JPI-Oceans Call Microplastics

Analyseverfahren zur Quantifizierung von nano- und mikroplastischen Partikeln und deren Alterung in der marinen Umwelt.

Vorhaben: Entwicklung und Implementierung von Nachweisverfahren zur Detektion von Mikroplastik

(**Akronym: ANDROMEDA**)

Schlussbericht

Aurelio Foscari, Bettina Seiwert, Thorsten Reemtsma

gefördert vom BMBF

Förderkennzeichen

03F0850A

Mai 2024

Das diesem Bericht zugrunde liegenden Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter den Förderkennzeichen 03F0850A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Zuwendungsempfänger	**Förderkennzeichen**
Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung – UFZ, Department Analytik	03F0850A
Kooperationspartner im JPI Oceans Vorhabens ANDROMEDA:	**Acronym**
Prof. Richard Sempéré, Dr. Natascha Schmidt Université d'Aix-Marseille Institut Méditerranéen d'Océanologie	MIO
Dr. Bavo De Witte Flanders Research Institute for Agriculture and Fisheries Aquatic Environment and Quality	ILVO
Dr. Andy Booth, SINTEF Ocean AS, Environment and New Resources	SINTEF
Dr. Dorte Herzke Norwegian Institute for Air Research, Environmental Chemistry	NILU
Prof. Martin Hassellöv University of Gothenburg, Marine Sciences	UGOT
Dr. Gustavo Blanco Heras Instituto Espanol de Oceanografía	IEO
Laufzeit des BMBF-Vorhabens: 01.04.2020 – 30.09.2023	
Laufzeit des JPI-Ocean Vorhabens: 05.05.2020 - 30.09.2023	

Inhalt

I. Kurze Darstellung ... 1
1 Aufgabenstellung ... 1
2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde ... 1
3 Planung und Ablauf des Vorhabens ... 1
4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde ... 4
5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen ... 6
II. Eingehende Darstellung der Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse ... 7
1 Detaillierte Darstellung der Ergebnisse ... 7
1.1 AP 1: Projektmanagement ... 7
1.2 AP 2: In-situ und kosteneffiziente Methoden ... 7
1.2.1 Ziele ... 7
1.2.2 Ergebnisse ... 7
1.2.3 Gegenüberstellung vorgegebener und erreichter Ziele ... 10
1.3 AP 3: Analyseverfahren für Mikroplastikpartikeln mittels FTIR, Raman und TOF-SIMS ... 10
1.3.1 Ziele ... 10
1.3.2 Ergebnisse ... 10
1.3.3 Gegenüberstellung vorgegebener und erreichter Ziele ... 12
1.4 AP 4: Entwicklung von Analysemethoden für Reifenabrieb ... 12
1.4.1 Ziele ... 12
1.4.2 Ergebnisse ... 13
1.4.3 Gegenüberstellung vorgegebener und erreichter Ziele ... 19
2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises ... 21
3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit ... 21
4 Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des Verwertungsplans ... 21
5 Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordenen Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen ... 22
6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses ... 24
6.1 Wissenschaftliche Veröffentlichungen (peer reviewed) ... 24
6.2 Eigene Veranstaltungen und Workshops ... 24
6.3 Beiträge in Büchern, Tagungsbänden etc. ... 24
6.4 Geplante Veröffentlichungen ... 24
6.5 Vorträge ... 25
6.6 Poster ... 25
6.7 Praktikumsberichte, Masterarbeiten ... 25

I. Kurze Darstellung

1 Aufgabenstellung

Innerhalb von ANDROMEDA zielten die Aktivitäten des UFZ darauf, analytische Methoden für den Nachweis verschiedener Arten von Mikroplastik in marinen Kompartimenten zu entwickeln und zu optimieren. Dabei handelte es sich einerseits um kosteneffiziente Verfahren, für die chemische Marker zum Einsatz kommen sollten. Andererseits sollten komplexe analytische Methoden basierend auf Schwingungsspektroskopie (µFTIR-Imaging) und optischen Methoden herangezogen werden.

In seinen eigenen Forschungsaktivitäten hat sich das UFZ auf die Untersuchung von Reifenabrieb konzentriert (siehe Abschnitt I.3).

Methoden zur Untersuchung von Alterungsprozessen sollten entwickelt und eingesetzt werden, um die Bedeutung dieser Prozesse für die Veränderung von Mikroplastik in der marinen Umwelt abzuschätzen. Hierbei sollte der Auswaschung von Additiven besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden. Um belastbare Ergebnisse und valide Methoden bereitzustellen, ist die Qualitätssicherung ein zentrales Thema in allen Aspekten des Projekts.

2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Projekt wurde im Rahmen des Calls „Microplastics in the Marine Environment“ der europäischen „Joint Programming Initiative Oceans“ (JPI Oceans; https://jpi-oceans.eu/en/six-jpi-oceans-microplastics-research-projects-summarized-new-booklet) mit dem Konsortium ANDROMEDA durchgeführt (siehe Punkt 5). Auf deutscher Ebene wurde das Vorhaben vom Bundesministerium für Bildung und Forschung finanziert.

3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Vorhaben ANDROMEDA wurde grundsätzlich entsprechend dem im Antrag dargelegten Ablauf durchgeführt. Es gliederte sich in 5 Arbeitspakete (APs), die jedoch im Projektverlauf, in Abstimmung mit den anderen Mitgliedern des europäischen Verbundvorhabens ANDROMEDA, Modifizierungen gegenüber dem ursprünglichen Plan erfahren haben. Eine wesentliche Veränderung war der Beschluss, die Aktivitäten des UFZ stark auf Reifenabriebpartikel (“tire wear particles”, TWP) zu fokussieren. Weitere Änderungen ergaben sich aus Kürzungen im bewilligten gegenüber dem beantragten Budget; aus diesem Grund konnte die Entwicklung analytischer Methoden für Nanoplastik mit TOF-SIMS und SEM nicht erfolgen und die Methoden auch nicht eingesetzt werden.

Im Einzelnen war das UFZ an folgenden Arbeitspaketen des JPI-Oceans Vorhabens ANDROMEDA beteiligt:

WP1 Projektkoordination (T1.1): Projektplanung, Mitwirkung an Koordination und Austausch mit den Partnern.

WP2 In situ and kosteneffektive Methoden:

- T2.4 Entwicklung von Analysenmethoden: Entwicklung von Methoden zur Analyse von chemischen Tracern für TWP in Organismen.
- T2.6 Methodenvalidierung: Vergleich verschiedener Analyseverfahren für chemische Tracer.

WP3 Analysemethoden für Mikro- und Nanoplastik-Partikel:

- T3.1 Methoden für MP ≥10 µm: Prüfung existierender Methoden und Fortentwicklung für größere MP-Partikel.
- T3.2 Robuste Methoden für MP 1 - 10 µm: Entwicklung robuster Methoden zum Nachweis kleineren Mikroplastiks mit FTIR- und Raman-Spektroskopie.
- T3.4 Gekoppelte Methoden für Nanoplastik: Entwicklung von Fraktionierungsverfahren für die Charaktierisierung Ermittlung von Größenverteilungen von Nanoplastik.
- T3.6 Charakterisierung von Reifenabrieb: Prüfung von Nachweismethoden für TWP in Proben aus der marinen Umwelt.

WP4 Entwicklung analytischer Methoden für Reifenabriebspartikel:

- T4.1 Quantifizierung von Alterungsprozessen von MP: Verfolgung von Fragmentation und der Zersetzung der Polymere mit verschiedenen analytischen Methoden.
- T4.2 Produktion natürlich gealterten Mikroplastiks: Herstellung natürlich gealterten Mikroplastiks zur Untersuchung in anderen Arbeitspaketen.
- T4.3 Beschleunigte Alterung von Mikroplastik: Optimierung von Protokollen für die beschleunigte Alterung von Plastik in der Umwelt.
- T4.4 Untersuchung der Alterungsprozesse: Untersuchung der Alterung durch UV-Licht mithilfe beschleunigter Methoden.
- T4.5 Alterung von Mikroplastik in der Tiefsee: Simulation von Tiefsee-Bedingungen zur Untersuchung von Alterungsprozessen.
- T4.6 Alterung von Mikroplastik in Sediment: Bestimmung der Alterungsrate von Mikroplastik in marinem Sediment, insb. hinsichtlich des Verlusts von Additiven.

Das UFZ hat im Projekt eine führende Rolle bezüglich der Untersuchung von Reifenabrieb eingenommen, die zum Teil gemeinsamen Experimente mit den Partnern geplant, Materialien für das Konsortium hergestellt und charakterisiert. Diese Entwicklung beruhte auf mehreren organisatorischen und technischen Überlegungen.

Die ursprünglich vorgesehene Bereitstellung von Referenzmaterial durch andere Partner konnte nicht erfolgen, Analysengeräte waren über längere Zeiträume nicht verfügbar und Pläne des Gesamtkonsortiums wurden modifiziert. Dies wird in in Abschnitt II.1 detaillierter erläutert.

Darüber hinaus hat die Corona-Pandemie in den Jahren 2020 und 2021 die Abläufe im Vorhaben erheblich getroffen. Der Start des JPI Oceans-Vorhaben ANDROMEDA wurde auf den 05.05.2020 verschoben und die Laufzeit schließlich bis 30.09.2023 verlängert. Auch die praktischen Arbeiten waren von der Corona-Pandemie stark beeinträchtigt, weil der Zugang zu den Laboren am UFZ beschränkt werden musste. Ähnliches galt auch für die Kooperationspartner (MIO, NILU, ILVO, SINTEF, and IEO), sodass gemeinsame Experimente erst stark verspätet in 2022 durchgeführt werden konnten.

Diese Faktoren zusammen haben zu erheblichen Veränderungen in den zeitlichen Abläufen und in den Inhalten der Arbeitspakete geführt.

Starke Veränderungen hat WP 3, geleitet von Andy Both (SINTEF) erfahren. Hier konnte die vorgesehene Produktion von Referenzmaterial durch CARAT GmbH und die anschließende Fraktionierung durch SINTEF nicht realisiert werden. Damit waren die Referenzmaterialien (Polyvinylchlorid (PVC), high- and low-density Polyethylen (LDPE, HDPE), Polyethylenterephthalat (PET) und Polystyrol (PS)) in verschiedenen Größenklassen nicht verfügbar. Infolgedessen konnte auch die Methodenoptimierung und Validierung der Analysenmethoden für die Quantifizierung dieser Materialien nicht erfolgen.

Auch die Bereitstellung von TWP durch CARAT erwies sich als nicht möglich, sodass UFZ diese Aufgabe für das Gesamtkonsortium übernommen hat.

Infolge dieser Entwicklung hat UFZ einerseits im Konsortium die Verantwortung und Koordination der TWP-bezogenen Untersuchungen übernommen und sich auch in den eigenen Forschungsaktivitäten auf TWP fokussiert. Dies erfolgte in Abstimmung mit den Leitern aller Arbeitspakete im Konsortium. Außerdem hat das UFZ für das Konsortium die Aufgabe übernommen, andere Referenzmaterialien sowohl chemisch (Fourier-Transform Infrarotspektroskopie (FTIR), LC-HRMS) als auch morphologisch (Elektronemikroskopie, Lichtmikroskopie, Laser-Abschattung) zu charakterisieren.

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Aktivitäten mit UFZ-Beteiligung:

AP	*Task*	*Lead*	*Partner*	*UFZ Beitrag*
1	1.: Koordination	MIO	All	Mitwirkung bei der Planung und Organisation von Aktivitäten und bei Berichten etc
2	2.4: Entwicklung von Analysenmethoden	NILU	UFZ	Produktion und Bereitstellung von Testmaterial für die Partner (CMTT), Planung von Experimenten, Analyse von Proben und Datenauswertung
	2.6: Methodenvalidierung	IFREMER	All	Kein Beitrag des UFZ wegen geänderter Planung (siehe I.3)
3	3.1: Methoden für MP ≥ 10 µm	UGOT	SINTEF, UFZ, MCGILL	Morphologische Charakterisierung von Referenzmaterialien für die Partner
	3.2: Robuste Methoden für MP 1 – 10 µm	UGOT	MCGILL, UFZ	Morphologische Charakterisierung von Referenzmaterialien für die Partner
	3.6 Charakterisierung von Reifenabrieb	UFZ	SINTEF, NILU	Produktion und Bereitstellung von Testmaterial (CMTT), Partikelcharakterisierung und Bewertung von Methoden für ihre Analyse
4	4.1: Quantifizierung von Alterungsprozessen von MP	UGOT	MIO, UFZ	Morphologische und chemische Charakterisierung gealterten Testmaterials (Mikroplastik)
	4.2: Produktion natürlich gealterten Mikroplastiks	NILU	MIO, UGOT, UFZ	Morphologische und chemische Charakterisierung gealterten Testmaterials (Mikroplastik und Reifenabrieb)
	4.3: Beschleunigte Alterung von Mikroplastik	SINTEF	MIO, UGOT, UFZ	Entwicklung von Vorschrifen für Alterungsversuchen, zusammen mit den beteiligten Partnern (Sonnenlicht-Alterung in Supsension und trocken)
	4.4: Untersuchung der Alterungsprozesse	SINTEF	NILU, MIO, UFZ, MCGILL, UGOT	Bereitstellung von Testmaterial (CMTT), Planung von Experimenten, Analyse von Proben und Datenauswertung

	4.5: Alterung von Mikroplastik in der Tiefsee	MIO	UFZ, UGOT	Bereitstellung von Testmaterial (CMTT), Planung von Experimenten, Analyse von Proben und Datenauswertung
	4.6 Alterung von Mikroplastik in Sediment	MIO	UFZ, UGOT	Separate Laborexperimente mit CMTT, Analyse von Proben und Datenauswertung

4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

4.1 Analytische Methoden für Mikroplastik, Nanoplastik und Reifenabrieb

Mikroplastik

Zum Zeitpunkt der Antragstellung bzw. des Projektbeginns standen eine Reihe von Methoden zum Nachweis von Mikroplastik > 10 µm in Umweltproben zur Verfügung.

Bei den Analysemethoden, die einzelne Mikroplastikpartikel detektieren und identifizieren stand die Schwingungsspektroskopie oben an (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Es bestand aber noch erheblicher Entwicklungsbedarf in der Automatisierung der Mess- und Auswerteverfahren. Die Identifizierung von MP unter 10 µm war seinerzeit nicht etabliert.

Auf Seiten der thermoanalytischen Verfahren war die Pyrolyse-Gas-Chromatographie-MS (Py-GC-MS) dominierend, bei der die Probe thermisch abgebaut wird und die resultierenden polymeren Pyrolysefragmente chromatographisch getrennt und durch MS identifiziert werden (Mintenig et al., 2018). Die thermische Extraktionsdesorption GC-MS (TED-GC-MS) war hingegen weniger etabliert. Py-GC-MS und TED-GC-MS sind schneller als die spektroskopische Partikelanalyse, können aber keine Informationen über Partikelgrößenverteilung, Anzahl, Morphologie oder Aggregation liefern, die mit anderen Techniken gewonnen werden müssen. Daraus ergab sich die Notwendigkeit, Methoden zur Aufkonzentrierung zu etablieren und verschiedene Methoden zu kombinieren, um kleine MP und NP in Umweltproben vollständig zu charakterisieren.

Nanoplastik

Zum Zeitpunkt der Antragstellung lagen zwar starke Hinweise darauf vor, dass es in der Umwelt eine hohe Zahl an Nanoplastikpartikeln (NP) (< 1 µm) geben müsste. Der eigentliche analytische Nachweis aus Wasser war seinerzeit aber noch nicht gelungen (Andrady, 2011; Koelmans et al., 2015; Alimi et al., 2018). Das Vorhandensein natürlicher "Hintergrund"-Nanomaterialien (mineralische Nanopartikel, organische Nanopartikel, organische Makromoleküle und andere Kolloide) in den meisten aquatischen Umgebungen macht die Analyse von NP sehr schwierig.

Hier wurde deshalb ein dringender Bedarf zur Entwicklung von Analysenmethoden für Nanoplastik in der Umwelt gesehen.

Reifenabrieb

Die Bestimmung von Reifenabriebpartikeln (TWP) erfolgte zum Zeitpunkt der Antragstellung entweder über den Gummianteil oder über Additive (Wagner et al., 2018). Die wichtigsten Elemente, die als Marker für TWP in Betracht kommen, sind Zn (als Aktivator im Vulkanisationsprozess) und S, die von verschiedenen reduzierten organischen Schwefelarten stammen, die als Vulkanisationsbeschleuniger verwendet werden. Alternativ kann auch eine Anreicherung von Reifenabriebspartikeln über eine Dichteseparation erfolgen (Klöckner et al., 2019). Als potentielle TWP-Marker wurden Benzothiazole, das Vulkanisationsmittel 1,3-Diphenylguanidin und das Antioxidans 6-PPD angesehen.

4.2 Alterung von Mikroplastik und Reifenabrieb

Die meisten Kunststoffe bauen sich durch eine Kombination aus Photo-, Biooxidation und mechanischem Abrieb sehr langsam ab, wobei für schwer abbaubare Polymere (z.B. Polyethylen) die UV-induzierte Oxidation besonders bedeutend ist. Die Photooxidation erhöht die Menge an niedermolekularem Material, indem sie Bindungen aufbricht und die Oberfläche vergrößert, an der schließlich Mikroben den biologischen Abbau einleiten können, um die Mineralisierung des Kunststoffs zu erreichen. Derzeit gibt es jedoch nur wenige Daten über die Geschwindigkeit, mit der sich verschiedene Polymere unter den unterschiedlichsten Umweltbedingungen abbauen und fragmentieren. Abbauprozesse können Fragmente im Mikro- und Nanobereich erzeugen und zu einer signifikanten Freisetzung von gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) in Form von Molekülen unterschiedlicher Größe führen (Gewert et al., 2018). Zusätzlich kann die Oxidation grundlegende partikuläre Eigenschaften wie die Dichte verändern. Dies kann anschließend ihr Schicksal in der Meeresumwelt ändern, indem sie den Transport in die Sediment-/Tiefseeumgebung begünstigen. Es gibt nur sehr wenige Erkenntnisse über die MP-Abbaurate (z.B. Bedeutung von Druck, Tiefsee- und Sedimentmikrobiologie) (Paluselli et al., 2018). Insbesondere die Extraktion, die Konzentrationsermittlung und die Identifizierung kleiner MP- und NP-Partikel in Proben aus Abbaustudien war schwierig (Lambert and Wagner, 2016).

Erkenntnisse zur Alterung von Mikroplastik sind nicht nur relevant um das Umweltverhalten von TWP richtig einschätzen zu können. Sie sind auch für die Analyse von Mikroplastik in der Umwelt von Bedeutung, da infolge von Alterungsprozessen bestimmte Detektionstechniken ihre Anwendbarkeit verlieren können.

Zur Alterung von Reifenabrieb (TWP) und dem Verhalten von aus Reifenabrieb stammenden Chemikalien war zu Projektbeginn nur sehr wenig bekannt. Während der Laufzeit des Vorhabens entwickelte sich dies zu einem dynamischen Forschungsfeld (siehe Abschnitt I.5).

Literatur:

Alimi, O. S. et al. (2018) 'Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments: Aggregation, Deposition, and Enhanced Contaminant Transport', Environ. Sci. Technol. 52, 1704–1724.

Andrady, A. L. (2011) 'Microplastics in the marine environment', Mar. Pollut. Bull. 62, 1596-1605.

Gewert, B. et al. (2018) 'Identification of Chain Scission Products Released to Water by Plastic Exposed to Ultraviolet Light', Environ. Sci. Technol. Lett. 5, 272–276.

Hidalgo-Ruz, V. et al. (2012) Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. Environ. Sci. Technol. 46, 3060–3075.

Klöckner, P., Reemtsma, T., Eisentraut, P., Braun, U., Ruhl, A.S., Wagner, S. (2019): Tire and road wear particles in road environment – Quantification and assessment of particle dynamics by Zn determination after density separation. Chemosphere 222, 714 – 721.

Koelmans, A. A., Besseling, E. and Shim, W. J. (2015) Nanoplastics in the aquatic environment. Critical review', in Bergmann, M., Gutow, L., and Klages, M. (eds) Marine Anthropogenic Litter. first edit. Heidelberg New York Dordrecht London: Springer International Publishing, pp. 325–340. doi: 10.1007/978-3-319-16510-3_12.

Lambert, S. and Wagner, M. (2016) Characterisation of nanoplastics during the degradation of polystyrene. Chemosphere 145, 265–268.

Mintenig, S. M. et al. (2018) Closing the gap between small and smaller: towards a framework to analyse nano- and microplastics in aqueous environmental samples. Environ. Sci. Nano 5, 1640–1649.

Paluselli, A. et al. (2018) Occurrence of phthalate acid esters (PAEs) in the northwestern Mediterranean Sea and the Rhone River. Progr. Oceanogr. 163, 221–231.

Wagner, S., Hüffer, T., Klöckner, P., Wehrhahn, M., Hofmann, T., Reemtsma, T. (2018) Tire wear particles in the aquatic environment-A review on generation, analysis, occurrence, fate and effects. Water Res. 139, 83-100.

5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das BMBF-geförderte Vorhaben ANDROMEDA war deutscher Teil des JPI Oceans Konsortiums ANDROMEDA, an dem außerdem folgende Partner beteiligt waren: Université d'Aix-Marseille und Mediterranian Institute of Oceanography (MIO, Frankreich), Flanders Research Institute for Agriculture and Fisheries (ILVO, Belgien), IFREMER (Frankreich), SINTEF Ocean AS (Norwegen), Norwegian Institute for Air Research (NILU, Norwegen), Flanders Marine Institute (ILVO, Belgien), University of Malta (Malta), University of Gothenburg (UGOT, Schweden), University College Cork (UCC, Irland), Instituto Español de Oceanografía (IEO, Spanien), Tallinn University of Technology (Estland), McGill University (Kanada), Wageningen University (WUR, Niederlande) und Merinov (Kanada).

Von den Partnern wurde ein Kooperationsvertrag abgeschlossen, der die formale Basis für die Kooperation zwischen den Partnern darstellte.

Die Hauptkooperationspartner des UFZ in den jeweiligen Arbeitspaketen waren: Dorte Herzke (NILU) und Natascha Schmidt (MIO), Leiterin des WP4. Die Zusammenarbeit zwischen UFZ und diesen Partnern war entscheidend für die Durchführung der Arbeiten in WP2 und WP4. Regelmäßige Kommunikation und Treffen, Austausch von Proben und Daten erfolgte über die gesamte Projektlaufzeit.

Darüber hinaus hat der Wissenschafltiche Mitarbeiter des UFZ eng mit Dorte Herzke und Natascha Schmidt zusammengearbeitet und gemeinsame Experimente im Labor von MIO (Marseille) unter Anleitung des Koordinators Richard Sempéré durchgeführt. Weitere enge Zusammenarbeit erfolgte mit Bavo De Witte (ILVO), Leiter des WP2, und Andy Both (SINTEF), Leiter des WP3. Gemeinsam mit diesen wurde sowohl die Produktion und Charakterisierung der Referenzmaterialien betrieben, als auch Experimente geplant und durchgeführt. Weitere Kooperationen bestanden mit Gustavo Blanco Heras (IEO), der Umweltproben für die Untersuchungen in WP2 bereitstellte, und mit Martin Hassellöv (UGOT) über die Bereitstellung und Charakerisierung von Referenzmaterial. Diese Kooperationen waren eine wesentliche Basis für den gemeinsamen Fortschritt im JPI Oceans Vorhaben ANDROMEDA zum Thema Mikroplastik und Reifenabrieb.

II. Eingehende Darstellung der Verwendung der Zuwendung und der erzielten Ergebnisse

1 Detaillierte Darstellung der Ergebnisse

1.1 AP 1: Projektmanagement

Das UFZ hat das Projektmanagement durch regelmäßige Teilnahme an Projektbesprechungen, meist on-line, im späteren Verlauf aber auch an Präsenztreffen unterstützt. Diese wurden verstärkt durch regelmäßige Treffen auf Ebene der Arbeitspakete, insb. WP2, WP3 und WP 4 und ergänzt durch bilaterale und trilaterale Treffen. Dank der vielfältig genutzten Möglichkeiten zu on-line Meetings konnte auch in den Zeiten der Corona-Pandemie das Projektmanagement effektiv durchgeführt werden. Das UFZ hat außerdem die Aktivitäten in ANDROMEDA zum Thema Reifenabrieb koordiniert.

Hinsichtlich der Ergebnisse des JPI Oceans Vorhabens ANDROMEDA wid auf den Abschlussbericht verwiesen: https://www.andromedaproject.net/publications

1.2 AP 2: In-situ und kosteneffiziente Methoden

AP2, geleitet von Bavo De Witte (ILVO), hatte die Verbesserung von Methoden zur Beprobung und Anaylse von Mikroplastik im marinen Bereich zum Ziel. Dazu gehörte die Optimierung sog. “ferrybox water samplers”, die Entwickung einer Smartphone-App für “citizen science” und die Entwicklung kosteneffektiver einfacher Methoden zur Analyse von Plastikmaterialien mithilfe des “hyperspectral imaging” und chemischer Marker.

Das UFZ hatte in WP2 zu T2.4 beizutragen, das die Entwicklung von Analysemethoden für TWP in exponierten Organismen mithilfe chemischer Marker zum Ziel hatte.

1.2.1 Ziele

Die Ziele des UFZ in WP2, T2.4 waren:

- Identifizierung chemischer Marker für Mikroplastik, insbesondere TWP, um deren Aufnahme in Organismen zu erfassen.
- Entwicklung einer Analysemethode für die chemischen Marker in den Zielorganismen.
- Validierung der Methode durch vergleichende Analyse mit anderen Methoden.

1.2.2 Ergebnisse

Basierend auf anderen Untersuchungen des UFZ wurde eine Methode für die quantitative Analyse von zunächst 19 potentiell reifenbürtigen organischen Verbindungen basierend auf LC-QTOF-MS etabliert. Diese Stoffe umfassten Reifen-Additive und deren Transformationsprodukte, wie Phenylguanidine, Benzothiazoles, Phenylenediamine und andere Amine (Tabelle 1).

Tabelle1. Auswahl der 19 potentiell reifenbürtigen organischen Chemikalien, die mittels LC-MS Analyse quantifiziert wurden.

	CAS	Name	Sum	RT	Exact mass	LOQ
			Formula	[min]	(*m/z*, $[M+H]^+$ or M-H]-)	[ng/mL]
DPG	102-06-7	Diphenylguanidine	$C_{13}H_{13}N_3$	4.83	121.119	0.1
PG	2002-16-6	Phenylguanidine	$C_7H_9N_3$	2.62	136.087	0.03
Aniline	62-53-3	Benzenamine	$C_6H_5NH_2$	1.34	194.066	0.3
MBT	149-30-4	Mercaptobenzothiazole	$C_7H_5NS_2$	7.31	176.994	0.3
MTBT	615-22-5	2-(Methylthio)benzothiazole	$C_8H_7NS_2$	9.52	182.01	0.3
NH_2-BT	136-95-8	2-Aminobenzothiazole	$C_7H_6N_2S$	3.82	151.033	0.03
BT	95-16-9	Benzothiazole	C_7H_5NS	7.07	136.022	1
CBS*	95-33-0	N-Cyclohexyl-2-benzothiazolesulfenamide	$C_{13}H_{16}N_2S_2$	11.43	265.083	1
2-OHBT	934-34-9	2-Hydroxybenzothiazole	C_7H_5NOS	6.88	152.017	0.03
BTSA	941-57-1	Benzothiazole-2-sulfonic acid	$C_7H_5NO_3S_2$	4.96	213.9633 (-)	0.1
BTCA*	3622-35-3	Benzothiazolecarboxylic acid	$C_8H_5NO_2S$	6.07	177.9963 (-)	0.3
6-PPD	793-24-8	N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-1,4-phenylenediamine	$C_{18}H_{24}N_2$	8.39	269.202	0.3
4-HDPA	122-37-2	4-Hydroxydiphenylamine	$C_{12}H_{11}NO$	7.85	186.0919	0.03
4-ADPA	101-54-2	4-Aminodiphenylamine	$C_{12}H_{12}N_2$	4.95	186.0919	1
6-PPDQ	8026-48-0	6-PPD-quinone	$C_{18}H_{22}N_2O_2$	10.96	299.176	0.02
DPPD	74-31-7	N,N'-Diphenyl-p-phenylenediamine	$C_{18}H_{16}N_2$	10.72	260.1313	0.1
TPG	101-01-9	Triphenylguanidine	$C_{19}H_{17}N_3$	7.25	288.149	0.1
NO-DPA	86-30-6	Nitroso-diphenylamine	$C_{12}H_{10}N_2O$	8.8	199.089	0.1
MDCH	7560-83-0	Methyldicyclohexylamine	$C_{13}H_{25}N$	5.72	196.2061	0.03
HMMM	3089-11-0	Hexamethoxymethyl melamine	$C_{15}H_{30}N_6O_6$	8.63	413.2125	0.03
DCH	101-83-7	Dicyclohexylamine	$C_{12}H_{23}N$	5.79	182.1909	0.1

Im Verlauf der Arbeiten wurden durch ein Suspect-Screening in exponierten Organismen bzw. im Expositionswasser 18 weitere Stoffe nachgewiesen, die mutmaßlich einen Bezug zu den Reifenpartikeln hatten. Eine Quantifizierung konnte jedoch nur für die Stoffe erfolgen, für die Referenzsubstanzen käuflich zu erwerben waren. Alle anderen Stoffe konnten allenfalls über ihre Peakfläche relativ zueinander und vergleichend in den Proben betrachtet warden.

Expositionsexperimente mit TWP wurden bei ILVO (Bavo De Witte) durchgeführt, indem Miesmuscheln (blue mussels) in Aquarien mit Reifenabrieb (cryo-milled tire tread, CMTT), siehe WP 3) exponiert wurden. Proben wurden an Tag 1, 3 und 7 genommen, sowie nach einer anschließenden Depurationsphase von weiteren 7 Tagen. Ausserdem wurden Miesmuscheln aus einer stärker und einer weniger stark urban geprägten Zone an der Atlanikküste Galiziens gesammelt durch Gustavo Blanco Heras (IEO).

Es wurden jeweils die Muscheln als auch das umgebende Wasser mittels Flüssigchromatographie gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie (LC-HRMS). Auf reifentypische Chemikalien untersucht. Analog wurden Analysen mit GC-MS durch Dorte Herzke (NILU, Norwegen) durchgeführt, um stärker hydrophobe Kontaminanten zu detektieren.

Wie aus Abb. 1 ersichtlich wurden für viele Stoffe höhere Konzentrationen in den Muscheln im Vergleich zum umgebenden Wasser detektiert. Dabei war Diphenylguanidine (DPG), ein weit verbreiteter Vulkanisationsbeschleuniger, die dominierende Verbindung, mit Konzentrationen oberhalb 900 µg/kg. Die internen Konzentrationen dieses und der anderen Stoffe nahmen in der Depurationsphase signifikant ab; für viele Stoffe erreichten sie die Bestimmungsgrenze. Offenbar wurden die Substanzen zumeist wieder ausgeschieden, oder in den Muscheln transformiert. Einige Verbindungen jedoch, wie DPG and Phenylenediamine, fanden sich auch nach zum Ende der Depurationsphase noch in höheren Konzentrationen.

Ergänzend wurde ein Nontarget-Screening durchgeführt, um nach zuvor noch nicht bekannten Transformationsprodukten der Stoffe in Muscheln zu suchen, die nach Aufnahme von TWP aus diesen freigesetzt wurden. Dabei wurden mutmaßlich neue Transformationsprodukte von DPG, 6-PPD and 2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline (TMQ) detektiert und vorläufig identifiziert. Die Signale dieser Stoffe in exponierten Muscheln waren deutlich stärker als die der jeweiligen Ausgangssubstanzen; sie fanden sich auch noch nach der Depurationsphase.

Die Ergebnisse dieser Laborexperimente kombiniert mit LC-HRMS-Screening Untersuchungen legen nahe, dass eher Transformationsprodukte als die Ausgangschemikalien als längerfristige Marker der Exposition aquatischer Organismen gegenüber TWP geeignet sein könnten.

Eine Publikation hierzu gemeinsam mit den beteiligten Projektpartnern ist in Vorbereitung (Foscari et al., in prep).

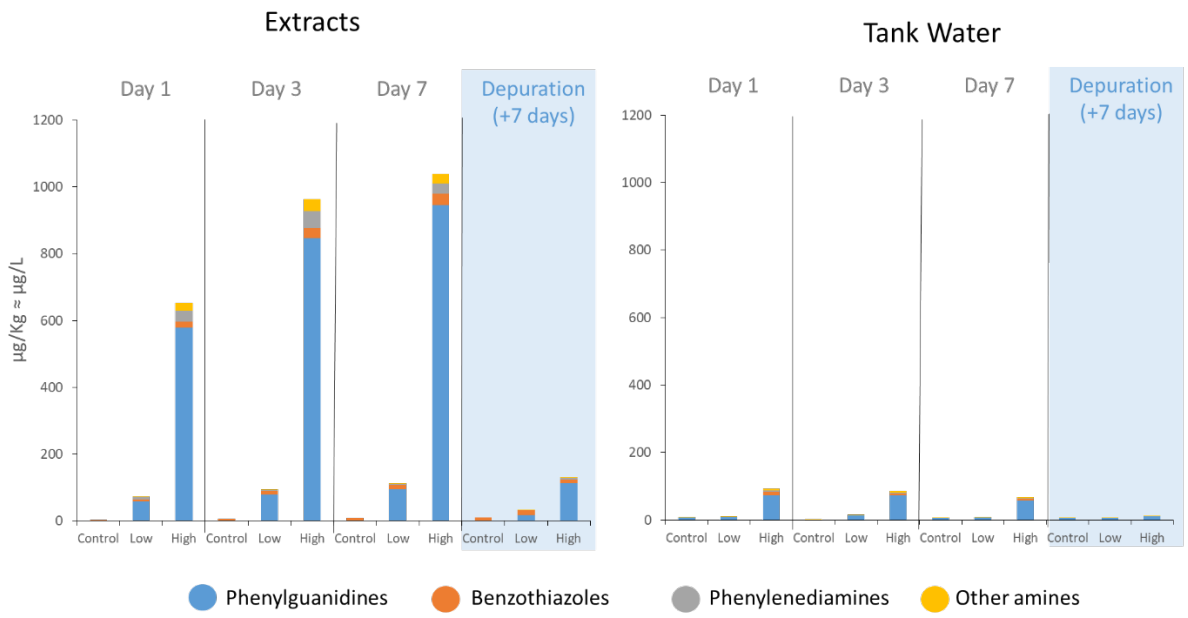

Abbildung 1. Konzentration reifentypischer organischer Verbindungen, summiert in den entsprechenden Stoffklassen, in Muschelextrakten („Extracts“) und dem Expositionswasser („Tank Water“).

1.2.3 Gegenüberstellung vorgegebener und erreichter Ziele

#	Milestone (or deliverable)	Status
M2.6	Methode zum Nachweis von Mikroplastik in biologsichen Proben mittels chemischer Marker.	Vollständig erreicht
D2.5	Protokoll zum Nachweis von Mikroplastik in biologsichen Proben mittels chemischer Marker	Protokoll publiziert

1.3 AP 3: Analyseverfahren für Mikroplastikpartikeln mittels FTIR, Raman und TOF-SIMS

WP3, geleitet von Andy Booth (SINTEF), hatte die Entwicklung analytischer Methoden zum Nachweis von Mikroplastik (MP) und Nanoplastik (NP) in Umweltproben zum Ziel. Dies galt für MP bis hinab zu einer Größe von 10 µm, die Erkundung von Methoden zum Nachweis von NP, und die Entwicklung von Methoden zum Nachweis von TWP in der marinen Umwelt. Das UFZ leitete Task 3.6, das diesen letzten Punkt umfasste. Die Arbeiten zur NP-Analytik mittels TOF-SIMS waren aus Budgetgründen zum Zeitpunkt des Projektstarts nicht mehr Teil des Arbeitsprogramms des UFZ.

1.3.1 Ziele

TWPs verändern ihre Eigenschaften (Größe, Dichte, Zusammensetzung) nach Freisetzung in der Umelt durch Alterungsprozesse (Wagner et al., 2021). Diese Veränderungen sind bei der Entwicklung von Analysemethoden für TWP in der Meeresumwelt zu berücksichtigen. Task 3.6 baut auf WP2 auf, in dem chemische Marker evaluiert wurden, und auf WP4, das die Alterung von TWP unter den Bedingungen der Meeresumwelt untersuchte.

Die Ziele des UFZ in T3.6 waren:

- Entwicklung einer Methode zur Herstellung von CMTT.
- Entwicklung von Analysemethoden mittels LC-MS (UFZ) für potentielle Marker von TWP.
- Prüfung analytischer Techniken für den Nachweis von frischen und gealterten TWP:
    - Laserablations-Induktiv gekoppeltes Plasma-Massenspektrometrie (LA-ICP-MS) für Elementgehalte von TWP.
    - Matrixunterstützte Laserdesorptions-Ionisations-Massenspektrometrie (MALDI-TOF-MS) für die Analyse des Gummis in TWP.
- Anpassung und Validierung von Analysemethoden zur Erfassung der Menge an TPW und zur Detektion einzelner TWP für Proben aus dem Estuar und der marinen Umwelt.

1.3.2 Ergebnisse

1.3.2.1 Methode zur Herstellung von CMTT

Die Herstellung von Referenzmaterial von TWP wurde vom UFZ durchgeführt. Größere Reifenstücke (5-10 cm) wurden zunächst manuell weiter zerschnitten (5 - 2 mm) und dann cryo-gemahlen. Damit wurde ein CMTT-Material mit einer mittleren Partikelgröße ≤ 500 µm erzielt. Dieses Material wurde in größerer Menge hergestellt und den Partnern des Verbundvorhabens ANDROMEDA für Arbeiten in WP 2 und WP 4 zur Verfügung gestellt.

Für die Expositionsexperimente in WP2 (Miesmuscheln) wurde jedoch noch feineres Material benötigt. Dies konnte nach mehreren Fehlversuchen durch Cryo-Mahlung von CMTT mit Quarzsand (SiO_2) erzielt werden. Hier wurden schließlich Partikelgrößen < 90 µm erreicht.

1.3.2.2 Analysenmethode mittels LC-MS für die marine Umwelt

Wegen der engen Verbindung zu WP2 und WP 4 sind die meisten Ergebnisse von WP 3 dort mit dargestellt. Dies gilt insbesondere für die Analysentechniken basierend auf LC-MS zum Nachweis von Chemikalien aus TWP in Organismen.

Zur Begleitung von Untersuchungen zur Freisetzung von Chemikalien aus Reifenabrieb (CMTT) und zu deren biologischem Abbau wurden analytische Methoden am UFZ etabliert.

Diese beinhalteten einerseits die Bestimmung des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) und die Quantifizierung von 19 reifenbürtigen organischen Stoffen (Tabelle 1) sowie die Non-target Analyse weiterer Verbindungen von Interesse mittels LC-HRMS.

Diese Analysen wurden mit Flüssigchromatographie-Time of flight-Massenspektrometrie (LC-TOF-MS) mit einer ACQUITY UPLC und einem XEVO G2S QTOF-MS durchgeführt. Die Methode basiert auf einer früheren Publikation (Klöckner et al. (2021). Quantifizierung erfolgte mittels externer Kalibration mit dem Programm TargetLynx mit einem Kalibratiosnbereich von 0.01 bis 30 ng/mL.

Transformationsprodukte im Massenbereich *m/z* 50 to *m/z* 1200 wurden ebenfalls mit dem LC-TOF-MS detektiert und vorläufig identifiziert. Die Signalauswahl erfolgte mit dem Programm MarkerLynx. Summenformeln wurden abgeleitet mit einer Massentoleranz von 5 ppm und Strukturvorschläge erarbeitet unter Beachtung der spezifischen Elementzusammsetzung und von Fragmentionen.

Dieses Vorgehen wurde sowohl für die Untersuchung von Biota-Proben (siehe oben) als auch für die Untersuchungen von Umweltproben und die Proben aus den Laborexperimenten zur Alterung eingesetzt, mit jeweils angepasster Probenvorbereitung.

1.3.2.3 LA-ICP-MS und MALDI-TOF-MS

Versuche wurden unternommen, einzelne TWP mittels LA-ICP-MS zu detektieren. Dies beruhte auf der Hoffnung, die TWP nach Mobilisierung des Materials mithilfe des Lasers (Analyte G2 Teledyne with Helex II) anhand ihres Zn-Signals identifizieren zu können. Als zweiter Schritt wäre dann eine Abschätzung der Masse einzelner TWP über die Intensität ihres Zn-Signals möglich gewesen. Jedoch erwies sich der Kohlenstoffgehalt der TWP als zu hoch, um eine Atomisierung und Ionisation des darin enthaltenen Zn im Plasma zu erzielen.

Auch die MALDI-TOF-MS zum Nachweis des Gummis der TWP blieb erfolglos. Die Laser-Energie, die für die Desorption des Materials erforderlich war, war bereits zu hoch, um charakteristische Signale des Gummis zu erhalten. Dies konnte somit nicht nachgewiesen werden.

Im Ergebnis waren also beide Methoden nicht geeignet, um einzelne TWP bzw. deren Masse in Umweltproben nachzuweisen.

1.3.2.4 Analysenmethoden zur Erfassung der Menge an TPW und einzelner TWP für Proben aus dem Estuar und der marinen Umwelt

Im März 2024 hat das ANDROMEDA Konsortium im Rahmen des AP 2 folgendes Protokoll veröffentlicht: “ANDROMEDA Portfolio of Microplastics Analyses Protocols”. Dieses Dokument beschreibt die Methoden, die im Konsortium für den Zweck entwickelt wurden, Mikroplastik und Reifenabriebpartikel in der marinen Umwelt zu quantifizieren. Darin integriert ist das vom UFZ entwicklete Protokoll “Chemical marker identification to study exposure of biota to tyre wear particles” von Aurelio Foscari, Riham Mowafi, Bettina Seiwert, Dorte Herzke, Bavo De Witte und Thorsten Reemtsma.

1.3.3 Gegenüberstellung vorgegebener und erreichter Ziele

#	Milestone (or deliverable)	Status
M3.5	Charakterisierung der Referenzmaterialien ist abgeschlossen	Vollständig erreicht
M3.7	Methodenentwicklung zur Analyse von frischen und gealterten Reifenpartikeln abgeschlossen	Vollständig erreicht
D3.7	Manuskript(e): Methoden zur Extraktion und chemischen Analyse von Reifenabrieb (gealtert)	1 Manuskripte publiziert, 1 Manuskript in Vorbereitung

1.4 AP 4: Entwicklung von Analysemethoden für Reifenabrieb

AP4, geleitet von Natascha Schmidt (MIO), widmete sich der Untersuchung von Alterungsprozessen von Mikroplastik und Reifenabrieb in der marinen Umwelt, durch mikrobiologische Prozesse, Sonnenlicht, erhöhte Temperatur und Scherkräfte im Sediment. Durch die Kombination von (Labor-) Experimenten mit Felduntersuchungen sollte ein besserer Einblick in die Prozesse erhalten werden, die zur Sedimentation und Fragmentation von Mikroplastik führen, bzw. zur Bildung von Nanoplastik-Partikeln und Freisetzung gelöster organischer Stoffe.

Die Hauptaufgabe des UFZ in diesem Arbeitspaket war die Untersuchung der Alterung von TWP in der aquatischen Umwelt, verfolgt mit Hilfe chemischer und morphologischer Parameter.

1.4.1 Ziele

Die Aufgaben des AP 4, an denen das UFZ beigetragen hat, waren folgende:

a. Auswahl und Optimierung physikalischer und chemischer Parameter zum Studium von Alterungsprozessen von Mikroplakstik, Nanoplastik und zur Freisetzung von Additiven, zusammen mit AP 3.
b. Durchführung von in-situ Alterungsexperimenten über 12 – 18 Monate in Flachwasser und in der Tiefsee zur Verfolgung der Alterung und zum Erhalt gealterten Referenzmaterials für weitere Untersuchungen in AP 2 und AP 3.
c. Untersuchung der Effekte von UV-Bestrahlung auf eine Auswahl an MP Materialien unter Laborbedingungen.

d. Laborstudie zu Alterungseffekten unter den Bedingungen der Tiefsee.

e. Abschätzung der Mikroplastik-Alterung in marinen Sedimenten durch Laborexperimente.

1.4.2 Ergebnisse

1.4.2.1 Quantifizierung der Alterung von Mikroplastik (T4.1)

Die Fragmentation und der Abbau der Polymerpartikel wurden mit einer Kombination optischer, spektroskopischer und chemischer Methoden verfolgt. Das UFZ setzte folgende Methoden ein: micro Fourier Transform Infrarot Spektroskopie (µFTIR), Scanning Electronen-Mikroskopie (SEM) und Licht-Mikroskopie (LM). Damit wurde Mikroplastik aus High Density Polyethylene (HDPE), Polyvinylchlorid (PVC) und Polystyrol (PS) untersucht. Die Materialien wurden im Labor einer Kombination von Alterungsprozessen, Ozonung, thermische und UV-Alterung, unterworfen. Die Gesamtdauer der Prozesse war 12 Wochen und es wurden nach jeder Woche Proben entnommen, um den Alterungsprozess zu verfolgen.

Über den experimentellen Zeitraum wurden anhand der µFTIR-Spektren keine Alterungseffekte an den Materialien beobachtet. Für HDPE und PVC wurden auch keine Veränderungen in der Partikelmorphologie festgestellt. Bei PS hingegen waren signifikante Alterungseffekte feststellbar, anhand Farbe, Partikelgröße und Partikelform, die nach etwa 8 Wochen einsetzten.

Mithilfe der Elektronenmikroskopie konnte die Bildung von Rissen an der Oberfläche der PS-Partikel beobachtet werden, sowie die Abrundung der zuvor scharfen Kanten der Partikel beobachtet werden (Abb. 2). Die Lichtmikroskopie zeigte eine Gelbfärbung der PS-Partikel ebenso wie die anteilige Zunahme kleinerer Partikel (Abb. 3a, b). Dies entspricht früheren Ergebnisse, dass PS empfindlicher gegenüber UV-Strahlung ist als andere Polymere (Brandon et al., 2016; Ainali et al., 2021).

Diese am UFZ durchgeführten Experimente und die dabei von uns erhaltenen Untersuchungs-ergebnisse werden zusammen mit den von den Kooperationspartnern (SINTEF, NILU, MIO) durchgeführten chemisch-analytischen Untersuchungen publiziert werden. Ein manuskripot zum Thema ist in Erarbeitung (Sørensen et al., in prep.).

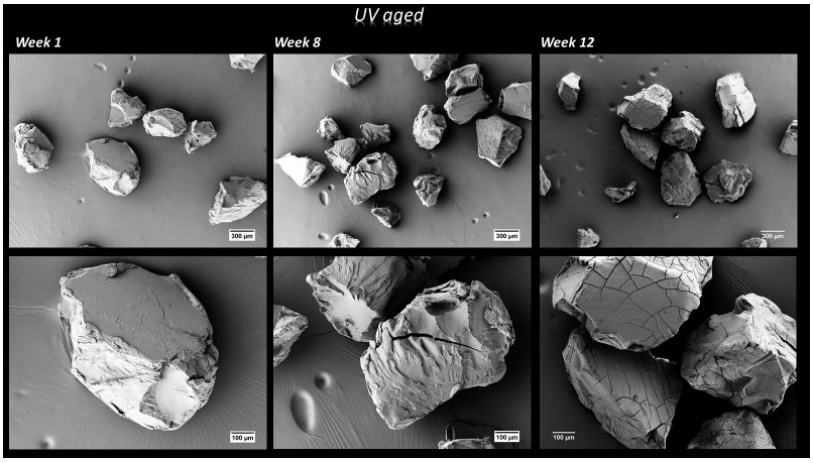

Abbildung 2. Elekronenmikroskopische Bilder der Polystyrol- (PS) Partikel mit Anzeichen der Rissbildung über 12 Wochen Betrahlung mit Sonnenlicht.

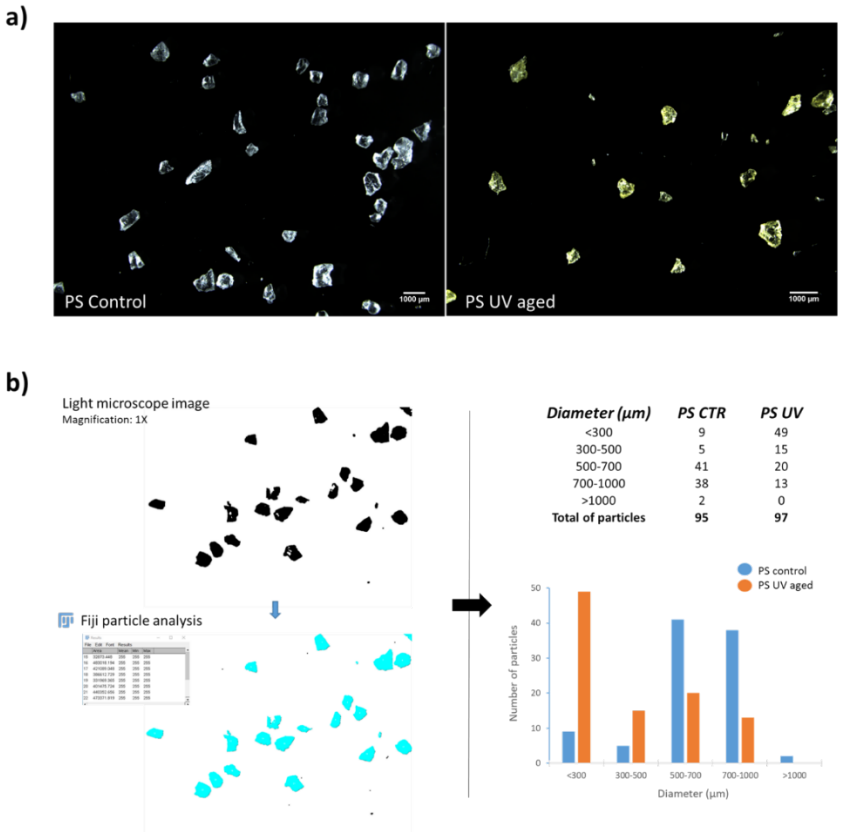

Abbildung 3. (a) Mikroskopische Aufnahmen der Gelbfärbung von Polystyrol- (PS) Partikel über 12 Wochen Bestrahlung mit Sonnenlicht. (b) Ergebnisse der Partikelgrößenanalyse für die bestrahlte („PS UV“) und die Kontrollprobe („PS CTR“).

1.4.2.2 Herstellung von gealtertem Mikroplastik (T4.3)

Hier hat das UFZ mit einem Alterungsprotokoll für TWP unter nassen (Suspension) und trockenen Bedingungen beigetragen. Dieses experimentelle Vorgehen wurde in T4.4 and T4.5 eingesetzt, um die UV-Alterung und die Alterung bei Hyperbaric Pressure (“Überdruck”) von TWP zu untersuchen (Ergebnisse siehe dort).

1.4.2.3 Untersuchung der Alterung von Reifenabrieb durch Sonnenlicht (T4.4)

Das Ziel war hier die Untersuchung der Effekte von Sonnenlicht-Einstrahlung. Dabei wurden drei Reifen-Materialien untersucht, CMTT mit einer mittleren Partikelgröße von < 500 µm, sowie Reifengranulat (virgin crumb rubber, VCR) und gealtertes Reifengranulat (weathered crumb rubber, WCR) mit Partikelgrößen im Millimeter-Bereich. Die letzten beiden Materialien wurden von NILO bereitgestellt und die Experimente gemeinsam bei MIO in Frankreich durchgeführt. Die Materialien wurden in Meerwasser über 2 Wochen dem Sonnenlicht ausgesetzt. Sowohl die Partikel als auch das sie umgebende Wasser wurde dabei regelmäßig beprobt.

In den Wasserproben wurde der DOC bestimmt, ebenso wie die zuvor erwähnten 19 reifenbürtigen Stoffe, unter anderem Benzothiazole, Phenylguanidines und Phenylendiamine mit LC-HRMS (Tabelle 1). Es zeigte sich eine Freisetzung von DOC sowie eine sukzessive Abnahme der Konzentrationen der

Einzelstoffe in Lösung in der Reihenfolge CMTT > VCR > WCR. Die Freisetzung wurde durch Sonnenlicht verstärkt. Zugleich bewirkte das Sonnenlicht eine starke Transformation der Ausgangsstoffe (Abb. 4).

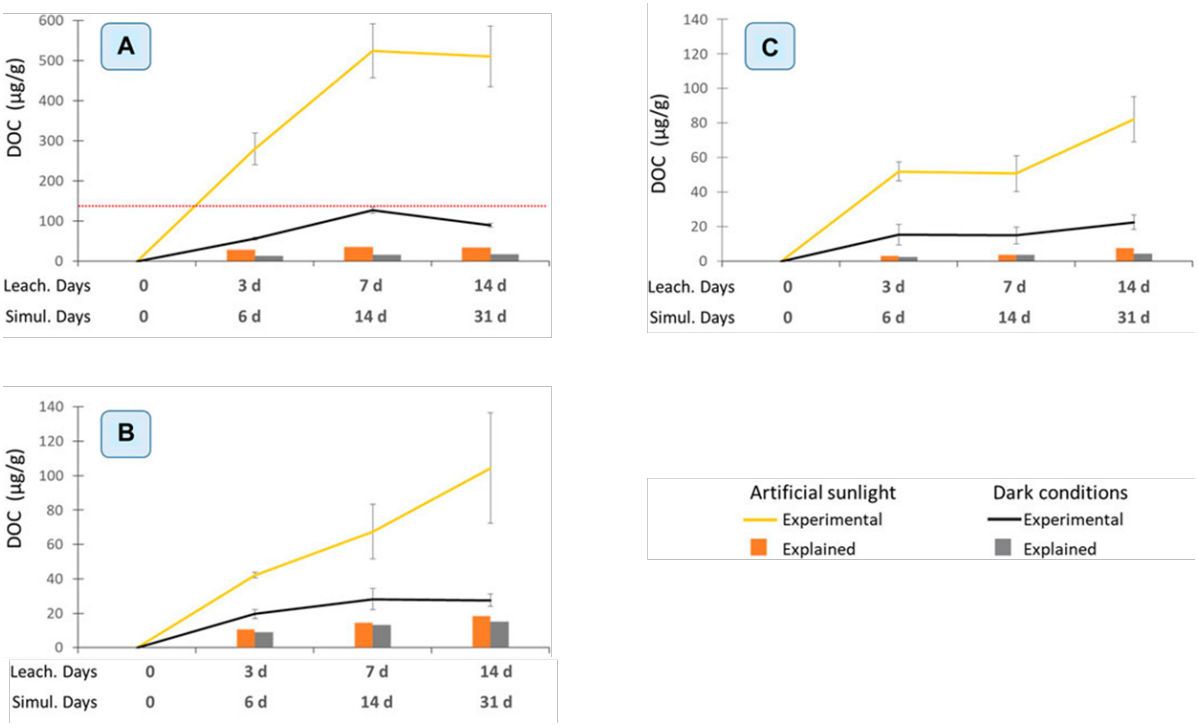

Abbildung 4. DOC-Freisetzung aus Reifenpartikeln während der Bestrahlung mit Sonnenlicht (gelbe Linie) und der dunklen Kontrolle (schwarze Linie) über 14 Tage. (A) CMTT (B) VCR and (C) WCR. Rote horizonetale Linie in A zeigt den Bereich der y-Achse in (B) und (C). Fehlerbaken von 3 unabhängigen Experimenten. Die farbigen Balken zeigen den Anteil des DOC der durch die quantifizierten Einzelstoffe erklärt werden kann. Orange: UV-Bestrahlung, grau: Dunkelkontrolle.

Allein von 1,3-Diphenylguanidine (DPG) wurden 23 Transformationsprodukte detektiert. Einige Transformationsprodukte des Antioxidans 6-PPD, darunter 4-Hydroxydiphenylamin (4-HDPA) und N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediaminchinon (6-PPDQ) nahmen im Zuge der Experimente in ihrer Konzentration in Lösung deutlich ab.

Die 19 Chemikalien, die quantifiziert werden konnten, erklärten zwischen 6 und 55 % des in den verschiedenen Proben gemessenen DOC. Dies verdeutlicht, dass das mit der quantitativen Target-Analytik erfasste Bild von den im Zuge der Alterung erfolgenden Freisetzungs- und Transformations-prozessen noch unvollständig ist.

Insgesamt verdeutlichen diese Experimente den starken Einfluss, den einerseits die "Vorgeschichte" von TWP und andererseits die Umgebungsbedingungen auf die aus TWP freigesetzten Stoffe haben. Diese Arbeiten sind in 2023 gemeinsam mit den Partnern publiziert worden (Foscari et al., 2023). Dies ist die erste Studie zur Stoff-Freisetzung aus TWP unter marinen Bedingungen. Da geschätzt wurde, dass bis zu 1 - 10% des Reifenabriebs über die Flüsse das Meer erreichen könnten (Baensch-Baltruschat et al., 2021; Unice et al., 2019), hat diese Studie große Bedeutung zur Abschätzung der sich daraus ergebenden Exposition der marinen Umwelt mit reifenbürtigen Chemikalien.

1.4.2.4 Alterung von Reifenabrieb in der Tiefsee (T4.5)

Zur Simulation von Tiefsee-Bedingungen kam ein “hyperbaric pressure simulator” (Überdruck-kammer) bei MIO zum Einsatz. Die drei Materialien (CMTT, VCR, WCR) wurden dort über eine Zeit von 14 Tagen inkubiert (Abb. 5 a, b).

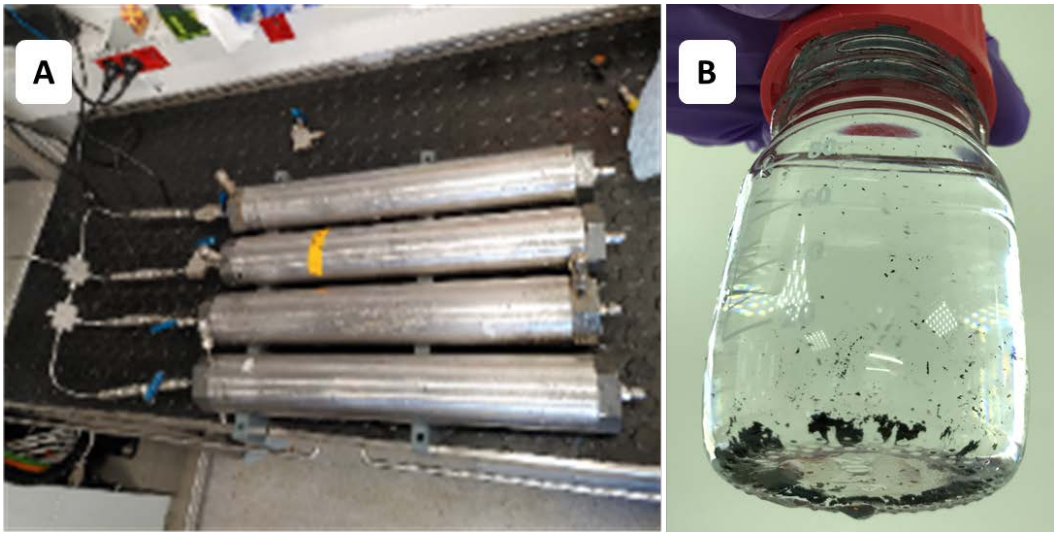

Abbildung 5. (A) Überdruckgefäße, in denen die Reifenpartikel (B) inkubiert wurden.

Das UFZ hat dabei die Auswirkung auf die physiko-chemischen Eigenschaften und die Freisetzung reifenbürtiger Chemikalien untersucht. MIO hat ergänzend die Gehalte bakterieller Biomasse bestimmt.

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigten Rückstände von Biofilm und Algen auf den Materialien in verschiedenem Ausmaß. Insbesondere das gealterte Material (WCR) scheint ein gutes Substrat für den Biolfilmaufwuchs abzugeben (Abb. 6).

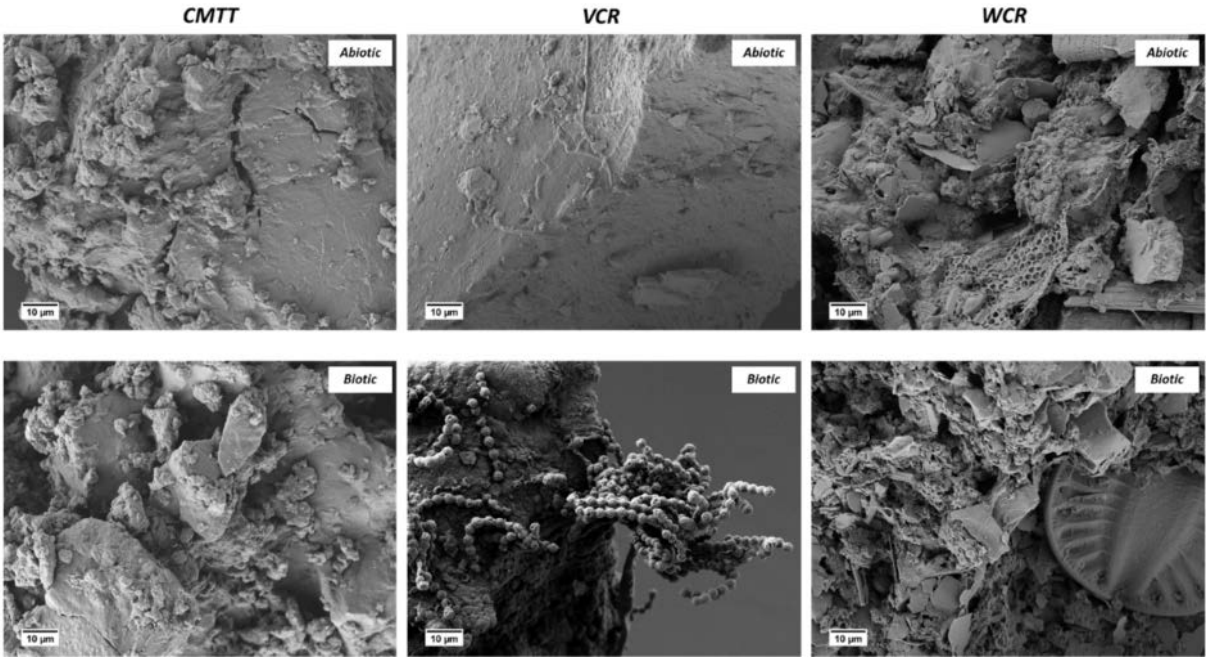

Abbildung 6. Elektronenmikroskopische Aufnahmen der verschiedenen Reifenpartikeln (CMTT, VCR und WCR) nach Überdruckexperimenten mit („biotic“) und ohne („abiotic“) Bakterien

Die hohen Drücke beförderten die Freisetzung von Chemikalien (Abb. 7). Dies liegt mutmaßlich daran, dass unter hohem Druck das umgebende Wasser besser in die Poren des Reifengummis eindringen kann. Dadurch ist ein größerer Anteil der Oberfläche für Stoffaustauschprozesse zugänglich, sodass es zu einer verstärkten Freisetzung von Chemikalien kommt.

Das bakterielle Wachstum war ausgeprägter in den Ansätzen mit Reifenpartikeln als in den Kontrollen mit reinem Meerwasser. Offenbar diente das Gummimaterial oder aus den Partikeln freigesetzte Stoffe als Energiequelle für die Bakterien (Abb. 8).

Ein Manuskript zu den Ergebnissen dieser Studie ist in Vorbereitung (Schmidt et al., in prep).

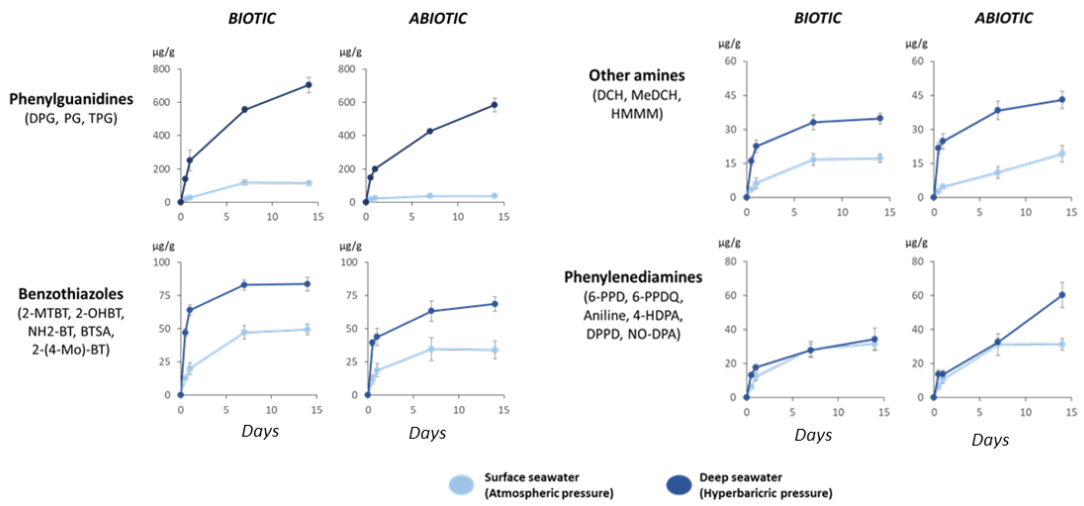

Abbildung 7. Konzentrationsverlauf für verschiedene Stoffgruppen reifenbürtiger Stoffe in Lösung ("leachables") bei Simulation der Meeresoberfläche ("atmospheric pressure") und der Tiefsee ("hyperbaric pressure").

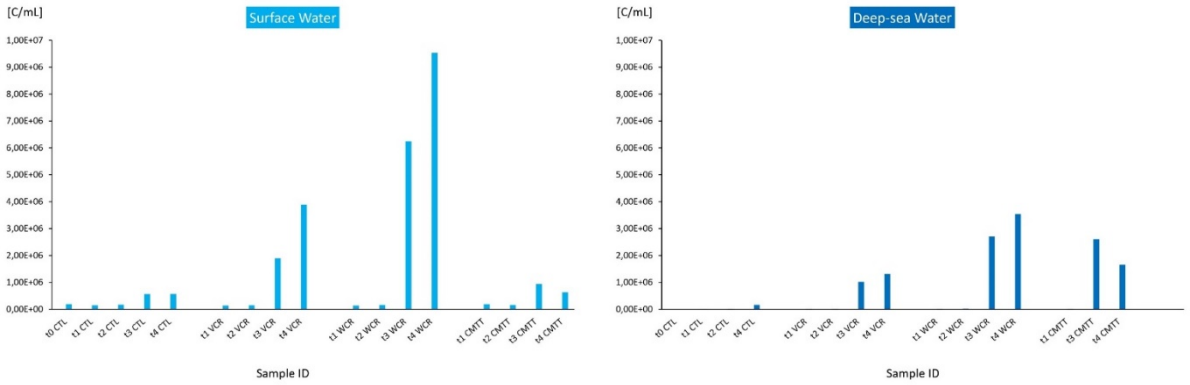

Abbildung 8: Mittlere baktierielle Biomasse (Anzahl Zellen je Milliliter) bei Simulation der Meeresoberfläche ("surface water") und der Tiefsee ("Deep sea Water").

1.4.2.5 Alterung von Reifenabrieb in Sediment (T4.6)

UFZ hat zu diesem Zweck ein Laborexperiment durchgeführt, um die Freisetzung von Additiven aus Reifenabrieb in das sie umgebende Medium in Gegenwart aerober Bakterien (und mit abiotischer Kontrolle) zeitaufgelöst über mindestesn 28 Tage zu untersuchen. Dem lag die Annahme zugrunde, dass die Mikroorganismen einen gewissen Teil der freigesetzten Stoffe entweder mineralisieren oder

transformieren würden. Bis dato durchgeführte Studien zur Freisetzung organischer Additive aus Reifenmaterial wurden in aller Regel nur kurzzeitig und unter sterilen Bedingungen durchgeführt.

In einem weiteren Ansatz wurde zunächst abiotisch inkubiert (Stoff-Freisetzung ohne mikrobielle Transformation) und dann im Anschluss Inokulum zugegeben, um den mikrobiellen Abbau im Anschluss zu verfolgen.

Die Experimente wurden durch DOC-Bestimmung und Analyse der 19 reifenbürtigen Chemikalien quantitativ verfolgt. Ergänzen wurde auch hier ein Nontarget-Screening durchgeführt.

In dem abiotischen Ansatz wurde ein DOC-Gehalt von 4 mg/g ermittelt; 1,3-Diphenylguanidine (DPG) war der Einzelstoff mit der höchsten Konzentration (bis zu 700 µg/g), gefolgt von drei Benzothiazolen und 4-Hydroxydiphenylamin (4-HDPA) mit je 50 µg/g. Mikrobielle Aktivität reduzierte den DOC und die Konzentration der wesentlichen Einzelstoffe um mehr als 85% (Abb. 9). Zum Ende des Experiments nach 28 Tagen war Hexamethoxymethylmelamin (HMMM) der bedeutendste der quantifizierten Einzelstoffe (18 µg/g). Über Nontarget-Screening konnte eine große Zahl mikrobieller Tansformationsprodukte detektiert werden, darunter 25 Transformationsprodukte des N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamin (6-PPD) und 44 Transformationsprodukte bzw. Nebenprodukte des DPG, von denen 39 auch am Ende des Experiments noch nachweisbar waren (Abb. 9).

In parallel untersuchtem realem Straßenablauf konnten insgesamt 31 der im Abbauversuch gefundenden Stoffe nachgewiesen werden. Dies untermauert die Bedeutung des Laborexperiments für die Abschätzung der Exposition der aquatischen Umwelt mit reifenbürtigen Chemikalien.

Weitere Ergebnisse dieser Studie finden sich bei Foscari et al. (2024).

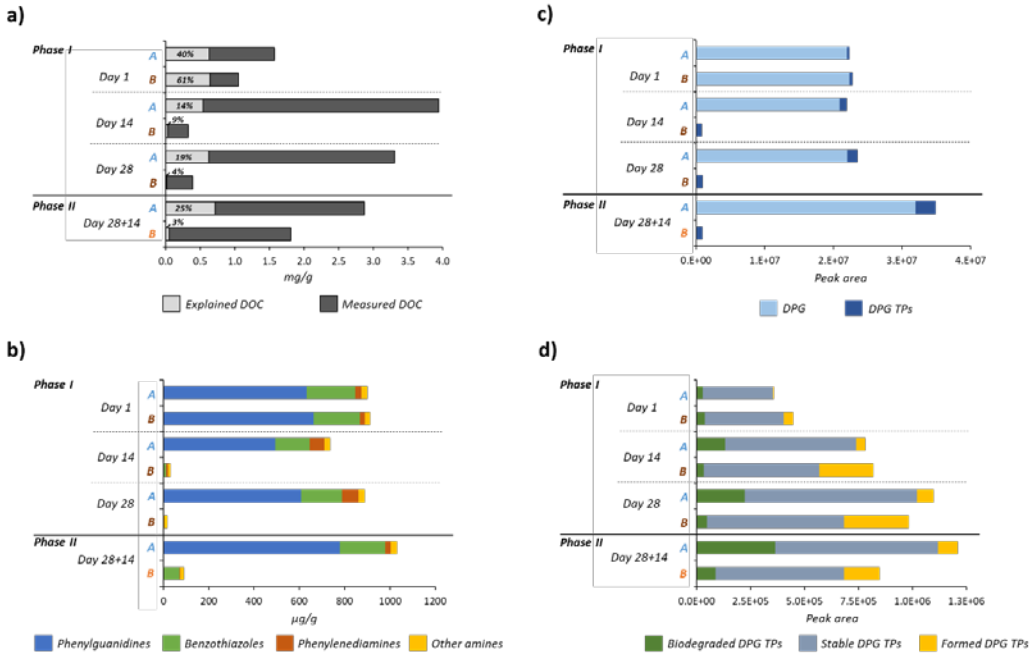

Abbildung. 9. Konzentrationen (links) bzw. Peak-Flächen (rechts) (pro Gramm von CMTT) in den nicht angeimpften (A) und angeimpften (B) Ansätzen mit CMTT. (a): DOC ("measured") und Anteil des DOC entsprechend der Summe quantifizierter Einzelstoffen ("explained"); (b) Summenkonzentration für Phenylguanidine, Benzothiazoles, Phenylenediamine und andere Amines; (c) Summe der Diphenylguanidine („DPG") und seiner Transformationsprodukte („DPG TPs"); (d) DPG-Transformationsprodukte aufgeschlüsselt nach Verhalten.

Diese Laborstudie, die Auslaugung (Leaching) und mikrobiellen Abbau kombiniert, zeigt einige wesentliche Trends auf:

- Die Exposition der Umwelt mit reifenbürtigen Stoffen ist wesentlich niedriger, als aus reinen Leaching-Studien ersichtlich ist. Zwischen 80- und 90% des freigesetzten organischen Kohlenstoffs wurden mikrobiell abgebaut.
- Die sich damit ergebende Exposition ist nicht nur im Ausmaß geringer, sondern auch in in ihrer chemischen Natur verändert. Sie ist dominiert von Transformationsprodukten und nicht von den bekannten Reifenadditiven
- Dementsprechend wird ein Umwelt-Monitoring, das sich auf die bekannten Additive beschränkt, die Umweltexposition unterschätzen.
- Zur Verminderung der Exposition der aquatischen Kompartimente, beginnend bei Vorflutern, könnten Absetzbecken, die Reifenabrieb zurückhalten und einen mikrobiellen Abbau der daraus freigesetzten Stoffe erlauben, wohl einen ganz wesentlichen Beitrag leisten.

Diese Befunde unterstreichen die Relevanz, die die sogenannten “Leachables” für die von Reifenabrieb ausgehende Umweltbelastung haben. Darum ist ihnen und ihrer Kontrolle weiterhin Aufmerksamkeit zu schenken.

1.4.3 Gegenüberstellung vorgegebener und erreichter Ziele

#	Milestone (or deliverable)	Status
M4.1	Auswahl und Beschaffung von Ausgangsreferenzmaterialien für Alterungsstudien abgeschlossen	Vollständig erreicht (fully achieved)
M4.2	Alterung in marinen Oberflächengewässern und in der Tiefsee abgeschlossen, gealterte Materialien im Konsortium verteilt	Vollständig erreicht
M4.3	Optimierung der Protokolle zur beschleunigte Alterung abgeschlossen, Protkolle sind verfügbar	Vollständig erreicht
M4.5	Untersuchungen zur UV-Alterung abgeschlossen	Vollständig erreicht
M4.6	Untersuchungen zur Alterung unter hohen Drücken abgeschlossen	Vollständig erreicht
M4.7	Untersuchungen zur Mikroplastikalterung in marinen Sedimenten abgeschlossen	Vollständig erreicht
D4.3	Manuskript: Herstellung von gealterten Mikroplastik und dessen Charakterisierung	Manuskript in Erarbeitung
D4.4	Manuskript: Methoden zur Untersuchung der Mikroplastikalterung inkl. Fragmentierung und Additivfreisetzung	2 Manuskripte publiziert
D4.5	Manuskript: Mikroplastikalterung in unterschiedlichen marinen Umweltkompartimenten	Manuskript in Erarbeitung

Literatur:

Ainali N.M., Bikiaris D.N., Lambropoulou D.A. (2021) Aging effects on low- and high-density polyethylene, polypropylene and polystyrene under UV irradiation: An insight into decomposition mechanism by Py-GC/MS for microplastic analysis. J. Anal. Appl. Pyrolysis 158, 105207.

Baensch-Baltruschat B., Kocher B., Kochleus C., Stock F., Reifferscheid G. (2021) Tyre and road wear particles - A calculation of generation, transport and release to water and soil with special regard to German roads. Sci. tot. Environ. 752, 141939.

Brandon J., Goldstein M., Ohman M.D. (2016) Long-term aging and degradation of microplastic particles: Comparing in situ oceanic and experimental weathering patterns. Mar Pollut Bull. 110, 299 - 308.

Foscari A., Schmidt N., Seiwert B., Herzke D., Sempéré R. and Reemtsma T. (2023) Leaching of chemicals and DOC from tire particles under simulated marine conditions. Frontiers in Environmental Science 11. https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1206449

Foscari A., Seiwert B., Zahn D., Schmidt M., Reemtsma T. (2024) Leaching of tire particles and simultaneous biodegradation of leachables. Water Res. 253; 121322.

Foscari et al., in prep. Tire wear particles in coastal areas: are there suitable chemical indicators of exposure in blue mussel (Mytilus edulis)?", by the authors Aurelio Foscari, Riham Mowafi, Bettina Seiwert, Dorte Herzke, Bavo De Witte, Daan Delbare, Gustavo Blanco Heras, Thorsten Reemtsma.

Kloeckner P., Seiwert B., Wagner S., Reemtsma T. (2021) Organic markers of tire and road wear particles in sediments and soils: Transformation products of major antiozonants as promising candidates. Environ. Sci. Technol. 55, 11723-11732.

Schmidt N., Foscari A., Garel M., Tamburini C., Seiwert B., Herzke D., Reemtsma T., Sempéré R. (in prep.) Tire particles in deep-sea conditions: interactions between hydrostatic pressure, bacterial growth and chemical leaching. Manuskript in Vorbereitung

Sørensen L., Schmidt N., Foscari A., Herzke D., Denonville C., Booth, A.M., Sempéré R. (in prep) UV-degradation and release of additives from HDPE, PS and PVC microplastic under environmentally realistic conditions. Manuskript in Vorbereitung.

Unice K.M., Weeber M.P., Abramson M.M., Reid R.C.D., van Gils J.A.G., Markus A.A., Vethaak A.D., Panko J.M. (2019) Characterizing export of land-based microplastics to the estuary - Part I: Application of integrated geospatial microplastic transport models to assess tire and road wear particles in the Seine watershed. Sci. tot. Environ. 646, 1639-1649.

Wagner S., Kloeckner P., Reemtsma T. (2021) Aging of tire and road wear particles in terrestrial and reshwater environments – A review on processes, testing, analysis and impact. Chemosphere 288, 132467.

2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Diesbezüglich wird auf die zahlenmäßigen Verwendungsnachweise des UFZ verwiesen.

3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die im Rahmen der Projektlaufzeit (01.04.2020 – 30.09.2023) im Rahmen des JPI Oceans Verbundprojekts ANDROMEDA durchgeführten Forschungsarbeiten waren notwendig und angemessen. Es konnten die im Projektantrag dargelegten Untersuchungen und Aufgaben hinsichtlich der formulierten Arbeitspakete erfolgreich bearbeitet werden.

Das UFZ konnte so einerseits die im Verbund zugesagte Zuarbeit erbringen, wie die Bereitstellung von Referenzmaterial, die Herstellung gealterter Mikroplastik-Chargen und die Entwicklung und Bereitstellung analytischer Methoden für gemeinsame Untersuchungen mit den Partnern. Andererseits konnte das UFZ neue Erkenntnisse insbesondere zum Verhalten von TWP in der marinen Umwelt gewinnen, zu seinem Alterungsverhalten, und Verhalten in marinen Organismen, und der Freisetzung von Chemikalien aus diesen Partikeln.

Ergänzend wird auf die in Abschnitt II.1 dargestellten Ergebnisse verwiesen.

4 Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des Verwertungsplans

Die Verwertung der erzielten Ergbnisse erfolgte im Sinne des Verwertungsplans. In wirtschaftlicher Hinsicht konnte das UFZ durch die Fortentwicklung seiner Expertise zur Untersuchung von Mikro- und Nanoplastik und Reifenabrieb seine Kooperationen mit namhaften internationalen Forschungs-gruppen auf diesem Gebiet festigen und mit neuen Verbundprojekten ausbauen.

Durch die Einbindung von Studierenden und eines graduierten Chemikers in das Projekt konnte wissenschaftlicher Nachwuchs ausgebildet und qualifiziert werden.

Das UFZ hat schließlich durch Beteiligung an den Verwertungaktivitäten des JPI-Oceans Vorhabens ANDROMEDA auch die Öffentlichkeit für die Fragen der Belastung der marinen Umwelt mit (Mikro-) Plastik sensibilisiert und darüber informiert. Damit wurden laufende politische Aktvitäten auf europäischer Ebene zur Minimierung von Plastikemissionen unterstützt.

Die wissenschafltichen Aktivitäten in ANDROMEDA haben die Sichtbarkeit des UFZ auf dem Forschungsgebiet des Umweltverhaltens von Reifenabrieb erhöht. Infolgedessen konnten wir auch international in Gremien zur wissenschafltichen Politikberatung zum Thema Reifenabrieb und Reifenchemikalien die Projekterkenntnisse einbringen.

Die in ANDROMEDA entwickelten analytischen Methoden können von anderen Laboren auf dem Gebiet der Umweltanalytik aber auch auf anderen Anwendungsgebieten eingesetzt werden. Sie sind auch geeignet und verfügbar für die zukünftige Verwendung in Behörden und Untersuchungsämtern.

5 Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordenen Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Projektlaufzeit ist eine erhebliche Anzahl von Publikationen zu Reifenabrieb und der Freisetzung organischer Verbindungen aus Reifenmaterial erschienen. Einige wesentliche Arbeiten sind hier aufgeführt:

- Johannessen C., Helm P., Metcalfe C.D. (2021) Detection of selected tire wear compounds in urban receiving waters. Environ. Pollut. 287, 117659. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117659

Die AutorInnen haben eine Reihe reifenbürtier Stoffe in Oberflächenwasser analysiert, nach Eintrag von Straßenablauf in Toronto, Canada. Dazu gehörten insbesondere 1,3-Diphenyl guanidine (DPG), Hexamethoxymethylmelanine (HMMM), 6-PPD-Chinon (6-PPDQ) und Abbauprodukte des HMMM. Die Autoren zeigen, dass einige der Stoffe während Niederschlagsereignissen in Konzentrationen auftreten können, die aquatische Organismen beeinträchtigen können. Dies hat uns in der Entscheidung bestärkt, dem Reifenabrieb und den aus Reifenabrieb freigesetzten Stoffen im Vorhaben ANDROMEDA mehr Aufmerksamkeit zu schenken, als dies zunächst vorgesehen war.

- Müller K., Hübner D., Huppertsberg S., Knepper T.P., Zahn D. (2022) Probing the chemical complexity of tires: Identification of potential tire-borne water contaminants with high-resolution mass spectrometry, Sci. Tot. Environ. 802, 149799. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149799

Dies ist die bis dahin umfassendste Untersuchung zur Breite der organischen Verbindungen, die aus Reifenmaterial freigesetzt werden können. Sie detektierten insgesamt 214 verschiedene Verbindungen, daruntern viele Transformationsprodukte des DPG, verschiedenen Benzothiazole, 6-PPD und 6-PPDQ.

Verschiedene Studien haben sich stärker der Validität analytischer Methoden zur Quantifizierung von Mikroplastik mit thermoanalytischen Verfahren gewidmet. Dabei wurde deutlich, dass sowohl Pyrolyse-GC-MS (py-GC-MS) als auch Thermodesorptions-GC-MS (TED-GC-MS) bei Anwendung auf Realproben mit größeren methodischen Schwierigkeiten zu kämpfen haben, als zu Beginn dieses Vorhabens bekannt war. Diese Schwierigkeiten erwachsen einerseits aus dem Einfluss anorganischer Probenbestandteile auf das Ausmaß der Bildung der als Indikatoren verwendeten Zersetzungs-produkte der Polymere im Aufheizprozess, andererseits aus der Möglichkeit der Bildung derselben Produkte aus organischen Bestandteilen der Probenmatrix.

Mit Bezug zu TWP ist dies zum Beispiel:

- Rauert C., Rødland E.S., Okoffo E. D., Reid M.J., Melan S., and Thomas K.V. (2021) Challenges with Quantifying Tire Road Wear Particles: Recognizing the Need for Further Refinement of the ISO Technical Specification, Environ. Sci. Technol. Lett. 8, 231–236.

Dies gilt aber auch für die Analyse von Thermo- und Duroplasten, wie auf der Tagung Wasser 2021 der Wasserchemischen Gesellschaft diskutiert wurde:

- Barjenbruch M., Venghaus D., Reiber J., Sommer H., Schmerwitz F., and Kraemer A. Reifenabrieb in der Umwelt - Neue Erkenntnisse aus drei Jahren Forschung.

Darüber hinaus gab es einige experimentelle Studien zur Freisetzung von Stoffen aus Reifen.

- Wiener E.A. and LeFevre G.H. (2022) White Rot Fungi Produce Novel Tire Wear Compound Metabolites and Reveal Underappreciated Amino Acid Conjugation Pathways, Environ. Sci. Technol. Lett. 9, 391–399.

In dieser Studie wurde der Einfluss von Weißfäulepilzen auf die aus Reifen freigesetzten organischen Spurenstoffe untersucht.

- Fohet L., Andanson J.M., Charbouillot T., Malosse L., Leremboure M., Delor-Jestin F., and Verney V. (2023) Time-concentration profiles of tire particle additives and transformation products under natural and artificial aging, Sci. Tot. Environ. 859, 160150.

Hier wurde der Einfluss der Alterung durch Sonnenlicht und Temperatur auf die aus CMTT und TRWP freigesetzten Stoffe untersucht und so die Halbwertszeiten für einige Chemikalien im Reifenmaterial unter Umweltbedingungen geschätzt.

Diese und weitere Studien zeigen, dass das Studium des Verhaltens von TWP in der Umwelt während der Laufzeit dieses Vorhabens zunehmende Beachtung erfahren hat. Insofern wurden sie als Bestätigung des vom UFZ eingeschlagenen Wegs gesehen. Diese Literatur wurde bei der Interpretation der in diesem Vorhaben erzielten Ergebnisse einbezogen, führte aber zu keinen direkten Auswirkungen auf unser Untersuchungsprogramm.

6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

6.1 Wissenschaftliche Veröffentlichungen (peer reviewed)

- Foscari, A., Schmidt, N., Seiwert, B., Herzke, D., Sempéré, R. and Reemtsma, T. (2023) Leaching of chemicals and DOC from tire particles under simulated marine conditions. Frontiers in Environmental Science 11.
  https://doi.org/10.3389/fenvs.2023.1206449
- Foscari A., Seiwert B., Zahn D., Schmidt M., Reemtsma T. (2024) Leaching of tire particles and simultaneous biodegradation of leachables. Water Res. 253; 121322.
  https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121322

6.2 Eigene Veranstaltungen und Workshops

Coronabedingt waren die Gelegenheiten für die Ausrichtung von Veranstaltungen oder die physiche Teilnahme an Veranstaltungen während eines Großteils der Vorhabensdauer sehr eingeschränkt. Verschiedene zuvor geplante Veranstaltungen mussten, oft kurzfristig, abgesagt werden.

Datum	Ort	Veranstaltung
20.09 – 21.09.2021	On-line	ANDROMEDA Consortium meeting
30.05 - 31.05.2022	Malta	ANDROMEDA physical project meeting
13.09 – 15.09.2023	Galway	JPI Ocean Meeting “Ecological Aspects of Microplastics”

6.3 Beiträge in Büchern, Tagungsbänden etc

- Foscari A., Mowafi R., Seiwert B., Herzke D., De Witte B., and Reemtsma T. (2024). Chemical marker identification to study exposure of biota to tyre wear particles. In B. DeWitte, O-P. Power, E. Fitzgerald and K. Kopke eds. ANDROMEDA Portfolio of MicroplasticsAnalyses Protocols. ANDROMEDA Deliverable 5.5. JPI Oceans ANDROMEDA Project, DOI: 10.13140/RG.2.2.21010.06088.

6.4 Geplante Veröffentlichungen

- Foscari A., Mowafi R., Seiwert B., Herzke D., De Witte B., Delbare D., Blanco Heras G, Reemtsma T. (2024) Tire wear particles in coastal areas: Are there suitable chemical indicators of exposure in blue mussel (*Mytilus edulis*)? In prep.
- Schmidt N., Foscari A., Garel M., Tamburini C., Seiwert B., Herzke D., Reemtsma T., Sempéré R. (2024) Tire particles in deep-sea conditions: interactions between hydrostatic pressure, bacterial growth and chemical leaching. In prep.
- Sørensen L, Schmidt N., Foscari A., Herzke D., Denonville C., Booth A.M., Sempéré R. (2024) UV-degradation and release of additives from HDPE, PS and PVC microplastic under environmentally realistic conditions. In prep.

6.5 Vorträge

- Foscari A., Mowafi R., Seiwert B., Herzke D., De Witte B., Delbare D., Blanco Heras G., and Reemtsma T. Tire Wear Particles in Coastal Areas: Are There Suitable Chemical Indicators of Exposure in Blue Mussel (Mytilus edilus)? 18th International Conference on Chemistry and the Environment (ICCE 2023), 11 - June 2023 in Venice, Italy.
- Foscari A., Seiwert B., and Reemtsma T. *Tire wear particles in the environment: abiotic and biotic degradation and uptake in biota*. JPI Ocean Meeting on Ecological aspects of Microplastics, 13 - 15 September in Galway, Ireland.

6.6 Poster

- Foscari A., Seiwert B., Schmidt M., Reemtsma T. (2023) Biodegradation studies on tire tread particles: a comprehensive investigation on leachates composition. SETAC Europe 33rd Annual Meeting, 30 April - 4 May 2023 in Dublin, Ireland.

6.7 Praktikumsberichte, Masterarbeiten

- Riham Mowafi (2023) Comprehensive screening on tire wear particles tracers/chemical markers in mussel samples. Master thesis, University of Leipzig, Faculty of Chemistry and Mineralogy.