

ONDERZOEKSPROJECT VAN  
**HET GLOBEPROGRAMMA**



# Microplastics in het water

## Protocollen



## Inhoudsopgave

<b>Protocol Monstername met een fles</b>	<b>3</b>
<b>Protocol Proefmonster voorbereiding door filtratie</b>	<b>4</b>
<b>Protocol Proefmonster observatie door een microscoop</b>	<b>6</b>

# Protocol Monstername met een fles

## Plaats:

Meetlocatie in het veld

## Opdracht:

Het veilig nemen van proefmonsters terwijl je aan de oever van het water (rivier, beek of meer) staat. Dit kun je doen zonder dat het proefmonster bevuild raakt.



## Materialen per meetlocatie:

- *Dataformulier meetlocatie beschrijven\**
- Telescopische staaf voor monstername, met houder ter grootte van de monsterflessen
- Drie glazen flessen met dop, 500 ml (of bijv. augurken pot)
- Stevig klembord
- Permanent marker of pen
- Etiketten
- Zeem, katoenen doek of keukenpapier
- Camera of smartphone
- Gedemineraliseerd water
- Thermometer (geschikt voor water)

## Werkwijze in het veld:

1. Vul de gegevens in op het dataformulier: *Dataformulier meetlocatie beschrijven*.
2. Open de glazen fles. Zorg ervoor dat één iemand de dop vasthoudt, zodat deze niet vervuild raakt. LET OP! Je mag hem niet op de grond leggen.
3. Schuif de telescopische staaf helemaal uit.
4. Maak, als dit nog niet is, de monsterfleshouder vast aan het uiteinde van de telescopische staaf.
5. Plaats de fles in de monsterfleshouder.
6. Spoel de fles en de dop in water waar je het monster zal nemen om.
7. Herhaal het spoelen nog twee keer.
8. Dompel de fles in het water, als het kan ongeveer 10 cm onder het wateroppervlak.
9. Haal de fles uit het water.
10. Haal de fles uit de monsterfleshouder.
11. Spoel de thermometer met gedemineraliseerd water.
12. Meet de temperatuur van je proefmonster en sluit de fles af met de dop.
13. Droog de fles met de zeem, katoenen doek of keukenpapier en breng een etiket aan. Op dit etiket schrijf je de monstercode: het tijdstip en de datum van de monstername.
14. Herhaal deze procedure op deze locatie nog twee keer met nieuwe monsters (triplo).
15. Uiteindelijk zul je 3 flessen van 500 ml = 1,5 liter per locatie meenemen naar school.

# Protocol Proefmonster voorbereiding door filtratie

## Plaats:

In het veld of in het laboratorium.

## Opdracht:

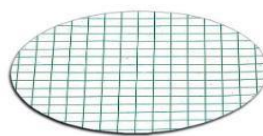
Vorbereiden van de proefmonsters voor analyse zonder dat het vervuild raakt.

## Materialen:

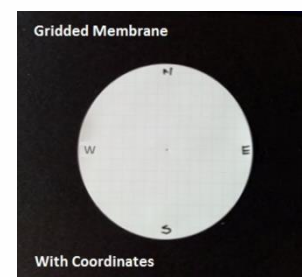
- *Dataformulier filtratie\**
- Filtratieopstelling (zie figuur 1)
- 4 rubberstoppers voor de filtratieopstelling
- 1 injectiespuit voor de filtratieopstelling (wordt meestal meegeleverd bij de filtratieopstelling)
- Steriele membranen diameter = 47 mm (poriegrootte 0,45 $\mu$ m), bij voorkeur gerasterd (zie figuur 2). Zet coördinaten op het membraan (N-O-Z-W). Minimaal twee membranen per monster.
- Injectiespuit 50 of 60 ml
- Latex- of siliconen buis voor bevestiging injectiespuit
- Petrischalen diameter = 55mm
- 1 l gedestilleerd of gedemineraliseerd water
- Spuitfles met gedemineraliseerd water
- Pincetten om de membraan vast te kunnen pakken
- Proefmonsters (water uit oppervlaktewater)
- Stevig klembord
- Permanent marker of pen
- Etiketten
- Camera of smartphone



Figuur 1: Filtratieopstelling



Figuur 2: filtermembraan met rastering



Figuur 3: filtermembraan met rastering en coördinaten

## Werkwijze in het veld of in het laboratorium

1. Check of het membraan gerasterd is. Is dit niet het geval, markeer het midden en breng een rastering aan met bv. een pen.
2. Breng coördinaten aan op het membraan en geef het middelpunt aan.
3. Spoel de onderdelen van de filtratieopstelling met het gedemineraliseerde water.
4. Monteer het filterhuis (middelste onderdeel, waar het membraan in gaat) op het onderste gedeelte. Dit doe je door de twee delen licht op elkaar te drukken.
5. Maak het uiteinde van de pincet nat met gedemineraliseerd water.
6. Neem voorzichtig een membraan uit de verpakking met behulp van de pincet.
7. Plaats het membraan aan de bovenkant van het filterhuis. Monteer vervolgens zo snel mogelijk de bovenkant op de opstelling. Zo voorkom je dat het membraan vervuild raakt met vezels uit de omgeving.
8. Laat het membraan nat worden met gedemineraliseerde water.
9. Monteer de slang op één uitgang van het onderste gedeelte van de filter en een rubberen stop op de andere uitgang.
10. Maak het onderste gedeelte nu vacuüm met behulp van de injectiespuit. Dit doe je door de injectiespuit op de uitgang te zetten van het onderste gedeelte en de lucht eruit te trekken. Het vacuümtrekken zorgt voor beter contact tussen het membraan en het filterhuis.
11. Maak de filtratieopstelling klaar voor gebruik.
12. Schud het proefmonster in de fles om de inhoud te homogeniseren (gelijke verdeling in het water).
13. Laat de fles 30 seconden rusten. Zo zakken de grotere deeltjes in het water zoals zand naar de bodem.
14. Haal de deksel van de filtratieopstelling af en voeg het proefmonster toe - 250ml of minder per keer. Noteer hoeveel je van het proefmonster toevoegt per keer. LET OP! Doe zo snel mogelijk de deksel er weer op om bevuiling te voorkomen.
15. Nu ga je het onderste gedeelte vacuümzuigen. Dit doe je door eerst aan de spuit te trekken. Opmerking: de spuit kan zich vullen met water of met een mengsel van water en lucht.
16. Haal de spuit van de buis en spuit het lucht-water mengsel eruit. Sluit de spuit weer aan op de buis.
17. Herhaal de procedure totdat al het water door het filter is gehaald.
18. Na het filteren van 250 ml kun je het 2<sup>e</sup> deel van de 500 ml gaan filteren. Zorg er dan eerst voor dat je de eerste hoeveelheid door de filter hebt gehaald en vul dan het bovenste gedeelte weer bij. Haal dan de deksel van de filtratieopstelling, voeg het proefmonster toe en spuit het bovenste gedeelte schoon met gedemineraliseerd water in de spuitfles. Zo spoel je de microplastics die aan de randen blijven plakken weer mee in het monster.
19. Zuig opnieuw vacuüm totdat al het water verwijderd is. Mocht dit niet lukken, omdat het membraan al te vol zit, dan kun je een nieuw membraan gebruiken. Zorg ervoor dat je dit vermeld op het formulier 'Dataformulier filtratie'. Vergeet niet de hoeveelheid vezels van beide filters uiteindelijk bij elkaar op te tellen als je 2 filters gebruikt voor de 500 ml.
20. Aan het einde van het filteren kan het bovenste gedeelte worden losgeschroefd.
21. Til het membraan voorzichtig op met de pincet. Open een petrischaal en leg het membraan erin. Sluit de petrischaal. Doe dit alles zo snel mogelijk om bevuiling te voorkomen.
22. Maak een etiket voor op de petrischaal met dezelfde monstercode als op de proefmonster fles.
23. Spoel de filtratieopstelling om met gedemineraliseerd water en maak het klaar voor het volgende proefmonster.
24. Vul in op het *Dataformulier filtratie* hoeveel membranen je hebt gebruikt. Dit is van belang om later te bepalen hoeveel deeltjes je hebt gevonden op locatie.

# Protocol Proefmonster observatie door een microscoop

## Plaats:

In het laboratorium

## Opdracht:

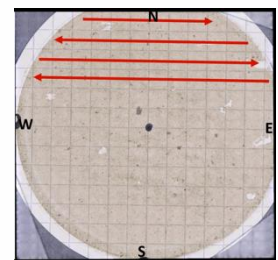
Observeren van de proefmonsters en een analyse van de inhoud, vermijden van mogelijke vervuiling.

## Materiaal:

- *Herkenningsgids\* of Zoekkaart*
- *Excel dataformulier vezels\**
- Petrischaaltjes met de membranen van de proefmonsters
- Pincetten om de membraan vast te kunnen pakken
- Optische microscoop met licht
- OPTIONEEL: laptop
- Draagglasjes om de membranen op te plaatsen
- Pen of potlood
- Klembord
- Camera of smartphone

## Werkwijze in het laboratorium

1. Stel de microscoop in op de laagste vergroting (40x).
2. Neem met behulp van een pincet een membraan uit het petrischaaltje en plaats het in het midden van het draagglasje dat je onder de microscoop plaatst.
3. Draai het membraan zo dat je het kan zien en zodat de lijnen op het membraan evenwijdig en loodrecht staan op de waarnemer, het middelpunt in het midden van het gezichtsveld en zodat de N boven en de Z beneden is. Dit zorgt ervoor dat je makkelijker de coördinaten van je metingen kunt opschrijven en makkelijker over het proefmonster kan navigeren.
4. Sluit de petrischaal om vervuiling te voorkomen.
5. Scan snel het proefmonster volgens de volgende methode om een beeld te krijgen van de inhoud ervan. Gebruik de gedrukte rasterlijnen op het membraan als referentiekader. Beweeg het monster onder de microscoop waarbij je de lijnen van het raster volgt. Dit doe je als volgt: begin bij het bovenste punt en beweeg van links naar rechts; beweeg aan het einde één rij lager en beweeg dan van rechts naar links; ga aan het einde weer één rij omlaag en beweeg weer van links naar rechts. Ga zo verder totdat je alle lijnen hebt gehad. Wanneer je een vezel tegenkomt, kun je de coördinaten noteren zodat je het later weer kan opzoeken.
6. Als je een object hebt gevonden stop je en kun je de microscoop instellen op een sterkere vergroting om het object te identificeren.
7. Noteer je waarnemingen aan de hand van het de *Herkenningsgids of Zoekkaart*.
8. Maak eventueel van elk deeltje een foto. Geef de foto gelijk een naam! Geef ze de volgende naam:  
plaatsnaam\_proefmonstercode\_aantaldeeltjes\_typevandeeltjes\_scherpte.jpg. Bijvoorbeeld: GLOBESTUDYSITE04\_ABC1\_13\_plastic\_100x.jpg



9. GLOBE-leden: Vul je bevindingen in op het *Excel dataformulier vezels*.
10. Plaats aan het einde van de observatie het proefmonster weer terug in de petrischaal en sluit de petrischaal weer om je proefmonster te bewaren.
11. Vul het *Dataformulier samenvatting microplastics* in.
12. Voer de juiste berekeningen uit om tot een totaaloverzicht van het aantal deeltjes per categorie per m<sup>3</sup> op locatie te komen. Schrijf deze op in de tabel (totaaloverzicht op locatie).
  - Als je meer dan één membraan hebt gebruikt om 500 ml te filteren, tel dan de gegevens van elk membraan die je hebt gebruikt voor 500 ml bij elkaar op.
  - Als het niet gelukt is om de deeltjes van een geheel membraan te tellen, maak dan op grond van je getelde hokjes en het totaal aantal hokjes op het membraan een berekening hoeveel deeltjes het zouden zijn op 1 geheel membraan.
  - Bereken het aantal deeltjes per categorie om naar aantal deeltjes/m<sup>3</sup>.
  - Je hebt als het goed is drie proefmonsters genomen. Dus nu kan je het gemiddelde aantal deeltje per categorie berekenen dat in 1 m<sup>3</sup> zit. Doe dit door het totaal aantal deeltjes bij elkaar op te tellen en delen door drie (het aantal onderzochte proefmonsters).
13. GLOBE-leden: Deze gegevens van het totaaloverzicht op locatie vul je direct in op de Survey (zie [www.globenederland.nl/microplastics](http://www.globenederland.nl/microplastics)).

\*Alleen voor GLOBE-leden zijn extra werkbladen, de Exceltabel en de survey beschikbaar. Lees meer over GLOBE in deze handleiding. Zonder deze extra documenten kan de les ook prima worden gegeven.