

Mikroplastik-Analyse mit dem Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) System für chemisches Imaging

Genauere Unterscheidung zwischen Polyethylen-Mikroplastik und Magnesiumstearat



Autoren

Wesam Alwan und
Darren Robey
Agilent Technologies, Inc.

Zusammenfassung

Um die Auswirkungen von Mikroplastik auf die Umwelt und die Nahrungskette besser zu verstehen, ist eine genaue und korrekte Charakterisierung dieser Partikel unerlässlich.¹ Mit spektroskopischen Techniken kann die Unterscheidung zwischen Polyethylen und Magnesiumstearat, einer nicht-polymeren Verbindung, die häufig in Lebensmitteln, Kosmetika und Latexhandschuhen verwendet wird, jedoch eine Herausforderung darstellen. Die Proben können sowohl Polyethylen-Mikroplastik als auch Stearate enthalten, und oft gibt es nur marginale Unterschiede in den Spektren. Die Unterscheidung zwischen Molekülen, die lange Kohlenwasserstoffketten enthalten, kann sich als schwierig erweisen und potenziell zu einer falsch-positiven Identifizierung führen.^{2,3} Diese Application Note verdeutlicht, wie das Agilent 8700 Laser Direct Infrared (LDIR) System für chemisches Imaging diese Herausforderung meistert und eine genaue Mikroplastikanalyse ermöglicht.

Einleitung

Die Verschmutzung von Gewässern durch Mikroplastik ist ein allgegenwärtiges Problem und stellt eine Gefahr für die Tierwelt, das Trinkwasser und die Nahrungsmittelsysteme dar. Herkömmliche spektroskopische Methoden sind jedoch oft nicht für die Klassifizierung von Schadstoffen geeignet, die einen wichtigen Schritt bei der Bestimmung der ökologischen Folgen darstellt. Auf molekülspektroskopischer Ebene kann Polyethylen-Mikroplastik, das aus verschiedenen Quellen wie Körperpflegeprodukten, Einkaufstüten und anderen Gegenständen stammt⁴, nahezu identisch aussehen wie Magnesiumstearat, ein wasserunlösliches Pulver, das als Zusatzstoff in einer Vielzahl von Haushaltsprodukten zum Einsatz kommt.

Diese Application Note beschreibt den automatisierten Arbeitsablauf der Agilent Clarity Software für die Analyse von Mikroplastik in Kombination mit dem Agilent 8700 LDIR-System für chemisches Imaging (Abbildung 1). Zunächst wurde der Scanmodus verwendet, um den Probenbereich bei einer einzigen Wellenzahl (1442 cm^{-1}) schnell zu scannen und ein Infrarotbild zu erzeugen. Dieses Bild diente zur Lokalisierung von Partikeln im Bereich und zur Beschreibung der Größe und Form der Partikel. Nach der Lokalisierung aller Partikel bewegte sich das LDIR-System schnell und automatisch zu jedem Partikel und nahm ein vollständiges Spektrum auf. Das Spektrum wurde dann sofort mit einer Mikroplastik-Spektrenbibliothek verglichen. Die beste Übereinstimmung des gemessenen Spektrums mit der Spektrenbibliothek wurde ermittelt und für jedes Partikel angegeben. Die Bibliothek stammte aus gut etablierten Quellen und umfasste eine Reihe von Spektren, die für die Analyse von Mikroplastik relevant sind (z. B. Kernpolymere und natürliche Materialien in Proben und Mineralien).^{5,6}

Experimentelles

Für die Studie wurden handelsübliche transparente Mikrokügelchen aus Polyethylen (Cospheric LLC, CPMS-0,96 $38\text{--}45\text{ }\mu\text{m}$ –5 g) und Magnesiumstearat (MilliporeSigma, 415057-25 g, CAS-Nummer: 557-04-0) als Proben verwendet. Beispiele für jeden Partikeltyp sind in Abbildung 2 dargestellt.

Jede Probe hatte eine einzigartige Form und Größe, sodass sie leicht voneinander und von anderen Schadstoffen unterschieden werden konnten (siehe Abbildung 2).

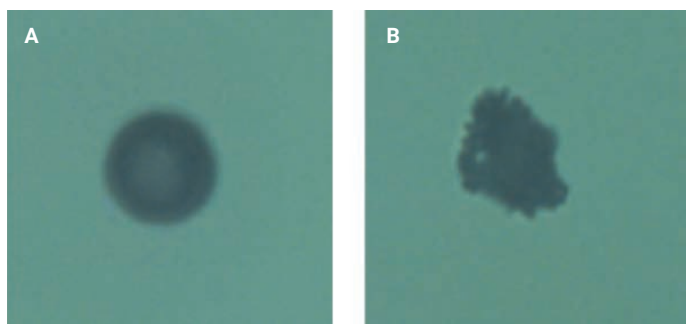


Abbildung 2. (A) Transparente Polyethylen-Mikrokügelchen. (B) Magnesiumstearat. Beide Bilder wurden mit der im Agilent 8700 LDIR-System für chemisches Imaging integrierten visuellen Kamera mit starker Vergrößerung aufgenommen.



Abbildung 1. Das Agilent 8700 LDIR-System für chemisches Imaging ermöglicht die Hochgeschwindigkeits-Routineanalyse von Mikroplastik, darunter auch die Bestimmung der Anzahl der in der Probe vorhandenen Partikel, ihrer Größe und chemischen Zusammensetzung.

Um die Proben für die Analyse vorzubereiten, wurden etwa 2 mg beider Materialien in absolutem Ethanol (5 ml) suspendiert und auf einen infrarotreflektierenden Glasobjektträger vom Typ „Low-E“ (7,5 × 2,5 cm, MirriIR, Kevley Technologies) aufgetragen. Das Ethanol wurde vor der Analyse bei Raumtemperatur verdunsten gelassen (ca. 2 Minuten). Für alle Proben wurde der in der Clarity Software enthaltene automatische Arbeitsablauf zur Partikelanalyse verwendet. Dieser Arbeitsablauf legt alle erforderlichen Geräteeinstellungen automatisch fest, einschließlich Scangeschwindigkeit, Sweep-Geschwindigkeit und Abschwächung. Diese Einstellungen können nicht geändert werden. Ein Analytiker kann die Standardeinstellungen für mehrere Optionen anpassen, einschließlich der Empfindlichkeit des Systems zur Partikeldetektion. Der Analytiker kann auch eigene Bereiche für den Hit Quality Index (HQI) festlegen. Der HQI beschreibt, wie gut das Spektrum der Probe mit dem der Referenzbibliothek übereinstimmt. Für dieses Experiment wurden die Klassifizierungsbereiche (d. h. die Charakterisierung der Qualität des Spektrungsvergleichs als hoch, mittel und niedrig) auf folgende Werte festgelegt:

- niedrige Zuverlässigkeit: 0,65 bis 0,75
- mittlere Zuverlässigkeit: 0,75 bis 0,85 und
- hohe Zuverlässigkeit: 0,85 bis 0,99

Alle Partikel, die außerhalb dieses Bereichs lagen, d. h. $< 0,65$, wurden als „unbestimmt“ eingestuft.

Die minimale Partikelgröße wurde in der Standardeinstellung auf 20 μm und die maximale Partikelgröße auf 500 μm festgelegt. Für die Analyse wurde eine Mikroplastik-Starterbibliothek (die mit dem LDIR bereitgestellt wurde) verwendet.

Ergebnisse und Diskussion

Um festzustellen, ob das LDIR in der Lage ist, Polyethylen von Magnesiumstearat zu unterscheiden, wurden die Proben von Polyethylen und Magnesiumstearat zunächst getrennt untersucht und dann vermischt.

Polyethylen-Mikrokügelchen

Der erste Schritt bestand darin, die für jede Probe von Polyethylen-Mikrokügelchen erhaltenen Spektren mit der Spektrenbibliothek zu vergleichen, die mit der Clarity Software geliefert wurde. In einem gescannten Bereich (2,88 × 2,83 mm), der insgesamt 39 Partikel enthielt, wurden 39 (100 %) Partikel mit Hilfe des automatisierten Arbeitsablaufs als Polyethylen identifiziert (Abbildung 3). Alle Partikel wurden mit hoher Zuverlässigkeit als Polyethylen identifiziert (HQI > 0,85, siehe Abbildung 4B). Der Arbeitsablauf zur Partikelanalyse erstellt am Ende der Analyse automatisch einen statistischen Überblick über den Partikeldurchmesser (μm) als Funktion der Anzahl (Abbildung 4A). Bei dieser Analyse wurde eine Agglomeration von Polyethylen-Mikrokügelchen festgestellt.

Magnesiumstearat

Wie bei den Polyethylenpartikeln wurden auch die mit dem LDIR erhaltenen Spektren von Magnesiumstearat mit der gleichen Spektrenbibliothek verglichen, die mit der Clarity Software bereitgestellt wurde. Insgesamt wurden 242 Partikel in einem gescannten Bereich von 2,88 × 2,84 mm detektiert. Alle Partikel wurden als Magnesiumstearat identifiziert, 234 (96,7 %) Partikel mit hoher Zuverlässigkeit und 8 (3,3 %) Partikel mit mittlerer Zuverlässigkeit (Abbildungen 5 und 6).

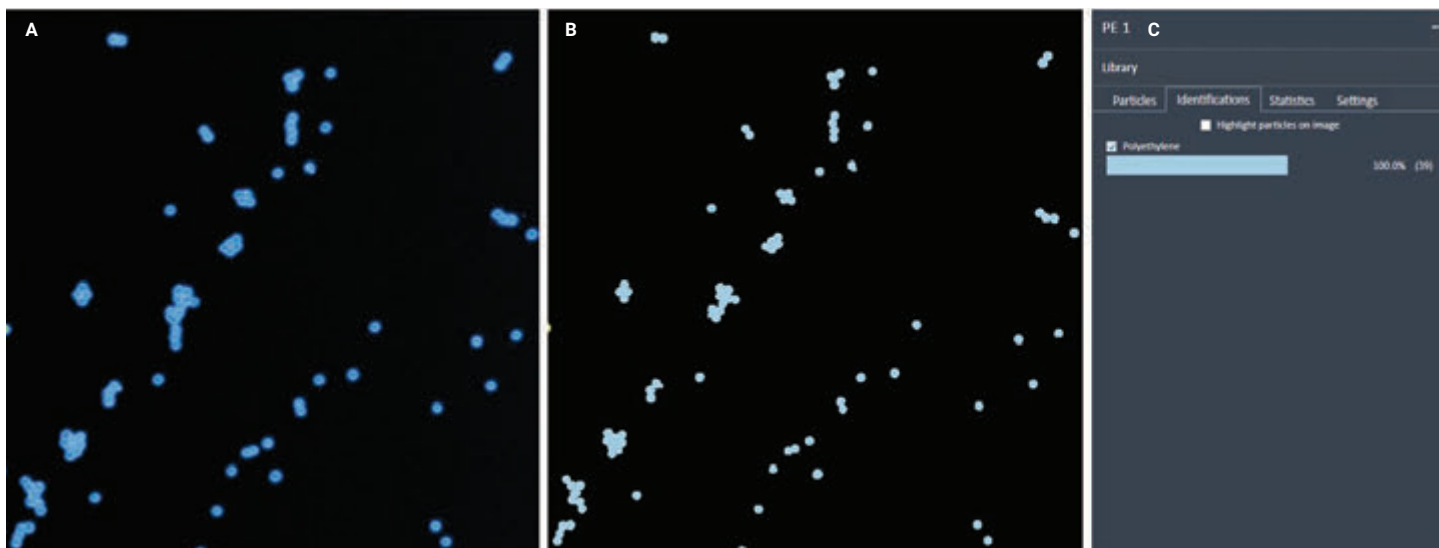


Abbildung 3. Analyse von Polyethylen-Mikrokügelchen mit dem automatisierten Arbeitsablauf der Clarity Software. (A) Bei 1442 cm^{-1} gescanntes Infrarotbild. (B) Markierungen der gefundenen Partikel; die Partikel sind dem identifizierten Mikroplastiktyp entsprechend farblich gekennzeichnet. (C) Statistische Daten, die auf der Grundlage der identifizierten Mikroplastikpartikel automatisch erstellt wurden.



Abbildung 4. (A) Statistische Daten der Mikroplastikpartikel auf der Grundlage verschiedener Größenbereiche. (B) Beispiel für Polyethylenpartikel; Partikelinformationen wie Infrarotbild, sichtbares Bild, HQI, Größe und Überlappung des Spektrums (durchgezogene rote Linie) mit dem übereinstimmenden Bibliotheksspektrum (grüne gestrichelte Linie) können angezeigt werden.

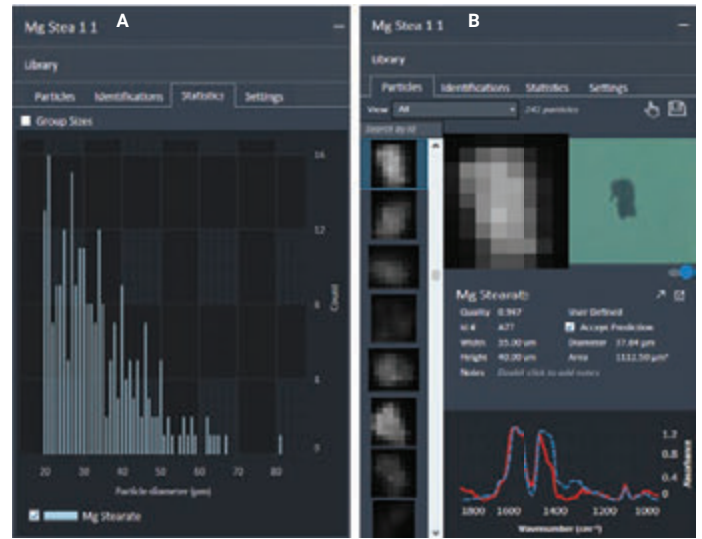


Abbildung 5. (A) Statistische Daten der Mikroplastikpartikel auf der Grundlage verschiedener Größenbereiche. (B) Beispiel für Magnesiumstearatpartikel, Partikelinformationen wie Infrarotbild, sichtbares Bild, HQI, Größe und Überlappung des Spektrums (durchgezogene rote Linie) mit dem übereinstimmenden Bibliotheksspektrum (blau gestrichelte Linie) können angezeigt werden.

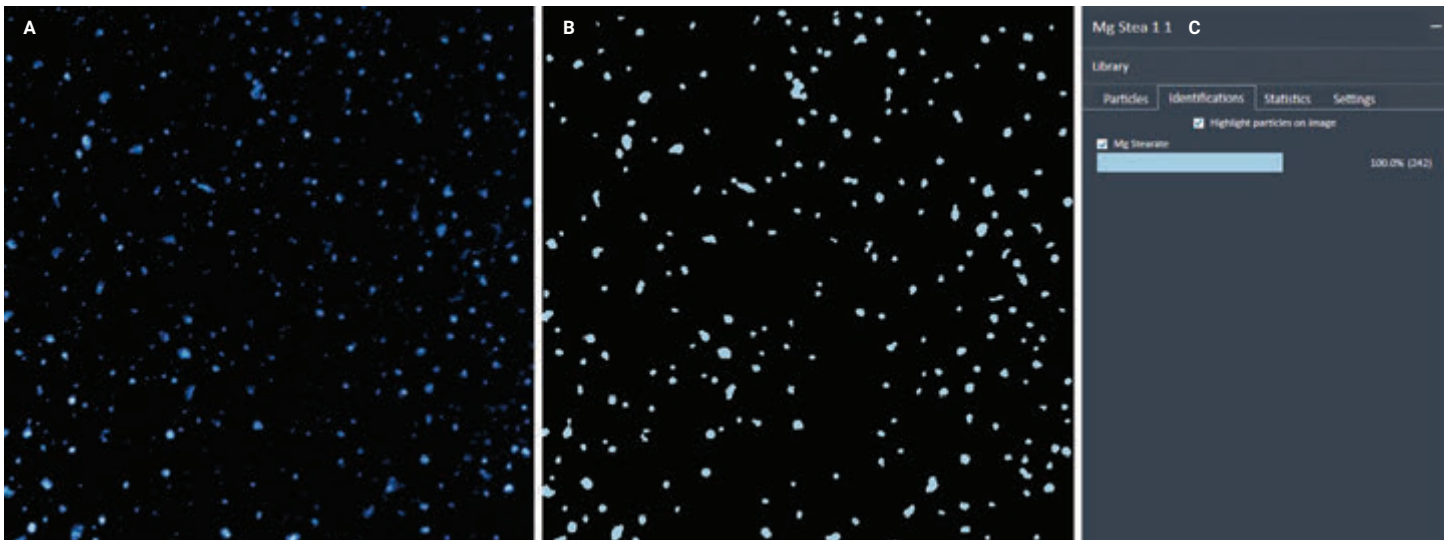


Abbildung 6. Analyse von Magnesiumstearat mit dem automatisierten Arbeitsablauf der Clarity Software. (A) Bei 1442 cm^{-1} gescanntes Infrarotbild. (B) Markierungen der gefundenen Partikel; die Partikel sind dem identifizierten Mikroplastiktyp entsprechend farblich gekennzeichnet. (C) Statistische Daten, die auf der Grundlage der identifizierten Mikroplastikpartikel automatisch erstellt wurden.

Gemischte Probe

Als letzter Schritt im Prozess zur Beurteilung der Fähigkeit des LDIR, zwischen Polyethylen und Magnesiumstearat zu unterscheiden, wurde eine gemischte Probe beider Materialien mit Hilfe des automatisierten Arbeitsablaufs analysiert. Mit der eingebauten Kamera mit starker Vergrößerung konnte jeder Typ visuell leicht unterschieden und die vom System generierten Ergebnisse überprüft werden (siehe Abbildungen 4B und 5B). Es wurde ein Bereich dieser Probe ($4,66 \times 5,58$ mm) gescannt, in dem 346 Partikel detektiert wurden. Von diesen Partikeln wurden 200 (57,8 %) als Magnesiumstearat und 146 (42,2 %) als Polyethylen klassifiziert (Abbildung 7).

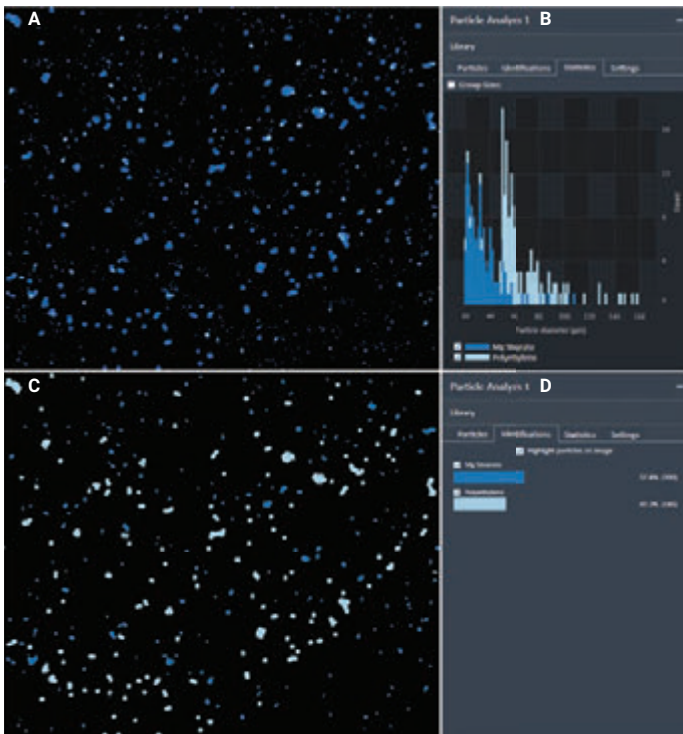


Abbildung 7. Analyse der gemischten Probe (Magnesiumstearat und Polyethylen) mit dem automatisierten Arbeitsablauf. (A) Bei 1442 cm^{-1} gescanntes Infrarotbild. (B) Statistische Daten der Mikroplastikpartikel auf der Grundlage verschiedener Größenbereiche. (C) Markierungen der gefundenen Partikel; die Partikel sind dem identifizierten Mikroplastiktyp entsprechend farblich gekennzeichnet. (D) Statistische Daten, die auf der Grundlage der identifizierten Mikroplastikpartikel automatisch erstellt wurden.

Nach einer umfassenden visuellen Überprüfung (manuelle Bewertung von 346 Partikeln) wurde Folgendes festgestellt:

1. Es haben sich Agglomerate aus Magnesiumstearat und Polyethylen gebildet, die als Magnesiumstearat identifiziert wurden. Dies ist darauf zurückzuführen, dass das LDIR ein Einzelpunkt-Spektrum vom Punkt mit der höchsten Extinktion (Magnesiumstearat) innerhalb des Agglomerats aufnimmt.
2. Abgesehen von den Agglomeraten wurden bei der visuellen Überprüfung weder Magnesiumstearat- noch Polyethylenpartikel festgestellt, die nicht korrekt klassifiziert worden waren, d. h. es gab keine falsch-negativen Ergebnisse.

Die typische für Polyethylen relevante spektrale Region ist die C-H-Biegeschwingung bei 1480 bis 1440 cm^{-1} . Sowohl Polyethylen als auch Magnesiumstearat zeigten diese Absorptionsbande. Magnesiumstearat wies jedoch ein weiteres charakteristisches starkes Signal in der Region von 1500 bis 1660 cm^{-1} auf (Abbildung 8). Da die Clarity Software die erste Ableitung des Spektrums als Suchalgorithmus verwendet, trug die Absorptionsbande bei 1500 bis 1600 cm^{-1} zur genauen Identifizierung von Magnesiumstearat und zur eindeutigen Unterscheidung von Polyethylen bei.

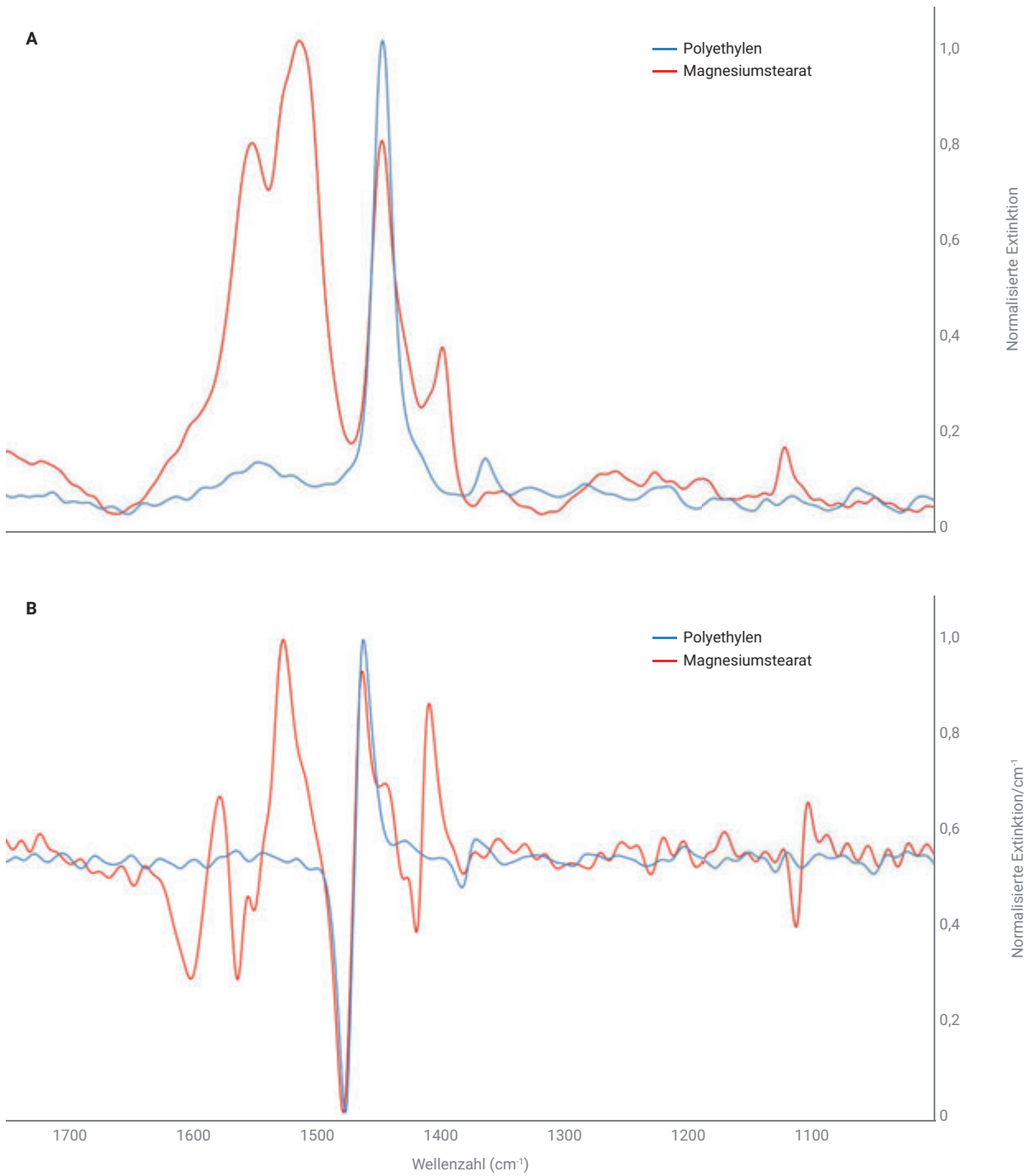


Abbildung 8. Eine Überlagerung des Polyethylenspektrums (blau) mit Magnesiumstearat (rot). (A) Normalisierte Extinktion, (B) erste Ableitung.

Schlussfolgerungen

In der Umwelt kommen viele synthetische und natürliche Mikropartikel vor. Laborergebnisse können verwirrend sein, da Nicht-Polymere eine potenzielle Quelle für Kontamination darstellen können. Diese Application Note beschreibt die erfolgreiche Klassifizierung und Unterscheidung von Magnesiumstearat und Polyethylen in einer gemischten Probe mit dem Agilent 8700 LDIR. Die Hardware- und Softwarefunktionen des LDIR schlossen eine Fehlinterpretation von Magnesiumstearat und Polyethylen im Arbeitsablauf der automatischen Partikelanalyse aus. Die vollautomatisierte Methode zur Partikelanalyse in der Agilent Clarity Software liefert dem Anwender zudem auf effiziente Weise Informationen zur Größe und Größenverteilung der Partikel sowie zur Identifizierung von Mikroplastikpartikeln.

Literatur

1. Lim, X. Microplastics Are Everywhere — But Are They Harmful? *Nature* **2021**, 593(7857), 22–25. doi: 10.1038/d41586-021-01143-3. PMID: 33947993.
2. Witzig, C. S. *et al.* When Good Intentions Go Bad—False Positive Microplastic Detection Caused by Disposable Gloves. *Environ. Sci. Technol.* **2020**, 54(19), 12164–12172. doi:10.1021/acs.est.0c03742. Epub 2020 Sep 17. PMID: 32882126.
3. Schymanski, D. *et al.* Analysis of Microplastics in Drinking Water and Other Clean Water Samples with Micro-Raman and Micro-Infrared Spectroscopy: Minimum Requirements and Best Practice Guidelines. *Anal. Bioanal. Chem.* **2021**, 413(24), 5969–5994. doi: 10.1007/s00216-021-03498-y. Epub 2021 Jul 20. PMID: 34283280; PMCID: PMC8440246.
4. Landeros Gonzalez, G. *et al.* A Review of the Origins of Microplastics Arriving at Wastewater Treatment Plants. *Detritus* **2022**, 20, 41–55. DOI: 10.31025/2611-4135/2022.15224.
5. Primpke, S. *et al.* Reference Database Design for the Automated Analysis of Microplastic Samples Based on Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 410, 5131–5141. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1156-x>
6. De Frond, H.; Rubinovitz, R.; Rochman, C. M. μ ATR-FTIR Spectral Libraries of Plastic Particles (FLOPP and FLOPP-e) for the Analysis of Microplastics. *Anal. Chem.* **2021**, 93(48), 15878–15885. DOI: 10.1021/acs.analchem.1c02549