



Application Note 41000051-B

Identifizierung von Mikroplastik mit Raman-Mikroskopie

Schnelle Identifizierung von Mikroplastikpartikeln in der Umwelt

Mikroplastik ist zu einem Problem für die Gesundheit und Sicherheit der Umwelt geworden, obwohl wir seine langfristigen Auswirkungen noch nicht vollständig verstehen. Mikroplastik, definiert als Kunststoffabfälle mit einer Größe von weniger als 5 mm, ist die am häufigsten vorkommende Form von Meeresmüll [1,2]. Mikroplastik wird in primäres und sekundäres Plastik eingeteilt. Zu primärem Mikroplastik gehören kleine, hergestellte Gegenstände wie Fasern und Perlen [3]. Sekundäres Mikroplastik umfasst Fragmente, die durch eine Kombination aus physikalischen, chemischen und biologischen Prozessen entstehen [3]. Forschungslaboratorien *müssen* ihre Möglichkeiten

zur routinemäßigen Analyse von Mikroplastik-Kandidaten aus Umweltproben ausbauen. Spektroskopische Verfahren eignen sich gut für die Identifizierung von Polymeren. Dies hilft bei der Bestimmung der Herkunft und bei der Vorhersage biologischer Auswirkungen. Die Raman-Spektroskopie im Labor ist eine Alternative zu konfokalen Raman-Mikroskopen und Fourier-Transform-Infrarot-Mikroskopen (FTIR) für die schnelle Identifizierung von Polymermaterialien. Allerdings sind sehr kleine Proben für die herkömmliche Raman-Analyse schlecht geeignet. In dieser Application Note wurde die Raman-Mikroskopie zur Identifizierung sehr kleiner Mikroplastikpartikel eingesetzt.

EINFÜHRUNG

Die Raman-Spektroskopie bietet viele Vorteile und Anpassungen für verschiedene Anwendungen. Die Raman-Mikroskopie ermöglicht eine einfachere Probenahme von kleinen Partikeln (<100 µm) als die FTIR, eine andere häufig für die Identifizierung von Mikroplastik verwendete Technik. Raman-Systeme sind in der Regel viel mobiler als die meisten anderen Techniken, so dass die Tests direkt vor Ort

durchgeführt werden können. Abgesehen von einigen Störungen durch Farbstoffe sind Polymere und Kunststoffe gute Kandidaten für die Raman-Analyse. **Abbildung 1** zeigt die Raman-Spektren von Polyethylen- und Polypropylen-Materialien, die mit einer Anregung von 1064 nm gemessen wurden. Die Kunststoffe lassen sich anhand ihrer spektralen Eigenschaften deutlich unterscheiden.

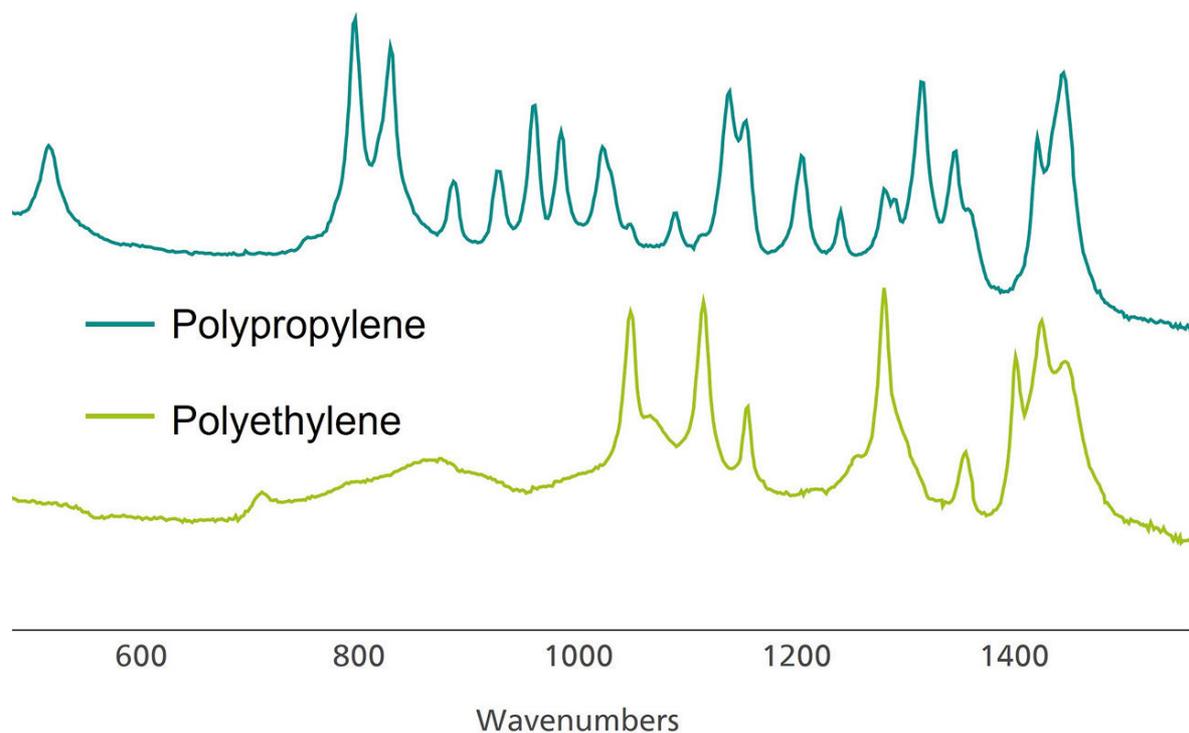


Abbildung 1 Raman-Spektren von Polypropylen (oben) und Polyethylen (unten). Die Spektren sind zur visuellen Verdeutlichung manuell versetzt.

Diese Application Note untersucht den Einsatz der tragbaren Raman-Mikroskopie zur Identifizierung von

Mikroplastik, das aus Oberflächengewässern von Flussmündungen gewonnen wurde.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Die Wasserproben wurden aus dem Oberflächenwasser der Delaware Bay (USA) entnommen. Sie wurden dann in Glasgefäße gefüllt und mit 4 % Formaldehyd fixiert. Die gesamte Probe wurde auf Edelstahlsieben (5000, 1000 und 300 μm) nach Größe fraktioniert. Die 300 und 1000 μm großen Proben wurden über Nacht bei 90 °C getrocknet. Nach dem Trocknen wurde durch nasse Peroxidoxidation und Dichtentrennung Mikroplastik

aus dem aufgeschlossenen organischen Material isoliert [4]. Mikroplastik wurde auf 200 μm Nitex-Sieben gesammelt und getrocknet. Diese Proben wurden unter einem Stereomikroskop untersucht, und jedes Stück wurde einem Kunststofftyp zugeordnet (d. h. Fragment, Faser, Perle, Folie, Schaumstoff, Gummi). Anschließend erfolgte die Identifizierung der Kunststoffe mittels Raman-Spektroskopie.

Tabelle 1. Experimentelle Parameter.

| Ausrüstung | Erfassungseinstellungen | |
|-----------------------|-------------------------|------------|
| i-Raman EX | Laserleistung | <165 mW |
| Videomikroskop BAC151 | Int. Zeit | 30 s–3 min |
| BWID-Software | Mittelungen | 1 |

Für alle Messungen wurde ein tragbares Raman-System i-Raman® EX mit 1064-nm-Laseranregung verwendet (siehe **Tabelle 1** für Spezifikationen). Die 1064-nm-Laseranregung schwächt die spektrale Fluoreszenz ab, die sich aus der 785-nm-Laseranregung von farbigen Mikroplastikproben ergeben würde. Zur Abbildung des Mikroplastiks wurde ein BAC151C-Videomikroskop mit einem

Objektiv mit 50facher Vergrößerung (9,15 mm Arbeitsabstand, 42 µm Spotgröße) verwendet. Die Laserleistung wurde unter 50 % der maximalen Leistung (<165 mW) gehalten, um ein Verbrennen der Proben zu vermeiden. Die BWID®-Software wurde zur Identifizierung des Mikroplastiks anhand einer Referenzbibliothek von Kunststoffspektren verwendet.

ERGEBNISSE

Sekundäres Mikroplastik

Es wurden mehrere Mikroplastikproben analysiert. **Abbildung 2a** zeigt ein blaues Mikroplastikfragment am größeren Ende des Größenbereichs von Mikroplastik (Durchmesser etwa 4,5 mm). Die

unregelmäßige Form dieses Partikels deutet darauf hin, dass es sich wahrscheinlich um sekundäres Mikroplastik handelt. **Abbildung 2b** zeigt das Raman-Spektrum, das von dem blauen Kunststofffragment aufgenommen wurde.

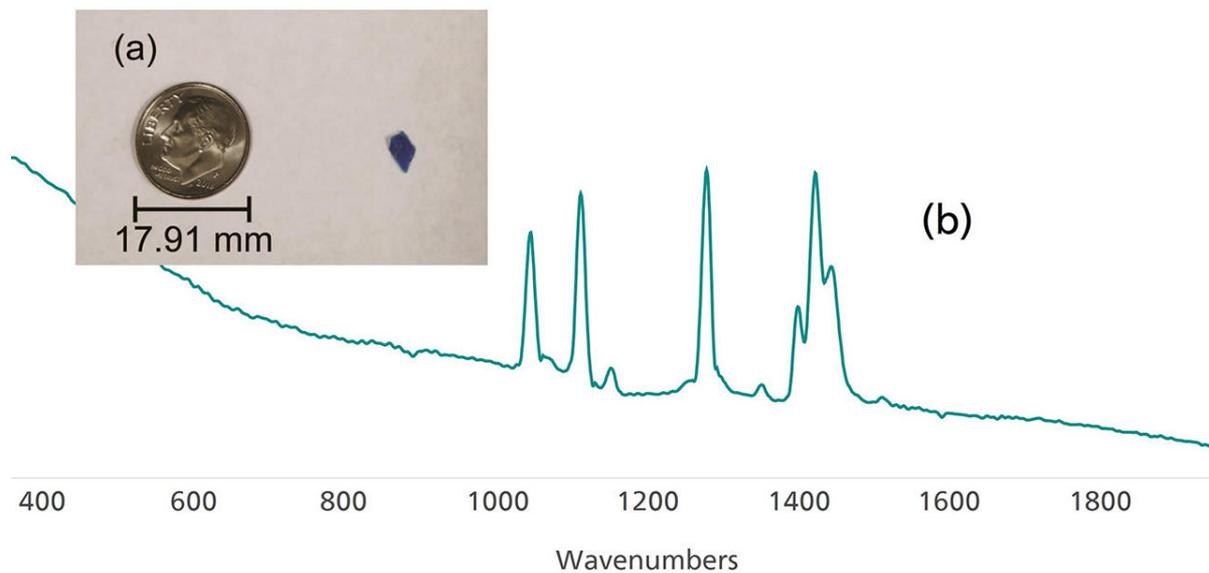


Abbildung 2. (a) Kleines blaues Plastikfragment (mit amerikanischem Dime zum Vergleich) und (b) von der Probe aufgenommenes Raman-Spektrum.

Die BWID-Software vergleicht das erfasste Spektrum einer unbekannt Probe mit einer Bibliothek von Referenzmaterialien, um einen Trefferqualitätsindex (HQI), einen Korrelationskoeffizienten, zu erstellen. Für die Berechnung wird eine erste Ableitung auf das Spektrum angewendet. Die Suchergebnisse der Spektralbibliothek werden von einem HQI von 100 bis 0 (beste bis schlechteste Übereinstimmung)

eingestuft. BWID kann mit einer Vielzahl von kommerziellen Spektralbibliotheken verwendet werden und unterstützt die Erstellung eigener Bibliotheken. BWID glich das blaue Fragment in **Abbildung 2a** mit einem Referenzspektrum von Polyethylen (PE) mit einem berechneten HQI von 95,7 ab (**Abbildung 3**), was auf eine starke spektrale Korrelation hinweist.

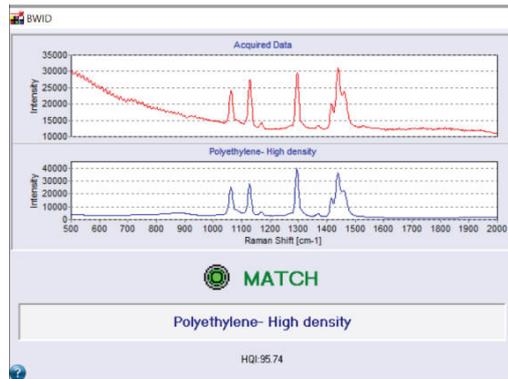


Abbildung 3. BWID-Übereinstimmung für Polyethylen.

Primäres Mikroplastik

Abbildung 4a zeigt das Raman-Spektrum einer kleinen, kugelförmigen Perle (Abbildung 4b). Bei diesem Kügelchen handelt es sich wahrscheinlich um

primäres Mikroplastik. Das BWID glich das Probenspektrum mit einem Referenzspektrum von Polystyrol mit einem HQI von 98,2 ab.

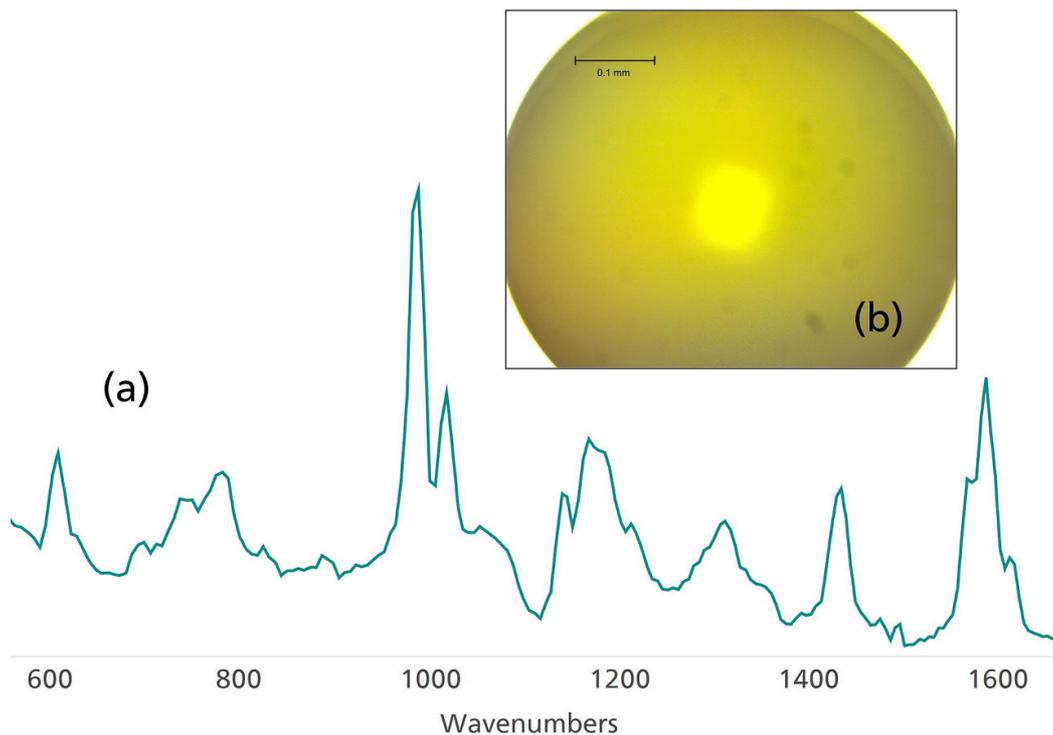


Abbildung 4. (a) Raman-Spektrum von Polystyrol, gesammelt aus (b) einer Polystyrolperle.

Fasern sind eine wichtige und häufige Untergruppe von Mikroplastikpartikeln. **Abbildung 5a** zeigt das Raman-Spektrum, das von einer dünnen farbigen Faser (**Abbildung 5b**) aufgenommen wurde. BWID

glich das Raman-Spektrum der Probe mit einem Referenzspektrum von Polypropylen ab, wobei ein HQI von 74,9 berechnet wurde.

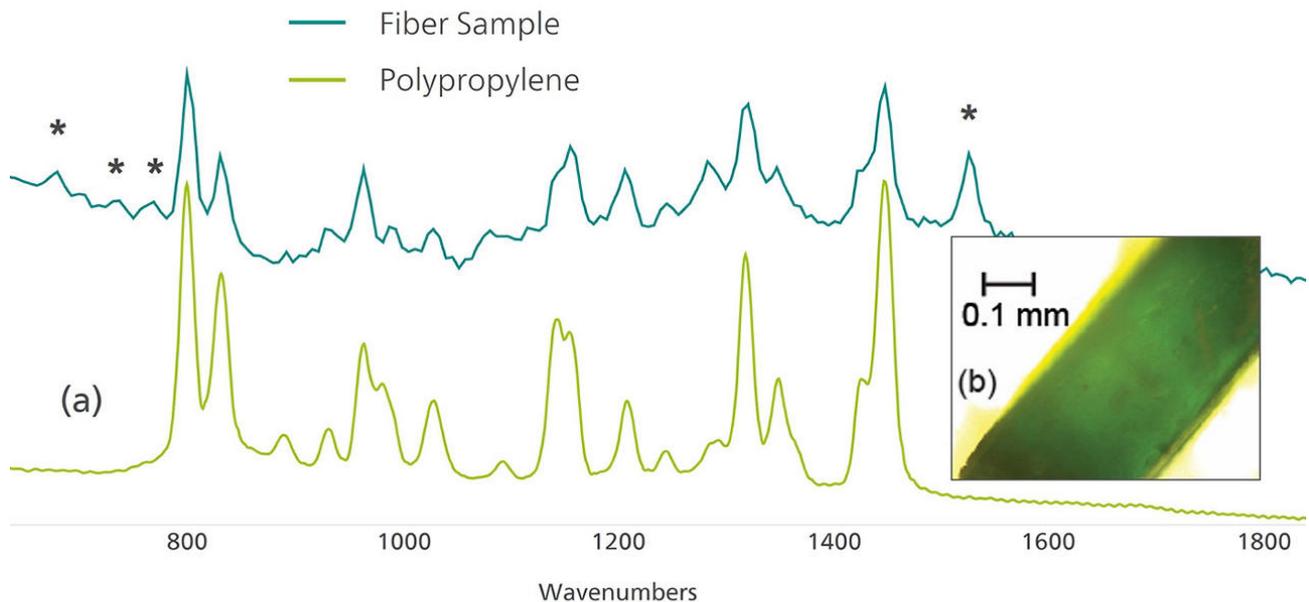


Abbildung 5. (a) Raman-Spektren einer gefärbten Faser (oben) im Vergleich zu einem Referenzspektrum von Polypropylen (unten) und (b) Mikroskopbild der gefärbten Faser. Die Sternchen kennzeichnen Peaks, die auf den im Kunststoff verwendeten Farbstoff zurückzuführen sind.

Dieser relativ niedrige Wert veranlasste zu weiteren Untersuchungen der Peaks im Probenspektrum, die nicht auf Polypropylen zurückzuführen sind. Der Peak bei ca. 1537 cm^{-1} und die Reihe schwacher Peaks von $670\text{--}790\text{ cm}^{-1}$ stimmen mit dem Raman-Spektrum von chloriertem Kupferphthalocyanin-Grünpigment überein [5]. Dies ist eine nützliche Information zur Bestimmung der Herkunft einer Probe.

Zusammenfassung der Mikroplastik-Messungen

Eine Zusammenfassung des in dieser Studie gemessenen Mikroplastiks zeigt, dass die Proben

hauptsächlich aus Polyethylen, Polypropylen oder Polystyrol bestanden (**Tabelle 2**). Nicht aussagekräftige Ergebnisse stammen in der Regel von schwarzem Mikroplastik, einem Material, das bereits in der Vergangenheit eine Herausforderung für Raman darstellte. Eine weitere beobachtete Einschränkung ist die Zersetzung der Proben. Es sollten niedrige Laserleistungen verwendet werden ($\sim 10\%$ der maximalen Leistung), um eine Verformung und Verbrennung der Probe zu vermeiden.

Tabelle 2. Zusammenfassung der Identifizierungsergebnisse.

| Spielergebnis | Anzahl von Beispielen |
|-----------------|-----------------------|
| Polyethylen | 11 |
| Polypropylen | 4 |
| Polystyrol | 2 |
| Nicht schlüssig | 5 |

FAZIT

Mikroplastik stellt eine potenzielle Gefahr für die menschliche Gesundheit und unsere Umwelt dar. Ihre zuverlässige Charakterisierung wird in naher Zukunft ein wichtiges Forschungsthema sein. Die Raman-Mikroskopie ist ein wirksames Instrument zur eindeutigen Identifizierung dieses Mikroplastiks. Die

Anregung bei 1064 nm schwächt die Fluoreszenz der in den Kunststoffen verwendeten Farbstoffe ab. Software-Korrelationskoeffizienten-Algorithmen sind nützlich für die einfache Identifizierung von Kunststoffen.

ANERKENNUNGEN

Danke an Jonathan H. Cohen und Taylor Hoffman von der University of Delaware School of Marine Science

and Policy für die Mitverfasser dieser Application Note und die Bereitstellung der Mikroplastikproben.

REFERENZEN

1. Law, K. L. Plastics in the Marine Environment. *Ann Rev Mar Sci* **2017**, *9*, 205–229. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010816-060409>.
2. Galloway, T. S.; Cole, M.; Lewis, C. Interactions of Microplastic Debris throughout the Marine Ecosystem. *Nat Ecol Evol* **2017**, *1* (5), 116. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0116>.
3. Jambeck, J. R.; Geyer, R.; Wilcox, C.; et al. Plastic Waste Inputs from Land into the Ocean. *Science* **2015**, *347* (6223), 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>.
4. Masura, J.; Baker, J.; Foster, G.; et al. *Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for Quantifying Synthetic Particles in Waters and Sediments*; NOAA Technical Memorandum; Report NOS-OR&R-48; NOAA Marine Debris Division: Silver Spring, MD, 2015. <https://doi.org/10.25607/OBP-604>.
5. Duran, A.; Franquelo, M. L.; Centeno, M. A.; et al. Forgery Detection on an Arabic Illuminated Manuscript by Micro-Raman and X-Ray Fluorescence Spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* **2011**, *42* (1), 48–55. <https://doi.org/10.1002/jrs.2644>.

CONTACT

Metrohm Deutschland
In den Birken 3
70794 Filderstadt

info@metrohm.de

GERÄTEKONFIGURATION

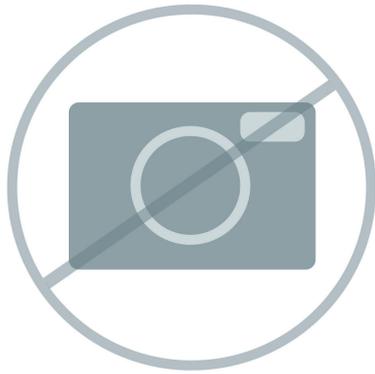


i-Raman EX Tragbares Raman-Spektrometer

Das i-Raman[®] EX ist Bestandteil unserer preisgekrönten Serie der i-Raman tragbaren Raman-Spektrometer mit unserem patentierten CleanLaze[®]-Laser zur Anregung bei 1'064 nm. Dieses tragbare Raman-Spektrometer nutzt einen hochempfindlichen InGaAs-Array-Detektor mit TE-Tiefkühlung, hohem Dynamikbereich und einem auf hohen Durchsatz ausgelegten Spektrografen. Es bietet ein hohes Signal-Rausch-Verhältnis, ohne Autofluoreszenz auszulösen, sodass eine breite Auswahl an Naturprodukten, biologischen Proben (z. B. Zellkulturen) und farbigen Proben gemessen werden kann.

Das i-Raman EX deckt einen Spektralbereich von 100 cm^{-1} bis 2'500 cm^{-1} ab, was Messungen in der gesamten Fingerprint-Region ermöglicht. Die kleine Grundfläche des Systems, die leichte Bauweise und der geringe Energieverbrauch sorgen überall für die Möglichkeit, Raman-Analysen auf Forschungsniveau durchzuführen. Für erweiterte Analysemöglichkeiten kann es mit unserer unternehmenseigenen Software Vision sowie der multivariaten Analysesoftware BWIQ[®] und der Identifikationssoftware BWID[®] betrieben werden. Mit dem i-Raman EX haben Sie immer eine hochpräzise Raman-Lösung für qualitative und quantitative Analysen ohne Fluoreszenz zur Hand.

BWS485III



Videomikroskop-Objektiv, 50-fache Vergrößerung

Mikroskopobjektiv, unendlich korrigiert, 50-fache Vergrößerung, Arbeitsabstand (mm) = 9.15
Brennweite (mm) = 4 numerische Apertur (NA) = 0.55.

RML150A