

Liisa Rantanen

PRIMÄÄRISTEN MIKROMUOVIEIN KARAKTERISOINTI YHDYSKUNTAJÄTEVEDESTÄ

Kandidaatintyö
Tekniikan ja luonnontieteiden tiedekunta
Yliopistonlehtori, dosentti Terttu Hukka
Yliopisto-opettaja Marja Palmroth
Toukokuu 2020

TIIVISTELMÄ

Liisa Rantanen: Primäärinen mikromuovien karakterisointi yhdyskuntajätevedestä
/Characterization of primary microplastics from municipal wastewater
Kandidaatintyö
Tampereen yliopisto
Teknis-luonnontieteellinen tutkinto-ohjelma
Toukokuu 2020

Mikromuovit ovat kooltaan alle 5 mm:n kokoisia muovipartikkeleita kaikissa dimensioissaan. Mikromuoveja päätyy yhdyskuntajätevedeen primäärisinä ja sekundäärisinä partikkeleina muun muassa kosmetiikkatuotteista ja hankaavista puhdistusaineista tai suurempien muovijätteidien hajotessa pienemmiksi partikkeleiksi. Yleisimpiä muovityyppejä ovat polyeteeni, polypropeeni, polystyreeni, poly(vinyylidikloridi), polyamidi ja poly(eteenitereftaatti). Primäärissä mikromuoveissa, varsinkin kosmetiikkatuotteissa, käytetään eniten polyeteeniä.

Jätevedenpuhdistamoilla saadaan yhdyskuntajätevedestä poistettua jopa 99 % muovista, mutta mikromuovien pieni koko mahdollistaa niiden pääsyn ympäristöön. Muovien määrä nyky-yhteiskunnassa on suuri, minkä takia pyritään löytämään entistä parempia menetelmiä muovipartikkelien analysoimiseksi ja sitä kautta niiden poistamiseksi yhdyskuntajätevedestä. Ympäristöön päässeet mikromuovit hajoavat yhä pienemmiksi ja siten haitallisemmiksi partikkeleiksi eliöille.

Tässä kandidaatintyössä perehdyttiin primäärisiin mikromuoveihin ja korkean erotuskyvyn nestekromatografiaan niiden karakterisointimenetelmänä. Työn tarkoituksena oli selvittää miten HPLC soveltuu primäärinen mikromuovien karakterisointiin ja minkälaisia kolonneja ja detektoreja karakterisoinnissa käytetään. Työ on kirjallisuuskatsaus.

Mikromuovien karakterisoinnissa on käytössä useita menetelmiä, joista korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC) (High performance liquid chromatography) on vielä laajoissa tutkimuksissa vähemmän käytetty. Analysointimenetelmien avulla voidaan tunnistaa muovipartikkeleita, jotka pääsevät jätevedenpuhdistamoilta luontoon ja sitä kautta tehostaa yhdyskuntajäteveden puhdistusta näiden partikkelien osalta. Karakterisoinnissa haasteita tuo mikromuovien pieni koko ja siitä aiheutuva kontaminaatiovaara. Karakterisointimenetelmän valintaan vaikuttavat tutkittavien partikkelien koko sekä muut ominaisuudet.

HPLC perustuu kromatografian tavoin siihen, että tutkittava seos joutuu vuorovaikutukseen kahden eri faasin kanssa. HPLC-laitteistossa on mukana pumppu, jonka avulla systeemiin saadaan luotua paine. Tutkittavan näytteen mukaan laitteistoon valitaan sopivat kolonnit ja detektorit. Yleisimmin HPLC:ssä käytettyjä detektoreja ovat massaspektrometri, UV-Vis-detektori, fluoresenssidetektori ja infrapunadetektori. Kolonneista käytetään käänteisfaasikolonnaa, normaalifaasikolonnaa ja kokoeksklusiokolonnaa.

Tutkimusaineiston perusteella todettiin, että korkean erotuskyvyn nestekromatografialla on useita hyviä ominaisuuksia primäärinen mikromuovien ja niitä muodostavien polymeerien analysointiin. Menetelmän ongelmaksi muodostui, että HPLC:llä voidaan tunnistaa yhdisteitä vain, jos ne sisältävät funktionaalisia ryhmiä. Polyolefiinien tunnistaminen vaatii, että lämpötila nostetaan analysoitaessa polyolefiinin sulamispistettä korkeammaksi, jolloin laitteistoksi tarvitaan korkean lämpötilan kokoeksklusiokromatografi (HT-SEC) (High-temperature size exclusion chromatography). Ongelmakohtien vuoksi laajempi käyttöönotto ei vielä ole osoittautunut kannattavaksi, koska muut käytetyt menetelmät ovat osoittautuneet nopeammiksi tai halvemmiksi varsinkin esikäsittelyn osalta.

Avainsanat: primäärinen mikromuovi, mikromuovien karakterisointi, korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC)

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -ohjelmalla.

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	1
2. MUOVIT	3
2.1 Mikromuovit	5
2.2 Primääriset mikromuovit.....	6
2.3 Primääriset mikromuovit kosmetiikassa.....	7
3. MIKROMUOVIN KARAKTERISOINTI JÄTEVEDESTÄ	10
3.1 Näytteenotto	10
3.2 Esikäsittely	11
3.3 Kromatografia ja nestekromatografia	12
3.4 Korkean erotuskyvyn nestekromatografia	13
3.5 Korkean erotuskyvyn nestekromatografia mikromuovien karakterisoinnissa	15
3.6 Tulkinta	17
4. JOHTOPÄÄTÖKSET	23
LÄHTEET	24

LYHENTEET JA MERKINNÄT

FTIR	Fourier-muunnos infrapunaspektroskopia
GC	Kaasukromatografia (Gas Chromatography)
HFIP	Heksafluori-2-propanoli
HPLC	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (High Performance Liquid Chromatography)
HT-SEC	Korkean lämpötilan kokoekskluusiokromatografia (High-Temperature Size Exclusion Chromatography)
LC	Nestekromatografia (Liquid Chromatography)
NP	Normaalifaasikolonne (Normal phase column)
PA	Polyamidi
PE	Polyeteeni
PE-HD	Suuritiheksinen polyeteeni (High-density Polyethylene)
PE-LD	Pienitiheksinen polyeteeni (Low-density Polyethylene)
PET	Poly(eteenitereftalaatti)
PMMA	Poly(metyylimetakrylaatti)
PP	Polypropeeni
PS	Polystyreeni
PUR	Polyuretaani
PVC	Poly(vinyylikloridi)
pyr-GC/MS	Pyrolyysi-kaasukromatografia-massaspektrometri
RP	Käänteisfaasikolonne (Reverse phase column)
SEC	Kokoekskluusiokromatografia (Size Exclusion Chromatography)
SEM	Pyyhkäisyelektronimikroskopia (Scanning Electron Microscope)
TCB	Triklooribentseeni
THF	Tetrahydrofuraani

1. JOHDANTO

Mikromuovit ovat pieniä muovipartikkeleita, jotka muodostuvat polymeereistä sekä lisäaineista. Mikromuoveja vapautuu ympäristöön pääosin muovijätteen hajotessa, mutta myös mikrokokoisiksi valmistettaessa esimerkiksi kosmetiikkatuotteisiin. Mikromuoveiksi määritellään muovipalaset, jotka ovat läpimitaltaan alle 5 mm kaikissa dimensioissaan. [1, s. 62; 2]

Mikromuoveja on ryhdytty tutkimaan enemmän vasta viime vuosina, vaikka muovia ja sen ympäristövaikutuksia sekä erottelua jätevedestä on tutkittu ja kehitetty jo pitkään. Mikromuovien pieni koko vaikeuttaa niiden erottamista ja poistamista jätevedestä ja helpottaa niiden pääsyä ravintoverkkoihin ja eliöihin [3]. On todettu, että jotkut eliöt, kuten tietyt bakteerit, ovat pystyneet biohajottamaan polymeerejä. Kuitenkin polymeerien biohajoaminen on niin harvinaista ja hidasta, että mikromuovit ja muovit luokitellaan luonnossa biohajoamattomiksi. [4] Synteettisiä polymeerejä on löydetty muun muassa kalojen ruuansulatuksesta [5].

Muovien vaikutukset eliöissä ovat vakavia ja voivat aiheuttaa organismien tuotannon vähentymistä ja kasvun sekä lisääntymiskyvyn heikkenemistä. Vaikutukset johtuvat pääasiallisesti mikromuovin joutumisesta eliöiden ruuansulatukseen, mikä aiheuttaa ruhjeita ruuansulatuselimistöön ja edelleen tulehduksia. [4, 5] Myös mikromuovin syöminen saattaa vähentää oikean ruuan syömistä ja aiheuttaa ravinnon puutteesta johtuvia kuolemia. Vaikutukset riippuvat eliöistä ja muovilaaduista. [4] Tämän vuoksi mikromuovien karakterisointiin ja erotteluun jätevedestä on syytä kehittää parempia metodeja jätevedenpuhdistukseen, jotta mikromuovien pääsy ympäristöön voidaan estää. Sen lisäksi, että on tehty muutoksia sen osalta, että mikromuovit tulevaisuudessa korvattaisiin ympäristöystävällisemmällä vaihtoehdoilla, pitää jäteveden puhdistukseen mikromuovien osalta kiinnittää huomiota niin kauan kuin mikromuoveja on tuotteissa.

Mikromuovien tutkimuksessa haasteita luo partikkelien pieni koko, joka vaikeuttaa käsittelyä, aiheuttaa kontaminaatiovaaraa sekä vaikeuttaa tunnistamista. Mikromuovien karakterisoinnissa voidaan käyttää useita eri menetelmiä, mutta koska mikromuovien tutkiminen on melko uutta, ei niiden tutkimuksessa ole vielä standardimenetelmiä. [6]

Tässä tutkimuksessa perehdytään primääristen mikromuovien karakterisointiin yhdyskuntajätevedestä käyttäen korkean erotuskyvyn nestekromatografiaa (HPLC) (high performance liquid chromatography). Yhdyskuntajätevedellä tarkoitetaan kokonaisuutta, joka muodostuu kotitalouksien jätevesistä ja teollisuuden viemäriin johdetuista jätevesistä sekä mahdollisista hulevesistä, jos niitä johdetaan sekaviemäriin. Työn tarkoituksena on tutkia miten HPLC soveltuu primääristen mikromuovien karakterisointiin ja millaisia kolonneja ja detektoreja karakterisoinnissa käytetään. Samalla tutkitaan myös, mille polymeereille HPLC on soveltuva karakterisoinnissa ja sopiiko se menetelmäksi kaikille yleisimmin kosmetiikassa käytetyille mikromuovien polymeereille. Tutkimus on kirjallisuuskatsaus, jossa lähteenä on käytetty vertaisarvioituja tieteellisiä artikkeleita.

Tutkimus on rajattu karakterisointimenetelmien osalta HPLC:hen ja muoveista primäärisiin mikromuoveihin ja niiden osalta kosmetiikassa käytettyihin mikromuoveihin. Polyeteeni on eniten kosmetiikassa käytetty primäärinen mikromuovi, jonka vuoksi karakterisointia HPLC:n avulla käsitellään enimmäkseen tutkimalla polyeteeniä. Karakterisointi on rajattu yhdyskuntajätevedestä otettuihin näytteisiin.

Luvussa 2 perehdytään tarkemmin muoveihin ja niiden valmistukseen sekä eritoten mikromuoveihin. Muovien käsittelyn jälkeen siirrytään lukuun 3, jossa tutkitaan karakterisointimenetelmiä, joilla mikromuoveja voidaan tunnistaa. Alkuun käsitellään alaluvuissa näytteenottoa ja esikäsitelyä, jonka jälkeen tutustutaan yleisesti kromatografiaan sekä käydään tarkemmin läpi korkean erotuskyvyn nestekromatografia menetelmänä. Alalukuina käsitellään myös tutkimuskysymystä, eli tulkintaa siitä, miten HPLC soveltuu primääristen mikromuovien karakterisointiin ja verrataan sitä muihin käytössä oleviin menetelmiin. Lopuksi luvussa 4 esitetään johtopäätökset.

2. MUOVIT

Muovit ovat synteettisesti pitkistä polymeeriketjuista valmistettuja tuotteita, jotka sisältävät usein myös lisäaineita [7]. Polymeerit koostuvat monomeeriyksiköistä, jotka ovat liittyneet toisiinsa polymerointireaktiolla. Monomeereissä hiilten välillä on yleensä kaksois- tai kolmoissidoksia tai joitakin muita funktionaalisia ryhmiä [7]. Lisäaineiden avulla muoveja voidaan muun muassa stabiloida, pehmentää ja lisätä niiden paloturvallisuutta [8]. Muovit voivat sisältää myös täyteaineita kuten lasia, ligniiniä tai kipsiä. Täyteaineet ovat melko reagoimattomia kiinteitä aineita, jotka lisäävät esimerkiksi muovin lujuutta, kestävyyttä tai työstöominaisuuksia. [7] Palonestoaineina muoveissa käytetään kloorattuja parafiineja, pehmittiminä käytetään fosfaatteja, polyestereitä ja ftalaatteja ja stabilisoivina aineina käytetään halogeeneja ja antioksidanteja. [8]

Muoveja valmistetaan pääasiassa petrokemiallisesti öljystä tai hyödyntämällä uusiutuvia luonnonvaroja, jolloin raaka-aineena voidaan käyttää esimerkiksi tärkkelystä. [9] Muovien valmistuksessa voidaan käyttää valamista, ekstruusiota ja puristusmuovausta, joiden avulla valmistaja muokkaa polymeereistä muodostetuista muovigranulaateista eli -rakeista halutunlaisia tuotetta [7]. Valmistuksen yhteydessä muoveihin voi jäädä jännitteitä, jotka voivat vaikuttaa heikentävästi muovimateriaalin kestävyYTEEN [10].

Yleisimpiä muovilaatuja ovat polyeteeni (PE), polypropeeni (PP), poly(vinyylifloridi) (PVC), poly(eteenitereftalaatti) (PET), polystyreeni (PS) sekä polyuretaani (PUR). Nämä muovilaadut kattavat yli 80 % muovitarpeesta Euroopassa. [1, s. 6; 5; 11] Taulukossa 1 on esitettyä yleisimmät muovityyppien polymeerit ja niiden toistuvat rakenneyksiköt, pääasialliset käyttötarkoitukset, polymeerien tiheydet ja käytetyimmät liuottimet. Polymeerien tiheys vaikuttaa siihen, missä kohdassa jäteveittä ne sijaitsevat ja sitä kautta näytteenottoon. Polymeerien liuottimia käytetään näytteiden esikäsittelyssä.

Taulukko 1. Yleisimmät muovityypit ja niiden kemialliset rakenteet, pääasialliset käyttötarkoitukset, tiheydet sekä liukoisuudet primäärisissä mikromuoveissa käytettyjen polymeerien osalta. Muokattu lähteestä [12].

Muovityyppi	Toistuva rakenneyksikkö	Pääasiallinen käyttötarkoitus	Tiheys (g/cm^3)	Liuottimia
Polyeteeni (PE)		Muovipussit, muovirasiat	0,91–0,95	bentseeni, asetoni, 1,2,4-triklooribentseeni + butyylihydroksitolueeni [13]
Polypropeeni (PP)		Pakkaaminen, pullonkorkit	0,90–0,92	1,2,3-triklooribentseeni + butyylihydroksitolueeni [13]
Polystyreeni (PS)		Kylmälaukut, kellukkeet, kertakäyttöastiat	0,01–1,09	etyyliasetaatti, tolueni, kloroformi, tetrahydrofuraani [13], sykloheksaani [14]
Poly(vinyylikloridi) (PVC)		Muovikalvot, putket	1,16–1,30	tetrahydrofuraani, syklopentanolli [13]
Polyamidi (PA)		Kalaverkot, köydet	1,13–1,15	heksafluori-isopropanoli + natriumtrifluoriasetaatti [13]
Poly(eteenitereftalaatti) (PET)		Muovipullot, pakkaaminen	1,34–1,39	o-kloorifenoli, tetrakloorifenoli [13]

Synteettisten polymeerien valmistuksessa on kaksi päämekanismia, jotka ovat ketjupolymeraatio ja askelpolymeraatio. Ketjupolymeraatiossa alkuperäisen olefiinin kaksoissidos rikotaan additioreaktiolla, ja muodostuu uusia hiili-hiili-sidoksia eli hiiliketjupolymeerejä. Tällä tavalla valmistetaan esimerkiksi polyolefiineja, kuten polyeteeniä ja polypropeenia. Polyeteenin ja polypropeenin valmistuksessa polymeroinnissa käytetään kaasufaasiprosessia, jossa koordinaatiopolymeraatio etenee ketjupolymeraatiomekanismilla. Askelpolymeraatiossa funktionaaliset ryhmät reagoivat keskenään, kuten esimerkiksi karboksyylihapon ja alkoholin tai amiinin välisessä kondensaatioreaktiossa, jolloin eliminoituu vettä ja muodostuu polyesteri tai polyamidi. Polyuretaanin valmistuksessa käytetään askelpolymeraatiota. [9; 15, s. 12]

Muovipalasia voidaan määritellä ja kuvailla useilla eri tavoilla, joita ovat alkuperä, koko, muoto, väri, polymeeri ja alkuperäinen käyttötarkoitus. Eniten luokittelussa käytetään kuitenkin kokoa, jolloin muovipartikkelit voidaan jakaa nano- ($< 1 \mu\text{m}$), mikro- ($1 \mu\text{m} - 5 \text{mm}$) ja makromuoveihin ($> 5 \text{mm}$). Pienempiä kuin muutaman mikrometrin kokoisia partikkeleita halkaisijaltaan on erotettu ympäristöstä otetusta näytteestä ja kyetty tunnistamaan muoviksi spektroskopian avulla. Pienempiä muovipalasia, nanopartikkeleita, on myös ympäristössä, mutta niiden erottelu ja luokittelu monimutkaisista ympäristön seoksista on vielä kehitysvaiheessa. [1, s. 60 - 62]

Muovien toinen yleisesti käytetty jaottelutapa on luokitella ne kertamuoveiksi ja kestumuoveiksi. Polymeeriketju, joka koostuu monomeereistä, voi olla suora tai haaroittunut ja ketjun rakenne määrää muovin ominaisuuksia kuten tiheyden. Mitä suurempi ketju on, sitä paremmin se kykenee pakkautumaan tiiviisti ja on siksi tiheämpää. Kestumuovit koostuvat pitkistä hiiliketjuista, jotka voivat sisältää haarautuneisuutta ja substituentteina erilaisia kemiallisia ryhmiä sekä rengasrakenteita. [16] Kestumuoveja voidaan muovata uudelleen lämmön ja paineen avulla, koska niiden polymeeriketjujen välillä on vain sähköstaattisia vuorovaikutuksia kovalenttisten sidosten sijaan. Kertamuovien kovalenttisten sidosten muodostama verkkomainen rakenne ei rikkoudu helposti lämmittäessä eikä kuumentamalla. Verkkomaisen rakenteen vuoksi kertamuovien rakenne on hauras. Haurauden vuoksi rakenne saattaa murtua. [9]

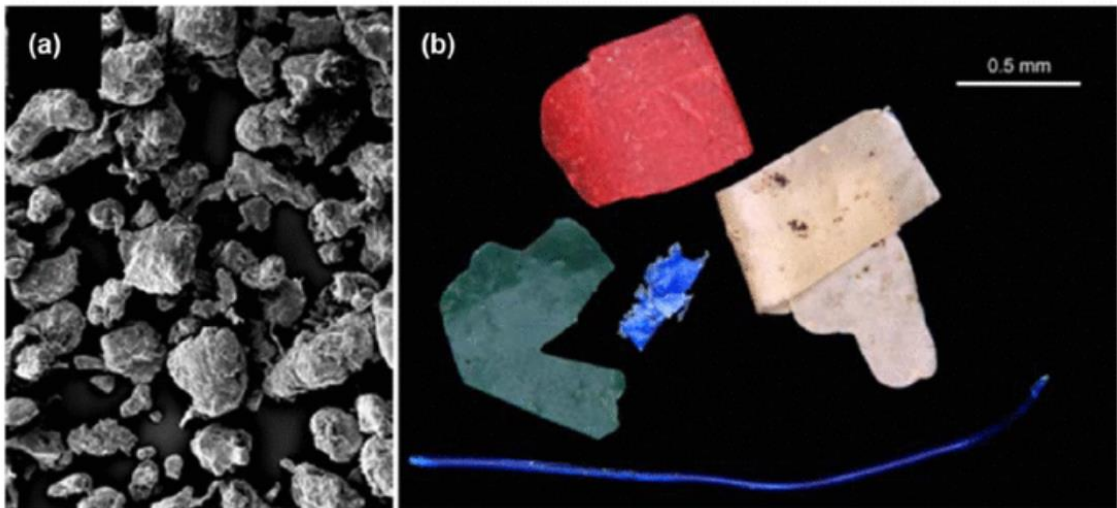
Muovien pääkäyttökohde on pakkausmateriaalit, joiden käyttö rajoittuu usein vain yhteen kertaan. Nämä tuotteet on usein valmistettu kestumuoveista kuten PE:stä tai PET:istä. [1, s. 8]

2.1 Mikromuovit

Mikromuovit voidaan jakaa primäärisiin ja sekundäärisiin mikromuoveihin, ja niiden erottelu perustuu partikkeleiden valmistusprosessiin. Muovipartikkelit, jotka on alun perin valmistettu mikropartikkelien kokoisiksi, luokitellaan primäärisiksi mikromuoveiksi ja muovipartikkelit, jotka ovat peräisin suurempien muovikappaleiden hajoamisesta, ovat sekundäärisiä. Primäärisiä mikromuoveja käytetään paljon kosmetiikassa sekä puhdistusaineissa hankaavan vaikutuksen aikaansaamiseksi. [1, s. 63 - 64] Mikromuovien fysikaaliskemialliset ominaisuudet, kuten koko, tiheys, väri ja kemiallinen koostumus, vaikuttavat pääasiallisesti niiden kertymiseen eliöissä [5].

Primääriset ja sekundääriset mikromuovit ovat rakenteeltaan erilaisia. Kuvassa 1 on esitettyä visuaalisesti huomattava rakenteellinen ero a) primääriseen ja b)

sekundäärisen mikromuovien välillä. Primääriset mikromuovit, kuten kuvan a) polyeteenipartikkelit, ovat melko symmetrisiä toisin kuin kuvan b) sekundääriset mikromuovit, joiden koko, väri, muoto ja koostumus riippuvat siitä, mistä muovikappaleesta ne ovat peräisin.



Kuva 1. Mikromuoveja: (a) Polyeteenipartikkeleita eristettynä kosmetiikkatuotteesta. (b) Mikromuovikappaleita kerättyä veden rannasta Plymouthin läheltä Englannista. (Molemmat kuvat samassa mittasuhteessa) Lupa kuvan käyttöön lähteestä [1, s. 63] Copyright 2020 Open Government Licence for Public Sector Information.

Suurin osa mikromuoveista päätyy ympäristöön pirstaloituneiden muovipartikkeleiden hajotessa yhä pienemmiksi sekundäärisiksi muovipartikkeleiksi. Muovit ovat herkkiä UV-säteilylle ja korkeille lämpötiloille, jotka voivat aiheuttaa kemiallisia muutoksia ja tehdä muoveista hauraita ja siten herkempiä hajoamiselle [4]. Myös fysikaaliset olosuhteet kuten hankaus, aaltoliike sekä pyörreliike altistavat muoveja rakenteen hajoamiselle [1, s. 64; 8].

2.2 Primääriset mikromuovit

Primääristen mikromuovipartikkelien valmistuksessa käytetään ekstruusiota tai murskaamista. Lisäksi muovipartikkeleita voi jäädä yli suurempien tuotteiden tuotannosta raaka-aineena [1, s. 5]. Primäärisiä mikromuoveja käytetään teollisuuden hankausaineissa, hankaavissa siivousaineissa, porausnesteisissä ja kosmetiikkatuotteissa, kuten kuorinta-aineissa ja hammastahnoissa [8]. Verrattuna sekundäärisiin mikromuoveihin primääristen mikromuovien tuotantovolyymiä voidaan

helpommin pienentää ympäristösyistä, koska niiden käyttöaste ja tuotanto on pienempää. Nykyään, kun mikromuoveja on alettu tutkia enemmän, tutkimuksissa havaittujen ympäristövaikutuksien takia niiden käyttöä on muun muassa kosmetiikassa ryhdytty sääntelemään. Sääntelyä toteutetaan tuotteiden mikromuovin käyttörajoituksilla ja -kielloilla. [1, s. 176] Cosmetics Europe antoi kosmetiikkateollisuudelle suosituksen vuonna 2015 luopua kosmetiikan mikromuovihelmien käytöstä kuorivissa ja pesevissä tuotteissa vuoteen 2020 mennessä. Käyttö onkin vähentynyt vuosina 2012-2017 97,6 % verrattuna aiempaan. Myös EU:ssa suunnitellaan kokonaan kiellettäväksi mikromuovin käyttö kosmetiikkatuotteissa lähitulevaisuudessa. [17]

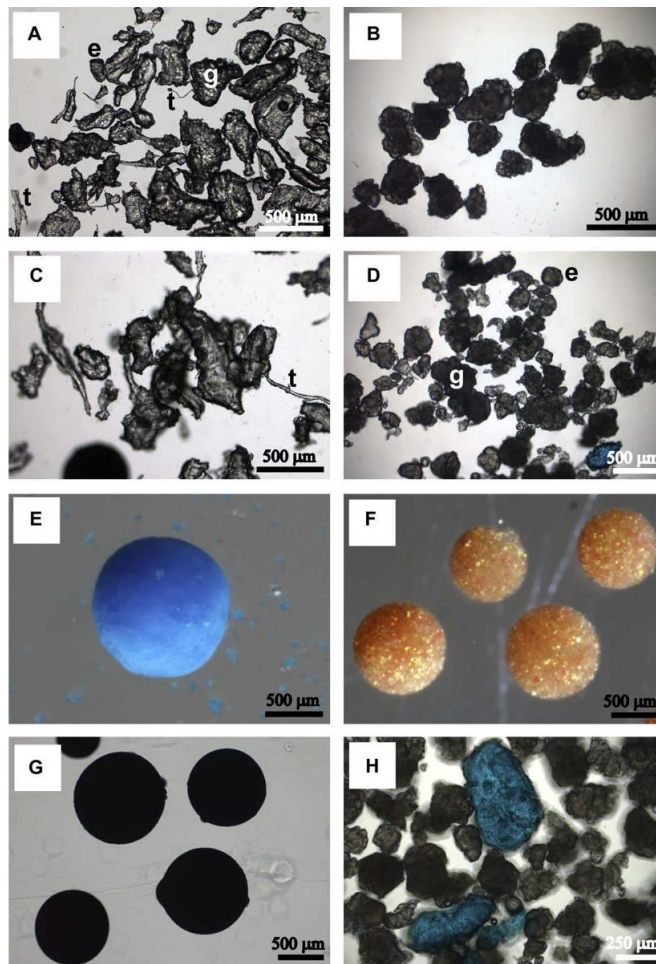
Polymeerien valinta primääristen mikromuovien valmistuksessa riippuu käyttötarkoituksesta ja siitä, minkälaisia ominaisuuksia kyseisille partikkeleille halutaan. Primäärisissä mikromuoveissa käytetään eniten polyeteeniä. Muita yleisiä ovat lisäksi polypropeeni, polyeteenitereftalaatti sekä polyamidi (vanha ”nylon”). [11, 18] Synteettisissä tekstiileissä käytettyjä polymeerejä ovat pääasiallisesti polyesteri ja polyamidi, kun taas polyeteeniä ja polypropeenia käytetään mikrojyvinä ja glitterinä kosmetiikassa. Teollisuuden hankausaineena hiekkapuhalluksessa käytetyt mikromuovijyvät ovat polymetyylimetakrylaattia (akryyliä) tai polyesteriä. [4]

2.3 Primääriset mikromuovit kosmetiikassa

Kosmetiikassa käytettävät primääriset mikromuovit ovat pääosin kuorinta-aineissa käytettäviä muovisia mikrojyviä. Myös luomiväreissä, ripsiväreissä ja hiusgeelissä käytetään muovia eri muodoissa pieninä partikkeleina. Kun mikrojyvät ovat täyttäneet tarkoituksensa, ne kulkeutuvat talouksista jäteveteen ja päätyvät osittain ympäristöön vedenpuhdistamolta. Yksi käyttökerta kuorintavoidetta sisältää arviolta 94 500 mikrojyvää. [1, s. 64]

Suurin osa kasvojen kuorinta-aineista sisältää polyeteenimikromuoveja [2]. Muita käytettyjä muoveja ovat polypropeeni, polystyreeni, polyeteenitereftalaatti sekä polylaktidi [18]. Jätevedenpuhdistamoissa saadaan puhdistettua jopa 99 % yhdyskuntajäteveden sisältämästä muovista käyttämällä tavanomaista puhdistusmenetelmää, joka sisältää primääri- ja sekundääriset puhdistusprosessit [19]. Osa mikromuovista kuitenkin päätyy ympäristöön, etenkin vesistöihin, joissa se hajoaa UV-valon vaikutuksesta ja absorboi hydrofobisia materiaaleja kuten PCB:tä. Mikromuovit hajoavat edelleen pienemmiksi ja haitallisemmiksi partikkeleiksi. [2]

Kuvassa 2 on neljästä eri kuorinta-aineesta otettuja näytteitä, jotka sisältävät polyeteenistä valmistettuja primäärisiä mikromuovipartikkeleita. Eri kuorinta-aineiden mikromuovipartikkelit omaavat erilaisia rakenteita. Kuvan kuorinta-aineet on valmistettu Saksassa, Koreassa, Ranskassa ja Thaimaassa, joten käytetyn mikromuovin valmistustapa oletettavasti vaihtelee tuotteiden välillä ja siksi myös voidaan huomata selkeä rakenteellinen ero tutkittavien polyeteenipartikkeleiden välillä. Kuvan 2 kohdat E-H vastaavat samassa järjestyksessä kuvia A-D värjättyinä.



Kuva 2. Mikroskoopilla otettuja kuvia primäärisistä polyeteenimikromuoveista neljän eri kuorinta-ainevalmistajan tuotteista A-D. Kuvat E-H ovat värjättyjä mikromuovipartikkeleita näytteistä A-D. Lupa kuvan käyttöön Copyright © 2009 Elsevier Ltd lähteestä [2].

Tuote A sisältää useita epäsäännöllisiä muotoja, jotka sisältävät rakeisia osia (g), ellipsejä (e) sekä rihmoja (t). Tuotteessa B polyeteenipartikkelit ovat muodoltaan

yhtenäisiä ja rakeisia. Tuotteen C polyeteenipartikkelit sisältävät useita epäsäännöllisiä muotoja, jotka ovat pyöreitä tai rihmamaisia (t). Tuotteen D polyeteenimikromuovit ovat muodoltaan säännöllisiä sekä ellipsisiä (e) tai lievästi rakeisia (g). Kohdassa E on siniseksi värjättyjä partikkeleita tuotteesta A ja se sisältää maitohappoja. Kohdassa F on oranssiksi värjättyä materiaalia tuotteesta B. Kohdassa G on siniseksi värjättyä materiaalia tuotteesta C ja kohdassa H on siniseksi värjättyä materiaalia tuotteesta D. [2]

Kaikki kuvan 2 tutkitut partikkelit on skaalattu 500 μm kokoluokkaan paitsi kuva H, joka on skaalattu 250 μm :iin [2]. Partikkelien koko riippuu käyttötarkoituksesta, esimerkiksi onko kyse vartalon vai kasvojen kuorinta-aineesta. Kasvojen kuorinta-aineiden partikkelikoko on yleensä pienempää. Partikkelikoko vaikuttaa näytteenottoon jätevedestä ja karakterisoinnissa käytettäviin menetelmiin.

3. MIKROMUOVIN KARAKTERISOINTI JÄTEVEDESTÄ

Pienin tunnistettava mikromuovi ympäristöstä otetusta näytteestä on kooltaan 1 µm tämänhetkisinä karakterisointimenetelmillä ja se on tunnistettu Raman-spektroskopian avulla [4]. Karakterisointimenetelmät eroavat mahdollisten tutkittavien näytteiden osalta. Tutkittavien näytteiden partikkelikoko vaikuttaa menetelmän valinnan lisäksi myös kontaminaatoriskiiin. Mitä pienempiä partikkeleita tutkitaan, sen suurempi kontaminaatoriski on, koska useat tutkimuslaitteet sisältävät itsessään muovia ja voivat siten vaikuttaa tutkimustuloksiin. Analyttiset menetelmät mikromuoveille ympäristön näytteestä sisältävät uuttamisen, eristämisen, puhdistamisen, tunnistamisen ja luokittelamisen. [20] Analysointivälineet sekä käytetty menetelmä määrittelevät minkälaisia ja minkä kokoisia partikkeleita kyseisellä menetelmällä kyetään tutkimaan [4].

Visuaalista erottelua paljaalla silmällä käytetään suurempien, (1 - 5) mm kokoisten, mikromuovien tunnistamisessa. Tutkittavien partikkelien laaja kokovariaatio ja erilaiset muodot, värit ja polymeerityypit ovat estäneet yhtenäisen määrittelytavan kehittämistä. [20] Myös tiheyttä voidaan käyttää mikromuovien tunnistamisessa, koska eri polymeerien tiheydet (Taulukko 1) eroavat toisistaan. Tiheyden käyttäminen tunnistuksessa on nopeaa ja halpaa eikä vaadi kuin muutaman laboratoriolaitteen [8].

Mikromuovien karakterisoimiseen voidaan käyttää monia menetelmiä. Menetelmän valintaan vaikuttavat tutkittavien partikkelien koko sekä muut ominaisuudet. Yleisimmät mikromuovien karakterisoinnissa käytetyt menetelmät ovat Fourier-muunnos infrapunaspektroskopia (FTIR) (Fourier transform infrared), Raman-spektroskopia, pyyhkäisyelektronimikroskopia (SEM) (Scanning electron microscope), pyrolyysi-kaasukromatografia-massaspektrometri (pyr-GC/MS) (Pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry). Näihin menetelmiin palataan tarkemmin alaluvun 3.6 taulukossa 3, kun vertaillaan HPLC:tä muihin yleisesti käytettyihin menetelmiin.

3.1 Näytteenotto

Näytteiden otto riippuu tutkittavien muovipartikkelien koosta sekä polymeerin tiheydestä. Polymeerien tiheys (Taulukko 1) vaikuttaa siihen, missä osassa jätevettä ne sijaitsevat ja siten siihen, mistä kohtaa jätevettä näyte tulee ottaa. Tiheet polymeerit kuten polyamidi

painuvat pohjalla olevaan lietteeseen ja veden tiheyttä pienemmän tiheyden omaavat polymeerit kuten polyeteeni jäävät pinnan tuntumaan. [4]

Primääristen mikromuovien pienen koon vuoksi niiden poistaminen jätevedestä siivilöinnin avulla on epätodennäköistä. Siivilä on jätevedenpuhdistuksessa yleensä ruostumattomasta teräksestä valmistettu tietynkokoisia silmäaukkoja sisältävä verkko, johon silmäkoko suuremmat partikkelit jäävät kiinni. Välpät jätevedenpuhdistuksen mekaanisessa puhdistusvaiheessa pystyvät seulomaan yli 6 mm kokoiset partikkelit ja tiheimmät mikrosiivilät kykenevät seulomaan jopa 1 µm kokoiset partikkelit. [4, 21] Riippuen tutkittavan näytteen koosta todetaan, että tarvitaanko vielä esikäsitteilyä, jossa voidaan erottaa vielä partikkelikokoja.

Pienempiä näytteitä kuitenkin saadaan otettua karkeasti puhdistetusta jätevedestä erilaisten suodattimien avulla. Suodatusteknologioita ovat muun muassa membraanibioreaktori (huokoskoko 0,4 µm), mikrosiiviläkiekkosuodatin (huokoskoko 10 µm tai 20 µm) ja hiekkasuodatin. [19] Käytettävä teknologia valitaan tutkittavien partikkelien koon mukaan. Lisäksi Talvitien ym. (2018) mikromuovitutkimuksen näytteenotto tehtiin jaottelumenetelmällä, jossa putkiliittimen kumitiivisteen väliin asetettiin 300 µm, 100 µm ja 20 µm silmäkoon polyamidihaavikankaiset suodattimet ja suodattimiin pumpattiin jätevettä. Näytemäärät vaihtelivat suodatinkoon mukaan. Näytteet säilöttiin valolta suojassa ja tislattua vedellä kosteutettuina eristysvaiheeseen asti. [22]

3.2 Esikäsitteily

Mikromuovien osuus yhdyskuntajätevedestä otetuista näytematriiseista on alle 2 % eli suhteellisen pieni. Varsinkin kun tutkittava partikkelikoko pienenee (< 100 µm), täytyy näytteestä poistaa mahdollisimman tarkasti kaikki muu aines ja saada muovipartikkelit eristettyä ennen materiaalianalyysin suorittamista. [23] Tutkittava yhdiste täytyy myös konsentroida detektorin yläpuolelle [24]. Esimerkiksi Millipore-suodatusjärjestelmällä vettä poistetaan näytteestä teräsuodattimen avulla (silmäkoko 300, 100, 20 µm), jolloin tutkittavan näytteen konsentraatio kasvaa näytetilavuudessa. Suodokset huuhdellaan tislattua vedellä. [23, 24]

Kosmetiikkatuotteesta (hammastahnasta, kasvojen kuorinta-aineista ja käsisäippuasta) uutetaan erilleen tutkittavat mikromuovipartikkelit. Näyte sekoitetaan suureen tilavuuteen tislattua vettä ja kuumennetaan sekoittaen, kunnes liuos on homogeeninen tutkittavan näytteen suhteen. Mikromuovijyvät erotetaan kaatamalla liuos seulan läpi, joka sisältää

pinossa usean eri läpimenoaukon (850 µm, 425 µm, 150 µm, 75 µm) omaavia seuloja ja huuhdellaan ionisoimattomalla vedellä, metanolilla sekä asetonilla ja jätetään kuivumaan. Seulat valitaan tutkittavan mikromuovin koon mukaan. [25]

Yksi tapa eristää mikromuoveja jätevedestä on käyttää entsyymaattista eristysmenetelmää, joka on eritoten kehitetty muovin eristämiseen erilaisista näytematriiseista. Entsyymaattinen eristysmenetelmä on hellävaraisempi muoveille kuin vahvat hapot tai emäkset. Menetelmän avulla poistetaan orgaaninen aines näytteestä käyttämällä entsyymejä kuten lipaasia ja proteaasia, hapettamalla 30 % vetyperoksidilla ja tiheyserottelemalla hiekan avulla. Karakterisointia varten puhdistetut ja etanoliliuoksessa säilötyt näytteet suodatetaan vielä alumiinioksidisuodattimille (0,2 µm). [23]

HPLC:tä varten polymeerien täytyy olla täysin liuenneina [28]. Liuotin valitaan tutkittavan polymeerin mukaan. 1,2,4-triklooribentseenissä (TCB) on polyeteenille eniten käytetty liuotin [26]. Yleisimmille muoveissa käytetyille polymeereille on esitetty käytetyimpiä liuottimia taulukossa 1. Prabhun ja Brullin tutkimuksessa (2015) analysoitiin polyeteeninäytettä (suuritiheyksinen polyeteeni (PE-HD) ja pienitiheyksinen polyeteeni (PE-LD)). Moolimassan keskiarvo ja dispersiteetti-indeksi määritettiin käyttämällä HPLC:ssä korkeaa lämpötilaa ja laitteiston kalibroinnissa käytettiin lineaarista polyeteeniä. Näyteliuokset esikäsiteltiin kromatografisia mittauksia varten liuottamalla näytteitä 160 °C:ssa 1-dekanolissa, jonka konsentraatio oli noin 1 mg/ml. Dekanoli toimii polymeerien adsorptioherkkyttä lisäävänä liuoksena, kun polyeteenin läpäisy on suurempaa kuin liuottimien. Polymeerejä liuotettiin vielä (1 mg/ml) TCB:ssä kolme tuntia 150 °C:ssä, jolloin ne liukenivat kokonaan. [26, 27]

3.3 Kromatografia ja nestekromatografia

Kromatografia on yleisnimitys usealle samankaltaiselle erotusmenetelmälle, joilla saadaan erotettua erilaisia molekulaarisia yhdisteitä seoksesta. Kromatografian nimi tulee kreikan kielen sanoista (chroma) ja (graphein), joiden suora käänös on "colour" ja "to write". [29] Erottelussa käytettävä näyte koostuu analyytistä eli tutkittavista molekulaarisista yhdisteistä sekä matriisista, joka sisältää näytteen muut komponentit [30].

Erotusmenetelmän perustana kaikille kromatografioille on, että tutkittava seos joutuu kosketuksiin ja vuorovaikutukseen kahden faasin kanssa, joihin tutkittavan seoksen komponentit jakautuvat. Tämä on laajasti käytössä oleva analysointimenetelmä, joka

perustuu näytteessä olevien komponenttien erilaisiin vuorovaikutuksiin kahden eri faasin välillä. Faasit ovat nimeltään stationäärifaasi eli paikallaan pysyvä faasi ja liikkuva faasi eli eluentti. Käytetyt faasit eivät reagoi keskenään. [29] Usein näytettä täytyy esikäsitellä, jotta analyytistä eli tutkittavasta yhdisteestä saadaan vastaanottavainen kromatografista erotusta varten sekä saadaan kromatogrammista ylimääräiset piikit pois, jotta tutkittava näyte ei peity.

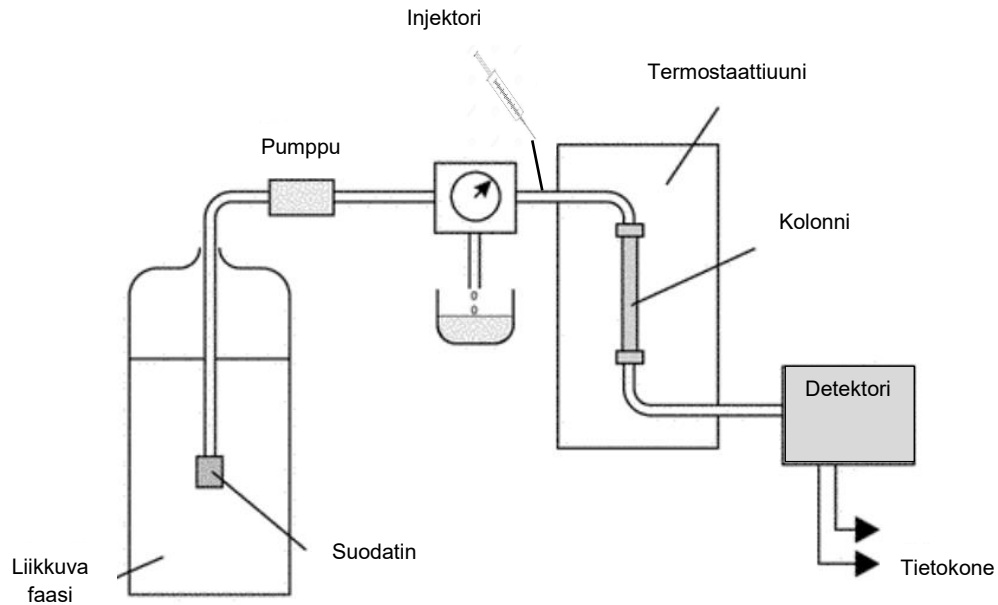
HPLC:ssä erotusprosessi perustuu tasapainoon, joka on saavutettu stationäärisen ja liikkuvan faasin molekyylien välillä. Molekyylien konsentraatioero faasien välillä kertoo, kumpaan faasiin tutkittavan yhdisteen molekyylit ovat lienneet. Kun tutkittavan aineen konsentraatio on korkeampi liikkuvassa faasissa kuin stationäärifaasissa, tutkittava yhdiste eluoituu nopeammin kolonnin läpi. Jos taas tutkittavan aineen konsentraatio on korkeampi stationäärifaasissa, eluoituminen tapahtuu hitaammin. [30]

Käytetty liikkuva faasi tekee eron eri kromatografioiden välille. Kun liikkuva faasi on kaasu, kyseessä on kaasukromatografia (GC) ja kun liikkuva faasi on nestemäinen, kutsutaan käytettävää kromatografiaa nestekromatografiaksi (LC). [30]

3.4 Korkean erotuskyvyn nestekromatografia

Nestekromatografia voidaan menetelmänä luokitella eri ryhmiin sen mukaan, mitä stationäärifaasia ja erotusmekanismia on käytetty. Jaottelussa käytetään usein neste-neste, kiinteä-neste, ioninvaihto- ja kokoekskluusiokromatografiaa [31, s. 747]. Ioninvaihtokromatografiassa stationäärifaasina käytetään ioninvaihtajaa ja kokoekskluusiokromatografiassa komponentit erottuvat molekyylikokojen perusteella [6; 31, s. 747].

HPLC laitteistot voivat erota toisistaan riippuen tutkittavasta näytteestä ja siten valituista kolonneista ja detektoreista, mutta laitteiston yleisrakenne on samanlainen (Kuva 3).



Kuva 3. Yksinkertaistettu HPLC-laitteisto, joka sisältää liikkuvan faasin, suodattimen, pumpun, termostaattiuunin, injektorin, kolonnin, detektorin ja tietokoneen (Muokattu lähteestä [29]).

Kolonni on pystysuora putki, jossa kahden käytetyn fluidin virtaus tapahtuu. Korkean erotuskyvyn nestekromatografiassa (HPLC) stationäärifaasi koostuu huokoisesta materiaalista, jonka partikkelikoko on (3 - 10) μm (analyttisessä erotuksessa). Piidioksidi on useimmiten käytetty adsorbentti, koska sen adsorptio-ominaisuudet ovat hyvät molekyyleille, joilla on funktionaalisia ryhmiä tai kaksoissidoksia. [8,14]

Kolonnin faaseista vähintään toinen on nestefaasissa ja toinen neste- tai kaasufaasissa. Kolonnit on yleensä pakattu ruostumattomasta teräksestä valmistettuun putkeen, jotta se kestäisi korkeaa painetta. [29] Nestemäinen liikkuva faasi liikkuu kolonnin läpi pumpun avustuksella korkeassa paineessa.

Näyte syötetään liikkuvan faasin eli ajoliuoksen mukana kolonniin injektorin kautta, jossa neste kulkeutuu stationäärifaasin eli kolonnimateriaalin läpi. Kolonneja on erilaisia, joista yleisimpiä ovat käänteisfaasikolonni (RP) (reverse phase column), normaalifaasikolonni (NP) (normal phase column) ja kokoeksklusiokolonni (SEC) (size exclusion chromatography column). [27] RP-kolonissa on silikamateriaalin päälle kiinnitettyä hiiliketjuja, jolloin ajoliuoksessa kulkeutuvan näytteen poolittomat yhdisteet vuorovaikuttavat hiiliketjujen kanssa poolisia yhdisteitä enemmän ja niiden kulku kolonnin läpi hidastuu. Kolonnin suorituskykyyn voidaan vaikuttaa säätämällä sen

pituutta, materiaalia, materiaalin partikkelikokoa ja eluentin koostumusta, gradienttia, virtausnopeutta ja lämpötilaa. Myös esikolonnit ja suodattimet vaikuttavat suorituskykyyn varmistamalla, että näyte on puhdas. Kuvan 3 merkitty suodatin liikkuvassa faasissa estää, ettei eluentin mukana tule partikkeleita näytteeseen. [32]

Karakterisoinnissa on käytössä yleensä robotiikalla toimiva näytteenkäsittelylaite näytteiden injektointiin. Injektointi voidaan tehdä myös manuaalisesti. Eluaatti suodatetaan filttarin läpi, joka sijaitsee yleensä kolonnin edessä. Tämä filttari ei enää itsessään suodata partikkeleita, vaan suojelee kolonnia tukkeutumiselta. [26] Kolonnin tukkeutuminen vaikuttaa retentioaikaan ja siten voi aiheuttaa virheellisiä tuloksia [24].

Matriisista eristetty yhdiste analysoidaan HPLC:ssä, jossa tutkittavan yhdisteen vaste mitataan ja mahdollisesti tunnistetaan yhden tai useamman detektorin avulla. Eluoituneet molekyylit eroavat liikkuvan faasin komponenteista niiden fysikaaliskemiallisilta ominaisuuksiltaan, joita ovat esimerkiksi UV-absorptiokyky, fluoresointi, taitekerroin ja moolimassa [30]. Nämä fysikaaliskemialliset ominaisuudet tekevät molekyyleistä tunnistettavia detektoreilla, joista osan avulla saadaan tietoa esimerkiksi näytteen spektristä [24]. Käytettyjen detektorien herkkyys eli tarkkuus, jolla se kykenee havaitsemaan pieniäkin ainemääriä, ja selektiivisyys eli valikoivuus sekä vasteen stabiilisuus ovat olennaisia HPLC analyysin toimivuudelle. [30] Molekyylien havaitsemiseen käytetään yleisimmin massaspektrometriä, UV-Vis-detektoria (ultraviolet-visible), infrapunadetektoria, fluoresenssidetektoria ja johtokykydetektoria [29]. UV-Vis-detektorin tunnistuskyky perustuu siihen, miten tutkittavat yhdisteet absorboivat UV-säteilyä [24]. Molekyylien havaitsemisessa käytetään lopulta sähkösignaalia ja signaalin graafista ulostulomuotoa ajan funktiona kutsutaan kromatogrammiksi. Tutkittavat komponentit eluoituvat eri aikaan kolonnista ja ne esitetään visuaalisesti piikkeinä kromatogrammissa. Piikin korkeus ja pinta-ala kuvastavat löydetyin yhdisteen määrää. [27, 30]

3.5 Korkean erotuskyvyn nestekromatografia mikromuovien karakterisoinnissa

Korkean erotuskyvyn nestekromatografian soveltuvuudesta primääristen mikromuovien karakterisointiin käsitellään tässä kappaleessa keskittyen polyeteeniin, koska polyeteeni on eniten käytetty muovilaatu primäärisissä mikromuoveissa. Muita tarkasteltavia polymeerejä ovat Taulukossa 1 esitellyt polymeerit.

HPLC:n avulla voidaan parhaiten tunnistaa polymeerit, joissa on funktionaalisia ryhmiä. Myös molekyylikoon kasvaminen lisää menetelmän tunnistuskykyä. [33, s. 120] Taulukossa 1 esiteltiin yleisimpiä muoveja, joista löytyy funktionaalisina ryhminä esimerkiksi aromaattisia yhdisteitä (PS), estereitä (PET) ja amideja (PA). Tutkimuksessa tulee huomioida, millaisia funktionaalisia ryhmiä polymeereissä on ja kuinka paljon niitä on.

Korkean lämpötilan korkean suorituskyvyn nestekromatografia (HT-HPLC) (high-temperature high performance liquid chromatography) on noussut uudeksi kopolymeerien erottelumekanismiksi. Kopolymeerit ovat polymeerejä, jotka muodostuvat kahdesta tai useammasta monomeeristä. Lämpötila HT-HPLC:ssä on yli 120 °C. Erottelu perustuu reversiibeliin adsorptioon. Menetelmällä pystytään analysoimaan kopolymeerien heterogeenista koostumusta. Tunnistuksessa vaadittava partikkelien tiheys on 0,038-0,098 µg/l. [26] Polymeerin adsorptioon vaikuttaa hyvin paljon se, kuinka aktiivinen silikageelikolonne on [14]. Huokoisessa silikassa pii- ja happiatomit muodostavat verkon, jonka pinnalla on silanoliryhmiä eli Si-OH-ryhmiä. Silanoliryhmät, jotka ovat polaarisia sekä reaktiivisia, tekevät silikasta aktiivisen. [29] Pienet ja tiheet huokokset saavat aikaan aktiivisemmän reaktion kuin suurten huokosten silikageeli. Polymeerien adsorptioherkkyyteen vaikuttaa mobiilifaasin koostumus. [14]

Kolonneista SEC-kolonne on laajasti käytetty polymeerien analysoinnissa, etenkin polyeteenin ja polypropeenin kohdalla. SEC-kolonne erottaa tutkittavat näytekomponentit niiden koon perusteella. Polymeerejä analysoitaessa käytössä on yleensä useampi kolonne, jotka tehostavat tunnistuskykyä. Kromatografiaa, jossa käytetään kahta erilaista kolonna peräkkäin, kutsutaan 2D-kromatografiaksi (2 dimensional). [34; 36, s. 119] Polymeereille toimii yleiskolonnina myös käänteisfaasikolonne. Käänteisfaasikolonnilla on tehokas erottelukyky ja herkkyys, jotka mahdollistavat nopean ajon HPLC:ssä [28]. Polyeteeniä tutkittaessa HPLC:llä kolonnimateriaali on usein grafiitti ja kolonnina käytetään SEC-kolonna. Kolonnin läpipäässyt aines kulkeutuu detektoriin, joka havaitsee näytteen sisällön ja havainnoinnin vaste näkyy tietokoneella. [26]

Polymeerien tunnistuksessa käytetään massaspektrometrin lisäksi UV-Vis-detektoria. Jotta UV-Vis-detektoria voidaan käyttää, on analyytillä oltava kromoforeja eli molekyyllisiä osia, jotka absorboivat valoa näkyvän valon tai UV-säteilyn aallonpituuksilla. Kromoforeja ovat esimerkiksi kaksoissidokset ja karbonyyliryhmät, joita löytyy myös polymeereistä, mutta ei polyolefiineistä kuten polyeteenistä ja polypropeenista. [29]

3.6 Tulkinta

Tässä alaluvussa pohditaan HPLC:n ominaisuuksia mikromuovien karakterisoinnissa ja verrataan sitä muihin mikromuovien yleisesti käytettyihin karakterisointimenetelmiin.

Huonona puolena HPLC:ssä on, että näytteen tulee olla nestemäisessä muodossa eli täysin liuenneena. Tässä haasteena on löytää kaikille mikromuoveille sopivia liuottimia (Taulukko 1). Useat mikromuovien polymeerit liukenevat kuitenkin hyvin orgaanisiin liuottimiin kuten tetrahydrofuraaniin (THF). Polyamidit ja polyesterit vaativat vahvan liuottimen kuten heksafluori-2-propanoliin (HFIP), joka on suhteessa melko kallis verrattuna muihin yleisiin liuottimiin ja saattaa siten rajoittaa laajoja tutkimuksia. HFIP saattaa aiheuttaa myös terveysriskejä. [28]

HPLC on menetelmänä luotettava ja suorituskyvyltään hyvä, jonka vuoksi se on laajasti käytössä analysointimenetelmänä ja soveltuisi siltä osin käyttöön myös mikromuovien karakterisointiin. HPLC näyteanalysointi on toimiva mikromuoveille varsinkin, jos tutkittavat partikkelit sisältävät vain yhtä polymeeriä. [28] Tarkkuutensa puolesta HPLC on erittäin toimiva myös pienille partikkeleille. HPLC:llä voidaan esikäsitteilyn kautta tunnistaa kooltaan yli 1 µm kokoisia partikkeleita. Pienemmät partikkelit tukkivat kolonnin suodattimen ja nostavat siten painetta kolonnissa [26]. Tunnistuskyvyltään HPLC toimisi mikromuovien karakterisoinnissa kokoluokan puolesta, koska tätä pienemmät, alle 1 µm, partikkelit luokitellaan nanomuoveiksi. HPLC:n tunnistuskyvyn tarkkuus paranee, kun partikkelikoko kasvaa hieman suuremmaksi. Tunnistuskykyyn vaikuttaa myös käytetty kolonni ja kolonnin huokoskoko, jossa pienemmät huokokset ovat aktiivisempia.

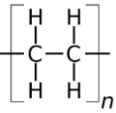

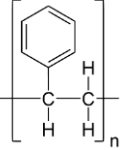
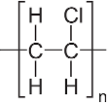
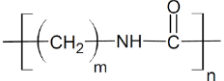
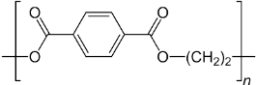
Karakterisointi HPLC:llä edellyttää, että tutkittava näyte liukenee eluenttiin kokonaan ja, että näytteessä on funktionaalisia ryhmiä, jos tutkimus suoritetaan normaalilämpötilassa (n. 60 °C). Polyolefiinit, joissa ei ole funktionaalisia ryhmiä saadaan kuitenkin analysoidua käyttämällä kokoeksluusiokromatografiaa (HT-SEC) (High-temperature size exclusion chromatography), joka on HT-HPLC, jossa käytetään SEC-kolonnia. [33; 36, s.107] Mikromuoveja karakterisoidessa tulee huomioida muovin rakenne ja sitä kautta käytettävät detektorit ja kolonnit, jotta tunnistaminen onnistuu. Tiettyä ominaisuutta mittaavat detektorit, kuten UV-Vis-detektorit, ovat herkimpää, joten ne sopivat polymeerien karakterisointiin hyvin. Detektorina toimivimpia polymeerien osalta ovat UV-Vis-spektrometri ja massaspektrometri. [29]

Funktionaalisten ryhmien edellytys menetelmän toimimiseen tarkoittaa, että polyolefiineja kuten polyeteeniä ja polypropeeniä ei pystytä analysoimaan

normaalilämpötilassa HPLC:n avulla. Tämän takia varsinkin kosmetiikassa käytettävien primääristen mikromuovien karakterisointi ei HPLC:llä ole tehokkain analysointimenetelmä, koska tässä tarkoituksessa eniten käytetty polymeeri on polyeteeni. Muita polymeereja kuin polyolefiineja kuitenkin kyetään tunnistamaan HPLC:llä [28, 35]. HPLC-laitteistoon valittaessa SEC-kolonnei saadaan massaselektiivisellä detektiolla erotettua polyolefiineja fraktioihin [36, s. 75].

Taulukkoon 2 on koottu yleisimmät muovityypit, niiden toistuvat rakenneyksiköt ja tulkinta siitä, onnistuuko kyseisen polymeerin tunnistaminen HPLC:llä. Lisäksi taulukossa on esitetty, mitä detektoria kunkin polymeerin karakterisoinnissa tulee käyttää.

Taulukko 2. Yleisimpien muovityyppien tunnistaminen HPLC:n avulla ja menetelmässä käytettävät detektorit polymeerityypeittäin.

Muovityyppi	Toistuva rakenneyksikkö	Tunnistaminen HPLC:llä	Detektori
Polyeteeni (PE)		Onnistuu, jos käytössä on SEC-kolonne (HT-HPLC) [36, s. 107]	Massaspektrometri [29]
Polypropeeni (PP)		Onnistuu, jos käytössä on SEC-kolonne (HT-HPLC) [36, s. 107]	UV-Vis-spektrometri, massaspektrometri [29]
Polystyreeni (PS)		Onnistuu	UV-Vis-spektrometri, massaspektrometri [29]
Poly(vinyylilkloridi) (PVC)		Onnistuu	UV-Vis-spektrometri, massaspektrometri [29]
Polyamidi (PA)		Onnistuu	UV-Vis-spektrometri, massaspektrometri [29]
Poly(eteenitereftalaatti) (PET)		Onnistuu	UV-Vis-spektrometri, massaspektrometri [29]
Kopolymeerit	Polymeeri, joka sisältää eri monomeereja	Vaatii ainakin yhden monomeerin, jossa on funktionaalisia ryhmiä [36, s. 107].	UV-Vis-spektrometri, massaspektrometri [29; 36, s. 5]

Korkean erotuskyvyn nestekromatografian avulla, käyttäen grafiitista valmistettua stationäärifaasia, saadaan eroteltua PP ja PE kopolymeerejä. Menetelmässä vaaditaan

kuitenkin, että joku monomeeri kopolymeerissä sisältää funktionaalisia ryhmiä. Jos funktionaalisia ryhmiä ei ole, pitää fraktioitujen analyyttien tutkimiseen käyttää jotain toista menetelmää. [36, s. 107]

Detektoreista massaspektrometri ja UV-Vis-spektrometri ovat eniten käytetyt polymeerien analysoinnissa. Massaspektrometri tunnistaa yhdisteet niiden moolimassan avulla, eikä siksi tarvitse funktionaalista ryhmää toimiakseen [30]. UV-Vis-spektrometri tunnistaa tutkittavien yhdisteiden funktionaaliset ryhmät kuten polyamidin karbonyyliryhmän ja polystyreenin aromaattisen renkaan. [35; 36, s. 5]

Taulukossa 3 on esitettyä HPLC:n ja yleisimpien mikromuovien karakterisoinnissa käytettyjen karakterisointimenetelmien toimintaperiaatteet lyhyesti sekä niiden tunnistuskyvyt. Taulukon avulla voidaan verrata HPLC:n toimivuutta muihin käytettyihin menetelmiin pintapuolisesti.

Taulukko 3. HPLC:n ja yleisimpien karakterisointimenetelmien toimintaperiaate ja tunnistuskyky.

Karakterisointimenetelmä	Toimintaperiaate	Tunnistuskkyky
Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC)	Tutkittava näyte liuotetaan liuottimeen ja laitetaan kulkemaan stationääri- ja liikkuvan faasin välillä. Yhdisteet erottuvat erilaisten vuorovaikutuksien muodostuessa stationääri- ja liikkuvan faasin välillä. Detektori havaitsee erottuneet yhdisteet. Tunnistaminen retentioajan perusteella.	Polymeereille, joissa on funktionaalisia ryhmiä [33, s. 120]. Partikkeleille, jotka > 1 µm [30].
Fourier-muunnos infrapunaspektroskopia (FTIR)	Tutkittava aine tunnistetaan spektrin avulla, joka muodostuu, kun mitataan infrapunasäteilyn absorptiota näytteessä ja käytetään Fourier-muunnosta. [20]	Muovin tunnistaminen, kun partikkelikoko > 20 µm [25]. Pienemmille kuin 100 µm partikkeleille suositellaan jatkotunnistamista [20].
Raman-spektroskopia	Perustuu näytteen virittämiseen lasersäteellä, jonka jälkeen mitataan Raman-siroava säteily ja sen aallonpituusero lasersäteeseen verrattuna. Aallonpituuseron avulla esitettyllä Raman-spektrillä voidaan selvittää näytteen sisältämät kemialliset sidokset ja yhdisteet. [16; 31, s. 437]	Partikkeleille, jotka > 1 µm. Herkkä lisäaineille ja pigmenteille mikromuoveissa → saattaa häiritä tunnistamista. [20]
Pyyhkäisyelektronimikroskopia (SEM)	Menetelmän avulla muodostetaan valokuva kohdentamalla elektronisuihku näytteeseen, jolloin saadaan tietoa näytteen pinnasta. [31, s. 294]	Pintarakenteiden tutkimiseen. Partikkelien värejä ei voida hyödyntää. [20]
Pyrolyysi-kaasukromatografia-massaspektrometri (pyr-GC/MS)	Analysointi perustuu näytteen polymeerien hajoamiseen termisesti. Näytteet käsitellään ensin pyrolyysillä, joka jälkeen tuotteet erotetaan kaasukromatografian avulla ja analysoidaan massaspektrometrillä. [37]	Mikromuovin rakenne, tunnistaminen ja mahdollisten lisäaineiden etsiminen. Tuhoaa tutkittaessa näytteen. Soveltuu myös pienille partikkeleille. [37]
Visuaalinen tarkastelu (paljas silmä ja optinen mikroskopointi)	Näytteestä saadaan muodostettua suurennettu kuva linssien avulla.	Partikkelikoko > 1 mm. Partikkeleiden määrä, koon ja värin määrittämiselle. Huono läpikuultaville ja valkoisille partikkeleille. Partikkelien värjäys on mahdollista. [20, 25] Ei tunnista muovia.

Mikromuovien tunnistamiseksi kattavimmat menetelmät ovat HT-SEC, Raman-spektroskopia tai FTIR. Menetelmän valinnassa huomioidaan eritoten tutkittavien mikromuovipartikkelien koko ja verrataan sitä menetelmän tunnistuskykyyn.

Polyolefiinit ovat melko reagoimattomia yhdisteitä. Tämän vuoksi niihin ei kyetä helposti lisäämään muita yhdisteitä, joiden kanssa yhdiste reagoisi ja olisi sen jälkeen detektorin havaittavissa. Polyeteeni- ja polypropeenioksidi kuitenkin pystytään tunnistamaan HPLC:n avulla. Tässä tunnistuksessa polymeerien moolimassa oltava 3000 Da. [26] Parhaiten polyolefiineja saadaan analysoida korkean lämpötilan HT-SEC:illä. Detektoreina tässä toimivat (RI) (refractive index) ja infrapuna (IR) tai tripladetektori (TriSEC). SEC erottaa polymeerit molekyylikoon mukaan. [36, s. 5]

HPLC:llä voitaisiin tutkia myös polyolefiinien olemassaoloa näytteestä, jos saadaan selvitettyä ensin, että millaisia retentioaikoja kyseisillä molekyyलेillä on. Tällöin puhdistetusta fraktiosta voitaisiin analysoida myös polyolefiineja.

4. JOHTOPÄÄTÖKSET

Mikromuoveja kulkeutuu primäärisinä ja sekundäärisinä partikkeleina yhdyskuntajäteveveen, josta ne pääsevät osittain ympäristöön, koska jätevedenpuhdistamolla ei kyetä poistamaan mikromuovia kokonaan. Vielä ei ole olemassa lainsäädäntöä, joka koskisi mikromuovien käyttöä kuluttajatuotteissa, vaikka suosituksia mikromuovin käytön lopettamisesta on jo varsinkin EU:ssa. Myöskään standardoitua metodiikkaa ei ole mikromuovien karakterisoimiseksi.

Työn edetessä huomattiin, että mikromuoveja on karakterisoitu suhteellisen vähän, joten karakterisointia selvitettiin polymeerien osalta yleisesti. Tunnistaminen HPLC:llä vaatii tutkittavien partikkelien suodattamisen näytteestä, partikkelien erottelun kokoluokkiin ja näytteen liuottamisen. Näin pystytään tunnistamaan pieniäkin partikkeleita ($> 1 \mu\text{m}$) ja menetelmänä se on luotettava, siinä on hyvä suorituskyky. Nämä ominaisuudet sopivat polymeerien ja sitä kautta primääristen mikromuovien karakterisointiin. Tällä hetkellä HPLC on suurimmassa käytössä karakterisoitaessa makromolekyyleja, joiden partikkelikoko on $> 5 \text{ nm}$ [14].

HPLC ei nykyisillä ominaisuuksillaan ilman yhdistelmämenetelmiä, kuten FTIR, toimi kovin hyvin primääristen mikromuovien karakterisoimiseen varsinkaan kosmetiikkatuotteiden osalta. Tähän pääsyy on, että yleisimmät detektorit tarvitsevat tunnistamiseen funktionaalisia ryhmiä ja polyeteeni, joka on primääristen mikromuovien valtapolymeeri, ei sisällä funktionaalisia ryhmiä. Polyolefiineja lukuun ottamatta HPLC:llä pystytään normaalilämpötilassa tunnistamaan muut valtamuovit sekä kopolymeereja. HT-SEC:illä eli korkeammassa lämpötilassa ja kolonnina SEC:iä käyttämällä puolestaan pystytään tunnistamaan myös polyolefiinit muiden polymeerien lisäksi.

Mikromuovien ominaisuudet määrittävät millaisia menetelmiä, kolonneja ja detektoreja tunnistamisessa voidaan käyttää. HT-SEC:illä analysoitaessa käytössä on detektorina massaspektrometri. HPLC:llä polymeerien analysoinnissa käytetään yleensä UV-Vis-detektoria sekä massaspektrometriä. Usein käytetään kahta kolonnia eli 2D-kromatografiaa.

LÄHTEET

- [1] Hester, R. E. Harrison, R. M.. *Plastics and the Environment - 3. Microplastics in the Environment*. London, UK: Royal Society of Chemistry; 2019. pp. 22
- [2] Fendall LS, Sewell MA. Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin*. 2009 pp. 1225–1228.
- [3] Talvitie J, Mikola A, Setälä O, Heinonen M, Koistinen A. How well is microlitter purified from wastewater? – A detailed study on the stepwise removal of microlitter in a tertiary level wastewater treatment plant. *Water Research*. 2017 pp. 164–172.
- [4] Horton AA, Walton A, Spurgeon DJ, Lahive E, Svendsen C. Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Science of the Total Environment*. 2017 pp. 127–141.
- [5] Rocha-Santos T, Duarte AC. A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *Trends in Analytical Chemistry*. 2015 pp. 47–53.
- [6] Lehtonen PO. *Laboratorioalan analyttinen kemia*. Helsinki: Opetushallitus; 2004. pp. 239.
- [7] Kurri V., Malen, T. *Muovitekniikan perusteet*. Helsinki: Opetushallitus; 2008. pp. 235.
- [8] Rocha-Santos AP, Duarte AC. *Characterization and analysis of microplastics*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2017. pp. 287
- [9] Zheng Y, Yanful EK, Bassi AS. A Review of Plastic Waste Biodegradation. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2005 pp. 243–250.
- [10] Adhikari A, Bourgade T, Asundi A. Residual stress measurement for injection molded components. *Theoretical and Applied Mechanics Letters*. 2016 pp. 152–156.
- [11] Van Wezel A, Caris I, Kools SAE. Release of primary microplastics from consumer products to wastewater in the Netherlands. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2016 pp. 1627–1631.
- [12] Andrady AL. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*. 2011 pp. 1596–1605.
- [13] Bivens A. *Polymer-to-Solvent Reference Table for GPC/SEC*. Agilent Technologies. 2016

- [14] Macko T, Hunkeler D, Berek D. Liquid chromatography of synthetic polymers under critical conditions. The case of single eluents and the role of Theta conditions. *Macromolecules*. 2002 pp. 1797–1804.
- [15] Stevens MP. *Polymer chemistry: an introduction*. 2nd ed. New York (NY): Oxford University Press; 1990. pp. 633
- [16] Jenkins, Kratochvil, Stepto, Sutter. Glossary of basic terms in polymer science (IU-PAC Recommendations 1996) *Pure and Applied Chemistry*. Vol.68. s.2287
- [17] Teknokemia yhdistys ry julkaisu 26.9.2019 ”Mikromuovihelmien käyttö kosmetiikassa vähentyi 97,6 %:a vuosina 2012-2017”. Saatavilla: http://www.teknokemia.fi/fin/kosmetiikka/kosmetiikan_puheenaiheita/mikromuovi_t_ja_kosmetiikka/ (Viitattu 29.3.2020.)
- [18] Mani T, Blarer P, Storck FR, Pittroff M, Wernicke T, Burkhardt-Holm P. Repeated detection of polystyrene microbeads in the Rhine River. *Environmental Pollution*. 2019 pp. 634–641.
- [19] Talvitie J, Mikola A, Koistinen A, Setälä O. Solutions to microplastic pollution – Removal of microplastics from wastewater effluent with advanced wastewater treatment technologies. *Water Research*. 2017 pp. 401–407.
- [20] Shim WJ, Hong SH, Eo SE. Identification methods in microplastic analysis: a review. *Analytical Methods*. 2017 pp. 1384–1391.
- [21] Davis ML. *Water and wastewater engineering: design principles and practice*. New York: McGraw-Hill; 2013. pp. 878
- [22] Talvitie J.. *Wastewater treatment plants as pathways of microlitter to the aquatic environment*. Dissertation 2018.
- [23] Löder MGJ, Imhof HK, Ladehoff M, Löschel LA, Lorenz C, Mintenig S, et al. Enzymatic Purification of Microplastics in Environmental Samples. *Environmental science & technology*. 2017 pp. 14283–92.
- [24] Harris DC. *Quantitative chemical analysis*. 8. ed. New York: Freeman; 2010. pp. 719
- [25] Song YK, Hong SH, Jang M, Han GM, Rani M, Lee J, et al. A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin*. 2015 pp. 202–209.
- [26] Prabhu K., Brüll R, Macko T, Remerie K, Tacx J, Garg P, et al. Separation of bimodal high-density polyethylene using multidimensional high temperature liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 2015 pp. 67–80.
- [27] Harris DC. *Quantitative chemical analysis*. 8. ed. New York: Freeman; 2010. pp. 719

- [28] Uliyanchenko E, Van Der Wal S, Schoenmakers PJ. Challenges in polymer analysis by liquid chromatography. *Polymer Chemistry*. 2012 pp. 2313–2335.
- [29] Higson, Séamus. *Analytical Chemistry - Exercises and Problems*. (pp. 208-243). Oxford University Press. 2014
- [30] Moldoveanu S, David V. Essentials in modern HPLC separations. Amsterdam: Elsevier; 2013. pp. 532
- [31] Skoog, D. & Holler, F. & Nieman, T. 1998. Principles of Instrumental Analysis. 5th edition. Belmont, California, USA: Thomson Learning Inc. 849 s. ISBN 0-03-002078-6.
- [32] Carr PW, Stoll DR, Wang X. Perspectives on recent advances in the speed of high-performance liquid chromatography. *Analytical chemistry*. 2011 pp. 1890–1900.
- [33] Sperling LH. Introduction to physical polymer science. 4. ed. Hoboken, N.J: Wiley; 2006. pp. 845
- [34] Macko T, Ginzburg A, Remerie K, Bruell R. Separation of High-Impact Polypropylene Using Interactive Liquid Chromatography. *Macromolecular Chemistry and Physics*. 2012 pp. 937–944.
- [35] Macko T, Brüll R, Zhu Y, Wang Y, Cortes H, Mondello L. A review on the development of liquid chromatography systems for polyolefins. *Journal of Separation Science*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag; 2010 pp. 3446–3454.
- [36] Harald Pasch and Muhammad Imran Malik: Advanced separation techniques for polyolefins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2014. pp. 179.
- [37] Peters C.A., Hendrickson E., Minor E.C., Schreiner K., Halbur J., Bratton S.P.. Pyr-GC/MS analysis of microplastics extracted from the stomach content of benthivore fish from the Texas Gulf Coast. *Marine Pollution Bulletin*. 2018 pp. 91-95.