

Agilent 8700 Laser Direct Infrared (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オンフィルタ分析の ベストプラクティス



はじめに

一般的なプラスチック製品は、使用、摩耗、風化作用、不適切な廃棄によって、小さな断片や粒子へと分解される可能性があります。多くの場合に、直径 1～5 mm のプラスチック粒子はマイクロプラスチックと呼ばれます。これらの小さなプラスチック粒子は環境中に偏在する物質で、世界保健機関により新規汚染物質として認識されています。¹ 特に飲料水、廃水、食物からマイクロプラスチックが確認されていることから、人間の健康に対する微粒子の影響について、さらなる研究が必要とされています。²⁻⁵

環境中や食物連鎖におけるマイクロプラスチックの挙動を理解するためには、さまざまなポリマーを同定、特定解析、定量できる高精度の分析法が必要です。⁶ 試験室間試験 (ILS) を実施することにより、国際的にマイクロプラスチックの分析方法を標準化する取り組みが進んでいます。ただし、これまでのところ、品質保証手順の使用における一貫性のなさなど、一部に手法の違いにより、ILS の結果には大きなばらつきが見られます。^{7,8}

マイクロプラスチックの正確で再現性の高い分析を実現するには、特定の実用的な側面を検討する必要があります。このホワイトペーパーでは、Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムを使用してマイクロプラスチックの高精度なオンフィルタ分析を実施する際のベストプラクティスについて説明します (図 1)。

ろ過前：サンプル汚染の最小化

正確なマイクロプラスチック分析を実現するためには、ラボ環境から発生しうる潜在的な汚染を制御する必要があります。⁸ このセクションでは、複数の汚染源 (空気質、個人用保護具、ガラス容器など) と、汚染を最小限に抑制するための実際の手順について説明します。

- 空気の純度を最大限に向上させ、空気中に浮遊する汚染物質の濃度を最小限に低減するために、ラボ内の空気の流れを管理する必要があります。
- サンプル前処理/ろ過は、ドラフト (層流型キャビネット) 内で行います。

- 実験用白衣由来の汚染物質 (糸など) を簡単に特定できるように、天然材料 (綿など) や粒子フリーの材料でできた白衣が推奨されます。リントローラーを使用して衣服から小さな繊維を取り除き、汚染を最小限に抑えることができます。
- 使い捨ての実験用手袋は汚染源となる可能性があり (ラテックスグローブのステアリン酸など)、安全面での目的のために必要でない限り着用しません。
- 分析者は、十分な手洗いをして、スキนครリームや化粧を避け、髪をまとめたりすることにより、汚染を最小限に抑制できます。
- Sigma-Aldrich 吸引ろ過アセンブリなど、吸引ろ過装置をセットアップする前に、すべてのガラス容器とドラフトを十分に洗浄する必要があります。ラボの洗浄プロトコルに従い、高純度水または高純度エタノール (EtOH) を使用します。
- ブランクを分析して水の汚染レベルを評価し解析することにより、洗浄や機器のすすぎ、またはサンプル前処理に使用する水質をチェックします。汚染物質には、マイクロプラスチックのほか、セルロースや天然由来のポリアミド (動植物繊維) などの非マイクロプラスチックがあります。



図 1. Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステム。(モニター表示は、Agilent Clarity ソフトウェア粒子分析ワークフローからのスクリーンショット)

ろ過中：サンプルの平坦度とベストなフィルタの取り扱いの確保

特に粒子検出など、正確なマイクロプラスチック分析を実現するための、サンプルろ過、フィルタの取り扱い、フィルタホルダの使用に関するベストプラクティスについて説明します。

8700 LDIR による分析のためにマイクロプラスチックサンプルの前処理を行っている場合、フィルタの 3 × 3 mm の特定領域における表面形状の高低差が 10 μm 未満であるのが理想的です。しかし、サンプル表面に最大 50 μm の高低差があっても、許容できる結果を得ることは可能です。

1. サンプルはきれいなガラス容器で保管します。プラスチック製の容器やピペットは避けてください。
2. ガラス器具は高純度水でしっかりと洗浄し、ラボ環境からの汚染を防ぐためにアルミホイルで覆います。
3. ラボ環境からの汚染のリスクを低減するために、フィルタ (図 2) はきれいな容器で保管します。フィルタボックスは、フィルタが必要なときだけ開けます。LDIR 分析に使用されるフィルタ仕様の例は、Sterlitech に掲載されています。
4. 金メッキフィルタは繊細なため、慎重に取り扱う必要があります。付属のピンセットを使用して、フィルタをろ過システムへ移します (図 2)。損傷したフィルタを使用したり、フィルタを再使用したりしないでください。

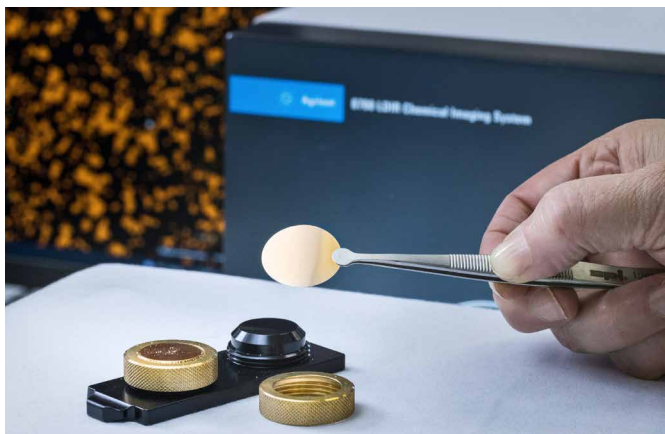


図 2. LDIR フィルタホルダおよびポリエステル金メッキメンブレンフィルタ (PETG)、0.8 μm ポアサイズ、100/0 nm (上/下) コーティング、直径 25 mm

5. フィルタの損傷や変形を防ぐために、次の手順に従うことを推奨します。
 - a. ろ過システム支持材の上にフィルタを置きます (図 3、画像 1)。
 - b. 真空システムをオンに切り替え、700 mbar (-30 kPa) の弱い真空圧に調整します。
 - c. 最後にファネルを配置して、クランプで吸引ろ過アセンブリを固定します (図 3、画像 2 および 3)。または、金メッキフィルタを高純度 EtOH に浸してから、真空圧を適用する前に吸引ろ過装置に移すことも可能です。
6. ろ過システム支持材は粒子が粗いです (フリット付きガラス)。シリカ粒子がフィルタの下に残らないようにするため、使用前に EtOH で表面を拭きます。あるいは、フィルタの支持面としてセルロースパッドを使用してもかまいません。より滑らかな材料でできたシステムを使用することも可能です (ステンレス製サポートスクリーンや PTFE ガスケットなど)。フィルタ支持材の例は Sterlitech で参照できます。
7. サンプルのろ過が完了したら (図 3、画像 4)、ファネルを取り外し、真空システムをオフに切り替え、約 2 分間フィルタを室温で乾燥させます。
8. フィルタが十分に乾燥したら、次の手順に従ってフィルタホルダに移します。
 - a. フィルタホルダを吸引ろ過装置の隣に置いておきます (図 3、画像 5)。
 - b. フィルタホルダから真鍮製取付リングを取り外します。
 - c. フィルタホルダの一段高いプラットフォームを EtOH で洗浄し、ステージ上にある粒子を取り除きます。これらの粒子はフィルタに膨らみが生じる原因となり、サンプルの平坦度に影響を及ぼす可能性があります。
 - d. ピンセットを使用して慎重にガラス容器からフィルタを取り外し、一段高いプラットフォームの上にフィルタをそっと置きます。ピンセットを使用してフィルタを中央に配置します。
 - e. 真鍮製取付リングをゆっくりとホルダに戻します (図 3、画像 6)。
 - f. フィルタが固定され、平坦になるように、真鍮製取付リングを締めます。
9. サンプル (フィルタ) は、ラボ環境からの汚染のリスクを低減するために覆う必要があります。
10. フィルタホルダには I および II と明記されています。1 枚のフィルタのみを使用している場合は、II の位置ではなく I の位置に配置します。2 枚のフィルタを使用している場合、両フィルタは同じ材料でできていなければなりません。同じフィルタホルダで、金メッキのフィルタと銀のフィルタは使用しません。



図 3. LDIR オンフィルタ分析のサンプル前処理のためのサンプルろ過装置と手順

その後：高品質な結果の実現

フィルタをフィルタホルダにセットしたら、ホルダを 8700 LDIR に挿入できます（図 4）。サンプルホルダを傾けないでください。



図 4. Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムへのサンプル挿入の様子

Clarity 機器コントロールソフトウェアを使用してマイクロプラスチックを優れた精度と効率で分析するために、以下のポイントを検討します。

- 分析を開始するにあたり、フィルタホルダの一番高くなっている領域、理想的にはフィルタの中央の何も無い領域に注目します。
- 自動粒子分析ワークフローを実行する前に、フィルタ全体をカバーする、 $1,442\text{ cm}^{-1}$ ($5\text{ }\mu\text{m}$ ピクセルサイズ) でのピーク分析を推奨します。スキャンデータは、サンプルがオーバーロードしているかどうかのチェックに使用でき、分析対象として最適なフィルタ領域を選択するのに役立ちます。
- 粒子分析ワークフローでは、ユーザーが定義したサンプル領域内にあるすべての粒子が自動で検出され、各粒子の周りに境界線が描画されます。選択した領域が平坦度の閾値を満たさない場合、Clarity ソフトウェアに警告が表示されます（平坦度は、選択した領域内にあるすべての粒子が確実に検出されるために必要です）。警告が表示されても、粒子分析ワークフローは継続されます。ただし、データは報告されず、サンプルを再挿入または再調製する必要があります。
- 粒子分析ワークフロー内で自動スキャンが有効になっている場合、ソフトウェアは自動で完全な分析を実行します。確認された粒子をプレビューしたり、粒子径や感度を調整したり、粒子を含めたり除外したりしたい場合は、自動スキャンを無効にする必要があります。
- 自動スキャンは自動で各粒子の可視イメージを収集します。この高倍率イメージを用いて、粒子径の測定精度を向上できます。このオプションを無効にし、各粒子に対して生成された赤外線イメージからの粒子径データを使用することで、分析を高速化することも可能です。
- 粒子分析ワークフローには、粒子感度スライダが含まれています。感度を上げると、スキャン対象領域で、より小さく微かな（より低い吸光度の）粒子が検出されます。感度設定は、粒子分析ワークフローで自動的に調整されます。
- ヒットクオリティは、リファレンスライブラリのスペクトルに対し、サンプルのスペクトルがどの程度適合しているかを示します。サンプル中のマイクロプラスチックの分析に使用される分類範囲では、ヒットクオリティインデックス (HQI) スコアシステムが使用されます。スコア 1 は最高品質の結果を表します。データ報告の要件に従い、分類範囲の条件を調整できます。分類範囲の以下の例（「高」「中」「低」と定義されるスペクトル照合品質の特性解析）は 0.65 から 0.99 までの HQI スコアに基づいています。
 - 低い信頼値 0.65 ~ 0.75
 - 中程度の信頼値 0.75 ~ 0.85
 - 高い信頼値 0.85 ~ 0.99
- この範囲から外れる粒子（0.65 未満）は、未定義として分類されます。
- 粒子分析ワークフローのデフォルト設定では、粒子径が $20\text{ }\mu\text{m}$ 以上の粒子を特性解析の対象とします（保証仕様）。手動で検出対象の最小粒子径を変更し、結果を確認することもできます。
- 分析が完了したら、フィルタをペトリディッシュに移して、カバーで覆い、保管します。

データ処理およびレポート作成

8700 LDIR システムを使用してサンプルの分析が完了すると、Clarity ソフトウェアにより自動で以下の統計データが分析者に提供されます。

- 検出された粒子の合計数。
- 同定された粒子と同定されなかった粒子の合計数。
- 各サイズ画分内の粒子の合計数。
- 同定された各粒子に対するポリマーの種類。
- 各粒子の同定に基づく、色分けされた同定粒子の統計的概観。
- 粒子径の範囲。
- 検出された各粒子の赤外線イメージと高倍率可視イメージ。

図 5 に示されているように、Clarity ソフトウェアは分析されたすべての粒子について、すべての関連情報を含む完全なレポートを生成します。このデータをより詳しい統計解析のために使用することができます。

分析者の要件と分析の目的に応じてマイクロプラスチックの分析結果を報告できます。以下に、マイクロプラスチックデータのレポートとして 2 つの例を示します。

- すべての非マイクロプラスチック粒子（天然ポリアミド、ステアリン酸、セルロース系材料、炭酸塩など）を除外し、選択した HQI 条件に基づいてその他すべての粒子（マイクロプラスチック粒子）を報告します。ラボでは他の材料からの干渉を受けるポリマーを手動で検証することを考える必要があります。
- 選択した HQI 条件に基づいて、検出されたすべての粒子（マイクロプラスチックおよび非マイクロプラスチック）をレポートに含めます。このレポート手法は、マイクロプラスチック/非マイクロプラスチックの比率の調査や、品質保証（空気や水ブランク中の非マイクロプラスチックの有無など）、汚染管理に使用できます。

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
#	Id	Width (µm)	Height (µm)	Diameter (µm)	Aspect Ratio	Area (µm ²)	Perimeter (µm)	Eccentricity	Circularity	Solidity	Identification	Notes	Match Type	Quality	Is Valid	
2	136	A136	32	66	45.22632333	0.483799877	1606.469364	183.4010314	0.875289104	0.600176193	0.907668	Polypropylene	Auto	0.989182309	true	
3	1187	N160	30	25	29.04343641	1.2	662.5	95.35533845	0.593723077	0.915599871	1	Polypropylene	Auto	0.988142941	true	
4	1457	P9	84	46	44.48404777	1.811320484	1554.169845	464.5337838	0.67340319	0.090505242	0.511458	Polypropylene	Auto	0.986195172	true	
5	1058	N31	45	109	66.69425946	0.409728698	3493.548612	295.2764086	0.892176977	0.503522817	0.8869	Polyvinyl chloride	Auto	0.984782141	true	
6	1366	N339	15	35	22.56758334	0.428571429	400	88.28427076	0.800696062	0.644916053	0.941176	Polyethylene	Auto	0.984609453	true	
7	722	B10	43	84	44.55184594	0.514751476	1558.910878	336.0091002	0.765732289	0.173511823	0.531656	Polypropylene	Auto	0.984072136	true	
8	635	A635	20	25	22.21216612	0.8	387.5	75.35533845	0.57691853	0.857538291	0.96875	Polypropylene	Auto	0.983210414	true	
9	1039	N12	124	117	114.7050223	1.064931471	10333.67382	474.5188353	0.710734849	0.576710291	0.859654	Polypropylene	Auto	0.982491071	true	
10	1033	N6	199	127	140.5186246	1.565273437	15508.06675	630.4570881	0.608798103	0.490293868	0.829895	Polycarbonate	Auto	0.981200019	true	
11	1788	Z9	54	43	33.09729244	1.251956148	860.3493127	402.5195673	0.681442654	0.066728396	0.495013	Polypropylene	Auto	0.979425796	true	
12	16	A16	162	282	196.3089538	0.57290026	30267.0503	1393.702997	0.831195256	0.195812086	0.803308	Polypropylene	Auto	0.979344044	true	
13	385	A385	23	48	27.92595963	0.491803282	612.5	143.6396092	0.847632573	0.373050415	0.662162	Polyethylene terephthalate	Auto	0.976482834	true	
14	852	G4	157	217	182.5185397	0.726839294	26163.98264	701.2129183	0.729164188	0.668673173	0.929609	Polypropylene	Auto	0.974727215	true	

図 5. 粒子分析ワークフローの最後に Agilent Clarity ソフトウェアで生成されたレポートのスクリーンショット

FTIR による補完的分析

サンプル中に確認されたマイクロプラスチックの潜在的発生源をさらに詳しく調査するために、Agilent Cary 630 FTIR 分光光度計とダイヤモンド ATR アタッチメントを使用して、より大きなプラスチック（最小約 2 mm）を分析し、同定することが可能です（図 6）。



図 6. Agilent Cary 630 FTIR 分光光度計。より大きなプラスチック片の発生源を特定するのに有用です。

Agilent MicroLab ソフトウェアでは、サンプリングやクリーニングなどの分析の各手順を画像による説明でナビゲートします。MicroLab ソフトウェアは自動でライブラリ検索を行い、わかりやすい結果表示形式で最適なライブラリー一致のリストを提供します。Cary 630 FTIR で、よりシンプルかつ簡潔に回答を得ることが可能です。

アジレントは、MicroLab ソフトウェアに対応したすぐに使用可能なアプリケーションに特化したライブラリを幅広く取り揃えています。また、MicroLab ソフトウェアで専用スペクトルライブラリを簡単に作成、維持、管理することもできます。⁹

参考文献

1. World Health Organization, Dietary and Inhalation Exposure to Nano- and Microplastic Particles and Potential Implications for Human Health, accessed November 2022. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240054608>
2. Zhang, Q. *et al.* A Review of Microplastics in Table Salt, Drinking Water, and Air: Direct Human Exposure. *Environ. Sci. Technol.* **2020**, 54(7), 3740–3751. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b04535>
3. Conley, K. *et al.* Wastewater Treatment Plants as a Source of Microplastics to an Urban Estuary: Removal Efficiencies and Loading per Capita Over One Year. *Water Res X* **2019**, 10(3), 100030. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2019.100030>
4. Kadac-Czapska, K.; Knez, E.; Grembecka, M. Food and Human Safety: the Impact of Microplastics. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutrition*, **2022**, 17, 1–20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2132212>
5. Lim X. Microplastics Are Everywhere - But Are They Harmful? *Nature* **2021**, 593(7857), 22–25. doi: 10.1038/d41586-021-01143-3. PMID: 33947993
6. Van Mourik, L. M. *et al.* Results of WEPAL-QUASIMEME/ NORMANs First Global Interlaboratory Study on Microplastics Reveal Urgent Need for Harmonization. *Sci. of the Total Environ.* **2021**, 10, 772:145071. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145071
7. Belz, S. *et al.* Current Status of the Quantification of Microplastics in Water - Results of a JRC/BAM Inter-Laboratory Comparison Study on PET in Water, EUR 30799 EN, *Publications Office of the European Union*, Luxembourg, **2021**. ISBN 978-92-76-40958-8, doi:10.2760/6228, JRC125383
8. 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>
9. Alwan, W.; Robey, D. 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に関する FAQ
- 水中のマイクロプラスチックの分析
- 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

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。

DE17468476

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, January 17, 2023

5994-5467JAJP