

Abschlussbericht

Anschubprojekt:

MPn-Analytik

Zuwendungsempfängerinnen:	Marion Kanwischer ^a Rhena Schumann ^b
Einrichtungen:	Leibniz-Institut für Ostseeforschung Warnemünde, Organische Spurenstoffe ^a (IOW) Universität Rostock, Biologische Station Zingst ^b
Vorhabensbezeichnung:	Methodische Voruntersuchungen für die Analytik von MPn
Laufzeit des Vorhabens:	November 2022 bis März 2024
Autorinnen des Berichtes:	Marion Kanwischer, Rhena Schumann

Zusammenfassung

Die Organophosphorsubstanz Methylphosphonsäure (MPn) ist ein potentielles Substrat für die Produktion von Methan im oxischen Bereich der Wassersäule. Für das Oberflächenwasser der Bornholmsee konnte ein direkter Zusammenhang zwischen dem Abbau von MPn und der Bildung von Methan gezeigt werden. Dabei wird vermutet, dass dies auch im Zusammenhang mit dem Vorkommen von Cyanobakterien steht. In diesem Anschubprojekt sollen wichtige Vorarbeiten für vergleichende Untersuchungen zu Vorkommen und Verteilung des potentiellen Methansubstrates MPn in der Ostsee und Küstengebieten, u.a. des Darss-Zingster-Bodden durchgeführt werden. Im Rahmen dieses Anschubprojektes erfolgte im Zeitraum vom April bis Mai 2023 eine monatliche Probenahme von Oberflächenwasser entlang des Salinitätsgradienten des Darss-Zingster-Boddens. Die geplanten praktischen Arbeiten in Bezug auf MPn konnten bislang nicht durchgeführt werden, da aufgrund eines Wasserschadens in den Laboren der AG organische Spurenstoffe, keine praktischen Arbeiten möglich sind. Sobald möglich, werden diese Arbeiten nachgeholt. Es wird eine umfangreiche Auswertung zusammen mit den erhobenen Begleitparametern erfolgen, um daraus methodische Verbesserungen und Ziele für die weiteren gemeinsamen geplanten Untersuchungen abzuleiten.

Einleitung und Ziele

Die Organophosphorsubstanz Methylphosphonsäure (MPn) ist ein potentielles Substrat für die Produktion von Methan im oxischen Bereich der Wassersäule. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass mit der Zugabe von MPn in Zellkulturexperimenten gleichzeitig Methan freigesetzt wird (Teikari et al., 2018). Darüber hinaus zeigen Studien, dass verschiedene Cyanobakterien substantiell Methan produzieren (Bižić et al., 2020).

In einer Kooperation zwischen den AGs Organische Spurenstoffe und Trace Gases am IOW konnte mittels Tracer-Studie ein direkter Zusammenhang zwischen dem Abbau von MPn und der Bildung von Methan für Oberflächenseewasser aus der Bornholmsee gezeigt werden (Kanwischer et al., 2023). Dabei wurde vermutet, dass dies auch im Zusammenhang mit dem Vorkommen von Cyanobakterien steht.

Es ist geplant, vergleichende Untersuchungen zum Vorkommen und der Verteilung des potentiellen Methansubstrates MPn in der Ostsee und Küstengebieten, u.a. des Darss-Zingster-Bodden durchzuführen. Durch Tracer-Studien soll dessen Beitrag zur oxischen Methanproduktion in diesen Untersuchungsgebieten ermittelt werden. Dafür sollen in diesem Anschubprojekt wichtige Voruntersuchungen durchgeführt werden.

Die Analytik zur Bestimmung von MPn in Seewasser ist zentraler Bestandteil und grundlegende Voraussetzung für die angestrebten Untersuchungen. Eine in der AG Organische Spurenstoffe entwickelte Methode zur Bestimmung von MPn nach Elektrodialyse von Seewasser (Lohrer et al., 2020) wurde soweit voran gebracht, dass damit direkt MPn-Konzentrationen in Seewasserproben der Ostsee bestimmt werden können (Kanwischer et al., 2023). Aufgrund der starken Sensitivität der Methode gegenüber der salinen Matrix bedeutet dies jedoch, dass Probenaufarbeitung und Analytik aktuell für die Matrix der Seewasserproben der Ostsee und deren MPn-Konzentrationen optimiert sind.

Um die Methode für Proben der angestrebten Untersuchungsgebiete einsetzen zu können, sollen in diesem Anschubprojekt noch weiterführende methodische Verbesserungen erfolgen. Es soll untersucht werden, ob sie in der aktuellen Form einsetzbar ist für die Analytik von Wasserproben aus dem Darss-Zingster-Bodden und ob die dort vorliegenden Konzentrationen quantitativ erfasst werden können. Ggf. sollen Schritte in der Probenvor- und aufbereitung angepasst werden, um die MPn-Analyse auch in dieser Probenmatrix zu ermöglichen.

Die Probenahme soll entlang des Salinitätsgradienten des Darss-Zingster-Bodden erfolgen, um eventuell bereits marin-limnische MPn-Konzentrationsgradienten zu erfassen.

Darüber hinaus sollen weitere wichtige experimentelle Voruntersuchungen erfolgen, die für die Planung der in dem Teilprojekt angedachten Tracer-Studien essentiell sind. Beispielsweise soll die Stabilität von MPn in Umweltproben über definierte Zeiträume untersucht werden.

Methodik

Im Zeitraum vom April bis Mai 2023 erfolgte eine monatliche Probenahme von Oberflächenwasserproben entlang des Salinitätsgradienten des Darss-Zingster-Boddens (Tabelle 1).

Tabelle 1 Probenahmestationen für die monatliche Probenahme entlang des Salinitätsgradienten des Darss-Zingster-Boddens.

Sampling site / Buoy	Position	
Recknitz inlet	54° 15,12' N	12° 27,32' E
Saaler Bodden		
R2	54° 15,3551' N	12° 24,9437' E
R88/R86	54° 19,6379' N	12° 26,4013' E
Bodstedter Bodden		
R44/R37	54° 23,5788' N	12° 37,2565' E
Zingster Strom		
Zingst, Biological Station		
Barther Bodden		
R1/B65	54°23,6105'N	12°45,0078' E
B76/B61	54°24,2183'N	12°47,1576' E
Grabow		
B53	54°23,4834'N	12°51,1462' E
Pramort B46/B37	54°25,1075'N	12°55,4866' E
Am Bock B12/B13	54°26,4934'N	13°00,5393' E

Neben der Probenahme für die Bestimmung von MPn erfolgte die Bestimmung abiotischer Basisparameter (Wassertemperatur, pH, Salinität, Trübung, Seston, Sauerstoffsättigung), von Nährstoffen (Ammonium, Nitrit, Nitrat, Phosphat), Elementen (TN, partikulärer N, partikulärer C, TP, DP) sowie von Chlorophyll a. Darüber hinaus wurden Proben für die Bestimmung der Phytoplanktonartenzusammensetzung genommen.

Die Bestimmung dieser Parameter erfolgte weitgehend wie beschrieben in Grasshoff et al., 1999. TP, DP and TN wurden in einem basischen Persulfataufschluss bei 90°C über 24 h aufgeschlossen (Berthold et al., 2015 und darin zitierte Quellen). Chlorophyll a wurde mit Ethanol über 24 h nach HELCOM, 2017 extrahiert und photometrisch gemessen. Die Sauerstoffsättigung wurde *in situ* mit einer Optode gemessen (HACH LDO, HQ 40d).

Die Bestimmung der Phytoplanktonartenzusammensetzung erfolgt wie beschrieben in Albrecht et al., 2017.

Die Bestimmung von MPn erfolgt wie beschrieben in Kanwischer et al., 2023.

Ergebnisse und Ausblick

Die Ergebnisse der Basisparameter, Nährstoffe, Elemente sowie Chlorophyll a liegen vor. Die Bestimmung der Phytoplanktonartenzusammensetzung erfolgt aktuell.

Die praktischen Arbeiten zur MPn-Analytik konnten bislang nicht durchgeführt werden. Zum Zeitpunkt des Beginns der Arbeiten in dem Anschubprojekt trat ein erheblicher Wasserschaden in den Laboren der AG Organische Spurenstoffe auf, so dass die Labore umgehend geräumt werden mussten. Seitdem erfolgt eine umfangreiche Sanierung der Labore, die bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht beendet ist.

Da die Proben für die Bestimmung von MPn bei -20°C konserviert sind, kann die MPn-Bestimmung zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen. Es ist daher geplant, die praktischen Arbeiten an diesem Projekt wieder aufzunehmen und die MPn-Bestimmungen in den genommenen Proben durchzuführen, sobald die Wiederinbetriebnahme der Labore erfolgt ist und die Analyseinstrumente wieder zur Verfügung stehen.

Es wird anschließend eine umfangreiche Auswertung aller erhobenen Daten erfolgen, um daraus eventuell nötige methodische Verbesserungen und Ziele für die weiteren gemeinsamen geplanten Untersuchungen abzuleiten. Die Datenauswertung wird zu einem späteren Zeitpunkt als Anhang zu diesem Bericht nachgereicht.

Danksagung

Diese Arbeit wurde durch die Förderlinie Strategische Netzwerke der Leibnizgemeinschaft im Rahmen des Leibniz-WissenschaftsCampus Phopshorforschung Rostock unterstützt.

Referenzen

- Albrecht, M., Pröschild, T., Schumann, R., 2017. Identification of Cyanobacteria in a Eutrophic Coastal Lagoon on the Southern Baltic Coast. *Front. Microbiol.* 8, 923. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00923>
- Berthold, M., Zimmer, D., Schumann, R., 2015. A simplified method for total phosphorus digestion with potassium persulphate at sub-boiling temperatures in different environmental samples. *Rostocker Meeresbiol. Beitr.* 7–25.
- Bižić, M., Klintzsch, T., Ionescu, D., Hindiyeh, M.Y., Günthel, M., Muro-Pastor, A.M., Eckert, W., Urich, T., Keppler, F., Grossart, H.-P., 2020. Aquatic and terrestrial cyanobacteria produce methane. *Sci. Adv.* 6, eaax5343. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax5343>
- Grasshoff, K., Kremling, K., Ehrhardt, M., 1999. *Methods of Seawater Analysis*. Wiley-VCH Verlag GmbH. <https://doi.org/10.1002/9783527613984>
- HELCOM, 2017. HELCOM Combine Manual - Annex C4 Phytoplankton chlorophyll a.
- Kanwischer, M., Klintzsch, T., Schmale, O., 2023. Stable Isotope Approach to Assess the Production and Consumption of Methylphosphonate and Its Contribution to Oxidic Methane Formation in Surface Waters. *Environ. Sci. Technol.* 57, 15904–15913. <https://doi.org/10.1021/acs.est.3c04098>
- Lohrer, C., Cwierz, P.P., Wirth, M.A., Schulz-Bull, D.E., Kanwischer, M., 2020. Methodological aspects of methylphosphonic acid analysis: Determination in river and coastal water samples. *Talanta* 211, 120724. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120724>
- Teikari, J.E., Fewer, D.P., Shrestha, R., Hou, S., Leikoski, N., Mäkelä, M., Simojoki, A., Hess, W.R., Sivonen, K., 2018. Strains of the toxic and bloom-forming *Nodularia spumigena* (cyanobacteria) can degrade methylphosphonate and release methane. *ISME J.* 12, 1619–1630. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0056-6>