

Проблема идентификации микропластика методами молекулярной спектроскопии Guide to the identification of microplastics by FTIR and Raman spectroscopy

ПЕРЕВОД: Т.Б. КИМСТАЧ, С.В. ТИХОМИРОВ

The Madison Group, Thermo Fisher Scientific, WI, USA

Московское представительство INTERTECH Trading Corporation (USA)

info@intertech-corp.ru

Введение

Наличие микропластика в окружающей среде и в нашей пищевой цепи вызывает растущую обеспокоенность. Это привело к увеличению количества испытаний на наличие микропластика в различных образцах, включая бутилированную, морскую и пресную воду, что вызвало ужесточение законодательства, ограничивающего количество пластмасс, попадающих в экосистему. ИК-Фурье спектроскопия (FTIR) и спектроскопия комбинационного (рамановского) рассеяния долгое время использовались для анализа полимеров, поэтому естественно, что они являются де-факто методами идентификации микропластика. В этом описании приводится обзор методов ИК-Фурье спектроскопии и спектроскопии комбинационного рассеяния применительно к идентификации микропластика.

Микропластики – широко распространенные материалы

Микропластик – это небольшая частица полимеров размером менее 5 мм [1]. Список распространенных полимеров, обнаруженных в микропластиках, приведен в таблице 1.

Из этих материалов полипропилен и полиэтилен особенно распространены в окружающей среде из-за их производства в огромных количествах для применения в качестве потребительской упаковки. Обычный пластиковый пакет сделан из полиэтилена, тогда как полипропилен используется для производства обертки для конфет и бутылочных крышек. Эти полимеры плавают на поверхности как пресной, так и морской воды, что позволяет им преодолевать большие расстояния от первоначального источника загрязнения.

Таблица 1. Распространенные полимеры [2].

Название	Сокращение	Типичная плотность (г/см ³)
Пенополистирол	EPS	0,02
Полипропилен	PP	0,89
Полиэтилен	PE	0,96
Акрилонитрил-бутадиен-стирол	ABS	1,05
Полистирол	PS	1,06
Полиамид (нейлон)	PA	1,14
Полиметилметакрилат	PMMA	1,18
Поликарбонат	PC	1,21
Ацетат целлюлозы	CA	1,3
Поливинилхлорид	PVC	1,39
Полиэтилентерефталат	PET	1,39
Политетрафторэтилен	PTFE	2,2

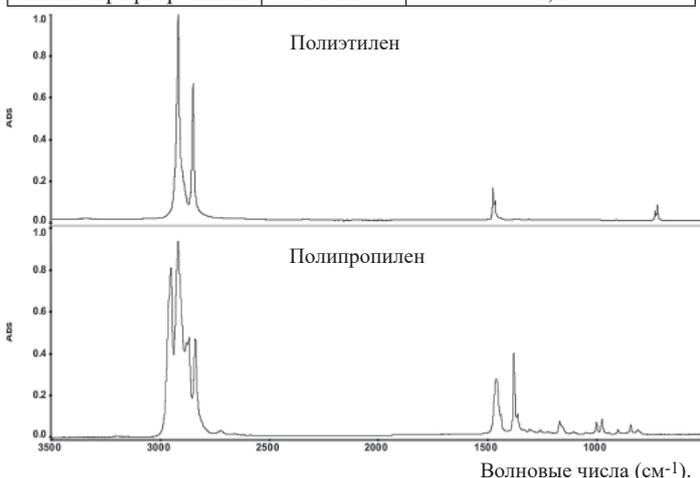


Рис. 1. ИК-спектры полиэтилена и полипропилена.

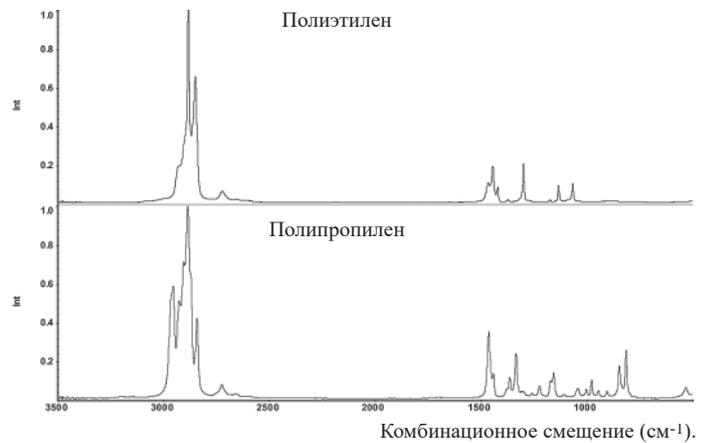


Рис. 2. Спектры комбинационного рассеяния полиэтилена и полипропилена.

Инфракрасный (ИК) спектр и спектр комбинационного (рамановского) рассеяния полиэтилена и полипропилена показаны на рис. 1 и 2 соответственно. Хотя и полиэтилен, и полипропилен являются простыми полиолефинами, их можно легко идентифицировать и различить с помощью ИК-Фурье спектрометра и спектрометра комбинационного рассеяния. Другие полимеры, перечисленные в таблице 1, также можно идентифицировать по их ИК-спектрам и спектрам комбинационного рассеяния.

Микропластики – широкий диапазон размеров

Чтобы относиться к микропластикам, исследуемый кусочек пластика должен быть небольшим. Насколько небольшим? Национальное управление океанических и атмосферных исследований (NOAA) считает микропластиком частицы длиной менее 5 мм. Большинство частиц, вызывающих озабоченность, имеют меньшие размеры, обычно от 100 мкм до 1 мкм. Это довольно широкий диапазон размеров – от объектов, которые легко видны невооруженным глазом, до мелких частиц или волокон, которые можно наблюдать только с помощью высококачественного микроскопа.

Некоторые микропластики специально разработаны так, чтобы иметь малые размеры. Они называются «первичными» микропластиками. Первичные микропластики являются объектом законодательного контроля. Примером является запрет США на использование микрогранул в средствах личной гигиены, введенный в действие в соответствии с Законом о защите вод от микрогранул от 2015 года (H.R.1321). Другие микропластики образуются из более крупных объектов, которые разрушаются до более мелких частиц в окружающей среде. Они называются вторичными микропластиками. Как первичные, так и вторичные микропластики во всем диапазоне размеров частиц представляют опасность для окружающей среды из-за их потенциального воздействия на морскую флору и фауну.

Опасения по поводу угрозы, которую представляет микропластик для здоровья организмов на протяжении всей пищевой цепи, включают в себя поедание микропластика морскими организмами, например, зоопланктоном [3], присутствие токсичных материалов, используемых при производстве пластмасс, например бисфенола-А (БФА) [4] и перенос стойких органических загрязнителей (СОЗ) частицами микропластика [5]. Хотя с помощью ИК-Фурье спектрометра и спектрометра комбинационного рассеяния можно идентифицировать множество пластмасс, для разных диапазонов размеров частиц следует выбирать различные варианты приборов. По мере уменьшения размера частиц увеличивается сложность и стоимость оборудования, необходимого для их анализа.

Таким образом, при выборе соответствующей аналитической платформы в первую очередь необходимо обратить внимание на размер исследуемого микропластика. В данном описании обсуждаются эти и другие соображения, приводится обзор и общее руководство по спектроскопическим приборам для анализа микропластика.

Анализ частиц размером от 5 мм до 100 мкм

Частицы размером от 5 мм до 100 мкм видны невооруженным глазом и их можно перемещать пинцетом.

Поскольку их можно легко видеть и перемещать, спектроскопическая система, необходимая для их анализа, будет относительно простой. На сегодняшний день наиболее распространенным методом спектроскопии для анализа полимеров является ИК-Фурье спектрометр с приставкой нарушенного полного внутреннего отражения – НПВО (ATR – Attenuated Total Reflection).

НПВО позволяет получить ИК спектр материала, просто прижимая образец к прозрачному кристаллу, обычно алмазу. Инфракрасный свет проходит через кристалл в образец, энергия поглощается образцом, и свет отражается обратно в кристалл, создавая спектр. ИК-Фурье спектрометр Thermo Scientific™ Nicolet™ iS5, оснащенный приставкой НПВО Thermo Scientific™ iD7 Diamond, показан на рис. 3. Диаметр алмаза составляет пару миллиметров, и его не нужно полностью покрывать образцом, что делает его идеальным для анализа образцов в этом диапазоне размеров.



Рис. 3. ИК-Фурье спектрометр Nicolet iS5 с приставкой НПВО iD7 в кюветном отделении.

Следует помнить, что при измерении НПВО определяются материалы, которые находятся на поверхности образца. Это будет преимуществом, если интерес представляет вещество, покрывающее поверхность, такое как поглощенный токсин. Однако если образец подвергся выветриванию (неровная поверхность), это может помешать его идентификации. В этом случае следует выровнять поверхность перед анализом путем срезания или полировки.

Приставка НПВО, изображенная на рис. 3, не позволяет просматривать образец после того, как он был зажат между рычагом НПВО и кристаллом алмаза. Это не вызывает проблем при работе с образцами в диапазоне от 5 мм до 1 мм. Тем не менее, для образцов меньшего размера предпочтительно иметь возможность видеть образец во время его размещения на приставке и последующего измерения. Доступны приставки НПВО, которые обеспечивают просмотр и увеличение, облегчая анализ образцов в диапазоне от 1 мм до 70 мкм. Примером такой приставки является приставка для микроспектроскопии CziTek SurveyIR®, показанная на рис. 4.



Рис. 4. ИК-Фурье спектрометр Nicolet iS5 с приставкой SurveyIR® в кюветном отделении.

ИК-Фурье спектрометр с приставкой НПВО прост в использовании и относительно недорог. Кроме того, малые габариты спектрометра Nicolet iS5 позволяют перемещать его ближе к месту сбора и исследования микропластика. Это может быть преимуществом при проведении экологических исследований, выполняемых вне лаборатории.

Анализ частиц размером от 100 до 1 мкм

Как только размер частиц падает значительно ниже 100 мкм, требуется некоторое увеличение. Здесь есть два варианта: ИК-микроскопия и микроскопия комбинационного рассеяния (обе методики также называются микроспектроскопией).

Для частиц размером менее 10 мкм больше подходит микроскопия комбинационного рассеяния.

Инфракрасная микроскопия

Инфракрасная (ИК) микроскопия позволяет идентифицировать частицы размером до 10 мкм или менее. Есть несколько вариантов, доступных для ИК-микроскопии с точки зрения как метода исследования образца, так и степени автоматизации, необходимой для анализа.

Методы исследования образца, используемые в инфракрасной микроскопии, включают пропускание, отражение и НПВО. При пропускании обычно получают спектры наилучшего качества, но часто требуется, чтобы образец был спрессован или обработан иным образом, чтобы его толщина составляла менее 100 мкм, для прохождения инфракрасного света через образец. Отражение, в принципе, самый простой метод, поскольку он не требует подготовки образца или взаимодействия между микроскопом и образцом. Однако он может привести к искажению спектров, что может затруднить идентификацию компонентов полимеров. Исследование образца с помощью НПВО работает как описано в предыдущем разделе. Недостатком использования НПВО при микроскопии является возможность перекрестного загрязнения при последовательных измерениях, поскольку приставка НПВО вступает в контакт с образцом. Это не проблема для ручных систем НПВО, в которых кристалл легко очищается между измерениями. Однако в автоматизированных системах микроскопии, в которых НПВО постоянно вступает в контакт с образцом без очистки между измерениями, перенос образца может представлять проблему. Таким образом, выбор метода исследования образца во многом зависит от природы образца.

Степень автоматизации, доступная на инфракрасном микроскопе, варьируется от простого анализа «указать и выполнить» для одной точки до полностью автоматизированного создания спектрального изображения, охватывающего большую площадь образца и измерения множества частиц.

На рис. 5 показан инфракрасный микроскоп Thermo Scientific™ Nicolet™ iN5, присоединенный к ИК-Фурье спектрометру Nicolet iS20. Это ИК-микроскоп типа «указать и выполнить», разработанный для простоты управления.



Рис. 5. ИК-микроскоп Nicolet iN5, присоединенный к ИК-Фурье спектрометру Nicolet iS20.

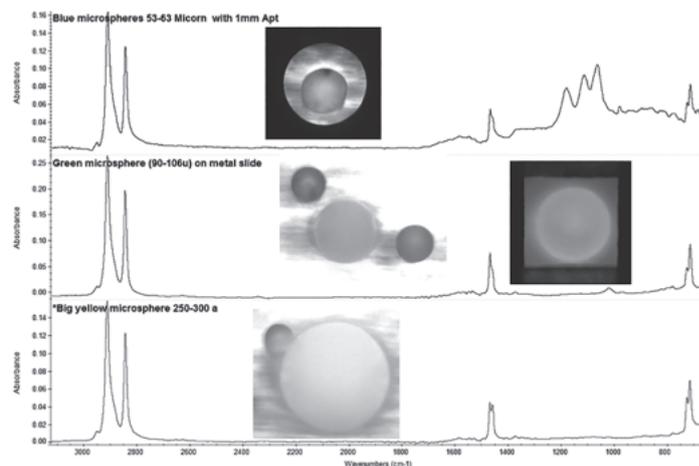


Рис. 6. Спектры микрогранул, полученные на ИК-микроскопе Nicolet iN5. Все спектры соответствуют спектру полиэтилена. Спектр синей сферы также указывает на присутствие сульфата бария.

Примеры спектров микрогранул, первичного микропластика в потребительских товарах, полученные с помощью этой системы ИК-микроскопии, показаны на рис. 6.

Анализ одной точки по принципу «указать и выполнить» идеален для ситуаций, в которых необходимо найти и проанализировать небольшое количество частиц. Стоимость такой системы относительно низкая, и, благодаря небольшому количеству органов управления, оператору легко изучить и использовать ее. Однако если необходимо проанализировать большое количество частиц, желателен некоторый уровень автоматизации.

Фильтрация часто используется в качестве заключительного этапа выделения микропластика из основного состава. На поверхности фильтра может осесть большое количество частиц, и последовательный анализ этих отфильтрованных частиц является трудоемким процессом. Таким образом, при проведении анализа частиц, расположенных по всей поверхности фильтра, желателен некоторый уровень автоматизации.

Сбор и анализ данных могут быть автоматизированы с помощью микроскопа, оборудованного моторизованным предметным столиком и оснащенного соответствующим программным обеспечением. Создающий спектральное изображение ИК-Фурье микроскоп Thermo Scientific™ Nicolet™ iN10 MX, изображенный на рис. 7, обеспечивает необходимый уровень автоматизации.



Рис. 7. Создающий спектральное изображение ИК-Фурье микроскоп Nicolet iN10 MX с приставкой ННВО.

Существует два основных подхода к сбору данных о частицах, распределенных по фильтру. Первый – это анализ отдельных

частиц. При этом подходе анализ изображения выполняется на видеоизображении фильтра для определения местоположения частиц. Затем система автоматически собирает ИК-спектры в каждом местоположении и идентифицирует каждую частицу по ее спектру.

Второй подход – создание спектрального изображения. В этом случае сбор данных инфракрасного изображения выполняется по всей интересующей области, в которой каждый пиксель содержит инфракрасный спектр. Это позволяет получить химическое «изображение» фильтра. Автоматический анализ этого изображения с помощью программного обеспечения может предоставить информацию о природе, количестве и размерах отдельных частиц. Такой анализ показан на рис. 8. Здесь два типа частиц идентифицируются по их ИК-спектрам. Анализ изображений предоставляет информацию о количестве и размерах этих частиц. Хотя, в принципе, это элегантное решение, у него есть некоторые недостатки по сравнению с анализом отдельных частиц. Во-первых, изображение может содержать значительное количество избыточных данных.

Может оказаться, что в наборе данных, образующих изображение, только небольшой процент содержит информацию о частицах, остальные данные будут содержать информацию о фильтре. Поскольку изображение содержит как минимум четыре размерности данных (положение по оси x, положение по оси y, спектральная длина волны и поглощение), размер «куба данных», содержащего многие тысячи спектров, может быть чрезмерным. Во-вторых, матричные детекторы, используемые для создания спектрального изображения, стоят дороже, чем простые одноточечные детекторы, используемые для анализа отдельных частиц. Выбор метода зависит от ситуации: 1) сколько частиц должно быть проанализировано, 2) за какой период времени и 3) на какой площади. К счастью, ИК-микроскоп Nicolet iN10 MX предоставляет опции для всех режимов исследования образца и автоматизации.

Микроскопия комбинационного рассеяния

Как спектроскопия комбинационного рассеяния, так и ИК-Фурье спектроскопия позволяют идентифицировать микропластик. Однако спектроскопия комбинационного рассеяния имеет три явных преимущества применительно к микроскопии. Первое состоит в

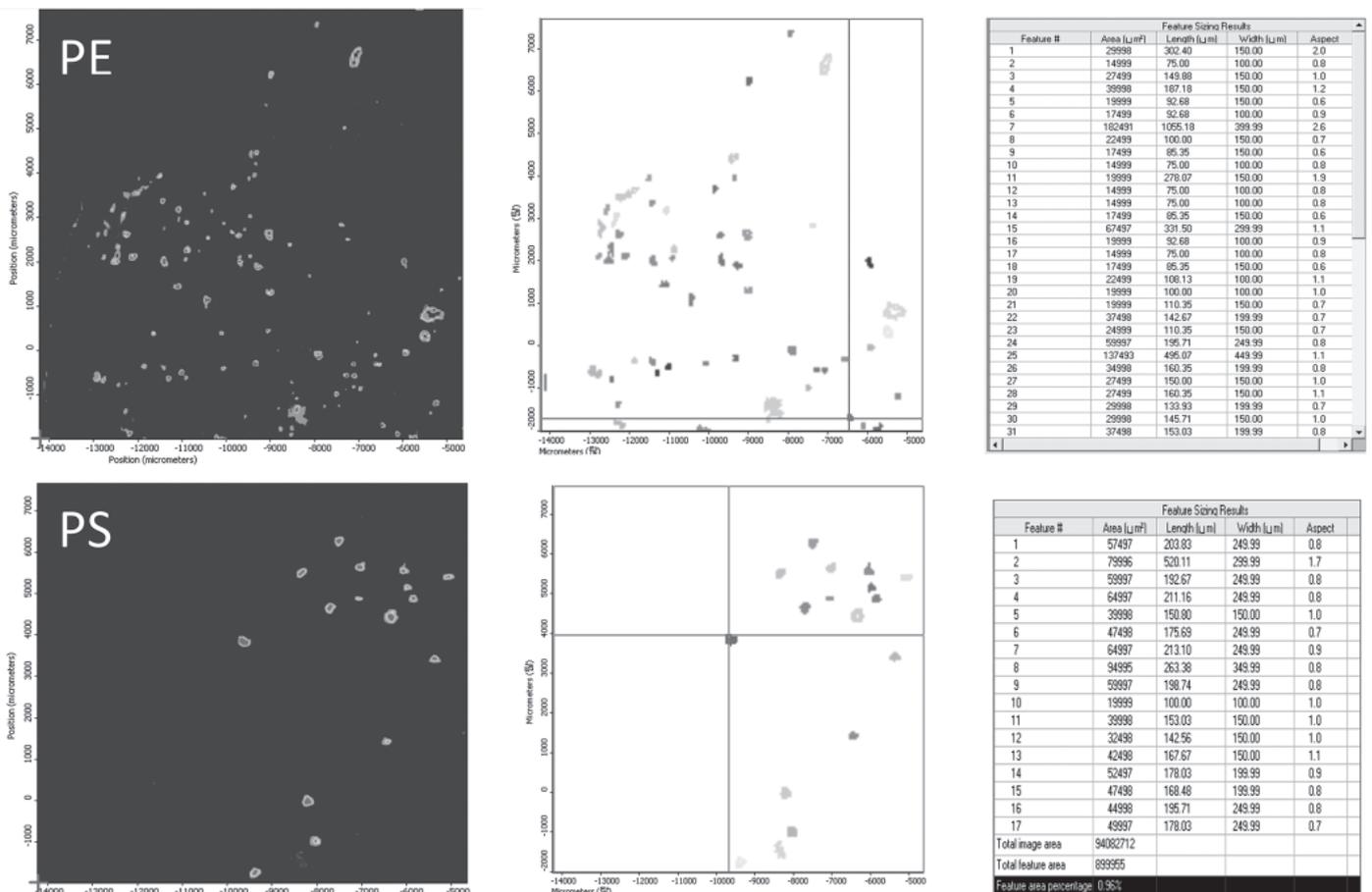


Рис. 8. Химические изображения фильтра (слева), полученные на ИК-Фурье микроскопе Nicolet iN10 MX, показывающие частицы полиэтилена (PE) и полистирола (PS), а также статистику размеров частиц, полученную из химических изображений.

том, что в спектроскопии комбинационного рассеяния используются лазеры с субмикронной длиной волны, и, таким образом, они позволяют исследовать частицы вплоть до 1 мкм и менее. В ИК-Фурье микроскопии в качестве источника используется свет средней ИК области спектра, что приводит к потере способности идентифицировать частицы с размерами, намного меньшими 10 мкм. Второе состоит в том, что, в отличие от ИК-систем, микроскопы комбинационного рассеяния выполнены на основе исследовательских микроскопов белого света, которые облегчают просмотр частиц. Третье – это легкость исследования образца. Нет необходимости выбирать метод исследования образца – пропускание, отражение или НПВО, необходимые для ИК-Фурье измерений. Лазер системы комбинационного рассеяния фокусируется на образце, и спектр просто получается путем сбора рассеянного света.

Тогда почему микроскопия комбинационного рассеяния не всегда является лучшим выбором для анализа микропластика? Помимо преимуществ, есть три ключевых недостатка микроскопии комбинационного рассеяния. Первый – это совокупность знаний. ИК-Фурье спектроскопия как общепринятый аналитический метод существует дольше, чем спектроскопия комбинационного рассеяния, и она развивалась по мере роста индустрии полимеров. Таким образом, существует больше исторических данных для ИК-спектроскопии, чем для спектроскопии комбинационного рассеяния, при анализе полимеров. Однако этот разрыв уменьшается с течением времени, и, безусловно, имеется достаточно эталонных спектров, позволяющих идентифицировать распространенные микропластики. Второй – это стоимость. Обычно из-за стоимости компонентов системы комбинационного рассеяния исследовательского уровня стоят дороже, чем эквивалентные им системы ИК-Фурье спектроскопии. Третий недостаток – флуоресценция.

Некоторые образцы флуоресцируют при облучении лазером. Флуоресценция может подавить полезный аналитический сигнал комбинационного рассеяния. Это действие может быть уменьшено выбором соответствующих длин волн лазера, но флуоресценция образца является проблемой в микроскопии комбинационного рассеяния, которая не встречается в ИК-Фурье микроскопии.

С учетом всего вышесказанного, микроскопия комбинационного рассеяния по-прежнему остается предпочтительным методом исследования частиц размером менее 10 мкм из-за длины волны зондирующего излучения.



Рис. 9. Микроскоп комбинационного рассеяния DXR2 для анализа микропластика.

Как обсуждалось выше, варианты исследования образца при использовании микроскопии комбинационного рассеяния обычно тривиальны. В отличие от ИК-Фурье микроскопии, при которой качество спектра критически зависит от метода исследования образца, при микроскопии комбинационного рассеяния просто измеряется лазерное излучение, рассеянное от образца, без необходимости специальной подготовки образца. При микроскопии

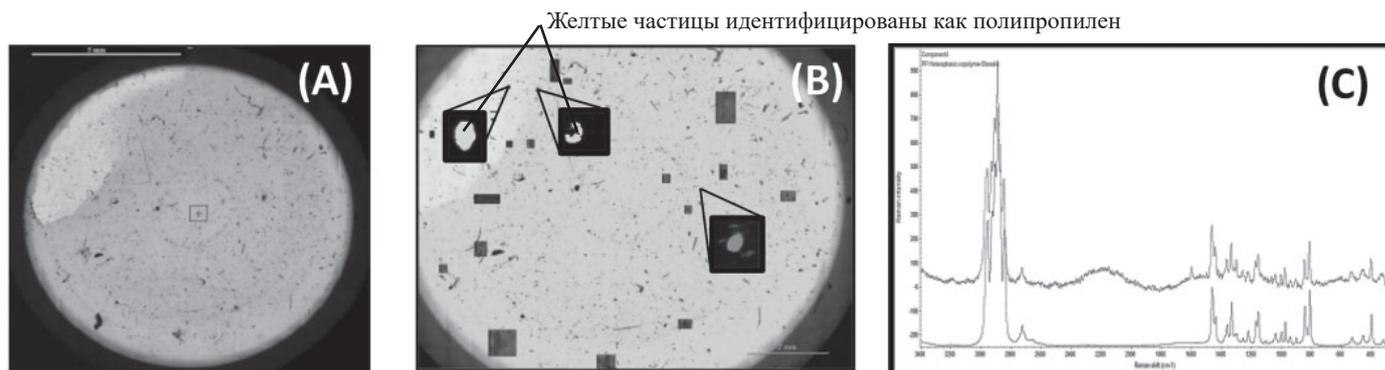


Рис. 10. Пример анализа микропластика с помощью микроскопа комбинационного рассеяния DXR2xi, создающего спектральное изображение. (А) Видеоизображение фильтра из оксида алюминия с частицами микропластика; (В) Химическое изображение фильтра с частицами микропластика; и (С) Спектр одной из желтых частиц в сравнении с библиотечным спектром полипропилена.

Таблица 2. Аналитические приборы для анализа микропластика.

		Конфигурация				
		ИК-Фурье + НПВО	ИК-Фурье + НПВО в одной точке	ИК-Фурье микроскоп «указать и выполнить»	Визуализирующий ИК-Фурье микроскоп	Микроскоп комбинационного рассеяния
		ИК-Фурье спектрометр Nicolet iS5 с приставкой НПВО iD7	ИК-Фурье спектрометр Nicolet iS5 с приставкой SurveyIR	ИК-Фурье спектрометр Nicolet iS20 и ИК-микроскоп Nicolet iN5	Визуализирующий ИК-микроскоп Nicolet iN10 MX	Микроскоп комбинационного рассеяния DXR2
Размер измеряемых частиц	5 мм					
	1 мм					
	500 мкм					
	100 мкм					
	10 мкм					
	1 мкм					
Только ручное размещение образца		Да	Да	Да	Нет	Нет
Автоматический анализ фильтров		Нет	Нет	Нет	Да	Да
Устойчивость к флуоресценции образца		Да	Да	Да	Да	Нет

комбинационного рассеяния важную роль играет выбор лазера, который влияет на силу сигнала и флуоресценцию образца.

Как и в случае с ИК-Фурье микроскопией, для микроскопии комбинационного рассеяния предлагаются различные варианты автоматизации, от простого действия «указать и выполнить» для анализа отдельных частиц до высокоскоростного сбора спектрального изображения. Микроскоп комбинационного рассеяния Thermo Scientific™ DXR2, показанный на рис. 9, является полностью автоматизированной системой микроскопии комбинационного рассеяния.

Как и в случае с ИК-Фурье микроскопией, стоимость, сложность и изощренность анализа данных возрастают с ростом требований к степени автоматизации. Анализ микропластика на фильтре при микроскопии комбинационного рассеяния показан на рис. 10.

Заключение

ИК-Фурье спектроскопия и спектроскопия комбинационного рассеяния являются мощными аналитическими инструментами для выявления микропластика в окружающей среде и бутилированной воде. Доступно множество решений, от простых устройств «указать и выполнить» до сложных систем обработки изображений. Выбор системы зависит от размера исследуемых частиц, места выполнения анализа и степени требуемой автоматизации.

Эта информация обобщена в руководстве по выбору приборов, показанном в таблице 2.

Литература

1. Артур, Кортни; Бейкер, Джоэл; Бэмфорд, Холли (январь 2009). Материалы международного научно-исследовательского семинара по возникновению, воздействию и поведению микропластика в морских водах (PDF). Технический меморандум NOAA.
2. Тигарден, Д.М., (2004). Химия полимеров: Введение в теоретические основы. Пресса Национальной ассоциации преподавателей естествознания.
3. Коул, Мэтью; Линдек, Пенни; Файлмен, Элейн; Халсбанд, Клаудия; Гудхед, Рис; Могер, Джулиан; Галлоуэй, Тамара С. (2013). Поедание микропластика зоопланктоном. Наука об окружающей среде и технологии. 47 (12): 6646–6655.
4. Томпсон, Р. С.; Мур, С.Дж.; Вом Саал, Ф.С.; Сван С.Х. (2009). Пластмассы, окружающая среда и здоровье человека: Текущий консенсус и будущие тенденции. Философские труды Королевского общества В: Биологические науки. 364 (1526): 2153–2166.
5. Мато, Юки; Исобе, Томохико; Такада, Хидешиге; Канехиро, Харуюки; Охтакэ, Чиёко; Каминума, Цугучика (2001). Гранулы пластичных полимеров как транспортная среда для токсичных химических веществ в морской среде. Наука об окружающей среде и технологии. 35 (2): 318–324.

Больше информации на thermofisher.com/microplastics

Данное оборудование на территории РФ и стран СНГ представляет компания INTERTECH Corporation

www.intertech-corp.ru e-mail: info@intertech-corp.ru