

# Schnelle und automatische Routineanalyse von Mikroplastiken mit dem 8700 LDIR Imaging System

Andreas Kerstan  
Product Specialist  
[andreas.kerstan@agilent.com](mailto:andreas.kerstan@agilent.com)

# Was sind Mikroplastiken?

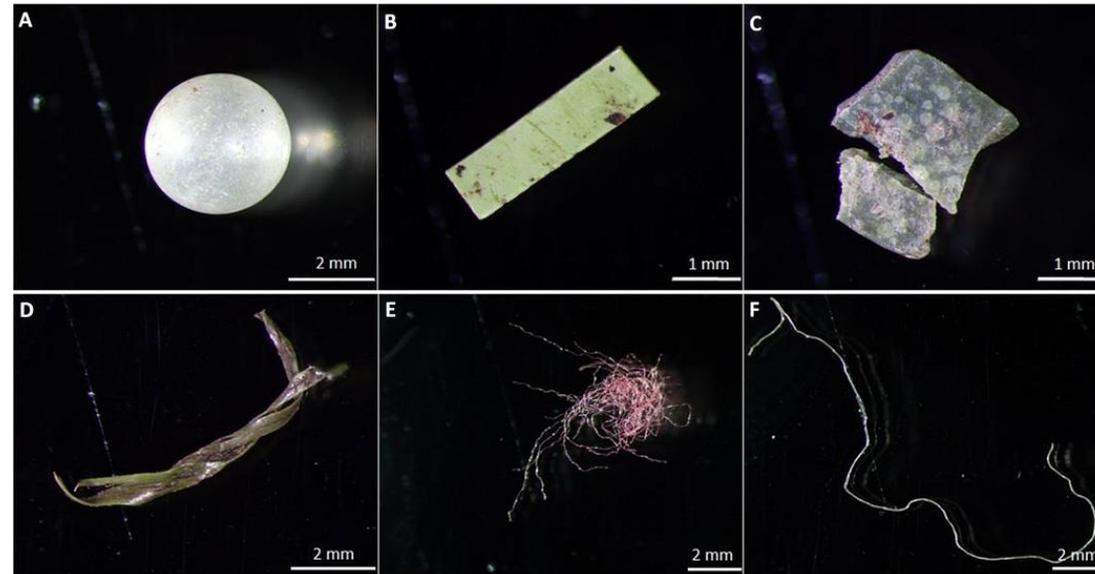
Mikroplastik ist jedes synthetische feste Teilchen oder jede Polymermatrix plastischen Ursprungs mit regelmäßiger oder unregelmäßiger Form und einer Größe im Bereich von **1  $\mu\text{m}$  bis 5 mm**, entweder primären oder sekundären Herstellungsursprungs, die in Wasser unlöslich ist.

<sup>1</sup> Frias and Nash. Mar Pollut Bull, 2019, 138:145–147



# Herausforderungen bei der Analyse

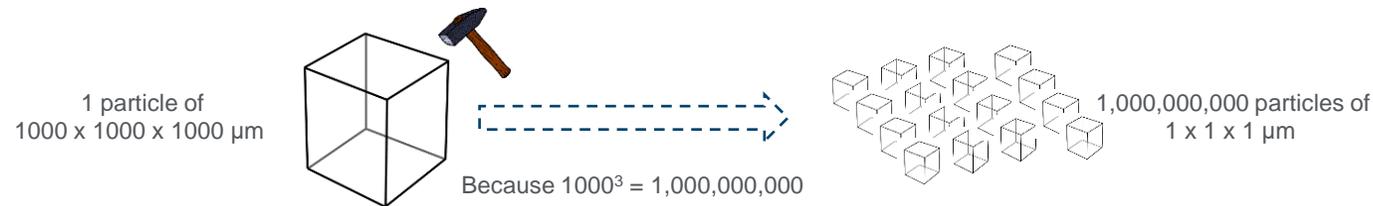
Mikroplastiken sind nicht nur aufgrund ihrer offensichtlich geringen Größe schwer zu messen, sondern auch, weil die gewählte Technik in der Lage sein muss, eine Vielzahl von Polymeren zu identifizieren, die in einer Vielzahl unterschiedlicher Formen und Formen vorliegen, z. Fasern, Fragmente und Mikrokügelchen. Es gibt keine „perfekte“ Technik, daher ist eine Kombination von Ansätzen erforderlich.



# Herausforderungen bei der Analyse

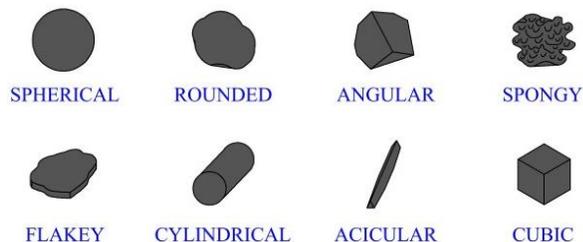
Die Partikelanzahl ist eine wichtige Kenngröße

Allerdings ist die Anzahl alles andere als fix zu betrachten, sondern variiert extrem und korreliert zum Beispiel mit der Sprödigkeit der Partikel



Verschiedene Größenbereiche werden typischerweise definiert (330-5000 µm vs. 10-500 µm)

Die Partikelform wird weitgehend ignoriert. Die Größe wird nur durch eine Zahl angegeben, die normalerweise als „Partikelgröße“ bezeichnet wird.”



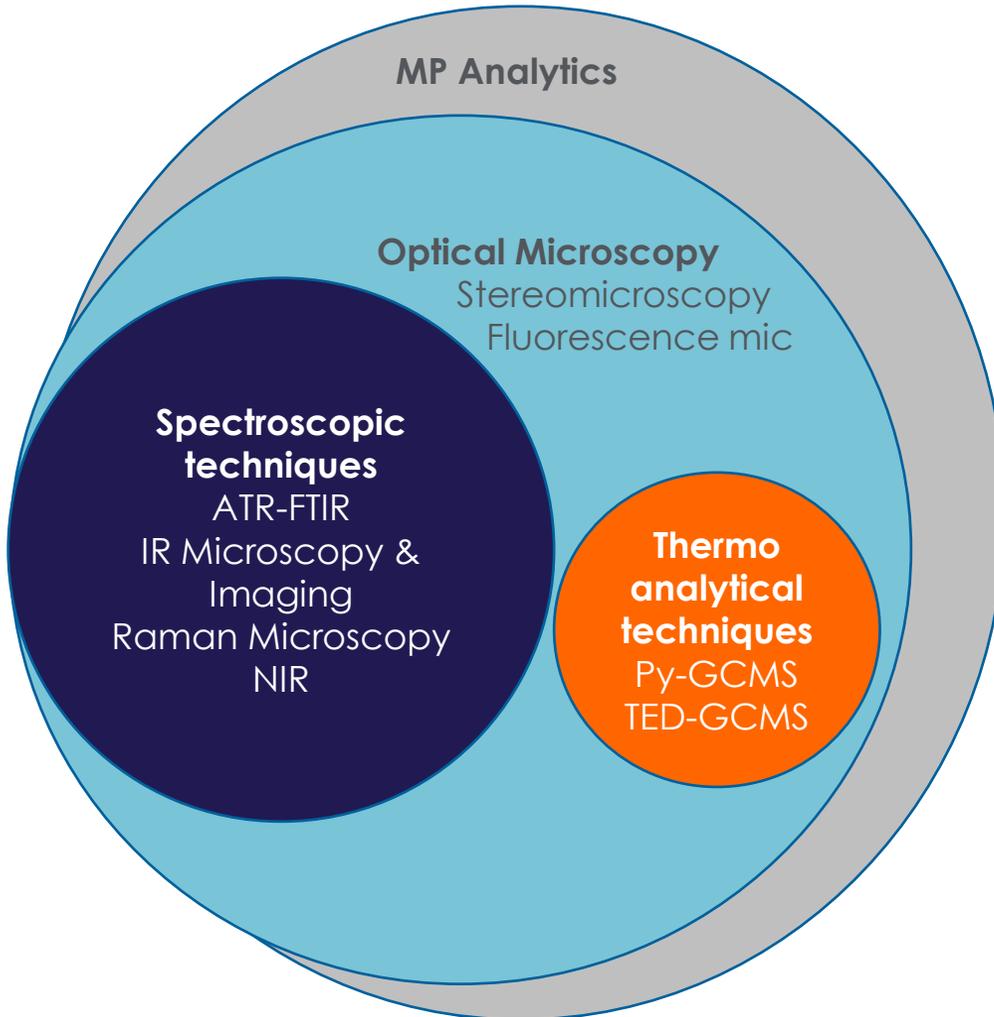
Alle diese Teilchen werden als gleich groß betrachtet.

Partikelanzahl + Größe sind bedeutsam,  
da die Auswirkungen mit abnehmender  
Größe zunehmen

ABER

Die Masse der Mikroplastiken wird  
benötigt, um Quellen und  
Kontaminationsniveaus zu bewerten und  
zu vergleichen.

# Fragestellungen und Herausforderungen



Analytical technique	Shape info	Chemical ID	MP <sub>Num</sub>	MP <sub>Mass</sub>
Optical microscopy; Fluorescence microscopy	● ●	● ●	● ●	● ●
ATR-FTIR	N/A	●	N/A	●*
μFT-IR-Imaging	●	●	●	●
NIR, Hy-Spec-Imaging	●	●	●	●
μRaman;	●	●	●	●
Pyr-GC-MS	●	●	●	●
TED-GC-MS	●	●	●	●

\* Using a balance to weigh particles

# Agilent's Portfolio

## Komplementärtechniken



### Handheld FTIR

In-Field/Portable

Rapid analysis

Price effective

Limitations in size measurement and data analysis (~500  $\mu\text{m}$ )

### LDIR

Lab-based

Complete SW workflow

Faster Analysis; larger area imaging than FTIR

Suitable for 20-500  $\mu\text{m}$  and particle character

### GC-MS

Market leader in Env Labs

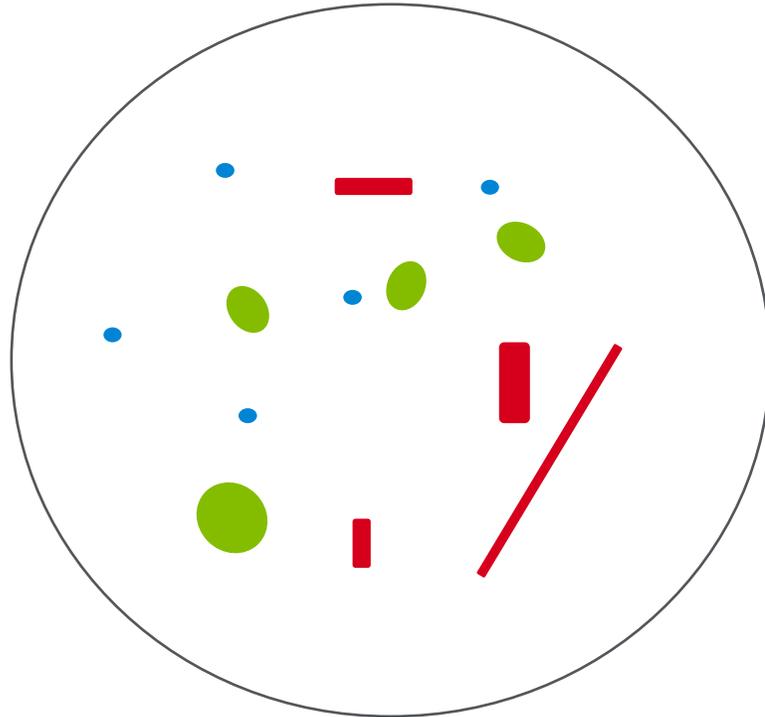
Well-known technology

Requires sample introduction with thermal analysis/pyrolysis unit

Mass fraction characterization

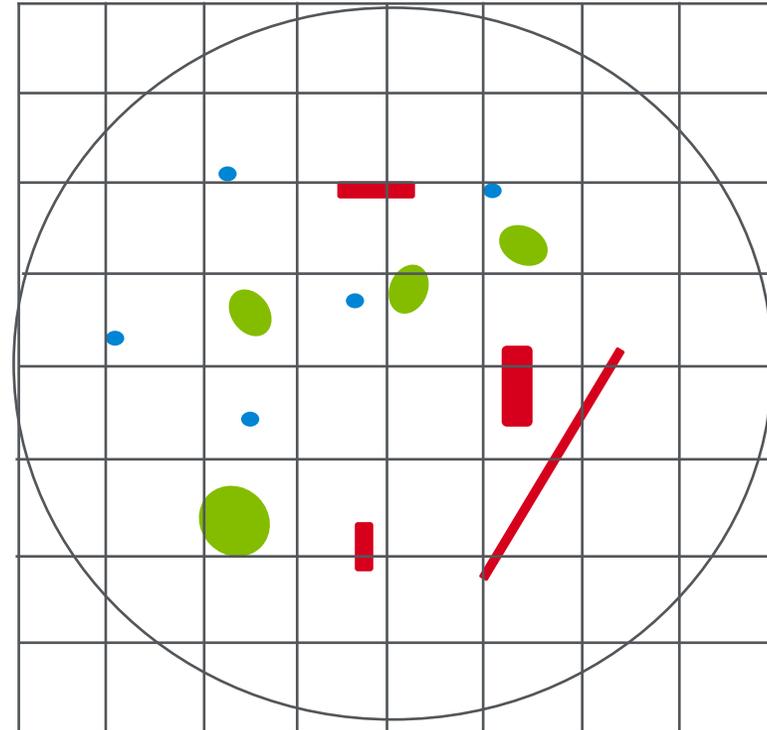
# Zwei verschiedene Ansätze für die Mikroplastikanalyse

Detektion und ID (LDIR 8700)



Partikelerkennung mittels VIS Bild, Erfasste Partikel werden nacheinander gemessen und simultan analysiert.

Vermessung der gesamten Fläche und Post-Analyse (FTIR Imaging)



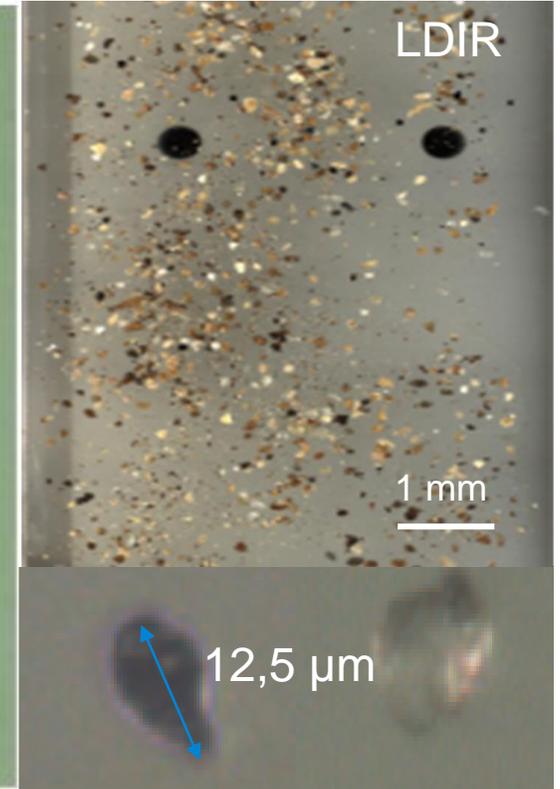
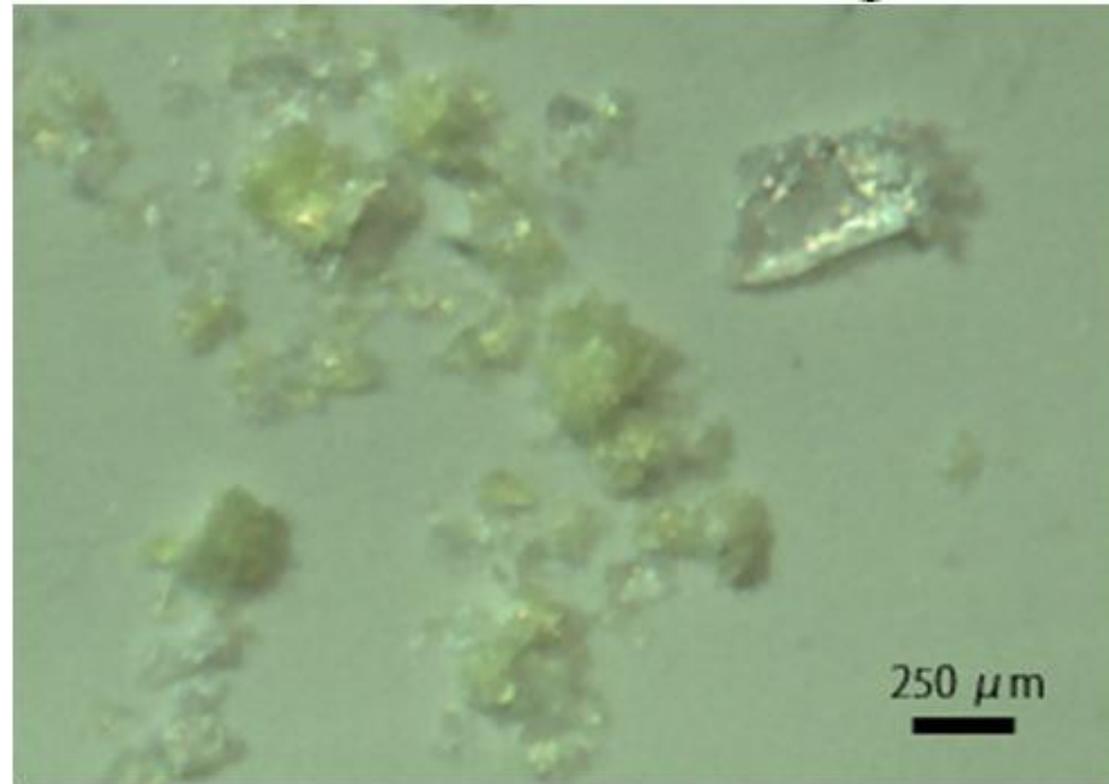
IR-Bild des gesamten Messbereiches und Verwendung einer Nachbearbeitungssoftware zum Erkennen und Identifizieren von Partikeln (Post-Analyse)

# Detektion und ID

Die meisten IR-Mikroskope haben Videokameras von relativ schlechter Qualität. Selbst die 14MP-Kamera im Cary 620 kann nur Partikel > 20µm auflösen. Transparente Polymere sind immer eine Herausforderung.

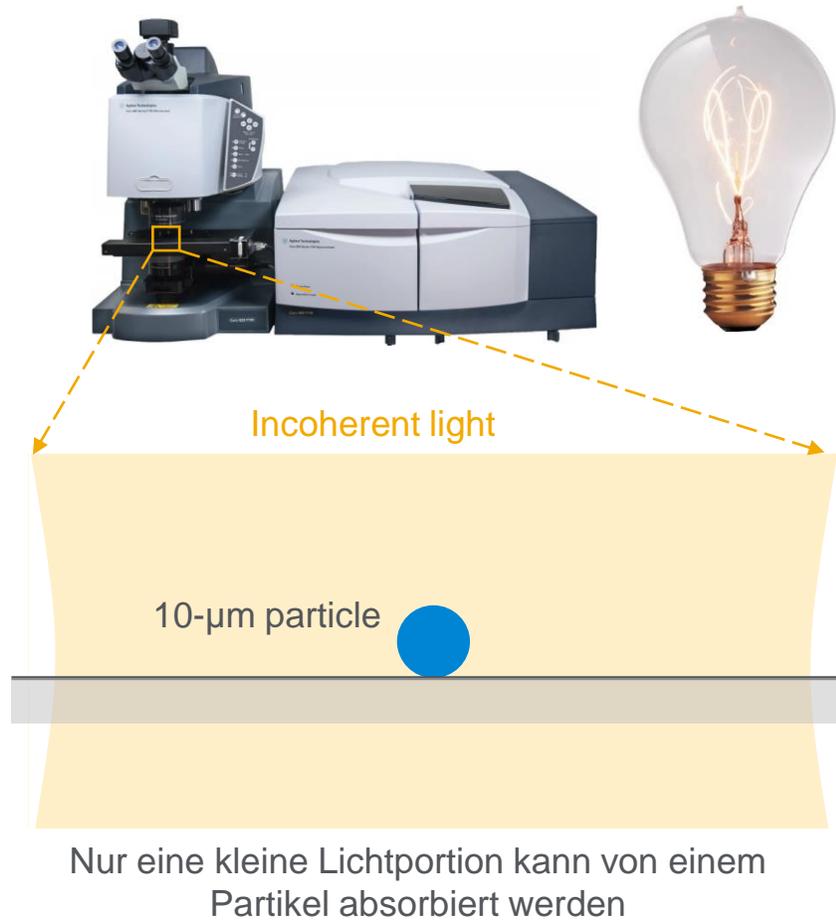
Verschwommene Bilder machen es unmöglich, Partikel genau zu identifizieren und ihre Größe und Form zu bestimmen.

Oft „verklumpen“ Partikel. Wo beginnt und endet ein anderes?



Wenn der Größenbereich der Partikel nicht gezielt gesteuert wird, ist eine gleichmäßige Fokussierung auf alle Partikel gleichzeitig kaum möglich.

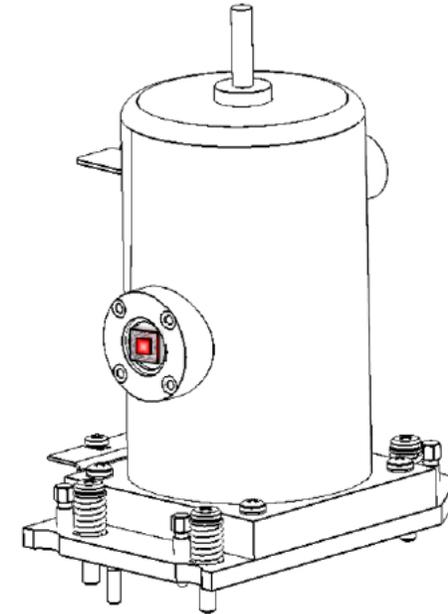
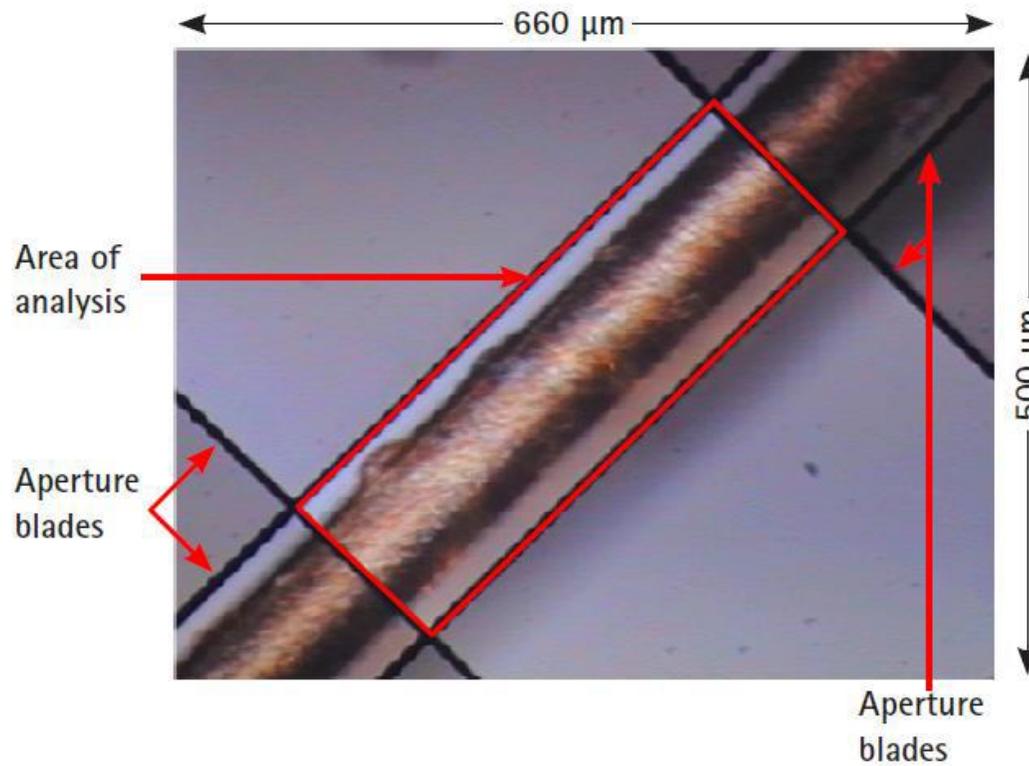
# FTIR Mikro-Spektroskopie



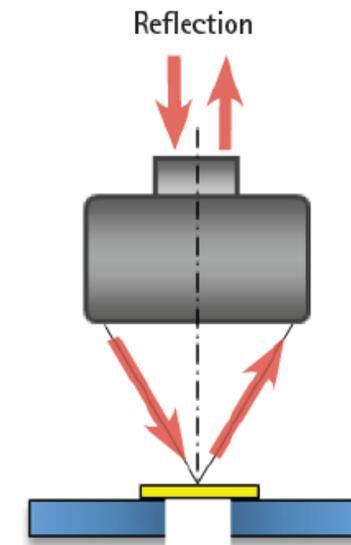
- Kombination FTIR Spektrometer+ Mikroskop für kleine Partikel
- Problem: Eine große inkohärente Quelle kann nicht auf einen kleinen Partikel fokussiert werden- schwaches Signal/ langsam
- Typischerweise 30 s pro Spektrum

Lösung: Ein fokussierter Laser!

# “Einzelpunkt” Mikroskopie



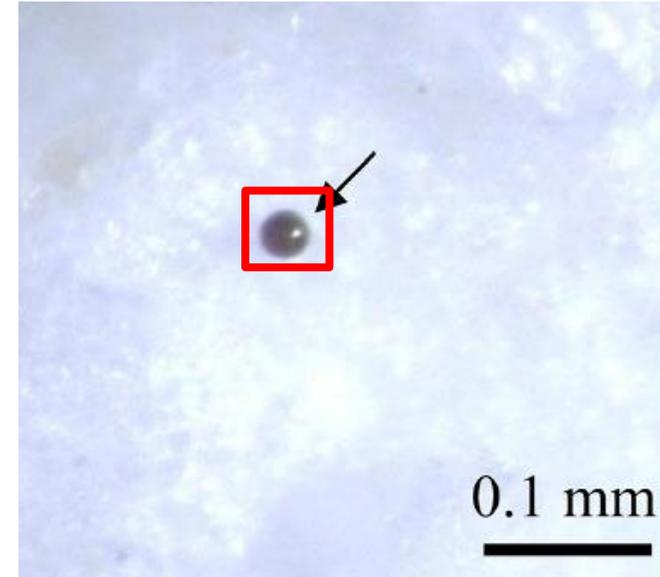
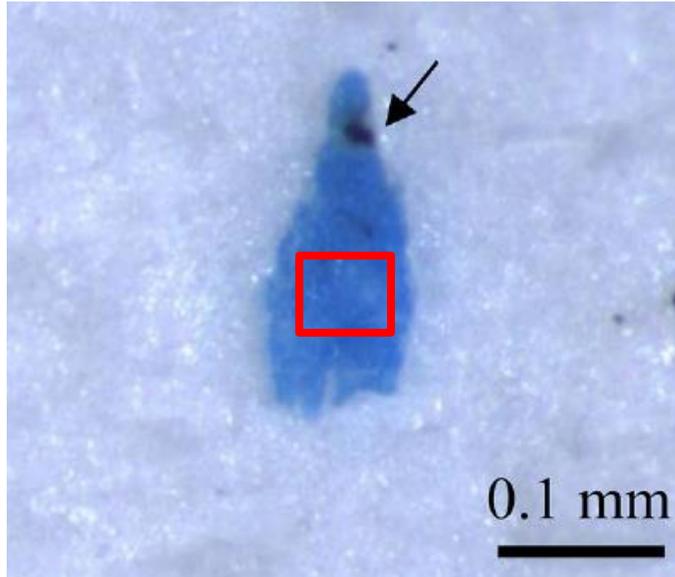
**“Beugungslimitiert”**: kleinste detektierbare Größe  
(“örtliche Auflösung”) beträgt etwa 12 – 20  $\mu\text{m}^2$



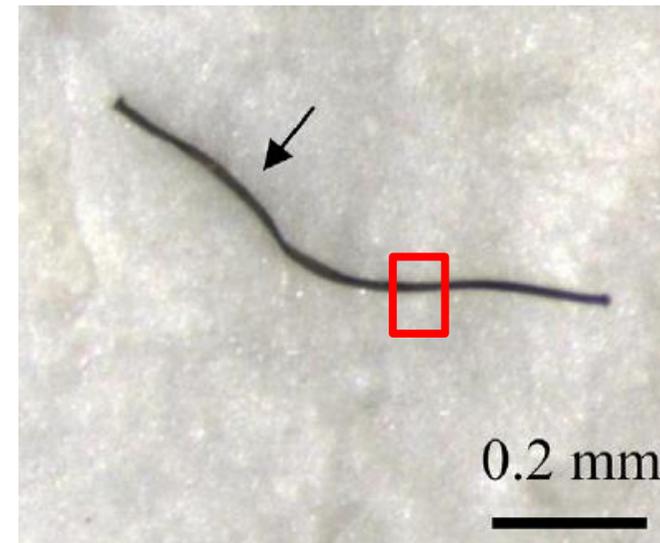
# Einzelpunkt-Mikroskopie



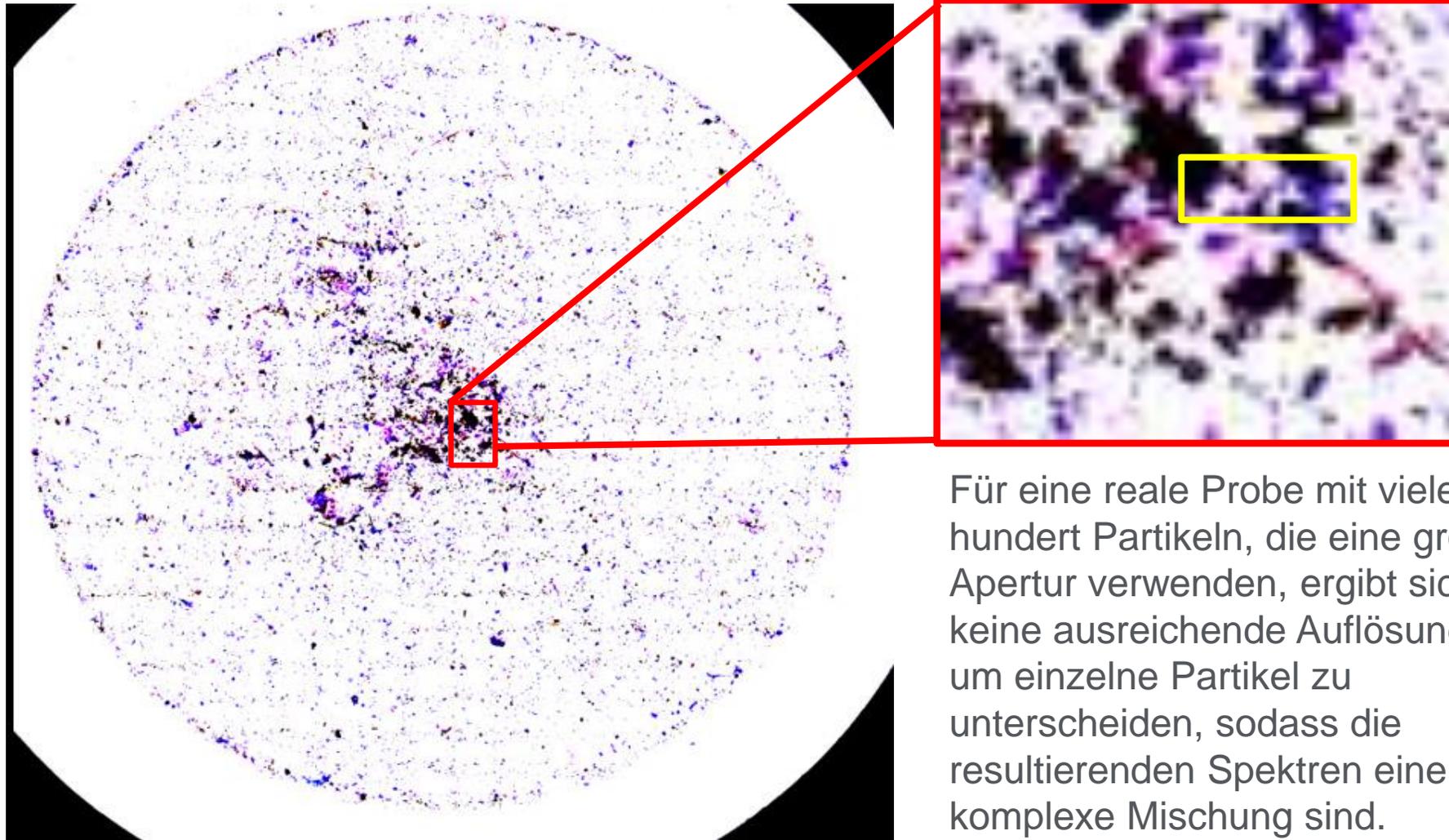
# Einzelpunkt-Mikroskopie



Bei der Einzelpunktmikroskopie muss die Größe der Hintergrundapertur mit der Größe der Probenapertur übereinstimmen, da sonst das Verhältnis nicht richtig zusammenpasst. . Das Sammeln eines neuen BG für jedes Partikel verlängert die Messzeit erheblich, sodass durch die Einstellung einer festen Größe Kompromisse eingegangen werden.



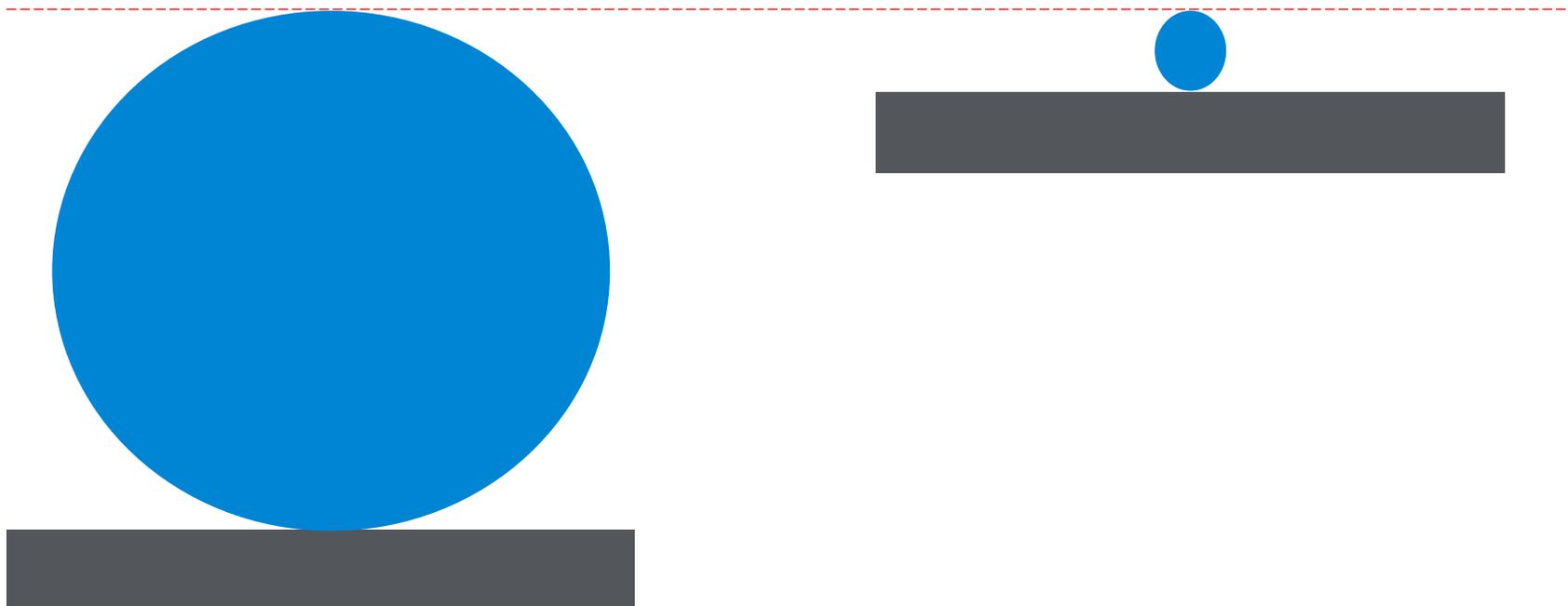
# Einzelpunkt-Mikroskopie



Für eine reale Probe mit vielen hundert Partikeln, die eine große Apertur verwenden, ergibt sich keine ausreichende Auflösung, um einzelne Partikel zu unterscheiden, sodass die resultierenden Spektren eine komplexe Mischung sind.

# Einzelpunkt-Mikroskopie

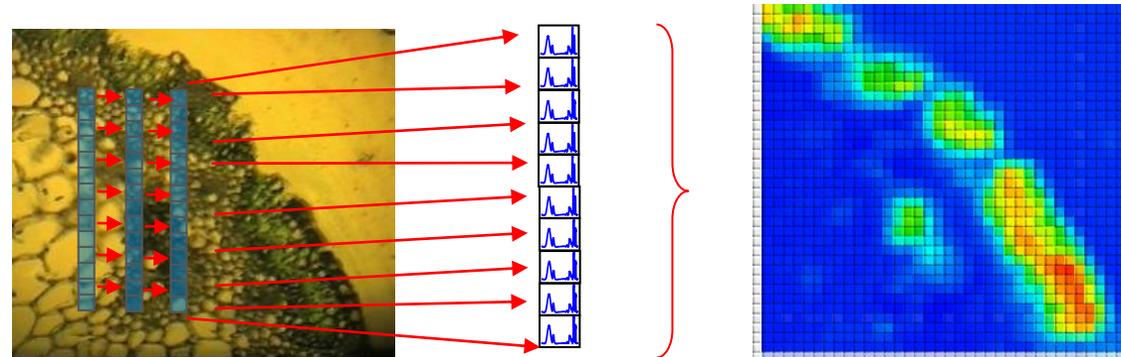
Man sollte außerdem nicht vergessen, dass Partikel 3D-Strukturen sind. Um also Spektren von guter Qualität zu erhalten, müssen Sie auch den Tisch nach oben oder unten einstellen, um die Probe zum Fokuspunkt (rote Linie) zu bringen. Dies braucht ebenfalls Zeit.



# FTIR Imaging

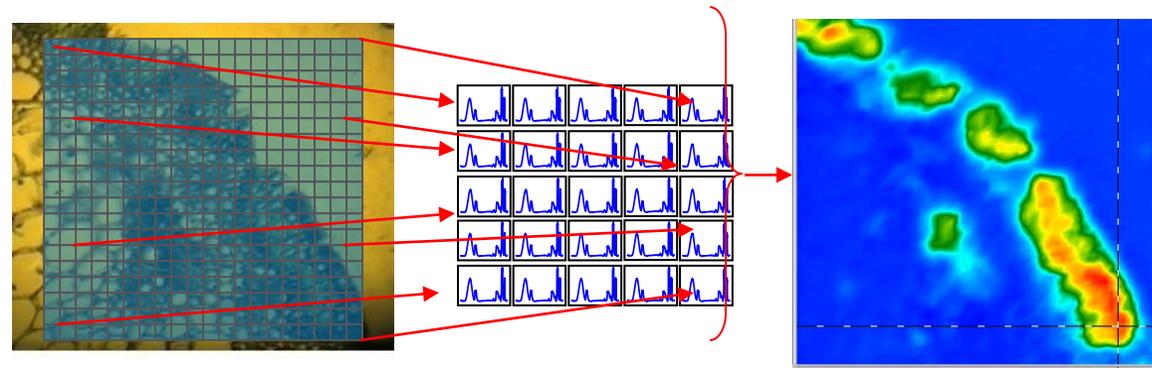
## Linear Array Mapping

Messung von Spektren durch lineare Detektor- Arrays (1x16 oder 2x8). Schneller als Einzelpunktmessungen. Die Pixelauflösung ist variabel - 6,25, 25 oder 50  $\mu\text{m}$



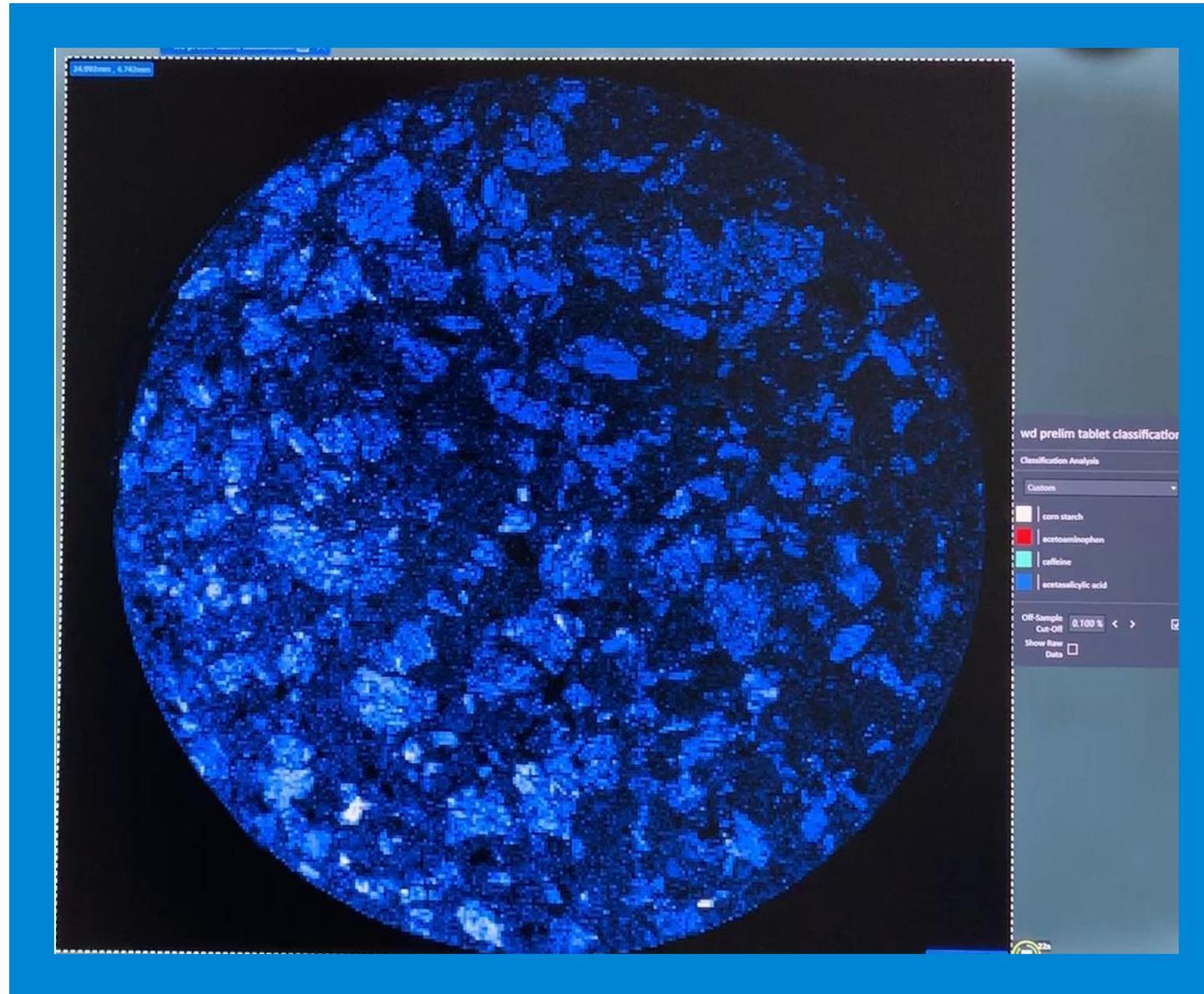
## FPA Imaging

Mit einem 128 x 128 FPA-Detektor können bis zu 16384 Spektren gleichzeitig in einer einzigen Messung über eine Fläche von 700 x 700  $\mu\text{m}$  bei hoher räumlicher Auflösung (5,5 x 5,5  $\mu\text{m}$ ) aufgenommen werden.

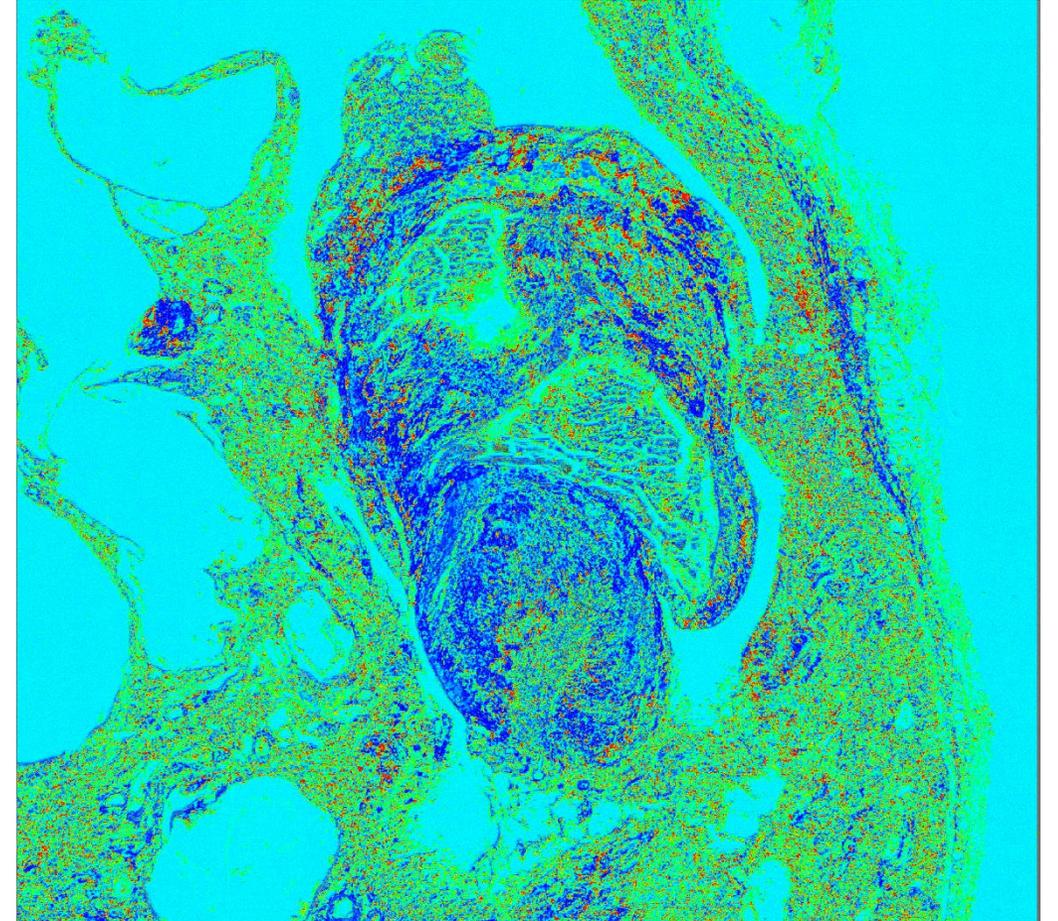
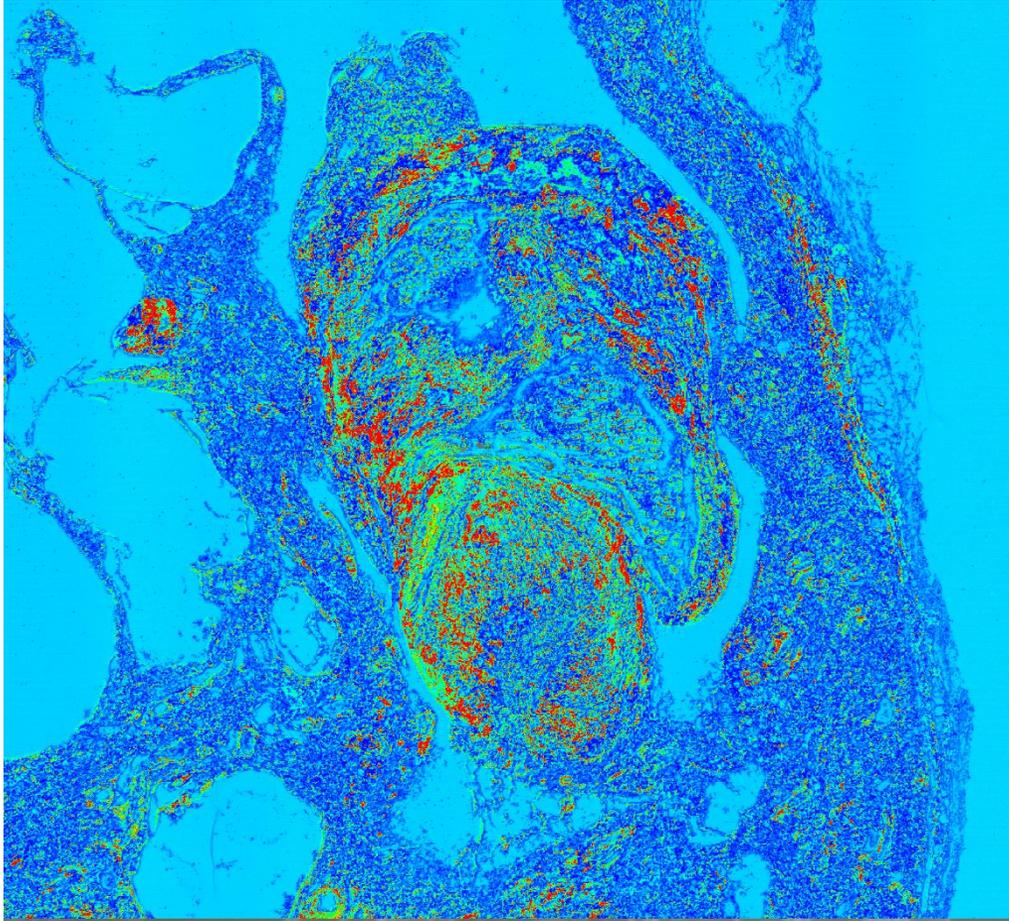




# LDIR Datenerfassung bei diskreten Wellenzahlen



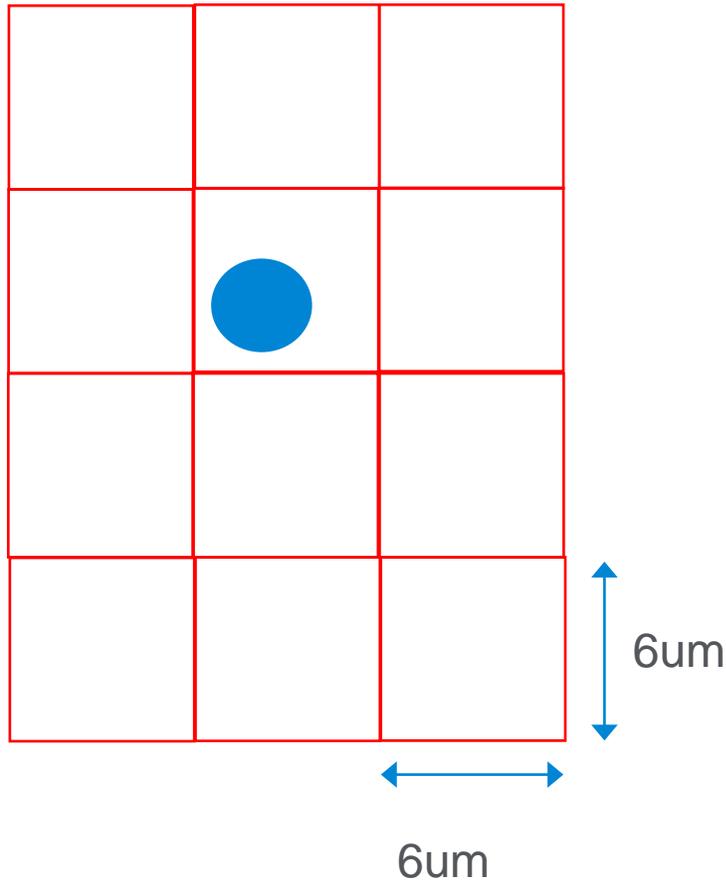
# FTIR Imaging vs LDIR



**Messzeit: 3,5 min**  
**Messfläche: 5,8 x 6,3 mm**  
**Pixelauflösung: 3  $\mu$ m**

# FTIR Imaging

## Partikelgröße und Messgenauigkeit/ -präzision....



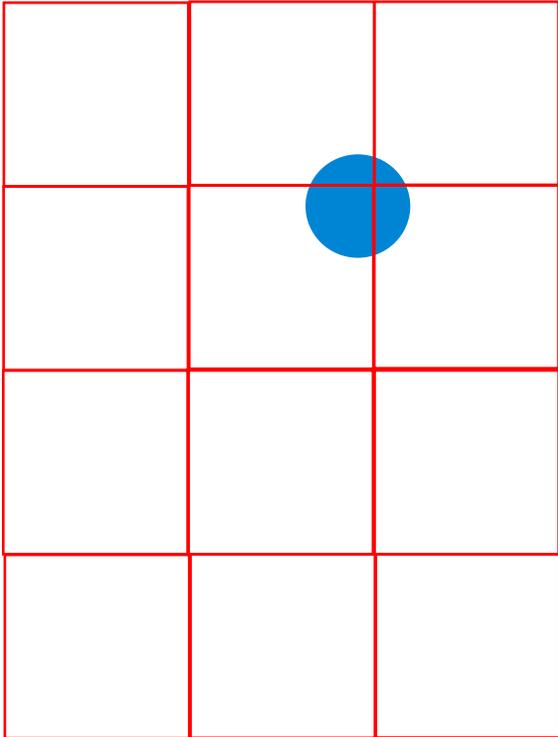
Stellen Sie sich vor, Ihr Array hat Pixel mit einer Größe von jeweils 6 x 6 um.

Wenn ein kleines Teilchen ( $< 6 \mu\text{m}$ ) von einem dieser Pixel erkannt wird, ist das Spektrum sehr schwach. Können wir also sicher sein, dass es sich um ein echtes Signal handelt?

Wahrscheinlich nicht!

# FTIR Imaging

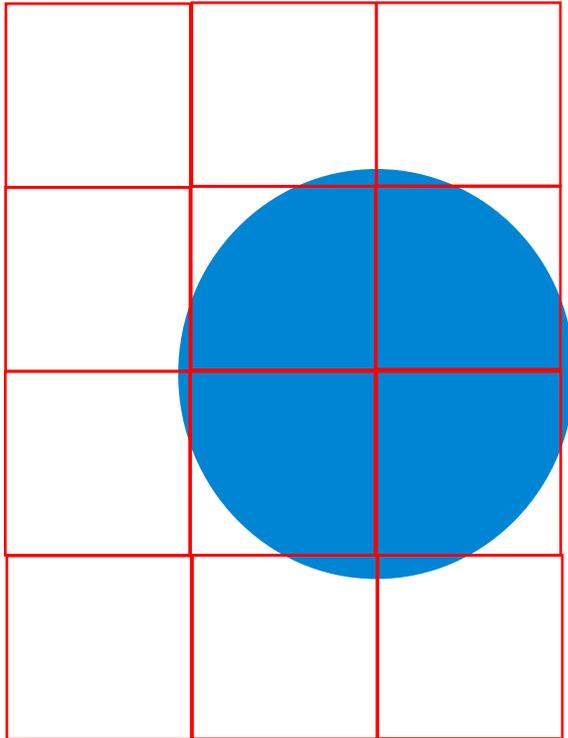
## Partikelgröße und Messgenauigkeit/ -präzision....



Wenn dieses kleine Partikel genau in die Mitte zwischen mehreren Pixeln fällt, wird das Signal von jedem noch stärker reduziert, sodass es möglicherweise überhaupt nicht erkannt wird.

# FTIR Imaging

## Partikelgröße und Messgenauigkeit/ -präzision....



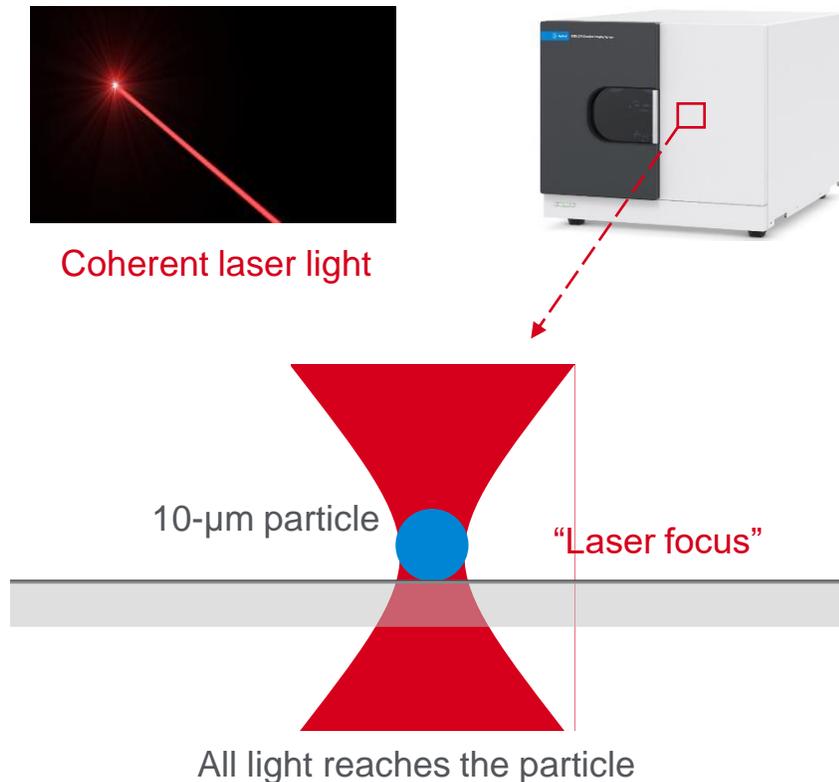
Wenn das Partikel größer ist und sich über mehrere Pixel verteilt, ist es besser erkennbar.

Wenn alle 4 Pixel das gleiche Spektrum zeigen, können wir sicher sein, dass wir einen realen Partikel messen.

Da wir die Pixelgröße kennen, können wir auch sagen, dass das Partikel einen Durchmesser zwischen 6 und 12 um haben muss. Dies entspricht somit auch der LOD bezüglich der noch detektierbaren Partikelgröße.



# “Laser Direct Infrared” (LDIR) Spektroskopie



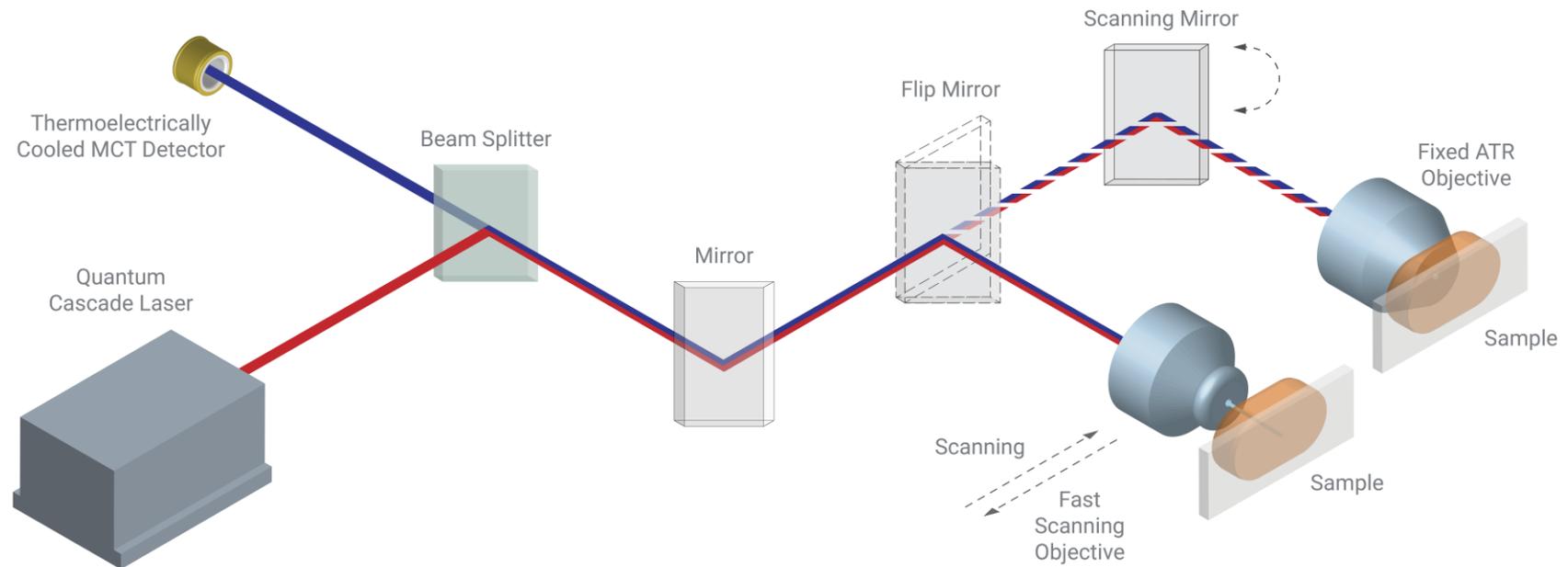
- Neuartiges Design- gekapselte Box
- Intensive Infrarot- Laserquelle
- Patentierte Agilent QCL Technologie
- Durchstimbarkeit des Lasers im mittleren Infrarotbereich
- Fokussierung der Laserenergie auf einen Partikel
- Eine Sekunde pro Spektrum

# LDIR 8700- QCL Setup

Das LDIR ist KEIN FTIR, da ein Interferometer nicht existiert.

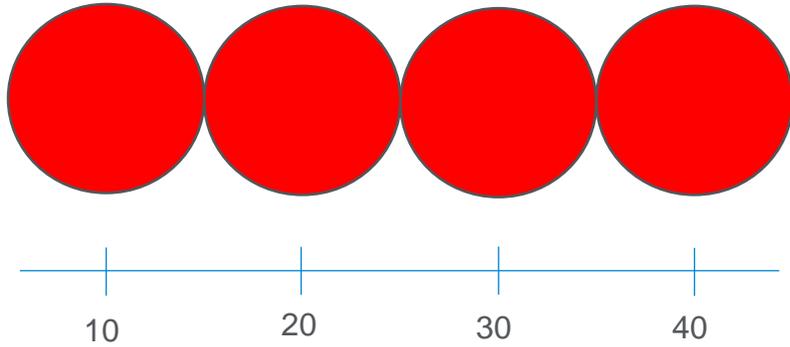
Die Laserwellenlänge wird mit einem Monochromator ausgewählt, so dass es sich quasi um eine Art "dispersives IR" -Spektrometer handelt.

Der MCT-Detektor verwendet kein LN2 - er ist elektrisch gekühlt - also immer einsatzbereit

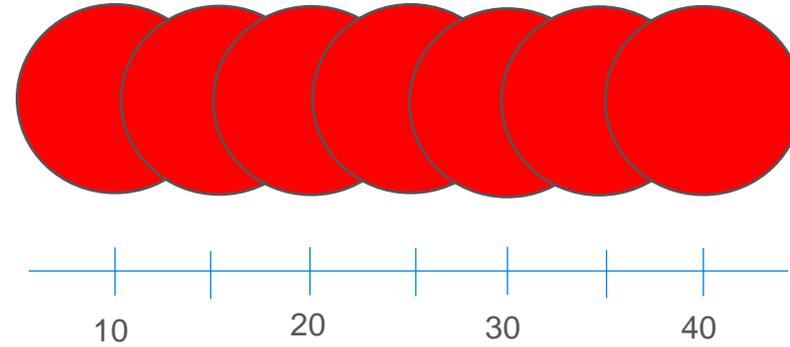


# Wie erreicht das LDIR seine örtliche Auflösung?

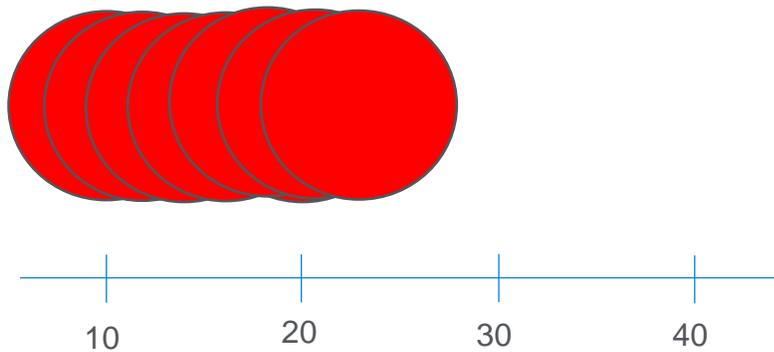
“Oversampling”



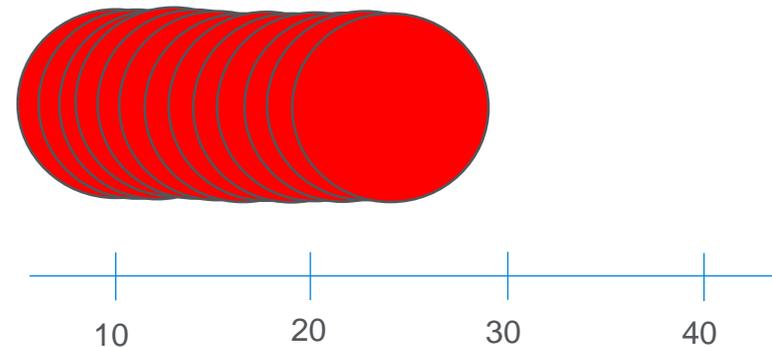
10µm Pixel Resolution



5µm Pixel Resolution



3µm Pixel Resolution

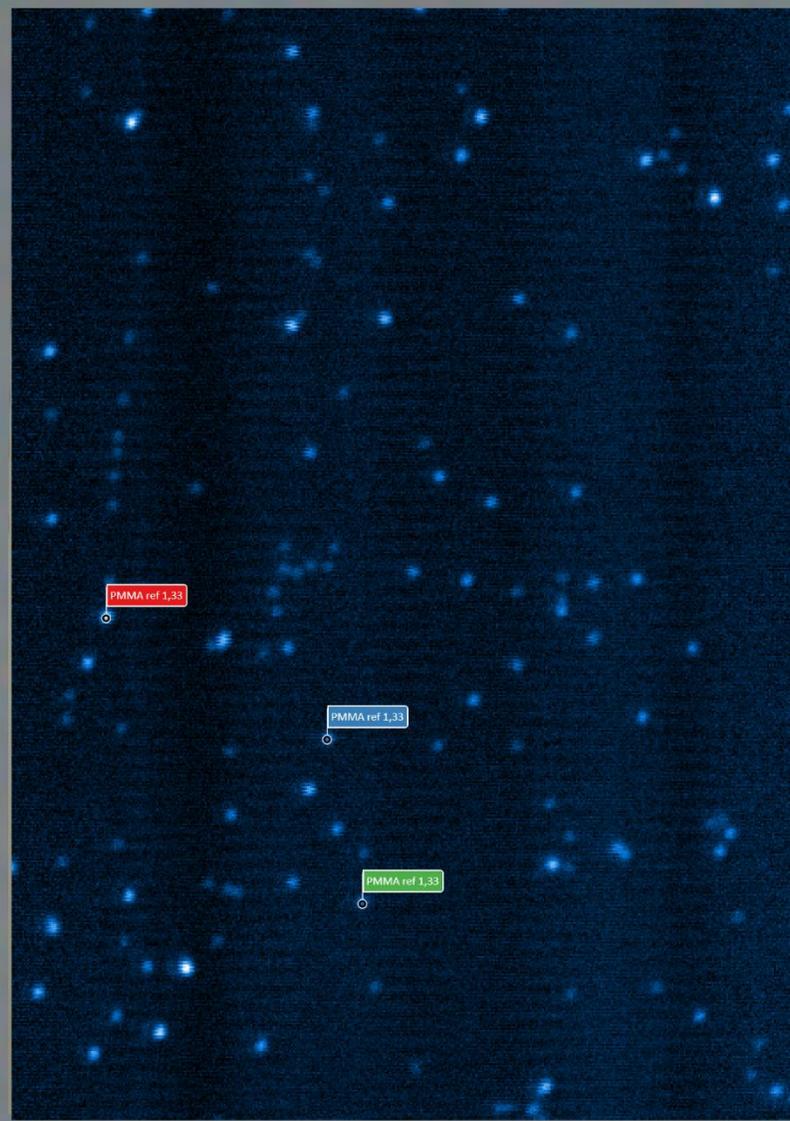


1µm Pixel Resolution

# Microbeads 1,33 $\mu\text{m}$

Microbeads 1,33  $\mu\text{m}$  PMMA  
IR image and spectra

a



Peak @ 1730 PMMA

Peak	1730.0 $\text{cm}^{-1}$
Baseline Pt. 1	1783.0 $\text{cm}^{-1}$

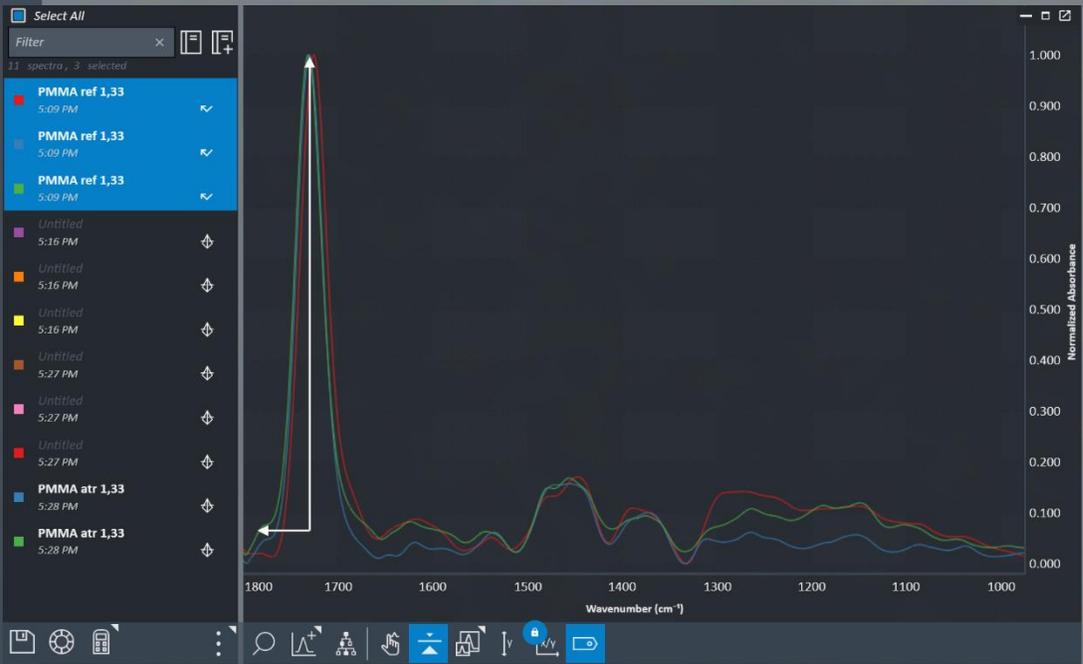
Agilent

Reverse

Transparency 0.0% < >

View Absorbance

Off-Sample Cut-Off 0.100% < >



# Microbeads 1,33 $\mu\text{m}$

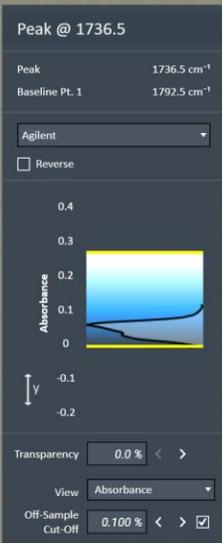
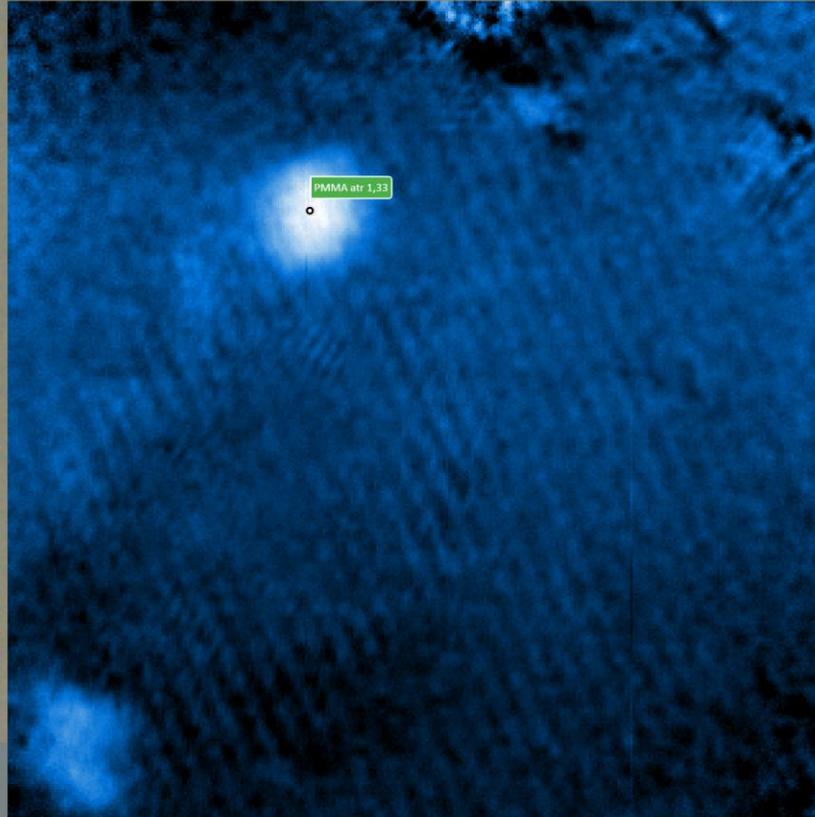
Microbeads 1,33  $\mu\text{m}$  PMMA

ATR IR Image and spectra

Library comparison- first and second hit PMMA

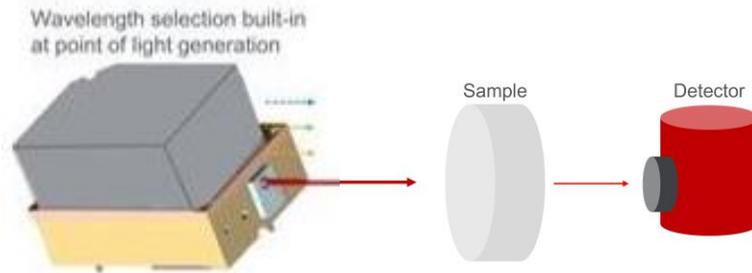
By pressing the ATR on the particle it appears much bigger than in reality

a



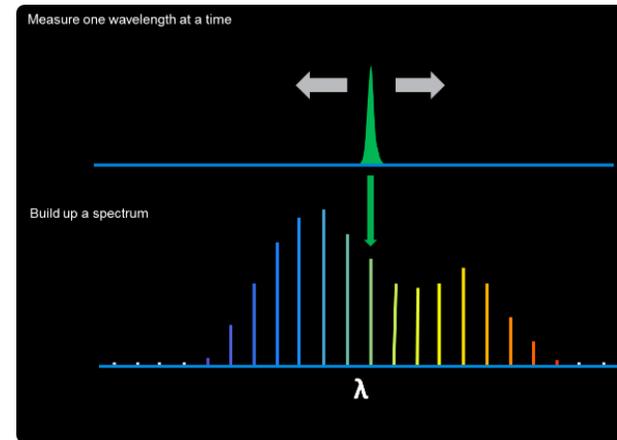
# Neue Technologie- durchstimmbare QC Laser

The monochromator QCL strategy

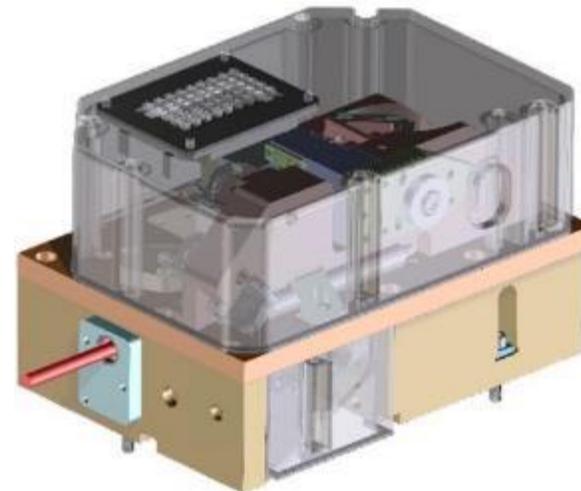


Similar to previous diagram... except this process happens many, many times faster!

The monochromator QCL strategy

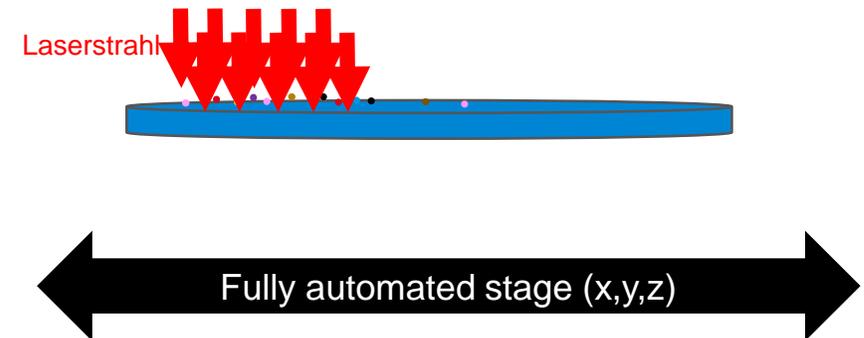


...but super fast!



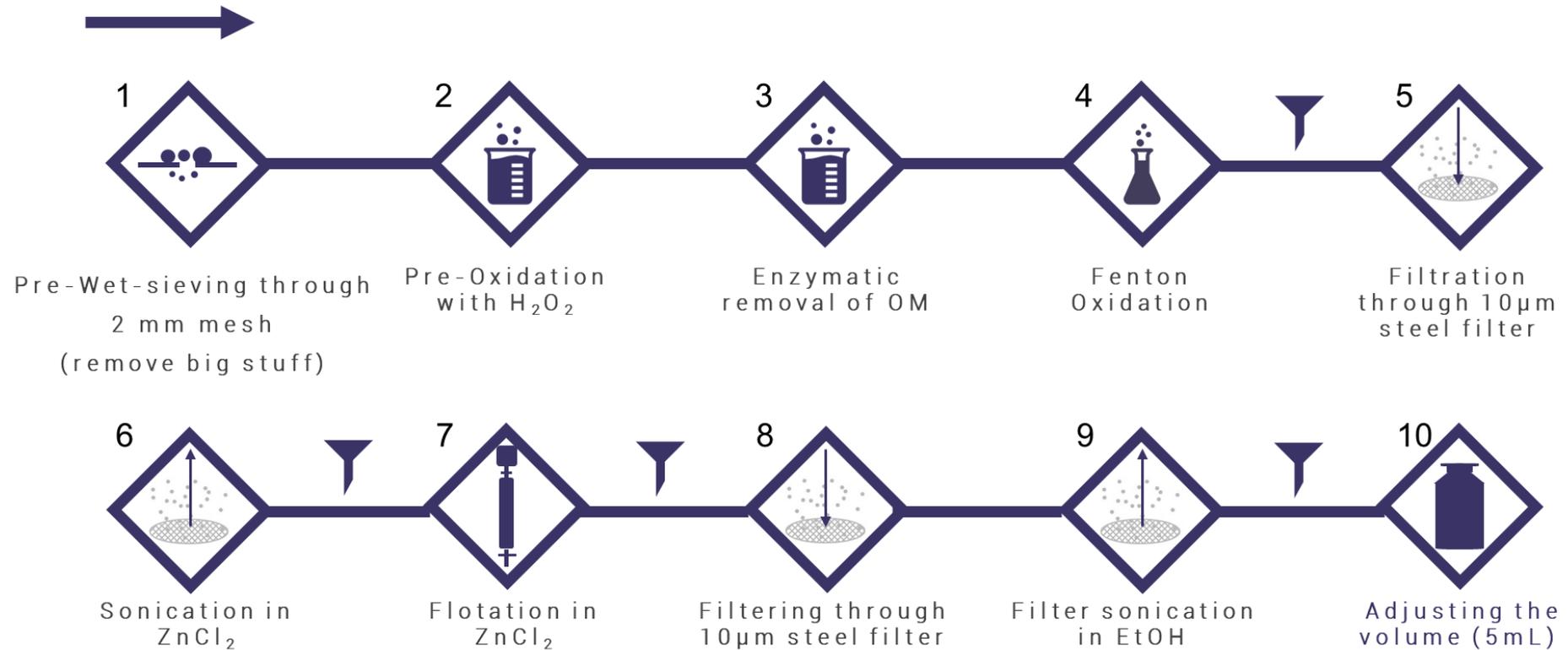
# Innovative QCL Technologie- Datenerfassung

- Gerichteter fokussierter Laserstrahl
- Beugungslimitierte Auflösung von 4  $\mu\text{m}$  bis 5  $\mu\text{m}$  in Reflexion
- Reflexionslimitierte Auflösung von 1  $\mu\text{m}$  bis 3  $\mu\text{m}$  mit Ge ATR



# Probenpräparation Beispiel "Abwasser"

Prozess: 2L Abwasser



# Probenpräparation Beispiel "Ozeanwasser"- Helmholtz Zentrum Geesthacht



## Kontinuierliche Durchflusszentrifugation

Durch kontinuierliche Zentrifugation wurden in Laborexperimenten ( $\rho = 0,94 \text{ g ml}^{-1} - 1,63 \text{ g ml}^{-1}$ ) Retentionseffizienzen  $> 96\%$  für fünf kleine MP-Typen ( $D_{4,3} = 29 - 359 \text{ }\mu\text{m}$ ) erreicht (Hildebrandt et al. (2019)).

Mit der Durchlaufzentrifuge (3 h, 129 l (mdry = 26,5 g) und 2 h, 86 l (14,4 g)) (14. November 2018) wurden 2 Schwebstoffproben entnommen.

# Probenpräparation Beispiel "Ozeanwasser"- Helmholtz Zentrum Geesthacht



Die Proben wurden folgendermaßen behandelt:

Größenfraktionierung (> 500  $\mu\text{m}$ , 20 - 500  $\mu\text{m}$ )

Gefriertrocknung

Dichtentrennung in Kochsalzlösung ( $\text{ZnCl}_2$ )

Oxidativ-saure Matrixverdauung ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HNO}_3$ )

Analyse verschiedener Aliquots mittels Raman-, FPA-basierter FTIR- und LDIR-Bildgebung

## Sample Preparation



Sample Preparation



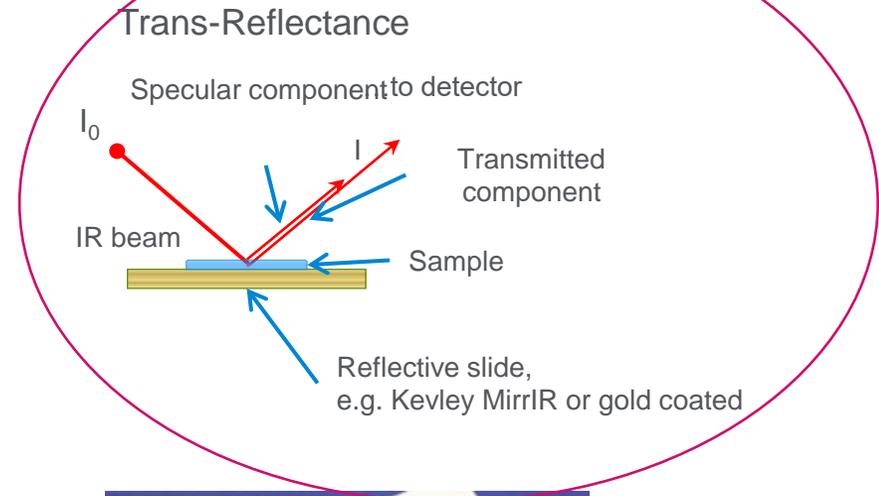
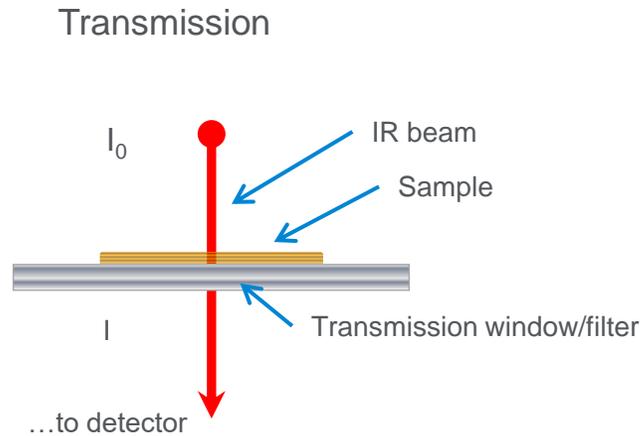
Suspend in Ethanol and Sonicate



Aliquot on Kevley slide

# Partikel <300µm gemessen mit dem Cary 620 FTIR Imaging

Lösung wird auch beim LDIR verwendet!



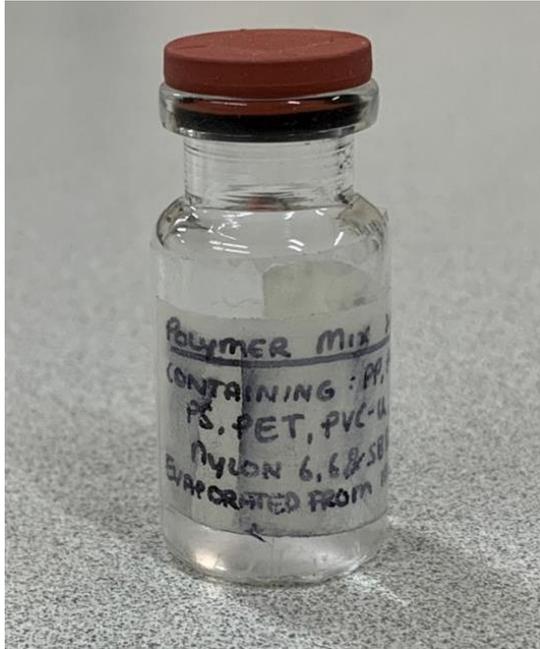
Runtergewaschene  
Filterprobe

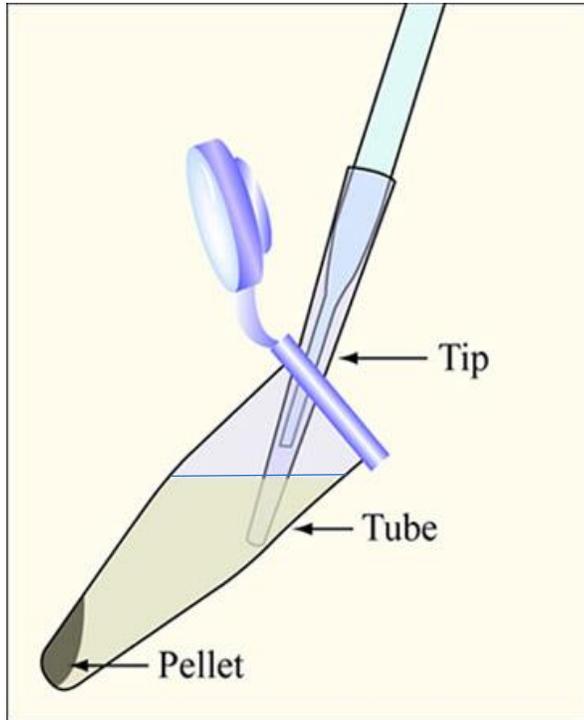


Ultraschall



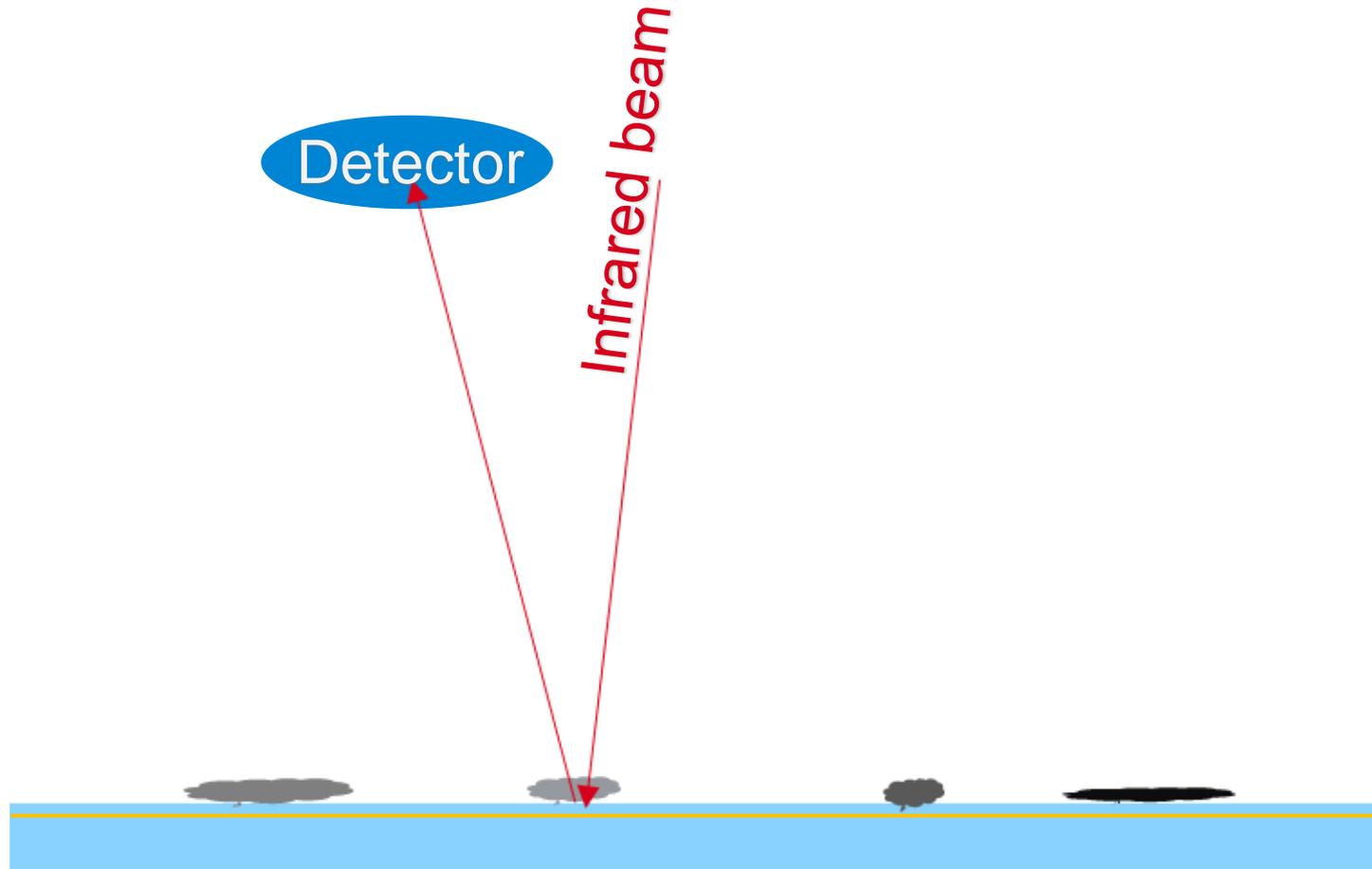
Pipettieren  
auf Kevley  
Slide



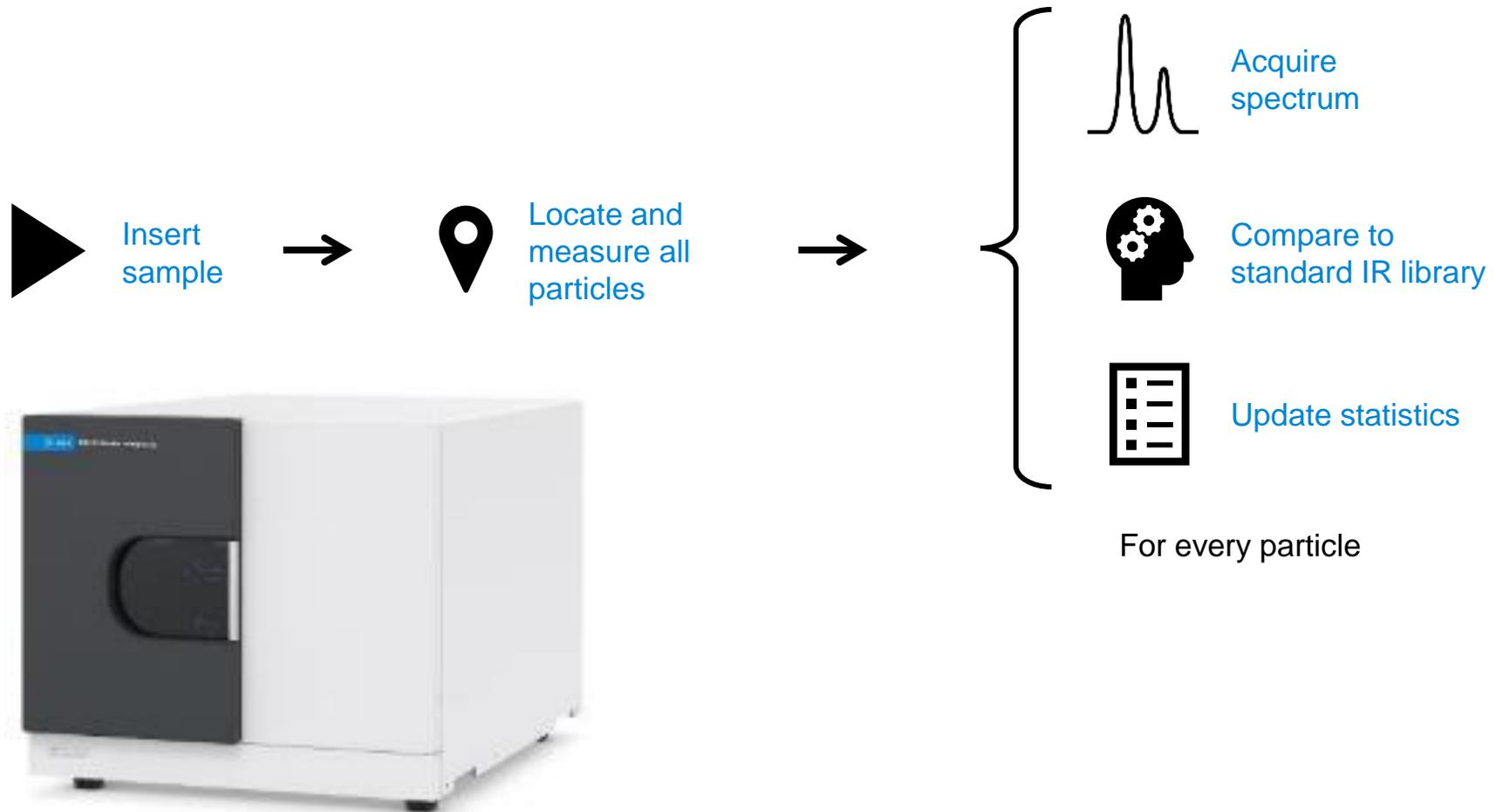


- Vermeidung unnötiger Filterung/  
kein zusätzlicher Verlust an  
Probenmaterial
- Entfernung von Cellulose
- Zusätzlicher Zeitaufwand minimal
- Der gesiebte Inhalt kann direkt auf  
das Kevley Slide überführt werden
- Wiedergewinnung (Recovery rate)  
fast > 80 %

# Kevley Slide- Transflexion

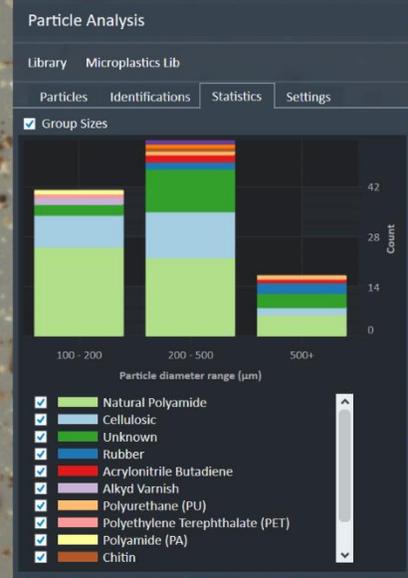


# LDIR Mikroplastik Workflow



# Workflow Mikroplastik





1 mm

RA.2279513889



↑ Particle Analysis



## Particle Analysis

Library Microplastics Starter 1.0

Particles Identifications Statistics **Settings**

Auto Scan

Collect Visible Image

Particle Sensitivity

Classification Ranges

Particle Diameter (µm)

Minimum   Auto

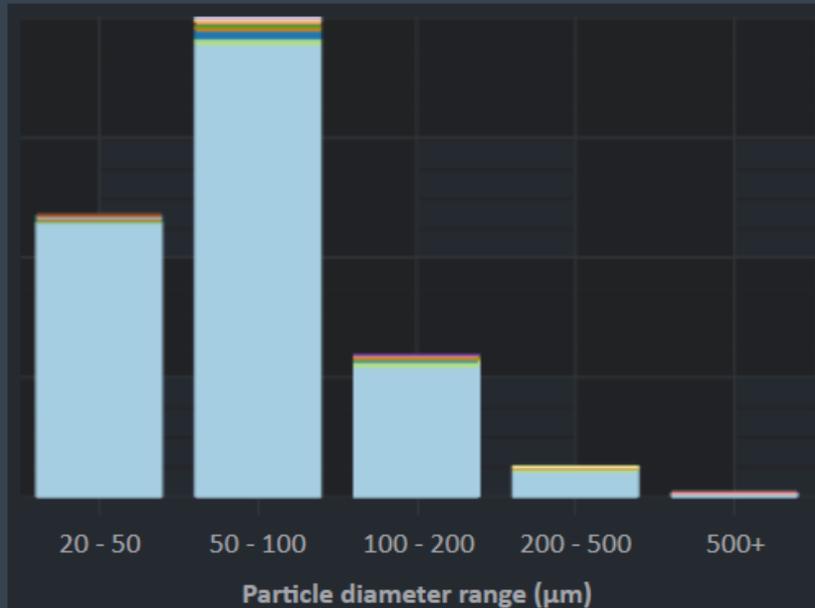
Maximum   Auto

## Particle Analysis

Library Microplastics Starter 1.0

Particles Identifications **Statistics** Settings

Group Sizes

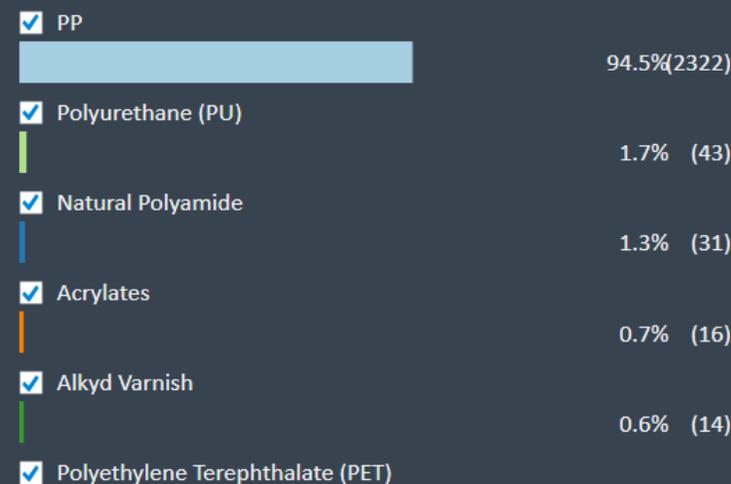


- PP
- Polyurethane (PU)
- Natural Polyamide
- Acrylates
- Alkyd Varnish
- Polyethylene Terephthalate (PET)
- Cellulosic
- Rubber
- Polyamide (PA)
- Polyethylene (PE)

Library Microplastics Starter 1.0

Particles Identifications **Statistics** Settings

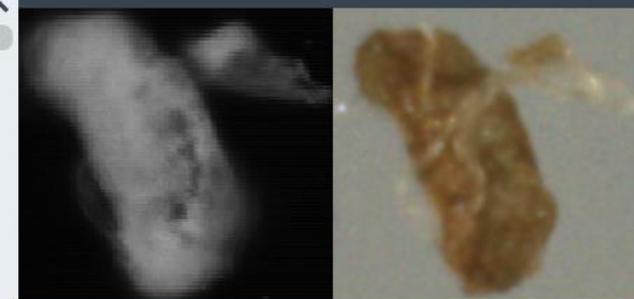
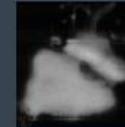
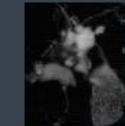
Highlight particles on image



Particles Identifications **Statistics** Settings

View All 2,458 particles

Search by Id



PP

Quality 0.858  
 Id # A3  
 Width 810.00 µm  
 Diameter 659.97 µm

Accept Prediction

# Ergebnis Report

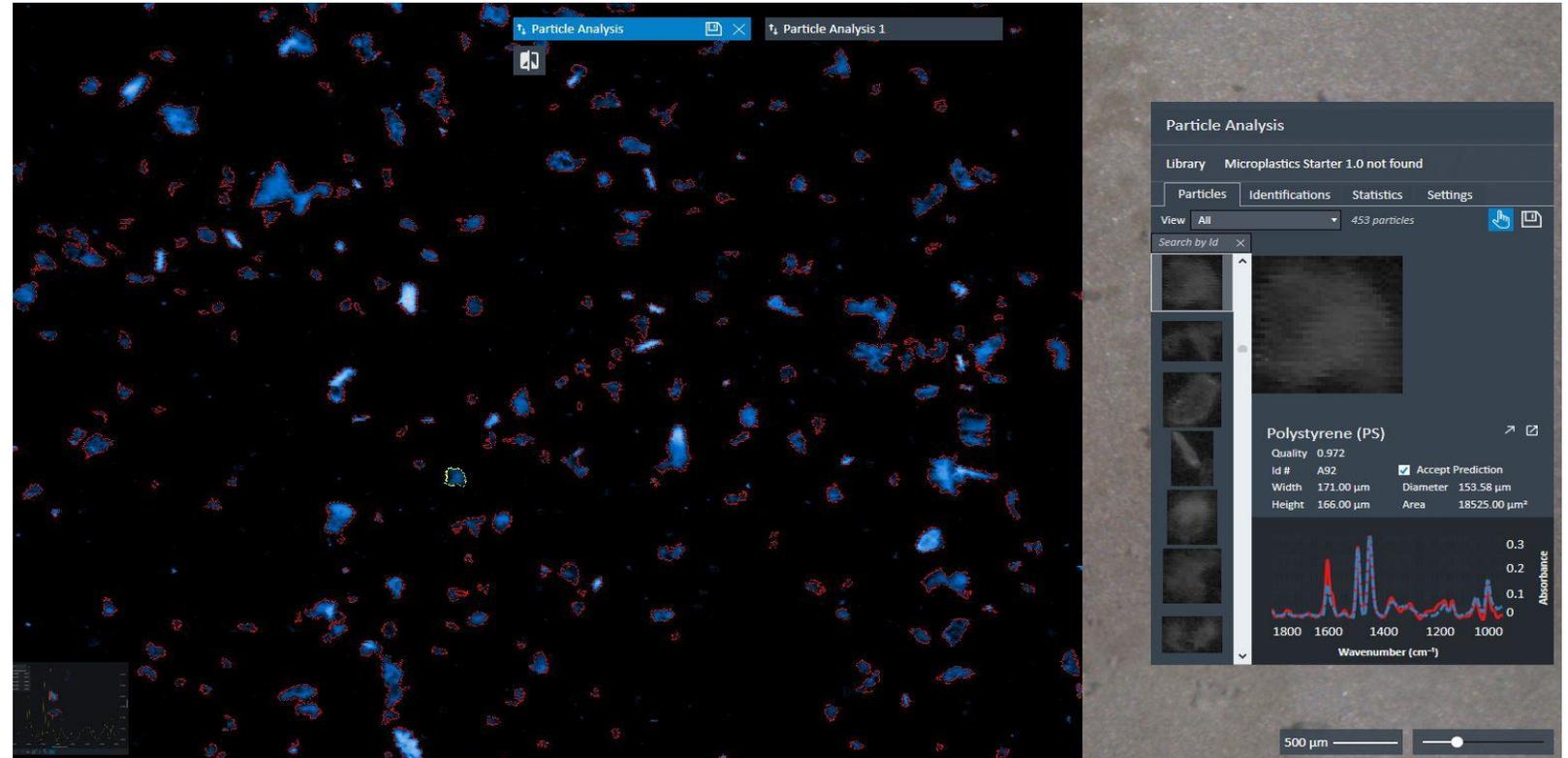
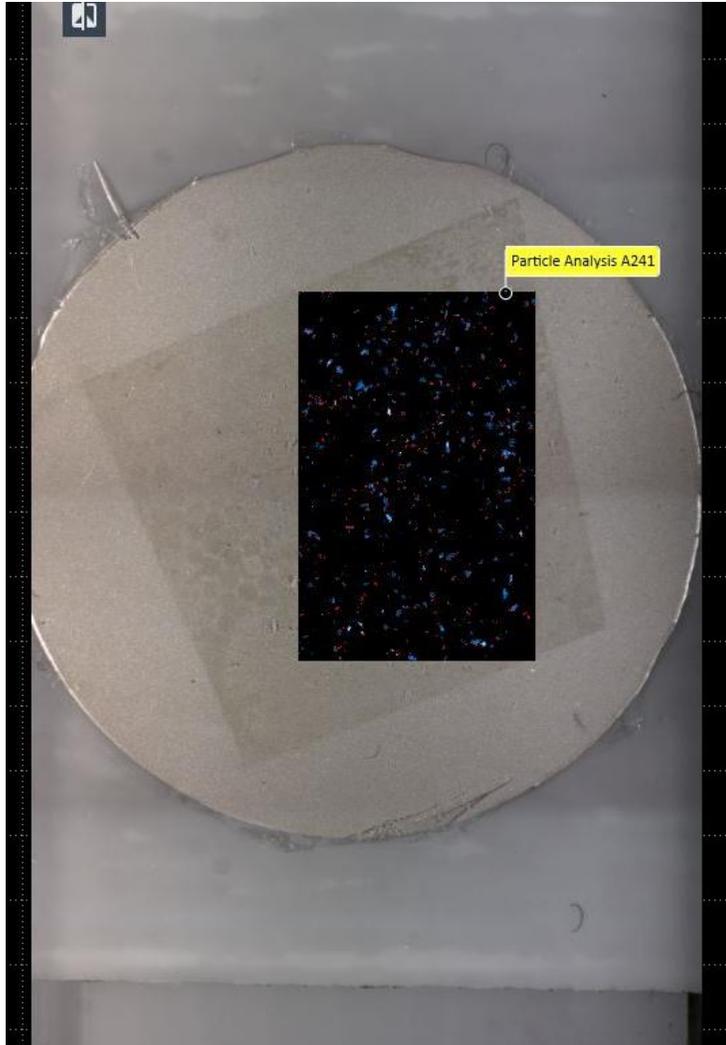
## Partikelgrößen und statistische Analyse

### Reproducibility

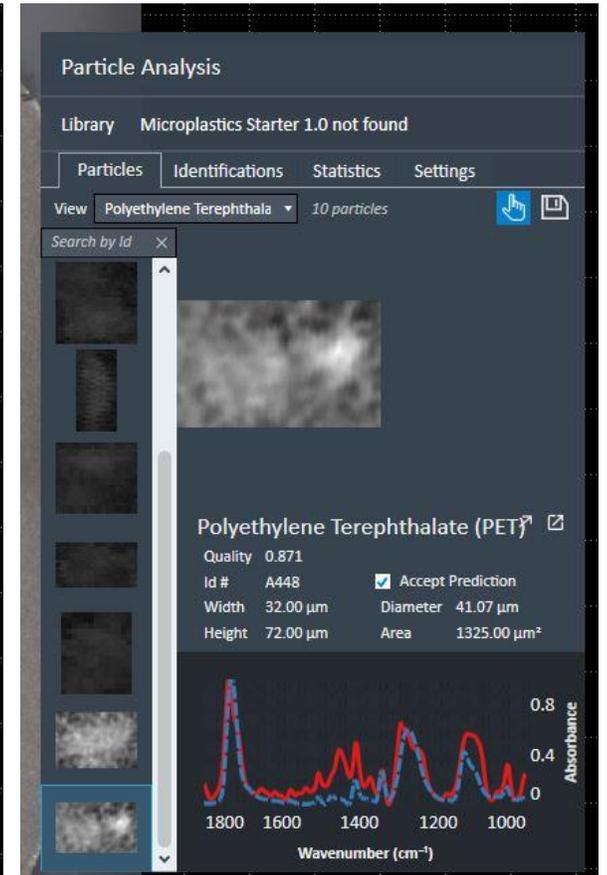
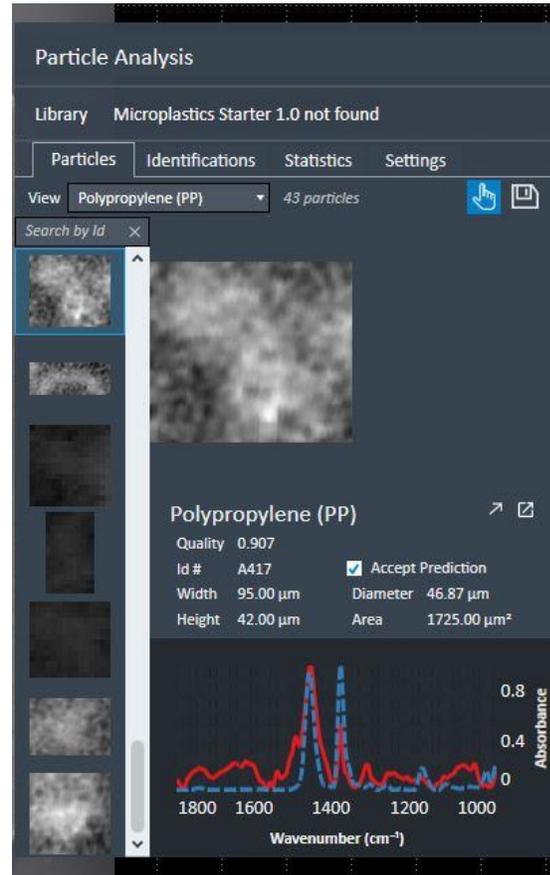
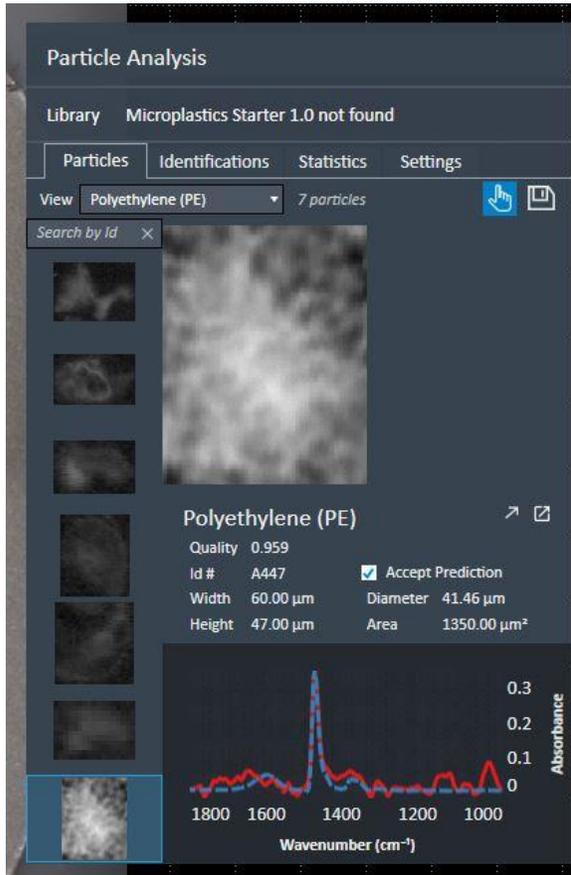
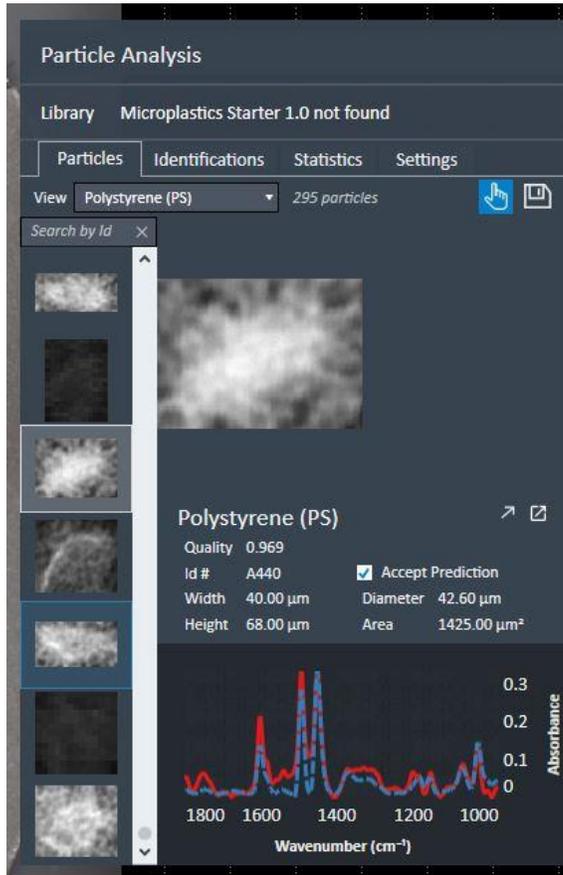
Sample Analyzed	LDIR Particle Count	Usable Partiles Identified	Acrylonitrile Butadiene	Alkyd Varnish	Calcium Stearate	Cellulosic	Chitin	Coal	Natural Polyamide	Polyamide (PA)	Polyethylene (PE)	Polyethylene Terephthalate (PET)	Polyimide	Polypropylene (PP)	Polytetrafluoroethylene (PTFE)	Polyurethane (PU)	Rubber	Silica
Run 1	136	132	7	5	4	12	1	0	60	9	2	2	0	9	1	19	1	0
Run 2	138	131	3	1	5	12	1	1	63	7	2	1	0	9	1	25	0	0
Run 3	136	131	7	3	5	12	0	0	65	10	2	1	0	8	0	16	2	1
Run 4	140	135	7	6	5	12	0	1	63	11	2	1	1	8	1	17	0	0
Run 5	136	127	8	4	6	7	2	2	60	10	2	1	1	8	0	12	3	1
Run 6	137	130	1	1	5	12	1	2	60	11	2	2	0	8	0	24	1	0
Run 7	137	127	0	2	6	13	1	1	58	9	2	1	0	8	0	26	0	0
Run 8	135	135	0	3	6	11	1	3	58	9	1	0	1	9	1	25	1	0
True Number:														10				
Mean Detected:	137	131	4.13	3.13	5.25	11.4	0.88	1.25	60.9	9.5	1.88	1.13	0.38	8.38	0.5	20.5	1	0.25
Percent Recovery:														83.8				
Std Dev:	1.55	3.07	3.48	1.81	0.71	1.85	0.64	1.04	2.53	1.31	0.35	0.64	0.52	0.52	0.53	5.21	1.07	0.46
Relative Std Dev:	1.13	2.34	84.4	57.8	13.5	16.2	73.2	82.8	4.16	13.8	18.9	57	138	6.18	107	25.4	107	185



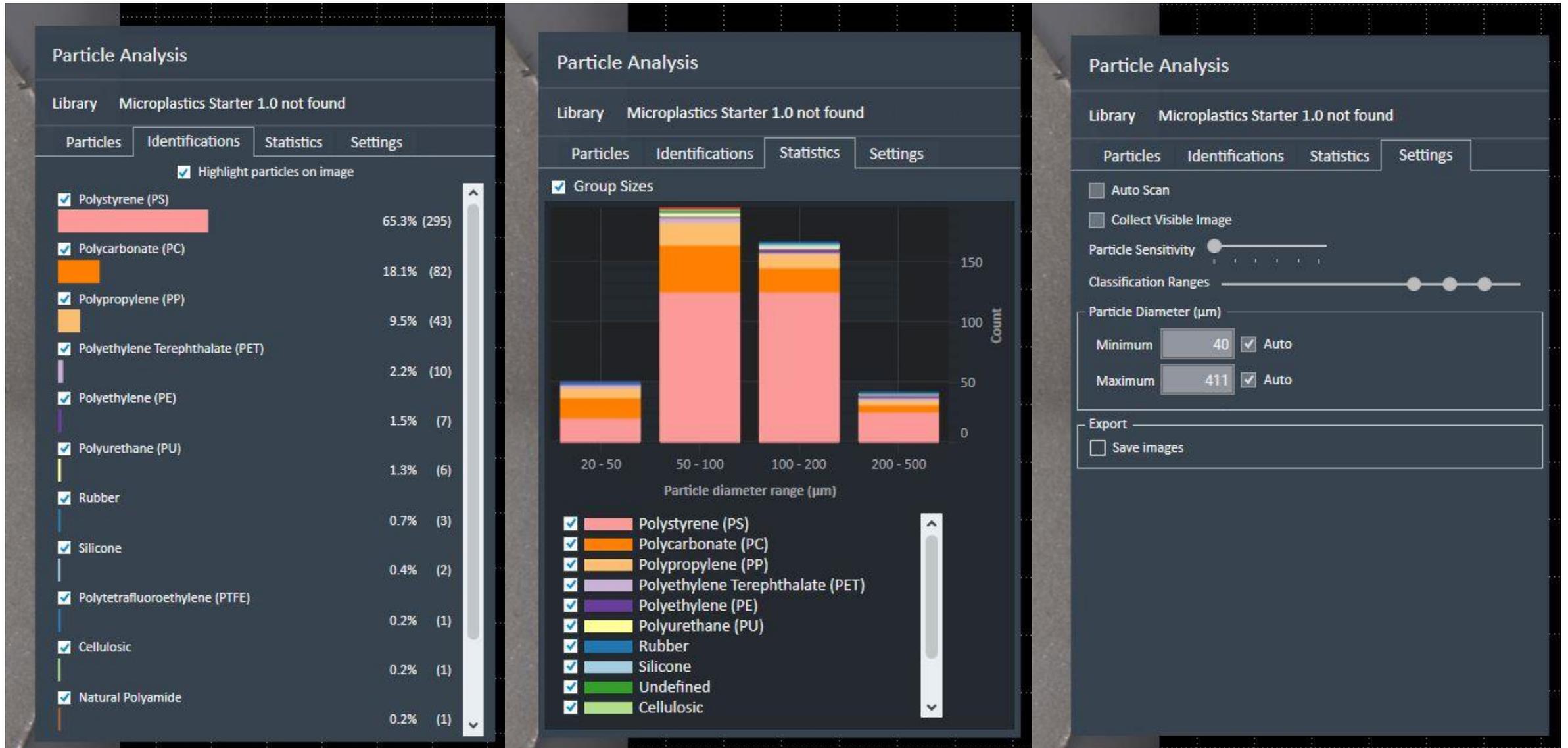
# Messung auf silberbeschichteten Filtern



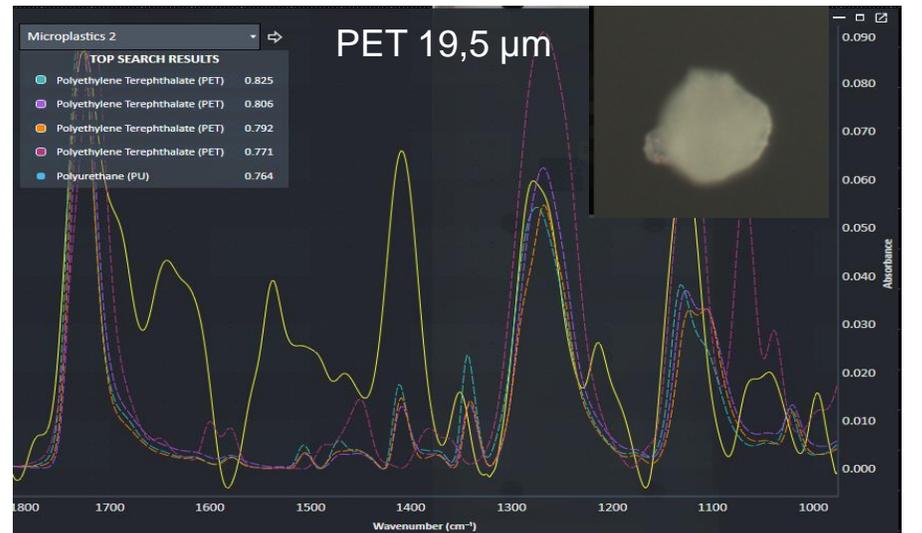
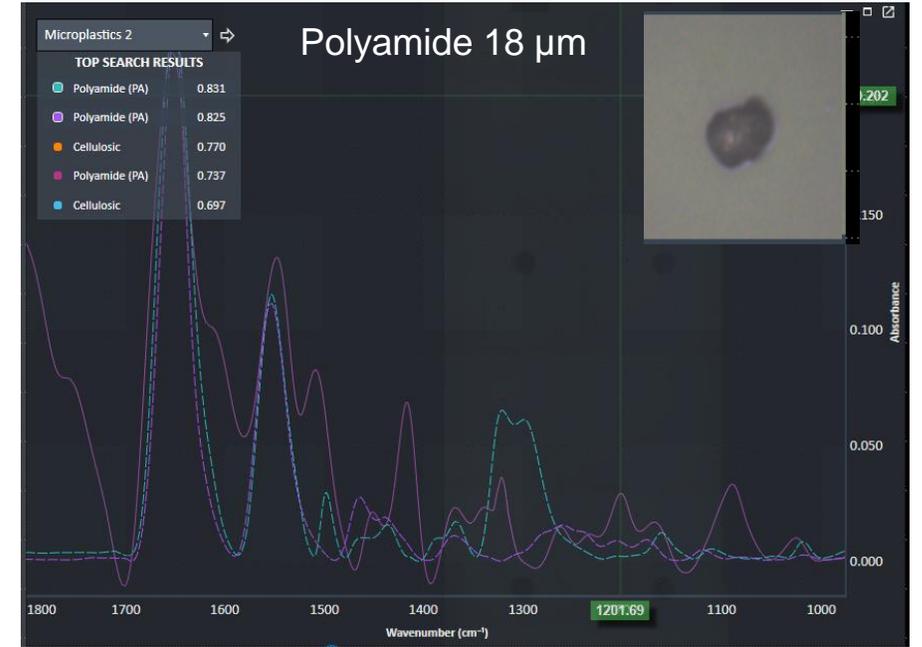
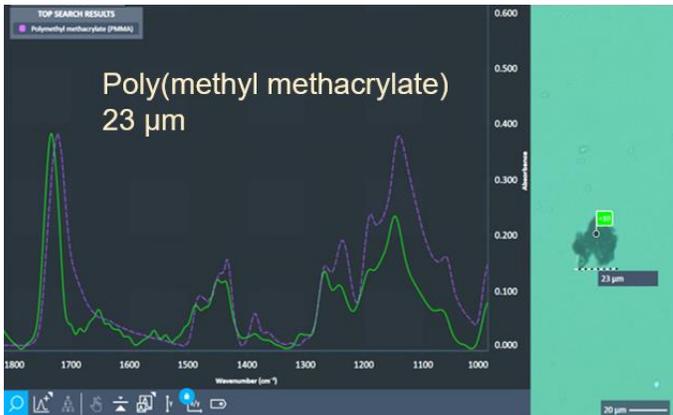
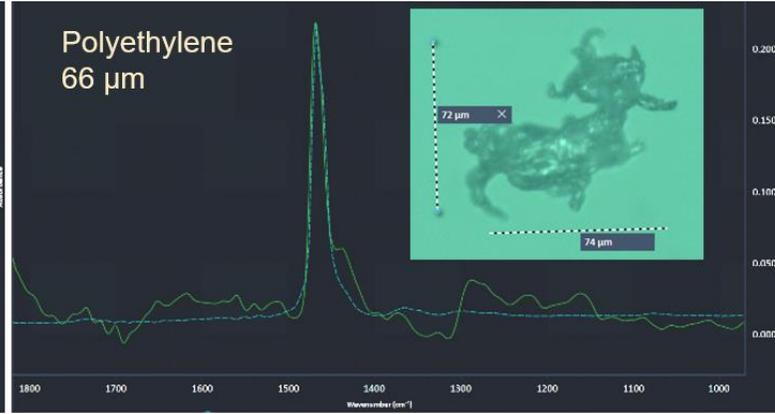
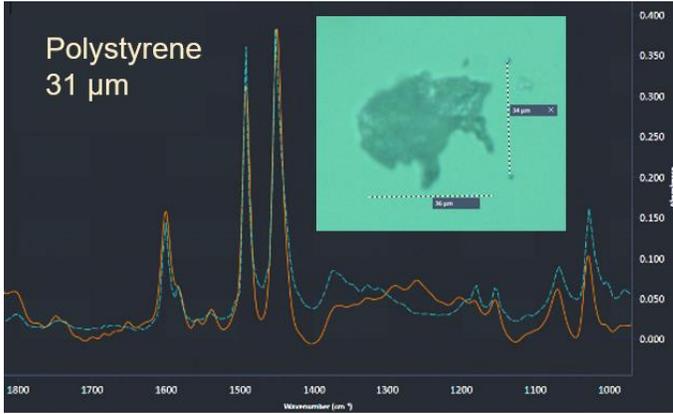
# Messung auf silberbeschichteten Filtern



# Messung auf silberbeschichteten Filtern

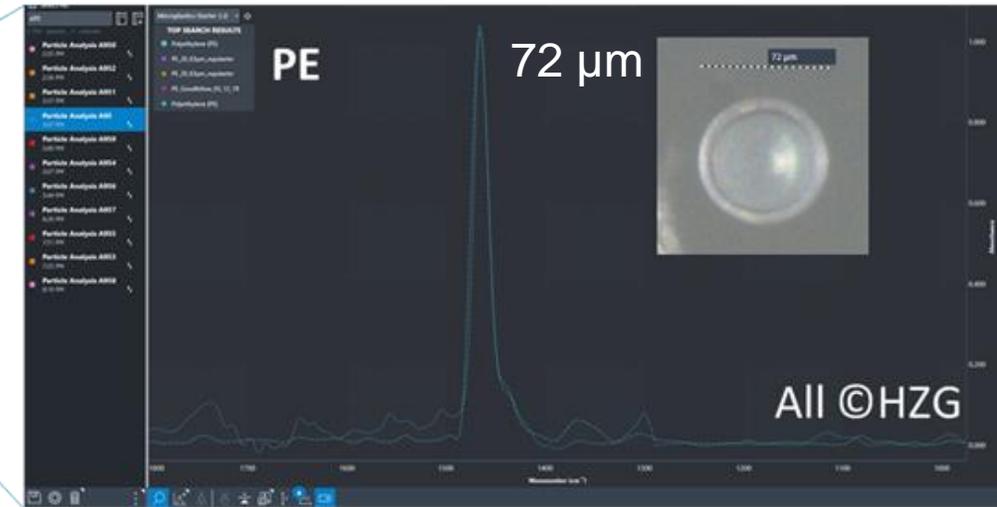
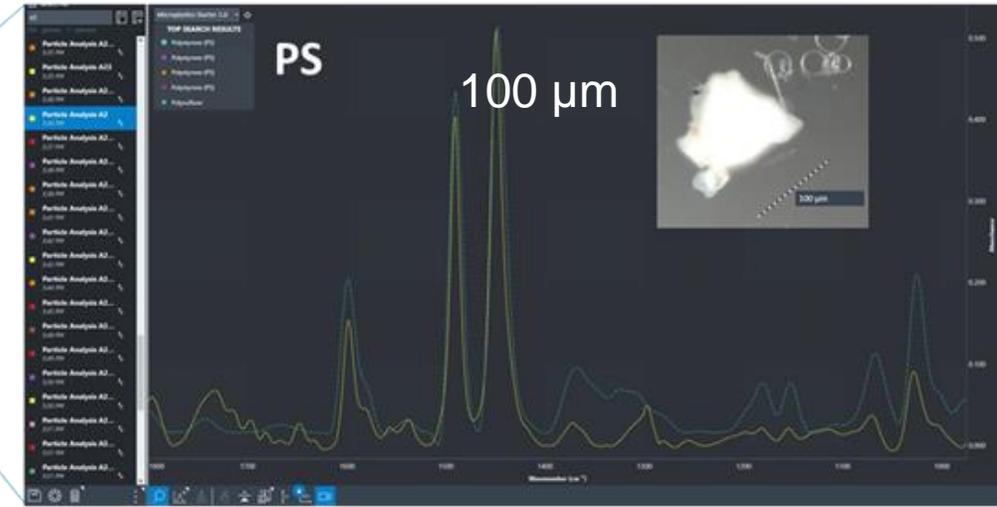
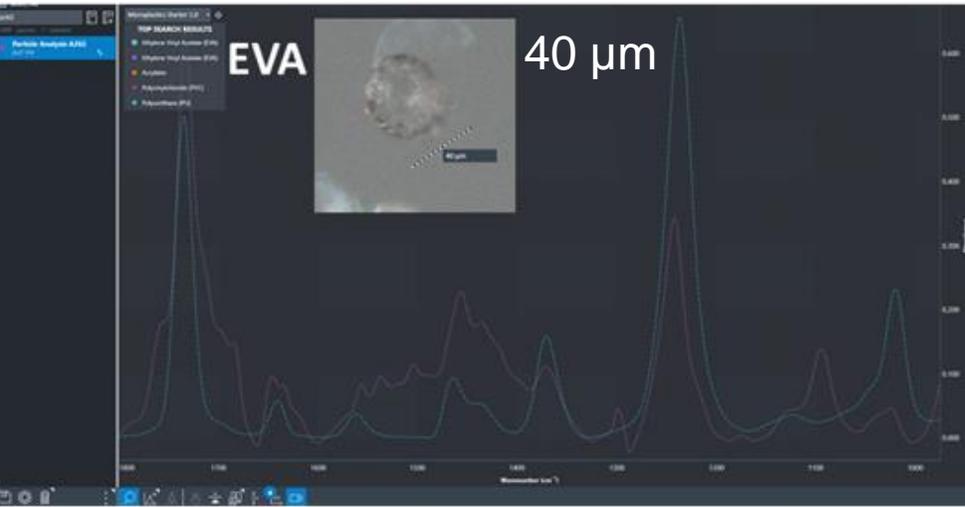


# Kleine Partikel

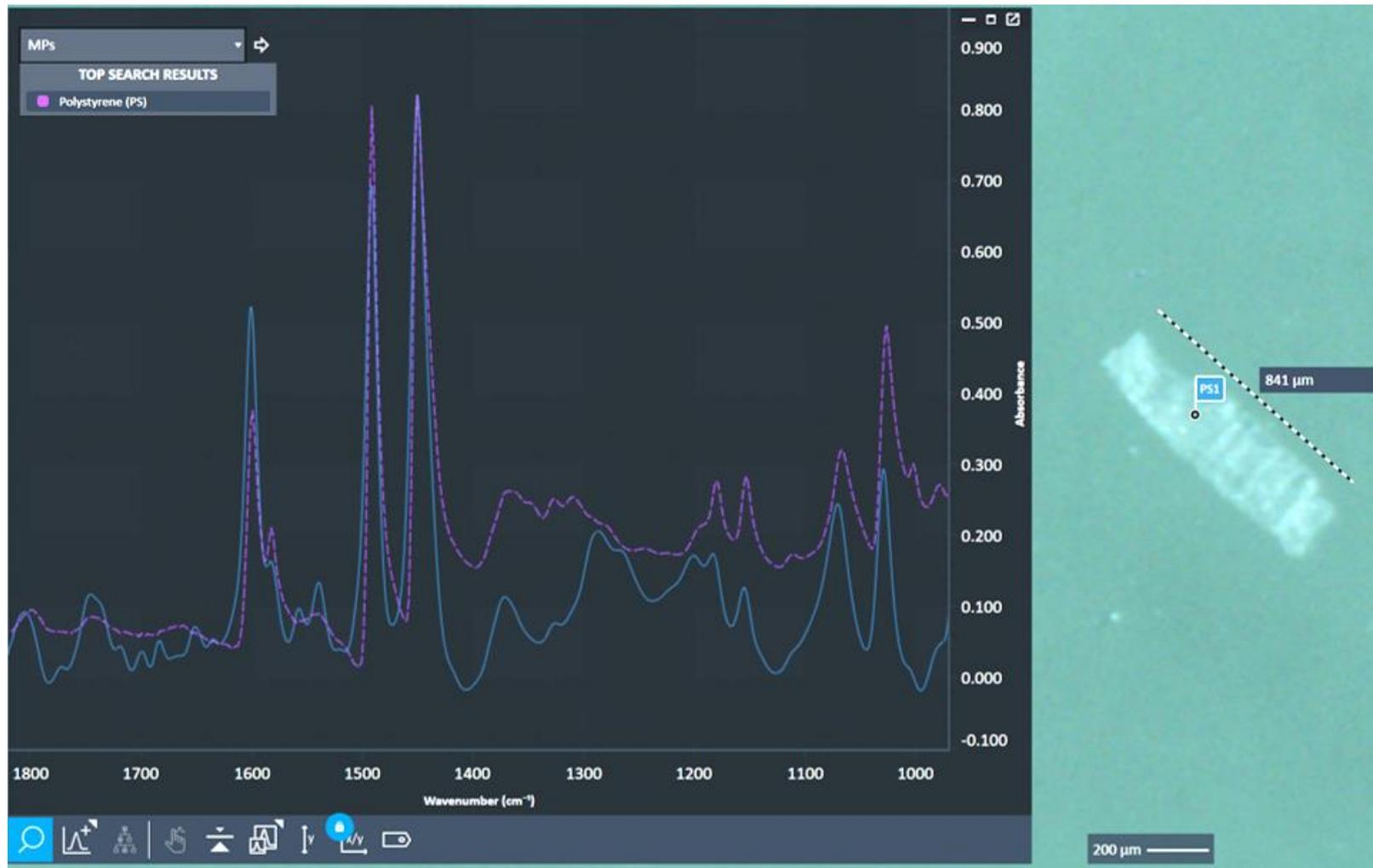


# Partikel 40 -100 µm

Kevley Slide



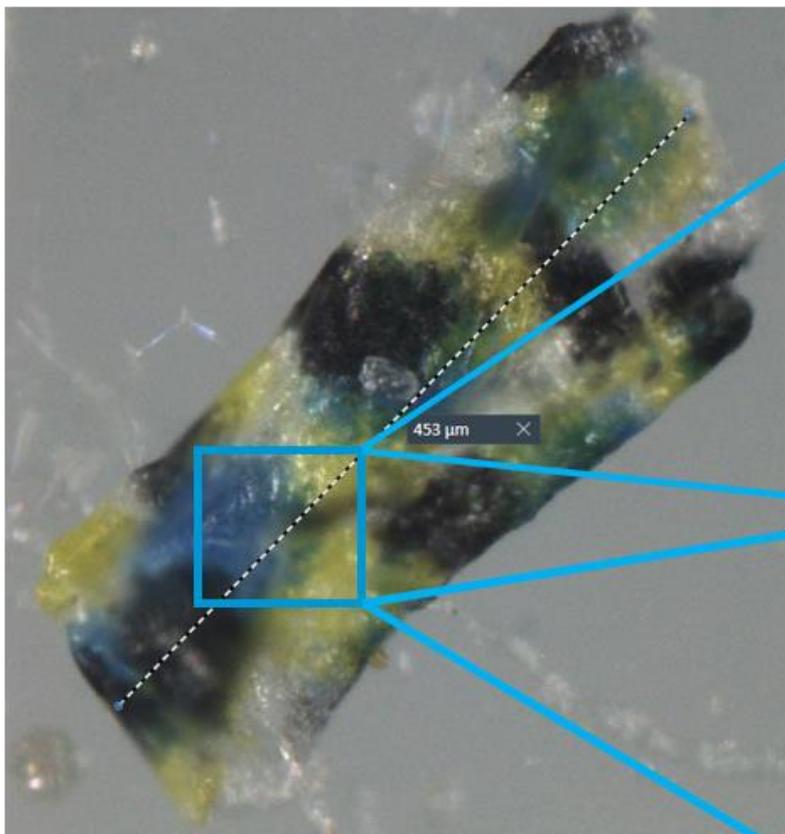
# Große Partikel



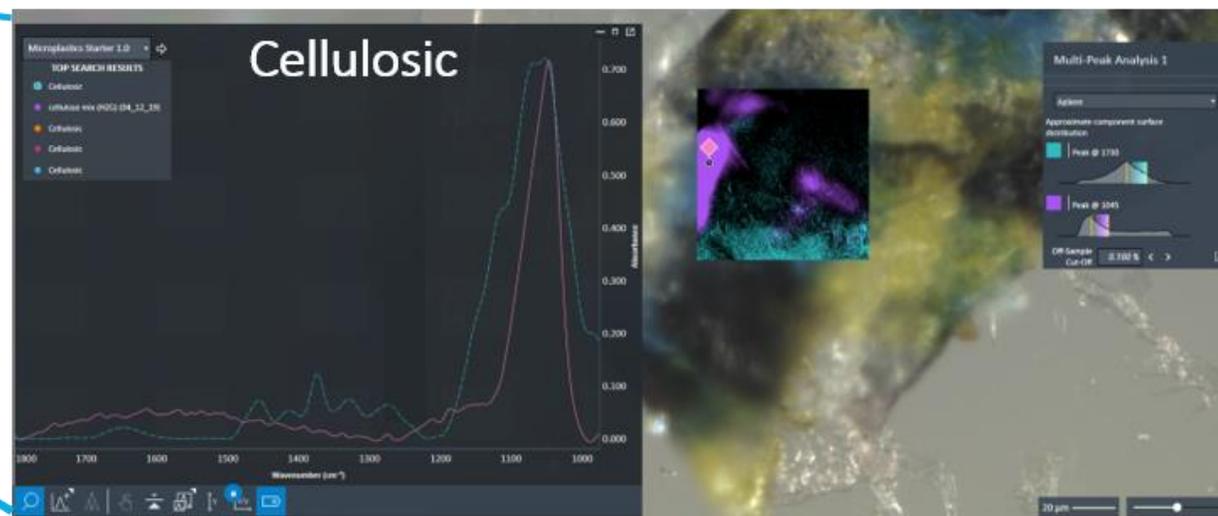
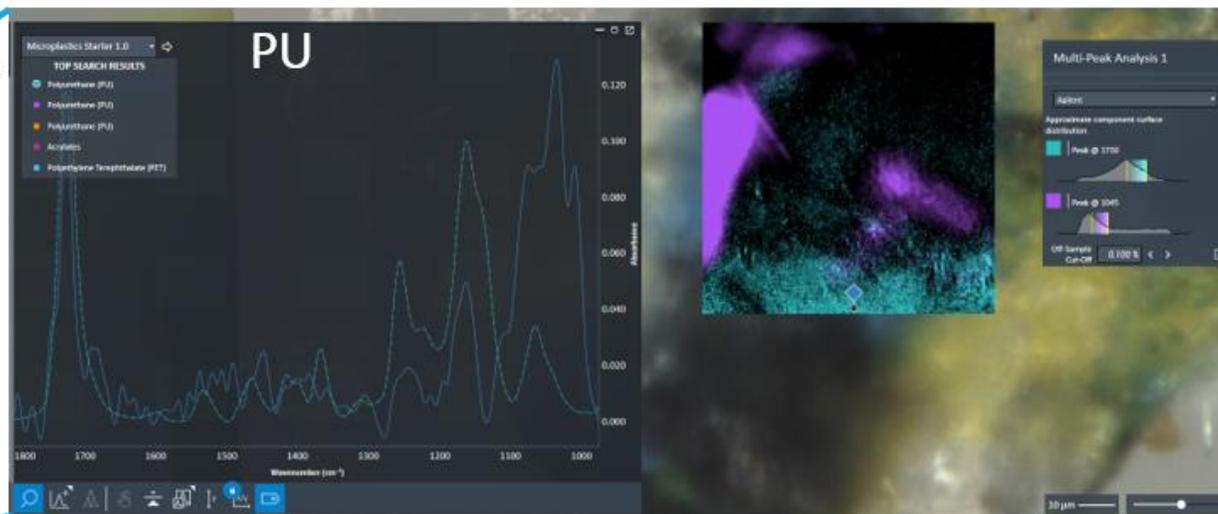
In derselben Analyse können sowohl große (1 mm) als auch kleine (10 μm) Partikel gemessen werden

Das helle Laserlicht kann durch dicke Partikel hindurchtreten und diese identifizieren

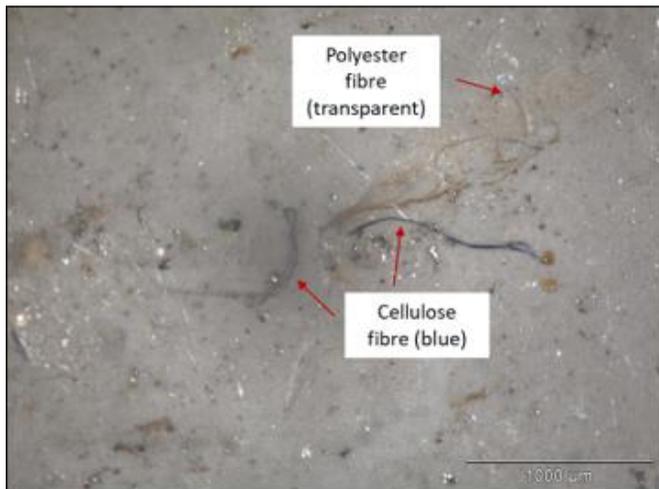
# Große Partikel



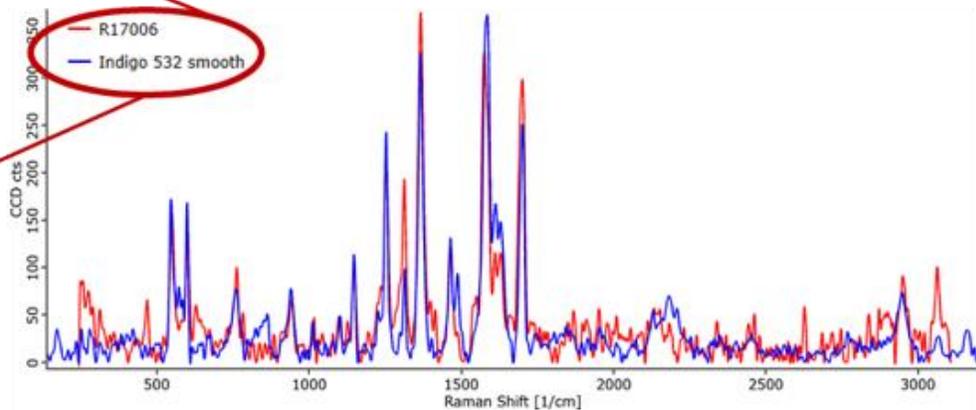
All ©HZG



# Fasern



Indigo blue is a dye pigment used in textile industry.



All ©HZG



# Highlights LDIR Mikroplastikanalyse

- **Automatisierter** Workflow-Partikelgrößen bis zu **10 µm**
- Der manuelle Workflow ermöglicht die Analyse von Partikeln bis zu **1 µm**
- Spezielle **Mikroplastik-Starterbibliothek** mit Spektren einer Vielzahl gängiger Polymertypen
- Option zur **automatischen Analyse eines oder mehrerer vordefinierter Bereiche** auf einem Objektträger
- Option zum **Analysieren großer Flächen** auf einer Folie
- Die Möglichkeit für den Benutzer, die maximale und minimale Größe von Partikeln für die Analyse zu definieren
- Analyse einzelner Partikel einschließlich **Echtzeit- Reporting**. Der Report umfasst Informationen zu einzelnen Partikeln, Anteile der einzelnen Polymertypen und ein Histogramm der Partikelgrößen nach Polymertyp.
- Option zum Herunterladen von Ergebnissen in einem allgemein kompatiblen Dateityp für zusätzliche Analysen.

# LDIR vs FTIR Imaging

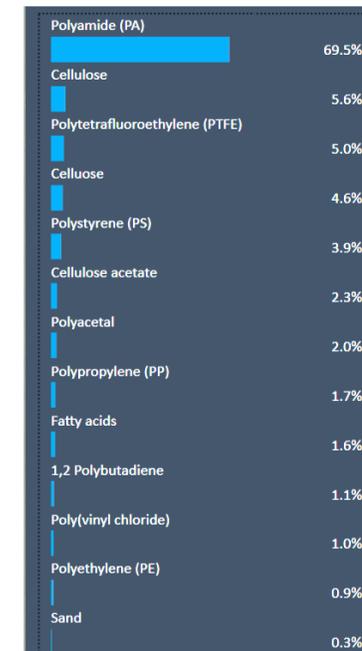
## Imaging FTIR

- Incandescent source + detector array
- 4.2M spectra for 871 particles
- 10+ hours to answers

Particle ID	% by particle count
PE	0.11%
PP	1.03%
Polyester	3.22%
Polyamide (PA)	0.69%
PVC	0.23%
Polyurethane	1.49%
Polystyrene	0.11%
Epoxy	0.23%
POM	0.11%
Cellulose Acetate	0.23%
Protein	10.57%
Cellulose	82.18%
PU paints	0.23%
Alkyd	0.46%

## Laser Direct IR

- Focused laser source
- One spectrum per particle
- ~2 hours; real-time answers
- Same specific, reliable spectra but collected much more efficiently
- Fewer chores and no liquid nitrogen



# Mikroplastik – Limits der Raman-Mikroskopie

Raman-Mikroskopie

Partikelgröße 1µm

Schnelle Analyse (<1 Sek.)

Teilweise automatisierte Workflows (wie LDIR)

Erkennt „theoretisch“ mehr Partikel.

**Alles oben genannte ist sicherlich machbar, aber können nicht alle nicht gleichzeitig realisiert werden**

- Raman hat Probleme, **fluoreszierende Partikel** zu identifizieren- **typische Anteile 15-20%**
- Lösung: Verwenden Sie einen Laser mit geringerer Leistung (z. B. NIR) oder eine geringere sichtbare Leistung- **verlangsamt die Messzeit**
- Hochleistungslaser können die Proben beschädigen (verbrennen) oder die Mikropartikel unter Umständen verändern
- Das Pigmentsignal kann das Polymersignal überstrahlen
- Lösung - es gibt keine. Raman kann farbige Partikel hinsichtlich der Polymer ID in der Regel nicht identifizieren

# Laserfokussierung

Forscher möchten kleine Partikel untersuchen, aber die FTIR-Analyse ist begrenzt:

Standardsysteme: 50  $\mu\text{m}$

High-End: 10-20  $\mu\text{m}$

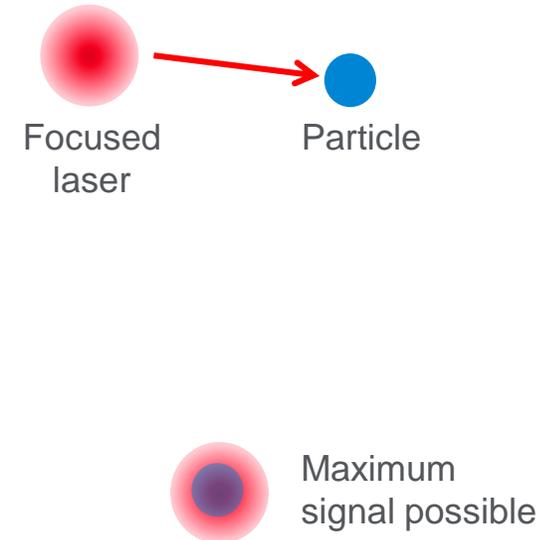
10  $\mu\text{m}$  werden oft als endgültige Untergrenze angegeben

Die Wellenlänge des Lichts bei 1000  $\text{cm}^{-1}$  & beträgt 10  $\mu\text{m}$

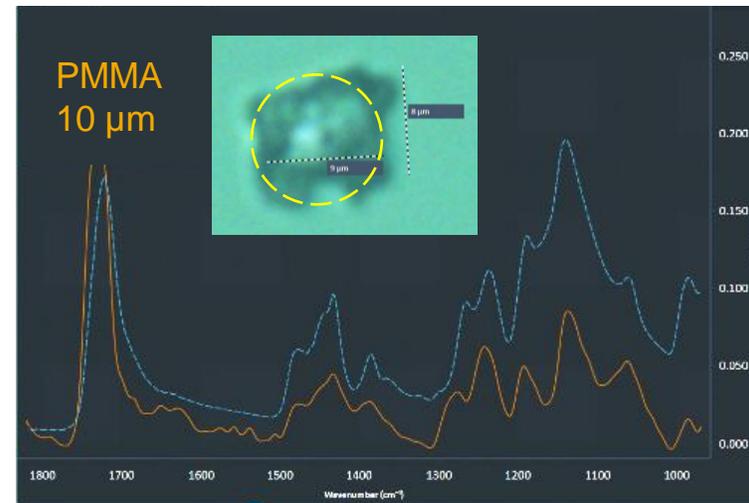
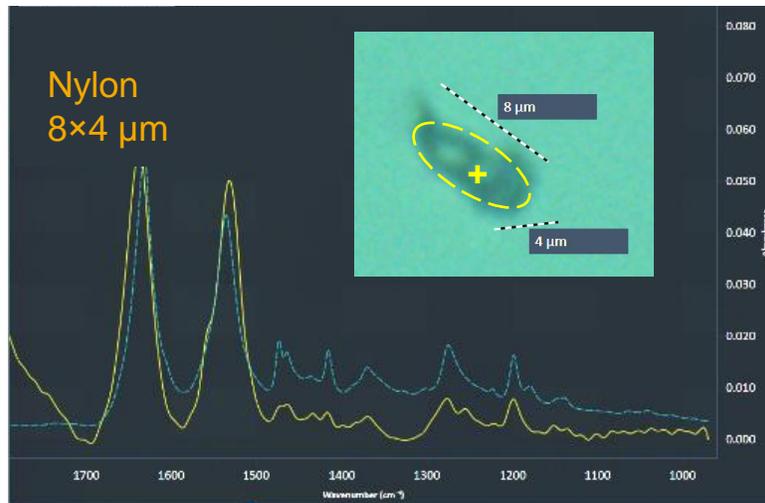
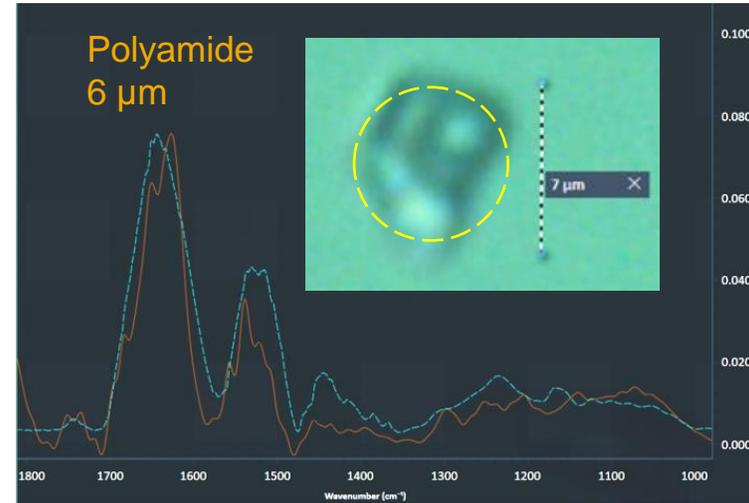
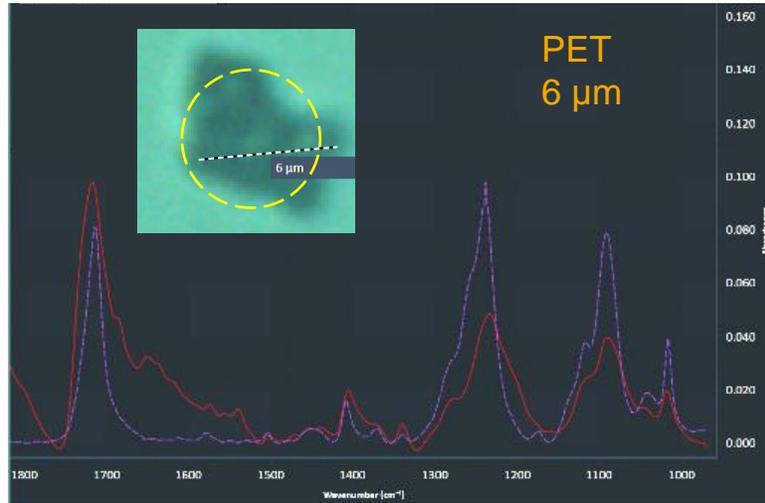
LDIR misst einen beugungslimitierten Punkt

Perfekte Zentrierung optimiert die Lichteinstrahlung zur Vermessung des Partikels,

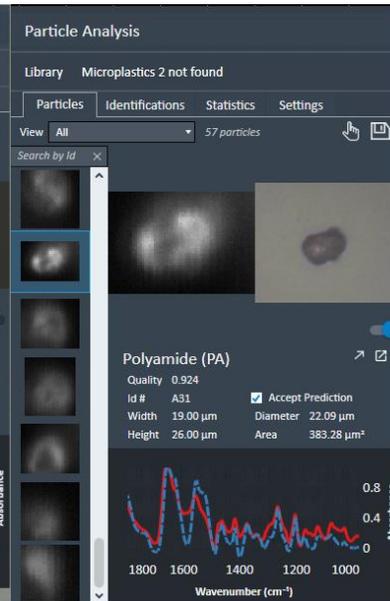
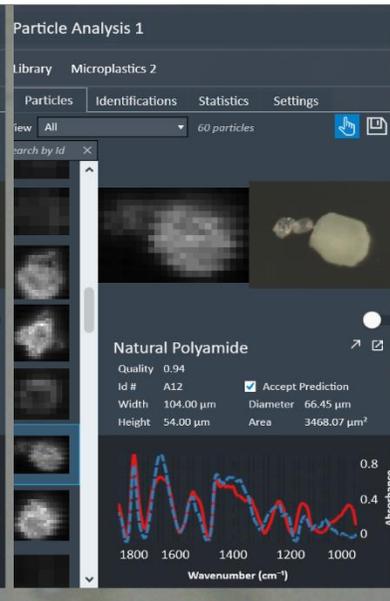
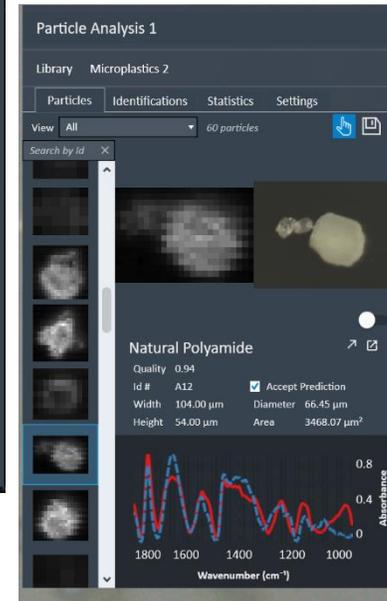
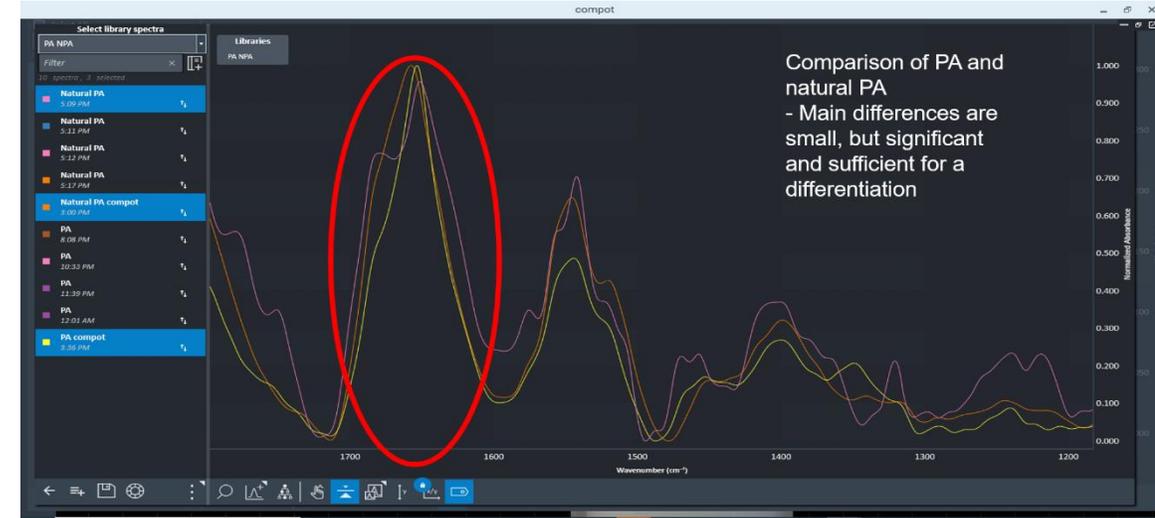
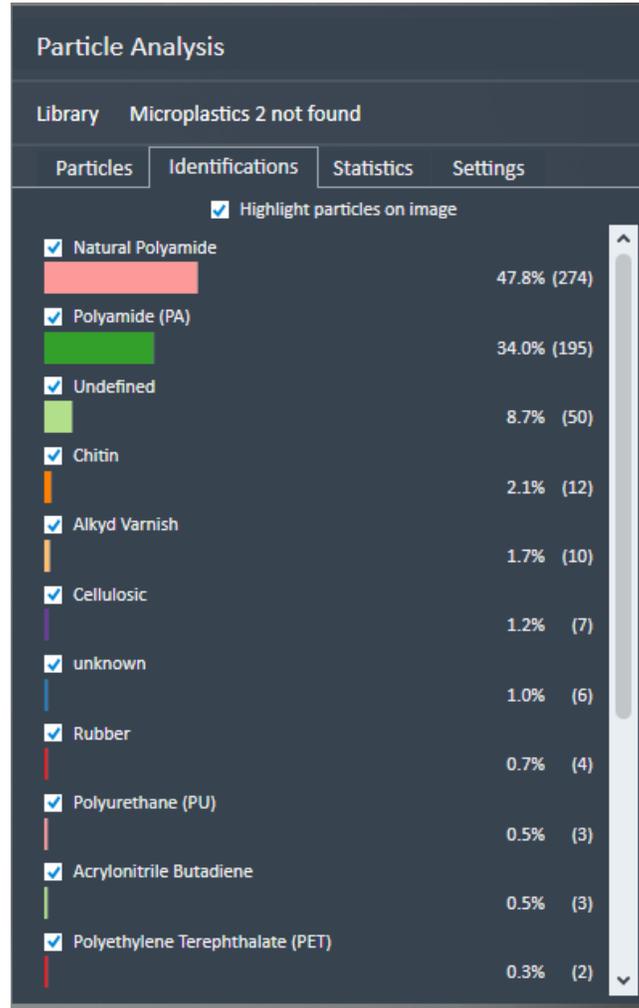
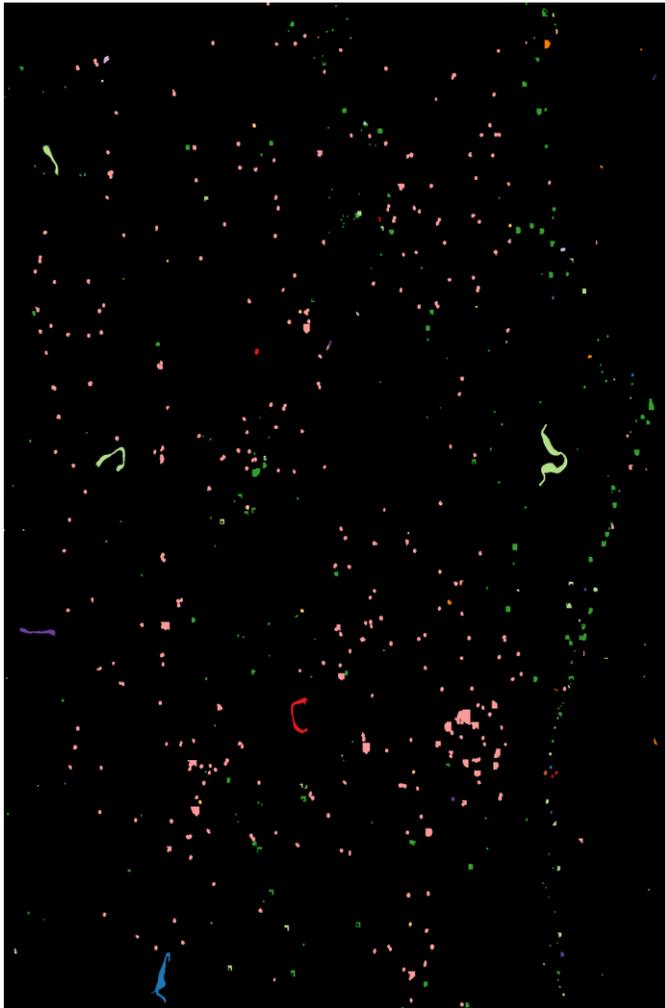
Vermessung unterhalb des Beugungslimits ebenfalls möglich- Oversampling!



# Sehr kleine Partikel



# Pollen, Nylon, Natural Polyamide from hand

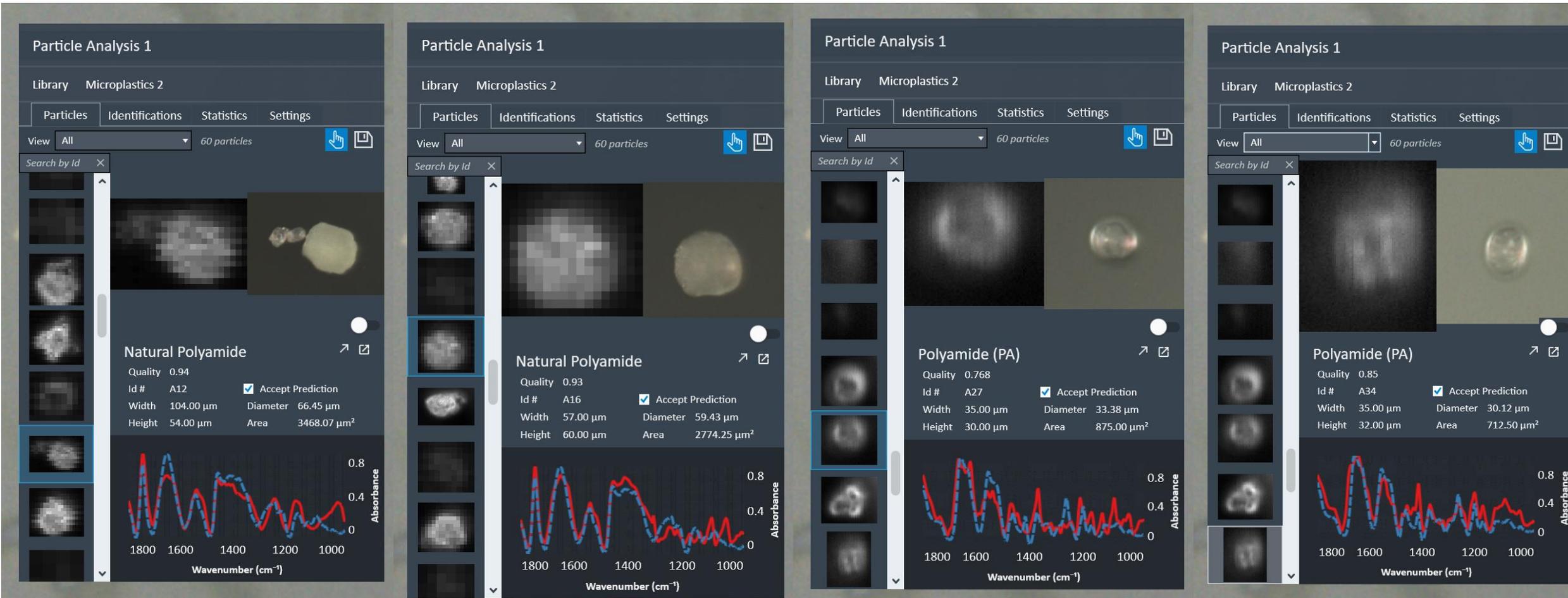


Pollen

Nylon

Hand cont.

# Mixed Sample: Spiked Pollen Sample with PA Nylon beads



The examples clearly show that the bigger and more white pollen were identified as NPA and the more transparent Nylon beads as PA

# 8700 LDIR Chemical Imaging System

Mikroplastik



## 700 LDIR ist ein „Game-Changer“ für chemische Bildgebung:

- Geschlossenes System für die Routine- und Forschungsanalyse mit hohem Grad an Automatisierung
- Werkzeug zur Problemlösung während der Entwicklung und Herstellung von Formulierungen
- Erhebliche Zeit- und Kostenersparnis
- Die Fähigkeit, große Flächen abzubilden, ist mit anderen Systemen nicht möglich

Der 8700 LDIR erfüllt alle Anforderungen, die an einen leistungsstarken „Microplastics-Analyzers“ gestellt werden:

- Hochwertige konsistente Ergebnisse durch einen automatisierten Workflow, bei dem der Anwender kein Mikroskopiker oder Spektroskopiker sein muss
- Zuverlässige und robuste Lösung für schnelle Antworten

# Vielen Dank!

