

Laser Direct Infrared(LDIR) 이미징을 사용한 플라스틱 병의 미세플라스틱에 대한 대면적 고속 분석

Agilent 8700 LDIR 화학 이미징 시스템을 사용하여 적외선 반사 유리 슬라이드 및 금도금 필터에서 입자 직접 분석



저자

Wesam Alwan, David Troiani,
Darren Robey
Agilent Technologies, Inc.

개요

Agilent 8700 laser direct infrared(LDIR) 화학 이미징 시스템을 사용해 적외선 반사 유리 슬라이드 및 금도금 멤브레인 필터에서 폴리에틸렌 테레프탈레이트(PET) 병의 미세플라스틱을 분석하였습니다. 8700 LDIR을 사용한 입자 직접 분석은 환경 시료 내 미세플라스틱의 일반 테스트에 적합합니다. 간단한 실험 설계를 사용하는 LDIR 분석법은 다른 기법과 비교했을 때 식별 정확성이 높고, 상당한 시간을 절약해 줄 뿐만 아니라 전문가가 아닌 작업자도 쉽게 구현할 수 있습니다.

서론

미세플라스틱은 5mm 미만의 작은 플라스틱 조각으로 다양한 자연 서식지와 식품, 먹는 물에서 발견될 수 있습니다. 미세플라스틱이 생태계에 미치는 부정적인 영향을 이해하기 위해서는 이러한 입자의 특성을 적절히 규명하는 것이 매우 바람직합니다.¹ 입자 수, 크기, 모양 및 폴리머 유형의 측면에서 서로 다른 매트릭스 내 미세플라스틱의 분광학적 특성 규명은 이 분야에서 객관적인 과학적 지식을 구축하는 데 중요합니다.²

각 시료에서 분석해야 하는 입자의 수가 많고 일반적인 시료에서 입자가 분포되어 있는 면적이 넓기 때문에 미세플라스틱의 특성을 규명하는 일은 쉽지 않습니다. 이 응용 자료에서는 Agilent 8700 LDIR 화학 이미징 시스템(그림 1)이 다수의 입자를 포함하는 슬라이드 또는 필터를 통해 완전 자동화된 미세플라스틱 입자 분석을 제공하는 기능을 보여줍니다. 입자가 포함된 슬라이드 또는 필터의 넓은 영역을 다른 기법이라면 며칠에서 몇 주가 걸리는 것을 8700 LDIR을 사용하면 몇 분에서 몇 시간 이내에 분석할 수 있습니다. 8700 LDIR 화학 이미징 시스템을 사용해 적외선 반사 유리 슬라이드 및 금도금 멤브레인 필터에서 PET 병의 미세플라스틱을 분석하였습니다. LDIR을 사용해 상대적으로 빨리 시료에 존재하는 모든 입자를 분석할 수 있으므로 완전한 대표성을 지니는 시료 표본에 대한 종합적인 데이터를 얻을 수 있어 미세플라스틱 연구에 큰 도움을 줍니다.



그림 1. Agilent 8700 LDIR 화학 이미징 시스템 및 Agilent Clarity 소프트웨어 입자 분석 워크플로 스크린샷. 환경 시료에서 미세플라스틱의 대표적인 이미지를 보여주는 모니터.

고도로 자동화된 기기

8700 LDIR은 조정 가능한 Quantum Cascading Laser(QCL) IR 소스를 사용합니다. 울트라 브라이트 레이저가 시료에서의 위치에 관계없이 중적외선(MIR)의 지문 영역($1,800 \sim 900\text{cm}^{-1}$)을 통과할 수 있기 때문에 식별에 사용하는 분자별 스펙트럼 특징을 알려줍니다. 알려진 모든 미세플라스틱이 속한 알려진 모든 유기 물질은 이 영역에서 MIR에 반응하고, 각 유형의 분자가 진동, 회전 및 병진 방식으로 특징적인 여러 분광학적 특징에 기여합니다. 이 지문 영역에서 유기 물질의 MIR 활동 덕분에 LDIR이 미세플라스틱 특징 규명에 적합합니다. 더 넓은 MIR 영역($3,300 \sim 1,800\text{cm}^{-1}$)에서 관찰되는 더 넓고 일반적인 흡광도 밴드가 미세플라스틱 분석에 도움을 주는 경우가 있습니다. 그러나 이 영역에서의 대역 특이성 부족으로 인해 데이터가 미세플라스틱 식별을 위해 엄격하게 요구되는 것은 아니기 때문에 데이터가 조연으로 밀려나게 됩니다.

8700의 QCL 이온화원은 특정 파수에서 전체 시료를 빠르게 래스터하기 때문에 LDIR은 시료 어디에서나 미세플라스틱 입자를 빠르게 찾을 수 있습니다. 입자 크기 정보 또한 보고되기 때문에 응용 목적에 따라 사용자가 정의한 그룹으로 자동 분류 또는 분할할 수 있습니다. 8700에는 고품질의 비주얼 카메라 2대가 장착되어 있습니다. 한 대는 배율이 낮고 나머지 한 대는 배율이 높으며, Agilent Clarity 소프트웨어를 사용한 완전 제어가 가능합니다. 8700 LDIR은 완전 자동화된 IR 현미경 솔루션을 제공하기 때문에 전통적인 IR 및 Raman 현미경 기법에는 필요한 상당한 수준의 교육도 필요하지 않습니다. 또한 다른 기술과 비교했을 때 8700을 사용하면 사용자는 훨씬 더 적은 시간에 훨씬 더 넓은 면적에서 더 많은 시료를 분석할 수 있습니다.

실험

시료 전처리

PET 병의 일부를 철물점에서 쉽게 구할 수 있는 금속 파일을 사용해 미세한 분말로 분쇄했습니다. 입자를 에탄올이 든 바이알에 모아 세게 흔든 후 하룻밤 동안 놔두었습니다. 소량의 용액 분취액을 5mL의 무수 에탄올(Scharlau ET00052500; CAS 번호: 64-17-5)에 피펫으로 분주하여 미세플라스틱 용액을 만들었습니다. 그런 다음 미세플라스틱 용액은 분석을 위해 다음 두 가지 방법으로 전처리했습니다.

1. On-IR 반사 유리 슬라이드 분석

다수의 미세플라스틱 용액 분취액 10 μ L를 피펫을 사용하여 IR 반사 유리 슬라이드(7.5 × 2.5cm; MirrIR, Kevley Technologies, 미국 오하이오, 그림 2)에 옮겼습니다. 그런 다음 분석 전에 에탄올이 증발할 수 있도록 슬라이드를 실온에서 건조시킵니다. 유사한 시료 전처리 절차는 LDIR을 사용한 지표수 및 처리된 폐수 분석을 위한 이전 연구에서 사용되었습니다.³

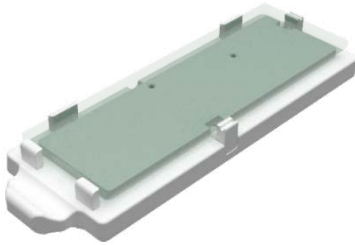


그림 2. 8700 LDIR 화학 이미징 시스템에서 사용되는 적외선 반사 유리 슬라이드 홀더.

2. 온 필터 분석

미세플라스틱 용액 5mL를 펌프에 부착된 진공 여과 유리 장치를 이용하여 여과하였습니다. 금도금 도금된 멤브레인 필터는 다음 섹션에 설명된 대로 필터 홀더로 옮겨졌습니다.

진공 여과 장치

금도금 멤브레인 필터가 약하고 유연하기 때문에 필터를 지탱하는 구조물로 공극이 작은 유리 프린트 진공 여과 필터판을 사용했습니다. 유리 프린트의 공극 밀도가 높고 구조가 견고하면 진공압을 보다 고르게 분포시키는 데 도움이 되고, 금도금 멤브레인 필터가 진공 여과 동안 회복 불가능할 정도로 변형되지 않도록 합니다. 이 진공 여과 유리 장치는 JAVAC(모델: CC-81 진공 펌프(호주 빅토리아)에 부착했습니다. 펌프에는 또한 수동 진공 레귤레이터가 장착되어 있습니다(SMC Metric M6 port 140L/min, 그림 3). Sterlitech Corporation(미국 워싱턴주 오번)의 폴리에스테르(PETG) 금도금 멤브레인 필터, 0.8 μ m 공극 크기, 100/0nm 코팅, 25mm 직경을 사용하여 입자를 추출했습니다. 멤브레인 필터가 약하기 때문에 각 입자 용액을 여과하는 동안 700mbar(-30kPa)의 약한 진공압을 가했습니다(그림 3 참조). 진공 압력 설정을 사용해 30초 동안 약 15mL를 여과했습니다(여과 속도 ~ 리터당 34분).

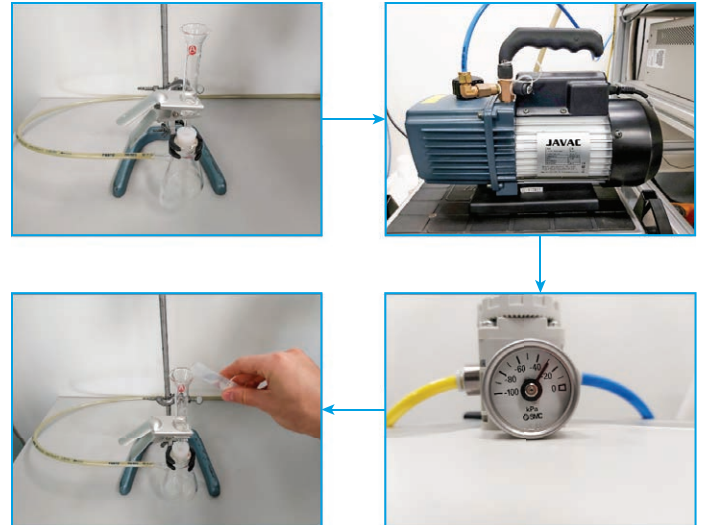


그림 3. 입자의 진공 여과 및 여과를 위해 가하는 진공압에 사용되는 진공 장치.

필터 처리

여과가 완료되고 필터가 충분히 건조되면 다음과 같은 단계를 수행하여 필터를 필터 홀더(그림 4)로 옮겼습니다.

1. 필터 홀더에서 황동 구성 요소를 제거합니다.
2. 핀셋을 사용하여 유리 장치에서 필터를 조심스럽게 제거하고 필터 홀더의 돌출된 플랫폼 위에 필터를 부드럽게 놓습니다.
3. 필터의 위치를 건드리지 않도록 주의하면서 황동 구성 요소를 홀더에 천천히 다시 끼웁니다.
4. 황동을 조여 필터를 제자리에 고정하고 필터를 평평하게 유지합니다.
5. 시료 홀더를 8700 LDIR에 삽입합니다.

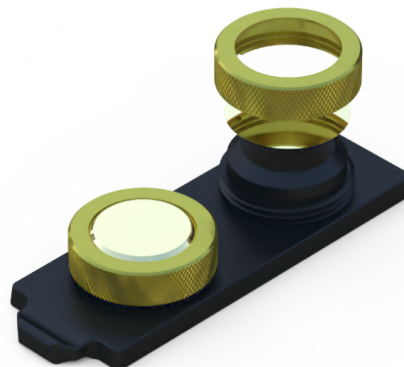


그림 4. 두 개의 금도금 폴리에스테르 멤브레인 필터를 수용하는 8700 LDIR 화학 이미징 시스템에 사용되는 필터 홀더.

이상적으로 8700 LDIR을 사용한 분석을 위해 시료를 전처리할 때 표면 형태가 높이 10µm 이상(국소 면적 3 × 3mm) 차이가 나지 않아야 합니다. 그러나 시료의 표면 높이 차이가 최대 50µm이고 여전히 허용 가능한 결과를 생성할 수 있습니다.

입자 분석 워크플로

8700 LDIR을 사용해 적외선 반사 유리 슬라이드 및 두 개의 필터 시료를 분석하는 데 Clarity 소프트웨어의 자동화된 입자 분석 워크플로를 사용했습니다. 입자 분석 워크플로가 사용자가 정의한 시료 면적 내의 모든 입자를 자동으로 식별하고, 각 입자 주변의 경계를 그리고, 사진으로 찍어 각 입자를 식별합니다. 그런 다음 소프트웨어가 사용자 정의 라이브러리 검색을 수행해 IR 스펙트럼을 기반으로 각 입자의 ID를 확인합니다. 8700 LDIR의 작동 파라미터는 표 1과 같습니다.

표 1. Agilent 8700 LDIR 작동 설정 및 데이터 수집 파라미터.

파라미터	값
분석 워크플로	입자/피크 분석
백그라운드 조정 방법	자동/필터 백그라운드
초점 조정 방법	필터에 대한 수동 초점 조정
스캔 속도	기본값(8)
스위프 속도	기본값(3, 고속)
초점 오프셋	0
편광(도)	기본값(0)
감식(%)	기본값(0)/자동

8700 LDIR이 미세플라스틱 분석에서 상대적으로 새로운 기법이기 때문에 라이브러리 선택이 미세플라스틱 식별 결과의 정확성에 상당한 영향을 미칠 수 있습니다. Clarity 소프트웨어에 기본적인 미세플라스틱 라이브러리가 포함되어 있기는 하지만, 광범위한 기준 라이브러리로 사용하기보다는 기기의 기능을 입증하는 데만 사용해야 합니다. 미세플라스틱 분석에서 최상의 데이터를 얻을 수 있도록 사용자가 여러 공급업체를 통해 즉시 얻을 수 있는 플라스틱 및 폴리머 표준물질을 기반으로 자체 라이브러리를 생성하는 것이 좋습니다. 이 연구에서 수행한 분석은 미세플라스틱 식별을 위해 특별히 개발된 라이브러리를 사용했습니다.

결과 및 토의

8700 LDIR 화학 이미징 시스템은 IR 반사 유리 슬라이드와 두 개의 금도금 필터에서 PET 병의 PET 미세플라스틱 입자를 확인하는데 성공했습니다. 반사율이 높은 유리 슬라이드 및 금도금 폴리에스테르 필터는 스펙트럼 반응 및 대비가 뛰어날 뿐만 아니라 입자의 날카로운 가시적인 IR 이미지도 제공해 줍니다.

분석법 A: 적외선 반사 유리 슬라이드 시료에서의 입자 분석 워크플로

8700 LDIR이 적외선 반사 유리 슬라이드에서 검출한 입자의 수는 총 7,949개로 크기 범위는 직경 10~486µm로 다양합니다. 검출된 입자 중 95.2%(7,566개)는 PET로 정확하게 식별되었으며, 4.6%(362개)는 폴리아미드, 무의미한 수의 기타 극미량 오염물질(폴리우레탄, 폴리프로필렌 등)이 있었습니다. 결과는 그림 5에 나타났습니다.

적외선 반사 유리 슬라이드에서 입자 분석을 수행할 때의 이점에는 넓은 스캔 영역(이 예에서는 약 60 × 22.5mm)과 많은 수의 입자의 특성 규명이 포함됩니다. 또한 시료를 LDIR 및 파라미터 세트에 삽입한 후 분석가는 최소한을 입력하면 됩니다.

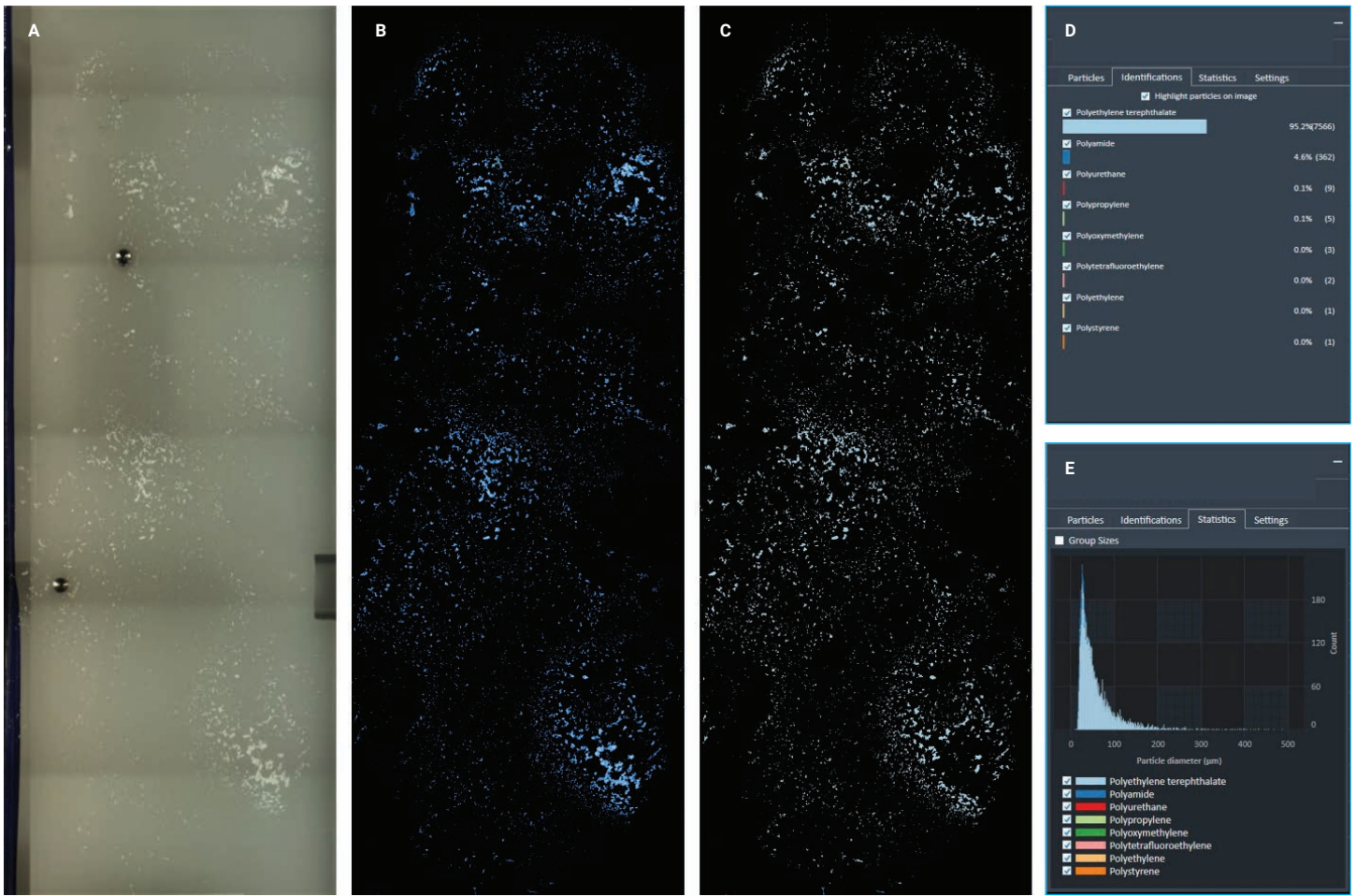


그림 5. Agilent 8700 LDIR을 사용하여 적외선 반사 유리 슬라이드에서 바로 분석한 미세플라스틱 식별 및 분류 데이터. (A) 시각적 이미지. (B) 1,442cm⁻¹에서 스캔된 IR 이미지. (C) 발견된 입자의 하이라이트 - 입자는 식별된 미세플라스틱 유형에 따라 색상이 지정됩니다. (D) 미세플라스틱 식별을 기반으로 생성된 자동 통계 데이터. (E) 다양한 크기 범위를 기반으로 한 미세플라스틱 입자의 통계 데이터.

분석법 B: 두 개의 금도금 필터 시료에서의 입자 분석 워크플로

8700 LDIR이 첫 번째 필터에서 검출한 입자의 수는 총 4,384개로 입자 크기 범위는 직경 11~413µm입니다. 검출된 입자 중 99.2%(4,347개)는 PET로 정확하게 식별되었으며, 0.8%는 폴리아미드, 폴리프로필렌 등이었습니다(그림 6). 두 번째 필터에서는 5411개의 입자가 검출되었으며 98.4%(5,324개)는 PET, <1.6%는 폴리아미드 등으로 식별되었습니다(그림 6).

온 필터 직접 분석의 이점은 입자를 슬라이드로 옮기는 여러 단계의 번거로운 프로세스보다는 큼니다. 이뿐만 아니라 직접 분석법은 시료 처리 및 전처리 단계가 줄어들기 때문에 오염 가능성도 크게 감소합니다. 분석가는 하나의 입자 분석 워크플로에서 두 개의 필터를 분석하거나 각 필터에 대해 개별 워크플로를 사용할 수 있는 선택안을 갖게 되는 것입니다. 또한 입자 분석 워크플로는 두 필터 모두에 대해 자동으로 대기열에 포함될 수 있으므로 Clarity 소프트웨어가 필터를 직렬로 분석할 수 있습니다. 분석법을 자동화하면 분석의 효율성과 생산성이 향상됩니다. 그림 5는 동일한 필터 홀더에 장착된 두 가지 직경 25mm 금도금 폴리에스테르 멤브레인 필터를 보여줍니다.

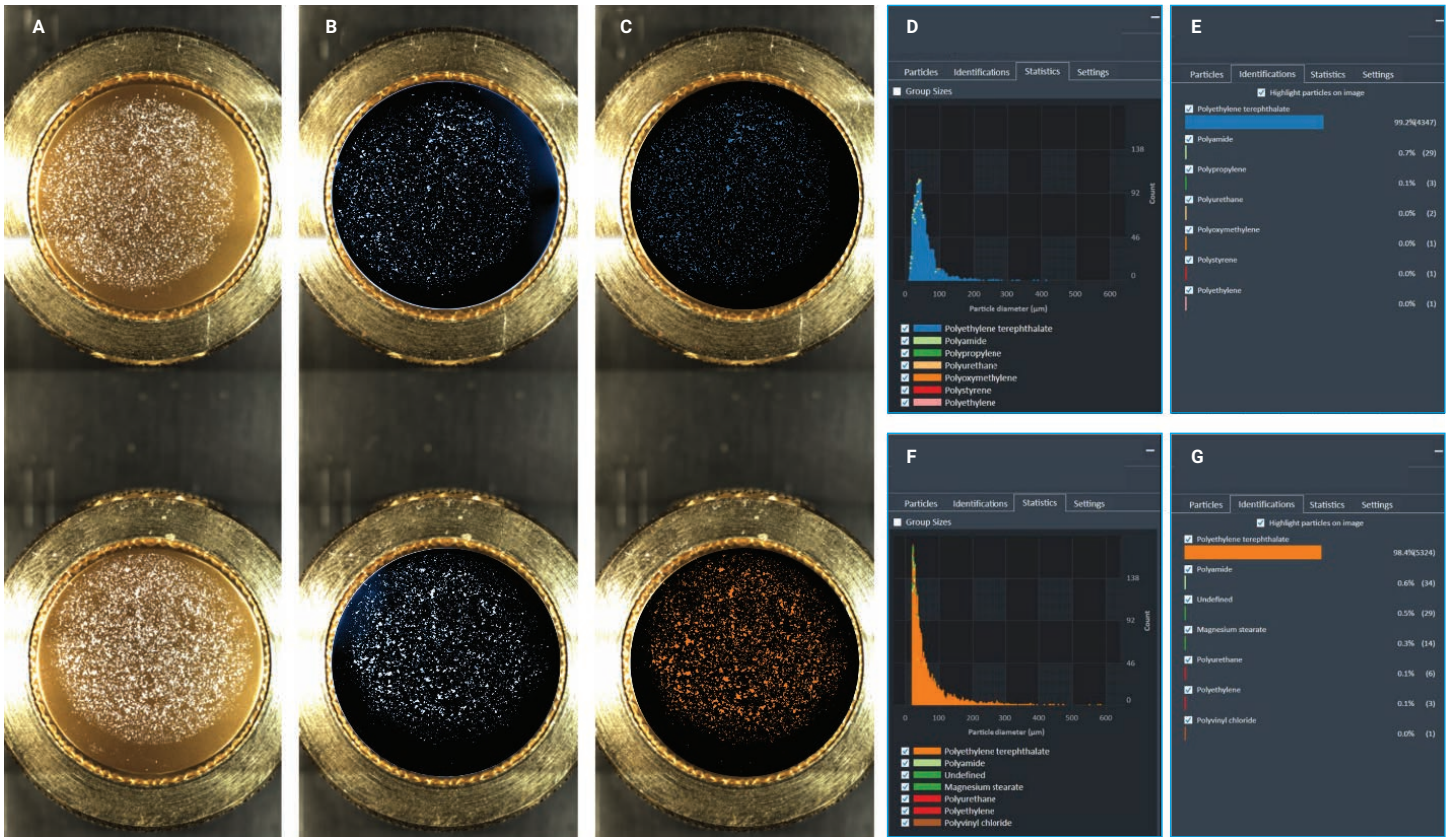


그림 6. Agilent 8700 LDIR을 사용하여 금도금한 폴리에스테르 멤브레인 필터(~18mm 직경)에서 바로 분석한 미세플라스틱 식별 및 분류 데이터. (A) 두 필터의 시각적 이미지. (B) 두 필터의 1,442cm⁻¹에서 스캔된 IR 이미지. (C) 발견된 입자의 하이라이트 - 입자는 두 필터의 식별된 미세플라스틱 유형에 따라 색상이 필터 지정됩니다. (D) 필터 1의 다양한 크기 범위를 기반으로 한 미세플라스틱 입자의 통계 데이터. (E) 필터 1의 미세플라스틱 식별을 기반으로 생성된 자동 통계 데이터. (F) 필터 2의 다양한 크기 범위를 기반으로 한 미세플라스틱 입자의 통계 데이터. (G) 필터 2의 미세플라스틱 식별을 기반으로 생성된 자동 통계 데이터.

다양한 입자 크기 범위에서 높은 검색 결과 품질 지수

분석가는 신뢰도 높음, 중간, 낮음 및 1.0이 정확한 라이브러리 일치율을 나타내는 검색 결과 품질 지수(Hit Quality Index, HQI) 점수를 기반으로 한 Clarity 소프트웨어에서 입자의 식별 품질을 검증할 수 있습니다. 정확하게 식별한 대부분의 PET 입자의 HQI 점수가 0.8보다 높았으며, 이에 따라 식별된 PET 입자는 신뢰도 높은 그룹에 포함됩니다.

그림 7과 8은 각각 적외선 반사 유리 슬라이드와 금도금 멤브레인 필터에 대한 입자 식별 및 분류 데이터를 보여줍니다. 직경이 ~10µm 정도로 작은 입자는 높은 신뢰도로 PET로 정확하게 식별되었습니다. 사용자는 Clarity 소프트웨어를 사용해 필요한만큼 개별 시료 면적과 식별 라이브러리가 다른 입자 분석 워크플로를 만들 수 있습니다.

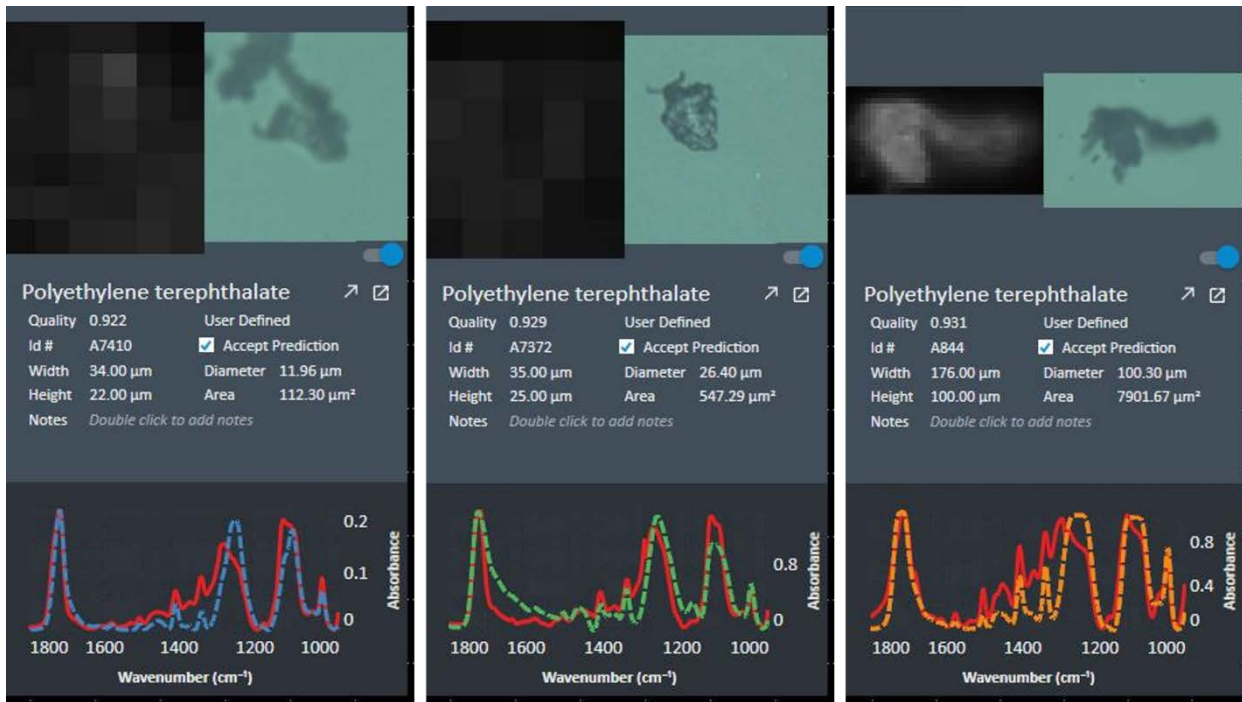


그림 7. Agilent Clarity 소프트웨어에서 얻은 적외선 반사 유리 슬라이드에서 분석된 입자의 검색 결과 품질 및 크기 정보. 다음과 같은 입자 정보: IR 이미지, 시각적 이미지, 검색 결과 품질 지수, 스펙트럼 중첩(빨간색 선) 및 일치된 라이브러리 스펙트럼(점선)을 표시할 수 있습니다.

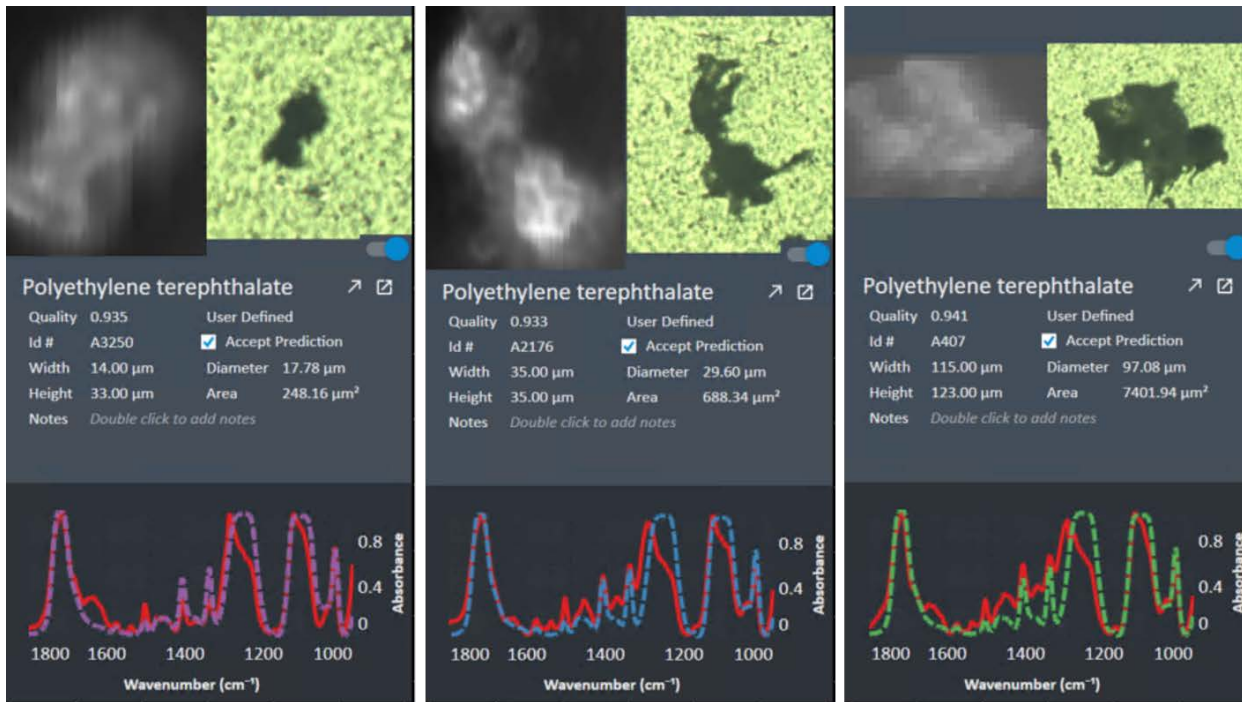


그림 8. Agilent Clarity 소프트웨어에서 얻은 금도금 폴리에스테르 멤브레인 필터에서 직접 분석된 입자에 대한 Hit Quality 및 크기 정보. 다음과 같은 입자 정보: IR 이미지, 시각적 이미지, 검색 결과 품질 지수, 스펙트럼 중첩(빨간색 선) 및 일치된 라이브러리 스펙트럼(점선)을 표시할 수 있습니다.

결론

Agilent 8700 LDIR 화학 이미징 시스템을 PET 병의 미세플라스틱 입자에 대한 분석에 사용하고 에탄올에 부유시켰습니다.

시료는 적외선 반사 유리 슬라이드와 필터 홀더에 직접 장착된 두 개의 금도금 폴리에스테르 필터를 사용하여 분석을 위해 전처리했습니다. Agilent Clarity 소프트웨어의 자동화된 입자 분석법과 미세플라스틱 분석을 위해 특별히 개발된 스펙트럼 라이브러리를 사용하여 유리 슬라이드 및 필터에서 데이터를 수집했습니다.

적외선 반사 유리 슬라이드의 PET 입자(95.2% 정확도)와 두 개의 금도금 필터(99.2 및 98.4% 정확도)에 대해 높은 수준의 식별 정확도와 신뢰도가 달성되었습니다. 결과는 다양한 분석법을 사용하여 전처리된 미세플라스틱 입자 분석을 위한 기법의 유연성을 보여줍니다.

Raman 및 FTIR(Fourier transform infrared) 현미경 기법에 비해 유리 슬라이드 및 진공 필터 시료 전처리 절차와 LDIR 분석법은 모두 상당한 시간을 절약합니다. 적외선 반사 유리 슬라이드는 더 큰 스캔 영역을 제공하므로 더 많은 입자를 조사할 수 있습니다. 그러나 직접 필터 LDIR 분석법은 유리 슬라이드 분석법보다 더 적은 시료 처리를 필요로 하므로 시료 오염 가능성이 줄어듭니다. 두 가지 분석법 모두 기존의 현미경 기법에 비해 일상적인 분석 설정에서 구현하기 쉬우며, 온 필터 분석법은 뛰어난 정확성과 더 높은 시료 처리량을 제공합니다.

8700 LDIR의 속도와 간단함은 많은 수의 시료와 신속한 시료 처리가 필요한 미세플라스틱 연구 활동에 도움이 될 것입니다. 높은 수준의 자동화를 이룬 직관적인 소프트웨어를 통해 8700에는 성공적인 가동을 위한 현미경 또는 IR 분광기 교육이 거의 또는 전혀 필요하지 않습니다. 사용자들은 대면적 분석, 자동화된 입자 검출, 식별 및 분류, 검출된 모든 입자에 대한 가시적인, IR 이미지를 활용할 수도 있습니다.

참고 문헌

1. XiaoZhi, L. Microplastics Are Everywhere—But Are They Harmful? *Nature*, 4 May **2021**, <https://www.nature.com/articles/d41586-021-01143-3>
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.* **413**, 5969–5994, **2021**, <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03498-y>
3. Danence, L. et al. 신속하고 간편한 지표수 및 처리 폐수 내 미세플라스틱 특성 규명, 애질런트 발행 번호 5994-3932KO

www.agilent.com

DE52027264

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
2022년 10월 18일 한국에서 인쇄
5994-5309KO

한국애질런트테크놀로지스(주)
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com