

Charakterisierung von Mikroplastik in marinen Proben: Möglichkeiten und Grenzen der FTIR- und Raman-Spektroskopie

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

dem Bereich Mathematik und Naturwissenschaften

der Technischen Universität Dresden

von

Dipl.-Lebensmittelchemikerin (staatl. geprüft) Andrea Käppler

geboren am 26.09.1986 in Marienberg

Tag der Einreichung: 12.09.2018

Tag der Verteidigung: 30.11.2018

Gutachter: Prof. Dr. Brigitte Voit

Prof. Dr. Christian Laforsch

Diese Dissertation wurde in der Zeit von April 2014 bis September 2018 im Leibniz-
Institut für Polymerforschung Dresden e.V. angefertigt.

Inhaltsverzeichnis

1 Motivation und Zielstellung	1
2 Wissenschaftlicher Hintergrund	2
2.1 Definition, Einteilung und Vorkommen von Mikroplastik	2
2.1.1 Definition und Größenbereich von Mikroplastik.....	2
2.1.2 Klassifizierung von Mikroplastik.....	3
2.1.3 Vorkommen von Mikroplastik.....	3
2.1.4 Eintragspfade von Mikroplastik in das marine Ökosystem.....	5
2.2 Studien zum Mikroplastik-Vorkommen in der Ostsee	6
2.3 Potentielle ökotoxikologische Effekte von Makro- und Mikroplastik	9
2.3.1 Gefährdungspotential von Makroplastik auf das marine Ökosystem.....	9
2.3.2 Ingestion von Mikroplastik durch marine Lebewesen.....	9
2.3.3 Gefährdungspotential von Mikroplastik auf das marine Ökosystem.....	10
2.3.3.1 Unmittelbare Wechselwirkung von Mikroplastik mit dem Organismus.....	10
2.3.3.2 Mikroplastik als Vektor für Schadstoffe.....	10
2.3.3.3 Mikroplastik als Vektor für Mikroorganismen.....	11
2.4 Gesetzlicher Rahmen zum Schutz der marinen Umwelt in Hinsicht auf Kunststoffmüll	12
2.5 Analytik von Mikroplastik – Stand der Technik und Herausforderungen	13
2.5.1 Ziele und Aufgabenstellung im Kontext Mikroplastikanalytik.....	13
2.5.2 Probennahme von marinen Mikroplastik-Proben.....	14
2.5.2.1 Marine Wasserproben.....	14
2.5.2.2 Marine Sedimentproben.....	15
2.5.3 Probenextraktion und Probenreinigung von marinen Mikroplastik-Proben.....	15
2.5.3.1 Dichteseparation.....	15
2.5.3.2 Größenfraktionierung.....	16
2.5.3.3 Probenreinigung.....	16
2.5.4 Maßnahmen zur Qualitätssicherung.....	17
2.5.4.1 Wiederfindungsproben.....	17
2.5.4.2 Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen.....	18
2.5.5 Methoden zur Identifizierung von Mikroplastik – Überblick.....	19
2.5.5.1 Visuelle Verfahren.....	19
2.5.5.2 SEM/EDX.....	21

2.5.5.3	Gel-Permeations-Chromatographie (GPC).....	22
2.5.5.4	Thermoanalytische Verfahren.....	23
2.5.6	Analyse von Mikroplastik-Proben mittels FTIR- und Raman-Spektroskopie.....	24
2.5.6.1	Messprinzipien der FTIR- und Raman-Spektroskopie	24
2.5.6.2	Identifizierung von visuell erfassbaren, isolierten Mikroplastikpartikeln mittels FTIR- und Raman-Spektroskopie	27
2.5.6.3	Identifizierung von filtrierten Mikroplastik-Proben mittels FTIR- und Raman- Mikroskopie.....	28
3	Experimenteller Teil	33
3.1	FTIR Instrumente	33
3.1.1	FTIR-Spektrometer Vertex 80v	33
3.1.2	FTIR-Spektrometer Vertex 70 gekoppelt mit FTIR-Mikroskop Hyperion 2000	33
3.1.3	FTIR-Spektrometer Tensor 27 gekoppelt mit FTIR-Mikroskop Hyperion 3000	33
3.2	Raman Instrument.....	34
3.3	py-GC/MS Instrument.....	35
3.4	Datenbanken und Referenzmaterial	36
3.5	Untersuchte Mikroplastik-Proben	37
3.5.1	Probennahme	37
3.5.1.1	Strand-Sediment	37
3.5.1.2	Warnow-Sediment	37
3.5.1.3	Sinkstofffallen.....	38
3.5.2	Probenextraktion und –aufbereitung.....	38
3.5.2.1	Probenextraktion von Sedimentproben	38
3.5.2.2	Probenaufbereitung von Sinkstofffallen-Proben	40
3.5.3	Spektroskopische Analyse	41
3.5.3.1	Mikrospektroskopische Analyse von isolierten Partikeln und Fasern > 500 µm aus Warnow-Sediment-Proben.....	41
3.5.3.2	Raman-mikroskopische Analyse der Sinkstofffallen-Proben < 400 µm	42
4	Ergebnisse und Diskussion	44
4.1	Entwicklung eines Si-Filters als universelles Messsubstrat für Transmission FTIR- und Raman-Mikroskopie	44
4.1.1	Produktion und Design der Si-Filter	44
4.1.2	Konstruktion eines Filteradapters	46

4.1.3	Charakterisierung der Porenmorphologie der Filter mittels SEM.....	48
4.1.4	Spektroskopische Charakterisierung der Filter	52
4.1.4.1	IR-Spektroskopische Charakterisierung	52
4.1.4.2	Raman-spektroskopische Charakterisierung	62
4.1.5	Zusammenfassende Beurteilung der untersuchten Filtermaterialien und daraus resultierende Schlussfolgerungen.....	65
4.2	Methodenvergleich und -evaluierung.....	67
4.2.1	Mikroplastik-Partikel > 500 µm und Fasern aus Sedimenten	67
4.2.1.1	Vergleich von FTIR- und Raman-Mikroskopie – Messung von Einzelpartikeln.....	67
4.2.1.2	Vergleich von FTIR und py-GC/MS – Messung von Einzelpartikeln	74
4.2.2	Mikroplastik-Partikel < 500 µm: Vergleich von FTIR- und Raman-Mikroskopie.....	85
4.2.2.1	Mikroplastik-Modellpartikel als Referenzmaterialien	85
4.2.2.2	Reale Mikroplastik-Partikel aus Sinkstofffallen.....	102
4.2.2.3	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen für die Analytik von Mikroplastik- Partikeln < 500 µm mittels Raman- und FTIR-Mikroskopie	111
4.3	Ergebnisse von Proben aus Ostsee und Warnow.....	114
4.3.1	Untersuchung von Sinkstofffallen, Fraktion < 500 µm.....	114
4.3.2	Untersuchung von Warnow-Sedimenten, Fraktion > 500 µm	116
4.3.2.1	Ergebnisse der Blindproben und daraus resultierende Schlussfolgerungen	116
4.3.2.2	Gehalt, Polymerzusammensetzung und Größenverteilung von Mikroplastik (> 500 µm) in Warnow-Sedimenten.....	117
4.3.2.3	Diskussion der Ergebnisse.....	123
5	Zusammenfassung und Ausblick	127
	Anhang.....	131
	Literaturverzeichnis	149
	Abbildungsverzeichnis	159
	Tabellenverzeichnis	162
	Danksagung.....	164
	Publikationsliste	166
	Versicherung	167

Abkürzungsverzeichnis

ATR	Attenuated total reflection/Abgeschwächte Totalreflexion
AU	Absorbance Units/Absorptionseinheiten
CCD	Charge-coupled device
CNC	Computerized Numerical Control/rechnergestützte numerische Steuerung
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DiOP	Diisooctylphthalat
DLaTGS	L-alanine doped deuterated Triglycine Sulfate
DMP	Dimethylphthalat
DMT	Dimethylterephthalat
DSC	Differential Scanning Calorimetry/Dynamische Differenzkalorimetrie
EDX	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy/Energiedispersive Röntgenspektroskopie
EMCCD	Electron-multiplying cooled charge-coupled device
EVA	Ethylenvinylacetat-Copolymer
FPA	Focal Plane Array
FTIR	Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie
GC/MS	Gaschromatographie gekoppelt an Massenspektrometrie
GLM	Generalized Linear Regression Model
GPC	Gel-Permeations-Chromatographie
HDPE	High density polyethylene/Polyethylen hoher Dichte
HELCOM	Helsinki-Kommission
HT	Hochtemperatur
ICBM	Institut für Chemie und Biologie des Meeres
IOW	Leibniz-Institut für Ostseeforschung
IPF	Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V.
IR	Infrarot
IRSE	Infrarot-Spektroskopische Ellipsometrie
ISAS	Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften
IUPAC	International Union for Pure and Applied Chemistry/Internationale Union für reine und angewandte Chemie
IZM	Fraunhofer-Institut für Zuverlässigkeit und Mikrointegration
LD	Long distance/großer Arbeitsabstand
LDPE	Low density polyethylene/Polyethylen niedriger Dichte
LLDPE	Linear low density polyethylene/Lineares Polyethylen niedriger Dichte

MALDI-TOF-MS	Matrix-assistierte Laser-Desorption-Ionisierung in Kombination mit Flugzeitanalyse und Massenspektrometrie
MARPOL	International Convention for the Prevention of Marine Pollution from Ships/ Internationales Übereinkommen zur Verhütung der Meeresverschmutzung durch Schiffe
MCT	Mercury Cadmium Telluride
MPSS	Munich Plastic Sediment Separator/Microplastic Sediment Separator
MSFD	Marine Strategy Framework Directive/Meeresstrategie-Rahmenrichtlinie
NA	Numerische Apertur
Nd:YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration/Nationale Ozean- und Atmosphärenbehörde
OSPAR	Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic/Übereinkommen zum Schutz der Meeresumwelt des Nordost-Atlantiks
PA	Polyamid
PAK	Polyaromatische Kohlenwasserstoffe
PAN	Polyacrylonitril
PBT	Polybutylenterephthalat
PC	Polycarbonat
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PE	Polyethylene
PES	Polyester
PET	Polyethylenterephthalat
PMMA	Polymethylmethacrylat
POM	Polyoxymethylen
POP	Persistent Organic Pollutants/Persistente Organische Schadstoffe
PP	Polypropylene
PS	Polystyrol
PTFE	Polytetrafluorethylen
PU	Polyurethan
PVAc	Polyvinylacetat
PVC	Polyvinylchlorid
Py	Pyrolyse
RCWA	Rigorous Coupled Wave Analysis
S/N	Signal-Rausch-Verhältnis

SDS	Sodium dodecyl sulfate/Natriumlaurylsulfat
SEM	Scanning Electron Microscopy/Rasterelektronenmikroskopie
SPE	Solid Phase Extraction/Festphasenextraktion
TDS	Thermische Desorption
TGA	Thermogravimetrische Analyse
TM	Trockenmasse
TMAH	Tetramethylammoniumhydroxid
TMB	Trimethoxybenzol
TML	Trimethyllevoglucosan
UHTS	Ultra-High Throughput Spectrometer
UV	Ultraviolettstrahlung

1 Motivation und Zielstellung

Das Vorkommen von Mikroplastik (Kunststoff-Partikel < 5 mm) in zahlreichen marinen Ökosystemen wurde in vielen Fachartikeln dokumentiert und erreicht regelmäßig wissenschaftliche und öffentliche Aufmerksamkeit. Mikroplastik wird als potentielle Gefahr für die marine Umwelt angesehen. Aufgrund der geringen Größe kann Mikroplastik von marinen Organismen mit der Nahrung verwechselt werden und infolge dessen in den Magen-Darm-Trakt gelangen. Ob die so aufgenommenen Partikel zu einer Schädigung der Organismen führen und welche Wirkungsmechanismen dabei eine Rolle spielen, ist derzeit noch nicht umfassend geklärt. In diesem Zusammenhang wird Mikroplastik beispielsweise als Transportvehikel für enthaltene Kunststoffadditive, für adsorbierte persistente organische Schadstoffe sowie für potentiell pathogene Mikroorganismen diskutiert.

Für eine Risikobewertung sind in erster Linie zuverlässige Daten über die Mikroplastik-Gehalte in verschiedenen Umweltkompartimenten nötig. Dazu werden geeignete und sichere analytische Verfahren zur Identifizierung und Quantifizierung von Mikroplastik in Umweltproben benötigt.

Die bislang veröffentlichten analytischen Ansätze zur Mikroplastik-Analytik sind sehr vielfältig und unterliegen keiner standardisierten und harmonisierten Vorgabe. Daher sind die ermittelten Mikroplastik-Befunde verschiedener Studien nur schwer miteinander vergleichbar.

Die vorliegende Arbeit, die im Rahmen des von PD Dr. Matthias Labrenz (Leibniz-Institut für Ostseeforschung Warnemünde – IOW) geleiteten, interdisziplinären Leibniz-Verbundprojektes „MikrOMIK“ angefertigt wurde, möchte bestehende Wissenslücken im Bereich der Mikroplastik-Analytik schließen und Möglichkeiten und Grenzen der FTIR- und Raman-Spektroskopie für die analytische Untersuchung von marinen Mikroplastik-Proben aufzeigen.

Dazu soll zunächst ein Filtersubstrat entwickelt werden, das für eine umfassende Untersuchung von filtrierten Mikroplastik-Proben sowohl mittels Transmission FTIR- als auch mittels Raman-Mikroskopie geeignet ist.

Raman Imaging soll als neuartige Methode zur Identifizierung von Mikroplastik etabliert und die Anwendbarkeit auf reale Umweltproben gezeigt werden. Beide spektroskopische Verfahren (IR und Raman) sollen anhand von Modellproben und realen Umweltproben miteinander verglichen und validiert werden. Zusätzlich dazu sollen die spektroskopischen Ergebnisse an ausgewählten Proben mit der thermoanalytischen py-GC/MS-Methode verglichen und beurteilt werden.

Letztendlich sollen zuverlässige Daten zum Mikroplastik-Vorkommen in verschiedenen Ostseeproben gewonnen werden. Von besonderem Interesse ist es dabei, mögliche Eintragspfade für Mikroplastik in die Ostsee abzuschätzen und Senken von Mikroplastik zu identifizieren. Daher liegt der Fokus der Untersuchungen auf Sedimentproben aus dem Mündungsbereich der Warnow, einem bedeutenden Zufluss zur Ostsee.

2 Wissenschaftlicher Hintergrund

2.1 Definition, Einteilung und Vorkommen von Mikroplastik

2.1.1 Definition und Größenbereich von Mikroplastik

In den 1970er Jahren wurde erstmals von kleinen Kunststoff-Partikeln in atlantischen Gewässern berichtet (Carpenter et al., 1972; Carpenter and Smith, 1972; Colton et al., 1974). Das wissenschaftliche und öffentliche Interesse daran war zunächst gering. In den letzten zehn Jahren wuchs die Anzahl wissenschaftlicher Studien, die über das Vorkommen von Mikroplastik berichten und dessen Folgen für das aquatische Ökosystem aufzeigen, sprunghaft an (Andrady, 2011; Hidalgo-Ruz et al., 2012).

Der Begriff „Mikroplastik“ wurde erstmals 2004 in einer Studie von Thompson et al. für mikroskopisch kleine Plastikfragmente und synthetische Fasern aus Sediment- und Planktonproben verwendet (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Thompson et al., 2004). Eine einheitliche Definition von Mikroplastik gibt es bislang nicht. Allgemein versteht man unter Mikroplastik kleine Partikel, Fragmente und Fasern aus Kunststoffen, also synthetische Polymere (umgangssprachlich „Plastik“). Die obere Größengrenze variierte anfangs von < 2 mm (Ryan et al., 2009), < 1 mm (Browne et al., 2011; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014) bis hin zu < 500 µm (Andrady, 2011). Mittlerweile hat sich die von der Nationalen Ozean- und Atmosphärenbehörde der Vereinigten Staaten (National Oceanic and Atmospheric Administration – NOAA) vorgeschlagene obere Größengrenze von < 5 mm durchgesetzt (Arthur et al., 2009; Hidalgo-Ruz et al., 2012; Ivleva et al., 2017). Die untere Größengrenze differiert in Abhängigkeit von der Probennahme, Probenaufbereitung und Analysenmethode (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Ivleva et al., 2017). Um eine Vergleichbarkeit verschiedener Mikroplastik-Studien zu ermöglichen, wäre es in einem ersten Schritt notwendig, eine einheitliche und harmonisierte Definition des Begriffes „Mikroplastik“ mit definierten Größengrenzen festzulegen (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Ivleva et al., 2017). Dabei wäre aus begrifflicher Sicht das untere Limit bei 1 µm anzusetzen, da dies den gesamten Mikrometerbereich umfasst (Ivleva et al., 2017).

Außerdem wird in aktuellen Studien auf sogenanntes „Nanoplastik“ eingegangen. Dabei wird der Begriff „Nanoplastik“ ebenfalls nicht einheitlich verwendet. Einige Autoren verstehen darunter Polymerpartikel im Bereich < 1 µm (Andrady, 2017; Ter Halle et al., 2017), andere Autoren definieren „Nanoplastik“ in Analogie zur IUPAC-Definition von Nanopartikeln als Polymerpartikel < 100 nm (Gutow et al., 2016; Hüffer et al., 2017; Ivleva et al., 2017). Polymerpartikel im Bereich von 100 – 1000 nm werden dann als „Sub-Mikroplastik“ bezeichnet (Gutow et al., 2016; Ivleva et al., 2017).

2.1.2 Klassifizierung von Mikroplastik

Mikroplastik lässt sich in zwei Kategorien einteilen. Primäres Mikroplastik wird gezielt im genannten Größenbereich produziert und findet aufgrund seiner abrasiven Wirkung beispielsweise in kosmetischen Produkten (z.B. Zahnpasta, Peelings, Duschgel) (Fendall and Sewell, 2009; Gregory, 1996; Hintersteiner et al., 2015) und in Druckluftreinigern (z.B. in Werften) (Gregory, 1996) Anwendung. Auch Kunststoff-Granulate oder -Pellets als Ausgangsstoffe für die Kunststoffverarbeitende Industrie werden aufgrund ihrer Größe zum primären Mikroplastik gezählt (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Ivleva et al., 2017). Unter sekundärem Mikroplastik versteht man alle Partikel, Fragmente oder Faserbruchstücke, die durch mechanische Beanspruchung, UV-Strahlung und/oder biologische Prozesse aus größeren Kunststoffprodukten, vor allem Kunststoffmüll, entstehen. Textile Kunststoff-Fasern, die beim Waschprozess in der Waschmaschine freigesetzt werden und über das Abwassersystem in die Umwelt gelangen können, werden ebenso als sekundäres Mikroplastik eingestuft (Browne et al., 2011; Duis and Coors, 2016; Ivleva et al., 2017).

2.1.3 Vorkommen von Mikroplastik

Das Vorkommen von Mikroplastik in **marinen Ökosystemen** ist weltweit dokumentiert (Ivar do Sul and Costa, 2014). Betroffen sind dabei alle marinen Lebensräume, von Oberflächenwasser (Frias et al., 2014; Isobe et al., 2015; Morét-Ferguson et al., 2010; Song et al., 2014) über die Wassersäule (Doyle et al., 2011; Enders et al., 2015; Lattin et al., 2004) bis hin zu Küstensedimenten (Browne et al., 2011; Dekiff et al., 2014), Sedimenten unterhalb der Gezeitenzone (Claessens et al., 2011; Thompson et al., 2004) und Tiefseesedimenten (Van Cauwenberghe et al., 2013; Woodall et al., 2014). Selbst im arktischen Eis wurde Mikroplastik detektiert (Obbard et al., 2014). Die hohen Mikroplastik-Gehalte im Meereis und im arktischen Tiefseesediment weisen darauf hin, dass Meereis als Transportmittel für Mikroplastik fungiert (Bergmann et al., 2017). Außerdem wird aufgrund einer positiven Korrelation zwischen Mikroplastik-Gehalt und Chlorophyll a-Gehalt in Tiefseesedimenten vermutet, dass Mikroplastik durch sinkende Algenaggregate von der Wasseroberfläche zum Meeresboden transportiert wird (Bergmann et al., 2017). Einmal am Meeresboden angekommen, verbleiben die Mikroplastik-Partikel dort vermutlich über Jahrzehnte. Somit wird der Meeresboden als Senke für Mikroplastik angesehen (Bergmann et al., 2017; Woodall et al., 2014).

Der Mikroplastik-Gehalt in verschiedenen marinen Proben variiert sehr stark. In Sedimentproben wurden Gehalte von 185 – 80000 Teilchen/m³ bestimmt. In Wasserproben lagen die ermittelten Mikroplastik-Konzentrationen bei 0,022 – 8654 Teilchen/m³ (Oberflächenwasser) bzw. bei 0,014 – 12,5 Teilchen/m³ (Wassersäule) (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Aufgrund uneinheitlicher Verfahren hinsichtlich der Probennahme, Probenaufbereitung, analytischer Identifizierung und Klassifizierung sind diese Werte jedoch nur schwer miteinander vergleichbar (Hidalgo-Ruz et al., 2012).

Zusätzlich zur räumlichen Verteilung in marinen Lebensräumen (horizontal und vertikal) wird das zeitliche Auftreten von Mikroplastik untersucht. Thompson et al., 2004 ermittelten die Mikroplastik-Konzentrationen in marinem Oberflächenwasser zwischen Großbritannien und Island in den Jahren 1960, 1970, 1980 und 1990. Zwischen 1970 und 1980 beobachteten sie einen signifikanten Anstieg, wohingegen beim Vergleich der Jahre 1960 und 1970 sowie 1980 und 1990 kaum Unterschiede festgestellt werden konnten (Thompson et al., 2004). Untersuchungen von Oktober 1986 bis Dezember 2008 an Oberflächenwasser aus dem Nordatlantik zeigten keine deutlichen zeitlichen Trends, obwohl die Menge an Kunststoffmüll stetig anstieg (Law et al., 2010).

Mikroplastik-Konzentrationen in Küstensedimenten können sehr großen zeitlichen Variationen innerhalb von wenigen Tagen unterliegen und werden von Windstärke, Windrichtung, Wellen- und Strömungsverhalten sowie von den Gezeiten stark beeinflusst (Imhof et al., 2017; Moreira et al., 2016). Dies verdeutlicht, dass die einmalige Beprobung von einzelnen Strandabschnitten jeweils nur eine „Momentaufnahme“ darstellt und die Vergleichbarkeit verschiedener Studien erschwert. Die Autoren empfehlen daher, für Mikroplastik-Untersuchungen von Strandproben ein örtlich und zeitlich aufgelöstes Probedesign zu verwenden (Imhof et al., 2017; Moreira et al., 2016).

Meeresbodensedimente scheinen dahingegen weitaus weniger von äußeren Umwelteinflüssen beeinflusst zu sein und werden als Senke für Mikroplastik angesehen (Bergmann et al., 2017; Matsuguma et al., 2017; Van Cauwenberghe et al., 2013). In Sedimentkernen, die aus Gewässern in Japan, Thailand, Malaysia und Südafrika genommen wurden, konnte ein signifikanter Anstieg im Mikroplastik-Gehalt von den untersten (älteren) Sedimentschichten zu den obersten (jüngeren) Sedimentschichten beobachtet werden (Matsuguma et al., 2017). Die Autoren schlussfolgern daraus, dass die Mikroplastik-Belastung im Laufe der letzten Jahrzehnte (von ca. 1950 bis 2000) deutlich zugenommen hat (Matsuguma et al., 2017).

Neben marinen Ökosystemen wurden in den letzten Jahren vermehrt auch **Süßwasser-Ökosysteme** hinsichtlich ihres Mikroplastik-Gehaltes untersucht. Dabei sind sowohl durch Schifffahrt und Industrie stark frequentierte Flüsse (Gasperi et al., 2014; Lechner et al., 2014; Mani et al., 2015) und touristisch genutzte Seen (Imhof et al., 2013) als auch abgelegene Gewässer (Free et al., 2014) von Mikroplastik beeinflusst. Die Mikroplastik-Befunde beziehen sich dabei auf verschiedene limnische Kompartimente wie Oberflächenwasser (Eriksen et al., 2013; Free et al., 2014; Lechner et al., 2014) und Sedimente (Imhof et al., 2013; Klein et al., 2015; Zbyszewski and Corcoran, 2011).

Mikroplastik-Funde gab es auch in verschiedenen **Lebensmitteln**. So wurden bislang beispielsweise Biere, Mineralwässer, Honig und Tafelsalz untersucht (Karami et al., 2017; Liebezeit and Liebezeit, 2015, 2014; Schymanski et al., 2018; Wiesheu et al., 2016; Yang et al., 2015). Die vergleichsweise hohen Mikroplastik-Gehalte in Honig (bis zu 336 Fasern/kg) (Liebezeit and Liebezeit, 2015) und in

Bier (bis zu 228 Fasern und Partikel/l) (Liebezeit and Liebezeit, 2014) stießen auf großes mediales Interesse.

Bei diesen Studien wurden allerdings lediglich optische Verfahren zur Mikroplastik-Bestimmung angewandt. Untersuchungen, bei denen zusätzlich eine chemisch-analytische Methode (Raman-Mikroskopie) zur Anwendung kam, konnten die Mikroplastik-Funde in Bier nicht bestätigen (Wiesheu et al., 2016). Vielmehr stellten Wiesheu et al., 2016 keine signifikanten Unterschiede im Faser-Gehalt in Bier- und Mineralwasserproben im Vergleich zu entsprechenden Labor-Blindproben fest. Darüber hinaus bestand der Großteil der detektierten Fasern aus Cellulose und war somit nicht synthetischer Natur. Übereinstimmend mit einer weiteren Studie über Mikroplastik-Funde in deutschen Bieren (Lachenmeier et al., 2015) wurden die ermittelten Mikroplastik-Gehalte in Bier und Mineralwasser als externe (Labor)-Kontamination eingestuft (Wiesheu et al., 2016). Auch zum Vorkommen von Mikroplastik in Tafelsalz gibt es widersprüchliche Studien. Yang et al. identifizierten in chinesischem Tafelsalz bis zu 681 Mikroplastik-Partikel und –Fasern pro kg (Yang et al., 2015). Dahingegen war der Gehalt an Mikroplastik bei einer anderen Studie in 17 verschiedenen Tafelsalzmarken aus acht Ländern mit 1 – 10 Partikel pro kg vernachlässigbar gering (Karami et al., 2017).

Obwohl zahlreiche Studien die Anwesenheit von Mikroplastik sowohl in marinen als auch in limnischen Ökosystemen aufzeigen, ist über das Mikroplastik-Vorkommen in der Ostsee bislang wenig bekannt.

2.1.4 Eintragspfade von Mikroplastik in das marine Ökosystem

Der Eintrag von Mikroplastik in das marine Ökosystem erfolgt zum einem direkt vom Meer aus. Als Quellen dafür können verlorenes oder unsachgerecht entsorgtes Material aus dem Fischereibereich (z.B. verlorene Netze), aus Aquakulturen, von Handelsschiffen (z.B. verlorene Fracht), von der Freizeit- und Tourismusschiffahrt sowie von Gas- und Ölplattformen genannt werden (Andrady, 2011; Duis and Coors, 2016).

Der weitaus größere Anteil an marinem Plastikmüll (80 %) stammt vermutlich aus dem Inland, einschließlich der Küstengebiete (Andrady, 2011). Aus Tourismus- und Freizeitaktivitäten am Strand stammender, achtlos weggeworfener Müll kann direkt durch Wind oder Tidenströmung in die Meere eingetragen werden. Indirekt wird landbasiertes Plastik durch Abwassersysteme und Flüsse in die marine Umwelt transportiert (Cole et al., 2011).

Es wird vermutet, dass sehr kleine Mikroplastik-Partikel selbst Kläranlagen passieren können (Cole et al., 2011; Ivleva et al., 2017). Erste Studien zeigen, dass Mikroplastik zwar durch den Klärwerksprozess zu einem großen Teil abgetrennt werden kann (Carr et al., 2016; Mintenig et al., 2017; Murphy et al., 2016; Talvitie et al., 2015). Dies ist insbesondere dann der Fall, wenn das Klärwerk über eine tertiäre Reinigungsstufe verfügt (Carr et al., 2016; Mintenig et al., 2017). Dennoch

wurden Mikroplastik-Partikel und synthetische Fasern in Klärwerksausflüssen, die nachfolgend ins aquatische Ökosystem münden, detektiert (Mintenig et al., 2017; Murphy et al., 2016; Talvitie et al., 2015). Kläranlagen fungieren somit wahrscheinlich sowohl als Senke als auch als Quelle für Mikroplastik (Mintenig et al., 2017).

Nach wie vor wird ein erheblicher Teil des Kunststoffmülls weltweit auf Mülldeponien gelagert. In Europa (28 EU-Mitgliedsstaaten plus Norwegen und Schweiz) sind es ca. 31 % des gesamten Kunststoffabfalls. Weitere 39 % werden zur Energiegewinnung in Müllverbrennungsanlagen genutzt, 30 % dem Recyclingsystem zugeführt (PlasticsEurope, 2016). Detaillierte Informationen über Verwertungsdaten von Kunststoffmüll insbesondere in Entwicklungsländern liegen zumeist nicht vor (Hoorweg and Bhada-Tata, 2012). Es wird jedoch angenommen, dass die Müllentsorgung auf Deponien in Ländern mit niedrigem bis mittlerem Durchschnittseinkommen noch zu einem weit größeren Ausmaß (etwa bis zu 80 – 90 %) stattfindet (Hoorweg and Bhada-Tata, 2012). Durch Wind oder extreme Wettersituationen abgetragene Plastikteile können in die Umwelt gelangen und damit einen Beitrag zur marinen Umweltverschmutzung liefern.

Schätzungen basierend auf Abfalldaten, Bevölkerungsdichte und ökonomischen Status der jeweiligen Länder ergaben, dass im Jahr 2010 4,8 bis 12,8 Millionen Tonnen Plastikmüll weltweit aus den Küstenregionen (< 50 km) in die Ozeane eingetragen wurden (Jambeck et al., 2015). Darüber hinaus wird die Menge an Plastik, das aus dem Landesinneren via Flüsse in die Meere transportiert wird, auf 0,79 – 1,52 Millionen Tonnen pro Jahr geschätzt (Lebreton et al., 2017). Der größte Anteil am globalen Plastikeintrag wird durch Länder vom asiatischen Kontinent verursacht (Jambeck et al., 2015; Lebreton et al., 2017). Gründe hierfür werden in der hohen Bevölkerungsdichte, der hohen Rate an unsachgerechter Müllentsorgung und starken Regenereignissen in den entsprechenden Ländern gesehen (Lebreton et al., 2017). Außerdem wurden saisonale Unterschiede abgeschätzt. So ereignet sich etwa 75 % des gesamten globalen jährlichen Plastikeintrags in die marine Umwelt aus Flüssen von Mai bis Oktober, mit einem Höhepunkt im August. Dafür sind hauptsächlich starke Regenfälle während der Monsunzeit (z.B. ostasiatischer Monsun in China) verantwortlich (Lebreton et al., 2017).

2.2 Studien zum Mikroplastik-Vorkommen in der Ostsee

Die Ostsee ist ein europäisches Binnenmeer mit neun Anrainerstaaten und zählt zu den Brackwassermeeren (Salzgehalt 0,1 – 1 %). Sie besitzt eine kaskadenförmige Beckenstruktur mit einer durchschnittlichen Tiefe von 50 m und einer maximalen Tiefe von bis zu 460 m (Graca et al., 2017). Da der Wasseraustausch der Ostsee mit der Nordsee nur über die dänischen Seestraßen (Großer Belt, Öresund und Kleiner Belt) erfolgen kann, verfügt die Ostsee über lange Wasseraustauschzeiten (30 – 40 Jahre) (Gewert et al., 2017; Graca et al., 2017). Als Folge dessen verbleiben einmal

eingetragene Schadstoffe und Nährstoffe lange im Ökosystem Ostsee. Zudem steht die Ostsee als Wirtschafts- und Wachstumsraum durch Schifffahrt, Tourismus und Handel unter starkem anthropogenen Einfluss (Graca et al., 2017). Zu den einwohnerreichsten Hafenstädten der Ostsee gehören St. Petersburg (rund 5 Mio. Einwohner), Stockholm (rund 900 000 Einwohner), Riga (rund 700 000 Einwohner), Helsinki (rund 600 000 Einwohner) und Kopenhagen (rund 600 000 Einwohner). Zahlreiche Flüsse, wie z.B. Newa, Weichsel, Memel und Oder, münden in die Ostsee und tragen insgesamt damit durchschnittlich 500 km³ Süßwasser pro Jahr in die Ostsee ein. All diese Faktoren tragen dazu bei, dass sich Schadstoffe und Nährstoffe (Stickstoff und Phosphor) in der Ostsee anreichern können und das marine Leben beeinflussen (HELCOM, 2010). Die Eutrophierung und die Schadstoffbelastung stellen die größten Umweltprobleme der Ostsee dar (HELCOM, 2010).

Die genannten Aspekte lassen darüber hinaus vermuten, dass die Ostsee über einen hohen Mikroplastik-Gehalt verfügt und möglicherweise als Senke für Mikroplastik fungiert.

Erste Studien zum Mikroplastik-Vorkommen in der Ostsee liegen bereits vor. Tabelle A. 1 im Anhang fasst alle bis zum 12.10.2017 veröffentlichten relevanten Fachartikel (peer-reviewed)¹ zusammen und gibt einen Überblick über den jeweiligen Probenort innerhalb der Ostsee, die Probenart, den untersuchten Größenbereich, die verwendeten Analysemethoden und die ermittelten Mikroplastik-Gehalte.

Nahezu alle Studien verwendeten zur Mikroplastik-Detektion ausschließlich visuelle Mikroskopieverfahren basierend auf Farbe, Oberflächenstruktur und Form (Bagaev et al., 2017; Esiukova, 2017; Stolte et al., 2015; Talvitie et al., 2015; Zobkov and Esiukova, 2017). Somit war z.B. keine Unterscheidung von anthropogenen synthetischen und nicht-synthetischen Fasern möglich (Stolte et al., 2015; Talvitie et al., 2015). Infolge dessen gaben Stolte et al. zusätzlich den Gehalt an farbigen Fasern und Partikeln als Indikator für Mikroplastik an und beschrieben die ermittelten Gehalte als untere Werte der „wahren“ Mikroplastik-Kontamination. In zwei Studien wurde zusätzlich zur visuellen Detektion auch ein Schmelztest (siehe 2.5.5.1) durchgeführt (Gorokhova, 2015; Setälä et al., 2016). Allerdings sind sowohl die reine visuelle Detektion als auch die Kombination mit einem Schmelztest sehr fehlerbelastet und liefern darüber hinaus keine Ergebnisse über die Polymerart der detektierten Mikroplastik-Partikel (vgl.2.5.5.1).

Lediglich zwei Studien wandten nach visueller Vorsortierung ein chemisch-analytisches Verfahren zur Identifizierung ausgewählter Partikel und Fasern an (Gewert et al., 2017; Graca et al., 2017). Graca et al. bestimmten die Polymerart von repräsentativen Mikroplastik-Teilchen mittels Fourier-Transform-Infrarot (FTIR)-Mikroskopie in Reflexion, wobei die Autoren keine Angabe über den Anteil der

¹ Literaturrecherche in PubMed und Web of Science vom 12.10.2017 mit den Suchbegriffen „microplastic“ und „Baltic“

tatsächlich gemessenen Teilchen an der Gesamtanzahl aller visuell erfassten Teilchen lieferten. Die in den untersuchten Sedimentproben hauptsächlich vorkommenden Polymerarten waren dabei Polyester (PES), Polyvinylacetat (PVAc) und Ethylen-Propylen-Copolymere. Insgesamt konnten die Autoren acht verschiedene Polymerarten detektieren. Gewert et al. untersuchten in ihrer Studie 59 ausgewählte potentielle Plastikteile (ungefähr 2 % aller optisch gezählten Teile) mittels ATR FTIR-Spektroskopie. Von den untersuchten Teilchen waren 48 Objekte (82 %) aus Polypropylen (PP), Polyethylen (PE) und Polystyrol (PS). Die restlichen 11 Teilchen konnten nicht eindeutig identifiziert werden.

In den meisten Studien war der Anteil an Fasern an der Gesamt-Mikroplastikanzahl im Vergleich zu Partikeln (z.B. Kugeln, Fragmente, Folien) deutlich höher (Bagaev et al., 2017; Gewert et al., 2017; Graca et al., 2017; Setälä et al., 2016; Stolte et al., 2015; Zobkov and Esiukova, 2017). Nur bei zwei Studien wurden mehr Partikel als Fasern detektiert (Esiukova, 2017; Talvitie et al., 2015).

In einigen Studien wurde untersucht, inwieweit das Mikroplastik-Vorkommen in den untersuchten Ostseeproben durch anthropogene Faktoren beeinflusst wird. Der Mikroplastik-Gehalt im Strandsediment einer polnischen Bucht mit starker Urbanisierung lag deutlich höher als an einem abgelegenen Strand an der offenen See (Graca et al., 2017). Außerdem nahm die Mikroplastik-Konzentration in Meeressedimenten mit größer werdender Entfernung zur Küste signifikant ab (Graca et al., 2017). Auch in Oberflächenwasser, das aus der Nähe von Stockholm stammte, war die Mikroplastik-Konzentration etwa zehnmals so hoch wie im Oberflächenwasser auf offener See (Gewert et al., 2017). In Sedimenten der russischen Ostseeküste konnten dahingegen keine Unterschiede hinsichtlich des Mikroplastik-Vorkommens in Abhängigkeit vom anthropogenen Einfluss der untersuchten Strände beobachtet werden (Esiukova, 2017).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass erste Studien das Vorkommen von Mikroplastik im Ökosystem Ostsee anzeigen. **Detaillierte Informationen zur räumlichen Verteilung (horizontal und vertikal), zu Eintragungspfaden und zur Polymerverteilung liegen jedoch bislang nicht vor.** Da bisher nahezu in allen Studien ausschließlich optische Verfahren zur Mikroplastik-Identifizierung verwendet wurden, sind die zusammengestellten Ergebnisse, vor allem in Hinsicht auf den Faser-Gehalt, kritisch zu bewerten. Daher sollen im Rahmen der vorliegenden Arbeit zuverlässige Daten über das Vorkommen von Mikroplastik in Ostseeproben mit besonderer Fokussierung auf den Mündungsbereich der Warnow gewonnen werden und mögliche Eintragungspfade und Senken identifiziert werden.

2.3 Potentielle ökotoxikologische Effekte von Makro- und Mikroplastik

2.3.1 Gefährdungspotential von Makroplastik auf das marine Ökosystem

Die negativen Auswirkungen von Meso- und Makroplastik (> 5 mm bzw. > 25 mm) auf marine Lebewesen erhalten regelmäßig große mediale und öffentliche Aufmerksamkeit. Dazu zählen beispielsweise äußere und innere Verletzungen von marinen Lebewesen durch scharfkantige Plastikteile, das Verfangen, Verheddern und Ersticken von Tieren durch sogenannte „Geisternetze“ und das Verhungern von Meeresvögeln, -fischen und –säugetieren (mit „gefülltem Magen“), wenn Plastikmüll den Magen-Darm-Trakt verstopft und nicht verdaut werden kann (Gregory, 2009). Nicht so offensichtliche, aber dennoch schädliche Effekte können von größeren Plastikfolien und Partikeln am Meeresboden verursacht werden. Zum einen kann es zu Beschädigungen von Korallenriffen kommen und zum anderen zu Sauerstoffarmut in Bodenschichten, wenn z.B. Plastikfolien den Gasaustausch mit dem darüber liegenden Oberflächenwasser behindern (Gregory, 2009). Nicht zuletzt stellt see- und landbasierter Plastikmüll an Stränden ein ästhetisches Problem dar und kann zu verringerten Tourismusaktivitäten und damit einhergehend zu einer Reduzierung der lokalen Wirtschaftsleistung führen.

2.3.2 Ingestion von Mikroplastik durch marine Lebewesen

Ob und welche ökotoxikologischen Folgen von Mikroplastik auf das marine Ökosystem ausgehen, ist bislang noch nicht umfassend geklärt. Fest steht, dass Mikroplastik aufgrund seiner geringen Größe von Meereslebewesen mit Nahrung verwechselt und infolge dessen aufgenommen werden kann. Zahlreiche Laborstudien, bei denen verschiedene marine Organismen (z.B. Muscheln, Garnelen, Wasserflöhe, Strandschnecken, Ruderfußkrebse) Mikroplastik-haltigen Medien ausgesetzt wurden, zeigen die Ingestion von Mikroplastik in den Magen-Darm-Trakt (Browne et al., 2008; Cole et al., 2013; Farrell and Nelson, 2013; Setälä et al., 2014). Darüber hinaus wurde gezeigt, dass Mikroplastik innerhalb des marinen Nahrungsnetzes von Organismen einer Trophieebene zu Organismen einer höheren Trophieebene transferiert werden kann (Farrell and Nelson, 2013; Setälä et al., 2014).

Dass Mikroplastik tatsächlich unter natürlichen Bedingungen von wildlebenden marinen Lebewesen aufgenommen wird, ist beispielsweise für Muscheln (De Witte et al., 2014; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014), Garnelen (Devriese et al., 2015), Fische (Foekema et al., 2013; Lusher et al., 2013; Neves et al., 2015; Rummel et al., 2016) und Wale (Besseling et al., 2015; Lusher et al., 2015) belegt. Neben ästhetischen und ethischen Gesichtspunkten stellt Mikroplastik in Meerestieren, die für den menschlichen Verzehr bestimmt sind, möglicherweise auch ein gesundheitliches Risiko für den Menschen dar. Genauere Untersuchungen dazu liegen bisher allerdings nicht vor.

2.3.3 Gefährdungspotential von Mikroplastik auf das marine Ökosystem

2.3.3.1 Unmittelbare Wechselwirkung von Mikroplastik mit dem Organismus

Nach der Ingestion von Mikroplastik in den Magen-Darm-Trakt von marinen Lebewesen sind im Wesentlichen drei Szenarien denkbar: (1) Mikroplastik wird ohne Wechselwirkung mit dem Organismus unverändert ausgeschieden, (2) vor der Ausscheidung kommt es zu einer (negativen) Wechselwirkung mit dem Organismus, (3) es erfolgt eine weitere Aufnahme ins umliegende Gewebe oder in den Blutkreislauf.

Einige Laborstudien zeigen eine relativ schnelle und bereitwillige Ausscheidung von Mikroplastik-Partikeln z.B. bei Strandschnecken und Seeigellarven (Gutow et al., 2016; Kaposi et al., 2014). Die vollständige Ausscheidung aller Mikroplastik-Partikel dauerte bei Strandflöhen allerdings bis zu einer Woche (Ugolini et al., 2013). Dass Mikroplastik aus dem Magen-Darm-Trakt in die Hämolymphe (zirkulierende Körperflüssigkeit einiger Tierarten) und umliegende Organe transferiert werden kann, wurde in Laborstudien an Muscheln und Krabben gezeigt (Browne et al., 2008; Farrell and Nelson, 2013).

Negative Wechselwirkungen physikalischer Natur, die für Makroplastik beschrieben werden, sind auch für Mikroplastik in Hinsicht auf kleinere, aber zahlreichere Organismen wahrscheinlich. Dazu zählen äußere und innere Abschürfungen durch scharfkantige Partikel, der Verschluss des Magen-Darm-Traktes und damit einhergehend eine Schwächung des Organismus bis hin zum Tod (Wright et al., 2013). Des Weiteren werden Mikroplastik weitere nachteilige biologische Effekte, wie Gewichtsverlust, reduzierte Nahrungsaufnahme und oxidativer Stress, zugeschrieben (Besseling et al., 2013; Browne et al., 2013; Cole et al., 2013; Eerkes-Medrano et al., 2015).

2.3.3.2 Mikroplastik als Vektor für Schadstoffe

Nicht nur Mikroplastik als solches, sondern auch enthaltene Kunststoffadditive wie Weichmacher oder halogenierte Flammschutzmittel, und Restmonomere (z.B. Bisphenol A) werden als potentielle Gefahr für das marine Ökosystem angesehen (Cole et al., 2011; Ivleva et al., 2017). Viele dieser Substanzen werden als kanzerogen, mutagen oder hormonaktiv beschrieben (Lithner et al., 2011) und können im Wasserkreislauf aus dem Kunststoff herausgelöst und nachfolgend im pflanzlichen und tierischen Nahrungsnetz angereichert werden (Cole et al., 2011; Ivleva et al., 2017).

Darüber hinaus sind Mikroplastik-Partikel aufgrund ihres hohen Oberflächen-Volumen-Verhältnisses und ihres eher hydrophoben Charakters prädestiniert dafür, persistente organische Schadstoffe (persistent organic pollutants, POPs) aus der Umwelt zu adsorbieren, anzureichern und ins marine Nahrungsnetz zu transferieren (Cole et al., 2011; Rochman et al., 2013). Zu den POPs zählen polychlorierte Biphenyle (PCBs), Dioxine, Organochlor-Pestizide (z.B. Dichlordiphenyltrichlorethan, DDT) und polyaromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs). Durch Studien von Rochman et al., 2013 konnte gezeigt werden, dass PE-Partikel POPs aus dem Meerwasser aufnehmen und nachfolgend ins

tierische Gewebe von Fischen transportieren können (Rochman et al., 2013). Ebenso zeigen Untersuchungen an Wattwürmern, dass Mikroplastik (PVC und PS) POPs in den Organismus transferieren kann (Besseling et al., 2013; Browne et al., 2013). Allerdings waren die beobachteten Effekte im Vergleich zu mit POPs kontaminiertem Sand niedriger (Browne et al., 2013) bzw. nur von geringem Ausmaß (Besseling et al., 2013). Andere Untersuchungen, die Verdünnungseffekte und realistische Umweltbedingungen berücksichtigen, kommen zu dem Schluss, dass Mikroplastik, wenn überhaupt, nur zu einem vernachlässigbar geringen Anteil zur Bioakkumulation von POPs beiträgt (Besseling et al., 2017; Herzke et al., 2016; Koelmans et al., 2013).

2.3.3.3 Mikroplastik als Vektor für Mikroorganismen

Schließlich wird Mikroplastik als Substrat und Transportvehikel für potentiell schädliche Mikroorganismen im marinen System diskutiert. Besonders das hohe Oberflächen-Volumen-Verhältnis, das ubiquitäre Vorkommen im marinen Ökosystem und das Potential den tierischen Verdauungstrakt zu passieren, begründen die potentielle Gefahr von Mikroplastik in Bezug auf dessen mikrobielle Population (Oberbeckmann et al., 2015). Zudem ist Mikroplastik im Gegensatz zu natürlichen Substraten gegenüber Biodegradation sehr beständig und kann im marinen System über weite Strecken transportiert werden (Kirstein et al., 2016). Zahlreiche Studien zeigen, dass Mikroplastik im marinen Ökosystem sehr schnell (innerhalb weniger Wochen) zunächst mit Bakterien kolonisiert wird (Harrison et al., 2014; Lobelle and Cunliffe, 2011), nachfolgend siedeln sich auch höhere Mikroorganismen, z.B. Pilze (Kettner et al., 2017) an. Es bildet sich somit ein sehr komplexer und vielschichtiger Biofilm aus (Kirstein et al., 2016; Oberbeckmann et al., 2015). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass sich die mikrobielle Population von Mikroplastik deutlich vom umgebenden Wasser hinsichtlich der Menge, Aktivität und der spezifischen taxonomischen Zusammensetzung unterscheidet (De Tender et al., 2015; Kettner et al., 2017; Oberbeckmann et al., 2015; Zettler et al., 2013). Der anhaftende Biofilm von in der Nordsee exponierten PET-Flaschen zeigte außerdem eine räumliche und jahreszeitliche Abhängigkeit (Oberbeckmann et al., 2014). Des Weiteren variierte die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft abhängig von der Polymerart der untersuchten Objekte (Carson et al., 2013; Oberbeckmann et al., 2014). Einhergehend mit dem Entstehen eines Biofilms konnten auch veränderte physikochemische Eigenschaften von Plastikteilchen, wie die Verringerung des hydrophoben Charakters und die Erhöhung der Sinkfähigkeit, beobachtet werden (Lobelle and Cunliffe, 2011).

Die ökotoxikologische Relevanz des mit Mikroplastik assoziierten Biofilms wird durch den Nachweis von spezifischen potentiellen Pathogenen deutlich. Potentiell schädliche Flagellaten (einzellige Eukaryoten) wurden auf schwimmendem Plastikmüll aus dem Mittelmeerraum detektiert und mit der räumlichen Verbreitung von Mikroalgen und dem Auftreten von Algenblüten in Verbindung gebracht (Masó et al., 2003). Außerdem wurden potentiell pathogene Vibrioarten auf Plastik- bzw.

Mikroplastikpartikeln aus dem Nordatlantik bzw. aus der Nord- und Ostsee nachgewiesen (Kirstein et al., 2016; Zettler et al., 2013). Bei einigen *Vibrio*arten handelt es sich um Tierpathogene, die Korallenbleiche auslösen können; andere Arten (*Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* und *Vibrio cholerae*) werden als Humanpathogene klassifiziert und können Magen-Darm- und Wundinfektionen verursachen (Kirstein et al., 2016). Kirstein et al., 2016 untersuchten den Biofilm von Mikroplastik-Partikeln aus der Nord- und Ostsee und das umgebende Oberflächenwasser auf die zuvor genannten potentiellen Humanpathogene mittels selektiver Anreicherung und Detektion via MALDI-TOF-MS. Wurden *Vibrio vulnificus* und *Vibrio cholerae* lediglich im Wasser detektiert, war *Vibrio parahaemolyticus* sowohl im Nordseewasser als auch auf den Mikroplastik-Partikeln nachweisbar (Kirstein et al., 2016). Darüber hinaus war *Vibrio parahaemolyticus* in der Ostsee nur auf einem Mikroplastik-Partikel und nicht im umliegenden Wasser nachweisbar (Kirstein et al., 2016). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass Mikroplastik als Vektor für potentiell pathogene Mikroorganismen innerhalb des marinen Ökosystems fungieren kann.

2.4 Gesetzlicher Rahmen zum Schutz der marinen Umwelt in Hinsicht auf Kunststoffmüll

Erste Bestrebungen dem marinen Umweltschutz einen gesetzlichen Rahmen zu geben, wurden durch das Internationale Übereinkommen zur Verhütung der Meeresverschmutzung durch Schiffe von 1973 (englisch: International Convention for the Prevention of Marine Pollution from Ships, kurz: **MARPOL 73/78**) erreicht. Das Übereinkommen ist in seiner 1978 geänderten Fassung weltweit gültig; Verstöße werden in Deutschland über die See-Umweltverhaltensverordnung geahndet. Im Anhang 5 Regulation 3 Nr. 2 der genannten Vereinbarung ist z.B. geregelt, dass jegliche Kunststoffentsorgung durch die Schifffahrt auf dem Meer verboten ist.

Darüber hinaus existieren regionale Abkommen für die Ost- bzw. Nordsee, namentlich das Übereinkommen zum Schutz der Meeresumwelt des Ostseegebietes (Convention on the Protection of the Marine Environment of the Baltic Sea Area, kurz: **Helsinki-Konvention**) bzw. das Übereinkommen zum Schutz der Meeresumwelt des Nordost-Atlantiks (englisch: Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic, kurz: **OSPAR**). Ziele der jeweiligen Vereinbarung sind der Schutz vor Beeinträchtigungen durch den Menschen und Erhalt und Wiederherstellung des ökologischen Gleichgewichts im entsprechenden Meeresgebiet. Zur Durchsetzung der gemeinsamen Schutzziele wurde die Helsinki-Kommission (HELCOM) bzw. die OSPAR-Kommission eingesetzt. Beide Kommissionen geben Handlungsempfehlungen zu Umwelt- und Naturschutzbelangen ab und erstellen beispielsweise Leitlinien für Monitoringzwecke. Die bereits existierenden Leitlinien für Strand-Monitoring beschränken sich allerdings im Wesentlichen auf Meso- und Makroplastik (HELCOM, 2008; OSPAR Commission, 2010).

Um europaweit harmonisierte Maßnahmen in Bezug auf die Meeresumwelt zu schaffen, wurde die Richtlinie 2008/56/EG (kurz: **Meeresstrategie-Rahmenrichtlinie**, Marine Strategy Framework Directive – **MSFD**) vom Europäischen Parlament und vom Rat der Europäischen Union erlassen. Ziel dieser Richtlinie ist es nach Artikel 1 „spätestens bis zum Jahr 2020 einen guten Zustand der Meeresumwelt zu erreichen und zu erhalten“. Nach Artikel 3 Nr. 5 in Verbindung mit Anhang I Deskriptor 10 ist ein „guter Umweltzustand“ erreicht, „wenn die Eigenschaften und Mengen der Abfälle im Meer keine schädlichen Auswirkungen auf die Küsten- und Meeresumwelt haben“. Um die Deskriptoren des Anhang I näher zu beschreiben, Begriffe zu definieren und Überwachungsmaßnahmen vorzuschlagen, wurden spezielle Arbeitsgruppen etabliert. Die Arbeitsgruppe für Deskriptor 10 hat daraufhin „Mikroplastik“ explizit in den Begriff des marinen Mülls eingeschlossen (Galgani et al., 2013, 2010).

Demzufolge ergibt sich die dringende Notwendigkeit, das Mikroplastik-Vorkommen in Nord- und Ostsee zu quantifizieren und zu überwachen („Monitoring“). Um dies zu ermöglichen, werden sichere und zuverlässige Analysemethoden benötigt. Darüber hinaus sind die potentiellen schädlichen Auswirkungen von Mikroplastik auf das marine Ökosystem zu erforschen. Ziel ist es, eine umfassende Risikobewertung von Mikroplastik in marinen Systemen zu erstellen, die es ggf. den Entscheidungsträgern ermöglicht, gesetzgeberisch aktiv zu werden. Dafür sind zum einen genaue und belastbare Daten über das Mikroplastik-Vorkommen in einem bestimmten Meereskompartiment und zum anderen die spezifischen ökotoxikologischen Wirkungen mit bekanntem Dosis-Wirkungs-Verhältnis nötig.

2.5 Analytik von Mikroplastik – Stand der Technik und Herausforderungen

2.5.1 Ziele und Aufgabenstellung im Kontext Mikroplastikanalytik

In erster Linie muss berücksichtigt werden, dass es sich bei Mikroplastik-Proben aus marinen Systemen um Umweltproben handelt. Demzufolge ist bereits eine systematische und genau definierte **Probennahme** von entscheidender Bedeutung und beeinflusst die späteren Ergebnisse. Hier gilt es Kontaminationen aber auch Verluste zu vermeiden und dementsprechend Vorkehrungen zu treffen. Darüber hinaus liegt der Analyt in der Umweltprobe in den meisten Fällen im Vergleich zur restlichen Probenmatrix in untergeordneten Mengen vor. Das bedeutet, dass störende Probenbestandteile abgetrennt und vermeintliches Mikroplastik aufkonzentriert werden muss. Außerdem ist es für eine nachfolgende sichere Analyse unabdingbar, dass eine **Probenreinigung** stattfindet.

Die eigentliche Mikroplastikanalytik beinhaltet die **chemische und physikalische Charakterisierung** der enthaltenden Partikel und Fasern. Im ersten Schritt der chemischen Charakterisierung wird identifiziert, ob es sich bei einem fraglichen Teilchen um ein synthetisches Polymer handelt oder

nicht. Im zweiten Schritt werden die Polymerart und ggf. enthaltene Zusatzstoffe spezifiziert. Eine analytische Herausforderung stellt dabei die große Breite an verschiedenen synthetischen Polymeren unterschiedlicher chemischer Struktur (aliphatisch, aromatisch, mit und ohne funktionelle Gruppen) und variabler Zusammensetzung (Homopolymere, Copolymere, Blends) dar. Darüber hinaus sind die zu untersuchenden Teilchen per Definition mit einer minimalen Größe von $1 \times 1 \times 1 \mu\text{m}^3$ (ca. $0,5 \text{ pg}$)² und einer maximalen Größe von $5 \times 5 \times 5 \text{ mm}^3$ (ca. 65 mg)² sehr klein, so dass eine geeignete Mikroanalytik benötigt wird. Des Weiteren können sowohl die restliche Probenmatrix als auch der Alterungsgrad der Polymere die Identifizierung erschweren.

Neben der chemischen Charakterisierung sind außerdem physikalische Merkmale wie Größe, Farbe, Form und ggf. Gewicht der als Mikroplastik identifizierten Teilchen von Interesse. Zudem soll die Anzahl aller identifizierten Mikroplastik-Teilchen bezogen auf die Ausgangsprobe quantifiziert werden.

Generell muss die Analysenmethode zuverlässige, genaue und reproduzierbare Ergebnisse liefern und sollte zudem möglichst schnell, kostengünstig und einfach durchführbar sein, um auch Routineanalysen zu ermöglichen.

2.5.2 Probennahme von marinen Mikroplastik-Proben

2.5.2.1 Marine Wasserproben

Für die Probennahme von marinen Mikroplastik-Proben werden verschiedenste Techniken eingesetzt. Wasserproben werden zumeist mittels Neuston-Netzen (für Oberflächenwasser) und Zooplankton-Netzen (für Proben aus der Wassersäule) genommen (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Aber auch Manta-Trawls und Bongo-Netze werden verwendet. Die Maschenweiten der eingesetzten Netze variiert dabei zwischen $53 \mu\text{m}$ bis zu 3 mm , wobei die meisten Studien Netze mit $300 - 390 \mu\text{m}$ Maschenweite benutzen (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Vorteilhaft an einer Beprobung mittels Netzen ist, dass in relativ kurzer Zeit große Wasservolumina beprobt werden können. Allerdings stellt die Maschenweite das untere Limit der erfassbaren Mikroplastik-Partikel dar. Bei relativ großen Netzweiten (z.B. $333 \mu\text{m}$) werden kleine Mikroplastik-Partikel und ggf. Fasern nicht in quantitativem Maß zurückgehalten und können somit nicht quantifiziert werden. Dieser Nachteil kann durch das Verwenden von tauchfähigen Pumpen und entsprechenden Filtrationseinheiten mit Filtern variabler Porengröße umgangen werden (Enders et al., 2015; Setälä et al., 2016). Zudem kann dabei das filtrierte Volumen präziser festgestellt werden (Setälä et al., 2016).

Die Leitlinie der MSFD-Arbeitsgruppe für das Monitoring von marinem Müll im europäischen Meeresgebiet empfiehlt jedoch für die Beprobung von Oberflächenwasser Netze mit einer Maschenweite von $333 \mu\text{m}$ und einer Länge von 6 m zu verwenden sowie eine Beprobungsdauer von

² Berechnet für einen kugelförmigen Partikel ($V=4/3\pi r^3$) mit einer angenommenen Dichte von 1 g/cm^3

30 min einzuhalten, um eine möglichst hohe Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungen zu erreichen.

2.5.2.2 Marine Sedimentproben

Auch die Beprobung von Küstensedimenten an Sandstränden variiert sehr stark hinsichtlich der angewandten Methodik. Wichtige Faktoren sind dabei nach Hidalgo-Ruz et al., 2012:

- die Probenposition am Strand (ober- oder unterhalb der Gezeitenzone, meistens an der Flutgrenze),
- das verwendete Werkzeug (Pinzetten, Metalllöffel, Kellen, per Hand),
- die Probentiefe (0 – 32 cm, meistens 5 cm),
- die Probenmenge (0,15 – 10 kg bzw. 0,1 – 8 l) bzw. die Probenfläche (0,0079 – 5 m²),
- die Anzahl der Replikate und
- die Probenanordnung (auf einer Linie entlang eines Transektes oder flächenbezogen mittels Quadraten).

Die MSFD-Monitoring-Leitlinie sieht für die Beprobung von Strandsedimenten eine Probentiefe von 5 cm vor und empfiehlt mindestens 5 Replikate mit einem minimalen Abstand von 5 m zu entnehmen. Zudem soll die Mikroplastik-Fraktion von 5 – 1 mm mit Sieben beprobt werden und für die Fraktion von 1 mm – 20 µm soll 250 ml Sediment mit einem Metalllöffel entnommen werden (Galgani et al., 2013).

Die Probennahme von Meeresbodensedimenten wird beispielsweise mit van-Veen-Greifern durchgeführt, wobei meist nur die oberste Sedimentschicht (5 cm) berücksichtigt wird (Löder and Gerdts, 2015). Außerdem kommen Sedimentbohrer mit unterschiedlichen Durchmesser zum Einsatz (Bergmann et al., 2017; Matsuguma et al., 2017; Van Cauwenberghe et al., 2013). Die entnommenen Bohrkern werden dann entsprechend der zu untersuchenden Tiefenschicht in Scheiben geschnitten (Bergmann et al., 2017; Matsuguma et al., 2017; Van Cauwenberghe et al., 2013).

2.5.3 Probenextraktion und Probenreinigung von marinen Mikroplastik-Proben

2.5.3.1 Dichteseparation

Um Sandpartikel, kleine Steine und anderes anorganisches Material abzutrennen, wird bei Sedimentproben zumeist eine Dichteseparation durchgeführt. Dabei wird die Sedimentprobe mit einer Salzlösung definierter Dichte versetzt und gut durchmischt. Anschließend sinken Partikel mit höherer Dichte als die Salzlösung (hauptsächlich Sand) nach unten und leichte Partikel mit kleinerer Dichte als die Salzlösung (vermeintliche Mikroplastik-Partikel) schwimmen nach oben. Der Überstand kann nachfolgend abgetrennt werden und einer weiteren Probenbearbeitung zugeführt werden.

Für die Dichteseparation kommen verschiedene Apparaturen zum Einsatz. Vom einfachen Aufbau mit Glasgeräten (z.B. Erlenmeyerkolben) (Stolte et al., 2015; Zobkov and Esiukova, 2017) über

komplexere Konstruktionen, bei der die Mikroplastik-Separation durch eine aufwärtsbewegende Dichteflüssigkeit und aufsteigende Luft erreicht wird (Flotation) (Claessens et al., 2013; Nuelle et al., 2014), bis hin zu einer eigens für die Mikroplastik-Extraktion entwickelten Apparatur (Munich Plastic Sediment Separator, MPSS) (Imhof et al., 2012).

Als Dichtelösung werden gesättigte Natriumchlorid-Lösung (Dichte 1,2 kg/l), Calciumchlorid-Lösung (1,3 kg/l), Zinkchlorid-Lösung (1,6 kg/l), Natriumiodid-Lösung (Dichte 1,8 kg/l) und Natriumpolywolframat-Lösung (Dichte bis zu 3,1 kg/l) verwendet (Ivleva et al., 2017). Die Auswahl der Salzlösung und die eingestellte Dichte legen fest, welche Polymere letztendlich abgetrennt werden können. Speziell Polymere mit hoher Dichte wie PVC (Dichte 1,3 kg/dm³), Polyoxymethylen (POM, Dichte 1,4 kg/dm³), Alkydharze (Dichte 1,6 – 2,3 kg/dm³) und Polytetrafluorethylen (PTFE, Dichte 2,3 kg/dm³) (Mark, 1991) können mit einer einfachen Kochsalzlösung nicht erfasst werden und fehlen in der nachfolgenden Analytik.

In der MSFD-Monitoring-Leitlinie wird dennoch die Verwendung einer gesättigten NaCl-Lösung mit einer Dichte von 1,2 kg/l empfohlen, da es eine kostengünstige, leicht verfügbare und nicht-toxische Variante darstellt und zudem bereits in vielen Studien angewandt wurde (Galgani et al., 2013).

2.5.3.2 Größenfraktionierung

Für die weitere Probenaufarbeitung und die spätere Analytik ist es sinnvoll sowohl die extrahierten Sedimentproben als auch die unbehandelten Wasserproben einer Größenfraktionierung zu unterwerfen. Einige wissenschaftliche Reviews schlagen dabei zwei Größenklassen von 5 mm – 500 µm und 500 µm – 20 µm bzw. 1 µm vor (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Ivleva et al., 2017; Löder and Gerdts, 2015). Die MSFD-Monitoring-Leitlinie empfiehlt eine Größenteilung bei 1 mm mit den daraus resultierenden Größenbereichen: 5 mm – 1 mm und 1 mm – 20 µm (Galgani et al., 2013).

Die Größenfraktionierung der extrahierten Sedimentproben und der unbehandelten Wasserproben kann mit Hilfe eines Metallsiebes durchgeführt werden (Löder and Gerdts, 2015). Der größeren Fraktion kann potentiell Mikroplastik durch visuelles Vorsortieren unter einem Stereomikroskop manuell entnommen werden (Löder and Gerdts, 2015). Die tatsächliche chemische Natur wird nachfolgend mit geeigneten Verfahren analysiert (Vgl. 2.5.5 und 2.5.6). Die kleinere Fraktion ist manuell nicht handhabbar und wird folglich durch Filtration auf Filtern konzentriert, gereinigt und nachfolgend analysiert (Löder and Gerdts, 2015).

2.5.3.3 Probenreinigung

Um organische Bestandteile und Biofilme aus marinen Proben zu beseitigen, werden verschiedene Chemikalien mit unterschiedlichen Einwirkzeiten verwendet. Dabei kommen Säuren (z.B. Salzsäure, Salpetersäure) (Claessens et al., 2013), Laugen (z.B. Lösungen von Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid) (Cole et al., 2014; Foekema et al., 2013) und oxidative Reagenzien (z.B. Lösungen von Wasserstoffperoxid) zur Anwendung. Wichtig ist dabei, dass die verwendeten Chemikalien die

Probenmatrix effizient reduzieren, dabei allerdings die zu untersuchenden Polymerpartikel nicht chemisch oder physikalisch verändern oder gar zerstören. Untersuchungen zur Polymerbeständigkeit gegenüber verschiedenen Reinigungsprotokollen haben gezeigt, dass der saure Aufschluss zu deutlichen Veränderung vieler Polymerpartikel (z.B. Masseverlust, Gelbfärbung, Formveränderung) und zu einer vollständigen Auflösung von Polyamid (PA) führt (Dehaut et al., 2016; Enders et al., 2017). Beide Studien empfehlen stattdessen einen alkalischen Aufschluss unter Verwendung von Kaliumhydroxid-Lösung (Dehaut et al., 2016; Enders et al., 2017).

Eine schonendere Aufarbeitung wird durch die Verwendung von Tensiden (z.B. Natriumlaurylsulfat, SDS) (Enders et al., 2015) und Enzymen (Cole et al., 2014; Löder et al., 2017) erreicht. Allerdings ist Letzteres sehr zeitaufwendig.

Eine kürzlich veröffentlichte Methode, bei der das sogenannte Fentons Reagenz (Fe^{2+} -Ionen in Gegenwart von H_2O_2) verwendet wird, erscheint ein vielversprechender und schneller Ansatz zu sein (Tagg et al., 2017). Die oxidative Wirkung von Fentons Reagenz beruht auf der Bildung von Hydroxyl-Radikalen aus Wasserstoffperoxid, die durch Fe^{2+} -Ionen initialisiert und katalysiert wird (Tagg et al., 2017). Die Methode wurde bereits für Klärwasser- und Meeresbodenproben angewandt (Bergmann et al., 2017; Tagg et al., 2017).

Möglicherweise kann auch die Behandlung der Probe mit ozonisiertem Wasser zu einer Bleichung und ggf. Entfernung von organischen Probenbestandteilen genutzt werden. Erste Versuche dazu wurden vor kurzem von Storck et al. vom Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe (TZM) vorgestellt.

Mechanische Reinigungsschritte unter Verwendung von Ultraschallbädern (Enders et al., 2015; Zhao et al., 2017) sind dagegen kritisch zu sehen, da möglicherweise bereits stark beanspruchte Mikroplastik-Partikel künstlich fragmentiert werden und es so zu einer Überbestimmung kommen kann (Löder and Gerdts, 2015).

2.5.4 Maßnahmen zur Qualitätssicherung

2.5.4.1 Wiederfindungsproben

Während der Probenextraktion und Probenreinigung kann es zu Verlusten an Mikroplastik kommen, wenn beispielsweise Partikel an Glaswänden, Apparaturen oder Hilfsmitteln haften bleiben oder bei Zwischenschritten nicht vollständig überführt werden. Des Weiteren ist es möglich, dass Mikroplastik-Partikel bei verschiedenen Aufarbeitungsschritten künstlich fragmentieren. Beide Phänomene, Mikroplastik-Verlust bzw. künstliche Mikroplastik-Generierung, würden zu fehlerhaften Ergebnissen, nämlich Unter- bzw. Überbestimmung, führen. Daher ist es sinnvoll bereits bei der Probenextraktion, Probenreinigung sowie bei der nachfolgenden Analyse Wiederfindungsraten zu bestimmen.

Dazu wird eine mikroplastikfreie Probe (z.B. Wasser oder Sediment) mit einer bekannten, definierten Anzahl an Mikroplastik versetzt und nachfolgend wie eine reale Probe behandelt. Der ermittelte

Mikroplastik-Gehalt nach dem zu beurteilenden Versuchsschritt wird mit dem zugesetzten Gehalt verglichen. Die Wiederfindungsrate ist somit definiert als der Quotient zwischen dotiertem und wiedergefundenem Gehalt.

Derartige Experimente wurden bislang v.a. für den Schritt der Probenextraktion (Claessens et al., 2013; Imhof et al., 2012; Nuelle et al., 2014; Stolte et al., 2015) und vereinzelt für die eigentliche Mikroplastik-Analytik (Dümichen et al., 2015; Fischer and Scholz-Böttcher, 2017) durchgeführt. Die Wiederfindungserfolge sind dabei von der Größe (Imhof et al., 2012; Zhao et al., 2017), der Farbe (Stolte et al., 2015), der Dichte (Nuelle et al., 2014), der Form (Claessens et al., 2013) und der Polymerart (Fischer and Scholz-Böttcher, 2017; Nuelle et al., 2014) der verwendeten Polymerpartikel abhängig.

Problematisch ist, dass sich die Wiederfindungsraten häufig auf die Masse und nicht auf die Partikelanzahl beziehen und es somit zu einer Unterbestimmung kleiner Partikel kommen kann (Ivleva et al., 2017). Darüber hinaus sollte berücksichtigt werden, dass sich native Polymerpartikel als Modellpartikel in Wiederfindungsversuchen vermutlich anders verhalten als „reale“ Mikroplastik-Partikel, die durch Umwelteinflüsse bereits gealtert und morphologisch verändert sind.

2.5.4.2 Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationen

Da Kunststoffe nahezu in allen Bereichen unseres Lebens (so auch in Kleidung, auf Forschungsschiffen und in Laboreinrichtungen) vorkommen, müssen im Mikroplastik-Kontext zahlreiche Kontaminationsquellen berücksichtigt und entsprechende Maßnahmen zur Vermeidung bzw. Verringerung von Kontaminationen unternommen werden. Dies gilt ausdrücklich für alle Schritte von der Probennahme und Probenbearbeitung bis hin zur Analyse.

So sollten möglichst ausschließlich kunststofffreie Materialien und Gerätschaften (z.B. Metall- oder Glasgeräte) verwendet werden, die zudem vor Benutzung umfassend gereinigt wurden (Ivleva et al., 2017). Zusätzlich können Glasgeräte im Muffelofen vorbehandelt werden, um jegliches organisches Material zu entfernen (Zhao et al., 2017). Wenn ein Verzicht auf Kunststoff nicht möglich ist, sollten die verwendeten Materialien optisch auf Unversehrtheit überprüft und als Referenzmaterial berücksichtigt werden (Woodall et al., 2015). Kontaminationen mit synthetischen Kleidungsfasern sollten durch das Tragen von Baumwoll-Laborkitteln vermieden werden. Außerdem sollten alle verwendeten Flüssigkeiten vor Benutzung vorfiltriert werden (Woodall et al., 2015; Zhao et al., 2017). Des Weiteren ist es nützlich, so wenig wie möglich Zwischenschritte und ggf. geschlossene Systeme zu verwenden. Um die Kontamination mit Fasern, die in der Luft zirkulieren, zu minimieren, sollten alle Schritte im Labor unter Abzügen oder Sterilbänken durchgeführt werden (Cole et al., 2014; Wiesheu et al., 2016). Am erfolgreichsten erscheint das Arbeiten in speziellen Reinräumen (Wagner et al., 2017; Woodall et al., 2015), dies ist jedoch kostenintensiv und in vielen Einrichtungen nicht verfügbar.

Selbst das strikte Einhalten derartiger Maßnahmen kann Kontaminationen v.a. durch Fasern nicht vollständig vermeiden (Wiesheu et al., 2016). Deshalb ist es unabdingbar, zu jedem Zeitpunkt unter Berücksichtigung aller Proben-Bearbeitungsschritte ausreichend Blindproben zu erstellen, zu analysieren und in die Auswertung einzubeziehen. Unter einer Blindprobe versteht man eine mikroplastikfreie Probe (z.B. vorfiltriertes Wasser), die analog und ggf. parallel zu einer realen Probe bearbeitet und analysiert wird. Im Idealfall sollte nach allen Bearbeitungsschritten in der Blindprobe kein Mikroplastik nachweisbar sein.

2.5.5 Methoden zur Identifizierung von Mikroplastik – Überblick

Zur Identifizierung von Mikroplastik kommen unterschiedliche Verfahren, hauptsächlich visuelle, thermoanalytische und schwingungsspektroskopische Verfahren, zur Anwendung. Im vorliegenden Abschnitt werden zunächst verschiedene analytische Ansätze beschrieben und bewertet. Da der Schwerpunkt dieser Arbeit auf der Anwendbarkeit der schwingungsspektroskopischen Verfahren zur Mikroplastik-Analytik liegt, werden im Abschnitt 2.5.6 FTIR- und Raman-Spektroskopie und deren bisherige Anwendung zur Mikroplastik-Analytik detailliert diskutiert.

2.5.5.1 Visuelle Verfahren

Nach wie vor ist die visuelle Identifizierung von Mikroplastik anhand von morphologischen Gesichtspunkten, wie Farbe, Form und Oberflächenstruktur, die am häufigsten eingesetzte Methode (Bagaev et al., 2017; Esiukova, 2017; Free et al., 2014; Lechner et al., 2014; Liebezeit and Liebezeit, 2015, 2014; Stolte et al., 2015). Während Partikel > 1 mm mit dem puren Auge erfasst werden können (Esiukova, 2017; Lechner et al., 2014), wird die kleinere Fraktion (< 1 mm) auf Filtern konzentriert und mit Hilfe von Lichtmikroskopen mit unterschiedlicher Vergrößerung untersucht (Bagaev et al., 2017; Liebezeit and Liebezeit, 2015; Stolte et al., 2015). Auch von der MSFD-Monitoring-Leitlinie wird die visuelle Identifizierung für Partikel der größeren Fraktion ($> 500 \mu\text{m}$) vorgeschlagen; bei der kleineren Fraktion ($500 - 100 \mu\text{m}$) soll das Identifizierungsergebnis für etwa 10 % aller untersuchten Partikel zusätzlich mit spektroskopischen Verfahren verifiziert werden (Galgani et al., 2013).

Allerdings ist die visuelle Unterscheidung von vermeintlichem Mikroplastik und natürlichen organischen und anorganischen Probenbestandteilen (z.B. Sandteilchen, Tier- und Pflanzenresten) schwierig und anfällig für subjektive Fehleinschätzungen. Die Fehlerquote zwischen optisch identifiziertem und nachträglich mit einer chemisch-analytischen Methode verifiziertem Mikroplastikgehalt liegt bei 20 – 70 % (Dekiff et al., 2014; Eriksen et al., 2013; Hidalgo-Ruz et al., 2012; Lenz et al., 2015).

Von 32 zufällig für die Analyse ausgewählten Partikeln konnten 15 (47 %) mittels Pyrolyse-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (py-GC/MS) eindeutig als synthetische Polymere

identifiziert werden (Dekiff et al., 2014). Bei den restlichen 53 % war keine eindeutige Materialzuordnung möglich. Darüber hinaus stellten die Autoren fest, dass die visuelle Identifizierung stark vom jeweiligen Laborpersonal und deren Erfahrung abhing (Dekiff et al., 2014).

Von einer großen Anzahl ($n=1279$) visuell als Mikroplastik gezählter Einzelpartikel und -fasern wurden insgesamt 65 % nachträglich mittels Raman-Mikroskopie als Kunststoff bestätigt (Lenz et al., 2015). Die Anzahl der falsch-negativen Ergebnisse (optisch als Kunststoff ausgeschlossen, aber tatsächlich doch Kunststoff) wurde nicht bestimmt. Der visuelle Identifizierungserfolg war von der Form (Partikel oder Faser), von der Farbe und von der Größe der untersuchten Teilchen abhängig. So betrug dieser bei größeren Teilchen ($> 100 \mu\text{m}$) 83 %, bei mittelgroßen Teilchen ($50 - 100 \mu\text{m}$) 67 % und bei sehr kleinen Teilchen ($50 - 10 \mu\text{m}$) 63 %. Außerdem konnten farbige (blau, grün und rot) Partikel deutlich besser (86 – 52 %) visuell bestimmt werden als transparent/weiße und grau/schwarze Partikel (41 – 42 %).

Mittels SEM kombiniert mit EDX wurden 20 % aller zuvor visuell als Mikroplastik eingestuften Partikel ($1 \text{ mm} - 333 \mu\text{m}$) nachträglich als Aluminiumsilikate, vermutlich von Flugasche, identifiziert (Eriksen et al., 2013).

Eine weitere Studie, bei der Lichtmikroskopie mit ATR FTIR-Mikroskopie verglichen wurde, zeigte, dass es bei alleiniger visueller Untersuchung neben deutlicher Überbestimmung an Fasern auch zu einer signifikanten Unterbestimmung an fragmentierten Partikeln kommen kann (Song et al., 2015). Dies ist insbesondere für weiße und transparente als auch für sehr kleine Partikel ($< 50 \mu\text{m}$) der Fall (Song et al., 2015).

Vor allem bei der optischen Untersuchung von Fasern im Mikrometerbereich ist Vorsicht geboten. So war es den Autoren zweier Studien zur Untersuchung von Ostseeproben mit ausschließlich visuellen Methoden nicht möglich, zwischen synthetischen und natürlichen Fasern zu unterscheiden (Stolte et al., 2015; Talvitie et al., 2015). Deshalb gaben sie den Gesamtfasergehalt an, der allerdings in Bezug auf Mikroplastik nicht aussagekräftig ist. Bei einer Studie, bei der der Magen-Darm-Trakt verschiedener mariner Invertebraten untersucht wurde, wurde mittels Raman-Spektroskopie festgestellt, dass die visuell sichtbaren Fasern ausschließlich aus Cellulose bestanden (Remy et al., 2015).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die alleinige visuelle Mikroplastik-Identifizierung lediglich bei großen Partikeln ($> 1 \text{ mm}$) zu zufriedenstellenden Ergebnissen führt (Ivleva et al., 2017; Song et al., 2015). Bei der Untersuchung der kleineren Mikroplastik-Fraktion ($< 1 \text{ mm}$) sind chemisch-analytische Verfahren hinzuzuziehen. Darüber hinaus kann eine ausschließliche visuelle Beurteilung keine Informationen über die Polymerart und ggf. enthaltene Additive des identifizierten Mikroplastiks liefern.

In einigen Studien wurde zusätzlich zur visuellen Identifizierung ein sogenannter Schmelztest durchgeführt (De Witte et al., 2014; Devriese et al., 2015; Enders et al., 2015; Gorokhova, 2015; Setälä et al., 2016; Vandermeersch et al., 2015). Dabei wurden alle vermutlichen Plastikpartikel mit einer heißen Nadel berührt (De Witte et al., 2014; Devriese et al., 2015; Vandermeersch et al., 2015) oder eine Auswahl an fraglichen Partikeln wurde isoliert und das Schmelz- und Erstarrungsverhalten mittels einer Schmelzpunktapparatur oder auf Objektträgern über einer Flamme beurteilt (Enders et al., 2015; Setälä et al., 2016). Dieses Verfahren kann jedoch lediglich auf größere Partikel ($> 50 \mu\text{m}$) angewandt werden, ist sehr zeitaufwendig und fehlerbehaftet, da möglicherweise auch andere Probenbestandteile ein ähnliches Schmelzverhalten wie Kunststoffe aufweisen. Zudem werden ebenfalls keine Ergebnisse zu den vorliegenden Polymerarten erhalten.

Die visuelle Identifizierung kann durch das Anfärben mit verschiedenen Färbemitteln verbessert werden. Zur Untersuchung von Honigen und Bieren wurde beispielsweise Bengalrosa verwendet. Durch dieses Reagenz werden natürliche, organische Probenbestandteile angefärbt und alle nicht gefärbten Partikel und Fasern als Mikroplastik gezählt (Liebezeit and Liebezeit, 2015, 2014). Allerdings zeigten Lachenmeier et al., dass es bei dieser Methode sowohl zu falsch-positiven (z.B. durch Stärke und Kieselgur) als auch zu falsch-negativen (z.B. durch das Filtrationshilfsmittel Polyvinylpolypyrrolidon) kommen kann (Lachenmeier et al., 2015).

Vielversprechender scheint das Anfärben mit Nilrot, einem lipophilen fluoreszierenden Farbstoff, zu sein (Maes et al., 2017; Shim et al., 2016). Nach einer entsprechenden Probenreinigung, bei der v.a. natürliche lipophile Probenbestandteile effektiv entfernt wurden, adsorbiert der Farbstoff an der Oberfläche der synthetischen Polymere. Durch Anregung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge wird Fluoreszenz induziert und nachfolgend mit einem Fluoreszenzmikroskop (Shim et al., 2016) oder einer Kamera mit entsprechenden Filtern (Maes et al., 2017) detektiert. Die Methode wurde bislang an Sediment- und Wasserproben angewendet, mit FTIR-Mikroskopie verglichen und zeigte relativ hohe Übereinstimmungen (Maes et al., 2017; Shim et al., 2016). Allerdings war die Fluoreszenz von PA, PVC und PES bei der verwendeten Anregungswellenlänge nur schwach ausgeprägt oder gar nicht vorhanden (Shim et al., 2016). Darüber hinaus können die Farbe und der Alterungsgrad der Polymere die Fluoreszenzemission beeinflussen (Shim et al., 2016). Außerdem werden auch bei dieser Methode keine Informationen über die Polymerart erhalten. Dennoch kann das Anfärben mit Nilrot mit nachfolgender Fluoreszenzmikroskopie eine schnelle, einfache und kostengünstige Screening-Methode darstellen und in Kombination z.B. mit ATR FTIR-Mikroskopie zu verbesserten Ergebnissen führen.

2.5.5.2 SEM/EDX

SEM wird häufig genutzt, um die Oberflächenstruktur von Mikroplastik-Partikeln zu untersuchen (Cooper and Corcoran, 2010; Imhof et al., 2016; Kowalski et al., 2016; Vianello et al., 2013;

Zbyszewski and Corcoran, 2011). Die hochaufgelösten Bilder visualisieren Risse, Furchen, abgeplatzte Teilchen und erlauben somit indirekt einen Rückschluss auf den Alterungsgrad der Mikroplastikpartikel (Imhof et al., 2016; Kowalski et al., 2016; Vianello et al., 2013). Außerdem können anhaftende Mikroorganismen sichtbar gemacht werden (Oberbeckmann et al., 2014; Zettler et al., 2013).

Die Kombination von SEM mit EDX kann genutzt werden, um die qualitative Elementzusammensetzung von Mikropartikeln zu analysieren. Mittels SEM/EDX wurde beispielsweise die Elementzusammensetzung aller visuell vorsortierten Mikroplastik-Partikel (0,355 – 0,999 mm) aus Oberflächenwasserproben der Großen Seen (USA) bestimmt (Eriksen et al., 2013). Dabei wurden 20 % aller Partikel nachträglich als Aluminiumsilikat verifiziert (Eriksen et al., 2013).

Des Weiteren wurde SEM/EDX genutzt, um anorganische Kunststoffadditive in Mikroplastikpartikeln, die aus Sedimentproben der Insel Norderney extrahiert wurden, zu bestimmen (Fries et al., 2013). Dabei wurden u.a. TiO₂-Nanopartikel detektiert (Fries et al., 2013).

Bei kürzlich veröffentlichten Studien an Oberflächenwasser- und Fischproben wurde eine Kombination aus optischer Mikroskopie und SEM/EDX vorgeschlagen, um relativ schnell und einfach Nicht-Kunststoffpartikel (v.a. anorganische Bestandteile) auszuschließen und potentielle Mikroplastik-Partikel zu detektieren (Wagner et al., 2017; Wang et al., 2017). Der Vorteil dieses Verfahrens ist, dass man neben der Elementzusammensetzung auch Informationen zur Oberflächenmorphologie der einzelnen Partikel erhält. Allerdings ist eine sichere Identifizierung der Mikroplastik-Partikel, inklusive der Polymerart, bis auf wenige Einzelfälle (z.B. PVC) nicht möglich (Wagner et al., 2017; Wang et al., 2017). Deshalb wurden die mittels SEM/EDX vorbestimmten Partikel nachträglich noch mit FTIR oder Raman-Spektroskopie untersucht (Wagner et al., 2017; Wang et al., 2017). Dafür sind allerdings weitere zeitliche und finanzielle Ressourcen nötig.

2.5.5.3 Gel-Permeations-Chromatographie (GPC)

Ein weiterer analytischer Ansatz für die Mikroplastik-Quantifizierung mittels Hochtemperatur-Gel-Permeations-Chromatographie (HT-GPC) wurde von Hintersteiner et al. beschrieben. Diese Methode wurde zur Quantifizierung des Polyolefin-Gehaltes in verschiedenen kosmetischen Produkten (Duschbad, Zahnpasta, Gesichtereiniger) nach einer entsprechenden Probenreinigung angewandt (Hintersteiner et al., 2015). Dieser Ansatz funktioniert allerdings lediglich für Proben mit relativ einfacher, bekannter Probenmatrix und wenn die Polymerart (hier PE und PP) der zu ermittelnden Partikel bekannt ist. Darüber hinaus erhält man massebezogene Ergebnisse und keine Informationen über die Anzahl der enthaltenen Mikroplastik-Partikel.

Ein ähnliches Vorgehen wurde kürzlich von Elert et al., 2017 gezeigt. Eine mit PE, PP, PS und PET Referenzpartikeln (< 125 µm) dotierte Bodenprobe wurde mit spezifischen Lösungsmitteln (Tetrahydrofuran für PS, Hexafluorisopropanol für PET) versetzt (Elert et al., 2017). Die

Molmassenverteilung der so extrahierten Polymere wurde mittels GPC mit ausgewählten Säulensystemen bestimmt und der entsprechende PS- bzw. PET-Gehalt ermittelt (Elert et al., 2017). Die ebenfalls zugesetzten PE und PP-Partikel wurden nicht analysiert. Diese Studie zeigt einmal mehr, dass eine Mikroplastik-Quantifizierung mittels Flüssigchromatographie nur bei Probensystemen mit bekannten Polymerarten und optimierten, abgestimmten Analyseparametern funktioniert.

2.5.5.4 Thermoanalytische Verfahren

Die am häufigsten eingesetzte thermoanalytische Methode zur Mikroplastik-Analytik ist Pyrolyse-Gaschromatographie gekoppelt an Massenspektrometrie (py-GC/MS) (Dekiff et al., 2014; Fischer and Scholz-Böttcher, 2017; Fries et al., 2013). Bei diesem analytischen Ansatz wird der Analyt unter reproduzierbaren Bedingungen definiert thermisch zersetzt und die entstandenen, flüchtigen Zersetzungsprodukte mittels GC aufgetrennt. Die anschließende massenspektrometrische Detektion macht es möglich charakteristische Markermoleküle selektiv und spezifisch zu identifizieren. Py-GC/MS wurde zunächst genutzt, um eine geringe Auswahl optisch vorsortierter Partikel aus Sedimentproben von der Insel Norderney zu identifizieren (Dekiff et al., 2014; Fries et al., 2013). Die identifizierten Partikel bestanden dabei im Wesentlichen aus PP, PE, PET, PVC, PS und PA und hatten ein Gewicht von 10 – 350 µg. Die Polymerzuordnung basierte dabei auf der Identifizierung charakteristischer Zersetzungsprodukte (Dekiff et al., 2014) bzw. auf einem Vergleich des Pyrogramms der Probe mit dem eines bekannten Referenzpolymers (Fries et al., 2013). Ein Vorzug von sequentieller py-GC/MS ist die simultane Erfassung der Polymerart und ggf. enthaltener organischer Additive in einer Messung, wenn z.B. die Pyrolysetemperatur fortlaufend erhöht wird (Fries et al., 2013). So konnten in den untersuchten Mikroplastik-Partikeln verschiedene Phthalate (Weichmacher) nachgewiesen werden (Fries et al., 2013). Nachteilig an dem beschriebenen Verfahren ist, dass die visuell vorsortierten Partikel händisch in das Pyrolysegefäß überführt werden müssen. Dies ist zum einem zeitaufwendig und zum anderem größenbeschränkt auf ca. 100 µm große Partikel (Dekiff et al., 2014).

Diese Limitierung wird von einer kürzlich vorgestellten Methode überwunden, bei der acht verschiedene Polymere (PE, PP, PS, PVC, PET, PA6, PMMA, PC) ohne jegliche optisch-händische Vorsortierung simultan in einer Messung mittels py-GC/MS identifiziert werden können (Fischer and Scholz-Böttcher, 2017). Durch externe Kalibrierung und mit Hilfe von spezifischen Indikatorfragmenten für alle acht Polymere wird eine massebezogene Quantifizierung des Polymergehaltes in der Ausgangsprobe möglich. Die Anwendbarkeit der Methode wurde an Fischproben nach chemisch-enzymatischer Probenaufarbeitung gezeigt (Fischer and Scholz-Böttcher, 2017).

Ein ähnlicher analytischer Ansatz zur Mikroplastik-Bestimmung wurde von Dümichen et al. vorgeschlagen und besteht aus einer Kombination aus thermogravimetrischer Analyse (TGA) und Festphasenextraktion (SPE) mit anschließender thermischer Desorption (TDS) und Detektion mittels

GC/MS. Die Mikroplastik-Probe (insgesamt max. 20 mg) wird im TGA-System erhitzt und dabei zersetzt. Die Zersetzungsprodukte werden an einem Festphasenmaterial (Polydimethylsiloxan) adsorbiert und nachfolgend dem TDS-GC/MS-System zugeführt. Dort werden die Zersetzungsprodukte zunächst sukzessive thermisch desorbiert und nachfolgend in analoger Weise zur py-GC/MS aufgetrennt und identifiziert. Diese Methode wurde zunächst an mit PE-Partikeln (1 mm) dotierten Umweltproben (Muscheln, Boden, suspendierte Schwebstoffe aus Flusswasser) getestet (Dümichen et al., 2015). Dabei war sowohl eine qualitative als auch eine quantitative Analyse möglich. Kürzlich wurde die Anwendbarkeit der Methode auf vier weitere Polymere (PP, PS, PET, PA) gezeigt. In verschiedenen Umweltproben (aus Biogasanlagen und Flüssen) wurden letztendlich PE, PP und PS identifiziert; eine Quantifizierung war bislang nicht möglich (Dümichen et al., 2017).

Als weitere thermoanalytische Methode sei die Kombination aus TGA und dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) genannt. Dieser analytische Ansatz wurde für die simultane Identifizierung und Quantifizierung von PE und PP in Klärwerksproben genutzt (Majewsky et al., 2016). Allerdings war die Unterscheidung weiterer Polymere (PVC, PA, PET, PU) nicht möglich, da sich die Phasenübergänge zu stark überlagerten (Majewsky et al., 2016).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die thermoanalytischen Methoden (speziell py-GC/MS und TGA-SPE kombiniert mit TDS-GC/MS) relative schnelle und robuste Verfahren zur Mikroplastik-Analytik darstellen können. Sie kommen dabei ohne jegliche optische oder manuelle Vorsortierung aus. Gleichwohl muss eine Extraktion oder Konzentrierung der Mikroplastik-Partikel aus der Umweltprobe vorgenommen werden; auf eine aufwendige Probenreinigung kann ggf. verzichtet werden. Allerdings werden lediglich massebezogene Werte pro Polymerart erhalten. Informationen über Anzahl, Aussehen und Größe der Partikel können nicht bestimmt werden. Nachteilig ist zudem, dass alle genannten thermoanalytischen Verfahren destruktiv sind und somit eine weitere oder wiederholte Untersuchung nicht möglich ist.

2.5.6 Analyse von Mikroplastik-Proben mittels FTIR- und Raman-Spektroskopie

2.5.6.1 Messprinzipien der FTIR- und Raman-Spektroskopie

Die am häufigsten angewendeten Methoden zur Mikroplastik-Analytik von Umweltproben sind FTIR- und Raman-Spektroskopie (Ivleva et al., 2017; Rocha-Santos and Duarte, 2015). Beide Techniken arbeiten zerstörungsfrei und regen Molekülschwingungen in der Probe an, die nachfolgend detektiert werden. Als Ergebnis erhält man abhängig von der Molekülstruktur der jeweiligen Probe charakteristische Bandenmuster („Fingerprints“) in den FTIR- oder Raman-Spektren, die es ermöglichen das untersuchte Material direkt oder durch einen Vergleich mit einer Referenz zu identifizieren.

FTIR-Spektroskopie

Bei der FTIR-Spektroskopie wird die Probe mit IR-Licht (Wellenzahlenbereich $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ für Mittleres Infrarot) bestrahlt. Der absorbierte Teil der Strahlung, der zur Anregung der Molekülschwingungen verwendet wird, wird vom Detektor gemessen und in ein für das untersuchte Material charakteristisches Spektrum umgewandelt. Bei der FTIR-Spektroskopie werden im Wesentlichen drei verschiedene Messmodi angewandt: Transmission, Reflexion und ATR (als spezielle Reflexionsmethode).

Bei Messungen in **Transmission** wird die Probe vom IR-Licht durchstrahlt und der durch die Probe durchgehende Lichtanteil analysiert. Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz gilt:

$$E_{\lambda} = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right) = \varepsilon_{\lambda} * c * d \quad (1)$$

E_{λ} gibt dabei die Extinktion für die Wellenlänge λ , I_0 die Intensität des einfallenden Lichtes, I die Intensität des durchgehenden Lichtes, ε_{λ} den dekadischen Extinktionskoeffizient (Wellenlängen-abhängige, stoffspezifische Konstante), c die Konzentration der absorbierenden Substanz/funktionellen Gruppe und d die Schichtdicke des durchstrahlten Körpers an. Die Intensität des durchgehenden Lichtes hängt somit u.a. von der Schichtdicke der untersuchten Probe ab. Zu dicke oder nicht-transparente Proben können in Transmission nicht untersucht werden, da es dann zur Totalabsorption des eingestrahnten Lichtes kommt.

Bei den **Reflexionsmethoden** unterscheidet man im Wesentlichen zwischen spiegelnder Reflexion (auch „Fresnel-Reflexion“ oder gerichtete Reflexion) und diffuser Reflexion. Spiegelnde Reflexion findet hauptsächlich an planaren Oberflächen statt. Hier ist der Einfallswinkel des eingestrahnten Lichtes gleich dem Austrittswinkels des reflektierten Lichtes. Der Anteil des reflektierten Lichtes am eingestrahnten Licht ist bei der spiegelnden Reflexion vom Brechungsindex n des reflektierten Materials nach der folgenden Gleichung abhängig (Hummel and Scholl, 1988):

$$R = \left(\frac{n - 1}{n + 1} \right)^2 \quad (2)$$

Bei Proben mit einem Brechungsindex von 1,5 (wie z.B. häufig bei Polymeren) beträgt der reflektierte Anteil somit lediglich 4 %. Die erhaltenen Reflexionsspektren unterscheiden sich erheblich von klassischen Transmissionsspektren und können über die Kramers-Kronig-Transformation ineinander umgewandelt werden.

Die diffuse Reflexion wird häufig für pulverförmige Proben oder Feststoffe mit rauer Oberfläche eingesetzt. Die von der Probe diffus gestreute Strahlung wird in einem möglichst großen Raumwinkel gesammelt. Bei der diffusen Reflexion sind verschiedene Effekte beteiligt. Ein Teil der Strahlung wird an der optisch rauen Oberfläche spiegelnd, aber aufgrund der Oberflächenunebenheiten in unterschiedliche Richtungen reflektiert (diffuse spiegelnde Reflexion) (Chalmers and Griffiths, 2002). Ein anderer Teil dringt bis zu einer Tiefe in der Größenordnung seiner Wellenlänge in das Material

ein, wird partiell absorbiert und kehrt durch Streuprozesse an die Oberfläche zurück (Chalmers and Griffiths, 2002; Hummel and Scholl, 1988). Mit dem eindimensionalen Kubelka-Munk-Model können die komplexen optischen Vorgänge bei der diffusen Reflexion näherungsweise beschrieben und zur Auswertung von diffusen Reflexionsspektren angewandt werden.

Es ist zu bemerken, dass bei Reflexionsmessungen von realen Proben in der Regel spiegelnde Reflexion und diffuse Reflexion gleichzeitig auftreten und experimentell (v.a. bei Verwendung von IR-Mikroskopen) kaum unterschieden werden können.

Mit der **ATR-Technik** lassen sich auch dicke oder stark absorbierende Proben gut untersuchen. Die Probe wird dazu in engen Kontakt mit einem internen Reflexionselement mit einem hohen Brechungsindex, meistens aus Silizium, Germanium oder Diamant, gebracht. Die IR-Strahlung wird so in das Reflexionselement geleitet, dass Totalreflexionen erhalten werden. An der Grenzfläche zwischen Reflexionselement und Probe tritt die totalreflektierte Strahlung einige Wellenlängen tief in die Probe (optisch dünneres Medium) ein und wechselwirkt mit ihr. Das im Reflexionselement geführte Licht wird somit abgeschwächt und nachfolgend gemessen. Es ist zu beachten, dass mit der ATR-Technik nur die Oberfläche von Proben analysiert wird. Für gute Ergebnisse ist auf einen engen Kontakt zwischen Probe und Reflexionselement zu achten.

Raman-Spektroskopie

Bei der Raman-Spektroskopie wird ein monochromatischer Laser als Lichtquelle benutzt und auf die Probe gestrahlt. Dort kommt es zu einer Wechselwirkung zwischen eingestrahlttem Licht und Probe, wobei Molekülschwingungen in der Probe angeregt werden. Ein geringer Teil des eingestrahltten Lichtes wird nachfolgend unelastisch von der Probe gestreut. Das bedeutet, dass es infolge der Energieübertragung von Licht auf die Probe („Stokes-Streuung“) bzw. von der Probe auf das Licht („Anti-Stokes-Streuung“) zu einer Verschiebung der Wellenlänge des gestreuten Lichtes gegenüber dem eingestrahltten Licht (Raman-Verschiebung) kommt. Das gestreute Licht wird vom Detektor gemessen und in ein Spektrum umgewandelt. Im Raman-Spektrum werden die Frequenzunterschiede zum eingestrahltten Licht als spektrale Banden sichtbar und sind charakteristisch für das untersuchte Material. So werden Rückschlüsse auf die Molekülstruktur der untersuchten Probe und ein Vergleich mit Referenzspektren bekannter Natur möglich.

Obwohl FTIR- und Raman-Spektren ähnliche Informationen bezüglich der Molekülstruktur von Polymeren bereitstellen, beruhen die beiden Methoden auf unterschiedlichen physikalischen Effekten. Eine Molekülschwingung ist IR-aktiv, wenn sich das Dipolmoment einer Molekülbindung ändert. Somit sind vor allem polare funktionelle Gruppen (z.B. Carbonylgruppen) sehr gut mittels FTIR-Spektroskopie detektierbar. Raman-aktive Schwingungen beruhen dahingegen auf der Änderung der Polarisierbarkeit einer Molekülbindung. Somit können v.a. aromatische, C-H- und C=C-Doppelbindungen leicht angeregt werden. Dies führt dazu, dass Banden mit starker FTIR-Intensität

häufig schwache Raman-Intensitäten aufweisen und umgekehrt. FTIR und Raman-Spektroskopie sind daher komplementäre Methoden.

Beide Techniken können zur Untersuchung von Proben im Mikrometerbereich mit einem geeigneten Mikroskop gekoppelt werden, man spricht dann von **Raman- bzw. FTIR-Mikroskopie**. Die laterale Auflösung ist dabei beugungslimitiert und hängt von der Wellenlänge des eingestrahnten Lichtes (λ) und von der numerischen Apertur (NA) des Objektivs ab. Die numerische Apertur eines Objektivs ist definiert als:

$$NA = n \cdot \sin\alpha \quad (3)$$

Wobei n dem Brechungsindex des Mediums zwischen Objektiv und Fokus (meistens Luft) und α dem halben objektseitigen Öffnungswinkel des Objektivs entspricht.

Das Beugungslimit kann näherungsweise mit der folgenden Gleichung beschrieben werden:

$$x = \frac{0,61\lambda}{NA} \quad (4)$$

Für die klassische FTIR-Mikroskopie in Transmission liegt das theoretisch begründete Beugungslimit somit für eine übliche numerische Apertur von 0,5 bei etwa 3 μm für eine Wellenlänge von 2,5 μm (entspricht einer Wellenzahl von 4000 cm^{-1}) bzw. bei etwa 20 μm für eine Wellenlänge von 16,7 μm (entspricht einer Wellenzahl von 600 cm^{-1}). Unter gleichen Voraussetzungen beträgt das Beugungslimit bei der Raman-Mikroskopie etwa 650 nm ($NA=0,5$, $\lambda=532$ nm) bzw. 480 nm ($NA=0,5$, $\lambda=960$ nm). Für die genaue Berechnung müssen die tatsächlich vorliegenden numerischen Aperturen der Objektive berücksichtigt werden.

Die oben genannte Gleichung gilt für die Standard-Lichtmikroskopie. An realen Proben werden diese theoretischen lateralen Auflösungswerte in der Praxis meist nicht erreicht.

2.5.6.2 Identifizierung von visuell erfassbaren, isolierten Mikroplastikpartikeln mittels FTIR- und Raman-Spektroskopie

Wie bereits in Abschnitt 2.5.3.2 beschrieben, wird im Rahmen der Probenaufarbeitung von Mikroplastik-Umweltproben häufig eine Größenfraktionierung vorgenommen. Aus der größeren Fraktion, die beispielsweise unter einem Stereomikroskop betrachtet wird, werden alle Partikel, die vermutlich aus Kunststoff bestehen, händisch vorsortiert. Nachfolgend können diese mittels Raman- oder FTIR-Spektroskopie untersucht und ggf. als Mikroplastik identifiziert werden. Die Größengrenze der manuell isolierten Partikel variiert dabei von > 300 μm (Mani et al., 2015), > 500 μm (Bergmann et al., 2017; Mintenig et al., 2017; Rummel et al., 2016), > 630 μm (Klein et al., 2015), > 750 μm (Imhof et al., 2016) und > 1000 μm (Ghosal et al., 2018; Imhof et al., 2017; Matsuguma et al., 2017). In den meisten Fällen wurden die vorsortierten „großen“ Partikel mittels ATR FTIR-Spektroskopie mit Hilfe von Standard-ATR-Einheiten untersucht (Bergmann et al., 2017; Imhof et al., 2017; Klein et al., 2015; Mani et al., 2015; Mintenig et al., 2017; Rummel et al., 2016). Aufgrund der Messfleckgröße

dieser ATR-Einheiten (minimal meist ca. 2 x 2 mm) geben dünne Fasern nur geringe Intensitäten und blieben daher häufig unberücksichtigt (Bergmann et al., 2017; Rummel et al., 2016). Darüber hinaus wurden auch FTIR-Messungen in Transmission mit Hilfe einer Diamantpresszelle und einem IR-Mikroskop durchgeführt (Frias et al., 2016, 2014; Neves et al., 2015; Obbard et al., 2014; Wagner et al., 2017; Woodall et al., 2014).

Die Raman-Spektroskopie kam bislang weit weniger zur Untersuchung der vorsortierten, isolierten Partikel zum Einsatz (Ghosal et al., 2018; Imhof et al., 2016).

2.5.6.3 Identifizierung von filtrierten Mikroplastik-Proben mittels FTIR- und Raman-Mikroskopie

Grundlegende Überlegungen

Partikel und Fasern der kleineren Fraktion sind mit dem bloßen Auge meist nicht sichtbar und daher manuell nicht isolierbar (vgl. 2.5.3.2). Deshalb wird die kleinere Fraktion nach entsprechender Probenreinigung auf geeignete Filter filtriert und der ganze Filter oder Teile von ihm nachfolgend mittels FTIR- oder Raman-mikroskopischen Verfahren analysiert.

Trotz aufwendiger Probenaufarbeitung liegt in der Regel neben den zu identifizierenden Mikroplastik-Partikeln auch eine Vielzahl an restlichen organischen und anorganischen Probenbestandteilen vor. Die analytische Herausforderung besteht darin, Mikroplastik-Partikel aus einer Vielzahl an Gesamtpartikeln sicher zu identifizieren, die Polymerart und Größe zu bestimmen und die Anzahl von Mikroplastik-Partikeln pro Filter zu ermitteln.

Im Prinzip gibt es dafür zwei Vorgehen: (1) Der Filter wird anhand von morphologischen Kriterien (z.B. Farbe, Form, Gestalt) unter dem Mikroskop auf potentielle Mikroplastik-Partikel abgesucht und diese nachfolgend mittels Raman (Enders et al., 2015; Lenz et al., 2015; Van Cauwenberghe et al., 2013; Zhao et al., 2017) oder FTIR (Song et al., 2014) identifiziert. Dieser analytische Ansatz ist allerdings sehr zeitaufwendig und aufgrund des visuellen Vorsortierens anfällig für Unterbestimmungen und abhängig von der subjektiven Auswahl des Laborpersonals. Darüber hinaus ist eine Automatisierung dieses Prozesses nicht möglich.

(2) Bei der zweiten Herangehensweise wird die spektroskopische Untersuchung ohne visuelle Vorsortierung durchgeführt und liefert zuverlässigere Ergebnisse. Imhof et al., 2016 untersuchten beispielsweise alle Partikel einer ausgewählten Filterfläche nacheinander mittels Raman-Mikroskopie. Dieses Vorgehen ist durch das Auswählen und Fokussieren jedes einzelnen Partikels sehr zeitaufwendig. Daher wurden lediglich 1,6 % der gesamten Filterfläche untersucht (Imhof et al., 2016). Eine Extrapolation der in der untersuchten Filterfläche quantifizierten Mikroplastik-Partikel auf den Gesamtfilter – und somit auf die Ausgangsprobe – ist stark fehlerbehaftet.

FTIR Imaging als mögliches Verfahren

Eine automatische Untersuchung der gesamten Filterfläche ohne visuelles Vorsortieren wird durch FTIR Imaging mit einem FPA-Detektor (focal plane array detector) möglich. Der FPA-Detektor besteht aus einer „Array“-förmigen Anordnung von vielen Detektorelementen (z.B. 64 x 64) und ermöglicht somit die gleichzeitige Aufnahme von mehreren Tausend Spektren im gesamten Wellenzahlbereich innerhalb einer Messung. Für sehr große Flächen können mehrere FPA-Messfelder Mosaik-ähnlich aneinander gesetzt und verarbeitet werden. Aus den so erhaltenen Spektren wird nachfolgend durch Auswahl von für Polymere geeigneten Bandenbereichen ein zweidimensionales, orts aufgelöstes Falschfarben-Bild generiert. Alle Partikel innerhalb der ausgewählten Messfläche, die im gewählten Bandenbereich eine hohe IR-Absorption aufweisen, werden dabei farblich dargestellt. Somit wird die Position von potentiellen Mikroplastik-Partikeln visualisiert. Da in der Regel auch andere nichtpolymere organische Probenbestandteile Absorptionsbanden im gewählten Spektralbereich aufweisen, werden die Spektren aller „farbigen“ Partikel innerhalb der untersuchten Fläche einzeln ausgewertet. Handelt es sich bei dem jeweiligen Partikel tatsächlich um ein synthetisches Polymer, werden die Polymerart z.B. mit Hilfe von Spektren-Datenbanken identifiziert und die Größe des Partikels bestimmt.

Prinzipiell ist FTIR Imaging in allen drei Modi (Transmission, diffuse Reflexion und ATR) möglich. Allerdings erscheint **ATR FTIR Imaging** für die Mikroplastik-Analytik nicht praktikabel, da der ATR-Kristall schrittweise auf die zu untersuchende Filterregion aufgebracht und der Anpressdruck jedes Mal optimiert werden muss. Dies ist zum einen sehr zeitaufwendig und zum anderen mit dem Risiko verbunden, dass Partikel am ATR-Kristall haften bleiben und während der gesamten Messung mitgeführt bzw. verschleppt werden.

FTIR Imaging in Reflexion wurde zur Untersuchung von mit Polymerpartikeln (PE, PP, PVC, PS; 150 – 250 µm) dotierten Klärwerksproben erfolgreich angewandt. Dabei war es möglich einen gesamten Probenfilter (Ø 47 mm) mit einer lateralen Auflösung von 25 µm in weniger als 9 h zu analysieren (Tagg et al., 2015). Mit FTIR Mapping in Reflexion unter vergleichbaren Messbedingungen, aber ohne Verwendung eines FPA-Detektors konnten zuvor lediglich 0,2 bzw. 5,6 % eines Filters in vertretbarer Zeit untersucht werden (Harrison et al., 2012; Vianello et al., 2013). Dies verdeutlicht die Leistungsfähigkeit eines gut funktionierenden FPA-Detektors. Allerdings reflektieren Polymeroberflächen IR-Licht relativ schwach und die Form der Reflexionsbanden im Spektrum ist zudem abhängig von verschiedenen physikalischen Parametern der Partikel (z.B. Größe, Form, Brechungsindex). Daher sind weitere Untersuchungen nötig, um die Anwendbarkeit der beschriebenen Reflexionsmethode an realen Umweltproben unter Berücksichtigung von weiteren Polymerarten sowie gealterten, farbigen und unterschiedlich geformten Partikeln und Fasern zu zeigen.

Vielversprechend scheint die von Löder et al. entwickelte **FTIR Imaging Methode in Transmission** zu sein. Die Methode wurde zunächst mit Hilfe von PE-Referenz-Partikeln (23 – 90 μm) mit dem Ziel einer ausreichend guten Spektrenqualität zum einen und einer vertretbaren Messzeit und Datenmenge zum anderen optimiert. Dazu gehörte eine geeignete Auswahl des Wellenzahlbereiches, der spektralen Auflösung und der Anzahl an akkumulierten Scans pro Spektrum sowie die Anwendung von Binning (Zusammenfassung von mehreren Pixeln des FPA-Detektors). Mit diesen optimalen Messbedingungen war es möglich, einen gesamten Filter (\varnothing 11 mm) mit einer lateralen Auflösung von etwa 10-20 μm in 10,75 h zu analysieren (Löder et al., 2015).

Diese Methode wurde bereits an marinen Wasser- und Sedimentproben (Löder et al., 2015), an Klärwerksproben (Mintenig et al., 2017) und an arktischen Tiefsee-Sedimentproben (Bergmann et al., 2017) erfolgreich angewandt. Kürzlich wurde ein Software-basiertes Auswertetool vorgestellt, mit dem die Interpretation und Auswertung der komplexen und umfangreichen FTIR Imaging Daten verbessert wird (Primpke et al., 2017). Dieses Softwaretool erfasst anhand der zugrundeliegenden FTIR Imaging Daten automatisch die Anzahl, die Größe und den Polymertyp aller identifizierten Mikroplastik-Partikel auf dem Messfilter und ist unabhängig von möglichen subjektiven Entscheidungen und Erfahrungswerten des Auswertenden. Darüber hinaus wird deutlich weniger Zeit für die Dateninterpretation benötigt (Primpke et al., 2017).

Bei FTIR Imaging in Transmission muss berücksichtigt werden, dass die Methode für sehr dicke oder stark absorbierende Partikel nicht geeignet ist. Außerdem können sehr kleine Partikel ($< 10\text{-}20 \mu\text{m}$) aufgrund der physikalischen Beugungsgrenze nicht detektiert werden.

Raman Imaging als mögliches Verfahren

Prinzipiell bietet die Raman-Mikroskopie ebenfalls die Möglichkeit Filterflächen ohne visuelle Vorsortierung automatisch zu vermessen. Dabei rastert der Laser die Probe in x-Richtung kontinuierlich und in y-Richtung zeilenweise mit hoher Geschwindigkeit ab. Die innerhalb der gewählten Probenfläche gemessenen Spektren können analog zum IR Imaging in Falschfarben-Bilder umgewandelt werden. Daher wird diese Methode auch Raman Imaging genannt, obwohl es sich tatsächlich um ein sehr schnelles Mapping oder Rastern und nachträgliches Zusammenfügen der Daten zu einem „Image“ handelt. Vorteilhaft an dieser analytischen Variante ist, dass die Form und die Größe bzw. Dicke der zu untersuchenden Partikel keine entscheidende Rolle spielt und dass zudem laterale Auflösungen bis zu 1 μm (und darunter) erreicht werden können.

In der Literatur wurden allerdings bislang (zum Beginn dieser Arbeit) weder Raman Imaging noch andere denkbare automatisierte Raman-Methoden für die Mikroplastik-Analytik beschrieben.

Daher soll Raman Imaging für die automatisierte Untersuchung von filtrierten Mikroplastik-Proben in Analogie zum FTIR Imaging jedoch mit besserer Performance (v.a. hinsichtlich der lateralen Auflösung) entwickelt und die Messparameter entsprechend optimiert werden. Die Anwendbarkeit

dieses Verfahrens soll zunächst an Polymer-Modellproben und nachfolgenden an realen Umweltproben geprüft werden.

Filtermaterialien für die spektroskopische Untersuchung von filtrierten Mikroplastik-Proben

Um Mikroplastik mittels spektroskopischer Verfahren direkt auf Filtern analysieren zu können, muss ein geeignetes Filtermaterial gewählt werden. Dabei müssen folgende Anforderungen erfüllt sein: Der Filter muss Löcher oder Poren beinhalten, er muss mechanisch stabil und wasserresistent sein. Dies ist nötig, um eine Vakuumfiltration von wässrigen Proben zu ermöglichen. Außerdem sollte er für eine gute mikroskopische Fokussierung möglichst planar sein und eine spektroskopische Untersuchung mit der jeweiligen Methode erlauben.

Für Raman-mikroskopische Untersuchungen wurden beispielsweise PA- oder PC-Filter (Enders et al., 2015; Lenz et al., 2015), und Glasfaserfilter (Imhof et al., 2016) verwendet. Erstere bestehen selbst aus synthetischen Polymeren und sind daher für die Mikroplastik-Analytik nicht gut geeignet, da ggf. nicht zwischen unterliegendem Substrat und zu analysierenden Partikel unterschieden werden kann. Glasfaserfilter zeigen zwar keine intensiven Raman-Banden, weisen dafür aber eine unregelmäßige Oberflächenstruktur auf.

Für ATR FTIR-Messungen von Einzelpartikeln spielt das unterliegende Filtermaterial keine entscheidende Rolle, dieses sollte aber möglichst fest und mechanisch stabil sein, um einen guten Anpressdruck zwischen Probe und ATR-Kristall zu ermöglichen.

Bei der Untersuchung von Mikroplastik mittels Reflexion-FTIR-Mikroskopie wurden Glasfaserfilter (Vianello et al., 2013) und PC-Filter (Harrison et al., 2012; Tagg et al., 2015) verwendet. Allerdings erwiesen sich beide als nicht ideal. Aufgrund der inhomogenen und nicht planaren Struktur der Glasfaserfilter wurden Fokussierungsprobleme beschrieben (Vianello et al., 2013). Dieses Problem tritt bei den gleichmäßig ebenen PC-Filtern nicht auf. Allerdings zeigte das polymere Material selbst IR-Absorptionen im relevanten Spektralbereich und störte somit die spektroskopische Untersuchung der aufliegenden Partikel (Vianello et al., 2013).

Am kritischsten ist eine geeignete Filterauswahl für IR-spektroskopische Messungen in Transmission, da der IR-Strahl hierbei durch die Probe und den Filter hindurch gestrahlt werden muss. Das Filtermaterial muss somit IR-transparent sein. Löder et al., 2015 schlugen einen Aluminiumoxid-Gewebefilter (Anodisc®-Filter) vor, nachdem alle anderen von ihnen getesteten kommerziell erhältlichen Filter für Transmissionsmessungen ausgeschlossen wurden. Dieser Anodisc-Filter ist im relevanten IR-Bereich aber nur unzureichend IR-transparent und zeigt bei Wellenzahlen kleiner 1250 cm^{-1} eine sehr starke Selbstabsorption (Löder et al., 2015). Zudem weist er aufgrund der Gewebestruktur eine unregelmäßige, nicht völlig ebene Oberfläche auf und ist relativ brüchig. **Somit lag zum Beginn dieser Arbeit kein optimales Filtermaterial für die mikrospektroskopische Untersuchung von filtrierten Mikroplastik-Proben vor, das alle genannten Anforderungen**

zufriedenstellend erfüllt und im Idealfall sowohl für Raman- als auch für Transmission FTIR-Mikroskopie genutzt werden kann. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll folglich ein geeignetes Filtersubstrat für die genannten Fragestellungen entwickelt und die praktische Anwendbarkeit an Polymer-Modellproben und an realen Umweltproben gezeigt werden.

Standardisierung und Vergleich verschiedener Verfahren

Obwohl die potentielle Gefahr von Mikroplastik für das marine Ökosystem erkannt und vielfältig diskutiert wurde und das Vorkommen von Mikroplastik in marinen Lebensräumen gezeigt wurde, existieren bislang keine standardisierten und harmonisierten analytischen Verfahren, um Mikroplastik in Umweltproben sicher zu identifizieren. Um Daten verschiedener Studien miteinander vergleichen zu können, wäre eine Standardisierung beginnend von der Mikroplastik-Definition, über die Probennahme und Probenaufbereitung bis hin zur Mikroplastik-Analytik einschließlich der darauf folgenden Datenauswertung nötig.

Die bislang veröffentlichten analytischen Ansätze zur Mikroplastik-Analytik sind sehr vielfältig. **Ein Vergleich und eine Validierung von verschiedenen analytischen Methoden wurden bisher nicht vorgenommen.** Demzufolge sollen in der vorliegenden Arbeit Raman- und FTIR-Mikroskopie zur Untersuchung von Mikroplastik-Proben anhand von verschiedenen Parametern miteinander verglichen und die erhaltenen Ergebnisse validiert werden. Außerdem soll ein Vergleich der spektroskopischen Ergebnisse an ausgewählten Umweltproben mit der thermoanalytischen py-GC/MS-Methode stattfinden.

3 Experimenteller Teil

3.1 FTIR Instrumente

3.1.1 FTIR-Spektrometer Vertex 80v

Das Spektrometer Vertex 80v (Bruker) verfügte über eine evakuierbare optische Bank inklusive evakuierbarem Probenraum. Als IR-Strahlungsquelle wurde ein Siliziumcarbid-Globar verwendet. Das Spektrometer war mit einem UltraScan™-Interferometer, einem KBr-Strahlenteiler, einem DLaTGS-Raumtemperatur-Detektor und einem Stickstoff-gekühlten MCT-Detektor ausgestattet.

In Kombination mit dem Spektrometer wurde eine externe Golden Gate™ Einfachreflexion-ATR-Einheit (Specac) mit einem Diamant-ATR-Kristall (Fläche ca. 2 x 2 mm, Ø Messfleck ca. 0,6 mm, Brechungsindex 2,4) verwendet. Die Detektion erfolgte mit Hilfe eines MCT-Detektors.

3.1.2 FTIR-Spektrometer Vertex 70 gekoppelt mit FTIR-Mikroskop Hyperion 2000

Das Spektrometer Vertex 70 (Bruker) war analog zum Vertex 80v aufgebaut, konnte allerdings nicht unter Vakuum betrieben werden. Es war ebenfalls mit einem Siliziumcarbid Globar, einem KBr-Strahlenteiler, einem DLaTGS- und einem MCT-Detektor sowie mit einem RockSolid™-Interferometer ausgestattet.

An das Basisgerät war ein IR-Mikroskop Hyperion 2000 (Bruker) gekoppelt, welches Messungen in Transmission, Reflexion und ATR ermöglichte. Es verfügte über einen motorisierten Probentisch (xyz-Steuerung) mit einer Einstellgenauigkeit von $\pm 1 \mu\text{m}$ über eine Fläche von 50 mm x 75 mm (xy). Es war mit einem VIS-Objektiv (Objektivvergrößerung 4x, sichtbare Vergrößerung 57x, numerische Apertur 0,1, Arbeitsabstand 21 mm), einem IR-Objektiv (Objektivvergrößerung 15x, sichtbare Vergrößerung 215x, NA 0,4, Arbeitsabstand 24 mm) und einem ATR-Objektiv (Objektivvergrößerung 20x, sichtbare Vergrößerung 286x, NA=0,6, Arbeitsabstand 6 mm) ausgestattet. Das ATR-Objektiv (Ø Messfleck an der Kristallspitze ca. 25 μm) bestand aus einem Germanium-Kristall mit einem Brechungsindex von 4. Es konnte ein Anpressdruck von 0,5 bis 8 N (in 5 Schritten) gewählt werden.

Die Messfläche konnte bei Transmissions- und Reflexionsmessungen mit Hilfe einer rechteckigen, transparenten Schneideblende begrenzt werden.

Das Mikroskop war mit einem MCT-Einzelement-Detektor bestückt.

3.1.3 FTIR-Spektrometer Tensor 27 gekoppelt mit FTIR-Mikroskop Hyperion 3000

Das Spektrometer Tensor 27 (Bruker) (ähnliche Konfiguration wie die Vertex-Spektrometer, teilweise mit geringerer Performance) wurde in Kombination mit dem Mikroskop Hyperion 3000 ausschließlich für IR Imaging-Messungen genutzt.

Das Mikroskop wies einen identischen Aufbau wie das Hyperion 2000-Mikroskop auf, zusätzlich verfügte es über einen Flüssig-Stickstoff-gekühlten FPA-Detektor. Der FPA-Detektor bestand aus 64 x

64 MCT-Einzelement-Detektoren und ermöglichte es, in einer Fläche von $170\ \mu\text{m} \times 170\ \mu\text{m}$ ortsauflöst 4096 Einzelspektren während einer einzigen Messung aufzunehmen. Die maximale Pixelauflösung betrug somit $2,7\ \mu\text{m}$. Optional konnten mehrere Detektor-Pixel zusammengefasst werden, was als „Binning“ bezeichnet wird. Daraus resultieren ein höheres Signal-Rausch-Verhältnis, eine verringerte Datenmenge und eine schlechtere Pixelauflösung. Beispielsweise wurden bei einem 2×2 Binning die Spektren von vier aneinander grenzenden Pixeln gemittelt. Die Pixelauflösung betrug dann $5,3\ \mu\text{m}$. Aus einem 4×4 Binning resultierte eine Pixelauflösung von $10,6\ \mu\text{m}$, etc. Alle drei genannten FTIR-Geräte bzw. Gerätekombinationen (vgl. 3.1.1, 3.1.2) wurden von der OPUS 7.5 Software gesteuert. Bei den in der vorliegenden Arbeit dargestellten IR-Spektren wurden in der Regel Basislinienkorrektur und Glättung (Savitzky-Golay) vorgenommen.

3.2 Raman Instrument

Für die vorliegende Arbeit wurde das konfokale Raman-Mikroskop alpha300 R (WITec) verwendet, welches sowohl Einzelmessungen von makro-/mikroskopischen Proben als auch spektroskopische Imaging-Messungen (xy-, xz-, yz-Richtung) ermöglicht. Es war mit einem frequenzverdoppelten Nd:YAG Laser ($532\ \text{nm}$, $60\ \text{mW}$ Ausgangsleistung) und mit einem Diodenlaser ($785\ \text{nm}$, $150\ \text{mW}$ Ausgangsleistung) ausgestattet. Die Laserleistung konnte mit Hilfe eines Laserleistungsmessgerätes (Thorlabs) bestimmt und stufenlos eingestellt werden. Für jeden Laser wurden ein separates Spektrometer (Ultra-High Throughput Spectrometers (UHTS) 300 Spektrometer, inklusive zwei Gitter 1800 und 600 Linien/mm) und ein separater thermoelektrisch gekühlter CCD-Detektor verwendet. Für sehr schnelle Raman Imaging-Messungen konnte außerdem eine EMCCD-Kamera (nur für $532\ \text{nm}$) gewählt werden. Das 600 -Gitter erreichte eine spektrale Auflösung von $< 3\ \text{cm}^{-1}$; das 1800 Gitter eine spektrale Auflösung von $< 0,9\ \text{cm}^{-1}$. Für die vorliegende Arbeit wurde hauptsächlich das Gitter mit 600 Linien/mm verwendet.

Die Licht- und Signalübertragung im gesamten System erfolgte über geeignete optische Fasern ($\varnothing 50\ \mu\text{m}$). Für einen Laserwechsel ($532\ \text{nm}$ auf $785\ \text{nm}$ und umgekehrt) war ein manueller Umbau mit entsprechender Justierung nötig.

Das Mikroskop war mit einem 6-fach Mikroskoprevolver und einem motorisierten Probentisch ($25\ \text{mm} \times 25\ \text{mm}$ in xy-Richtung) ausgestattet; die folgenden Objektive wurden verwendet:

Tabelle 3.1: Verwendete Raman-Objektive.

Vergrößerung	Numerische Apertur (NA)	Arbeitsabstand	Hersteller
20x	0,46	3,1 mm	Nikon
20x	0,5	2,1 mm	Zeiss
50x	0,8	0,54 mm	Nikon
50x LD	0,5	10,6 mm	Olympus
100x	0,95	0,3 mm	Nikon
100x LD	0,75	4 mm	Zeiss

Für Raman Imaging-Messungen von rauen, schiefen oder unregelmäßig geformten Proben stand die TrueSurface™-Option (WITec) zur Verfügung. Bei einer TrueSurface-Messung wird die Topografie einer Probe mit Hilfe eines chromatischen Sensors vor der eigentlichen Raman-Messung bestimmt. Die ermittelten Daten (x,y,z) werden für die nachfolgende Raman Imaging-Messung verwendet, wodurch die Probe während der gesamten Messung im Fokus gehalten wird.

Die Wellenlängen-Kalibrierung erfolgte unter Verwendung einer Quecksilber/Argon Spektralkalibrierlampe und wurde messtäglich mit Hilfe eines Siliziumwafers anhand der Si-Si-Schwingung bei 521 cm^{-1} überprüft.

Die Steuerung des Gerätes erfolgte durch die Software Control FOUR (WITec), zur Datenauswertung stand darüber hinaus die Software Project Plus (WITec) zur Verfügung. Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Spektren wurden in der Regel Basislinien-korrigiert und geglättet (Savitzky-Golay).

3.3 py-GC/MS Instrument

Die Untersuchung mittels py-GC/MS wurden von Marten Fischer und Dr. Barbara Scholz-Böttcher vom Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM), Carl von Ossietzky Universität Oldenburg durchgeführt und ausgewertet.

Es wurde ein Mikro-Pyrolysator EGA/Py-3030D (FrontierLabs), ein Gaschromatograph 7890B (Agilent) und ein Massenspektrometer MSD 5977A (Agilent) verwendet. Die Pyrolyse fand bei einer Curie-Temperatur von 590 °C mit einer Pyrolysezeit von 1 min statt.

Weitere, detaillierte Informationen zu den verwendeten Instrumenten, der Messmethode und der Kalibrierung können dem Anhang (Tabelle A. 2) bzw. der dazugehörigen Publikation (Käppler et al., 2018) entnommen werden.

Vor der Messung der jeweiligen Proben wurden ein Glasfaserfilter (\varnothing 6mm, im Muffelofen bei 400 °C vorbehandelt) am Boden der Pyrolyse-Behälter platziert. Anschließend wurden die isolierten Partikel/Fasern mit einer Pinzette in den Pyrolyse-Behälter transferiert. Das Probengewicht wurde unter Differenzwägung mit einer Ultramikro-Waage Cubis MSE2.7S-000-DM (Satorius, Ablesegenauigkeit: $0,0001\text{ mg}$, Wiederholbarkeit: $0,00025\text{ mg}$) bestimmt. Die Probe wurde mit einem zweiten Glasfaserfilter abgedeckt und $20\text{ }\mu\text{l}$ Tetramethylammoniumhydroxid (TMAH, 25%ig in Methanol) zugesetzt. Die Analyse wurde gestartet, nachdem das Methanol verdampft war (Raumtemperatur, 30 min).

3.4 Datenbanken und Referenzmaterial

Datenbanken

Es wurden die kommerziellen IR-Spektren-Datenbanken „ATR FTIR Library Complete Vol 1-3“ (26187 Einträge), „Hummel Industrial Polymers Vol. 1-3“ (7946 Einträge), „Merck“ (3120 Einträge), „Polymer“ (3120 Einträge) sowie eine IPF-eigene Datenbank (820 Einträge) benutzt. Die Datenbanken waren in die OPUS-Software eingebunden und konnten direkt abgerufen werden.

Als kommerzielle Raman-Datenbanken standen „Polymer and Polymer Additives Spectra Database“ (929 Einträge), „Inorganic Materials Spectra Database“ (965 Einträge) und „Minerals Database“ (454 Einträge) zur Verfügung. Die Abfrage der Datenbanken erfolgte über die Software „ACD-Labs“, da eine derartige Suchoption in der WITec-Software bislang nicht vorgesehen war.

Referenzmaterial

Die kommerziellen Datenbanken (FTIR und Raman) und die bereits bestehende IPF-eigene IR-Datenbank wurden durch Referenzspektren von verschiedenen synthetischen Polymeren sowie von biologischen Polymeren (z.B. Cellulose, Chitosan, Proteine, Wachse) und natürlichen Referenzmaterialien (z.B. Muschelschale, tierische Haare, Federn) ergänzt. Außerdem wurden von verschiedenen synthetischen Materialien, die in der Probenahme und Probenaufbereitung (Reinigung, Isolation, Filtration) angewendet wurden, Vergleichsspektren aufgenommen, um ggf. Kontaminationen innerhalb des Aufarbeitungsprozesses detektieren zu können.

ATR- und Raman-Referenzspektren der Referenz-Materialien (z.B. Polymer-Pellets, abgeschnittene Proben-Stücke, Pulver, ...) wurden ohne Probenvorbereitung gemessen.

Für IR-Referenzspektren der zu untersuchenden synthetischen Polymere in Transmission wurden zunächst Schmelzfolien (15 – 100 µm) unter Verwendung einer heizbaren, hydraulischen Presse (Specac) und einem Anpressdruck von 3 t hergestellt (vgl. Tabelle 3.2).

Tabelle 3.2: Schmelzfolien für Transmission IR-Referenzspektren – verwendete Polymere, Schmelztemperaturen und Schichtdicken.

Polymer	Schmelztemperatur	Schichtdicke
HDPE MG 7547 (Borealis)	140 °C	100 µm
HDPE HTA 108 (ExxonMobil Chemical)	140 °C	15 µm
LLDPE M50 (SABIC)	125 °C	100 µm
PP HD12OMO (Borealis)	165 °C	15 µm, 100 µm
PS 143 E (BASF)	240 °C	100 µm
PA 6 (IPF-Restbestand)	230 °C	15 µm, 50 µm, 100 µm
PC Lexan 161 (SABIC)	250 °C	15 µm, 100 µm
PVC (IPF-Restbestand)	175 °C	100 µm
PET K36 (IPF-Restbestand)	265 °C	15 µm, 100 µm
PBT L34 (IPF-Restbestand)	240 °C	15 µm, 100 µm
PTFE E TF2025 (IPF-Restbestand)	(Kaltpressfolie)	-

3.5 Untersuchte Mikroplastik-Proben

3.5.1 Probennahme

Die Probennahme von verschiedenen Ostsee- und Warnow-Proben erfolgte im Zeitraum von März 2013 bis November 2015 durch das IOW (Strand-Sedimente – Leonie Buschbeck, Mirco Haseler, Oktober – November 2015; Warnow-Sedimente – Dr. Sonja Oberbeckmann, Juli 2014; Sinkstofffallen – Dr. Falk Pollehne, März 2013 – Januar 2014).

3.5.1.1 Strand-Sediment

Strand-Sediment-Proben wurden an sechs verschiedenen Stationen entlang der Ostseeküste in und nahe Warnemünde entnommen. Details zur Probennahme (Koordinaten, Datum, Sedimentmassen) können dem Anhang (Tabelle A. 8) entnommen werden.

Pro Station wurde die oberste Schicht (1 cm) einer rechteckigen Fläche (3 Streifen mit je 10 cm x 100 cm) mit Hilfe zweier Putzkellen aus Metall abgetragen und in einen Aluminiumbehälter gesammelt. Es resultierte ein Probenvolumen von 3 dm³. Um Kontaminationen zu vermeiden, wurde der Aluminiumbehälter zuvor mit MilliQ-Wasser gespült.

Die chemische Identifizierung der nach der Probenextraktion erhaltenen, isolierten Partikel und Fasern > 500 µm erfolgte am IPF. Ausgewählte Partikel und Fasern dieser Probenserie wurden zum Vergleich und zur Validierung von FTIR- und Raman-mikroskopischen Messungen (vgl. Abschnitt 4.2.1.1) verwendet. Eine Auswertung der ermittelten Mikroplastik-Gehalte pro Station wird aufgrund der geringen Probenmenge in Kombination mit Unsicherheiten bei der Probenisolierung und dem Probentransport nicht vorgenommen.

3.5.1.2 Warnow-Sediment

Die Probennahme von Sedimenten im Warnow-Mündungsbereich wurde an insgesamt 10 Stationen flussabwärts entlang eines Transektes beginnend nach der Schleuse im Rostocker Zentrum bis ca. 2 km nach der Mündung in der Ostsee vorgenommen. Eine Station (Station H) lag dabei im abgetrennten Seitenarm „Alter Strom“ der Warnow. Die Proben wurden von einem Boot aus mit Hilfe eines Van-Veen-Bodengreifers, der eine Fläche von 0,04 m² und ein maximales Volumen von 5 l umfasste, in einer Wassertiefe von 1,2 bis 7 m genommen. Die entnommenen Sedimente wurden mit einem Metalllöffel in ein Glasgefäß mit einem Fassungsvermögen von 1,5 l überführt. Alle verwendeten Geräte wurden zur Vermeidung von Kontaminationen vor der Benutzung sorgfältig mit MilliQ-Wasser gespült. Pro Station wurden drei Replikate als Ersatzproben für mögliche Verluste bei der Probenaufbereitung genommen bzw. um lokale Schwankungen zu berücksichtigen. Dies wurde bei 2 von 10 Stationen (Station B und H) untersucht, insgesamt resultierten demzufolge 14 Einzelproben.

Die Massen der nassen Proben lagen bei 1550 bis 2700 g. Die Proben wurden vor der weiteren Aufarbeitung im Dunkeln bei 4 °C gelagert.

Details zur Probennahme der untersuchten Einzelproben (Koordinaten, Probentiefe, Probenmasse) sind in Tabelle A. 11 im Anhang zusammengefasst.

3.5.1.3 Sinkstofffallen

Die Sinkstofffallen-Proben wurden von zwei Standorten innerhalb der Ostsee, zum einem am Gotlandtief (N 57° 18.200, E 20° 04.600) und zum anderem am Arkonabecken (N 54° 53.058, E 13° 51.746), untersucht. Die Sinkstofffallen wurden in einer Wassertiefe von 196 m (Gotland, Gesamttiefe: 243 m) bzw. von 35 m (Arkona, Gesamttiefe: 46 m) verankert.

Die Sinkstofffalle sammelt für eine definierte Fläche das im Wasser absinkende organische und anorganische Material über ein bestimmtes Zeitintervall in einem Probengefäß ein. Der kreisrunde, trichterförmige Einlass der Sinkstofffalle hatte einen Durchmesser von 80 cm und somit eine Fläche von 0,5 m². Das Probengefäß fasste maximal 400 ml und bestand aus PE. Nach Ende des Beprobungsintervalls wurde das Probengefäß gewechselt und erneut Material eingesammelt. Insgesamt wurden so an beiden Stationen je 20 Einzelproben erhalten, die jeweils ein Zeitintervall von 10 (Arkona) bzw. 14 (Gotland) Tagen repräsentieren.

Da die Proben eigentlich für Monitoring-Zwecke bestimmt waren, konnte nur ein Anteil von 1/4 bzw. 1/16 pro Probe untersucht werden. Die Probensplittung erfolgte per Planktonsplitter. Durch rotierendes Auf- und Absenken eines Rührstabes mit gelöcherter Endplatte wurde der Probenbehälter-Inhalt in Suspension gebracht und in gleiche Teile geteilt. Aufgrund des geringen Probenvolumens wurden nachfolgend einige Proben zusammengefasst. Die Proben wurden vor der weiteren Aufarbeitung mit Formaldehyd fixiert.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 4 gereinigte Endproben der Gotland-Serie und 5 Endproben der Arkona-Serie untersucht. Details zur Probennahme dieser neun Proben (Zeitintervall, Sedimentflux, Probenvereinigung) sind im Anhang Tabelle A. 9 zusammengefasst.

3.5.2 Probenextraktion und -aufbereitung

Die Probenextraktion und -aufbereitung der untersuchten Proben fand am IOW unter der Leitung von PD Dr. Matthias Labrenz statt.

3.5.2.1 Probenextraktion von Sedimentproben

Dichtentrennung

Für die Extraktion von Mikroplastik-Partikeln aus Sedimentproben (Strandsediment, Warnow-Sediment) wurde eine Dichteseparation mit einem MPSS (Hydro-Bios) nach Imhof et al., 2012 durchgeführt. Anstatt Zinkchlorid-Lösung wurde eine Natriumpolywolframat-Lösung (TC-Tungsten Compounds) mit einer Dichte von 1,8 g/cm³ als Separationsmedium verwendet. Dadurch konnte bei

geringerer Toxizität der Trennflüssigkeit garantiert werden, dass auch Polymere mit hohen Dichten (z.B. PVC, $\delta=1,35 \text{ g/cm}^3$ und Alkydharze $\delta=1,6 \text{ g/cm}^3$ (Mark, 1991)) extrahiert wurden. Die Natriumpolywolframat-Lösung wurde vor Verwendung durch zwei Vorfilter (10 μm und 5 μm) filtriert und nach Gebrauch in einem Vorratsgefäß bis zur weiteren Verwendung aufbewahrt (Recycling-Prozess). Die Dichte der Trennflüssigkeit wurde regelmäßig überprüft und ggf. korrigiert. Der pH-Wert der Trennflüssigkeit wurde durchgängig bei 3 bis 4 gehalten.

Eine detaillierte Beschreibung des MPSS sowie der Trennprozedur kann der Literatur (Imhof et al., 2012; Lorenz, 2014) entnommen werden.

Die Sedimente wurden im nassen Zustand in den MPSS gegeben. Zuvor wurde die Trockenmasse der Probe bestimmt, in dem die Massendifferenz einer definierten Teilmenge (10 – 100 g) der homogenisierten Probe vor und nach der Trocknung im Trockenschrank (60 °C, bis zur Massenkonstanz, ca. 48 h) ermittelt wurde.

Isolierung von potentiellen Mikroplastik-Partikeln

Nach erfolgter Dichteseperation wurden die erhaltenen Proben über einen Edelstahlsieb mit 500 μm Maschenweite gegeben. Die auf dem Sieb verbliebene Fraktion (> 500 μm) wurde in eine Bogorov-Kammer (20 x 20 cm^2) überführt. Unter Verwendung eines Stemi 2000 Binokulars (Carl Zeiss, Vergrößerung 6,5 bis 50x) wurden alle potentiellen Mikroplastik-Partikel und -Fasern anhand von definierten visuellen Gesichtspunkten basierend auf Noren, 2007 mit einer Metallpinzette isoliert und zwischen zwei Glasobjektträger fixiert. Jedes isolierte Teilchen wurde unter Verwendung eines Discovery V.8 Binokulars (Carl Zeiss) und einer AxioCam ICc 3 Kamara (Carl Zeiss) fotodokumentiert. Dabei wurden die morphologischen Eigenschaften des Teilchens (Farbe, Größe, Form) charakterisiert. Die Untersuchungsobjekte wurden als „Partikel“ und „Fasern“ eingestuft, wobei für die Einstufung als „Faser“ ein Durchmesser-Längen-Verhältnis von mind. 1:10 vorliegen musste. Die Größenbestimmung (x,y) der Teilchen erfolgte digital mithilfe der aufgenommenen Fotos unter Verwendung der Software AxioVision, Release 4.8.2 SP2 (Carl Zeiss) bzw. anhand eines Lineals. Mikroplastik-Partikel wurden anhand der größten Dimension in Größenklassen 500 – 1000 μm , 1000 – 2000 μm , 2000 – 5000 μm , > 5000 μm eingestuft. Die Bestimmung der exakten Länge von Fasern war schwierig, da sie häufig gewunden und zu einer Kugel verschlungen vorlagen. Deshalb und aufgrund des geringen Faserdurchmessers wurden sie auch bei einer geschätzten Länge von > 5000 μm als Mikroplastik gezählt.

Bei einigen Proben (S1, S4, S7, S25, S28) wurde nach der Dichteseperation zusätzliche eine chemisch-enzymatische Behandlung (vgl. 3.5.2.2) angewendet, um den Gehalt an störenden organischen Bestandteilen zu reduzieren. Außerdem wurde, falls nötig, die Dichteseperation im MPSS wiederholt. Verluste an Mikroplastik-Partikeln durch diese zusätzlichen Reinigungsschritte sind im relevanten

Größenbereich (5 – 0,5 mm) unwahrscheinlich und wurden durch sorgfältiges Abspülen und Prüfen aller verwendeten Geräte und Behälter vermieden.

Vermeidung von Kontaminationen und Blindproben

Um den Eintrag von Kunststoffpartikeln während der Probenaufbereitung zu vermeiden bzw. zu minimieren, wurden folgende Maßnahmen getroffen:

Es wurden durchgängig Baumwollkittel und Nitril-Handschuhe getragen. Alle verwendeten Geräte und Behälter wurden zunächst mit Leitungswasser gereinigt und nachfolgend mit deionisiertem Wasser und MilliQ-Wasser (0,2 µm Membran-Filter) abgespült. Darüber hinaus wurde ggf. zum Spülen und zur Reduktion der Oberflächenspannung von Wassertropfen eine vorfiltrierte (0,8 µm Cellulosenitrat-Filter) Ethanol-Lösung (70 %) verwendet. Die Natriumpolywolframat-Lösung wurde vor Verwendung im MPSS ebenfalls mit Hilfe von zwei Filtern (10 µm und 5 µm) vorfiltriert.

Soweit möglich, wurden keine Geräte und Behälter aus Kunststoff verwendet. Der MPSS bestand vollständig aus Edelstahl und Glas, lediglich die verwendeten Schläuche und Dichtungen bestanden aus PTFE bzw. EPDM. Der MPSS wurde vor jeder Probe gereinigt und einmal vollständig mit Natriumpolywolframat-Lösung gefüllt und die obersten 4 l Trennflüssigkeit verworfen.

Die Filtration der Probe (500 µm-Sieb) erfolgte unter einem Abzug. Die Isolierung potentieller Mikroplastik-Partikel aus der Bogorov-Kammer wurde in einem abgeschiedenen Raum durchgeführt. Alle verwendeten Gefäße, einschließlich der Bogorov-Kammer, wurden verschlossen bzw. mit Alufolie abgedeckt, sofern sie sich nicht in unmittelbarer Benutzung befanden.

Zusätzlich zu den genannten Vermeidungsmaßnahmen wurden drei Blindproben generiert und untersucht, um mögliche Kontaminationen mit Fremd-Kunststoffpartikeln während der Probenaufbereitung zu überprüfen. Für zwei dieser Blindproben wurde die Dichtentrennung im MPSS analog zu den Sedimentproben, jedoch ohne zugesetztes Sediment, durchgeführt und die Anzahl der Mikroplastik-Partikel > 500 µm nach der Dichtentrennung bestimmt. Die dritte Blindprobe bildete den Eintrag von Mikroplastik-Partikel während der Isolation aus der Bogorov-Kammer ab. Dazu wurde eine Bogorov-Kammer mit MilliQ-Wasser gefüllt, für 2,5 h offenstehen gelassen und die eingetragenen Mikroplastik-Partikel bestimmt. Die Dauer des Isolierungsprozesses der realen Proben variierte je nach Probenbeschaffenheit zwischen 4 – 18 h.

3.5.2.2 Probenaufbereitung von Sinkstofffallen-Proben

Chemisch-Enzymatische Probenaufbereitung

Für die Probenaufbereitung der Sinkstofffallen-Proben wurde die suspendierte Probe zunächst über einen 400 µm Filter filtriert. Die Fraktion < 400 µm wurde nach dem von (Löder et al., 2017) vorgeschlagenen chemisch-enzymatischen Protokoll gereinigt.

In Abweichung davon wurden die einzelnen Filtrations- und Reinigungsschritte auf je einem PC-Filter (10 µm Porenweite) durchgeführt und die abschließende Dichteseperation mit Zinkchlorid weggelassen.

Das angewandte Protokoll beinhaltete folgende sechs Schritte, wobei ggf. die Behandlungszeit sowie das verwendete Volumen der Reinigungslösung in Abhängigkeit von der Probenbeschaffenheit verändert wurden:

1. chemische Behandlung mit einer Natriumlaurylsulfat (SDS)-Lösung (10 % (w/w), 40 ml, 24 h, 50 °C),
2. enzymatischer Abbau mit einer gepufferten Protease-Lösung (5 ml Protease + 25 ml Tris-Puffer, pH=9, 24 h, 50 °C),
3. enzymatischer Abbau mit einer gepufferten Cellulase-Lösung (5 ml Cellulase + 25 ml Acetatpuffer, pH=5, 24 h, 50 °C),
4. chemische Behandlung mit einer H₂O₂-Lösung (30 % (w/w), 30 ml, 24 h, 50 °C),
5. enzymatischer Abbau mit einer gepufferten Chitinase-Lösung (1 ml Chitinase + 15 ml Acetatpuffer, pH=5, 24 h, 37 °C) und
6. chemische Behandlung mit einer H₂O₂-Lösung (30 % (w/w), 30 ml, 3 – 5 h, 50 °C).

Der nach der Probenreinigung auf dem PC-Filter verbliebene Rückstand wurde am IPF mit ca. 50 ml MilliQ-Wasser resuspendiert und anschließend auf einen Si-Filter (*Design 1*, 250 µm, Filterfläche: 64 mm²) filtriert.

Vermeidung von Kontaminationen und Blindproben

Um Kontaminationen zu vermeiden, wurden alle verwendeten Lösungen vor Gebrauch mit Hilfe eines Cellulosenitrat-Filters (0,8 µm Porenweite) filtriert. Alle Filtrationsschritte wurden zudem in einer Sicherheitswerkbank (Laminar Flow Box) durchgeführt.

Der Eintrag von Mikroplastik während der Probennahme und Probenaufbereitung wurde anhand von vier Blindproben getestet. Dazu wurde ein Probengefäß einer Sinkstofffalle („Got At20“) mit MilliQ-Wasser gefüllt, der Inhalt nach 14 Tagen entnommen und eine Probensplittung von 1/4 bzw. 1/16 durchgeführt. Vier der gesplitteten Proben (2x 1/4 und 2x 1/16) wurden analog zu den eigentlichen Sinkstofffallen-Proben aufgearbeitet und spektroskopisch analysiert.

Zusätzlich dazu wurden drei IPF-interne Blindproben untersucht, die den potentiellen Eintrag von Mikroplastik während der Filtration auf die Si-Filter dokumentieren sollten. Dazu wurden jeweils ca. 50 ml MilliQ-Wasser filtriert.

3.5.3 Spektroskopische Analyse

3.5.3.1 Mikrospektroskopische Analyse von isolierten Partikeln und Fasern > 500 µm aus Warnow-Sediment-Proben

Die nach Abschnitt 3.5.2.1 isolierten, potentiellen Mikroplastik-Teilchen wurden, fixiert zwischen zwei Glasobjektträgern, zur Analyse ans IPF transportiert. Insgesamt wurden 2165 einzelne Teilchen erhalten, wovon 86 % (1863) spektroskopisch untersucht und bewertet wurden. Bei morphologisch

identischen Teilchen (gleiche Farbe, Form und Größe) wurde eine Teilmenge von mind. 50 % gemessen. Beim Vorliegen von identischen Ergebnissen innerhalb dieser Untergruppe wurde das erhaltene Ergebnis auf die restlichen Teilchen dieser Gruppe übertragen. Dies war bei 14 % der Proben (302) der Fall.

Von den zu untersuchenden Partikeln und Fasern wurde je mindestens ein ATR-Einzelspektrum (Hyperion 2000, Ge-ATR-Objektiv, MCT-Detektor, spektrale Auflösung: 4 cm^{-1} , 100 akkumulierte Scans pro Spektrum, Hintergrund: Luft) aufgenommen³. Die zu untersuchenden Partikel bzw. Fasern wurden auf dem Glasobjektträger ohne weitere Probenvorbereitung gemessen. Nach jeder Einzelmessung wurde der ATR-Kristall mit Ethanol gereinigt. Spätestens nach 30 min wurde ein neuer Hintergrund gegen Luft gemessen.

Die Auswertung der Spektren (Kunststoff ja/nein, Identifizierung der Polymerart) erfolgte unter Verwendung von Spektren-Datenbanken (vgl. Abschnitt 3.4) und anhand von Erfahrungswerten.

Partikel, die zu keinen eindeutigen Ergebnissen führten, wurden zusätzlich mittels Raman-Mikroskopie (Laser: 532 nm, Objektiv: 20x Zeiss, Integrationszeit: 500 ms, Scananzahl pro Spektrum: 100, Laserleistung 0,5 – 5 mW) untersucht (max. 5 % aller Proben) oder nicht als Kunststoff berücksichtigt.

3.5.3.2 Raman-mikroskopische Analyse der Sinkstofffallen-Proben < 400 μm

Die spektroskopische Untersuchung der filtrierten Sinkstofffallen-Proben bzw. Sinkstofffallen-Blindproben erfolgte aus Zeitgründen in Anlehnung an Imhof et al., 2016, 2013 lediglich für ca. 1,6 % der kompletten Filterfläche (64 mm^2). Dazu wurde die kreisrunde Filterfläche in vier Quadranten geteilt und pro Quadrant zufällig eine Fläche von $500\text{ }\mu\text{m} \times 500\text{ }\mu\text{m}$ ausgewählt (Abbildung 3.1). Alle visuell sichtbaren Partikel innerhalb dieser Flächen wurden händisch markiert und anschließend mit Hilfe der automatischen Sample-Raster-Funktion auf einer Fokusebene (ohne Autofokus) gemessen. Der Laser wurde knapp oberhalb der Filteroberfläche fokussiert.

Die Anzahl der visuell festgelegten Messpositionen pro Probe variierte von 379 – 1086 (Arkona L), 557 – 1144 (Gotland) und 528 – 1124 (Blindproben).

Folgende Messparameter wurden gewählt: 532 nm Laser, 20x Objektiv (Zeiss), 5 mW Laserleistung, 100 akkumulierte Scans pro Spektrum, 0,25 bzw. 0,5 s Integrationszeit.

Die „IPF-internen“ Blindproben (nur letzter Filtrationsschritt am IPF) wurden in analoger Weise gemessen. Allerdings wurden hierbei pro Quadrant jeweils eine Fläche von $1000\text{ }\mu\text{m} \times 1000\text{ }\mu\text{m}$ (insgesamt 4 mm^2 , entspricht 6,3 % der gesamten Filterfläche) untersucht.

³ Die Partikel der Proben S5, S6, S22, S23 und S24 (insgesamt: 1450) wurden von Oliver Binasch (IOW) im Rahmen seiner Masterarbeit gemessen.

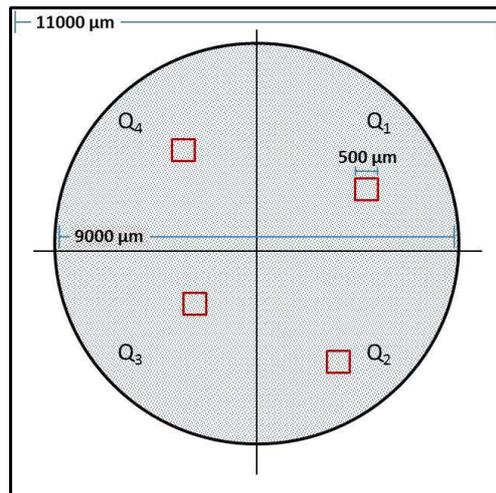


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung einer filtrierten Sinkstofffallen-Probe. Äußeres Quadrat: kompletter Si-Filter mit den Maßen $11000\ \mu\text{m} \times 11000\ \mu\text{m}$. Kreis: Filtrationsfläche mit einem Durchmesser von $9000\ \mu\text{m}$. Diese wurde in vier Quadranten geteilt (Q_1 - Q_4). In jedem Quadrant wurden alle Partikel einer quadratischen Fläche von $500\ \mu\text{m} \times 500\ \mu\text{m}$ Raman-spektroskopisch gemessen.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Entwicklung eines Si-Filters als universelles Messsubstrat für Transmission FTIR- und Raman-Mikroskopie

Ein geeignetes Material für die spektroskopische Untersuchung von filtrierte Mikroplastik-Umweltproben muss verschiedene Anforderungen erfüllen (vgl. Abschnitt 2.5.6.3). Das Material muss durchgehende Löcher oder Poren aufweisen, mechanisch stabil und wasserbeständig sein, um eine Vakuumfiltration von wässrigen Proben zu erlauben.

Des Weiteren muss es geeignete spektroskopische Eigenschaften aufweisen, damit die nachfolgende Analyse der auf ihm befindlichen Partikel und Fasern nicht gestört wird. Im Idealfall soll das Material dabei eine Untersuchung sowohl mittels Transmission FTIR- als auch mittels Raman-Mikroskopie erlauben. Im Speziellen bedeutet dies, dass es ausreichend IR-transparent (für IR-Messungen in Transmission) sein muss und keine störenden Banden im relevanten Wellenzahlenbereich (für IR- und Raman-Messungen) aufweisen soll.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde daher ein eigens für die Mikroplastik-Analytik konzipierter Silizium-Filter (Si-Filter) entwickelt und durch fotolithografisches Ätzen hergestellt (Abschnitt 4.1.1).

Um zu überprüfen, ob die Si-Filter die oben genannten mechanischen Anforderungen erfüllen, wurden mit dem speziell dafür konstruierten Filteradapter (Abschnitt 4.1.2) Testfiltrationen unter Vakuum durchgeführt und die Porenmorphologie mittels SEM charakterisiert (Abschnitt 4.1.3).

Nachfolgend wurden die IR- und Raman-spektroskopischen Eigenschaften der Si-Filter charakterisiert und die Anwendbarkeit als Messsubstrat für beide Methoden mit Hilfe von Mikroplastik-Modellproben getestet (Abschnitt 4.1.4).

Zusätzlich zu den selbst entwickelten Si-Filtern wurden eine kommerziell erhältliche Si-Membran und der von Löder et al., 2015 vorgeschlagene Aluminiumoxid-Gewebe-Filter (Anodisc®-Filter) für die Mikroplastik-Analytik getestet und die Ergebnisse mit denen der Si-Filter verglichen. Die Si-Membran (SmartMembranes GmbH, Halle, Deutschland) hatte einen nominellen Porendurchmesser von 1 µm, einen Pitch von 1,5 µm und eine Schichtdicke von 220 µm. Der Anodisc-Filter (Whatman GmbH, Dassel, Deutschland) wies laut Herstellerangabe eine Porengröße von 0,2 µm auf. Die kreisförmige Filterfläche (Ø 25 mm) war von einem PP-Stützring umgeben.

4.1.1 Produktion und Design der Si-Filter

In Kooperation mit Frank Windrich vom Fraunhofer-Institut für Zuverlässigkeit und Mikrointegration (IZM) wurden Si-Filter designt und durch Standardverfahren der Halbleiterindustrie vom IZM produziert. Dazu wurden in einen herkömmlichen Si-Wafer durch fotolithografisches Ätzen durchgehende Poren eingebracht.

Detaillierte Informationen zum Herstellungsverfahren können der dazugehörigen Publikation entnommen werden (Käppler et al., 2015). Der Produktionsprozess ist schematisch in Abbildung 4.1 dargestellt.

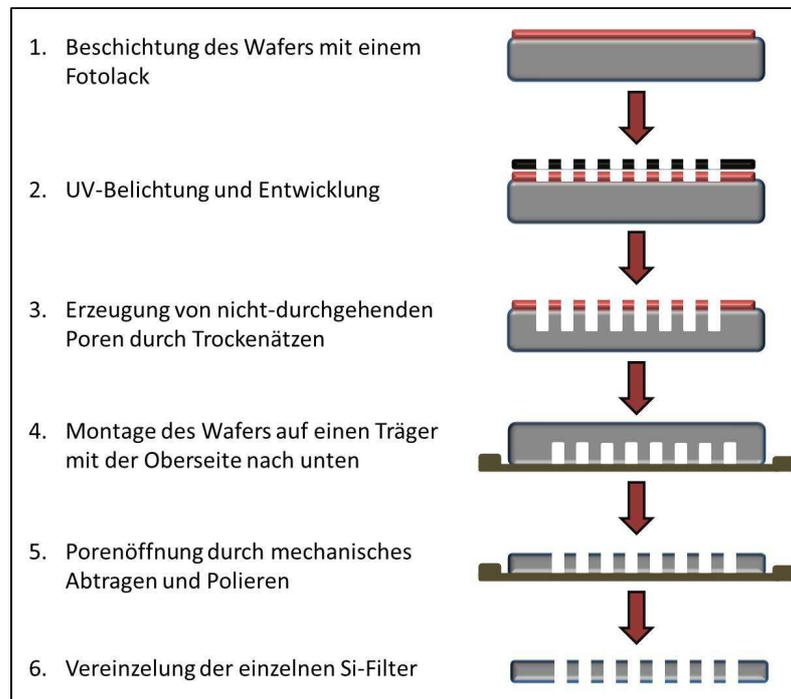


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung des fotolithografischen Herstellungsprozesses der Si-Filter. Abbildung modifiziert nach Käppler et al., 2015.

Als Ausgangsmaterial diente ein Bor-dotierter Standard-Si-Wafer (\varnothing 300 mm) mit einer Dicke von ca. 775 μm und einem spezifischen elektrischen Widerstand von 14-21 Ωcm . Auf dem Wafer wurde eine Fotolack-Schicht (positiver Fotolack AZ9260) mit einer Dicke von 17 μm durch Rotationsbeschichtung (Spin-Coating) aufgebracht. Die Fotoschicht wurde mit Hilfe einer bereits existierenden Kalknatronglas/Chrom-Fotomaske strukturiert. Beim anschließenden Trockenätzen nach einem modifizierten Bosch-Prozess wurden in das Si-Material Poren bis zu einer Tiefe von ca. 255 μm eingebracht. Die Poren waren somit zunächst noch nicht durchgängig. Als Ätzgase wurden Schwefelhexafluorid (SF_6) und Octafluorcyclobutan (C_4F_8) eingesetzt.

Nachfolgend wurde der strukturierte Si-Wafer mit der Oberseite nach unten auf einen Träger montiert. Die Unterseite wurde danach mechanisch auf die gewünschte Zieldicke (zwischen 175 – 250 μm) abgetragen und poliert. Dadurch wurden die Poren von der Rückseite aus vollständig geöffnet. Schließlich wurde der geätzte Wafer mit Hilfe eines laser-basierten Verfahrens (stealth dicing) in insgesamt 540 quadratische Filter (11 x 11 mm) geschnitten.

Aus Kostengründen wurde für eine erste Testreihe zunächst eine bereits am IZM existierende Fotomaske benutzt. Die mit dieser Maske (*Design 1*) strukturierten Poren hatten einen nominellen Porendurchmesser von 10 μm und einen Lochabstand (Pitch) von 55 μm . Für das Zerschneiden der Wafer mittels stealth dicing-Technologie war es nötig, einen Rand ohne Löcher stehen zu lassen. Dort

befanden sie bei *Design 1* einige Markierungspunkte (siehe Abbildung 4.2). Es wurden Si-Filter mit drei verschiedenen Schichtdicken (175 μm , 195 μm und 250 μm) hergestellt.

Um die Filterleistung der Si-Filter zu erhöhen und es zudem zu ermöglichen auch sehr kleine Partikel (5 – 6 μm) zurückzuhalten, wurde im Laufe der Arbeit ein zweites Design entwickelt. *Design 2* war gekennzeichnet von Poren mit einem nominellen Durchmesser von 6 μm und einen Pitch von 22 μm . Die Produktion der Filter erfolgte nach der oben beschriebenen Technologie mit geringfügigen Modifikationen. Die erhaltenen Filter hatten Schichtdicken von 105 und 115 μm .

Eine schematische Darstellung des Filter- und Lochdesigns kann der Abbildung 4.2 entnommen werden.

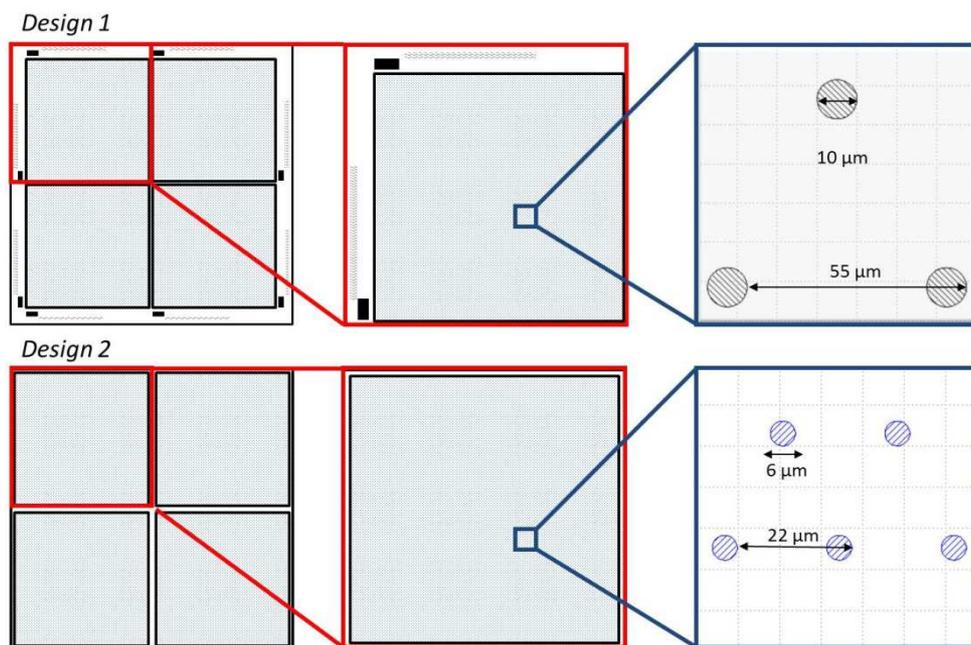


Abbildung 4.2: Schematische Darstellung des Filterdesigns. Oben *Design 1*, unten *Design 2*; Links: große Einheit (22 mm x 22 mm) bestehend aus je 4 Einzelfiltern, die durch die Sägestraße voneinander getrennt sind; Mitte: einzelner Si-Filter (11 mm x 11 mm), *Design 1* mit Markierungspunkten im Randbereich, *Design 2* ohne Markierungspunkte und mit dünnerem Rand; Rechts: Details des Lochdesigns.

4.1.2 Konstruktion eines Filteradapters

Um die quadratischen Si-Filter für die Filtration von wässrigen Proben in herkömmlichen Filtrationsvorrichtungen nutzen zu können, wurde in Zusammenarbeit mit Vincent Körper von der Konstruktionsabteilung des IPF ein spezieller Filteradapter entwickelt und hergestellt.

Die Filtrationsfläche sollte in Anlehnung an Löder et al., 2015 einen Durchmesser von 9 – 10 mm aufweisen, um die Datenmenge und Messzeit bei der anschließenden spektroskopischen Untersuchung zu begrenzen.

Zur Herstellung des Filteradapters wurde in einem speziell angefertigten PMMA-Stützring eine Silikondichtung eingegossen. Die Ober- und Unterseite der Silikondichtung wurde mit Hilfe zweier Gießformteile (ebenfalls aus PMMA) ausgeformt. Das Vermischen und Verrühren des 2-Komponenten-Silikons (Wacker, Elastosil RT 625) erfolgte unter Vakuum, um eine optimale

Entgasung zu erreichen. Die PMMA-Gießformteile sowie der PMMA-Ring wurden mittels CNC-Fräsen hergestellt.

Der PMMA-Ring ermöglichte zum einen die passgenaue Montage eines kommerziell erhältlichen Mikroanalysen-Filterhalters (Merck) und übte zum anderen eine mechanische Stützfunktion für die Silikondichtung aus.

Die Oberseite der Silikondichtung wies einen inneren Durchmesser von 13 mm auf, der Filtrationsauslass (Unterseite der Silikondichtung) hatte einen inneren Durchmesser von 9 mm. Die konisch verlaufende Silikondichtung bewirkte somit eine Reduzierung der Filtrationsfläche und sorgte gleichzeitig für eine optimale Abdichtung (kein unkontrolliertes Abfließen von Wasser). Außerdem war die Silikondichtung mit einer quadratischen Aussparung (11 mm x 11 mm) mit einer Tiefe von 0,2 mm versehen, um ein Verrutschen des Si-Filters während der Filtration zu verhindern. Abbildung 4.3 zeigt in schematischer Form den Aufbau der Filtrationseinheit.

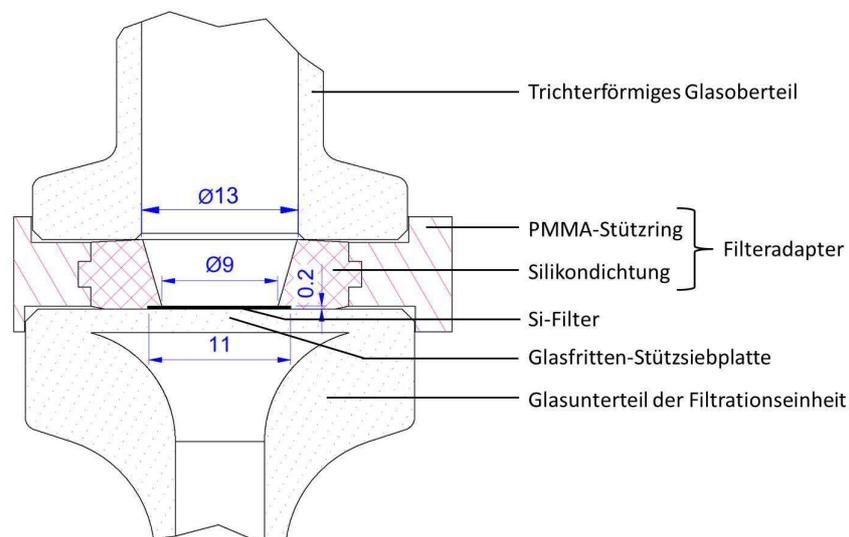


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung der Filtrationseinheit bestehend aus zwei kommerziell erhältlichen Glasteilen (Ober- und Unterteil) sowie dem speziell angefertigten Filteradapter.

Der Filteradapter konnte in Verbindung mit einem kommerziell erhältlichen Mikroanalysen-Filterhalter (Merck), bestehend aus einem abnehmbaren trichterförmigen Glasoberteil, einem Glasunterteil mit integrierter Glasfritte, Metallklammer und Stopfen, verwendet werden (Abbildung 4.4). Bei dem hier verwendeten Glasoberteil handelte es sich ebenfalls um eine Extraanfertigung des Glasbläfers. Dabei wurde der innere Durchmesser von ursprünglich 17 mm (Merck) auf 13 mm reduziert. Die Filtration erfolgte mit Hilfe einer herkömmlichen Saugflasche unter Vakuum (z.B. Wasserstrahlpumpe).

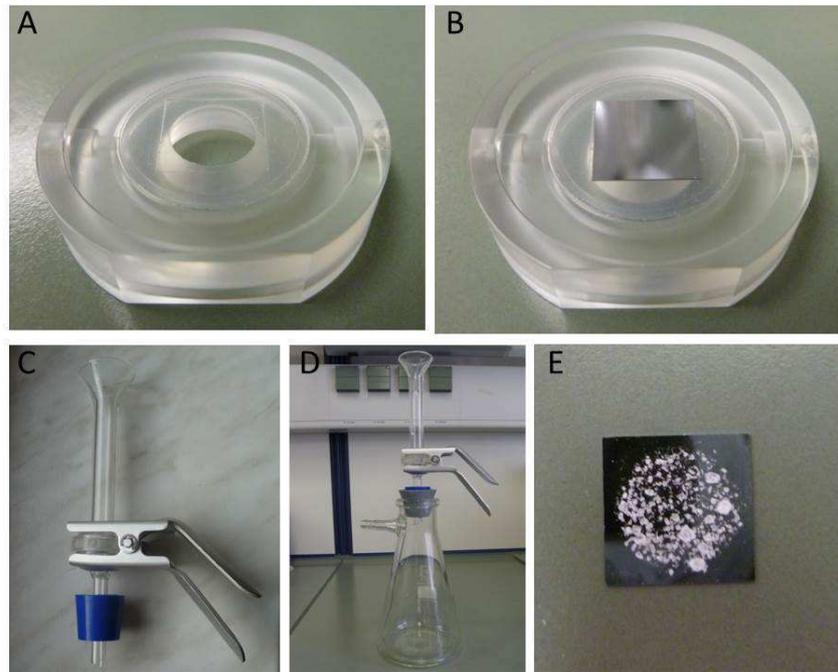


Abbildung 4.4: Filteradapter und komplette Filtrationsvorrichtung. A: Unterseite des Filteradapters mit quadratischer Aussparung in der Silikondichtung; B: Filteradapter mit eingelegtem Si-Filter; C: Mikroanalysen-Filterhalter mit integriertem Filteradapter; D: komplette Filtrationseinheit auf Vakuum-Saugflasche montiert; E: Si-Filter nach Filtration einer Mikroplastik-Modell-Probe aus fragmentierten PE und PS-Partikeln. Abbildung entnommen aus Käppler et al., 2015.

Die mechanische Beständigkeit der Si-Filter wurde durch eine Filtration einer wässrigen Mikroplastik-Modell-Probe (gemahlene PE- und PS-Fragmente) erfolgreich getestet. Beide Si-Filter (*Design 1* und *2*) ermöglichten die Filtration von mindestens 50 – 100 ml Probenflüssigkeit und zeigten nach der Filtration keine Beeinträchtigung. Lediglich sehr dünne Si-Filter (Schichtdicke 105 μm) neigen beim Ablösen vom Aufbewahrungsträger dazu, zu splintern oder zu zerbrechen. Hier ist auf ein entsprechend sorgsames Handling zu achten.

4.1.3 Charakterisierung der Porenmorphologie der Filter mittels SEM

Um die Porenstruktur und –anordnung der hergestellten Si-Filter zu verdeutlichen, wurden von Ober- und Unterseite sowie vom Querschnitt SEM-Bilder aufgenommen (Dr. P. Formanek, M. Göbel, Abteilung Nanostrukturierte Materialien, IPF). Für den Querschnitt wurden die Filter mit einem Skalpell angeritzt und nachfolgend gebrochen. Eine weitere Probenvorbereitung fand nicht statt.

Außerdem wurden eine kommerziell erhältliche Si-Membran und ein konventioneller Anodisc-Filter vermessen. Der Anodisc-Filter wurde vor der Messung unter Vakuum mit Hilfe eines Sputter Coaters (EM SCD 500, Leica, Wetzlar) mit Kohlenstoff bedampft.

Die SEM-Messung erfolgte am NEON 40EsB (Carl Zeiss AG, Oberkochen). Es wurde eine Beschleunigungsspannung von 3 kV verwendet.

Si-Filter *Design 1* und *Design 2*

Die erhaltenen SEM-Bilder sind in Abbildung 4.5 dargestellt. Beide Filter (*Design 1* und *2*) weisen eine regelmäßige, hexagonale Porenanordnung auf. Die Poren liegen im betrachteten Ausschnitt vollständig geöffnet vor.

Der Porendurchmesser der Si-Filter mit *Design 1* (Schichtdicke 250 μm) beträgt auf der Oberseite ca. 16 μm und auf der Unterseite ca. 8 – 10 μm . Die Poren verlaufen somit konisch, was besonders anhand des Filter-Querschnittes (Abbildung 4.5 links unten) zu sehen ist. Die Ursache dafür liegt im Herstellungsprozess der Si-Filter. Während des Ätzprozesses wird auf der Oberseite der Fotolack, der eigentlich als Schutzschicht für das umliegende Silizium-Material dienen soll, vor allem im Bereich der Porenöffnungen verbraucht. Die Schutzwirkung lässt somit nach. Dies führt zu einer Verbreiterung der Porenöffnung verglichen mit dem nominellen Porendurchmesser nach der UV-Entwicklung des Fotolacks.

Beim Einlegen des Si-Filters in die Filtrationseinheit ist somit darauf zu achten, dass die Unterseite des Filters (kleinere Porendurchmesser) nach oben zeigt. Der konische Probenverlauf ist umso stärker ausgeprägt, je größer die Schichtdicke des Filters ist. Bei Si-Filtern mit einer Dicke von 175 μm beträgt der Unterschied zwischen Ober- und Unterseite beispielsweise nur 2-3 μm .

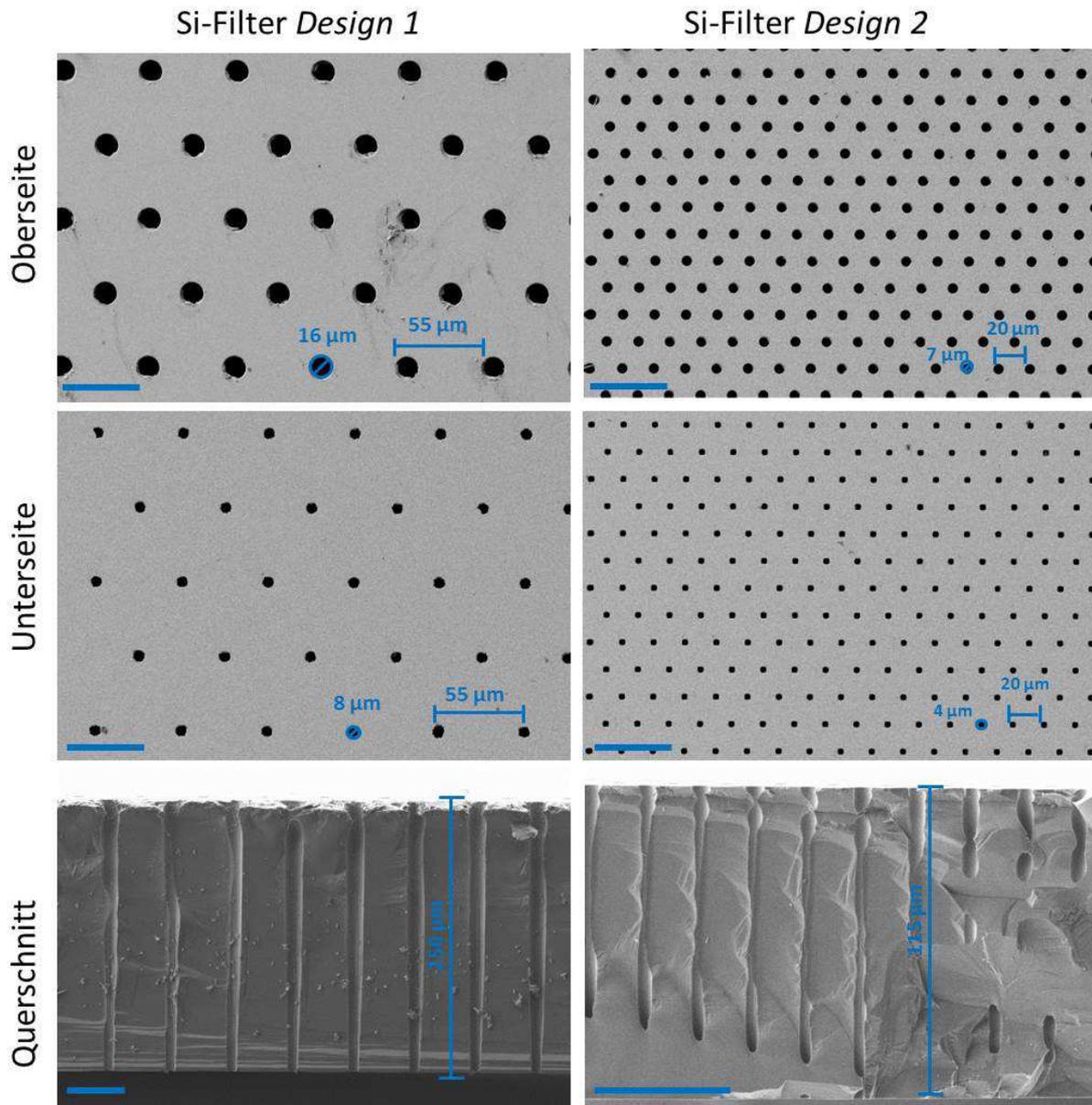


Abbildung 4.5: SEM-Bilder von Si-Filter *Design 1* (Schichtdicke 250 µm) (links) und *Design 2* (Schichtdicke 115 µm) (rechts) jeweils von der Oberseite (oben), Unterseite (Mitte) und vom Querschnitt (unten); alle Größenbalken entsprechen 50 µm.

Anhand des Porenquerschnitts (Abbildung 4.5 links unten) wird außerdem sichtbar, dass in den Poreninnenwänden in einer Ätztiefe von ca. 150 µm Furchen bzw. Rillen im Si-Material auftreten. Dies ist ebenfalls technologisch bedingt und könnte durch optimierte Parameter im Bosch-Prozess vermieden werden. Dies war für die hier vorliegende Anwendung jedoch nicht nötig.

Der Pitch (Lochabstand) von 55 µm ist bei *Design 1* relativ hoch, sodass lediglich eine Lochdichte von ca. 380 Löcher/mm² erreicht wird. Um die Porosität und damit die Filterleistung der Si-Filter zu erhöhen und zudem auch kleinere Partikel (< 10 µm) sicher zurückhalten zu können, wurden das *Design 2* entwickelt und entsprechende Filter produziert. Die SEM-Bilder dieser Filter (Schichtdicke 115 µm) sind der Abbildung 4.5 rechts zu entnehmen. Die Si-Filter weisen einen Porendurchmesser von ca. 7 µm (Oberseite) bzw. ca. 4 µm (Unterseite) und einen Pitch von 20 µm auf. Wie in Abbildung

4.5 ersichtlich, liegt bei *Design 2* eine deutlich höhere Lochdichte (ca. 2900 Löcher/mm²) im Vergleich zu *Design 1* vor. Somit ermöglichen die Si-Filter mit *Design 2* eine schnellere Filtration von wässrigen Proben und garantieren gleichzeitig, dass Partikel ab einer Größe von 5 µm sicher zurück gehalten werden können.

Anodisc-Filter

Die SEM-Bilder des untersuchten Anodisc-Filters sind in Abbildung 4.6 zu sehen. Bei einer 350fachen Vergrößerung (Abbildung 4.6a), die in etwa der üblichen Vergrößerung der verwendeten Raman- und FTIR-Mikroskope (mit dem 20x-Objektiv bzw. 15x-Objektiv) entspricht, sind keine regelmäßigen Porenstrukturen zu erkennen. Vielmehr weist der Anodisc-Filter unregelmäßige Unebenheiten in Form von „Dellen“ auf, was v.a. in Abbildung 4.6b ersichtlich wird.

Die im Anodisc enthaltenen Poren werden erst mit einer 30000-fachen Vergrößerung sichtbar (Abbildung 4.6c) und weisen einen Durchmesser von ca. 220 nm auf. Die Poren sind unregelmäßig angeordnet und haben eine ovale Struktur.

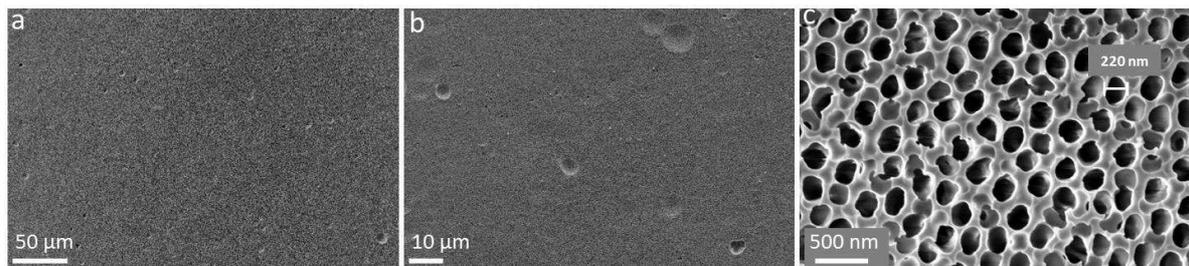


Abbildung 4.6: SEM-Bilder von einem kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter (Oberseite) mit unterschiedlicher Vergrößerung (a: 350x (analog zu Abbildung 4.5), b: 1000x, c: 30000x).

Si-Membran

Abbildung 4.7 zeigt die SEM-Bilder einer kommerziell erhältlichen Si-Membran (Schichtdicke 220 µm). Die Si-Membran verfügt wie die vom IZM hergestellten Si-Filter über eine regelmäßige, hexagonale Porenanordnung. Die Porendurchmesser und der Pitch betragen hier jedoch 1 µm und 1,5 µm.

Im Gegensatz zu den vom Fraunhofer IZM hergestellten Si-Filtern verlaufen die ins Si-Material eingebrachten Poren hier nicht konisch. Allerdings erscheint die Porenöffnung auf der Vorderseite (Abbildung 4.7a) quadratisch und auf der Rückseite (Abbildung 4.7b) sechseckig. Die Porenninnenwände erscheinen leicht rau, weisen aber keine Furchen oder Rillen auf. Auffällig war, dass nicht alle Poren vollständig geöffnet vorlagen (Abbildung 4.7a). Dennoch war es möglich, eine wässrige Mikroplastik-Modell-Probe unter Vakuum zu filtrieren, wobei gleichzeitig die mechanische Beständigkeit der Si-Membran erfolgreich überprüft wurde.

Mit dem Raman-Mikroskop (100x-Objektiv) war es nicht möglich, die Poren auf der Membran-Rückseite zu fokussieren, obwohl dies auf der Membran-Vorderseite möglich war. Der Grund hierfür

liegt in der Oberflächenstruktur der Si-Membran-Rückseite, die durch 0,8 – 1 µm große Spitzen an den Porenöffnungen gekennzeichnet sind (siehe Abbildung 4.7c).

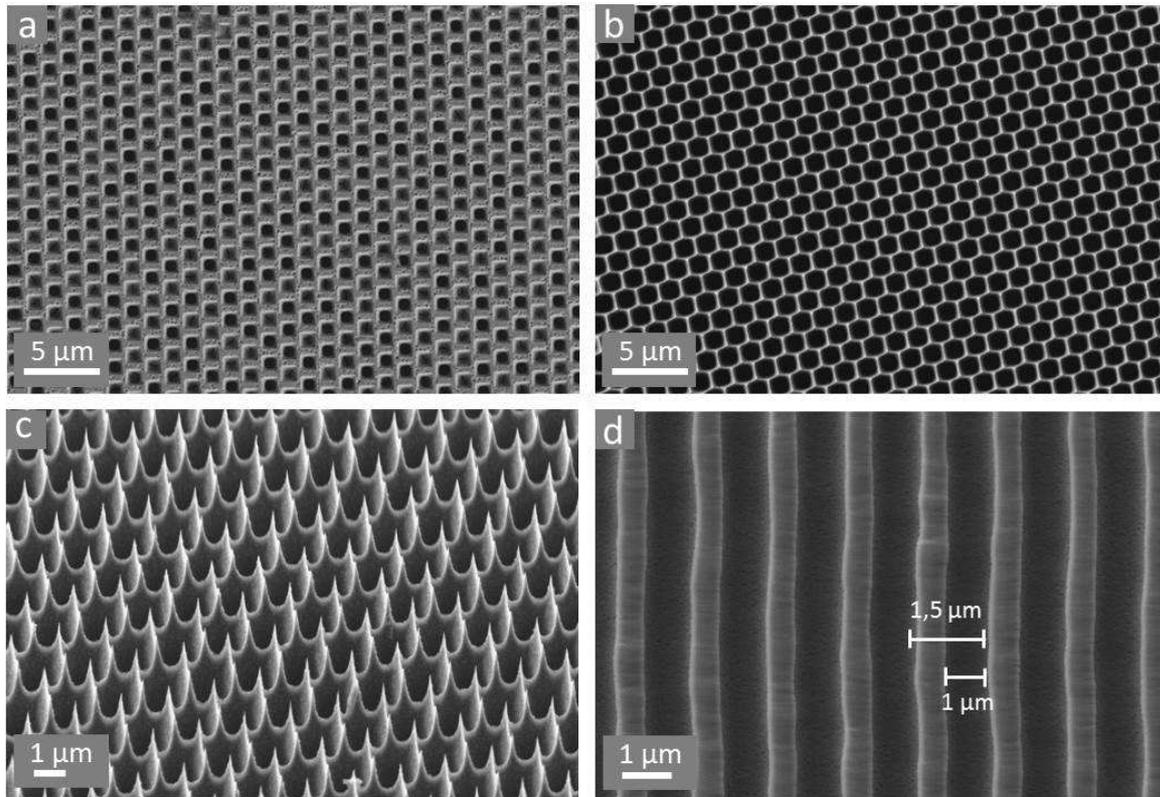


Abbildung 4.7: SEM-Bilder von einer kommerziell erhältlichen Si-Membran. A: Vorderseite, b: Rückseite, c: Ausschnitt eines Querschnitts, d: Rückseite stark vergrößert im 45° Winkel aufgenommen.

Die Unterschiede zwischen den vom Fraunhofer IZM und den von der Firma SmartMembranes hergestellten Si-Filtern bzw. Si-Membranen sind im Wesentlichen in der verwendeten Ätztechnologie begründet. Beim IZM wurde ein Trockenätz-Verfahren angewendet, die Firma SmartMembranes verwendet ein elektrochemisches Ätzverfahren.

4.1.4 Spektroskopische Charakterisierung der Filter

4.1.4.1 IR-Spektroskopische Charakterisierung

Si-Filter Design 1 im Vergleich mit dem Anodisc-Filter

Im ersten Schritt der **spektroskopischen Charakterisierung der Si-Filter** mit *Design 1* wurden von den leeren Filtern Transmissionspektren über eine Fläche von ca. 50 mm² (Lochblende Ø 8 mm) aufgenommen (Vertex 80v, DLATGS-Detektor, spektrale Auflösung 4 cm⁻¹, 32 Scans, Hintergrund: leerer Probenraum unter Vakuum). In Abbildung 4.8 sind die resultierenden IR-Spektren von drei Si-Filtern mit den Schichtdicken 250 µm, 195 µm und 175 µm dargestellt.

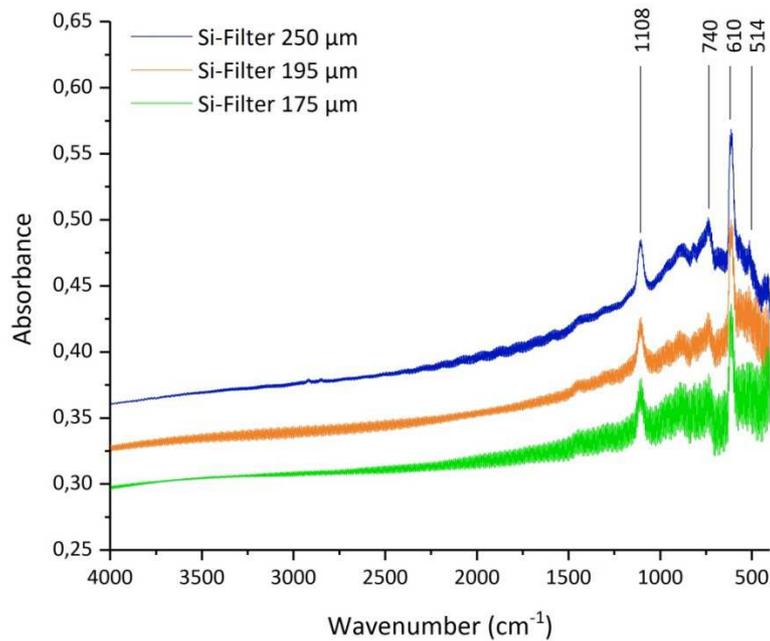


Abbildung 4.8: Transmission IR-Spektren von Si-Filtern (*Design 1*) unterschiedlicher Schichtdicke; blau: Schichtdicke 250 μm , orange: Schichtdicke 195 μm , grün: Schichtdicke 175 μm .

Die Si-Filter zeigen einige schwach ausgeprägte Banden im Fingerprint-Bereich. Die Bande bei 1108 cm^{-1} stammt von der asymmetrischen Si-O-Si Streckschwingung von interstitiellen (zwischen regulären Gitterplätzen befindlichen) Sauerstoff-Verunreinigungen im Si-Material (Medernach, 2006). Die Banden bei 740 und 610 cm^{-1} sind auf Gitterschwingungen des Siliziums zurückzuführen, wobei die Bande bei 610 cm^{-1} auch von Si-C-Schwingungen von substitutionellen (auf regulären Gitterplätzen befindlichen) Kohlenstoff-Verunreinigungen überlagert werden kann (Medernach, 2006). Die Bande bei 514 cm^{-1} stammt ebenfalls von interstitiellen Sauerstoff-Einschlüssen, ist aber im Vergleich zur Hauptbande bei 1108 cm^{-1} wesentlich schwächer ausgeprägt.

Auffällig an den Transmissionsspektren der Si-Filter ist das ausgeprägte Interferenz-Muster, welches durch die Mehrfachreflexion des IR-Strahls zwischen den planparallelen Grenzflächen des Si-Filters entsteht. Die Intensität der Interferenz ist dabei abhängig von der Wellenzahl des IR-Strahls (steigende Intensität bei kleineren Wellenzahlen) und von der Schichtdicke des Si-Filters (steigende Intensität bei geringerer Schichtdicke). Zusätzlich dazu ist das Interferenz-Muster umso ausgeprägter, je höher die spektrale Auflösung bei der Messung gewählt wird. Das Auftreten der Interferenz wird bei der spektroskopischen Untersuchung von Mikroplastik-Partikel auf dem Si-Filter eliminiert, wenn der pure Si-Filter als Hintergrund verwendet wird (vergleiche auch Abbildung 4.11). Allerdings kann es bei Messungen mit dem FPA-Detektor dennoch zu störenden Interferenz-Erscheinungen kommen, wenn der Interferenz-Verlauf des Hintergrund-Pixels nicht genau identisch mit dem des Probe-Pixels ist.

Daher wurde für die folgenden Untersuchungen der Si-Filter mit einer Schichtdicke von 250 μm gewählt, da bei diesem die Interferenz am schwächsten ausgebildet war. Allerdings weist dieser im

Vergleich zu den anderen beiden Si-Filtern (Schichtdicken 195 und 175 μm) eine höhere Grundabsorption (0,36 Absorptionseinheiten (AU) bei 4000 cm^{-1} bis 0,46 AU bei 400 cm^{-1}) auf. Dies hat zur Folge, dass insgesamt weniger Licht durch das Messsubstrat hindurch gelangen kann und somit weniger Licht für die Untersuchung der auf dem Substrat befindlichen Partikel zur Verfügung steht. Bei einer zu hohen Grundabsorption können möglicherweise schwache Polymerbanden nicht detektiert werden oder es andererseits bei dicken Proben schneller zu Totalabsorptionen kommen.

In der von Löder et al., 2015 veröffentlichten Studie, bei der verschiedene kommerziell erhältliche Filter für die Anwendbarkeit für Transmission IR Imaging-Messungen von Mikroplastik-Proben getestet wurden, wurde eine Grundabsorption von maximal 0,5 AU im relevanten IR-Bereich als akzeptierbar angesehen. Diese Anforderung wird durch alle drei Si-Filter (250, 195 und 175 μm Schichtdicke) erfüllt.

Im zweiten Schritt fand ein **Vergleich der spektroskopischen Eigenschaften des Si-Filter (Design 1, Schichtdicke 250 μm) mit denen des herkömmlichen Anodisc-Filters** statt. Dazu wurden wiederum Transmissionsspektren über eine Fläche von ca. 50 mm^2 (Lochblende \varnothing 8 mm) mit identischen Messparametern (siehe oben) aufgenommen. In Abbildung 4.9 sind die erhaltenen Spektren des Si-Filters (blau) im Vergleich zum Anodisc-Filter (rot) dargestellt.

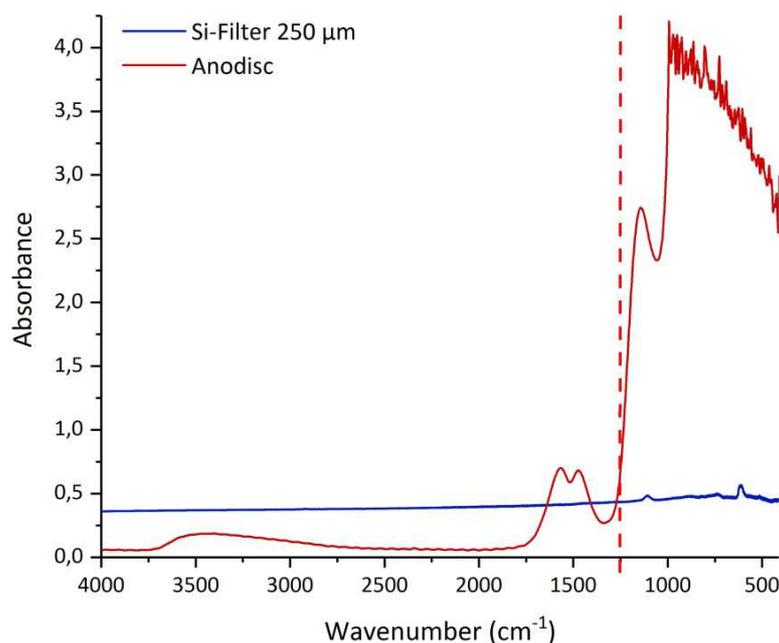


Abbildung 4.9: Transmission IR-Spektren von einem Si-Filter (Design 1, 250 μm) (blau) im Vergleich zu einem kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter (rot). Abbildung modifiziert nach Käppler et al., 2015.

Der Anodisc-Filter zeigt eine breite Doppelbande bei 1745 – 1375 cm^{-1} von mittlerer Intensität und eine sehr stark ausgeprägte Selbstabsorption im Wellenzahlenbereich von 1250 bis 400 cm^{-1} . Der Anodisc-Filter ist somit nur im Bereich von 4000 – 1250 cm^{-1} als Messsubstrat für die Transmission FTIR-Mikroskopie nutzbar. Gerade der Fingerprint-Bereich (1400 – 400 cm^{-1}), in dem

charakteristische und für eine eindeutige Identifizierung wichtige Polymerbanden auftreten, ist stark begrenzt.

Im Gegensatz dazu weist der Si-Filter im gesamten mittleren Infrarot-Bereich von $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ lediglich die oben genannten Absorptionsbanden bei $1108, 740, 610$ und 514 cm^{-1} auf. Die Intensität dieser Banden ist im Vergleich zum Anodisc-Filter deutlich schwächer ausgebildet und somit von vernachlässigbarer Bedeutung. Der Si-Filter weist verglichen mit dem Anodisc-Filter eine etwas höhere Grundabsorption auf, wodurch in der Summe weniger Licht durch das Material hindurch dringen kann.

Im dritten Schritt wurde die **Anwendbarkeit des Si-Filters (Design 1, Schichtdicke $250 \mu\text{m}$) als Messsubstrat für darauf befindliche Mikroplastik-Modell-Partikel** getestet und mit dem herkömmlichen Anodisc-Filter verglichen.

Als erstes Beispiel wurden kleine Schmelzfolienstücke (ca. $1 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$, Dicke ca. $15 \mu\text{m}$, vgl. Abschnitt 3.4) aus PE und PP auf den Si-Filter bzw. auf den Anodisc-Filter positioniert und Einzelpunkt-Messungen in Transmission mit dem IR-Mikroskop (Hyperion 2000, Schneideblende ca. $200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$, spektrale Auflösung: 4 cm^{-1} , Scananzahl 32, Hintergrund: Luft) durchgeführt.

PE und PP stellen bislang die am häufigsten detektierten Polymerarten von Mikroplastik in Umweltproben dar (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Die erhaltenen Spektren sind in Abbildung 4.10 zu sehen.

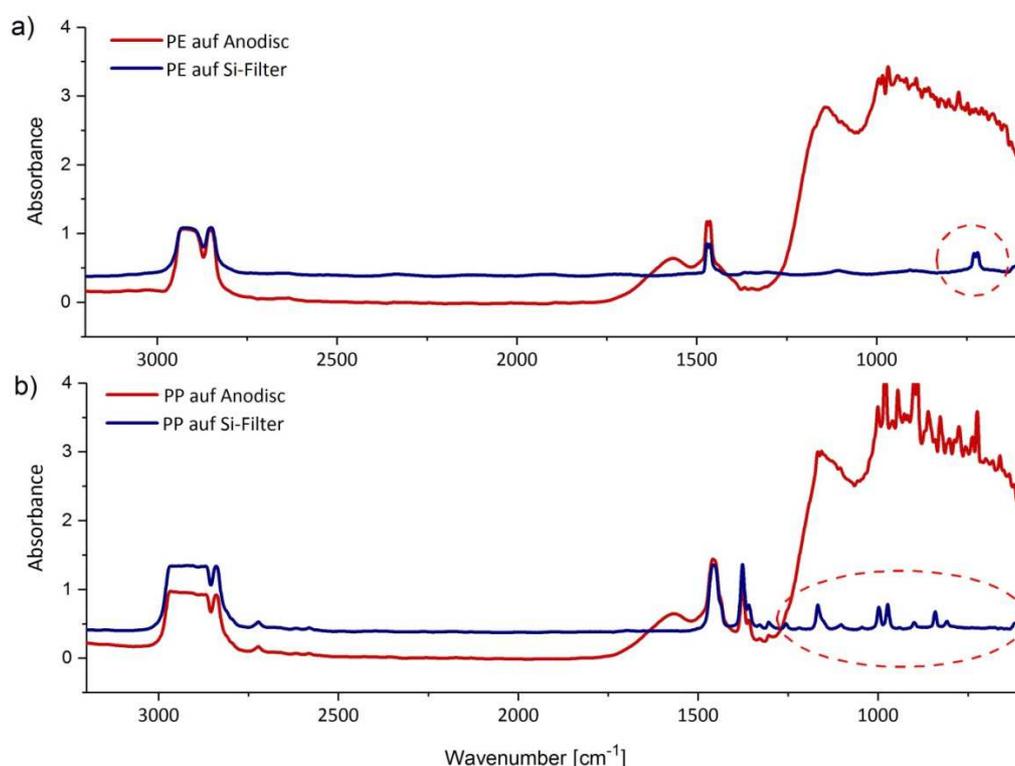


Abbildung 4.10: Transmission IR-Spektren von Mikroplastik-Modell-Proben aus PE (a) und PP (b) positioniert auf den Si-Filter (blau) bzw. auf den Anodisc-Filter (rot) ohne Subtraktion des jeweiligen Filtersubstrates (Hintergrundmessung gegen Luft). PE und PP-Banden, die ausschließlich mit Hilfe des Si-Filters detektiert werden können, sind durch einen roten Kreis markiert. Abbildung modifiziert nach Käßler et al., 2015.

Unabhängig vom unterliegenden Filter sind im Bereich von $3000 - 2800 \text{ cm}^{-1}$ die Banden der CH_2 (PE) bzw. der CH_2/CH_3 (PP) Streckschwingungen deutlich sichtbar. Obwohl die Dicke der untersuchten Mikroplastik-Modell-Partikel (ca. $15 \mu\text{m}$) verglichen mit der Dicke, die für Mikroplastik-Partikel aus realen Umweltproben erwartet wird, relativ gering ausfällt, tritt bei den oben genannten Banden Totalabsorption auf. Somit ist eine weiterführende, detaillierte Charakterisierung dieser Banden nicht möglich, was die analytische Aussagekraft dieser Banden stark einschränkt.

Die Biegeschwingungsbanden der CH_2 und CH_3 -Gruppen von PE und PP sind sowohl in den zum Anodisc (rot) als auch zum Si-Filter (blau) gehörenden Spektren im Wellenzahlenbereich von $1500 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ deutlich sichtbar. Allerdings wird die Bande bei ca. 1460 cm^{-1} bei beiden Polymeren durch die Eigenbanden des Anodisc-Filters überlagert. Im Gegensatz dazu beeinflusst der Si-Filter die Polymer-Spektren in diesem Bereich nicht.

Darüber hinaus sind bei Verwendung des Anodisc-Filters als Messsubstrat die Polymerbanden im Bereich ab 1250 bis 600 cm^{-1} durch die sehr starke Selbstabsorption des Filters vollständig maskiert. Wie in Abbildung 4.10 ersichtlich, ermöglicht der Si-Filter dahingegen Polymerbanden auch im Fingerprintbereich und darunter sicher zu detektieren und zu charakterisieren. Somit werden die CH_2 Kippschwingung des PE bei 725 cm^{-1} (Abbildung 4.10a, blaues Spektrum) und zahlreiche Kopplungsbanden (CH_2/CH_3 Kippschwingungen und C-C Streckschwingung) des PP zwischen 1200 und 700 cm^{-1} (Abbildung 4.10b, blaues Spektrum) sichtbar.

Bei Verwendung des Anodisc-Filters zur Untersuchung von Mikroplastik-Proben ist eine Unterscheidung von PE und PP nur anhand der Bande bei 1377 cm^{-1} (symmetrische CH_3 Biegeschwingung des PP) möglich. Der Si-Filter erlaubt hingegen eine Unterscheidung und eindeutige Identifizierung dieser beider Polymere anhand der zusätzlichen Banden im Fingerprintbereich. Darüber hinaus ist zu bemerken, dass neben synthetischen Polymeren die meisten organischen Substanzen ähnliche Schwingungsbanden im Bereich von $3200 - 1250 \mu\text{m}$ (nutzbarer Bereich des Anodisc) aufweisen. Vor allem die CH_2/CH_3 Streckschwingungen bei $3000 - 2800 \text{ cm}^{-1}$ und Biegeschwingungen bei $1500 - 1350 \text{ cm}^{-1}$ sind nicht spezifisch genug, um eine sichere Abgrenzung von anderen organischen Verbindungen (wie z.B. niedermolekulare Kohlenwasserstoffe oder technische Wachse) vorzunehmen. Für eine sichere Identifizierung von Mikroplastik-Partikeln aus Umweltproben sollte somit der gesamte mittlere Infrarot-Bereich einschließlich des Fingerprint-Bereiches untersucht und in die Auswertung einbezogen werden.

Als zweites Beispiel, das die Vorzüge des Si-Filters im Vergleich zum Anodisc-Filter verdeutlichen soll, wurden Mikroplastik-Modell-Proben aus PET und PBT (Schmelzfolienstücke, ca. $1 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$, ca. $15 \mu\text{m}$ dick, vgl. Abschnitt 3.4) auf die beiden zu untersuchenden Filter platziert und Einzelpunktmessungen in Transmission mit dem IR-Mikroskop durchgeführt (Hyperion 2000,

Schneideblende ca. 200 μm x 200 μm , spektrale Auflösung: 4 cm^{-1} , Scananzahl 32, Hintergrund: jeweiliges Filtersubstrat).

PET und PBT gehören zu den thermoplastischen Polyestern, wobei PET zu den am meisten nachgefragten Kunststoffen (ca. 7 % des gesamten Kunststoffbedarfs in Europa (PlasticsEurope, 2016)) zu zählen ist und hauptsächlich in der Verpackungsindustrie (z.B. Getränkeflaschen) und als Textilfaser zur Anwendung kommt. PBT wird hingegen für Spezialanwendungen in der Elektrotechnik oder in der Automobilindustrie verwendet (Olabisi, 1997).

Die chemische Struktur von PET und PBT unterscheidet sich lediglich in der Länge des aliphatischen Segmentes innerhalb der Monomereinheit (PET: zwei Methylengruppen, PBT: vier Methylengruppen). Daher sehen die IR-Spektren dieser beiden Polymere sehr ähnlich aus (vergleiche Abbildung 4.11).

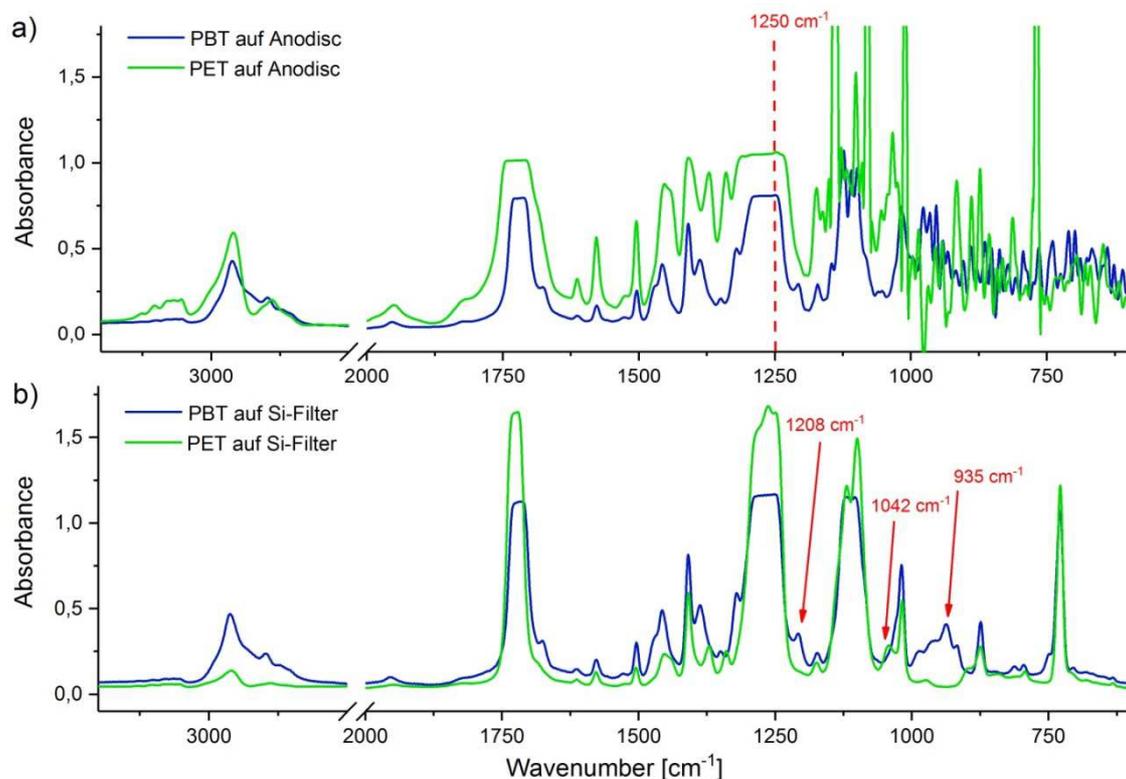


Abbildung 4.11: Transmission IR-Spektren von Mikroplastik-Modell-Proben aus PET (grün) und PBT (blau) positioniert auf den Anodisc-Filter (a) bzw. auf den Si-Filter (b) mit Subtraktion des jeweiligen Filtersubstrates (Hintergrundmessung gegen den jeweiligen Filter). Abbildung modifiziert nach Käßler et al., 2015.

Abbildung 4.11a zeigt einen Vergleich der PET und PBT-Mikroplastik-Modell-Proben, die auf den Anodisc-Filter platziert wurden. Die starke Selbstabsorption des Filters im Bereich von 1250 – 600 cm^{-1} lässt eine Bandenauswertung in diesem Wellenzahlenbereich nicht zu, da die Probenbanden vollständig vom Filter überlagert werden. Da PET und PBT einen nahezu identischen Bandenverlauf im vorderen Wellenzahlenbereich (3200 – 1250 cm^{-1}) aufweisen, ist eine sichere Unterscheidung der beiden Polymere unter Verwendung des Anodisc-Filters nicht möglich. Lediglich die Bandenintensitäten einzelner Banden des PET und PBT unterscheiden sich.

Im Gegensatz dazu sind bei Anwendung des Si-Filters als unterliegendem Messsubstrat alle charakteristischen Polymerbanden der beiden Polymere sichtbar (Abbildung 4.11b). Durch eine detaillierte Bandenzuordnung im Bereich von 1500 bis 600 cm^{-1} können spektroskopische Unterschiede zwischen PET und PBT erkannt werden. PBT zeigt beispielsweise zusätzliche Banden bei 1208 und 935 cm^{-1} , welche in PET nicht gefunden werden können. Im PET-Spektrum tritt andererseits eine charakteristische Bande bei 1042 cm^{-1} auf, welche in PBT nicht vorkommt. Die Bande bei 1042 cm^{-1} resultiert von Ethylenglykol-Gruppen ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$) in der *gauche*-Konformation innerhalb amorpher Bereiche des PET (Schmidt, 1963). Die Bande bei 935 cm^{-1} im PBT-Spektrum kann ebenfalls amorphen Bereichen zugeordnet werden (Menzheres et al., 1984).

Bei Verwendung des Si-Filters ist mit Hilfe der charakteristischen Bandenprofile im Bereich von $1500 - 600\text{ cm}^{-1}$ somit eine eindeutige Unterscheidung von PET und PBT möglich.

Die **Eignung des Si-Filters als Messsubstrat für Transmission FTIR Imaging** wurde an einer Mikroplastik-Modell-Probe bestehend aus PET- und PBT-Folienstückchen ($0,5\text{ mm} \times 0,5\text{ mm}$, ca. $15\text{ }\mu\text{m}$ dick) auf einen Si-Filter getestet. Es wurde eine Fläche von $1000\text{ }\mu\text{m} \times 1500\text{ }\mu\text{m}$ (6×9 FPA-Felder) in Transmission ($15\times$ IR-Objektiv) mit dem FPA-Detektor gemessen (spektrale Auflösung: 8 cm^{-1} , Scananzahl: 16, kein Binning, Hintergrund: freie Stelle des Si-Filters, 32 Scans).

Mit Hilfe der oben genannten, spezifischen Banden (1042 cm^{-1} für PET bzw. 935 cm^{-1} für PBT) war es möglich für jedes der beiden Polymere ein eigenes IR-Image zu erstellen. Diese sind in Abbildung 4.12b+c dargestellt und durch ein optisches Übersichtsbild der Mikroplastik-Modell-Probe (a) ergänzt. In den IR-Images werden Regionen mit einer hohen Intensität im gewählten Bandenbereich ($1060-1033\text{ cm}^{-1}$ für PET und $955-925\text{ cm}^{-1}$ für PBT) rot visualisiert.

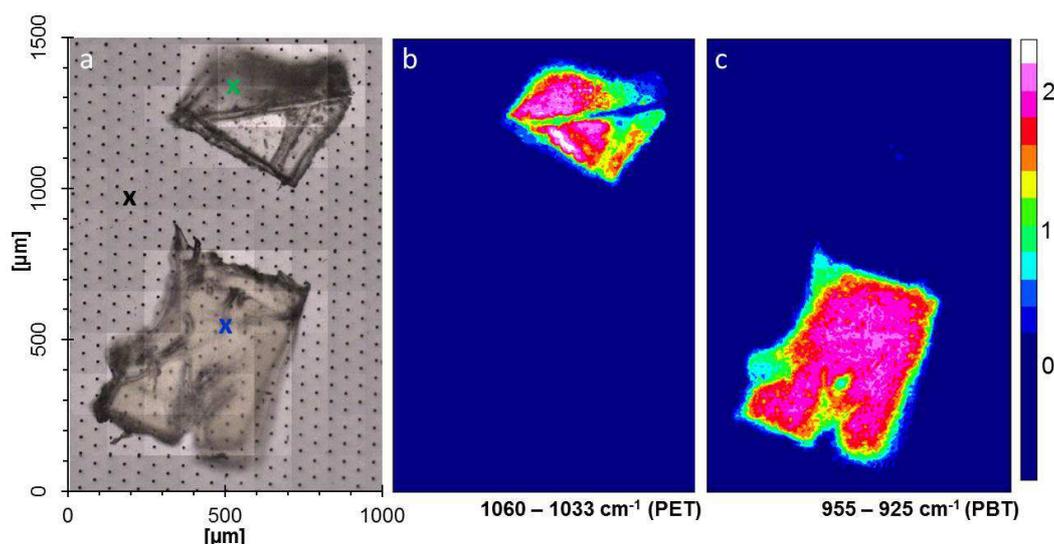


Abbildung 4.12: Optisches Bild (a) und IR Images (b+c) einer Mikroplastik-Modell-Probe auf einem Si-Filter (*Design 1*, $250\text{ }\mu\text{m}$ Schichtdicke). Die IR Images wurden durch Integration der Bandenbereiche $1060 - 1033\text{ cm}^{-1}$ für PET bzw. $955 - 925\text{ cm}^{-1}$ für PBT erzeugt. Der Farbbalken gibt die Intensität der integrierten Banden jedes Pixels wieder. Alle drei Einzelbilder weisen den im optischen Bild (a) gekennzeichneten Maßstab auf. Die Kreuze im optischen Bild (a) geben die Position der in Abbildung 4.13 dargestellten extrahierten Spektren wieder. Abbildung modifiziert nach Käppler et al., 2015.

Zusätzlich dazu wurden von beiden Polymeren sowie vom unterliegenden Substrat (Si-Filter) jeweils ein Spektrum an der in Abbildung 4.12a gekennzeichneten Position (farbige Kreuze) aus der IR Imaging-Messung extrahiert. Die erhaltenen Spektren können der Abbildung 4.13 entnommen werden.

Beide Polymerspektren werden vom untenliegenden Si-Filter nicht negativ beeinflusst. Lediglich im Bereich von 2800 bis 1800 cm^{-1} kann eine leichte „Wellenlinie“ beobachtet werden. Diese stammt vermutlich vom Interferenzmuster des Si-Filters und konnte durch die pixelabhängige Hintergrund- und Probenmessung nicht vollständig eliminiert werden. Bei Verwendung des FPA-Detektors wird für jedes FPA-Pixel ein Hintergrund aufgenommen. Stimmt bei der anschließenden Probenmessung die Loch-Zwischenraum-Position des Si-Filters von Hintergrund und Probe für den jeweiligen Pixel nicht komplett überein, kommt es zu den in Abbildung 4.13a+b ersichtlichen wellenartigen Störungen. Diese sind umso höher, je mehr sich die Loch-Zwischenraum-Positionen auf dem Si-Filter bei Hintergrund- und Probemessung unterscheiden. So sind die unterschiedlich stark ausgeprägten Wellenlinien in Abbildung 4.13 zu erklären. Der unterliegende Si-Filter zeigt erwartungsgemäß eine nahezu gerade Grundlinie (Abbildung 4.13c).

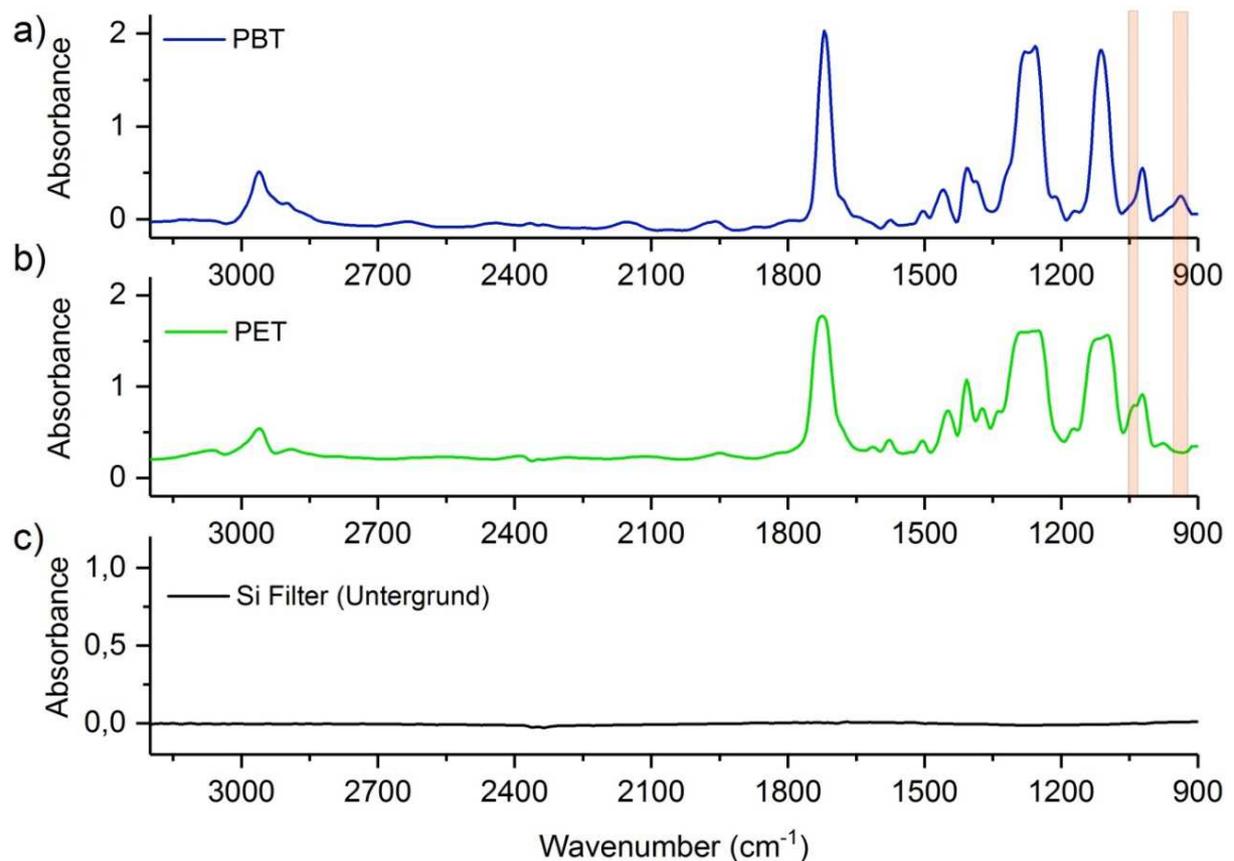


Abbildung 4.13: Transmission IR-Spektren von PBT (blau - a), PET (grün - b) und dem unterliegenden Si-Filter (schwarz - c) resultierend aus der IR Imaging Messung. Die x,y-Position der jeweiligen Spektren innerhalb des Images kann der Abbildung 4.12a (farbige Kreuze) entnommen werden. Die orangefarbenen Balken verdeutlichen die Bandenbereiche ($1060 - 1033\text{ cm}^{-1}$ für PET bzw. $955 - 925\text{ cm}^{-1}$ für PBT), die zur Erstellung der IR-Images in Abbildung 4.12 verwendet wurden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich der Si-Filter sehr gut als Messsubstrat für IR Imaging-Messungen von Mikroplastik-Proben eignet. Darüber hinaus macht es der Si-Filter möglich, die Verteilung zweier chemisch sehr ähnlicher Polymere innerhalb einer Probenfläche zu visualisieren und zu analysieren. Durch Auswahl geeigneter, charakteristischer Banden ist eine Unterscheidung auch von anderen synthetischen Polymeren möglich.

Si-Filter Design 2

Für die IR-spektroskopische Charakterisierung der Si-Filter mit *Design 2* wurden von den leeren Filtern (Schichtdicke 105 und 115 μm) Transmissionsspektren über eine Fläche von ca. 50 mm^2 (Lochblende \varnothing 8 mm) aufgenommen (Vertex 80v, DLATGS-Detektor, spektrale Auflösung 4 cm^{-1} , 32 Scans, Hintergrund: leerer Probenraum unter Vakuum). Die daraus resultierenden Spektren (105 μm pink, 115 μm violett) im Vergleich zu denen eines Si-Filters mit *Design 1* (Schichtdicke 250 μm – blau) sind Abbildung 4.14 gezeigt.

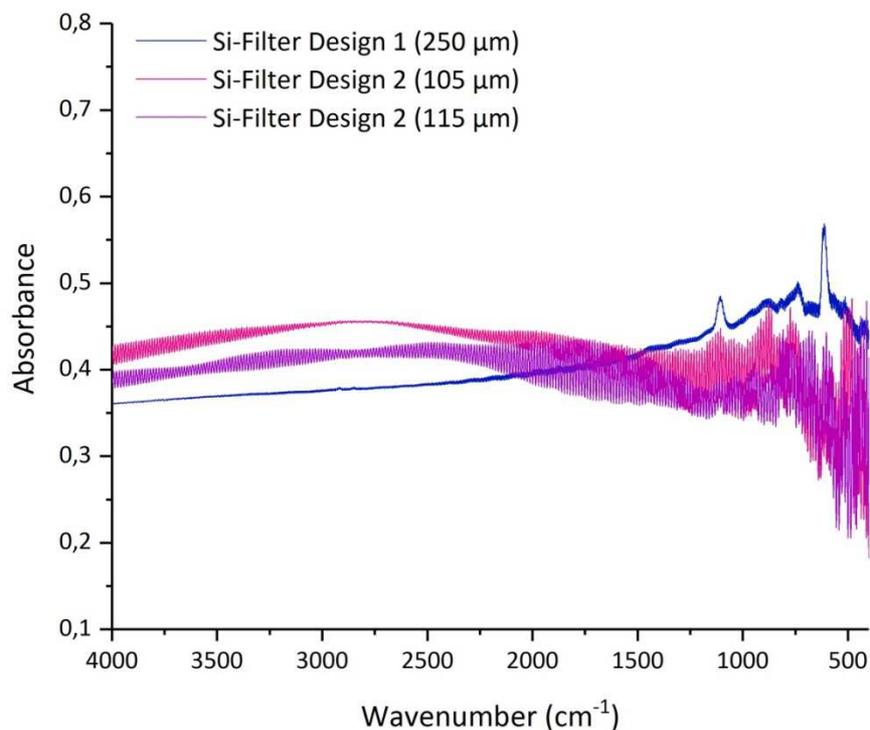


Abbildung 4.14: Transmission IR-Spektren von Si-Filter *Design 2* mit Schichtdicke von 105 μm (pink) bzw. von 115 μm (violett) im Vergleich zu Si-Filter *Design 1* mit einer Schichtdicke von 250 μm (blau).

Die Spektren der Si-Filter mit *Design 2* weisen ein deutlich stärker ausgeprägtes Interferenz-Muster auf, was durch die geringere Schichtdicke (105 bzw. 115 μm) im Vergleich zu denen mit *Design 1* (250 μm) begründet werden kann. Zunächst erstaunlich ist hingegen, dass die Grundabsorption trotz deutlich geringerer Schichtdicke höher liegt und zudem ein anderer Spektrenverlauf (sinkende Grundlinie bei kleineren Wellenzahlen) vorliegt. Dies macht deutlich, dass hier zusätzlich andere störende optische Effekte auftreten. An dieser Stelle sei erwähnt, dass sich sowohl das Silizium-Ausgangsmaterial als auch der technologische Herstellungsprozess bei beiden Designs nicht

unterschieden und somit als Gründe für das unterschiedliche spektroskopische Verhalten ausgeschlossen werden können.

Vielmehr wird vermutet, dass das geänderte Porendesign (kleinere Löcher, geringerer Lochabstand, größere Lochdichte) verantwortlich für die beobachteten optischen Phänomene ist. Um dies zu überprüfen und störende optische Effekte näher zu charakterisieren, wurden am Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften (ISAS, Berlin - PD Dr. Karsten Hinrichs, Ilona Engler) Infrarot-Spektroskopische Ellipsometrie (IRSE) und Modell-Simulationsberechnungen durchgeführt.

Die IRSE-Messungen ergaben dabei, dass der Polarisationsgrad bei *Design 2* unterhalb einer Wellenzahl von 1400 cm^{-1} deutlich einbricht. Dies war bei Si-Filtern mit *Design 1* nicht der Fall. Ein schlechter werdender Polarisationsgrad deutet auf Streueffekte an der Oberfläche hin. Da Streuung aufgrund von Rauigkeit ausgeschlossen werden kann (polierte Ober- und Unterseite), sind Beugungseffekte wahrscheinlich. Dies würde den Verlauf der IR-Spektren von *Design 2* unterhalb 1400 cm^{-1} erklären. Darüber hinaus zeigten RCWA-Rechnungen (rigorous coupled wave analysis), dass Interferenzmuster basierend auf Rayleighmoden verschiedener Ordnungen bei *Design 2* auftreten. *Design 1* zeigte diese Effekte im untersuchten Wellenzahlbereich nicht. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Porendurchmesser von *Design 2*, die in der Größenordnung der Wellenlänge des IR-Lichtes liegen, verantwortlich für die störenden optischen Effekte im IR-Spektrum der Si-Filter mit *Design 2* sind. Vermutlich basieren diese Störungen auf Beugungseffekten. Allerdings können zusätzliche Reflexionsverluste nicht ausgeschlossen werden.

Die Si-Filter mit *Design 2* sind somit für die FTIR-Spektroskopie von Mikroplastik-Proben nur beschränkt nutzbar. Im Vergleich zum Anodisc-Filter zeigt der Si-Filter mit *Design 2* dennoch eine deutlich geringere Eigenabsorption im Wellenzahlbereich von $1250\text{ cm}^{-1} - 400\text{ cm}^{-1}$ (Anhang Abbildung A. 1).

Si-Membran

Zum Vergleich wurden mehrere kommerziell erhältliche Si-Membranen (Porendurchmesser: $1\text{ }\mu\text{m}$, Pitch: $1,5\text{ }\mu\text{m}$, Schichtdicke: $220\text{ }\mu\text{m}$) der Firma SmartMembranes als IR-Messsubstrat getestet. Die erhaltenen Spektren zeigten alle einen ähnlichen Bandenverlauf, wobei sich allerdings die genauen Bandenpositionen und -intensitäten bei den einzelnen Proben geringfügig unterschieden. In Abbildung 4.15 sind die Transmissionsspektren (Vertex 80v, DLaTGS-Detektor, Lochblende $\varnothing 8\text{ mm}$, spektrale Auflösung 4 cm^{-1} , 32 Scans, Hintergrund: leerer Probenraum unter Vakuum) dreier leerer Si-Membranen exemplarisch gezeigt.

Den Spektren kann entnommen werden, dass zahlreiche, stark ausgeprägte Banden im gesamten Wellenzahlenbereich erscheinen. Vermutlich stammen diese von SiO_x-Niederschlägen und anderen Verunreinigungen auf oder innerhalb der Si-Membran. Die intensive Bande bei 1076 cm^{-1} kann der Si-O-Schwingung des SiO₂ zugeordnet werden. Es ist möglich, dass sich das Silizium-Ausgangsmaterial

deutlich von dem des Fraunhofer IZM genutzten unterschied. Genauere Informationen über die Beschaffenheit des Silizium-Ausgangsmaterials (z.B. Dotierungsgrad) liegen nicht vor. Eine detaillierte Bandenzuordnung wurde deshalb nicht vorgenommen.

Darüber hinaus ist ein Abfallen der Grundlinie zu verzeichnen, welches vermutlich durch die raue Unterseite (Verluste durch diffuse Reflexion) verursacht wird (vgl. dazu Medernach, 2006). Interessanterweise sind Interferenz-Muster nur im unteren Wellenzahlenbereich ($750 - 400 \text{ cm}^{-1}$) zusehen.

Durch das ausgeprägte Bandenprofil sowie die hohe Grundabsorption ist die Si-Membran nicht als Messsubstrat für IR-spektroskopische Messungen in Transmission geeignet.

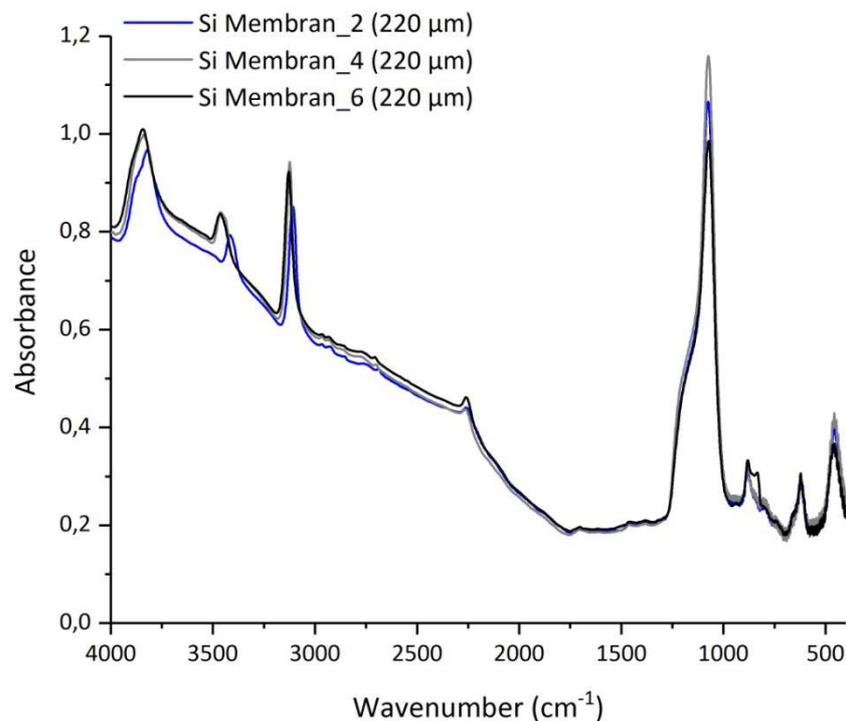


Abbildung 4.15: Transmission IR-Spektrum einer kommerziell erhältlichen Si-Membran (Schichtdicke $220 \mu\text{m}$, Porendurchmesser $1 \mu\text{m}$, Pitch $1,5 \mu\text{m}$).

4.1.4.2 Raman-spektroskopische Charakterisierung

Zusätzlich zur IR-spektroskopischen Charakterisierung wurden die Si-Filter mit *Design 1* und *2* sowie die kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter und Si-Membranen als Messsubstrate für die Raman-Mikroskopie getestet. Für die Messung wurde der Laser auf die Oberfläche des jeweiligen Filters fokussiert und folgende Messparameter verwendet: 532 nm , $20\times$ Objektiv (Nikon), Laserleistung: $5 - 10 \text{ mW}$, Integrationszeit: 500 ms , Scananzahl: 100 .

Bei der Raman-Spektroskopie handelt es sich, wie in Abschnitt 2.5.6.1 beschrieben, um eine Streumethode. Daher muss das eingestrahlte Licht das Messsubstrat und die Probe – anders als bei Transmission IR-Messungen – nicht durchstrahlen, sondern dringt lediglich in den Oberflächenbereich der Probe (in der Größenordnung von Mikrometern) ein. Außerdem kann der Laser aufgrund des geringen Messflecks gezielt an eine Loch-Zwischenraum-Position fokussiert und

dort gemessen werden. Dadurch hat das Porendesign keinen entscheidenden Einfluss auf das resultierende Raman-Spektrum. So zeigten sowohl die Si-Filter mit *Design 1* und 2 als auch die Si-Membran nahezu identische Spektren, wobei bei der Si-Membran eine geringfügige Fluoreszenz in der Basislinie zu verzeichnen ist (Anhang Abbildung A. 2).

Die Raman-Spektren eines Si-Filters (*Design 1*, Schichtdicke 250 μm) im Vergleich zu einem Anodisc-Filter sind in Abbildung 4.16 dargestellt.

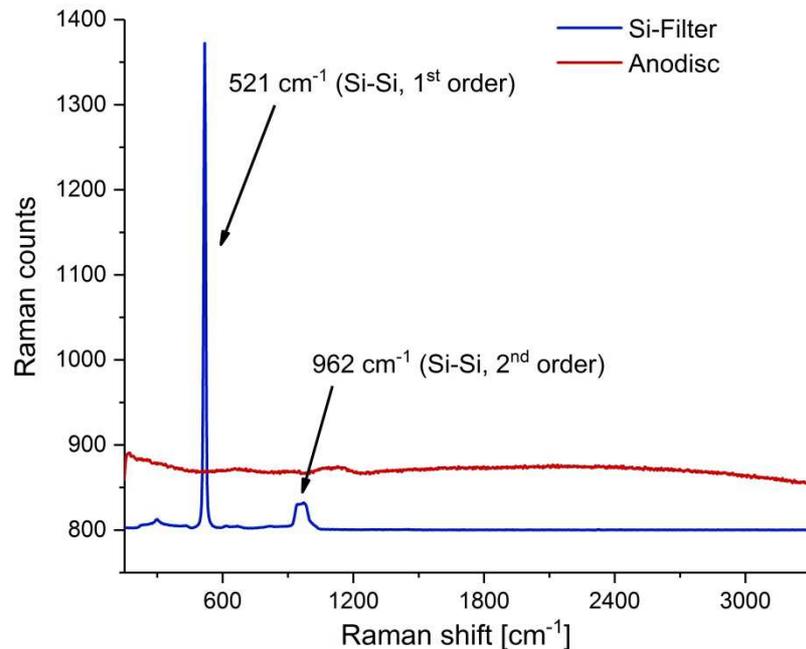


Abbildung 4.16: Raman-Spektren eines Si-Filters (*Design 1*, 250 μm - blau) und eines Anodisc-Filters (rot). **Abbildung modifiziert nach Käppler et al., 2015.**

Im Raman-Spektrum des Si-Filters ist die Gitterschwingungsbande (Si-Si) bei 521 cm^{-1} (1. Ordnung) und bei 962 cm^{-1} (2. Ordnung) deutlich zu sehen. Im Gegensatz dazu zeigt der Anodisc-Filter keine Raman-Banden im betrachteten Wellenzahlenbereich. Allerdings weist er eine schwach ausgeprägte Fluoreszenz auf.

Die detektierten Banden des Si-Materials bei 521 cm^{-1} und bei 962 cm^{-1} liegen in einem Bereich, in dem die meisten Polymere keine für die Identifizierung wesentlichen eigenen Banden aufweisen. Um zu zeigen, dass die Si-Banden die Spektren verschiedener Polymere nicht stören oder negativ beeinflussen, wurden Mikroplastik-Modell-Proben aus PE, PP, PET und PBT auf einen Si-Filter platziert und Einzelpunkt-Messungen (Messparameter wie oben beschrieben) durchgeführt. Die resultierenden Spektren sind in Abbildung 4.17 dargestellt.

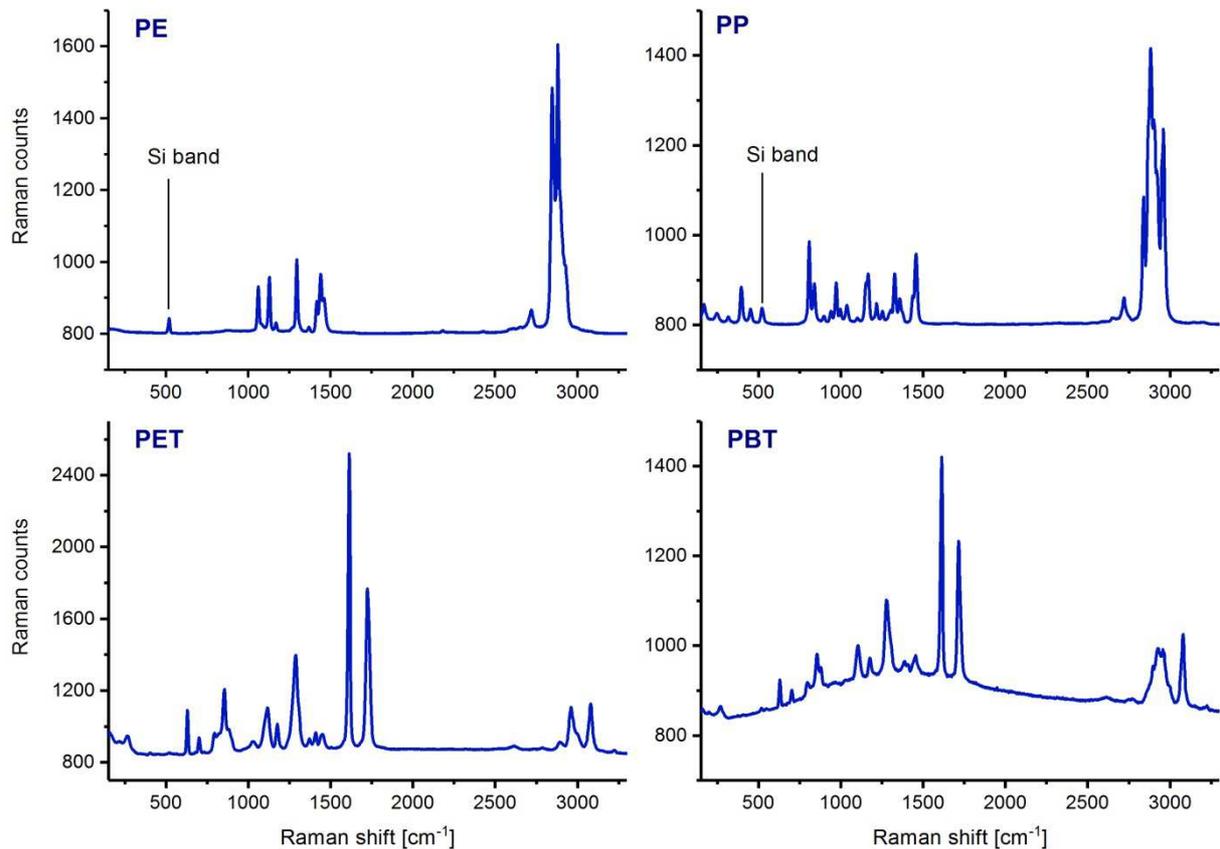


Abbildung 4.17: Raman-Spektren von Mikroplastik-Modell-Proben (1 mm x 2 mm, Dicke: 15 μm) aus PE, PP, PET und PBT platziert auf einen Si-Filter (*Design 1*, 250 μm). Abbildung entnommen aus Käppler et al., 2015.

Die Si-Si-Bande bei 521 cm^{-1} des unterliegenden Si-Filters ist im PE- und im PP-Spektrum mit schwacher Intensität zu sehen. Allerdings ist die Bande klar von den Polymerbanden abgetrennt und interferiert mit diesen nicht. Durch Subtraktion eines entsprechenden Si-Referenz-Spektrums kann die Si-Si-Bande aus dem Probenspektrum eliminiert werden.

In den PET- und PBT-Spektren ist die Bande bei 521 cm^{-1} nicht sichtbar; der Si-Filter wird vollständig iberdeckt. Vermutlich wiesen die PET- und PBT-Folien eine etwas größere Dicke und geringere optische Transparenz auf.

Es kann somit festgestellt werden, dass die Eigenbanden des Si-Filters die Detektion auf ihm liegender Polymer-Partikel nicht negativ beeinflussen und er zudem keine Fluoreszenz aufweist. Der Si-Filter stellt dementsprechend ein exzellentes Messsubstrat für die Raman-Mikroskopie dar.

Aus spektroskopischer Sicht ist der Anodisc-Filter ebenfalls als Substrat für die Raman-Mikroskopie geeignet, da er iber keine Raman-Banden im betrachteten Wellenzahlenbereich verfugt und die beobachtete schwache Fluoreszenz für die Identifizierung der meisten Partikel von untergeordneter Bedeutung ist. Allerdings weist der Anodisc-Filter eine nicht vollständig planare Oberfläche (vgl. Abschnitt 4.1.3) auf. Dies kann zu Fokussierungsproblemen führen, v.a. wenn eine große Filterfläche untersucht werden soll.

Dies ist umso entscheidender, wenn für zukünftige Anwendungen eine Software-basierte, visuelle Partikelerkennung von auf dem Filter befindlichen Partikeln genutzt werden soll. Um dies zu ermöglichen, werden ein möglichst planares Substrat sowie ein guter visueller Kontrast zwischen Probe und Substrat benötigt. Beide Anforderungen werden vom Si-Filter gewährleistet. Die Verwendung entsprechender mathematischer Algorithmen sollte es außerdem ermöglichen, die regelmäßig angeordneten Poren als Untergrund „rauszurechnen“, damit diese von der Software nicht als „Partikel“ erkannt wird.

4.1.5 Zusammenfassende Beurteilung der untersuchten Filtermaterialien und daraus resultierende Schlussfolgerungen

Mit Hilfe der SEM-Bilder konnte gezeigt werden, dass die vom IZM hergestellten Si-Filter mit *Design 1* und *2* über durchgehende Poren mit regelmäßiger, hexagonaler Anordnung verfügen. Das *Design 2* weist darüber hinaus eine höhere Lochdichte verbunden mit kleineren Porendurchmessern auf. Dadurch ist es möglich, wässrige Proben im Vergleich zu *Design 1* schneller zu filtrieren und Partikel größer 4 – 5 μm sicher zurückzuhalten.

Die mechanische Beständigkeit der produzierten Si-Filter wurde durch Vakuumfiltrationen wässriger Mikroplastik-Modell-Proben mit Hilfe des speziell dafür konzipierten Filteradapters bestätigt.

Die Porenstruktur der kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter und der Si-Membranen machen beide Materialien ebenfalls zu sehr guten Filtermedien. Allerdings sind beide Filter nicht oder nur unzureichend als Messsubstrate für IR-spektroskopische Transmissionsmessungen geeignet. Das stark ausgeprägte Eigenspektrum der Si-Membran macht eine Detektion darauf befindlicher Polymer-Partikel nicht möglich. Die sehr starke Eigenabsorption des Anodisc-Filters im Wellenzahlbereich 1250 – 400 cm^{-1} verhindert die Detektion von charakteristischen Polymerbanden in diesem Bereich und schränkt die Anwendbarkeit des Anodisc-Filters stark ein.

Dahingegen ist der neu entwickelte Si-Filter mit *Design 1* im gesamten mittleren IR-Bereich genügend IR-transparent und macht es somit möglich, Polymerbanden auch im Fingerprintbereich sicher zu identifizieren. Die Eignung des Si-Filters mit *Design 1* als Messsubstrat für IR-spektroskopische Einzel- und Imaging-Messungen in Transmission wurde anhand von Mikroplastik-Modell-Proben erfolgreich gezeigt.

Die Si-Filter mit *Design 2* weisen im Vergleich zu *Design 1* deutlich schlechtere IR-spektroskopische Eigenschaften auf und sind deshalb für die Mikroplastik-Analytik nur eingeschränkt nutzbar. Die beobachteten optischen Störungen beruhen vermutlich auf Beugungseffekte verursacht durch die Porencharakteristik von *Design 2*, die in der Größenordnung der Wellenlänge des IR-Lichtes liegt.

Alle vier getesteten Filter (Si-Filter *Design 1* und *2*, Anodisc-Filter und Si-Membran) sind prinzipiell als Messsubstrate für die Raman-Mikroskopie geeignet. Allerdings wurde beim Anodisc-Filter ein Fluoreszenzuntergrund mit geringer Intensität beobachtet, welcher bei den Si-Filtern (*Design 1* und

Design 2) nicht auftritt. Dahingegen sind im Raman-Spektrum der Si-Filter die charakteristischen Si-Banden sichtbar, welche allerdings klar von Polymerbanden abgetrennt werden können und somit eine Polymeridentifizierung nicht stören.

Der Si-Filter mit *Design 1* ist von den vier getesteten Filtern der einzige, der als Messsubstrat für beide spektroskopische Verfahren sehr gut geeignet ist. Mit Hilfe dieses Filters ist es somit möglich, filtrierte Mikroplastik-Proben sowohl mit Transmission FTIR- als auch mit Raman-Mikroskopie zu untersuchen. Daher wurde für die folgenden Anwendungen dieser Arbeit der Si-Filter mit *Design 1* verwendet.

Sollen zukünftig auch sehr kleine Mikroplastik-Partikel (1 – 10 μm) analysiert werden, können die Si-Filter mit *Design 2* und die Si-Membran in Kombination mit der Raman-Mikroskopie verwendet werden. Der Anodisc-Filter ist aufgrund seiner Oberflächenstruktur und seiner leichten Brüchigkeit als Messsubstrat für die Raman-Mikroskopie nur eingeschränkt geeignet, zumindest wenn große Filterflächen untersucht werden sollen.

4.2 Methodenvergleich und -evaluierung

4.2.1 Mikroplastik-Partikel > 500 µm und Fasern aus Sedimenten

4.2.1.1 Vergleich von FTIR- und Raman-Mikroskopie – Messung von Einzelpartikeln

Die Anwendbarkeit der beiden spektroskopischen Verfahren ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie für die Identifizierung und Charakterisierung von isolierten Mikroplastik-Partikeln und Fasern wurde anhand von vier Beispielen geprüft und die Identifizierungsergebnisse sowie Besonderheiten beider Methoden kritisch miteinander verglichen. Die untersuchten Einzelproben wurden aus Strandsedimenten der Ostseeküste extrahiert und isoliert (vgl. Abschnitt 3.5.1.1. und 3.5.2.1). Die verwendeten Parameter der jeweiligen Messmethode können dem Abschnitt 3.5.3.1 entnommen werden.

Die optischen Bilder der untersuchten Teilchen sowie die dazugehörigen ATR- und Raman-Spektren sind in Abbildung 4.18 und Abbildung 4.19 dargestellt.

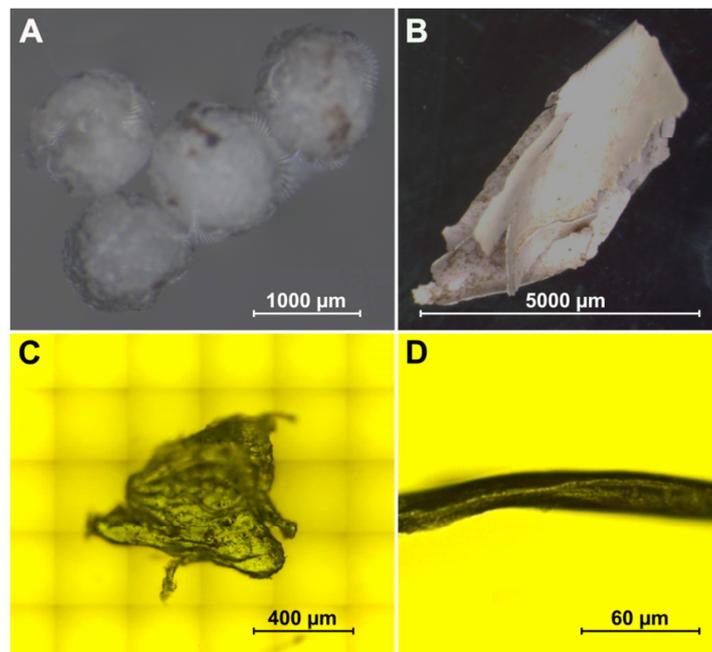


Abbildung 4.18: Optische Bilder der vier mittels ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie untersuchten Partikel und Fasern. A: weiße Kugeln mit einem Durchmesser von ca. 1 mm, B: weißer fragmentierter Partikel (ca. 5 mm x 2 mm), C: blauer, unregelmäßiger Partikel (ca. 0,8 mm x 0,8 mm), D: schwarze Faser mit einem Durchmesser von ca. 30 µm. Abbildung entnommen aus Käßler et al., 2016.

Partikel A

Bei dem ersten Beispiel handelte es sich um weiße Kugeln mit einem Durchmesser von ca. 1 mm und darunter (Abbildung 4.18a). Sowohl das Raman-Spektrum (Abbildung 4.19a, links) als auch das ATR-Spektrum (Abbildung 4.19a, rechts) dieser Partikel zeigen einen typischen PS-Bandenverlauf (Strukturformel PS in Abbildung 4.19 unten). Dies wird besonders durch den Vergleich mit einer PS-Referenz deutlich. Die aromatischen Ringschwingungen (C=C Streckschwingung) des PS sind bei 1000 und 1600 cm^{-1} (Raman) bzw. bei 1601 und 1492 cm^{-1} (IR) klar zu erkennen.

Im Fall von Beispiel A führten beide spektroskopischen Methoden zum exakt gleichen Ergebnis: Bei diesen Partikeln handelte es sich um synthetische Polymere. Die Polymerart wurde als PS identifiziert.

Partikel B

Partikel B (weiß) war stark fragmentiert und hatte eine Größe von ca. 5 x 2 mm (Abbildung 4.18b). Das Raman-Spektrum dieses Partikels (Abbildung 4.19b, links) zeigt drei Hauptbanden bei 233, 443 und 607 cm^{-1} . Diese Banden können Titandioxid (TiO_2) in der Rutil-Modifikation zugeordnet werden (Balachandran and Eror, 1982), was insbesondere durch einen Vergleich mit einem TiO_2 -Referenz-Spektrum (rot) deutlich wird.

Zusätzlich dazu weisen sehr schwache Banden im Bereich von 1000 – 1800 cm^{-1} und 2800 – 3200 cm^{-1} auf die Anwesenheit einer organischen Komponente hin. Aufgrund der geringen Bandenintensität in Kombination mit dem niedrigen Signal-Rausch-Verhältnis in diesem Bereich des Spektrums konnte diese Komponente nicht weiter spezifiziert werden.

Die Raman-spektroskopische Untersuchung führte somit zu dem Ergebnis, dass es sich bei Beispiel B um einen anorganischen Partikel bestehend aus TiO_2 handelt und folglich nicht um Mikroplastik.

Dahingegen zeigt das ATR-Spektrum eine sehr gute Übereinstimmung mit dem Spektrum eines handelsüblichen Lackes auf Basis von Alkydharz (ATR FTIR Library Complete Vol. 2). Alkydharze zählen zu der heterogenen Stoffklasse der synthetischen Harze (Kunstharz) und werden durch Polykondensation mehrwertiger Alkohole (z.B. Glycerin, Pentaerythritol) mit mehrprotonigen Säuren (z.B. Phthalsäure, Isophthalsäure, Terephthalsäure) gewonnen. Außerdem werden natürliche Öle bzw. Fettsäuren (z.B. Linolsäure, Linolensäure) zugesetzt (Strukturformel eines Alkydharzes in Abbildung 4.19 unten). Die Vernetzung erfolgt unter Sauerstoff über die Doppelbindung der ungesättigten Fettsäuren.

Im ATR-Spektrum von Partikel B sind die für Alkydharz mit langkettigen Ölen typischen Banden enthalten: breite Bande bei 3600 – 3000 cm^{-1} (OH Streckschwingung), Banden bei 2925 und 2850 cm^{-1} (CH/CH₂ Streckschwingung), Bande bei 1460 cm^{-1} (CH₂ Biegeschwingung), intensive Bande bei 1725 cm^{-1} (C=O Streckschwingung der Ester), Banden bei 1260 cm^{-1} und 1120 cm^{-1} (C-O Streckschwingung aliphatischer und aromatischer Ester) (Duce et al., 2014; Ploeger et al., 2008). Außerdem weisen die scharfen, aber wenig intensiven Doppelbanden bei 1600 und 1580 cm^{-1} (aromatische C=C Streckschwingung), die Bande bei 1070 cm^{-1} („in-plane“ Deformationsschwingung des aromatischen Rings) und die sehr schwachen, nur teilweise sichtbaren Banden bei 740 und 705 cm^{-1} („out of plane“ Deformationsschwingung des aromatischen Rings) auf die Anwesenheit einer aromatischen Struktur im Alkydharz hin (Ploeger et al., 2008). Vermutlich stammen diese von Phthalsäure (Hummel and Scholl, 1988), die als (eine) Säurekomponente im Polyester verwendet wurde.

Die ebenfalls im Spektrum sichtbare Bande bei 790 cm^{-1} konnte nicht zugeordnet werden; es wird eine anorganische Komponente vermutet. Zumindest kann sie nicht TiO_2 zugeordnet werden, da dessen Bande bei etwa 660 cm^{-1} liegt (Hummel and Scholl, 1981; Nyquist et al., 1997).

Im Fall von Partikel B führten die Raman- und IR-spektroskopischen Untersuchungen auf den ersten Blick nicht zum identischen Ergebnis. Mittels Raman-Spektroskopie wurde der Partikel als TiO_2 (nicht Kunststoff), mittels ATR FTIR-Spektroskopie als Alkydharz (Kunststoff) identifiziert. Kombiniert man jedoch die Ergebnisse beider Methoden, wird eine vollständige Charakterisierung des Partikels möglich: Bei Partikel B handelte es sich um einen Lackpartikel, dessen polymere Matrix (Binder) aus Alkydharz bestand und der TiO_2 als Weißpigment enthielt. Dieses Phänomen wurde im Verlauf der Arbeit auch bei Lacken mit organischen Farbstoffen beobachten und ist exemplarisch im Anhang (Abbildung A. 3) für einen dunkelblauen Partikel dargestellt.

Ähnliche Raman-Befunde wurden von Imhof et al. für farbige Partikel aus Strandsedimenten vom Gardasee beschrieben. Mittels Raman-Spektroskopie konnten in den untersuchten Partikeln Farbstoffe identifiziert werden, allerdings keine polymeren Strukturen (Imhof et al., 2016). Aufgrund der mechanischen und optischen Eigenschaften vermuteten die Autoren, dass es sich hierbei um Lackpartikel handelte. In Analogie zu den hier durchgeführten Untersuchungen war es Song et al. ebenfalls möglich, Partikel aus Wasserproben mittels ATR FTIR als Alkydharze und Acryl-Styrol-Harze zu identifizieren (Song et al., 2014). Eine Aussage über enthaltene Farbstoffe wurde allerdings nicht vorgenommen. Eine vollständige Charakterisierung der Partikel ist somit nur durch Kombination der beiden spektroskopischen Verfahren möglich.

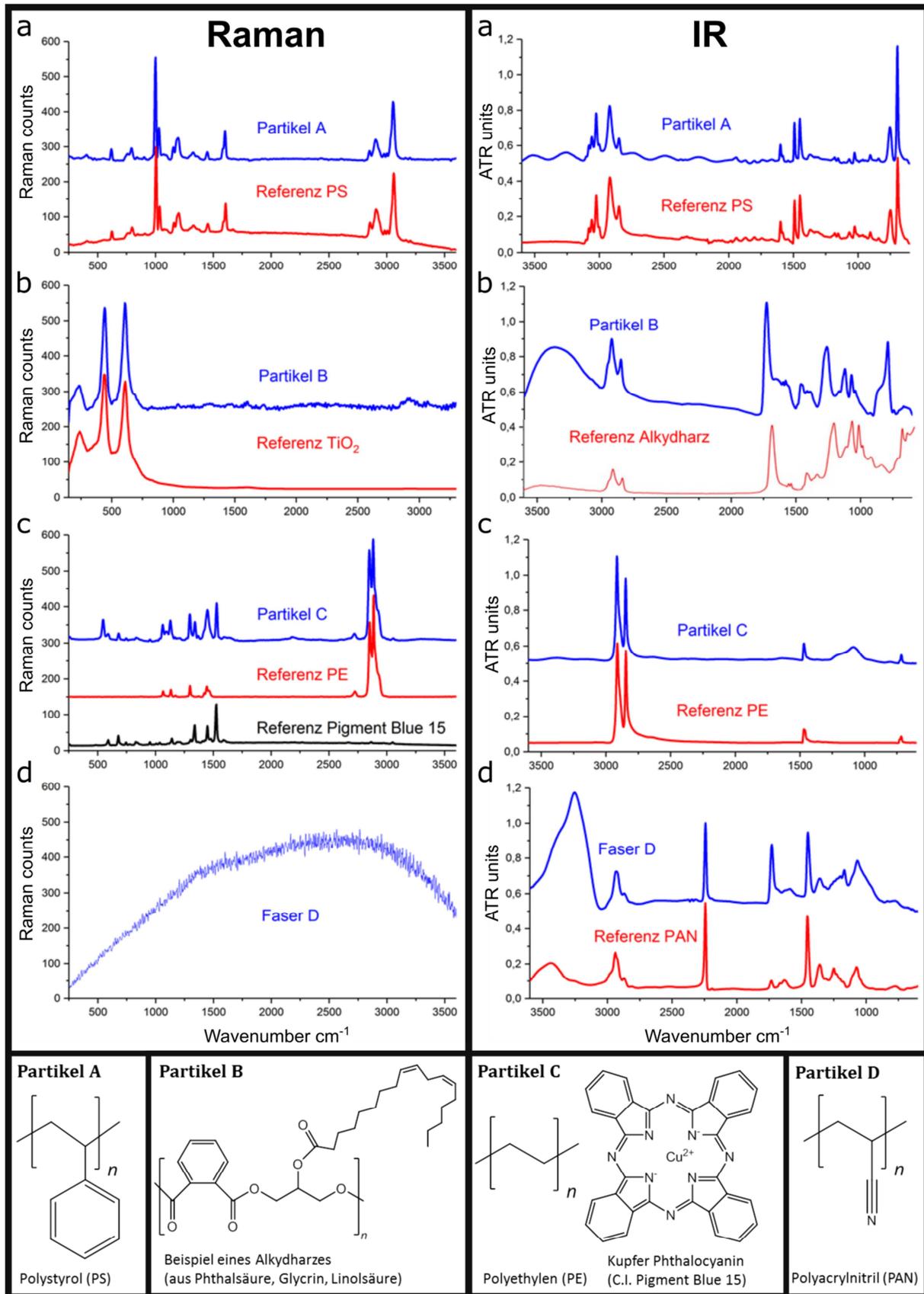


Abbildung 4.19: Raman-Spektren (links) und ATR IR-Spektren (rechts) der untersuchten Partikeln und Fasern (blau; vgl. Abbildung 4.18) jeweils im Vergleich mit einer Referenz (rot). Unten: Strukturformeln der identifizierten Polymere und Zusatzstoffe. Alkydharz-Referenzspektrum stammt aus ©ATR FTIR Library Complete Vol. 2, alle anderen Referenzspektren stammen aus eigenen Datenbanken. Abbildung modifiziert nach Käppler et al., 2016.

Partikel C

Als drittes Beispiel wurde ein blaues, ausgefranztes Partikel mit einer ungefähren Größe von 0,8 mm x 0,8 mm gewählt (Abbildung 4.18c). Partikel C und Faser D wurden unmittelbar vor der Messung mit Hilfe des Raman-Mikroskops fotografiert. Im verwendeten Raman-System befand sich der dichroitische Spiegel, der die Laserwellenlänge (532 nm) reflektiert, aber alle anderen Wellenlängenbereiche durchlässt und die Laserwellenlänge damit in den Strahlengang einbringt, unterhalb der Videokamera. Daher hatten die optischen Bilder einen Gelbstich und die tatsächliche Farbe der Proben ist nicht eindeutig zu erkennen.

Die IR-mikroskopische Untersuchung (Abbildung 4.19c, rechts) von Partikel C ergab zweifelsfrei, dass es sich hierbei um ein synthetisches Polymer (Kunststoff) handelt. Der Polymertyp wurde als PE identifiziert (Strukturformel in Abbildung 4.19 unten). Zusätzlich zu den typischen PE-Banden bei 2920/2850 cm^{-1} (CH_2 antisymmetrische/symmetrische Streckschwingung), bei 1470 cm^{-1} (CH_2 Biegeschwingung) und bei 720 cm^{-1} (CH_2 Schaukelschwingung) (Mark, 1991) ist eine schwach ausgeprägte, breite Bande bei etwa 1000 cm^{-1} zu sehen. Diese stammt wahrscheinlich von einer umweltbedingten anorganischen Verunreinigung (vermutlich Silikat) auf dem Partikel.

Das Raman-Spektrum von Partikel C (Abbildung 4.19c, links) lieferte im Gegensatz zum IR-Spektrum noch zusätzliche Informationen. Der Vergleich mit einer PE-Referenz (rot) macht deutlich, dass die typischen PE-Banden bei 1061/1127 cm^{-1} (C-C antisymmetrische/symmetrische Streckschwingung), bei 1297 (CH_2 Drehschwingung), bei 1448 cm^{-1} (CH_2 Biegeschwingung) und bei 2845/2886 cm^{-1} (CH_2 antisymmetrische/symmetrische Streckschwingung) (Gall et al., 1972) vorhanden sind.

Darüber hinaus sind jedoch weitere, z.T. sehr intensive Banden bei 588, 680, 1337 und 1525 cm^{-1} sichtbar. Diese stammen von einem blauen Farbstoff (Abbildung 4.19c, links, schwarzes Spektrum), welcher eindeutig als Phthalocyaninblau (Pigment Blue 15; Strukturformel in Abbildung 4.19 unten) identifiziert werden konnte (Bovill et al., 1986).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass im Fall von Partikel C beide spektroskopischen Methoden das gleiche Ergebnis bezüglich der Polymerart (hier PE) lieferten. Jedoch konnte mittels Raman-Spektroskopie eine zusätzliche Information über den enthaltenen Farbstoff gewonnen werden.

Faser D

Als viertes Beispiel wurde eine schwarze Faser mit einem Durchmesser von ca. 30 μm und einer Länge von 2 – 3 mm untersucht (Abbildung 4.18d).

Bei der Raman-spektroskopischen Messung (532 nm) trat eine starke Fluoreszenz auf, die auch durch Reduktion der Laserleistung und durch Bleaching nicht vermieden werden konnte. Bei Verwendung des 785 nm Lasers wäre es eventuell möglich gewesen, die Fluoreszenz etwas zu unterdrücken und dadurch ein besseres Ergebnis zu erhalten. Allerdings ist dieser Laser wesentlich unempfindlicher und

benötigt zwei Messungen um den gleichen Wellenzahlbereich ($160 - 3600 \text{ cm}^{-1}$) darstellen zu können. Zudem wäre ein manueller Umbau des Systems mit entsprechender Justierung nötig gewesen. Da die hier diskutierten Proben aus einem großen Probensatz stammten, wurde aus Zeitgründen auf die Untersuchung mit dem zweiten Laser verzichtet. Somit war eine Identifizierung dieser Faser mittels Raman-Spektroskopie (zumindest mit dem verwendeten Laser) nicht möglich.

Dahingegen wurde mittels ATR FTIR-Spektroskopie ein gut auswertbares Spektrum innerhalb nur einer Messung erreicht. Wie in Abbildung 4.19d, rechts ersichtlich, zeigt das Probenspektrum eine hohe Übereinstimmung mit Polyacrylnitril (PAN; Strukturformel in Abbildung 4.19 unten). Allerdings ist die Bande bei 1730 cm^{-1} (C=O Streckschwingung) im Vergleich zur PAN-Referenz wesentlich stärker ausgeprägt. Dies zeigt an, dass es sich bei der vorliegenden Faser um ein Copolymer aus PAN und vermutlich PMMA handelt, wie es für textile Acrylfasern (PAN-Gehalt $> 85 \%$ (Hiersig, 1995)) üblich ist. Die schwache Bande bei 1730 cm^{-1} im PAN-Referenzspektrum resultiert wahrscheinlich von einer Carbonyl-haltigen Verunreinigung oder einem Zusatzstoff, da im reinen PAN in diesem Bereich keine Bande erscheinen sollte.

Obwohl das Probenspektrum von relativ stark ausgeprägten breiten Banden im Bereich von $3400 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ (adsorbiertes Wasser) und bei $1100-1000 \text{ cm}^{-1}$ (anorganische Verunreinigung) beeinflusst wird, war eine Identifizierung des Fasermaterials (PAN-Copolymer) und somit eine Einstufung als Mikroplastik mittels ATR FTIR-Mikroskopie möglich.

Schlussfolgerung für die Analytik von isolierten Partikeln und Fasern aus Umweltproben mittels ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie

Anhand der vier ausgewählten Beispiele konnte exemplarisch gezeigt werden, dass mittels ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie isolierte Partikel und Fasern aus Umweltproben eindeutig und sicher identifiziert werden können. In den meisten Fällen lieferten die beiden spektroskopischen Methoden das gleiche Ergebnis hinsichtlich der Einstufung als Kunststoff/Nicht-Kunststoff und der Bestimmung der exakten Polymerart. Somit konnten sich beide Verfahren gegenseitig verifizieren.

Allerdings wurden auch einige Unterschiede und Besonderheiten der beiden Methoden festgestellt. Diese sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst.

Mittels Raman-Spektroskopie war es möglich, zusätzlich zur Identifizierung der Polymerart eines unbekanntes Mikroplastik-Partikels Informationen über enthaltene Füllstoffe und/oder Farbstoffe/Pigmente zu erhalten (vgl. Partikel C). Die Ursache dafür liegt zum einen darin, dass auch der Wellenzahlenbereich $160 - 600 \text{ cm}^{-1}$ gemessen wurde, wodurch anorganische Verbindungen eindeutig identifiziert werden könnten. Zum anderen weist die Raman-Spektroskopie eine hohe Empfindlichkeit gegenüber aromatischen und C=C-Systemen auf (Änderung der Polarisierbarkeit der Molekülbindung), wie sie häufig in organischen Farbstoffen vorliegen.

Allerdings kann dies auch dazu führen, dass der Farbstoff die polymere Matrix im Spektrum komplett überlagert, sodass eine Identifizierung des Polymers dann nicht mehr möglich ist (vergleiche Partikel B). Wird die Raman-Spektroskopie als alleinige Messmethode verwendet, kann es so unter Umständen zu Fehlinterpretationen hinsichtlich der Einstufung Kunststoff/Nicht-Kunststoff kommen. Dies ist besonders bei Lackpartikeln zu beachten, da das polymere Bindemittel (z.B. synthetische Harze) aufgrund der chemischen Struktur zum Raman-Signal weniger beiträgt als die enthaltenen Farbstoffe (Schulte et al., 2008). Der Farbstoff dominiert dann das Raman-Spektrum und kann die polymere Matrix vollständig überdecken, wodurch das synthetische Polymer „übersehen“ wird. Dies hängt zudem vom Farbstoffgehalt im Lack ab (Schulte et al., 2008).

Ein großer Nachteil bei der Raman-Mikroskopie ist, dass es durch externe Verunreinigungen oder durch enthaltene Inhaltsstoffe zu Fluoreszenz kommen kann (vgl. Faser D). In diesem Fall ist eine zeitaufwendige Optimierung der Messparameter (z.B. Reduzierung der Laserleistung, Erhöhung der Scanzahl, Bleaching, ...) oder die Verwendung eines energieärmeren Lasers nötig. In einigen Fällen führten selbst all diese Maßnahmen nicht zu einem Identifizierungserfolg.

Das Problem der Fluoreszenz kann durch die ATR FTIR-Mikroskopie vermieden werden. So konnte die überwiegende Anzahl der Proben mittels ATR FTIR-Messungen sicher und auf schnelle, direkte Weise identifiziert werden. Allerdings wurden in der Regel keine detaillierten Informationen über enthaltene Füll- und/oder Farbstoffe erhalten (vgl. Partikel B und C). Dies ist insbesondere dann so, wenn der Farbstoff/Füllstoff in niedrigen Gehalten vorliegt.

Teilweise wurde die Bewertung der ATR-Spektren durch anhaftende anorganische (hauptsächlich Silikate – breite Bande bei ca. 1000 cm^{-1}) und organische (hauptsächlich Proteine – Amidbande I und II bei $1680\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ und $1540\text{-}1550\text{ cm}^{-1}$) Verunreinigungen erschwert.

Darüber hinaus muss beachtet werden, dass die Spektrenqualität der ATR-Spektren u.a. vom Brechungsindex der Probe abhängt. Dieser muss kleiner als der Brechungsindex der internen Reflexionseinheit (z.B. Ge-Kristall) sein, damit es zur Totalreflexion an der Grenzfläche Kristall/Probe kommen kann. Dies kann bei schwarzen Partikeln, die einen hohen Rußgehalt aufweisen (z.B. Reifenabrieb) problematisch sein und führt dann zu keinem Identifizierungsergebnis. Die Raman-Spektren derartiger Proben sind andererseits durch die starken Banden bei $1350\text{ – }1370\text{ cm}^{-1}$ (D-Bande) und bei $1580\text{ – }1600\text{ cm}^{-1}$ (G-Bande) des amorphen Kohlenstoffs dominiert und erlauben in den meisten Fällen ebenfalls keine Identifizierung des ggf. vorliegenden synthetischen Polymers.

Der Aufwand und die Zeit für die Durchführung der eigentlichen Messung der einzelnen Proben (Positionieren der Probe unter dem Mikroskop, Fokussieren, Messen) waren mit Ausnahme von Fasern für beide Methoden vergleichbar. Da bei der Untersuchung mittels ATR FTIR die Fasern ($\varnothing 20\text{ – }30\text{ }\mu\text{m}$) manuell mit der Ge-Kristallspitze des ATR-Objektives in Kontakt gebracht werden

mussten, war hier etwas mehr Zeit und Erfahrung im Vergleich zur Raman-Mikroskopie (berührungslos, vollständig Software-gesteuerte Fokussierung) nötig.

Die Untersuchungsergebnisse von Partikel B, C und Faser D machen deutlich, dass für eine vollständige Charakterisierung von Mikroplastik-Partikeln aus Umweltproben eine Kombination beider spektroskopischer Methoden optimal wäre.

Tabelle 4.1: Vorteile, Nachteile und Besonderheiten von ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie für die Untersuchung von isolierten Einzelpartikeln > 500 µm und Fasern.

ATR FTIR-Mikroskopie	Raman-Mikroskopie
Vorteile/Nachteile	
<ul style="list-style-type: none"> + Zuverlässige Identifizierung der Polymerart ohne aufwendige Messoptimierung - i. d. R. keine detaillierten Informationen über enthaltene Füll- und/oder Farbstoffe möglich - organische und anorganische Verunreinigungen können Polymerbanden überlagern und Spektrenbewertung erschweren 	<ul style="list-style-type: none"> + detaillierte Informationen über enthaltene Farbstoffe können gewonnen werden - bei hohem Farbstoffgehalt kann Polymer übersehen werden → Fehlinterpretation möglich - Fluoreszenz → Optimierung der Messparameter für jede einzelne Probe nötig und ggf. Wechsel der Anregungswellenlänge → zeitaufwendig
Handling	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Partikel/Faser werden auf einen Objektträger positioniert und mittels Mikroskop fokussiert ▪ ATR-Kristall des Objektivs musste manuell in Kontakt mit Probe gebracht werden → für erfolgreiche Messung ist ein enger Kontakt zwischen Probe und Kristall nötig 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Partikel/Faser werden auf einen Objektträger positioniert und mittels Mikroskop fokussiert ▪ Laser wird Software-gesteuert auf die Probe fokussiert → nachfolgend Messung
Messzeit	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ungefähr 1 min pro Einzelspektrum 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ungefähr 1 min pro Einzelspektrum

Für die spätere Untersuchung der sehr umfangreichen Probenserie aus den Warnow-Sedimenten (bis zu 1000 Einzelpartikel/fasern – vgl. 4.3.2) wurde aus Zeit- und Kostengründen zunächst nur die ATR FTIR-Mikroskopie angewandt. In ausgewählten Fällen und bei unsicherem IR-Ergebnis wurde anschließend die Raman-Mikroskopie hinzugezogen. Dadurch wurde das Problem der Fluoreszenz und der damit verbundenen zeitaufwendigen Messoptimierung umgangen.

4.2.1.2 Vergleich von FTIR und py-GC/MS – Messung von Einzelpartikeln

Im zweiten Schritt des Methodenvergleichs und der Methodenevaluierung wurden zwei Messverfahren für die Mikroplastik-Analytik miteinander verglichen, die auf grundlegend verschiedenen physikalischen Prinzipien beruhen.

Ziel war es dabei zu überprüfen, ob ATR FTIR-Mikroskopie und py-GC/MS) zu gleichen Ergebnissen bei der Identifizierung von isolierten Partikeln und Fasern aus realen Umweltproben führen.

Außerdem sollten spezielle Besonderheiten sowie Vor- und Nachteile der jeweiligen Methode aufgezeigt werden.

Dazu wurden insgesamt 27 potentielle Mikroplastik-Proben (17 Partikel, 10 Fasern), die aus Warnow-Sedimenten extrahiert und isoliert wurden (vgl. Abschnitt 3.5.1.2 i. V. m. Abschnitt 3.5.2.1), zunächst mittels ATR FTIR (vgl. Abschnitt 3.5.3.1) am IPF und anschließend mittels py-GC/MS am ICBM Oldenburg (vgl. Abschnitt 3.3) gemessen und beurteilt.

Die Pyrolyse wurde unter Zusatz von TMAH durchgeführt, was als Thermochemolyse bezeichnet wird. Dies bewirkt, dass Proben mit polaren Gruppen (z.B. Polyestern) hydrolysiert und methyliert werden, wodurch die gaschromatographische Trennung verbessert, die Empfindlichkeit gesteigert, und zusätzliche strukturelle Informationen gewonnen werden können (Challinor, 2001, 1989; Shadkani and Helleur, 2010). Für die Identifizierung der Proben wurden intensive und/oder charakteristische Pyrolyseprodukte herangezogen und mit Hilfe von Polymer-Datenbanken (ICBM-eigene Datenbank, vgl. Fischer und Scholz-Böttcher, 2017 und NIST MS search 2.2.) oder Literatur-Daten (z.B. Tsuge et al., 2011)) bestimmt.

Die Untersuchungen wurden als Blindstudie konzipiert, so dass die Identifizierungsergebnisse der jeweils anderen Methode nicht bekannt waren. Eine Liste mit allen untersuchten Einzelobjekten und den dazugehörigen ATR- und py-GC/MS-Ergebnissen kann dem Anhang (Tabelle A. 3) entnommen werden.

Bei 26 von 27 analysierten Proben führten beide Methoden zum gleichen Ergebnis hinsichtlich der Einstufung Kunststoff/Nicht-Kunststoff. Bei einer Faser führte die py-GC/MS-Messung zu keinem auswertbaren Ergebnis, mittels ATR FTIR wurde diese als synthetische Faser auf PAN-Basis bestimmt. Darüber hinaus stimmten die mit Hilfe der beiden analytischen Methoden identifizierten Polymerarten in 19 von 27 Fällen vollständig überein, wobei neun verschiedene Polymerarten (PE, PP, PS, PVC, PET, PVAc, EVA, PTFE und Alkydharz) detektiert wurden.

Bei drei Fasern wurde mittels py-GC/MS ein synthetisches Polymer ausgeschlossen, jedoch zunächst keine genauere Substanz identifiziert. Nach dem Vorliegen des ATR FTIR-Ergebnisses (Cellulose) wurden die Pyrogramme erneut ausgewertet und charakteristische Indikator-Ionen für Cellulose gefunden. So war eine nachträgliche Identifizierung dieser drei Cellulose-Fasern mittels py-GC/MS möglich.

Je zwei weitere Partikel und Fasern wurden mit beiden Verfahren als Kunststoff identifiziert, jedoch unterschieden sich die Polymerarten. Als Ursachen dafür, können anhaftende Partikel (z.B. Partikel 11, Faser 23 – siehe Anhang Abbildung A. 4), Kreuzkontaminationen beim Überführen der Proben in das Pyrolyse-Gefäß sowie geringes Probegewicht verbunden mit geringer Empfindlichkeit gegenüber charakteristischen Indikator-Ionen (v.a. PAN-Fasern, z.B. Faser 24) genannt werden.

Um analytische Gemeinsamkeiten sowie Besonderheiten von ATR FTIR-Mikroskopie und py-GCMS bei der Analyse von isolierten Mikroplastik-Partikeln/Fasern zu verdeutlichen, werden im Folgenden die Identifizierungsergebnisse von vier ausgewählten Beispielen (Abbildung 4.20) detailliert beschrieben und miteinander verglichen.

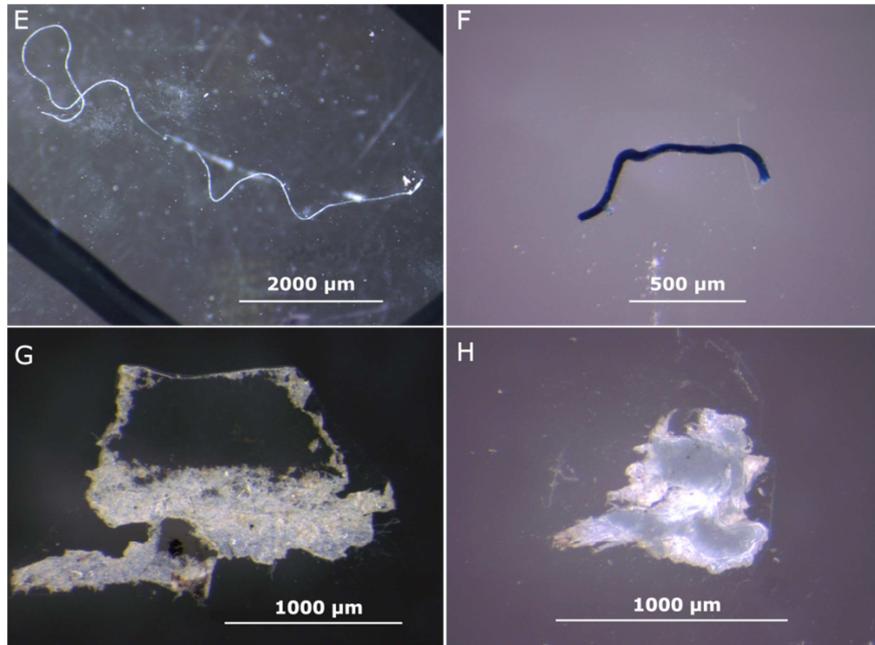


Abbildung 4.20: Optische Bilder der vier mittels ATR FTIR-Mikroskopie und py-GCMS untersuchten Partikel und Fasern. E: hellblaue lange Faser, F: dunkelblaue kurze Faser, G: transparenter, ausgefranster Partikel, H: weißer fragmentierter Partikel. Abbildung modifiziert nach Käppler et al., 2018.

Faser E

Faser E (Abbildung 4.20e) war hellblau, hatte einen Durchmesser von ca. 50 – 80 µm, eine Länge von etwa 9500 µm und eine Masse von 1,9 µg.

Das ATR-Spektrum (Abbildung 4.21e, links) zeigt ein für PET typisches Bandenprofil. Die sehr intensive Carbonyl-Bande (C=O Streckschwingung) bei 1720 cm^{-1} ist deutlich erkennbar. Darüber hinaus stimmen die zahlreichen Banden im Fingerprint-Bereich sehr gut mit denen einer PET-Referenz (Strukturformel in Abbildung 4.21 unten) überein. Somit konnte Faser E mittels ATR FTIR-Mikroskopie eindeutig und schnell als synthetische Faser aus **PET** identifiziert werden.

Auch das py-GC/MS-Ergebnis fiel hier sehr eindeutig aus. Das Pyrogramm von Faser E (Abbildung 4.21e, rechts) wird von einem intensiven **Dimethylterephthalat** (DMT) Signal (m/z 163, RT 31,5 min), dominiert. DMT entsteht durch Hydrolyse der Esterbindung im PET mit anschließender Methylierung der Terephthalsäure-Monomereinheit. Es stellt das **Hauptprodukt bei der Thermochemolyse** von PET dar (Tsuge et al., 2011), was durch einen Vergleich mit einer PET-Referenz deutlich wird. Die zweite Monomereinheit Ethylenglycol wird zwar auch (teilweise) methyliert, weist aber weniger intensive Signale auf (Tsuge et al., 2011) und wird bei geringen Probenmengen – wie im vorliegenden Fall (1,9 µg) – häufig nicht detektiert.

Im Fall von Faser E führten beide Verfahren zum absolut gleichen Ergebnis sowohl hinsichtlich der Einstufung Kunststoff/Nicht-Kunststoff als auch hinsichtlich der speziellen Polymerart. Aufgrund des charakteristischen PET-Bandenverlaufes (IR) und des typischen PET-Signals (py-GC/MS) konnten das Spektrum und das Pyrogramm der Probe zudem schnell und einfach bewertet werden.

Faser F

Faser F (Abbildung 4.20f) war dunkelblau und wies eine Länge von ca. 1000 μm , einen Durchmesser von etwa 95 μm und eine Masse von 0,5 μg auf.

Mittels ATR FTIR-Mikroskopie wurde ein komplexes Mehrkomponenten-Spektrum erhalten (Abbildung 4.21f, links). Die Bibliothekssuche unter Verwendung des gesamten Wellenzahlenbereichs (4000 – 600 cm^{-1}) wies darauf hin, dass das Probenmaterial aus **Cellulose** (Strukturformel in Abbildung 4.21 unten) besteht. Der Vergleich des Probenspektrums (schwarz) mit einer Cellulose-Referenz (rot) macht deutlich, dass alle wesentlichen Cellulose-Banden im Probenspektrum vorhanden sind. Allerdings erscheinen zusätzlich relativ intensive Banden bei 1630, 1610, 1483 und 1461 cm^{-1} . Eine nochmalige Spektren-Bibliothekssuche unter Verwendung des Wellenzahlenbereichs 1735 – 1440 cm^{-1} deutete auf die Anwesenheit von Thioindigo (blaues Spektrum) als zweite Komponente hin.

Die Farbe von Faser F (blau) und Bandenvergleiche mit Literaturdaten (Baran et al., 2010; Ibrahim et al., 2013) legen allerdings nahe, dass es sich bei dem hier vorliegenden Farbstoff eher um Indigo (blau) als um Thioindigo (rot) handelt. Beide Farbstoffe sowie deren Derivate sind als traditionelle Färbemittel bekannt und werden schon seit Jahrzehnten zur Färbung von Textilien eingesetzt (Ibrahim et al., 2013). Da die weiteren Banden des Farbstoffes im gleichen Wellenzahlenbereich (1430 – 600 cm^{-1}) wie die von Cellulose erscheinen und somit überlagert werden, ist eine sichere Unterscheidung zwischen Indigo und dessen Derivaten im vorliegenden Beispiel nicht möglich.

An dieser Stelle soll außerdem darauf hingewiesen werden, dass sich die IR-Spektren von natürlichen und künstlichen Cellulose-Fasern (Baumwolle vs. Viskose) sehr ähneln (Comnea-Stancu et al., 2017). Eine Unterscheidung beider Fasertypen ist nur unter speziellen Bedingungen (gleicher Aufnahmemodus von Probe und Referenz, keine Beeinträchtigung durch andere Probenbestandteile oder Verunreinigungen) oder durch chemometrische Methoden möglich (Comnea-Stancu et al., 2017). Für die Auswertung umfangreicher Mikroplastik-Probenserien ist dies jedoch nicht sinnvoll und nötig. Da Fasern auf Cellulose-Basis – unabhängig davon ob natürlichen Ursprungs oder künstlich hergestellt – per Definition nicht in die Mikroplastik-Kategorie eingeschlossen werden sollten.

Die Untersuchung von Faser F mittels py-GC/MS führte – wie bereits eingangs erwähnt – unter Verwendung der verfügbaren Datenbanken zunächst lediglich zu dem Ergebnis, dass es sich hierbei nicht um eine Kunststofffaser handeln kann (Ausschlussverfahren). Da das Pyrogramm von Faser F

hauptsächlich von Artefakten der Thermochemolyse dominiert wird, war eine Identifizierung der genauen chemischen Natur der Faser zunächst nicht möglich.

Nachdem das IR-Ergebnis offen gelegt wurde, fand eine erneute Bewertung des Pyrogramms statt, bei der gezielt nach typischen Thermochemolyse-Produkten von **Cellulose** gesucht wurde. In der Literatur werden beispielsweise **2,3,4-Trimethyllevoglucosan** (TML, methylierte Form von Levoglucosan) und **1,2,4-Trimethoxybenzol** (TMB) als **typische Thermochemolyse-Produkte** von Cellulose bzw. von Glucose (Monomereinheit von Cellulose) beschrieben (Fabbri and Helleur, 1999; Schwarzinger et al., 2002). Diese beiden Marker-Komponenten konnten im Pyrogramm von Faser F gefunden werden, was im kombinierten Ionenchromatogramm m/z 153 (TMB) und m/z 101 (TML) in Abbildung 4.21f, rechts ersichtlich wird. Weitere charakteristische Cellulose-Abbauprodukte wie D-Glucarsäure und Iso-Saccharinsäure und deren (teil)methylierte Formen konnten nicht detektiert werden. Die Ursache dafür liegt in der geringen Masse (0,5 µg) der Probe in Verbindung mit dem relativ unspezifischen, komplexen Pyrolyseverhalten von Cellulose. Im Gegensatz zu der zuvor diskutierten PET-Faser (Beispiel E, Probenmasse 1,9 µg) mit DMT als intensives Hauptprodukt, entstehen bei der Pyrolyse von Cellulose eine Vielzahl von unterschiedlichen, teilweise unspezifischen Pyrolyseprodukten, die zudem methyliert oder teilweise methyliert vorliegen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass Faser F mit beiden analytischen Methoden (ATR FTIR und py-GC/MS) als „Nicht-Kunststoff“ eingestuft wurde. Mit Hilfe des IR-Spektrums war es auf direkte Weise möglich, die chemische Struktur der Faser (Cellulose) eindeutig zu identifizieren. Zudem konnte ein enthaltener Farbstoff (vermutlich Indigo) detektiert werden. Dahingegen führte die py-GC/MS-Untersuchung in Verbindung mit den verwendeten Datenbanken zunächst nicht zu einer eindeutigen chemischen Identität des Fasermaterials. Da das Pyrogramm von Faser F nicht mit dem von üblichen Kunststoffen übereinstimmte und außerdem keine Kunststoff-typischen Marker-Ionen detektiert wurden, wurde jedoch eine Einstufung als „Nicht-Kunststoff“ im Ausschlussverfahren vorgenommen. Bei einer erneuten Auswertung des Pyrogramms von Faser F und zwei weiteren Fasern (Faser 21 und 22, siehe Anhang Tabelle A. 3) unter Kenntnis des FTIR-Ergebnisses wurden dann charakteristische Cellulose-Abbauprodukte gefunden. Somit war eine nachträgliche Identifizierung von Faser F mittels py-GC/MS möglich. Die Kenntnis der für Cellulose typischen Pyrolyseprodukte sowie deren dazugehörigen Indikator-Ionen macht es bei zukünftigen Untersuchungen möglich, Cellulose auch im Spurenbereich zu identifizieren.

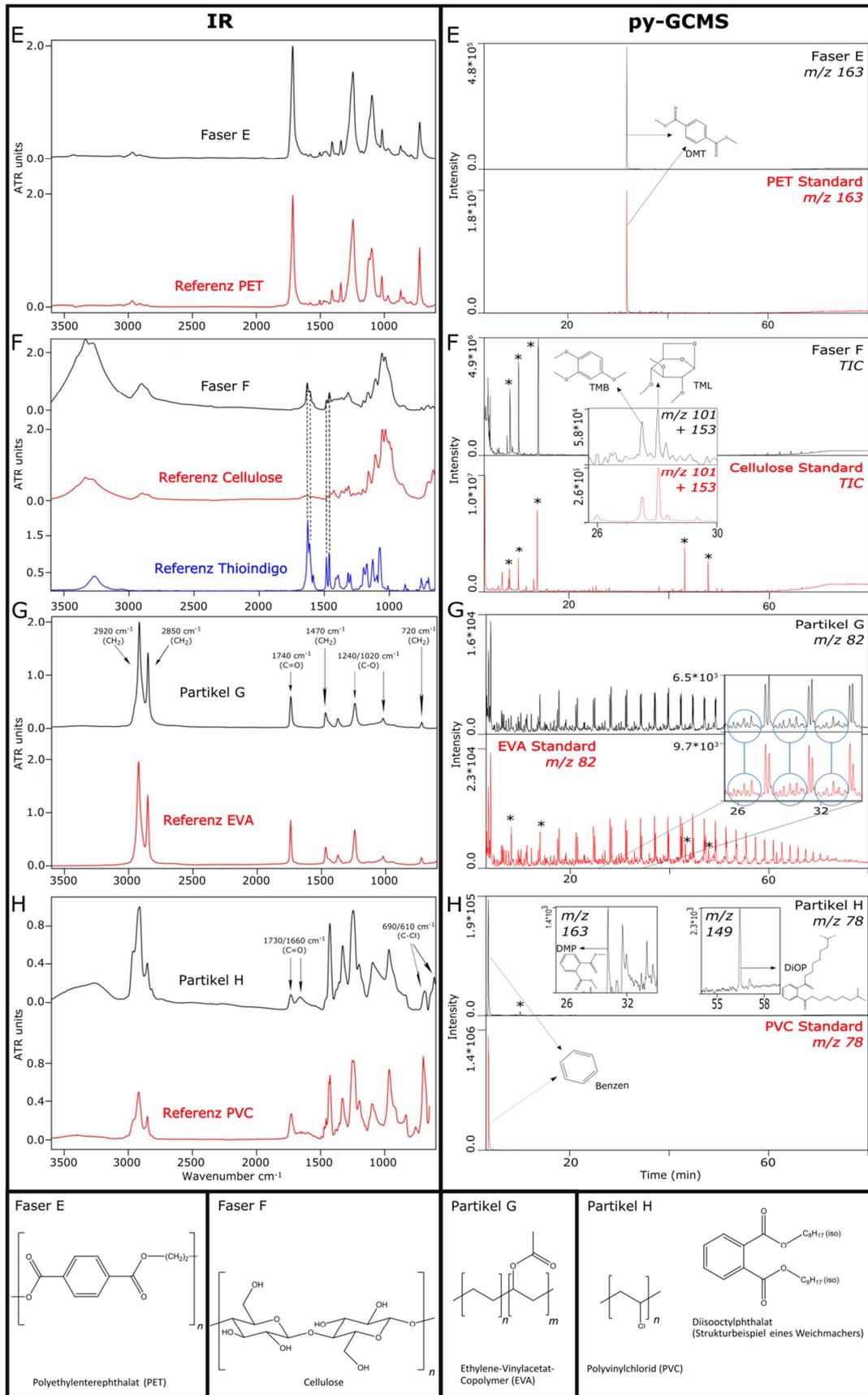


Abbildung 4.21: ATR IR-Spektren (links) und Pyrogramme (rechts) der untersuchten Partikel und Fasern (schwarz; vgl. Abbildung 4.20) jeweils im Vergleich mit einer Referenz (rot). Unten: Strukturformeln der identifizierten Polymere und Zusatzstoffe. Referenzspektren von Cellulose, Thioindigo und PVC stammen aus kommerziellen Datenbanken (©Hummel Industrial Polymers Vol. 3, ©ATR FTIR Library Complete Vol. 2). Abbildung modifiziert nach Käßler et al., 2018.

Partikel G

Der transparente Partikel G (vgl. Abbildung 4.20g) hatte eine ungefähre Größe von $1750\ \mu\text{m} \times 1100\ \mu\text{m}$ und eine Masse von $20,0\ \mu\text{g}$. Das ATR-Spektrum dieses „ausgefranst“ Partikels zeigt eine sehr hohe Übereinstimmung mit dem einer EVA-Referenz (vgl. Abbildung 4.21g, links; Strukturformel in Abbildung 4.21 unten).

Die Banden im Spektrum von Partikel G bei 2920 und $2850\ \text{cm}^{-1}$ (CH_2 Streckschwingung), bei $1470\ \text{cm}^{-1}$ (CH_2 Biegeschwingung) und bei $720\ \text{cm}^{-1}$ (CH_2 Schaukelschwingung) stammen von der Ethylen-Einheit des Polymers und sind analog zu denen von PE (vgl. Abschnitt 4.2.1.1, Partikel C). Die Vinylacetat-Einheit wird durch die Banden bei $1740\ \text{cm}^{-1}$ ($\text{C}=\text{O}$ Streckschwingung), $1240\ \text{cm}^{-1}$ ($\text{C}-\text{O}$ Streckschwingung) und bei $1020\ \text{cm}^{-1}$ (COOR Biegeschwingung) repräsentiert (Koopmans et al., 1982). Somit führte die ATR-Messung dazu, dass Partikel G eindeutig als Kunststoff eingestuft und die Polymerart als **EVA** identifiziert wurde.

Das Pyrogramm von Partikel G (Abbildung 4.21g, rechts) war durch eine Abfolge von Triplets aus *n*-Alkadienen, *n*-Alkenen und *n*-Alkanen dominiert, welche u.a. typisch für PE sind. Darüber hinaus wurden allerdings weitere Signal-Sequenzen mit geringer Intensität zwischen den Triplets (blaue Kreise in Abbildung 4.21g, rechts) beobachtet, die im reinen PE nicht vorliegen. Diese deuten auf das Vorliegen eines PE-Copolymers hin und zeigen eine hohe Übereinstimmung mit einer EVA-Referenz der Datenbank. Die Pyrolyse von EVA bewirkt eine Deacetylierung, wodurch Essigsäure und Polyene entstehen (Rimez et al., 2008). Da sowohl Essigsäure als auch das bei der Thermochemolyse gebildete Methylacetat mit TMAH am Beginn des Chromatogramms co-eluiert, ist eine Detektion dieser Fragmente nicht möglich.

Beim Kettenabbau der Polyen-Kette werden – wie bereits oben erwähnt – Alkadiene gebildet. Dabei unterscheiden sich die von PE und EVA abgespalteten **Alkadiene** in der Position der beiden Doppelbindungen im Molekül. Im Gegensatz zu den Alkadienen des PE, bei denen sich die Doppelbindungen in α - und ω -Position befinden, erscheinen die Doppelbindungen bei den Alkadienen des EVA in α -Position (Bruch der Polymerkette) und in einer beliebigen Position (durch die Deacetylierung). Der resultierende Signalverlauf im Pyrogramm stellt einen guten **Indikator für EVA** dar.

Zusätzlich dazu wurden die Signale der *n*-Alkane und *n*-Alkene (C_{16} bis C_{26}) integriert und der theoretische PE-Gehalt über eine externe Kalibrierung bestimmt (Käppler et al., 2018). Die so ermittelte Masse von Partikel G (unter der Annahme, dass er aus puren PE besteht) lag deutlich unterhalb der mittels Differenzwägung bestimmten tatsächlichen Masse. Dies bestätigt ebenfalls, dass es sich bei Partikel G um ein PE-Copolymer handeln muss.

Im Fall von Partikel G führten beide Methoden zum gleichen Ergebnis sowohl bezüglich der Einstufung Kunststoff vs. Nicht-Kunststoff als auch hinsichtlich der identifizierten Polymerart (EVA),

wobei die Identifizierung mittels py-GC/MS im Vergleich zu ATR FTIR eher auf indirekte Weise erfolgte.

Partikel H

Partikel H war ein weißer, fragmentierter Partikel (Abbildung 4.20h) mit einer Größe von 1000 μm x 700 μm und einer Masse von 11,7 μg .

Im ATR-Spektrum von Partikel H (Abbildung 4.21h, links) ist ein relativ unspezifischer Bandenverlauf zu sehen. Die Datenbanken-Suche wies auf **PVC** als Polymerart hin. Die Übereinstimmung zwischen Partikel H und einer PVC-Referenz (Strukturformel in Abbildung 4.21 unten) ist zufriedenstellend, allerdings nicht so hoch wie in anderen Fällen (z.B. Faser E und Partikel G).

Die Banden im Bereich von 3000 – 2800 cm^{-1} und 1430 – 1200 cm^{-1} können den Streck- bzw. den Biege- und Wippschwingungen der CH- und CH₂-Gruppen des PVC zugeordnet werden (Narita et al., 1959; Stromberg et al., 1958). Sehr charakteristisch für PVC (aber nicht besonders intensiv) sind die Banden bei 690 und 610 cm^{-1} (C-Cl Streckschwingung). Diese sind im Spektrum von Partikel H eindeutig zu sehen und bestätigen somit das Vorliegen von PVC als Polymerart.

Die Banden bei 1730 und 1660 cm^{-1} erscheinen im reinen PVC nicht (Stromberg et al., 1958) und sind den Streckschwingungen von Carbonylgruppen von z.B. **Weichmachern** zuzuordnen. Da in PVC-Produkten sehr verschiedene Weichmacher und Additive in unterschiedlichen Gehalten eingesetzt werden, unterscheiden sich die IR-Spektren von handelsüblichen PVC-Partikeln sehr. Dadurch stellt die Identifizierung von PVC in Umweltproben eine analytische Herausforderung dar. Abhängig von der Struktur und dem Gehalt der Weichmacher/Additive können die eigentlichen PVC-Banden im Fingerprintbereich überdeckt (González and Fernández-Berridi, 2006; Tabb and Koenig, 1975) werden oder durch sehr intensive Carbonyl-Banden Fehleinschätzungen (z.B. als Polyester) erfolgen. Deshalb sollte bei der Identifizierung von PVC immer die Anwesenheit der C-Cl-Banden bei 690 und 610 cm^{-1} überprüft werden.

Im Pyrogramm von Partikel H (Abbildung 4.21h, rechts) erscheint ein ausgeprägtes Benzen-Signal, das das typischste und bedeutendste Pyrolyseprodukt von PVC darstellt (Tsuge et al., 2011). Bei der Zersetzung von PVC wird die Cl-Gruppe abgespalten, wodurch HCl gebildet wird (hier mittels py-GC/MS nicht detektierbar) und eine C-Kette mit konjugierten Doppelbindungen übrig bleibt. Diese mehrfach ungesättigte Kette wird in kleinere Bruchstücke fragmentiert, wobei hauptsächlich Benzen und in Spuren Mengen auch andere aromatische Verbindungen wie Naphthalen oder Antracen gebildet werden (Beyler and Hirschler, 2005).

Zusätzlich zu **Benzen als Indikator für PVC** konnten im Pyrogramm von Partikel H (Abbildung 4.21h, rechts, eingefügte Chromatogramme) noch weitere Komponenten detektiert werden. Im Ionen-Chromatogramm m/z 163 erscheint bei einer Retentionszeit von 30 min Dimethylphthalat (DMP), welches das Thermochemolyse-Produkt jedes Phthalates darstellt. Darüber hinaus ist im Ionen-

Chromatogramm m/z 149 bei 56 min ein klares Diisooctylphthalat-Signal (DiOP; Strukturformel in Abbildung 4.21 unten) sichtbar. Bei DiOP handelt es sich um ein intaktes Marker-Fragment von Phthalaten, welches bei der Thermochemolyse keine Umesterung und Methylierung erfahren hat. Da die Phthalate in die polymere Matrix eingebettet sind, findet vermutlich keine vollständige Thermochemolyse statt.

Im Fall von Partikel H stimmten ebenfalls die mittels ATR FTIR und py-GC/MS ermittelte Polymerart (hier PVC) absolut überein. Allerdings war es mit Hilfe der py-GC/MS möglich, zusätzliche Informationen über enthaltene Weichmacher (hier Phthalate) zu erhalten. Die Banden bei 1730 und 1660 cm^{-1} im IR-Spektrum zeigen zwar ein Carbonyl-haltiges Additiv an, eine genaue Spezifizierung der chemischen Struktur dieser Verbindung war jedoch nicht möglich.

Schlussfolgerung für die Analytik von isolierten Partikeln und Fasern aus Umweltproben mittels ATR FTIR-Mikroskopie im Vergleich zu py-GC/MS

Im Rahmen der in dieser Arbeit durchgeführten Blindstudie an 27 aus Umweltproben isolierten Partikeln/Fasern wurden die Identifizierungsergebnisse zweier Messverfahren (ATR FTIR-Mikroskopie vs. py-GC/MS) verifiziert, die auf grundlegend verschiedenen physikalischen Prinzipien beruhen. Eine statistische Auswertung ist aufgrund der geringen Probenzahl nicht möglich. Dennoch konnte gezeigt werden, dass beide Verfahren sehr gut für die Identifizierung von Mikroplastik geeignet sind und sich gegenseitig ergänzen. Die diskutierten Beispiele verdeutlichen außerdem auf eindringliche Weise einige wesentliche Unterschiede zwischen py-GC/MS und ATR FTIR-Mikroskopie bei der Untersuchung von isolierten Partikeln und Fasern aus Umweltproben. Tabelle 4.2 gibt einen Überblick über die wichtigsten Vor- und Nachteile der beiden Methoden.

Ein wesentlicher Vorteil der ATR FTIR-Mikroskopie ist, dass die Messungen zerstörungsfrei ablaufen. Somit ist eine Messwiederholung mit der gleichen oder einer anderen Methode möglich, um ggf. Optimierungen der Messparameter vorzunehmen oder die erhaltenen Ergebnisse zu bestätigen. Darüber hinaus ist man bei der qualitativen Identifizierung von Polymeren mittels ATR FTIR-Mikroskopie im Wesentlichen unabhängig von der Probenmasse. Dahingegen sind die Gestalt und die Größe bzw. Fläche der Partikel/Fasern etwas entscheidender. Problematisch kann z.B. die Untersuchung von sehr unebenen oder sehr elastischen Proben werden, da ein gutes Ergebnis nur bei einem engen Kontakt zwischen Probe und Kristall mit entsprechendem Anpressdruck erreicht wird. Außerdem ist zu beachten, dass der Messfleck des ATR-Kristalls bei dem hier verwendeten System ca. 25 μm beträgt. Bei Proben, die einen geringeren Durchmesser aufweisen (z.B. dünne Fasern), erhält man unter Umständen schlechte Signale.

Anhand der hier vorgestellten Beispiele wird analog zu Abschnitt 4.2.1.1 deutlich, dass mittels ATR FTIR-Mikroskopie die Polymerart eines Partikels schnell und zuverlässig bestimmt werden kann. Allerdings ist es in den meisten Fällen nicht möglich, detaillierte Informationen über enthaltene

Zusatzstoffe (z.B. Weichmacher – vgl. Partikel H) oder spezielle Polymerkomponenten (z.B. Säure- und Alkoholkomponenten in Alkydharzen – vgl. Käßler et al., 2018) zu erhalten. Nachteilig ist zudem, dass anhaftende Verunreinigungen (organisch und anorganisch) die Polymerbanden des/der Partikels/Faser überlagern können und somit die spektroskopische Identifizierung erschwert wird.

Ein bedeutender Vorteil der py-GC/MS liegt in der simultanen Erfassung und Identifizierung der Polymerart und der enthaltenen Additive (vgl. Partikel H). Bei heterogenen Stoffklassen konnten außerdem spezielle Polymerkomponenten (z.B. Pentaerythritol als Alkoholkomponente in Alkydharzen) detektiert werden.

Vorteilhaft ist zudem, dass anorganische und organische Verunreinigungen, zumindest bis zu einem gewissen Gehalt, die Messung nicht wesentlich stören. Anorganische Verbindungen werden nicht pyrolysiert und können somit das Pyrogramm nicht negativ beeinflussen. Organische Verunreinigungen weisen zu Polymerfragmenten unterscheidbare Retentionszeiten und m/z -Werte auf. Dies bedeutet allerdings auf der anderen Seite, dass anorganische Füll- oder Farbstoffe mittels py-GC/MS prinzipiell nicht detektiert werden können.

Ein offensichtlicher Nachteil an der py-GC/MS ist, dass die Probe bei der Messung zerstört wird und dadurch für weitere Messungen nicht zur Verfügung steht.

Außerdem stellt die py-GC/MS eine massenabhängige Methode dar, wohingegen die Form (Kugel, Fragment, Faser, ...) und die Größe bzw. Fläche der Probe im Wesentlichen nicht von Bedeutung sind. Am Beispiel der Faser F wurde deutlich, dass Proben mit sehr geringem Probengewicht (hier 0,5 µg) in Verbindung mit zahlreichen unspezifischen Pyrolyse-Produkten zu wenig intensiven Signalen führen. Eine Identifizierung der Probe wird dann erschwert oder gar nicht ermöglicht. Die Erfassungsgrenze ist dabei polymerabhängig. Werden bei der Pyrolyse nur wenige, charakteristische Produkte gebildet (z.B. DMT bei PET oder 2,4-Dimethylhept-1-en bei PP), können diese mit einer viel höheren Empfindlichkeit bestimmt werden als wenn zahlreiche, unspezifische Pyrolyse-Produkte (z.B. bei Cellulose) entstehen. So war beispielsweise die Detektion von Faser E mit einer Masse von 1,9 µg als PET und Faser 20 (Anhang Tabelle A. 3) mit einer Masse von 0,4 µg als PP völlig unproblematisch.

Im Gegensatz zur IR-Spektroskopie stellt die py-GC/MS eher eine indirekte Methode dar, bei der die Abbauprodukte einer Verbindung detektiert werden. Bei der IR-Spektroskopie kann – bis zu einem gewissen Grad auch ohne Kenntnis von Referenzspektren – anhand der Bandenposition die Anwesenheit von funktionellen Gruppen und damit die Grundstruktur einer Verbindung ermittelt werden. Dahingegen müssen bei der Detektion von Polymeren mittels py-GC/MS spezifische Indikator-Ionen der Ausgangsverbindung bekannt sein oder geeignete Referenz-Pyrogramme vorliegen. Umfang und Qualität der verwendeten Spektren- bzw. Pyrogramm-Datenbanken sowie der angewandte Suchalgorithmus haben einen großen Einfluss auf den Auswerteaufwand einer

einzelnen Probe. Dies gilt ausdrücklich auch für die IR- und Raman-Spektroskopie, wird hier allerdings für die py-GC/MS besonders deutlich.

Erlaubt die verwendete Datenbank keine zufriedenstellende oder vollständige Charakterisierung einer unbekannt Probe, muss ggf. eine zeitaufwendige Literaturrecherche durchgeführt werden (vgl. Faser F und Partikel G). Dies ist bei der Untersuchung von umfangreichen Probenserien jedoch nicht durchführbar. Wurde für eine bestimmte Verbindung ein spezifisches Marker-Ion ermittelt und diese Information in die Datenbank eingepflegt, ist dann bei späteren Untersuchungen eine Identifizierung der Ausgangsverbindung ohne großen Rechercheaufwand auch im Spurenbereich möglich (vgl. Cellulose-Fasern).

Tabelle 4.2: Vorteile, Nachteile und Besonderheiten ATR FTIR-Mikroskopie im Vergleich zur py-GC/MS bei der Untersuchung von isolierten Einzelpartikeln > 500 µm und Fasern. Tabelle modifiziert nach Käßler et al., 2018.

ATR FTIR-Mikroskopie	py-GC/MS
Vorteile/Nachteile	
<ul style="list-style-type: none"> + zerstörungsfrei → Messungen können mit gleicher oder anderer Methode wiederholt werden + massenunabhängig - größenlimitiert (ATR-Messfleck ca. 25 µm) - detaillierte Informationen über enthaltene organische Additive können in den meisten Fällen nicht erhalten werden - Verunreinigungen (organische und anorganische) und Additive können Polymerbanden überlagern → Identifizierung wird erschwert 	<ul style="list-style-type: none"> - Probe wird bei Messung verbrannt/zerstört → Messungen können nicht wiederholt werden - massenabhängig, Empfindlichkeit ist polymerabhängig (im pg- bis µg-Bereich) + unabhängig von Form und Größe der Proben + detaillierte Informationen über enthaltene Additive oder spezifische Polymerkomponenten können simultan erhalten werden + anorganische Verunreinigungen stören nicht - anorganische Additive können nicht detektiert werden
Handling	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Partikel/Fasern müssen auf einen Objektträger positioniert (z.B. mit Pinzette) und mittels Mikroskop fokussiert werden ▪ ATR-Kristall des Objektivs muss in engen Kontakt mit Probe gebracht werden 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Partikel/Fasern müssen in den Pyrolyse-Behälter transferiert werden (z.B. mit Pinzette)
Messzeit	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ungefähr 1 min pro Einzelspektrum 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ungefähr 30 – 100 min oder auch weniger (abhängig von Messparameter)

Der Auswerteaufwand für die am häufigsten vorkommenden Polymerarten (z.B. PE, PP, PS, PET) war bei der ATR FTIR-Mikroskopie vergleichbar mit der py-GC/MS. Dies wurde beispielhaft an Faser E (PET) diskutiert.

Letztendlich sollte erwähnt werden, dass bei den durchgeführten Arbeiten die Messzeit einer py-GC/MS-Messung mit etwa 90 min deutlich über der ATR FTIR-Messzeit (ca. 1 min) lag. Die hier

gewählten Messparameter wurden von einer für die simultane Erfassung von acht verschiedenen Polymeren aus Umweltproben optimierten py-GC/MS-Methode übernommen (siehe Fischer and Scholz-Böttcher, 2017). Werden die Messparameter für die Messung von Einzelproben angepasst, kann die Analysenzeit auf 30 min oder weniger reduziert werden.

4.2.2 Mikroplastik-Partikel < 500 µm: Vergleich von FTIR- und Raman-Mikroskopie

Mikroplastik-Partikel, die kleiner als 500 µm sind, können aus Umweltproben händisch nicht mehr sicher isoliert und gemessen werden. Daher werden die Proben üblicherweise filtriert und die auf dem Filter befindlichen Partikel und Fasern spektroskopisch untersucht. Ziel soll es dabei sein, möglichst die gesamte Filterfläche (im vorliegenden Fall Kreisfläche mit einem Durchmesser von 9 mm) zu messen und auszuwerten. Dies kann aufgrund der zu erwartenden hohen Partikelanzahl pro Filter nur mit automatischen oder teilautomatischen Verfahren realisiert werden.

Im Bereich der FTIR-Mikroskopie wurden bereits FTIR Imaging in Transmission (Löder et al. 2015, gesamter Filter Ø 9,7 mm, reale Umweltprobe) bzw. in Reflexion (Tagg et al., 2015, gesamter Filter Ø 47 mm, dotierte Umweltprobe) als mögliche (teil)automatisierte Methoden beschrieben.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig Raman Imaging als spektroskopisches Verfahren zur automatischen Identifizierung von Mikroplastik getestet (Fischer et al., 2015) und entsprechend optimiert. Darüber hinaus sollten Raman und IR Imaging (in Transmission) kritisch miteinander verglichen sowie Möglichkeiten und Grenzen der jeweiligen Methoden aufgezeigt werden. Die Untersuchungen erfolgten zunächst an Mikroplastik-Modellpartikel (Abschnitt 4.2.2.1) und nachfolgend an einer realen Umweltprobe (Abschnitt 4.2.2.2).

4.2.2.1 Mikroplastik-Modellpartikel als Referenzmaterialien

IR und Raman Imaging an Mikroplastik-Modellpartikel (10 – 500 µm)

Zunächst wurde eine Modellprobe bestehend aus verschiedenen Kunststoffarten (PP, PS, PE und PMMA), verschiedenen Probengeometrien (Faser, Fragment, Folienstück und Kugeln) und verschiedenen Größen untersucht. Die Modellpartikel (Tabelle 4.3) wurden vor der Messung auf einem Si-Filter platziert und ein Ausschnitt mittels Raman und IR Imaging gemessen. Die verwendeten Messparameter und die Messdauer für beide Methoden können der Tabelle A. 4 im Anhang entnommen werden.

Tabelle 4.3: Kunststoffart, Geometrie, Größe bzw. Dicke und Ursprung der Polymerpartikel.

Kunststoff	Probengeometrie	ungefähre Größe/Dicke	Ursprung
PE	Folienstücke	300 x 300 μm^2 , 15 μm dick, 120 x 60 μm^2 , 15 μm dick	Schmelzfolie HDPE HTA 108 (Tabelle 3.2), kleine Stücke abgeschnitten
PP	Faserbruchstück	\varnothing 30 μm , 750 μm lang	gesponnene Faser (IPF Bestand, Abt. Verarbeitungsprozesse)
PS	Fragmente	100-150 x 100-150 μm^2 , 30 – 100 μm dick	PS 143 E, gemahlene Fragmente (Siebmühle Technikum IPF)
PMMA	Kugeln	27 – 32 μm	Cosperic LLC, Santa Barbara, USA

Anhand dieser Probe kann das prinzipielle Vorgehen bei der Auswertung von Raman und IR Imaging-Messungen veranschaulicht und gleichzeitig der Einfluss von Probenform und -dicke sowie generelle Unterschiede zwischen den beiden Methoden diskutiert werden.

In Abbildung 4.22a ist das optische Bild (links: aufgenommen mit dem Raman-Mikroskop, rechts: aufgenommen mit dem IR-Mikroskop) der Messfläche dargestellt. Bei der anschließenden Raman-Messung wurde die Messfläche (1500 μm x 950 μm) zeilenweise von links nach rechts mit dem Laser abgefahren. Die Messung erfolgte in x-Richtung kontinuierlich, wobei die Signale von jeweils 10 μm (Messpunkt Abstand) zu einem Spektrum zusammengefasst wurden. Bei der IR-Messung wurden 10 x 6 FPA-Felder mosaikartig zusammengesetzt, wobei in einem FPA-Feld (170 μm x 170 μm) 1024 Spektren mit einer Pixelauflösung von 5,3 μm (2 x 2 Binning) simultan erfasst wurden.

In Abbildung 4.22b+c sind die Raman (links) bzw. IR (rechts) Images der Messfläche für verschiedene spektrale Bereiche zu sehen. Dabei wurden die während der Messung aufgenommenen Spektren pro Pixel/Messpunkt nach der Datenaufnahme durch Auswahl entsprechender Wellenzahlbereiche in orts aufgelöste Falschfarbenbilder umgewandelt. Partikel, die im jeweils gewählten Spektralbereich eine hohe Raman- bzw. IR-Bande aufweisen, werden im Falschfarbenbild farbig (hier: Raman Image: rot – gelb, IR Image: grün – rot) dargestellt. Dadurch kann die Position und die Verteilung der Proben auf der Messfläche visualisiert werden.

Im Wellenzahlenbereich 2780 – 2980 cm^{-1} (Abbildung 4.22b) befinden sich die symmetrischen und antisymmetrischen Streckschwingungsbanden von CH-, CH₂- und CH₃-Gruppen. Die meisten synthetischen Polymere enthalten diese aliphatischen Gruppen oder sind aus ihnen aufgebaut, so dass sie mehr oder weniger intensiv ausgeprägte Banden im genannten Wellenzahlenbereich aufweisen. Durch den Spektralbereich 2780 – 2980 cm^{-1} erhält man somit zunächst einen Überblick über die Verteilung der auf einer Messfläche befindlichen Kunststoffpartikel der meisten Polymerarten. Bei der Untersuchung von realen Mikroplastik-Proben ist allerdings zu beachten, dass auch andere Probenbestandteile (organische Verunreinigungen, z.B. Polysaccharide, Proteine, Wachse) ebenfalls Banden in diesem Wellenzahlenbereich aufweisen. Deshalb müssen bei der

Datenauswertung die Spektren jedes einzelnen „farbigen“ Partikels angesehen und entsprechend beurteilt werden.

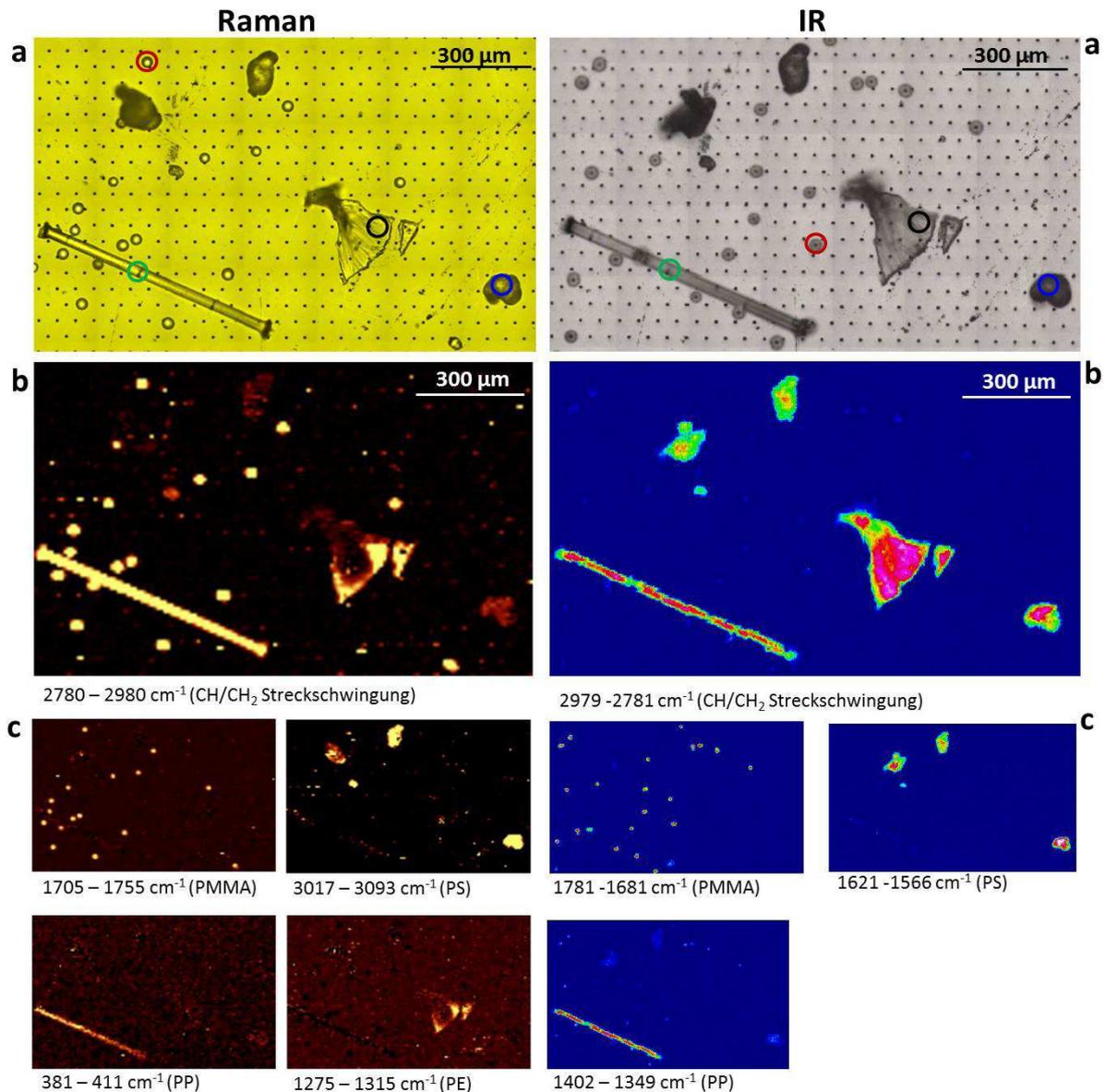


Abbildung 4.22: Raman (links) und IR (rechts) Imaging einer Modellprobe bestehend aus PMMA-Kugeln, PS-Fragmenten, PE-Folienstücken und einem PP-Faserbruchstück auf einem Si-Filter. A: optische Bilder der Probe aufgenommen mit dem Raman-System (links) bzw. mit dem FTIR-System (rechts), farbige Kreise geben die Position der in Abbildung 4.23 dargestellten extrahierten Spektren an. B: Nach der Messung resultierendes Raman (links) bzw. IR (rechts) Image für die Spektralbereiche 2780 – 2980 cm^{-1} (Raman) bzw. 2979 – 2781 cm^{-1} (IR) zur Visualisierung möglichst aller Polymere. C: Raman Images (links) für die Spektralbereiche 1705 – 1755 cm^{-1} (PMMA), 3017 – 3093 cm^{-1} (PS), 381 – 411 cm^{-1} (PP) und 1275 – 1315 cm^{-1} (PE) bzw. IR Images (rechts) für die Spektralbereiche 1781 – 1681 cm^{-1} (PMMA), 1621 – 1566 cm^{-1} (PS) und 1402 – 1349 cm^{-1} (PP).

Im Raman Image (Wellenzahlenbereich 2780 – 2980 cm^{-1} , Abbildung 4.22b links) sind die PMMA-Kugeln, die PP-Faser und die PE-Folienstücke der Modellprobe sehr gut zu sehen. Die PS-Fragmente sind nur schwach zu erkennen, da die aliphatischen Streckschwingungsbanden von PS im Raman-Spektrum nur sehr geringe Intensitäten aufweisen.

Im IR Image für den Wellenzahlenbereich $2979 - 2781 \text{ cm}^{-1}$ (Abbildung 4.22b rechts) sind die PE-Folienstücke, die PP-Faser und die PS-Fragmente sehr gut sichtbar, die PMMA-Kugeln sind jedoch kaum zu sehen. Die Ursache dafür liegt in der geringen Bandenintensität im Spektrum der PMMA-Kugeln im genannten Wellenzahlbereich, die zum einen von der chemischen Struktur von PMMA und zum anderen von der geringen Dicke der PMMA-Kugeln (\varnothing ca. $30 \mu\text{m}$) verglichen mit den PS-Fragmenten (Dicke ca. $100 \mu\text{m}$) herrührt.

Soll die Verteilung der einzelnen Polymerpartikel innerhalb der Probenfläche visualisiert werden, müssen für die jeweilige Polymerart charakteristische Bandenbereiche gewählt werden. Dies ist in Abbildung 4.22c dargestellt.

Im Raman Image wird eine alleinige Visualisierung von PMMA durch den Spektralbereich $1705 - 1755 \text{ cm}^{-1}$ (C=O Streckschwingung), von PS durch den Spektralbereich $3017 - 3093 \text{ cm}^{-1}$ (aromatische CH Streckschwingung), von PP durch den Spektralbereich $381 - 411 \text{ cm}^{-1}$ (Kombination aus CH_2 Wipp- und CH Biegeschwingung, (Andreassen, 1999)) und von PE durch den Spektralbereich $1275 - 1315 \text{ cm}^{-1}$ (CH_2 Torsionsschwingung, (Gall et al., 1972)) möglich. In den Raman Images (v. a. bei $2780 - 2980 \text{ cm}^{-1}$, $1705 - 1755 \text{ cm}^{-1}$ und $3017 - 3093 \text{ cm}^{-1}$) fallen an einigen Stellen „farbige“ Punkte auf, an denen sich tatsächlich keine Polymerpartikel befanden (vgl. optisches Bild). Diese resultieren aus schlechten Signal-Rausch-Verhältnissen am entsprechenden Pixel im gewählten Spektralbereich (Rauschen wird als „Bande“ erkannt) oder aufgrund von Fluoreszenz.

Im IR Image kann die Verteilung von PMMA innerhalb der Probe mit Hilfe des Wellenzahlenbereichs von $1781 - 1681 \text{ cm}^{-1}$ (C=O Streckschwingung), von PS mit Hilfe des Wellenzahlenbereichs $1621 - 1566 \text{ cm}^{-1}$ (aromatische C=C Streckschwingung) und von PP mit Hilfe des Wellenzahlenbereichs $1402 - 1349 \text{ cm}^{-1}$ (CH_3 Biegeschwingung) visualisiert werden. Eine alleinige Visualisierung der PE-Folienstücke war nicht möglich, da die PE-Banden (CH_2 Streck- und Biegeschwingungen) auch bei den anderen Polymeren auftreten.

Um die Spektren der Raman bzw. IR Imaging-Messung beurteilen zu können, wurde für jede Partikeltyp der Modellprobe ein Spektrum an der im optischen Bild markierten Stelle (farbige Kreise in Abbildung 4.22a) extrahiert und in Abbildung 4.23 dargestellt.

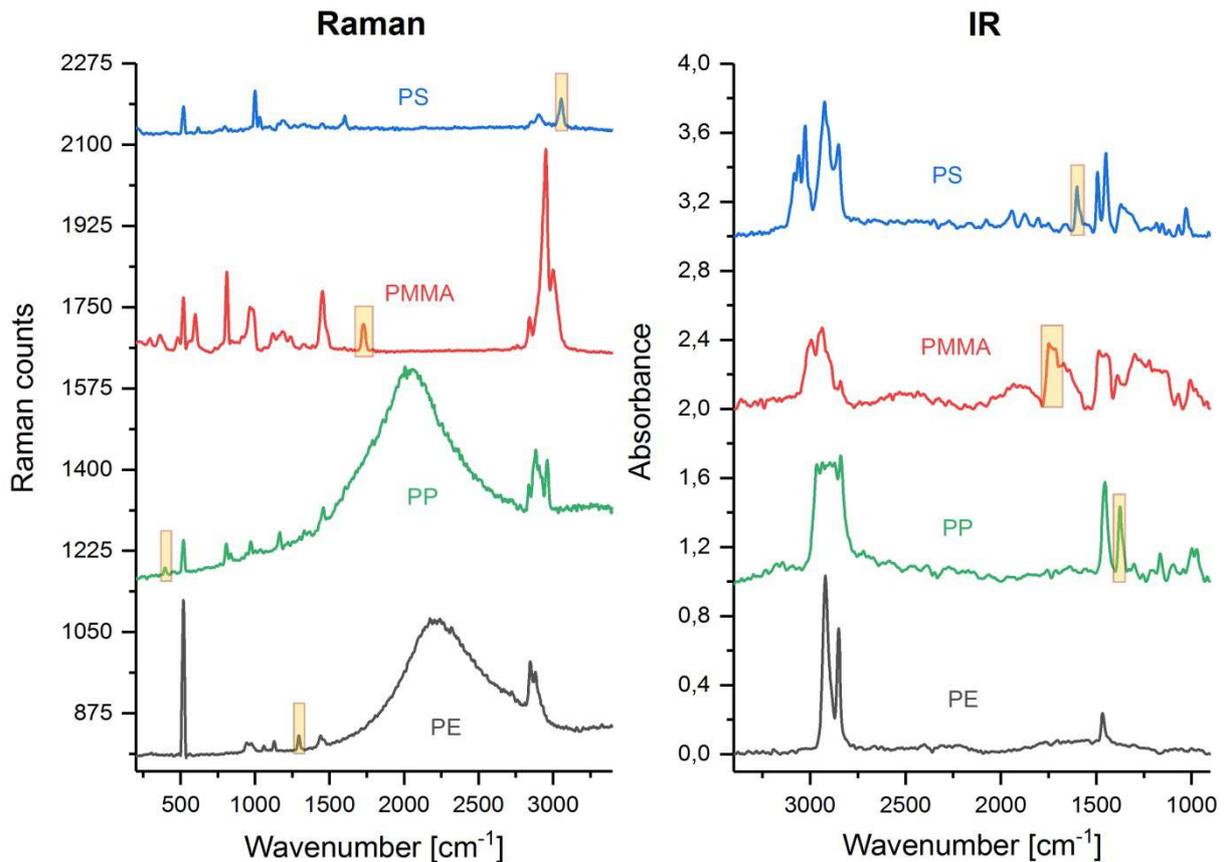


Abbildung 4.23: Raman- (links) bzw. Transmission IR-Spektren (rechts) der verschiedenen Polymerpartikel der Modellprobe. Die Spektren wurden an den in Abbildung 4.22a markierten Stellen (farbige Kreise) aus den entsprechenden Imaging-Daten extrahiert. Spektren wurden nicht normalisiert, um die tatsächlichen Intensitäten zu veranschaulichen. Glättung (Raman + IR) und Basislinienkorrektur (IR) wurden vorgenommen. Die Bandenbereiche für die Erstellung der in Abbildung 4.22c dargestellten Raman bzw. IR Images wurden farbig markiert (gelbes Rechteck).

Bei den Raman-Spektren der PP-Faser und des PE-Folienstückes tritt im Wellenzahlenbereich von 1700 bis 2700 cm⁻¹ Fluoreszenz auf. Diese wurde vermutlich durch auf oder im Material vorliegende minimale Verunreinigungen verursacht. Des Weiteren ist offensichtlich, dass in allen Raman-Spektren die Si-Si-Bande des Si-Filters bei 521 cm⁻¹ zu sehen ist. Diese ist bei der dünnen PE-Folie (Dicke ca. 15 µm) deutlich stärker ausgeprägt als beispielsweise bei dem relativ dicken PS-Fragment (Dicke ca. 100 µm). Außerdem wird durch Abbildung 4.23 ein grundsätzliches Problem beim Raman Imaging sichtbar. Bei der hier durchgeführten Messung wurde der Laser auf die Oberfläche des Si-Filters (z=0 µm) fokussiert und ohne topografische Korrektur (ohne True Surface) gemessen. Demzufolge befinden sich kleine Partikel, wie die PMMA-Kugeln, näher am optischen Fokus des Lasers als die PS-Fragmente und zeigen dadurch ein deutlich höheres Signal und ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis. Eine Fokussierung auf die großen Partikel (z.B. z=90 µm) würde zwar zu höheren Signalen im Spektrum der PS-Fragmente, jedoch zu sehr geringen Signalen in den Spektren der PE-Folie und der PMMA-Kugeln führen. Bei einem zu großen Unterschied zwischen Fokus von Laser und Probenoberfläche ist eine Detektion des Probenpartikels nicht mehr möglich.

Der Einfluss der Fokusebene auf Signalintensität und Signal-Rausch-Verhältnis im Raman-Spektrum ist exemplarisch im Anhang in Abbildung A. 5 anhand der vier verschiedenen Polymerpartikel (PMMA-Kugel, PP-Faser, PS-Fragment, PE-Folie) für verschiedene Fokusebenen ($z=0$ bis $z=90\ \mu\text{m}$) dargestellt.

Um dieses Problem zu überwinden, kann vor der Raman Imaging-Messung das topografische Profil der Probe bei einer sogenannten True Surface-Messung bestimmt werden. Möglichkeiten und Grenzen von True Surface werden unten beschrieben.

Alternativ wäre die Verwendung des Autofokus während der Raman Imaging-Messung denkbar. Dabei wird das maximale Raman-Signal in Abhängigkeit der z -Ebene für einen gewählten Wellenzahlenbereichs ermittelt und die Aufnahme des Spektrums in der jeweiligen optimalen z -Ebene vorgenommen. Dieser Prozess ist jedoch zum einen sehr zeitaufwendig und daher für Raman Imaging-Messungen ungeeignet. Zum anderen sollten möglichst alle zu analysierenden Partikel im gewählten Wellenzahlenbereich über eine Raman-Bande verfügen, damit die Autofokussierung zu sinnvollen Ergebnissen führt.

Bei den aus der IR Imaging-Messung resultierenden IR-Spektren zeigen die PE-Folie (Dicke ca. $15\ \mu\text{m}$) und das PS-Fragment (Dicke $< 100\ \mu\text{m}$) sehr gut auswertbare Spektren mit hohen Signalintensitäten und guten Signal-Rausch-Verhältnissen. Dahingegen erscheint im Spektrum der PP-Faser (\varnothing ca. $30\ \mu\text{m}$) im Wellenzahlenbereich $3030 - 2740\ \text{cm}^{-1}$ Totalabsorption. Dadurch wird deutlich, dass das Auftreten von Totalabsorption im Probenspektrum nicht nur von der Probendicke (PP-Faser vs. PS-Fragment), sondern auch von der Polymerart (PP ist IR-empfindlicher als PS) der Probe abhängt. Das Transmissionsspektrum der PMMA-Kugeln weist eine sehr schlechte Spektren-Qualität auf. Dies ist durch die ideale Kugelform der Partikel bedingt, welche vermutlich zu Reflexions- und Streueffekten innerhalb der Probe führt. Allerdings sind derartige ideale Kugeln in realen Umweltproben kaum oder nicht zu erwarten.

Einfluss von Messparametern auf Image- und Spektren-Qualität

Neben der Beschaffenheit der Probe (Dicke, Form, Polymerart) und der Fokusebene (bei Raman) beeinflussen die Messparameter entscheidend die Image- und Spektren-Qualität bei spektroskopischen Imaging-Messungen. Hier ist eine Optimierung unabdingbar.

Für das IR Imaging wurde der Einfluss verschiedener Messparameter auf die Image- bzw. Spektren-Qualität und auf die Messdauer und Datenmenge bereits ausführlich von Löder et al., 2015 beschrieben und ist in Tabelle 4.4 zusammengefasst. Eine Erhöhung der Image- bzw. Spektren-Qualität (erwünscht – grüne Pfeile) geht dabei in der Regel mit einer Erhöhung der Messdauer und der Datenmenge (unerwünscht – rote Pfeile) einher. Ziel muss es daher sein, die Messparameter so auszuwählen, dass eine ausreichend gute Image- bzw. Spektren-Qualität bei gleichzeitig vertretbarer Messdauer und Datenmenge erreicht wird. Die von der Software (OPUS, Bruker) maximale

Datenmenge, die gerade noch verarbeitet werden kann, beträgt 10 GB (Löder et al., 2015). Als vertretbare Messdauer für die Messung eines gesamten Probenfilters (\varnothing 9 – 11 mm) wurde ein Arbeitstag (8 – 12 h) angesehen (Löder et al., 2015). Mit den für diese Anforderungen optimierten Messbedingungen (Wellenzahlbereich: 3600 – 1200 cm^{-1} , spektrale Auflösung: 8 cm^{-1} , 4 x 4 Binning (Pixelauflösung 10,6 μm) und 6 akkumulierten Scans pro Spektrum) war es möglich eine Probenfläche von 10,54 mm x 10,54 mm (62 x 62 FPA-Felder, 984064 Spektren) innerhalb von 10,75 h zu messen. Die resultierende Messdatei wies ein Datenvolumen von 2572 MB auf (Löder et al., 2015).

Tabelle 4.4: Einfluss verschiedener Messparameter von IR Imaging auf Image- und Spektrenqualität einerseits und Messdauer und Datenmenge andererseits, Wertigkeit des Messparameters ist durch fett/nicht-fett markierte Pfeile dargestellt, zusammengefasst nach Löder et al., 2015.

Messparameter	Qualität IR-Spektrum	Qualität IR Image	Messdauer	Datenmenge
Wellenzahlbereich↓ (von 4000 – 900 cm^{-1} auf 3600 – 1200 cm^{-1})	↓ Verlust an spektraler Information	kein Einfluss	kein Einfluss	↓
spektrale Auflösung↑	↓ Bandenseparation ↓, für Polymere i.d.R. 4 – 8 cm^{-1} ausreichend	kein direkter Einfluss	↓	↓
Scanzahl (n) ↓	↓ S/N sinkt proportional zu \sqrt{n}	indirekter Einfluss	↓	kein Einfluss
Binning ↑	indirekter Einfluss S/N ↑, da Spektren mehrerer Pixel gemittelt werden	↓ laterale Auflösung sinkt um Faktor 2	↓	↓

Beim Raman Imaging müssen z.T. andere Faktoren berücksichtigt werden. Dabei ist zu erwähnen, dass die Größe des bei der Messung erzeugten Datenvolumens für die WITec-Software in der Regel kein Problem darstellte. Demzufolge wurde keine Optimierung hinsichtlich der Datenmenge vorgenommen.

Die **spektrale Auflösung** im Raman-Spektrum ist durch das verwendete Gitter (600 Linien/mm, < 3 cm^{-1}) festgelegt. Die Verwendung des zweiten Gitters (1800 Linien/mm) ermöglicht die Aufnahme von hochaufgelösten Raman-Spektren (< 0,9 cm^{-1}). Dies war jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit weder nötig noch sinnvoll.

Der im Raman-Spektrum aufgenommene **Wellenzahlenbereich** wird bei dem verwendeten System ebenfalls durch das verwendete Gitter und durch Auswahl eines spektralen „Zentrums“ bestimmt. Dieses wurde für die hier durchgeführten Messungen an Polymerpartikeln bei 2000 cm^{-1} gewählt. Die

Datenaufnahme erfolgte folglich im Bereich von ca. -130 bis 3600 cm^{-1} (Raman Shift), wobei Probenbanden aufgrund der intensiven Laserbande erst ab etwa 160 cm^{-1} sicher detektiert werden konnten. Für andere Fragestellungen kann der messbare Wellenzahlenbereich entsprechend verändert werden. Eine Reduktion des Wellenzahlenbereichs war bei dem hier verwendeten System nicht möglich und hätte zudem zu keiner Reduktion der Messdauer geführt.

Analog zur FTIR-Spektroskopie gilt auch bei der Raman-Spektroskopie, dass eine erhöhte **Anzahl an akkumulierten Scans** n pro Spektrum zu einer Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses im Spektrum führt. Dabei ist das nach der Mittelung resultierende Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) nach folgender Gleichung proportional zur Wurzel der akkumulierten Scans n :

$$\frac{S}{N} = \sqrt{n} \frac{S_x}{N_x} \quad (5)$$

S_x/N_x stellt das Signal-Rausch-Verhältnis vor der Mittelung dar.

Gleichzeitig führt eine erhöhte Scananzahl zu einer Erhöhung der Messdauer während der Imaging-Messung. Die Auswahl der optimalen Scananzahl muss sich somit nach der Beschaffenheit der Probe richten. Bei Modellproben aus Referenzpartikeln ist eine Scanzahl von 1 ausreichend, wobei bei realen Umweltproben bis zu 20 Scans pro Spektrum akkumuliert (vgl. 4.2.2.2) werden sollten.

Des Weiteren hat der verwendete **Laser** (Frequenz und Leistung) einen entscheidenden Einfluss auf die Signalintensität im Raman-Spektrum. Nach folgender Gleichung ist die Signalintensität I proportional zur vierten Potenz der Laserfrequenz ν und direkt proportional zur Laserintensität I_0 :

$$I = \nu^4 I_0 N \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q} \right)^2 \quad (6)$$

N stellt die Anzahl der streuenden Moleküle und $\frac{\partial \alpha}{\partial q}$ die Polarisierbarkeitsänderung dar.

Die Verwendung des 532 nm-Lasers führt im Vergleich zum 785 nm-Lasers demzufolge zu deutlich höheren Signalen im Raman-Spektrum. Andererseits kann durch Verwendung des 785 nm-Lasers in einigen Fällen auftretende Fluoreszenz verringert werden. Da es mit dem 532 nm-Laser im Gegensatz zum 785 nm-Laser bei dem hier vorliegenden System möglich war, den gesamten für Polymere interessanten Wellenzahlenbereich von $160 - 3600\text{ cm}^{-1}$ in einem Spektrum abzubilden und zudem höhere Signalintensitäten erreicht werden konnten, wurde für das Raman Imaging im Rahmen dieser Arbeit ausschließlich der 532 nm-Laser verwendet.

Neben der bereits erwähnten Laserleistung kann die Signalintensität im Raman-Spektrum auch durch Erhöhung der **Integration- oder Beleuchtungszeit** pro Scan erhöht werden.

Um den Einfluss der Laserleistung und der Integrationszeit auf die Spektren-Qualität einerseits, und auf die Messdauer andererseits zu veranschaulichen, wurde Modellprobe 2 bestehend aus PE-Kugeln ($\varnothing 10 - 27\text{ }\mu\text{m}$, „Microspheres“, cospheric LLC) auf einem Si-Wafer (ohne Löcher) verwendet. Es wurde exemplarisch eine Fläche von $160\text{ }\mu\text{m} \times 110\text{ }\mu\text{m}$ mittels Raman Imaging mit variierender

Laserleistung (Abbildung 4.24) bzw. variierender Integrationszeit (Abbildung 4.25) gemessen und das Spektrum eines PE-Partikels innerhalb der Messfläche aus den Imaging-Daten extrahiert.

Wie den beiden Abbildungen entnommen werden kann, steigt die Intensität der Raman-Signale mit steigender Laserleistung bzw. steigender Integrationszeit. Während die verwendete Laserleistung keinen Einfluss auf die Messdauer der Raman Imaging-Messung hatte, erhöhte sich die Messdauer in Abhängigkeit von der Integrationszeit von 10 min bei 130 ms auf 15 bzw. 25 min bei 250 bzw. 500 ms. Beide Parameter zeigten keinen sichtbaren Einfluss auf die Qualität der Raman Images für den Wellenzahlenbereich $2840 - 2900 \text{ cm}^{-1}$ (CH_2 Streckschwingung).

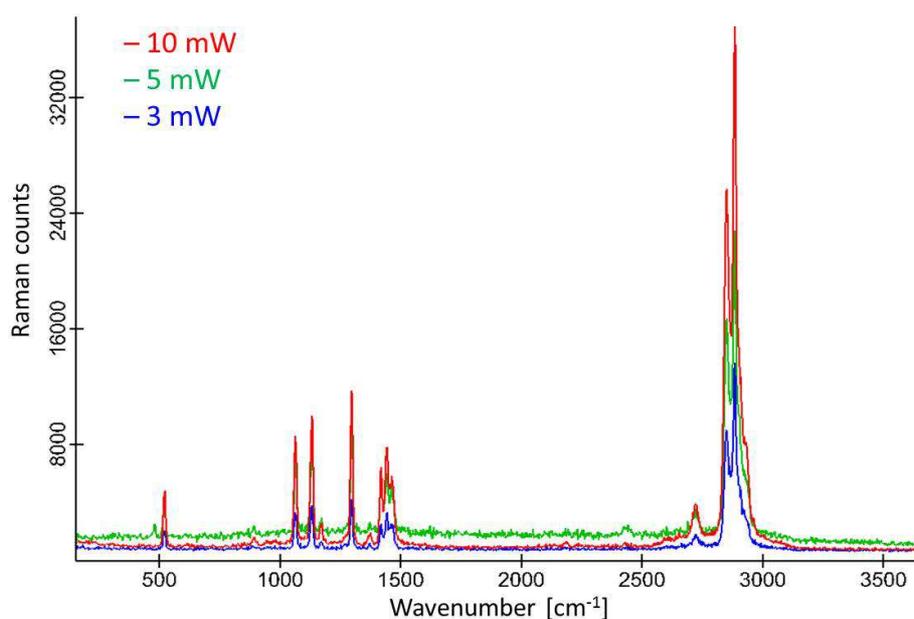


Abbildung 4.24: Raman-Spektren einer PE-Kugel ($10 - 27 \mu\text{m}$) aus Imaging-Daten in Abhängigkeit von der Laserleistung (532 nm). Rot: 10 mW , grün: 5 mW , blau: 3 mW . Sonstige Messparameter: Objektiv: $20\times$ (Nikon), Scananzahl: 1 (continuous mode), Integrationszeit: 250 ms , Messpunktabstand: $2,5 \mu\text{m}$, EMCCD, Messdauer: 15 min . Dargestellt sind die Original-Spektren (ohne Basislinienkorrektur/Glättung/Normierung).

Anhand dieser Messungen wurde außerdem die Beständigkeit von Polymerpartikel gegenüber einer Laserleistung bis zu 10 mW geprüft. Eine negative Beeinflussung oder gar eine Zerstörung sehr kleiner Polymerpartikel (hier PE-Kugeln $10 - 27 \mu\text{m}$ bzw. $1 - 10 \mu\text{m}$ (siehe unten), aber auch PMMA, PS und weitere Polymere) wurde weder optisch noch in den Spektren beobachtet. Dahingegen kann eine Laserleistung von 3 mW und darunter bei biologischen Materialien bereits zu Schäden (optisch: Verbrennungspunkte nach der Messung, Spektrum: D- und G-Banden des amorphen Kohlenstoffs) führen.

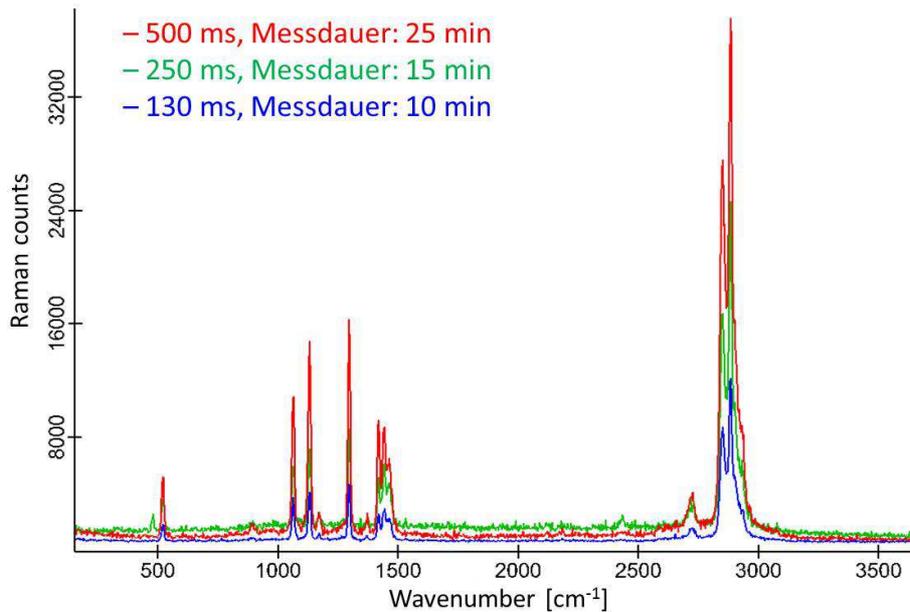


Abbildung 4.25: Raman-Spektren einer PE-Kugel (10- 27 μm) aus Imaging Daten in Abhängigkeit von der Integrationszeit. Rot: 500 ms, resultierende Messdauer von 25 min; Grün: 250 ms, resultierende Messdauer von 15 min; Blau 130 ms, resultierende Messdauer von 10 min. Sonstige Messparameter: Objektiv: 20x (Nikon), Scananzahl: 1 (continuous mode), Laserleistung: 5 mW, Messpunktabstand: 2,5 μm , EMCCD. Dargestellt sind die Original-Spektren (ohne Basislinienkorrektur/Glättung/Normierung).

Der **Messpunktabstand** beim Raman Imaging hat einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität bzw. Schärfe der resultierenden Images einerseits, und auf die Messdauer andererseits. Dies ist exemplarisch an Modellprobe 2 in Abbildung 4.26 dargestellt. Je kleiner der Messpunktabstand gewählt wird, desto besser wird die laterale Auflösung des Raman-Bildes. Bei der vorliegenden Modellprobe in Verbindung mit den hier gewählten sonstigen Messparametern war es mit einem Messpunktabstand von 10 μm nicht möglich, die einzelnen Partikel getrennt voneinander zu erkennen. Dies konnte durch einen Messpunktabstand von 5 μm erreicht werden, wobei sich die Schärfe des Bildes noch verbesserte, wenn die Spektren aller 2,5 μm bzw. 1 μm gemessen wurden. Gleichzeitig führt die Erhöhung der lateralen Auflösung durch den Messpunktabstand zu einer deutlich längeren Messdauer für die Raman Imaging-Messung. Wird der Messpunktabstand um Faktor 2 erniedrigt, steigt die Messdauer in etwa um Faktor 3 – 5 an.

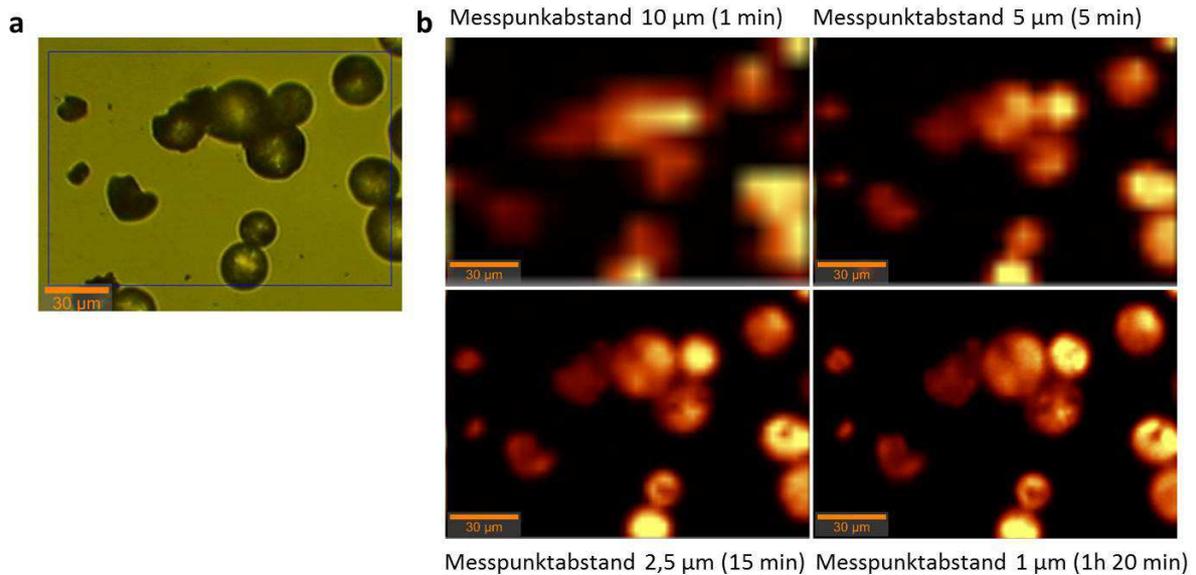


Abbildung 4.26: A: optisches Bild von Modellprobe 2 (PE-Kugeln, \varnothing 10 – 27 μm , auf Si-Wafer) B: Raman Images für den Wellenzahlenbereich 2840 – 2900 cm^{-1} von Modellprobe 2 in Abhängigkeit vom Messpunktstand. Links oben: 10 μm Messpunktstand, 1 min Messdauer; Rechts oben: 5 μm Messpunktstand, 5 min Messdauer; Links unten: 2,5 μm Messpunktstand, 15 min Messdauer; Rechts unten: 1 μm Messpunktstand, 1h 20 min Messdauer. Sonstige Messparameter: Objektiv: 20x (Nikon), Scananzahl: 1 (continuous mode), Laserleistung: 5 mW, Integrationszeit: 0,25 s, EMCCD.

Des Weiteren hängt die laterale Auflösung der Raman Images nach Gleichung (4) mit geringerem Ausmaß auch von der **numerischen Apertur** des verwendeten Objektivs ab. Je höher die numerische Apertur des Objektivs desto kleinere Partikel können lateral aufgelöst werden. Ein Vergleich der Raman Images von einer Probenfläche (Modellprobe 3: PE-Microspheres mit \varnothing 1 – 10 μm und PMMA-Microspheres mit \varnothing 27 – 32 μm ; beide cospheric LLC) aufgenommen mit dem 20x-Objektiv (Nikon, $N_A=0,46$) und dem 50x-Objektiv (Nikon, $N_A=0,8$) ist in Abbildung A. 6 im Anhang zu sehen.

Wie bereits im vorhergehenden Abschnitt beschrieben, hat die **Fokusebene** ebenfalls einen entscheidenden Einfluss sowohl auf die Image- als auch auf die Spektren-Qualität beim Raman Imaging. Wird das Raman Imaging in nur einer Fokusebene durchgeführt (ohne topografische Korrektur oder ohne Autofokus) sollte der optische Fokus auf das Substrat (hier Si-Filter oder Si-Wafer) gerichtet werden, um sehr kleine Partikel nicht zu „übersehen“. Andererseits verschlechtert sich dann das Spektrum von großen, dicken Partikeln. Die Erstellung des topografischen Profils der Probe vor der eigentlichen Raman Imaging-Messung (True Surface) kann die Qualität der Spektren und des Image deutlich verbessern, indem der Laser für jede xy-Position im optimalen z-Fokus gehalten wird. Allerdings bedeutet dies ebenfalls eine Erhöhung der Messdauer (nähere Details sind im Abschnitt „Topografisches Raman Imaging mit der True Surface Technology“ beschrieben).

In Tabelle 4.5 sind alle für das Raman Imaging relevanten Messparameter und deren Einfluss auf die Image- bzw. Spektren-Qualität und auch die Messdauer zusammengefasst.

Tabelle 4.5: Einfluss verschiedener Messparameter von Raman Imaging-Messungen auf Image- und Spektrenqualität einerseits und Messdauer andererseits, Wertigkeit des Messparameters ist durch fett/nicht-fett markierte Pfeile dargestellt.

Messparameter	Qualität Raman-Spektrum	Qualität Raman Image	Messdauer
Scanzahl (n) ↓	↓ S/N sinkt proportional zu \sqrt{n}	indirekter Einfluss	↓
Laserleistung ↑	↑ Signal-Intensität steigt proportional zur Laserleistung	indirekter Einfluss	kein Einfluss
Integrationszeit ↓	↓ Signal-Intensität sinkt	indirekter Einfluss	↓
Messpunktabstand ↑	indirekter Einfluss	↓	↓
Numerische Apertur des Objektivs ↑	indirekter Einfluss	↑	kein Einfluss
Topografische Korrektur (True Surface)	↑ (Laser im Fokus der Probe)	↑	↑

Abschließend kann festgehalten werden, dass sich die Auswahl der Messparameter nach der Fragestellung und der Beschaffenheit der jeweiligen Probe richtet. Bei Umweltproben, die neben dem Analyten noch andere störende biologische Komponenten enthalten, sind ggf. entsprechend optimalere Messparameter zu wählen, auch wenn dadurch die Messdauer erhöht wird. Die Auswahl des Messpunktabstandes richtet sich im Wesentlichen nach dem zu untersuchenden Größenbereich der Partikel.

IR und Raman Imaging an Mikroplastik-Modellpartikel (1 – 10 μm)

Mit Hilfe von Modellprobe 3 kann gezeigt werden, dass Mikroplastik-Partikel bis zu 1 μm mittels Raman Imaging erfolgreich detektiert werden können. In Abbildung 4.27c ist das optische Bild der Messfläche (74 μm x 100 μm), bestehend aus PE-Kugeln im Größenbereich 1 – 10 μm und PMMA-Kugeln im Größenbereich von 27 – 32 μm auf einem Si-Wafer zu sehen. Die Raman Images für PMMA (2927 – 2987 cm^{-1} , CH_3 Streckschwingung) bzw. PE (2843 – 2903 cm^{-1} , CH_2 Streckschwingung) sind in Abbildung 4.27a+b dargestellt. Das kombinierte Bild (Abbildung 4.27d) für die drei Probenkomponenten (PMMA: blau, PE: rot, Si-Wafer: grün) zeigt die Verteilung der jeweiligen Kunststoff-Kugeln auf der Messfläche. Bemerkenswert dabei ist, dass im Raman Image eine PE-Kugel „unter“ der rechten PMMA-Kugel (weiße quadratische Markierung) erkennbar ist, welche im optischen Bild aufgrund der Unschärfe des größeren Partikels nicht zu sehen ist.

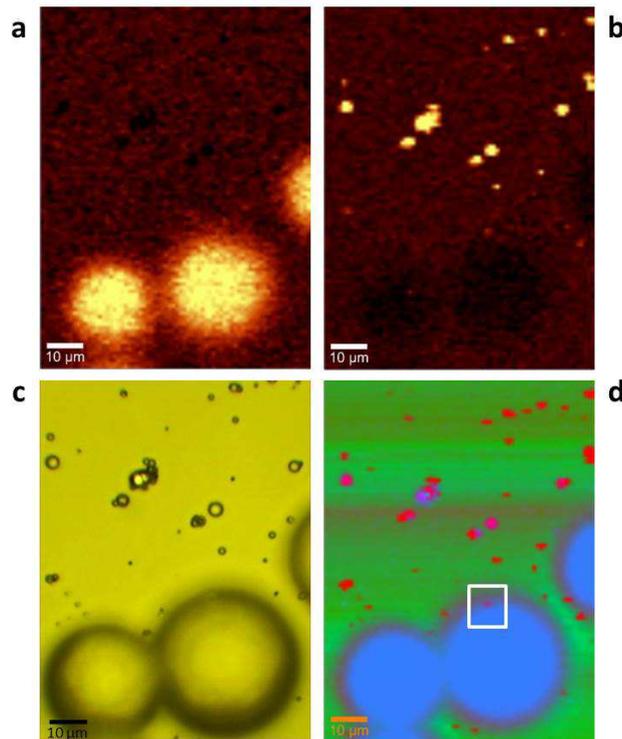


Abbildung 4.27: Raman Imaging von Modellprobe 3 (PE-Kugeln 1 – 10 μm und PMMA-Kugeln 27 – 32 μm auf einem Si-Wafer). A: Raman Image für den Wellenzahlenbereich 2927 – 2987 cm^{-1} (PMMA). B: Raman Image für den Wellenzahlenbereich 2843 – 2903 cm^{-1} (PE). C: Optisches Bild der Messfläche (74 μm x 100 μm) D: Kombiniertes Raman Image, rot: PE-Partikel, blau: PMMA-Partikel, grün: Si-Wafer. Messparameter: 1 μm Messpunktabstand, 1 Scan (continuous mode), 3 mW Laserleistung, 0,5 s Integrationszeit, LD50x Objektiv, EMCCD, Laser auf die Oberfläche des Si-Wafers fokussiert.

Mittels (konventionellem) Transmission IR Imaging können dahingegen Partikel unter 10 μm aufgrund des Beugungslimits der IR-Strahlung (vgl. Gleichung (4)) nicht identifiziert werden. Dies wurde ebenfalls mit PE-Kugeln im Größenbereich von 1 – 10 μm veranschaulicht (Abbildung 4.28). Im optischen Bild sind die einzelnen PE-Kugeln zu erkennen (rote Kreise). Im IR Image (2982-2781 cm^{-1} , CH_2 Streckschwingung) können die einzelnen PE-Kugeln jedoch nicht visualisiert werden. Lediglich eine Ansammlung von mehreren, aneinander grenzenden Partikeln, die insgesamt eine Fläche von mehr als 10 μm x 10 μm umfassen, wird im IR Image sichtbar und zeigt, dass die Messung prinzipiell funktioniert hat.

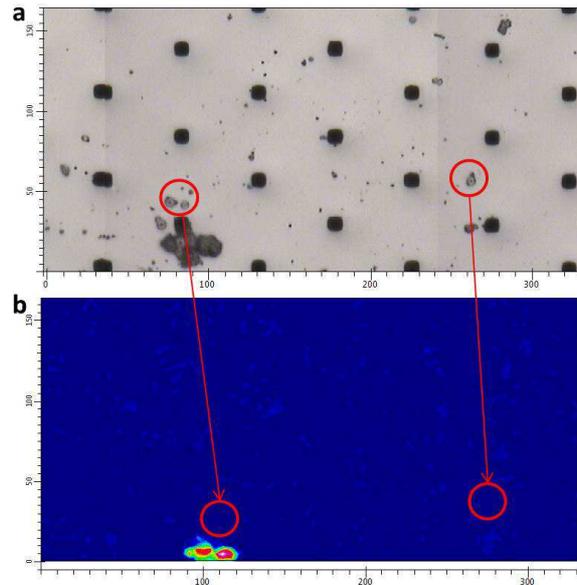


Abbildung 4.28: Transmission IR Imaging von PE-Kugeln (1 – 10 µm auf Si-Filter *Design 1*, 250 µm). A: optisches Bild der Messfläche (ca. 160 µm x 330 µm). B: Transmission IR Image für den Wellenzahlenbereich 2983 – 2781 cm⁻¹. Rote Kreise zeigen die Positionen von vereinzelt PE-Kugeln (Ø < 10 µm) an, die lediglich im optischen Bild, aber nicht im IR Image erkennbar sind. Messparameter: 8 cm⁻¹ spektrale Auflösung, 32 Scans pro Spektrum, kein Binning (Pixelauflösung: 2,7 µm), Wellenzahlenbereich: 3400 – 900 cm⁻¹; Hintergrund: gegen Luft, gleiche Einstellungen; gemessen mit Hyperion 3000 in Verbindung mit Tensor 27.

Topografisches Raman Imaging mit der True Surface Technology

Wie bereits in den vorangegangenen Abschnitten erwähnt, wird bei der konfokalen Raman-Mikroskopie Licht unterdrückt, dessen Ursprung außerhalb der Fokusebene liegt. Dadurch weisen Partikel, die nicht im Fokus des Lasers liegen beim Raman Imaging deutlich schlechtere Signal-Intensitäten und Signal-Rausch-Verhältnisse auf als optimal fokussierte Partikel.

Mit der True Surface Technologie® (WITec) wird vor dem eigentlichen Raman Imaging das topografische Profil der Probe ermittelt und die daraus resultierenden Informationen (optimaler z-Fokus für jede xy-Position) der nachfolgenden Raman Imaging-Messung hinterlegt. Dadurch wird der Laser auch bei unregelmäßigen und rauen Proben für jeden Messpunkt im optimalen Fokus gehalten. Der bei der kontaktlosen True Surface Messung verwendete optische Sensor weist ein Linsensystem mit einem hohen chromatischen Fehler auf. Die Strahlung einer Weißlichtquelle wird dabei in ihre Bestandteile (Farben) zerlegt. Jede Farbe des Weißlichtes verfügt somit über einen unterschiedlichen Abstand zum Fokuspunkt. Das von der Probe zurück reflektierte Licht wird über das Linsensystem eingesammelt und durch eine Lochblende zum Spektrometer geleitet. Nur das auf der Probenoberfläche im Fokus befindliche Licht kann die konfokale Lochblende passieren und wird detektiert. Demzufolge kann aus der detektierten Wellenlänge auf den Abstand zur Probenoberfläche und auf das topografische Profil der Probe zurück geschlossen werden.

Der topografische Sensor kann laut Hersteller eine laterale Auflösung von 10 – 25 µm und eine vertikale Auflösung von 40 – 120 nm erreichen (WITec, 2014).

Ein Vergleich zweier Raman Imaging-Messungen unter gleichen Messbedingungen (Anhang Tabelle A. 4), einmal mit und einmal ohne Verwendung der True Surface Technologie, ist anhand der Modellprobe 1 in Abbildung 4.29 dargestellt.

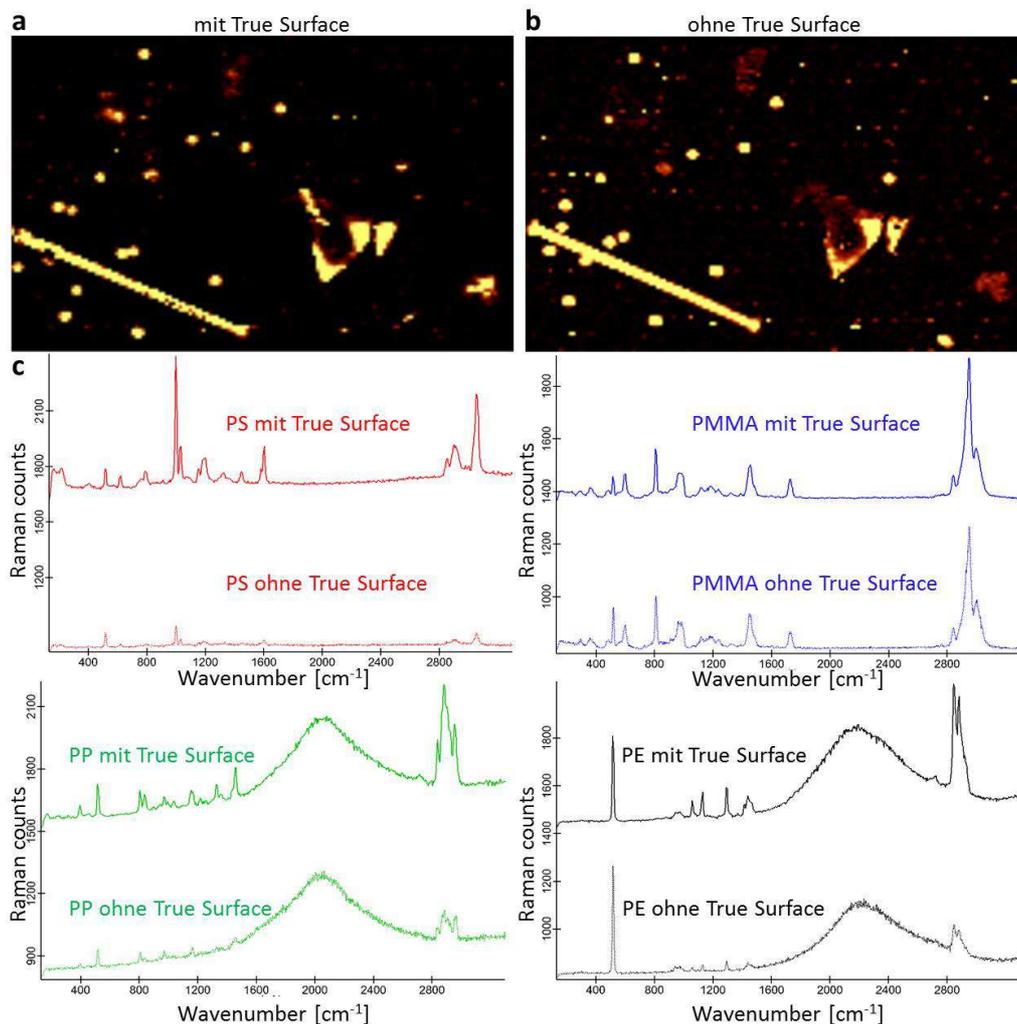


Abbildung 4.29: Raman Images (2780 – 2980 cm⁻¹) von Modellprobe 1 mit (a) und ohne (b) True Surface. C: Raman-Spektren mit und ohne True Surface von je einem PS (rot), PMMA (blau), PP (grün) und PE (schwarz) Partikel. Die Positionen, an denen die jeweiligen Spektren extrahiert wurden, sind in Abbildung 4.22a markiert (farbige Kreise). Dargestellt sind die Original-Spektren (ohne Basislinienkorrektur/Glättung/Normierung).

Die Raman Images der beiden Messungen unterscheiden sich auf den ersten Blick nicht stark. Allerdings ist der PS-Partikel am rechten unteren Rand (vgl. Abbildung 4.22a, blauer Kreis) im Raman Image mit True Surface deutlich intensiver gefärbt, was auf eine höhere Signal-Intensität im gewählten Wellenzahlenbereich aufgrund der besseren Fokussierung zurückzuführen ist. Des Weiteren erscheint das Raman Image mit True Surface etwas schärfer und es sind etwas weniger „Störpixel“ zu sehen.

Deutliche Unterschiede werden in den aus den jeweiligen Messungen extrahierten Raman-Spektren der vier Polymerpartikel (PS, PMMA, PP und PE) ersichtlich (Abbildung 4.29c). So zeigen das PS-Fragment (Dicke ca. 30 – 100 µm), die PP-Faser (∅ ca. 30 µm) und die PE-Folie (Dicke ca. 15 µm) mit

True Surface deutlich höhere Signale und bessere Signal-Rausch-Verhältnisse als ohne True Surface. Diese befinden sich mit Hilfe der topografischen Korrektur nun im Fokus des Lasers. Die PMMA-Partikel stellen einen Sonderfall dar und zeigten unabhängig von der Fokussierung auf die Substrat- oder Probenoberfläche das gleiche Raman-Signal. Dies wird auch in Abbildung A. 5 im Anhang ersichtlich und legt die Vermutung nahe, dass es sich bei den Microspheres möglicherweise um hohle Kunststoffkugeln handeln könnte.

Anhand der Modellprobe 1 konnte gezeigt werden, dass die True Surface Technologie zu deutlich besseren Ergebnissen beim Raman Imaging von Mikroplastik-Proben führen kann. Da vor der eigentlichen Imaging-Messung jedoch das topografische Profil der Messfläche erstellt werden muss, erhöht sich die Messdauer für eine Probe um diese Zeit. Im Fall von Modellprobe 1 (1500 μm x 500 μm) wurde für die True Surface Messung 12 min mit den gewählten Parametern benötigt. Die Messdauer und Qualität der topografischen Messung steigt dabei je kleiner der Messpunktabstand und je kleiner die Auslesefrequenz („sampling rate“) gewählt wird. Die eigentlichen Raman Imaging-Messungen mit und ohne True Surface unterschieden sich jedoch nicht hinsichtlich der Messzeit (beide 1h 5 min).

Im Rahmen der durchgeführten Arbeiten traten allerdings bei der Erstellung der topografischen Bilder vor allem bei den transparenten Kugeln, aber auch bei anderen Proben Probleme auf. Ein Beispiel ist in Abbildung 4.30 dargestellt. Im optischen Bild (Abbildung 4.30a) sind PMMA-Kugeln auf einen Si-Filter zu sehen. Das nach der True Surface Messung resultierende topografische Bild der Messfläche ist in Abbildung 4.30b dargestellt; anhand des Farbbalken kann die Höhe (z-Wert) einer beliebigen Stelle auf der Messfläche abgelesen werden.

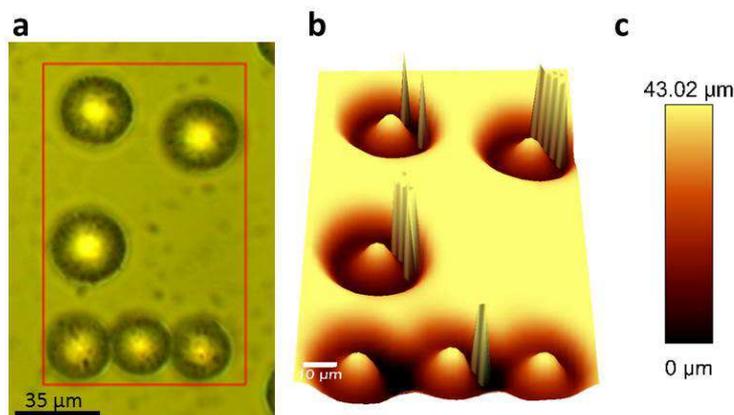


Abbildung 4.30: Topografische Bilder von Modellprobe 3 (PMMA-Kugeln 27 – 32 μm auf einem Si-Wafer). A: Optisches Bild der Messfläche (88 μm x 144 μm). B: Topografisches Bild der Messfläche in 3-D-Ansicht. C: Farbbalken, der die Höhenverteilung (z-Werte) über die Messfläche wiedergibt.

Zunächst fallen die herausragenden Spitzen im Bild auf, diese stellen „Messfehler“ dar und können mit entsprechender Bearbeitung korrigiert werden. Allerdings ist diese Korrektur für große Messflächen aufwendig und teilweise unübersichtlich.

Das weitaus stärkere Problem tritt jedoch an den Partikelrändern auf. Diese werden nicht, wie tatsächlich vorliegend, als Erhöhungen (gelb), sondern als Vertiefungen (schwarz) erkannt. Der höchste Punkt der Kugel hat im topografischen Bild die gleiche Farbe und damit die gleiche Höhe wie die Substratoberfläche, was eindeutig nicht der Realität entspricht.

Möglicherweise wird diese fehlerhafte Darstellung durch Mehrfachreflexionen des Lichtes innerhalb der transparenten Kugel während der True Surface Messung verursacht. Dadurch würde der Weg des Lichtes einer entsprechenden Wellenlänge zurück zum Linsensystem und zur Lochblende künstlich verlängert und die Messung am Detektor verfälscht.

Dieses Phänomen wurde nicht nur bei den idealen Kugeln, sondern z.B. auch bei unregelmäßigen Partikeln (gemahlene Kunststofffragmente) oder an dem eingeritzten Kreuz eines Si-Wafers beobachtet. Daher wurde die Idee, eine der Raman-Messung vorgeschaltete Partikelerkennung anhand der True Surface Daten trotz erfolgreicher Programmierung⁴ zwar getestet, letztendlich für die vorliegende Arbeit jedoch nicht genutzt.

Partikelmessung mittels Raman- und IR-Mikroskopie

Bei den oben beschriebenen Imaging-Verfahren wird die gesamte Messfläche, auf der sich die zu analysierenden Partikel befinden, automatisch ohne optische Vorsortierung gemessen. Das heißt, es wird auch die Filterfläche mitgemessen, auf der sich eigentlich keine Partikel befinden. Dies bedeutet ggf. „unnötige“ Messzeit und Datenmenge.

Ein prinzipiell anderes Herangehen an die Fragestellung ist daher eine der Messung vorgeschaltete optische Partikelerkennung (Ermittlung der x-, y- und z-Koordinaten für jeden Partikel) mit nachfolgender automatischer Einzelmessung jedes erkannten Partikels.

Dieser Ansatz wurde im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit ebenfalls an Modellpartikeln getestet. Zum Zeitpunkt der Arbeit verfügten beide hier verwendeten spektroskopischen Systeme (Raman Mikroskop alpha300 R bzw. FTIR-Mikroskop Hyperion 2000) über keine automatische Partikelerkennung. Dies bedeutete, dass jedes optisch sichtbare Partikel durch manuelles Anklicken ausgewählt werden musste. Im Fall von Modellprobe 1 mit etwa 30 Einzelobjekten dauerte dies etwa 4 min. Bei realen Umweltproben (vgl. Abschnitt 4.3.1) mit bis zu über 1000 Partikeln pro Messfläche (4 x 500 µm x 500 µm) nahm dies bis zu 2 h in Anspruch. Zudem unterliegt dieser Vorgang einer gewissen Subjektivität, da bei Partikelagglomeraten die Anzahl der aneinander liegenden Partikeln nicht immer klar zu erkennen ist.

Bei IR-mikroskopischen Messungen in Transmission von unterschiedlich großen Partikeln muss außerdem die Einstellung der Schneideblende beachtet werden. Zu Beginn der Arbeit stand lediglich eine manuelle Schneideblende zur Verfügung. Dies bedeutete, dass alle Partikel mit einer

⁴ Durch Michael Käppler

einheitlichen Schneideblenden-Größe untersucht werden mussten. Die Schneideblende wurde dabei auf die Größe der kleinsten Partikel eingestellt. Zu einem späteren Zeitpunkt stand eine automatische Schneideblende zur Verfügung, mit der für jedes Partikel die optimale Größe individuell eingestellt werden konnte. Dies war jedoch wiederum nur händisch möglich und dadurch sehr zeitaufwendig.

Nach dem manuellen Festlegen der einzelnen Messpositionen konnte die Raman-Messung vollautomatisch mit oder ohne Autofokus-Funktion durchgeführt werden. Die Messdauer richtete sich nach den gewählten Messparametern (Integrationszeit, Scananzahl, Autofokus ja/nein).

Die IR-Messung der vorbestimmten Messpositionen war prinzipiell auch automatisch möglich. Allerdings erschien nach jeder Einzelpunktmessung eine Sicherheitsabfrage, ob das System verfahren werden darf, die händisch bestätigt werden musste. Daher wurde diese Messvariante an realen Proben nicht angewendet.

Für die Auswertung der umfangreichen Daten sowohl von Imaging- als auch von automatischen Einzelpartikelmessungen standen zum Zeitpunkt der Arbeit keine automatischen, softwarebasierten Tools zur Verfügung. Das heißt, die Spektren mussten einzeln beurteilt und ggf. einer Bibliothekssuche unterworfen werden. Zusätzlich musste die spektrale Information (Identität des Partikels) mit der Partikelgröße händisch verknüpft werden.

Um die Messung und Auswertung von Mikroplastik-Proben auf Filtern zukünftig zu beschleunigen, sollte der eigentlichen Messung eine Software-basierte automatische Partikelerkennung mit integrierter Bestimmung der Größe der Partikel (x,y,z) vorangestellt werden und diese mit der nachfolgenden spektroskopischen Messung verknüpft werden. Für die Auswertung der erhaltenen Daten wäre zudem ebenfalls ein Software-unterstütztes Tool nützlich, welches es ermöglicht eine automatisierte Bibliothekssuche mit den umfangreichen Datensätzen durchzuführen und die Ergebnisse systematisch zusammenzufassen.

4.2.2.2 Reale Mikroplastik-Partikel aus Sinkstofffallen

Das in den vorangegangenen Abschnitten an Modellpartikeln erprobte Raman Imaging wurde nachfolgend für die Untersuchung einer realen Umweltprobe (hier marine Sinkstofffallen-Probe) angewendet und die Ergebnisse mit der bereits etablierten IR Imaging Methode nach Löder et al., 2015 hinsichtlich der Anzahl, der Polymerart und der Größe der identifizierbaren Mikroplastik-Partikel verglichen. Weitere entscheidende Faktoren, die im Folgenden diskutiert werden, sind die Qualität der IR- und Raman-Spektren, das Handling beim Messen sowie die Messdauer.

Details zur Messprozedur sind im Anhang Abschnitt A 3.2.4 und in Tabelle A. 5 beschrieben.

Das optische Bild der Messfläche (1000 μm x 1000 μm), die mit beiden Verfahren untersucht wurde, ist in Abbildung 4.31a zu sehen.

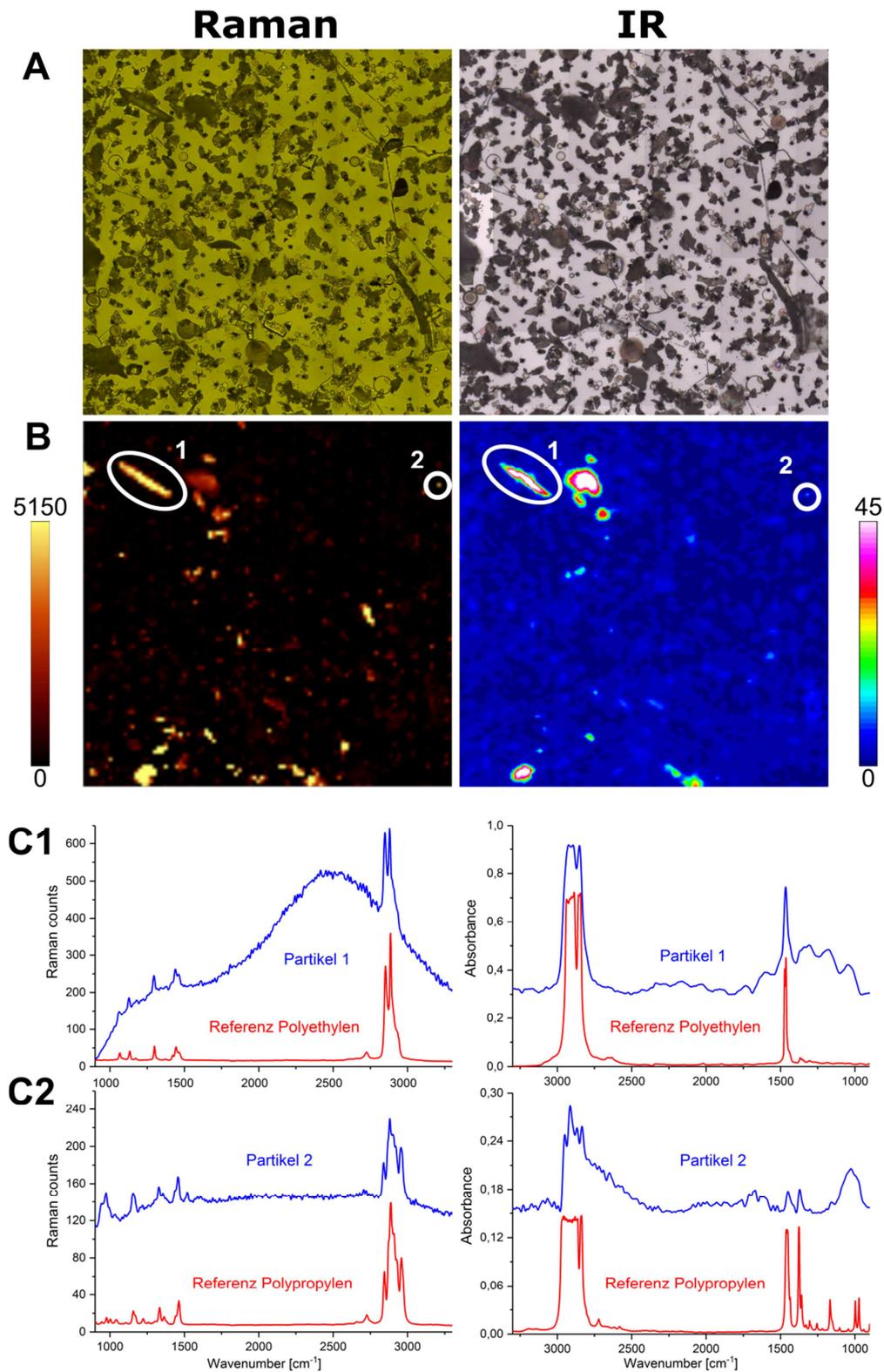


Abbildung 4.31: Vergleich von Raman und IR Imaging einer marinen Sinkstofffallen-Probe. A: Optisches Bild der Messfläche ($1000 \mu\text{m} \times 1000 \mu\text{m}$), aufgenommen mit dem Raman-Mikroskop (links) bzw. mit dem IR-Mikroskop (rechts). B: Raman Image (links) bzw. IR Image (rechts) der exakt gleichen Messfläche für den Wellenzahlenbereich $2780 - 2980 \text{ cm}^{-1}$. Die Farbbalken stellen die Intensität der integrierten spektralen Banden (dimensionslose Größen) dar. Die weißen Kreise markieren die Position von Partikel 1 und 2 (vgl. C1 und C2) innerhalb der Messfläche. C: Aus den Imaging-Daten extrahierte Raman- (links) bzw. Transmission IR-Spektren (rechts) von Partikel 1 und Partikel 2 (blau) im Vergleich mit einer Referenz (rot). Zur besseren Darstellung wurden die Raman-Spektren geglättet, bei den IR-Spektren fand eine Subtraktion des Messsubstrates (Spektrum des Si-Filters ohne Probenpartikel), Glättung und Basislinienkorrektur statt. Abbildung entnommen aus Käppler et al., 2016.

Nach der Messung wurden die Imaging-Daten durch Auswahl geeigneter Wellenzahlenbereiche in farbige Raman bzw. IR Images umgewandelt. Dies ist exemplarisch für den Wellenzahlenbereich 2780 – 2980 cm^{-1} in Abbildung 4.31b dargestellt. Alle Partikel, die im gewählten Spektralbereich eine hohe Signal-Intensität (Bande) aufweisen, werden dabei farblich (Raman: rot – gelb, IR: türkis bis weiß) dargestellt. Dadurch können alle potentiellen Mikroplastik-Partikel auf der Messfläche visualisiert werden. Da auch andere Probenbestandteile (z.B. organische Verunreinigungen) im gewählten Spektralbereich Raman- bzw. IR-Banden aufweisen können, wurde das vollständige Raman- bzw. IR-Spektrum jedes „farbigen“ Partikels extrahiert und beurteilt, ob es sich tatsächlich um einen Kunststoff handelt oder nicht. Wurde ein Kunststoff-Partikel identifiziert, wurden die Polymerart z.B. mit Hilfe einer Spektren-Bibliothek ermittelt und die Größe des Partikels bestimmt. Dieser Auswertevorgang ist exemplarisch für Partikel 1 und 2 (weiße Kreise) in Abbildung 4.31b+c dargestellt.

Anzahl und Polymerart der identifizierten Mikroplastik-Partikel

Zur Auswertung der Raman-Daten wurden drei verschiedene Wellenzahlenbereiche verwendet: 2780 – 2980 cm^{-1} (Streckschwingungen von CH, CH₂, CH₃-Gruppen), 1580 – 1640 cm^{-1} (Streckschwingung von aromatischen CC-Systemen) und 709 – 759 cm^{-1} (Streckschwingung von CF₂). Wie der Abbildung 4.32 entnommen werden kann, sind diese Spektralbereiche geeignet, um die mengenmäßig am häufigsten verwendeten Polymere⁵ zu visualisieren. Pro Wellenzahlenbereich wurde je ein Raman Image erstellt, wie oben beschrieben ausgewertet und die Anzahl der identifizierten Mikroplastik-Partikel gezählt. Da einige Polymere durch zwei Wellenzahlenbereichen visualisiert werden können (z.B. PU, PS), wurde sorgfältig darauf geachtet, dass kein Partikel doppelt gezählt wurde.

Mit Hilfe des Spektralbereiches von 2780 – 2980 cm^{-1} wurden 22 PE-Partikel (einschließlich PE-Copolymere und oxidiertes PE), fünf PP-Partikel und neun PVC-Partikel identifiziert. Anhand des Wellenzahlenbereiches von 1580 – 1640 cm^{-1} wurden drei Mikroplastik-Partikel aus PC, eines aus PS und sechs aus PET detektiert. Im Raman Image für den Bereich 709 – 759 cm^{-1} konnten drei PTFE-Partikel bestimmt werden. Insgesamt wurden auf der untersuchten Messfläche (1000 μm x 1000 μm) der marinen Sinkstofffallen-Probe 49 Mikroplastik-Partikel mittels Raman Imaging identifiziert.

⁵ Ca. 84 % des in Europa benötigten Kunststoffs entfallen auf PE, PP, PVC, PU, PS, PET, PA, PC, PMMA (PlasticsEurope, 2016)

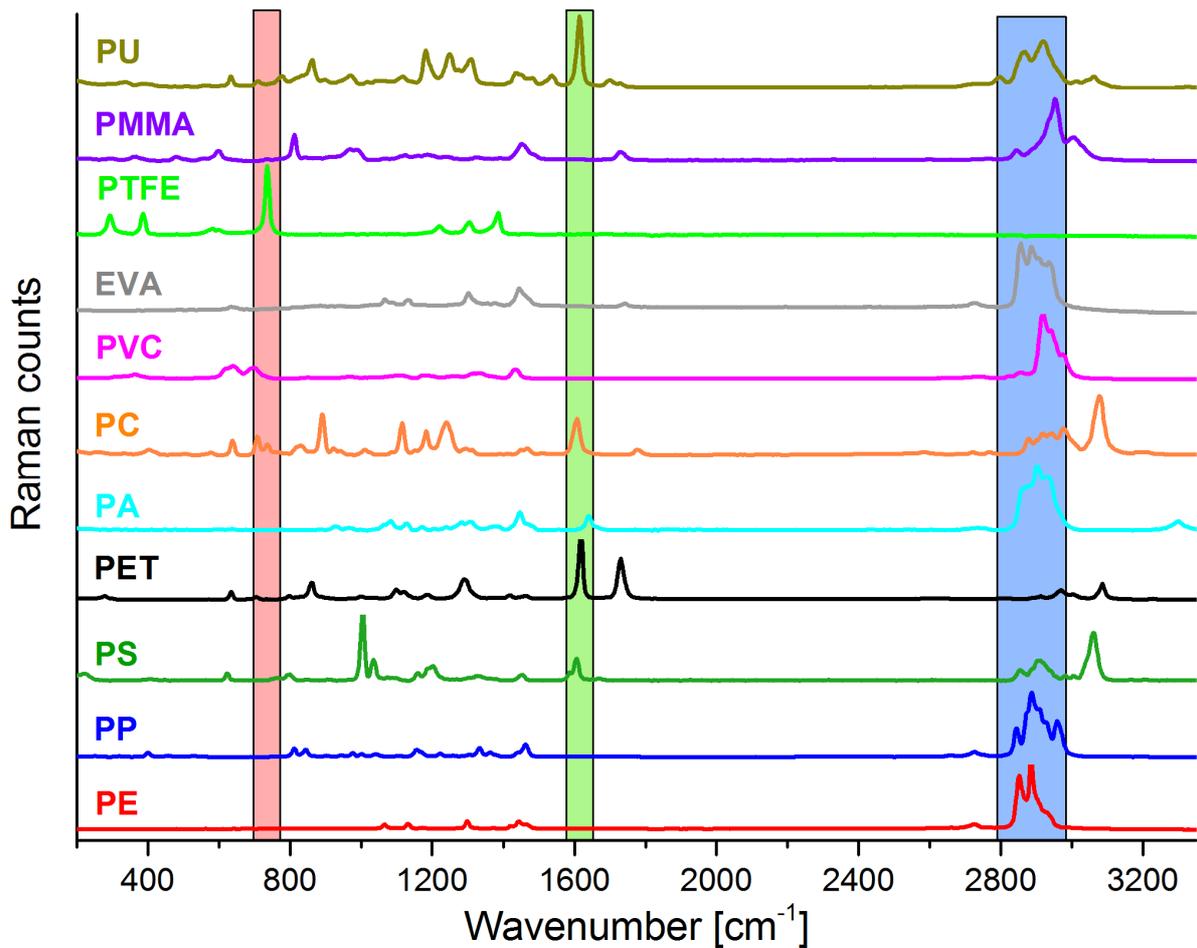


Abbildung 4.32: Raman-Referenzspektren der häufigsten synthetischen Polymere. Mit Hilfe des Wellenzahlenbereichs $2780 - 2980 \text{ cm}^{-1}$ (blau) können PE, PP, PA, PVC, EVA, PMMA und PU visualisiert werden. Der Wellenzahlenbereich von $1580 - 1640 \text{ cm}^{-1}$ (grün) ermöglicht die Visualisierung von PS, PET, PC und PU. PTFE kann anhand des Wellenzahlenbereichs von $709 - 759 \text{ cm}^{-1}$ (rot) bestimmt werden. Abbildung entnommen aus Käßler et al., 2016.

Die IR Imaging-Messung wurden mit Hilfe von fünf Wellenzahlenbereichen ausgewertet: $2980 - 2780 \text{ cm}^{-1}$ (Streckschwingungen von CH, CH₂, CH₃-Gruppen), $1800 - 1740 \text{ cm}^{-1}$ (Streckschwingung von C=O), $1760 - 1670 \text{ cm}^{-1}$ (Streckschwingung von C=O), $1480 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ (Biegeschwingung von CH₂-Gruppen), und $1174 - 1087 \text{ cm}^{-1}$ (Streckschwingung von CF₂). Durch Auswahl dieser spektralen Bereiche war eine Visualisierung der häufigsten Polymere möglich (Abbildung 4.33).

Die Auswertung der so generierten IR Images wurde analog zu den Raman Images durchgeführt. Wiederum wurde eine Doppelzählung von Partikeln vermieden.

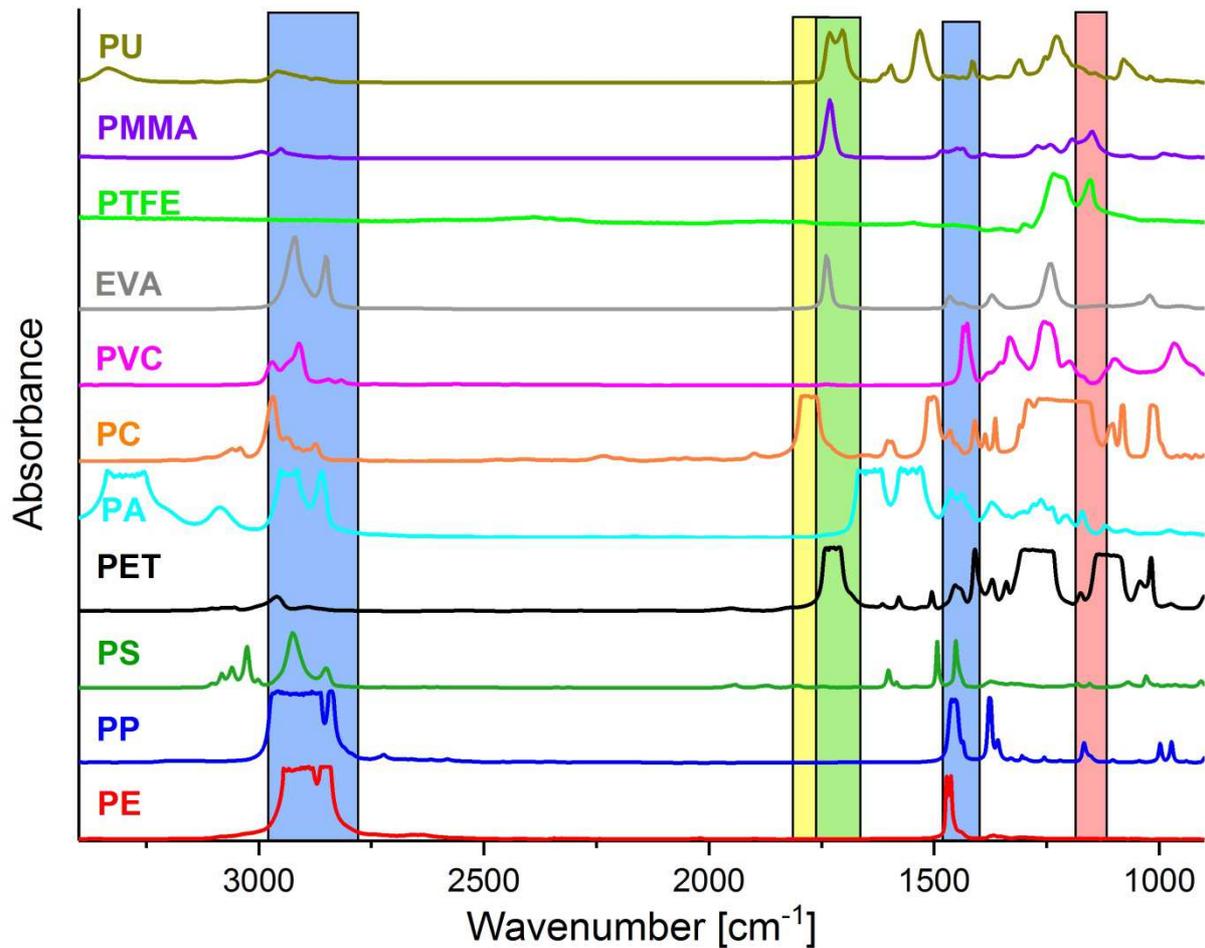


Abbildung 4.33: IR-Referenzspektren (Transmission) der häufigsten synthetischen Polymere. Mit Hilfe des Wellenzahlenbereichs $2980 - 2780 \text{ cm}^{-1}$ (blau) können PE, PP, (PS), PA, (PVC) und EVA visualisiert werden. Die Spektralbereiche $1800 - 1740 \text{ cm}^{-1}$ (gelb) bzw. $1760 - 1670 \text{ cm}^{-1}$ (grün) erlauben die Visualisierung von PC bzw. PET, EVA, PMMA, anderen Polyestern und Polyacrylaten und PU. Anhand des Wellenzahlenbereichs $1480 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ (blau) ist eine Detektion von PE, PP, PS, (PET), (PA) und insbesondere PVC möglich. Der Bereich $1174 - 1087 \text{ cm}^{-1}$ (rot) wurde gewählt, um PTFE identifizieren zu können. Abbildung entnommen aus Käppler et al., 2016.

Mit Hilfe des Wellenzahlenbereichs $2980 - 2780 \text{ cm}^{-1}$ wurden 15 Mikroplastik-Partikel aus PE (einschließlich PE-Copolymeren und oxidiertes PE), zwei Mikroplastik-Partikel aus PP und ein Mikroplastik-Partikel aus einem aliphatischen Polyester identifiziert. Im IR-Image von $1800 - 1740 \text{ cm}^{-1}$ konnte ein PC-Partikel detektiert werden. Für den Wellenzahlenbereich $1760 - 1670 \text{ cm}^{-1}$ wurden zehn Partikel aus Polyester (einschließlich PET) gezählt. Der Spektralbereich von $1480 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ machte die Identifizierung eines PVC-Partikels möglich. Im IR-Image von $1174 - 1087 \text{ cm}^{-1}$ wurden zwei PTFE-Partikel sichtbar. Somit konnten insgesamt 32 Mikroplastik-Partikel auf der untersuchten Messfläche ($1000 \mu\text{m} \times 1000 \mu\text{m}$) mittels IR Imaging identifiziert werden.

Tabelle 4.6 stellt die mittels Raman bzw. IR Imaging identifizierten Mikroplastik-Partikel hinsichtlich der Anzahl und Polymerart gegenüber. Dabei wird offenbar, dass mit Hilfe von Raman Imaging insgesamt deutlich mehr Mikroplastik-Partikel (49 Partikel) als mit IR Imaging (32 Partikel) detektiert werden konnten.

Tabelle 4.6: Anzahl und Polymerart aller mittels Raman bzw. IR Imaging innerhalb der Messfläche identifizierten Mikroplastik-Partikel. Die Differenz zwischen der Anzahl, die mittels Raman und IR Imaging ermittelt wurde, ist in Klammern (total/prozentual) angegeben. In der Anzahl der PE-Partikel sind PE-Copolymere und oxidiertes PE enthalten. Die Gruppe der Polyester umfasst PET, aliphatische Polyester und Polyacrylate. Tabelle entnommen aus Käppler et al., 2016.

	Raman Imaging	FTIR Imaging
PE	22	15 (-7/-32 %)
PP	5	2 (-3/-60%)
PVC	9	1 (-8/-89%)
PC	3	1 (-2/-67%)
PS	1	- (-1/100 %)
PTFE	3	2 (-1/-33%)
Polyester (einschließlich PET)	6	11 (+ 5/+ 83 %)
Summe	49	32 (-17/-35%)
Messzeit	38 h	20 min

Interessanterweise konnten nicht nur Unterschiede in der Gesamtanzahl der identifizierten Mikroplastik-Partikel, sondern auch hinsichtlich der Polymerarten festgestellt werden. So wurden mittels IR Imaging im Vergleich zum Raman Imaging insbesondere sehr wenige PVC-Partikel identifiziert. Die Ursache dafür liegt wahrscheinlich darin, dass die C-Cl Streckschwingung des PVC bei 690 cm^{-1} (Stromberg et al., 1958) durch den eingeschränkten Spektralbereich des FPA-Detektors ($4000 - 900\text{ cm}^{-1}$) nicht erfasst werden kann. Dadurch wird PVC übersehen oder als ein anderes Polymer (z.B. Polyester) eingestuft, insbesondere wenn es einen erheblichen Anteil an (Esterhaltigen) Weichmachern enthält. Aufgrund der hohen Sensitivität gegenüber der C=O-Gruppe ist IR Imaging im Vergleich zu Raman Imaging deutlich besser geeignet, um Polyester zu erfassen. Dies spiegelt sich bei der vorliegende Probe in der Anzahl an Polyester-Partikel wieder, die mittels Raman (6, ausschließlich PET) und IR Imaging (11, einschließlich 1 PET) identifiziert werden konnten. PET stellt eine Ausnahme dar, da es aufgrund der aromatischen Struktur sehr gut im Raman Image des Wellenzahlenbereiches $1580 - 1640\text{ cm}^{-1}$ detektiert werden kann.

In Abbildung 4.34a wurden alle Partikel, die mittels Raman Imaging (links) bzw. IR Imaging (rechts) innerhalb der Messfläche identifiziert wurden, mit farbigen Kreisen markiert. Dabei wird deutlich, dass mittels IR Imaging an einigen Positionen Mikroplastik-Partikel bestimmt wurden, die mittels Raman Imaging jedoch nicht ermittelt werden konnten und umgekehrt.

Um die Übereinstimmung zwischen beiden Verfahren darzustellen, wurden in Abbildung 4.34b ausschließlich die Partikel markiert, für die mit Raman Imaging und IR Imaging die gleiche Polymerart an exakt der gleichen Position bestimmt wurde. Insgesamt war dies für 20 Partikel der Fall. Das bedeutet, dass sich die beiden spektroskopischen Imaging Verfahren für diese 20 Partikel gegenseitig verifizieren.

Die restlichen 29 bzw. 12 Partikel wurden ausschließlich mittels Raman Imaging bzw. mittels IR Imaging bestimmt. Die Ursache dafür liegt u.a. in der unterschiedlichen Empfindlichkeit der beiden spektroskopischen Verfahren gegenüber einigen Polymerarten (vgl. PVC und Polyester) und in der Größenverteilung oder sind messtechnisch (Auftreten von Fluoreszenz, Totalabsorption, Interferenz) bedingt (vgl. folgende Abschnitte). An dieser Stelle sei außerdem darauf hingewiesen, dass eine Veränderung der Probe (Verrutschen und Verlust von Partikeln) während des Probentransfers von einem Messsystem zum anderen nicht vollständig ausgeschlossen werden kann.

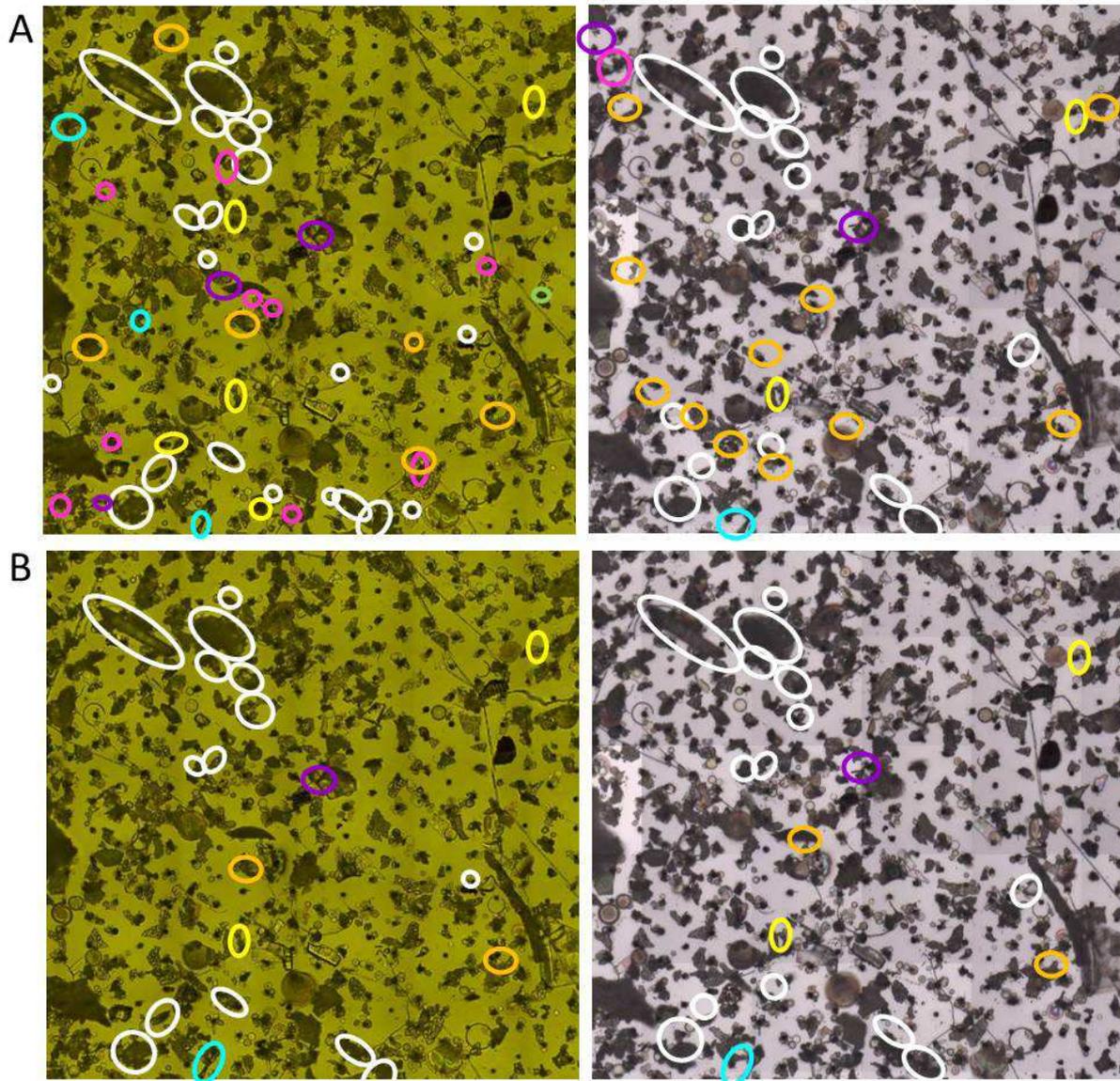


Abbildung 4.34: Optisches Bild der Messfläche (1000 µm x 1000 µm) aufgenommen mit dem Raman-Mikroskop (links) bzw. mit dem IR-Mikroskop (rechts) mit Markierungen (farbige Kreise) von identifizierten Mikroplastik-Partikeln. A: Die farbigen Kreise kennzeichnen alle Partikel, die entweder mittels Raman Imaging (links, 49 Partikel) oder mittels IR Imaging (rechts, 32 Partikel) identifiziert wurden. B: Die farbigen Kreise kennzeichnen ausschließlich die Partikel, die sowohl mittels Raman Imaging als auch mittels IR Imaging (identischer Polymertyp, identische Position) identifiziert wurden. Weiß: PE, gelb: PP, pink: PVC, orange: Polyester, violett: PTFE, blau: PC, grün: PS. Abbildung modifiziert nach Käppler et al., 2016.

Alle in Abbildung 4.34 nicht markierten Partikel waren natürlichen Ursprungs (organische und anorganische Komponenten) oder konnten nicht identifiziert werden. Dementsprechend veranschaulicht Abbildung 4.34 sehr gut, wie wichtig eine effiziente Probenreinigung ist, um den Gehalt von störenden Nicht-Kunststoff-Komponenten auf dem Messfilter zu minimieren und damit die Messung und Auswertung zu vereinfachen und zu beschleunigen.

Messzeit

Wie der Tabelle 4.6 entnommen werden kann, überstieg die Messdauer für die hier untersuchte Messfläche (1000 μm x 1000 μm) beim Raman Imaging (ungefähr 38 h) die Messdauer beim IR Imaging (20 min) drastisch. Die Ursache für die extrem lange Messzeit beim Raman Imaging ist v.a. in den gewählten Parameter begründet (Scananzahl von 20, kombiniert mit einer Integrationszeit von 0,5 s). Diese wurden so gewählt, um trotz auftretender Fluoreszenz aufgrund der Probenbeschaffenheit so viele wie möglich Mikroplastik-Partikel zu identifizieren.

Ein Vergleich verschiedener Messparameter hinsichtlich der Anzahl an identifizierbaren Mikroplastik-Partikel einerseits und der Messzeit andererseits ist in Tabelle A. 6 im Anhang aufgeführt⁶.

Eine zum IR Imaging annähernd vergleichbare Messzeit kann beim Raman Imaging beispielsweise durch folgende Parameter erreicht werden: Scananzahl von 1, Integrationszeit von 0,5 s, Messpunktabstand von 10 μm und die Verwendung von True Surface (topografische Korrektur). Mit diesen Messbedingungen konnte die Messdauer auf 90 min reduziert werden und eine zum IR Imaging analoge Anzahl an Mikroplastik-Partikel (32) identifiziert werden. Allerdings führte dies zu einem Verlust an identifizierbaren Mikroplastik-Partikeln, insbesondere im Größenbereich < 20 μm .

Außerdem sei darauf hingewiesen, dass für das IR Imaging der hier durchgeführten Messung im Vergleich zu den von Löder et al., 2015 vorgeschlagenen Werten bereits verbesserte Messbedingungen (32 statt 6 Scans pro Spektrum) gewählt wurden. Eine weitere Erhöhung der Scananzahl würde beim IR Imaging nach Gleichung (5) zu keiner signifikanten Verbesserung der Spektren-Qualität und damit nicht zu einer Erhöhung der Anzahl an identifizierbaren Mikroplastik-Partikel führen. Außerdem haben die Messparameter beim IR Imaging dieser relativ kleinen Messfläche keinen so entscheidenden Einfluss auf die Messzeit, was der Tabelle A. 7 im Anhang entnommen werden kann.

Spektren-Qualität

Die Qualität der Raman- bzw. IR-Spektren der innerhalb der untersuchten Messfläche identifizierten Mikroplastik-Partikel hing von verschiedenen Faktoren ab.

⁶ Messungen und Auswertung durch Julia Mucho (IPF Dresden)

Beispielsweise führten dicke Partikel (ca. $> 50 - 100 \mu\text{m}$) zu Totalabsorptionen im IR-Spektrum. Dies wird z.B. im Spektrum von Partikel 1 in Abbildung 4.31c (rechts) deutlich. Die Größe dieses Partikels wurde zu etwa $170 \mu\text{m}$ bestimmt, die Dicke kann zu etwa $50 \mu\text{m}$ abgeschätzt werden.

Einen weiteren Einfluss hatten organische und anorganische Verunreinigungen auf der Probe. Im Raman-Spektrum führte dies zu Fluoreszenz, wie es exemplarisch an Partikel 1 in Abbildung 4.31c (links) dargestellt ist. Je nach Grad der Verunreinigung war dann das eigentliche Polymer schlecht oder gar nicht identifizierbar. In den IR-Spektren erschienen dahingegen in Folge von organischen und anorganischen Verunreinigungen zusätzliche, störende Banden. Im IR-Spektrum von Partikel 2 (Abbildung 4.31c, rechts) sind z.B. undefinierbare C=O-Banden im Bereich von $1760-1670 \text{ cm}^{-1}$ (organische Komponente) und Silikat-Banden im Bereich von $1100 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ zu sehen.

Ein weiteres wichtiges Kriterium für die Spektren-Qualität war die Partikelgröße der zu identifizierenden Partikel, was anhand von Partikel 2 (Abbildung 4.31) veranschaulicht werden kann. Die Größe dieses Partikels wurde zu etwa $10 - 15 \mu\text{m}$ bestimmt, die Dicke kann zu etwa $10 \mu\text{m}$ abgeschätzt werden. Das IR-Spektrum von Partikel 2 (Abbildung 4.31c, rechts) zeigt einen PP-Bandenverlauf, allerdings mit einer sehr geringen Intensität und einem vergleichsweise schlechten Signal-Rausch-Verhältnis. Dies ist dadurch begründet, dass sich die Größe des Partikels im Bereich der Pixelauflösung und der Beugungsgrenze der IR-Strahlung befindet. Möglicherweise handelt es sich bei diesem Spektrum um ein Mischspektrum von Partikel 2 (PP) und den umliegenden Partikeln, die allerdings nicht sicher aufgelöst werden konnten.

Das Raman-Spektrum von Partikel 2 (Abbildung 4.31c, links) zeigt ein sehr gutes PP-Spektrum. Die Signal-Intensität ist zwar ebenfalls vergleichsweise gering, allerdings resultiert ein deutlich besseres Signal-Rausch-Verhältnis. Der Grund dafür liegt darin, dass der Laser aufgrund der besseren lateralen Auflösung das Partikel genau getroffen hat und sich die Partikeloberfläche infolge der geringen Partikeldicke nahezu im Fokus des Lasers befand. Der Laser wurde für das Raman Imaging auf die Oberfläche des Si-Filters fokussiert und die Messung ohne True Surface durchgeführt. Dadurch ergeben Partikel mit einer geringen Probendicke gute Raman-Signale.

Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Partikel

Die Anzahl aller mittels Raman und IR Imaging identifizierten Mikroplastik-Partikel pro Größenklasse sind in Tabelle 4.7 zusammengefasst. Dabei wird ersichtlich, dass mittels IR Imaging keine Partikel $< 10 \mu\text{m}$ und verglichen mit dem Raman Imaging deutlich weniger Mikroplastik-Partikel im Größenbereich von $10 - 20 \mu\text{m}$ bestimmt werden konnten. Insgesamt wurde der Mikroplastik-Gehalt für den Größenbereich $5 - 20 \mu\text{m}$ mittels IR Imaging im Vergleich zum Raman Imaging zu ca. 35 % unterbestimmt. Die Ursache dafür liegt in der Beugungsgrenze der IR-Strahlung, die bei etwa 4 bzw.

17 μm (Wellenzahlen 4000 bzw. 900 cm^{-1}) mit dem hier verwendeten Objektiv liegt⁷. Dieser physikalische Effekt ist zwar in der Theorie sehr gut bekannt und beschrieben, wurde hier allerdings anhand einer realen Umweltprobe überprüft und die Auswirkungen dieses Effekts auf die schwingungsspektroskopische Mikroplastik-Analytik illustriert.

Des Weiteren wird anhand von Tabelle 4.7 ersichtlich, dass 86 % aller innerhalb der Messfläche mittels Raman Imaging identifizierten Mikroplastik-Partikel kleiner als 50 μm und 57 % kleiner als 20 μm waren. Die hier ermittelte Größenverteilung stimmt im Wesentlichen mit Ergebnissen aus der Literatur (z.B. für Wasserproben vom Atlantischen Ozean und für Pigmente aus Sedimentproben vom Gardasee) überein (Enders et al., 2015; Imhof et al., 2016).

Tabelle 4.7: Größenverteilung aller mittels Raman Imaging bzw. IR Imaging innerhalb der Messfläche identifizierten Mikroplastik-Partikel. Tabelle entnommen aus Käßler et al., 2016.

Größenklassen	Raman Imaging	FTIR Imaging
5 – 10 μm	9	0
11 – 20 μm	19	11
21 – 50 μm	14	14
51 – 100 μm	5	5
101 – 400 μm	2	2
Summe	49	32

4.2.2.3 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen für die Analytik von Mikroplastik-Partikeln < 500 μm mittels Raman- und FTIR-Mikroskopie

Bei den hier durchgeführten Arbeiten wurde Raman Imaging erfolgreich sowohl an Mikroplastik-Modellproben als auch an einer realen Umweltprobe (marine Sinkstofffallenprobe, < 400 μm) angewandt. Der Einfluss verschiedener Messparameter auf die Spektren- und Image-Qualität einerseits und der Messdauer andererseits wurde ermittelt. Des Weiteren wurde das topografische Raman Imaging unter Verwendung der True Surface Technology erprobt. Diese Option kann die Spektren- und Image-Qualität beim Raman Imaging von unterschiedlich dicken (z-Dimension) Partikeln verbessern, indem der Laser für jede Messposition im optimalen Fokus gehalten wird. Allerdings wurde festgestellt, dass die topografische Messung vor allem bei kleinen und transparenten Partikeln zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.

Darüber hinaus wurden die hier optimierte Raman Imaging-Methode und das bereits etablierte IR Imaging-Verfahren an einer realen Umweltprobe hinsichtlich der Anzahl, der Polymerart und der

⁷ Die Beugungsgrenze für die hier durchgeführte IR-Messung berechnet sich nach Gleichung (4) mit $N_A=0,4$ (15x-Objektiv) und $\lambda=2,5 \mu\text{m}$ (entspricht 4000 cm^{-1}) bzw. $\lambda=11,1 \mu\text{m}$ (entspricht 900 cm^{-1}) zu 4 bzw. 17 μm . Für die Raman-Messung berechnet sich das Beugungslimit mit $N_A=0,5$ (20x-Objektiv, Zeiss) und $\lambda=532 \text{ nm}$ zu 650 nm.

Größenverteilung der identifizierbaren Mikroplastik-Partikel, der Messdauer, der Spektren-Qualität und technischer Faktoren verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.8 zusammengefasst.

Dabei konnte gezeigt werden, dass **sowohl Raman als auch IR Imaging prinzipiell geeignete Verfahren für die Mikroplastik-Analytik von filtrierten Umweltproben darstellen und sich gegenseitig bestätigen. Allerdings war es mittels IR Imaging in Transmission aufgrund der Beugungsgrenze der IR-Strahlung nicht möglich, Partikel < 10 µm zu identifizieren. Die Anzahl von Partikeln von 10 – 20 µm wurde beim IR Imaging im Vergleich zum Raman Imaging deutlich unterbestimmt** (für den Bereich 5 – 20 µm insgesamt ca. 35 %). Dahingegen konnten mittels Raman Imaging Partikel bis zu 1 µm sicher detektiert und identifiziert werden (kleinstes identifiziertes Kunststoff-Partikel: 1 µm (Modellprobe) bzw. ca. 5 µm (Realprobe)). Die Gesamtanzahl an Mikroplastik-Partikel, die mittels IR Imaging identifiziert werden konnte, war somit entsprechend kleiner als beim Raman Imaging.

Darüber hinaus wurden nicht nur Unterschiede in der Gesamtanzahl und der Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Partikel festgestellt, sondern auch in der Anzahl pro Polymerart. Da die IR-Spektroskopie auf der Änderung des permanenten Dipolmomentes einer chemischen Bindung beruht, können Polymere mit polaren funktionellen Gruppen (wie z.B. Carbonylgruppen in Polyestern) beim IR Imaging sehr gut detektiert werden. Daher wurden bei der Untersuchung der marinen Sinkstofffallenprobe mittels IR Imaging mehr Polyester-Partikel detektiert als beim Raman Imaging. Die Raman-Spektroskopie beruht dahingegen auf einer Änderung der Polarisierbarkeit einer chemischen Bindung, wodurch vor allem aromatische und C=C-Bindungen, wie sie z.B. in PS und PC vorliegen, leicht angeregt werden können. PVC konnte mittels Raman Imaging besser identifiziert werden, da die C-Cl-Bande im Raman-Spektrum sicher detektiert werden konnte.

Die größten Nachteile beim Raman Imaging sind die extrem lange Messdauer und das partielle Auftreten von Fluoreszenz. Zwar kann die Messdauer durch Änderung der Messbedingungen deutlich gesenkt werden. Damit sind jedoch auch eine Abnahme an Spektren-Qualität und folglich ein Verlust an identifizierbaren Partikeln verbunden. Um das Auftreten von Fluoreszenz zu verringern und gleichzeitig eine gute Spektren-Qualität der Raman und IR-Spektren zu erreichen, ist eine effektive Probenaufarbeitung essentiell.

Für eine vollständige und detaillierte Mikroplastik-Analyse der Fraktion < 500 µm wäre vor allem unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Empfindlichkeit gegenüber einigen Polymerarten (Polyester, PVC, Lack-Partikel) eine Kombination aus IR und Raman Imaging sinnvoll. Dies ist jedoch für die Analyse von umfangreichen Probenserien aufgrund von Zeit- und Kostengründen nicht möglich. **Daher wird eine weitere Größenteilung innerhalb der kleinen Mikroplastik-Fraktion empfohlen.** Die Fraktion 500 – 50 µm könnte mittels IR Imaging relativ schnell und sicher identifiziert werden. Eine detaillierte und zeitaufwendigere Untersuchung der Fraktion 50 – 1 µm mittels Raman

Imaging könnte folgen. Berücksichtigt man, dass die Anzahl an Mikroplastik-Partikeln innerhalb einer Probe offensichtlich mit abnehmender Größe steigt (vgl. eigene Daten und z.B. (Enders et al., 2015; Imhof et al., 2016), erscheint dies besonders wichtig.

Weitere Mess-Möglichkeiten – insbesondere die optische Partikelerkennung in Kombination mit automatischer Messung der erkannten Partikel – wurden an Modellproben und z.T. an Realproben (vgl. Abschnitt 4.3.1) angewandt. Allerdings sind hierbei für zukünftige Untersuchungen Software-seitige Entwicklungen nötig, um die Partikelerkennung und die der Messung nachfolgende Daten-Auswertung zu automatisieren und somit schneller und objektiver zu gestalten.

Tabelle 4.8: Tabellarischer Vergleich von Raman und IR Imaging für die Mikroplastik-Analytik von Mikroplastik-Partikeln < 500 μm . Tabelle modifiziert nach Käppler et al., 2016.

Raman Imaging	IR Imaging
Anzahl, Größe und Polymerart der identifizierten Mikroplastik-Partikel	
<ul style="list-style-type: none"> + sehr kleine Partikel (bis zu 1 μm) können sicher detektiert werden, dadurch höhere Anzahl an detektierbaren Mikroplastik-Partikeln im Vergleich zu IR Imaging + aliphatische, aromatische und C=C-Komponenten sind gut analysierbar - Polyester (mit Ausnahme von PET) sind schwierig zu detektieren 	<ul style="list-style-type: none"> - sehr kleine Partikel (< 10 μm) können nicht detektiert werden (Beugungsgrenze), deutliche Unterbestimmung bei Mikroplastik-Partikeln < 20 μm → dadurch niedrigere Anzahl an detektierbaren Mikroplastik-Partikeln im Vergleich zu Raman Imaging + aliphatische Komponenten und Polyester sind gut analysierbar - PVC-Partikel sind schwierig zu identifizieren
Spektren-Qualität	
<ul style="list-style-type: none"> • stark abhängig von der Probenbeschaffenheit • abhängig von den Messparametern - häufig Fluoreszenz 	<ul style="list-style-type: none"> • abhängig von der Probenbeschaffenheit • abhängig von den Messparametern - abhängig von Partikeldicke → zu dicke Partikel (> 50 – 100 μm) führen zu Totalabsorptionen
Messzeit	
<ul style="list-style-type: none"> - wesentlich längere Messzeit • Messzeit kann durch Variation der Messbedingungen herabgesetzt werden, dann allerdings Verlust an Spektrenqualität und Anzahl an identifizierbaren Partikeln • Auswertezeit und -aufwand vergleichbar 	<ul style="list-style-type: none"> + wesentlich kürzere Messzeit • Auswertezeit und -aufwand vergleichbar
Sonstiges	
<ul style="list-style-type: none"> • Problem der Fokussierung von unterschiedlich dicken Partikeln (kann teilweise durch topografisches Imaging behoben werden) 	<ul style="list-style-type: none"> • Datengroenbeschrankung und z.T. sehr lange Datenverarbeitungszeiten

4.3 Ergebnisse von Proben aus Ostsee und Warnow

4.3.1 Untersuchung von Sinkstofffallen, Fraktion < 500 µm

Es wurden fünf Sinkstofffallen-Proben (< 500 µm) vom Arkona-Becken und vier vom Gotlandtief untersucht. Parallel dazu wurden vier Blindproben (vgl. Abschnitt 3.5.2.2) analysiert, die Kontaminationen sowohl während der Probennahme (v.a. durch das Probengefäß) als auch während der Probenreinigung und Probenfiltration kontrollieren sollten.

Die Analyse der filtrierten Endproben (auf Si-Filter) wurde mittels Raman-Mikroskopie durchgeführt. Die in den Proben und Blindproben ermittelten Mikroplastik-Gehalte pro Polymerart sind in Tabelle 4.9 aufgelistet. Zunächst kann der Tabelle entnommen werden, dass der überwiegende Teil (ca. 64 %) der detektierten Mikroplastik-Partikel aus PE bestanden. Daneben wurden außerdem PP, PS, PVC, PA, PET, PC, PMMA, PTFE und sonstige Polymere (z.B. Copolymere, Polyacrylate, Isopren, ...) identifiziert.

Des Weiteren wird sichtbar, dass in den Blindproben ebenfalls sehr viele Mikroplastik-Partikel detektiert wurden. Berücksichtigt man die Standardabweichung als Fehlertoleranz, so lag die Summe der detektierten Mikroplastik-Partikel pro Probe lediglich bei den Proben „Arkona L20“ und „Gotland 10-12“ über dem Mittelwert der Blindproben. Auch die Polymerverteilung zwischen Proben und Blindproben unterschied sich nur geringfügig. Im Gegensatz zu den Realproben wurden in den Blindproben kein PVC und PA, und tendenziell weniger PC, PMMA und PTFE gefunden. Eine grafische Darstellung der prozentualen Polymerverteilung in den Proben der Serie „Arkona L“, „Gotland AR“ im Vergleich mit dem Blindproben ist in Abbildung A. 7 im Anhang dargestellt.

Des Weiteren wurde die Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Partikel zwischen den Proben und den Blindproben verglichen (Tabelle A. 10 und Abbildung A. 8 im Anhang). Auch hierbei konnten keine deutlichen Unterschiede zwischen Proben und Blindproben festgestellt werden.

Schlussendlich muss festgestellt werden, dass sich die hier untersuchten Sinkstofffallen-Proben der Arkona L und Gotland AR-Serien sowohl hinsichtlich der Gesamtanzahl, der Polymerverteilung und der Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Partikel nicht signifikant von den analog behandelten Blindproben unterschieden.

Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass bei den hier durchgeführten spektroskopischen Messungen aus Zeitgründen lediglich 1,6 % der gesamten filtrierten Fläche untersucht wurden. Eine Hochrechnung auf die gesamte Fläche wäre extrem fehlerbehaftet und wurde daher nicht durchgeführt. Die Auswahl der Messflächen auf den Filtern erfolgte zufällig. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich die Partikel in Hinsicht auf Anzahl, Größe und Identität ungleichmäßig über die Filterfläche verteilten. Demzufolge erfolgte die Auswahl der Messflächen möglicherweise nicht repräsentativ für die gesamte Probe.

Unter Berücksichtigung all dieser Faktoren können mit dem hier durchgeführten Verfahren keine zuverlässigen Aussagen über das Vorkommen von Mikroplastik-Partikel < 400 µm in den untersuchten Sinkstofffallen getroffen werden.

Tabelle 4.9: Mikroplastik-Gehalt der untersuchten Sinkstofffallenproben vom Arkona- und Gotland-Becken im Vergleich mit den dazugehörigen Blindproben nach Polymerart und insgesamt.*Die Mittelwerte und Standardabweichungen der vier Blindproben wurden auf ganze Zahlen gerundet.

Probenname	PE	PP	PS	PVC	PA	PET	PC	PMMA	PTFE	Sonstige	Summe
Sinkstofffallen Arkona L											
Arkona L2	9		1		3			3			16
Arkona L3	11									3	14
Arkona L13	8		1	1	1	2				1	14
Arkona L18	11				1		1				13
Arkona L20	18		1		1		2		1	1	24
Sinkstofffallen Gotland AR											
Gotland AR 1+2	13	3		2							18
Gotland AR 3+4	11	2		2		1		3	2		21
Gotland AR 7-9	6	1		6				1	3		17
Gotland AR 10-12	21	1		1	1			2	3	3	32
Blindproben											
BW GotAt20_1/4_1	10	1	1					1	2		15
BW GotAt20_1/4_3	21	2								2	25
BW GotAt20_1/16_2	12	2	1			3	1		1		20
BW GotAt20_1/16_4	8	1	1			1			1	5	17
Mittelwert*	13	2	1	0	0	1	0	0	1	2	19
Standardabweichung*	5	1	0			1	0	0	0	2	4

Um einen erheblichen Eintrag von Mikroplastik-Partikel während der Filtration auf den finalen Messfilter auszuschließen, wurden IPF-interne Blindproben (drei Blindproben, jeweils ca. 50 ml MilliQ-Wasser) durchgeführt (vgl. 3.5.2.2). Von diesen Blindproben wurden jeweils 4 mm² (entspricht 6,5 % der gesamten Filterfläche und der vierfachen Messfläche der Realproben) untersucht. Dabei wurden auf einem Blindproben-Filter keine und auf zwei Filtern jeweils drei Mikroplastik-Partikel (fünfmal PE, einmal PET) identifiziert. Somit fand ein geringfügiger Eintrag von Mikroplastik-Partikeln während der Filtration der Sinkstofffallen-Proben statt. Dieser kann jedoch nicht der Hauptgrund für die Kontaminationen in den Blindproben sein. Vielmehr wird vermutet, dass v.a. der Eintrag der zahlreichen PE-Partikel bereits bei der Probennahme (PE-Probengefäß) erfolgte. Des Weiteren ist es möglich, dass Kunststoff-Partikel bei der Probenaufarbeitung eingetragen wurden.

Aufgrund dieser Befunde wurde die Analyse weiterer Sinkstofffallen-Proben nicht fortgesetzt. Für zukünftige Untersuchungen derartiger Proben sollten geeignetere Materialien bei der Probennahme und Probenaufbereitung verwendet werden und auf die Vermeidung von Kontaminationen noch sorgsamer geachtet werden. Außerdem sollte bei der Probenaufbereitung eine höhere Effizienz erreicht werden, damit der Anteil an störenden „Nicht-Kunststoffen“ auf der Messfläche verringert und dadurch die Messzeit verkürzt wird. Des Weiteren wurde hiermit verdeutlicht, dass das Mitführen und Auswerten von ausreichend vielen Blindproben bei der Bewertung von Mikroplastik-Gehalten von Realproben essentiell ist.

4.3.2 Untersuchung von Warnow-Sedimenten, Fraktion > 500 µm

4.3.2.1 Ergebnisse der Blindproben und daraus resultierende Schlussfolgerungen

Parallel zu den untersuchten Warnow-Sedimenten wurden insgesamt drei Blindproben generiert und untersucht. Zwei Blindproben bildeten dabei die Dichtentrennung im MPSS, eine den Isolierungsvorgang aus der Bogorov-Kammer ab. Bei letzterer wurde kein Mikroplastik detektiert. In einer der beiden MPSS-Blindproben wurden insgesamt fünf blaue Fasern identifiziert, wobei drei aus PET und zwei aus Cellulose bestanden. Cellulose-Fasern wurden in der vorliegenden Arbeit nicht als Mikroplastik gezählt und stellen somit keine problematische Kontamination dar. Die zweite MPSS-Blindprobe war im relevanten Größenbereich (5000 – 500 µm) Mikroplastik-frei.

PET-Fasern wurde bei der Untersuchung der Warnow-Proben in 9 von 14 Einzelproben mit einem Gehalt von 1 – 27 Fasern kg⁻¹ TM bestimmt. Das äußere Erscheinen der in den Proben detektierten PET-Fasern (transparent, blau, schwarz) war ähnlich zu denen der Blindprobe. Aufgrund der geringen Anzahl an Blindproben war eine quantitative Bewertung des PET-Eintrages nicht möglich. Um falsch-positiven Angaben auszuschließen, wurden daher alle PET-Fasern aus dem finalen Datensatz ausgeschlossen (konservatives Vorgehen).

Als zweite Polymerart wurde PTFE nachträglich aus den Daten entfernt. PTFE wurde in 8 von 14 Einzelproben mit einem Gehalt von 1 – 8 Partikel kg⁻¹ TM identifiziert. Obwohl PTFE nicht in den Blindproben detektiert wurde, ist ein Fremd-Eintrag von PTFE-Partikeln während der Dichtentrennung im MPSS aus mehreren Gründen wahrscheinlich. Zum einen wiesen alle detektierten Partikel ähnliche morphologische Eigenschaften (weiß-transparent, ähnlicher Größenbereich, leicht elastisch) auf. Zum anderen lag die Dichte der Trennflüssigkeit mit 1,8 g/cm³ deutlich unterhalb der Dichte von PTFE (2,0 – 2,3 g/cm³ (Mark, 1991)) und sollte somit theoretisch nicht oder nur teilweise (aufgrund von Grenzflächenspannungseffekten (Stolte et al., 2015)) aufgeschwemmt werden. Drittens bestanden die Schläuche und Dichtungen, insbesondere die Dichtung am Kugelventil der Trennkammer, aus weiß-transparenten PTFE-Material. Ein Abrieb während der Arbeiten kann somit nicht ausgeschlossen werden.

4.3.2.2 Gehalt, Polymerzusammensetzung und Größenverteilung von Mikroplastik (> 500 µm) in Warnow-Sedimenten

Mikroplastik-Gehalt in Warnow-Sedimenten

Zunächst kann festgestellt werden, dass in allen untersuchten Sedimentproben (10 Stationen, 14 Einzelproben, Einzelergebnisse im Anhang Tabelle A. 12 bis Tabelle A. 14) Mikroplastik detektiert wurde. In Abbildung 4.35 sind die Mikroplastik-Gehalte sowie die Partikel-Fasern-Verhältnisse pro Station dargestellt. An allen Stationen wurden deutlich mehr Kunststoff-Partikel als -Fasern detektiert. Der Anteil an Fasern an allen identifizierten Mikroplastik-Teilchen betrug durchschnittlich 8 % (bezogen auf alle Stationen, in kg^{-1}TM), wobei die Werte pro Station von 0 % (Station I und J) bis 23 % (Station H) reichten.

Des Weiteren kann der Abbildung entnommen werden, dass der Gesamtgehalt an Mikroplastik in Abhängigkeit von der untersuchten Station (Tabelle 4.10) stark variierte. Es wurden Mikroplastik-Gehalte von 2 – 379 Teilchen kg^{-1}TM Sediment bestimmt. Der Gehalt war an Station I und J mit je 2 Partikeln kg^{-1}TM Sediment am niedrigsten. Vergleichsweise wenig Mikroplastik wurde zudem an Station G und F mit je 15 bzw. 12 Teilchen kg^{-1}TM Sediment bestimmt. An den Stationen A bis D wurden mittlere Mikroplastik-Gehalte von 78 – 104 Teilchen kg^{-1}TM Sediment ermittelt. Vergleichsweise hohe Mikroplastik-Gehalte von 346 bzw. 379 Teilchen kg^{-1}TM Sediment wurden an den Stationen E bzw. H bestimmt.

Mit Ausnahme der Stationen E und H nehmen somit die Mikroplastik-Gehalte flussabwärts des beprobten Transektes tendenziell ab. Insbesondere an den Stationen I und J, die der offenen Ostsee und dem unmittelbaren Mündungsbereichs zugeordnet werden können, liegen nur noch geringe Mikroplastik-Gehalte vor.

Eine besondere Stellung innerhalb des beprobten Warnow-Bereichs nehmen Station E und H ein. Bei Station E sei darauf hingewiesen, dass der überwiegende Anteil (92 %) der als Mikroplastik eingestufteten Teilchen aus kleinen Kugeln ($\varnothing < 1\text{ mm}$, transparent, orange, bräunlich, schwarz) bestand. Diese Kugeln wurden allerdings nicht vollständig aus der Probenmatrix isoliert, sondern ein Großteil lediglich fotodokumentiert. Insgesamt wurden 214 Kugeln gezählt, wovon 20 isoliert und davon 15 spektroskopisch untersucht wurden. Dabei wurden diese als Ionenaustauscher auf Basis von Polystyrolsulfonaten und Styrol-Divinylbenzol-Copolymeren identifiziert. Die Kugeln waren aufgrund ihrer äußeren Form offensichtlich anthropogen Ursprungs und sahen zudem alle sehr ähnlich aus. Daher wurden alle Kugeln als Mikroplastik gezählt und in die Polymergruppe „PS“ eingestuft, obwohl nur ein geringer Anteil spektroskopisch verifiziert wurde.

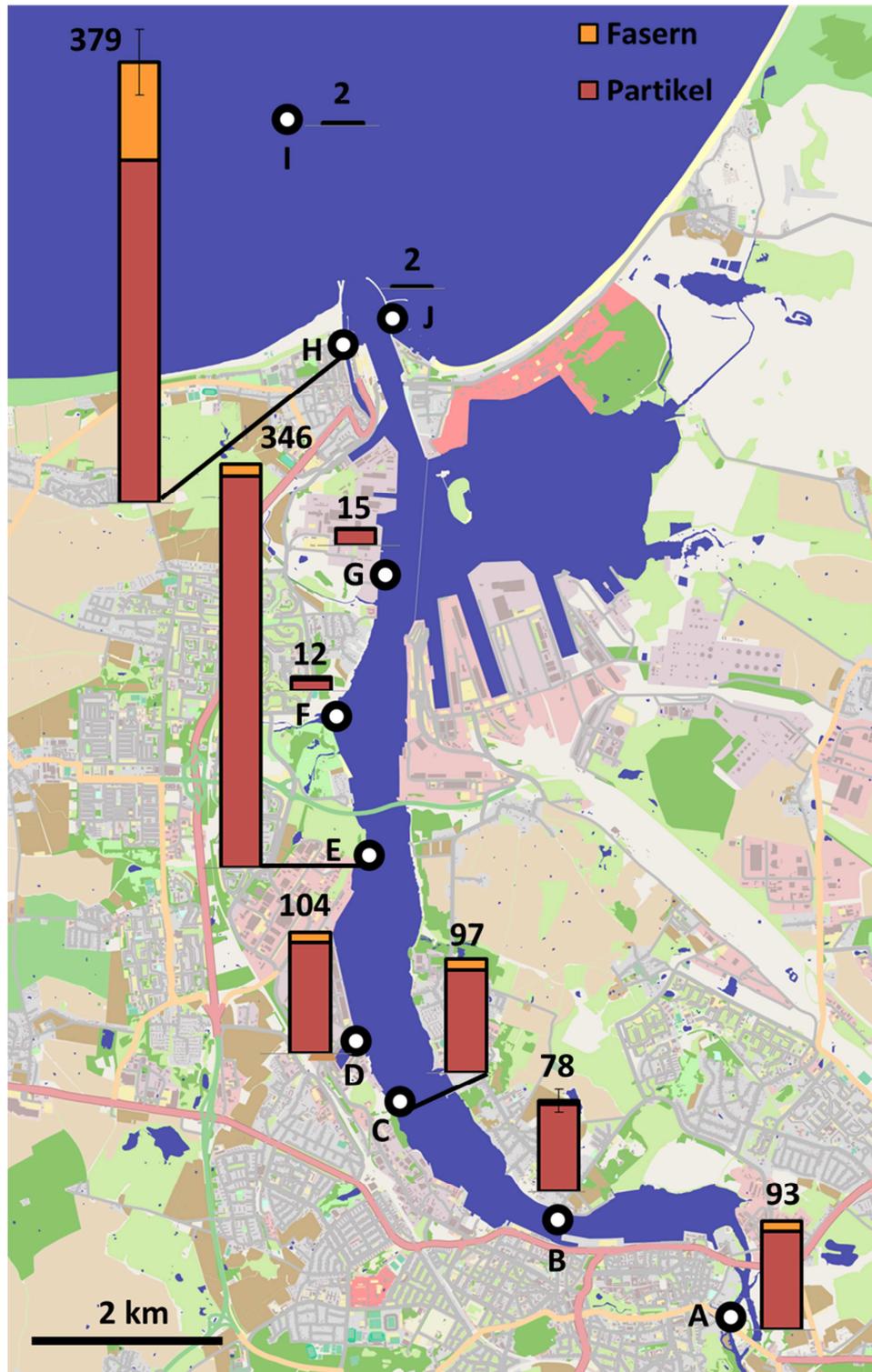


Abbildung 4.35: Gehalt an Mikroplastik > 500 μm in Sedimenten pro Station im Mündungsbereich der Warnow. Der Wert über den Balken gibt den Gesamtgehalt an Mikroplastik in kg^{-1} TM Sediment an. Die roten Balken stellen den Gehalt an Partikeln (kg^{-1} TM), die orangefarbenen Balken den Gehalt an Fasern (kg^{-1} TM) dar. An Station B und H werden die Mittelwerte der drei untersuchten Replikate sowie die Standardabweichung (Fehlerbalken) angegeben. Das Kartenmaterial entstammt von OpenStreetMap.

Station E lag südöstlich eines Naturschutzgebietes, weshalb man zunächst von einem niedrigen Mikroplastik-Vorkommen an dieser Station ausgehen würde. Tatsächlich lag hier jedoch ein Mikroplastik-Hotspot (346 Mikroplastik-Teilchen kg^{-1} TM Sediment) mit 92 % PS-Ionenaustauscher

vor. Diese werden bspw. zur Wasseraufbereitung im industriellen und privaten Bereich verwendet und wurden lediglich an einer weiteren Station (Station B, 31 %) detektiert. Daher ist von einem lokalen Eintrag dieser PS-Kugeln z.B. durch ein angrenzendes Industriegebiet (westliches Ufer, Zufluss eines kleinen Baches) oder durch Verlust von Bord eines Schiffes auszugehen.

Tabelle 4.10: Beschreibung der beprobten Stationen im Warnow-Mündungsbereich, übernommen von Stollberg, 2016.

Station A:	Schleuse Rostock-Zentrum
Station B:	Marina Gehlsdorf (Yachthafen)
Station C:	Klärwerk Rostock Bramow
Station D:	Fracht- und Schifffereihafen
Station E:	Naturschutzgebiet, Zufluss kleiner Bach (durchfließt nahegelegenes Industriegebiet)
Station F:	gegenüber des Übersee-/Fährhafens, Zufluss Schmarler Bach
Station G:	Neptun Schiffwerft
Station H:	Alter Strom, ursprüngliche Warnow-Mündung, stillgelegt, Zentrum Warnemünde
Station I:	offene Ostsee, auf Fährroute nach Schweden
Station J:	Marina Hohe Düne (Yachthafen) nahe Warnow-Mündung

Eine weitere Besonderheit stellt Station H im Alten Strom in Warnemünde dar. Hier wurde das höchste Mikroplastik-Vorkommen (397 ± 28 Mikroplastik-Teilchen kg^{-1} TM Sediment) aller untersuchten Sedimente ermittelt. Beim Alten Strom handelt es sich um einen stillgelegten Seitenarm der Warnow, der nur am nördlichen Ende eine Verbindung zur Flussmündung hat. Dadurch liegen hier völlig andere hydrodynamische Verhältnisse als in der restlichen Warnow vor, wodurch der Alte Strom eher einem „stehenden“ Gewässer als einem Fluss gleicht. Demzufolge wird die Sedimentation von Polymerpartikeln begünstigt. Zudem ist der Alte Strom stark von Tourismus geprägt, wodurch es vermutlich zu einem erhöhter Eintrag von Mikroplastik kommt.

Zusammenfassend deutet die ermittelte Mikroplastik-Verteilung innerhalb des Warnow-Mündungsbereiches darauf hin, dass die Warnow zu einem erheblichen Teil als Senke für Mikroplastik fungiert.

Polymerzusammensetzung der identifizierten Mikroplastik-Partikel

Die identifizierten Mikroplastik-Partikel und Fasern wurden in neun Polymergruppen (PE, PP, PS, PVC, PA, PVAc/EVA, PC, PMMA, PAN) sowie in die Gruppen „Lacke“ und „Sonstige“ eingestuft. Die Auswahl dieser Gruppen richtete sich nach den in Europa mengenmäßig am meisten produzierten Kunststoffen (PlasticsEurope, 2016) und am Vorkommen in den Proben.

Zur Gruppe „PE“ wurden ordinäres PE, PE-Wachse und oxidierte Formen des PE gezählt. Die Gruppe „PS“ beinhaltet neben ordinärem PS auch PS-Copolymere und PS-Polyelektrolyte. Da sich PVAc und EVA nur im Gehalt der Vinylacetat-Gruppe unterscheiden, wurden beide Polymere zu einer Gruppe zusammengefasst. Zu PMMA zählten auch andere Polyacrylat-Partikel, allerdings nur solche, die sich

in ihren morphologischen Eigenschaften von den Lacken unterschieden. Eine eindeutige Differenzierung zwischen herkömmlichem PMMA/Polyacrylate und Lacken auf Acrylharzbasis war teilweise schwierig.

Als „PAN“ wurden ausschließlich Fasern eingestuft, bei denen es sich größtenteils um Copolymere aus PAN und Polyacrylaten (z.B. PMMA) handelte (vgl. Abschnitt 4.2.1.1). Derartige Fasern werden im Textilbereich häufig als „Acrylfasern“ bezeichnet. Da sie jedoch einen Acrylnitril-Anteil von mind. 85 % aufweisen (Hiersig, 1995), wurden sie hier als PAN eingestuft.

Partikel, die als Alkydharze, Acrylharze, Epoxidharze oder PU-Harze identifiziert wurden und zudem eine typische Morphologie (z.B. intensive Farbe, Brüchigkeit) aufwiesen, wurde als „Lacke“ eingestuft. Eine eindeutige Bestimmung der polymeren Matrix dieser Partikel in eine Untergruppe (z.B. Acrylharz) war nicht in jedem Fall möglich, da es häufig zu Überlagerungen von Polymerbanden mit Banden anderer Lackbestandteile (Pigmente, Füllstoffe, Umweltkomponenten) kam und zudem Polymer-Mischungen vorlagen.

Die Gruppe „Sonstige“ beinhaltet z.B. Silikone, aliphatische Polyester und Kunststoffe, die nicht eindeutig zugeordnet werden konnten.

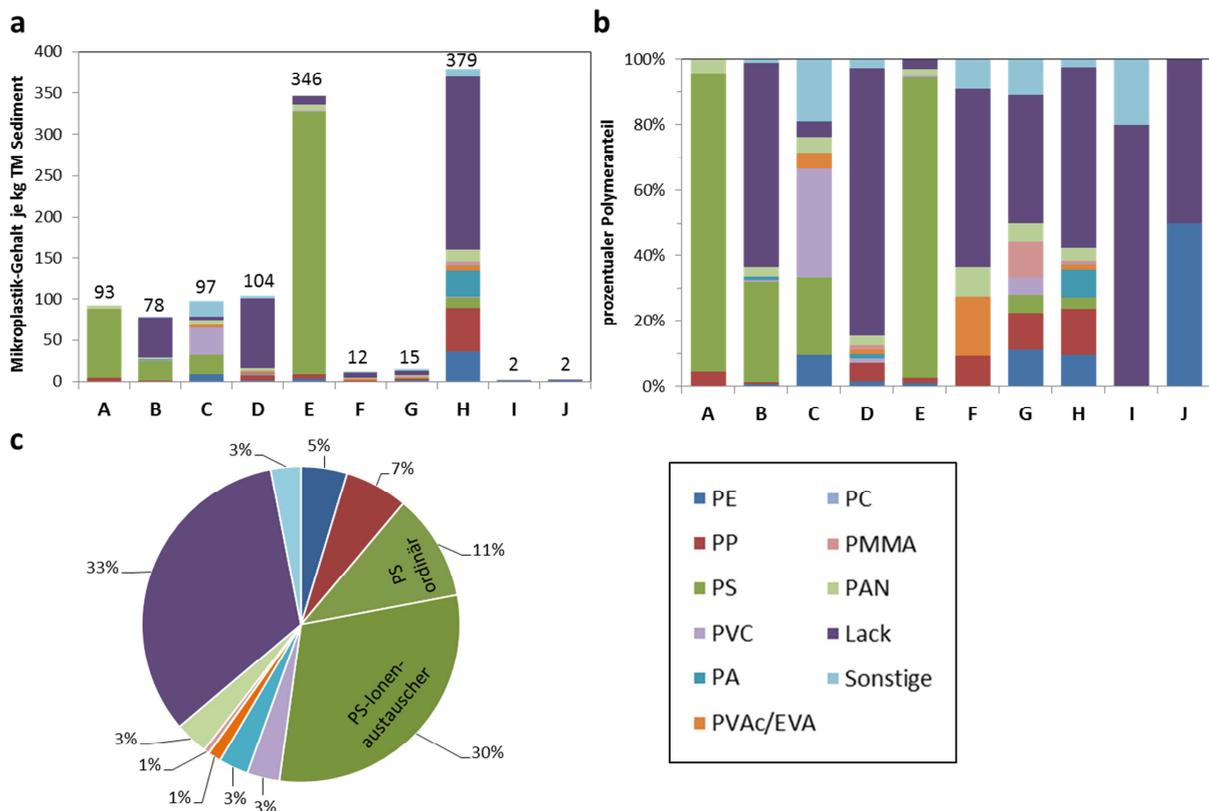


Abbildung 4.36: Polymerverteilung der identifizierten Mikroplastik-Teilchen in Warnow-Sedimenten. A: Absolute Polymerverteilung pro Station in kg^{-1} TM Sediment. Die Zahlen über den Balken geben den jeweiligen Gesamtgehalt pro Station an. B: Relative Polymerverteilung pro Station in %. C: Summierte Polymerverteilung aller Stationen.

Der größte Anteil (41 %) an der Gesamt-Polymerverteilung aller untersuchten Stationen innerhalb des Warnow-Transektes (Abbildung 4.36c) entfiel auf PS-Partikel, wobei 11 % aus ordinärem PS und

30 % aus PS-Ionenaustauscher bestanden. Die zweitgrößte Gruppe bildeten die „Lacke“ mit 33 %. Einen nennenswerten Beitrag (7 % bzw. 5 %) zur Gesamt-Polymerverteilung lieferten zudem Partikel und Fasern aus PP bzw. PE. Alle anderen Polymergruppen tragen nur in untergeordneten Maßen (< 1 – 3 %) zur Gesamt-Polymerverteilung bei.

Betrachtet man die Polymerverteilungen pro Station (Abbildung 4.36a + b), wird deutlich, dass diese sich in Abhängigkeit von der Lage der Probenstation innerhalb der Warnow stark unterschieden. So wurden beispielsweise an Station A und E hauptsächlich (91 bzw. 92 %) PS-Partikel identifiziert. Im Fall von Station A bestanden diese ausschließlich aus ordinärem PS und im Fall von Station E aus PS-Polyelektrolyten. Der PS-Anteil bei den restlichen Stationen (Station B, C, G und H) ist mit 3 – 31 % dahingegen deutlich geringer. An den Stationen D, F, I und J wurde überhaupt kein PS detektiert.

In fast allen Proben (neun von zehn Stationen, Ausnahme Station A) wurden Lack-Partikel identifiziert. Der Anteil variiert von 3 % (Station E) bis 82 % (Station D). Auffällig ist dabei, dass der absolute Lack-Gehalt (Abbildung 4.36a) an Stationen mit einem direkten Bezug zur Schifffahrt (Station B – Marina, Station D – Fracht- und Schifffereihafen, Station H – Alter Strom) deutlich höher liegt als an Stationen ohne Bezug zur Schifffahrt (Station A – Schleuse Rostock, Station C – Klärwerk, Station E – Naturschutzgebiet). Dieser Trend kann auch anhand der prozentualen Polymerverteilungen (Abbildung 4.36b, Station B, D, F-J) abgelesen werden. Diese Befunde deuten darauf hin, dass die in den untersuchten Proben detektierten Lackpartikel hauptsächlich durch Schiffe bzw. Boote eingetragen werden und ihren Ursprung in der Handels-, Freizeit- und Fischereischifffahrt haben.

Die größte Vielfalt in der Polymerzusammensetzung wurde an Station H beobachtet. Hier wurden neun von zehn Polymergruppen (alle, außer PC) und „Sonstige“ gefunden. Dies war wahrscheinlich durch die besondere Lage im Alten Strom mit seinen vielfältigen Eintragsquellen aus Tourismus, Freizeitschifffahrt und Klein-Fischerei in Kombination mit den hydrodynamischen Verhältnissen (wenig „Abtransport“ der leichteren Polymerarten) begründet.

Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Partikel

Die Größenverteilungen der identifizierten Mikroplastik-Teilchen pro Station und insgesamt können der Abbildung 4.37a + b entnommen werden. Dabei ist festzustellen, dass im untersuchten Größenbereich (5 – 0,5 mm) die Mikroplastik-Anzahl mit kleiner werdender Partikelgröße steigt. Die Mehrheit (53 %) aller als Mikroplastik identifizierter Teilchen war 0,5 – 1 mm groß. In den Fraktionen 1 – 2 mm bzw. 2 – 5 mm befanden sich 25 % bzw. 17 % aller Partikel/Fasern. 5 % der Teilchen überstieg (zumindest in einer Dimension) die für Mikroplastik definierte Obergrenze von 5 mm. Da es sich dabei jedoch hauptsächlich (75 %) um Fasern mit sehr geringen Durchmessern oder um Lackpartikel (25 %), die sehr schnell in kleinere Partikel fragmentieren (z.B. bereits bei Berührung mit einer Pinzette), handelte, wurden diese in der vorliegenden Arbeit dennoch als Mikroplastik gezählt.

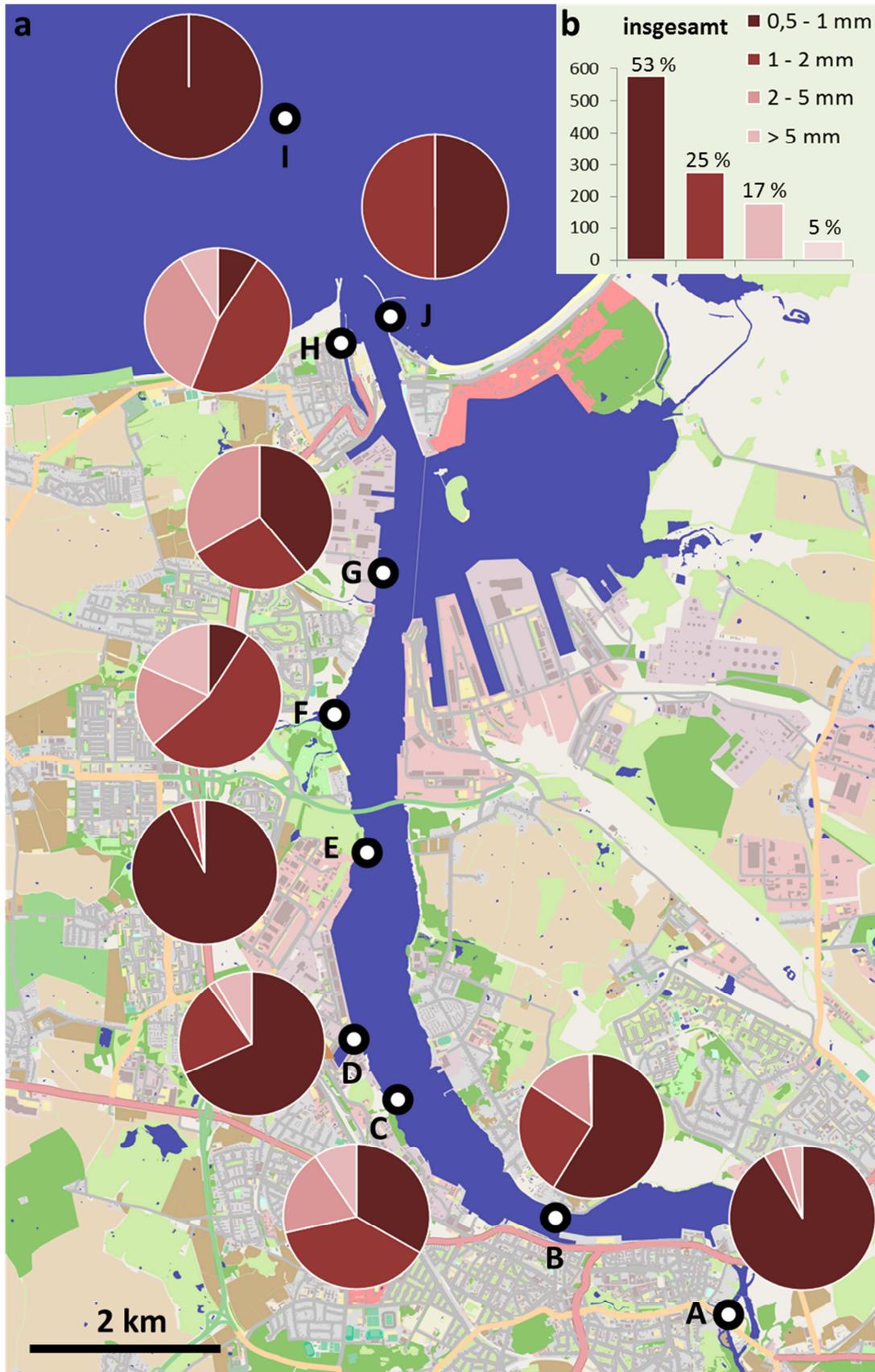


Abbildung 4.37: Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Teilchen in Warnow-Sedimenten. A: Relative Größenverteilung pro Station. B: Summierte Größenverteilung aller Stationen in Anzahl pro kg TM Sediment (y-Achse). Der prozentuale Anteil pro Fraktion ist über den Balken angegeben. Das Kartenmaterial entstammt von OpenStreetMap.

Darüber hinaus sind Unterschiede in der Größenverteilung in Abhängigkeit von der Probenstation zu beobachten (Abbildung 4.37a). Beispielsweise dominierte der Anteil an Fraktion 0,5 – 1 mm bei Station A (91 %) und E (92 %) deutlich, was auf die große Anzahl an PS-Kugeln in diesen Proben zurückzuführen ist. Daneben macht diese Fraktion auch bei den Stationen B, D und G den größten Anteil an der Größenverteilung aus. Dahingegen überwiegt bei den Stationen C, F und H die Fraktion 1 – 2 mm. Bei Station I und J sind derartige Aussagen aufgrund der geringen Anzahl an detektierten Mikroplastik-Partikeln nicht sinnvoll.

4.3.2.3 Diskussion der Ergebnisse

Vergleich mit anderen Studien

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Mikroplastik-Gehalte von Fluss- bzw. Meersedimenten von zehn Stationen entlang eines Transektes im Warnow-Mündungsbereich (Schleuse in Rostock bis offenen Ostsee nahe Warnemünde) untersucht. Für den Größenbereich 0,5 – 5 mm wurden Werte von 2 – 379 Mikroplastik-Teilchen kg^{-1} TM Sediment bestimmt. Ein Vergleich dieser Werte mit bereits publizierten Werten für die Ostsee (vgl. Abschnitt 2.2 und Tabelle A. 1 im Anhang) oder andere Fluss-Mündungssysteme ist aufgrund unterschiedlicher Probennahme-, Probenextraktions- und Analyseverfahren sowie verschiedener untersuchter Größenbereiche und Bezugsgrößen nur begrenzt möglich.

In Ostsee-Sedimenten nahe der Danziger Bucht (Polen/Russland) wurden Mikroplastik-Gehalte von 12 – 48 Teilchen kg^{-1} TM (Zobkov and Esiukova, 2017) bzw. 0 – 27 Teilchen kg^{-1} TM (Graca et al., 2017) bestimmt. Dabei wurde der Größenbereich von $> 175 \mu\text{m}$ (Zobkov and Esiukova, 2017) bzw. von 0,1 – 2,0 mm (Graca et al., 2017) mittels rein optischer Verfahren und teilweise mittels FTIR-Mikroskopie untersucht.

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Mikroplastik-Gehalte der relativ küstennahen Stationen F, G, I und J (2 – 15 Teilchen kg^{-1} TM) liegen somit in der gleichen Dimension wie die Werte der oben genannten Studien, die sich ebenfalls größtenteils auf küstennahe Sedimente beziehen.

Zum Mikroplastik-Vorkommen in Flusssedimenten liegen – soweit bekannt – kaum Werte vor (Dris et al., 2015; Wagner et al., 2014). Für die Flüsse Elbe, Mosel, Neckar und Rhein wurden Werte von 34 – 64 Mikroplastik-Teilchen kg^{-1} TM Sediment mit einem Faseranteil von 40 % angegeben (Wagner et al., 2014). Die Proben wurden vor der Analyse mittels Dichtentrennung extrahiert und rein optisch untersucht. Über den untersuchten Größenbereich wurden keinen Angaben gemacht.

Diese Werte liegen etwas höher, aber im ähnlichen Größenbereich, wie die für Stationen A – D ermittelten Mikroplastik-Gehalte (78 – 104 Teilchen kg^{-1} TM Sediment).

Die Mikroplastik-Befunde von Station E und H sind als lokale Hotspots (346 – 379 Teilchen kg^{-1} TM Sediment) einzustufen. Entsprechende Vergleichsdaten liegen nicht vor.

Weiterführende Betrachtungen unter Berücksichtigung von mathematischen Modellen

Basierend auf den hier ermittelten Daten wurden von Kristina Enders (IOW) unter Verwendung eines mathematischen Modells (generalized linear regression model – GLM) Korrelationen zwischen der Mikroplastik-Verteilung innerhalb der Warnow und biogeochemischen Parametern (z.B. Korngrößenverteilung, Gehalt an organischem Material, Salinität, Sedimenttiefe) sowie potentiellen Emissionsquellen (z.B. Entfernung zu Klärwerken, Marina, Recycling-Stationen, Bevölkerungsdichte) untersucht (Enders et al., unter Bearbeitung).

Hierbei konnte eine signifikante Korrelation zwischen dem Auftreten von Lack-Partikeln und der Entfernung zu Marinas und Häfen festgestellt werden. Die Gehalte von ordinären Polymeren (ohne Lacke und PS-Ionenaustauscher) korrelierten am besten mit der Nähe zu Klärwerken. Weiterhin gab es eine positive Beziehung zu stark anthropogen beeinflussten Orten (definiert über die Bevölkerungsdichte und Tourismusaktivitäten) (Enders et al., unter Bearbeitung). Das Auftreten der PS-Ionenaustauscher korrelierte mit keiner der untersuchten Faktoren, was wiederum auf einen lokalen Eintrag infolge eines speziellen Ereignisses oder einer speziellen Emissionsquelle hindeutet.

Neben der Identifikation von potentiellen Emissionsquellen konnten mit dem angewandten Modell zudem eindeutige Beziehungen zwischen speziellen Mikroplastik-Fractionen und der Korngrößenverteilung der Sedimente festgestellt werden. So korrelierte der Gehalt an Mikroplastik-Partikeln aus HD-Polymeren im Größenbereich 1 – 5 mm signifikant mit dem Vorliegen der Korngrößenfraktion 125 – 250 µm (feiner Sand). HD-Polymere im Größenbereich von 0,5 – 1 mm standen dahingegen mit der Korngrößenfraktion 16 – 125 µm in Beziehung.

Insgesamt konnte festgestellt werden, dass der Gesamt-Mikroplastik-Gehalt mit feinerem Sediment (kleineren Korngrößen) steigt.

Grenzen der Interpretationsmöglichkeiten und Beurteilung von Verfahrensunsicherheiten

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten Mikroplastik-Befunde sind mit entsprechender Vorsicht zu interpretieren. Zum einem stellen die analysierten Werte eine „Momentaufnahme“ zum Zeitpunkt der Probennahme (Juli 2014) dar. Ein Rückschluss auf den Mikroplastik-Gehalt zu einem anderen Zeitpunkt ist nicht möglich oder mit einer sehr großen Unsicherheit verbunden. Zudem können unmittelbare Aussagen nur zu den tatsächlich untersuchten Proben vorgenommen werden. Eine Übertragung der Ergebnisse auf beispielsweise andere Ostsee-Kompartimente ist nicht möglich. Aussagen über den Eintrag, den Transport und die Sedimentation von Mikroplastik können nur unter Berücksichtigung von biogeochemischen und physikalischen Parametern (z.B. Korngrößenverteilung der Sedimente, Fließgeschwindigkeit, Sedimenttiefe) für die Warnow und ggf. ähnliche Flussmündungssysteme getroffen werden.

Aus methodischer Sicht sind einige Fehlerquellen zu nennen, die sich im Wesentlichen auf die Dichtentrennung im MPSS, den visuellen Isolierungsprozess und die spektroskopische Identifizierung beziehen.

Die Wiederfindungsrate des MPSS für Mikroplastik-Partikel im Größenbereich von 1 – 5 mm bzw. von 1000 – 73 µm wird zu 100 % bzw. 95,5 % angegeben (Imhof et al., 2012). Allerdings beziehen sich diese Werte auf herkömmliche Polymere (PA, PVC, PE, PP, PC, POM, PS, PET) und auf Massenbilanzen. Eine zuverlässige Aussage bezüglich der Wiederfindung von Lack-Partikeln kann nicht vorgenommen werden. Bei den hier untersuchten Sedimenten kann somit von einer ausreichenden Extraktion der herkömmlichen Polymere ausgegangen werden. Lack-Partikel könnten allerdings aufgrund der höheren Dichte (insbesondere bei Anwesenheit von Metallen) möglicherweise nicht vollständig isoliert worden sein.

Der visuelle Isolierungsprozess der mutmaßlichen Mikroplastik-Teilchen unterlag einer gewissen Subjektivität und personenbezogenen Schwankungen. Demzufolge wäre es sinnvoll gewesen, die Isolierung der zu analysierenden Partikel und Fasern durchgehend von einer Person vornehmen zu lassen. Dies war jedoch nicht realisierbar.

Um falsch-positive Ergebnisse (Überschätzung) zu vermeiden, wurde die Identität der isolierten Teilchen mittels Spektroskopie bestimmt. Der Anteil der spektroskopisch als „Mikroplastik“ verifizierten Teilchen an der Gesamtanzahl aller isolierten Teilchen lag bei etwa 70 % („Erfolgsquote“).

Außerdem sei darauf hingewiesen, dass bei Partikeln und Fasern mit gleichem Aussehen (z.B. Farbe, Form, Größe) ggf. nur Teilmengen spektroskopisch untersucht und die Ergebnisse auf die restlichen Teilchen übertragen wurden. Insgesamt lag der Anteil aller gemessenen Teilchen an der Gesamtanzahl bei 86 %. Unter Berücksichtigung von 194 Kugeln (S13) und 6 grünen Partikeln (S10), die lediglich gezählt und nicht isoliert wurden, lag dieser Wert bei 79 %.

Eine Unterschätzung (falsch-negative Werte) des Mikroplastik-Gehaltes insbesondere bei transparenten Partikeln kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, vor allem wenn die Proben viel störendes organisches oder anorganisches Material enthielten. Allerdings wird dies für den untersuchten Größenbereich (0,5 – 5 mm) in der Literatur als relativ unwahrscheinlich diskutiert (Ivleva et al., 2017; Song et al., 2015).

Bei zwei von zehn untersuchten Stationen (Station B und H) wurden die Mikroplastik-Gehalte der drei Replikate bestimmt und Mittelwerte sowie Standardabweichungen berechnet (vgl. Abbildung 4.35). Diese lagen bei Station B bei 78 ± 10 Teilchen kg^{-1} TM Sediment und bei Station H bei 379 ± 28 Teilchen kg^{-1} TM Sediment. Demzufolge betrug die Standardabweichung vom Mittelwert 12 bzw. 7 % und ist für die Untersuchung von Umweltproben als relativ gut zu bewerten. Für eine bessere

statistische Sicherheit wäre es dennoch nötig gewesen, die Replikate aller Stationen zu untersuchen. Dies war jedoch aus Zeitgründen nicht möglich.

Des Weiteren sei darauf hingewiesen, dass aufgrund von fehlenden Werten die Trockenmasse von Probe S28 und die Anzahl der Lack-Partikel in Probe S4 abgeschätzt werden mussten. Dies sollte bei zukünftigen Untersuchungen unbedingt vermieden werden.

Außerdem führte die spektroskopische Untersuchung nicht in allen Fällen zu eindeutigen Ergebnissen. Die Partikel wurden in derartigen Fällen als „Nicht-Kunststoff“ eingestuft bzw. nach bestem Wissen zugeordnet. Insbesondere beim Vorliegen von Mischspektren (Kombination mehrerer Komponenten) war die Einstufung in eine der festgelegten Polymergruppen teilweise schwierig und mit einer gewissen Unsicherheit verbunden.

Letztendlich sei erwähnt, dass die Anzahl der Blindproben mit zwei für die Dichtentrennung im MPSS und eine für den Isolierungsprozess relativ gering war. Dadurch war eine quantitative Berücksichtigung von detektierten Kontaminationen nicht möglich. Für zukünftige Untersuchungen sollte die Anzahl an Blindproben erhöht und systematisiert werden.

Für eine vollständige Charakterisierung des Mikroplastik-Vorkommens in Warnow-Sedimenten wäre zudem die Größenfraktion 500 – 1 µm nötig. Dies konnte aus Zeitgründen und aufgrund der Probenbeschaffenheit (sehr viel anorganisches und organisches Restmaterial) im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht bewerkstelligt werden und soll in weiterführenden Arbeiten untersucht werden.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Mikroplastik wurde in den letzten Jahren vermehrt in verschiedenen aquatischen Ökosystemen nachgewiesen und wird als potentielle Gefahr für die marine Umwelt diskutiert. Bislang steht eine konkrete Bewertung der ökotoxikologischen Wirkungen von Mikroplastik noch aus. Für eine derartige Risikoabschätzung werden in erster Linie zuverlässige Daten über die Mikroplastik-Gehalte in verschiedenen Umweltkompartimenten benötigt. Dafür müssen geeignete und sichere analytische Verfahren zur Identifizierung und Quantifizierung von Mikroplastik in Umweltproben zur Verfügung stehen.

Ziel dieser Arbeit war es daher, bestehende Wissenslücken im Bereich der Mikroplastik-Analytik zu schließen und Möglichkeiten und Grenzen der FTIR- und Raman-Spektroskopie für die analytische Untersuchung von marinen Mikroplastik-Proben aufzuzeigen.

Zunächst wurde ein Filtermaterial benötigt, das eine umfassende Untersuchung von filtrierten Mikroplastik-Proben mittels mikrospektroskopischer Verfahren ermöglicht. Um eine Filtration von wässrigen Proben unter Vakuum durchführen zu können, muss der Filter Löcher oder Poren beinhalten, mechanisch stabil und wasserbeständig sein. Des Weiteren sollte er für eine gute mikroskopische Fokussierung planar sein und für die spektroskopische Untersuchung geeignete Eigenschaften aufweisen. Im Speziellen bedeutet dies, dass der Filter IR-transparent (für IR-Messungen in Transmission) sein muss und keine störenden Banden im relevanten Wellenzahlenbereich (für IR- und Raman-Messungen) haben darf.

Im **ersten Teil** dieser Arbeit wurden dementsprechend Si-Filter als Messsubstrate für die Untersuchung von filtrierten Mikroplastik-Proben mittels Transmission FTIR- und Raman-Mikroskopie entwickelt und in Zusammenarbeit mit dem IZM durch fotolithografisches Ätzen hergestellt. Die Porenmorphologie und die spektroskopischen Eigenschaften der Si-Filter wurden detailliert charakterisiert und mit anderen kommerziell erhältlichen Filtermaterialien (Anodisc, Si-Membran) verglichen.

Dabei konnte gezeigt werden, dass Si-Filter mit *Design 1* im gesamten mittleren IR-Bereich ausreichend transparent sind und somit im Gegensatz zu den kommerziell erhältlichen Filtern die Identifizierung von Polymerbanden auch im Fingerprintbereich ($1400 - 400 \text{ cm}^{-1}$) ermöglichen. Die praktische Anwendbarkeit der Si-Filter (*Design 1*) für Transmission FTIR Imaging wurde zunächst an Mikroplastik-Modell-Partikeln und nachfolgend an einer realen Umweltprobe erfolgreich demonstriert.

Außerdem sind die Si-Filter auch als Messsubstrate für die Raman-Mikroskopie geeignet, wodurch die Untersuchung einer Probe ggf. mit beiden schwingungsspektroskopischen Verfahren ermöglicht wird.

Die mechanische Beständigkeit und das Filtrationsvermögen der produzierten Si-Filter wurden durch Vakuumfiltration von wässrigen Mikroplastik-Proben mit Hilfe eines speziell dafür konstruierten Filteradapters in einer herkömmlichen Filtrationseinheit erfolgreich gezeigt.

Si-Filter mit *Design 2* wiesen im Vergleich zu *Design 1* deutlich schlechtere IR-spektroskopische Eigenschaften für Transmissionsmessungen auf, können jedoch zukünftig z.B. für die Untersuchung sehr kleiner Mikroplastik-Partikel (1 – 10 μm) in Kombination mit der Raman-Mikroskopie verwendet werden.

Die zweite Zielstellung bestand darin, schwingungsspektroskopische Methoden zur Untersuchung von Mikroplastik-Proben zu entwickeln, zu optimieren und miteinander zu vergleichen. Im Bereich der FTIR-Spektroskopie war bereits IR Imaging als (teil)automatisiertes Verfahren für filtrierte Mikroplastik-Proben etabliert. Ein entsprechendes Raman-spektroskopisches Verfahren mit einer potentiell besseren lateralen Auflösung lag jedoch nicht vor. Außerdem wurden bislang die Untersuchungsergebnisse der beiden spektroskopischen Verfahren (IR und Raman) weder miteinander noch mit einer anderen analytischen Methode verglichen und validiert.

Daher wurde im **zweiten Teil** der vorliegenden Arbeit Raman Imaging als (teil)automatisierte Methode für die Untersuchung von filtrierten Mikroplastik-Proben erfolgreich entwickelt und der Einfluss verschiedener Mess- und Probenparameter auf die Spektren- und Image-Qualität einerseits und der Messdauer andererseits ermittelt.

Des Weiteren fand ein Vergleich der optimierten Raman Imaging-Methode mit dem bereits etablierten IR Imaging-Verfahren an exakt der gleichen Umweltprobe (< 500 μm) statt. Dabei wurden die Anzahl, die Polymerart und die Größenverteilung der identifizierbaren Mikroplastik-Partikel sowie die Messdauer, die Spektren-Qualität und technische Faktoren berücksichtigt.

Es konnte gezeigt werden, dass sowohl Raman als auch IR Imaging prinzipiell geeignete Verfahren für die Mikroplastik-Analytik von filtrierten Umweltproben darstellen, sich gegenseitig verifizieren und komplementieren. Allerdings war es mittels Transmission IR Imaging aufgrund der Beugungsgrenze der IR-Strahlung nicht möglich, Partikel < 10 μm zu identifizieren. Die Anzahl von Partikeln im Größenbereich von 10 bis 20 μm wurden beim IR Imaging im Vergleich zum Raman Imaging deutlich unterbestimmt (insgesamt ca. 35 %). Außerdem wurden auch Polymerart-spezifische Unterschiede zwischen IR und Raman Imaging festgestellt.

Nachteilig am Raman Imaging muss die vergleichsweise lange Messdauer und das partielle Auftreten von Fluoreszenz infolge von fluoreszierenden Probenbestandteilen oder Kontaminationen beurteilt werden.

Alternativ zu den hier vorgestellten Imaging-Verfahren ist die Identifizierung von filtrierten Mikroplastik-Proben nach vorheriger optischer Partikelerkennung in Verbindung mit nachfolgender

mikrospektroskopischer Messung vorstellbar. Um dies bei zukünftigen Studien erfolgreich anwenden zu können, sind Software-basierte Entwicklungen nötig, um die Partikelerkennung, die Messung und die nachfolgende Daten-Auswertung zu automatisieren und somit schneller und objektiver zu gestalten.

Anhand von identischen Partikeln und Fasern der größeren Mikroplastik-Fraktion (0,5 – 5 mm), die aus marinen Sediment-Proben isoliert wurden, wurde zudem ein Vergleich von ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie bzw. ATR FTIR-Mikroskopie und py-GC/MS durchgeführt. Dabei wurden größtenteils identische Ergebnisse hinsichtlich der identifizierten Polymerart erhalten und die Methoden somit untereinander validiert. Spezifische Unterschiede, z.B. bei der Identifizierung von enthaltenen Additiven, Farb- und Füllstoffen, wurden anhand von ausgewählten Beispielen detailliert diskutiert und sollten bei zukünftigen Untersuchungen berücksichtigt werden.

Zum Mikroplastik-Vorkommen im Ökosystem Ostsee lagen zu Beginn dieser Arbeit keine detaillierten Informationen, z.B. zur räumlichen Verteilung, zu Eintragungspfaden und zur Polymerverteilung, vor. In ersten Studien wurde zwar Mikroplastik bereits in Ostsee-Proben nachgewiesen, jedoch basierte die dabei angewandte Mikroplastik-Identifizierung fast ausschließlich auf optische Verfahren.

Somit wurden im **dritten Teil** der vorliegenden Arbeit erstmals spektroskopisch verifizierte Ergebnisse über das Mikroplastik-Vorkommen (Größenfraktion 0,5 – 5 mm) in Sedimenten aus dem Mündungsbereich der Warnow ermittelt. Es wurden 10 Stationen entlang eines Transektes beginnend bei der Schleuse in Rostock bis 2 km nach dem Zufluss in die Ostsee hinsichtlich des Gesamt-Mikroplastik-Gehaltes, der Polymerverteilung und der Größenverteilung untersucht.

Der Mikroplastik-Gehalt variierte je nach beprobter Station zwischen 2 und 379 Teilchen kg^{-1} TM Sediment, wobei die Gehalte flussabwärts tendenziell sanken. Es wurden zwei Mikroplastik-Hotspots lokalisiert, die sich im Alten Strom in Warnemünde bzw. in der Nähe eines Industriegebietes befanden. Außerdem unterschied sich die Polymerverteilung der identifizierten Mikroplastik-Teilchen in Abhängigkeit von der Probenstation deutlich. Insgesamt war der Anteil an PS-Partikeln an allen Polymeren mit 41 % am größten, wobei 30 % auf PS-Ionenaustauscher und 11 % auf herkömmliches PS entfielen. Die zweitgrößte Gruppe bildeten Lack-Partikel mit 33 %, die in nahezu allen Proben identifiziert wurden und deren Gehalt zudem bei Stationen mit einem direkten Bezug zur Schifffahrt (z.B. Marina, Frachthafen, Alter Strom) deutlich erhöht war. Dies legt nahe, dass Lackpartikel hauptsächlich durch Schiffe bzw. Boote eingetragen wurden und ihren Ursprung in der Handels-, Freizeit- und Fischereischifffahrt hatten. Die restlichen Teilchen bestanden aus PP (7 %), PE (5 %), PVC, PA, PAN (je 3 %) und weiteren Polymerarten.

Insgesamt deuten die im Rahmen der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse darauf hin, dass Mikroplastik-Partikel im Mündungsbereich der Warnow zu einem großen Anteil in der Nähe ihres

Eintrages sedimentieren und dort verbleiben. Die Warnow kann somit – zumindest teilweise – als Senke für Mikroplastik angesehen werden. Zudem wurden potentielle Eintragsquellen aufgezeigt.

Eine Routineanalyse der Fraktion 500 – 1 μm war aufgrund der schlechten Probenbeschaffenheit und der aufwendigen Mess- und Auswerteprozedur im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht möglich. Dies soll Gegenstand weiterer Forschungen sein und bedarf für zukünftige Untersuchungen einer effizienteren Probenaufbereitung.

Für eine umfassende Charakterisierung des Mikroplastik-Vorkommens sollen die Untersuchungen unter Berücksichtigung des gesamten Größenbereichs (1 μm – 5 mm) auf den ganzen Ostseeraum ausgeweitet werden und mögliche Eintragspfade identifiziert werden. Auf Grundlage derartiger Ergebnisse können dann ggf. effektive Vermeidungsstrategien entwickelt werden.

Anhang

A. 1 Mikroplastik-Studien in der Ostsee – Details

Zu Abschnitt 2.2

Tabelle A. 1: Überblick über Mikroplastik-Studien in der Ostsee, chronologisch nach Erscheinungsdatum sortiert.

Studie	Probenort	Probenart	Größenbereich	Analyseverfahren	Ermittelte Mikroplastik-Gehalte
Talvitie et al., 2015	finnische Küste vor Helsinki	Klärwerk, Oberflächenwasser (7 Stationen), Meeresbodensediment (3 Stationen)	> 20 µm	optisch (Stereomikroskop, 50x)	Sediment: 1,7 ± 1,0 Fasern/kg 7,2 ± 4,9 synth. Partikel/kg Wasser: 0,01 - 0,65 Fasern/l 0,5 - 9,4 synth. Partikel/l Klärwerkauflauf: 4,9 ± 1,4 Fasern/l 8,6 ± 2,5 synth. Partikel/l
Stolte et al., 2015	deutsche Ostseeküste Warnemünde, Rügen, Usedom	Strandsedimente (10 Stationen), Oberflächenwasser (1 Station)	Partikel: 55 µm – 1 mm Fasern: 200 µm - 1 mm	optisch (Stereomikroskop, 3-4x)	Sediment: 42 - 532 Fasern/kg TM (alle Fasern) 0-11 Fasern/kg TM (farbige Fasern) 0-7 Partikel/kg TM (farbige Partikel) Wasser: 3,3 Fasern/l (alle Fasern) 0,4 Fasern/l (farbige Fasern) 0 Partikel/l (farbige Partikel)
Gorokhova, 2015	schwedische Bucht in der Nähe von Stockholm	Wasser in verschiedenen Tiefen (3 Stationen)	> 90 µm	optisch (Lichtmikroskop 40x und 80x) + Schmelztest	Wasser: 100 - 7500 Teilchen/m ³
Setälä et al., 2016	Finnischer Meerbusen	Oberflächenwasser (12 Stationen)	> 333 µm (Netz), > 300 µm (Pumpe), > 100 µm (Pumpe)	optisch (Lichtmikroskop 10-200x) + ggf. Schmelztest	Wasser: 0 - 0,8 Teilchen/m ³ (Netz) 0 - 1,12 Teilchen/m ³ (Pumpe 300 µm) 0 - 6,8 Teilchen/m ³ (Pumpe 100 µm)
Esiukova, 2017	südöstliche Ostseeküste (Kaliningrad- Region, Russland)	Strandsedimente (13 Stationen entlang 20 km)	0,5 - 5 mm	optisch (mit purem Auge + Lichtmikroskop für Partikel < 1 mm)	Strandsediment: 0,2 - 175,3 Teilchen/kg TM
Zobkov und Esiukova, 2017	südöstliche Ostsee, Russland	Meeresbodensediment (7 Stationen) in verschiedenen Tiefen (3m - 30 m)	> 175 µm	optisch (Stereomikroskop 10-40x)	Meeresbodensediment: 12 - 48,4 Teilchen/kg TM
Graca et al., 2017	küstennahe Gebiete in der südlichen Ostsee vor Polen	Strandsediment (3 Stationen) und Meeresbodensediment (6 Stationen)	0,1 - 2,0 mm	optisch (Stereomikroskop 10x), µ-FTIR (Reflektion) von repräsentativer Anzahl visuell vorsortierter	Strandsediment: 25 - 53 Teilchen/kg TM (hauptsächlich Fasern), 4 Polymerarten: 50 % PES, 25 % PVAc, 12,5 % PAN, 12,5 % PE/PP Meeresbodensediment: 0 - 27 Teilchen/kg TM

				Partikel	(hauptsächlich transparente Fasern), 8 Polymerarten: 27 % PES, 18 % PE/PP, 10 % PAN, 10 % PVAc, 10 % EVA, 10 % PE, 10 % PVC/PE
Gewert et al., 2017	Inselgruppe vor Stockholm, Transekt von Gotland nach Stockholm	Oberflächenwasser (21 Stationen)	> 335 µm	optisch (Lichtmikroskop 32x) + FTIR-ATR an 59 ausgewählten Partikeln	Wasser: 15600 - 618000 Teilchen/km ² bzw. 0,19 - 7,73 Teilchen/m ³ hauptsächlich Fasern (82 %)
Bagaev et al., 2017	Gotlandbecken, Bornholmbecken, Danziger Bucht	Wasser in verschiedenen Tiefen	0,174 - 5 mm	optisch	Wasser: 0,07 - 2,6 Fasern/l (farbige Fasern)

A. 2 Ergänzende Informationen zu Filtermaterialien für die Transmission FTIR- und Raman-Mikroskopie von Mikroplastik-Proben

A. 2.1 Transmission IR-Spektren von Si-Filter *Design 1* und *Design 2* im Vergleich zum Anodisc-Filter

Zu Abschnitt 4.1.4.1

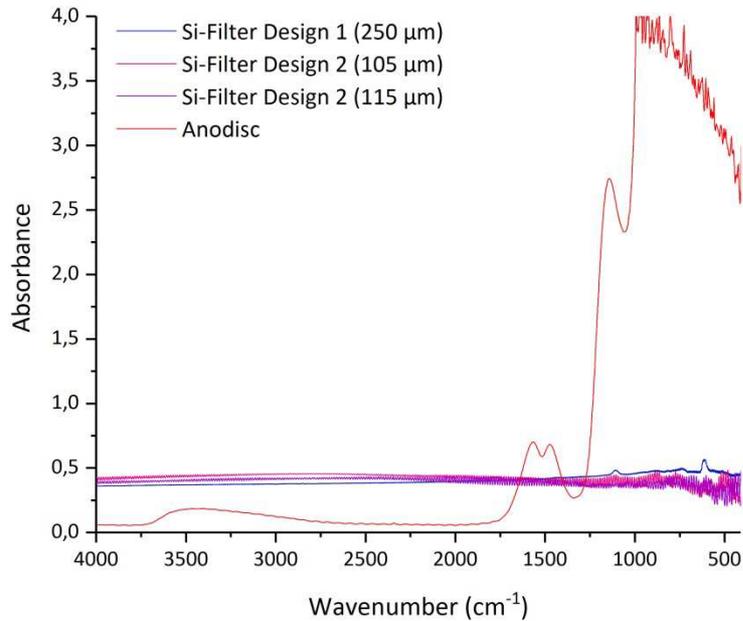


Abbildung A. 1: Transmission IR-Spektren von Si-Filter mit *Design 1* (blau) und *Design 2* (Schichtdicke 105 µm (pink), Schichtdicke 115 µm (violett)) im Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter (rot).

A. 2.2 Raman-Spektren von Si-Filter *Design 1* und *2* im Vergleich zur Si-Membran

Zu Abschnitt 4.1.4.2

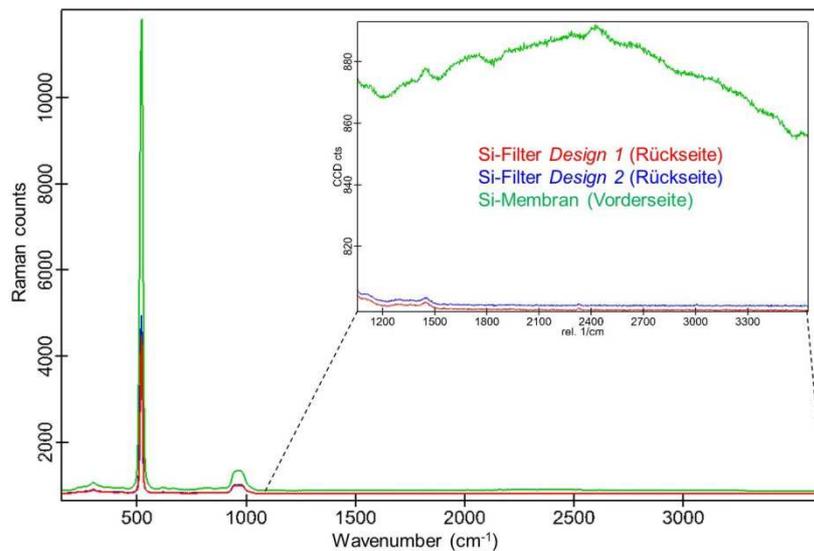


Abbildung A. 2: Raman-Spektren von Si-Filter mit *Design 1* (rot) und *Design 2* (blau) im Vergleich zur Si-Membran (grün). Messparameter: (Zeiss), 100 Scans, 0,5 s, 5 mW.

A. 3 Ergänzende Informationen zum Methodenvergleich und -evaluierung

A. 3.1 Mikroplastik-Partikel > 500 µm und Fasern aus Sedimenten

A. 3.1.1 Vergleich von ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie – Beispiel Mikroplastik mit organischem Farbstoff

Zu Abschnitt 4.2.1.1

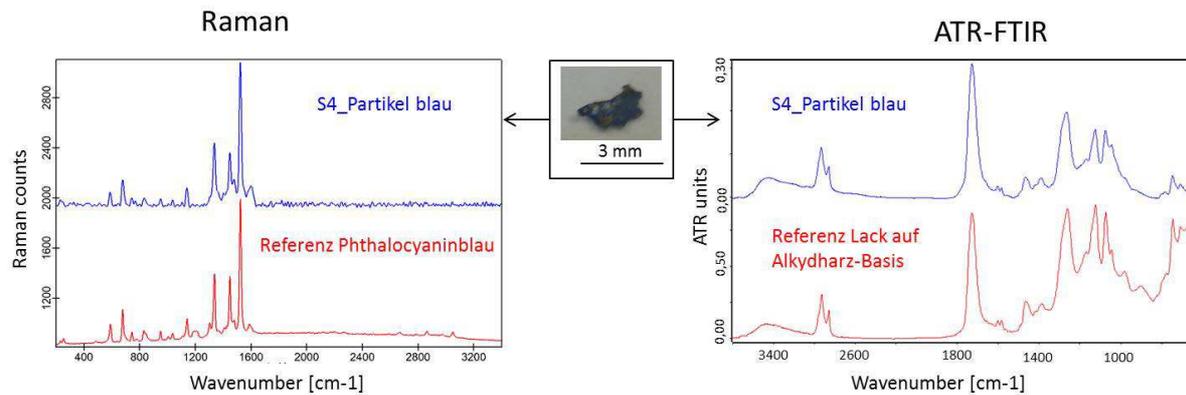


Abbildung A. 3: Raman- (links, blau) und ATR IR-Spektrum (rechts, blau) eines dunkelblauen Partikels (Mitte), jeweils mit einer Referenz (rot). Das Raman-Spektrum zeigt eine hohe Übereinstimmung mit einem organischen Farbstoff (Pigment Blue 15 – Phthalocyaninblau). Das ATR-Spektrum zeigt dahingegen eine hohe Übereinstimmung mit einem Lack auf Alkydharz-Basis.

A 3.1.2 Vergleich von ATR FTIR-Mikroskopie und py-GC/MS – Messinstrumente und Messparameter py-GC/MS

Zu Abschnitt 3.3 und Abschnitt 4.2.1.2

Tabelle A. 2: Messparameter der py-GC/MS Messungen am ICBM Oldenburg. Tabelle nach Käßler et al., 2018.

Mikro-Pyrolsator	EGA/Py-3030D (FrontierLabs)
Auto-Shot Sampler	AS1020E (FrontierLabs)
Trägergas	Helium
Curie-Temperatur	590°C
Pyrolysezeit	1 min
Transfer-Temperatur	320°C
Gaschromatograph	7890B Gaschromatograph (Agilent)
Injektor	split/split less
Modus	split 15:1
Temperatur	300°C
GC-Säule	DB5 (J&W); 30 m x 0.25 mm ID, film thickness 0.25 µm
Flussrate	0.8 ml/min
Temperaturprogramm	35°C (2 min) → 310 °C (30 min) mit 3°C/min
Transfer-Temperatur	280°C
Massenspektrometer	MSD 5977A (Agilent)
Ionisierungsenergie	70 eV
Scanrate	2.48 scans/s
Scanbereich	50-650 amu
Messsoftware	MassHunter GC/MS Acquisition B.07.04.2260 (Agilent)
Auswertesoftware	Thermo Xcalibur 3.1.66.1 (Thermo Fisher Scientific)
Bibliothek/Datenbank	NIST MS search 2.2

A. 3.1.3 Vergleich von ATR FTIR-Mikroskopie und py-GC/MS – Überblick aller untersuchten Proben

Zu Abschnitt 4.2.1.2

Tabelle A. 3: Zusammenfassung aller mittels ATR FTIR-Mikroskopie und py-GC/MS untersuchten Partikel und Fasern mit den jeweiligen Untersuchungsergebnissen. Proben, bei denen die beiden Methoden nicht zum identischen Ergebnis führten, wurden grau hinterlegt. *Cellulose-Fasern wurden mittels py-GC/MS nachträglich (unter Kenntnis des ATR-Ergebnisses) identifiziert. **unsichere Identifizierung, lediglich Spuren von Indikator-Ionen detektiert. Tabelle nach Käppler et al., 2018.

Nummer	Proben ID	Optische Charakterisierung	ungefähre Größe	FTIR Ergebnis		py-GCMS Ergebnis	
				Kunststoff/Nicht-Kunststoff	Polymerart	Kunststoff/Nicht-Kunststoff	Polymerart
Partikel							
1 (Partikel G)	S16_6	transparent weich	1750 µm x 1100 µm	Kunststoff	EVA	Kunststoff	EVA
2 (Partikel H)	S10_92	transparent/weiß	1000 µm x 700 µm	Kunststoff	PVC	Kunststoff	PVC
3	S10_33	blau-grau	500 µm x 500 µm	Kunststoff	PE	Kunststoff	PE
4	S10_70	rot, gesplittert	230 µm x 280 µm	Kunststoff	Alkyd-Lack	Kunststoff	Alkyd-Lack
5	S1_1	weiß, kugelig	Ø < 1000 µm	Kunststoff	PS	Kunststoff	PS
6	S4 P1	hellblau, fragmentiert	450 µm x 1500 µm	Kunststoff	Alkyd-Lack	Kunststoff	nicht spezifiziert
7	S4 P2	weiß, fragmentiert	500 µm x 1500 µm	Kunststoff	Alkyd-Lack	Kunststoff	Alkyd-Lack
8	S4 P3	dunkelblau, fragmentiert	500 µm x 500 µm	Kunststoff	Alkyd-Lack	Kunststoff	Alkyd-Lack
9	S7 1	grün	3000 µm x 900 µm	Kunststoff	PVC	Kunststoff	PVC
10	S7 2	hellgrün	2000 µm x 1000 µm	Kunststoff	PVC	Kunststoff	PVC
11	S10_79	transparent	1000 µm x 1500 µm	Kunststoff	PVAc	Kunststoff	PP
12	S13_01	grau	1000 µm x 1000 µm	Kunststoff	PP	Kunststoff	PP
13	S13_84	Gelb	1000 µm x 4000 µm	Kunststoff	PE	Kunststoff	PE
14	S13_91	Blau	1500 µm x 1000 µm	Kunststoff	PP	Kunststoff	PP
15	S16_4	transparent weich	2000 µm x 2000 µm	Kunststoff	PTFE	Kunststoff	PTFE
16	S16	gelb	2500 µm x 1000 µm	Kunststoff	PVAc	Kunststoff	PVAc
17	S1_2	weiß, kugelig	Ø < 1000 µm	Kunststoff	PS	Kunststoff	PS
Fasern							
18 (Faser E)	S13_45	hellblau	9500 µm (Länge)	Kunststoff	PET	Kunststoff	PET
19 (Faser F)	S10_13	dunkelblau	1000 µm (Länge)	Nicht-Kunststoff	Cellulose	Nicht-Kunststoff	Cellulose*
20	S10_29	transparent	6500 µm (Länge)	Kunststoff	PP	Kunststoff	PP

21	S10_09	blau	-	Nicht-Kunststoff	Cellulose	Nicht-Kunststoff	Cellulose*
22	S10_15	blau	-	Nicht-Kunststoff	Cellulose	Nicht-Kunststoff	Cellulose*
23	S13_05	rot	1500 µm (Länge)	Kunststoff	PAN	Kunststoff	PS?***
24	S13_13	transparent	4000 µm (Länge)	Kunststoff	PAN	Kunststoff	PET?***
25	S13_43	blau	2000 µm (Länge)	Kunststoff	PET	Kunststoff	PET
26	S13_48	blau	3000 µm (Länge)	Kunststoff	PET	Kunststoff	PET
27	S13_75	rot	5000 µm (Länge)	Kunststoff	PAN	Nicht identifiziert	-

A.3.1.4 Vergleich von ATR FTIR-Mikroskopie und py-GC/MS – Anhaftende Partikel als mögliche Ursache für divergierende Ergebnisse

Zu Abschnitt 4.2.1.2

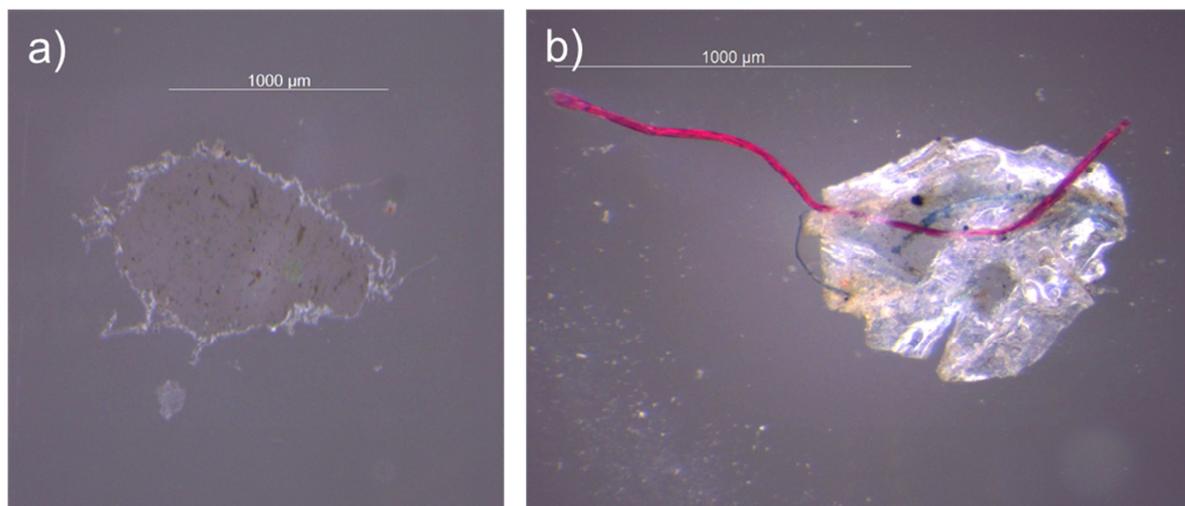


Abbildung A. 4: Optisches Bild von Partikel 11 und Faser 23 mit anhaftenden Partikeln als mögliche Ursache für unterschiedliche Ergebnisse mittels ATR FTIR-Mikroskopie und py-GCMS. Abbildung entnommen aus Käßler et al., 2018.

A. 3.2 Mikroplastik-Partikel < 500 μm

A. 3.2.1 Modellpartikel – Messparameter für Raman und IR Imaging an Mikroplastik-Modellpartikel (10 – 500 μm)

Zu Abschnitt 4.2.2.1

Tabelle A. 4: Messparameter für Raman und Transmission IR Imaging von Modellprobe 1 (PE, PP, PS und PMMA) auf einem Si-Filter.

	Raman Imaging	Transmission IR Imaging
Verwendetes Gerät:	Mikroskop alpha300 R (vgl. 3.2)	Hyperion 3000 + Tensor 27 (vgl. 3.1.3)
Objektiv:	20x (Zeiss), NA=0,5	15x IR, NA=0,4
Spektrale Auflösung:	< 3 cm^{-1} (600 Gitter)	8 cm^{-1}
Wellenzahlenbereich:	160 – 3600 cm^{-1}	3400 – 900 cm^{-1}
Anzahl Scans:	1 Scan (continuous mode)	Probe: 12 Scans
Messfläche:	1500 μm x 950 μm	1650 μm x 1000 μm (10 x 6 FPA-Felder)
Messpunktabstand/ Pixelauflösung:	Messpunktabstand: 10 μm	Pixelauflösung 5,3 μm (2 x 2 Binning)
Weiteres:	Laser: 532 nm	Zerofilling-Faktor: 2
	Laserleistung: 5 mW	Apodisation: Blackmann-Harris-3-Term
	Integrationszeit: 0,25 s	Phasenkorrektur: Mertz
	Fokus: <ul style="list-style-type: none"> • Fokussierung auf Si-Filter • ohne TrueSurface 	Hintergrund: <ul style="list-style-type: none"> • leere Stelle Si-Filter • 32 Scans
Messzeit	1h 5 min	18 min

A. 3.2.2 Modellpartikel – Einfluss der Fokusebene auf die Spektren-Qualität verschiedener Polymerpartikel

Zu Abschnitt 4.2.2.1

Von vier Polymerpartikeln (PMMA-Kugeln, PP-Faser, PE-Folienstück und PS-Fragment) der in Abbildung 4.22a dargestellten Modellprobe wurden Einzelspektren auf verschiedenen Fokusebenen gemessen. Es wurde das 20x-Objektiv (Zeiss), eine Laserleistung von 5 mW, eine Integrationszeit von 0,5 s und 100 Scans pro Spektrum verwendet. Für die Fokusebene $z=0$ wurde auf die Oberfläche des Si-Filters optisch fokussiert und diese z -Position gleich Null gesetzt. Alle weiteren Fokusebene wurden durch Anheben des Mikroskoptisches um 15, 30, bzw. 90 μm eingestellt.

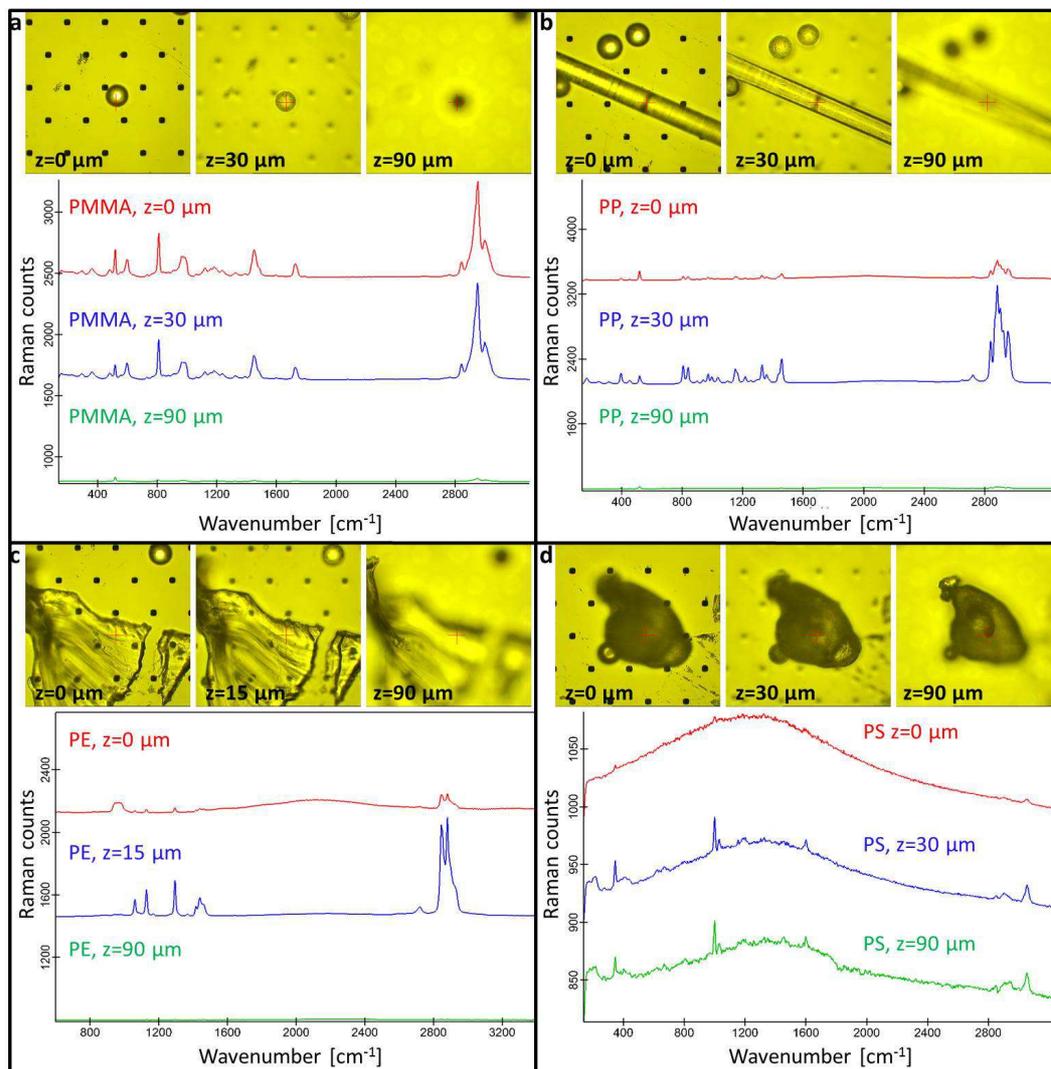


Abbildung A. 5: Einfluss der Fokusebene auf Signalintensität und Signal-Rausch-Verhältnis von Raman-Spektren verschiedener Polymerpartikel. A: PMMA-Kugel (cospheric, \varnothing ca. 30 μm). B: PP-Faser (IPF-Bestand, Abt. Verarbeitungsprozesse, \varnothing ca. 30 μm). C: PE-Folienstück (HDPE HTA 108, Schmelzfolie (vgl. Abschnitt 3.4), Dicke ca. 15 μm). D: PS-Fragment (PS 143E (BASF), gemahlen (Technikum IPF)).

A. 3.2.3 Modellpartikel – Einfluss der Numerischen Apertur des Objektivs auf die Qualität des Raman Images

Zu Abschnitt 4.2.2.1

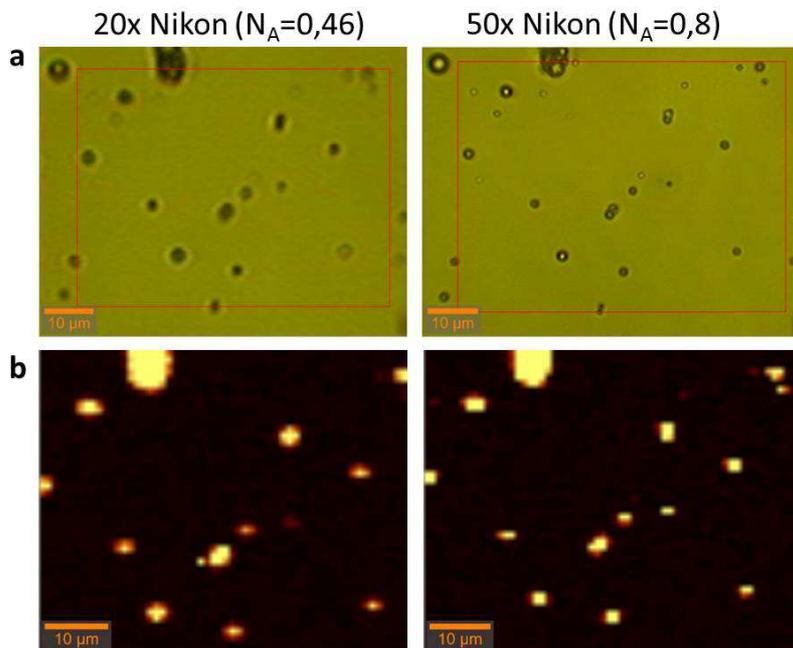


Abbildung A. 6: Einfluss des verwendeten Objektivs (v.a. Numerisch Apertur) auf die Qualität des optischen Bildes und des Raman Images. A: optisches Bild von Modellprobe 3 (PE-Kugeln 1 – 10 µm) auf einem Si-Wafer; Links: aufgenommen mit dem 20x-Objektiv (Nikon, $N_A=0,46$), rechts: aufgenommen mit dem 50x-Objektiv (Nikon, $N_A=0,80$). B: Raman Images für den Wellenzahlenbereich 2843 – 2903 cm^{-1} ; Links: gemessen mit 20x-Objektiv, rechts: gemessen mit 50x-Objektiv. Messparameter: Fläche: 64 µm x 49 µm, Messpunktabstand: 1 µm, Scananzahl: 1 (continuous mode), Laserleistung: 3 mW, Integrationszeit: 0,25 s, EMCCD.

A. 3.2.4 Realprobe – Details zur Messprozedur

Zu Abschnitt 4.2.2.2

Als reale Umweltprobe wurde die Sinkstofffallen-Probe GotAR 10-12 vom Gotland-Becken verwendet. Details zur Probennahme und zur Probenreinigung sind in den Abschnitten 3.5.1.3 und 3.5.2.2 beschrieben.

Die gereinigte Probe wurde unter Nachspülen mit MilliQ-Wasser auf einen Si-Filter (*Design 1*, 250 µm) filtriert. Von der nach der Filtration resultierenden Probenfläche (kreisförmig, \varnothing 9 mm, 64 mm^2) wurde eine Teilfläche von 1000 µm x 1000 µm (1,6 % der gesamten Probenfläche) an exakt der gleichen Position auf dem Filter zunächst mittels Raman Imaging und anschließend mittels IR Imaging in Transmission untersucht. Die Messfläche wurde zufällig ausgewählt.

Die verwendeten Messparameter können der Tabelle A. 5 entnommen werden. Für das Transmission IR Imaging wurden die spektrale Auflösung (8 cm^{-1}) sowie das Binning (4 x 4) analog zu den von Löder et al., 2015 vorgeschlagenen optimierten Werten gewählt. Die Scananzahl wurde zur besseren Vergleichbarkeit mit dem Raman Imaging im Vergleich zu Löder et al. erhöht (32 statt 6 Scans) und der Wellenzahlenbereich aufgrund der Verwendung eines Si-Filters anstatt eines Anodisc-Filters auf 3400 – 900 cm^{-1} (statt 3600 – 1200 cm^{-1}) erweitert.

Tabelle A. 5: Messparameter für Raman und Transmission IR Imaging von Sinkstofffallen-Probe GotAR 10-12.

	Raman Imaging	Transmission IR Imaging
Verwendetes Gerät:	Mikroskop alpha300 R (vgl. 3.2)	Hyperion 3000 + Tensor 27 (vgl. 3.1.3)
Objektiv:	20x (Zeiss), NA=0,5	Objektiv: 15x IR, NA=0,4
Detektor:	CCD	FPA
Spektrale Auflösung:	< 3 cm ⁻¹ (600 Gitter)	8 cm ⁻¹
Wellenzahlenbereich:	160 – 3600 cm ⁻¹	3400 – 900 cm ⁻¹
Anzahl Scans:	20 Scans (stepwise)	32 Scans
Messfläche:	1000 µm x 1000 µm	1000 µm x 1000 µm (6 x 6 FPA-Felder)
Messpunktabstand/ Pixelauflösung:	Messpunktabstand: 10 µm	Pixelauflösung 10,6 µm (4 x 4 Binning)
Weiteres:	Laser: 532 nm	Zerofilling-Faktor: 2
	Laserleistung: 5 mW	Apodisation: Blackmann-Harris-3-Term
	Integrationszeit: 0,5 s	Phasenkorrektur: Mertz
	Fokussierung auf Oberfläche des Si-Filters	Hintergrundmessung gegen Luft mit gleichen Messparametern
	ohne TrueSurface	

A. 3.2.5 Realprobe – Einfluss verschiedener Messparameter beim Raman Imaging auf die Anzahl der identifizierbaren Mikroplastik-Partikel und auf die Messzeit

Zu Abschnitt 4.2.2.2

Tabelle A. 6: Einfluss verschiedener Messparameter (Anzahl der akkumulierten Scans (acc), Integrationszeit (s), Messpunktabstand (µm), Verwendung von True Surface (TS) ja/nein) beim Raman Imaging einer realen Umweltprobe auf die Anzahl der identifizierbaren Mikroplastik-Partikel und auf die Messzeit. In Spalte 2 ist zusätzlich das Ergebnis einer Sample Raster-Messung (visuelle Partikelerkennung und manuelle Festlegung von Messpunkten, automatische Messung) aufgeführt. Alle Messungen wurden mit dem 20x-Objektiv (Zeiss) und einer Laserleistung von 5 mW durchgeführt. *Die Abweichung zur der in Abschnitt 4.2.2.2 beschriebenen Anzahl an identifizierten Mikroplastik-Partikel (49) ist durch eine unterschiedliche Vorgehensweise beim Auswerten begründet (hier: Beurteilung der Spektren für jeden Messpixel, Abschnitt 4.2.2.2: Auswertung der Raman Images für die entsprechenden Wellenzahlenbereiche).

Größen- klassen	Sample Raster 20acc 0.5s	Imaging 20acc 0.5s 10µm	Imaging 7acc 0.4s 10µm TS	Imaging 7acc 0.4s 10µm	Imaging 5acc 0.3s 10µm	Imaging 1acc 0.5s 10µm TS	Imaging 1acc 0.5s 10µm	Imaging 1acc 0.5s 20µm TS	Imagin g 1acc 0.5s 20µm
5 – 10 µm	0	11	4	3	2	1	0	1	0
10 – 20 µm	12	23	17	15	13	12	9	5	6
20 – 50 µm	16	15	14	14	12	12	10	12	11
50 – 100 µm	4	5	5	5	5	5	5	5	5
100 – 500 µm	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Summe	34	56*	42	39	34	32	26	25	24
Messzeit	4h + 2h Festlegen Messpunkte	38h 30min	13h 30min +15min TS	13h 30min	9h 30min	1h 30min +15min TS	1h 30min	20min +15min TS	20min

A. 3.2.6 Realprobe – Einfluss verschiedener Messparameter beim IR Imaging auf die Messzeit und Datenmenge

Zu Abschnitt 4.2.2.2

Tabelle A. 7: Einfluss verschiedener Messparameter beim IR Imaging einer realen Umweltprobe auf die Messzeit und Datenmenge.

Messparameter	Messzeit	Dateigröße
Kein Binning, Auflösung 8 cm ⁻¹ , Scananzahl: 32	20 min	1591 MB
2x2 Binning, Auflösung 8 cm ⁻¹ , Scananzahl: 32	19 min	410 MB
4x4 Binning, Auflösung 8 cm ⁻¹ , Scananzahl: 32	17 min	110 MB
Kein Binning, Auflösung 8 cm ⁻¹ , Scananzahl: 6	15 min	1553 MB
kein Binning, Auflösung 4 cm ⁻¹ , Scananzahl: 6	30 min	3046 MB

A. 4 Ergänzende Informationen zur Untersuchung von Ostsee-Proben

A. 4.1 Details zur Untersuchung von Strand-Sedimenten

Zu Abschnitt 3.5.1.1

Tabelle A. 8: Details zur Probennahme von Strand-Sediment-Proben an der Ostseeküste in und nahe Warnemünde: Koordinaten und Datum der Probennahme sowie Probenmasse (nass/trocken) der entnommenen Proben. *ermittelt und berechnet von Leonie Buschbeck (IOW). **nicht bestimmt/fehlende Angabe.

Nr.	Stations- bezeichnung	Koordinaten	Datum Probennahme	Probenmasse* [kg]	
				nass	trocken
1	IGA Park	N 54° 08' 23.36" E 12° 05' 14.35"	27.10.2015	4,68	3,81
2	Warnemünde 1	N 54° 11' 03.59" E 12° 05' 09.18"	11.11.2015	7,00	5,61
3	Schnatermann	N 54° 10' 22.80" E 12° 08' 32.26"	12.11.2015	5,17	**
4	Hohe Düne 1	N 54° 10' 43.60" E 12° 06' 10.62"	13.11.2015	3,70	**
5	Warnemünde 2	N 54° 10' 51.56" E 12° 04' 43.37"	23.11.2015	5,90	5,11
6	Hohe Düne 2	N 54° 10' 42.27" E 12° 06' 15.42"	24.11.2015	5,57	4,70

A. 4.2 Details zur Untersuchung von Sinkstofffallen-Proben

A. 4.2.1 Details zur Probennahme

Zu Abschnitt 3.5.1.3

Tabelle A. 9: Details zur Probennahme von Sinkstofffallenproben: Datum der Probennahme, Beprobungsintervall [d], Sedimentflux [mg/d*m²]: gibt die Masse [mg] an Material an, die in einer bestimmten Zeit [d] innerhalb einer bestimmten Fläche [m²] absinkt.

Probenname	Nummer	Datum Start	Datum Ende	Beprobungsintervall [d]	Sedimentflux* [mg/d*m ²]
Gotland					
Gotland AR 1+2	1	17.02.2013	03.03.2013	14	0,6
	2	03.03.2013	17.03.2013	14	0,6
Gotland AR 3+4	3	17.03.2013	31.03.2013	14	0,4
	4	31.03.2013	14.04.2013	14	0,4
Gotland AR 7-9	7	12.05.2013	26.05.2013	14	0,11
	8	26.05.2013	09.06.2013	14	0,11
	9	09.06.2013	23.06.2013	14	0,11
Gotland AR 10-12	10	23.06.2013	07.07.2013	14	0,15
	11	07.07.2013	21.07.2013	14	0,15
	12	21.07.2013	04.08.2013	14	0,15
Arkona L					
Arkona L2	2	01.07.13	11.07.13	10	5,04
Arkona L3	3	11.07.13	21.07.13	10	16,90
Arkona L13	13	19.10.13	29.10.13	10	0,93
Arkona L18	18	08.12.13	18.12.13	10	1,76
Arkona L20	20	28.12.13	07.01.14	10	1,60

A. 4.2.2 Details zu den Ergebnissen

Zu Abschnitt 4.3.1

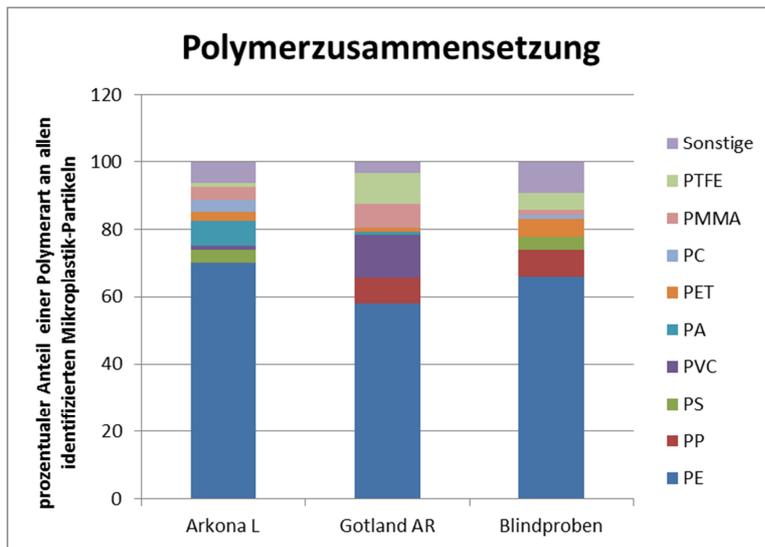


Abbildung A. 7: Prozentuale Polymerzusammensetzung der identifizierten Mikroplastik-Partikel in den untersuchten Sinkstofffallen-Proben Arkona L und Gotland AR im Vergleich zu den Blindproben. Die Anzahl aller Partikel einer Polymerart wurden pro Probenserie (Serie 1: Arkona L, Serie 2: Gotland AR, Serie 3: Blindproben) summiert und deren Anteil an der Gesamtheit aller Mikroplastik-Partikel pro Serie bestimmt.

Tabelle A. 10: Anzahl der Mikroplastik-Partikel pro Größenklasse der untersuchten Sinkstofffallen-Proben im Vergleich mit den dazugehörigen Blindproben.

Größenklasse [µm]	5 – 10	10 – 20	20 – 50	50 – 100	100 – 500	Summe
Arkona L						
Arkona L2	5	9	2	0	0	16
Arkona L3	3	6	5	0	0	14
Arkona L13	5	6	3	0	0	14
Arkona L18	3	2	4	3	1	13
Arkona L20	2	7	9	5	1	24
Summe	18	30	23	8	2	81
Anteil [%]	22	37	28	10	2	100
Gotland AR						
Gotland AR 1+2	0	5	9	3	1	18
Gotland AR 3+4	0	8	13	0	0	21
Gotland AR 7-9	1	4	9	3	0	17
Gotland AR 10-12	5	14	10	1	2	32
Summe	6	31	41	7	3	88
Anteil [%]	7	35	47	8	3	100
Blindproben						
BW_GotAt20_1/4_1	0	1	14	0	0	15
BW_GotAt20_1/4_3	0	5	15	5	0	25
BW_GotAt20_1/16_2	1	5	10	3	1	20
BW_GotAt20_1/16_4	3	7	6	1	0	17
Summe	4	18	45	9	1	77
Anteil [%]	5	23	58	12	1	100

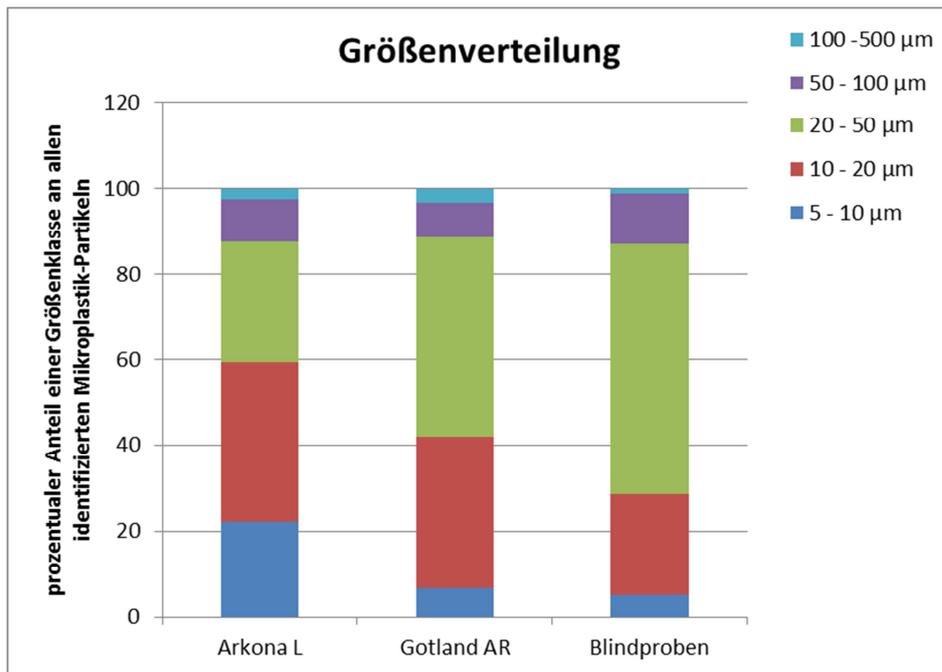


Abbildung A. 8: Prozentuale Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Partikel in den untersuchten Sinkstofffallen-Proben Arkona L und Gotland AR im Vergleich zu den Blindproben. Die Anzahl aller Partikel einer Größenklasse wurden pro Probenserie (Serie 1: Arkona L, Serie 2: Gotland AR, Serie 3: Blindproben) summiert und deren Anteil an der Gesamtheit aller Mikroplastik-Partikel pro Serie bestimmt.

A. 4.3 Details zur Untersuchung von Warnow-Sedimenten

A. 4.3.1 Details zur Probennahme

Zu Abschnitt 3.5.1.2

Tabelle A. 11: Details zur Probennahme von Warnow-Sedimenten: Koordinaten und Wassertiefe der beprobten Stationen, sowie Probenmasse der entnommenen Proben. *Die Bestimmung der Trockenmasse wurde am IOW durchgeführt. Dazu wurde die Massendifferenz einer definierten Teilmenge (ca. 10 bis 100 g) der homogenisierten nassen Sediment-Probe vor und nach der Trocknung im Trockenschrank (60 °C, 48 h) bestimmt. ** Die Trockenmasse von S22 wurde aufgrund einer fehlenden Messung aus dem Verhältnis von Nass- zu Trockenmasse von S16 abgeschätzt. Die Proben S28 und S16 weisen ähnliche Sedimenteigenschaften (z.B. Korngrößenverteilung) auf, wodurch diese Annahme gerechtfertigt ist.

Station	Probe	Koordinaten		Wassertiefe [m]	Probenmasse [g]	
		Breitengrad	Längengrad		nass	trocken*
Station A	S1	54,08548	12,15132	1,5	1550	248
	S2	54,08548	12,15132	1,5	-	-
	S3	54,08548	12,15132	1,5	-	-
Station B	S4	54,09500	12,12270	2,5	1645	790
	S5	54,09500	12,12270	2,5	1746	750
	S6	54,09500	12,12270	2,5	1783	772
Station C	S7	54,10653	12,09662	1,5	1750	647
	S8	54,10653	12,09662	1,5	-	-
	S9	54,10653	12,09662	1,5	-	-
Station D	S10	54,11247	12,08935	7,0	1727	695
	S11	54,11247	12,08935	7,0	-	-
	S12	54,11247	12,08935	7,0	-	-
Station E	S13	54,13070	12,09153	1,6	1820	676
	S14	54,13070	12,09153	1,6	-	-
	S15	54,13070	12,09153	1,6	-	-
Station F	S16	54,14422	12,08613	1,2	1836	909
	S17	54,14422	12,08613	1,2	-	-
	S18	54,14422	12,08613	1,2	-	-
Station G	S19	54,15807	12,09420	6,5	2043	1223
	S20	54,15807	12,09420	6,5	-	-
	S21	54,15807	12,09420	6,5	-	-
Station H	S22	54,18053	12,08722	3,5	1942	943
	S23	54,18053	12,08722	3,5	1963	1038
	S24	54,18053	12,08722	3,5	1818	775
Station I	S25	54,20250	12,07798	3,5	2700	2221
	S26	54,20250	12,07798	3,5	-	-
	S27	54,20250	12,07798	3,5	-	-
Station J	S28	54,18308	12,09540	4,0	1900	940**
	S29	54,18308	12,09540	4,0	-	-
	S30	54,18308	12,09540	4,0	-	-

A. 4.3.2 Details zu den Ergebnissen

Zu Abschnitt 4.3.2.2

Tabelle A. 12: Mikroplastik-Gehalte pro Station bezogen auf die Ausgangsprobe sowie unter Berücksichtigung der jeweiligen Sediment-Trockenmassen. Letzterer berechnet sich nach: (Anzahl pro Probe * 1000)/Sediment-Trockenmasse. ** Bei Station 7 wurde nur ein Drittel der Probe untersucht. Die ermittelten Werte müssen demzufolge mit 3 multipliziert werden.

Station	Probe	Anzahl an Mikroplastik pro Probe			Mikroplastik-Gehalt [kg^{-1} TM Sediment]*		
		Partikeln	Fasern	insgesamt	Partikeln	Fasern	insgesamt
Station A	S1	21	2	23	85	8	93
	S2	-	-	-	-	-	-
	S3	-	-	-	-	-	-
Station B	S4	69	0	69	87	0	87
	S5	48	3	51	64	4	68
	S6	56	5	61	73	6	79
Station C	S7**	19	2	21	88	9	97
	S8	-	-	-	-	-	-
	S9	-	-	-	-	-	-
Station D	S10	66	6	72	95	9	104
	S11	-	-	-	-	-	-
	S12	-	-	-	-	-	-
Station E	S13	227	7	234	336	10	346
	S14	-	-	-	-	-	-
	S15	-	-	-	-	-	-
Station F	S16	9	2	11	10	2	12
	S17	-	-	-	-	-	-
	S18	-	-	-	-	-	-
Station G	S19	17	1	18	14	1	15
	S20	-	-	-	-	-	-
	S21	-	-	-	-	-	-
Station H	S22	292	92	384	310	98	407
	S23	239	126	365	230	121	352
	S24	258	35	293	333	45	378
Station I	S25	5	0	5	2	0	2
	S26	-	-	-	-	-	-
	S27	-	-	-	-	-	-
Station J	S28	2	0	2	2	0	2
	S29	-	-	-	-	-	-
	S30	-	-	-	-	-	-

Tabelle A. 13: Größenverteilung der identifizierten Mikroplastikteilchen pro Station bezogen auf die Ausgangsprobe. Teilchen mit fehlender Größenangabe wurden in der Auswertung nicht berücksichtigt. Die Anzahl dieser Teilchen ergibt sich aus der Differenz der hier aufgeführten Summe und der Summenwerte in Tabelle A. 12.

Station	Probe	Anzahl an Mikroplastik bezogen auf die Ausgangsprobe				Summe
		0,5 - 1 mm	1 - 2 mm	2 – 5 mm	> 5 mm	
Station A	S1	21	0	1	1	23
	S2	-	-	-	-	-
	S3	-	-	-	-	-
Station B	S4	46	14	9	0	69
	S5	28	13	10	0	51
	S6	32	19	8	1	60
Station C	S7	7	8	4	2	21
	S8	-	-	-	-	-
	S9	-	-	-	-	-
Station D	S10	41	13	1	5	60
	S11	-	-	-	-	-
	S12	-	-	-	-	-
Station E	S13	210	12	4	2	228
	S14	-	-	-	-	-
	S15	-	-	-	-	-
Station F	S16	1	6	2	2	11
	S17	-	-	-	-	-
	S18	-	-	-	-	-
Station G	S19	7	5	6	0	18
	S20	-	-	-	-	-
	S21	-	-	-	-	-
Station H	S22	19	176	136	19	350
	S23	22	173	134	27	356
	S24	45	120	88	36	289
Station I	S25	5	0	0	0	5
	S26	-	-	-	-	-
	S27	-	-	-	-	-
Station J	S28	1	1	0	0	2
	S29	-	-	-	-	-
	S30	-	-	-	-	-

Tabelle A. 14: Polymerverteilung der identifizierten Mikroplastikteilchen pro Station bezogen auf die Ausgangsprobe. *PS-K steht für PS-Kugeln/PS-Ionenaustauscher. PET und PTFE wurden nachträglich als Kontaminationen von der Auswertung ausgeschlossen.

Station	Probe	Anzahl an Mikroplastik bezogen auf die Ausgangsprobe																
		Ordinäre Polymere										Lacke						
		PE	PP	PS	PS-K*	PVC	PA	PVAc/EVA	PC	PMMA	PAN	Sonstige	PU	Alkydharz	Epoxidharz	unknown	PET	PTFE
Station A	S1	0	1	0	21	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Station B	S4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	68	0	0	0	0
	S5	1	0	0	27	0	1	0	0	0	3	2	0	18	0	0	1	1
	S6	0	1	0	27	1	0	0	0	0	2	0	2	25	0	1	1	0
Station C	S7	2	0	5		7	2	1	0	0	1	4	0	1	0	0	0	2
	S8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Station D	S10	1	4	0		1	1	1	0	1	2	2	1	49	9	0	1	0
	S11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Station E	S13	2	4	1	214	1	2	0	0	0	5	0	1	4	0	2	10	1
	S14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Station F	S16	0	1	0		0	0	2	0	0	1	1	1	4	1	0	2	7
	S17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Station G	S19	2	2	1		1	2	0	0	2	1	2	1	6	0	0	6	8
	S20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Station H	S22	51	60	18		0	51	9	1	1	17	10	6	180	4	3	11	1
	S23	36	73	15		1	36	8	0	2	12	12	4	127	15	2	17	2
	S24	15	21	3		1	15	2	0	5	13	4	1	196	15	6	21	0
Station I	S25	0	0	0		0	0	0	0	0	0	1	0	3	1	0	0	0
	S26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Station J	S28	1	0	0		0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	S29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	S30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Literaturverzeichnis

- Andrady, A.L., 2017. The plastic in microplastics: A review. *Mar. Pollut. Bull.* 119, 12–22. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.01.082
- Andrady, A.L., 2011. Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1596–1605. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.05.030
- Andreassen, E., 1999. Infrared and Raman spectroscopy of polypropylene, in: J. Karger-Kocsis (Ed.), *Polypropylene: An A-Z Reference*.
- Arthur, C., Baker, J., Bamford, H., 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris. NOAA Tech. Memo. NOS-OR&R-30 530.
- Bagaev, A., Mizyuk, A., Khatmullina, L., Isachenko, I., Chubarenko, I., 2017. Anthropogenic fibres in the Baltic Sea water column: Field data, laboratory and numerical testing of their motion. *Sci. Total Environ.* 599–600, 560–571. doi:10.1016/j.scitotenv.2017.04.185
- Balachandran, U., Eror, N.G., 1982. Raman spectra of titanium dioxide. *J. Solid State Chem.* 42, 276–282. doi:10.1016/0022-4596(82)90006-8
- Baran, A., Fiedler, A., Schulz, H., Baranska, M., 2010. In situ Raman and IR spectroscopic analysis of indigo dye. *Anal. Methods* 2, 1372–1376. doi:10.1039/c0ay00311e
- Bergmann, M., Wirzberger, V., Krumpfen, T., Lorenz, C., Primpke, S., Tekman, M.B., Gerdts, G., 2017. High Quantities of Microplastic in Arctic Deep-Sea Sediments from the HAUSGARTEN Observatory. *Environ. Sci. Technol.* 51, 11000–11010. doi:10.1021/acs.est.7b03331
- Besseling, E., Foekema, E.M., van den Heuvel-Greve, M.J., Koelmans, A.A., 2017. The Effect of Microplastic on the Uptake of Chemicals by the Lugworm *Arenicola marina* (L.) under Environmentally Relevant Exposure Conditions. *Environ. Sci. Technol.* 51, 8795–8804. doi:10.1021/acs.est.7b02286
- Besseling, E., Foekema, E.M., Van Franeker, J.A., Leopold, M.F., Kühn, S., Bravo Rebolledo, E.L., Heße, E., Mielke, L., IJzer, J., Kamminga, P., Koelmans, A.A., 2015. Microplastic in a macro filter feeder: Humpback whale *Megaptera novaeangliae*. *Mar. Pollut. Bull.* 95, 248–252. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.04.007
- Besseling, E., Wegner, A., Foekema, E.M., van den Heuvel-Greve, M.J., Koelmans, A.A., 2013. Effects of microplastic on fitness and PCB bioaccumulation by the lugworm *Arenicola marina* (L.). *Environ. Sci. Technol.* 47, 593–600. doi:10.1021/es302763x
- Beyler, C.L., Hirschler, M.M., 2005. Thermal Decomposition of Polymers, in: Beyler, C.L., Custer, R.L.P., Walton, W.D., John M., J.W., Drysdale, D., John R., J.H., Dinunno, P.J. (Eds.), *SFPE Handbook of Fire Protection Engineering*. National Fire Protection Association, pp. 110–131.
- Bovill, A.J., McConnell, A.A., Nimmo, J.A., Smith, W.E., 1986. Resonance Raman spectra of alpha-copper phthalocyanine. *J. Phys. Chem.* 90, 569–575. doi:10.1021/j100276a017
- Browne, M.A., Crump, P., Niven, S.J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., Thompson, R., 2011. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. *Environ. Sci. Technol.* 45, 9175–9179. doi:10.1021/es201811s
- Browne, M.A., Dissanayake, A., Galloway, T.S., Lowe, D.M., Thompson, R.C., 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environ. Sci. Technol.* 42, 5026–5031. doi:10.1021/es800249a
- Browne, M.A., Niven, S.J., Galloway, T.S., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2013. Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. *Curr. Biol.* 23, 2388–2392. doi:10.1016/j.cub.2013.10.012
- Carpenter, E.J., Anderson, S.J., Harvey, G.R., Miklas, H.P., Peck, B.B., 1972. Polystyrene Spherules in Coastal Waters. *Science* 178, 749–750. doi:10.1126/science.178.4062.749
- Carpenter, E.J., Smith, K.L., 1972. Plastics on the Sargasso Sea Surface. *Science* 175, 1240–1241. doi:10.1126/science.175.4027.1240
- Carr, S.A., Liu, J., Tesoro, A.G., 2016. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. *Water Res.* 91, 174–182. doi:10.1016/j.watres.2016.01.002

- Carson, H.S., Nerheim, M.S., Carroll, K.A., Eriksen, M., 2013. The plastic-associated microorganisms of the North Pacific Gyre. *Mar. Pollut. Bull.* 75, 126–132. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.07.054
- Challinor, J.M., 2001. Review: The development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 61, 3–34.
- Challinor, J.M., 1989. A Pyrolysis-Derivatisation-Gas Chromatography Technique for the Structural Elucidation of some Synthetic Polymers. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 16, 323–333.
- Chalmers, J.M., Griffiths, P.R., 2002. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. Jon Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK.
- Claessens, M., De Meester, S., Van Landuyt, L., De Clerck, K., Janssen, C.R., 2011. Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2199–2204. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.06.030
- Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M.B., Janssen, C.R., 2013. New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 70, 227–233. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.03.009
- Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., Galloway, T.S., 2013. Microplastic Ingestion by Zooplankton. *Environ. Sci. Technol.* 47, 6646–6655. doi:10.1021/es400663f
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588–97. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.09.025
- Cole, M., Webb, H., Lindeque, P.K., Fileman, E.S., Halsband, C., Galloway, T.S., 2014. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Sci. Rep.* 4, 4528. doi:10.1038/srep04528
- Colton, J.B., Knapp, F.D., Burns, B.R., 1974. Plastic particles in surface waters of the northwestern atlantic. *Science* 185, 491–497. doi:10.1126/science.185.4150.491
- Comnea-Stancu, I.R., Wieland, K., Ramer, G., Schwaighofer, A., Lendl, B., 2017. On the Identification of Rayon/Viscose as a Major Fraction of Microplastics in the Marine Environment: Discrimination between Natural and Manmade Cellulosic Fibers Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 71, 939–950. doi:10.1177/0003702816660725
- Cooper, D.A., Corcoran, P.L., 2010. Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of Kauai, Hawaii. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 650–654. doi:10.1016/j.marpolbul.2009.12.026
- De Tender, C.A., Devriese, L.I., Haegeman, A., Maes, S., Ruttink, T., Dawyndt, P., 2015. Bacterial Community Profiling of Plastic Litter in the Belgian Part of the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* 49, 9629–9638. doi:10.1021/acs.est.5b01093
- De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Vandermeersch, G., Cooreman, K., Robbens, J., 2014. Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. *Mar. Pollut. Bull.* 85, 146–155. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.06.006
- Dehaut, A., Cassone, A.L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., Paul-Pont, I., 2016. Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environ. Pollut.* 215, 223–233. doi:10.1016/j.envpol.2016.05.018
- Dekiff, J.H., Remy, D., Klasmeier, J., Fries, E., 2014. Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney. *Environ. Pollut.* 186, 248–256. doi:10.1016/j.envpol.2013.11.019
- Devriese, L.I., van der Meulen, M.D., Maes, T., Bekaert, K., Paul-Pont, I., Frère, L., Robbens, J., Vethaak, A.D., 2015. Microplastic contamination in brown shrimp (*Crangon crangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. *Mar. Pollut. Bull.* 98, 179–187. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.06.051
- Doyle, M.J., Watson, W., Bowlin, N.M., Sheavly, S.B., 2011. Plastic particles in coastal pelagic ecosystems of the Northeast Pacific ocean. *Mar. Environ. Res.* 71, 41–52. doi:10.1016/j.marenvres.2010.10.001

- Dris, R., Imhof, H., Sanchez, W., Gasperi, J., Galgani, F., Tassin, B., Laforsch, C., 2015. Beyond the ocean: contamination of freshwater ecosystems with (micro-)plastic particles. *Environ. Chem.* 12, 539. doi:10.1071/EN14172
- Duce, C., Della Porta, V., Tiné, M.R., Spepi, A., Ghezzi, L., Colombini, M.P., Bramanti, E., 2014. FTIR study of ageing of fast drying oil colour (FDOC) alkyd paint replicas. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 130, 214–221. doi:10.1016/j.saa.2014.03.123
- Duis, K., Coors, A., 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environ. Sci. Eur.* 28, 2. doi:10.1186/s12302-015-0069-y
- Dümichen, E., Barthel, A.-K., Braun, U., Bannick, C.G., Brand, K., Jekel, M., Senz, R., 2015. Analysis of polyethylene microplastics in environmental samples, using a thermal decomposition method. *Water Res.* 85, 451–457. doi:10.1016/j.watres.2015.09.002
- Dümichen, E., Eisentraut, P., Bannick, C.G., Barthel, A.-K., Senz, R., Braun, U., 2017. Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method. *Chemosphere* 174, 572–584. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.02.010
- Eerkes-Medrano, D., Thompson, R.C., Aldridge, D.C., 2015. Microplastics in freshwater systems: A review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Water Res.* 75, 63–82. doi:10.1016/j.watres.2015.02.012
- Elert, A.M., Becker, R., Duemichen, E., Eisentraut, P., Falkenhagen, J., Sturm, H., Braun, U., 2017. Comparison of different methods for MP detection: What can we learn from them, and why asking the right question before measurements matters? *Environ. Pollut.* 231, 1256–1264. doi:10.1016/j.envpol.2017.08.074
- Enders, K., Käßler, A., Biniasch, O., Stollberg, N., Fischer, D., Eichhorn, K.-J., Pollehne, F., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., n.d. Tracing microplastics in aquatic environments based on sediment analogies. Zur Einreichung.
- Enders, K., Lenz, R., Beer, S., Stedmon, C.A., 2017. Extraction of microplastic from biota: Recommended acidic digestion destroys common plastic polymers. *ICES J. Mar. Sci.* 74, 326–331. doi:10.1093/icesjms/fsw173
- Enders, K., Lenz, R., Stedmon, C.A., Nielsen, T.G., 2015. Abundance, size and polymer composition of marine microplastics $\geq 10\mu\text{m}$ in the Atlantic Ocean and their modelled vertical distribution. *Mar. Pollut. Bull.* 100, 70–81. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.09.027
- Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., Farley, H., Amato, S., 2013. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Mar. Pollut. Bull.* 77, 177–182. doi:10.1016/j.marpolbul.2013.10.007
- Esiukova, E., 2017. Plastic pollution on the Baltic beaches of Kaliningrad region, Russia. *Mar. Pollut. Bull.* 114, 1072–1080. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.10.001
- Fabbri, D., Helleur, R., 1999. Characterization of the tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of carbohydrates. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 49, 277–293. doi:10.1016/S0165-2370(98)00085-0
- Farrell, P., Nelson, K., 2013. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environ. Pollut.* 177, 1–3. doi:10.1016/j.envpol.2013.01.046
- Fendall, L.S., Sewell, M.A., 2009. Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1225–8. doi:10.1016/j.marpolbul.2009.04.025
- Fischer, D., Käßler, A., Eichhorn, K.-J., 2015. Identification of Microplastics in the Marine Environment by Raman Microspectroscopy and Imaging. *Am. Lab.* 47, 32–34.
- Fischer, M., Scholz-Böttcher, B.M., 2017. Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 51, 5052–5060. doi:10.1021/acs.est.6b06362
- Foekema, E.M., De Gruijter, C., Mergia, M.T., van Franeker, J.A., Murk, A.J., Koelmans, A.A., 2013. Plastic in north sea fish. *Environ. Sci. Technol.* 47, 8818–24. doi:10.1021/es400931b
- Free, C.M., Jensen, O.P., Mason, S.A., Eriksen, M., Williamson, N.J., Boldgiv, B., 2014. High-levels of

- microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. *Mar. Pollut. Bull.* 85, 156–163. doi:10.1016/j.marpolbul.2014.06.001
- Frias, J.P.G.L., Gago, J., Otero, V., Sobral, P., 2016. Microplastics in coastal sediments from Southern Portuguese shelf waters. *Mar. Environ. Res.* 114, 24–30. doi:10.1016/j.marenvres.2015.12.006
- Frias, J.P.G.L., Otero, V., Sobral, P., 2014. Evidence of microplastics in samples of zooplankton from Portuguese coastal waters. *Mar. Environ. Res.* 95, 89–95. doi:10.1016/j.marenvres.2014.01.001
- Fries, E., Dekiff, J.H., Willmeyer, J., Nuelle, M.-T., Ebert, M., Remy, D., 2013. Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ. Sci. Process. Impacts* 15, 1949–1956. doi:10.1039/c3em00214d
- Galgani, F., Fleet, D., Van Franeker, J., Katsanevakis, S., Maes, T., Mouat, L., Oosterbaan, L., Poitou, I., Hanke, G., Thompson, R., Amato, E., Birkun, A., Janssen, C., 2010. Marine Strategy Framework Directive: Task Group 10 Report Marine Litter. doi:10.2788/86941
- Galgani, F., Hanke, G., Werner, S., Oosterbaan, L., Nilsson, P., Fleet, D., Kinsey, S., Thompson, R.C., van Franeker, J., Vlachogianni, T., Scoullou, M., Veiga, J.M., Palatinus, A., Matiddi, M., Maes, T., Korpinen, S., Budziak, A., Heather, L., Gago, J., Liebezeit, G., 2013. Guidance on Monitoring of Marine Litter in European Seas. JRC Scientific and policy reports 1-128. doi:10.2788/99475
- Gall, M.J., Hendra, P.J., Peacock, C.J., Cudby, M.E.A., Willis, H.A., 1972. The laser-Raman spectrum of polyethylene. The assignment of the spectrum to fundamental modes of vibration. *Spectrochim. Acta* 28, 1485–1496. doi:10.1016/0584-8539(72)80118-1
- Gasperi, J., Dris, R., Bonin, T., Rocher, V., Tassin, B., 2014. Assessment of floating plastic debris in surface water along the Seine River. *Environ. Pollut.* 195, 163–166. doi:10.1016/j.envpol.2014.09.001
- Gewert, B., Ogonowski, M., Barth, A., MacLeod, M., 2017. Abundance and composition of near surface microplastics and plastic debris in the Stockholm Archipelago, Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 120, 292–302. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.04.062
- Ghosal, S., Chen, M., Wagner, J., Wang, Z.-M., Wall, S., 2018. Molecular identification of polymers and anthropogenic particles extracted from oceanic water and fish stomach – A Raman micro-spectroscopy study. *Environ. Pollut.* 233, 1113–1124. doi:10.1016/j.envpol.2017.10.014
- González, N., Fernández-Berridi, M.J., 2006. Application of Fourier Transform Infrared Spectroscopy in the Study of Interactions between PVC and Plasticizers: PVC/Plasticizer Compatibility versus Chemical Structure of Plasticizer. *J. Appl. Polym. Sci.* 101, 1731–1737. doi:10.1002/app.23381
- Gorokhova, E., 2015. Screening for microplastic particles in plankton samples: How to integrate marine litter assessment into existing monitoring programs? *Mar. Pollut. Bull.* 99, 271–275. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.07.056
- Graca, B., Szewc, K., Zakrzewska, D., Dołęga, A., Szczerbowska-Boruchowska, M., 2017. Sources and fate of microplastics in marine and beach sediments of the Southern Baltic Sea—a preliminary study. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 7650–7661. doi:10.1007/s11356-017-8419-5
- Gregory, M.R., 2009. Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 364, 2013–2025. doi:10.1098/rstb.2008.0265
- Gregory, M.R., 1996. Plastic ‘Scrubbers’ in Hand Cleansers: a Further (and Minor) Source for Marine Pollution Identified. *Mar. Pollut. Bull.* 32, 867–871. doi:10.1016/S0025-326X(96)00047-1
- Gutow, L., Eckerlebe, A., Gimenez, L., Saborowski, R., 2016. Experimental Evaluation of Seaweeds as Vector for Microplastics into Marine Food Webs. *Environ. Sci. Technol.* 50, 915–923. doi:10.1021/acs.est.5b02431
- Harrison, J.P., Ojeda, J.J., Romero-González, M.E., 2012. The applicability of reflectance micro-Fourier-transform infrared spectroscopy for the detection of synthetic microplastics in marine sediments. *Sci. Total Environ.* 416, 455–63. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.11.078
- Harrison, J.P., Schratzberger, M., Sapp, M., Osborn, A.M., 2014. Rapid bacterial colonization of low-density polyethylene microplastics in coastal sediment microcosms. *BMC Microbiol.* 14, 1–15. doi:10.1186/s12866-014-0232-4
- HELCOM, 2010. Hazardous substances in the Baltic Sea - An integrated thematic assessment of

- hazardous substances in the Baltic Sea, Baltic Sea Environment Proceedings No. 120B.
- HELCOM, 2008. Recommendation 29/2 Marine Litter within the Baltic Region.
- Herzke, D., Anker-Nilssen, T., Nøst, T.H., Götsch, A., Christensen-Dalsgaard, S., Langset, M., Fangel, K., Koelmans, A.A., 2016. Negligible Impact of Ingested Microplastics on Tissue Concentrations of Persistent Organic Pollutants in Northern Fulmars off Coastal Norway. *Environ. Sci. Technol.* 50, 1924–1933. doi:10.1021/acs.est.5b04663
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M., 2012. Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3060–3075. doi:10.1021/es2031505
- Hiersig, H.M., 1995. *Lexikon Produktionstechnik Verfahrenstechnik*, Volume 2. ed. Springer Verlag.
- Hintersteiner, I., Himmelsbach, M., Buchberger, W.W., 2015. Characterization and quantitation of polyolefin microplastics in personal-care products using high-temperature gel-permeation chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 1253–1259. doi:10.1007/s00216-014-8318-2
- Hoorweg, D., Bhada-Tata, P., 2012. What a waste: A Global Review of Solid Waste Management. *Urban Dev. Ser. Knowl. Pap. World Bank* 15, 1–116. doi:10.1111/febs.13058
- Hüffer, T., Praetorius, A., Wagner, S., von der Kammer, F., Hofmann, T., 2017. Microplastic Exposure Assessment in Aquatic Environments: Learning from Similarities and Differences to Engineered Nanoparticles. *Environ. Sci. Technol.* 51, 2499–2507. doi:10.1021/acs.est.6b04054
- Hummel, D.O., Scholl, F., 1988. *Atlas der Polymer- und Kunststoffanalyse*, Band 2 Kunststoff, Fasern, Kautschuk, Harze, Ausgangs- und Hilfsstoffe, Abbauprodukte - Teil b/I, 2. ed. VCH, Weinheim.
- Hummel, D.O., Scholl, F., 1981. *Atlas of Polymer and Plastics Analysis*, Volume 3 Additives and Processing Aids. Verlag Chemie, Weinheim.
- Ibrahim, M., El-Nahass, M.M., Kamel, M.A., El-Barbary, A.A., Wagner, B.D., El-Mansy, M.A.M., 2013. On the spectroscopic analyses of thioindigo dye. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 113, 332–336. doi:10.1016/j.saa.2013.05.014
- Imhof, H.K., Ivleva, N.P., Schmid, J., Niessner, R., Laforsch, C., 2013. Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. *Curr. Biol.* 23, R867-868. doi:10.1016/j.cub.2013.09.001
- Imhof, H.K., Laforsch, C., Wiesheu, A.C., Schmid, J., Anger, P.M., Niessner, R., Ivleva, N.P., 2016. Pigments and plastic in limnetic ecosystems: A qualitative and quantitative study on microparticles of different size classes. *Water Res.* 98, 64–74. doi:10.1016/j.watres.2016.03.015
- Imhof, H.K., Schmid, J., Niessner, R., Ivleva, N.P., Laforsch, C., 2012. A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments. *Limnol. Oceanogr. Methods* 10, 524–537. doi:10.4319/lom.2012.10.524
- Imhof, H.K., Sigl, R., Brauer, E., Feyl, S., Giesemann, P., Klink, S., Leupolz, K., Löder, M.G.J., Löschel, L.A., Missun, J., Muszynski, S., Ramsperger, A.F.R.M., Schrank, I., Speck, S., Steibl, S., Trotter, B., Winter, I., Laforsch, C., 2017. Spatial and temporal variation of macro-, meso- and microplastic abundance on a remote coral island of the Maldives, Indian Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* 116, 340–347. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.01.010
- Isobe, A., Uchida, K., Tokai, T., Iwasaki, S., 2015. East Asian seas: A hot spot of pelagic microplastics. *Mar. Pollut. Bull.* 101, 618–623. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.10.042
- Ivar do Sul, J.A., Costa, M.F., 2014. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environ. Pollut.* 185, 352–364. doi:10.1016/j.envpol.2013.10.036
- Ivleva, N.P., Wiesheu, A.C., Niessner, R., 2017. Microplastic in Aquatic Ecosystems. *Angew. Chemie Int. Ed.* 56, 1720–1739. doi:10.1002/anie.201606957
- Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Law, K.L., 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347, 768–771. doi:10.1126/science.1260352
- Kaposi, K.L., Mos, B., Kelaher, B.P., Dworjanyan, S.A., 2014. Ingestion of microplastic has limited impact on a marine larva. *Environ. Sci. Technol.* 48, 1638–1645. doi:10.1021/es404295e
- Käppler, A., Fischer, D., Oberbeckmann, S., Schernewski, G., Labrenz, M., Eichhorn, K.J., Voit, B., 2016. Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or

- both? *Anal. Bioanal. Chem.* 408, 8377–8391. doi:10.1007/s00216-016-9956-3
- Käppler, A., Fischer, M., Scholz-Böttcher, B.M., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Fischer, D., Eichhorn, K., Voit, B., 2018. Comparison of μ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments. *Anal. Bioanal. Chem.* 410, 5313–5327. doi:10.1007/s00216-018-1185-5
- Käppler, A., Windrich, F., Löder, M.G.J., Malanin, M., Fischer, D., Labrenz, M., Eichhorn, K.-J., Voit, B., 2015. Identification of microplastics by FTIR and Raman microscopy: a novel silicon filter substrate opens the important spectral range below 1300 cm^{-1} for FTIR transmission measurements. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 6791–6801. doi:10.1007/s00216-015-8850-8
- Karami, A., Golieskardi, A., Keong Choo, C., Larat, V., Galloway, T.S., Salamatinia, B., 2017. The presence of microplastics in commercial salts from different countries. *Sci. Rep.* 7, 46173. doi:10.1038/srep46173
- Kettner, M.T., Rojas-Jimenez, K., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Grossart, H.-P., 2017. Microplastics alter composition of fungal communities in aquatic ecosystems. *Environ. Microbiol.* 19, 4447–4459. doi:10.1111/1462-2920.13891
- Kirstein, I. V., Kirmizi, S., Wichels, A., Garin-Fernandez, A., Erler, R., Löder, M.G.J., Gerdt, G., 2016. Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. *Mar. Environ. Res.* 120, 1–8. doi:10.1016/j.marenvres.2016.07.004
- Klein, S., Worch, E., Knepper, T.P., 2015. Occurrence and Spatial Distribution of Microplastics in River Shore Sediments of the Rhine-Main Area in Germany. *Environ. Sci. Technol.* 49, 6070–6076. doi:10.1021/acs.est.5b00492
- Koelmans, A.A., Besseling, E., Wegner, A., Foekema, E.M., 2013. Plastic as a carrier of POPs to aquatic organisms: a model analysis. *Environ. Sci. Technol.* 47, 7812–20. doi:10.1021/es401169n
- Koopmans, R.J., van der Linden, R., Vansant, E.F., 1982. Quantitative Determination of the Vinylacetate Content in Ethylene Vinyl-Acetate Copolymers - A critical Review. *Polym. Eng. Sci.* 22, 878–882.
- Kowalski, N., Reichardt, A.M., Waniek, J.J., 2016. Sinking rates of microplastics and potential implications of their alteration by physical, biological, and chemical factors. *Mar. Pollut. Bull.* 109, 310–319. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.05.064
- Lachenmeier, D.W., Kocareva, J., Noack, D., Kuballa, T., 2015. Microplastic identification in German beer – an artefact of laboratory contamination? *Dtsch. Leb.* 111, 437–440.
- Lattin, G.L., Moore, C.J., Zellers, A.F., Moore, S.L., Weisberg, S.B., 2004. A comparison of neustonic plastic and zooplankton at different depths near the southern California shore. *Mar. Pollut. Bull.* 49, 291–294. doi:10.1016/j.marpolbul.2004.01.020
- Law, K.L., Morét-Ferguson, S., Maximenko, N.A., Proskurowski, G., Peacock, E.E., Hafner, J., Reddy, C.M., 2010. Plastic Accumulation in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Science* 329, 1185–1188. doi:10.1126/science.1192321
- Lebreton, L.C.M., van der Zwet, J., Damsteeg, J.-W., Slat, B., Andrady, A., Reisser, J., 2017. River plastic emissions to the world's oceans. *Nat. Commun.* 8, 1–10. doi:10.1038/ncomms15611
- Lechner, A., Keckeis, H., Lumesberger-Loisl, F., Zens, B., Krusch, R., Tritthart, M., Glas, M., Schludermann, E., 2014. The Danube so colourful: A potpourri of plastic litter outnumbers fish larvae in Europe's second largest river. *Environ. Pollut.* 188, 177–181. doi:10.1016/j.envpol.2014.02.006
- Lenz, R., Enders, K., Stedmon, C.A., Mackenzie, D.M.A., Nielsen, T.G., 2015. A critical assessment of visual identification of marine microplastic using Raman spectroscopy for analysis improvement. *Mar. Pollut. Bull.* 100, 82–91. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.09.026
- Liebezeit, G., Liebezeit, E., 2015. Origin of Synthetic Particles in Honeys. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 65, 143–147. doi:10.1515/pjfn-2015-0025
- Liebezeit, G., Liebezeit, E., 2014. Synthetic particles as contaminants in German beers. *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* 31, 1574–1578. doi:10.1080/19440049.2014.945099
- Lithner, D., Larsson, A., Dave, G., 2011. Environmental and health hazard ranking and assessment of

- plastic polymers based on chemical composition. *Sci. Total Environ.* 409, 3309–24. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.04.038
- Lobelle, D., Cunliffe, M., 2011. Early microbial biofilm formation on marine plastic debris. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 197–200. doi:10.1016/j.marpolbul.2010.10.013
- Löder, M.G.J., Gerdts, G., 2015. Methodology Used for the Detection and Identification of Microplastics - A Critical Appraisal, in: Bergmann, M. (Ed.), *Marine Anthropogenic Litter*. pp. 201–227. doi:10.1007/978-3-319-16510-3
- Löder, M.G.J., Imhof, H.K., Ladehoff, M., Löschel, L.A., Lorenz, C., Mintenig, S., Piehl, S., Primpke, S., Schrank, I., Laforsch, C., Gerdts, G., 2017. Enzymatic purification of microplastics in environmental samples. *Environ. Sci. Technol.* 51, 14283–14292. doi:10.1021/acs.est.7b03055
- Löder, M.G.J., Kuczera, M., Mintenig, S., Lorenz, C., Gerdts, G., 2015. Focal plane array detector-based micro-Fourier-transform infrared imaging for the analysis of microplastics in environmental samples. *Environ. Chem.* 12, 563–581. doi:10.1071/EN14205
- Lorenz, C., 2014. Detection of microplastics in marine sediments of the German Coast via FT-IR spectroscopy - Master Thesis, Universität Rostock.
- Lusher, A.L., Hernandez-Milian, G., O'Brien, J., Berrow, S., O'Connor, I., Officer, R., 2015. Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: The True's beaked whale *Mesoplodon mirus*. *Environ. Pollut.* 199, 185–191. doi:10.1016/j.envpol.2015.01.023
- Lusher, A.L., McHugh, M., Thompson, R.C., 2013. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Mar. Pollut. Bull.* 67, 94–99. doi:10.1016/j.marpolbul.2012.11.028
- Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., Mayes, A.G., 2017. A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Sci. Rep.* 7. doi:10.1038/srep44501
- Majewsky, M., Bitter, H., Eiche, E., Horn, H., 2016. Determination of microplastic polyethylene (PE) and polypropylene (PP) in environmental samples using thermal analysis (TGA-DSC). *Sci. Total Environ.* 568, 507–511. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.06.017
- Mani, T., Hauk, A., Walter, U., Burkhardt-Holm, P., 2015. Microplastics profile along the Rhine River. *Sci. Rep.* 5. doi:10.1038/srep17988
- Mark, J.E., 1991. *Polymer data handbook*. Oxford University press, Oxford.
- Masó, M., Garcés, E., Pagès, F., Camp, J., 2003. Drifting plastic debris as a potential vector for dispersing Harmful Algal Bloom (HAB) species. *Sci. Mar.* 67, 107–111.
- Matsuguma, Y., Takada, H., Kumata, H., Kanke, H., Sakurai, S., Suzuki, T., Itoh, M., Okazaki, Y., Boonyatumanond, R., Zakaria, M.P., Weerts, S., Newman, B., 2017. Microplastics in Sediment Cores from Asia and Africa as Indicators of Temporal Trends in Plastic Pollution. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 73, 230–239. doi:10.1007/s00244-017-0414-9
- Medernach, J.W., 2006. Infrared Characterization of Device-quality Silicon, in: Griffiths, P.R., Chalmers, J.M. (Eds.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. John Wiley & Sons Ltd, pp. 2621–2636. doi:10.1002/0470027320.s6302
- Menzheres, G.Y., Moysa, E.G., Miks, R., 1984. IR spectra and structure of polybutylene terephthalate. *Theor. Exp. Chem.* 20, 222–226. doi:10.1007/BF00592816
- Mintenig, S.M., Int-Veen, I., Löder, M.G.J., Primpke, S., Gerdts, G., 2017. Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging. *Water Res.* 108, 365–372. doi:10.1016/j.watres.2016.11.015
- Moreira, F.T., Prantoni, A.L., Martini, B., de Abreu, M.A., Stoiev, S.B., Turra, A., 2016. Small-scale temporal and spatial variability in the abundance of plastic pellets on sandy beaches: Methodological considerations for estimating the input of microplastics. *Mar. Pollut. Bull.* 102, 114–121. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.11.051
- Morét-Ferguson, S., Law, K.L., Proskurowski, G., Murphy, E.K., Peacock, E.E., Reddy, C.M., 2010. The size, mass, and composition of plastic debris in the western North Atlantic Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* 60, 1873–1878. doi:10.1016/j.marpolbul.2010.07.020
- Murphy, F., Ewins, C., Carbonnier, F., Quinn, B., 2016. Wastewater Treatment Works (WwTW) as a

- Source of Microplastics in the Aquatic Environment. *Environ. Sci. Technol.* 50, 5800–5808. doi:10.1021/acs.est.5b05416
- Narita, S., Ichinohe, S., Enomoto, S., 1959. Infrared Spectrum of Polyvinyl Chloride. *J. Polym. Sci.* 37, 273–280.
- Neves, D., Sobral, P., Ferreira, J.L., Pereira, T., 2015. Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Mar. Pollut. Bull.* 101, 119–126. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.11.008
- Noren, F., 2007. Small plastic particles in Coastal Swedish waters 1–11.
- Nuelle, M.-T., Dekiff, J.H., Remy, D., Fries, E., 2014. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environ. Pollut.* 184, 161–169. doi:10.1016/j.envpol.2013.07.027
- Nyquist, R.A., Putzig, C.L., Leugers, M.A., 1997. Handbook of Infrared and Raman spectra of Inorganic Compounds and Organic Salts - Volume 3 Infrared Spectra. ACADEMIC PRESS, London.
- Obbard, R.W., Sadri, S., Wong, Y.Q., Khitun, A.A., Baker, I., Thompson, R.C., 2014. Global warming releases microplastic legacy frozen in Arctic Sea ice. *Earth's Futur.* 2, 315–320. doi:10.1002/2014EF000240.Abstract
- Oberbeckmann, S., Löder, M.G.J., Labrenz, M., 2015. Marine microplastic-associated biofilms - A review. *Environ. Chem.* 12, 551–562. doi:10.1071/EN15069
- Oberbeckmann, S., Loeder, M.G.J., Gerdts, G., Mark Osborn, A., 2014. Spatial and seasonal variation in diversity and structure of microbial biofilms on marine plastics in Northern European waters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 90, 478–92. doi:10.1111/1574-6941.12409
- Olabisi, O., 1997. Handbook of thermoplastics. Marcel Dekker, New York.
- OSPAR Commission, 2010. Guideline for Monitoring Marine Litter on the Beaches in the OSPAR Maritime Area 1–84.
- PlasticsEurope, 2016. Plastic - the Facts 2016 - An analysis of European plastics production, demand and waste data.
- Ploeger, R., Scalarone, D., Chiantore, O., 2008. The characterization of commercial artists' alkyd paints. *J. Cult. Herit.* 9, 412–419. doi:10.1016/j.culher.2008.01.007
- Primpke, S., Lorenz, C., Rascher-Friesenhausen, R., Gerdts, G., 2017. An automated approach for microplastics analysis using focal plane array (FPA) FTIR microscopy and image analysis. *Anal. Methods* 9, 1499–1511. doi:10.1039/c6ay02476a
- Remy, F., Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G., Lepoint, G., 2015. When Microplastic Is Not Plastic: The Ingestion of Artificial Cellulose Fibers by Macrofauna Living in Seagrass Macrophytodetritus. *Environ. Sci. Technol.* 49, 11158–11166. doi:10.1021/acs.est.5b02005
- Rimez, B., Rahier, H., Van Assche, G., Artoos, T., Biesemans, M., Van Mele, B., 2008. The thermal degradation of poly(vinyl acetate) and poly(ethylene-co-vinyl acetate), Part I: Experimental study of the degradation mechanism. *Polym. Degrad. Stab.* 93, 800–810. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2008.01.010
- Rocha-Santos, T., Duarte, A.C., 2015. A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *Trends Anal. Chem.* 65, 47–53. doi:10.1016/j.trac.2014.10.011
- Rochman, C.M., Hoh, E., Kurobe, T., Teh, S.J., 2013. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Sci. Rep.* 3. doi:10.1038/srep03263
- Rummel, C.D., Löder, M.G.J., Fricke, N.F., Lang, T., Griebeler, E.M., Janke, M., Gerdts, G., 2016. Plastic ingestion by pelagic and demersal fish from the North Sea and Baltic Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 102, 134–141. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.11.043
- Ryan, P.G., Moore, C.J., van Franeker, J.A., Moloney, C.L., 2009. Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 364, 1999–2012. doi:10.1098/rstb.2008.0207
- Schmidt, P.G., 1963. Polyethylene terephthalate structural studies. *J. Polym. Sci.* 1, 1271–1292. doi:10.1002/pol.1963.100010417
- Schulte, F., Brzezinka, K.-W., Lutzenberger, K., Stege, H., Panne, U., 2008. Raman spectroscopy of synthetic organic pigments used in 20th century works of art. *J. Raman Spectrosc.* 39, 1455–

1463. doi:10.1002/jrs
- Schwarzinger, C., Tanczos, I., Schmidt, H., 2002. Levoglucosan, cellobiose and their acetates as model compounds for the thermally assisted hydrolysis and methylation of cellulose and cellulose acetate. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 62, 179–196. doi:10.1016/S0165-2370(01)00114-0
- Schymanski, D., Goldbeck, C., Humpf, H.U., Fürst, P., 2018. Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water. *Water Res.* 129, 154–162. doi:10.1016/j.watres.2017.11.011
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V., Lehtiniemi, M., 2014. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environ. Pollut.* 185, 77–83. doi:10.1016/j.envpol.2013.10.013
- Setälä, O., Magnusson, K., Lehtiniemi, M., Norén, F., 2016. Distribution and abundance of surface water microlitter in the Baltic Sea: A comparison of two sampling methods. *Mar. Pollut. Bull.* 110, 177–183. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.06.065
- Shadkani, F., Helleur, R., 2010. Recent applications in analytical thermochemolysis. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 89, 2–16. doi:10.1016/j.jaap.2010.05.007
- Shim, W.J., Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, M., 2016. Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining. *Mar. Pollut. Bull.* 113, 469–476. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.10.049
- Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, M., Han, G.M., Rani, M., Lee, J., Shim, W.J., 2015. A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Mar. Pollut. Bull.* 93, 202–209. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.01.015
- Song, Y.K., Hong, S.H., Jang, M., Kang, J.-H., Kwon, O.Y., Han, G.M., Shim, W.J., 2014. Large Accumulation of Micro-sized Synthetic Polymer Particles in the Sea Surface Microlayer. *Environ. Sci. Technol.* 48, 9014–9021. doi:10.1021/es501757s
- Stollberg, N., 2016. Identification of microplastics > 500 µm in Warnow sediments - Bachelor Thesis, Universität Rostock.
- Stolte, A., Forster, S., Gerds, G., Schubert, H., 2015. Microplastic concentrations in beach sediments along the German Baltic coast. *Mar. Pollut. Bull.* 99, 216–229. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.07.022
- Stromberg, R.R., Straus, S., Achhammer, B.G., 1958. Infrared Spectra of Thermally Degraded Poly(Vinyl Chloride). *J. Res. Natl. Bur. Stand. (1934)*. 60, 147–152. doi:10.6028/jres.060.018
- Tabb, D.L., Koenig, J.L., 1975. Fourier Transform Infrared Study of Plasticized and Unplasticized Poly(vinyl chloride). *Macromolecules* 8, 929–934. doi:10.1021/ma60048a043
- Tagg, A.S., Harrison, J.P., Ju-Nam, Y., Sapp, M., Bradley, E.L., Sinclair, C.J., Ojeda, J.J., 2017. Fenton's reagent for the rapid and efficient isolation of microplastics from wastewater. *Chem. Commun.* 53, 372–375. doi:10.1039/C6CC08798A
- Tagg, A.S., Sapp, M., Harrison, J.P., Ojeda, J.J., 2015. Identification and Quantification of Microplastics in Wastewater Using Focal Plane Array-Based Reflectance Micro-FT-IR Imaging. *Anal. Chem.* 87, 6032–6040. doi:10.1021/acs.analchem.5b00495
- Talvitie, J., Heinonen, M., Pääkkönen, J.P., Vahtera, E., Mikola, A., Setälä, O., Vahala, R., 2015. Do wastewater treatment plants act as a potential point source of microplastics? Preliminary study in the coastal Gulf of Finland, Baltic Sea. *Water Sci. Technol.* 72, 1495–1504. doi:10.2166/wst.2015.360
- Ter Halle, A., Jeanneau, L., Martignac, M., Jardé, E., Pedrono, B., Brach, L., Gigault, J., 2017. Nanoplastic in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Environ. Sci. Technol.* 51, 13689–13697. doi:10.1021/acs.est.7b03667
- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., McGonigle, D., Russell, A.E., 2004. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* 304, 838. doi:10.1126/science.1094559
- Tsuge, S., Ohtani, H., Watanabe, C., 2011. *Pyrolysis-GC/MS Data Book of Synthetic Polymers*, first edit. ed. Elsevier B.V., Oxford, UK.
- Ugolini, A., Ungherese, G., Ciofini, M., Lapucci, A., Camaiti, M., 2013. Microplastic debris in sandhoppers. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 129, 19–22. doi:10.1016/j.ecss.2013.05.026
- Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., 2014. Microplastics in bivalves cultured for human

- consumption. *Environ. Pollut.* 193, 65–70. doi:10.1016/j.envpol.2014.06.010
- Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., Janssen, C.R., 2013. Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environ. Pollut.* 182, 495–499. doi:10.1016/j.envpol.2013.08.013
- Vandermeersch, G., Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., Marques, A., Granby, K., Fait, G., Kotterman, M.J.J., Diogène, J., Bekaert, K., Robbens, J., Devriese, L., 2015. A critical view on microplastic quantification in aquatic organisms. *Environ. Res.* 143, 46–55. doi:10.1016/j.envres.2015.07.016
- Vianello, A., Boldrin, A., Guerriero, P., Moschino, V., Rella, R., Sturaro, A., Da Ros, L., 2013. Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: First observations on occurrence, spatial patterns and identification. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 130, 54–61. doi:10.1016/j.ecss.2013.03.022
- Wagner, J., Wang, Z.-M., Ghosal, S., Rochman, C., Gassel, M., Wall, S., 2017. Novel method for the extraction and identification of microplastics in ocean trawl and fish gut matrices. *Anal. Methods* 9, 1479–1490. doi:10.1039/C6AY02396G
- Wagner, M., Scherer, C., Alvarez-Muñoz, D., Brennholt, N., Bourrain, X., Buchinger, S., Fries, E., Grosbois, C., Klasmeier, J., Marti, T., Rodriguez-Mozaz, S., Urbatzka, R., Vethaak, A.D., Winther-Nielsen, M., Reifferscheid, G., 2014. Microplastics in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. *Environ. Sci. Eur.* 26. doi:10.1186/s12302-014-0012-7
- Wang, Z.-M., Wagner, J., Ghosal, S., Bedi, G., Wall, S., 2017. SEM/EDS and optical microscopy analyses of microplastics in ocean trawl and fish guts. *Sci. Total Environ.* 603–604, 616–626.
- Wiesheu, A.C., Anger, P.M., Baumann, T., Niessner, R., Ivleva, N.P., 2016. Raman microspectroscopic analysis of fibers in beverages. *Anal. Methods* 8, 5722–5725. doi:10.1039/C6AY01184E
- WITec, 2014. True Surface Microscopy - Confocal Microscopy Along with Large Area Optical Profiling - Application Note.
- Woodall, L.C., Gwinnett, C., Packer, M., Thompson, R.C., Robinson, L.F., Paterson, G.L.J., 2015. Using a forensic science approach to minimize environmental contamination and to identify microfibrils in marine sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 95, 40–46. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.04.044
- Woodall, L.C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G.L.J., Coppock, R., Sleight, V., Calafat, A., Rogers, A.D., Narayanaswamy, B.E., Thompson, R.C., 2014. The deep sea is a major sink for microplastic debris. *R. Soc. Open Sci.* 1. doi:10.1098/rsos.140317
- Wright, S.L., Thompson, R.C., Galloway, T.S., 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environ. Pollut.* 178, 483–92. doi:10.1016/j.envpol.2013.02.031
- Yang, D., Shi, H., Li, L., Li, J., Jabeen, K., Kolandhasamy, P., 2015. Microplastic Pollution in Table Salts from China. *Environ. Sci. Technol.* 49, 13622–13627. doi:10.1021/acs.est.5b03163
- Zbyszewski, M., Corcoran, P.L., 2011. Distribution and Degradation of Fresh Water Plastic Particles Along the Beaches of Lake Huron, Canada. *Water, Air, Soil Pollut.* 220, 365–372. doi:10.1007/s11270-011-0760-6
- Zettler, E.R., Mincer, T.J., Amaral-Zettler, L.A., 2013. Life in the “Plastisphere”: Microbial Communities on Plastic Marine Debris. *Environ. Sci. Technol.* 47, 7137–46. doi:10.1021/es401288x
- Zhao, S., Danley, M., Ward, J.E., Li, D., Mincer, T.J., 2017. An approach for extraction, characterization and quantitation of microplastic in natural marine snow using Raman microscopy. *Anal. Methods* 9, 1470–1478. doi:10.1039/C6AY02302A
- Zobkov, M., Esiukova, E., 2017. Microplastics in Baltic bottom sediments: Quantification procedures and first results. *Mar. Pollut. Bull.* 114, 724–732. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.10.060

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3.1:	Schematische Darstellung einer filtrierten Sinkstofffallen-Probe.....	43
Abbildung 4.1:	Schematische Darstellung des fotolithografischen Herstellungsprozesses der Si-Filter.....	45
Abbildung 4.2:	Schematische Darstellung des Filterdesigns	46
Abbildung 4.3:	Schematische Darstellung der Filtrationseinheit	47
Abbildung 4.4:	Filteradapter und komplette Filtrationsvorrichtung	48
Abbildung 4.5:	SEM-Bilder von Si-Filter <i>Design 1</i> (Schichtdicke 250 μm) (links) und <i>Design 2</i> (Schichtdicke 115 μm) (rechts).....	50
Abbildung 4.6:	SEM-Bilder von einem kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter (Oberseite).....	51
Abbildung 4.7:	SEM-Bilder von einer kommerziell erhältlichen Si-Membran	52
Abbildung 4.8:	Transmission IR-Spektren von Si-Filtern (<i>Design 1</i>) unterschiedlicher Schichtdicke.....	53
Abbildung 4.9:	Transmission IR-Spektren von einem Si-Filter (<i>Design 1</i> , 250 μm) (blau) im Vergleich zu einem kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter (rot).....	54
Abbildung 4.10:	Transmission IR-Spektren von Mikroplastik-Modell-Proben aus PE (a) und PP (b) positioniert auf den Si-Filter (blau) bzw. auf den Anodisc-Filter (rot)	55
Abbildung 4.11:	Transmission IR-Spektren von Mikroplastik-Modell-Proben aus PET (grün) und PBT (blau) positioniert auf den Anodisc-Filter (a) bzw. auf den Si-Filter	57
Abbildung 4.12:	Optisches Bild (a) und IR Images (b+c) einer Mikroplastik-Modell-Probe auf einem Si-Filter.....	58
Abbildung 4.13:	Transmission IR-Spektren von PBT (blau - a), PET (grün - b) und dem unterliegenden Si-Filter (schwarz - c) resultierend aus der IR Imaging Messung	59
Abbildung 4.14:	Transmission IR-Spektren von Si-Filter <i>Design 2</i>	60
Abbildung 4.15:	Transmission IR-Spektrum einer kommerziell erhältlichen Si-Membran.....	62
Abbildung 4.16:	Raman-Spektren eines Si-Filters (<i>Design 1</i> , 250 μm - blau) und eines Anodisc-Filters (rot).....	63
Abbildung 4.17:	Raman-Spektren von Mikroplastik-Modell-Proben (1 mm x 2 mm, Dicke: 15 μm) aus PE, PP, PET und PBT platziert auf einen Si-Filter (<i>Design 1</i> , 250 μm)	64
Abbildung 4.18:	Optische Bilder der vier mittels ATR FTIR- und Raman-Mikroskopie untersuchten Partikel und Fasern	67
Abbildung 4.19:	Raman-Spektren (links) und ATR IR-Spektren (rechts) der untersuchten Partikeln und Fasern	70

Abbildung 4.20:	Optische Bilder der vier mittels ATR FTIR-Mikroskopie und py-GCMS untersuchten Partikel und Fasern	76
Abbildung 4.21:	ATR IR-Spektren (links) und Pyrogramme (rechts) der untersuchten Partikel und Fasern	79
Abbildung 4.22:	Raman (links) und IR (rechts) Imaging einer Modellprobe bestehend aus PMMA-Kugeln, PS-Fragmenten, PE-Folienstücken und einem PP-Faserbruchstück auf einem Si-Filter	87
Abbildung 4.23:	Raman- (links) bzw. Transmission IR-Spektren (rechts) der verschiedenen Polymerpartikel der Modellprobe	89
Abbildung 4.24:	Raman-Spektren einer PE-Kugel (10 – 27 μm) aus Imaging-Daten in Abhängigkeit von der Laserleistung (532 nm).....	93
Abbildung 4.25:	Raman-Spektren einer PE-Kugel (10- 27 μm) aus Imaging Daten in Abhängigkeit von der Integrationszeit	94
Abbildung 4.26:	A: optisches Bild von Modellprobe 2 (PE-Kugeln, \varnothing 10 – 27 μm , auf Si-Wafer) B: Raman Images für den Wellenzahlenbereich 2840 – 2900 cm^{-1} von Modellprobe 2 in Abhängigkeit vom Messpunktstand	95
Abbildung 4.27:	Raman Imaging von Modellprobe 3	97
Abbildung 4.28:	Transmission IR Imaging von PE-Kugeln (1 – 10 μm auf Si-Filter <i>Design 1</i> , 250 μm)	98
Abbildung 4.29:	Raman Images (2780 – 2980 cm^{-1}) von Modellprobe 1 mit (a) und ohne (b) True Surface.....	99
Abbildung 4.30:	Topografische Bilder von Modellprobe 3 (PMMA-Kugeln 27 – 32 μm auf einem Si-Wafer).....	100
Abbildung 4.31:	Vergleich von Raman und IR Imaging einer marinen Sinkstofffallen-Probe	103
Abbildung 4.32:	Raman-Referenzspektren der häufigsten synthetischen Polymere.....	105
Abbildung 4.33:	IR-Referenzspektren (Transmission) der häufigsten synthetischen Polymere	106
Abbildung 4.34:	Optisches Bild der Messfläche (1000 μm x 1000 μm) aufgenommen mit dem Raman-Mikroskop (links) bzw. mit dem IR-Mikroskop (rechts) mit Markierungen (farbige Kreise) von identifizierten Mikroplastik-Partikeln	108
Abbildung 4.35:	Gehalt an Mikroplastik > 500 μm in Sedimenten pro Station im Mündungsbereich der Warnow	118
Abbildung 4.36:	Polymerverteilung der identifizierten Mikroplastik-Teilchen in Warnow-Sedimenten.....	120
Abbildung 4.37:	Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Teilchen in Warnow-Sedimenten.....	122

Abbildung A. 1:	Transmission IR-Spektren von Si-Filter mit <i>Design 1</i> (blau) und <i>Design 2</i> (Schichtdicke 105 μm (pink), Schichtdicke 115 μm (violett)) im Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen Anodisc-Filter (rot)	133
Abbildung A. 2:	Raman-Spektren von Si-Filter mit <i>Design 1</i> (rot) und <i>Design 2</i> (blau) im Vergleich zur Si-Membran (grün)	133
Abbildung A. 3:	Raman- (links, blau) und ATR IR-Spektrum (rechts, blau) eines dunkelblauen Partikels (Mitte)	134
Abbildung A. 4:	Optisches Bild von Partikel 11 und Faser 23 mit anhaftenden Partikeln als mögliche Ursache für unterschiedliche Ergebnisse mittels ATR FTIR-Mikroskopie und py-GCMS	136
Abbildung A. 5:	Einfluss der Fokusebene auf Signalintensität und Signal-Rausch-Verhältnis von Raman-Spektren verschiedener Polymerpartikel	138
Abbildung A. 6:	Einfluss des verwendeten Objektivs (v.a. Numerisch Apertur) auf die Qualität des optischen Bildes und des Raman Images	139
Abbildung A. 7:	Prozentuale Polymerzusammensetzung der identifizierten Mikroplastik-Partikel in den untersuchten Sinkstofffallen-Proben	143
Abbildung A. 8:	Prozentuale Größenverteilung der identifizierten Mikroplastik-Partikel in den untersuchten Sinkstofffallen-Proben	144

Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1:	Verwendete Raman-Objektive	34
Tabelle 3.2:	Schmelzfolien für Transmission IR-Referenzspektren.....	36
Tabelle 4.1:	Vorteile, Nachteile und Besonderheiten von ATR FTIR- und Raman- Mikroskopie für die Untersuchung von isolierten Einzelpartikeln > 500 µm und Fasern	74
Tabelle 4.2:	Vorteile, Nachteile und Besonderheiten ATR FTIR-Mikroskopie im Vergleich zur py-GC/MS bei der Untersuchung von isolierten Einzelpartikeln > 500 µm und Fasern	84
Tabelle 4.3:	Kunststoffart, Geometrie, Größe bzw. Dicke und Ursprung der Polymerpartikel	86
Tabelle 4.4:	Einfluss verschiedener Messparameter von IR Imaging auf Image- und Spektrqualität einerseits und Messdauer und Datenmenge andererseits	91
Tabelle 4.5:	Einfluss verschiedener Messparameter von Raman Imaging-Messungen auf Image- und Spektrqualität einerseits und Messdauer andererseits	96
Tabelle 4.6:	Anzahl und Polymerart aller mittels Raman bzw. IR Imaging innerhalb der Messfläche identifizierten Mikroplastik-Partikel	107
Tabelle 4.7:	Größenverteilung aller mittels Raman Imaging bzw. IR Imaging innerhalb der Messfläche identifizierten Mikroplastik-Partikel	111
Tabelle 4.8:	Tabellarischer Vergleich von Raman und IR Imaging für die Mikroplastik- Analytik von Mikroplastik-Partikeln < 500 µm	113
Tabelle 4.9:	Mikroplastik-Gehalt der untersuchten Sinkstofffallenproben vom Arkona- und Gotland-Becken im Vergleich mit den dazugehörigen Blindproben nach Polymerart und insgesamt	115
Tabelle 4.10:	Beschreibung der beprobten Stationen im Warnow-Mündungsbereich.....	119
Tabelle A. 1:	Überblick über Mikroplastik-Studien in der Ostsee, chronologisch nach Erscheinungsdatum sortiert	131
Tabelle A. 2:	Messparameter der py-GC/MS Messungen am ICBM Oldenburg	134
Tabelle A. 3:	Zusammenfassung aller mittels ATR FTIR-Mikroskopie und py-GC/MS untersuchten Partikel und Fasern mit den jeweiligen Untersuchungsergebnissen	135
Tabelle A. 4:	Messparameter für Raman und Transmission IR Imaging von Modellprobe 1....	137
Tabelle A. 5:	Messparameter für Raman und Transmission IR Imaging von Sinkstofffallen- Probe GotAR 10-12.....	140

Tabelle A. 6:	Einfluss verschiedener Messparameter (Anzahl der akkumulierten Scans (acc), Integrationszeit (s), Messpunktabstand (μm), Verwendung von True Surface (TS) ja/nein) beim Raman Imaging einer realen Umweltprobe auf die Anzahl der identifizierbaren Mikroplastik-Partikel und auf die Messzeit 140
Tabelle A. 7:	Einfluss verschiedener Messparameter beim IR Imaging einer realen Umweltprobe auf die Messzeit und Datenmenge 141
Tabelle A. 8:	Details zur Probennahme von Strand-Sediment-Proben an der Ostseeküste in und nahe Warnemünde..... 142
Tabelle A. 9:	Details zur Probennahme von Sinkstofffallenproben 142
Tabelle A. 10:	Anzahl der Mikroplastik-Partikel pro Größenklasse der untersuchten Sinkstofffallen-Proben im Vergleich mit den dazugehörigen Blindproben 143
Tabelle A. 11:	Details zur Probennahme von Warnow-Sedimenten..... 145
Tabelle A. 12:	Mikroplastik-Gehalte pro Station bezogen auf die Ausgangsprobe sowie unter Berücksichtigung der jeweiligen Sediment-Trockenmassen 146
Tabelle A. 13:	Größenverteilung der identifizierten Mikroplastikteilchen pro Station bezogen auf die Ausgangsprobe 147
Tabelle A. 14:	Polymerverteilung der identifizierten Mikroplastikteilchen pro Station bezogen auf die Ausgangsprobe 148

Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich sehr herzlich bei Frau Prof. Brigitte Voit für die Möglichkeit meine Doktorarbeit am IPF durchführen zu dürfen und für die wissenschaftliche Betreuung bei der Anfertigung der Arbeit.

Des Weiteren möchte ich mich ganz besonders bei Herrn Dr. Klaus-Jochen Eichhorn für die wissenschaftliche Unterstützung, für fruchtbare Ratschläge und zielführende Hilfestellungen während der gesamten Promotionszeit bedanken.

Bei der Leibniz-Gemeinschaft bedanke ich mich für die Finanzierung des Projektes MikrOMIK, welches die Grundlage der vorliegenden Arbeit bildete. Bei meinen Projektpartnern bedanke ich mich für die sehr gute Zusammenarbeit und den konstruktiven Austausch beispielsweise bei gemeinsamen Publikationen. Den Partnern vom Leibniz-Institut für Ostseeforschung Warnemünde gilt ein besonderer Dank für die Probennahme und Aufbereitung der untersuchten Proben. Stellvertretend für viele andere seien PD Dr. Matthias Labrenz, Dr. Sonja Oberbeckmann, Prof. Gerald Schernewski, Oliver Biniash und Nicole Stollberg genannt. Außerdem geht ein herzlicher Dank an Prof. Christian Laforsch und Dr. Martin Löder von der Universität Bayreuth sowie an Dr. Gunnar Gerdts vom Alfred-Wegener-Institut für den hilfreichen Erfahrungsaustausch im Bereich der Mikroplastik-Analytik. Dr. Barbara Scholz-Böttcher und Marten Fischer von der Universität Oldenburg danke ich für die sehr gute Zusammenarbeit und die Durchführung und Auswertung von py-GC/MS-Messungen an gemeinsamen Proben.

Für die Produktion der Si-Filter danke ich Herrn Frank Windrich und dem beteiligten Team vom IZM.

Bei Herrn Dr. Petr Formánek und Herrn Michael Göbel möchte ich mich für die Durchführung der SEM-Messungen bedanken. Außerdem geht ein Dank an Herrn Dr. Brünig, Herrn Mathias Häschel und Herrn Bernd Kretschmar für die Bereitstellung verschiedener Polymermaterialien.

Des Weiteren bedanke ich mich ganz herzlich bei Herrn Dr. Dieter Fischer für die Einführung in die Welt der Raman-Spektroskopie sowie für die Unterstützung in vielerlei Hinsicht. Auch Herrn Dr. Mikhail Malanin sei für zahlreiche praktische Hilfestellungen während FTIR-Messungen gedankt. Außerdem bedanke ich mich bei meinen studentischen Hilfskräften, Thomas Junietz, Manuel Schwind und Oliver Voigt, für deren Tätigkeiten im Labor.

Der gesamten Abteilung Analytik und insbesondere denjenigen, die mit mir das Büro geteilt haben (Dr. Hartmut Komber, Kerstin Arnhold, Dr. Susanne Boye), danke ich für das angenehme Miteinander und die konstruktive Arbeitsatmosphäre. Bei den täglichen Mittagspausen mit der Mittagsgruppe in wechselnder Besetzung (u.a. Kristina Eichhorn, Andrea Raffaele Abbate, Shamila Firdaus, Martin Geisler, Josef Brandt, Laura Plüschke, Franziska Fischer, ...) konnte ich den Kopf freibekommen und meinen Horizont in vielerlei Hinsicht erweitern. Ein herzliches Dankeschön auch dafür!

Für die enge Zusammenarbeit und das angenehme Arbeitsklima danke ich sehr herzlich der gesamten Mikroplastik-Gruppe: Dr. Dieter Fischer, Dr. Klaus-Jochen Eichhorn, Dr. Josef Brandt, Dr. Lars Bittrich, Franziska Fischer, Julia Muche, Anne Rödiger und Pia Ulichberger. Ihr seid ein tolles Team! Ganz besonders möchte ich mich darüber hinaus bei Julia Muche bedanken, mit der ich sehr viel Zeit im (dunklen und kalten) Raman-Labor verbracht habe und die mich bei so vielen Dingen tatkräftig und hilfsbereit unterstützt hat.

Mein ganz persönlicher Dank gilt meinem Mann Michael, ohne dessen Unterstützung und Hilfe diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre! Außerdem danke ich meinen Kindern Christoph und Marie-Luise. Sie sind meine Inspiration und Motivation. Darüber hinaus haben mich meine Eltern, Geschwister und Freunde privat und ausdauernd unterstützt. Vielen Dank dafür!

Publikationsliste

Zeitschriftenartikel (peer-reviewed):

K. Enders, **A. Käppler**, O. Biniash, N. Stollberg, D. Fischer, K.-J. Eichhorn, F. Pollehne, S. Oberbeckmann, M. Labrenz (2018). Tracing microplastics in aquatic environments based on sediment analogies. Zur Einreichung.

A. Käppler, M. Fischer, B. M. Scholz-Böttcher, S. Oberbeckmann, M. Labrenz, D. Fischer, K.-J. Eichhorn, B. Voit (2018). Comparison of μ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 410(21):5313-5327.

A. Käppler, D. Fischer, S. Oberbeckmann, G. Schernewski, M. Labrenz, K.-J. Eichhorn, B. Voit (2016). Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 408(29):8377-8391.

A. Käppler, F. Windrich, M. G. J. Löder, M. Malanin, D. Fischer, M. Labrenz, K.-J. Eichhorn, B. Voit (2015). Identification of microplastics by FTIR and Raman microscopy: a novel silicon filter substrate opens the important spectral range below 1300 cm^{-1} for FTIR transmission measurements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 407(22):6791–6801.

Weitere Publikationen (nicht peer-reviewed):

D. Fischer, **A. Käppler**, K.-J. Eichhorn (2015). Identification of Microplastics in the Marine Environment by Raman Microspectroscopy and Imaging. *American Laboratory* 47:32-34

A. Käppler, J. Muche, M. Malanin, D. Fischer, K.-J. Eichhorn, B. Voit (2015). Identifizierung von Mikroplastik in marinen Umweltproben mittels Raman- und FTIR-Spektroskopie. *Jahresbericht IPF*, S. 23-24

Vorträge (Erstautor)

A. Käppler, D. Fischer, S. Oberbeckmann, M. Labrenz, K.-J. Eichhorn (2018). Identifizierung von Mikroplastik mittels Schwingungsspektroskopie: IR, Raman oder beides? – *Statuskolloquium des Bayerischen Landesamtes für Umwelt*, Augsburg

A. Käppler, D. Fischer, S. Oberbeckmann, M. Labrenz, K.-J. Eichhorn, B. Voit (2017). Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *30th International Symposium on Polymer Analysis and Characterization*, Linz (ISBN Tagungsband: 978-3-99062-106-6)

Poster (Erstautor)

A. Käppler, D. Fischer, K.-J. Eichhorn, B. Voit. Identification of Microplastics in Marine Samples by Raman Microspectroscopy. *European Polymer Congress*, 2015, Dresden (ISBN Tagungsband: 978-3-936028-89-8)

A. Käppler, D. Fischer, M. Malanin, K.-J. Eichhorn, B. Voit. Identifizierung von Mikroplastik in marinen Proben mittels Raman- und FTIR-Imaging. *Wasser 2015*, Schwerin (ISBN Tagungsband: 978-3-936028-90-4)

Versicherung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die vorliegende Arbeit wurde unter der wissenschaftlichen Betreuung von Frau Prof. Brigitte Voit an der Professur für Organische Chemie der Polymere der Technischen Universität Dresden und am Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V. in der Zeit von April 2014 bis September 2018 angefertigt.

Bislang haben durch mich keine weiteren Promotionsverfahren stattgefunden.

Hiermit erkenne ich die Promotionsordnung des Bereichs Mathematik und Naturwissenschaften der Technischen Universität Dresden vom 23.02.2011 in der geänderten Fassung vom 23.05.2018 an.

Ort, Datum

Unterschrift