

# Mikropartikeln auf der Spur

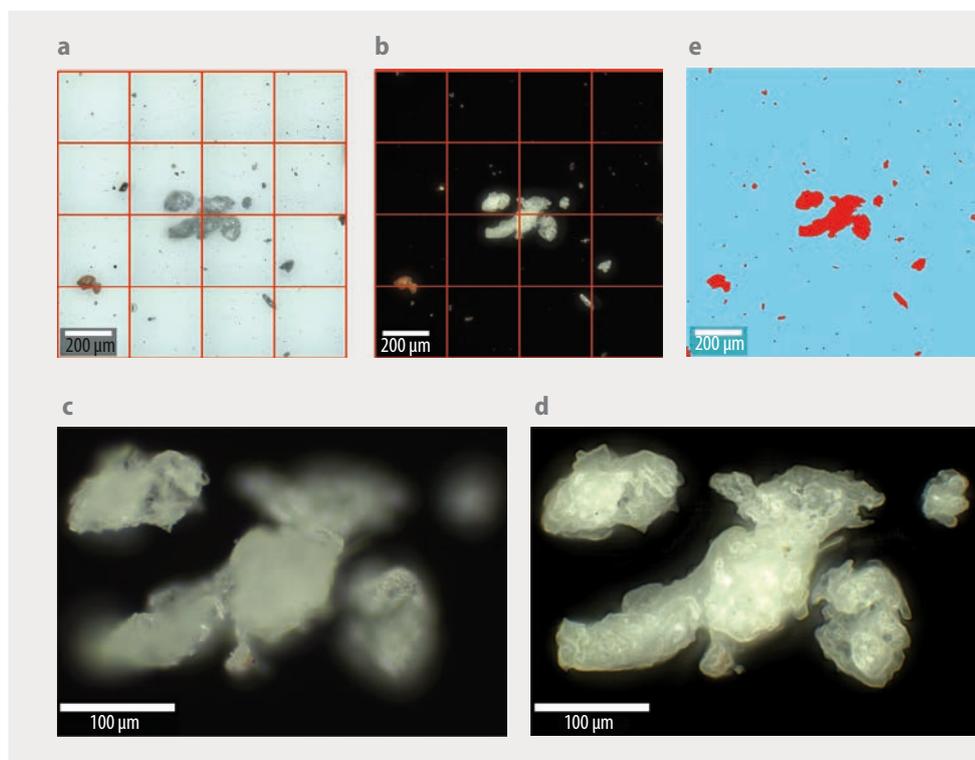
ParticleScout von WITec ist eine neue Software, um Mikropartikel schnell und weitgehend automatisiert zu erkennen, strukturell zu klassifizieren und chemisch zu identifizieren.

Miriam Böhmler, Wolfram Ibach, Eleni Kallis und Karin Hollricher

Pollen und Staub in Reinnräumen, Pigmente, Metalle und Titandioxid in kosmetischen Cremes, Verunreinigungen in Lebensmitteln, Fettkristalle in Emulsionen, Mikroplastik in Getränken, Flüssen und Meeren – in alltäglichen Produkten und in unserer Umwelt kommen Mikropartikel vor. Daher gibt es viele Gründe, die Menge, Größe und Zusammensetzung von Mikropartikeln exakt zu untersuchen. Besondere Aufmerksamkeit richtet sich aktuell auf die Analyse von Mikroplastik, das durch Zersetzung von Plastikgegenständen entsteht und selbst in den entlegensten Regionen wie der Arktis und tief im Meer gefunden wurde [1, 2].

Mikropartikel können aus den verschiedensten Materialien bestehen, unterschiedliche Größen und Formen haben, häufig oder selten vorkommen. Die International Union of Pure and Applied Chemistry definiert Mikropartikel als 0,1 bis 100 µm groß [3]. Daher ist es nicht trivial, Mikropartikel quantitativ in kleinen wie auch sehr großen Volumina wie Meerwasser nachzuweisen [4]. Außerdem ist gerade in Umweltproben nur ein Bruchteil der darin enthaltenen Partikel tatsächlich von Interesse. Diese gilt es, schnell und zuverlässig zu identifizieren.

Somit sind dringend möglichst weitgehend automatisierte und standardisierte Prozesse nötig, um zunächst alle Partikel in einer Probe zu lokalisieren, darunter die interessanten Objekte auszuwählen, zu zählen und zuverlässig zu charakterisieren. Es gibt bereits mehrere Methoden, etwa Laserbeugung und dynamische Bildanalyse, um die Größe von Partikeln zu bestimmen. Diese eignen sich jedoch nicht, um die chemische Zusammensetzung der Partikel festzustellen. Dazu kann die Raman-Spektroskopie dienen [5, 6].



**Abb. 1** Mit ParticleScout und Raman-Mikroskopie lassen sich Partikel identifizieren. Verschiedene Kunststoffpartikel wurden gemischt und die Probe wurde abschnittsweise mit hoher Auflösung mikroskopiert. Die gezeigten Hellfeld- (a) bzw. Dunkelfeldbilder (b) sind aus jeweils 16 hochaufgelösten Bildern zusammengesetzt. Unterschiedlich große und geformte Teilchen lassen sich in einer Fokusebene nicht scharf abbilden (c), Focus Stacking ermöglicht Bilder mit hoher Tiefenschärfe (d). Particle Scout stellt die Position detektierter Partikel als zweifarbige Maske dar (e).

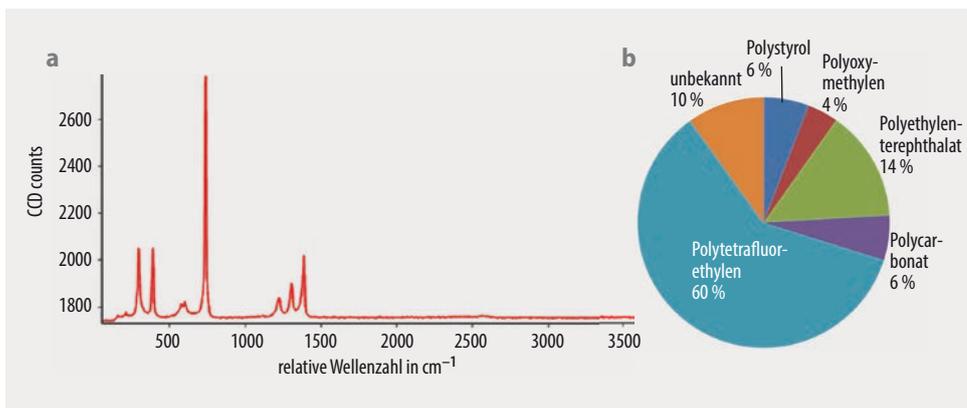
WITec kombiniert ParticleScout mit konfokaler Raman-Mikroskopie so, dass sich sämtliche Schritte einer umfassenden strukturellen und chemischen Partikelanalyse inklusive Berichterstattung weitestgehend automatisch durchführen lassen.

## Das Verfahren

Die Partikelanalyse beginnt mit der Aufnahme eines großflächigen mikroskopischen Hell- und Dunkelfeldbilds der Probe (**Abb. 1a, b**). Da für die Abbildung von Mikropartikeln hohe Vergrößerung nötig ist, nimmt man zunächst Bilder von verschiedenen Bereichen der Probe auf und fügt sie anschließend zu einem Bild

zusammen (Image Stitching). Wenn die Partikel einer Probe unterschiedlich groß und verschieden geformt sind, lassen sich nicht alle Teilchen gleichzeitig scharf abbilden. Hier hilft es, Bilder aus verschiedenen Fokusebenen zu kombinieren (Focus Stacking, **Abb. 1c, d**). Beide Funktionen sind in der WITec Control Software des Raman-Mikroskops implementiert. ParticleScout erkennt die Partikel im lichtmikroskopischen Bild automatisch anhand eines Helligkeitsschwellenwerts, den der Benutzer bestimmen kann.

Die Positionen aller detektierten Partikel werden als Maske dargestellt (**Abb. 1e**). Eigenschaften wie Fläche, Umfang oder Äquivalentdurchmes-



**Abb. 2** Von jedem Partikel lässt sich ein Hintergrund-korrigiertes Raman-Spektrum aufnehmen (a). Aus den Spektren wurde mit Hilfe der Datenbank-Software TrueMatch die chemische Zusammensetzung der Kunststoffpartikel identifiziert (b). Partikel aus Polytetrafluorethylen stellen mit 60 Prozent den größten Anteil.

ser werden automatisch berechnet. Anhand ihrer Merkmale sind die Teilchen zu gruppieren. Jede weitere Analyse lässt sich für alle Partikel durchführen oder auf einzelne Gruppen beschränken. Für wiederkehrende Arbeitsabläufe ist es möglich, Filter vorzudefinieren und zu speichern.

Woraus die ausgewählten Partikel bestehen, ist anhand ihrer Raman-Spektren zu bestimmen. ParticleScout steuert die ausgewählten Partikel auf dem Objektträger extrem präzise an, sodass es möglich ist, von jedem ein Spektrum aufzunehmen (Abb. 2a). Da WITec Raman-Mikroskope auf besten optischen Lichtdurchsatz, höchste Signalsensitivität und besonders schnelle Messungen optimiert

sind, lassen sich mit diesem Setup mehrere Hundert Partikel pro Stunde analysieren.

Für die Auswertung der Raman-Spektren wurde die leistungsstarke Datenbank-Software TrueMatch in ParticleScout integriert. TrueMatch gleicht die gemessenen Spektren mit Datenbanken ab und identifiziert die gefundenen Substanzen schnell und zuverlässig. Die chemischen Materialeigenschaften der Partikel kann man mit ihren strukturellen Eigenschaften wie Umfang oder Fläche korrelieren. ParticleScout liefert Daten für detaillierte Berichte (Abb. 2b).

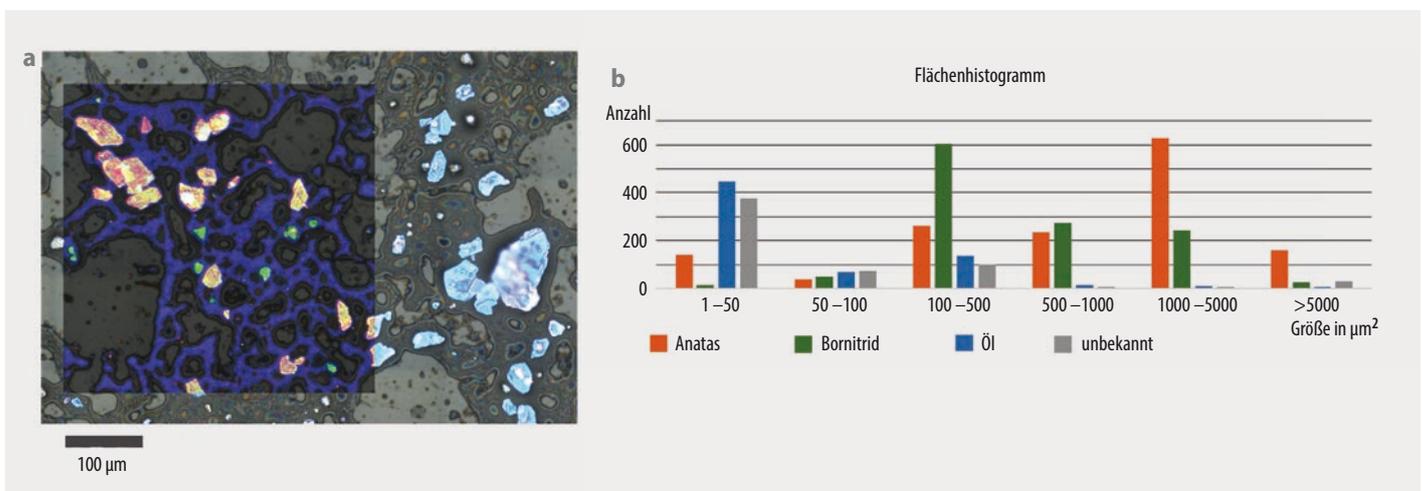
Die folgenden Beispiele veranschaulichen die vielfältigen Funktionen von ParticleScout. Alle Mes-

sungen wurden an einem konfokalen alpha300 R Raman-Mikroskop von WITec durchgeführt.

## Mikropartikel in Kosmetika

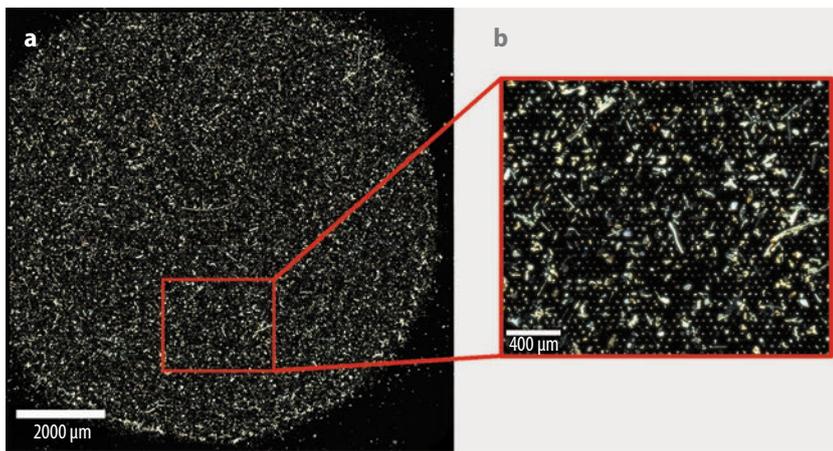
Hier wurden die Inhaltsstoffe einer Peelingcreme analysiert. Auf einem gut 9 mm<sup>2</sup> großen Hellfeldbild, das durch Image Stitching generiert wurde, detektierte ParticleScout fast 4000 Partikel unterschiedlicher Größen und Formen und grupperte sie nach strukturellen Eigenschaften (Abb. 3a). Die hohe Tiefenschärfe war durch Focus Stacking möglich. Die chemische Identifikation der Partikel anhand ihrer Raman-Spektren ergab, dass sie überwiegend aus Anatas und Bornitrid bestehen. Bornitrid wird häufig kosmetischen Cremes zugesetzt, um sie geschmeidig zu machen. Anatas ist eine kristalline Form von Titandioxid. Sie sorgt für den mechanischen Peelingeffekt. Von einem kleineren Bereich wurde ein Raman-Bild erzeugt und dem Lichtbild überlagert, um die Verteilung der Inhaltsstoffe und die Korrelation zwischen Form und chemischer Zusammensetzung zu visualisieren.

ParticleScout bietet umfangreiche Möglichkeiten zur Berichterstellung (Abb. 3b). Die Größenverteilung der verschiedenen Komponenten zeigt beispielsweise, dass die Bornitrid-Teilchen in der Creme statistisch kleiner sind als die Anatas-Partikel.



**Abb. 3** ParticleScout erstellt umfassende Berichte, hier bei der Analyse einer kosmetischen Peelingcreme: Großflächiges Hellfeldbild mit überlagertem Raman-Bildausschnitt (a). Die hellblauen Partikel im Hellfeldbild bestehen aus Anatas, die dunkelgraue Phase ist ÖI, hellgrau ist die Oberfläche des Objektträgers, auf dem die Probe

dünn ausgestrichen wurde. Die Inhaltsstoffe bilden unterschiedlich große Partikel (b). Die meisten Bornitrid-Partikel hatten eine Fläche von 100 bis 500 µm<sup>2</sup>, während Anatas-Partikel mit 1000 bis 5000 µm<sup>2</sup> deutlich größer waren.



**Abb. 4** Aus dem Schlamm einer Kläranlage herausgefilterte Mikropartikel sind hier im Dunkelfeldbild des ganzen Filters (a) und in der Vergrößerung des rot markierten Bereichs (b) zu sehen. Von 18 000 Partikeln wurden Raman-Spektren ermittelt und daraus ihre chemische Zusammensetzung bestimmt.

## Mikroplastik in Umweltproben

Die Zunahme von Mikroplastik in der Umwelt gibt wegen der möglichen negativen Effekte auf Mensch und Natur zunehmend Anlass zur Sorge [7]. Hier wurden Mikroplastik-Partikel in Klärschlamm, einer sehr komplexen Probe, identifiziert. Die Probe wurde mehrfach gefiltert. Auf dem letzten Filter mit einer Porengröße von 10 µm befanden sich mehrere Zehntausend Partikel (**Abb. 4**). Mit ParticleScout wurden von etwa 18 000 Partikel Raman-Spektren aufgenommen und ausgewertet. Die Datenbank-Software TrueMatch identifizierte 46 (0,25 % aller Partikel) zweifelsfrei als Mikroplastik. Ihre Größe reichte von 10 µm bis 100 µm (Äquivalentdurchmesser). Polyethylen (25 Teilchen) und Polypropylen (12 Teilchen) waren die häufigsten Kunststoffe. Außerdem fanden sich viele Pigment- und einige Titandioxid-Partikel.

## Zusammenfassung

In vielen Anwendungen und Forschungsbereichen ist die schnelle Analyse von Mikropartikeln wichtig. Mit der neuen Software ParticleScout ausgestattete konfokale Raman-Mikroskope ermöglichen es dem Nutzer, automatisiert und rasch Mikropartikel in der Probe aufzuspüren, mit hoher Auflösung zu visualisieren und nach strukturellen Merkmalen zu kategorisieren. Aus den Raman-

Spektren der Partikel lässt sich deren molekulare Zusammensetzung bestimmen. Somit ist es möglich, strukturelle und chemische Eigenschaften zu korrelieren. Probenberichte sind auf verschiedene Weise darstellbar.

## Autoren

**Dr. Miriam Böhmler, Dr. Wolfram Ibach, Eleni Kallis** und **Dr. Karin Hollricher**, WITec GmbH, Lise-Meitner-Str. 6, 89081 Ulm

## Literatur

- [1] *M. Bergmann et al.*, *Sci. Adv.* **5**, eaax1157 (2019)
- [2] *C. A. Choy et al.*, *Sci. Rep.* **9**, 7843 (2019)
- [3] *M. Vert et al.*, *Pure and Appl. Chem.* **84**, 377 (2012)
- [4] *N. P. Ivleva, A. C. Wiesheu und R. Niessner*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**, 1720 (2016)
- [5] *P. M. Anger et al.*, *Trends in Analytical Chemistry* **109**, 214 (2018)
- [6] *A. Käßler et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* **408**, 8377 (2016)
- [7] *T. S. Galloway, M. Cole und C. Lewis*, *Nature Ecol. Evol.* **1**, 0116 (2017)

**PFEIFFER** VACUUM



## VAKUUM-LÖSUNGEN AUS EINER HAND

Pfeiffer Vacuum steht weltweit für innovative und individuelle Vakuumlösungen, für technologische Perfektion, kompetente Beratung und zuverlässigen Service. Wir verfügen als einziger Anbieter von Vakuumtechnik über ein komplettes Produktsortiment:

- Pumpen zur Vakuumherzeugung von Grobvakuum bis UHV
- Vakuummess- und Analysegeräte
- Lecksucher und Dichtheitsprüfgeräte
- Vakuumkomponenten und Kammern
- Pumpstände und kundenspezifische Lösungen

Sie suchen eine perfekte Vakuumlösung? Sprechen Sie uns an:

**Pfeiffer Vacuum GmbH**  
Headquarters/Germany  
T +49 6441 802-0  
[www.pfeiffer-vacuum.com](http://www.pfeiffer-vacuum.com)