

Siハニカムフィルタによる SPMの捕集と3次元形状解析

木原 麻利央¹・澤 泰久²・野上 敦嗣³

¹学生会員 北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 (〒808-0135 北九州市若松区ひびきの1番1号)
E-mail: u3mac002@eng.kitakyu-u.ac.jp

²非会員 北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 (〒808-0135 北九州市若松区ひびきの1番1号)
E-mail: y_sawa@kitakyu-u.ac.jp

³正会員 北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 (〒808-0135 北九州市若松区ひびきの1番1号)
E-mail: nogami@kitakyu-u.ac.jp

本研究では、微粒子の個別捕集が可能なSiハニカムフィルタを使って、屋内や野外でのSPM(浮遊粒子状物質)の捕集実験を行い、画像処理によるSPMの自動計測や3次元形状解析を行った。フィルタは材質上の特性より、撓みが発生しないので、顕微鏡観察でも広視野で焦点を合わせることができ、さらに、導電性を有するので、蒸着処理をせずにSEMでの観察が可能になった。この特徴から、微粒子の迅速な定性的分析が可能になった。画像処理では顕微鏡画像を対象に二値化処理を行い、粒子を浮き彫りにしたうえで、膨張・収縮処理を施すことで、画像内のノイズを取り除いた。これにより、画像から粒子のみを抽出することができた。また、形状測定レーザーマイクロスコプを用いて、高さデータを取得し、各粒子の水平投射面積、体積を算出するシステムを開発した。

Key Words : Si honeycomb filter, SPM, PM2.5, image processing, three dimension shape analysis

1. はじめに

大気中に浮遊する粒子は、インフラ構造物や生産設備の劣化や人体の健康など、多岐にわたって影響を及ぼすことが知られており、発生源も多様に存在する。自然的に発生する海塩粒子は海岸沿いの建物や道路、橋を劣化し、人工的に発生する工場や自動車の排ガス由来のSPM、PM2.5は体内に侵入し、呼吸器系疾患の原因にもつながっている。これらの浮遊粒子を特定し、モニタリングや、コントロールすることは医療施設や食品、医薬品、半導体製造現場にとって極めて重要なことである。

SPM(Suspended Particulate Matter)は大気中に浮遊する、粒径が 10 μ m 以下の粒子状物質であり、浮遊粒子状物質とも呼ばれる。日本では 1973 年に環境基準が設定され、平成 24 年度では全国に存在する測定局数 1714 局(一般局 1320 局、自排局 394 局)のうち、99.7%が環境基準を達成している。これに続き、PM2.5 も健康影響への懸念から、2009 年に環境基準が設定された。標準測定方法はいずれも濾過捕集による重量濃度測定方法が用いられているが、測定値が 1 日平均値しか得られず、測定結果を得るまでに時間がかかるため、常時監視には、この方法によ

って測定された重量濃度と直線的な関係を有する量が得られる光散乱法、圧電天びん法もしくはベータ線吸収法によって行われている。

浮遊微粒子を特定する方法として、フィルタ上に粒子を多量にのせて、平均的な化学組成を測定するバルク分析法やX線やマイクロビームを用いて、粒子の個別分析を行う方法がある。また、環境浮遊微生物の場合、微生物を培地のあるシャーレに自然沈降、あるいはインパクターを使用して衝突させた後、培養することで種の同定・計数を行う方法や、DNAを染色して蛍光顕微鏡で確認するDNA染色法¹⁾などがある。しかし、時間的コスト、培養困難な微生物の存在、また、インパクターを用いた場合では容積を要するなど、難点が見られる。

デジタル画像処理は、情報工学的に画像を処理して、画像から有益な情報を取り出すために行われる。画像処理による粒子解析は広く使われている。特に、顕微鏡画像に対して有効で、顕微鏡観察法と比べても効率的であり、数値化して定量的に解析することができる。主に、画像処理によって個別粒子に対して粒子径、面積測定等の解析や、粒子の自動計数が可能になる。

Siハニカムフィルタ²⁾は撓みがなく、導電性を有する

ため蒸着処理なしでSEM分析が可能という特性から、粒子の浮遊した状態での捕集・分析や捕集後の迅速な光顕、SEM観察が可能である。微粒子を捕集・解析する機器は多く存在しているが、機能別に特化した機器が多く、用途別に使い分ける必要がある。Siハニカムフィルタは微粒子の捕集・解析が一貫して可能で、形状解析、個数濃度測定に適している。それらをコンピュータ上で自動的に行うことで、微粒子モニタリング技術の向上に寄与できる。これら特徴を生かし、本研究では微生物を扱う実験室、車通りの多い交差点等で捕集実験と、SPM粒子の3次元形状解析を行い、環境別の微粒子の形状を3次元的に解明することを目的とする。

2. 実験装置および方法

(1) Siハニカムフィルタ

Siハニカムフィルタはシリコンウェハーを元に、フォトリソグラフィ法を用いて作成したフィルタである。図-1にSEMで撮影したSiハニカムフィルタ表面の拡大図を示す。フィルタには孔径1~2 μm の孔が規則的に開いており、孔間1.5~2.5 μm ピッチのパターニングにより、開孔面積比率は70%に達する。孔径はフォトリソグラフィ法の露光で使うレーザーの最小線幅に応じて小さくすることができる。フィルタ部の直径は6mm ϕ 、膜厚は5 μm でフィルタ部と支持体との一体成形により構造強度を確保した。捕集時には専用の携帯サンプラに装着して使用する。孔径よりも大きい粒子をふるい分けると同時に、個々の粒子を凝集することなく、分離したまま捕集することが可能である。微粒子のアスペクト比が3以上のものはほぼ100%捕捉可能であり、繊維状粒子やアスベストなどの捕集にも有用である。また、材質の特性上、撓みが発生せず、被写体深度の浅い光学顕微鏡でも広視野で焦点を合わせることができる。さらに、導電性を有するため、蒸着処理せずにSEM観察が可能である。

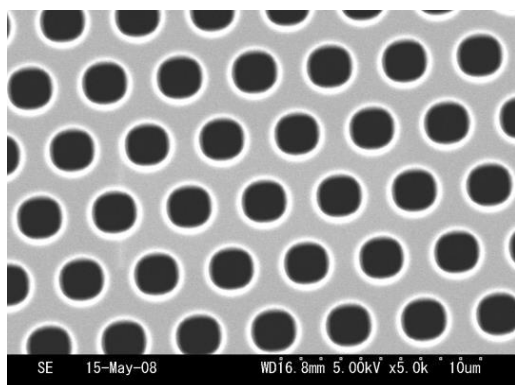


図-1 Siハニカムフィルタ表面

(2) SPM捕集および顕微鏡観察

捕集箇所は2か所設定し、それぞれ、大学内のバイオ系実験室と、交通量の比較的多い交差点付近とした。バイオ系実験室での捕集は2013年1月に実施した。実験室の気温は15 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度は60%であった。孔径1 μm のSiハニカムフィルタを装着した携帯サンプラを高さ1mの実験台に乗せ、2時間捕集した。交差点付近での捕集は2014年7月に実施した。捕集時の気温は30 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度は60%であった。孔径1.5 μm フィルタを装着した携帯サンプラを高さ1mの台に乗せ、2時間捕集した。いずれも捕集後はデジタル光学顕微鏡でフィルタの破損の有無や捕集状況を確認した。使用後のフィルタはデシケータにて保存し、後日、SEMや形状測定レーザーマイクロ스코プ(VK-X100/X200 キーエンス製)で分析を行った。形状測定レーザーマイクロ스코プでは試料の形状を非破壊で測定することができ、顕微鏡での観察範囲一帯の高さデータを測定することができる。高さデータはcsvファイルとしても出力することができ、顕微鏡付属のアプリケーションや画像処理ソフトで画像として扱うことができるため、本研究ではフィルタと捕捉された粒子の高さデータを取得した。

(3) 画像処理による自動計測

画像処理はレーザー顕微鏡で得た高さデータを対象に行い、ImageJを使用した。ImageJはアメリカ国立衛生研究所(NIH)で開発された画像処理ソフトウェアで、生物学、医学分野で広く使われており、粒子計測で使用する二値化、膨張・収縮処理を行うことができる。二値化は濃淡のある画像を任意に定めたしきい値によって黒と白の二階調の画像に変換する処理のことであり、画像から文字や図形を抽出する場合に用いられる。また膨張・収縮は二値化された画像に対して行われ、二値化によって発生したノイズを除去する処理である。実際に行った処理は以下の通りである。

- ①高さデータを二値化し粒子とフィルタ面を分離
- ②膨張・収縮処理でノイズ除去
- ③穴埋め処理により粒子内の穴を埋める
- ④粒子のナンバリング処理、計測

まず、ImageJで読み込まれた高さデータ(元データ)に二値化処理を行った。二値化は粒子と背景であるフィルタを分離するために行われるが、高さデータに対して従来の二値化処理を行うと、粒子だけがうまく分離されないため、フィルタの孔のみを削除できる、Siハニカムフィルタに適した二値化処理方法を模索した。二値化処理を施した高さデータには、ノイズが残るため、膨張・収縮処理を行い、ノイズを取り除いた。粒子の穴埋め処理を行い、その後、ImageJで粒子計測を行った。

(4) 3次元形状解析

3次元形状解析には画像処理で抽出した粒子の高さデータとフィルタ捕集面の平均高さが必要になるので、元データからそれぞれ別々に抽出する必要がある。粒子の高さデータの抽出時は元データと画像処理後の二値画像を使用して、画像演算により行われた。ImageJで両データを読み込み、積算を行い、粒子以外の高さデータを除去し、粒子の高さデータのみを抽出した。フィルタ捕集面の抽出も元データと画像処理後の二値画像を使用した。平均高さ算出時は、外れ値を除外して算出した。外れ値は抽出されなかった小さい粒子の高さデータが主な要因である。それを除外するために、一度、外れ値を含んだ状態で、平均値 μ 、標準偏差 σ を算出し、 $\mu \pm 3\sigma$ に含まれないものを外れ値として除外し、再度、平均値、標準偏差を算出し、フィルタ捕集面の分布図を作成した。その後、粒子の高さとフィルタ捕集面の平均高さを利用して粒子の水平投射面積、体積を算出するプログラムをExcelのVBAを用いて作成し、実行した。面積は各々の粒子にあたる部分のセル数を積算し、単位換算することで算出し、体積は粒子にあたる部分の高さデータを積算し、補正値を引くことで算出した。

3. 結果・考察

(1) SPM捕集および顕微鏡観察

バイオ系実験室で捕集に使用したフィルタをSEMで撮影したものを図-2に示す。捕集した粒子はフィルタ捕集面上に偏りなく、均等に見られ、個別捕集ができた。バイオ系実験室は孔径と同じ $1\mu\text{m}$ ほどの大きさの粒子が多く見られた。形状は円形、楕円形のものが多く存在していた。これらの中には微生物が含まれていると推測される。フィルタを拡大すると孔よりも小さい粒子が孔の間に捕捉されていた。一方、交差点付近で捕集に使用したフィルタをSEMで撮影したものを図-3に示す。屋外で交差点付近では実験室よりも大きい粒子が見られた。孔よりも大きな粒子が捕捉され、中には $10\mu\text{m}$ を超える粒子が捕集された。形状は円形のような粒子のほかにも不定形の粒子が捕捉されたことが確認された。

形状測定レーザーマイクロ스코プで観察し、高さデータの取得後、形状測定レーザーマイクロ스코プ付属の観察アプリケーションを使用し、フィルタ上の粒子を3D画像表示した(図-4)。粒子の大きさや形状が視覚的に捉えることができた。しかし、形状はノイズにより、詳細な様子が見られなかった。高さデータの計測に使用されるレーザーのスポット径が $0.2\mu\text{m}$ であり、それよりも微小な形状は捉えられないこと、また、形状が細かいためにノイズが発生しやすいことが要因であると考えられ

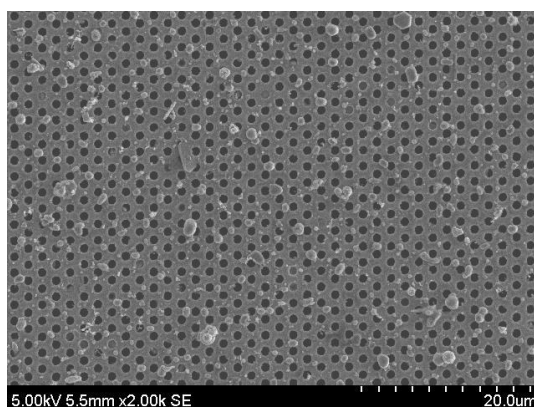


図-2 バイオ実験室で捕集したSPMのSEM像

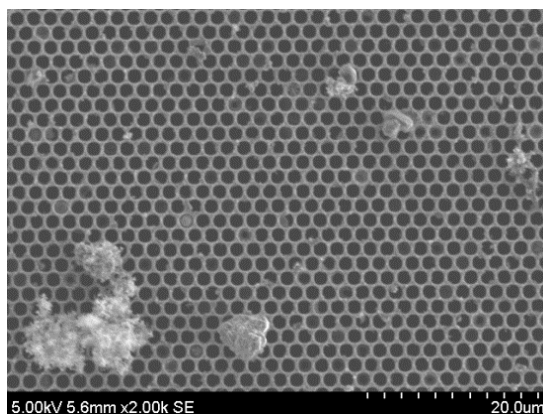


図-3 交差点付近で捕集したSPMのSEM像

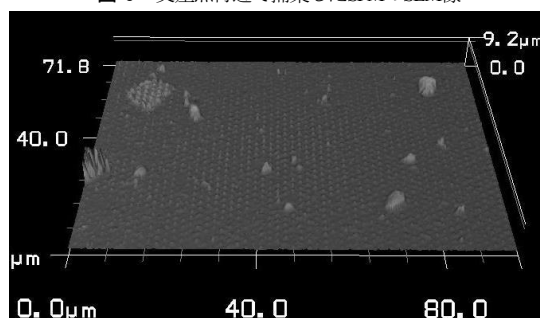


図-4 形状測定レーザーマイクロ스코プによる3D画像

る。フィルタの孔は小さな隆起として表示されており、正確な表示がされていなかった。また、孔と同程度の大きさの粒子は表示されなかった。

(2) 画像処理による自動計測

フィルタと粒子を分離するための二値化の方法としては、従来の方法である固定しきい値ではなく、動的しきい値の中から本研究に適した二値化方法を模索した。動的しきい値法は着目ピクセルごとにしきい値が変化する方法で、着目ピクセルとその周囲の画素値がしきい値を決定する要素である。

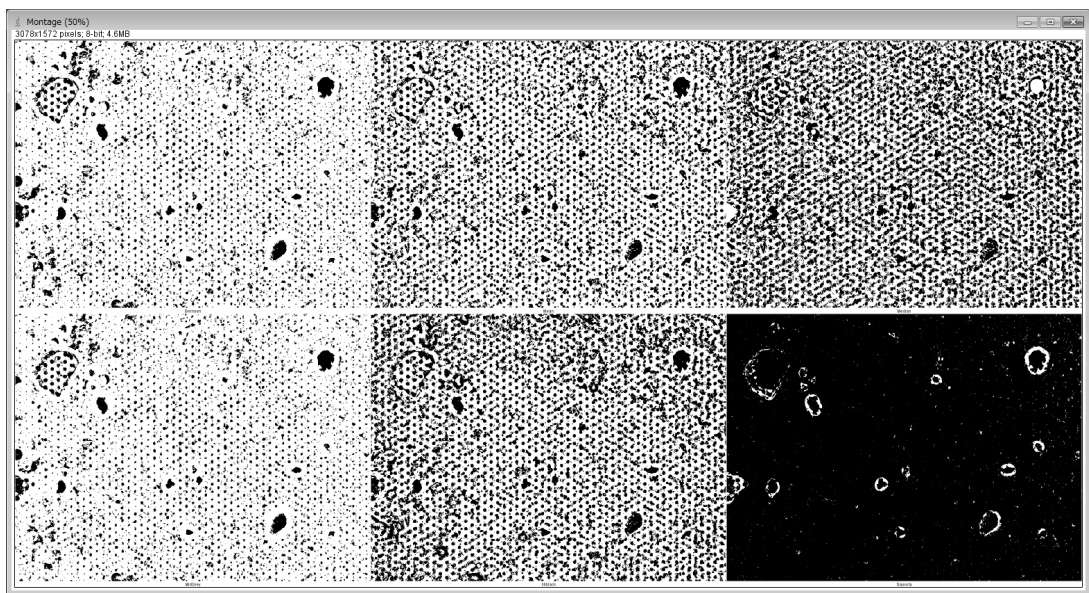


図-5 6種類の動的しきい値法の比較

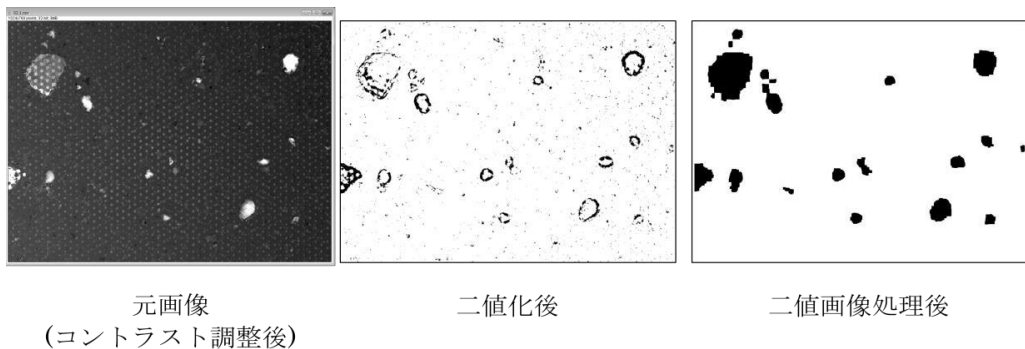


図-6 画像処理結果

図-5は6種類の動的しきい値法で二値化した場合の比較図である。上段左からBensen法、Mean法、Median法、下段左からMidGray法、Niblack法、Sauvola法³⁾の順に並んでいる。右下のSauvolaの方法以外は粒子とフィルタの孔が抽出されていることが分かり、特に、Median法、Niblack法はノイズが多く残ることが確認された。一方Sauvolaの方法はフィルタの孔が削除されており、かつ、粒子のみが抽出されている結果となった。この二値化方法は画像内に影や高原による色ムラがある場合に有効である。Sauvolaの方法では対象ピクセル (x,y) のしきい値 $T(x,y)$ が周囲の画素平均値 $m(x,y)$ と標準偏差 $s(x,y)$ より決まるものであり(1)式で求めることができる。

$$T(x,y) = m(x,y) \times \left[1 + k \times \left(\frac{s(x,y)}{R} - 1 \right) \right] \quad (1)$$

R, kは任意定数でImageJで処理する際は初期値として、 $k=0.5$, $R=128$ が与えられている。初期値を使用して処理を行うと、粒子、フィルタの孔とともに抽出できなくなる

ため、数値を入れ替えて試算したところ、 $k=0.15$, $R=128$ で処理するとフィルタの孔が除去されて、粒子のみを抽出することができた。図-4や図-5での処理はこの値を使用して処理したものである。この結果からSauvolaの方法はSiハニカムフィルタに適した二値化方法であると考えられる。図-6はSauvolaの方法を用いた画像処理結果である。左端は画像処理する画像で、視認性を高めるために、コントラストを調整している。中央はSauvolaの方法で二値化したものである。抽出された粒子以外に、ノイズが確認された。右端は膨張・収縮などの二値画像処理後の画像である。膨張・収縮を同数回行い、二値化で発生したノイズを取り除いた。また、この処理後も粒子内に穴が残っているものが見られたため、穴埋め処理により、粒子内の穴を塞いだ。この結果、画像処理で残った粒子の数は20個となった。しかし、この結果で得られた粒子の中には、粒子同士の接続が確認できる。これは二値画像処理によって、二値化したときよりも粒子が

大きくなっていることを意味する。今後は、接続を切断し、粒子の大きさを二値化したときと同程度にするような処理が必要になる。

(3) 3次元形状解析

元データはcsvファイル、画像処理後の二値画像データはtxtファイルで出力されているのでExcelで両データを読み込むことができる。Excelで確認すると、元データには粒子の高さとフィルタの捕集面の高さが整数値で出力されており、二値画像データには粒子部分には整数値が、フィルタ捕集面には0が出力されている。両画像の縦横の大きさ、画素数が同じため、ImageJ内の画像演算で同位置のピクセルの値を掛けることで粒子部分は整数値になり、フィルタ捕集面は0になる。したがって、この処理で粒子の高さデータのみを抽出することができた。

フィルタ捕集面高さは二値画像データの粒子とフィルタの数値を入れ換えて、粒子高さデータの抽出と同様の処理をすることで得られた。直後に集計すると、データ数が742337個、平均 $2.59\mu\text{m}$ 、標準偏差 $2.01\mu\text{m}$ であった。また、最大値が $9.7\mu\text{m}$ 、最小値は $1.6\mu\text{m}$ であった。この結果は抽出されなかった粒子の高さデータであることや、測定時に起こったノイズの影響がある。平均と比較しても明らかに差が大きく、フィルタが大きく撓まないことを考慮して、最大値は外れ値であると推測できる。 $\mu\pm 3\sigma$ に含まれなかった外れ値を除外し、再度、集計すると、データ数が739157個、平均 $2.59\mu\text{m}$ 、標準偏差 $1.59\mu\text{m}$ であった。再集計後にフィルタ捕集面高さの分布を作成したものが図-7である。平均付近に多く分布しており、 $2.5\mu\text{m}$ から $2.7\mu\text{m}$ までに70%分布している結果となった。フィルタ捕集面の撓みが小さく、フィルタが平坦であることが明らかとなった。集計により得られた捕集面の平均値 $2.59\mu\text{m}$ を粒子の面積・体積の算出に使用した。

図-8と表-1はそれぞれ、抽出した粒子のナンバリング図とExcelのVBAプログラムで算出した粒子の面積・体積を示したものである。図-7と表-1の粒子番号はそれぞれ対応している。抽出された粒子の面積はいずれも孔の面積よりも大きいことが明らかになった。4番の粒子が

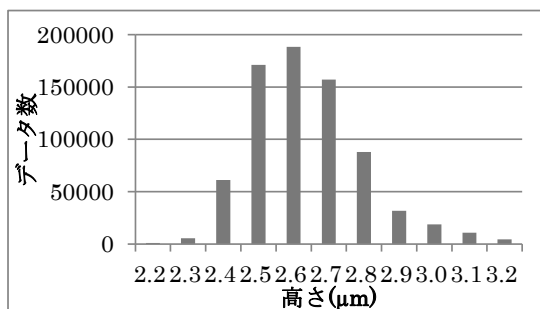


図-7 フィルタ捕集面高さ

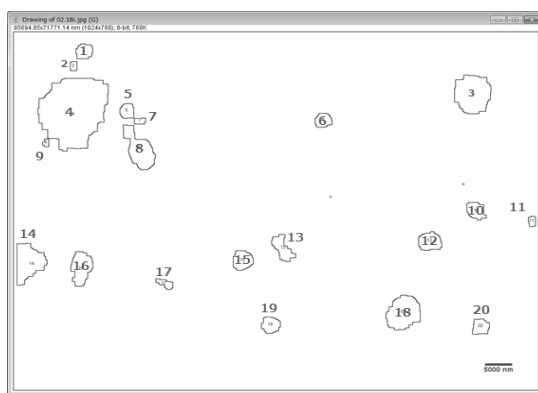


図-8 抽出粒子の番号

表-1 粒子の面積および体積

粒子	面積(pixels)	面積(μm^2)	体積(μm^3)
1	876	7.65	3.64
2	250	2.18	1.10
3	4762	41.59	39.73
4	15767	137.7	79.41
5	747	6.52	2.71
6	806	7.04	2.52
7	264	2.31	-0.38
8	3213	28.06	21.82
9	165	1.44	0.04
10	1064	9.29	2.01
11	273	2.38	0.23
12	1438	12.56	5.17
13	1343	11.73	3.40
14	3474	30.34	46.18
15	1316	11.49	6.31
16	2241	19.57	13.62
17	430	3.76	1.15
18	3753	32.78	26.07
19	1011	8.83	3.95
20	902	7.88	1.59

最も大きく、面積が $137.7\mu\text{m}^2$ 、体積は $79.41\mu\text{m}^3$ であった。また、7番粒子の体積はマイナス値になった。原因としては、粒子が孔に引っかかり、部分的に捕集面に捕捉された可能性があると考えられる。

4. 結論

本研究では、微粒子の個別捕集が可能なSiハニカムフィルタを使って、屋内や野外でのSPM(浮遊粒子状物質)の捕集実験を行い、画像処理によるSPMの自動計測と3次元形状解析を行った。フィルタは材質上の特性より、撓みが発生しないので、顕微鏡観察でも広視野で焦点を

合わせることができ、さらに、導電性を有するので、蒸着処理をせずにSEMでの観察が可能になった。この特徴から、微粒子の迅速な定性的分析が可能になった。画像処理では顕微鏡画像を対象に二値化処理を行い、粒子を浮き彫りにしたうえで、膨張・収縮処理を施すことで、画像内のノイズを取り除いた。これにより、画像から粒子のみを抽出することができた。また、形状測定レーザーマイクロ스코プを用いて、高さデータを取得し、各粒子の水平投射面積、体積を算出するシステムを開発した。実際に計算すると、抽出された粒子はすべて孔よりも大きいことが定量的に明らかになった。

参考文献

- 1) 石松維世, 安部太喜, 福田和正, 石田尾徹, 谷口初美, 保利一: 職場における浮遊微粒子濃度の測定と細菌叢の解析, 産業衛生学雑誌, 49, pp.39-44, 2007.
- 2) 野上敦嗣, 富永英作, 澤泰久, 村田朋美, 工藤義高, 田中賢, 下村政嗣: エアロゾル粒子の個別分析に適するハニカム膜フィルタの開発, エアロゾル研究, 第23巻, 第2号, pp.127-133, 2008.
- 3) Sauvola, J. and Pietikäinen, M.: Adaptive document image binarization, *Pattern Recognition*, Vol.33, pp225-236, 2000.

(2014.7.11 受付)

SAMPLING OF SUSPENDED PARTICULATE MATTER USING SI HONEYCOMB FILTER AND THREE DIMENSION SHAPE ANALYSIS OF CAPTURED PARTICLES

Mario KIHARA, Yasuhisa SAWA and Atsushi NOGAMI

A novel Si honeycomb filter which is able to capture particles individually has been developed. Suspended Particulate Matter (SPM) were collected using Si honeycomb filter, counted automatically and analyzed its three dimensional shape by ImageJ that is an image processing program. Si honeycomb filter has perfectly flat surface and its pore size is 1 to 1.5 μ m in diameter. Captured aerosol can be immediately analyzed by SEM without vapor deposition process. Due to flat and no sag surface, the deflection of captured particles is not happened and the wide area observation by optical microscope with good focus is possible. Microscope images are binarized and used image processings to extract particles. Height data of filter and particles are measured by lazer microscope. Systems that calculate area and volume of particles are developed.