

VALIDE ANALYSER AF MIKROPLAST FRA REGNVANDSBETINGEDE UDLEDNINGER



UNDERSØGELSE AF ANALYSEMETODER FOR MIKROPLAST, HERUNDER GUMMI I REGNVANDBETINGEDE UDLEDNINGER SAMT REGNVANDBASSINERS TILBAGEHOLDELSSESGRAD

DATO: Maj 2023

Projekt ID:
55.2019

Udgiver:
DANVA, Vandhuset, Godthåbsvej 83, 8660 Skanderborg

Rapporten er udarbejdet af:
Peter Rosborg, projektleder, Teknologisk Institut
Anders Bank Blichfeld, specialist, Teknologisk Institut
Morten Bormann Nielsen, seniorspecialist, Teknologisk Institut
Allan R. Petersen, konsulent, Teknologisk Institut
Jes Vollertsen, professor, Aalborg Universitet

Finansiering:
Projektet er finansieret af
VUDP, Vandsektorens Udviklings- og Demonstrationsprogram

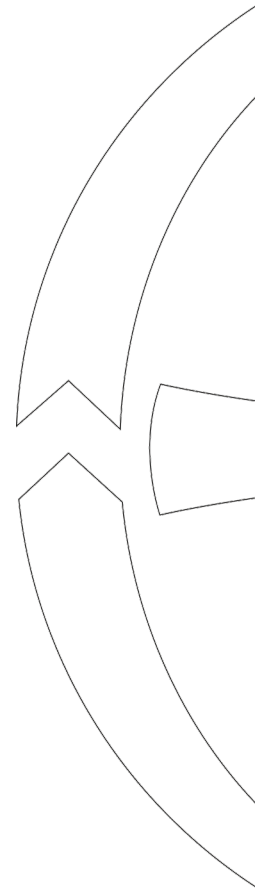
Samarbejdspartnere:
Mariagerfjord Vand A/S
Hedensted Spildevand A/S
VandCenter Syd A/S
Lemvig Forsyning A/S
Aage Vestergaard Larsen A/S
Aalborg Universitet
Teknologisk Institut

Kategori (Spildevand, drikkevand eller klimatilpasning):
Spildevand, Klimatilpasning

Projekttitel:
Valide analyser af mikroplast fra regnvandsbetingede udledninger

Indholdsfortegnelse

1	Sammenfatning	3
2	Summary	4
3	Introduktion	5
4	Projektets betydning for vandbranchen	6
4.1	Marked og/eller anvendelsesmuligheder	7
4.2	Næste skridt	7
4.3	Formidlingsplan	8
5	Projektet	9
5.1	Formål	9
5.2	Output	9
5.3	Projektresultater	9
5.4	Konklusion	21
6	Litteraturliste	23
7	Appendix 1: On-site opsamling af mikroplast i regnvandsbassiner	24
7.1	Beskrivelse af udvalgte regnvandsbassiner	24
8	Appendix 2: Udvikling af valide målinger af mikroplast og mikrogummi	27
8.1	Metoder til måling af mikroplast og mikrogummi	27
9	Appendix 3: Analyseresultater af mikroplast og -gummi i regnvandsbassiner	35
9.1	Flowmodel og sedimentdata	35
9.2	Resultater af analyser for mikroplast og mikro-gummi	35
10	Appendix 4: Referenceprøve	37
10.1	Analyseresultater af mikroskopisk morfologibestemmelse	37
10.2	Detaljer fra Ramananalysen for referenceprøven	39



1 Sammenfatning

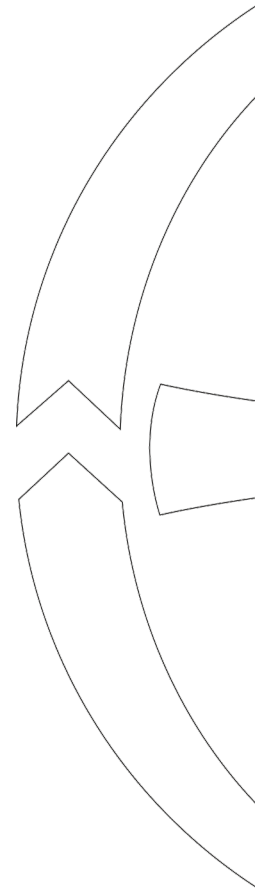
Mikroplast, herunder mikrogummi, har i de seneste år haft miljøpolitisk bevågenhed, men for at kunne vurdere omfanget af problemet, og de tilhørende effekter af løsningstiltag, skal tilgængelige analyser være pålidelige. Aalborg Universitet og Teknologisk Institut har udviklet og specialiseret sig i analysemetoder til måling af mikroplast. Aalborg Universitet benytter FTIR-spektroskopi til analyse af mikroplast og pyrolyse-GC-MS til analyse af mikrogummi, mens Teknologisk Institut benytter Ramanspektroskopi til analyse af begge materialer. Analyserne er relativt nyudviklede og komplekse og er derfor hverken standardiserede eller formaliserede. Nærværende projekt har til formål at etableres en fælles forståelse af målingernes styrker og svagheder. Dertil vil projektet i samarbejde med Mariagerfjord Vand, Hedensted Spildevand, VandCenter Syd, Lemvig Forsyning og Aage Vestergaard Larsen A/S (herefter Aage Vestergaard Larsen) konkret undersøge effekten af rensning for mikroplast ved brug af regnvandsbassiner på fire lokationer. Rapportens fokus er på at kvantificere massen af mikroplast. Mikroplast er generelt defineret som plast i størrelsesordenen 5 mm og ned til 1 μm . Det har i dette projekt alene været praktisk muligt at undersøge mikroplast ned til 10 μm , hvilket svarer til 99,8 % af størrelsesintervallet. Det vurderes af projektets partnere, at massen i området 1 – 10 μm er negligerable for projektets resultater grundet det lille volumen.

De udførte målinger på fremstillede, veldefinerede referenceprøver med mikroplast samt de individuelle plasttyper på feltprøver demonstrerede, at absolutte værdier af mikroplastkoncentrationer generelt ikke kan tages for pålydende med en større nøjagtighed end ca. en størrelsesorden (forstået som en faktor 10). Årsagerne hertil er mange og komplekse (se fx Rebsdorf et al., 2020a for en dybere teknisk gennemgang). En række internationale studier foretaget parallelt med nærværende studie, hvor forskningsgrupper har forsøgt at fremstille troværdigt referencemateriale [EUROQCHARM; Belz et al. 2021], har mødt samme udfordringer.

Målingerne på feltprøverne demonstrerer en klar (og forventet) intern konsistens, når det kommer til *relativ* sammenligning af totale koncentrationer af mikroplast. Årsagen hertil er, at selv om alle de anvendte analysemetoder har en vis - ofte stor - usikkerhed, så vil usikkerhederne tendere til at være systematiske. Beregning af fjernelsesgrader på baggrund af samme analysemetode vil derfor være behæftet med væsentligt mindre usikkerhed end de absolutte tal, idet usikkerhederne vil tendere til at udligne hinanden. Rensegraderne for de våde regnvandsbassiner undersøgt i dette projekt overlapper således også hinanden for alle tre karakteriseringsmetoder. Det blev i projektet fundet, at der ved de fire undersøgte regnvandsbassiner overordnet ses en tilbageholdelse af mikroplast på 75 - 100 %.

Ud fra målingerne af mikroplast ses det, at rensegraden er høj for alle bassinerne, selv med meget store forskelle i den akkumulerede masse af mikroplast og i sedimenterne. Selvom de fremkomne tal ikke må opfattes som den absolutte sandhed, når det kommer til det absolutte indhold af mikroplast i prøverne, så tillader metoderne i dag tilfredsstillende evaluering af rensegrader og relative koncentrationer i de forskellige miljøer. Resultaterne demonstrerer endvidere, at regnvandsbassinerne har en miljøbeskyttende funktion og fungerer som kosteffektive værn mod udledning af mikroplast til danske vandmiljøer.

Når det kommer til spørgsmålet om, hvorvidt mikroplastanalyser i dag kan siges at være valide, må det erkendes, at mikroplastanalyser (uafhængigt af metode) hverken i dag eller i fremtiden forventes at kunne opnå samme nøjagtighed og præcision som analyser for et opløst stof, fx medicinrester. Dertil er kompleksiteten af opgaven for stor. Særligt at forholde sig til prøvevolumen, koncentration og partikelstørrelsesfordeling af mikroplast er vigtige parametre for at opnå reproducerbare og konsistente resultater, og hertil er repræsentativ prøveudtagning ligeledes kompleks og altafgørende for resultaternes generaliserbarhed. Dette forhindrer dog *ikke*, at de tre metoder kan være til nytte for vandbranchen, idet man i mange relevante tilfælde kan opnå ganske brugbar information ved konsistente og reproducerbare, relative sammenligninger.



2 Summary

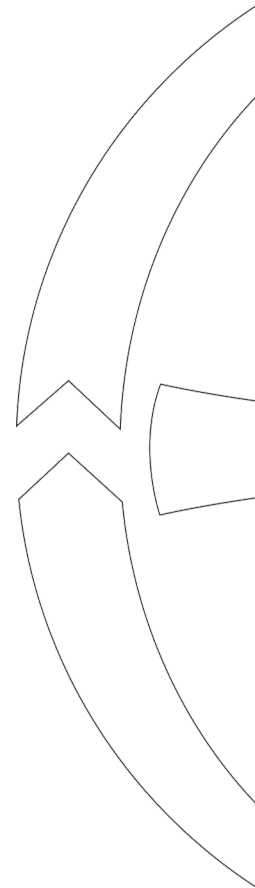
Microplastics, including micro-rubber, has in recent years been in focus of environmental policy. To assess the magnitude of the problem and evaluate the efficiency of water treatment solutions, it is paramount that the quantification and analysis of microplastics are reliable. Aalborg University and the Danish Technological Institute specialize in and develop methods for the analysis of microplastics. Aalborg University uses FTIR-spectroscopy for the analysis of microplastics and pyrolysis-GC-MS for the analysis of micro-rubber. In contrast, the Danish Technological Institute uses Raman spectroscopy for the analysis of both microplastics and micro-rubber. Since the analysis of microplastics is in its infancy, the methods are neither standardized nor formalized. The aim of this project is to gain an understanding of the strengths and weaknesses of the methods. In collaboration with Mariagerfjord Vand, Hedensted Spildevand, VandCenter Syd, Lemvig Forsyning and Aage Vestergaard Larsen this project will assess the retention of microplastics from rainwater retention ponds in four separate locations. Within this report, microplastics have been quantified by mass rather than by the number of particles. Microplastics are defined as plastic particles within the range of 1 μm to 5 mm. In this project, the lower detection limit of microplastics has been 10 μm , which covers 99.8% of the microplastics size range. Due to the small volume of microplastic particles within the range of 1 – 10 μm , their mass was deemed to be negligible by the project partners.

Measurements carried out on a well-defined artificially constructed microplastics reference sample, and measurements of individual types of plastic found in samples collected from retention ponds, demonstrated that absolute values for the concentration of microplastics are reliable to within an order of magnitude. The reasons for this are numerous and complex (for an in-depth discussion see Rebsdorf et al. 2020a). Several international studies, where the authors have attempted to create reliable reference material, have been carried out simultaneously with this project [EUROqCHARM; Belz et al. 2021].

The measured values for the field samples demonstrated a clear and expected consistency with respect to the internal comparison of total concentration of microplastics. Although the analytical methods employed in this project have a finite yet often large uncertainty, this uncertainty tends to be systematic. Using the same analytical method to calculate the percentage of retained microplastics in retention ponds will have less error than an absolute value, as some of the errors will cancel each other out. A good overlap between the measured retention efficiency from the three methods of analysis was found for the efficiency of retaining microplastics by rainwater retention ponds. The project found the retention efficiency of the measured retention ponds reaching between 75-100 % of the microplastics.

Based on the measurements of microplastics and micro-rubber, the retention efficiency is high for all the rainwater retention ponds, even with the large differences in mass of accumulated microplastics in the sediments. Although the measured values cannot be taken as an absolute value for the concentration of microplastics in the samples, the methods allow for an acceptable assessment of the retention efficiency of retention ponds and a relative value for the concentration of microplastics in different environments. Furthermore, the results demonstrate a beneficial environmental effect of rainwater retention ponds as a cost-effective tool for reducing the microplastic pollution in rainwater-based effluents.

At present and in the future, it is not expected that the measurement of microplastics will obtain the same accuracy and precision displayed by measurements pertaining to homogeneous solutions. The complexity of the problem is too great. To obtain reproducible and consistent results, the sample volume, sample concentration, and particle size distribution of microplastics are of particular importance. Moreover, acquiring representative samples is arduous and an imperative if the samples are to be compared amongst themselves. This does not prevent the three analytical methods used herein from being of value for the water industry, as there are many situations where useful information can be gathered from consistent, reproducible, and relative comparisons.



3 Introduktion

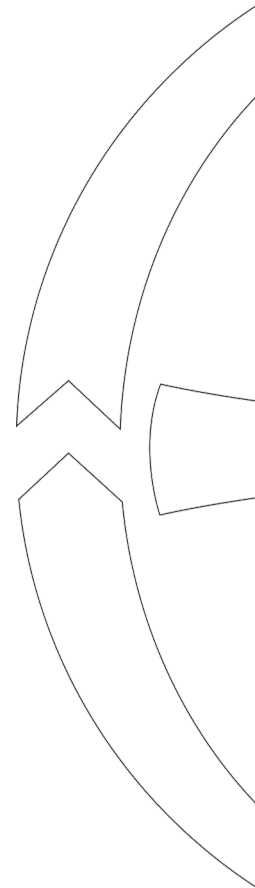
Metoder til analyse af mikroplast, herunder mikrogummi, er relativt nyudviklede, hvorfor der ikke findes hverken standardiserede eller formaliserede metoder. Der findes forskellige metoder udarbejdet uafhængigt af hinanden, men p.t. er der ikke noget samlet overblik over metodernes fordele/ulemper eller sammenlignelighed. På den baggrund er det vanskeligt at anvende resultaterne af analyser af mikroplast til at vurdere omfanget af et potentielt problem, undersøge renses effekter eller vurdere kilder til forurening med mikroplast og -gummi.

Aalborg Universitet og Teknologisk Institut har specialiseret sig i analysemetoder til måling af mikroplast, herunder mikrogummi. Begge har gennem flere uafhængige projekter udviklet analysemetoder, så det nu er praktisk muligt at analysere mikroplastpartikler på størrelser ned til 10 μm . Den generelle definition på mikroplast er plast i størrelsen 1 μm til 5 mm, og dette projekt vil derfor have fokus på mikroplast større end 10 μm , hvilket svarer til 99,8 % af størrelsesintervallet. Det vurderes af projektets partnere, at massen i området 1 – 10 μm er negligerable for projektets resultater grundet det lille volumen. Ligeledes vil projektet have fokus på massen af mikroplast og forholder sig ikke på samme måde til antallet af partikler.

Aalborg Universitet benytter Fourier-Transform Infra Red (FTIR)-spektroskopi til analyse af mikroplast og pyrolyse-GC-MS til analyse af mikrogummi, mens Teknologisk Institut benytter Ramanspektroskopi til analyse af begge materialer. Både FTIR- og Ramanspektroskopi kan benyttes til måling af mikroplast (alle plasttyper), men indholdet af carbon black i mikrogummi udfordrer begge metoder. Mikrogummi forekommer desuden ofte som en sammensmeltet partikel bestående af bildækgummi, asfaltpartikler og vejstøv. Teknologisk Institut har i en tidligere undersøgelse [Rebsdorf et al., 2020a] fundet, at carbon black-signalen i Ramanspektroskopi kan benyttes til at bestemme antal og størrelse af mikrogummi-partikler. Aalborg Universitet benytter pyrolyse-GC-MS til at bestemme massen af gummi og af visse plasttyper. Teknologisk Institut er den første i verden til at anvende Raman-spektroskopi til analyse af bildækgummi, mens pyrolyse-GC-MS-metoden anvendt på Aalborg Universitet anvendes bredt indenfor mikroplastanalyse.

I dette projekt samarbejdede Aalborg Universitet og Teknologisk Institut om en sammenligning af de nævnte analysemetoder for at afklare deres styrker og svagheder og for at dokumentere metodernes anvendelighed. Tilgangen var at måle mikroplast i såvel veldefinerede, fremstillede prøver som feltprøver fra regnvandsbetingede udledninger. Aage Vestergaard Larsen bidrog med viden om plast og med referenceprøver til projektet, mens forsyningerne Mariagerfjord Vand, Hedensted Spildevand, VandCenter Syd og Lemvig Vand særligt deltog i forbindelse med valg af regnvandsbassiner, indsamling af data for bassinerne samt prøvetagning og øvrige analyser af udtagne prøver.

Projektet har til formål at undersøge validiteten af analyser af mikroplast, således at analyserne kan danne et oplyst beslutningsgrundlag i problemstillinger med mikroplast, herunder mikrogummi. Den opnåede viden og forståelse kan bl.a. bidrage til, at forsyningerne vil kunne vurdere omfanget af mikroplast i afløbssystemer, regnvandsbassiner og vandmiljøet og således også vil kunne vurdere mulighederne for håndtering i form af tilbageholdelsesløsninger.



4 Projektets betydning for vandbranchen

Det overordnede formål med projektet var at dokumentere validiteten af analysemetoder til måling af mikroplast. I projektet blev der arbejdet med både referenceprøver og feltprøver fra regnvandsbassiner med henblik på ud over validiteten af analysemetoderne også at kvantificere data for forekomsten af mikroplast i regnvandsbassiner samt at udføre et indledende studie af våde regnvandsbassiners evne til at tilbageholde mikroplast.

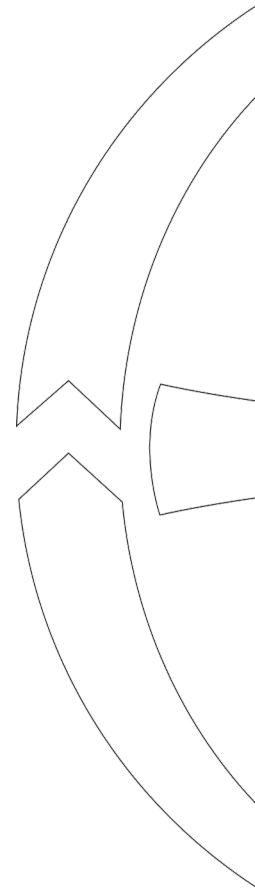
Mere valide analysemetoder af mikroplast samt større forståelse af metodernes anvendelighed skaber bedre forudsætninger for at kunne vurdere problematikken om mikroplast. Der skabes ligeledes bedre forudsætninger for at implementere de nødvendige foranstaltninger i forhold til at reducere udledningen af mikroplast til vandmiljøet på et oplyst grundlag. Begge dele er til gavn for DANVA's medlemmer og spildevandsbranchen som helhed.

I projektet er der taget udgangspunkt i at bestemme usikkerhederne for hver enkelt prøve med tilhørende FTIR- og Ramananalyser, hvor usikkerhederne bl.a. er afhængige af partikelstørrelse, partiklernes ensartethed samt prøvevolumen. Analyseresultaterne kan ikke ses uafhængigt af de anvendte prøvevolumener. De to metoder har på en enkelt, fremstillet referenceprøve vist sig at give resultater indenfor en faktor fire på den totale, teoretiske plastmængde, og projektet har demonstreret, at målingerne på fire regnvandsbassiner, og dermed på virkelige prøver, har en klar (og forventet) intern konsistens, når det kommer til relativ sammenligning af koncentrationer. Mikroplastmålingerne kan altså bruges i relativ sammenligning og ikke som absolutte tal, hvilket uddybes nedenfor.

De udførte målinger på den veldefinerede, fremstillede referenceprøve med mikroplast demonstrerede, at absolutte værdier af mikroplastkoncentrationer generelt ikke kan tages for pålydende med en større nøjagtighed end ca. en størrelsesorden (forstået som en faktor 10). Årsagerne hertil er mange og komplekse (se fx Rebsdorf et al., 2020a for en dybere teknisk gennemgang), men tæller bl.a., at veldefinerede, kendte partikler ofte er næsten kuglerunde og særdeles hydrofobe, hvilket besværliggør måling med FTIR og basalt set umuliggør en repræsentativ, homogen prøvetagning fra en fortyndingsrække. Det, at neddeling af prøver ved fortynding er behæftet med en ukendt usikkerhed, er en erfaring, der parallelt med nærværende projekt også er gjort i en række internationale studier, hvor andre forskningsgrupper har forsøgt at fremstille troværdigt referencemateriale [EU-ROQCHARM; Belz et al., 2021].

Ikke desto mindre demonstrerer målingerne på de virkelige prøver en klar (og forventet) intern konsistens, når det kommer til relativ sammenligning af koncentrationer. Årsagen hertil er, at selv om alle de anvendte analysemetoder har en vis - ofte stor - usikkerhed, så vil usikkerhederne tendere til at være systematiske. Beregning af fjernelsesgrader på baggrund af samme analysemetode vil derfor være behæftet med væsentligt mindre usikkerhed end de absolutte tal, idet usikkerhederne vil tendere til at udligne hinanden. Rensegraderne for de våde regnvandsbassiner undersøgt i dette projekt overlapper således også hinanden for alle tre karakteriseringsmetoder.

Når det kommer til spørgsmålet om, hvorvidt mikroplastanalyser i dag kan siges at være valide, må det erkendes, at mikroplastanalyser (uafhængigt af metode) hverken i dag eller i fremtiden vil kunne forventes at opnå samme nøjagtighed og præcision som analyser for et opløst stof, fx medicinrester. Dertil er kompleksiteten af opgaven for stor. Dette forhindrer dog ikke, at de tre metoder kan være til nytte for vandbranchen, idet man i mange relevante tilfælde kan opnå ganske brugbar information ved konsistente og reproducerbare, relative sammenligninger.



4.1 Marked og/eller anvendelsesmuligheder

Aalborg Universitet benytter resultaterne af nærværende projekt til at styrke sin position indenfor forskning og uddannelse. De forbedrede analysemetoder for mikroplast, herunder gummi fra bildæk, vil blive brugt til at levere analyser baseret på μ FTIR samt pyrolyse-GC-MS. Sidstnævnte analysemetode kan også anvendes til analyse af andre plasttyper og er langt mindre ressourcekrævende end μ FTIR- og Ramananalyse, hvad angår oprensning af prøver, måling og datahåndtering. Teknologisk Institut vil benytte resultaterne til at styrke sin position indenfor rådgivning og analyse af prøver, der indeholder mikropartikler, herunder mikroplast.

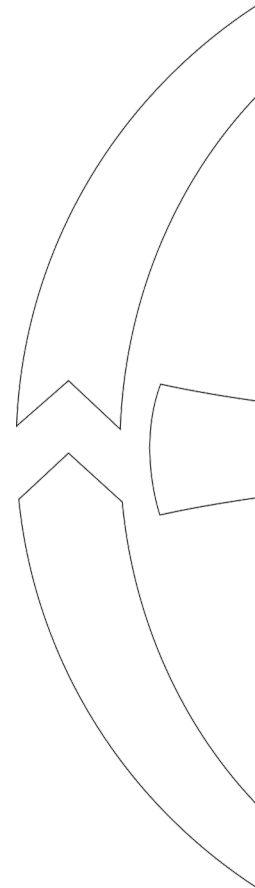
Undersøgelserne af regnvandsbassiners effektivitet til at tilbageholde mikroplast vil blive brugt som en del af vurderingen af den generelle tilbageholdelse af forurenende stoffer fra urbane områder såvel som fra store veje og vil kunne bidrage til udviklingen af kommende klima- og miljøløsninger.

4.2 Næste skridt

Aalborg Universitet har et af verdens største og førende laboratorier for analyse af mikroplast i miljøet, og de forbedrede analysemetoder vil blive brugt til yderligere at styrke denne position. Herved understøttes, at Aalborg Universitet bevarer sin styrkeposition og dermed sit marked indenfor dette område. Aalborg Universitet er desuden en førende vidensinstitution indenfor rensning af afstrømmet regnvand, herunder regnvandsbassiner, filteranlæg, permeable belægninger og lignende. Resultaterne fra undersøgelserne sikrer, at Aalborg Universitet bevarer sin styrkeposition og dermed sit marked, også indenfor dette område.

Teknologisk Institut oplever en stigning i virksomheder, som ønsker at vide mere om mikroplast i forbindelse med deres produkter - fra tøj, over emballage og maling til fødevarer. Samtidig arbejder Teknologisk Institut aktivt med kemisk identifikation af små partikler, fragmenter og fremmedlegemer, herunder mikroplast, i produktionen ved virksomhederne. Dette arbejde bidrager til at øge virksomhedernes viden om mikroplast og vil medvirke til at mindske industriens påvirkning af vådmiljøer med mikroplast.

Yderligere udvikling og validering af eksisterende og fremtidige metoder til måling af mikroplast kræver fremskridt indenfor udviklingen af standardiserede referenceprøver. En sådan reference bør indeholde forskellige plast- og gummityper, både kendte og forskellige størrelsesfordelinger på partiklerne samt forskellige koncentrationer af partikler. Yderligere udvikling og validering af en sådan reference er teknisk udfordrende og udgør en flaskehals for udviklingen af en brugbar målemetode på området.

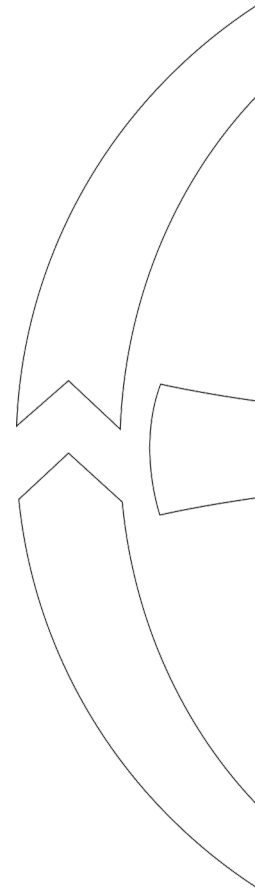


4.3 Formidlingsplan

Aalborg Universitet har præsenteret resultaterne af projektet på konferencen SETAC 2022, ligesom resultaterne vil blive sammenfattet i en videnskabelig publikation. Her vil regnvandsbassiners evne til at tilbageholde mikroplast (inkl. gummi) blive gennemgået i detaljer. Under Coronapandemiens første nedlukning deltog Teknologisk Institut med en video¹ i DANVA's online arrangement om nye forskningsprojekter i Vandsektorens Udviklings- og Demonstrationsprogram. Ligeledes har KLIMATORIUM løbende opdateret informationen om projektet og om problemstillingen med mikroplast².

¹ <https://www.teknologisk.dk/maaling-af-mikroplast-og-mikrogummi-i-regnvandsbassiner/42410>

² <https://klimatorium.dk/mikroplast-i-vores-miljoe/>
<https://klimatorium.dk/ufoer-i-lemvig-mikroplast-i-vores-miljoe/>
<https://klimatorium.dk/mikroplast-projektet-har-udtaget-proever-fra-regnvandsbassin/>
<https://klimatorium.dk/vudp-mikroplast-projektet-har-udtaget-vandproever-fra-regnvandsbassinet-paa-gefionsvej/>



5 Projektet

5.1 Formål

Projektets formål har været at dokumentere validiteten af analysemetoder til måling af mikroplast samt at udføre et studie af våde regnvandsbassiners evne til at tilbageholde mikroplast. I projektet blev der arbejdet med både referenceprøver og feltprøver fra fire regnvandsbassiner (vand- og sedimentprøver) med henblik på at undersøge validiteten af analysemetoderne og at kvantificere forekomsten af mikroplast i regnvandsbassiner. Mikroplast er generelt defineret som plast i størrelsesordenen 5 mm og ned til 1 μm . Det har i dette projekt været praktisk muligt at undersøge mikroplast ned til 10 μm , hvilket svarer til 99,8 % af størrelsesintervallet. Det vurderes af projektets partner, at massen i området 1 – 10 μm er neglige for projektets resultater grundet det lille volumen.

5.2 Output

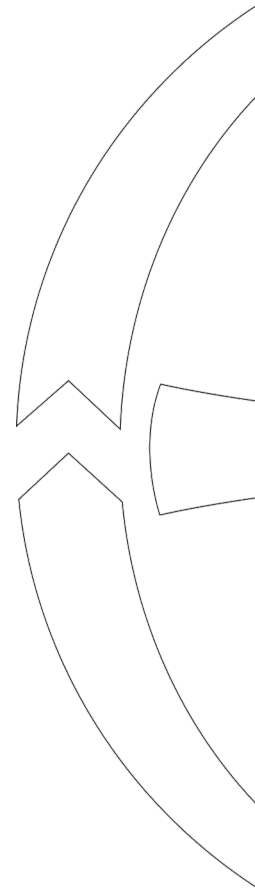
Det primære output af projektet består i tilgængeligheden af dokumenterede, valide analyser af mikroplast og en dertilhørende forståelse af de betragtelige usikkerheder forbundet med disse komplekse målinger. Valide målemetoder og kvalitetssikrede analyser samt repræsentativ prøveudtagning er en forudsætning for at kunne bedømme mikroplastproblematikkens reelle omfang og på baggrund heraf pege på de bedste løsninger. Den viden, som er opnået i projektet, vil bl.a. kunne bistå forsyningsselskaberne i at træffe kvalificerede beslutninger om, hvorvidt der bør etableres rensning, fx regnvandsbassiner på de regnvandsbetingede udledninger.

Derudover foreligger der fra projektet konkrete data for forekomsten af mikroplast i fire forskellige våde regnvandsbassiner. Selvom de fremkomne tal ikke kan betragtes som den absolutte sandhed, når det kommer til det absolutte indhold af mikroplast i prøverne, så tillader metoderne i dag en tilfredsstillende evaluering af rensgrader og af relative koncentrationer i de forskellige miljøer. Ligeledes kan de anvendte analyser bruges ved vurdering af andre miljømæssige tiltags effekt på at fjerne mikroplast fra vandmiljøerne. Det blev i projektet fundet, at der ved de fire undersøgte regnvandsbassiner overordnet ses en tilbageholdelse af mikroplast på 75 - 100 %.

5.3 Projektresultater

Projektet har kortlagt konkrete analysemetoder til validering af målinger af mikroplast og -gummi. Derudover har projektet haft til formål at forholde sig til validiteten af de analyser, der udføres, således at resultaterne kan tolkes og anvendes uden at drage konklusioner, som ikke er underbygget af det tilgrundliggende data. Her kan bl.a. nævnes vigtigheden ikke kun af prøvevolumen, partikelstørrelsesfordeling og koncentration, men også af en mikroplasmåling, hvilket vil blive gennemgået i dette afsnit.

I afsnit 5.3.1 forklares og sammenlignes de forskellige metoder, der er anvendt i projektet til analyse af mikroplast. Derudover beskrives i afsnit 5.3.2 resultaterne af studier af genfindingsgraden baseret på analyser af referenceprøver. Afsnit 5.3.3 beskriver de regnvandsbassiner, der indgår i projektet, og hvorledes udtagningen af prøverne foregår. I



afsnittet beskrives også prøveforberedelsen, som er afgørende for de resultater, der genereres ved analysen. I afsnit 5.3.4 angives resultaterne af de forskellige analyser, der er foretaget på de indsamlede og oprensede regnvandsbassinprøver. I afsnit 5.3.5 vurderes renseseffektens afhængighed af rensemetode for afstrømmet regnvand.

5.3.1 Analysemetoder til måling af mikroplast og -gummi

I det følgende beskrives de to spektroskopiske målemetoder på et overordnet niveau efterfulgt af en beskrivelse af metoden baseret på pyrolyse-gaskromatografi-massespektrometri (py-GC-MS) til analyse af mikrogummi. Herefter foretages en sammenligning af nuværende forskelle, ligheder, styrker og svagheder ved metoderne.

Spektroskopisk analyse af materialer vha. IR-spektroskopi

IR-spektroskopi benytter infrarødt lys, da lys med denne energi/bølgelængde absorberes af bindingerne i materialet og bliver omdannet til enten vibrations- eller rotationsenergi i molekylerne. Om det er vibrations- eller rotationsenergi, afhænger af både energien af det indkomne infrarøde lys og styrken af bindingerne i materialet. I praksis måles forskellen på ikke-absorberet lys og det lys, der bliver absorberet af bindingerne i de forskellige materialer over et energiområde, der svarer til infrarøde bølgelængder i lys. Da hvert materiale har forskellige bindingsmønstre (rumligt arrangement af atomer), giver IR-spektroskopi groft sagt et kemisk "fingeraftryk" for materialet. For detaljer til, hvorledes IR-spektroskopi er benyttet til at måle mikroplast i nærværende projekt, henvises til Appendix 2.

Spektroskopisk analyse af materialer vha. Ramanspektroskopi

Ramanspektroskopi benytter højintens laserlys, og at en meget lille del af dette lys vil blive absorberet af bindingerne i materialet og udsende lys med en lidt mindre energi end det benyttede laserlys. Ændringen i energi afhænger af styrken på bindingen, som absorberer laserlyset, samt laserlysets energi. Det er denne lille ændring i energi, der detekteres i Ramanspektroskopi, da denne er karakteristisk for den enkelte binding i et materiale og afhænger af den rumlige opbygning af atomerne i materialet. Dermed giver Ramanspektroskopi et kemisk "fingeraftryk" for materialer. For detaljer om, hvorledes Ramanspektroskopi er benyttet til at måle mikroplast og mikrogummi, henvises til Appendix 2.

Pyrolyse-gaskromatografi-massespektrometri (py-GC-MS)

Pyrolyse-GC-MS er et analytisk værktøj, der bruges til at karakterisere en lang række polymerer og kompositmaterialer, som ikke kan analyseres ved hjælp af traditionel GC-MS. Det grundlæggende koncept er, at en prøve introduceres til et opvarmet kammer med en inert gas, hvor prøven nedbrydes i mindre, stabile fragmenter/komponenter (pyrolysater), der kan analyseres på en GC-MS. Pyrolysaterne adskilles derefter kromatografisk på samme måde som ved traditionel GC-MS. Som med traditionel GC-MS adskilles fragmenterne under anvendelse af en forbindelses iboende affinitet for en "stationær fase" i den valgte GC-kolonne. Når pyrolysaterne er adskilt, analyseres og fortolkes data. En af udfordringerne ved at analysere for bildækgummi er at vælge den rigtige markør blandt de mange pyrolysater, bl.a. fordi bildæk består af en blanding af gummytyper. Når valget er truffet, anvendes en kalibreringskurve, enten med rene polymerer (fx styrene-butadiene-gummi), eller, som i nærværende projekt, ved brug af afmålte mængder bildækgummi.

Sammenligning og evaluering af metoder

Alle tre metoder kræver en grundig oprensning af vandprøverne inden måling. Generelt kræver py-GC-MS mindst oprensning, fulgt af FTIR og derpå Raman. Oprensning er

nødvendigt for at sikre, at der kun bliver målt på mikroplast, og at alger eller andet naturligt forekommende materiale ikke har indflydelse på målingen.

De tre metoder har hver deres fordele og ulemper, og en detaljeret forklaring og sammenligning kan findes i Appendix 2. IR- og Ramanspektroskopi er i et vist omfang komplementære, i den forstand at visse vibrationer, som ikke kan detekteres med IR-spektroskopi, i stedet kan detekteres med Ramanspektroskopi og vice versa. Fælles for de to metoder er, at prøven ikke bliver destrueret, hvorfor man kan anvende py-GC-MS på prøven efterfølgende.

Kompleksiteten af analysen er højest for IR-spektroskopi og Ramanspektroskopi og lidt mindre for py-GC-MS. Det kræver en meget høj grad af ekspertviden at vurdere, hvornår et IR- eller Ramanspektrum "matcher" et materiale, idet der er forskel på, hvor gode signaler de to teknikker opnår fra forskellige materialer såsom glas/sand, cellulose og almindelige plasttyper. Her har IR-metoden den fordel, at den analysesoftware, der bruges i fortolkningen af data, er blevet udviklet i et samarbejde mellem flere større forskningsgrupper og derfor er mere veludbygget end software til analyse af data fra Ramanmetoden.

Det er i praksis ikke muligt med IR-spektroskopi at måle mikrogummi, idet dette materiale absorberer lys så kraftigt, at der ikke opnås noget brugbart signal under målingen. Her har Ramanspektroskopi den fordel, at der opnås et tydeligt signal fra carbon black, et fyldstof, som udgør 30-40 % af dæk, og som med mere avanceret analyse kan benyttes som markør for dækgummi. Dette aspekt af Ramananalysen er udviklet på Teknologisk Institut [Rebsdorf et al., 2020a] og endnu ikke anvendt andre steder til analyse af mikrogummi. Potentialet i at kunne bruge Ramananalyse til samtidig analyse af både almindelige plasttyper og bildækgummi er dog stort, idet man i så fald kan benytte det samme udstyr og den samme prøve til at kvantificere mikroplast inklusive mikrogummi. Alternativet er at bruge de to andre teknikker efter hinanden, nemlig, py-GC-MS for bildækgummi (samt ca. 10 andre polymerer) i kombination med enten IR- eller Ramanspektroskopi for at opnå tilsvarende information.

Slutteligt har py-GC-MS den fordel, at metoden generelt er anerkendt som 1) værende state-of-the-art indenfor analyse af bildækgummi, 2) teoretisk set er mere præcis og 3) giver information om den samlede masse af mikroplast og -gummi til stede i en prøve. Dette skyldes, at signalet fra py-GC-MS (i princippet) måler massen af de polymerer, der er til stede i prøven, mens begge de spektroskopiske metoder estimerer massen indirekte. En ulempe ved py-GC-MS er til gengæld, at den ikke måler hverken antal, størrelse eller form af partiklerne, en information der er væsentlig ved vurdering af toksikologiske påvirkninger på dyr og mennesker.

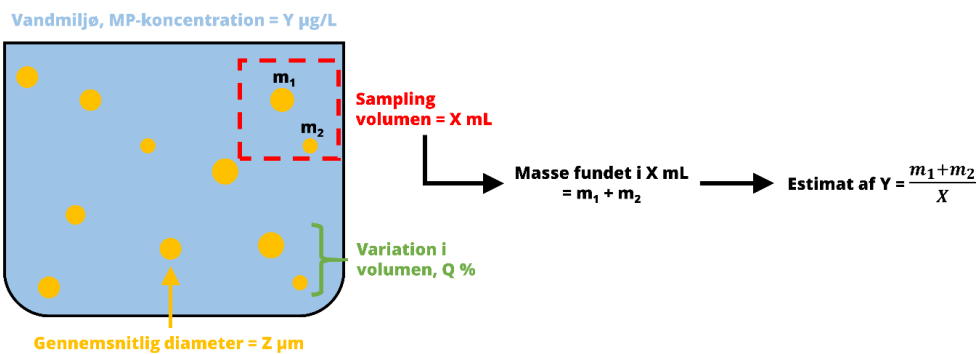
Prøvetagningens effekt på målt mikroplastkoncentration

Undervejs i dette projekt blev der benyttet et simuleringsværktøj udviklet af Teknologisk Institut [Rebsdorf, 2020c] til at estimere den gennemsnitlige fejl i målingen af mikroplastkoncentration på forskellige prøver. Generelt gælder det for alle typer måling af mikroplast, at usikkerheden i den målte koncentration er kraftigt afhængig af, hvor store partikler der måles på, hvor ensartede partiklerne er, hvor høj den sande koncentration er, og hvor stort et prøvevolumen der indsamles. Simuleringsværktøjet benyttes til at estimere den nødvendige prøvevolumen, men er afhængig af ovenstående faktorer, hvor de sande værdier først kendes efter analysen. Derfor anvendes forventede værdier i simuleringsanalysen.

Et lille antal faktiske partikler samt partikler med stor masse har den største negative effekt på usikkerheden for det endelige resultat for hver prøve og kræver derfor et stort

prøvevolumen for at nedsætte usikkerheden i forbindelse med prøveudtagningen. Modsat har et højt antal faktiske partikler samt partikler med lille masse den største positive effekt på usikkerheden for det endelige resultat for hver prøve, hvorved et mindre volumen kan anvendes i prøveudtagningen.

Årsagen til, at fejlmarginen afhænger af disse faktorer, kan forstås, hvis man beregner, hvor mange partikler der vil være til stede i en prøve på 100 mL udtaget fra et miljø, hvor koncentrationen er 100 µg/L med partikler, der har en gennemsnitlig diameter på 100 µm med en variation i partikelvolumenet på 10 %. Dette er vist skematisk i Figur 5.1. I et sådant miljø vil der i gennemsnit være 191 partikler til stede per liter, og prøven vil derfor kun indeholde 19 partikler. Én eller to partikler fra eller til vil derfor have meget stor betydning for den samlede masse af mikroplast i prøven og vil derved også påvirke den beregnede mikroplastkoncentration. Konsekvensen er, at et prøvetagningsvolumen på 100 mL vil lede til en gennemsnitlig fejl i den målte koncentration på >50 %.



Figur 5.1: Effekten af prøvetagningen tager udgangspunkt i en række input i form af et ønsket prøvevolumen, X (mL), en sand mikroplastkoncentration, Y (µg/L), en gennemsnitlig partikelstørrelse, Z (µm) med en bestemt standardafvigelse af denne størrelse, Q (%). Det kan simuleres for en given prøve, hvorved der findes et antal partikler, hvis masser lægges sammen. Herefter udregnes et estimat for mikroplastkoncentrationen, Y , ved at dele den samlede masse med prøvevolumen.

Simuleringerne er i videst muligt omfang forsøgt brugt proaktivt til at informere om, hvor store prøver der skulle indsamles for at opnå valide resultater, ud fra de bedste bud på, hvilke koncentrationer og partikelstørrelser der ville være til stede i de undersøgte regnvandsbassiner. Simuleringerne er ligeledes benyttet retrospektivt, primært til at estimere pålideligheden af de estimerede koncentrationer ved de partikelstørrelser og koncentrationer, der rent faktisk blev observeret i prøverne. Idet simuleringerne bygger på idealiserede antagelser (en log-normal størrelsesfordeling og perfekte målemetoder), der ikke er opfyldt i praksis, skal den estimerede usikkerhed fra simuleringen betragtes som en *nedre* grænse for usikkerheden for den pågældende prøve.

5.3.2 Analyseresultater af mikroplast i referenceprøve

For at undersøge genfindingsgraden af mikroplast med de analysemetoder, som benyttes i projektet, blev der fremstillet veldefinerede referenceprøver med et kendt indhold af tre plasttyper fra Aage Vestergaard Larsen og to fra eksterne leverandører. Prøverne blev efterfølgende karakteriseret med hhv. Ramanspektroskopi og FTIR-spektroskopi efter de beskrevne metoder. Undersøgelsen foregik ved at opblande nøje afmålte mængder mikroplastpartikler i et stort volumen 50/50 vægt-% demineraliseret vand/ethanol, udtage en delprøve til yderligere fortynding (for at simulere en prøvetagning) og lade denne delprøve undergå måling. Det er tidligere lykkedes Teknologisk Institut at fremstille en referenceprøve på 300 mg/L med en genfindingsgrad på 102 % [Rebsdorf 2020c]. I dette projekt er

det forsøgt at skabe en referenceprøve i størrelsesordenen omkring 1.000 µg/L, for at se om samme genfinding kan genskabes ved en 100 gange lavere koncentration. At fremstille en referenceprøve er kompliceret, og der er derfor inden for projektets rammer fremstillet en referenceprøve, velvidende at en hvilken som helst prøvetagning af partikler i emulsion er behæftet med væsentlig (men ukendt) usikkerhed, idet partikler har en tendens til ikke at være homogent fordelt i et prøvevolumen selv efter grundig blanding, og at denne usikkerhed bliver større, jo lavere koncentrationen bliver.

Udgangspunktet for forsøget var at fremstille en standardopløsning med nøje afmålte mængder af tilsat mikroplast. Der blev benyttet fem typer partikler af hhv. polyamid (PA, diameter D[4,3]: 124 µm), polyethylen (PE, diameter D[4,3]: 104 µm), polyester (PET, diameter D[4,3]: 66 µm), polypropylen (PP, diameter D[4,3]: 105 µm) og polystyren (PS, diameter D[4,3]: 117 µm). Størrelsesfordelingen af partiklerne fra Aage Vestergaard Larsen blev karakteriseret vha. mikroskopisk morfologibestemmelse (se APPENDIX 4) og kan ses i Tabel 5.1. Til opløsningen blev der benyttet 51,93 mL 50/50 vægt-% demineraliseret vand/ethanol sammen med 49,4 mg PA, 50,0 mg PE, 49,8 mg PET, 50,2 mg PP og 18,8 mg PS. Fra denne opløsning blev der under kraftig omrøring udtaget 0,9701 mL, som blev fortyndet til et totalt volumen på 2.186 mL for at opnå en total koncentration på 1.865 µg/L. Der blev brugt 67,5 mL prøve til Ramanmålingen og 185 mL prøve til IR-målingen. Under den simplificerende antagelse, at partiklerne fordeles jævnt i væsken, og der ikke tabes partikler under overførsel, burde den færdige prøve således indeholde 922 µg PA, 934 µg PE, 930 µg PET, 938 µg PP og 351 µg PS med teoretiske koncentrationer som vist i Tabel 5.2 og Tabel 5.3.

	MASSE (mg)	KONCENTRATION AF REFERENCE (µg/L)	STØRRELSE FRA MORFOLOGI-BESTEMMELSE D[4,3] ³ (µm)
PA	49,4	422	124
PE	50	427	104
PET	49,8	426	66
PP	50,2	429	105
PS	18,8	161	117
TOTAL	218,2	1865	-
VOLUMEN (mL)	51,93	2186	-

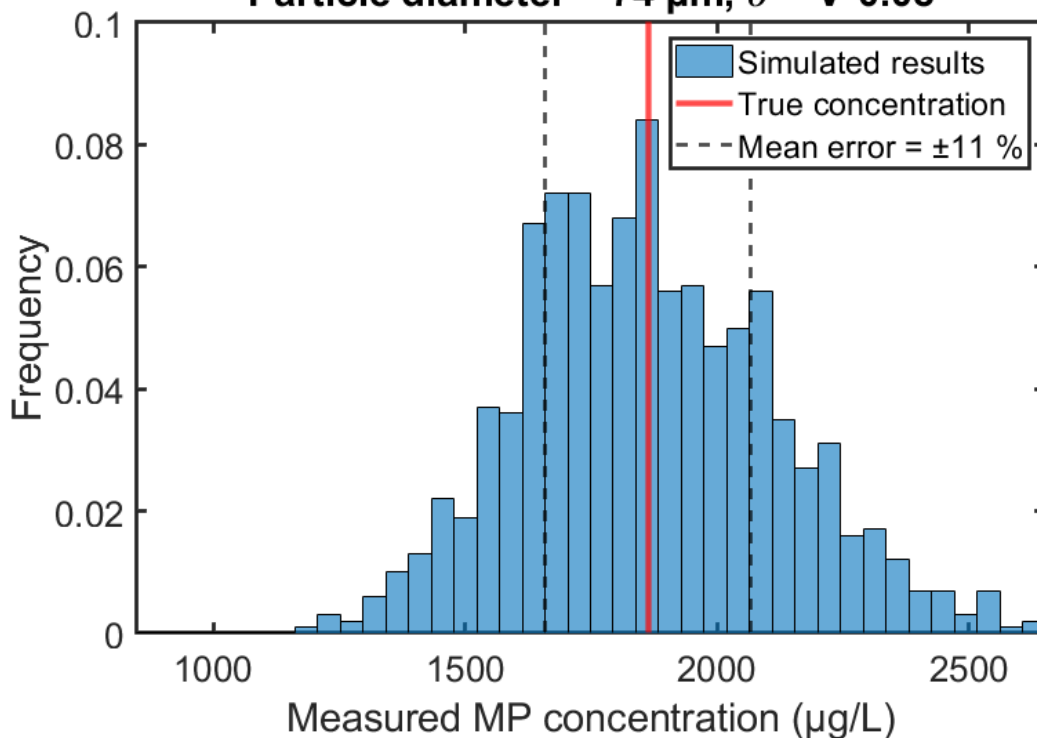
Tabel 5.1: Masser for hver plasttype brugt til referenceprøven og den teoretiske koncentration herfor. D[4,3] er anvendt som beregningsmetode hvor den gennemsnitlige partikelstørrelse.³

For Ramanmålingen på referenceprøven blev der foretaget en simulering af den gennemsnitlige fejl af både den samlede mikroplastkoncentration og for de individuelle plasttyper, baseret på den observerede, gennemsnitlige partikelestørrelse (for den fulde prøve) eller de målte størrelsesfordelinger (de individuelle plasttyper), de tilsatte mængder og det samlede prøvevolumen. Da Ramanmålingen kun måler på 36,6 % af det fulde areal, som prøven er spredt over, var den effektive prøvevolumen 24,7 mL. Resultatet af simuleringen er vist i Figur 5.2, hvoraf det fremgår, at der forventes en fejl på koncentrationen (og dermed genfindingsgraden) i den samlede prøve på omkring 11 %. Set i forhold til den teoretiske koncentration svarer dette til en usikkerhed på ± 205 µg/L. For de individuelle plasttyper er den forventede fejl fra den udførte prøveudtagning markant større som konsekvens af

³D[4,3] er middelværdien af en partikelstørrelsesfordeling vægtet med volumenet (også kaldet volumenvægtet middeldiameter, volumenmomentmiddeldiameter eller volumenvægtet middelstørrelse).

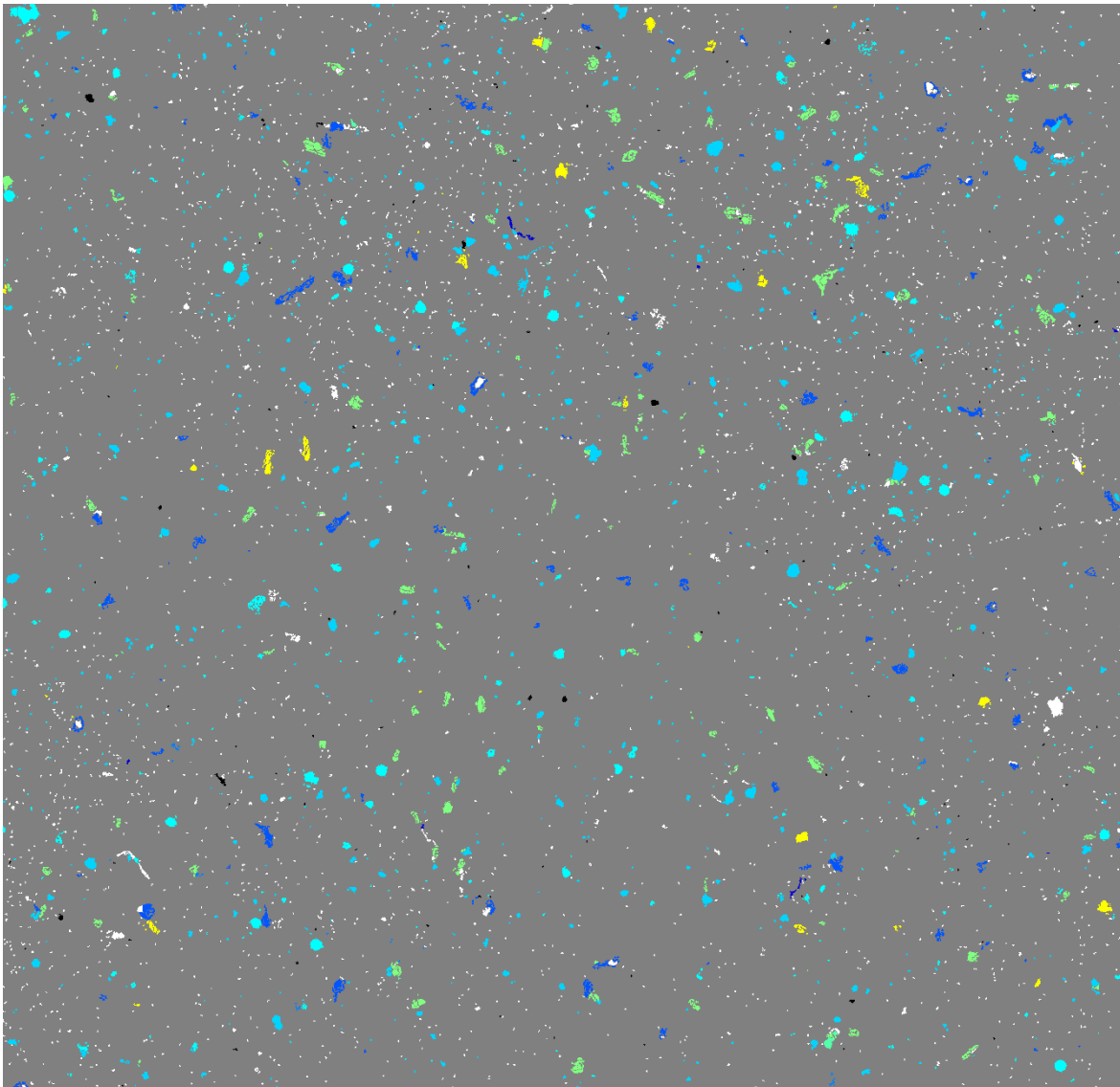
plasttypernes lavere koncentrationer. Dette betyder i praksis, at det antageligt kun kan forventes at bestemme koncentrationerne af de individuelle plasttyper inden for ca. en størrelsesorden.

True concentration = 1865 $\mu\text{g/L}$. 1000 x 0.0247 L samples.
Particle diameter = 74 μm , $\sigma = V \cdot 0.08$



Figur 5.2: Histogram over den koncentration, der observeres ved perfekt måling af 1.000 prøvetagninger af 24,7 mL fra en opløsning af 74 μm partikler, hvor den samlede koncentration er 1.865 $\mu\text{g/L}$.

I Figur 5.3 vises et oversigtsbillede over det målte område i den veldefinerede, fremstillede prøve, hvor alle 5.907 partikler større end 15 μm er markeret på en grå baggrund. For 2.170 af disse er der fundet et match i materialedatabasen med Ramanspektre (gul/blå/grøn/turkis/mørkeblå). For 112 af partiklerne blev der observeret et Ramansignal, som ikke har matchet nogen af referencerne (sorte partikler). Ved manuel inspektion af disse spektre vurderes det, at de fleste af disse signaler skyldes forstyrrelser i målingen fra kosmisk stråling, som får spektret til at ligne et spektrum fra plast. De resterende partikler (hvid) har ikke givet anledning til et signifikant Ramansignal.



Figur 5.3: Oversigtsbillede af det målte område på filteret (1 x 1 cm) fra mikroplastmålingen på referenceprøven. Partiklerne vises på en grå baggrund med forskellige farvekoder: Hvid = når de klassificeres som ikke-plast; sort = tydeligt Ramansignal, der ikke matcher nogen af referenceplasttyperne (typisk kosmisk stråling); blå = PA; turkis = PE; lyseblå = PET; lysegrøn = PP; gul = PS; mørkeblå = cellulose.

Der er fundet 2.170 plastpartikler, hvilket er beregnet til ca. 99 µg mikroplast i det viste område på filteret fordelt på de fem tilsatte plasttyper som vist i Tabel 5.2 og antal i Tabel 5.3. I tillæg hertil er der identificeret 19 partikler af cellulose. Det antages, at cellulosen er kontaminering fra luften i laboratoriet. Der blev ikke observeret uvedkommende partikler af nogen andre plasttyper (se Appendix 2 for fuld liste over referenceplasttyper, der undersøges for). Det målte område er på 1,04 cm², og med et samlet filterareal på 2,85 cm² opnås et estimat for den samlede koncentration på 1.826 µg/L. Dette svarer til en genfindingsgrad på 98 %, hvilket ligger inden for den forventede usikkerhed forbundet med den faktiske prøveudtagning.

	Antal fundne partikler	Estimeret masse, målt område (µg)	Størrelse fra Raman D[4,3] (µm)	Størrelse fra morfologibestemmelse D[4,3] (µm)	Estimeret konc. Raman (µg/L)	Teoretisk konc. (µg/L)	Genfindingsgrad (%)	Usikkerhed fra prøveudtagning (%)
Total	2.170	98,7	74	-	1.826	1.865	98 %	11 %
PA	404	15,6	58	124	288	422	68 %	35 %
PE	455	21,6	86	104	401	427	94 %	18 %
PET	719	41,8	80	66	774	426	182 %	36 %
PP	494	14,0	56	105	260	429	61 %	25 %
PS	98	5,60	74	117	104	161	65 %	57 %

Tabel 5.2: Karakterisering og massebestemmelse af indholdet af mikroplast i referenceprøve med Ramananalyse. Der blev målt på 36,6 % af det fulde areal af filteret, svarende til et effektivt prøvolumen på 24,7 mL.

For Ramananalysen er der fundet en genfindingsgrad på 98 % af den totale mængde mikroplast og mellem 61 – 181 % af de individuelle plasttyper for den fremstillede referenceprøve. Det bemærkes desuden, at der ikke observeres signifikant kontaminering under prøvehåndteringen af referencen, da der generelt ikke er fundet andre typer af plastpartikler end de tilsatte. Det blev dog observeret under prøveudtagning, at noget af plasten lagde sig på siderne af glasset. Dette forekommer mindre hyppigt i naturlige vandprøver fra felten, hvor mikroplastpartiklerne har en anden overflade, end tilfældet er for referenceprøven, da partiklerne naturligt er blevet slebet af miljøet og har undergået kemiske ændringer af overfladerne.

Plasttype	Teoretisk koncentration (µg/L)	Est. konc., FTIR (µg/L)	Usikkerhed fra prøveudtagning, FTIR (µg/L) ((%))	Est. konc., Raman (µg/L)	Usikkerhed fra prøveudtagning, Raman (µg/L) ((%))
Total	1.865	589	± 29 (5 %)	1.826	± 205 (11 %)
PA	422	504	± 56 (11 %)	288	± 148 (51 %)
PE	427	23	± 6 (28 %)	401	± 77 (19 %)
PET	426	20	± 11 (55 %)	774	± 153 (20 %)
PP	429	0	-	260	± 107 (41 %)
PS	161	41	± 11 (28 %)	104	± 92 (88 %)
PMMA, PEMA, PS-PIS-PS, PTFE, PC, PPSU, PVC	0	1		0	

Tabel 5.3: Resultaterne for referenceprøven med mikroplast opnået ved målinger med Raman og FTIR. For FTIR er D[4,3] diameteren fra morfologibestemmelsen brugt som diameteren i prøveudtagningssimuleringerne.

Det ses af Tabel 5.3, at den totale koncentration målt med Ramanspektroskopi er i samme størrelsesorden som den teoretiske koncentration (2 % i forskel mellem den estimerede koncentration og den teoretiske koncentration). Den formodede årsag til, at der ses større variation for de individuelle plasttyper, er, at selvom Ramananalysen har en vis - ofte stor - usikkerhed, så vil usikkerhederne tendere til at være systematiske. Beregning af den overordnede totale mængde på baggrund af samme analysemetode vil derfor være behæftet med væsentligt mindre usikkerhed end de absolutte tal, idet usikkerhederne vil tendere til at udligne hinanden.

Der er i et tidligere MUDP-projekt [Rebsdorf, 2020c] fundet genfindingsgrader på 70 - 110 % for PE/PET/PMMA ved koncentrationer omkring 300 mg/L for Ramananalyserne og med

en samlet genfindingsgrad på 102 %. Referenceprøven i dette projekt har i teorien en koncentration, der er en faktor 100 lavere (ca. 2 mg/L) og med genfindingsgrader mellem 61 og 182 % på individuelle plasttyper og 98 % for den totale mængde mikroplast.

For FTIR-resultaterne ses det, at den totale koncentration er ca. fire gange så lav som den teoretiske koncentration og derfor ligeledes ligger inden for en størrelsesorden af den teoretiske koncentration. For de enkelte plasttyper ses det, at det kun er PA som måles inden for usikkerheden for den teoretiske koncentration. For de øvrige plasttyper ses det, at koncentrationerne er væsentligt undervurderet ved FTIR. Dette kan skyldes de samme affinitetsproblemer, som blev observeret under prøveudtagningen til Ramananalysen eller problemer med homogen neddeling af standardprøven, men også at referenceplasttyperne generelt er tykke og kugleformede. Ved partikler over cirka 100 - 200 µm i tykkelse bliver det meste IR-lys absorberet i prøven, og partiklerne bliver 'usynlige', eller får 'forvrængede' spektre. Kugleformede partikler giver ligeledes problemer, idet IR-lyset reflekteres internt i partiklen. Tykke, kugleformede mikroplastpartikler er dog ikke særligt almindelige i feltprøver.

5.3.3 On-site opsamling af mikroplast i regnvandsbassiner

Dette afsnit beskriver kort, hvilke regnvandsbassiner der er udvalgt, samt metoden til udtagelse af hhv. sediment og vandprøver fra de udvalgte bassiner.

Beskrivelse af udvalgte regnvandsbassiner

I projektet er nedenstående fire regnvandsbassiner udvalgt for undersøgelse af forekomst af mikroplast og mikrogummi. En detaljeret beskrivelse af bassinerne er givet i Appendix 1.

- 1. Regnvandsbassin ved Hedensted Spildevand**
Bassin: Helge Nielsens Allé 9, Løsning, ID: RBLØ1.
- 2. Regnvandsbassin ved Lemvig Vand**
Bassin: Gefionsvej 5, Lemvig. ID: A1GDR6
- 3. Regnvandsbassin ved Mariagerfjord Vand**
Bassin: Himmel Kol, ID: MA9130R.
- 4. Regnvandsbassin i Odense ved VandCenter Syd**
Bassin: Hvidkærmosen, Holkebjergvej 1, Odense.

Metodebeskrivelse for udtagning af sedimentprøver

Sedimentprøver blev udtaget fra regnvandsbassinerne med prøvetagningsrør. Prøver fra flere steder i bassinerne blev blandet og derpå analyseret som én prøve. Alt prøvetagningsudstyr var grundigt rengjort, så der ikke skete kontaminering under prøvetagningen. De specifikke værdier kan ses i Tabel 9.1 og Tabel 9.4, og varierende lagtykkelser på 7–23 cm med en vægt på 60–100 g blev udtaget. En videre beskrivelse af metoden findes i [Olesen, 2019].

Metodebeskrivelse for udtagning af vandprøver

Vandfasen blev prøvetaget med Aalborg Universitets UFO-system, der filtrerer vand på 10 µm filtre i rustfrit stål. For hver prøve blev der filtreret omkring 1 m³ vand. Der blev taget 3 prøver per lokalitet. Materialet fra filtrene blev blandet og analyseret som én prøve. En videre beskrivelse findes i [Rist et al., 2020].

Forberedelse af prøver til måling

For at mikroplastpartiklerne kan analyseres, skal de være rene. Dvs. at organisk materiale på overfladen af partiklerne skal fjernes. Prøverne blev kemisk oprenset som beskrevet i [Liu et al., 2019a og 2019b].

5.3.4 Analyseresultater for mikroplast og -gummi i regnvandsbassiner

For et givent regnvandsbassin kan tilbageholdelsesgraden for mikroplast, herunder -gummi, bestemmes. Dette gøres ved at bestemme flow af regnvand til bassinet over bassinets levetid, mængden af sediment akkumuleret i bassinet i samme periode, mængden af mikroplast og -gummi i sedimentet og mikroplast og -gummi i vandudløbet. Sidstnævnte er målt ved at udtage vandprøver under tørvejr (tidligst to døgn efter en nedbørshændelse) og herefter antage, at det er dette vand, der presses ud af bassinet under regn. Vandprøverne blev udtaget af forsyningerne med udstyr fra AAU og under vejledning af AAU. Vandføring til bassinet er beregnet af AAU på basis af oplandsanalyser og flowmålinger udført af forsyningerne. Sediment er udtaget af AAU og sedimentmængder beregnet af AAU. Al prøveforberedelse og oprensning er udført af AAU. Herpå har AAU analyseret en delprøve af oprensede prøver med FTIR og py-GC-MS og sendt en anden delprøve til Teknologisk Institut, hvor de er analyseret med Ramanspektroskopi. Flow og sedimentmængder er beregnet af AAU og fremgår af Tabel 9.1.

Sammenlignende vurdering af resultater

I Tabel 5.4 og Tabel 5.5 ses hhv. koncentrationen af mikrogummi og -plast for vand- og sedimentprøverne for alle fire bassiner. Koncentrationen for begge teknikker er i samme størrelsesorden med enkelte koncentrationer, som er markant forskellige. Målingerne med FTIR for plast er foretaget i triplikat, da disse er tidsmæssigt hurtige at udføre, mens Ram-anmålingen og py-GC-MS for gummi kun er udført én gang per prøve. Derfor kan estimaterne for koncentrationen af mikrogummi lettere influeres af inhomogenitet i prøven/prøveudtagning.

Prøve - mikrogummi	Estimeret koncentration, py-GC-MS	Usikkerhed fra prøveudtagning, py-GC-MS (%)	Estimeret koncentration, Raman	Usikkerhed fra prøveudtagning, Raman (%)
Hedensted effluent [$\mu\text{g/L}$]	0	2 %	1	4 %
Hedensted sediment [$\mu\text{g/g}$]	2800	2 %	600	2 %
Lemvig effluent [$\mu\text{g/L}$]	0	6 %	0	8 %
Lemvig SP sediment [$\mu\text{g/g}$]	121	13 %	1	16 %
Lemvig WP sediment [$\mu\text{g/g}$]	190	7 %	70	65 %
Odense effluent [$\mu\text{g/L}$]	0	75 %	51	34 %
Odense sediment [$\mu\text{g/g}$]	177	3 %	101	4 %
Mariager effluent [$\mu\text{g/L}$]	193	11 %	11	13 %
Mariager sediment [$\mu\text{g/g}$]	7587	7 %	7028	3 %

Tabel 5.4: Sammenligning af koncentrationen af mikrogummi i hhv. vandprøver og sedimentprøver for de fire forsyningselskaber.

Når den estimerede usikkerhed af analyserne for mikroplast tages i betragtning statistisk, giver parvise T-tests ikke anledning til at antage, at FTIR- og Raman måler signifikant forskellige koncentrationer på andre prøver end effluentprøven fra Mariager. De to teknikker giver altså enslydende resultater for otte ud af ni prøver, hvilket tolkes som indikation på, at de to metoder håndterer denne type prøve på samme niveau. Metodernes resultater er som absolutte værdier behæftet med usikkerheder, som det er vigtigt at forholde sig til. Disse usikkerheder stammer fra den fysiske prøveudtagning i felten og fra prøvevolumen, koncentrationer og partikelstørrelsesfordelingen. Når man forholder sig til disse usikkerheder, kan målingerne bruges til angivelse af relative størrelsesordner af mængden af mikroplast til intern sammenligning.

Prøve - mikroplast	Estimeret koncentration, FTIR	Usikkerhed fra prøveudtagning, FTIR	Estimeret koncentration, Raman	Usikkerhed fra prøveudtagning, Raman
Hedensted effluent [$\mu\text{g/L}$]	3,1 \pm 2,5	4 %	1	7 %
Hedensted sediment [$\mu\text{g/g}$]	92 \pm 32	4 %	84	4 %
Lemvig effluent [$\mu\text{g/L}$]	1,5 \pm 0,5	6 %	2	6 %
Lemvig SP sediment [$\mu\text{g/g}$]	12 \pm 13	24 %	3	55 %
Lemvig WP sediment [$\mu\text{g/g}$]	33 \pm 3	6 %	20	82 %
Odense effluent [$\mu\text{g/L}$]	0,2 \pm 0,2	6 %	0,2	17 %
Odense sediment [$\mu\text{g/g}$]	5,3 \pm 2,4	76 %	29	48 %
Mariager effluent [$\mu\text{g/L}$]	418 \pm 69	3 %	94	6 %
Mariager sediment [$\mu\text{g/g}$]	18.200 \pm 4381	7 %	10.092	4 %

Tabel 5.5: Sammenligning af koncentrationen af mikroplast i prøver fra hhv. effluent og sediment for de fire forsyningselskaber. For FTIR-resultaterne er anført estimeret standardafvigelse baseret på variationen over de tre udførte målinger på hver prøve.

Resultater af analyser for mikroplast og -gummi

Renseeffekten for de fire regnvandsbassiner samt det akkumulerede indhold af mikroplast i kg over bassinets levetid for sedimentfasen (ind) og vandfasen (ud) er vist i Tabel 5.6. Renseeffekten er beregnet som 100 % minus den akkumulerede udledning delt med den samlede masse udledt og tilbageholdt. Resultaterne for de forskellige metoder er listet sammen for at forenkle sammenligningen. Resultaterne viser, at forureningen fra mikro-gummi generelt er større end forureningen fra alle øvrige typer mikroplast i de våde regnvandsbassiner.

Overordnet set er renseseffekten høj for alle bassiner for både mikroplast og -gummi, selv med meget store forskelle i den akkumulerede mængde i sedimenterne. For bassinet i Lemvig resulterer lave, absolutte mængder af mikroplast i større usikkerhed af estimatet for renseseffekt, men der er i udgangspunktet ingen grund til at tro, at dette bassin skulle rense dårligere end de øvrige. Det skal endvidere bemærkes, at selvom alle de anvendte analysemetoder har en vis usikkerhed, så vil usikkerhederne tendere til at være systematiske. Beregning af fjernelsesgrader på baggrund af samme analysemetode vil derfor være behæftet med væsentligt mindre usikkerhed end de absolutte tal, idet usikkerhederne vil tendere til at udligne hinanden. Dette betyder, at når analyserne fx finder markant mere mikroplast akkumuleret i bassinet i Mariager end i Hedensted, så er den relative forskel mellem de to lokationer mere pålidelig end det absolutte tal for de konkrete masser. Desuden bør det nævnes, at regnvandsbassinet ved Mariager er det mindste og det ældste, hvorfor der også forventeligt findes mest mikroplast her.

De angivne mængder af mikroplast og -gummi i tabellen er beregnet på baggrund af den målte koncentration i Tabel 9.2, Tabel 9.3 og Tabel 9.4 samt det akkumulerede vandflow og sedimentvolumen i det enkelte bassin. For FTIR-resultaterne er den estimerede standardafvigelse fra Tabel 5.5 videreført til estimerterne for de akkumulerede masser. På tilsvarende vis er der for FTIR-resultaterne beregnet et spænd af renseseffekter ved at trække usikkerheden fra den samlede udledning og lægge usikkerheden til den samlede tilbageholdelse (giver den højest estimerede rensegrad) og omvendt (giver den lavest estimerede rensegrad). For Ramanresultaterne repræsenterer den angivne usikkerhed udelukkende den usikkerhed, der skyldes prøveudtagningen, og denne bør betragtes som en nedre grænse for den virkelige (ukendte) usikkerhed. Spændet af rensegrader for Raman-resultaterne er beregnet på samme vis som for FTIR-resultaterne.

	Metode	Hedensted	Lemvig SP	Lemvig WP	Odense	Mariager
Mikroplast						
Ind (akkum.) [kg]	Raman	22 ± 1	0,02 ± 0,01	0,22 ± 0,18	5,0 ± 2,4	963 ± 39
	FTIR	24 ± 8	0,08 ± 0,08	0,36 ± 0,03	0,91 ± 0,41	1737 ± 418
Ud (akkum.) [kg]	Raman	0,50 ± 0,04	0,11 ± 0,01		0,22 ± 0,04	59 ± 4
	FTIR	1,18 ± 0,96	0,08 ± 0,03		0,17 ± 0,15	260 ± 42
Renseeffekt [%]	Raman	97 - 98	25 - 79		91 - 98	94 - 95
	FTIR	88 - 99	76 - 88		60 - 98	81 - 91
Mikrogummi						
Ind (akkum.) [kg]	Raman	157 ± 3	0,008 ± 0,001	0,77 ± 0,50	17,5 ± 0,7	671 ± 20
	Py-GC-MS	733 ± 15	0,8 ± 0,1	2,1 ± 0,1	30,5 ± 0,9	724 ± 51
Ud (akkum.) [kg]	Raman	0,43 ± 0,02	0,020 ± 0,002		39 ± 13	6,7 ± 0,9
	Py-GC-MS	0	0		0	120 ± 13
Renseeffekt [%]	Raman	100	92 - 99		24 - 42	99
	Py-GC-MS	100	100		100	83 - 88

Tabel 5.6: Resultaterne for mikroplast og -gummi opnået ved målinger med Raman, FTIR og py-GC-MS. Bassinet ved Lemvig er inddelt i to enheder, hvor vandet først ledes igennem det ene bassin (SP) og derefter igennem det næste (WP). For FTIR-resultaterne er usikkerheden videreført fra Tabel 5.5, mens den for Raman- og py-GC-MS-resultaterne udelukkende repræsenterer den minimumusikkerhed, der skyldes prøveudtagning.

5.3.5 Vurdering af renseeffekt afhængig af rensemetode for afstrømet regnvand

I nærværende projekt er effekten af regnvandsbassiner med hensyn til at tilbageholde mikroplast, herunder gummi fra bildæk, undersøgt. Den estimerede renseeffekt lå generelt højt med de fleste værdier i omegnen af 75 - 100 %. Dette stemmer fint overens med et tidligere publiceret resultat på regnvandsbassiner – et bassin i Viborg – hvor Olsen et al. (2019) estimerede en tilbageholdelse på 85 % for mikroplast eksklusive gummi.

Den totale akkumulerede mængde mikroplast, herunder mikrogummi, er adskillige størrelsesordener større i bassinerne i Mariager og Hedensted end i Lemvig og Odense. Belastningen i Mariager er stort set lige stor for mikroplast og mikrogummi, mens den i Hedensted næsten udelukkende udgøres af mikrogummi.

Der findes endnu ikke publicerede resultater på studier, der adresserer andre renseteknologier. Der pågår dog to undersøgelser på Aalborg Universitet: et, der undersøger filtre til efterpolering af vand fra regnvandsbassiner, og et, der undersøger permeable belægnings. Begge studier indikerer, at filtre er i stand til yderligere at rense vandet, dog afhængigt af filtermaterialernes sammensætning og egenskaber.

5.4 Konklusion

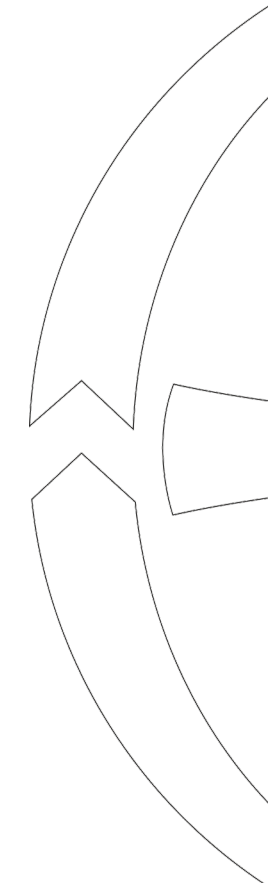
De udførte målinger på den veldefinerede, fremstillede referenceprøve med mikroplast demonstrerede, at absolutte værdier af mikroplastkoncentrationer generelt ikke kan tages for pålydende med en større nøjagtighed end ca. en størrelsesorden (forstået som en faktor 10). Årsagerne til dette er mange og komplekse (se fx Rebsdorf et al., 2020a for en dybere teknisk gennemgang), men tæller bl.a. at veldefinerede, kendte partikler ofte er næsten kuglerunde og særdeles hydrofobe, hvilket besværliggør måling med FTIR og basalt set umuliggør repræsentativ homogen prøveudtagning fra en fortyndingsrække. Den erfaring, at neddeling af prøver ved fortynding er behæftet med en ukendt usikkerhed, er også gjort i en række internationale studier (udført parallelt med nærværende projekt), hvor andre forskningsgrupper har forsøgt at fremstille troværdigt referencemateriale.

Ikke desto mindre, demonstrerer målingerne på de virkelige prøver en klar (og forventet) intern konsistens, når det kommer til *relativ* sammenligning af koncentrationer. Årsagen hertil er, at selvom alle de anvendte analysemetoder har en vis - ofte stor - usikkerhed, så vil usikkerhederne tendere til at være systematiske. Beregning af fjernelsesgrader på baggrund af samme analysemetode vil derfor være behæftet med væsentligt mindre usikkerhed end de absolutte tal, idet usikkerhederne vil tendere til at udligne hinanden. Rensegraderne for de våde regnvandsbassiner undersøgt i dette projekt overlapper således også for alle tre karakteriseringsmetoder.

Ud fra målingerne af mikroplast og -gummi ses det, at rensegraden er høj for alle bassinerne, selv med meget store forskelle i den akkumulerede mængde mikroplast og -gummi i sedimenterne. Selvom de fremkomne tal ikke kan tages som den absolutte sandhed når

det kommer til det absolutte indhold af mikroplast i prøverne, så tillader metoderne i dag tilfredsstillende evaluering af rensegrader og relative koncentrationer i de forskellige miljøer. Resultaterne demonstrerer endvidere, at regnvandsbassinerne har en miljøbeskyttende funktion og fungerer som kosteffektive værn mod udledning af mikroplast til danske vandmiljøer.

Når det kommer til spørgsmålet om, hvorvidt mikroplastanalyser i dag kan siges at være valide, må det erkendes, at mikroplastanalyser (uafhængig af metode) hverken i dag eller i fremtiden vil kunne forventes at opnå samme nøjagtighed og præcision som analyser for et opløst stof, fx medicinrester. Dertil er kompleksiteten af opgaven for stor. Hertil er repræsentativ prøveudtagning ligeledes kompleks og altafgørende for resultaternes generaliserbarhed. Dette forhindrer dog *ikke* de tre metoder i at være til nytte for vandbranchen, idet man i mange relevante tilfælde kan opnå ganske brugbar information ved konsistente og reproducerbare, relative sammenligninger.



6 Litteraturliste

Liu F, Vianello A, Vollertsen J (2019a): *Retention of microplastics in sediments of urban and highway stormwater retention ponds* Environmental Pollution, 255: 113335; <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113335>

Liu F, Olesen KB, Borregaard AR, Vollertsen J (2019b): *Microplastics in urban and highway stormwater retention ponds* Science of the Total Environment, 671, 992-1000. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.416>

Olesen KB, Stephansen DA, van Alst N, Vollertsen J. (2019): *Microplastics in a Stormwater Pond*. Water.,11(7), 1466. <https://doi.org/10.3390/w11071466>

Rebsdorf, Michelle Lison, et al. (2020a): *Udvikling af teknologi til fjernelse af mikroplast fra regnvandsbetingede udledninger*, MUDP-projekt under Miljøstyrelsen, ISBN: 978-87-7038-252-6.

Rebsdorf, Michelle Lison, et al. (2020b): *Bæredygtig og decentral rensning af vaskerispildevand, herunder fjernelse af mikroplast*, MUDP-projekt under Miljøstyrelsen, ISBN: 978-87-7038-243-4.

Rebsdorf, Michelle Lison, et al. (2020c, endnu ikke publiceret): *Teknologi til fjernelse af de mindste fraktioner af mikroplast og mikrogummi i rensed spildevand*, MUDP-projekt under Miljøstyrelsen.

Rist, Sinja, et al. (2020): *Quantification of plankton-sized microplastics in a productive coastal Arctic marine ecosystem* Environmental Pollution, 266: 115248 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115248>

Olesen, Kristina Borg et al. (2019): *Microplastics in a Stormwater Pond* Water 11(7), 1466 <https://doi.org/10.3390/w11071466>

Belz, Susanne, et al. (2021) *Current status of the quantification of microplastics in water - Results of a JRC/BAM inter-laboratory comparison study on PET in water* ISBN: 978-92-76-40957-1 (online) <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC125383>

EUROqCHARM *EUROpean quality Controlled Harmonization Assuring Reproducible Monitoring and assessment of plastic pollution*, DOI: 10.3030/101003805 <https://cordis.europa.eu/project/id/101003805>

7 Appendix 1: On-site opsamling af mikroplast i regnvandsbassiner

I dette appendix findes der en udvidet beskrivelse af de udvalgte regnvandsbassiner.

7.1 Beskrivelse af udvalgte regnvandsbassiner

I projektet er fire regnvandsbassiner udvalgt for undersøgelse af forekomst af mikroplast og mikrogummi. I det følgende er de enkelte regnvandsbassiner beskrevet.

7.1.1 Regnvandsbassin ved Hedensted Spildevand

Bassin: Helge Nielsens Allé 9, Løsning, ID: RBLØ1.

Bassinet er beliggende tæt på motorvej i et industriområde i Løsning. Bassinet, der er etableret for ca. 15 år siden, fremstår velholdt og er undhegnet med græsarealer på bassinens sider og de omkringliggende jorde. Bassinet afvander udelukkende fra et erhvervsområde, som hovedsageligt har lastbiltrafik. Der er store befæstede arealer med primært asfalt fra veje og parkeringsområder samt udenomsarealer i forbindelse med erhvervsvirksomhederne. Oplandsarealet udgør ca. 220.000 m², og befæstelsesgraden udgør skønsmæssigt ca. 60 % (jf. spildevandsplanen, men ud fra luftfotos er den nærmere 100 %). Overfladearealet af bassinet udgør fyldt ca. 8.000 m² til 10.000 m², og vanddybden er ca. 0,5 meter. Bassinet har været driftet kontinuerligt siden dets etablering og har ikke været oprenset.



Billede 1: Regnvandsbassin ved Hedensted Spildevand, Helge Nielsens Allé 9, Løsning, ID: RBLØ1.

7.1.2 Regnvandsbassin ved Lemvig Forsyning

Bassin: Gefionsvej 5, Lemvig, ID: A1GDR6

Regnvandsbassinet (Billede 2) modtager tag- og vejvand fra et nybygget villakvarter under udbygning. Kvarteret består medio 2020 af 22 villaer og er byggemodnet for yderligere 19 ejendomme. Befæstelsesgraden på de enkelte ejendomme er under 35 %. Bassinet består af et sandfang og et regnvandsbassin med et areal på 420 m². Eventuel mikroplast forventes at hidrøre fra et almindeligt boligkvarter. Desuden er bassinet inddelt i to enheder, hvor vandet først ledes igennem det ene bassin (i nærværende rapport benævnt SP) og derefter igennem det næste (i nærværende rapport benævnt WP).



Billede 2: Foto af regnvandsbassinet på Gefionsvej i Lemvig ved Lemvig Forsyning.

7.1.3 Regnvandsbassin ved Mariagerfjord Vand

Bassin: Himmel Kol, ID MA9130R.

Himmel Kol Regnvandsbassinet (Billede 3), der er etableret i 2002, er beliggende på Randersvej 7c i Mariager. Oplandet er hovedsagligt industrikvarter med relativt tung trafik og erhvervsvirksomheder. Bassinet, der har et areal på ca. 250 m² og et volumen på 200 m³, har tilladelse til at udlede 25 L/s til recipienten Munkholmsøerne.

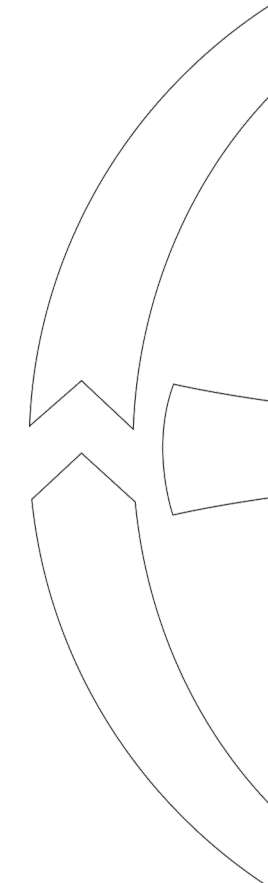


Billede 3: Himmel Kol Regnvandsbassin, ID MA9130R, ved Mariagerfjord Vand.

7.1.4 Regnvandsbassin i Odense ved VandCenter Syd

Bassin: Hvidkærmosen, Holkebjergvej 1, Odense.

Regnvandsbassinet Hvidkærmosen er beliggende ved et industriområde syd for Fynske Motorvej i nærheden af Odense by. Området afvander et ca. 11,4 red. Ha (27,4 ured. Ha), og der er beregnet en gennemsnitlig årlig overfladeafstrømning på ca. 55.500 m³, som ledes gennem en sø og åben kanal videre til Odense Å. Forureningsbelastningen fra oplandet betragtes som høj på grund af forurenende stoffer, der udelukkende stammer fra et industriområde. Vandstanden i bassinet er 1-2 m. I indløbet til bassinet sedimenteres partikler afhængigt af densitet og vandgennemstrømning. Bassinet er forsynet med rodfæstede vandplanter, og ved udløbet er etableret sandfilter samt et fastmediefilter til sorption. Mikroplast forventes at stamme fra industriområdet.



8 Appendix 2: Udvikling af valide målinger af mikroplast og mikrogummi

Første gang der blev målt bildæk gummi i naturen var i slut 80'erne, hvor der blev brugt pyrolyse-GC-FID. Første gang, der blev målt andet mikroplast end bildæk gummi, var i begyndelsen af dette årtusind. Frem til cirka 2015 var der dog kun meget få og meget sporadiske målinger, primært udført i det marine miljø. Efter denne tid begyndte der at komme fokus på måling af især andre plasttyper end gummi, og polymerer blev primært kvantificeret ved FTIR. Raman blev også brugt, men i mindre omfang. Med hensyn til bildæk gummi kom den første 'moderne' detektion omkring 2012, hvor der blev anvendt pyrolyse-GC-MS. I dag er der i praksis tre metoder, der accepteres som brugbar til at måle det meste mikroplast: FTIR og Raman kan måle mikroplast bortset fra bildæk gummi. Begge måler antal af partikler og deres størrelse, og herudfra kan massen estimeres. Pyrolyse-GC-MS kan måle de mest brugte polymertyper og kan måle bildæk gummi. Sidstnævnte er den gængs accepterede metode til måling af bildæk gummi.

Denne fokus på bedre målemetoder har været drevet af en øget bevidsthed om, at der kan spredes og ophobes mikroplast, herunder -gummi, i miljøet, og at det derfor har været relevant at få mere viden om problemstillingen. Metoderne er dog langt fra standardiserede, og hvert laboratorium har sin egen måde at gøre tingene på. På trods heraf har der de senere år været en stor fokus på at udvikle harmoniserede analysemetoder for mikroplast inklusive bildæk gummi, således at det bliver muligt at sammenligne data på tværs af studier. Nærværende projekt udspringer af dette behov og forsøger at bidrage til mere viden om målingerne, deres begrænsninger, og hvordan de kan sammenlignes eller komplementere hinanden. Det vigtigste er at kunne forholde sig til validiteten af de analyser, der udføres, så man dermed også ved, hvordan resultaterne kan tolkes og anvendes uden at drage konklusioner, som ikke er underbygget af datagrundlaget.

Med denne baggrund forklares og sammenlignes i dette kapitel de forskellige metoder, der er anvendt igennem projektet til at foretage analyser af mikroplast inklusive mikrogummi, herunder prøveforberedelsen, som også er afgørende for de resultater, der kommer ud af analysen. Derudover beskrives resultaterne af studier af genfindingsgraden baseret på analyser af referenceprøver.

8.1 Metoder til måling af mikroplast og mikrogummi

I det følgende beskrives på et overordnet niveau de to spektroskopiske målemetoder, efterfulgt af en beskrivelse af metoden baseret på pyrolyse-gaskromatografi-massespektrometri (py-GC-MS), når den anvendes til analyse af mikrogummi. Herefter foretages en sammenligning af eksisterende forskelle, ligheder, styrker og svagheder ved metoderne.

8.1.1 Spektroskopisk analyse af materialer

De to spektroskopiske målemetoder (FTIR- og Ramanspektroskopi) har det til fælles, at de resulterer i information, som kan relateres til de molekylære vibrationer, der er til stede i det materiale, der måles på. De molekylære vibrationer er bestemt af de atomer, der indgår i de kemiske bindinger i materialet og disse bindingers rumlige arrangement, og derfor opnås der med begge metoder groft sagt et kemisk 'fingeraftryk' for materialet.

Det er ikke alle molekylære vibrationer, der observeres i begge de to slags spektroskopiske målinger, men en undergruppe, som er bestemt af en række regler, der har at gøre med symmetrien af vibrationerne. Disse regler er forskellige for FTIR- og Ramanspektroskopi og

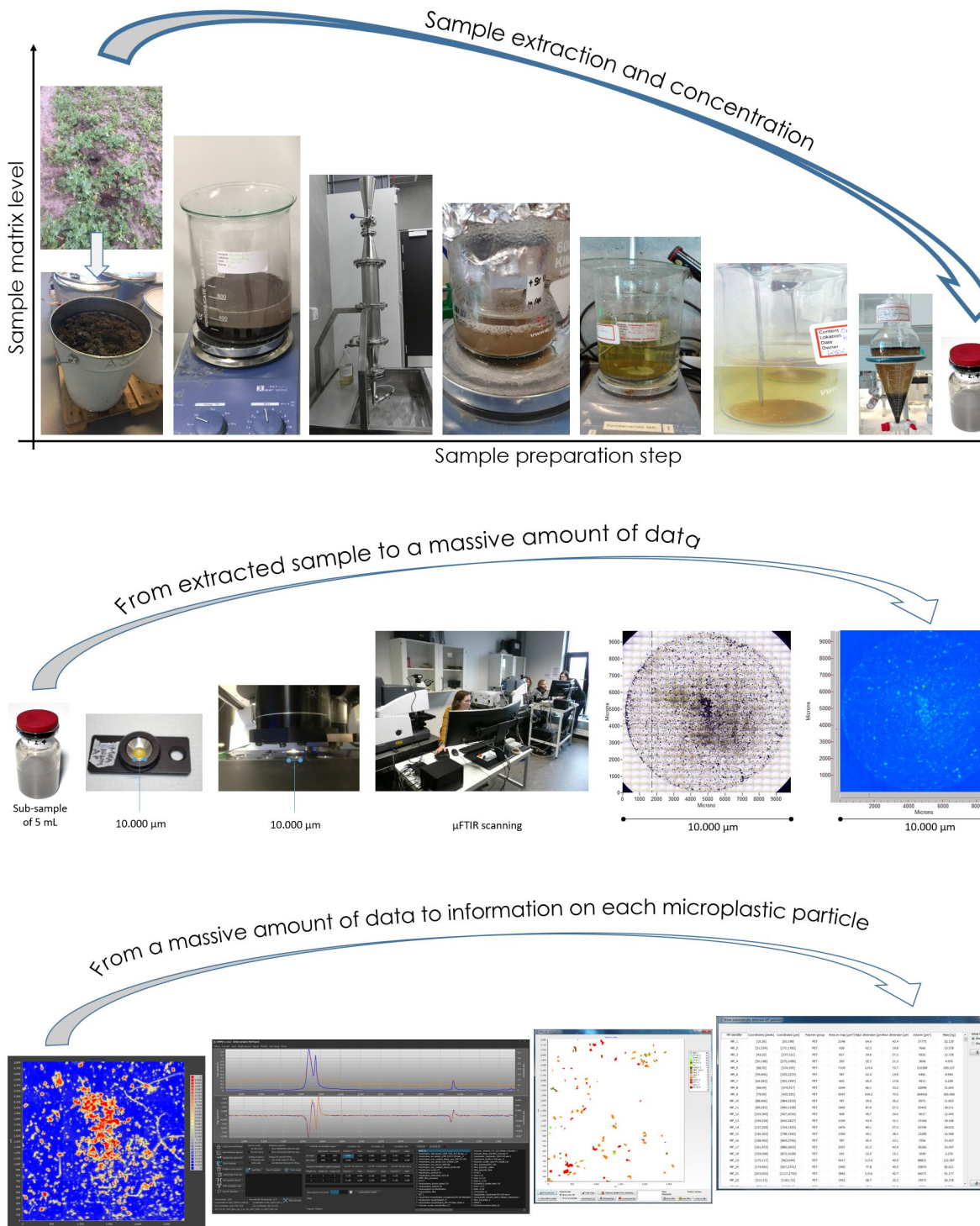
er i et vist omfang komplementære i den forstand, at visse vibrationer, som ikke kan detekteres med FTIR-spektroskopi, i stedet kan detekteres med Ramanspektroskopi og vice versa.

For begge metoder er det et krav, at vandprøver fra regnvandsbassiner skal oprensnes, inden der foretages måling for mikroplast. Under oprensningen fjernes interfererende materiale i videst muligt omfang, samtidig med at mikroplast inklusive -gummi bliver opkoncentreret. Den konkrete oprensningsmetode afhænger af prøvetypen, men omfatter typisk trin med enzymatisk nedbrydning af organisk stof, oxidering/hydrolyse af organisk stof, samt densitetsseparation for at fjerne uorganiske partikler. Resultatet af oprensningerne er et koncentrat af partikler, enten i en ethanolopløsning eller på et filter.

8.1.2 Infrarød spektroskopi (FTIR-spektroskopi)

Med udgangspunkt i en fuldt oprenset og klargjort prøve (partikler suspenderet i en opløsning af 50 % ethanol) er den overordnede procedure for måling af mikroplast med FTIR-spektroskopi som følger:

1. En delprøve af opløsningen deponeres på et IR-gennemsigtigt vindue, afgrænset til et Ø10 mm cirkulært område. I nogle tilfælde bruges også IR-gennemsigtige filtre hertil. Mængden, der kan deponeres, afhænger af, hvor partikelrig opløsningen er, idet partikler ikke må dække hinanden i for høj grad (IR ser igennem partiklerne, så en mindre grad af overlap er uproblematisk).
2. Hele vinduet scannes med FPA- μ FTIR, typisk med en opløsning på 5,5 μ m per pixel. Det resulterende IR-kort indeholder cirka 3,2 millioner spektre.
3. IR-kortet analyseres med programmet siMPle (www.simple-plastics.eu) udviklet på Aalborg Universitet i samarbejde med Alfred Wegener Institut, Tyskland.
 - a. Dette sker ved at sammenligne hver pixel med et referencebibliotek, der indeholder de polymertyper, der ses efter, samt naturlige materialer, hvis IR-spektre kan forveksles med plast.
 - b. Herpå danner programmet 2-dimensionelle partikler per polymertype, alt efter hvor god overensstemmelse der er mellem spektrene målt for hver pixel og referencespektre. En partikel er derfor identificeret ved mange målinger af spektre på samme partikel.
 - c. Programmet måler derpå arealet, som hver partikel dækker, og dets forskellige dimensioner (fx længde), ligesom tykkelse og volumen estimeres på baggrund af partiklens øvrige dimensioner.
 - d. Partiklens masse estimeres ud fra dens volumen og densiteten af den identificerede polymer.
 - e. siMPle eksporterer derpå alle informationer på alle partikler samt diverse statistiske beregninger på partiklerne, herunder partikelkoncentration, volumen og forhold mellem længde og bredde til en tab-separeret ascii-fil.



Figur 8.1: Skematisk oversigt over processen fra opsamling af prøve, over oprensning til måling af prøve på FTIR-spektrometer og til slut datareduktion og analyse.

FTIR kan i princippet identificere alle polymertyper, men det kræver, at lyset kan passere gennem partiklen. Partikler af bildæk indeholder ud over diverse polymerer (som FTIR kan 'se') en del carbon black, der oprindeligt er fremkommet ved en ufuldstændig forbrænding

af fx tjære. Dette sorte kulstøv absorberer det IR-lys, man forsøger at sende gennem materialet, og gør det derfor umuligt at analysere med FPA- μ FTIR.

μ FTIR i forskellige afskygninger betragtes sammen med Raman i forskellige afskygninger som de mest velegnede til at bestemme antal, størrelse og form af mikroplast andet end bildæk.

8.1.3 Ramanspektroskopi

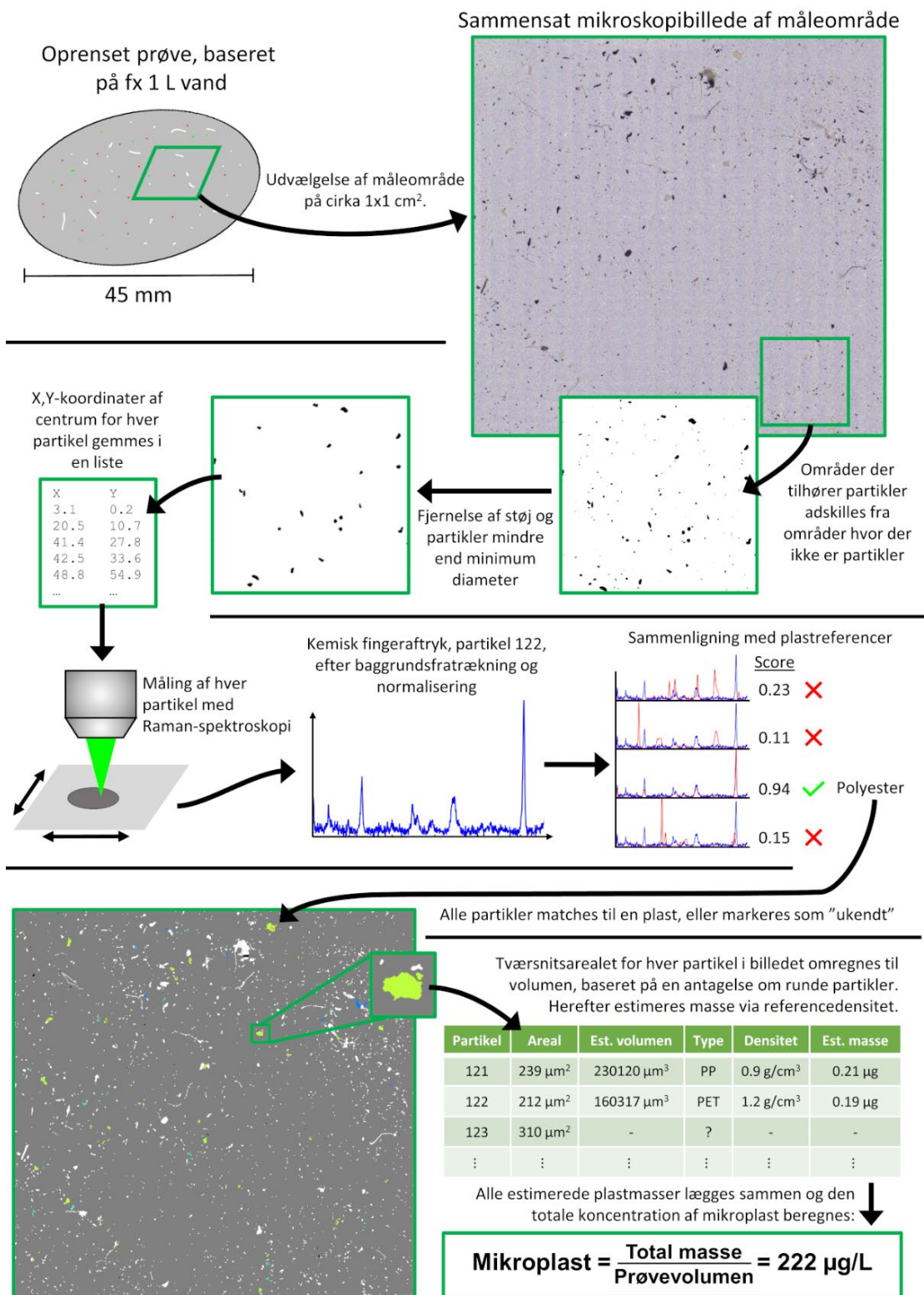
Med udgangspunkt i en fuldt oprenset og klargjort prøve (partikler fordelt på et sølvfilter) er den overordnede procedure for måling af mikroplast og mikrogummi med Ramanspektroskopi som følger (illustreret i Figur 8.2):

1. Udvalgelse af repræsentativt $1 \times 1 \text{ cm}^2$ område på filteret, hvor der udføres måling
2. Fotografering og billedbehandling af det udvalgte område
3. Identifikation af centrum af hver partikel, som definerer, hvor der måles med Ramanspektroskopi
4. Måling af ét Ramanspektrum for hver partikel (dataindsamling)
5. Korrektion af de målte data
6. Dataanalyse med software udviklet på Teknologisk Institut. Analysen bestemmer materialet af de enkelte partikler (enten a eller b) ved:
 - a. Mikroplast: Sammenligning af data med referencebibliotek over kendte polymerer
 - b. Mikrogummi: Identifikation af gummipartikler via MCR-ALS-analyse
7. Beregning af tværsnitsareal for hver partikel
8. Omregning fra tværsnitsareal til volumenestimat for hver partikel
9. Beregning af samlet masse i prøven for hver materialetype ved at kombinere volumener med referencedensiteter
10. Beregning af samlet koncentration af mikroplast og mikrogummi i den oprindelige prøve.

Raman i forskellige afskygninger betragtes sammen med μ FTIR i forskellige afskygninger som de mest velegnede til at bestemme antal, størrelse og form af mikroplast andet end bildæk.

De materialereferencer, der er undersøgt for i dette projekt, er vist i tabellen herunder.

Materiale	Forkortelse
Polyamid (fx nylon)	PA
Polyethylen	PE
Polyethylen terephthalat (polyester)	PET
Poly(metylmethakrylat)	PMMA
Poly(ethylmethakrylat)	PEMA
Polypropylen	PP
Polystyren	PS
Polystyren-block-polyisopren (vejstriber)	PS-b-PIS
Polytetrafluoroethylen (teflon)	PTFE
Polykarbonat	PC
Polyfenylsulfon	PPSU
Polyvinylklorid	PVC



Figur 8.2: Skematisk oversigt over Ramanmetoden til karakterisering af mikroplast og mikrogummi.

8.1.4 Pyrolyse-gaskromatografi-massespektrometri (py-GC-MS)

Ved py-GC-MS forgasses en lille mængde stof ved høj temperatur i en inert atmosfære, hvorved der dannes diverse pyrolyseprodukter. Med py-GC-MS måler man altså ikke på det rene stof, men på nedbrydningsprodukter heraf. Disse skydes ind i en gaskromatograf, der har en kolonne (et langt, ganske tyndt rør), hvor produkterne bliver tidsmæssigt forsinket ved interaktion med kolonnens vægge. Nedbrydningsprodukter af forskellig størrelse og kemi løber således igennem kolonnen med forskellig hastighed og skilles dermed, så de kommer ud på forskellige tidspunkter. For yderligere at separere og kvantificere produkterne, sendes de ind på et massespektrometer, hvor produkterne først ioniseres og ledes gennem et elektrisk felt. Herepå måles de på en detektor, hvor de lander i forhold til deres masse og ladning. Ud fra information om forsinkelse på GC-kolonnen og deres masse- og ladningsforhold sluttes tilbage til, hvilke stoffer (pyrolyseprodukter) der blev ført ind i GC-MS'en. Nogle af de stoffer, der opstår ved pyrolysen, er specifikke for den polymer, der pyrolyseres, mens andre ikke er. For at slutte tilbage til, hvad der var i den oprindelige prøve, identificerer man markører, der er specifikke for den polymer, der ses på, og som – så vidt muligt – ikke påvirkes af interferens med andre stoffer.

Efter py-GC-MS står man med et pyrogram over en række pyrolyseprodukter. Hvis prøven ikke er oprenset tilstrækkeligt, kan pyrogrammet være domineret af toppe fra alle mulige andre stoffer end dem, man leder efter, og man kan i værste fald ikke identificere den polymer, man leder efter. Det er derfor vigtigt, at prøverne er godt oprensede. Nyere undersøgelser på AAU i samarbejde med andre europæiske forskningsinstitutioner har dog vist, at denne type interferens er mindre udpræget end tidligere antaget.

Py-GC-MS kan bestemme alle de mest gængse plasttyper, inklusive de typer som bildæk består af. Den kan dog bestemme færre plasttyper end FTIR- og Ramanspektroskopi. Endvidere kan den ikke angive, hvor mange partikler der var i prøven, eller hvor store de var. Til gengæld kan den levere en ganske præcis kvantificering af massen af polymer i prøven, og betragtes som værende den mest egnede metode til at bestemme polymermasser i prøver. Pyrolyse er endvidere den eneste metode der generelt anses som værende i stand til at bestemme gummi fra bildæk – eller bedre, de bestemte polymertyper, som bildæk blandt andet indeholder.

8.1.5 Sammenligning og evaluering af metoder

I Tabel 8.1 sammenholdes måleteknikkerne på en række parametre. Alle tre teknikker er afhængige af, at der er foretaget god prøveoprensning, inden der udføres målinger, så mængden af interfererende materiale er så lav som mulig. Pyrolyse påvirkes dog mindst af interfererende materiale.

Efter oprensning er den eneste yderligere forberedelse, der kræves til de spektroskopiske målinger, at partiklerne skal fordeles så jævnt som muligt på et substrat. Ved py-GC-MS placeres en delmængde af det opkoncentrerede materiale i en lille metalkop, der placeres i en autosampler, derpå skydes koppen ind i pyrolyseapparatet. Håndteringen af denne del af analysen er væsentligt simplere end for de to spektroskopiske metoder, og analysen er en del hurtigere.

De to spektroskopiske metoder påvirker ikke den undersøgte prøve, mens py-GS-MS destruerer prøven ved afbrænding. Dette kan være en ulempe ved den sidstnævnte metode, da der ikke kan foretages opfølgende analyser på samme prøve. Sådanne analyser skal derfor gennemføres før pyrolysen. De spektroskopiske metoder kan begge kombineres med py-GC-MS, ved at prøven først undersøges med spektroskopi, og materialet derpå pyrolyseres.

Med py-GC-MS opnås ét datasæt (et pyrogram), der repræsenterer al masse, der var til stede i den benyttede prøvekop, og man kan ud fra dette datasæt ikke udlede noget om størrelsen af de partikler, der var til stede. Med Ramanspektroskopi opnås ét spektrum fra midten af hver partikel, der identificeres af den automatiserede billedbehandling (typisk 5.000-20.000 per prøve). I den efterfølgende analyse antages det, at hele partiklen består af det materiale, som det målte spektrum matches til, hvilket ikke altid vil være tilfældet. Med FTIR-spektroskopi opnås et billede indeholdende IR-spektre for hver 5,5 µm hen over hele prøven (typisk 3,2 mio. spektre), og derfor behøver man ikke foretage antagelser om sammensætningen af partiklerne.

Tidsforbruget per målt prøve er lavest for py-GC-MS (ca. 40-84 minutter) og højest for Raman-metoden (1-4 døgn), idet måletiden for sidstnævnte stiger direkte proportionalt med antallet af partikler, der måles. Py-GC-MS bruger samme tid på at måle uanset koppens indhold, og IR-metoden bruger også en fast mængde tid på at scanne hele prøvevinduet og er således uafhængig af, hvor meget materiale der er til stede.

Det kræver en meget høj grad af ekspertviden at vurdere, hvornår et IR- eller Ramanspektrum 'matcher' et materiale, idet der er forskel på, hvor gode signaler de to teknikker opnår fra forskellige materialer såsom glas/sand, cellulose og almindelige plasttyper. Her har FTIR-metoden den fordel, at den analysesoftware, der bruges i fortolkningen af data, bliver videreudviklet i et samarbejde mellem flere større forskningsgrupper og derfor er mere veludbygget end software til analyse af data fra Ramanmetoden. Pyrogrammer kræver ligeledes væsentlig ekspertviden, og der forskes intenst i, hvordan man bedst fortolker dem for mikroplast.

Som nævnt under beskrivelsen af de to spektroskopiske metoder er det i praksis ikke muligt for FPA-µFTIR-spektroskopi at måle mikrogummi, idet dette materiale absorberer lys så kraftigt, at der ikke opnås noget brugbart signal under målingen. Her har Ramanspektroskopi den fordel, at der opnås et tydeligt signal fra carbon black, et fyldstof, som udgør 30-40 % af dæk, og som med mere avanceret analyse kan benyttes som markør for dækgummi. Med Ramanspektroskopi er det derfor i princippet muligt at benytte det samme udstyr og den samme prøve til at kvantificere mikroplast og mikrogummi, hvor alternativet er at bruge de to andre teknikker, py-GC-MS og FPA-µFTIR-spektroskopi, i kombination til at opnå tilsvarende information. Dette er en markant fordel ved denne tilgang. Denne teknik for analyse af bildækgummi, som er udviklet og demonstreret af Teknologisk Institut, ser meget lovende ud, men har endnu ikke været benyttet eller verificeret af andre forskningslaboratorier i verden.

Slutteligt har py-GC-MS den fordel, at den giver markant mere præcis og nøjagtig information om den samlede masse af mikroplast eller mikrogummi, der er til stede i en prøve. Dette skyldes, at signalet fra py-GC-MS (i princippet) er direkte proportionalt med massen af de polymerer, der var til stede i prøven, mens begge de spektroskopiske metoder estimerer massen indirekte ved at kombinere forholdsvis usikre estimater af partiklernes volumener (beregnet på baggrund af 2D-billeder af partiklerne) med referencedensiteter for hver materialetype. Specielt referencedensiteterne kan dække over et meget bredt interval af faktiske tætheder, som vil være forskelligt fra en plasttype til en anden.

Metode	FTIR-spektroskopi	Py-GC-MS	Ramanspektroskopi
Forberedelse af prøve inden måling	Oprensset prøve fordeles på et vindue af ZnSe eller CaF ₂ eller	Oprensset prøve placeres i en metalkop, der placeres i en	Oprensset prøve fordeles på et filter eller vindue af sølv

Metode	FTIR-spektroskopi	Py-GC-MS	Ramanspektroskopi
	på et IR-gennemsigtigt filter	autosampler, der skyder den ind i pyrolyseenheden	eller andet egnet materiale
Effekt af måling på prøven	Ingen	Prøven destrueres	Ingen
Opnået datagrundlag	Et spektralt billede af hele det benyttede vindue, Ø10 mm – typisk 3,2 mio. spektre ved 5,5 µm pixelstørrelse	Der måles ét samlet pyrogram for den afbrændte kop	Et Ramanspektrum for hver partikel større end en vis diameter, inden for et område på 1x1 cm ² – typisk 5.000-20.000 spektre
Tidsforbrug per måling	4-6 timer for et fuldt vindue	35-85 minutter (35 hvis der kun måles gummi, 85 hvis alle polymertyper måles)	1-4 døgn, afhængig af partikelantal
Identificering af partikler	Del af databehandling	Kan ikke identificeres	Billedbehandling på mikroskopibilleder
Nedre detektionsgrænse (størrelse/masse)	11-16,5 µm (plast)	1 µg (gummi) 0,02-4 µg (andre plasttyper)	10-15 µm (plast), 10 µm (gummi)
Kemisk identifikation (plast)	Sammenligning med referencebibliotek af spektre for kendte materialer	Analyse af massepektre for specifikke markører	Sammenligning med referencebibliotek af spektre for kendte materialer
Kemisk identifikation (gummi)	Ikke mulig	Analyse af massepektre for specifikke markører	MCR-ALS-analyse efterfulgt af sammenligning med referenceprøver
Estimering af partikelmasse og eller partikelvolumen	Estimeres ved kombination af tværsnit fra spektralt billede; antagelse om partikler med højde på X af længste dimension og referencedensitet for hver plasttype	Samlet masse estimeres ved sammenhold med kalibreringskurver	Estimeres ved kombination af tværsnit fra mikroskopibilleder; antagelse om runde partikler og referencedensitet for hver plasttype

Tabel 8.1: Sammenligning og evaluering af metoder.

9 Appendix 3: Analyseresultater af mikroplast og -gummi i regnvandsbassiner

9.1 Flowmodel og sedimentdata

Egenskab	Mariager	Lemvig SP	Lemvig WP	Odense	Hedensted	Enhed
Areal	172	131	382	2000	7012	m ²
Gennemsnitlig sedimentdybde	1,30	0,137	0,074	0,215	0,091	m
Sedimentvolumen	224,0	17,95	28,27	430	638,09	m ³
Tørstof	42,60	39	39	40	41	%
Sedimentmasse	95422	6999	11025	172000	261618	kg
Flow akkumuleret i bassinets levetid	622775		54331	761852	380895	m ³

Tabel 9.1: Flowmodel og sedimentdata.

9.2 Resultater af analyser for mikroplast og mikro-gummi

Prøvenavn	Antal (#)	Masse i prøve, fuldt filter (µg)	Størrelse (D[4,3] µm)	Målt volumen (L)	Målt areal (cm ²)	Total areal (cm ²)	Opkoncentringsfaktor	Prøve konc. (µg/L - µg/g)	Faktisk konc. (µg/L - µg/g)	Masse i prøve (µg)
Hedensted sediment [µg/g]	3351	1507	91	0,00021	1,04	11,3	12000	7198019	600	138
Hedensted effluent [µg/L]	1943	513	49	0,00094	1,04	11,3	486000	547018	1,1	47
Lemvig SP sediment [µg/g]	249	20	55	0,00077	1,04	2,84	20000	25620	1,3	7,2
Lemvig WP sediment [µg/g]	582	166	129	0,00012	1,04	2,84	20000	1398708	70	61
Lemvig effluent [µg/L]	821	581	94	0,0032	1,04	11,3	491400	183773	0,37	53
Mariager sediment [µg/g]	1504	883	137	0,00013	1,04	11,3	997	7006875	7028	81
Mariager effluent [µg/L]	285	137	73	0,00040	1,04	11,3	31750	343280	11	13
Odense sediment [µg/g]	927	32	44	0,000031	1,04	2,84	10000	1014614	101	12
Odense effluent [µg/L]	377	344	153	0,0045	1,04	11,3	622000	344	0,12	31

Tabel 9.2: Resultater for mikrogummi – Raman, detaljer.

Prøvenavn	Antal (#)	Masse i prøve, fuldt filter (µg)	Størrelse (D[4,3] µm)	Målt volumen (L)	Målt areal (cm ²)	Total area (cm ²)	Opkoncentreringsfaktor	Prøve konc. (µg/L - µg/g)	Faktisk konc. (µg/L - µg/g)	Masse i prøve (µg)
Hedensted sediment [µg/g]	396	210	93	0,00021	1,04	11,3	12000	1002244	84	19
Hedensted effluent [µg/L]	1496	607	79	0,00094	1,04	11,3	486000	647847	1,3	56
Lemvig SP sediment [µg/g]	152	45	156	0,00077	1,04	2,84	20000	58677	2,9	17
Lemvig WP sediment [µg/g]	247	46	99	0,00012	1,04	2,84	20000	390063	20	17
Lemvig effluent [µg/L]	2667	3140	124	0,0032	1,04	11,3	491400	993123	2,0	287
Mariager sediment [µg/g]	509	1268	175	0,00013	1,04	11,3	997	10061267	10092	116
Mariager effluent [µg/L]	1473	1196	91	0,00040	1,04	11,3	31750	2998687	94	109
Odense sediment [µg/g]	14	9,1	132	0,000031	1,04	2,84	10000	291770	29	3,4
Odense effluent [µg/L]	773	805	134	0,0045	1,04	11,3	622000	179478	0,29	74

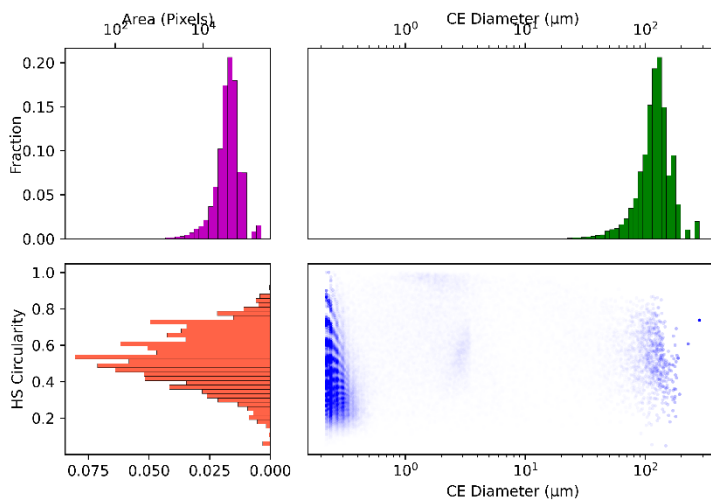
Tabel 9.3: Resultater for mikroplast – Raman, detaljer.

Prøve	Målt volumen [L]	Vol. efter behandling [µl]	Volumen analyse-ret [µl]	Scan	MP antal	Koncentration	MP masse [ng]	Koncentration [µg/L]	Gennemsnitlig koncentration (standard afvigelse) [µg/L]
						[nr./L]			
Hedensted effluent	2430	5000	200	A	1219	13	518807	5,3	3,1(2,5)
	2430	5000	200	B	805	8,3	42495	0,44	
	2430	5000	200	C	597	6,1	345461	3,6	
Odense effluent	3110	5000	600	A	101	0,27	20635	0,06	0,23(0,20)
	3110	5000	600	B	140	0,38	68828	0,18	
	3110	5000	600	C	119	0,32	167397	0,45	
Mariager effluent	3175	100000	50	A	2190	1380	598304	377	418(69)
	3175	100000	50	B	1983	1249	601267	379	
	3175	100000	50	C	1847	1163	789248	497	
Lemvig effluent	2457	5000	400	A	180	0,92	278011	1,4	1,46(0,48)
	2457	5000	400	B	132	0,67	197577	1,0	
	2457	5000	400	C	143	0,73	386958	2,0	
Prøve	Målt volumen [L]	Vol. efter behandling [µl]	Volumen analyse-ret [µl]	Scan	MP antal	Koncentration	MP masse [ng]	Koncentration [µg/L]	Gennemsnitlig koncentration (standard afvigelse) [µg/L]
						[nr./L]			
Hedensted sediment	60	5000	50	A	172	287	35513	59	92(32)
	60	5000	50	B	145	242	53241	89	
	60	5000	50	C	186	310	76722	128	
Odense sediment	100	10000	50	A	46	92	3930	7,9	5,3(2,4)
	100	10000	50	B	27	54	1505	3,0	
	100	10000	50	C	59	118	2516	5,0	
Mariager sediment	100	100000	50	A	1798	36068	1159231	23254	18200(4381)
	100	100000	50	B	1399	28064	790428	15856	
	100	100000	50	C	2006	40241	772106	15489	
Lemvig sediment pond SP	100	5000	200	A	113	28	107016	27	12(13)
	100	5000	200	B	87	22	16850	4,2	
	100	5000	200	C	85	21	16187	4,0	
Lemvig sediment pond WP	100	5000	200	A	403	101	144156	36	33(3)
	100	5000	200	B	376	94	123233	31	
	100	5000	200	C	496	124	126340	32	

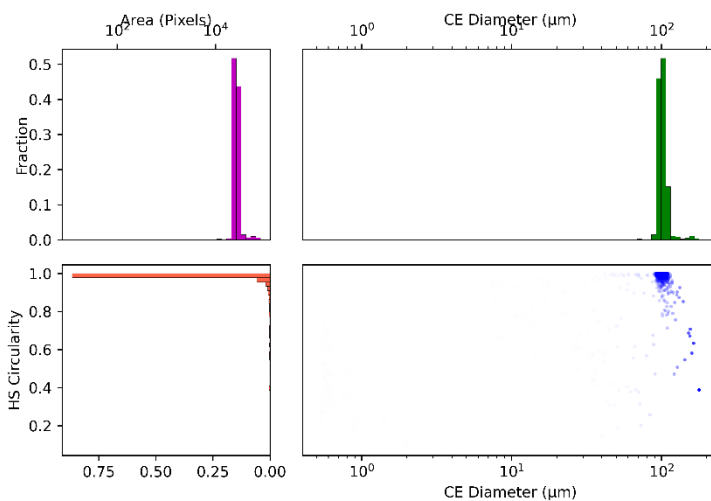
Tabel 9.4: Mikroplast resultater – IR, detaljer.

10 Appendix 4: Referenceprøve

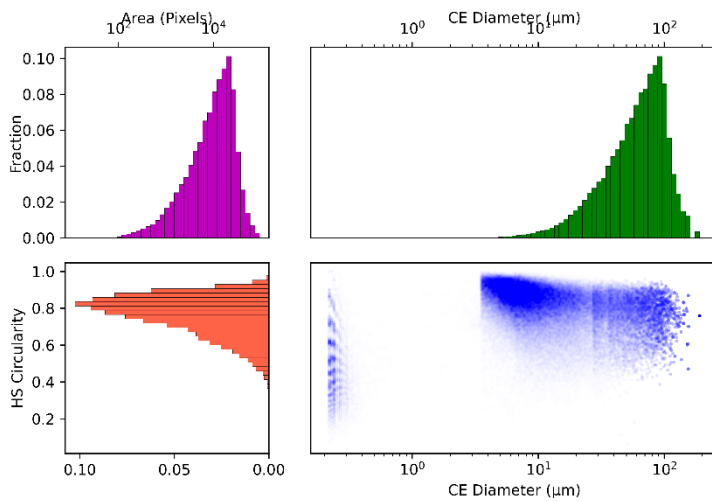
10.1 Analyseresultater af mikroskopisk morfologibestemmelse



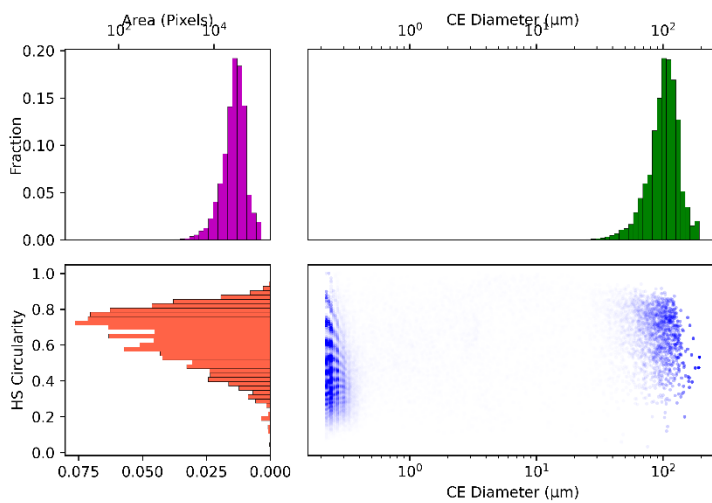
Figur 10.1: Morfologireultat for PA-prøven. De viste data er volumenvægtet.



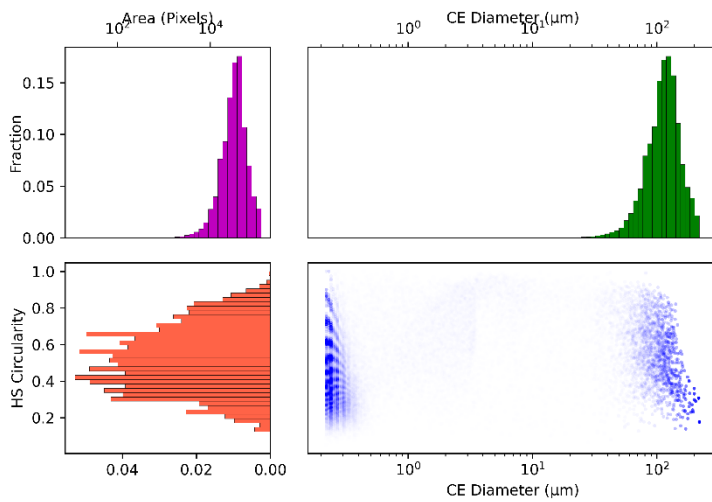
Figur 10.2: Morfologireultat for PE-prøven. De viste data er volumenvægtet.



Figur 10.3: Morfologireultat for PET-prøven. De viste data er volumenvægtet.

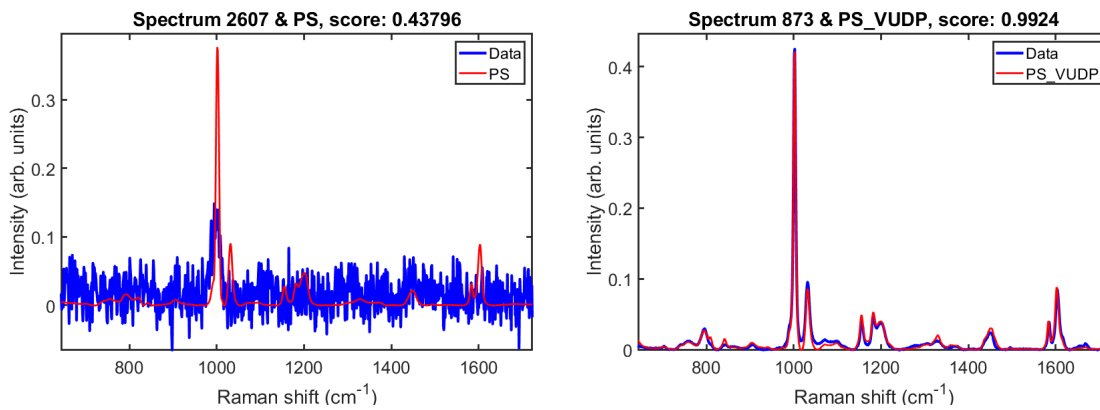


Figur 10.4: Morfologireultat for PP-prøven. De viste data er volumenvægtet.



Figur 10.5: Morfologi-resultat for PS-prøven. De viste data er volumenvægtet.

10.2 Detaljer fra Ramananalysen for referenceprøven



Figur 10.6: Til højre ses det dårligste match for PS og til højre det bedste match. Herved kan specificiteten af analysen vurderes.