

A Review of Colorimetric Methods for Microplastic Detection in the Environment

Kimiya Rastgou Moghadam¹, Shohre Rouhani², Saeideh Gorji Kandi³

1- Polymer Engineering Department, Amirkabir University of Technology, P. O. Box: 4413-15875, Tehran, Iran.

2- Organic Colorants Department, Institute for Color Science and Technology, P. O. Box: 16765-654, Tehran, Iran.

3- Polymer and Color Engineering Department, Amirkabir University of Technology, P. O. Box: 4413-15875, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO

Article history:

Received: 05-12-2022

Accepted: 21-12-2022

Available online: 21-12-2022

Print ISSN: 2251-7278

Online ISSN: 2383-2223

DOR: 20.1001.1.22517278.1401.12.3.5.4

Keywords:

Microplastics

Environment

Colorimetric method

Fluorescent

Analysis

ABSTRACT

According to the new findings of scientists, millions of tons of waste from plastic materials enter the oceans every year. Accumulation, decomposition, and penetration into organisms' life cycle and feed cycle pose a serious threat to the health of humans and the global ecosystem. The production of plastic materials worldwide has increased dramatically in recent years. Any plastic material that is consumed and then enters nature and seas as waste may be divided into many pieces and pollute the environment. Microplastics are directly transferred to the rivers and the sea through sewage or landfill leachate. Microplastics are bioavailable to organisms due to their small size. Their composition and relatively wide surface have made them suitable for absorbing organic pollutants. This article investigates the characteristics, sources of production, ways of entering and its effects on the environment, introduction and identification-analysis methods of these particles. Among the visual methods, the new method of qualitative and quantitative identification of microplastics using colorimetry with the help of fluorescent dyes has been noticed.



*Corresponding author: rouhani@icrc.ac.ir



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



مروری بر روش‌های رنگ‌سنجی تشخیص میکروپلاستیک‌ها در محیط‌زیست

کیمیا راستگو مقدم^۱، شهره روحانی^۲، سعیده گرجی کندی^۳

۱- کارشناسی، دانشکده مهندسی پلیمر، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران، ایران، صندوق پستی: ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵.

۲- دانشیار، گروه مواد رنگزای آلی، پژوهشگاه رنگ، تهران، ایران، صندوق پستی: ۶۵۴-۱۶۷۶۵۴.

۳- استادیار، دانشکده مهندسی پلیمر و رنگ، دانشگاه صنعتی امیر کبیر، تهران، ایران، صندوق پستی: ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵.

چکیده

بر اساس یافته‌های جدید دانشمندان، سالانه میلیون‌ها تن زباله به جا مانده از مواد پلاستیکی وارد اقیانوس‌ها می‌شوند. انباشت، تجزیه و نفوذ به چرخه حیات و چرخه خوراک موجودات، تهدیدی جدی برای سلامت انسان‌ها و اکوسیستم جهانی است. تولید مواد پلاستیکی در سراسر جهان در سال‌های اخیر به نحو بسیار چشم‌گیری افزایش یافته است. هر ماده پلاستیکی که مورد مصرف قرار می‌گیرد و سپس به صورت زباله به طبیعت و دریاها وارد می‌شود ممکن است به قطعات بسیار ریزی تقسیم شده و محیط‌زیست را آلوده سازد. میکروپلاستیک‌ها به طور مستقیم، از طریق جریان فاضلاب و یا شیرابه محل دفن زباله‌ها به رودخانه‌ها و سپس دریا منتقل می‌شوند. میکرو پلاستیک‌ها به خاطر اندازه کوچکشان به طور زیستی در دسترس ارگانیسم‌ها قرار می‌گیرند. ترکیب و سطح نسبتا وسیعشان آن‌ها را به یک محل مناسب برای جذب آلاینده‌های آلی تبدیل کرده است. در این مقاله، ویژگی‌ها، منابع تولید، راه‌های ورود و تاثیرات آن بر محیط‌زیست معرفی و روش‌های شناسایی -آنالیز این ذرات بررسی شده است. در بین روش‌های بصری، روش نوین شناسایی کیفی و کمی میکرو پلاستیک‌ها با استفاده از رنگ‌سنجی و با کمک مواد رنگزای فلورسنس مورد توجه قرار گرفته است. با استفاده از رنگ‌سنجی و با کمک مواد رنگزای فلورسنس مورد توجه قرار گرفته است.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰

در دسترس به صورت الکترونیکی: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰

شاپا چاپی: ۲۲۵۱-۷۲۷۸

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۳-۲۲۲۳

DOR: 20.1001.1.22517278.1401.12.3.5.4

واژه‌های کلیدی:

میکرو پلاستیک

محیط‌زیست

رنگ‌سنجی

مواد رنگزای فلورسنس

آنالیز

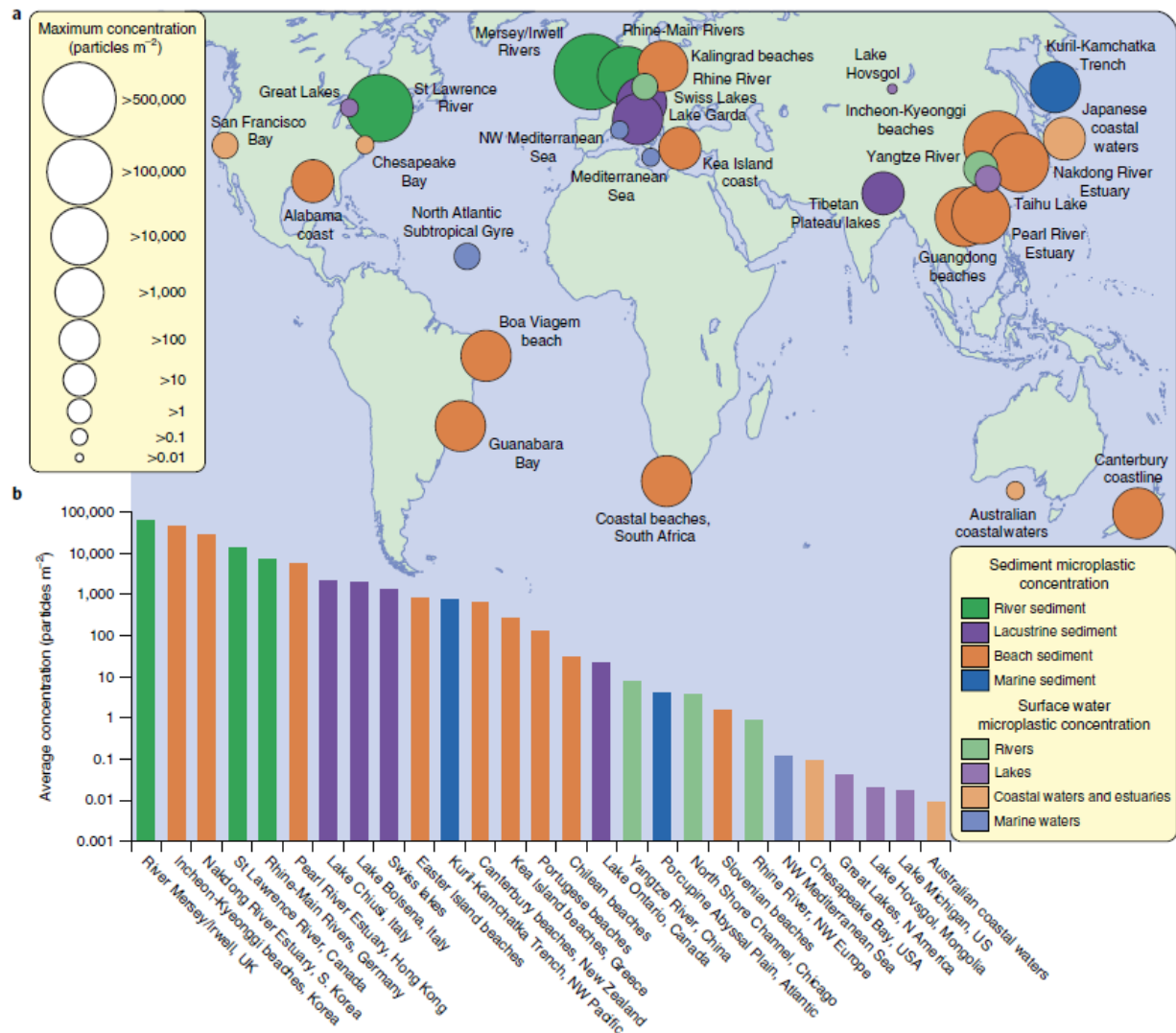


۱- مقدمه

در سراسر دنیا بررسی و حداقل ۴۴ درصد از گونه‌های پرندگان دریایی که پلاستیک مصرف کرده بودند گزارش شدند [۱، ۲]. در این زمینه نگرانی عمده، وجود تکه‌های کوچک تر خرده پلاستیک‌ها یا همان ریزپلاستیک‌ها در اقیانوس‌هاست که با چشم غیر مسلح دیده نمی شوند. طی سال‌های اخیر، تقاضای سالانه پلاستیک‌ها در جهان به طور مداوم رو به افزایش بوده است، بطوری که در حال حاضر به حدود ۲۴۵ میلیون تن رسیده است. پلاستیک‌ها به علت تنوع، سبکی، استحکام و شفافیت برای کاربردهای گوناگون مناسب اند. آمار منتشر شده در نقشه زیر (شکل ۱) میزان توزیع و غلظت آلاینده میکروپلاستیک را در سراسر جهان دسته‌بندی کرده است.

پلاستیک یکی از عوامل عمده آلودگی آب دریاها و اقیانوس‌ها محسوب می‌شود اما بر خلاف تصورات موجود، اثر دقیق میکروپلاستیک‌ها بر موجودات زنده و محیط‌زیست تا حدود زیادی برای دانشمندان نامشخص است. محققان در دهه ۱۹۷۰ شروع به بررسی میزان میکروپلاستیک‌ها در اقیانوس‌ها کردند و دریافتند که مقادیر قابل توجهی از این ذرات در اقیانوس اطلس و سواحل ایالات متحده وجود دارد. اولین گزارش‌ها از تخلیه پلاستیک‌ها در اقیانوس‌ها از طرف مجامع علمی، توجه عده زیادی را به خود جلب کرد. در دهه‌های بعد، با جمع‌آوری اطلاعاتی درباره پیامدهای زیست‌محیطی چنین پسماندهایی، این موضوع مورد علاقه پژوهشگران قرار گرفت. بیشتر مطالعات درباره آثار مخرب پلاستیک‌ها روی پستانداران دریایی، وال‌ها و بقیه گونه‌ها، به طور جزئی یا کلی انجام گرفت. هضم پلاستیک‌ها توسط پرندگان و لاک پشته‌ها به طور گسترده

¹ Microplastic



شکل ۱: نقشه جهانی میکروپلاستیک و رتبه بندی برای محیط‌های دریایی و آب شیرین [۲].

Figure 1: Global microplastic map and ranking for marine and freshwater environments [2].

البته باید این موضوع را در نظر داشت که بسیاری از نقاط مورد آزمایش قرار نگرفته اند و یا روش‌های انجام آزمایش و ردیابی ذرات، موفق به اندازه‌گیری ذرات ریزتر در نمونه‌ها نشده است. این گزارش تنها نمونه‌ای از آمار مربوط به آلودگی آب‌ها است و آن به میزان آلودگی خاک و هوا اشاره ای نشده است. اما همانطور که دیده می‌شود در مناطق نزدیک به محل سکونت انسان و شهرهای بزرگ توسعه یافته، میزان آلودگی زیاد است [۲].

۲- معرفی میکروپلاستیک‌ها

میکروپلاستیک‌ها ذرات فوق‌العاده کوچک هستند که در نزدیکی سطح بستر یا بر روی ساحل دریاها و اقیانوس‌ها یافت می‌شوند. در واقع آنها به عنوان اشیایی پلاستیکی که قطرشان کمتر از ۵ میلی‌متر است شناخته می‌شوند [۲]. ریز پلاستیک‌ها، که نوعی آلاینده بشرساز هستند، بیش از حداقل ۴ دهه است که در اقیانوس‌ها تجمع یافته است. هر ساله انسان حدود ۴۰۰ میلیون تن زباله‌های پلاستیکی خود را به محیط‌زیست وارد می‌نماید. صدها سال طول می‌کشد تا این مواد به طور کامل از بین بروند. هر دو ذرات نانو و میکرو پلاستیک‌ها از بقایای تبدیل پلاستیک‌های بزرگ‌تر به کوچک‌تر تشکیل می‌شوند. میکروپلاستیک‌ها را بر اساس منشأ و چگونگی توزیع در محیط‌زیست، به دو دسته اولیه و ثانویه تقسیم‌بندی می‌کنند [۳]. نوع اولیه این مواد را می‌توان در محصولاتمانند لوازم مراقبت شخصی، گلوله‌های پلاستیکی مورد استفاده در صنعت و الیاف پلاستیکی مورد استفاده در لباس‌ها (مانند نایلون) مشاهده نمود. این مواد به طور مستقیم از طرق راه‌های گوناگونی وارد محیط‌زیست می‌شوند. به عنوان مثال میکروپلاستیک‌های موجود در محصولات مراقبت شخصی در اثر شست و شو و از طریق کانال‌های آب و فاضلاب وارد محیط‌زیست می‌شوند. همچنین با ایجاد خراش و یا سایش در هنگام شست و شوی لباس‌هایی با الیاف مصنوعی شاهد آزاد سازی میکروپلاستیک‌ها خواهیم بود. ذرات کوچک از جنس پلی اتیلن به عنوان لایه‌بردار^۱ در مواد آرایشی و بهداشتی، خمیردندان‌ها، الیاف مصنوعی و رزین‌ها به وفور استفاده می‌شود. نوع ثانویه، از تجزیه ی پلاستیک‌های بزرگ‌تر به کوچک‌تر به وجود می‌آید. این رویداد معمولاً زمانی رخ می‌دهد که پلاستیک‌های بزرگ‌تر تحت شرایطی مانند هوا، پرتو فرابنفش خورشید و سایش قرار بگیرند. از عمده‌ترین منابع تولیدی این مواد می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: بقایای صنعت کشاورزی، پرورش آبزیان، صنعت ماهیگیری و کشتی‌رانی، مدیریت زباله‌ها و پساب‌های شهری. این مواد از طریق فاضلاب‌ها (عمدی) و طوفان‌ها (غیرعمدی) وارد محیط‌زیست آبی می‌شوند. منبع عمده میکروپلاستیک‌ها در آب دریاها، تجزیه ذرات

بزرگ‌تر و نیز منسوجات می‌باشد [۳].

میزان پراکندگی این ذرات به اندازه و جنس پلیمرها وابسته است. برای مثال ذرات پلاستیک حاصل از سایش تایر لاستیک خودروها دارای اندازه بزرگ‌تری نسبت به ذرات پلیمری موجود در رنگ هستند، ولی مقدار آن بسیار زیاد است. البته این ذرات به مرور زمان و در اثر فرآیندهای تخریب و سایش محیطی به ذرات ریزتر تبدیل خواهند شد [۴].

۳- تخریب میکروپلاستیک‌ها

تخریب میکروپلاستیک‌ها مترادف با کاهش اندازه و تخریب زنجیر پلیمری و سپس تبدیل به الیگومر و مونومرها و در نتیجه کاهش وزن مولکولی آنهاست. به این ترتیب، اشاره به معدنی شدن مواد آلی دارد. هوازدهی و تکه‌تکه‌شدن پلاستیک‌ها بسته به مکان حضورشان در محیط متفاوت است. میزان تخریب پلاستیک‌ها در محیط آبی نسبت به هوا یا خاک (سواحل) کندتر صورت می‌گیرد. در محیط آبی، غلظت اکسیژن و دما پایین‌تر از هوا یا خاک است. زمان تجزیه شدن یک ذره یک میلی‌متری به یک ذره ۱۰۰ نانومتری، در آب‌های سرد و در شرایط بی‌هوازی ممکن است تا ۳۰۰ سال طول بکشد [۵].

پلاستیک‌ها ممکن است از طریق تجزیه زیستی تحت تخریب قرار گیرند، که در آن کلونی‌های میکروبی از کربن موجود در پلیمر استفاده کرده و آن را به کربن دی‌اکسید تبدیل می‌نمایند. به این ترتیب ماکرو به میکرو، نانو پلاستیک و سپس زیست توده دریایی بدل می‌شود. پلاستیک‌های وارد شده به محیط‌زیست دریایی، نسبت به اکسیدشدن توسط پرتو فرابنفش (UV) نیز آسیب‌پذیر هستند. این نوع تجزیه در سواحل، بستگی به میزان دریافت پرتو فرابنفش، میزان دمای آب و فرسایش دارد، در حالی که تخریب پلاستیک‌ها در عمق دریاها تنها بستگی به دمای پلاستیک و آب دارد. پیوستن مولکول‌های آلی، مواد مغذی، آلاینده‌های آب‌گریز خطرناک و میکروارگانیسم‌ها به سطوح میکرو و نانوپلاستیک‌ها باعث تشکیل لایه زیستی^۲ و برف دریایی می‌شود. لایه زیستی تشکیل شده بر روی سطح ذرات پلاستیک می‌تواند یک لایه محافظ در برابر پرتو فرابنفش ایجاد کند و به این ترتیب میزان تخریب را کاهش دهد.

فرآیند زیستی، اندازه نسبی، ویژگی شیمیایی و تراکم ذرات پلاستیکی را تغییر می‌دهد. افزایش چگالی، به طور بالقوه باعث نشست میکرو و نانوپلاستیک‌ها در بستر دریا می‌شود. این امر موجب کاهش سرعت تخریب می‌گردد. به طور کلی، در محیط تاریک و سرد، انتظار تخریب ذرات پلاستیکی وجود ندارد. افزودنی‌های پلاستیک نیز می‌توانند زمان تخریب آنها را طولانی‌تر کنند. سرنوشت طولانی مدت میکروپلاستیک‌ها و داده‌های حاکی از میزان تقسیم‌شدن

¹ Exfoliant

² Biofilm

قابل ملاحظه‌ای را به خود اختصاص می‌دهد، در حالی که نوع پلی پروپیلن^۱ PP بیشتر مربوط به بقایای ااثیه خانه هستند که کهنه، شکسته و دور ریخته شده اند مانند صندلی، رخت‌آویز، ظروف غذا و غیره [۶].

۵- آلودگی توسط میکروپلاستیک‌ها

پلاستیک‌ها تجزیه پذیر نیستند و به همان صورت میکروپلاستیک‌های اولیه و ثانویه انباشت شده و باقی می‌مانند. تا جایی که آلودگی این مواد در اقیانوس‌ها سالانه ۴ الی ۱۶ میلیون تن تخمین زده شده است. همچنین این مواد منبع آلودگی هوا نیز هستند و در ذرات گرد و غبار معلق موجود در هوا وجود دارند. علاوه بر خطراتی که این مواد می‌توانند به محیط زیست و زندگی آبزیان وارد کنند، شاهد به خطر افتادن سلامت انسان نیز خواهیم بود [۷]. ترکیبات فوق می‌توانند سبب جذب و آزادسازی مواد خطرناک شیمیایی شوند. اجزای پلاستیک‌ها و یا مواد شیمیایی جذب شده توسط آن‌ها، در طول سال‌ها تشکیل می‌شوند و در محیط باقی می‌مانند. با وارد شدن این مواد به تغذیه آبزیان، نگرانی‌ها برای ورود این میکروپلاستیک‌ها به غذای انسان با مصرف غذاهای دریایی وجود دارد. شکل ۳ چرخه انتقال میکروپلاستیک‌ها را به درون بدن موجودات زنده نشان می‌دهد. با این وجود تحقیقات کمی بر روی اثرات این مواد بر روی سلامتی انسان وجود دارد.

¹ Polyethylene

² Polypropylene

³ Polystyrene

⁴ Polyethylene terephthalate

⁵ Polyvinyl chloride

⁶ Low density polyethylene LDPE

⁷ High density polyethylene HDPE

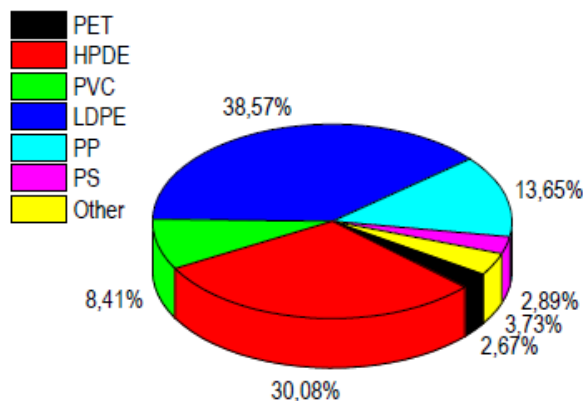
⁸ Polypropylene

میکروپلاستیک‌ها به میلیاردها میلیارد ذره ریزتر، لزوم ارزیابی اثرات بالقوه دراز مدت آلودگی میکرو و ماکروپلاستیک‌ها را ایجاب می‌نماید [۵].

۴- جنس میکروپلاستیک‌ها

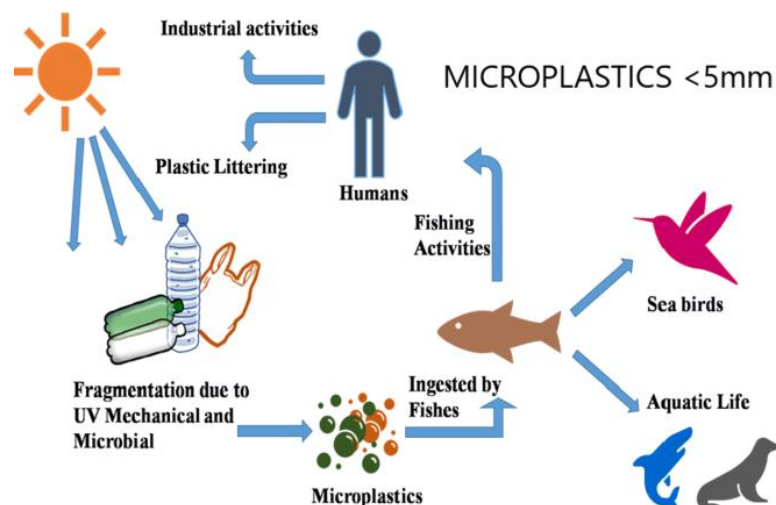
چند دسته مهم از پلاستیک‌ها که به طور گسترده در صنعت بسته‌بندی استفاده می‌شوند، پلی اتیلن^۱، پلی پروپیلن^۲، پلی استایرن^۳، پلی اتیلن ترفتالات^۴ و پلی وینیل کلراید^۵ می‌باشند (شکل ۲). ماهیگیری گسترده تفریحی یا صنعتی، همچنین افزایش مهاجرت به نواحی ساحلی اثر بسزایی بر ورود پسماندهای پلاستیکی به اقیانوس‌ها در آینده خواهد داشت. در سال‌های اخیر تحقیقات وسیعی برای جداسازی و حذف اثرات مخرب این مواد انجام پذیرفته است و راه‌هایی از جمله رسوب‌دهی شن‌ها و آب‌های سطحی حاوی میکروپلاستیک برای جداسازی این مواد طراحی و توسعه پیدا کرده اند. در تحقیقی که در مورد ترکیب زباله‌های شهری انجام شده، زباله‌های به دست آمده در هر نقطه، پس از جمع‌آوری به صورت زباله‌های آلی، زباله‌های پلاستیکی و سمی خطرناک شناسایی و دسته‌بندی شدند.

وزن مجموع میانگین ترکیب زباله به دست آمده شامل اجزای آلی (۴۸/۸۷ تا ۵۵/۴۵ درصد وزنی) بود. که شامل سبزیجات، غذای باقی‌مانده و برگ‌های خشک بودند، در حالی که سهم پلاستیک‌ها حدود ۳۹/۰۱ بود. ۴۲/۸۱ درصد وزنی که به این معنی است که به ازای هر ۱۰۰ کیلوگرم زباله، ۳۹.۰۱-۴۲.۸۰ کیلوگرم زباله پلاستیکی وجود دارد و موارد دیگر شامل شیشه، فلز و غیره، ۱/۷۴-۱/۰۵ درصد وزنی بود. علاوه بر این، میانگین ترکیب نوع پلاستیک‌های شناسایی شده در شکل ۲ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که نوع پلی اتیلن چگالی پایین LDPE^۶ غالب است. این ماده از بسته‌بندی مواد غذایی منشا می‌گیرد. علاوه بر این، انواع پلی اتیلن چگالی بالا HDPE^۷ مربوط به بسته‌های صابون، ظروف شامپو، بطری شیر و غیره، نیز درصد



شکل ۲: تخمین ترکیب انواع پلاستیک‌های یافت شده در ناحیه شهری حومه شهر ماترام [۶].

Figure 2: The average composition of plastic types identified from the landfill in the environment of Mataram city [6].



شکل ۳: مسیر میکروپلاستیک‌ها در موجودات زنده [۷].

Figure 3: Microplastic pathway in organisms [7].

از اواخر دهه ۱۹۸۰ و اوایل دهه ۱۹۹۰ مورد بررسی قرار گرفته است. میکرو و نانوپلاستیک‌ها به خودی خود می‌توانند مشکل‌آفرین بوده و بر موجودات زنده تاثیر بگذارند. علاوه بر این می‌توانند حامل آلاینده‌های مختلف باشند. میکروپلاستیک‌ها از دو طریق می‌توانند حامل آلاینده‌های خطرناک باشند [۹]. اول اینکه، ماده آلاینده جزئی از ترکیبات ماده پلاستیکی است و از آن به محیط وارد می‌شود و در حالت دوم، ماده آلاینده در محیط وجود دارد و در تماس با ذرات پلاستیکی جذب سطح آن شده و به مرور زمان به داخل شبکه پلیمری آن نفوذ می‌کند. خطر مضاعف وقتی است که آلاینده‌های دیگر، جذب سطح این ذرات می‌شوند. میکروپلاستیک‌ها دارای خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاصی از جمله اندازه کوچک، تراکم زیاد، برخی دارای رنگ و بعضا دارای نسبت طول به عرض کمی هستند. این ویژگی‌ها باعث می‌شود که هم آلاینده‌های دیگر را جذب نمایند و هم باعث افزایش دسترسی موجودات زنده به این نوع از آلاینده‌ها شوند.

ضمنا به دلیل ماهیت آب‌گریز بودن، میکروپلاستیک‌ها تمایل به جذب داروها، محصولات مراقبت شخصی و آلاینده‌های آلی پایدار مانند^۳ PAH،^۴ PCB و^۵ PBDE در محیط‌های آبی دارند [۱۰-۱۲]. میزان جذب آلاینده‌ها متفاوت است و وابسته به خواص فیزیکی-شیمیایی، شوری آب، دما و تفاوت چگالی بین مواد پلاستیکی و آب تغییر می‌کند. هرچه اختلاف دمای بین سطح جامد و ماده جذبی بیشتر باشد، سریع‌تر جذب می‌شود، زیرا انرژی گرمایی مواد، نیروی محرکه جذب روی سطح است

افزودنی‌هایی که برای ایجاد خواص، مانند افزایش پایداری مکانیکی، شیمیایی و فرآیندپذیری به هنگام ساخت به پلیمرها اضافه می‌شوند، به هنگام تخریب و تجزیه محصولات پلاستیکی و پلیمری وارد محیط‌زیست شده و می‌توانند سبب آسیب‌های جدی شود. فتالات‌ها^۱ یکی از مواد اساسی موجود در پلاستیک‌های انعطاف‌پذیر می‌باشند و به عنوان نرم‌کننده به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ماده می‌تواند موجب رشد سلول‌های سرطانی شود. با این وجود، این مطالعات تنها در قالب آزمایشگاهی ثابت شده است و مستقیما نمی‌توان ارتباط آن را با سلول‌های انسانی تایید نمود. آزمایشات بر روی موش‌ها نیز ثابت کرده است که این مواد می‌توانند در کبد، کلیه و روده‌ها انباشته شوند و سطح مولکول‌های استرس اکسیداتیو در کبد را بیشتر نمایند. همچنین افزایش بیش از حد این ماده در این موجودات، آسیب‌های مغزی جدی‌ای را در پی دارد. این طور به نظر می‌رسد که این مواد از درون روده و با کمک خون می‌توانند به سایر اعضای دیگر نیز منتقل شوند. بیس فنل^۲ نیز یکی دیگر از موادی است که در سال‌های اخیر مورد توجه فراوان قرار گرفته است [۸-۹]. این ماده که یکی از مواد تشکیل دهنده پلاستیک‌ها می‌باشد می‌تواند سبب ایجاد سرطان خون شود. بیس فنل آ در اغلب بسته‌بندی‌های پلاستیکی یا ظروف ذخیره‌سازی مواد غذایی یافت می‌شود. اما می‌تواند مواد غذایی را نیز آلوده سازد. بعضی شواهد نشان می‌دهد که بیس فنول نوع آ می‌تواند هورمون‌های تولید مثل را به خصوص در زنان تحت تاثیر قرار دهد [۹]. شکل ۴ برخی از انواع خطرات احتمالی سلامت انسان در ارتباط با میکرو پلاستیک‌ها را نشان می‌دهد. تاثیر مخرب ذرات پلاستیکی به دلیل ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و جذب آلاینده‌ها، در محیط‌های آبی است. اثرات سمی میکروپلاستیک‌ها

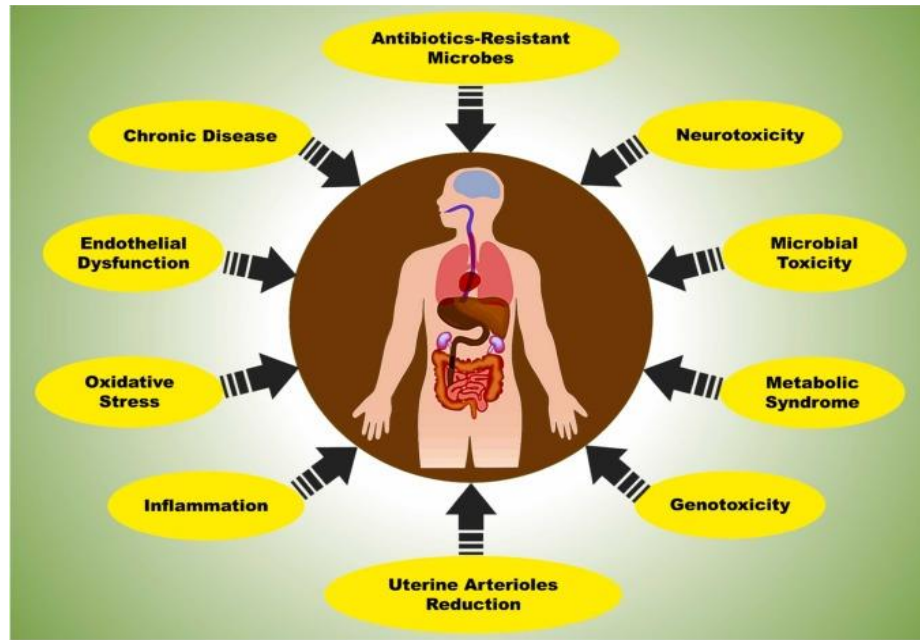
³ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

⁴ Polychlorinated biphenyls

⁵ Polybrominated Diphenyl Ethers

¹ Phthalates

² Bisphenol A



شکل ۴: خطر احتمالی سلامت انسان در ارتباط با میکرو پلاستیک‌ها [۹].

Figure 4: The possible human health risk related to MPs [9].

می‌پردازیم.

۶-۱- روش طیف‌سنجی زیرقرمز^۲ IR

روش‌های طیف‌سنجی زیرقرمز IR روش معمول برای شناسایی میکروپلاستیک‌ها هستند. مزیت این روش نیاز به مقدار کم نمونه است و قابلیت این را دارد که پلاستیک‌ها را از مواد طبیعی، خاک و یا مواد دریایی جدا کند [۲۷-۲۲]. روش طیف‌سنجی زیر قرمز تبدیل فوریه FTIR به عنوان یک روش آنالیز کمی میکروپلاستیک‌ها به کار می‌رود، به این ترتیب که طیف بدست آمده از ذرات با طیف‌های موجود در بانک اطلاعاتی مقایسه و نوع پلاستیک تشخیص داده می‌شود. از این روش برای تشخیص ماهیت نمونه نیز می‌توان استفاده کرد. ولی در مورد سایز، ابعاد و شکل ذرات نمی‌تواند کمکی کند. گروه‌های عاملی در پلیمرها و میکروپلاستیک‌ها با این روش قابل شناسایی هستند و در نتیجه نوع میکروپلاستیک قابل تشخیص است. طیف‌سنجی زیر قرمز یا زیر قرمز تبدیل فوریه امکان شناسایی دقیق ذرات پلیمری پلاستیکی را با توجه به طیف IR آنها فراهم می‌کند. محققین از این روش برای شناسایی ذرات استفاده کردند. طیف‌سنجی رامان^۳ و زیر قرمز روش‌های مکمل هستند. ارتعاشات مولکولی، که در رامان غیرفعال هستند، IR فعال و برعکس هستند و بنابراین می‌توانند اطلاعات تکمیلی را در نمونه‌های میکروپلاستیک ارائه دهند. طیف سنجی IR از این واقعیت استفاده می‌کند که پرتو زیر قرمز، ارتعاش‌های مولکولی را هنگام تعامل با یک نمونه تحریک می‌کند. فرکانس ارتعاشات

آلاینده‌های آلی پایدار^۱ (POPs) که در آب‌های سراسر دنیا بسیار کم وجود دارند، به وسیله ریزپلاستیک‌ها حمل می‌شوند. آب‌گریزی POP ها موجب می‌شود تا غلظت این دسته از مواد در ریزآلاینده‌ها چند برابر غلظت این مواد در آب دریا باشد. وقتی این پلاستیک‌های آلوده توسط گونه‌های مختلف دریایی بلعیده شوند، مسیری که POP ها وارد شبکه غذایی می‌شوند، آشکار می‌شود [۱۳]. انواع نانو پلاستیک‌ها از نظر ویژگی‌های تخریل و انتشار متفاوت هستند. واکنش‌های شیمیایی در محلی اتفاق می‌افتد که ماده با محیط اطراف در تماس است. این محل همان سطح ماده است. واکنش از این منطقه شروع شده و سپس تحت شرایطی به عمق نفوذ می‌کند. میکروپلاستیک‌ها یک نگرانی جدی اجتماعی هستند. ایجاد تعادل بین مزایا و تسهیلات ایجاد شده توسط میکروپلاستیک‌ها بر زندگی روزمره و آسیب‌ها و مضرات زیست‌محیطی آنها چالش جدید این روزهاست [۱۶-۱۴].

۶- روش‌های شناسایی و اندازه‌گیری میکرو پلاستیک‌ها

معمولاً برای شناسایی میکروپلاستیک‌ها، تشخیص از طریق مشاهده چشمی توسط چشم غیر مسلح و یا با استفاده از میکروسکوپ نوری انجام می‌شود. اطلاعاتی مثل رنگ، شکل هندسی، بافت سطح و ساختار نمونه از این طریق بدست می‌آید و ماهیت ماده مشخص شده و برای جداسازی نمونه ی پلاستیکی از دیگر مواد بکار می‌رود. در ادامه به تشریح چند روش نوین و دقیق‌تر پرکاربرد بر اساس روش‌های نوری و رنگ‌سنجی در تشخیص میکرو پلاستیک‌ها

² Infrared spectroscopy

¹ Persist organic pollutants

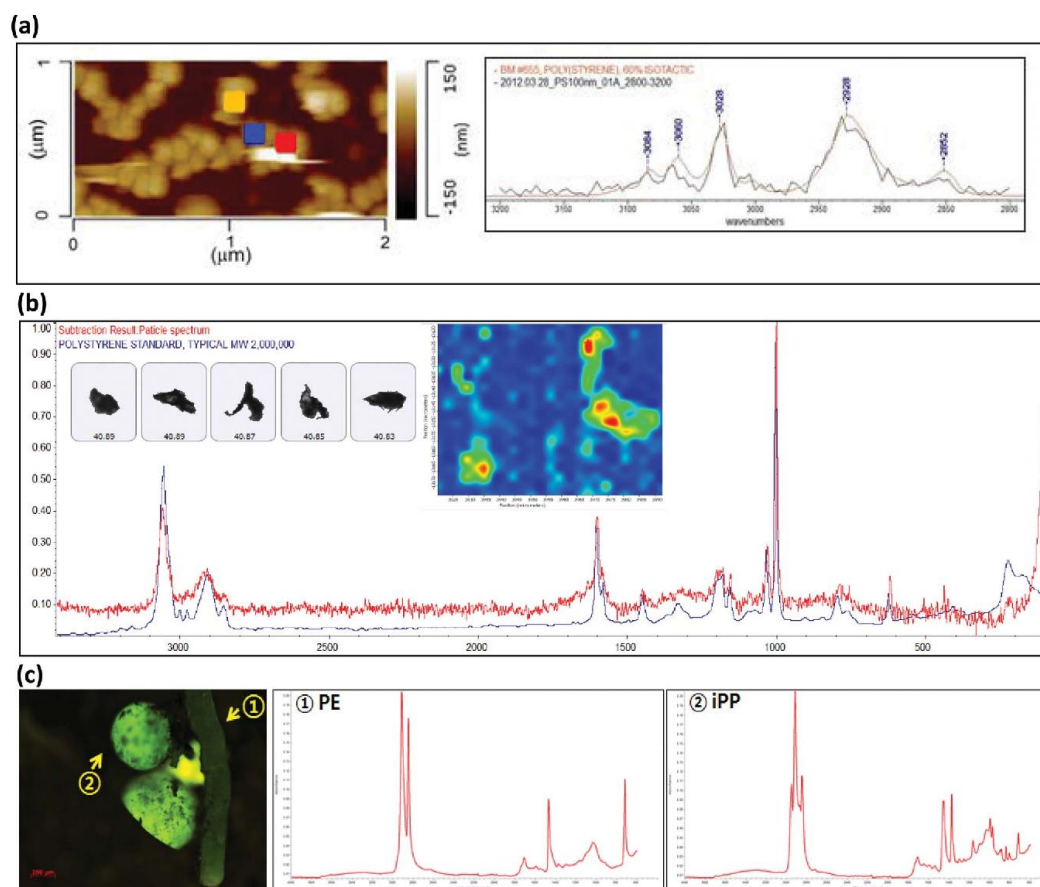
با شکل نامنظم، ممکن است به دلیل خطای انکسار، منجر به طیف‌های غیرقابل تفسیر شود. در زیر نمونه‌ای از ذرات فیبرهای پلیمری، که توسط این روش بوسیله مایکل بردلی در سال ۲۰۱۷ بررسی شده آمده است. شکل نشان می‌دهد که این روش بخوبی توانسته جنس ذرات پلیمری را تعیین کند [۲۷-۲۵]. طیف‌های ATR نمونه‌های میکروپلاستیک موجود در یک نمونه آب که توسط این روش به‌وسیله مایکل بردلی در سال ۲۰۱۷ بررسی شده در شکل‌های ۵ و ۶ آورده شده است.

به ترکیب و ساختار مولکولی یک ماده بستگی دارد. پلیمرهای دارای طیف IR بسیار خاص، با الگوهای طیفی مشخص هستند که طیف‌سنجی IR را به عنوان یک روش قدرتمند برای شناسایی ریزذرات تبدیل کرده است. طیف‌سنجی FTIR با تشخیص شدت اکسیدشدن سطح می‌تواند اطلاعات بیشتری در مورد هوازادگی فیزیکی و شیمیایی ذرات پلاستیکی نمونه بدست بدهد. ذرات بزرگ را می‌توان به راحتی با روش بررسی سطح FTIR تجزیه و تحلیل کرد. این روش به نام طیف‌سنجی "بازتاب کل تضعیف شده"^۱ (ATR) نامیده می‌شود. در این نوع FTIR، استفاده از دو حالت اندازه‌گیری امکان‌پذیر است: بازتاب و یا جذب پرتو زیر قرمز. حالت بازتاب این نقطه ضعف را دارد که اندازه‌گیری میکروپلاستیک‌هایی

¹ Fourier Transform Infrared Spectroscopy

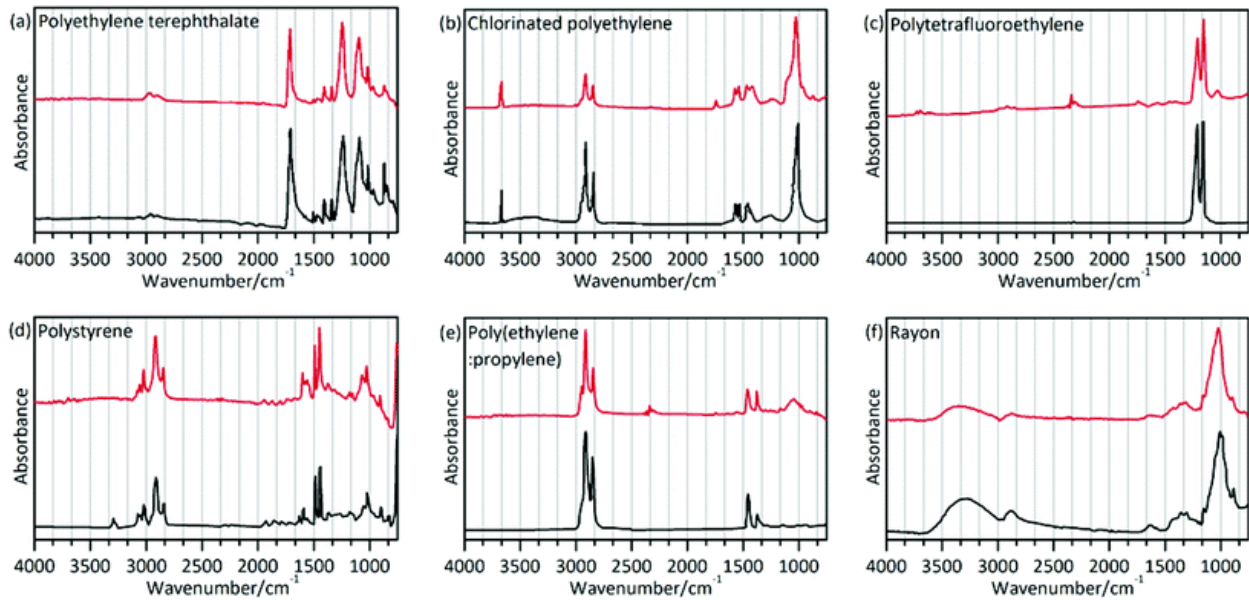
² Raman spectroscopy

³ Attenuated Total Reflectance



شکل ۵: (a) آنالیز ذرات پلی استایرن ۱۰۰ نانومتری با استفاده از (AFM-IR (NanoIRTM). (چپ) تصویر AFM و (راست) انطباق طیف به دست آمده از لکه‌های سفید رنگ (مربع رنگی) با طیف‌های استاندارد (پلی استایرن)، (b) ترکیبی از آنالیز تصویر و طیف‌سنجی رامان (Morphologi G3-IDTM) برای تجزیه و تحلیل اشکال ذرات و ترکیب شیمیایی و (c) ذرات میکروپلاستیک رنگ‌آمیزی شده با ماده رنگزای قرمز نیل در یک نمونه خالص neuston و شناسایی با استفاده از FT-IR (بالا، پلی اتیلن و پایین، پلی پروپیلن) [۲۱].

Figure 5: (a) Analysis of 100 nm polystyrene beads using a AFM-IR (NanoIRTM); (left) AFM Image and (right) matching the acquired spectrum from the white-colored spots (colored square) with the library (polystyrene), (b) combination of particle image analyzer and Raman spectroscopy (Morphologi G3-IDTM) for analyzing particle shapes and chemical composition (Adopted from Materials Talks from Malvern, 12 October, 2012), and (c) Nile Red stained microplastic particles in a neuston net sample and their subsequent identification using FT-IR (upper; polyethylene and lower; polypropylene). AFMIR analysis was supported by Anasys Instruments [21].



شکل ۶: نمونه‌هایی از تبدیل فوریه طیف زیر قرمز (بالا، قرمز) میکروپلاستیک‌های شناسایی شده و طیف‌های مرجع مربوطه از مرجع Sadtler (پایین، به رنگ سیاه). محور افقی نشان دهنده محدوده طیفی و محور عمودی نشان دهنده جذب است. (a) پلی اتیلن ترفتالات، (b) پلی اتیلن کلرینه، (c) پلی تترا فلئورواتیلن، (d) پلی استایرن، (e) پلی (اتیلن: پروپیلن)، (f) رینون [۲۸].

Figure 6: Examples of Fourier transform infrared spectra (top, in red) of detected microplastics and the corresponding reference spectra from the Sadtler Library (bottom, in black). The horizontal axis represents the spectral range and vertical axis represents absorbance. (a) Polyethylene terephthalate. (b) Chlorinated polyethylene, (c) Polytetrafluoroethylene. (d) Polystyrene. (e) Poly (ethylene:propylene). (f) Rayon[28].

طیف‌سنجی پراکندگی انرژی (SEM-EDS) برای تشخیص دقیق ریزپلاستیک استفاده کردند. این روش برای تجزیه و تحلیل ریزذرات در دو بافت نرم و دستگاه گوارش دو نوع ماهی استفاده شد (شکل‌های ۷ و ۸). چهار شکل میکروپلاستیک، از جمله الیاف، قطعات، گرانول‌ها و فیلم‌ها، از ارگانسیم‌های فوق جدا شدند. ریزذرات الیافی، که بیشترین آنها هستند، بیش از ۷۰ درصد را تشکیل می‌دهند. اندازه متوسط ریزذرات فیبری نسبت به سه شکل دیگر ریزذرات کوچک‌تر بود.

۶-۲- روش طیف‌سنجی رامان

طیف‌سنجی رامان یک روش ساده است که با موفقیت برای شناسایی ذرات میکروپلاستیک در نمونه‌های مختلف محیطی با قابلیت اطمینان بالا مورد استفاده قرار گرفته است. ون کاونبرگ^۳ و همکارانش در سال ۲۰۱۳، ماری^۴ و کووی^۵ در سال ۲۰۱۱ و ایموف^۶ در سال ۲۰۱۲ و ۲۰۱۳ گزارشی را درباره کاربرد این روش برای شناسایی ماهیت ذرات پلاستیکی منتشر کردند. در طی تجزیه و تحلیل با طیف‌سنجی رامان، نمونه با منبع لیزری تک‌رنگ تابش می‌شود [۲۹].

استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱ SEM برای تشخیص میکروپلاستیک‌ها، تصاویر خوبی را از مواد پلاستیکی بدست می‌دهد. با استفاده از SEM و EDS طیف‌سنجی پراکندگی انرژی^۲، به صورت ترکیبی می‌توان مواد آلی را از غیرآلی تشخیص داد. این روش بسیار گران‌قیمت است. نیاز به مراحل زیادی برای آماده‌سازی نمونه دارد و در نهایت بسیار زمان بر است. علاوه بر آن رنگ ذرات به عنوان معیاری برای شناخت در SEM کاربرد ندارد، بنابراین این روش نمی‌تواند گونه‌های مختلف پلیمر را از هم تمیز دهد. تنها از نظر اندازه و ریخت ظاهری پلاستیک‌ها را از هم تمیز می‌دهد (کروی، الیاف، چندوجهی و یا بی‌نظم). مقادیر بسیار کم عناصر فلزی را با کمک DES می‌توان تشخیص داد. ولی این روش مشخص نمی‌کند که حضور این مواد مربوط به افزودنی‌های درون پلیمر و یا آلودگی روی سطح آن است. این مسئله از محدودیت‌های این روش است. به همین دلیل برای دستیابی به نتایج کامل‌تر، از روش‌های ترکیبی پیچیده‌تری استفاده می‌کنند. یعنی علاوه بر دو روش SEM-EDS از یک روش سوم نیز استفاده می‌کنند. لی و همکارانش در سال ۲۰۱۹ از روش ترکیبی FTIR-SEM-EDS برای تشخیص میکروپلاستیک‌ها استفاده کردند [۲۸]. در این مطالعه، آنها از میکروسکوپ و طیف‌سنجی زیر قرمز میکرو فوریه با بازتاب کل ضعیف (μ -ATR-FTIR) همراه با میکروسکوپ الکترونی روبشی -

³ Van Cauwenberghe

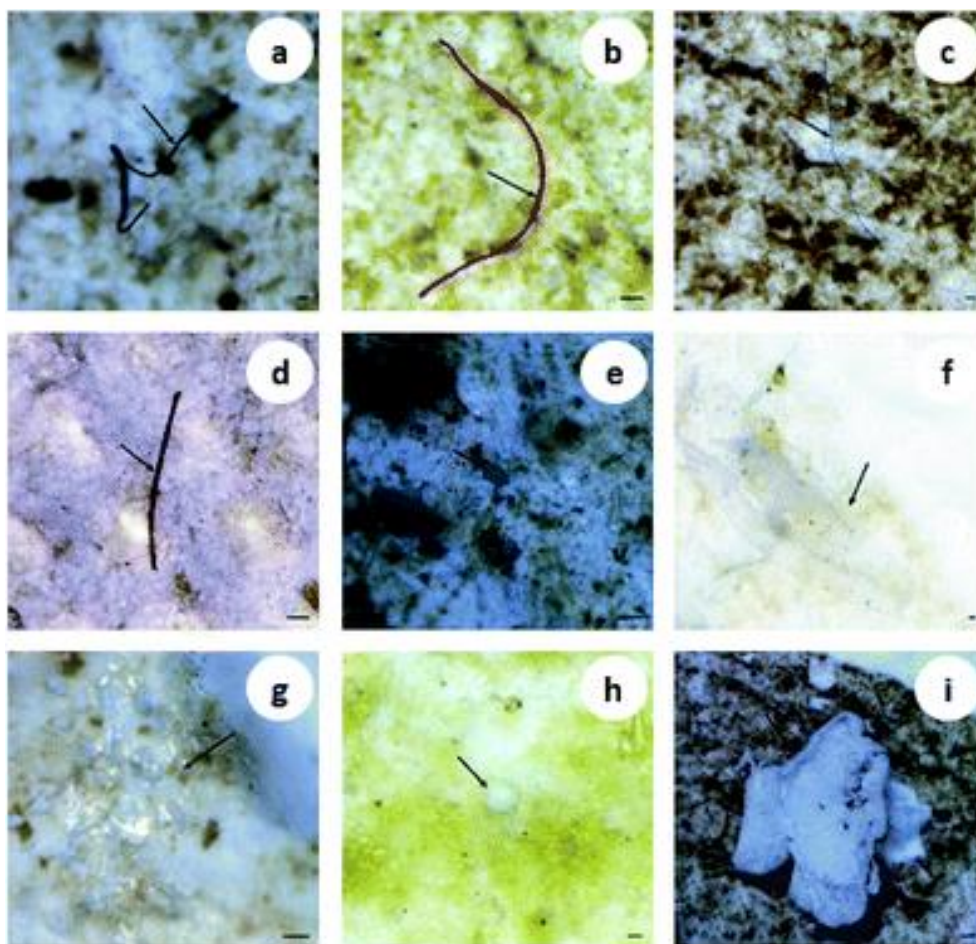
⁴ Marry

⁵ Coovi

⁶ Immove

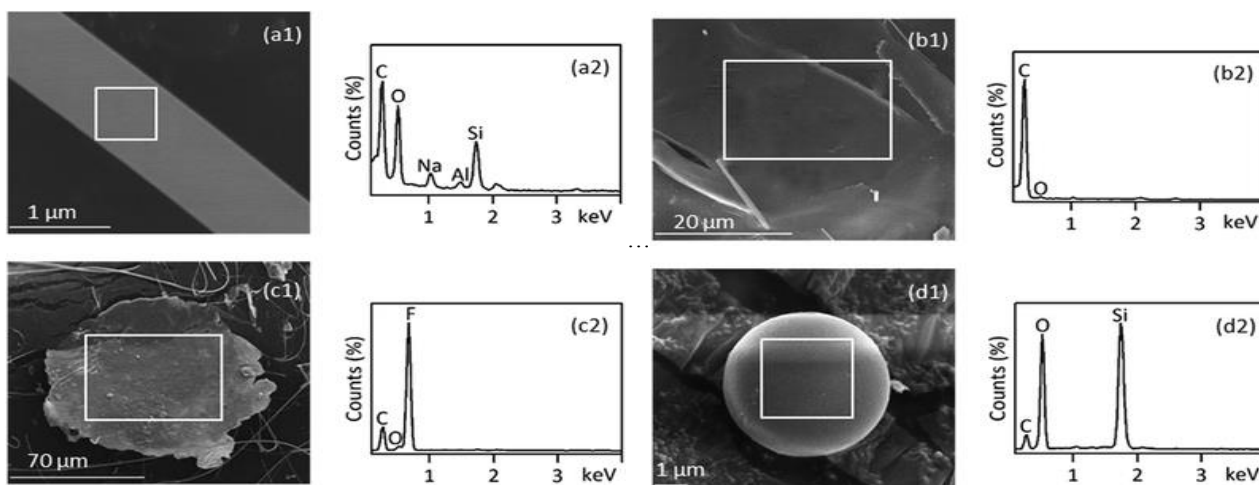
¹ Scanning electron microscope

² Energy dispersive X-ray spectroscopy



شکل ۷: اشکال مختلف میکروپلاستیک در نمونه‌های زیستی. فلش‌ها الیاف (a-d)، قطعات (e و f)، فیلم (g) و دانه‌ها (h و i) را نشان می‌دهند. مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر [۲۸].

Figure 7: Images of different shapes of microplastics in biological samples. The arrows indicate fibers (a-d), fragments (e and f), the film (g) and granules (h and i). Scale bar = 100 μm [28].



شکل ۸: شناسایی میکروپلاستیک‌ها با روش SEM-ED: تصاویر SEM (a1-d1) هستند و طیف‌های EDS مربوط به ناحیه سفید هستند. برخی از ذرات به عنوان میکروپلاستیک (a1-c1) و بقیه به عنوان غیرپلاستیک (d1) شناسایی شدند [۲۸].

Figure 8: Identification of microplastics with SEM-EDS: (a1-d1) are SEM images, and (a2-d2) are the corresponding EDS spectra of the white boxed region. Some particles were identified as microplastics (a1-c1), and the others were identified as non-plastic (d1) [28].

از آنها در بخش‌های مختلف پزشکی و یا محیط زیست استفاده کرد. [۳۸-۳۲]. یکی از جدیدترین و سریع‌ترین روش‌های تشخیص و اندازه‌گیری میکروپلاستیک‌ها بر اساس نشان‌دار کردن انتخابی فلورسنسی می‌باشد. در این روش از یک ماده رنگزای فلورسانس چربی دوست استفاده می‌شود. به دنبال آن استخراج میکروپلاستیک بر اساس چگالی صورت می‌گیرد و سپس نمونه‌ها صاف می‌شوند.

در این روش ماده رنگزای فلورسانس جذب سطح پلاستیک شده و زیر نور UV نثر فلورسانس را تابش می‌کند، که با توجه به قطبیت میکروپلاستیک متغییر است. بنابراین دسته‌بندی میکروپلاستیک در این روش وابسته به طبیعت پلاستیک و خواص قطبیت سطح آن است. این روش از این جهت اهمیت دارد که می‌توان با سرعت و با روشی بسیار ساده و کم هزینه نمونه‌ها را از لحاظ جنس و همین‌طور اندازه بررسی کرد. در ادامه به تشریح این روش می‌پردازیم.

مشاهده میکروپلاستیک‌ها با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس قادر است که دو نوع پلیمر را که دارای شکل ظاهری مشابه هستند تشخیص دهند. برخی مواد رنگزای فلورسانس برای نشان‌دار کردن پلیمرهایی مانند پلی استایرن و پلی اتیلن به طور تجاری در دسترس هستند و محققین را قادر می‌سازد که بتوانند تحقیقات بیشتری در زمینه تشخیص و اندازه‌گیری میکروپلاستیک‌ها در محیط‌های مختلف انجام دهند [۳۶-۳۲]. مطالعات زیادی بر روی پراکندگی میکروپلاستیک‌ها در محیط‌زیست صورت گرفته که در آنها به ارتباط بین نوع پلاستیک و شکل پلاستیک پرداخته شده است. برای مثال، شکل ذرات پلاستیکی از این جهت اهمیت دارد که می‌توند روی نحوه ی جابجایی در آب و هوا و خاک تاثیر بگذارد. همین طور ریخت ذرات پلاستیک می‌تواند در نحوه هضم با جذب ذرات توسط موجودات زنده ریز تاثیر بگذارد. نتیجه تحقیقات در شکل ۹ در آورده شده است. همانطور که در شکل دیده می‌شود و تحقیقات نشان داده است، نحوه پراکندگی به جنس و شکل ذرات پلاستیکی وابسته است. برای مثال در شکل سمت چپ، ذرات میکروپلاستیک زیر ۳۰۰ میکرومتر مطالعه شده و نشان داده که بیشترین مقدار مربوط به پلیمر پلی استایرن با شکل کروی است. در حالی که در میان ذراتی با اندازه بزرگ‌تر از ۳۰۰ میکرومتر (شکل سمت راست)، بیشترین مقدار مربوط به قطعه پلی اتیلنی می‌باشد.

تاکنون روش استفاده از میکروسکوپ فلورسانس همراه با نشان‌دار کردن ذرات پلاستیک بهترین روش برای مطالعه شکل و نوع میکروپلاستیک‌ها می‌باشد. مواد رنگزای فلورسانس برای نشان‌دار کردن پلاستیک از طریق برهم‌کنش آب‌دوست عمل می‌کنند. مواد رنگزای نساجی متعددی برای این هدف بکار گرفته شدند و نتایج آن در منابع تحقیقاتی منتشر شده است. در صنعت نساجی انواع مواد رنگزای فلورسانس برای کالاهای نساجی، طراحی، ساخته و توسعه پیدا می‌کند.

اثر متقابل نور لیزر با مولکول‌ها و اتم‌های نمونه منجر به اختلاف فرکانس نور پس زمینه پراکنده در مقایسه با فرکانس لیزر تابش می‌شود. این تغییر منجر به طیف مخصوص رامان می‌شود. از آنجا که پلیمرهای پلاستیکی دارای طیف رامان مشخص هستند، با استفاده از این روش می‌توان در عرض چند دقیقه پلیمرها را با کمک طیف‌های مرجع تشخیص داد. طیف‌سنجی رامان یک روش سطح است، بنابراین ذرات میکروپلاستیک بزرگ که به طور چشمی جدا و مرتب شده‌اند قابل تجزیه و تحلیل هستند. البته می‌توان این روش را مجهز به میکروسکوپ کرد. در این صورت این روش به طیف‌سنجی میکرو رامان معروف است. طیف‌سنجی میکرو-رامان امکان شناسایی طیف گسترده ای از ذرات پلاستیکی بسیار کوچک، با اندازه‌های زیر ۱ میکرومتر (کول^۱ و همکارانش ۲۰۱۳) را می‌دهد [۳۰]. اگر میکروسکوپ رامان با تصویربرداری طیفی رامان ترکیب شود، امکان تولید تصاویر شیمیایی مکانی بر اساس طیف رامان یک نمونه وجود خواهد داشت. طیف‌سنجی رامان همچنین می‌تواند با میکروسکوپ اسکن لیزر کانفوکال همراه باشد، تا بتواند ذرات پلیمر را در بافت‌های زیستی با دقت درون سلولی پیدا کند. یکی از اشکالات طیف‌سنجی رامان این است که مواد زیستی فلورسنت (به عنوان مثال باقیمانده‌های مواد زیستی از نمونه‌ها) توسط لیزر تهییج می‌شوند و سبب تولید طیف‌های غیرقابل تفسیر رامان می‌شوند. امانوئل رینرت^۲ و همکارانش در سال ۲۰۱۶ از این روش به همراه میکروسکوپ برای تشخیص نوع پلیمر و ریخت آنها استفاده کردند [۳۱].

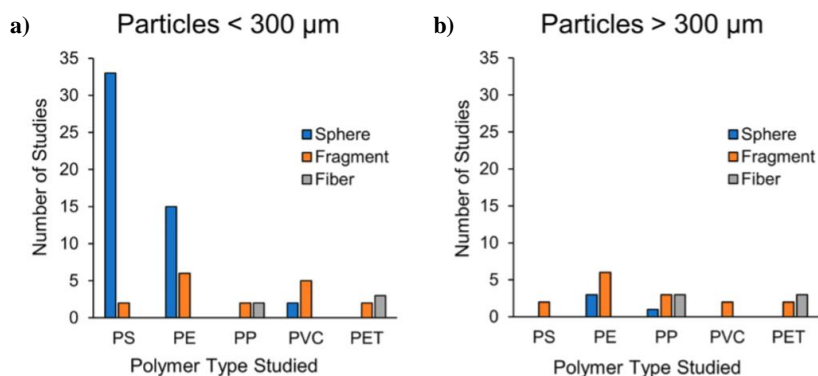
این روش یک روش غیرمخرب است و برای مشخصه‌یابی میکروپلاستیک‌ها حتی زیر یک میکرو هم قابل استفاده است. تنها مشکل این روش تخریب شدن نمونه‌ها تحت تابش UV است. رامان دقت بالاتری نسبت به روش زیر قرمز FTIR دارد و می‌توان نمونه‌هایی را در حد میکرو بررسی کرد. مشکل دیگر در رامان، ضعف آن برای نمونه‌های فلورسانس است. پرتو فلورسانس با پرتو مربوط به دستگاه تداخل می‌کند. روش FTIR بیشتر برای تشخیص گروه‌های قطبی در ساختار به کار می‌رود در حالی که رامان برای تشخیص گروه‌های غیرقطبی استفاده می‌شود. یکی از برتری‌های رامان گستره وسیع تر ناحیه طیفی، وضوح بالاتر و عدم مزاحمت آب نسبت به FTIR است.

۳-۶- تشخیص میکرو پلاستیک‌ها به روش رنگ آمیزی

امروزه مواد رنگزای فلورسانس به طور گسترده مورد توجه محققین مختلف بویژه در حوزه های پزشکی و محیط زیست قرار گرفته است. طراحی و توسعه ی ساختارهای متنوع با توانایی انحلال در محیط های آبدوست و یا چربی دوست، این امکان را فراهم میکند که بتوان

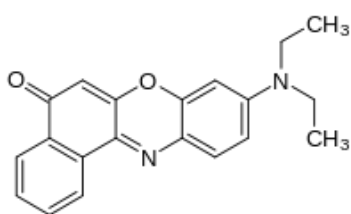
¹ Cool

² Rinnert



شکل ۹: ارتباط بین اندازه و شکل ذرات با نوع پلاستیک [۳۴].

Figure 9: Relationship between plastic types and shapes [34].



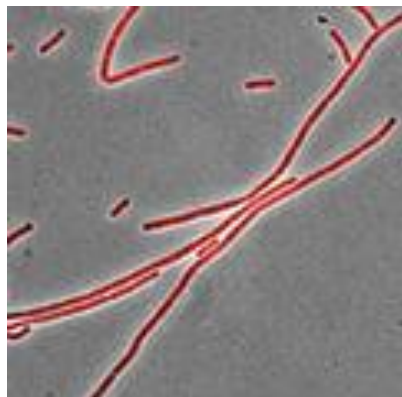
شکل ۱۰: ساختار شیمیایی نیل قرمز [۳۵].

Figure 10: Nile red chemical structure [35].



شکل ۱۱: تغییر رنگ نیل قرمز با قطبیت حلال [۳۵].

Figure 11: Color changing of Nile Red with solvent polarity [35].



شکل ۱۲: رنگ‌آمیزی میکرو ارگانیسم با نیل قرمز [۳۵].

Figure 12: Microorganism staining with Nile red [35].

این مواد رنگزا حاوی آمین‌های آروماتیکی هستند که دارای نشر فلورسانس هستند. بنابراین دارای این پتانسیل هستند که بتوان از آنها به عنوان نشانگرهای فلورسانس برای میکروپلاستیک‌ها استفاده کرد. ماده رنگزای فلورسانس نیل رد به دلیل نشر بالا و امکان تشخیص دقیق و دنبال کردن ذرات توسط میکروسکوپ‌های فلورسانس بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است.

۶-۳-۱- نشان‌دار کردن میکروپلاستیک‌ها با استفاده از مواد

رنگزای فلورسانس

یکی از پر کاربردترین و موفق‌ترین ماده رنگزای فلورسانس برای آنالیز و شناسایی میکروپلاستیک‌ها ماده رنگزای نیل قرمز^۱ می‌باشد (شکل ۱۰). نیل قرمز یک ماده رنگزای چربی‌دوست است و قطرات چربی داخل سلول را زرد رنگ می‌کند. در اکثر حلال‌های قطبی، حالت فلورسانس ندارد. با این حال، هنگامی که در یک محیط غنی از لیپید وارد می‌شود می‌تواند به شدت فلورسنت باشد. گستره طیفی وسیعی، از قرمز عمیق (برای چربی غشای قطبی) تا زرد طلایی (برای لیپید خنثی در داخل سلول) را ایجاد میکند (شکل ۱۱). این ماده رنگزا سولوتوکروم است و طول موج نشر و تحریک آن هر دو بسته به قطبیت حلال تغییر می‌کند [۳۵].

نیل قرمز کاربردهایی متعددی در زیست‌شناسی سلولی دارد. برای مثال می‌تواند به عنوان یک ماده رنگزای غشایی مورد استفاده قرار گیرد و با کمک میکروسکوپ فلورسانس با طول موج‌های تحریک و انتشار به راحتی قابل مشاهده باشد (شکل ۱۲). نیل قرمز را می‌توان به روش آبکافت اسیدی با جوشاندن محلول آبی نیل با اسید سولفوریک تهیه کرد. در این فرآیند یک گروه ایمینیوم با یک گروه کربونیل جایگزین می‌شود.

¹ Nile Red

است و به دلیل ساختار قطبی ملکول و برهم کنش با حلال‌های قطبی، تغییرات قطبیت محیط روی شدت نشر آن تاثیر می‌گذارد و طیف نشری آن به طور قابل توجهی با قطبیت محیط جابجا می‌شود. برای بررسی اثر پلاریته محیط بر نشر ذرات میکروپلاستیک، ذرات شناخته شده پلیمری با قطبیت‌های متفاوت به طور مجزا رنگ‌آمیزی و تصویربرداری شدند. سپس تصاویر حاوی قطعات پلاستیکی رنگ‌آمیزی شده پردازش شدند. از این داده‌ها یک "شاخص فلورسانس" محاسبه شد. با توجه به نمودار نشر بر حسب زاویه تماس، که با قطبیت سطح مرتبط است، می‌توان از آن به عنوان الگویی برای نشان دادن "قطبیت" سطح پلیمر استفاده کرد. رابطه بین قطبیت سطح پلیمر و نشر فلورسنت نیل قرمز در شکل ۱۶ نشان داده شده است. داده‌هایی که به این ترتیب بدست می‌آید می‌تواند ارتباط معنی‌داری بین نوع پلیمر با نشر ماده رنگزای نیل قرمز را بدست بدهد و مبنایی برای تعیین نوع پلیمر باشد. پلیمرها دارای قطبیت‌های مختلفی هستند که به گروه‌های عاملی آنها وابسته است برای مثال نایلون یک پلیمر قطبی و پلی پروپیلن در دسته غیرقطبی قرار می‌گیرد. روش رنگ‌آمیزی با نیل قرمز با موفقیت در پلی اتیلن با اندازه ریز انجام شد. پلی پروپیلن، پلی استایرن، پلی کربنات، پلی یورتان و پلی (اتیلن وینیل استات)، بخوبی رنگ‌آمیزی شدند. ولی این روش برای پلی وینیل کلراید، پلی آمید و پلی استر موفق نبود. عکس‌های شکل ۱۷، نمونه پلیمرهای رنگ‌آمیزی شده را زیر میکروسکوپ معمولی (سمت چپ) و فلورسانس با طول موج ۵۳۴-۵۵۸ و ۵۱۵-۵۶۵ نانومتر (میان‌ه) و ۵۳۴-۵۵۸ و ۵۹۰ نانومتر (سمت راست) نشان می‌دهد. تغییر نشر فلورسانس وابسته به قطبیت در این نمونه‌ها مشهود است.

¹ Shiimwj

² Maes

³ Oil red EGN

⁴ Eosin B

⁵ Rose Bengal

⁶ Hostasol Yellow 3G NR

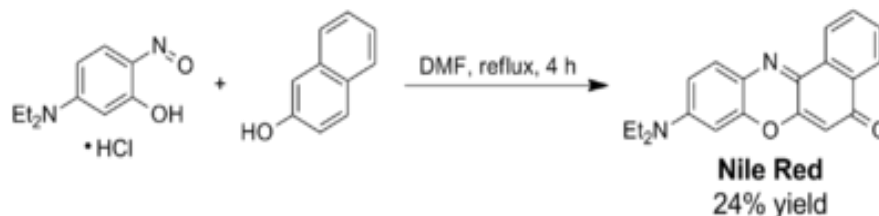
از طرف دیگر، نیل قرمز و آنالوگ‌های آن را می‌توان به روش تراکمی کاتالیز شده با اسید، از ۵-دی‌کیل‌آمینو-۲-نیتروزوفنل مربوطه با ۲ نفتول به روش زیر تهیه کرد. بازده به طور کلی متوسط است. روش سنتز نیل قرمز در شکل ۱۳ نشان داده شده است.

استفاده از مواد رنگزای فلورسانس برای شناسایی میکروپلاستیک‌ها بسیار جدید است. شیموج^۱ و همکارانش استفاده از رنگ‌آمیزی میکروپلاستیک‌ها توسط نیل قرمز را برای اولین بار معرفی کردند. تا قبل از آن از نیل قرمز برای رنگ‌آمیزی سلولی و بافت در نمونه‌های زیستی استفاده می‌شد. این روش جدید اجازه می‌دهد تا بتوان ذرات میکروپلاستیک را به طور کمی و کیفی، شناسایی و اندازه‌گیری کرد [۳۲].

مایس^۲ و همکارانش در سال ۲۰۱۶ روش غربال‌گری سریع برای تشخیص و اندازه‌گیری میزان میکروپلاستیک‌ها بر پایه نشان‌دار کردن با ماده رنگزای نیل قرمز را ارائه دادند [۳۳]. روش ارائه شده به خوبی قادر است میکروپلاستیک‌ها را در نمونه‌های واقعی محیطی تشخیص دهد. این روش بر اساس رنگ‌آمیزی انتخابی، با استفاده از ماده رنگزای نیل قرمز انجام شده است. رنگ روی سطح میکروپلاستیک‌ها جذب می‌شود و فلورسانس آنها زیر تابش نور آبی مورد بررسی قرار می‌گیرد. نشر فلورسانس با استفاده از یک روش عکاسی بسیار ساده با کمک یک فیلتر نارنجی انجام می‌شود. آنالیز تصاویر این امکان را می‌دهد که بتوان ذرات فلورسانس را تشخیص داده و آنها را شمرد. وقتی ماده رنگزا به سطح ذرات پلاستیک می‌چسبد، فلورسانس آن در یک گستره رنگی از زرد تا قرمز پرنک تغییر می‌کند، که وابسته به میزان آب‌دوستی سطح ذره پلاستیک است. در این تحقیق مواد رنگزای اوپل قرمز ایی جی ان^۳، ائوزین بی^۴، رز بنگال^۵، هاستول زرد^۶ جی ان آر^۶ و نیل قرمز، برای بررسی کارایی آنها مورد آزمایش قرار گرفتند (شکل ۱۴).

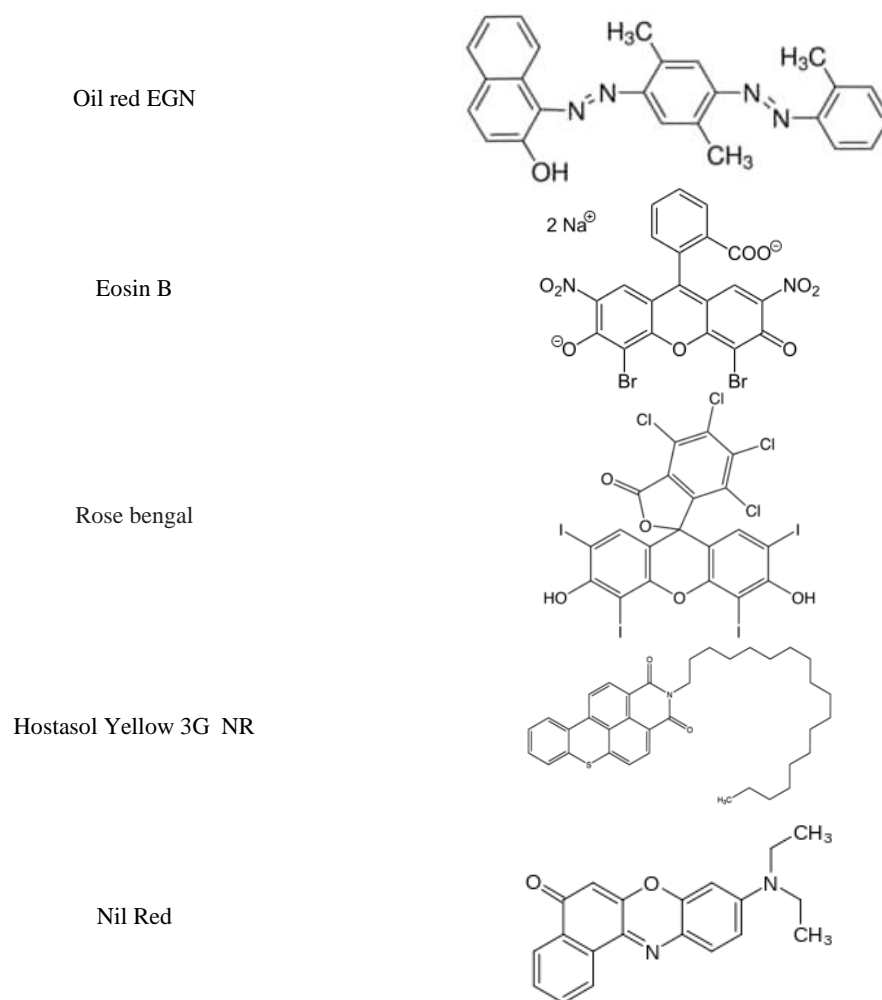
نیل قرمز در این بین، به دلیل بالا بودن جذب و شدت فلورسانس انتخاب شد. همچنین به دلیل داشتن نشر قوی در ناحیه ۵۰۰ نانومتر به بالا و عدم هم‌پوشانی با مزاحمت‌های نشری مربوط به بسترهای زیستی، مانند پروتئین‌ها که بیشتر آن‌ها حدود ۴۰۰ نانومتر و زیر آن می‌باشد، موثرترین ماده رنگزا بود (شکل ۱۵).

از این آزمایشات اولیه مشخص شد که انواع مختلف ذرات پلاستیکی نشر فلورسنتی مختلفی را نشان می‌دهند (شکل ۱۶). نشر نیل قرمز



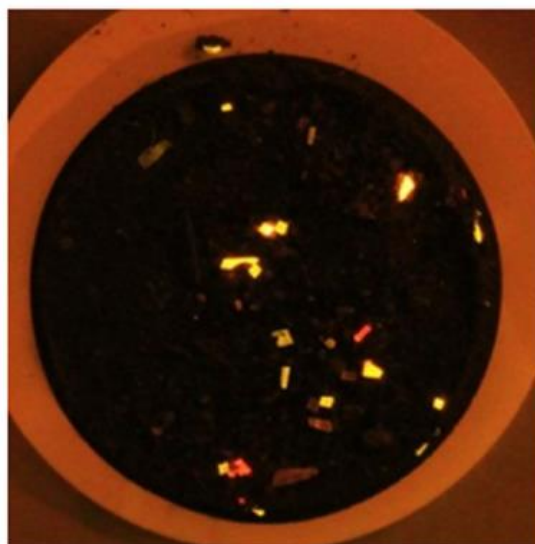
شکل ۱۳: روش سنتز نیل قرمز [۳۵].

Figure 13: Nile red synthesis method [35].



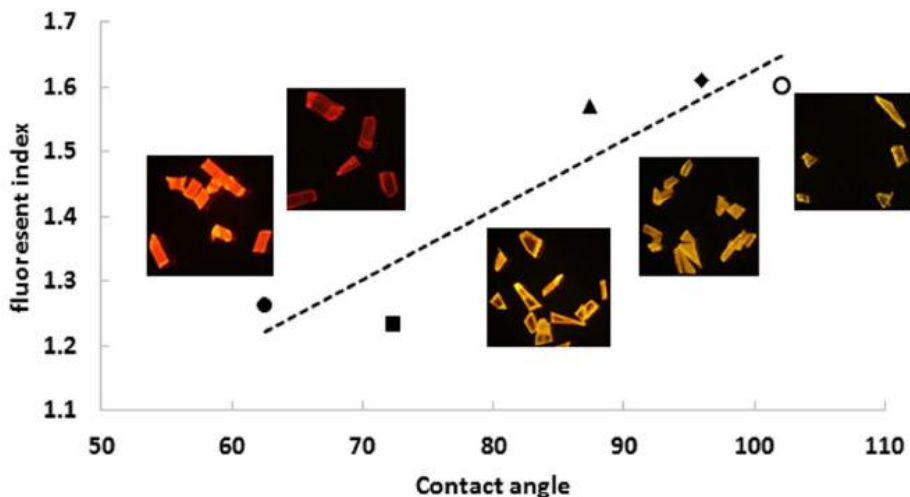
شکل ۱۴: مواد رنگزای بررسی شده برای تشخیص میکروپلاستیک‌ها [۳۳].

Figure 14: Used dyes for microplastic identification [23].



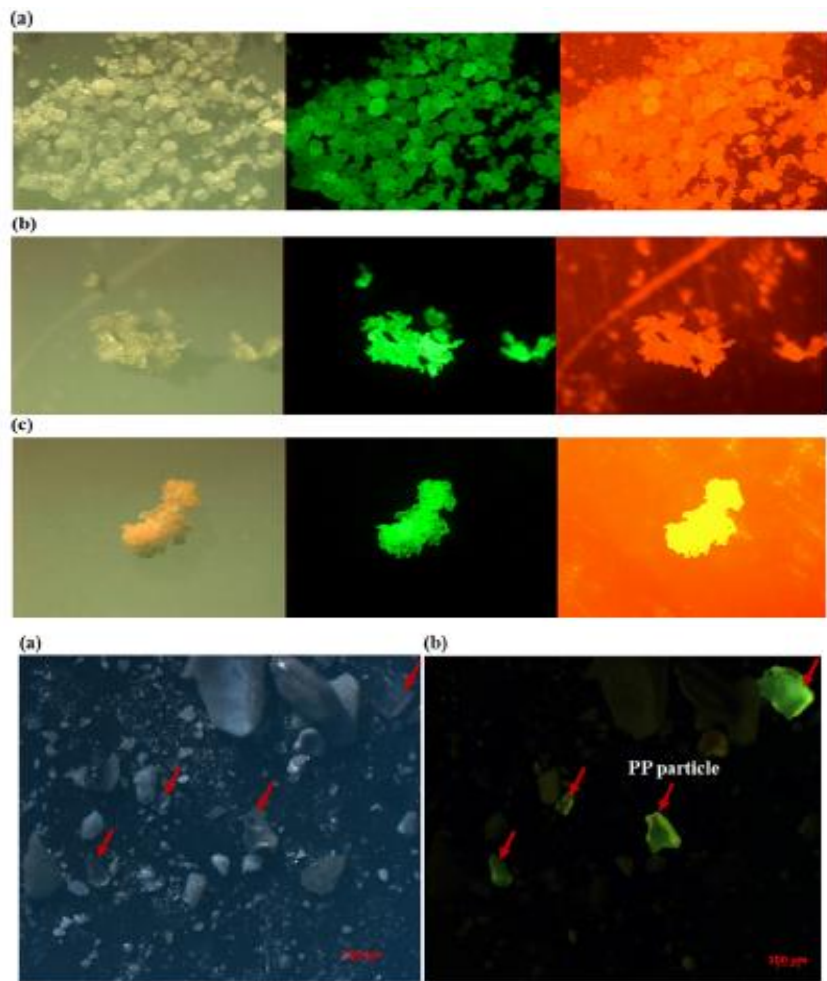
شکل ۱۵: تصویر میکرو پلاستیک‌های رنگ آمیزی شده با نیل قرمز [۳۳].

Figure 15: Photo graph of microplastic dyed with Nile red [33].



شکل ۱۶: رابطه بین زاویه تماس سطح پلیمر و اندیس فلورسنت [۳۳].

Figure 16: Relationship between surface contact angle and fluorescence index [33].



شکل ۱۷: عکس‌های زیر میکروسکوپ (سمت چپ) و یک میکروسکوپ فلورسانس با تحریک و طول موج انتشار ۵۵۸-۵۳۴ و ۵۱۵-۵۶۵ نانومتر (وسط) و ۵۳۴-۵۵۸

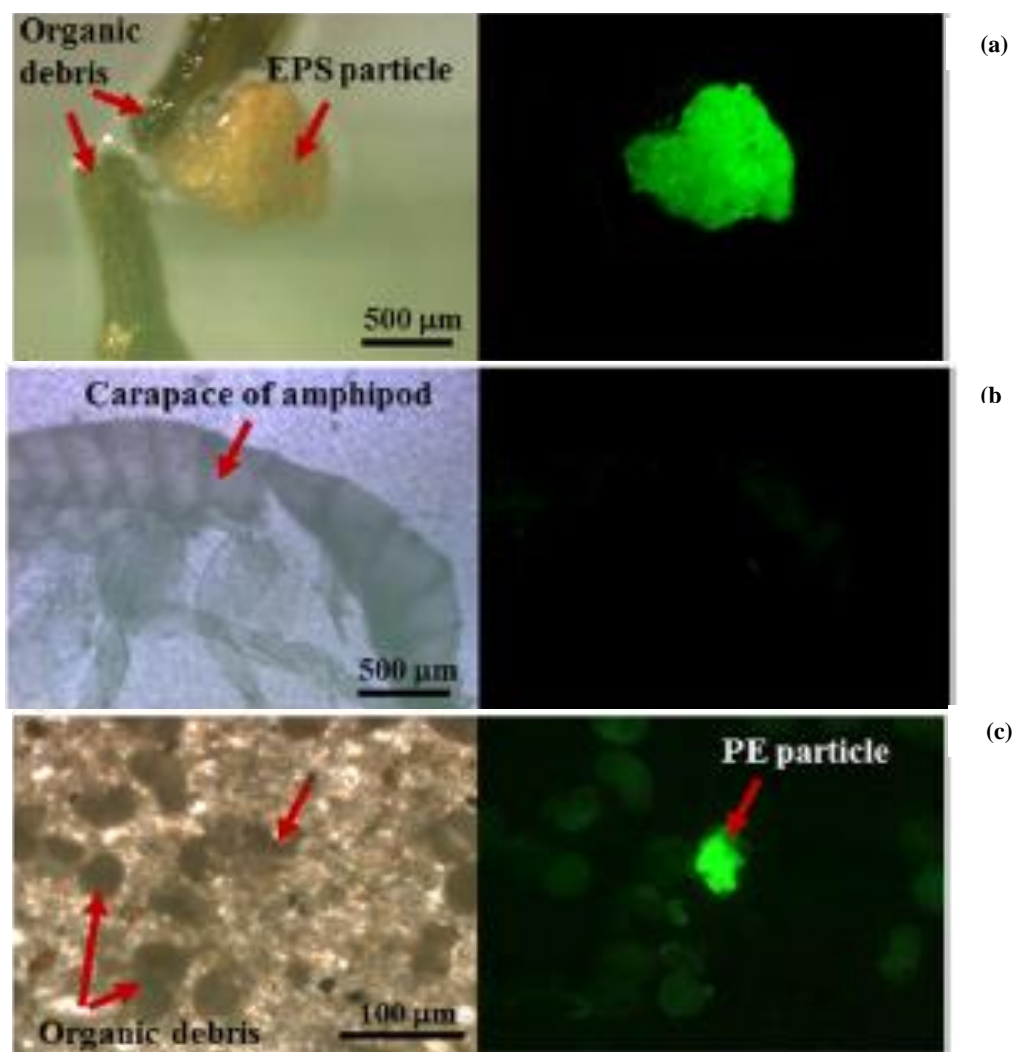
و ۵۵۸ N590 و ۵۵۸ نانومتر (راست) برای (a) پلی اتیلن با چگالی کم رنگ‌آمیزی نیل قرمز (LD) و (b) پلی پروپیلن (PP) و (c) پلی استایرن منبسط شده (EPS) [۳۳].

Figure 17: Photos under amicroscope (left) and a fluorescence microscope with excitation and emission wavelength of 534–558 and 515–565 nm (middle) and 534–558 and N590 nm (right) for the Nile Red stained low density (a) polyethylene (LDPE), (b) polypropylene (PP) and (c) expanded polystyrene (EPS). [33].

مثال ماده گیاهی) کمک کند. در مطالعاتی که به منظور بررسی کارایی ماده رنگزای نیل قرمز انجام گرفت [۳۶]، اثر حلال در فرآیند رنگ‌آمیزی بررسی شد و مشاهده شد که روش رنگ‌آمیزی (PS)، پلی اتیلن با چگالی کم (LDPE)، پلی اتیلن با چگالی بالا (HDPE)، پلی وینیل کلرید (PVC)، پلی پروپیلن (PP)، پلی اتیلن ترفتالات (PET) و پلی آکریلونیتریل (PAN) با مواد رنگزای فلورسنت قابل انجام هستند (شکل ۲۰). این روش جدید رنگزای میکرو پلاستیک نشان‌دهنده یک رویکرد کم هزینه و پر کاربرد است که محققین را قادر می‌سازد انواع و شکل‌های مختلف پلیمری ذرات را با استفاده از روش‌های ردیابی میکروسکوپ فلورسنت تعیین کنند.

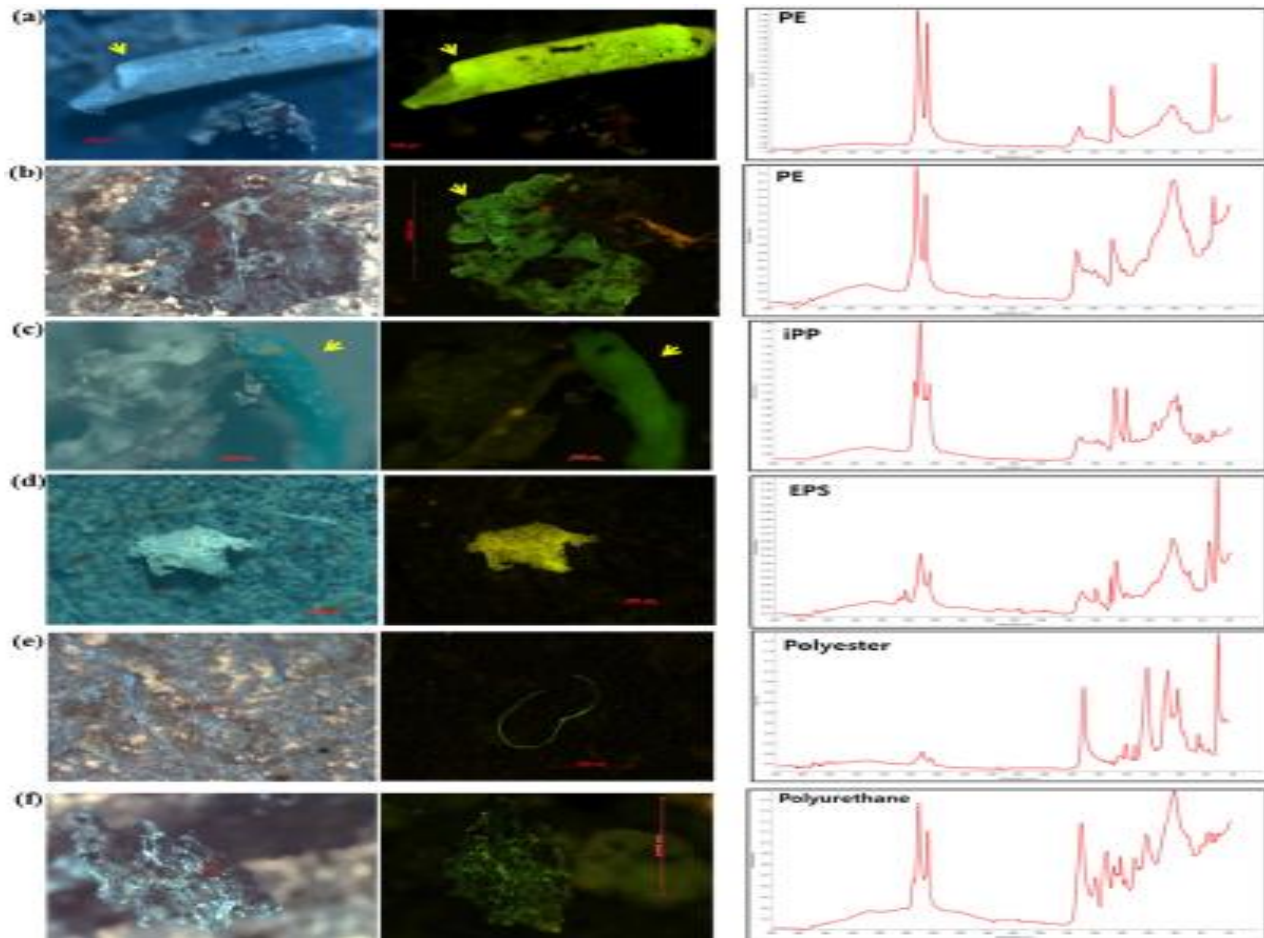
تصویر ۱۸ تغییر نشر فلورسانس ذرات میکروپلاستیک رنگ آمیزی شده در نمونه‌های زیستی را نشان می‌دهد. نتایج این روش با روش FTIR مقایسه شد و نشان داد که می‌تواند بخوبی در تشخیص، ماهیت و نوع ذرات میکروپلاستیک بکار گرفته شود. این نتایج در شکل ۱۹ آمده است [۳۲].

کمی سازی ریزذرات یک کار چالش برانگیز برای جامعه علمی است ، به خصوص که روش‌های تحلیلی موجود به دلیل پیچیدگی تعداد نمونه‌ها و مشکلات ناشی از هزینه‌های بالا و روش‌های وقت گیر محدود است. روش رنگ‌آمیزی ریز پلاستیک‌ها با نیل قرمز می‌تواند در تمایز این ذرات از سایر مواد معدنی (به عنوان مثال رسوب) یا آلی (به عنوان



شکل ۱۸: تشخیص ذرات رنگ آمیزی شده میکروپلاستیک‌ها در نمونه‌های زیستی، میکروسکوپ (سمت چپ) و میکروسکوپ فلورسانس (راست) پس از رنگ‌آمیزی قرمز نیل: (a) ذرات پلی استایرن منبسط شده (EPS) با بقایای گیاهی، (b) کاراپاس دوپایان و (c) یک ذره پلی اتیلن در میان بقایای آلی [۳۳].

Figure 18: Identification of microplastics in biological samples microscope (left) and a fluorescence microscope (right) after Nile Red staining: (a) an expanded polystyrene (EPS) particle with plant remnants, (b) an amphipod carapace and (c) a polyethylene particle among organic remnants [33].



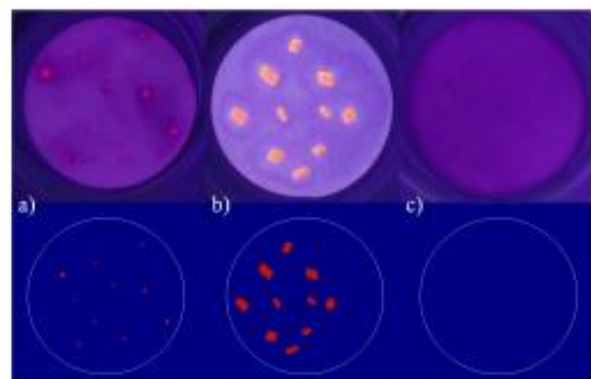
شکل ۱۹: شناسایی میکروپلاستیک جدا شده از نمونه‌های شن ساحل در زیر میکروسکوپ (سمت چپ) و میکروسکوپ فلورسانس (سمت راست) پس از رنگ‌آمیزی نیل قرمز: (الف) یک ذره پلی استایرن منبسط شده (EPS) با بقایای گیاه، (ب) کاراپاس دوپایان و (ج) یک ذره پلی اتیلن در میان بقایای آلی [۳۲].

Figure 19: Identification of microplastics separated from beach sand samples under a microscope (left) and a fluorescence microscope (right) after Nile Red staining: (a) an expanded polystyrene (EPS) particle with plant remnants, (b) an amphipod carapace and (c) a polyethylene particle among organic remnants[32].

۷- نتیجه‌گیری

بسیاری از ذرات پلاستیکی موجود در رسوب‌ها و مواد آلی در محیط‌زیست، از نوع ناشناخته هستند، و هنگامی که اندازه ذرات در زیر ۲۰۰ میکرومتر قرار می‌گیرد، شناسایی تک ذرات پلاستیک با استفاده از میکروسکوپ یا روش طیف‌سنجی دشوار است. استفاده از روش‌های تصویربرداری مستقیم نیز در بسیاری موارد دچار مشکل خواهد شد، زیرا تشخیص نمونه‌های پلیمری از مواد معدنی، شن و خاک نیز امکان‌پذیر نیست. لذا استفاده از روشی برای تمیز دادن این مواد بسیار اهمیت دارد. استفاده از مواد رنگزای فلورسانس با قابلیت تغییر نشر نسبت به قطبیت محیط، قادر است که ذرات میکرو پلاستیک را رنگ‌آمیزی کرده و با کمک میکروسکوپ فلورسانس و تصویربرداری، ذرات را از نظر ریخت و همچنین نوع پلیمر تشخیص دهد.

در بین مواد رنگزای فلورسانس نیل قرمز بخوبی توانسته است برای



شکل ۲۰: (a) نمونه پی وی سی لوله رنگ آمیزی شده در استن، (b) پلی استایرن ظرف غذا رنگ‌آمیزی شده در آن هگزان، (c) PET نخ رنگ‌آمیزی شده در کلروفرم [۳۶].

Figure 20: (a) Stained particles of PVC (pipe) using acetone, (b) PS (food container) using n-hexane, and (c) PET fibres using chloroform [36].

تشکر و قدر دانی

نویسندگان از حمایت پژوهشگاه رنگ و دانشگاه صنعتی امیرکبیر برای انجام این مطالعه، تشکر و قدردانی می‌نمایند. مقاله حاضر مستخرج از پروژه کارشناسی مهندسی پلیمر می‌باشد.

تعارض منافع

در این مقاله هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان گزارش نشده است.

تشخیص انواع پلیمرها بکار رود. این روش نسبت به سایر روش‌های پیشنهادی و پیشرفته دستگامی، بسیار ساده ارزان، سریع و دقیق است. اما یکی از مشکلات بزرگ نیل قرمز در رنگ‌آمیزی این است که هم‌زمان موجودات زنده نیز رنگ شده و امکان تشخیص و تمیزدادن ذرات میکرو پلاستیک از میکرو ارگانسیم‌ها وجود ندارد. همچنین کمی‌سازی نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده بطور دقیق، هنوز به نتایج قطعی و کاربردی نرسیده است. لذا برای رفع این مشکل نیاز به تحقیقات بیشتر و بررسی روش‌های تکمیلی احساس می‌شود.

۸- مراجع

1. A. B. Silva, A. S. Bastos, C. L. Justino, J. P. d. Costa, A. C. Duarte, T. A. P. Rocha-Santo, "Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review", *Anal. Chim. Acta*, 1017, 1-19, **2018**.
2. R. Hurley, J. Woodward, J. J. Rothwell, "Microplastic contamination of river beds significantly reduced by catchment-wide flooding", *Nature Geosci.* 11, 251-257, **2018**.
3. M. Cole, P. Lindeque, C. Halsband, T. S. Galloway, "Microplastics as contaminants in the marine environment: A review", *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588-2597, **2011**.
4. A. M. Booth, S. Kubowicz, C. Beegle-Krause, J. Skancke, T. Nordam, E. Landsem, M. Throne-Holst, S. Jahren, "Microplastic in global and Norwegian marine environments: Distributions, egradation mechanisms and transport", <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/M918/M918.pdf> **2017**.
5. F. Haque, C. Fan, "Microplastics in the Marine Environment: A Review of Their Sources, Formation, Fate, and Ecotoxicological Impact", In (Ed.), *Marine Pollution - Recent Developments*, IntechOpen, **2022**.
6. N. K. T. Sudirman Dharmayani, E. Yuanita, M. Ulfa, I. M. Sudarma, A. Ikhsan, "Reprocessing plastic waste into petroleum fraction based on zero waste principle", *AIP Conference Proceedings* 2243, 020026, **2020**.
7. M. N. Issac, B. Kandasubramanian, "Effect of microplastics in water and aquatic systems", *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28, 19544-19562, **2021**.
8. H. Khalid Ageel, S. Harrad, M. Abou-Elwafa Abdallah, "Occurrence, human exposure, and risk of microplastics in the indoor environment", *Environ. Sci.* 24, 17-31, **2022**.
9. A. G. M. S. U. Mahamud, M. S. Anu, A. Baroi, A. Datta, "Microplastics in fishmeal: A threatening issue for sustainable aquaculture and human health", *Aquac. Res.* 25, 101205, **2022**.
10. X. Xu, Q. Hou, Y. Xue, Y. Jian, L. Wang, "Pollution characteristics and fate of microfibers in the wastewater from textile dyeing wastewater treatment plant", *Water Sci. Technol.* 78, 2046-2054, **2018**.
11. S. A. Carr, J. Liu, A. G. Tesoro, "Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants", *Water Res.* 91, 174-82, **2016**.
12. A. Mahmoud, K. Kamaladdin. "Microplastic Pollutant", Tehran, Avaye Ghalam; **2018**.
13. H. Takada, Call for Pellets, International Pellet Watch Global Monitoring of POPs Using Beached Plastic Resin Pellets. *Mar. Pollut. Bull.* 52, 1547-1548, **2006**.
14. S. Hee, J. Yejin, L. Minbeom, K. Jaehyun, B. H. Choi, "Microplastics with adsorbed contaminants: Mechanisms and Treatment", *Environ. Challenges*, 3, 100042, **2021**.
15. L. Fu, J. Li, G. Wang, Y. Luan, W. Dai, "Adsorption behavior of organic pollutants on microplastics", *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 217, 112207, **2021**.
16. M. Zhao, L. Huang, S. R. Babu Arulmani, J. Yan, L. Wu, T. Wu, H. Zhang, T. Xiao, "Adsorption of different pollutants by using microplastic with different influencing factors and mechanisms in wastewater: A review", *Nanomater.* 12, **2022**.
17. A. Baruah, A. Sharma, S. Sharma, "An insight into different microplastic detection methods", *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 19, 5721-5730, **2022**.
18. J. Huang, H. Chen, Y. Zheng, Y. Yang, Y. Zhang, B. Gao, "Microplastic pollution in soils and groundwater: Characteristics, analytical methods and impacts", *Chem. Eng. J.* 425, 131870, **2021**.
19. Y. Ye, K. Yu, Y. Zha, "The development and application of advanced analytical methods in microplastics contamination detection: A critical review", *Sci. Total Environ.* 818, 151851, **2022**.
20. Y. K. Song, S. Hee Hong, S. Eo, W. Joon Shim, "A comparison of spectroscopic analysis methods for microplastics: Manual, semi-automated, and automated Fourier transform infrared and Raman techniques", *Mar. Pollut. Bull.* 173, 113101, **2021**.
21. W. J. Shim, S. Hee Hong, Soeun Eo, "Identification methods in microplastic analysis: a review", *Anal. Method*, 9, 1384-1391, **2017**.
22. M. A. Browne, T. S. Galloway, R. C. Thompson, "Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines", *Environ. Sci. Technol.* 44, 3404-3409, **2010**.
23. A. Turner and L. Holmes, "Occurrence, distribution and characteristics of beached plastic production pellets on the island of Malta (central Mediterranean)", *Mar. Pollut. Bull.* 62, 377-381, **2011**.
24. A. Ugolini, G. Ungherese, M. Ciofini, A. Lapucci, M. Camaiti, "Microplastic debris in sandhoppers", *Estuar Coast Shelf*, 129, 19-22, **2013**.
25. K. L. Ng and J. P. Obbard, "Prevalence of microplastics in Singapore's coastal marine environment", *Mar. Pollut. Bull.* 52, 761-767, **2006**.
26. Y. K. Song, S. H. Hong, M. Jang, G. M. Han, W. J. Shim, "Occurrence and distribution of microplastics in the sea surface microlayer in Jinhae bay South Korea". *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 69, 279-287, **2015**.
27. A. S. Tagg, M. Sapp, J. P. Harrison, J. J. Ojeda, "Identification and quantification of microplastics in wastewater using focal

- plane array-based reflectance micro-FT-IR imaging", *Anal. Chem.* 87, 6032-6040, **2015**.
28. J. Li, Ch. Sun, F. Jiang, P. Ju, L. Qu, Yifan Zhenga, C. He, "Detection of microplastics in local marine organisms using a multi-technology system", *Anal. Methods*, 11, 78-87, **2019**.
29. L. Van Cauwenbergh and C. R. Janssen, "A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples", *Environ. Pollut.* 193, 65-70, **2014**.
30. M. Cole, P. Lindeque, E. Fileman, C. Halsband, "Microplastic ingestion by zooplankton", *Environ. Sci. Technol.* 47, 6646-6655, **2013**.
31. L. Frère, I. Paul-Pont, J. Moreau, P. Soudant, C. Lambert, A. Huvet, E. Rinnert, "A semi-automated Raman micro-spectroscopy method for morphological and chemical characterizations of microplastic litter", *Mar. Pollut. Bull.* 113, 461-468, **2016**.
32. J. Shim, Y. K. Song, S. H. Hong, Mi, "Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining Won Jang", *Mar. Pollut. Bull.* 113, 469-476, **2016**.
33. T. Maes, R. Jessop, N. Wellner, "A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red", *Sci. Rep.* 38;44501, **2017**.
34. E. G. Karakolis, B. Nguyen, J. B. You, C. M. Rochman, D. Sinton, "Fluorescent dyes for visualizing microplastic particles and fibers in laboratory-based studies", *Environ. Sci. Technol. Lett.* 6, 334-340, **2019**.
35. "Nile red", https://en.wikipedia.org/wiki/Nile_red.
36. M. Tamminga, "Nile red staining as a subsidiary method for microplastic quantification: a comparison of three solvents and factors influencing application reliability. SDRP", *J. Earth Sci. Environ. Studies*, 2, **2017**.
37. M. Mahdiani, S. Rouhani, P. Zahedi, "A review on fluorescence sensors based on bionic acids for saccharides detection", *J. Stud. Color world*, 10, 11-28, **2020**.
38. P. Alaei, Sh. Rouhani, K. Gharanjig, "A Dual colorimetric and Fluorometric Anion Sensor Based on Polymerizable", 1, 8-Naphthalimide Dye. *Prog. Color Colorants Coat.* 6, 2, 87-96, **2013**.

How to cite this article:

K. Rastgou Moghadam, Sh. Rouhani, S. Gorji Kandi, A Review of Colorimetric Methods for Microplastic Detection in the Environment, *J. Stud. Color world*, 12, 3(2022), 263-281.

DOR: 20.1001.1.22517278.1401.12.3.5.4.