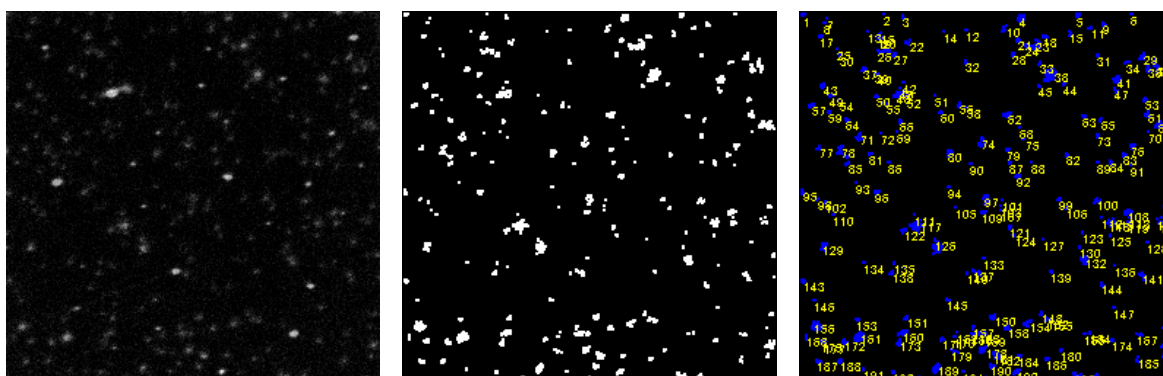


図(2)-18 ID62(100 nm)試料において、同一箇所にて3回マッピングを繰り返した結果。(負二次イオン測定)

TOF-SIMSマッピングではこのように個々の粒子を成分ごとに可視化することができるが、その代わりに全体像を掴むことが難しい。そこで、個々の粒子の成分情報を抽出し、成分の似たもの同士をグループ化する処理を行った。手法としては、多変量解析法の一つである階層的クラスター分析と呼ばれる方法にあたる。図(2)-20にその手順を示す。まず、全二次イオン像に対して輝度の閾値を設けて二値化する。孤立点除去等によりノイズ成分を除いた後に個々の粒子から質量スペクトルを抽出した。図(2)-21にID62(100 nm)の試料におけるマップデータから得たクラスター分析結果(樹形図)を示す。縦軸は類似度を意味しており、下方ほど類似度が高くなる、つまり、似た粒子ということになる。適当な高さで区切れば幾つかの似た粒子の集団が出来上がり、これをクラスターと呼ぶ。下方で区切るほど細かな分類となり、上方で区切ると明確に成分が異なる粒子の分類となる。図(2)-21では4つのクラスターに分類した。各クラスターが成分としてどのような特徴をもっているのかは図(2)-22のように成分相関図中にプロットするとわかりやすい。この結果では、1) 炭素が多い粒子(△)、2) 塩素が多い粒子(×)、3) C, Cl, Fがともに少ない粒子(+), 4) 塩素が少なく、CとFが含まれる粒子(○)であると判る。



図(2)-19 ID61 (50 nm)試料の正二次イオンおよび負二次イオンマッピング結果。

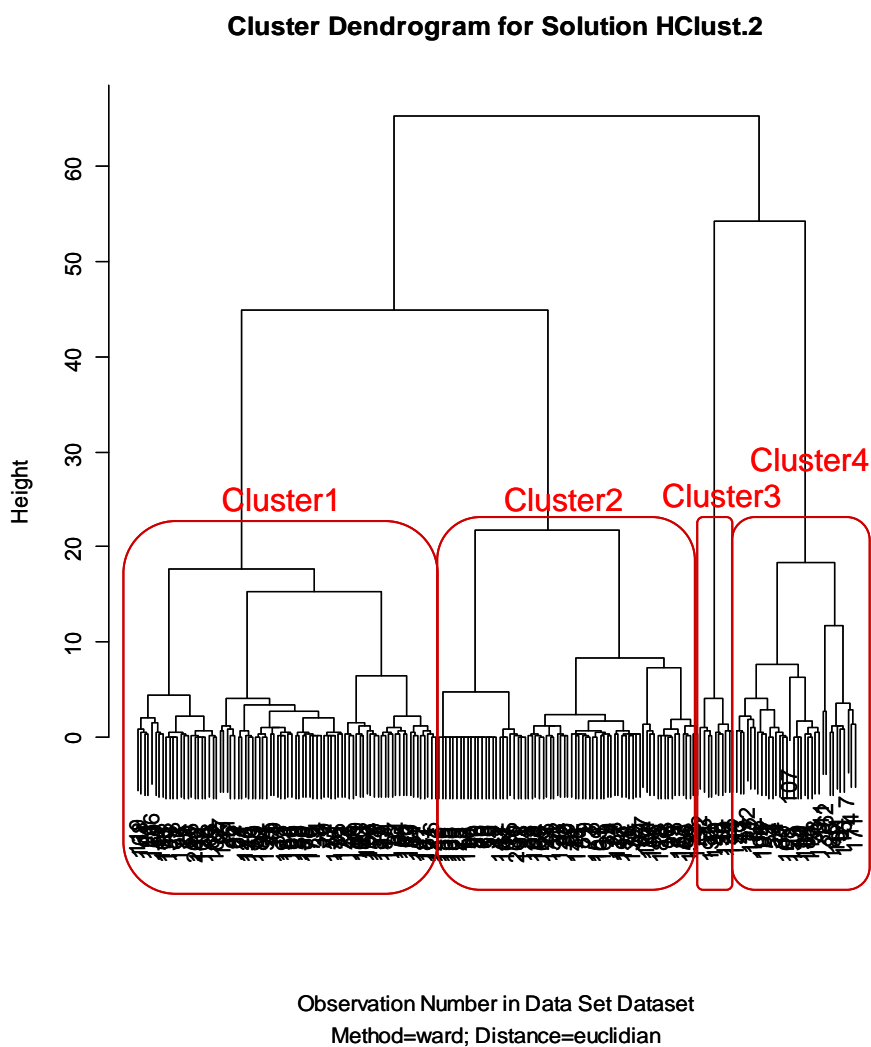


二次イオン像

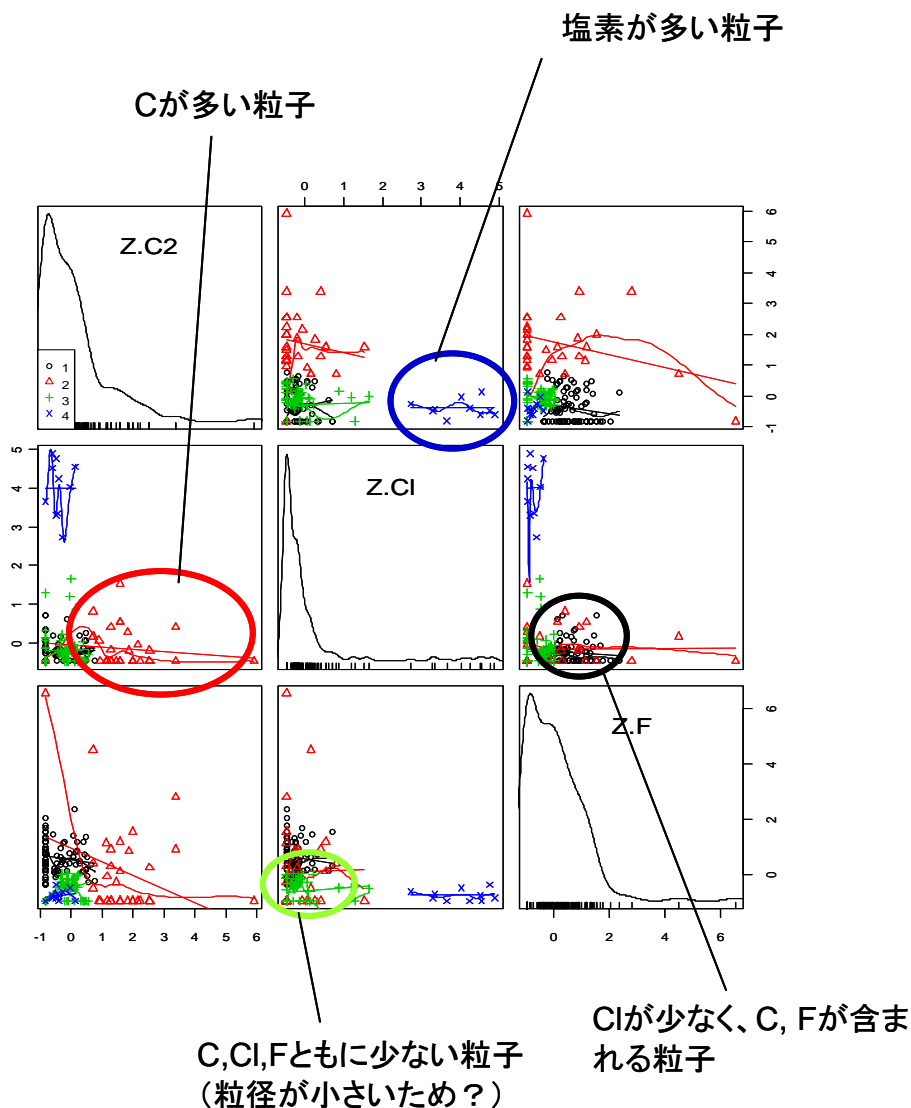
閾値で二値化

粒子からスペクトル抽出

図(2)-20 二次イオンマップから個々の粒子の質量スペクトルを抽出する手順



図(2)-21 クラスタ分析の結果 (樹形図)



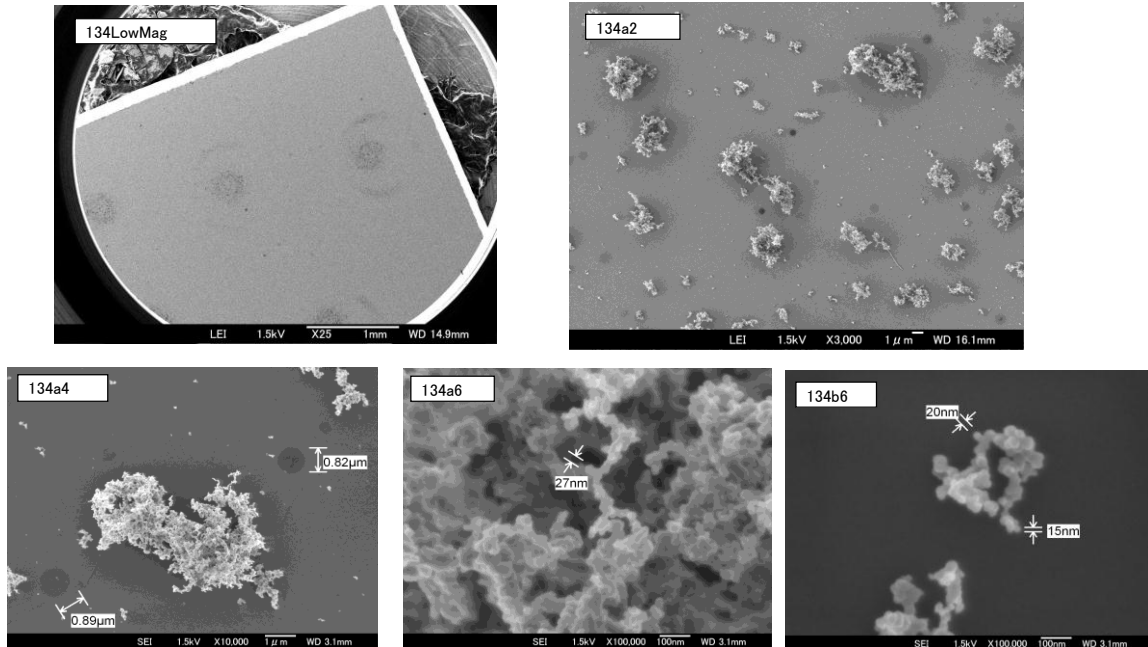
図(2)-22 各クラスターに含まれる粒子の成分相関図

(3) 実環境試料の分析

FIB-SIMS装置に搭載されたFE-SEM機能またはFIB励起二次電子像観察によりナノ粒子の観察を行ってきたが、形態観察においては分解能の制約があった。そこで、冷陰極電子源を備えた高分解能FE-SEM装置を用いて捕集粒子を観察した。図(2)-23に“粗大”粒子(250-390 nm)の画像を示す。塊状の粒子が多数を占めるが、より微小な集合体粒子も見られた。また、FIB-SIMSによる成分マッピングで油滴とされた液滴状の粒子が暗く見えている。塊状粒子は一次粒子径が20 nm前後であった。なお、液滴粒子はその厚みが大変薄く、電子線の加速電圧を大幅に下げることにより観察できた。ディーゼル粒子の形態観察には透過型電子顕微鏡(TEM)も用いられるが、このように薄い物体はコントラストが低く、TEM観察では見逃してしまう類の粒子であるため、補完する上でも高分解能FE-SEM装置観察は有用である。

ID134:分級法 LPI 250~390nm

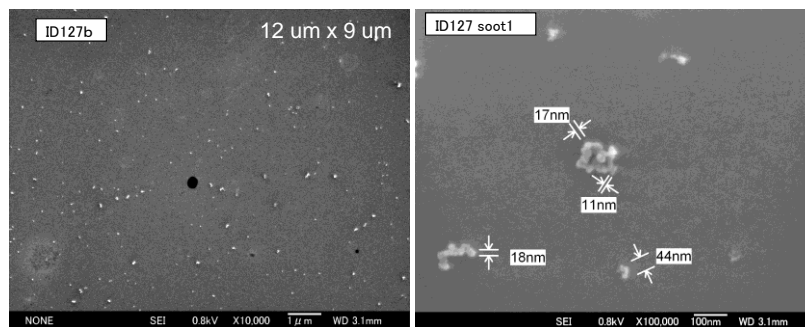
試料面にカーボン粒子集合分布、目視可。油滴は集合体から数多く見つかる。
カーボン粒子形状 集合体としては比較的大きく、個々の最小は小さく20nm前後である。



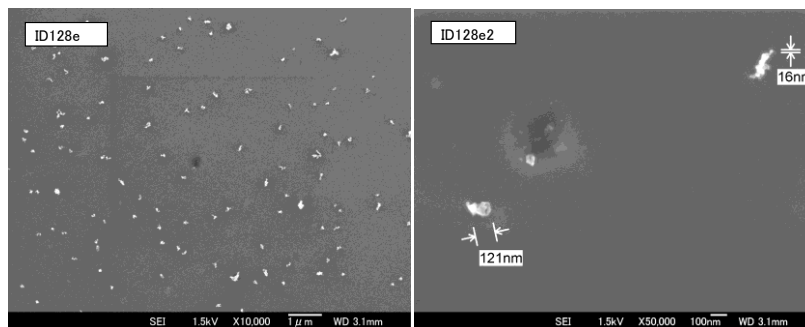
図(2)-23 “粗大”粒子のFE-SEM観察結果

ID127:分級法 DMA 50nm

試料全面にカーボン粒子分布、油滴の数少なし。



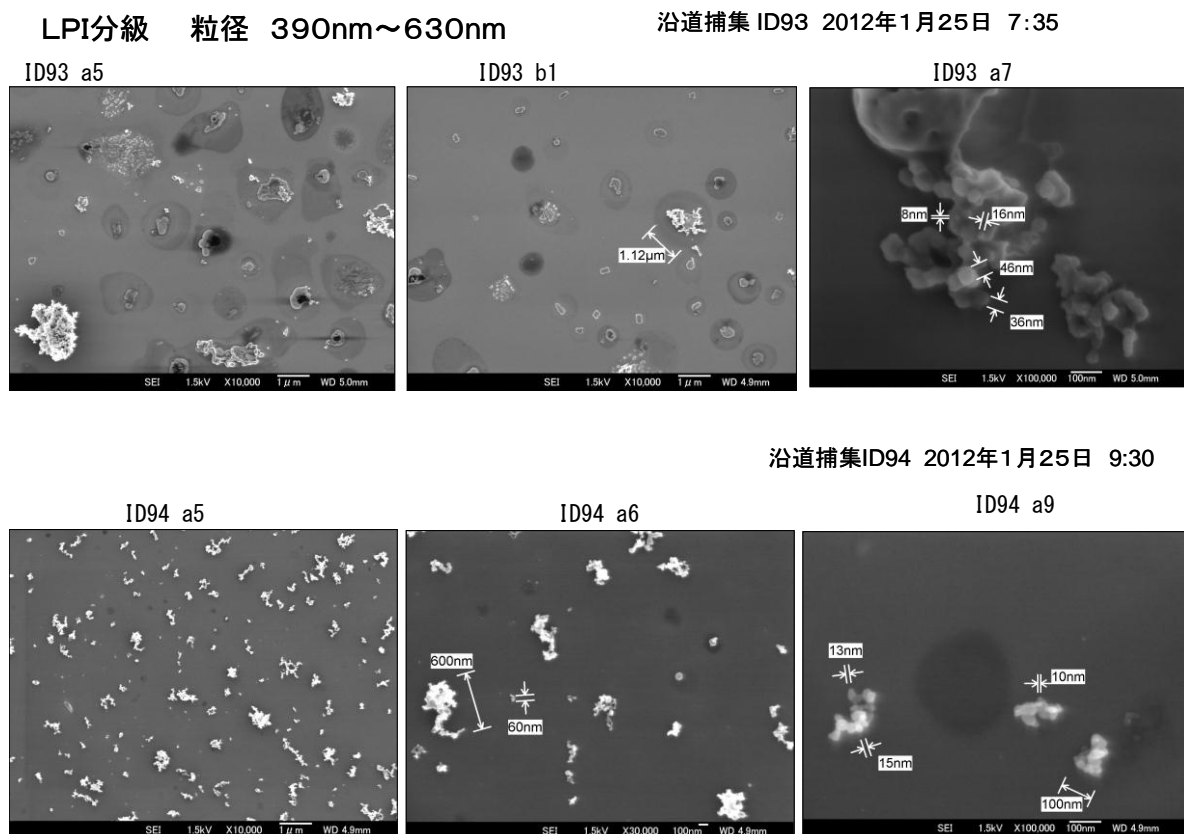
ID128:分級法 DMA 100nm



図(2)-24 ”微小”粒子のFE-SEM観察結果 (50 nm, 100 nm)

一方、“微小”粒子側では図(2)-24に示すように、一次粒子数10個からなる塊状粒子と油滴粒子が見られた。一次粒子径は“粗大”粒子の場合と比べ有意な差異はなく、単に構成する一次粒子数が少ないだけと考えられる。

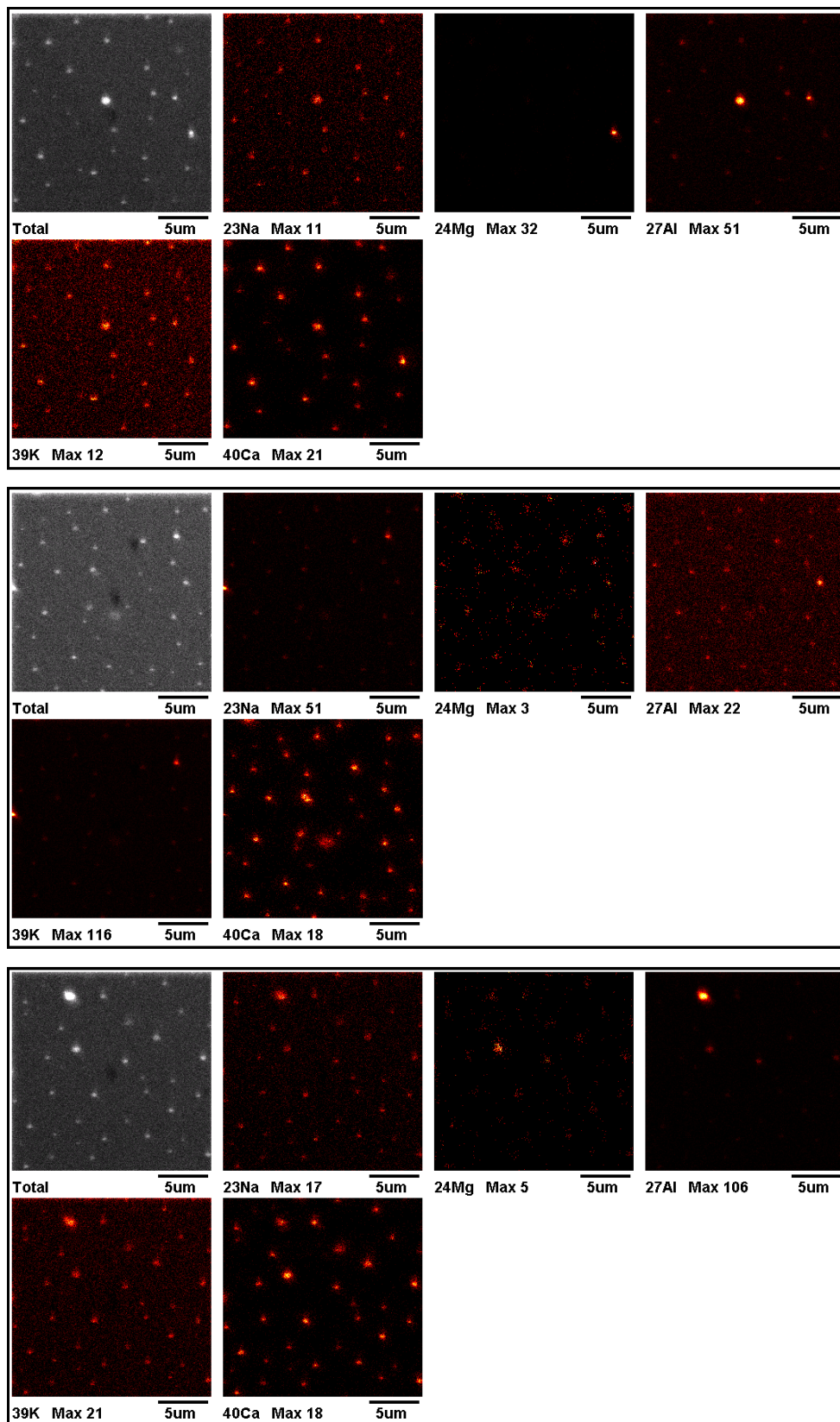
次に実環境（沿道）にて捕集した試料のSEM像を図(2)-25に示す。実環境中ではディーゼル粒子以外の様々な粒子が混在している。とくに、大きい粒子径の試料ほどその傾向が見られた。しかしながら、ディーゼル粒子と見られるものに限れば、エンジンベンチでの捕集粒子と同様の粒子が見られた。とくに、“微小”粒子側(100-160 nm)では捕集された粒子の多くがディーゼル粒子であった。



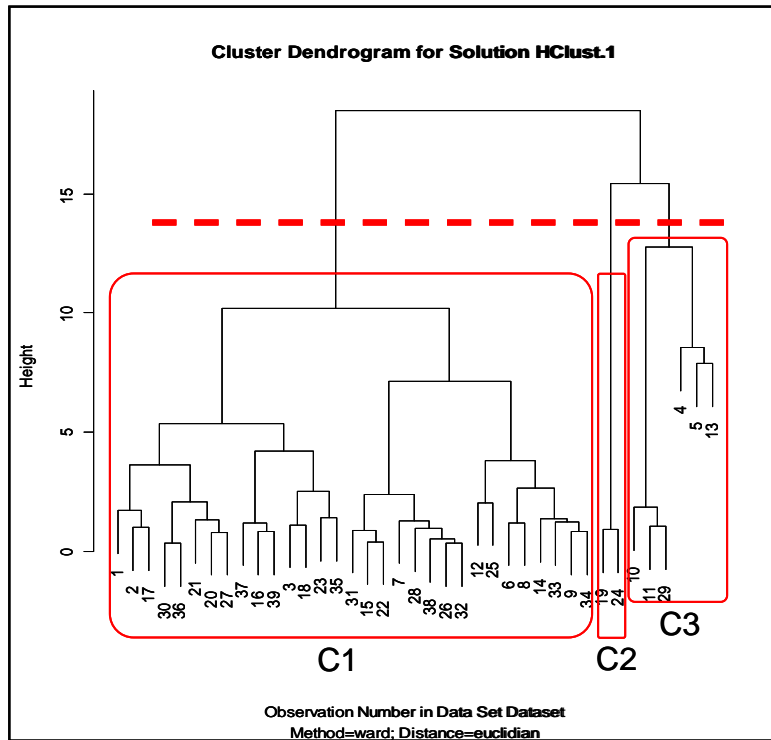
図(2)-25 沿道にて捕集した試料のFE-SEM画像（上段：390-630 nm、下段：100-160 nm）

次に、エンジンベンチ捕集FIB-SIMSによる成分マッピングを行った。図(2)-26にDMAにより分級捕集した $D_p = 100$ nmの試料の正二次イオン像を示す。正イオン成分としては、Na, Mg, Al, K, Caが見られた。画面における見かけの粒子サイズは100 nmよりも大きく、これは粒子が液滴状に広がっていることが原因と考えられる。成分画像を見ると、検出された各元素は粒子ごとに異なる場合があり、画面内の粒子の成分は必ずしも同一ではない。そこで、検出された粒子個々の質量スペクトルを抽出し、Na, Mg, Al, K, Ca等の元素カウント数をもとに、クラスター分析によって分類わけをおこなった。

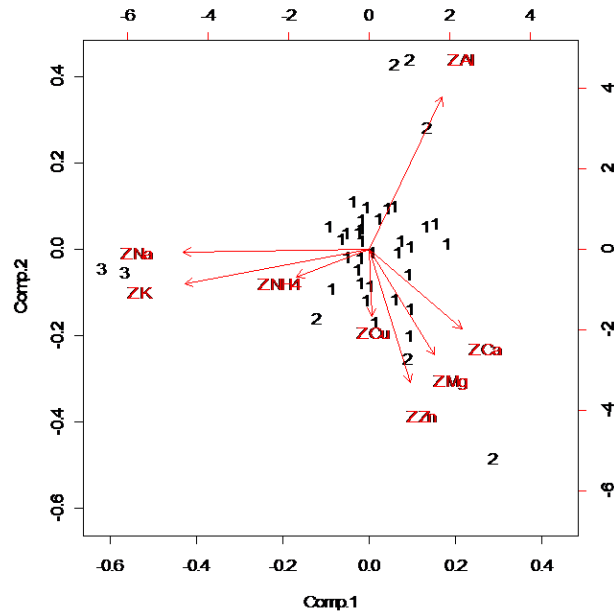
クラスター分析結果を図(2)-27に樹形図として示す。樹形図は縦軸を類似度としたものであり、下方ほど類似度が高い。樹形図を任意の箇所区切り、その下部にある要素(粒子)は同一クラスターとみなす。図(2)-27の結果では、破線の箇所区切り、三つのクラスターがあると見なした。これらのクラスター(1-3)がどのような成分的特徴を持つのかについては図(2)-28により判る。この図によれば、クラスター1(最も粒子数が多い)は検出元素がほぼ万遍なく含まれるが、Caがみられることからオイル液滴と考えられる。クラスター2はAlが多いことが特徴であり、エンジン内の摩耗粉の可能性もある。最後にクラスター3はNaおよびKが多いことから、コンタミまたはエンジンが吸気した大気中のエアロゾルの可能性もある。なお、図(2)-28は成分ごとに同様の方向を向いている場合、それらに一定の相関があり、異なる方向の場合は成分として相関が低いことを意味する。クラスター分析ではAlを含む粒子が今回新たに確認できた。Alはシリンダーに使用されている可能性があり、その場合、摩耗粉塵であると考えられる。以上のように、FIB-SIMSを用いた成分マッピングにより、100 nm程度のナノ粒子を視野20 μ mほどの画面で多数マッピングし、データ抽出によりある程度の統計的情報と粒子の分類分けができることが分かった。



図(2)-26 DMAにて分級捕集されたディーゼル粒子の成分画像 (3視野)



図(2)-27 Dp=100 nm試料に含まれる粒子のクラスター分析結果（樹形図）



図(2)-28 各クラスター(1-3)の成分ベクトル図

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本サブテーマは高面分解能TOF-SIMSをディーゼルナノ粒子の無機成分分析に応用した。TOF-SIMSの分野にとっても初のケースであった。空気力学粒径50 nmの粒子まで個別に成分を可視化することができたことは表面分析の分野では大きな進歩といえる。なぜならば、この領域で成分マッピングを行うことができる方法はオージェ電子顕微鏡(SAM)等のごく限られた電子分光法しかなかったからである。SAMでは元素情報しか得られず、化合物や有機物の情報は得られない。また、基本的に1測定1元素であり、分析には大変時間がかかる。この点、TOF-SIMSでは元素のみならず、化合物や有機物の情報も得ることができ、また、多成分同時マッピングが可能のため、分析のスループットは高い。

また、1画面に多くの粒子を含むマップ画像から画像処理によって個々の粒子の質量スペクトルを抽出し、組成パラメータを作成、クラスター分析により粒子をタイプ別に分類するという手順は個別粒子分析が最も苦手とする統計的情報（バルク的な情報）を得る手段として確立することができた。このように、方法論として幾つかの重要な進捗が見られた。

この手法を用いて分析した結果は、ディーゼルナノ粒子の混合状態（内部混合、外部混合の別）や粒子の表面・内部の組成の違いを明らかにした点においてはこれまでにない情報を与えた。こうした知見はナノ粒子の発生メカニズムや人体影響を議論するうえで基礎的なものの一つになるであろう。これまでの延長線上ではなく、新しい方向からディーゼルナノ粒子の素性に関して得た情報の科学的意義は一定の利用価値が今後出てくると考えられる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

ディーゼル粒子の内部混合状態の把握のため、高面分解能TOF-SIMSを用いた手法を確立できた。今後はディーゼル粒子だけでなく、他の粒子種に本手法を適用することで新たな知見が得られ、様々な場面で環境政策へ貢献できると考えられる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

特に記載すべき事項はない

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

（２）口頭発表（学会等）

- 1) 坂本哲夫、三澤健太郎、藤谷雄二：日本化学会第92春季年会（2012）
「高分解能TOF-SIMSによるディーゼルナノ粒子の粒別分析」
- 2) Tetsuo SAKAMOTO, Kentaro MISAWA and Yuji FUJITANI: International Symposium on Aerosols in East Asia and Their Impacts on Plants and Human Health (2012)
“Individual analysis of diesel nano-particles using high resolution TOF-SIMS”

（３）出願特許

特に記載すべき事項はない

（４）シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない

（５）マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない

（６）その他

特に記載すべき事項はない

８．引用文献

特に記載すべき事項はない

(3) ディーゼルナノ粒子の内部構造分析(有機)

東京工業大学

資源化学研究所

三澤 健太郎

平成22～24年度累計予算額：19,654千円（うち、平成24年度予算額：4,999千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

ディーゼル微粒子に含まれており健康影響を与えると考えられる有機化合物である揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds : VOCs)、多環芳香族炭化水素 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons : PAHs)、キノン類について、266nmと118nmの2種類のレーザー波長を用いて各化合物の標準ガスのレーザーイオン化を試みその検出感度を比較した。266nmレーザーによるイオン化では、多くのVOCsやPAHについて数10ppbv程度の検出感度が得られたもののキノン類については全くイオン化することができなかった。一方、118nmレーザーによるイオン化では、VOCsについては数10～数100ppbv程度、PAHsやキノン類については数100ppbv～数ppmv程度の検出感度であった。比較した結果、検出感度の高い266nmレーザーでのイオン化法を集束イオンビーム/二次イオン質量分析 (Focused Ion Beam / Secondary Ion Mass Spectrometry : FIB-SIMS)と組み合わせることとした。

次にこの方法を用いて実際のディーゼル微粒子中の有機化合物検出を試みたところ、有機化合物であるピレンのピークが検出され、ディーゼル微粒子分析におけるレーザーイオン化の有効性が示された。さらに、ディーゼル微粒子中の有機化合物の質量マッピングを試みたが、明瞭な質量マッピング像を得ることはできなかった。そこで装置改良し検出感度の向上、ノイズ軽減を行った。改良した装置を用いて、ディーゼル微粒子と同様の有機化合物が含まれると期待されるたばこ灰の質量マッピングを行ったところ数種の有機化合物の質量マッピング像が得られた。しかし同様の方法でディーゼル微粒子の質量マッピングを試みたところ明瞭な画像は観測されなかった。これはディーゼル微粒子ではたばこ灰と比べて有機化合物の含有量が少なく、また、他と比べて格段に濃度が濃い部分が無く有機化合物が全体に薄く広がっているためであると考えられる。

【キーワード】 レーザーイオン化、有機化合物、FIB-SIMS、ディーゼルナノ粒子

1. はじめに

近年、微小粒子状物質PM_{2.5}などの健康影響が注目されており、その疫学的研究が精力的に行われているとともに、様々な分析手法によりその化学組成や化学的性質に関する研究も盛んにおこなわれている。しかし、粒子を長時間かけてサンプリングしその中の化合物を抽出、分離、濃縮して分析するような多数の粒子集団を対象とした分析研究は多いものの、粒子1つ1つの化学組成や内部構造を分析するような研究例はほとんどない。なぜなら、粒子1つ1つを個別に分析できる分析手法が存在しないからである。1つ1つの粒子を詳細に分析することができれば、それらの粒子の毒性や生成条件などを詳細に議論することが可能となるが、そのような研究はいまだ数少ないというのが現状である。

共同研究者である工学院大学の坂本らは集束イオンビーム/二次イオン質量分析(FIB-SIMS)を利用し40 nm程度の分解能で単一微粒子の内部構造を明らかにできる新たな分析装置を開発した¹⁾。また、従来FIB-SIMSでは有機化合物の分析は困難であったが、特定の波長を使用することで特定の化合物を選択的に効率よくイオン化することのできるレーザーイオン化と組み合わせることによって、微粒子に含まれる有機化合物の分析も可能となった^{2),3)}。この装置を利用すれば、単一微粒子内の化学組成や内部構造を明らかにすることができる。

2. 研究開発目的

本研究ではFIB-SIMSとレーザーイオン化を組み合わせた新規の分析装置を用いて、ディーゼルナノ粒子の内部構造解析を行った。本サブテーマではその中でも特に有機化合物の検出を中心に研究を行った。具体的には、①ディーゼル微粒子中の有機化合物を検出するのに最も有効なレーザー波長の選定、②FIB-SIMSと組み合わせた時に効率よく有機化合物を検出できるレーザーシステム条件の決定、③FIB-SIMSとレーザーイオン化を組み合わせた分析手法による実ディーゼル微粒子中の有機化合物の分析、の3点を目的として研究を行った。

3. 研究開発方法

ディーゼルナノ粒子に含まれると考えられる有機化合物をイオン化するのに適したレーザー波長をそれぞれの化合物の検出感度を決定することにより選定した。試料したレーザーの波長は266nmおよび118nmの2種類である。266nmの波長は固体レーザーであるNd:YAGレーザー(1064nm)を非線形光学結晶(LBO結晶およびBBO結晶)によって4倍波とすることによって得た。また、118nmの波長はNd:YAGレーザーを非線形光学結晶によって3倍波(355nm)としたのち、これをXeガスを入れたガスセル内でレンズにより集光することにより得た。測定対象とした化合物は揮発性有機化合物(VOCs)の一種であるベンゼンやトルエン、多環芳香族炭化水素(PAHs)の一種であるナフタレン、フェナントレン、アントラセン、ピレン、フルオランテン、キノン類の一種であるp-ベンゾキノンや1,4-ナフトキノンである。それぞれの化合物を校正用ガス調整装置であるパーミエーター(PD-1B、PD-230: ガステック)(図(3)-1)により加熱気化し一定濃度のガスを発生させ、150 μ m径のピンホールを通して真空装置内に導入し、これに各波長のレーザーを照射することでイオン化した。生成したイオンは飛行時間型質量分析装置により検出した。測定装置の概略図を図(3)-2に示す。ガス濃度を变化させた際のイオン信号強度の変化から検量線を作成し、検量線の傾きとイオン信号強度のバックグラウンド信号の信号/ノイズ比から検出感度を決定した。

次に、ディーゼルナノ粒子に含まれる代表的なPAHsであるピレンについて選定したレーザーを用いてレーザーイオン化を行い、その検出下限のレーザーパワーに対する依存性を検証した。上記と同様の方法で各レーザーパワーに対する検出下限を測定して比較を行った。

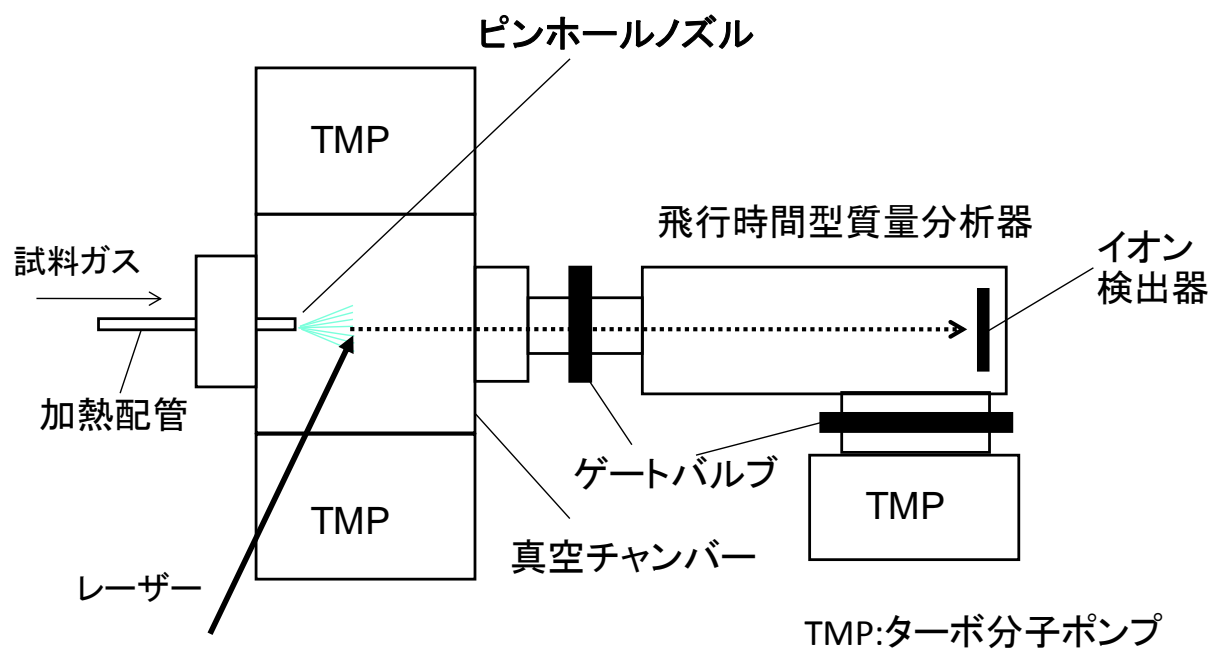
FIB-SIMSとレーザーイオン化法を組み合わせることにより実試料であるディーゼルナノ粒子中の有機物測定を試みた。使用した装置の外観を図(3)-3に示す。また、この際にもレーザーパワーを変化させた質量スペクトルを測定し、そのレーザーパワー依存性を検証した。また、ディーゼルナノ粒子と同様にPAHsなどの有機化合物が含まれると考えられるたばこ灰についても測定を行った。各サンプルについて数分間の積算時間での質量スペクトルの測定及び数10 μ m \times 数10 μ mの領域での質量マッピング測定を行った。

実試料測定に向けた感度向上および妨害信号低減のためレーザーの繰り返し周波数を上げることでイオン信号量を増加させた。また、測定条件を調整し、ノイズ源となっていたSIMS信号や揮発成分による信号を減少させた。

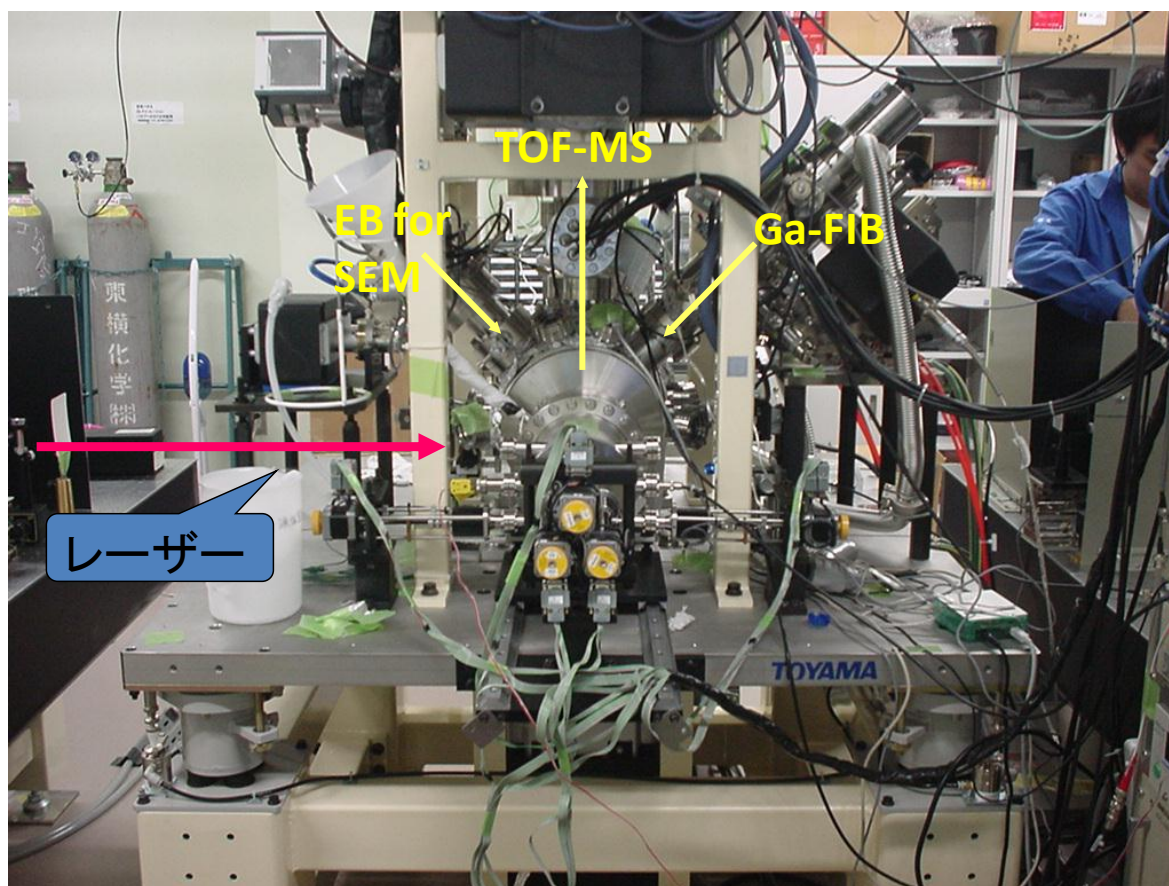


図(3)-1 校正用ガス調整装置(パーミエーター)

固体試料導入部より一定容量の容器に入った固体試料を導入し、内部高温槽にて一定温度に加熱し試料を揮発させる。固体試料の入った容器から容器外に揮発してくる試料気体の量は定温下では一定となる。これにより一定流量の空気と混合することで一定濃度の試料ガスを生成することができる。ガス流量調節部にて混合する空気の流量を調節することで試料ガスの濃度を変えることができる。濃度調節された試料ガスは試料ガス発生部より発生する。



図(3)-2 装置概略図

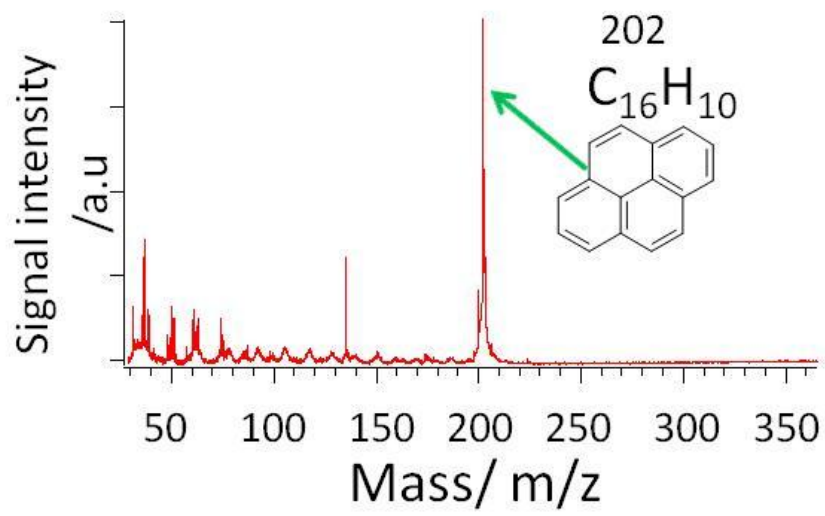


図(3)-3 FIB-SIMS装置外観

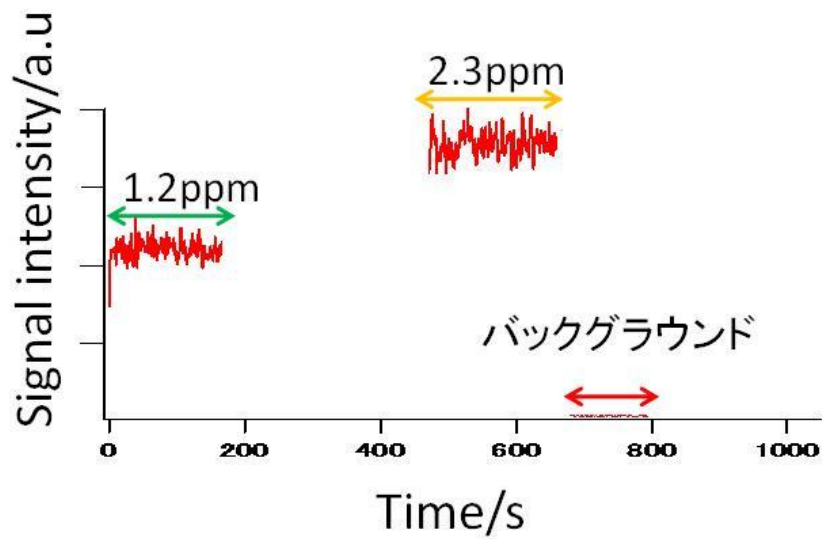
4. 結果及び考察

各レーザー波長での各化合物の検出感度を定める前に各化合物の既知濃度標準試料を用意する必要がある。既知濃度標準試料の発生にはパーミエーターを用いるがこれを使用するには各化合物の任意の温度での拡散係数が必要となる。そこではじめに使用する各標準試料の拡散係数を実験によって決定した。パーミエーターの恒温槽内において一定容量の容器に測定する化合物の試料を入れて、一定の温度条件で試料を揮発させ単位時間当たりの試料の揮発量を測定した。揮発前後の試料容器も含めた試料の重量を秤量し、秤量する前後で減少した重量から揮発量を求めた。このようにして定温下の各化合物の拡散係数を求めた。求めた拡散係数を使用して次のように各化合物の検出感度を測定した。

266nmレーザーを用いてディーゼルナノ粒子に含まれていると考えられる有機化合物のレーザーイオン化を行いそれぞれの化合物の検出感度を決定した。以下に測定結果の一例として、PAHsの一種であるピレン($C_{16}H_{10}$ 、質量数202)を266nmのレーザーを用いてイオン化した結果を示す。はじめに266nmによってピレンをレーザーイオン化した際の質量スペクトルを図(3)-4に示す。横軸は質量数、縦軸はイオン信号強度である。図から、ピレンの質量数である202の位置にピークがあることが確認できる。次にこの質量数202のピークのイオン信号強度をモニターしながら試料ガスの濃度を変化させることによって、濃度変化に対するイオン信号強度変化を測定した。その結果を図(3)-5に示す。横軸は測定時間、縦軸はイオン信号強度である。はじめに3分程度1.2ppmvの濃度に希釈したピレンのガスを装置に導入しイオン化したところ、そのイオン信号強度はほぼ一定となった。次に試料ガスの濃度を2.3ppmvに変化させたところ、そのイオン信号強度はほぼ倍になった。その後レーザー照射を止めるとイオン信号は全く検出されなかった。このレーザー非照射の状態をバックグラウンド信号として、各濃度に対するイオン信号強度をプロットすることで検量線を作成した。バックグラウンド信号の標準偏差の3倍を検出感度と規定すると、検量線の式にバックグラウンドのイオン信号の標準偏差を検量線の式に代入することで濃度の値に変換できることから、このときの検出感度を69ppbvと決定した。この他にもPAHsとしてはナフタレン($C_{10}H_8$ 、質量数128)、フェナントレン($C_{14}H_{10}$ 、質量数178)、アントラセン($C_{14}H_{10}$ 、質量数178)、フルオランテン($C_{16}H_{10}$ 、質量数202)を同様の方法で測定した。その結果、これらの化合物の検出感度は数100pptv～数100ppbv程度であった(表(3)-1)。また、VOCsの一種であるベンゼン(C_6H_6 、質量数78)、トルエン(C_7H_8 、質量数92)を同様の方法で測定した。その結果、ベンゼンではイオン信号が非常に弱かったが、他の分子については数10ppbv程度の検出感度であると決定された。さらにキノン類であるp-ベンゾキノン($C_6H_4O_2$ 、質量数108)や1,4-ナフトキノン($C_{10}H_6O_2$ 、質量数158)について同様の方法で測定したが、イオン信号は全く検出されなかった。以上のことからPAHsや多くのVOCsのレーザーイオン化には266nmが適していることが分かった。これはPAHsやVOCsが266nmの波長領域またはそれに近い領域に吸収帯を持っており、また、266nmの光子を2光子吸収することでイオン化ポテンシャル(表(3)-2)を超えるエネルギーを獲得しイオン化したと考えられる。一方、キノン類は266nm2光子分のエネルギーではイオン化ポテンシャルを超えることができないためイオン化されなかったのではないかと考えられる。また、ベンゼンは第一電子励起状態が266nmよりも短波長側(高エネルギー側)に存在するため中間状態となる適切な吸収帯が無かったためイオン化できなかったのではないかと考えられる。



図(3)-4 266nmレーザーイオン化によるピレンの質量スペクトル



図(3)-5 ピレンの濃度変化に対するイオン信号強度変化

表(3)-1 各化合物の266nmおよび118nmレーザーイオン化による検出感度

	266nm	118nm
ベンゼン	10 ppmv以上	310 ppbv
トルエン	22 ppbv	59 ppbv
ナフタレン	760 pptv	583 ppbv
フェナントレン	109 ppbv	
アントラセン	85 ppbv	1.5 ppmv
フルオランテン	331 ppbv	2.3 ppmv以上
ピレン	69 ppbv	2.3 ppmv以上
p-ベンゾキノン	検出不可	380 ppbv
1,4-ナフトキノン	検出不可	3.6 ppmv

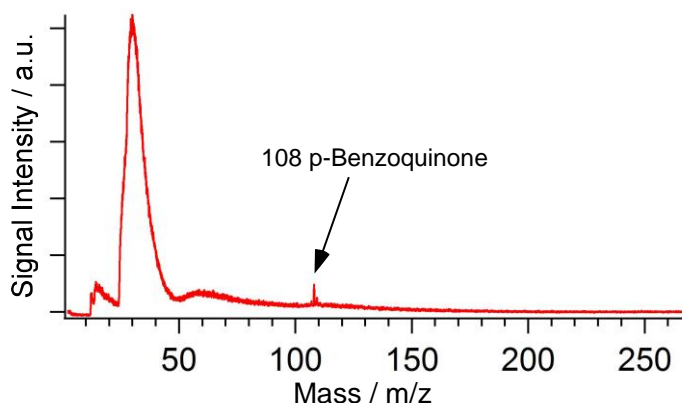
表(3)-2 各化合物のイオン化ポテンシャル

266 nm = 4.66 eV, 118 nm = 10.5 eV

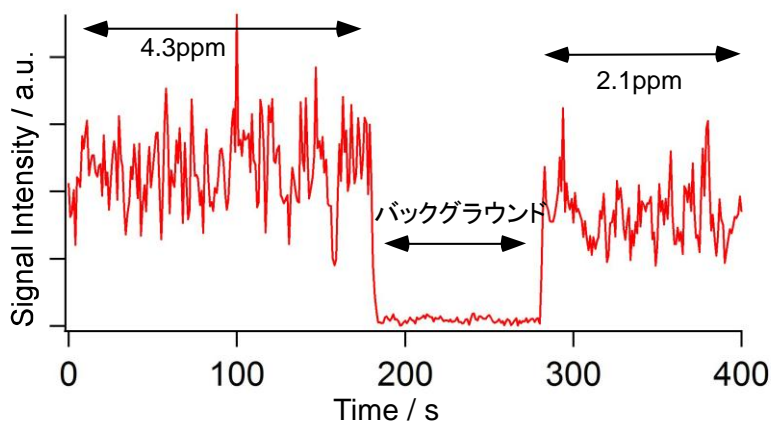
名前	化学式	Mass	I.P. ⁴⁾
ベンゼン	C ₆ H ₆	78	9.24 eV
トルエン	C ₇ H ₈	92	8.83 eV
ナフタレン	C ₁₀ H ₈	128	8.14 eV
フェナントレン	C ₁₄ H ₁₀	178	7.89 eV
アントラセン	C ₁₄ H ₁₀	178	7.44 eV
ピレン	C ₁₆ H ₁₀	202	7.43 eV
フルオランテン	C ₁₆ H ₁₀	202	7.85 eV
p-ベンゾキノン	C ₆ H ₄ O ₂	108	10.0 eV
1,4-ナフトキノン	C ₁₀ H ₆ O ₂	158	9.5 eV

次に118nmの波長を用いたレーザーイオン化測定の結果を示す。118nmによるレーザーイオン化では1光子の持つエネルギーが各分子のイオン化ポテンシャル(表(3)-2)よりも高く、1光子イオン化が起こると考えられる。一例としてキノン類であるp-ベンゾキノンの測定例を示す。はじめに118nmによってp-ベンゾキノンをレーザーイオン化した際の質量スペクトルを図(3)-6に示す。図からp-ベンゾキノンの質量数である108の質量数の位置にピークが確認され、p-ベンゾキノンのレーザーイオン化されたことが分かる。尚、低質量数側に観測された何本かのブロードなピークは118nmレーザーによってイオン化された空気中の成分である窒素(N₂、質量数28)、酸素(O₂、質量数32)、水(H₂O、mass 18)であると考えられる。次に、266nmを用いた測定の時と同様に、このピークのイオン信号強度をモニターしながら試料ガスの濃度を変化させることによって、濃度変化に対するイオン信号強度変化を測定した。その結果を図(3)-7に示す。まず4.3ppmvの濃度に希釈したp-ベンゾキノンのガスを装置に導入しイオン化したところ、そのイオン信号強度はほぼ一定となった。次にレーザー照射を止めたところイオンシグナルは全く検出されなくなった。レーザーを再度照射し試料ガスの濃度を2.1ppmvに変化させたところ、そのイオン信号強度は4.3ppmvの濃度の時のほぼ半分になった。レーザー非照射の状態をバックグラウンド信号として、各濃度に対するイオン信号強度をプロットすることで検量線を作成した。266nmレーザーイオン化の場合と同様にバックグラウンド信号の標準偏差の3倍を検出感度と規定するとこのときの検出感度は380ppbvと決定された。また、1,4-ナフトキノンのについても同様の測定を行った結果、その検出感度は3.6ppmvと決定された。次にベンゼンやトルエンなどのVOCsについて、118nmによるレーザーイオン化測定を行った。その結果、ベンゼンの検出感度は数310ppbv、トルエンの検出感度は100ppbvとなり266nmのレーザーイオン化に比べてベンゼンの場合は良く、トルエンの場合では若干悪いという結果が得られた。さらに、ナフタレンなどのPAHsについて118nmによるレーザーイオン化測定を行った。その結果、ナフタレンの検出感度は583ppbv、アントラセンでは1.5ppmv、フルオランテンやピレンでは数ppmv以上となり、すべての化合物において266nmによるレーザーイオン化よりも検出感度が悪いという結果となった。また、PAHsのベンゼン環の数が多くなり分子量が大きくなるほど検出感度が悪くなることも分かった。これは分子量が大きくなるほどイオン化ポテンシャルが低くなり、レーザーイオン化の際に分子に与えられる余剰エネルギーが大きくなり、これによって解離が起こりイオン化が阻害されているためだと考えられる。

以上の結果から、PAHsの分析には266nmによるレーザーイオン化が、キノン類やベンゼンの分析には118nmによるレーザーイオン化が、トルエンの分析にはそれら2つの方法のどちらもが適していると考えられる。したがって本来ならば測定対象とする化合物に応じて適したレーザー波長を使用するのが望ましい。しかし、出来るだけ検出感度が高い条件で実験を行いたいこととディーゼルナノ粒子に特に多く含まれていると考えられるPAHsをイオン化するのに適していることから266nmのレーザーを用いることとした。



図(3)-6 118nmレーザーイオン化によるp-ベンゾキノンの質量スペクトル



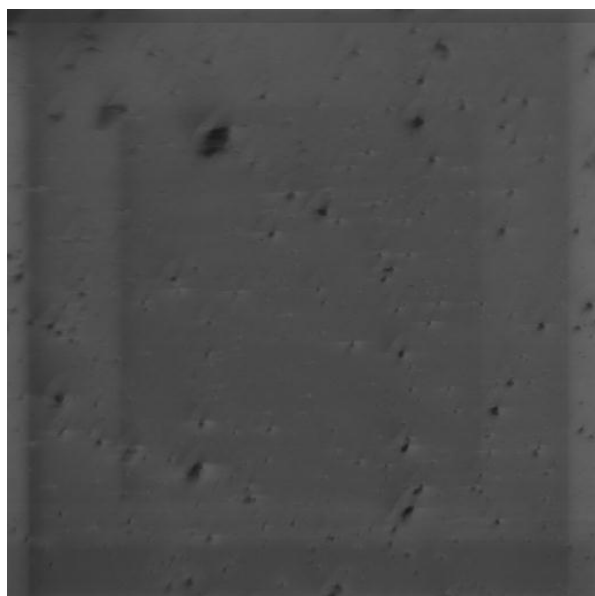
図(3)-7 p-ベンゾキノンの濃度変化に対するイオン信号強度変化

次に266nmレーザーのパワーを変化させ、その際の検出下限を測定することでレーザーパワー依存性を確認した。各化合物の検出感度を決定した時と同様の方法でレーザーパワー $20 \mu\text{J/pulse}$ 、 $30 \mu\text{J/pulse}$ 、 $40 \mu\text{J/pulse}$ にした時の検出感度を求めたところそれぞれ27ppbv、14ppbv、8ppbvとなった(表(3)-3)。また、以上のことから、レーザーパワーが大きいほうが検出下限が低くなりディーゼル微粒子分析に適していると考えられる。

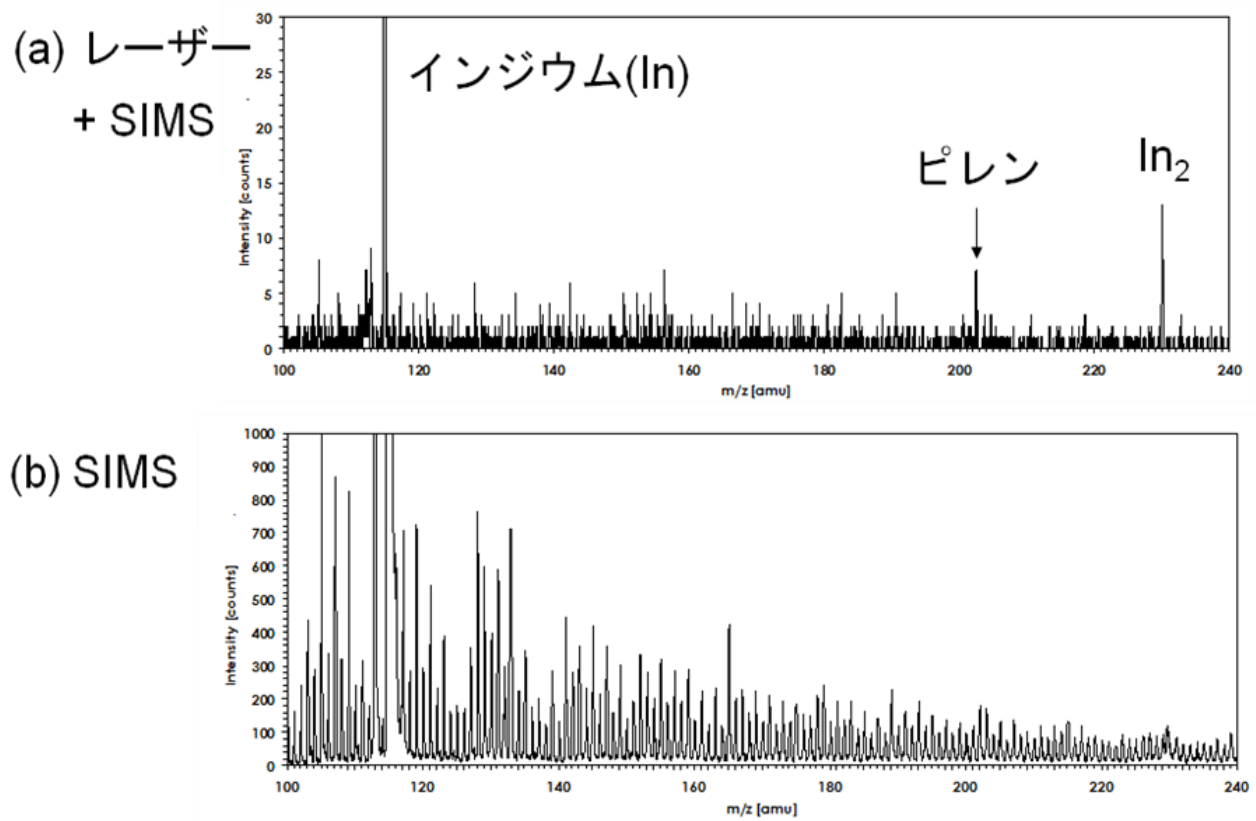
表(3)-3 各レーザーパワーにおける検出下限

レーザーパワー	検出下限
20 μJ	27 ppb
30 μJ	14 ppb
40 μJ	8 ppb

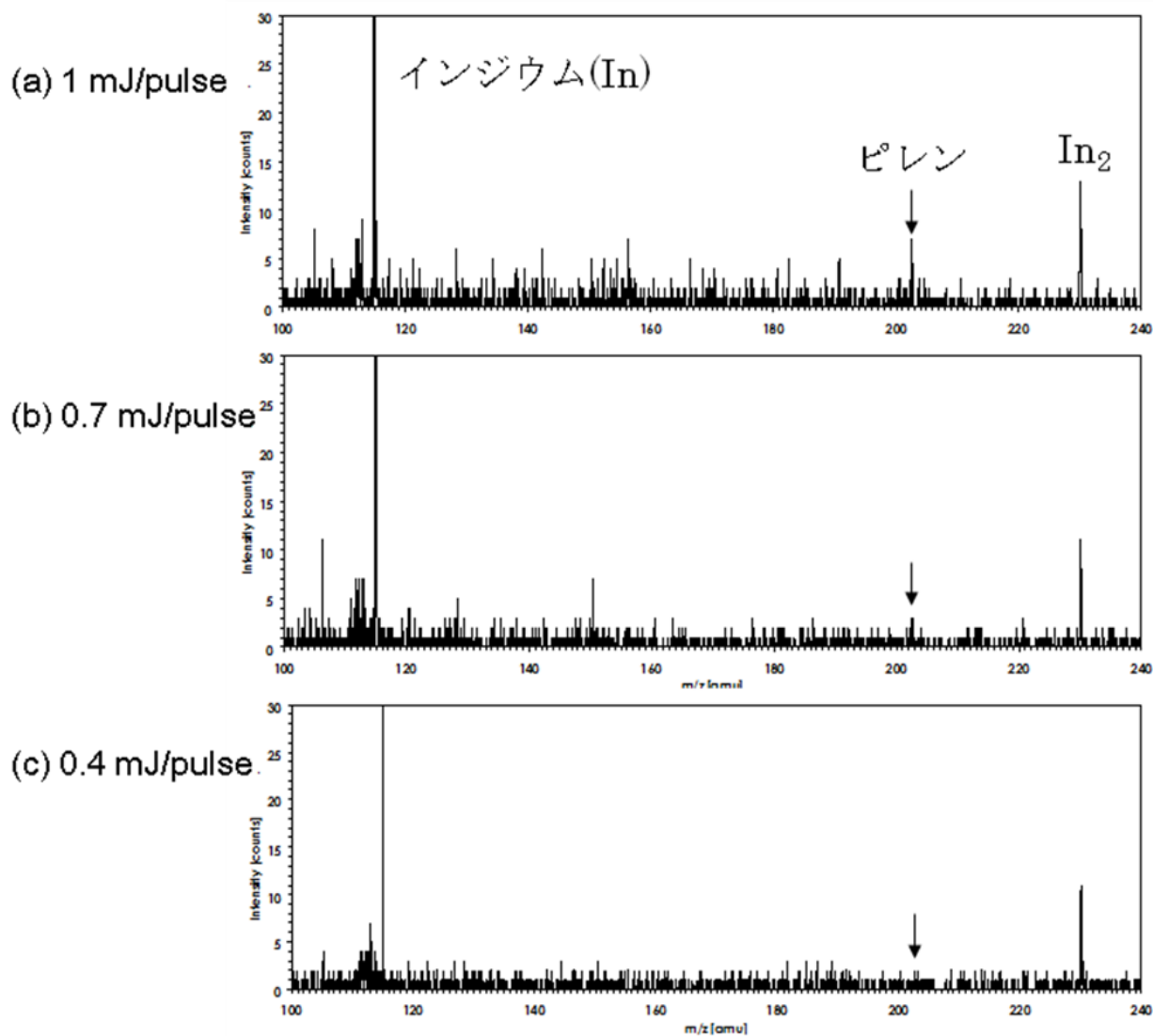
次に選定した波長266nmのレーザーとFIB-SIMSを組み合わせた分析装置を用いて実試料であるディーゼルナノ粒子の測定を試みた。使用したサンプルは工学院大学八王子キャンパス内の学内バスのマフラー部から採取したディーゼル微粒子である。サンプルをインジウム基板にのせ基板上の一部分に集束イオンビームを照射しその際にスパッタされて発生する中性分子をレーザーイオン化した(図(3)-8)。その時の質量スペクトルを図(3)-9(a)に示す。比較のため、レーザーを用いずに集束イオンビーム照射により生じた二次イオンのみを検出した時(SIMS信号のみ)の質量スペクトルを図(3)-9(b)に示す。SIMS信号のみの場合に比べレーザーイオン化を組み合わせた場合のスペクトルではPAHsの一種である質量数202のピレンのピークがはっきりと観測されており、ディーゼル微粒子分析においてレーザーイオン化とFIB-SIMSを組み合わせた方法の有効性が示された。次にレーザーパワーを1mJ/pulse、0.7mJ/pulse、0.4mJ/pulseと変化させて、この時の質量スペクトルの変化を観測した。この結果を図(3)-10に示す。図から分かるとおり、レーザーパワーが弱くなるにつれてピレンのピークの信号強度が弱くなっている。したがって、実試料であるディーゼル微粒子の測定においても気相中での実験と同様に信号強度はレーザーパワーに大きく依存し、レーザーパワーが大きいほうが検出感度が高いことが示された。



図(3)-8 インジウム基板上のディーゼル微粒子
視野は $300 \times 300 \mu\text{m}$



図(3)-9 レーザーイオン化によるディーゼルナノ粒子の質量スペクトル
(レーザーイオン化とSIMSを組み合わせた場合にはレーザーイオン化のタイミングに合わせて信号を取り込むためSIMSのみの信号はあまり検出されない)

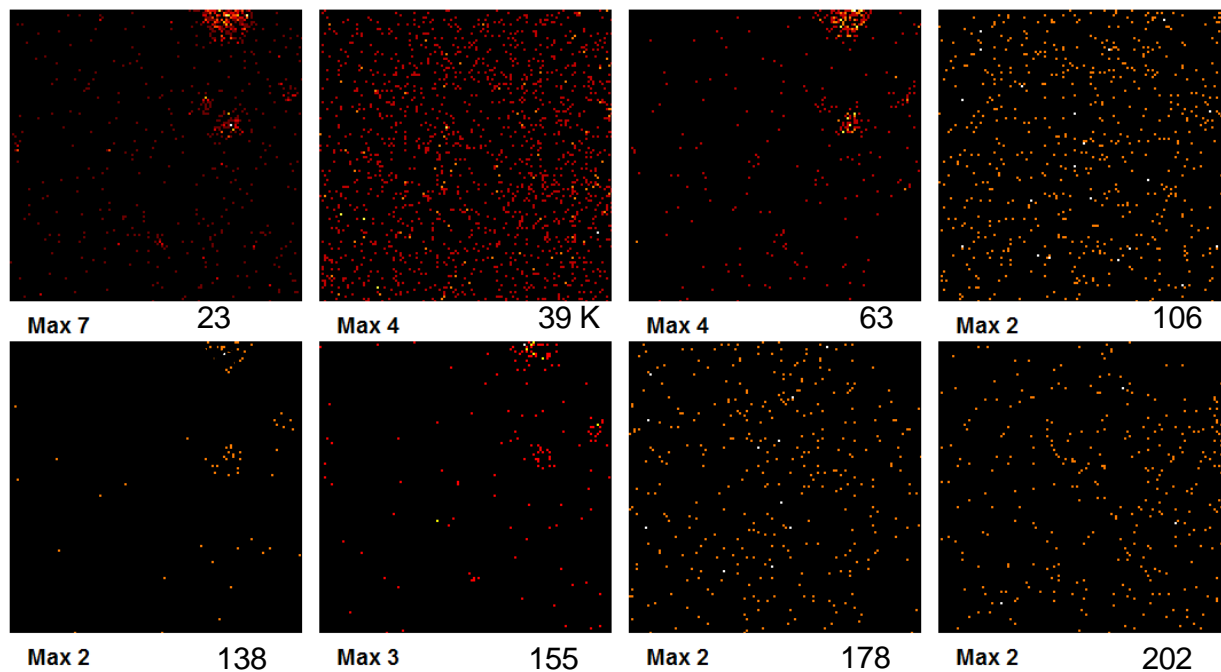


図(3)-10 ディーゼルナノ粒子の質量スペクトルのレーザーパワー依存性

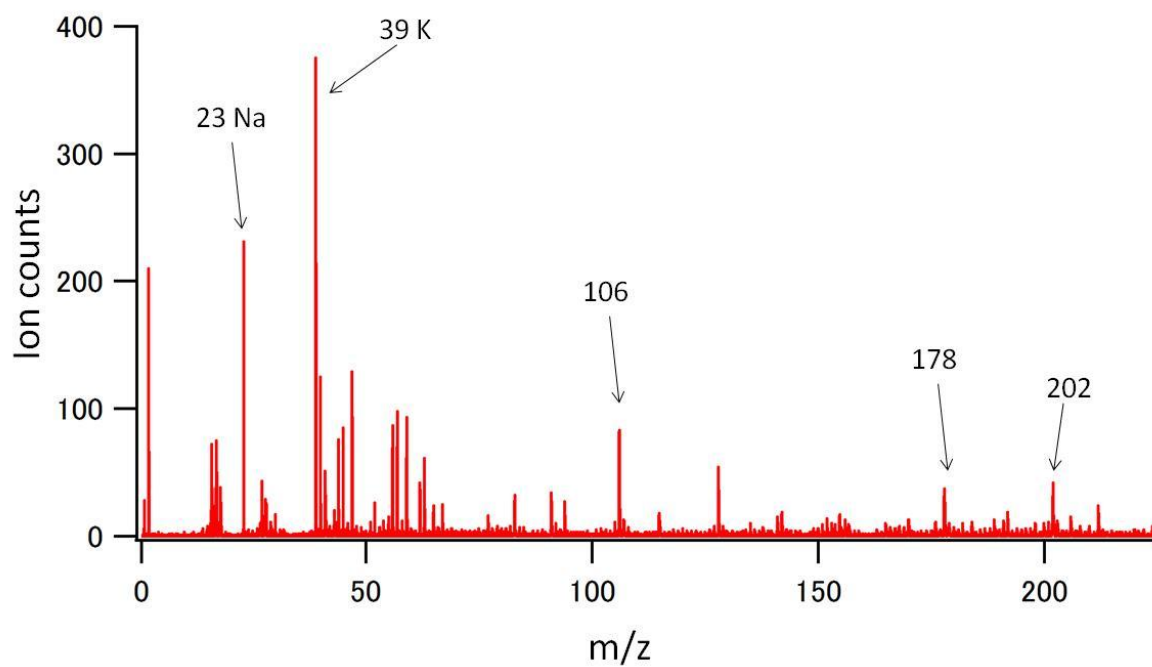
(In(インジウム)およびIn₂の信号量は飽和しているためほとんど信号強度が変わっていないと考えられる)

次にディーゼル微粒子をのせたシリコン基板の数10 μm \times 数10 μm の領域での質量マッピング測定を行った。基板にはディーゼル微粒子の他に質量数校正をする基準物質としてインジウムの粒子をのせた。この時得られたマッピング結果を図(3)-11に示す。また、その時の全画面分の信号を積算した質量スペクトルを図(3)-12に示す。図(3)-12から分かるように質量スペクトル上ではNaやCa、Kなど金属成分の他に有機化合物の信号と考えられる質量数178や202のピークが観測されている。しかし図(3)-11の質量マッピングでは質量数23のNaなどの金属成分についてははっきりとした画像は得られたものの、質量数178や202などの有機化合物からと思われる信号では明瞭な画像が得られず観測領域全面から信号が観測された。なお、マッピングの得られた質量数23、63、138、155の化合物の詳細な化学組成は分からないものの質量数115のインジウム粒子のマッピングと同じ画像が得られていることから、インジウム粒子に含まれている不純物の信号によるも

のと考えられる。



図(3)-11 ディーゼルナノ粒子の質量マッピング



図(3)-12 ディーゼルナノ粒子の質量マッピング時の質量スペクトル

有機化合物の明瞭な質量マッピングが得られなかったのは以下の3つの原因によると考えられる。1つ目はレーザーの繰り返し周波数が30Hzだったことである。これは質量マッピングを行う際、例えば128×128ピクセルの画像で1ピクセルあたり20回分の質量スペクトルをとるとすると全面の質量スペクトルを取り終わるまでに10000秒以上かかってしまうことを意味する。測定が長時間に及んでしまうと真空チャンバー内でのサンプルの変動などにより同じ測定条件での情報が得られなくなる上に、電氣的、機械的な安定性の保持が難しくなり外部からのノイズが増える可能性が高くなる。2つ目の原因はSIMS信号によるノイズである。本手法ではイオンビームの照射によりスパッターされて発生した中性分子をレーザーによってイオン化して検出する。しかしイオンビームの照射の段階でイオン化した状態で発生する分子もある。これが本来のSIMS信号である。本手法では飛行時間型質量分析計の引き込み電圧のタイミングなどによりSIMS信号とレーザーイオン化の信号を分離していた。しかし、完全には分離できず、バックグラウンドノイズとしてレーザーイオン化質量スペクトルに重なってしまっていた。これにより本来観測されるはずのレーザーイオン化による信号がSIMS信号に隠れてしまっていて見えなくなっている可能性が考えられる。3つ目の問題点はサンプルであるディーゼル微粒子や基板、サンプル台などから揮発する成分による妨害信号である。レーザーイオン化では光路上にある中性分子をイオン化する。本来、集束イオンビームによりスパッターされた時に生成した中性分子が光路上に来るため、サンプルからの信号がイオン信号として検出される。しかしイオンビームによるスパッタリングではなくサンプルから直接揮発してしまうと、イオンビームとは関係なく光路上にある全ての中性分子がレーザーによってイオン化される。したがって、サンプルが集束イオンビームによってスパッターされた時だけではなく、揮発して漂っている中性分子がレーザーイオン化された時のイオン信号も検出されてしまうため、常にレーザーイオン化信号が出てしまいマッピング画像が得られなくなってしまう(図(3)-13)。



図(3)-13 揮発成分が多い場合の質量マッピング

試料基板上にベンゾ[e]ピレンの標準試料をのせて測定した場合。
全面から信号が出ている。

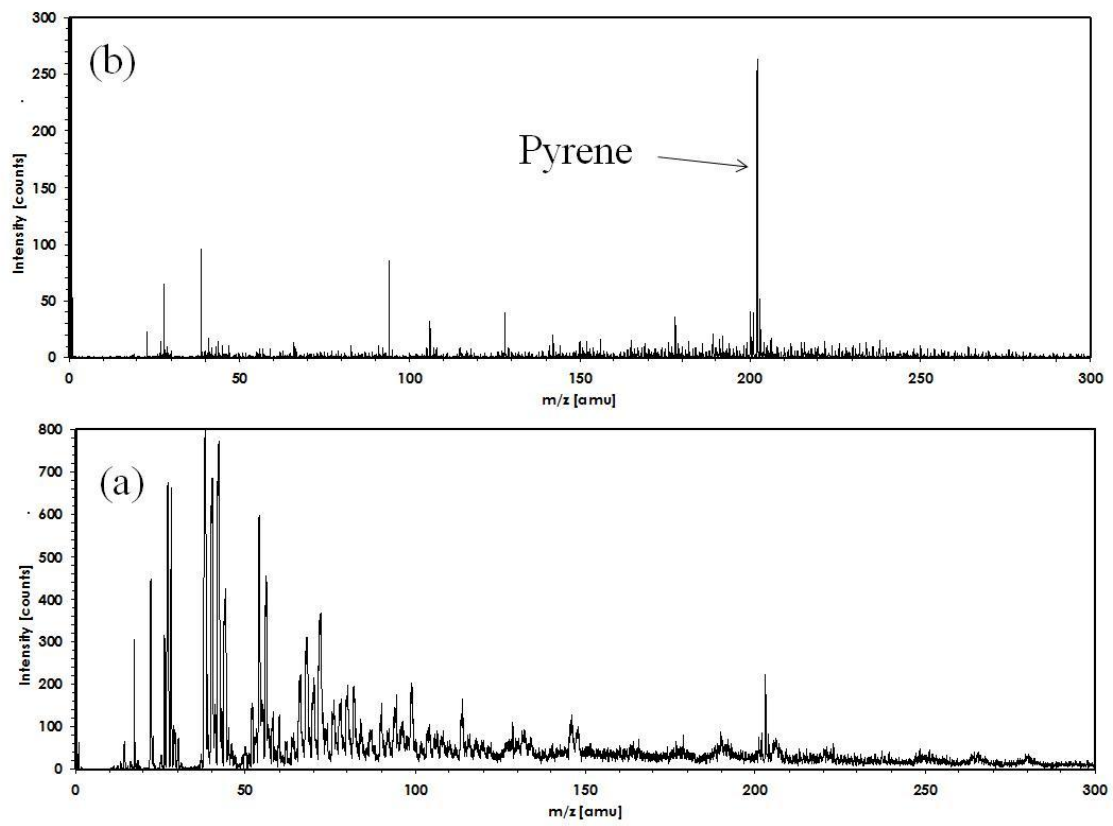
以上の3つの問題点を解決するために次のことを行った。1つ目の問題点を解決するために、使用するイオン化レーザーを30Hzのものから1kHzのものへと変更した。これまでは30Hzのレーザーの出力に比べ1kHzのレーザーの出力が非常に弱いため使用することができなかったが、新たに導入したレーザーではレーザーイオン化するのに十分なレーザー出力が得られるようになった。また集光レンズをより適切なものにすることでイオン化部分の体積を増やしイオン信号量を増やすことに成功した。この仕様の変更により質量マッピングが数分程度で得られるようになり、現実的な時間内での測定が可能となった。また、短時間での測定によりサンプルの変質や機械的な振動の影響なども受けにくくなり同一の測定条件での質量マッピングが可能となった。

次に2つ目の問題点であるSIMS信号の除去を試みた。これまではSIMS信号除去のためにイオンを質量分析計に引き込むタイミングをずらすとともに質量分析計のリフレクトロン部での反射電極の電圧調整によりSIMS信号を検出器に到達不可能とすることで、レーザーイオン化信号のみを検出するように調整していた。しかし、これだけではSIMS信号の除去が完全ではなくその多くがバックグラウンドノイズとして残ってしまいS/N比が悪くなってしまっていた(図(3)-14(a))。そこで、イオンビームを当てた際に生成するイオンを反発電場で一旦押し戻し消失させた後に、レーザーを照射し中性分子をイオン化させ質量分析計に引き込むように改良した。これにより大部分のSIMS信号を除去し、レーザーイオン化信号のみのS/N比の良い質量スペクトルを得ることに成功した(図(3)-14(b))。

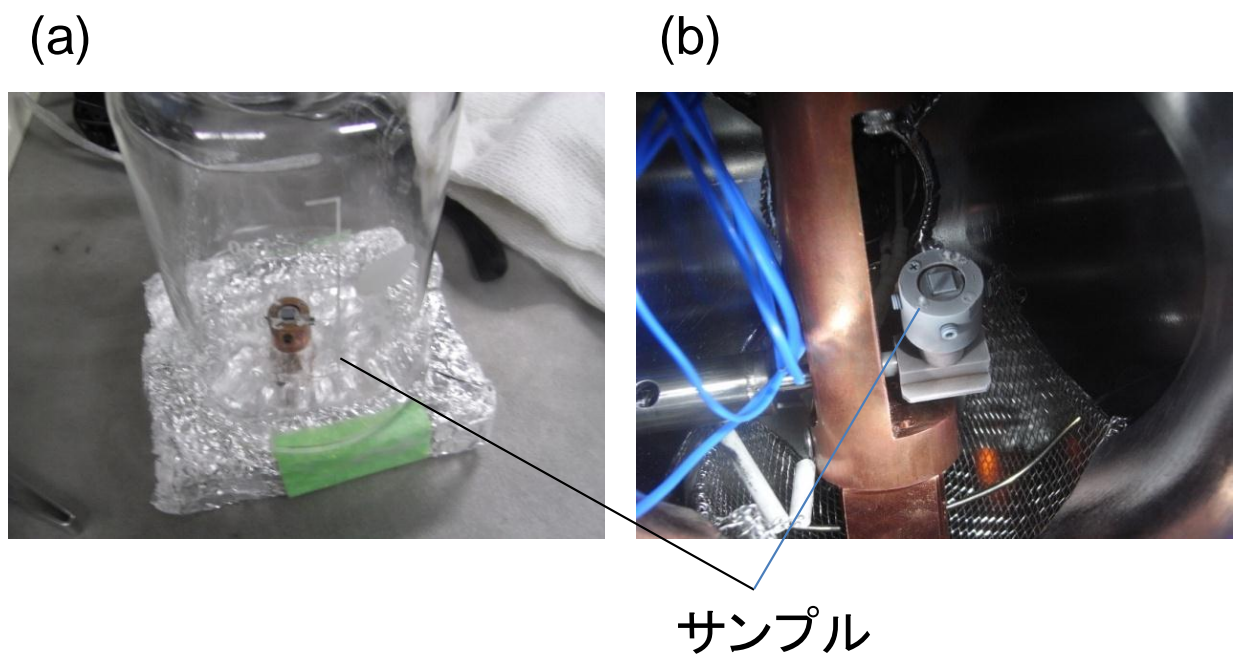
3つ目の問題点である揮発成分についてはサンプル基板を液体窒素で冷却することで揮発成分の除去を試みた。分析装置の真空槽内部にあるサンプル基板を真空槽の外側から液体窒素で冷却できるような空洞部を設置することで外部からの冷却を行った。しかし冷却温度が低すぎると集束イオンビームによるスパッタの効率が落ちるためサンプルがスパッタされず中性分子が発生しなくなるのでイオン信号が全く検出されない。そこで冷却部に導入する液体窒素の量を調節し適切な温度に保つように改良した。これにより室温における揮発成分は除去できるようになった。しかし、本研究で使用している分析装置は真空中で実験するものであるため本来室温では揮発しない成分でも真空槽内で揮発する可能性がある。したがって分析する直前にサンプルを冷却するだけではなく真空槽内に入れる前にサンプルを冷却しておく必要がある。そこでサンプルを真空槽に入れる前に液体窒素で冷却しておき、十分サンプルの温度が下がった時点で真空槽内に導入することとした(図(3)-15)。これによりサンプルからの揮発成分は十分除去できたと考えられる。しかしこの条件下で質量マッピング測定した場合でも揮発成分と考えられる妨害信号が多くみられた。そこでこの妨害信号はサンプルからだけではなくサンプルを設置する台や試料基板から発生する可能性があると考えた。このことを確認するためにサンプルをのせずに基板のみをサンプル台に設置して室温条件下での質量スペクトルの測定を行った。この時の質量スペクトルを図(3)-16に示す。図から分かるように数多くの揮発成分とみられるピークが観測された。したがってサンプル台などから多くの揮発成分が発生していると考えられる。そこでサンプル台など分析装置内部を十分洗浄することにより揮発成分の除去を行った。洗浄後に基板のみを設置した場合の室温条件下での質量スペクトルを図(3)-17に示す。図から揮発成分が大幅に減少したことがわかる。このようにした上で液体窒素で冷却することによりサンプル以外からの揮発成分の発生を減少させた。

以上のような改良により検出感度の向上、S/N比の改善を行いディーゼル微粒子中の有機物を検

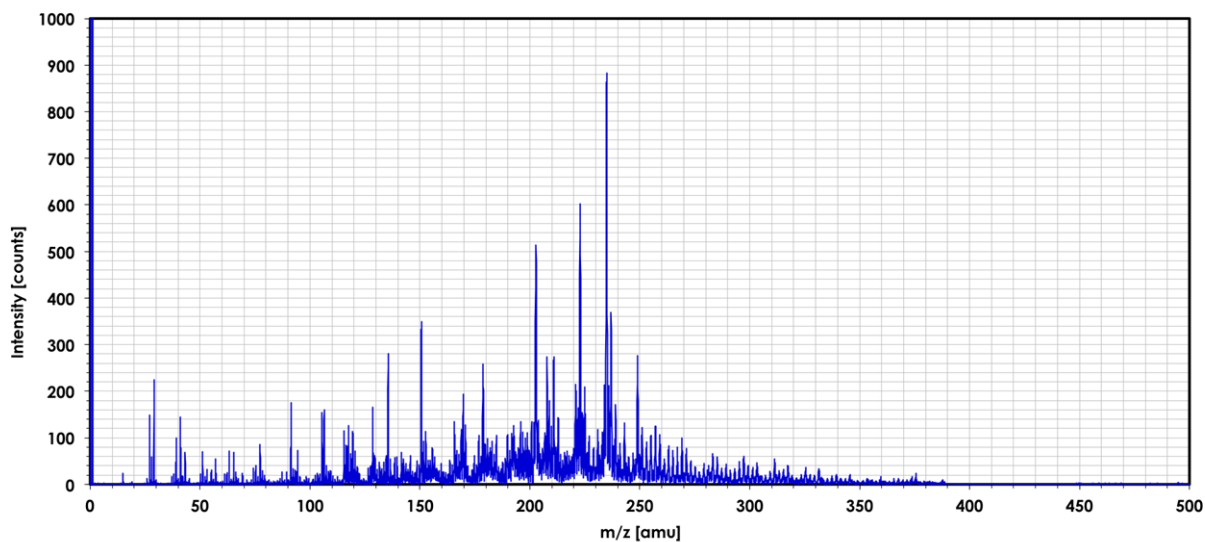
出、質量マッピングを試みた。



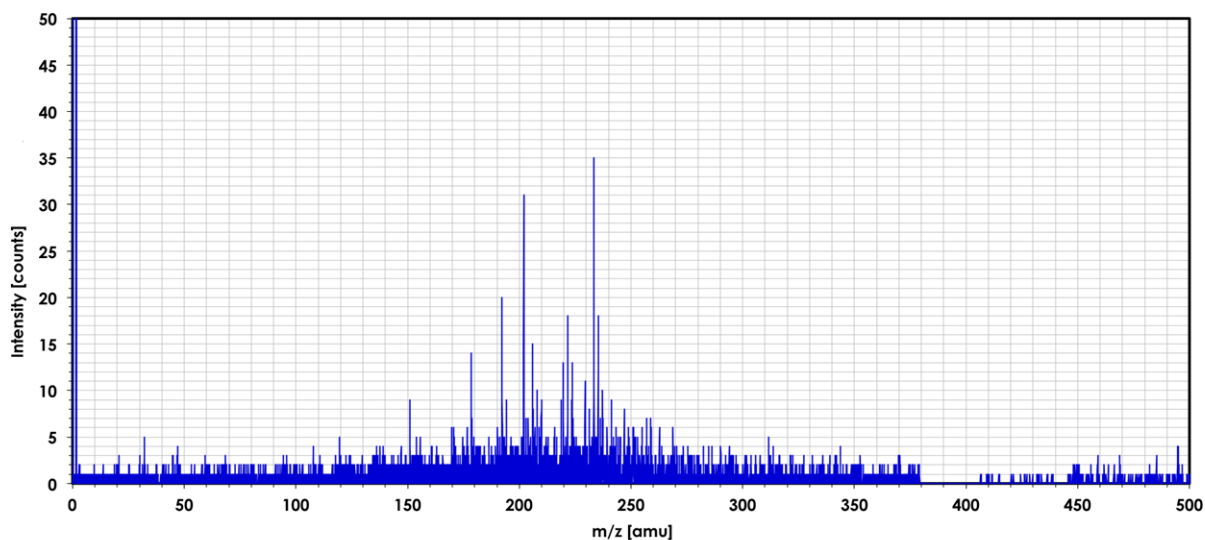
図(3)-14 質量スペクトルにおけるSIMS信号の除去(a)改良前(b)改良後



図(3)-15 (a)液体窒素で冷却中のサンプル、(b)真空槽内導入後のサンプル



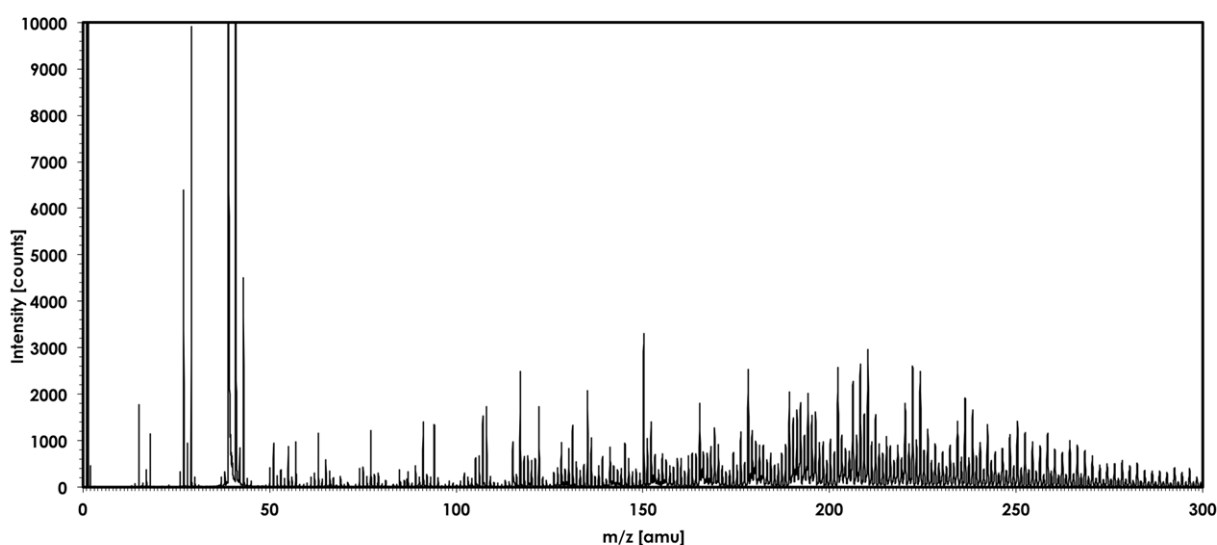
図(3)-16 サンプルなし基板のみ(洗浄前)の質量スペクトル



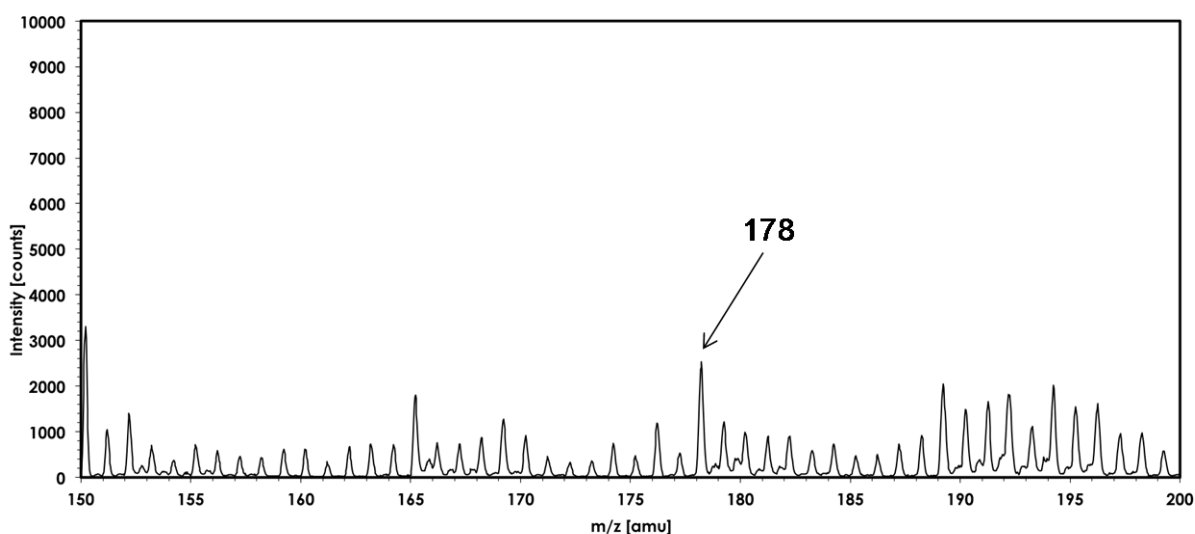
図(3)-17 サンプルなし基板のみ(洗浄後)の質量スペクトル

次にこのように改良した装置を用いてたばこ灰の質量マッピングを試みた。たばこ灰はディーゼル微粒子と同程度またはそれより多くのPAHsを含んでいると考えられるため質量マッピングが可能であると期待できる。たばこ灰は工学院大学内喫煙所の灰皿から採取した。はじめにたばこ灰中にPAHsが含まれているかどうかを確認するために室温条件下でたばこ灰中の揮発成分の質量スペクトルを測定した。この結果を図(3)-18に示す。図に示されたようにたばこ灰中には非常に多くの揮発成分が存在していることが確認された。また、この拡大図を図(3)-19、図(3)-20に示す。図よりPAHsと考えられる質量数178および質量数202のピークが確認された。次に液体窒素による冷却条件下においてたばこ灰の質量マッピングを試みた。得られた質量マッピング結果を図(3)-21に示す。左上の図は質量選別せず得られた各質量数全ての信号の積算値をモニターしたマ

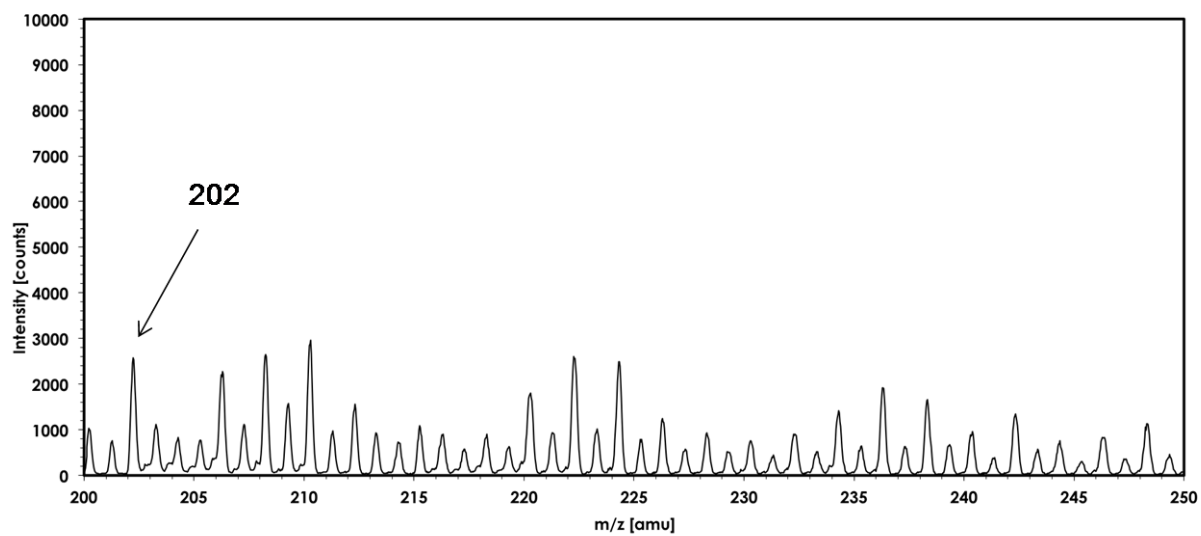
ッピング像であり黒い部分がたばこ灰の部分である。中上のK(質量数39)のマッピングではたばこ灰のある部分にKが分布している(赤い部分)のが分かる。また左下(質量数115)は基板として使用しているインジウムInの信号であり、たばこ灰ののっていない部分から信号が観測されておりKとは正反対の画像になっていることが見て取れる。右上(質量数94)、中下(質量数178)、右下(質量数202)のマッピングでも量としては少ないもののたばこ灰のある部分に分布があるのが分かる。これらの分布はレーザーイオン化信号の分布でありレーザーを照射した時のみ検出されているため、質量数94はVOCsの1つであるフェノール、質量数178はPAHsであるアントラセンまたはフェナントレン、質量数202はPAHsであるピレンまたはフルオランテンであると考えられる。以上のことから、本装置においてたばこ灰中の多環芳香族炭化水素の質量マッピングに成功した。



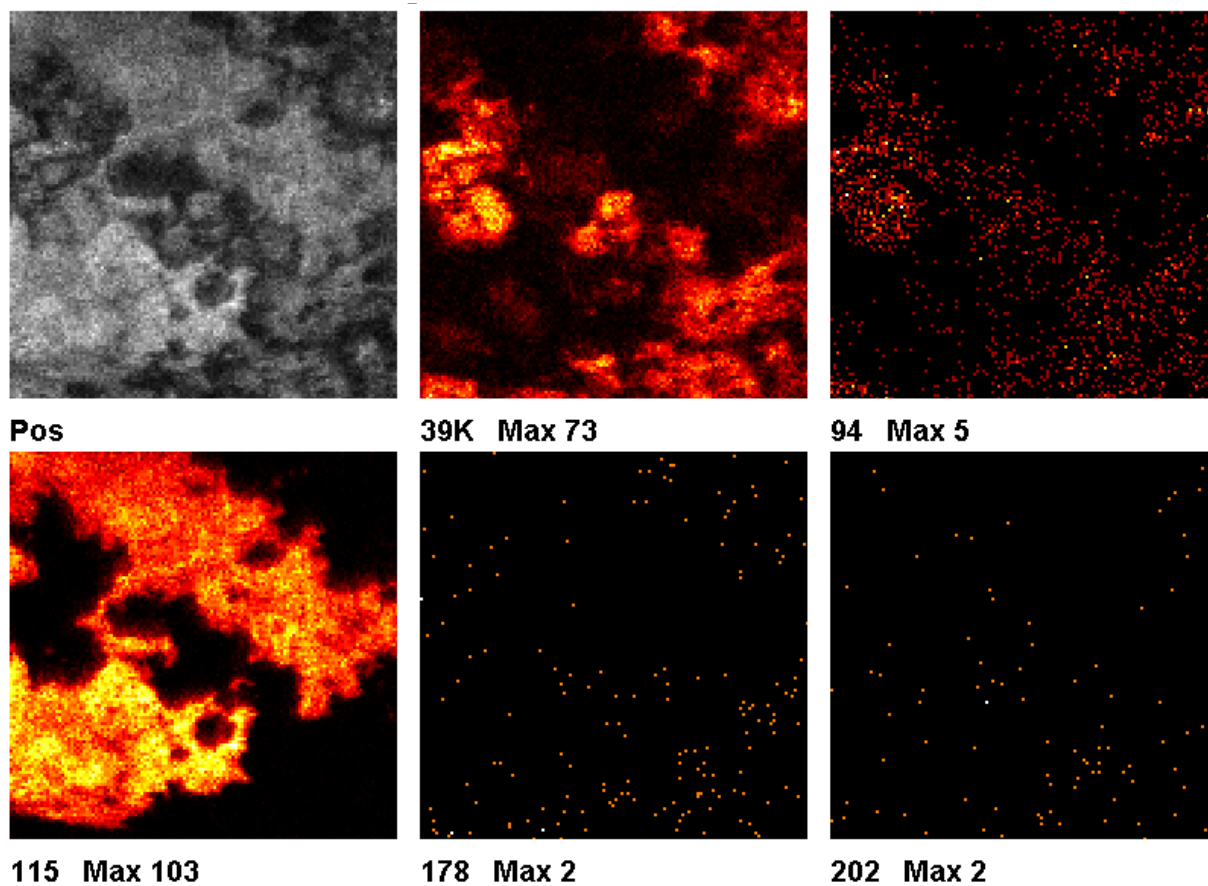
図(3)-18 たばこ灰中の揮発成分の質量スペクトル



図(3)-19 たばこ灰中の揮発成分の質量スペクトル(質量数150~200)

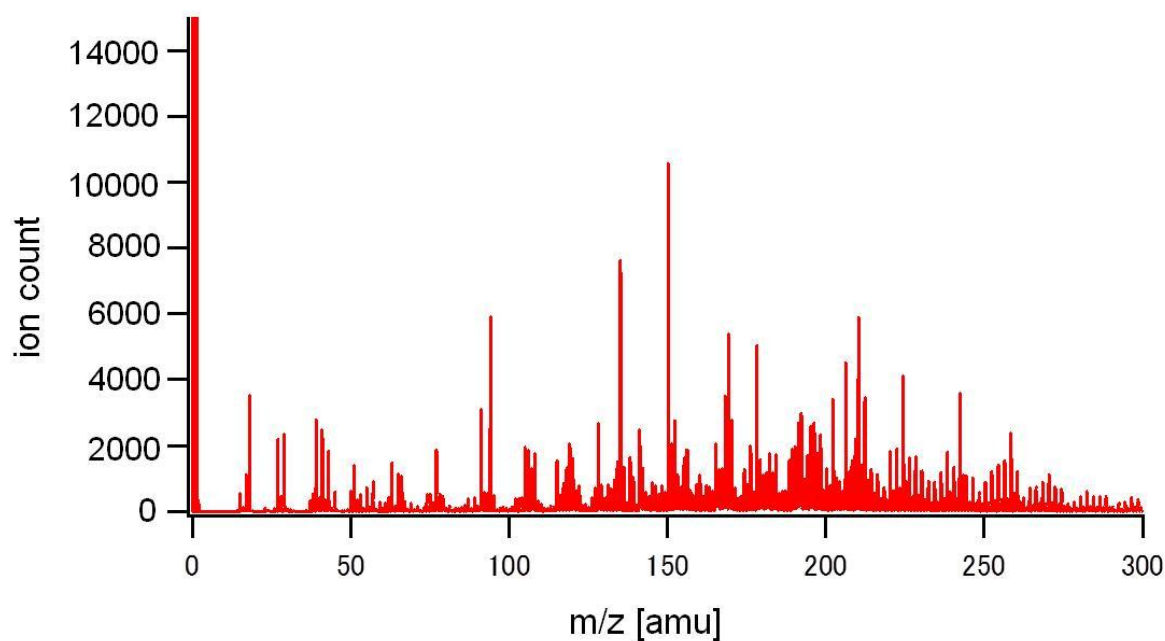


図(3)-20 たばこ灰中の揮発成分の質量スペクトル(質量数200~250)

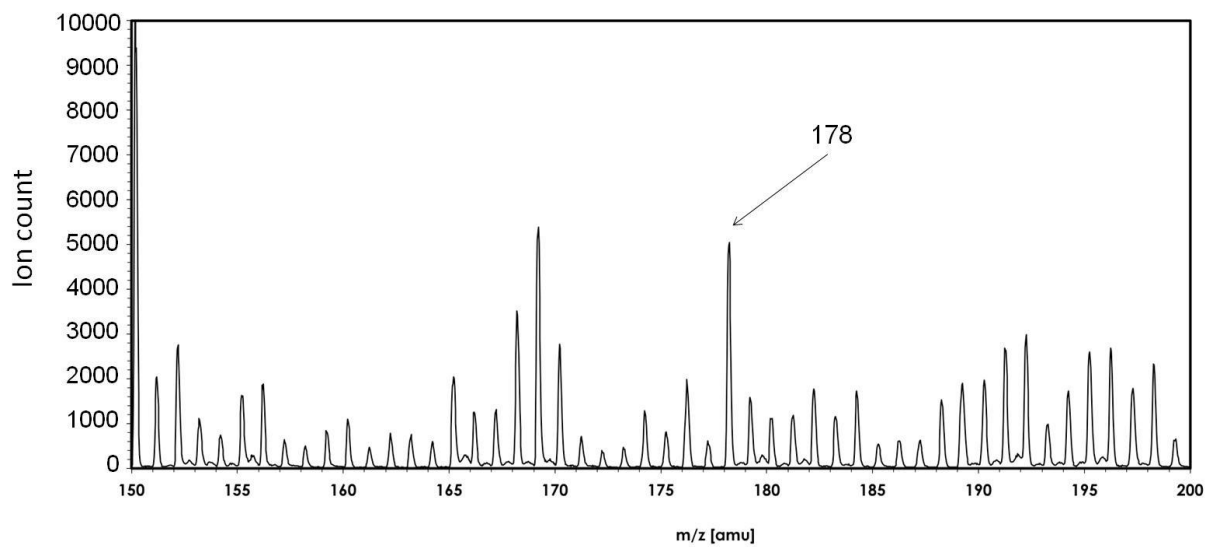


図(3)-21 たばこ灰の質量マッピング

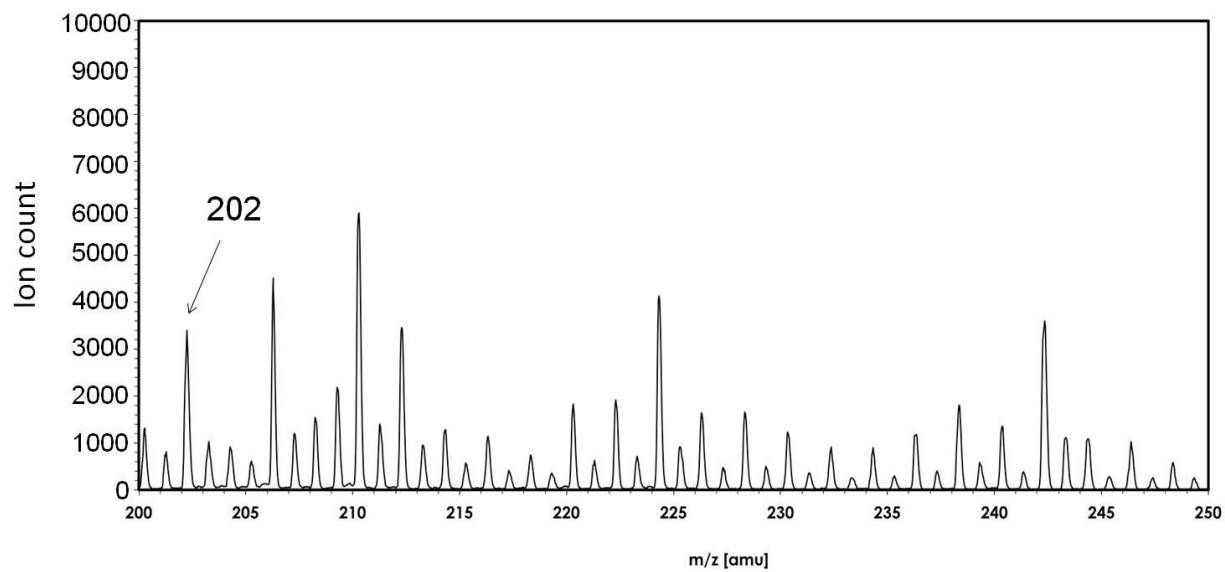
次に同様の手法を用いてディーゼル微粒子をインジウム基板にのせた際の $50\mu\text{m}\times 50\mu\text{m}$ の領域での質量マッピングを試みた。まずたばこ灰の場合と同様に室温条件下での質量スペクトルを測定しディーゼル微粒子中に揮発成分が存在するかを確認した。得られた質量スペクトルを図(3)-22に示す。たばこ灰の場合と同様にディーゼル微粒子の場合においても多くの揮発成分が観測された。またその拡大図を図(3)-23、図(3)-24に示す。たばこ灰の場合と同様にPAHsと考えられる質量数178および202のピークが観測された。次に液体窒素により冷却した条件でのディーゼル微粒子の質量マッピング結果を図(3)-25に示す。左上の図は各質量数全ての信号の積算値をモニターしたマッピング像であり黒い部分がディーゼル微粒子ののっている部分である。中上の図はCa(質量数40)でありディーゼル微粒子の部分に分布があるのが分かる。また右上の図は基板として使用しているインジウムの信号であり、ディーゼル微粒子がのっていない部分から信号が出ているのが分かる。しかし有機化合物の信号と考えられる左下(質量数178)、中下(質量数202)、右下(質量数128)の図では偏った分布は見られず全体に広がった分布となっており明瞭な質量マッピングを得るには至らなかった。これはディーゼル微粒子ではたばこ灰と比べた多環芳香族炭化水素の含有量が少なく、また、特に濃度の濃い部分もなく全体に薄く広がっているためと考えられる。



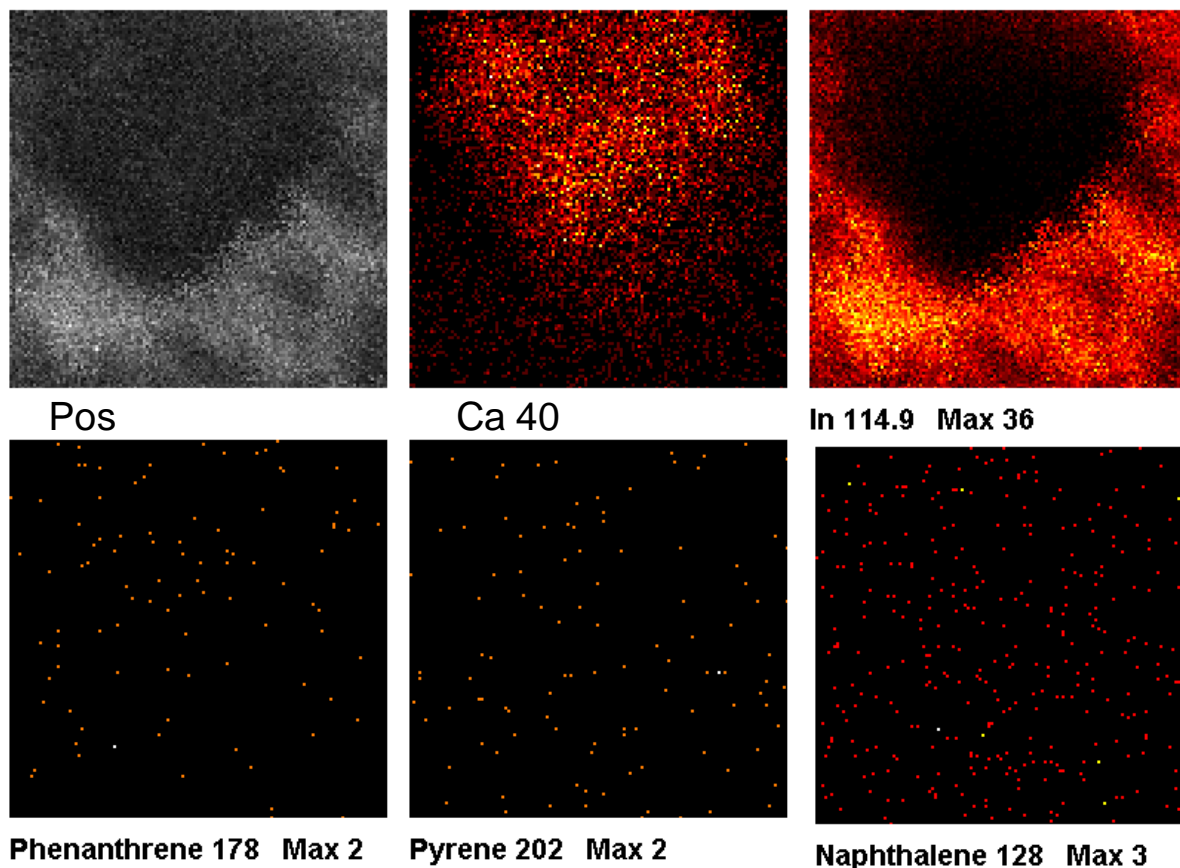
図(3)-22 室温条件下でのディーゼル微粒子中揮発成分の質量スペクトル



図(3)-23 室温条件下でのディーゼル微粒子中揮発成分の質量スペクトル(150~200)



図(3)-24 室温条件下でのディーゼル微粒子中揮発成分の質量スペクトル(200~250)



図(3)-25 ディーゼル微粒子の質量マッピング

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

各化合物の分析に適したレーザーイオン化波長を決定した。これまで基礎的な分光情報であるイオン化ポテンシャルや吸収波長の情報はあったものの、実際の測定においてイオン化確率(検出感度)を化合物ごとに比較した例はない。このような比較により分析装置と組み合わせるのに最適なレーザー波長を選定することが可能となった。これをFIB-SIMSと組み合わせることでディーゼルナノ粒子中の様々な有機化合物がイオン化・検出できるようになった。

FIB-SIMSとレーザーイオン化を組み合わせた分析方法による分析の結果、ディーゼルナノ粒子の化学組成としては有機化合物が特に多く含まれる粒子が一部に存在するのではなく、ほぼ同じ濃度の有機化合物を含む粒子のみで構成されていることが示唆された。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない

<行政が活用することが見込まれる成果>

ディーゼルナノ粒子の化学組成や生成条件などを詳細に解析することで、このような微粒子の健康影響に関する知見を得ることで環境政策へ貢献できると考えられる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文（査読あり）>

特に記載すべき事項はない

<査読付論文に準ずる成果発表>

特に記載すべき事項はない

<その他誌上発表（査読なし）>

特に記載すべき事項はない

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) 三澤健太郎、松井好子、今城尚志、石内俊一、藤井正明：日本分析化学会第59年会（2010）
「レーザーイオン化法を用いた芳香族炭化水素の高感度分析—分子種ごとの最適なレーザー波長の選定」
- 2) Kentaro Misawa, Jun Matsumoto, Kotaro Tanaka, Hiroyuki Yamada, Yuichi Goto, Shun-ichi Ishiuchi, Masaaki Fujii: Pacifichem2010 (2010)
“Molecular selective and real-time analysis for automobile exhaust using laser ionization methods”
- 3) 三澤健太郎、松井好子、今城尚志、石内俊一、藤井正明：日本化学会第91春季年会（2011）
「多環芳香族炭化水素のレーザーイオン化分析における検出感度のレーザー波長依存性」
- 4) Kentaro Misawa, Yoshiko Matsui, Takashi Imajo, Shun-ichi Ishiuchi, Masaaki Fujii: IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011 (ICAS2011) (2011)
“Quantification analysis of VOCs and PAHs using laser ionization methods”
- 5) 三澤健太郎、坂本哲夫、藤谷雄二：日本分析化学会第60年会（2011）
「レーザーイオン化法によるディーゼル微粒子中の多環芳香族炭化水素の分析—適切なレーザー波長の選定」
- 6) 三澤健太郎、君澤侑亮、松沢英世、藤井正明：第5回分子科学討論会（2011）
「共鳴多光子イオン化法によるp-tert-オクチルフェノールの電子スペクトルの観測—安定構造の決定」
- 7) 三澤健太郎、君澤侑亮、松沢英世、藤井正明：日本化学会第92春季年会（2012）
「環境微粒子中の多環芳香族炭化水素の分析を目指したレーザーイオン化法の確立」

- 8) 三澤健太郎、君澤侑亮、松沢英世、藤井正明：第72回分析化学討論会（2012）
「2波長レーザーイオン化法による多環芳香族炭化水素の異性体分離分析」
- 9) 三澤健太郎、坂本哲夫、藤谷雄二、藤井正明：日本分析化学会第60年会（2012）
「レーザーイオン化SIMSによるディーゼル微粒子分析」
- 10) Kentaro Misawa, Kenji Ohishi, Norihito Mayama, Tetsuo Sakamoto, Masaaki Fujii: 11th
International Symposium on Advanced Technology (2012)
“Individual particle analysis of PAHs in SPM using FIB-TOF-SIMS with laser ionization”
- 11) 堀江智子、三澤健太郎、今城尚志、藤井正明：日本化学会第93春季年会（2013）
「266nmレーザーイオン化によるハロゲン化多環芳香族炭化水素の質量分析」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない

(6) その他

特に記載すべき事項はない

8. 引用文献

- 1) Tetsuo Sakamoto, Jyunji Kawasaki, Masaomi Koizumi: Appl. Surf. Sci., 255, 1580-1583 (2008)
“Instrumental factors in resonance enhanced multi-photon ionization of FIB-sputtered atoms.”
- 2) Tetsuo Sakamoto, Masaomi Koizumi, Jyunji Kawasaki, Jyun Yamaguchi: Appl. Surf. Sci., 255, 1617-1620 (2008)
“Development of a high lateral resolution TOF-SIMS apparatus for single particle analysis.”
- 3) 坂本哲夫、藤井正明：化学と工業、63、802-803、(2010)
「レーザーイオン化/集束イオンビームによる単一ナノ粒子の履歴解析装置」
- 4) <http://webbook.nist.gov/chemistry>
“NIST Chemistry Webbook”

**New Analysis Method for Internal Mixture State of Diesel-origin Nanoparticles
(Contribution to Health-risk Research)**

Principal Investigator: Yuji FUJITANI

Institution: National Institute for Environmental Studies (NIES)
16-2 Onogawa, Tsukuba 305-8506, JAPAN
Tel: +81-29-850-2014 / Fax: +81-29-850-2014
E-mail: fujitani.yuji@nies.go.jp

Cooperated by: Kogakuin University, Tokyo Institute of Technology

[Abstract]

Key Words: Nanoparticle, FIB-SIMS, agglomerates, hazard quotient, particle surface area

Information on the physicochemical properties of inorganic and organic materials, such as the internal mixing structures of particles, is needed to understand the fate of particles after deposition in the lung and to accurately assess particle toxicity. The fates of particles are determined by their solubility, structure, and mixture state.

To investigate the internal mixture of inorganic and organic materials in diesel exhaust nanoparticles, we employed novel scanning electron microscopy equipped with gallium focused ion beam–secondary ion mass spectrometry (FIB-SIMS) coupled with laser ionization. Further, transmission electron microscope (TEM) was used to analyze morphology of agglomerates that were collected along a roadside and in diesel exhausts under high-idle and high-torque operating conditions. We collected particles of aerodynamic diameter of 100-630 nm with 4 size ranges using low-pressure impactor on the silicon wafer and particles of electrical mobility diameter of 30, 50, 70, and 100 nm using differential mobility analyzer and electrical precipitator on the silicon wafer and TEM grid. Then, we determined health risk of inhaled nanoparticles based on deposited dose of roadside environmental nanoparticle and their active surface area of agglomerates.

For 100 nm particles, oil particles and agglomerates were classified by FIB-SIMS observations. Then we analyzed morphology of agglomerates by TEM such as numbers of primary particle in agglomerates, primary particle diameters, and active surface area of agglomerates. We determine health hazard quotient based on active surface area in 3 case scenarios in different content of agglomerates. The hazard quotient was 0.013 for the worst-case scenario that is all aerosols in roadside environment are agglomerates, which was twice as case scenario that is all aerosols are spherical-shaped.

We found that it is possible that agglomerates would disagglomerate in the alveolar lining when agglomerates were to be deposited in the lungs. Diesel exhaust may be hydrophobic due to its organic surface cover, because lung surfactant is amphiphilic, the possibility that agglomerates become disagglomerated in alveolar fluid cannot be ruled out. If the agglomerates were to disagglomerate into nanometer-size particles, they could then behave as nanoparticles (e.g., penetrating the cell membranes and entering blood vessels to be transported by the blood to other organs). Hazard quotient in worst-case scenario that is all aerosols in roadside environment are agglomerates and becoming disagglomerated in the lung increases 4 times higher than that case scenario that is all aerosols are spherical-shaped.

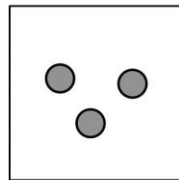
C-1002 ディーゼル起源ナノ粒子内部混合状態の新しい計測法 (健康リスク研究への貢献)

独立行政法人国立環境研究所

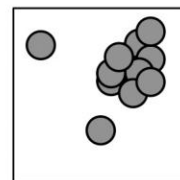
ディーゼルナノ粒子の電子顕微鏡による形態情報を取得する手法を確立した。その結果を環境中ナノ粒子に適用し、吸入した際のヒト健康リスク評価を行った

大型ディーゼル車が多く走行する沿道環境中におけるヒトの肺表面積あたりの粒子表面積曝露量を各浮遊状態の場合で比較した

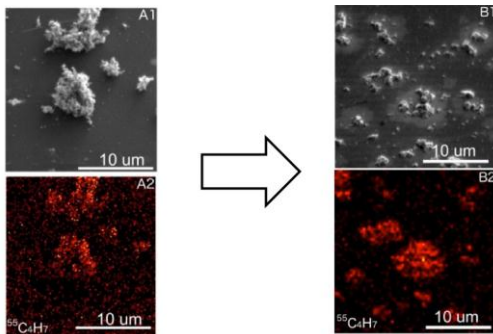
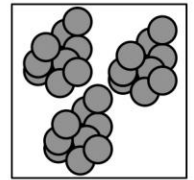
球形ケース



一部凝集体ケース
(環境中の実測値)



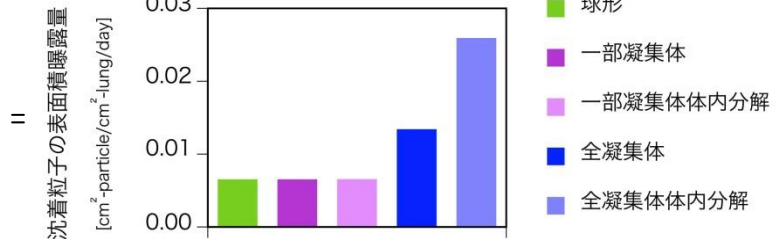
全凝集体ケース
(ワーストケース)



凝集体は肺胞沈着後に分解され、さらに複数の小さな粒子になることが示唆されたことから、凝集体が体内で分解される場合も想定した

結果

ハザード比



凝集体が分解する様子

主な成果

成分による影響を無視した炎症をエンドポイントに置いた場合に、沿道環境中の粒子表面積曝露量ではハザード比は低いことが分かった。

比較的大きな粒径の凝集体がナノ粒子のキャリアになりうるということが明らかになった。凝集体粒子が体内で分解された場合、分解されない場合に比べてハザード比が約2倍、球形粒子に比べて約4倍高まることが分かった。粒径60nm以下の凝集体の存在量がハザード比に大きく影響することが明らかになった。

ディーゼルナノ粒子の内部混合状態の把握は世界初である。粒径100 nm以下のディーゼル粒子には、炭素粒子とオイル粒子が存在することが明らかになった。オイル成分は肺の炎症との関連が指摘されており、オイルナノ粒子の存在を明らかにしたことは重要である。

エアロゾルとしての相当径が42nmの大きさの凝集体粒子が体内に沈着し分解した場合、実粒径8.6nmのコアが残ることが推定された。その大きさの粒子の体内動態を考慮する必要がある。