

Identifizierung und Quantifizierung von Mikroplastik mittels quantitativer ^1H -NMR Spektroskopie

von

Nadine Peez
aus Lahnstein

Angenommene Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Fachbereich 3: Mathematik/Naturwissenschaften
Universität Koblenz-Landau

Erstgutachter: Prof. Dr. Wolfgang Imhof
Zweitgutachter: Prof. Dr. Thomas Ternes
Drittgutachter: Prof. Dr. Jürgen Senker

Prüfungskommission:
Prof. Dr. Wolfgang Imhof
Prof. Dr. Thomas Ternes
Prof. Dr. Werner Manz

Tag der mündlichen Prüfung: 29.01.2021

Erstgutachter: Prof. Dr. Wolfgang Imhof
Zweitgutachter: Prof. Dr. Thomas Ternes
Drittgutachter: Prof. Dr. Jürgen Senker

„Alle sagten: Das geht nicht. Dann kam einer, der wusste das nicht und hat's einfach gemacht.“

(angelehnt an Goran Kikic)

Auflistung der Fachbeiträge dieser Dissertation:

Drei Beiträge sind in wissenschaftlichen Fachzeitschriften mit peer-review-System veröffentlicht (Kapitel 2, 3 und 5) und ein Manuskript ist in Überarbeitung (Kapitel 4). Die Beiträge wurden von Co-Autoren mitverfasst. Mein Eigenanteil zu jedem Artikel ist zu Anfang des jeweiligen Kapitels aufgeführt. Die bibliographischen Details der Fachbeiträge inklusive aller Autoren sind wie folgt:

Kapitel 2:

Peez N., Janiska M.-C., Imhof W. 2019. The first application of quantitative ^1H NMR spectroscopy as a simple and fast method of identification and quantification of microplastic particles (PE, PET, and PS). *Anal. Bioanal. Chem.*, 411, 823-833. Paper in Forefront.

Kapitel 3:

Peez N., Imhof W. 2020. Quantitative ^1H -NMR Spectroscopy as an Efficient Method for Identification and Quantification of PVC, ABS and PA Microparticles. *Analyst*, 145, 5363-5371.

Kapitel 4:

Peez N., Riensch T., Kolz J., Imhof W. 2020. Applicable and cost-efficient microplastic analysis by quantitative ^1H -NMR-Spectroscopy using benchtop NMR and NoD methods. Manuskript in Überarbeitung für *Magn. Reson. Chem.*

Kapitel 5:

Peez N., Becker J., Ehlers S. M., Fritz M., Fischer C. B., Koop J. H. E., Winkelmann C., Imhof W. 2019. Quantitative analysis of PET microplastics in environmental model samples using quantitative ^1H -NMR spectroscopy: validation of an optimized and consistent sample clean-up method. *Anal. Bioanal. Chem.*, 411, 7409-7418.

Weitere relevante Veröffentlichungen:

Peez N., Imhof W. 2020. An Alternative Methode for Microplastic-Analysis Using Quantitative $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy. International Web Conference – Microplastics in Soils. 09.09-10.09 2020, Zittau. Vortrag.

Peez N., Imhof W. 2020. A New Method for the Analysis of Microplastics using Quantitative $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy. qNMR Summit 2020. geplant 25.03-26.03 2020, Santiago De Compostela. Angenommener Vortrag, Abgesagt aufgrund der Covid-19-Pandemie.

Peez N., Imhof W. 2019. 1,2,3... Gibt es eine Alternative zum Auszählen von Partikeln? Über eine Spektroskopie-Methode mit Potenzial für die Mikroplastik-Analyse. *Labo*, 51, 14-17.

Peez N., Ehlers S. M., Imhof W. 2019. Quantifizierung von Mikroplastik mittels $^1\text{H-qNMR}$ Spektroskopie - Erste Schritte einer neuen Methode -. Wasser 2019. 27.-29. Mai 2019, Erfurt. Poster mit Kurzvortrag.

Peez N., Imhof W. 2019. Qualitative and Quantitative Analysis of Microplastics by Quantitative $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy. 3rd IMASS Network. 9.-10. Mai 2019, Parma, Italien. Vortrag.

Zusammenfassung

Plastik und damit einhergehend auch Mikroplastik (MP) ist mittlerweile global präsent und stellt ein zunehmend signifikantes Problem für die Umwelt dar. Um die Verbreitung und Auswirkung von MP im Ansatz zu verstehen, ist es wichtig, MP über einen weitreichenden Größenbereich zu identifizieren und zu quantifizieren sowie eine Vergleichbarkeit von Studien zu gewährleisten. Jedoch besteht noch großer Forschungsbedarf auf dem Gebiet der größenunabhängigen, quantitativen Analyse von MP in Umweltproben, besonders im Hinblick auf die massenbasierte MP-Konzentrationsangabe. Daher wird in dieser Dissertation die quantitative ^1H -NMR Spektroskopie (qNMR) als eine alternative Methode für die MP-Analyse etabliert. Bei der qNMR-Methode handelt es sich um eine schnelle, größenunabhängige, massenbasierte Methode, welche als alternative MP-Analytik angewendet werden kann und Potential zur Routineanalytik aufweist. Am Beispiel von LDPE, PET und PS erfolgte der Konzeptnachweis (Kapitel 2). Zusätzlich wurden PVC, PA und ABS Partikel getestet, um die wichtigsten Polymertypen für die MP-Analyse abzudecken (Kapitel 3). Am Beispiel von PET, PVC und PS wurde überprüft, ob die qNMR-Methode auch auf die kosteneffektivere NoD-Methode übertragbar ist (Kapitel 4). Die Ergebnisse der Validierung beider Methoden (1D und NoD) zeigen, dass die Quantifizierung von MP-Partikeln mittels qNMR nicht nur prinzipiell möglich ist, sondern auch eine hohe Richtigkeit (88.0 - 110 %) aufweist und die Nachweisgrenzen (1 - 84 μg) im umweltrelevanten Bereich liegen. Weiterhin wurde überprüft, ob sich nicht nur Hochfeld-Geräte für die MP-Analyse eignen, sondern auch niedrigauflösende Benchtop-Geräte, welche in Anschaffung und Unterhalt wesentlich kosteneffektiver sind. Durch Erhöhung der Messzeit von auf ca. 30 min für PET und PS und auf ca. 140 min für PVC konnte die geringere Messfrequenz ausgeglichen werden (Kapitel 4). Um die Frage möglicher Matrixeffekte von Umweltproben zu behandeln, wurden darüber hinaus eben solche Matrixeffekte sowie Wiederfindungsraten von PET-Fasern bei Anwendung einer speziell für die qNMR-Methode optimierten Probenvorbereitung in Gegenwart von Modellmatrices bestimmt (Kapitel 5). Es konnte gezeigt werden, dass die Umweltmatrices die quantitative Analyse nicht stören und die speziell für die qNMR Analytik entwickelte Probenvorbereitung, mit Wiederfindungsraten von $> 80\%$ für die unterschiedlichen Umweltmatrices, angewendet werden kann (Kapitel 5). Über erste orientierende Untersuchungen zur simultanen Bestimmung mehrerer Polymerarten in einer Probe wird abschließend berichtet (Kapitel 6).

Summary

Plastic, and so microplastics (MP), are globally present and represent an increasingly significant problem for the environment. In order to understand the distribution and impact of MP it is important to identify and quantify MP over a wide range of sizes and to ensure comparability of studies. However, comparability of studies is made difficult or even impossible by different MP concentration data. There still is a great need for research in the field of size-independent, quantitative analysis of MP in environmental samples, especially with regard to mass-based MP concentration information. Therefore, this thesis aims to utilize quantitative ^1H -NMR spectroscopy (qNMR) as an alternative method in MP analysis. The qNMR method is a size-independent, mass-based method which can be used as an alternative for MP analysis and has potential for routine analysis. The proof-of-concept was demonstrated for LDPE, PET and PS particles (Chapter 2). Additionally, PVC, PA, and ABS particles were tested to cover the most important polymer types for MP-analysis (Chapter 3). Moreover, using PET, PVC and PS as examples it was examined whether the qNMR method can also be transferred to the more cost-effective NoD method (Chapter 4). Results of method validation of both methods (1D and NoD) show that quantification using the qNMR method is not only possible in principle, but also shows high accuracy (88.0-110 %) and detection limits (1 – 84 μg) that lie within the environmentally relevant range. Furthermore, it was examined whether not only high-field instruments are suitable for MP analysis, but also benchtop devices (low-field instruments), which are much more cost-effective in purchase and maintenance. Increasing measurement times for PET and PS to 30 min and for PVC to 140 min, the lower measuring frequency especially concerning resolving capacity could be compensated (Chapter 4). To address the question of potential matrix effects of environmental samples, matrix effects and recovery rates of sample preparation procedures, which have been developed specifically for the application of the qNMR method were investigated using PET fibers as an example (Chapter 5). It could be shown that environmental matrices do not interfere with the quantitative analysis of MP using qNMR methods. Specific sample preparation methods developed for qNMR analysis can be used with recovery rates > 80 % for different environmental matrices (Chapter 5). Finally, first orienting investigations for the simultaneous determination of several polymer types in one sample are reported (Chapter 6).

Inhaltsverzeichnis

Auflistung der Fachbeiträge dieser Dissertation:.....	- III -
Weitere relevante Veröffentlichungen:	- IV -
Zusammenfassung	- V -
Summary	- VI -
Inhaltsverzeichnis	- VII -
Abkürzungsverzeichnis.....	- XI -
Kapitel 1: Einleitung.....	- 1 -
Mikroplastik in der Umwelt	- 3 -
Aktuelle Methoden in der MP-Analytik	- 5 -
¹ H-NMR Spektroskopie	- 8 -
Motivation und Zielsetzung	- 12 -
Konzept und Aufbau der Arbeit	- 13 -
Kapitel 2	- 16 -
The first application of quantitative ¹ H NMR spectroscopy as a simple and fast method of identification and quantification of microplastic particles (PE, PET, and PS)	
Kapitel 3	- 18 -
Quantitative ¹ H-NMR spectroscopy as an Efficient Method for Identification and Quantification of PVC, ABS and PA Microparticles	
Kapitel 4	- 20 -
Applicable and cost-efficient microplastic analysis by quantitative ¹ H-NMR-Spectroscopy using benchtop NMR and NoD methods	
Kapitel 5	- 41 -
Quantitative analysis of PET microplastics in environmental model samples using quantitative ¹ H-NMR spectroscopy: validation of an optimized and consistent sample clean-up method	
Kapitel 6: Gesamtdiskussion.....	- 43 -
qNMR-Analyse von MP: Geeignetes LM & Identifizierung	- 45 -
qNMR-Analyse von MP: Quantifizierung	- 50 -
qNMR-Analyse von MP: Umweltproben	- 62 -
Simultane Bestimmung – Vorversuche	- 71 -
Ausblick & Schlussfolgerung.....	- 75 -
Literaturverzeichnis	- 78 -
Abbildungsverzeichnis	- 87 -

Tabellenverzeichnis	- 89 -
Anhang	- 90 -
Supporting Information: Kapitel 2	- 90 -
Supporting Information: Kapitel 3	- 92 -
Supporting Information: Kapitel 4	- 100 -
Supporting Information: Kapitel 5	- 102 -
Zusatzmaterial: Kapitel 6	- 109 -
Danksagung	- 117 -
Eigenständigkeitserklärung	- 119 -

Abkürzungsverzeichnis

ABS	Acrylnitril-Butadien-Styren
FA	Ameisensäure
FTIR	Fourier-Transformation-Infrarotspektroskopie
GC-MS	Gaschromatographische-Massenspektrometrie
LDPE	Low Density Polyethylen
LM	Lösungsmittel
MP	Mikroplastik
NMR	Kernmagnetische Resonanz
NWG	Nachweisgrenze
PA	Polyamide
PE	Polyethylen
PET	Polyethylenterephthalat
PLE	Pressurized liquid extraction
PP	Polypropylen
PS	Polystyren
PVC	Polyvinylchlorid
qNMR	quantitative ^1H -NMR Spektroskopie
SBR	Styren-Butadien-Kautschuk
SEM	Rasterelektronenmikroskopie
TCB	Trichlorbenzen
TFA	Trifluoressigsäure
WFR	Wiederfindungsrate

Kapitel 1: Einleitung

Der Begriff Mikroplastik (MP) wurde erstmals im Jahr 2004 im Kontext von schmalen Plastikfragmenten eingeführt und bezeichnet Plastikteilchen < 5 mm als MP-Partikel [1]. Aktuell wird zusätzlich vermehrt zwischen großem MP (1-5 mm) und MP ($1 \mu\text{m} - 1$ mm) unterschieden [2]. Eine Definition von MP wird durch die uneinheitliche Größendefinition, aber auch durch die Varietät an Formen (Kügelchen, Granulat, Fasern ...), Polymerarten und Farben erschwert und ist zu diesem Zeitpunkt nicht einheitlich [3].

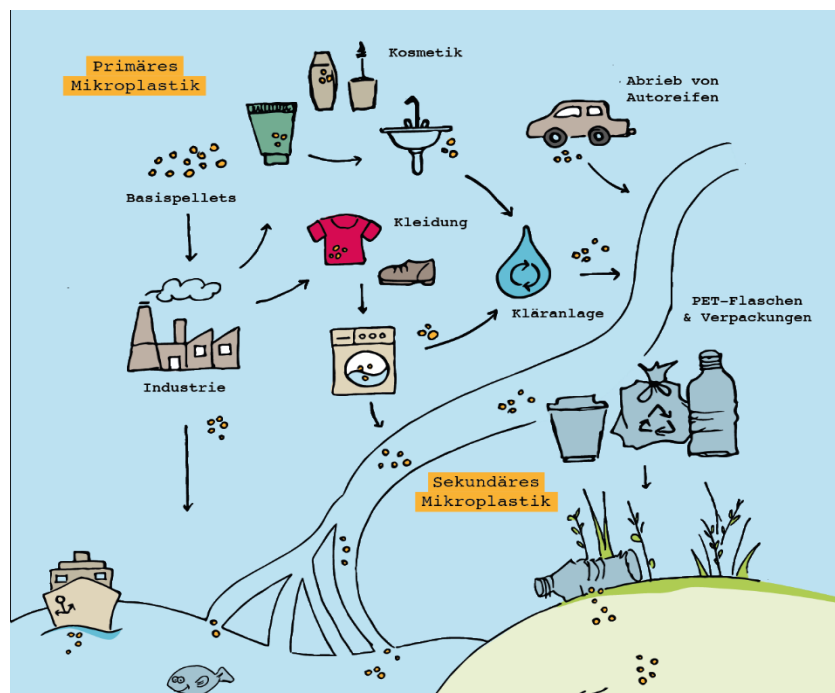
Plastik und damit einhergehend auch MP, ist mittlerweile global präsent und stellt ein zunehmend signifikantes Problem für die Umwelt dar. Schätzungen zufolge wird sich die Plastikproduktion in den nächsten zwei Jahrzehnten verdoppeln, bis 2050 sogar vervierfachen und in den Ozeanen wird die Masse an Plastik die Masse des globalen Fischbestandes übertreffen [4, 5]. 35 % des Kunststoffverbrauchs in Deutschland werden für Verpackungen, 24 % im Baubereich, 9 % in Fahrzeugen, 6 % im Elektronikbereich und 26 % für die Landwirtschaft, Spielwaren, Möbel und sonstiges eingesetzt [6]. Dabei nimmt Polyethylen (PE) mit 27.5 % den größten Anteil an der Verarbeitungsmenge von 12060 Tausend Tonnen im Jahr 2015 ein, dicht gefolgt von Polypropylen (PP) mit 16.7 % und Polyvinylchlorid (PVC) mit 12.9 %. Polystyren (PS) erzielt einen Anteil von 5.4 %, Polyethylenterephthalat (PET) von 5.5 %, Polyamide (PA) von 2.5 % und Acetonitril-Butadien-Sytrien (ABS, ASA, SAN) von 2.7 % [7]. Auch sollte der Anteil von synthetischen Fasern, hauptsächlich PET und PA (Nylon), an der weltweiten Faserproduktion von ca. 60 % erwähnt werden, da die Textilindustrie auch einen hohen Beitrag zur Plastikproduktion beiträgt [8]. Die sechs wichtigsten Kunststofftypen sind somit PE, PP, PVC, PS, PET und PA. Der weltweite Anstieg der Kunststoffproduktion ist nicht verwunderlich, da Kunststoffe oftmals als Werkstoffe nach Maß bezeichnet werden und somit aufgrund ihrer hervorragenden Eigenschaften bevorzugt verarbeitet werden [9]. Als Beispiel sei die geringe Dichte von $0.8 - 2.2 \text{ g/cm}^3$ zu nennen, weshalb Produkte aus Plastik im Vergleich zu anderen Werkstoffen leichter sind. Außerdem können Kunststoffe energiesparend verarbeitet werden, da viele von ihnen thermisch verformbar (Verarbeitungsprozesse bis $250 \text{ }^\circ\text{C}$) sind und einige Kunststoffsorten, wie beispielsweise Kautschuk, sind zudem elastisch [10]. Ein weiterer Vorteil, welcher aufgeführt werden sollte, ist die Beständigkeit gegen verschiedenste Lösungsmittel,

Säuren und Laugen [9]. Das Zufügen von Stabilisatoren, wie bei PVC, führt außerdem dazu, dass Plastik sogar lange Zeit beständig gegen Umwelteinflüsse ist [9].

Mikroplastik in der Umwelt

Da 79 % des Plastikmülls auf Deponien verbracht oder in die Umwelt ausgetragen wird, ist eine unmittelbare Konsequenz aus der wachsenden globalen Plastikproduktion, dass auch der MP-Gehalt in der Umwelt signifikant steigt [5, 11]. Plastik zersetzt sich nur sehr langsam, kann aber durch äußere Einflüsse wie mechanische, chemische, photochemische oder biologische Prozesse in immer kleinere Partikel zerfallen und dann als sekundäres MP eingestuft werden [12]. Die Vielfalt von sekundärem MP ist groß, da es z.B. durch Reifenabrieb, Fasern aus Waschgängen oder sonstigem Abrieb von Gebrauchsgegenständen in die Umwelt eingetragen werden kann und somit auf keine Partikelform oder Polymertyp beschränkt ist [13–15]. Neben dem sekundären MP werden MP-Partikel, welche direkt als solche in die Umwelt gelangen, beispielsweise in Form von Pellets oder Reinigungspellets in Kosmetikartikeln, als primäres MP eingeordnet.

Bei einem Waschgang mit MP haltigen Peelings können beispielsweise bis zu 94000 MP-Partikel in die Umwelt eingetragen werden [16]. Noch größer kann der Eintrag von MP-Partikeln pro Waschgang in die Umwelt von Textilien sein – bis zu 700000 Fasern pro Waschgang [17]. Die größte



Eintragsquelle von MP in die Umwelt ist allerdings laut einer

Abbildung 1: schematische Übersicht über die Eintragswege von MP in die Umwelt. <https://gesundezwerge.de/mikroplastik-die-unsichtbare-gefahr/> zuletzt aufgerufen am 24.08.2020

norwegischen Umweltbehörde der Reifenabrieb auf Straßen [14]. Allerdings sind die Eintragswege von MP vielfältig. Zudem gelangt MP in die Fließgewässer durch verschiedenste Quellen wie Industrie, Klärschlamm, private Haushalte und Verpackungsmüll [18] (siehe Abbildung 1). Und die Fließgewässer wiederum sind eine der

wichtigsten Eintragsquellen von MP für die marinen Systeme [18, 19]. MP konnte bereits in der Wasserphase, Sediment und Organismen in marinen sowie aquatischen Systemen und terrestrischen Böden nachgewiesen werden [20, 21]. Im Sediment der Elbe, Mosel, Neckar und Rhein konnten zwischen 34-64 MP-Partikel pro Kilogramm Trockengewicht beobachtet werden [20]. Das Vorkommen von MP in den unterschiedlichsten Regionen und Bereichen wird unter anderem durch seine geringe Größe begünstigt. Transportwege durch Niederschläge, Verwehungen und Überschwemmungen verteilen MP auf der ganzen Welt, unter anderem auch in die Arktis und Antarktis [19, 22–24]. In einem abgelegenen Bergsee, dem Lake Hovsgol, ist der durchschnittliche MP-Gehalt von 20264 MP Partikeln pro km² (Ufer) wesentlich höher als der MP-Gehalt von stärker besiedelten Seen wie dem Lake Huron oder Lake Superior [25].

Trotz der weiten Verbreitung von MP sind die Transportwege und Auswirkungen auf Organismen bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht hinreichend untersucht oder bekannt. Klar ist jedoch, dass sich in der geringen Größe der MP-Partikel eine Gefahr für die Umwelt verbirgt, da die MP-Partikel von Organismen aufgenommen werden können, ein Völlegefühl vorgetäuscht wird und dies im schlimmsten Fall zum Tod der Organismen führen kann [22, 26]. Ein weiterer wichtiger Aspekt neben der Größe ist die Form der MP-Partikel. Frydkjear et al. haben reguläre Partikel (Bsp. kugelförmige Pellets) mit irregulären MP-Partikeln (Bsp. Fragmente, Regranulate, Fasern) verglichen und herausgefunden, dass die irregulären Partikel länger im Organismus verweilen und somit einen größeren negativen Effekt ausüben können als die regulären Partikel [27, 28]. PET-Fasern bis zu einer Länge von 1400 µm und einem Durchmesser von 21.5 µm können von *Daphnia magna* aufgenommen werden und zu einer erhöhten Sterblichkeit innerhalb von 48 h führen [29]. Allerdings weisen auch einige Studien darauf hin, dass MP-Partikel keinen signifikanten negativen Einfluss auf die untersuchten Organismen, wie beispielsweise *Daphnia magna* haben [28]. Neben den mechanischen Eigenschaften kann auch der chemische Aspekt der MP-Partikel einen negativen Effekt ausüben. Zu nennen ist dabei das Leaching, welches das Austreten von toxischen, karzinogenen und/oder hormonaktiven Monomeren, sowie Additiven beschreibt [30]. Auch ist eine Adsorption und Akkumulation von persistenten organischen Schadstoffen an die MP-Partikel denkbar [31, 32]. Es besteht somit noch großer Forschungsbedarf auf diesem Gebiet, wobei auch der Bereich des trophischen Transfers berücksichtigt werden sollte. Insgesamt zeigt sich, dass für ein vertieftes Verständnis der Risiken von MP für Mensch und Umwelt die zuverlässige und exakte Identifizierung und Quantifizierung von MP unerlässlich ist.

Aktuelle Methoden in der MP-Analytik

Durch die Vielfalt der Polymertypen, deren teilweise stark unterschiedlichen Eigenschaften wie Dichte und Chemikalienbeständigkeit, sowie die geringe Größe der MP-Partikel wird die MP-Analytik erschwert. Daraus ergibt sich eine Vielzahl an unterschiedlichen Methoden für die Probenvorbereitung und MP-Analyse. Durch diese Diversität an Methoden ergibt sich wiederum eine Fülle an unterschiedlichen MP-Konzentrationsangaben. Für Wasserproben beispielsweise werden Konzentrationsangaben von MP-Masse oder Partikelanzahl pro m^3 und km^2 verwendet, für Sedimentproben ist die zusätzliche Angabe von MP-Masse oder Partikelanzahl relativ zum Trockengewicht gebräuchlich und für Biotapproben gibt es auch noch die zusätzliche Möglichkeit der MP-Konzentrationsangabe in MP-Masse oder Partikelanzahl pro Organismus [33]. Für die Angabe der MP-Masse sind auch mehrere Angaben gebräuchlich. Zum einen die Angabe als Gewichtsprozent in wt% oder in mg MP pro Einheit Umweltprobe [34, 35]. Diese Diversität steht oftmals einer Vergleichbarkeit der Studien untereinander im Weg, welche aber wichtig und unerlässlich für die Untersuchung der Auswirkungen, Effekte und Transportwege von MP in der Umwelt ist. Es besteht somit noch großer Forschungsbedarf auf dem Gebiet der Probenvorbereitung, aber vor allem auf dem Gebiet der MP-Analysemethoden.

Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung stellt für die MP-Analytik einen entscheidenden Punkt dar, da das Hauptaugenmerk auf dem Vorkommen von MP in der Umwelt liegt. Somit erschweren Matrixeffekte, wie anorganische und organische Bestandteile aus den Umweltproben, die Analyse oder machen diese gar unmöglich. Ein positiver Nebeneffekt der Probenvorbereitung besteht darin, dass der MP-Gehalt in der Umweltprobe aufkonzentriert wird und somit auch geringere Konzentrationen in der Umwelt erfasst werden können. Eine Möglichkeit der Probenvorbereitung bietet die Dichteseparation. Anorganische Bestandteile wie Sand und Sediment können von den MP-Partikeln aufgrund von Dichteunterschieden abgetrennt werden [2, 36]. Explizit für diese Anwendung wurde ein Munich Plastic Sediment Separator (MPSS) entwickelt, welcher ein Probenvolumen von bis zu 6 L aufnehmen kann [37]. Oftmals wird eine NaCl-Lösung mit einer Dichte von 1.20 kg/L verwendet, welche allerdings PVC- und PET-Partikel aufgrund deren Dichte (1.38-1.41 kg/L) nicht von der Matrix abtrennen kann [2]. Alternativ kann die umweltgefährdendere $ZnCl_2$ -Lösung mit einer Dichte von 1.7 kg/L verwendet werden [38]. Hinzu kommt, dass die Extraktionszeit von der Partikelgröße abhängt. Für MP-Partikel mit einem Durchmesser von 2.6 μm kann die

Dichteseperation bis zu 40 h betragen [39]. In vielen Fällen wird nach der Dichteseperation ein weiterer zeitintensiver Schritt nachgeschaltet. Dieser ist besonders für Umweltmatrices wie Böden, marine oder aquatische Organismen notwendig [40]. Es handelt sich dabei um einen chemischen oder enzymatischen Aufschluss, welcher organische Matrixbestandteile der Umweltproben entfernen soll. Für den chemischen Aufschluss können Oxidationsmittel wie Wasserstoffperoxid, starke Säuren oder Basen oder eine Mischung aus Oxidationsmitteln und Säuren verwendet werden [2]. Die Chemikalien können jedoch einige Polymertypen angreifen oder sogar auflösen, wodurch die Genauigkeit der Quantifizierung der MP-Partikel durch die MP-Analyse stark beeinträchtigt wird [41]. Avio et al. nennen als Grund für geringe Wiederfindungsraten von 4 % für aufgestockte Proben von PE bzw. PS-Partikeln in Fisch-Magen-Darm-Trakten die Verwendung von 22.5 M Salpetersäure [42]. Auch kann der Aufschluss einen Einfluss auf die Partikelgröße nehmen. Nuelle et al. berichten, dass der 7-tägige Aufschluss mit einer 35%igen Wasserstoffperoxid-Lösung eine signifikante Abnahme der Partikelgröße von PE und PP-Partikeln (< 1 mm) zur Folge hat, wohingegen die Aufschlusseffizienz der biologischen Matrix bei nur knapp 25 % lag [43]. Dahingehend stellt der enzymatische Aufschluss mittels Protease, Cellulase und/oder Chitinase eine Alternative dar. Er greift die Polymere zwar nicht an, hat aber den Nachteil, dass diese Methode bis zu zehnmal länger als der chemische Aufschluss dauert, welcher teilweise selbst schon mehrere Tage in Anspruch nimmt [44]. Eine Alternative für die MP-Probenvorbereitung von verschiedensten Umweltproben bietet die Fest-Flüssig-Extraktion. Fuller und Gautam haben erstmals die Pressurized Liquid Extraction (PLE) für die MP-Probenvorbereitung beschrieben [45]. Als Lösungsmittel eignen sich Dichlormethan (180 °C, 100 bar) oder Tetrahydrofuran (185 °C, 100 bar) um MP-Partikel aus Umweltproben zu extrahieren [34, 45]. Ein entscheidender Vorteil der Methode besteht darin, dass nicht unbedingt eine Vorbehandlung der Umweltmatrix notwendig ist. Steinmetz et al. konnten zeigen, dass die Flüssig-Extraktion mittels Trichlorbenzen für PE, PP und PS-Partikel die höchsten Wiederfindungsraten liefert, wenn keine Vorbehandlung der organischen Matrix (Böden) erfolgt [46]. Außerdem handelt es sich bei der Fest-Flüssig-Extraktion auch um eine schnelle Methode, da die MP-Partikel in weniger als 7 h aus einer Probe automatisiert extrahiert und analysiert werden können [34]. Die Einschränkung der Methode besteht darin, dass sie nur für massenbasierte Analyse-Techniken geeignet ist, da die MP-Partikel gelöst vorliegen und somit ein Auszählen der Partikel nicht mehr möglich ist.

Analysemethoden

Die MP-Analytik kann in zwei Hauptgruppen von Analysemethoden unterteilt werden. Zum einen in die Auszählmethode, bei der die MP Konzentration als Partikelanzahl in der Probe angegeben wird. Dazu zählen die oftmals eingesetzten schwingungsspektroskopischen FTIR- oder Raman-Methoden. Zum anderen wird bei massenbasierten Methoden die MP Konzentration beispielsweise in mg pro Probe angegeben. Dazu zählen die thermoanalytischen Methoden mittels gaschromatographischer Auftrennung wie die Pyrolyse-GC-MS (Py-GC-MS), die Thermoextraktionsdesorption-GC-MS (TED-GC-MS) und die Thermogravimetrische-GC-MS (TGA-GC-MS). Bei den GC-MS-Untersuchungen handelt es sich generell um eine relativ schnelle ($< 3h$), größenunabhängige, automatisierbare Quantifizierungsmethode [47, 48]. Ein limitierender Faktor ist, dass es sich um eine destruktive Methode handelt, bei der die Partikelgröße nicht erfasst wird. Ein weiterer kritischer Punkt ist die Robustheit der Methode, da spezifische Dekompositionsprodukte als Marker für die Identifizierung und Quantifizierung verwendet werden, welche sich von der störenden Matrix unterscheiden müssen [49, 50]. Auch haben FTIR- und Raman-Spektroskopie Vor- und Nachteile. Ein Vorteil begründet sich darin, dass die Partikel direkt auf dem Filter identifiziert und zusätzlich eine Größeninformation des Partikels erhalten werden kann [47]. Als Nachteil wird oftmals angemerkt, dass es sich um eine sehr zeitintensive Methode handelt, bei der eine Messung bis zu mehreren Tagen dauern kann [47, 51]. Bei Verwendung von Abrastermethoden sind hingegen mittlerweile Messungen mit $< 9 h$ möglich [47]. Ein weiterer Nachteil im Hinblick auf Umweltproben ist die Anfälligkeit für störende Matrixeffekte. Aufgrund von Signalüberlagerungen, welche von organischen Matrixbestandteilen auf dem entsprechenden Partikel resultieren, kann eine Fehlidentifizierung oder Missklassifikation des Partikels bei der FTIR-Spektroskopie erfolgen [52, 53]. Der limitierende Faktor ist allerdings die Größenabhängigkeit beider Methoden. Mittels FTIR-Spektroskopie können nur MP-Partikel zwischen 20-500 μm und mittels Raman-Spektroskopie Partikel bis zu einer minimalen Größe von 1 μm identifiziert werden [54].

Neben den bereits genannten spektroskopischen und thermoanalytischen Methoden bieten auch andere Analysemethoden eine Möglichkeit, MP-Partikel zu identifizieren und zu quantifizieren. Als Beispiel kann die Rasterelektronenmikroskopie, welche in die Gruppe der Auszählmethoden eingestuft werden kann, aufgeführt werden. Es handelt sich dabei um eine Methode, bei der der Fokus auf der Partikelform und Oberflächenbeschaffenheit der MP-Partikel liegt [55]. Eine weitere Analysetechnik, welche zur MP-Detektion

angewendet werden kann, ist die Hochtemperatur-Gelpermeationschromatographie mit Infrarotdetektion, welche zu den massenbasierten Methoden gezählt werden kann [56]. Hintersteiner et al. konnten zeigen, dass damit eine Quantifizierung von PE-Partikeln in Körperpflegeprodukten mit hohen Wiederfindungsraten von 92-96 % möglich ist [56].

¹H-NMR Spektroskopie

Obwohl sie bis zum Beginn dieser Arbeiten von keiner Forschungsgruppe weltweit im Bereich der MP-Analytik eingesetzt wurde, sollte sich die quantitative ¹H-NMR Spektroskopie grundsätzlich für die MP-Analytik eignen. Dabei steht NMR für **N**uclear **M**agnetic **R**esonance und beruht auf dem Phänomen des Kernspins, welches unabhängig von Felix Bloch und Edward Mills Purcell 1946 nachgewiesen und zu analytischen Zwecken verwendet wurde, wofür sie im Jahr 1952 den Nobelpreis für Physik erhielten [57]. Die magnetische Eigenschaft des Kernspins entsteht durch die Eigendrehung der Kerne um eine innere Achse, wodurch Ladungen bewegt werden, woraus ein magnetisches Feld resultiert [57]. Allerdings weisen nicht alle Atomkerne diesen Drehimpuls \mathbf{p} auf, welcher durch das gyromagnetische Verhältnis γ mit dem magnetischen Moment $\boldsymbol{\mu}$ im proportionalen Verhältnis steht (Gleichung 1) [57]. Bei g,g-Kernen, also Kernen mit einer geraden Protonen- und Neutronenzahl (bsp. ¹²C) ist das magnetische Moment $\boldsymbol{\mu} = 0$ und diese Kerne sind somit nicht für die NMR-Spektroskopie geeignet [58]. Hingegen sind g,u-, u,g- und u,u-Kerne wie beispielsweise ¹H, ¹³C oder ¹⁹F NMR-aktiv [58].

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \mathbf{p} \quad \text{(Gleichung 1)}$$

Je höher das gyromagnetische Verhältnis und die natürliche Häufigkeit des Atomkerns, desto empfindlicher und einfacher sind diese Isotope zu spektroskopieren [57]. Für das natürliche Wasserstoffisotop ¹H sind beide Bedingungen am idealsten erfüllt (99.985 % natürliche Häufigkeit, 26.75 gyromagnetisches Verhältnis), weshalb dieser Atomkern für die quantitative NMR-Spektroskopie (qNMR) am geeignetsten ist und im Folgenden genauer betrachtet wird [58, 59]. Grundvoraussetzung für eine Spektroskopie-Art ist, dass mindestens zwei Energieniveaus vorhanden sind und sich ein Übergang zwischen den Energieniveaus durch die Absorption elektromagnetischer Strahlung geeigneter Energie bewerkstelligen lässt. Im Fall des ¹H-Kerns handelt es sich um zwei Energieniveaus, die energetisch ungünstigere antiparallele Stellung des Spins zum äußeren Magnetfeld und die energetisch günstigere parallele Stellung. Das magnetische Moment $\boldsymbol{\mu}$ ist nicht statisch, sondern präzediert dabei auf zwei Kegeloberflächen [57]. Das Besetzungs-Verhältnis

zwischen parallel und antiparallel kann durch die Boltzmann-Verteilung beschrieben werden (Gleichung 2). Da der Energieunterschied ΔE für ^1H -Kerne im Ultra-Kurz-Wellenbereich liegt und somit im Vergleich zur mittleren Energie der Wärmebewegung (kT) sehr klein ist, sind die Niveaus fast gleichbesetzt [57]. ΔE ist mit 10^{-2} kJ/mol im Vergleich zur Ultraviolettstrahlung ($\lambda=200$ nm) mit ca. 600 kJ/mol sehr klein. Der energieärmere Zustand ist gerade mal im ppm-Bereich im Überschuss besetzt. Für eine Messfrequenz von $B_0 = 60$ MHz ergibt sich nach Gleichung 2 ein Besetzungsunterschied von 0.9999904 und für $B_0 = 300$ MHz bereits von 0.999995 [57]. Aufgrund des geringen Energie- und Besetzungsunterschieds benötigt die NMR-Spektroskopie eine sehr empfindliche Elektronik, ist im Umkehrschluss dazu aber auch eine sehr schonende und zerstörungsfreie Methode.

$$\frac{N_{\text{antiparallel}}}{N_{\text{parallel}}} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}} \approx 1 - \frac{\gamma h B_0}{kT} \quad (\text{Gleichung 2})$$

Als Signal wird die Energieabsorption gemessen, da diese aufgrund des Besetzungsüberschusses im energieärmeren Zustand überwiegt [57]. Zur Resonanz kommt es, wenn die eingestrahlte Radiowelle (Zusatzfeld B_1) die gleiche Frequenz wie die Präzessionsbewegung des Kernspins hat (Lamorfrequenz ν_L). Da der Energieunterschied ΔE proportional zur magnetischen Flussdichte \mathbf{B} ist, ist die Resonanzfrequenz umso höher, je stärker das angelegte Magnetfeld \mathbf{B}_0 ist (Gleichung 3) [57].

$$\Delta E = \nu_L h = \frac{\gamma h}{2\pi} B_0 \quad (\text{Gleichung 3})$$

Die Messfrequenz hat einen proportionalen Einfluss auf die Resonanzbedingung der beiden Kern-Zustände, aber auch auf die Signalintensität (Empfindlichkeit $\propto B_0^2$) [60]. Die Signalintensität kann am besten durch das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (SNR) beschrieben werden, welches von der Feldstärke und von der Scananzahl n abhängt (Gleichung 4) [61].

$$\frac{\text{Signal}}{\text{Rauschen}} = B_0^2 \sqrt{n} \quad (\text{Gleichung 4})$$

Ein besseres SNR-Verhältnis kann somit durch eine höhere Scananzahl, und somit einer längeren Messzeit, oder durch eine höhere Feldstärke realisiert werden. Daraus wird ersichtlich, dass die Messfrequenz einen Einfluss auf die Empfindlichkeit der Methode hat, was unter anderem den Trend der letzten Jahre zu immer größeren Feldstärken bis hin zu 1 GHz-NMR-Geräten erklärt [60]. Diese Hochfeld-Geräte, zu denen Spektrometer mit einer Messfrequenz ab 300 MHz zählen, sind eine von zwei NMR-Geräteklassen. Bei der

anderen Klasse handelt es sich um Niedrigfeld-Geräte, zu denen Spektrometer mit einer Messfrequenz bis zu 100 MHz zählen, welche in den letzten 10 Jahren einen erheblichen Entwicklungsschub vorzuweisen haben [60, 61]. Letztgenannte Spektrometer werden auch Benchtop-Geräte genannt, da sie im Vergleich zu den Hochfeld-Geräten durch Verwendung von Permanentmagneten, die ohne eine kostspielige Helium- und Stickstoff-Kühlung für den Magneten auskommen, sehr kompakt gebaut werden können [61, 62]. Die geringe Messfrequenz begründet den wesentlichen Nachteil der Benchtop-Geräte in Bezug auf die geringere Empfindlichkeit und Auflösung der Spektren, wobei dieser Nachteil durch eine Erhöhung der Homogenität des Magnetfelds und der Messzeit teilweise oder ganz kompensiert werden kann [61].

Identifizierung und Quantifizierung

Neben der Grundvoraussetzung, dass die H-Kerne resonanzfähig sind, ist für eine spektroskopische Analyseverfahren auch entscheidend, dass ^1H -Kerne in einer unterschiedlichen chemischen Umgebung auch verschiedene Resonanzfrequenzen aufweisen. Dies ist bei der NMR-Spektroskopie gegeben, da die Protonen in chemischen Verbindungen von den Elektronen und anderen Atomen der Moleküle umgeben sind, woraus ein entgegengerichtetes Magnetfeld resultiert [57]. Dies wird als Abschirmung σ bezeichnet, da dadurch das am Kernort wirkende effektive Magnetfeld B_{eff} stets verringert wird (Gleichung 5) [57]. Somit wird B_{eff} umso kleiner, je größer die Abschirmung σ ist und daraus ergibt sich, dass bei konstantem B_0 -Feld die Frequenz ν abnehmen muss [58].

$$B_{\text{eff}} = (1 - \sigma) B_0 \quad (\text{Gleichung 5})$$

Die Resonanzfrequenz ist zum magnetischen Feld B_0 und zum Abschirmungsterm $(1 - \sigma)$ proportional [63]. Da die magnetische Resonanz mit den Messbedingungen (magnetisches Feld) verknüpft ist, handelt es sich um keine spezifische kerneigene Größe [58]. Um dennoch die NMR-Spektren untereinander vergleichen zu können, wird zunächst eine Frequenzdifferenz zwischen Substanz und einer Referenzsubstanz (meist Tetramethylsilan) gemessen und eine dimensionslose Größe δ , die chemische Verschiebung, eingeführt (Gleichung 6) [57]. Auf dieser Proportionalitätsbeziehung zwischen magnetischem Feld und der magnetischen Resonanz begründen sich die Auflösungsunterschiede zwischen den einzelnen NMR-Geräten mit unterschiedlichen Feldstärken. Bei einem 80 MHz-Gerät beträgt die Differenz von $\Delta\delta = 1$ ppm 80 Hz und zum Vergleich bei einem 500 MHz-Gerät bereits 500 Hz (siehe Gleichung 6) [62, 63].

$$\delta_{\text{Substanz}} [\text{ppm}] = \frac{\nu_{\text{Substanz}} - \nu_{\text{Referenz}} [\text{Hz}]}{\nu_{\text{Spektrometer}} [\text{MHz}]} \quad (\text{Gleichung 6})$$

Die charakteristische Größe der chemischen Verschiebung, aber auch die Signalform, sind zwei wichtige Informationen, welche für die qualitative Analyse von Verbindungen herangezogen werden. Neben diesen Informationen enthält das NMR-Spektrum eine weitere Information, welche für die quantitative Analyse entscheidend ist. Dabei handelt es sich um die Intensität des gemessenen Signals, welche proportional zur Gesamtzahl der Spins und folglich daraus auch proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe ist [59, 64]. Auf diesem Proportionalitätsverhältnis beruht das Prinzip der quantitativen NMR-Spektroskopie. Im Gegensatz zur qualitativen NMR-Spektroskopie ist die quantitative NMR-Spektroskopie erst in den letzten zehn Jahren in den Fokus der quantitativen Analytik gerückt. Die Methode wird bereits vermehrt auf den Gebieten der Metabolitenforschung, Forensik, Drogen- und Umwelttoxizität eingesetzt, da sie eine präzise Methode mit hoher Genauigkeit darstellt [65–67]. Definitionsgemäß handelt es sich bei der quantitativen NMR-Spektroskopie (qNMR) um eine spezielle Anwendung der ^1H -NMR-Spektroskopie an flüssigen Proben [59, 65]. Dies impliziert, dass die Analyten in Lösung gebracht werden müssen, wofür standardmäßig deuterierte (^2H) Lösungsmittel verwendet werden. Zum einen besteht der Vorteil von deuterierten Lösungsmitteln darin, dass das Signal zum Stabilisieren und „locken“ des Magnetfeldes und Systems verwendet wird [68]. Zum anderen wird das Lösungsmittelsignal bis auf die Restprotonen fast vollständig unterdrückt und überlagert oder unterdrückt somit keines der möglichen Analytsignale, wodurch eine geringere Konzentration des Analyten erfasst werden kann [68, 69]. Der Nachteil von deuterierten Lösungsmitteln ist allerdings der Kostenfaktor, da diese im Vergleich zu den nicht-deuterierten Lösungsmitteln wesentlich teurer sind [68]. Daher geht der Trend, welcher aufgrund der Weiterentwicklung der NMR-Spektrometer möglich ist, in letzter Zeit vermehrt in Richtung sogenannter NoD-Experimente, bei denen anstatt der deuterierten Lösungsmittel die nicht-deuterierte Variante verwendet werden kann [68, 70]. Für beide Varianten, ob mit deuterierten oder nicht-deuterierten Lösungsmitteln, gilt, dass die Analyten vollständig gelöst vorliegen müssen, damit eine quantitative Analyse möglich ist. Bezogen auf die MP-Analytik mittels qNMR-Spektroskopie bedeutet dies, dass auch die MP-Partikel in einem geeigneten Lösungsmittel vollständig gelöst vorliegen müssen. In der Literatur sind bereits einige Lösungsmittel beschrieben, in denen sich verschiedenste Polymere lösen, die daher auch mittels ^1H -NMR-Spektroskopie identifiziert werden konnten [71].

Motivation und Zielsetzung

Mikroplastik ist global präsent und wird aufgrund der steigenden Plastikproduktion sowie seiner Langlebigkeit auch noch lange Zeit in der Umwelt verweilen. Die genauen Eintragswege, Effekte und Auswirkungen von MP auf die Umwelt sind noch nicht hinreichend geklärt. Um diese Wissenslücken zu minimieren ist es wichtig, eine Vergleichbarkeit und Vereinheitlichung von Forschungsergebnissen zu gewährleisten [72]. Dies wird neben der uneinheitlichen und teilweise sehr zeitintensiven Probenvorbereitung, welche nicht immer alle Polymertypen simultan erfasst, sowie durch uneinheitliche MP-Konzentrationsangaben erschwert oder sogar unmöglich gemacht. Es wird zunehmend darauf hingewiesen, dass eine massenbasierte MP-Konzentrationsangabe für die Vereinheitlichung der Messergebnisse genauso oder sogar wichtiger als die Auszählmethode ist [2, 33, 47]. Des Weiteren ist in diesem Zusammenhang die Entwicklung einer oder mehrerer Routineanalytiken wichtig, da so schnell größere Datenmengen erfasst und somit die MP-Verteilung hinsichtlich zeitlicher und räumlicher Ausbreitung besser untersucht werden kann [47]. Als Forschungsschwerpunkt wird in vielen Reviews oder auch in der WHO Studie „Microplastics in drinking-water“ die MP-Analytik im Zusammenhang mit dem Fehlen von qualitätsgesicherten Methoden hervorgehoben [47, 52, 72–74]. Das Ziel sollte daher eine kostengünstige und zeitsparende Probenvorbereitung von verschiedenen Umweltmatrices in marinen oder limnischen Systemen, sowie die Standardisierung und Validierung von Methoden für die Identifizierung und Quantifizierung von MP sein, um eine Vergleichbarkeit der Studien zu gewährleisten [41, 47, 72].

Auf dieser Grundlage sollte im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine alternative Identifizierungs- sowie Quantifizierungsmethode von MP mittels quantitativer $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie entwickelt werden. Das Ziel dieser Arbeit war daher die Entwicklung, Validierung und Optimierung einer MP-Analytik mittels qNMR, welche eine schnelle, größenunabhängige, massenbasierte Quantifizierung von MP in Umweltmatrices ermöglichen soll. Die Methode sollte für solche MP-Polymerarten entwickelt und validiert werden, welche hauptsächlich in der Umwelt vorkommen. Koelmans et al. haben in einem Review aus 32 globalen Studien eine Abstufung der am häufigsten vorkommen MP-Polymertypen in aquatischen Gewässern erstellt. Am häufigsten werden $\text{PE} \approx \text{PP} > \text{PS} > \text{PVC} > \text{PET} > \text{PA}$ und Polymere mit Acryleinheiten detektiert [72]. Daher sollte der Fokus der Arbeit auf diese Polymertypen gelegt werden.

Konzept und Aufbau der Arbeit

Der erste Teil dieser Arbeit enthält eine allgemeine Einleitung (Kapitel 1). Darauf folgt der kumulative Teil, welcher die veröffentlichten Fachartikel (Kapitel 2, 3 & 5) und den Artikel in Bearbeitung (Kapitel 4) beinhaltet. Abschließend erfolgt eine allgemeine Diskussion der Ergebnisse des kumulativen Teils dieser Arbeit sowie ein Ausblick (Kapitel 6). Das Konzept und der Aufbau des kumulativen Teils sind schematisch in Abbildung 2 dargestellt.

Im einleitenden Teil (**Kapitel 1**) wird das Thema Mikroplastik in der Umwelt und die aktuellen Analysemethoden behandelt. Dabei wird auf den aktuellen Stand der Forschung sowie die bestehenden Probleme in der MP-Analytik eingegangen und die Grundlagen der ^1H -qNMR Spektroskopie als mögliche alternative MP-Analytik vorgestellt. Im kumulativen Teil wird die übergeordnete Fragestellung, ob sich die qNMR-Spektroskopie für die MP-Analyse eignet, betrachtet. Dazu wird in den **Kapiteln 2 & 3** geklärt, ob eine Probenvorbereitung, also das Lösen der verschiedenen MP-Arten in einem geeigneten deuterierten Lösungsmittel, und somit die Analyse von MP mittels qNMR grundsätzlich möglich ist. **Kapitel 2 & 3** behandeln ebenso die weiterführende Frage, ob eine Identifizierung und Quantifizierung von MP mittels qNMR zu akzeptablen Ergebnissen im Hinblick auf Umweltuntersuchungen führt. Im Sinne eines proof-of-concept wird zunächst in **Kapitel 2** für LDPE, PET und PS eine Methodvalidierung unter Berücksichtigung der Richtigkeit, Präzision, Linearität sowie Nachweisgrenzen der Methode mittels Modellproben durchgeführt. In **Kapitel 3** wird die Methodvalidierung auf drei weitere Polymerarten (PVC, ABS und PA) ausgeweitet um die Breite der Anwendbarkeit der Methode für die am häufigsten detektierten MP-Polymerarten zu unterstreichen. Im Hinblick auf eine Anwendung als Routineanalytik wird am Beispiel von PET, PVC und PS in **Kapitel 4** überprüft, ob die MP-Methode auch im Hinblick auf Kosteneffizienz weiterentwickelt werden kann. Dazu wird getestet, ob die kostengünstigeren, niedrigauflösenden Benchtop-Geräte sowie NoD-Experimente, welche ohne die kostenintensiveren, deuterierten Lösungsmittel auskommen, vergleichbare Ergebnisse liefern. Des Weiteren wird in **Kapitel 5** die Anwendbarkeit der Methode auf Umweltproben untersucht. Am Beispiel von PET-Fasern wird eine Probenvorbereitung speziell für die qNMR-Analytik von MP-Partikeln entwickelt, optimiert und validiert. Außerdem sollte die Frage geklärt werden, ob resultierende Matrixeffekte von Umweltmodellproben (Sediment-, Wasser- und Biota-Matrix) die massenbasierte Quantifizierung von MP in Umweltproben stören.

Abschließend soll im letzten Teil dieser Arbeit die übergeordnete Fragestellung, ob sich die qNMR-Spektroskopie für die MP-Analyse eignet, geklärt werden. Dazu werden die Ergebnisse aus Kapitel 2-5 zusammenfassend in einer Gesamtdiskussion betrachtet und zusätzlich erste Erkenntnisse bezüglich einer simultanen Bestimmung mehrerer Polymerarten aus einer Probe vorgestellt, bevor nach einer Schlussfolgerung ein Ausblick auf weitere Entwicklungsmöglichkeiten des Forschungsgebietes erfolgt (**Kapitel 6**).

MP-Analyse mittels qNMR?

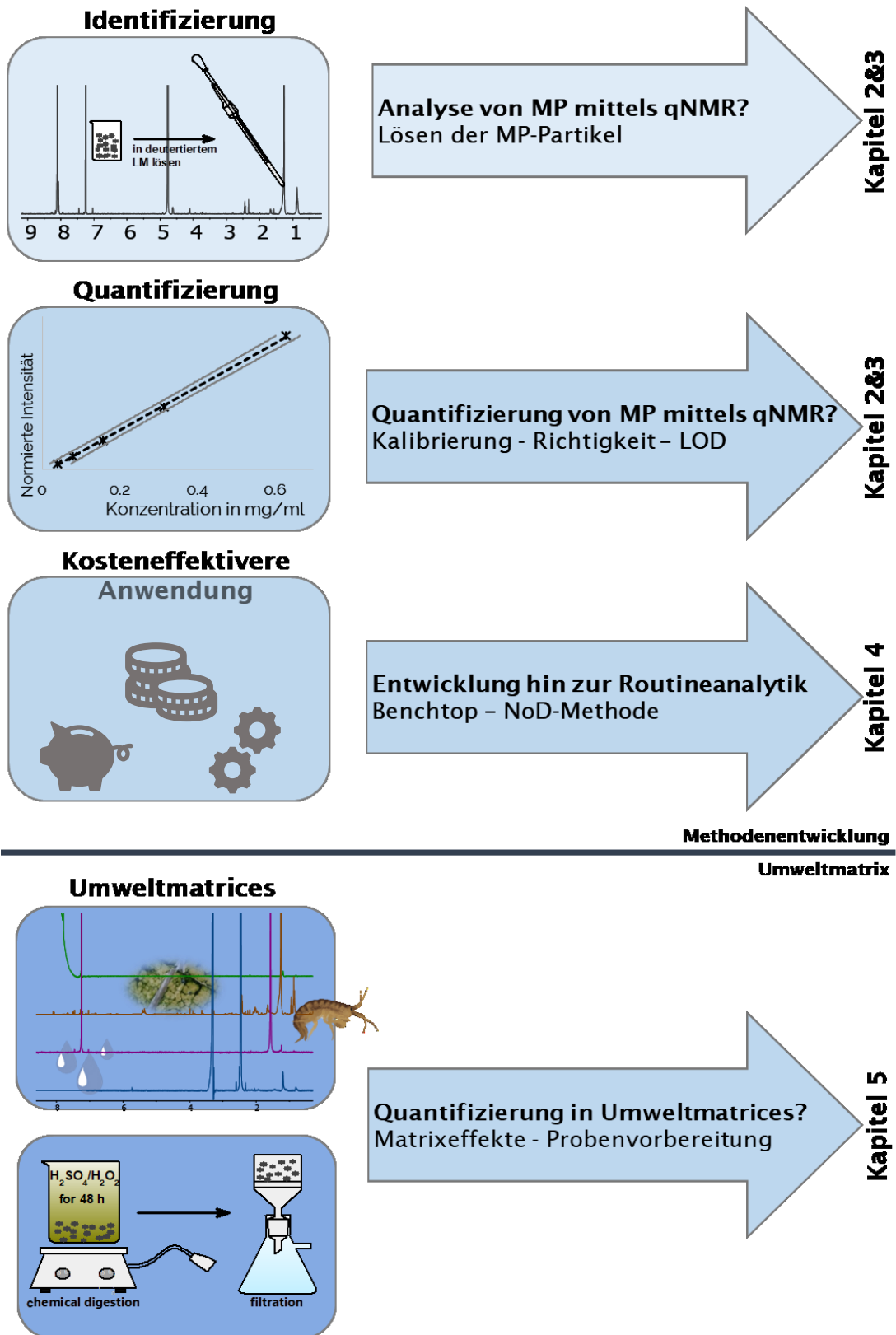


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Konzepts und Aufbaus des kumulativen Teils der Arbeit.

Kapitel 2

The first application of quantitative ^1H NMR spectroscopy as a simple and fast method of identification and quantification of microplastic particles (PE, PET, and PS)

Dieses Kapitel soll im Sinne eines proof-of-concept die Frage klären, ob eine Identifizierung und Quantifizierung von Mikroplastik mittels qNMR-Spektroskopie überhaupt möglich ist. Dazu wurden zunächst drei Polymerarten LDPE, PET und PS getestet. Ein entscheidender Schritt bestand darin, ein geeignetes Lösungsmittel für die drei Polymertypen zu finden. Mittels Kalibriergeradenmethode und Modellproben erfolgte eine Methodvalidierung hinsichtlich Richtigkeit, Präzision, Linearität und Nachweisgrenze der verschiedenen Polymere.

Dieses Kapitel basiert auf der folgenden Veröffentlichung, welche durch meinen Doktorvater mitverfasst wurde. Die bibliografischen Details einschließlich aller Autoren sind:

Peez N., Janiska M.-C., Imhof W. 2019. The first application of quantitative ^1H NMR spectroscopy as a simple and fast method of identification and quantification of microplastic particles (PE, PET, and PS). *Anal. Bioanal. Chem.*, 411, 823-833. Paper in Forefront.

Mein Beitrag zu diesem Artikel beinhaltet die Planung und Durchführung der Experimente. Im Rahmen einer Masterarbeit wurden die LDPE-Experimente mit Frau Janiska zusammen durchgeführt. Des Weiteren erfolgten eigenständig die Literaturrecherche, Auswertung und Diskussion der Ergebnisse, Erstellung des Manuskripts sowie der Tabellen und Abbildungen. Eine vollständige Kopie des Fachartikels ist diesem Kapitel beigelegt. Der Eigenanteil beträgt ca. 90 %.

Note by the author: This chapter is based on the following journal publication. Due to copyright issues, the text of the chapter was replaced by the reference information. Thus, the interested reader is kindly asked to read the published paper via the following reference: DOI: 10.1007/s00216-018-1510-z

Abstract:

Microplastic (0.001–5 mm) is a serious problem for the environment and is globally distributed. It has been detected in marine and limnic waters as well as in organisms. Until now, microplastic (MP) particles in environmental samples are mainly identified by Fourier transform infrared (FTIR) or Raman spectroscopy. Usually, for quantitative detection, time-consuming counting of MP particles in the sample is described. Therefore, a great need for research in the field of size-independent quantitative analysis of MP particles is evident. We present herein the application of quantitative ^1H NMR spectroscopy (qNMR) as a new method for the qualitative and quantitative analysis of MP in solution. Polyethylene (PE) granules with a size distribution of $< 300 \mu\text{m}$, polyethylene terephthalate (PET) fibers with a length of approx. $500 \mu\text{m}$, and polystyrene (PS) beads with a size distribution of 0.5–1 mm were qualitatively and quantitatively analyzed as prototypical MP particles in model samples using a calibration curve method. As internal standard, the residual proton signal of the deuterated solvent was used. For all polymer types, linearity of the method is $> 0.994 R^2$, and the precision is in the range of 99.4–99.9%. The limit of detection (LOD) is in the range of 19–21 $\mu\text{g/mL}$ and the limit of the quantification (LOQ) is in the range of 74–85 mg/mL , so the LOD and LOQ are observed in an environmentally relevant size. In this work, we therefore show that size-independent qualitative and quantitative determination of microplastic particles in model samples using qNMR is possible.

Kapitel 3

Quantitative $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy as an Efficient Method for Identification and Quantification of PVC, ABS and PA Microparticles

Dieses Kapitel soll die breite Anwendbarkeit der Methode unterstreichen, indem die Frage geklärt wird, ob auch eine Identifizierung und Quantifizierung von PVC, ABS und PA Mikropartikeln möglich ist. Ein entscheidender Schritt bestand darin, ein geeignetes Lösungsmittel für die drei Polymertypen zu finden. Mittels Kalibriergeradenmethode und Modellproben erfolgte eine Methodvalidierung hinsichtlich Richtigkeit, Präzision, Linearität und Nachweisgrenze der verschiedenen Polymere.

Dieses Kapitel basiert auf der folgenden Veröffentlichung, welche durch meinen Doktorvater mitverfasst wurde. Die bibliografischen Details einschließlich aller Autoren sind:

Peez N., Imhof W. 2020. Quantitative $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy as an Efficient Method for Identification and Quantification of PVC, ABS and PA Microparticles. *Analyst*, 145, 5363-5371.

Mein Beitrag zu diesem Artikel beinhaltet die Planung und Durchführung der Experimente. Des Weiteren erfolgten eigenständig die Literaturrecherche, Auswertung und Diskussion der Ergebnisse, Erstellung des Manuskripts sowie der Tabellen und Abbildungen. Eine vollständige Kopie des Fachartikels ist diesem Kapitel beigelegt. Der Eigenanteil beträgt ca. 95 %.

Note by the author: This chapter is based on the following journal publication. Due to copyright issues, the text of the chapter was replaced by the reference information. Thus, the interested reader is kindly asked to read the published paper via the following reference:
DOI: 10.1039/D0AN00879F

Abstract:

As an extension of the new, size-independent, fast and easy quantitative $^1\text{H-NMR}$ (qNMR) spectroscopy as an alternative method for microplastic (MP) analysis we herein present the possibility to analyze three environmentally highly relevant MP particles by qNMR spectroscopy. The investigations cover polyvinyl chloride (PVC) powder with a size $<50 \mu\text{m}$, acrylonitrile butadiene styrene (ABS) granules with a size distribution of $100\text{--}300 \mu\text{m}$, and polyamide (PA) fibres with a length of approx. $500 \mu\text{m}$ and a diameter of approx. $20\text{--}30 \mu\text{m}$. For quantification, the integration method or the peak-fitting method combined with the calibration curve method was used. Linearity above $0.99R^2$, precision of $99.1\text{--}99.9\%$ and accuracy of $95.6\text{--}110\%$ for all three polymer types demonstrate the high analytical potential of the method. Moreover, the limit of detection ($40\text{--}84 \mu\text{g mL}^{-1}$) for all polymer types is in the lower environmentally relevant range.

Kapitel 4

Applicable and cost-efficient microplastic analysis by quantitative ^1H -NMR-Spectroscopy using benchtop NMR and NoD methods

Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung als Routineanalytik wird in diesem Kapitel am Beispiel von PET, PVC und PS überprüft, ob die MP-Methode auch kosteneffizienter als in den Kapiteln 2 & 3 beschrieben gestaltet werden kann. Dazu wurde getestet, ob die kostengünstigeren, niedrigauflösenden Benchtop-Geräte sowie NoD-Experimente, welche ohne die kostenintensiveren, deuterierten Lösungsmittel auskommen, vergleichbare Ergebnisse liefern.

Dieses Kapitel basiert auf folgendem Manuskript, welches durch meinen Doktorvater und Mitarbeiter der Firma Magritek mitverfasst wurde. Die bibliografischen Details einschließlich aller Autoren sind:

Peez N., Rinesch T., Kolz J., Imhof W. 2020. Applicable and cost-efficient microplastic analysis by quantitative ^1H -NMR-Spectroscopy using benchtop NMR and NoD methods. Manuskript in Überarbeitung für *Magn. Reson. Chem.*

Mein Beitrag zu diesem Artikel beinhaltet die Planung der Benchtop- und NoD-Experimente sowie die Durchführung der NoD-Experimente. Von der Firma Magritek wurden die Benchtop-Experimente durchgeführt und die Rohdaten zur Verfügung gestellt. Des Weiteren erfolgten eigenständig die Literaturrecherche, Auswertung und Diskussion der Ergebnisse, Erstellung des Manuskripts sowie der Tabellen und Abbildungen. Eine vollständige Kopie des Fachartikels ist diesem Kapitel beigelegt. Der Eigenanteil beträgt ca. 80 %.

Applicable and cost-efficient microplastic analysis by quantitative ^1H -NMR spectroscopy using benchtop NMR and NoD methods

Nadine Peez ^a, Torsten Rinesch ^b, Jürgen Kolz ^b and Wolfgang Imhof ^{*a}

^a Institute of Integrated Natural Sciences, University Koblenz-Landau, Universitätsstr. 1, 56070 Koblenz, Germany.

^b Magritek GmbH, Philipsstr. 8, 52068 Aachen, Germany.

Abstract: The particular entry channels and physiological effects of microplastics (MP) on the environment and humans are not yet sufficiently clear. To better understand these risks of MP several gaps in research have to be closed. However, this requires methods for high sample throughput in MP analysis and quantification that are cost and time-saving compared to established methods. The use of low-field NMR-spectrometers (benchtop NMR) which are considerably more cost-effective in terms of purchase and operating costs compared to high-field NMR-spectrometers and the use of non-deuterated solvents (NoD method) lead to an applicable and cost-efficient method for mass-based MP analysis. For benchtop NMR, limit of detection for PVC, PET, and PS are in the same range as if a high-field NMR-spectrometer was used for quantification (6 - 38 $\mu\text{g/mL}$). Moreover, it is shown for the first time that quantification of PET, PVC and PS is also possible using NoD methods. In addition, dichloromethane is successfully introduced as an internal standard instead of the residual solvent signal otherwise used for MP analysis by qNMR. Detection limits for NoD methods are in the same range as if deuterated solvents were used (3 – 43 $\mu\text{g/mL}$), and are therefore in the lower environmentally relevant range.

Keywords: NMR, ^1H , microplastics, NoD method, Benchtop NMR, quantification, LOD, qNMR

Introduction

Microplastic (MP) is globally present and has already been detected in all habitats whether marine, aquatic systems like rivers, sediments, soils or organisms even in the Arctic, Antarctica or in drinking waters.¹ This diversity in occurrence of MP particles is favored by its small size (1 μm – 1 mm small MP, 1 – 5 mm large MP). Due to increasing plastic production as well as the persistence of MP particles, they are proposed to remain in the environment for a long time.² The particular entry channels and physiological effects of MP on the environment and humans are not yet sufficiently clear. To better understand the risks of MP - whether due to its chemical nature or particle size and shape - for the environment and human health, several gaps in research have to be closed.³⁻⁵ However, this requires methods in MP analysis, which can handle high sample throughput.⁶ Therefore, cost and time-saving MP analysis methods are necessary. Among many other studies the WHO report “Microplastics in drinking-water” highlights MP analysis as a priority research objective with regard to the lack of quality-assured

analytical methods.^{3,4,6-8} Only recently, Primpke *et al.* published a review article focussing on a critical assessment of analytical methods for the harmonized and cost-efficient analysis of microplastics.⁵ In this review it is emphasized that in the near future fast and cost-effective identification and quantification methods for MP analysis are necessary.⁵ This is underlined with the example of an administrative regulation for the control of drinking water in California (United States of America) until July 1st, 2021.⁵ Quantification methods for MP particles can be divided into two main groups. On the one hand, there are counting methods including spectroscopic methods such as FTIR or Raman. The main advantage of this methods is, that they are non-destructive and therefore particle sizes can be measured. However, there is also the disadvantage, that the measurement can take up to several days.^{5,6} On the other hand, there are mass-based MP quantification methods such as the increasingly used thermoanalytical methods. One of the most mentioned disadvantages of mass-based methods is the loss of size information of MP particles. Especially for thermoanalytical methods another disadvantage is the fact, that it represents a destructive method as the samples are evaporated.^{8,9} Nevertheless, the thermoanalytical method has the advantage over spectroscopic methods in the fact that measurements take only between 30 min and 2 h.^{5,10} Moreover, one of the biggest advantages of mass-based MP methods is, that MP concentrations can be given as mg per liter or gram of the environmental sample. This is often listed as a more useful specification of the concentration and thus making different studies more comparable.^{6,11}

On this basis, we have successfully introduced quantitative ¹H-NMR spectroscopy (qNMR) as a new mass-based MP quantification method.¹²⁻¹⁴ The high accuracy and low error-proneness of qNMR in the identification and quantification of MP particles (low-density polyethylene (LDPE), polyethylene terephthalate (PET), polystyrene (PS), polyvinylchloride (PVC), acrylonitrile-butadiene-styrene (ABS) and polyamide 6.6 (PA)), as our preliminary work has shown, clearly raises the question of further developing this method into a routinely applicable analytical technique.^{12,14} This approach seems to be promising due to short measurement times (< 5min per measurement) and the method being largely insensitive to environmental matrix effects.^{13,14} Nevertheless, with regard to the potential application of qNMR methods as a routine analytical technique cost-efficiency still is a major problem. This was already addressed in the before-mentioned review article by Primpke *et al.* who mentioned the costs for deuterated solvents as well as the high purchase and operating costs for high-field NMR devices (300-1000 MHz) as a potential problem.⁵ The second and much more serious economic problem could be solved if transfer of the method to low-field devices (30-100 MHz) was possible. It has already been described that characterization of polymers (polyisoprene, polystyrene-isoprene-styrene and polystyrene-butadiene-styrene) by NMR-spectroscopy is also suitable using low-field instruments.¹⁵⁻¹⁷ The big advantage of low-field NMR-spectrometers is the lower purchase and low operation costs as no liquid helium and nitrogen is needed to cool the magnet.^{15,16} Major disadvantages are the intrinsically diminished sensitivity and spectral resolution due to lower magnetic field strength compared to high-field NMR-spectrometer.^{15,16} Another way to save costs can be achieved by using non-deuterated solvents instead of the

commonly used more expensive deuterated solvents. The so-called NoD-method is often applied for reaction monitoring since reaction mixtures can be measured directly without time-consuming sample preparation.^{18,19} In addition, Gama *et al.* described the method as simple, fast and powerful for the analysis of illegal drugs.¹⁸ To the best of our knowledge neither the NoD-method nor low-field experiments in connection with the quantitative analysis of MP particles by qNMR spectroscopy have yet been described.

Therefore, we herein consider the two main points for a more effective application of ¹H-qNMR spectroscopy for MP analysis using PET, PVC and PS as examples for MP particles: i) We present for the first time the use of the much cheaper non-deuterated solvents for solving and measuring MP particles using a high-field-spectrometer (NoD method). We will show that for PET, PVC and PS the NoD method is as accurate as analogous measurements in deuterated solvents. ii) As a second option we want to present the low-field-spectrometer (benchtop NMR) as a cost-effective alternative due to the lower purchase and operating costs. We present for the first time limit of detections of PET, PVC and PS using benchtop NMR focusing especially on signal-to-noise-ratio and measuring time compared to high-field spectrometers and we are able to show that the combination of benchtop NMR and NoD methods is also possible using PET as an example.

Experimental

MP particles

The following MP particles were used as model MPs: PVC powder with a size distribution of < 50 μm (nominal particle size 13-17 μm) acquired from Werth-Metall, Germany; PS granules with a size distribution of 100-300 μm by CARAT GmbH, Germany; PET fibers with a fiber length of approx. 500 μm and a diameter of approx. 10-20 μm, produced by Schwarzwälder-Textil-Werke, Germany.

Sample Preparation

High-field-¹H-NMR

NoD-Method:

PET fibers were dissolved in CHCl₃ (> 99 %, for synthesis) and trifluoroacetic acid (TFA) from Carl ROTH; PVC particles were solved in DMSO (99.5 % , ≤ 200 ppm H₂O) from (Carl ROTH) or in THF (> 99.5 %, for synthesis) from Carl ROTH; PS granules were solved in THF (> 99.5 %, for synthesis) from Carl ROTH. Starting from a stock solution, five different concentrations of MP particles were prepared for calibration. To prepare the model samples, a defined amount of MP particles was transferred to a glass vessel and dissolved in the appropriate solvent. After dissolving, MP solutions were transferred to 5-mm NMR tubes for ¹H-NMR measurements. To avoid contamination of the samples, all glassware was washed with water, acetone and distilled water and was dried at 60 °C for at least 24 h. During sample preparation, samples were covered whenever possible. In addition, care was taken to close the lab

coat (100% cotton) when working with the samples to avoid contamination with polymer fibers from clothes.

Low-field-¹H-NMR

1D-Method

PET fibers were dissolved in a 4:1 mixture of CDCl₃ (99.95 atom %D + 0.03% TMS) from Deutero and trifluoroacetic acid-*d* (TFA-*d*, 99.5 atom %D) from Sigma Aldrich; PVC particles were dissolved in DMSO-*d*₆ (99.8 atom %D) from Deutero; PS granules were dissolved in CDCl₃ (99.95 atom %D + 0.03% TMS) from Deutero. Starting from a stock solution of 1 mg/mL concentration, three different concentrations (1.0 mg/mL, 0.5 mg/mL and 0.05 mg/mL) were prepared for calibration.

NoD-Method:

PET fibers were dissolved in a 4:1 mixture of CHCl₃ (≥99.8 %) and trifluoroacetic acid (TFA, 99 %) both from Sigma Aldrich. Starting from a stock solution of 1.5 mg/mL concentration, five different concentrations (1.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 0.75 mg/mL, 0.5 mg/mL and 0.25 mg/mL) were prepared for calibration.

Both preparations were done by dilution of the respective stock solution with the appropriate solvent. The MP sample solutions were then transferred to 5-mm NMR tubes for ¹H-NMR measurements. To avoid contamination of the samples, all glassware was washed with water, acetone and distilled water and was dried for at least 24 h. During sample preparation, samples were covered whenever possible. In addition, care was taken to close the lab coat (100% cotton) when working with the samples to avoid contamination with polymer fibers from clothes.

¹H-NMR-Experiments

High-field-¹H-NMR

NoD-Method:

For NoD ¹H-NMR experiments an automated sequence from Jeol® was used in case of high-field NMR experiments. The sequence starts with a 1-scan H-measurement identifying the solvent signal which is suppressed by a WET measurement as the next sequence step.²⁰ The solvent signal is then set as reference. 1D high-field ¹H-NMR experiments were performed on a JEOL® 500 spectrometer with a 500-MHz 5-mm TH ATM Probe head. The following acquisition parameters have been set: spectral width 5 kHz, number of scans 16, number of points 32768, repetition time 7.24 s and measurement time 1.93 min for PET in CHCl₃/TFA, PVC in DMSO or THF and PS in THF at r.t..

Quantification:

FID's were then loaded into the NMR software package MestReNova. Phase correction was performed manually whereas baseline correction was performed with the Whittaker, ablative or Splines Smoother and apodization was set to 0.5 Hz. In the case of the automatic NoD-sequence the signal intensity was normalized using dichloromethane (DCM) as internal standard. Normalization was based on the principle already described by us, except that instead of the residual proton signal, the signal of DCM was used as

reference and internal standard (see equation 1).¹² Therefore 20 μ L of DCM were dissolved in 20 mL of the non-deuterated solvent. It was set as reference to 5.6 ppm in THF, 5.3 ppm in CHCl_3 and 5.7 ppm in DMSO and integrated in the signal range of 5.80 – 5.50 ppm in THF, 5.50 – 5.00 ppm in CHCl_3 and 6.00 – 5.40 ppm in DMSO. For quantification of PET, PVC and PS by NoD-experiments the INT-Method can be used for integration. The following ranges for the respective marker signals were used for quantification: PET in CHCl_3 /TFA (8.25 – 7.90 ppm); PS in THF (7.60 – 6.40 ppm); PVC in DMSO 4.70 – 4.00 ppm) and in THF (4.90 – 4.40 ppm).

$$I_{\text{normalized}} = \frac{I_{\text{MP}} \cdot I_{\text{S}}}{I_{\text{DCM}}} \quad (\text{Equation 1})$$

$I_{\text{normalized}}$	normalized intensity
I_{MP}	intensity of the MP particles in the sample
I_{S}	intensity of the internal standard (DCM)
I_{DCM}	intensity of the DCM signal in the respective sample

For validation of the quantification of MP particles by the calibration curve method, the following parameters were checked: linearity, accuracy, precision, confidence interval, and quantification as well as the detection limit. For this purpose, a 5-point-calibration curve was determined and concentrations were plotted against the normalized integration area and linear regression was calculated with Excel. Linearity was evaluated by checking whether the residuals are normally distributed and using the Mandel test.²¹ Accuracy and precision parameters were determined using three model samples in the corresponding concentration range of the calibration line of the respective MP and each spectrum was integrated three times (including phase correction, baseline correction and integration method). Deviation of the calculated value from the true value indicated the degree of accuracy (bias in %) and standard deviation/mean of the calculated value the precision (RSD in %). Confidence intervals (P=95 %) of the content of the model samples were determined according to DIN38402 standard.²² Limit of detection was estimated on the basis of the signal-to-noise ratio (SNR) with a ratio of 3.^{10,23} The SNR was determined with the function “SNR Calculation” of the MestreNova software.

Low-field-¹H-NMR

1D-Method:

1D low-field-¹H-NMR experiments were performed on a Spinsolve 80 Carbon spectrometer from Magritek® with a ¹H frequency of 80 MHz. For the measurements a standard one-pulse sequence with ¹³C WALTZ decoupling during detection was used. The following acquisition parameters have been used: For PET in CDCl_3 /TFA 4:1: spectral width 5 kHz, number of scans 256, number of points 16384, repetition time 7.0 s and measurement time 29.87 min. For PVC in DMSO-*d*₆: spectral width 5 kHz, number of scans 2048, number of points 16384, repetition time 4.0 s and measurement time 136.52 min. For PS in CDCl_3 : spectral width 5 kHz, number of scans 512, number of points 16384, repetition time 4.0 s and measurement time 34.13 min.

NoD-Method:

The low-field-1D-¹H-NMR NoD-experiments on the PET solutions were performed on a Spinsolve 80 Carbon ULTRA spectrometer from Magritek® with a ¹H frequency of 80 MHz. In order to suppress the dominating solvent signal a 1D presaturation sequence was applied. The following acquisition parameters have been used: For PET in CHCl₃/TFA 4:1: spectral width 5 kHz, number of scans 128, number of points 16384, saturation period 2 s, repetition time 10 s and measurement time 21.67 min. All low field ¹H-NMR measurements were performed with the use of ¹³C WALTZ-decoupling.

Quantification:

FID's were loaded into the NMR software package MestReNova and 1 Hz exponential apodization was applied. Phase correction was performed manually whereas baseline correction was performed with a Whittaker Smoothing function.

Due to the design of the Spinsolve benchtop NMR instruments it is not required to change the receiver gain in order to be able to measure concentrations over several orders of magnitude. Hence, the absolute integrals achieved from different samples can be directly compared to each other even in the case that the concentrations between samples vary over a large range. This eliminates the need for an internal standard that compensates for different receiver gain settings. Prior to integration the spectra were precisely referenced to the same chemical shift value. The values for the absolute integrals were then obtained by a sum integration keeping fixed integral ranges for the respective polymer species.

(PET 8.50 – 7.75 ppm; PS 7.18 – 6.00 ppm; PVC 5.00 – 4.10 ppm).

The Limit of detection (LOD) was estimated on the basis of the signal-to-noise ratio (SNR) with a ratio of 3.^{10,23} The SNR was determined with the function “SNR Calculation” of the MestReNova software.

Results and Discussion

High-Field NoD-Method

A more cost-effective qNMR-method for MP analysis is provided by the use of non-deuterated solvents instead of deuterated solvents. This is possible by so-called NoD-experiments, which can be performed by means of pre-installed automatic sequences of some manufacturers. The following points have to be considered for NoD-experiments using the qNMR method for MP quantification: (i) As with deuterated solvents, MP particles have to be completely dissolved in the corresponding non-deuterated solvent at benign temperatures (approximately b.p. – 50°C). Moreover, care must be taken that the NMR signal of the solvent does not overlap with the analyte signal which is used for quantification. (ii) Due to solvent suppression, the solvent signal cannot be used as an internal standard to compensate different receiver gain settings and therefore an alternative standard has to be identified. The most important basis for this decision is the signal range of the internal standard since no signal overlapping with the polymer signals used for quantification should occur. Care should also be taken to ensure that the internal standard is completely soluble in the solvent, cost-effective and non-hygroscopic. On

this basis, we decided to use dichloromethane (DCM) as an internal standard for NoD-experiments for MP analysis. DCM shows only one NMR signal with a chemical shift between 5.3 ppm (in CDCl_3) and 5.8 ppm (in $\text{DMSO-}d_6$).²⁴ Therefore, we did not expect interfering signal overlay for MP particles of the following polymer types: PET in CHCl_3/TFA 4:1, PS in CHCl_3 , PVC in DMSO (for more information see Peez *et al.* ^{12,14}). (iii) Evaluation of NoD-spectra requires one additional work step because the spectrometer is not locked during the measurement and therefore signals can be shifted to higher or lower field. The internal standard should therefore be chosen as reference and should always be set consistently to the selected ppm value. For MP analysis we set DCM as the reference to a chemical shift of 5.6 ppm in THF, 5.3 ppm in CHCl_3 and 5.7 ppm in DMSO.

When selecting a solvent for the respective polymer type for the NoD method, it must be taken into account, that the solvent signal will show a broader shape and that quantification may not be possible in this range due to signal suppression. For the NoD method, the same experimental conditions can be chosen for PET and PVC as for the 1D method (Figures 1a and 1b). Both solvent signals (CHCl_3 and DMSO) are still visible even after solvent suppression which is generated from the automated NoD sequence. The signal width of CHCl_3 using the 1D method (residual CHCl_3 in CDCl_3) is observed to 7.3 – 7.2 ppm and is broadened to 7.5 – 7.1 ppm) using the NoD method which therefore has no influence for the quantification of PET. DMSO shows a signal range of 2.5 – 2.4 ppm for the 1D method and of 2.7 – 2.3 ppm for the NoD method. However, this again does not influence the quantification of PVC using qNMR as shown in Figure 1b, which clearly demonstrates that the important signals (PVC and IS) are baseline separated and therefore the sum integration method for quantification can be used. Nevertheless, due to the lower dissolving properties of DMSO for PVC, we have also considered THF as a non-deuterated solvent for PVC. As shown in Figure 1c, both THF signals (4.0 – 3.5 ppm and 2.0 – 1.8 ppm), as well as the water signal (2.8 – 2.7 ppm), are baseline separated from the PVC and IS signal which should be used for quantification. Thus, the broader THF signals also should not affect quantification and the sum integration method can be used. In contrast, the broadened CHCl_3 signal would have an influence on the quantification of PS in CHCl_3 using the NoD method because the signals for PS and CHCl_3 are close even if the 1D method is used and signal overlaps are to be expected using the NoD method with CHCl_3 as the solvent (see Peez *et al.*).¹² Therefore, we decided to use THF as a solvent for the NoD method for PS. Figure 1d shows that also in the case of PS both THF signals (3.8 ppm and 1.9 ppm) as well as the water signal do not interfere with the PS and IS signals which are important for quantification.

Quantification - Method Validation

As we have just shown we were able to identify suitable solvents for the application of NoD methods for the quantification of PET, PVC and PS using the sum integration method. For this measurement we used the PET signal range of 8.25 – 7.90 ppm in CHCl_3 (in comparison 8.20 – 8.00 ppm for the 1D method), the PVC signal range of 4.70 – 4.00 ppm in DMSO or 4.90 – 4.40 ppm in THF (in comparison 4.70 – 4.05 ppm for the 1D method) and the PS signal range of 7.60 – 6.40 ppm in THF (in comparison 7.20 – 6.20 for the 1D method in CDCl_3). Thus the signal ranges hardly differ, except

for the signal shift of PS due to the different solvents used. In the following, we present the results of method validation for the NoD experiments. First of all, we checked if DCM is suitable as an internal standard and compared the 5-point calibration lines with and without internal standard in the concentration range of 0.2-1.5 mg/mL. The results clearly show that an internal standard is necessary due to the fact that with non-normalized data no linearity of the calibration line is given (see supporting information S2). This should be due to the automatic NoD sequence and the automatic receiver gain setting. However, if DCM is used as an internal standard, the residuals are normally distributed and the linearity can be taken as given since R^2 is above 0.995 (Figure 2 and supporting information S2). This corresponds to our expectations, since we have already described that the higher linearities of the calibration lines the more accurate and precise results are obtained by means of normalization.¹² Nevertheless, this has no influence on the limit of detection (LOD) which was calculated using the signal-to-noise ratio (SNR) of 3. LOD for 1D-experiments was estimated in a range of 1 – 84 $\mu\text{g/mL}$ and for NoD-experiments in a range of 3 – 78 $\mu\text{g/mL}$, which means that the LOD is in the lower environmentally relevant range (Tables 2).¹² Moreover, the NoD method has no significant influence on accuracy and precision of the quantification of the model samples. Table 1 gives the data of quantitative MP analysis using DCM as an internal standard for the NoD method. True values with the error as weighing error, calculated values with the error as confidence interval (CI), and the corresponding accuracy in % and precision in % are listed. Accuracy is between 94.3 – 111 % for all three polymer types and thus there is no significant difference to the 1D experiments (94.1 – 110 %). Also, precision does not differ in NoD experiments (99.2 – 99.9 %) with respect to 1D experiments (99.6 – 99.9 %).^{12,14} Finally, we took a closer look at the two non-deuterated solvents for PVC. By comparison of the PVC values in DMSO and THF, it is noticeable that the results for THF are more accurate (accuracy in THF is in the range of 96.5-105 % and in DMSO in the range of 102-111 %). Moreover, the LOD for PVC in THF (43 $\mu\text{g/mL}$) is lower than for PVC in DMSO (78 $\mu\text{g/mL}$). The last point to mention is the much better solubility of PVC in THF. On this basis, we recommend using THF as the more appropriate solvent for the quantification of PVC by NoD experiments.

NoD experiments are therefore particularly worthwhile if MP particles have to be dissolved in expensive deuterated solvent such as tetrahydrofuran (THF). NMR measurements require approx. 1.0 mL of the solvent to dissolve the sample, transfer the analyte solution into the NMR tube and reaching a sufficient filling level for the measurement. Thus, the cost difference between a NoD and 1D experiment in chloroform would not be highly significant (0.27 € for 1D and 0.10 € for NoD) but already using DMSO causes a potential cost saving of 1 € per measurement. The difference gets dramatic for the use of THF, as up to 10 € can be saved per measurement (for more information see supporting information S1). These considerations are particularly important with regard to environmental studies which cause a high sample throughput.

Benchtop-NMR

A crucial point to consider in terms of cost efficiency and applicability of MP analysis by qNMR-spectroscopy concerns the NMR spectrometer itself. As already mentioned in the introduction, a distinction is made between two field strength categories: The low-cost low-field spectrometers (benchtop NMR) and the expensive high-field spectrometers. The magnetic field strength of NMR devices impact the sensitivity as well as the the chemical shift spreading of the signals (in ppm). Exemplarily, 1 ppm on a 80 MHz system covers 80 Hz compared to 500 Hz on the utilized 500 MHz high-field system²⁵. In the following, we present results which we used to examine to what extent this affects identification and quantification of MP using the qNMR-method. We compare the results which were recorded on an 80 MHz spectrometer, as an example for a low-field spectrometer, and on a 500 MHz spectrometer, as an example for a high-field spectrometer.

For identification of MP particles by qNMR-spectroscopy the signals should be clearly recognizable and should not completely overlap. Figure 3 shows ¹H-NMR spectra of a) PET particles in CDCl₃/TFA 4:1, b) PVC particles in DMSO-*d*₆ and c) PS in CDCl₃ each recorded with a 500 MHz (grey) and with an 80 MHz (black) spectrometer. For the three tested MP polymer types, specific signals with the corresponding chemical shift are observable: For PET the marker signal (used for quantification) in the signal range of 8.34 – 7.82 ppm for low-field (8.13 – 8.07 ppm for high-field) and the second signal in the range of 5.18 – 3.96 ppm (4.83 – 4.56 ppm for high-field). For PS the marker signal in the range of 7.16 – 5.95 ppm for low-field (7.21 – 6.24 ppm for high-field) and the second signal in the range of 2.40 – 0.68 ppm (2.32 – 1.20 ppm for high-field). For PVC the markersignal in the signal range of 4.76 – 4.10 ppm for low-field (4.79 – 4.09 ppm for high-field) and the second signal in the range of 2.29 – 1.67 ppm (2.38 – 1.87 ppm for high-field) (for more information see Peez *et al.*).^{12,14} For PET, it is noticeable that signal broadening is caused by the lower field strength of the benchtop device. On the other hand, signals from PVC and PS are not broadened to that extend. This is due to the fact that MP signals (except for PET) are already of broad shape in high-field devices due to the polymer structure. Hence, the difference between low-field and high-field spectrometers regarding spectral resolution in case of NMR spectra of polymers is not significantly pronounced and therefore identification of the three tested MP polymer types using the benchtop method does not differ from the high-field spectrometer. In contrast, the quantification method differs somewhat. Instead of an internal standard which compensates for different receiver gain settings, the benchtop NMR uses a fixed receiver gain. Thus normalization of the signal intensity, as in the case with high-field measurements is not necessary.

Quantification – Limit of detection

To check applicability of the quantification method using 3-point-calibration lines with concentrations of 0.05, 0.5 and 1.0 mg/mL of the respective polymer types were evaluated (see figure 4). With regression factors above 0.999 linearity of the calibration lines for PET, PVC and PS can be considered as given. Thus, MP quantification by low-field NMR measurements using the calibration-line method is possible. With regard to the environmental relevance of the method, it was important to optimize measurement

parameters for the low-field spectrometer to achieve a LOD similar to that of the high-field spectrometers. Therefore, the number of scans had to be increased to keep LODs in the lower environmental relevant range near 20 μg but, on the other hand, resulting in longer measurement times (see table 2). For PET and PS LODs of 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 22 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively, can be estimated with a corresponding measurement time of approx. 30 min for the low-field spectrometer. In comparison, the measurement time for the high-field device (1D or NoD method) is about 2-3 min to achieve LODs in the same range (see table 2). The measurement time has to be increased to 137 min for PVC to achieve a LOD of 38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ if the low-field spectrometer was to be used. However, it should be noted that the LOD of 38 $\mu\text{g}/\text{mL}$ is better by a factor of 2 compared to the high-field measurements when using DMSO- d_6 as solvent (see table 2). Conversely, the measurement time (number of scans) of PVC using the benchtop-devices could be reduced to 100 min to achieve a comparable LOD of approx. 78 $\mu\text{g}/\text{mL}$ as for the high-field experiments.

Nevertheless, the increased measurement times of the benchtop method are still in the same range as usually applied MP quantification methods like thermoanalytical methods (TED-GC-MS, pyrolysis-GC-MS and TGA-GC-MS) and even faster compared to spectroscopic methods (FTIR and Raman) which take up to one day. For pyrolysis-GC-MS-methods a measurement time of about 30 min is typical^{5,26}, whereas significantly higher measurement times are indicated for TED-GC-MS methods lasting about 2 h per run.¹⁰ Moreover, it has to be kept in mind that David *et al.* describe the necessity for a cleaning run before the TGA-GC-MS measurement leading to measuring times for one MP sample of about 190 min (sample run) plus 90 min (cleaning run).²⁷ Therefore, the comparison with the other MP methods shows that even increased measurement times for the use of low-field spectrometers have no major negative impact on the applicability of the method in terms of time. In summary, we assume that low-field spectrometers (benchtop method) are suitable for quantitative MP analysis with regard to linearity, LOD and measurement times.

Benchtop NoD-Method

In the sense of a proof-of-concept we wanted to check if the combination of the NoD method and low-field experiments is also possible for MP analysis using PET as an example. This combination allows an even more cost-effective method, but of course also combines the difficulties of both methods and increases the demands on the NMR-spectrometer. For these specific measurements, the Spinsolve 80 MHz Ultra system from Magritek was utilized which provides a narrower linewidth specification and enables optimized performance for the utilized presaturation methods compared to Spinsolve 80 MHz system. This results in a better separation of the signals of interest.

Because of this, the analysis applied for the benchtop NoD method does not significantly differ from the one with deuterated solvents. As shown in figure 5a the NoD method has no influence on the peak shape or position of the PET signals compared to the benchtop 1D method and therefore has also no influence on identification. Thus the same marker signal with the corresponding signal range can be used for quantification (8.50 – 7.75 ppm). To check applicability of the quantification method using a calibration line and an external standard a 5-point-calibration line with concentrations of 0.25, 0.5, 0.75, 1.0

and 1.5 mg/mL was recorded (see figure 5b). With a regression factor of $R^2 = 0.9998$ linearity can be considered as given (residues are normally distributed) and therefore the applied method is suitable for MP quantification. This combined method is only interesting for MP analysis if the LOD is in the lower environmentally relevant range as this is the case for the NoD method and the 1D benchtop experiments. With a measuring time of 22 min (128 scans) LOD was estimated to be 10 $\mu\text{g/mL}$. Thus, the combination of NoD method and Benchtop NMR is well suited for MP analysis by qNMR regarding environmentally relevant investigations.

Conclusions

We were able to show for the first time, that quantitative $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy using benchtop devices or non-deuterated solvents provide a good alternative as a cost- and time-effective mass-based MP analysis. For low-field spectrometers, advantages are the lower purchase and operating costs as no nitrogen and helium is consumed and the lower purchase costs compared to high-field spectrometers of about 200 – 1000 k€. Purchase costs of low-field spectrometers even are in the lower purchase range of FTIR (100-125 k€), Raman (100-400 k€) or GC-MS devices (200 – 300 k€).⁵ Nevertheless, LODs between 5-38 $\mu\text{g/mL}$ for the quantification of PET, PVC and PS, respectively, may be obtained with benchtop NMR which are close to those obtained by the use of high-field spectrometers. To achieve these LODs measurement times had to be increased from about 2-3 minutes (for high-field spectrometers) to 30 min for PET and PS and to 140 min for PVC particles. Although this is a disadvantage if comparing low-field to high-field spectrometers, it still is highly competitive if measuring times are compared with other typically used methods for MP quantification like thermoanalytical methods (TED-GC-MS, pyrolysis-GC-MS and TGA-GC-MS) and even more compared to spectroscopic methods (FTIR and Raman) which require measurement times up to one day.

Another important point discussed here is the fact, that usually expensive deuterated solvents are used for NMR-measurements and therefore represent another significant cost factor. An alternative is offered by the NoD-method which allows to use non-deuterated solvents. We were able to achieve linearities with R^2 values well above 0.9955 for PET, PVC and PS. Moreover, with accuracies in a range of 94.3 – 111 % and LODs of 3 $\mu\text{g/mL}$ for PET in CHCl_3/TFA , 43 $\mu\text{g/mL}$ for PVC in THF and 16 $\mu\text{g/mL}$ for PS in THF we were able to show that the NoD method is suitable for quantitative MP analysis providing a significant reduction of costs. Moreover, we were able to show for PET, in the sense of a proof of concept, that even the combination of NoD method and benchtop NMR is suitable for MP analysis.

In summary, qNMR spectroscopy for MP analysis can be divided into three main methods. The 1D method (using deuterated solvents and high-field spectrometer), the NoD method (using non-deuterated solvents and high-field spectrometer) and the benchtop method (using deuterated or non-deuterated solvents and low-field spectrometer). Each of these methods has advantages and disadvantages and based on the analytical question the method should be selected. Of course there is still need for future research, especially for the NoD method and the benchtop devices, since MP

analysis using qNMR-spectroscopy still is in its infancy. Nevertheless, we were able to show that quantitative ^1H -NMR spectroscopy already offers a cost-effective and fast alternative for MP analysis. It allows for large sample throughput and is therefore a highly competitive alternative with regard to established thermoanalytical or spectroscopical techniques as a potential method for routine analysis of environmental samples.

Associated Content

Supporting Information

Comparison of the costs (price per mL) for non-deuterated and deuterated solvents (Table S1) and linearity data for the NoD method of PET, PVC and PS particles (Table S2).

Author information

Author Contributions

The manuscript was written through contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

Acknowledgment

The authors gratefully acknowledge the financial support of the Deutsche Forschungsgemeinschaft (INST 366/6-1) for the purchase of the NMR spectrometer. The authors also acknowledge financial support of the research fund of University Koblenz-Landau.

References

- [1] a) Freshwater Microplastics, *Emerging Environmental Contaminants?* (Eds.: M. Wagner and S. Lambert), SpringerOpen, Cham, Switzerland **2018**; b) M. A. Browne, P. Crump, S. J. Niven, E. Teuten, A. Tonkin, T. Galloway and R. Thompson, *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *9175*, 45. DOI 10.1021/es201811s; c) C. L. Waller, H. J. Griffiths, C. M. Waluda, S. E. Thorpe, I. Loaiza, B. Moreno, C. O. Pacherras and K. A. Hughes, *Science of the Total Environment* **2017**, *220*, 598. DOI 10.1016/j.scitotenv.2017.03.283; d) I. Peecken, S. Primpke, B. Beyer, J. Gütermann, C. Katlein, T. Krumpfen, M. Bergmann, L. Hehemann and G. Gerdt, *Nature communications* **2018**, *1505*, 9. DOI 10.1038/s41467-018-03825-5;
- [2] a) D. K. A. Barnes, F. Galgani, R. C. Thompson and M. Barlaz, *Phil. Trans. R. Soc. B* **2009**, *1985*, 364. DOI 10.1098/rstb.2008.0205; b) N. P. Ivleva, A. C. Wiesheu and R. Niessner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *1720*, 56. DOI 10.1002/anie.201606957;
- [3] Geneva: World Health Organization, Microplastic in drinking-water **2019**, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- [4] A. A. Koelmans, N. H. Mohamed Nor, E. Hermsen, M. Kooi, S. M. Mintenig and J. de France, *Water research* **2019**, *410*, 155. DOI 10.1016/j.watres.2019.02.054.
- [5] S. Primpke, S. H. Christiansen, W. Cowger, H. de Frond, A. Deshpande, M. Fischer, E. Holland, M. Meyns, B. A. O'Donnell, B. Ossmann, M. Pittroff, G. Sarau, B. M. Scholz-Böttcher and K. Wiggin, *Appl Spectrosc* **2020**, *000370282092146*. DOI 10.1177/0003702820921465.
- [6] C. Zarfl, *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *3743*, 411. DOI 10.1007/s00216-019-01763-9.
- [7] Handbuch Angewandte Limnologie, *Mikroplastik in Binnengewässern* (Eds.: M. Hupfer and H. Fischer), Wiley-VCH **2017**.
- [8] W. J. Shim, S. H. Hong and S. E. Eo, *Anal. Methods* **2017**, *1384*, 9. DOI 10.1039/c6ay02558g.
- [9] E. Dümichen, P. Eisentraut, C. G. Bannick, A.-K. Barthel, R. Senz and U. Braun, *Chemosphere* **2017**, *572*, 174. DOI 10.1016/j.chemosphere.2017.02.010.
- [10] E. Dümichen, P. Eisentraut, M. Celina and U. Braun, *J. Chromatogr. A* **2019**, *133*, 1592. DOI 10.1016/j.chroma.2019.01.033.
- [11] a) L. Mai, L.-J. Bao, L. Shi, C. S. Wong and E. Y. Zeng, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2018**, *11319*, 25. DOI 10.1007/s11356-018-1692-0; b) F. Stock, C. Kochleus, B. Bänsch-Baltruschat, N. Brennholt and G. Reifferscheid, *TrAC* **2019**, *84*, 113. DOI 10.1016/j.trac.2019.01.014;
- [12] N. Peez, M.-C. Janiska and W. Imhof, *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *823*, 411. DOI 10.1007/s00216-018-1510-z.
- [13] N. Peez, J. Becker, S. M. Ehlers, M. Fritz, C. B. Fischer, J. H.E. Koop, C. Winkelmann and W. Imhof, *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *7409-7418*, 411. DOI 10.1007/s00216-019-02089-2.
- [14] N. Peez and W. Imhof, *Analyst* **2020**, *5363-5371*, 145.
- [15] M. J. Minkler, J. M. Kim, V. V. Shinde and B. S. Beckingham, *Magnetic resonance in chemistry : MRC* **2020**, *1*. DOI 10.1002/mrc.5022.
- [16] S. B. Chakrapani, M. J. Minkler and B. S. Beckingham, *The Analyst* **2019**, *1679*, 144. DOI 10.1039/c8an01810c.
- [17] K. Singh and B. Blümich, *Polymer* **2018**, *154*, 141. DOI 10.1016/j.polymer.2018.02.057.
- [18] L. A. Gama, B. B. Merlo, V. Lacerda, W. Romão and A. C. Neto, *Microchemical Journal* **2015**, *12*, 118. DOI 10.1016/j.microc.2014.07.014.
- [19] T. R. Hoye, B. M. Eklov, T. D. Ryba, M. Voloshin and L. J. Yao, *Organic Letters* **2004**, *953*, 6.

- [20] Jeol, available at: <https://www.jeol.co.jp/en/applications/detail/1357.html>, accessed 15 April 2020.
- [21] a) C. I. Cerceau, L. C. A. Barbosa, E. S. Alvarenga, A. G. Ferreira and S. S. Thomasi, *Talanta* **2016**, *71*, 161. DOI 10.1016/j.talanta.2016.08.032; b) J. van Looco, M. Elskens, C. Croux and H. Beernaert, *Accreditation and Quality Assurance* **2002**, *281*, 7. DOI 10.1007/s00769-002-0487-6;
- [22] DIN 38402-51:2017-05, available at: <https://www.beuth.de/de/norm/din-38402-51/272448891>, accessed 3 September 2018.
- [23] A. Shrivastava and V. Gupta, *Chron Young Sci* **2011**, *21*, 2. DOI 10.4103/2229-5186.79345.
- [24] N. R. Babij, E. O. McCusker, G. T. Whiteker, B. Canturk, N. Choy, L. C. Creemer, C. V. de Amicis, N. M. Hewlett, P. L. Johnson, J. A. Knobelsdorf, F. Li, B. A. Lorsbach, B. M. Nugent, S. J. Ryan, M. R. Smith and Q. Yang, *Org. Process Res. Dev.* **2016**, *661*, 20. DOI 10.1021/acs.oprd.5b00417.
- [25] B. Blümich, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2016**, *2*, 83. DOI 10.1016/j.trac.2015.12.012.
- [26] G. Dierkes, T. Lauschke, S. Becher, H. Schumacher, C. Földi and T. Ternes, *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *6959*, 411. DOI 10.1007/s00216-019-02066-9.
- [27] J. David, Z. Steinmetz, J. Kučerík and G. E. Schaumann, *Anal. Chem.* **2018**, *8793*, 90. DOI 10.1021/acs.analchem.8b00355.

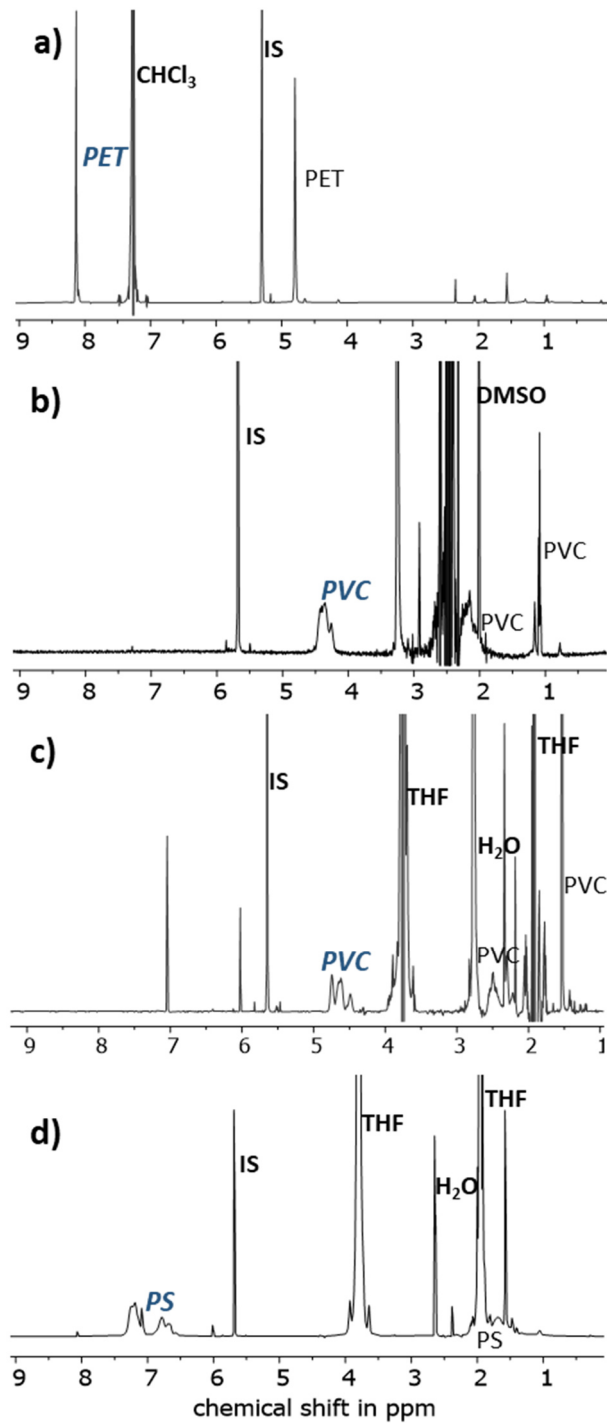


Figure : ^1H -NMR high-field spectra of PET in CHCl_3/TFA 4:1, PVC in DMSO or THF and PS in THF using the NoD-Method and dichloromethane as internal standard (IS). Marked are the MP polymer signals (markersignal for quantification italic and blue), the suppressed solvent signal and IS.

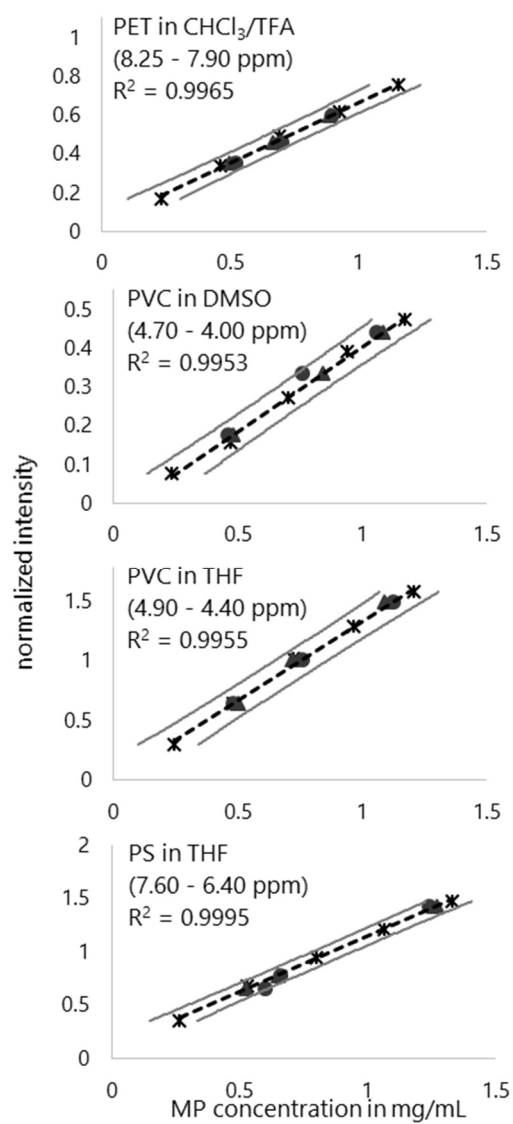


Figure 1: 5-Point-calibration curves for PET, PVC and PS in the corresponding non-deuterated solvent (NoD method) with the appropriate confidence interval (0.95) measured on the 500 MHz high-field system. Plotted is the concentration in mg/mL against the normalized intensity (see Eq. 1). Calibration curves in the range of 0.3-1.5 mg/mL. In addition, theoretical (triangle) and calculated (circle) values of the model samples are given (Table 3).

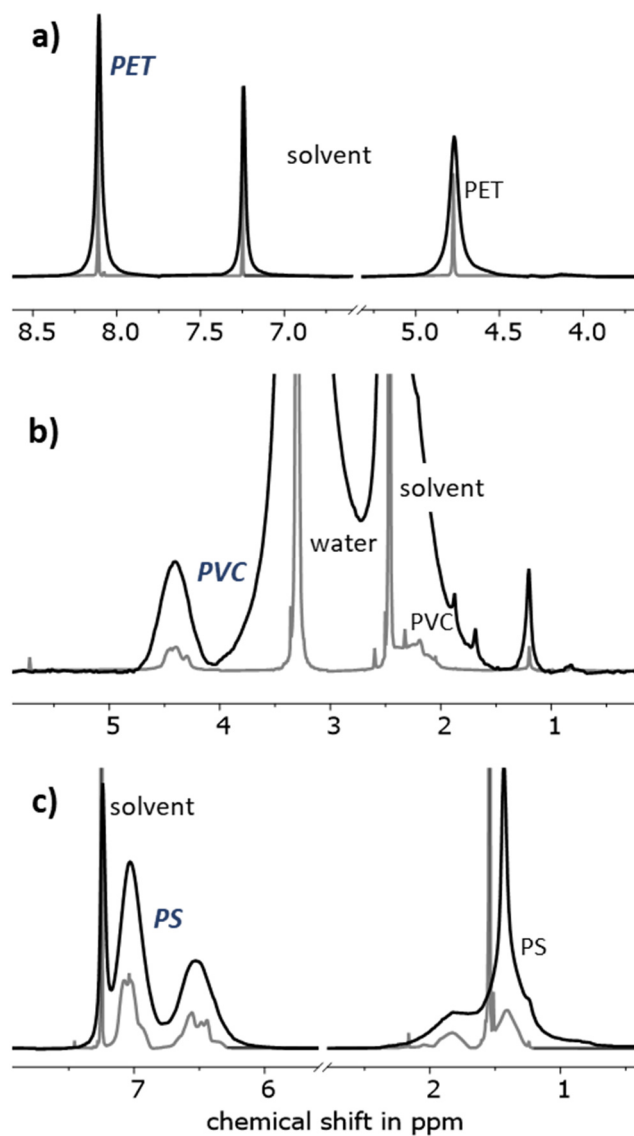


Figure 2: Comparison of ¹H-NMR spectra recorded on a 500 MHz spectrometer (grey) and an 80 MHz spectrometer (black). Concentration in the range of 1.0 – 1.1 mg/mL. a) PET in CDCl₃/TFA 4:1 b) PVC in DMSO-*d*₆ c) PS in CDCl₃. Marked are the MP polymer signals (markersignal for quantification italic and blue) and the solvent signal. High-field-spectra based on the data of Peez et al. ^{12,14}

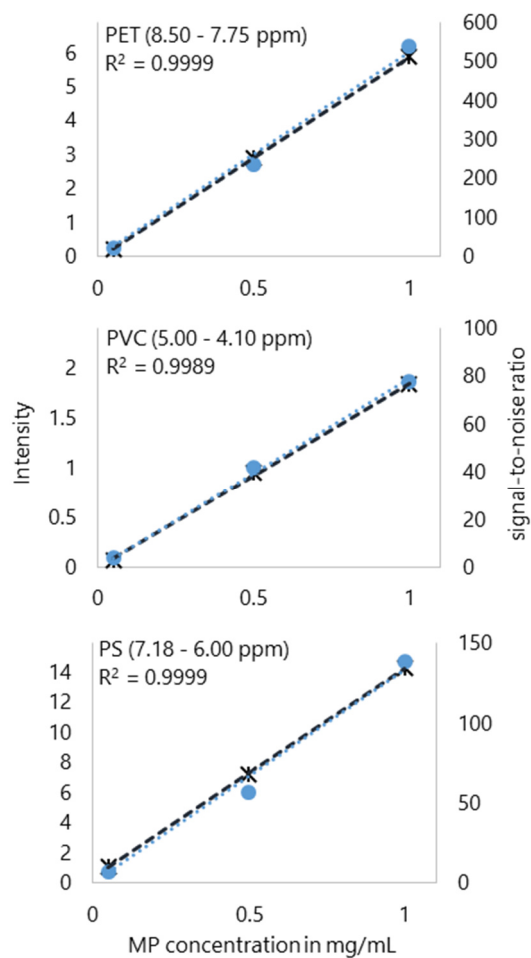


Figure 3: 3-Point-calibration curves for a) PET in CDCl_3/TFA 4:1 b) PVC in $\text{DMSO}-d_6$ and c) PS in CDCl_3 using a 80 MHz NMR-spectrometer. Plotted is the concentration in mg/mL against the intensity and on the secondary axis against the signal-to-noise ratio (blue).

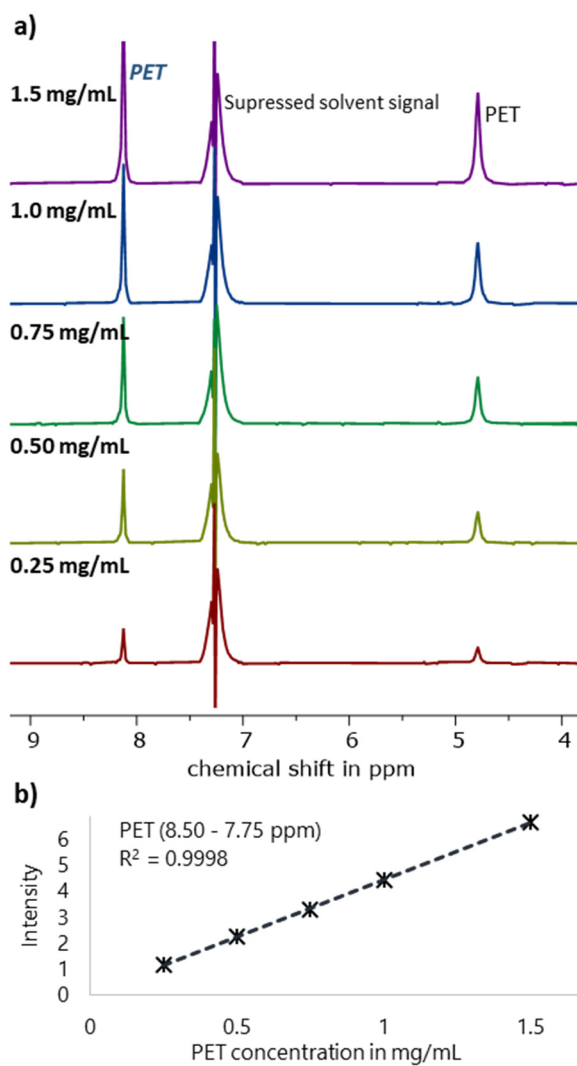


Figure 4: Combination of the NoD method and benchtop NMR (80 MHz spectrometer) for PET particles in CHCl_3/TFA 4:1. a) ^1H -NMR stack plot of 5 different concentrations (0.25 -1.5 mg/mL). Marked are the PET polymer signals (markersignal for quantification bold) and the supressed solvent signal. b) 5-point-calibration in the range of 0.25 – 1.5 mg/mL. Plotted is the MP concentration in mg/mL against the intensity.

Table 1: Method validation for the NoD-experiments of PET (in CHCl₃/TFA 4:1), PVC (in DMSO and THF) and PS (in THF) measured on the 500 MHz high-field system. True values \pm weighting error and calculated values \pm confidence interval (CI) of the respective MP sample in mg/mL as well as the accuracy (in %) and precision (in %) are given for the normalized intensities (apodization 0.5 Hz).

		True Value $\pm \Delta x$ (mg/mL)	Calculated \pm CI (mg/mL)	Accuracy (in %)	Precision (in %)
PET (CHCl₃/TFA)	sample 1	0.52 \pm 0.01	0.50 \pm 0.09	95.6	99.9
	sample 2	0.70 \pm 0.01	0.66 \pm 0.09	94.3	99.2
	sample 3	0.90 \pm 0.01	0.89 \pm 0.09	98.8	99.9
PVC (DMSO)	sample 1	0.46 \pm 0.01	0.48 \pm 0.11	105	99.9
	sample 2	0.76 \pm 0.01	0.84 \pm 0.11	111	99.5
	sample 3	1.06 \pm 0.01	1.09 \pm 0.12	102	99.5
PVC (THF)	sample 1	0.50 \pm 0.01	0.48 \pm 0.11	96.5	99.6
	sample 2	0.72 \pm 0.01	0.75 \pm 0.10	105	99.3
	sample 3	1.09 \pm 0.01	1.13 \pm 0.12	103	99.9
PS (THF)	sample 1	0.57 \pm 0.01	0.59 \pm 0.05	104	99.9
	sample 2	0.73 \pm 0.01	0.74 \pm 0.04	102	99.9
	sample 3	0.96 \pm 0.01	0.95 \pm 0.05	99.2	99.4

Table 2: LOD for PET, PVC and PS-particles using the Benchtop-NMR (80 MHz-spectrometer from Magritek), the NoD-method (500 MHz-spectrometer from Jeol) and the 1D-method (500 MHz-spectrometer from Jeol). Additionally the measurement times of the individual methods are given. For comparability reasons 1D-method data given based on our previous publications^{12,14}. LOD with * marked are indicated for the solvent THF (for the NoD method) different from the solvent for the 1D method.

	Benchtop-NMR		NoD-Method		1D-Methode	
	LOD	measurement time	LOD	measurement time	LOD	measurement time
PET	6 μ g/mL	29.87 min	3 μ g/mL	1.92 min	1 μ g/mL	2.38 min
PVC	38 μ g/mL	136.52 min	78 μ g/mL 43 μ g/mL*	1.92 min	84 μ g/mL	2.38 min
PS	22 μ g/mL	34.13 min	16 μ g/mL*	1.92 min	19 μ g/mL	1.92 min

Kapitel 5

Quantitative analysis of PET microplastics in environmental model samples using quantitative ¹H-NMR spectroscopy: validation of an optimized and consistent sample clean-up method

Dieses Kapitel soll die Anwendbarkeit der Methode auf Umweltproben am Beispiel von PET Fasern klären. Es wurde eine einheitliche Probenvorbereitung für verschiedene Umweltmatrices speziell für die qNMR-Analytik von MP-Partikeln entwickelt, optimiert und validiert. Zusätzlich soll die wichtige Frage geklärt werden, ob resultierende Matrixeffekte von Sediment-, Wasser- und Biota-Proben die massenbasierte Quantifizierung von MP in Umweltproben stören.

Dieses Kapitel basiert auf der folgenden Veröffentlichung, welche durch Mitwirkende der Interdisziplinären Forschergruppe „Mikroplastik“ am Campus Koblenz der Universität Koblenz-Landau sowie meinen Doktorvater mitverfasst wurde. Die bibliografischen Details einschließlich aller Autoren sind:

Peez N., Becker J., Ehlers S. M., Fritz M., Fischer C. B., Koop J. H. E., Winkelmann C., Imhof W. 2019. Quantitative analysis of PET microplastics in environmental model samples using quantitative ¹H-NMR spectroscopy: validation of an optimized and consistent sample clean-up method. *Anal. Bioanal. Chem.*, 411, 7409-7418.

Mein Beitrag zu diesem Artikel beinhaltet die Planung und Durchführung der Experimente. Die FTIR-Messungen wurden von Frau Ehlers angefertigt, die auch die dazugehörigen Teile im Methoden- und Ergebnisteil des Manuskripts verfasst hat. Von Frau Fritz wurden die SEM-Messungen sowie die dazugehörigen Teile im Methoden- und Ergebnisteil angefertigt. Herr Becker stellte die aquatischen Proben zur Verfügung. Eigenständig erfolgten die Literaturrecherche, Auswertung und Diskussion der Ergebnisse, Erstellung des Manuskripts sowie der Tabellen und Abbildungen. Eine vollständige Kopie des Fachartikels ist diesem Kapitel beigelegt. Der Eigenanteil beträgt ca. 80 %.

Note by the author: This chapter is based on the following journal publication. Due to copyright issues, the text of the chapter was replaced by the reference information. Thus, the interested reader is kindly asked to read the published paper via the following reference: DOI 10.1007/s00216-019-02089-2

Abstract:

Identification and quantification of microplastics (MP) in environmental samples is crucial for understanding the risk and distribution of MP in the environment. Currently, quantification of MP particles in environmental samples and the comparability of different matrices is a major research topic. Research also focusses on sample preparation, since environmental samples must be free of inorganic and organic matrix components for the MP analysis. Therefore, we would like to propose a new method that allows the comparison of the results of MP analysis from different environmental matrices and gives a MP concentration in mass of MP particles per gram of environmental sample. This is possible by developing and validating an optimized and consistent sample preparation scheme for quantitative analysis of MP particles in environmental model samples in conjunction with quantitative $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy (qNMR). We evaluated for the first time the effects of different environmental matrices on identification and quantification of polyethylene terephthalate (PET) fibers using the qNMR method. Furthermore, high recovery rates were obtained from spiked environmental model samples (without matrix ~ 90%, sediment ~ 97%, freshwater ~ 94%, aquatic biofilm ~ 95%, and invertebrate matrix ~ 72%), demonstrating the high analytical potential of the method.

Kapitel 6: Gesamtdiskussion

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Validierung einer MP-Analytik mittels qNMR-Spektroskopie welche eine schnelle, größenunabhängige, nicht-destruktive, massenbasierte Quantifizierung von MP-Partikeln in Umweltmatrices ermöglicht um eine alternative, validierbare MP-Analytik einzuführen.

In diesem Kapitel soll abschließend die Hauptfrage geklärt werden, ob sich die qNMR-Spektroskopie für die MP-Analyse eignet und mehr noch, ob sie auch für die Routineanalytik in Betracht gezogen werden kann. Dazu erfolgte zunächst an den Beispielen LDPE, PET und PS der Konzeptnachweis (**Kapitel 2**), wobei durch weitere Polymertypen (PVC, PA und ABS) die Breite der Anwendbarkeit der Methode bestätigt werden konnte (**Kapitel 3**). Für die quantitative Analyse mittels ¹H-NMR Spektroskopie in Lösung ist es unerlässlich, dass sich die MP-Partikel in einem geeigneten, Lösungsmittel komplett lösen. Standardmäßig erfolgt die Messung in deuterierten Lösungsmitteln, wobei diese im Vergleich zu den nicht-deuterierten Lösungsmitteln bis zu 10 € pro Messung mehr kosten können. Daher wurde zusätzlich im Hinblick auf die Anwendbarkeit der Methode überprüft ob auch NoD-Experimente (Verwendung von nicht-deuterierten Lösungsmitteln) für die qNMR-Analytik von MP geeignet sind, da es sich bei der Methode um eine kostengünstigere Alternative handelt (**Kapitel 4**). Dies erfolgte am Beispiel von PET, PS und PVC. Die Ergebnisse der Validierung beider Methoden (1D und NoD) zeigen, dass die Quantifizierung von MP-Partikeln mittels qNMR nicht nur prinzipiell möglich ist, sondern auch eine hohe Richtigkeit (88.0 - 110 %) aufweist und die Nachweisgrenze (1 - 84 µg) im umweltrelevanten Bereich liegt (**Kapitel 2 - 4**). Weiterhin wurde in Bezug auf Routineuntersuchungen überprüft, ob sich nicht nur Hochfeld-Geräte für die MP-Analyse eignen, sondern auch Benchtop-Geräte. Diese weisen aufgrund geringeren Messfrequenz eine wesentlich geringere Auflösung und Empfindlichkeit auf, sind dafür aber in Anschaffung und Unterhalt wesentlich kosteneffektiver. Durch Erhöhung der Messzeit von ca. 3 min (für 500 MHz-Spektrometer) auf ca. 30 min für PET und PS und auf ca. 140 min für PVC (für 80 MHz-Spektrometer) konnte die geringere Messfrequenz ausgeglichen und vergleichbare Nachweisgrenzen erreicht werden (**Kapitel 4**). Des Weiteren wurde im Hinblick auf den Umweltbezug eine geeignete Probenvorbereitung von Umweltproben entwickelt, welche zu reproduzierbaren Ergebnissen unabhängig von der spezifischen Umweltmatrix führt (**Kapitel 5**). Die Methodvalidierung erfolgte am Beispiel von PET-

Fasern, indem die Wiederfindungsraten (WFR) der kompletten Probenvorbereitung bestimmt wurden. Es konnten WFR von > 80 % für verschiedene Umweltmatrices erzielt werden. Außerdem wurde die Frage möglicher Matrixeffekte von Umweltproben behandelt, wobei gezeigt werden konnte, dass die Matrices die quantitative Analyse der MP-Partikel prinzipiell nicht stören (**Kapitel 5**). Zusätzlich zu den Ergebnissen des kumulativen Teils (Kapitel 2-5) wurden erste Erkenntnisse bezüglich einer simultanen Bestimmung mehrerer Polymerarten in einer Probe erzielt. Die Vorversuche zeigen, dass prinzipiell die simultane Quantifizierung von zwei oder mehr Polymertypen in einer Probe möglich ist und zum anderen, dass die Fest-Flüssig-Exktration als Probenvorbereitung für die qNMR-Methode infrage kommt (Kapitel 6: Simultane Bestimmung – Vorversuche).

Im Folgenden sollen die im Rahmen dieser Arbeit erzielten Ergebnisse zusammengefasst, diskutiert und mit anderen MP-Analysemethoden verglichen werden.

qNMR-Analyse von MP: Geeignetes LM & Identifizierung

Um MP mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie analysieren zu können, müssen die MP-Partikel in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst vorliegen. Geeignet bedeutet in diesem Zusammenhang, dass die MP-Partikel vollständig bei einer Temperatur unter $60\text{ }^\circ\text{C}$ gelöst sind. Diese Einschränkung ist zum einen für eine einfachere Behandlung der Proben im analytischen Prozess und zum anderen auf Grund des für die meisten Lösungsmittel bei höherer Temperatur signifikant ansteigenden Dampfdrucks notwendig, da dadurch potentiell nicht gewährleistet werden kann, dass die MP-Konzentration während der Messung konstant bleibt. Außerdem sollte darauf geachtet werden, dass die Signale des Lösungsmittels (Restprotonensignal für deuterierte LM) und diejenigen der zu analysierenden MP-Polymerart im optimalen Fall basisliniengetrennt vorliegen, mindestens jedoch nicht vollständig überlagern, da ansonsten eine Quantifizierung nicht mehr möglich ist (vergleiche Kapitel 2-4). Dies gilt unabhängig davon, ob für die Analyse ein Hochfeld-Spektrometer (500 MHz) oder ein Benchtop-Gerät (80 MHz) beziehungsweise deuterierte

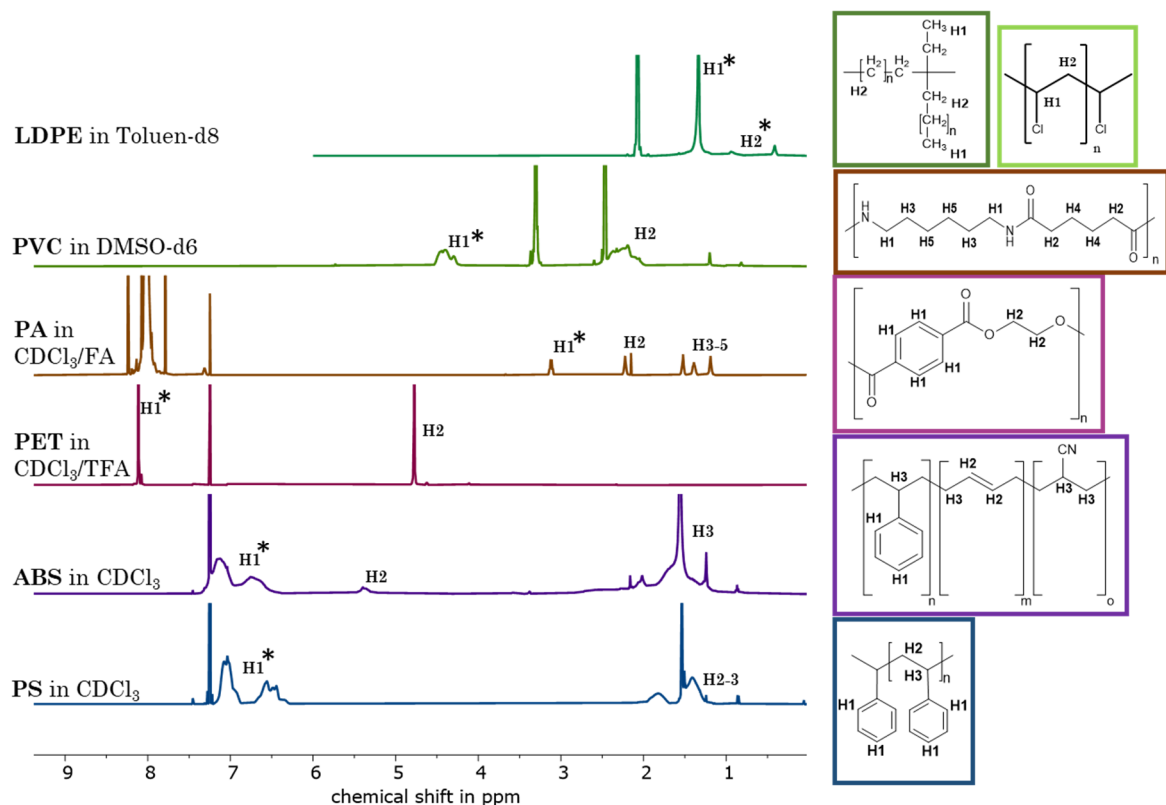


Abbildung 3: Übersicht der sechs getesteten MP-Polymeren. Dargestellt ist jeweils ein beispielhaftes $^1\text{H-NMR}$ Spektrum (500 MHz, 1D-Methode) und ein Strukturvorschlag für das Polymer. LDPE (dunkelgrün) in Toluol bei $60\text{ }^\circ\text{C}$, PVC (hellgrün) in DMSO- d_6 , PA (braun) in einer Mischung aus CDCl_3/FA 3:2, PET (pink) in einer Mischung aus CDCl_3/TFA 4:1, ABS (lila) und PS (blau) in CDCl_3 . Signale mit * markiert werden als Markersignale für die Quantifizierung verwendet (siehe Abschnitt qNMR-Analyse: Quantifizierung).

(1D-Methode) oder nicht-deuterierte Lösungsmittel (NoD-Methode) verwendet werden. Allerdings kann die Messmethode, ob 1D oder NoD, einen Einfluss auf die Auswahl des Lösungsmittels sowie die Identifizierung der Analyten haben, weshalb im Folgenden die 1D-Methode und die NoD-Methode gesondert betrachtet werden.

1D-Methode

Im Falle der 1D-Methode, bei der deuterierte Lösungsmittel zum Lösen der MP-Partikel genutzt werden, ist der Kostenfaktor ein weiterer Punkt, welcher bei der Auswahl des Lösungsmittels beachtet werden sollte. Es sollten möglichst kostengünstige deuterierte Lösungsmittel ausgewählt werden, um die qNMR-Methode für Routineuntersuchungen attraktiv zu gestalten. Auf Grundlage dieser Bedingungen wurden folgende Lösungsmittel für die 1D-Methode für die sechs getesteten Polymertypen ausgewählt: Toluol bei 60 °C für LDPE, DMSO für PVC, Chloroform/FA im Verhältnis 3:2 für PA 6.6, Chloroform/TFA im Verhältnis 4:1 für PET, Chloroform oder DMSO für ABS und Chloroform für PS-Partikel (siehe Kapitel 2 & 3). Im Falle des PVC's muss DMSO kurz auf 50 °C erwärmt werden, damit sich das PVC komplett auflöst. In Abbildung 3 sind jeweils ein Beispielspektrum und ein Strukturvorschlag für die sechs verschiedenen Polymere in dem entsprechenden Lösungsmittel dargestellt (500 MHz von Jeol, 1D-Methode). Den LDPE-Partikeln können zwei Signale zugeordnet werden: Das Signal bei 1.33 ppm (H2) den Protonen der CH₂-Gruppe und das Signal bei 0.93 ppm (H1) der CH₃-Gruppe. PET können vier Signale zugeordnet werden: Das Signal bei 8.11 ppm (H1) den vier Protonen des Terephthalattrings und die anderen drei Signale bei 4.77 ppm, 4.62 ppm und 4.11 ppm den Protonen der Estergruppe (Ethandiyol-Gruppe) (H2). Auch PS weist ein Signal im aromatischen Bereich bei 7.20-6.20 ppm (H1) auf. Zusätzlich wird ein Signal im Bereich von 2.20-1.10 ppm (H2 & H3) welches den Protonen der CH₂- und CH-Gruppen zugeordnet werden kann, beobachtet. PA 6.6 können fünf Signale zugeordnet werden: Das Signal bei 3.2-3.0 ppm (H1) den Protonen in α -Stellung zur NH-Gruppe, das Signal bei 2.3-2.15 ppm (H2) den Protonen in α -Stellung zur COOH-Gruppe und die drei Signale bei 1.65-1.1 ppm (H3-5) den Protonen der CH₂-Einheiten der Polymerkette. PVC können zwei Signalgruppen zugeordnet werden: Der Signalebereich von 4.6-4.2 ppm (H1) den Protonen in α -Stellung zu den Cl-Atomen und der Bereich von 2.4-2.1 ppm (H2) den Protonen in β -Stellung. Vier Signalebereiche können den ABS-Partikeln zugeordnet werden (in CDCl₃ und DMSO; für mehr Information siehe Kapitel 3). Die Signale im Bereich von 7.5-6.3 ppm (H1) den aromatischen Protonen, das Signal bei 5.9-4.5 ppm (H2) der Ethylen-Einheit, der breite Bereich von 3.0-1.0 ppm (H3-7) den CH₂- und CH-Gruppen der Polymerkette sowie der Acrylnitrileinheit und das Signal bei 0.9-0.7 ppm (H8) den CH₃-Gruppen.

Des Weiteren wurde am Beispiel von PET, PS und PVC überprüft, inwieweit Benchtop-Messungen (Messungen mit einem niedrigauflösenden NMR-Spektrometer, 80 MHz von Magritek) einen Einfluss auf die Identifizierung von MP nehmen (siehe Kapitel 4). Erwartungsgemäß liegen die Signale bei den Benchtop-Messungen signalverbreitert aufgrund der geringeren Feldstärke, welche in einer geringeren Auflösung resultiert, vor (siehe Gleichung 6). Allerdings ist dieser Effekt bei den MP-Messungen nicht so stark ausgeprägt wie bei anderen Analyten, da durch die Polymerstruktur mit ihrer Vielzahl möglicher Konformationsisomere die Signale auch bei Hochfeld-Messungen bereits signalverbreitert vorliegen (siehe Kapitel 4). Somit hat die geringere Auflösung von Benchtop-Geräten keinen signifikanten Einfluss auf die Identifizierung von MP im Vergleich zu den Hochfeld-Geräten.

NoD-Methode

Wie bei der 1D-Methode auch, sollte bei der Auswahl des nicht-deuterierten Lösungsmittels für die NoD-Methode darauf geachtet werden, dass das signalverbreiterte Lösungsmittelsignal im optimalen Fall basisliniengetrennt zu den Signalen der Analyten vorliegt. Im vorherigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass sich DMSO für PVC und Chloroform für PET und PS, wobei für PS das relevante Signal des Polymers gerade basisliniengetrennt zum Restprotonensignal des Chloroforms vorliegt, eignen. Nicht-deuteriertes DMSO sowie Chloroform weisen ein signalverbreitertes Signal im Spektrum im Gegensatz zur deuterierten Variante (Restprotonen sind als Lösungsmittelsignal sichtbar) auf. DMSO hat einen Signalbereich von 2.5-2.4 ppm (1D-Methode) und 2.7-2.3 ppm (NoD-Methode) und Chloroform von 7.3-7.2 ppm (1D-Methode) und 7.5-7.1 ppm (NoD-Methode) (siehe Kapitel 4). Im Falle von PET und PVC hat das signalverbreiterte Lösungsmittelsignal der NoD-Methode keinen Einfluss auf die Identifizierung sowie Quantifizierung, weshalb die Lösungsmittelbedingungen der 1D-Methode für die NoD-Methode übernommen werden können. Des Weiteren unterscheidet sich die Zuordnung der entsprechenden Polymersignale nicht von der 1D-Methode. Auch zeigen erste Untersuchungen am Beispiel von PET, dass die Kombination der NoD-Methode mit den Benchtop-Geräten keinen signifikanten Einfluss auf die Signalverbreiterung hat. Allerdings würde im Gegensatz zu PET oder PVC, das signalverbreiterte Signal von Chloroform die Quantifizierung von PS beeinträchtigen. Das PS-Signal bei 7.20-6.20 ppm, welches als Markersignal für die Quantifizierung verwendet wird, und das Lösungsmittelsignal würden nicht mehr basisliniengetrennt vorliegen (siehe Abschnitt qNMR-Analyse: Quantifizierung). Aus diesem Grund wurde entschieden, THF als bevorzugtes Lösungsmittel für PS im Falle der NoD-Methode zu verwenden. Dem nicht-deuterierten Lösungsmittel THF können zwei

Signale (4.0-3.5 ppm und 2.0-1.8 ppm) sowie ein Wassersignal (2.8-2.7 ppm) zugeordnet werden. Wie bei der 1D-Methode in Chloroform zeigt PS auch in THF (NoD-Methode) zwei charakteristische Signalbereiche auf, wobei beide Signalbereiche in THF im Vergleich zur Verwendung von Chloroform um ca. 0.20 ppm Tieffeld-verschoben sind. Zusätzlich wurde THF als Lösungsmittel für die NoD-Methode von PVC berücksichtigt. Auch in diesem Fall sind die beiden Hauptsignalbereiche von PVC in THF im Vergleich zu DMSO-d6 um ca. 0.20 ppm Tieffeld-verschoben. Der entscheidende Unterschied zwischen DMSO und THF begründet sich in der Löslichkeit von PVC in dem entsprechenden Lösungsmittel. Da PVC in THF deutlich besser löslich ist, ist THF (NoD-Methode) für die MP-Analytik bevorzugt zu verwenden. Im Gegensatz zur NoD-Methode wurde THF-d8 als Lösungsmittel aufgrund der hohen Kosten für die 1D-Methode ausgeschlossen (siehe Kapitel 4). Für eine NMR-Messung werden ca. 1 mL des entsprechenden Lösungsmittels oder Lösungsmittelgemischs verbraucht. Daraus ergibt sich im Vergleich von NoD- zu 1D-Messungen beispielsweise eine Kostendifferenz für THF von 10 €, für DMSO von 1 € und für Chloroform von 0.2 € pro Messung (siehe Kapitel 4).

Fazit

Zusammenfassend können die sechs getesteten Polymertypen (LDPE, PET, PS, ABS, PA6.6 und PVC) eindeutig aufgrund der spezifischen Signale mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie (1D- sowie NoD-Methode) identifiziert werden. Zum Vergleich können zum jetzigen Zeitpunkt mittels thermischer GC-MS-Methoden die Polymere PE, PP, PS, PET, PA, PMMA und PVC identifiziert werden [75–77]. Beide Analysemethoden, qNMR oder thermoanalytische Methode, erzeugen Spektren, bei denen dem jeweiligen Polymer ein eindeutiger Fingerprint zugeordnet wird. Bei der qNMR-Methode wird auf die chemische Verschiebung und Signalform geachtet, bei den GC-MS Methoden auf das m/z-Verhältnis. Die $^1\text{H-NMR}$ -Spektren sind übersichtlicher als die Spektren der thermoanalytischen Methoden, da die Analyse von MP-Partikeln mittels thermoanalytischer GC-MS-Methoden komplexe Daten erzeugt. Es werden verschiedenste Degradierungs- und Pyrolyse-Produkte der Polymere mit unterschiedlichsten m/z-Verhältnissen detektiert [73]. Der Vorteil bei der $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie besteht darin, dass nur H-Atome mit unterschiedlicher chemischer Umgebung ein Signal mit spezifischer Signalform im Spektrum hervorrufen. Im Fall von Polymeren, welche von Natur aus eine sich wiederholende chemische Struktur aufweisen, ergeben sich in den MP-Spektren der getesteten MP-Partikel maximal fünf Signale (für PA6.6). Wie bei den anderen massenbasierten Methoden auch, liefert die NMR-Spektroskopie keine Größeninformation der MP-Partikel, da diese in dem entsprechenden Lösungsmittel gelöst werden. Allerdings ergibt sich aus den spezifischen

Löslichkeitsunterschieden die Möglichkeit, die Polymere zu trennen und unabhängig voneinander zu analysieren (siehe Kapitel 6: Fest-Flüssig-Exktration). Im Vergleich dazu wird für die thermoanalytischen Methoden in der Literatur angemerkt, dass die simultane Analyse von PE und PP zu falsch-positiven Ergebnissen von PP aufgrund von Interferenzen führt [46]. Abbildung 3 verdeutlicht, dass selbst eine ungeübte Person die NMR-Spektren schnell auswerten und die MP-Polymerarten identifizieren kann. Dies stellt hinsichtlich einer möglichst einfachen und schnellen Anwendung einen entscheidenden Faktor dar.

qNMR-Analyse von MP: Quantifizierung

Das Grundprinzip, auf dem die qNMR-Methode aufbaut, ist die Proportionalität zwischen Signalfläche und Anzahl der Resonanzkerne. Für die Quantifizierung von MP-Partikeln eignet sich die Standard-Additionsmethode oder die Kalibriergeradenmethode. Bei beiden Methoden muss nicht die genaue Struktur und damit einhergehend das Molekulargewicht der Analyt-Moleküle bekannt sein, was auf die MP-Analytik zutrifft. Die Kalibriergeradenmethode ist für hohe Probendurchsätze geeigneter und somit im Hinblick auf eine mögliche Routineanwendung zu priorisieren [65]. Da die qNMR-Methode zuvor nicht für die MP-Analytik angewendet wurde, musste zunächst überprüft werden, ob eine Quantifizierung von MP-Partikeln überhaupt möglich ist. Mittels 5-Punkt-Kalibriergeraden und Modellproben wurde eine Methodvalidierung mit den Parametern Richtigkeit, Präzision und Linearität durchgeführt. Die Methodvalidierung sollte unter anderem klären, welches Protonensignal der Polymertypen sich am besten als Markersignal für die Quantifizierung eignet und inwieweit die Verwendung eines Standards zu reproduzierbaren Ergebnissen führt. Da sich die Wahl des Standards für die 1D-Methode und NoD-Methode mittels Hochfeld-Geräten und die Benchtop-Methode mittels Niedrigfeld-Geräten unterscheidet werden die drei Methoden im Folgenden separat diskutiert. Mit Blick auf die Umweltrelevanz der MP-Konzentration wurden zusätzlich die Nachweisgrenzen für die unterschiedlichen Methoden und Polymertypen bestimmt.

1D-Methode

Abhängig davon, ob das Restprotonensignal und die Analytsignale basisliniengetrennt vorliegen (für LDPE, PET, PS und PA) oder teilweise überlagern (für PVC und ABS) kommen zwei Integrations-Methoden infrage (siehe Abbildung 3). Liegen die entscheidenden Signale basisliniengetrennt vor, kann die normale Summen-Integrations-Methode (INT) angewendet werden. Überlagern die Signale hingegen, so kann die Peak-Fitting-Methode (PF) verwendet werden. Die PF-Methode basiert auf einer mathematischen Methode, welche die überlagernden Signale dekonvolviert und anschließend die separierten Signalintensitäten angibt [64, 65, 78]. Wie bei anderen Analysemethoden auch ist es bei der qNMR-Methode von entscheidender Bedeutung, dass die Messparameter und die Bearbeitung der Spektren (Phasen- und Basislinienkorrektur, Integrations-Methode) für die jeweiligen MP-Polymerarten immer konsistent durchgeführt werden. Nur so kann eine präzise Quantifizierung der bisher sechs untersuchten MP-Polymertypen LDPE, PET, PS, PA, PVC und ABS gewährleistet werden. Für die 1D-Methode kann das Restprotonensignal

unter der Voraussetzung als interner Standard verwendet werden, dass immer die identische Charge des Lösungsmittels für eine Messreihe benutzt wird. Der Vorteil besteht darin, dass kein zusätzlicher Schritt notwendig ist, um den internen Standard in die Polymerlösung einzubringen und keine zusätzlichen Signale auftreten. Am Beispiel von LDPE, PET und PS wurde überprüft, inwieweit Linearität, Richtigkeit und Präzision der Modellproben mit internem Standard (normiert) und ohne internen Standard (unnormiert) beeinflusst werden (Kapitel 2). Die berechneten Konzentrationen auf Basis der normierten Werte liegen im Vertrauensbereich der jeweiligen Kalibriergerade. Auch ist die Präzision der normierten Werte mit 99.4-99.9 % klar gegeben. Hingegen weichen die berechneten Konzentrationen auf Basis der unnormierten Werte stärker vom wahren Wert ab und liegen teilweise nicht im Vertrauensbereich der Kalibriergeraden. Auch weisen die normierten Intensitäten eine höhere Linearität (> 0.9944) im Vergleich zu den unnormierten Werten (> 0.9920) auf. Eine Korrektur mittels internem Standard führt somit zu genaueren Ergebnissen. Wird das Restprotonensignal als interner Standard verwendet, ergibt sich ein zusätzlicher entscheidender Vorteil. Solange dieselbe Charge des entsprechenden Lösungsmittels verwendet wird, kann die identische Kalibriergerade für einen längeren Messzeitraum zur Analyse angewendet werden, was besonders im Hinblick auf einen größeren Probendurchsatz wichtig und sinnvoll ist. Des Weiteren sollte mit der Methodvalidierung auch die Frage geklärt werden, welches Protonensignal der Polymertypen für die Quantifizierung am geeignetsten ist. Es zeigt sich, dass Signale mit einem hohen Signal-zu-Rausch-Verhältnis verwendet werden sollten, da so eine Quantifizierung von geringen Konzentrationen möglich ist. Außerdem sollten aufgrund von möglichen störenden Matrixeffekten nach Möglichkeit keine Signale mit der chemischen Verschiebung von 2.5-2.4 und 1.8-0.7 ppm zur Quantifizierung herangezogen werden. Es sollte wenn möglich auch darauf geachtet werden, dass Signale verwendet werden, welche basisliniengetrennt von LM- oder Matrixsignalen vorliegen (siehe Kapitel 3 & 4).

Ein weiteres Kriterium ergibt sich aus der Methodvalidierung, da das Signal mit den präziseren und genaueren Werten für die Quantifizierung verwendet werden sollte. Die Ergebnisse der Methodvalidierung sind in Tabelle 1 zusammengefasst dargestellt. LDPE bildet eine Ausnahme, da beide LDPE-Signale H1 und H2 nicht basisliniengetrennt vorliegen. Sie werden somit zusammen integriert und es musste keine Entscheidung getroffen werden, welches Signal sich zur Quantifizierung besser eignet. Außerdem sollte erwähnt werden, dass der LDPE-Signalebereich mit 1.85-0.6 ppm im Bereich von möglichen Matrixeffekten liegt und somit eine Quantifizierung in Umweltproben mittels INT-Methode problematisch sein könnte (siehe Unterkapitel in Kapitel 6: qNMR-Analyse von MP:

Umweltproben). Bei PET kommen zwei Signale (H1 und H2) infrage. Aufgrund des deutlich höheren Signal-zu-Rausch-Verhältnisses des PET-Signals H1 (siehe Abbildung 3) und im Hinblick auf die Ergebnisse der Methodvalidierung bezüglich der Richtigkeit (H1: 96.5-102 % und H2: 94.0-99.0 %) sollte für PET der Bereich zwischen 8.2-8.0 ppm zur Quantifizierung verwendet werden. Für PS-Partikel sollte unter Berücksichtigung möglicher Matrixeffekte im Hochfeldbereich das PS-Signal H1 im Bereich von 7.2-6.2 ppm zur Quantifizierung verwendet werden. Hinzu kommt, dass die Richtigkeit bei H1 mit 97.4-106 % deutlich besser ist als für H2-3 mit 93.3-118 %. Für PA 6.6. ist der Unterschied in der Methodvalidierung der PA-Signale H1 und H3-5 kaum vorhanden. Für das Signal H1 liegt die Richtigkeit in einem Bereich von 95.6-99.2 % und für das Signal H3-5 zwischen 94.1-98.6 %; Die Präzision für beide Signale ist > 99.2 %. Somit können grundsätzlich beide Signale zur Quantifizierung verwendet werden. Wird allerdings der Faktor „Matrixeffekte“ berücksichtigt, so sollte das PA-Signal H1, welches mit einer chemischen Verschiebung von 3.2-3.05 ppm weiter tieffeldverschoben ist, verwendet werden (siehe Abbildung 3). Die PVC-Signale H1 (Integrationsbereich 4.7-4.05 ppm) und H3 (Integrationsbereich 1.4-1.1 ppm) weisen einen signifikanteren Unterschied auf. Das Signal H1 ist mit einer Richtigkeit der Modellproben zwischen 96.1-110 % gegenüber Signal H3 mit 87.4-98.5 % zu bevorzugen. Außerdem weist das PVC-Signal H1 gegenüber H3 eine höhere Signalintensität mit einem Faktor von ca. 10 auf und zusätzlich sollte es aufgrund der chemischen Verschiebung von 4.7-4.05 ppm zu keiner Signalüberlagerung mit Matrixeffekten kommen. Im Gegensatz zu den anderen Polymertypen muss bei PVC und bei ABS die PF-Methode zur Integration angewendet werden, da das Restprotonensignal, welches als interner Standard dient, nicht basisliniengetrennt von den Analytsignalen vorliegt (siehe Abbildung 3 und Kapitel 3). Für ABS können zwei Lösungsmittel, CDCl_3 oder DMSO-d_6 , verwendet werden. In beiden Lösungsmitteln weist das ABS-Signal H1 (Integrationsbereich 7.5-6.0 ppm) ein signifikant größeres Signal-zu-Rausch-Verhältnis auf als das ABS-Signal H2 (Integrationsbereich 6.0-4.0 ppm). Aufgrund dessen ist das ABS-Signal H1 für die Quantifizierung klar zu bevorzugen. Es konnte eine Richtigkeit der Modellproben für das ABS-Signal H1 zwischen 97.4-104 % in CDCl_3 und 98.6-103 % in DMSO-d_6 erzielt werden. Somit eignen sich grundsätzlich beide Lösungsmittel für die Quantifizierung von ABS, allerdings sollte DMSO bevorzugt werden, da im Falle von CDCl_3 zusätzlich das ABS-Signal H1, welches als Markersignal für die Quantifizierung verwendet wird, nicht basisliniengetrennt vorliegt. Somit muss auch für ABS in CDCl_3 die PF-Methode für das Markersignal angewendet werden (siehe Abbildung 3 und Kapitel 3). Grundsätzlich weisen die Ergebnisse der Methodvalidierungen der PF-Methode keinen signifikanten

Unterschied zu den Ergebnissen der INT-Methode auf. Allerdings fällt auf, dass die INT-Methode mit 99.4-99.9 % etwas präziser ist als die PF-Methode mit 98.3-99.9 % (siehe Tabelle 1). Somit sollte die INT-Methode nach Möglichkeit bevorzugt angewendet werden, da es sich dabei um die softwareseitig vorgesehene Routine-Integrations-Methode handelt, welche keinen zusätzlichen mathematischen Schritt erfordert, und außerdem schneller und einfacher ist [78]. Nichtsdestotrotz stellt die PF-Methode eine wichtige Alternative für die MP-Analytik für den Fall dar, dass die zu integrierenden Signale nicht basisliniengetrennt vorliegen.

Tabelle 1: Übersicht der Ergebnisse der Methodvalidierung für die getesteten Polymertypen. Angegeben ist die Richtigkeit und Präzision in %, der Regressionsfaktor R^2 , die Nachweisgrenze (NWG) basierend auf dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis, der Signalbereich in ppm welcher für die Quantifizierung verwendet und welche Integrieremethode angewendet wurde (siehe Kapitel 2 & 3).

MP in LM	Richtigkeit in %	Präzision in %	R^2	NWG	Signal in ppm	qNMR
LDPE in Toluol-d8	88.0 – 110*	99.4 - 99.9	0.9944	1 µg/mL	1.85-0.6	INT
PET in CDCl ₃ /TFA	96.5 – 102*	99.8 – 99.9	0.9997	1 µg/mL	8.2-8.0	INT
PS in CDCl ₃ /FA	98.8 – 103*	99.6 – 99.9	0.9997	28 µg/mL	7.2-6.2	INT
PA in CDCl ₃	95.6 – 99.2	99.2 – 99.9	0.9950	40 µg/mL	3.2-3.05	INT
PVC in DMSO-d6	96.1 – 110	98.9 – 99.5*	0.9991	84 µg/mL	4.7-4.05	PF
ABS in DMSO-d6	98.6 – 103	99.5 – 99.7	0.9990	67 µg/mL	7.5-6.0	PF
ABS in CDCl ₃	97.4 - 104	98.3 – 99.9	0.9901	77 µg/mL**	7.1-6.0	PF

*korrigierte Werte (abweichend von Publikation [79, 80] aufgrund eines Formelfehlers/Eingabefehlers in Excel).

** siehe Anhang: Zusatzmaterial Kapitel 6.

NoD-Methode

Vor dem Hintergrund, dass die qNMR-Methode für Routineuntersuchungen noch attraktiver gestaltet werden soll, wurde zusätzlich überprüft, ob die Verwendung der kostengünstigeren nicht-deutierten Lösungsmittel auch zur Quantifizierung der MP-Partikel geeignet ist. Dabei unterscheidet sich die NoD-Methode von der 1D-Methode dahingehend, dass aufgrund der methodenbedingten Lösungsmittelsuppression das Restprotonensignal nicht als interner Standard verwendet werden kann. Alternativ kann Dichlormethan (DCM) als interner Standard benutzt werden. Bei der Wahl des Standards wurde darauf geachtet, dass das Protonensignal des Standards nicht in den Signalbereich des Lösungsmittels und des Analytsignals, welches für die Quantifizierung verwendet wird, fällt und dass darüber hinaus der Standard in dem entsprechenden Lösungsmittel komplett löslich ist. DCM weist strukturbedingt nur ein $^1\text{H-NMR}$ Signal mit einer chemischen Verschiebung von 4.3 ppm (in Toluol), über 5.3 ppm (in Chloroform) bis 5.8 ppm (in DMSO) auf [81]. Basierend auf den $^1\text{H-NMR}$ Daten von Babij et al. wird somit keine Signalüberlagerung von DCM mit den verwendeten Lösungsmitteln für die MP-Analyse (Toluol, Chloroform, DMSO und THF) der entsprechenden MP-Polymerarten (LDPE, PET, PS, ABS, PVC und PA) und der MP-Partikel selber erwartet [81]. Des Weiteren wird der interne Standard (DCM-Signal) als Referenz für die chemische Verschiebung des entsprechenden Spektrums verwendet. Dies ist nötig, da aufgrund des fehlenden deuterten Lösungsmittels während der Messung das Spektrometer nicht eingelockt werden kann und somit die Signale hochfeld- oder tieffeld-verschoben sein können. DCM erfüllt somit zwei Funktionen, indem es zum einen als Referenz für die chemische Verschiebung und zum anderen als interner Standard für die Quantifizierung dient.

Im Sinne eines proof-of-concept wurde für PET, PS und PVC wie für die 1D-Methode auch eine Methodvalidierung für die NoD-Methode durchgeführt. Basierend auf den Erkenntnissen der 1D-Methode wurde als Markersignal für PET der Bereich von 8.25-7.90 ppm (im Vergleich 8.20-8.00 ppm für die 1D-Methode), für PVC von 4.70-4.00 ppm in DMSO oder von 4.90-4.40 ppm in THF (im Vergleich 4.70-4.05 ppm in DMSO für die 1D-Methode) und für PS von 7.60-6.40 ppm in THF (im Vergleich 7.20-6.20 ppm in CDCl_3 für die 1D-Methode) definiert. Im Falle der drei getesteten Polymere liegen die Markersignale basisliniengetrennt vor, weshalb die INT-Methode angewendet werden kann (siehe Kapitel 4). Zunächst wurde überprüft, inwieweit der interne Standard zu einer Verbesserung der Methode beiträgt. Im Gegensatz zur 1D-Methode, konnte ohne Verwendung von DCM als internem Standard kein linearer Zusammenhang festgestellt werden. Der nicht-lineare Zusammenhang ist auf die automatische NoD Sequenz zurückzuführen und somit der

automatische Receiver Gain aufgrund der Lösungsmittelsuppression stark variiert. Diese Signaldifferenz kann mittels internem Standard rausgerechnet werden, weshalb für die NoD-Methode mittels Hochfeld-Geräten ein interner Standard notwendig ist. Mittels Normierung sind die Residuen normalverteilt und der Regressionsfaktor $R^2 > 0.995$, womit die Linearität als gegeben betrachtet werden kann. Im Gegensatz zu den Linearitätsdaten unterscheiden sich die Ergebnisse bezüglich Richtigkeit und Präzision nicht signifikant von den Ergebnissen der 1D-Methode. Die Richtigkeit liegt in einem Bereich zwischen 94.3-111 % und die Präzision zwischen 99.2-99.9 % für alle drei getesteten Polymertypen. Es konnte somit anhand von PET, PVC und PS gezeigt werden, dass die NoD-Methode keinen signifikanten negativen Einfluss auf die Quantifizierung von MP mittels qNMR-Spektroskopie hat. Im Vergleich zur 1D-Methode müssen allerdings zusätzliche Anforderungen an das Lösungsmittel und an einen zusätzlichen internen Standard gestellt werden. Nichtsdestotz zeigen die Ergebnisse der Methodvalidierung, dass es sich bei der NoD-Methode um eine kostengünstige Alternative handelt, welche für Routineuntersuchungen in Betracht gezogen werden sollte.

Benchtop-Methode

Eine weitere kostengünstige Alternative, welche für zukünftige MP-Untersuchungen in Betracht gezogen werden sollte, stellt die qNMR-Methode mittels Niedrigfeld-Geräten (Benchtop-Methode) dar. Die geringere Feldstärke der Benchtop-Geräte beeinflusst die Signalverbreiterung sowie das Signal-zu-Rausch-Verhältnis (siehe Gleichung 4 & 6), welches grundsätzlich einen Einfluss auf die Quantifizierung nehmen kann. Da aufgrund der Polymereigenschaft der MP-Partikel der Unterschied für die Signalbreite (in ppm) zwischen den Benchtop-Geräten und Hochfeld-Geräten, für die getesteten Polymertypen PET, PS und PVC nicht signifikant ist, wird die Wahl des Markersignals nicht beeinflusst (siehe Kapitel 4). Im Gegensatz dazu unterscheidet sich das Vorgehen der Quantifizierung mittels Benchtop-Methode von der bisher beschriebenen Quantifizierung für die Hochfeld-Geräte (1D-Methode und NoD-Methode) dahingehend, dass eine Normierung der Signalintensität wie bei den Hochfeld-Messungen nicht notwendig ist. Bei der Benchtop-Methode wird gerätebedingt mit einem festen Receiver-Gain gearbeitet, weshalb eine zusätzliche Normierung mittels internem Standard überflüssig wird. Somit kann auch, im Unterschied zu den Hochfeld-Messungen, die INT-Methode bei geringfügigem Überlappen des Restprotonensignals und des Markersignals angewendet werden (siehe Kapitel 4). Entscheidend für diese Vorgehensweise ist, dass die Phasenkorrektur und Basislinienkorrektur mit größter Sorgfalt und der Integrationsbereich für das entsprechende Polymer immer konsistent durchgeführt wird. Um einen ersten Überblick zu erhalten, ob die

Benchtop-Methode sich grundsätzlich für die Quantifizierung von MP eignet, wurde anhand von PET, PS und PVC mittels 3-Punkt-Kalibriergerade (0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL und 1.0 mg/mL) überprüft ob ein linearer Zusammenhang besteht. Für alle drei getesteten Polymere ist der Regressionsfaktor $R^2 > 0.998$ (siehe Kapitel 4).

Eine noch kostengünstigere Alternative stellt die Kombination von Benchtop-Methode mit der NoD-Methode dar. Diese vereint die Kostenvorteile aber auch die Probleme beider Methoden wie z.B. die geringe Auflösung oder Lösungsmittelsuppression. Anhand einer 5-Punkt-Kalibriergerade (1.5 – 0.25 mg/mL) von PET in Chloroform/TFA wurde überprüft, ob diese kostengünstige Kombination zu verwendbaren Ergebnissen für die MP-Analyse mittels qNMR-Methode führt (siehe Kapitel 4). Es konnte gezeigt werden, dass die Linearität mit einem Regressionsfaktor von $R^2 = 0.9998$ als gegeben betrachtet werden kann (Residuen normalverteilt). Der nächste Schritt besteht darin, eine komplette Methodvalidierung wie für die Hochfeld-Messungen durchzuführen, um die Frage der generellen Anwendbarkeit der Benchtop-Methode (1D und NoD) hinreichend zu klären. Nichtsdestotrotz zeigen diese ersten Messungen, dass das 80 MHz-NMR-Spektrometer eine vielversprechende Alternative zu den in der Anschaffung und Unterhaltung kostenintensiveren Hochfeld-Spektrometern ist.

Nachweisgrenzen

Da die Zielstellung der MP-Analytik hauptsächlich die Quantifizierung von MP-Umweltproben darstellt, sollte zusätzlich geklärt werden, ob die Nachweisgrenzen (NWG), welche mittels der qNMR-Methode erzielt werden können, im umweltrelevanten Bereich liegen. Die Definition eines umweltrelevanten Bereichs von MP ist insbesondere bezogen auf die massenbasierte Konzentrationsangabe nicht trivial. In den meisten Veröffentlichungen zu diesem Thema wird nur die Partikelanzahl pro kg oder L Umweltprobe angegeben. Eine Näherung erlaubt es einen umweltrelevanten Konzentrationsbereich anzugeben: Wird davon ausgegangen, dass ein MP-Partikel 2-5 μg wiegt und 10-1000 Partikel pro kg oder L Umweltprobe nachgewiesen werden, ergibt sich ein Konzentrationsbereich von 20 μg - 5 mg pro kg oder L Umweltprobe [79]. Zum Vergleich geben Dierkes et al. an, dass eine Quantifizierung von MP unter 1 mg/g (1g/kg) in Umweltproben notwendig ist [34].

Tabelle 2: Übersicht der berechneten NWG basierend auf dem SNR von PET, PS und PVC der drei qNMR-Methoden welche für die MP-Analyse infrage kommen. Vergleich der 1D-Methode (500 MHz-Spektrometer mittels deuterierter LM), der NoD-Methode (500 MHz-Spektrometer mittels nicht-deuterierte LM), der Benchtop-Methode (80 MHz-Spektrometer mittels deuterierter LM) und der Kombination von Benchtop- und NoD-Methode (80 MHz-Spektrometer mittels nicht-deuterierte LM).

	1D (500 MHz)	NoD (500 MHz)	1D (80 MHz)	NoD (80 MHz)
PET in CDCl ₃ /TFA	1 µg/mL	3 µg/mL	6 µg/mL	10 µg/mL
PS in CDCl ₃ (THF)	28 µg/mL	(16 µg/mL)	22 µg/mL	-
PVC in DMSO (THF)	84 µg/mL	78 µg/mL (43 µg/mL)	38 µg/mL	-

Die Werte der NWG für die qNMR-Methode wurden basierend auf dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis von 3:1 kalkuliert [50, 82]. Für die Bestimmung am 500 MHz-Spektrometer mittels 1D-Methode konnten die NWG für LDPE und PET von 1 µg/mL, für PS von 28 µg/mL, für PA von 40 µg/mL für PVC von 84 µg/mL und für ABS von 67 µg/mL bestimmt werden (siehe Tabelle 1). Alle getesteten Polymertypen weisen somit NWG im unteren umweltrelevanten Bereich auf, wobei die NWG von LDPE und PET deutlich unter dem kalkulierten umweltrelevanten Bereich liegen. Bei PVC, ABS und PA besteht noch Optimierungsbedarf um ähnliche NWG wie die von LDPE, PET und PS zu erhalten. Dies ist beispielsweise durch Erhöhen der Scananzahl möglich, um das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu verbessern (siehe Gleichung 4). Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die Apodisation-Funktion, ein Verfahren zur optischen Filterung und Verbesserung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses, anzupassen. Allerdings muss beachtet werden, dass eine Erhöhung der Apodisation-Funktion eine geringere Signalauflösung zur Folge haben kann und die Funktion somit nicht unendlich erhöht werden sollte. Eine Erhöhung des Faktors der Apodisation-Funktion von 0.2 Hz auf 0.5 Hz führt bei PVC bereits zu einem höheren SNR und somit zu einer deutlich niedrigeren NWG ohne einen signifikanten Einfluss auf die Methodvalidierung zu nehmen (84 µg/mL für 0.5 Hz; 124 µg/mL für 0.2 Hz). Die Apodisation wurde auch für die NoD-Methode (500 MHz-Spektrometer) auf 0.5 Hz eingestellt. Für PET konnte eine NWG von 3 µg/mL, für PS von 16 µg/mL und für PVC von 43 µg/mL in THF oder 78 µg/mL in DMSO berechnet werden (siehe Tabelle 2). Schlussfolgernd sollte somit, aufgrund der besseren Lösungseigenschaft und der niedrigeren NWG, als bevorzugtes Lösungsmittel für die NoD-Methode THF für PVC verwendet werden. Somit liegt lösungsmittelbedingt die NWG von PVC mittels NoD-Methode deutlich unter der NWG mittels 1D-Methode. Für PET und PS befinden sich die NWG beider Methoden im selben Konzentrationsbereich.

Neben den NWG für die Bestimmung an einem 500 MHz-Spektrometer (1D-Methode und NoD-Methode) wurden auch die NWG für die Bestimmung am 80 MHz-Spektrometer kalkuliert. Wie bereits in der Einleitung (Gleichung 4) erläutert wurde, hängt das SNR von der Feldstärke und der Scanzahl ab. Somit muss die Scanzahl bei einer Messung an einem 80 MHz-Spektrometer erhöht werden, um eine vergleichbare NWG wie bei einer Messung an einem 500 MHz-Spektrometer zu erhalten. Eine Erhöhung der Scanzahl hat allerdings eine Erhöhung der Messzeit zur Folge. Daher bestand das Ziel darin, die Messzeit der PET-, PS- und PVC-Probemessungen an dem Benchtop-Gerät nur soweit zu erhöhen, dass gerade die NWG der 500 MHz-Messungen erreicht werden (siehe Kapitel 4 und Tabelle 2). Erwartungsgemäß musste für PET die Scanzahl im Vergleich zu PS und PVC am wenigsten erhöht werden, da das PET H1 Markersignal (für die Quantifizierung) eine sehr gute Signalintensität aufgrund des scharfen Signals aufweist. Es konnte gezeigt werden, dass bei Messungen an einem 80 MHz-Spektrometer für die 1D-Methode eine Scanzahl von 256 (25 Scans für 500 MHz) und der daraus resultierenden Messzeit von ca. 30 min (ca. 3 min für 500 MHz) ausreicht, um eine NWG von 6 µg/mL zu berechnen. Vergleichbar damit ist auch die NWG für PET von 9 µg/mL, welche beispielhaft für die NoD-Methode an einem 80 MHz Ultra-Spektrometer kalkuliert wurde (128 Scans; 22 min). Für PS mittels 1D-Methode wurde die Scanzahl bereits auf 512 verdoppelt (25 Scans für 500 MHz), wobei die Aufnahmezeit pro Scan verkürzt wurde, weshalb sich eine Messzeit von ca. 35 min ergibt (ca. 2 min für 500 MHz). Somit konnte eine NWG von 22 µg/mL für das Benchtop-Gerät (1D-Methode) erreicht werden. Bereits bei den 500 MHz-Messungen (1D sowie NoD) ist aufgefallen, dass die NWG von PVC in DMSO im Vergleich zu PET und PS deutlich schlechter ist, wobei dies an der im Vergleich geringer ausgeprägten Signalintensität liegt. Dies wirkt sich natürlich auch negativ auf die Benchtop-Messungen aus. Aus diesem Grund wurde die Messzeit von PVC auf ca. 140 min erhöht (Scanzahl 2048) und es konnte eine NWG von 38 µg/mL basierend auf dem SNR kalkuliert werden, welche somit sogar um die Hälfte niedriger ist als für die 500 MHz-1D-Methode. Daraus können zwei Schlussfolgerungen gezogen werden. Zum einen könnte die Messzeit von PVC an einem 80 MHz-Spektrometer auf ca. 100 min beschränkt werden, um eine vergleichbare NWG wie für die 500 MHz-Spektrometer zu erhalten. Alternativ wird die Scanzahl einer 500 MHz-Messung von 25 Scans auf 35 Scans erhöht, um eine vergleichbare NWG wie für die Benchtop-Messung zu erhalten. Diese Schlussfolgerung, dass die Messzeit zugunsten der NWG erhöht oder zulasten der NWG verringert werden kann, gilt auch für die anderen Polymersorten und sollte in Abhängigkeit der analytischen Problemstellung entschieden werden. Grundsätzlich weisen die unterschiedlichen qNMR-Methoden (1D-Methode, NoD-

Methode oder Benchtop) NWG im unteren umweltrelevanten Bereich (1-84 µg/mL) auf. Zum Vergleich können die NWG der thermoanalytischen Methoden herangezogen werden, da es sich dabei ebenfalls um eine massenbasierte MP-Analytik handelt. Dabei wird die NWG von PE mit 10 µg (7 µg/g; 4.8 µg/mL) für TED-GC-MS (Py-GC-MS), von PS mit 0.2 µg (8 µg/g; 1.6 µg/mL) für TED-GC-MS (Py-GC-MS) und von PP mit 1 µg (7 µg/g; 43 µg/mL) für TED-GC-MS (Py-GC-MS) angegeben [34, 50]. Für die anderen Polymertypen wie PET, PVC, PA und ABS sind bis zum jetzigen Zeitpunkt keine NWG (für TED-GC-MS und Py-GC-MS) bestimmt worden.

Fazit

Die NWG, welche mittels unterschiedlicher qNMR-Methoden berechnet wurden, sind vergleichbar mit denen der thermoanalytischen Methoden. Auch ist die Messzeit vergleichbar oder sogar geringer als die der anderen MP-Analysemethoden. Eine Messung an einem Hochfeldspektrometer (1D- und NoD-Methode) beträgt aktuell ca. 5 min. Bei der hier vorgestellten Methode handelt es sich um eine nicht-simultane Bestimmung und somit ergibt sich eine Gesamtmesszeit für die Analyse von LDPE, PET, PS, PVC, PA und ABS an einem Hochfeld-Spektrometer von ca. 25 min (5min x 5 unterschiedliche Lösungsmittel) und für Benchtop-Geräte für die Analyse von PET, PS und PVC von ca. drei Stunden (30 min + 30 min + 140 min). Diese Messzeit ist vergleichbar mit den thermoanalytischen Methoden. Für die Pyrolyse-GC-MS-Methode wird eine Messzeit von ca. 30 min [34, 51] und für die TED-GC-MS-Methode von ca. zwei Stunden angegeben [50]. Des Weiteren sollte beachtet werden, dass David et al. die Notwendigkeit eines „Cleaning-Runs“ für die TGA-GC-MS-Methode beschrieben haben, um mögliche Kontaminationen zu minimieren, wobei pro Messung (190 min) nochmals ca. 90 min hinzugerechnet werden müssen [83]. Noch zeitintensiver sind die Messungen basierend auf schwingungsspektroskopischen Methoden (FTIR und Raman), bei denen die Messung eines Filters bis zu mehreren Tagen oder bei Anwendung einer Abrastermethode mehrere Stunden dauern kann [47, 51]. Der Vergleich mit den anderen MP-Methoden zeigt deutlich, dass sogar die erhöhten Messzeiten (30-140 min), welche bei Verwendung von Benchtop-Geräten notwendig sind, keinen signifikanten Nachteil für die MP-Analyse mittels der qNMR-Methode darstellen. Die qNMR-Methode unter Verwendung der Hochfeld-Spektrometer kann mit ca. 25 min bereits jetzt als eine der zeiteffektiveren MP-Analysemethoden beschrieben werden. Bei Anwendung einer simultanen Quantifizierung von zwei oder mehr Polymertypen würde sich die Messzeit entsprechend reduzieren, da das Probenaufkommen und somit der Messaufwand verringert wird (siehe Kapitel 6: Simultane Bestimmung - Vorversuche). Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse der Methodvalidierung, dass die Quantifizierung

von MP (LDPE, PET, PS, PVC, ABS, PA 6.6) mittels qNMR nicht nur prinzipiell möglich ist, sondern auch eine hohe Linearität (> 0.99), Richtigkeit (88.0-110 %) und Präzision (98.3-99.9 %) aufweist. Ähnlich wie bei den thermoanalytischen Methoden auch, wird zur Quantifizierung ein spezifisches Markersignal des jeweiligen Polymers ausgewählt, integriert, mittels internem Standard normiert und quantifiziert. Bei den thermoanalytischen Methoden handelt es sich um ein spezielles m/z-Verhältnis und bei der qNMR-Methode um die spezielle chemische Verschiebung eines Analytsignals.

Zusammenfassend handelt es sich bei der quantitativen ^1H -NMR Spektroskopie um eine vielversprechende alternative Quantifizierungsmethode, wobei im Rahmen dieser Arbeit vier Unterkategorien der qNMR-Methode untersucht wurden. Zum einen die 1D-Methode oder NoD-Methode gemessen an Hochfeld-Spektrometern und zum anderen im Rahmen erster Untersuchungen die 1D-Methode und die NoD-Methode gemessen an einem 80 MHz Benchtop-Gerät. Die 1D-500 MHz-Methode hat den klaren Vorteil, dass diese eine hohe Auflösung aufweist und die Messzeit < 5 min beträgt. Allerdings sind die Messkosten durch die Verwendung von deuterierten Lösungsmitteln und dem Stickstoff- sowie Heliumverbrauch während der Messung hoch. Die Messkosten bei einem Benchtop-Gerät sind hingegen verschwindend gering, da der Permanentmagnet nicht mit flüssigem Helium und Stickstoff gekühlt werden muss. Nachteilig ist die geringe Auflösung, welche sich in der Signalverbreiterung und dem geringeren Signal-zu-Rausch Verhältnis widerspiegelt. Um dies größtenteils auszugleichen, muss die Messzeit auf 30-140 min erhöht werden. Mit beiden Spektrometertypen (Hochfeld oder Benchtop) ist die Anwendung der 1D-Methode sowie der NoD-Methode möglich. Bei der NoD-Methode werden die wesentlich kostengünstigeren nicht-deuterierten Lösungsmittel verwendet, wobei durch die Lösungsmittelsuppression und das Fehlen des Einlockens über den Deuterium-Kanal die Qualität der Spektren etwas geringer ist als für die 1D-Methode. Somit stellt die NoD (80 MHz)-Methode die kostengünstigste Methode dar, wobei dies mit einer höheren Messzeit und geringeren Spektrenqualität einhergeht. Eine Zwischenlösung stellt die NoD (500 MHz)-Methode dar, da bei dieser Methode die Messzeit < 5 min beträgt und nur die Betriebskosten negativ ins Gewicht fallen (siehe Tabelle 3). Allerdings sollte grundsätzlich die Auswahl der qNMR-Methode in Abhängigkeit der MP-Fragestellung erfolgen.

Tabelle 3: Übersicht der Vor- und Nachteile der drei verschiedenen qNMR-Methoden, welche für die MP-Analytik infrage kommen: 1D (500 MHz)-Methode (500 MHz-Spektrometer von Jeol mittels deuterierter LM), NoD (500 MHz)-Methode (500 MHz-Spektrometer von Jeol mittels nicht-deuterierter LM), 1D (80 MHz)-Methode (Spinsolve 80 MHz-Spektrometer von Magritek mittels deuterierter LM) und NoD (80 MHz)-Methode (Spinsolve 80 MHz Ultra-Spektrometer von Magritek mittels nicht-deuterierter LM). Verglichen wurden die Messzeit, Betriebskosten und die Lösungsmittel-Kosten (LM-Kosten) welche pro Messung anfallen (negativ -- bis positiv ++).

	1D (500 MHz)	NoD (500 MHz)	1D (80 MHz)	NoD (80 MHz)
Messzeit	++	++	--	--
Betriebskosten	--	--	++	++
LM-Kosten	-	++	-	++
Qualität Spektren	++	+	o	o

qNMR-Analyse von MP: Umweltproben

Um MP mittels qNMR-Spektroskopie in Umweltproben analysieren zu können, müssen zunächst zwei Fragestellungen betrachtet werden. Zum einen stellt sich die Frage, welche Probenvorbereitung für die MP-Analyse mittels qNMR am geeignetsten ist und zum anderen, ob es Matrixeffekte, welche die Quantifizierung von MP in Umweltproben stören, gibt. Eine geeignete Probenvorbereitung mit validierten Wiederfindungsraten (WFR) aber auch Matrixeffekte von Umweltproben, welche oftmals die Anwendbarkeit einer Methode minimieren, sind entscheidend. Die Ergebnisse, welche im Folgenden vorgestellt werden, wurden, wenn nicht anders erwähnt, mit der 1D (500 MHz)-Methode gemessen.

Einfluss von Matrixeffekten

Die qualitative, vielmehr aber die quantitative Analyse, kann durch Matrixeffekte von Umweltproben gestört werden. Organische Matrices können im $^1\text{H-NMR}$ Spektrum störende Signale durch Überlagerung der Matrixsignale mit dem Markersignal hervorrufen, wenn die Matrices selbst $^1\text{H-NMR}$ aktive Substanzen enthalten. Daher muss überprüft werden, ob NMR-aktive Matrixkomponenten, auch nach einem chemischen Aufschluss, vorhanden sind und welchen Einfluss diese auf die MP-Analyse haben (für weitere Informationen siehe Einleitung und Kapitel 5). Es wurden zunächst vier verschiedene Umweltmatrices nach dem chemischen Aufschluss in dem Lösungsmittelgemisch CDCl_3/TFA 4:1 (für die Analyse von PET geeignet) getestet: Moselwasser als Beispiel für Fließgewässer, aquatischer Biofilm und Invertebraten als Beispiele für biologische Matrices und Sand als Sedimentmatrix (siehe Kapitel 5). Für die Sedimentmatrix können keine störenden $^1\text{H-NMR}$ -aktiven Substanzen in einem Signalbereich von 0-9 ppm ausgemacht werden. Die Moselwasserprobe weist Signale mit einer geringen Intensität im Bereich von 2.45 ppm und 1.25 ppm auf. Deutlich mehr intensive Signale treten bei Matrices aus Biofilm und Invertebraten auf. Die Signale im Bereich von 2.45, 1.65, 1.25 und 0.85 ppm sind typisch für langkettige Ketone und Fettsäuren. Zusätzlich wurden für weitere Lösungsmittelbedingungen die Matrixeffekte von aquatischem Biofilm ohne chemischen Aufschluss überprüft, da die Lösungseigenschaft der Matrixbestandteile und die chemische Verschiebung teilweise vom Lösungsmittel abhängen und somit zusätzliche Signale auftreten oder Signale hoch- oder tieffeld-verschoben sein können (siehe Abbildung 4).

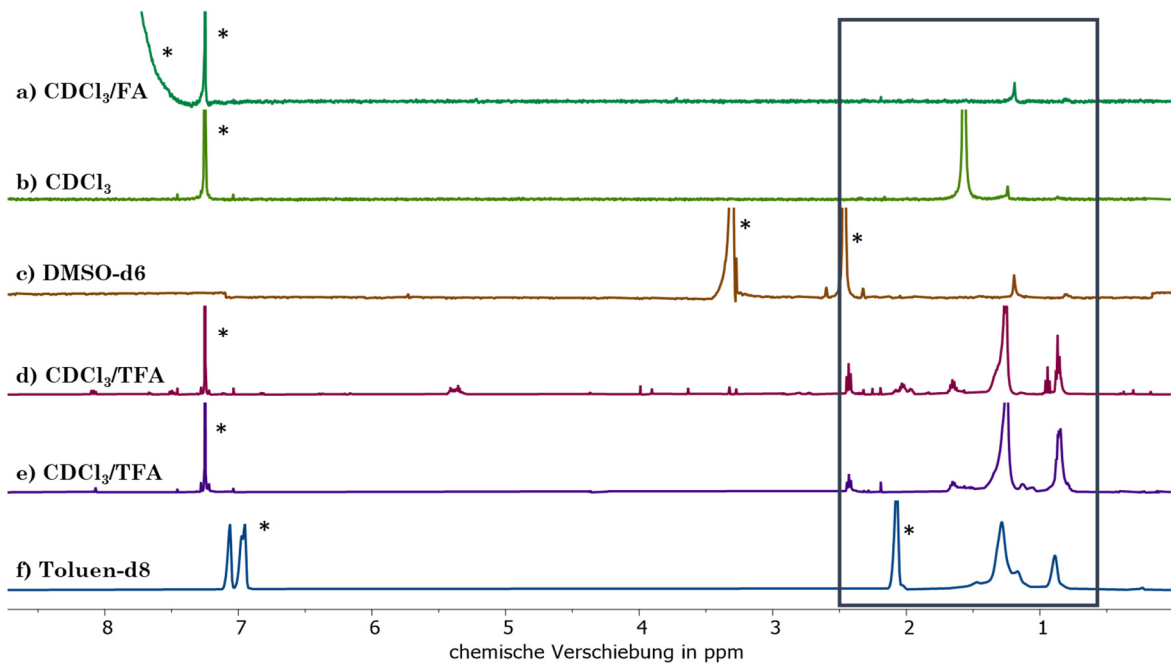


Abbildung 4: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Biofilmmatrix in dem entsprechenden Lösungsmittel. **a)** ~ 11 mg/mL Biofilm gelöst in CDCl_3/FA 3:2. **b)** ~ 16 mg/mL Biofilm gelöst in CDCl_3 . **c)** ~ 14 mg/mL Biofilm gelöst in DMSO-d_6 . **d)** ~ 27 mg/mL Biofilm gelöst in CDCl_3/TFA 4:1 **e)** Biofilm nach Aufschluss gelöst in CDCl_3/TFA (286 mg Biofilm vor Aufschluss). **f)** Biofilm nach Aufschluss gelöst in Toluene-d8 (364 mg Biofilm vor Aufschluss). Mit * markiert sind die entsprechenden Restprotonensignale des Lösungsmittels.

Auch für die Lösungsmittel CDCl_3/FA 3:2, CDCl_3 und DMSO-d_6 treten störende Matrixsignale im Bereich von 1.8-0.7 ppm auf (siehe Abbildung 4a-4c). Der Vergleich von Biofilm vor und nach dem chemischen Aufschluss in CDCl_3/TFA 4:1 zeigt, dass die Matrixeffekte reduziert werden und die größten Matrixsignale im Bereich von 2.5-0.7 ppm zu erwarten sind (siehe Abbildung 4d & 4e). Dies unterstreicht auch die Aufschlusseffizienz von > 83 %, welche auf Grundlage der Massendifferenz vor und nach dem chemischen Aufschluss berechnet wurde (siehe Supporting Information Kapitel 5). Auch zeigen erste Untersuchungen für Toluene-d8 (Lösungsmittel für LDPE), dass nach dem chemischen Aufschluss von Biofilm noch Matrixeffekte im Bereich von 1.6-0.7 ppm zu erwarten sind (siehe Abbildung 4f). Für das Beispiel PET wird deutlich, dass die auftretenden Matrixeffekte für die qualitative sowie quantitative Analyse nicht störend sind, da das PET Markersignal (8.2-8.0 ppm) nicht mit den Matrixeffekten überlagert (siehe Kapitel 3). Auch stören die Matrixsignale im Bereich von 2.4-0.7 ppm die quantitative Analyse von PS, PA, PVC und ABS nicht (vergleiche Abbildung 1). Somit kann die üblicherweise genutzte INT-Methode verwendet werden. Im Fall von LDPE, bei dem auch nach dem chemischen Aufschluss noch störende Matrixeffekte im Bereich 1.6-0.7 ppm zu erwarten sind, kann hingegen die INT-Methode zur Quantifizierung nicht angewendet werden. Eine Alternative könnte die PF-Methode in Kombination mit der Standard-Additionsmethode darstellen. Erste Voruntersuchungen zeigen, dass sich diese Methode für die Quantifizierung von

LDPE mit störenden Matrixeffekten eignen könnte (siehe Anhang Zusatzmaterial: Kapitel 6). Allerdings sind weitere Untersuchungen notwendig um die PF-Methode kombiniert mit der Standard-Additionsmethode zu validieren.

Um zu überprüfen, inwieweit sich die Matrixeffekte nach dem chemischen Aufschluss auf die Quantifizierung von MP mittels qNMR-Spektroskopie auswirken, wurden am Beispiel von PET der wahre und berechnete Gehalt von Modellproben in verschiedenen Umweltmatrices verglichen. Zur Quantifizierung des PET-Gehalts in den unterschiedlichen Umweltmatrices (Moselwasser, Biofilm, Invertebraten und Sediment) sollte nur eine Kalibriergerade ohne Matrix verwendet werden, wie dies schon von Dümichen et al. für die Quantifizierung von PE in Muscheln, Boden und Schwebstoffen mittels der TED-GC-MS-Methode beschrieben wurde [35]. Für die Biofilm-, Sediment- und Moselwassermatrix weichen die berechneten Werte kaum vom wahren PET-Gehalt ab (wahre Werte liegen im Fehlerbereich der berechneten Werte). Nur für die Invertebratenmatrix kann ein Unterschied zwischen wahren und berechnetem Wert festgestellt werden (nicht signifikant; t-Test, $p=0.05$, $n=3$). Es wurde ein Modellorganismus (*G. roeselii*) gewählt, welcher ein ausgeprägtes Exoskelett aufweist. Nach dem chemischen Aufschluss sind noch einige Rückstände für das bloße Auge sichtbar vorhanden. Dabei kann es sich um anorganische Rückstände wie beispielsweise Calciumcarbonat handeln. Das Vorhandensein dieser Rückstände kann das Lösen der PET-Partikel aufgrund von Puffergleichgewichten zwischen der Trifluoressigsäure und den basischen Carbonaten erschweren. Nichtsdestotrotz konnte gezeigt werden, dass die Quantifizierung von PET in verschiedenen Umweltmatrices mittels qNMR-Methode möglich ist und der Probendurchsatz stark minimiert werden kann, da nur eine Kalibriergerade (ohne Matrix) zur Analyse notwendig ist. Zum Vergleich sind in Tabelle 4 die Daten von Modellproben in drei verschiedenen Umweltmatrices, jeweils mittels qNMR-Methode und TED-GC-MS-Methode berechnet, dargestellt (für mehr Information siehe Kapitel 5 und [35]).

Tabelle 4: Vergleich des hinzugefügten und berechneten MP-Gehalts in verschiedenen Umweltmodellproben. Mittels qNMR-Methode wurde der PET-Gehalt in Umweltmatrices (nach Probenvorbereitung) bestimmt. Zusätzlich sind die Daten von Dümichen et al. dargestellt: PE-Gehalt in Umweltmatrices (ohne Probenvorbereitung) mittels TED-GC-MS bestimmt [35]. Angegeben sind die Daten als Gewichtsprozent in wt%.

Daten in wt%	Invertebraten ^[a]	Biofilm ^[a]	Sediment ^[a]	Schwebstoffe ^[b]	Boden ^[b]	Muscheln ^[b]
MP hinzugefügt	1.19	1.68	0.06	5.1 ^[b]	5.0 ^[b]	4.4 ^[b]
MP berechnet	0.80 ± 0.20	1.67 ± 0.12	0.05 ± 0.01	3.3 ± 0.8 ^[b]	4.9 ± 0.8 ^[b]	5.1 ± 2.0 ^[b]

^[a]eigene Messungen, PET-Gehalt mittels qNMR; ^[b]Dümichen et al., PE-Gehalt mittels TED-GC-MS [35].

Der Vergleich verdeutlicht, dass sich die qNMR-Methode im Vergleich zur TED-GC-MS-Methode genauso gut zur Quantifizierung von MP in Umweltproben eignet.

Probenvorbereitung

Neben der Frage, ob und welche Matrixeffekte die Analyse von MP in Umweltproben stören, war es ein weiteres Ziel, die bestehenden Probenvorbereitungsschritte in der MP-Analytik so zu verändern und zu optimieren, dass daraus eine geeignete Probenvorbereitung für die MP-Analytik mittels qNMR resultiert, welche zu reproduzierbaren Ergebnissen unabhängig von der spezifischen Matrix der MP-Partikel führt. In Kapitel 5 ist das Probenvorbereitungsschema für verschiedene Umweltmatrices (Sediment-, Wasser- und Biota-Proben) schematisch dargestellt. Der erste Schritt beinhaltet den chemischen Aufschluss, um organische Matrixbestandteile bestmöglich zu entfernen. Dazu wurde der Aufschluss nach Imhof *et al.* hinsichtlich der verwendeten Konzentration an Schwefelsäure und der Aufschlussdauer optimiert [84]. Als chemisches Aufschlussreagenz wurde eine Mischung aus ca. 50%iger Schwefelsäure anstatt hochkonzentrierter Schwefelsäure und 30%iger Wasserstoffperoxid-Lösung im Verhältnis 1:1 verwendet und die Aufschlussdauer auf 48 h reduziert. In der Literatur wird kontrovers die Verwendung von hochkonzentrierten Säuren für den chemischen Aufschluss hinsichtlich der Resistenz der MP-Partikel diskutiert [44, 52, 85]. Aus diesem Grund wurde die Konzentration der Schwefelsäure auf ca. 50 % herabgesetzt und mittels μ FTIR-Untersuchungen überprüft, ob die MP-Partikel von dem Aufschlussreagenz angegriffen werden. Laut μ FTIR-Messungen weisen LDPE, PET, PS und PVC-Partikel nach der Säurebehandlung keine strukturellen Unterschiede im Vergleich zu Messungen vor der Säurebehandlung auf (persönliche Mitteilung von Frau S. Ehlers, BfG). Zusätzlich weisen die WFR von PET Fasern vor (92.7 %) und nach dem chemischen Aufschluss (89.6 %) keinen signifikanten Unterschied (t-Test, $p = 0.378$, $n = 3$) auf (siehe Kapitel 5). Daher kann davon ausgegangen werden, dass die MP-Partikel von dem verwendeten Aufschlussreagenz nicht angegriffen werden. Das Abfiltrieren von MP-Partikeln sowie organischer und/oder anorganischer Feststoffe beinhaltet Schritt 2. Bis zu diesem Schritt unterscheidet sich das hier vorgestellte Schema nicht von den in der Literatur beschriebenen Probenvorbereitungsschritten [20, 52, 53, 86]. Da für die $^1\text{H-NMR}$ -Messungen die MP-Partikel in Lösung vorliegen müssen, ist es wichtig, selektiv die MP-Partikel vollständig und ohne Verluste in Lösung zu bringen und dabei von anderen durch die Säurebehandlung nicht angegriffenen Matrixbestandteilen zu trennen.

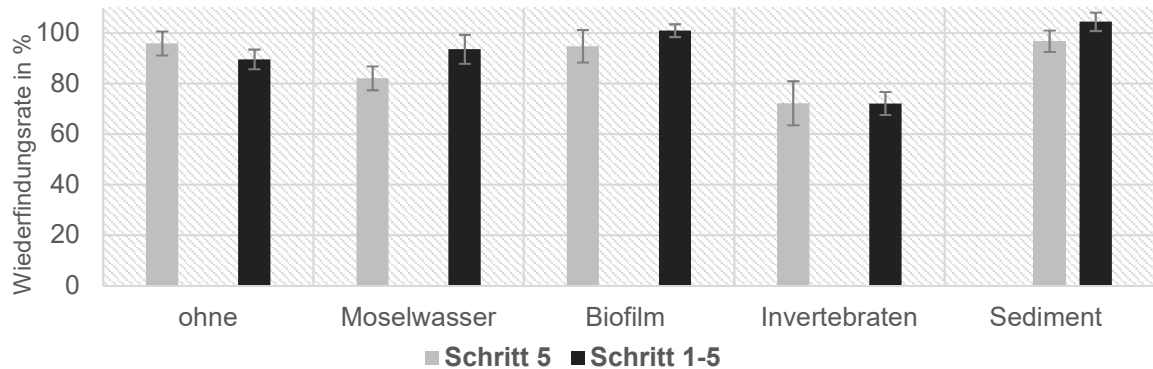
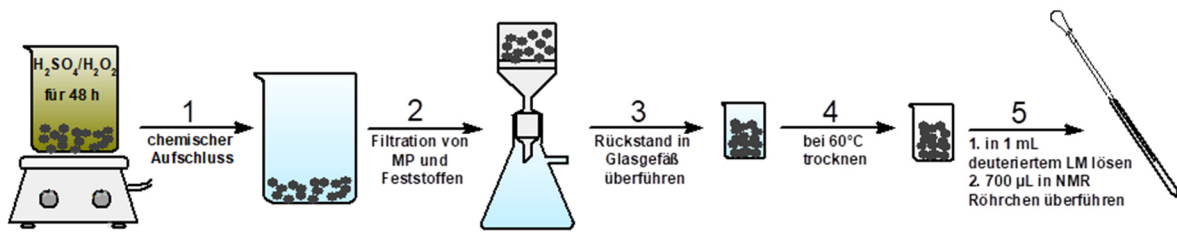


Abbildung 5: Schematische Darstellung der einzelnen Schritte der Probenvorbereitung für die MP-Analytik mittels q NMR Spektroskopie und die dazugehörigen WFR für PET Fasern für Schritt 5 und Schritt 1-5. WFR jeweils für keine Umweltmodellmatrix, Moselwassermatrix, Biofilmmatrix, Invertebratenmatrix und Sedimentmatrix angegeben.

Es wurden verschiedene Vorgehensweisen getestet, wobei die Methode des Abspülens einer P4-Fritte die besten Ergebnisse zeigte. Generell gilt es hierbei zu beachten, dass es sich bei diesem Schritt durch die Wahl der Porengröße der Filtrationseinheit um einen größenlimitierenden Schritt handelt. Entsprechend der Porengröße, im Fall der P4-Fritte zwischen 10-16 μm , ist es möglich, dass kleinere Partikel nicht erfasst werden. Der nächste Schritt beinhaltet das Trocknen des Rückstandes bei 60°C im Trockenschrank. Da dieses Probenvorbereitungsschema für verschiedene Umweltmatrices entwickelt wurde, müssen gegebenenfalls die Schritte 4a-4c hinzugefügt werden. Dies ist abhängig davon, ob im Rückstand anorganische Bestandteile (> 50 mg) wie zum Beispiel Sediment enthalten sind. Ist dies der Fall, wird der Rückstand in einem geeigneten nicht-deuterierten Lösungsmittel unter Rühren gelöst (Schritt 4a), anschließend wird ein definiertes Volumen der MP-Partikel enthaltenden Lösung entnommen (4b) und schließlich nochmals bei 60°C im Trockenschrank eingengt (4c). Die Schritte 4a-4c sind entscheidend, damit der finale Schritt 5 unabhängig von der spezifischen Umweltmatrix ist. Der Rückstand (ohne anorganische Bestandteile) wird in 1 mL des entsprechenden deuterierten Lösungsmittels gelöst und 700 μL der Lösung in ein NMR-Röhrchen überführt, um direkt im Anschluss mittels ^1H - q NMR-Spektroskopie analysiert zu werden. Der Vorteil der Methode begründet sich darin, dass die Probenvorbereitung für alle MP-Arten (Polymertyp und Form) anwendbar ist, da auf die Dichteseparation, welche oftmals sehr zeitintensiv ist (bis zu

12 h), verzichtet wurde. Entscheidend dafür sind die Schritte 4a-4c, welche einer Flüssigextraktion von MP-Partikeln gleichkommen. Ein weiterer Vorteil der Methode ist in Schritt 5 begründet, da durch das Lösen in nur 1 mL des deuterierten Lösungsmittels der MP-Gehalt der Probe aufkonzentriert wird und somit auch geringe Umweltkonzentrationen erfasst werden können.

Um die Effizienz der neu entwickelten Probenvorbereitung für die MP-Analytik mittels qNMR zu bestimmen, wurden die WFR der kompletten Probenvorbereitung (Schritt 1-5) für mehrere Polymerarten bestimmt. In Veröffentlichungen wird oftmals angemerkt, dass die WFR der Probenvorbereitung stark von der Partikelform und Größe abhängt. Beispielsweise haben Hurley et al. kleine und große PE-Partikel und PET Fasern verglichen und festgestellt, dass die WFR für die PET Fasern deutlich geringer ist [87]. Zudem konnte festgestellt werden, dass die WFR für farbige, größere Partikel deutlich besser sind als für kleinere, farblose Partikel [55]. Dies konnten erste eigene Untersuchungen bestätigen, bei denen die WFR der kompletten Probenvorbereitung für PET Fasern (>500 µm) und PS Kügelchen (500-1000 µm) verglichen wurden. Für PS Kügelchen wurde eine WFR von $105.0 \pm 3.2 \%$ und für PET Fasern von $89.6 \pm 3.9 \%$ bestimmt (siehe Anhang: Zusatzmaterial Kapitel 6). Dies entspricht den Erwartungen, da die PS Kügelchen aufgrund ihrer Größe und Form einfach und die PET Fasern kaum in Wasser mit dem Auge zu erkennen sind. Auf dieser Grundlage wurde entschieden, die Methodvalidierung für die Probenvorbereitung am Beispiel der PET Fasern (<500 µm) durchzuführen. Für die Probenvorbereitung konnten WFR für die Proben ohne Umweltmatrix von $86.0 \pm 5.0 \%$ im niedrigen Konzentrationsbereich von 0.4-0.6 mg/mL und von $89.6 \pm 3.9 \%$ im höheren Konzentrationsbereich von 1.0-2.8 mg/mL bestimmt werden. Es ist also kein signifikanter Unterschied zwischen der niedrigen und der hohen Spike-Konzentration zu erkennen. Zusätzlich wurden die WFR von PET Fasern für verschiedene Umweltproben bestimmt, um die Anwendbarkeit der Probenvorbereitung und den Einfluss von Umweltmatrices zu bestimmen. Es ergaben sich WFR für Moselwasserproben von $93.5 \pm 5.7 \%$, für Biofilmpuben von $96.4 \pm 7.5 \%$, für Invertebratenproben von $72.1 \pm 4.6 \%$ und für Sedimentproben von $104.5 \pm 3.7 \%$ (für mehr Informationen siehe Kapitel 5). Die WFR für die Invertebratenmatrix unterscheidet sich stark von der Referenz ohne Matrix (ca. 20 %) Dies könnte an dem stark ausgeprägten Exoskelett des gewählten Modellorganismus liegen, da durch die anorganischen Matrixbestandteile, wie Calciumcarbonat, das Lösevermögen für PET minimiert wird und dies zu einer geringeren WFR führt. Im Vergleich dazu weisen die WFR für die Umweltmatrices Moselwasser, Biofilm und Sediment kaum

signifikante Unterschiede zu der WFR ohne Umweltmatrix auf. Dies deutet darauf hin, dass die getesteten Matrices kaum Einfluss auf die Probenvorbereitung und Analyse haben.

Fazit

Ein Vergleich der WFR der Probenvorbereitung der qNMR-Methode mit anderen MP-Analysemethoden ist aus folgenden Gründen schwierig: Zum einen existieren bis zum jetzigen Zeitpunkt weder ein allgemeines Probenvorbereitungsschema noch einheitliche MP-Modellproben. Des Weiteren wurden erst in letzter Zeit vermehrt Methodvalidierungen und WFR von Probenvorbereitungen in der Literatur angegeben, welche zum Vergleich herangezogen werden können. Dennoch soll ein grober Überblick über die WFR von verschiedenen MP-Analysemethoden gegeben werden, um die Güte WFR der qNMR-Methode grob einschätzen zu können (siehe Kapitel 5). Für Sand/Sedimentproben, welche mittels optischer Methoden analysiert wurden, wurden WFR im Bereich von 50-100% angegeben [37, 43, 88–90]. WFR > 90 % wurden hauptsächlich dann erzielt, wenn MP-Partikel mit einem Durchmesser > 0.5 mm als Modellpartikel verwendet wurden. Dies bestätigt die Aussage von Harvey et al., dass höhere WFR erzielt werden, wenn größere und farbige MP-Partikel verwendet werden [55]. Auch wurde Fischgewebe in einer Studie als Modellmatrix verwendet und mittels optischer und FTIR-Methoden analysiert [42]. Mittels optischer Untersuchung konnte eine WFR von 57 % ± 12 erzielt werden und mittels FTIR-Methoden, abhängig von der Probenvorbereitung, WFR im Bereich von 70 % ± 3 bis 95 % ± 2 [42]. Fischgewebe kam auch als Modellmatrix für Py-GC-MS-Untersuchungen zum Einsatz, wobei die WFR innerhalb des 95 %-Vorhersageintervalls der Kalibriergeraden liegen [91]. Diese WFR haben gemeinsam, dass sie alle die Dichteseperation als einen Schritt in der Probenvorbereitung aufweisen. Dierkes et al. hingegen geben WFR für die Fest-Flüssig-Extraktion als Probenvorbereitung für die Py-GC-MS-Methode an [34]. Für verschiedene MP-Polymerarten (PS, PE, PP) werden WFR im Bereich von 77-114 % für eine synthetische Matrix (3 % Huminsäure in Seesand) angegeben. In der Veröffentlichung wird zusätzlich beschrieben, dass ähnliche WFR für Fischfilets, Tannennadeln, Flusskrebse und Blätter erzielt wurden [34]. Steinmetz et al. beschreiben ähnliche WFR für die Fest-Flüssig-Extraktion in Kombination mit der Py-GC-MS-Methode [46]. Für PE, PP und PS in einer Sedimentmatrix ($C_{org} < 2.5\%$) konnten WFR im Bereich von 70-128 % erreicht werden [46]. Dieser Überblick zeigt, dass die WFR der Probenvorbereitung, welche für die qNMR-Methode weiterentwickelt wurde, vergleichbar mit den anderen Probenvorbereitungen und MP-Analysemethoden ist.

Mehr noch zeigen die hohen WFR von > 90 % (ausgenommen Invertebraten > 72 %) und die geringen Standardabweichungen (< 7.5 %) der verschiedenen Umweltmatrices, dass

sich die Probenvorbereitung für die MP-Analyse mittels qNMR-Spektroskopie eignet und vergleichbare und reproduzierbare Ergebnisse für unterschiedliche Umweltmatrices liefert. Dies ist ein wichtiger Punkt, da in einem Review zum Thema MP-Analytik in Bezug auf den Nachweis in Böden, angemerkt wurde, dass sich die thermoanalytischen Methoden für die MP-Analytik eignen, die qNMR-Methode aber aufgrund von störenden Matrixeffekten möglicherweise nicht, wobei die Autoren die Möglichkeit einer Probenvorbereitung mit weitgehender Entfernung NMR-aktiver Matrixbestandteile nicht in Betracht gezogen haben [40]. Besonders am Beispiel von PET konnte im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden, dass die qNMR-Methode gegenüber den meisten Matrixeffekten, besonders gegenüber den organischen Matrixbestandteilen, welche auch in Böden vorkommen, insensitiv ist und zu reproduzierbaren Ergebnissen führt. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Biofilmprouben grundsätzlich die quantitative Analyse von PS, PA, PVC und ABS nicht stören. Einzig bei LDPE treten störende Matrixeffekte auf, da das Markersignal von LDPE (1.85-0.60 ppm) in den Hauptmatrix-Signalbereich von 2.4-0.7 ppm fällt. In solch einem Fall, bei dem das Markersignal im Matrixbereich liegt aber dennoch als Signal zu erkennen ist, kann die PF-Methode angewendet werden. Die PF-Methode stellt daher besonders für Umweltmatrices eine vielversprechende Alternative dar, da sie eine Möglichkeit bietet, auch Polymertypen in Umweltproben zu quantifizieren, bei denen störende Matrixeffekte auftreten. Dies stellt einen großen Vorteil gegenüber anderen MP-Analysemethoden dar. Beispielsweise ist die FTIR-Spektroskopie sehr anfällig für Matrixeffekte aufgrund von Signalüberlagerungen von vielen organischen Matrices wie langkettigen Fettsäuren oder Ketonen. Es ist daher nicht möglich, MP-Partikel mittels FTIR-Spektroskopie zu identifizieren, wenn sich biologische Matrixbestandteile auf der Oberfläche der MP-Partikel befinden, da die Messung auf die Oberfläche der Partikel limitiert ist [52]. Des Weiteren muss auch bedacht werden, dass langkettige Fettsäuren und Ketone ähnliche Signale im FTIR-Spektrum hervorrufen wie beispielsweise PE. Somit kann eine Unter- oder Überbestimmung von PE mittels FTIR nicht ausgeschlossen werden. Ein ähnliches Problem beschreiben Dierkes et al. für die Py-GC-MS-Methode, da besonders für die Quantifizierung von PE störende Matrixeffekte detektiert werden [34]. Die thermoanalytischen Methoden verwenden zur Quantifizierung spezifische Pyrolyse-m/z-Verhältnisse als Marker für die jeweiligen Polymertypen. Da die Marker häufig aromatische oder aliphatische Strukturen aufweisen und eng verwandte Struktur motive auch oftmals in organischen Matrixbestandteilen auftreten, können diese, genauso wie bei der qNMR-Methode, die Quantifizierung, aber auch die Identifizierung stören [91]. Außerdem wird die Identifizierung von MP-Partikeln mittels Raman-Spektroskopie durch

Fluoreszenzphänomene, welche durch anorganische Komponenten wie beispielsweise Tonmineralien oder organische Komponenten wie beispielsweise Huminsäuren hervorgerufen werden können, stark beeinflusst. Im Gegensatz dazu ist die ^1H -qNMR-Spektroskopie insensitiv gegenüber anorganischen Matrixbestandteilen, wie beispielsweise Tonmineralien, oder organischen Matrixkomponenten im Signalbereich von 0.0-0.7 ppm und 2.4-10.0 ppm. Zusammenfassend handelt es sich bei der vorgestellten Probenvorbereitung in Kombination mit der quantitativen ^1H -NMR-Spektroskopie um eine mögliche alternative MP-Analytik, welche sich für die qualitative und quantitative Analyse von MP in Umweltproben eignet und nur durch die verwendete Filtrationseinheit größenlimitiert ist.

Simultane Bestimmung – Vorversuche

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zusätzlich zu den Ergebnissen, welche in Kapitel 2-5 vorgestellt wurden, erste Erkenntnisse bezüglich der simultanen Bestimmung erzielt, welche hier kurz aufgeführt werden sollen (siehe Anhang Zusatzmaterial: Kapitel 6). Ziel dieser Vorversuche ist die Weiterentwicklung hin zu einer schnellen, größenunabhängigen, simultanen Bestimmung von verschiedensten MP-Polymertypen in Umweltmatrices. Zwei Hauptpunkte müssen dafür geklärt werden. Zunächst stellt sich die Frage, ob eine simultane Quantifizierung von zwei oder mehr Polymertypen in einer Probe möglich ist, um nicht für jede Art von Polymer eine unabhängige Probenlösung präparieren zu müssen. Weiterhin entscheidend ist die Frage, ob eine sequenzielle Extraktion der einzelnen MP-Polymertypen oder von nebeneinander quantifizierbaren Gruppen von Polymertypen aus Umweltmatrices mittels Fest-Flüssig-Extraktion möglich ist. Die Weiterentwicklung der Probenvorbereitung in eine Richtung, welche auf den zeitintensivsten und größenlimitierenden Schritt, die Filtration, verzichtet, stellt einen wichtigen Meilenstein in Richtung Routineanalytik dar. Erst kürzlich veröffentlichte Arbeiten zu diesem Thema zeigen [34, 46], dass die Fest-Flüssig-Extraktion von Polymeren mittels geeigneter Lösungsmittel für das jeweils spezifische Polymer eine vielversprechende Möglichkeit zum Erreichen dieses Ziels darstellt. Bei der Fest-Flüssigextraktion handelt es sich um eine sehr zeitsparende Methode, da generell kein weiterer Aufbereitungsschritt bezüglich der Matrix notwendig ist [39]. Gegebenenfalls kann noch ein vorgeschalteter Schritt mit Methanol als Extraktionsmittel durchgeführt werden, um organische Matrixbestandteile zu entfernen. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass die verschiedenen MP-Partikel in der zu untersuchenden Umweltprobe mittels Fest-Flüssigextraktion aufkonzentriert werden und somit die Nachweis- sowie Bestimmungsgrenze des MP pro Volumen Umweltprobe verbessert werden kann. Die Fest-Flüssig-Extraktion bietet für die simultane Bestimmung mittels der qNMR Methode zwei Möglichkeiten. Durch eine gezielte sequenzielle Extraktion kann bereits vor der eigentlichen Analyse eine Trennung von verschiedenen Polymeren erfolgen, aber auch eine simultane Bestimmung verschiedener Polymere durch die Wahl eines geeigneten Lösungsmittels ist möglich.

Simultane Quantifizierung

Die Kosten und die Messzeit könnten durch eine simultane Quantifizierung von zwei oder mehr Polymertypen stark reduziert werden, da hierdurch das Probenaufkommen dementsprechend stark reduziert wäre. Um dies zu ermöglichen, müssen sich die

entsprechenden Polymere in einem geeigneten Lösungsmittel lösen und dürfen sich nicht gegenseitig beeinflussen. Im Rahmen erster Vorversuche wurde getestet, ob die simultane Bestimmung von PET und PS in dem Lösungsmittelgemisch Chloroform/TFA 4:1 (1D-Methode) und von PVC und PS in THF (NoD-Methode) möglich ist. Überprüft wurde die Linearität der Kalibriergeraden, die Richtigkeit anhand von jeweils drei Modellproben und die NWG wurde basierend auf dem SNR von 3:1 kalkuliert.

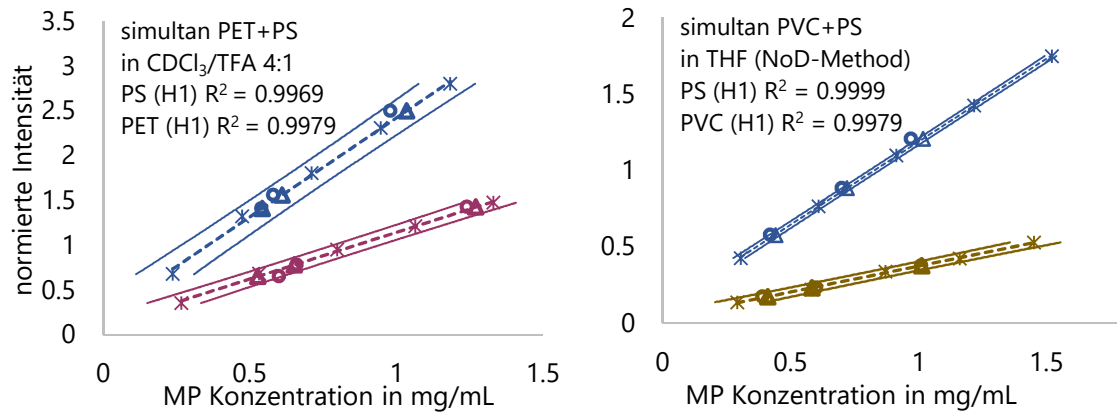


Abbildung 6: Simultane Quantifizierung. Angegeben ist die 5-Punkt-Kalibriergerade mit dem entsprechenden Vertrauensbereich (0.95). Aufgetragen ist die Konzentration in mg/mL gegen die normierte Intensität (siehe Kapitel 2 & 3 Gleichung 1). Zusätzlich ist der theoretische Wert (Dreieck) und der berechnete Wert (Kreis) der Modellproben angegeben (für mehr Information siehe Anhang: Zusatzinformation Kapitel 6). Links: PET + PS in CDCl₃/TFA 4:1 (1D-Methode) im Konzentrationsbereich von 0.3-1.3 mg/mL für PET (pink) und 0.2-1.2 mg/mL für PS (blau). Rechts: PVC + PS in THF (NoD-Methode) im Konzentrationsbereich von 0.3-1.5 mg/mL für PVC (gelb) und 0.3-1.5 mg/mL für PS (blau).

Für PET&PS sowie für PVC&PS ist die Linearität der Kalibriergeraden mit $R^2 > 0.9969$ gegeben (Residuen normalverteilt). Auch weist die simultane Quantifizierungsmethode eine hohe Richtigkeit auf. Für die simultane Bestimmung von PVC und PS in THF weisen drei Modellproben mit einer bekannten Menge von PVC und PS eine Richtigkeit von 94.1- 102 % für PVC und von 101 – 105 % für PS auf (siehe Abbildung 6 und Anhang: Zusatzmaterial Kapitel 6). Ähnliche Ergebnisse konnten für die simultane Bestimmung von PET und PS in CDCl₃/TFA erzielt werden. Die Methode weist eine Richtigkeit von 88.1 – 102 % für PET und von 101 – 104 % für PS auf, wobei die berechneten Werte im Vertrauensbereich der Kalibriergerade liegen (siehe Abbildung 6 und Anhang: Zusatzmaterial Kapitel 6). Zusätzlich wurde getestet, ob drei Modellproben, die nur PET enthalten, zu vergleichbaren Ergebnissen führen, wenn die Kalibriergerade aus den Versuchen zur simultanen Bestimmung verwendet wird. Die Richtigkeit liegt in dem Fall zwischen 93.1 – 99.5 % (siehe Anhang: Zusatzmaterial Kapitel 6). Somit sind die Ergebnisse der simultanen Methode mit den nicht-simultanen Ergebnissen vergleichbar. Auch liegen die NWG der simultanen Methode in derselben Größenordnung wie die der nicht-simultanen Quantifizierung. Für die PET & PS – Kalibriergerade konnte eine NWG basierend auf dem SNR-Verhältnis für PET

mit 1 µg/mL und für PS mit 32 µg/mL kalkuliert werden, während sich für die PVC & PS – Kalibriergerade für PVC eine NWG von 37 µg/mL und für PS von 19 µg/mL ergab (siehe Anhang: Zusatzmaterial Kapitel 6). Basierend auf diesen Ergebnissen der Vorversuche kann geschlossen werden, dass die simultane Quantifizierung keinen Einfluss auf die Identifizierung oder Quantifizierung der getesteten MP-Polymerarten hat. Dies gilt allerdings nur, wenn die Polymere vollständig gelöst vorliegen und die Markersignale der jeweiligen Polymere sich nicht vollständig überlagern.

Fest-Flüssig-Extraktion

In ersten Vorversuchen wurde außerdem überprüft, ob sich die Fest-Flüssig-Extraktionsmethode für die qNMR-Methode grundsätzlich eignet. Dazu wurde die Sedimentmatrix mit einer bekannten Menge MP (PET, PS und/oder PVC) versetzt, extrahiert und die WFR bestimmt (siehe Anhang Zusatzinformation: Kapitel 6). Zur Verfügung stand für die Extraktion eine normale Extraktionseinheit mit Rückflusskühler ohne Automatisierung oder erhöhter Druckfunktion wie dies bei der pressurized liquid extraction (PLE) der Fall ist. In einem ersten Experiment wurde anhand von PS-Kügelchen getestet, ob diese normale Extraktion zu reproduzierbaren Ergebnissen führt. Als Extraktionsmittel wurde THF gewählt und es konnten WFR von $95.5 \pm 6.8 \%$ erzielt werden. Neben THF wurde auch Chloroform als Extraktionsmittel für PS getestet, wobei in einem zweiten Extraktionsschritt PET-Fasern mittels Hexafluorisopropanol (HFIP) extrahiert wurden. Im ersten Extraktionsschritt konnten WFR für PS von 81.8 % (Cellulosehülle, ca. 2h) bzw. 103.5 % (Glaseinsatz, ca. 2h) und im zweiten Extraktionsschritt für PET von 94.4 % (Cellulosefaserhülle, ca. 2h) bzw. 105 % (Glaseinsatz ca. 2h) erreicht werden. Zusätzlich wurde die simultane Extraktion von PS und PVC mittels THF getestet, wobei zur Quantifizierung die Kalibriergerade zur simultanen Quantifizierung (PVC + PS) verwendet wurde. WFR für PS von $105 \pm 6.2 \%$ und für PET von $76.6 \pm 5.1 \%$ (Cellulosefaserhülle, ca. 2h) zeigen, dass auch die simultane Bestimmung grundsätzlich möglich ist. Zum Vergleich beschreiben Steinmetz et al. für die simultane Extraktion von PE, PP und PS eine ähnliche Extraktion wie die Schritte 4a-5 der hier vorgestellten Probenvorbereitung aus Kapitel 5. Als Extraktionsmittel wird Trichlorbenzen (TCB) bei 120 °C (60 min) verwendet. Mit dieser einfachen Extraktion konnten WFR von 70 - 128 % erzielt werden. Im Vergleich dazu wird die WFR der PLE in Kombination mit der Pyrolyse-GC-MS-Methode von PS mit $77 \pm 19 \%$, für PP mit $95 \pm 9 \%$ und für PE mit $114 \pm 35 \%$ angegeben (für THF bei 180 °C und 100 bar, 0.05 mg/g MP/Sandmatrix) [34]. Dies macht deutlich, dass die Fest-Flüssig-Extraktion für die massenbasierten Methoden eine wichtige alternative Probenvorbereitung darstellt. Mehr noch haben die ersten Vorversuche gezeigt, dass sich die Fest-Flüssig-

Extraktion auch für die qNMR-Methode eignet. Zudem bietet diese Methode die Möglichkeit, MP-Partikel sequenziell zu bestimmen bzw. zwei oder mehrere MP-Polymerarten simultan zu bestimmen. Nichtsdestotrotz sind weitere Untersuchungen nötig, um zu klären, ob die Fest-Flüssig-Extraktion zu reproduzierbaren Ergebnissen führt und die Methode auch für alle getesteten MP-Polymerarten geeignet ist.

Tabelle 5: Übersicht der WFR der Vorversuche für die Fest-Flüssig-Extraktion zur simultanen Bestimmung. Angegeben ist die WFR in % in Abhängigkeit des jeweiligen Extraktionsmittels und der MP-Polymerart. WFR berechnet basierend auf Kapitel 5.

Extraktionsmittel / MP Sorte	Chloroform	THF	HFIP
PS	-	95.5 ± 6.8 (PS)	-
PS + PVC	-	105 ± 6.2 (PS) 76.6 ± 5.1 (PVC)	-
PS + PET	81.8; 104 (PS)	-	94.4; 105 (PET)

Ausblick & Schlussfolgerung

Am Anfang der Arbeit stand die Fragestellung, ob sich die quantitative $^1\text{H-NMR}$ Spektroskopie für die MP-Analytik grundsätzlich eignet. Die Anwendbarkeit der neuen Methode konnte am Beispiel von LDPE, PET, PS, PVC, PA und ABS gezeigt werden, wobei die NWG der sechs getesteten Polymere im unteren umweltrelevanten Bereich liegt. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass verschiedene Umweltmatrices (Sediment, Fließgewässer und aquatische Organismen) die quantitative Analyse nicht stören und die speziell für die qNMR-Methode entwickelte Probenvorbereitung für die unterschiedlichen Umweltmatrices angewendet werden kann. Nichtsdestotrotz sind noch weitere Forschungsfragen zu klären, da die Forschung der MP-Analytik mittels der qNMR-Methode noch am Anfang steht. Der nächste Schritt sollte darin bestehen, ein geeignetes Lösungsmittel für HDPE und PP zu finden und zu überprüfen, ob die qNMR-Methode auch für diese beiden wichtigen Polymertypen geeignet ist. Als mögliches Lösungsmittel könnte sich 1,2,4-Trichlorbenzen (TCB) eignen, da dieses in der Größenausschlusschromatographie standardmäßig für HDPE und PP verwendet wird [92]. Ein Problem stellt allerdings die hohe Temperatur dar, bei der sich PE und PP in TCB lösen (120-160 °C), wodurch die Handhabung einer Kalibriergerade ausgehend von einer Stammlösung stark fehleranfällig sein könnte [46, 92]. Allerdings beschreiben Steinmetz et al. eine alternative Möglichkeit für dieses Problem. Die MP-Partikel werden in TCB gelöst, auf 120 °C geheizt, wodurch die Polymere gelöst werden und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Es entsteht eine Suspension, welche als Stammlösung dient und die definiert verdünnt werden kann [46]. Die Ergebnisse sind vielversprechend und bieten möglicherweise eine Lösung, um PE und PP mittels $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie zu quantifizieren.

Neben der Ausweitung der Methode auf andere MP-Polymerarten ist auch die Weiterentwicklung der simultanen Bestimmung ein entscheidender Punkt im Hinblick auf eine Routineanwendung. Mit der Erkenntnis, dass auch nicht-deuterte Lösungsmittel für die quantitative MP-Analyse in Betracht gezogen werden können, ergibt sich eine größere Auswahl an Lösungsmitteln, welche für die MP-Analytik herangezogen werden können. Die simultane Quantifizierung mehrerer MP-Polymertypen wird somit wahrscheinlicher. Dennoch sollte beachtet werden, dass ein Vorteil der Methode in der Möglichkeit sequenzieller Löseschritte der verschiedenen MP-Polymertypen begründet ist. Dadurch wäre es potentiell möglich, LDPE von HDPE und PP getrennt zu analysieren. Dies sollte bei der Entwicklung einer simultanen Bestimmung beachtet werden. Im Rahmen erster Vorversuche konnte bereits gezeigt werden, dass eine simultane Quantifizierung von PET

und PS in CDCl_3/TFA (1D-Methode) sowie von PVC und PS in THF (NoD-Methode) möglich ist. Denkbar ist auch eine simultane Bestimmung von ABS und PS in CDCl_3 oder von PET und PA in HFIP (NoD-Methode). Dies kann auch bei der Fest-Flüssig-Extraktion Anwendung finden. In Abbildung 6 ist eine Verfahrensweise skizziert, die ausgehend von unseren Vorarbeiten für PS, ABS, PVC, PET, PA und LDPE eine sukzessive Flüssigextraktion aus einer Probe, in der die verschiedenen Polymerarten parallel vorkommen, gewährleisten soll. Im ersten Schritt würden die Styrenpolymere wie beispielsweise PS und ABS sowie PVC mittels THF extrahiert, danach PET und PA mit Hexafluorisopropanol (HFIP) und LDPE mit Toluol. Im Ergebnis erhält man Lösungen einer oder mehrerer Polymerarten, die dann analog zu der von uns bereits beschriebenen Vorgehensweise durch qNMR quantitativ bestimmt werden. Generell ist bei der Fest-Flüssig-Extraktion kein weiterer Aufarbeitungsschritt, wie beispielsweise der chemische Aufschluss, notwendig. Gegebenenfalls kann noch ein vorgeschalteter Schritt mit Methanol als Extraktionsmittel durchgeführt werden, um störende organische Matrixbestandteile zu entfernen. In anschließenden Untersuchungen muss die Methodik auf eine größere Zahl von möglichen Polymerarten erweitert werden, um dann als abschließende Zielstellung ein Protokoll zur Probenpräparation realer Umweltproben zu entwickeln, das die parallele quantitative Bestimmung von MP-Partikeln mittels qNMR effizient und mit hoher Genauigkeit erlaubt.

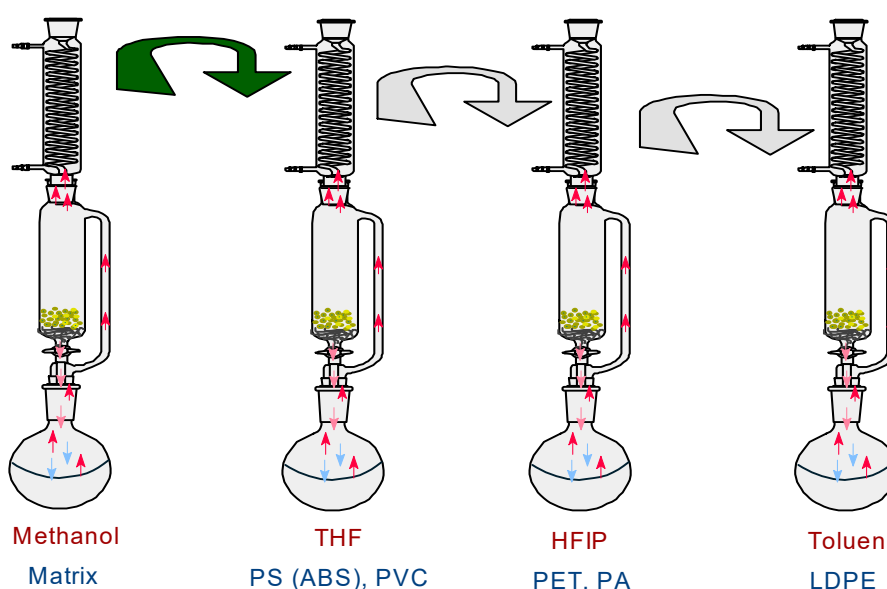


Abbildung 7: Vorgeschlagener Work-Flow für die simultane Bestimmung von MP in Umweltproben mittels Fest-Flüssig-Extraktion für die qNMR-Methode. Rot gefärbt die entsprechenden Extraktions-Lösungsmittel und blau die entsprechende extrahierte Substanz (Matrix oder MP) in dem jeweiligen Extraktionsschritt.

Neben der Weiterentwicklung der Methode sollte auch ein Methodenvergleich mit anderen MP-Analysemethoden ausgehend von identischen Modell- oder Umweltproben wie der FTIR-Spektroskopie oder den thermoanalytischen Methoden in Betracht gezogen werden. Ein Methodenvergleich würde die Vor- und Nachteile der jeweiligen Methode deutlich hervorheben und somit einen Ansatz für zukünftige MP-Analytik-Problemstellungen und die Wahl der MP-Analysemethode liefern. Um die qNMR-Methode für Fragestellungen mit hohen Probendurchsätzen sowie für eine breitere Anwendung attraktiver zu gestalten, ist es zudem sinnvoll, die Methodvalidierung der NoD- und Benchtop-Methode auf alle MP-Polymersorten auszuweiten. Auch sollte die Kombination der Benchtop-Methode mit der NoD-Methode, welche gerätebedingt möglich ist, weiter untersucht werden. Dies würde eine sehr kosteneffektive Methode darstellen, welche für Routineuntersuchungen in Betracht gezogen werden könnte. Aufgrund der aktuell fehlenden Routineanalytik ist zudem eine Überlegung in Richtung Markersubstanz, beispielsweise PS oder PET, sinnvoll. Diese Markersubstanz könnte mittels NoD-Methode und/oder Benchtop-Methode im Zuge eines schnellen Screenings analysiert werden und einen ersten Aufschluss über die MP-Belastung der Umweltprobe liefern.

Zusammenfassend handelt es sich bei der hier zum ersten Mal vorgestellten Methode um eine vielversprechende Alternative für die MP-Analyse in Umweltproben, welche zudem Potential zur Routineanalytik aufweist. Der Vorteil der qNMR Methode besteht darin, dass es sich um eine schnelle und einfache Methode handelt. Wie bei den anderen massenbasierten MP-Methoden auch, wird keine Information über die Partikelgröße und -anzahl erhalten, da die Partikel nicht ausgezählt werden. Dafür kann die MP-Konzentration massenbasiert pro Einheit der Umweltprobe angegeben werden, wobei eine Missklassifikation wie bei der oftmals durchgeführten optischen Methode sehr unwahrscheinlich ist und es sich zusätzlich um eine größenunabhängige Analysemethode handelt. Schlussendlich hängt die Wahl der Analysemethode von der Fragestellung ab [47] und eine Kombination von mehreren Methoden (ob Auszählmethode oder massenbasierte Methode) könnte ein wichtiger Schritt in Richtung einer umfassenden und ganzheitlichen MP-Analytik darstellen.

Literaturverzeichnis

1. Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis A, Rowland SJ, John, Anthony W.G., McGonigle D, Russell AE (2004) Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* 304:838
2. Stock F, Kochleus C, Bänsch-Baltruschat B, Brennholt N, Reifferscheid G (2019) Sampling techniques and preparation methods for microplastic analyses in the aquatic environment – A review. *TrAC* 113:84–92
3. Hartmann NB, Hüffer T, Thompson RC, Hassellöv M, Verschoor A, Dagaard AE, Rist S, Karlsson T, Brennholt N, Cole M, Herrling MP, Hess MC, Ivleva NP, Lusher AL, Wagner M (2019) Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environ. Sci. Technol.* 53(3):1039–1047
4. World Economic Forum (2016) The New Plastics Economy. Rethinking the future of plastics. <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/publications/the-new-plastics-economy-rethinking-the-future-of-plastics>. Accessed 6 March 2019
5. Geyer R, Jambeck JR, Law KL (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci. Adv.* 3(7):e1700782
6. Miklos D, Obermaier N, Jekel M (2015) Mikroplastik: Entwicklung eines Umweltbewertungskonzepts. <http://www.umweltbundesamt.de/publikationen/mikroplastik-entwicklung-eines>. Accessed 18 February 2020
7. Umweltbundesamt (2016) Anteil Kunststoffsorten an der Verarbeitungsmenge Kunststoffe 2015. <https://www.umweltbundesamt.de/daten/ressourcen-abfall/verwertung-entsorgung-ausgewaehelter-abfallarten/kunststoffabfaelle#hohe-verwertungsquoten->. Accessed 10 July 2018
8. Carney Almroth BM, Åström L, Roslund S, Petersson H, Johansson M, Persson N-K (2018) Quantifying shedding of synthetic fibers from textiles; a source of microplastics released into the environment. *Environ. Sci Pollut. Res.* 25(2):1191–1199
9. Domininghaus H, Elsner P, Eyerer P, Hirth T (2008) *Kunststoffe. Eigenschaften und Anwendungen*, 7. Auflage. Springer
10. Böhme U (2014) *Kunststoffe und Polymere*. Wiley Online Library. <https://doi.org/10.1002/9783527810536.app3>
11. Peez N, Becker J, Ehlers SM, Fritz M, Fischer CB, Koop JHE, Winkelmann C, Imhof W (2019) Quantitative analysis of PET microplastics in environmental model samples

- using quantitative $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy: Validation of an optimized and consistent sample clean-up method. *Anal. Bioanal. Chem.* 411(28):7409-7418
12. Cole M, Lindeque P, Halsband C, Galloway TS (2011) Microplastics as contaminants in the marine environment. A review. *Mar. Pollut. Bull.* 62(12):2588–2597
13. Lehtiniemi M, Hartikainen S, Näkki P, Engström-Öst J, Koistinen A, Setälä O (2018) Size matters more than shape: Ingestion of primary and secondary microplastics by small predators. *Food Webs* 17:e00097
14. Sundt P, Schulze P-E, Syversen F (2014) Sources of microplastic-pollution to the marine environment.
<http://www.miljodirektoratet.no/Documents/publikasjoner/M321/M321.pdf>. Accessed 15 October 2018
15. Eerkes-Medrano D, Thompson RC, Aldridge DC (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
16. Napper IE, Bakir A, Rowland SJ, Thompson RC (2015) Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Mar. Pollut. Bull.* 99(1-2):178–185
17. Napper IE, Thompson RC (2016) Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines. Effects of fabric type and washing conditions. *Mar. Pollut. Bull.* 112(1-2):39–45
18. Derraik JGB (2002) The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Mar. Pollut. Bull.* 44:842–852
19. Jambeck JR, Geyer R, Wileox C, Siegler TR, Perrman M, Andrady A, Narayan Ramani, Law, Kara Lavender (2015) Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science (New York, N.Y.)* 347(6223):764–768
20. Wagner M, Lambert S (eds) (2018) *Freshwater Microplastics. Emerging Environmental Contaminants?* SpringerOpen
21. Browne MA, Crump P, Niven SJ, Teuten E, Tonkin A, Galloway T, Thompson R (2011) Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. *Environ. Sci. Technol.* 45(21):9175–9179
22. Wright SL, Thompson RC, Galloway TS (2013) The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environ. Pollut.* 178:483–492
23. Waller CL, Griffiths HJ, Waluda CM, Thorpe SE, Loaiza I, Moreno B, Pacherrres CO, Hughes KA (2017) Microplastics in the Antarctic marine system: An emerging area of research. *Science of the Total Environment* 598:220–227

24. Peeken I, Primpke S, Beyer B, Gütermann J, Katlein C, Krumpfen T, Bergmann M, Hehemann L, Gerdt G (2018) Arctic sea ice is an important temporal sink and means of transport for microplastic. *Nature communications* 9(1):1505
25. Free CM, Jensen OP, Mason SA, Eriksen M, Williamson NJ, Boldgiv B (2014) High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. *Mar. Pollut. Bull.* 85(1):156–163
26. Ziajahromi S, Kumar A, Neale PA, Leusch FDL (2017) Impact of Microplastic Beads and Fibers on Waterflea (*Ceriodaphnia dubia*) Survival, Growth, and Reproduction: Implications of Single and Mixture Exposures. *Environ. Sci. Technol.* 51(22):13397–13406
27. Frydkjær CK, Iversen N, Roslev P (2017) Ingestion and Egestion of Microplastics by the Cladoceran *Daphnia magna*: Effects of Regular and Irregular Shaped Plastic and Sorbed Phenanthrene. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 99(6):655–661
28. Canniff PM, Hoang TC (2018) Microplastic ingestion by *Daphnia magna* and its enhancement on algal growth. *Science of the Total Environment* 633:500–507
29. Jemec A, Horvat P, Kunej U, Bele M, Krzan A (2016) Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environ. Pollut.* 219:201–209
30. Lithner D, Larsson A, Dave G (2011) Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. *Science of the Total Environment* 409(18):3309–3324
31. Hidalgo-Ruz V, Gutow L, Thompson RC, Thiel M (2012) Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. *Environ. Sci. Technol.* 46(6):3060–3075
32. Teuten EL, Saquing JM, Knappe DRU, Barlaz MA, Jonsson S, Björn A, Rowland SJ, Thompson RC, Galloway TS, Yamashita R, Ochi D, Watanuki Y, Moore C, Viet PH, Tana TS, Prudente M, Boonyatumanond R, Zakaria MP, Akkhavong K, Ogata Y, Hirai H, Iwasa S, Mizukawa K, Hagino Y, Imamura A, Saha M, Takada H (2009) Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Phil. Trans. R. Soc. B* 364(1526):2027–2045
33. Mai L, Bao L-J, Shi L, Wong CS, Zeng EY (2018) A review of methods for measuring microplastics in aquatic environments. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 25(12):11319–11332

34. Dierkes G, Lauschke T, Becher S, Schumacher H, Földi C, Ternes T (2019) Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.* 411(26):6959–6968
35. Dümichen E, Barthel A-K, Braun U, Bannick CG, Brand K, Jekel M, Senz R (2015) Analysis of polyethylene microplastics in environmental samples, using a thermal decomposition method. *Water Res.* 85:451–457
36. Lusher AL, Welden NA, Sobral P, Cole M (2017) Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Anal. Methods* 9(9):1346–1360
37. Imhof HK, Schmid J, Niessner R, Ivleva NP, 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(7):524–537
38. 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.* 12:539-550
39. Wang Z, Taylor SE, Sharma P, Flury M (2018) Poor extraction efficiencies of polystyrene nano- and microplastics from biosolids and soil. *PLOS one* 13(11):e0208009
40. Möller JN, Löder MGJ, Laforsch C (2020) Finding Microplastics in Soils: A Review of Analytical Methods. *Environmental science & technology* 54(4):2078–2090
41. Vandermeersch G, van Cauwenberghe L, Janssen CR, Marques A, Granby K, Fait G, Kotterman MJJ, Diogène J, Bekaert K, Robbens J, Devriese L (2015) A critical view on microplastic quantification in aquatic organisms. *Environ. Res.* 143(Pt B):46–55
42. Avio CG, Gorbi S, Regoli F (2015) Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: First observations in commercial species from Adriatic Sea. *Mar. Environm. Res.* 111:18–26
43. Nuelle M-T, Dekiff, Jens H., Remy D, Fries E (2014) A new analytical approach for monitoring micrplastics in marine sediments. *Environ. Pollut.* 184:161–169
44. Löder MGJ, Imhof HK, Ladehoff M (2017) Enzymatic Purification of Microplastics in Environmental Samples. *Environ. Sci. Technol.* 51:14283–14292
45. Fuller S, Gautam A (2016) A Procedure for Measuring Microplastics using Pressurized Fluid Extraction. *Environmental science & technology* 50(11):5774–5780
46. Steinmetz Z, Kintzi A, Muñoz K, Schaumann GE (2020) A simple method for the selective quantification of polyethylene, polypropylene, and polystyrene plastic debris

- in soil by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 147:104803
47. Zarfl C (2019) Promising techniques and open challenges for microplastic identification and quantification in environmental matrices. *Anal. Bioanal. Chem.* 411:3743–3756
48. Elert AM, 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(Pt 2):1256–1264
49. Huppertsberg S, Knepper TP (2018) Instrumental analysis of microplastics-benefits and challenges. *Anal. Bioanal. Chem.* 410:6343–6352
50. Duemichen E, Eisentraut P, Celina M, Braun U (2019) Automated thermal extraction-desorption gas chromatography mass spectrometry: A multifunctional tool for comprehensive characterization of polymers and their degradation products. *J. Chromatogr. A* 1592:133–142
51. Pimpke S, Christiansen SH, Cowger W, Frond H de, Deshpande A, Fischer M, Holland E, Meyns M, O'Donnell BA, Ossmann B, Pittroff M, Sarau G, Scholz-Böttcher BM, Wiggin K (2020) EXPRESS: Critical Assessment of Analytical Methods for the Harmonized and Cost Efficient Analysis of Microplastics. *Appl Spectrosc*:000370282092146
52. Hupfer M, Fischer H (eds) (2017) *Handbuch Angewandte Limnologie. Mikroplastik in Binnengewässern*. Wiley-VCH
53. Ivleva NP, Wiesheu AC, Niessner R (2017) Microplastic in Aquatic Ecosystems. *Angew. Chem. Int. Ed.* 56(7):1720–1739
54. Li J, Liu H, Paul Chen J (2018) Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water research* 137:362–374
55. Hanvey JS, Lewis PJ, Lavers JL, Crosbie ND, Pozo K, Clarke BO (2017) A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Anal. Methods* 9:1369–1383
56. Hintersteiner I, Himmelsbach M, Buchberger WW (2015) Characterization and quantitation of polyolefin microplastics in personal-care products using high-temperature gel-permeation chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.* 407(4):1253–1259
57. Friebolin H (2006) *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, 4. Auflage. Wiley-VCH, Weinheim

58. Hesse M, Meier H, Zeeh B (2012) *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 8.th edn. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart
59. Pauli GF, Jaki BU, Lankin DC (2005) Quantitative ¹H NMR. Development and potential of a method for natural products analysis. *J. Nat. Prod.* 68(1):133–149
60. Blümich B, Singh K (2018) NMR mit Tischgeräten und deren Anwendungen von der Materialwissenschaft bis zur organischen Chemie. *Angew. Chem.* 130(24):7114–7129
61. Chakrapani SB, Minkler MJ, Beckingham BS (2019) Low-field ¹H-NMR spectroscopy for compositional analysis of multicomponent polymer systems. *The Analyst* 144(5):1679–1686
62. Minkler MJ, Kim JM, Shinde VV, Beckingham BS (2020) Low-field ¹H NMR spectroscopy: Factors impacting signal-to-noise ratio and experimental time in the context of mixed microstructure polyisoprenes. *Magnetic resonance in chemistry : MRC*:1–9
63. Blümich B (2016) Introduction to compact NMR: A review of methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 83:2–11
64. Barding G, Salditos R, Larive C (2012) Quantitative NMR for bioanalysis and metabolomics. *Anal. Bioanal. Chem.* 404:1165–1179
65. Bharti SK, Roy R (2012) Quantitative ¹H NMR spectroscopy. *TrAC* 35:5–26
66. Pauli GF, Gödecke T, Jaki BU, Lankin DC (2012) Quantitative ¹H NMR: Development and Potential of an Analytical Method - an Update. *J. Nat. Prod.* 75:834–851
67. Schoenberger T (2012) Determination of standard sample purity using the high-precision ¹H-NMR process. *Anal. Bioanal. Chem.* 403(1):247–254
68. Soulsby D, Anna LJ, Wallner AS (eds) (2013) *NMR Spectroscopy in the Undergraduate Curriculum. NMR Spectroscopy in Nondeuterated Solvents (No-D NMR): Applications in the Undergraduate Organic*, vol. 1128. ACS Symposium Series
69. Hoyer TR, Eklov BM, Ryba TD, Voloshin M, Yao LJ (2004) No-D NMR (No-Deuterium Proton NMR) Spectroscopy: A Simple Yet Powerful Method for Analyzing Reaction and Reagent Solutions. *Organic Letters* 6(6):953–956
70. Gama LA, Merlo BB, Lacerda V, Romão W, Neto AC (2015) No-deuterium proton NMR (No-D NMR): A simple, fast and powerful method for analyses of illegal drugs. *Microchemical Journal* 118:12–18
71. Brandolini AJ, Hills DD (eds) (2000) *NMR Spectra of Polymers and Polymer Additives*. Marcel Dekker, Inc., New Jersey

72. Koelmans AA, Mohamed Nor NH, Hermsen E, Kooi M, Mintenig SM, France J de (2019) Microplastics in freshwaters and drinking water: Critical review and assessment of data quality. *Water research* 155:410–422
73. Shim WJ, Hong SH, Eo SE (2017) Identification methods in microplastic analysis: a review. *Anal. Methods* 9(9):1384–1391
74. Geneva: World Health Organization (2019) Microplastic in drinking-water. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
75. Dümichen E, Eisentraut P, Bannick CG, 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
76. Silva AB, Bastos AS, Justino CIL, da Costa JP, Duarte AC, Rocha-Santos TAP (2018) Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review. *Analytica Chimica Acta* 1017:1–19
77. La Nasa J, Biale G, Fabbri D, Modugno F (2020) A review on challenges and developments of analytical pyrolysis and other thermoanalytical techniques for the quali-quantitative determination of microplastics. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 149:104841
78. Monakhova Y, Diehl B (2017) Practical guide for selection of ^1H qNMR acquisition and processing parameters confirmed by automated spectra evaluation. *Magn. Reson. Chem.* 55:996–1005
79. Peez N, Janiska M-C, Imhof W (2019) The first application of quantitative ^1H -NMR-spectroscopy as a simple and fast method of identification and quantification of microplastic particles (PE, PET and PS). *Anal. Bioanal. Chem.* 411(4):823–833
80. Peez N, Imhof W (2020) Quantitative ^1H -NMR spectroscopy as an efficient method for identification and quantification of PVC, ABS and PA microparticles. *Analyst*:accepted, DOI: 10.1039/d0an00879f
81. Babij NR, McCusker EO, Whiteker GT, Canturk B, Choy N, Creemer LC, Amicis CV de, Hewlett NM, Johnson PL, Knobelsdorf JA, Li F, Lorsbach BA, Nugent BM, Ryan SJ, Smith MR, Yang Q (2016) NMR Chemical Shifts of Trace Impurities: Industrially Preferred Solvents Used in Process and Green Chemistry. *Org. Process Res. Dev.* 20(3):661–667
82. Shrivastava A, Gupta V (2011) Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chron Young Sci* 2(1):21

83. David J, Steinmetz Z, Kučerík J, Schaumann GE (2018) Quantitative Analysis of Poly(ethylene terephthalate) Microplastics in Soil via Thermogravimetry-Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 90(15):8793–8799
84. Imhof HK, Ivleva NP, Schmid J, Niessner R, Laforsch C (2013) Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. *Curr. Biol.* 23(19):R867–R868
85. Munno K, Helm PA, Jackson DA, Rochman C, Sims A (2018) Impacts of temperature and selected chemical digestion methods on microplastic particles. *Environ. Toxicol. Chem.* 37:91–98
86. Ivleva NP, Wiesheu AC, Niessner R (2017) Mikroplastik in aquatischen Ökosystemen. *Angew. Chem.* 129(7):1744–1764
87. Hurley RR, Lusher AL, Olsen M, Nizzetto L (2018) Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices. *Environ. Sci. Technol.* 52(13):7409–7417
88. Fries E, Dekiff JH, 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.: Processes Impacts* 15(10):1949–1956
89. Nor NHM, Obbard JP (2014) Microplastics in Singapore's coastal mangrove ecosystems. *Mar. Pollut. Bull.* 79(1-2):278–283
90. Stolte A, Forster S, Gerds G, Schubert H (2015) Microplastic concentrations in beach sediments along the German Baltic coast. *Mar. Pollut. Bull.* 99(1-2):216–229
91. Fischer M, Scholz-Böttcher BM (2017) Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 51(9):5052–5060
92. Bivens A (2016) Polymer-to-Solvent Reference Table for GPC/SEC. Technical Overview, Agilent Technologies
93. Ren T, Wang J, Yuan J, Pan M, Liu G, Zhang G, Zhong G-J, Li Z-M (2015) Raspberry-like morphology of polyvinyl chloride/zinc oxide nanoparticles induced by surface interaction and formation of nanoporous foam. *RSC Adv.* 5(46):36845–36857
94. Jia P, Hu L, Yang X, Zhang M, Shang Q, Zhou Y (2017) Internally plasticized PVC materials via covalent attachment of aminated tung oil methyl ester. *RSC Adv.* 7(48):30101–30108

95. Setiawan AH, Roziyanto AN (2016) Utilization of poly(methyl methacrylate) rejection blended with acrylonitrile butadiene styrene resins and the effect on product properties. MKKP 32(2):65
96. Du A-K, Zhou Q, Wen Z-B, Yang J-W, van Kasteren JMN, Wang Y-Z (2011) Denitrogenation of acrylonitrile–butadiene–styrene copolymers using polyethylene glycol/hydroxides. Polymer Degradation and Stability 96(5):870–874
97. Holmes BS, Moniz WB, Ferguson RC (1982) NMR Study of Nylon 66 in Solution (^1H , ^{13}C , and ^{15}N NMR Using Adiabatic J Cross Polarization). Macromolecules 15:129–132
98. Janiska M-C (2018) Nachweis von Mikroplastik in Organismen, Am Beispiel von Polyethylen, mittels quantitativer NMR-Spektroskopie. Masterarbeit, Universität Koblenz-Landau

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: schematische Übersicht über die Eintragswege von MP in die Umwelt. <https://gesundezwerge.de/mikroplastik-die-unsichtbare-gefahr/> zuletzt aufgerufen am 24.08.2020..... - 3 -

Abbildung 2: Schematische Darstellung des Konzepts und Aufbaus des kumulativen Teils der Arbeit..... - 15 -

Abbildung 3: Übersicht der sechs getesteten MP-Polymere. Dargestellt ist jeweils ein beispielhaftes $^1\text{H-NMR}$ Spektrum (500 MHz, 1D-Methode) und ein Strukturvorschlag für das Polymer. LDPE(dunkelgrün) in Toluol bei 60° C, PVC (hellgrün) in DMSO-d₆, PA (braun) in einer Mischung aus CDCl_3/FA 3:2, PET (pink) in einer Mischung aus CDCl_3/TFA 4:1, ABS (lila) und PS (blau) in CDCl_3 . Signale mit * markiert werden als Markersignale für die Quantifizierung verwendet (siehe Abschnitt qNMR-Analyse: Quantifizierung)..... - 45 -

Abbildung 4: $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Biofilmmatrix in dem entsprechenden Lösungsmittel. **a)** ~11 mg/mL Biofilm gelöst in CDCl_3/FA 3:2. **b)** ~16 mg/mL Biofilm gelöst in CDCl_3 . **c)** ~14 mg/mL Biofilm gelöst in DMSO-d₆. **d)** ~27 mg/mL Biofilm gelöst in CDCl_3/TFA 4:1 **e)** Biofilm nach Aufschluss gelöst in CDCl_3/TFA (286 mg Biofilm vor Aufschluss). **f)** Biofilm nach Aufschluss gelöst in Toluol-d₈ (364 mg Biofilm vor Aufschluss). Mit * markiert sind die entsprechenden Restprotonensignale des Lösungsmittels..... - 63 -

Abbildung 5: Schematische Darstellung der einzelnen Schritte der Probenvorbereitung für die MP-Analytik mittels qNMR Spektroskopie und die dazugehörigen WFR für PET Fasern für Schritt 5 und Schritt 1-5. WFR jeweils für keine Umweltmodellmatrix, Moselwassermatrix, Biofilmmatrix, Invertebratenmatrix und Sedimentmatrix angegeben... - 66 -

Abbildung 6: Simultane Quantifizierung. Angegeben ist die 5-Punkt-Kalibriergerade mit dem entsprechenden Vertrauensbereich (0.95). Aufgetragen ist die Konzentration in mg/mL gegen die normierte Intensität (siehe Kapitel 2 & 3 Gleichung 1). Zusätzlich ist der theoretische Wert (Dreieck) und der berechnete Wert (Kreis) der Modellproben angegeben (für mehr Information siehe Anhang: Zusatzinformation Kapitel 6). Links: PET + PS in CDCl_3/TFA 4:1 (1D-Methode) im Konzentrationsbereich von 0.3-1.3 mg/mL für PET (pink) und 0.2-1.2 mg/mL für PS (blau). Rechts: PVC + PS in THF (NoD-Methode) im

Konzentrationsbereich von 0.3-1.5 mg/mL für PVC (gelb) und 0.3-1.5 mg/mL für PS (blau).
..... - 72 -

Abbildung 7: Vorgeschlagener Work-Flow für die simultane Bestimmung von MP in Umweltproben mittels Fest-Flüssig-Extraktion für die qNMR-Methode. Rot gefärbt die entsprechenden Extraktions-Lösungsmittel und blau die entsprechende extrahierte Substanz (Matrix oder MP) in dem jeweiligen Extraktionsschritt. - 76 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der Ergebnisse der Methodvalidierung für die getesteten Polymertypen. Angegeben ist die Richtigkeit und Präzision in %, der Regressionsfaktor R^2 , die Nachweisgrenze (NWG) basierend auf dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis, der Signalbereich in ppm welcher für die Quantifizierung verwendet und welche Integrieremethode angewendet wurde (siehe Kapitel 2 & 3). - 53 -

Tabelle 2: Übersicht der berechneten NWG basierend auf dem SNR von PET, PS und PVC der drei qNMR-Methoden welche für die MP-Analyse infrage kommen. Vergleich der 1D-Methode (500 MHz-Spektrometer mittels deuterierter LM), der NoD-Methode (500 MHz-Spektrometer mittels nicht-deuterierte LM), der Benchtop-Methode (80 MHz-Spektrometer mittels deuterierter LM) und der Kombination von Benchtop- und NoD-Methode (80 MHz-Spektrometer mittels nicht-deuterierte LM). - 57 -

Tabelle 3: Übersicht der Vor- und Nachteile der drei verschiedenen qNMR-Methoden, welche für die MP-Analytik infrage kommen: 1D (500 MHz)-Methode (500 MHz-Spektrometer von Jeol mittels deuterierter LM), NoD (500 MHz)-Methode (500 MHz-Spektrometer von Jeol mittels nicht-deuterierter LM), 1D (80 MHz)-Methode (Spinsolve 80 MHz-Spektrometer von Magritek mittels deuterierter LM) und NoD (80 MHz)-Methode (Spinsolve 80 MHz Ultra-Spektrometer von Magritek mittels nicht-deuterierter LM). Verglichen wurden die Messzeit, Betriebskosten und die Lösungsmittel-Kosten (LM-Kosten) welche pro Messung anfallen (negativ -- bis positiv ++). - 61 -

Tabelle 4: Vergleich des hinzugefügten und berechneten MP-Gehalts in verschiedenen Umweltmodellproben. Mittels qNMR-Methode wurde der PET-Gehalt in Umweltmatrices (nach Probenvorbereitung) bestimmt. Zusätzlich sind die Daten von Dümichen et al. dargestellt: PE-Gehalt in Umweltmatrices (ohne Probenvorbereitung) mittels TED-GC-MS bestimmt [35]. Angegeben sind die Daten als Gewichtsprozent in wt%. - 64 -

Tabelle 5: Übersicht der WFR der Vorversuche für die Fest-Flüssig-Extraktion zur simultanen Bestimmung. Angegeben ist die WFR in % in Abhängigkeit des jeweiligen Extraktionsmittels und der MP-Polymersorte. WFR berechnet basierend auf Kapitel 5.- 74 -

Anhang

Supporting Information: Kapitel 2

The First Application of Quantitative ^1H -NMR-Spectroscopy as a Simple and Fast Method of Identification and Quantification of Microplastic Particles (PE, PET and PS)

Supplement content: tables

Table S1 (2) Comparison of different deuterated solvents. Boiling point in $^{\circ}\text{C}$, ^1H signals in ppm, and prices in €/mL according to www.deutero.de (status 04.07.2018). Italic values refer to the undeuterated compound.

Tab. S1 Comparison of different deuterated solvents. Boiling point in ° C, ¹H signals in ppm, and prices in €/mL according to www.deutero.de (status 04.07.2018). *Italic values refer to the undeuterated compound.*

deuterated solvent	purity [%]	Bp. [°C]	¹ H signals [ppm]	price [€/mL]
acetic acid-D4	99.0	118	11.53; 2.03	4.8
acetone-D6	99.8	57	2.05	1.6
acetonitrile-D3	99.8	82	1.94	3.1
benzene-D6	99.8	80	7.16	4.9
n-butanol-D10	99.5	118	3.7; 2.9; 1.6-0.9	20.8
chlorobenzene-D5	99.0	132	7.27-7.42	17.8
chloroform-D	99.8	62	7.26	0.3
n-decane-D22	99.0	174	0.7-1.5	49.8
deuterium oxide	99.9	101	4.79	0.8
1,2-dichlorobenzene-D4	99.0	179	7.10; 7.40	25.0
dichloromethane-D2	99.6	40	5.32	5.6
dimethylformamide-D7	99.5	153	8.03; 2.92; 2.75	26.0
dimethylsulfoxide-D6	99.5	189	2.50	1.4
pyridine-D5	99.5	116	8.74; 7.58; 7.22	4.0
tetrachloroethane	99.5	146	5.90	5.9
tetrahydrofurane-D8	99.5	66	3.58; 1.73	11.0
toluene-D8	99.5	111	7.09; 7.00; 2.09	3.7
p-xylene-D10	99.5	138	7.05; 2.30	12.6

Supporting Information: Kapitel 3

Quantitative $^1\text{H-NMR}$ Spectroscopy as an Efficient Method for Identification and Quantification of PVC, ABS and PA Microparticles

Nadine Peez[†], Wolfgang Imhof^{†,*}

[†] Institute of Integrated Natural Sciences, University Koblenz - Landau, Universitätsstr. 1, D-56070 Koblenz, Germany.

Supporting Information:

Table SI 1	(2)	Possible solvents for PVC, ABS and PA based on the literature. Given are the solvents already described for NMR spectroscopic investigations of the respective polymers, the corresponding ^1H -Signals of the polymers and the residual proton signals in ppm as well as the solvents tested in this survey.
Figure SI 1	(2)	$^1\text{H-NMR}$ spectra of matrix effects of natural aquatic biofilm. a) ~11 mg/mL biofilm solved in CDCl_3/FA 3:2. b) ~16 mg/mL biofilm solved in CDCl_3 . c) ~14 mg/mL biofilm solved in DMSO-d_6 .
Figure SI 2	(2)	$^1\text{H-NMR}$ spectrum of PVC after line fitting for the PF-method in the range of 3.0-1.5 ppm. Blue represent the individual fitted peaks and pink represent the sum of the fitted peaks.
Figure SI 3	(3)	$^1\text{H-NMR}$ spectra of ABS in CDCl_3 (left) and in DMSO-d_6 (right) after line fitting for the PF-method in the range of 8.0-6.0 ppm and 3.0-2.0 ppm. Blue represent the fitted peaks and pink represent the sum of the fitted peaks. ^1H NMR spectrum of ABS after line fitting for the PF-method in the range of 8.0-6.0 ppm. Blue represent the individual fitted peaks and pink represent the sum of the fitted peaks.
Figure SI 4	(3)	Calibration curves for the signal which can also be used for quantification for the MP particles of PVC, ABS and PA with the appropriate confidence interval (CI). Plotted is the MP concentration in mg/mL against the normalized intensity.
Table SI 2	(4)	Linearity data of MP particles (PVC, ABS and PA). Data were calculated from five measurement points.

Table SI 3	(4)	Quantitative results for model samples using the signal which can also be used for quantification for the MP particles of PVC, ABS and PA.
Table SI 4	(5)	Overview of the ¹ H-Signals of the MP polymer types, residual solvent signals and matrix effects of biofilm in the corresponding solvent conditions.

Table SI 1. Possible solvents for PVC, ABS and PA based on the literature. Given are the solvents already described for NMR spectroscopic investigations of the respective polymers, the corresponding ^1H -Signals of the polymers and the residual proton signals in ppm as well as the solvents tested in this survey.

MP	Solvents used in the literature	MP ^1H signals in ppm	Solvent ^1H signals in ppm	Solvents tested in this survey
PVC	DMSO [93]	4.7-4.3; 2.4-2.1 [93]	2.5	DMSO
	CDCl_3 [94]	4.45; 2.1 [94]	7.2	
ABS		7.2-6.4; 5.5; 2.5-		
	CDCl_3 [95]	1.2[95]	7.2	CDCl_3
	DMSO [96]	7.2-6.8; 5.3; 2.5-1.4 [96]	2.5	DMSO
PA 6.6	TFA[97]	3.3; 2.5; 1.7, 1.3 [97]	~ 12	CDCl_3/FA 3:2
	Cresol/ODCB [71]	not specified [71]	7.2; 6.6; 5.0; 2.3	

TFA, trifluoroacetic acid; FA, formic acid; ODCB, 1,2-dichlorobenzene.

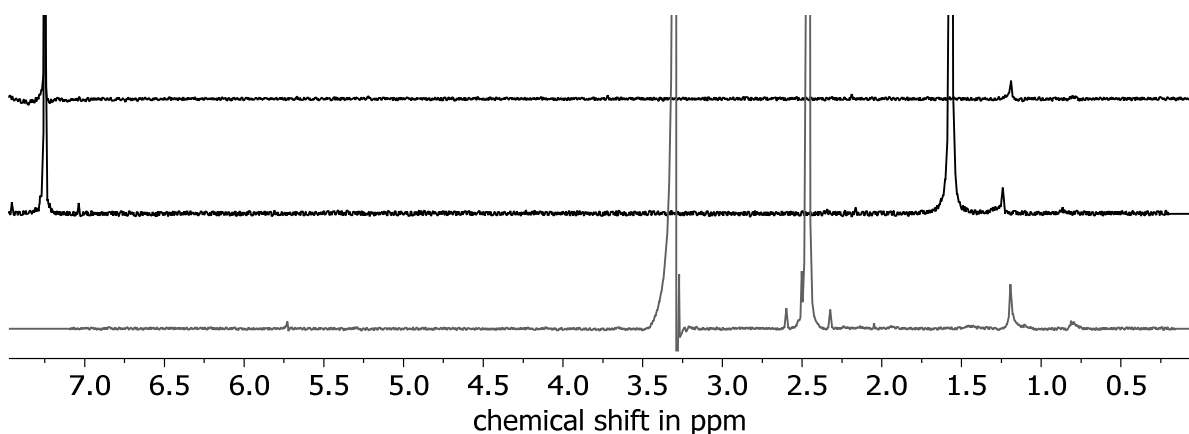


Figure SI 1 ^1H -NMR spectra of matrix effects of natural aquatic biofilm in the respective deuterated solvent. **a)** ~ 11 mg/mL biofilm solved in CDCl_3/FA 3:2. **b)** ~ 16 mg/mL biofilm solved in CDCl_3 . **c)** ~ 14 mg/mL biofilm solved in DMSO-d_6 . Aquatic biofilm, i.e. a complex and dynamic community of algae, cyanobacteria, heterotrophic microorganisms, and detritus attached to surfaces in most aquatic exosystems. Biofilm samples were collected at the river Moselle (position $50^\circ 21' 49.8'' \text{N}$ $7^\circ 33' 54.6'' \text{E}$) by brushing light-exposed grown surfaces of submerges stones and and dried at 60°C .

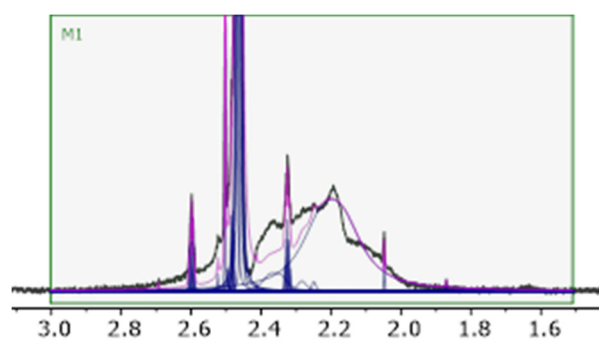


Figure SI 2 ^1H -NMR spectrum of PVC after line fitting for the PF-method in the range of 3.0-1.5 ppm. Blue represent the fitted peaks and pink represent the sum of the fitted peaks.

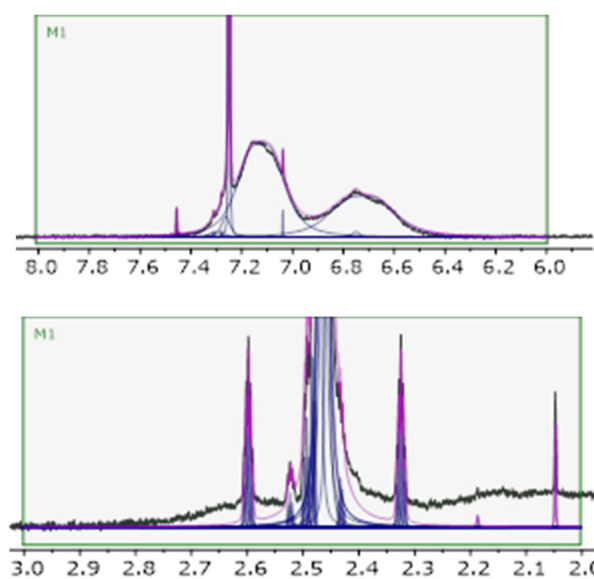


Figure SI 3 ^1H -NMR spectra of ABS in CDCl_3 (left) and in DMSO-d_6 (right) after line fitting for the PF-method in the range of 8.0-6.0 ppm and 3.0-2.0 ppm. Blue represent the fitted peaks and pink represent the sum of the fitted peaks.

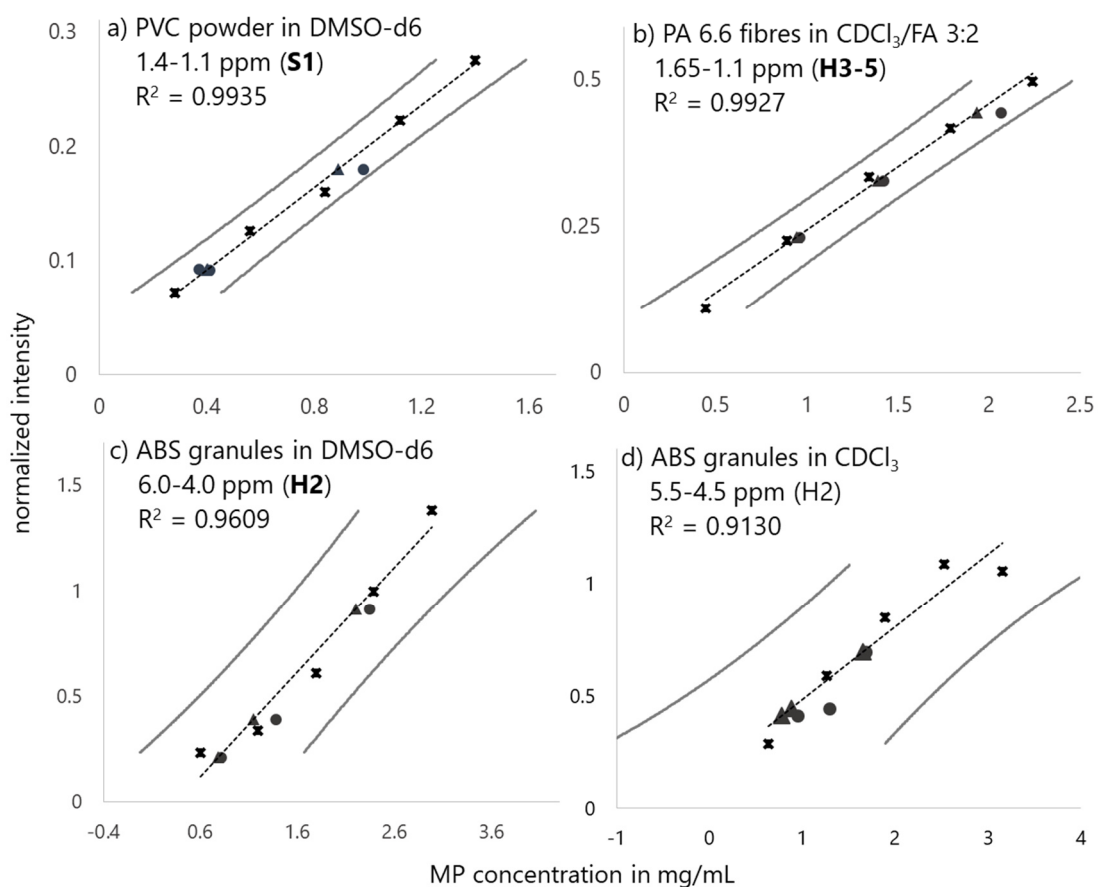


Figure SI 4. Calibration curves for the signal which can also be used for quantification for the MP particles of PVC, ABS and PA with the appropriate confidence interval (CI). Plotted is the MP concentration in mg/mL against the normalized intensity. In addition, the true and calculated values of the model samples are given. a) signal range of 1.4-1.1 ppm (S1) for PVC particles, b) signal range of 1.65-1.1 ppm (H3-5) for PA fibres, c) signal range of 6.0-4.0 ppm (H2) for ABS particles in DMSO-d6 and d) signal range of 5.5-4.5 ppm (H2) for ABS particles in CDCl_3 are compared. For linearity data see supporting information SI 6.

Table SI 2. Linearity data of MP particles (PVC, ABS and PA). Data were calculated from five measurement points. PVC: Integration area 4.7-4.05 ppm (H1) and 1.4-1.1 ppm (S1). For integration the peak-fitting method was used. 0.28-1.40 mg/mL concentration range. ABS in CDCl₃: Integration area 7.1-6.0 ppm (H1) and 5.5-4.5 ppm (H2) are given. For integration the peak-fitting method was used. 0.63-3.15 mg/mL concentration range. ABS in DMSO-d₆: Integration area 7.5-6.0 ppm (H1) and 6.0-4.0 ppm (H2) are given. For integration the peak-fitting method was used. 0.63-3.15 mg/mL concentration range. PA: Integration area 3.2-3.05 ppm (H1) and 1.65-1.1 ppm (H3-5) are given. For integration the peak-fitting method was used. 0.45-2.24 mg/mL concentration range.

	MP particles	Slope ± SD	Intercept ± SD	R²
Signal H1	PVC in DMSO-d ₆	1.3487 ± 0.0330	- 0.0455 ± 0.0306	0.9982
Signal H1	ABS in CDCl ₃	3.8863 ± 0.2247	+ 0.6164 ± 0.4699	0.9901
Signal H1	ABS in DMSO-d ₆	3.8158 ± 0.0312	+ 0.0832 ± 0.0617	0.9998
Signal H1	PA in CDCl ₃ /FA	0.0714 ± 0.0029	+ 0.0106 ± 0.0043	0.9950
Signal S1	PVC in DMSO-d ₆	0.1797 ± 0.0084	+ 0.0204 ± 0.0078	0.9935
Signal H2	ABS in CDCl ₃	0.3235 ± 0.0577	+ 0.1609 ± 0.1206	0.9130
Signal H2	ABS in DMSO-d ₆	0.4960 ± 0.0578	- 0.1774 ± 0.1143	0.9609
Signal H3-5	PA in CDCl ₃ /FA	0.2156 ± 0.0107	+ 0.0281 ± 0.0158	0.9927

Table SI 3. Quantitative results for model samples using the signal which can also be used for quantification for the MP particles of PVC, ABS and PA. True Value \pm weighting error and calculated values \pm confidence interval (CI) of the respective MP samples in mg/mL as well as the accuracy (bias in %) and precision (RSP in %) are given. PVC samples: integration area 1.4-1.1 ppm (S1). For integration the PF-method was used. ABS samples in DMSO-d6: integration area 6.0-4.0 ppm (H2). For integration the PF-method was used. ABS samples in CDCl₃: integration area 5.5-4.55 ppm (H2). For integration the PF-method was used. PA samples: integration area 1.65-1.1 ppm (H3-5). For integration the INT-method was used.

	MP signal	True Value $\pm \Delta x$ (mg/mL)	Calculated \pm CI (mg/mL)	Accuracy (bias in %)	Precision (RSD in %)
PVC 1 (in DMSO-d6)	S1	0.98 \pm 0.01	0.94 \pm 0.13	95.5	99.9
PVC 2 (in DMSO-d6)	S1	0.78 \pm 0.01	0.68 \pm 0.13	87.2	99.9
PVC 3 (in DMSO-d6)	S1	0.41 \pm 0.01	0.44 \pm 0.14	107	99.9
ABS 1 (in DMSO-d6)	H2	2.34 \pm 0.01	2.18 \pm 0.78	93.0	99.2
ABS 2 (in DMSO-d6)	H2	1.37 \pm 0.01	1.15 \pm 0.80	84.3	99.2
ABS 3 (in DMSO-d6)	H2	0.81 \pm 0.01	0.78 \pm 0.85	95.9	99.8
ABS 1 (in CDCl ₃)	H2	1.68 \pm 0.01	1.70 \pm 1.25	101	99.9
ABS 2 (in CDCl ₃)	H2	1.29 \pm 0.01	0.88 \pm 1.37	68.1	99.9
ABS 3 (in CDCl ₃)	H2	0.95 \pm 0.01	0.70 \pm 1.39	73.4	92.2
PA 1 (in CDCl ₃ /FA 3:2)	H3-5	2.06 \pm 0.01	1.94 \pm 0.26	94.1	99.2
PA 2 (in CDCl ₃ /FA 3:2)	H3-5	1.42 \pm 0.01	1.39 \pm 0.24	97.9	99.9
PA 3 (in CDCl ₃ /FA 3:2)	H3-5	0.96 \pm 0.01	0.95 \pm 0.25	98.6	99.9

Table SI 4. Overview of the ^1H -Signals of the MP polymer types, residual solvent signals and matrix effects of biofilm in the corresponding solvent conditions. Indicated are the ^1H -signals or the range of the chemical shift in ppm, whether the MP signals is suitable for quantitative analysis by qNMR and the reasons why the corresponding signal is not suitable.

		Signals [ppm]	Suitable qNMR	Reasons why not suitable for quantification
DMSO-d6	solvent	2.47-2.4 (DMSO) 3.36-3.24 (H ₂ O)		
	matrix	2.3-1.9; 1.5-0.6		
	PVC	4.6-4.2 (H1)	yes	-
		2.5-2.1 (H2)	no	Signal overlap with solvent signal, interference with matrix effects possible
		1.4-1.1 (S1)	(yes)	interference with matrix effects possible
		0.9-0.7 (S2)	no	interference with matrix effects possible, low signal intensity
	ABS	7.7-6.5 (H1)	yes	-
		5.9-4.5 (H2)	(yes)	Low signal intensity
		2.7-1.2 (H3-H7)	no	Signal overlap with solvent signal, Interference with matrix effects possible
		0.9-0.7 (H8)	no	Interference with matrix effects possible, low signal intensity
CDCl₃	solvent	7.25 (CDCl ₃)		
	matrix	1.6-0.6		
	ABS	7.4-6.3 (H1)	(yes)	Signal overlap with solvent signal
		5.8-4.7 (H2)	(yes)	low signal intensity
		3.0-1.0 (H3-H7)	(yes)	Interference with matrix effects possible
		0.9-0.7 (H8)	no	Interference with matrix effects possible, low signal intensity
CDCl₃/FA	solvent	7.25 (CDCl ₃)		
	Matrix	1.4-0.6		
	PA 6.6	3.2-3.0 (H1)	yes	-
		2.3-2.15 (H2)	(yes)	interference with matrix effects possible
		1.65-1.1 (H3-H5)	(yes)	interference with matrix effects possible
		7.31 (amines)	(yes)	low signal intensity

Supporting Information: Kapitel 4

Applicable and cost-efficient microplastic analysis by quantitative $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy using benchtop NMR and NoD methods

Nadine Peez[†], Torsten Rinesch⁺, Jürgen Kolz⁺, Wolfgang Imhof[†]

[†] Institute of Integrated Natural Sciences, University Koblenz - Landau, Universitätsstr. 1, D-56070 Koblenz, Germany.

⁺ Magritek GmbH, Philipsstr. 8, 52068 Aachen, Germany.

Supplement content: 2 tables

Table S1	(2)	Comparison of the costs (price per mL) for non-deuterated and deuterated solvents. CDCl_3 and Chloroform, DMSO-d_6 and DMSO, THF-d_8 and THF.
Table S2	(2)	Linearity data for the NoD method of PET, PVC and PS particles.

Table S1 Comparison of the costs (price per mL) for non-deuterated and deuterated solvents. CDCl₃ and Chloroform, DMSO-d6 and DMSO, THF-d8 and THF. * deutero.de **sigma-aldrich.de

solvent	price per mL
CDCl₃	0.27 €*
CHCl₃	0.10 €**
DMSO-d6	1.48 €*
DMSO	0.13 €**
THF-d8	11.40 €*
THF	0.16 €**

Table S2 Linearity data for the NoD method of PET, PVC and PS particles in the concentration range of 0.2-1.5 mg/mL. Normalization was carried out using equation 1. Data in parentheses corresponds to unnormalized values. Data were calculated from five measurement points. LOD calculated based on SNR 3:1 (Apodization 0.5 Hz).

	Slope ± SD	Intercept ± SD	R²
PET (CHCl₃/TFA)	0.6226 ± 0.0213 (0.3428 ± 0.4516)	0.0420 ± 0.0164 (0.3694 ± 0.3465)	0.9965 (0.1611)
PVC (DMSO)	0.4384 ± 0.0174 (0.0832 ± 0.3924)	-0.0351 ± 0.0136 (0.3456 ± 0.3054)	0.9953 (0.0148)
PVC (THF)	1.3211 ± 0.0514 (1.6676 ± 0.3563)	0.0053 ± 0.0413 (-0.4972 ± 0.2860)	0.9955 (0.8796)
PS (THF)	1.1366 ± 0.0140 (-0.4585 ± 1.2312)	0.0385 ± 0.0134 (3.3298 ± 1.1842)	0.9995 (0.0442)

Supporting Information: Kapitel 5

Quantitative analysis of PET microplastics in environmental model samples using quantitative $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy: Validation of an optimized and consistent sample clean-up method

Nadine Peez ^a, Jochen Becker ^a, Sonja M. Ehlers ^{a,b}, Melanie Fritz ^a, Christian B. Fischer ^{a,c}, Jochen H. E. Koop ^b, Carola Winkelmann ^a, Wolfgang Imhof ^{a,*}

Supplement content: 1 table, 3 figures, 1 text

Figure S1	(2)	stacked $^1\text{H-NMR}$ spectra of 3 negative control experiments (step1-5, without environmental matrix). a) $^1\text{H-NMR}$ spectra in the range of 8.5-3.5 ppm. b) $^1\text{H-NMR}$ spectra in the range of 8.2-8.0 ppm (Area which is integrated for the quantification of PET).
Table S2	(3)	Overview of the results of recovery experiments for the sample clean-up (PET fibres). Sample clean-up steps, matrix conditions and amount of the environmental matrix, normalized intensity, normalized amount of MP [calculated] in mg/mL \pm confidence interval (CI) balance amount of MP [balance] in mg/mL \pm weighting error and the resulting normalized recovery rates are given. Normalization performed with a model sample (see equation 1).
Text S3	(4)	Chemical Digestion - Efficiency
Figure S4	(5)	$^1\text{H-NMR}$ spectra of PET fibres in CDCl_3/TFA 4:1 in environmental model samples after chemical digestion. PET signals are in the signal range of 8.20-8.00 ppm and 5.0-4.0 ppm. Weight percentage (wt%) refers to PET fibres:DW environmental sample before chemical digestion. a) PET fibres in biofilm matrix with 1.7 wt%. b) PET fibres in invertebrate matrix with 1.2 wt%. c) PET fibres in freshwater matrix with 5.3 wt%.
Figure S5	(6)	SEM images of PET-fibers before (a,b) and after the current chemical digestion (c,d) with rising magnification.

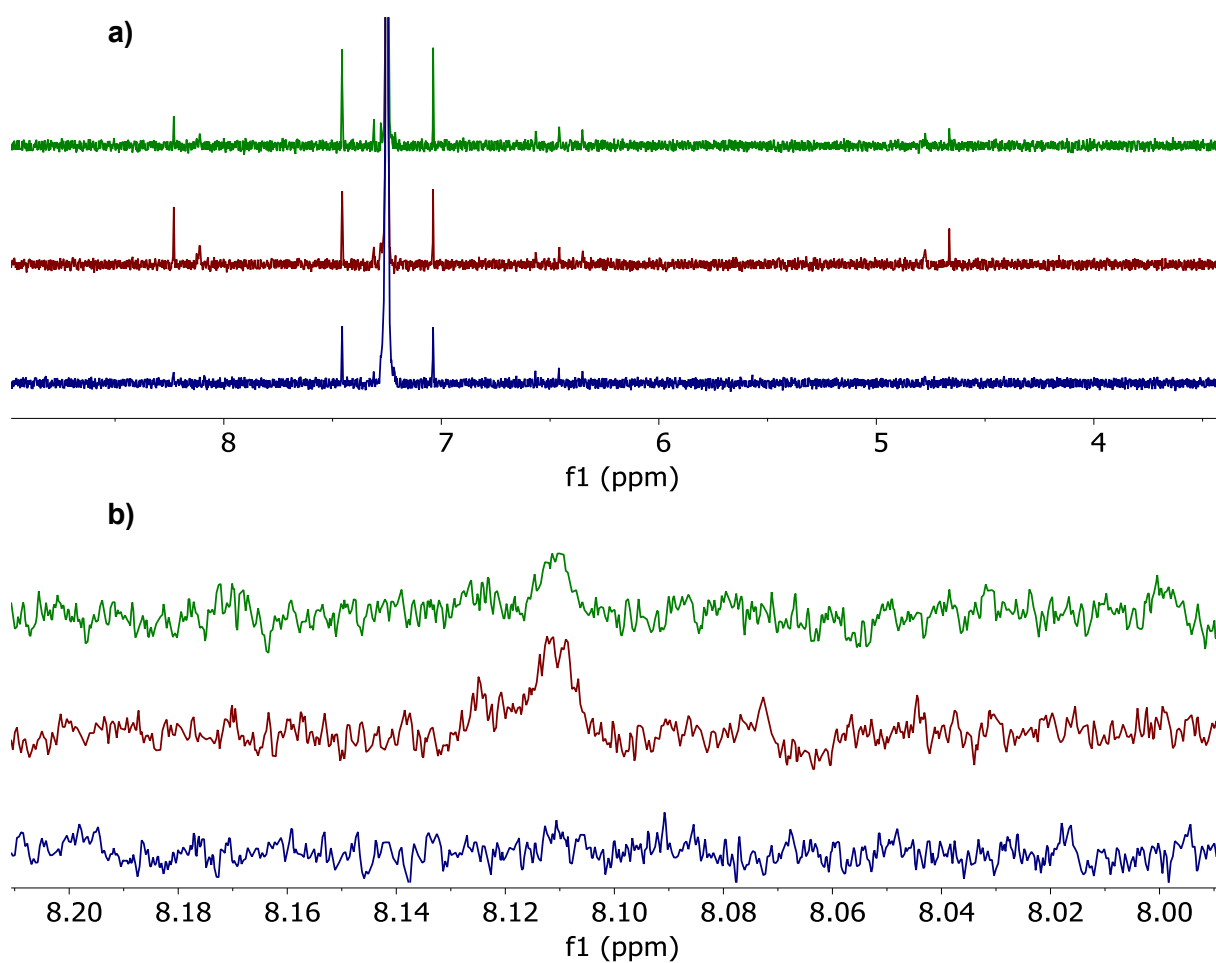


Figure S1. stacked $^1\text{H-NMR}$ spectra of 3 negative control experiments (step1-5, without environmental matrix). **a)** $^1\text{H-NMR}$ spectra in the range of 8.5-3.5 ppm. **b)** $^1\text{H-NMR}$ spectra in the range of 8.2-8.0 ppm (area which is integrated for the quantification of PET).

Tabel S2. Overview of the results of the recovery experiments for the sample clean-up (PET fibres). Sample clean-up steps, matrix conditions and amount of the environmental matrix, normalized intensity, normalized calculated value of PET in mg/mL, real value of PET in mg/mL and the resulting recovery rates are given (see equation 1).

step	Matrix	Matrix amount	Normalized intensity	Calculated value [mg/mL]	Real value [mg/mL]	Recovery rate [%]
5	without	-	1.010141	1.10	1.12	98.6
5	without	-	1.264876	1.41	1.46	96.7
5	without	-	0.841883	0.90	0.96	93.8
2-5	without	-	2.500779	2.42	2.67	91.0
2-5	without	-	3.017691	2.93	3.12	94.0
2-5	without	-	3.008971	2.92	3.14	93.0
1-5	without	-	2.429192	2.36	2.79	84.6
1-5	without	-	0.944175	0.93	1.03	90.0
1-5	without	-	1.241819	1.21	1.29	94.1
1-5	without	-	0.281480	0.30	0.38	79.5
1-5	without	-	0.391256	0.42	0.46	91.6
1-5	without	-	0.499819	0.54	0.62	87.0
5	freshwater	20 mL	0.990906	0.83	0.96	86.5
5	freshwater	20 mL	1.948739	1.73	1.87	92.4
5	freshwater	20 mL	1.552287	1.36	1.46	92.9
2-5	freshwater	20 mL	2.002265	1.77	1.94	91.3
2-5	freshwater	20 mL	1.413500	1.22	1.38	88.3
2-5	freshwater	20 mL	1.660007	1.45	1.51	95.9
1-5	freshwater	20 mL	0.970934	0.89	1.04	85.4
1-5	freshwater	20 mL	1.234250	1.16	1.19	97.4
1-5	freshwater	20 mL	1.495654	1.43	1.46	97.8
5	biofilm	111 mg	2.421308	2.32	2.34	99.2
5	biofilm	114 mg	0.763187	0.66	0.77	85.6
5	biofilm	112 mg	1.967048	1.87	1.88	99.3
2-5	biofilm	152 mg	0.784663	0.71	0.75	95.1
2-5	biofilm	135 mg	2.738415	2.77	2.63	105.2
2-5	biofilm	134 mg	1.092159	1.04	1.10	94.2
1-5	biofilm	164 mg	2.391301	2.40	2.30	104.4
1-5	biofilm	132 mg	0.672369	0.60	0.69	86.3
1-5	biofilm	171 mg	1.222847	1.14	1.16	98.6
5	invertebrate	100 mg	0.486669	0.47	0.53	84.5
5	invertebrate	100 mg	0.729300	0.70	1.02	65.1
5	invertebrate	74 mg	0.685626	0.53	0.88	67.1
2-5	invertebrate	23 mg	1.838076	1.77	1.78	99.6
2-5	invertebrate	62 mg	1.322037	1.18	1.46	80.8
2-5	invertebrate	45 mg	0.641461	0.52	0.90	57.8
1-5	invertebrate	43 mg	0.894039	0.74	1.12	65.7
1-5	invertebrate	33 mg	1.297205	1.11	1.46	76.2
1-5	invertebrate	41 mg	1.165678	0.99	1.33	74.4
4a-5	sediment	2.5 g	2.351041	2.86	2.82	101.5
4a-5	sediment	4.0 g	1.802445	2.17	2.22	97.6
4a-5	sediment	3.0 g	1.138493	1.32	1.45	91.2

1-5	sediment	2.3 g	3.259755	2.96	2.75	107.6
1-5	sediment	2.4 g	2.228940	1.99	2.00	99.3
1-5	sediment	2.4 g	2.58469	2.32	2.18	106.4

Text S3 Chemical Digestion - Efficiency

The chemical digestion method was used in order to remove organic matrix effects. The chemical digestion protocol was changed with regard to the concentration of sulfuric acid according to Imhof et al.²⁴ In our case, approx. 50 % sulphuric acid was used instead of concentrated sulphuric acid and the reaction time was reduced to 48 h. In spite of the reduced acid concentration and reaction time, a digestion efficiency of 74.7 ± 2.5 % for freshwater samples, 82.8 ± 4.3 % for invertebrate samples and 97.6 ± 1.3 % for biofilm samples could be achieved in our studies. Figure S5 shows the ¹H-NMR spectra of PET fibres measured in the corresponding matrix after chemical digestion to clarify the relationship between the intensity of PET signals and matrix effects. Biofilm matrix contains PET fibers of approx. 1.7 wt% (weight percent related to PET:DW environmental sample, added PET before solving, Scheme 1 Step 5), invertebrate matrix of approx. 1.2 wt% and freshwater matrix of approx. 5.2 wt%. It is noticeable that in the ¹H-NMR spectrum of the freshwater matrix the lowest matrix effects are detected although the digestion efficiency of the freshwater samples with 74.7 ± 2.5 % is the lowest compared to the other two environmental matrices. This confirms that, in addition to organic components, the matrix also to a large extent consists of inorganic components. Inorganic components, such as calcium carbonate, are however not ¹H-NMR active and therefore do not occur in the spectrum. The results of digestion efficiencies for biofilm and invertebrate samples are also conclusive. The digestion efficiency for invertebrate samples is approx. 15 % below the efficiency for biofilm samples. Accordingly, signals of matrix effects in invertebrate matrix compared to PET signals are significantly more intense. The ratio for invertebrate matrix is 5.90 in relation to approx. 1.7 wt% and for biofilm matrix 0.71 with respect to approx. 1.2 wt%.

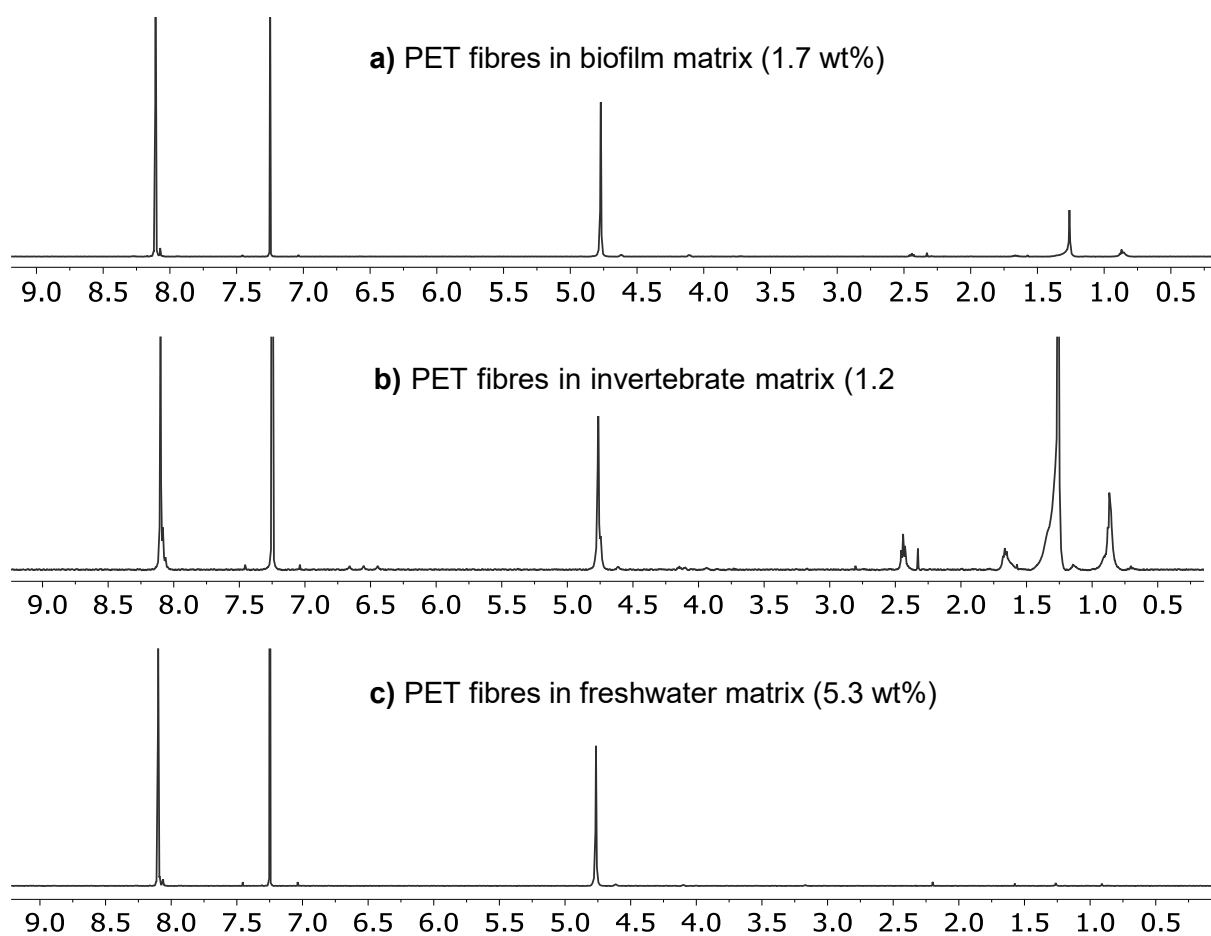


Figure S4. ¹H-NMR spectra of PET fibres in CDCl₃/TFA 4:1 in environmental model samples after chemical digestion. PET signals are in the signal range of 8.20-8.00 ppm and 5.0-4.0 ppm. Weight percentage (wt%) refers to PET fibres:DW environmental sample before chemical digestion. **a)** PET fibres in biofilm matrix with 1.7 wt%. **b)** PET fibres in invertebrate matrix with 1.2 wt%. **c)** PET fibres in freshwater matrix with 5.3 wt%.

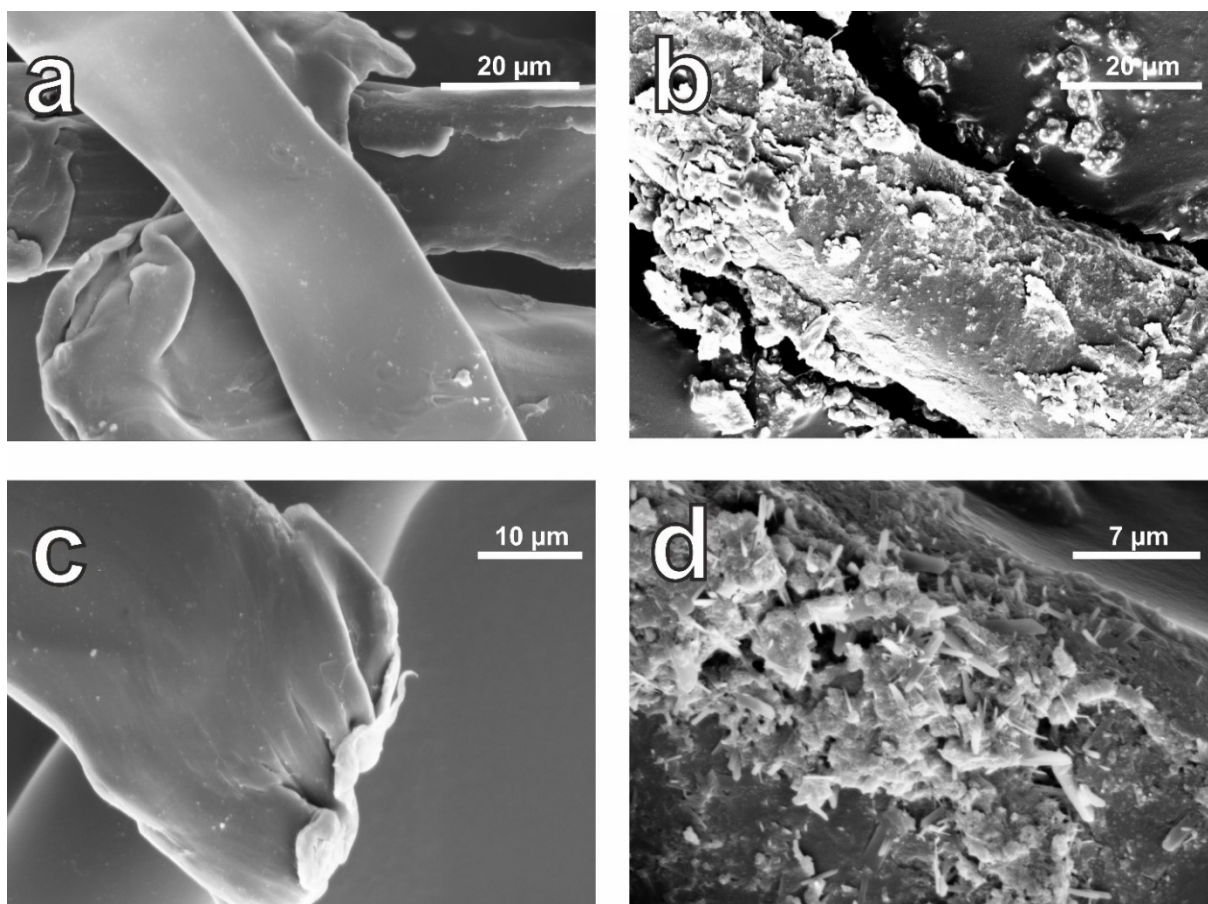


Figure S5. SEM images of PET fibres before (a,c) and after the current chemical digestion (b,d) with rising magnification.

Zusatzmaterial: Kapitel 6

Nachweisgrenze von ABS in CDCl_3 und PVC in DMSO-d6 (Apodisation 0.2)

NWG von ABS in CDCl_3 sowie von PVC in DMSO-d6 (Apodization 0.2) wurden auf Basis der Messungen und Werte von Kapitel 3 zusätzlich kalkuliert. Material und Methoden identisch zu Kapitel 3.

Quantifizierung von LDPE mit störenden Matrixeffekten - Vorversuch

Material und Methoden:

LDPE-Partikel hergestellt von der Firma Versalis, Italien und zu Granulat < 300 μm von der Firma TER Plastics, Deutschland weiterverarbeitet wurden für die Standard-Additions-Methode verwendet. Als Biofilmmatrix wurde selbst gezüchteter Biofilm verwendet (siehe Masterarbeit von Frau Janiska) [98]. Als Lösungsmittel für die ^1H -NMR-Untersuchungen wurde Toluol-d8 von EURISO-TOP, Chemtrade (99.5 atom %D) und Deutero (99.5 atom %D) verwendet und durch Redestillation zurückgewonnen. Für die beiden Modellproben der Standard-Additionsmethode (SA0 und SA1) wurde eine definierte Menge der LDPE-Partikel sowie der Biofilmmatrix in ein NMR-Röhrchen eingewogen und in einer definierten Menge des Lösungsmittels bei 60 °C gelöst (Probe SA0). Nach der Messung wurde für die Probe SA1 eine weitere definierte Menge der LDPE-Partikel eingewogen, um eine Standard-Additions-Modellprobe herzustellen (SA1). Folgende Messbedingungen wurden gewählt (1D-Methode, 500 MHz Jeol): Receiver Gain 56, Pulsweite 5.15 μs , Spektrale Weite 8 ppm, Anzahl der Scans 10, Aufnahmegröße 16384, Spektrale Größe 52430, Wiederholungszeit 2.25 s und Temperatur 60 °C. Die aufgenommenen ^1H -NMR-Spektren wurden in das Programm MestReNova geladen. Apodization wurde auf 0.2 Hz eingestellt. Phasenkorrektur erfolgte manuell und die Basislinienkorrektur mittels Whittaker Smoother. Die Integration erfolgte mittels der PF-Methode (siehe Kapitel 3). Als Fit-Region wurde der Bereich zwischen 1.8-0.4 ppm gewählt und das extrahierte Signal bei 1.35 ppm als Markersignal für die LDPE-Quantifizierung verwendet. Als interner Standard wurde das Restprotonensignal im Bereich von 2.25-1.90 ppm integriert. Mittels des Restprotonensignals wird die Signalintensität des Markersignals bei 1.35 ppm normiert. Durch Auftragen der addierten Menge des LDPE-Standard (SA1) gegen die normierte Intensität konnte mittels Standard-Additions-Gleichung, $y(x)=mx+b$ die Konzentration x von SA0 berechnet werden. Mittels 2-Punkt-Standard-Additions-Methode, Analysenfunktion $y(x)=11.992x + 17.46$, konnte der LDPE-Gehalt einer Modellprobe mit einem realen Wert

von 1.27 mg mit 1.46 mg, dies entspricht einer Wiederfindungsrate von 115 %, bestimmt werden.

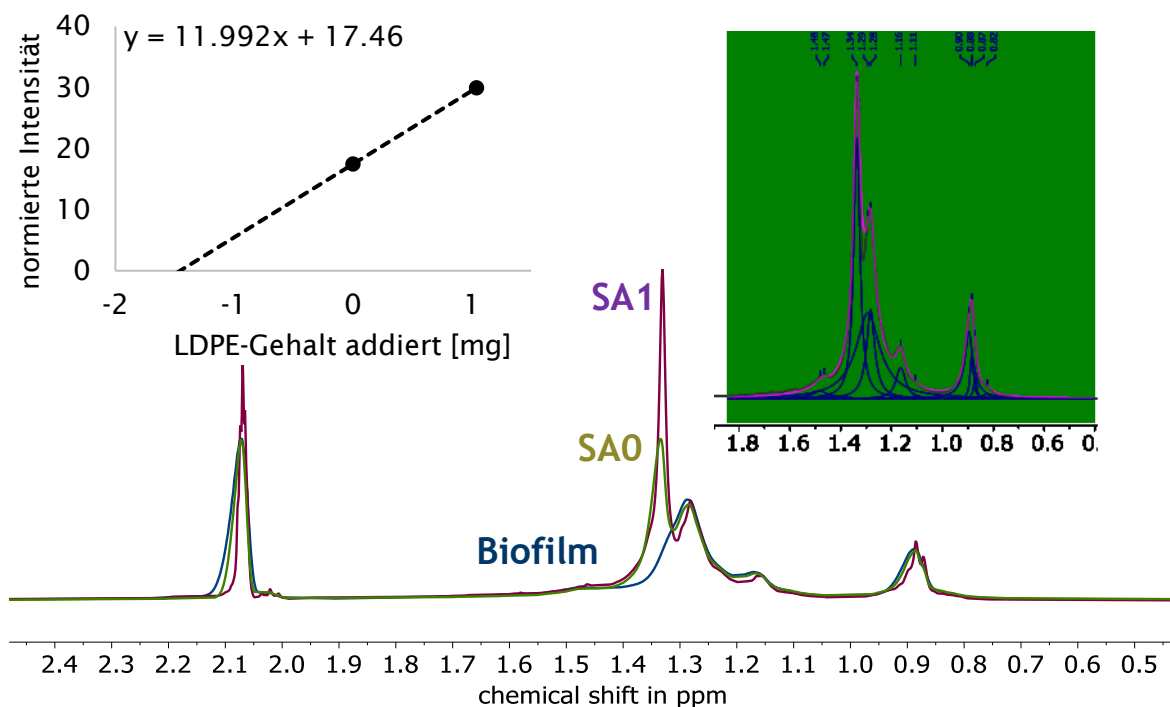


Abbildung Z6.1: Quantifizierung von LDPE mittels PF-Methode kombiniert mit der 2-Punkt-Standard-Additions-Methode. ^1H -NMR-Spektren einer Probe mit Biofilm nach dem chemischen Aufschluss, einer Modellprobe SA0 mit Biofilm nach dem chemischen Aufschluss und LDPE (Gehalt für Methodenvalidierung bekannt) und der Modellprobe SA1 mit Biofilm nach dem chemischen Aufschluss und einer addierten bekannten Menge des LDPE-Standards. Zusätzlich ist ein Spektrum nach dem Linienfitting der PF-Methode dargestellt. Blau repräsentiert die gefitteten Peaks und pink die Summe der gefitteten Peaks. Dargestellt ist außerdem die Analysefunktion der 2-Punkt-Standard-Additions-Methode der Modellprobe von LDPE.

WFR der Probenvorbereitung von Umweltproben für PS-Kügelchen

Material und Methoden:

PS-Kügelchen (farblos, Durchmesser ca. 0.5-1.0 mm) bezogen von der Firma Kissenwelt, Deutschland wurden zusätzlich als Modell-MP-Partikel für die WFR der Probenvorbereitung verwendet. Probenvorbereitung identisch zu Kapitel 5 (siehe Material und Methoden Kapitel 5) und Quantifizierung identisch zu Kapitel 2 (siehe Material und Methoden Kapitel 2).

Tabelle Z6.2: WFR der Probenvorbereitung für PS-Kügelchen 500-1000 µm ohne Umweltmatrix. Vergleich der Schritte 1-5 und Schritt 5 (siehe Kapitel 5). Angegeben ist der Probenvorbereitungsschritt, die Matrixbedingung, normierte Intensität, berechneter Wert in mg/mL, der reale Wert in mg/mL und die WFR in % (siehe Kapitel 5 Gleichung 1).

Schritt	Matrix	Normierte Intensität	Berechneter Wert [mg/mL]	Realer Wert [mg/mL]	WFR [%]
5	without	23.04122	1.16	1.11	105
5	without	41.14230	2.10	2.04	103
5	without	22.76441	1.15	1.12	102
1-5	without	2.500779	1.21	1.06	109
1-5	without	3.017691	1.74	1.65	101
1-5	without	3.008971	1.49	1.35	105

Simultane Bestimmung

Material und Methoden:

Chemikalien:

Folgende MP-Partikel wurden für die Vorversuche als Modellpartikel verwendet: PET-Fasern (farblos, Faserlänge ca. 500 µm, Durchmesser ca. 10-20 µm) produziert und zur Verfügung gestellt von der Firma Schwarzwälder-Textil-Werke, Deutschland. PS-Kügelchen (farblos, Durchmesser ca. 0.5-1.0 mm) bezogen von der Firma Kissenwelt, Deutschland. PS-Granulat (farblos, Durchmesser ca. 100-300 µm) bezogen von der Firma CARAT GmbH, Deutschland und PVC-Pulver (farblos, Durchmesser < 50 µm) bezogen von der Firma Werth-Metall, Deutschland. Folgende Extraktionsmittel wurden verwendet: Für PET HFIP von TCI (> 99.0 %) und von Carl ROTH (> 99 %) und für PS und PVC Chloroform (> 99 %, zur Synthese) sowie THF (> 99.5 %, zur Synthese, stabl.) von Carl ROTH. Für die ¹H-NMR-Untersuchungen wurde CDCl₃ (99.8 atom %D, stab. mit Ag) von Deutero, TFA von Carl ROTH und THF (extra pure, über KOH getrocknet) von ACROS Organics verwendet. Für die NoD-Methode (PVC+PS) wurde zusätzlich DCM (> 99.5 %, zur Synthese) als interner Standard von Carl ROTH verwendet.

Simultane Quantifizierung:

Die Probenvorbereitung erfolgte nach der Vorgehensweise, welche in Kapitel 2 für die 1D-Methode und in Kapitel 4 für die NoD-Methode vorgestellt wurde. PET-Fasern und PS-Granulat wurden in CDCl_3/TFA 4:1 gelöst und PVC-Pulver und PS-Granulat in THF (versetzt mit DCM; 20 μL DCM gelöst in 20 mL THF).

Folgende Messparameter wurden für die simultane Quantifizierung von PET und PS verwendet (1D-Methode, 500 MHz Jeol): Receiver Gain 46, Pulsweite 5.15 μs , Spektrale Weite 10 ppm, Anzahl der Scans 25, Aufnahmegröße 32768, Spektrale Größe 26214, Wiederholungszeit 5.54 s. Die aufgenommenen ^1H -NMR-Spektren wurden in das Programm MestReNova geladen und die Apodization auf 0.2 Hz eingestellt. Die Phasenkorrektur erfolgte manuell und die Basislinienkorrektur mittels Ablativ-Funktion. Die Quantifizierung erfolgte nach der INT-Methode wie in Kapitel 2 beschrieben. Als PET Markersignal wurde der Signalbereich zwischen 8.20-8.00 ppm integriert und für PS der Signalbereich zwischen 7.20-6.20 ppm. Als interner Standard wurde das Restprotonensignal von CDCl_3 im Bereich von 7.30-7.20 ppm integriert.

Folgende Messparameter wurden für die simultane Quantifizierung von PVC und PS verwendet (NoD-Methode, 500 MHz Jeol): Receiver Gain 46, Pulsweite 10.3 μs , Spektrale Weite 10 ppm, Anzahl der Scans 16, Aufnahmegröße 32768, Spektrale Größe 52430, Wiederholungszeit 7.24 s. Die aufgenommenen ^1H -NMR-Spektren wurden in das Programm MestReNova geladen und Apodization auf 0.5 Hz eingestellt. Die Phasenkorrektur erfolgte manuell und die Basislinienkorrektur mittels Ablativ-Funktion. Die Quantifizierung erfolgte nach der INT-Methode wie in Kapitel 4 beschrieben. Als PVC Markersignal wurde der Signalbereich zwischen 4.90-4.30 ppm integriert und für PS der Signalbereich zwischen 7.60-6.40 ppm. Als Referenz und interner Standard wurde das DCM Signal im Bereich von 5.80-5.50 ppm integriert.

Die Methodvalidierung erfolgte nach der Vorgehensweise wie in Kapitel 3 beschrieben ist.

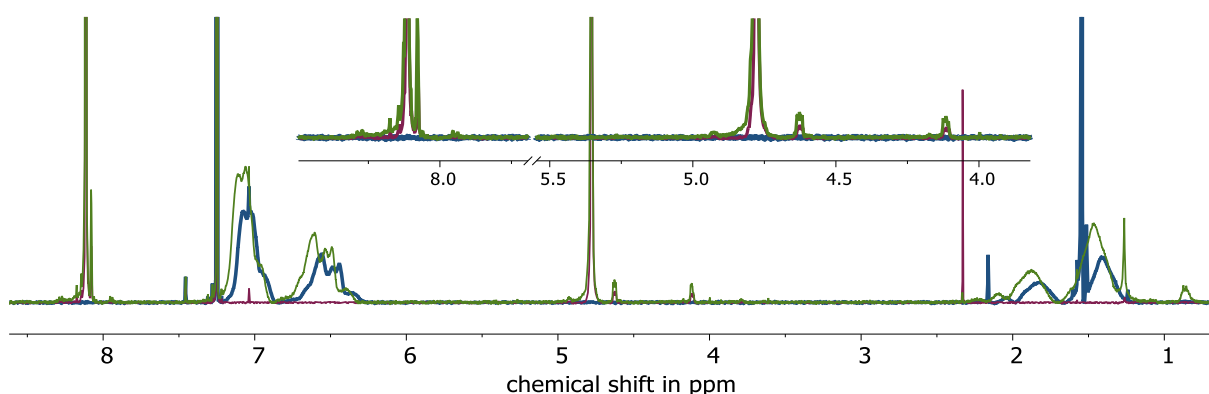


Abbildung Z6.3: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der simultanen Quantifizierung von PET+PS in CDCl_3/TFA 4:1 (grün), der nicht-simultanen Bestimmung von PET in CDCl_3/TFA 4:1 (rot) und der nicht-simultanen Bestimmung von PS in CDCl_3 (blau). Konzentrationen im Bereich von 1.08 – 1.36 mg/mL.

Tabelle Z6.4: Linearitätsdaten der 5-Punkt-Kalibriergeraden der simultanen Quantifizierung von PET+PS in CDCl_3/TFA 4:1 (Konzentrationsbereich von 0.2-1.3 mg/mL). Werte in Klammern sind kalkuliert auf Basis von Peez et al. (PET in CDCl_3/TFA 4:1 and PS in CDCl_3) [80]. NWG sind kalkuliert auf Basis des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses 3:1 (Apodisation 0.2 Hz).

	Steigung \pm SD	y-Achsenabschnitt \pm SD	R^2	LOD
PS	2.2103 \pm 0.0714 (19.1821 \pm 0.1934)	0.2102 \pm 0.0560 (0.7655 \pm 0.3845)	0.9969 (0.9997)	32 μg (28 μg)
PET	1.0402 \pm 0.0278 (1.0569 \pm 0.0093)	0.1022 \pm 0.0245 (-0.016 \pm 0.0200)	0.9979 (0.9998)	1 μg (1 μg)

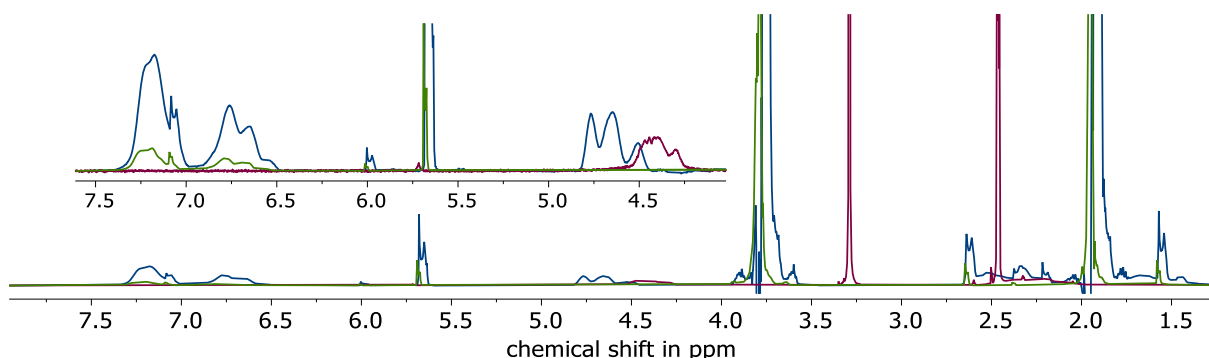


Abbildung Z6.5: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der simultanen Quantifizierung von PVC+PS in THF (blau), der nicht-simultanen Bestimmung von PS in THF (grün) und der nicht-simultanen Bestimmung von PVC in DMSO-d_6 (rot). Konzentrationen im Bereich von 1.37 – 1.41 mg/mL.

Tabelle Z6.6: Linearitätsdaten der 5-Punkt-Kalibriergeraden der simultanen Quantifizierung von PVC+PS in THF (Konzentrationsbereich von 0.3-1.5 mg/mL). Werte in Klammern sind kalkuliert auf Basis von Peez et al. (PVC in DMSO-d6) [80]. NWG sind kalkuliert auf Basis des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses 3:1 (Apodization 0.5 Hz).

	Steigung \pm SD	y-Achsenabschnitt \pm SD	R ²	LOD
PS	1.0867 \pm 0.0064	0.1017 \pm 0.0065	0.9999	19 μ g
PVC	0.3398 \pm 0.0091 (1.3971 \pm 0.0374)	0.0339 \pm 0.0083 (-0.0457 \pm 0.0347)	0.9979 (0.9979)	37 μ g (84 μ g)

Tabelle Z6.7: Übersicht der Methodvalidierung der Vorversuche für die simultane Quantifizierung (Vorversuche). Angegeben ist der wahre Wert \pm Wägefehler, der berechnete Wert \pm Vertrauensintervall (CI), Richtigkeit und Präzision in %. Werte berechnet nach Kapitel 3.

	MP	Wahrer Wert \pm Δx [mg/mL]	Berechnet \pm CI [mg/mL]	Richtigkeit [%]	Präzision [%]
PET+PS 1	PET	0.60 \pm 0.01	0.53 \pm 0.08	88.1	99.7
	PS	0.54 \pm 0.01	0.55 \pm 0.09	101	99.4
PET+PS 2	PET	1.24 \pm 0.01	1.26 \pm 0.09	102	99.5
	PS	0.98 \pm 0.01	1.03 \pm 0.09	105	99.4
PET+PS 3	PET	0.66 \pm 0.01	0.65 \pm 0.08	97.7	99.3
	PS	0.58 \pm 0.01	0.60 \pm 0.08	104	98.9
PET 1	PET	0.78 \pm 0.01	0.73 \pm 0.08	93.1	99.9
PET 2	PET	0.58 \pm 0.01	0.58 \pm 0.08	99.5	99.9
PET 3	PET	0.56 \pm 0.01	0.54 \pm 0.08	96.8	99.1
PVC+PS	PVC	1.73 \pm 0.01	1.77 \pm 0.02	102	98.2
	PS	1.61 \pm 0.01	1.62 \pm 0.11	101	99.4
PVC+PS	PVC	1.01 \pm 0.01	1.01 \pm 0.02	99.8	98.8
	PS	0.70 \pm 0.01	0.72 \pm 0.09	103	99.9
PVC+PS	PVC	0.60 \pm 0.01	0.56 \pm 0.02	94.1	98.3
	PS	0.97 \pm 0.01	1.02 \pm 0.09	105	99.9

Fest-Flüssig-Extraktion:

Als Extraktionsapparatur wurde ein Tropftrichter mit Druckausgleich NS 29/32 (oder eine Extraktionsapparatur nach Thiele-Pape NS 29/32) mit Extraktionseinheit (Cellulosehülse, Glasfrittenhülse, oder Watter) und aufgesetztem Rückflusskühler sowie ein 50 mL Rundkolben NS 29/32 verwendet. Im Falle der Watter als Extraktionseinheit wurde die Modellmatrix sowie die MP-Partikel direkt in die Extraktionsapparatur eingewogen. Im Falle der Extraktionshülsen wurde die Modellmatrix sowie die MP-Partikel direkt in die Hülse eingewogen und daraufhin mittels einer Pinzette in die Extraktionsapparatur überführt. In Tabelle Z6.8 ist das entsprechende Volumen angegeben, welches für die Extraktion verwendet wurde. Die Extraktionszeit (unter Rückfluss) betrug zwischen 1.5 – 2 h. Das komplette Extrakt wurde im 50 mL Rundkolben aufgefangen und anschließend unter Normaldruck abdestilliert. Der Rückstand im 50 mL Rundkolben wurde in ein 20 mL Glasgefäß überführt und es wurde mit 3 x 2 mL eines geeigneten Lösungsmittels nachgespült. Anschließend wurde das Extrakt bei ca. 60 °C bis zur Trockene eingeeengt. Während der kompletten Probenvorbereitung und Durchführung wurde darauf geachtet, dass keine Plastikutensilien verwendet wurden. Die Probenvorbereitung erfolgte nach der Vorgehensweise, welche in Kapitel 2 für die 1D-Methode und in Kapitel 4 für die NoD-Methode vorgestellt wurde. PET-Fasern und PS-Granulat wurden in CDCl₃/TFA 4:1 gelöst, PS-Kügelchen in CDCl₃ und für die simultane Quantifizierung von PVC-Pulver und PS-Granulat wurde THF (versetzt mit DCM; 20 µL DCM gelöst in 20 mL THF) verwendet.

Folgende Messparameter wurden für die PS-Kügelchen (gelöst in CDCl₃, Extraktion mit THF) verwendet (1D-Methode, 500 MHz Jeol): Receiver Gain 46, Pulsweite 5.15 µs, Spektrale Weite 10 ppm, Anzahl der Scans 25, Aufnahmegröße 16384, Spektrale Größe 52430, Wiederholungszeit 4.62 s. Die aufgenommenen ¹H-NMR-Spektren wurden in das Programm MestReNova geladen und die Apodization auf 0.2 Hz eingestellt. Die Phasenkorrektur und Basislinienkorrektur erfolgten manuell. Die Quantifizierung erfolgte nach der INT-Methode wie sie in Kapitel 2 beschrieben ist. Der PS-Gehalt wurde mittels PS-Kalibriergerade bestimmt.

Folgende Messparameter wurden für die PET-Fasern und das PS-Granulat jeweils gelöst in CDCl₃/TFA 4:1 (Extraktion mit CHCl₃) verwendet (1D-Methode, 500 MHz Jeol): Receiver Gain 46, Pulsweite 5.15 µs, Spektrale Weite 10 ppm, Anzahl der Scans 25, Aufnahmegröße 32768, Spektrale Größe 26214, Wiederholungszeit 5.54 s. Die aufgenommenen ¹H-NMR-Spektren wurden in das Programm MestReNova geladen und die Apodization auf 0.2 Hz eingestellt. Die Phasenkorrektur erfolgte manuell und die Basislinienkorrektur mittels Ablativ-Funktion. Die Quantifizierung erfolgte nach der INT-Methode wie sie in Kapitel 2

beschrieben ist. Der PS-Gehalt sowie der PET-Gehalt (nicht simultane Quantifizierung) wurden mittels PET+PS-Kalibriergerade bestimmt.

Folgende Messparameter wurden für die simultane Quantifizierung und Extraktion (Extraktion mittels THF) von PVC-Pulver und PS-Granulat verwendet (NoD-Methode, 500 MHz Jeol): Receiver Gain 46, Pulsweite 10.3 μ s, Spektrale Weite 10 ppm, Anzahl der Scans 16, Aufnahmegröße 32768, Spektrale Größe 52430, Wiederholungszeit 7.24 s. Die aufgenommenen $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurden in das Programm MestReNova geladen und die Apodization auf 0.5 Hz eingestellt. Die Phasenkorrektur erfolgte manuell und die Basislinienkorrektur mittels Ablativ-Funktion. Die Quantifizierung erfolgte nach der INT-Methode, wie sie in Kapitel 4 beschrieben ist. Der PVC- und der PS-Gehalt wurden mittels PVC+PS-Kalibriergerade (simultane Quantifizierung) bestimmt.

Die WFR wurden basierend auf Kapitel 5 (Gleichung 1) berechnet.

Tabelle Z6.8: Übersicht der Vorversuche der Fest-Flüssig-Extraktion für die simultane Bestimmung mittels qNMR-Methode. Angegeben ist die Menge der verwendeten Modellsedimentmatrix (Sand in g), des berechneten MP-Gehalts (MP berechnet), des normierten MP-Gehalts (MP normiert) nach Gleichung 1 aus Kapitel 5, die hinzugefügte Menge der MP-Partikel (MP gespiked) und die berechnete WFR in % nach Gleichung 1 aus Kapitel 5.

LM	Volumen [mL]	MP	Matrix [g]	MP berechnet [mg/mL]	MP normiert [mg/mL]	MP gespiked [mg/mL]	WFR [%]
THF	20	PS ^a	10.20	0.73	0.72	0.75	96.1
		PVC ^a		0.49		0.57	73.5
THF	20	PS ^a	12.13	1.11	1.10	1.02	108
		PVC ^a		0.33		0.38	72.5
THF	20	PS ^a	11.50	0.50	0.50	0.45	110
		PVC ^a		0.65		0.75	83.9
CHCl ₃	20	PS ^a	6.50	1.95	1.72	1.66	104
HFIP	10	PET ^a		1.53		1.36	105
CHCl ₃	30	PS ^b	12.38	1.77	1.56	1.91	81.8
HFIP	10	PET ^b		1.12		1.17	94.4
THF	15	PS ^c	5.76	1.09	1.05	1.02	103
THF	15	PS ^c	6.07	1.04	0.99	1.15	86.3
THF	15	PS ^c	6.09	1.48	1.41	1.45	97.5

^a Extraktionseinheit mit Cellulosehülse, PS Granulat

^b Extraktionseinheit mit Glasfrittenhülse, PS Granulat

^c Extraktionseinheit mit Watte (ohne Hülse), PS-Kügelchen

Danksagung

Hiermit möchte ich allen Personen danken, welche mich auf meinem Weg hin zur Promotion begleitet und unterstützt haben.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. Imhof, welcher es mir ermöglicht hat, dieses spannende und sehr aktuelle Thema im Rahmen einer Doktorarbeit frei zu bearbeiten und mir immer beratend zur Seite stand. Durch seine forwährende, freundliche und hilfreiche Beratung und Unterstützung hat er im großen Maße zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen. Zudem möchte ich mich bei Ihm für die Möglichkeit der Teilnahme an den Tagungen und der damit einhergehenden Unterstützung bedanken.

Ein weiterer Dank geht an die Mitglieder der μ KrO-Forschungsgruppe der Universität Koblenz-Landau, welche durch die interessanten Gespräche, Hilfestellungen und Anregungen im Rahmen unserer μ Kro-Treffen auch einen großen Beitrag zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben. Besonders hervorheben möchte ich Dr. Jochen Becker, welcher mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand und mich durch seine fachliche Expertise und Ratschläge immer unterstützt hat. Auch möchte ich Melanie Fritz gesondert für ihre Hilfe und ihr stets offenes Ohr für meine Probleme danken. Ein weiterer zusätzlicher Dank gilt auch an Frau PD Dr. Carola Winkelmann für die Möglichkeit der Nutzung Ihres Labors und des Equipments.

Zudem möchte mich mich für die freundliche Aufnahme und angenehme Arbeitsatmosphäre in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Imhof bedanken. Insbesondere gilt mein Dank an die ehemaligen und aktuellen Kollegen Markus Schwierz, Viktor Martens und besonders Dr. Carina Schink, welche das Arbeiten im Labor und Büro durch das freundschaftliche Arbeitsklima stets erleichtert haben und immer mit Rat und Tat zur Seite standen. Zusätzlich möchte ich meiner ehemaligen Masterantin Frau Marie-Christine Janiska danken, welche mir einen sehr schnellen Einstieg in das neue Thema ermöglicht hat.

Der Firma Magritek möchte ich besonders für die Kooperation und das Anfertigen der Benchtop-Messungen danken. Diese stellten einen großen Zugewinn für die hier vorgestellte Arbeit dar. Hervorheben möchte ich Dr. Torsten Rinesch und Dr. Jürgen Kolz und mich für Ihre Hilfe und Unterstützung bedanken.

Abschließend möchte ich meinen Freunden und meiner Familie, besonders meinen Eltern und meinem Ehemann, von Herzen für Ihre Unterstützung, welche ich in der gesamten Zeit meines Studiums erfahren durfte, danken.

Eigenständigkeitserklärung

Ich, Nadine Peez, versichere, dass ich die eingereichte Dissertation selbstständig verfasst habe, alle von mir für die Arbeit benutzten Hilfsmittel und Quellen in der Arbeit angegeben habe sowie die Anteile von Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern sowie anderer Autorinnen und Autoren klar gekennzeichnet sind. Ich habe keine entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- oder Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen. Die Dissertation habe ich nicht in gleicher oder ähnlicher Form als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung im In- oder Ausland eingereicht. Zudem versichere ich, dass ich weder diese noch eine andere Abhandlung in einem anderen Fachbereich oder einer anderen wissenschaftlichen Hochschule als Dissertation eingereicht habe. Mir ist bewusst, dass ein Verstoß gegen einen der vorgenannten Punkte den Entzug des Dokortitels bedeutet und ggf. auch weitere rechtliche Konsequenzen haben kann.

(Ort, Datum)

(Unterschrift)