

Mikroplastforurensing i laksefilet og oppdrettsmiljø

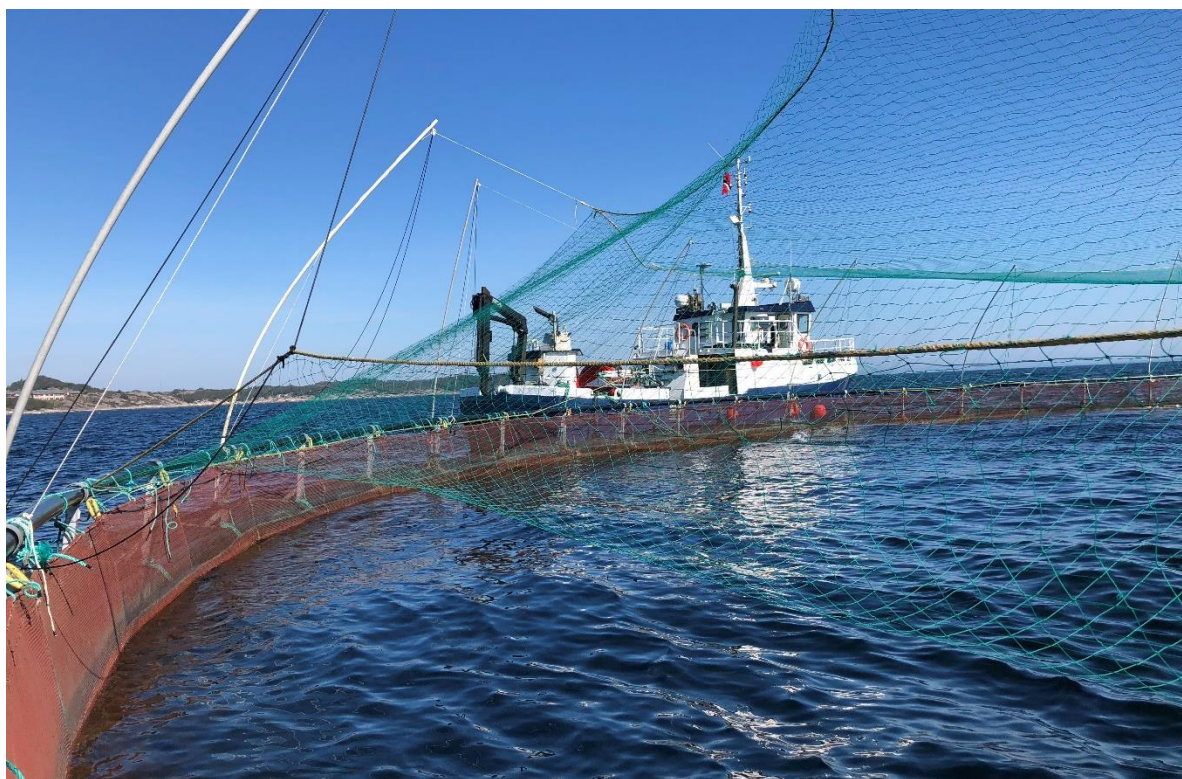
Screening av mikroplast i prosesser og ferdig produkt fra
lakseoppdrett

Oppdragsgiver:

Lerøy Seafood Group ASA

Forfattere:

Marte Haave, Alessio Gomiero



| | |
|---|---|
| Rapporttittel/ Report title | Mikroplastforurensning i laksefilet og oppdrettsmiljø - Screening av mikroplast i prosesser og ferdig produkt fra lakseoppdrett |
| Prosjektnummer/ Project No | 100571 |
| Institusjon/ Institution | NORCE Miljø |
| Oppdragsgiver(e)/ Client(s) | Lerøy Seafood Group |
| Gradering/ Classification: | Åpen |
| Rapportnr/ Report No. | 02-2020 |
| ISBN | 978-82-8408-064-2 |
| Antall sider/ No. of pages | 25 |
| Publiseringsmnd/ Month of publ.: | April |
| Sitering/ Citation | Haave M., & Gomiero A., NORCE rapport 2-2020 |
| Bildekreditering/ Photo Credit | Marte Haave, NORCE Miljø |
| Geografisk område/ Geographical area | Øygarden Kommune |
| Stikkord/ Keywords | Mikroplast, oppdrettslaks, fiskeoppdrett, miljø, mat |
| Sammendrag/ Summary | |

This study investigates the occurrence and distribution of microplastic in the immediate surroundings of a salmon farm, sampling the sediments, water column and the fish. Processes that are suspected to produce and/or release microplastics into the environment are especially investigated, such as using water with high pressure for removal of biofouling from the net pens. The increase in microplastic during high pressure hosing of the net pens was not statistically significant, but only a few of the analyses were successful due to high organic contents from biofouling in the water. Microplastics were found in all sampled matrices in the environment, with patterns of distribution suggesting that activities in the farm may be responsible for some release of microplastics to the environment. The potential effects of this release were not investigated. No microplastics (>10 micron) were found in the fish fillet by the current methods. It was not possible to obtain good results from analyses of feed pellets due to a high fat content. This preliminary study highlights the need for further investigation and method development.

Innhold

| | | |
|--------|--|----|
| 2. | Lokalitet..... | 5 |
| 3. | Prøvetaking og analysemetoder | 6 |
| 3.1. | Prøvetakning av sedimentprøver | 6 |
| 3.2. | Prøvetakning av vannprøver | 6 |
| 3.3. | Prøvetakning av sedimentfeller | 7 |
| 3.4. | Prøvetakning av fôrpellets og laks | 7 |
| 3.5. | Analyser av mikroplast i sediment..... | 10 |
| 3.6. | Rensing av prøvematerialer før kjemisk analyse | 11 |
| 3.7. | Analyser av mikroplast i laksefilet. | 11 |
| 3.8. | Kjemisk identifisering ved Fourier Transform Infrarød spektroskopi..... | 11 |
| 3.9. | Kjemisk analyse ved Pyrolyse gasskromatografi/ Masse Spektrometri .. | 12 |
| 3.10. | Gjenkjennelse av materialer fra oppdrettsanlegget..... | 12 |
| 3.11. | Kvalitetssikring og kontroll med forurensning fra luft og reagenser..... | 14 |
| 3.12. | Statistiske analyser | 14 |
| 4. | Resultater og diskusjon | 15 |
| 4.1. | Mikroplast i sediment | 15 |
| 4.1.1. | Sediment med partikler over 500 µm..... | 15 |
| 4.1.2. | Partikler under 500 µm | 16 |
| 4.2. | Mikroplast i vannprøver før og under spyling | 17 |
| 4.3. | Mikroplast i sedimentfeller i vannsøylen | 18 |
| 4.4. | Mikroplast i fôrprøver | 20 |
| 4.5. | Mikroplast i ferdig produkt - laksefilet | 20 |
| 4.6. | Diskusjon | 21 |
| 5. | Konklusjon..... | 22 |
| | Takk | 23 |
| 6. | Referanser | 24 |

1. Innledning

Plast i miljøet er en global utfordring av økende omfang. Produksjonen av plast øker årlig, og er nå på ca. 358 millioner tonn, ikke medregnet syntetiske tekstiler (www.plasticseurope.org). Årlig er det beregnet store utslipp av plast og mikroplast til havet som følge av dårlig avfallshåndtering på land, tap av utstyr til sjøs fra fiskerier eller marin industri, samt utslipp av mikroplast partikler ved slitasje av store gjenstander, eller som utslipp av avløpsvann medfører (GESAMP 2016, Lusher et al. 2017). Plastpolymerer brytes svært langsomt ned, og det vil ta lang tid før mikroplast i miljøet forsvinner. I løpet av levetiden vil plasten brytes ned til stadig mindre biter, og kan da spises av en rekke dyr av ulike størrelser i miljøet, både i vannsøylen og i sedimentet. Det er nå påvist plast i mage og tarminnhold i en rekke arter av pattedyr, fugl (Bond et al. 2014), fisk (Boerger et al. 2010), krepsdyr (Watts et al. 2014), bunnlevende dyr (Van Cauwenberghe et al. 2015), og også i kappehule og vev av skjell, som spises hele av mennesker og derfor kan medføre eksponering for mikroplast gjennom mat (Van Cauwenberghe and Janssen 2014). Både forskere og media har stilt spørsmål ved om tilstedeværelse av plast i sjødyr medfører fare for mattrygghet, da med særlig fokus på mikroplast. Plastforurensning og effekter i miljøet er et forskningsområde i fremvekst, og kunnskapsbehovet er identifisert som stort og det er publisert en rekke artikler om emnet. Det er til nå likevel verken entydig bekreftet eller motbevist at mikroplast i næringskjeden medfører fare (Lusher et al. 2017; VKM 2019), først og fremst på grunn av manglende dokumentasjon av innhold og typer plast i miljøet og dyr, og mangelfulle metoder for å påvise skadelige effekter, både i viltlevende dyr og ved eksperimentelle oppsett med eksponering for høye nivåer av mikroplast (VKM 2019). Samtidig som plast er funnet i tarmen og magesekken til en rekke organismer, er det mangelfull dokumentasjon av mikroplast i fiskefilet, som er den delen forbrukerne som oftest spiser. Det er ennå ikke kartlagt hvilke kilder i miljøet som er de mest vesentlige for menneskelig inntak av plast, som luft og vann i tillegg til mat. En rådende oppfatning er at sjømat er ensbetydende med plast på matfatet, og at sjømat er en vesentlig kilde til plastinntak for mennesker, men dette er foreløpig ikke underbygget av gode studier. Det er også påvist plast i salt, øl og honning, samt i atmosfærisk nedfall, altså i luft. Både forbrukere og mattrygghetsorganer trenger et bedre datagrunnlag fremskaffet med pålitelige metoder for å kunne gjøre gode risikovurderinger omkring inntak av plast gjennom mat, for å kunne gi kostholdsråd og la forbrukere ta informerte valg.

Mikroplast som tas opp av fisk kan være vannbåren (partikler i fri form) eller akkumulert i planktoniske organismer (Mattsson et al. 2015, Mattsson et al. 2017). Fisk som lever i et miljø med mikroplast kan også bli kontaminert gjennom fødeopptak (Brate et al. 2016) og drikking av sjøvann så vel som over gjellene (Watts et al. 2016).

Plast av ulike materialer benyttes i en rekke prosesser i fiskeoppdrett. Det er derfor sannsynlig at mikroplast kan slippes ut i ulike deler av oppdrettsmiljøet som følge av bruk, slitasje og vedlikehold, og derigjennom spres til omkringliggende miljø samt eksponere laksen for mikroplast. Særlig spyling av nøter med høyt trykk som medfører slitasje på tau og nøter, slitasje på fôringsrør fra pelletert fôr, samt slitasje på flottører, fendere og

båtskrog ved bruk er sannsynlige utslipp som vil pågå over lang tid. For å kunne vurdere nytte av tiltak, forebygge utslipp og dermed forhindre eventuelt opptak eller skader av mikroplast i både miljøet rundt og i oppdrettsanlegget og fisken, er det verdifullt å kartlegge mengdene mikroplast som slippes ut knyttet til de ulike prosessene i oppdrett av fisk.

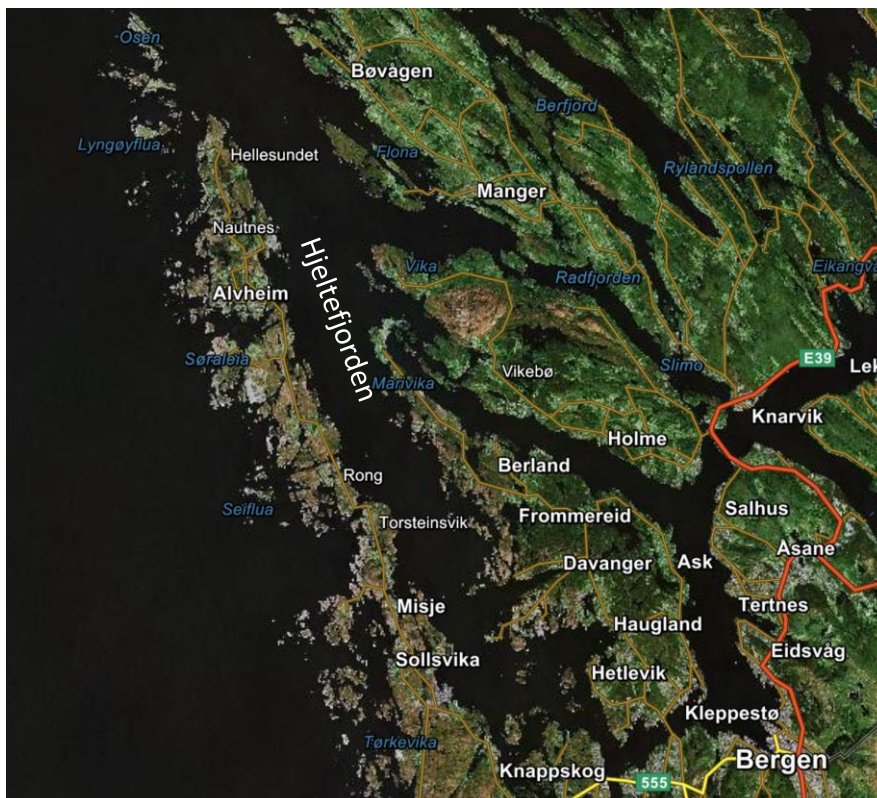
Det har lenge vært stilt krav til dokumentasjon av innholdet miljøgifter i fisk og sjømat, og det er sannsynlig at det vil komme tilsvarende krav til dokumentasjon av plastinnhold i både miljø og sjømat. En forutsetning er at metodene for kvantifisering av mikroplast er på plass med tilstrekkelig kvalitet. Dette studiet har som hensikt å gjøre en første screening av relevante miljøprøver som kan belyse utslipp av mikroplast i oppdrettsmiljøet, og påpeke områder med behov for videre oppfølging eller nødvendige studier og tiltak.

Studien ble initiert av Lerøy SG sammen med NORCE i 2018. NORCE (da Uni Research og IRIS) fikk oppdraget med prøvetakning og kvantitative analyser av mikroplast, for screening og metodeutvikling for kvantifisering av mikroplast i miljø og produkt. Studiet representerer et første forsøk på å gi et øyeblikksbilde av mikroplast i oppdrettsmiljøet, og er dermed ikke en fullstendig eller utfyllende beskrivelse av mikroplastutslipp over tid eller gjennom alle prosesser som kan tenkes å være relevante for et oppdrettsanlegg.

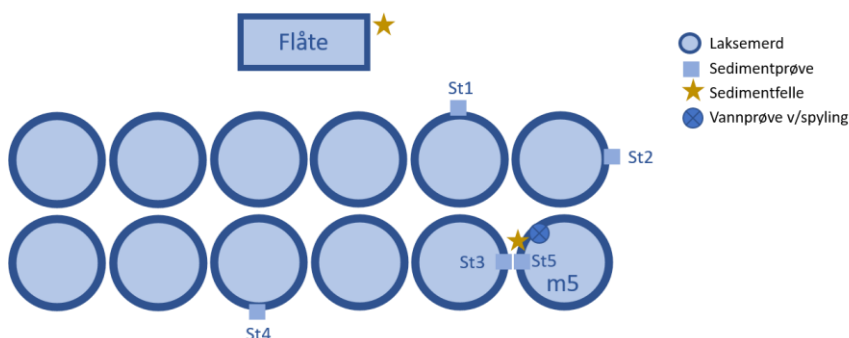
Hensikten var en preliminær screening av forhold ved et generelt oppdrettsanlegg som drives etter vanlige prosedyrer, og oppdrettsanlegget er derfor anonymisert. Målområdene for screeningen var mikroplast i sediment på bunnen under oppdrettsmerdene, i vannsøylen inni merdene før og under spyling av merdene, i vannsøylen utenfor merdene ved vanlig drift over flere dager, samt mulig innhold i fiskefôret og i fiskefiléten fra slakteklar laks. Dette var den første undersøkelsen av sitt slag som ble gjort, og metodeutvikling var derfor et vesentlig element i studiet.

2. Lokalitet

Lokaliteten som ble valgt til dette studiet ligger i Hjeltefjorden i Øygarden kommune (Figur 1). Lokaliteten ligger åpent og eksponert til mot nord, øst og sør-øst, og tilknyttet en stor resipient. Der er ingen fjordterskler mellom lokalitetsområdet og Hjeltefjorden, som har dyp på over 300 meter. Strømmålinger utført på lokaliteten viser gode strømforhold med en dominerende strømretning mot sørøst (150-165 grader). Den gjennomsnittlige spredningsstrømmen er 6,6 cm/s (5 m) og 8,6 cm/s (40 m) ifølge flere tidligere målinger av strømforhold.



Figur 1: Flyfoto over Øygarden Kommune med Hjeltefjorden (Kartkilde: Gule sider).



Figur 2. Merdene ved anlegget i 2018 hvor det ble samlet sediment, vannprøver under spyling, suspendert materiale i vannsøylen. Fisk ble tatt til mikroplastanalyser fra merd 5.

3. Prøvetaking og analysemetoder

Prøver, innsamlingsmetoder og rensemetoder er oppsummert i Tabell 1.

3.1. Prøvetakning av sedimentprøver

En MOM-B undersøkelse ble utført under maks produksjon i mars 2018 av NIVA på oppdrag fra Lerøy Vest AS. Bunn sediment ble samtidig samlet fra utvalgte stasjoner der det var mulig å få gode sedimenter til mikroplastanalyser (Figur 2). Prøvene til mikroplastanalyser ble tatt med en liten van Veen grabb (0,1 m²), overført til glassbeholder med en stålskje og oppbevart i frysen frem til analyse ved NORCE. Beskrivelse av sedimentet (Tabell 3) stammer fra MOM-B-undersøkelsen.

Tabell 1. Oppsummering av stasjoner og prøvetyper, innsamlingsmetoder og analysemetode for prøver tatt ved oppdrettsanlegget 26. mai 2018.

| Prøvetype | Stasjoner | Metode for prøvetakning | Antall prøver | Ekstraksjon og analysemetode for mikroplast (MP) |
|---|--------------------------------------|--|---------------------------------------|---|
| Sediment | Stasjon 1, 2, 3, 4 og 5 (se figur 2) | Van Veen grab - 0,1 m ² . | 5 stasjoner | Tetthetsseparasjon med MPSS, enzymatisk og oksidativ rensing. Identifisering av MP ved FTIR (>500µm) Pyr GCMS (< 500 µm) |
| Vannprøve før og under spyling av noten | Inni merden M8 | Vannpumpe 1,5 m under overflaten. 10 minutter*10L/min | 3x før spyling 3x under spyling | Filtrering på stedet gjennom 20 og 100µm stålfiler. Enzymatisk og oksidativ rensing, identifisering av MP ved Pyr GCMS |
| Sediment i vann | Flåte | Sedimentfeller ved 4 og 20 meters dyp | 2 ved merdkanten (M5) 2 ved flåten | Enzymatisk og oksidativ rensing, identifisering av MP ved Pyr GCMS |
| Pelletert laksefôr | Lever fra Skretting, EWOS og BioMar | Lever i pose | 3 poser | Enzymatisk og oksidativ rensing, identifisering av MP ved Pyr GCMS. |
| Laksefilet | Fra merd M5 | Levert utblødd til disseksjon. Uttak av NQC filet i ren lab. | 5 fisk | Enzymatisk og oksidativ rensing, identifisering av MP ved pyr GCMS |

3.2. Prøvetakning av vannprøver

Tidspunktet for prøvetakning av vann og utsett av sedimentfeller den 26. mai 2018 var planlagt for å falle sammen med spyling av merdene for fjerning av notgroe med spylerrigg, utført av Brødrene Bakke AS. Spyling av merden (m5) ble utført med spylerrigg type «Hjalmar Østerbø» (Figur 3A og B) med 120 bar trykk, tre roterende spyleskiver med to dyser per

skive, og vannforbruk på 300 L/min. Spylekraften i spylerriggen var 120 bar. Denne reduksjonen fra opprinnelig 140 bar som standard er gjort for å redusere slitasje på noten (Brødrene Bakke, personlig kommentar).

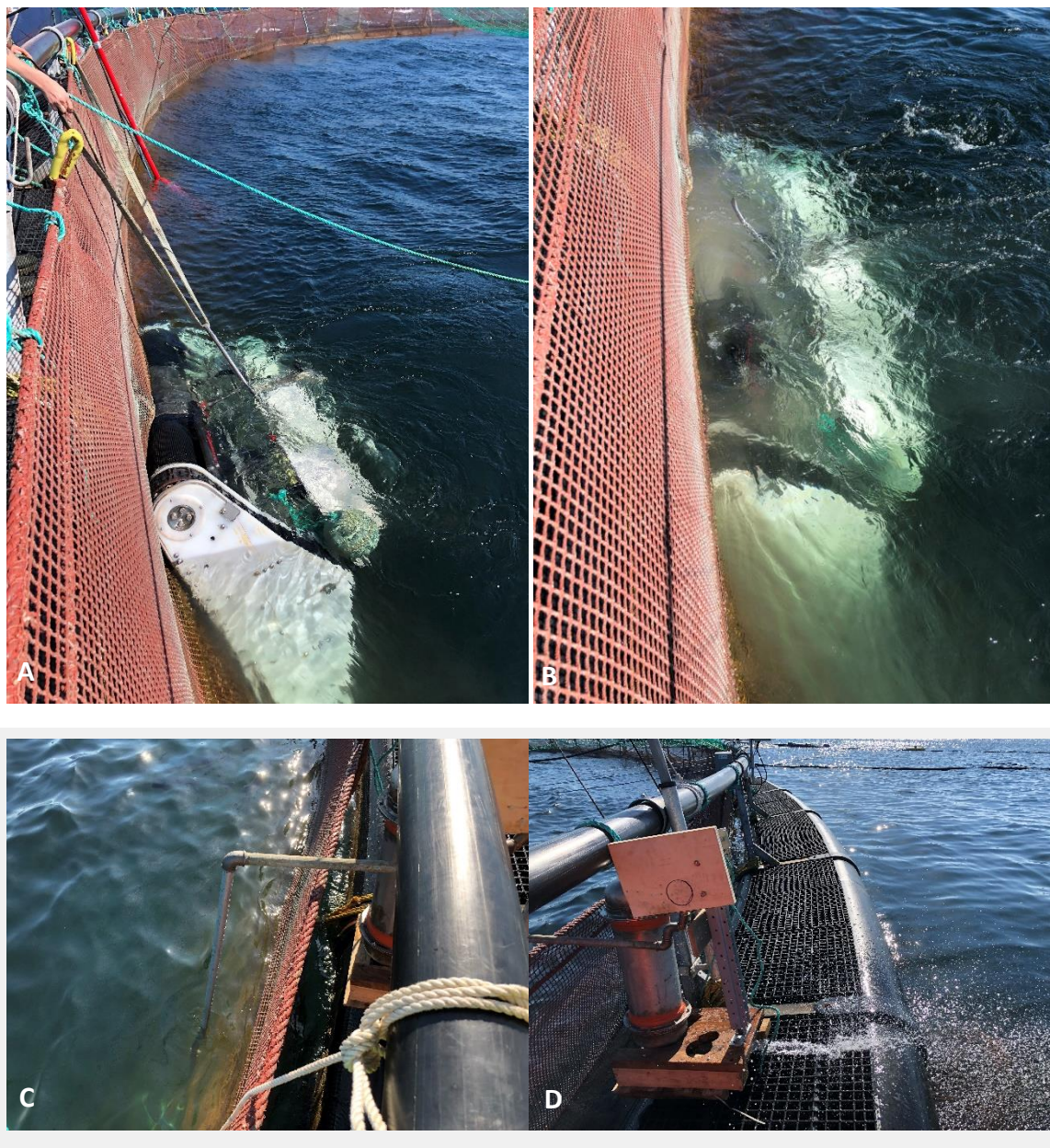
Før og under spyling ble det tatt vannprøver inn merden, ved noten, for undersøkelse av mikroplast i vannet (Figur 3 C og D). Vannpumpen med inntak ble senket ned til ca. 1,5 meter under vannoverflaten inni merden. Tre vannprøver ble tatt før spyling, og tre under spyling. Den første prøven ble tatt mens spylerriggen var i nærheten av pumpen, mens etter hvert beveget den seg rundt merden slik at vannpumpen ble stående nedstrøms spylerriggen. Hver prøvetakning varte ca. ti minutter, pumpeeffekten var på ca. 10 L/min, og totalvolum per parallell var dermed ca. 100 L. Innholdet i filterne ble deretter overført i rene metallbeholdere og oppbevart kaldt frem til analyser. Det var synlig innhold av organisk materiale på filterne etter prøvetakning

3.3. Prøvetakning av sedimentfeller

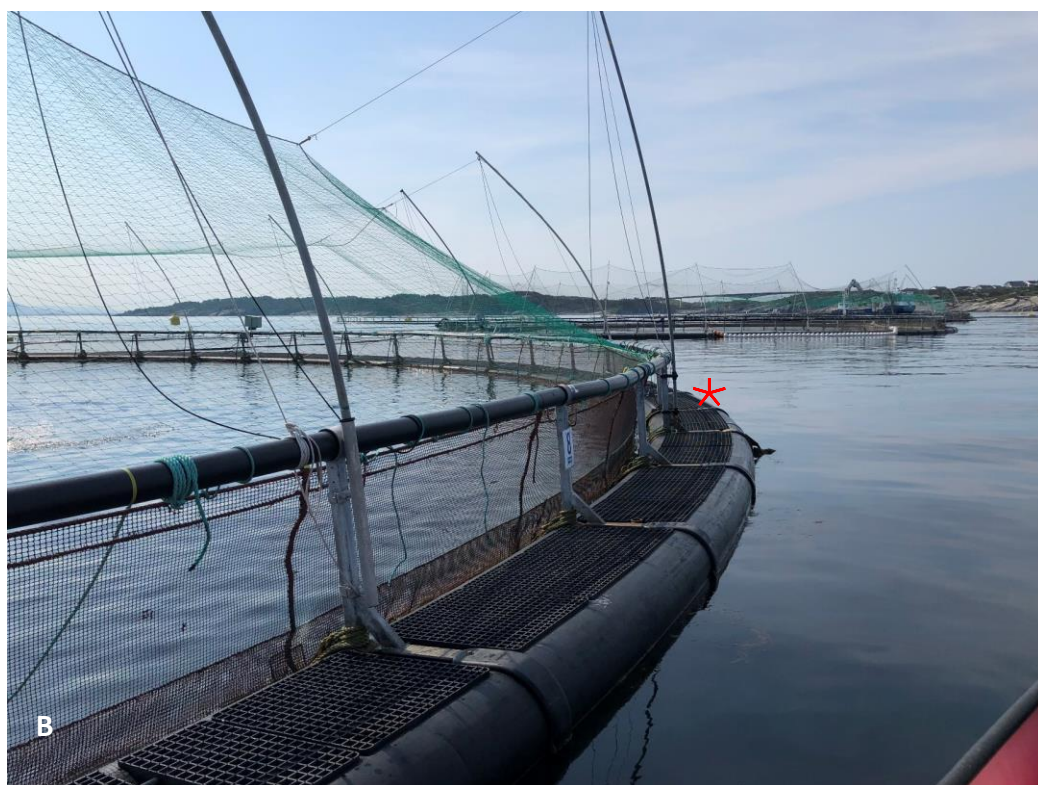
Sedimentfellene ble satt ut 26. mai og tatt opp etter fem dager i vannet, 30. mai 2018. Sedimentfellene bestod av to 60 cm lange, vertikale rør (80 mm i diameter) med lodd i bunn, montert på to dyp per stasjon: 4 meter og 20 meter. Den ene fellen ble satt ved merdkanten, inni anlegget slik at strømrretningen ville føre partikler fra merdene mot sedimentfellen (Figur 4B). Den andre serien ble festet på flåten, oppstrøms anlegget, for å minimere påvirkning fra flåten eller anlegget generelt (Figur. 4A). Ved opptak ble fellene løftet skånsomt opp, vannet øverst i sedimentfellene fjernet forsiktig ved bruk av en silikonslange (hevert). Vannet i bunn, medfanget materiale, ble deretter overført til rene 1L metallbokser med lokk.

3.4. Prøvetakning av fôrpellets og laks

Den 30. mai ble det også levert tre frosne fôrprøver fra tre ulike produsenter, som alle benyttes til fôring av laksen ved oppdrettsanlegget, og etter utslakt ble det levert fem laks fra M5 av slakteklar størrelse. Laksen ble avlivet ved utblødning 15. juni 2018 på Austevoll laksepakkeri, frosset hel og sendt Havforskningsinstituttet 18. juni, hvor fisken ble videre prosessert i plastfri lab for å unngå forurensning av prøvene fra luft eller materialer under prøvetakning. Fileter ble skåret ut, pakket i aluminiumsfolie og frosset ved -20°C frem til analyser ved NORCE Stavanger (Mekjarvik). Videre prosessering av laksen ble gjort i egen mikroplastlab, med kontroll av luft og reagenser (blankprøver).



Figur 3. Spylerrigg type «Hjalmar Østerbø» (A, B) fjerner notgroe med 3 roterende skiver, seks dyser med 120 bar vanntrykk hver. Vannforbruk 300 L/min. Vannpumpe med inntak 1,5 meter under overflaten (C, D). Pumpen leverer ca.10 L/min som filtreres over to etterfølgende stålfiltre med 100 µm og 20 µm maskestørrelse.



Figur 4. Sedimentfeller ble satt ut på 4 og 20 meters dyp (rød stjerne = festepunkt) . En stasjon ble lagt på nord-vest siden av flåten ca. 150 meter fra nærmeste merd, utenom hovedstrømretningen fra anlegget (A), og en ble lagt på innsiden, nedstrøms merden (B).

3.5. Analyser av mikroplast i sediment

For undersøkelse av mikroplast i sediment ble det først tatt ut ca. 50-70 gram prøve per stasjon til analyse av tørrstoffprosent, etter standard metoder. Kort oppsummert veies prøven inn og tørkes over natt i 105°C før veiing av tørt materiale og beregning av tørrstoffprosent. Deretter brennes prøven ved 550°C for beregning av glødetap. Ca. 1 kg av det resterende sedimentet per stasjon ble veiet inn til ekstraksjon ved tetthetsseparasjon i en Microplastic Sediment Separator (MPSS, Hydrobios.de, Figur 5) med Sinkklorid ($ZnCl_2$: ca. 1,7 kg/L) som tidligere beskrevet (Imhof et al. 2012, Haave et al. 2019). Det ble utført én analyse per sedimentprøve.



Figur 5. A). Toppkammeret til mikroplast sedimentseparatoren (MPSS, Hydrobios.de) isolerer partikler som flyter opp i $ZnCl_2$, mens sand og tunge materialer ligger igjen på bunn. B) Prøven separerer over natten, innholdet i toppkammeret isoleres, og partikler renses videre før kjemisk identifisering av polymerer.

Etter ekstraksjon i MPSS ble materialet fra toppkammeret rensed trinnvis med såpestoff (5% SDS) og flere trinn enzymatisk rensing med enzymer og buffere som beskrevet i Haave et al. (2019). I denne undersøkelsen brukte vi glassfiltertrakter (VitraPOR®) (125 ml; porestørrelse 2 (40-100 μm), for å øke effektiviteten og begrense tap av materiale og mulig forurensning fra luft ved skifte av enzym. Etter enzymatisk behandling inneholdt prøvene fortsatt partikler som liknet planterester, og ble derfor behandlet igjen med cellulase over flere dager og med flere skifter av enzym. Prøvene ble også behandlet med 30% hydrogenperoksid før ny cellulasebehandling, men det lot seg likevel ikke gjøre å bryte ned siste rest av materialet som utgjorde størstedelen av restpartiklene i den rensede prøven. Materialet var sannsynligvis lignin (vedstoff), og cellulase var derfor ikke effektivt for å bryte ned dette.

Til sist ble de rensede prøvene filtrert over 500 µm filter, og andelen over 500 µm tørket på et glassfiberfilter og klargjort for partikkelanalyser ved Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) med en Thermo Fisher iN10 MX. Partiklene ble også visuelt inspisert under lupe. Fraksjonen under 500 µm ble ytterligere rensert og klargjort for analyser ved pyrolyse Gasskromatografi Massespektrometri (Pyro-GCMS).

3.6. Rensing av prøvematerialer før kjemisk analyse

Hensikten med rensetrinnene er å trekke ut mikroplast fra prøven og rense og å utføre en effektiv og skånsom rensing før kjemisk analyse. Rensingen må være utført slik at en kjemisk identifisering og kvantifisering av polymerene er mulig. I dette prosjektet ville det organiske materialet være en kompleks blanding av proteiner, fett og algerester i ulike miljøprøver. Organisk materiale kan både fange mikroplast under ekstraksjon og separasjon, og være problematisk under renseprosessen. Organiske rester kan også medføre signal (støy) i den kjemiske analysen og skape problemer for kvantifiseringen av polymerene, ettersom organisk materiale gir signaler i samme område som deler av plastpolymerene. Organisk materiale vil dermed øke bakgrunnsstøyen og redusere påliteligheten av analysen.

Alle prøvene ble rensert med trinnvis degradering og fjerning av fett og proteiner, ved bruk av såpestoff, spesifikke enzymer for å bryte ned fett, proteiner og cellulose, før oksidasjon resterende fett. Dette må utføres skånsomt og uten å påvirke plastmaterialene, altså ved lav temperatur og moderate pH verdier. Utvalget reagenser var valgt ut basert på tidligere erfaring og suksess med bruk under rensing av andre komplekse prøver, som kloakkslam (RFF Vest prosjekt #260053/2016). I denne undersøkelsen ble det brukt glassfiltertrakter med porestørrelser inntil 10 µm (VitraPOR®) (125 ml; porestørrelse 4).

Etter trinnvis degradering av organisk materiale ble de resterende plastpartiklene skilt ut ved tetthetsseparasjon i en sinkkloridløsning ($ZnCl_2$) med tetthet 1,70 – 1,75 g/cm³. Supernatanten med plastpartikler ble filtret av over et 10 µm stålfiler, vasket og filtrert ned på glassfiberfilter GF/F (0,7µm) før prøven ble pakket i en pyrolysekopp for termodegradering under pyrolyse gasskromatografi/ Massespektrometri (Pyr GC/MS).

3.7. Analyser av mikroplast i laksefilet.

Det ble gjort tre analyser av fileten fra tre individuelle laks, hver prøve var på ca. 20 gram.

3.8. Kjemisk identifisering ved Fourier Transform Infrarød spektroskopi

Fourier Transform Infrarød spektroskopi (FTIR) er en vibrasjonsspektroskopisk metode som benytter de kjemiske bindingene i molekylens tendens til å vibrere når disse treffes av lys med en viss energi (lysbølgenes frekvens). Vibrasjonsmønsteret som registreres, sammenliknes med mønsteret som dannes ved FTIR av kjente referankestoffer, og man får oppgitt en sannsynlighet (%) for hvilket materiale man har. Ved analyse av en ukjent prøve vil signalet automatisk sammenliknes med et stort referansebibliotek, eller egne referanser av materialer som er samlet inn ved lokaliteten (Figur 6). Er sammenfallet på over 70%

regnes det som en sikker identifisering, mens lavere sammenfall betyr behov for manuell vurdering av spekteret for å eventuelt konkludere med sannsynlig materialtype. Vann, alkohol, organiske rester og tilsetningsstoffer vil bidra til signalet, og kan påvirke gjenkjennelsen og treffprosenten. Da vil manuell validering benyttes for å gjenkjenne typiske spektre fra kjente stoffer, og sortere ut støy i områdene der vann og organisk materiale gir signal.

3.9. Kjemisk analyse ved Pyrolyse gasskromatografi/ Masse Spektrometri

Pyrolyse Gasskromatografi/ Massespektrometri (pyr-GC/MS) ble utført en Shimadzu Optima 2010C GC/MS kontrollert ved GC/MS V 4.45, og utstyrt med en Rxi-5ms kolonne (RESTEC, Bellefonte, PA) koblet med Frontiers lab's Multi-Shot Pyrolizer EGA/PY-3030D med auto-shot sampler (BioNordika, Norge). Pyrolyse utføres ved 590°C, som beskrevet i Fischer and Scholz-Bottcher (2017) og Gomiero et al. (2019)

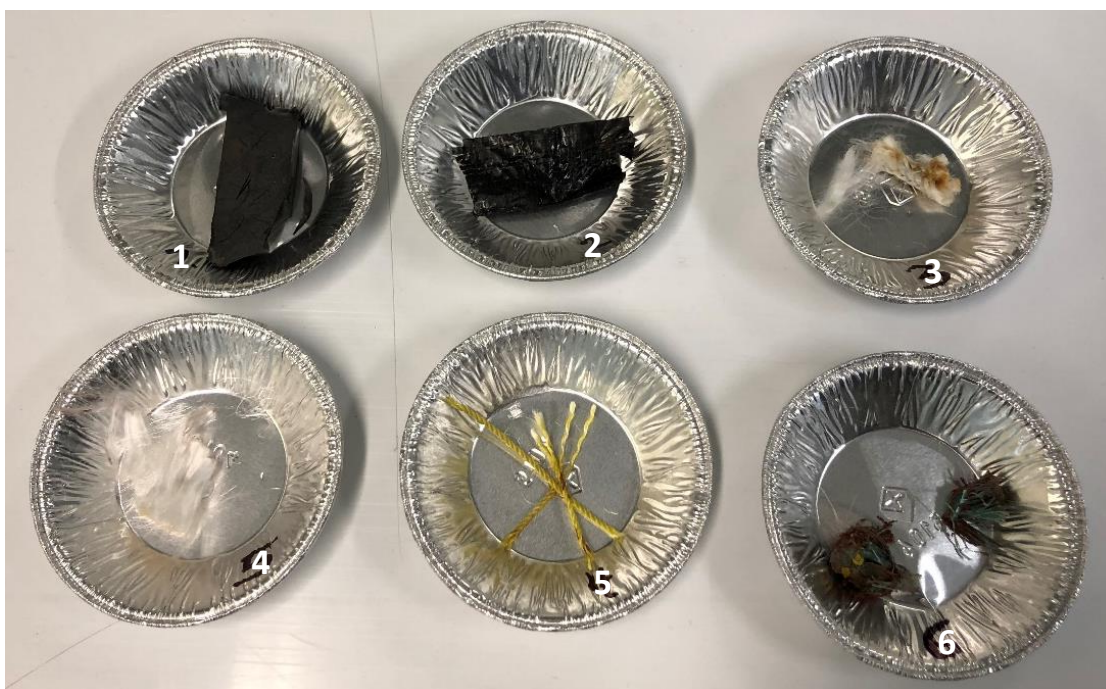
Åtte av de mest brukte plastpolymerene: polyetylen - PE, polypropylen - PP, polystyren - PS, polyvinylklorid - PVC, polyamid/nylon - PA, polymetyl methacrylate - PMMA, Polykarbonate - PC og polyetylen tereftalate - PET med renhet >99% ble brukt til å sette opp kalibreringskurver og standardkurver for kvantifisering. For sikker identifisering av de enkelte polymerene fra komplekse miljøprøver ble enkelte indikatorioner fra pyrolysen av kontrollmaterialet valgt ut. De resulterende pyrogrammene etter pyrolyse av ukjente miljøprøver ble sammenliknet med referansebiblioteker og kryss-sjekket mot litteratur etter anbefalinger og seleksjonskriterier etter tidligere publiserte metoder (Fischer and Scholz-Bottcher 2017; Gomiero et al. 2019).

For å lage standardkurver for kvantifisering veier man inn 10 til 360 µg av en kjent polymer i pyrolysekoppen med finvekt (XPE205 DeltaRange Mettler Toledo) koblet med et verktøy for å fjerne statisk elektrisitet (Mettler Toledo: Compact antistatic Kit). De ulike polymerene identifiseres med masse og retensjonstid og kvantifiseres ved å integrere de aktuelle toppene.

For den laveste konsentrasjonen i kalibreringskurven hjalp det antistatiske verktøyet til å få veid inn polymer i størrelsesorden noen få mikrogram. De største metodiske utfordringene i kalibreringskurven i dag er den laveste pålitelige massen som kan måles med finvekten. Kvantifiseringsgrensen (Limit of Quantification – LOQ) ble regnet ut etter tidligere publiserte metoder (Hermabessiere et al. 2018).

3.10. Gjenkjennelse av materialer fra oppdrettsanlegget

Syntetiske materialer i bruk ved anlegget, som svart gummiplast benyttet i ringene og rekkverk, tau og festemateriell til nøter og annet utstyr ved merdkanten, notmateriale med impregneringsmaling, samt plasttare ble samlet inn samlet fra flere oppdrettsanlegg og brukt som referanse for kjemisk identifisering av mikroplast i oppdrettsmiljø (Figur 6, tabell 2)



Figur 6. Prøver av plastmaterialer i bruk i oppdrettsmiljøet som er benyttet som referanse for identifisering av kilder til mikroplast. 1= gummiplast, 2 = plasttære, 3 og 4 = tauverk rundt merdene, 5 = anti- predator nett, 6= forankringstau med impregneringsmaling

Tabell 2. Bruksområder og vanlige materialtyper ved oppdrettsanlegg

| Eksempler på gjenstand og bruk | Polymer type |
|-----------------------------------|--------------|
| Flytekrager | PE |
| Flytepontonger | PP |
| Kunstig tare | PP |
| Tauverk rundt merdene | PMMA |
| Anti- predator nett | PA |
| Forankringstau (med impregnering) | PA+PP +PE |
| Notgroe impregnering | PE |
| Merdnot | PP |
| Boyer | PE |
| Fôrrør | PE |
| Bestanddel i akrylmaling | PMMA |
| Plexiglass | PMMA |
| Ramme for antipredatornett | PS |
| Isopor | EPS |

3.11. Kvalitetssikring og kontroll med forurensning fra luft og reagenser.

Mikroplast i sedimentprøvene ble ekstrahert i et delvis lukket system (MPSS), og med minst mulig eksponering for luftbårent støv. Alle overflater ble vasket med vann og papir før start for å hindre svevestøv i prøvene. Beger med prøver ble dekket med lokk av glass og metallfolie ved behov, alt utstyr i kontakt med prøven var av glass og metall, og ble vasket og skylt med filtrert Milli-Q vann og etanol før bruk, ZnCl₂ til MPSS ble filtrert gjennom 1µm glassfiberfilter, og alle andre reagenser og enzymer ble filtrert gjennom glassfiberfilter (Whatmann GF/F 0,7µm) og oppbevart på rene glassflasker før bruk. MPSS er et lukket system under selve ekstraksjonen (over natten). I laboratoriet for pyrolyse GC/MS ble prøvene av vann, pellets og laks, samt de minste fraksjonene fra bunnsedimentet videre bearbeidet i et rent og tilnærmet plastfritt rom, med kontroll av luftforurensning og kontroll av forurensning i reagenser. For å unngå forurensning av plast fra omgivelsene ble det benyttet glass og metallutstyr, som ble brent ved 550°C før bruk. Personell benyttet bomullsfrakker under arbeidet, og prøvene ble dekket med lokk og i minst mulig grad utsatt for luft med potensielt støv av syntetiske materialer. Alle reagenser og det destillerte og filtrerte Milli-Q vannet ble filtrert over glassfiberfiltre (0,7 µm) før bruk. Blankanalyser ble også gjort for å kontrollere om reagensene kunne ha forurenset prøven under prosedyren. (Resultater av kvalitetskontroll vedlagt i Vedleggstabell 1).

3.12. Statistiske analyser

Statistiske analyser og grafer ble utført med IBM SPSS for Windows (v 25). Signifikans ble vurdert som $p < 0,05$.

4. Resultater og diskusjon

4.1. Mikroplast i sediment

Beskrivelse av sedimentprøvene er vist i tabell 3. Oversikten over prøvetakningsstasjoner er vist i Figur 2. Prøvene er tatt ved stasjoner der det var mulig å få opp tilstrekkelig sediment til analysene.

Tabell 3. Prøvestasjoner og beskrivelse av sediment, tørrstoffprosent og glødetap % (+/- Standardavvik) i sediment under merdene ved oppdrettsanlegget

| Stasjon | Beskrivelse av sediment | TS% | Glødetap % |
|---------|---|-----------|------------|
| St1 | Sand/skjellsand, lys grå, noe H ₂ S lukt | 59,3± 0,4 | 5,3± 0,1 |
| St2 | Blanding av sand, grus og skjellsand, leire underst. Ingen lukt og mange små polychaeter | 60,7± 2,3 | 4,5± 0,5 |
| St3 | Blanding av silt, sand, grus og skjellsand, Litt gassbobling, luktet middels sterkt H ₂ S, mørk grå farge, fôr og fekalier | 52,0± 0,1 | 7,4± 0,4 |
| St4 | Blanding av silt, sand grus og leire i bunnen av grabben, svart farge noe H ₂ S lukt | 31,5± 0,1 | 17,1± 0,2 |
| St5 | Mørkegrått sediment, silt/sand på overflaten, leire under, noe fôr og fekalier på toppen | 59,3± 0,1 | 3,9± 0,2 |

4.1.1. Sediment med partikler over 500 µm

Sedimentprøven ble separert i partikler større og mindre enn 500 µm, ettersom større partikler lar seg håndtere manuelt med pinsett og kan gi pekepinn om kilder til plast basert på farge og struktur. Prøvene av partikler over 500 µm var dominert av et stort innslag partikler som ikke lot seg fjerne med enzymatisk rensing, eller oksidasjon med hydrogenperoksid. Av utseendet minnet de om skallrester, muligens av oppmalt materiale, kanskje korn fra fiskefôret. Antallet resterende partikler >500 µm var over 100 partikler per prøve, som er for høyt til å gjennomføre ATR FTIR analyser av alle partiklene i alle prøvene. Et utvalg partikler ble derfor testet med FTIR og sammenliknet med det interne referansebiblioteket i instrumentet, men også på prøvene som ble tatt fra materialer ved anlegget (Figur 6). Analyse av et utvalg partikler viste at flertallet av restmaterialet på filteret etter renseprosessen som forventet var organisk, og ikke plast eller syntetisk. Turkise partikler >500 µm ble identifisert som polyamid/nylon, sannsynligvis fra tau, mens røde partikler ble identifisert som polyetylen som hadde perfekt match med impregneringsmaling fra nøter, tatt som prøve fra anlegget.

Resultatene viser at partikler fra anlegget kan falle ned under oppdrettsanlegget. Det var ikke mulig å bestemme mengdene polymerer som µg/kg sediment basert på analyser av

materiale i denne størrelsesfraksjonen siden det høye antall partikler av organisk materiale dominerte prøvene, og visuell separasjon ikke ville vært hensiktsmessig eller nøyaktig nok.

4.1.2. Partikler under 500 µm

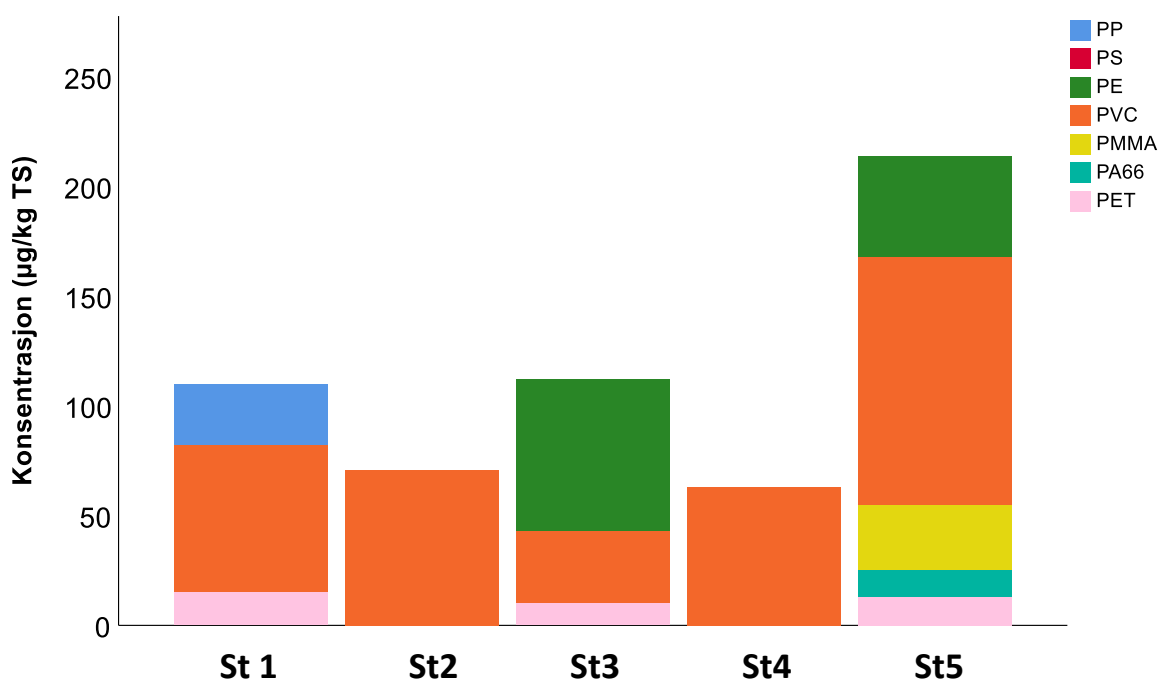
Partikler under 500 µm fra bunnsedimentet ble rensset videre med flere rensetrinn før identifisering ved pyr-GC/MS, blant annet ble det testet ut å fjerne vedstoffet med ligninase (Sigma, Darmstadt, Tyskland) og en lengre behandling med hydrogenperoksid, og det lyktes å fjerne flere av de små organiske partiklene. Vi ser at konsentrasjonene av polymerer varierer fra under deteksjonsgrensen (<1 µg/kg TS), til 71 µg/kg TS. PVC er den mest forekommende polymeren, og forekommer ved alle stasjonene. PVC er også den polymeren som har høyest konsentrasjon i noen enkeltprøver (Figur 7). PET ble også kvantifisert i tre prøver, PE i to prøver, mens PP, PMMA og PA66 ble funnet i en prøve hver.

Resultatene viser også at enkelte av analysene hadde høy bakgrunnsstøy, som kan tyde på fortsatt organisk innhold etter rensing. Fargekodene i tabell 5 viser mengden bakgrunnsstøy og angir pålitelighet i analysene. Oransje og røde koder tilsier at resultatene er usikre på grunn av for høyt bakgrunnssignal. Dette gjelder spesielt stasjonene St4 og St5. Ved stasjonene St1 og St4 ble analysene repetert for å få bedre resultater, og den beste analysen (lavest bakgrunnssignal) er vist her (Tabell 4). Vi ser at stasjonene St3 og St5, hvor sedimentet inneholdt fôrrester og fekalier (Tabell 3), også har det høyeste antallet kvantifiserte polymerer.

Tabell 4. Konsentrasjoner (µg/kg TS) av plastpolymerer i sediment fra under merdene ved oppdrettsanlegget mars 2018. Prøvene av sediment under anlegget ble tatt under MOM-B-undersøkelsen utført mars 2018

| Stasjon | PP | PE | PVC | PET | PMMA | PA66 | Bakgrunn |
|-----------|----|----|-----|-----|------|------|----------|
| Blank | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | 57 |
| Stasjon 1 | 28 | <1 | 67 | 15 | <1 | <1 | 111 |
| Stasjon 2 | <1 | <1 | 71 | <1 | <1 | <1 | 98 |
| Stasjon 3 | <1 | 69 | 33 | 10 | <1 | <1 | 95 |
| Stasjon 4 | <1 | <1 | 63 | <1 | <1 | <1 | 136 |
| Stasjon 5 | <1 | 46 | 113 | 13 | 30 | 12 | 160 |

Bakgrunnssignal vurdering: <90: god pålitelighet, 90-120, akseptabel, 120-150 dårlig, >150: uakseptabel/upålitelig analyse. Verdier under kvantifiseringsgrensen viser <1 og er uthevet med grått (LOQ = 1 µg/kg tørrstoff).



Figur 7. Konsentrasjon ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$) og kvantifiserte polymerer i mikroplastpartikler ($<500 \mu\text{m}$) i sediment under oppdrettsanlegget, mars 2018.

4.2. Mikroplast i vannprøver før og under spyling

De seks vannprøvene tatt med vannpumpe i merden før spyling (1.1, 1.2 og 1.3) og under spyling (2.1, 2.2 og 2.3) ble analysert hver for seg, og resultatet er vist i tabell 5.

Prøvene som ble inkludert i utregning av gjennomsnittet hadde et akseptabelt bakgrunnssignal.

Resultatene viste målbare mengder PE og PA i vannet før og under spyling (Tabell 5, Figur 8), med inntil $16 \mu\text{g}/\text{L}$ i fraksjonen over $100 \mu\text{m}$. Bakgrunnssignalet var akseptabelt for alle tre parallellene i $20 \mu\text{m}$ fraksjonen, og det ble derfor gjort statistiske analyser av disse polymerene. Merk at kun én parallell under spyling var brukbar for $100 \mu\text{m}$ fraksjonen. To av resultatene måtte forkastes på grunn av høyt bakgrunnssignal, som kan skyldes høyt organisk innhold fra frigjort notgroe i vannet under spyling.

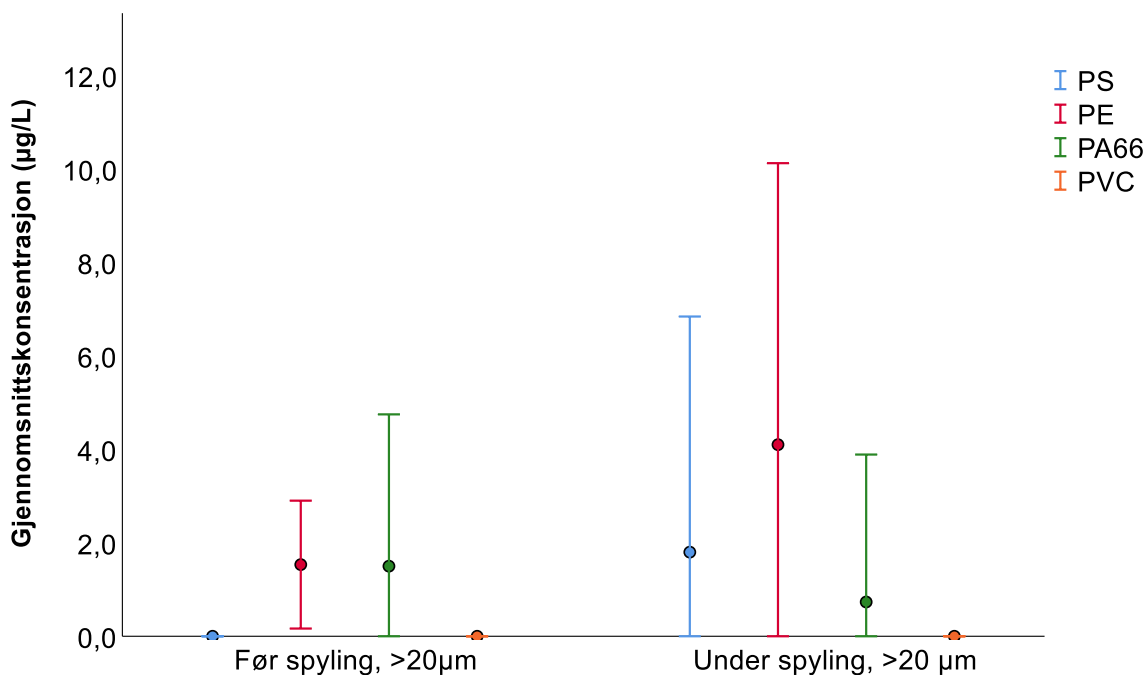
En høyere gjennomsnittskonsentrasjon ble funnet i de tre prøvene for PE og PA ($20 \mu\text{m}$) under spyling, men spredningen i konsentrasjon var større under spyling enn før (Figur 8), og endringene var ikke statistisk signifikante (T-test, $p>0.05$)

Det lave antallet pålitelige analyser og økende bakgrunnssignal i analysene under spyling, reduserer antallet troverdige analyser og hindrer dermed statistiske analyser av samlet plastinnhold i vannprøvene. Det vil være behov for nye analyser med forbedret renseteknologi for å kunne vurdere om spyling av notgroe gir et betydelig bidrag til mikroplast i vannsøylen.

Tabell 5: Gjennomsnittlige konsentrasjoner av plastpolymerer av 20 og 100µm størrelse, før og under spyling.

| Tidspunkt | Godkjente analyser | Størrelsesfraksjon | Polymer (µg/L) | | | | | |
|---------------|--------------------|--------------------|----------------|------|------|------|------|------|
| | | | PP | PS | PE | PVC | PMMA | PA66 |
| Før spyling | n=3 | Gj.snitt 20 µm | <0,1 | <0,1 | 1,53 | <0,1 | <0,1 | 2,25 |
| | n=3 | Gj.snitt 100 µm | <0,1 | 16 | 7,87 | 6,73 | <0,1 | 3,55 |
| | n=6 | Sum (20+100 µm) | <0,1 | 16 | 9,4 | 6,73 | <0,1 | 5,8 |
| Under spyling | | | | | | | | 2,2 |
| | n=3 | Gj.snitt 20 µm | <0,1 | 2,7 | 4,1 | <0,1 | <0,1 | |
| | n=1 | Verdi 100 µm | <0,1 | <0,1 | 6,7 | 2 | <0,1 | 2,2 |
| | n=4 | Sum (20+100 µm) | <0,1 | 2,7 | 10,8 | 2 | <0,1 | 4,4 |

Verdiene representerer analyser med akseptable bakgrunnssignal (57-118). Analyser med bakgrunnssignal over 150 ble ekskludert. Verdier under kvantifiseringsgrensen er vist som <0,1 uthevet med grått (LOQ = 0,1 µg/L)

**Figur 8. Gjennomsnittskonsentrasjon (µg/L) med 95% konfidensintervall av polymerer i 20 µm fraksjonen før og under spyling av merdnoten. Endringene var ikke signifikante.**

4.3. Mikroplast i sedimentfeller i vannsøylen

Analyser av suspendert materiale i vannsøylen viste målbart innhold av polymerene PS, PVC og PMMA (Tabell 6, Figur 9). Bakgrunnssignalet i analysene var godt- til akseptabelt (Tabell 6). PS og PVC ble funnet i alle prøvene, både ved 4 og 20 meters dyp, mens PE kun ble funnet ved 4 meters dyp inntil ringen. PS og PVC er tunge polymerer, mens PE er en lett polymertype som flyter lett i sjøvann. Det er derfor ikke overraskende at PVC og PS går i

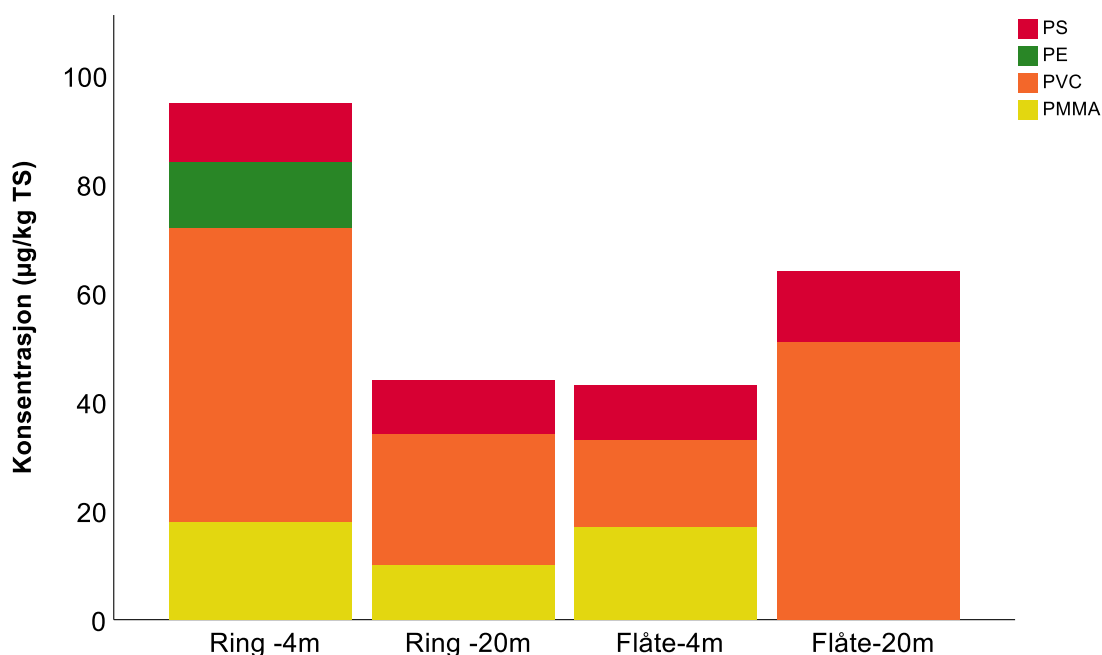
sedimentfellene, mens PE ikke er like vanlig. PS brukes også i ekspandert polystyren (EPS/ Isopor) som har stor flyteevne og ikke vil synke før etter betydelig biofilmdannelse. EPS er likevel blitt funnet i sediment (Haave et al 2019). PMMA ble funnet i tre av prøvene. PMMA brukes blant annet i tau (Figur 6, prøve 3 og 4), og fragmenter kan slites og spres i miljøet ved bruk. Det er vanskelig å se noe klart mønster i spredning av mikroplast, basert på disse prøvene. At konsentrasjonen er høyest i overflaten ved merden kan tyde på at kilden er ved merden, mens øvrige prøver kan antyde en grad av fortynning og spredning.

Det er ikke mulig å fastslå kildene eller bruksområdene til polymerene i disse prøvene ved den destruktive pyrolysemetoden. Mikroskopering kombinert med FTIR av større partikler (>300µm) vil bidra til å gjenkjenne opphavet til partiklene og angi bruksområder som bidrar vesentlig til utslipp. Det vil da være nødvendig å ha sedimentfellene stående ute over en lengre periode, eller benytte flere feller for å oppnå nok materiale.

Tabell 6: Konsentrasjon (µg/kg TS) av plastpolymerer i mikroplastpartikler (>10 µm) fra sedimentfeller plassert ved 4 og 20 meters dyp ved oppdrettsanlegget, mars 2018.

| Stasjon | PP | PS | PE | PVC | PMMA | PA66 | Bakgrunns-signal |
|-----------|----|----|----|-----|------|------|------------------|
| Flåte-4m | <1 | 10 | <1 | 16 | 17 | <1 | 79 |
| Flåte- 20 | <1 | 13 | <1 | 51 | <1 | <1 | 103 |
| Ring -4m | <1 | 11 | 12 | 54 | 18 | <1 | 92 |
| Ring -20m | <1 | 10 | <1 | 24 | 10 | <1 | 92 |

Bakgrunnsignal vurdering: <90: god pålitelighet, 90-120, akseptabel, 120-150 dårlig, >150: uakseptabel/upålitelig analyse. Verdier under kvantifiseringsgrensen viser <1 og er uthevet med grått (LOQ = 1 µg/kg tørrstoff).



Figur 9: Konsentrasjoner (µg/kg TS) av plastpolymerer i suspendert materiale i vannsøylen ved 4 og 20 meters dyp.

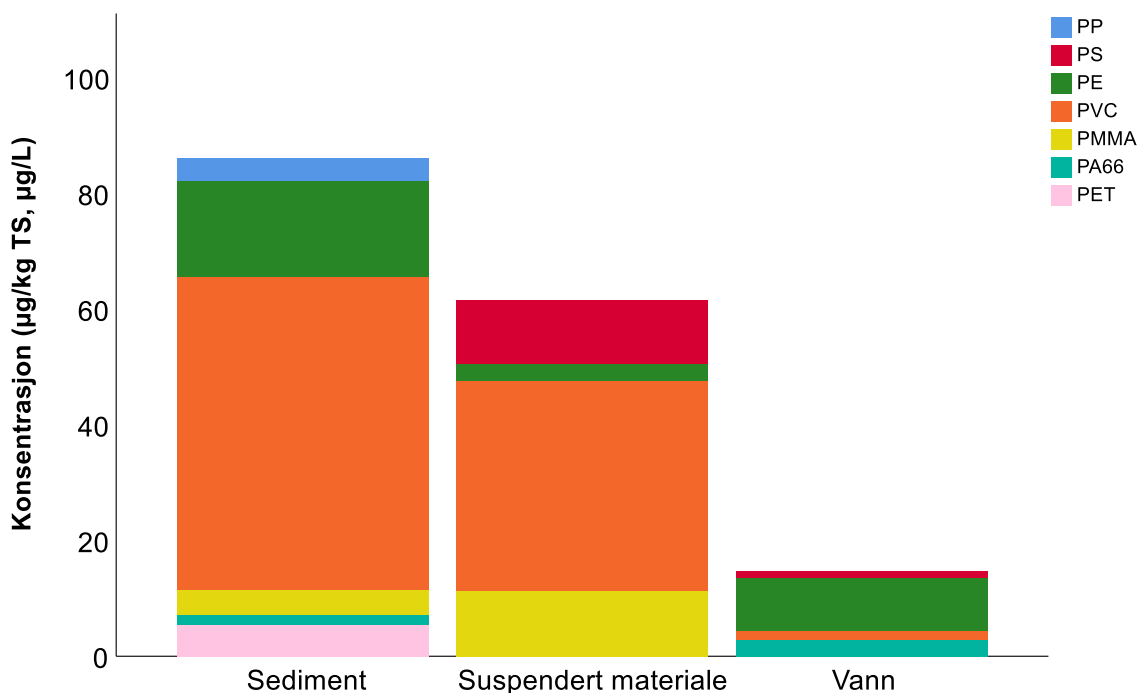
4.4. Mikroplast i fôrprøver

Det var ikke mulig å kvantifisere mikroplast i fôrpelletts i dette studiet. Bakgrunnsignalet var for høyt, som kan skyldes høyt innhold av fett og protein i det pelleterte fôret. Videreutvikling av analysemetoden gjøres kontinuerlig, men innenfor dette prosjektet lyktes vi dessverre ikke i å fremskaffe pålitelige resultater.

4.5. Mikroplast i ferdig produkt - laksefilet

Det ble ikke påvist mikroplast over kvantifiseringsgrensen i laksefiletene som ble analysert. Kvantifiseringsgrensen for disse prøvene var 1 µg/g våtvekt filet.

Oppsummering av totale mengder mikroplast kvantifisert ved pyr GC/MS for de ulike prøvetypene er gitt i Figur 10. Obs at konsentrasjonen i flytende prøver er µg/L mens det er µg/kg TS for sedimentprøver og suspendert materiale.



Figur 10: Oppsummering av gjennomsnittsverdier for mikroplastkonsentrasjoner og polymertyper (10-500µm) i ulike miljøprøver ved oppdrettsanlegget 2018.

4.6. Diskusjon

Pilotstudier er viktige for å gi økt kunnskap og kompetanse innen et nytt forskningsfelt, og for å gi et bedre inntrykk av problemstillingen, men er av natur begrenset av å være i en tidlig fase av utvikling av metoder og lite erfaringsgrunnlag. Pilotstudier kan derfor resultere i mange nye spørsmål, men kan også gi svar og pekepinner på videre behov for undersøkelser innen noen av de undersøkte områdene. Pilotstudier er på den måten svært viktige for raskere progresjon, metodeutvikling og kunnskapsinnhenting innen et nytt og lite utviklet forskningsområde. Dette gjelder i høyeste grad for mikroplast i lakseoppdrett. Selv om de nevnte begrensningene må tas med i betraktning når resultatene tolkes er kunnskapen som er samlet, og metodeutviklingen som er gjennomført under en slik pilotstudie uvurderlig, og medfører at senere studier kan gjennomføres med høyere kvalitet og mer målrettet prøvetakning. Det er derfor svært gunstig å gjennomføre slike små pilotstudier for deretter å raffinere metoder som brukes i et senere og større studie når man har et bedre kunnskapsgrunnlag.

Samtidig er det verdt å huske at pilotstudier også kan gi viktige og tidlige svar, når metodene fungerer. I dette tilfellet har vi fått en viktig indikasjon på forekomsten av mikroplast knyttet til en næring der kunnskap er av stor betydning for raskere dokumentasjon og for å kunne iverksette tidlige avbøtende tiltak.

For dette pilotstudiet, som for alle studier, gjelder generelle usikkerheter og begrensninger. Man forsøker å belyse generelle prosesser over tid ut fra undersøkelser som er utført på ett gitt tidspunkt, selv om tidspunktet for prøvetakning ikke nødvendigvis er representativt for gjennomsnittet. Dette studiet har gjennomført analyser av et begrenset antall fisk, av vannprøver på to tidspunkt før og under spyling av nøtene, bunnprøver under anlegget og sedimentfeller i vannsøylen på to steder i perioden etter spyling av nøtene. Flere analyserte prøver og flere tidspunkt for prøvetakning vil naturlig nok gi bedre inntrykk av forekomst og nivåer i miljøet, men per i dag er analysene så tidkrevende og dyre at mulighetene begrenses av økonomi.

Sedimentprøver kan være representative for nedfall rundt anlegget over tid, fordi sedimentet kan fange og holde på partiklene dersom bunnstrømmen er lav (Haave et al., 2019). De største og tyngste partiklene vil kunne falle ned like under oppdrettsanlegget, men ved god vannutskiftning og høy strømhastighet rundt anlegget vil både små og store partikler kunne fraktes bort og sedimentere der vannhastigheten avtar. Overvåkning av mikroplastspredning fra lakseoppdrett kan derfor med fordel følge MOM-C-undersøkelser for oppdrettsanlegg for et mer fullstendig bilde. Vi så også av denne undersøkelsen av mikroplastpartikler spredte seg i vannsøylen også utenfor anlegget.

Vannprøver som pumpes opp fra merden under spyling kan vise partikler som laksen utsettes for under spyling. Testing av mikroplastutslipp ved notspyling under eksperimentelle forhold kan være gunstig for kvalitetssikring av prøvetakning, og sikre at prøvetaking med vannpumpe faktisk fanger opp utslipp av mikroplastfragmenter under spyling, og optimaliserer prøvevolum og plassering i forhold til spylerriggen. Utvikling av mer mobile prøvetakingsenheter kan også være en fordel.

Vurdering av om justeringen av vanntrykk i dysene kan ha en effekt på slitasje, og optimalisering av trykk under kontrollerte forhold kan være en enkel metode for å redusere utslipp av PE fra notgroe-impregneringen og slitasje på tauverket. Ettersom PE er den mest tydelige forurensningen i merdene før og under spyling, er det sannsynlig at impregneringsmalingen kan være en mulig kilde til PE i merden.

Sedimentfeller vil fange opp partikler som synker i vannsøylen, mens partikler som flyter opp vil unnsnippe fellene. Dette medfører en seleksjon av partikler. Plassering av flere sedimentfeller over lengre tid, både langt unna og i nærheten av anlegg, der materialet undersøkes visuelt vil kunne gi svar på om typene mikroplast i vannsøylen stammer fra oppdrettsanlegget eller kan reflektere en generell forurensning langs kysten. I tillegg vil vannprøver med tråltrekk fra overflaten kunne gi svar på partikler som flyter i overflatelagene.

Tidspunktet for dette studiet representerte ikke topp produksjon i alle merder og maksimal føring ved anlegget. Man kan forvente at antallet partikler i vannet er høyere under full produksjon.

Analysene i fôr og fiskefilet forstyrres av rester av fett og proteininnhold i prøvene etter rensing. Gode rensemetoder som ikke ødelegger plastpolymerene men fjerner alt fett, samt sensitive analyser for lave konsentrasjoner må videreutvikles for å gi fullgode svar på innholdet av mikroplast i disse prøvetypene. Under denne piloten var analysemetodene i en utviklingsfase, og gjeldende prosedyrer ble benyttet. Videre optimalisering av rensesprosessen for prøver med høyt fettinnhold vil kunne medføre større nøyaktighet og følsomhet for mikroplast. Metoden som ble benyttet var likevel tilstrekkelig til å identifisere plastinnhold i en rekke miljøprøver. Observasjonene og kvantifisering i miljøprøvene kan være tilstrekkelig for miljøovervåkning, men er ikke sensitiv nok for analyser av plast i mat. Per i dag er det ikke krav til overvåkning av plast i mat, og dersom slike krav kommer vil metodene måtte forbedres ytterligere.

5. Konklusjon

Vi har i dette studiet benyttet eksisterende metoder og gjort en screening for mikroplast fra prosesser og materialer i prøver fra oppdrettsmiljø og ferdig produkt. Vi fant mikroplast i miljøprøvene, men ikke i det ferdige lakseproduktet med dagens analysemetoder.

Det ble påvist mikroplast i sediment under anlegget og i vannprøver, både fra før og under spyling av merdene. Det ble også påvist mikroplastpartikler i vannsøylen som ikke er direkte nedstrøms anlegget. Dette kan skyldes både spredning av partikler fra anlegget, men kan også være generell forurensning fra en rekke kilder langs kysten. Det vil være av interesse å kartlegge generell bakgrunnsnivåer av mikroplast i et høyere antall prøver over et større område, for å slå fast om mengden mikroplast partikler er høyere i tilknytning til oppdrettsanlegg enn i områder langt fra oppdrettsanlegg.

Undersøkelsen antyder at prosesser som notspyling ved oppdrettsanlegget, kan bidra til utslipp av plastpolymerer til miljøet, og at slitasje på tau og impregneringsmaling kan tilføre

miljøet partikler med innhold av plast. En videre kartlegging bør gjøres for å vurdere det er nødvendig med endring i enkelte prosesser for å redusere utslipp.

Studiet viser også at plastpolymerer ikke kan detekteres i ferdig produkt med metodene som ble benyttet.

Vannprøver, sedimentprøver og prøver av produkt ble analysert med det som på tidspunktet var beste tilgjengelige metoder, men metodeutvikling er nødvendig. I tolkning og bruk av resultatene må det legges til grunn at metodene foreløpig ikke er veldig sensitive.

Begrensninger i ett enkelt studie er også få analyser av hver prøvetype og begrenset overførbarhet til andre områder, ulike anlegg og driftsperioder.

Metoder for kvantitative bestemmelser av mikroplast i komplekse miljøprøver som produkt, sediment med organisk innhold, vann med høyt innhold av notgroe og alger eller fôrprøver er krevende, fordi organisk innhold i prøvene påvirker analysene. Forbedring av rensemetoder for å redusere organisk innhold, fjerne støy og øke effektiviteten er nødvendig. Utvikling av metodene skjer fortløpende, og senere analyser kan oppnå bedre kvantifiseringsgrenser og mindre bakgrunnssignal.

Studien kan ikke konkludere på risiko eller skadepotensiale ved utslippene, ettersom dyrehelse ikke ble vurdert og grenseverdier for toleranse av plast ikke finnes.

Takk

Takk til alle involverte ved Lerøy Vest og oppdrettsanlegget for godt og hyggelig samarbeid, til notspylerne fra Brødrene Bakke for stor tålmodighet og Austevoll laksepakkeri for godt samarbeid og fin forsendelse av frossen laks. Takk til Astrid Harendza (NIVA) for prøvetaking av sediment og god informasjon, til Tanja Kögel og Anne-Margrethe Aase (Havforskningsinstituttet) for mottak av laks og uttak av lakseprøver i ren lab.

6. Referanser

- Bond, A. L., et al. (2014). "Plastic ingestion by fulmars and shearwaters at Sable Island, Nova Scotia, Canada." Mar Pollut Bull **87**(1-2): 68-75.
- Boerger, C. M., et al. (2010). "Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre." Mar Pollut Bull **60**(12): 2275-2278.
- Brate, I. L., et al. (2016). "Plastic ingestion by Atlantic cod (*Gadus morhua*) from the Norwegian coast." Mar Pollut Bull **112**(1-2): 105-110.
- Fischer, M. and B. M. Scholz-Bottcher (2017). "Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry." Environmental Science & Technology **51**(9): 5052-5060.
- GESAMP (2016). Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: part two of a global assessment. P. J. a. R. Kershaw, C.M., (eds). Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. (IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/, U. U. J. G. o. E. o. t. S. A. o. M. E. P. Rep. and Stud. **No. 93**: 220 p.
- Gomiero, A., et al. (2019). "First record of characterization, concentration and distribution of microplastics in coastal sediments of an urban fjord in south west Norway using a thermal degradation method." Chemosphere **227**: 705-714.
- Hermabessiere, L., et al. (2018). "Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics." Anal Bioanal Chem **410**(25): 6663-6676. Haave, M., et al. (2019). "Different stories told by small and large microplastics in sediment - first report of microplastic concentrations in an urban recipient in Norway." Marine Pollution Bulletin **141**: 501-513.
- Imhof, H. K., et al. (2012). "A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments." Limnology and Oceanography-Methods **10**: 524-537.
- Lusher, A., et al. (2017). "Microplastics in fisheries and aquaculture- Status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety." FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper **615**: 147.
- Mattsson, K., et al. (2015). "Altered behavior, physiology, and metabolism in fish exposed to polystyrene nanoparticles." Environmental Science & Technology **49**(1): 553-561. Van Cauwenberghe, L. and C. R. Janssen (2014). "Microplastics in bivalves cultured for human consumption." Environ Pollut **193**: 65-70.
- Mattsson, K., et al. (2017). "Brain damage and behavioural disorders in fish induced by plastic nanoparticles delivered through the food chain." Scientific Reports **7**(1): 11452.
- Van Cauwenberghe, L., et al. (2015). "Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats." Environ Pollut **199**: 10-17.
- VKM, et al. (2019). Microplastics; occurrence, levels and implications for environment and human health related to food. Scientific opinion of the Scientific Steering Committee of the Norwegian Scientific Committee for Food and Environment, Norwegian Scientific Committee for Food and Environment (VKM), Oslo, Norway. VKM 2019:16, ISBN: 978-82-8259-332-8, ISSN: 2535-4019
- Watts, A. J., et al. (2014). "Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas*." Environmental Science & Technology **48**(15): 8823-8830.
- Watts, A. J., et al. (2016). "Effect of microplastic on the gills of the Shore Crab *Carcinus maenas*." Environmental Science & Technology.