

**Desenvolupament d'un mètode analític per a la determinació
d'impureses inorgàniques en (micro)-plàstics mitjançant micro-
fluorescència de raig X (μ -XRF).**

Estudiant: Sandra Vílchez Montero

Correu electrònic: svilchezpalafolls@gmail.com

Grau en Química

Tutor/a: Eva Marguí Grabulosa

Correu electrònic: eva.margui@udg.edu

Empresa/Institució: Àrea de Química Analítica, Departament de Química,
Universitat de Girona.

Data de dipòsit de la memòria a través de la plataforma de TFG: 06/06/2023

ÍNDIX

RESUM.....	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT.....	iii
REFLEXIÓ ÈTICA, SOSTENIBILITAT I PERSPECTIVA DE GÈNERE.....	iv
1. INTRODUCCIÓ.....	1
1.1 Importància, definició i tipus de (micro)-plàstics.....	1
1.2 Mètodes analítics per a la determinació d'impureses inorgàniques en (micro)-plàstics....	3
2. OBJECTIVES.....	5
3. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL.....	6
3.1. Reactius, materials i aparells.....	6
3.1.1 Reactius.....	6
3.1.2 Aparells i instruments.....	6
3.2 Mostres de (micro)-plàstics.....	6
3.2.1 Mostres de (micro)-plàstics per a calibrar el mètode de μ -XRF.....	6
3.2.2 Materials de referència.....	7
3.2.3 (Micro)-plàstics provinents del Mar Mediterrani i l'Oceà Atlàntic.....	8
3.3 Anàlisi de (micro)-plàstics.....	8
3.3.1 Determinació del tipus de polímer mitjançant espectroscòpia IR.....	8
3.3.2 Determinació del contingut elemental en mostres de plàstic mitjançant digestió i ICP-OES.....	9
3.3.3 Determinació del contingut elemental en mostres de plàstic mitjançant μ -XRF.....	12
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	13
4.1 Desenvolupament d'un mètode analític mitjançant μ -XRF per la determinació de metalls en (micro)-plàstics.....	13
4.1.1 Preparació del calibratge.....	13
4.1.1.1 Determinació del tipus de polímer.....	13
4.1.1.2 Determinació de la concentració de metalls (Digestió àcida i anàlisi mitjançant ICP-OES).....	15
4.2. Anàlisi de (micro)-plàstics mitjançant μ -XRF.....	19
4.2.1 Avaluació de la qualitat dels resultats obtinguts mitjançant el mètode de μ -XRF.....	19
4.2.2 Aplicació del mètode desenvolupat: Anàlisi de (micro)-plàstics del Mar Mediterrani i l'Oceà Atlàntic amb μ -XRF.....	21
5. CONCLUSIONS.....	29
6. BIBLIOGRAFIA.....	30

RESUM

La presència de (micro)-plàstics en diferents ambients aquàtics és un tema de preocupació mundial que ha anat adquirint importància als últims anys degut al seu potencial impacte al medi ambient i la salut humana. S'han trobat (micro)-plàstics en pràcticament tots els tipus de masses d'aigua i la presència de metalls en aquests materials, ja sigui a causa de la seva fabricació o per processos d'adsorció pot ser molt perjudicial. Alguns metalls tòxics com el Pb, Hg, Cd i Cr si són presents als (micro)-plàstics poden ser alliberats a l'aigua i aquest fet pot afectar negativament als ecosistemes per la seva persistència.

Els mètodes més habituals per a la determinació de metalls en (micro)-plàstics requereixen dur a terme digestions àcides amb microones i posterior anàlisi amb tècniques espectroscòpiques i per tant, es requereix d'un tractament previ de la mostra en el qual s'utilitzen reactius perillosos i nocius com àcids forts i agents oxidants.

L'objectiu principal d'aquest treball ha sigut desenvolupar una metodologia analítica no destructiva centrada en l'ús de l'espectroscòpia de fluorescència de raig X (XRF) per a l'anàlisi multielemental de (micro)-plàstics. Per tal de desenvolupar aquest mètode ha calgut determinar la composició elemental d'una sèrie de mostres de plàstic mitjançant la seva digestió i posterior anàlisi mitjançant ICP-OES, per tal d'utilitzar-los com a patrons per a calibrar el sistema de micro-XRF.

Una vegada estudiada la qualitat dels resultats obtinguts amb la metodologia desenvolupada mitjançant l'anàlisi de materials de referència certificats, s'ha aplicat el mètode en l'anàlisi de mostres de (micro)-plàstics provinents del Mar Mediterrani i l'Oceà Atlàntic. Els resultats obtinguts han sigut prometedors ja que s'ha aconseguit la determinació de metalls en les mostres analitzades sense necessitat de tractar la mostra. S'ha observat que els elements més presents en aquestes mostres són el Ca, Ti, Fe, Cu i Zn. No obstant, en algunes mostres s'han pogut determinar també continguts apreciables de metalls més tòxics com el Cr i el Pb. Addicionalment s'ha estudiat la distribució elemental en algunes de les mostres estudiades i s'ha pogut comprovar que aquesta no és homogènia.

RESUMEN

La presencia de (micro)-plásticos en diferentes ambientes acuáticos es un tema de preocupación mundial que ha ido adquiriendo importancia en los últimos años debido a su potencial impacto en el medio ambiente y la salud humana. Se han encontrado (micro)-plásticos en prácticamente todo tipo de masas de agua y la presencia de metales en estos materiales, ya sea a causa de su fabricación o por procesos de adsorción puede ser muy perjudicial. Algunos metales tóxicos como el Pb, Hg y Cd si están presentes en los (micro)-plásticos pueden ser liberados al agua y este hecho puede afectar negativamente a los ecosistemas por su persistencia.

Los métodos más habituales para la determinación de metales en (micro)-plásticos requieren llevar a cabo digestiones ácidas con microondas y posterior análisis con técnicas espectroscópicas y por tanto, se requiere de un tratamiento previo de la muestra en el cual se utilizan reactivos peligrosos y nocivos como ácidos fuertes y agentes oxidantes.

El objetivo principal de este trabajo ha sido desarrollar una metodología analítica no destructiva centrada en el uso de la espectroscopia de fluorescencia de rayos X (XRF) para el análisis multielemental de (micro)-plásticos. Para desarrollar este método ha sido necesario determinar la composición elemental de una serie de muestras de plástico mediante su digestión y posterior análisis mediante ICP-OES, para poder utilizarlos como patrones para calibrar el sistema de micro-XRF.

Una vez estudiada la calidad de los resultados obtenidos con la metodología desarrollada mediante análisis de materiales de referencia certificados, se ha aplicado el método para el análisis de muestras de (micro)-plásticos provenientes del Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico. Los resultados obtenidos han sido prometedores ya que se ha conseguido la determinación de metales en las muestras analizadas sin necesidad de tratar la muestra. Se ha observado que los elementos más presentes en estas muestras son el Ca, Ti, Fe, Cu i Zn. No obstante, en algunas muestras se han podido determinar también contenidos apreciables de metales más tóxicos como el Cr y el Pb. Adicionalmente se ha estudiado la distribución elemental en algunas de las muestras estudiadas y se ha podido comprobar que ésta no es homogénea.

ABSTRACT

The presence of (micro)-plastics in different aquatic environments is a matter of world concern that has been gaining importance in recent years due to its potential impact on the environment and human health. (Micro)-plastics have been found in practically all types of water bodies and the presence of metals in these materials, either due to their manufacture or through adsorption processes, can be very harmful. Some toxic metals such as Pb, Hg, Cd and Cr present in (micro)-plastics can be released into the water and this fact can negatively affect ecosystems due to their persistence.

The most commonly used methods for the determination of metals in (micro)-plastics require carrying out acid digestions with microwave ovens and subsequent analysis with spectroscopic techniques and therefore require a previous treatment of the sample in which dangerous and harmful reagents such as strong acids and oxidizing agents are used.

The main objective of this work is the development of a non-destructive analytical methodology focused on the use of X-ray fluorescence spectroscopy (XRF) for the multi-elemental analysis of (micro)-plastics. In order to develop this method, it was necessary to determine the elemental composition of a set of plastic samples through their digestion and subsequent analysis by means of ICP-OES, in order to use them as standards to calibrate the micro-XRF.

Once the quality of the results obtained with the methodology developed through the analysis of certified reference materials was verified, the method was applied to the analysis of (micro)-plastic samples from the Mediterranean Sea and the Atlantic Ocean. The results obtained have been promising and the determination of metals in the samples has been achieved without the need to treat previously the sample. It has been observed that the elements most present in these samples are Ca, Ti, Fe, Cu and Zn. However, in some samples it was also possible to determine appreciable contents of more toxic metals such as Cr and Pb. In addition, the elemental distribution has been studied in some of the samples studied and it has been possible to verify that this is not homogeneous.

REFLEXIÓ ÈTICA, SOSTENIBILITAT I PERSPECTIVA DE GÈNERE

El principal objectiu d'aquest treball és el desenvolupament d'una metodologia analítica no destructiva, centrada en l'ús de l'espectroscòpia de fluorescència de raig X (XRF), per a l'anàlisi multielemental de (micro)-plàstics. Per tant, les mostres emprades en aquest treball no estan subjectes a cap codi ètic. No obstant, respecte a l'ètica professional cal esmentar que s'ha garantit l'obtenció i l'ús ètic de la informació obtinguda a partir de la recerca bibliogràfica, esmentant les referències al llarg del treball. També s'han considerat els aspectes ètics en la interpretació i divulgació dels resultats, sense dur a terme manipulació de la informació per tal de comunicar les conclusions obtingudes en el desenvolupament del mètode analític.

En aquest treball en particular no hi ha aspectes destacables on es pugui veure la perspectiva de gènere però tot i així com en qualsevol camp científic, és important assegurar la inclusió equitativa de persones de tots els gèneres en la investigació, el desenvolupament i responsabilitats que es poden dur a terme. En aquest cas, a la Universitat de Girona al departament de química de 105 docents hi ha un 43,8% de dones, i en concret al grup de recerca de química analítica i ambiental hi ha 7 dones com a personal docent investigador, 3 estudiants de doctorat i només un home com a personal docent investigador. En comparació amb una altra universitat catalana com és la Universitat de Barcelona, al departament de química analítica hi ha 21 dones i 22 homes. (Font: <https://www.udg.edu/ca/depq> ; <https://www.ub.edu/portal/web/dp-igqa/quimica-analitica>).

En l'àmbit de la sostenibilitat, l'anàlisi de (micro)-plàstics mitjançant tècniques analítiques no destructives presenta diversos avantatges pel que fa a la sostenibilitat de materials i recursos utilitzats. S'aconsegueix la reducció de residus i les pràctiques de laboratori sostenibles pel fet de no haver d'utilitzar reactius com àcids forts i agents oxidants que poden ser perjudicials per al medi ambient. Tampoc requereix l'ús d'equips addicionals que poden produir un major consum energètic. Per tant, s'aconsegueix obtenir resultats comparables als que s'obtenen amb altres metodologies que si impliquen l'ús d'aquest tipus de reactius per al tractament previ de la mostra com ara l'ICP-OES. Com no requereix la preparació de mostres complexes al poder analitzar la mostra directament, s'aconsegueix un procés més fàcil i ràpid d'anàlisi. A més, l'instrument analític emprat (μ -XRF) no requereix medis refrigerants o consum de gasos per al seu funcionament.

1. INTRODUCCIÓ

1.1 Importància, definició i tipus de (micro)-plàstics

L'increment en l'ús de materials plàstics ha anat augmentant al llarg dels anys, principalment per la seva versatilitat, llarga vida útil i baix cost. Gràcies a aquests avantatges els plàstics són utilitzats en una àmplia gamma d'aplicacions, però el principal inconvenient és l'impacte ambiental que poden tenir aquests i com es pot estimar per aconseguir-ne tenir un control adequat. La presència de formes microscòpiques dels residus plàstics que arriben al mar i oceans constitueix un problema de contaminació a nivell mundial [1].

Aquests materials són partícules de plàstic que poden tenir mides inferiors a cinc mil·límetres i que poden ser de dos tipus: es descriuen com a "primaris" quan són fabricats directament com a partícules per afegir-se de manera intencionada a una gran varietat de productes com ara cosmètics, detergents, pintures, etc.. i es descriuen com "secundaris" quan són originats a causa de la fragmentació gradual de plàstics de major mida. Es consideren (micro)-plàstics quan tenen les següents característiques: són partícules sòlides, sintètiques, no degradables, insolubles en aigua i de mida petita (inferiors a 5 mm) [2].

Els (micro)-plàstics poden afectar a la xarxa tròfica degut a la ingestió d'aquests per part d'organismes aquàtics, i per tant també poden arribar a estar presents en l'alimentació humana. És important poder determinar la presència i propagació d'impureses inorgàniques presents com ara metalls pesants, que poden estar presents als metalls a causa del seu procés de fabricació o que poden ser adsorbits. A partir d'aquesta determinació es pot estimar el dany que poden ocasionar a nivell ambiental, ja que degut a la seva difícil degradació aquests materials plàstics poden persistir durant dècades al medi ambient. [1]

Els plàstics es classifiquen segons les seves característiques i estructures químiques. Segons aquesta classificació, els principals tipus de plàstics són els següents [3]:

1. **PET (polietilè tereftalat):** Aquest tipus de plàstic té una àmplia utilitat, es pot trobar en envasos per a begudes i aliments.

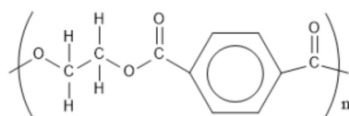


Figura 1. Estructura química PET extret de [3].

2. **HDPE (polietilè d'alta densitat) i LDPE (polietilè de baixa densitat):** Format per llargues cadenes de polímers no ramificats, la qual cosa fa que siguin més rígids i resistent que el PET. Pot resistir temperatures fins a 120°C. Utilitzat en contenidors de reciclatge, bosses de supermercat i envasos com ara ampolles i tapes, entre d'altres.

Al cas del LDPE, la principal diferència amb el HDPE és que aquest es caracteritza per tenir molècules de baixa densitat, diferent polimerització i per tant tenen diferents propietats mecàniques com ara més flexibilitat al cas del HDPE, s'utilitza principalment per a bosses de plàstic. Els dos tipus de polímer tenen la mateixa estructura:

1.2 Mètodes analítics per a la determinació d'impureses inorgàniques en (micro)-plàstics

Per tal de poder determinar el contingut d'impureses inorgàniques presents en (micro)-plàstics normalment s'utilitzen mètodes que requereixen tractar la mostra realitzant digestions àcides amb microones amb una posterior anàlisi mitjançant tècniques atòmiques com ara l'espectrometria d'emissió atòmica amb plasma d'acoblament inductiu (ICP-OES) o l'espectrometria de masses amb plasma d'acoblament inductiu (ICP-MS), entre d'altres.

Cal remarcar que en molts estudis on s'utilitza aquesta aproximació analítica es fa esment de la complexitat del procés de digestió emprat per tal d'obtenir unes mostres transparents i amb unes recuperacions quantitatives pels elements d'interès. Habitualment, la barreja àcida emprada en el procés de digestió depèn del tipus de polímer i, per tant, no es disposa d'un procés estandarditzat per a la digestió de mostres de plàstic [4]. Habitualment s'empren combinacions d'àcids com el HNO_3 , HCl , HF i H_2SO_4 a diferents concentracions i condicions de digestió.

Tal com s'ha esmentat, una de les tècniques més emprades per tal de determinar el contingut elemental de les mostres de plàstic digerides és l'ICP-OES. Aquesta tècnica permet la determinació i quantificació multi-elemental de la majoria d'elements de la taula periòdica. La mostra s'ha d'introduir en forma líquida i mitjançant un sistema de nebulització s'aconsegueix formar un aerosol que arriba a la torxa del plasma. Gràcies a les elevades temperatures que es generen al plasma s'aconsegueix atomitzar i ionitzar els àtoms, generant àtoms excitats que emeten radiació electromagnètica quan retornen al seu estat fonamental. Es tracta d'una tècnica molt selectiva ja que la longitud d'ona de la radiació emesa és característica de cada element, i la quantitat d'aquesta radiació es proporcional a la concentració de l'analit, de manera que s'aconsegueix quantificar el contingut d'analit amb exactitud i precisió utilitzant una comparació prèvia amb patrons de concentracions conegudes [5].

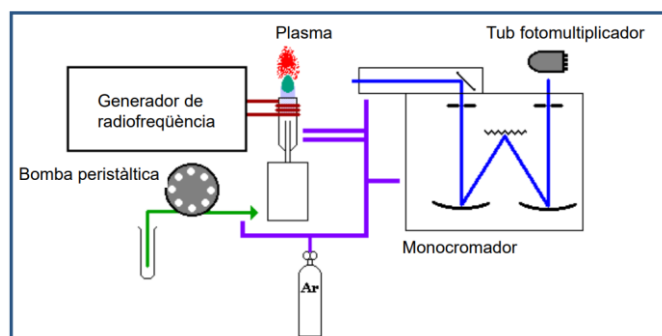


Figura 7. Instrumentació d'un ICP-OES de tipus seqüencial.

La formació de ions i àtoms excitats que té lloc en el plasma i que permet l'emissió d'energia quan tornen al seu estat fonamental es pot trobar en dos tipus de bandes:

Bandes I (bandes atòmiques): Aquestes bandes corresponen a àtoms que tenen poca tendència a ionitzar-se (Initial Radiation Zone).

Bandes II (bandes iòniques): Aquestes bandes corresponen a àtoms que presenten major tendència a ionitzar-se (Normal Analytical Zone).

Depenent de la capacitat de ionitzar-se de cada element es podrà treballar amb les dues bandes o només amb una segons el cas [5].

Una altra possibilitat analítica per a la determinació multielemental en mostres de plàstic és la utilització de tècniques no destructives com l'espectrometria de fluorescència de raig X (XRF). Un dels principis bàsics d'aquesta tècnica és la possibilitat d'analitzar sòlids amb un tractament mínim de la mostra.

El principi bàsic de la fluorescència de raigs-X es basa en l'aplicació d'un fotó altament energètic que és capaç d'expulsar un electró situat a les capes internes de l'àtom d'un element. Donada la vacant originada, pot tenir lloc dos tipus de processos que competeixen entre ells per tal d'estabilitzar-lo. El primer comporta una reorganització d'electrons del propi àtom resultant l'emissió de fotoelectrons (efecte Auger). El segon procés es basa en la transferència d'un electró provinent de capes més externes que ocupa la vacant generada. Com a resultat de la diferència d'energia entre els dos estats, té lloc la formació d'un fotó de raigs-X. Cada element pot manifestar diverses línies espectrals en funció de quines capes estan involucrades en el procés (tant la que origina la vacant com la que proporciona l'electró que l'omple). La posició dels raigs-X a l'espectre és característica per cada element, fet que permet la seva identificació. A més, l'alçada del pic es troba relacionada amb la seva concentració. Per aquest motiu, la fluorescència de raigs-X es pot aplicar com a tècnica d'anàlisi [5].

Existeixen diferents tipus de sistemes de XRF, però una de les configuracions més utilitzada és la fluorescència de raigs-X per dispersió d'energies (EDXRF). Tal i com es pot observar en la Figura 8, aquests sistemes són bastant senzills i consten d'un tub de raig i un sistema de detecció. En alguns casos, entre la font d'excitació i la mostra és possible la utilització de filtres primaris per tal de reduir el fons espectral en la zona analítica d'interès [5].

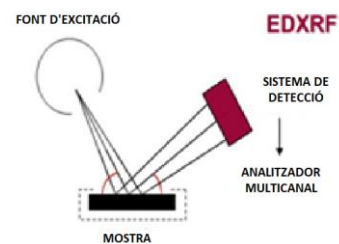


Figura 8. Representació del sistema EDXRF.

En el nostre cas utilitzarem una variació d'aquesta tècnica amb aquesta configuració i es tracta de l'espectroscòpia de micro-fluorescència de raig X (μ -XRF), que té el mateix fonament però permet irradiar àrees microscòpiques.

Per aconseguir la determinació qualitativa dels elements de la mostra l'instrument consta d'un sistema informàtic identifica els pics obtinguts a l'espectre amb l'element que correspon on apareix l'energia del fotó a l'eix de les x expressat en KeV.

Per l'anàlisi quantitatiu cal utilitzar patrons que han de ser el més semblant possible a la mostra. Això és un inconvenient ja que és difícil disposar d'una sèrie de patrons sòlids de matriu similar a les mostres a analitzar. Per aquest motiu normalment el que es fa és emprar materials de referència o mostres prèviament caracteritzades amb una altra tècnica analítica com a patrons per a calibrar el sistema.

2. OBJECTIVES

The presence of (micro)-plastics in water bodies has been increasing over the last few years and at present, there is a great concern about the potential impact of (micro)-plastics on the environment and health.

The main aim of this final degree project is the development of a non-destructive analytical method based on the use of micro-X-ray fluorescence technique (μ -XRF) for the determination of inorganic impurities in (micro)-plastics.

In order to fulfil this main goal, the following specific objectives have been set:

- Determination of the concentration of metals in plastic samples and certified reference materials by acid digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES), in order to prepare a set of samples to be used as calibrators of the μ -XRF system.
- Evaluation of the analytical capabilities of the developed μ -XRF method by means of the analysis of suitable reference materials
- Application of the μ -XRF method for the qualitative and quantitative analysis of the inorganic impurities present in samples of (micro)-plastics collected in the Mediterranean Sea and the Atlantic Ocean.

3. PROCEDIMENT EXPERIMENTAL

3.1. Reactius, materials i aparells

3.1.1 Reactius

- Àcid nítric HNO_3 69% (Panreac Application ITW Reagents, Espanya).
- Àcid clorhídric HCl 37% (USP-NF BP Ph. Eur. Pharma grade).
- Àcid sulfúric H_2SO_4 69% (Reag. USP, Ph. Eur. For analysis, ACS, ISO).
- Àcid fluorhídric HF 40% (Reag. USP, Ph. Eur. For analysis, ACS, ISO).
- Àcid bòric H_3BO_3 (99,99% Merck KGaA Darmstadt, EMD Millipore Corporation, Alemanya).
- Aigua ultrapura desionitzada (Millipore corporation, Bedford, Massachusetts, EEUU).
- Solucions estoc monoelementals de 1000 mg L^{-1} de Hg, Mn, Fe, Cu, As, Se, Sr, Mo, Sn, Ca, Ti, Cr, Zn, Br, Cd, Sb, Pb, Ga, Y i de 5000 mg L^{-1} de Ba (ROMIL PrimAg®).

3.1.2 Aparells i instruments

- Espectròmetre IR (Agilent model Cary 630 FTIR, Agilent Technologies).
- Microones (Speedwave XPERTBerghof products & Instruments GmbH, Alemanya).
- Balança analítica (COBOS precision ATX224 Shimadzu, Espanya).
- ICP-OES Agilent model 5100 (Agilent Technologies).
- Espectrofotòmetre μ -XRF (Fischerscope x-ray XDV-SDD, Fisher).

3.2 Mostres de (micro)-plàstics

3.2.1 Mostres de (micro)-plàstics per a calibrar el mètode de μ -XRF

A continuació es mostren les diferents mostres de (micro)-plàstics que van ser prèviament caracteritzades mitjançant ICP-OES.

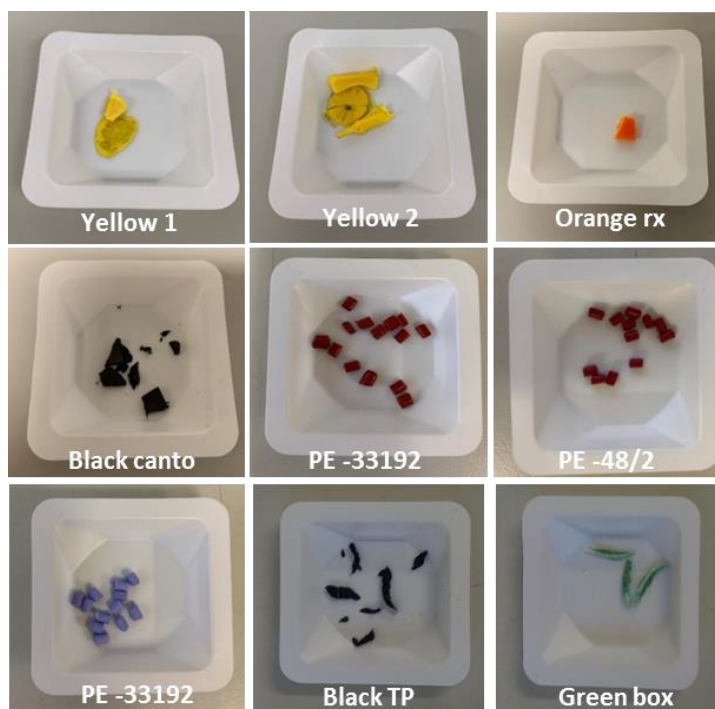


Figura 9. Mostres de (micro)-plàstics utilitzades per a calibrar el sistema de μ -XRF

3.2.2 Materials de referència

Per a poder calibrar el sistema de μ -XRF, a més de les mostres esmentades al apartat 3.2.1, també es van fer servir tres materials de referència certificats amb matriu de plàstic.

- EC-680 (JRC – Joint Research Centre, Trace elements in polyethylene high level).
- EC-681 (JRC – Joint Research Centre, Polyethylene low level).
- JSAC-0602 (BUNSEKI KAGAKU The Japan Society for Analytical Chemistry).

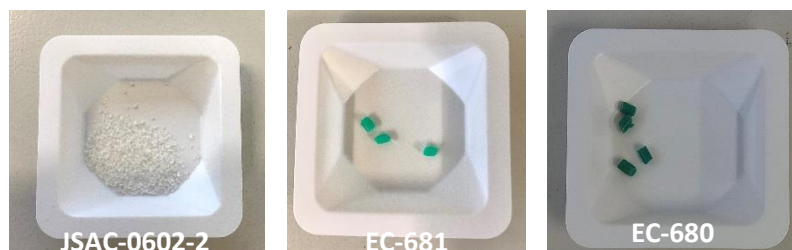


Figura 10. Materials de referència certificats utilitzats per al calibratge mitjançant ICP-OES.

A la Taula 1 es mostren els valors certificats dels materials de referència per a cada element:

	EC-680	EC681	JSAC-0602
[Sb] mg/kg	30,9 ± 0,7	6,2 ± 0,82	
[As] mg/kg	30,9 ± 0,7	3,93 ± 0,15	
[Ba] mg/kg	2718	306	
[Br] mg/kg	808 ± 19	98 ± 5	
[Cd] mg/kg	140,8 ± 2,5	21,9 ± 0,7	47,2 ± 1,0
[Cr] mg/kg	114,6 ± 2,6	17,7 ± 0,6	99,8 ± 1,7
[Cu] mg/kg	119	14	
[Hg] mg/kg	25,3 ± 1	4,50 ± 0,15	11,8 ± 0,5
[Ti] mg/kg	1174	1174 ± 534	
[Pb] mg/kg			102,0 ± 1,8

Taula 1. Concentracions de cada element expressades en mg/kg dels materials de referència certificats EC-680, EC-681 i JSAC-0602-2

Una vegada calibrat el sistema de μ -XRF, es van avaluar les capacitats analítiques analitzant un altre conjunt de mostres de referència certificades de polietilè. En la Figura 11 es mostra una imatge d'aquests materials i en la Taula 2 les concentracions de cada un dels elements certificats.



Figura 11. Materials de referència certificats emprats per avaluar la qualitat dels resultats obtinguts mitjançant el mètode de μ -XRF desenvolupat.

Mostra	PE-High	PE-Low
Número de lot	PE-H-02A	PE-L-02A
Element	Concentració afegida (mg/kg)	Concentració afegida (mg/kg)
Hg	1099	200
Cr	1000	400
Pb	1199	400
Cd	300	100

Taula 2. Valors de concentració de cada metall per als dos materials de referència certificats.

3.2.3 (Micro)-plàstics provinents del Mar Mediterrani i l'Oceà Atlàntic

Fruit d'una col·laboració amb el Dr. Roman Lehner co-fundador i líder del projecte científic de l'associació "Sail and Explore" (sailandexplore.com) es va poder disposar d'una sèrie de mostres de plàstics provinents del Mar Mediterrani i l'Oceà Atlàntic. Aquests (micro)-plàstics van ser recollits mitjançant l'arrossegament amb una xarxa de 300 μm i el contingut es va tamisar obtenint mostres de tres mides diferents: > 5 mm, d'1 mm a 5 mm, i de 300 μm a 1 mm. Aquestes mostres es van transferir en pots nets de 250 mL que contenien etanol al 70% i es van refrigerar a 4 °C [6]. En la *Figura 12* es poden observar les mostres estudiades en el present treball.

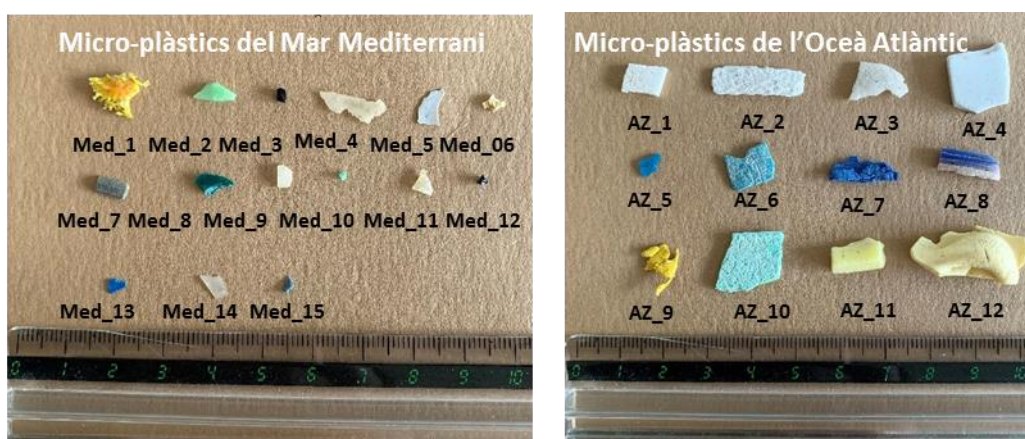


Figura 12. Mostres de micro-plàstics obtingudes del Mar Mediterrani i de l'Oceà Atlàntic utilitzades per l'aplicació del mètode amb $\mu\text{-XRF}$.

3.3 Anàlisi de (micro)-plàstics

3.3.1 Determinació del tipus de polímer mitjançant espectroscòpia IR

Per tal de poder determinar el contingut elemental en les mostres de plàstics emprades com a patrons de calibratge del mètode de $\mu\text{-XRF}$, en primer lloc es va realitzar una recerca bibliogràfica per trobar les mescles de reactius àcids necessaris en la digestió de les mostres per tal de poder analitzar-les mitjançant ICP-OES.

Segons estudis realitzats anteriorment [7] es va observar que depenent del tipus de polímer es necessita una mescla d'àcids o un altre per tal d'aconseguir la digestió completa i homogènia d'aquests materials.

Per tant, el primer pas va ser realitzar l'anàlisi de les mostres mitjançant espectroscòpia IR (model Cary 630 FTIR Agilent Technologies) per aconseguir determinar de quin tipus de plàstic estaven formades principalment les mostres de les quals es disposaven. S'utilitza aquesta tècnica ja que cada tipus de plàstic té un espectre determinat a la regió d'infraroig proper, on podem observar les freqüències específiques que resulten de l'absorció de la llum d'aquests materials i a més es tracta d'una tècnica no destructiva. Les característiques de mesura en l'espectrofotòmetre IR utilitzat per a realitzar les mesures es mostren a la *Taula 3*.



Punts escombrat mostra	32
Punts escombrat fons	32
Resolució	8 cm ⁻¹
Interval de treball	4000 – 650 cm ⁻¹

Taula 3. Característiques de mesura de l'espectrofotòmetre IR en l'anàlisi de les mostres.

Gràcies a l'espectre obtingut es va realitzar una comparació amb espectres de plàstics coneguts per tal de trobar una aproximació en la composició de la mostra respecte al tipus de polímer que la forma.

3.3.2 Determinació del contingut elemental en mostres de plàstic mitjançant digestió i ICP-OES.

Una vegada determinat el tipus de polímer per a cada mostra es va poder seleccionar la mescla d'àcids necessària per a realitzar la digestió en microones de cada una de les mostres. A la següent taula resum (*Taula 4*) es mostren les mescles d'àcids utilitzades per a cada tipus de polímer, la massa de mostra, la rampa de temperatura i la referència bibliogràfica d'on s'ha extret la informació:

Tipus de polímer	Mescla d'àcids	Massa (g)	Rampa de temperatura	Referència
PE	4,8 mL HNO ₃ + 1,2 mL HCl	0,1	20 min fins T= 230 °C 60 min a T=230°C	[8]
PP	6 mL HNO ₃	0,25	15 min fins T=210°C 15 min a T= 210°C	[9]
PC	6 mL H ₂ SO ₄	1	15 min fins T=260°C 15 min. a 260°C	[10]
PET	(A) 8 mL HNO ₃ + 2 mL H ₂ SO ₄	0,2	15 min fins T=230°C 15 min a T= 230°C	[11]
	(B) 4 mL H ₂ O + 5,4 mL HNO ₃ + 0,6 mL H ₂ SO ₄	0,2	20 min a T= 200°C	[12]
PS	8 mL HNO ₃ + 2 mL HF	0,2	20 min fins T=250°C 20 min a T=250°C Addició 0.25g H ₃ BO ₃ 15 min a T=230°C	[13]

Taula 4. Mètodes de digestions emprats per a l'anàlisi de mostres de (micro)-plàstics mitjançant ICP-OES.

Per al cas del polietilè-tereftalat (PET) es van trobar dos mètodes de digestió amb àcids, un amb una mescla àcid nítric i àcid sulfúric (A) i un altre mètode on s'empraven els mateixos àcids però

diluïts (B). Es van voler provar els dos mètodes per fer una comparació i veure si hi havia diferències en els resultats obtinguts al realitzar les digestions.

Tenint en compte que es disposava d'una quantitat de mostra limitada, les pesades van ser realitzades en funció d'aquesta quantitat i es van ajustar les proporcions d'àcid utilitzades en funció de la quantitat de mostra.

En el procés de digestió de les mostres de PC i PS no va ser possible realitzar la digestió fins a una temperatura de 250-260°C, ja que el forn microones emprat només permetia treballar a una temperatura màxima de 230°C. En aquests casos dos, es va modificar la rampa de temperatura per a treballar a una temperatura màxima de 230°C.

Al cas particular del poliestirè (PS) després de la rampa de temperatura es van afegir 0,25 grams d'àcid bòric per tal de complexar l'àcid fluorhídric residual [13].

Totes les mostres es van pesar en balança analítica utilitzant pesa substàncies i es van transferir als reactors del microones. Després, sota la campana extractora es van addicionar les mescles d'àcids corresponents i es van col·locar al microones afegint als reactors que no contenien mostra la mateixa mescla d'àcids que en cada cas actuant com a blanc. Una vegada realitzades les digestions es va traspasar el contingut de cada reactor en vials de 50 mL prèviament tarats i es va afegir aigua Milli-Q per tal d'ajustar el pes a 30 grams.

En alguns casos es va observar la presència de precipitats i per aquest motiu es va realitzar la filtració de totes les mostres utilitzant filtres de xeringa per tal d'aconseguir que la solució resultant sigui el més homogènia possible a l'hora de realitzar l'anàlisi amb ICP-OES.

En la realització de l'anàlisi mitjançant ICP-OES es va utilitzar l'equip d'espectrometria d'emissió òptica amb plasma acoblat inductivament, model Agilent 5100 (Agilent Technologies). A la *Taula 5* es descriuen les característiques i condicions de mesura utilitzades en l'anàlisi mitjançant ICP-OES per a la determinació multielemental de les mostres de (micro)-plàstics i materials de referència utilitzats.

Sistema òptic	Echelle
Flux del plasma	12 L/min
Potència	1200 W
Detector	Transferència de càrrega multicanal CCD
Configuració de la torxa	Radial
Nebulitzador	Concèntric
Longituds d'ona estudiades	As (196,696 nm), Ba (455,403 nm), Ca (317,933 nm), Cd (228,802 nm), Cr (283,563 nm), Cu (324,754 nm), Pb (220,353 nm), Sb (206,834 nm), Zn (213,857 nm), Fe (259,940 nm), Hg (194,164 nm), Mn (257,610 nm), Mo (202,032 nm), Se (196,026 nm), Sn (189,925 nm), Sr (421,552 nm), Ti (334,941 nm), Ge (PI) (265,117 nm), Y (PI) (317,029 nm).

Taula 5. Condições de mesura i característiques de l'anàlisi amb ICP-OES (PI: Patró intern).

Per a dur a terme la quantificació dels metalls a estudiar es va realitzar el calibratge mitjançant el mètode del patró intern (PI) que consisteix en addicionar la mateixa quantitat d'una substància coneguda i semblant a l'analit però que no hi sigui present, tant als patrons com a les mostres a analitzar. També s'ha de tenir en compte que les línies espectrals del patró intern escollit no interfereixin amb les dels analits, d'aquesta manera s'aconsegueixen reduir errors

aleatoris i sistemàtics, efectes matriu, interferències i variacions degudes al mètode i errors instrumentals.

Tenint en compte els resultats obtinguts en un estudi previ [14] sobre la utilització de patrons interns en la determinació elemental de mostres orgàniques, en el present treball es van emprar com a patrons interns el Ge per aquells elements determinats a través de bandes I (bandes atòmiques) i el Y per aquells elements determinats a través de bandes II (bandes iòniques).

Per a realitzar el calibratge es van preparar una sèrie de patrons dels elements a determinar en concentracions conegudes a partir de solucions estoc monoelementals de $1000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Hg, Mn, Fe, Cu, As, Se, Sr, Mo, Sn, Ca, Ti, Cr, Zn, Br, Cd, Sb, Pb i de $5000 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de Ba, afegint 1 mg/L de Y i Ge en tots els patrons com a PI. Per a tenir un medi similar a l'utilitzat en les digestions es van afegir a totes les solucions patró i als blancs 4 mL d'àcid nítric i aigua Milli-Q fins a un pes total de 20 grams .

A la *Taula 6* es poden observar els intervals de concentracions en el que es van preparar els diferents patrons per a cada element:

Element	Interval de concentració ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Número de patrons
Hg, Mn, Fe, Cu, As, Se, Sr, Mo, Sn	0,010 – 0,50	11
Ti, Cr, Zn, Br, Cd, Sb, Ba	0,010 – 20	10
Pb	0,010 – 50	11
Ca	0,010 – 100	12

Taula 6. Intervals de concentració per a cada element en la preparació de patrons per a l'anàlisi mitjançant ICP-OES.

Tal i com ja s'ha comentat, en les solucions patró i als blancs es van addicionar 4 mL d'àcid nítric ja que aquest àcid estava present en la mescla àcida emprada en la digestió de la majoria de polímers estudiats (veure *Taula 4*). No obstant, per tal de comprovar possibles efectes matriu com a conseqüència de la presència a les mostres de petites quantitats d'altres àcids (HCl, H_2SO_4 , etc) es van preparar una sèrie de patrons amb els diferents medis i es va quantificar el contingut dels elements d'interès emprant el calibratge preparat només amb àcid nítric.

A continuació es mostren les mescles d'àcids escollides per a cada medi en l'estudi dels efectes matriu (pes total de cada patró 20 grams) i a la *Taula 7*, l'interval de concentracions considerat.

- **Medi 1:** $3,2 \text{ mL HNO}_3 + 0,8 \text{ mL HCl}$
- **Medi 2:** $5,3 \text{ mL HNO}_3 + 1,3 \text{ mL H}_2\text{SO}_4$
- **Medi 3:** $5,3 \text{ mL HNO}_3 + 0,17 \text{ g H}_3\text{BO}_3$
- **Medi emparat en el calibratge:** 4 mL HNO_3

Element	Interval de concentració ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Número de patrons
Hg	0,010 – 0,50	2
Mn, Fe, Cu, As, Se, Sr, Mo, Sn	0,05 – 1,5	3
Ca, Ti, Cr, Zn, Br, Cd, Sb, Ba, Pb	0,010 – 10	3

Taula 7. Intervals de concentracions per a cada element en la preparació de patrons per a l'estudi de l'efecte matriu.

3.3.3 Determinació del contingut elemental en mostres de plàstic mitjançant μ -XRF

L'equip d'espectroscòpia de fluorescència de raig X que es va utilitzar per a realitzar la determinació multi-elemental dels (micro)-plàstics va ser l'espectrofotòmetre de μ -XRF (Fischerscope x-ray XDV-SDD, Fisher).

Aquesta tècnica és molt adequada quan es requereix un anàlisi no-destructiu, ja que a diferència de ICP-OES, no requereix la dissolució o digestió de la mostra. La preparació de les mostres és més fàcil, ràpida i segura ja que les mesures es realitzen posant directament el material sòlid sense necessitat de realitzar un tractament previ (veure la *Figura 13*).



Figura 13. Portamostres emprat per a l'anàlisi de les mostres de (micro)-plàstics mitjançant μ -XRF.

A la Taula 8 es mostren les característiques instrumentals i les condicions analítiques emprades en l'anàlisi mitjançant μ -XRF.

Voltatge	50 kV
Tub de raigs-X	W
Col·limador	1 mm
Filtre primari	Al 1000 μ m
Correcció de fons	Funció polinòmica

Taula 8. Condicions d'anàlisi de l'instrument de μ -XRF utilitzat.

Tal i com s'ha comentat anteriorment, el calibratge del sistema de μ -XRF es va realitzar a partir de l'anàlisi d'una sèrie de materials de referència i de mostres prèviament caracteritzades mitjançant digestió+ICP-OES.

Al llarg del treball es van dur a terme dues tipologies d'anàlisi:

- Mesures puntuals de les mostres: En aquest cas, es realitzaven una o més mesures puntuals en la superfície de la mostra. En el cas de l'anàlisi dels materials de referència certificats (per tal d'avaluar la qualitat dels resultats obtinguts mitjançant el mètode desenvolupat) es van realitzar 5 mesures a la superfície del material durant 300s i en el cas de les mostres de plàstic recol·lectades en el Mar Mediterrani i Oceà Atlàntic es van realitzar dues mesures puntuals a 100s.
- Mapeig de les mostres: En dues de les mostres de plàstic recol·lectades en el Mar Mediterrani i Oceà Atlàntic es va realitzar un estudi per a verificar la distribució elemental en la superfície d'aquestes mostres. Per això es van realitzar dos rutines de mapeig: Mapeig Mostra MED_1 (xarxa de punts de mesura: 15x15, temps: 50s per punt), Mapeig Mostra AZ_6 (xarxa de punts de mesura: 15x10, temps: 50s per punt).

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1 Desenvolupament d'un mètode analític mitjançant μ -XRF per la determinació de metalls en (micro)-plàstics

4.1.1 Preparació del calibratge

4.1.1.1 Determinació del tipus de polímer

Per tal de poder classificar les mostres de (micro)-plàstics en funció del tipus de polímer i poder seleccionar la millor metodologia per a la seva digestió es van analitzar les mostres mitjançant IR (veure detalls en la secció 3.3.1). Una vegada obtinguts els espectres d'IR corresponents es van comparar amb els espectres teòrics de cada un dels polímers, a partir de la informació proporcionada en un treball científic publicat a la bibliografia [3].

Tal i com es pot apreciar en la *Figura 14*, l'espectre obtingut en l'anàlisi de la mostra "Orange rx" s'adequava bastant bé a l'espectre teòric del PC.

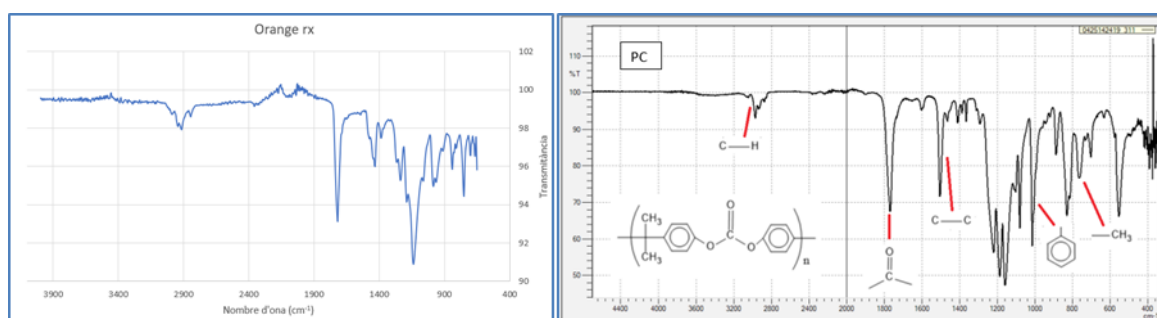


Figura 14. Espectre obtingut en l'anàlisi IR de la mostra "Orange rx" i espectre de referència del PC.

En canvi, l'espectre corresponent al material de referència JSAC-0602 s'adequava a l'espectre teòric del PET, tal i com es pot observar en la *Figura 15*. De fet en la descripció d'aquest material de referència s'indicava que la matriu del plàstic era de PET.

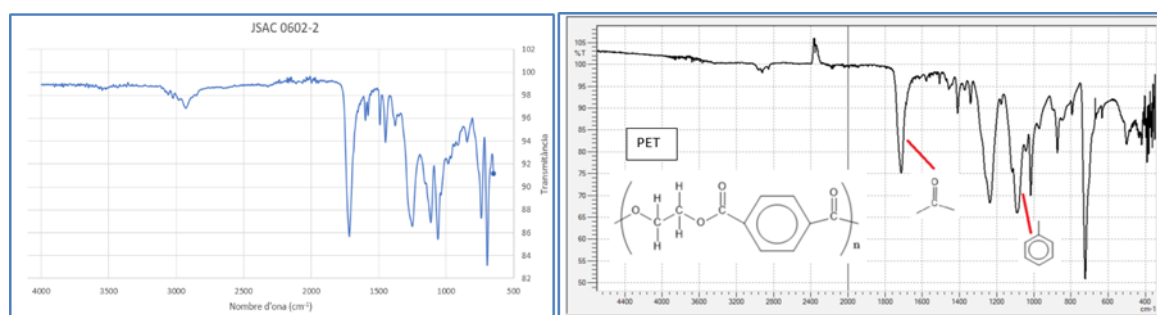


Figura 15. Espectre obtingut en l'anàlisi IR del material de referència certificat JSAC-0602 i espectre de referència del PET.

Segons el certificat d'anàlisi, els materials de referència EC-680 i EC-681 estaven fabricats de PE. Aquest fet s'adequa als resultats experimentals obtinguts a partir dels quals es veu clarament el grau de similitud entre els espectres d'IR obtinguts i l'espectre teòric pel PE (*Figura 16*). Cal dir que les mostres PE-34192, PE-20463 i PE-48-2 també van ser identificades com a PE tot i que el grau de similitud entre els espectres experimental i el teòric no eren tan elevada. Els espectres d'IR obtinguts en l'anàlisi de les mostres "Black canto", "Green Box" i "Black TP" es van comparar amb l'espectre teòric del poliestirè però, tal i com es pot observar en la *Figura 17*, el grau de concordança no era òptim per a totes les bandes identificades.

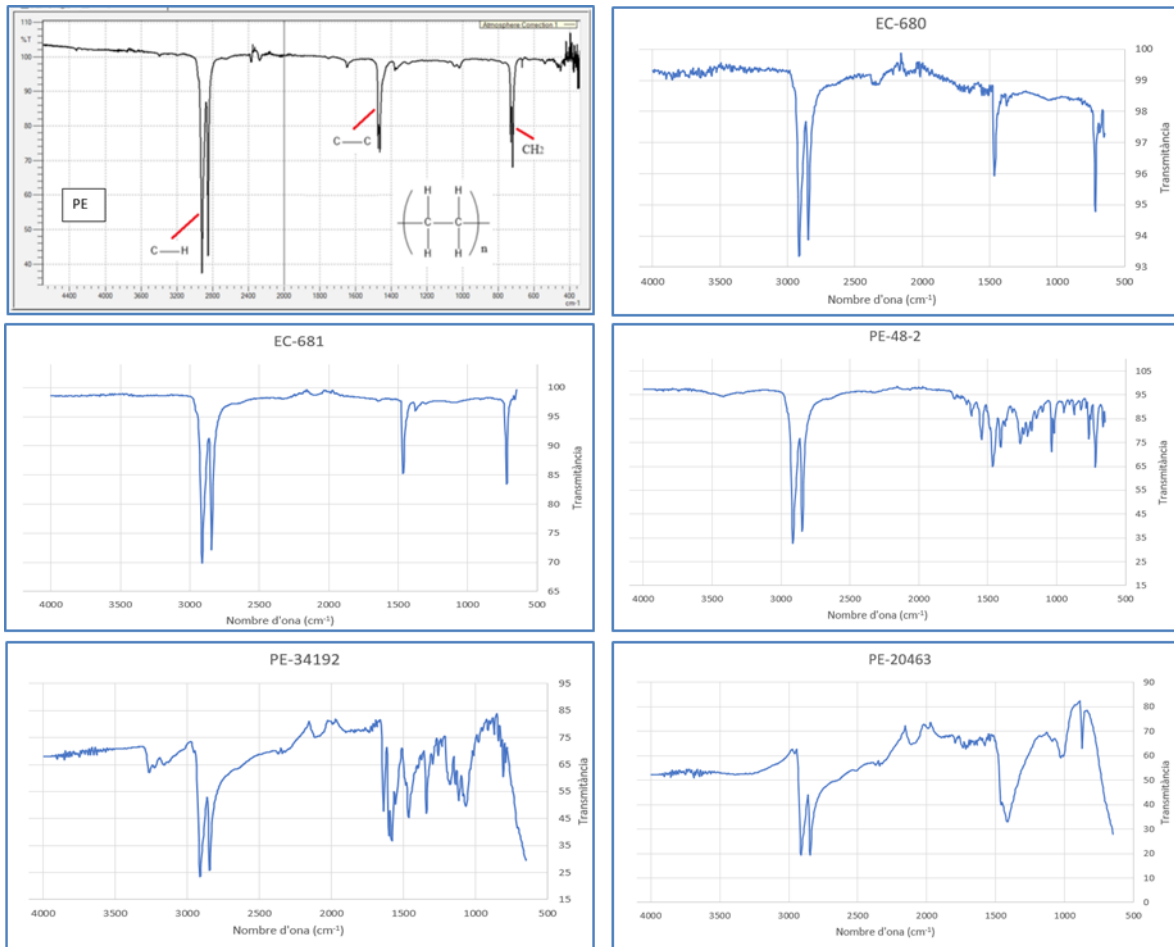


Figura 16. Espectre d'IR teòric del PE i espectres d'IR obtinguts en l'anàlisi dels materials de referència EC-680, EC-681 i les mostres PE-48-2, PE-34192 i PE-20463.

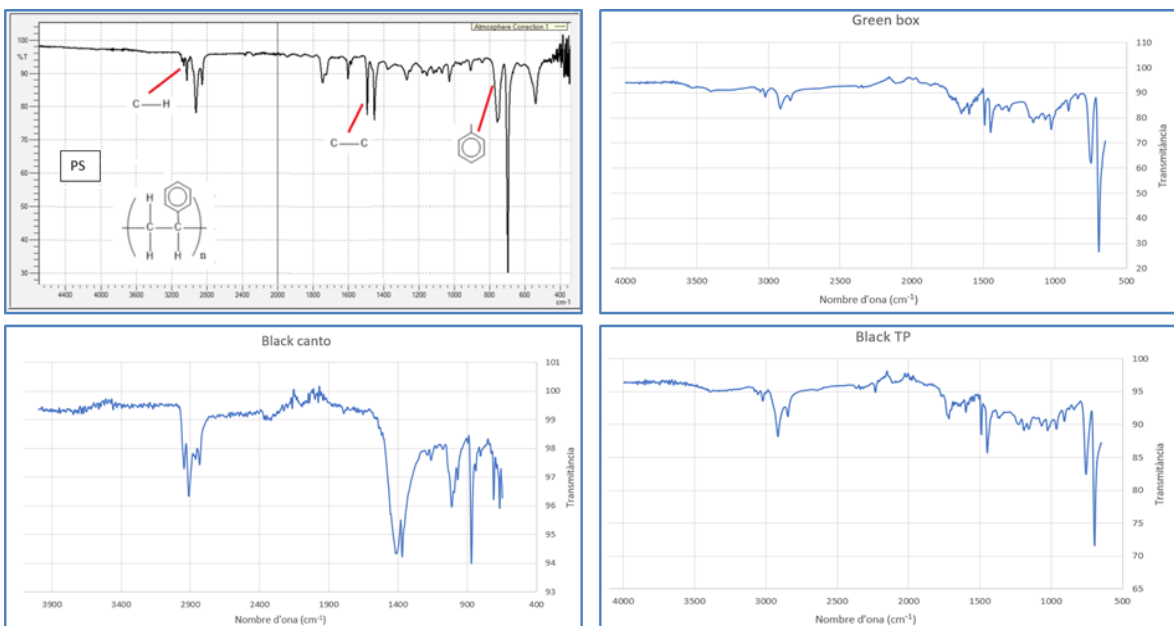


Figura 17. Espectre d'IR teòric del PS i espectres d'IR obtinguts en l'anàlisi de les mostres Green box, Black canto i Black TP

Per últim, els espectres obtinguts en l’anàlisi IR de les mostres Yellow 1 i Yellow 2 es van comparar amb l’espectre de referència del PP i es va decidir que era el que més similitud presentava:

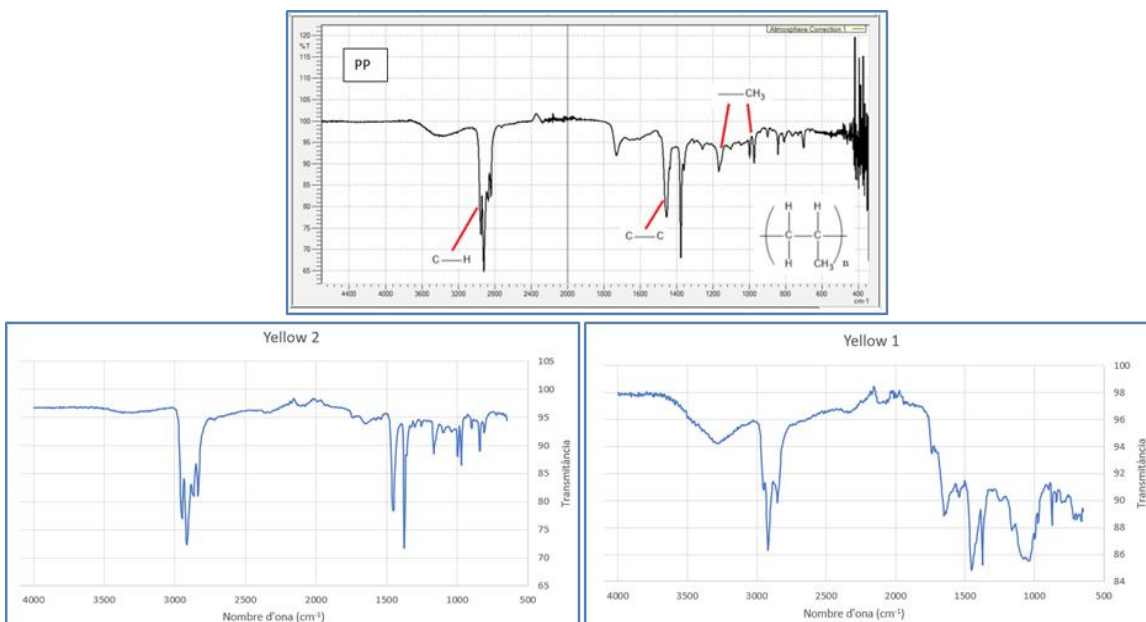


Figura 18. Espectre d’IR teòric del PP i espectres d’IR obtinguts per les mostres Yellow 1 i Yellow 2.

Tenint en compte els resultats obtinguts, en la *Taula 9* es mostren el tipus de polímer identificats en cada una de les mostres emprades per a realitzar el calibratge del sistema de μ -XRF.

Polietilè (PE)	Polipropilè (PP)	Policarbonat (PC)	Polietilè-tereftalat (PET)	Poliestirè (PS)
EC-680	Yellow 1	Orange rx	JSAC-0602	Black canto
EC-681	Yellow 2			Green box
PE-34192				Black TP
PE-48-2				
PE-20463				

Taula 9. Classificació de les mostres de plàstics segons el tipus de polímer.

4.1.1.2 Determinació de la concentració de metalls (Digestió àcida i anàlisi mitjançant ICP-OES)

Després de realitzar les corresponents digestions àcides amb microones per a cada tipus de polímer (veure *Taula 4* de l’apartat 3.3.1 per a més detalls) i posterior anàlisi mitjançant ICP-OES es va comprovar que les mescles d’àcids trobades a la recerca bibliogràfica van ser eficients ja que es va aconseguir una bona dissolució dels plàstics en la majoria dels casos. Només per a la mostra anomenada “Orange rx” es va observar la presència de dues fases una vegada acabat el procés de digestió. En el cas de les digestions de les mostres classificades com a PET, es van comparar els resultats obtinguts provant el mètode de digestió (A) i el mètode de digestió (B)

(indicat a la *Taula 4*) i es va observar que per al mètode (B), en el qual s'utilitzaven HNO₃ i H₂SO₄ diluïts, no es va aconseguir una completa dissolució de les mostres.

Tal i com s'ha comentat en la secció 3.3.2 per a dur a terme la quantificació elemental mitjançant ICP-OES es va realitzar un calibratge extern i un calibratge mitjançant patró intern. En la *Figura 19*, a tall d'exemple, es mostren el calibratges obtinguts sense i amb la utilització de patró intern (Y) pel crom. En el cas del calibratge per patró intern, en l'eix de les y es representa la ratio PI, segons l'expressió de l'eq.1:

$$\text{Ratio PI} = \frac{\text{Intensitat Cr}}{\text{Intensitat PI}} \cdot [PI] \quad (\text{eq. 1})$$

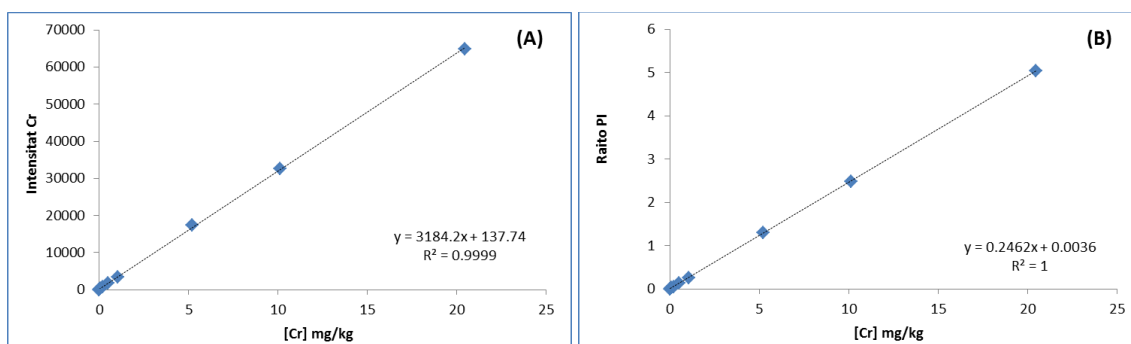


Figura 19. Calibratge obtingut pel Cr sense (A) i amb patró intern (B).

En ambdós casos, es va obtenir una bona linealitat en l'interval de concentracions estudiat (0,010-20 mg/kg Cr).

Tal i com ja s'ha comentat, en les solucions patró i als blancs es van addicionar 4 mL d'àcid nítric ja que aquest àcid estava present en la mescla àcida emprada en la digestió de la majoria de polímers estudiats. No obstant, per tal de comprovar els possibles efectes matriu com a conseqüència de la presència a les mostres de petites quantitats d'altres àcids (HCl, H₂SO₄, etc) que no estaven presents en els patrons (només contenien HNO₃) es van analitzar tres patrons de diferent concentració de cada un dels elements amb els diferents medis (veure detalls experimentals a la pàgina 11) i es va quantificar el contingut dels elements d'interès emprant el calibratge preparat només amb àcid nítric (amb i sense la presència de patró intern). En la *Figura 20* es mostren els resultats obtinguts en el cas del Cr.

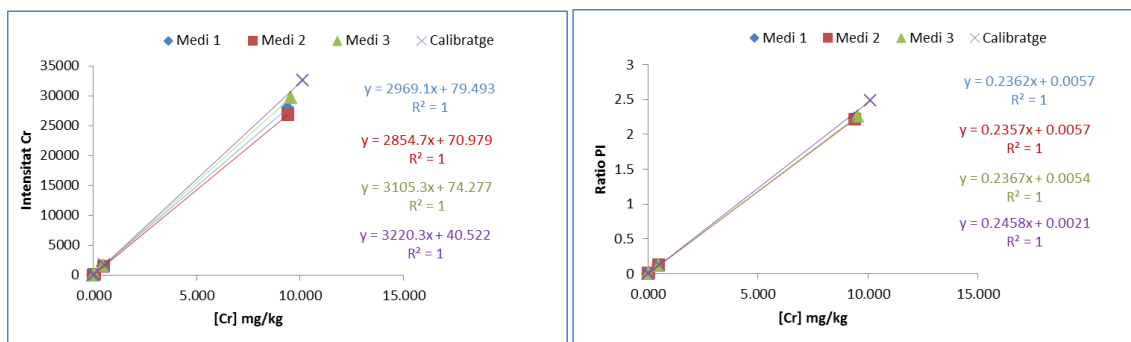


Figura 20. Resultats obtinguts en l'anàlisi de patrons de Cr preparats en diferents medis (veure pàgina 11 per detalls) considerant calibratge extern i calibratge per patró intern.

Per tal d'estudiar l'efecte dels diferents medis en la determinació de Cr, es va dividir el pendent obtingut per a cada un dels medis entre el pendent obtingut en el medi emprat en el calibratge. Tal i com es pot apreciar en la *Taula 10*, en tots els casos el valor obtingut va ser molt proper a 1 la qual cosa indicava que els efectes matriu eren negligibles.

	Sense patró intern			Amb patró intern		
	Medi 1	Medi 2	Medi 3	Medi 1	Medi 2	Medi 3
Pendent Medi/Pendent Calibratge	1.085	1.128	1.037	1.041	1.043	0.934

Taula 10. Valors de la relació pendent medi/pendent calibratge en el cas del Cr per als medis estudiats amb i sense calibratge per patró intern.

Finalment per determinar si s'obtenien millors resultats tenint en compte el calibratge amb patró intern o sense, es van comparar els valors de les mitjanes i desviacions estàndard obtinguts per als materials de referència certificats amb els valors reals certificats:

	[Cr] mg/kg					
	Valors certificats		Sense patró intern		Amb patró intern	
	Mitjana	Desviació estàndard	Mitjana	Desviació estàndard	Mitjana	Desviació estàndard
EC-680	114,6	2,6	94,5	0,2	80	10
EC-681	17,7	0,6	15,0	0,2	10,8	0,2
JSAC-0602-2	99,8	1,7	90	1	93,7	0,9

Taula 11. Resultats de les mitjanes i desviacions estàndards de la concentració de Cr en els materials de referència certificats amb i sense patró intern.

Si comparem els resultats obtinguts amb els valors certificats podem comprovar que en el cas del Cr s'obtenen millors resultats sense patró intern.

Aquesta comparació es va realitzar per a la resta d'elements i es va veure que en tots els casos s'obtenien millors resultats sense patró intern, excepte en el cas de l'As.

En la *Taula 12* es mostren els resultats obtinguts per a tots els elements en l'anàlisi dels materials de referència certificats EC-680, EC-681 i JSAC-0602. Tal i com es pot apreciar els resultats obtinguts experimentalment, en general, s'adeqüen bastant bé als valors certificats. Cal tenir en compte, tal i com ja s'ha comentat en la introducció, de la complexitat d'obtenir recuperacions quantitatives en aquest tipus de mostres. Un altre aspecte a comentar és que els materials de referència de plàstics comercials no certifiquen una quantitat molt gran d'elements (EC-680 i EC-681: 8 i el JSAC-0602:4). Per tant, no va ser possible estudiar la qualitat dels resultats obtinguts per alguns dels nostres anàlisis.

mg/kg		EC680		EC681		JSAC-0602	
		Dig+ICP	Reference	Dig+ICP	Reference	Dig+ICP	Reference
[Ca]	Mitjana	20		29		19	
	SD	3		6		3	
[Cr]	Mitjana	94,5	114	15,0	18	90	100
	SD	0,2	3	0,2	0,6	1	2
[Mn]	Mitjana	3,5					
	SD	0,2					
[Fe]	Mitjana	431		10			
	SD	5		1			
[Cu]	Mitjana	109,0	119	14,0	14		
	SD	0,3		0,2			
[Zn]	Mitjana	539		2,5			
	SD	3		0,6			
[As]	Mitjana	24	31		4		
	SD	3	0,7		0,2		
[Sr]	Mitjana	43,0		4,0			
	SD	0,4		0,2			
[Cd]	Mitjana	129,0	141	20,0	22	46	47
	SD	0,6	3	0,1	0,7	1	1
[Sb]	Mitjana	8,6	6,2	4,4	6,2		
	SD	*		*	0,8		
[Ba]	Mitjana	2990	2718	285	306		
	SD	10		1			
[Hg]	Mitjana	29,0	25		4,5	12,0	12
	SD	0,2	1		0,2	0,5	0,5
[Pb]	Mitjana	100	108	16	14	95	102
	SD	10	3	3	0,7	5	2

Taula 12. Resultats finals de les concentracions de cada metall expressats en mg/kg en les mostres de referència certificades mitjançant l'anàlisi amb ICP-OES (n=3)

Finalment a la Taula 13 es mostren els resultats obtinguts en la determinació de la concentració de tots els metalls mitjançant l'anàlisi amb ICP-OES per a les mostres de (micro)-plàstics.

Segons aquests resultats es pot observar que els metalls detectats en la majoria de mostres són el Ca, Cr, Fe, Cu, Zn, Sr, Cd, Ba i Pb. Amb concentracions més elevades de Ca, Zn i Ba.

En canvi, els metalls Mn, As, Mo, Sn, Sb han sigut detectats a concentracions apreciables en una quantitat menor de mostres. El Se i Hg no s'han detectat en cap mostra de (micro)-plàstic del conjunt analitzat.

	Polímer	PE	PE	PE	PP	PP	PS	PS	PC	PET
mg/kg	Codi de mostra	PE 48_2	PE 20463	PE 34192	Yellow 1	Yellow 2	Green box	Black Canto1	Black TP1	Orange RX1
[Ca]	Mitjana	1300	6650	36	403,0	27,0	165	12960	403	9,7
	SD	10	30	4	0,8	0,6	30	50	4	0,6
[Cr]	Mitjana		11,0	26,0	5390	451			21,0	
	SD		0,5	0,1	10	1			0,1	
[Mn]	Mitjana		8,20	159				7,0	12,0	
	SD		0,08	1				0,2	0,7	
[Fe]	Mitjana	27,0	245	20000	130	12,0	117	202	255	8
	SD	0,3	3	10	2	0,9	4	2	4	1
[Cu]	Mitjana		170	13	199,0	16,0		11	24,0	
	SD		1	3	0,8	0,3		6	0,7	
[Zn]	Mitjana	1000	889	25500	454	35,0	230	175,0	64,0	34,0
	SD	10	6	200	1	0,4	9	0,4	0,1	0,5
[As]	Mitjana								40	
	SD								10	
[Sr]	Mitjana	29,0	23,00	340	3,50		27	99,0	9,0	
	SD	0,2	0,03	3	0,04		2	0,3	0,5	
[Mo]	Mitjana		2,6							
	SD		0,6							
[Cd]	Mitjana						830		19,0	617,0
	SD						30		0,2	0,5
[Sn]	Mitjana								37	
	SD								5	
[Sb]	Mitjana				52	5		17	2299	
	SD				2	1		6	9	
[Ba]	Mitjana	63,0	24,0	13100	40,0	6,0	1050	5900	40	
	SD	0,7	0,4	200	0,1	0,3	30	20	4	
[Pb]	Mitjana		9		25400	2200		20	40	
	SD		5		200	10		10	6	

Taula 13. Resultats de les concentracions de cada metall expressats en mg/kg per a les mostres de (micro)-plàstics mitjançant l'anàlisi amb ICP-OES (n=3).

4.2. Anàlisi de (micro)-plàstics mitjançant μ -XRF

4.2.1 Avaluació de la qualitat dels resultats obtinguts mitjançant el mètode de μ -XRF

Per tal d'avaluar la qualitat dels resultats obtinguts a partir del mètode de μ -XRF desenvolupat, una vegada calibrat el sistema amb les mostres prèviament caracteritzades mitjançant digestió+ICP-OES, es van analitzar dos materials de referència certificats de polietilè (veure la secció 3.2.2 per a més detalls).

Per a dur a terme l'anàlisi mitjançant μ -XRF es van realitzar dos modes de mesura diferents:

- 5 mesures en el mateix punt de la superfície dels material de referència de polietilè: amb aquest mode podem avaluar la incertesa de la mesura instrumental.

- 1 mesura en 5 punts diferents en la superfície del material de referència de polietilè: amb aquest mode podem avaluar la incertesa de la mesura instrumental però també com a conseqüència de la heterogeneïtat de la mostra.

En les *Taules 14-17* es mostren els resultats obtinguts amb els dos modes de mesura pels diferents materials de referència analitzats.

PE-H-02-A (Mateixa posició)	Referència (mg/kg)	\bar{X} (mg/kg)	SD	RSD (%)	Error relatiu (%)
Hg	1099	954	5	0,5	13,2
Cr	1000	950	30	3,1	4,9
Pb	1199	1100	9	0,8	8,2
Cd	300	380	10	3,2	-26,7

Taula 14. Resultats obtinguts per a l'anàlisi mitjançant μ -XRF del material de referència PE-H-02-A realitzant 5 mesures diferents en el mateix punt sense canviar de posició

PE-H-02-A (Canvi de posició)	Referència (mg/kg)	\bar{X} (mg/kg)	SD	RSD (%)	Error relatiu (%)
Hg	1099	937	7	0,7	14,8
Cr	1000	980	10	1,3	2,3
Pb	1199	1130	20	1,8	5,4
Cd	300	387	6	1,5	-29,2

Taula 15. Resultats obtinguts per a l'anàlisi mitjançant μ -XRF del material de referència PE-H-02-A realitzant 1 mesura en 5 punts diferents

PE-L-02-A (Mateixa posició)	Referència (mg/kg)	\bar{X} (mg/kg)	SD	RSD (%)	Error relatiu (%)
Hg	200	193	3	2	3,6
Cr	400	380	10	3	5
Pb	400	350,0	0,7	0,2	13
Cd	100	167	7	4,2	-67

Taula 16. Resultats obtinguts per a l'anàlisi mitjançant μ -XRF del material de referència PE-L-02-A realitzant 5 mesures diferents en el mateix punt sense canviar de posició

PE-L-02-A (Canvi de posició)	Referència (mg/kg)	\bar{X} (mg/kg)	SD	RSD (%)	Error relatiu (%)
Hg	200	197	2	1,2	1,5
Cr	400	390	10	2,7	3,2
Pb	400	355	4	1,3	11
Cd	100	173	9	5,4	-73

Taula 17. Resultats obtinguts per a l'anàlisi mitjançant μ -XRF del material de referència PE-H-02-A realitzant 1 mesura en 5 punts diferents

Com es pot observar, en general, els resultats obtinguts mitjançant la utilització del mètode de μ -XRF desenvolupat s'adeqüen bastant bé als valors de referència i els errors relatius en la majoria de casos són inferiors al 15%. La única excepció és en el cas del Cd, on les concentracions determinades mitjançant μ -XRF són sistemàticament superiors al valors de referència. Aquest fet es pot explicar tenint en compte que el pic corresponent al Cd apareix en la zona de l'espectre on hi ha un fons espectral més gran i, per tant, la seva determinació és més complexa, sobre tot a concentracions baixes. Pel que fa a la desviació estàndard relativa (RSD) obtinguda, en tots els

casos, és inferior al 6%. No es veuen tampoc diferències apreciables entre les RSD obtingudes fent les cinc mesures en un mateix punt o en cinc punts diferents en la superfície del material de referència. Aquest fet indica la homogeneïtat d'aquests materials.

4.2.2 Aplicació del mètode desenvolupat: Anàlisi de (micro)-plàstics del Mar Mediterrani i l'Oceà Atlàntic amb μ -XRF

Finalment, es va aplicar el mètode de μ -XRF desenvolupat en l'anàlisi d'una sèrie de mostres de plàstics provinents del Mar Mediterrani i l'Oceà Atlàntic (veure la secció 3.2.3 per a informació addicional).

En les *Figures 21 i 22* es mostren els espectres obtinguts per a cada una de les mostres recol·lectades en al Mar Mediterrani juntament amb una imatge de la zona irradiada per a realitzar la mesura.

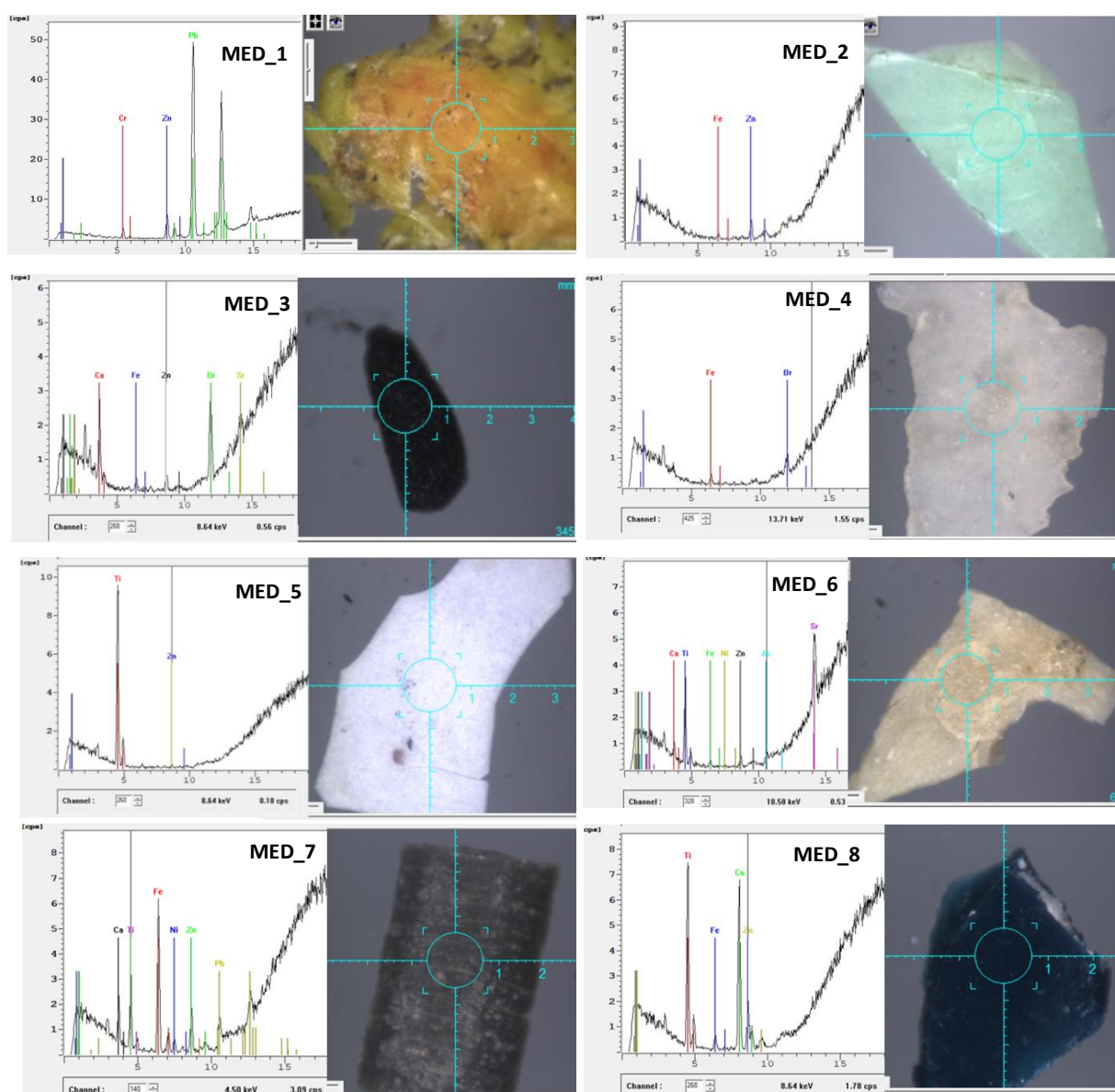


Figura 21. Espectres i imatges obtingudes mitjançant l'anàlisi μ -XRF de les mostres de micro-plàstics obtingudes del Mar Mediterrani (MED_1-MED_8). Condicions de mesura: 50kV, Col 1mm, 300 s n=1, Filtre Al 1000 μ m.

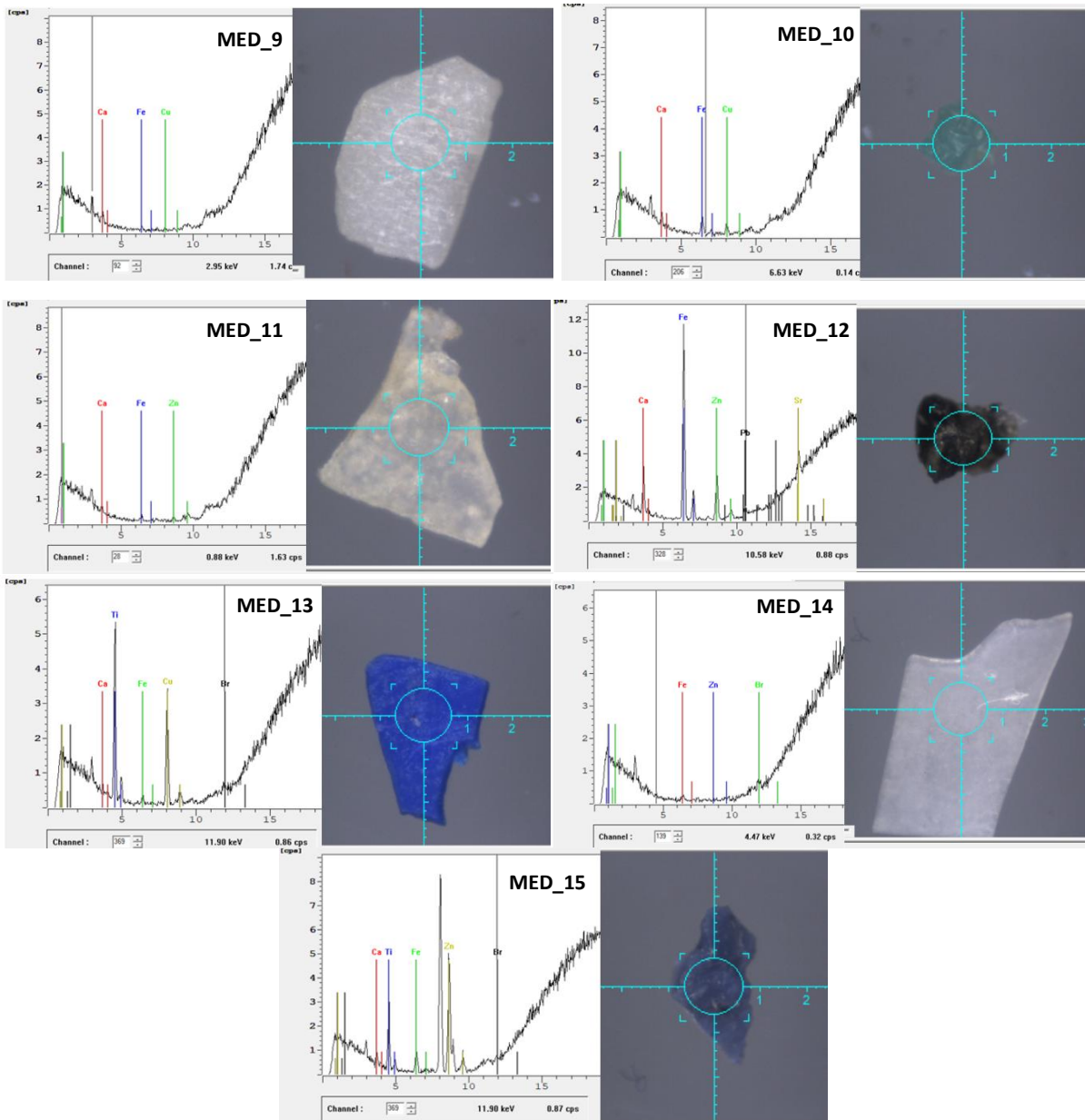


Figura 22. Espectres i imatges obtingudes mitjançant l'anàlisi μ -XRF de les mostres de (micro)-plàstics obtingudes del Mar Mediterrani (MED_9-MED_15). Condicions de mesura: 50kV, Col 1mm, 300 s n=1, Filtre Al 1000 μ m.

En la Figura 23 es mostren els espectres i imatges obtingudes de la mateixa manera que per al cas anterior però per les mostres de (micro)-plàstics procedents de l'Oceà Atlàntic (Azores).

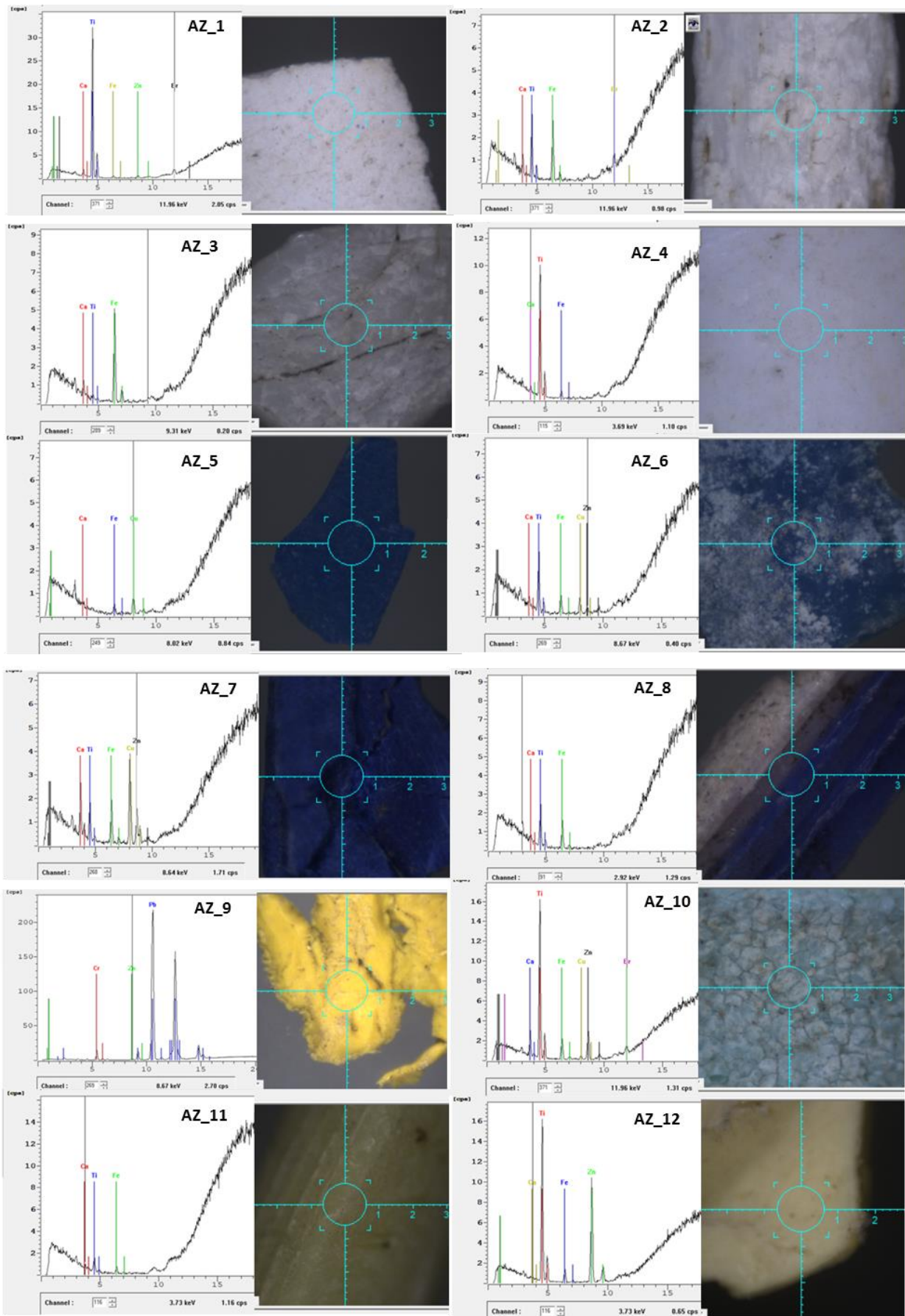


Figura 23. Espectres i imatges obtingudes en l'anàlisi mitjançant μ -XRF de les mostres de micro-plàstics obtingudes de l'Oceà Atlàntic (Azores). Condicions de mesura: 50kV, Col 1mm, 300 s n=1, Filtre Al 1000 μ m.

Per a cada una de les mostres de (micro)-plàstics es van realitzar dues mesures independents i es van estimar les concentracions dels diferents elements presents emprant el mètode de μ -XRF desenvolupat. Cal comentar que només es van reportar els valors de concentració dels pics que es detectaven a l'espectre.

Un altre aspecte a ressaltar, es que en el disseny del model quantitatiu del mètode de μ -XRF es va incloure la opció que el software, a partir del fons espectral, estimés el possible gruix de la mostra i en fes la correcció pertinent a la hora de reportar els valors de concentració. És important tenir en compte que la XRF és una tècnica sensible al gruix de la mostra i que, per tant, a major gruix més senyal analític s'obté per a un determinat element. Cal esmentar també que els valors de concentració reportats pel Ti i el Br són valors aproximats ja que aquests elements no formaven part del calibratge i corresponen a valors semiquantitatius estimats a partir del software de l'instrument de μ -XRF.

En les *Taules 18 i 19* es mostren els resultats obtinguts per a les mostres recol·lectades al Mar Mediterrani i en les *Taules 20 i 21* els resultats de les mostres provinents de l'Oceà Atlàntic.

mg/kg		MED_1	MED_2	MED_3	MED_4	MED_5	MED_6	MED_7	MED_8
d	Mitjana	1500	1650	935	1050	899	1309	1612	1470
	SD	100	10	4	40	4	2	2	10
[Ca]	Mitjana			3300			996	2250	
	SD			300			4	700	
[Ti]	Mitjana					3960	1220	1090	2770
	SD					30	60	70	40
[Cr]	Mitjana	422							
	SD	9							
[Fe]	Mitjana		3,1	19	24		6,0	400	26
	SD		0,4	2	4		0,6	40	3
[Cu]	Mitjana								230
	SD								3
[Zn]	Mitjana	183	27,0	30		13,0	18	49	57
	SD	7	0,9	1		0,2	2	1	2
[As]	Mitjana						28,0		
	SD						0,4		
[Se]	Mitjana				1,1				
	SD				1,3				
[Br]	Mitjana			800	1,6				
	SD			100	1,2				
[Sr]	Mitjana						32		
	SD						2		
[Pb]	Mitjana	1910							
	SD	70							

Taula 18. Resultats de l'anàlisi multielemental mitjançant μ -XRF de les mostres del Mar Mediterrani (Med_1 a Med_8). d=gruix (μ m) de la mostra estimat mitjançant el mètode de μ -XRF (n=2).

mg/kg		MED_9	MED_10	MED_11	MED_12	MED_13	MED_14	MED_15
d	Mitjana	1583	1390	1435	1431	965,0	957	1209,0
	SD	6	2	6	1	0,9	2	0,7
[Ca]	Mitjana	450	460	320	3800	270	251,0	699,0
	SD	90	70	80	200	60	0,9	0,4
[Ti]	Mitjana					1990		1030
	SD					90		30
[Cr]	Mitjana							
	SD							
[Fe]	Mitjana		52,0		820	11,0		65
	SD		0,6		10	0,9		6
[Cu]	Mitjana		12			155		310
	SD		2			2		20
[Zn]	Mitjana			7,6	90	11,0	8,1	166
	SD			0,8	1	0,4	0,6	9

Taula 19. Resultats de l'anàlisi multielemental mitjançant μ -XRF de les mostres del Mar Mediterrani (Med_9 a Med_15). d=gruix (μ m) de la mostra estimat mitjançant el mètode de μ -XRF (n=2).

mg/kg		AZ_1	AZ_2	AZ_3	AZ_4	AZ_5	AZ_6
d	Mitjana	1895	1275	1650	2380	1280	1248
	SD	2	8	30	10	10	2
[Ca]	Mitjana	2000	800	1110	500	330	550
	SD	200	700	30	100	60	80
[Ti]	Mitjana	11900	1161	100	3341		1120
	SD	200	7	40	1		90
[Cr]	Mitjana						
	SD						
[Fe]	Mitjana	31	150	200	20	24	53
	SD	3	80	100	10	4	5
[Cu]	Mitjana					33	29
	SD					2	3
[Zn]	Mitjana	25					17,1
	SD	2					0,4
[Br]	Mitjana	6,4					
	SD	0,2					

Taula 20. Resultats de les concentracions de cada element expressat en mg/kg obtinguts mitjançant l'anàlisi amb μ -XRF en les mostres de l'Oceà Atlàntic (Azores, AZ_1 a ZA_6) de la 01 a la 07. d=gruix (μ m) de la mostra estimat mitjançant el mètode de μ -XRF (n=2).

mg/kg		AZ_7	AZ_8	AZ_9	AZ_10	AZ_11	AZ_12
d	Mitjana	1300	1800	1450	1520	3150	1700
	SD	200	30	50	60	10	100
[Ca]	Mitjana	5000	1300		3200	900	400
	SD	2000	600		700	200	200
[Ti]	Mitjana	1400	890		6400	600	5500
	SD	900	60		300	100	200
[Cr]	Mitjana			3200			
	SD			300			
[Fe]	Mitjana	300	46		170	30	100
	SD	200	4		10	9	20
[Cu]	Mitjana	233			14		
	SD	90			0,3		
[Zn]	Mitjana	80		140	101		220
	SD	20		50	1		80
[Br]	Mitjana						
	SD						
[Pb]	Mitjana			11700			
	SD			700			

Taula 21. Resultats de l'anàlisi multielemental mitjançant μ -XRF de les mostres de l'Oceà Atlàntic (Azores, AZ_7 a ZA_12). d=gruix (μm) de la mostra estimat mitjançant el mètode de μ -XRF.

Tenint en compte els resultats obtinguts, es pot observar que els elements més presents en les mostres provinents del Mar Mediterrani i de l'Oceà Atlàntic (Azores) són el Ca, Ti, Fe i Zn. Només en dues de les mostres s'han detectat quantitats apreciables d'elements més tòxics com el Cr i el Pb (mostres MED_1 i AZ_9).

Tal i com s'ha comentat en la introducció la presència d'elements en (micro)-plàstics pot ser deguda a la utilització dels elements com a pigments en el procés de fabricació del plàstic o també poden haver-se adsorbit en la seva superfície una vegada introduïts en el medi [15]. Per exemple, el diòxid de titani és un pigment molt eficaç i àmpliament emprat en al indústria del plàstic com a agent blanquejant i reflectant i, per tant, no es estrany que es trobi present en moltes de les mostres analitzades [16]. Per altra banda, algunes de les mostres amb concentracions apreciables de Cu (MED_8, MED_13, MED_15, AZ_5, AZ_6 i AZ_7) i Cr (MED_1 i AZ_9) presenten una coloració blavosa o groga (veure imatges *Figura 12*). Per tant, segurament el Cu i el Cr s'han addicionat intencionadament a les mostres de plàstic com a pigments de color en forma d'alguna de les seves sals (Sulfat de coure: blau, Cromats: groc).

Per tal d'estudiar si la distribució dels diferents elements detectats era homogènia en tota la superfície de la mostra es van realitzar dos mapejos elementals en una mostra recol·lectada en el Mar Mediterrani (MED_1) i una altra provinent de l'Oceà Atlàntic (AZ_6). En les *Figures 24 i 25*, es mostren els mapejos obtinguts. Com s'ha comentat anteriorment a la part experimental, recordem que els elements que es mostren són els que es van detectar a l'espectre de cadascuna de les mostres. L'escala de valors de les *Figures 24 i 25* correspon als mg/kg de cada element en les mostres.

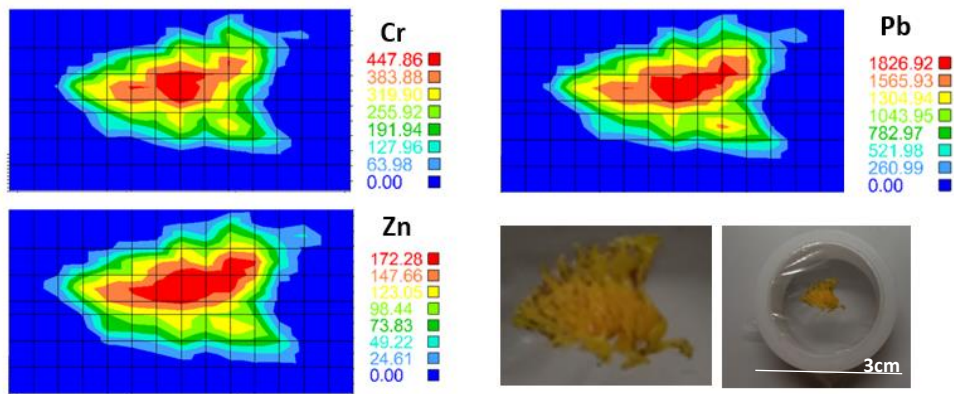


Figura 24. Mapeig dels elements Cr, Zn, Pb en la mostra MED_1 obtingut mitjançant l'anàlisi amb μ -XRF i imatge de la mostra. Condicions de mesura: 15x15 (225 mesures), Col 1 mm, 50kV, 100 μ A, 50 s

En el cas de la mostra MED_1 (Figura 24) la distribució dels diferents elements detectats (Cr, Zn i Pb) segueix el mateix patró. S'aprecia una major concentració al centre del (micro)-plàstic, i a mesura que ens allunyem del centre aquesta concentració disminueix de forma progressiva. Com es mostra en la imatge de la mostra, aquesta no té una forma regular i el gruix de la mostra en els extrems és significativament diferent al que trobem a la zona central. Segons el mètode de μ -XRF emprat, el gruix estimat a la part central és d'uns 1100-1300 μ m mentre que en els extrems el gruix varia entre els 800-1100 μ m. Aquest fet doncs, pot explicar que la correcció del gruix que realitza el mètode de μ -XRF emprat no és del tot efectiu i per aquest motiu a la part central, on hi ha més gruix, trobem les concentracions més elevades de Cr, Pb i Zn. No obstant, és interessant remarcar que els tres elements detectats segueixen el mateix patró de distribució, la qual cosa fa pensar que segurament aquests elements es van incloure en el procés de fabricació del plàstic.

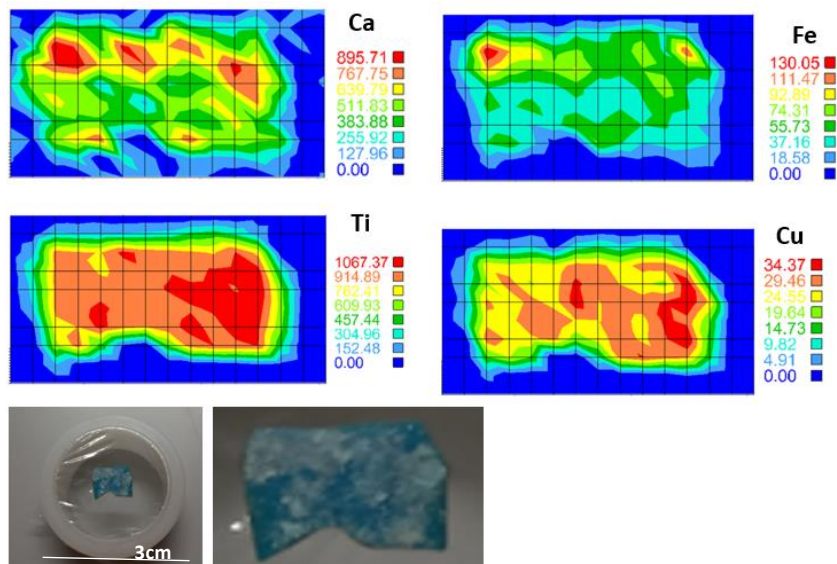


Figura 25. Mapping dels elements Cr, Zn, Pb en la mostra AZ_6 obtingut mitjançant l'anàlisi amb μ -XRF i imatge de la mostra. Condicions de mesura: 15x10 (150 mesures), Col 1 mm, 50kV, 100 μ A, 50 s.

En la *Figura 25* es mostra el mapeig obtingut en l'anàlisi de la mostra AZ_6. En aquest cas, a diferència de la mostra MED_1, el patró de distribució depèn de cada element. És a dir, no tots els elements detectats segueixen el mateix patró de distribució. Per exemple, el Ti i el Cu s'observa una major concentració dels metalls al centre del (micro)-plàstic i una disminució als extrems. Per al cas del Ca i el Fe la distribució encara és menys uniforme i no s'observa una disminució progressiva a mesura que ens allunyem del centre, sinó que la distribució elemental és bastant irregular i per tant no segueix el mateix patró. Aquest fet podria estar relacionat amb la possible adsorció del Ca i el Fe en la mostra de plàstic al llarg del temps. D'aquí que la seva distribució sigui més heterogènia. No obstant, caldria realitzar estudis addicionals per a verificar aquest hipòtesi.

5. CONCLUSIONS

- An effective method for the multielemental analysis of (micro)-plastics by μ -XRF has been developed. The method provides several advantages respect to other methods commonly used for the analysis of plastics such as the minimum sample treatment and the speed of analysis.
- The use of a set of reference materials and plastic samples, previously characterized by digestion and ICP-OES analysis, proved to be a good and effective way to calibrate the μ -XRF system.
- The quality of the results obtained using the developed μ -XRF method by means of the analysis of two reference materials with polyethylene matrix was adequate for the intended purpose. Moreover, the method allowed the element quantification from parts per million (mg/kg) to percentage levels.
- The most abundant metals detected in the target plastic samples collected in the Mediterranean Sea and the Atlantic Ocean were Ca, Ti, Fe and Zn. Only in two samples other more toxic metals such as Cr and Pb were identified.
- The results derived from the elemental mappings on the surface of the plastic samples can give significant information about the distribution and homogeneity of the elements within the sample that can be related with the origin of the elements present.

6. BIBLIOGRAFIA

- [1] Mamun AA, Prasetya TAE, Dewi IR, Ahmad M. (2023) Microplastics in human food chains: Food becoming a threat to Health safety, *Science of the Total Environment*, 858 Part 1, 2.
- [2] Aj V. Towards a definition of microplastics : Considerations for the specification of physico-chemical properties. RIVM Letter report 2015-0116. *National Institute for Public Health and the Environment, Ministry of Health, Welfare and Sport*. Extret de: <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2015-0116.pdf> (04/06/2023).
- [3] Velandia Cabra, J. R. (2017). Identificación de polímeros por espectroscopía infrarroja, *Revista Ontare*. 5, 115.
- [4] Kutralam-Muniasamy G, Pérez-Guevara F, Martínez IE, Shruti VC. (2021) Overview of microplastics pollution with heavy metals: Analytical methods, occurrence, transfer risk and call for standardization, *Journal of Hazardous Materials*, 415, 2.
- [5] Hernández LH, Pérez CG. (2002) Introducción al análisis instrumental. Grupo Planeta (GBS).
- [6] Carbery M, Herb F, Reynes J, Pham CK, Fong WK, Lehner R. (2022) How small is the big problem? Small microplastics <300 µm abundant in marine Surface waters of the Great Barrier Reef Marine Park, *Marine Pollution Bulletin*, 184, 2.
- [7] Hildebrandt L, von der Au M, Zimmermann T, Reese A, Ludwig J, Pröfrock D. (2020) A metrologically traceable protocol for the quantification of trace metals in different types of microplastic. *PLoS ONE* 15:e0236120.
- [8] Digestion of Polyethylene-High Density-MARS 6. Extret de: <https://cem.com/uk/digestion-of-polyethylene-high-density-mars-6> (04/06/2023)
- [9] Digestion of Polypropylene-MARS 6. Extret de: <https://cem.com/uk/digestion-of-polypropylene-mars-6> (04/06/2023)
- [10] Digestion of Polycarbonate Resin-MARS 6. Extret de: <https://cem.com/digestion-of-polycarbonate-resin-mars-6> (04/06/2023)
- [11] Digestion of PET-MARS 6. Extret de: <https://cem.com/digestion-of-pet-polyethylene-terephthalate-mars-6> (04/06/2023)
- [12] Rodrigues A, Pinto L, Paim A (2022) Evaluation of acid digestion methodology in poly(ethylene terephthalate) resin for elementary determination by ICP OES. *Polymer Bulletin*, 8, <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04518-2>.
- [13] Digestion of Polystyrene Polymer Beads in iPrep-MARS 6. Extret de: <https://cem.com/uk/digestion-of-polystyrene-polymer-beads-in-iprep-mars-6> (04/06/2023)
- [14] Barros AI, Pinheiro FC, Nóbrega JA. (2019) Calibration strategies to correct for matrix effects in direct analysis of urine by ICP OES: internal standardization and multi-energy calibration. *Analytical Methods*, 11, 3401.
- [15] Turner A, Fiella M. (2021) Hazardous metal additives in plastics an their environmental impacts. *Environment International*, 156, 1.
- [16] Application of Titanium Dioxide in the Plastic Industry. Extret de: <https://www.samaterials.com/content/application-of-titanium-dioxide-in-the-plastic-industry.html> (04/06/2023).