

PLAWES

AP 1: Mikroplastik im Modellsystem Weser-Wattenmeer

Maurits Halbach^{1,*}, Sonya R. Moses^{2,*}, Lisa Roscher^{3,*}, Gunnar Gerdts³, Martin G. J. Löder², Barbara Scholz-Böttcher¹, Christian Laforsch²

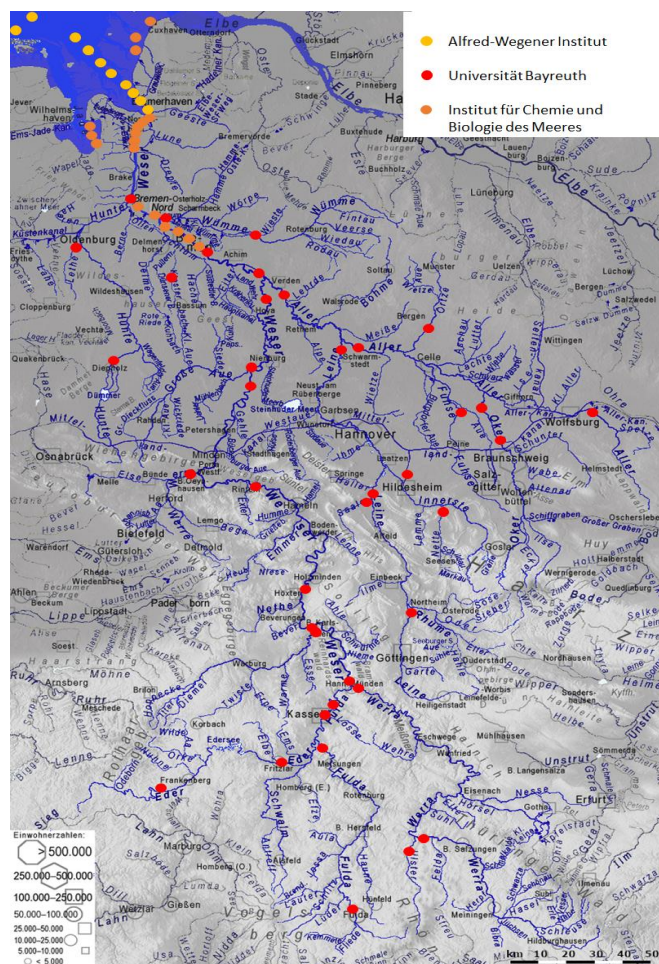
¹ Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM), Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, P.O. Box 2503, 26111 Oldenburg

² Tierökologie I, Universität Bayreuth, Universitätsstr. 30, 95440 Bayreuth

³ Alfred-Wegener-Institut (AWI), Helmholtz Zentrum für Polar- und Meeresforschung, Biologische Anstalt Helgoland, Kurpromenade 201, 27483 Helgoland

1) Mikroplastik-Probenahme im Projekt PLAWES: ein ganzheitlicher Ansatz

Im Verbundprojekt PLAWES wurde das Flusssystem Weser ganzheitlich auf Mikroplastik hin beprobt. Die Probennahmepunkte wurden in Absprache mit dem Modellierungs-Team festgelegt, und von Universität Bayreuth, Alfred-Wegener-Institut und Universität Oldenburg, ICBM, beprobt (siehe Abbildung). Es wurden Oberflächenwasser- und Sedimentproben entnommen, die daraufhin im Labor aufbereitet und auf Mikroplastik hin analysiert wurden. Im Folgenden wollen wir einmal den Prozess von der Probennahme bis hin zur Datenauswertung im Hinblick auf die Wasserproben darstellen.



2) Beprobung von Oberflächenwasser

Im Rahmen von PLAWES wird Mikroplastik im Größenbereich 10-5000 μm analysiert. Dabei unterscheiden sich die Probenahme-Ansätze je nach Größenbereich. Für "größeres" Mikroplastik werden Netzproben genommen, für Mikroplastik $<500 \mu\text{m}$ bietet sich die Beprobung mittels Filtration an. Beide Ansätze werden im Folgenden beschrieben.

Mikroplastik 300-5000 μm : Beprobung mittels Manta-Trawl



Ein Manta-Trawl ist ein Schleppnetz, das zur Beprobung von Oberflächenwasser genutzt wird. Es besteht aus einem Netzkasten, an dem seitlich zwei Flügel als Schwimmhilfe befestigt sind und erinnert etwas an einen Mantarochen. Am Netzkasten ist ein langes Netz befestigt, an dessen Ende sich ein abnehmbarer Netzbecher befindet.

Das Netz ist mit unterschiedlichen Maschenweiten verfügbar. Das Netz, das wir verwendet haben, hat eine Maschenweite von 300 μm . Das bedeutet, dass Partikel die kleiner als 300 μm sind, nicht im Netz zurückgehalten werden. Folglich können wir mit dieser Methode nur "großes" Mikroplastik beproben.

Um eine Probe zu nehmen hängt man den Manta-Trawl einfach ins Wasser. Wenn in dem Gewässer keine Strömung vorhanden ist, muss man den Manta-Trawl mit einem Boot oder Schiff schleppen. Am Durchflusszähler kann man dann am Ende von seiner Probennahme ablesen, wie viel Wasser man beprobt hat. Eine für diese Methode sinnvolle Menge an Wasser

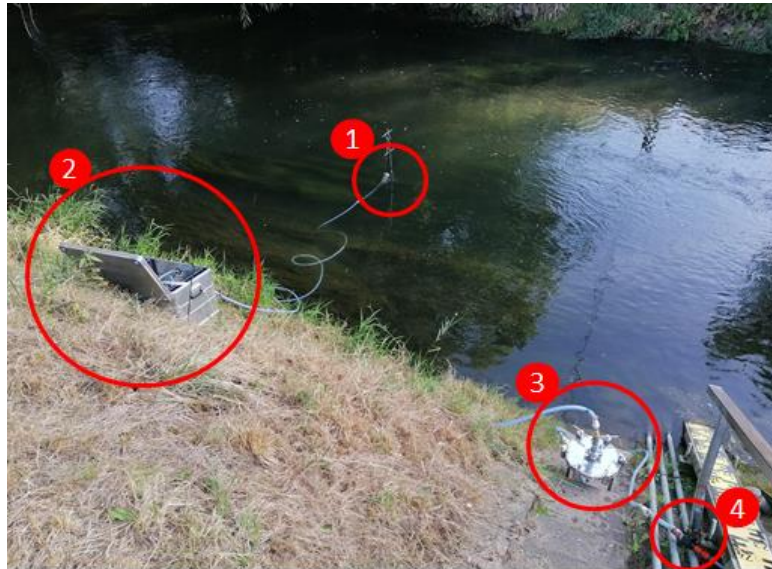
sind etwa 10.000 Liter. Die Probe befindet sich im hinteren Teil des Netzes, im Netzbecher. Diesen kann man abnehmen und die Probe in ein vorbereitetes, sauberes Probenglas überführen. Hierbei sollte man darauf achten, dass man den Netzbecher gut spült, damit kein Plastik im Netzbecher hängen bleibt.

Es gelangt jedoch nicht nur Mikroplastik in den Netzbecher, sondern natürlich auch alles mögliche an anderer Objekte, die in der Umwelt vorkommen und an der Wasseroberfläche schwimmen wie z.B. Blätter, kleine Stöckchen, Insekten, Sediment usw.



Mikroplastik 10-500 μm : Beprobung mittels Filtration

Eine weitere Möglichkeit Oberflächenwasserproben zu nehmen mittels Filtration. Im Bild seht ihr unseren Aufbau. Bei 1) wird das Wasser über einen Vorfilter angesaugt. Dieser hat eine Maschenweite von 500 μm . Es werden also nur Partikel, die 500 μm oder kleiner sind eingesaugt. Durch die Pumpe bei 2) wird das Ansaugen ermöglicht. Das angesogene Wasser wird dann über einen Schlauch in einen Filtrationsstand gepumpt, der in 3) zu sehen ist. Hierin befindet sich ein Filter aus Edelstahl mit einer Maschenweite von 10 μm . Hier bleiben also alle Partikel hängen, die zwischen 10 und 500 μm groß sind.



Das Wasser wird von oben über den Filter geleitet und von unten über einen Schlauch abgeführt. An dem Abfluss-Schlauch befindet sich ein Durchflusszähler 4). Damit kann ermittelt werden, welches Volumen an Wasser über den Filter filtriert wurde. Hier haben wir zwischen 700 und 1000 Liter Wasser beprobt. Da aber sehr viele kleine Partikel (Pflanzenreste, Insektenreste, Sediment, usw.) im Oberflächenwasser vorkommen, verstopfen die 10 µm Edelstahlfilter schnell, sodass sie zwischendurch oft gewechselt werden müssen. Hierzu öffnet man den Filtrationsstand und kann dann den Filter entnehmen, wie es im nachfolgenden Bild gezeigt ist. Der Filter wird dann vorsichtig gefaltet und in ein sauberes Probenglas überführt und später im Labor bearbeitet.

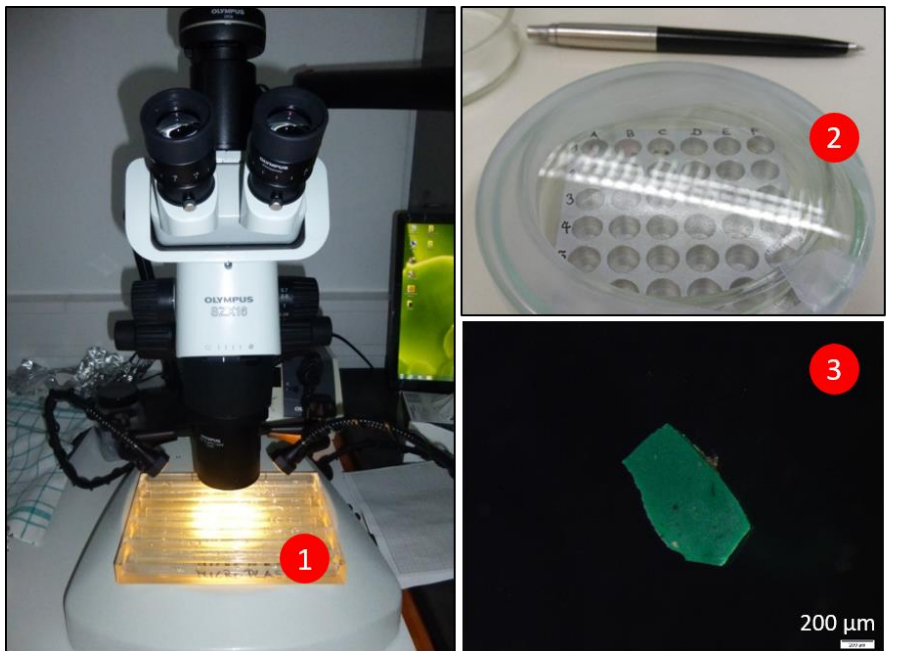


3) Aufbereitung der Oberflächenwasserproben

Auch bei der Probenaufbereitung gibt es, je nach Größenfraktion, unterschiedliche Ansätze. Die Netzproben mit den größeren Mikroplastikpartikeln werden mit Hilfe eines Binokulares untersucht und potentielle Mikroplastikpartikel heraussortiert. Die Proben im Größenbereich 10-500 μm werden einer etwas komplizierteren Probenaufbereitung unterzogen. Beide Vorgehensweisen werden im Folgenden dargestellt.

Mikroplastik 500-5000 μm

Die Netzproben wurden im Labor noch einmal über ein 500 μm - Sieb gegeben, um kleineres Material abzuscheiden und somit die nachfolgende Sortierung der Probe zu erleichtern. Das zurückbehaltene Material wird Schritt für Schritt in eine sogenannte Bogorovkammer (siehe Abbildung, 1) gegeben, und mit dem Binokular sorgfältig durchsucht. Partikel, die bestimmte Kriterien erfüllen (z.B. gleichmäßige, oftmals auffällige Farbgebung, Fehlen von Zellstrukturen), werden als "potentielles Mikroplastik" mit einer Pinzette herausgenommen und können in einer vorbereiteten Sortierschale (2) einsortiert werden. Jeder Partikel wird zudem mit einem Computerprogramm (z.B. CellSens) vermessen und fotografiert (3). Alle wichtigen Eckdaten wie Größe, Form oder sonstige Merkmale werden in einer Tabelle vermerkt.



Mikroplastik 10-500 μm

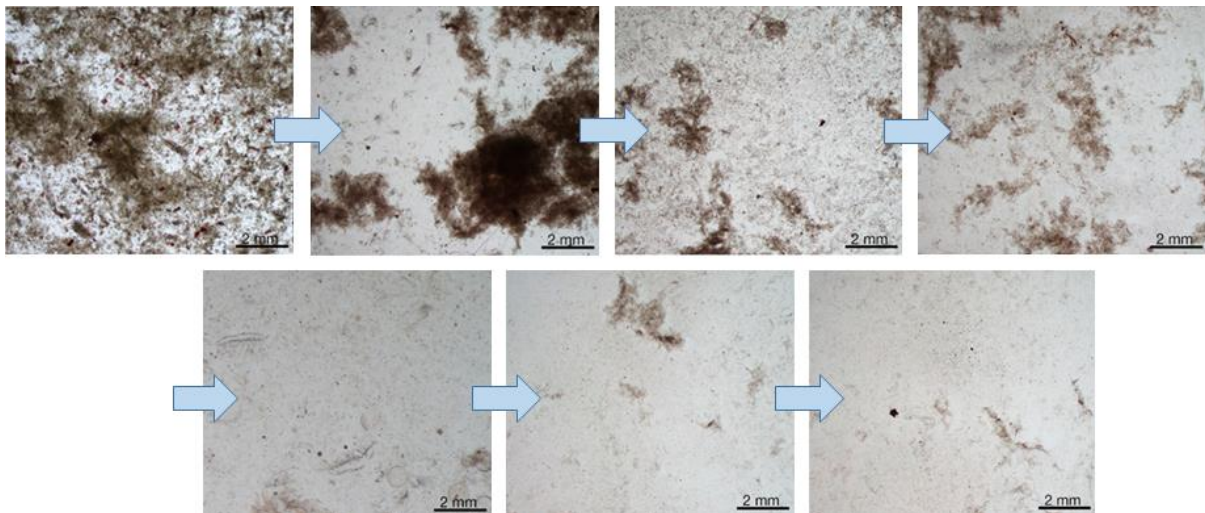
Entfernen des biologischen Materials

Da bei der Probenahme zahlreiche andere kleinere und größere Partikel und Objekte ebenfalls erfasst werden, ist es notwendig die Proben zunächst zu "reinigen", und so die Mikroplastikfraktion zu isolieren. Hierzu gibt es mehrere Möglichkeiten:

- Die Anwendung aggressiver Chemikalien wie z.B. Säuren
- Die Hinzugabe von Enzymen

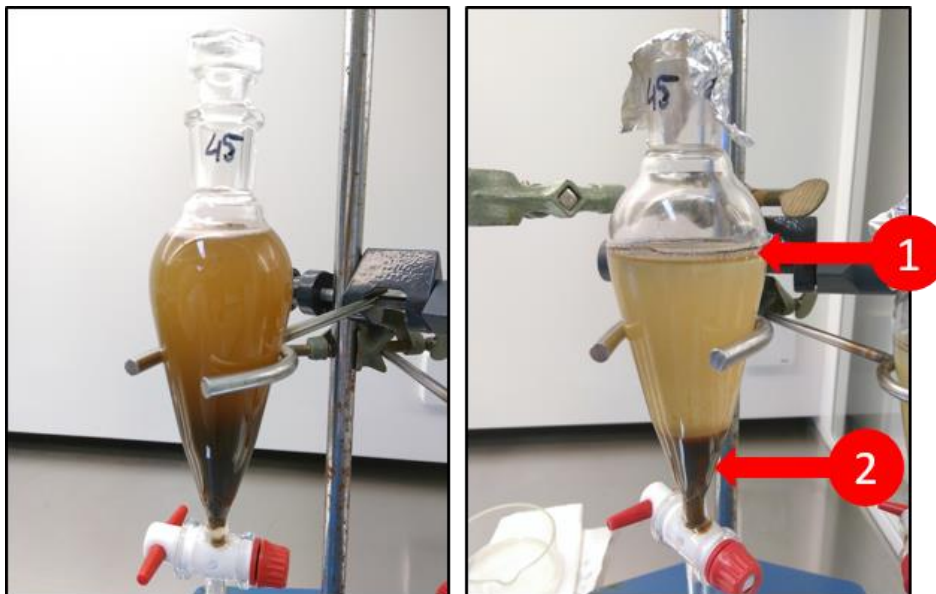
Die erste Methode geht zwar schnell, jedoch ist sie nicht optimal geeignet, da oftmals auch unterschiedliche Plastiksarten durch die aggressiven Chemikalien angegriffen werden. Dabei lösen sie sich entweder vollständig auf oder ihre Oberfläche wird angegriffen, sodass ihre Form reduziert wird und somit keine korrekte Dokumentation über die Partikelanzahl und Form durchgeführt werden kann.

Im Projekt PLAWES wurde ein Reinigungs-Protokoll verwendet, dessen Hauptbestandteile technische Enzyme sind. Protease, Cellulase und Chitinase werden eingesetzt, um die entsprechenden Biopolymere (Proteine, Cellulose, Chitin) abzubauen und aufzulösen, sodass sie durch Filtration entfernt werden können. Dieses Protokoll wurde in vorherigen wissenschaftlichen Arbeiten erfolgreich eingesetzt, und hat den Vorteil, dass gezielt biologisches Material angegriffen wird (siehe Abbildung), aber die Plastikpartikel erhalten bleiben.



Dichtentrennung zur Entfernung von Sediment

Neben organischem Material enthalten die Wasserproben auch anorganische Bestandteile wie zum Beispiel Sedimentkörner. Auch diese würden bei der späteren Analytik stören, und müssen im Zuge der Probenaufbereitung entfernt werden. Hierzu hat sich die Methode der Dichtentrennung etabliert, bei der die Probe (nach dem Enzymverdau) mit einer hochdichten Salzlösung versetzt wird (Zinkchlorid, ZnCl_2). Die Dichte dieser Lösung beträgt in etwa $1,7\text{g/cm}^3$. Sedimentkörner haben eine höhere Dichte und sinken ab, während Mikroplastik eine geringere Dichte hat und an der Oberfläche treibt. Diese Dichtentrennung kann in einem Scheidetrichter durchgeführt werden, sodass das abgesunkene Material (siehe Abbildung, 2) nach einer bestimmten Zeit abgelassen werden kann, und die Mikroplastikfraktion zurückbehalten werden kann (siehe Abbildung, 1).



4) Mikroplastikanalytik

Im Projekt PLAWES wird das potentielle Mikroplastik mittels FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) gemessen. Diese spektroskopische Methode beruht auf der Tatsache, dass unterschiedliche Polymerarten unterschiedliche Infrarotspektren aufweisen, wodurch man alle unterschiedlichen Kunststoffe, z.B. Polypropylen (PP) von Polyethylen (PE), unterscheiden kann (PP und PE sind die Polymertypen die weltweit am meisten genutzt werden, und sie finden Anwendung vor allem in der Verpackungsindustrie, aber auch in vielen anderen Bereichen). Die Bestimmung der Polymerarten erfolgt durch einen Vergleich der Probenspektren der Mikroplastikpartikel aus der Weser mit bekannten Kunststoff-Spektren einer umfassenden Datenbank. So können die gemessenen Plastikpartikel chemisch identifiziert werden.

Mikroplastik 500-5000 μm

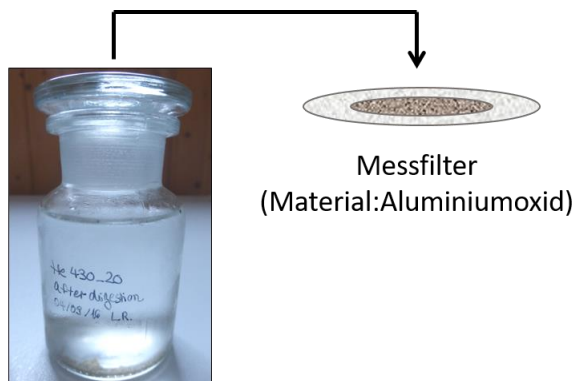
Die Mikroplastikfraktion im Größenbereich 500-5000 μm wird mittels ATR-FTIR analysiert (Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy). Die potentiellen Mikroplastikpartikel werden auf einen Kristall aufgebracht, und mit Hilfe eines Stempels auf diesen aufgedrückt. Dieser Kontakt ist wichtig für ein gutes Messergebnis. Der Infrarotstrahl dringt nun durch den Kristall in die Oberfläche des Partikels ein, wird mehrmals reflektiert und letztendlich von einem Detektor gemessen. Es resultiert ein für den Partikel charakteristisches Spektrum, das nun mit der Polymerdatenbank abgeglichen werden kann.



Mikroplastik 10-500 μm

Je kleiner die Mikroplastik-Partikel, desto schwieriger ist die händische Sortierung. Deshalb wird diese Probenfraktion nicht mehr unter dem Binokular sortiert, sondern durch μFTIR oder durch Py-GC/MS analysiert.

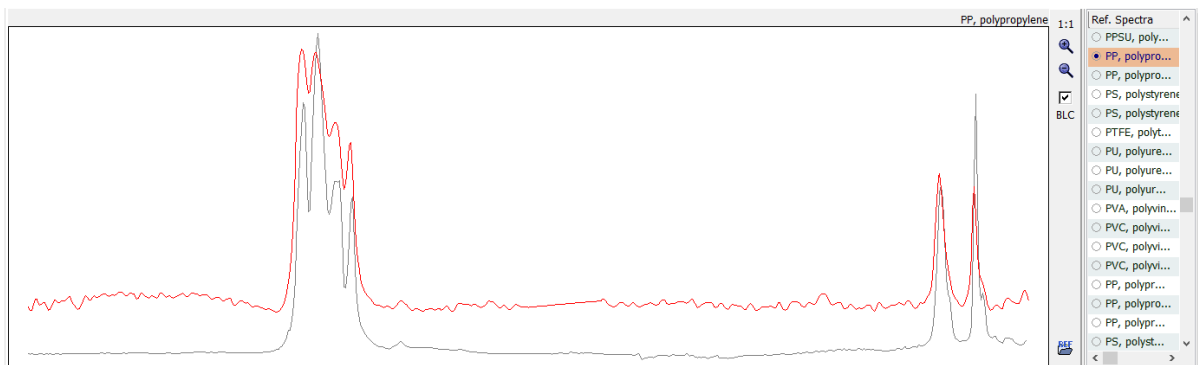
μFTIR



100 mL – Probenflasche mit
aufgereinigter Wasserprobe

Für μFTIR wird die Probe auf einen Aluminiumoxid-Filter aufgebracht, der weitgehend Infrarot-transparent ist und sich dadurch besonders gut für diese Art der Messung eignet, weil keine störenden Spektren vom Filtermaterial selbst erzeugt werden. Eine schematische Darstellung davon sieht ihr im obigen Bild. Diese Filter haben einen Durchmesser von 25 mm, sind also recht klein. Wichtig ist hierbei, dass jeder Partikel auf dem Filter einzeln liegt und nicht von anderen Partikeln überdeckt wird, da er andernfalls nicht detektiert werden könnte. Daher ist die Entfernung von anderen nicht-Plastik Partikeln aus den Umweltproben (Sediment, Pflanzenreste, Insektenreste, usw.) äußerst wichtig!

Es folgt ein automatisches "Mapping" des Filters, und die Spektren aller Partikel auf dem Filter werden detektiert und abgespeichert. Wie bei der "großen" Mikroplastikfraktion folgt auch hier ein Spektrenabgleich mit einer Datenbank bekannter Polymerspektren, sodass die Partikel chemisch identifiziert werden können. Dies ist im unteren Bild zu sehen. Hier entspricht die rote Linie dem Spektrum des Partikels, während die graue Linie das Referenzspektrum darstellt. Bei diesem Beispiel handelt es sich um das Polymer Polypropylen. Wie ihr seht, passen beide Spektren genau aufeinander. Somit konnte der hier untersuchte Partikel als Polypropylen identifiziert werden.



Py-GC-MS

Für die Analyse mit Py GC/MS wird die Probe auf einen Glasfaserfilter aufgebracht, da dieser keine Störsignale verursacht und leicht zu falten ist. Die Probe wird dann gefaltet und in einen kleinen Pyrolyse-Cup überführt.



Ein Pyrolyse-Cup

Bei dem Py GC/MS Verfahren wird die Probe zuerst, unter Abwesenheit von Sauerstoff, auf 590°C erhitzt. Dadurch verbrennt die Probe nicht, sondern pyrolysiert. Dabei zerbrechen die Polymere (unser gesuchtes Plastik) in charakteristische Bruchstücke. Diese Bruchstücke können wir dann über das GC/MS System identifizieren und bestimmten Plastiktypen zuordnen. Über die Menge der charakteristischen Bruchstücke können wir Rückschlüsse auf die Menge an Plastik in unserer Probe ziehen.

