

Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) ケミカルイメージングシステムを用いた マイクロプラスチック分析

ポリエチレンマイクロプラスチックとステアリン酸マグネシウムを
正確に同定



著者

Wesam Alwan and
Darren Robey
Agilent Technologies, Inc.

概要

マイクロプラスチックが環境や食物連鎖に与える影響を理解するには、マイクロプラスチック粒子の正確で適切な特性解析が不可欠です。¹しかし、ポリエチレンと、食品・化粧品・ラテックス手袋で一般的に使用される非高分子化合物であるステアリン酸マグネシウムとを、分光分析技術を使用して区別するのは困難な場合があります。サンプルには、ポリエチレンマイクロプラスチックとステアリン酸の両方が含まれていることもあり、通常スペクトルにはわずかな違いしかありません。長鎖炭化水素を含む分子を区別することは困難で、偽陽性の同定につながるおそれがあります。^{2,3}このアプリケーションノートでは、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この課題を克服し、正確なマイクロプラスチック分析を実現できるかを実際に示します。

はじめに

水路のマイクロプラスチック汚染は広く問題となっており、野生生物や飲料水・食品システムに危険をもたらしています。しかし、従来の分光分析技術では、生態系への影響を判断する重要なステップである汚染物質を分類するには不十分です。パーソナルケア製品、ショッピングバッグなどさまざまなソースから生成されるポリエチレンマイクロプラスチック⁴は、さまざまな家庭用品の添加物として広く使用されている水不溶性の粉末であるステアリン酸マグネシウムと、分子レベルではほぼ同じに見えます。

このアプリケーションノートでは、Agilent Clarity ソフトウェア内の自動マイクロプラスチック分析ワークフローを 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムを用いて分析しました (図 1)。まずスキャンモードを用いて単一の波数 ($1,442\text{ cm}^{-1}$) でサンプル領域を高速にスキャンし、赤外線画像を生成しました。この画像を利用して、領域内の粒子の位置を特定し、そのサイズと形状を求めました。各粒子の位置を特定すると、LDIR は迅速かつ自動的に各粒子のところまで移動し、完全なスペクトルを取得しました。スペクトルを、直ちにマイクロプラスチックスペクトルライブラリと比較しました。スペクトルと最もよく一致するものを特定し、各粒子について記録しました。このライブラリは定評のある情報源から得られたもので、マイクロプラスチックの分析に関連するさまざまなスペクトル (サンプルや鉱物に含まれるコアポリマーや天然物質など) が含まれています。^{5,6}

実験方法

市販の透明ポリエチレンマイクロスフェア (Cospheric LLC、CPMS-0.96 38-45 μm -5 g) およびステアリン酸マグネシウム (MilliporeSigma、415057-25 g、CAS 番号: 557-04-0) サンプルを入手しました。各粒子タイプの例を図 2 に示します。

図 2 に示したように、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。

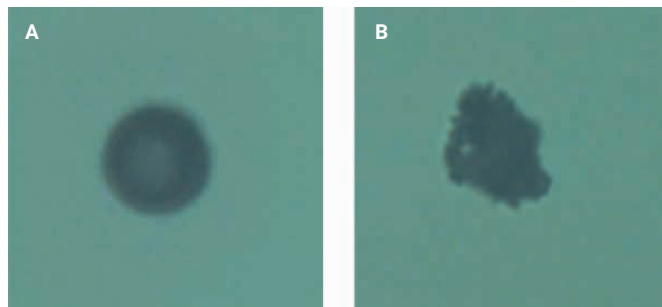


図 2. (A) 透明ポリエチレンマイクロスフェア。(B) ステアリン酸マグネシウム。どちらの画像も、Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムの高倍率ビジュアルカメラを使用して取得しました。



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、粒子のサイズ、化学組成など、マイクロプラスチックのルーチン分析を高速で行えます。

分析用のサンプルを調製するために、各サンプル約 2 mg を無水エタノール (5 mL) に懸濁し、low-e 赤外線反射ガラススライド (7.5 × 2.5 cm, MirriIR, Kevley Technologies) に乗せました。分析前にエタノールを室温で蒸発させました (約 2 分)。Clarity ソフトウェア内の自動粒子分析ワークフローをすべてのサンプルに使用しました。このワークフローでは、スキャン速度、掃引速度、減光など、必要な機器設定がすべて自動的に設定されます。これらの設定は変更できません。分析担当者が調整できるのは、粒子検出システムの感度など、いくつかのオプションのデフォルト設定です。独自のヒットクオリティインデックス範囲を設定することもできます。ヒットクオリティは、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 (スペクトル照合品質の高、中、低による特徴付け) を次のように設定しました。

- 低信頼度 0.65 ~ 0.75
- 中信頼度 0.75 ~ 0.85
- 高信頼度 0.85 ~ 0.99

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。

デフォルト設定として、最小粒子サイズを 20 μm 、最大粒子サイズを 500 μm としました。マイクロプラスチックのスターターライブラリ (LDIR で提供) を使用して解析を行いました。

結果と考察

LDIR のポリエチレンとステアリン酸マグネシウム識別能力を決定するために、まずポリエチレンとステアリン酸マグネシウムのサンプルを別々に評価した後、混合したサンプルを評価しました。

ポリエチレンマイクロスフェア

最初のステップは、各ポリエチレンマイクロスフェアサンプルで得られたスペクトルを Clarity ソフトウェアのスペクトルライブラリで評価しました。合計 39 個の粒子を含むスキャン領域 (2.88 × 2.83 mm) で、39 個 (100 %) の粒子がポリエチレンであることが、自動ワークフローを使用して同定されました (図 3)。図 4B に示すように、すべての粒子が高信頼度 (ヒットクオリティインデックス > 0.85) でポリエチレンとして同定されました。粒子分析ワークフローは、分析の最後に粒子径 (μm) 対カウントの統計的概要を自動的に生成します (図 4A)。この分析では、ポリエチレンマイクロスフェアの凝集が観察されました。

ステアリン酸マグネシウム

ポリエチレン粒子と同様に、LDIR で得られたステアリン酸マグネシウムのスペクトルを、Clarity ソフトウェアの同じスペクトルライブラリで評価しました。2.88 × 2.84 mm のスキャン領域で合計 242 個の粒子が検出されました。すべての粒子がステアリン酸マグネシウムとして同定され、234 個 (96.7 %) の粒子が高信頼度で、8 個 (3.3 %) の粒子が中信頼度で同定されました (図 5 および図 6)。

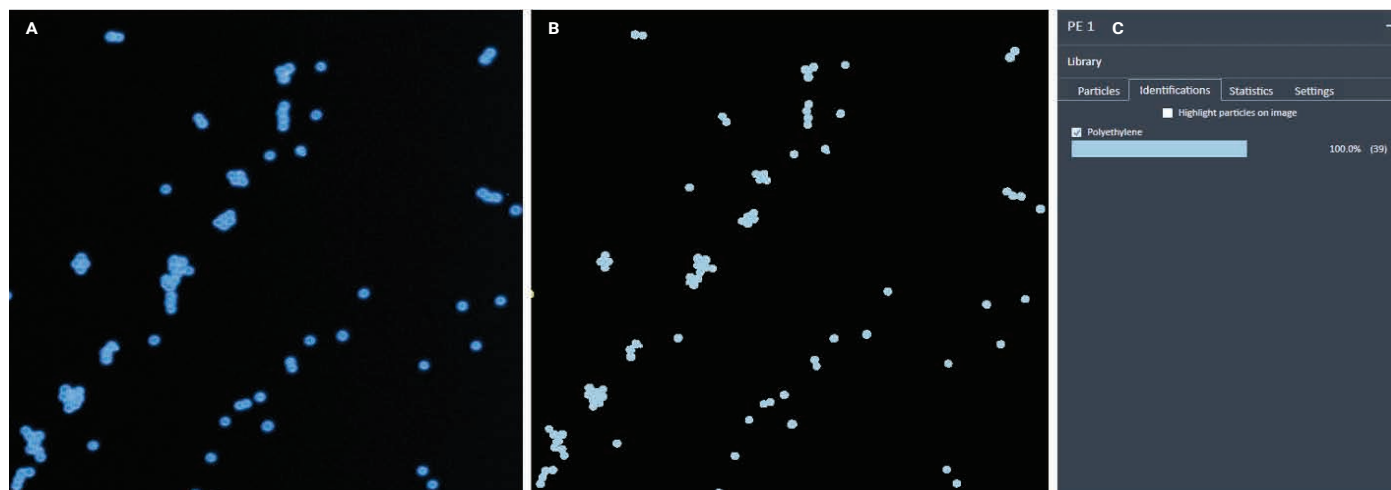


図 3. Clarity ソフトウェアを使用したポリエチレンマイクロスフェアの自動ワークフロー分析のようす。(A) 1,442 cm^{-1} でスキャンした赤外線画像。(B) 見つかった粒子の強調画像。粒子は、マイクロプラスチックの同定に基づいて着色されています。(C) マイクロプラスチックの同定結果に基づいて生成された自動統計データ

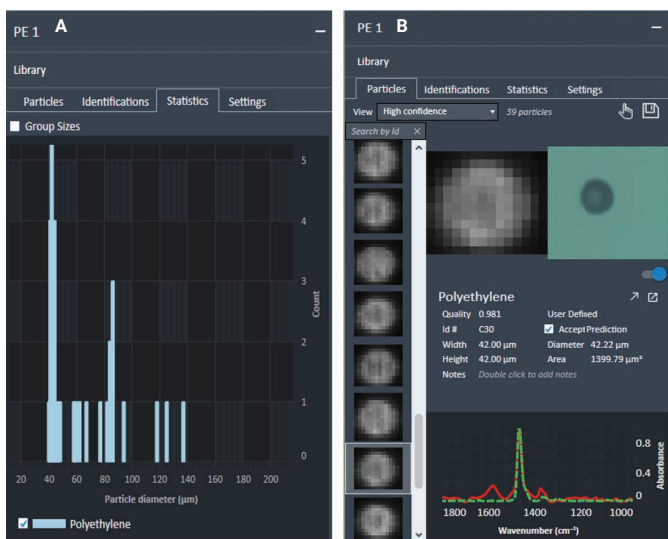


図 4. (A) さまざまなサイズ範囲に基づくマイクロプラスチック粒子の統計データ。(B) ポリエチレン粒子の例。赤外線画像、可視画像、ヒットオリティンデックス、サイズ、スペクトル (赤の実線) と一致するライブラリスペクトル (緑の破線) の重なり、などの粒子情報を表示できます。

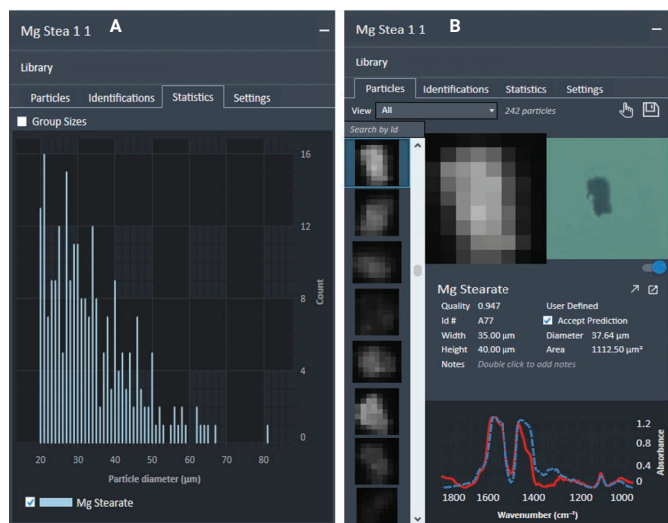


図 5. (A) さまざまなサイズ範囲に基づくマイクロプラスチック粒子の統計データ。(B) ステアリン酸マグネシウム粒子の例。赤外線画像、可視画像、ヒットオリティンデックス、サイズ、スペクトル (赤の実線) と一致するライブラリスペクトル (青の破線) の重なり、などの粒子情報を表示できます。

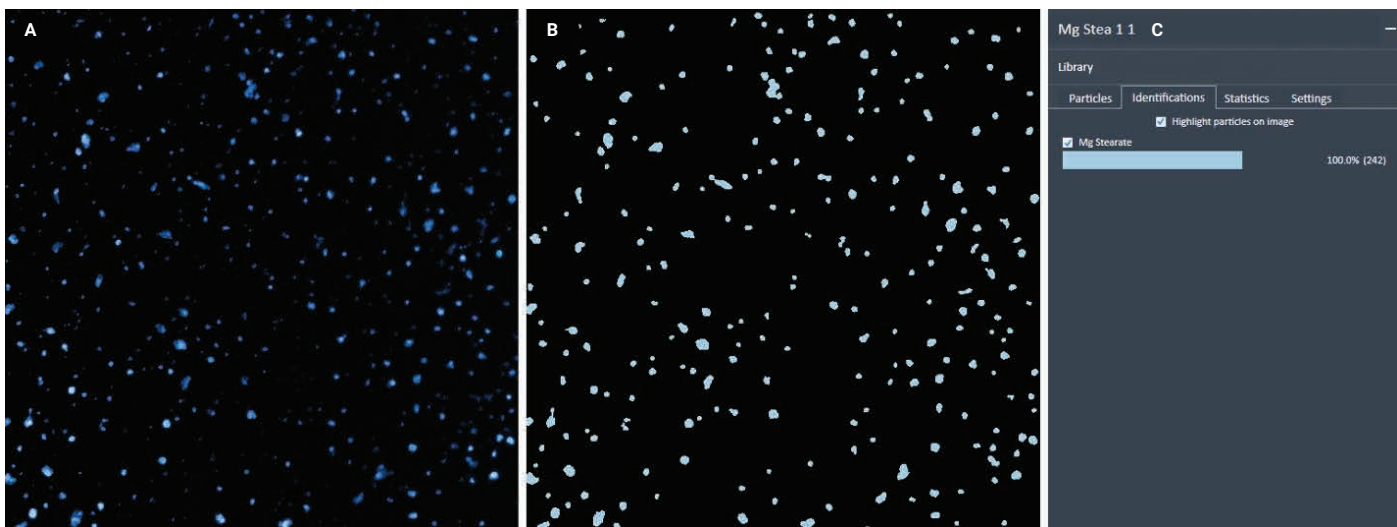


図 6. Clarity ソフトウェアによるステアリン酸マグネシウムの自動ワークフロー分析。(A) 1,442 cm^{-1} でスキャンした赤外線画像。(B) 見つかった粒子の強調画像。粒子は、マイクロプラスチックの同定に基づいて着色されています。(C) マイクロプラスチックの同定結果に基づいて生成された自動統計データ

混合サンプル

ポリエチレンとステアリン酸マグネシウムを識別する LDIR の能力を評価するプロセスの最終ステップとして、両方の材料の混合サンプルを自動ワークフローで分析しました。図 4B および 5B に示すように、各粒子は内蔵の高倍率カメラを使用して視覚的に簡単に区別できるので、システムが生成した結果の検証が可能でした。このサンプルの領域 (4.66 × 5.58 mm) をスキャンし、346 個の粒子が検出されました。これらの粒子のうち、200 個 (57.8 %) がステアリン酸マグネシウムに分類され、146 個 (42.2 %) がポリエチレンに分類されました (図 7)。

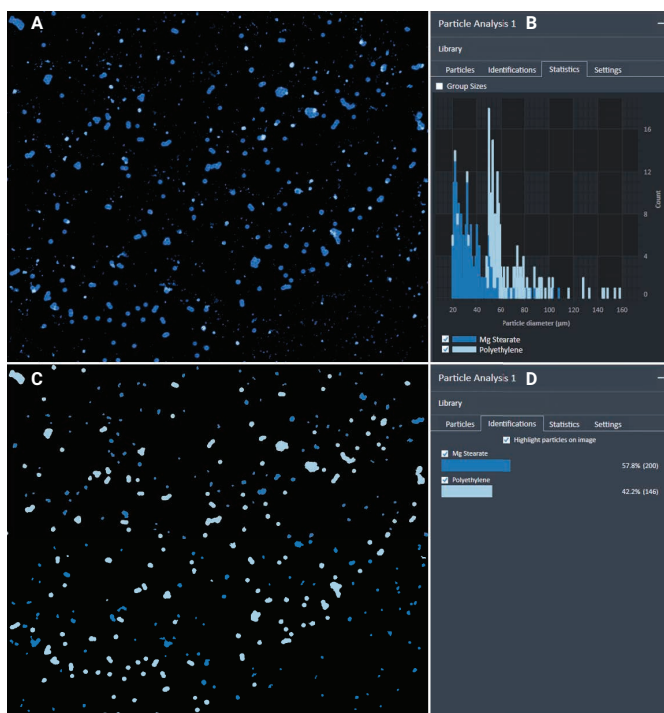


図 7. 混合サンプル (ステアリン酸マグネシウムとポリエチレン) の自動ワークフロー分析。(A) 1,442 cm⁻¹ でスキャンした赤外線画像。(B) さまざまなサイズ範囲に基づくマイクロプラスチック粒子の統計データ。(C) 見つかった粒子の強調画像。粒子は、マイクロプラスチックの同定に基づいて着色されています。(D) マイクロプラスチックの同定結果に基づいて生成された自動統計データ

視覚的な検証をすべて行った後 (手動で評価した 346 個の粒子)、次のことがわかりました。

1. ステアリン酸マグネシウムとポリエチレンの凝集体が形成され、ステアリン酸マグネシウムとして識別されました。これは、LDIR が凝集体内の最高吸収点 (ステアリン酸マグネシウム) からの単一点スペクトルの取得に依存しているのが原因で発生したものです。
2. 凝集物以外では、正しく分類されていないステアリン酸マグネシウムまたはポリエチレンの粒子は視覚的に識別されませんでした。つまり、偽陰性はありませんでした。

ポリエチレンの典型的なスペクトル領域は、1,480 ~ 1,440 cm⁻¹ における C-H 変角振動です。ポリエチレンとステアリン酸マグネシウムの両方がこの吸光帯を示します。しかし、ステアリン酸マグネシウムは、1,500 ~ 1,660 cm⁻¹ の領域に、別の特徴的な強いシグナルを有します (図 8)。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、1,500 ~ 1,600 cm⁻¹ の吸光度バンドは、ステアリン酸マグネシウムの正確な同定とポリエチレンとの明確な区別に役立ちました。

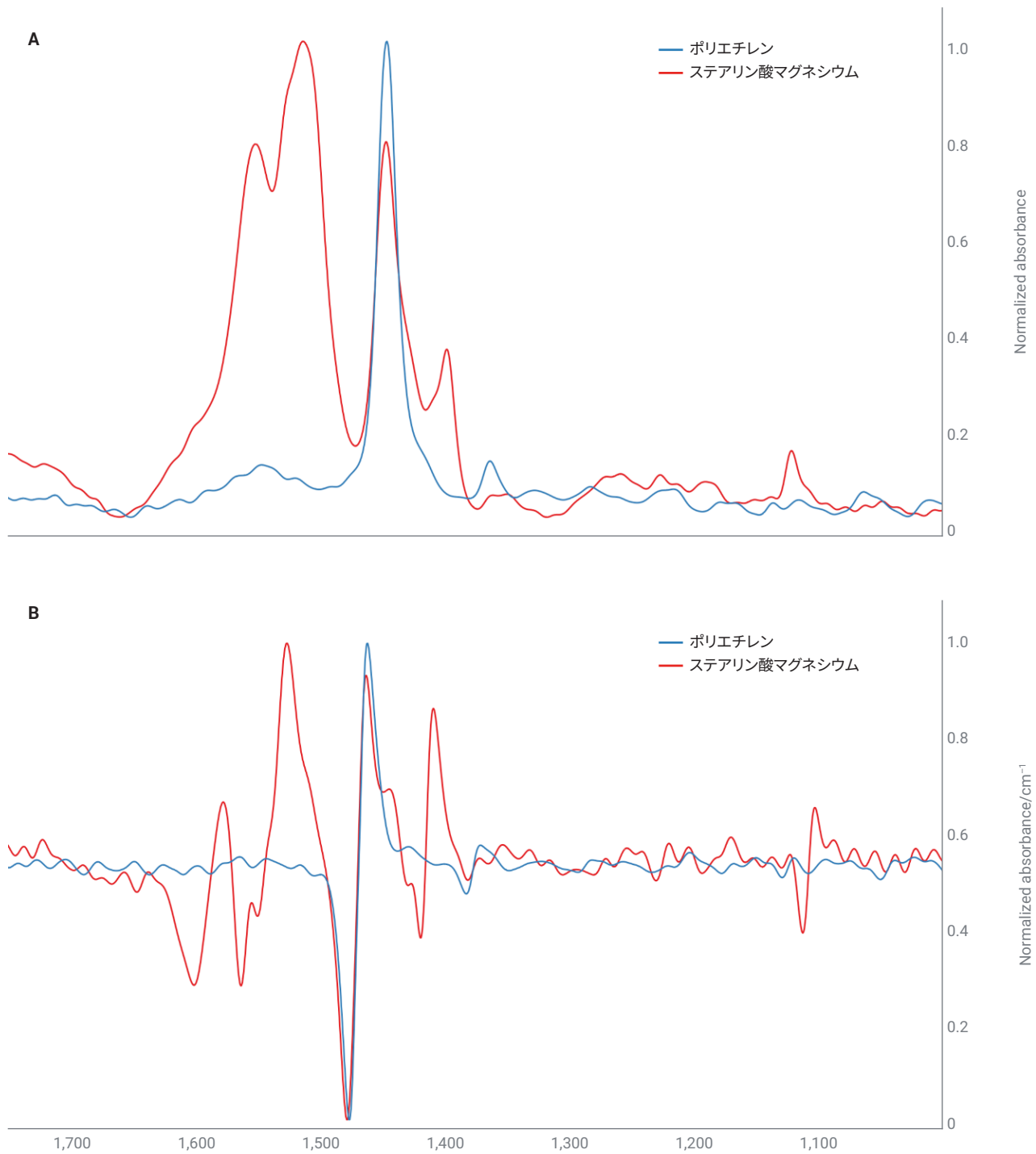


図 8. ポリエチレンスペクトル (青) とステアリン酸マグネシウム (赤) の重ね表示。(A) 正規化された吸光度。(B) 一次微分

結論

環境中には、多くの合成および天然の微粒子が存在します。非ポリマーが潜在的な汚染源として作用する可能性があるため、ラボの結果を混乱させるおそれがあります。このアプリケーションノートでは、Agilent 8700 LDIR がステアリン酸マグネシウムとポリエチレンの混合サンプルを正常に分類・区別できることを示しました。LDIR のハードウェアとソフトウェアの機能により、自動化粒子分析ワークフローでステアリン酸マグネシウムとポリエチレンを誤って識別する例を排除することができました。また、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あることが確認できました。

参考文献

1. Lim, X. Microplastics Are Everywhere — But Are They Harmful? *Nature* **2021**, 593(7857), 22–25. doi: 10.1038/d41586-021-01143-3. PMID: 33947993.
2. Witzig, C. S. *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. Epub 2020 Sep 17. PMID: 32882126.
3. 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(24), 5969–5994. doi: 10.1007/s00216-021-03498-y. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34283280; PMCID: PMC8440246.
4. Landeros Gonzalez, G. *et al.* A Review of the Origins of Microplastics Arriving at Wastewater Treatment Plants. *Detritus* **2022**, 20, 41–55. DOI: 10.31025/2611-4135/2022.15224.
5. Primpke, S. *et al.* Reference Database Design for the Automated Analysis of Microplastic Samples Based on Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 410, 5131–5141. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1156-x>
6. De Frond, H.; Rubinovitz, R.; Rochman, C. M. μ ATR-FTIR Spectral Libraries of Plastic Particles (FLOPP and FLOPP-e) for the Analysis of Microplastics. *Anal. Chem.* **2021**, 93(48), 15878–15885. DOI: 10.1021/acs.analchem.1c02549

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。

DE13478359

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, December 1, 2022

5994-5466JAJP