DIN EN ISO 4484-2

DIN

ICS 13.020.40; 59.080.01

Einsprüche bis 2023-01-11
Ersatz für
E DIN EN ISO 4484-2:2021-07

Entwurf

Textilien und textile Erzeugnisse – Mikroplastik aus textilen Quellen – Teil 2: Qualitative und quantitative Bewertung von Mikroplastik (ISO/DIS 4484-2.2:2022); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 4484-2:2022

Textiles and textile products –
Microplastics from textile sources –
Part 2: Qualitative and quantitative evaluation of microplastics (ISO/DIS 4484-2.2:2022);
German and English version prEN ISO 4484-2:2022

Textiles et produits textiles –
Microplastiques d'origines textiles –
Partie 2: Évaluation qualitative et quantitative des microplastiques
(ISO/DIS 4484-2.2:2022);
Version allemande et anglaise prEN ISO 4484-2:2022

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2022-11-11 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

— vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;

— oder als Datei per E-Mail an nmp@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;

— oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 141 Seiten

DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 4484-2:2022) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 248 „Textilien und textile Erzeugnisse“ erarbeitet, dessen Sekretariat von BSI (Vereinigtes Königreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 062-05-13 AA „Textilpflege, Wassereinwirkung, Knitterverhalten“ im DIN-Normenausschuss Materialprüfung (NMP).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigefügt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 137:2015	siehe	DIN EN ISO 137:2016-09
ISO 1833-4:2017	siehe	DIN EN ISO 1833-4:2017-12
ISO 3696:1987	siehe	DIN ISO 3696:1991-06
ISO 15705:2002	siehe	DIN ISO 15705:2003-01
ISO/TR 11827:2012	siehe	DIN CEN ISO/TR 11827:2918-04
ISO/TR 21960:2020	siehe	DIN CEN ISO/TR 21960:2021-02

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN CEN ISO/TR 11827:2918-04, *Textilien — Prüfung der Zusammensetzung — Identifizierung der Fasern (ISO/TR 11827:2012)*

DIN CEN ISO/TR 21960:2021-02, *Kunststoffe in der Umwelt — Aktueller Wissensstand und Methodik (ISO/TR 21960:2020); Englische Fassung CEN ISO/TR 21960:2020*

DIN EN ISO 137:2016-09, *Wolle — Bestimmung des Faserdurchmessers — Mikroskop-Projektionsverfahren (ISO 137:2015); Deutsche Fassung EN ISO 137:2015*

DIN EN ISO 1833-4:2017-12, *Textilien — Quantitative chemische Analysen — Teil 4: Mischungen aus bestimmten Proteinfasern mit bestimmten anderen Fasern (Hypochlorit-Verfahren) (ISO 1833-4:2017); Deutsche Fassung EN ISO 1833-4:2017*

DIN ISO 3696:1991-06, *Wasser für analytische Zwecke; Anforderungen und Prüfungen; Identisch mit ISO 3696:1987*

DIN ISO 15705:2003-01, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung des chemischen Sauerstoffbedarfs (ST-CSB) — Küvettentest (ISO 15705:2002)*

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

– Leerseite –

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

– Entwurf –

Oktober 2022

prEN ISO 4484-2

Textilien und textile Erzeugnisse – Mikroplastik aus textilen Quellen – Teil 2: Qualitative und quantitative Bewertung von Mikroplastik (ISO/DIS 4484-2.2:2022)

Textiles and textile products – Microplastics from textile sources – Part 2: Qualitative and quantitative evaluation of microplastics (ISO/DIS 4484-2.2:2022)

Textiles et produits textiles – Microplastiques d'origines textiles – Partie 2: Évaluation qualitative et quantitative des microplastiques (ISO/DIS 4484-2.2:2022)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort . . . 6
Vorwort . . . 7
Einleitung . . . 8
1 Anwendungsbereich . . . 9
2 Normative Verweisungen . . . 9
3 Begriffe . . . 10
4 Kurzbeschreibung des Verfahrens und Anwendbarkeit auf unterschiedliche Matrizes . . . 11
4.1 Allgemeines . . . 11
4.2 Anwendung der Analyseergebnisse . . . 12
4.3 Das Analyseverfahren muss für alle Proben, die im Vorfeld hergestellt wurden, hinreichend anwendbar sein. . . . 12
4.4 Anwendungsgebiete und Anwendungsbeschränkungen . . . 12
5 Materialien und Reagenzien . . . 12
5.1 Grundsätze und Verfahren zur Verringerung der Umgebungsbelastung auf ein Mindestmaß . . . 12
5.1.1 Verfahren zur Verringerung von Verunreinigungen bei Ausrüstungen für die Reinigung . . . 13
5.1.2 Beurteilung der Belastung der Umgebung . . . 13
5.2 Reagenzien . . . 13
5.3 Glasgeräte und Vorrichtungen . . . 15
5.3.1 Waschen der Glasgeräte, Ausrüstung und Filtersysteme . . . 15
5.3.2 Laborgeräte . . . 15
5.4 Filter . . . 16
5.4.1 Mikro-FTIR-Filter . . . 17
5.4.2 Mikro-Raman-Filter . . . 17
5.4.3 Ablesen der Filter . . . 18
5.4.4 Verunreinigungen und Reinigungsprozess . . . 18
6 Spezifikation der Herstellung von Standardproben . . . 18
6.1 Allgemeines . . . 18
6.2 Herstellung von Standardproben (wasserbasiert) . . . 22
6.3 Filtration der Standardfaser (wasserbasiert) . . . 22
6.3.1 Allgemeines . . . 22
6.3.2 Filtrationsprozess . . . 22
6.4 Qualitätskontrolle der Standardproben und der Durchführung . . . 22
6.5 Mikroplastikzählung mit Lichtmikroskop (OM) oder Mikro-FTIR bzw. Mikro-Raman . . . 25
6.5.1 Allgemeines . . . 25
6.5.2 Untersuchung mit dem Mikroskop . . . 25
6.5.3 Ablesung des Filters . . . 25
6.5.4 Verunreinigungen . . . 26
6.5.5 Zählung des Mikroplastiks . . . 26
6.5.6 Zählung des Mikroplastiks mit Mikro-FTIR . . . 26
6.5.7 Zählung des Mikroplastiks mit Mikro-Raman . . . 28
7 Probenvorbereitung . . . 30
7.1 Feste Matrix (Faser, Textilgewebe oder Derivate) . . . 30
7.2 Flüssige Matrizes(wässrig) . . . 30
7.2.1 Festlegung von Volumen/Masse der zu filtrierenden Probe und Anzahl der Filter . . . 30
7.3 Luftmatrizes . . . 30
7.4 Voruntersuchungen . . . 31
7.5 Leitfähigkeit . . . 31
7.6 Chemischer Sauerstoffbedarf (COD, en: chemical oxygen demand) . . . 31
7.6.1 Allgemeines . . . 31
7.6.2 Voruntersuchung mit dem Lichtmikroskop . . . 31

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

7.7 Vorbehandlung . . . 31
7.8 Essigsäurebehandlung (Waschen) (Salzentfernung) . . . 32
7.9 Oxidation (Entfernen von organischen Substanzen) . . . 32
7.9.1 Wasserstoffperoxid-Volumen . . . 32
7.9.2 Reaktionszeit . . . 33
7.10 Homogenisierung/Hydratation und/oder Ultraschallbehandlung der Probe . . . 33
7.11 Vorverdünnung . . . 34
8 Analyseverfahren . . . 34
8.1 Allgemeines . . . 34
8.2 Voruntersuchung . . . 34
8.3 Zugabe des internen Standards . . . 34
8.4 Filtrieren . . . 34
8.5 Rückgewinnungsverfahren und letzter Waschvorgang . . . 34
8.6 Bildanalyse . . . 35
8.6.1 Wahl der Gerätebedingungen . . . 37
8.6.2 Berechnung der signifikanten Anzahl an Mikropartikeln für die Analyse . . . 37
8.6.3 Vergleich von Spektren und MP-Identifizierung . . . 38
8.6.4 Bestimmung der äußeren Oberfläche und des Volumens . . . 38
8.6.5 Berechnung der Gesamtoberfläche und Gesamtmasse . . . 39
8.6.6 Berechnung der Rückgewinnungsrate (*Rr*) für die ZÄHLUNG . . . 40
9 Prüfbericht . . . 40
9.1 Allgemeines . . . 40
9.2 Beispiel für einen Prüfbericht für MP . . . 41
Anhang A (informativ) Ökotoxikologischer Aspekt . . . 44
A.1 Allgemeines . . . 44
A.2 Ziel und Kurzbeschreibung des Verfahrens . . . 44
A.3 Vorausgehende Schritte . . . 44
A.3.1 Probenahme . . . 44
A.3.2 Probenkonservierung . . . 45
A.3.3 Trennung von Mikroplastik . . . 45
A.3.4 Filtrieren . . . 45
A.3.5 Vorbereiten der Lösung für die Mikroplastik-Rückgewinnung/Exposition . . . 45
A.4 Apikales Bioassay . . . 45
A.4.1 Allgemeines . . . 45
A.4.2 Reproduktionstest an Daphnia magna (OECD-Guideline Nr. 211) . . . 46
A.5 Biomarker-Reihe . . . 47
A.5.1 Allgemeines . . . 47
A.5.2 Messbare Endpunkte auf verschiedenen biologischen Ebenen . . . 47
A.5.3 Kritische Punkte . . . 53
A.6 Statistischer Ansatz und Integration von Biomarkern . . . 54
A.6.1 Empfehlungen . . . 55
A.7 Biomarker . . . 57
A.8 Anleitung zur Berechnung des BRI . . . 57
Anhang B (informativ) Mikrotom für die Standardprobenherstellung . . . 60
Anhang C (informativ) Ausarbeitung von Statistiken . . . 61
C.1 Beispiele für die Ausarbeitung von Statistiken . . . 61
Anhang D (informativ) Thermoanalytische Verfahren . . . 66
D.1 Allgemeines . . . 66
D.2 TED-GC/MS . . . 66
D.3 Behälter mit Proben (TED-GC/MS) . . . 66
D.4 Referenzmaterialien für die TED-GC/MS . . . 67
D.5 Analyseverfahren mithilfe von TED-GC/MS (zusätzlicher Abschnitt vor dem Abschnitt „Prüfbericht“) . . . 67
D.5.1 Sterilisation, Trocknung, Homogenisierung . . . 67
D.5.2 Spezifische Identifizierung . . . 68
D.5.3 Quantitative Bestimmung des Signals . . . 68
D.5.4 Nachweisgrenze . . . 69

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

D.5.5 Qualitätskontrolle 69
D.5.6 Beispiele für Prüfberichte für MP 70
Literaturhinweise 71

Bilder

Bild 1 — Beispiele für Filtersystem und Filter 15
Bild 2 — Celluloseacetatfilter, goldbeschichtete Polycarbonat-Membran und Siliciumfilter 17
Bild 3 — Polyamid-Faden 19
Bild 4 — Polyamid-Faden mit 180 Filamenten 20
Bild 5 — Zählung der Filamente 20
Bild 6 — Polyamid und Wolle im Mikrotom 20
Bild 7 — Geschnittener Polyamid-Faden in der Wolle 20
Bild 8 — Anheben der Fasern (0,2 mm) 21
Bild 9 — Zuschneiden der Fasern mit einer Klinge 21
Bild 10 — Geschnittene Fasern in einem Becherglas 21
Bild 11 — Mit dem Lichtmikroskop aufgenommene Bilder von Polyamid-Fasern, die mit dem Mikrotom auf 800 µm und auf 200 µm zugeschnitten wurden (gemischt mit Wolle) 21
Bild 12 — Vorbereitung der Filter für die Analyse mit Lichtmikroskop 25
Bild 13 — Vorgang zur Ablesung des Filters 25
Bild 14 — Beispiele für Verunreinigungen in einem sauberen Filter 26
Bild 15 — Beispiel für Fasern aus einer Cellulosematrix des Filters 26
Bild 16 — Beispiele für das mit dem Lichtmikroskop festgestellte Mikroplastik 26
Bild 17 — Beispiel: Fasern, PA 6.6, blau, gesammelt auf einem Si-Filter 27
Bild 18 — Beispiel: Fasern, PP, orange, gesammelt auf einem Si-Filter 27
Bild 19 — Bildanalyse des gesamten Siliciumfilters 28
Bild 20 — Bildanalyse von zwei vergrößerten Abschnitten 28
Bild 21 — Beispiel für die Zählung und Klassifizierung von Partikeln 29
Bild 22 — Beispiele für Nitrat-/Acetatfilter nach verschiedenen Vorbehandlungen mit Wasserstoffperoxid 32
Bild 23 — Wasserproben, die mit unterschiedlichen Volumen einer Wasserstoffperoxid-Lösung mit 15 % Volumenanteil behandelt wurden 32
Bild 24 — Wasserprobe zu unterschiedlichen Zeitpunkten, die zuvor mit einer Wasserstoffperoxid-Lösung mit 15 % Volumenanteil behandelt wurde 33
Bild 25 — Automatische Bildanalyse — Beispiel (1) 35
Bild 26 — Beispiel für die manuelle Klassifizierung mit einem Lichtmikroskop von MP, das auf einem Cellulosefilter gesammelt wurde 42
Bild 27 — Beispiele für automatische Bildanalyse (Mikro-FTIR) 42
Bild 28 — Zählung, chemische Identifizierung und Größenverteilung von MP-Partikeln (Durchmesser), die auf einem Siliciumfilter gesammelt wurden (Mikro-Raman) 43
Bild A.1 — Vergleich der Toxizität zwischen Psychopharmaka wie Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ-9-THC), Ecgoninmethylester (EME), Benzoylecgonin (BE), Morphin (MOR), 3,4-Methylendioxymethamphetamin (MDMA), Citalopram (CIT), Fluoxetin (FLX) und Amphetamin (AMPH), geprüft an Dreissena polymorpha (Magni et al., 2017) 56
Bild A.2 — Vergleich der Toxizität zwischen Mikroplastik aus Polyvinylchlorid (PVC) und Mater-Bi, geprüft an Dreissena polymorpha (Magni et al., 2020). 56
Bild B.1 — Beispiel für eine Zeichnung eines manuellen Mikrotoms 60
Bild C.1 — Kastengrafiken, die den Zusammenhang zwischen den Konzentrationen und der Nachweiswahrscheinlichkeit des einzelnen Mikrofilaments zeigen 62
Bild C.2 — Kastengrafiken, die den Zusammenhang zwischen Suspensionsvolumen, der theoretischen Anzahl der Mikrofilamente und der Nachweiswahrscheinlichkeit des einzelnen Mikrofilaments zeigen 62
Bild C.3 — a) Einfluss der Anzahl der theoretischen Mikrofilamente, b) des Volumens und c) der Konzentration auf die Nachweiswahrscheinlichkeit des einzelnen Mikrofilaments 64

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Bild C.4 — Abgeschätzte Wahrscheinlichkeitsflächen bei Verwendung verschiedener synthetischer Materialien 65
Bild D.1 — Massengehalt in µg/mg 70

Tabellen

Tabelle 1 — Herstellung von Standardproben (Beispiel) 19
Tabelle 2 — Mittelwert der MPs (Anzahl der Filamente/Liter) von 5 Parallelproben verglichen mit den theoretischen Werten und prozentualer Rückgewinnung 24
Tabelle 3 — Empfohlene Probenmenge für das Filtrieren durch ein 13-mm-Filter mit einer Porengröße von 1 µm 30
Tabelle 4 — Empfohlene Probenvolumen für das Filtrieren durch ein 47-mm-Filter mit einer Porengröße von 0,45 µm 30
Tabelle 5 — Automatische Bildanalyse — Beispiel (2) — Klassifizierung nach Abmessungen . . . 36
Tabelle 6 — Dichtewerte einiger synthetischer Polymere 39
Tabelle A.1 — Biomarker 57
Tabelle C.1 — Schätzwerte der Modellparameter nach der Maximum-Likelihood-Methode entsprechend Gleichung (1) 63
Tabelle C.2 — Abgeschätzte Wahrscheinlichkeitsflächen für verschiedene geprüfte Materialien und deren Standardfehler 64
Tabelle D.1 — Übersicht über vorhandene Marker für verschiedene Arten von Polymeren und deren Marker-Ionenfragmente (unterstrichen sind die Ionen, die zur Quantifizierung verwendet werden) 68
Tabelle D.2 — Übersicht über die LOD von TED-GC/MS 69

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 4484-2:2022) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 38 „Textiles“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 248 „Textilien und textile Erzeugnisse“ erarbeitet, dessen Sekretariat von BSI gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 4484-2.2:2022 wurde von CEN als prEN ISO 4484-2:2022 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 38, *Textiles*, in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 248, *Textilien und textile Erzeugnisse*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 4484 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Einleitung

Es gibt signifikante Hinweise darauf, dass aus der Textilbranche Mikroplastik (MP) in die Umwelt freigesetzt werden könnte.

Diese Partikel könnten, wenn sie in der Umwelt vorhanden sind, die Flora und Fauna beeinträchtigen, weshalb ihre Anzahl, Form und Größe maßgebende Parameter für die Bewertung ihrer möglichen Auswirkungen sein könnten und folglich die Erarbeitung einer Zähltechnik ein hilfreicher Ansatz sein kann.

Darüber hinaus sind nicht alle analysierten Mikropartikel synthetischen Ursprungs, weshalb es erforderlich ist, diese zu identifizieren und von Mikroplastik zu unterscheiden.

Dieses Dokument wurde entwickelt, um die Art, die numerische Konzentration, die Oberfläche und die (geschätzte) Masse von Mikroplastik, das in der Textilbranche produziert bzw. freigesetzt und in einer festen, wässrigen oder gasförmigen Matrix gesammelt wird, zu ermitteln.

In Abhängigkeit von der Matrix kann eine Vorbehandlung der Probe notwendig sein, um die erforderliche Konzentration von Mikroplastik zu erzielen und anorganische sowie organische Verunreinigungen (zum Beispiel biologischen Ursprungs) zu beseitigen, welche die Identifizierung behindern können. Dieses Dokument beinhaltet eine Voruntersuchung der Probe mit einem Lichtmikroskop (OM, en: optical microscope) und die anschließende Identifizierung des Mikroplastiks durch Molekülspektroskopie. Dieses Dokument bietet die Möglichkeit, zwei verschiedene Techniken der Molekülspektroskopie anzuwenden, d. h. Mikro-FTIR und Mikro-Raman, um Plastikpartikel kleiner als ein Mikrometer zu identifizieren und zu zählen.

Dieses Dokument wurde entwickelt, um eine Neubewertung der Zählwerte von Mikroplastik zu ermöglichen, wenn Hinweise auf toxikologische Wirkungen und Umweltauswirkungen vorliegen.

Dieses Dokument beschreibt das Analyseverfahren für ein Einfachfilter. Fehler bei der qualitativen und quantitativen Bestimmung von Mikroplastik, die auf vorhandene Verunreinigungen oder auf die Variabilität zwischen verschiedenen Filtern zurückzuführen sein können, bedeuten jedoch, dass Wiederholungsprüfungen durchgeführt werden sollten, um Genauigkeit und Präzision zu ermitteln.

Dieses Dokument liefert nützliche Informationen für die ausführliche Bewertung der Auswirkungen verschiedener Polymere auf die Gesundheit und die Umwelt.

Es ist bekannt, dass einige MPs lipophil sind und Transportmittel für toxische Verbindungen sein können (z. B. PCBs, PAHs, Dioxine) oder Transportmittel für pathogene Mikroorganismen, die an ihrer Oberfläche haften und (mit ihrer Toxizitätsdosis) assimiliert werden können und in Organismen und Zellen eindringen.

Der Ursprung von Mikroplastik ist vielfältig. Seine Form und Größe ebenso. Wird es aus Textilien herausgelöst, ist die typische (aber nicht die einzige) Morphologie faserförmig und sein Durchmesser und seine Länge können je nach den Aufbauparametern von Garnen und Geweben oder den Reinigungsbedingungen variieren.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt eine qualitativ-quantitative analytische Bewertung (d. h. Bestimmung) von Mikroplastik fest, um die Festlegung von Folgendem zu ermöglichen:

— Anzahl;

— Morphologie (morphologische Eigenschaften);

— Größenverteilung;

— Art, chemischer Ursprung oder Eigenschaften der Polymere sowie ihre Farbe, falls vorhanden.

Dieses Dokument gilt für die Bestimmung von Mikroplastik (aus der Textilbranche), das sich in verschiedenen Matrizes (zum Beispiel Abwasser aus der Textilverarbeitung, Waschwasser von Bekleidung, Luftemissionen aus der Textilverarbeitung, Feststoffabfälle aus der Textilverarbeitung) angesammelt hat.

Das Dokument legt die Angabe von Ergebnissen bezüglich der geschätzten Oberfläche und Masse von Mikroplastik (MP) je Probeneinheit fest.

Dieses Dokument ermöglicht die eindeutige Angabe der Ergebnisse der Quantifizierungen von MP, unabhängig von der Herkunft der untersuchten Probe (Rohmaterial, Herstellungsprozess, Umweltprobe wie Abwasser vom Wäschewaschen, Luft und industrielles Prozesswasser).

Dieses Dokument bestimmt Matrizes unterschiedlicher Aggregatzustände (fest, flüssig oder gasförmig) an Proben aus dem Textilbereich, zum Beispiel:

— feste Proben aus dem Prozess der Textilherstellung;

— Wasserproben aus dem Prozess der Textilherstellung und/oder vom Wäschewaschen;

— Luftproben zur Prüfung der Luftqualität am Arbeitsplatz von Textilherstellungsbetrieben.

Dieses Dokument ermöglicht dadurch, dass es in der Lage ist, Informationen wie beispielsweise Größe, Form, Oberfläche und (geschätzte) Masse bereitzustellen, die Weitergabe von Informationen, die für ökotoxikologische Bewertungen nützlich sind, an Spezialisten.

Alternativ ist es möglich, nur die Masse jedes in der Probe vorhandenen Polymers mithilfe der in Anhang D beschriebenen thermoanalytischen Verfahren zu bestimmen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN 481:1993, *Arbeitsplatzatmosphäre — Festlegung der Teilchengrößenverteilung zur Messung luftgetragener Partikel*

EN 13284-1:2017, *Emissionen aus stationären Quellen — Ermittlung der Staubmassenkonzentration bei geringen Staubkonzentrationen — Teil 1: Manuelles gravimetrisches Verfahren*

EN 13284-2:2017, *Emissionen aus stationären Quellen — Ermittlung der Staubmassenkonzentration bei geringen Staubkonzentrationen — Teil 2: Qualitätssicherung für automatische Messeinrichtungen*

ISO 137:2015, *Wool — Determination of fibre diameter — Projection microscope method*

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

ISO 1833-4:2017, *Textiles — Quantitative chemical analysis — Part 4: Mixtures of certain protein fibres with certain other fibres (method using hypochlorite)*

ISO 3696:1987, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO/TR 21960:2020, *Plastics — Environmental aspects — State of knowledge and methodologies*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter https://www.iso.org/obp

— IEC Electropedia: verfügbar unter http://www.electropedia.org/

3.1
Mikroplastik
MP
Partikel, die ein festes Polymer enthalten, denen Additive oder andere Substanzen zugesetzt worden sein können, wobei ≥ 1 % Massenanteil der Partikel Folgendes aufweisen:

(i) alle Maße 1 nm ≤ x ≤ 5 mm; oder

(ii) eine Länge von 3 nm ≤ x ≤ 15 mm und Länge-Durchmesser-Verhältnis von > 3

Anmerkung 1 zum Begriff: Natürliche Polymere, die chemisch nicht verändert wurden, sind hiervon ausgenommen, da es sich dabei um (biologisch) abbaubare Polymere handelt oder Polymere, die eine Wasserlöslichkeit > 2 g/l aufweisen.

3.2
signifikantes Probenvolumen
Volumen, das in Abhängigkeit von der Qualität [Gesamtgehalt an suspendierten Feststoffen (TSS, en: total suspended solids), chemischer Sauerstoffbedarf (COD, en: chemical oxygen demand] und Herkunft der Probe filtriert wurde

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe 7.2.

3.3
Teilprobe
Aliquot (Teilmenge) der Primärprobe, verdünnt (soweit bekannt) mit entmineralisiertem Wasser

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe 7.13.

3.4
Waschlösung
Lösung, die zum Waschen der Ausrüstung verwendet wird, um sämtliches MP zu entfernen, das auf den Geräten verblieben sein könnte

3.5
Bildanalyse
Identifizierung und Klassifizierung von Partikeln/Fasern nach ihrer Morphologie (Form) und Größe, woraus sich zusätzliche Informationen über die Probe ergeben, wie zum Beispiel: prozentuale Verteilung, Anzahl und Größe der Mikropartikel und Mikropartikel mit Faserform

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

3.6
molekulare Mikrospektroskopie
Analyse (FTIR oder Raman) in Verbindung mit Lichtmikroskopie zur:

— Identifizierung des Polymerbestandteils des Partikels;

— Neuklassifizierung der Partikel entsprechend dem Polymer, aus dem sie bestehen, nachdem sie durch eine Bildanalyse erfasst wurden, und Sammlung von Informationen über das identifizierte Mikroplastik wie Verteilung, prozentualer Anteil, Anzahl und Größe

4 Kurzbeschreibung des Verfahrens und Anwendbarkeit auf unterschiedliche Matrizes

4.1 Allgemeines

Um MP in einer Matrix bestimmen zu können, ist es zunächst notwendig, einen aussagekräftigen Teil davon auf ein geeignetes Filter aufzutragen, um die anschließende mikroskopische Analyse hinsichtlich der Menge (Molekülspektroskopie) durchführen zu können.

Verschiedene Ansätze müssen befolgt werden, in Abhängigkeit von den drei physikalischen Zuständen der Ausgangsmatrix:

— pulverförmiger Feststoff oder Gemisch aus Feststoffen;

— wässrige (flüssige) Lösung;

— gasförmiger Stoff.

Bei pulverförmigen Feststoff-Proben wird die vorläufige Dispergierung eines repräsentativen Aliquots der Proben in einem bekannten Volumen entmineralisierten Wassers oder in einer Dispergierlösung durchgeführt, die aus einem Tensid in entmineralisiertem und filtriertem Wasser besteht. Handelt es sich bei der Probe um einen (nicht pulverförmigen) Feststoff, muss eine geeignete Vorbehandlung für dessen Zerlegung durchgeführt werden (zum Beispiel Ultraschall und/oder Säure-/Basen-/Oxidansaufschluss).

Es muss eine Filtrierung eines Suspensionsvolumens, das mindestens 5 mg der Probe enthält, mit einem Filter aus geeignetem Werkstoff, geeigneter Porengröße und geeigneter Form (abhängig von der angewendeten spektralanalytischen Technik) durchgeführt werden.

Das Material auf dem Filter entsprechend der folgenden Beschreibung analysieren:

1) Feststellung der Zusammensetzung des vorhandenen Mikroplastiks durch Mikro-FTIR-/Mikro-Raman-Spektroskopie und Bestimmen seiner Maße durch Bildanalyse.

2) Berechnung der Gesamtmasse des auf dem Filter vorhandenen Mikroplastiks basierend auf der Fläche der Probenablagerung, dem untersuchten Oberflächenanteil des Filters, der Anzahl und Größe der untersuchten Partikel und Fasern.

Bei der Analyse von wässrigen Flüssigkeiten werden eine Vorfiltrierung und die damit verbundenen Reinigungs-, Wasch- und Abscheideprozesse auf geeigneten Filtern aus Celluloseester mit einer Porengröße von 0,45 µm durchgeführt.

Das Mikroplastik wird zuvor unter einem Lichtmikroskop im Auflicht bei 50- und 100-facher Vergrößerung untersucht und vermessen (Länge und Durchmesser).

Die Analyse muss mit einem Filter durchgeführt werden, das ein Raster für die Feststellung der Position der Partikel und für den Ausschluss etwaiger Fasern (zum Beispiel natürlichen Ursprungs) oder von verunreinigten Partikeln von der Zählung besitzt. Die Filtrierung eines bekannten Volumens der (zuvor behandelten) Was-

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

serdispersion muss auf einem für die gewählte spektralanalytische Technik spezifischen Filtermaterial (zum Beispiel Silicium mit Mikro-FTIR) durchgeführt werden. Bei gasförmigen Proben sind Luftproben in Übereinstimmung mit EN 13284-1:2017 und EN 13284-2:2017 für die Staubsammlung in Luft (Luftemissionen, Luft der Arbeitsumgebung) in Betracht zu ziehen.

4.2 Anwendung der Analyseergebnisse

Unabhängig von den verschiedenen Matrizes, die analysiert wurden, müssen alle Ergebnisse aus den MP-Bewertungen miteinander vergleichbar sein. Die Werte aus erzeugten Abfällen, aus dem Abwasser, aus der Luft am Arbeitsplatz oder aus den Emissionen in die Atmosphäre können analysiert und miteinander verglichen werden, so dass eine Bilanz des MP erstellt werden kann für:

— eine bestimmte Textilherstellung;

— die textilen Erzeugnisse, die auf den Markt gebracht werden (was vielmehr eine Analyse der potentiellen Erzeugung von MP während ihrer Lebensdauer als Kleidungsstück ermöglicht);

— einen beliebigen anderen betrachteten Prozess/Halbzeug/Fertigprodukt.

Entsprechend dem angewendeten Analyseverfahren müssen die verschiedenen Probenahme-, Vorbereitungs- und Reinigungsprozesse berücksichtigt werden. Diese müssen entsprechend den Eigenschaften der zu untersuchenden Probe gewählt werden.

4.3 Das Analyseverfahren muss für alle Proben, die im Vorfeld hergestellt wurden, hinreichend anwendbar sein.

4.4 Anwendungsgebiete und Anwendungsbeschränkungen

Entsprechend den verschiedenen Vorbereitungs- und Reinigungsprozessen der Proben und den anschließend angewendeten Analysetechniken können sich spezifische Anwendungsgebiete und Anwendungsgrenzen ergeben.

Besonders bei Proben unbekannter Herkunft in der Textilbranche, die möglicherweise Salze und organische Stoffe enthalten, müssen zunächst Untersuchungen durchgeführt werden, wie beispielsweise im Fall von flüssigen Proben mit wässriger Matrix:

— Bestimmung der Leitfähigkeit;

— Bestimmung des chemischen Sauerstoffbedarfs (COD, en: chemical oxygen demand);

— Bestimmung des Gesamtgehalts an suspendierten Feststoffen (TSS, en: total suspended solids) mit einer Membranfiltrationstechnik;

— Voruntersuchung mittels Lichtmikroskopie (OM, en: optical microscopy) zur Abschätzung der mikroskopischen Bildqualität.

5 Materialien und Reagenzien

5.1 Grundsätze und Verfahren zur Verringerung der Umgebungsbelastung auf ein Mindestmaß

Eine Verunreinigung durch luftgetragene Fasern ist möglich, und es wird empfohlen, Verfahren zur Verringerung dieser Verunreinigung anzuwenden.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

5.1.1 Verfahren zur Verringerung von Verunreinigungen bei Ausrüstungen für die Reinigung

Nachstehend ist eine Liste von Maßnahmen aufgeführt, die in Betracht zu ziehen sind, um Verunreinigungen zu verringern und die gereinigte Ausrüstung instandzuhalten.

a) Alle Geräte aus Glas müssen:

— vorab mit entmineralisiertem Wasser, das auf Filtern mit einer Porengröße von mindestens 0,45 µm (Nitrat-/Acetat-Celluloseestergemisch) gefiltert wurde, und mit einer Waschlösung gewaschen und anschließend vor jeder Nutzung gespült werden;

— danach mit einem Ethanol/Wasser-Gemisch (1 : 1 ± 5 %) [das auf Filtern mit einer Porengröße von 0,45 µm (Nitrat-/Acetat-Celluloseestergemisch) gefiltert wurde] und mit einer Waschlösung gewaschen und anschließend vor jeder Nutzung mit der gleichen (Ethanol-/Wasser)-Lösung gespült werden. Die abschließende Spülung vor jeder Nutzung muss 3-mal durchgeführt werden.

Die gleichen Maßnahmen müssen für Teilproben und Probenbehälter angewendet werden, die bevorzugt aus Glas und Metallen bestehen sollten.

Für die Filtrierung und Probenkonservierung Kunststoffvorrichtungen oder-bauteile vermeiden, die Mikroplastik in die Probe freisetzen könnten.

Nach dem Waschen muss das Glasgerät mit geeigneten Schutzmaßnahmen (zum Beispiel Aluminiumfolie zum Verschließen der Öffnungen) gelagert und geschützt werden, um die mögliche Ablagerung von in der Luft vorhandenem MP zu verringern.

b) Gleiches gilt für Teilproben und Probenbehälter, für die Glas und Metalle empfohlen werden.

c) Vor der Messung/Prüfung jeder Probe alle Oberflächen abwischen, wofür in Ethanol oder Propan-2-ol getränktes Papier empfohlen wird.

d) Alle Pinzetten, Messfühler und die Hände vor jedem Filtrierungsvorgang abspülen.

e) Schutzkleidung (einschließlich Laborkittel), die während der Handhabung der Proben von den Analytikern getragen wird, sollte bevorzugt aus Naturfasern statt synthetischen Fasern wie beispielsweise synthetischem Fleecegewebe oder ähnlichen Materialien bestehen.

f) Im Labor oder am Arbeitsplatz Bewegungen auf ein Mindestmaß beschränken. Es wird empfohlen, sensible Arbeiten innerhalb eines Laborabzugs oder Laminarströmungsabzugs durchzuführen.

5.1.2 Beurteilung der Belastung der Umgebung

Die „Belastung der Umgebung“ kann berücksichtigt werden, indem gleichzeitig für jedes Analyselos eine „Blindprüfung“ durchgeführt wird, bei der eine Probe von entmineralisiertem Wasser und einer anderen für die Prüfung verwendeten Waschlösung dem Analyseverfahren unterzogen wird. Der festgestellte MP-Wert muss als „Belastung der Umgebung“ definiert und bei den verschiedenen analytischen Bewertungen der verschiedenen zu untersuchenden Proben berücksichtigt werden.

Die „Blindprüfung“ muss für jedes Analyselos durchgeführt werden.

5.2 Reagenzien

Alle Reagenzien müssen mit Filtern der Porengröße 0,45 µm gefiltert werden.

5.2.1 Ein Volumenanteil von 15 % Wasserstoffperoxid

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Für die Oxidation von organischen Stoffen vor der Filtration darf Wasserstoffperoxid AR (analytisches Reagenz) verwendet werden.

5.2.2 Natriumhypochlorit (1 M NaClO)

Frisch hergestellte Natriumhypochloritlösung mit (35 ± 2) g/l aktivem Chlor (± 1 mol/l) entsprechend ISO 1833-4:2017.

Bestimmte Eiweißfasern und bestimmte andere Fasern (Hypochlorit-Verfahren). Sie wird zum Auflösen von Wolle bei der Herstellung von Standards verwendet.

5.2.3 Waschlösungen

Natriumchlorid mit einer Masse je Volumen von 1 %.

5.2.3.1 10 g analysenreines NaCl in 1 000 ml entionisiertem Wasser lösen.

Die Lösung muss durch Verdünnen des reinen NaCl-AR-Salzes in entmineralisiertem Wasser hergestellt werden.

Eine Probe dieser Lösung muss ebenfalls analysiert werden, um den MP-Gehalt des Salzes zu bestimmen, damit dieser bei der Durchführung der Analysen berücksichtigt werden kann.

5.2.3.2 Tensid mit einer Masse je Volumen von 1 % (Volumenanteil)

10 g analysenreine nichtionische Tenside in 1 000 ml entionisiertem gereinigtem Wasser verdünnen.

Die Lösung muss durch Verdünnen des Tensids in entmineralisiertem Wasser hergestellt werden, vorzugsweise nichtionisch, beispielsweise Triton X, (Zusammensetzung und/oder IR/Raman-Spektrum müssen bekannt sein, um bei der Analyse subtrahiert werden zu können).

Eine Probe dieser Lösung muss ebenfalls analysiert werden, um den MP-Gehalt zu bestimmen, damit dieser bei der Durchführung der Analysen berücksichtigt werden kann.

5.2.3.3 Wasser-Ethanol-Lösung (1 : 1)

Ethanol mit einem Volumenanteil von 95 % und entmineralisiertes Wasser, gemischt im Verhältnis 1 : 1. Es ist möglich, die zuvor mit einem Filter aus Celluloseester oder Cellulosenitrat filtrierte Ethanollösung zu verwenden.

5.2.4 Essigsäure

Essigsäure mit einem Volumenanteil von 60 %.

Es ist möglich, die Essigsäure mit einem Volumenanteil von 60 % zu verwenden, um Salz oder organisches Material zu entfernen.

5.2.4.1 Essigsäurelösung 0,1 mol/l

5,7 ml Essigsäure in 1 000 ml entionisiertem gereinigtem Wasser verdünnen.

Die Lösung muss durch Verdünnen der Säure in entmineralisiertem Wasser hergestellt werden.

Eine Probe dieser Lösung muss ebenfalls analysiert werden, um den MP-Gehalt zu bestimmen, damit dieser bei der Durchführung der Analysen berücksichtigt werden kann.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

5.3 Glasgeräte und Vorrichtungen

— Filtersystem aus Stahl oder Glas mit einem Trichter mit Fassungsvermögen von 100 ml, 500 ml, 1 000 ml, 2 000 ml komplett mit Sinterwand, Klemme und kodiertem Erlenmeyerkolben;

— Glaskolben und Glasflaschen mit Glaskappe;

— Pinzette;

— Mikropipetten;

— Petrischalen (aus Glas);

— Mikro-Objektträger;

— Kolben (20 ml bis 2 000 ml);

— Filterhalterung;

— mechanischer Rührer.

5.3.1 Waschen der Glasgeräte, Ausrüstung und Filtersysteme

Alle verwendeten Materialien müssen zunächst mit entmineralisiertem Wasser und anschließend mit einem Wasser/Ethanol-Gemisch (1 : 1) gewaschen werden, um alle MP-Rückstände zu entfernen, und unmittelbar nach dem Waschen müssen sie an der Luft trocknen, wobei sie mit Aluminiumfolie oder mit einem Uhrglas bedeckt werden. Bild 1 und Bild 2 zeigen das verwendete Filtersystem und das Filter.

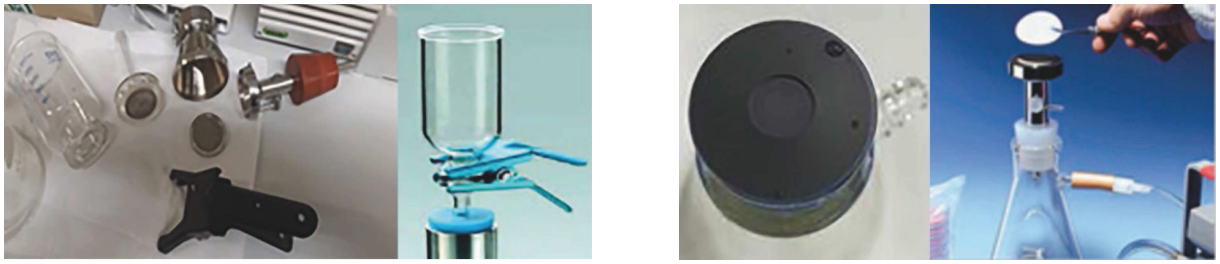


Bild 1 — Beispiele für Filtersystem und Filter

5.3.2 Laborgeräte

Kombinierte Mikroskope zur molekülspektroskopischen Analyse, die in Abhängigkeit von den jeweiligen Geräten und vom Erfassungsmodus verwendet werden dürfen:

1) Mikro-FTIR für Partikel größer als 10 µm

2) Mikro-Raman für Partikel größer als 0,2 µm bis 0,5 µm

5.3.2.1 Mikro-FTIR

— Transmission/Transflexion oder Reflexion

— spektrale Auflösung: mindestens 4 cm^{-1}

— Spektrenformat: Absorption

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

— abhängig vom System kann eine Blende von 150 µm x 150 µm verwendet werden

— Bereich der Detektorspektren: 4 000 cm^{-1} bis 675 cm^{-1}

— Erfassungsdauer und Abtastungen hängen vom System und den verwendeten Quellen ab.

5.3.2.2 Mikro-Raman

Anregung: Laser könnten eine Wellenlänge von 457 nm, 532 nm, 633 nm und 785 nm haben.

Objektive: verschiedene Objektive mit unterschiedlichen Vergrößerungen und numerischen Blenden.

Spektroskopische Systeme

Ultra-high-throughput-Spektrometer (Ultrahochdurchsatz) (UHTS300) im sichtbaren Bereich, Gitter: 600 g/mm

Ultra-high-throughput-Spektrometer (Ultrahochdurchsatz) (UHTS400) im nahen Infrarot-Bereich, Gitter: 300 g/mm

CCD-Kamera

Schwarz beleuchtete Kamera für den Betrieb im sichtbaren Bereich

Dunkelstromarme CCD-Kamera im nahen Infrarot-Bereich

Erweiterungen: Dunkelfeldmikroskopie; Software zur Partikelidentifizierung und -messung

5.3.2.3 Lichtmikroskopie

Zu den Mikroskoparten, die für die Faseridentifizierung geeignet sind, gehören Projektionsmikroskope und visuelle mikroskopische Bildanalysegeräte. Durchlichtmikroskope mit Skaleneinteilung direkt auf der optischen Linse sind ebenfalls einsetzbar.

5.3.2.4 Sonstige Laborgeräte

— Leitfähigkeitsmessgerät;

— Ausrüstung für die COD-Bestimmung (Schnelltests sind ebenfalls zulässig);

— Laborwaage;

— Laborherd;

— Ultraschallbad (siehe 7.10);

— Vakuumfiltrationssystem;

— Software für die Bildanalyse, morphologische Identifizierung, Klassifizierung der Abmessungen und Mapping

5.4 Filter

Die Wahl des Filters erfolgt entsprechend der gewählten Spektrographieart und der Größe der zu bestimmenden Partikel.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

5.4.1 Mikro-FTIR-Filter

1) Bei der Mikro-FTIR-Analyse (Reflexion und Transmission) sollten Filter mit einer Porenfläche von mindestens 5 µm verwendet werden, die aus Folgendem bestehen:

   — Aluminiumoxidfilter, Spektralbereich zwischen 4 000 cm^{-1} und 1 250 cm^{-1}, im Transmissionsmodus (Porendurchmesser 0,02 µm bis 0,2 µm);

   — Siliciumfilter, Spektralbereich zwischen 4 000 cm^{-1} und 600 cm^{-1} im Transmissions- oder Reflexionsmodus. Porendurchmesser 5 µm, Zwischenraum 12 µm, Dicke 500 µm;

   — Gold-Polycarbonat-Filter, Spektralbereich zwischen 4 000 cm^{-1} und 400 cm^{-1} im Reflexionsmodus (1 µm, 25 mm);

   — Celluloseacetat-/Cellulosenitratfilter, Spektralbereich zwischen 4 000 cm^{-1} und 400 cm^{-1} im Reflexionsmodus oder Mikro-ATR.

2) Bei der Analyse durch abgeschwächte Totaleflexion (ATR, en: attenuated total reflectance) können Filter mit einer Porengröße von mindestens 5 µm verwendet werden, und zwar im Einzelnen:

   — Celluloseacetat-/Cellulosenitratfilter:

      — Porendurchmesser 0,45 µm, 0,8 µm; Form-Durchmesser (47 mm und 25 mm);

   — PVDF (Polyvinylidenfluorid):

   — Porendurchmesser (5 µm), Form-Durchmesser (47 mm).

5.4.2 Mikro-Raman-Filter

Bei Mikro-Raman dürfen die folgenden Filter verwendet werden:

— Celluloseacetat-/Cellulosenitratfilter, goldbeschichtete Polycarbonat-Membran;

— Durchmesser 13 mm, Durchmesser 25 mm, Durchmesser 47 mm, Seitenlänge 10 mm.

Die folgenden Porengrößen können üblicherweise verwendet werden: 0,45 µm, 0,8 µm, 1 µm, 5 µm, sonstige.

Alle Filter müssen eine geeignete Form haben und mit der Form übereinstimmen, die durch das Gerät für die Molekülmikroskopie vorgegeben ist. Dies darf insbesondere eine runde oder quadratische Form sein. Siehe die in Bild 2 dargestellten Beispiele für derartige Filter.

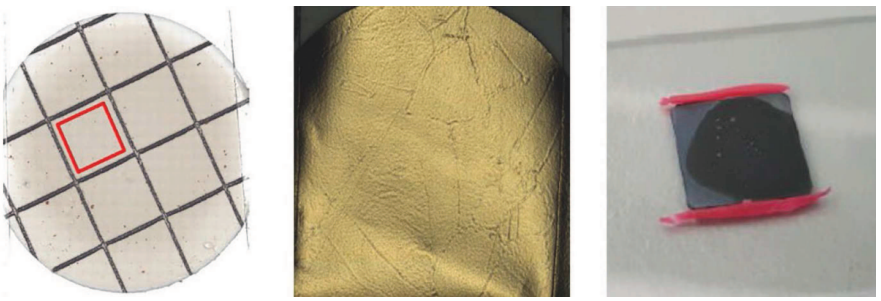


Bild 2 — Celluloseacetatfilter, goldbeschichtete Polycarbonat-Membran und Siliciumfilter

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

5.4.3 Ablesen der Filter

Alle verwendeten Filter sind nahezu flach. Bei der Trocknung nach dem Filtriervorgang kann eine Wölbung auftreten. Für die Messung werden sie so flach wie möglich eingesetzt.

Siliciumfilter besitzen zwei Seiten (eine spiegelnde und eine dunklere Seite). Das Filter wird mit der spiegelnden Seite nach oben eingesetzt (zum Filtrieren zu verwendende Seite), so dass die Mikroporen das Anhaften des Mikroplastiks und dessen Aufrechterhaltung während der folgenden Zähl- und Identifizierungsschritte mit Mikro-FTIR oder Mikro-Raman erleichtern, auch wenn das Filter trocken ist.

Das Siliciumfilter zeigt ein starkes Raman-Peak, aber keine Fluoreszenz. Silicium-Peaks dürfen bei der Partikelidentifizierung vernachlässigt werden.

5.4.4 Verunreinigungen und Reinigungsprozess

Die Filter werden in Petrischalen aus Glas (nicht aus Kunststoff) aufbewahrt, um Verunreinigungen durch die Schale selbst zu verringern. Nach Möglichkeit bleibt das Filter vor der Untersuchung bedeckt.

Alle Filter müssen neu sein oder vor der Verwendung gereinigt werden.

Die Filter werden vor der Filtration unter dem Lichtmikroskop untersucht, um sicherzustellen, dass sich auf ihrer Oberfläche keine störenden Partikel befinden, die von der Verpackung, ihrer Handhabung oder dem Produktionsprozess selbst stammen können. Die Reinigung hängt von der Filterart ab. Es kann ein physikalischer Vorgang, wie ein Ultraschallbad und eine chemische Behandlung durch kurzes Eintauchen in ein Lösemittel (reines Ethanol AR) für 10 min durchgeführt werden.

Um die Gesamtkosten für die Analyse zu senken, wurde für das Siliciumfilter die Möglichkeit vorgesehen, dasselbe Filter für mehrere Analysen mit folgendem Wasch- und Qualitätskontrollverfahren wiederzuverwenden:

— Mindestens 3 wiederholte Beschallungen im Ultraschallbad von jeweils 10 min in Wasser, Grad 3 nach ISO 3696:1987 (bei jeder Beschallung auszutauschen).

— Eintauchen des Siliciumfilters in 10 ml reines Ethanol AR vor der Verwendung.

6 Spezifikation der Herstellung von Standardproben

6.1 Allgemeines

Diese Anleitung umfasst ein einheitliches Verfahren zur Herstellung von standardisierten Mikroplastikfasern [13] für:

— nicht zum Kauf verfügbare Standardproben oder Referenzmaterialien [1] [2];

— die Bewertung und Validierung aller Ansätze von der Probenahme bis zur Identifizierung des Mikroplastiks;

— das Verständnis der biologischen und ökologischen Auswirkungen von Mikroplastikmüll in Form von Fasern mit einer Breite, die ähnlich der in der Natur vorkommenden Breite ist;

— die Verbesserung der Qualität der Probenahme, der Verarbeitung und der MP-Datenerfassung, um auch einen Vergleich unter hergestellten (faserförmigen) Mikroplastik-Standardproben zu ermöglichen.

Dieses Verfahren beschreibt, wie synthetische Fäden zuzuschneiden sind, um Lösungen mit einer Anzahl von Filamenten/l zwischen 70 Filamenten/l und 850 Filamenten/l zu erhalten. Tabelle 1 zeigt eine Reihe von Fadentypen, die für die Herstellung von Standardproben verwendet wurden, sowie die jeweils erhaltenen Konzentrationen.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Tabelle 1 — Herstellung von Standardproben (Beispiel)

Name der Probe (Polymer, Farbe, Anzahl der Filamente)	**Sammelvolumen von entmineralisiertem Wasser** (ml)	**Theoretische Konzentration** (Anzahl der Filamente/Liter)
Polyamid 6.6, blau (68 Filamente)	300	227
	500	136
	900	76
Polyamid 6, mehrfarbig (128 Filamente)	300	427
	500	256
	900	142
Polyamid 6 (180 Filamente)	300	600
	500	360
	900	200
Polyester beige (256 Filamente)	300	833
	500	512
	900	284
Polypropylen orange (72 Filamente)	300	240
	500	144
	900	80

In A.1 ist ein Beispiel für ein „manuelles Mikrotom“, das Proben von 200 µm bis 800 µm schneiden kann, angegeben.

Für die Herstellung der Standardproben wird ein Garn aus handelsüblichem Material mit einer bekannten Anzahl an Filamenten verwendet. Vor dem Schneiden wird unter dem Lichtmikroskop überprüft, ob die Anzahl der Filamente in dem Abschnitt stimmt. (Siehe Bild 3, Bild 4, Bild 5).

Bild 3 — Polyamid-Faden

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Bild 4 — Polyamid-Faden mit 180 Filamenten

Bild 5 — Zählung der Filamente

Anschließend erfolgt das Zuschneiden mit dem Mikrotom (nur ein Schnitt für eine Probe). (Anhang B) Um die Mikrotomführung zu befüllen (um den zu schneidenden Faden besser in dem Schlitten zu fixieren), muss Wolle verwendet werden (siehe Bild 6, Bild 7, Bild 8, Bild 9). Wegen ihres unregelmäßigen Durchmessers von etwa 16 µm bis 20 µm und ihrer schuppigen Oberfläche sind die Wollfasern unter dem Lichtmikroskop gut erkennbar, und darüber hinaus können sie durch eine einfache oxidative Behandlung beseitigt werden (siehe Bild 11).

Bild 6 — Polyamid und Wolle im Mikrotom

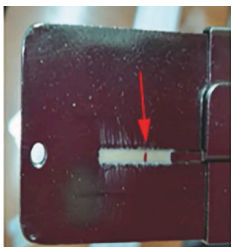


Bild 7 — Geschnittener Polyamid-Faden in der Wolle

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Bild 8 — Anheben der Fasern (0,2 mm)

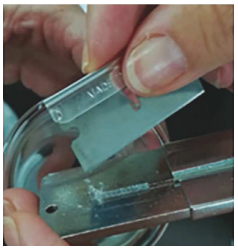
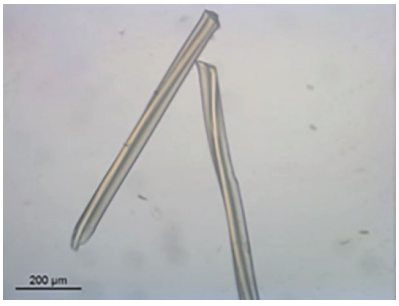


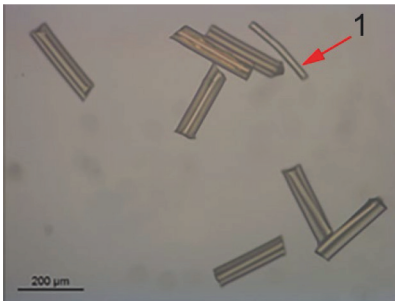
Bild 9 — Zuschneiden der Fasern mit einer Klinge

Bild 10 — Geschnittene Fasern in einem Becherglas

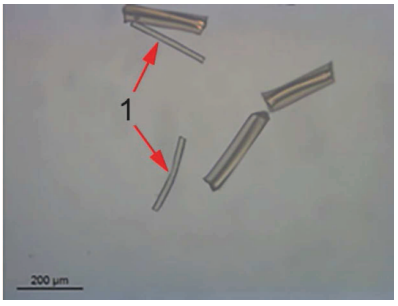
Die zugeschnittenen Faserlängen unter einem Lichtmikroskop überprüfen:



a) Länge: 829 µm, Durchmesser: 55 µm



b) Länge: 216 µm bis 235 µm, Durchmesser: 55 µm bis 60 µm



c) Beispiel für eine Wollfaser (1)

Legende

1 Wolle

Bild 11 — Mit dem Lichtmikroskop aufgenommene Bilder von Polyamid-Fasern, die mit dem Mikrotom auf 800 µm und auf 200 µm zugeschnitten wurden (gemischt mit Wolle)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

6.2 Herstellung von Standardproben (wasserbasiert)

Nach dem Zuschneiden mit dem Mikrotom (Anhang B) werden die synthetischen Filamente mit Wollfasern umwickelt. Alle Fasern werden mit der Schneidklinge eingesammelt und in 10 ml H_2O (entmineralisiert) mit 5 ml bis 7 ml Natriumhypochlorit in einem 50-ml-Kolben dispergiert.

Natriumhypochloritlösung NaClO (5.2.2) löst Wollfasern auf, wodurch die Zählung der synthetischen Fasern unter dem Mikroskop nach ISO 1833-4:2017 erleichtert wird. Die Suspension wird in einem 50-ml-Kolben mit einem mechanischen Rührer bei 130 min^{-1} für 40 min ohne Erwärmung geschüttelt.

Nach der Behandlung mit Natriumhypochlorit werden die synthetischen Fasern in einen großen Erlenmeyerkolben geschüttet. Der Kolben wird mit Aliquoten von 50 ml Wasser der Qualität nach ISO 3696:1987 gewaschen, um die angegebenen Volumen (300 ml, 500 ml oder 900 ml) zu erreichen. Um an den Wänden anhaftende Fasern abzunehmen und in den Erlenmeyerkolben zu überführen, wird der Kolben, bevor die angegebenen Volumen erreicht sind, zusätzlich mit 10 ml einer 1 : 1-Lösung von entmineralisiertem Wasser/Ethanol gespült. Dieser Schritt hilft dabei, die verbleibenden Fasern zurückzugewinnen. Im Anschluss wird das letzte Aliquot aus Wasser der Qualität nach ISO 3696:1987 hinzugegeben, das erforderlich ist, um das angegebene Volumen zu erreichen.

6.3 Filtration der Standardfaser (wasserbasiert)

6.3.1 Allgemeines

Das Sammeln von faserförmigen Mikropartikeln erfolgt auf einem oder mehreren Filtern mit einer Porengröße, die geringer ist als der kleinste Durchmesser der für die Standardprobe verwendeten Fasern.

6.3.2 Filtrationsprozess

Die gesamte Fasersuspension wird nach und nach filtriert (in 50-ml-Schritten).

Nach dem Filtrieren der gesamten Fasersuspension werden die Trichterwände mit einer geringen Menge Wasser/Ethanol-Gemisch (1 : 1) und einer Pasteur-Pipette aus Glas gewaschen, um die möglicherweise am Glas anhaftenden Mikropartikel zurückzugewinnen.

Der abschließende Waschgang (des Filtersystems, der Dichtung und des Kolbens mit der Faserlösung) für die Rückgewinnung wird mit einer 1 : 1-Lösung von Wasser/Ethanol durchgeführt und es wird auf Filter Nr. 2 filtriert.

Der Waschvorgang muss mindestens dreimal wiederholt werden, wobei jedes Mal ein Aliquot von 30 ml des Wasser/Ethanol-Gemischs (1 : 1) zu verwenden ist. Für den letzten Waschgang werden ein Aliquot und eine Pasteur-Pipette aus Glas verwendet, um den Filtertrichter und die Dichtung gründlich zu waschen.

Es werden zwei Filter verwendet, um alle Mikropartikel zu sammeln, die bei allen Filtrations- und Waschvorgängen in jeder Lösung mit einer bekannten Konzentration aufgefangen wurden.

— Filter Nr. 1, auf dem die Mikropartikel der Standardlösung und der Lösung für den ersten Spülgang des Kolbens und des Filtersystems gesammelt werden.

— Filter Nr. 2, auf dem die Mikropartikel aus den nachfolgenden Spülungen mit der Waschlösung und der Lösung für die anschließende gründliche Spülung des Erlenmeyerkolbens und aller Komponenten des Filtersystems gesammelt werden.

6.4 Qualitätskontrolle der Standardproben und der Durchführung

Für jede Probe müssen mindestens 5 Parallelproben je Typ des synthetischen Polymers hergestellt werden. Für jedes Garn und jedes Polymer müssen mindestens vier (von 5) Suspensionen von 300 ml, 500 ml und 900 ml

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

hergestellt werden, um vier (von 5) verschiedene Lösungen mit der gleichen Anzahl von Filamenten zu erhalten.

Für jede Parallelprobe wird die Anzahl der Partikel (in diesem Fall werden nur die Filamente betrachtet) in einem bestimmten Volumen als Summe der auf Filter 1 (Hauptlösung) und Filter 2 (Waschwasser) gesammelten Partikel angegeben. Siehe Gleichung (1):

$$\mathrm{Ntp/L} = \frac{\mathrm{Np}}{\mathrm{Sv}} \tag{1}$$

Dabei ist

Ntp die Gesamtanzahl der Partikel, die durch automatische oder manuelle Zählung als die Summe der auf Filter 1 oder Filter 2 gezählten Partikel erhalten wurde;

Np die Anzahl der Partikel;

Sv das Volumen der Lösung.

Tabelle 2 zeigt, wie die Werte eingetragen und für jede analysierte Probe berechnet werden müssen.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Tabelle 2 — Mittelwert der MPs (Anzahl der Filamente/Liter) von 5 Parallelproben verglichen mit den theoretischen Werten und prozentualer Rückgewinnung

	Parallel-proben	Anzahl der Filamente in der ersten Probe: 300 ml (gesamte Lösung)	Anzahl der Filamente (Spülgang)	Gesamt-zahl der Filamente	Prozen-tuale Rückge-winnung
Bezeichnungen der Probe (Polymer, Anzahl der Filamente), Anzahl der Filamente/Liter (theoretisch)	Nr. 1 Nr. 2 Nr. 3 Nr. 4 Nr. 5 **Mittelwert**				
	Parallel-proben	**Anzahl der Filamente in der ersten Probe: 500 ml (gesamte Lösung)**	**Anzahl der Filamente (Spülgang)**	**Gesamt-zahl der Filamente**	**Prozen-tuale Rückge-winnung**
Bezeichnungen der Probe (Polymer, Anzahl der Filamente), Anzahl der Filamente/Liter (theoretisch)	Nr. 1 Nr. 2 Nr. 3 Nr. 4 Nr. 5 **Mittelwert**				
	Parallel-proben	**Anzahl der Filamente in der ersten Probe: 900 ml (gesamte Lösung)**	**Anzahl der Filamente (Spülgang)**	**Gesam-tzahl der Filamente**	**Prozen-tuale Rückge-winnung**
Bezeichnungen der Probe (Polymer, Anzahl der Filamente), Anzahl der Filamente/Liter (theoretisch)	Nr. 1 Nr. 2 Nr. 3 Nr. 4 Nr. 5 **Mittelwert**				

Die kleinste annehmbare Standard-Rückgewinnungsrate beträgt 80 %.

Es wurde beobachtet, dass die Standard-Rückgewinnungsrate vom Verhältnis zwischen der Anzahl der Partikel und dem Volumen (ml), in dem diese dispergiert sind, abhängt. Es wurde eine Rückgewinnungsrate zwischen 80 % und 100 % für Lösungen festgestellt, die Mikroplastik mit einer Konzentration von mindestens 200 Partikel/l enthalten.

Wenn die vorstehende Rückgewinnungsrate nicht erreicht wird, dann wird überprüft, ob der Wasch- und Filtrationsvorgang ordnungsgemäß durchgeführt wurde und ob die Filtrationsausrüstung ordnungsgemäß funktioniert und dicht ist.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

6.5 Mikroplastikzählung mit Lichtmikroskop (OM) oder Mikro-FTIR bzw. Mikro-Raman

6.5.1 Allgemeines

Da in den Laboratorien unterschiedliche Geräte zum Einsatz kommen können, können keine allgemeingültigen Anleitungen bezüglich des Mikroskops, Mikro-FTIR/Mikro-Raman gegeben werden.

6.5.2 Untersuchung mit dem Mikroskop

Die Mikropartikel werden vorsorglich mit einem Lichtmikroskop im Auflicht bei 50-facher und 100-facher Vergrößerung auf einem Filter (Celluloseacetat-/Cellulosenitratfilter) untersucht und vermessen (Länge und Durchmesser), um die Position der Partikel für nachfolgende Analysen feststellen zu können.

— Nach der Filtration, wenn das Filter noch feucht ist, kann das Mikroplastik untersucht und gezählt werden. In diesem Zustand bleibt das Filter vollkommen flach.

— Wenn das Filter gewölbt und dadurch unter dem Mikroskop zu schwierig zu untersuchen ist, wird es mit doppelseitigem Klebeband auf den Objektträger geklebt. Siehe Bild 12.

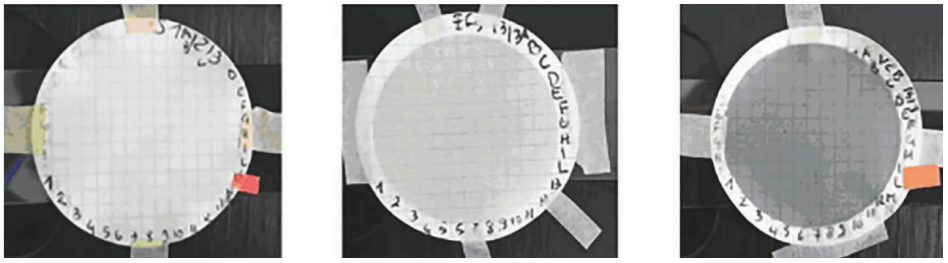


Bild 12 — Vorbereitung der Filter für die Analyse mit Lichtmikroskop

6.5.3 Ablesung des Filters

Die (faserförmigen) MPs werden im Filterbereich gezählt.

Erfolgt die Zählung manuell, wird jedes Filter von links nach rechts abgelesen; dann wird mit der Reihe darunter fortgefahren und von rechts nach links abgelesen. Ein Raster mit Buchstaben (Spalte) und Zahlen (Zeile) auf dem Filter (oder eine Rasterprojektionslinse oder eine andere vergleichbare Vorrichtung, die ein Raster zur leichteren Zählung auf dem Filter erzeugen kann) ist hilfreich, um sicherzustellen, dass Elemente nicht doppelt gezählt werden. Siehe Bild 13.

Bild 13 — Vorgang zur Ablesung des Filters

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

6.5.4 Verunreinigungen

Überprüfen, ob das neue Filter keine Fremdstoffpartikel enthält.

Alle Naturfasern werden von der Zählung ausgeschlossen, wobei zu berücksichtigen ist, dass die äußere Oberfläche der am häufigsten auftretenden Naturfasern unregelmäßig und nicht glatt ist. Siehe Bild 14 und Bild 15.

Bild 14 — Beispiele für Verunreinigungen in einem sauberen Filter

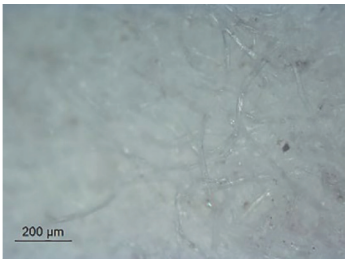


Bild 15 — Beispiel für Fasern aus einer Cellulosematrix des Filters

6.5.5 Zählung des Mikroplastiks

Das Ergebnis der Zählung ist die Summe des faserförmigen Mikroplastiks, das in jedem Quadrat des Rasters entsprechend dem in 6.5.3 angegebenen Ableseverfahren festgestellt wurde. Siehe Bild 16.

Die Länge und der Durchmesser des MP werden automatisch mit der Bildanalyse-Software, sofern verfügbar, oder manuell (mit einem Mikroskop) bestimmt.

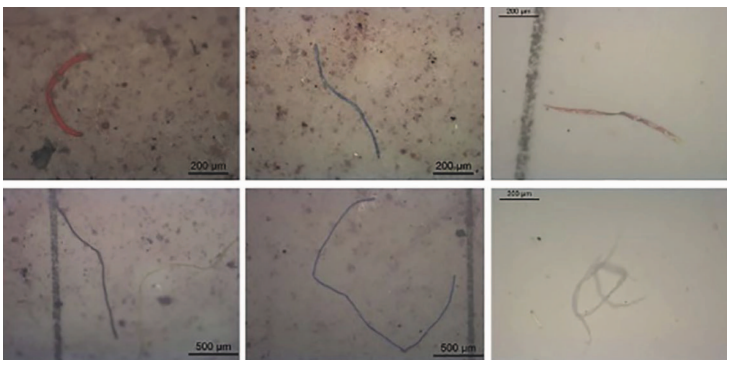


Bild 16 — Beispiele für das mit dem Lichtmikroskop festgestellte Mikroplastik

6.5.6 Zählung des Mikroplastiks mit Mikro-FTIR

Bezüglich der Vorbereitung der Zählung des Filters siehe 6.5.5.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

6.5.6.1 Allgemeines

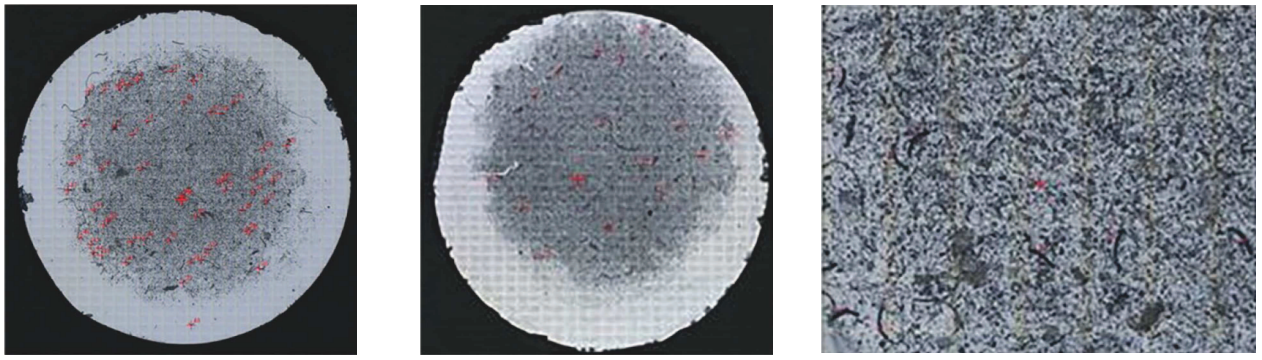
Jedes Filter muss stabil auf einem Probenhalterschlitten platziert werden, indem spezielle Filterhalterschlitten mit einem für das Filter geeigneten Hohlraum (zum Beispiel Durchmesser 13 mm) oder mit einem Objekthalterschlitten (möglicherweise mit einem Stück doppelseitigem Klebeband, auf dem das Filter platziert wird, damit es während der Analyse nicht verrutscht (zum Beispiel Durchmesser 47 mm) verwendet werden.

6.5.6.2 Siliciumfilter oder gleichwertiges Filter

Die Vorbereitung von Beispiel-Filter 1 und Beispiel-Filter 2 erfolgt in Übereinstimmung mit 6.3 unter Verwendung eines Siliciumfilters.

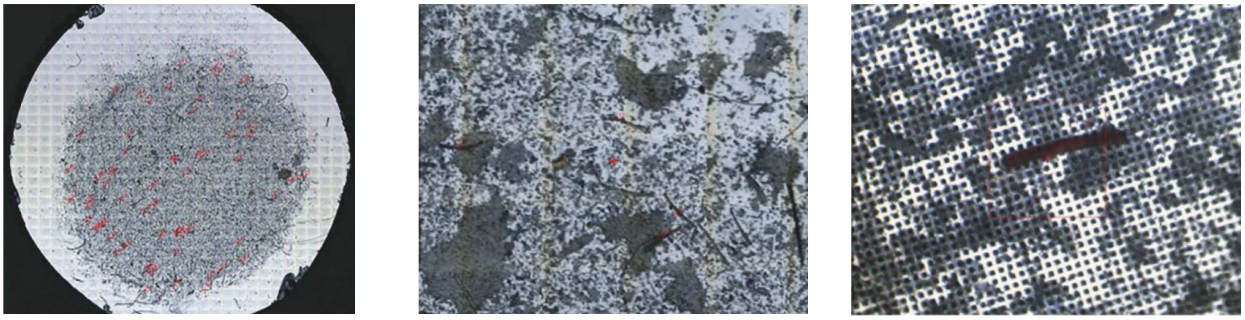
Die Analyse des auf jedem Filter gesammelten Mikroplastiks erfolgt durch die Aufnahme des Gesamtbildes des Filters.

Bild 17 und Bild 18 zeigen das Bild des jeweiligen Filters 1 und Filters 2 und die Vergrößerung einiger Teile, um die zu zählenden Fasern (Polyamid oder Polypropylen) stärker hervorzuheben.



(a) Filter 1 **(b) Filter 2** **(c) Vergrößerung eines Bereichs**

Bild 17 — Beispiel: Fasern, PA 6.6, blau, gesammelt auf einem Si-Filter



(a) Vergrößerung eines Bereichs **(b) Weitere Vergrößerung, um PP von Wolle zu unterscheiden** **(c) Wolle**

Bild 18 — Beispiel: Fasern, PP, orange, gesammelt auf einem Si-Filter

Ist das Filter mit zu vielen Fasern bedeckt, wird das Bild in 9 quadratische Abschnitte mit höherer Vergrößerung aufgeteilt, so dass das gesamte Filter abgedeckt ist, und anschließend wird mit der manuellen Zählung der Mikropartikel in jedem der 9 Abschnitte fortgefahren. Siehe Bild 19 und Bild 20.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

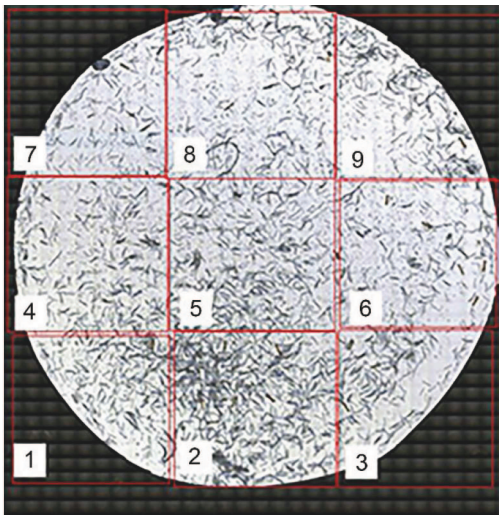


Bild 19 — Bildanalyse des gesamten Siliciumfilters

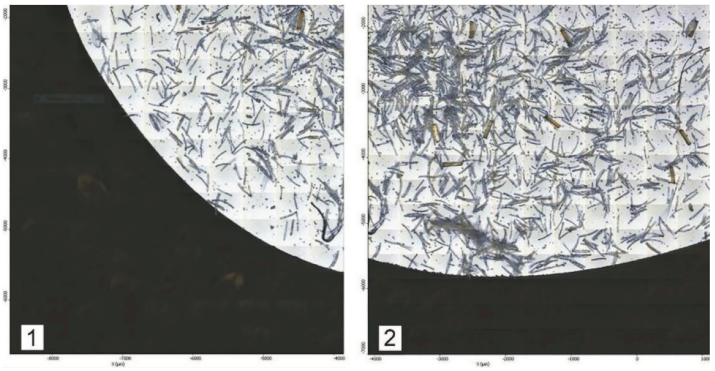


Bild 20 — Bildanalyse von zwei vergrößerten Abschnitten

Alternativ zur manuellen Zählung ist es möglich, mit einer Software für optische Geräte eine automatische Zählung des Mikroplastiks vorzunehmen.

6.5.7 Zählung des Mikroplastiks mit Mikro-Raman

Die Zählung mit Mikro-Raman kann auf verschiedenen Filtern durchgeführt werden, wie in 5.4 angegeben.

Die Zählung des MP kann mit einer Software zur automatischen Bildanalyse vorgenommen werden, welche die Partikel oder Fasern in großen Probenbereichen vermessen und klassifizieren kann.

Die Bildanalyse darf nach einer oder mehreren der folgenden Möglichkeiten durchgeführt werden:

a) Weißlichtmikroskopie mit inhärent gleichen Brennpunkten. Hellfeld-/Dunkelfeld-Transmission/Reflexion;

b) Auswahl der Objektive: für die Probenvermessung und Raman-Messungen können verschiedene Objektivtypen (mit unterschiedlichen Vergrößerungen und Blenden) verwendet werden, zum Beispiel für einen ersten Überblick und eine anschließende hochauflösende Raman-Analyse;

c) automatische Zählung und Klassifizierung der auf dem Filter gesammelten Partikel mit Angabe von Parametern wie Länge, Breite, Seitenverhältnis, äquivalenter Kreisdurchmesser (CE), gruppiert für verschiedene Materialien. (Bild 21);

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

d) Die Polymerzusammensetzung wird für jedes MP, das bei der Bildanalyse identifiziert wurde, mithilfe der molekülspektroskopischen Techniken bestätigt;

e) Die MP-Identifizierung kann durch Fluoreszenz, die Probenvorbereitung (verwendetes Filter) und die Wellenlänge der Laserquelle beeinträchtigt werden.

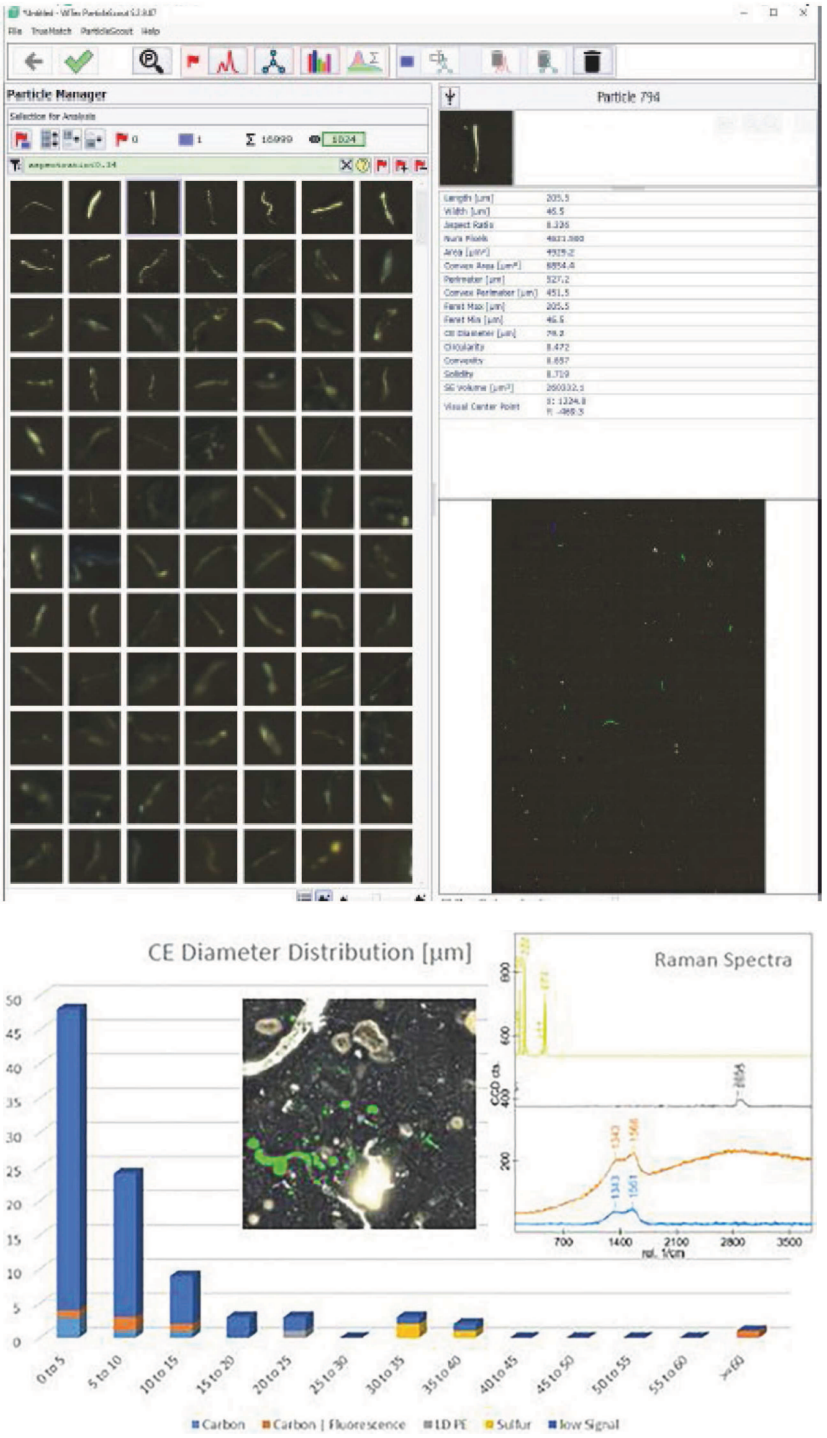


Bild 21 — Beispiel für die Zählung und Klassifizierung von Partikeln

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

7 Probenvorbereitung

7.1 Feste Matrix (Faser, Textilgewebe oder Derivate)

Bei festen Proben wie Kleidungsstücken oder anderen Textilien können prEN ISO 4484-1 oder prEN ISO 4484-3 angewendet werden, um eine flüssige Probe für die Prüfung herzustellen.

7.2 Flüssige Matrizes(wässrig)

7.2.1 Festlegung von Volumen/Masse der zu filtrierenden Probe und Anzahl der Filter

Filtrieren durch ein oder mehrere Filter mit unterschiedlichen Abmessungen und Porengrößen in Abhängigkeit vom Probenvolumen.

Tabelle 3 enthält die empfohlenen Probenvolumen für das Filtrieren durch ein 13-mm-Filter mit einer Porengröße von 1 µm.

Tabelle 4 enthält die empfohlene Probenmenge für das Filtrieren durch ein 47-mm-Filter mit einer Porengröße von 0,45 µm.

Tabelle 3 — Empfohlene Probenmenge für das Filtrieren durch ein 13-mm-Filter mit einer Porengröße von 1 µm

Probenqualität — Herkunft (wie a) — TSS-Gehalt	TSS mg/l	Nicht vorbehandelte Probe (filtrierbares Mindestvolumen) ml	Vorbehandelte Probe (filtrierbares Mindestvolumen) ml
Abwasser — Ausleitung aus Abwasserbehandlungsanlagen — niedriger Gehalt	< 100	10	100
Abwasser — Einleitung in Abwasserbehandlungsanlagen — mittlerer Gehalt	< 2 500	2	20
Belebter Schlamm — suspendierte Biomasse — hoher Gehalt	< 10 000	1	5

Tabelle 4 — Empfohlene Probenvolumen für das Filtrieren durch ein 47-mm-Filter mit einer Porengröße von 0,45 µm

Probenqualität — Herkunft (wie a) — TSS-Gehalt	TSS mg/l	Nicht vorbehandelte Probe (zu filtrierendes Mindestvolumen) ml	Vorbehandelte Probe (zu filtrierendes Mindestvolumen) ml
Abwasser — Ausleitung aus Abwasserbehandlungsanlagen — niedriger Gehalt	< 100	50	200
Abwasser — Einleitung in Abwasserbehandlungsanlagen — mittlerer Gehalt	< 2 500	10	100
Belebter Schlamm — suspendierte Biomasse — hoher Gehalt	< 10 000	5	20

7.3 Luftmatrizes

Es werden die Techniken und Probenahmevolumen verwendet, die nachstehend für Folgendes angegeben sind:

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

— Bestimmung von luftgetragenen Partikeln: EN 13284-1:2017

— Bestimmung von Staub: EN 481:1993

7.4 Voruntersuchungen

Um herauszufinden, ob eine Vorbehandlung der flüssigen Probe erforderlich ist, müssen die Werte der Leitfähigkeit und des COD sowie des Gesamtgehalts an suspendierten Feststoffen (TSS) der zu analysierenden Probe gemessen und zusätzlich eine Untersuchung mit dem Lichtmikroskop bei 10-facher/5-0facher Vergrößerung durchgeführt werden.

Die behandelten flüssigen Proben sind Abwasser aus der Textilverarbeitung, Abwasser vom Wäschewaschen, und Wasser aus industriellen Prozessen.

7.5 Leitfähigkeit

Wenn die Leitfähigkeit höher als 3 000 µS/cm ist, muss das Filter mit einer Lösung von 0,1 mol/l Essigsäure gewaschen werden, um Spuren von anorganischen Substanzen zu entfernen.

7.6 Chemischer Sauerstoffbedarf (COD, en: chemical oxygen demand)

7.6.1 Allgemeines

Ist der COD höher als 100 mg O_2/l, wird eine Voroxidation mit 15%iger Wasserstoffperoxid-Lösung durchgeführt (für eine Dauer von mindestens 7 Tagen bis 30 Tagen, je nach Komplexität der Matrix), wobei das Volumen des hinzuzufügenden Wasserstoffperoxids nach Gleichung (2) berechnet wird, mit dem Ziel, alle Spuren von organischem Nichtplastik-Material zu beseitigen.

$$\text{ml Wasserstoffperoxid 15 \%}_{\text{hinzuzufügen}} = \text{COD (mg } O_2\text{/l)} \times \text{Probenvolumen}_{\text{zu behandeln}} \text{ (in Liter)}/70{,}06 \quad (2)$$

$$V = \text{COD x Sv}/70{,}06$$

Dabei ist

V das hinzuzufügende Wasserstoffperoxid-Volumen (ein Volumenanteil von 15 %) in l;

COD der chemische Sauerstoffbedarf, angegeben in mg O_2/l;

Sv das zu behandelnde Probenvolumen in l.

7.6.2 Voruntersuchung mit dem Lichtmikroskop

Abhängig vom Verhältnis von Gesamtgehalt an suspendierten Feststoffen und chemischem Sauerstoffbedarf sowie von der Voruntersuchung mit dem Lichtmikroskop sollte das empfohlene signifikante Mindestvolumen der Probe definiert werden, um annehmbare Filtrationszeiten zu erhalten.

Außerdem wird während der Voruntersuchung mit dem Lichtmikroskop die Probe mit entmineralisiertem Wasser vorab verdünnt, wenn eine hohe Überlagerung von Mikropartikeln vorliegt.

7.7 Vorbehandlung

Die Vorbehandlung darf auf drei unterschiedliche Weisen durchgeführt werden:

a) an der reinen (unbehandelten) Probe;

b) an einem Aliquot der hergestellten Probe vor der Durchführung der Filtrationsvorgangs;

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

c) auf dem Filter (siehe Bild 22).

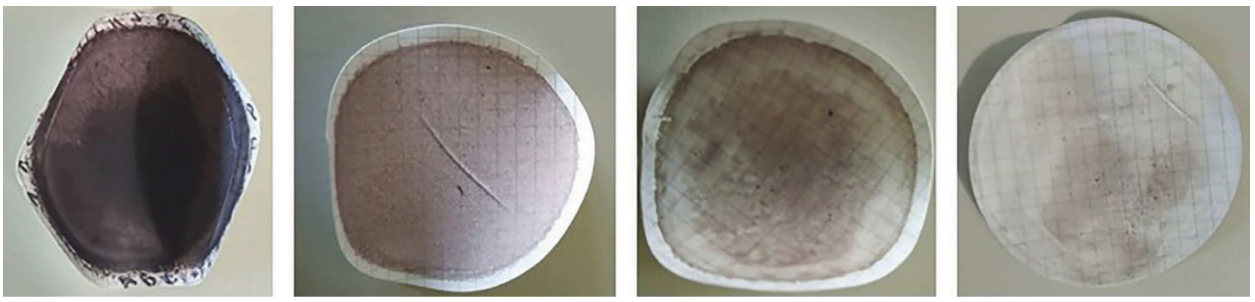


Bild 22 — Beispiele für Nitrat-/Acetatfilter nach verschiedenen Vorbehandlungen mit Wasserstoffperoxid

7.8 Essigsäurebehandlung (Waschen) (Salzentfernung)

Die Säurebehandlung darf auf zwei unterschiedliche Weisen durchgeführt werden:

1) an der reinen (unbehandelten) Probe, falls eine hohe Leitfähigkeit vorliegt oder falls ausgefällte anorganische Salze vorhanden sind;

2) auf dem Filter nach Abschluss des Filtriervorgangs.

7.9 Oxidation (Entfernen von organischen Substanzen)

Durchzuführen an der Probe vor dem Filtrieren.

Der Oxidationsprozess erfolgt über einen längeren Zeitraum und hängt von der Dosierung der Wasserstoffperoxid-Lösung ab.

7.9.1 Wasserstoffperoxid-Volumen

Der Volumenanteil von 15 % Wasserstoffperoxid, der der Probe hinzuzufügen ist, ist proportional zum COD der zu behandelnden Probe. Mit einer Dosierung von 1,4 ml je 100 ml Probe mit einem COD von 100 mg O_2/l können bereits nach 7 Tagen zufriedenstellende Ergebnisse erhalten werden.

Bild 23 veranschaulicht die Auswirkungen der Zugabe eines Volumens von 0,14 ml, 0,42 ml, 0,7 ml beziehungsweise 1,4 ml einer Wasserstoffperoxid-Lösung mit einem Volumenanteil von 15 % zu einer Probe von 100 ml mit einem COD von 1 000 mg O_2/l.

Bild 23 — Wasserproben, die mit unterschiedlichen Volumen einer Wasserstoffperoxid-Lösung mit 15 % Volumenanteil behandelt wurden

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

7.9.2 Reaktionszeit

In Abhängigkeit von der Matrix können unterschiedliche Reaktionszeiten auftreten.

Die Mindest-Oxidationszeit hängt von der Qualität der zu oxidierenden nichtplastischen organischen Matrix ab. Die Zeit kann zwischen 7 Tagen und 30 Tagen liegen. Die Oxidationswirkung wird durch Sichtprüfung nachgewiesen, indem die Klarheit der Probe und die Minderung der Farbe/Trübung überprüft werden.

Dadurch können möglicherweise Ausfällungen entstehen.

Bild 24 verdeutlicht diesen Effekt.

1 Tag **3 Tage** **7 Tage**

Bild 24 — Wasserprobe zu unterschiedlichen Zeitpunkten, die zuvor mit einer Wasserstoffperoxid-Lösung mit 15 % Volumenanteil behandelt wurde

7.10 Homogenisierung/Hydratation und/oder Ultraschallbehandlung der Probe

Die Probe sollte bei 30 °C bis 50 °C kräftig geschüttelt oder sollte alternativ beschallt werden, bevor die Teilprobe hergestellt wird.

Um die Fähigkeit der Mikropartikel, aufgrund ihrer hohen Oberflächenspannung und Hydrophobie an den Wänden anzuhaften, auf ein Mindestmaß zu begrenzen, werden alle Proben vor ihrer Handhabung und insbesondere vor dem Filtrieren einem Ultraschallprozess unterzogen, der so ausgelegt ist, dass die Hydrophilie des MP deutlich erhöht wird und folglich der Wandeffekt und die Agglomeration, die normalerweise auftreten können und zu einem Verlust der Aussagekraft und Repräsentativität der analysierten Probe führen würden, reduziert bzw. auf ein Mindestmaß begrenzt werden.

Das Verfahren umfasst die Behandlung im Ultraschallbad bei 20 kHz bis 40 kHz mit unterschiedlichen Behandlungszeiten. Der Benetzungseffekt des MP muss dieses in wässriger Lösung vollständig dispergierbar machen.

Auf diese Weise wird die Hydratation des vorhandenen MP verbessert, wodurch der normalerweise auftretende Wandeffekt und ein mögliches Aufschwimmen reduziert werden, was auf Oberflächenspannungen und die Hydrophobie des MP zurückzuführen ist.

Die Teilprobe muss dann um einen Faktor verdünnt werden, der eine ausreichende Partikelzählung im Endfilter ermöglicht.

Die durch Waschen der Ausrüstung (zum Beispiel Pipetten, Zylinder, Filtrationsbehälter) erhaltene Rückgewinnungslösung ist im Verdünnungsvolumen enthalten.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

7.11 Vorverdünnung

Die Vorverdünnung ist unmittelbar nach der Voruntersuchungsphase durchzuführen, um eine zu prüfende Teilprobe herzustellen.

In der Vorverdünnungsphase der Probe muss deren Homogenisierung nach 7.10 vorbereitet werden.

8 Analyseverfahren

8.1 Allgemeines

Dieser Abschnitt beschreibt die Probenvorbereitung und die Vorgehensweise bei der Zugabe des internen Standards.

8.2 Voruntersuchung

Ist die Herkunft der Proben unbekannt, wird eine Reihe von Voruntersuchungen durchgeführt, um das mögliche Vorhandensein von Salzen oder organischen Stoffen zu ermitteln. Für wässrige Proben werden Standardprüfungen wie die Prüfung der Leitfähigkeit, des chemischen Sauerstoffbedarfs (COD), des Gesamtgehalts an suspendierten Feststoffen (TSS) und Lichtmikroskopie (OM, en: optical microscopy) zur Identifizierung der Faserform des Mikroplastiks und zur Bewertung der Bildqualität empfohlen. Für luftgetragenes Mikroplastik sind die Referenzverfahren diejenigen, die für Staub- und Partikelemissionen in der Arbeitsumgebung und in der Atmosphäre verwendet werden (EN 481:1993; EN 13284-2:2017).

Siehe Verfahren für die Voruntersuchung in Abschnitt 7.

8.3 Zugabe des internen Standards

Für eine genauere Bestimmung der Faserform des Mikroplastiks in realen Proben darf ein interner Standard (synthetisches Filament) hinzugegeben werden. Dadurch muss es möglich werden, die Qualität aller Abläufe zu bestimmen, die zur Identifizierung der Faserform des Mikroplastiks führen. Der interne Standard sollte eine andere Farbe haben als die bei der Voruntersuchung festgestellte Farbe der Probe. Er sollte mit einer ähnlichen Konzentration hinzugegeben werden wie die in der Probe gezählte/geschätzte Partikelzahl (siehe 6.3 und 6.3.1)

8.4 Filtrieren

Jede vorbehandelte Probe wird mit der in Abschnitt 5 beschriebenen Vorrichtung vakuumfiltriert.

Zeigt die Probe auch nach der Vorbehandlung noch eine hohe Konzentration von MP und suspendierten Feststoffen, erfolgt die Filtration in zwei getrennten Schritten:

a) Filtrieren des abgenommenen Überstands;

b) Filtrieren der Endablagerung (ausgefällt) mit Rückgewinnung durch letzten Waschvorgang.

Die Fasern des auf beiden Filtern gesammelten Mikroplastiks müssen gezählt und addiert werden, um das Endergebnis zu erhalten, das im abschließenden Prüfbericht anzugeben ist.

8.5 Rückgewinnungsverfahren und letzter Waschvorgang

Nach Abschluss der Filtrationsphase ist es, um etwaige MP-Ablagerungen am Boden des Kolbens/der Schaufel und von den Wänden der verwendeten Glasgeräte (sowohl Behälter als auch Filtrationssystem) zu entfernen, unbedingt notwendig, eine Rückgewinnungswäsche durchzuführen, die die Ablösung von den Wänden und die Verringerung von Probenverlusten ermöglicht.

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Nach dem Filtrieren der gesamten Stammlösung werden die Trichterwände mit einer geringen Menge Waschlösung und einer Pasteur-Pipette aus Glas gewaschen, um die möglicherweise am Glas anhaftenden Mikropartikel zurückzugewinnen.

Der abschließende Waschgang (des Filtersystems, der Dichtung und des Kolbens mit der Stammlösung) zur Rückgewinnung wird mit einer Waschlösung durchgeführt und es wird auf dasselbe Filter filtriert.

Der Waschvorgang muss mindestens dreimal wiederholt werden, wobei jedes Mal ein Aliquot von 30 ml der Lösung für die Rückgewinnung zu verwenden ist. Für einen gründlichen Waschvorgang (des Filtertrichters, der Dichtung) wird ein Aliquot des letzten Waschvorgangs mit einer Pasteur-Pipette aus Glas genutzt.

Die Waschlösung muss (je nach Verfügbarkeit) aus den drei folgenden ausgewählt werden:

— Natriumchloridlösung, Massenanteil von 1 % (5.2.3.1);

— Tensidlösung, Massenanteil von 1 % (5.2.3.2);

— 1 : 1-Wasser/Ethanol-Lösung (5.2.3.3).

8.6 Bildanalyse

Das auf dem Filter gesammelte Mikroplastik wird dann einer Bildanalyse unterzogen, die manuell oder automatisch mithilfe von Software durchgeführt wird.

Die folgenden Informationen müssen in dieser Phase gesammelt werden:

— das Aussehen der Mikropartikel und die Faserform des Mikroplastiks;

— Identifizierung der Morphologie (Mikrofaser, Mikropartikel);

— Bestimmung der Maße Länge × Länge;

— X/Y-Mapping;

— Schätzung der Querschnittsfläche (Länge × Breite oder softwaregestützt);

— Schätzung der Außenfläche (kugelförmig, zylinderförmig (Rotationskörper) oder mit automatischer 3D-Modellierung);

— Unterklassifizierung nach Farbe (sofern unterschiedlich), Morphologie und Abmessungen.

Bild 25 und Tabelle 5 zeigen Beispiele für die automatische Bildanalyse von auf Filtern gesammelten Partikeln.

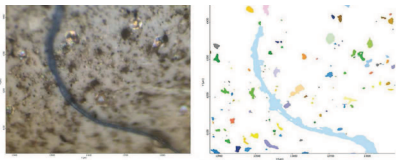


Bild 25 — Automatische Bildanalyse — Beispiel (1)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Tabelle 5 — Automatische Bildanalyse — Beispiel (2) — Klassifizierung nach Abmessungen

Länge µm	Breite µm	Seiten-verhältnis	Pixel-anzahl	Fläche μm^2	Konvexe Fläche μm^2	Umfang µm	Konvexe Hülle µm	Höchst-Feret-Durch-messer µm	Min-dest-Feret-Durch-messer µm	Durchmesser des flächen-gleichen Kreises (CE-Durch-messer) µm	Rund-heit	Kon-vexität	Festig-keit	Länge μm^3
17,793	13,489	0,759	476,500	179,385	195,196	60,242	54,013	19,524	13,498	15,113	0,788	0,897	0,919	1 807,352
5,640	5,206	0,923	58,500	22,023	22,964	18,135	17,652	6,136	4,909	5,295	0,917	0,973	0,959	77,747

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

8.6.1 Wahl der Gerätebedingungen

Für die Identifizierung von Mikroplastik dürfen die folgenden Techniken der Molekülspektroskopie angewendet werden:

a) Mikro-FTIR;

b) Mikro-Raman.

Nachweisgrenzen

Die Nachweisgrenzen der Verfahren sind von den folgenden Faktoren abhängig:

a) in Zusammenhang mit den Geräten:

   — Mindestgrößennachweis des Geräts (Mikro-FTIR oder Mikro-Raman);

   — prozentualer Anteil der Übereinstimmung beim chemischen Mapping;

   — –Punkt der Analysedimension;

   — Mindest-X-Y-Verschiebungsschritte;

b) in Zusammenhang mit der Morphologie des Mikroplastiks:

   — Form, Farbe;

c) in Zusammenhang mit den Eigenschaften der Lösung:

   — Konzentration der Lösung: Anzahl der Partikel/l.

   Eine hohe Konzentration des Mikroplastiks, d. h. eine hohe Anzahl der Partikel/l kennzeichnet eine Überlagerung des Mikroplastiks auf dem Filter und erhöht den Fehler bei der Zählung und chemischen Identifizierung;

   — Größe des Filters und dessen Porengröße.

8.6.2 Berechnung der signifikanten Anzahl an Mikropartikeln für die Analyse

Da die Analysezeiten so kurz wie möglich gehalten werden müssen, ohne die Qualität der gewonnenen Daten zu beeinträchtigen, müssen statistische Auswertungen durchgeführt werden, um die Mindestanzahl der zu analysierenden Partikel zu ermitteln, die für die Probe repräsentativ sein können.

Unter Bezugnahme auf eine aktuelle Veröffentlichung [3].

Die Berechnung der mindestens erforderlichen Partikelzahl basiert auf den folgenden Annahmen:

— alle auf dem Filter gesammelten Partikel werden in zwei Gruppen eingeteilt: MP und Nicht-MP;

— alle auf dem Filter gesammelten Partikel werden voneinander getrennt;

— alle Partikel sind zufällig auf dem Filter verteilt, d. h., dass das Verhältnis zwischen MP und Nicht-MP über das gesamte Filter konstant ist (keine Clusterbildung von Partikeln entsprechend ihren Eigenschaften);

— eine heterogene räumliche Verteilung der Partikel ist zulässig;

— alle Partikel werden durch Bilddatenverarbeitung identifiziert;

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

— alle Partikel werden unabhängig von ihrer Größe gleich behandelt und als einzelne Messpunkte betrachtet;

— einwandfreie Identifizierung von Partikeln durch analytische Verfahren (zum Beispiel Molekülspektroskopie).

Gleichung (3) gibt den Algorithmus zur Bestimmung der signifikanten Anzahl der Partikel an.

$$n \geq P\,(1-P) \,/\, \left(\square\left(e\hat{}2 \,/\, [\![z_\,(c;0{,}9)]\!]\hat{}\,2\right) + (P\ \ (1-P))\,/N\right) \tag{3}$$

Die vorstehende Gleichung legt die Mindestanzahl der zu analysierenden statistischen Einheiten n fest, die einer endlichen Grundgesamtheit der Größe N entnommen wurden, um den prozentualen Anteil P mit einem geringeren als dem zuvor festgelegten Fehler e abzuschätzen. Sie beruht auf dem Vertrauensbereich, der durch Normal-Approximation der hypergeometrischen Verteilung konstruiert wird (4), und durch Umstellen und Auflösen (5) nach n folgt:

$$P\hat{}\pm z_\,(c;0{,}9)\,\sqrt{(P\hat{}(1-P\hat{})\ \ (N-n)\,/\,(N-1))} \tag{4}$$

$$z_\,(c;0{,}9)\,\sqrt{(P\hat{}(1-P\hat{})\ \ (N-n)\,/\,(N-1))} \leq e \tag{5}$$

Dabei ist

$z_\,(c;0{,}9)$ das 90-%-Quantil der Gaußschen Normalverteilung;

N die durch Bilddatenverarbeitung auf dem Filter festgestellte Gesamtpartikelanzahl;

$P\hat{}$/Dezimal der Schätzwert des MP-Anteils;

e/Dezimal die Fehlergrenze;

n der Probenumfang/die erforderliche Anzahl an Partikeln.

8.6.3 Vergleich von Spektren und MP-Identifizierung

Wenn weder bei Mikro-FTIR noch bei Mikro-Raman das Spektrum mit einer Übereinstimmung von mehr als 75 % erkannt wird, muss das entsprechende Partikel als Partikel mit „unbekannter Zusammensetzung“ angezeigt werden.

Der Abgleich dieser Spektren mit der Spektren-Datenbank (Spektren-DB) muss für alle kartierten Punkte oder für eine statistisch repräsentative Probe davon (n) für jede Klasse der morphologischen Abmessungen durchgeführt werden.

Die Spektren-Datenbanken sind kommerzielle oder intern erstellte Datenbanken, die auf bekannten MP-Proben basieren. Dabei ist es möglich, Spektren-Datenbanken mit MP-Proben aus verschiedenen Umgebungen zu erstellen.

Die Spektren-Datenbanken sind kommerzielle, in wissenschaftlichen Fachzeitschriften veröffentlichte Datenbanken oder solche, die ausgehend von bekannten MP-Proben erstellt wurden. Im letzteren Fall ist es möglich, Spektren-Datenbanken mit MP-Proben aus verschiedenen Umgebungen zu erstellen.

Für eine automatische Raman-Identifizierung müssen gute Übereinstimmungen von 90 % oder höher vorliegen. Bei niedrigeren Werten wird die Partikelidentifizierung mithilfe von kundenspezifischen Datenbanken durchgeführt.

8.6.4 Bestimmung der äußeren Oberfläche und des Volumens

Die Bestimmung der Oberfläche, der Volumenwerte und der Morphologie kann automatisch erfolgen, sofern spezielle Software verfügbar ist.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12

Falls nicht, kann die Abschätzung unter der Annahme, dass die Partikel kugelförmig und die Fasern zylinderförmig sind, manuell erfolgen.

8.6.5 Berechnung der Gesamtoberfläche und Gesamtmasse

Für jede Polymerfamilie, die durch Molekülspektroskopie erkannt wird:

— Addieren der berechneten/geschätzten Oberflächenwerte je Polymerfamilie;

— Berechnen der Volumen der identifizierten Partikel (kugelförmig, zylinderförmig (Rotationskörper) oder mit automatischer 3D-Modellierung);

— Addieren der berechneten/geschätzten Massenwerte je Polymerfamilie;

— Berechnen der Gesamtmasse je Polymertyp (ausgehend von Volumen und Dichte, die für das betrachtete Polymer typisch sind) mithilfe von Gleichung (6):

$$P = V \times d \tag{6}$$

Dabei ist

P die berechnete Gesamtmasse;

V das berechnete Gesamtvolumen;

d die spezifische Dichte für die Hauptpolymere (wenn möglich siehe Tabelle 6).

Tabelle 6 — Dichtewerte einiger synthetischer Polymere

Chemische Bezeichnung	Dichte g/ml
Polypropylen, ataktisch	0,87
Polypropylen, isotaktisch	0,90
Polyisopren	0,91
Polyethylen, niedriger Dichte	0,92
Polyethylen, hoher Dichte	0,95
Polydimethylsiloxan	0,97
Polystyren	1,05
Polyamid 6/6 [Poly(hexamethylenadipamid)]	1,08
Polyamid 6 [Poly(caprolactam)]	1,12
Poly(vinylacetat)	1,19
Polycarbonat	1,20
Poly(vinylalkohol)	1,29
Polyacrylamid	1,30
Polybutylenterephthalat	1,31
Celluloseacetat	1,31
Poly(ethylenterephthalat)	1,39
Poly(vinylchlorid)	1,40
Cellulosenitrat	1,60

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: E DIN EN ISO 4484-2:2022-12