

レーザー直接赤外イメージングとユーザー作成ライブラリによる環境サンプル中のマイクロプラスチックの特性解析

Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムと構築が容易なスペクトルライブラリを用いたマイクロプラスチックの高速解析



著者

Wesam Alwan, Darren Robey
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、オーストラリア・ビクトリア州ソレントのビーチから収集された多岐にわたる大きなプラスチック片から発生したマイクロプラスチックの化学組成を同定します。化学物質の同定は、Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) ケミカルイメージングシステムの完全自動化された粒子解析メソッドを使用して行いました。本研究ではまた、Agilent Clarity LDIR 機器コントロールソフトウェアを使用したライブラリ作成の使いやすさとシンプルさについても紹介します。

はじめに

水域、土壌、大気、飲料水のマイクロプラスチック汚染は、環境への脅威となり始めていることから、人々の大きな関心を集めるようになってきています。¹水中のマイクロプラスチック粒子は膨大な数に及ぶ可能性があり、マイクロプラスチックへの暴露がもたらさうる悪影響について、科学コミュニティで関心が高まっています。

従来マイクロプラスチックの特性解析には、顕微分光がよく用いられてきました。ラマンおよびフーリエ変換赤外 (FTIR) 顕微分光が最も一般的に使用される技術です。ただし、これらの技術はいずれも、データ取得に時間がかかり、1つのサンプルを処理するのに数日かかることもめずらしくありません。サンプル解析時間の課題を克服するには、ポリマーを同定し、粒子数とサイズに関するデータを提供できる、より迅速なルーチン手法が必要です。8700 LDIR ケミカルイメージングシステムは、マイクロプラスチックの特性解析を行う目的で自動化された簡単かつ迅速な方法を実現し、環境中の微量な汚染粒子のルーチン検査を可能にします (図 1)。

8700 LDIR は、半導体ベースの量子カスケードレーザー (QCL) を赤外光源として使用します。QCL では、電子が一連の量子井戸をトンネリングして光を放出します。これらの特性により、QCL は $1,800 \sim 975 \text{ cm}^{-1}$ の波数 (λ^{-1}) 範囲で迅速に変化させることが可能です。シン



図 1. Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステム。

グルポイント熱電冷却型水銀カドミウムテルル (MCT) 検出器と高速スキャン光学機器との組み合わせで、2つの有用な動作モードが生まれます。1つ目のモードは、LDIR が単一の波長を選択し高速でサンプル上を移動しながら対物をスキャンします。2つ目のモードでは、QCL が全波長範囲を掃引する間、対物を単一のポイントに固定し、1秒未満で全スペクトルを取得します。

本研究では、Agilent Clarity ソフトウェアでライブラリを簡単かつ手軽に作成して、オーストラリアのビーチで収集したプラスチックサンプルから生成されたマイクロプラスチックを同定できることを実証します。マイクロプラスチックの特性解析には、ユーザー入力をほとんど必要としない 8700 LDIR 用の完全自動化された粒子解析メソッドを使用しました。

実験方法

ライブラリの作成

8700 LDIR メソッドの同定の信頼度性能を検証するために、100% 合成の純粋なポリマーから小規模ライブラリを作成しました。さまざまな形状とサイズのマイクロプラスチック材料 (SP2 Scientific Polymer Products Inc、ニューヨーク州、米国から入手。ポリマーサンプルキット、部品番号 205) の純粋サンプルのペレットをコーヒングラインダーで粉碎して非晶質粉末を作製しました。粉末 (約 10 mg) を無水エタノール (CAS No: 64-17-5) に懸濁し、ピペットで赤外線反射スライドガラス (7.5 × 2.5 cm、MirrIR、Kevley Technologies、オハイオ州、米国) に移しました。作成されたライブラリに含まれるプラスチックを表 1 に示します。

表 1. LDIR ユーザー作成ライブラリに含まれるポリマー。

タイプ	略語	カタログ番号 参照物質	提供形態
ポリ(テトラフルオロエチレン)	PTFE	203	粉末
ポリメチルメタクリレート	PMMA	377	粉末
ポリ(エチレンテレフタレート)	PET	138	ペレット
ポリカーボネート	PC	035	ペレット
ポリスチレン	PS	039A	ペレット
ポリプロピレン、アイソタクチック	PP	130	ペレット
ナイロン6 [ポリ(カプロラクタム)]	PA	034	ペレット

ポリマーの種類ごとに、異なるサイズの粒子から得られた 2 つまたは 3 つのスペクトルをライブラリに追加しました。Clarity ソフトウェアを用いてユーザーは、ライブラリとスペクトルを簡単に管理できます。サンプルまたは標準から LDIR データを収集した後、次の手順と図 2 で説明するように、目的のスペクトルをライブラリに追加できます。

1. 「add library (ライブラリの追加)」アイコンをクリックします (図 2 を参照)。
2. ライブラリ名を入力します。図 2 では、ライブラリ名は「Agilent Local Library」です。
3. ライブラリのロックを解除してスペクトルを追加できるようにするには、lock (ロック) アイコンをクリックします。
4. 解析後、目的のスペクトルを選択します。
5. スペクトルをライブラリに追加するには、指定されたライブラリ名の横にあるボックスにチェックを入れます。
6. スペクトルが追加されたことを確認するには、スペクトルライブラリを開きます。
7. ドロップダウンメニューから、目的のライブラリを選択します。
8. 手順 4 で追加したスペクトルを選択し、適宜名前を変更します。図 2 では、スペクトルの名前を「polypropylene (ポリプロピレン)」に変更しています。

ライブラリが生成された後、次の手順と図 3 で説明するように、以前に収集されたデータを簡単かつ迅速なプロセスで再解析できます。

1. 粒子解析ファイルで再処理の矢印を選択します。
2. ドロップダウンメニューから目的のライブラリを選択します。
3. チェックアイコンをクリックします。
4. 新しい粒子解析ファイルが表示され、新しい統計データを確認できます。

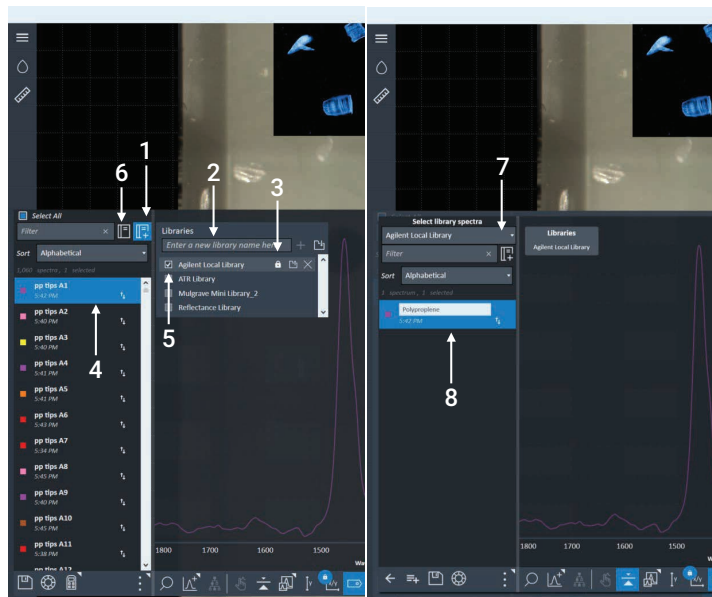


図 2. Agilent Clarity ソフトウェアを使用した LDIR ライブラリ作成手順。



図 3. Agilent Clarity ソフトウェアを使用した、生成/転送されたライブラリスペクトルのデータ再処理手順。

サンプル前処理法

プラスチックの破片は、オーストラリア・ビクトリア州のソレントビーチから無作為に収集されたものです。この研究では、環境中で目に見えて劣化した 2 つのサンプルを選択しました (図 4)。

不規則な形状とサイズのマイクロプラスチック粒子を生成するために、サンプルは刃物を使ってすり砕きました。次に、粒子をバイアルに移し、さらに処理することなく 1 mL の無水エタノール (CAS No: 64-17-5) に懸濁しました。ピペットを使用して、粒子/エタノール懸濁液を 2 枚の赤外線反射ライドガラス (7.5 × 2.5 cm, MirriIR, Kevley Technologies, オハイオ州、米国) に移しました。ピペットの先端を手で一部切断し開口部を広げて、最大 1,000 μm サイズの粒子が通るようにしました。空気による汚染を最小限に抑えるために、すべてのマイクロプラスチック粒子の調製ステップは、ラミネーター式ドラフト内で実施しました。

8700 LDIR ケミカルイメージングシステム

この研究では、8700 LDIR ケミカルイメージングシステムを、Clarity ソフトウェアで制御して使用しました。Clarity ソフトウェアの完全自動化「粒子解析」メソッドを使用して、各サンプルから採取したマイクロプラスチック粒子をのせた赤外反射ライドガラスを 8700 LDIR で解析しました。データ取り込みに使用したメソッドの設定パラメータを図 2 に示します。機器のパラメータはすべて、機器のデフォルト設定を用いました。

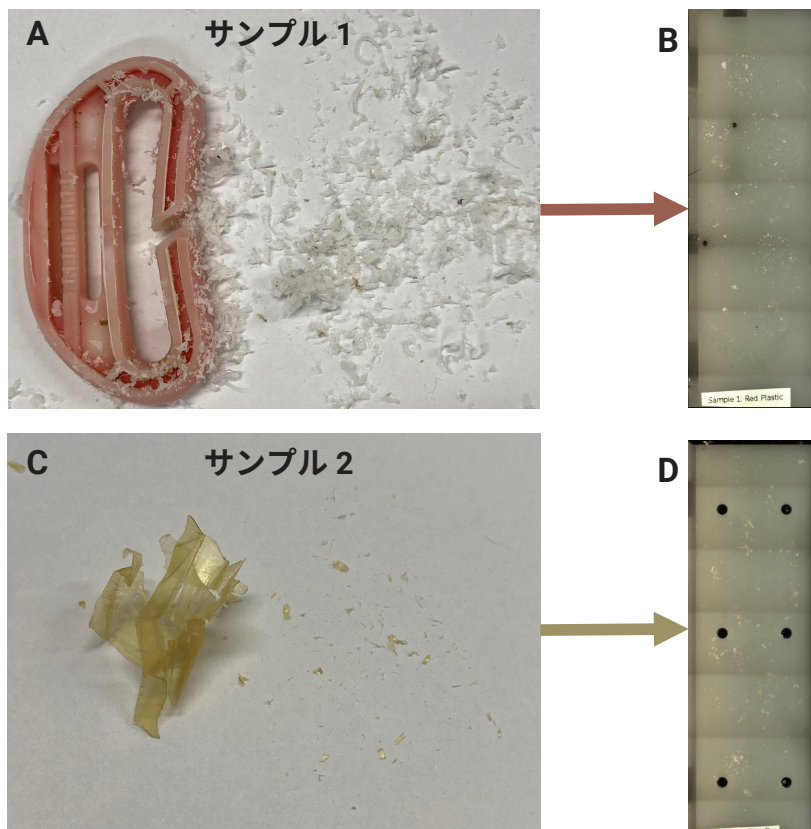


図 4. (A) サンプル 1 から生成されたマイクロプラスチック：赤と白のプラスチック。(B) 赤外線反射ライドガラスに移されたサンプル 1 のマイクロプラスチック。(C) サンプル 2 から生成されたマイクロプラスチック：黄色のフィルム。(D) 赤外線反射ライドガラスに移されたサンプル 2 のマイクロプラスチック。

表 2. Agilent 8700 LDIR によるマイクロプラスチックの自動化メソッド解析に使用されるパラメータ。

パラメータ	設定値
メソッド	粒子解析
使用するライブラリ	性能証明 - ユーザー作成ライブラリ
検出最小粒子サイズ (μm)	20
検出最大粒子サイズ (μm)	600
可視画像の収集	あり
サイズ分類範囲 (μm)	0 ~ 30 30 ~ 50 50 ~ 100 100 ~ 200 200 ~ 300 300 ~ 600
スキャンスピード	デフォルト (8)
掃引スピード	デフォルト (3、ハイスピード)
フォーカスオフセット	0
偏光 (°)	デフォルト (0)
減光 (%)	デフォルト (0) / オート

ATR アタッチメントと組み合わせた Cary 630 FTIR

サンプル 1 と 2 の特性をさらに確認するために、Agilent Cary 630 FTIR 分光計とダイヤモンド減衰全反射 (ATR) アタッチメントを組み合わせて使用しました (図 5)。アジレントから入手可能な FTIR スペクトルライブラリ「ATR Polymers and Polymer Additives (ATR ポリマーおよびポリマー添加剤)」(部品番号 G8045AA オプション 106) を、表 3 に示すパラメータを使用して「Similarity」検索アルゴリズムを用いたライブラリ検索方法で使用しました。このスペクトルライブラリには、選択されたポリマー、プラスチック、ポリマー添加剤、可塑剤、および充填剤の 7,974 個のスペクトルが含まれています。

結果と考察

Clarity 粒子解析メソッドでは、LDIR スキャンモードとフルスペクトルモードの両方を使用しました。単一の波数でサンプル領域を迅速にスキャンするために、まずスキャンモードを使用しました。得られた IR 画像を使用して、サンプル内の粒子の位置を特定し、各粒子の境界を決定しました。位置を特定した後、LDIR が迅速かつ自動的に各粒子の場所まで移動し、波数範囲にわたって全スペクトルを取得しました。次にこれらのスペクトルが、マイクロプラスチックのスペクトルライブラリと、リアルタイムで照合されました。各粒子について、スペクトルと最もよく一致するものが決定され記録されました。8700 は、広視野カメラを使用してサンプルの全体像を取得し、さらに顕微鏡グレードの対物レンズを使用して高倍率の可視画像を取得しました。

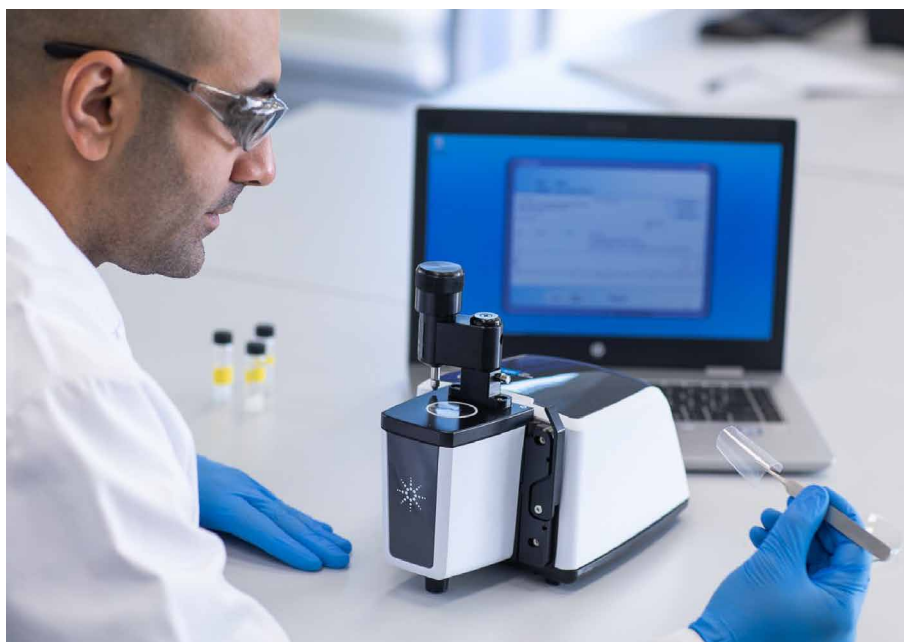


図 5. ダイヤモンド ATR アタッチメントと組み合わせた Agilent Cary 630 FTIR。

表 3. Agilent Cary 630 FTIR-ATR 操作パラメータ。

パラメータ	設定値
メソッド	ライブラリの検索
使用するライブラリ	ATR ポリマーおよびポリマー添加剤
検索アルゴリズム	類似
スペクトル範囲	4,000 ~ 650 cm^{-1}
バックグラウンドのスキャン回数	64
サンプルのスキャン回数	64
スペクトル分解能	16 cm^{-1}
バックグラウンド収集	空気

サンプル 1 で同定されたマイクロプラスチックの種類には、ポリプロピレン (74.8%)、不明 (17.0%)、ポリアミド (6.8%)、およびポリアクリルアミド (1.4%) が含まれていました。サンプル 2 では、最も多かったポリマーはポリ塩化ビニル (85.4%)、ポリアミド (10.9%)、ポリアクリルアミド (2.2%)、不明 (1.5%) でした。

Clarity ソフトウェアは、同定されたすべてのマイクロプラスチックに関する統計を自動的に生成し、解析中にデータを自動的に更新します。図 6 と 7 に示すように、スキャンした領域で粒子を強調表示し、マイクロプラスチックの種類を同定結果に基づいて粒子を色分けすることができます。統計には、ユーザー定義の

範囲に合わせた粒子サイズ分布が含まれます。図 6D および 7D は、サンプルごとに観察された粒子数に対してプロットした粒子サイズ範囲の分布の概要です。図 6 と 7 に示すように、検討した 20 ~ 600 μm のサイズ範囲内で、ほとんどの粒子が 20 ~ 200 μm の範囲でした。

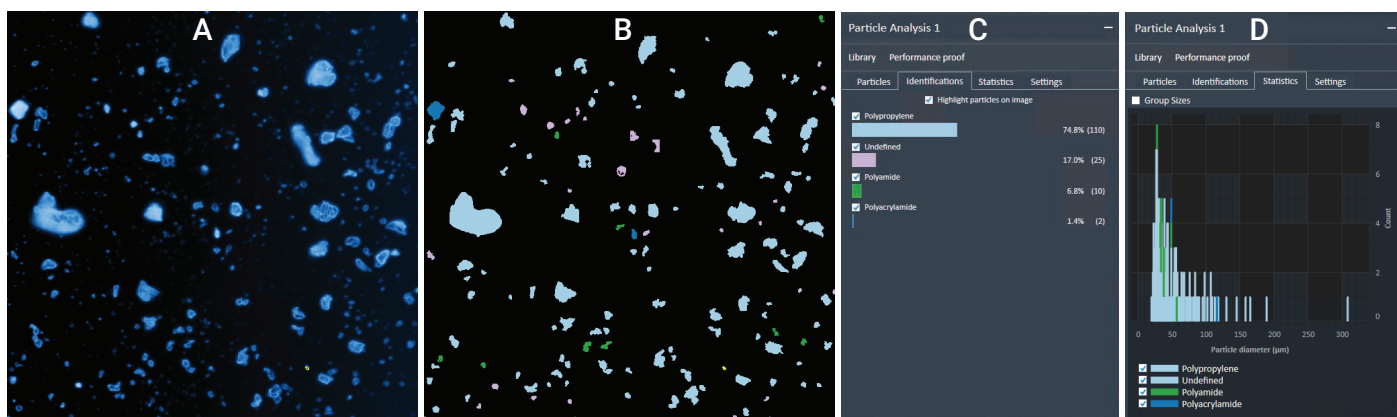


図 6. Agilent 8700 LDIR を使用したサンプル 1 のマイクロプラスチックの特性解析。(A) 1,800 cm^{-1} でスキャンしたサンプル 1 の IR 画像。(B) サンプル 1 で見つかった粒子のハイライト — 粒子は、マイクロプラスチックの種類を同定結果に基づいて色付けされています。(C) マイクロプラスチックの同定結果に基づいて作成されたサンプル 1 の自動統計データ。(D) サンプル 1 のさまざまなサイズ範囲に基づくマイクロプラスチック粒子の統計データ。

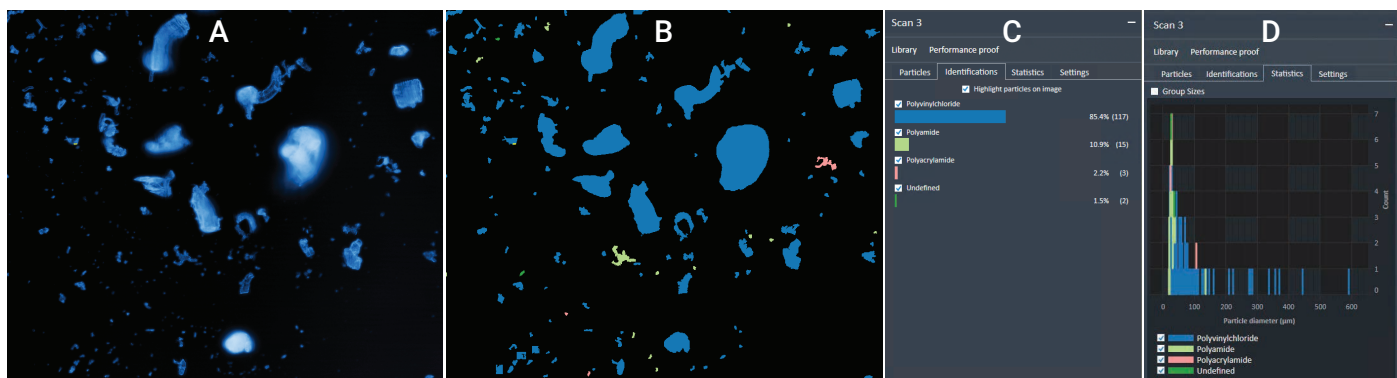


図 7. Agilent 8700 LDIR を使用したサンプル 2 のマイクロプラスチックの特性解析。(A) 1,800 cm^{-1} でスキャンしたサンプル 2 の IR 画像。(B) サンプル 2 で見つかった粒子のハイライト — 粒子は、マイクロプラスチックの種類を同定結果に基づいて色付けされています。(C) マイクロプラスチック同定結果に基づいて作成されたサンプル 2 の自動統計データ。(D) サンプル 2 のさまざまなサイズ範囲に基づくマイクロプラスチック粒子の統計データ。

サンプル 1 と 2 の同定信頼度

ユーザーは、高、中、低の信頼度、およびヒットクオリティインデックス (HQI) スコアに基づいて、Clarity ソフトウェアで同定の質を検証できます。1.0 は完全なライブラリー一致です。表 4 にまとめたように、サンプル 1 のマイクロプラスチックの 71.4% とサンプル 2 のマイクロプラスチックの 78.8% の HQI 値が 0.8 を超えていました。

LDIR 自動化マイクロプラスチック解析メソッドでは、小さな粒子 (~ 20 μm) と大きな粒子 (200 μm) の双方で高い HQI 値が得られました。例としてサンプル 1 の場合、粒子 A128 (23 μm) と A2 (189 μm) は、ヒットクオリティがそれぞれ 0.946 と 0.963 のポリプロピレンとして同定されました (図 8)。サンプル 2 では図 9 に示すように、粒子 A130 (20 μm) と A10 (210 μm) は、ヒットクオリティが 0.934 のポリ塩化ビニルとして同定されました。

表 4. Agilent 8700 LDIR によるサンプル 1 および 2 の自動メソッド解析。

	サンプル 1	サンプル 2
サンプルの概要	赤と白のプラスチック	黄色のフィルム
スキャン面積 (mm ²)	3.04 × 3.06	3.76 × 4.42
検出された粒子の数	147	137
直径に基づいて検出されたマイクロプラスチックのサイズ		
0 ~ 30 μm	36 (24.5%)	42 (33.7%)
30 ~ 50 μm	57 (38.8%)	39 (28.5%)
50 ~ 100 μm	41 (27.9%)	32 (23.4%)
100 ~ 200 μm	12 (8.2%)	14 (10.2%)
200 ~ 300 μm	1 (0.7%)	5 (3.7%)
300 ~ 600 μm	0 (0.0%)	5 (3.7%)
検出されたマイクロプラスチックの種類	ポリプロピレン 110 (74.8%) 不明 25 (17.0%) ポリアミド 10 (6.8%) ポリアクリルアミド 2 (1.4%)	ポリ塩化ビニル 117 (85.4%) ポリアミド 15 (10.9%) ポリアクリルアミド 3 (2.2%) 不明 2 (1.5%)
ヒットクオリティ		
0.9 ~ 1.0	92 (62.6%)	63 (46.0%)
0.8 ~ 0.89	13 (8.8%)	45 (32.9%)
0.7 ~ 0.79	8 (5.4%)	24 (17.5%)
<0.7	34 (23.1%)	5 (3.7%)

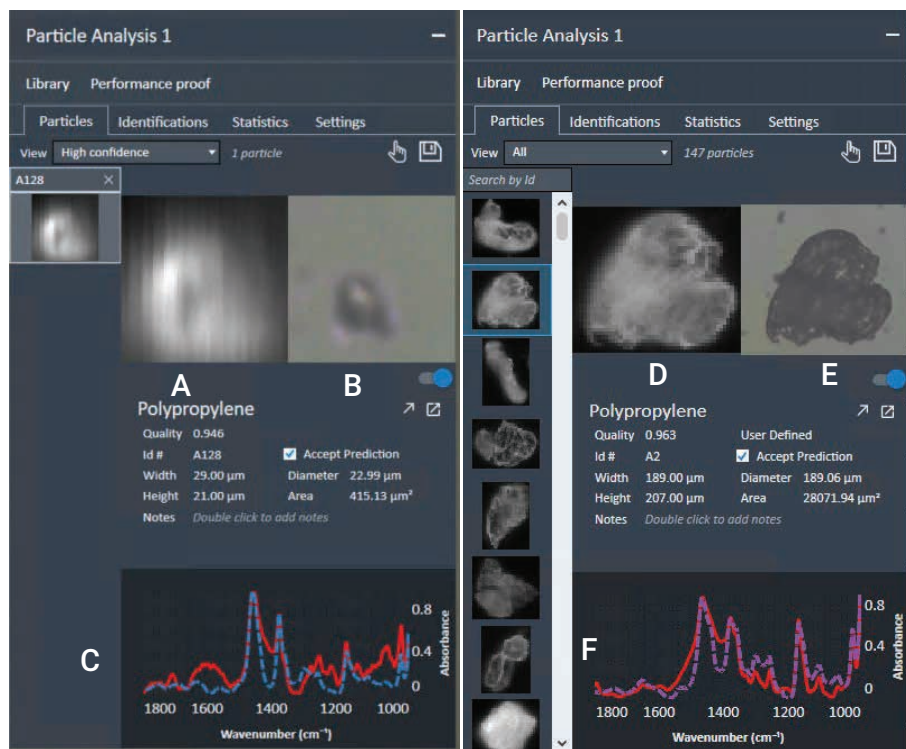


図 8. サンプル 1 の粒子のヒットクオリティとサイズ情報は、Agilent Clarity ソフトウェアから得られたものです。(A) 粒子 A128 の IR 画像。(B) 粒子 A128 の可視画像。(C) A128 スペクトル (赤い線) と対応するライブラリスペクトル (青い破線) の重なり。(D) 粒子 A2 の IR 画像。(E) 粒子 A2 の可視画像。(F) A2 スペクトル (赤い線) と対応するライブラリスペクトル (紫の破線) の重なり。

Cary 630 FTIR による材料 ID の確認

さらに、サンプル 1 と 2 の材料タイプを、Cary 630 FTIR 分光計とダイヤモンド ATR を組み合わせて使用し確認しました。粉末サンプルを ATR 結晶上に置き、表 3 に示すパラメータを使用してデータを取得しました。取得したスペクトルを ATR ポリマーおよびポリマー添加剤と比較し、MicroLab ソフトウェアを使用してサンプルの同定を行いました。サンプル 1 は図 10 に示すように、ヒットクオリティが 0.922 のポリプロピレンとポリ（プロピレンコエチレン）の混合として同定されました。サンプル 2 は図 11 に示すように、ヒットクオリティが 0.969 のポリ塩化ビニルとして同定されました。サンプル 1 と 2 で得られた ID は、8700 LDIR ケミカルイメージングシステムを使用して得られたデータと一致しました。

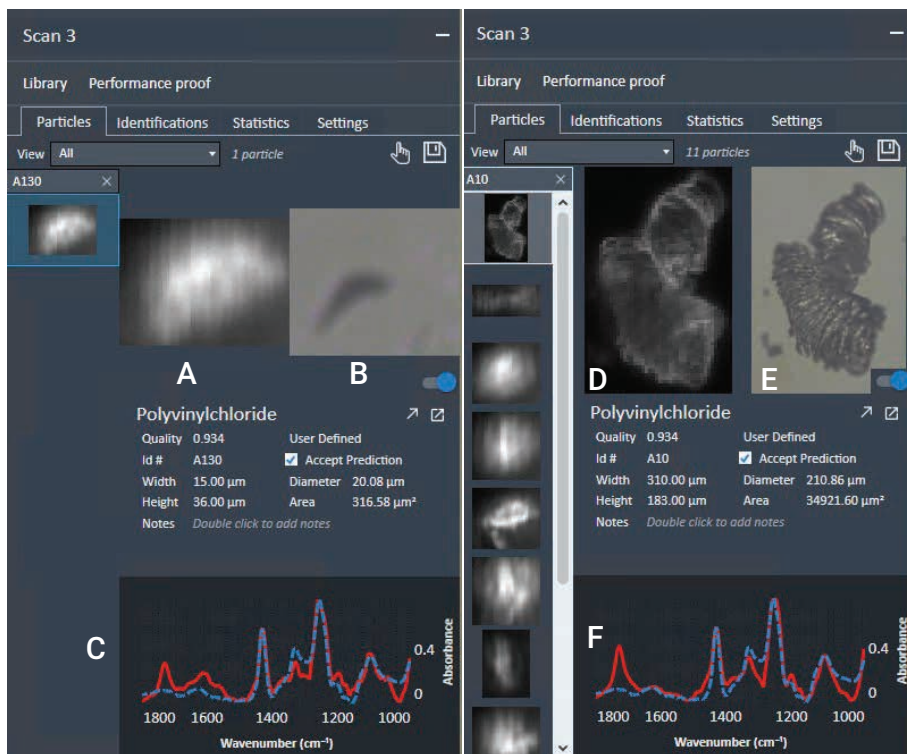


図 9. サンプル 2 の粒子のヒットクオリティとサイズ情報は、Agilent Clarity ソフトウェアから得られたものです。(A) 粒子 A130 の IR 画像。(B) 粒子 A130 の可視画像。(C) A130 スペクトル (赤い線) と対応するライブラリスペクトル (青い破線) の重なり。(D) 粒子 A10 の IR 画像。(E) 粒子 A10 の可視画像。(F) A10 スペクトル (赤い線) と対応するライブラリスペクトル (紫の破線) の重なり。

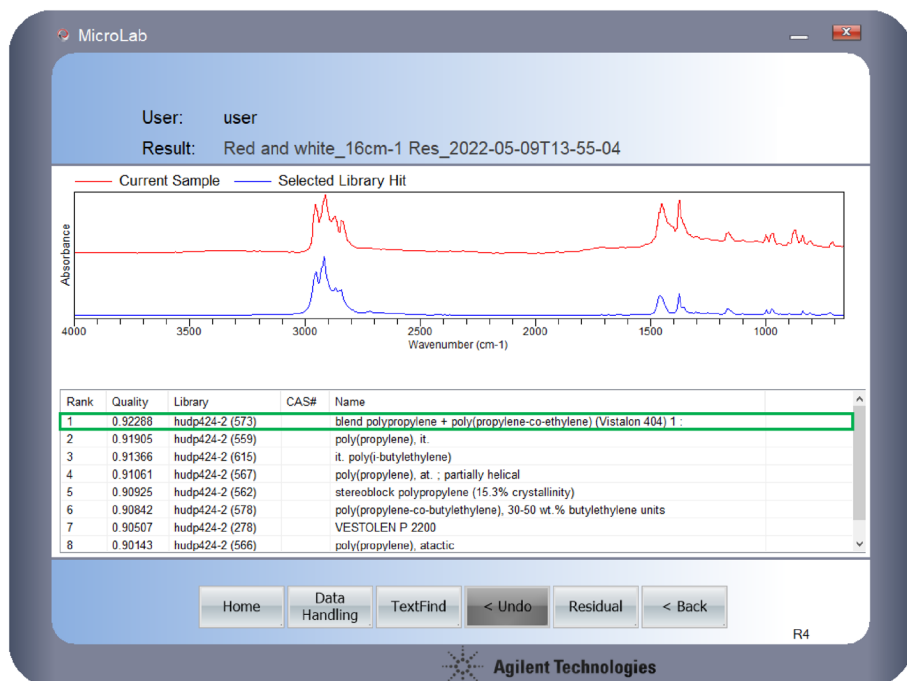


図 10. サンプル 1 の Agilent Cary 630 FTIR 定性分析 (赤のトレース)、ライブラリヒット (青のトレース)。表には、ヒットクオリティ、使用したライブラリ、およびヒット名が示されています。

結論

本研究では、Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムが、ユーザーが必要とする操作を最小限に抑えながら、環境サンプルから得られたマイクロプラスチックを効果的に分類・区別できることを示しました。Agilent Clarity ソフトウェア内の完全自動化された粒子解析メソッドは、ユーザーがマイクロプラスチックの粒子サイズや分布、同定に関する情報を効率的に取得できるメソッドです。ユーザーは、Clarity ソフトウェアの数ステップの簡単な手順に従って、独自のライブラリをすばやく作成できます。

ユーザー作成のライブラリを備えた 8700 LDIR は、サンプル中で解析されたほとんどのマイクロプラスチックを高品質で同定することができました。マイクロプラスチックの同定が、Agilent Cary 630 FTIR ATR を使用して確認され、8700 LDIR メソッドの精度が検証されました。

参考文献

1. Laskar et al. Plastics and Microplastics: A Threat to Environment. Environmental Technology & Innovation **2019**, 14, 100352. 10.1016/j.eti.2019.100352, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100352>

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE69241368

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, May 17, 2022

5994-4822JAJP

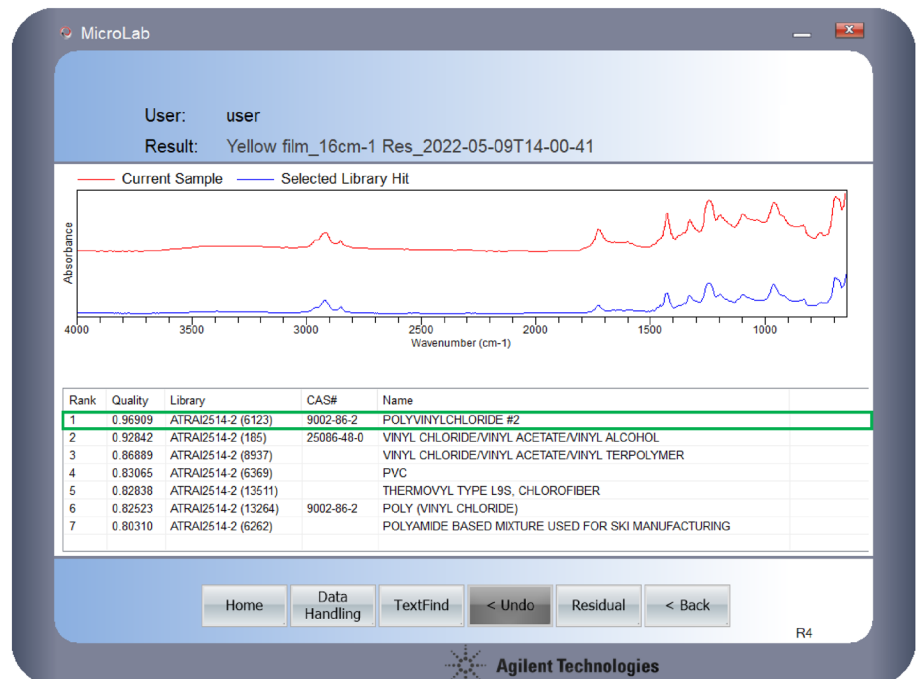


図 11. サンプル 2 の Agilent Cary 630 FTIR 定性分析 (赤のトレース)、ライブラリヒット (青のトレース)。表には、ヒットオリティ、使用したライブラリ、およびヒット名が示されています。