

ボトル入り飲料水のマイクロプラスチックの 正確な分析

Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) ケミカル
イメージングシステム



著者

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

概要

マイクロプラスチックは、サイズが 1 μm から 5 mm の小さなプラスチック粒子と定義されます。不十分な廃棄物管理やプラスチック汚染により、マイクロプラスチックは現在、環境中に遍在していることがさまざまな文献で報告されています。^{1,2} しかし、マイクロプラスチックへの食品の曝露経路は、まだ完全には理解されていません。ボトル入り飲料水の消費量は毎年 7 % 増加すると試算されており、2025 年までに世界の平均総消費量は 5,130 億リットルになると推定されています。³ 本研究では、Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) ケミカルイメージングシステムを用いて、ボトル飲料水中に存在するマイクロプラスチックを正確に同定および定量化する方法を示します。また、マイクロプラスチック汚染の原因調査に Agilent Cary 630 FTIR が有用であることも示します。

はじめに

プラスチック生産の急激な増加に伴い、環境のプラスチック汚染も進んでいます。⁴多くのプラスチックは小さな破片（マイクロプラスチックとも呼ばれます）に分解されるため、より簡単に体内に取り込まれるようになります。259本のボトル入り飲料水サンプルを対象とした最近の研究では、93%が何らかの形でマイクロプラスチックに汚染されていることがわかりました。⁵通常、ペットボトルはポリエチレンテレフタレート（PET）または再生PETから造られており、キャップはポリプロピレンまたはポリエチレン製です。

このアプリケーションノートでは、Agilent Clarity ソフトウェアと LDIR（図1）の自動化されたマイクロプラスチック分析ワークフローを用いて、2つの市販ボトル入り飲料水内に存在するマイクロプラスチックの特性解析を行いました。汚染源を調査するために、ダイヤモンド減衰全反射（ATR）モジュールを備えた Agilent Cary 630 FTIR（図2）を使用して、各市販品（ボトルとキャップ）のポリマーの種類を同定しました。



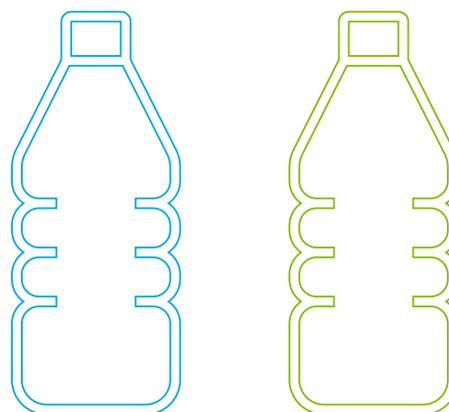
図2. ダイヤモンド ATR モジュールを搭載した Agilent Cary 630 FTIR

実験方法

2つの市販ボトル入り飲料水（図3）は、地元のスーパーマーケットから購入しました。



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、粒子のサイズと化学組成など、マイクロプラスチックの高速ルーチン分析を可能にします。



市販品 A
容量: 600 mL
価格: 3.20 AUD

市販品 B
容量: 600 mL
価格: 0.90 AUD

図3. 使用した市販のボトル入り飲料水の詳細

サンプル前処理

2本の飲料水（600 mL）を、Sterlitech ポリエステル（PETG）金コーティングメンブレンフィルタ、0.8 μm 、100/0 nm コーティング、25 mm でろ過しました。存在するマイクロプラスチック粒子すべてを確実に回収できるように、マイクロプラスチックを含まない水を使用して、ボトルとファネルの内側を1回洗浄しました。金コーティングされたメンブレンフィルタが変形しないように、小孔ガラスフリット吸引ろ過装置を使用しました。小孔ガラスフリット吸引ろ過装置は、高い孔密度と固体構造を持つため、真空圧がより均一にかかります。ろ過が終わった後、ピンセットで金コーティングされたメンブレンを慎重に取り外し、スライドホルダーに平らに置きました。次に図4に示すように金のリングを締めて、フィルタ表面が均一で平らになるようにしました。

8700 LDIR ケミカルイメージングシステム

本研究では、Agilent 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。各サンプルのマイクロプラスチック粒子が載った2枚のポリエステル（PETG）金コーティングメンブレンフィルタを、Agilent 8700 LDIR と Clarity ソフトウェアの全自動粒子分析メソッドを用いて分析しました。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表1に示します。パラメータはすべて、機器の初期設定を用いました。



図4. LDIR オンフィルタ分析用サンプルを調製するためのサンプルろ過装置と手順

ATR モジュールを装備した Cary 630 FTIR

ボトル入り飲料水に含まれるマイクロプラスチックの発生源を調査するために、ダイヤモンド ATR モジュールを備えた Cary 630 FTIR 分光光度計を使用しました。各市販品のボトルとキャップの両方のサンプル（約 5 mm）は、ATR を使用して直接測定し、ユーザー作成のポリマーのライブラリで同定しました。このスペクトルライブラリには、プラスチック業界で使用される最も一般的なポリマーの ATR スペクトルが含まれています。このライブラリは、Polymer Sample Kit (Scientific Polymer Products, Inc.、カタログ番号 205、LOT 番号 600801012) を使用して開発されたもので、ポリスチレン、ポリプロピレン、高密度ポリエチレン、低密度ポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリ塩化ビニル、ポリカーボネート、ポリメチルメタクリレート、ポリオキシメチレン、ポリアミド、ポリテトラフルオロエチレンなどが含まれます。ライブラリ検索メソッドには、表 2 に示すパラメータを使用した類似性検索アルゴリズムを適用しました。

結果と考察

Clarity ソフトウェア粒子解析メソッドでは、LDIR スキャンモードとスイープモードの両方を使用しました。まずスキャンモードを使用して、サンプルの選択領域（各フィルタに対して直径約 16 mm）を単一の波数で迅速にスキャンして粒子の位置を特定し、各粒子の境界を決定しました（図 5）。粒子の位置が特定されると、LDIR は迅速かつ自動的に各粒子に移動し、波長範囲の全体で完全なスペクトルを取得します（中赤外指紋領域を通るスイープモード）。次にこれらのスペクトルが、Microplastics Starter 2.0 スペクトルライブラリとリアルタイムで照合されます。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。

市販品 A では、合計 98 個の粒子が検出されましたが、ヒットクオリティインデックスが 0.8 を超えるマイクロプラスチックは 4 個しか見つかりませんでした（サイズ範囲 20 ~ 100 μm 、図 6）。残りの粒子は、ヒットクオリティインデックスが 0.8 未満のプラスチックポリマーか、天然のポリアミドやセルロース物質などの非マイクロプラスチック粒子でした。市販品 B では、より多くの粒子が検出されましたが（合計 1,112 個）、前述の報告基準によりマイクロプラスチックとして識別されたのは 33 個のみでした（サイズ範囲 20 ~ 703 μm ）。

表 1. 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
使用するライブラリ	Microplastics Starter 2.0 ^{6,7}
自動スキャン	オン
可視画像の収集	適合
粒子感度	自動
ヒットクオリティインデックス範囲	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（スペクトル照合のクオリティの高、中、低による特徴付け）は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。
サイズ分類範囲 (μm)	0 ~ 30 30 ~ 50 50 ~ 100 100 ~ 200 200 ~ 300 300 ~ 500 >500
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
偏向 (°)	デフォルト (0)
減光 (%)	デフォルト (0) / オート

表 2. 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	ユーザー作成のポリマーライブラリ
検索アルゴリズム	類似性
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	4 cm^{-1}
バックグラウンド収集	空気
色分けされた信頼度のしきい値	緑 (高信頼度) >0.97 黄 (中信頼度) 0.95 ~ 0.97 赤 (低信頼度) <0.95

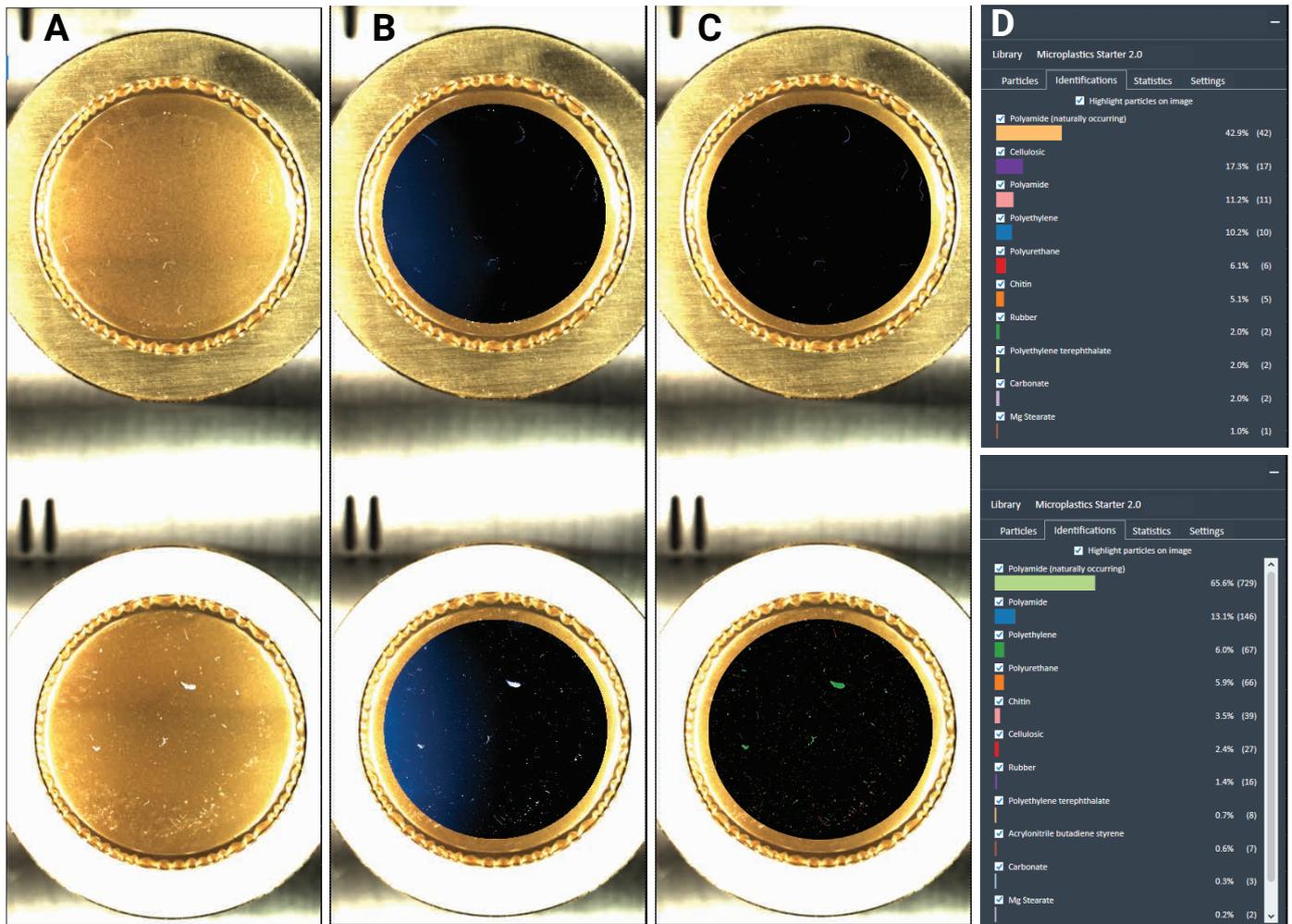


図 5. 市販品 A (上) および B (下) のマイクロプラスチックの同定および分類データ。Agilent 8700 LDIR システムを使用して金コーティングされたポリエチレンテレフタレートフィルタで直接分析したもの。(A) フィルタの可視画像 (B) フィルタに対して 1,442 cm⁻¹ でスキャンした IR 画像。(C) 見つかった粒子の強調画像。粒子は、フィルタ上で同定されたマイクロプラスチックの種類に基づいて着色されています。(D) マイクロプラスチックの同定結果に基づいて自動的に生成された統計データ

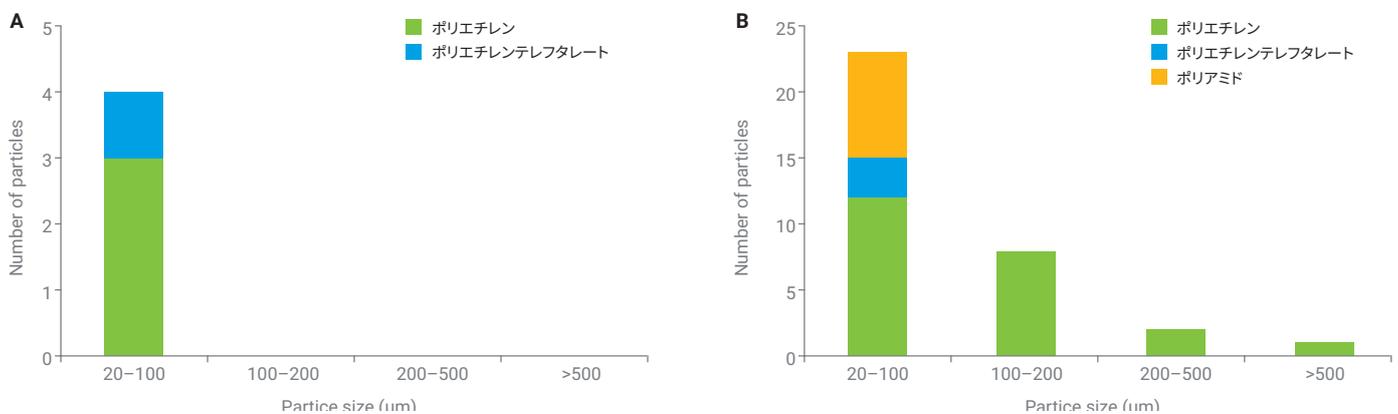


図 6. Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムを使用して、(A) 市販品 A および (B) 市販品 B で同定された粒子の数、サイズ範囲、および種類

PE および PET のマイクロプラスチックは、両方の市販品で混入遺物として同定されました。図 7 に示すように、市販品 A には 3 個の PE 粒子 (75%) と 1 個の PET 粒子 (25%) があり、市販品 B には 23 個の PE 粒子 (69%) と 3 個の PET 粒子 (9%) がありました。さらに市販品 B では、PA 粒子 8 個 (24%) の混入が観察されました。また、両方のサンプルで非マイクロプラスチック粒子が検出され、高いクオリティインデックスが得られました (図 8)。

Cary 630 FTIR によるマイクロプラスチック発生源の調査

実験セクションで述べたように、ダイヤモンド ATR を備えた Cary 630 FTIR を使用して、A と B の両方に存在するマイクロプラスチックの発生源を調査しました。図 9 に示すように、両方のボトルのポリマータイプは、

それぞれ 0.98027 と 0.97496 のヒットクオリティインデックスで PET として同定されました。結果は、ユーザー定義の信頼度のしきい値に基づいて色分けされています (表 2 を参照)。一方、A と B のキャップは図 10 に示すように、それぞれ 0.98571 と 0.98914 のヒットクオリティインデックスで高密度 PE として同定されました。Cary 630 FTIR 分光光度計は、Agilent MicroLab PC ソフトウェアを使用して制御します。このソフトウェアは、サンプルの導入からレポートまでの分析手順を、画像インタフェースを使用してユーザーにガイドします (図 11)。

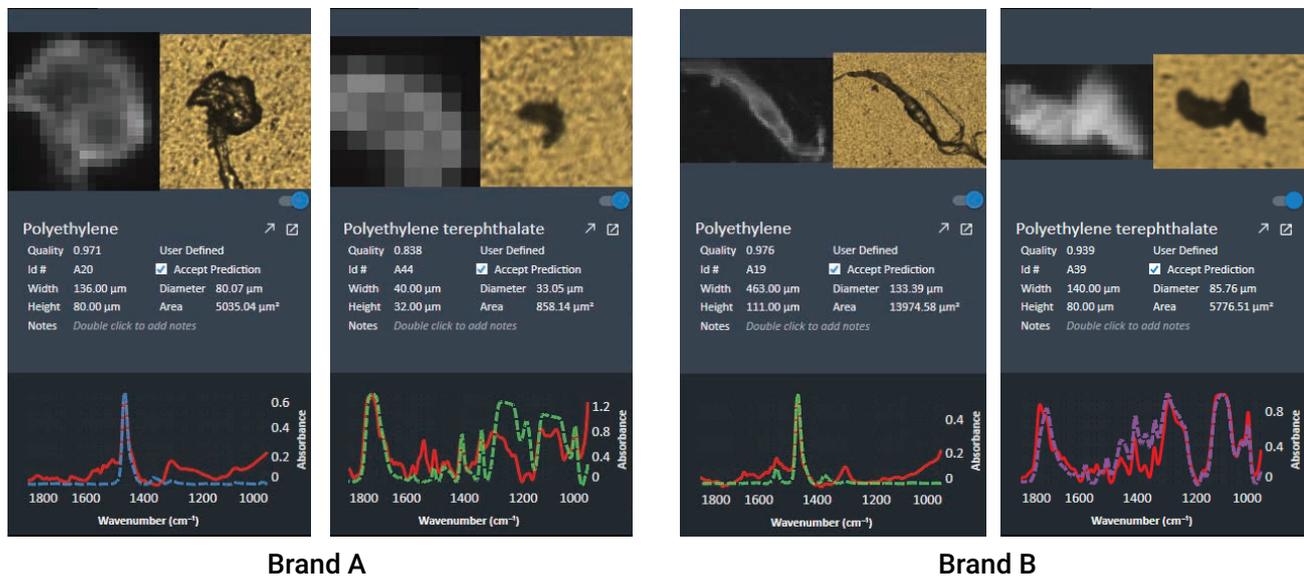


図 7. 市販品 A と B で同定されたマイクロプラスチック (PE と PET) の例

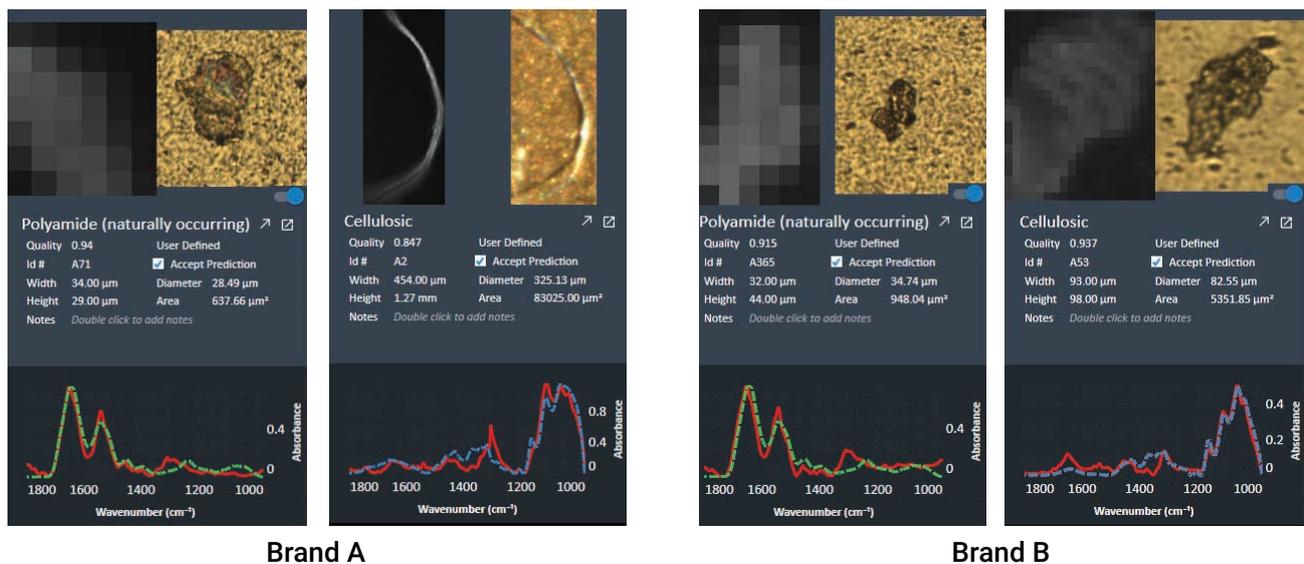


図 8. 市販品 A と B で同定された非マイクロプラスチック (天然のポリアミドとセルロース物質) の例

市販品 A

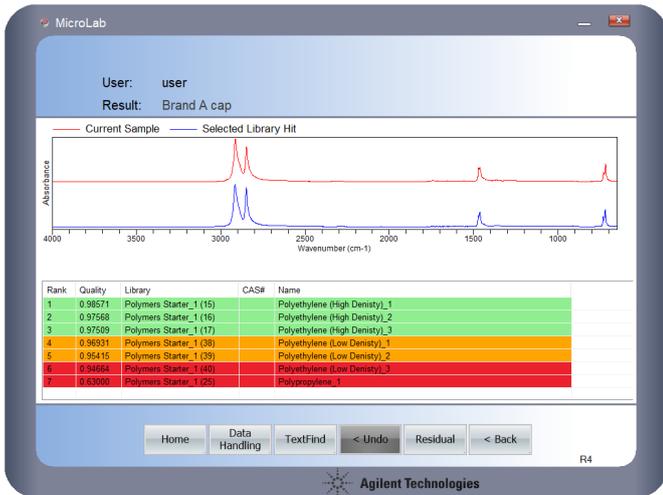


市販品 B



図 9. Agilent Cary 630 FTIR 分光光度計によるボトル（赤のトレース）とライブラリヒット（青のトレース）の定性分析。
この表は、市販品サンプル A と B のヒットクオリティとライブラリ、およびヒット名を示したものです。

市販品 A



市販品 B



図 10. Agilent Cary 630 FTIR 分光光度計によるキャップ（赤のトレース）とライブラリヒット（青のトレース）の定性分析。
この表は、市販品 A と B のヒットクオリティとライブラリ、およびヒット名を示したものです。



図 11. 直感的な Agilent MicroLab PC ソフトウェアのワークフローにより、Agilent Cary 630 FTIR では簡単に答えを見つけることができます。このソフトウェアは手順を画像で提供しているため、トレーニングの必要性を減らし、ユーザーベースのエラーのリスクを最小限に抑えます。

両市販品のボトルとキャップについて得られた 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。したがって、両方のサンプルに PE が多く含まれているのは、飲料水ボトルの開閉の結果であると考えられます。これは、Samandra et al. (2022)⁸ によっても汚染源の可能性として報告されています。PA の発生源は特定できませんでしたが、ボトルのパッケージ、水源、またはサンプル抽出中に発生した汚染が原因である可能性があります。ただし、その真の発生源を特定するには、さらに調査を行う必要があります。

結論

Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムのオンフィルタ分析機能を使用して、市販品 A と B でそれぞれ 0.80 を超えるヒットオリティで、合計 4 個と 33 個のマイクロプラスチック粒子が検出されました。PE と PET が、両サンプルで最も頻繁に検出されたポリマーでした。金コーティングされたフィルタ上の PET、PE、および非マイクロプラスチック粒子に対して、高い同定精度と信頼度が達成されました。

本研究の結果は、真空フィルタのサンプル調製手順と LDIR メソッドによりマイクロプラスチック分析を効率的に行い、時間を大幅に節約できることを示しています。ダイレクトフィルタ LDIR メソッドでは、サンプルを取り扱う機会が少なく、サンプル汚染の可能性が低減するため、優れた精度とより高いサンプルスループットが得られます。8700 LDIR ケミカルイメージングシステムの自動ワークフローは、サンプル数が多く、かつ高速なサンプルスループットが要求されるような、さまざまなマトリックス中のマイクロプラスチックの正確な特性評価に役立ちます。

また、Agilent Cary 630 FTIR を用いることで、マイクロプラスチックの発生源を調査するための簡単なソリューションを、単純なポリマー同定分析により実現しました。本アプリケーションノートでは、アプリケーションに合わせたサンプリングモジュールとメソッドを使用して、ポリマー同定における Cary 630 FTIR の柔軟性を示しました。Agilent MicroLab PC ソフトウェアは、画像ガイド付きで直観的に短時間で習得できるため、トレーニングの必要性やオペレーターのエラーが減り、さまざまなマトリックス中のマイクロプラスチックの発生源を簡単に調査できます。

参考文献

1. GESAMP: Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. Sources, Fate and Effects of Microplastics in the Marine Environment: a Global Assessment. *International Maritime Organization*, **2015**. GESAMP_microplastics_full_study.pdf (europa.eu)
2. Adaptation of Definition of 'Microplastics in Drinking Water'. *SCCWRP, S.W.R.C.B.* **2021**, 2020-0021.
3. Aslani, H. *et al.* Tendencies Towards Bottled Drinking Water Consumption: Challenges Ahead of Polyethylene Terephthalate (PET) Waste Management. *Health Promotion Perspectives* **2021**, 11(1), 60-68.
4. Horton, A. A. *et al.* Microplastics in Freshwater and Terrestrial Environments: Evaluating the Current Understanding to Identify the Knowledge Gaps and Future Research Priorities. *Sci. Total Environ.* **2017**, 586, 127-141. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.01.190
5. Mason S. A.; Welch V. G.; Neratko, J. Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water. *Front. Chem.* **2018**, 6, 407. DOI: 10.3389/fchem.2018.00407
6. 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. DOI: 10.1007/s00216-018-1156-x
7. 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
8. Samandra, S. *et al.* Assessing Exposure of the Australian Population to Microplastics Through Bottled Water Consumption. *Science of the Total Environment*, 837, 155329. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.155329

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
- Agilent MicroLab ソフトウェア
- ATR-FTIR 分光分析の概要

www.agilent.com/chem/8700-ldir

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

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。

DE61429752

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, February 2, 2023

5994-5616JAJP