

MICROPLASTICS IN FRESHWATER: REVIEW OF SAMPLING METHODS AND SUBSEQUENT ANALYSES

МИКРОПЛАСТИКА У СЛАТКИМ ВОДАМА: ПРЕГЛЕД НАЧИНА УЗОРКОВАЊА И ПРАТЕЋИХ АНАЛИЗА

Mirjana Horvat¹
Zoltan Horvat²
Kristian Pastor³
Biljana Isić⁴
Marko Ilić³
Marijana Ačanski³
Milorad Marković⁵

UDK: 628.312.5:678.7
DOI: 10.14415/zbornikGFS39.05
CC-BY-SA 4.0 license

Summary: Microplastics are present in our environment (in freshwater and marine water, in the air, in our food and drinking water). They are considered an important pollutant since they can take up to thousands of years for these particles to decompose. On the other hand, they can have a negative effect on the health of organisms exposed to them. They can also be the carriers of different sources of pollution through the process of adsorption. Since most of the implemented research on this subject focuses on marine environments, additional investigation regarding freshwater pollution with microplastics can be of interest. This paper gives a brief overview and analysis concerning the measurements of microplastics in freshwater environments.

Keywords: microplastics, rivers, lakes, sampling, analysis

Резиме: Микропластика је присутна свугде у нашем окружењу (у слатким водама, у морским водама, у ваздуху, у храни и у пијаћој води). Она се сматра за значајно загађење, јер је потребно и до хиљаду година да би се ове честице разградиле. Са друге стране, микропластика има негативан утицај на здравље организама који су јој изложени. Честице микропластике могу носити са собом и друге врсте загађења путем процеса адсорпције. Пошто је значајни део спроведеног истраживања у овој области везан за морску воду, додатна разматрања која у фокусу имају слатке воде би могла бити од интереса. Овај рад даје кратак преглед и анализу начина мерења микропластике у слатким водама.

Кључне речи: микропластика, реке, језера, узорковање, анализа

¹ University of Novi Sad, Faculty of Civil Engineering Subotica, Kozaracka street 2a, 24000 Subotica, Serbia, e-mail: isicm@gf.uns.ac.rs

² University of Novi Sad, Faculty of Civil Engineering Subotica, Kozaracka street 2a, 24000 Subotica, Serbia, e-mail: horvatz@gf.uns.ac.rs

³ University of Novi Sad, Faculty of Technology Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Serbia, e-mail: kristian.pastor@uns.ac.rs

⁴ ALFÖLDVÍZ Regionális Víziközmű-szolgáltató Zártkörűen Működő Részvénytársaság, 5600 Békéscsaba, Hungary

⁵ University of Novi Sad, Faculty of Technical Sciences, Trg Dositeja Obradovica 6, 21000 Novi Sad, Serbia

1. INTRODUCTION

Microplastics refer to small plastic particles with a diameter ranging from 1 μ m to 5mm [1,2]. Depending on the origin, microplastics are either primary, originating from tiny particles developed for commercial use (these include microfibers, cosmetics, etc., and are made from polyethylene, polypropylene, and polystyrene) or secondary. The latter are created from larger plastic items that get fragmented through physical, chemical, or biological processes (as a result of UV radiation, waves, etc.). One significant issue with microplastic is that it does not break down easily. It can take hundreds to thousands of years for some particles to decompose. At the same time, it is an important environmental pollutant [3].

Microplastic particles can be found all around, in freshwater and marine water, in the air, in our food and drinking water [1]. According to Campanale et al. [1], the increased deposition of plastics started in 1945, whereas Akdogan and Guven [2] reported that the mass production of plastics began in the 1950s. According to Akdogan and Guven [2], plastic production currently exceeds 280 million tons globally.

The main concern regarding microplastic pollution is its potential negative effect on the health of exposed organisms. The impact microplastic can have on the environment can be divided into a chemical effect due to the hazardous chemicals associated with it and a physical effect due to its physical characteristics (shape, size, etc.) [1].

When considering the chemical characteristics of microplastics, it should be noted that they can contain two types of material. The first is present due to the additives used during their production to make them more resistant or give them a specific look. At the same time, other types of chemicals can be present as a

1. УВОД

Под термином микропластика се подразумевају честице пластике пречника од 1 μ m до 5mm [1,2]. У зависности од начина настанка, микропластика може бити примарна, настала од малих честица произведених за комерцијалну употребу (миковлакна, козметика, итд., обично направљена од полиетилена, полипропилена и полистирена) или секундарна. Секундарна микропластика настаје од већих комада пластике која се фрагментује услед физичких, хемијских или биолошких процеса (УВ зрачење, таласи, итд.). Један од значајних проблема везан за микропластику је чињеница да се не разграђује лако. За неке од ових честица су потребне стотине или хиљаде година да се разграде, због чега се сматрају за значајни загађивач животне средине [3].

Честице микропластике се могу наћи свуда око нас, у слатким и морским водама, у ваздуху, у храни и пићањој води [1]. Повећано депоновање пластике у виду отпада је почело 1945. године [1], док је масовна производња пластике почела током 1950.-их [2]. Тренутно, глобална производња пластике премашује 280 милиона тона годишње [2].

Један од примарних проблема везаних за микропластику је њен негативан утицај на организме који су јој изложени. Начелно, утицај микропластике на околину може бити хемијског карактера (услед штетних хемикалија везаних за пластику) или физичког карактера (облик, величина, итд.) [1].

Кад се разматрају хемијске особине микропластике, оне се могу сврстати у две категорије. Прва категорија обухвата адитиве који се користе у процесу производње, док друга категорија обухвата материје које се адсорбују за честице микропластике. Постоје адитиви који се користе

consequence of adsorption on the particles during their exposure to the environment. Materials used in plastic as additives that are considered hazardous are known to have harmful effects on the organisms exposed to them. According to Campanale et al. [1], some of these materials are used regularly during packaging or the plastics manufacturing process. Some examples of these include bisphenol A, phthalates, brominated flame retardants, and others.

Researchers have found microplastic pollution in virtually all parts of our surroundings, including marine environments, estuaries, rivers, lakes, soil, and the atmosphere [2]. Marine pollution with microplastics is widely studied since oceans are considered to be significantly polluted. Hence, numerous researchers conducted field measurements to determine the characteristics of this pollution in different parts of the marine environment (sea surface, subsurface waters, and the sediments) [2]. Conducted studies showed that microplastics are present in marine waters worldwide, such as the Mediterranean sea, Pacific Ocean, Arctic Polar waters, China Seas, etc. [2]. The main concern regarding this pollution is the uptake of microplastic particles by microorganisms inhabiting these waters. Namely, the small size of these particles makes them bioavailable to aquatic organisms [2].

Another location exposed to this type of pollution are estuaries that are being polluted via anthropogenic debris [2]. Research conducted regarding estuary pollution showed that microplastics are also present in the organisms living there, including fish. Some of the studies suggest that the increased availability of microplastics may cause reduced growth, reproductivity, and increased mortality of exposed organisms [2].

Considering that most of the implemented research focuses on

током производње пластике, а који се сматрају опасним по здравље организама који су им изложени. Неки од ових материјала се редовно користе током процеса паковања или током процеса производње пластике [1]. У групу изузетно штетних адитива спадају бисфенол А, фталати, броминирани ретарданти пламена, и други.

Научници су потврдили присуство микропластике готово у свим деловима нашег окружења, укључујући мора, речне делте, реке, језера, тло и атмосферу [2]. Пошто су мора изузетно загађена честицама микропластике, велики број истраживача је спровео теренска мерења са циљем утврђивања интензитета овог загађења у различитим деловима воденог стуба у морима (површина, подповршинска вода, нанос) [2]. Ова истраживања су такође потврдила да се микропластика може наћи у разним морима и океанима, као што је Медитеранско море, Пацифички океан, воде Арктика, Кинеско море, итд. [2]. Један од главних проблема везаних за овај тип загађења је да микроорганизми који живе у овим водама уносе у свој организам микропластику, која потом има негативан ефекат на њих [2].

Речне делте су још један тип водног тела зачјано загађен честицама микропластике услед отпада антропогеног порекла [2]. Спроведена истраживања су потврдила да су честице микропластике такође присутне у организмима који ту живе, укључујући и рибе. Друга истраживања тврде да изложеност живог света овом типу загађења може довести до сметњи у развоју, репродукцији и повишеном степену смртности [2].

Узевши у обзир да се већина истраживања фокусира на мора и океане [3], додатне анализе везане за присуство микропластике у

marine environments [3], additional investigation considering freshwater pollution with microplastics (lakes and rivers) is essential. The presented study gives a brief overview and analysis of microplastics measurements in freshwater environments.

2. MEASURING MICROPLASTICS IN FRESHWATER

2.1. Rivers

A paper published by Liedermann et al. [4] describes a reasonable approach for monitoring microplastics in rivers. The authors focused their investigation on developing a methodology capable of providing detailed and representative data regarding the pollution of medium and large rivers with microplastics. With that in mind, they created a net-based device capable of sampling water at three different depths simultaneously and tested the approach on the Danube River in Austria.

To get samples from different depths, they installed a measuring device that can gather debris at three different locations: the water's surface, the middle of the chosen water column, and near the bottom. After experimenting with altering mesh sizes, they found that too small mesh sizes do not perform well at velocities of 2-3m/s.

The final configuration of the measuring equipment consisted of three main sections, the section for surface water sampling, the section in the middle part of the water column, and the sampling of the near-bed material. The main characteristics of the constructed measuring device are given in Tab. 1, while the measuring device can be seen in Fig. 1.

It is interesting to note that the upmost part of the measuring device had buoyant bodies to ensure it will stay on the water surface. In contrast, the lowest part was designed similarly as a sampling device for sediment bed-load sampling. All the sampling points had their own mechanical velocity

слатким водама (река и језера) могу бити од пресудног значаја. Овај рад даје кратак преглед и анализу метода које се могу користити при одређивању присуства микропластике у слатким водама.

2. МЕРЕЊЕ МИКРОПЛАСТИКЕ У СЛАТКИМ ВОДАМА

2.1. Реке

У раду [4] се предлаже једна разумна методологија за мерење микропластике у рекама. Аутори су покушали да развију поступак који је повољан за скупљање меродавних података о загађењу микропластиком у рекама средње и велике величине. Предложени поступак се заснива на мерном уређају са мрежама за узорковање, које су распоређене на три различите дубине воденог стуба. Уређај је тестиран на Дунаву у Аустрији.

Да би се симултано обезбедили узорци са три различите дубине, конструисани уређај има три локације узорковања: на површини воде, на средини воденог стуба и близу дна. Након спроведеног испитивања са мрежама различите финоће, констатовано је да мреже са малим отворима нису поgone за брзине струјања воде 2-3m/s.

Коначна конфигурација мерног уређаја је подразумевала три кључна дела, намењена за узорковање на површини воде, на половини дубине и у близини дна. Основне карактеристике мерног уређаја су дате у Табели 1, док је сам уређај приказан на Слици 1.

Занимљиво је приметити да део предвиђен за узорковање на површини има посуде са ваздухом да би се обезбедило плутање. Са друге стране, део предвиђен за узорковање при дну је конструисан слично инструменту за мерење вученог наноса. Сва три дела мерног уређаја имају свој механички мерач

measuring instruments since the velocity through the net is different from the free-flowing water velocity. In order to ensure that the nets are positioned upright when the device is deployed, inclination racks hat to be installed to compensate for the force generated by the flowing water (Fig. 1).

брзине, јер је брзина струјања кроз мрежу различита од непоремећене брзине струјања воде. Да би се обезбедило да отвори мрежа буду позиционирани вертикално током мерења, предвиђени су и механички дистанцери да би се компензовала хидродинамичка сила тока (Слика 1).

Табела 1 – Карактеристике мерног уређаја [4]
Table 1 - Microplastics measuring device characteristics [4]

<i>Sampling depth</i>	Surface water	Middle water	Near bed
<i>Net opening</i>	500µm, 250 µm	500 µm, 250 µm	500 µm
<i>Flowmeter</i>	mechanical	mechanical	mechanical
<i>Additional requirements</i>	Buoyant bodies to keep the opening on the surface.		Heavy loads to keep the sampler at the bottom

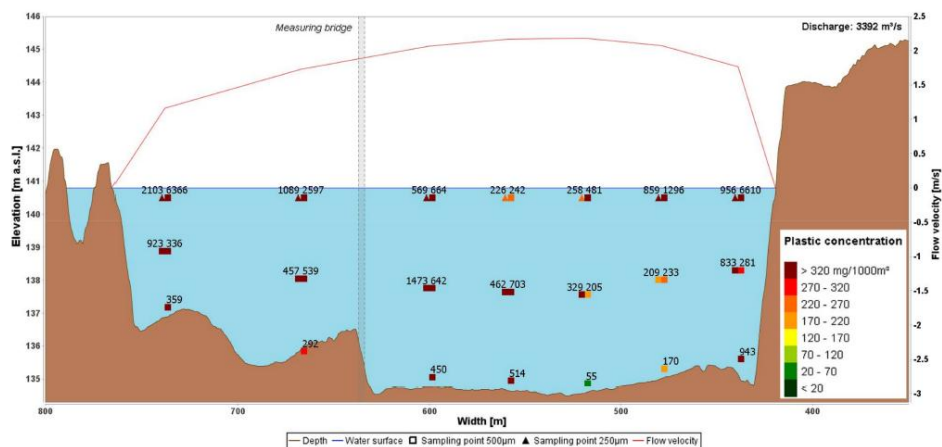


Слика 1 – Мерни уређај за мерење микропластике у рекама средње и велике величине [4]

Figure 1 – Measuring device for sampling microplastics in medium and large rivers [4]
 Samples collected by the authors [4] Прикупљени узорци су потом сушени

were wet sorted and dried at 50°C, after which they were dry sorted. This procedure was satisfactory to separate plastic particles from organic matter. Naturally, particles in the fraction <5mm were considered microplastics.

на 50 °C, након чега су разврставани. Ова методологија је била довољна да се честице микропластике одвоје од органске материје. Наравно, за микропластику су сматране честице мање од 5мм.



Слика 2 – Пример резултата мерења микропластике у Дунаву у Аустрији [4]
Figure 2 – Example of measured microplastics concentration in the Danube River in Austria [4]

Figure 2 depicts an example of the measurement results reported by Liedermann et al. [4]. It is evident that the detected microplastic is not restricted to the water surface. There seems to be some accumulation close to the banks. However, most microplastic transport is through the middle of the analyzed river cross-section. The authors [4] also concluded that the ratio of the water velocity (measured by the mechanical velocity meter) and the free-flowing water velocity (measured by an ADCP) was around 0.78 for the 500 µm net and 0.52 for the 250 µm net. This had an interesting consequence on the amount of microplastics captured by the two nets. Namely, the 250 µm net caught fewer microplastics than the 500 µm net. Although this seems unusual, it can be attributed to the fact that the 250 µm

Слика 2 приказује пример мерних резултата објављених од стране аутора [4]. Једнозначно је да присуство микропластике није ограничено на површину воде. Такође се може приметити повећана концентрација у близини обала. Међутим, највећи транспорт микропластике се јавља у средини анализираних попречног пресека. У раду [4] је такође констатовано да је однос брзине струјања воде кроз мрежу мерног уређаја и непоремећене брзине струјања око 0.78 за мрежу отвора 500 µm, односно око 0.52 за мрежу отвора 250 µm. Ово је имало занимљиву последицу у погледу количине микропластике која је остала у мрежи. Наиме, мрежа отвора 250 µm је узорковала мању количину микропластике у односу на мрежу отвора 500 µm. Иако ово на први

generates a considerable backwater effect that forces the microplastic particles to alter their trajectory and avoid the net entirely. Therefore, a more delicate net will not always capture more particles due to this hydrodynamical effect.

2.2. Lakes

When processing samples taken from lakes, there is a problem regarding the abundance of organic matter. The nets for sampling microplastics are more than likely to gather an extensive quantity of organic matter. On the other hand, lakes are prone to eutrophication. Hence, plastic particles can have organic matter on them due to adsorption (algae, other organisms growing on it, etc.). Therefore, it is imperative to properly eliminate the organic matter and expose all the microplastic particles.

Masura et al. [5] devised a method for analyzing microplastics in the marine environment that can be fully utilized for samples gathered from lakes that have a considerable amount of organic matter in them.

The samples are poured through a 5.6mm and 0.3mm sieve. The material left on the 5.6mm sieve is either discarded or archived, while the material on the 0.3mm sieve is put in a drying oven for 24h at a temperature of 90°C. After this, the sample undergoes a Wet Peroxide Oxidation (WPO). This procedure starts by adding 20 mL of aqueous 0.05 M Fe(II) solution to the beaker where the sample is stored. After this, 20 mL of 30% hydrogen peroxide is added. The beaker is then heated to 75°C on a hotplate. When the desired temperature is reached, the sample should be removed from the hotplate until the boiling subsides. After keeping the mixture at a temperature of 75°C for 30 minutes, it should be inspected for the presence of organic matter. If there is still organic matter in the sample, the procedure is repeated. When no organic matter can be visually

поглед може звучати нелогично, разлог се крије у чињеници да мрежа са мањим отворима генерише већи отпор течењу па флуидни делићи више теже да заобиђу препреку. Дакле, није за очекивати да финија мрежа узоркује више микропластике у свим околностима.

2.2. Језера

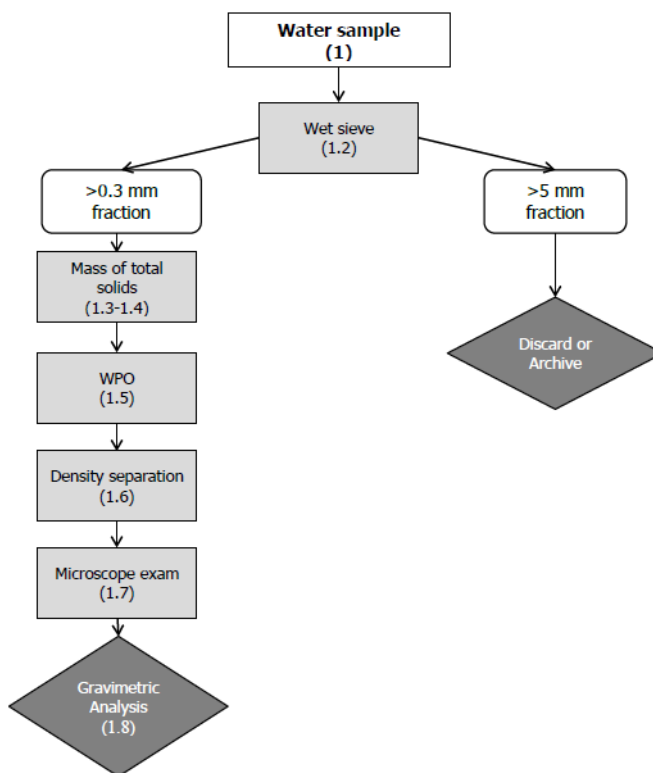
Главни проблем при анализи узорака из језера је присуство велике количине органске материје. Са једне стране, сама мрежа ће захватити неку количину органске материје. Са друге стране, језера су подложна еутрофикацији. Ово значи да је веома вероватно да ће се на честице микропластике нахватати органска материја различитог типа (алге и други организми). Дакле, да би се дошло до меродавних података, кључно је елиминисати органску материју из узорка.

У раду [5] је приказана методологија за анализу присуства микропластике у морима, која се може применити и на узорке из језера.

Узорак се пропушта кроз два сита отвора 5.6мм и 0.3мм. Материјал који остаје на ситиу отвора 5.6мм се одлаже и архивира, док се материјал задржан на ситиу отвора 0.3мм ставља у сушницу на температуру од 90°C у трајању од 24 сата. Након овога, узорак се подвргава мокрој оксидацији водоник-пероксидом. Овај процес почиње додавањем 20 mL 0.05 M раствора гвожђе сулфата у узорак. После овога се додаје 20 mL 30% водоник-пероксида. Узорак се потом загрева до температуре од 75°C. Кад се достигне жељена температура, узорак је потребно скинути са грејача док кључање не посустане. Након овога се узорак одржава на температури од 75°C у трајању од 30 минута. Ако се визуелном инспекцијом констатује да још увек има органске материје у узорку, процедура се понавља. Кад је сва органска материја елиминисана,

detected in the sample, 6 g of salt (NaCl) is added per 20 mL of sample to increase the density of the solution. This enables a density separation procedure where the microplastic particles will float to the sample's surface and can be removed. Finally, the removed material from the solution's surface is put under a 40X magnification microscope to determine (and separate) the microplastic particles from the sample. The described procedure for processing samples gathered from lakes to determine the amount of microplastics can also be employed for samples from rivers when there is a considerable amount of organic matter.

додаје се 6 г соли (NaCl) на сваких 20 мЛ раствора да би се повећала густина течности. Ово омогућава спровођење сепарације честица микропластике јер ће оне испливати на површину. Дакле, материјал који се нађе на површини се уклања. Потом следи визуелна инспекција користећи микроскоп са увећањем 40X, која за циљ има одвајање честица микропластике из уклоњеног материјала. Описани поступак за анализу узорака узетих из језера се начелно може применити и на узорке из река ако у њима има веће количине органске материје.



Слика 3 – Алгоритам за одређивање количине микропластике у узорку [5]
 Figure 3 – Algorithm for determining the microplastic content in samples [5]

2.3. Sediments

Although this article deals with the sampling methods and subsequent analysis for quantifying microplastics in freshwater, the problem concerning microplastics in sediments should also be addressed. It is evident that microplastics can be found in any part of the water column [4]. Hence, it is reasonable to assume that they can be deposited on the river or lake bed.

In rivers, microplastics in the bed material can be released in cases of high floods, when the river bed is eroded, and the trapped microplastic ends up back in the water. On the other hand, plastic particles can be deposited when the flow velocity is low enough, especially if there is organic (or other) matter adsorbed on them. Therefore, in rivers, plastic particles can be deposited or entrained depending on the hydraulic conditions.

In contrast, in lakes, the dominant process is deposition. Therefore, it is reasonable to assume that there is only a slight chance that plastic particles deposited on the lake bed can be ever entrained. Hence, they will most probably remain in the bed material.

Taking the aforementioned into account, sediment samples that make up the bed of freshwater bodies should also be collected and analyzed for the presence of microplastics. A methodology for this was proposed by Frias et al. [6].

3. CONCLUSIONS

Several researchers have concluded that plastic particles are present in freshwater (rivers, lakes, etc.). Therefore the assessment of these requires well thought through sampling protocols as well as subsequent laboratory analysis to determine the amount of plastic particles in them.

Since microplastics can be found in every part of the water column, samples should be collected from the

2.3. Нанос

Иако се овај рад фокусира на начине узорковања и пратеће анализе за квантификацију микропластике у слаткој води, проблем микропластике у наносу се никако не сме занемарити. Очигледно је да се честице микропластике могу наћи у било којем делу воденог стуба [4]. Дакле, разумно је претпоставити да може доћи до њиховог таложења на дно реке или језера.

У рекама, микропластика која се налази у материјалу дна може поново dospети у воду у временима великих протицаја кад долази до ерозије речног дна. Са друге стране, може доћи до таложења честица микропластике кад је брзина струјања довољно мала, посебно у случају када је на њих адсорбована органска или нека друга материја.

У језерима је доминантан процес депоновања. Према томе, разумно је претпоставити да је вероватноћа да ће се честице микропластике које су депоноване на дно језера поново еродовати, изузетно мала. Узимајући ово у обзир, микропластика депонована на дно језера ће готово сигурно остати заробљена у депонованом материјалу.

На основу горе наведеног, нанос који чини дно река и језера је такође потребно испитати на присуство микропластике. Методологија за овај поступак се може наћи у [6].

3. ЗАКЉУЧЦИ

Бројни истраживачи су установили да су честице пластике присутне у слатким водама (река, језера, итд.). Због овога, начини узорковања и пратеће процедуре, које за циљ имају одређивање количине микропластике, требају бити добро осмишљене.

Пошто микропластика може бити присутна у било којем делу воденог стуба, узорке треба узимати са

surface, near the bottom as well as in the middle of the water depth. The use of sampling nets with appropriate openings is also essential since finer nets do not always capture more plastic particles due to the flow pattern that they generate.

The presence of organic matter in the collected samples is also an issue that has to be dealt with. If the samples are abundant with organic matter, Wet Peroxide Oxidation is recommended. When the sample is free of organic matter, plastic particles can be collected by density separation. This is usually achieved by adding salt (NaCl) to increase the density of the sample and thus, make the plastic particles buoyant. The collected material should be identified as plastic by examining it through a 40X magnification microscope.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia [Programmes no. 451-03-9/2021-14/200134 and 451-03-9/2021-14/200093].

REFERENCES

- [1] Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V., Uricchio, V.F. A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health. *Int J. Res. Public Health*, 2020, Vol. 17, p.p. 1212.
- [2] Akdogan, Z., Guven, B. Microplastics in the environment: A critical review of current understanding and identification of future research needs. *Environmental pollution*, 2019, Vol. 254, p.p. 113011.
- [3] <https://www.nationalgeographic.org/encyclopedia/microplastics/>
- [4] Liedermann, M., Gmeiner, P., Pessenlehner, S., Haimann, M., Hohenblum, P., Habersack, H. A Methodology for Measuring Microplastic Transport in Large or Medium Rivers. *Water*, 2018, Vol. 10, p.p. 414.
- [5] Masura, J., et al. Laboratory methods for the analysis of microplastics in the marine environment: recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-48, 2015.
- [6] Frias et al. Standardised protocol for monitoring microplastics in sediments. JPI-Oceans BESEMAN project, 2018.

површине, средине дубине и у близини дна. Коришћење мрежа са одговарајућим величинама отвора је такође битно, јер мреже са ситнијим отворима неће увек захватити више честица пластике, због хидродинамичких услова које стварају.

Присуство органских материја у прикупљеним узорцима је проблем који се такође мора решити. У ову сврху се препоручује мокра оксидација водоник-пероксидом. Кад у узорку више нема органских материја, честице микропластике се могу одвојити флотацијом. Ово се постиже додавањем соли (NaCl) у узорак, што за последицу има испливање честица микропластике на површину. Сакупљени материјал се подвргава визуелној инспекцији користећи микроскоп са увећањем 40X да би се тачно утврдила количина микропластике у узорку.

ЗАХВАЛНИЦА

Аутори се захваљују Министарству просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (програми бр. 451-03-9/2021-14/200134 и 451-03-9/2021-14/200093).