

## Forekomst og effekter av mikroplast i dyr langs kysten

Marte Haave, Alessio Gomiero, Anne Berit Olsen, Jürgen Schönheit, Hanne Nilsen, Kenneth Bruvik



Rapporttittel/ Report title	Forekomst og effekter av mikroplast i dyr langs kysten
Prosjektnummer/ Project No	812415
Institusjon/ Institution	NORCE Miljø
Oppdragsgiver(e)/ Client(s)	Plastreturs Miljøprosjekt
Gradering/ Classification:	Åpen
Rapportnr/ Report No.	6-2019
ISSN/ ISBN	ISBN nr. 978-82-8408-055-0
Antall sider/ No. of pages	10
Publiseringsmnd/ Month of publ.:	november
Sitering/ Citation	Haave m.fl., NORCE rapport 6-2019
Bildekreditering/ Photo Credit	Disseksjon av sel. Foto:Trude Refsahl, Pandora film
Geografisk område/ Geographical area	Sotra, Hordaland
Stikkord/ Keywords	Marine dyr, plastforurensning, mikroplast, vevsanalyser, histologi
Sammendrag/ Summary	

This study investigated microplastics (MP >10µm) and detrimental health effects in wild coastal animals from Sotra near Bergen. A standardized autopsy included evaluation of condition, bacteriological and histopathological analyzes. Tissues were analyzed for MP by pyrGC/MS. Tissues were inspected for MP by polarized light microscopy. No detrimental health effects of MP were observed. Eight of 13 animals had quantifiable levels of MP in one or several of the investigated tissues: stomach, intestine, liver, muscle or fillet, kidneys or gills. Cod had the highest combined concentration, with MP in intestine, liver and muscle tissue. Among the mammals, one otter had MP in the stomach. The results illustrate the need for more knowledge, further studies of food web transfer, covering more regions, species and individuals.

## Innhold

1.	Innledning .....	3
2.	Material og Metode.....	4
2.1.	Obduksjon og prøvetakning .....	4
	Mikroskopiske undersøkelser for plast (Veterinærinstituttet): .....	4
	Kjemisk analyse av plast (NORCE): .....	4
3.	Resultater .....	5
3.1.	Kjemiske analyser .....	5
3.2.	Mikroskopering/histopatologi .....	7
3.3.	Andre funn og sykdommer, ikke plastrelatert .....	7
4.	Diskusjon.....	8
5.	Vedlegg .....	10

## 1. Innledning

Plastforurensning er blitt et globalt problem, og særlig havet er i fokus for plastproblematikken. Det er av interesse å dokumentere forekomst av plast i næringskjeden, både av hensyn til naturens tilstand og dyrevelferd, men også for å dokumentere om det er forekomst av plast i mat for mennesker. Mikroplast er vanligvis definert som plastpartikler som er mindre enn 5 mm og dannes for det meste som resultat av nedbrytning og slitasje av større plastprodukter, som for eksempel plast som akkumulerer langs kystlinjen. En liten andel av mikroplast i naturen kommer fra tilsetninger i kosmetikk og tannkrem. Ved å undersøke dyr som lever i et plastforurenset område kan man få svar på om plast tas opp i næringskjeden og akkumulerer i organismer og ulike vev. Dette er vesentlig for å kunne vurdere langsiktig risiko av plastforurensning.

Hensikten med studien var derfor å undersøke forekomst og eventuelle effekter av mikroplast på dyr i et plastforurenset område på vestsiden av Sotra utenfor Bergen.

En slik undersøkelse vil også gi en pekepinn om nåværende tilstand med hensyn til plastforurensning av næringskjeden langs kysten, og kan synliggjøre behovet for utfyllende analyser.

## 2. Material og Metode

Pattedyr og sjøfugl ble levert av lokale fiskere som bifangst, og fisk ble tatt med garn av NJFF for prosjektet. Obduksjoner og makro- og histopatologiske undersøkelser ble utført ved Veterinærinstituttet i Bergen. Det ble utført standardiserte undersøkelser av tre flatfisk, tre torsk, tre fugler og tre otere. I tillegg ble en sel obdusert og prøvetatt utendørs. Prøvetakning og analyser av mengder og typer mikroplast er gjort av forskere ved NORCE. I løpet av prosjektet analyserte vi prøver fra 13 dyr, vist i tabell 1.

En breiflab, tre berggyllt, en lyr og en rognkjeks som også var gått i garnet, ble undersøkt for synlig plast i magen, men det ble ikke tatt vevsprøver til videre mikroplastanalyser og vevsanalyser, da dette ikke lå innenfor rammene av prosjektet. Prøver av frosne dyr levert til NJFF før prosjektstart måtte også benyttes, da vi ikke fikk nok otere eller fugler ved bifangst.

### 2.1. Obduksjon og prøvetakning

Det ble utført rutinemessig obduksjon og tatt prøver av organer fra dyrene. I tillegg til dyrene i tabell 1 ble tre frosne otere prøvetatt, men vev fra disse ble ikke analysert kjemisk for mikroplast. Mage- og tarminnhold ble undersøkt for synlig plast. Kjemisk analyse for mikroplast, utført av NORCE, ble utført på muskel, lever, magesekk- og tarm fra alle dyrene i tabell 1. Nyre ble analysert i fugl og pattedyr, og fra oterne også milt. Fra fiskene ble det i tillegg undersøkt gjellevev, og fra selen ble det analysert lunge.

Ved Veterinærinstituttet ble dyrene undersøkt for synlige tegn på sykdom og skader. Relevante organer, inkludert alle som ble kjemisk analysert for mikroplast, ble også undersøkt for mikroskopiske vevsendringer ved histopatologi (mikroskopi av formalinfiksert preparert vev). Alle dyrene (unntatt selen) ble undersøkt for infeksjon med sykdomsframkallende bakterier. Det ble tatt bakterieprøve fra milt eller nyre, og fra fugl og oter også fra tarm.

**Mikroskopiske undersøkelser for plast (Veterinærinstituttet):** Det ble undersøkt for mikroplast i vev ved hjelp av polarisasjonsmikroskopi av alle prøver for histopatologi, også prøver av organer som ikke var analysert for mikroplast ved kjemisk metode, inkludert alle vev fra tre ekstra otere. Polarisert lys får plastpartikler til å lyse opp i en mørk bakgrunn. Ved slik mikroskopi vil en kunne forstørre partikler opptil 1000 x, slik at man kan skille strukturer og partikler på 10 µm.

**Kjemisk analyse av plast (NORCE):** Analyser for plastpartikler over 10 µm ble gjort ved termodegradering: pyrolyse GC/MS med deteksjonsgrense for plastpolymerer ned til 1 µg/g våtvekt (vedleggstabell 1). For å hindre feilkilder fra ytre forurensninger under og etter prøvetakning ble vevsprøvene vasket og indre del av vevsprøven skåret ut til analyse. For tarm og magesekk ble en prøve med innside og utside tatt ut, og hele biten vasket og benyttet i analyse. Prøven fra vevet i mage og tarm inkluderer dermed både slimhinner og muskellag. Som kvalitetskontroll ble det utført analyser av plastfrie, filtrerte reagenser i tillegg til eksterne miljøkontroller (vedleggstabell 2).

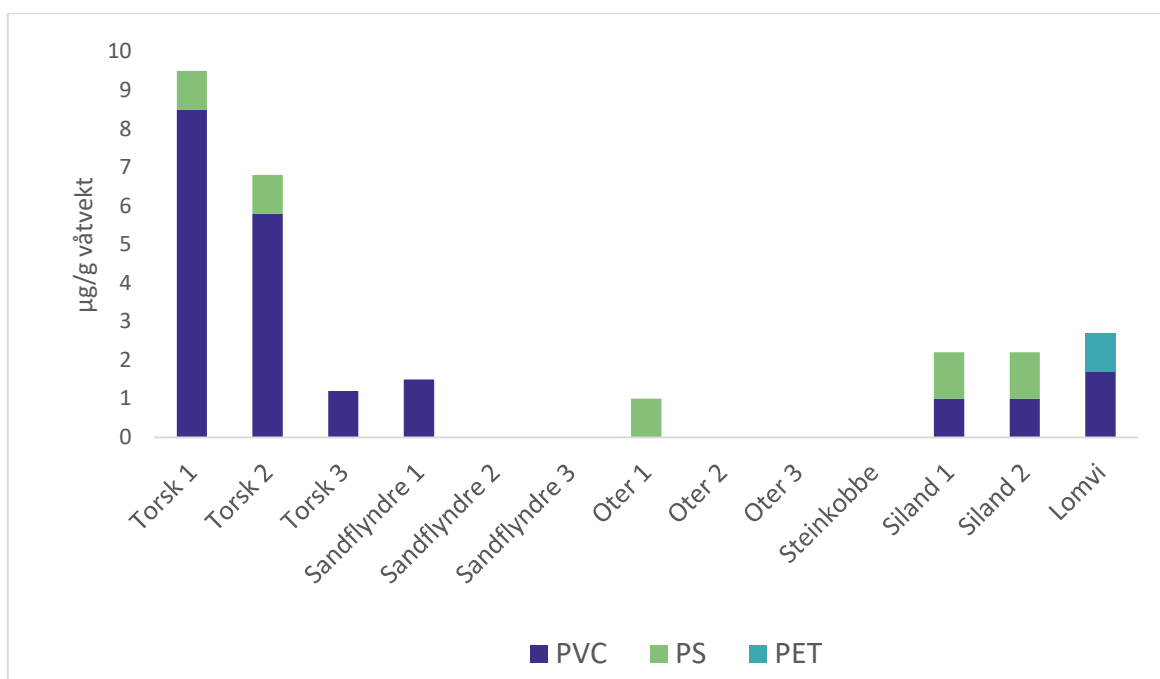
## 3. Resultater

### 3.1. Kjemiske analyser

Det var ikke synlige plastbiter eller fiber i mage-tarmkanal i fisk, oter, sel eller fugl. De fleste dyrene hadde mat i magesekken, og eventuelle plastbiter spist av byttedyrene i magesekkene ble ikke undersøkt. Det ble funnet ulike typer mikroplast i åtte av 13 dyr ved kjemisk analyse (tabell 1, figurene 1 og 2). Syv av de åtte dyrene hadde mikroplast i mage/tarm, mens fire dyr viste spor av mikroplast i muskelvev og/eller lever (figur 3).

Det ble ikke påvist plast i selen. Av oterne var det funn av mikroplast i vevet fra magesekken hos ett dyr og ingen funn i de resterende oterne. Hos fuglene var det funn av mikroplast i tarm hos de to silendene, mens det hos lomvien var funn i mage og lever. Hos en av torskene ble mikroplast kun påvist i tarm, mens to av torskene hadde mikroplast i de fleste prøvene (mage- og tarm, lever og muskulatur). De høyeste verdiene av mikroplast som ble påvist i noe vev (3,4  $\mu\text{g/g}$  våt vekt (vv), tabell 1) ble funnet i torsk. Av de tre sandflyndrene var det bare ett funn, i muskelvev hos en av dem (1,5  $\mu\text{g/g}$  vv, tabell 1). Det ble ikke funnet mikroplast i prøvene fra gjelle, lunge, milt eller nyre.

De vanligste plasttypene var polyvinylklorid (PVC) (7 dyr) og polystyren (PS) (5 dyr) (Figur 1). Polyetylen tereftalat (PET) ble påvist i ett dyr. Det ble ikke påvist polyetylen, polykarbonat, polypropylen, poly metyl-metacrylat eller polyamid-66/nylon (PE, PC, PP, PMMA og PA-66) i noen prøver. Nivåene som ble påvist var like over deteksjonsgrensen (1 til 5  $\mu\text{g/g}$  vv, vedleggstabell 1). Blankprøvene av reagenser og luft viste at prosedyren ikke kontaminerte prøvene med plast over deteksjonsgrensen (vedleggstabell 2).

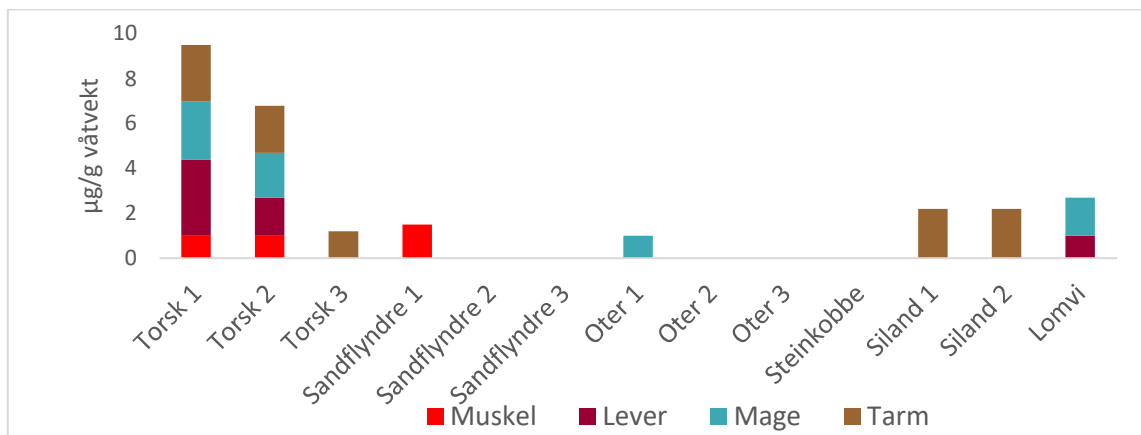


Figur 1. Samlet mengde og type mikroplast påvist i hvert av de 13 undersøkte dyrene.

**Tabell 1: Oversikt over undersøkte dyr, med resultater av plastanalyser og vevsundersøkelser.**

Dyreart	Anamnese	Sykdom	Plastanalyser i vev ved kjemisk analyse (Pyr GC/MS) (µg/g våtvekt)			Forekomst og effekt av mikroplast ved polarisasjonsmikroskopi og histopatologi
			PVC	PS	PET	
Oter	Teine/druknet	Ikke påvist spesifikk sykdom	-	Mage (1,7)	-	Ikke påvist
Oter	Veikant/antatt påkjørt	Ikke påvist spesifikk sykdom	-	-	-	Ikke påvist
Oter	Teine/druknet	Ikke påvist spesifikk sykdom	-	-	-	Ikke påvist
Steinkobbe	Garn/druknet	Lungeorm	-	-	-	Ikke påvist
Siland	Garn/druknet	Ikke påvist spesifikk sykdom	Tarm (1,0)	Tarm (1,2)	-	Ikke påvist
Siland	Garn/druknet	Ikke påvist spesifikk sykdom	Tarm (1,0)	Tarm (1,2)	-	Ikke påvist
Lomvi	Garn/druknet	Muskeldegenerasjon	Mage (1,7)	-	Lever (1,0)	Ikke påvist
Torsk	Garn	Diverse funn, ikke uvanlig for torsk	Lever (3,4) Mage (2,6) Tarm (2,5)	Muskel (1,0)	-	Ikke påvist
Torsk	Garn	Parasitter	Lever (1,7) Mage (2,0) Tarm (2,1)	Muskel (1,0)	-	Ikke påvist
Torsk	Garn	Parasitter	Tarm (1,2)	-	-	Ikke påvist
Sandflyndre	Garn	Diverse funn/parasitter	Muskel (1,5)	-	-	Ikke påvist
Sandflyndre	Garn	Ikke påvist spesifikk sykdom	-	-	-	Ikke påvist
Sandflyndre	Garn	Parasitter	-	-	-	Ikke påvist

- : konsentrasjon under deteksjonsgrensen for alle polymerene



**Figur 2. Konsentrasjon av mikroplast påvist i ulike organ i hvert av de 13 undersøkte dyrene.**

### 3.2. Mikroskopering/histopatologi

Det ble ikke observert mikroplast i vevsprøvene ved mikroskopering av vevspreparater med polarisert lys. I prøvene der det ble påvist mikroplast ved kjemisk analyse ble det ikke påvist vevsforandringer som kan relateres til mikroplast.

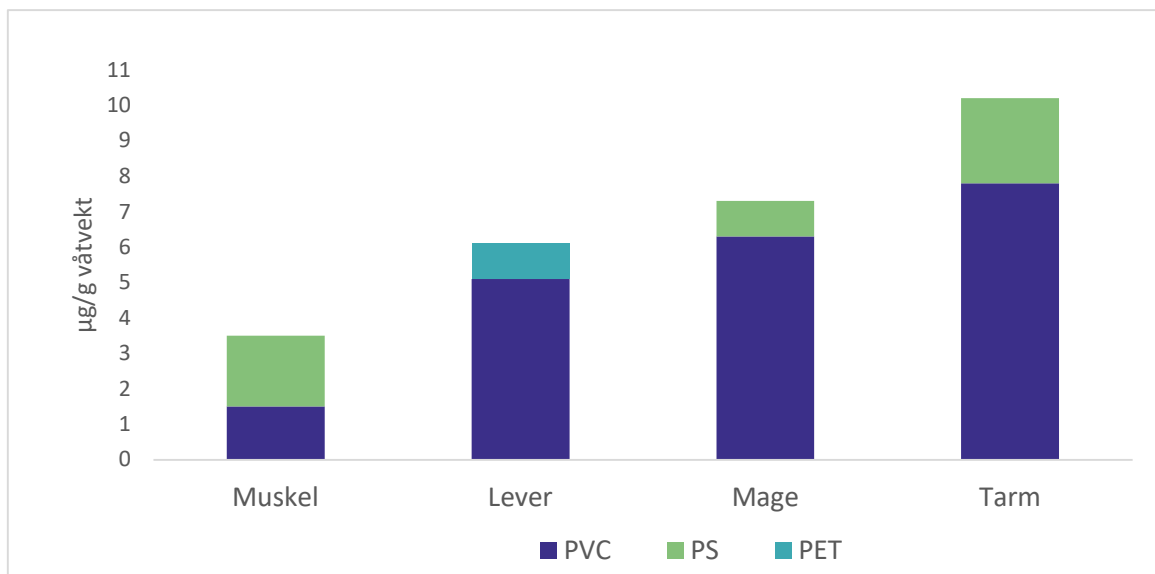
### 3.3. Andre funn og sykdommer, ikke plastrelatert

Fire av dyrene var ungdyr før eller tidlig etter kjønnsmodning. Resten var velvoksne dyr. Mange av dyrene var i god kondisjon, og døde som følge av fanging i teiner og garn eller påkjørsel med bil (tabell 1).

Pattedyr: Det ble ikke påvist spesifikk sykdom hos oterne. Selen hadde lungeorm uten vevsreaksjon og levende kveis i magesekken.

Fugl: Hos silendene ble det ikke påvist spesifikk sykdom. Den unge lomvien hadde muskeldegenerasjon av ukjent årsak, og var noe avmagret.

Fisk: Hos torskene ble det gjort funn som ikke er uvanlig for voksne individer. Alle fiskene hadde «knuter» på bukhinne og i organ, som til dels inneholdt parasitter, der noe ble identifisert som rundorm/ «kveis». Det ble også påvist et mindre område med kronisk hudbetennelse hos en fisk og en hadde betennelse i et øye. En av sandflyndrene hadde kronisk betennelse i gjelle og hjertesekk av ukjente årsaker. Hos en flyndre var det ingen spesielle funn og hos en var det parasittknuter (rundorm).



**Figur 3. Samlet konsentrasjon og type mikroplast påvist i hvert av organene muskel, lever, mage og tarm. Antall positive dyr per organ; muskel = 3, lever = 3, mage = 4 og tarm = 5. Plasttyper som ikke ble påvist er utelatt fra grafen.**



## 4. Diskusjon

Så langt vi kjenner til er dette den første studien som er gjort av forekomst og effekt av mikroplast i flere organer hos flere dyregrupper i et naturlig og plastforurenset miljø. Slike studier er vesentlige for risikovurderinger av dagens situasjon med tanke på plastforurensing. Rapporten viser resultatet av analyser av mikroplast i vev og vurdering av helsetilstand hos et fåtall individer av noen utvalgte dyrearter i kystmiljøet, og det er ikke grunnlag for å konkludere bredt om menneskelig eksponering eller plastoverføring i næringskjeden med bakgrunn i denne undersøkelsen. Undersøkelsen gir likevel viktig erfaring og kunnskap til oppfølging. En slik første kartlegging, som inkluderer flere dyr og på ulike nivåer i næringskjeden langs norskekysten er viktig som et grunnlag for videre arbeid, og viser ikke minst at eksisterende metoder kan bidra til å belyse denne viktige problemstillingen. Det er også tydelig at større undersøkelser med flere individer, lokaliteter og arter må utføres for å gi sikrere svar.

Analysene viser forekomst av mikroplast i flere vev i flere arter. Det er ikke overraskende flest funn av mikroplast i mage- og tarmvev, ettersom mange dyr er vist å kunne spise, men også kvitte seg med plast gjennom tarmen. Tidligere eksperimentelle studier har også påvist opptak av mikroplast i tarmvegg hos pattedyr. Vi kan ikke i denne studien si om mikroplasten hadde gått gjennom tarmveggen eller lå i slimhinnene i tarmen. Det er interessant at det ble påvist spor av mikroplast i muskel og lever, ettersom dette trolig viser at plast kan ha blitt overført til vevene via opptak gjennom tarmen. Mekanismene for opptak er ikke kartlagt. Kvalitetskontrollene med rene blankprøver, samt funnene av samsvarende konsentrasjoner og fordeling av plast i de samme vevene hos dyrene av samme art, støtter resultatene.

Resultatene understreker behovet for oppfølgende undersøkelser av plast i flere individer og på flere lokaliteter. Av særlig interesse er vev som kan være mat for mennesker, som muskel og lever av fisk og sjøfugl. Analysene viser at det kan forekomme plast i fiskefilet. Det kan derfor være en mulighet for menneskelig inntak gjennom fisk, selv om nivåene for øyeblikket er svært lave, og ikke forekommer i mer enn et fåtall sporadiske prøver. Det er verdt å merke seg at sel og oter, som lever av fisk og sjømat, ikke hadde påviselig plast i muskelvev, lever, milt eller lunger. Det må igjen understrekes at dette er resultatet etter et begrenset antall analyser. Det er også et poeng at det ble gjort flere parallelle analyser av muskelvev per fisk på grunn av betydningen av fisk som mat for mennesker, men at kun én av fire parallelle analyser av filet fra to av tre torsk viste mikroplast over deteksjonsgrensen. Det var med andre ord sjeldne funn av plast i muskel av torsk og flyndre i denne undersøkelsen og det ble ikke observert plastpartikler i vev ved polarisasjonsmikroskopi, og ikke påvist reaksjon i vevene som kunne relateres til plast.

Konsentrasjonen som er påvist tilsvarer ca. én partikkel på 10 µm i diameter, basert på masseberegning. 10 µm er også filterstørrelsen som er benyttet, slik at mindre partikler ikke kan antas å ha blitt fanget opp. Sammenlikning av resultater fra kjemisk og mikroskopisk analyse antyder at vevsprøvene kan ha inneholdt et fåtall ujevnt fordelte plastpartikler.

De påviste konsentrasjonene kan også brukes for sammenlikning av utviklingen over tid, selv om man antar at sensitiviteten i metodene vil bedres, og senere resultater vil finne lavere konsentrasjoner av mikroplast.

Det er ikke mulig å angi kilder til mikroplastpartiklene ved disse analysene, ettersom vi ikke kan se verken form eller farge ved termisk degradering (pyr GC/MS), og ingen plastpartikler ble påvist ved

mikroskopi. Vi vet at PVC er en av de mest vanlige plasttypene i verden og benyttes blant annet i byggebransjen og i rør, PS i matemballasje og isopor, og PET brukes til plastflasker. PVC (1,4 kg/L) og PET (1,38 kg/L) er tunge plasttyper som synker i sjøvann, og er forventet å synke til bunns, mens PS (1,06 kg/L) bare er litt tyngre enn sjøvann (ca. 1,025-1,033 kg/L). Formen og størrelsen til partiklene og graden av begroing betyr også mye for om de flyter eller synker og dermed hvilken spredning og skjebne de får i miljøet. Bunnlevende dyr, eller dyr som spiser byttedyr fra bunnen blir eksponert for partikler som er på eller like over bunnen, mens dyr i de frie vannmassene blir eksponert for flytende partikler, men også partikler i ferd med å synke.

Det er et klart behov for flere undersøkelser for å finne ut av eksponeringsveiene for fisk, fugl og pattedyr i kystmiljøet og om opptak av plast i dyr langs kysten er et utbredt fenomen. Det er videre behov for å utvikle mer følsomme metoder for å påvise lavere konsentrasjoner av mikroplast i mat og miljø og mer kunnskap om plast som bidrag til eksponering for miljøgifter eller vektor for sykdomsfremkallende agens.

## **TAKK**

Takk til Plastreturs Miljøprosjekt for finansiering av prosjektet. Takk til elever og instruktører i NJFF/TAM for fangst av fisk, takk til fiskere som har levert bifangst, og til Rune Gaasø for annen assistanse.

## 5. Vedlegg

**Vedleggstabell 1: Deteksjonsgrense for de analyserte mikroplastpolymerene**

<b>Nedre størrelse:</b>	> 10 µm
<b>LOD: Deteksjonsgrense</b>	1 µg/g PP 1 µg/g PET 1 µg/g PVC 1 µg/g PS 1 µg/g PP 5 µg/g PMMA 1 µg/g PA66 1 µg/g PE
<b>Blank-analyser</b>	Prosedyreblank for reagenser Støvkontroll i lab for prøveforberedelser Støvkontroll i analyserom

**Vedleggstabell 2: Resultat av analyser for prosedyreblank og luftforurensning**

Prøve/sted	Dato	µg/l							
		PVC	PS	PE	PC	PP	PET	PMMA	PA66
Prosedyre- blank	23.11.2018	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	19.01.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	22.03.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	13.04.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	25.05.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Rom for prøve- opparbeiding	19.11 til 23.11. 2018	<LOD	<LOD	0,4	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	14.01 til 19.01 2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	18.03 til 22.03.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	09.04 til 13.04.2019	<LOD	0,2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	20.05 til 25.05.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Analyserom	28.11.2018	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	04.02.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	30.03.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	24.04.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	03.06.2019	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

<LOD: under deteksjonsgrensen for analysen