

Caratterizzazione di microplastiche in campioni ambientali tramite imaging Laser Direct Infrared e librerie generate dall'utente

Analisi rapida di microplastiche con un sistema di chemical imaging LDIR Agilent 8700 e librerie spettrali di facile creazione



Autori

Wesam Alwan e Darren Robey
Agilent Technologies, Inc.

Abstract

Questa nota applicativa tratta l'identificazione della composizione chimica di microplastiche ottenute da vari frammenti di plastica di grandi dimensioni raccolti sulle spiagge di Sorrento, Victoria, Australia. Per eseguire l'identificazione delle sostanze chimiche è stato impiegato un metodo di analisi delle particelle completamente automatizzato per il sistema di chemical imaging LDIR (Laser Direct Infrared) Agilent 8700. Lo studio dimostra inoltre la semplicità d'uso e la facilità di creazione di una libreria tramite il software di controllo dello strumento LDIR Agilent Clarity.

Introduzione

La contaminazione da microplastiche di corsi d'acqua, terreno, aria e acqua potabile è oggetto di crescente scrutinio pubblico in quanto costituisce una minaccia ambientale emergente.¹ Il numero di particelle nell'acqua può abbracciare molti ordini di grandezza, cosicché l'effetto potenzialmente nocivo dell'esposizione alle microplastiche è un tema che suscita un acceso dibattito nella comunità scientifica.

I metodi tradizionali di caratterizzazione delle microplastiche spesso ricorrono alla microscopia; nello specifico, la microscopia Raman e infrarossa in trasformata di Fourier (FTIR) sono le tecniche impiegate con maggiore frequenza. Entrambe queste tecnologie, tuttavia, richiedono tempi lunghi per la raccolta dati e spesso sono necessari diversi giorni per l'elaborazione di un singolo campione. Per superare il collo di bottiglia dei tempi di analisi dei campioni sono necessarie tecniche di routine più rapide per identificare i polimeri e ottenere dati sul conteggio e sulle dimensioni delle particelle. Il sistema di chemical imaging LDIR 8700 è una soluzione automatizzata, semplice e rapida per caratterizzare le microplastiche che permette di eseguire test di routine su piccole particelle contaminanti nell'ambiente (Figura 1).

Il modello LDIR 8700 utilizza come sorgente di infrarossi un laser a cascata quantica (QCL) a semiconduttore. Tramite il QCL gli elettroni sono guidati attraverso una serie di pozzi quantici ed emettono luce. Queste proprietà consentono la sintonizzazione rapida del QCL nell'intervallo di numero d'onda (λ^{-1}) compreso tra 1.800 e 975 cm^{-1} . La combinazione tra un rivelatore a mercurio cadmio tellururo (MCT) a singolo punto a raffreddamento termoelettrico e l'ottica a scansione rapida si traduce in due utili meccanismi



Figura 1. Il sistema di chemical imaging LDIR Agilent 8700.

d'azione. Nel primo meccanismo, il sistema LDIR seleziona una lunghezza d'onda singola ed effettua scansioni attraverso l'obiettivo mentre questo si sposta sopra il campione ad alta velocità. Nel secondo meccanismo, l'obiettivo è posizionato in un singolo punto fisso, mentre il QCL esegue uno sweep dell'intero intervallo di lunghezze d'onda, ottenendo uno spettro completo in meno di un secondo.

Questo studio dimostra la semplicità d'uso e la facilità di creazione di una libreria nel software Agilent Clarity con l'obiettivo di identificare microplastiche derivate da campioni di plastica raccolti in spiagge dell'Australia. Le microplastiche sono state caratterizzate impiegando un metodo di analisi delle particelle completamente automatizzato per il sistema LDIR 8700 che ha richiesto un intervento minimo dell'utilizzatore.

Condizioni sperimentali

Generazione della libreria

Per validare le prestazioni di affidabilità dell'identificazione del metodo LDIR 8700 è stata generata una libreria di ridotte dimensioni a partire da polimeri sintetici puri al 100%. Materiali microplastici di varie forme e dimensioni (ottenuti presso SP2 Scientific Polymer Products Inc, Stato di New York, USA; kit di campioni polimerici, codice 205) sono stati prodotti per macinazione di pellet di campioni puri in un macinacaffè in modo da ottenere una polvere amorfa. Le polveri (~10 mg) sono state sospese in etanolo assoluto (n. CAS: 64-17-5) e trasferite con pipette su vetrini di vetro riflettenti l'infrarosso (7,5 × 2,5 cm; MirrIR, Kevley Technologies, Ohio, USA). In Tabella 1 sono riportate le materie plastiche incluse nella generazione della libreria.

Tabella 1. Polimeri inclusi nella libreria LDIR generata dall'utilizzatore.

Tipo	Abbreviazione	N. cat. materiale di rif.	Fornito sotto forma di
Poli(tetrafluoroetilene)	PTFE	203	Polvere
Polimetilmetacrilato	PMMA	377	Polvere
Poli(etilene tereftalato)	PET	138	Pellet
Policarbonato	PC	035	Pellet
Polistirene	PS	039A	Pellet
Polipropilene, isotattico	PP	130	Pellet
Nylon 6 [poli(caprolattame)]	PA	034	Pellet

Per ciascun tipo di polimero sono stati aggiunti alla libreria due o tre spettri ottenuti da particelle di diverse dimensioni. Il software Clarity consente agli utilizzatori di gestire facilmente librerie e spettri. Una volta raccolti i dati LDIR dei campioni o degli standard, è possibile aggiungere alla libreria lo spettro di interesse, come descritto nella procedura seguente e in Figura 2.

1. Fare clic sull'icona "aggiungi libreria" (mostrata in Figura 2).
2. Immettere un nome per la libreria. In Figura 2 il nome della libreria è "Agilent Local Library".
3. Fare clic sull'icona del lucchetto per sbloccare la libreria e permettere l'aggiunta di spettri.
4. Dopo l'analisi, selezionare uno spettro di interesse.
5. Per aggiungere lo spettro a una libreria, selezionare la casella accanto al nome della libreria scelta.
6. Per verificare che lo spettro sia stato aggiunto, aprire la libreria spettrale.
7. Selezionare la libreria desiderata dal menu a discesa.
8. Selezionare lo spettro aggiunto nella fase 4 e rinominarlo di conseguenza. In Figura 2 il nuovo nome assegnato allo spettro è "Polypropylene".

Una volta generata la libreria, i dati precedentemente raccolti possono essere nuovamente analizzati mediante una procedura rapida e semplice descritta nel seguito e in Figura 3.

1. Selezionare la freccia di rielaborazione nel file di analisi delle particelle.
2. Selezionare la libreria desiderata dal menu a discesa.
3. Fare clic sull'icona del segno di spunta.
4. Viene visualizzato un nuovo file di analisi delle particelle ed è possibile verificare i nuovi dati statistici.

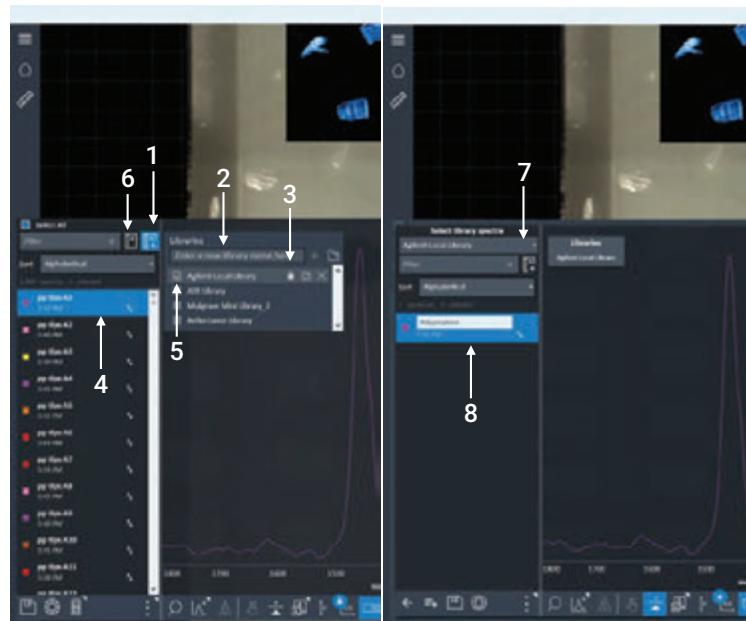


Figura 2. Fasi della generazione della libreria LDIR utilizzando il software Agilent Clarity.

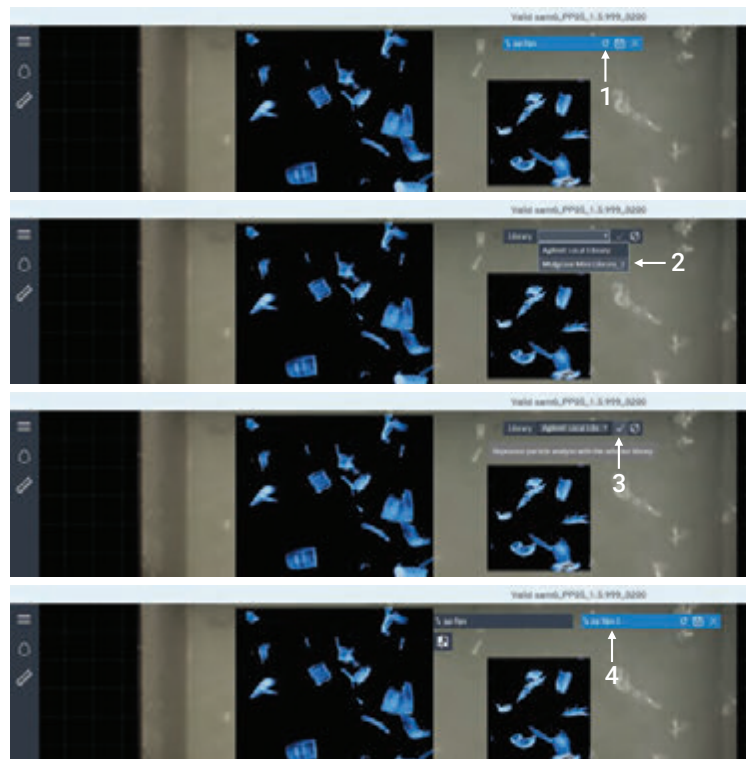


Figura 3. Fasi della rielaborazione dei dati degli spettri di libreria generati/trasferiti utilizzando il software Agilent Clarity.

Preparazione del campione

Detriti di plastica sono stati raccolti in modo casuale nella spiaggia Sorrento dello Stato di Victoria, Australia. Per questo studio sono stati selezionati due campioni che presentavano segni evidenti di degradazione nell'ambiente (Figura 4).

Per produrre particelle di microplastica con forme e dimensioni irregolari i campioni sono stati triturati con una lama. Le particelle sono state quindi trasferite in vial e sospese in 1 mL di etanolo assoluto (n. CAS: 64-17-5) senza ulteriore trattamento. La sospensione particelle/etanolo è stata trasferita con pipette su due vetrini di vetro riflettenti l'infrarosso (7,5 × 2,5 cm; MirriR, Kevley Technologies, Ohio, USA). Il puntale della pipetta è stato tagliato a mano per allargarne l'apertura in modo da renderlo compatibile con particelle di dimensioni massime fino a 1.000 µm. Tutte le fasi di preparazione delle particelle di microplastica sono state effettuate in una cappa a flusso laminare per ridurre al minimo la contaminazione da parte dell'aria.

Sistema di chemical imaging LDIR 8700

In questo studio è stato impiegato un sistema di chemical imaging LDIR 8700 controllato tramite il software Clarity. I vetrini di vetro riflettenti l'infrarosso caricati con le particelle di microplastica da ciascun campione sono stati analizzati con il sistema LDIR 8700 impiegando il metodo "Particle-analysis" completamente automatizzato del software Clarity. I parametri di configurazione del metodo utilizzati per l'acquisizione dei dati sono riportati in Tabella 2. Per tutti i parametri dello strumento sono state utilizzate le impostazioni predefinite.

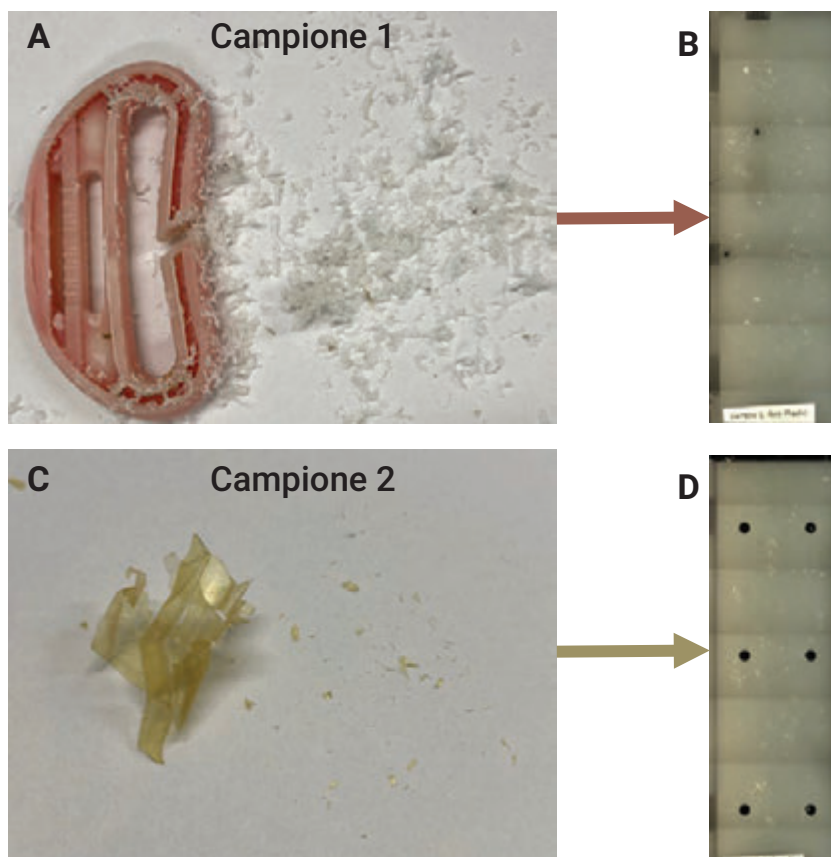


Figura 4. (A) Microplastica generata dal campione 1: una plastica rossa e bianca. (B) Microplastiche del campione 1 trasferite su vetrini di vetro riflettenti l'infrarosso. (C) Microplastiche generate dal campione 2: una pellicola gialla. (D) Microplastiche del campione 2 trasferite su vetrini di vetro riflettenti l'infrarosso.

Tabella 2. Parametri utilizzati per l'analisi di microplastiche con il metodo automatizzato LDIR Agilent 8700.

Parametro	Impostazione
Metodo	Particle-analysis
Libreria utilizzata	Performance proof: libreria generata dall'utilizzatore
Dimensioni minime delle particelle da rilevare (µm)	20
Dimensioni massime delle particelle da rilevare (µm)	600
Raccolta di immagini visibili	Sì
Intervallo di classificazione delle dimensioni (µm)	0 - 30 30 - 50 50 - 100 100 - 200 200 - 300 300 - 600
Velocità di scansione	Predefinita (8)
Velocità di sweep	Predefinita (3, alta velocità)
Offset messa a fuoco	0
Polarizzazione (gradi)	Predefinita (0)
Attenuazione (%)	Predefinita (0)/automatica

Sistema FTIR Cary 630 accoppiato a un modulo ATR

Per un'ulteriore conferma dell'identità dei campioni 1 e 2 è stato utilizzato uno spettrometro FTIR Agilent Cary 630 accoppiato a un modulo per riflettanza totale attenuata (ATR) con cristallo di diamante (Figura 5). La libreria spettrale FTIR "ATR Polymers and Polymer Additives" fornita da Agilent (codice G8045AA, opzione 106) è stata impiegata in un metodo di ricerca nella libreria applicando l'algoritmo di ricerca "Similarity" con i parametri riportati in Tabella 3. Questa libreria spettrale contiene 7.974 spettri di specifici polimeri, materie plastiche, additivi polimerici, plastificanti e materiali di imballaggio.

Risultati e discussione

Con il metodo "Particle-analysis" Clarity sono state utilizzate sia la modalità di scansione LDIR sia a spettro completo. La modalità di scansione è stata usata innanzitutto per eseguire una scansione rapida dell'area del campione a un singolo numero d'onda. L'immagine IR così ottenuta è stata utilizzata per localizzare le particelle nel campione e determinarne i contorni. Una volta localizzate le particelle, il sistema LDIR si spostava rapidamente e automaticamente su ciascuna di esse per acquisire uno spettro completo sull'intervallo di lunghezze d'onda. Tali spettri venivano quindi confrontati in tempo reale con la libreria spettrale delle microplastiche. Veniva quindi determinata e riportata per ogni particella la migliore corrispondenza allo spettro. Il modello 8700 utilizzava una fotocamera a grande campo visivo per ottenere una vista dell'intero campione e un obiettivo di grado microscopico per acquisire immagini a ingrandimento elevato.



Figura 5. Spettrometro FTIR Agilent Cary 630 accoppiato a un modulo ATR in diamante.

Tabella 3. Parametri operativi del sistema FTIR Agilent Cary 630-ATR.

Parametro	Impostazione
Metodo	Ricerca nella libreria
Libreria utilizzata	ATR Polymers and Polymer Additives
Algoritmo di ricerca	Similarity
Intervallo spettrale	4.000-650 cm^{-1}
Scansioni del fondo	64
Scansioni del campione	64
Risoluzione spettrale	16 cm^{-1}
Raccolta del fondo	Aria

I tipi di microplastiche identificati nel campione 1 includevano polipropilene (74,8%), indefinito (17,0%), poliammide (6,8%) e poliacrilammide (1,4%). Nel caso del campione 2, il polimero più abbondante era il polivinilcloruro (85,4%), seguito da poliammide (10,9%), poliacrilammide (2,2%) e indefinito (1,5%).

Il software Clarity genera automaticamente le statistiche per tutte le microplastiche identificate e i dati sono aggiornati automaticamente nel corso dell'analisi. Come mostrato in Figura 6 e in Figura 7, è possibile evidenziare le particelle nell'area sottoposta a scansione e assegnare loro colori diversi in base all'identificazione del tipo di microplastica. Le statistiche includono la distribuzione delle dimensioni delle particelle in base a intervalli definiti dall'utilizzatore.

In Figura 6D e in Figura 7D è riportato un riepilogo della distribuzione degli intervalli di dimensioni delle particelle in funzione del numero di particelle osservate per campione. Nell'intervallo di dimensioni in esame, tra 20 e 600 µm, la maggior parte delle particelle presentava dimensioni comprese tra 20 e 200 µm, come mostrato in Figura 6 e in Figura 7.

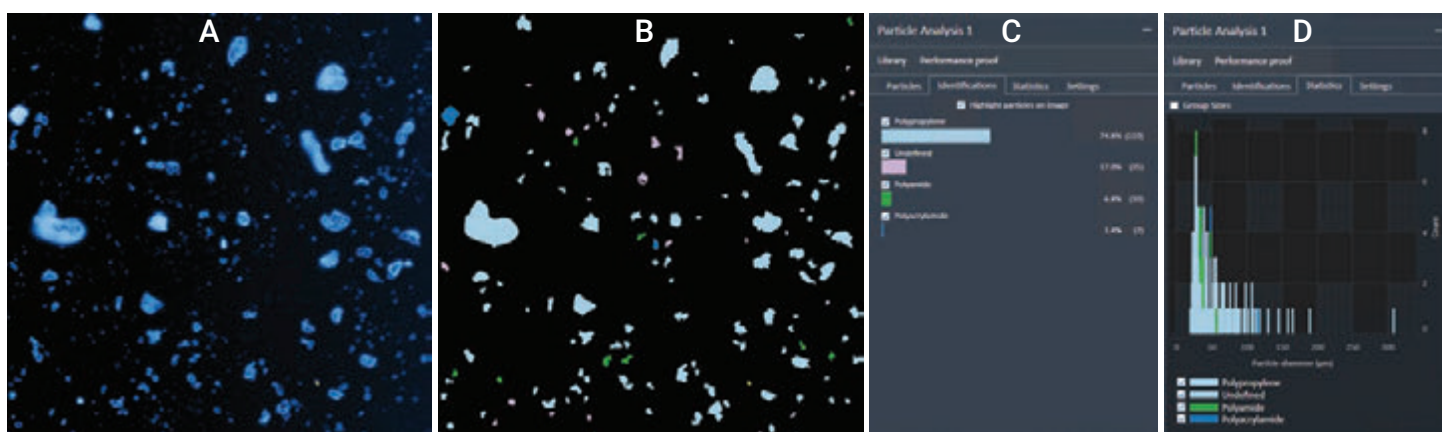


Figura 6. Caratterizzazione di microplastiche del campione 1 con il sistema LDIR Agilent 8700. (A) Immagine IR del campione 1 con scansione a 1.800 cm⁻¹. (B) Evidenziazione delle particelle rilevate nel campione 1: le particelle sono colorate in base all'identificazione del tipo di microplastica. (C) Dati statistici automatici del campione 1 generati in base all'identificazione delle microplastiche. (D) Dati statistici di particelle di microplastica in base ai vari intervalli di dimensioni per il campione 1.

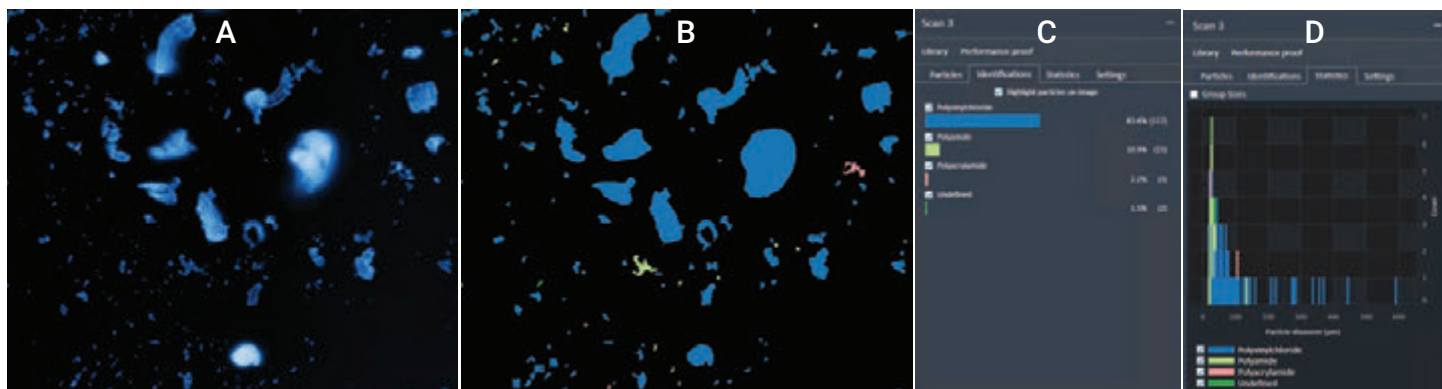


Figura 7. Caratterizzazione di microplastiche del campione 2 con il sistema LDIR Agilent 8700. (A) Immagine IR del campione 2 con scansione a 1.800 cm⁻¹. (B) Evidenziazione delle particelle rilevate nel campione 2: le particelle sono colorate in base all'identificazione del tipo di microplastica. (C) Dati statistici automatici del campione 2 generati in base all'identificazione delle microplastiche. (D) Dati statistici di particelle di microplastica in base ai vari intervalli di dimensioni per il campione 2.

Affidabilità dell'identificazione dei campioni 1 e 2

Gli utilizzatori possono verificare la qualità dell'identificazione nel software Clarity in base a un'affidabilità elevata, media o bassa e a un punteggio HQI (Hit Quality Index), ossia un indice della qualità della corrispondenza, in cui un valore pari a 1,0 equivale a una corrispondenza esatta nella libreria. Il 71,4% delle microplastiche nel campione 1 e il 78,8% di quelle nel campione 2 presentava un valore HQI >0,8, come riassunto in Tabella 4.

Il metodo LDIR di analisi automatizzata delle microplastiche ha prodotto valori HQI elevati tanto per le piccole particelle (~20 µm) quanto per le particelle di grandi dimensioni (200 µm). A titolo di esempio, nel caso del campione 1 le particelle A128 (22,99 µm) e A2 (189,06 µm) sono state identificate come polipropilene con valori di qualità della corrispondenza pari rispettivamente a 0,946 e 0,963 (Figura 8). Nel caso del campione 2 le particelle A130 (20 µm) e A10 (210 µm) sono state identificate come polivinilcloruro con un valore di qualità della corrispondenza pari a 0,934, come mostrato in Figura 9.

Tabella 4. Analisi dei campioni 1 e 2 con il metodo automatizzato LDIR Agilent 8700.

	Campione 1	Campione 2
Descrizione del campione	Plastica rossa e bianca	Pellicola gialla
Area scansionata (mm ²)	3,04 × 3,06	3,76 × 4,42
Numero di particelle rivelate	147	137
Dimensioni delle microplastiche rilevate in base al diametro		
0-30 µm	36 (24,5%)	42 (33,7%)
30-50 µm	57 (38,8%)	39 (28,5%)
50-100 µm	41 (27,9%)	32 (23,4%)
100-200 µm	12 (8,2%)	14 (10,2%)
200-300 µm	1 (0,7%)	5 (3,7%)
300-600 µm	0 (0,0%)	5 (3,7%)
Tipi di microplastiche rilevate		
	Polipropilene 110 (74,8%) Indefinito 25 (17,0%) Poliammide 10 (6,8%) Poliacrilammide 2 (1,4%)	Polivinilcloruro 117 (85,4%) Poliammide 15 (10,9%) Poliacrilammide 3 (2,2%) Indefinito 2 (1,5%)
Qualità della corrispondenza		
0,9-1,0	92 (62,6%)	63 (46,0%)
0,8-0,89	13 (8,8%)	45 (32,9%)
0,7-0,79	8 (5,4%)	24 (17,5%)
<0,7	34 (23,1%)	5 (3,7%)

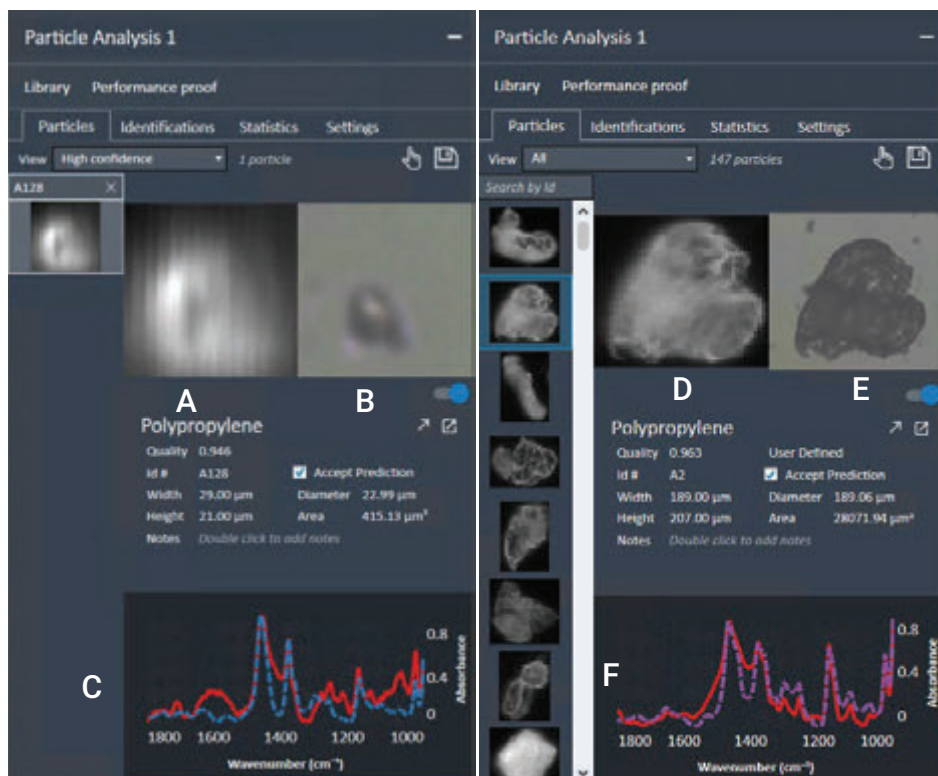


Figura 8. Qualità della corrispondenza e informazioni sulle dimensioni delle particelle del campione 1 ottenute tramite il software Agilent Clarity. (A) Immagine IR della particella A128. (B) Immagine visibile della particella A128. (C) Sovrapposizione tra lo spettro A128 (riga rossa) e lo spettro della corrispondenza in libreria (riga tratteggiata blu). (D) Immagine IR della particella A2. (E) Immagine visibile della particella A2. (F) Sovrapposizione tra lo spettro A2 (riga rossa) e lo spettro della corrispondenza in libreria (riga tratteggiata porpora).

Conferma dell'identità dei materiali tramite FTIR Cary 630

Un'ulteriore conferma del tipo di materiale per i campioni 1 e 2 è stata effettuata impiegando lo spettrometro FTIR Cary 630 accoppiato a un modulo ATR in diamante. Campioni in polvere sono stati collocati sul cristallo ATR e i dati sono stati raccolti con i parametri riportati in Tabella 3. Lo spettro raccolto è stato confrontato con la libreria spettrale "ATR Polymers and Polymer Additives" per confermare l'identità dei campioni con il software MicroLab. Il campione 1 è stato identificato come miscela di polipropilene e poli(propilene-co-etilene) con un valore di qualità della corrispondenza pari a 0,922, come mostrato in Figura 10. Il campione 2 è stato identificato come polivinilcloruro con un valore di qualità della corrispondenza pari a 0,969, come mostrato in Figura 11. L'identificazione ottenuta per i campioni 1 e 2 è risultata in accordo con i dati ottenuti utilizzando il sistema di chemical imaging LDIR 8700.

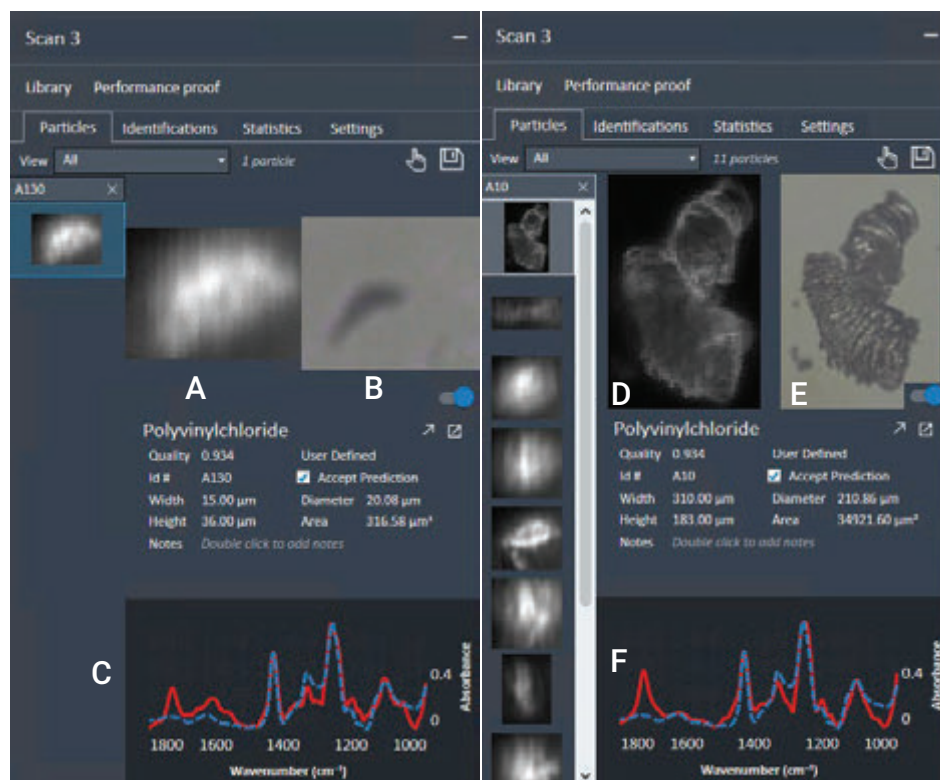


Figura 9. Qualità della corrispondenza e informazioni sulle dimensioni delle particelle del campione 2 ottenute tramite il software Agilent Clarity. (A) Immagine IR della particella A130. (B) Immagine visibile della particella A130. (C) Sovrapposizione tra lo spettro A130 (riga rossa) e lo spettro della corrispondenza in libreria (riga tratteggiata blu). (D) Immagine IR della particella A10. (E) Immagine visibile della particella A10. (F) Sovrapposizione tra lo spettro A10 (riga rossa) e lo spettro della corrispondenza in libreria (riga tratteggiata porpora).

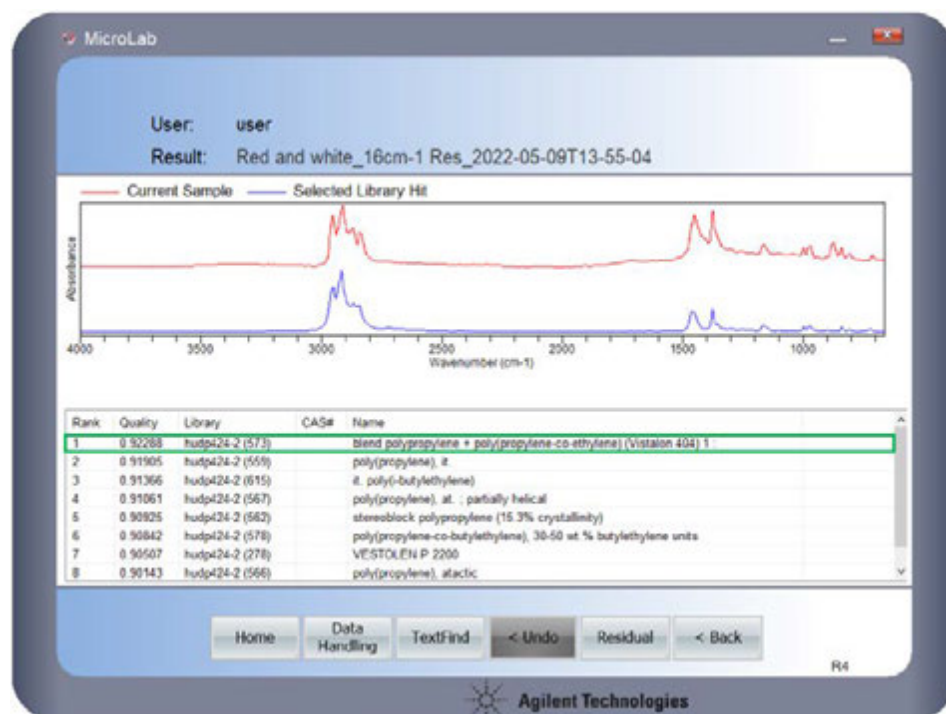


Figura 10. Analisi qualitativa del campione 1 con lo strumento FTIR Agilent Cary 630 (traccia rossa); corrispondenza in libreria (traccia blu). La tabella mostra la qualità della corrispondenza, la libreria utilizzata e il nome della corrispondenza.

Conclusione

Questo studio dimostra che il sistema di chemical imaging LDIR Agilent 8700 consente la classificazione e differenziazione corrette di microplastiche ottenute da campioni ambientali con un'interazione minima con l'utilizzatore. Il metodo di analisi delle particelle completamente automatizzato in dotazione con il software Agilent Clarity è uno strumento efficiente per ottenere informazioni sulle dimensioni e sulla distribuzione delle particelle, oltre che sull'identificazione delle microplastiche. Gli utilizzatori possono creare rapidamente librerie personalizzate seguendo una breve serie di semplici istruzioni nel software Clarity.

Il sistema LDIR 8700 con una libreria generata dall'utilizzatore ha permesso l'identificazione di alta qualità della maggior parte delle microplastiche analizzate nei campioni. Le identità delle microplastiche sono state verificate con lo spettrometro FTIR Agilent Cary 630 con ATR, a conferma dell'accuratezza del metodo LDIR 8700.

Bibliografia

1. Laskar *et al.* Plastics and Microplastics: A Threat to Environment. *Environmental Technology & Innovation* **2019**, *14*, 100352. [10.1016/j.eti.2019.100352](https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100352), <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100352>

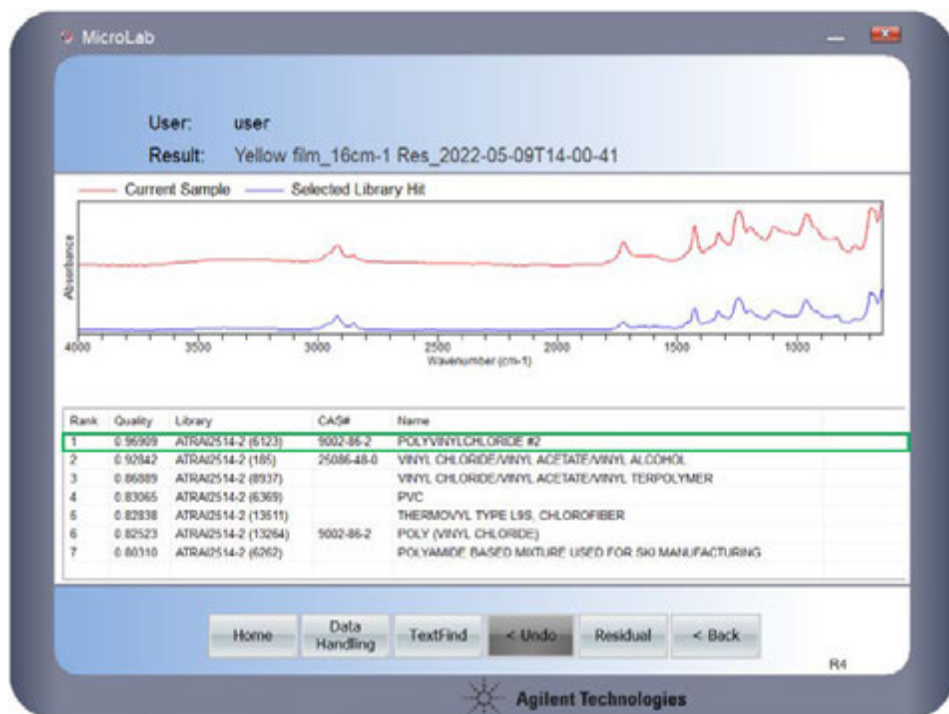


Figura 11. Analisi qualitativa del campione 2 con lo strumento FTIR Agilent Cary 630 (traccia rossa); corrispondenza in libreria (traccia blu). La tabella mostra la qualità della corrispondenza, la libreria utilizzata e il nome della corrispondenza.

www.agilent.com

DE69241368

Le informazioni fornite potrebbero variare senza preavviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
Stampato negli Stati Uniti, 17 maggio 2022
5994-4822ITE