



Application Note 410000051-B

Identificazione delle microplastiche con microscopia Raman

Identificazione rapida delle particelle microplastiche ambientali

Le microplastiche sono diventate un problema per la salute e la sicurezza ambientale, anche se non comprendiamo completamente il loro impatto a lungo termine. La microplastica, definita come rifiuti di plastica di dimensioni inferiori a 5 mm, è la forma più abbondante di detriti marini [1,2]. Le microplastiche vengono classificate come primarie o secondarie. Le microplastiche primarie includono piccoli manufatti come fibre e perline [3]. Le microplastiche secondarie includono frammenti formati da una combinazione di processi fisici, chimici e biologici [3].

I laboratori di ricerca devono espandere le proprie capacità per analizzare regolarmente le

microplastiche candidate da campioni ambientali. Le tecniche spettroscopiche sono particolarmente adatte all'identificazione dei polimeri. Ciò aiuta la determinazione dell'origine e aiuta a prevedere gli impatti biologici. La spettroscopia Raman da laboratorio è un'alternativa ai microscopi Raman confocali e ai microscopi a infrarossi a trasformata di Fourier (FTIR) per la rapida identificazione dei materiali polimerici. Tuttavia, campioni molto piccoli non sono buoni candidati per l'analisi Raman tradizionale. La microscopia Raman è stata utilizzata per identificare particelle microplastiche molto piccole in questa nota applicativa.

INTRODUZIONE

La spettroscopia Raman presenta numerosi vantaggi e adattamenti per diverse applicazioni. La microscopia Raman consente un campionamento più semplice di piccole particelle ($<100\text{ }\mu\text{m}$) rispetto alla FTIR, un'altra tecnica frequentemente utilizzata per l'identificazione delle microplastiche. I sistemi Raman tendono ad essere molto più portatili rispetto alla maggior parte delle altre tecniche, quindi i test possono essere

eseguiti direttamente sul posto.

A parte qualche interferenza da parte dei coloranti, i polimeri e la plastica sono buoni candidati per l'analisi Raman. La **Figura 1** mostra gli spettri Raman di materiali sfusi in polietilene e polipropilene misurati con eccitazione a 1064 nm. Le materie plastiche possono essere chiaramente distinte dalle loro caratteristiche spettrali.

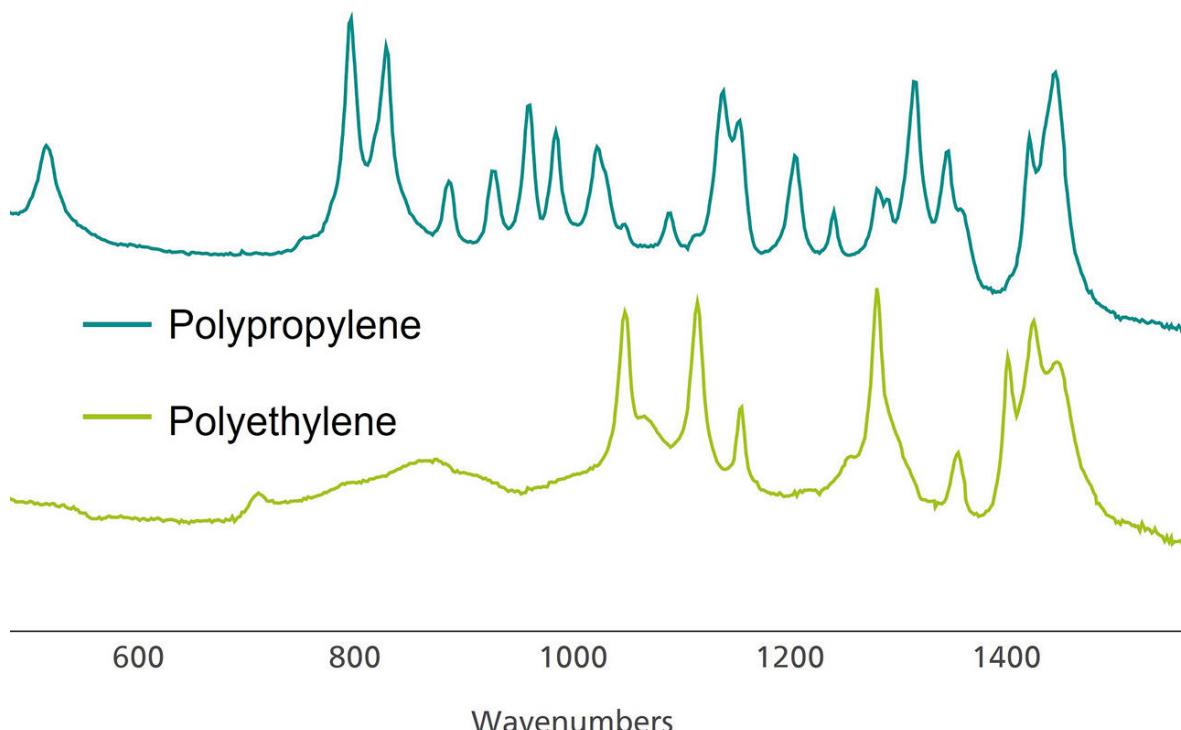


Figura 1. Spettri Raman di polipropilene (in alto) e polietilene (in basso). Gli spettri vengono compensati manualmente per un chiarimento visivo.

Questa nota applicativa esplora l'uso della microscopia Raman portatile per l'identificazione delle

microplastiche recuperate dalle acque superficiali degli estuari.

I campioni d'acqua sono stati raccolti dalle acque superficiali della Baia del Delaware (USA). Successivamente sono stati trasferiti in barattoli di vetro e fissati con formaldeide al 4%. Il campione totale è stato frazionato in dimensioni su setacci di acciaio inossidabile (5000, 1000 e 300 µm). I campioni da 300 e 1000 µm sono stati essiccati per una notte a 90°C. Dopo l'essiccazione, i processi di ossidazione con perossido umido e di separazione

della densità hanno isolato le microplastiche dal materiale organico digerito [4]. Le microplastiche sono state raccolte su rete Nitex da 200 µm ed essicate. Questi campioni sono stati esaminati allo stereomicroscopio e a ciascun pezzo è stato assegnato un tipo di plastica (ovvero frammento, fibra, perla, pellicola, schiuma, gomma). Questa è stata seguita dall'identificazione plastica con la spettroscopia Raman.

Tabella 1. Parametri

Strumentazione	Settaggi di acquisizione	
i-Raman EX	Laser Power	<165 mW
BAC151 video microscope	Int. time	30 s–3 min
BWID software	Average	1

Per tutte le misurazioni è stato utilizzato un sistema Raman portatile i-Raman® EX con eccitazione laser da 1064 nm (vedere **Tabella 1** per le specifiche). L'eccitazione laser a 1064 nm mitiga la fluorescenza spettrale risultante dall'eccitazione laser a 785 nm di campioni microplastici colorati.

Per visualizzare le microplastiche è stato utilizzato un videomicromicroscopio BAC151C con una lente obiettivo di

ingrandimento 50× (distanza di lavoro di 9,15 mm, dimensione dello spot di 42 µm). La potenza del laser è stata mantenuta al di sotto del 50% del massimo (<165 mW) per evitare la bruciatura del campione. Il software BWID® è stato utilizzato per l'identificazione delle microplastiche rispetto a una libreria di riferimento di spettri delle plastiche.

RISULTATI

Micropastiche secondarie

Sono stati analizzati diversi campioni di microplastica. La **Figura 2a** mostra un frammento di microplastica blu all'estremità più grande dell'intervallo di dimensioni della microplastica (diametro di circa 4,5

mm). La forma irregolare di questa particella indica che probabilmente si tratta di una microplastica secondaria. La **Figura 2b** è lo spettro Raman raccolto dal frammento di plastica blu.

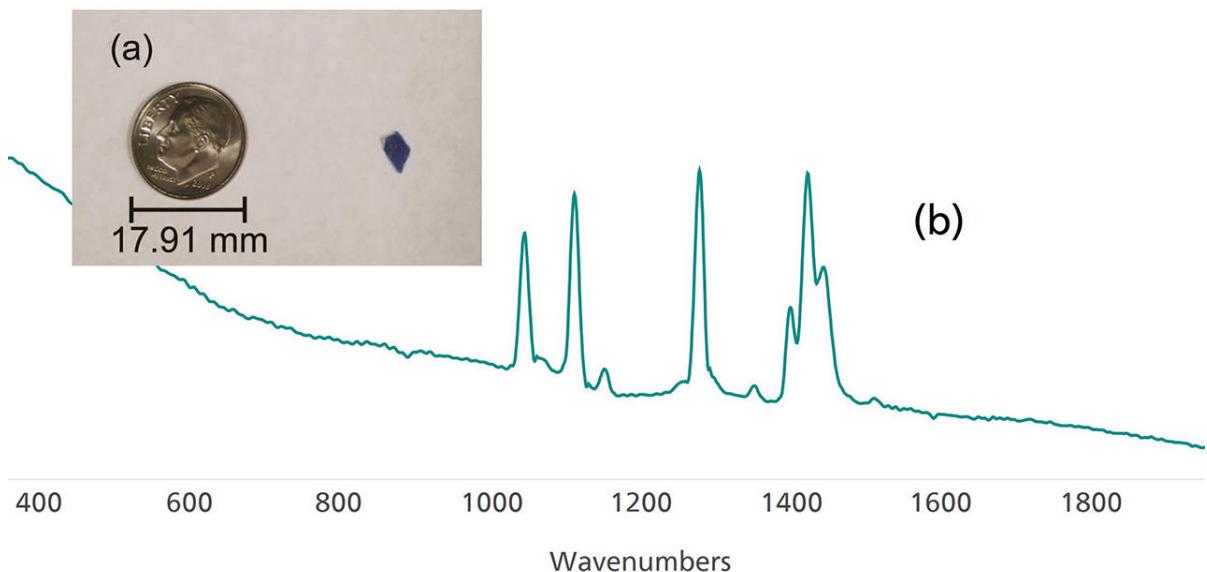


Figura 2. (a) Piccolo frammento di plastica blu (con una monetina americana per confronto) e (b) Spettro Raman acquisito dal campione.

Il software BWID confronta lo spettro acquisito di uno sconosciuto con una libreria di materiali di riferimento per generare un indice di qualità del successo (HQI), un coefficiente di correlazione. Per il calcolo viene applicata una derivata prima allo spettro. I risultati della ricerca nella libreria spettrale sono classificati in base a un HQI compreso tra 100 e 0 (dalla migliore alla peggiore corrispondenza). BWID può essere

utilizzato con una varietà di librerie spettrali commerciali e supporta la creazione di librerie personalizzate.

BWID ha abbinato il frammento blu nella Figura 2a a uno spettro di riferimento del polietilene (PE) con un HQI calcolato di 95,7 (Figura 3), indicando una forte correlazione spettrale.

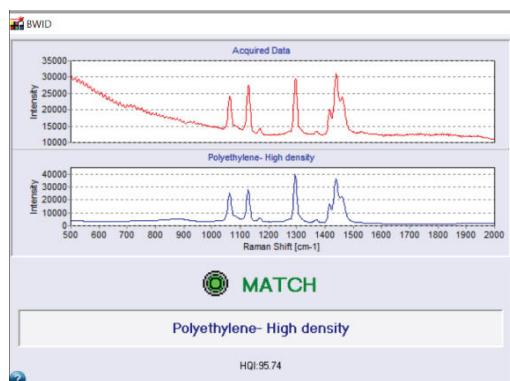


Figura 3. Abbinamento BWID per polietilene.

Micropastiche primarie

La **Figura 4a** mostra lo spettro Raman acquisito da una piccola sfera (**Figura 4b**). Questa perla è

probabilmente una micropastiche primarie. BWID ha abbinato lo spettro del campione a uno spettro di riferimento del polistirene con un HQI di 98,2.

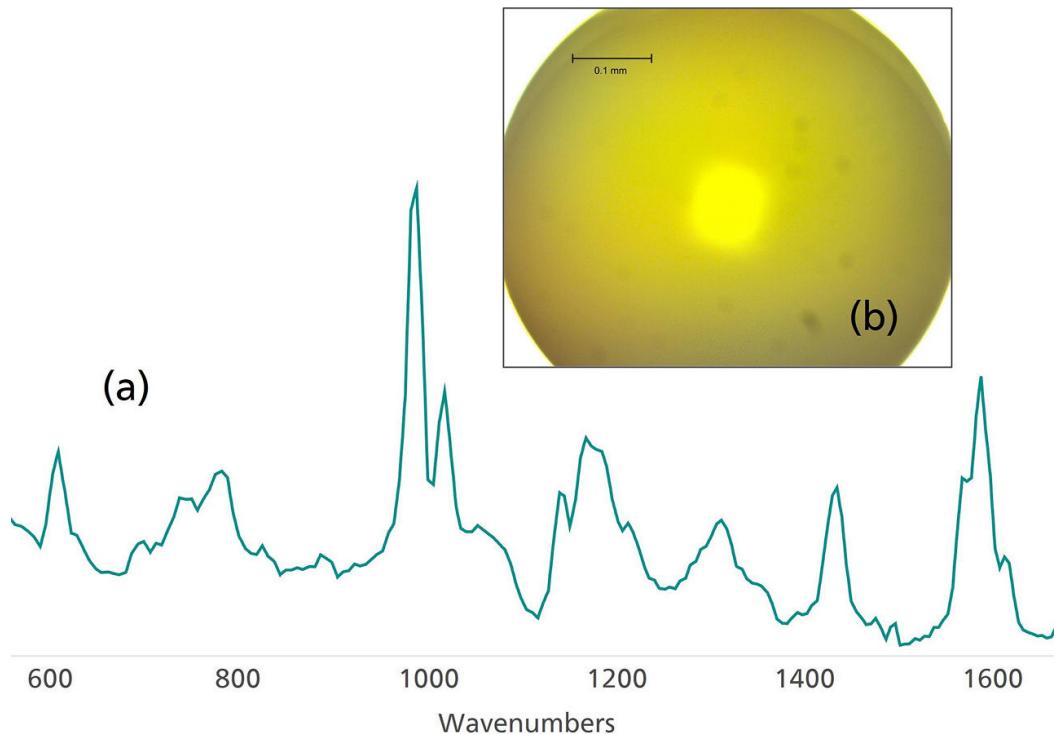


Figura 4. (a) Spettro Raman del polistirene raccolto da (b) una perla di polistirene.

Le fibre sono un sottogruppo importante e comune di particelle microplastiche. La **Figura 5a** mostra lo spettro Raman raccolto da una sottile fibra colorata

(**Figura 5b**). BWID ha abbinato lo spettro Raman del campione a uno spettro di riferimento del polipropilene, con un HQI calcolato di 74,9.

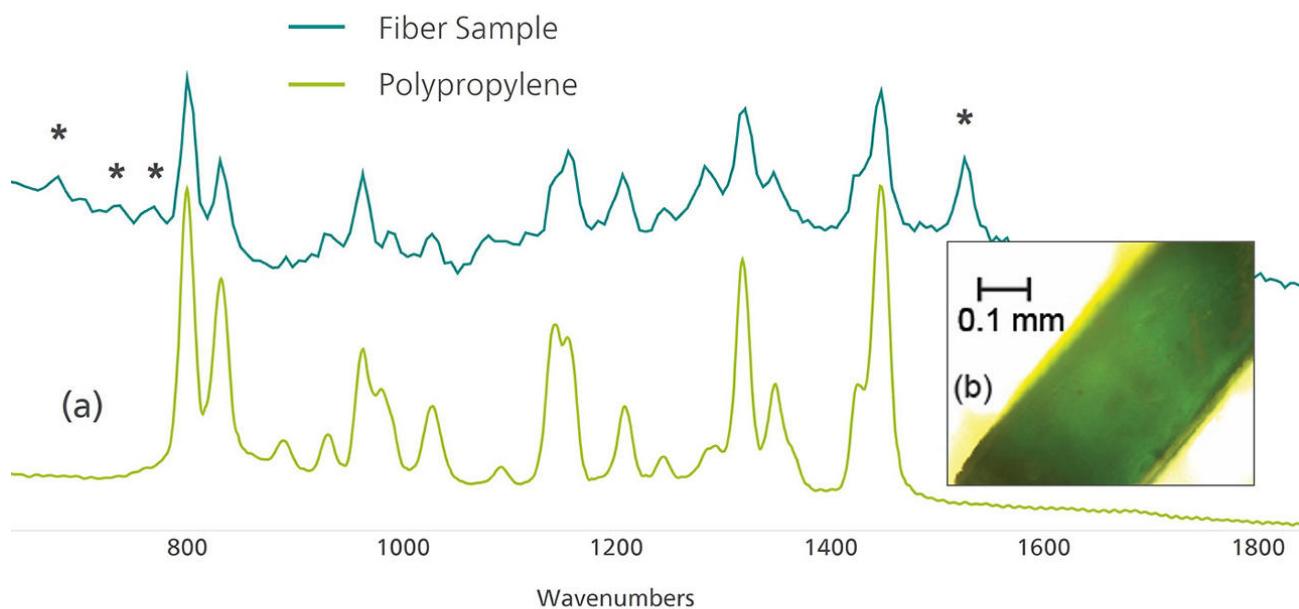


Figura 5. (a) Spettri Raman di una fibra colorata (in alto) rispetto a uno spettro di riferimento del polipropilene (in basso) e (b) immagine al microscopio della fibra colorata. Gli asterischi indicano picchi che possono essere attribuiti al colorante utilizzato nella plastica.

RISULTATI

Questo valore relativamente basso ha richiesto ulteriori indagini sui picchi nello spettro del campione che non possono essere attribuiti al polipropilene. Il picco a circa 1537 cm^{-1} e l'insieme di picchi deboli da 670 a 790 cm^{-1} sono coerenti con lo spettro Raman del pigmento verde ftalocianina di rame clorurato [5]. Si tratta di informazioni utili per determinare l'origine di un campione.

Riepilogo delle microplastiche

Un riepilogo delle microplastiche misurate in questo

studio indica che i campioni erano composti principalmente da polietilene, polipropilene o polistirene (**Tabella 2**). Risultati inconcludenti tendono ad arrivare dalle microplastiche nere, che sono un materiale storicamente impegnativo per Raman. La degradazione del campione è un'altra limitazione osservata. È necessario utilizzare potenze laser basse ($\sim 10\%$ del massimo) per evitare distorsioni e bruciature del campione.

Tabella 2. Riepilogo dei risultati dell'identificazione.

Risultato	Numero di campioni
Polietilene	11
Polipropilene	4
Polistirene	2
Inconcludente	5

CONCLUSIONE

Le microplastiche rappresentano una potenziale minaccia per la salute umana e il nostro ambiente. La loro robusta caratterizzazione costituirà un importante argomento di ricerca nel prossimo futuro. La microscopia Raman è uno strumento efficace per identificare in modo inequivocabile queste

microplastiche.

L'eccitazione a 1064 nm mitiga la fluorescenza dei coloranti utilizzati nella plastica. Gli algoritmi software dei coefficienti di correlazione sono utili per la semplice identificazione del materiale plastico.

RINGRAZIAMENTI

Grazie a Jonathan H. Cohen e Taylor Hoffman della School of Marine Science and Policy dell'Università del Delaware per essere stati coautori di questa nota

applicativa e per aver fornito i campioni di microplastica.

RIFERIMENTI

1. Law, K. L. Plastics in the Marine Environment. *Ann Rev Mar Sci* **2017**, 9, 205–229.
<https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409>.
2. Galloway, T. S.; Cole, M.; Lewis, C. Interactions of Microplastic Debris throughout the Marine Ecosystem. *Nat Ecol Evol* **2017**, 1 (5), 116.
<https://doi.org/10.1038/s41559-017-0116>.
3. Jambeck, J. R.; Geyer, R.; Wilcox, C.; et al. Plastic Waste Inputs from Land into the Ocean. *Science* **2015**, 347 (6223), 768–771.
<https://doi.org/10.1126/science.1260352>.
4. Masura, J.; Baker, J.; Foster, G.; et al. *Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for Quantifying Synthetic Particles in Waters and Sediments*; NOAA Technical Memorandum; Report NOS-OR&R-48; NOAA Marine Debris Division: Silver Spring, MD, 2015.
<https://doi.org/10.25607/OPB-604>.
5. Duran, A.; Franquelo, M. L.; Centeno, M. A.; et al. Forgery Detection on an Arabic Illuminated Manuscript by Micro-Raman and X-Ray Fluorescence Spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* **2011**, 42 (1), 48–55.
<https://doi.org/10.1002/jrs.2644>.

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE

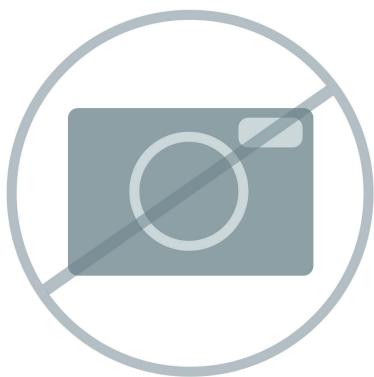


Spettrometro Raman portatile i-Raman EX

i-Raman[®] EX fa parte della nostra serie, insignita di premi, di spettrometri Raman portatili i-Raman dotata del laser CleanLaze[®] da noi brevettato per eccitazione laser a 1.064 nm. Con un rilevatore con array InGaAs ad alta sensibilità dotato di raffreddamento termoelettrico profondo, un intervallo dinamico elevato e uno spettrografo a portata elevata, questo spettrometro Raman portatile produce un elevato rapporto segnale/rumore senza il rilascio di autofluorescenza, rendendo quindi possibile la misura di un'ampia gamma di prodotti naturali, campioni biologici (ad esempio colture cellulari) e campioni colorati.

i-Raman EX garantisce un intervallo di copertura spettrale da 100 cm^{-1} a 2.500 cm^{-1} , permettendo quindi la misura nell'intera regione dell'impronta. Le dimensioni ridotte del sistema, il design leggero e il consumo ridotto di alimentazione permettono di eseguire analisi Raman, a livello di ricerca, in qualsiasi luogo. Per ampliare le capacità di analisi, è utilizzabile con il nostro software brevettato Vision e con il software per analisi multivariata BWIQ[®], nonché con il software di identificazione BWID[®]. Con lo strumento i-Raman EX, avrete sempre una soluzione Raman ad alta precisione per l'analisi quantitativa e qualitativa senza fluorescenza.

BWS485III



Obiettivo per videomicroscopio, ingrandimento di 50 volte

Obiettivo per microscopio, con correzione all'infinito, ingrandimento di 50 volte, distanza di lavoro (mm) = 9.15, lunghezza focale (mm) = 4, apertura numerica (NA) = 0.55.

RML150A