

Charakterisierung von Mikroplastik in Umweltproben mit Laser Direct Infrared Imaging und vom Anwender erstellten Bibliotheken

Schnelle Analyse von Mikroplastik mit einem Agilent 8700 LDIR-System für chemisches Imaging und einfach aufgebauten Spektrenbibliotheken



Autoren

Wesam Alwan und
Darren Robey
Agilent Technologies, Inc.

Abstract

Diese Application Note beschreibt die Identifizierung der chemischen Zusammensetzung von Mikroplastik aus verschiedenen großen Kunststoffteilen, die an den Stränden von Sorrento im australischen Victoria gesammelt wurden. Die chemische Identifizierung erfolgte mithilfe einer vollautomatisierten Methode zur Partikelanalyse für das Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR)-System für chemisches Imaging. Die Studie veranschaulicht darüber hinaus, wie benutzerfreundlich und einfach die Erstellung einer Bibliothek mit der Agilent Clarity LDIR-Gerätesteuerungssoftware ist.

Einleitung

Die Kontamination von Gewässern, Böden, Luft und Trinkwasser mit Mikroplastik stößt in der Öffentlichkeit auf zunehmendes Interesse, da dies eine Umweltbedrohung darstellt.¹ Die Anzahl der Partikel im Wasser kann sich über mehrere Größenordnungen erstrecken. So verwundert es nicht, dass die möglichen schädlichen Folgen der Exposition gegenüber Mikroplastik in der wissenschaftlichen Gemeinschaft heiß diskutiert werden.

Zu den traditionellen Methoden der Charakterisierung von Mikroplastik gehört die Mikroskopie, wobei die Raman- und Fourier-Transformations-Infrarot (FTIR)-Mikroskopie am häufigsten zum Einsatz kommen. Beide Methoden erfordern jedoch eine zeitaufwendige Datenerfassung, und die Verarbeitung einer einzigen Probe kann sich über Tage erstrecken. Um die Problematik der langen Probenanalysezeiten zu überwinden, werden schnellere Standardverfahren benötigt, die die Identifizierung der Polymere ermöglichen und Daten über Anzahl und Größe der Partikel liefern. Das 8700 LDIR-System für chemisches Imaging ermöglicht eine automatisierte, einfache und schnelle Charakterisierung von Mikroplastik und ist damit ideal für die Routineanalytik kleiner Schadstoffpartikel in der Umwelt (Abbildung 1).

Als Infrarotquelle kommt in 8700 LDIR-Systemen ein Quantenkaskadenlaser (QCL) auf Halbleiterbasis zum Einsatz. Mit dem QCL werden Elektronen durch eine Reihe von Quantentöpfen getunnelt, sodass sie Licht emittieren. Diese Eigenschaften sind dafür verantwortlich, dass der QCL schnell über den Wellenzahlbereich (λ^{-1}) von 1800 bis 975 cm^{-1} getunt werden kann. Durch die Kombination mit einem thermoelektrisch gekühlten Einzelpunkt-Quecksilber-Cadmium-Tellurid-Detektor (MCT) mit einer Schnellscan-Optik ergeben



Abbildung 1. Das Agilent 8700 LDIR-System für chemisches Imaging.

sich zwei nützliche Aktionsmodi. Im ersten Modus wählt das LDIR-System eine einzelne Wellenlänge und scannt durch das Objektiv, das sich gleichzeitig mit sehr hoher Geschwindigkeit über die Probe bewegt. Im zweiten Modus wird das Objektiv an einem bestimmten Punkt geparkt, während der QCL einen Scan durch den gesamten Wellenlängenbereich durchführt; auf diese Weise liegt ein vollständiges Spektrum in weniger als einer Sekunde vor.

Diese Studie zeigt, wie leicht und unkompliziert es ist, eine Bibliothek in der Agilent Clarity Software zu erstellen, um Mikroplastik aus Kunststoffproben zu identifizieren, die an Stränden Australiens gesammelt wurden. Das Mikroplastik wurde mit einer vollautomatisierten Methode zur Partikelanalyse für das 8700 LDIR-System charakterisiert, wobei nur minimale Eingriffe durch den Anwender erforderlich waren.

Experimentelles

Erstellung der Bibliothek

Um die Zuverlässigkeit der Identifizierung mit der 8700 LDIR-Methode zu überprüfen, wurde eine kleine Bibliothek aus 100 % synthetischen reinen Polymeren erstellt. Es wurden verschiedene Formen und Größen von Mikroplastik (Quelle: SP2 Scientific Polymer Products Inc., New York State, USA; Polymer Sample Kit, Bestellnummer 205) hergestellt, indem Presslinge von reinen Proben in einer Kaffeemühle zu einem amorphen Pulver zermahlen wurden. Die Pulver (ca. 10 mg) wurden in absolutem Ethanol (CAS-Nr.: 64-17-5) suspendiert und mit Pipetten auf infrarotreflektierende Glasobjektträger ($7,5 \times 2,5\text{ cm}$; MirrIR, Kevley Technologies, Ohio, USA) überführt. Die in der erstellten Bibliothek enthaltenen Kunststoffe sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1. In der vom Anwender erstellten LDIR-Bibliothek enthaltene Polymere.

Typ	Abkürzung	Best.-Nr. Referenzmaterial	Lieferform
Poly(tetrafluorethylen)	PTFE	203	Pulver
Polymethylmethacrylat	PMMA	377	Pulver
Poly(ethylenterephthalat)	PET	138	Presslinge
Polycarbonat	PC	035	Presslinge
Polystyrol	PS	039A	Presslinge
Polypropylen, isotaktisch	PP	130	Presslinge
Nylon 6 [Poly(caprolactam)]	PA	034	Presslinge

Für jeden Polymertyp wurden der Bibliothek zwei oder drei Spektren hinzugefügt, die von Partikeln unterschiedlicher Größe aufgenommen wurden. Die Clarity Software ermöglicht eine einfache Verwaltung von Bibliotheken und Spektren. Nach der Erfassung der LDIR-Daten von Proben oder Standards kann das gewünschte Spektrum wie im Folgenden und in Abbildung 2 beschrieben zur Bibliothek hinzugefügt werden.

1. Klicken Sie auf das Symbol „Add library“ (Bibliothek hinzufügen) (siehe Abbildung 2).
2. Geben Sie einen Namen für die Bibliothek ein. In Abbildung 2 lautet der Name der Bibliothek „Agilent Local Library“.
3. Klicken Sie auf das Schloss-Symbol, um die Bibliothek freizugeben und das Hinzufügen von Spektren zu ermöglichen.
4. Wählen Sie nach der Analyse ein Spektrum von Interesse aus.
5. Aktivieren Sie das Kontrollkästchen neben dem Namen der gewünschten Bibliothek, um das Spektrum zu einer Bibliothek hinzuzufügen.
6. Öffnen Sie die Spektrenbibliothek, um zu überprüfen, ob das Spektrum hinzugefügt wurde.
7. Wählen Sie im Dropdown-Menü die gewünschte Bibliothek aus.
8. Wählen Sie das in Schritt 4 hinzugefügte Spektrum aus und benennen Sie es entsprechend um. In Abbildung 2 wurde das Spektrum in „Polypropylene“ umbenannt.

Nach der Erstellung der Bibliothek können die zuvor gesammelten Daten wie im Folgenden und in Abbildung 3 beschrieben in einem einfachen und schnellen Prozess erneut analysiert werden.

1. Wählen Sie den Pfeil für die erneute Verarbeitung in der Partikelanalysedatei.
2. Wählen Sie im Dropdown-Menü die gewünschte Bibliothek aus.
3. Klicken Sie auf das Häkchen-Symbol.
4. Es wird eine neue Partikelanalysedatei angezeigt, und die neuen statistischen Daten können überprüft werden.

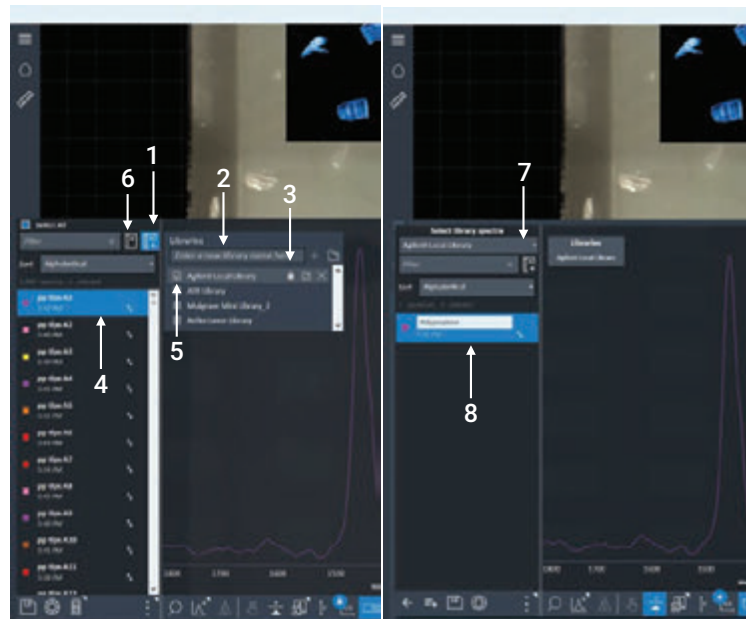


Abbildung 2. Vorgehensweise zur Erstellung einer LDIR-Bibliothek mit der Agilent Clarity Software.

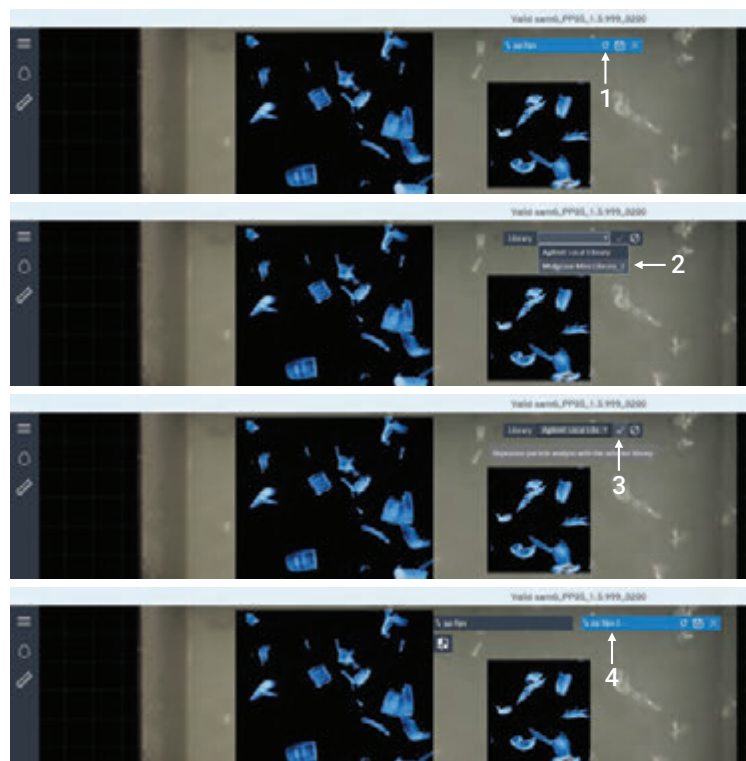


Abbildung 3. Vorgehensweise zur Verarbeitung der erstellten/überführten Bibliotheksspektren mit der Agilent Clarity Software.

Probenvorbereitung

Es wurde Plastikmüll nach dem Zufallsprinzip am Strand von Sorrento im australischen Victoria gesammelt. Für diese Studie wurden zwei Proben ausgewählt, die sich bereits sichtbar zersetzt hatten (Abbildung 4).

Um Mikroplastikpartikel mit unregelmäßigen Formen und Größen zu erzeugen, wurden die Proben mit einer Klinge zerkleinert. Die Partikel wurden dann in Fläschchen überführt und ohne weitere Behandlung in 1 ml absolutem Ethanol (CAS-Nr.: 64-17-5) suspendiert. Die Suspension aus Partikeln und Ethanol wurde mit Pipetten auf zwei infrarotreflektierende Glasobjektträger (7,5 × 2,5 cm; MirrIR, Kevley Technologies, Ohio, USA) überführt. Die Pipettenspitze wurde von Hand abgeschnitten, um die Öffnung für Partikel bis zu einer maximalen Größe von 1000 µm zu erweitern. Alle Schritte zur Herstellung von Mikroplastikpartikeln wurden in einem Abzug mit laminarer Luftströmung durchgeführt, um eine Kontamination durch die Luft auf ein Minimum zu reduzieren.

8700 LDIR-System für chemisches Imaging

Für diese Studie wurde ein 8700 LDIR-System für chemisches Imaging verwendet, das über die Clarity Software gesteuert wurde. Die mit Mikroplastikpartikeln beladenen infrarotreflektierenden Glasobjektträger jeder Probe wurden unter Verwendung der vollautomatisierten Methode „Particle-analysis“ der Clarity Software mit dem 8700 LDIR-System analysiert. Die für die Datenerfassung verwendeten Methodenparameter sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Die Geräteparameter waren alle auf die Standardeinstellungen des Geräts eingestellt.

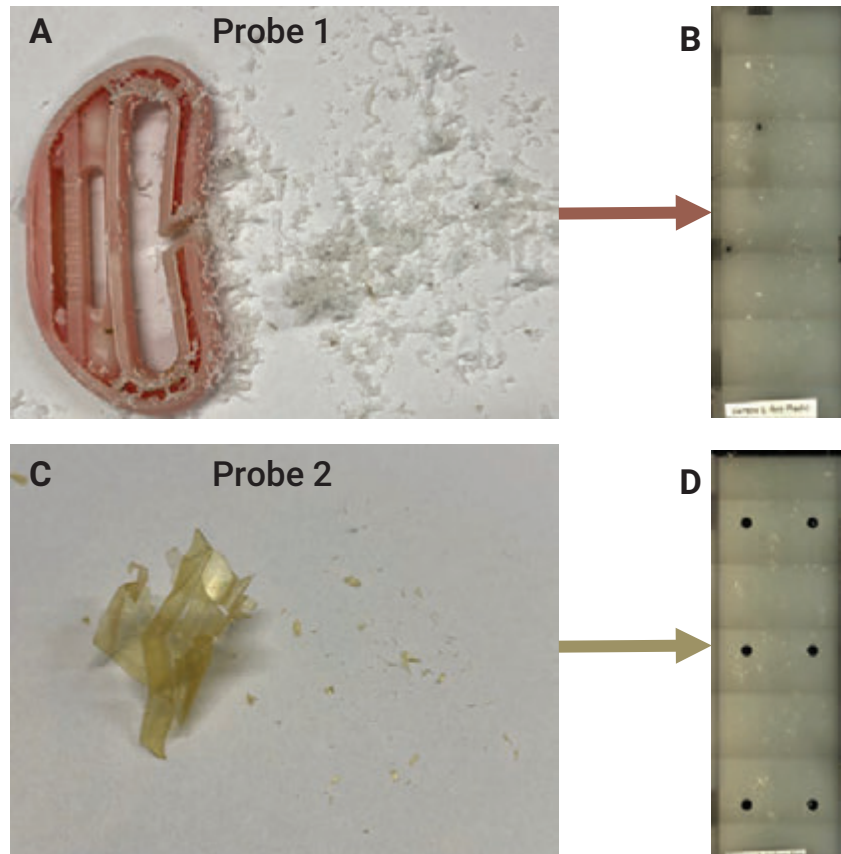


Abbildung 4. (A) Aus Probe 1 gewonnenes Mikroplastik: ein roter und ein weißer Kunststoff. (B) Auf infrarotreflektierende Glasobjektträger überführte Mikroplastikpartikel aus Probe 1. (C) Aus Probe 2 gewonnene Mikroplastikpartikel: eine gelbe Folie. (D) Auf infrarotreflektierende Glasobjektträger überführte Mikroplastikpartikel aus Probe 2.

Tabelle 2. Parameter, die für die automatisierte Methode zur Analyse von Mikroplastikpartikeln mit dem Agilent 8700 LDIR-System verwendet wurden.

Parameter	Einstellung
Methode	Particle-analysis
Verwendete Bibliothek	Performance proof – vom Anwender erstellte Bibliothek
Minimale zu detektierende Partikelgröße (µm)	20
Maximale zu detektierende Partikelgröße (µm)	600
Bilder im sichtbaren Bereich erfassen	Ja
Bereich der Größenklassifizierung (µm)	0 bis 30 30 bis 50 50 bis 100 100 bis 200 200 bis 300 300 bis 600
Scangeschwindigkeit	Standard (8)
Sweep-Geschwindigkeit	Standard (3, hohe Geschwindigkeit)
Fokus-Offset	0
Polarisation (Grad)	Standard (0)
Abschwächung (%)	Standard (0)/Auto

Cary 630 FTIR mit ATR-Probenzubehörmodul

Zur weiteren Bestätigung der Identität der Proben 1 und 2 wurde ein Agilent Cary 630 FTIR-Spektrometer verwendet, das mit einem Diamant-Modul für abgeschwächte Totalreflexion (ATR) gekoppelt war (Abbildung 5). Die FTIR-Spektrenbibliothek „ATR Polymers and Polymer Additives“ von Agilent (Bestellnummer G8045AA Option 106) wurde in einer Bibliothekssuchmethode mit dem Suchalgorithmus „Similarity“ unter Verwendung der in Tabelle 3 aufgeführten Parameter verwendet. Diese Spektrenbibliothek enthält 7974 Spektren von ausgewählten Polymeren, Kunststoffen, Polymeradditiven, Weichmachern und Verpackungsmaterialien.

Ergebnisse und Diskussion

Die Clarity-Methode „Particle-analysis“ arbeitet sowohl mit dem Modus „LDIR Scan“ als auch mit dem Modus „Full Spectrum“. Der Probenbereich wurde zunächst im Scanmodus untersucht, d. h. es wurde ein schneller Scan bei einer einzelnen Wellenzahl durchgeführt. Das daraus resultierende IR-Bild diente sowohl zur Lokalisierung von Partikeln in der Probe als auch zur Bestimmung der Grenze jedes Partikels. Nach der Lokalisierung bewegte sich das LDIR-System schnell und automatisch zu jedem Partikel und erfasste ein vollständiges Spektrum über den Wellenlängenbereich. Diese Spektren wurden dann in Echtzeit mit der Spektrenbibliothek für Mikroplastik verglichen. Die beste Übereinstimmung des gemessenen Spektrums mit der Spektrenbibliothek wurde ermittelt und für jedes Partikel angegeben. Das 8700 nutzte eine Kamera mit großem Sichtfeld, um eine Ansicht der gesamten Probe zu erhalten und ein Objektiv in Mikroskopqualität, um visuelle Bilder mit hoher Vergrößerung aufzunehmen.



Abbildung 5. Agilent Cary 630 FTIR-Spektrometer, gekoppelt mit einem Diamant-ATR-Probenzubehörmodul.

Tabelle 3. Agilent Cary 630 FTIR-ATR-Betriebsparameter.

Parameter	Einstellung
Methode	Bibliothekssuche
Verwendete Bibliothek	ATR-Polymere und Polymeradditive
Suchalgorithmus	Similarity
Spektralbereich	4000 bis 650 cm^{-1}
Hintergrundscans	64
Probenscans	64
Spektrale Auflösung	16 cm^{-1}
Aufnahme des Hintergrunds	Luft

Zu den Arten von Mikroplastik, die in Probe 1 identifiziert wurden, gehörten Polypropylen (74,8 %), unbestimmt (17,0 %), Polyamid (6,8 %) und Polyacrylamid (1,4 %). In Probe 2 war das am häufigsten vorkommende Polymer Polyvinylchlorid (85,4 %), gefolgt von Polyamid (10,9 %), Polyacrylamid (2,2 %) und unbestimmt (1,5 %).

Die Clarity Software erstellt automatisch Statistiken über alle identifizierten Mikroplastikpartikel, und die Daten werden während der Analyse automatisch aktualisiert. Die Partikel können nicht nur im gescannten Bereich markiert, sondern je nach dem identifizierten Typ des Mikroplastiks farblich gekennzeichnet werden (siehe Abbildung 6 und 7). Die Statistik

enthält die Partikelgrößenverteilung über die vom Anwender festgelegten Bereiche. Die Abbildungen 6D und 7D zeigen eine Zusammenfassung der Partikelgrößenverteilungen über die Anzahl der in jeder Probe gemessenen Partikel. Innerhalb des untersuchten Größenbereichs von 20 bis 600 µm liegen die meisten Partikel zwischen 20 und 200 µm (siehe Abbildung 6 und 7).

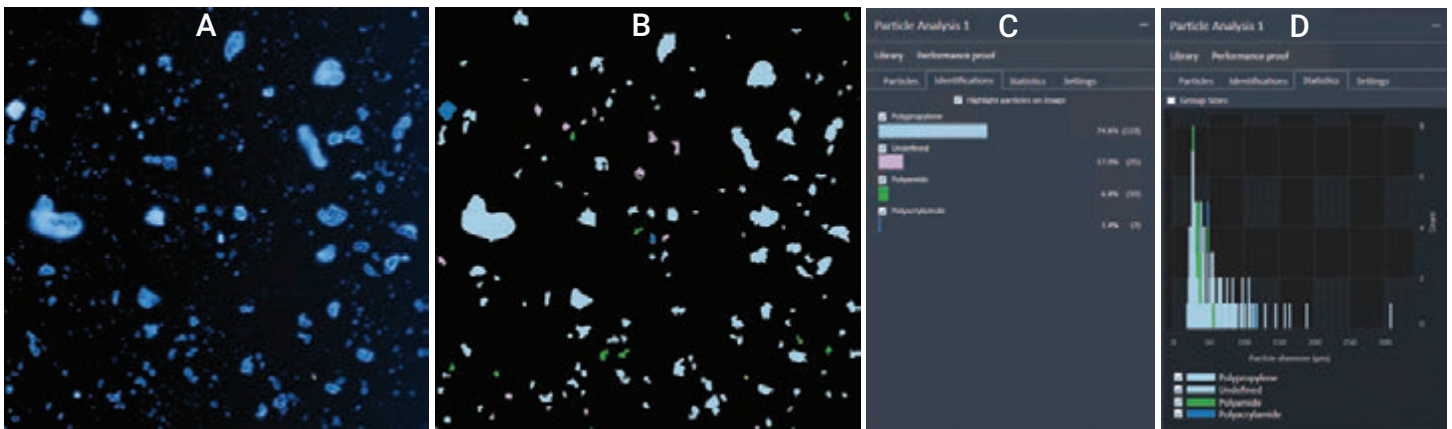


Abbildung 6. Mikroplastikpartikel von Probe 1, die mit dem Agilent 8700 LDIR-System charakterisiert wurden. (A) IR-Bild von Probe 1, das bei 1800 cm^{-1} gescannt wurde. (B) Markierungen der in Probe 1 gefundenen Partikel: die Partikel sind entsprechend des identifizierten Mikroplastiktyps farblich gekennzeichnet. (C) Statistische Daten von Probe 1, die auf der Grundlage der identifizierten Mikroplastikpartikel automatisch erstellt wurden. (D) Statistische Daten der Mikroplastikpartikel auf der Grundlage verschiedener Größenbereiche für Probe 1.

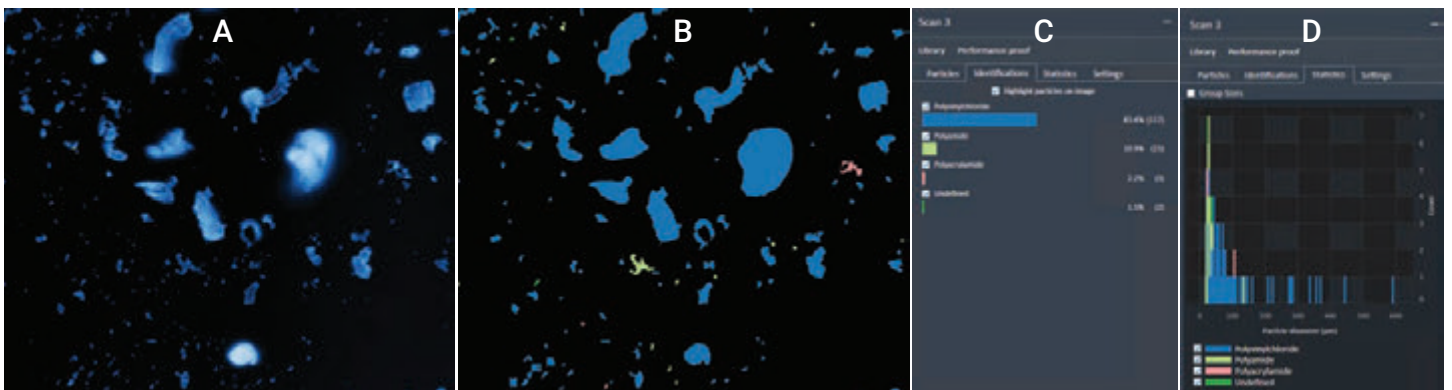


Abbildung 7. Mikroplastikpartikel von Probe 2, die mit dem Agilent 8700 LDIR-System charakterisiert wurden. (A) IR-Bild von Probe 2, das bei 1800 cm^{-1} gescannt wurde. (B) Markierungen der in Probe 2 gefundenen Partikel: die Partikel sind entsprechend des identifizierten Mikroplastiktyps farblich gekennzeichnet. (C) Statistische Daten von Probe 2, die auf der Grundlage der identifizierten Mikroplastikpartikel automatisch erstellt wurden. (D) Statistische Daten der Mikroplastikpartikel auf der Grundlage verschiedener Größenbereiche für Probe 2.

Zuverlässigkeit der Identifizierung der Proben 1 und 2

Anwender können die Qualität der Identifizierung in der Clarity Software auf der Grundlage von hoher, mittlerer oder niedriger Zuverlässigkeit und einem Hit Quality Index (HQI) überprüfen, wobei ein HQI von 1,0 für eine identische Übereinstimmung zur Bibliothek steht. Wie aus Tabelle 4 ersichtlich wird, hatten 71,4% der Mikroplastikpartikel in Probe 1 und 78,8 % der Mikroplastikpartikel in Probe 2 einen HQI-Wert > 0,8.

Die automatisierte LDIR-Methode zur Mikroplastik-Analyse lieferte sowohl für kleine Partikel (ca. 20 µm) als auch für große Partikel (200 µm) hohe HQI-Werte. So wurden beispielsweise in Probe 1 die Partikel A128 (22,99 µm) und A2 (189,06 µm) mit einem HQI von 0,946 bzw. 0,963 als Polypropylen identifiziert (Abbildung 8). In Probe 2 wurden die Partikel A130 (20 µm) und A10 (210 µm) wie in Abbildung 9 dargestellt mit einem HQI von 0,934 als Polyvinylchlorid identifiziert.

Tabelle 4. Automatisierte Methode zur Analyse der Proben 1 und 2 mit dem Agilent 8700 LDIR-System.

	Probe 1	Probe 2
Probenbeschreibung	Roter und weißer Kunststoff	Gelbe Folie
Gescannte Fläche (mm ²)	3,04 × 3,06	3,76 × 4,42
Anzahl der detektieren Partikel	147	137
Größen der detektieren Mikroplastikpartikel nach Durchmesser		
0 bis 30 µm	36 (24,5 %)	42 (33,7 %)
30 bis 50 µm	57 (38,8 %)	39 (28,5 %)
50 bis 100 µm	41 (27,9 %)	32 (23,4 %)
100 bis 200 µm	12 (8,2 %)	14 (10,2 %)
200 bis 300 µm	1 (0,7 %)	5 (3,7 %)
300 bis 600 µm	0 (0,0 %)	5 (3,7 %)
Typ der detektieren Mikroplastikpartikel	Polypropylen 110 (74,8 %) Unbestimmt 25 (17,0 %) Polyamid 10 (6,8 %) Polyacrylamid 2 (1,4 %)	Polyvinylchlorid 117 (85,4 %) Polyamid 15 (10,9 %) Polyacrylamid 3 (2,2 %) Unbestimmt 2 (1,5 %)
Hit Quality Index (HQI)		
0,9 bis 1,0	92 (62,6 %)	63 (46,0 %)
0,8 bis 0,89	13 (8,8 %)	45 (32,9 %)
0,7 bis 0,79	8 (5,4 %)	24 (17,5 %)
<0,7	34 (23,1 %)	5 (3,7 %)

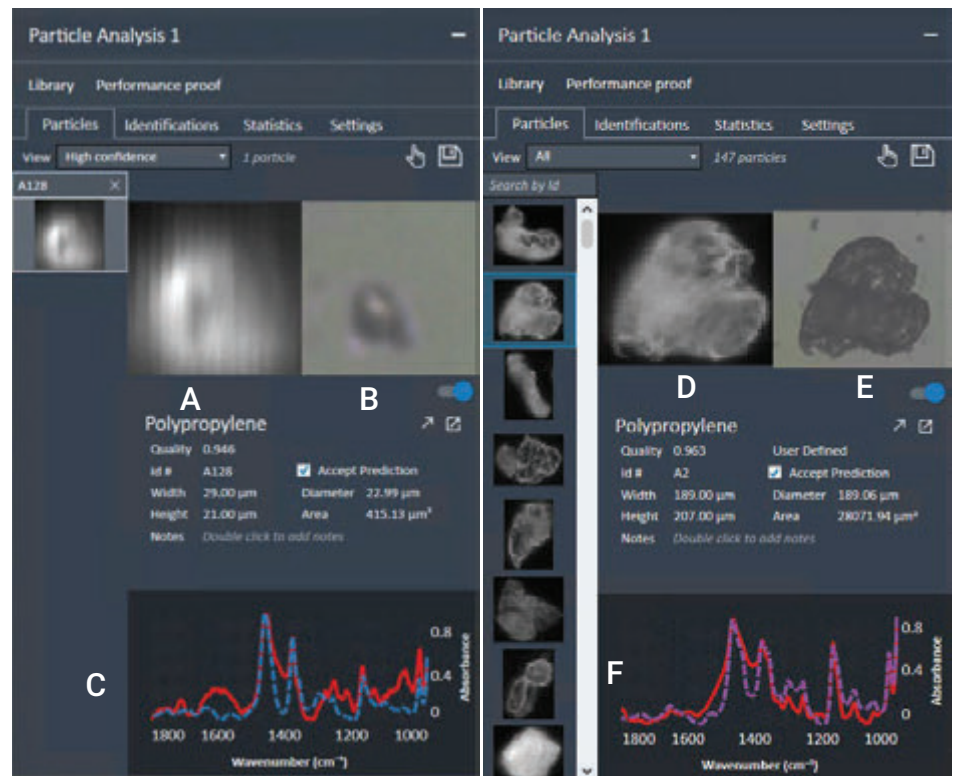


Abbildung 8. Informationen über den HQI und die Größe der Partikel in Probe 1, die mit der Agilent Clarity Software bestimmt wurden. (A) IR-Bild von Partikel A128. (B) Vis-Bild von Partikel A128. (C) Überlagerung des A128-Spektrums (rote Linie) und des übereinstimmenden Bibliotheksspektrums (blau gestrichelte Linie). (D) IR-Bild von Partikel A2. (E) Vis-Bild von Partikel A2. (F) Überlagerung des A2-Spektrums (rote Linie) und des übereinstimmenden Bibliotheksspektrums (violett gestrichelte Linie).

Bestätigung der Identität des Materials mittels Cary 630 FTIR

Zur weiteren Bestätigung des Materialtyps in den Proben 1 und 2 wurde das mit einem Diamant-ATR-Probenzubehörmodul gekoppelte Cary 630 FTIR-Spektrometer verwendet. Die pulverisierten Proben wurden auf den ATR-Kristall gegeben; dann wurden unter Verwendung der in Tabelle 3 aufgeführten Parameter Daten erfasst. Das erfasste Spektrum wurde mit den ATR-Polymeren und Polymeradditiven verglichen, um die Identität der Proben mit Hilfe der MicroLab Software zu bestätigen. Probe 1 wurde mit einem HQI von 0,922 als ein Gemisch aus Polypropylen und Poly-(propylen-co-ethylen) identifiziert (siehe Abbildung 10). Probe 2 wurde mit einem HQI von 0,969 als Polyvinylchlorid identifiziert (siehe Abbildung 11). Die für die Proben 1 und 2 bestimmten Identitäten stimmen mit den Daten überein, die mit dem 8700 LDIR-System für chemisches Imaging erhalten wurden.

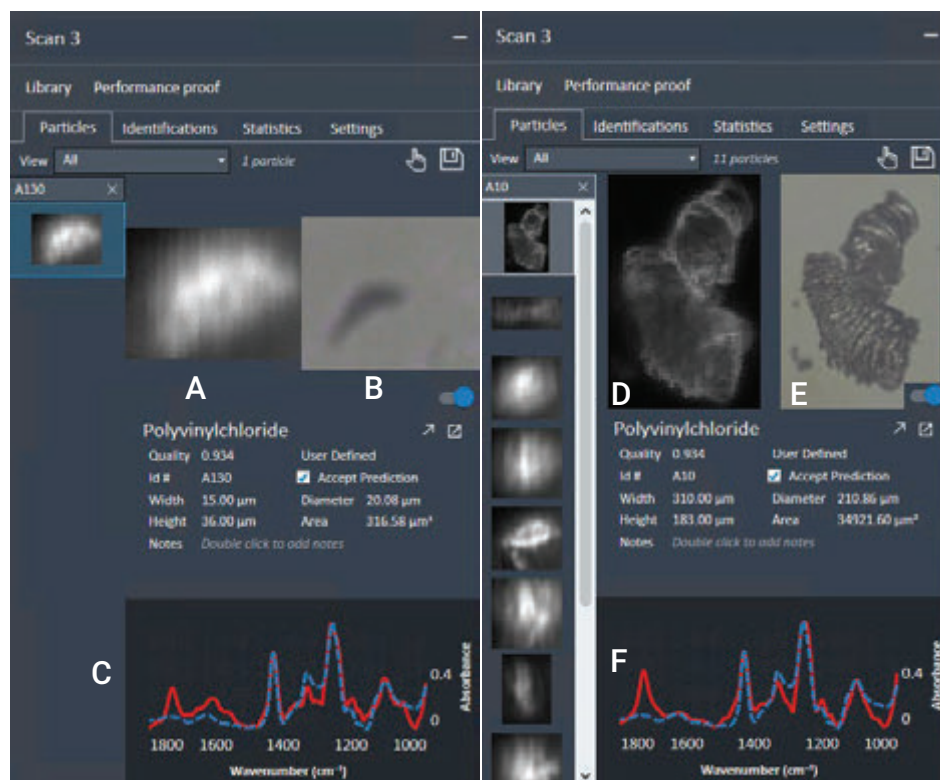


Abbildung 9. Informationen über den HQI und die Größe der Partikel in Probe 2, die mit der Agilent Clarity Software bestimmt wurden. (A) IR-Bild von Partikel A130. (B) Vis-Bild von Partikel A130. (C) Überlagerung des A130-Spektrums (rote Linie) und des übereinstimmenden Bibliotheksspektrums (blau gestrichelte Linie). (D) IR-Bild von Partikel A10. (E) Vis-Bild von Partikel A10. (F) Überlagerung des A10-Spektrums (rote Linie) und des übereinstimmenden Bibliotheksspektrums (violett gestrichelte Linie).

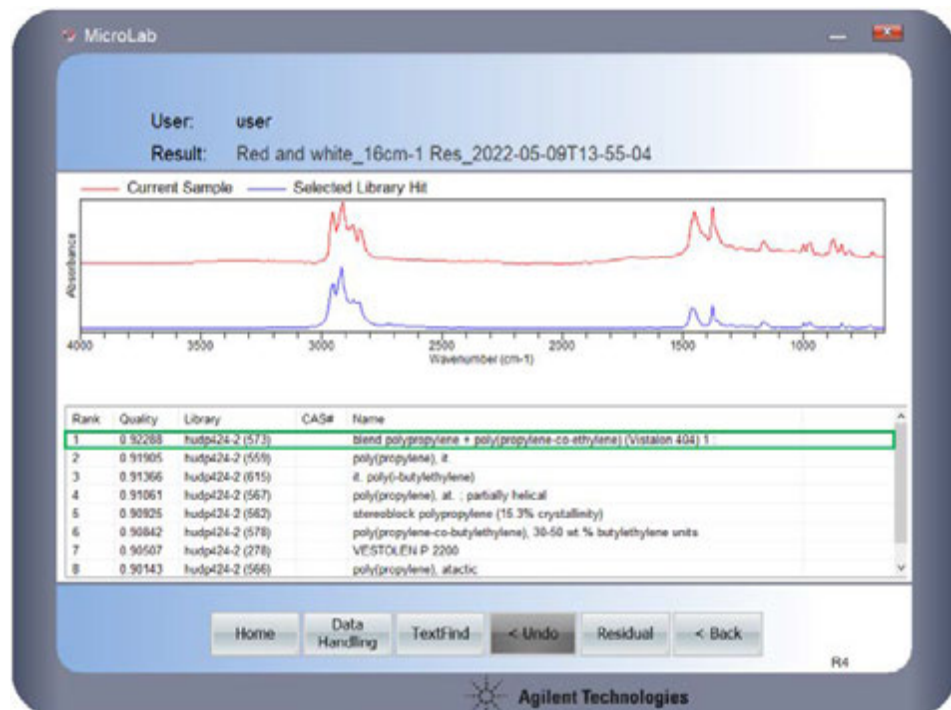


Abbildung 10. Qualitative Analyse von Probe 1 mit dem Agilent Cary 630 FTIR (rote Kurve); Bibliothekstreffer (blaue Kurve). HQI, verwendete Bibliothek und Name des Treffers sind in der Tabelle zusammengefasst.

Zusammenfassung

Diese Studie zeigt, dass das Agilent 8700 LDIR-System für chemisches Imaging Mikroplastikpartikel aus Umweltproben erfolgreich klassifizieren und differenzieren kann, und zwar mit minimalem Eingriff durch den Anwender. Die vollautomatisierte Methode zur Partikelanalyse in der Agilent Clarity Software liefert dem Anwender auf effiziente Weise Informationen zur Größe und Größenverteilung der Partikel sowie zur Identifizierung von Mikroplastikpartikeln. Anwender können in wenigen, leicht nachvollziehbaren Schritten eigene Bibliotheken in der Clarity Software erstellen.

Das 8700 LDIR-System ermöglichte mit einer vom Anwender erstellten Bibliothek eine genaue Identifizierung der meisten in den Proben analysierten Mikroplastikpartikel. Die Identität der Mikroplastikpartikel wurde als Beleg für die Genauigkeit der 8700 LDIR-Methode mit dem Agilent Cary 630 FTIR mit ATR-Probenzubehör verifiziert.

Literaturverweise

1. Laskar *et al.* Plastics and Microplastics: A Threat to Environment. *Environmental Technology & Innovation* **2019**, *14*, 100352. 10.1016/j.eti.2019.100352, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2019.100352>



Abbildung 11. Qualitative Analyse von Probe 2 mit dem Agilent Cary 630 FTIR (rote Kurve); Bibliothekstreffer (blaue Kurve). HQI, verwendete Bibliothek und Name des Treffers sind in der Tabelle zusammengefasst.

www.agilent.com

DE69241368

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2022
Gedruckt in den USA, 17. Mai 2022
5994-4822DEE