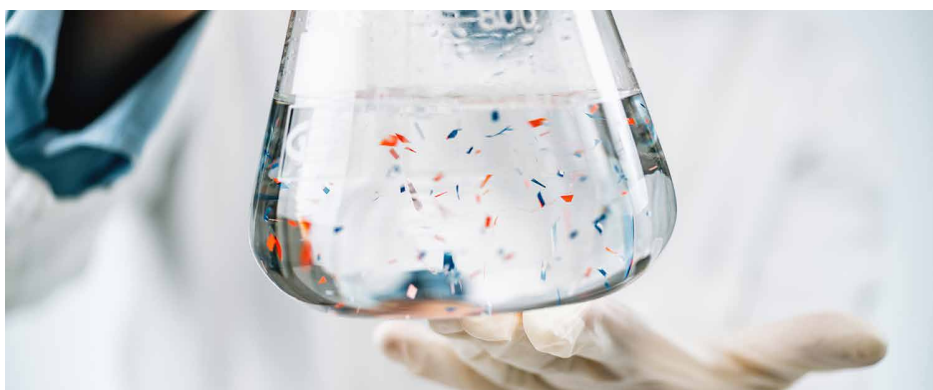


振動分光分析による水中の マイクロプラスチック分析に関する ISO/FDIS 16094-2 への対応



著者

Darren Robey
Agilent Technologies, Inc.

はじめに

環境汚染物質に関する規制の対象として、マイクロプラスチックなどの新規汚染物質が追加されました。マイクロプラスチックはサイズ、形状、ポリマー組成が多岐におよぶため、その分析は容易ではありません。正確に評価するには、高度な技法が必要です。

規制機関では、飲料水中のマイクロプラスチックのモニタリングに関するガイドラインと試験プロトコルの策定が進められていますが、そこでは信頼性の高い分析メソッドの重要性が重視されています。分析の標準化に向けた主な取り組みの 1 つとして振動分光分析があります。この分析法は低濃度の懸濁固形物を含む水サンプルを対象とした ISO/DIS 16094-2 でも取り上げられています¹。

このホワイトペーパーでは、量子カスケードレーザー赤外顕微分析（QCL-IR）が活用される Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) ケミカルイメージングシステム（図 1）による、これらの要件への適合について説明します。



図 1. Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムでは、飲料水中のマイクロプラスチックの高速ルーチン分析が可能です。サンプル中に存在する粒子数やそのサイズ、化学組成などを測定できます。

ISO メソッド：主な用語と適用性

ISO メソッドを導入するには、まず、その適用性と用語を理解する必要があります。ISO 文書¹ には、役立つガイダンスが記載された序文の Web ページへのリンク² が含まれています。

この文書では、これらの規格が任意であり、国内法令を覆すものではなく、国内法令が引き続き優先されることが明言されています。例えば、人間が消費する飲料水中のマイクロプラスチックに関する EU 指令に従って実施されるラボ試験³ は、これらの規格より優先されます。

- また、ISO 文書では、以下のように使用表現が明確にされています。
- 「shall」は要件を示します。
 - 「should」は勧告を示します。
 - 「may」は、許容されることを示すために使用されます。
 - 「can」は、可能なこと、例えば組織や個人が行えることを示すために使用されます。

- さらに、以下のように続きます。
- 「要件」は、「文書において、客観的に立証可能な満たすべき基準を伝える表現であり、その文書に適合していることを主張する場合は、その基準からの逸脱は許容されない」として定義されています。
 - 「勧告」は、「文書において、可能な選択の提案または特に適切と見なされる一連の行動を表す表現であり、必ずしも他を言及または排除するものではない」として定義されています。

このような区別により、ラボでは、規格のどの部分が義務で、どの部分が提案にすぎないのかがわかります。この規格には、単なるガイダンスであり情報であることを意味する「informative（参考情報）」のラベルが付けられた付録がいくつか含まれています。

規格の構成

この規格では、メソッドの実行、検証、および報告に関する包括的なガイダンスが提供され、同様の ISO 文書に共通の定型形式に従って構成されています。また、この規格は、振動分光分析に適したさまざまな機器に適用されます。このホワイトペーパーでは、ラボにおける、このメソッドを使用した 8700 LDIR の適用に特に焦点を当て、関連するセクションのみを扱います。特に明記されていない限り、この目的のための LDIR の採用に障害がないものとします。

同様に、波長範囲など一般的なトピックが、標準化された形式に従って複数のセクションで扱われていることがあります。このホワイトペーパーはトピック別に構成し、相互参照できるように、記載されている規格の関連セクションを付記します。このホワイトペーパーで扱う規格のセクションを表 1 に示します。

表 1. このホワイトペーパーで取り上げる規格のセクション

セクション番号	セクションタイトル
3	用語、定義、略語
5	干渉
7	ラボ環境、機器、および器具に関する注意事項
8	サンプリング
9	操作手順
10	メソッドの特性評価と検証
11	連続試験における分析コントロールブランクの品質チェック
12	結果の表示
13	試験レポート
付録 F	QCL-IR 顕微分光

一般情報

規格の冒頭には、メソッド、そのメソッドが適用されるサンプルのタイプ、結果のタイプ、および適用範囲に関する一般情報が記載されています。例えば、1 ～ 5,000 μm の範囲のマイクロプラスチックの測定に適用可能であることが明記され、主な対象ポリマーの一覧が示されています。表 2 に、これらの主なパラメータをいくつか示します。

表 2. 振動分光分析を使用した 4 つのメソッドにおけるマイクロプラスチック分析要件のまとめ

メソッド	ISO/DIS 16094-2
サンプルの種類	- 超純水 - 人間が消費する水 - 未処理の地下水
対象のポリマー	- ポリエチレン - ポリプロピレン (PP) - ポリエチレンテレフタレート (PET) - ポリカーボネート (PC) - ポリスチレン (PS) - ポリテトラフルオロエチレン (PTFE) - ポリ塩化ビニル (PVC) - ポリアミド (PA) - ポリメチルメタクリレート (PMMA) - ポリウレタン (PU)
結果	- 粒子の数 - 各粒子のポリマー ID - 粒子サイズ
測定可能な最小粒子サイズ	5 μm (ラマン) 20 μm (赤外)
測定可能な最大粒子サイズ	5 mm
分析技法	顕微鏡に結合された赤外装置 (フーリエ変換赤外分光光度計、量子カスケードレーザー赤外顕微分光、顕微鏡に結合されたラマンなど)

表 3. セクション 7.2.2「顕微鏡に結合された IR 装置」と LDIR による要件の準拠状況

要件	LDIR
- 光学顕微鏡 - 少なくとも 4 倍に拡大可能な対物レンズ - 可視光下で使用できること	すべての要件に準拠
コンピュータ画面に粒子を表示できる高解像度カメラ	すべての要件に準拠
フィルタを IR 光線下に移動するための適切なポジショニングシステム	すべての要件に準拠
- キャリブレーション済みの赤外分光光度計 - 透過、反射、または減衰全反射 (ATR) モードでスペクトルを記録できること 4,000 ～ 750 cm^{-1} の赤外範囲、8 cm^{-1} 以上の分解能 - スペクトル参照の分析により機器の正常な動作を定期的に確認すること	- すべての要件に準拠 - 要件に準拠：反射、透過反射、ATR - 要件に準拠：指紋領域 1,800 ～ 975 cm^{-1} で動作 - 波長範囲については、さらにセクション 9 および付録 F で説明 - LDIR は分解能 0.5 cm^{-1} でスペクトルを収集 - すべての要件に準拠：スペクトル参照と自動定期バリデーションシステムを内蔵
スペクトルの採取、フィルタのバックグラウンドノイズの補正、スペクトルデータベースとの比較が可能なソフトウェア	すべての要件に準拠
少なくとも PE、PET、PP、PS、PC、PVC、PMMA、PTFE、PA、PU の数種類のスペクトルが収録されたスペクトルデータベース	すべての要件に準拠

LDIR の適合性

QCL の使用

この規格では、特にメソッドを顕微鏡と組み合わせて使用する場合に、ラマン分光分析や赤外 (IR) 分光分析の両方を扱っています。LDIR システムは IR によって動作するため、関連セクションは IR 技法に関するものであり、セクション 3「用語、定義、略語」、セクション 4「原理」、セクション 7.2「機器」など、文書全体に見られます。また、付録 F では特に QCL ベースのシステムについて取り上げています。

セクション 3 および 4 では、LDIR などの QCL ベースのシステムの使用に限定せず、幅広い情報が提供されます。具体的な情報は、セクション 7.2.2「顕微鏡に結合された IR 装置」に記載されています。その要件を表 3 にまとめます。また、セクション 7.2.1 には、手順を手動でも自動でも実行可能であることが示されています。

この規格のセクション 7 は機器の仕様に関するものであり、セクション 9 は操作手順の概要で、追加関連情報が記載されています。セクション 9.6.9「IR スペクトルの採取と粒子の同定」では、採取モードと波長範囲について説明しており、適切なメソッドとして透過反射法に言及しています。このセクションでは、QCL ベースのシステムについて取り上げた付録 F を参照し、一部の機器のスペクトル範囲が規定の 4,000 ～ 750 cm^{-1} より狭いことを認めています。ただし、さらに限定的なスペクトルパラメータで動作する、QCL 以外のシステムもあります。また、酸化アルミニウム製 (Anodisc) のものなど、一般に使用されているフィルタでは、1,200 ～ 750 cm^{-1} の範囲の信号が排除される可能性があります。

付録 F は 2021 年地域版にもとづき 2022 年規格草案で追加された項目で、あらゆる QCL ベースのシステムに適用されるという点で一般的な内容となっています。ただし、このセクションの詳細情報は 8700 LDIR とは無関係です。言うまでもありませんが、このような付録が単なる参考情報であることも忘れないでください。

付録 F では、QCL ベースのシステムについて 3 つの関心領域に注目しています。

- 第 2 項では、QCL と $\mu\text{FTIR}/\mu\text{Raman}$ の結果の類似性を示すには不十分なラボ試験が存在すると述べています。これは他の QCL ベースの機器に該当する可能性はありますが、LDIR を使用しているラボは、近年行われたいくつかのラボ間比較研究に参加しています。2025 年初めに結果が公開された最近の研究⁴ には LDIR を使用する複数のラボが参加し、その結果から、このグループにおける LDIR の十分な性能が明らかに確認されました。
- ポイント 1 「サンプル前処理」では、分析用の基板としてガラス製スライド（Low-E（または Kevley）スライド）を使用した場合のサンプル損失の可能性に対して懸念を提起しています。ただし、このポイントが付録 F で挙げられている理由は不明です。このようなスライドの使用は QCL ベースのシステムに限ったものではなく、実際、従来型 FTIR システムなど IR 分光分析に一般的だからです。このメソッドを使用するすべてのラボには、セクション 10.6 で規定されている適切な回収率を実証することが要求されます。さらに、LDIR には金またはアルミニウムフィルタに適したサンプルホルダが付属しており、最終的な過ステップの完了後に、これらのフィルタ上でサンプルを直接分析できます。
- ポイント 2 「自動スペクトル採取のためのメソッドパラメータ」では、一部の QCL-IR システムの設定オプションが限られ、それが結果に何らかの影響を与える可能性があることが懸念されていますが、具体的にどのようなオプションが欠如しているのかは明記されていません。このポイントは、詳細が不十分であることに加え、（使用機器に関わらず）メソッドのバリデーションをセクション 10 「メソッドの特性評価と検証」に従って行うという要件と冗長化しています。

LDIR は、分析で要件を満たすためにユーザーが調整可能な一連の適切な設定を備えています。これらの設定では、スペクトル採取速度、粒子の検出に使用する IR 波長、粒子の検出感度、最小および最大粒子サイズなどを調整できます（図 2）。また、代替ライブラリを使用して、スペクトルを非常に迅速かつ簡単に処理することも可能です。

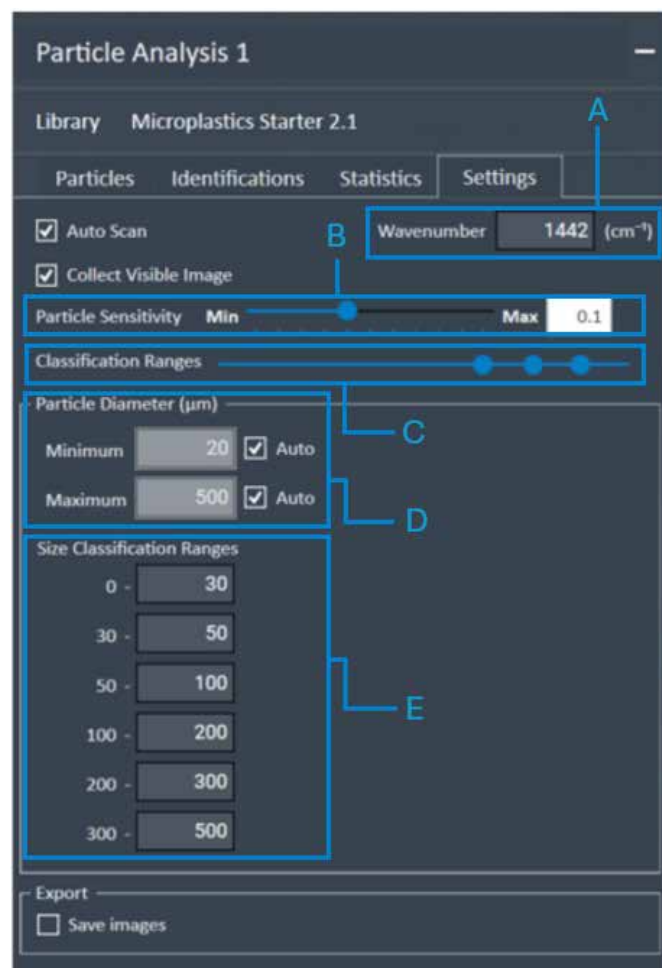


図 2. (A) 粒子検出のための波数選択、(B) 粒子の検出感度、(C) 分類（HQI）範囲、(D) 最小および最大粒子サイズ、(E) 報告用のサイズ分類範囲

これらの問題から、付録 F には付加価値がないため、無視すべきでしょう。ラボは、メソッドのバリデーションに関する主要規格のセクション 10 に従う必要があります。このセクションの内容は、LDIR のような QCL システムを含むすべての関連技法に適用されます。

LDIR の適合性：その他の要件

この規格では、その他の一連の機器要件が以下のように定義されており、LDIR はそのすべてを満たしています（表 4）。

表 4. セクション 9 で規定されている IR 機器に関する要件のまとめ

要件	LDIR
セクション 5 では外部汚染源などの干渉について、セクション 9.6.1 ではフィルタをろ過デバイスから顕微鏡に物理的に移す際の注意事項について説明しています。	LDIR では、密閉型のパージ済みチャンバが使用されるため、LDIR へのセット後は、チャンバとサンプルが汚染から保護されます。また、サンプルが粒子損失の可能性からも保護されます。
9.4 機器の調整とキャリブレーション 9.4.1 赤外顕微鏡	LDIR では、自動試験プロトコルが毎日実行され、結果が記録されて維持されます。生産時、据付時、および年 1 回、すべての関連機能を対象とした追加チェックが実行されます。
9.6.2 光学対物レンズの選択。十分な信号とコントラストを得るために、4 倍～100 倍の対物レンズを使用する必要があります。複数の対物レンズを使用する場合は、適切に位置合わせする必要があります。	LDIR で使用される対物レンズはこの基準を満たしており、要求される分解能を優に達成できます。LDIR では可視チャンネルと IR チャンネルが両方使用され、どちらも定義された許容値に合わせて調整され、頻繁にチェックされます。
9.6.9 IR スペクトルの採取と粒子の同定： – 透過（透過反射）、反射、ATR のいずれかを使用すること。透過または反射採取モードが推奨されます。 – バックグラウンド信号の減算を適用すること。 – スペクトルを、同じ採取モードのスペクトルデータベース（ライブラリ）と比較すること。	– LDIR では、自動分析に透過反射モードが使用されますが、反射および ATR モードも利用できます。 – 測定の間、フィルタ表面の複数のポイントでバックグラウンドが連続的に取得されます。 – LDIR には透過反射スペクトルのライブラリが付属し、その他のライブラリも利用できます。また、独自ライブラリの作成や既存のライブラリへの追加も可能です。
9.8 スペクトル処理： – 使用すべき処理は定義されていませんが、複数のオプションがあることが示されています。 – 誤った同定の可能性を回避するために必要なもののみを使用することが推奨されます。	LDIR では最小限のスペクトル処理が使用されます。 – ベースラインの減算 – 0.5 cm^{-1} で収集したスペクトルを 8 cm^{-1} にスムージング – スペクトルを正規化 – 照合に一次微分を使用
9.9 化学組成の同定基準： – 照合に関する幅広い基準 – 一連の分類オプションが示されているが、ピアソン相関を推奨 – HQI について説明、セクション 10.4 で適切な HQI を決定するための方法を詳述 – 自動解析における約 80 % (0.8) の HQI を例示	– LDIR は、先日公開されたホワイトペーパー ⁵ で実証され、ラボ間比較研究 ⁴ で確認されており、このセクションの要件を満たしています。 – LDIR の照合システムはコサイン類似度にもとづきますが、このホワイトペーパーではよく合致していることが示されています。 – ラボでは独自の HQI しきい値を確立する必要がありますが、LDIR による自動分析には 0.8 が適切なガイドラインであることが実証されています。
9.10 スペクトル干渉 ポリアミドと天然タンパク質（9.10.3）、ポリエチレンと長い CH 鎖を持つその他の分子（9.10.4）など、一般的な干渉を具体的に挙げています。適切な物質をライブラリに含め、資格のあるオペレータが検証することが推奨されています。	– LDIR は、以前のホワイトペーパー ⁵ とアプリケーションノート ⁶ で実証されているように、これらの問題に適切に対処できます。 – スペクトルライブラリには、あらゆるタイプの関連物質が含まれています。 – LDIR のスペクトルビューワでは、手動検証を簡単に行うことができ、追加ライブラリですばやく簡単に評価するためのオプションも用意されています。

サンプリング（分析前）

サンプリングはマイクロプラスチック分析の重要な要素であり、物質の回収率、サンプル由来のノンターゲット物質のレベル、および外部汚染に影響する可能性があります。サンプリングおよびサンプル前処理の大部分は機器や技法に共通ですが、いくつかの違いもあります。

セクション 7.2.5 では、種類やサイズなど、フィルタの特性について説明しています。例えば、フィルタには以下の特性がなければならないとしています。

- 測定のタイプ（IR など）およびモード（透過反射）に対応していること
- 目的とするマイクロプラスチックに干渉するスペクトルバンドがないこと
- 適度に平坦であること、特殊ホルダによる補助も可能
- バックグラウンドノイズに影響を与える可能性のあるマイクロプラスチックを放出しないこと
- 耐熱性、機械的耐性（必要な場合）、耐酸化性があること
- 適切な多孔性（ポア径およびポア間の距離）を備えていること

LDIR では、金コーティングフィルタとアルミニウムコーティングフィルタ⁷⁸（直径 25 mm）をどちらも使用できます（図 3）。これらのコーティングには一般的な溶媒に対する耐性と、希薄濃度での使用時には酸化剤に対する耐性もあります。コーティングによってフィルタ全面が覆われているため、スペクトルのアーチファクトや基板から剥離した断片による干渉は生じません。また、高密度の 0.8 μm ポアを備えているため、実用に適したろ過速度が確保され、凝集や詰まりが抑えられます。2 つのコーティングタイプでは、最小限の干渉または歪みで高品質の信号反射が得られます。



図 3. LDIR には、金コーティングフィルタ（写真）とアルミニウムコーティングフィルタが付属しています。

この利点は、少なくとも、FTIR システムで一般的に使用されるフィルタタイプである酸化アルミニウム製の Anodisc フィルタには該当しません。このフィルタは 1,200 cm^{-1} 以下の波数域で強い吸収を示すため、この部分のスペクトルは使用できず、1,174 ~ 1,087 cm^{-1} の波数帯でのみ検出可能な PTFE の検出能力はありません（図 4）⁹。

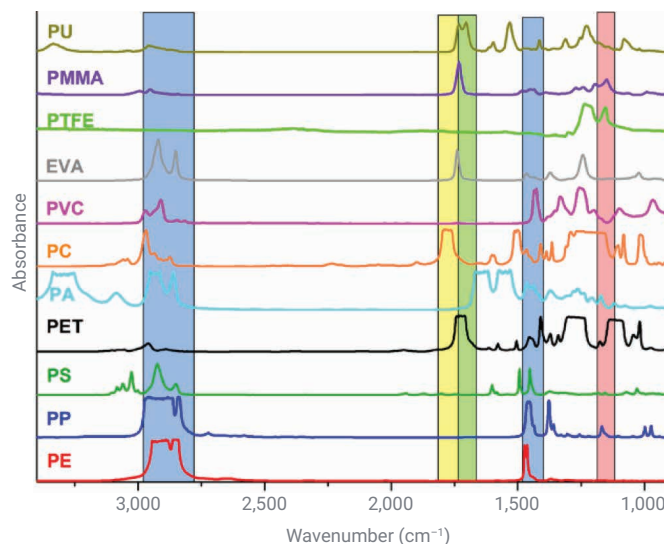


図 4. 一般的な合成ポリマーの IR スペクトル（透過モード）。ほとんどのポリマーは指紋領域（1,800 ~ 975 cm^{-1} ）にピークが現れていますが、PTFE はスペクトル範囲 1,174 ~ 1,087 cm^{-1} （赤）でのみ同定が可能です⁹。

LDIR には、フィルタを平坦な状態に保つ特殊なフィルタホルダが付属しています。また、LDIR は、システム内のサンプルが十分に平坦でない場合に自動的に検出し、ユーザーに警告します。

これらのフィルタは、セクション 9.2「サンプルのろ過手順」の要件に準拠した市販のろ過装置に対応しています。

ソフトウェアと報告

この規格では、分析プロセスと結果の報告方法に関する詳細についても述べられています。LDIR など高度な全自動機器では、これらの機能の多くがソフトウェアで制御されます。

分析対象の粒子や領域の選択

粒子に重点を置いたマイクロプラスチック分析には、多大な時間がかかることがあります。サンプルには多数の粒子が含まれている可能性があるため、システムで粒子を検出および単離して特性解析や分析を行えるように、粒子の分離が多少なりとも必要になります。

セクション 9.6.3 「分析対象の粒子の選択または分析する表面領域の選択」では、表 5 に説明するように、これに関するガイドラインを定めています。

セクション 9.6 では、サンプリングモデルを提示し、推奨アプローチとしてサンプル全体を分析する「TOTAL」モデルが取り上げられています。LDIR では、迅速な自動分析が可能なため、このモデルが採用されています。これに代わるサブサンプリングモデルも利用できますが、有効性に劣り、主により低速で多くの労力を要するシステムを補うものと見なされています。オペレータはこのモデルの適合性を、特にマイクロプラスチックサンプルが一般的に均質性に欠けることを踏まえて、評価する必要があります¹⁰。

表 5. 振動分光分析を使用したマイクロプラスチック分析要件のまとめ

要件	LDIR
粒子の検出： 第 1 項では、粒子の検出について扱っていますが、使用用語は、多くのシステムと同様に、このタスクに可視イメージを使用するシステムに関連しています。 また、粒子の同定において、「ボア、フィルタのしわ、その他の光アーチファクト」の影響を排除することの重要性についても言及しています。	LDIR は、このプロセスに IR 光を使用する唯一の機器であり、はるかに優れたプロセスを実現します。高反射性バックグラウンドのフィルタおよびスライドと組み合わせることで、卓越したコントラストが達成されます。 IR イメージを主な同定メソッドとして使用することで、サンプル基板による干渉などを排除できます (図 5)。
第 2 項では、粒子サイズについて詳述し、特に色および透明度の影響に関して、サイズを正しく特性解析できなければならないとしています。	LDIR は、このプロセスに IR イメージを使用することで、色および透明度に関する問題を解消します。
第 3 項では、サンプルの平坦度と焦点への影響について詳述しています。	LDIR は、これらの懸念を 2 つの方法で解消します。 - フィルタとスライドのどちらを使用する場合も、サンプルホルダは、サンプル表面をできる限り平坦な状態に確保するように設計されています。特に、フィルタホルダには、サンプルを平坦な状態でしっかり支える革新的なロッキングメカニズムが採用されています。 - Agilent Clarity ソフトウェア (LDIR の操作ソフトウェア) に搭載されている自動ワークフローは、分析開始時に自動サンプル平坦度チェックを実行し、許容値外の場合に警告します。

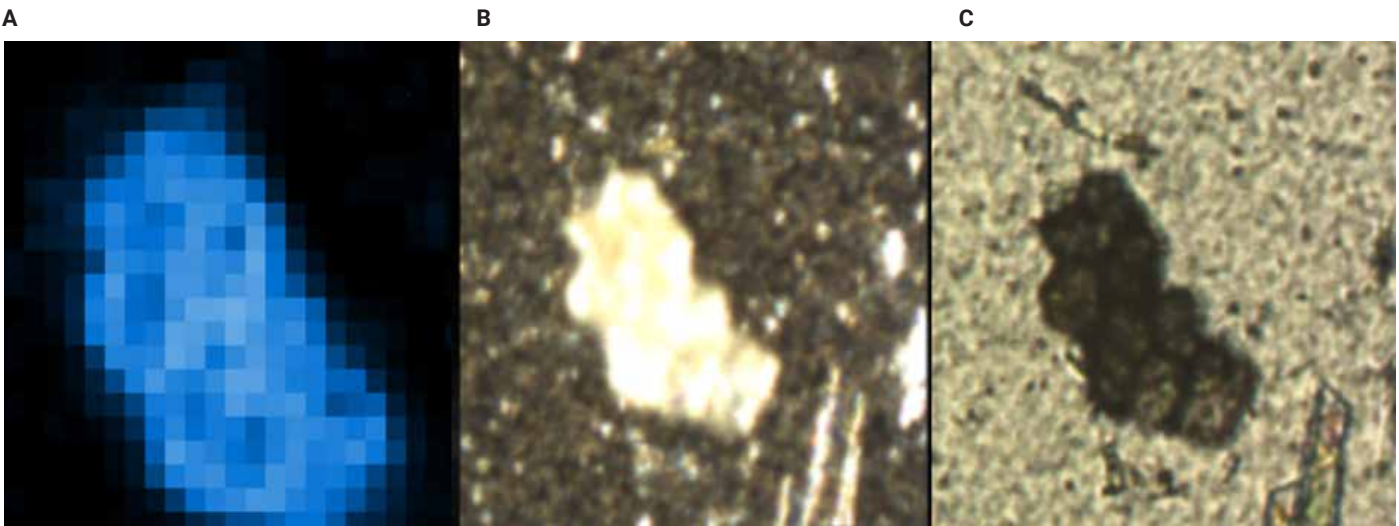


図 5. 粒子の赤外 (A)、オンアキシス (B)、およびオフアキシス (C) イメージ

結果の表示

セクション 12 では結果の表示について、またセクション 13 では試験レポート自体について扱っています。この種の規格にはよくあることですが、他のセクションでもこれらのトピック、特に定義について触れています。このセクションの詳細情報のほとんどは、すべての手法に当てはまるという点で一般的と言えますが、重要なポイントがいくつかあります。

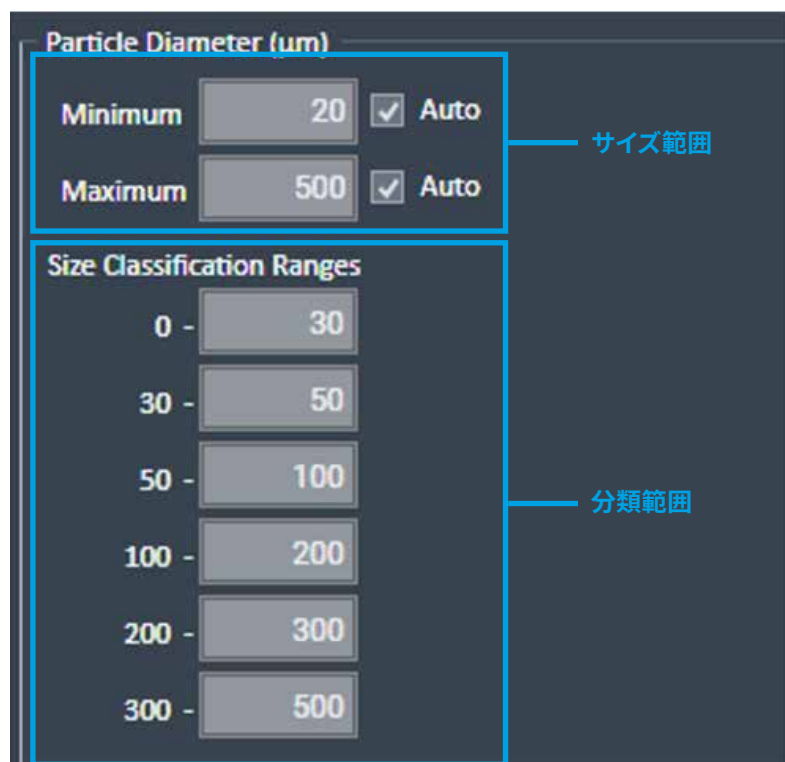
- － 確実に報告限界値を示すことが重要です。これらの値の計算方法については、セクション 10 に詳述されています。
- － 報告限界値を超えている場合は、サンプル中の粒子数のみを定量（すなわち、報告）できます。
- － 粒子数を計算する際は、ブランク値の減算は許容されません。
- － 同様に、回収率の補正もできません。

LDIR は、計算および報告でブランクや回収率の補正が行われないという点で、これらの要件に準拠しています。

このセクションでは、結果をその性質（つまり、ポリマーのタイプやサイズ）に従って表示しなければならないとしています。LDIR ソフトウェアでは、ユーザーが必要な最小および最大サイズ範囲と個々の分類範囲を定義（また、今後使用するために保存）できます（図 6）。これらのパラメータは結果に反映されます。

また、すべての結果は、さらにレポートを作成するために、Microsoft Excel ファイルにダウンロードできます。このレポートには追加パラメータが含まれ、その情報を粒子形状の判断などに使用することができます（図 7）。

A



B

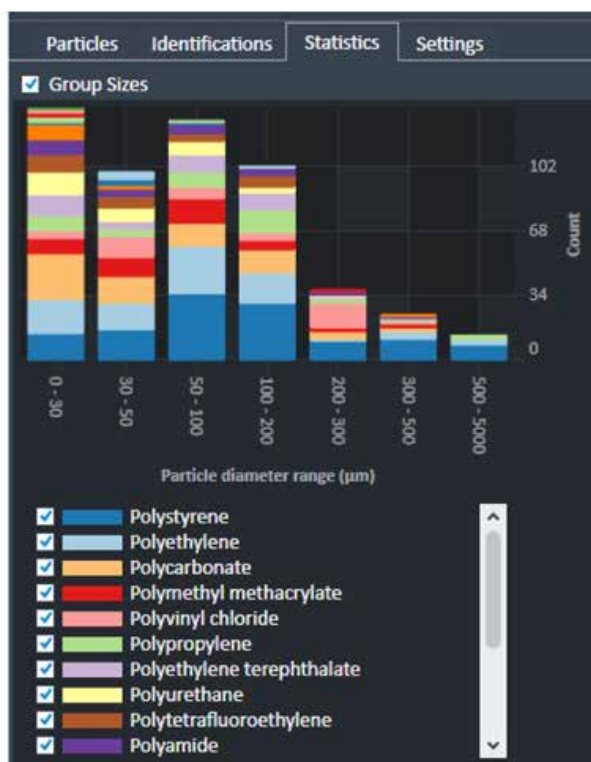


図 6. LDIR での結果の表示例

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
1	#	Id	Width (μm)	Height (μm)	Diameter (μm)	Aspect Ratio	Area (μm²)	Perimeter (μm)	Eccentricity	Circularity	Solidity	Identification	Notes	Match Type	Quality	Is Valid
2	1	A1	319	150	180.72187	2.134599262	25651.4137	1251.164346	0.557037974	0.205917117	0.685786253	Polycarbonate (PC)		Auto	0.819660559	true
3	2	A2	346	134	155.1396658	2.581549625	18903.21112	1256.680788	0.805443702	0.150416506	0.496481542	Polycarbonate (PC)		Auto	0.853483665	true
4	3	A3	121	209	143.7762008	0.57735382	16235.43347	807.148436	0.806069906	0.313160468	0.820757455	Rubber		Auto	0.664502823	true
5	4	A4	127	142	116.4099098	0.892498502	10643.14028	649.2839931	0.696181463	0.317256302	0.76378926	Polycarbonate (PC)		Auto	0.791846815	true
6	5	A5	87	133	103.9666991	0.650617355	8489.427285	430.4798969	0.677555942	0.57568181	0.908286214	Polycarbonate (PC)		Auto	0.736232699	true
7	6	A6	124	160	119.2085059	0.772881356	11161.03244	598.0980646	0.817559274	0.392075261	0.862054851	Polycarbonate (PC)		Auto	0.840211686	true
8	7	A7	153	104	109.7763171	1.468931335	9464.707436	613.2498047	0.584875404	0.31625851	0.803592186	Polycarbonate (PC)		Auto	0.778167911	true
9	8	A8	64	160	78.52923376	0.39824582	4843.425246	511.9070217	0.941390813	0.232263139	0.648998915	Polycarbonate (PC)		Auto	0.839841591	true
10	9	A9	130	69	77.55654183	1.871283228	4724.183447	437.9128136	0.512071115	0.309571742	0.709412857	Polycarbonate (PC)		Auto	0.891068745	true
11	10	A10	53	101	65.10229508	0.528117021	3328.759967	315.0612339	0.862438708	0.42140764	0.847812231	Natural Polyamide		Auto	0.9297209	true
12	11	A11	116	64	74.03258624	1.8030557	4304.628966	317.8767316	0.519266675	0.535338046	0.884696841	Polycarbonate (PC)		Auto	0.680473079	true
13	12	A12	47	87	58.28621023	0.54398489	2668.219282	255.5698286	0.87440005	0.513348407	0.860636277	Polycarbonate (PC)		Auto	0.870308025	true
14	13	A13	68	60	57.23481112	1.1344931	2572.825842	244.5634069	0.476089241	0.54055178	0.866957686	Polycarbonate (PC)		Auto	0.844240091	true
15	14	A14	86	42	48.9010416	2.025316463	1878.13195	320.2240031	0.57378099	0.230159126	0.703385158	Polycarbonate (PC)		Auto	0.868342381	true
16	15	A15	32	55	35.81115644	0.587082253	1007.225177	165.9876002	0.749411596	0.459393816	0.780604678	Polycarbonate (PC)		Auto	0.822053494	true

図 7. さらに解析するために、結果を詳細な Excel ワークシートにエクスポートすることも可能です。

メソッドの特性評価と検証

セクション 10 では、メソッドの特性評価と検証について扱っています。ここに記載されている詳細情報の多くはすべての技法に共通ですが、重要です。実際、マイクロプラスチックに関する初期の研究の多くは、メソッドやそのバリデーション方法に関する詳細に欠けていることが指摘されてきました。その結果、研究の比較が難しく、この問題の包括的な理解を深める上での有用性は限られます。

セクション 10.1 は概論であり、「ラボはその技能を実証すること」としています。その方法に関する詳細情報はセクション 10.2 ～ 10.5 に含まれています。

- 10.2 粒子サイズの測定精度の検証
- 10.3 公称サイズでのマイクロプラスチックの同定と分類の検証
- 10.4 自動同定のための最小 HQI の決定
- 10.5 メソッドの報告限界値の決定

また、セクション 11 では、分析コントロールブランクの使用について説明しています。

粒子サイズの測定精度の検証（セクション 10.2）

ラボには、認定標準試料を使用してサイズ測定の正確さを検証することが要求されます。LDIR の全自動ワークフローでは、分析中に粒子のサイズが測定され、幅および高さの 2 つのパラメータが粒子の長軸および短軸の 2 つの軸として報告されます。機器には、これらの測定値の検証に使用可能なルーラー機能も内蔵されています（図 8）。

この内蔵ルーラーは、既知幅のバーが印刷された付属の USAF ターゲットを使用して検証できます（図 9）。これらのターゲットは、このような機器の分解能を検証するための標準ツールです¹¹。

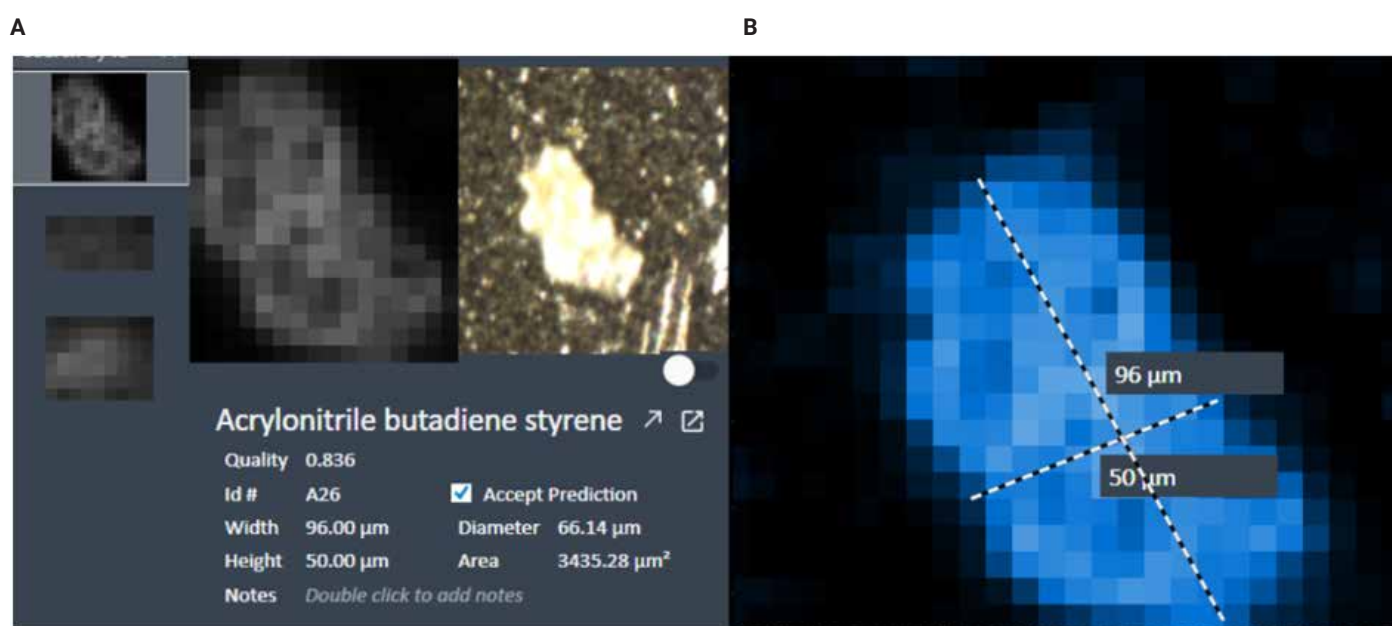


図 8. 内蔵ルーラー機能

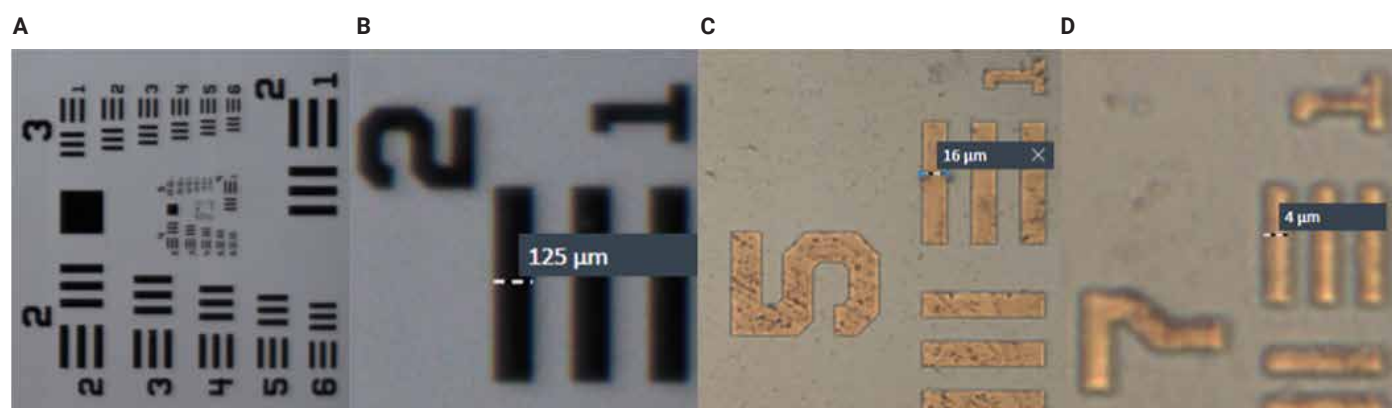


図 9. (A) USAF ターゲットには、既知幅の一連のバーが印刷されています。(B) グループ 2 要素 1 のバーの幅は 125 μm 、(C) グループ 5 要素 1 のバーの幅は 15.63 μm 、(D) グループ 7 要素 1 のバーの幅は 3.91 μm です。A および B の画像では LDIR の標準カメラが使用され、C および D は高倍率レンズを使用して撮影されています。

公称サイズでのマイクロプラスチックの同定と分類の検証（セクション 10.3）

このセクションの主な要件は、機器により公称サイズ範囲内の粒子のサイズが正確に測定されることを検証することです。具体的には、公称サイズ範囲の下限での、少なくとも 4 種類のマイクロプラスチックの同定が必要になります。この同定には、天然サンプルまたはスパイクサンプルを使用できるとしています。

このタスクのため LDIR で天然サンプルを使用する場合は、セクション 10.2 に関する項目に示したように、内蔵ルーラーによってサイズを容易に検証できます。図 10 は、NIST 認証 20 μm 径ビーズをスパイクしたサンプルをこのタスクに使用した結果です¹²。

自動同定のための最小 HQI の決定（セクション 10.4）

セクション 10.4 では、適切な HQI の決定手順が定められており、LDIR ではこの手順に容易に従うことができます。具体的には、自動手法と資格のあるオペレータによる手動検証の両方を使用して、少なくとも 3 種類のサンプルを分析することが要求されます。サンプルは天然サンプルとスパイクサンプルのどちらでも構わないとしています。これらの結果を HQI について比較し、自動化による結果を手動で検証した結果と比較したときに偽陰性または偽陽性の結果が 30 % を超えない適切な HQI しきい値を決定します。

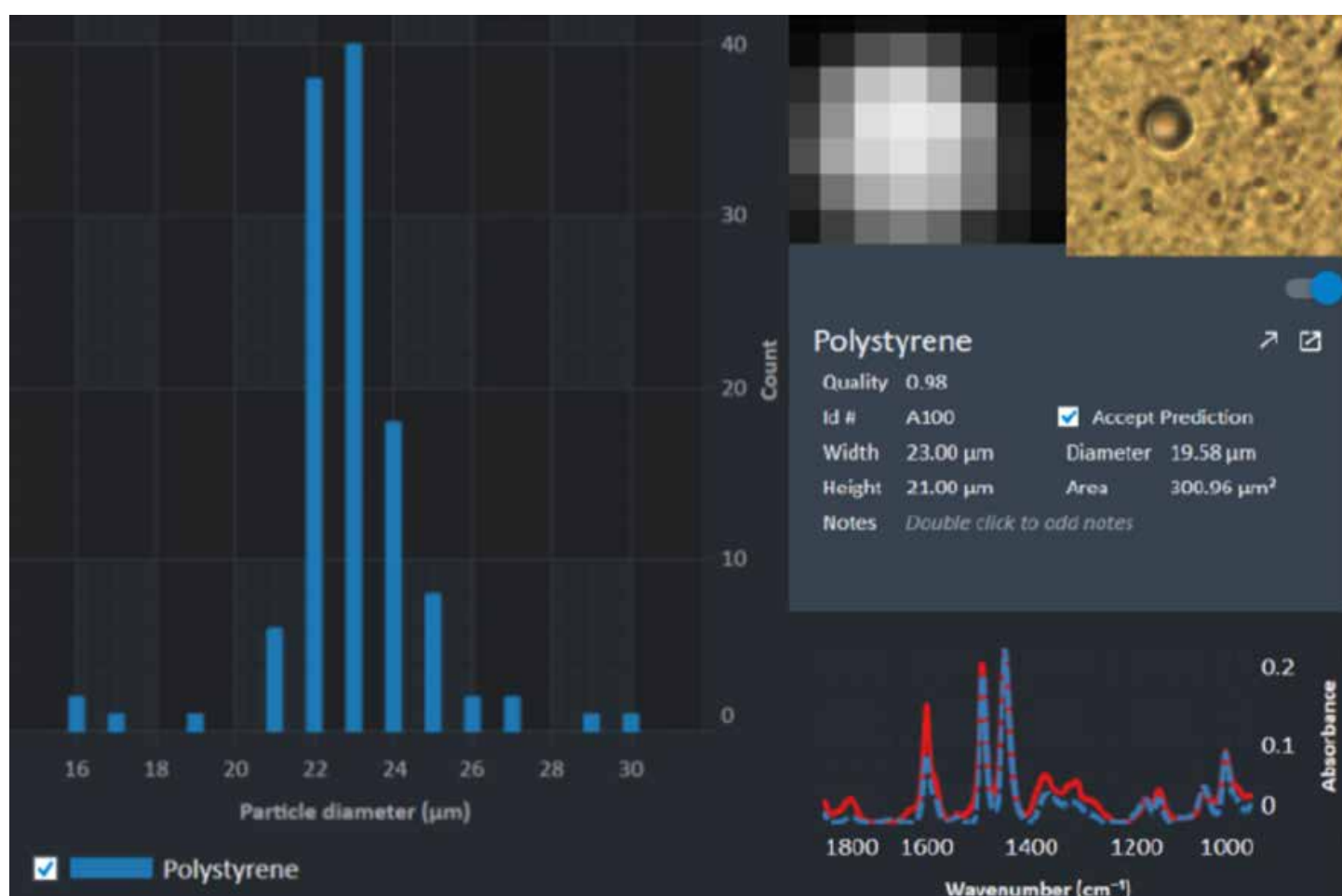


図 10 Agilent 8700 LDIR ケミカルイメージングシステムの自動粒子分析ワークフローにより測定した 20 μm ポリスチレンビーズ（NIST トレース可能）の例

LDIR では、結果を Excel ファイルにエクスポートして、このタスクを容易に実行できます。このファイルにはポリマーの同定結果と HQI スコアが両方含まれているため、手動で検証した結果と比較することで、適切な HQI を簡単に計算できます。

この規格では、さらにラボにおいて、熟練オペレータによる検証後に結果が受け入れられる HQI から、結果が却下される基準値となる HQI スコアまでの範囲を決定することを推奨しています。例として、HQI が約 80 % (LDIR で 0.8 として表示) の場合はそれ以上の検証なしで結果を受け入れ、60 % 未満の場合は却下し、その間の場合は検証することを提案しています。LDIR では、ユーザーがこのような分類範囲を設定し、後に使用するためにその設定を保存することができます。この ISO 規格では 3 つの範囲を推奨していますが、LDIR では最大 4 つの範囲を使用できます (図 11)。また、最小の範囲に該当する粒子については、誤った報告の可能性を回避するため、自動的に結果が「未定義」として記録され、最も一致度が高いものは報告されません。

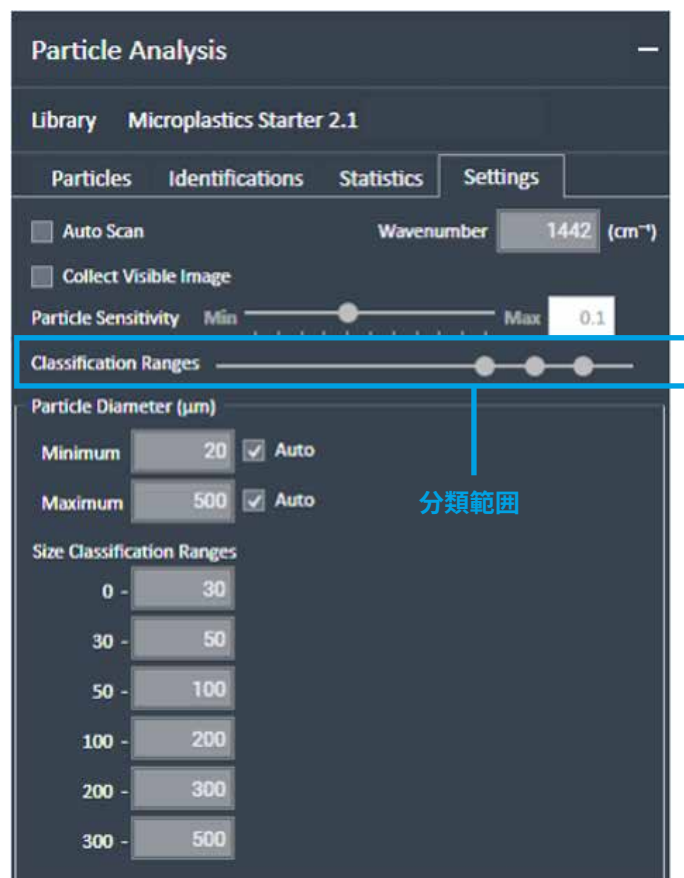


図 11. 分類範囲は簡単に設定でき、後で使用するためにカスタム範囲を保存することも可能です。

メソッドの報告限界値の決定 (セクション 10.5)

この規格では、報告限界値の確立方法を定義しています。このプロセスは機器に共通であり、LDIR ユーザーには特に影響しません。ただし、検出される粒子の最小数と最小粒子サイズの両方に報告限界値が適用されるとしています。LDIR には、この最小粒子サイズの決定および検証後、確立された報告限界値未満の粒子を自動的に排除して、誤ったデータの報告を回避する機能があります。

このセクションでは、最小サイズを決定するようユーザーに求める一方、最小サイズとしてラマン機器の場合は 5 µm、IR 機器の場合は 20 µm を推奨しています。LDIR の自動ワークフローは、粒径が最小 10 µm までの粒子に対する信頼性が実証されています¹²。ただし、この規格では、各ラボにおいてこれを検証することが要求されています。

連続試験における分析コントロールブランクの品質チェック (セクション 11)

セクション 11 では、分析コントロールブランクに関する非常に重要なトピックを扱っています。これについては、セクション 9.3 でも説明しています。他のセクションと同様に、このセクションはさまざまな機器タイプに共通で、詳細情報のほとんどは一般的なラボ慣行に関するものです。

重要な要素の 1 つとして、分析コントロールブランクを等しく扱うことが挙げられています。LDIR の 2 ポジションフィルタホルダを使用すれば、機器からサンプルやブランクを取り外さずに、サンプルの横で分析コントロールブランクを分析できます。この分析は、オペレータが介入不要の全自動ワークフローで実行できます。この機能は、便利なことはもちろん、ブランクの報告精度を大幅に向上できます。

結論

結論として、ISO 規格に従って LDIR 技術を導入することで、ラボでは、水サンプル中のマイクロプラスチックの同定および定量のための堅牢で信頼性の高いアプローチを手にすることができます。HQI スコアの分類範囲のカスタマイズおよび保存機能により、報告における柔軟性と標準化がどちらも向上し、結果の一貫性と正当性を確保することができます。また、検証された報告限界値未満の粒子を自動排除する LDIR の機能により、誤ったデータの報告リスクが最小限に抑えられ、国際的に認められたベストプラクティスへの適合が後押しされます。さらに、この機器の 2 ポジションフィルタホルダを利用して自動ワークフローに分析コントロールブランクを組み入れることで、品質管理を効率化し、手動での追加介入なしにブランクの測定精度を高めることができます。

最小粒子サイズと報告限界値の厳密な検証に関する ISO 勧告に従えば、規制および科学的基準を満たした結果を確実に報告できます。LDIR で提供される機能およびワークフローの最適化により、これらの規格への準拠が簡略化されるだけでなく、効率的なハイスループット分析も可能になります。マイクロプラスチック分析分野の発展は続いており、環境モニタリングおよび規制に関する意思決定の情報源となる信頼性の高いデータを生成するには、このような機器および手法の進化が不可欠です。

最終的には、標準化された手順と LDIR のような高度な技術の採用が、今後もマイクロプラスチックの検出および定量の科学発展においてきわめて重要な役割を果たすでしょう。これらのツールを用いることで、ラボは高品質のデータを生成し、科学コミュニティにわたるメソッドの調和を支援、水資源のマイクロプラスチック汚染の理解と緩和に向けた国際的な取り組みに貢献できます。

参考文献

1. ISO/DIS 16094-2: Water quality — Analysis of microplastic in water, Part 2: Vibrational spectroscopy methods for waters with low content of suspended solids including drinking water. <https://www.iso.org/standard/84460.html>
2. Foreword - Supplementary information <https://www.iso.org/foreword-supplementary-information.html>
3. Commission Delegated Decision (EU) 2024/1441: Supplementing Directive (EU) 2020/2184 of the European Parliament and of the Council by laying down a methodology to measure microplastics in water intended for human consumption. http://data.europa.eu/eli/dec_del/2024/1441/oj
4. Ciornii, D.; Hodoroaba, V.-D.; Benismail, N.; Maltseva, A.; Ferrer, J. F.; Wang, J.; Parra, R.; Jézéquel, R.; Receveur, J.; Gabriel, D.; et al. Interlaboratory Comparison Reveals State of the Art in Microplastic Detection and Quantification Methods. *Analytical Chemistry* **2025**, 97(16), 8719–8728. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c05403>
5. Alwan, W.; Worth, C.; Wilson, P. Microplastics Analysis and the Infrared Spectrum: スペクトル範囲選択の重要性 Agilent Technologies white paper, publication number 5994-8037EN, **2025**. <https://www.agilent.com/cs/library/whitepaper/public/wp-microplastics-infrared-spectral-range-5994-8037en-agilent.pdf>
6. Kerten, A.; Robey, D. Distinguishing Between Polyamide Microplastics and Natural Polyamide. Agilent Technologies application note, publication number 5994-4032EN, **2021**. <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-polyamides-8700-ldir-5994-4032EN-agilent.pdf>
7. Alwan, W. Best Practice for On-Filter Analysis of Microplastics Using the Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) Chemical Imaging System. Agilent Technologies white paper, publication number 5994-5467EN, **2023**. <https://www.chem-agilent.com/appnote/pdf/whitepaper-microplastics-analysis-8700-ldir-5994-5467ja-jp-agilent.pdf>
8. Kumanayaka, T.; Alwan, W. Analysis of Microplastics on Aluminum-Coated Filters Using the Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) Chemical Imaging System. Agilent Technologies technical overview, publication number 5994-6844EN, **2023**. <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/te-microplastics-al-coated-filters-8700-ldir-5994-6844en-agilent.pdf>

9. K  ppler, A.; Fischer, D.; Oberbeckmann, S.; Schernewski, G.; Labrenz, M.; Eichhorn, K.-J.; Voit, B. Analysis of Environmental Microplastics by Vibrational Microspectroscopy: FTIR, Raman or Both? Analytical and Bioanalytical Chemistry **2016**, 408(29), 8377–8391. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9956-3>
10. Liu, K.; Zhu, L.; Wei, N.; Li, D. Underappreciated Microplastic Galaxy Biases the Filter-Based Quantification. Journal of Hazardous Materials **2024**, 463, 132897. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132897>
11. Wikipedia contributors. (2025, October 30). 1951 USAF resolution test chart. In Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 03:17, October 31, 2025, from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=1951_USAF_resolution_test_chart&oldid=1319554812
12. Achieving Accurate Microplastics Characterization. The Agilent 8700 LDIR Chemical Imaging System. Agilent Technologies ebook, publication number 5994-5614EN, **2023**.
13. Alwan, W. Optimizing Microplastic Characterization by LDIR: Automated versus Manual Workflows. Agilent Technologies technical overview, publication number 5994-8677EN, **2025**. <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/te-microplastic-analysis-manual-8700-lidir-5994-8677en-agilent.pdf>

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

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。

DE-013111

アジレント・テクノロジー株式会社

  Agilent Technologies, Inc. 2026

Printed in Japan, March 10, 2026

5994-8931JAJP