

Forschungsbericht BWPLUS

**Mikrokunststoffe in Komposten und Gärprodukten aus
Bioabfallverwertungsanlagen und deren Eintrag in
landwirtschaftlich genutzte Böden – Erfassen, Bewerten,
Vermeiden (MiKoBo)**

von

Jens Forberger, Ansilla Bayha, Gabriela Gromer
Fraunhofer Institut für Chemische Technologie ICT

Julia Möller, Martin Löder, Christian Laforsch
Universität Bayreuth
Lehrstuhl für Tierökologie I

Thomas Steiner, Ruth Freitag
Universität Bayreuth
Lehrstuhl für Bioprozesstechnik BPT

Lion Schöpfer, Holger Pagel, Sven Marhan, Thilo Streck, Ellen Kandeler
Universität Hohenheim
Institut für Bodenkunde und Standortslehre IBS

Uwe Schnepf, Maria Anna Lioba von Moers-Meißner, Rahma Abdi, Lea Kneiße,
Vivian Budig, Franz Brümmer
Universität Stuttgart
Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme IBBS

Julia Resch, Christian Bonten
Universität Stuttgart
Institut für Kunststofftechnik IKT

Hildemar Mendes-Guillen, Detlef Clauß, Martin Kranert
Universität Stuttgart
Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft ISWA

Förderkennzeichen: BMWK 18001-18007

Laufzeit: 01.03.2018 – 30.09.2021

Die Arbeiten des Baden-Württemberg-Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre
Sicherung (BWPLUS) werden mit Mitteln des Landes Baden-Württemberg gefördert.

Oktober 2022

Forschungsbericht BWPLUS



Mikrokunststoffe in Komposten und Gärprodukten aus Bioabfallverwertungsanlagen und deren Eintrag in landwirtschaftlich genutzte Böden - Erfassen, Bewerten, Vermeiden (MiKoBo)

Projektlaufzeit: 01.03.2018 – 30.09.2021

Institution	Autoren
Projektkoordination: Fraunhofer Institut für Chemische Technologie ICT Förderkennzeichen: BMWK 18004	Jens Forberger, Ansilla Bayha, Gabriela Gromer
Universität Bayreuth Lehrstuhl für Tierökologie I Förderkennzeichen: BMWK 18007	Julia Möller, Dr. Martin Löder, Prof. Dr. Christian Laforsch
Universität Bayreuth Lehrstuhl für Bioprozesstechnik BPT Förderkennzeichen: BMWK 18001	Thomas Steiner, Prof. Dr. Ruth Freitag
Universität Hohenheim Institut für Bodenkunde und Standortslehre IBS Förderkennzeichen: BMWK18003	Lion Schöpfer, Dr. Holger Pagel, Dr. Sven Marhan, Prof. Dr. Thilo Streck, Prof. Dr. Ellen Kandler
Universität Stuttgart Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme IBBS Förderkennzeichen: BMWK18002	Uwe Schnepf, Maria Anna Lioba von Moers-Meißner, Rahma Abdi, Lea Kneißle, Vivian Budig, Prof. Dr. Franz Brümmer
Universität Stuttgart Institut für Kunststofftechnik IKT Förderkennzeichen: BMWK 18005	Julia Resch, Prof. Dr.-Ing. Christian Bonten
Universität Stuttgart Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft ISWA Förderkennzeichen: BMWK18006	Hildemar Mendez-Guillen, Detlef Clauß, Prof. Dr.-Ing. Martin Kranert



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR UMWELT, KLIMA UND ENERGIEWIRTSCHAFT

Die Arbeiten des Baden-Württemberg-Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre
Sicherung (BWPLUS) werden mit Mitteln des Landes Baden-Württemberg gefördert

Oktober 2022

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	2
Abbildungsverzeichnis.....	5
Tabellenverzeichnis.....	10
Abkürzungsverzeichnis	11
Executive Summary	14
1. Ziel und Hintergrund des Projektes	26
2. Themenbereich: Messmethodik	31
2.1 Adaptierung von analytischen Methoden zur Untersuchung von Böden, Komposten und flüssigen Gärresten auf MKS (TÖK I, BPT, ISWA, IBS).....	31
2.1.1 Motivation und Ziele.....	31
2.1.2 Methodenentwicklung und Validierung	32
2.1.3 Ergebnisse	34
2.1.4 Diskussion.....	35
2.2 Bereitstellung von Prüf- und Referenzmaterialien sowie synthetischen Proben (IKT, ICT)	37
2.2.1 Motivation und Ziele.....	37
2.2.2 Methodik	37
2.2.3 Ergebnisse	39
2.2.4 Diskussion.....	43
2.3 Bereitstellung von Prüf- und Referenzmaterialien sowie synthetischen Proben (IBBS).....	44
2.3.1 Motivation und Ziele.....	44
2.3.2 Methodik	44
2.3.3 Ergebnisse	46
2.3.4 Diskussion.....	52

3.	Themenbereich: Kompostier- und Vergärungsprozesse	53
3.1	Analyse der Mikrokunststoffbelastung bei technischen Anlagen der Abfallwirtschaft (BPT, TÖK I).....	53
3.1.1	Motivation und Ziele	53
3.1.2	Methodik	54
3.1.3	Ergebnisse	55
3.1.4	Diskussion.....	73
3.2	Abbauversuche Technikumsanlage (Boxenfermentation, Kompostierung, Scale down) (BPT, ICT)	76
3.2.1	Motivation und Ziele	76
3.2.2	Methodik	77
3.2.3	Ergebnisse	79
3.2.4	Diskussion.....	80
3.3	Laborversuche (anaerobe Vergärung, Kompostierung) (ISWA)	81
3.3.1	Motivation und Ziele	81
3.3.2	Methodik	81
3.3.3	Ergebnisse	86
3.3.4	Diskussion.....	104
3.4	Bewertung der Vorgänge im Labor- und Technikumsmaßstab (IBBS)	105
3.4.1	Motivation und Ziele	105
3.4.2	Methodik	106
3.4.3	Ergebnisse	108
3.4.4	Diskussion.....	116
4.	Themenbereich: Bodenqualität.....	118
4.1	Feldversuch zum Verbleib und Auswirkungen von MKS auf Bodenfunktionen (IBS, TÖK I, IKT, IBBS, ISWA, ICT)	118
4.1.1	Motivation und Ziele	118
4.1.2	Methodik	118

4.1.3	Ergebnisse	122
4.1.4	Diskussion.....	128
4.2	Laborversuch zur Abbaubarkeit und Auswirkung von MKS im Boden (IBS, IBBS).....	132
4.2.1	Motivation und Ziele	132
4.2.2	Methodik	133
4.2.3	Ergebnisse	134
4.2.4	Diskussion.....	139
4.3	Laborversuch zur Abbaubarkeit und Auswirkung fermentierter MKS im Boden (IBS, BPT)	144
4.3.1	Motivation und Ziele	144
4.3.2	Methodik	144
4.3.3	Ergebnisse	145
4.3.4	Diskussion.....	148
4.4	Laborversuche zur Auswirkung von MKS auf Bodentiere (IBS, IBBS).....	148
4.4.1	Nematoden (IBS, IBBS).....	149
4.4.2	Springschwänze (IBBS).....	158
4.4.3	Regenwürmer (IBS, TÖK I).....	165
5.	Schlussfolgerungen, Forschungsbedarf und Empfehlungen.....	170
5.1	Schlussfolgerungen und Forschungsbedarf.....	170
5.2	Empfehlungen	173
	Referenzen.....	175

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Gesamtstruktur des Vorhabens MiKoBo.....	28
Abbildung 2: Arbeitsfluss der Bodenprobenaufbereitung für eine spektroskopische MKS-Analyse.....	32
Abbildung 3: Ablauf der MKS-Analyse einer Bodenprobe.....	33
Abbildung 4: Analyse einer aufgereinigten Bodenprobe auf MKS mittels μ FTIR-Spektroskopie und automatisierter Auswertung mittels RDF-Klassifikatoren.	35
Abbildung 5: Das linke Bild zeigt die Blasfolienextrusion von LDPE, das rechte Bild vom PBAT/PLA-Blend.....	38
Abbildung 6: Fluoreszenzmessung nach Lagerung unter Kompostierungsbedingungen und UV-Bestrahlung von Kunststoff, welcher mit NR angefärbt wurde.....	43
Abbildung 7: Schematische Darstellung des Ablaufs einer vollumfänglichen Partikelvermessung.....	45
Abbildung 8: Beispielhafte Partikelgrößenverteilungen und repräsentative Mikroskopaufnahmen von MKS (Schöpfer et al., 2022).....	47
Abbildung 9: Beispielhafte Häufigkeitsverteilungen der Formfaktoren Sphärizität, Elongation und Solidität für MKS (Schöpfer et al., 2022).	48
Abbildung 10: Beispielhafte Sphärizitäts-Elongations-Diagramme zur Qualitätssicherung bei der quantitativen Formanalyse mehrerer MKS-Arten (Kröner & Doménech Carbó, 2013; Schöpfer et al., 2022).	49
Abbildung 11: Vergleich der Partikelsegmentierung der Keyence-Software (a) und von ImageJ (b).	51
Abbildung 12: Substrate: links: Ankommendes Grüngut; rechts: Biogut der Anlage 1.1.	56
Abbildung 13: Anlagenkategorie 1: Verteilung der gefundenen Kunststoffe in den Fraktionen ,> 5 mm‘ und ,1 – 5 mm‘.	63
Abbildung 14: Anlagenkategorie 3: Verteilung der gefundenen Kunststoffe in den Fraktionen ,> 5 mm‘ und ,1 – 5 mm‘.	64
Abbildung 15: Anlagenkategorie 2-Verteilung der gefundenen Kunststoffe in den Fraktionen ,> 5 mm‘ und ,1 – 5 mm‘.	65

Abbildung 16: Durchschnittliche Größe der Partikel (Länge x Breite) in Abhängigkeit von der Siebmaschenweite.	75
Abbildung 17: Links Boxenfermenter (60 L); rechts Kompostierer (200 L).	78
Abbildung 18: Biofilm auf den Prüffolien nach 3 Wochen; a: HDPE, b: LDPE, c: PBAT, d: PBAT/PLA-Blend; e: PLA.	79
Abbildung 19: Biofilm auf den Prüffolien nach 6 Wochen; a: HDPE, b: LDPE, c: PBAT, d: PLA.	80
Abbildung 20: Versuchsanordnung der biologischen Prozesse.	83
Abbildung 21: Temperaturkurve für die semi-dynamische Kompostierung in Versuchsreihe 2.	88
Abbildung 22: Temperaturkurve für die semi-dynamische Kompostierung in Versuchsreihe 3.	89
Abbildung 23: Sichtbare Veränderungen während der Kompostierung auf der Grundlage der Verweilzeit.	90
Abbildung 24: Biogaserzeugung in der mesophilen statischen Vergärungsreihe 3 für die Wochen 3, 6 und 12.	94
Abbildung 25: Kunststofffolien (LDPE, PLA, PLA/PBAT, PBAT/PLA) zu Beginn und nach einer Verweilzeit von 3, 6 und 12 Wochen in der semi-dynamischen Kompostierung.	95
Abbildung 26: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 3).	96
Abbildung 27: Prozentanteil der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 3).	97
Abbildung 28: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 2).	97
Abbildung 29: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 2).	97
Abbildung 30: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 3).	98
Abbildung 31: Prozentanteil der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 3).	99

Abbildung 32: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 2).	99
Abbildung 33: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 2).....	99
Abbildung 34: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 3).....	100
Abbildung 35: Prozentanteil der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 3).....	101
Abbildung 36: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 2).	101
Abbildung 37: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 2).....	101
Abbildung 38: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung bei den Anaerobversuchen thermophil-dynamisch, Woche 12 (Versuchsreihe 2).....	103
Abbildung 39: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung bei den Anaerobversuchen thermophil-dynamisch, Woche 12 (Versuchsreihe 2).....	104
Abbildung 40: Schematische Darstellung der Untersuchungen von Kunststofffolien aus Bioabfallverwertungsanlagen im Labormaßstab.	107
Abbildung 41: Entwicklung der Biomasse des Biofilms über die Zeit.....	110
Abbildung 42: REM-Aufnahmen der vom IKT hergestellten Referenzfolien. a LDPE. b PLA. c PLA/PBAT. d PBAT/PLA. Die Maßstabsbalken entsprechen 100 µm.	111
Abbildung 43: Lichtmikroskopische Aufnahmen der Oberflächenveränderungen von Kunststofffolien aus einer mesophilen Vergärungsanlage mit Rührwerk. Die Maßstabsbalken entsprechen 50 µm.....	113
Abbildung 44: Lichtmikroskopische Aufnahmen der Oberflächenveränderungen von Kunststofffolien aus einer mesophilen Vergärungsanlage ohne Rührwerk. Die Maßstabsbalken entsprechen 50 µm.	114
Abbildung 45: Zeitliche Entwicklung des E-Moduls von unterschiedlichen Kunststofffolien in Bioabfallverwertungsanlagen.	116
Abbildung 46: Experimentelles Design des Feldversuchs.	120
Abbildung 47: a Partikelanzahl von PP, PS, PE und anderen Polymeren < 0,5 mm (n = 4).	123

Abbildung 48: a Partikelanzahl von LDPE- und PLA/PBAT-Partikeln nach Ausbringung, nach 1 Monat (M1) und nach 17 Monaten (M17) (n = 4).	124
Abbildung 49: Repräsentative Mikroskopie-Aufnahmen von MKS > 0,5 mm:	125
Abbildung 50: Extrazelluläre Enzymaktivitäten im Boden. N-Acetyl-Glucosaminidase, Phenoloxidase, β -Glucosidase und β -Xylosidase ist in Abhängigkeit von organischem Düngemittel (Ohne, Kompost, Gärprodukt) und MKS (Ohne, LDPE, PLA/PBAT).	127
Abbildung 51: a Mikrobieller C b Biomasse des Silagemais und c Kornertrag der Sommergerste in Abhängigkeit von organischem Düngemittel (Ohne, Kompost, Gärprodukt) und MKS (Ohne, LDPE, PLA/PBAT).	128
Abbildung 52: Mineralisierungsgrad der MKS nach 230 Tagen Inkubation im Boden in Abhängigkeit der Kunststoffart (LDPE, PLA/PBAT und PHB).	134
Abbildung 53: a Gesamtheit mikrobieller PLFAs, b spezifische mikrobielle Respirationsrate und c spezifische mikrobielle β -Glucosidaseaktivität im Boden in Abhängigkeit von der Kunststoffart, Bodenfeuchte sowie Partikelgröße.	135
Abbildung 54: REM-Aufnahmen der im Boden vergrabenen Mikrokunststoffe des Abbaueversuchs.	137
Abbildung 55: Lipase- und β -Glucosidase-Aktivitäten auf der Oberfläche von MKS-Partikel bzw. des Bodens in Abhängigkeit von der Kunststoffart und der Bodenfeuchte.	138
Abbildung 56: PLA/PBAT-Partikel nach 230 Tagen Inkubation in trockenem Boden (pF 4).	139
Abbildung 57: Behandlungen des Abbaueversuches mit fermentierten MKS.	145
Abbildung 58: MKS-Mineralisierung in Abhängigkeit der Zeit, der Vorbehandlung (unbehandelt, fermentiert – abgewaschen, fermentiert) und der MKS-Art (LDPE, PBAT/PLA).	146
Abbildung 59: Enzymaktivitäten nach 60 Tagen im MKS-freien Boden	147
Abbildung 60: Partikelgrößenverteilung von a LDPE und b PLA/PBAT.	150
Abbildung 61: Aufnahme von NR-gefärbten PLA/PBAT-Partikeln (rot) in a Pharynx und b Darmlumen von <i>C. elegans</i> . c Nematode mit NR-gefärbten PLA/PBAT Partikeln im Pharynx und interner Eierablage.	152
Abbildung 62: a Anzahl der Nachkommen und b Körperlänge <i>C. elegans</i> als Funktion der MKS-Konzentration und Kunststoffart im Vergleich zur Kontrollgruppe.	153

Abbildung 63: Schematischer Ablauf einer Vermeidungsprüfung mit dem Springschwanz <i>Folsomia candida</i>	160
Abbildung 64: Ergebnis von Reproduktionstests nach OECD Test Nr. 232 mit MKS	162
Abbildung 65: Ergebnis einer Vermeidungsprüfung nach ISO 17512-2:2011 mit LDPE-MKS und Kaolin als Testpartikeln.	163
Abbildung 66: NR-markierte MKS aus PBAT/PLA im Verdauungstrakt des Springschwanzes <i>Folsomia candida</i>	164
Abbildung 67: Setup des Regenwurmrohrenversuchs mit Kunststofffolienstreifen. Bilder: Lion Schöpfer.	167
Abbildung 68: Oberfläche verbleibende Kunststofffolienstreifen.	168

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kunststoffe, die im Projekt MiKoBo eingesetzt wurden, und ihre Auswahlkriterien.	29
Tabelle 2: Vergleich statistischer Kenngrößen.....	50
Tabelle 3: Ergebnisse aus der Vermessung zertifizierter Referenzpartikel zur Validierung der Analysesoftware.....	51
Tabelle 4: Prozessabläufe der untersuchten Anlagen.....	58
Tabelle 5: Kunststoffpartikel/kg TM.....	60
Tabelle 6: Kunststoffpartikel pro Liter Flüssigdünger und Anteile nach Größe und Art bei landwirtschaftlichen Biogasanlagen (Kategorie 2).	66
Tabelle 7: Kunststoffpartikel pro Liter Flüssigdünger und Anteile nach Größe und Art bei kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen (Kategorie 3).	68
Tabelle 8: Prozentualer Anteil der PBAT-Fragmente in den Anlagen der Kategorie 3 (kombinierte Vergärungs- und Kompostierungsanlagen).....	70
Tabelle 9: Prozentualer Anteil der BAW-Fragmente 10 – 1.000 µm pro Liter flüssiger Gärrest.	71
Tabelle 10: PBAT und PLA-Konzentrationen in den Anlagen 3.1 – 3.4.....	72
Tabelle 11: Liste der Vergärungs- und Kompostierungsversuche einschließlich der Betriebsbedingungen.	83
Tabelle 12: Kontrollparameter für die semi-dynamischen Kompostierungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).....	87
Tabelle 13: Kontrollparameter für die statischen Kompostierungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).....	88
Tabelle 14: Kontrollparameter für die mesophilen statischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).....	91
Tabelle 15: Kontrollparameter für die mesophilen dynamischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).....	92
Tabelle 16: Kontrollparameter für die thermophilen statischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).....	92
Tabelle 17: Kontrollparameter für die thermophilen dynamischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).....	93

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen	Bezeichnung
ATR-FTIR	Abgeschwächte Totalreflexion-Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie
BAW	Biologisch abbaubare Werkstoffe
BGK	Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V.
BPT	Universität Bayreuth Lehrstuhl für Bioprozesstechnik
C	Kohlenstoff
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CV	Variationskoeffizient
DSC	Dynamische Differenzkalorimetrie (engl. <i>differential scanning calorimetry</i>)
E-Modul	Elastizitätsmodul
FM	Frischmasse
Gew.-%	Gewichtsprozent
GC	Gaschromatographie
GV	Glühverlust
HDPE	Polyethylen hoher Dichte
H-NMR	Wasserstoff-Kernspinresonanzspektroskopie (engl. <i>proton nuclear magnetic resonance</i>)
IBBS	Universität Stuttgart Institut für Biomaterialien und biomolekulare Systeme - Abteilung Biobasierte Materialien
IBS	Universität Hohenheim Institut für Bodenkunde und Standortslehre
ICT	Fraunhofer-Institut für Chemische Technologie

IKT	Universität Stuttgart Institut für Kunststofftechnik
ISWA	Universität Stuttgart Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft
LDPE	Polyethylen niedriger Dichte
LOD	Nachweisgrenze (engl. <i>limit of detection</i>)
MCII	Makromolekulare Chemie 2 der Universität Bayreuth
MKS	Mikrokunststoff, umgangssprachlich: Mikroplastik
M.-%	Massenprozent
MAD	Mesophile anaerobe Vergärung (engl. <i>mesophilic anaerobic digestion</i>)
M	Monat
N	Stickstoff
NawaRo	Nachwachsende Rohstoffe
NR	Nilrot
PA	Polyamid
PBAT	Polybutylenadipat-terephthalat
PBAT/PLA	Blend/Schmelzemischung aus Polylactid und Polybutylenadipat-terephthalat (60 M.-% PBAT, 10 M.-% PLA + Füllstoffe)
PE	Polyethylen
PET	Polyethylenterephthalat
PHB	Polyhydroxybutyrat
PLA	Polylactid
PLA/PBAT	Blend/Schmelzemischung aus Polylactid und Polybutylenadipat-terephthalat (80 M.-% PLA, 20 M.-% PBAT)
PLFA	Phospholipid-Fettsäuren
PP	Polypropylen
PS	Polystyrol

PTFE	Polytetrafluorethylen
PVC	Polyvinylchlorid
RDF	Random-Forest-Klassifikatoren
REM	Rasterelektronenmikroskop
SiO ₂	Siliziumdioxid
TAD	Thermophile anaerobe Vergärung (engl. <i>thermophilic anaerobic digestion</i>)
TGA	Thermogravimetrie
TM	Trockenmasse
oTM	organische Trockenmasse
TÖK I	Universität Bayreuth Fachgruppe Biologie Lehrstuhl für Tierökologie I
VDI	Verein Deutscher Ingenieure (hier Hinweis auf VDI-Richtlinien)
UV-Licht	Ultraviolett-Licht
WG	Wassergehalt

Executive Summary

Einführung:

Hinsichtlich der Belastung und Gefährdung terrestrischer Ökosysteme durch Mikrokunststoffe (Kunststoffpartikel < 5 mm) bestehen derzeit noch erhebliche Wissenslücken. Mikrokunststoffe (MKS) können z.B. durch Komposte und Gärprodukte, die u.a. als Düngemittel und Bodenverbesserer in der Landwirtschaft genutzt werden, in Böden und Gewässer und schließlich auch in die Nahrungskette gelangen. Sie stehen zudem unter dem Verdacht, wichtige Bodenfunktionen zu verändern. Zwar leisten Kompostierung und Vergärung von häuslichem Bioabfall einen wesentlichen Beitrag zur Kreislaufwirtschaft, allerdings ist die Rolle von Komposten und Gärprodukten beim Eintrag von MKS in Böden bisher nicht belastbar untersucht. Auch zur Auswirkung von MKS auf wesentliche Bodenfunktionen existierten bislang kaum Daten. Daher sind Untersuchungen zum Vorkommen und Verhalten von MKS in terrestrischen Ökosystemen unerlässlich. Voraussetzung für die Risikobeurteilung von MKS in Komposten, Gärprodukten und Böden ist eine standardisierte Analytik für MKS in diesen Matrices sowie systematische Untersuchungen zur Veränderung bzw. Fragmentierung von Kunststoffen während des Abbauprozesses in Bioabfallverwertungsanlagen.

An dieser Stelle setzte das Vorhaben "Mikrokunststoffe in Komposten und Gärprodukten aus Bioabfallverwertungsanlagen und deren Eintrag in Böden - Erfassen, Bewerten, Vermeiden (MiKoBo)" an. **Ziel des Vorhabens** war die Bestimmung und Quantifizierung von MKS in Komposten und Gärprodukten sowie die Bewertung der potenziellen ökologischen Auswirkungen von MKS auf Bodenlebewesen und -funktionen. Grundlage dafür war die Etablierung von standardisierten Methoden zur Identifikation und Quantifizierung von Kunststoffpartikeln in terrestrischen Ökosystemen.

Das Projekt war in drei Themenbereiche gegliedert. Im **ersten Themenbereich** wurde die **Analytik** zur Erfassung der Partikelgröße und -anzahl von MKS unter Berücksichtigung möglichst aller relevanten Kunststoffarten auf Grundlage bestehender Analyse-Ansätze adaptiert und für feste Matrices weiterentwickelt. Gleichzeitig wurden geeignete Prüf- und Referenzmaterialien hergestellt und vollumfänglich charakterisiert, um das Verhalten und Veränderungen und die Fragmentierung zu MKS unter definierten Randbedingungen untersuchen zu können. Dabei wurden sowohl konventionelle, biologisch nicht abbaubare als auch biologisch abbaubare Kunststoffe untersucht.

Der **zweite Themenbereich** befasste sich mit der **Entstehung** und dem **Verhalten von MKS in Bioabfallverwertungsanlagen** anhand von Untersuchungen zum Fragmentierungs-

verhalten ausgewählter Kunststoffe unter definierten, reproduzierbaren Laborbedingungen sowie Experimenten im Technikumsmaßstab.

Im **dritten Themenbereich** wurden das **Abbauverhalten von MKS** im Boden sowie ihre **Auswirkungen** auf Bodenorganismen und -funktionen in Feld- und Laborversuchen untersucht.

An dieser Stelle sei nochmals betont, dass nicht speziell der Abbau von biologisch abbaubaren Kunststoffen, sondern die Fragmentierung von Kunststoffen allgemein, also die Entstehung von MKS, in den biologischen Prozessen der Kreislaufwirtschaft Gegenstand des Projekts war. Die gemäß DIN EN 13432 und DIN EN 14995 zertifizierten biologisch abbaubaren Kunststoffe sind daraufhin entwickelt, bei der Kompostierung abgebaut und fragmentiert zu werden. Nach der „kleinen“ Novelle der BioAbfV (2022) muss die Zertifizierung den Nachweis beinhalten, dass die biologisch abbaubaren Kunststoffe überwiegend aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellt wurden und dass nach einer Kompostierungsdauer von höchstens sechs Wochen eine vorständige Desintegration mit einem Siebdurchgang von maximal 2 mm erfolgt ist.

Ergebnisse:

Themenbereich 1: Methodenentwicklung, Probenverarbeitung, Analytik, Prüf- und Referenzmaterialien

Methodenentwicklung der Probenaufbereitung und Analytik

Bis vor kurzem waren Untersuchungen zu Entstehung, Vorkommen, Arten von MKS in Böden kaum Gegenstand der Forschung und es gab keine zuverlässige Methode MKS mit einer Partikelgröße < 1 mm aus der komplexen Bodenmatrix zu isolieren und zu analysieren. In Themenbereich 1 wurde eine neue Methode etabliert und validiert, mit der eine Bodenprobe mit einer Trockenmasse (TM) von bis zu 250 g auf MKS untersucht werden kann. Diese Methode ist eine Sequenz aus Dichtentrennung (zur Abtrennung der schweren mineralischen Fraktion) und enzymatisch-oxidativem Verdau (zur Reduzierung der organischen Reste in der leichten Fraktion). Sie ermöglicht es, MKS in der Größenordnung von 10 μm bis 500 μm (mittels μ -FTIR Spektroskopie) und 500 μm bis 5 mm (mittels ATR-FTIR Spektroskopie), die sowohl aus konventionellen als auch biologisch abbaubaren Kunststoffen stammen in der komplexen Bodenmatrix nachzuweisen. Dabei werden ökologisch relevante Parameter wie Kunststoffart, Größe und Form der MKS erfasst, die später zu einer fundierten Risikobewertung herangezogen werden können. Für Komposte, die zu einem großen Teil aus stabilisierten organischen Komponenten bestehen, ist die oben genannte Methode nicht anwendbar. Dies liegt daran, dass die Organik in diesen Komposten zum einen eine ähnliche

Dichte wie viele Kunststoffe aufweist und somit nicht durch eine Dichtentrennung abgetrennt werden kann, und zum anderen kaum mehr durch Enzyme (Hemmung der Enzyme durch Huminstoffe) abbaubar ist, da in der Kompostierung das leicht abbaubare organische Material bereits durch mikrobielle Enzyme abgebaut wurde und somit eine relativ stabile organische Rest-Matrix übrigbleibt. Daher konnten im Rahmen dieses Projekts in Komposten aus Bioabfallbehandlungsanlagen nur MKS größer 1 mm untersucht werden, die dazu unter dem Mikroskop aussortiert und mittels ATR-FTIR Spektroskopie gemessen wurden. Die Analyse von MKS kleiner 1 mm ist Schwerpunkt des BWPLUS-Projektes <BabbA> (<https://pudi.lubw.de/projektseite/-/project/128690>).

Herstellung der Prüf- und Referenzmaterialien

Um in der Lage zu sein, das Verhalten und die Auswirkungen bestimmter MKS-Arten in der Umwelt, in Kompostier- und Vergärungsversuchen, sowie in Ökotoxizitätsstudien grundlegend zu erfassen, wurden für dieses Projekt gezielt Kunststoffe mit genau bekannter Zusammensetzung hergestellt und in den Labor- sowie Technikums-versuchen verwendet. Eingesetzt wurden Polyethylen (PE) in den Varianten Polyethylen niedriger Dichte (LDPE) und Polyethylen hoher Dichte (HDPE) und die biologisch abbaubaren Kunststoffe Polylactid (PLA), Polybutylenadipat-terephthalat (PBAT) sowie zwei Gemische aus PLA und PBAT mit unterschiedlichen Mischungsverhältnissen (PLA/PBAT und PBAT/PLA).

Die Zusammensetzungen wurden gewählt, um damit verschiedene Produktparten repräsentieren zu können. Kommerzielle auf dem Markt befindliche Produkte wurden aufgrund der nicht bekannten und wechselnden chemischen Zusammensetzung nicht verwendet. Das PLA/PBAT-Blend (mit weit höherem PLA-Anteil) stellt eine Zusammensetzung dar, die im Bereich der Hartkunststoffprodukte, wie z.B. kompostierbare Joghurtbecher, Shampoo-flaschen oder Einweggeschirr, eingesetzt wird. Das PBAT/PLA-Blend (mit weit höherem PBAT-Anteil) wurde hingegen gewählt, um einen Werkstoff für Verpackungsfolien zu repräsentieren.

Die Kunststoffe wurden hinsichtlich ihrer Stoffeigenschaften charakterisiert und zu MKS mit unterschiedlichen Korngrößenbereichen zerkleinert; die kleinsten Partikel hatten 10 µm. Die Partikelvermessung, die für die Bewertung von Ökotoxizitätstests unabdingbare Informationen liefert, wurde mittels statischer Bildanalyse durchgeführt.

Themenbereich 2: Kompostierungs- und Vergärungsprozesse

Es wurden Komposte und Gärprodukte aus 14 Bioabfallbehandlungsanlagen in Baden-Württemberg beprobt und auf MKS untersucht. Im Hinblick auf die Konzentration von

Kunststoffen größer 1 mm überschritt keiner der im Projekt untersuchten Qualitätskomposte (Biogut- und Grüngutkomposte) die rechtlichen oder die in den Qualitätskriterien der Bundesgütegemeinschaft Kompost definierten Obergrenzen für Kunststoffverunreinigungen. Biogutkomposte aus reinen Kompostierungsanlagen waren im Durchschnitt etwas stärker mit Kunststofffragmenten größer 1 mm belastet als solche aus Grüngutanlagen (15 Partikel pro kg TM in Biogutkomposten im Vergleich zu etwas mehr als 10 Partikel pro kg in Grüngutkomposten). Typischerweise wird eine Düngemenge von 7 bis 10 t TM-Kompost pro Hektar und Jahr ausgebracht, dies entsprechen 0,7 bis 1 kg Kompost pro m². Das in den Anlagen angelieferte Biogut war deutlich stärker mit Kunststoffen (vor allem Beutel) belastet als das angelieferte Grüngut. Erkauft wird die dennoch hohe Qualität der Biogutkomposte mit aufwändigen Aufbereitungsschritten (z. B. Siebung, Windsichtung), bei denen zwangsläufig wertvolle biogene Materialien mit den Fremdstoffen aussortiert werden und dadurch dem Wertstoffkreislauf verloren gehen.

Biogutkomposte aus kombinierten Bioabfallverwertungsanlagen (Vergärung mit nachfolgender Kompostierung) waren stärker mit Kunststoffen größer 1 mm belastet (bis zu 100 Partikel pro kg TM im Fertigkompost) als Biogutkomposte aus reinen Kompostieranlagen (15 Partikel pro kg TM). Nach den vorliegenden Ergebnissen tragen vor allem drei Faktoren zu einer höheren Konzentration der entsprechenden Komposte mit Kunststofffragmenten größer 1 mm bei:

1. Höhere Organikausnutzung:

Bei kombinierten Anlagen wird eine höhere Organikausnutzung erzielt. Daraus resultieren höhere MKS-Konzentrationen im Kompost.

2. Verwendung von Schreddern:

Dadurch wird zwar die Vergärung intensiviert, gleichzeitig können aber MKS entstehen. Im Projekt wurde eine kombinierte Anlage untersucht, die keinen Schredder einsetzte (Boxenfermenter); hier wies der Kompost deutlich weniger MKS auf.

3. Abpressen des flüssigen Gärrestes:

Der feste Gärrest wirkt dabei wie ein Filterkuchen und hält die Kunststofffragmente größer 1 mm zurück, die dann mit dem festen Gärrest in die Kompostierung gelangen.

Rückstände **biologisch abbaubarer Werkstoffe (BAW)** wurden vor allem in Komposten aus kombinierten Anlagen gefunden (0 – 29 Partikel pro kg TM; vor allem PBAT). Die Spanne des Anteils biologisch abbaubarer Werkstoffe an der Gesamtbelastung mit Fremdstoffpartikeln größer 1 mm lag zwischen 0 und 36 %. Da diese Anlagen deutlich kürzer kompostieren als reine Kompostieranlagen (5 bis 6 Wochen, statt bis zu 3 Monate), ist zu vermuten, dass die

Dauer der Kompostierung in den kombinierten Anlagen nicht ausreicht, um die gefundenen BAW vollständig biologisch abzubauen. Das Abbauverhalten von BAW und dessen Umweltrelevanz war nicht Gegenstand des vorliegenden Projektes.

Die **flüssigen Gärprodukte** aus kombinierten Bioabfallverwertungsanlagen waren nicht mit Plastikpartikeln größer 1 mm belastet. Im Bereich kleiner 1 mm enthalten flüssige Gärprodukte zwischen 19.200 bis zu 21.760 Kunststofffragmente pro Liter, etwa zu gleichen Teilen konventionelle Kunststoffe wie Polyethylen (PE) und Polypropylen (PP) und BAW wie PLA und PBAT. Die flüssigen Gärprodukte aus landwirtschaftlichen Biogasanlagen waren hingegen nur gering belastet (max. 1.600 Partikel kleiner 1 mm pro Liter). Kunststoffpartikel größer 1 mm wurden in keinem der untersuchten flüssigen Gärprodukte gefunden. Des Weiteren führt wahrscheinlich die mechanische Separation selbst (Presse) schon zu erhöhter Bildung von MKS-Partikeln.

Um das **Verhalten ausgewählter Kunststoffe (LDPE, PLA, PLA/BPAT-Blend, PBAT/PLA-Blend)** in Bioabfallbehandlungsprozessen unter definierten Bedingungen detailliert zu untersuchen, wurden aerobe (Kompostierung) und anaerobe (Vergärung) Laborversuche durchgeführt. Dabei wurden fremdstofffreie Bioabfälle (kunststofffreier, synthetischer Bioabfall und Speisereste) mit einer definierten Menge an Referenzkunststoffen versehen und unter kontrollierten, praxisnahen Bedingungen mit unterschiedlichen Aufenthaltszeiten aerob bzw. anaerob behandelt. Die Folienabmessungen wurden zum einen aufgrund der Form und Dicke, der in der Praxis „grob“, anfallenden BAW-Beuteln sowie abhängig vom Reaktorvolumen ausgewählt und in der Kompostierung eingebracht. Für die aerobe Kompostierung wurden Folienproben mit der Abmessung 16 x 3 cm, für die anaerobe Vergärung mit einer Abmessung von 3 x 1,5 cm verwendet.

Bei der Kompostierung mit synthetischen Bioabfällen wurden statische und semidynamische Verfahren mit unterschiedlichen Belüftungskonzepten untersucht. Beim Anaerobprozess wurden statische und dynamische Verfahren im mesophilen (37°C) und thermophilen (55°C) Temperaturbereich und zwei verschiedene Substrate (synthetischer Bioabfall, Speisereste) betrachtet. Die Probenahme erfolgte vom Ausgangsmaterial sowie nach 3, 6 und 12 Wochen Versuchsdauer.

Die Versuchsergebnisse in den Laboruntersuchungen zeigen, dass besonders bei den biologisch abbaubaren Kunststoffen eine Fragmentierung durch den biologischen Prozess, verbunden mit der Bewegung der Substrate in den Reaktoren, stattgefunden hat. Durch den Rotteprozess wurden bei der Kompostierung besonders die biologisch abbaubaren Kunststoffe in ihrer Korngröße stark reduziert. Auch haben sich bei den biologisch abbaubaren Kunststoffen deren Eigenschaften (Farbe, Flächigkeit) stark verändert. Besonders PBAT/PLA

war nach 12 Wochen Rottezeit nur noch in geringem Umfang optisch erkennbar. Die Anzahl der Partikel größer 5 mm (Ausgangszustand der Folien) hatte sich während des Prozesses deutlich verringert, während die Anzahl der Kunststofffragmente (angegeben in Partikel/L Frischmasse (FM)) in den Korngrößenklassen kleiner 5 mm deutlich zunahm:

- 500 µm bis 5 mm: von Woche 3 auf Woche 12 von ca. 50 Partikeln (überwiegend PLA) auf über 700 Partikel (vor allem PLA/PBAT und PLA)
- 10 bis 500 µm: von ca. 15 Partikeln (vor allem LDPE und PBAT/PLA) auf ca. 200 Partikel (vor allem PLA/PBAT und PLA, in geringerem Umfang auch PBAT/PLA und LDPE).

Dies war zu erwarten, da die biologisch abbaubaren Kunststoffe mit diesen Eigenschaften entwickelt wurden.

Bei den mesophil-statischen Vergärungsversuchen fand aufgrund des anaeroben Prozesses, der vergleichsweise geringen Temperaturen und des ruhenden Zustandes des Materials (keine Abrasion) eine Fragmentierung des PLA in die Fraktionen kleiner 500 µm in nur sehr geringem Umfang statt. Die drei anderen zugesetzten Kunststoffe wurden in diesen Fraktionen nicht gefunden. Im Gegensatz hierzu wurden bei den thermophil-dynamischen Vergärungsversuchen aufgrund der vergleichsweise höheren Temperaturen sowie der ständigen Bewegung des Materials und der damit verbundenen Abrasion insgesamt mehrere tausend Partikel in den Fraktionen kleiner 500 µm festgestellt. Dies waren vor allem PBAT/PLA und LDPE, in geringem Umfang auch PLA.

Die Partikelzahlen in den Fraktionen kleiner 500 µm lagen nach 12 Wochen Versuchszeit bei den dynamischen Anaerobversuchen im thermophilen Bereich insgesamt signifikant höher als bei den Kompostierungsversuchen. Es ist davon auszugehen, dass durch die dynamische Betriebsweise die damit einhergehenden auftretenden Scherkräfte stark zu der Fragmentierung beigetragen haben.

Auf allen in den Laboranlagen untersuchten Kunststoffarten konnten Biofilme nachgewiesen werden. Kunststoffe könnten somit als Vektoren für Biofilme dienen, wenn sie in die Umwelt gelangen. Welche Auswirkungen dies hat, sollte in Folgeprojekten untersucht werden.

Während der Prozessführung wurde bei den Kunststofffolien Mikrorisse auf der Oberfläche und eine erhöhte Brüchigkeit festgestellt. Beides könnte die Bildung von MKS in Bioabfallverwertungsanlagen begünstigen. Ob diese Fragmente anschließend von Organismen vollständig mineralisiert werden können, ist noch nicht geklärt. Dies sollte in weiteren Studien untersucht werden.

Themenbereich 3: Auswirkungen auf Bodenorganismen und -funktionen

Im Themenbereich 3 wurden **ein Feldversuch** zum Verhalten von MKS im Boden einer konventionell bewirtschafteten Ackerfläche, Laborversuche zur Abbaubarkeit und zu den Auswirkungen von MKS auf wichtige Bodenfunktionen sowie **Laborversuche** zu Wechselwirkungen von MKS mit Nematoden, Springschwänzen und Regenwürmern durchgeführt.

Die MKS-Hintergrundbelastung des landwirtschaftlich genutzten Bodens des Feldversuchs wurde anhand der MKS-Belastung der Kontrollplots des Feldversuchs ($n = 4$) beurteilt. Dazu wurde pro Plot eine Boden-Fläche von 143 cm^2 mittels 15 Entnahme-Einstichen, die zu einer Probe vereint wurden, beprobt. Der Boden enthielt 296 ± 110 (Mittelwert \pm Standardfehler) Partikel kleiner $0,5 \text{ mm}$ pro kg , wobei PP, Polystyrol (PS) und PE die häufigsten MKS waren. Insgesamt wurden in den Bodenproben der Kontrollplots nur 4 Partikel (2 Polyethylenterephthalat (PET), je 1 PE und PS) größer $0,5 \text{ mm}$ gefunden. Um die Sensitivität der MKS-Analysen für Partikel kleiner $0,5 \text{ mm}$ zu verbessern, wurde deshalb eine Beprobung durchgeführt, bei der alle Plots des Feldversuchs ($n = 36$) beprobt wurden und die Beprobungsfläche pro Plot auf 900 cm^2 erhöht wurde. Dabei wurden auffallend viele Lackpartikel (27 von insgesamt 57 MKS-Partikeln) gefunden. Diese Befunde zeigen, dass auch in Ackerböden ohne landwirtschaftliche Praktiken wie organischer Düngung, Klärschlammzugabe und der Verwendung von Kunststoffmulchfolien, verschiedene MKS vorkommen können. Dies deutet darauf hin, dass ein erheblicher diffuser MKS-Eintrag durch atmosphärische Deposition und unsachgemäße Entsorgung von Kunststoffabfall („Littering“), aber auch durch den Abrieb von Beschichtungen landwirtschaftlicher Maschinen erfolgt. Für andere landwirtschaftlich genutzte Böden in Baden-Württemberg mit ähnlicher Nutzungsgeschichte wie die des Feldversuchsbodens ist eine Hintergrundbelastung in ähnlicher Größenordnung zu erwarten. Insbesondere MKS-Partikel kleiner $0,2 \text{ mm}$ kamen im Boden des Feldversuchs häufig vor. MKS kleiner $0,01 \text{ mm}$ und Nanopartikel haben möglicherweise direkte Auswirkungen auf Bodenorganismen, können allerdings derzeit noch nicht zuverlässig quantifiziert werden. Dafür ist die Weiterentwicklung der bestehenden MKS-Analytik unabdingbar.

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass sowohl nicht vorbehandelte konventionelle MKS (LDPE) als auch nicht vorbehandelte biologisch abbaubare MKS (PLA/PBAT) unter Feldbedingungen im Boden verbleiben. Im Feldversuch wurden 20 kg MKS (LDPE, PLA/PBAT) pro Hektar zugegeben. Auf Basis von Partikelanalysen des Zugabematerials entspricht dies einer Zugabe von $1,4 \text{ Mrd. LDPE-}$ und $0,2 \text{ Mrd. PLA/PBAT-Partikeln}$ kleiner $0,5 \text{ mm}$ bzw. 39 Mio. LDPE- und $32 \text{ Mio. PLA/PBAT-Partikeln}$ größer $0,5 \text{ mm}$ pro Hektar. Im Vergleich zum Hintergrundwert erhöhte diese MKS-Zugabe zwar deutlich die Partikel-

konzentration im Boden, aber es konnten keine Auswirkungen auf die untersuchten Bodenfunktionen festgestellt werden. Bedingt durch die kontinuierliche Ausbringung von organischen Düngemitteln und eine damit verbundene Anreicherung von MKS in landwirtschaftlichen Böden besteht dennoch langfristig das Potenzial, Bodenfunktionen und -organismen zu gefährden.

In einem **Laborexperiment** zur Abbaubarkeit von MKS (PLA/PBAT, LDPE) wurden ausschließlich PLA/PBAT-Partikel in eher trockenem Boden innerhalb von 230 Tagen mineralisiert (11 bis 15 % des zugegebenen Kohlenstoffs (C)). Für LDPE-Partikel und kleinere PLA/PBAT-Partikel wurde im feuchten Boden keine Mineralisierung festgestellt. MKS veränderten den C-Umsatz und die Zusammensetzung der wichtigsten mikrobiellen Gruppen im Boden nicht. Allerdings deuten morphologische Veränderungen und erhöhte Aktivitäten des Enzyms Lipase auf der Oberfläche von aus dem Boden extrahierten PLA/PBAT-Partikeln auf den beginnenden Abbau dieser Partikel durch Depolymerisierung hin. Künftige Studien sollten sich mit der polymerspezifischen Plastisphäre in unterschiedlicher räumlicher Auflösung in verschiedenen Böden befassen, um mehr Informationen über die Auswirkungen dieses neuen anthropogenen Mikrohabitats in Böden auf mikrobiell gesteuerte Bodenprozesse zu erhalten.

In einem weiteren Laborexperiment zur Abbaubarkeit von fermentierten MKS (LDPE, PBAT/PLA) im Boden erwiesen sich PBAT/PLA-Partikel (0,5 bis 2 mm) mit Fermentatbelag als besonders gut abbaubar (26 % Mineralisierung des PLA/PBAT-C nach 202 Tagen). Aber auch fermentierte PBAT/PLA-Partikel ohne Fermentatbelag (abgewaschen) wurden deutlich besser abgebaut als unbehandelte (12 gegenüber 6 %). Dies zeigt, dass die biologische Vorbehandlung von MKS deren Abbaubarkeit im Boden maßgeblich verbessern kann. Für LDPE-Partikel wurde keine Mineralisierung im Boden festgestellt.

In **ökotoxikologische Untersuchungen** mit dem Nematoden *Caenorhabditis elegans* wurde nachgewiesen, dass diese Bodentiere bei Exposition gegenüber PLA/PBAT-Partikeln (mittlerer Durchmesser \pm Standardabweichung: $40 \pm 31 \mu\text{m}$) in Futtersuspensionen (100 mg PLA/PBAT pro Liter) PLA/PBAT-Partikel in einer Größe von 1,3 bis 5,1 μm in den Verdauungstrakt aufnahmen. Bei Exposition gegenüber MKS (LDPE [$57 \pm 40 \mu\text{m}$] und PLA/PBAT) in Futtersuspensionen (1, 10 und 100 mg pro Liter) war die Reproduktion der Nematoden bis zu 22,9 % im Vergleich zur Kontrolle reduziert. Diese Reduktion war kunststoffunabhängig und bei höheren Konzentrationen tendenziell stärker.

In einem Reproduktionstest mit der Springschwanzart *Folsomia candida* reduzierten PBAT/PLA-Partikel (mittlerer Durchmesser \pm Standardabweichung: $76 \pm 40 \mu\text{m}$) die Nachkommenzahl nur bei der höchsten untersuchten Konzentration beträchtlich (34 %

Reduktion bei einer Konzentration von 1,5 Gew.-% PBAT/PLA im Boden). Es wurde in den aufgezeigten Versuchen eine höhere Hintergrundkonzentration an MKS (entsprechend 7 bis 20-jähriger Kompostgabe) verwendet, um das Vermeidungsverhalten besser beurteilen zu können. Im Vergleich dazu verringerte LDPE (mittlerer Durchmesser \pm Standardabweichung: $84 \pm 33 \mu\text{m}$) die Nachkommenzahl bereits bei einer deutlich geringeren Konzentration (43 % Reduktion bei einer Konzentration von 0,12 Gewichtsprozent (Gew.-%) LDPE im Boden). In einer weiteren Untersuchung zeigte sich ein konzentrationsabhängiges Vermeidungsverhalten von Springschwänzen gegenüber mit LDPE-Partikeln (mittlerer Durchmesser \pm Standardabweichung: $84 \pm 33 \mu\text{m}$) verunreinigten Böden. Die Springschwänze mieden Böden stärker mit steigender LDPE-Konzentration. Mit Nilrot (NR) gefärbte PBAT/PLA-Partikel konnten im Verdauungstrakt von *F. candida* nachgewiesen werden – ein Nachweis dafür, dass MKS-Partikel aufgenommen werden. Für die Abschätzung der Umweltauswirkungen sind weitere Untersuchungen notwendig.

Untersuchungen zu den Interaktionen der Regenwurmart *Lumbricus terrestris* mit Kunststofffragmenten legen dar, dass Regenwürmer fermentierte Kunststofffragmente in gleichem Maße wie ihre natürliche Nahrung in bis zu 30 cm Tiefe in den Boden einzogen. Insofern ist zu erwarten, dass vor allem biologisch vorbehandelte Kunststoffe, die als Bestandteil von organischen Düngemitteln in den Boden gelangen, von Regenwürmern in den Boden eingezogen werden. Daraus ergeben sich mögliche Umweltrisiken mit bisher ungeklärten Auswirkungen auf biogeochemische Prozesse insbesondere in größeren Bodentiefen.

Schlussfolgerungen für die Kreislaufwirtschaft:

Die Ergebnisse zeigen, dass die Freisetzung von Kunststoffen durch die in Bioabfallverwertungsanlagen erzeugten Produkte (Komposte, Gärprodukte) so weit wie möglich vermieden werden sollte, um mögliche negative Auswirkungen auf terrestrische Ökosysteme auszuschließen. Zur Vorsorge vor möglichen negativen Auswirkungen auf die Umwelt sollte darauf hingewirkt werden, den Eintrag von im biologischen Prozess nicht vollständig abbaubaren Kunststoffen in die Bioabfallverwertung zu minimieren.

Hierzu ist es erforderlich, die Bioabfallsammlung unter dem Aspekt einer hohen Sortenreinheit durchzuführen. Dabei können sowohl eine entsprechende Öffentlichkeitsarbeit und Gestaltung der Abfallsatzung als auch Kontroll- und Sanktionsmechanismen zur Qualitätssicherung der erfassten Bioabfälle seitens der öffentlich-rechtlichen Entsorgungsträger zwingend

erforderlich. Es muss oberste Priorität haben, Kunststoffeinträge bereits bei der Sammlung zu vermeiden.

Auf Ebene der Anlagenbetreiber ist dafür zu sorgen, dass eingetragene Kunststoffe vor deren Ausschleusung möglichst nicht zerkleinert werden (z. B. selektive Zerkleinerung) bzw. abhängig vom Behandlungsverfahren (Vergärung und/oder Kompostierung) frühzeitig im Prozessverlauf ausgeschleust werden. Bei der Kompostierung ist ein möglichst schonendes Behandlungsverfahren zu wählen (z. B. weniger/seltenes Umsetzen durch aktive oder passive Belüftung). Darüber hinaus sollten generell Siebüberläufe, die als Strukturmaterial wiedereingesetzt werden, von Kunststoffen befreit werden. Neben Windsichtern können hierzu auch verstärkt Nahinfrarot-Detektionssysteme mit gezielter Ausschleusung durch Ausblasen eingesetzt werden. Auch hier ist eine Qualitätssicherung der Prozesse und erzeugten Produkte unerlässlich.

Da in kombinierten Anlagen häufig Pressen für die Separation von flüssigen und festen Gärresten verwendet werden und es in diesen Anlagen vermehrt zur Partikelbildung kommt, muss in weiteren Untersuchungen überprüft werden, ob tatsächlich das Abpressen oder ein anderer Faktor zur Entstehung von MKS bei kombinierten Anlagen führt. Es ist ersichtlich, dass die eingesetzte Anlagentechnik (Presstechnik, Vergärungstechnik, Aufbereitungstechnik, nachgeschaltete Kompostierungstechnik etc.) einen großen Einfluss auf die Entstehung von MKS hat und dies einer erweiterten Betrachtung und Untersuchung bedarf.

Um den Gesamteintrag von Kunststoffen in die Umwelt zu minimieren, sollten die zulässigen Kunststoffgrenzwerte im Abfall- und Düngerecht künftig nicht mehr auf Partikel größer 1 mm beschränkt sein, sondern auch kleinere Kunststoffpartikel berücksichtigt werden. Hierzu sollten die zur Verfügung stehenden Analyseverfahren weiterentwickelt, validiert und standardisiert werden.

Trotz höherer MKS-Gehalte in flüssigen Gärresten von kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen als in Komposten, die ohne vorgeschaltete Vergärung hergestellt wurden, sind die Vorteile kombinierter Anlagen mit Vergärung und Kompostierung im Hinblick auf den Klimaschutz hervorzuheben, weil sie zusätzlich noch Biogas zur Substitution fossiler Energieträger wie Erdgas produzieren.

Im Hinblick auf die bei der Bioabfallbehandlung eingesetzten Verfahren wird auf Grundlage der Ergebnisse empfohlen, für bei der Bioabfallsammlung zugelassene Beutel eine Zertifizierung zu entwickeln, die neben den aeroben auch die anaeroben Verfahren sowie die

in der Praxis vermehrt realisierten Verfahrenskombinationen aus anaerober mit nachgeschalteter aerober Stufe bei den dort üblichen Aufenthaltszeiten abdeckt.

Weitere Untersuchungen zur MKS-Hintergrundbelastung landwirtschaftlicher Böden in Baden-Württemberg sollten durchgeführt werden, um räumliche Verteilungsmuster der MKS-Belastung zu identifizieren. Diese sollten auch Böden mit anderer landwirtschaftlicher Nutzungsgeschichte (z. B. Verwendung von Mulchfolien, Düngung mit organischen Düngemitteln, etc.) berücksichtigen.

Insgesamt zeigen die Projektergebnisse, dass MKS potenziell wichtige Akteure des Bodennahrungsnetzes auf verschiedenen Ebenen beeinträchtigen können. Hier spielt die Konzentration eine entscheidende Rolle für die MKS-Toxizität gegenüber Bodenlebewesen, während die Kunststoffart nachrangig scheint (mit Ausnahme der Springschwänze). Weiterführende künftige Studien zu MKS-Interaktionen mit Bodenlebewesen sollten die Erkenntnisse zu umweltrelevanten Konzentrationen von MKS und deren Größenverteilung in Komposten, Gärprodukten und Böden berücksichtigen und explizit auch die Effekte von Fragmenten aus kommerziell erhältlichen kompostierten Biomüllsammelbeuteln oder anderweitig gealterten MKS in umweltrelevanten Konzentrationen untersuchen. Dadurch ließe sich das Gefahrenpotential von MKS für Bodenlebewesen unter realistischeren Szenarien besser abschätzen.

Der durchgeführte Feldversuch zeigt, dass die zugesetzten Mikrokunststoffe, die einer Akkumulation nach 7 bis 20 Jahren Kompostanreicherung entsprechen, sich weder auf die Aktivitäten am C-Umsatz beteiligter Enzyme noch auf den mikrobiellen C auswirkten. Auch die Ernteerträge wurden hierdurch nicht beeinflusst. Für eine Veränderung der Bodenfunktion, wie in anderen Studien gezeigt, konnten in der hier durchgeführten Studie keine Hinweise gefunden werden, obgleich Langzeiteffekte nicht ausgeschlossen werden können. Hervorzuheben ist, dass der Einsatz von Komposten und Gärprodukten zum Klima- und Ressourcenschutz beiträgt. Diese leisten durch ihre Düngewirkung, Humusversorgung und Wasserhaltekapazität einen wichtigen Beitrag zur Fertilität der Böden und zum Bodenschutz. Der Kunststoffeintrag durch Komposte und Gärprodukte in landwirtschaftliche Böden ist nur ein Eintragungspfad von vielen – so müssen für eine letztendliche Bewertung auch andere Eintragungspfade wie z. B. atmosphärische Deposition, Littering, landwirtschaftliche Mulchfolien, Hüllpolymere von Düngemitteln oder Abrieb von Beschichtungen landwirtschaftlicher Maschinen berücksichtigt werden. Unbestritten ist es aus Vorsorgegründen die Akkumulation von Kunststoffen in Böden so gering wie möglich zu halten.

In diesem Zusammenhang kann im Bereich der Produkte von Bioabfallbehandlungsanlagen mit gezielten Maßnahmen der Eintrag von im biologischen Prozess nicht vollständig abbaubaren Kunststoffen minimiert werden.

1. Ziel und Hintergrund des Projektes

Hinsichtlich der Belastung und Gefährdung terrestrischer Ökosysteme durch Kunststoffabfall gibt es erhebliche Wissenslücken. Als besonders problematisch werden in diesem Zusammenhang Mikrokunststoffe (MKS, umgangssprachlich Mikroplastik), d. h. Kunststoffpartikel < 5 mm, eingeschätzt, da sie potenziell in die Nahrungskette gelangen können und auch unter Verdacht stehen die Bodenfunktion zu verändern. Eine potenzielle Quelle für MKS in Böden sind Komposte und Gärprodukte aus Bioabfallverwertungsanlagen, die u. a. als Dünger und Bodenverbesserer in der Landwirtschaft genutzt werden. Häufig sind die an den Anlagen angelieferten Bioabfälle mit Kunststoffen infolge von Fehlwürfen verunreinigt. Darüber hinaus werden in manchen Fällen Bioabfälle in nicht in den Gebietskörperschaften zugelassenen Kunststofftüten in den Haushalten erfasst. Während in Bioabfallverwertungsanlagen größere Kunststoffteile spätestens bei der Feinabsiebung aus den erzeugten Komposten und Gärprodukten entfernt werden, ist bis dato keine Abtrennung der wesentlich kleineren MKS möglich, so dass eine Verunreinigung von Komposten und Gärprodukten durch MKS zu erwarten ist. Obgleich erste Ergebnisse auf eine hohe Relevanz hinweisen, ist die Rolle von Komposten und Gärprodukten zum Eintrag von MKS in Böden bisher nicht belastbar untersucht (Stöven et al. 2015). Auch zur Auswirkung von MKS auf wesentliche Bodenfunktionen existieren bislang kaum Daten (Bläsing & Amelung, 2018). Die entscheidende Ursache dafür ist das Fehlen einer standardisierten Analytik für MKS in festen Matrices wie Komposten, Gärprodukten und Böden sowie von systematischen Untersuchungen zur Veränderung bzw. Fragmentierung von Kunststoffen während des Behandlungsprozesses in Bioabfallverwertungsanlagen.

Bislang ist noch nicht geklärt, ob MKS in Komposten und Gärprodukten in erster Linie während des Behandlungsprozesses aus Makrokunststoffen (Eintrag über Bioabfallsammlung) entstehen und/oder bereits zu einem gewissen Anteil als MKS im Bioabfall, bspw. Fehlwürfe, Straßenabfälle etc. enthalten sind. Ausschlaggebend für die Bewertung der Relevanz von Komposten und flüssigen Gärresten als Transportmedium für MKS in die Umwelt ist daher die Untersuchung der Stoffströme vom Bioabfall bis zum ausbringungsfähigen Kompost/Gärprodukt und des MKS-Eintrags in den Boden.

An dieser Stelle setzt das Vorhaben "Mikrokunststoffe in Komposten und Gärprodukten aus Bioabfallverwertungsanlagen und deren Eintrag in Böden - Erfassen, Bewerten, Vermeiden (MiKoBo)" an. In diesem Projekt werden Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung von MKS in Komposten, Gärprodukten und Böden erarbeitet, das Potential von Produkten aus Bioabfallverwertungsanlagen als Quelle für MKS abgeschätzt und die Wirkung von

eingetragenen MKS auf die Bodenqualität bestimmt. Das Projekt MiKoBo ist daher in drei Themenbereiche gegliedert:

Im **ersten Themenbereich** wird als analytische Basis eine Methodik zur Erfassung von MKS in Feststoffproben unter Berücksichtigung möglichst aller relevanten Kunststoffe auf Grundlage von bestehenden Ansätzen adaptiert und weiterentwickelt. Gleichzeitig werden geeignete Prüf- und Referenzmaterialien hergestellt und vollumfänglich charakterisiert, um das Verhalten und Veränderungen von MKS unter definierten Randbedingungen untersuchen zu können. Dabei werden sowohl herkömmliche, biologisch nicht abbaubare, als auch biologisch abbaubare Kunststoffe betrachtet.

Der **zweite Themenbereich** umfasst die Entstehung und das Verhalten von MKS in Bioabfallverwertungsanlagen sowie die Bewertung der Vorgänge in den Behandlungsprozessen im Hinblick auf den Eintrag von MKS in landwirtschaftliche Böden. Dabei soll das Verhalten der MKS über die gesamte Prozesskette vom Bioabfall bis zum fertigen Kompost/Gärprodukt erfasst werden. Die Untersuchungen werden durch Experimente in Technikumsanlagen (Vergärung, Kompostierung) und durch Laborversuche unterstützt.

Im **dritten Themenbereich** wird das Verhalten von MKS im Boden sowie Auswirkungen von MKS auf Bodenorganismen und -funktionen anhand von Abbauversuchen und ökotoxikologischen Tests in Feld- und Laborversuchen untersucht.

Ziel des Vorhabens ist somit die Bestimmung und Quantifizierung von MKS in Komposten und Gärprodukten sowie die Bewertung ihres Einsatzes als Dünger hinsichtlich ihrer potenziellen ökologischen Auswirkungen auf Bodenlebewesen und Bodenfunktionen. Dabei spielt als analytische Basis die Entwicklung von Methoden zur Identifikation und Quantifizierung von Kunststoffen in terrestrischen Systemen eine zentrale Rolle, da bislang hierfür noch keine geeigneten, standardisierten Verfahren etabliert sind.

Die Struktur und Zusammenarbeit des Projektkonsortiums sind in Abbildung 1 die eingesetzten Kunststoffe und Auswahlkriterien in Tabelle 1 zusammengefasst dargestellt.

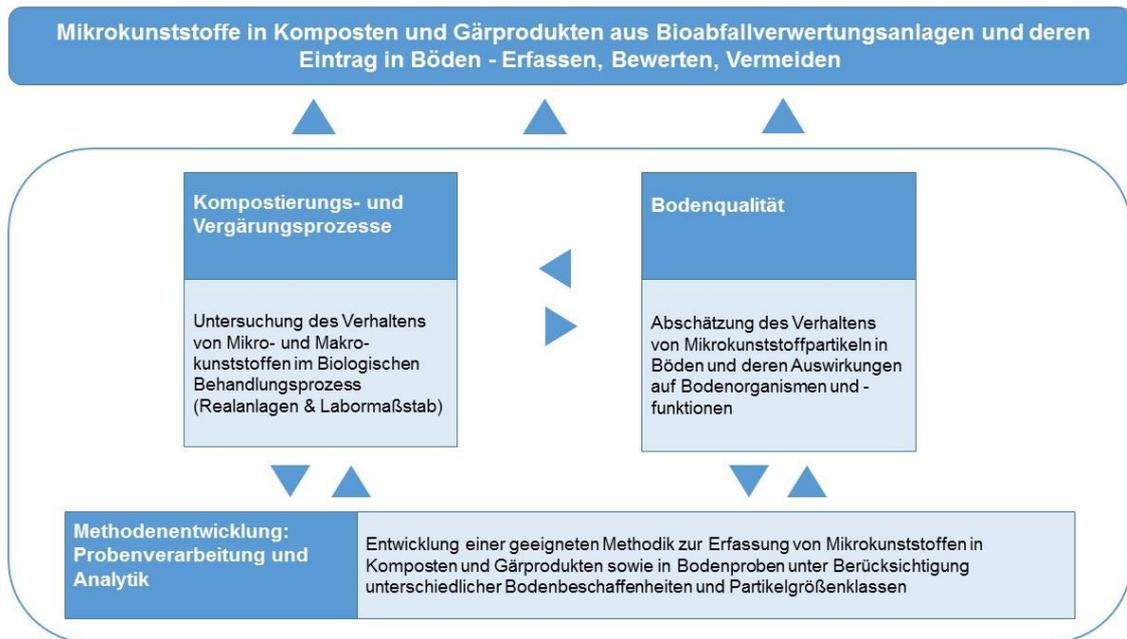


Abbildung 1: Gesamtstruktur des Vorhabens MIKoBo.

Die Materialauswahl der bereitgestellten Kunststoffsorten wurden den jeweiligen Fragenstellungen der Arbeitspakete angepasst und werden dort beschrieben.

Tabelle 1: Kunststoffe, die im Projekt MiKoBo eingesetzt wurden, und ihre Auswahlkriterien.

Kunststoff	LDPE (Polyethylen niedriger Dichte)	HDPE (Polyethylen hoher Dichte)	PLA (Polylaktid)	PBAT (Polybutylen-terephthalat)	PLA/PBAT (Blend/Schmelzmischung)	PBAT/PLA (Blend/Schmelzmischung)
Markenname	Lupolen 2420 H	Hostalen ACP 5831	Ingeo Biopolymer 7001D	Ecoflex F Blend C1200	Ein Blend aus linksstehenden Polymeren mit größerem PLA-Anteil	Ein Blend aus linksstehenden Polymeren mit größerem PBAT-Anteil
	Lyondellbasell, Rotterdam, Niederlande	Lyondellbasell, Rotterdam, Niederlande	NatureWorks LLC, Minnetonka, MN, USA	BASF SE, Ludwigshafen	Zusammensetzung: 80 M.-% PLA 20 M.-% PBAT	Zusammensetzung: ca. 60 M.-% PBAT ca. 10 M.-% PLA ca. 30 M.-% Mineralien + kleinste Mengen Haftvermittler sowie Gleitmittel
	Nicht-additiviertes Polyethylen niedriger Dichte	Polyethylen mit hoher Dichte	Polylactid aus erneuerbaren Ressourcen	Biologisch abbaubarer (nach DIN 13432) aliphatisch-aromatischer Copolyester		
Einsatzgebiete	Beutel und Taschen, Lebensmittelverpackungsfolien, Hygienefolien, Abdeckfolien, Schrumpffolien	Flaschen für Konsumgüter, Verpackungsfolien, starre Verpackungen	Streckblasflaschen für Molkereiprodukte, Speiseöle, Wasser, Gesundheit/Pflege etc.	für flexible Folien insbesondere im Bereich Bioabfalltüten, Agrarfolie, Frischhaltefolien, Verpackungen		
Verarbeitungsmethode	Blasfolienextrusion, Gießfolienextrusion	Extrusionsblasformen	Spritzgießen, Streck-Blasformen, Blasfolienextrusion	Blasfolienextrusion, Gießfolienextrusion		

Kunststoff	LDPE (Polyethylen niedriger Dichte)	HDPE (Polyethylen hoher Dichte)	PLA (Polylaktid)	PBAT (Polybutylen-terephthalat)	PLA/PBAT (Blend/Schmelzmischung)	PBAT/PLA (Blend/Schmelzmischung)
Auswahlkriterium	PE ist der weltweit am meiste verbrauchte Kunststoff. LDPE findet insbesondere in der Verpackungsindustrie im Bereich von Folien Einsatz.	PE ist der weltweit am meiste verbrauchte Kunststoff. Aus HDPE werden in der Verpackungsindustrie insbesondere blasgeformte Flaschen sowie thermogeformte Becher hergestellt.	PLA gehört den derzeit meist produzierten biologisch abbaubaren Kunststoffen auf dem Markt und wird zum Großteil in Blends eingesetzt.	PBAT ein nach DIN 13432 biologisch abbaubarer Kunststoff, der sehr nachgiebig und weich ist. Es wird meist in Blends mit PLA oder Stärke eingesetzt.	Die Blendzusammensetzung spiegelt kommerziell erhältliche Compounds wider. Es eignet sich für Anwendungen im Bereich des Streck-Blasformens (z. B. Shampoo-Flaschen) und Spritzgießen (z. B. Verschlusskappen). Um einen Einfluss des Haftvermittlers oder weiteren Zusatzstoffen auf die Ökotoxizität zu vermeiden, wurde auf diese zulasten der mechanischen Eigenschaften verzichtet.	Die Blendzusammensetzung spiegelt kommerziell erhältliche Compounds (Ecovio, Bioflex, MVERA, KingFa) wider. Es eignet sich insbesondere für Anwendungen der Blasfolienextrusion.
Eingesetzt in Arbeitspaket (entspricht den Kapiteln im Bericht)	2.2 4.1 4.2 4.3	3.1 3.3 3.4	2.2 3.1 3.3 3.4	2.2 3.1 3.3	2.2 3.4 4.1 4.2 4.3	2.2 3.1 3.3 3.4 4.3

2. Themenbereich: Messmethodik

Ziel	Entwicklung eines geeigneten Methodenspektrums zur Erfassung von MKS in Bodenproben, Komposten und flüssigen Gärresten unter Berücksichtigung unterschiedlicher Substratbeschaffenheiten und Partikelgrößenklassen. Herstellung und Charakterisierung von Referenzmaterialien.
Aufgaben	Weiterentwicklung und Vergleich von MKS-Separations- und Detektionsmethoden. Etablierung und Optimierung von Mahlprozessen zur MKS-Herstellung und Verfahren zur Partikelvermessung.

2.1 Adaptierung von analytischen Methoden zur Untersuchung von Böden, Komposten und flüssigen Gärresten auf MKS (TÖK I, BPT, ISWA, IBS)

2.1.1 Motivation und Ziele

Das Ausmaß der Verschmutzung von Böden mit MKS und die genauen Eintragspfade von MKS in landwirtschaftlich genutzten Flächen sind weitgehend ungeklärt (Bläsing & Amelung, 2018). Dies liegt unter anderem daran, dass die MKS-Forschung sich sehr lange Zeit nur mit aquatischen Ökosystemen auseinandergesetzt hat und die entwickelten Methoden für die Analyse von wässrigen Umweltproben bzw. aquatischem Sediment sich nicht direkt auf die wesentlich komplexeren Matrizes wie Böden oder Kompost übertragen lassen (Möller et al., 2020). Ein großer Themenschwerpunkt innerhalb des Forschungsprojekts MiKoBo war daher die Entwicklung eines geeigneten Methodenspektrums zur Erfassung von MKS in Bodenproben aber auch in Komposten und Gärprodukten unter Berücksichtigung unterschiedlicher Substratbeschaffenheiten und Partikelgrößenklassen.

2.1.2 Methodenentwicklung und Validierung

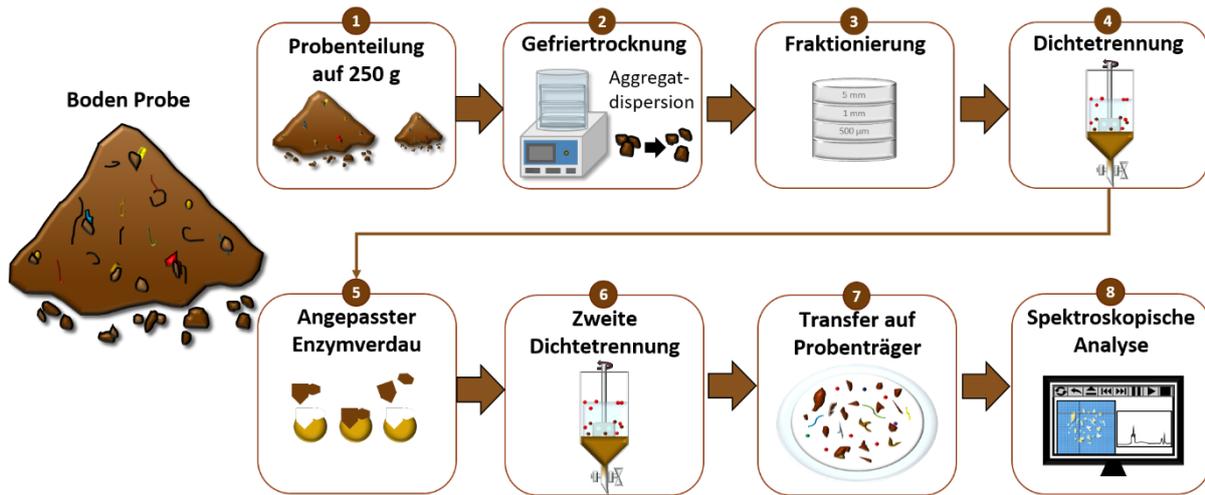


Abbildung 2: Arbeitsfluss der Bodenprobenaufbereitung für eine spektroskopische MKS-Analyse.

Im Laufe des Projektes wurde an der TÖK I durch kontinuierliche Experimente eine Methode etabliert, mit der bis zu 250 g Bodenprobe auf MKS in einer Größenordnung von 10 µm – 5 mm untersucht werden kann. Eine Kombination aus Gefriertrocknung, Siebung, Dichteseperation und einem enzymatisch-oxidativen Verdau (Abbildung 2) ermöglicht eine Aufreinigung der Bodenprobe und entfernt über 99 % der Probenmatrix (mineralisch und organisch), ohne dabei die MKS-Partikel zu zerstören. Der genaue Ablauf des Protokolls ist in Abbildung 3 gezeigt.

Nach der Probennahme erfolgt eine Gefriertrocknung, die dazu dient, dass sich Bodenaggregate bei der nachfolgenden Aufschlammung, welche vor der Siebung durchgeführt wird, vollständig auflösen und somit keine eingeschlossenen MKS verdeckt bleiben und für die Analyse verloren gehen. Daraufhin folgt die Siebung. Hier werden abhängig von der Siebmaschenweite Partikel > 500 µm, > 1 mm und > 5 mm in den Sieben zurückgehalten, aus denen alle kunststoff-verdächtigen Partikel manuell herausortiert und mittels abgeschwächter Totalreflexion-Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie (ATR-FTIR) analysiert und verifiziert werden. Die < 500 µm Fraktion wird weiter aufgearbeitet, um kleinere Partikel bis zu 10 µm mittels Mikro-FTIR-Spektroskopie (µ-FTIR) zu analysieren. Zunächst wird die < 500 µm Fraktion mit einer hochdichten Zinkchlorid-Lösung ($\rho = 1,8 \text{ g/cm}^3$) in großen Scheidetrichern (4 L) in die schwere mineralische und die leichte organische Fraktion aufgetrennt. Die organische Fraktion, die auch den Kunststoff enthält, wird weiter enzymatisch-oxidativ aufgereinigt, um die störende organische Matrix zu entfernen. Nachfolgend wird in einer zweiten Dichtentrennung mit Zinkchlorid in kleineren Scheidetrichern (400 ml) der restliche Ton und Schluff abgeschieden und die aufgereinigte Probe auf

Aluminiumoxid-Probenträger aufgetragen und mittels μ -FTIR-Spektroskopie analysiert. Kompostproben können ebenfalls mit dieser Methode analysiert werden, allerdings muss hier die Probenmenge stark verringert werden (ca. 10 g), da die durch die Kompostierung stabilisierte organische Rest-Matrix nur sehr schwer zu entfernen ist, ohne dabei den Kunststoff anzugreifen. Um die Zeiteffizienz zu erhöhen, wurde ermittelt, ob sich die im Projekt verwendeten Polymersorten durch die Öl-Trennung (nach Scopetani et al., 2020) isolieren lassen. Das Ergebnis zeigte, dass auch Kunststoffe (PLA, PLA/PBAT, PBAT/PLA und PE), welche eine Kompostierung durchlaufen hatten, sich in der Öl-Phase anreichern, also nach der Kompostierung lipophil bleiben, sofern die Verschmutzung bzw. Belastung der Partikel mit anhaftendem organischem Material nicht allzu stark ist. Eine Oxidation mit Fenton-Reagenz bei 30 – 40 °C kann zur Beseitigung von anhaftendem Schmutz verwendet werden. Zur Trennung werden hierbei Zylinder aus Polytetrafluorethylen (PTFE) mit einem Durchmesser von 3 cm und einer Länge von 10 cm verwendet, um eine bessere Phasentrennung zu ermöglichen als bei der Verwendung von Glas. Daher eignet sich diese Methode aufbaubedingt aktuell nur qualitativ für kleinere, exemplarische Kompostproben, um festzustellen, ob und welche MKS-Arten im Kompost vorhanden sind.

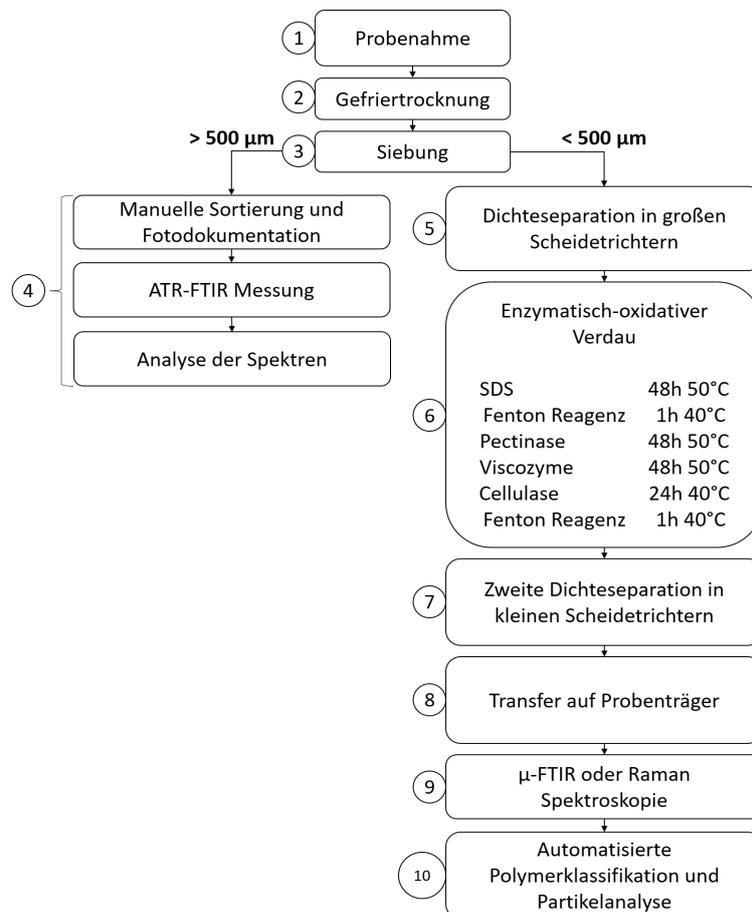


Abbildung 3: Ablauf der MKS-Analyse einer Bodenprobe.

In einem Validierungsschritt wurde ermittelt, dass die konventionellen Kunststoffsorten PE, Polyethylenterephthalat (PET), Polyvinylchlorid (PVC) und Polyamid (PA) auch auf molekularer Ebene nicht durch die hier vorgestellte Aufreinigungsmethode beeinträchtigt werden. Es wurde allerdings festgestellt, dass das als biologisch abbaubar geltende PLA durch das Enzym Protease angegriffen werden kann. Daher wird Protease in dem hier vorgestellten Protokoll nicht verwendet, da PLA zu den Polymeren gehört, auf die der Boden und Kompost analysiert werden soll. Die anderen verwendeten Enzyme und Reagenzien hatten keinen negativen Einfluss auf das PLA (Möller et al., 2021).

2.1.3 Ergebnisse

Im Bereich der Optimierung der verwendeten analytischen Technik der μ -FTIR Spektroskopie konnte durch den Austausch des vorher verwendeten 15-fach-Objektivs mit einem nun verfügbaren 3,5-fach-Objektiv die Messzeit für eine Probe von 10 – 12 Stunden auf 3 – 4 Stunden verkürzt werden. Zusätzlich wurde 2019 die auf der Software ImageLab basierende halbautomatische Analyse der immens großen FTIR-Chemical-Imaging Dateien hinsichtlich der MKS-Partikel $< 500 \mu\text{m}$ mittels Random-Forest-Klassifikatoren (RDF) weiterentwickelt (Hufnagl et al., 2019). Insgesamt können mit der entwickelten Softwarelösung nun 22 Kunststoffarten schnell identifiziert werden, wovon zwei neue Klassifikatoren (für PLA und PLA/PBAT) im Rahmen von MiKoBo entwickelt wurden. Es wurde die Analyse von Kunststoffen und die Unterscheidung von der Umweltmatrix wesentlich verbessert und im Vergleich zur rein manuellen Auswertung immens beschleunigt.

Abbildung 4 zeigt exemplarisch die Analyse einer aufgereinigten Bodenprobe (linke Abbildung). Im chemischen Bild (Mitte) ist jedem Pixel ($10 \mu\text{m}$) ein IR-Spektrum zugeordnet. Alle Kunststoffe weisen hochspezifische IR-Spektren auf, die charakteristisch wie ein Fingerabdruck sind und eine verlässliche Identifikation ermöglichen. Mit Hilfe der Software ImageLab und den dafür entwickelten Kunststoff-Klassifikatoren können somit die MKS-Partikel automatisch detektiert und eindeutig identifiziert werden (rechte Abbildung).

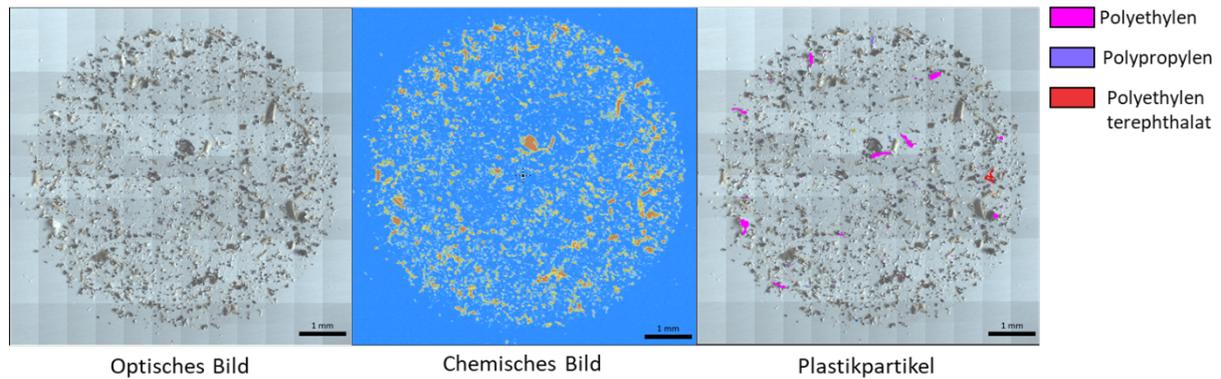


Abbildung 4: Analyse einer aufgereinigten Bodenprobe auf MKS mittels μ FTIR-Spektroskopie und automatisierter Auswertung mittels RDF-Klassifikatoren.

2.1.4 Diskussion

In dem Projekt MiKoBo konnte erstmalig eine Methode für die Aufbereitung der bislang schwer zugänglichen Matrices Boden, Kompost sowie anderer Produkte der Bioabfallverwertung mit anschließender ATR- und μ -FTIR-Analyse erfolgreich etabliert werden, ohne dabei aggressive Reagenzien zu verwenden, die potenziell MKS zerstören. Somit steht erstmals eine Methodenkombination zur Verfügung, welche die Erfassung der Polymersorte, Partikelanzahl, Größe und Form aller potenziell in einer Probe vorhandener MKS erlaubt. Diese Informationen sind essenziell für eine aussagekräftige Risikobewertung, was den Zeitaufwand von aktuell zwei bis vier Wochen für die Aufreinigung einer Probencharge rechtfertigt. In Zukunft könnte durch weitere Automatisierung und Parallelaufarbeitung der Probendurchsatz deutlich erhöht werden, wodurch die Methode auch für ein umfassenderes Monitoring geeignet wäre. Hierzu ist allerdings noch weitere Entwicklungsarbeit zu leisten. Die hier entwickelten Aufreinigungs- und Analysemethoden können eine wichtige Basis für Normen zur einheitlichen oder zumindest harmonisierten Beprobung und Analyse von Böden und anderer Matrices im Hinblick auf MKS bilden. Eine Harmonisierung ist essentiell, um künftig erhobene Daten unterschiedlicher Studien miteinander vergleichen zu können. Daher wurde in diesem Projekt ein Softwarepaket zur einheitlichen Darstellung von MKS-Partikelvermessungen auf Basis internationaler Normen entwickelt.

Anwendung der Methode im Projekt

Themenbereich 2: Kompostier- und Vergärungsprozesse

Der Lehrstuhl für Bioprozesstechnik (BPT) führte eine Stoffstromanalyse in technischen Anlagen vom Substrat bis zu den stofflichen Produkten der Anlagen durch (z. B. Komposte,

flüssige Gärreste). Im Rahmen dieses Teilprojektes wurden exemplarisch Proben mit dem Hauptfokus auf die Partikel > 500 µm untersucht. Ausgewählte exemplarische Proben aus den untersuchten technischen Anlagen wurden am TÖK I auf MKS 10 – 500 µm untersucht. Der Größenbereich 10 – 500 µm ergibt sich aus dem Messverfahren mit µ-FTIR Spektroskopie im Transmissionsmodus – hier wird ein Infrarotstrahl durch die Probe hindurch geleitet, um zum Detektor zu gelangen. Bei zu dicken Partikeln (>500 µm) würde der Strahl komplett absorbiert werden und es würde kein Spektrum erkennbar sein. Es wurden hierbei sowohl konventionelle Kunststoffarten (vornehmlich PP, PE, PET & PS) gefunden wie auch Fragmente, die einen großen Anteil an PBAT enthielten. Oft waren PBAT-Mischspektren vorhanden. Bezeichnend hierbei war, dass die Fragmente, die eine PBAT-Signatur hatten, ausschließlich in den Anlagen vorkamen, die Bioabfall aus Haushaltungen verwerten. Dort wurden sie im Vergleich zu konventionellen Kunststoffsorten weitaus häufiger gefunden. In den Kompostierungsanlagen, die ausschließlich Grüngut verwerten, konnten keine Fragmente mit PBAT-Signatur gefunden werden. Zur Bestätigung dieser vorläufigen Ergebnisse, die aus einer kleinen Stichprobe exemplarischer Proben hervorgegangen sind, müssten in Zukunft weitere systematische Untersuchungen folgen. Die genauen Ergebnisse zur MKS-Belastung von flüssigen Gärresten und Komposten in Abhängigkeit von der Substratqualität und Anlagentechnik werden im Kapitel 3.1 dargestellt.

Zusätzlich zu den Analysen aus Bioabfallverwertungsanlagen wurde auch die Fragmentierung von den im Projekt untersuchten Kunststoffen PLA, PLA/PBAT, PBAT/PLA und LDPE am Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft (ISWA) untersucht. Ausgewählte Proben aus der Kompostierung wurden am TÖK I auf MKS-Fragmente und deren Größenverteilung mittels ATR-FTIR-Spektroskopie analysiert. Die Ergebnisse der Fragmentierungsstudie für Kompost werden in Kapitel 3.3 dargestellt.

Themenbereich 3: Bodenqualität

In einem Feldversuch des Instituts für Bodenkunde und Standortslehre (IBS) zur Abbaubarkeit und den Auswirkungen von Kunststoffen auf Bodenfunktionen des Instituts für Bodenkunde und Standortslehre (IBS) wurden Kunststoffe (LDPE und HDPE und PLA/PBAT) in einem mehrjährigen Versuch auf eine bewirtschaftete Fläche ausgebracht. Zur Untersuchung des Verhaltens, der Veränderung und des potenziellen Verbleibs dieser Kunststoffe im Boden wurde von der TÖK I mit der im Rahmen des Projektes entwickelten Methode die Hintergrundbelastung, die Konzentration der Partikel kurz nach Ausbringung auf dem Feld sowie die Konzentration der Partikel nach 1,5 Jahren auf dem Feld untersucht. Die Ergebnisse werden in Kapitel 4.1 dargestellt.

2.2 Bereitstellung von Prüf- und Referenzmaterialien sowie synthetischen Proben (IKT, ICT)

2.2.1 Motivation und Ziele

Ziel des Verbundprojektes war die Untersuchung des Verhaltens von konventionellen und biologisch abbaubaren Kunststoffen in Böden und Bioabfallverwertungsanlagen. In diesem Arbeitspaket erfolgte zunächst eine Werkstoffauswahl, um anschließend aus den ausgewählten Referenzmaterialien geeignete Prüfkörper für die einzelnen Untersuchungen herzustellen. Es sollten für das Forschungsprojekt die Kunststoffe mit dem höchsten Marktanteil gewählt werden – PE als Vertreter für die konventionellen Kunststoffe (insbesondere im Bereich der Verpackungsindustrie) sowie PLA und PBAT als Vertreter für die biologisch abbaubaren Kunststoffe.

2.2.2 Methodik

Die Evaluierung und Auswahl der Werkstoffe fand im Rahmen einer Literaturrecherche statt (siehe Kapitel 2.3.3.1. Auswahl und Herstellung Referenzmaterialien). Die Aufbereitung der Kunststoffblends erfolgte anschließend auf einem Doppelschneckenextruder. Die einzelnen Komponenten wurden gravimetrisch zudosiert. Die hergestellten Compounds wurden anschließend zur Weiterverarbeitung getrocknet. Die Weiterverarbeitung fand auf einer Blasfolienextrusionsanlage statt. Dabei wurde der schmelzförmige Kunststoff durch eine Ringdüse gedrückt und gleichzeitig mit Hilfe von Luft aufgeblasen. Durch den Luftstrom konnte die Foliendicke eingestellt werden (siehe Abbildung 5). Dickere Folien im Bereich 300 – 500 µm wurden mittels Flachfolienextrusion durch ein Breitschlitzwerkzeug extrudiert. Der extrudierte Schmelzeschlauch wurde mit einem Luftstrom aufgeblasen, sodass ein möglichst stabiler und homogener Folienschlauch entstand, der nach oben abgezogen wurde.



Abbildung 5: Das linke Bild zeigt die Blasfolienextrusion von LDPE, das rechte Bild vom PBAT/PLA-Blend.

Darüber hinaus wurden am Fraunhofer ICT in enger Abstimmung mit dem IKT verschiedene Mahlversuche durchgeführt, um Pulver bzw. möglichst kleine MKS-Partikel zu erzeugen. Die kleinen MKS-Partikel wurden über das Mahlverfahren hergestellt und nicht direkt als sogenannte Microbeads käuflich erworben, um eine möglichst realitätsnahe Abbildung der MKS in der Umwelt zu besitzen. MKS in der Umwelt entstehen primär durch mechanische Degradation von größeren Kunststoffbauteilen. Die Partikel, welche man in der Umwelt findet, sind also nicht sphärisch rund, sondern haben Ecken und Kanten. Zur Herstellung der Referenzpulver wurden verschiedene Mahlversuche durchgeführt. Ziel war die Zerkleinerung und Fraktionierung von PE (HDPE/LDPE), PLA und des PLA/PBAT-Blends in die Korngrößenklassen $20\ \mu\text{m} - 499\ \mu\text{m}$ und $500\ \mu\text{m} - 5000\ \mu\text{m}$. Hierfür wurde eine Schlagrotormühle der Fa. Retsch verwendet. Partikelproben im Bereich $< 10\ \mu\text{m}$ wurden anfangs vom Fraunhofer ICT, später auch vom IKT, mit einer Kryokugelmühle (Fa. Retsch Cryomill) erstellt. Die Kunststoffproben wurde hierzu im Bereich $< 180\ \mu\text{m}$ vorgemahlen.

2.2.3 Ergebnisse

2.2.3.1 Auswahl und Herstellung Referenzmaterialien

Für die Referenzmaterialien, siehe auch Tabelle 1, wurden am IKT und ICT zunächst geeignete Werkstoffe evaluiert. Wie bereits im Forschungsantrag vorgesehen, wurden zwei PE-Typen ausgewählt. Zum einen ein handelsübliches PE mit geringerer Dichte (LDPE, Lupolen 2420H der Firma LyondellBasell, Niederlande) für die Blasfolienextrusion. Dieses LDPE eignet sich laut Hersteller insbesondere für Anwendungen wie Beutel und Taschen, Lebensmittelverpackungsfolien, Hygienefolien und Schrumpffolien. Zusätzlich wurde ein PE mit hoher Dichte gewählt (HDPE, Hostalen ACP 5831 D der Firma LyondellBasell, Niederlande). Dieses HDPE wird vor allem für die Verarbeitung zu Flaschen verwendet. Als Biokunststoff wurde reines PLA der Firma Naturworks, Minnetonka, Minnesota, USA (Type 7001 D) gewählt, welches unter anderem Anwendung bei streckgeblasenen Flaschen findet. PLA wird aus erneuerbaren Ressourcen hergestellt und gilt unter industriellen Kompostierungsbedingungen als biologisch abbaubar. Als weiterer Biokunststoff wurde reines Polybutylenadipaterephthalat (PBAT), Ecoflex F Blends C1200 der Firma BASF, Ludwigshafen, gewählt. Es ist im Gegensatz zu vielen anderen Biopolymeren sehr nachgiebig und dehnfähig und wird aus fossilen Rohstoffen hergestellt.

Alle ausgewählten Materialien sind für den Einsatz auf herkömmlichen Verarbeitungsmaschinen ausgelegt und sind laut Hersteller nicht additiviert. Dies war eine wichtige Voraussetzung für den Einsatz im Forschungsprojekt, da der Einfluss (bspw. auf die ökotoxikologischen Ergebnisse) durch Additive möglichst ausgeschlossen werden sollte.

Um das Verhalten der reinen Kunststoffe zu untersuchen, wurden PLA und PBAT in reiner Form zu Referenzmaterialien weiterverarbeitet. Zusätzlich wurde ein PLA/PBAT-Blend mit und ohne Zusatzstoffe mit einem Massenverhältnis von 80 % PLA und 20 % PBAT hergestellt. Das PLA/PBAT-Blend mit Zusatzstoffen wurde allerdings nicht weiterverfolgt, da es hier zu Problemen bei der Verarbeitung (kontinuierliches Folienziehen) kam.

Im 3. Quartal von 2019 hat sich das Projektkonsortium dazu entschlossen, eine zusätzliche Mischung (PBAT/PLA) in den Versuchsplan als Referenzmaterial für die Versuche mitaufzunehmen. Diese Zusammensetzung findet besonders im Bereich der Blasfolienextrusion-Anwendungen Einsatz. Sie besteht aus ca. 60 M.-% PBAT, ca. 10 M.-% PLA, ca. 30 M.-% Mineralien sowie geringen Mengen an Haftvermittler und Gleitmittel. Diese neue Blendmischung besteht aus einer Rezeptur, die in der Industrie für Bio-Abfalltüten verwendet wurde. Dadurch konnten im Projekt nicht nur die reinen Werkstoffe wie PLA oder

PBAT untersucht und ihr Abbauverhalten analysiert werden, sondern zusätzlich auch ein realitätsnaher, kommerziell erhältlicher Werkstoff.

Für die Versuche der einzelnen Projektpartner war es zum einen notwendig, Folien in verschiedenen Dicken herzustellen, um möglichst realitätsnahe Probekörper abbilden zu können:

- sehr dünne Folien im Bereich von etwa 30 – 50 μm (vgl. mit Verpackungs- oder Frischhaltefolie)
- etwas dickere Folien im Bereich mehrerer hundert Mikrometer (dickere Verpackungen wie Flaschen, Becher etc.).

Es wurden daher zunächst Blasfolien mit unterschiedlichen Dicken aus HDPE und LDPE sowie aus PLA und PBAT extrudiert. Zusätzlich wurden auch dickere Flachfolien hergestellt.

Die Verwendung des Haftvermittlers führte bei der Blasfolienextrusion des PLA/PBAT-Blends zu einer hohen Viskosität des Werkstoffs, sodass es nicht möglich war, den Schmelzeschlauch gleichmäßig aufzublasen und eine homogene Wanddicke einzustellen. Es wird vermutet, dass bei den hohen Verweilzeiten im Speiseextruder der Blasfolienextrusionsanlage der Haftvermittler eine vernetzende Wirkung hat und so zu teilvernetzten Bereichen im Kunststoff führt. Alternativ wurde daher ein PLA/PBAT-Blend ohne Haftvermittler compoundingiert. Da PLA und PBAT nicht mischbare Kunststoffe sind, ist es jedoch schwierig, ohne Haftvermittler ein homogenes Blend zu erzeugen.

Zur Herstellung der Referenzpulver wurden verschiedene Mahlversuche durchgeführt. Hierzu testete das ICT und das IKT den Einsatz verschiedener Zerkleinerungsaggregate (Pluveristette, Schneidmühle, Feinprallmühle und Ultrazentrifugalmühle) inkl. Nass- und Trockenklassierung mit unterschiedlichen Parametern mit dem Ziel, eine möglichst effektive Zerkleinerung der Materialien zu erarbeiten. Die gemahlene Pulver wurden anschließend vom IBBS mikroskopisch untersucht und die Größenklassenverteilung bestimmt. Fortlaufend wurden für die Projektpartner des IBS, IBBS sowie dem TÖK I kryogemahlene Referenzpulver aus HDPE, LDPE, PLA, der PLA/PBAT-Blendmischung sowie der PBAT/PLA-Blendmischung hergestellt. Hierzu mussten die Kunststoffe zunächst auf einer Rotorschneidmühle vorzerkleinert werden, um das vorgemahlene Pulver anschließend in der Kryokugelmühle (ca. 450 g) auf bis zu 20 μm (Probenmenge 3 bis max. 5 g) zu zerkleinern. Die folgenden MKS wurden hergestellt und den jeweiligen Partnern zur Verfügung gestellt:

Herstellung von MKS für die Nematodenversuche des IBS mit den Zielkorngrößen < 10 µm und < 20 µm

Anforderungen an diese Proben waren Pulver aus HDPE-, LDPE-, PLA/PBAT- und PLA-Partikeln < 10 µm und < 20 µm aufgrund der Aufnahmefähigkeit für die Nematoden. Diese wurden durch das Fraunhofer ICT hergestellt und zur Auswertung an das IBBS verschickt. Siebungen in diesen kleinen Korngrößen sind sehr aufwändig und gehen mit hohen Materialverlusten einher, deshalb wurden die Materialien unklassiert verwendet. Vom IBBS wurden Korngrößenanalyse der Proben angefertigt und diese bei der Bewertung der Nematodenversuche (4.4.1) verwendet.

Herstellung von MKS für Ökotoxizitätstests am IBBS mit den Zielkorngrößen < 20 µm und < 50 µm

Es wurden am Fraunhofer ICT und IKT mittels Kryokugelmühle die Materialien LDPE, PLA und PLA/PBAT zerkleinert und zur Charakterisierung an das IBBS verschickt, welche diese für die Springschwanzversuche eingesetzt hat (4.4.2).

Herstellung von MKS für Ökotoxizitätstests TÖK I mit der Zielkorngröße 50 – 100 µm

Hier wurden am Fraunhofer ICT mittels Kombination von Ultrazentrifugalmühle und Kryokugelmühle jeweils 230 g an LDPE, PLA und PLA/PBAT zerkleinert. Eine Teilprobe wurde zur vollumfänglichen Charakterisierung an das IBBS versandt.

Herstellung PLA/PBAT- bzw. PBAT/PLA-Blend

Das PLA/PBAT-Blend (mit weit höherem steifem PLA-Anteil) stellt eine Zusammensetzung dar, die im Bereich der Hartkunststoffprodukte wie kompostierbare Joghurtbecher, Shampooflaschen oder Einweggeschirr eingesetzt wird. Es handelt sich um ein Blend, welches sich für Anwendungen im Bereich des (Streck-)Blasformens und Spritzgießen eignet. Um einen Einfluss des Haftvermittlers oder weiteren Zusatzstoffen auf die Ökotoxizität zu vermeiden, wurde auf diese, zulasten der mechanischen Eigenschaften, verzichtet.

Das PBAT/PLA-Blend (mit weit höherem weichem PBAT-Anteil) wurde hingegen gewählt, um einen Werkstoff für Verpackungsfolien zu repräsentieren. Das PBAT/PLA-Blend mit Füllstoffen, Haftvermittler und Gleitmittel entspricht im Prinzip markttypischen Zusammensetzungen verschiedener Blendhersteller; sie repräsentieren jedoch keine kommerziell erhältlichen biologisch abbaubare Kunststoff-Bioabfallsammelbeutel.

2.2.3.2 Materialcharakterisierung

Alle im Projekt verwendeten Werkstoffe wurden ganzheitlich vom IKT, ICT, IBBS und BPT charakterisiert. Von allen bereitgestellten Folien wurden am IKT mittels Dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC) sowie mittels Thermogravimetrie (TGA) thermische Kennwerte ermittelt. Ebenfalls wurden die thermodynamischen Kenngrößen wie Kristallisations- und Schmelzenthalpie ermittelt, um Aussagen über das Kristallisationsverhalten der Kunststoffe zu erhalten. Dieses Verhalten kann sich beim Abbau von Kunststoffen ändern und somit ein Indiz für diesen darstellen.

Auch das thermische Abbauverhalten, welches mittels TGA untersucht wird, kann Rückschlüsse auf einen möglichen Kettenabbau zulassen. Zusätzlich wurde an den Folien eine künstliche Alterung in einer Klimakammer durchgeführt. Die Folien wurden zum einen bei erhöhter Temperatur und Ultraviolett-Licht (UV-Licht) und zum anderen mit erhöhter Temperatur und Feuchtigkeit für 96 h gelagert und anschließend ebenfalls thermisch charakterisiert. Diese künstliche Alterung soll später als Vergleich der real gealterten Materialien dienen. Das Fraunhofer ICT analysierte die Oberflächenrauhigkeit verschiedener Folien vor und nach der Kompostierung und stellte diese den Projektpartnern an der Universität Bayreuth zur Verfügung. Das IBBS hat für alle Projektpartner die gemahlene MKS eingehend charakterisiert.

2.2.3.3 Einfärbung von Referenzmaterialien

Am IKT haben Versuche stattgefunden, Fluoreszenzfarbstoff nicht wie bisher über die Suspensions-Diffusions-Methode in den Kunststoff einzubringen, sondern den Fluoreszenzfarbstoff im Compoundierungsprozess in den Werkstoff einzuarbeiten. Ziel war es, größere Mengen an angefärbtem Kunststoff bei einem gleichzeitig geringen Farbstoff-Einsatz zu erhalten. Die Schwierigkeit dabei bestand darin, zum einen den Farbstoff aufgrund des hohen Temperatureintrags nicht zu schädigen und abzubauen und gleichzeitig eine sehr gute Durchmischung der geringen Farbstoffmenge im Kunststoff zu ermöglichen. Nach entsprechender Analyse wurde Toluol als Lösungsmittel gewählt, da dieses weder mit PBAT noch mit PLA reagiert. Der gelöste Farbstoff wurde anschließend über eine Infusionspumpe dem Compoundierungsprozess zugegeben. Das Toluol verflüchtigt sich bei der Verarbeitung wieder, ist also nicht mehr im angefärbten Kunststoff enthalten. Die mit NR markierten Werkstoffe wurden außerdem optisch auf Fluoreszenz untersucht. Zusätzlich wurden mit den Folien Kompostier- und Verwitterungsversuche durchgeführt, um Aufschluss über das

Verhalten des Fluoreszenzfarbstoffs zu erhalten. Dabei konnte festgestellt werden, dass sich eine UV-Belastung negativ auf den Fluoreszenzfarbstoff auswirkt und dieser schon nach kurzer Expositionszeit nicht mehr oder nur noch sehr wenig sichtbar ist, siehe Abbildung 6. Eine Verwendung der fluoreszenzmarkierten Kunststoffe im Feldversuch wurde daher als nicht sinnvoll angesehen.

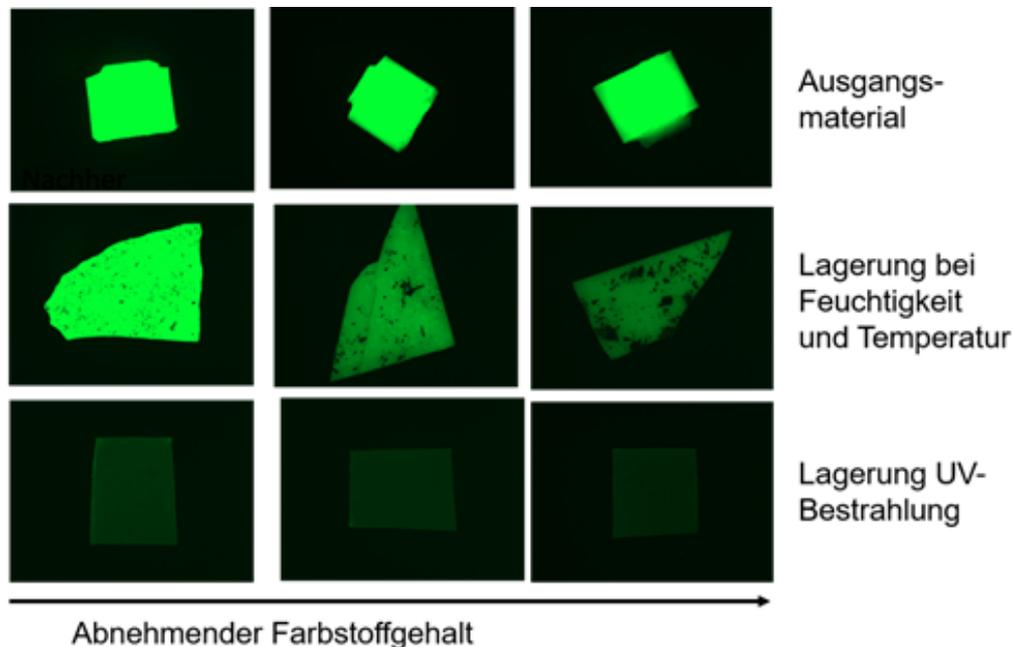


Abbildung 6: Fluoreszenzmessung nach Lagerung unter Kompostierungsbedingungen und UV-Bestrahlung von Kunststoff, welcher mit NR angefärbt wurde.

2.2.4 Diskussion

Die in diesem Projekt verwendeten biologisch abbaubaren Kunststoffe (PLA und PBAT) wurden ausgewählt, da sie derzeit weltweit zu den meistproduzierten Biokunststoffen zählen. Sie wurden im Rahmen der Untersuchungen nicht nur in reiner Form verwendet, sondern auch zu Blends aufbereitet, da sie in der Industrie (fast) ausschließlich in Kombination mit anderen Polymeren und Zusatzstoffen Verwendung finden. Es wurden bewusst zwei verschiedene Blendzusammensetzungen gewählt, um damit verschiedene Produktparten repräsentieren zu können.

Die Herstellung von MKS erwies sich als deutlich aufwändiger als zu Beginn des Projektes erwartet. Insbesondere die Klassierung der MKS war aufgrund der elektrostatischen Aufladung und durch Nutzung von flüssigem Stickstoff (N) für die Zerkleinerung nicht so übertragbar, wie zu Beginn des Projektes geplant. Über die Analyse der Korngrößenverteilung und Kornform durch das IBBS konnten die Materialien gut für die verschiedenen Ökotoxizitätsversuche genutzt werden.

Die Materialcharakterisierung mittels thermischer Analyse hat gezeigt, dass sich dieses Verfahren nur bedingt für die Charakterisierung inkubierter Kunststoffpartikel und -folien eignet. Insbesondere bei der Analyse der Partikel, welche aus dem Feldexperiment untersucht wurden, hat die Verschmutzung der Partikel durch die Umgebungsmatrix (Boden) zu Problemen geführt. Da es sich bei den Messverfahren um massenbilanzierende Verfahren handelt, führte die Verschmutzung zu deutlichen Fehlern in der Messung. Ein einfaches Waschen der Partikel in destilliertem Wasser hat sich als nicht ausreichend dargestellt, um die Verschmutzungen und den ggf. entstandenen Mikrofilm zu lösen. Eine notwendige chemische Aufreinigung würde potentiell die chemische Struktur der Partikel angreifen und somit ebenfalls das Ergebnis verfälschen.

2.3 Bereitstellung von Prüf- und Referenzmaterialien sowie synthetischen Proben (IBBS)

2.3.1 Motivation und Ziele

Für die Bewertung ökotoxikologischer Auswirkungen von MKS ist es unerlässlich, diese eingehend zu charakterisieren. Dabei muss unter anderem die Partikelgröße und die Form der MKS quantitativ erfasst werden (Cowger et al., 2020; Filella, 2015). Hierfür wurde im Rahmen dieses Arbeitspaketes eine vollumfängliche Partikelvermessung aller hergestellten MKS durchgeführt. Zudem wurde festgestellt, dass die grafische Darstellung der Ergebnisse einer Partikelvermessung im Forschungsbereich der MKS den Maßgaben internationaler Richtlinien oft nicht genügt (Filella, 2015; International Organization for Standardisation, 2014a). Zur harmonisierten Darstellung der Verteilungen von Partikelcharakteristika wurde daher für die weit verbreitete Statistiksoftware R ein Add-on erstellt (Schnepf, 2021). Des Weiteren wurde untersucht, welchen Einfluss verschiedene Computeralgorithmen bei der digitalen Bildverarbeitung auf die Genauigkeit der Partikelvermessung haben. Aus den Erkenntnissen wurden im Anschluss Empfehlungen für die Partikelvermessung von MKS abgeleitet.

2.3.2 Methodik

Die hergestellten Referenzmaterialien wurden am IBBS auf Basis internationaler Normen mit Hilfe hochauflösender Lichtmikroskopie aufgenommen (International Organization for Standardisation, 2014b). Mittels statischer Bildanalyse wurden die Partikelgröße sowie zahlreiche Formfaktoren bestimmt. Alle Daten wurden einer Validierung unterzogen. Dabei wurde vor allem darauf geachtet, dass eine unzureichende Auflösung der digitalen Bilder nicht

etwa zur ungenauen Größenbestimmung oder einer fehlerhaften Berechnung von Formfaktoren führt (Kröner & Doménech Carbó, 2013; Shekunov et al., 2007). Erst dann wurden Häufigkeitsverteilungen für Größe und Form abgeleitet, mit denen die MKS-Geometrie vollständig charakterisiert werden konnte.

Eine wesentliche Ursache für die fehlerhafte Berechnung von Partikelcharakteristika ist, dass ein ungeeignetes Verfahren zur Segmentierung ausgewählt wird. Bei diesem Verarbeitungsschritt werden die MKS vom Bildhintergrund getrennt. Kommt es hierbei zu Ungenauigkeiten, wird die tatsächliche Größe des Partikels von der Software nicht korrekt berechnet. Um einschätzen zu können, welchen Einfluss dies bei der Vermessung hat, wurde während der Projektlaufzeit beispielhaft die Genauigkeit der Gerätesoftware des Digitalmikroskops Keyence VHX 7000 mit ImageJ 1.53c (Rueden et al., 2017) verglichen. Dabei wurden sowohl die im MiKoBo-Projekt hergestellten MKS als auch Referenzpartikel aus PS berücksichtigt.

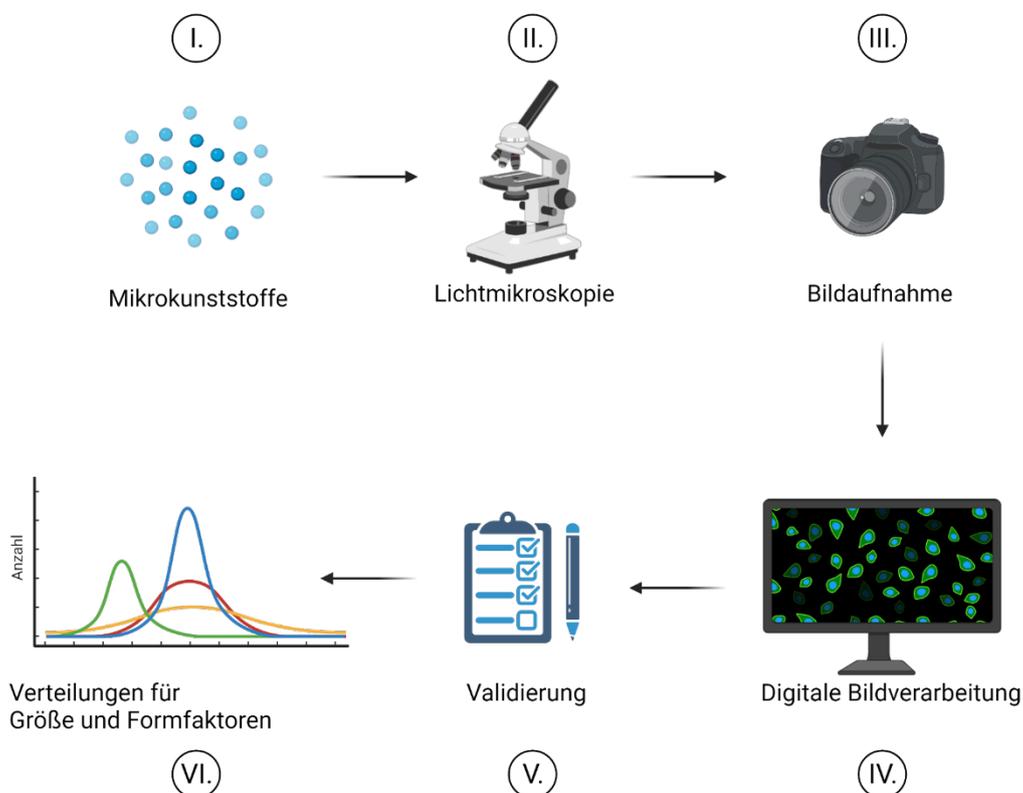


Abbildung 7: Schematische Darstellung des Ablaufs einer vollumfänglichen Partikelvermessung.

Mehrere Teilproben der gemahlene MKS (I.) werden zunächst mittels hochauflösender 3D-Mikroskopie tiefenscharf visualisiert (II.). Im Anschluss wird ein digitales Abbild erstellt (III.).

Nun können die Partikel mit Hilfe von Segmentierungsalgorithmen vom Bildhintergrund getrennt und deren Charakteristika wie Größe und Form berechnet werden (IV.). Die Messergebnisse werden einer umfassenden Validierung unterzogen (V.). Abschließend werden diese in Form von Häufigkeitsverteilungen dargestellt (VI.), siehe Abbildung 7.

2.3.3 Ergebnisse

Das Ergebnis einer Partikelvermessung ist in Abbildung 8, Abbildung 9 und Abbildung 10 beispielhaft dargestellt. Während Abbildung 8 die Partikelgrößenverteilungen sowie repräsentative Mikroskopaufnahmen der MKS zeigt, sind in Abbildung 9 die Verteilungen von drei Formfaktoren abgebildet. Mit diesen Formfaktoren können die wesentlichen Aspekte der Partikelform quantitativ beschrieben werden. Dies stellt einen erheblichen Informationszugewinn gegenüber den bislang verwendeten Formkategorien dar (Cowger et al., 2020; Kooi & Koelmans, 2019). Die Berechnung der Elongation ermöglicht es zudem, den Anteil an Fasern in einem Partikelkollektiv zu ermitteln (Cole, 2016). Zur Qualitätssicherung wurde ein Verfahren zu deren Erkennung implementiert, da es bei digitalen Bildanalysen von kleineren MKS verfahrensbedingt zu fehlerhaften Berechnungen von Formfaktoren kommen kann (Kröner & Doménech Carbó, 2013).

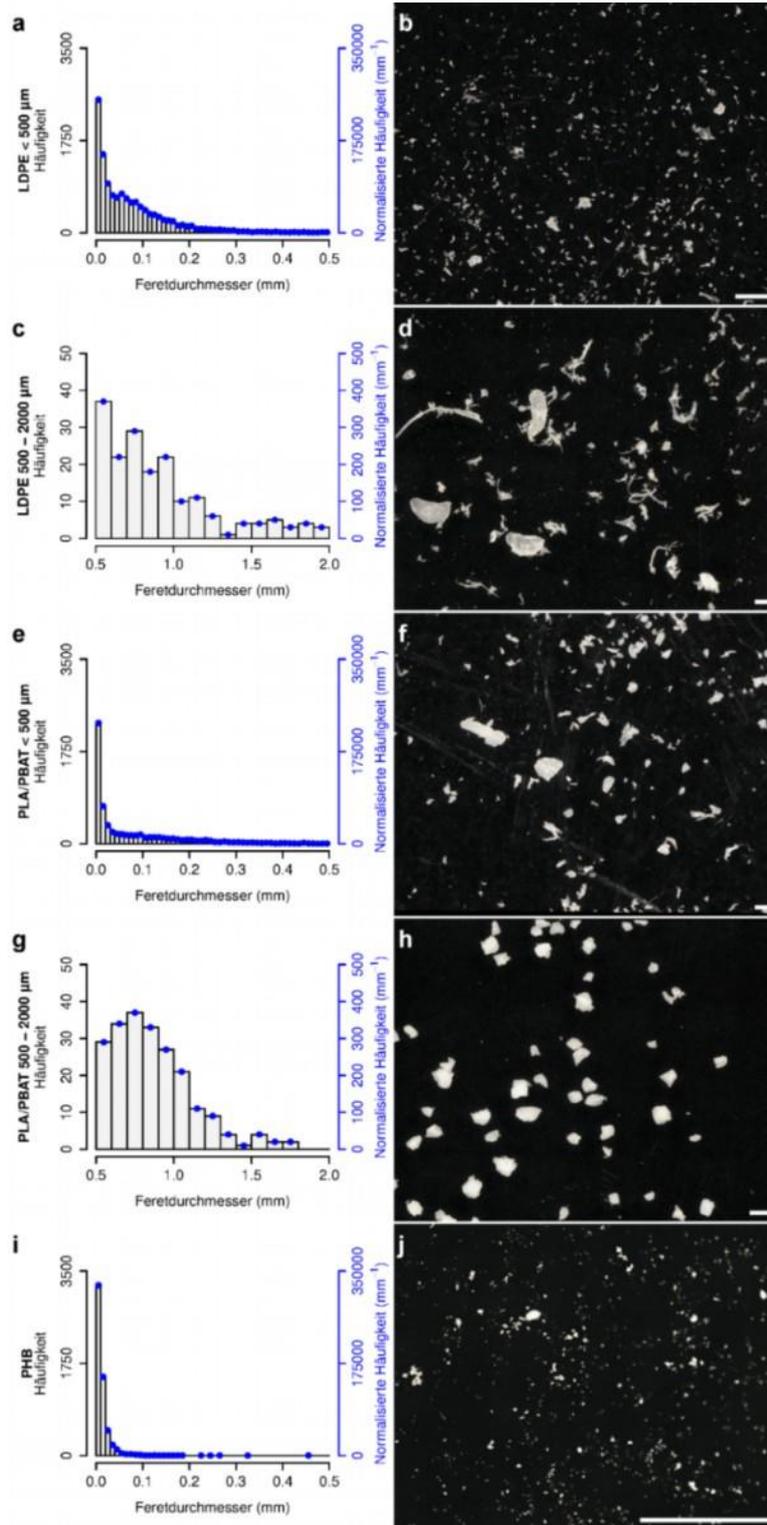


Abbildung 8: Beispielhafte Partikelgrößenverteilungen und repräsentative Mikroskopaufnahmen von MKS (Schöpfer et al., 2022).

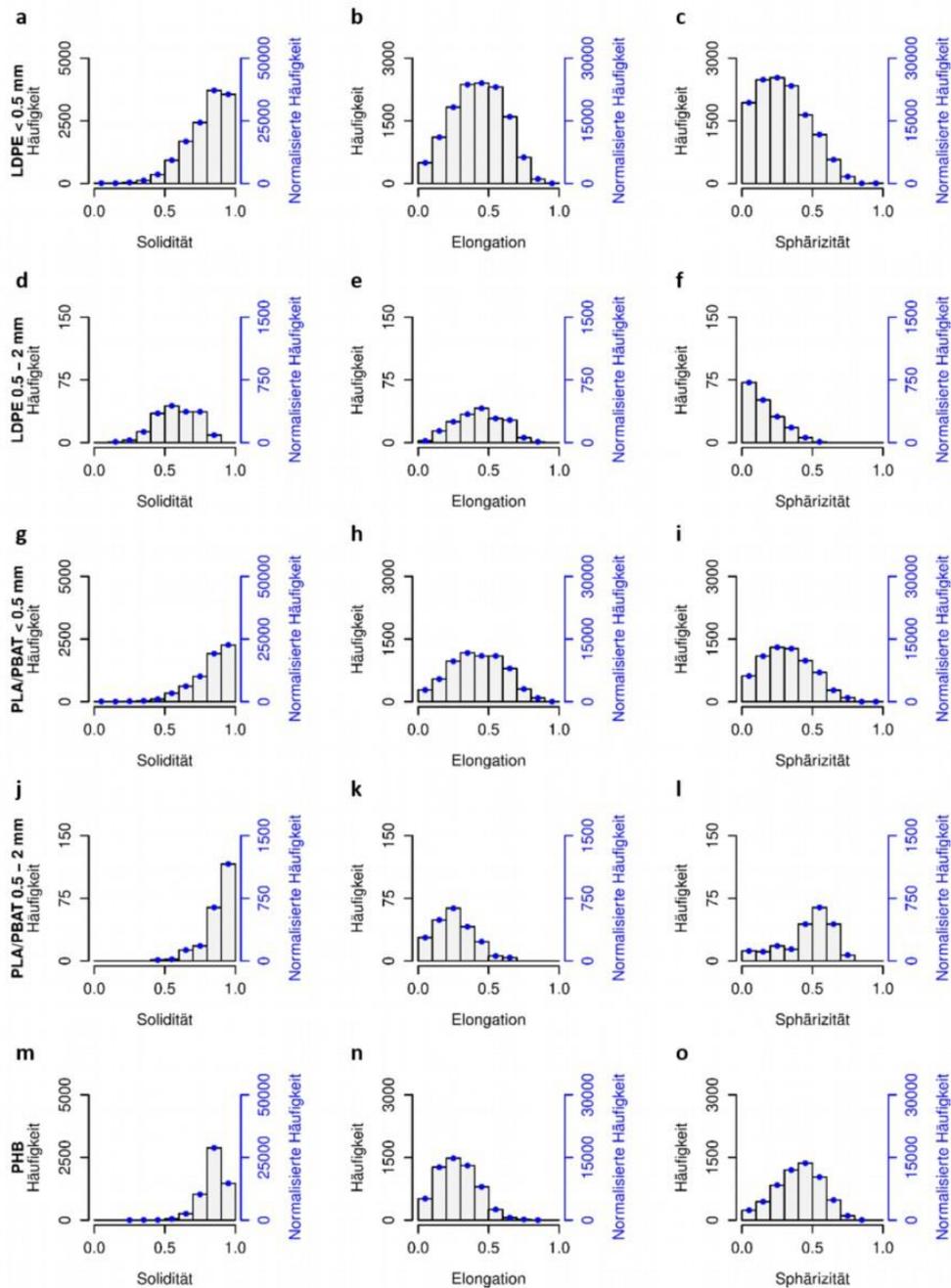


Abbildung 9: Beispielhafte Häufigkeitsverteilungen der Formfaktoren Sphärität, Elongation und Solidität für MKS (Schöpfer et al., 2022).

Anmerkung: Bei der Solidität handelt es um eine Maßzahl, welche die Irregularität eines Partikels charakterisiert. Je näher der Wert bei 1 ist, desto regulärer ist das Partikel. Die Elongation ist ein Maß für das Seitenverhältnis von MKS. Werte nahe 1 deuten auf eine faserartige Gestalt hin. Die Sphärität

beschreibt die Rundheit von MKS. Je näher der Wert an 1 liegt, desto ähnlicher ist das Partikel einem Kreis. Die normalisierten Häufigkeiten wurden nach Filella (2015) berechnet.

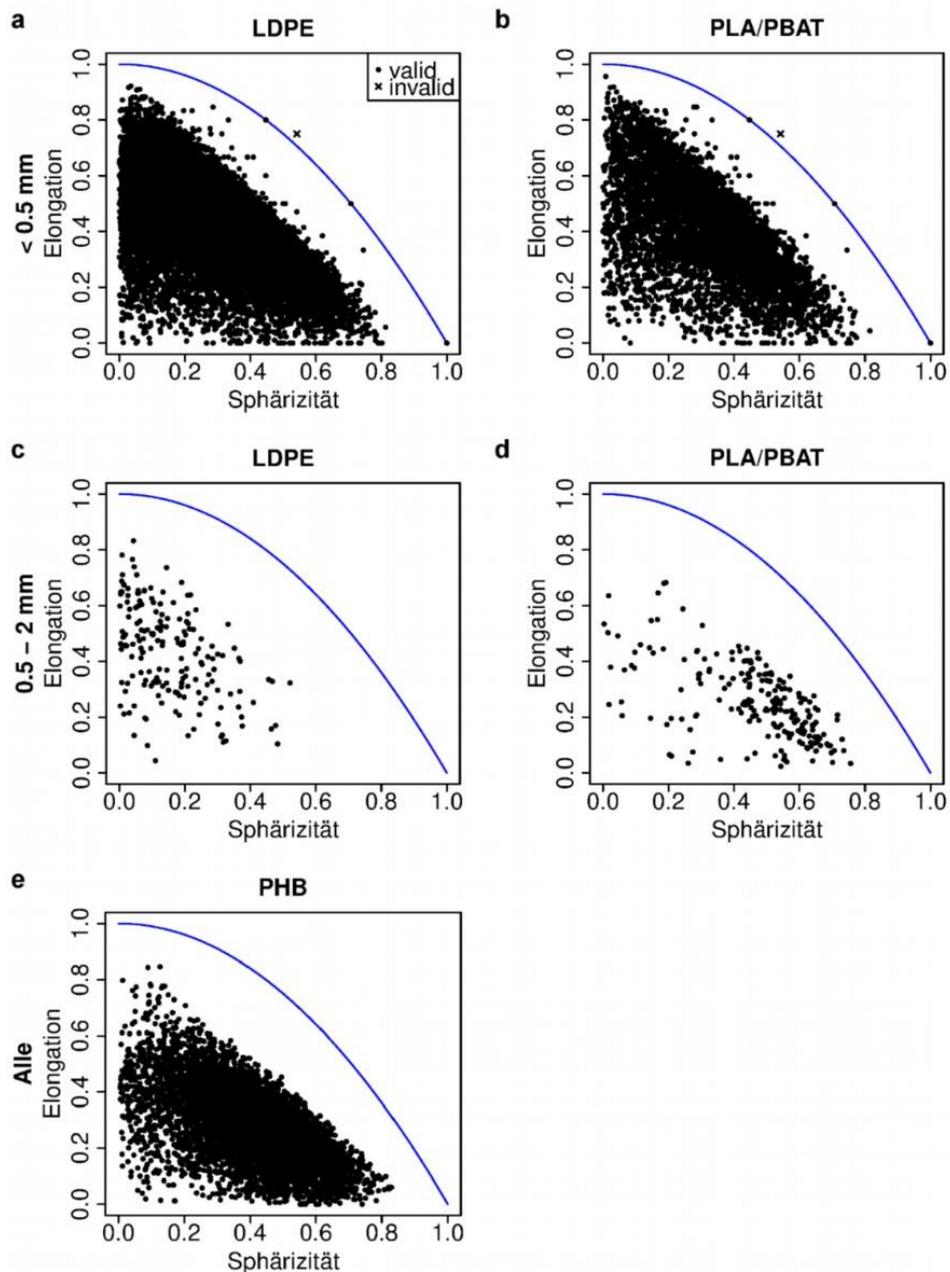


Abbildung 10: Beispielhafte Sphärizitäts-Elongations-Diagramme zur Qualitätssicherung bei der quantitativen Formanalyse mehrerer MKS-Arten (Kröner & Doménech Carbó, 2013; Schöpfer et al., 2022).

Anmerkung: Die blaue Kurve stellt die theoretischen Maxima der Elongation für einen gegebenen Wert der Sphärizität dar. Liegen die Messpunkte unterhalb dieser Kurve, werden die Berechnung der Formfaktoren als valide betrachtet. Liegen diese hingegen oberhalb der Kurve, muss von einer fehlerhaften Berechnung ausgegangen werden und die entsprechenden Partikel werden aus der Analyse ausgeschlossen.

Beim Vergleich von Partikelcharakteristika, welche mit zwei verschiedenen Computerprogrammen gewonnen wurden, zeigten sich Unterschiede des mittleren Feret-Durchmessers zwischen 16 μm und 9 μm , was einer Abweichung von 22 % bzw. 11 % bezogen auf den berechneten Wert aus ImageJ entspricht (Tabelle 2). Die vermessene Partikelanzahl mit ImageJ war höher und der Mittelwert des Feret-Durchmessers 9,7 % bis 18 % kleiner als bei der Analyse mit der Keyence-Software.

Tabelle 2: Vergleich statistischer Kenngrößen.

Polymer	Software	Mittelwert [μm]	SD [μm]	N	D10 [μm]	D50 [μm]	D90 [μm]	IQR
LDPE	Keyence	89	47	23.085	34	86	148	61
	ImageJ	73	43	27.456	14	70	127	57
PBAT/PLA	Keyence	93	40	25.791	50	89	142	47
	ImageJ	84	33	26.554	47	81	124	39

Anmerkung: mit SD = Standardabweichung; N = Partikelzahl; D10 $\hat{=}$ 10 % Perzentil, D50 $\hat{=}$ 50 % Perzentil, D90 $\hat{=}$ 90 % Perzentil, IQR = Interquartilsabstand. Errechnete Partikelgrößenverteilung mittels ImageJ und der Keyence-Software.

Aufgrund dieser Unterschiede wurde eine Validierung der berechneten Werte sowohl für die Keyence-Software als auch für ImageJ durchgeführt, indem sphärische Referenzpartikel mit einem zertifizierten Durchmesser (MicroStandards – 11000 series, Applied Microspheres BV, RC Leusden, Niederlande) vermessen wurden (Tabelle 3). Der Vergleich zeigte, dass die Abweichungen zur Referenz bezüglich des mittleren Durchmessers der Partikel bei beiden Computerprogrammen in einem ähnlichen Größenbereich zwischen 4,81 % bis 5,88 % lagen. Problematisch bei der hier durchgeführten Validierung war allerdings die Segmentierung durch die Software. Die Transparenz der zertifizierten PS-Partikel erschwerte eine präzise und fehlerfreie Segmentierung mithilfe automatischer Schwellenwertoperatoren. Die Vermessung der Referenzpartikel konnte daher nur zur besseren Einschätzung der Funktionsweise der Analysesoftware und nicht zur eindeutigen Validierung der Ergebnisse herangezogen werden.

Die Unterschiede bezüglich der mit beiden Softwares berechneten Partikelgrößenverteilung des LDPE und der PBAT/PLA-Mischung waren mithilfe der Ergebnisse aus dem Validierungsversuch nicht zu erklären. Daher wurde die automatisch durchgeführte Partikelsegmentierung der beiden Softwarevarianten überprüft, indem die verarbeiteten Bilder

mit den Originalbildern verglichen wurden (Abbildung 11). Diese Prüfung zeigte, dass die Keyence-Software vor allem kleinere Partikel nicht segmentierte. Der Algorithmus, nach dem die Segmentierung erfolgte, war nicht einsehbar. Weiterhin fiel auf, dass die Keyence-Software für einige der Formfaktoren Werte außerhalb des theoretisch möglichen Bereiches berechnete.

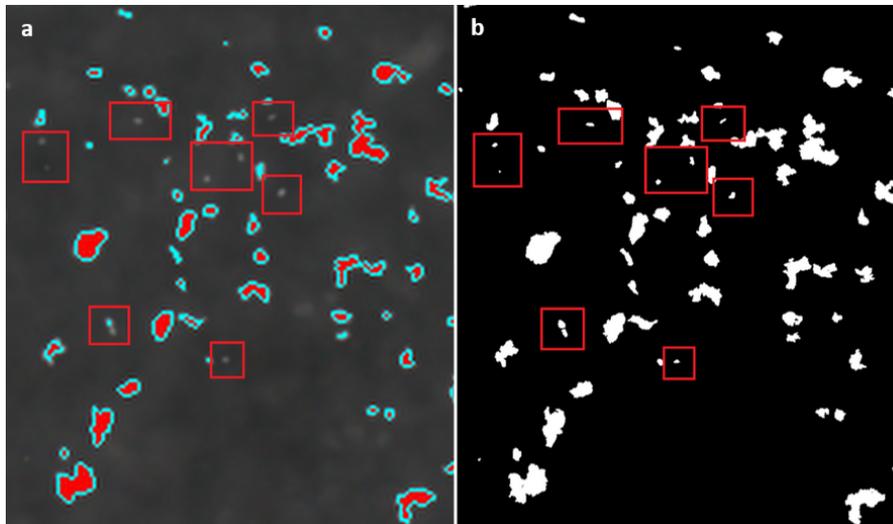


Abbildung 11: Vergleich der Partikelsegmentierung der Keyence-Software (a) und von ImageJ (b).

Anmerkung: Dargestellt ist das Originalbild mit überlagerter Segmentierungsanzeige in Rot und Türkis. Die roten Kästen markieren kleine Partikel, welche nicht als solche erkannt wurden. b Automatische Segmentierung mit Hilfe des Otsu-Schwellenwertoperators (Otsu, 1979) in ImageJ. Das Binärbild zeigt in weißen Pixeln an, wie die Partikel segmentiert wurden. Die roten Kästen markieren die gleichen kleinen Partikel wie in a (a Automatische Segmentierung der Keyence-Software), welche hier allerdings erkannt wurden. Die Keyence-Software überschätzt die tatsächliche Partikelgröße, während ImageJ diese unterschätzt.

Tabelle 3: Ergebnisse aus der Vermessung zertifizierter Referenzpartikel zur Validierung der Analysesoftware.

Messverfahren	Mittlerer Durchmesser [μm]
Datenblatt	93,5
Keyence	99,0
ImageJ	89,2

2.3.4 Diskussion

Durch die vollumfängliche Partikelvermessung der MKS wurden einerseits die Parameter der Mahlprozesse optimiert und andererseits eine Grundlage für die Bewertung ökotoxikologischer Effekte geschaffen.

Anders als viele andere Verfahren ermöglicht die vollumfängliche Partikelvermessung die Analyse von mikroskopischen Aufnahmen, neben der Partikelgrößenverteilung auch Häufigkeitsverteilungen für diverse Formfaktoren abzuleiten. Deswegen wird empfohlen, dieses Verfahren standardmäßig für die MKS-Charakterisierung einzusetzen. Auch das Ausmaß der Agglomeration von MKS kann mittels Mikroskopie abgeschätzt werden (Shekunov et al., 2007). Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass es bislang keine geeigneten Referenzmaterialien gibt, mit denen die Partikelvermessung von irregulären MKS validiert werden könnte. Zukünftige Projekte sollten sich daher dieser Problematik annehmen.

Eine Partikelvermessung anhand statischer Bildaufnahmen, wie sie im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurde, ist für irreguläre Partikel trotzdem gut geeignet. Allerdings hat sich gezeigt, dass die Ergebnisse von der Wahl des Computeralgorithmus bei der digitalen Bildverarbeitung abhängen. Die Segmentierung und alle anderen Verfahren sollten daher immer überprüfbar und reproduzierbar sein. Bislang ist dies oftmals nicht der Fall, da die Dokumentation der eingesetzten Methoden nicht ausreichend ist. Es wird daher empfohlen, dass zukünftige Forschungsarbeiten diese ausführlich beschreiben (Aaron & Chew, 2021).

3. Themenbereich: Kompostier- und Vergärungsprozesse

Ziel	Untersuchung des Verhaltens von MKS und Makrokunststoffen in Bioabfallverwertungsanlagen und der Analyse von möglicherweise aufwachsenden Biofilmen.
Vorgehensweise	Stoffstromanalyse in repräsentativen technischen Anlagen, Untersuchung des Degradationsverhaltens relevanter Kunststoffarten in Technikums- und Laboranlagen, standardisiertes Verfahren zur Evaluierung des anaeroben biologischen Abbaus, mikroskopische und molekularbiologische Analysen von Biofilmen.

3.1 Analyse der Mikrokunststoffbelastung bei technischen Anlagen der Abfallwirtschaft (BPT, TÖK I)

3.1.1 Motivation und Ziele

Organische Dünger aus Bioabfallverwertungsanlagen bilden eine wichtige Komponente der Kreislaufwirtschaft. Neben den erzeugten Komposten werden je nach Verfahren auch flüssige und feste Gärreste bzw. Gärprodukte als Dünger für landwirtschaftliche Flächen sowie energiereiches Biogas genutzt. In der Vergangenheit wurde bereits gezeigt, dass Komposte aus Anlagen, welche Biogas (häuslicher Bioabfall) verwerten, MKS enthalten können, und diese somit einen potentiellen Eintragsweg für MKS in die Umwelt darstellen (van Schothorst et al., 2021; Weithmann et al., 2018). Allerdings bezogen sich die Aussagen in den genannten Publikationen auf wenige Stichproben und MKS > 2mm und konnten daher nicht verallgemeinert werden.

Ziel von MiKoBo war es, in enger Zusammenarbeit zwischen den Projektpartnern systematisch zu untersuchen, welchen Beitrag Komposte und andere Düngeprodukte aus Bioabfallverwertungsanlagen zum Eintrag von MKS in die Umwelt und insbesondere in landwirtschaftlich genutzte Böden leisten. Der Fokus lag hierbei vor allem auf der Abhängigkeit der MKS-Belastung von der eingesetzten Prozesstechnik.

3.1.2 Methodik

3.1.2.1 Probennahme

Die flüssigen Proben von Gärresten aus Biogasanlagen und kombinierten Anlagen (Vergärungs- und Kompostierungsanlage) wurden aus den jeweiligen Gärrestspeicher der Anlagen entnommen, in Glasgefäße überführt und bei 4 °C aufbewahrt. Diese Proben wurden direkt mittels ATR-FTIR untersucht.

Im Falle der Komposte und festen Gärreste wurden vor Ort Sammelproben in Anlehnung an das Methodenbuch der Gütegemeinschaft Kompost (Kehres & Bundesgütegemeinschaft Kompost, 2006) genommen. Hierfür erfolgte zu Beginn des Projektes eine Einweisung der Projektmitarbeitenden durch einen zertifizierten Probenehmer. Die genommenen Proben wurden ohne Kühlung in geschlossenen Glasgefäßen (kein Kunststoff) nach Bayreuth überführt und im Labor, nach dem im Methodenbuch der Gütegemeinschaft beschriebenen Verfahren, homogenisiert.

3.1.2.2 Analyse von Fragmenten > 1mm

Für die Analyse von Komposten und festen Gärresten (n = 5) wurden ca. 3 L der Probe entnommen, gewogen, gleichmäßig auf 6 x 3 L Glasgefäße verteilt und anschließend in jeweils 2,5 L Wasser aufgeschwemmt. Die Isolierung der MKS-Partikel erfolgte in zwei Siebdurchgängen: über ein 5 mm und ein 1 mm Sieb. So konnte eine Partikelfraktion > 5mm und eine zwischen 1 und 5 mm gewonnen werden, wobei die Zuordnung eines Partikels zur Fraktion 1 – 5 mm lediglich besagt, dass das entsprechende Fragment das 5 mm Sieb passiert und vom 1 mm Sieb zurückgehalten wird. Das kann durchaus ein längeres, schmales Fragment sein. Der Wahl der Siebgrößen lag zugrunde, dass seit dem 01.01.2021 die Fremdstoffgrenze für Kunststoffe bei Düngemittel auf einen Siebdurchgang von 1 mm herabgesetzt wurde (§3, 4b, DüMV und §3, 4c, DüMV) und der Bereich 1 – 5 mm bereits als MKS-Bereich gilt.

Vorgehensweise:

- Die Proben wurden zunächst mit dem Sieb der 5 mm Maschenweite gesiebt. Alle Partikel im Siebrückstand (Fraktion > 5 mm) wurden der IR-Untersuchung zugeführt, um die enthaltenen Kunststoffpartikel eindeutig zu identifizieren.
- Nachfolgend wurde der Siebdurchlauf bei 1 mm gesiebt und die Partikel dieses Siebrückstandes (Fraktion 1 – 5 mm) der IR-Untersuchung zugeführt, um die enthaltenen

Kunststoffpartikel eindeutig zu identifizieren. Der Siebdurchlauf (< 1 mm) wurde verworfen.

Des Weiteren wurde das Trockengewicht der Komposte und festen Gärreste bestimmt. Dazu wurden fünfmal ca. 100 ml der zu untersuchenden Probe entnommen, gewogen, anschließend für 24 h bei 105 °C getrocknet und abermals gewogen. Aus dem dadurch erhaltenen Gewichtsunterschied wurde das Trockengewicht und der prozentuale Feuchtigkeitsanteil bestimmt. Außerdem wurde eine Rückstellprobe bei -20 °C eingefroren.

Zur IR-Analyse der gefundenen Partikel wurde die ATR-Infrarotspektroskopie (FTIR-Spektrometer - Alpha – Bruker; Software: Opus) verwendet. Die so aufgenommenen, materialspezifischen Spektren wurden mit Referenzspektren aus verschiedenen Datenbanken (eigene und vom Hersteller zur Verfügung gestellte) verglichen. Dadurch konnten die jeweiligen Spektren der Partikel den entsprechenden Materialarten zugeordnet und bestimmt werden. Für die Vermessung und bildliche Dokumentation wurde ein Auflichtmikroskop (Nikon SMZ 754T; Software: NIS Elements D) verwendet. Die kürzere Seite der gefundenen Partikel wurde immer als „Breite“ und die längere Seite als „Länge“ definiert.

3.1.2.3 Analyse von Fragmenten < 1 mm

Die flüssigen Gärrestproben aus landwirtschaftlichen Biogasanlagen und kombinierten Bioabfallverwertungsanlagen (Vergärungs- und Kompostierungsanlage) wurden von TÖK I analysiert. Genommen wurden die Proben aus den jeweiligen Gärrestlager der Anlagen und in Glasgefäßen bei 4°C aufbewahrt. Die Partikel im Bereich 10 µm – 1000 µm wurden anschließend durch einen enzymatischen Verdau aufgereinigt und mittels µFTIR analysiert. Die Methode ist in Kapitel 2.1.2 Methodenentwicklung und Validierung beschrieben.

Komposte wurden zur Bestimmung des Rückstandes von BAW (PLA und PBAT) an der Makromolekularen Chemie 2 (MCII) der Universität Bayreuth untersucht. Im Einzelnen wurde eine Chloroform-Extraktion durchgeführt und die Konzentration der beiden BAW-Kunststoffe mittels Wasserstoff-Kernspinresonanzspektroskopie (¹H-NMR) quantifiziert.

3.1.3 Ergebnisse

3.1.3.1 Auswahl der Anlagen

Die Auswahl der Anlagen sollte sicherstellen, dass das derzeitige gängige Anlagenspektrum in der Bioabfallverwertung abgedeckt wird. Es konnte die gewünschte Zahl an Anlagen zur Mitarbeit gewonnen werden, allerdings erklärten sich ausschließlich kommunale Betriebe zu

einer Zusammenarbeit bereit. Zum Vergleich wurden Anlagen, die ausschließlich Grüngut verarbeiten, sowie landwirtschaftliche Biogasanlagen betrachtet.

Insgesamt wurden 14 Anlagen auf eine etwaige Kunststoffbelastung ihrer Komposte und Gärprodukte hin untersucht (siehe Tabelle 4). Die Anlagenarten lassen sich in drei Kategorien einteilen:

- 1) reine Kompostierungsanlagen (Kategorie 1; n = 6)
- 2) reine Biogasanlagen (Kategorie 2; n = 3)
- 3) kombinierte Vergärungs- und Kompostierungsanlagen (Kategorie 3: n = 5).

Die Proben wurden nach Art und Anlage benannt: P für Rohkompost, F für Fertigkompost, L für Flüssigdünger. Bei landwirtschaftlichen Biogasanlagen wurde der Indikator „S“ für den festen Gärrest verwendet.

Bei den reinen Kompostierungsanlagen konnten sowohl Anlagen betrachtet werden, welche ausschließlich Biogut, als auch Anlagen, welche ausschließlich Grüngut verwerten. Von besonderem Interesse war hierbei die Untersuchung von Anlage 1.1, da diese Anlage parallel in zwei analog aufgebauten Prozesssträngen Grüngut und Biogut verwertet. In Abbildung 12 ist erkennbar, dass das ankommende Biogut deutlich stärker mit Kunststoffen verunreinigt ist als das Grüngut.



Abbildung 12: Substrate: links: Ankommendes Grüngut; rechts: Biogut der Anlage 1.1.

Von den drei untersuchten landwirtschaftlichen Biogasanlagen (Kategorie 2) verarbeiten zwei Anlagen (Anlage 2.2 und 2.3) fast ausschließlich nachwachsende Rohstoffe, landwirtschaftliche Erzeugnisse und Gülle. Anlage 2.1 dagegen verarbeitet zusätzlich weitere Substrate wie pflanzliche Abfälle von privaten Haushalten oder Märkten. Auch die Verarbeitung der Gärreste unterschied sich bei Anlage 2.1 von den beiden anderen Anlagen,

da diese den Gärrest trocknet und zu Pellets verarbeitet, welche als Dünger verwendet werden. Daher wurden bei Anlage 2.1 die Pellets untersucht.

Die Anlagen aus Kategorie 3 verwenden alle ausschließlich Biogut als Eingangssubstrat. Diese Anlagen vergären das Ausgangsmaterial zunächst und kompostieren dann die erzeugten Gärreste. Diese Vorgehensweise ist nach aktuellem Stand für das hochkalorische Biogut die hochwertigste Verwertungsform. Für Grüngut wäre dieses Verfahren wenig effizient. Entsprechend wurden in dieser Kategorie ausschließlich Biogutverwerter untersucht. Die Gärreste der Anlagen 3.1, 3.3 und 3.5 werden nach der Vergärung in eine feste und eine flüssige Phase getrennt. Die flüssige Phase kann als Flüssigdünger direkt landwirtschaftlich verwertet werden, der feste Gärrest wird zu Kompost weiterveredelt. Der Gärrest der Anlagen 3.2 und 3.4 wird ausschließlich kompostiert.

Die in allen untersuchten Anlagen produzierten Komposte sind überprüfte Qualitätskomposte im Sinne der Gütegemeinschaft Kompost und halten alle gesetzlichen Vorgaben ein. Die Qualität wird regelmäßig durch unabhängige Labore überprüft. Die Nachweise, dass bei keiner Untersuchung die vorgegebenen Grenzwerte überschritten wurden, liegen vor.

Tabelle 4: Prozessabläufe der untersuchten Anlagen.

Anlage	1.1_I	1.1_II	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5
Substrat	Grüngut	Bioabfall und Strukturmaterial	Grüngut	Grüngut	Bioabfall und Strukturmaterial	Grüngut	Bioabfall	Landwirtschaftlicher Abfall; Energiepflanzen; organische Abfälle von lokalen Märkten; Landschaftspflegematerial	Landwirtschaftlicher Abfall; Energiepflanzen	Landwirtschaftlicher Abfall; Energiepflanzen;	Bioabfall und Strukturmaterial	Bioabfall	Bioabfall und Strukturmaterial	Bioabfall und Strukturmaterial	Bioabfall und Strukturmaterial
Aufbereitung des Substrates	Zerkleinern ; Magnetabscheider	Sackaufreißer, Sieben (80 mm); Magnetabscheider; Vermengen mit zerkleinerten Strukturmaterial (80 mm)	Zerkleiner	Zerkleiner	Sieben (80 mm); Vermengen mit zerkleinerten Strukturmaterial	Zerkleiner	Sackaufreißer; Vermengen mit bis zu 5 % zerkleinerten Grüngut; Sieben (80 mm)	Zerkleinerung des festen Materials; Vermengen mit flüssigem Material	keine Daten Vorhanden	Zerkleinerung des festen Materials; Vermengen mit flüssigem Material	Zerkleinern, Sieben (80 mm)	keine vorherige Aufbereitung	Zerkleinern	Bioabfall: Querstrom-Zerspaner, Siebung (60 mm), Grüngut: Siebung >80 mm, Zerkleinern, Siebung, Fraktion 15 - 80 mm verwendet für Fermentation und < 15mm für Kompostierung	Zerkleinern; Sieben (100 mm)
Fermentation	-	-	-	-	-	-	-	Hauptfermenter: 53 °C, 50 Tage Nachgärung: 54 °C, 25 Tage	keine Daten Vorhanden	Hauptfermenter: 150 – 160 Tage; Nachgärung: Keine Daten vorhanden	Pfropfenstrom: 55 °C, ca. 17 Tage	Boxenfermenter: 40 °C; ca. 40 Tage	Pfropfenstrom: 55 °C, ca. 21 Tage	Pfropfenstrom: ca. 21 Tage¹⁾	Pfropfenstrom: 52 – 55 °C, 20 Tage
Kompostierung	10 – 12 Monate; Umsetzung :3 – 4 Mal,	12 Wochen; Umsetzung alle 2 Wochen	Kompostierung bis zu einem	3 – 4 Monate; Tafelmieten;	1 Woche Intensivrotte; wöchent-	4 Wochen Intensivrotte;	9-mal Umsetzen alle 5 Tage,	-	-	-	bis zu 5 Wochen	> 5.5 Wochen	bis zu 9 Wochen	6 Wochen	5 Wochen

Anlage	1.1_I	1.1_II	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	3.4	3.5
	abhängig von Feuchtigkeit		Rottegrad 3 – 5	Umsetzung alle 4 Wochen	liche Umsetzung (10 Wochen)	Bodenbelüftung; 2 Wochen Reife	anschließend Nachreife								
Aufbereitung	-	-	-	-	-	-	-	Fest-Flüssig-Trennung	Keine Daten Vorhanden	Fest-Flüssig-Trennung	Fest-Flüssig-Trennung	-	Fest-Flüssig-Trennung	-	Fest-Flüssig-Trennung
Feinsiebung	12 mm	10 – 15 mm	10 mm	15 mm	12 mm	20 mm	25 mm, 12 mm und 10 mm	-	-	-	12 mm	20 mm	10 oder 12 mm	12 mm	10 mm
Produkte	Kompost	Kompost	Kompost	Kompost	Kompost	Kompost	Kompost	Feste Gärreste, Flüssigdünger	Feste Gärreste, Flüssigdünger	Feste Gärreste, Flüssigdünger	Kompost, Flüssigdünger	Kompost	Kompost, Flüssigdünger¹⁾	Kompost	Kompost, Flüssigdünger

1) Probenahme nach der Zwischensiebung; 2) Probe von Gärrest-Pellets; Ergebnisse zu Anlagen, die Biogut verarbeiten, sind jeweils fett gedruckt.

3.1.3.2 Kunststoffpartikel > 1 mm in Abhängigkeit vom Verwertungsfahren

Von den sechs untersuchten reinen Kompostierungsanlagen verarbeiten drei Anlagen ausschließlich Grüngut (Anlage 1.2, Anlage 1.,3 und Anlage 1.5), zwei Anlagen (Anlage 1.4 und Anlage 1.6) ausschließlich Biogut und eine Anlage (Anlage 1.1) sowohl Bio- als auch Grüngut allerdings unter strikter Trennung der Substrate und Prozesse. Diese Anlagen eignen sich also gut für einen Vergleich der beiden Substrattypen zur Herstellung von Qualitätskomposten durch reine Kompostierung.

Die Belastung der jeweiligen Komposte mit Kunststoffpartikeln ist in Tabelle 5 dargestellt. Demnach sind Komposte aus Grüngutkompostierungsanlagen etwas weniger mit Kunststoffpartikeln > 1 mm belastet als Anlagen, welche Biogut verarbeiten. Eine Ausnahme bildet die Grüngutkompostierungsanlage 1.5, die die höchste Kunststoffbelastung im Fertigungskompost unter den reinen Kompostieranlagen aufweist (50 Kunststoffpartikel/kg TM). Weiterhin fällt auf, dass bei allen Kompostieranlagen unabhängig vom Eingangssubstrat die Anzahl der Partikel in der Fraktion 1 – 5 mm wesentlich geringer war als in der Fraktion > 5 mm.

Tabelle 5: Kunststoffpartikel/kg TM

Probe	Anzahl der Kunststoffpartikel/kg TM		Anteil TM Kompost [%]
	Fraktion > 5 mm	Fraktion 1 – 5 mm	
F_1.1_I	1,58	1,58	64,46
F_1.1_II	11,07	2,46	74,9
F_1.2-1	13,27	4,82	80,15
F_1.2-2	7,55	-	76,62
F_1.2-3	3,44	3,44	62,46
F_1.3-1	6,35	1,27	58,25
F_1.3-2	5,13	-	52,53
F_1.4-1	10,69	-	60,52
F_1.5-1	42,14	7,80	61,83
P_1.6-1	34,78		86,50

Probe	Anzahl der Kunststoffpartikel/kg TM		Anteil TM Kompost
	Fraktion > 5 mm	Fraktion 1 – 5 mm	[%]
P_1.6-2 ¹⁾	90,00	6,67	73,31
F_1.6-1	11,53	4,60	68,71
S_2.1-1 ²⁾	13,04	15,66	86,13
S_2.1-2 ²⁾	4,90	1,84	88,27
S_2.1-3	18,99	22,79	31,73
S_2.2-1	13,60	-	18,57
S_2.2-2	7,79	-	19,9
S_2.3-1	-	-	21,93
F_3.1-1	67,41	23,68	45,86
F_3.2-1	28,65	4,77	64,88
P_3.3-1	193,95	46,31	57,49
F_3.3-1	53,14	48,53	57,41
P_3.4-1	53,62	7,94	39,66
F_3.4-1	15,41	5,60	51,57
F_3.5-1	97,88	16,04	70,22

¹⁾ Probenahme nach der Zwischensiebung; ²⁾ Probe von Gärrest-Pellets; Ergebnisse zu Anlagen, die Biogut verarbeiten, sind jeweils fett gedruckt.

Auch im Fall der landwirtschaftlichen Biogasanlagen (Kategorie 2) hat das Substrat einen Einfluss auf die Belastung der Gärprodukte mit Kunststoffen > 1 mm. So sind ausschließlich in den Gärresten aus Anlage 2.1 (breites Substratspektrum) Kunststoffpartikel der Fraktion 1 – 5 mm pro kg TM zu finden. In den Proben aus Anlage 2.1 und 2.2 wurden Kunststoffe > 5 mm gefunden. Dies steht im Gegensatz zu früheren Untersuchungen (Weithmann et al., 2018), in denen Gärreste aus reinen nachwachsende Rohstoffe (NawaRo)-Anlagen praktisch

unbelastet mit Kunststoffen sind. In dieser Untersuchung war dies nur für die Gärreste aus Anlage 2.3 der Fall.

In den Anlagen der Kategorie 3 (kombinierte Vergärungs- und Kompostierungsanlagen) war die Belastung der Komposte durch Kunststoffe > 1 mm eindeutig am höchsten. Bis auf Anlage 3.2 und 3.4 wurden bis zu 100 Kunststoffpartikel/kg TM gefunden. Grund hierfür dürfte die unterschiedliche Verfahrenstechnik der Anlagen sein. Bei Anlage 3.2 wird das Substrat weder zerkleinert, noch findet nach der Vergärung eine Pressfiltration statt. Auch Anlage 3.4 separiert die Gärreste nicht. Anlage 3.4 weist dabei eine geringere Belastung im Bereich > 5 mm auf. Der Grund hierfür dürfte am Feinsiebschritt liegen – Anlage 3.2 verwendet ein Sieb mit 20 mm Maschenweite und Anlage 3.4 verwendet ein Sieb mit 10 mm Maschenweite.

Wie die Ergebnisse der Anlagen 1.6, 3.3 und 3.4 zeigen, weist der Rohkompost im Vergleich zum Fertigungskompost eine deutlich höhere Anzahl an Kunststoffpartikeln > 5 mm auf. Dies deutet darauf hin, dass der letzte Siebschritt (Feinsiebung) bei der Kompostherstellung (Übergang vom Rohkompost zum Fertigungskompost) von großer Bedeutung für die Fremdstoffentfernung ist. Allerdings geht diese Siebung stark zu Lasten der Fertigungskompostausbeute, da bei der Siebung in der Regel eine erhebliche Menge an wertvoller Organik mit den aussortierten Fremdstoffen verloren geht. In der Fraktion 1 – 5 mm ist der Effekt der Siebung nicht zu erkennen.

Abschließend ist festzustellen, dass in keinem Fall die für Gütekompost geforderten Fremdstoffgrenzwerte von Fragmenten > 1 mm überschritten wurde. Ein Vergleich mit den vorliegenden Zertifikaten der Gütesicherung zeigt, dass durch die derzeit übliche optische Standardanalytik der Anteil an Kunststoffpartikeln > 1 mm eher über- als unterschätzt wird.

3.1.3.3 Analyse der Kunststoffe > 1 mm nach Materialklassen

In Abbildung 13 und Abbildung 14 sind die in den Anlagen der Kategorie 1 (reine Kompostierungsanlagen) und 3 (kombinierte Vergärungs- und Kompostierungsanlagen) gefundenen Kunststoffe > 1 mm nach Materialklassen sortiert. Bei den kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen dominierten PE-Partikel unabhängig von der Prozesstechnik die Siebfraction > 5 mm. In der Siebfraction 1 – 5 mm konnte PE in den Proben der Anlagenkategorie 1 mit zwei Ausnahmen nicht nachgewiesen werden. In der Anlagenkategorie 3 konnte PE sowohl in der Siebfraction > 5 mm als auch in der Siebfraction 1 – 5 mm in fast allen Proben nachgewiesen werden. Bei einigen Proben von Anlagen, welche Grüngut verarbeiten, dominierten teilweise auch PP. Dies gilt nur für Proben, welche insgesamt eine eher geringe Anzahl an Kunststoffen aufweisen. In der Materialklassenkategorie „andere“ (welche < 5 % der gesamten Kunststoffe ausmachten) wurden Kunststoffe wie PET, Platon T, diverse Polyurethane, PVC, Acrylnitril-Verbindungen und

Teflon-Verbindungen entdeckt. Diese Kunststoffe kamen vermehrt in der Fraktion 1 – 5 mm vor.

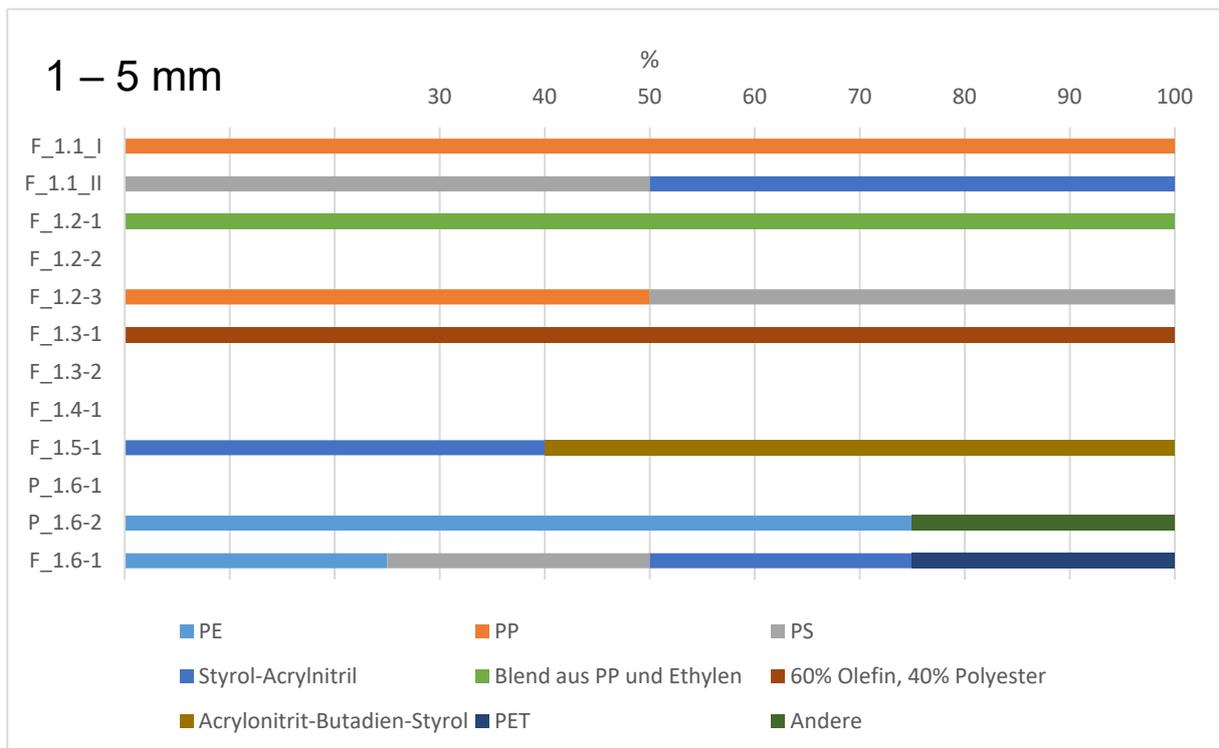
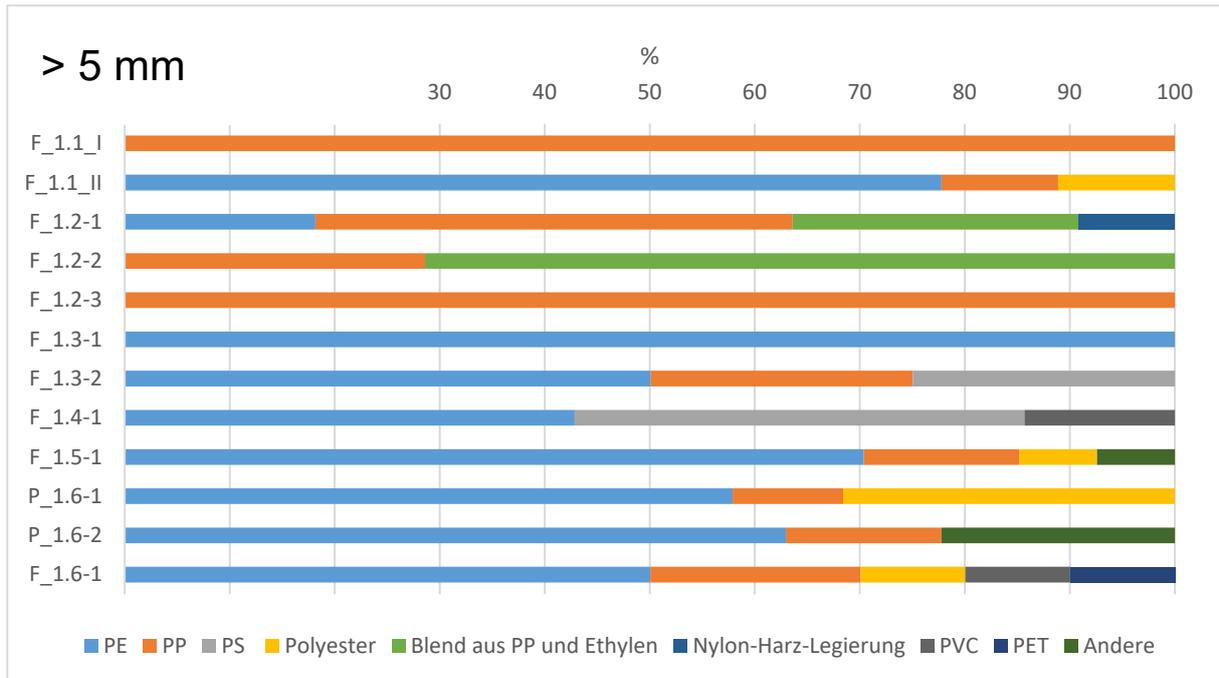


Abbildung 13: Anlagenkategorie 1: Verteilung der gefundenen Kunststoffe in den Fraktionen '> 5 mm' und '1 – 5 mm'.
Anmerkung: *:P_1.6-2: Probe entnommen nach dem 12 mm, aber vor dem letzten 10 mm Siebschritt.

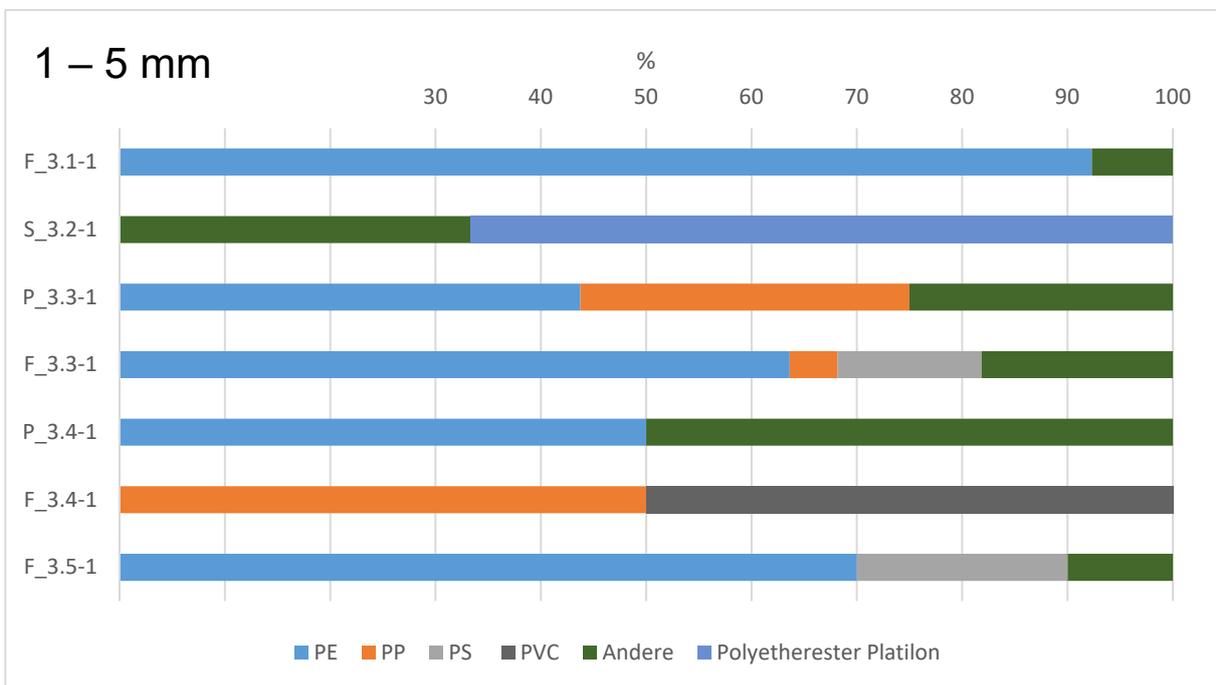
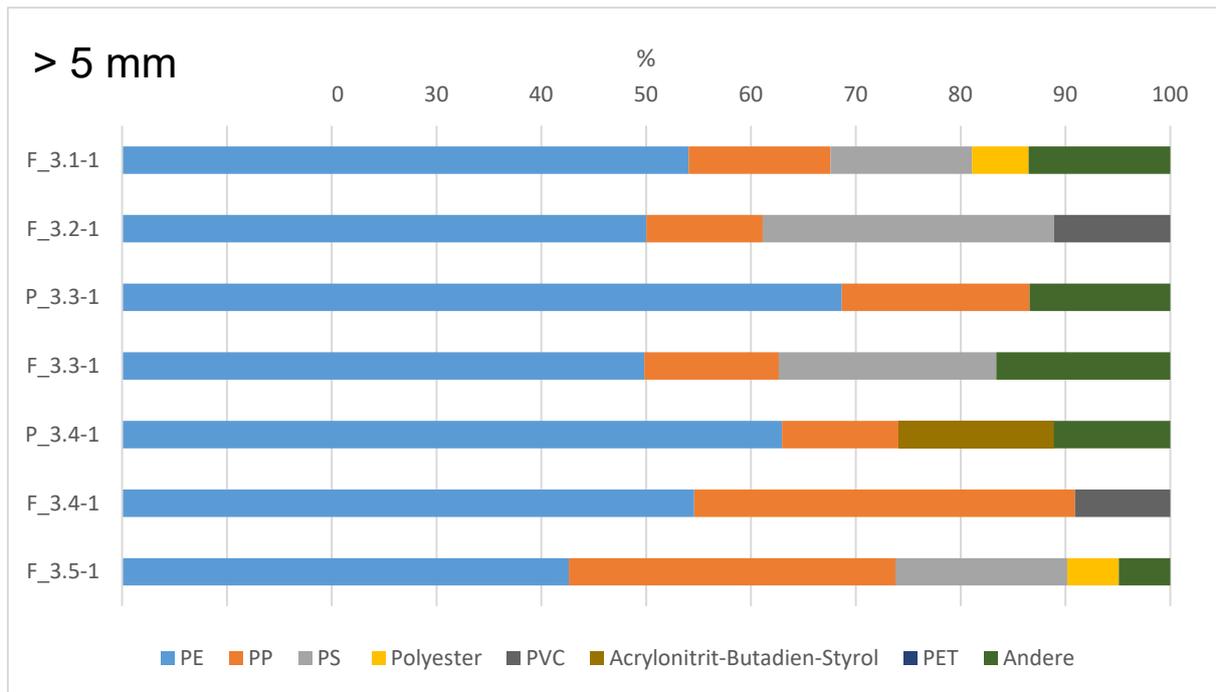


Abbildung 14: Anlagenkategorie 3: Verteilung der gefundenen Kunststoffe in den Fraktionen '> 5 mm' und '1 – 5 mm'.

In Abbildung 15 sind die Partikel aus den Anlagen der Kategorie 2 (reine Biogasanlagen) nach Materialklassen sortiert aufgeführt. Hierbei fällt auf, dass im Vergleich zu den Anlagen der Kategorie 1 und 3 bei den Anlagen der Kategorie 2 PP weitaus häufiger nachgewiesen werden konnte. PE und PP Partikel sind bei Anlage 2.1 sowohl in der Siebfraction > 5 mm als auch in der Fraktion 1 – 5 mm dominant. Dazu wurde noch eine Reihe weiterer Kunststoffklassen

nachgewiesen, vergleichbar mit Anlagen, welche Biogut verarbeiten. Bei Anlage 2.2 (nur Partikel > 5 mm) enthält Probe S_2.2-1 PE und PP und Probe S_2.2-2 nur PP. Es ist bei der Anlage 2.2 unseres Erachtens von vereinzelt versehentlichen Kontaminationen auszugehen, da diese Anlage, genau wie Anlage 2.3, nur mit landwirtschaftlichen Abfällen und nachwachsenden Rohstoffen arbeitet.

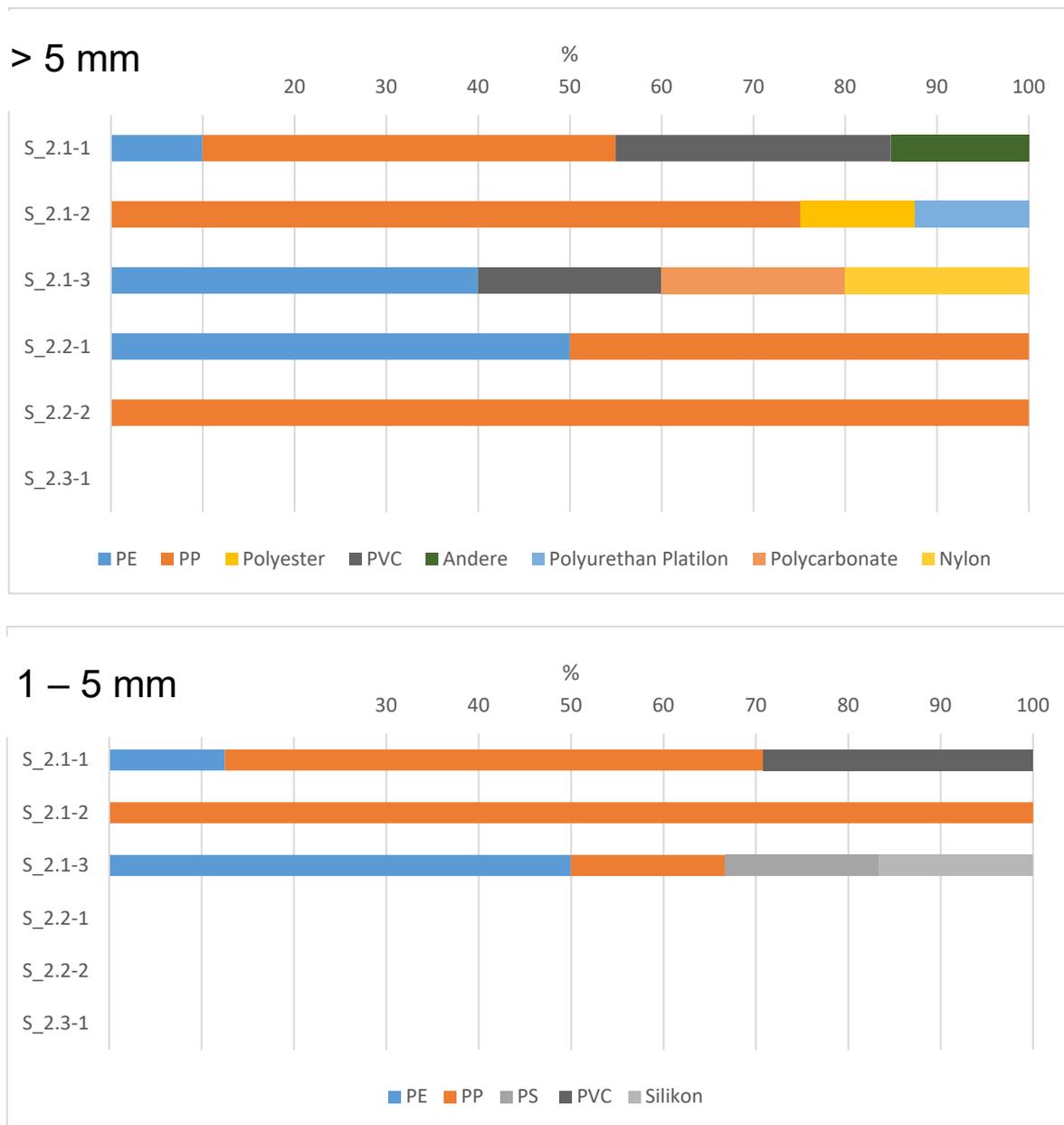


Abbildung 15: Anlagenkategorie 2-Verteilung der gefundenen Kunststoffe in den Fraktionen '> 5 mm' und '1 – 5 mm'.

Anmerkung: *S_2.1-1 und S_2.1-2: Gärrest-Pellets (hergestellt aus getrockneten und gepressten Gärresten).

3.1.3.4 Analyse der Kunststoffe 10 µm – 1000 µm nach Materialklassen

MKS < 1 mm konnten im Rahmen von MiKoBo nur in flüssigen Matrices ausgewertet werden, d.h. diese Analyse war auf die flüssigen Gärreste der Anlagen aus Kategorie 2 (reine Biogasanlagen) und 3 (kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen)) beschränkt. Flüssige Gärreste werden in der Regel direkt als Dünger auf landwirtschaftliche Flächen ausgebracht und ersetzen flüssige Gülle. Die Ergebnisse zu den flüssigen Gärresten der landwirtschaftlichen Biogasanlagen (Kategorie 2) sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Tabelle 7 enthält die Ergebnisse der flüssigen Gärreste aus kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen, die Bioabfälle verwerten.

Tabelle 6: Kunststoffpartikel pro Liter Flüssigdünger und Anteile nach Größe und Art bei landwirtschaftlichen Biogasanlagen (Kategorie 2).

Größenbereich		11 – 22 µm	22 – 100 µm	100 – 300 µm	300 – 500 µm	500 – 1.000 µm
Probe L_2.1-1	Anzahl der Fragmente	-	1.280	320	-	-
	Materialklassenverteilung	-	PET 25 %	PET 100 %	-	-
		-	PE 25 %	-	-	-
		-	PP 25 %	-	-	-
		-	PS 25 %	-	-	-
Größenbereich		11 – 22 µm	22 – 100 µm	100 – 300 µm	300 – 500 µm	>500 µm
Probe L_2.3-1	Anzahl der Fragmente	320	320	-	-	-
	Materialklassen-verteilung	Silikon 100 %	Silikon 100 %	-	-	-

In keiner der beiden Probe der flüssigen Gärreste aus den landwirtschaftlichen Biogasanlagen wurden Partikel $> 300 \mu\text{m}$ gefunden. In Anlage 2.3 wurden ausschließlich Silikonpartikel gefunden. Da bei dieser Anlage das Substrat nur aus landwirtschaftlichen Erzeugnissen besteht und auch keine größeren Partikel gefunden wurden, ist zu vermuten, dass das Silikon aus Anti-Schaum-Mitteln, Versiegelung des Innenbereiches oder von antimikrobiellen Versiegelungen stammt (Surita & Tansel, 2014; Tansel & Surita, 2014).

Dagegen ist in Anlage 2.1 die Variabilität der Kunststoffklassen weitaus größer, was mit dem weitaus unterschiedlicheren eingesetzten Substrat zusammenhängen dürfte. Auch hier zeichnet sich ein ähnliches Materialspektrum wie bei den Anlagen, welche Bioabfall verarbeiten (Tabelle 7), ab. Wie in der Fraktion $> 1 \text{ mm}$ wurden PE-, PP- und PS-Partikel gefunden, doch zusätzlich auch ein großer Anteil an PET, welches interessanterweise in der Fraktion $> 1 \text{ mm}$ überhaupt nicht zu finden war.

Tabelle 7 fasst die Ergebnisse der MKS-Erfassung in den flüssigen Gärresten aus den Anlagen der Kategorie 3 zusammen. Nicht alle Anlagen dieser Kategorie produzieren auch einen flüssigen Gärrest. Vergleichbar mit den flüssigen Gärresten von Anlagenkategorie 2 wurden auch hier die meisten MKS-Partikel im Bereich $22 - 300 \mu\text{m}$ gefunden. Die Materialklasse PE, PET und PP wurden in jeder Probe gefunden, während PVC, PS und Silikon-Fragmente nur vereinzelt vorkamen. Auch wurden hier keine Partikel $> 1 \text{ mm}$ gefunden. Die Anzahl der gefundenen Fragmente in den flüssigen Gärresten der Anlagenkategorie 3 war deutlich höher im Vergleich zu den flüssigen Gärresten der Anlagenkategorie 2.

Tabelle 7: Kunststoffpartikel pro Liter Flüssigdünger und Anteile nach Größe und Art bei kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen (Kategorie 3).

Größenbereich	11 – 22 µm	22 – 100 µm	100 – 300 µm	300 – 500 µm	500 – 1000 µm	> 1.000 µm	
Probe L_3.1-1	Anzahl der Fragmente	-	5.120	2.560	1.280	1.280	-
	Materialklassenverteilung		PET 25 % PE 25 % Silikon 50 %	PET 50 % PP 50 %	PS 100 %	PE 100 %	
Größenbereich	11 – 22 µm	22 – 100 µm	100 – 300 µm	300 – 500 µm	500 – 1.000 µm		
Probe L_3.3-1	Anzahl der Fragmente	640	3.840	2.240	-	-	-
	Materialklassenverteilung	PET 50 % PE 50 %	PET 33,3 % PE 33,3 % PP 16,7 % PS 16,7 %	PET 14,3 % PVC 14,3 % PE 28,6 % PP 14,3 % PS 28,6 %			

Größenbereich		11 – 22 µm	22 – 100 µm	100 – 300 µm	300 – 500 µm	500 – 1.000 µm	> 1.000 µm
Probe L_3.5-1	Anzahl der Fragmente	-	5.120	6.400	-	-	-
	Materialklassenverteilung		PE 75 % PP 25 %	PET 40 % PE 40 % PP 20 %			

3.1.3.5 Kunststoffpartikel > 1 mm mit PBAT-Signatur

Der Fokus von MiKoBo sollte auf der Belastung mit konventionellen Kunststoffen liegen. Diese Kunststoffe belasten den Stoffstrom an organischem Abfall und schränken damit dessen Rückführung in den biologischen Kreislauf ein. BAW (haben eine PBAT-Signatur) werden in diesem Zusammenhang als Alternativen diskutiert, da sie als kompostierbar gelten. Allerdings ist festzuhalten, dass die entsprechende Zertifizierung, z. B. als kompostierbar, lediglich den Anspruch erhebt, dass sich das Material unter den Bedingungen einer industriellen Kompostierung zersetzt. Keinesfalls kann immer der Rückschluss gezogen werden, dass das Material auch umweltschonend ist oder es in der natürlichen Umgebung, z. B. im Boden immer schnell abgebaut wird. Im Gegenteil, es gibt Untersuchungen, die belegen, dass nicht vorbehandelte PBAT-Fragmente, die in die Umwelt gelangen, dort auf unbestimmte Zeit persistieren (Helmberger et al., 2020; Ng et al., 2018; Palsikowski et al., 2018). MKS mit PBAT-Signatur, die mit Komposten in die Umwelt gelangen, könnten also ähnlich belastend wie konventionelle MKS sein. Daher wurde auch diese Substanzkategorie im Rahmen dieses Projekts untersucht.

PBAT-Fragmente > 1mm wurden bei unseren Untersuchungen ausschließlich in den Komposten der kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen (Kategorie 3) gefunden (Tabelle 8). In solchen Anlagen findet zuerst eine anaerobe Behandlung des Bioabfalls statt und im Anschluss eine – im Vergleich zu den reinen Kompostieranlagen – deutlich verkürzte aerobe Kompostierung. Da die anaerobe Stufe nach derzeitigem Kenntnisstand nicht wesentlich zum Abbau von BAWs beiträgt, könnte die kürzere

Kompostierdauer ein Grund dafür sein, dass in den Anlagen der Kategorie 3 PBAT-Fragmente gefunden wurden. Die Verfahren zur Zertifizierung der Bioabbaubarkeit/Kompostierbarkeit (Standardkompostierung) geht von einer Kompostierdauer von 12 Wochen aus. Eine Rottezeit von bis zu 12 Wochen kann in reinen Kompostieranlagen eher erreicht werden als bei kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen. Dort beträgt sie in der Regel lediglich 5 – 6 Wochen.

Tabelle 8: Prozentualer Anteil der PBAT-Fragmente in den Anlagen der Kategorie 3 (kombinierte Vergärungs- und Kompostierungsanlagen).

Probe	F_3.1-1		F_3.2-1		P_3.3-1		F_3.3-1		P_3.4-1		F_3.4-1	
Siebfraktion [mm]	> 5	1 – 5	> 5	1 – 5	> 5	1 – 5	> 5	1 – 5	> 5	1 – 5	> 5	1 – 5
PBAT-Fragmente pro kg TM	16	18	-	19	29	3	-	2	4	-	-	-
PBAT-Fragmente bezogen auf Gesamtkunststoff-belastung der jeweiligen Siebfraktion	20 [%]	43 [%]	-	80 [%]	13 [%]	6 [%]	-	4 [%]	7 [%]	-	-	-
PBAT-Fragmente bezogen auf Gesamtkunststoff-belastung > 1 mm	28 [%]		36 [%]		11 [%]		2 [%]		6 [%]		-	

In enger Zusammenarbeit mit der MCII wurden die gefundenen Kunststoffpartikel weiteren Untersuchungen (1H NMR und FTIR) unterworfen. Dabei zeigte sich, dass die gefundenen Materialmischungen allgemein der Zusammensetzung von als kompostierbar zertifizierten Tüten entsprechen. Allerdings war bei den gefundenen Fragmenten der PBAT-Anteil höher als bei den im Supermarkt erhältlichen Beuteln und innerhalb des PBATs war der Anteil der BA-Einheit bei den Fragmenten geringer als bei den Beuteln. PBAT besteht aus einer Butylenterephthalat-Einheit (BT-Einheit) und einer Butylenadipat-Einheit (BA-Einheit). In der einschlägigen Literatur wird in der Tat PBAT sowie BT als die jeweils schlechter abbaubare Komponente beschrieben, sodass es möglich ist, dass diese Komponenten aus BAW in den Anlagen angereichert werden (Kijchaveng-kul et al., 2010; Ren et al., 2019).

3.1.3.6 Kunststoffpartikel < 1 mm mit PBAT-Signatur

Während der Gehalt an Fragmenten > 1 mm mit PBAT-Signatur in den Komposten zwischen 0 % (Anlage 3.4) und 36 % (Anlage 3.2) lag, waren die BAW bei den Fragmenten < 1 mm in den flüssigen Gärresten aus Anlagen 3.1 (45%), 3.3 (65%) und 3.5 (47%) stärker vertreten (Tabelle 9). Von den in diesen Gärresten gefundenen rund 20.000 Partikeln pro Liter betrug der Anteil an Partikeln mit einer PBAT-Signatur annähernd zwischen 45 und 65%. Das ist insofern nicht verwunderlich, da die BAWs im flüssigen Gärrest zuvor nur die anaerobe Stufe durchlaufen haben und ein Abbau daher eher unwahrscheinlich war. BAW-Beutel, welche es für die Sammlung von Bioabfällen in den Supermärkten zu kaufen gibt, werden aktuell lediglich für die aerobe Kompostierung nach EN 13432 zertifiziert. Es existiert bislang keine Zertifizierung für den anaeroben Abbau. Aus den Versuchen in den Technikumsanlagen zur anaeroben Vergärung konnte allerdings festgestellt werden, dass die zugesetzten BAW-Folien nach der Fermentation extrem brüchig waren. Es ist daher zu vermuten, dass die Bedingungen zur Gewinnung des flüssigen Gärrestes (i.d.R. Pressschneckenseparation mit physikalischer Beanspruchung der Kunststofffragmente) zur Fragmentierung der BAW beiträgt, insbesondere, wenn diese während der Verweilzeit im Fermenter verspröden, weil z. B. Weichmacher ausgewaschen werden. Flüssige Gärreste werden ähnlich wie Gülle 2–3 mal pro Jahr in Mengen von 1 L pro m² ausgebracht. Entsprechende Mengen an BAW-MKS können so in Böden gelangen, wobei diese MKS von der Größe her bereits in biologisch relevante Bereiche (Interaktion im Zellbereich) vorstoßen (Riedl et al., 2021). Auch der Eintrag von MKS über Niederschläge wurde in Studien bereits untersucht (Bergmann et al., 2019). Dort wurden z. B. in 1 L Schnee bis zu 154.000 MKS nachgewiesen (Partikel > 11 µm). Eine weitere Studie berechnete für entlegenen Gegenden (Pyrenäen) einen MKS-Eintrag über Niederschläge von 365 ± 69 Partikel (> 1 µm) pro Tag und m² (Allen et al., 2019).

Tabelle 9: Prozentualer Anteil der BAW-Fragmente 10 – 1.000 µm pro Liter flüssiger Gärrest.

Probe	L_3.1-1	L_3.3-1	L_3.5-1
Anzahl MKS-Partikel gesamt	20.480	19.200	21.760
davon BAW-Fragmente	45 %	65 %	47 %

Der direkte Nachweis von Fragmenten < 1.000 µm in Komposten und festen Gärresten war in MiKoBo nur bedingt möglich. Es wurden am Ende des Projektes noch Komposte aus reinen Kompostieranlagen auf MKS (10 µm – 1.000 µm) hin untersucht. Hier wurde festgestellt, dass

nur in Komposten, welche Biogut als Substrat verwenden, PBAT-Fragmente gefunden wurden. In Grüngutkomposten wurden keine PBAT-Fragmente gefunden.

Tabelle 10: PBAT und PLA-Konzentrationen in den Anlagen 3.1 – 3.4.

Probe	F_3.1-1	F_3.2-1	P_3.3-1	F_3.3-1	P_3.4-1	F_3.4-1
Trockengewicht [%]	45,9	64,9	57,5	57,4	39,7	51,6
M _c [g]	100	100	65	54	100	100
M _e [g]	0,78	1,41	0,51	0,45	1,14	0,68
M ₀ [mg]	14,0	14,8	14,8	12,2	15,3	13,5
M _{STD} [mg]	9,1	8,9	9,5	12,0	8,6	15,2
M _{PLA} [mg]	1,488	1,259	1,300	0,369	2,645	1,788
M _{PBAT} [mg]	1,228	3,283	1,102	0,381	0,370	0,148
P _{PLA} [%]	10,6	8,5	8,8	3,0	17,3	13,2
P _{PBAT} [%]	8,8	22,2	7,4	3,1	2,4	1,1
C _{PLA} [ppm]	827	1199	690	250	1972	898
C _{PBAT} [ppm]	686	3130	581	258	274	75

Anmerkung: M_c: Trockenkompostmasse, aus der extrahiert wurde; M_e: Masse extrahiert aus Kompostprobe; M₀: Masse des für 1H-NMR verwendeten Materials; M_{STD}: interner Massenstandard, der für 1H-NMR verwendet wird; M_{PLA}, M_{PBAT}: Massen von PLA und PBAT in M₀; P_{PLA}, P_{PBAT}: Gew.-% von PLA und PBAT in M_e; C_{PLA}, C_{PBAT}: Massenkonzentration von PLA und PBAT in M_c;

Dies ist ein Anteil, der tendenziell über der zulässigen gesetzlichen Grenze von 0,1 Gew.-% für Kunststoffverunreinigungen von Komposten liegt, letztere allerdings für Fragmente > 1 mm. Wenn wir die jeweilig gefundenen PBAT/PLA-Konzentrationen in eine Fläche umrechnen und von einer Dichte von 1.240 kg m³ für PLA und 1260 kg m³ für PBAT ausgehen, von einer Folienstärke von 23 µm und dies auf eine Tonne Kompost (TM) umrechnen, entspricht dies einem Flächenbereich von 17 – 150 m². Dabei wurde die durchschnittliche Stärke der in Supermärkten gekauften BAW-Tüten, sowie die Dichten von PBAT und PLA, welches in MiKoBo verwendet wird, angenommen.

3.1.4 Diskussion

Hinsichtlich der Belastung mit Fragmenten > 1 mm kann zu den drei Anlagenkategorien im Vergleich gesagt werden, dass landwirtschaftliche Biogasanlagen nur sehr wenige bis gar keine MKS-Partikel enthalten. Ausnahme ist hier Anlage 2.1, welche allerdings eine ungewöhnlich große Anzahl an Substraten einsetzt. Insgesamt zeigt sich, dass der Kompost aus reinen Kompostierungsanlagen im Vergleich zu den Komposten aus den kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen deutlich weniger Kunststoffpartikel enthält.

Unter den reinen Kompostierungsanlagen sind Komposte aus Anlagen, welche Grüngut verarbeiten, tendenziell geringer belastet als solche aus Anlagen, die Biogut verarbeiten. Anlage 1.1 ist ein gutes Beispiel hierfür, da diese sowohl Grüngut als auch Biogut unter vergleichbaren Bedingungen parallel kompostiert und die Belastung durch Kunststoffe bei F_1.1_I (Grüngut) um das 4-Fache geringer ist als bei F_1.1_II (Biogut). Auffallend ist hingegen Anlage 2.5 (Grüngut), deren Kompost mit 50 Kunststoff-Partikel/kg TM am stärksten, d. h. noch stärker als typische Biogutkomposte, belastet ist. Der Grund hierfür dürfte bei der Anlagentechnik liegen, da in Anlage 2.5 der abschließende Feinsiebschritt lediglich mit einer Siebmaschenweite von 20 mm durchgeführt wird (andere Anlagen 10/12 mm).

Die Komposte aus den kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen sind, mit Ausnahme von denjenigen aus den Anlagen 3.2 und 3.4, mit mehr Kunststoffpartikeln belastet als die Komposte aus den reinen Biogut-Kompostierungsanlagen. Anlagenkategorie 3 unterscheidet sich von den beiden anderen insofern, dass hier ein zweistufiger Prozess gefahren wird. Durch die Vergärung und anschließende Kompostierung des Bioabfalls ist der Masseverlust durch die unterschiedlichen biologischen Bedingungen und der daraus resultierenden besseren Organikausnutzung höher als bei den anderen beiden Anlagenkategorien. Der höhere Organikabbau führt zu einer Aufkonzentration der Kunststoffpartikel, was sich in den höheren Kunststoffpartikelkonzentrationen bezogen auf die Trockenmasse widerspiegelt. Reine Kompostieranlagen verwenden außerdem oft einfache Sackaufreißer, um an das organische Material zu kommen. Kombinierte Anlagen verwenden dagegen i.d.R. einen Zerkleinerer. Dass der Kompost aus Anlage 3.2 nur 33 Kunststoff-Partikel/kg TM enthielt, lässt sich durch den Umstand erklären, dass Anlage 3.2 als einzige kombinierte Anlage für die Vergärung das Prinzip der Boxenfermentation ohne intensive Zerkleinerung des angelieferten Materials verwendet. Entsprechend waren die gefundenen Partikel im Fertigkompost aus Anlage 3.2 im Durchschnitt größer als bei den anderen Anlagen. In den Anlagen 3.1, 3.3 und 3.5, deren Komposte die höchste Anzahl an Kunststoffpartikel aufwiesen, wurde zudem vor der Kompostierung der feste Gärrest durch Pressfiltration abgetrennt. Dadurch wurden alle Partikel > 1mm mit dem festen Gärrest im entstehenden

Filterkuchen zurückgehalten und dort aufkonzentriert. Die Separation und die dabei wirkenden physikalischen Kräfte tragen vermutlich zu erhöhten MKS-Konzentrationen im flüssigen Gärrest durch die vorherige Pressfiltration bei.

Das Zerkleinern des Bioabfalls, das Trennen der flüssigen Gärreste von festen Gärresten und der höhere Masseverlust durch den zweistufigen Prozess bei den kombinierten Anlagen sind Faktoren, die zur höheren Belastung des Kompostes aus den kombinierten Anlagen beitragen können.

Vergleicht man alle Komposte, unabhängig vom Anlagentyp oder den eingesetzten Substraten und bezieht die Feinsiebungen mit ein, dann hat der letzte Siebschritt, bei dem aus Rohkompost abgabefertiger Kompost entsteht, einen erheblichen Einfluss auf die Anzahl von Partikeln in der Siebfraction > 5 mm. Während ein Großteil der Partikel der Größenfraktion > 5 mm durch die Feinabsiebung des Rohkompostes (P_3.3-1) von Anlage 3.3 zum Fertigungskompost (F_3.3-1) entfernt werden konnte, gab es in der Fraktion 1 – 5 mm keine Änderung der Anzahl der Kunststoffpartikel. Es ist davon auszugehen, dass ein Großteil der Partikel > 5 mm im Vorfeld durch die Absiebung bereits ausgeschleust werden.

Die Effekte der Siebschritte und die Abhängigkeit der Siebmaschenweiten korrelieren direkt mit der Partikelgröße. Wie in Abbildung 16 dargestellt, ergeben sich bei der Längen-Breiten-Verteilung der Partikel Abhängigkeiten der Partikelgrößenverteilung zur Siebmaschenweite.

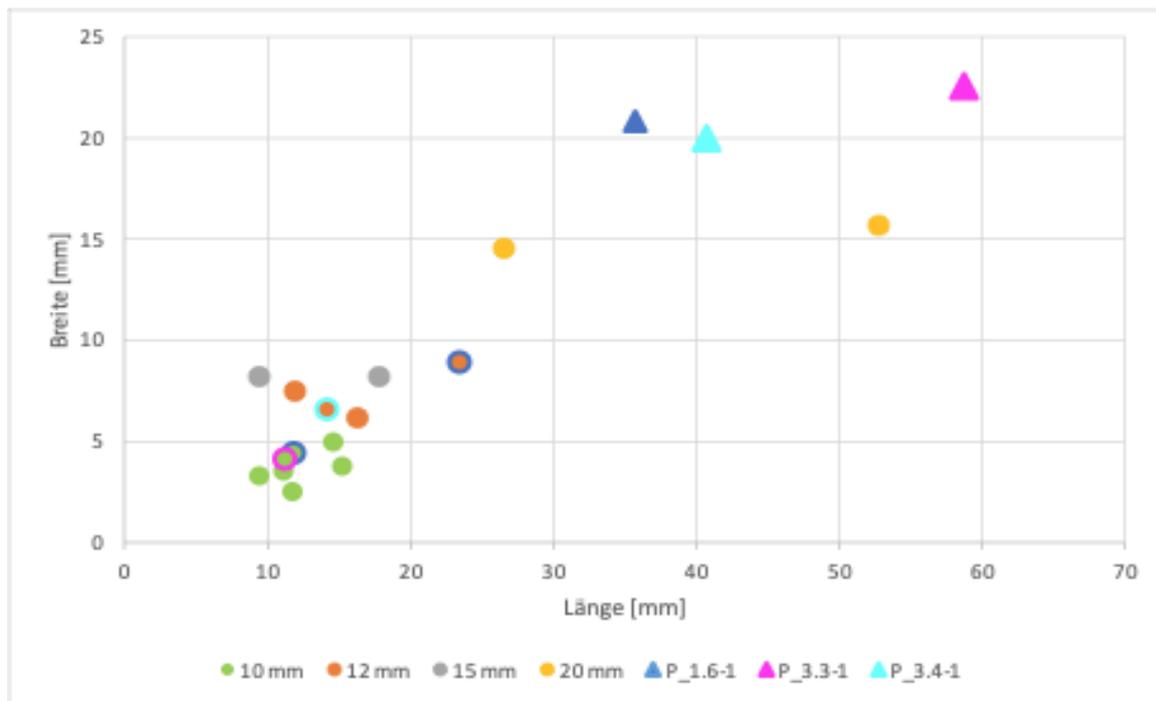


Abbildung 16: Durchschnittliche Größe der Partikel (Länge x Breite) in Abhängigkeit von der Siebmaschenweite.

Anmerkung: Die Proben von Rohkomposten (Dreiecke) und die dazugehörigen Proben nach der Feinsiebung (farbige Kreise) im Vergleich.

Je kleiner die Siebmaschenweite bei der Feinsiebung ist, desto mehr größere Kunststoffpartikel werden ausgesiebt und landen somit nicht im Fertigkompost. Dies betrifft ebenfalls die Organik, welche in der Feinsiebung ausgeschleust wird. Auch die Effekte der Siebung von Rohkomposten zu Fertigkomposten sind ersichtlich, da hier eine deutliche Reduktion von Kunststoffpartikeln stattfindet. Anlage 3.2, wies unter den kombinierten Anlagen zwar die geringste Anzahl an Kunststoffpartikeln, dagegen im Durchschnitt die größten Partikel auf, dicht gefolgt von Anlage 1.5, welche ebenfalls einen Feinsiebschritt mit nur 20 mm Maschenweite ausführt.

Die Belastung der Komposte mit Kunststofffragmenten > 1mm ist angesichts der im Projekt ermittelten vorhandenen Hintergrundbelastung langwirtschaftlich genutzter Böden (siehe Themenbereich: Bodenqualität 4.1.3.1: Hintergrundbelastung des landwirtschaftlich genutzten Bodens mit MKS) sowie der mit Regen bzw. Schnee eingetragenen Mengen angesichts der positiven Effekte wie z. B. Verzicht auf Kunstdünger, Humusaufbau, Torfersatz, Bodenverbesserer, Kreislaufwirtschaft vernachlässigbar. Erste Untersuchungen aus dem Bayreuther SFB 1357 „Mikroplastik“ deuten darauf hin, dass die toxische Wirkung von Kunststoffen > 1 mm auf Bodenfauna und Säugerzellen relativ gering sind.

Aufgrund der vergleichsweisen erhöhten Anzahl an Kunststoffpartikeln < 1 mm im Flüssigdünger sollten weitergehend die Ursachen für diese erhöhten Konzentrationen untersucht sowie Technologieoptimierungen und Anpassungen bei der Prozessführung geprüft werden. In den flüssigen Gärresten wurden, neben den hohen Anteilen von BAWs, vor allem Partikel der Materialklassen PE, PP und PS gefunden, welche in früheren Studien als toxisch oder umweltschädigend klassifiziert wurden (Hüffer et al., 2019; Kim et al., 2020; Zhu et al., 2019). Auch wurden größere Mengen an PET-Fragmenten nachgewiesen, obwohl PET bei den Fragmenten > 1 mm keine Rolle spielte. Dies lässt darauf schließen, dass PET zumindest in den kombinierten Anlagen dazu tendiert, zu MKS zu zerfallen, was insofern umweltrelevant ist, da gezeigt wurde, dass PET toxische Wirkung auf Nematoden haben kann (Kim et al., 2020).

3.2 Abbauversuche Technikumsanlage (Boxenfermentation, Kompostierung, Scale down) (BPT, ICT)

3.2.1 Motivation und Ziele

Relevante Daten zum Abbauverhalten von Kunststoffen in technischen Anlagen der Abfallwirtschaft lassen sich vor allem in den Anlagen selbst gewinnen. Allerdings stehen solche Anlagen naturgemäß nicht für sondierende Experimente zur Verfügung. Der Prozess orientiert sich zudem an den jeweiligen technischen Randbedingungen und Zielfunktionen; so wird die Dauer der Kompostierung beispielsweise durch den angestrebten Rottegrad oder den Temperaturverlauf bestimmt. Ein Reproduzieren von Experimenten oder das systematische Variieren von Prozessparametern zur Überprüfung von Arbeitshypothesen ist in den Anlagen selbst daher nicht möglich. Auch das Einbringen von Prüfmaterialien, wie sie für die Untersuchungen in MiKoBo von Projektpartnern hergestellt wurden, ist in solchen Anlagen kaum denkbar. Auf der anderen Seite stehen reine Laboruntersuchungen oft mit definierten Substraten, die zwar dem Erkenntnisgewinn in Sachen Kompostierung und Vergärung bestimmter Substrate dienen (siehe hierzu Kapitel 3.3), die aber relativ weit von den tatsächlichen Vorgängen in den Anlagen entfernt sind.

Bei den hier beschriebenen Technikumsversuchen wurden hingegen die technischen Anlagen einem Scale down unterzogen und so die Vorgänge aus den technischen Anlagen der Abfallwirtschaft gezielt auf einen handhabbaren Maßstab abgebildet. Der Vorteil ist, dass dabei die Prozessparameter eingestellt und die biologischen Abbauprozesse an den eingesetzten Kunststoffen besser verfolgt und überwacht werden können. Neben der

Entstehung von MKS sollte auch die involvierte Mikrobiologie analysiert werden (Populationsanalyse, Differentialanalyse Biofilm/Kernbereich sowie zu den technischen Prozessen).

3.2.2 Methodik

Der Fokus der Untersuchungen von MiKoBo lag auf den technischen Anlagen der Abfallwirtschaft, d. h. den reinen Kompostieranlagen sowie den kombinierten Vergärungs- und Kompostierungsanlagen. Die Untersuchungen an den technischen Anlagen ergaben, dass unter den derzeitigen Prozessvarianten zur Vergärung in den kombinierten Anlagen, die Boxenvergärung vor allem durch die biologischen Abbauvorgänge dominiert wird, während in den ebenfalls gebräuchlichen durchmischenden Pfpfenstromfermentern auch mechanische Effekte den Kunststoffabbau beeinflussen. Für den Scale down der Vergärungsstufe wurde daher der Ansatz einer sogenannte Boxenvergärung (60 L Volumen; statisches System, siehe Abbildung 17) verwendet, um den Einfluss mikrobieller Prozesse besser überwachen zu können und mechanische Einflüsse weitestgehend zu vermeiden. Die Biogaszusammensetzung wurde mittels Gaschromatographie (GC) ermittelt, das Gasvolumen über ein Steigrohr und der pH-Wert sowie die Temperatur mittels Sonde überwacht. Bei den Versuchen befand sich der Gasanteil von Methan während der Produktionsphase bei über 50 %, der von CO₂ bei ca. 40 %, der N₂ Gehalt bei 10 %. Letzterer wurde verwendet, um den Fermenter sauerstofffrei zu halten.

Im Bereich der Kompostierung folgte der skalierte Ansatz der DIN EN ISO 14045. Diese ist ein entscheidender Bestandteil der EN 13432, welche im Rahmen von Zertifizierungsverfahren zur Desintegrationsprüfung herangezogen werden kann. Ausgehend von einem beim Projektpartner ICT entwickelten Kompostierungsverfahren wurde ein Kompostierungsprozess in Bayreuth etabliert, welcher es ermöglichte, nach der DIN EN ISO 14045 zu kompostieren. Hierzu wurden 200 L Stahlsickenfässer so umgebaut, dass ein ausreichender Sauerstoffeintrag möglich war und bei der Kompostierung kein Stauwasser entstehen konnte (Abbildung 17). Eine Isolierung und die Möglichkeit zu Temperaturführung erfolgte durch Heizmatten. Überwacht wurden bei der Kompostierung die Temperatur, der Feuchtigkeits- und der Sauerstoffgehalt. So konnten die nach der Norm geforderten Bedingungen bei jeder Kompostierung erfüllt werden. Folgende Parameter wurden insbesondere dokumentiert: Temperatur eine Woche bei über 60 °C, Temperatur in den darauffolgenden vier Wochen bei über 40 °C, pH-Wert nicht unter 5 gegen Ende auf über 7 ansteigend. Konkret wurden bei der Kompostierung in den ersten 1 – 2 Wochen stets eine Temperatur von über 70 °C sowie einen pH-Wert von ca. 8 erreicht. Der Sauerstoffanteil sank nie unter 14 %. Einmal in der Woche wurde der Kompost umgesetzt.

Kompostiert wurde gemäß den Vorgaben von DIN CERTCO, welche im Gegensatz zur aktuellen EN 13432 vorgibt, dass die Desintegrationsprüfung über 6 Wochen gehen soll und dabei das gesamte zu prüfende Material im Falle einer „Kompostierbarkeit“ in Teile < 1 mm zu zerfallen hat. In zwei Kompostierungsvorgängen, welche über jeweils 6 Wochen andauerten, wurden die für das Projekt bereitgestellten Folien aus HDPE, LDPE, PBAT, PLA und PLA/PBAT (Folienstärke jeweils 20 – 23 µm) eingesetzt. Pro Polymertyp und Ansatz wurden 10 Folien mit je einer Größe von 10 x 10 cm hinzugesetzt.

Nach 3 Wochen wurde der Kompost komplett aus den Fässern geleert und je Polymertyp 5 Folien mittels DNA-freien Pinzetten entnommen: 3 Folien dienen der DNA- und Biofilm-Untersuchung, 2 Folien der physikochemischen Untersuchungen. Nach der Entnahme der Folien wurde der Kompost sofort wieder in die Kompostierungsfässer zurückgeführt, um eine Unterbrechung des Kompostierungsprozesses zu vermeiden. Nach 6 Wochen wurde der Kompost auf 5 mm und 1 mm abgesiebt. Das Vorhandensein von Biofilmen auf den Kunststofffolien wurde mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) und DNA-Extraktion dokumentiert.

Im Falle der Vergärung wurden neben den Folien (HDPE, LDPE, PBAT-, PLA- und PBAT/PLA-Folien, Folienstärke 20 – 23 µm, Foliengröße 10 x 10 cm, jeweils 10 Stück) auch MKS (gleiche Polymertypen) eingesetzt. Die MKS wurden nach der Fermentation an das IBS für die Bodenuntersuchungen weitergegeben (siehe Kapitel 4.3: Laborversuch zur Abbaubarkeit und Auswirkung fermentierter MKS im Boden (IBS, BPT)).

Schließlich wurden noch Boxenfermentationen mit anschließender Kompostierung durchgeführt. Untersucht wurden wiederum die fünf Materialien (HDPE, LDPE, PBAT, PLA und PBAT/PLA), welche innerhalb des Projektes verwendet wurden.



Abbildung 17: Links Boxenfermenter (60 L); rechts Kompostierer (200 L).

3.2.3 Ergebnisse

3.2.3.1 Kompostierung

In Abbildung 18 und Abbildung 19 zeigt die REM-Aufnahmen der kompostierten Folien. Während sich auf HDPE, dem LDPE, dem PBAT und dem PBAT/PLA-Blend bereits nach 3 Wochen ein ausgeprägter Biofilm etabliert hat, ist dies bei den PLA-Folien nicht der Fall. Nach 6 Wochen ist auf den PLA-Folien (dann) ebenfalls eine deutlich ausgeprägtere Besiedlung zu erkennen. Bereits nach 3 Wochen waren zudem von den PBAT/PLA- und PBAT-Folien teilweise Fragmente zu entdecken. Nach 6 Wochen hatten sich diese Materialien vollständig in Fragmente < 1 mm zersetzt, während dies bei den PLA-Folien nur teilweise der Fall war.

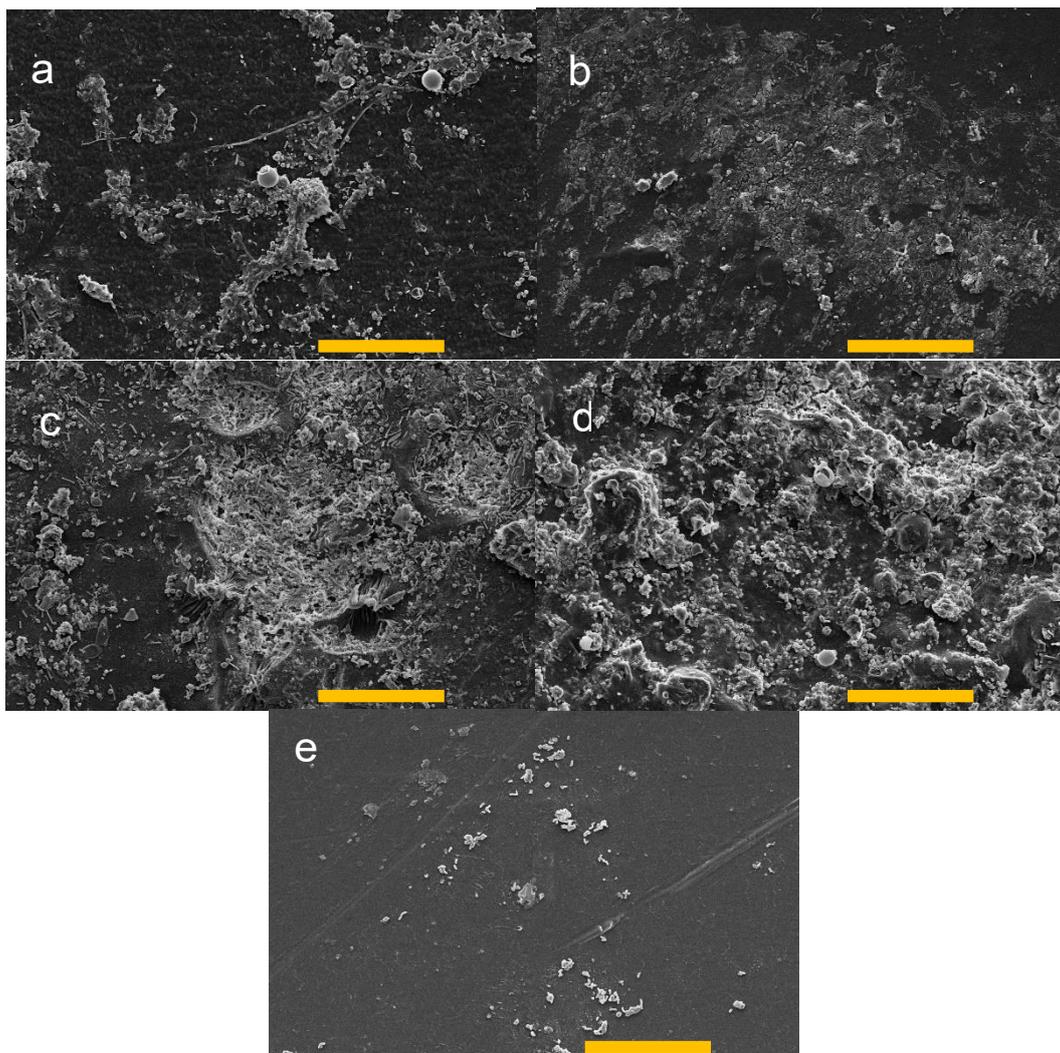


Abbildung 18: Biofilm auf den Prüffolien nach 3 Wochen; a: HDPE, b: LDPE, c: PBAT, d: PBAT/PLA-Blend; e: PLA.

Anmerkung: Länge des gelben Balkens entspricht 30 µm.

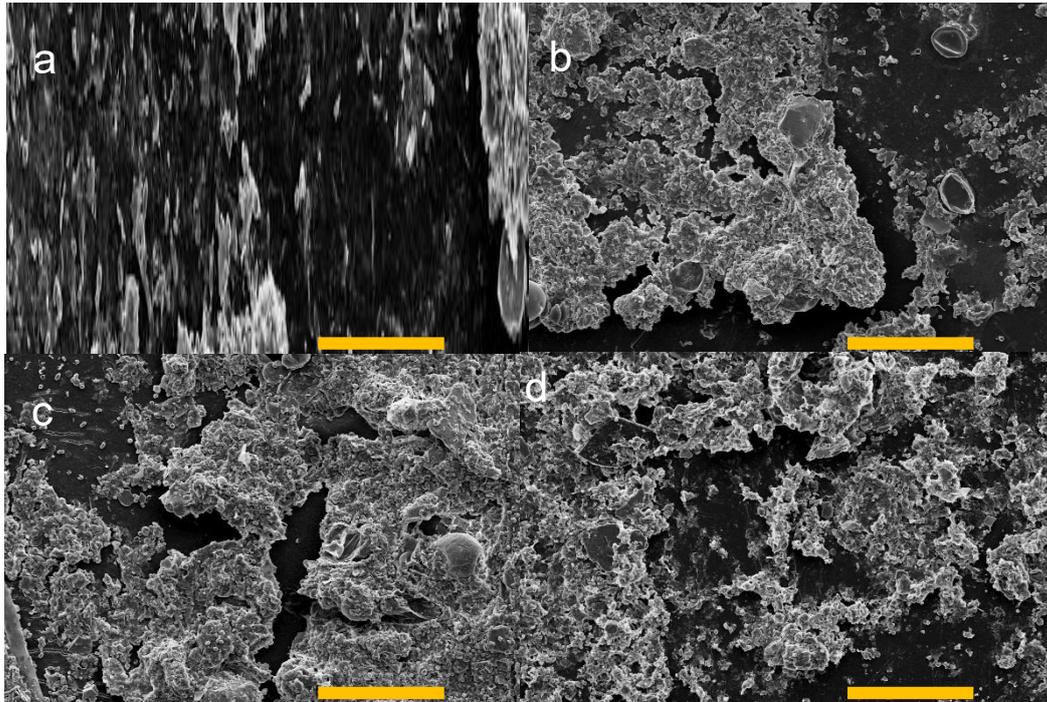


Abbildung 19: Biofilm auf den Prüffolien nach 6 Wochen; a: HDPE, b: LDPE, c: PBAT, d: PLA.

Anmerkung: Länge des gelben Balkens entspricht 30 µm.

3.2.3.2 Boxenfermentation mit anschließender Kompostierung

Der Versuch der reinen Vergärung wurde mit den 5 Standardmaterialien (HDPE, LDPE, PLA, PBAT und dem PBAT/PLA-Blend) durchgeführt. Die Folien hatten eine Größe von je 10 x 10 cm. Hierbei sollten die Materialien nach der Vergärung untersucht werden, um diese anschließend zu kompostieren.

Die Untersuchungen in der Kombination aus Boxenvergärung und Kompostierung sollten ebenfalls dazu dienen, die Prozesse in den technischen Anlagen nachzubilden und insbesondere auch Informationen zum Beitrag der biologischen Umsetzungen zum Kunststoffabbau erbringen. Untersucht wurden wiederum die fünf Standardmaterialien, welche innerhalb des Projektes verwendet werden. Die Charakterisierung der fünf Standardmaterialien konnte während der Projektlaufzeit nicht durchgeführt werden.

3.2.4 Diskussion

Das Fragmentierungsverhalten bei den PLA-Folien war ungewöhnlich und wurde vor allem bei den speziell für das MiKoBo-Projekt hergestellten Folien beobachtet. Die HDPE- und LDPE-Folien wurden am Ende der Kompostierung intakt wiedergefunden.

Es ist somit festzuhalten, dass mit Ausnahme der PLA-Folien alle im Projekt betrachteten Folien aus BAW in der Kompostierung im Technikumsmaßstab vollständig in Fragmente < 1 mm fragmentiert sind. Damit lässt sich die Tatsache, dass in den technischen Bioabfallkompostieranlagen keine BAW-Fragmente nachgewiesen werden konnten, auch dadurch erklären, dass diese Materialien während der Kompostierung fragmentieren.

3.3 Laborversuche (anaerobe Vergärung, Kompostierung) (ISWA)

3.3.1 Motivation und Ziele

Bei den biologischen Behandlungsverfahren können Kunststoffe durch den biologischen Prozess in Verbindung mit der mechanischen Beanspruchung fragmentiert werden. Hierzu liegen bis dato keine systematischen Untersuchungen vor, die das Verhalten von definierten biologisch abbaubaren und nicht biologisch abbaubaren Kunststoffen in technischen biologischen Prozessen der Abfallwirtschaft betrachten.

Gegenüber den Untersuchungen von Grundmann (2016) und Kranert et al. (2016), die den Abbau bzw. das Abbauverhalten von biologisch abbaubaren Kunststoffen unter anaeroben Bedingungen im Wesentlichen auf der Ebene der Makrokunststoffe untersucht haben, fokussiert das Arbeitspaket im Wesentlichen die Fragmentierung biologisch abbaubarer und nicht abbaubarer Kunststoffe im Zusammenhang mit der Bildung von MKS.

Ziel des Arbeitspaketes ist es, das Verhalten ausgewählter Kunststoffe unter definierten Laborbedingungen in aeroben (Kompostierung) und anaeroben (Vergärung) Prozessen bei der Bioabfallbehandlung unter dem Aspekt der Bildung von MKS zu untersuchen. Neben dem biologischen Prozess selbst (aerob, anaerob) ist zu erwarten, dass auch die Prozesstemperatur, die mechanische Beanspruchung (statische, semi-dynamische bzw. dynamische Verfahren) und auch die Verweilzeit die Fragmentierung beeinflussen.

3.3.2 Methodik

Bei den Kompostierungs- und Vergärungsversuche wurden die Prozessbedingungen während der technischen biologischen Behandlung von Bioabfällen im Labormaßstab unter kontrollierten Bedingungen simuliert. Dabei wurde untersucht, welchen Einfluss die Prozessführung auf die Fragmentierung von Kunststoffen und damit auf die Bildung von MKS-Partikeln hat. Dazu wurden in aeroben und anaeroben Versuchen im Labormaßstab die fremdstofffreien Bioabfälle mit Referenzkunststoffen versehen und unter kontrollierten, praxisnahen Bedingungen mit unterschiedlichen Aufenthaltszeiten kompostiert bzw. anaerob

behandelt. Die Versuche haben in drei Versuchsreihen stattgefunden. Versuchsreihe 1 hatte das Ziel, im Rahmen von Vorversuchen die aeroben und anaeroben Laboranlagen an die Anforderungen zur Klärung der spezifischen Fragestellungen anzupassen, die Modellsubstrate zu definieren und ihre Eignung für die Versuche zu untersuchen. Die Versuchsreihen 2 und 3 beinhalteten die Untersuchungen unter definierten Randbedingungen zur Klärung von Fragestellungen zur Bildung von MKS aus in die Laboranlagen eingebrachten Kunststofffolien.

Es wurden zusätzliche Untersuchungen durchgeführt, um ein grundlegendes Verständnis für den biologischen Einfluss auf die Kunststofffolien zu erhalten. Dazu gehörte die Untersuchung der Hydrophobie der Kunststofffolien und mikroskopische Aufnahmen von kompostierten Kunststoffen. Die Methodik der Probenahme und der Korngrößenuntersuchung wird in Kapitel 3.3.2.5: Korngrößenverteilung bei den Vergärungs- und Kompostierungsversuchen dargestellt.

Die Kunststoffproben wurden mit definierten Rezepturen (LDPE, PLA, PLA/PBAT, PBAT/PLA) für die Labor- und Feldversuche durch das IKT hergestellt. Dies ermöglichte es, in den aeroben und anaeroben Versuchen sowie auf den Versuchsflächen, das Verhalten der definierten zugegebenen Kunststoffe vergleichend zu untersuchen. Dies ist besonders im Hinblick auf die Ermittlung der Wiederfindungsraten, des Verhaltens im Prozess und der Korrelation von Effekten gegenüber der Auswahl handelsüblicher (mit nicht bekannten bzw. aus nicht definierten Inhaltsstoffen bestehenden) Folien vorteilhaft.

3.3.2.1 Biologische Prozesse

In Versuchsreihe 1 fanden verschiedene Vorversuche (Kompostierungsversuche, anaerobe Vergärungsversuche) zur Eruierung der Prozessdaten, des Handlings sowie der Machbarkeit/Wiederfindungsrate statt. Hierauf basierend wurden die Versuchsreihen 2 und 3 angelegt. Die Versuchsanordnungen für die biologischen Prozesse sind in Abbildung 20 dargestellt. Im vorliegenden Bericht sind die Ergebnisse der zweiten und dritten Versuchsreihe aufgezeigt und diskutiert. Die verschiedenen Versuchsbedingungen und eingesetzten Substrate sind in Tabelle 11 für die Versuchsreihen 2 und 3 zusammengestellt.

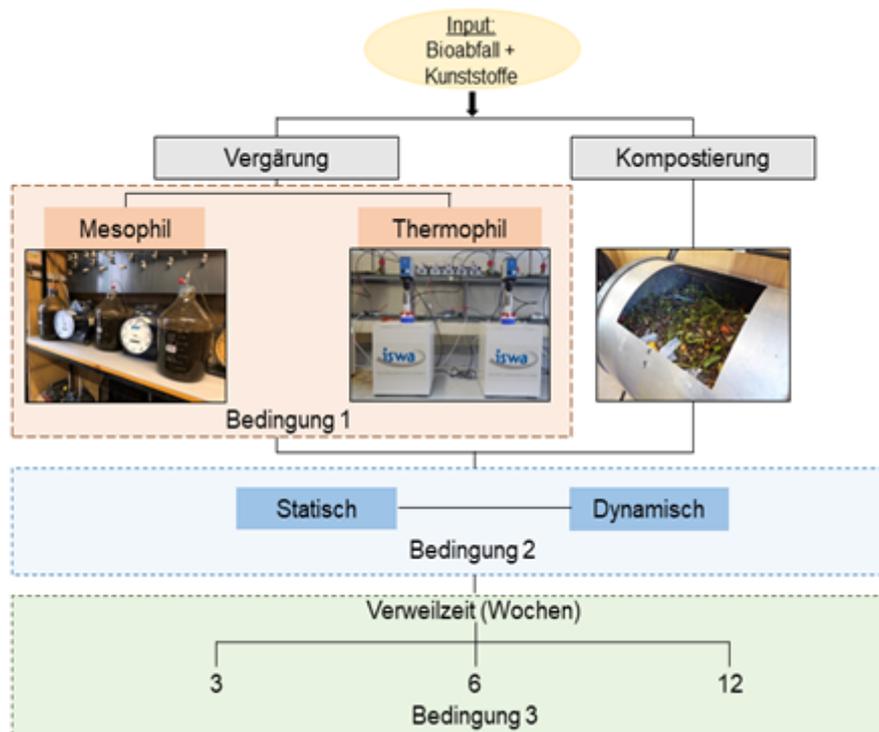


Abbildung 20: Versuchsanordnung der biologischen Prozesse.

Tabelle 11: Liste der Vergärungs- und Kompostierungsversuche einschließlich der Betriebsbedingungen.

Reihe Nr.	Versuch Typ	Substrat	Temperatur °C	Mechanische Belastung
2	mesophil anaerob (MAD)	synthetischer Bioabfall	37	nein
3		Speisereste		
2	mesophil anaerob (MAD)	synthetischer Bioabfall	37	ja
3		Speisereste		
2	thermophil anaerob (TAD)	synthetischer Bioabfall	55	nein
3		Speisereste		
2	thermophil anaerob (TAD)	synthetischer Bioabfall	55	ja
3		Speisereste		
2	Kompostierung (aerob)	synthetischer Bioabfall	20 – 55	ja
3	Kompostierung (aerob) mit Zwangsbelüftung			
2	Kompostierung (aerob)	synthetischer Bioabfall	20 – 55	teilweise
3	Kompostierung (aerob) mit Zwangsbelüftung			

Die Kompostierungsversuche wurden über einen Zeitraum von 12 Wochen durchgeführt. Vier Edelstahltrommeln mit einem Fassungsvermögen von je 300 Litern wurden mit dem Rottegut beladen.

In Versuchsreihe 2 wurde synthetischer Abfall eingesetzt. Diese synthetische Abfallmischung (Vorgabe aus Normen/OECD-Richtlinien) bestand aus Lebensmittelabfällen (62 %), Gartenabfällen (25 %) und einem geringen Anteil an mineralischen Bestandteilen (13 %). Diese Zusammenstellung ermöglichte, die Kontamination mit Kunststoffen, welche nicht Gegenstand der Untersuchung waren, auszuschließen. Zwei Komposttrommeln wurden unter statischen Bedingungen, die beiden anderen Komposttrommeln unter semi-dynamischen Bedingungen betrieben. Dies ermöglicht es, den Einfluss der mechanischen Beanspruchung auf die Kunststoffe während des Kompostiervorgangs zu untersuchen. In Versuchsreihe 2 wurden zum Erhalt eines ausreichenden Luftporenvolumens und der Strukturstabilität des Rottegutes innerhalb der ersten 6 Wochen trockene Gartenabfälle zugemischt.

Für die Versuchsreihe 3 wurden an den Komposttrommeln geringfügige Modifikation vorgenommen. Die Trommeln wurden dabei mit einer Direktbelüftung versehen, um die Kompostierungsanlagen zu simulieren, die mit Zwangsbelüftung betrieben werden. Für die Versuche wurden Kunststofffolien aus LDPE, PLA, PLA/PBAT und PBAT/PLA verwendet, die auf die Größe von 16 x 3 cm (48 cm²) zugeschnitten waren. Die verwendeten Materialien bzw. Materialmischungen der Kunststoffe repräsentieren jedoch nicht die aktuell kommerziell erhältlichen Sammelbeutel. Die Kunststoffe wurden in gleichen Teilen (flächenbezogen) in einer Konzentration von 0,1-Massen-% (bezogen auf FM) dem Substrat zugesetzt.

Die anaeroben Vergärungsversuche wurden ebenfalls über einen Zeitraum von 12 Wochen durchgeführt. Es wurden 10-L- Glasgefäße verwendet, die temperiert waren (mesophil, thermophil) und für die dynamischen Ansätze mit einem Rührwerk versehen waren.

In Versuchsreihe 2 wurde der gleiche synthetische Bioabfall wie bei den Kompostierungsversuchen als Substrat verwendet. Als Animpfmaterial zum Ansetzen des Gärprozesses wurden flüssige Gärreste aus einer Biovergärungsanlage der Universität Hohenheim verwendet. Diese Anlage wird mit Gülle und landwirtschaftlichen Abfällen betrieben. Eine Kontamination mit Kunststoffen kann daher als gering bewertet werden. Die für die Versuche verwendeten Kunststofffolien waren LDPE, PLA, PLA/PBAT und PBAT/PLA, welche in Größen von 3 x 1,5 cm (4,5 cm²) geschnitten wurden. Dem Substrat wurden die Kunststoffe in einer Konzentration von 0,1-Massen-% (bezogen auf FM) in gleichen Teilen (flächenbezogen) zugemischt.

Bei den Anaerobversuchen wurden in Versuchsreihe 3 Speisereste als Substrat eingesetzt. Hierdurch sollte der Einfluss der unterschiedlichen Substrate auf das Fragmentierungsverhalten der Kunststoffe untersucht werden.

Während der biologischen Prozesse wurden prozessrelevante Parameter aufgezeichnet, um den Ablauf der Experimente kontrollieren zu können. In den Kompostierungsversuchen wurden der Wassergehalt (WG), entsprechend der Trockenmassegehalt (TM), der Glühverlust (GV), der organische C-Gehalt, der pH-Wert und die CO₂-Konzentration im Gasraum wöchentlich anhand von Proben ermittelt und am Ende der Rottezustand, der ein Qualitätskriterium für den Kompost darstellt, durch den Rottegrad bestimmt. Im Falle der anaeroben Vergärung wurden diese Parameter zu Beginn und am Ende des Experiments bestimmt (außer Rottegrad), einschließlich der Zusammensetzung des produzierten Biogases. Die freigesetzte Biogasmenge wurde volumenbezogen kontinuierlich erfasst. Die Kontrollparameter wurden gemäß des Methodenbuchs zur Analyse organischer Düngemittel, Bodenverbesserungsmittel und Substrate analysiert (Bundesgütegemeinschaft Kompost e.V., 2006 mit Ergänzungen).

Die Reaktoren, die Kunststofffolien enthielten, wurden für statistische Validierungen in doppelter Ausführung betrieben. Nach drei Wochen – dies entspricht in etwa der Aufenthaltszeit in Anaerobanlagen und der Kompostierungsdauer bei der Herstellung von Frischkompost – erfolgte die erste Probenahme. Dazu wurden zwei der neun thermophilen bzw. zwei der neun mesophilen Gärgefäße abgeschaltet und beprobt. Ein Teil der Probe diente dabei der Untersuchung des Größenspektrums, mit dem anderen Teil der Probe wurden die Parameter WG/TM, GV und pH-Wert ermittelt.

Aus den statischen und dynamischen Kompostierungsreaktoren wurde jeweils eine Probe aus dem Doppelansatz entnommen. Die entnommenen Proben wurden ebenfalls auf die Substrateigenschaften (WG/TM, GV, Rottegrad etc.) und das Größenspektrum der wiedergefundenen Kunststoffe untersucht.

Dieser Vorgang wurde nach 6 und 12 Wochen (großtechnische Rottedauer zur Herstellung von Fertigkompost) analog durchgeführt. Die gewonnenen Ergebnisse wurden ausgewertet und die Prozessparameter zu deren Einordnung mit Anlagen im Entsorgungsmaßstab verglichen.

3.3.2.2 Korngrößenverteilung bei den Vergärungs- und Kompostierungsversuchen

Bei den Kompostierungsversuchen wurde aus jeder Komposttrommel eine Mischprobe entnommen. Dazu wurden die Trommeln zunächst rotiert und die Probe mit einer Schaufel an

zufällig ausgewählten Stellen entnommen, so dass verschiedene Bereiche der Trommel berücksichtigt werden konnten. Von dieser Mischung wurden zwei Proben von je einem Liter entnommen, um den Kompost danach zweifach zu sieben.

Die Proben wurden gesiebt, um Kunststofffolien in den Größen von 5 mm, 2 mm, 1 mm und 500 µm zu separieren. Die auf jedem Sieb verbliebenen Kunststoffe wurden je nach Kunststoffsorte getrennt, gezählt und notiert. Die auf dem Sieb mit der Maschenweite von 5 mm gefundenen Folienstücke wurden entnommen, um die makro- und mikroskopischen Aspekte, die Hydrophobie und die mögliche Biofilmbildung zu analysieren. Auch die Kompostproben wurden zunächst mit dem ursprünglichen WG gesiebt. Aufgrund der Feuchte der Probe wurde nach dieser ersten Siebung der restliche Teil der Probe gesammelt und über Nacht bei 50 °C getrocknet. Anschließend wurde die Probe bei Raumtemperatur weiter getrocknet und ein zweiter Siebdurchgang durchgeführt (Mendez et al., 2021).

Bei den Anaerobversuchen wurde der Gärrest direkt nach der Entnahme einer Probe ohne Vorbehandlung zwei Minuten lang gesiebt (Siebmaschenweite 5 mm). Danach wurde eine Nasssiebung für etwa zwei weitere Minuten durchgeführt oder so lange bis das abfließende Wasser klargeworden war.

Die Biofilmuntersuchung wurde am IBBS durchgeführt und die Proben, die kleiner als 500µm waren, wurden zur weiteren Analyse an das TÖK I übergeben. Die Ergebnisse aus den Untersuchungen, angegeben als Partikelzahlen, sind auf 1 L FM bezogen.

3.3.3 Ergebnisse

3.3.3.1 Kompostierung (semi-dynamisch und statisch)

Tabelle 13 fassen die ermittelten Kontrollparameter für die semi-dynamischen und statischen Kompostierungsversuche zusammen und zeigen die Eigenschaften des verwendeten Ausgangsmaterials und des entstandenen Komposts, welcher nach 3, 6 und 12 Wochen beprobt wurde, auf. Wie in der Methodik erwähnt, wurde der Versuch in doppelter Ausführung durchgeführt. Da die Standardabweichung zwischen den beiden Parallelansätzen jeweils weniger als fünf Prozent betrug, werden die Ergebnisse als arithmetisches Mittel angegeben. Die Rotteführung im durchgeführten Maßstab unter Berücksichtigung der hierbei realisierten WG und Temperaturprofile erlaubt nur eine eingeschränkte Übertragbarkeit auf großtechnische Kompostierungsanlagen.

Am Beispiel der Versuchsreihe 2 mit semi-dynamischer Kompostierung ist der Rotteverlauf aufgezeigt. Der WG betrug zu Beginn des Prozesses 69 %. In der zweiten Woche wurden fünf Kilogramm trockene, braune Gartenabfälle zugegeben, die eine hohe Wasseraufnahmekapazität, eine hohe Strukturstabilität und einen niedrigen WG aufweisen. Einige Tage nach der Zugabe verringerte sich der WG daher auf 67 %. In diesem nun besser strukturierten Rottegut wurden günstigere Bedingungen für den Substratabbau geschaffen. Dies führte dazu, dass der Selbsterhitzungsprozess intensiviert wurde. Am ersten Tag des Versuches stieg die Temperatur rapide von 24 °C auf über 40 °C an (Abbildung 21 und Abbildung 22). Dieser Anstieg deutet auf eine intensiviert mikrobielle Aktivität hin, die auf die leichter abbaubaren Stoffe wie Küchenabfälle zurückzuführen ist. Die Temperaturen stiegen mit Schwankungen in den thermophilen Temperaturbereich weiter an. In Woche 3 stabilisierten sich die Temperaturen in Reaktor 1 über 12 Tage im thermophilen Bereich. Die Maximaltemperatur lag bei 58 °C. Reaktor 2 lag in diesem Zeitraum über 8 Tage im thermophilen Bereich bei einer Maximaltemperatur von 54 °C. Während dieser Phase wurde der niedrigste WG erreicht, was auf eine hohe Verdampfungsrate schließen lässt. Es wurde beobachtet, dass das Wasser als Tropfen auf den Deckeln und Wänden der Reaktoroberfläche kondensierte. Diese führte dazu, dass es in diesem Zeitraum zu keiner kontinuierlichen Wasserreduktion kam. Daher wurden die Deckel der Reaktoren abgenommen, um die Reduzierung des WG zu fördern.

Tabelle 12: Kontrollparameter für die semi-dynamischen Kompostierungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).

		Versuchsreihe 2				Versuchsreihe 3			
		Input	Woche			Input	Woche		
Parameter			3	6	12		3	6	12
pH [-]	Reaktor 1	4.4	7.5	7.8	7.6	5.2	7.4	6.9	6.8
	Reaktor 2	4.0	7.5	7.9	7.5	5.7	6.9	7.2	6.6
	Mittelwert	4.2	7.5	7.8	7.6	5.5	7.1	7	6.7
WG [%]	Reaktor 1	74	67	70	67	69	69	63	69
	Reaktor 2	64	67	70	67	66	72	65	48
	Mittelwert	69	67	70	67	68	71	64	59
oTM [%]	Reaktor 1	80	81	81	75	84	78	76	76
	Reaktor 2	80	81	77	73	88	85	85	69
	Mittelwert	80	81	79	74	86	82	81	73

Tabelle 13: Kontrollparameter für die statischen Kompostierungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).

		Versuchsreihe 2				Versuchsreihe 3			
		Woche				Woche			
Parameter		Input	3	6	12	Input	3	6	12
pH [-]	Reaktor 1	4.1	7.4	7.4	7.5	5.2	7.4	6.8	6.6
	Reaktor 2	4.1	6.8	7	7	5.8	6.9	7.2	6.6
	Mittelwert	4.1	7.1	7.2	7.2	5.5	7.1	7	6.6
WG [%]	Reaktor 1	79	75	75	69	71	70	64	52
	Reaktor 2	76	71	73	68	72	73	67	52
	Mittelwert	77	73	74	68	71	71	65	52
oTM [%]	Reaktor 1	87	82	79	82	91	81	80	78
	Reaktor 2	91	81	77	82	89	80	76	75
	Mittelwert	89	81	78	82	90	80	78	76

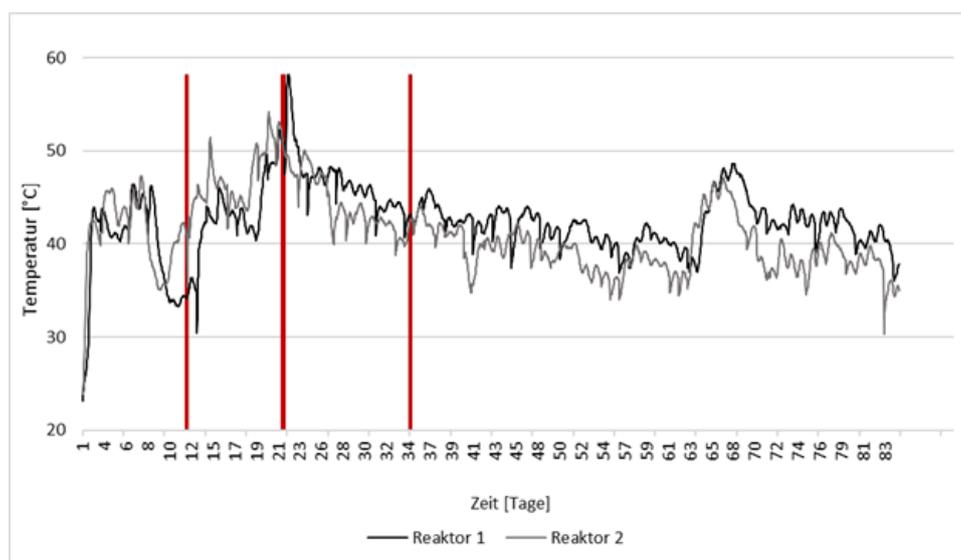


Abbildung 21: Temperaturkurve für die semi-dynamische Kompostierung in Versuchsreihe 2.

Anmerkung: Die roten Linien zeigen die drei Zugaben von Gartenabfällen.

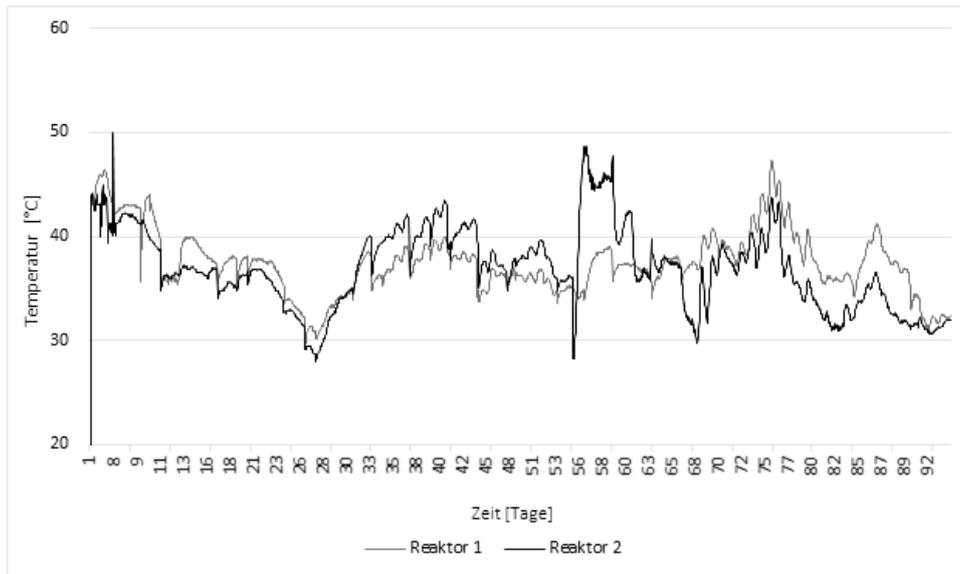


Abbildung 22: Temperaturkurve für die semi-dynamische Kompostierung in Versuchsreihe 3.

Diese Schwankungen der Temperatur hängen mit dem Drehen der Reaktoren zusammen. Die Fähigkeit des Systems, die erzeugte Wärme aufrechtzuerhalten, hängt besonders von den Wärmeverlusten des Systems und der Wärmekapazität des Rottegutes ab (USDA, 2010). Die Wärmekapazität wird hauptsächlich durch den WG beeinflusst.

Die Temperatur während des Prozesses hat einen direkten Einfluss auf den Abbau der organischen Trockenmasse (oTM), welche unter Zugrundelegung der Anfangs- und Endwerte des Rotteprozesses als Indikator für den biologischen Abbau verwendet werden kann. Der Abbau an oTM betrug 42 % bzw. 44 % bei Versuchsreihe 2 (unter Einbeziehung des zugeführten Strukturmaterials) und 56 % bzw. 65 % bei Versuchsreihe 3. Nach der zwölfwöchigen Kompostierung von Bioabfällen kann eine Abbaurrate von etwa 40 bis 70 % erwartet werden (Kranert, 2017). Damit liegen die Werte bei Versuchsreihe 2 im eher unteren Bereich, in Versuchsreihe 3 im mittleren bis oberen Bereich.

In den ersten Tagen wird der saure pH-Wert in der Regel durch die Bildung von flüchtigen Fettsäuren verursacht, die durch anaerobe Mikromilieus infolge der Sammlung und Lagerung von Bioabfällen entstehen (Kranert, 2017; W.F. Brinton, 2006). Die anschließende mikrobielle Aktivität im Prozess und die Bildung von Ammoniak aufgrund des Abbaus von Proteinen führten zu einem leichten Anstieg des pH-Werts über den neutralen Bereich hinaus. Am Ende des Prozesses könnte eine pH-Senkung durch die Umwandlung von Ammoniak in Nitrat durch nitrifizierende Bakterien erfolgt sein (Beck-Friis et al., 2003). Insgesamt geht der pH-Wert während der Kompostierung in Richtung des Neutralwerts bzw. in den leicht alkalischen Bereich, was bedeutet, dass die Bedingungen im Reaktor für die mikrobielle Aktivität günstig

waren. Die CO₂-Entstehung ist ein Indikator für die mikrobielle Aktivität und den Abbau von organischem Material. Insgesamt war die CO₂-Konzentration in der Anfangsphase höher, da ein intensiver Abbau der organischen Substanz stattfand. Die höchste CO₂-Konzentration betrug etwa 12 Volumen-% und wurde in den ersten Wochen erreicht, gefolgt von einem allmählichen Rückgang auf etwa 2 Volumen-%, was auf die abnehmende Geschwindigkeit des biologischen Abbaus zurückzuführen ist. Es konnte in allen Versuchen ein Rottegrad V nach 12 Wochen erzielt werden (Fertigkompost). In Ergänzung zur Bestimmung des Rottegrades wurde eine organoleptische Analyse des Komposts (Geruch und Farbe) als Indikator für die Stabilität und den Reifegrad des Komposts durchgeführt. Zwischen Woche 3 und Woche 12 wurde der Kompost allmählich dunkler und nahm schließlich eine dunkelbraune Farbe an, was auf die Bildung von Huminstoffen zurückzuführen ist. Abbildung 23 zeigt die visuelle Veränderung des Rottegutes nach verschiedenen Rottezeiten.

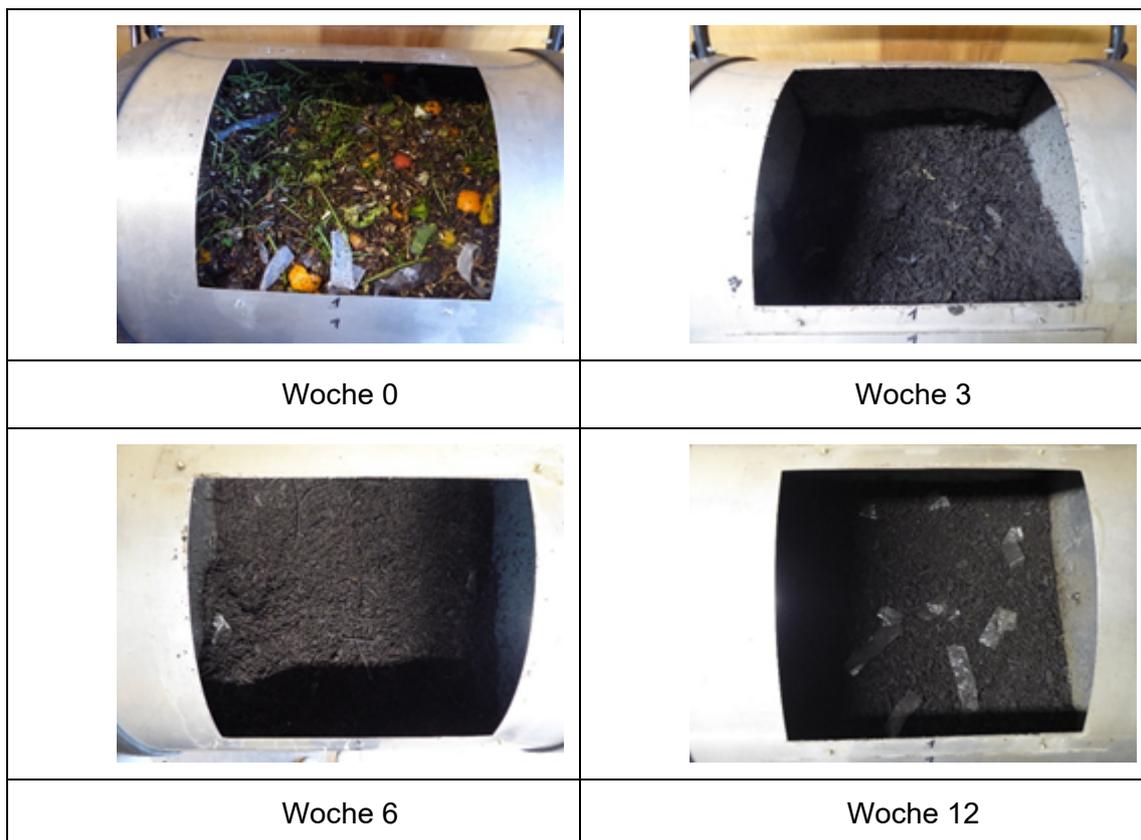


Abbildung 23: Sichtbare Veränderungen während der Kompostierung auf der Grundlage der Verweilzeit.

3.3.3.2 Vergärung

Die Kontrollparameter aus den Versuchen zur anaeroben Vergärung waren einander relativ ähnlich und erlauben daher belastbare Aussagen. Wenn auch die im Rahmen dieser Studie eingesetzten Vergärungsreaktoren auf der VDI 4630 basierten, waren die Reaktoren größer

und die Substratbelastung war etwas höher. Dies geschah mit dem Ziel, die Vorgänge in den großtechnischen Behandlungsanlagen zu simulieren und die Wirkung der Materialbeanspruchung durch Scherkräfte zwischen Substrat und Kunststofffolien zu beobachten. Die Parameter, welche die anaeroben Vergärungsprozesse beeinflussen und charakterisieren, sind in Tabelle 14 bis Tabelle 17 aufgeführt. Bei den als „gestört“ bezeichneten Reaktoren sind Defekte (fehlende Dichtigkeiten) aufgetreten, die eine Auswertung nicht ermöglichten.

Tabelle 14: Kontrollparameter für die mesophilen statischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).

Versuchsreihe 2					Versuchsreihe 3				
synthetischer Bioabfall					Speisereste				
Parameter	Input	Woche			Input	Woche			
		3	6	12		3	6	12	
pH [-]	Reaktor 1	7.6	7.4	7.3	7.5	7.8	7.2	7.3	7.8
	Reaktor 2	7.6	7.4	7.3	7.5	7.9	6.9	7.5	7.8
	Mittelwert	7.6	7.4	7.3	7.5	7.8	7	7.4	7.8
WG [%]	Reaktor 1	94	96	96	96	96	96	96	97
	Reaktor 2	94	96	96	96	96	96	96	97
	Mittelwert	94	96	96	96	96	96	96	97
oTM [%]	Reaktor 1	83	73	75	70	77	79	78	75
	Reaktor 2	83	73	74	71	77	79	79	76
	Mittelwert	83	73	74	70	77	79	78	75

Tabelle 15: Kontrollparameter für die mesophilen dynamischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).

Versuchsreihe 2 synthetischer Bioabfall					Versuchsreihe 3 Speisereste				
Parameter	Input	Woche			Input	Woche			
		3	6	12		3	6	12	
pH [-]	Reaktor 1	8.1	7.2	7.3	7.8	8.1	7.6	7.4	7.7
	Reaktor 2	8.1	6.9	7.5	7.8	8.1	gestört	7.4	7.8
	Mittelwert	8.1	7	7.4	7.8	8.1	7.6	7.4	7.7
WG [%]	Reaktor 1	95	95	96	96	96	97	97	98
	Reaktor 2	95	95	96	96	97	gestört	97	98
	Mittelwert	95	95	96	96	96	97	98	98
oTM [%]	Reaktor 1	82	77	75	76	79	71	72	65
	Reaktor 2	83	78	75	75	72	gestört	73	64
	Mittelwert	82	77	75	75	75	71	72	64

Tabelle 16: Kontrollparameter für die thermophilen statischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).

Versuchsreihe 2 synthetischer Bioabfall					Versuchsreihe 3 Speisereste				
Parameter	Input	Woche			Input	Woche			
		3	6	12		3	6	12	
pH [-]	Reaktor 1	7.6	7.9	8	8.1	7.8	8	8.1	7.8
	Reaktor 2	7.6	8	8	8	7.8	8.1	8.1	7.8
	Mittelwert	7.6	8	8	8	7.8	8	8.1	7.8
WG [%]	Reaktor 1	95	95	95	96	97	97	98	98
	Reaktor 2	95	95	95	96	97	97	98	98
	Mittelwert	95	95	95	96	97	97	98	98
oTM [%]	Reaktor 1	82	80	80	76	77	68	67	66
	Reaktor 2	83	80	80	76	79	68	66	65
	Mittelwert	82	80	80	76	78	68	66	65

Tabelle 17: Kontrollparameter für die thermophilen dynamischen Vergärungsversuche (Versuchsreihen 2 & 3).

		Versuchsreihe 2				Versuchsreihe 3			
		synthetischer Bioabfall				Speisereste			
		Woche				Woche			
Parameter	Input	3	6	12	Input	3	6	12	
pH [-]	Reaktor 1	7.9	7.9	8.2	7.8	7.8	8.3	gestört	8.1
	Reaktor 2	7.9	7.9	8.2	7.8	7.8	8.3	8.2	8.1
	Mittelwert	7.9	7.9	8.2	7.8	7.8	8.3	8.2	8.1
WG [%]	Reaktor 1	95	95	95	95	97	97	gestört	97
	Reaktor 2	95	95	95	95	97	97	97	97
	Mittelwert	95	95	95	95	97	97	97	97
oTM [%]	Reaktor 1	83	77	77	79	73	68	gestört	65
	Reaktor 2	83	78	76	76	72	68	65	65
	Mittelwert	83	77	76	77	72	68	65	65

Wie aus den Tabellen ersichtlich, verhielten sich die Versuchsreihen zur anaeroben Vergärung recht ähnlich, was einen guten Vergleich untereinander, eine wertvolle Datengewinnung und eine gute Wiederholbarkeit ermöglicht. Durch den pH-Wert lässt sich die Wechselwirkung der Bakteriengruppen untereinander während der Vergärung betrachten. Der pH-Wert stellt daher einen der wichtigsten Parameter der Vergärung dar (Kranert, 2017). Ein pH-Wert zwischen 6 und 8 ist für die Bakterien optimal, um die organischen Stoffe in Methan, CO₂ und Wasser umzuwandeln; diese pH-Werte wurden im Rahmen dieses Projekts erreicht.

Durchgeführt wurde eine Nassvergärung, welche die häufigste Art der Vergärung in Baden-Württemberg ist. Von einer Nassvergärung spricht man, wenn der WG des Prozesses bei rund 90 % liegt. Die oTM-Werte entsprachen denen, wie sie auch in der Literatur beschrieben sind (Dong et al. (2010)). Die anfänglichen und finalen oTM-Werte beim Einsatz von Speiseresten als Substrat waren etwas niedriger als bei der Verwendung von synthetischem Bioabfall. Dies war zu erwarten, da Speisereste hauptsächlich aus gekochten Kohlenhydraten, Gemüse und Fleisch bestanden. Der synthetische Bioabfall hingegen bestand aus frischem Gemüse, Obst und Gartenabfällen, was zu einem höheren Gehalt an organischen Stoffen beiträgt.

Das im Animpfmateriale enthaltene Gras wurde bei der Verwendung von Speiseresten als Substrat besser abgebaut als bei der Verwendung von synthetischem Bioabfall. Dabei handelt

es sich eher um eine visuelle als um eine analytische Beobachtung. Dieses Phänomen wurde nicht erwartet, da der Abbau von organischen Stoffen bei der Vergärung von Bioabfällen höher war (Versuchsreihe 2). Dong et al. (2010) vergor Gartenabfälle mit Ölen und Fetten und erwähnte, dass Gartenabfälle als Regulator bei der Bildung von flüchtigen Fettsäuren wirken. Die oTM-Werte der Untersuchungen und der Literaturstelle liegen im gleichen Bereich. Physikalische Eigenschaften des erhaltenen Gärrestes wurden in der Literaturstelle jedoch nicht angegeben. Dieses beim Einsatz von Speiseresten beobachtete Verhalten hatte jedoch keinen Einfluss auf den WG und den pH-Wert der Gärreste. Diese Parameter lagen im gleichen Bereich wie die der Gärreste aus synthetischem Bioabfall.

Der Abbau an oTM lag in Versuchsreihe 2 bei den mesophilen Versuchen bei 34 % bzw. 52 %, bei den thermophilen Versuchen bei 30 % bzw. 31 %. In Versuchsreihe 3 lag der Abbau an oTM bei den mesophilen Versuchen bei 10 % (niedriger Wert unter Zugrundelegung der Gasbildungsrate nicht erklärbar, ggf. bedingt durch Unsicherheiten bei der Probenahme) bzw. 41 %, bei den thermophilen Reaktoren bei 28 % bzw. 48 %.

Die Biogaserzeugung ist ein wichtiger Parameter bei der anaeroben Vergärung von Bioabfall, da sie die Menge an Biogas angibt, die pro Gramm organischer Stoffe im Substrat erzeugt werden kann. Abbildung 24 zeigt die Biogaserzeugung, welche während der mesophilen statischen anaeroben Vergärung in den Wochen 3, 6 und 12 erzielt wurde. Da sich die Kurven zwischen den Duplikaten annähernd gleich verhalten haben, ist der Durchschnittswert dargestellt. Die spezifische Biogasproduktion entspricht den Literaturwerten (z. B. Jiang et al. (2012), Anaerobversuche von Bioabfall mit landwirtschaftlichen Schlämmen).

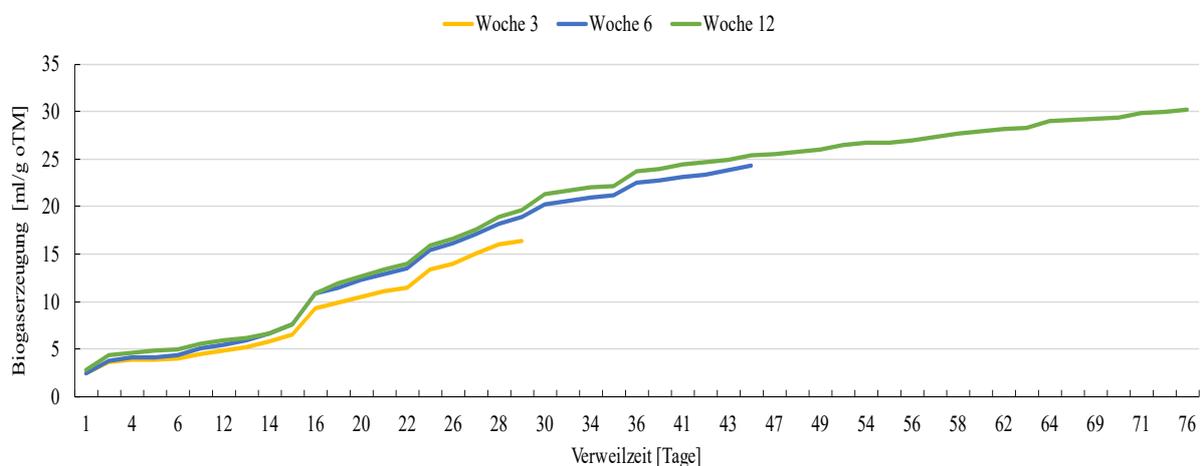


Abbildung 24: Biogaserzeugung in der mesophilen statischen Vergärungsreihe 3 für die Wochen 3, 6 und 12.

3.3.3.3 Größenspektrum Kompostierung (semi-dynamisch und statisch)

Wie bereits in der Methodik erwähnt, wurden die Versuche in parallelen Ansätzen durchgeführt und die Proben in den Wochen 3, 6 und 12 zur Datenüberprüfung ebenfalls in doppelter Ausführung entnommen. Obwohl die Resultate der biologischen Untersuchungen homogen und zwischen den Duplikaten vergleichbar waren, waren die Wiederfindungsraten der MKS unterschiedlich. Abbildung 25 zeigt die vier in den Versuchen eingesetzten Kunststofffolien (LDPE, PLA, PLA/PBAT und PBAT/PLA) zu Beginn und nach einer Rottezeit von 3, 6, und 12 Wochen.

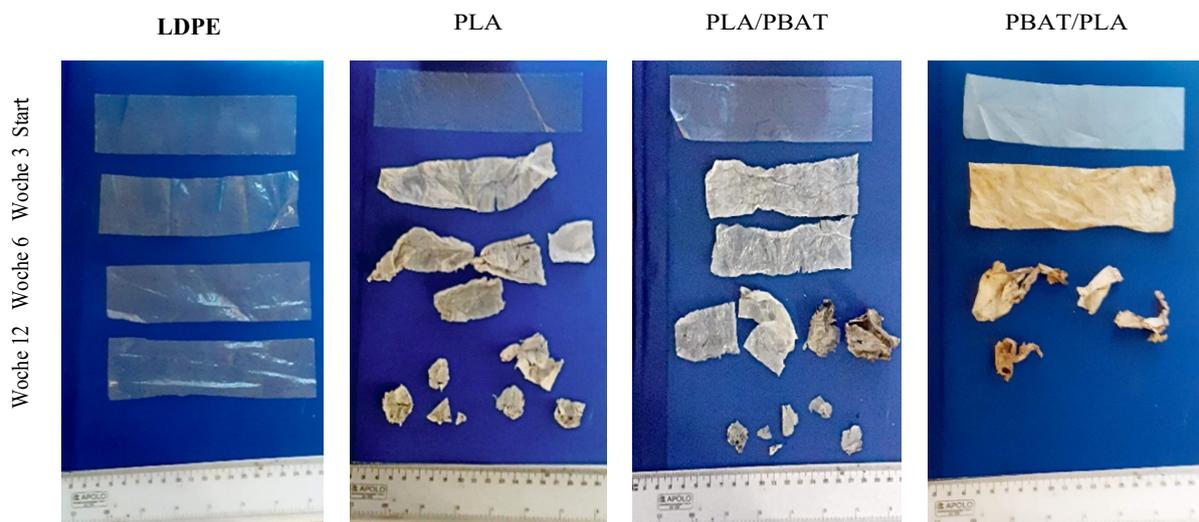


Abbildung 25: Kunststofffolien (LDPE, PLA, PLA/PBAT, PBAT/PLA) zu Beginn und nach einer Verweilzeit von 3, 6 und 12 Wochen in der semi-dynamischen Kompostierung.

Die Partikelzahlen (absolut bezogen auf 1L FM und relativ) der vier Kunststoffe der auf den Sieben mit den Maschenweiten 5 mm, 2 mm, 1 mm und 500 µm sowie in den Fraktionen kleiner 500 µm gefundenen MKS sind in Abbildung 26 bis Abbildung 37 für die Wochen 3, 6 bzw. 12 dargestellt. Es ist festzuhalten, dass die Untersuchungsergebnisse der Versuchsreihen 2 und 3 deutliche Unterschiede für die drei Verweilzeiten (Woche 3, 6 und 12) aufwiesen. Die Anzahl der zwischen den Wiederholungen erhaltenen Kunststoffpartikel variierte stark; eine Darstellung der prozentualen Verteilung ermöglicht jedoch eine bessere Visualisierung und Interpretation der Ergebnisse. Der Hauptunterschied zwischen den Versuchsreihen 2 und 3 bestand darin, dass in der letzten Versuchsreihe eine Direktbelüftung der Reaktoren vorgenommen wurde. Dies scheint zu einer schnelleren Fragmentierung der biologisch abbaubaren Kunststoffe beigetragen zu haben, die bereits in Woche 3 zu beobachten ist. Im Laufe der Zeit war die Menge der gefundenen Kunststoffe in der Versuchsreihe 3 größer als in der Reihe 2.

In der 3. Woche ist ein deutlicher Unterschied zwischen der Anzahl der in den Versuchsreihen 2 und 3 gefundenen Kunststoffpartikel festzustellen. In Versuchsreihe 3 (Abbildung 26 und Abbildung 27) wurden alle vier Kunststoffarten auf den Sieben der Maschenweite 5 mm, 2 mm, 1 mm und 500 µm gefunden. In den Fraktionen kleiner 5 bis 500 µm wurden insgesamt zwischen 41 und 68 Partikel gezählt. LDPE wurde nur auf dem 5-mm-Sieb gefunden und wirkte optisch identisch mit dem zuvor eingebrachten Kunststoff. PLA war bezogen auf die einzelnen Siebschnitte mit 4 bis 28 Partikeln mit Anteilen von 79 bis zu 100 % der am stärksten fragmentierten Kunststoff in den Sieben kleiner 5 bis 500 µm der Versuchsreihe 3. Die Mischungen PLA/PBAT und PBAT/PLA waren in geringerem Maße fragmentiert als PLA. Die biologisch abbaubaren Kunststoffe (PLA, PLA/PBAT und PBAT/PLA), die auf den 5 mm Sieben gefunden wurden, hatten größtenteils ihre ursprüngliche Größe behalten, wirkten optisch ziemlich „faltig“ und wiesen in ihrer Mitte einige Risse oder Löcher auf, was die Tatsache erklärt, weshalb sie auch in kleineren Fraktionen gefunden wurden. In Versuchsreihe 2 (Abbildung 28 und Abbildung 29) wurden Kunststoffe nur im Sieb der Maschenweite von 5 mm und in der Fraktion kleiner 500 µm in geringem Umfang gefunden. Die Partikelzahl für Teilchen kleiner 500 µm lag bei 3 bis 28. Hierbei wurden bis zu 14 Partikel in der Fraktion von 100 bis 22 µm, ausschließlich LDPE und PBAT/PLA, detektiert. Dies bedeutet, dass die Fragmentierung zu diesem Zeitpunkt nur in sehr geringem Umfang stattgefunden hat. Allerdings waren auch hier die beprobten Kunststoffe größer 5 mm aufgrund der mechanischen Belastung gefaltet und zerknittert.

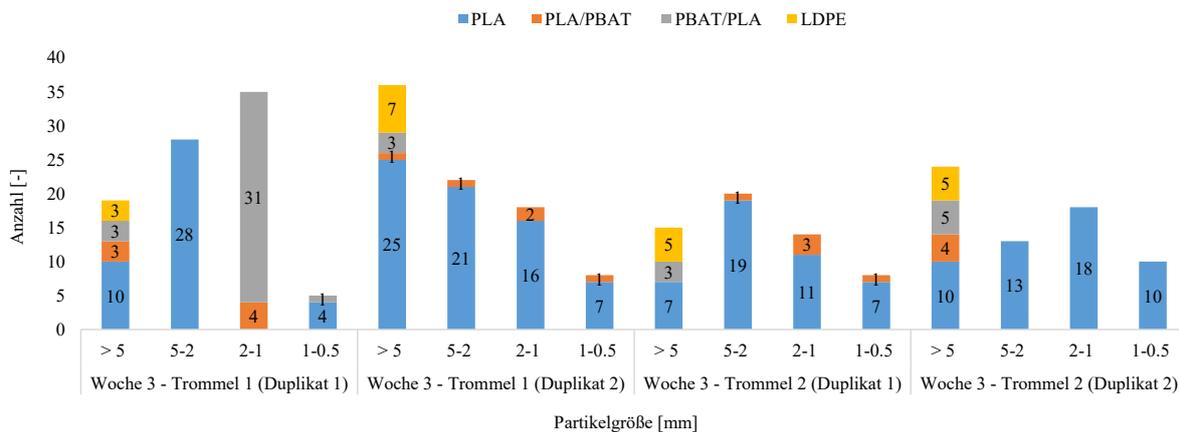


Abbildung 26: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 3).

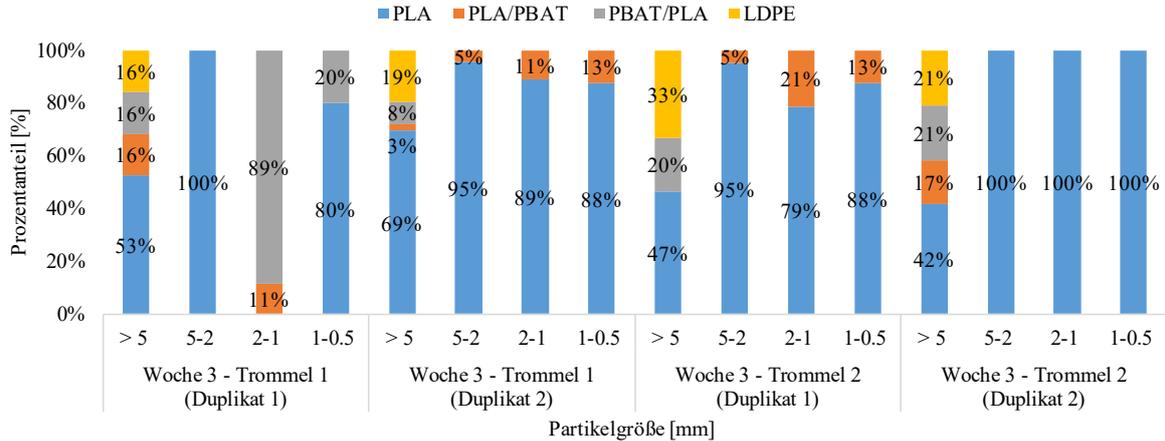


Abbildung 27: Prozentanteil der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 3).

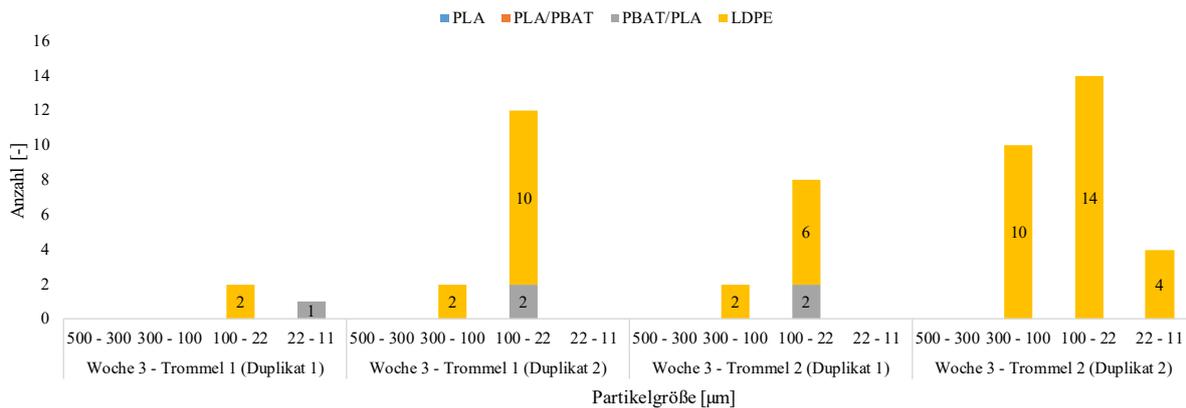


Abbildung 28: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 2).

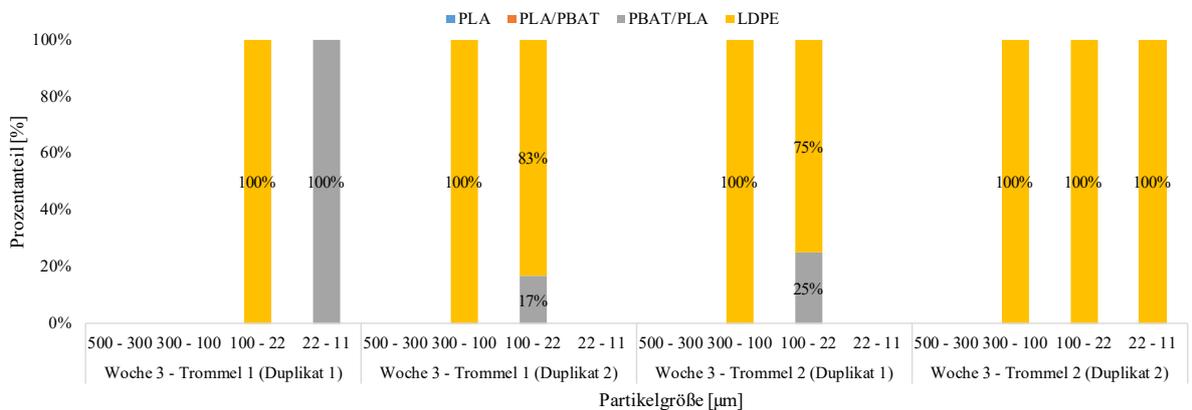


Abbildung 29: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 3 (Versuchsreihe 2).

In der 6. Woche unterschied sich die Gesamtzahl der Kunststoffe, die in einer 1-Liter-Probe gezählt wurden, stark zwischen Versuchsreihe 2 und Versuchsreihe 3, wobei die Versuchs-

reihe 3 eine größere Anzahl von Partikeln aufwies. Dies ist ein Anzeichen für eine größere Fragmentierung in Versuchsreihe 3. Dies war auch dadurch ersichtlich, dass die Anzahl der Kunststoffe, die auf dem 5-mm-Sieb gezählt wurden, geringer war als die in Versuchsreihe 2. In Versuchsreihe 3 (Abbildung 30 und Abbildung 31) wurden in der Fraktion kleiner 5 mm bis 500 µm zwischen 652 bis zu 885 Partikel gezählt. PLA hatte bezogen auf die einzelnen Siebschnitte einen Anteil von 52 bis 82 %, gefolgt von PLA/PBAT (17 bis 41 %). Hierbei wurden bis zu 330 PLA-Partikel in der Fraktion 1 mm bis 500 µm gefunden. Während das PLA/PBAT-Blend in Versuchsreihe 2 bei allen Größenfraktionen einen höheren Fragmentierungsanteil aufwies, war die Fragmentierung von PLA in Versuchsreihe 3 bei den Größen 2 bis 1 mm und 1 mm bis 500 µm nahezu gleich. Die Kunststoffe, die im 5 mm-Sieb gefunden wurden, waren fragmentiert, verschmutzt, sehr zerknittert, rissig und brüchig. Makroskopisch war es aufwändig, zwischen PLA und dem PLA/PBAT-Gemisch zu unterscheiden. PE hatte noch seine ursprüngliche Größe, sah transparent aus und wies einige Verunreinigungen auf, die sich leicht entfernen ließen.

In der Fraktion kleiner 500 µm konnten in Versuchsreihe 2 alle Kunststoffarten gefunden werden (Abbildung 32 und Abbildung 33). Die Partikelzahlen in dieser Fraktion lagen bei 46 bis 110. Tendenziell überwogen PLA und PBAT/PLA anteilmäßig. Die meisten MKS waren in der Korngröße 100 bis 22 µm mit insgesamt bis zu 58 Partikeln zu finden.

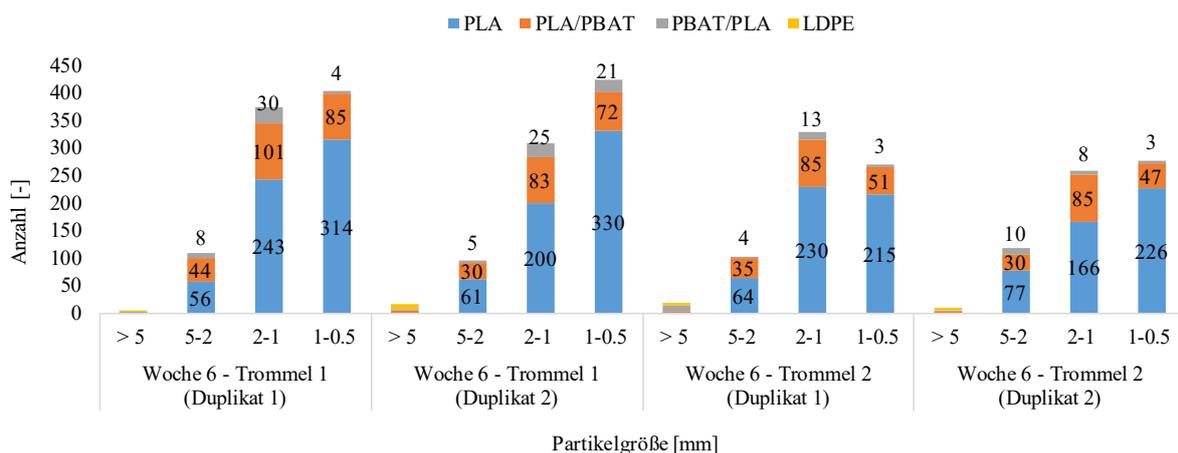


Abbildung 30: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 3).

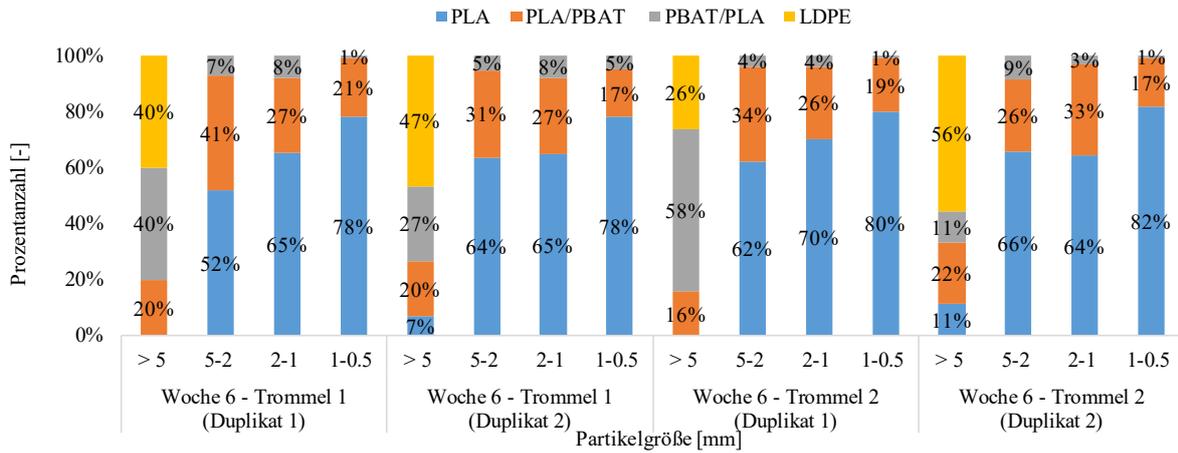


Abbildung 31: Prozentanteil der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 3).

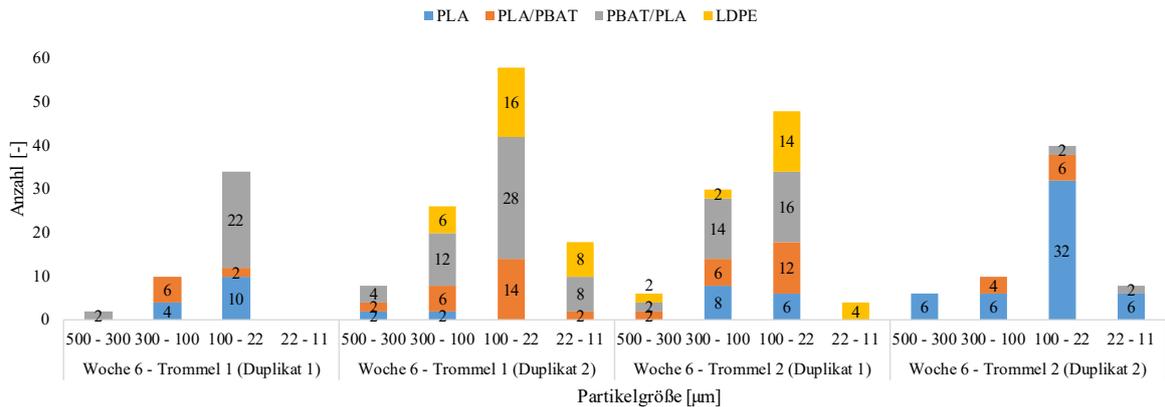


Abbildung 32: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 2).

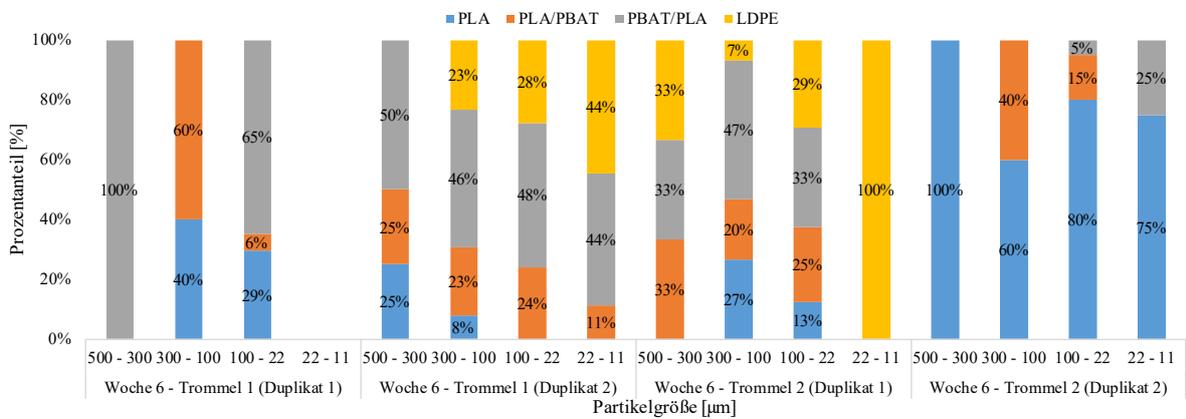


Abbildung 33: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 6 (Versuchsreihe 2).

In der Woche 12 nahm die Anzahl der MKS in Versuchsreihe 3 tendenziell zu (Abbildung 34 und Abbildung 35). Besonders wurden anteilig mehr Anteile an PLA/PBAT gefunden. In den Fraktionen kleiner 5 mm bis 500 µm wurden zwischen 643 und 1095 Partikel gefunden; in der Fraktion 2 bis 1 mm waren es insgesamt bis zu 525 Partikel. In Versuchsreihe 2 stiegen gegenüber der Woche 6 die Partikelzahlen stark an (Abbildung 36 und Abbildung 37). Dies könnte darauf hinweisen, dass die direkte Belüftung und die damit höhere mikrobielle Aktivität zu einer schnelleren Fragmentierung von biologisch abbaubaren Kunststoffen beiträgt. Schließlich nahm in beiden Reihen die Anzahl an PBAT/PLA deutlich ab, während PLA und PLA/PBAT zugenommen haben. In der Korngröße kleiner 500 µm nahm die Anzahl an Partikeln im Vergleich zur Woche 6 deutlich zu. Insgesamt lagen hier 112 bis 320 Partikel vor. Die meisten Partikel waren in der in der Korngröße 100 bis 22 µm mit bis zu 176 Partikeln zu finden. Hierbei liegen die höchsten prozentualen Anteile besonders PBAT/PLA. In kleinerem Umfang sind PLA, PLA/PBAT und PE-Fragmente zu finden. PE lag in diesem Korngrößenbereich bei bis zu 18 Partikeln. LDPE und HDPE sind aufgrund des Abbaus kaum mehr zu unterscheiden, somit sind die Partikel mit – auch Nachfolgend - rein PE benannt.

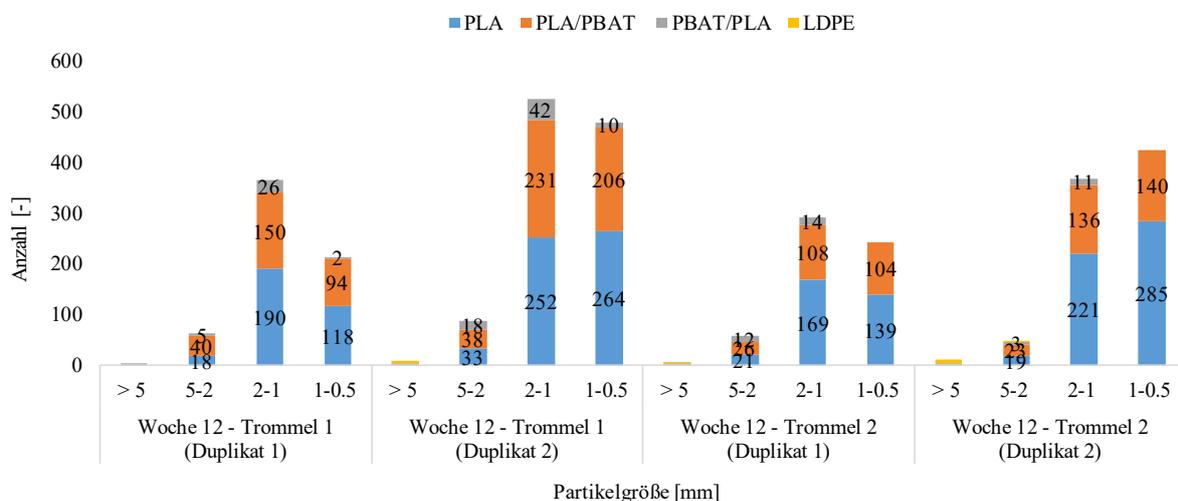


Abbildung 34: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 3).

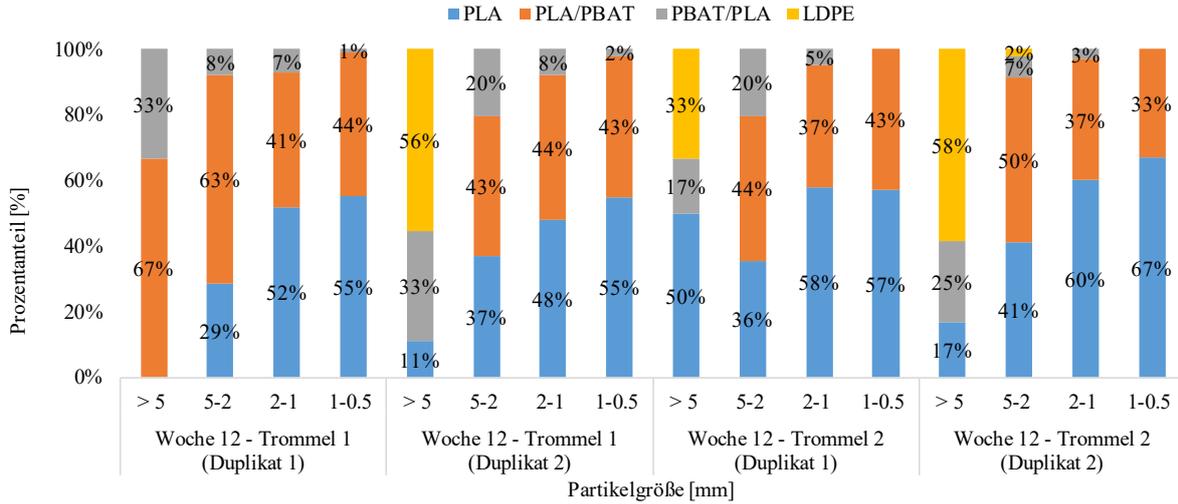


Abbildung 35: Prozentanteil der Kunststoffpartikel größer 5 mm bis 500 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 3).

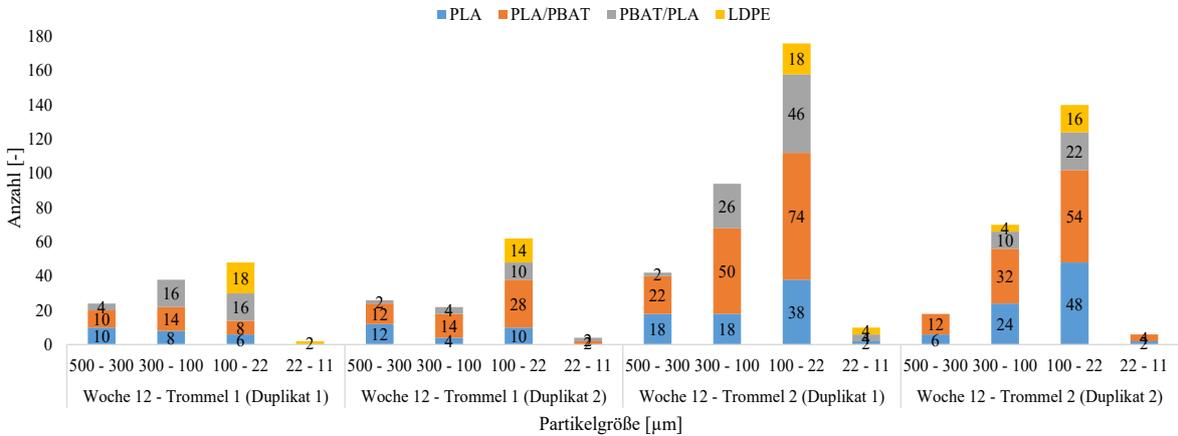


Abbildung 36: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 2).

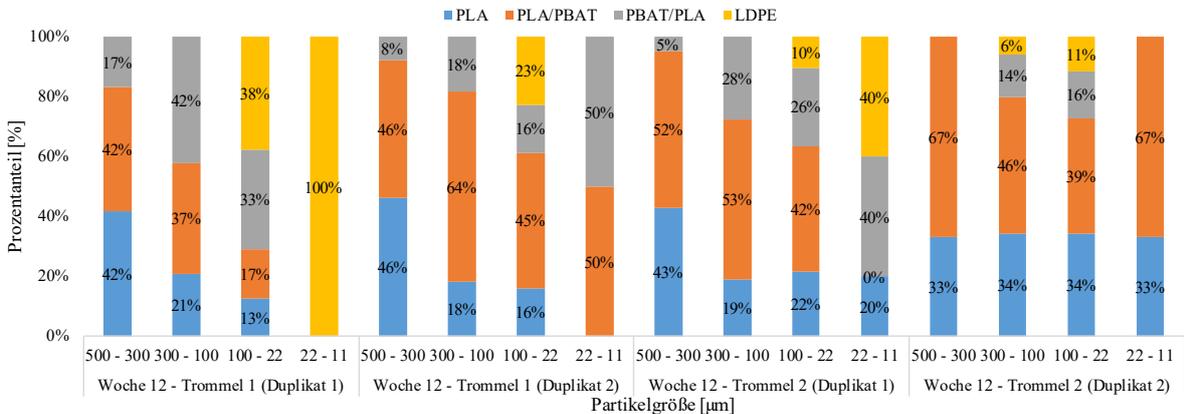


Abbildung 37: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung in der semi-dynamischen Kompostierungswoche 12 (Versuchsreihe 2).

Die Versuchsergebnisse in den Laboruntersuchungen zeigen, dass besonders bei den biologisch abbaubaren Kunststoffen eine Fragmentierung durch den biologischen Prozess, verbunden mit der Bewegung der Substrate in den Reaktoren, stattgefunden hat. Durch den Rotteprozess wurden besonders die biologisch abbaubaren Kunststoffe in ihrer Korngröße stark reduziert. Auch haben sich bei den biologisch abbaubaren Kunststoffen ihre Eigenschaften (Farbe, Flächigkeit) stark verändert. Besonders PBAT/PLA war nach 12 Wochen Rottezeit nur noch in geringem Umfang optisch erkennbar. Die Anzahl der Partikel größer 5 mm (Ausgangszustand der Folien) hatte sich während des Prozesses deutlich verringert, während die Kunststofffragmente sowohl in den Korngrößen kleiner 5 bis 500 µm von Woche 3 auf Woche 12 von ca. 50 Partikeln auf über 700 Partikel, in den Korngrößen kleiner 500 µm bis 10 µm von ca. 15 auf ca. 200 Partikel zugenommen haben. Bei den fragmentierten Kunststoffen in den Korngrößen kleiner 5 bis 500 µm überwogen nach 3 Wochen vor allem PLA, während die anderen biologisch abbaubaren Kunststoffe nur in geringerem Umfang, PE überhaupt nicht zu detektieren waren. In den Korngrößen kleiner 500 bis 10 µm waren nach 3 Wochen nur PE und PBAT/PLA zu finden. Nach 12 Wochen überwogen bei den fragmentierten Kunststoffen in den Korngrößen kleiner 5 mm bis 500 µm vor allem PLA/PBAT, gefolgt von PLA und in kleinerem Umfang PBAT/PLA. In den Korngrößen kleiner 500 bis 10 µm waren nach 12 Wochen besonders PLA/PBAT, gefolgt von PLA und PBAT/PLA, aber auch PE (vor allem in der Fraktion 100 bis 22 µm) zu detektieren.

3.3.3.4 Größenspektrum Vergärung (dynamisch und statisch)

Die Partikelzahlen (bezogen auf 1 L FM) und deren prozentuale Verteilung sind in den Abbildungen 38 und 39 dargestellt. Entsprechend dem in Kapitel 3.3.2.2 dargestellten Vorgehen wurden die Proben behandelt und die Partikelzahlen in verschiedenen Korngrößeklassen für die vier untersuchten Kunststoffe ermittelt. Für die Versuchsreihe 2 (synthetischer Bioabfall) liegen die Ergebnisse basierend auf den Partikel-Untersuchungen von TÖK I für die mesophilen-statischen sowie die thermophilen-dynamischen Vergärungsversuche nach 12 Wochen Aufenthaltszeit in den Reaktoren im Doppelansatz (gekennzeichnet als Reaktor 1 und Reaktor 2) für die Partikelgrößen von kleiner 500 µm bis 11 µm vor. Für die Versuchsreihe 3 konnten zeitlich bedingt keine Ergebnisse während des Projektes erfasst werden.

Beim mesophil-statischen Versuchsansatz wurden für alle vier untersuchten Kunststoffe (PLA, PLA/PBAT, PBAT/PLA und LDPE) in Reaktor 1 keine Partikel kleiner 500 µm gefunden. In Reaktor 2 wurde lediglich PLA in den Korngrößen 11 – 22 µm und 100 – 300 µm mit einer Partikelanzahl von jeweils 77 Partikeln detektiert, von den anderen Kunststoffarten wurden

keine Partikel gefunden. Hieraus ist abzuleiten, dass bei diesem Ansatz die Fragmentierung der Kunststoffe in nur sehr geringem Umfang stattgefunden hat.

Anders sieht dies beim thermophil-dynamischen Versuchsansatz aus. Die Partikelzahl lag bei Reaktor 1 insgesamt bei 7757, wobei die meisten Partikel in den Fraktionen zwischen 300 und 22 μm vorlagen. In allen Fraktionen überwog PBAT/PLA, ansonsten wurde nur LDPE detektiert. In Reaktor 2 lag die Partikelzahl bei 4.378, auch hier waren die meisten Partikel in den Fraktionen von 300 bis 22 μm zu finden. Wie auch in Reaktor 1 überwog anteilmäßig PBAT/PLA, neben LDPE wurde in kleinem Umfang auch PLA gefunden.

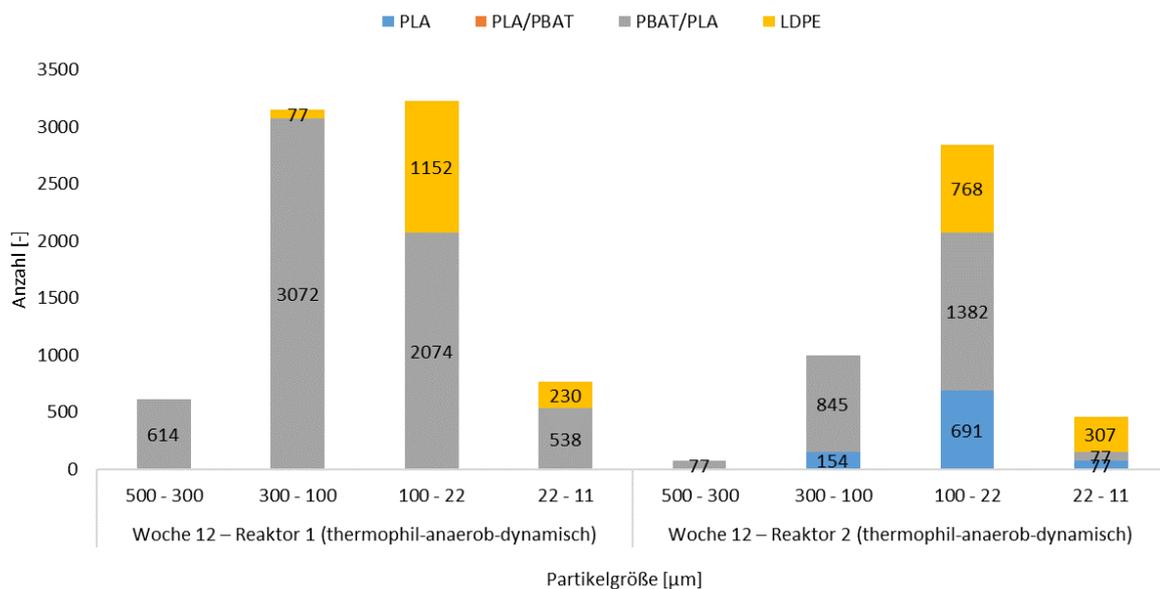


Abbildung 38: Gesamtzahl der Kunststoffpartikel von 500 μm bis 11 μm und ihre Verteilung bei den Anaerobversuchen thermophil-dynamisch, Woche 12 (Versuchsreihe 2).

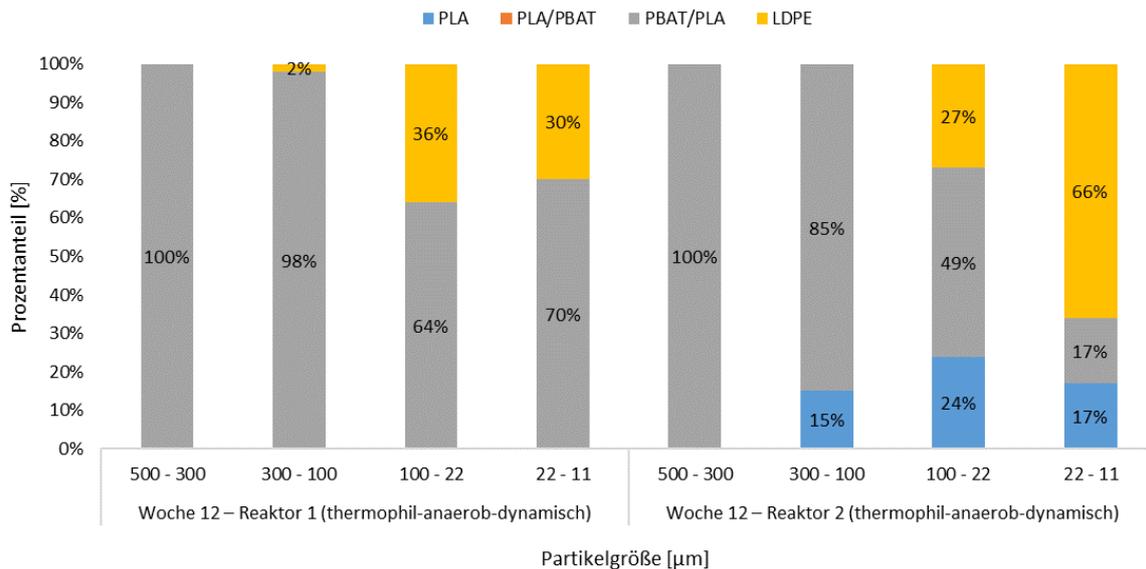


Abbildung 39: Prozentanteil der Kunststoffpartikel von 500 µm bis 11 µm und ihre Verteilung bei den Anaerobversuchen thermophil-dynamisch, Woche 12 (Versuchsreihe 2).

3.3.4 Diskussion

Aus den Versuchsergebnissen ist der Schluss zu ziehen, dass Kunststoffe im Rahmen biologischer Prozesse in Anlagen der Abfallwirtschaft fragmentiert werden. Dies betrifft besonders biologisch abbaubare Kunststoffe, die nach 3 Wochen schon in kleineren Korngrößen als MKS zu finden sind, aber auch nach 12 Wochen sowohl in den Fraktionen kleiner 5 bis 500 µm als auch besonders kleiner 500 bis 10 µm zu detektieren sind. Bei den Kompostierungsversuchen waren dies in besonderem Maße PLA und PLA/PBAT. Hieraus ist abzuleiten, dass nach der Kompostierung auch nach 12 Wochen Rottezeit MKS aus biologisch abbaubaren Kunststoffen vorhanden sein können. Auch wurden bei den Kompostierungsversuchen, wenn auch zahlenmäßig in geringem Umfang (ca. 20 Partikel), LDPE-MKS-Partikel in diesen Feinst-Fractionen gefunden, die wahrscheinlich durch Abrasion im Prozess entstanden sind.

Bei den mesophil-statischen Vergärungsversuchen fand aufgrund des anaeroben Prozesses, der vergleichsweise geringen Temperaturen und des ruhenden Zustands des Materials (keine Abrasion) eine Fragmentierung in nur sehr geringem Umfang bei PLA in die Fraktionen kleiner 500 µm statt, die drei anderen zugesetzten Kunststoffe wurden in diesen Fraktionen nicht gefunden. Im Gegensatz hierzu wurden bei den thermophil-dynamischen Vergärungsversuchen aufgrund der vergleichsweise höheren Temperaturen sowie der ständigen Bewegung des Materials und der damit verbundenen Abrasion insgesamt mehrere

tausend Partikel in den Fraktionen kleiner 500 µm festgestellt. Dies waren vor allem PBAT/PLA und LDPE, in geringem Umfang auch PLA.

Die Partikelzahlen in den Fraktionen kleiner 500 µm lagen nach 12 Wochen Versuchszeit bei den dynamischen Anaerobversuchen im thermophilen Bereich insgesamt signifikant höher als bei den Kompostierungsversuchen. Es ist davon auszugehen, dass durch die dynamische Betriebsweise die damit einhergehenden auftretenden Scherkräfte stark zu der Fragmentierung beigetragen haben. Hieraus wird deutlich, dass bei Bioabfallbehandlungsanlagen darauf hinzuwirken ist, den Eintrag von im biologischen Prozess nicht vollständig abbaubaren Kunststoffen zu minimieren.

An dieser Stelle soll nochmals betont werden, dass der Abbau von biologisch abbaubaren Kunststoffen nicht Gegenstand der Studie war, sondern allgemein die Fragmentierung von Kunststoffen in den biologischen Prozessen der Kreislaufwirtschaft. Die im Laufe der Verweildauer festgestellte Verringerung der Kunststoffteilchen größer 5 mm und die Fragmentierung besonders der biologisch abbaubaren Kunststoffe lässt darauf schließen, dass bei der Kompostierung ein Abbau stattgefunden haben könnte. Die gemäß DIN EN 13432 und DIN EN 14995 zertifizierten biologisch abbaubaren Kunststoffe sind darauf hin entwickelt, bei der Kompostierung abgebaut und fragmentiert zu werden; nach der Novelle der BioAbfV (2022) ist eine Zusatzzertifizierung erforderlich, die eine vollständige Desintegration der biologisch abbaubaren Kunststoffe bei der Kompostierung in Partikel kleiner 2 mm innerhalb einer Rottezeit von 6 Wochen nachweist.

3.4 Bewertung der Vorgänge im Labor- und Technikumsmaßstab (IBBS)

3.4.1 Motivation und Ziele

Bislang liegen kaum Erkenntnisse vor, ob und was für Aufwuchsorganismen bei Kunststofffolien in Bioabfallverwertungsanlagen zu finden sind und welche Auswirkungen dies auf die dortige Biozönose hat. Um hierüber Aussagen treffen zu können, wurde in diesem Arbeitspaket eine umfassende Biofilmuntersuchung durchgeführt. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die unterschiedlichen Prozessbedingungen der Laboranlagen die Oberflächenstruktur von Kunststofffolien verändern können.

3.4.2 Methodik

Für die Biofilmuntersuchungen wurden quantitativ-chemische, mikroskopische und molekularbiologische Verfahren miteinander kombiniert (Abbildung 40). Als Untersuchungsobjekte dienten Kunststofffolien, die aus Laboranlagen des ISWA entnommen wurden. In diesen Laboranlagen wurden Kompostierungen und Vergärungen mit verschiedensten Prozessparametern nachgestellt (s. Kapitel 3.3: Laborversuche (anaerobe Vergärung, Kompostierung) (ISWA). Zunächst wurden die im Projekt hergestellten Kunststofffolien mit einem definierten Substrat vermengt (I.). Anschließend wurde dieses Gemisch für zwölf Wochen einer Bioabfallverwertung unterzogen (II.). Dabei handelte es sich sowohl um Kompostierungen als auch Vergärungen im Labormaßstab. Bei diesen Prozessen werden nach drei, sechs und zwölf Wochen Kunststofffolien aus den Anlagen entnommen (III.). Die darauf anwachsenden Biofilme wurden umfassend charakterisiert (IV.). Durch eine quantitativ-chemische Analyse konnte unter anderem die zeitliche Entwicklung des Biofilms verfolgt werden. REM-Aufnahmen gewähren einerseits Einblick in die räumliche Verteilung des Biofilms, gleichzeitig aber auch eine Analyse möglicher Oberflächenveränderungen der Kunststofffolien. Die Sequenzierung erlaubte es schließlich, die biologische Vielfalt des Biofilms zu bestimmen. Des Weiteren wurden mittels Zugprüfung mechanische Eigenschaften der Folien ermittelt, um weitere Einblicke in deren möglichen Abbau zu erhalten. Letztlich lassen sich mit diesen Ergebnissen mögliche Auswirkungen von Kunststoffausträgen auf den Boden ableiten (V.).

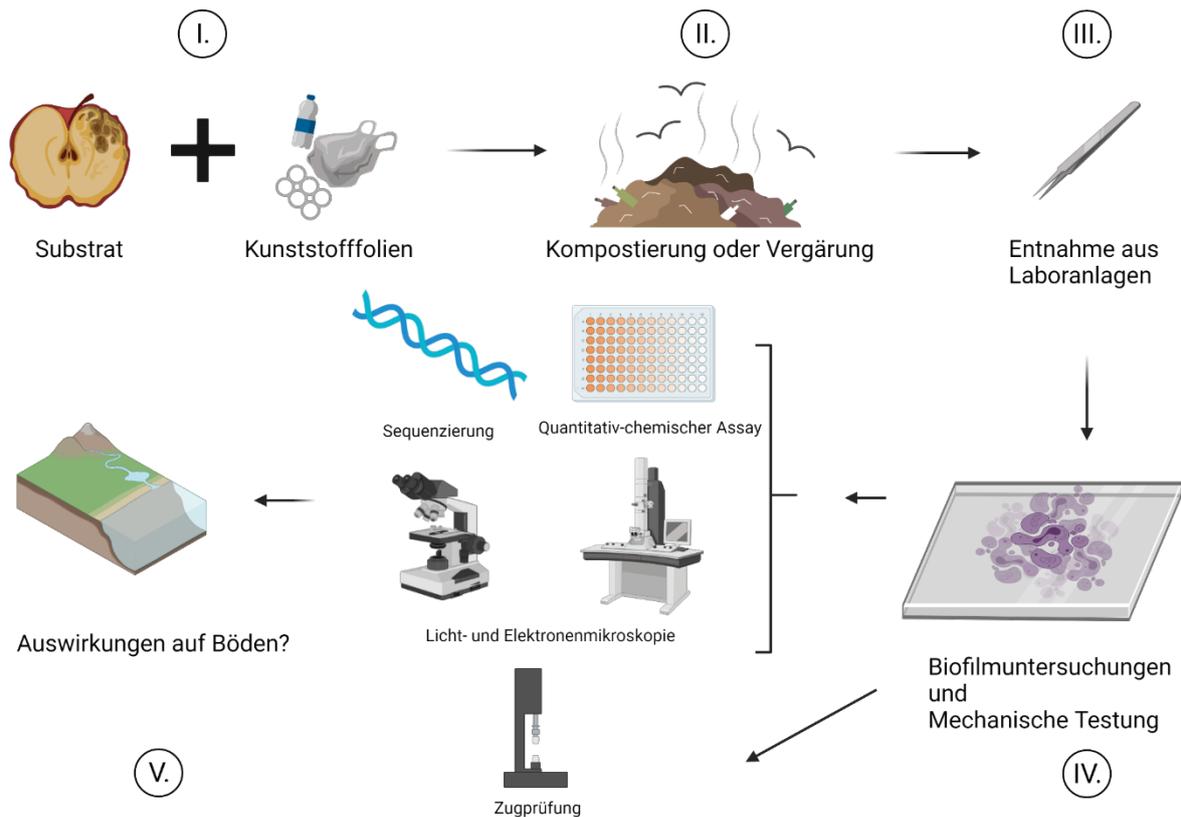


Abbildung 40: Schematische Darstellung der Untersuchungen von Kunststofffolien aus Bioabfallverwertungsanlagen im Labormaßstab.

Beim quantitativ-chemischen Assay wurde der Biofilm zunächst mit Safranin gefärbt (Ommen et al., 2017). Dessen Menge konnte dann fotometrisch bestimmt werden und ist proportional zur Biomasse des Biofilms. Dadurch ist es einerseits möglich, die zeitliche Entwicklung des Biofilms zu verfolgen, aber auch Unterschiede im Bewuchs der einzelnen Kunststoffarten zu erkennen.

Darüber hinaus wurden zahlreiche Kunststofffolien präpariert, um anschließend licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen zu erstellen. Diese Visualisierung der Aufwuchsorganismen erlaubt es, Aussagen über die räumliche Verteilung des Biofilms zu treffen (De Tender et al., 2017).

Abseits dieser Analysen wurden bei den Kunststofffolien mögliche Veränderungen der Oberflächenstruktur und der mechanischen Eigenschaften begutachtet. Dafür wurden einerseits von mehreren Kunststofffolien licht- und elektronenmikroskopische Übersichts- und Detailaufnahmen erstellt. Mit diesen war es möglich, Oberflächenveränderungen zu beschreiben und deren Ausmaß qualitativ abzuschätzen. Des Weiteren wurde ein einachsiger quasi-statischer Test an einer Zugmaschine durchgeführt, um zu prüfen, wie sich die

Prozessbedingungen auf das Spannungs-Dehnungs-Verhalten und die Steifigkeit der Kunststofffolien auswirkt (International Organization for Standardisation, 2019). Je höher der E-Modul (Elastizitätsmodul), desto steifer der Werkstoff. Die Steifigkeit hängt in der Regel von der Primär-, Sekundär und Tertiärstruktur des Kunststoffes, der Art und Anordnung von Zusatzstoffen, aber auch der Temperatur, sowie bei einigen Werkstoffen auch von der Feuchtigkeit während des Versuchsvorgangs ab (Bonten, 2020). Um den E-Modul der Folien zu Beginn der Versuche zu bestimmen, wurden jeweils zehn Proben mit den Maßen 1,5 x 1,5 cm ausgeschnitten und untersucht. Bei den Proben aus den Versuchsanlagen wurden auf Grund der geringen Menge jeweils drei Proben pro Zeitpunkt und Versuch untersucht. Temperatur und Luftfeuchtigkeit blieben im Verlauf der Zugversuche konstant und können hier außer Acht gelassen werden. Die Messung verlief entweder bis zum Bruch der Folie oder bis zu einer prozentualen Dehnung von 40 %.

3.4.3 Ergebnisse

In den Experimenten des IBBS wurden vom IKT hergestellte Kunststofffolien aus Laboranlagen des ISWA entnommen. Die darauf anhaftenden Organismen wurden im Zuge der Biofilmuntersuchungen mittels eines chemischen Färbeassays quantifiziert, im Anschluss mikroskopisch analysiert und deren Zusammensetzung durch eine Sequenzierung bestimmt. Außerdem wurde bei den eingebrachten Kunststofffolien Oberflächenveränderungen mit Hilfe von bildgebenden Verfahren untersucht und eine Zugprüfung zur Ermittlung der mechanischen Eigenschaften durchgeführt.

3.4.3.1 Biofilmuntersuchungen

Bei Trommelkompostierungen und Vergärungsprozessen wurde die zeitliche Entwicklung der Biomasse des Biofilms verfolgt, welche durch eine Safraninfärbung chemisch quantifiziert wurde. Es lassen sich Trends für die zeitliche Entwicklung von Biofilmen auf Kunststofffolien in Komposten und Gärprodukten ableiten. So ist die Biomasse des Biofilms von der Temperatur abhängig (vgl. Abbildung 41 a – b mit c – f). Höhere Temperaturen begünstigen hierbei eine stärkere Zunahme des Biofilms. Die verschiedenen Kunststoffe sind mit Ausnahme von PBAT/PLA ähnlich stark bewachsen (z. B. Abbildung 41 b). Bei letzterem war der Biofilm deutlich stärker ausgeprägt (Abbildung 41 b – f, Abbildung 41). Dies deckt sich mit den Erkenntnissen anderer Wissenschaftler (Mercier et al., 2017). Laut diesen Autoren spielte neben der Oberflächenrauigkeit auch die Hydrophilizität des Kunststoffes eine Rolle für das Wachstum von Biofilmen.

Nach der anfänglichen Besiedlung flacht das Wachstum des Biofilms häufig ab (z. B. LDPE in Abbildung 41 c oder PLA/PBAT in Abbildung 41 f) oder schwankt nur leicht (z. B. LDPE in Abbildung 41 c und PLA in Abbildung 41 b). Auch hiervon stellte PBAT/PLA eine Ausnahme dar, bei dem die Biomasse des Biofilms mit der Zeit häufig deutlich zunahm (z. B. Abbildung 41 d).

Obwohl in allen Laboranlagen Biofilme auf den Kunststofffolien nachgewiesen werden konnten, kann auf Basis dieser Daten nicht darauf geschlossen werden, dass diese von Mikroorganismen abgebaut werden könnten. Vielmehr deuten die Ergebnisse der Projektpartner darauf hin, dass die Kunststofffolien mit der Zeit zu MKS zerfallen (siehe Kapitel 3.3 Laborversuche (anaerobe Vergärung, Kompostierung) (ISWA)).

Neben der Ermittlung der Biomasse des Biofilms wurde ein statistisches Verfahren zur Ermittlung der Nachweisgrenze (engl. *limit of detection, LOD*) für die Safraninfärbung etabliert (Ommen et al., 2017). Die LOD wird bei jeder Färbung als die dreifache Standardabweichung der Kontrolle errechnet (3σ -Regel). Ihr Wert ist also von Messung zu Messung leicht verschieden.

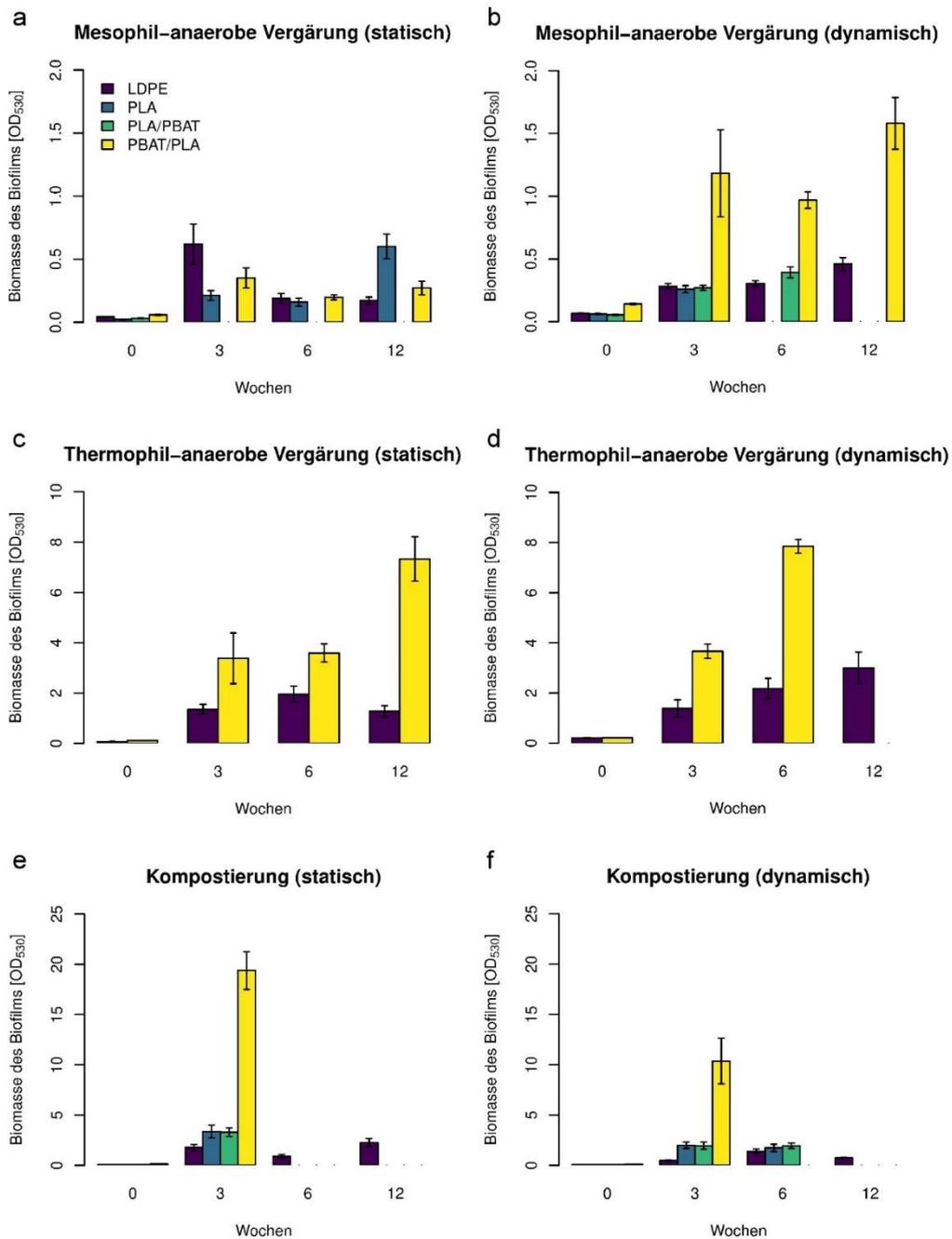


Abbildung 41: Entwicklung der Biomasse des Biofilms über die Zeit.

Anmerkung: In einigen Diagrammen fehlen für manche Stellen Daten. Grund dafür ist, dass zum jeweiligen Zeitpunkt keine Safraninfärbung mehr durchgeführt werden konnte, da die Kunststofffolien in nicht mehr vermessbare MKS zerfallen waren. Dargestellt sind in allen Fällen der Mittelwert und der Standardfehler. Bitte beachten Sie die unterschiedlichen Ordinatenachsen.

3.4.3.2 Oberflächenveränderungen

Mittels REM-Aufnahmen konnte die Oberflächenrauigkeit der im Labor- und Technikumsmaßstab eingesetzten Kunststofffolien qualitativ ermittelt werden. Sie war bei PBAT/PLA deutlich stärker ausgeprägt als bei allen anderen Referenzfolien (siehe Abbildung 42).

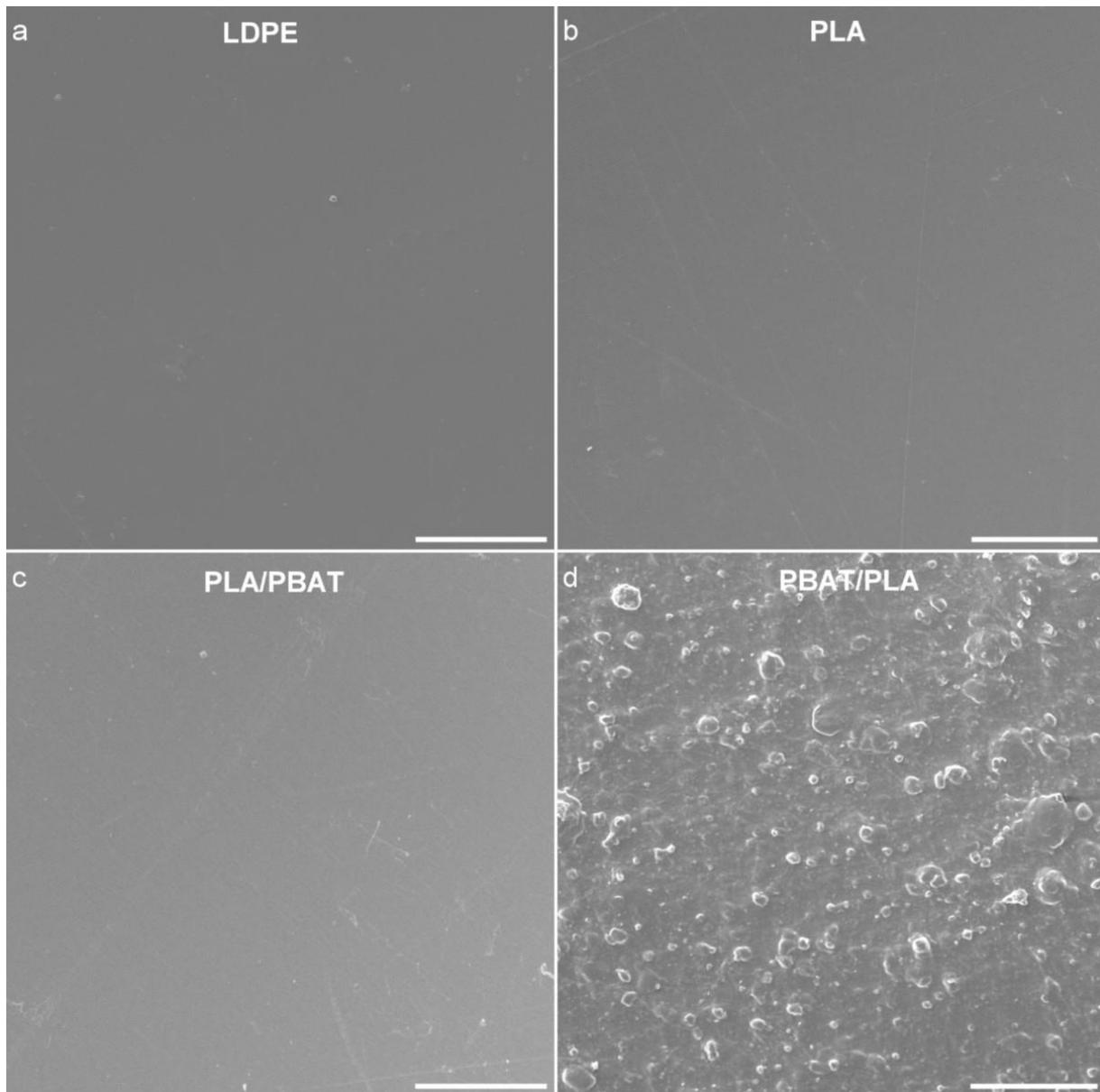


Abbildung 42: REM-Aufnahmen der vom IKT hergestellten Referenzfolien. a LDPE. b PLA. c PLA/PBAT. d PBAT/PLA. Die Maßstabsbalken entsprechen 100 μm .

Zur Beurteilung möglicher Abbauprozesse im Labor- und Technikumsmaßstab wurden licht- und REM-Aufnahmen der kompostierten und vergorenen Kunststofffolien erstellt. Der konventionelle Kunststoff LDPE zeigte im Allgemeinen weniger ausgeprägte Anzeichen für Zerfall als die biologisch abbaubaren Kunststoffe PLA sowie PLA/PBAT und PBAT/PLA. Das Ausmaß des Zerfalls war stark abhängig von der Prozessführung. So sind bei einer Trommelkompostierung sowohl bei PBAT/PLA als auch bei wenigen PLA-Proben zahlreiche Mikrorisse auf der Oberfläche der Kunststofffolien sichtbar. LDPE und PLA/PBAT hatten hingegen eine intakte Oberfläche, siehe auch Abbildung 43.

In thermophilen Vergärungsanlagen mit Rührwerk wies die Oberfläche von PBAT/PLA nach wenigen Wochen zahlreiche sichtbare Löcher auf. LDPE und PLA/PBAT hingegen zeigten sowohl bei statischer als auch bei dynamischer Betriebsweise keine Oberflächenveränderungen. Es konnten keine PLA-Kunststofffolien mehr untersucht werden, da diese bereits nach drei Wochen zu MKS zerfallen waren (s. Kapitel 3.3: Laborversuche (anaerobe Vergärung, Kompostierung) (ISWA)).

War ein Rührwerk in der mesophilen Vergärungsanlage verbaut, wiesen PLA und PLA/PBAT spätestens nach sechs Wochen deutliche Risse auf der Oberfläche auf (vgl. Abbildung 43 a - b mit c - d und e - f mit g - h). PBAT/PLA und LDPE hingegen zeigten selbst nach zwölf Wochen unabhängig von der mechanischen Belastung keine Oberflächenveränderungen (vgl. Abbildung 43 l mit Abbildung 43 p). Wurde die mesophile Vergärungsanlage hingegen statisch betrieben, waren bei allen Kunststoffsorten die Oberflächen der Folien am Versuchsende noch intakt (Abbildung 44).

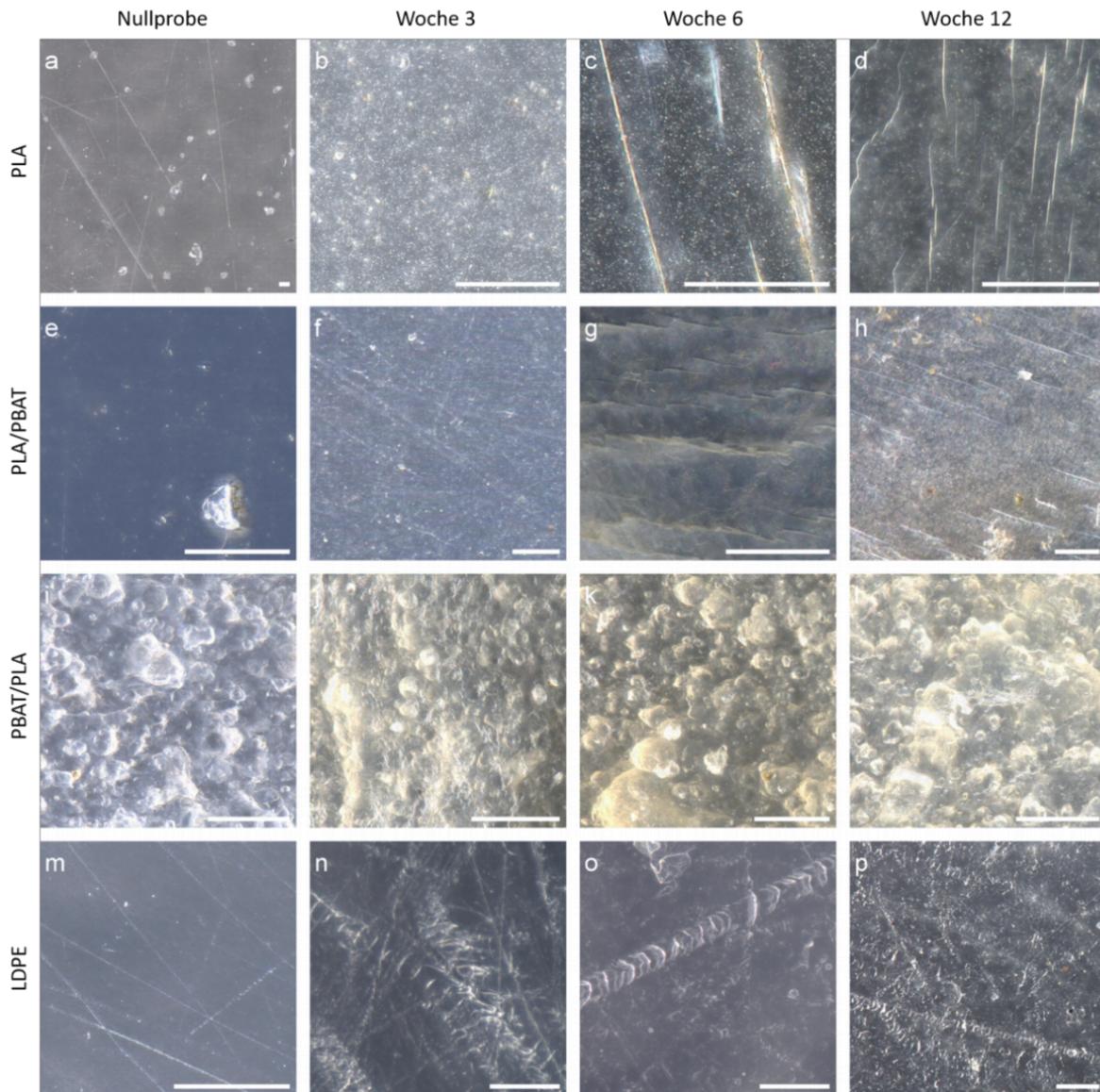


Abbildung 43: Lichtmikroskopische Aufnahmen der Oberflächenveränderungen von Kunststofffolien aus einer mesophilen Vergärungsanlage mit Rührwerk. Die Maßstabsbalken entsprechen 50 µm.

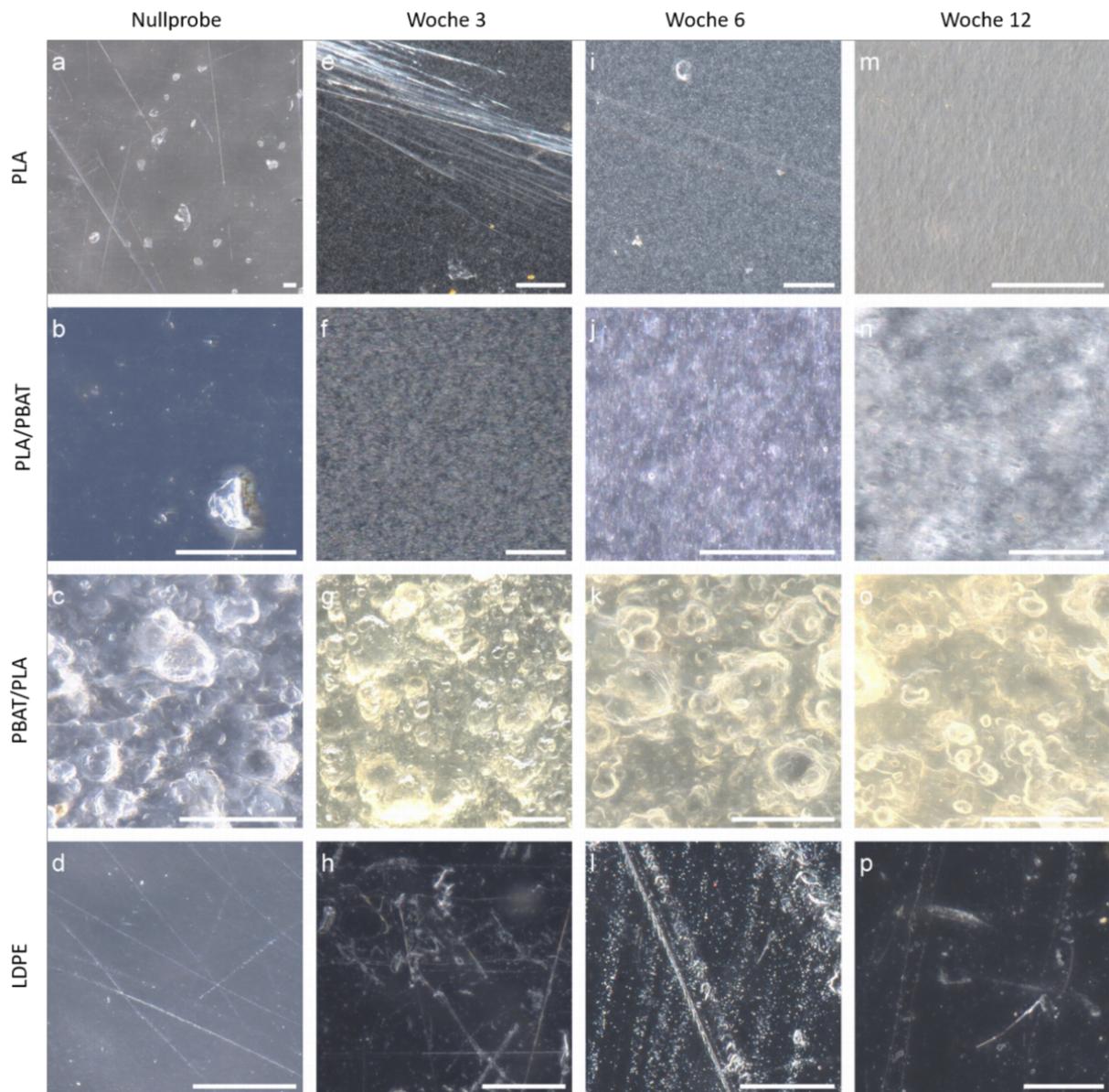


Abbildung 44: Lichtmikroskopische Aufnahmen der Oberflächenveränderungen von Kunststofffolien aus einer mesophilen Vergärungsanlage ohne Rührwerk. Die Maßstabsbalken entsprechen 50 µm.

3.4.3.3 Zugprüfung

Um Veränderungen mechanischer Eigenschaften der unterschiedlichen Kunststofffolien zu untersuchen, wurde ein einachsiger Zugversuch durchgeführt. Der E-Modul der einzelnen Werkstoffe wurde anhand der Steigung im linear-viskoelastischen Bereich der aufgezeichneten Spannungs-Dehnungs-Kurven ermittelt. Des Weiteren wurde untersucht, welchen Einfluss die Temperatur, das Rührwerk, die Art des Verfahrens oder die Kunststoffsorte auf den E-Modul hat.

Vor Beginn der Messungen der jeweiligen Proben wurden die E-Moduln der Folien vor der Behandlung gemessen. Die Ergebnisse wiesen kaum Abweichungen voneinander auf, was daraufhin deutet, dass die Methodik geeignet ist, den E-Modul der Folien auf diese Weise zu ermitteln.

Die E-Moduln von LDPE und PBAT/PLA wiesen die geringsten Schwankungen während der Bioabfallverwertung auf (Abbildung 45). Lediglich bei der thermophilen Vergärung ist eine stärkere Abnahme der E-Moduln der beiden Werkstoffe erkennbar (Abbildung 45). Ein allgemeiner Effekt der Temperatur konnte jedoch nicht erkannt werden.

Bei PLA und PLA/PBAT war hingegen bereits bei geringeren Temperaturen (mesophilen Vergärung) ein Unterschied in den E-Moduln durch das Rührwerk und die fortschreitende Prozessdauer erkennbar (Abbildung 45 a – b). Bei der statischen mesophilen Vergärung und der statischen Kompostierung war ebenfalls eine abnehmende Tendenz des E-Moduls mit der Zeit bei beiden Werkstoffgruppen erkennbar (Abbildung 45 a und c). Wird das Substrat durch ein Rührwerk bewegt, erreichte das E-Modul von PLA bereits nach drei Wochen sein Maximum und zerfiel danach in Fragmente (Abbildung 45 b).

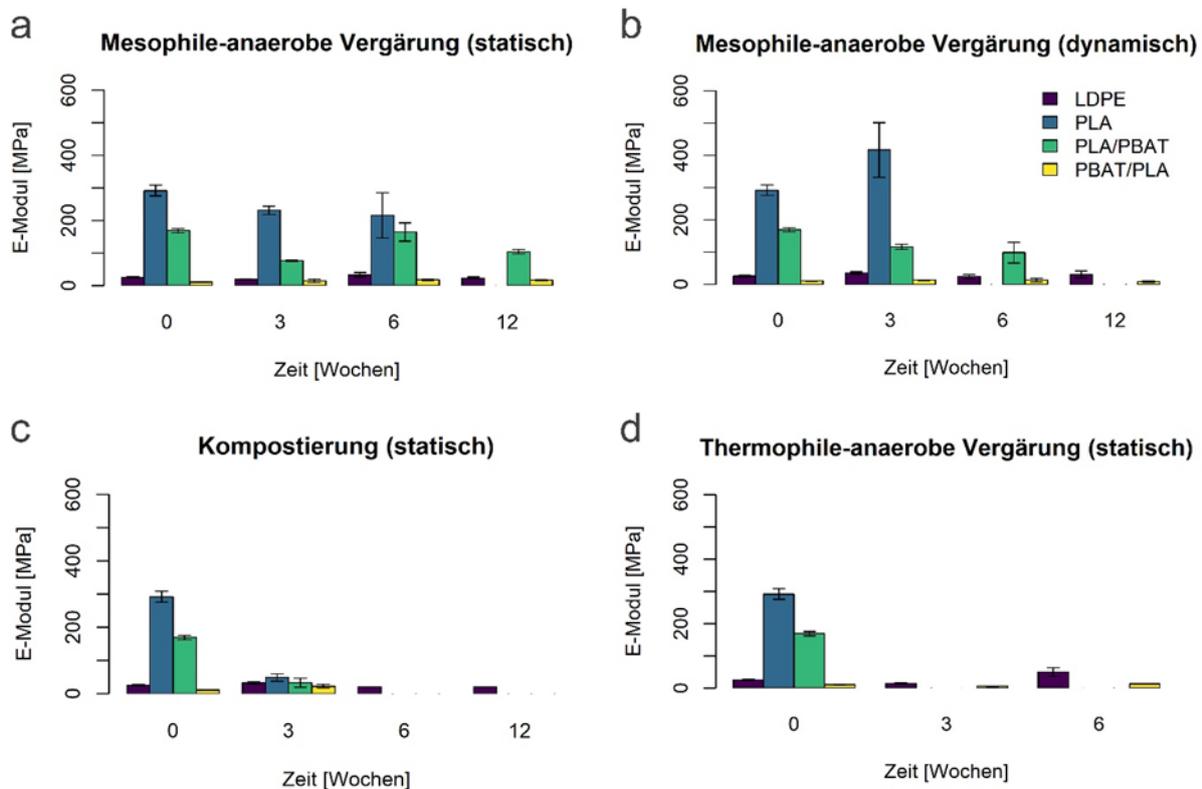


Abbildung 45: Zeitliche Entwicklung des E-Moduls von unterschiedlichen Kunststofffolien in Bioabfallverwertungsanlagen.

Anmerkung: Dargestellt sind in allen Fällen der Mittelwert und der Standardfehler. In einigen Diagrammen (a Mesophil-anaerobe Vergärung (statisch). b Mesophil-anaerobe Vergärung (dynamisch). c statische Kompostierung. d thermophil-anaerobe Vergärung (statisch)) fehlen für manchen Stellen Daten. Grund dafür ist, dass zum jeweiligen Zeitpunkt keine Zugprüfung mehr durchgeführt werden konnte, da die Kunststofffolien in nicht mehr messbare MKS zerfallen waren.

3.4.4 Diskussion

Zusammengefasst konnte festgestellt werden, dass Kunststofffolien in Bioabfallverwertungsanlagen von Biofilmen bewachsen werden, wobei Oberflächenrauigkeit und Temperatur entscheidend für das Ausmaß des Bewuchses sind. Letzteres ist auch hauptverantwortlich dafür, dass sich insbesondere auf biologisch abbaubaren Kunststofffolien Mikrorisse bilden. Schreitet der Zerfall weit genug voran, können sich MKS bilden, welche während des Prozesses nicht immer vollständig abgebaut werden können. Eine erhöhte Temperatur sowie das Vorhandensein eines Rührwerks können je nach Kunststoffsorte schneller zu plastischen Verformungen führen, die wiederum die Widerstandskraft der Folien herabsenkt. Die Folien werden brüchiger. Auch wenn in Bioabfallverwertungsanlagen die Voraussetzungen für eine Mineralisierung der Kunststoffe durch die hohen Temperaturen, den mechanischen Stress und

die große Anzahl an Mikroorganismen grundsätzlich gegeben sind, sind die Prozesszeiten für einen vollständigen Abbau zu kurz. Daher muss davon ausgegangen werden, dass Kunststoffe durch Fehlwürfe im Bioabfall in Folge der Bioabfallverwertung aufgrund ihrer zunehmenden Brüchigkeit zu MKS zerfallen und somit in Böden gelangen.

4. Themenbereich: Bodenqualität

Ziel	Abschätzung des Verhaltens von MKS in Böden und deren Auswirkungen auf Bodenorganismen und –funktionen.
Aufgabe	Durchführung von Feld- und Laborversuchen, ökologische Tests, Biofilm-Untersuchungen.

4.1 Feldversuch zum Verbleib und Auswirkungen von MKS auf Bodenfunktionen (IBS, TÖK I, IKT, IBBS, ISWA, ICT)

4.1.1 Motivation und Ziele

Organische Düngemittel sind ein wichtiger Eintragspfad von MKS in Ackerböden, aber das Wissen über typische MKS-Belastungen von Ackerböden, ihren Verbleib und ihre ökologischen Auswirkungen auf Bodenorganismen und -funktionen ist begrenzt (Büks & Kaupenjohann, 2020; Lin et al., 2020). Der Feldversuch zielte darauf ab,

- die Hintergrundkonzentrationen von MKS,
- den Verbleib von zugesetzten konventionellen und biologisch abbaubaren MKS und
- die Auswirkungen von MKS in Kombination mit organischen Düngemitteln auf den C-Umsatz im Boden und den Ernteertrag eines landwirtschaftlich genutzten Bodens zu untersuchen.

4.1.2 Methodik

4.1.2.1 Standorteigenschaften & experimentelles Design

Der Feldversuch wurde auf einer konventionell bewirtschafteten Ackerfläche mit standorttypischer Fruchtfolge der Versuchsstation Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim (Standort Heidfeldhof, Mittelpunkt des Feldes: 9°11'22.984" Länge, 48°43'11.137" Breite, EPSG: 4326, WGS 1984) angelegt. In der Vergangenheit wurden auf der Fläche weder Kunststoffmulche noch Kompostdünger ausgebracht. Zusätzlich zu den in der konventionellen Bewirtschaftung üblichen Mineraldüngern wurde das Feld in der Vergangenheit sporadisch mit Gülle vom Standort Meieriehof der Versuchsstation Agrarwissenschaften gedüngt. Der Boden des Feldversuchs ist ein Luvisol mit der Textur schluffiger Lehm (3,4 % Sand; 76,2 % Schluff; 20,5 % Ton), einem C/N-Verhältnis von 9 und einem pH-Wert von 6,3.

Das Versuchsdesign umfasste die Faktoren MKS (ohne, LDPE, PLA/PBAT¹) und organisches Düngemittel (ohne, Kompost, Gärprodukt) (Abbildung 46). Die Fläche einer Parzelle betrug 32 m² (Länge: 8 m, Breite: 4 m). Um Verschleppungseffekte von einer Parzelle zu einer benachbarten durch Bodenbearbeitung zu vermeiden, wurde eine 5 m breite Pufferfläche zwischen den Parzellen in Bearbeitungsrichtung eingerichtet (Abbildung 46). Unter Berücksichtigung der Bioabfallverordnung 2017 (BioAbfV, 2017), die eine Ausbringung von max. 30 t Kompost (TM) ha⁻¹ in drei Jahren erlaubt, wurden einmalig 10 t ha⁻¹ Kompost und Gärprodukt (TM) ausgebracht. Das Gärprodukt (C/N: 11, TM: 22,2 %, Substrat: 48,8 % pflanzliche Reststoffe wie Silage, 51,2 % tierische Nebenprodukte wie Gülle) wurde vom Standort Unterer Lindenhof der Versuchsstation Agrarwissenschaften bereitgestellt. Der Kompost (C/N: 17, TM: 61,8 %, Substrat: Grünschnitt) stammte vom Häckselplatz Möhringen in Stuttgart. Die Kunststoffbelastung (1 – 5 mm und > 5 mm) des Komposts und Gärprodukts wurde durch das BPT bestimmt (siehe Kapitel 3.1: Analyse der Mikrokunststoffbelastung bei technischen Anlagen der Abfallwirtschaft (BPT, TÖK I)). Der Kompost enthielt 2 Partikel kg⁻¹ in der Fraktion > 5 mm und 2 Partikel kg⁻¹ in der Fraktion 1 – 5 mm (PP und PS, eine Probenahme). Das Gärprodukt enthielt 11 MKS-Partikel kg⁻¹ in der Fraktion > 5 mm (PE und PP, Mittelwert aus zwei Probenahmen) und keine Partikel < 5 mm.

MKS wurden vom ICT und IKT mit einer Kryomühle gemahlen und mittels Edelstahlsieben fraktioniert, um MKS-Partikel in zwei Größenklassen herzustellen: i) < 0,5 mm und ii) 0,5 – 2 mm (siehe Kapitel 2.3: Bereitstellung von Prüf- und Referenzmaterialien sowie synthetischen Proben (IKT, ICT)). Beide Fraktionen wurden im Verhältnis 1:1 gemischt (auf Massebasis) und in einer Konzentration von 20 kg ha⁻¹ auf das Feld ausgebracht. Zur homogenen Ausbringung der MKS wurden pro Parzelle 10 kg Boden abgewogen und 68 g MKS zugegeben. Nachfolgend wurden diese MKS-Boden-Gemische mit einer Bohrmaschine mit Rührwerk 2 min lang in Metalleimern (35 L) homogenisiert. Von den MKS-Boden-Gemischen wurde die für zwei Quadratmeter benötigte Menge (0,59 kg) entnommen und den Parzellen zugegeben (Behandlungen ohne Düngemittel). Bei den Versuchspartzen mit Kompost wurde das MKS-Boden-Gemisch vor der Ausbringung mit der Kompostmenge für zwei Quadratmeter (2 kg) vermischt. Diese Mengen an MKS-Boden-Gemisch und Kompost wurden gewählt, weil diese sich als im Feld gut misch-, transportier- und verteilbar erwiesen. Aufgrund der geringen Lagerungsdichte des flüssigen Gärprodukts konnte dieses nicht in den Metalleimern mit den MKS-Bodenmischungen vermischt werden. Daher wurden das Gärprodukt und die MKS-Boden-Gemische (Behandlungen mit Gärprodukt und MKS) separat auf das Feld ausgebracht.

¹ Zusammensetzung: 80 Gew. % PLA; 20 Gew. % PBAT

Zur Untersuchung der MKS-Hintergrundbelastung und zur Bestimmung der Bodeneigenschaften wurden vor Versuchsbeginn 15 Teilproben (*A_p*-Horizont, Tiefe: 0 – 10 cm) auf 32 m² in den Parzellen ohne Düngemittel und ohne MKS mit einem Bohrstock (Querschnittsfläche: 9,53 cm²) zufällig beprobt (n = 4). Für die Bodenanalysen der dem Feld hinzugefügten MKS-Partikel und der biologischen Messgrößen wurden vor Versuchsbeginn sowie einen Monat (M1), fünf Monate (M5) und 17 Monate (M17) nach Versuchsbeginn jeweils acht Teilproben aus einer 4 m² großen quadratischen Teilfläche in der Mitte jeder Parzelle entnommen und anschließend zu einer Mischprobe vereint. Zu den Probenahmen M1 und M5 (Beprobungsfläche von 76 cm²) konnten nur sehr wenige MKS-Partikel > 0,5 mm aufgrund der nicht vorhandenen MKS extrahiert werden. Um die Sensitivität der MKS-Analysen für Partikel > 0,5 mm zu verbessern, wurde deshalb am letzten Probenahmetermin (M17) die Beprobungsfläche auf 900 cm² erhöht. Für die bodenbiologischen Analysen wurden die Bodenproben bis zur Analyse bei –20 °C gelagert.

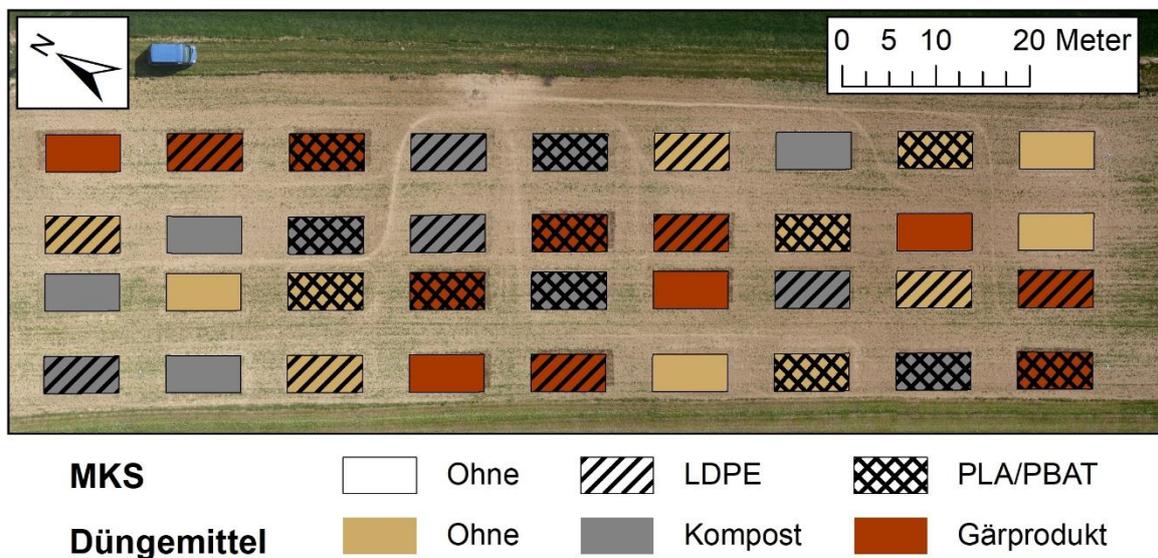


Abbildung 46: Experimentelles Design des Feldversuchs.

Anmerkung: Die Parzellen sind in einem vollständigen randomisierten Blockdesign (n = 4) angeordnet.

4.1.2.2 Analysen

Zur Charakterisierung der Hintergrundbelastung des Ackerbodens und zur Untersuchung des Verbleibs der zugesetzten MKS im Boden wurde die MKS-Konzentration in Bodenproben an der TÖK I mit dem dort weiterentwickelten, mehrstufigen MKS-Analyseverfahren bestimmt (Möller et al., 2021). Partikel mit einem Äquivalentdurchmesser < 0,5 mm wurden mittels μ -FTIR nach Aufbereitung der Bodenproben mittels Gefriertrocknung, Siebung, Dichtentrennung

und enzymatisch-oxidativer Aufreinigung quantifiziert (siehe Berichtsteil Kapitel 2.1: Adaptierung von analytischen Methoden zur Untersuchung von Böden, Komposten und flüssigen Gärresten auf MKS (TÖK I, BPT, ISWA, IBS)). Aufgrund des hohen Gehalts an Organik in Komposten und Gärprodukten, der die Extraktion und Analyse von MKS beeinträchtigt, wurden nur die Behandlungen ohne organische Düngemittel analysiert (Abbildung 46). Abweichend vom Protokoll wurden aufgrund sehr hoher MKS-Partikelanzahlen in den MKS-Boden-Gemischen, die dem Feld hinzugegeben wurden, vier Teilproben à 5 g analysiert.

Die von den 900 qcm² großen Flächen am Ende des Feldversuchs (M17) entnommenen Bodenproben wurden am BPT auf MKS-Partikel > 0,5 mm untersucht. Die Bodenproben (ca. 10 L Boden) wurden vollständig analysiert. Dazu wurden die Bodenproben in 20 Fido-Gläser (Bormioli Rocco, Fidenza, Italien; Fassungsvermögen je 3 L) aufgeteilt und mit 2,5 L Wasser suspendiert. Zunächst wurden die verdünnten Proben mit einer Maschenweite von 2 mm gesiebt. Zurückgebliebene Partikel (Fraktion > 2 mm) wurden mit einer Pinzette aufgefangen, während das Material, welches das Sieb passierte, erneut auf 0,5 mm gesiebt wurde, gefolgt von der Sammlung der zurückgebliebenen Partikel (Fraktion 0,5 – 2 mm).

Zur Bestimmung der Kunststoffe wurde die abgeschwächte Totalreflexion-Fourier-Transform-Infrarot-Spektrometrie (ATR-FTIR) (Spektrometer: Alpha ATR Einheit, Bruker 27; ausgestattet mit einem Diamantkristall für Messungen) verwendet. Die Spektren wurden im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹ aufgenommen (Auflösung 8 cm⁻¹, 16 akkumulierte Scans, Software OPUS 7.5) und mit Einträgen aus einer hausinternen Datenbank (Löder et al., 2015) oder der vom Hersteller des Instruments (Bruker Optik GmbH, Leipzig, Deutschland) bereitgestellten Datenbank verglichen.

Ein Auflichtmikroskop (Mikroskop, Nikon SMZ 754T; Digitalkamera, DS-Fi2; Kamerakontrolleinheit, DS-U3; Software, NIS Elements D) wurde zur visuellen Dokumentation und Größenbestimmung aller durch ATR-FTIR als synthetische Kunststoffe identifizierten Partikel verwendet.

Um die Partikelkonzentration und -größen der MKS-Boden-Gemischen mit denen an M1 und M17 zu vergleichen, wurden die Konzentrationen der MKS-Bodenmischungen auf eine hypothetische Bodensäule bezogen (MP_{start}). Die hypothetische Bodensäule wurde auf Basis einer Beprobungstiefe von 10 cm und einer Zugabe der MKS-Boden-Gemischen von 0,294 kg m⁻² sowie unter Annahme einer Lagerungsdichte von 1400 kg m⁻³ (typischer Wert des Standorts Heidfeldhof) berechnet.

Zur Beurteilung der Auswirkungen von MKS und organischen Düngemitteln auf die Bodenqualität wurde der mikrobielle C-Umsatz im Boden quantifiziert. Dazu wurde die Aktivität von Enzymen, die den C-Umsatz im Boden regulieren, und der mikrobielle C mittels Chloroform-Fumigation-Extraktion gemessen. Zwei Enzymklassen wurden berücksichtigt: β -Glucosidase und β -Xylosidase wurden repräsentativ für den hydrolytischen Abbau einfacher (Zellobiose) und komplexerer (Hemizellulose) Verbindungen basierend auf fluorogenen Substraten gemessen (German et al., 2011). Die Aktivität des Redoxenzyms Phenoloxidase wurde als Indikator für den Abbau von phenolhaltigen Verbindungen, wie sie in Lignin und bei Additiven in Kunststoffen zu finden sind, in kolorimetrischen Tests gemessen (Ali et al., 2015; German et al., 2011; Krueger et al., 2015). Außerdem wurde die Aktivität von Lipasen im Boden untersucht, da diese Enzyme neben Esterasen und Cutinasen den Abbau von Esterbindungen der biologisch abbaubaren Polymere PLA und PBAT katalysieren und somit als Indikatoren für den biologischen Abbau dieser beiden Polymere im Boden fungieren können (Jia et al., 2021; Zumstein et al., 2017). Zur Bewertung des Pflanzenertrags wurden im Jahr 2019 der Biomassertrag des Silagemais und im Jahr 2020 der Kornertrag der Sommergerste bestimmt und mit den MKS-freien Böden verglichen.

4.1.3 Ergebnisse

4.1.3.1 Hintergrundbelastung des landwirtschaftlich genutzten Bodens mit MKS < 0.5 mm

Der Ackerboden zeigte eine MKS-Hintergrundkonzentration von 296 ± 110 Partikel kg^{-1} (Mittelwert \pm Standardfehler) mit neun verschiedenen Polymertypen. PP (108 ± 36 Partikel kg^{-1}), PS (76 ± 34 Partikel kg^{-1}) und PE (60 ± 25 Partikel kg^{-1}) waren die häufigsten Polymere und wurden in allen analysierten Proben nachgewiesen (Abbildung 47 a). Andere MKS-Partikel bestanden aus Polyacrylnitril, PE-Terephthalat, PVC, Polybutylen-terephthalat, Ethylenvinylacetatchlorid, Polybutylenterephthalat, Ethylenvinylacetat und Polysulfon. Der Median der Partikelgröße war bei PS-Partikel mit $60 \mu\text{m}$ am kleinsten (Abbildung 47 b). PP- und PE-Partikel hatten einen Median von $156 \mu\text{m}$ bzw. $146 \mu\text{m}$. Während die Partikelgrößenverteilung von PS- im Vergleich zu PP-Partikeln signifikant zu niedrigeren Partikellängen verschoben war ($p = 0,014$), war die Größenverteilung von PE ähnlich wie die von PP und PS ($p = 0,187$ und $p = 0,188$).

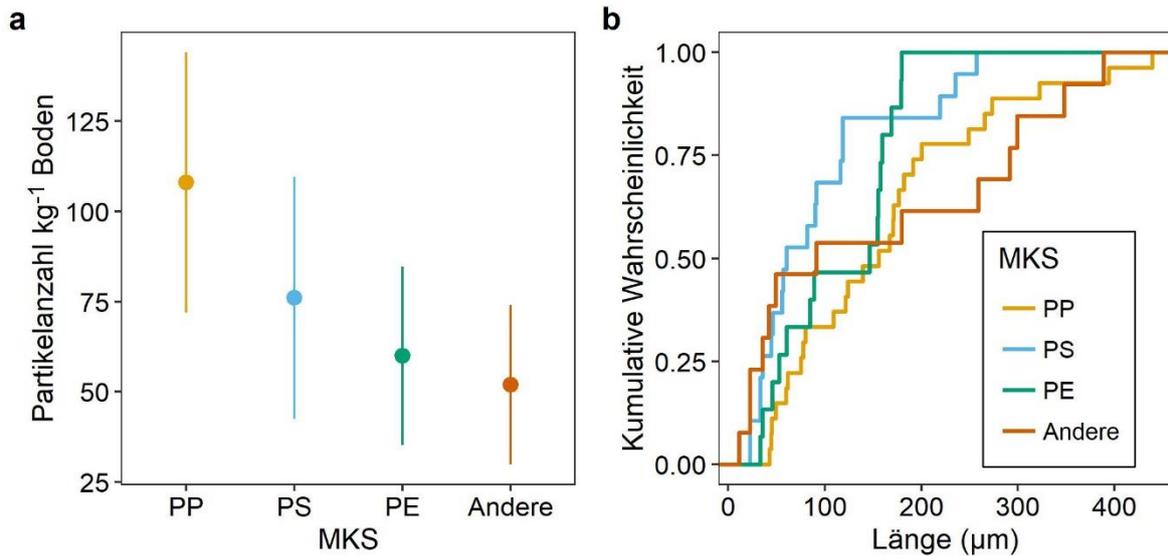


Abbildung 47: a Partikelanzahl von PP, PS, PE und anderen Polymeren < 0,5 mm (n = 4).

Anmerkung: Die Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt (Fehlerbalken). b Empirische kumulative Verteilungsfunktion der zusammengeführten Proben für PE (15 Partikel insgesamt), PS (19 Partikel), PP (27 Partikel) und andere (13 Partikel).

4.1.3.2 Verbleib zugesetzter MKS < 0,5 mm im Boden

Zu Beginn enthielt der mit LDPE- und unbehandelten PLA/PBAT-MKS versetzte Boden 1003 ± 76 Partikel kg^{-1} und 134 ± 15 PLA/PBAT-Partikel kg^{-1} mit MKS < 0,5 mm (MP_{start} , Abbildung 48a). Nach einem Monat (M1) wurden im Durchschnitt 419 weniger LDPE-Partikel kg^{-1} als bei MP_{start} nachgewiesen. Allerdings war diese Reduktion nicht signifikant ($t_6 = -2,7$; $p = 0,082$). Die durchschnittliche Konzentration der LDPE-Partikel nach 17 Monaten (M17) und der PLA/PBAT-Partikel nach einem Monat und 17 Monaten (M1, M17) waren vergleichbar zur Konzentration nach MKS-Zugabe (MP_{start}) (Abbildung 48 a). Die Partikelgrößenverteilungen der extrahierten Partikel zeigten keine Veränderung mit der Zeit (Abbildung 48 b).

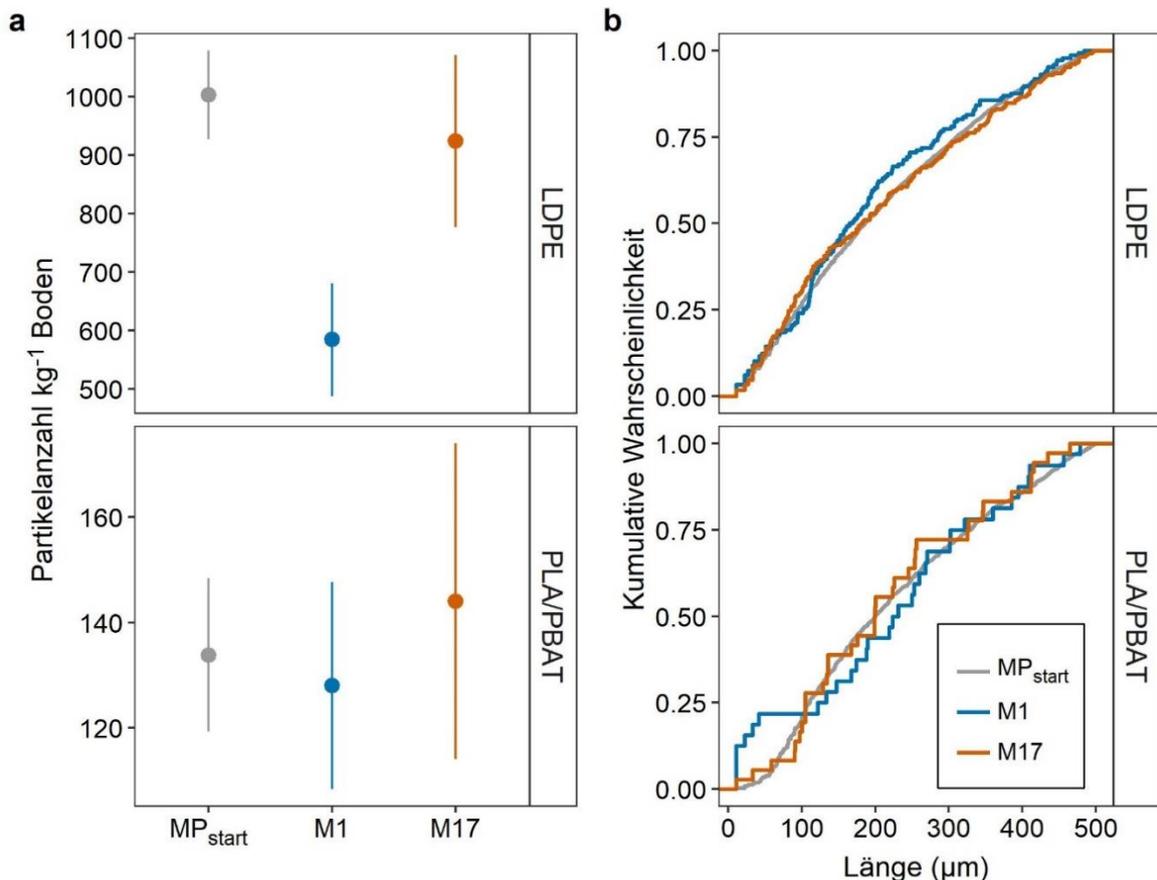


Abbildung 48: a) Partikelanzahl von LDPE- und PLA/PBAT-Partikeln nach Ausbringung, nach 1 Monat (M1) und nach 17 Monaten (M17) (n = 4).

Anmerkung: Abbildung 48 zeigt die Partikelanzahl von LDPE- und PLA/PBAT-Partikeln nach Ausbringung von MKS-Boden-Gemischen, wie sie zu Beginn des Feldversuchs auf die Parzellen ausgebracht wurden (MP_{start}), nach 1 Monat (M1) und nach 17 Monaten (M17) (n = 4). Die Daten sind als Mittelwerte ± Standardfehler dargestellt (Fehlerbalken). Zu beachten ist, dass die y-Achsen für LDPE und PLA/PBAT unterschiedlich skaliert sind.

4.1.3.3 Verbleib zugesetzter MKS > 0,5 mm im Boden

Am Ende des Feldversuchs (M17) wurden in allen analysierten Bodenproben (n = 36) insgesamt 57 Partikel > 0,5 mm gefunden. Von diesen Partikeln bestanden 27 aus Lack, 13 aus PE, 16 aus PLA/PBAT und 1 aus PP. Nur in den Bodenproben von zwei mit PLA/PBAT behandelten Parzellen ohne Düngemittelzugabe wurden bis zu zwei PLA/PBAT-Partikel gefunden. Die Bodenproben von drei mit LDPE behandelten Parzellen ohne Düngemittelzugabe enthielten bis zu zwei LDPE-Partikel. Aufgrund dieser geringen Wiederfindung war ein quantitativer Vergleich von Partikeln > 0,5 mm mit MP_{start} nicht möglich.

PLA/PBAT-Partikel kamen nur in Bodenproben von denjenigen Parzellen vor, denen PLA/PBAT zugesetzt worden war (Abbildung 49 a – c), während PE-Partikel (Abbildung 49 d – f) auch in Bodenproben von Parzellen vorkamen, denen kein MKS oder PLA/PBAT zugesetzt worden war. Während alle PLA/PBAT ähnlich aussahen (weiß und unregelmäßig geformt) (Abbildung 49 a – c), hatten die PE-Partikel unterschiedliche Formen und Farben. PE-Partikel traten in Form von Kunststofffolienresten (Abbildung 49 d), Fasern (Abbildung 49 e) oder unregelmäßig geformten Fragmenten (Abbildung 49 f) auf. Die Tatsache, dass die gefundenen PE-Partikel unterschiedlichen Typs waren, deutet darauf hin, dass sich diese teilweise schon vor Projektbeginn im Boden befanden. Alle Lackpartikel waren dem Aussehen nach vom selben Typ (Abbildung 49 g – i).

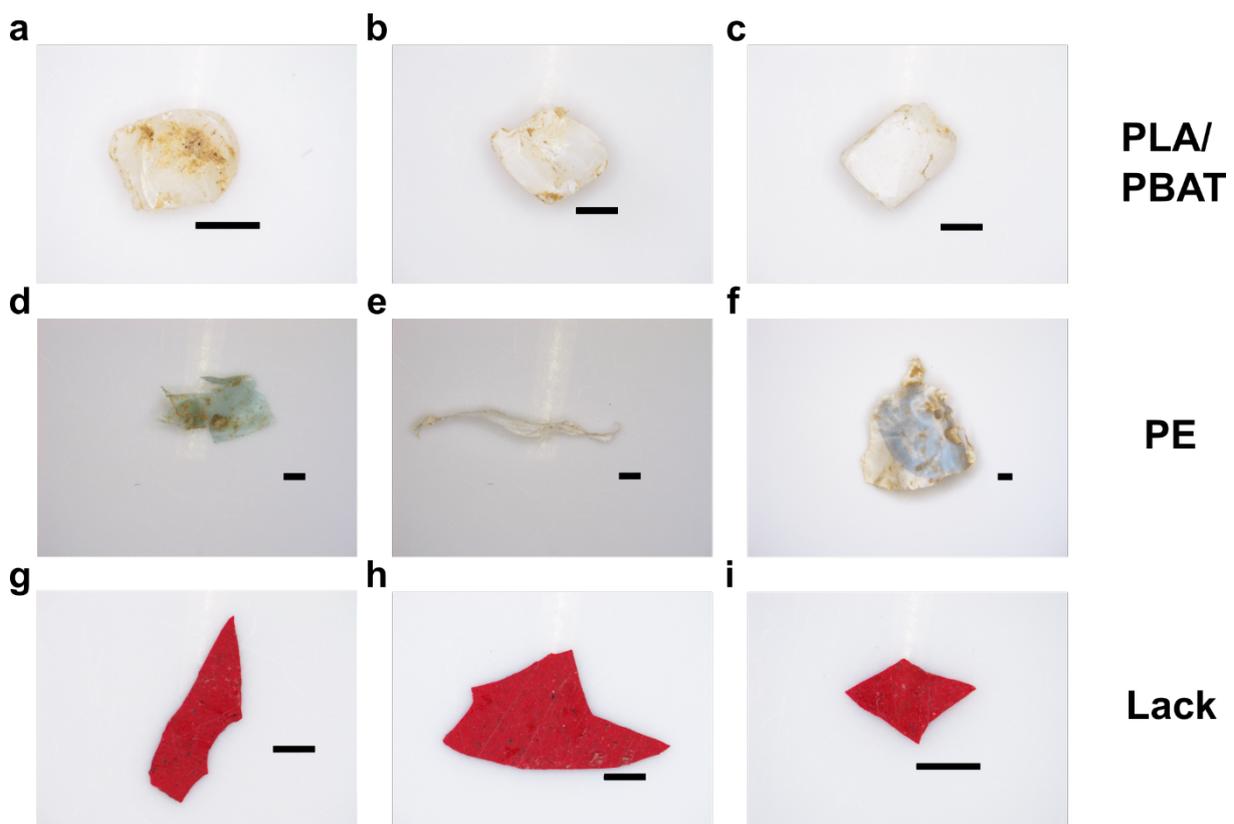


Abbildung 49: Repräsentative Mikroskopie-Aufnahmen von MKS > 0,5 mm:
a – c PLA/PBAT, d – f PE und g – i Lack, gefunden nach 17 Monaten (M17).

Anmerkung: Die Maßstabsbalken zeigen eine Länge von 1 mm.

4.1.3.4 Mikrobieller C-Umsatz im Boden und Ernteertrag

Die Zugabe von LDPE und PLA/PBAT hatte keine Effekte auf Enzymaktivitäten und den mikrobiellen C im Boden (Abbildung 50, Abbildung 51 a). Zugesetzte MKS wirkten sich auch nicht auf die Ernteerträge der Feldfrüchte aus (Abbildung 51 b). Erwartungsgemäß führte die

Zugabe von Kompost und flüssigem Gärprodukt zu einem Anstieg einiger Enzymaktivitäten (Abbildung 50). So reagierten beispielsweise insbesondere die β -Glucosidase- und Lipase-Aktivitäten fünf Monate nach Kompostzugabe mit einer Erhöhung von 47,3 bzw. 62,5 % im Vergleich zur Kontrolle ohne Düngemittelzugabe (Abbildung 50). Die Behandlung mit Gärprodukt stimulierte vor allem die β -Xylosidase an M5 mit einer Erhöhung von 40 auf 60 % im Vergleich zur Kontrolle (Abbildung 50). Die Silomaisbiomasse (Mittelwert \pm Standardabweichung: $19,70 \pm 2,85 \text{ t ha}^{-1}$) und der Kornertrag der Sommergerste ($6,57 \pm 0,82 \text{ t ha}^{-1}$) waren hingegen nicht durch die Zugabe von Kompost und flüssigem Gärprodukt beeinflusst (Abbildung 51 b & c).

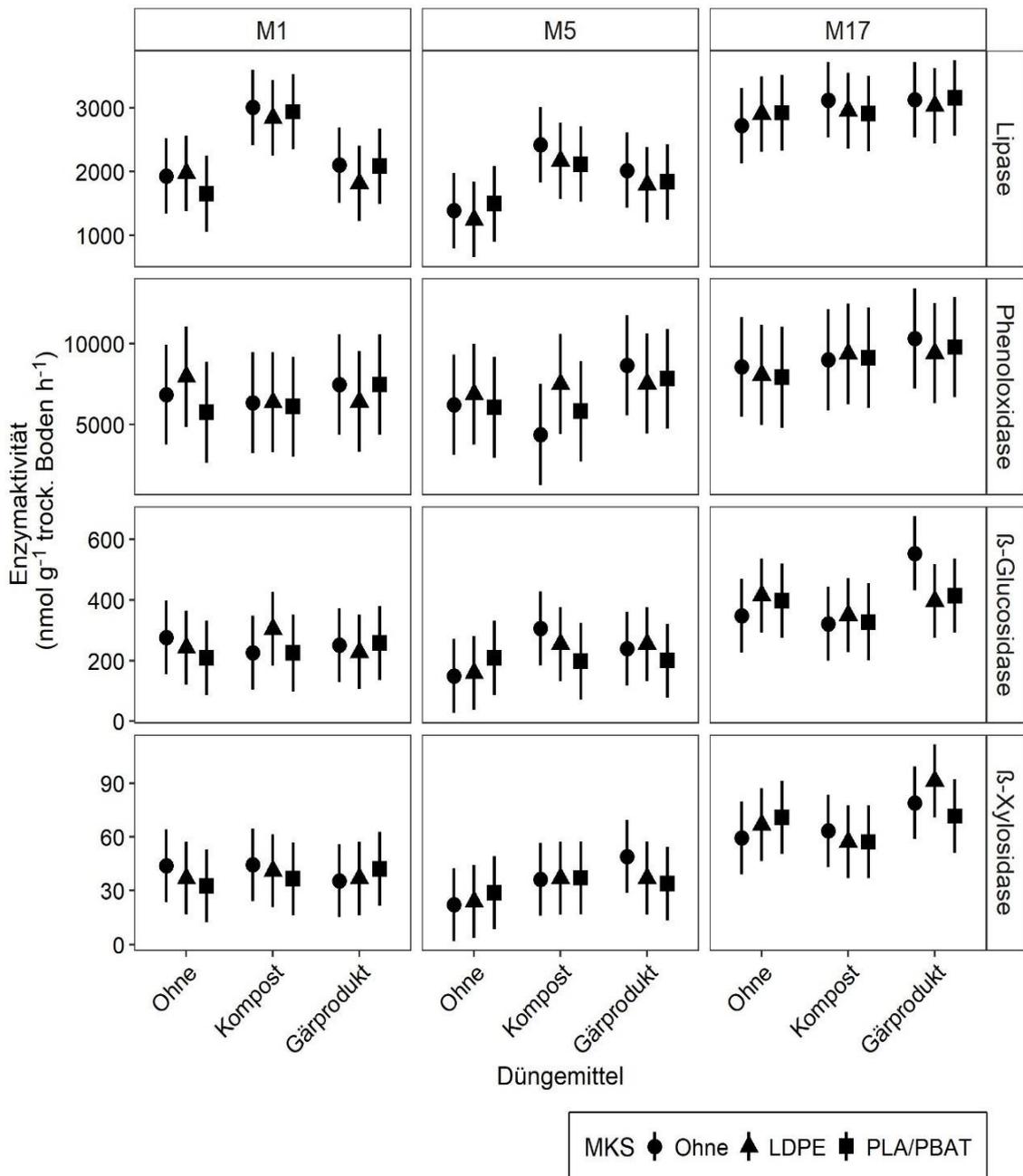


Abbildung 50: Extrazelluläre Enzymaktivitäten im Boden. N-Acetyl-Glucosaminidase, Phenoloxidase, β-Glucosidase und β-Xylosidase ist in Abhängigkeit von organischem Düngemittel (Ohne, Kompost, Gärprodukt) und MKS (Ohne, LDPE, PLA/PBAT).

Anmerkung: Die Enzymaktivitäten sind auf die TM des Bodens bezogen. Dargestellt sind die Mittelwerte und 95 % - Konfidenzintervalle (Fehlerbalken).

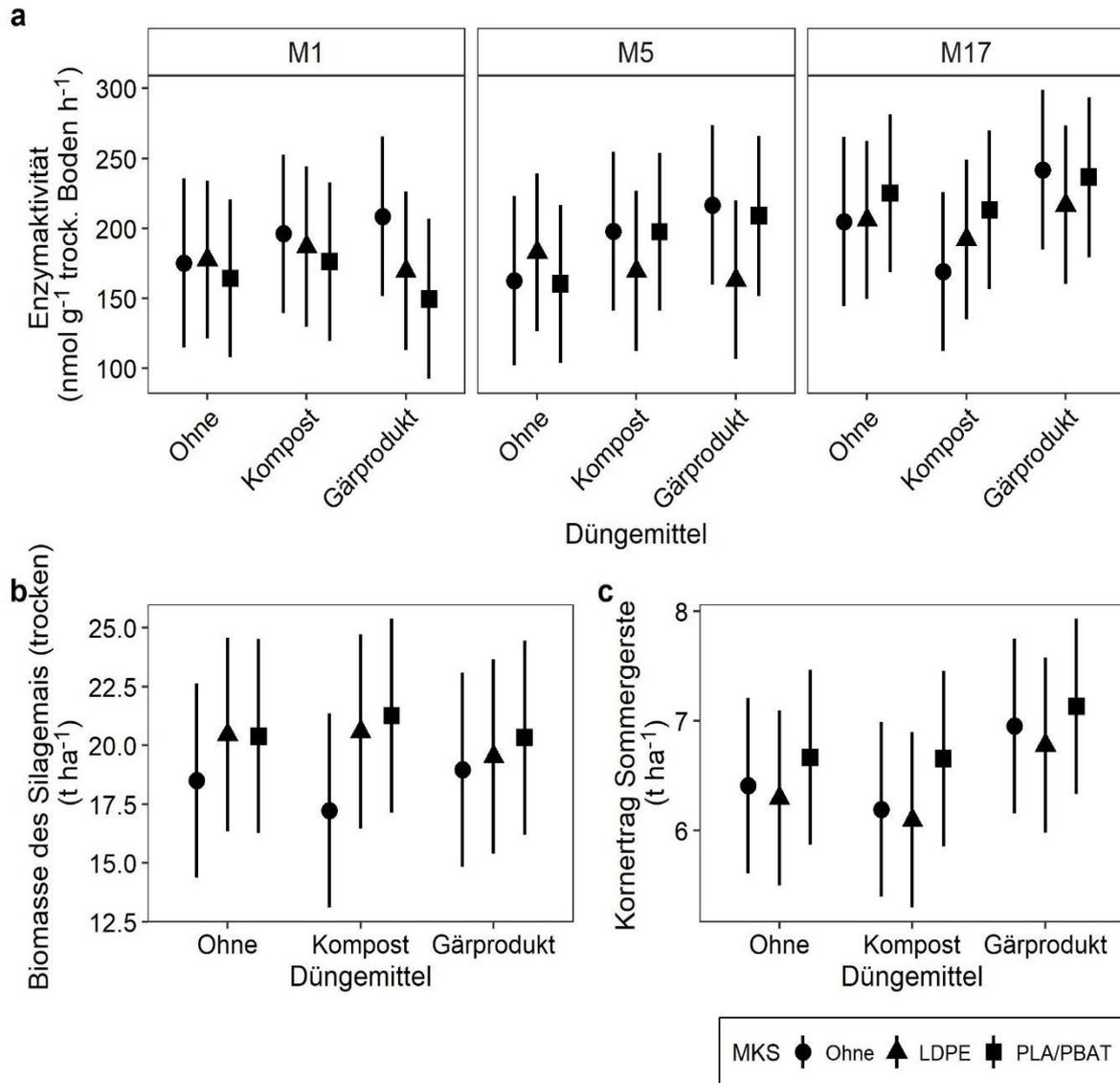


Abbildung 51: a Mikrobieller C b Biomasse des Silagemais und c Kornertrag der Sommergerste in Abhängigkeit von organischem Düngemittel (Ohne, Kompost, Gärprodukt) und MKS (Ohne, LDPE, PLA/PBAT).

Anmerkung: Dargestellt sind Mittelwerte und 95 % - Konfidenzintervalle (Fehlerbalken).

4.1.4 Diskussion

Der Boden des Feldversuchs enthielt 296 ± 110 (Mittelwert \pm Standardfehler) MKS-Partikel kg^{-1} . Diese Hintergrundbelastung ist niedriger als Schätzungen für Ackerböden mit regelmäßiger Kompostdüngung (888 ± 500 Partikel kg^{-1} ; van Schothorst et al., 2021), Klärschlammasbringung (930 ± 740 Partikel kg^{-1} für Kunststoffe geringer Dichte und 1100 ± 570 Partikel kg^{-1} für Kunststoffe hoher Dichte; van den Berg et al., 2020) und Kunststoffmulchfolien (18.760 Partikel kg^{-1} ; Zhang & Liu, 2018). Die häufigsten

Kunststofftypen im Ackerboden des Feldversuchs waren PP > PS > PE. Diese gehören zu den wirtschaftlich wichtigsten Polymeren und wurden auch zuvor am häufigsten im Boden nachgewiesen (PlasticsEurope, 2019; Zhang et al., 2021). In Übereinstimmung mit den vorliegenden Ergebnissen identifizierten Piehl et al. (2018) die Polymere PP, PS, PE als die am häufigsten vorkommenden MKS-Partikel (> 1 mm) eines konventionell bewirtschafteten Feldes ohne Zugabe von organischen Düngemitteln, Klärschlamm und Anwendung von Kunststoffmulchfolien. Auch in der vorliegenden Studie kann der Eintrag von MKS über Düngemittel und Kunststoffmulche (vgl. 4.1.2 Methodik) ausgeschlossen werden. Die Hintergrundbelastung des Ackerbodens im Feldversuch ist daher im Wesentlichen auf den Eintrag von unsachgemäß entsorgten Kunststoffabfall und die atmosphärische Deposition von MKS zurückzuführen (Allen et al., 2019; Dris et al., 2016; Scheurer & Bigalke, 2018). Die hohe Anzahl an extrahierten Lackpartikeln > 0.5 mm (Abbildung 49 g – i) deutet darauf hin, dass außerdem der Abrieb von Beschichtungen landwirtschaftlicher Maschinen eine wichtige Quelle für MKS in Ackerböden sein könnte.

Mehr als 75 % der gefundenen PP-, PS- und PE-Partikel in dem Ackerboden des Feldexperiments waren kleiner als 0,2 mm (PS: < 117 µm, PE: < 159 µm, PP: < 196 µm). Diese Ergebnisse bestätigen ähnliche bereits veröffentlichte Befunde (Wang, J. et al., 2021). Mit der verwendeten MKS-Analytik können nach gegenwärtigem Stand der Technik ausschließlich Partikel mit einer Größe von 10 µm oder mehr quantifiziert werden (Möller et al., 2020). Es ist zu erwarten, dass nicht erfasste Partikel < 10 µm noch häufiger vorkommen. Dies könnte erhebliche Folgen für Bodenorganismen haben, denn Partikel < 10 µm können von Schlüsselspezies des Bodennahrungsnetzes wie Nematoden aufgenommen werden und Darmschäden und Neurotoxizität verursachen (Fueser et al., 2019; Lei, Wu et al., 2018; Schöpfer et al., 2020; Wang, Q. et al., 2021). Insbesondere PS-Partikel, die in den vorliegenden Studien die kleinsten waren (Median von 60 µm), stellen ein Risiko für Bodentiere dar. Weitere Fortschritte zur Aufhebung bestehender Beschränkungen in der MKS-Analytik (Möller et al., 2020) sind für die Quantifizierung sehr kleiner MKS bis hinunter zum Nanometerbereich unbedingt erforderlich, um die potenziellen Gefahren von MKS für Bodenorganismen und -funktionen besser beurteilen zu können.

Sowohl das konventionelle LDPE als auch das unbehandelte biologisch abbaubare PLA/PBAT verblieben über 17 Monate im Boden des Feldversuchs. Die Anzahl der zugesetzten LDPE-Partikel < 0,5 mm (584 – 1003 Partikel kg⁻¹, Abbildung 48) in der vorliegenden Studie entspricht in etwa der LDPE-Akkumulation, die nach 7 -20 Jahren Kompostanreicherung laut (van Schothorst et al., 2021) zu erwarten ist. PE ist aufgrund seiner großen Molekülgröße, seines Mangels an funktionellen Gruppen und seiner hohen Hydrophobie nahezu nicht

mikrobiell abbaubar (Albertsson, 1978; Krueger et al., 2015; Meng et al., 2021). Entsprechend wurden im Feldversuch unveränderte Partikelgrößenverteilungen für LDPE im Vergleich zu den Ausgangspartikeln gefunden, die auf eine fehlende Fragmentierung im untersuchten Boden hinweisen. Ähnliche Ergebnisse konnten in den wenigen verfügbaren Vergleichsstudien festgestellt werden, die unter Feldbedingungen durchgeführt wurden (Liao & Chen, 2021; Rudnik & Briassoulis, 2011). PLA zeigte in einem Feldversuch in einem Boden im Mittelmeerraum nach 11 Monaten zwar Veränderungen der mechanischen Eigenschaften, war aber visuell kaum desintegriert (Rudnik & Briassoulis, 2011). In einer anderen Studie wurde bei PLA bzw. PBAT ein Massenverlust von 1 – 8 % bzw. 1 – 7 % nach 6 Monaten beobachtet, wohingegen ein PBAT/PLA-Blend (90/10 Gew. %) keinen nennenswerten Abbau zeigte (Liao & Chen, 2021). Ursache für die schlechte Abbaubarkeit des Blends ist wahrscheinlich das Herstellungsverfahren der PLA/PBAT-Mischungen („Blending“) (Liao & Chen, 2021) und das Materialdesign, welches eine schnelle industrielle Kompostierung begünstigt. Die mit dem „Blending“ verbundenen Veränderungen der physikalischen Eigenschaften und der Erhöhung der Hydrophobie behindern möglicherweise die mikrobielle Besiedlung und damit den mikrobiellen Abbau (Liao & Chen, 2021). Selbst in Laborstudien ist der biologische Abbau von PLA/PBAT-Mischungen unter optimalen Bedingungen für den mikrobiellen Abbau (Lufttemperatur: 25 – 28 °C, Bodenfeuchtigkeit: 60 – 80 %) langsam (Freitas et al., 2017; Palsikowski et al., 2018). Palsikowski et al. (2018) beobachteten 10 % Mineralisierung eines PLA/PBAT-Blends (75 / 25 Gew. %) von 180 Tagen und Freitas et al. (2017) 18 % Mineralisierung eines PLA/PBAT-Blends (45 / 55 Gew. % nach 126 Tagen). Basierend auf den vorliegenden Ergebnissen muss davon ausgegangen werden, dass sich in den Boden eingetragene nicht biologisch vorbehandelte PLA/PBAT-Partikel unter Feldbedingungen im Boden anreichern.

Die Zugabe des inerten Polymers LDPE (Restrepo-Flórez et al., 2014) wirkte sich wie erwartet nicht auf den C-Umsatz im Boden aus. Im Gegensatz zu den hier vorliegenden Ergebnissen fanden Lin et al. (2020) jedoch bei allen Konzentrationen zwischen 36 und 86 % einen erheblichen Anstieg der am C-Umsatz beteiligten Enzyme wie α -Glucosidase und β -Glucosidase. Die Aktivität der L-Leucin-Aminopeptidase, ein am N-Umsatz beteiligtes Enzym, stieg sogar um 83 bis 116 %. Allerdings wurden in dem Versuch von Lin et al. (2020) deutlich höhere Konzentrationen von 5 – 15 g m⁻² (11.361 – 39.172 Partikeln kg⁻¹), im Vergleich zu 2 g m⁻² (584 – 1.003 Partikel kg⁻¹) in der vorliegenden Studie, verwendet. Eine aktuelle Meta-Analyse ergab, dass kritische Auswirkungen (sowohl negativ als auch positiv) auf Enzymaktivitäten, gelösten organischen C und N erst ab einer kritischen Konzentration auftreten (Kim & Rillig, 2021). Unter der Annahme einer Lagerungsdichte von 1,4 g cm⁻³ und

homogener Verteilung der MKS durch Bodenbearbeitung bis zu einer Tiefe von 10 cm lassen sich die im Feldversuch verwendeten 2 g MKS m⁻² in eine massenbasierte Konzentration umrechnen (14 mg kg⁻¹), die deutlich unterhalb der kritischen Konzentration liegt (1 g kg⁻¹; Kim & Rillig, 2021).

Auch die Zugabe von PLA/PBAT-Partikeln wirkte sich weder auf Aktivitäten am C-Umsatz beteiligter Enzyme noch auf den mikrobiellen C aus. Ursache dafür war höchstwahrscheinlich die Persistenz der zugesetzten PLA/PBAT-Partikel im Boden. Die Bodenmikroorganismen konnten offensichtlich die zugesetzte PLA/PBAT-Mischung nicht bzw. nur in geringem Umfang als C-Quelle nutzen. Auch könnte die geringe Konzentration von PLA/PBAT-Partikeln in der vorliegenden Studie der Grund sein, warum keine Veränderungen bei den C-umsetzenden Enzymen und der mikrobiellen Biomasse festgestellt werden konnten.

Der auch in der Studie belegten stimulierende Effekte von Komposten und flüssigen Gärresten auf die Aktivitäten von am C-Umsatz beteiligten Enzymen ist vielfach belegt (Bowles et al., 2014; Heidari et al., 2016; Vinhal-Freitas et al., 2010). Der Schwerpunkt der vorliegenden Untersuchung lag jedoch auf der Untersuchung der kombinierten Auswirkung von MKS mit Kompost und Gärrest auf den C-Kreislauf und die mikrobielle Biomasse. Ein solch kombinierter Effekt war in der vorliegenden Studie jedoch nicht festzustellen.

Auch die Ernteerträge, d. h. die Biomasse von Silomais und der Kornertrag von Sommergerste, wurden in der vorliegenden Studie durch die Zugabe von MKS nicht beeinflusst. Direkte Auswirkungen durch Aufnahme und Akkumulation in Pflanzen wurden für MKS < 2 µm beobachtet (Mateos-Cárdenas et al., 2021). Dies war im Feldexperiment unwahrscheinlich, da die MKS zu groß für eine Aufnahme durch die Pflanze waren. Während weitere Mechanismen von MKS-Effekten auf Pflanzen noch unklar sind, werden Veränderungen der Bodenstruktur, der Schüttdichte, verbesserte Belüftung und Mikroporosität sowie Bewurzelung und Nährstoffimmobilisierung als mögliche Effekte für negative oder positive Auswirkungen von MKS auf die Pflanzenbiomasse diskutiert (Boots et al., 2019; Lozano et al., 2021; Mateos-Cárdenas et al., 2021; Qi et al., 2018; Rillig et al., 2019). Solche indirekten Effekte treten wahrscheinlich erst auf, wenn bestimmte MKS-Konzentrationen überschritten werden (Kim & Rillig, 2021). Beim Einsatz von Kunststoffmulchfolien kann die MKS-Belastung sehr hoch sein und hier sind die beschriebenen indirekten Effekte erwartbar (Büks & Kaupenjohann, 2020; Zhang et al., 2020; Zhang & Liu, 2018). Für Ackerflächen mit niedrigeren MKS-Konzentrationen, wie in der vorliegenden Studie, sind mittelfristig jedoch keine negativen Auswirkungen von MKS auf die Pflanzenbiomasse zu erwarten.

4.2 Laborversuch zur Abbaubarkeit und Auswirkung von MKS im Boden (IBS, IBBS)

4.2.1 Motivation und Ziele

Analog zu anderen biologisch relevanten Sphären im Boden wie der Rhizosphäre (Beare et al., 1995) bildet die Plastisphäre im Boden einen spezifischen mikrobiellen Lebensraum, der MKS-Oberflächen und den angrenzenden, von MKS beeinflussten Boden miteinschließt (Rüthi et al., 2020; Zhou et al., 2021). Veränderungen der mikrobiellen Gemeinschaft in der Plastisphäre könnten Auswirkungen auf mikrobielle Prozesse wie den C- und Nährstoffkreislauf zur Folge haben (Rillig et al., 2021). Am C-Umsatz im Boden beteiligte Enzyme und die mikrobielle Aktivität zeigten bislang allerdings kein klares Reaktionsmuster gegenüber MKS (Xu et al., 2020).

In der Plastisphäre können einige Bodenmikroorganismen den C von MKS für Wachstum und Atmung nutzen, indem sie den biologischen Abbau von MKS mithilfe spezifischer Enzyme initiieren (Krueger et al., 2015; Ng et al., 2018; Rillig et al., 2021). Die enzymatische Hydrolyse von MKS wurde als der geschwindigkeitskontrollierende Schritt beim biologischen Abbau von Polyestern identifiziert (Zumstein et al., 2017; Zumstein et al., 2018) und ist daher von entscheidender Bedeutung für das Verständnis über den Verbleib von MKS im Boden.

Der biologische Abbau von PLA und PBAT im Boden kann durch bestimmte Umweltbedingungen gehemmt sein (Agarwal, 2020). Generell ist die Bodenfeuchte eine entscheidende Steuergröße biogeochemischer Prozesse und auch des biologischen Abbaus von MKS im Boden (Kliem et al., 2020). In der Regel verlangsamt sich die Hydrolyse und damit der biologische Abbau von Polyhydroxyalkanoaten in trockenen Böden (Meereboer et al., 2020).

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Partikelgröße. Mit abnehmender Partikelgröße nimmt die spezifische Oberfläche von MKS zu. Ein höherer Anteil der Partikel ist direkt zugänglich für Bodenmikroorganismen und Enzyme und kleine MKS werden deshalb möglicherweise schneller biologisch abgebaut als größere (Sander et al., 2019; Yuan et al., 2020). Um den Verbleib von MKS besser zu verstehen und die Auswirkungen von MKS auf den C-Kreislauf im Boden zu bewerten, wurden im Rahmen des Kapitels 4.2 mikrobielle Interaktionen von MKS-Boden-Gemischen (mit MKS versetzter Boden) und einzelnen MKS-Partikeln mit Bodenmikroorganismen in einem Mikrokosmenexperiment untersucht. Dabei wurde die biologische Abbaubarkeit von hydrolysierbaren MKS (PLA/PBAT) und nicht-

hydrolysierbaren MKS (LDPE) in zwei verschiedenen Größenfraktionen und die potenziellen Auswirkungen von MKS auf Mikroorganismen in trockenem und feuchtem Boden geprüft.

4.2.2 Methodik

Das Versuchsdesign umfasste die Faktoren MKS (Kontrolle (ohne MKS), LDPE, PLA/PBAT²), Partikelgröße (< 0,5 und 0,5 – 2 mm) und Bodenfeuchte (feucht: pF 2, trocken: pF 4). Polyhydroxybutyrat (PHB) diente als biologisch abbaubares Referenzmaterial (DIN EN ISO 17556:2012- 12, 2012). MKS wurden dem Boden in einer Konzentration von 1 g kg⁻¹ (0,1 Gew. %) zugesetzt. Für den Versuch wurde auf 2 mm gesiebter Oberboden (0 – 20 cm) von der Ackerfläche des Feldversuchs verwendet (siehe 4.1.2 Methodik). Die Bodeneigenschaften sind mit Ausnahme des pH-Werts in 3.1.2 zu finden. Der pH-Wert des Bodens betrug zum Beginn des Abbauersuchs 5,4. Im Anschluss wurde die Versuchsfläche des Feldversuches gekalkt. Je Behandlung wurden vierfach repliziert 150 g Boden in Mikrokosmen bei 25 °C in einer Klimakammer inkubiert. Von August 2018 bis März 2019 wurde die potenzielle aerobe biologische Abbaubarkeit von MKS im Boden in einem Mikrokosmenversuch mittels Messung der MKS-Mineralisierung nach DIN EN ISO 17556:2012 - 12 (2012) geprüft. Entsprechend wurde die MKS-Mineralisierung anhand des freigesetzten CO₂ mittels Titration im Vergleich zu einem MKS-freien Kontrollboden ermittelt. Auswirkungen von MKS auf den C-Umsatz bzw. auf die mikrobielle Zusammensetzung der wichtigsten mikrobiellen Gruppen (Pilze, gramnegative und grampositive Bakterien) im Boden wurden anhand von Enzymaktivitäten des C-Kreislaufs (siehe 4.1.2.2 Analysen) bzw. Phospholipid-Fettsäuren (PLFA)-Konzentrationen als Bioindikatoren ermittelt. Außerdem wurden große Partikel (0,5 – 2 mm) am Ende des Experiments aus dem Boden extrahiert und mikrobielle Prozesse auf der Oberfläche dieser MKS-Partikel untersucht. Die Lipase-Aktivität wurde als Indikator der enzymatischen Hydrolyse von Esterbindungen des PLA/PBAT quantifiziert, die β -Glucose-Aktivität als Proxy für die Aktivität am C-Kreislauf beteiligter Mikroorganismen. Die gemessenen Enzymaktivitäten der jeweiligen Einzelpartikel wurden auf die spezifische Oberfläche der MKS-Partikel bezogen. Die Oberfläche der Partikel wurde mittels 3D-Mikroskopie in enger Zusammenarbeit mit dem IBBS bestimmt. Um Enzymaktivitäten auf der Oberfläche der Partikel mit den Enzymaktivitäten im Boden vergleichen zu können, wurde die spezifische Oberfläche des Bodens mit der Methylenblau-Methode nach Yukselen und Kaya (2006) bestimmt. Morphologische Veränderungen und die mikrobielle Besiedlung der aus dem Boden extrahierten MKS-Partikel wurden mittels REM untersucht.

² Zusammensetzung: 85 Gew. % PLA; 15 Gew. % PBAT

4.2.3 Ergebnisse

4.2.3.1 MKS-Mineralisierung

LDPE-Partikel zeigten nach 230 Tagen keine signifikante Mineralisierung im Boden (Abbildung 52). Auch unbehandelte PLA/PBAT-Partikel wurden im feuchten Boden (pF 2) nicht mineralisiert. Lediglich PLA/PBAT-Partikel mit einer Partikelgröße von 0,5 – 2 mm wiesen im trockenen Boden (pF 4) eine signifikante Mineralisierung auf (15 %; $p = 0,009$). Der Mineralisierungsgrad von PLA/PBAT-Partikeln $< 0,5$ mm betrug im trockenen Boden im Mittel nur 11 % und war nicht signifikant von Null verschieden ($p = 0,095$). PHB wurde nahezu vollständig mineralisiert und wies einen Mineralisierungsgrad von 84 % im trockenen und 131 % im feuchten Boden auf.

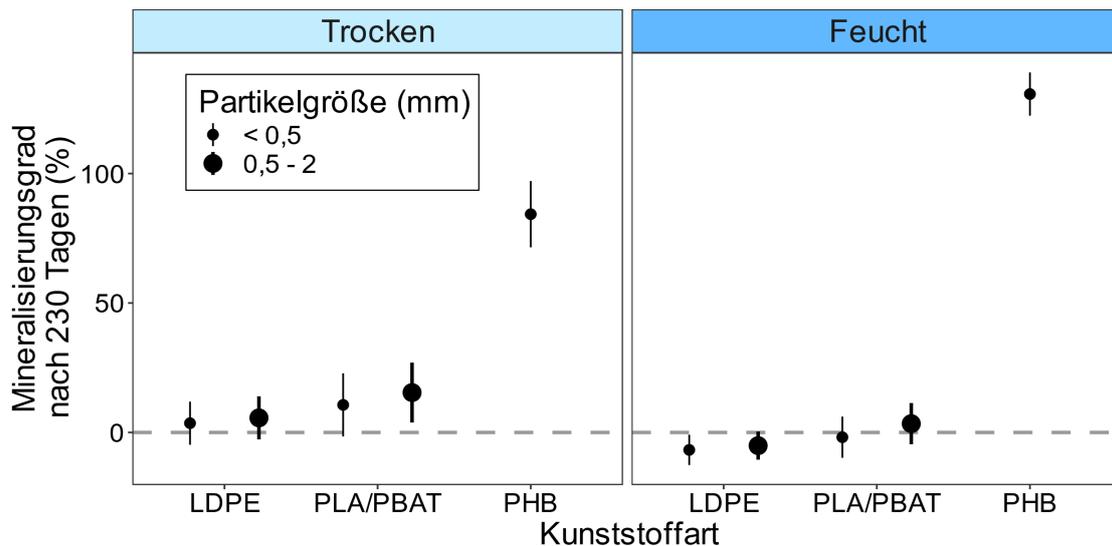


Abbildung 52: Mineralisierungsgrad der MKS nach 230 Tagen Inkubation im Boden in Abhängigkeit der Kunststoffart (LDPE, PLA/PBAT und PHB).

Anmerkung: Bodenfeuchte (trocken: pF 4 / feucht: pF 2) sowie Partikelgröße ($< 0,5$ und 0,5 – 2 mm).

4.2.3.2 Auswirkungen von MKS im Boden

Auswirkungen von MKS auf die Mikroorganismen im Boden wurden anhand der spezifischen mikrobiellen Atmungsraten, der spezifischen Aktivitäten von am C-Umsatz beteiligten Enzymen und der PLFA-Konzentrationen im Boden beurteilt. Die Zugabe von PLA/PBAT- und LDPE-Partikeln zum Boden (1 g MKS kg^{-1} Boden) hatte keinen Einfluss auf die mikrobielle Aktivität und die Abundanz und Zusammensetzung der wichtigsten mikrobiellen Gruppen im Boden (Abbildung 53).

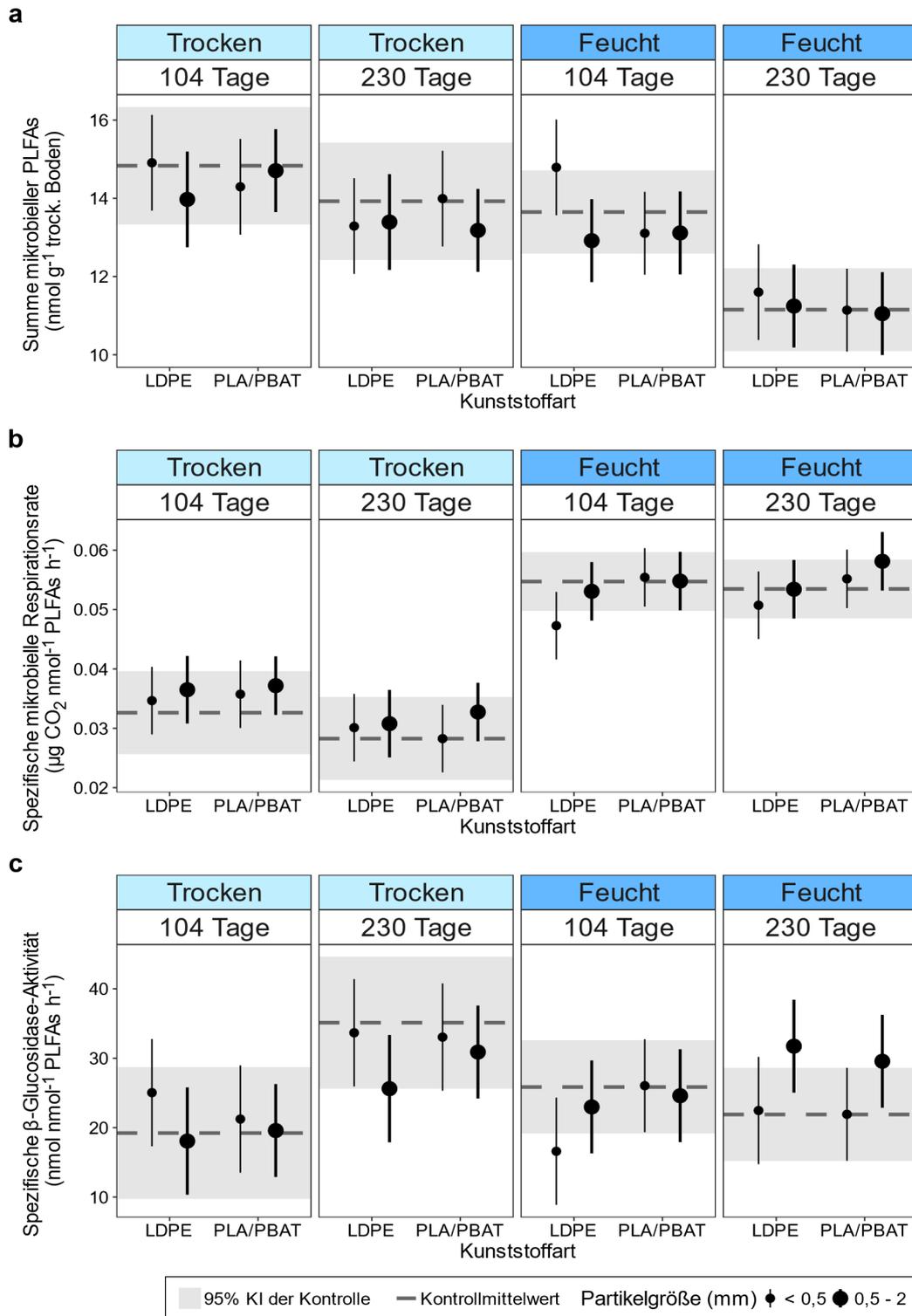


Abbildung 53: a Gesamtheit mikrobieller PLFAs, b spezifische mikrobielle Respirationsrate und c spezifische mikrobielle β -Glucosidaseaktivität im Boden in Abhängigkeit von der Kunststoffart, Bodenfeuchte sowie Partikelgröße.

Anmerkung: KI steht für Konfidenzintervall.

4.2.3.3 Morphologische Veränderungen und mikrobielle Prozesse auf der MKS-Oberfläche

Während es bei den LDPE-Partikeln nach 230 Tagen Inkubation im Boden keine Hinweise auf morphologische Veränderungen gab (Abbildung 54 c, g), wiesen einige PLA/PBAT-Partikel Risse in ihrer Oberflächenstruktur auf (Abbildung 54 e, i). Diese Risse in der Oberfläche der PLA/PBAT-Partikel waren im feuchten Boden durchgängig, im trockenen Boden dagegen punktuell ausgeprägt (Abbildung 54 i im Vergleich zu Abbildung 54 e). Im Vergleich dazu zeigten unbehandelte MKS aus LDPE und PLA/PBAT eine intakte und vergleichsweise glatte Oberfläche (Abbildung 54 a, b). Eine mikrobielle Besiedlung der MKS-Partikel konnte auf den REM-Bildern nicht beobachtet werden (Abbildung 54 d, f, h, j).

Kunststoffart und Bodenfeuchte beeinflussten die Lipase-Aktivität auf der Oberfläche der MKS-Partikel. Die Lipase-Aktivitäten waren auf PLA/PBAT-Partikeln signifikant höher als auf LDPE-Partikeln. Die Lipase-Aktivitäten auf den Oberflächen von MKS-Partikeln, die in trockenem Boden inkubiert wurden, waren höher als im feuchten Boden. Der Median der oberflächenbezogenen Lipaseaktivität von PLA/PBAT-Partikeln im trockenen Boden ($0,28 \text{ nmol mm}^{-2} \text{ MKS h}^{-1}$) und feuchtem Boden ($0,07 \text{ nmol mm}^{-2} \text{ MKS h}^{-1}$) war 9100- bzw. 2200-mal höher als die des angrenzenden Bodens (Abbildung 55). Bei LDPE waren die oberflächenbezogenen medianen Lipase-Aktivitäten der Partikel im Vergleich zum benachbarten Boden um den Faktor 620 (feuchter Boden) bis 1000 (trockener Boden) erhöht.

Der Median der β -Glucosidase-Aktivität der inkubierten PLA/PBAT-Partikel im trockenen Boden ($0,02 \text{ nmol mm}^{-2} \text{ MKS h}^{-1}$, 77 % der Partikel mit signifikanter Aktivität) war im Vergleich zum angrenzenden Boden ($8 \times 10^{-6} \text{ nmol mm}^{-2} \text{ Boden h}^{-1}$) erhöht. Nur 26 % der aus feuchtem Boden extrahierten PLA/PBAT-Partikel und wenige LDPE-Partikel in trockenem (9 %) und feuchtem Boden (2 %) zeigten β -Glucosidase-Aktivitäten (Abbildung 55). Einzelne PLA/PBAT-Partikel, die in feuchtem Boden inkubiert wurden, sowie LDPE-Partikel, die sowohl aus trockenem als auch aus feuchtem Boden extrahiert wurden, wiesen jedoch eine 250- bis 12400-mal höhere β -Glucosidase-Aktivität auf als der angrenzende Boden (Abbildung 55). Inkubierte PLA/PBAT-Partikel wiesen hellbraune Flecken auf (Abbildung 56). Auch Partikel ohne Verfärbung zeigten jedoch hohe Lipase-Aktivitäten von bis zu $1,8 \text{ nmol mm}^{-2} \text{ MKS h}^{-1}$. Nicht inkubierte MKS wiesen keine messbare Enzymaktivität auf.

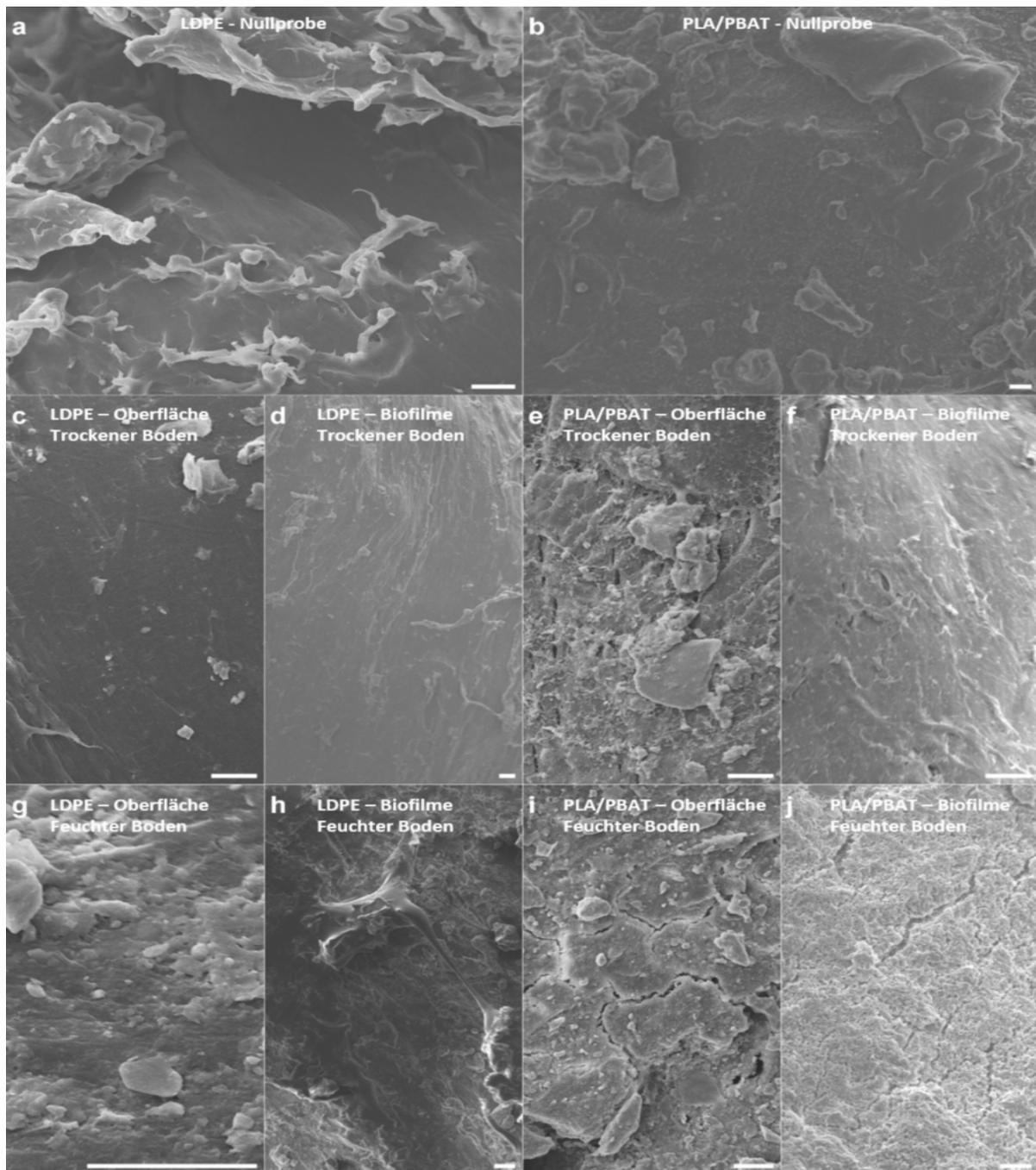


Abbildung 54: REM-Aufnahmen der im Boden vergrabenen Mikrokunststoffe des Abbauersuchs.

Anmerkung: a zeigt unbehandeltes LDPE und b unbehandeltes PLA/PBAT. Die repräsentativen Aufnahmen der morphologischen Oberflächenveränderungen zeigt c LDPE aus trockenem Boden ($pF = 4$), e PLA/PBAT aus trockenem Boden ($pF = 4$), g LDPE aus feuchtem Boden ($pF = 2$) und i PLA/PBAT aus feuchtem Boden ($pF = 2$). Die repräsentativen Aufnahmen der Bildung von Biofilmen zeigt d für LDPE aus trockenem Boden ($pF = 4$), f für PLA/PBAT aus trockenem Boden ($pF = 4$), h für LDPE aus

feuchtem Boden ($pF = 2$) und j für PLA/PBAT aus feuchtem Boden ($pF = 2$). Alle Bilder wurden mit einem Detektor für Sekundärelektronen erstellt. Alle Maßstabsbalken zeigen 20 μm an.

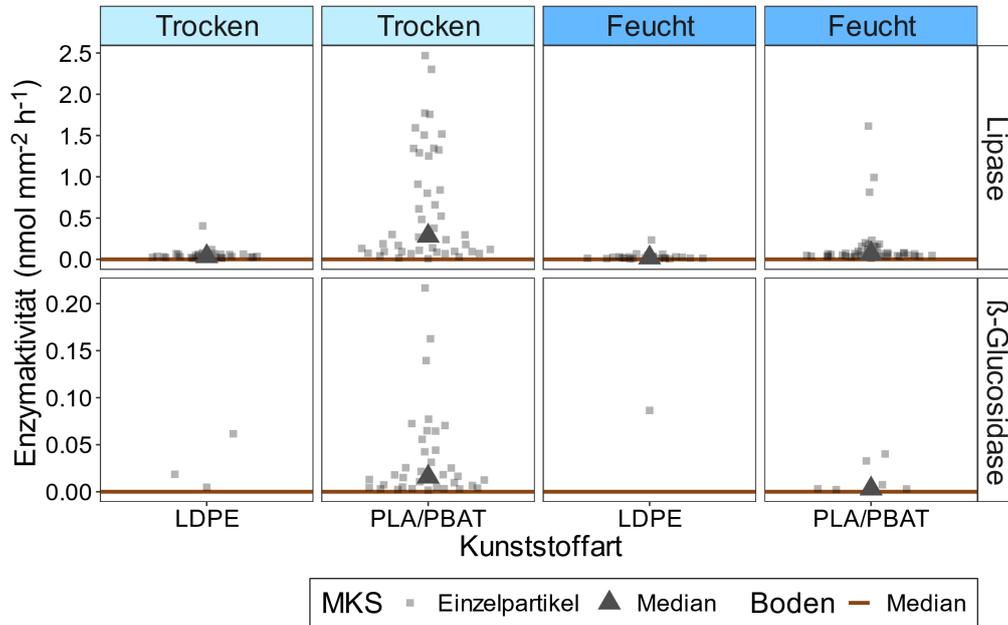


Abbildung 55: Lipase- und β -Glucosidase-Aktivitäten auf der Oberfläche von MKS-Partikel bzw. des Bodens in Abhängigkeit von der Kunststoffart und der Bodenfeuchte.

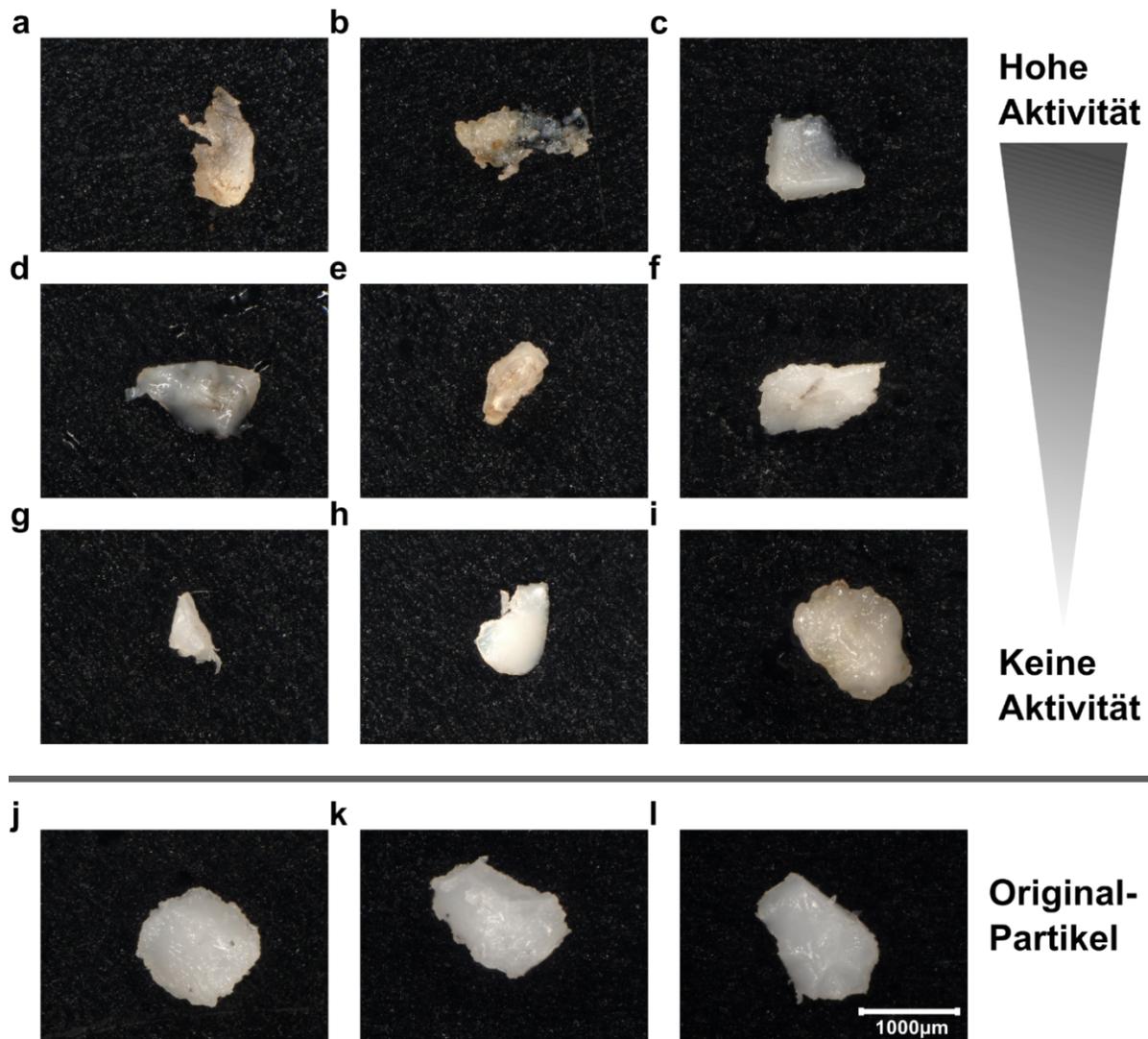


Abbildung 56: PLA/PBAT-Partikel nach 230 Tagen Inkubation in trockenem Boden (pF 4).

Anmerkung: MKS-Partikel a – c mit hoher Lipase-Aktivität, d – f mit Lipase-Aktivität zwischen dem 25. und 75. Perzentil und g – i ohne quantifizierbare Aktivität. j – l zeigen nicht inkubierte PLA/PBAT-Kontrollpartikel.

4.2.4 Diskussion

Die biologische Abbaubarkeit von hydrolysierbaren (PLA/PBAT) und nicht-hydrolysierbaren (LDPE) MKS im Boden wurde auf Grundlage der MKS-Mineralisierung bewertet. Es fand keine Mineralisierung von LDPE statt. Dies war zu erwarten, da LDPE als nicht hydrolysierbares LDPE für extrazelluläre hydrolytische Enzyme nur nach einer anfänglichen chemischen Oxidation zugänglich ist, die durch Hitze oder UV-Licht katalysiert wird (Krueger et al., 2015; Restrepo-Flórez et al., 2014). Von unbehandelten PLA/PBAT-Partikeln wurden nur größere Partikelfragmente in trockenem Boden signifikant mineralisiert. Allerdings war deren Mineralisierung (15 % innerhalb von 230 Tagen) im Vergleich zum Referenzpolymer PHB

(84 %) gering. Während Studien zum biologischen Abbau von Partikeln fehlen, gibt es einige wenige Studien, die die Mineralisierung von PLA/PBAT-Folien untersucht haben (Freitas et al., 2017; Palsikowski et al., 2018). In diesen Studien wurde eine vergleichbare Mineralisierung von PLA/PBAT-Filmen beobachtet – 10 % innerhalb von 180 Tagen für PLA/PBAT-C (75 / 25 Gew. %) (Palsikowski et al., 2018) und 18 % innerhalb von 126 Tagen für PLA/PBAT-C (45 / 55 Gew. %) (Freitas et al., 2017). Die relativ geringe Mineralisierung des PLA/PBAT-Polymers in der vorliegenden Studie hängt höchstwahrscheinlich mit dem geringen PBAT-Gehalt (15 % Gew. %) zusammen. Möglicherweise wurde das PBAT selektiv mineralisiert, da PBAT im Boden in der Regel biologisch besser abbaubar ist als PLA (Palsikowski et al., 2018; Weng et al., 2013). Das Ausbleiben von nennenswerter PLA/PBAT-Mineralisierung in feuchtem Boden ($pF = 2$) könnte durch eine geringere Abundanz von PLA/PBAT-abbauenden Mikroorganismen bedingt durch insgesamt weniger Mikroorganismen in feuchtem Boden erklärt werden (Abbildung 53a).

Die Zugabe von LDPE- und PLA/PBAT-Partikeln zum Boden (1 g kg^{-1} ; 0,1 Gew. %) hatte keine Auswirkungen auf das Vorkommen und die Zusammensetzung der wichtigsten mikrobiellen Gruppen, die spezifischen Atmungsraten und die spezifischen Enzymaktivitäten des Bodens. Interessanterweise stimulierte das Referenzpolymer PHB das Wachstum gramnegativer Bakterien, die PHB als Energie- und C-Quelle nutzten (Meereboer et al., 2020). Es wurde jedoch keine erhöhten spezifischen Lipaseaktivitäten entdeckt, die den biologischen Abbau von PHB katalysieren könnten (Meereboer et al., 2020). Vermutlich waren die Intensität der Hydrolyse und die Lipaseaktivität zu Beginn der Inkubation am höchsten, als die meiste PHB-Mineralisierung stattfand (in den ersten 100 Tagen). Nach 104 und 230 Tagen stabilisierten sich die Lipase-Aktivitäten möglicherweise auf das Hintergrundniveau. Die Überschätzung der PHB-Mineralisierung im feuchten Boden (131 %, Abbildung 52) geht vermutlich auf den sprunghaften Anstieg der CO_2 -Produktionsraten in den ersten beiden Wochen zurück. Möglicherweise löste die PHB-Zugabe im feuchten Boden ($pH 2$) eine Stressreaktion bei Mikroorganismen aus, so dass die PHB-Zugabe zu einer erhöhten Basalatmung im Vergleich zur Kontrollvariante führte.

Die Autoren fanden eine relativ höhere Abundanz von potenziell PLA/PBAT abbauenden Bakterienarten (Sphingomonas, Bacillus, Streptomyces) in dem die Folien umgebenden Boden. Im Gegensatz dazu wurde festgestellt, dass reine PBAT-Folien ($2 \times 2 \times 0,1 \text{ cm}^3$) im Boden das Wachstum von Ascomycota-Pilzen in der Nähe der Folienoberflächen fördern, was sich auf die Pilzzusammensetzung im Boden im Vergleich zum kunststofffreien Kontrollboden auswirkt (Muroi et al., 2016). Die Autoren vermuteten, dass der Gewichtsverlust der PBAT-Folien, den sie nach 7 Monaten im Boden beobachteten, auf Abbauprozesse (Hydrolyse und

Mineralisierung) durch diese spezifischen Pilze zurückzuführen ist, da sie Cutinase-ähnliche Enzyme produzieren können, die am Abbau von PBAT beteiligt sind (Muroi et al., 2016). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen konnten in der vorliegenden Studie auf der Grundlage der PLFA-Analysen keine Zunahme der Abundanzen der wichtigsten mikrobiellen Gruppen (gramnegative und grampositive Bakterien und Pilze) in mit MKS versetzten Boden im Vergleich zu MKS-freiem Boden feststellen. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen fanden Chen et al. (2020) keine signifikanten Auswirkungen von PLA-MKS (20 – 50 µm, 2 Gew. %) auf die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft oder auf die Aktivität von Bodenenzymen. Die Autoren führten das Ausbleiben von Auswirkungen auf mikrobielle Prozesse im Boden auf die Persistenz von PLA im Boden zurück. Die geringe biologische Abbaubarkeit von unbehandelten PLA/PBAT-MKS in der vorliegenden Studie könnte erklären, warum es keine MKS-induzierten Auswirkungen auf die Zusammensetzung der wichtigsten mikrobiellen Gruppen und spezifische Enzymaktivitäten gab.

Angesichts seiner Persistenz und Widerstandsfähigkeit gegenüber mikrobiellem Abbau (Krueger et al., 2015) ist es unwahrscheinlich, dass LDPE das Wachstum spezifischer mikrobieller Taxa fördert, die LDPE-C verwerten können, insbesondere wenn andere leicht verfügbare C-Quellen im Boden vorhanden sind (Ng et al., 2018). Souza Machado, Lau et al. (2019) lieferten jedoch Belege für Veränderungen im mikrobiellen Lebensraum des Bodens aufgrund von MKS. Fragmente aus HDPE (2 Gew. %, 643 µm Durchschnittsgröße) verringerten die Schüttdichte des Bodens und erhöhten die Evapotranspiration, was mit einer Stimulierung der mikrobiellen Stoffwechselaktivität im Vergleich zum Kontrollboden verbunden war (Souza Machado, Lau et al., 2019). Solche Habitatsveränderungen können sich auf den Reichtum und die Vielfalt der bakteriellen Gemeinschaften im Boden auswirken. So berichteten Fei et al. (2020), dass die Zugabe von LDPE-MP (Mittelwert von 678 µm, 1 – 5 Gew. %) zu einem signifikanten Anstieg der relativen Häufigkeit bestimmter Bakterienfamilien im Vergleich zur Kontrolle führte (z. B. Pseudomonadaceae, Burkholderiaceae), während das Wachstum anderer (z. B. Xanthobacteraceae, Caulobacteraceae) eingeschränkt wurde. In derselben Studie wurden diese Veränderungen in der Struktur der mikrobiellen Gemeinschaft mit einer erhöhten Urease- und sauren Phosphataseaktivität, aber einer geringeren Fluoresceindiacetathydrolase-Aktivität im Vergleich zum Kontrollboden in Verbindung gebracht.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie konnten Blöcker et al. (2020) keine signifikanten Auswirkungen von LDPE-MKS (200 – 630 µm, 1 % Gew. %) auf die Zusammensetzung der wichtigsten mikrobiellen Gruppen im Boden und die mikrobielle Atmung im Vergleich zu MKS-freiem Boden feststellen. Die Autoren stellten jedoch einen

Rückgang der mikrobiellen Biomasse (C und N) fest. Die Autoren führten die Abnahme der mikrobiellen Biomasse darauf zurück, dass die Verfügbarkeit von C in der Nähe der LDPE-Partikel begrenzt ist und die Sorption von Kationen an den negativ geladenen PE-Oberflächen den Zugang zu essenziellen Kationen für den Stoffwechsel der Mikroorganismen einschränkt. Im Gegensatz dazu beobachteten Wiedner und Polifka (2020) eine (allerdings nicht signifikante) Zunahme der Summe der mikrobiellen PLFAs als Reaktion auf LDPE-MKS (< 100 µm, 1 Gew. %) und zogen den Schluss, dass LDPE möglicherweise die Bildung von mikrobiellen Habitaten und dadurch das Wachstum von Mikroorganismen im Boden begünstigt.

Die in der vorliegenden Studie verwendete MKS-Konzentration von 0,1 Gew. % liegt deutlich über typischen MKS-Belastungen in landwirtschaftlichen Böden (0,0002 Gew. %; Büks & Kaupenjohann, 2020). Im Vergleich zu den oben zitierten Studien (1 – 5 % Gew. %) war die eingesetzte MKS-Konzentration jedoch relativ niedrig und lag wahrscheinlich unterhalb eines kritischen Niveaus, so dass in der vorliegenden Studie keine derartigen physikochemischen Wechselwirkungen von MKS mit dem Boden auftraten.

Morphologische Veränderungen gepaart mit Lipase-Aktivitäten auf den Oberflächen einzelner PLA/PBAT-Partikel deuten auf eine Hydrolyse von PLA/PBAT und damit auf den Beginn des biologischen Abbaus von PLA/PBAT hin (Honest-Man, 2021; Zumstein et al., 2018). In Übereinstimmung mit den höheren Lipase-Aktivitäten auf der Oberfläche von PLA/PBAT-Partikeln in trockenen Böden im Vergleich zu feuchten Böden wurde eine Mineralisierung dieser Partikel in trockenen Böden gefunden, wohingegen diese aber in feuchten Böden nicht mineralisiert wurden. Obwohl rasterelektronenmikroskopisch keine Besiedlung beobachtet werden konnte (Abbildung 54), ist davon auszugehen, dass die Lipaseaktivität durch die Bildung eines spezifischen Plastisphären-Mikrobioms in der Nähe von PLA/PBAT-MKS-Oberflächen im Boden ausgelöst wurde, dass aus lipaseproduzierenden Mikroorganismen bestand. Diese Annahme wird von Rüthi et al. (2020) gestützt, deren Untersuchungen spezifische Plastisphären-Mikrobiome von PLA, PBAT und PE (4 x 4 cm² große Folienstücke) in alpinen und arktischen Böden belegen. Rüthi et al. (2020) identifizierten Saccharibakterien als wichtige Mitglieder des plastisphärischen Mikrobioms von PLA, von denen einige Lipasen und andere extrazelluläre Enzyme produzieren können, die den Abbau von PLA katalysieren können. Da die PLA/PBAT-Mischung der vorliegenden Studie einen hohen Anteil an PLA (85 %) aufwies, könnte eine Anreicherung solcher spezifischen Taxa die hohen Lipaseaktivitäten auf der Oberfläche der PLA/PBAT-Partikel erklären. Saccharibakterien verfügen über grampositive Zellstrukturen (Hugenholz et al., 2001). In der vorliegenden Studie wurde nach 230 Tagen eine größere Menge grampositiver PLFAs in trockenem als in feuchtem Boden

beobachtet. Daher kann vermutet werden, dass es in trockenem im Vergleich zu feuchtem Boden mehr lipaseproduzierende grampositive Bakterien wie Saccharibakterien gegeben haben könnte. Dies könnte auch die höheren Lipaseaktivitäten auf PLA/PBAT-Partikeln und die höhere Mineralisierung von PLA/PBAT im trockenen Boden im Vergleich zum feuchten Boden erklären.

Angesichts der erhöhten Lipase-Aktivitäten auf PLA/PBAT-Oberflächen waren hydrolysierende Enzyme in der vorliegenden Studie höchstwahrscheinlich nicht der limitierende Faktor. Im Gegensatz dazu identifizierten Zumstein et al. (2017) die enzymatische Hydrolyse als ratenlimitierende Prozess beim biologischen Abbau von PBAT. Daher kann angenommen werden, dass entweder die Polymerstruktur aufgrund ihrer Kristallinität die Zugänglichkeit hydrolytischer Enzyme einschränkte (Meereboer et al., 2020; Palsikowski et al., 2018) oder dass Bodenmikroorganismen, die die Hydrolyseprodukte als Energie- und C-Quelle nutzen können, nur in geringer Zahl vorhanden waren (Meyer-Cifuentes et al., 2020).

Die höhere Lipaseaktivität von PLA/PBAT-Partikeln in trockenem im Vergleich zu feuchtem Boden könnte auch auf die Hydrophilie der PLA/PBAT-Oberflächen zurückzuführen sein, die durch die Inkubation im Boden zunimmt (Honest-Man, 2021; Osman et al., 2014). PLA/PBAT-Oberflächen könnten als mikrohydrologische Nischen für Bodenmikroorganismen in trockenen Böden fungiert haben, analog zu Schleimstoffen und extrazellulären polymeren Substanzen (Benard et al., 2019). Dementsprechend könnten PLA/PBAT-Partikel in trockenem Boden im Vergleich zu benachbarten Bodenpartikeln feuchtere Oberflächen bieten und damit attraktiver für Mikroorganismen sein. Infolgedessen könnten MKS-Partikel zu mikrobiellen Hotspots geworden sein. In feuchtem Boden war der Unterschied zwischen MKS und angrenzenden Bodenpartikeln jedoch wahrscheinlich nicht so stark ausgeprägt wie in trockenem Boden.

Die auf der Oberfläche der PLA/PBAT-Partikel nach der Inkubation im Boden beobachteten Risse könnten auch auf physikalisch-chemische Wechselwirkungen von MKS mit dem Bodenwasser zurückzuführen sein, die wiederum den Weg für mikrobielle Aktivitäten auf der MKS-Oberfläche geebnet haben könnten. Bei den durch Lichtmikroskopie identifizierten braunen Flecken (Abbildung 56) handelt es sich wahrscheinlich um Tonminerale oder Eisenoxide, wie sie bereits auf MKS-Sedimentproben beobachtet wurden (Corcoran et al., 2015; Zhou et al., 2016). An MKS haftende Tonminerale bieten als biogeochemisch reaktive Oberflächen Mikrohabitate für Mikroorganismen (Boeddinghaus et al., 2021; Kandeler et al., 2019) und könnten mikrobielle Prozesse auf der MKS-Oberfläche fördern. Somit könnte die Interaktion von Plastisphäre-Mineralosphäre und Bodenwasser mikrobielle Prozesse auf der MKS-Oberfläche steuern.

4.3 Laborversuch zur Abbaubarkeit und Auswirkung fermentierter MKS im Boden (IBS, BPT)

4.3.1 Motivation und Ziele

Nur wenige Studien untersuchten bislang die Auswirkungen und die Abbaubarkeit von natürlich „gealterten“ MKS im Boden (Judy et al., 2019). Prozesse wie die Fermentation können jedoch Auswirkungen auf die Abbaubarkeit von MKS im Boden haben, z. B. aufgrund von Biofilmbildung auf den MKS und mikrobiell induzierter enzymatische Hydrolyse der MKS. Diese mikrobiellen Prozesse könnten die Beschaffenheit und Oberflächenstruktur von MKS verändern. Im Rahmen von Kapitel 4.3 wurde daher das Abbauverhalten von in einem Fermenter vorbehandelten MKS untersucht.

Ziele waren die Untersuchung (1) des Einflusses einer vorangegangenen Fermentation auf die biologische Abbaubarkeit von MKS im Boden, (2) der Rolle von MKS im Boden als potenzieller Lebensraum für Mikroorganismen und (3) des Einflusses von MKS auf mikrobielle Prozesse und die mikrobielle Gemeinschaftsstruktur in unterschiedlicher räumlicher Nähe zur Plastisphäre und somit des räumlichen Einflussbereiches der MKS im Boden.

4.3.2 Methodik

Das experimentelle Design umfasste die Behandlungen Kunststoffart (LDPE, PLA/PBAT), Fermentation (fermentiert und nicht fermentiert) sowie das Abwaschen des Fermentats der vorbehandelten MKS (Fermentat abgewaschen und nicht abgewaschen) (Abbildung 57). Als Referenzpartikel für die geplanten mikrobiologischen Untersuchungen wurden Glaskügelchen verwendet. Die vom IKT bereitgestellten MKS (LDPE und PBAT/PLA³, 500 µm – 2 mm) wurden am IBS in rostfreie Edelstahlnetze (Maschenweite von 100 µm) eingefüllt. Die verschlossenen Stahlnetze mit MKS wurden anschließend in einem Boxenfermenter unter kontrollierten Bedingungen (Grassilage, 42° C, 30 Tage, pH 7,6) am BPT vorbehandelt. Im Anschluss wurden die biologisch vorbehandelten MKS-Proben gemäß Versuchsdesign am IBS nachprozessiert (Abwaschung des Fermentats). Auch wurden weitere für den Versuch notwendige Voruntersuchungen durchgeführt (Bestimmung der Trockensubstanz und des C-Gehalts der MKS-Partikel). Die MKS-Mineralisierung über die Inkubationszeit hinweg wurde

³ Zusammensetzung: ca. 10 Gew. % aus PLA; ca. Gew. 64 % aus PBAT; ca. Gew. 25 % aus Kreide/Talkum; <1 Gew. % aus Maleinsäureanhydrid als Haftvermittler; <1 Gew. % aus einem Fettsäureester als Schmiermittel.

wie in Kapitel 4.2 beschrieben untersucht (s. 4.2.2 Methodik). Analog zu Kapitel 4.2 wurde PHB als biologisch abbaubares Referenzpolymer eingesetzt.

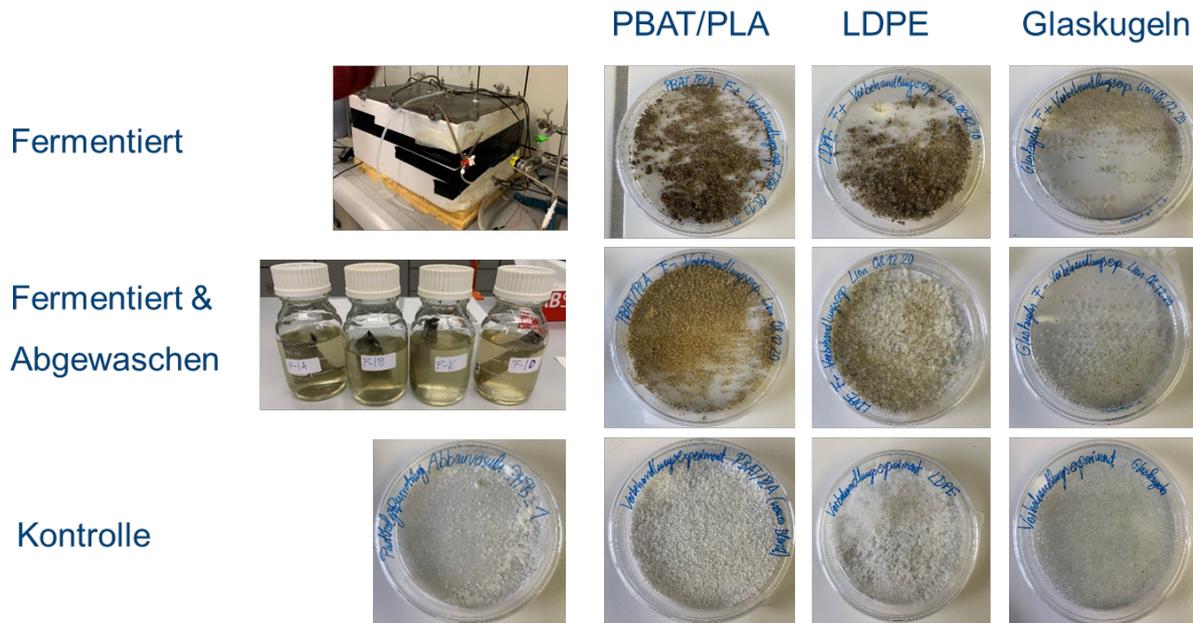


Abbildung 57: Behandlungen des Abbauxperimentes mit fermentierten MKS.

Die erste Reihe zeigt fermentierte PBAT/PLA-, LDPE-Partikel, und Glaskugeln. In der zweiten Reihe sind MKS und Glaskugeln nach Abwaschen des Fermentats dargestellt. In der dritten Reihe sind unbehandelte MKS-Partikel und Glaskugeln inklusive dem als positive Mineralisierungskontrolle verwendeten PHB (ganz links) zu sehen.

4.3.3 Ergebnisse

4.3.3.1 MKS-Mineralisierung

Nach 202 Tagen Laufzeit waren 26 % [95 % - Konfidenzintervalle: 21 %; 31 %] des C der fermentierten PBAT/PLA-Partikel mineralisiert (Abbildung 58). Fermentierte, danach abgewaschene PBAT/PLA-Partikel zeigten eine reduzierte C-Mineralisierung von 12 % [7 %; 17 %] und unbehandelte PBAT/PLA-Partikel von 6,0 % [0,8 %; 11 %]. LDPE-C wurde nicht mineralisiert. PHB wies einen C-Mineralisierungsgrad von 95 % [91 %; 100 %] auf.

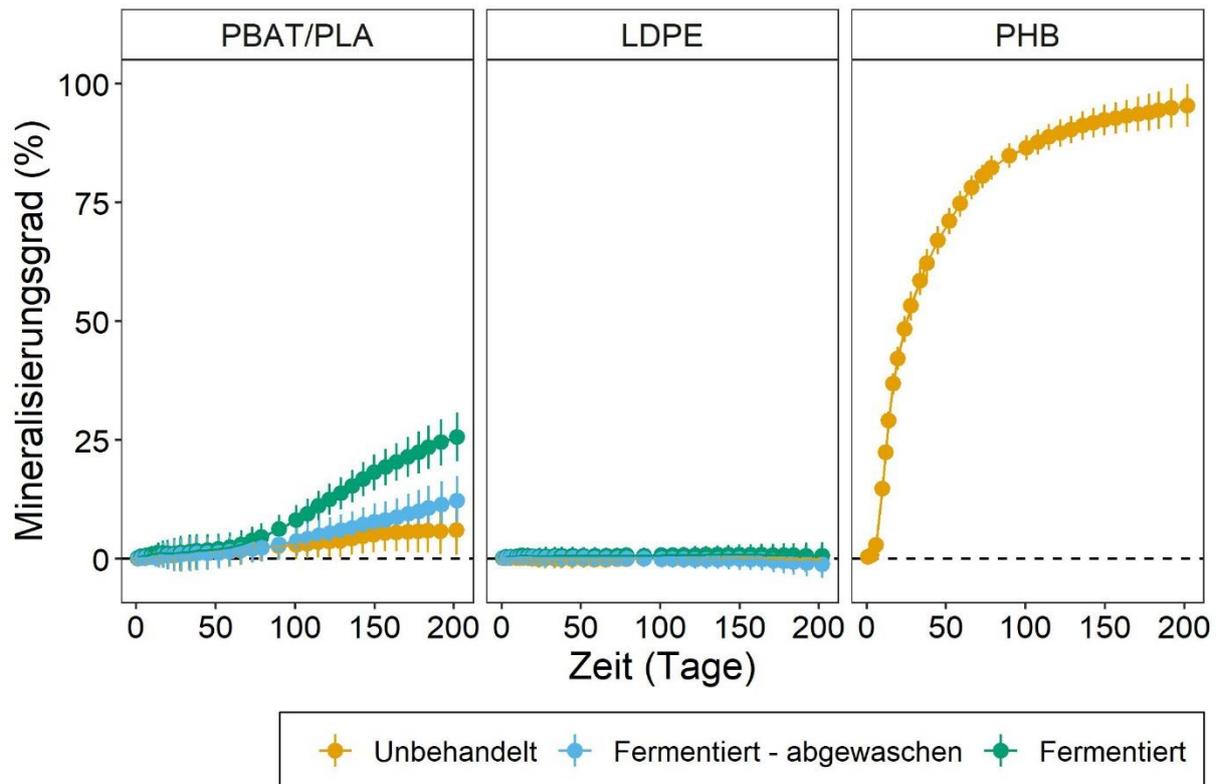


Abbildung 58: MKS-Mineralisierung in Abhängigkeit der Zeit, der Vorbehandlung (unbehandelt, fermentiert – abgewaschen, fermentiert) und der MKS-Art (LDPE, PBAT/PLA).

Anmerkung: Das PHB fungierte als positive Kontrolle. Die Daten sind als Mittelwerte und 95 %-Konfidenzintervalle dargestellt.

4.3.3.2 Enzymaktivitäten

MKS zeigten mit Ausnahme des Referenzpolymers PHB, welches die Aktivitäten der Enzyme Lipase, N-Acetyl-Glucosaminidase, β -Glucosidase und β -Xylosidase in der MKS-Schicht erhöhte, keinen Effekt auf extrazelluläre Enzymaktivitäten, weder im Boden ohne MKS-Kontakt noch in den MKS-Schichten (Abbildung 59).

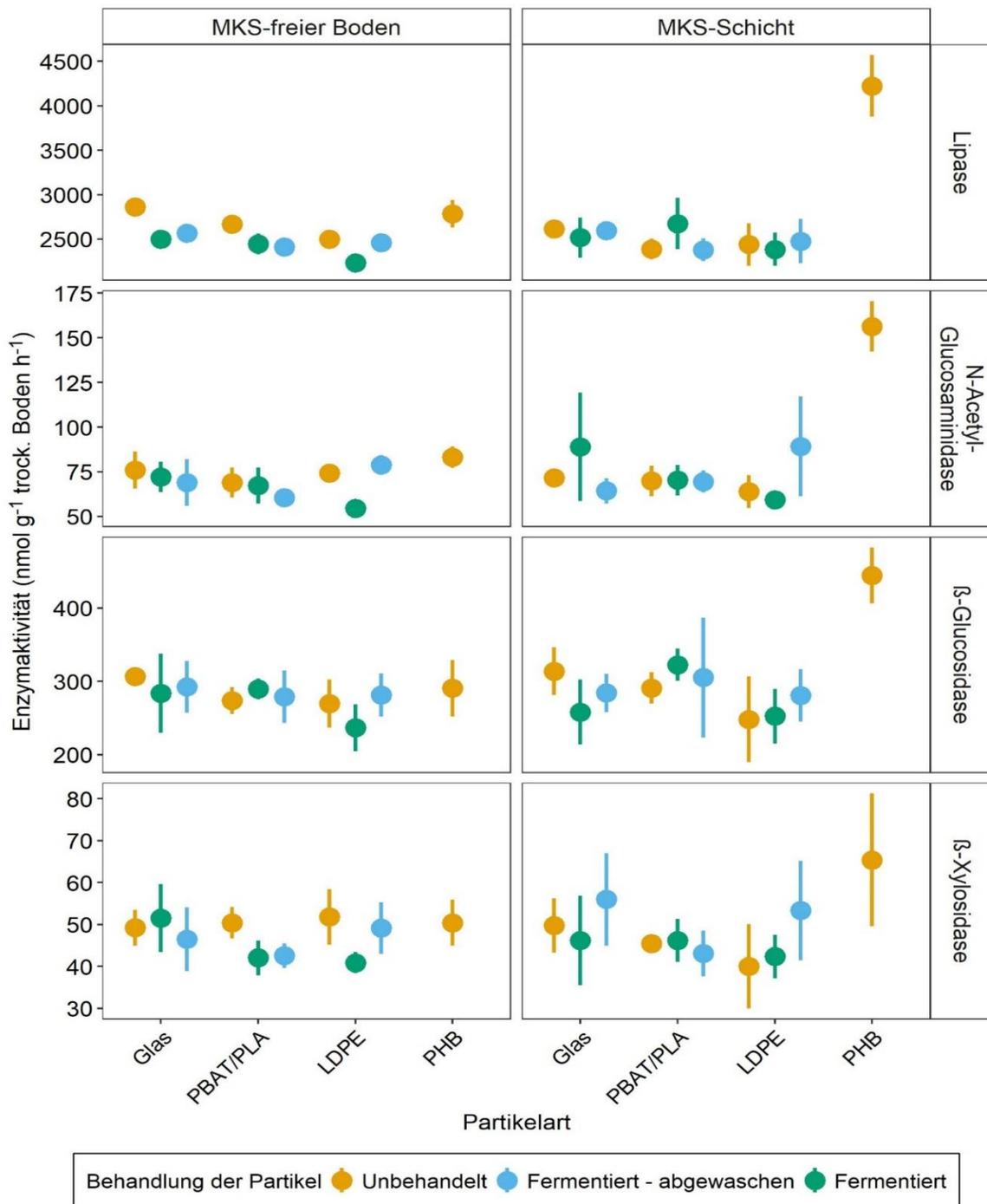


Abbildung 59: Enzymaktivitäten nach 60 Tagen im MKS-freien Boden und der MKS-Schicht (Lipase, N-Acetyl-Glucosaminidase, β-Glucosidase, β-Xylosidase) in Abhängigkeit von der Partikelart (Glas, PBAT/PLA, LDPE) und Behandlung der Partikel (Unbehandelt, Fermentiert – abgewaschen, Fermentiert).

Anmerkung: Die Daten sind als Mittelwert ± Standardfehler (Fehlerbalken) dargestellt.

4.3.4 Diskussion

Die Ergebnisse zur MKS-Mineralisierung zeigen, dass eine biologische Vorbehandlung (Fermentation) die biologische Abbaubarkeit von PBAT/PLA signifikant erhöht (26 % des fermentierten gegenüber 6 % des unbehandelten PBAT/PLA-C). Möglicherweise spielt neben der Vorbehandlung selbst und damit einhergehender Strukturänderungen aufgrund der Temperaturen und ablaufender Abbauprozesse auch der nach der Fermentation verbleibende Fermentatbelag der MKS-Partikel eine Rolle für die MKS-Abbaubarkeit im Boden. Gegenüber den fermentierten MKS ohne Belag (0,10 %) und den unbehandelten MKS (0,07 %) wiesen die fermentierten Partikel aufgrund des Fermentatbelags einen höheren N-Anteil (0,24 %) auf. Neben dem erhöhten N-Anteil aufgrund des Fermentatbelags könnten sich die im Fermentatbelag vorhandenen Mikroorganismen vermutlich positiv auf die Abbaubarkeit der MKS auswirken.

Zwar konnte ein biologischer Abbau des PBAT/PLA im Boden festgestellt werden, aber im Vergleich zum Referenzpolymer PHB, das nach 202 Tagen nahezu vollständig abgebaut war, lief dieser nur langsam ab. Insofern kann nicht ausgeschlossen werden, dass sich auch fermentierte (aber nicht kompostierte) MKS aus PBAT/PLA langfristig im Boden, insbesondere unter nicht optimalen Abbaubedingungen im Freiland, anreichern können.

Die untersuchten Enzyme Lipase, N-Acetyl-Glucosaminidase, β -Glucosidase und β -Xylosidase reagierten nicht auf die Zugabe der PBAT/PLA-Partikel in der MKS-Schicht. Allerdings wurden diese analysiert, bevor die Mineralisierung der PBAT/PLA-Partikel signifikant fortgeschritten war (nach 60 Tagen, Abbildung 58). Die unspezifische Erhöhung aller Enzymaktivitäten aufgrund der PHB-Zugabe zum Boden deutet auf eine generelle erhöhte Aktivität und Abundanz der Mikroorganismen hin.

4.4 Laborversuche zur Auswirkung von MKS auf Bodentiere (IBS, IBBS)

Böden beherbergen eine Vielzahl von Bodentieren, die unterschiedliche Positionen im Bodennahrungsnetz einnehmen und diverse Bodenfunktionen erfüllen (Orgiazzi et al., 2016). Aufgrund der Komplexität des Bodennahrungsnetzes können Veränderungen einer Organismengruppe sich in einer veränderten Bodenfunktion niederschlagen, die sich auf das gesamte System auswirken (Orgiazzi et al., 2016). Daher ist es wichtig, mögliche Interaktionen von MKS mit Bodentieren auf unterschiedlichen trophischen Ebenen zu untersuchen, um das Risiko von MKS auf Bodentiere und deren Funktionen einschätzen zu können. Im Rahmen von MiKoBo wurden deshalb drei zentrale Akteure des Bodennahrungsnetzes für

Untersuchungen zu MKS-Interaktionen ausgewählt: Nematoden, Springschwänze und Regenwürmer.

Zu Effekten von MKS auf Bodenorganismen und -funktionen liegen generell bisher nur wenige Studien vor (Chae & An, 2018). Erste Studien fanden negative Effekte von konventionellen MKS auf die Körperlänge und Fortpflanzung sowie Darmschädigungen von Nematoden (Lei, Wu et al., 2018). Für Springschwänze (*Folsomia candida*) zeigten sich bei einer MKS-Konzentration von 0,1 Gew. % im Boden vermindertes Wachstum und signifikante Veränderungen des Mikrobioms im Darmtrakt (Zhu, Chen et al., 2018b). Für Regenwürmer wurde bei hohen MKS-Konzentrationen (≥ 28 Gew. % in der Streuauflage für *L. terrestris*, ≥ 0.5 Gew. % im Boden für *E. foetida*) eine erhöhte Sterblichkeit, eine reduzierte Fitness und vermindertes Wachstum nachgewiesen (Cao et al., 2017; Huerta Lwanga et al., 2016). Bei realistischeren geringeren MKS-Konzentrationen konnten allerdings in diesen Studien keine signifikanten Effekte der MKS auf die drei genannten Bodenorganismen festgestellt werden. Die Beschädigungen des Darmtrakts und eine negative Immunsystemreaktion des Regenwurms (*Eisenia andrei Bouché*) deuten allerdings auf mögliche sublethale MKS-Effekte auf Organismus-Ebene bei realistischen MKS-Konzentrationen im Boden hin (Rodriguez-Seijo et al., 2017). Für die Schädlichkeit von MKS auf Regenwürmer ist die Partikelform von MKS wahrscheinlich der entscheidende Faktor (Rillig et al., mündliche Mitteilung).

4.4.1 Nematoden (IBS, IBBS)

4.4.1.1 Motivation und Ziele

Nematoden nehmen zentrale Positionen im Bodennahrungsnetz ein und sind wichtig für die Regulation von Stoffkreisläufen (Bardgett et al., 1999; Ferris, 2010). Konventionelle MKS zeigten in ersten Studien negative Wirkungen auf Nematoden (Lei, Wu et al., 2018). Über die Wirkung von biologisch abbaubaren MKS auf Nematoden lagen bis dato jedoch keine Studien vor. Ziel des Kapitels 4.4.1 war der Vergleich möglicher Effekte von konventionellen (LDPE) mit biologisch abbaubaren MKS (PLA/PBAT⁴) auf Nematoden. Dazu wurden Laborexperimente zur Untersuchung der Lebensparameter wie Reproduktion und Körperlänge des Nematoden *Caenorhabditis elegans* in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biologie der Humboldt-Universität zu Berlin und dem IBBS durchgeführt.

⁴ Zusammensetzung: 80 Gew. % PLA; 20 Gew. % PBAT

4.4.1.2 Methodik

C. elegans wurde in einem kombinierten Reproduktions- und Wachstumstest MKS-Futtersuspensionen (*Escherichia coli* OP50) auf „Nematode Growth Medium“- Agarplatten bei 19,5 °C exponiert. Bei Einsetzen der Reproduktion (Eiablage) wurden die Nematoden bis Ende der Reproduktionsphase in einem Abstand von 24 h auf neue Platten umgesetzt, um die Nachkommen vollständig erfassen zu können. Die Auszählung des Nachwuchses erfolgte optisch mittels Binokulars. Zur Bestimmung des Längenwachstums wurden die adulten Nematoden nach Beendigung ihrer Reproduktionsphase betäubt, unter dem Stereomikroskop fotografiert und mittels der Bildanalysesoftware ImageJ (Schneider et al., 2012) vermessen. Untersucht wurden die Faktoren Kunststoffart (LDPE, PLA/PBAT) und Konzentration (1, 10 und 100 mg L⁻¹). Die Partikelgrößenverteilung der MKS wurde vom IBBS bestimmt (Abbildung 60).

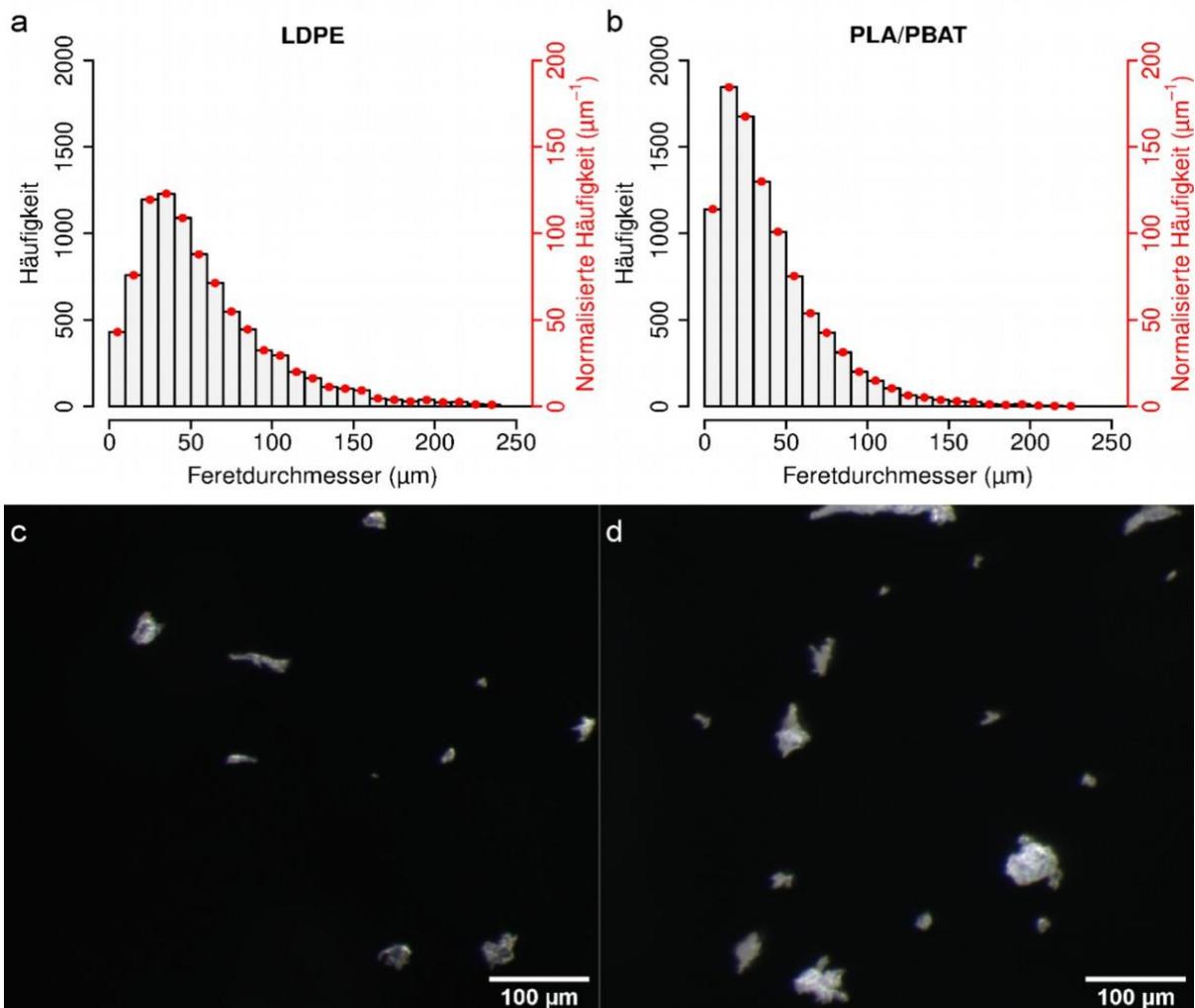


Abbildung 60: Partikelgrößenverteilung von a LDPE und b PLA/PBAT.

Anmerkung: Die zweite Ordinate zeigt die normalisierte Häufigkeit nach Filella (2015). Mikroskopische Aufnahme von c LDPE und d PLA/PBAT.

Um zu testen, ob Nematoden MKS in ihren Körper aufnehmen, wurden PLA/PBAT-Partikel mit dem Fluoreszenzfarbstoff NR gefärbt. Die NR-gefärbten Partikel wurden den Nematoden in Futtersuspensionen angeboten (100 mg L^{-1}) und durch Fluoreszenzmikroskopie nachgewiesen.

4.4.1.3 Ergebnisse

4.4.1.3.1 Ingestion von MKS

Die Aufnahme NR-gefärbter PLA/PBAT-MKS-Partikel konnte im Pharynx und im hinteren Darmlumen von *C. elegans* durch Fluoreszenzmikroskopie beobachtet werden (Abbildung 61). Die von *C. elegans* in Pharynx und im Darm aufgenommenen Partikel, die in Abbildung 61 dargestellt sind, hatten einen Feret-Durchmesser von $2,3 - 5,1 \text{ }\mu\text{m}$ bzw. $1,3 - 2,5 \text{ }\mu\text{m}$. Überraschenderweise wurde bei einem Nematoden mit Partikeln im Pharynx ein internes Schlüpfen der Larven („internal hatching“) beobachtet. Dieses Phänomen konnte auch bei vier Nematoden aus dem Reproduktionstest beobachtet werden, die 10 (n = 1) und 100 mg L^{-1} LDPE ($n = 2$) und 100 mg L^{-1} PLA/PBAT ($n = 1$) ausgesetzt waren. Diese Individuen wurden bei der statistischen Analyse nicht berücksichtigt, da sie vor Abschluss der Reproduktionsphase starben. In der Kontrollgruppe ohne MKS kam es zu keiner internen Eiablage.

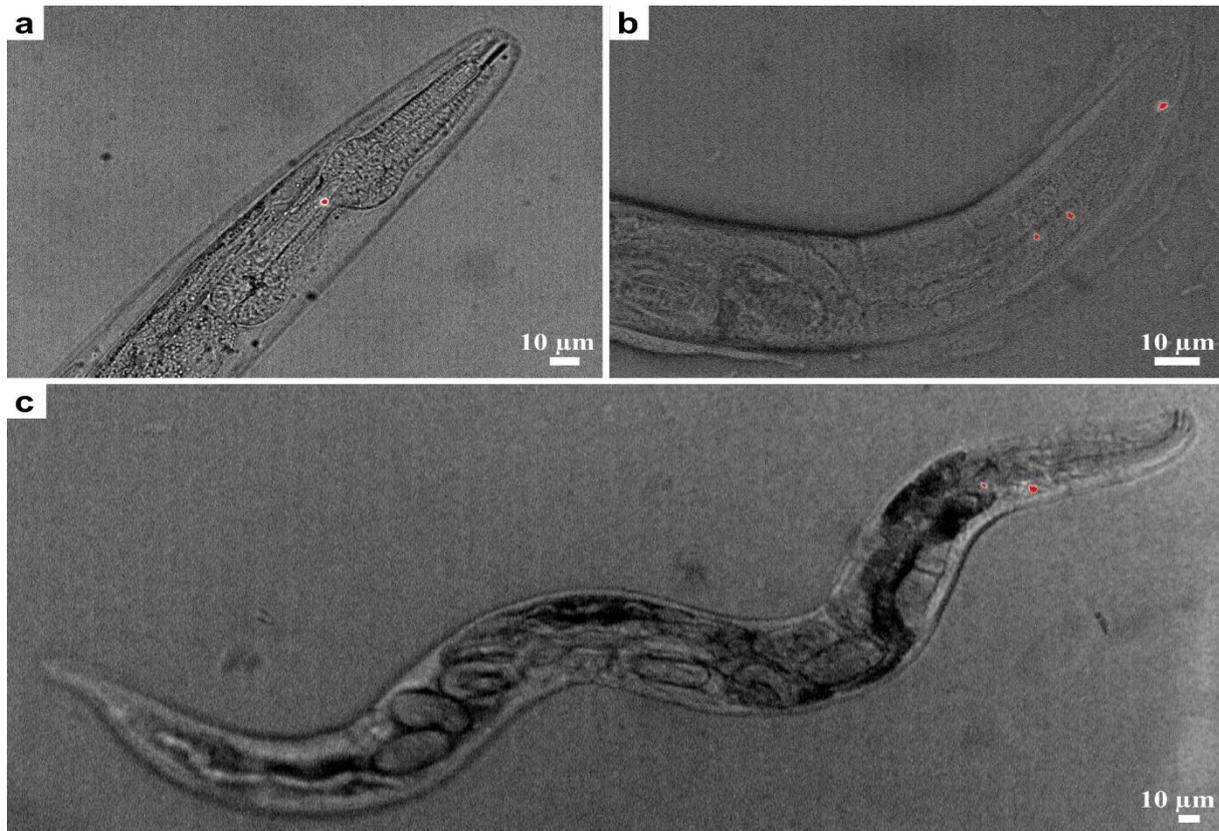


Abbildung 61: Aufnahme von NR-gefärbten PLA/PBAT-Partikeln (rot) in a Pharynx und b Darmlumen von *C. elegans*. c Nematode mit NR-gefärbten PLA/PBAT Partikeln im Pharynx und interner Eierablage.

4.4.1.3.2 Reproduktion und Körperlänge

Die Anzahl der Nematoden-Nachkommen in der Kontrollgruppe betrug 267 ± 6 (Mittelwert \pm Standardfehler) (Abbildung 62a). Unter MKS-Exposition produzierten die Nematoden 4,6 bis 22,9 % weniger Nachkommen als die Nematoden der Kontrollgruppe. Die stärkste Reduktion im Vergleich zur Kontrollgruppe wurde bei 10 mg L^{-1} LDPE festgestellt ($p = 0,03$). Für beide Kunststoffarten beobachteten wir eine Tendenz zu stärkeren Rückgängen bei höheren Konzentrationen. Bei einer Exposition von 10 und 100 mg L^{-1} im Vergleich zu 1 mg L^{-1} LDPE nahmen die Nachkommen im Vergleich zur Kontrollgruppe um 18,4 % ($p = 0,08$) und 9,9 % ($p = 0,37$) stärker ab. Die Exposition mit 10 und 100 mg L^{-1} im Vergleich zu 1 mg L^{-1} PLA/PBAT führte im Vergleich zur Kontrolle zu einer um 4,7 % ($p = 0,63$) und 6,5 % ($p = 0,49$) stärkeren Abnahme. Wir fanden bei allen Konzentrationen nur marginale Unterschiede bei den Nachkommen zwischen LDPE und PLA/PBAT. Der Variationskoeffizient (CV) der Behandlungsgruppen (9,2 bis 17,5%) war höher als der CV der Kontrollgruppe (5,5%).

In der Kontrollgruppe betrug die Körperlänge der Nematoden $1470 \pm 24 \mu\text{m}$ (Abbildung 62b). Es konnte kein klares Muster für die Körperlänge der MKS exponierten Nematoden beobachten. Die Körperlänge verringerte sich im Vergleich zur Kontrolle am stärksten bei einem Expositionslevel von 1 mg L^{-1} PLA/PBAT (14,5%, $p = 0,06$) und sowohl bei 1 mg L^{-1} (7,8%, $p = 0,25$) als auch bei 10 mg L^{-1} (8,8%, $p = 0,21$) LDPE. Die beobachteten Körperlängen bei allen anderen Behandlungen lagen nahe bei der Körperlänge der Kontrollgruppe. Die Körperlänge wurde durch die Kunststoffart nicht beeinflusst. Mit einem CV von 4,1 % wies die Kontrollgruppe eine geringere Varianz auf als die Behandlungsgruppen, deren CVs von 4,7 bis 14,2 % reichten.

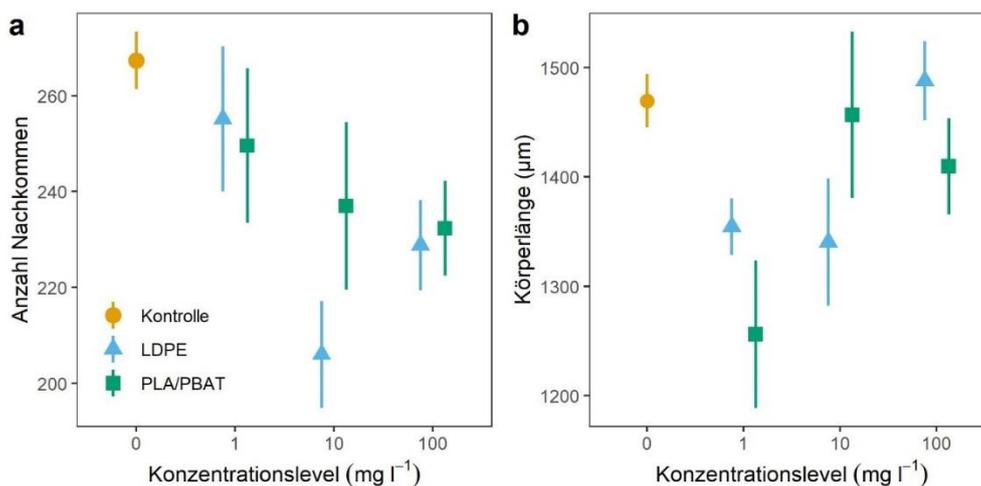


Abbildung 62: a Anzahl der Nachkommen und b Körperlänge *C. elegans* als Funktion der MKS-Konzentration und Kunststoffart im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Anmerkung: Die Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler dargestellt.

4.4.1.4 Diskussion

Die in der vorliegenden Studie nachgewiesene Aufnahme von MKS-Partikeln durch die Nematoden *C. elegans* gilt allgemein als Voraussetzung für die mögliche Entwicklung toxischer Wirkungen in Organismen (Horton et al., 2017; Kim & An, 2019). Die Aufnahme von Partikeln wird dabei durch ein artspezifisches Größenverhältnis zwischen Partikel und Mund gesteuert, welches die Größe der Partikel definiert, die von einer bestimmten Art aufgenommen werden können (Horton et al., 2017). Kürzlich konnten Mueller et al. (2020) frühere Erkenntnisse von Fang-Yen et al. (2009), dass die aufnehmbare Partikelgröße von *C. elegans* durch die Größe der Mundhöhle begrenzt ist, die sich in ihrer Studie auf $4,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$ belief, bestätigen. Während PS-Kügelchen $< 3 \mu\text{m}$ in das gesamte Darmsystem von *C. elegans* gelangten, drangen Partikel $> 6 \mu\text{m}$ überhaupt nicht in den Körper der Nematoden ein

(Mueller et al., 2020). In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen konnte in der vorliegenden Studie MKS-Partikel mit einer Größe von 2,3 – 5,1 μm bzw. 1,3 – 2,5 μm im Rachen und Darm von *C. elegans* nachgewiesen werden.

Es konnte herausgefunden werden, dass MKS die Nachkommenzahl von *C. elegans* um 4,5 bis 22,9 % verringerte, mit einer Tendenz zu einem größeren Rückgang der Nachkommen bei höheren MKS-Konzentrationen. Der starke Rückgang der Nachkommen bei 10 mg L^{-1} im Vergleich zur Kontrolle könnte auf die Existenz einer kritischen Wirkkonzentration von MKS hinweisen. Kontraintuitiv war der Rückgang bei 10 mg L^{-1} LDPE stärker ausgeprägt als bei 100 mg L^{-1} LDPE, was auf die statistischen Unsicherheiten des Vergleichs zwischen diesen Behandlungen zurückzuführen ($p = 0,44$) ist. Die Existenz einer kritischen Wirkkonzentration wird durch die Beobachtungen von Lei, Liu et al. (2018) gestützt, die bei *C. elegans* eindeutige letale Wirkungen von PS-Kügelchen bei Konzentrationen von mehr als 5 mg L^{-1} feststellten. Mueller et al. (2020) ermittelten deutliche Dosis-Wirkungs-Kurven für die Reproduktion von Nematoden, die PS-Kügelchen von 0,1 bis 10 μm ausgesetzt waren, wobei kleinere Partikel eine stärkere Toxizität ausübten. Nur Partikel der Größe 0,1 μm verursachten Effekte auf die Reproduktion von Nematoden mit einem EC_{50} -Wert von 77 mg L^{-1} (alle Einheiten umgerechnet) unterhalb der höchsten in der vorliegenden Studie verwendeten Konzentration von 100 mg L^{-1} , während größere Partikel bei deutlich höheren Konzentrationen Reproduktionshemmungen verursachten (Mueller et al., 2020). Lei, Wu et al. (2018) verglichen die toxischen Effekte von fünf verschiedenen MP-Typen unregelmäßiger Form (mittlerer Durchmesser: $\sim 70 \mu\text{m}$) auf Körperlänge, Embryonenzahl, Nachkommenzahl, Kalziumspiegel im Darm und die Expression von Stress anzeigenden Enzymaktivitäten von *C. elegans*. Außerdem verglichen sie die Aufnahme und die toxischen Auswirkungen von PS-Kügelchen unterschiedlicher Größe (0,1, 1 und 5 μm). Lei, Wu et al. (2018) fanden eine Verringerung der Nachkommen von 2,4 bis 28,0 %, die den in der vorliegenden Studie beobachteten MKS-bedingten Reduktionen der Nachkommenschaft ähnlich war. Die Autoren fanden außerdem, dass die Körperlänge um 4,9 – 11,4 % reduziert wurde, wenn die Nematoden MKS ausgesetzt waren, während in der vorliegenden Studie kein klares MKS-Effektmuster beobachtet werden konnte.

Angesichts des geschätzten Anteils von MKS-Partikeln $< 3 \mu\text{m}$ in den vorliegenden Experimenten von 8,0 (LDPE) und 7,4 % (PLA/PBAT), entsprechen die Konzentrationen von 1, 10 und 100 mg L^{-1} in der vorliegenden Studie 0,08, 0,8, 8,0 mg L^{-1} und 0,074, 0,74 bis 7,4 mg L^{-1} im für *C. elegans* aufnehmbaren Bereich. So war bei Mueller et al. (2020) die Wahrscheinlichkeit einer Aufnahme von MP durch *C. elegans* viel höher als in der vorliegenden Studie, da sie kugelförmige Partikel im Größenbereich von 0,1 – 3 μm bei Konzentrationen

von 40 – 12.500 mg l⁻¹ verwendeten. Die Autoren fanden Auswirkungen auf die Fortpflanzung bei wesentlich höheren Konzentrationen als > 100 mg L⁻¹ (Ausnahme: 0,1 µm große Partikel mit einer EC₅₀ von 77 mg L⁻¹), was darauf hindeutet, dass die in der vorliegenden Studie beobachtete Toxizität von MKS bei viel niedrigeren Konzentrationen von verschluckbaren Partikeln nicht allein auf die Aufnahme von Partikeln zurückzuführen ist. Während eine direkte Toxizität von aufgenommenen MKS-Partikeln für 1 µm große Partikel gezeigt wurde, die vorzugsweise aufgenommen und im Darm von *C. elegans* akkumuliert wurden (Lei, Wu et al., 2018), gibt es experimentelle Hinweise darauf, dass negative Auswirkungen auf die Fortpflanzung von *C. elegans* durch das Verhältnis der Gesamtoberfläche der MP-Partikel zum Volumen des Mediums, in dem das MP enthalten ist, reguliert werden (Mueller et al., 2020). Der zu Grunde liegende Mechanismus einer solchen oberflächenbezogenen Toxizität muss jedoch noch geklärt werden. Mueller et al. (2020) schlagen als mögliche Mechanismen der oberflächenbedingten Toxizität die Bindung von Nahrungsbakterien an MKS und eine Verdünnung der Nahrungsbakterien durch MKS vor, was zu einer Einschränkung der Nahrungsverfügbarkeit für die Nematoden führen könnte. In der vorliegenden Studie könnte die oberflächenbedingte Toxizität erklären, warum die MKS-Partikel die Nachkommenschaft verringerten, obwohl die meisten der Partikel nicht direkt von den Nematoden aufgenommen werden konnten. Aufgrund ihrer größeren spezifischen Oberfläche führen unregelmäßig geformte Partikel (die in der vorliegenden Studie verwendet wurden) vermutlich zu einer höheren oberflächenbedingten Toxizität bei niedrigeren Konzentrationen im Vergleich zu kugelförmigen MKS-Partikeln (verwendet in Mueller et al., 2020). Daher werden die toxischen Wirkungen von MKS wahrscheinlich auch durch die Partikelform gesteuert.

In Übereinstimmung mit Lei, Wu et al. (2018) traten negative Auswirkungen auf die Fortpflanzung von *C. elegans* unter MKS-Exposition unabhängig vom Kunststofftyp auf. Da LDPE- und PLA/PBAT-Partikel in der vorliegenden Studie eine ähnliche Form und Größe aufwiesen, waren die beobachteten Verringerungen der Nachkommenschaft wahrscheinlich auf physikalische Effekte wie Darmschäden (Lei, Wu et al., 2018) oder indirekte Ernährungseffekte aufgrund von Wechselwirkungen der Partikel mit den Nahrungsbakterien (Mueller et al., 2020) zurückzuführen. Auch natürliche Partikel wie mesoporöse Siliziumdioxid-(SiO₂)-Partikel, die in Böden vorkommen, können von *C. elegans* aufgenommen werden (Acosta et al., 2018). Allerdings führte nur die Exposition gegenüber Partikeln in Nanometergröße zu einer Verringerung der Lebensspanne, der Mobilität und der Reproduktion, während Partikel in Mikrometergröße keine Auswirkungen zeigten (Acosta et al., 2018). Mueller et al. (2020) verglichen die Wirkungen von SiO₂-Partikeln mit PS-Kügelchen gleicher Größe und zeigten, dass SiO₂-Partikel eine deutlich geringere Toxizität aufwiesen, was durch toxische Wirkungen bei deutlich höherem Partikel-Bakterien-Verhältnis angezeigt

wurde. Die Autoren argumentieren, dass die spezifische Dichte eines Materials eine wichtige Rolle für die Toxizität spielt, da Partikel mit einer spezifischen Dichte im Bereich der Bakterien, wie z. B. Kunststoffe, leichter aufgenommen werden.

In der vorliegenden Studie wurde eine größere Varianz innerhalb der MKS-Behandlungen als in der Kontrollbehandlung sowohl für die Nachkommen als auch für die Körperlänge gefunden. Eine mögliche Erklärung ist, dass nicht alle Nematoden, die MKS ausgesetzt waren, diese auch aufnahmen, so dass nur Würmer, die MKS aufnahmen, durch MKS beeinträchtigt waren. Dies konnte jedoch nicht überprüft werden, da wir für den Reproduktions- und Körperlängentest nicht gefärbte MKS verwendet haben und diese unter dem Mikroskop im Inneren der Nematodenkörper nicht nachweisbar waren. Außerdem ist es möglich, dass sich die Gesamtoberfläche der Partikel in den MKS-Futtersuspensionen zwischen den Wiederholungen innerhalb und zwischen den Gruppen aufgrund von Diskrepanzen in der Partikelzusammensetzung in den jeweiligen Suspensionen unterschied.

Studien über die Auswirkungen von MKS auf andere bodenbewohnende Tiere berichteten ebenfalls über negative Auswirkungen von MKS auf einige biologische Funktionen, während andere Funktionen nicht beeinträchtigt wurden. So stieg beispielsweise unter hoher MKS-Exposition die Sterblichkeit des Regenwurms *Lumbricus terrestris* an, das Wachstum wurde gehemmt und die Biomasse verringert, während selbst bei höheren Konzentrationen keine Auswirkungen auf die Fortpflanzung festgestellt wurden (Huerta Lwanga et al., 2016). Im Vergleich dazu beobachteten Rodriguez-Seijo et al. (2017) keine nachteiligen Auswirkungen auf das Überleben, die Fortpflanzung oder das Körpergewicht des Regenwurms *Eisenia andrei*, fanden aber Darmschäden und histologische Veränderungen, einschließlich Verstopfung und Fibrose. Der Regenwurm *Eisenia fetida* zeigte unter MKS-Exposition nur marginale Auswirkungen, wobei das Antioxidase-System nur bei künstlich hohen Konzentrationen negativ beeinflusst wurde (Wang et al., 2019), während die Assel *Porcellio scaber* durch MKS überhaupt nicht beeinflusst wurde (Jemec Kokalj et al., 2018). Angesichts der Ergebnisse der vorliegenden Studie und der Ergebnisse der aktuellen Studie scheint es, dass nicht alle Arten oder ihre biologischen Endpunkte empfindlich auf MKS reagieren, da die Ergebnisse der vorliegenden Studie darauf hindeuten, dass die Körperlänge ein unempfindlicher Maßstab für die MKS-Toxizität bei *C. elegans* ist. Die Tatsache, dass einige biologische Endpunkte durch MKS beeinträchtigt wurden und andere nicht, kann durch die Theorie des Wegwerf-Somas erklärt werden (Kirkwood, 1977). Nach dieser Theorie kann ein Organismus versuchen, Stress zu kompensieren, der im Fall der vorliegenden Studie durch MKS ausgelöst wurde. Dieser Stress und seine Kompensation können zu einem

Ungleichgewicht der biologischen Funktionen führen, da eine Funktion auf Kosten der Aufrechterhaltung einer anderen abnimmt.

Interessanterweise konnte beim MKS-Aufnahmetest beobachtet werden, dass mehrere Nematoden nach MKS-Aufnahme intern schlüpften („internal hatching“, Abbildung 61c). Im Reproduktionstest zeigten vier Nematoden, die MKS ausgesetzt waren und während der Exposition starben, ebenfalls ein internes Schlüpfen. Im Allgemeinen kann das Phänomen des internen Schlüpfens, das auch als Matrizid bezeichnet wird, unter Stressbedingungen auftreten, z. B. bei Hunger, Exposition gegenüber Toxinen oder Anwesenheit von Bakterien (Mosser et al., 2011; Pestov et al., 2011). Vermutlich als Reaktion auf Stress legen Nematoden ihre Eier im Inneren ab, um das Überleben ihrer Nachkommen zu sichern, da die Nachkommen im Körper der erwachsenen Nematoden ausreichend Nährstoffe erhalten. In der vorliegenden Studie war jedoch nicht klar, ob das interne Schlüpfen direkt durch MKS ausgelöst wurde. Kiyama et al. (2012) beobachteten, dass in Gegenwart von Nahrung die Aufnahme von MKS stark reduziert war. Umgekehrt wurden unter der Bedingung von Nahrungsmangel mehr Partikel aufgenommen. Ein mögliches Szenario in der vorliegenden Studie könnte sein, dass eine kombinierte Wirkung von MKS-Partikelaufnahme und Hunger zum internen Schlüpfen geführt haben könnte. Der mögliche Zusammenhang zwischen MKS-Aufnahme und internem Schlüpfen sollte in künftigen Studien quantitativ untersucht werden.

Den Autoren der vorliegenden Studie ist bewusst, dass die Exposition von *C. elegans* gegenüber MKS in ihrem Ansatz artifizial war (MKS-Futtersuspensionen auf Agarplatten). Diese Exposition wurde jedoch gewählt, weil das allgemeine Potenzial von MKS zur Entwicklung einer Toxizität bei *C. elegans* verstanden werden sollte. In Böden wäre es nicht möglich gewesen, ein allgemeines Prozessverständnis zu erlangen. Die Gestaltung realistischerer Versuchsaufbauten mit Böden ist eine Herausforderung, da es derzeit nur wenige Daten zur MKS-Belastung in Böden gibt und nicht klar ist, ob die bisher gefundenen MP-Konzentrationen in städtischen ($0,3 - 67,5 \text{ g kg}^{-1}$), Ufer- ($0 - 0,055 \text{ g kg}^{-1}$) und landwirtschaftlichen Böden ($0 - 42.960 \text{ Partikel kg}^{-1}$) (Helmberger et al., 2020) zu negativen Effekten auf Bodenbiota führen. Für MKS-Partikel $< 10 \mu\text{m}$ (Haegerbaeumer et al., 2019) und damit für den aufnehmbaren Größenbereich von *C. elegans* liegen aufgrund von Nachweisgrenzen noch wenige Daten in Umweltproben vor. Mit dem Aliquot von $100 \mu\text{l}$, welches jedem Nematoden in den vorliegenden Experimenten verabreicht wurden, war ein Nematode effektiv $0,1, 1$ und $10 \mu\text{g}$ MKS ausgesetzt. Basierend auf einer globalen medianen Abundanz von 12.030 Individuen pro 1 kg trockenen Bodens (van den Hoogen et al., 2019) und den massenbasierten MKS-Konzentrationen, die in Böden gefunden wurden (siehe oben), bedeutet dies eine Exposition von $0 - 4,6 \mu\text{g}$ pro Nematode für Uferböden und $25 - 5.600 \mu\text{g}$

pro Nematode für Böden in Industriegebieten. Die in der vorliegenden Studie verwendeten MKS-Mengen liegen also in einem Bereich, der typischerweise in natürlichen Böden vorkommt.

4.4.2 Springschwänze (IBBS)

4.4.2.1 Motivation und Ziele

Das Ziel von Kapitel 4.4.3 war es, mittels eines Reproduktionstests herauszufinden, ob sich die Anzahl der Nachkommen der Springschwänze in MKS-kontaminierten Prüfböden im Vergleich zu unbelasteten Kontrollböden ändert. Um eine umfassendere Analyse zu betreiben, wurde darüber hinaus in einer Vermeidungsprüfung getestet, ob Springschwänze MKS-kontaminierte Böden gezielt vermeiden und somit möglicherweise deren Lebensraumfunktion eingeschränkt ist. Abgeleitet werden sollte in beiden Fällen eine mögliche Dosis-Wirkungs-Beziehung von MKS auf Springschwänze sowie die niedrigste Konzentration, bei der eine statistisch signifikante Wirkung vorliegt. Des Weiteren wurde untersucht, ob Springschwänze MKS zu sich nehmen. Dies war notwendig, da die Partikelaufnahme eine Ursache für negative Auswirkungen von MKS auf Organismen darstellen könnte.

4.4.2.2 Methodik

Um die oben beschriebenen Fragestellungen zu beantworten, wurden einerseits mehrere ökotoxikologische Standardtests auf Basis internationaler Richtlinien durchgeführt und andererseits fluoreszenzmarkierte MKS an die Tiere verfüttert.

Mit dem Test Nr. 232 der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (2009) wurde geprüft, inwieweit MKS-Verschmutzungen im Boden die Reproduktionsleistung des Springschwanzes *Folsomia candida* beeinflussen könnten. Darüber hinaus wurde untersucht, ob Unterschiede in der Nachkommenzahl auftreten, wenn MKS-belastete Böden mit solchen verglichen werden, die mit natürlichen Partikeln angereicht wurden. Dies ermöglicht es, Aussagen darüber zu treffen, ob etwaige Effekte lediglich auf die Partikelgröße oder auf MKS-spezifische Eigenschaften zurückzuführen sind (Connors et al., 2017). Als natürliches Partikel wurde Kaolin gewählt, welches bereits in MKS-Effektstudien mit aquatischen Lebewesen eingesetzt wurde (Scherer et al., 2019) und zudem eine vergleichbare Partikelgrößenverteilung wie die im Projekt hergestellten MKS aufwies. Bei allen Reproduktionstests wurden zu Versuchsbeginn eine definierte Anzahl an Jungtieren in den Kontroll- und Prüfböden eingebracht. Nach einer Testdauer von 28 Tagen wurden die Nachkommen ausgezählt. Durch einen Vergleich mit dem Kontrollboden ist es abschließend möglich, zu beurteilen, ob dieser Endpunkt im Falle von *F. candida* beeinflusst wird.

Darüber hinaus wurde eine Vermeidungsprüfung eingesetzt, um zu testen, ob *F. candida* gegenüber MKS im Boden eine Vermeidungsreaktion zeigt (International Organization for Standardisation, 2011; Abbildung 63). Kaolin wurde als natürliches Partikel ebenfalls getestet. Bei beiden Prüfsubstanzen wurden die Testgefäße in zwei Segmente geteilt, wobei ein Teil mit Kontroll- und der andere mit Prüfboden befüllt wird. Die Jungtiere können sich dann für zwei Tage frei bewegen. Im Anschluss werden die beiden Segmente voneinander getrennt und die jeweilige Anzahl der Tiere je Segment ermittelt. Je mehr davon im Kontrollboden zu finden sind, desto eher wird von einer Vermeidungsreaktion gegenüber MKS-kontaminierten Böden gesprochen. Ab einer Vermeidung von 40 % muss zudem von einer eingeschränkten Lebensraumfunktion ausgegangen werden.

In einem weiteren Experiment sollte analysiert werden, ob *F. candida* die im Laufe des Projekts hergestellten MKS aufnehmen kann. Dafür wurden die Partikel zunächst mit dem Fluoreszenzfarbstoff NR markiert. Danach wurden die gefärbte MKS einigen Kulturschalen mit Springschwänzen zugegeben. Nach einer siebentägigen Exposition wurden mehrere Tiere entnommen und mittels Fluoreszenzmikroskopie geprüft, ob die leuchtenden MKS im Magen-Darm-Trakt von *F. candida* aufzufinden sind.

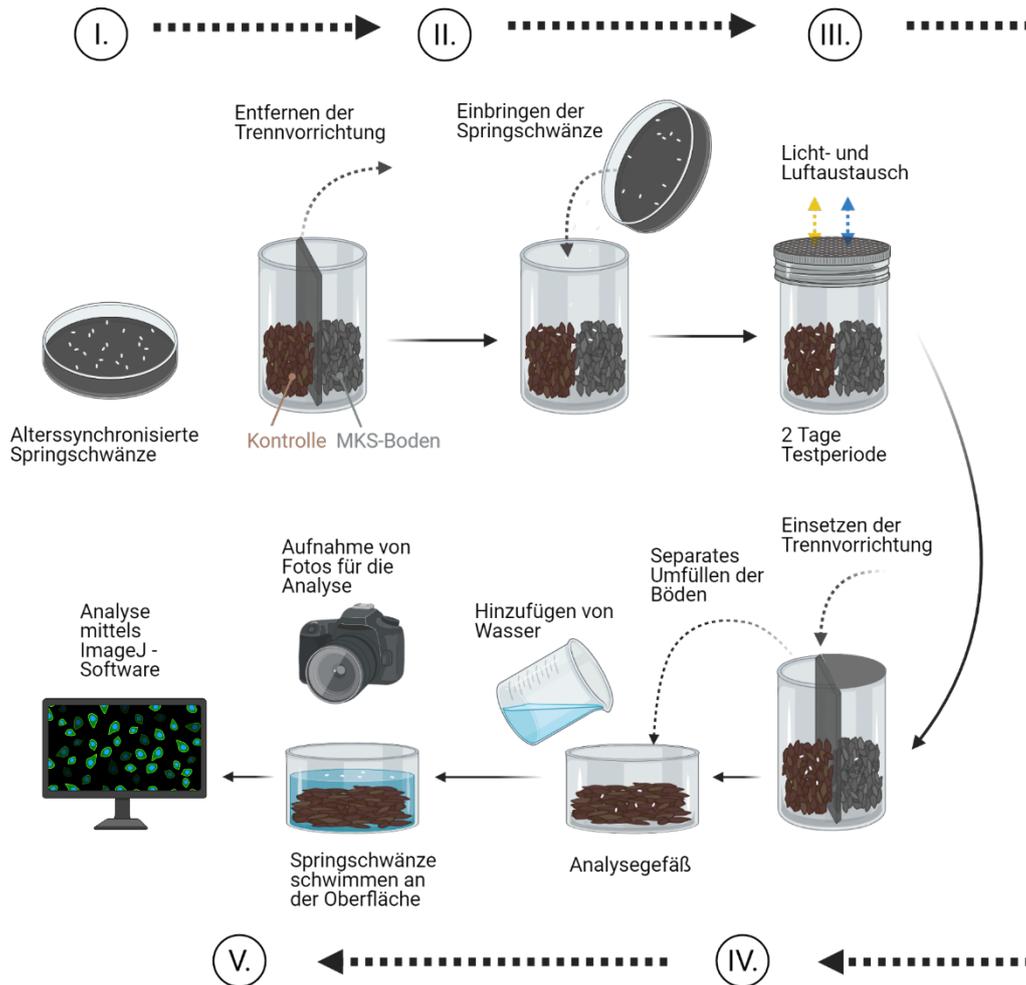


Abbildung 63: Schematischer Ablauf einer Vermeidungsprüfung mit dem Springschwanz *Folsomia candida*.

I.

4.4.2.3 Ergebnisse

Zur Bewertung der ökotoxikologischen Auswirkungen von MKS auf die Bodenfauna hat das IBBS Versuche mit dem Springschwanz *F. candida* durchgeführt. Dabei wurde sowohl der Reproduktionserfolg als auch das Vermeidungsverhalten untersucht und zusätzlich geprüft, ob bei diesem Bodenorganismus eine Partikelaufnahme von MKS zu erwarten ist. Die Experimente konnten trotz ständiger Optimierung der Laborbedingungen die Gültigkeitskriterien internationaler Normen leider nicht einhalten, da die Variabilität der Nachkommenzahl innerhalb der Kontrollgruppe zu hoch waren.

4.4.2.3.1 Reproduktionstests

Bei Reproduktionstests mit biologisch abbaubaren MKS aus PBAT/PLA konnte eine bedeutsame Abnahme der Nachkommenzahl von durchschnittlich 34 % erst bei einer hohen Konzentration von 1,50 Gew. % beobachtet werden (Abbildung 64). Die Mortalität der ausgewachsenen Tiere lag im Mittel bei 4,5 % und war somit relativ gering. Durch die Zugabe von PBAT/PLA nahm der pH-Wert des Bodens um 0,36 – 1,11 merklich zu, sodass dieser am Versuchsende zwischen 6,18 und 7,42 lag. Dabei zeigte sich, dass höhere MKS-Konzentrationen mit einem höheren pH-Wert einhergingen. Die Zunahme des pH-Werts wurde möglicherweise durch Kreide verursacht, welche aus der PBAT/PLA-Mischung freigesetzt wurde. Systematische Untersuchungen haben gezeigt, dass der Einfluss von pH-Veränderungen auf die Nachkommenzahl von *F. candida* eher vernachlässigbar ist (Domene et al., 2011). Insofern ist davon auszugehen, dass die beobachteten Effekte tatsächlich auf die MKS-Verschmutzung des Bodens zurückzuführen sind.

Ein ähnliches Bild zeigte sich auch bei einer Vermischung des Bodens mit LDPE. Auch in diesem Fall zeigten sich negative Auswirkungen auf die Nachkommenzahl erst bei höheren Dosen (Abbildung 64). Allerdings setzten diese bereits bei geringeren Konzentrationen als bei PBAT/PLA ein. So war die Reproduktionsleistung bereits bei einer LDPE-Kontamination von 0,12 Gew. % um 43 % verringert. Bei der nächsthöheren Dosis erreichte die Abnahme dann ihren Maximalwert von 48 %. Danach nahm sie wieder etwas zu, was jedoch wahrscheinlich auf die hohe Variabilität der Stichprobe zurückzuführen war. Auch die Mortalität war mit durchschnittlich 11 % merklich höher als bei einer Zugabe von PBAT/PLA.

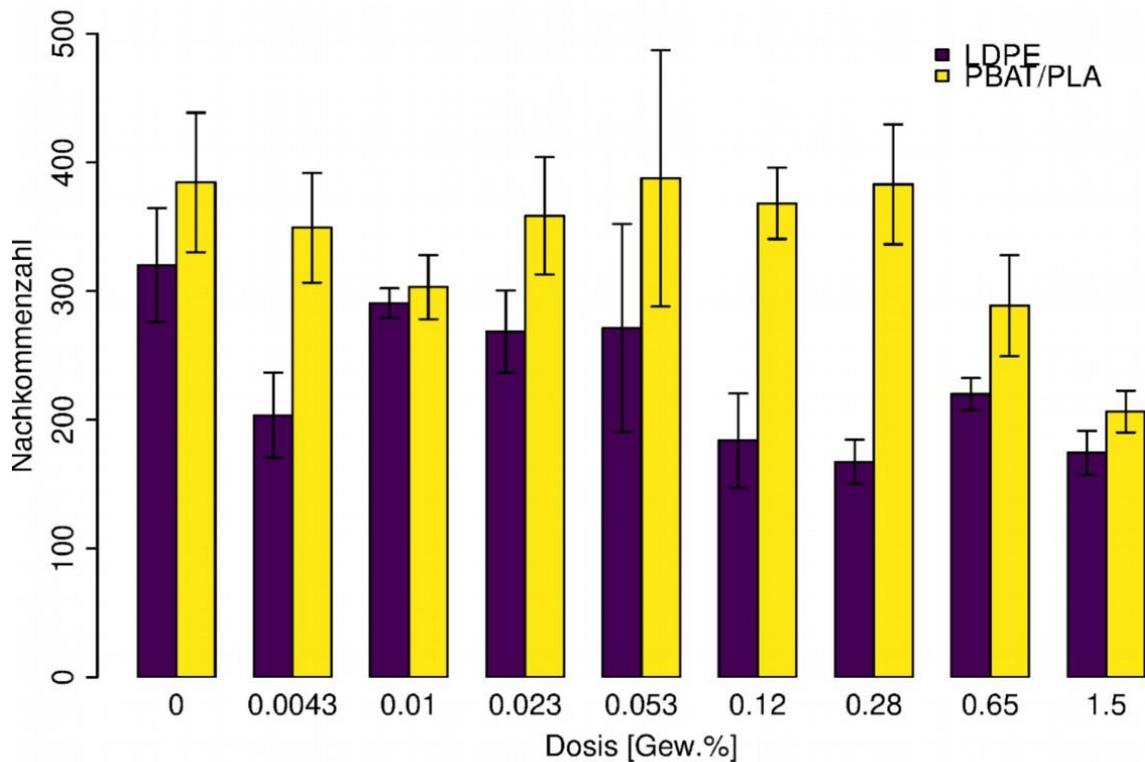


Abbildung 64: Ergebnis von Reproduktionstests nach OECD Test Nr. 232 mit MKS aus PBAT/PLA und LDPE als Prüfsubstanz.

Anmerkung: Als Kontrolle (0) wurde ein MKS-freier Boden eingesetzt. Dargestellt sind der Mittelwert sowie der Standardfehler für n = 8 Replikate im Falle der Kontrolle und für n = 4 Replikate im Falle der Behandlungen.

4.4.2.4 Vermeidungsprüfungen

Das Ausmaß des Vermeidungsverhaltens zeigte in Vortests eine klare Dosis-Wirkungs-Beziehung mit der MKS-Konzentration im Boden (Abbildung 65). Grundsätzlich gilt: je mehr MKS im Boden vorlag, desto eher vermieden die Tiere den verunreinigten Lebensraum. Für Kaolin konnte hingegen kein klarer Trend abgeleitet werden, da das Vermeidungsverhalten der Springschwänze gegenüber diesem natürlichen Partikel stark schwankte. Dieses rief jedoch bei den meisten Dosen vergleichbare oder stärkere Vermeidungsreaktionen hervor als MKS aus LDPE.

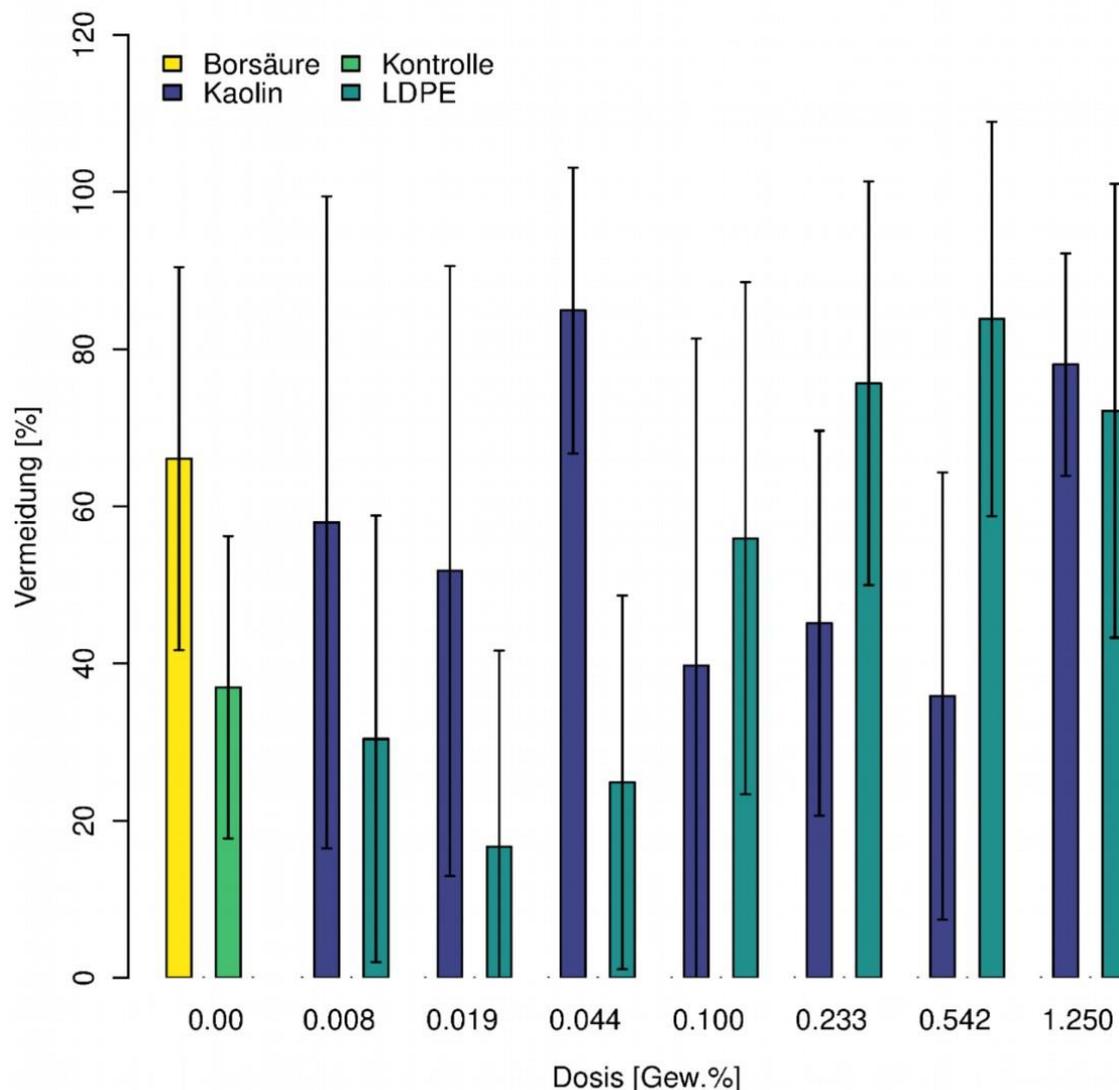


Abbildung 65: Ergebnis einer Vermeidungsprüfung nach ISO 17512-2:2011 mit LDPE-MKS und Kaolin als Testpartikeln.

Anmerkung: Als Kontrolle wurde ein nicht verunreinigter Boden eingesetzt. Borsäure diente als Referenzsubstanz. Dargestellt sind der Mittelwert sowie die Standardabweichung für n = 4 Replikate.

4.4.2.5 Partikelaufnahme

Es wurde gezeigt, dass Springschwänze, die vom IKT und ICT hergestellten und mit NR markierten MKS aufnehmen können (Abbildung 66). Welche Folge dies hat, ist bislang noch weitestgehend ungeklärt. Unabhängig davon hat eine andere Forschergruppe vor Kurzem ähnliche Beobachtungen gemacht und festgestellt, dass *F. candida* MKS-Partikel ab einer Größe von 66 µm und kleiner aufnehmen kann (Kim & An, 2020).

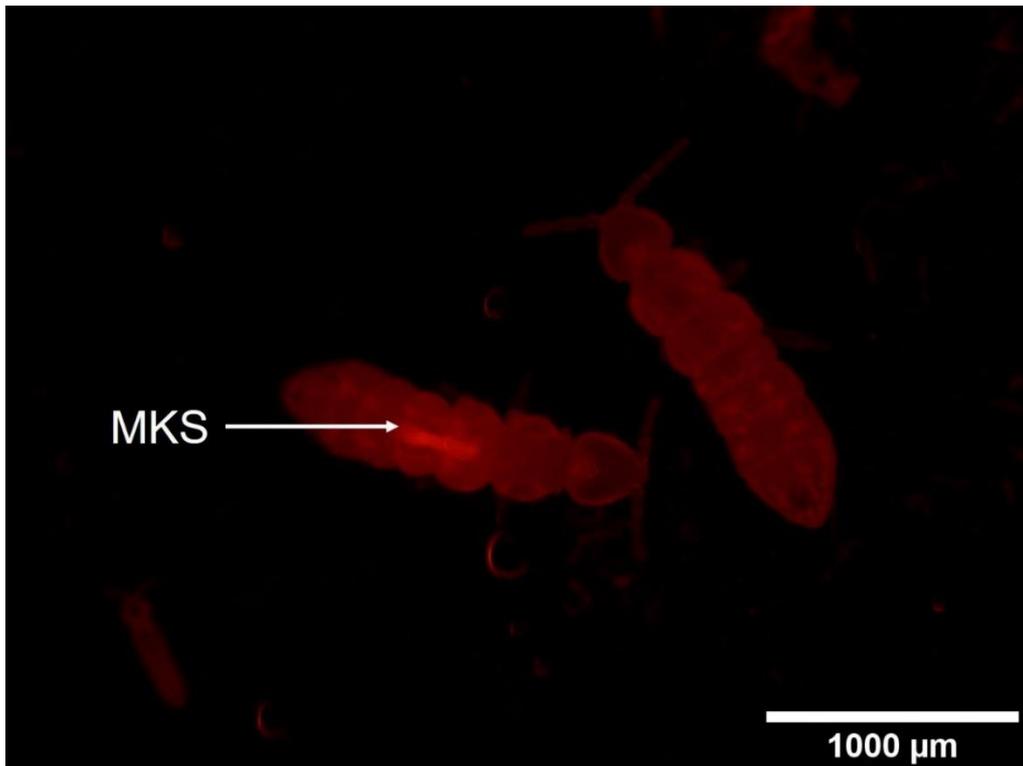


Abbildung 66: NR-markierte MKS aus PBAT/PLA im Verdauungstrakt des Springschwanzes *Folsomia candida*.

4.4.2.6 Diskussion

Die Reproduktionstests zeigten, dass sowohl für PBAT/PLA als auch für LDPE negative Effekte auf die Nachkommenzahl erst bei hohen Dosen auftreten. Da diese deutlich höher sind als typische Belastungen von Freilandböden (Büks & Kaupenjohann, 2020), kann davon ausgegangen werden, dass für Springschwänze von MKS noch keine Beeinträchtigungen auf die Reproduktion ausgehen. Unklar bleibt, woher die unterschiedlichen Effekte von PBAT/PLA und LDPE herrühren. Da bei LDPE jedoch keine Additive enthalten waren, kann eine vermehrte Beeinflussung der Springschwänze durch diese hier ausgeschlossen werden. Eine weitere Möglichkeit wäre, dass die beiden Kunststoffarten verschiedene Oberflächeneigenschaften aufwiesen, sodass es zu einem ungleichen Bewuchs durch Biofilme hätte kommen können. Es ist bekannt, dass Biofilme auf MKS einen wesentlichen Einfluss auf die Nachkommenzahl von *F. candida* haben können (Ju et al., 2019; Zhu, Chen, et al., 2018b) (Ju et al., 2019; D. Zhu et al., 2018). Diese Hypothese muss jedoch noch überprüft werden. Ebenfalls in Betracht gezogen werden muss, dass die Partikelzahl von LDPE bei gleicher Gesamtmasse wesentlich höher ist als die von PBAT/PLA. Da die in diesen Arbeiten eingesetzten MKS wesentlich kleiner waren als das Gros der Partikel im Prüfboden, ist davon auszugehen, dass sich dieser verdichtet haben könnte. Wäre dies der Fall, ist es nicht verwunderlich, dass die Nachkommenzahl bei LDPE und PBAT/PLA stärker gesunken

ist (Domene et al., 2011). All diese Möglichkeiten müssen jedoch durch weitere Untersuchungen noch bestätigt werden.

Bei den Vermeidungsprüfungen konnte gezeigt werden, dass die Vermeidung von *F. candida* gegenüber MKS im Boden mit steigender Verunreinigung zunimmt. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Ju et al. (2019), bei denen die Vermeidung gegenüber sphärischen PE-Partikeln bei 1 Gew.% höher war als bei 0,5 Gew.%. Ab einer LDPE-Konzentration von 0,1 Gew.% kam es bei den Versuchen im Rahmen des MiKoBo-Projekts zu einer Einschränkung der Lebensraumfunktion des Bodens. Selbst Böden im städtischen Umland mit einer Konzentration von durchschnittlich 0,000002 Gew.% sind jedoch deutlich weniger verunreinigt (Büks & Kaupenjohann, 2020). Hinzu kommt, dass es bei einer Zugabe des natürlichen Partikels Kaolin zumindest bei manchen Konzentrationen ähnlich oft oder sogar häufiger ein Vermeidungsverhalten zu beobachten war. Somit ist es im Falle von Springschwänzen nach aktuellem Forschungsstand eher unwahrscheinlich, dass die Lebensraumfunktion von MKS-belasteten Böden im Freiland beeinträchtigt ist.

Arbeiten anderer Wissenschaftler zeigen, dass Springschwänze gegenüber MKS grundsätzlich wesentlich sensibler reagieren als alle anderen untersuchten Bodenorganismen (Kim & Rillig, 2021). Sie sind in der Lage, MKS an andere Orte zu transportieren (Maaß et al., 2017; Zhu, Bi, et al., 2018), ihre Nachkommenzahl sinkt in MKS-belasteten Böden (Ju et al., 2019; Selonen et al., 2020; van Gestel & Selonen, 2018; Xiang et al., 2019; Zhu, Chen, et al., 2018b, 2018a) und das Vorhandensein von MKS führt bei Springschwänzen zu einer eingeschränkten Beweglichkeit im Boden (Kim & An, 2019). Diese Effekte auf eine Vielzahl von Endpunkten zeigt, dass Springschwänze in der Gefahrenbeurteilung von MKS eine bedeutende Rolle spielen. Aufgrund dessen und ihrer zentralen Bedeutung für terrestrische Ökosysteme (Fountain & Hopkin, 2005), der komplexen Zusammensetzung von MKS und ihrer mannigfaltigen Interaktionen mit anderen Umweltgiften (Souza Machado, Wood & Kloas, 2019; Waldman & Rillig, 2020) wird empfohlen, weitere Effektstudien mit diesen Tieren durchzuführen.

4.4.3 Regenwürmer (IBS, TÖK I)

4.4.3.1 Motivation und Ziele

Regenwürmer zählen zu den wichtigsten Vertretern der Makrofauna im Boden. Durch die Aufnahme organischer Substanz und die anschließende horizontale und vertikale Verlagerung in andere Bodenschichten tragen sie aktiv zur Durchmischung des Bodens bei (Lavelle, 1997). Dieser als Bioturbation bezeichnete Prozess stellt eine der zentralen Ökosystemdienstleistungen von Regenwürmern dar und beeinflusst die Struktur und

Fruchtbarkeit des Bodens (Lavelle et al., 2006). Die entstehenden Grabgänge und die ausgeschiedene Regenwurmlosung modifizieren die Porosität und Struktur des Bodens und tragen zu einer verbesserten Aggregatstabilität, Infiltration und Durchlüftung des Bodens bei (Görres et al., 2001).

In bisherigen Studien zur Interaktion von Kunststoffen mit Regenwürmern wurde nachgewiesen, dass vertikalgrabenden Regenwürmern eine Rolle beim Eintrag von Kunststoff in den Boden spielen (Huerta Lwanga et al., 2017; Rillig et al., 2017; Zhang et al., 2018). Zhang et al. (2018) zeigte, dass eine vorherige Kompostierung biologisch abbaubarer Kunststoffe aufgrund des während der Kompostierung entstehenden Biofilms und damit einhergehender höherer mikrobieller Aktivität auf den Kunststoffen den Eintrag in den Boden verstärkt. Über die Wechselwirkungen von Regenwürmern mit Kunststofffragmenten, die aus Gärprodukten stammen, liegen bisher jedoch keine Studien vor. Neben der Untersuchung, ob Regenwürmer in Präsenz ihrer natürlichen Nahrung (Blattstreu) Kunststofffolienstreifen in den Boden einziehen, wurde in 4.4.3 untersucht, wie tief Regenwürmer die Kunststofffolienstreifen in den Boden einziehen und inwieweit der Transport von Kunststofffolienstreifen in den Boden durch die Kunststoffart (LDPE vs. PBAT/PLA) und biologische Vorbehandlung durch Fermentation beeinflusst wird.

In einem weiteren Versuch mit dem Kompostwurm *Eisenia fetida* waren außerdem ökotoxikologische Studien am TÖK1 geplant. Diese konnten jedoch aufgrund von Verzögerungen bei der Bereitstellung der Referenz-MKS und den generellen Einschränkungen im Laborbetrieb aufgrund der Corona-Pandemie sowie eines unvorhergesehenen Einbruchs der Wurmkultur innerhalb der Projektlaufzeit von MiKoBo nicht umgesetzt werden. Allerdings liegen zwischenzeitlich bereits Studien vor, die die Effekte von MKS auf *Eisenia fetida* untersucht hatten (Ding et al., 2021; Rodríguez-Seijo et al., 2018; Wang et al., 2019). Diese bestätigen, dass nur bei sehr hohen (nicht umweltrelevanten) Konzentrationen überhaupt sub-letale oxidative Stressreaktionen gezeigt wurden. Zudem zeigten Ding et al. (2021) in einer Studie mit biologisch abbaubarem Kunststoff (PLA & Polypropylencarbonat) und konventionellem Kunststoff (PE), dass Effekte unabhängig von der Kunststoffsorte und eher abhängig von der Kunststoffkonzentration im Boden sind.

4.4.3.2 Methodik

In einem Laboraufbau wurden PVC-Rohre mit einer am oberen Ende angebrachten Kunststoffschüssel mit Boden gefüllt (Abbildung 67). In zwei Versuchsvarianten (jeweils n = 6) wurden entweder fermentierte (Fermentation am BPT siehe Kapitel 4.3) oder nicht fermentierte 5 x 20 mm große LDPE- und PBAT/PLA-Kunststofffolienstreifen (n = 10)

zusammen mit frisch gesammelten Ahornblattstreifen (natürliche Nahrungsquelle) in getrennten Sektoren auf die Bodenoberfläche gelegt und ein Exemplar von *Lumbricus terrestris* in die Mitte gesetzt (Abbildung 67). Im Laufe von 8 Tagen wurden die auf der Oberfläche verbliebenen Streifen gezählt. Im Anschluss wurden die Röhren in 10 cm lange Segmente zersägt und der Boden auf 1 mm gesiebt, um die Kunststofffolienstreifen zu extrahieren.

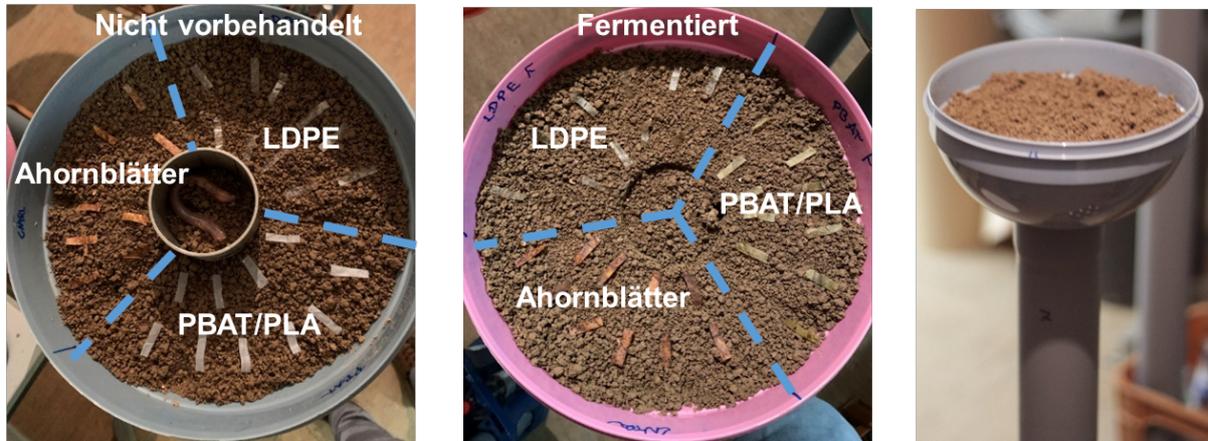
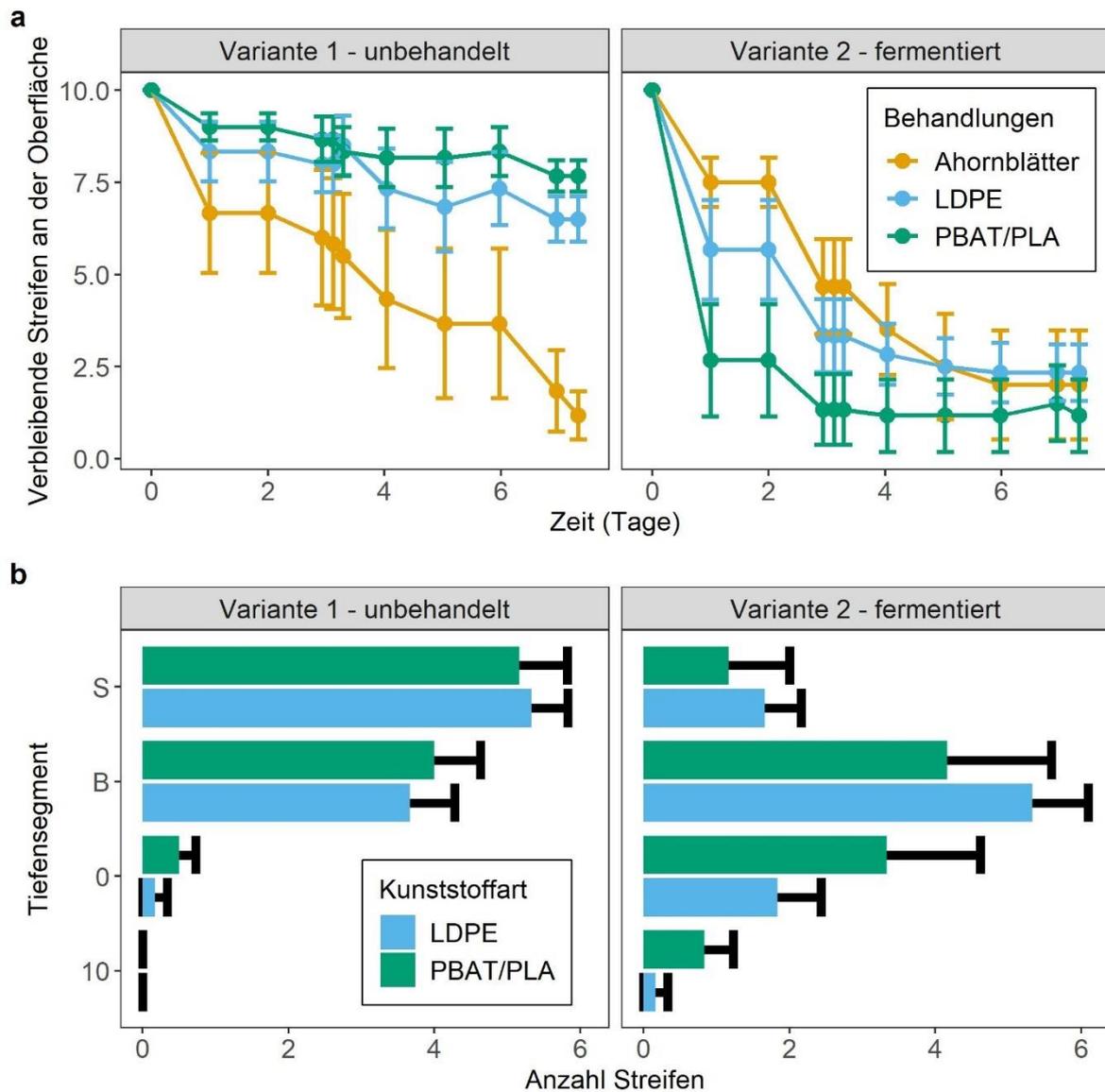


Abbildung 67: Setup des Regenwurmrohrenversuchs mit Kunststofffolienstreifen. Bilder: Lion Schöpfer.

4.4.3.3 Ergebnisse

Unabhängig von der Kunststoffart zogen Regenwürmer fermentierte Kunststofffolienstreifen in gleichem Maß in den Boden wie die Ahornblattstreifen (Abbildung 68a). Auch nicht fermentierte Kunststoffe wurden von den Regenwürmern in den Boden eingezo-gen, jedoch in deutlich geringerem Ausmaß als fermentierte Kunststoffstreifen und Ahornblätter. Kunststoffstreifen wurden in eine Tiefe von bis zu 30 cm transportiert, wobei fermentierte Kunststoffstreifen tendenziell tiefer eingezo-gen wurden als unbehandelte Kunststoffstreifen (Abbildung 68b).



Anmerkung: a An der Oberfläche verbleibende Kunststofffolienstreifen (LDPE und PBAT/PLA, fermentiert oder unbehandelt) in Abhängigkeit der Zeit sowie Ahornblattstreifen als natürliche Nahrungsquelle. b Wiederfindung der Kunststoffstreifen (LDPE und PBAT/PLA, fermentiert und unbehandelt) in Abhängigkeit der Tiefe. Tiefensegmente: S: Oberfläche; B: 0 – 10 cm, 0: 10 – 20 cm; 10: 20 – 30 cm.

4.4.3.4 Diskussion

Untersuchungen zu den Interaktionen der Regenwurmart *L. terrestris* mit Kunststofffragmenten zeigen, dass Regenwürmer fermentierte Kunststofffragmente in gleichem Maße wie ihre natürliche Nahrung in den Boden eintragen und in bis zu 30 cm Tiefe

transportierten. Insofern ist zu erwarten, dass vor allem umweltrelevante, „gealterte“ Kunststoffe z.B. aus Bioabfallanlagen, wie sie auch tatsächlich in den Boden gelangen, von Regenwürmern in den Boden eingezogen werden mit noch unbekanntem Folgen für biogeochemische Prozesse insbesondere in größeren Bodentiefen.

4.4.3.5 Fazit

MKS könnten wichtige Akteure des Bodennahrungsnetzes auf verschiedenen Ebenen beeinträchtigen. Eine entscheidende Rolle für die MKS-Toxizität gegenüber Bodenlebewesen spielt die Konzentration, während die Kunststoffart nachrangig ist. Darüber hinaus wurden Hinweise gefunden, dass Bodenlebewesen besonders stark mit „gealterten“ Kunststoffen interagierten (Regenwürmer), was vermutlich durch den auf den Kunststoffen vorhandenen Biofilm zu erklären ist. Angesichts dieser im Rahmen von MiKoBo erworbenen Erkenntnisse zu MKS-Interaktionen mit Bodenlebewesen sowie zu umweltrelevanten Konzentrationen von MKS und deren Größenverteilung in Komposten, Gärprodukten und Böden sollten künftige Studien Effekte von Fragmenten aus kompostierten Bioabfallsammelbeuteln (kommerziell erhältlich) oder anderweitig gealterten MKS in umweltrelevanten Konzentrationen untersuchen, um das Gefahrenpotential von MKS für Bodentiere unter realistischeren Szenarien besser abschätzen zu können.

5. Schlussfolgerungen, Forschungsbedarf und Empfehlungen

5.1 Schlussfolgerungen und Forschungsbedarf

Mit dem Projekt wurden neue wichtige Erkenntnisse zum Vorkommen und Verhalten von MKS in Komposten, Gärresten und Böden gewonnen.

Erstmalig wurde eine Methode entwickelt, die eine Partikelanalyse an bis zu 250 g Bodenprobe erlaubt. Hierbei können sowohl konventionelle als auch biologisch abbaubare Kunststoffpartikel in einer Größe von 10 µm bis 5 mm erfasst werden. Mittels der entwickelten Methodik können ökologisch wichtige Eigenschaften wie Kunststoffart, Größe und Form der Partikel bei umweltrelevanten MKS-Konzentrationen quantifiziert werden. Dies ist ein wichtiger Meilenstein für die Risikobewertung von MKS. Eine ausführliche Dokumentation des mikroskopischen Aufnahmesettings und der digitalen Bildverarbeitung wird zur Sicherstellung der Reproduzierbarkeit empfohlen. Allerdings sind Probenaufarbeitung, Messung und Auswertung mit einer Bearbeitungsdauer von zwei bis vier Wochen pro Charge noch sehr zeitaufwändig. Daher sollte in Zukunft auch weiter an der Methodenentwicklung, Effizienzsteigerung und Automatisierung gearbeitet werden, damit die partikelbasierte Analyse von komplexen Umweltmatrizes für Standardanalysen möglich ist.

Partikelanzahl, -größe und -form sind aus ökologischer Sicht (Risikobetrachtungen) relevante Parameter, die zukünftig standardisiert bestimmt werden sollten. Massenbilanzen und -untersuchungen waren nicht Gegenstand des durchgeführten Forschungsvorhabens. Auch massenbasierte Methoden sollten im Hinblick auf eine Standardisierung weiterentwickelt werden (z. B. thermogravimetrische Methoden). Unter der Voraussetzung, dass die Daten hinsichtlich der massenbezogenen Kunststofffraktionen und der Partikelzahlen an MKS in Zukunft in wesentlich größerem Umfang als bisher vorhanden und somit statistisch belastbar sind, ist es vorstellbar, für definierte Komposte und Gärprodukte auf Anlagenebene auch Partikelzahlen und Massegehalte zu korrelieren. Damit wären auch massenbezogene Konzentrationsangaben mit partikelbezogenen Angaben in Verbindung zu bringen, was gerade im Hinblick auf die Festlegung von gesetzlichen Rahmenbedingungen vorteilhaft wäre. Hierzu sind weitere Forschungsarbeiten erforderlich.

Die Untersuchungen an Kompostierungsanlagen zeigen, dass Qualitätskomposte aus Biogutanlagen in einer vergleichbaren Größenordnung mit MKS belastet waren wie solche aus Grüngutanlagen; sie können daher problemlos als Dünger verwendet werden. Allerdings wird

die hohe Qualität durch Siebschritte erkauft, die große Verluste an Organik nach sich ziehen. Komposte aus den modernen kombinierten Anlagen von Vergärung mit Kompostierung für Biogut sind um eine Größenordnung stärker belastet, insbesondere wenn das Biogut vor der Verarbeitung mechanisch zerkleinert wird und vor der Kompostierung der flüssige Gärrest abgepresst wird. Angesichts der Alternativen im Bereich Düngemittel (Kunstdünger) und der MKS-Hintergrundbelastung der Böden wird nach derzeitigem Erkenntnisstand davon ausgegangen, dass der Nutzen bei der Verwendung dieser Komposte als Dünger als größer einzuschätzen ist als ein möglicher Schaden durch die zusätzliche MKS-Belastung der Böden. Zur weiteren Klärung dieser Fragestellung sind weitere Studien erforderlich. Weiterhin sollten die Auswirkungen einer Düngung mit flüssigen Gärresten aus solchen Anlagen näher untersucht werden, weil diese flüssigen Gärreste in vergleichsweise größerem Umfang mit MKS kleiner 500 μm belastet sind. Untersuchungen der Komposte auf MKS kleiner 1 mm waren im Rahmen des Projektes nicht mehr möglich, weil die entsprechende Analytik erst gegen Ende des Projektes zur Verfügung stand. Hier sollten unbedingt weitere Untersuchungen folgen, da das toxische Potential von Mikro- und Nanokunststoffen mit abnehmender Größe zunimmt.

Aus den Versuchsergebnissen im Labor ist der Schluss zu ziehen, dass Kunststoffe im Rahmen biologischer Prozesse in Anlagen der Abfallwirtschaft fragmentiert werden. Dies betrifft besonders die untersuchten biologisch abbaubaren Kunststoffe, aber auch nicht biologisch abbaubare Kunststoffe wie LDPE. Sie waren nach 12 Wochen Versuchszeit sowohl in den Fraktionen kleiner 5 bis 0,5 mm als auch kleiner 500 bis 10 μm zu detektieren. Auch LDPE-Partikel wurden, wenn auch in zahlenmäßig geringem Umfang (ca. 20 Partikel/L FM) vor allem in der Fraktion 100 bis 22 μm gefunden. Es ist zu vermuten, dass diese LDPE-MKS durch Abrasion im Prozess entstanden sind.

Offene Forschungsfragen, die sich aus den Laboruntersuchungen ergeben, liegen besonders im Entstehen von MKS bei Kombinationsanlagen wie Vergärung mit nachgeschalteter Kompostierung, wie sie heute zunehmend in der Praxis eingesetzt werden. Darüber hinaus konnten nur drei biologisch abbaubare Kunststoffe untersucht werden. Forschungsbedarf besteht besonders im Fragmentierungs- und Abbauverhalten von aktuell neu entwickelten biologisch abbaubaren Kunststoffen, die als Kunststoffbeutel für die Bioabfallsammlung eingesetzt werden sollen.

Die automatisierte Detektion von Kunststoffpartikeln im Bereich kleiner 10 mm einschließlich der MKS ist im technischen Maßstab auf Entsorgungsanlagen derzeit nicht möglich. Hierzu ist eine starke Vereinzelung des zu untersuchenden Stoffstromes notwendig und die

Voraussetzung hierfür in den Anlagen erforderlich bzw. zu schaffen. Die Forschung und Entwicklung der Detektions- und Selektionsmethoden gerade für die automatisierte Detektion der Meso- und Mikro-Kunststoff-Fraktion (im Bereich kleiner 10 mm bis 1 mm) ist voranzutreiben.

Die Entwicklung von Biofilmen auf Kunststofffolien in Bioabfallverwertungsanlagen wurde im Labormaßstab verfolgt. Hierbei wurden auf allen Polymersorten Biofilme nachgewiesen. Kunststoffe könnten somit als Vektoren für Biofilme dienen, wenn sie in die Umwelt gelangen. Welche Auswirkungen dies hat, ist bislang unbekannt und sollte in Folgeprojekten untersucht werden.

Während der Prozessierung wurde bei den Kunststofffolien Mikrorisse auf der Oberfläche und eine erhöhte Brüchigkeit festgestellt. Beides könnte die Bildung von MKS in Bioabfallverwertungsanlagen begünstigen. Ob diese Fragmente anschließend von Organismen vollständig mineralisiert werden können, ist noch nicht geklärt. Dies sollte in weiteren Studien untersucht werden.

Weitere Untersuchungen zur MKS-Hintergrundbelastung landwirtschaftlicher Böden in Baden-Württemberg sollten durchgeführt werden, um räumliche Verteilungsmuster der MKS-Belastung zu identifizieren. Diese sollten auch Böden mit anderer Nutzungsgeschichte (z. B. Verwendung von Mulchfolien, Düngung mit organischen Düngemitteln) berücksichtigen. Insbesondere MKS-Partikel kleiner 0,2 mm waren im Boden des Feldversuchs häufig zu finden. MKS kleiner 0,01 mm und Nanopartikel haben möglicherweise direkte Auswirkungen auf Bodenorganismen, können aber derzeit noch nicht zuverlässig quantifiziert werden. Dafür ist die Weiterentwicklung der bestehenden MKS-Analytik unabdingbar.

MKS können wichtige Akteure des Bodennahrungsnetzes auf verschiedenen Ebenen beeinträchtigen. Eine entscheidende Rolle für die MKS-Toxizität gegenüber Bodenlebewesen spielt die Konzentration, während die Kunststoffart nachrangig scheint. Darüber hinaus wurden Hinweise gefunden, dass Bodenlebewesen besonders stark mit „gealterten“ Kunststoffen interagierten (Regenwürmer), was vermutlich durch den auf den Kunststoffen vorhandenen Biofilm zu erklären ist. Angesichts dieser im Rahmen des Projektes gewonnenen Erkenntnisse zu MKS-Interaktionen mit Bodenlebewesen sowie zu umweltrelevanten Konzentrationen von MKS und deren Größenverteilung in Komposten, Gärprodukten und Böden sollten künftige Studien Effekte von Fragmenten aus kompostierten Bioabfallsammelbeuteln (kommerziell erhältlich) oder anderweitig gealterten MKS in umweltrelevanten Konzentrationen untersuchen, um das Gefahrenpotential von MKS für Bodentiere unter realistischeren Szenarien besser abschätzen zu können.

Künftige Studien sollten sich mit der polymerspezifischen Plastisphäre in unterschiedlicher räumlicher Auflösung in verschiedenen Böden befassen, um mehr Informationen über die Auswirkungen dieses neuen anthropogenen Mikrohabitats in Böden auf mikrobiell gesteuerte Bodenprozesse zu erhalten. Außerdem sind weitere Studien zu Effekten von Fragmenten aus kompostierten Biomüllsammelbeuteln, welche kommerziell vertrieben und aktuell bei der Bioabfallsammlung eingesetzt werden, oder anderweitig gealterten MKS in umweltrelevanten Konzentrationen notwendig. Dadurch ließe sich das Gefahrenpotential von MKS für Bodenlebewesen unter realistischeren Bedingungen besser abschätzen.

Im Ergebnis wurde deutlich, dass MKS negative Auswirkungen auf verschiedenste Organismen zeigen. Die gefundenen Resultate sind für das Verständnis möglicher Auswirkungen der neuartigen Schadstoffklasse der MKS auf die Biosphäre von großer Bedeutung. Dies vor allem auch vor dem Hintergrund, dass die planetare Belastungsgrenze für neue synthetische Stoffe – vor allem für Kunststoffe – bereits überschritten ist (Persson et al., 2022). Das macht deutlich, dass weiterführende Forschungs- und Entwicklungsarbeiten dringlich geboten sind.

5.2 Empfehlungen

In Zukunft wird die Erfassung und Überwachung der MKS-Kontamination von Komposten und Gärprodukten, die auf Landwirtschaftsflächen ausgebracht werden, immer weiter an Bedeutung gewinnen. Hierzu ist es unbedingt notwendig, dass Standardmethoden entwickelt und eingesetzt werden, um die MKS zu identifizieren. Diese Standardmethoden sollten sowohl die Erfassung von Massenkonzentrationen sowie von Partikelcharakteristika (Anzahl, Größen, Formen) abdecken, da beides relevante Informationen für die Risikobewertung sind.

Im Rahmen dieses Projekts wurden PLA und PBAT sowie daraus hergestellte Blends als Vertreter der biologisch abbaubaren Produkte untersucht. Weitere, besonders neue, auf dem Markt verfügbare BAWs, die als Beutel für die Bioabfallsammlung eingesetzt werden, sollten in weiteren zukünftigen Untersuchungen betrachtet werden. Hierbei ist vorteilhaft, die Hersteller der Produkte mit einzubeziehen, um genaue Informationen über die Zusammensetzung der Materialien zu erhalten.

Aus den Untersuchungen wird deutlich, dass bei Bioabfallverwertungsanlagen darauf hinzuwirken ist, den Eintrag von im biologischen Prozess nicht vollständig abbaubaren Kunststoffen zu minimieren. Hierzu ist es erforderlich, die Bioabfallsammlung unter dem Aspekt einer hohen Sortenreinheit durchzuführen. Hierbei sind sowohl eine entsprechende Öffentlichkeitsarbeit und Gestaltung der Abfallsatzung als auch Kontrollmechanismen zur

Qualitätssicherung der erfassten Bioabfälle seitens der öffentlich-rechtlichen Entsorgungsträger erforderlich. Durch das in der Novelle der Bioabfallverordnung (2022) eingeräumte Rückweisungsrecht seitens der Anlagenbetreiber besteht darüber hinaus die Möglichkeit, stark mit Fremdstoffen verunreinigte Chargen zurückzuweisen und damit zu verhindern, dass sie in den Prozess gelangen.

Auf Ebene der Anlagenbetreiber ist dafür zu sorgen, dass eingetragene Kunststoffe möglichst nicht zerkleinert werden (z. B. selektive Zerkleinerung) bzw. frühzeitig im Prozessverlauf abgesiebt werden. Dies ist besonders bei Anaerobanlagen von Bedeutung, da für eine hohe Gasausbeute bei gleichzeitig relativ kurzen Aufenthaltszeiten oftmals eine intensive Zerkleinerung des Eintragssubstrates stattfindet. Darüber hinaus sollten generell Siebüberläufe, die als Strukturmaterial wiedereingesetzt werden, von Kunststoffen befreit werden. Neben Windsichtern können hierzu auch verstärkt Nahinfrarot-Detektionssysteme mit gezielter Ausschleusung durch Ausblasen eingesetzt werden. Durch Feinaufbereitung in entsprechenden Korngrößen können darüber hinaus Kunststoffe besonders im Makro- (größer 25 mm) und Teilen des Meso-Bereichs (größer 8 bis 10 mm) abgesiebt werden.

Generell sollte die Freisetzung von Kunststoffen durch die in Bioabfallverwertungsanlagen erzeugten Produkte (Komposte, Gärprodukte) so weit wie möglich durch qualitätssichernde organisatorische und technische Maßnahmen vermieden werden, um mögliche negative Auswirkungen auf terrestrische Ökosysteme auszuschließen.

Referenzen

- Aaron, J., & Chew, T. (2021). A guide to accurate reporting in digital image processing – can anyone reproduce your quantitative analysis? *Journal of Cell Science*, 134(6), jcs254151. <https://doi.org/10.1242/jcs.254151>
- Abts, G. (2020). *Kunststoff-Wissen für Einsteiger—Grundlagen, Eigenschaften und Recycling polymerer Werkstoffe* (3rd Aufl.). Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG. <https://doi.org/10.3139/9783446465251>
- Allen, S., Allen, D., Phoenix, V. R., Le Roux, G., Durántez Jiménez, P., Simonneau, A., Binet, S., & Galop, D. (2019). Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. *Nature Geoscience*, 12(5), 339–344. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0335-5>
- Bergmann, M., Mützel, S., Primpke, S., Tekman, M. B., Trachsel, J., & Gerdts, G. (2019). White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic. *Science Advances*. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax1157>
- Bonten, C. (2020). *Kunststofftechnik: Einführung und Grundlagen* (3rd Aufl.). Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG. <https://doi.org/10.3139/9783446465381>
- Cole, M. (2016). A novel method for preparing microplastic fibers. *Scientific Reports*, 6(1), 34519. <https://doi.org/10.1038/srep34519>
- Cowger, W., Gray, A., Christiansen, S. H., De Frond, H., Deshpande, A., Hermabessiere, L., Lee, E., Mill, L., Munno, K., Ossmann, B., Pittroff, M., Rochman, C., Sarau, G., Tarby, S., & Primpke, S. (2020). EXPRESS: Critical Review of Processing and Classification Techniques for Images and Spectra in Microplastic Research. *Applied Spectroscopy*, June, 000370282092906. <https://doi.org/10.1177/0003702820929064>
- De Tender, C., Schlundt, C., Devriese, L. I., Mincer, T. J., Zettler, E. R., & Amaral-Zettler, L. A. (2017). A review of microscopy and comparative molecular-based methods to characterize “Plastisphere” communities. *Analytical Methods*, 9(14), 2132–2143. <https://doi.org/10.1039/C7AY00260B>
- Ding, W., Li, Z., Qi, R., Jones, D. L., Liu, Q., Liu, Q., & Yan, C. (2021). Effect thresholds for the earthworm *Eisenia fetida*: Toxicity comparison between conventional and biodegradable microplastics. *Science of the Total Environment*, 781, 146884. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146884>
- Ehrenstein, G. W. (2021). *Strukturverhalten: Struktur und Eigenschaften von Kunststoffen, Oberflächenspannung, Spannungsrisse*. Carl Hanser Verlag GmbH & Co. KG. <https://doi.org/10.3139/9783446467101>
- Filella, M. (2015). Questions of size and numbers in environmental research on microplastics: Methodological and conceptual aspects. *Environmental Chemistry*, 12(5), 527. <https://doi.org/10.1071/EN15012>
- Helmberger, M. S., Tiemann, L. K., & Grieshop, M. J. (2020). Towards an ecology of soil microplastics. *Functional Ecology*, 34(3), 550–560. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13495>
- Hüffer, T., Metzelder, F., Sigmund, G., Slawek, S., Schmidt, T. C., & Hofmann, T. (2019). Polyethylene microplastics influence the transport of organic contaminants in soil. *Science of The Total Environment*, 657, 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.047>
- Hufnagl, B., Steiner, D., Renner, E., Löder, M. G. J., Laforsch, C., & Lohninger, H. (2019). A methodology for the fast identification and monitoring of microplastics in environmental samples using random decision forest classifiers. *Analytical Methods*, 11(17), 2277–2285. <https://doi.org/10.1039/c9ay00252a>
- International Organization for Standardisation. (2014a). *ISO 9276-2:2014 Representation of results of particle size analysis – Part 2: Calculation of average particle sizes/diameters and moments from particle size distributions*. International Organization for Standardisation.
- International Organization for Standardisation. (2014b). *ISO 13322-1:2014 Particle size analysis—Image analysis methods—Part 1: Static image analysis methods* (2. Aufl.). International Organization for Standardisation.

- International Organization for Standardisation. (2019). *ISO 527-1:2019 Plastics – Determination of tensile properties – Part 1: General principles*. International Organization for Standardisation.
- Ju, H., Zhu, D., & Qiao, M. (2019). Effects of polyethylene microplastics on the gut microbial community, reproduction and avoidance behaviors of the soil springtail, *Folsomia candida*. *Environmental Pollution*, 247, 890–897. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.01.097>
- Kehres, B., & Bundesgütegemeinschaft Kompost (Hrsg.). (2006). *Methodenbuch zur Analyse organischer Düngemittel, Bodenverbesserungsmittel und Substrate* (5. Aufl). Selbstverlag.
- Kijchavengkul, T., Auras, R., Rubino, M., Selke, S., Ngouajio, M., & Fernandez, R. T. (2010). Biodegradation and hydrolysis rate of aliphatic aromatic polyester. *Polymer Degradation and Stability*, 95(12), 2641–2647. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2010.07.018>
- Kim, S. W., Waldman, W. R., Kim, T.-Y., & Rillig, M. C. (2020). Effects of Different Microplastics on Nematodes in the Soil Environment: Tracking the Extractable Additives Using an Ecotoxicological Approach. *Environmental Science & Technology*, 54(21), 13868–13878. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04641>
- Kooi, M., & Koelmans, A. A. (2019). Simplifying Microplastic via Continuous Probability Distributions for Size, Shape, and Density. *Environmental Science & Technology Letters*, 6(9), 551–557. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00379>
- Kröner, S., & Doménech Carbó, M. T. (2013). Determination of minimum pixel resolution for shape analysis: Proposal of a new data validation method for computerized images. *Powder Technology*, 245, 297–313. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2013.04.048>
- Lavelle, P. (1997). Faunal Activities and Soil Processes: Adaptive Strategies That Determine Ecosystem Function. In *Advances in Ecological Research* (Bd. 27, S. 93–132). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60007-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60007-0)
- Mercier, A., Gravouil, K., Aucher, W., Brosset-Vincent, S., Kadri, L., Colas, J., Bouchon, D., & Ferreira, T. (2017). Fate of Eight Different Polymers under Uncontrolled Composting Conditions: Relationships Between Deterioration, Biofilm Formation, and the Material Surface Properties. *Environmental Science & Technology*, 51(4), 1988–1997. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03530>
- Ng, E.-L., Huerta Lwanga, E., Eldridge, S. M., Johnston, P., Hu, H.-W., Geissen, V., & Chen, D. (2018). An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems. *Science of The Total Environment*, 627, 1377–1388. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.341>
- Ommen, P., Zobek, N., & Meyer, R. L. (2017). Quantification of biofilm biomass by staining: Non-toxic safranin can replace the popular crystal violet. *Journal of Microbiological Methods*, 141, 87–89. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.08.003>
- Otsu, N. (1979). A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9(1), 62–66. <https://doi.org/10.1109/TSMC.1979.4310076>
- Palsikowski, P. A., Kuchnier, C. N., Pinheiro, I. F., & Morales, A. R. (2018). Biodegradation in Soil of PLA/PBAT Blends Compatibilized with Chain Extender. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(1), 330–341. <https://doi.org/10.1007/s10924-017-0951-3>
- Persson, L., Carney Almroth, B. M., Collins, C. D., Cornell, S., de Wit, C. A., Diamond, M. L., Fantke, P., Hassellöv, M., MacLeod, M., Ryberg, M. W., Søgaard Jørgensen, P., Villarrubia-Gómez, P., Wang, Z., & Hauschild, M. Z. (2022). Outside the safe operating space of the planetary boundary for novel entities. *Environmental Science & Technology*, acs.est.1c04158. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04158>
- Ren, Y., Hu, J., Yang, M., & Weng, Y. (2019). Biodegradation Behavior of Poly (Lactic Acid) (PLA), Poly (Butylene Adipate-Co-Terephthalate) (PBAT), and Their Blends Under Digested Sludge Conditions. *Journal of Polymers and the Environment*, 27(12), 2784–2792. <https://doi.org/10.1007/s10924-019-01563-3>

- Riedl, S. A. B., Völkl, M., Holzinger, A., Jasinski, J., Jérôme, V., Scheibel, T., Feldhaar, H., & Freitag, R. (2021). In vitro cultivation of primary intestinal cells from *Eisenia fetida* as basis for ecotoxicological studies. *Ecotoxicology*. <https://doi.org/10.1007/s10646-021-02495-2>
- Rodríguez-Seijo, A., da Costa, J. P., Rocha-Santos, T., Duarte, A. C., & Pereira, R. (2018). Oxidative stress, energy metabolism and molecular responses of earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to low-density polyethylene microplastics. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(33), 33599–33610. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3317-z>
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, *18*(1), 529. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>
- Schnepf, U. (2021). *MPA: a R package for data analysis and visualization of particle measurements in microplastic research* (1.0.0). <https://doi.org/10.5281/zenodo.5027655>
- Schöpfer, L., Schnepf, U., Marhan, S., Brümmer, F., Kandeler, E., & Pagel, H. (2022). Hydrolyzable microplastics in soil—Low biodegradation but formation of a specific microbial habitat? *Biology and Fertility of Soils*, *58*(4), 471–486. <https://doi.org/10.1007/s00374-022-01638-9>
- Scopetani, C., Chelazzi, D., Mikola, J., Leiniö, V., Heikkinen, R., Cincinelli, A., & Pellinen, J. (2020). Olive oil-based method for the extraction, quantification and identification of microplastics in soil and compost samples. *Science of the Total Environment*, *733*, 139338. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139338>
- Shekunov, B. Y., Chattopadhyay, P., Tong, H. H. Y., & Chow, A. H. L. (2007). Particle Size Analysis in Pharmaceuticals: Principles, Methods and Applications. *Pharmaceutical Research*, *24*(2), 203–227. <https://doi.org/10.1007/s11095-006-9146-7>
- Surita, S. C., & Tansel, B. (2014). Emergence and fate of cyclic volatile polydimethylsiloxanes (D4, D5) in municipal waste streams: Release mechanisms, partitioning and persistence in air, water, soil and sediments. *Science of The Total Environment*, *468–469*, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.006>
- Tansel, B., & Surita, S. C. (2014). Differences in volatile methyl siloxane (VMS) profiles in biogas from landfills and anaerobic digesters and energetics of VMS transformations. *Waste Management*, *34*(11), 2271–2277. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.07.025>
- van Schothorst, B., Beriot, N., Huerta Lwanga, E., & Geissen, V. (2021). Sources of Light Density Microplastic Related to Two Agricultural Practices: The Use of Compost and Plastic Mulch. *Environments*, *8*(4), Art. 4. <https://doi.org/10.3390/environments8040036>
- Wang, J., Coffin, S., Sun, C., Schlenk, D., & Gan, J. (2019). Negligible effects of microplastics on animal fitness and HOC bioaccumulation in earthworm *Eisenia fetida* in soil. *Environmental Pollution*, *249*, 776–784. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.102>
- Watteau, F., Dignac, M.-F., Bouchard, A., Revallier, A., & Houot, S. (2018). Microplastic Detection in Soil Amended With Municipal Solid Waste Composts as Revealed by Transmission Electronic Microscopy and Pyrolysis/GC/MS. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *2*. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00081>
- Weithmann, N., Möller, J. N., Löder, M. G. J., Piehl, S., Laforsch, C., & Freitag, R. (2018). Organic fertilizer as a vehicle for the entry of microplastic into the environment. *Science Advances*, *4*(4), eaap8060. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap8060>
- Zhu, D., Chen, Q. L., An, X. L., Yang, X. R., Christie, P., Ke, X., Wu, L. H., & Zhu, Y. G. (2018). Exposure of soil collembolans to microplastics perturbs their gut microbiota and alters their isotopic composition. *Soil Biology and Biochemistry*, *116*(October 2017), 302–310. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.10.027>

Zhu, K., Jia, H., Zhao, S., Xia, T., Guo, X., Wang, T., & Zhu, L. (2019). Formation of Environmentally Persistent Free Radicals on Microplastics under Light Irradiation. *Environmental Science & Technology*, 53(14), 8177–8186. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01474>