

Identificación de microplásticos con microscopía Raman.

Identificación rápida de partículas microplásticas ambientales.

Los microplásticos se han convertido en un problema de salud y seguridad ambiental, aunque no comprendemos completamente sus impactos a largo plazo. El microplástico, definido como basura plástica de menos de 5 mm de tamaño, es la forma más abundante de desechos marinos.^{1,2} Los microplásticos se clasifican en primarios o secundarios. Los microplásticos primarios incluyen pequeños artículos manufacturados, como fibras y perlas.³ Los microplásticos secundarios incluyen fragmentos formados por una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos.³ Laboratorios de investigación *debe* ampliar sus capacidades para analizar de forma rutinaria

microplásticos candidatos a partir de muestras ambientales. Las técnicas espectroscópicas son muy adecuadas para la identificación de polímeros. Esto ayuda a determinar el origen y ayuda a predecir los impactos biológicos. La espectroscopia Raman de laboratorio es una alternativa a los microscopios Raman confocales y a los microscopios infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR) para la identificación rápida de materiales poliméricos. Sin embargo, las muestras muy pequeñas son malas candidatas para el análisis Raman tradicional. Se utilizó microscopía Raman para identificar partículas microplásticas muy pequeñas en esta nota de aplicación.

INTRODUCCIÓN

La espectroscopia Raman tiene muchos beneficios y adaptaciones para diferentes aplicaciones. La microscopía Raman permite un muestreo más sencillo de partículas pequeñas (<100 μm) que el FTIR, otra técnica utilizada frecuentemente para la identificación de microplásticos. Los sistemas Raman tienden a ser mucho más portátiles que la mayoría de las otras técnicas, por lo que las pruebas pueden realizarse

directamente en el sitio.

Aparte de cierta interferencia de los tintes, los polímeros y plásticos son buenos candidatos para el análisis Raman. **Figura 1** muestra los espectros Raman de materiales a granel de polietileno y polipropileno medidos con excitación de 1064 nm. Los plásticos se pueden distinguir claramente por sus características espectrales.

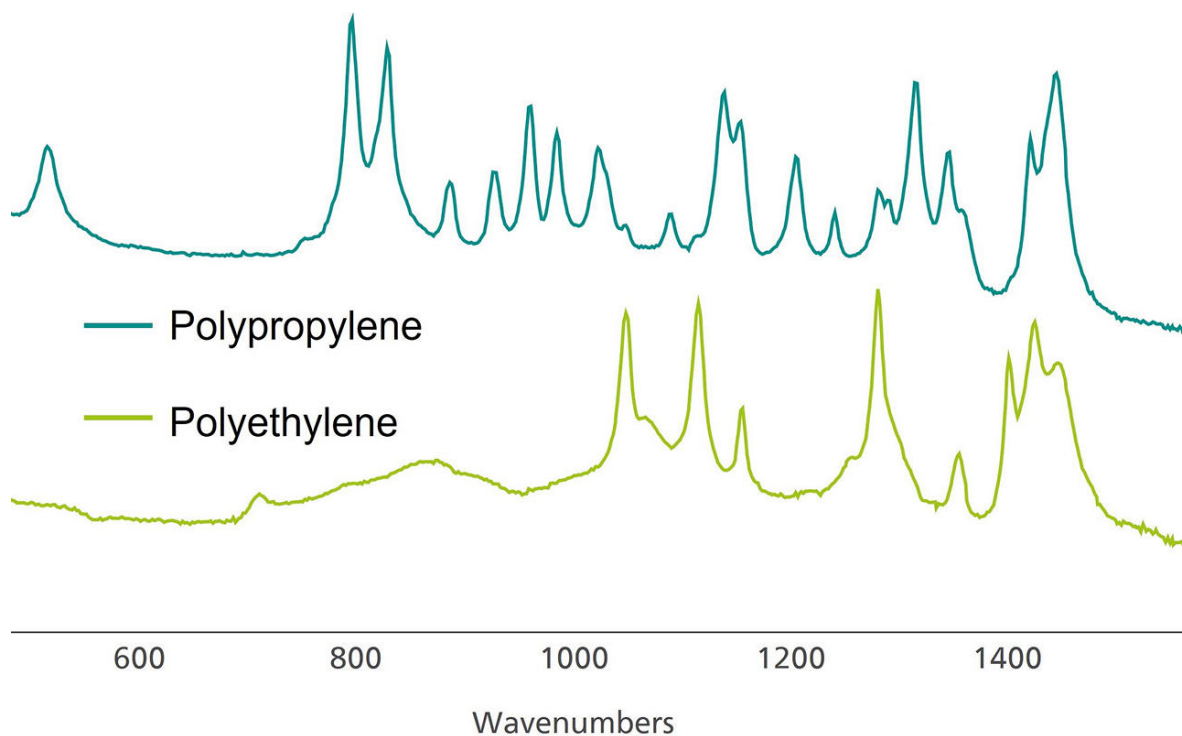


Figure 1. Espectros Raman de polipropileno (arriba) y polietileno (abajo). Los espectros se compensan manualmente para una clarificación visual.

Esta nota de aplicación explora el uso de microscopía Raman portátil para la identificación de microplásticos

recuperados de las aguas superficiales del estuario.

EXPERIMENTO

Se recogieron muestras de agua de la superficie de la Bahía de Delaware (EE.UU.). Luego se transfirieron a frascos de vidrio y se fijaron con formaldehído al 4%. La muestra total se fraccionó por tamaño en tamices de acero inoxidable (5000, 1000 y 300 μm).

Las muestras de 300 y 1000 μm se secaron durante la noche a 90 °C. Después del secado, los procesos de oxidación de peróxido húmedo y separación de

densidad aislaron los microplásticos del material orgánico digerido.4].

Los microplásticos se recogieron en una malla nitex de 200 μm y se secaron. Estas muestras se examinaron bajo un microscopio estereoscópico y a cada pieza se le asignó un tipo de plástico (es decir, fragmento, fibra, perla, película, espuma, caucho). A esto le siguió la identificación plástica con espectroscopía Raman.

Tabla 1. Parámetros experimentales.

Instrumental	Configuración	
i-Raman EX	Potencia del láser	<165mW
BAC151 video microscope	Int. time	30 s-3 min
Software BWID	Promedio	1

Para todas las mediciones se utilizó un sistema Raman portátil i-Raman® EX con excitación láser de 1064 nm (ver **tabla 1** para especificaciones). La excitación con láser de 1064 nm mitiga la fluorescencia espectral resultante de la excitación con láser de 785 nm de muestras de microplásticos coloreados.

Se utilizó un videomicroscopio BAC151C con una lente objetivo de 50 aumentos (distancia de trabajo

de 9,15 mm, tamaño de punto de 42 μm) para obtener imágenes de los microplásticos. La potencia del láser se mantuvo por debajo del 50% del máximo (<165 mW) para evitar quemar la muestra. Se utilizó el software BWID® para la identificación de los microplásticos frente a una biblioteca de referencia de espectros de plásticos.

RESULTADOS

Microplásticos secundarios

Se analizaron varias muestras de microplásticos. **Figura 2a** muestra un fragmento de microplástico azul en el extremo más grande del rango de tamaño de microplástico (diámetro de aproximadamente 4,5

mm). La forma irregular de esta partícula indica que probablemente se trate de un microplástico secundario. **Figura 2b** es el espectro Raman recogido del fragmento de plástico azul.

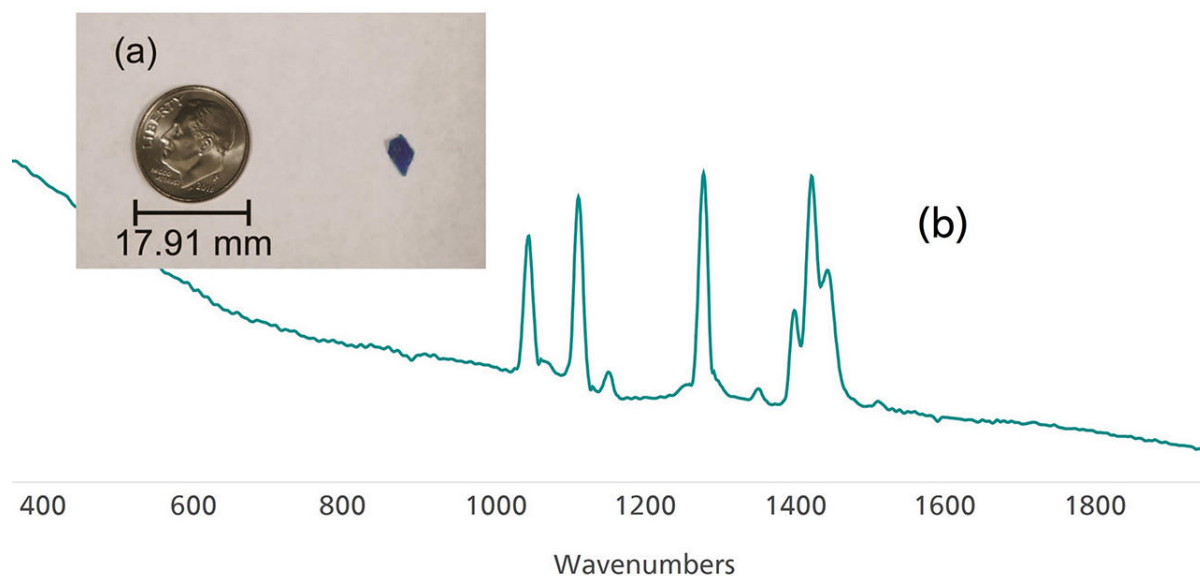


Figure 2. (a) Pequeño fragmento de plástico azul (con moneda de diez centavos americana para comparar) y (b) Espectro Raman adquirido de la muestra.

El software BWID compara el espectro adquirido de una sustancia desconocida con una biblioteca de materiales de referencia para generar un índice de calidad de acierto (HQI), un coeficiente de correlación. Se aplica una primera derivada al espectro para el cálculo. Los resultados de la búsqueda de la biblioteca espectral se clasifican según un HQI de 100 a 0 (de mejor a peor coincidencia). BWID se puede utilizar

con una variedad de bibliotecas espectrales comerciales y admite la creación de bibliotecas personalizadas.

BWID coincidió con el fragmento azul en **Figura 2a** a un espectro de referencia de polietileno (PE) con un HQI calculado de 95,7 (**figura 3**), lo que indica una fuerte correlación espectral.

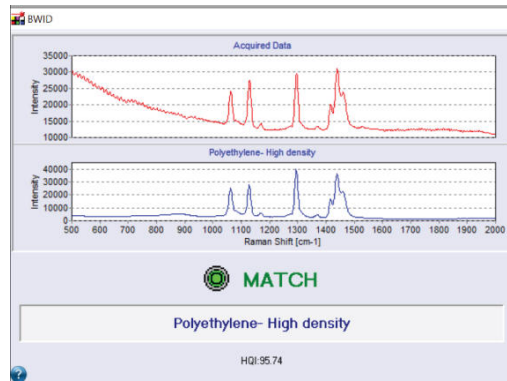


Figure 3. Coincidencia BWID para polietileno.

Microplásticos primarios

Figura 4a muestra el espectro Raman adquirido a partir de una pequeña perla esférica (Figura 4b). Es probable que esta perla sea un microplástico

primario. BWID comparó el espectro de la muestra con un espectro de referencia de poliestireno con un HQI de 98,2.

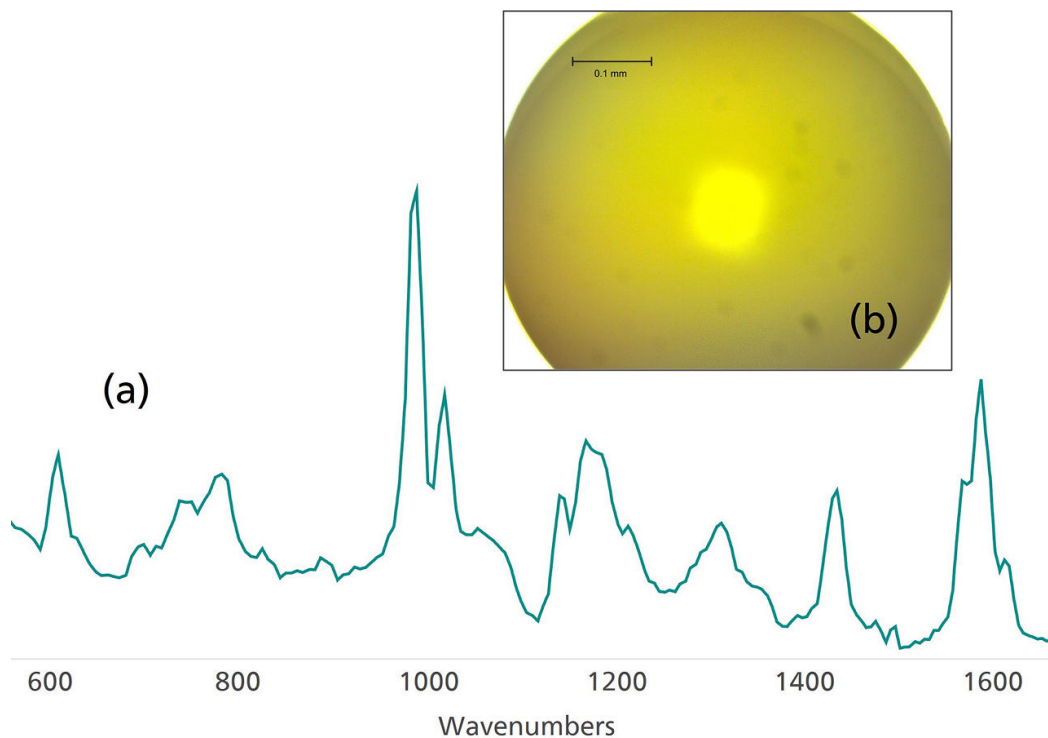


Figure 4. (a) Espectro Raman de poliestireno recogido de (b) una perla de poliestireno.

Las fibras son un subgrupo importante y común de partículas microplásticas. **Figura 5a** muestra el espectro Raman recogido de una fina fibra coloreada

(**Figura 5b**). BWID hizo coincidir el espectro Raman de la muestra con un espectro de referencia de polipropileno, con un HQI calculado de 74,9.

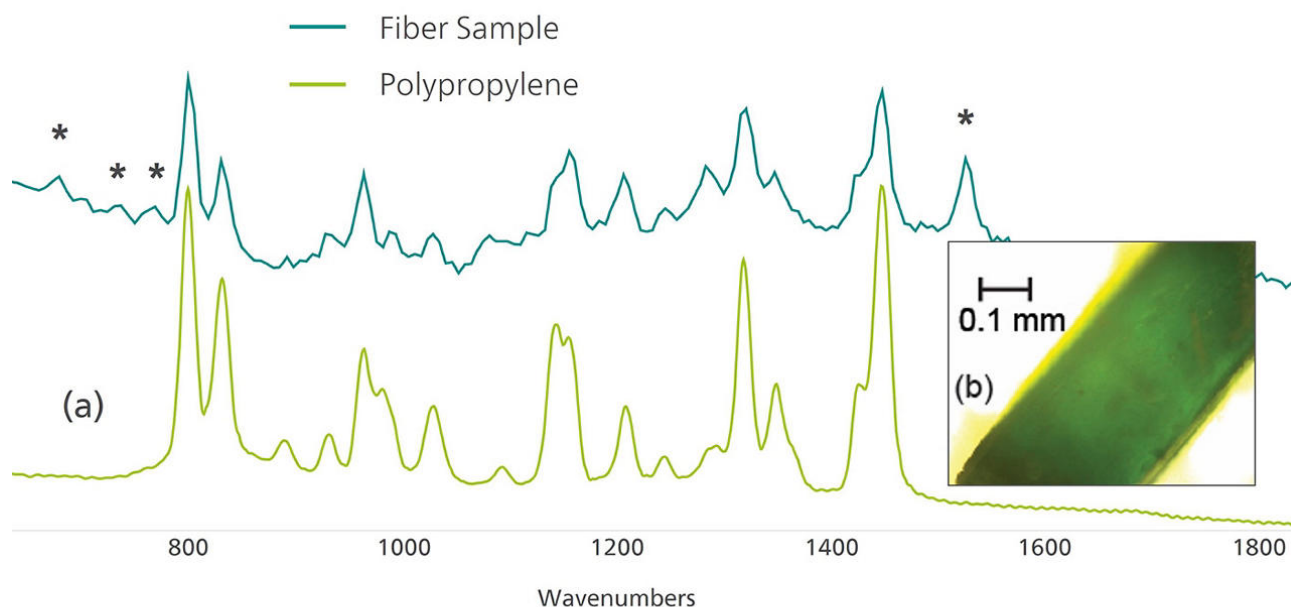


Figure 5. (a) Espectros Raman de una fibra coloreada (arriba) en comparación con un espectro de referencia de polipropileno (abajo) y (b) imagen microscópica de la fibra coloreada. Los asteriscos indican picos que pueden atribuirse al colorante utilizado en el plástico.

Este valor relativamente bajo motivó una mayor investigación sobre los picos en el espectro de la muestra que no pueden atribuirse al polipropileno. El pico a aproximadamente 1537 cm^{-1} y el conjunto de picos débiles de $670\text{--}790\text{ cm}^{-1}$ son consistentes con el espectro Raman del pigmento verde de ftalocianina de cobre clorado [5]. Esta es información útil para determinar el origen de una muestra.

Resumen de microplásticos

Un resumen de los microplásticos medidos en este

estudio indica que las muestras estaban compuestas principalmente de polietileno, polipropileno o poliestireno (**Tabla 2**). Los resultados no concluyentes tienden a provenir de los microplásticos negros, que son un material históricamente desafiante para Raman.

La degradación de la muestra es otra limitación observada. Se deben utilizar potencias láser bajas ($\sim 10\%$ del máximo) para evitar la distorsión y la quema de la muestra.

Tabla 2. Resumen de resultados de identificación.

Resultado	Número de muestras
Polietileno	11
Polipropileno	4
Poliestireno	2
Poco concluyente	5

CONCLUSIÓN

Los microplásticos representan una amenaza potencial para la salud humana y nuestro medio ambiente. Su caracterización sólida será un tema de investigación importante en el futuro cercano. La microscopía Raman es una herramienta eficaz para

identificar sin ambigüedades estos microplásticos.

La excitación de 1064 nm mitiga la fluorescencia de los tintes utilizados en los plásticos. Los algoritmos de coeficientes de correlación de software son útiles para la identificación sencilla de material plástico.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Jonathan H. Cohen y Taylor Hoffman de la Facultad de Ciencias y Políticas Marinas de la Universidad de Delaware por ser coautores de esta

nota de aplicación y proporcionar las muestras de microplásticos.

REFERENCIAS

1. Ley, K. I. Plásticos en el Medio Marino. *Ann Rev Mar Ciencias* **2017**, *9*, 205–229. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409>.
2. Galloway, T. S.; Cole, M.; Luis, C. Interacciones de desechos microplásticos en todo el ecosistema marino. *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. Entradas de residuos plásticos de la tierra al océano. *Ciencia* **2015**, *347* (6223), 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>.
4. Masura, J.; Panadero, J.; Fomatar, G.; et al. *Métodos de laboratorio para el análisis de microplásticos en el medio marino: recomendaciones para la cuantificación de partículas sintéticas en aguas y sedimentos*; Memorando técnico de la NOAA; Informe NOS-OR&R-48; División de Desechos Marinos de la NOAA: Silver Spring, MD, 2015. <https://doi.org/10.25607/OBP-604>.
5. Durán, A.; Franquelo, M. L.; Centeno, M. A.; et al. Detección de falsificaciones en un manuscrito árabe iluminado mediante espectroscopía de fluorescencia de rayos X y micro-Raman. *Revista de espectroscopia Raman* **2011**, *42* (1), 48–55. <https://doi.org/10.1002/jrs.2644>.

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



Espectrómetro Raman portátil i-Raman EX

El espectrómetro i-Raman[®] EX forma parte de la galardonada serie de espectrómetros Raman portátiles i-Raman con nuestro láser patentado CleanLaze[®] que proporciona 1064 nm de excitación láser. Mediante un detector de matriz InGaAs de alta sensibilidad con refrigeración termoeléctrica profunda, amplia gama de regulación y un diseño de espectrógrafo de alto rendimiento, este espectrómetro Raman portátil ofrece una elevada relación señal/ruido sin inducir autofluorescencia, lo que permite medir una extensa variedad de productos naturales, muestras biológicas (como cultivos celulares) y muestras coloreadas.

El espectrómetro i-Raman EX aporta una gama de cobertura espectral de 100 cm⁻¹ a 2500 cm⁻¹, lo que le permite medir en toda la región de las huellas dactilares. El pequeño tamaño del sistema, su diseño ligero y su bajo consumo de corriente garantizan la capacidad de análisis Raman apto para investigación en cualquier lugar. Para ampliar la capacidad de análisis, puede utilizarse con nuestro software patentado Vision, así como con el software de análisis multivariante BWIQ[®] y el software de identificación BWID[®]. Con el i-Raman EX, siempre tendrá una solución Raman de alta precisión para el análisis cualitativo y cuantitativo sin fluorescencia.

BWS485III



Objetivo de microscopio de vídeo, 50 aumentos

Objetivo de microscopio, con corrección infinita, 50 aumentos, distancia de trabajo (mm) = 9.15, distancia focal (mm) = 4, apertura numérica (NA) = 0.55.

RML150A