

マイクロプラスチックの特性解析における Agilent 8700 LDIR とオンボード ATR の メリット

8700 LDIR ケミカルイメージングシステムによる
干渉の最小化とデータ精度の向上



著者

Wesam Alwan
Agilent Technologies, Inc.
Subharthe Samandra and
Bradley Clarke
Australian Laboratory for
Emerging Contaminants,
School of Chemistry,
Faculty of Science, The
University of Melbourne,
Victoria, Australia

概要

マイクロプラスチックは環境のあらゆる側面に影響を与える新規汚染物質と考えられています。環境や生命体に対するマイクロプラスチックの毒性効果を理解するには、正確なポリマー特性解析手法が必要です。最近の研究から、ステアリン酸塩などの炭素鎖の長い分子と、ポリエチレンなどのマイクロプラスチックは、赤外 (IR) スペクトルの特徴が似ており、これがマイクロプラスチックの偽陽性の同定につながる事が分かっています。¹ この研究では、Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) ケミカルイメージングシステムがどのようにステアリン酸亜鉛の同定を検証し、マイクロプラスチックと分別して、長鎖化合物からの干渉の克服に効果を発揮するかを実証します。既知の粒子と未知の粒子の同定に使用される 8700 LDIR 対応外部 ATR スペクトルライブラリを用いて、減衰全反射 (ATR) スペクトルを収集します。

はじめに

マイクロプラスチックは、可塑剤や紫外線（UV）安定剤のような添加剤を含み、環境から汚染物質を吸着することが知られています。マイクロプラスチックに存在する添加物や汚染物質の中には、スペクトルの照合に干渉するものもあります。ポリエチレン（PE）の同定（ID）に干渉する可能性があるとして文献で報告されている主要な添加物分子の1つにステアリン酸亜鉛（ $(C_{17}H_{35}COO)_2Zn$ ）があります。² ステアリン酸亜鉛は白色の粉末で、プラスチックの製造に広く使われています。その主な用途は次のとおりです。

- － **離型剤**：プラスチックが成型装置や押出機に張り付いて離れなくなるのを防ぎます。
- － **潤滑剤**：プラスチックと機械類の間の摩擦を軽減し、プラスチックの流動性を高めます。
- － **安定剤**：紫外線や熱への曝露に起因する劣化を阻止し、プラスチックの耐久性を向上させます。



図 1. Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステム。サンプルに含まれる粒子の数や粒子のサイズ、粒子の化学組成（同定）の報告など、マイクロプラスチックの高速レーザン分析を可能にします。

一般に、PE の主な IR スペクトル領域は $1,480 \sim 1,440 \text{ cm}^{-1}$ における C-H 変角振動に関係します。PE とステアリン酸亜鉛の両方がこの吸収バンドを示し、PE の偽陽性同定につながります。

この研究により、外部スペクトライブラリを使用した既知および未知の物質の検証や同定における Agilent 8700 LDIR（図 1）内のオンボードマイクロ減衰全反射（ μ ATR）のメリットが実証されました。ATR を取り付けた Agilent Cary 630 FTIR（図 2）を、既知のステアリン酸亜鉛サンプルの同定を検証するための独立した確認ツールとして使用しました。

また、この研究では、マイクロプラスチックの特性解析を正確に行うために、8700 LDIR 自動粒子分析ワークフローの性能が、Agilent Clarity 機器コントロールソフトウェアにより促進されていることも示されています。続いて、8700 はステアリン酸亜鉛と PE を分別し、PE の結果から偽陽性がなくなりました。



図 2. ダイヤモンド ATR モジュールを搭載し、Agilent MicroLab ソフトウェアで制御される Agilent Cary 630 FTIR 分光光度計。原材料の正確で信頼性の高い同定に広く使用されています。

実験方法

既知および未知の物質の検証と同定、およびマイクロプラスチックとそうでないものの分別に使用される 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムの性能を調査するために、次の実験を順番に行いました。

- 1. 既知の物質の同定の検証：**市販のステアリン酸亜鉛（Riedel-de Haën, 26423, CAS 番号:557-05-1）を、ダイヤモンド ATR モジュールを取り付けた Cary 630 FTIR 分光光度計、およびオンボード μ ATR を備えた 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムを用いて同定しました。それぞれの機器で収集された既知サンプルのスペクトルの同定を、Wiley 社製 KnowItAll Analytical Edition ソフトウェアの IR スペクトルライブラリと比較しました。Cary 630 FTIR と 8700 LDIR はいずれもマイクロプラスチック用の強力なライブラリ照合アルゴリズムを内蔵しています。しかし、この研究では、システムを問わない（プラットフォームに依存しない）外部ソフトウェアを同定の検証に使用しました。
- 2. 未知の物質の同定の検証：**8700 LDIR ケミカルイメージングシステム μ ATR メソッドと、さまざまな ATR-IR スペクトルライブラリを内蔵した Wiley 社製 KnowItAll Analytical Edition ソフトウェアを使用して、乳児用調製粉乳サンプルで過去に検出された未同定の粒子を調査しました。
- 3. ステアリン酸亜鉛と、透明で低密度の PE マイクロスフェア（Cospheric LLC, CPMS-0.96, 38 ~ 45 μ m, 5 g）の識別には、8700 LDIR 自動粒子分析ワークフローと、ユーザーによりスペクトルが追加されている Agilent Microplastics Starter 2.0 ライブラリを使用しました。Microplastics Starter 2.0 ライブラリは Clarity ソフトウェアに含まれています。**

結果と考察

既知の物質の同定の検証 – ステアリン酸亜鉛

少量のステアリン酸亜鉛のサンプルを Cary 630 FTIR の ATR 結晶の上に置き、ATR 回転プレスを使用して確実に接触するようにしました。IR 測定には、表 1 に示すパラメータを使用しました。完了後、データは、外部の IR スペクトルライブラリを用いて原材料を同定検証するためにエクスポートされました。

表 1. Agilent Cary 630 FTIR-ATR メソッドによるステアリン酸亜鉛とポリエチレンの分析で用いたパラメータ

パラメータ	設定値
メソッド	データ採取
使用ライブラリ	IR スペクトルライブラリを搭載した Wiley 社製 KnowItAll Analytical Edition ソフトウェア
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
サンプルスキャン回数	64
スペクトル分解能	4
バックグラウンド収集	空気

8700 LDIR による μ ATR 分析では、無水エタノール（50 mL）に約 1 mg のステアリン酸亜鉛を懸濁し、吸引ろ過ガラス容器を使用して、乾くまでろ過しました。その後、金コーティングメンブレンフィルタを分析用のフィルタホルダに移しました。ステアリン酸亜鉛粒子の分析に使用された 8700 LDIR- μ ATR ワークフローは次のとおりです。

1. ATR のゲルマニウム（Ge）結晶を、リントフリーの柔らかいティッシュまたは綿棒と、イソプロパノールまたはアセトンを用いてきれいにします。光学グレードのクリーニング用消耗品と洗浄液をお勧めします。
2. IR レーザーの焦点をサンプルに合わせ、ATR の位置を調整します（80 × 80 μ m のウィンドウ）。ATR バックグラウンドが自動的に収集されます。
3. 力を調節して、ATR とサンプルの接触を加減します。
4. 分析対象ポイントをダブルクリックして、シングルポイント ATR スペクトルを取得します（図 3）。
5. 収集したスペクトルは、ライブラリ検索の直後に、Clarity ソフトウェアから Wiley 社製 KnowItAll Analytical Edition ソフトウェアへワンクリックでエクスポートできます。
6. クロスコンタミネーションを回避し、可能な限り最良の結果を得るため、ATR でサンプルを 1 つ分析するたびに、Ge 結晶をきれいにします。

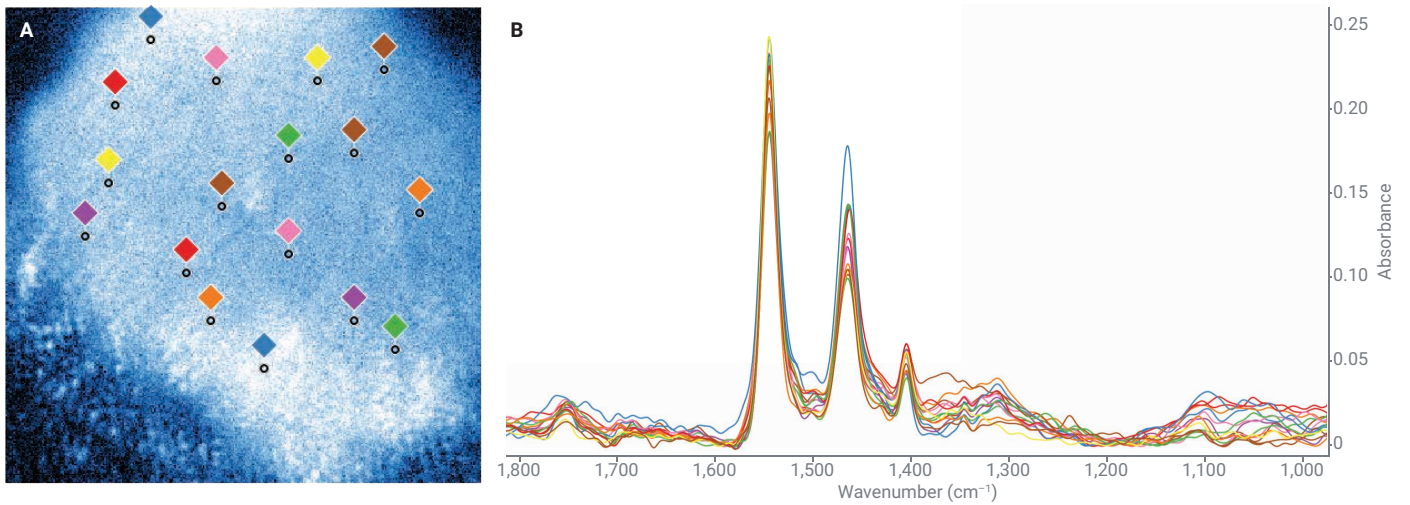
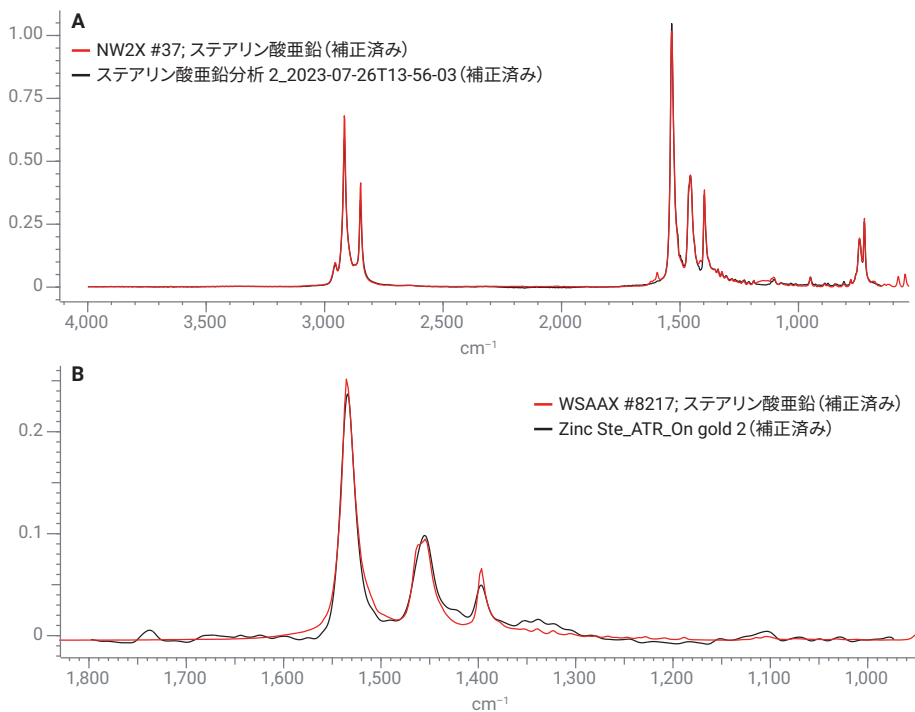


図 3. (A) ステアリン酸亜鉛粒子の画像 (80 × 80 μm)。色付きの点は、Agilent 8700 LDIR により取得された各 ATR スペクトルの位置を表します。
(B) ステアリン酸亜鉛粒子から得られた ATR スペクトル。個々のスペクトルの色は粒子の位置に対応

KnowItAll ソフトウェアを使用し、Cary 630 FTIR と 8700 LDIR により、原材料はステアリン酸亜鉛であると正確に同定されました。ヒットクオリティインデックス (HQI) はそれぞれ 94.68、85.86 でした。この結果を図 4 に示します。

8700 LDIR ケミカルイメージングシステムの範囲は 975 ~ 1,800 cm⁻¹ と、Cary 630 FTIR の 650 ~ 4,000 cm⁻¹ と比べて狭かったものの、既知の物質は正確に同定されていました。



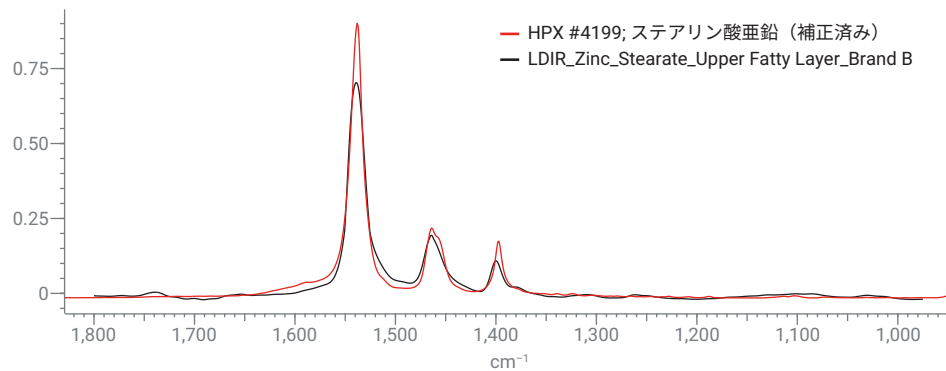
名称	値
HQI 結果	94.68
データベースでの略号	NW2X
データベース名	ATR-IR - Sadtler Organometallics 2 - Wiley
レコード ID	37
名称	ステアリン酸亜鉛

名称	値
HQI 結果	85.86
データベースでの略号	WSAAX
データベース名	ATR-IR - Sigma-Aldrich Library of TR-IR Spectra - Wiley
レコード ID	8217
名称	ステアリン酸亜鉛

図 4. ステアリン酸亜鉛の既知のサンプル (黒のトレース) とライブラリヒット (赤のトレース) の同定分析。Wiley 社製 KnowItAll Analytical Edition ソフトウェアに搭載されたスペクトルライブラリを使用。(A) Agilent Cary 630 FTIR-ATR 分光光度計で得られたスペクトラム。(B) Agilent 8700 LDIR-μATR で得られたスペクトラム

未知の物質の同定の検証 – 乳児用調製粉乳サンプルに含まれる未同定の粒子

過去の研究で、乳児用調製粉乳サンプルからマイクロプラスチックを抽出しました。³ その研究では、8700 LDIR の自動粒子分析ワークフローにより、乳児用調製粉乳サンプルに未知の粒子が数種類存在することが明らかになりました。未同定の粒子の原材料の素性を確認するため、前述のセクションで説明したとおり、8700 LDIR の μ ATR を用いて ATR スペクトルを取得しました。



名称	値
HQI 結果	85.12
データベースでの略号	HPX
データベース名	IR - Polymers, Hummel Industrial - Wiley
レコードID	4199
名称	ステアリン酸亜鉛

図 5. 8700 LDIR- μ ATR と Wiley 社製 KnowItAll Analytical Edition ソフトウェアを使用した未知の粒子の同定

ポリエチレンとステアリン酸亜鉛の分別

PE とステアリン酸亜鉛を分別する 8700 LDIR の能力を判断するために、自動粒子分析ワークフローと表 2 のパラメータを使用して、PE とステアリン酸亜鉛のサンプルを別々に評価しました。

各粒子タイプの例を図 6 に示します。各サンプルは独自の形状とサイズであるため、サンプル同士や他の汚染物質との区別は簡単でした。

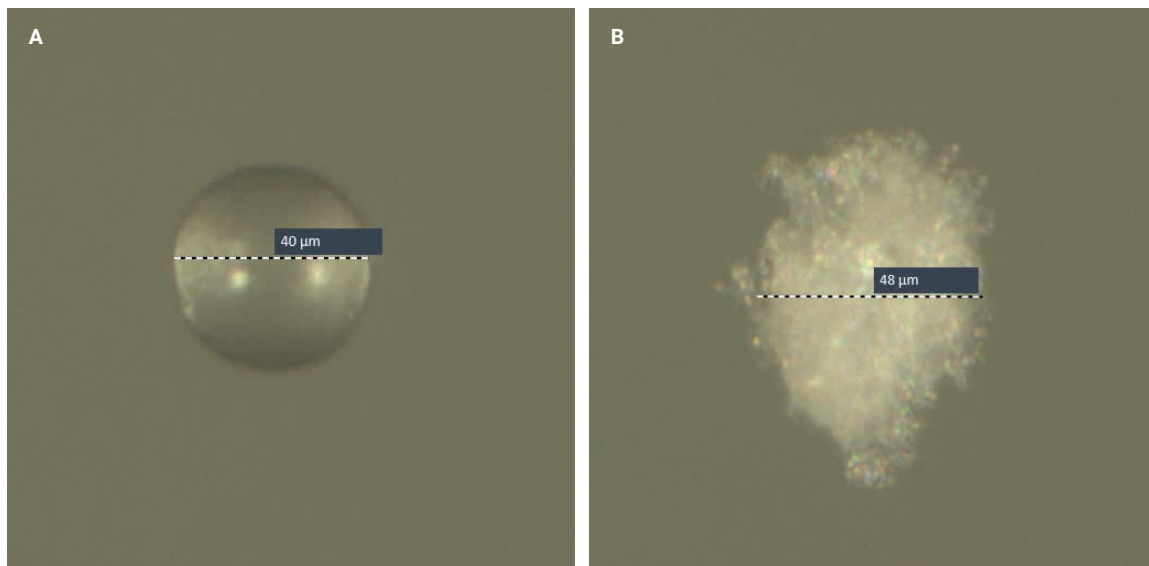


図 6. (A) 透明ポリエチレンマイクロスフェア。(B) ステアリン酸亜鉛。どちらの画像も、Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムの高倍率ビジュアルカメラを使用して取得しました。

表 2. Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムによるマイクロプラスチックの特性解析のための自動メソッド解析に使用したパラメータ

パラメータ	設定値
メソッド	粒子解析
使用ライブラリ	Microplastics Starter 2.0
自動スキャン	オン
可視画像の収集	する
粒子感度	自動
ヒットオリアインデックス範囲	<p>ヒットオリアリティは、サンプルのスペクトルが参照ライブラリのスペクトルとどの程度一致しているかを表すものです。この実験では、分類範囲（すなわち、「高」、「中」、「低」による、スペクトル照合の品質の特性）を次のように設定しました。</p> <ul style="list-style-type: none"> - 低信頼度 (0.65 ~ 0.75) - 中信頼度 (0.75 ~ 0.85) - 高信頼度 (0.85 ~ 0.99) <p>この範囲外（つまり < 0.65）の粒子は「未定義」として分類しました。</p>
サイズ分類範囲 (µm)	20 ~ 100 100 ~ 200 200 ~ 300 > 300
スキャンスピード	デフォルト (8)
スイープスピード	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

ポリエチレンマイクロスフェア

最初のステップでは、各 PE マイクロスフェアサンプルで得られたスペクトルを Clarity ソフトウェア内蔵のスペクトルライブラリ (Microplastics Starter 2.0) で評価しました。合計 262 個の粒子を含むスキャン領域 (9.05 × 8.60 mm) で、258 個 (98.5 %) の粒子が PE で、うち 256 個 (99.2 %) の粒子の HQI が 0.85 を超えていることが、自動粒子ワークフローを使用して同定されました (図 7)。

ステアリン酸亜鉛

PE 粒子と同様、8700 LDIR を用いて、収集されたステアリン酸亜鉛スペクトルを取得し、Clarity ソフトウェアの同じスペクトルライブラリ (Microplastics Starter 2.0) で評価しました。3.19 × 4.07 mm のスキャン領域で、合計 419 個の粒子が検出されました。ステアリン酸亜鉛参照スペクトルは Microplastics Starter 2.0 ライブラリに存在しなかったため、367 個 (87.6 %) の粒子が低～中程度の品質の PE (HQI : 0.65 ~ 0.82) と同定されました。残りの粒子は、PE と同じ品質傾向 (HQI : 0.68 ~ 0.78) に従って、主にポリアミドまたはポリウレタン (40 個、9.5 %) と同定されました。

8700 LDIR の PE とステアリン酸亜鉛を分別する性能を調べるため、ステアリン酸亜鉛のスペクトルを Microplastics Starter 2.0 ライブラリに追加しました。Clarity ソフトウェアにより、ライブラリやスペクトルを簡単に管理できます。以前のアプリケーションノート⁴で説明されているように、サンプルや標準で LDIR データを収集した後、対象のスペクトルをライブラリに追加できます。

PE とステアリン酸亜鉛の分析はいずれも、ステアリン酸亜鉛スペクトルが追加された Microplastics Starter ライブラリを用いて再分析されました。更新されたライブラリを選択することにより、Clarity ソフトウェアで自動的に再処理を行うことができます。その後、新たに生成された統計データをチェックします。

表 3 にまとめられているとおり、ステアリン酸亜鉛サンプル内の 415 個 (99 %) の粒子が正確に同定され (408 個が HQI > 0.8)、PE の偽陽性結果は認められませんでした。また、更新されたライブラリにより PE スキャンの結果が向上し、2 個の粒子が PE ではなくステアリン酸亜鉛であると同定されました (図 7)。

表 3. ポリエチレンとステアリン酸亜鉛の同定結果。使用したスペクトルライブラリがステアリン酸亜鉛の参照スペクトルを含む場合と含まない場合

材料	粒子の数	Microplastics Starter 2.0 に基づく同定	
		ステアリン酸亜鉛なし	ステアリン酸亜鉛あり
ポリエチレン	262	<ul style="list-style-type: none"> - ポリエチレン (258) - ポリアミド (1) - ポリウレタン (1) - セルロース (2) 	<ul style="list-style-type: none"> - ポリエチレン (256) - ポリアミド (1) - ポリウレタン (1) - セルロース (2) - ステアリン酸亜鉛 (2)
ステアリン酸亜鉛	419	<ul style="list-style-type: none"> - ポリエチレン (367) - ポリアミド (28) - ポリウレタン (12) - ポリアミド (自然発生) (2) - キチン (2) - カーボネート (1) - ラバー (4) - ステアリン酸マグネシウム (3) 	<ul style="list-style-type: none"> - ステアリン酸亜鉛 (415) - ポリアミド (自然発生) (1) - キチン (1) - カーボネート (1) - ステアリン酸マグネシウム (1)

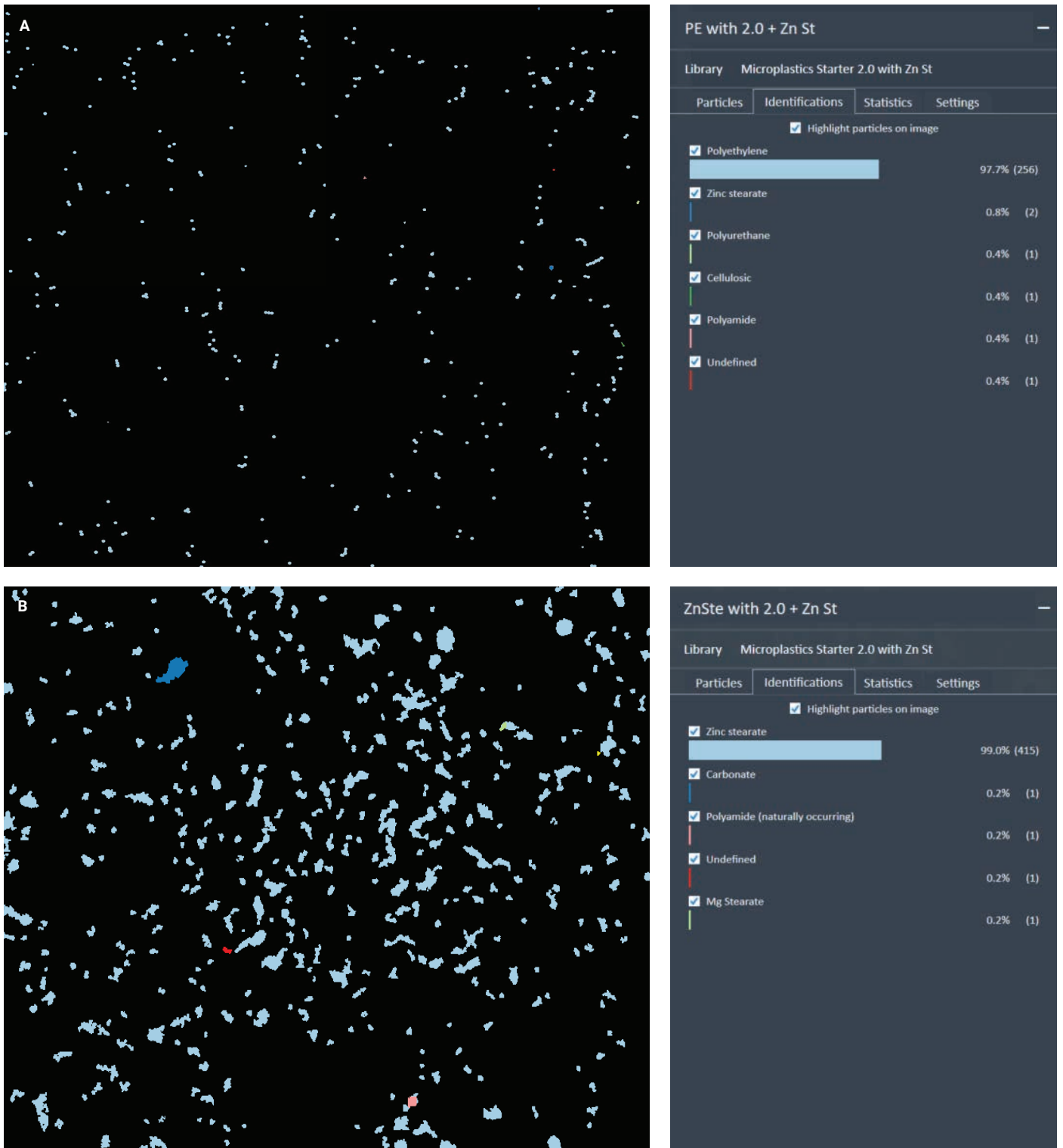


図 7. (A) ポリエチレンと (B) ステアリン酸亜鉛の自動粒子分析ワークフロー。ステアリン酸亜鉛スペクトルの追加された Microplastics Starter 2.0 を用いて分析されたもの

PE の典型的なスペクトル領域は、 $1,480 \sim 1,440 \text{ cm}^{-1}$ における C-H 変角振動です。図 8 にあるように、PE とステアリン酸亜鉛の両方がこの吸収バンドを示しています。しかし、ステアリン酸亜鉛は、 $1,500 \sim 1,660 \text{ cm}^{-1}$ の領域に、別の特徴的な強いシグナルを示します。Clarity ソフトウェアは一次微分スペクトル処理を照合アルゴリズムとして使用するため、 $1,560 \sim 1,510 \text{ cm}^{-1}$ と $1,410 \sim 1,390 \text{ cm}^{-1}$ の 2 つの吸収バンドを持つステア

リン酸亜鉛スペクトルの追加により、ステアリン酸亜鉛が PE と明確に分別され、正確な同定に役立ちました (図 8)。

この例は、PE とステアリン酸亜鉛を区別する 8700 LDIR の能力により、マイクロプラスチックの特性解析研究の精度が向上していることを示しています。

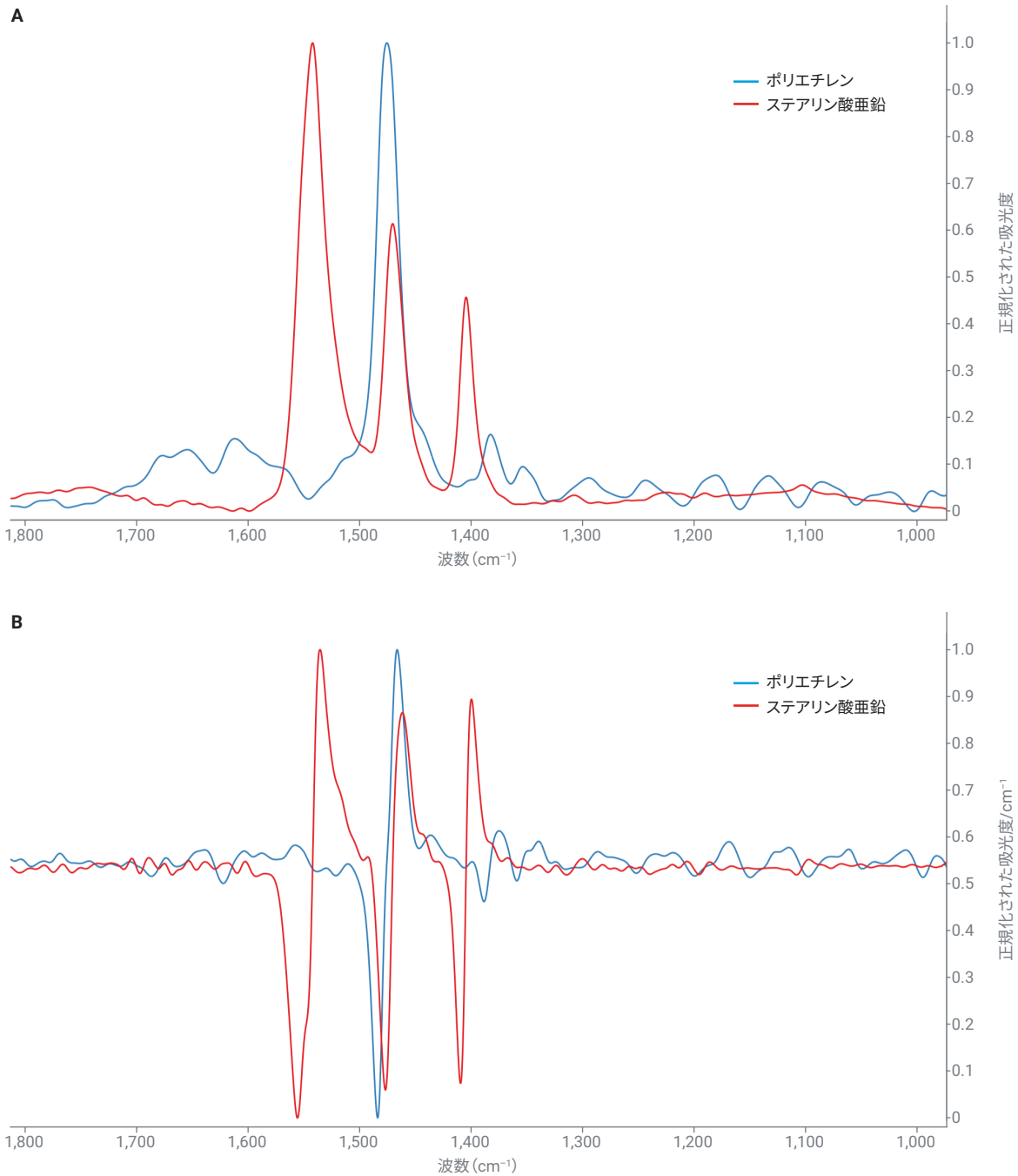


図 8. ポリエチレンスペクトル (青) とステアリン酸亜鉛 (赤) の重ね表示。(A) 正規化された吸光。(B) 一次微分

結論

環境マトリックス中のマイクロプラスチックの正確な特性解析におけるボトルネックは、サンプルに含まれる、またはサンプル分解後に残った汚染物質やマイクロプラスチックではない物質が引き起こしています。このような未知の物質が、ポリマーに干渉し、偽陽性の結果をもたらす可能性があるため、マイクロプラスチックの正確な特性解析が難しくなっています。

この研究は、Agilent 8700 LDIR と Agilent Cary 630 FTIR の両方によって生成された ATR スペクトルにより、ステアリン酸亜鉛の正確な原材料検証が可能となったことを示しています。

また、8700 LDIR ケミカルイメージングシステムのオンボードマイクロ ATR が、サンプルに含まれる未知の粒子をどのようにしてより深く追究できたかも示しています。乳児用調製粉乳サンプルに含まれる未同定の粒子の ATR スペクトルを生成することは、さまざまなスペクトルライブラリでデータを検索できることを意味します。Agilent Clarity ソフトウェアを Wiley 社製 KnowItAll ソフトウェアと統合することで、LDIR-ATR で生成されたスペクトルを簡単にエクスポートし、ワンクリックで照合できます。

この研究の 3 番目の部分では、8700 LDIR で自動粒子分析ワークフローを用いて、ポリエチレンと他の干渉物（ステアリン酸亜鉛）を正確に区別することができました。Agilent Clarity ソフトウェア内の完全に自動化された粒子解析メソッドは、粒子の視覚画像、ならびに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。Agilent Microplastics Starter 2.0 ライブラリにステアリン酸亜鉛のスペクトルを追加したことにより、ポリエチレン粒子の同定精度が大幅に向上しました。

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いません。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。

DE3303400

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, November 8, 2023

5994-6843JAJP

参考文献

1. Witzig, C. S.; Földi, C.; Wörle, K.; Habermehl, P.; Pittroff, M.; Müller, Y. K.; Lauschke, T.; Fiener, P.; Dierkes, G.; Freier, K. P., et al. When Good Intentions Go Bad – False Positive Microplastic Detection Caused by Disposable Gloves. *Environ. Sci. Technol.* **2020**, *54*(19), 12164–12172. doi: 10.1021/acs.est.0c03742.
2. Schymanski, D. et al. Analysis of Microplastics in Drinking Water and Other Clean Water Samples with Micro-Raman and Micro-Infrared Spectroscopy: Minimum Requirements and Best Practice Guidelines. *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, *413*, 5969–5994. <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03498-y>
3. Samandra, S. et al. 乳児用調製粉乳中のマイクロプラスチックの正確な特性解析. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-5928JAJP, **2023**.
4. Alwan, W. et al. 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 Technologies application note*, publication number 5994-4822JAJP, **2022**.

詳細情報

- Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステム
- Agilent Clarity ソフトウェア
- マイクロプラスチック技術の FAQ
- 水中のマイクロプラスチック分析
- Agilent Cary 630 FTIR 分光光度計
- MicroLab FTIR ソフトウェア
- FTIR 分析およびアプリケーションガイド
- FTIR 分光分析法の基礎 – FAQ
- ATR-FTIR 分光分析の概要