



Norges miljø- og  
biovitenskapelige  
universitet

**Masteroppgave 2019 60 stp**

Fakultet for miljøvitenskap og naturforvaltning

# **Mikroplast i *Polychaeter*, *Owenia* sp. fra norsk kontinentalsokkel og Barentshavet**

Jakob Bonnevie Cyvin

Miljø og Naturressurser, Miljøgifter og Økotoksikologi

© 2019 Jakob Bonnevie Cyvin

Studentnummer: 102329

Tittel: Mikroplast i *Polychaeter*, *Owenia* fra norsk kontinentalsokkel og Barentshavet

English title: Microplastic in *Polychaetes*, *Owenia* from Norwegian continental shelf and the Barents sea

Hovedveileder: Prof. Åsgeir Almås, NMBU

Biveileder: Prof. II. Hans Peter Arp, NGI/NTNU

Printet: Norsk Aero AS

## Sammendrag

Mikroplast preger nå hele biosfæren. Forskningen er for øvrig i en tidlig fase, og litteraturen har store hull. I denne masteroppgaven presenteres metodikk for ekstraksjon av mikroplast i Havbørsteormer, *Polychaeter*, familie *Owenia* med eksoskjelett (*Galethowenia Oculata* / *Owenia fusiformis*) og resultater fra denne ekstraksjonen analysert med fourier-transformert infrarød mikroskopi (FT-IR). Havbørsteormene fra den norske kontinentalsokkel og Barentshavet ble samlet av Det Norske Veritas-Germaniske Lloyd (DNV-GL) i 2017. Under samme prøvetagning ble det også tatt sedimentprøver. Disse er tidligere analysert. Her presenteres resultater fra et utvalg av reanalyserte (FT-IR) sedimentprøver. Disse resultatene blir sammenlignet med resultatene fra havbørstemark, og frembringer biota-sediment bioakkumulasjonsfaktor (BSAF) som den første av sitt slag omhandlende mikroplast i sedimenter versus tubebyggende *Polychaeter*, *Owenia* (med eksoskjelett).

Resultatene er basert på totalt 151 havbørstemark fordelt på 123 hele mark, og 28 mark der eksoskjelett og kropp er undersøkt adskilt. Studien har sett på mark fra totalt 12 geografiske lokasjoner/stasjoner. To prøver er et resultat av en blanding ikke artsbestemte *Polychaeter*. For syv stasjoner er det gjennomført duplikater. Hovedvekten av resultatene har nedre størrelsesmessig *cut-off* på 45 µm. Fem prøver (25 mark) har 26 µm som nedre *cut-off*.

Resultatene tilsier en gjennomsnittlig konsentrasjon på  $339 \pm 525$  partikler/g ww, med ca ti ganger flere partikler per gram i eksoskjelettet sammenliknet med kroppen. Det ble funnet mindre plast i sedimentene enn i havbørstemarkene, noe som ga gjennomsnittelig biota-sediment-akkumulasjonsfaktor (BSAF) på  $2292 \pm 1445$  ved *antall partikler*, og  $29 \pm 21$  ved estimert *vekt* av plast i havbørstemarkene opp imot sedimenter. Konsentrasjoner av mikroplast er basert på minimum 70 % likhet mellom FT-IR spektre til analyserte partikler, og referansespektre i FT-IR biblioteket.

Havbørstemarkene viser selektivitet for plastpartikler framfor annet materiale ved bygging av eksoskjelett. Selektivitet er tidligere kjent for tunge, framfor lette partikler. Artene undersøkt er føde for en rekke fiskearter. Resultatene tilsier at plast kan bli redistribuert fra sedimentene til *Owenia* og potensielt ende tilbake i næringskjeden etter initiell sedimentering. De vanligste plastsortene funnet i *Owenia* sp. er PET, PVC og polyakrylamid. Dette sammenfaller delvis med de mest frekvente polymerene i sedimenter fra samme område.

## Abstract

Microplastic pollution is now found through the whole biosphere. Research regarding this issue is, despite increased focus the last years - and increasingly numbers of publications - premature. In this master thesis are methodology for extraction of microplastic in tube-building *Polychaetes*, *Owenia* (*Galethowenia Oculata* / *Owenia fusiformis*) and results from these extractions, chemically analysed and quantified with Fourier-transformed infrared microscopy (FT-IR) presented. The samples were taken at the Norwegian Continental Shelf and in the Barents Sea during autumn of 2017, by Det Norske Veritas- Germanische Lloyd (DNV-GL). Sediment samples from the same spots were also sampled and are earlier analyzed. Some of these are here reanalyzed with more detailed methodology, and further compared with the microplastic concentration in the *Polychaetes*. This leads to a biota-sediment accumulation factor (BSAF) and is presented as the first of its kind regarding bioaccumulation of microplastics in tube-building *Polychaetes*, *Owenia*.

The results are based on a total of 151 *Polychaetes* where 123 of those were whole worms, and 28 samples were separate analysis of tube (exoskeleton) and body. This study has investigated worms from 12 geographical locations with *Owenia* sp. and two stations looking at mixed samples of *Polychaetes*. At seven of the stations, duplicates are conducted.

Lower size-limit is 45  $\mu\text{m}$  for the majority (85 worms) of the samples, from eight stations. A minority (25 worms) from five stations (three overlapping with 45 $\mu\text{m}$ ) were analyzed with lower size limit 26  $\mu\text{m}$ . Average concentration of microplastic is reported with lower *cut-off* of 70% match between FT-IR library and the score from each particle. Average concentration gave  $339 \pm 525$  particles / g (ww), with approximately ten times more plastic in the exoskeleton than in the body. BSAF is calculated from seven stations, with average result of  $2\,292 \pm 1\,445$  for *particles*, and  $29 \pm 21$  when estimated proportion of plastic by *weight*. The results are based on a minimum of 70% similarity between the FT-IR spectra, and known library with spectra. The result indicates that *Owenia* selectively chooses plastic particles when building their exoskeletons. Selectiveness is former known regarding heavy rather than light particles. The species investigated are prey for different benthic fishes, and this study suggest that plastic is redistributed back into the foodweb after sedimentation. The most common plastic polymers found in *Owenia* sp. are PET, PVC and polyacrylamid. This coincides to some extent with the global production of plastic polymers.

## Forord

Etter bachelor i geografi ved NTNU, der jeg har lært om forholdet mellom menneske og natur, klimaendringer og geomorfologi ønsket jeg å gå videre med en master i naturgeografi. Jeg startet på master i naturgeografi ved UiO, men hoppet av denne da jeg savnet det menneskelige perspektivet, eller en direkte følelse av relevans for folk, samfunn eller natur. Ett år med enkeltemner innen biologi, GIS og evolusjon ved UiO ble alternativet. Året etter startet jeg på master i miljø og naturressurser med fordypning i miljøgifter og økotoksikologi ved NMBU. Jeg fikk tidlig en avtale med Norges geologiske undersøkelser (NGI) i Oslo og deres mikroplastekspertise ledet av prof. II Hans Peter Arp, for å skrive master hos dem. Tusen takk for en varm velkomst på NGI. En stor takk til faglig veileder Hans Peter og til medveileder Heidi Knutsen ved NGI som har hjulpet meg med opplæring på laboratoriet og faglig hjelp underveis i prosessen fram til ferdig masteroppgave. Spesielt vil jeg takke Hans Peter for hans hjelp under analyse av dataene i Excel. Jeg må også takke for muligheten til deltagelse i skriving av rapport til Miljødirektoratet og akademisk artikkel. Takk for hyggelig mottagelse på NGI fra avdelingsleder for vann og ressurser, Arne Pettersen.

Jeg vil takke hovedveileder Dr. Åsgeir Almås ved NMBU for ryddig og god hjelp underveis, og jeg vil takke min mor og far for utallige diskusjoner og støtte både under arbeidet med denne masteroppgaven og opp gjennom min skolegang generelt.

Masterstipend fra både Tekna, og Miljøringen ga meg mulighet til å reise til konferansene MICRO2018, SETAC Toronto og besøke Elena Gorokhova ved Universitetet i Stockholm. Tusen takk til Tekna, Miljøringen, og Elena og hennes team.

Deltidsjobb ved Institutt for Geografi på NTNU, under Jan Ketil Rød fortjener også en stor takk. Særlig for den tillit jeg har fått gjennom å bidra i artikler, med konferansebidrag, holde seminarer og gjennom faglig utvikling og veiledning fra Jan.

Takk til Dr. Ana Lucia Lacerda, Dr. Irina Rogozhina, Dr. Anna Sanchez og masterstudent Yitong Sun for hjelp til litteratursøk på andre språk enn norsk og engelsk.

## Innhold

Sammendrag .....	iii
Abstract .....	iv
Forord.....	v
Innhold .....	vi
Figurliste .....	viii
Tabelliste.....	ix
1.0 Innledning og hypoteser .....	1
2.0 Mikroplast, og plastens historie?.....	4
2.1 En kort oppsummering av plastens historie .....	4
2.2 Plast i havet og dets oppbygging.....	5
3.0 Teori.....	7
3.1 Klassifikasjon .....	7
3.2 Transport av plast mot havbunnen .....	10
3.3 Mikroplast i bentisk fauna.....	11
3.3.1 <i>Polychaeter, Owenia</i> .....	11
3.4 Overføring mellom trofiske nivå.....	18
3.5 Sedimenter.....	18
3.6 Biota-sediment akkumulasjonsfaktor (BSAF) .....	20
3.7 Oksidasjon.....	22
3.8 Ultralydbad.....	24
3.9 FT-IR-mikroskopi .....	26
4.0 Datamateriale .....	28
4.1 Innsamling av prøver.....	28
4.2 Prøvetagningsområde .....	30
5.0 Metode .....	31
5.1 Preparering av prøvene.....	32
5.2 Eksoskeleton og mark .....	33
5.3 Kjemisk oksidasjon .....	33
5.4 Ultralydbad.....	35
5.5 Tetthetsseparasjon og filtrering.....	36
5.6 Sedimenter.....	39
5.7 FT-IR mikroskopi.....	40

5.8 Blankprøver .....	42
5.9 Kjemikaler .....	43
5.10 Renhold på laboratoriet .....	43
5.11 Analyse i Excel.....	44
5.12 Kildeføring .....	45
6.0 Resultater og diskusjon: Hypotesene diskutert .....	45
6.1 Mikroplast i <i>Polychaeter</i> , <i>Owenia</i> sp. fra norsk kontinentalsokkel og Barentshavet .....	47
6.1.1 Mark samlet konsentrasjon .....	50
6.1.2 Mikroplast i tube og kropp, <i>Owenia</i> .....	53
6.2 Sammenheng mellom konsentrasjonen av mikroplast i sedimentene og i <i>Owenia</i> sp. (BSAF) .....	55
6.2.1 Konsentrasjon i sedimenter .....	55
6.2.2 Biota-sediment-akkumulasjonsfaktor (BSAF) .....	56
6.3 Polymersammensetning i <i>Owenia</i> og sedimenter .....	58
6.3.1 Sammensetning av mikroplastpartikler funnet i <i>Polychaeter</i> .....	60
6.3.2 Sammensetning av polymerer i sedimenter opp mot <i>Owenia</i> sp.....	60
6.4 Validitet og reliabilitet .....	63
7.0 Hva betyr resultatene i et videre perspektiv? .....	65
8.0 Kilder .....	67
9.0 Ordliste, forkortelser og definisjoner .....	77
Vedlegg.....	79
Bilder.....	79
Tabeller .....	83

## Figurliste

Figur 1. Flow-skjema av arbeidsprosessen. Det ble først avdekket mikroplast (MP) i sedimenter (Miljødirektoratet, 2018). Analyser av Owenida fra samme område ble derfor satt i gang. Først ble hele mark analysert, deretter ble MP i markens kropp og eksoskjelett. Til slutt ble biota-sediments akkumulasjonsfaktor (BSAF) beregnet for hele mark og for eksoskjelett og kropp adskilt. ....	3
Figur 2. Polyetylen (PE), 2019. av: Lars Egil Helseth. ( <a href="https://snl.no/polyetylen">https://snl.no/polyetylen</a> ). CC BY SA 3.0.....	6
Figur 3 Bruk QR-leser for mobil for å se stort og zoombart bilde (Figur 3) av Owenia .....	11
Figur 4. 3D-modell av Owenia. Mikro CT-scan, 33x forstørrelse, oppløsning 5.9µm pr. pixel. Foto: Santiago Quinteros.....	11
Figur 5. A: Owenia. A: Kropp. B: Eksoskjelett/tube. Illustrasjon redigert med utgangspunkt i illustrasjon gjengitt av Anderson, s. 175. (2001).....	16
Figur 6. FT-IR spekter av polypropylene (PP). ....	27
Figur 7. Kart over Sentrale Nordsjøen, Nordlige Nordsjøen og Barentshavet med omkringliggende landområder. Prøvetagningsområder avgrenset med grå kvadrat. Punkter for prøvetagning markert med svart sirkel. Kart modifisert av Jakob Cyvin og Christian Totland. Kartkilde: Norgeskart, Geodata AS, ESRI.....	30
Figur 8. Flow-skjema over gjennomføring av studien. ....	31
Figur 9. Photo: Jakob Cyvin. Illustrasjoner: Kjersti Synneva Moen .....	32
Figur 10 Tetthetsseparasjon i Funnel. ....	36
Figur 11. Filtrering. A: prøveinnhold i milliQ-vann. B: trakt for filtrering over på filteret plassert ved C. C: Filterets plassering. D: oppsamling av filtrert væske. E: vakumslange. ....	37
Figur 12. A: Aluminiumsramme for montering av inntil tre stk. 13 mm (diameter) filter. B: verktøy for utstempling av filter. C: filter (45 µm).....	40
Figur 13. Sanntidsmikroskop Plassering av koordinater på 45 µm filter i FT-IR.....	40
Figur 14. Venstre: Bilde 10mm utsnitt av 13mm 45 µm filter. Høyre: Alle partikler innenfor 50% av filteret.....	41
Figur 15. Spotlight 200 – FT-IR mikroskop fra Perkins-Elmer. Kilde: PerkinElmer, 2019.....	42
Figur 16. Visuell framstilling av kolonne fem i Tabell 7, uten variasjonsbredde.....	53



## Tabelliste

Tabell 1. Klassifikasjon av <i>Galathowenia oculata</i> sp. [Zachs, 1923] / <i>Owenia Fusiformis</i> sp. [Delle Chiaje, 1844].....	12
Tabell 2. Litteratursøk på forskjellige språk. ....	17
Tabell 3. Spesifikasjon på spiket blanks. Gjengitt med tillatelse fra Singdahl-Larsen (Singdahl-Larsen, 2019, Tabell 2.9a). Oversatt av forfatter Cyvin, J. B. ....	24
Tabell 4. Dybden og typen sediment ved posisjon for prøvetagning, registrert av DNV-GL, delvis gjengitt i rapport 0050, Rev. 01., Miljødirektoratet. Samtlige publikater er ikke her presentert. ....	29
Tabell 5. Liste over kjemikalier benyttet under studien. ....	43
Tabell 6. Konsentrasjon plast funnet i samtlige prøver. Prøvenavn stammer fra området de er tatt med henvisning til nærmeste oljefelt. Reg og R1 betyr regional – alstå områder utenfor oljefeltene. Prøvenavnene er ikke relevante i denne studien ut over av hensyn til systematisering. ....	51
Tabell 7. Samlet mikroplastkonsentrasjon i hele <i>Polychaeter</i> fra alle prøvetagningsstasjoner slått sammen til gjennomsnitt der det forelå duplikater. Minimum 45 µm. ....	52
Tabell 8. Konsentrasjon plast. Summert for innmat vs. tube. Prøvene er slått sammen fra stasjoner definert i første kolonne. ....	54
Tabell 9. Mikroplastkonsentrasjon i sedimenter. ....	56
Tabell 10. Sammenligning av konsentrasjon av mikroplast i <i>Polychaeter</i> og omkringliggende sedimenter. Biota-sediment-akkumulasjonsfaktor, BSAF. ....	58
Tabell 11. Frekvens av polymerer i <i>Owenia</i> sp. («mest frekvent», «nest mest» og «tredje mest» frekvent) basert på prosentvis sammensetning av partikler (ekstrapolert til helt filter) analysert med FT-IR. ....	60
Tabell 12. Sammenligning av polymerer i sedimenter og i <i>Owenia</i> sp. ....	62

## 1.0 Innledning og hypoteser

På overordnet nivå, er bakgrunnen for å studere mikroplast, menneskehetens stadig økende forbruk av plast og dets potensielle problem for jordas biosfære. I 2014 estimerte forskere at verdenshavene inneholdt minimum 5.2 trillioner plastpartikler med en samlet vekt på minimum 265 000 tonn (Eriksen et al., 2014). Innen 2025 er det estimert at mengden vil øke med en tierpotens (Jambeck et al., 2015). Ellen McArthur foundation, på oppdrag fra World Economic Forum (2016) skrev i en mye sitert rapport både i media og i akademiske tekster (Eksempelvis; Carlini & Cleine, 2018; Laville & Taylor, 2017; Ege, 20. Jan. 2016) at det innen 2050 vil være mer plast enn fisk i havet. Dette hovedsakelig med bakgrunn i en sammensetning av en modell av verdenshavenes totale biomasse (Jennings & Collingridge 2015) og et estimat av globale utslipp av plast til havene (Jambeck et al., 2015). Både beregningene til Eriksen et al., (2014), Jambeck et al., (2015), Jennings og Collingridge (2015) og World Economic Forum (2016) sine konklusjoner er enten basert på storskala ekstrapoleringer eller datamodelleringer med data fra et begrenset antall observasjoner. Alle disse beregningene bør derfor tolkes med forsiktighet og vil i mange tilfeller gi et falskt bilde av virkeligheten. Det er stor usikkerhet forbundet med tallene, men de beskriver samtidig problematikken. Grafene peker oppover med tanke på global produksjon av plast. Incentiver om regulering er underveis i mange land, blant annet ble visse typer engangsplast nylig vedtatt forbudt i EU med virkning fra 2020 (Directive (EU) 2019/904). Plast må på ingen måte sees på som et stort onde uten goder. Samfunnet hadde ikke vært der det er i dag uten plast, og med tanke på å løse verdens fattigdomsproblem, mere fornybar energi og rent vann til alle har plast en viktig rolle (Andrady & Neal, 2009). For at plast skal kunne brukes på en bærekraftig måte nå og i framtiden må vi ha et godt kunnskapsgrunnlag om konsentrasjon i biosfæren. I dag er dette kunnskapsgrunnlaget tynt, og hullene i dette kunnskapsgrunnlaget er basisen og motivasjonen for denne masteroppgaven.

På oppdrag fra miljødirektoratet skulle Norsk geoteknisk institutt (NGI) undersøke mikroplastkonsentrasjonen i *Polychaeter* fra norsk kontinentalsokkel og Barentshavet. Denne masteroppgaven er initiert av dette oppdraget. Det er tidligere gjennomført analyser av havbunnen fra samme prøvetakningsområde (Miljødirektoratet, 2018a; Miljødirektoratet, 2018b)

og deler av disse er reanalysert med økt nøyaktighet gjennom bruk av annen metodikk i denne masteroppgaven.

Denne studien presenterer kvantifisering av mikroplaskonsentrasjonen i *Polychaeter*, *Owenia* og vurderer graden av bioakkumulasjon (BSAF). Nullhypotesene (H0<sub>1</sub>, H0<sub>2</sub> og H0<sub>3</sub>) med dertil hypoteser (H1<sub>1</sub>, H1<sub>2</sub> og H1<sub>3</sub>) er:

**H0<sub>1</sub>** *Mikroplast er ikke detekterbart i Polychaeter, Owenia sp. fra Norsk kontinentalsokkel og Barentshavet.*

**H1<sub>1</sub>** Mikroplast tas opp i *Polychaeter*, *Owenia* sp. på Norsk kontinentalsokkel og i Barentshavet

**H0<sub>2</sub>** *Det er ingen sammenheng mellom konsentrasjonen av mikroplast i sedimentene og i Owenia.*

**H1<sub>2</sub>** Det er en biota- sediment bioakkumulasjonsfaktor mellom sedimentene og Owenia.

**H0<sub>3</sub>** *Dominerende polymerer er ikke Polyethylentereftalat (PET), polyetylen (PE), polypropylen (PP) og polivinyllorid (PVC).*

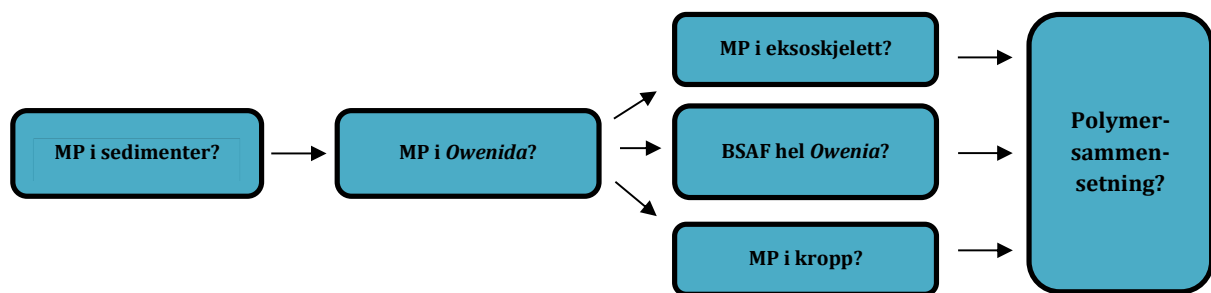
**H1<sub>3</sub>** Dersom det finnes plast i prøvene, er dominerende polymerer PET, PE, PP og PVC.<sup>1</sup>

Introduksjonsmessig vil problematikken rundt mikroplast og plastens historie bli presentert. Dette for å sette studien i kontekst når det gjelder plast, marint søppel og mikroplast spesielt. Plast sin kjemiske oppbygning og forskjellige, men relevante polymerer vil bli kort presentert. Teorien i oppgaven vil være bred, og grovt drøfte eksisterende litteratur om mikroplast i biota på et overordnet nivå, for deretter, så langt det lar seg gjøre se på studier relatert til, eller omhandlende mikroplast i *Polychaeter*, *Owenia*, populært kald børstemark. Børstemarkenes anatomi og furasjeringsstrategi relevant for studien vil bli drøftet. Hvordan mikroplast transporteres fra vannmassene og til sedimenter vil også bli omtalt. Eksisterende litteratur omhandlende mikroplast i sedimenter vil også bli noe diskutert for å sette resultatene av sediment-dataene i kontekst. I 6.0 Resultater og diskusjon: Hypotesene diskutert vil teorien bli

---

<sup>1</sup> Med utgangspunkt i at disse er verdens mest produserte polymerer siden 1950 (Geyer, Jambeck, & Law, 2017).

diskutert opp mot resultatene. Gangen i studien er presentert i Figur 1. Flow-skjema av arbeidsprosessen. Det ble først avdekket mikroplast (MP) i sedimenter (Miljødirektoratet, 2018). Analyser av Owenida fra samme område ble derfor satt i gang. Først ble hele mark analysert, deretter ble MP i markens kropp og eksoskjelett. Til slutt ble biota-sediments akkumulasjonsfaktor (BSAF) beregnet for hele mark og for eksoskjelett og kropp adskilt. Dette er et flow-skjema over arbeidsprosessen. der «MP i sedimenter» var utgangspunktet for studien, publisert tidligere (Miljødirektoratet, 2018a; Miljødirektoratet 2018b). Analyser av *Owenia* sp. fra samme område ble derfor satt i gang. Først ble hele mark analysert, deretter ble mikroplast i markens kropp og eksoskjelett/tube undersøkt adskilt, og Biota-sediment-akkumulasjonsfaktor (BSAF) ble beregnet for hele mark.



*Figur 1. Flow-skjema av arbeidsprosessen. Det ble først avdekket mikroplast (MP) i sedimenter (Miljødirektoratet, 2018). Analyser av Owenida fra samme område ble derfor satt i gang. Først ble hele mark analysert, deretter ble MP i markens kropp og eksoskjelett. Til slutt ble biota-sediments akkumulasjonsfaktor (BSAF) beregnet for hele mark og for eksoskjelett og kropp adskilt.*

*Cut-off* blir omtalt i studien som en grense. Denne grensen kan være nedre grense for hvor store partikler som er undersøkt, eller det kan være grensen for hvor stor likhet det må være mellom spekteret fra en partikkel (FT-IR) og et bibliotek med polymerer for å godkjenne partikkelens spekter. I denne studien er det benyttet en grense på 70% likhet for at partikkelen skal regnes som godkjent.

I tabellene og i teksten ellers står ww for *wet-weight*, dw for *dry-weight* og  $\mu\text{m}$  betyr mikrometer, én  $\mu\text{m}$  er en milliontedels meter, eller 0,001 mm. Se *kapittel 9.0* for ordliste.

## 2.0 Mikroplast, og plastens historie?

Plast er makromolekyler bestående av karbon og hydrogen og eventuelle tilsetningsstoffer eller blandinger mellom forskjellige polymerer (kopolymerer). De forskjellige makromolekylene kan danne kjeder. For eksempel er ethylen en monomer (et makromolekyl) som kan binde seg sammen med andre ethylenmolekyler og danne polymeren polyetylen. Ethylen er igjen bygd opp av karbon og hydrogen (Crowford & Quinn, 2017, s. 3).

Når vi videre skal definere mikroplast er partikkelens størrelse i den lengste aksen hva vi måler. For å definere partikkelen som mikroplast må dette målet i dag være under 5 mm og over 0.1  $\mu\text{m}$  (GESAMP, 2016). Det er forøvrig noe omdiskutert om den øvre grensen burde senkes til 1mm. For utfyllende diskusjon av dette se kapittel 3.1 *Klassifikasjon*.

### 2.1 En kort oppsummering av plastens historie

Plastens historie strekker seg langt tilbake dersom man ikke betegner plast som utelukkende kunstig framstilte polymerer. Kasein er for eksempel et melkeprotein som kan formes og som stivner. Kasein som materiale kan spores helt tilbake til Egypts storhetstid fra rundt 1500 år før Kristus (Yarsley & Cozens, 1941, s. 13). I 1630-årene dukker bruken av ordet plastikk opp. Da med henvisning til noe som kan formes. Ordet stammer fra gammel gresk, der ordet «*plastikos*» betyr «*noe som kan formes*» og latin, der «*plasticus*» betyr formbar eller fomelig (Crowford & Quinn, 2017, s. 2). Videre stammer også ordet polymer og monomer fra gammel gresk der *poly* betyr mange og *mere* betyr del. Altså en del; monomer, eller flere deler; polymer. Det finnes en rekke polymerer som ikke er plast. Polymerisering er prosessen der monomerer kobles sammen med andre monomerer og danner polymerer. Ethylen kan for eksempel polymeriseres til polyetylen (Crowford & Quinn, 2017, s. 3). Historisk sett har polymerisering vært én av utfordringene når det kommer til å lage kunstige polymerer, og flere ganger har tilfeldigheter vært bakgrunnen for kjemiske reaksjoner, temperatur eller trykk som i neste rekke har gitt forskjellige kunstige polymerer. Det sies blant annet at vulkaniseringen av naturgummi som i neste rekke ble den først kunstige polymeren bakelitt, var et resultat av at Charles Goodyear kastet gummi i ovnen under en krangel med sin forretningspartner. Likeså sies det at katten til Adolf Spitteler i 1899 veltet et glass med formaldehyd i melken sin og med det la grunnlaget for den industrielle fremstillingen av kasein (Ralston & Osswald, 2008).

På slutten av 1800-tallet og begynnelsen av 1900 kom det en rekke nye materialer, og de første halvsyntetiske og helsyntetiske polymerene dukket opp. I 1884 fant Hilaire de Chardonnet (1838-1924) opp viskosen, der plante - eller tremateriale ble gjort flytende for deretter å føres gjennom små hull i en sil og stivne til tråder. Dette kalles syntetisk bomull, viskose eller kunstig silke (Remy et al., 2015). Patenten for fenol-aldehyd kom i 1907 og kjennes i dag som bakelitt. Dette var den første helsyntetisk polymerene. Før den tid, var de nye polymerene som nevnt modifisering av for eksempel celluloider - altså celluloseprodukter.

Tiden fram mot de helsyntetiske polymerene var ikke uten betydning, og koblingen mellom naturlige polymerer og deres historie fram mot dagens moderne plast er viktige når vi diskuterer plast i havet. Viskose og rayon (kunstig bomull) er polymerer som er i mye bruk og det finnes store konsentrasjoner av disse i verdenshavene (Remy et al., 2015). Det er en utfordring at studier som ikke har gjennomført en kjemisk analyse, vil kunne gi overlappende resultater mellom viskosefiber og plastfiber, eller overlapp mellom helnaturlige og semisyntetiske fiber. Viskose og nylonfiber kan for eksempel være utfordrende å skille fra hverandre visuelt. Dette gjelder også ved FT-IR-analyse.

På 1930-tallet så polivinylklorid (PVC) dagens lys, og i 1938 startet storskala produksjon opp. I samme periode kom både nylon og polystyrene (PS) på markedet (Mulder og Knot, 2001). Fra denne tiden og fram til i dag er det stadig kommet til nye polymerer og ikke minst kopolymerer. Altså kombinasjoner av flere polymerer som sammen gir nye egenskaper til materialet (Mulder & Knot, 2001). Mange av disse gir ekstraordinære egenskaper som i flere tilfeller gir, og vil gi teknologi som er svært positivt for eksempel når det kommer til kutt i klimagassutslipp. Dette er særlig en realitet der deler i for eksempel fly, biler og tog kan få redusert sin vekt (Andrady & Neal, 2009).

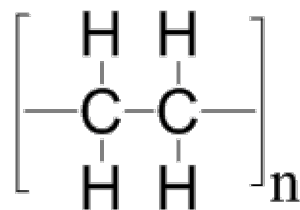
## **2.2 Plast i havet og dets oppbygging**

Ellen Mac Arthur foundation leverte sammen med World Economic Forum og McKinsey Center for Business and Environment, i 2016 en omfattende rapport ved navn "The New Plastics Economy Rethinking the future of plastics" (World Economic Forum, 2016). Rapporten kommer med prediksjoner og statistikk over status for verdenshavene når det kommer til utslipp av plast. Minimum 8 millioner tonn med plast ender hvert år i verdens hav. Prognosene tilsier en dobling

mot 2030 og en firedobling innen 2050. Større biter med plastsøppel, vaskeprodukter, medisiner og tekstiler er regnet som mikroplastens fire hovedkilder (Browne et al., 2011). Sammen med prognosene om dobling og firedobling av utslippene følger en prognose om karbonbudsjett. I dag er plast beregnet til å stå for ca 1% av verdens CO<sub>2</sub>-utslipp. Innen 2050 er prognosen 15% (World Economic Forum, 2016). Disse tallene skiller ikke mellom mikroplast og makroplast, men enten plast starter som *makro* eller *mikro* når de ender i havet vil avfallet etter hvert brytes ned til mikroplast og i så måte bli relevant for denne studiens faglige fokus; mikroplast i *Polychaeter*, *Owenia* sp. på norsk kontinentalsokkel og i Barentshavet.

Denne studien søker ikke å diskutere enkeltpolymerer inngående, men konsentrerer seg om mikroplastkonsentrasjoner og polymersammensetning i biota og sedimenter, samt analysemetodikk og klassifisering av partikkelstørrelse.

Plast er hovedsaklig bygd opp av karbon og hydrogen, som danner monomerer, der lange kjeder av disse danner makromolekyler. En polymer skiller i stor grad fra en annen ut fra geometrisk struktur. I tillegg kan flere polymerer blandes, og sammen danne kopolymerer med egne egenskaper. Hvor godt pakket makromolekylene er og hvor vidstrakte de er avgjør i stor grad tettheten (Crowford & Quinn, 2018, s. 63-64). Fargestoff og eventuelle additiver (som for eksempel flammehemmere) kan tilsettes plasten. Et utsnitt av den molekylære strukturen til Polyetylen (PE) er visualisert under. Polypropylen er tilsvarende bygd opp, men med en CH<sub>3</sub>, der øverste høyre hydrogen er lokalisert i modellen av PE.



Figur 2. Polyetylen (PE), 2019. av: Lars Egil Helseth. (<https://snl.no/polyetylen>). CC BY SA 3.0

### 3.0 Teori

Teorien som her presenteres og diskuteres er stedvis detaljert og spesifikk; særlig når det gjelder metodikk for analyse av mikroplast. Dette er gjort for å sette metodikken brukt i denne studien i kontekst av eksisterende litteratur. Teorikapittelet kan slik sett leses kronologisk for å gi et bakteppe til metodikkapittelet, men det er også tydeliggjort i metodekapittelet hvor man kan gå tilbake i teorien for å lese drøfting av de praktiske stegene i den gjennomførte metoden.

Som nevnt i innledningskapittelet (2.2) blir ikke plastpolymerers kjemi og oppbygging nevnt inngående i teorikapittelet, men mulig opphav til noen av disse blir likevel omtalt (med kildehenvisninger) i diskusjonskapitelet i relasjon til funn i prøvene.

### 3.1 Klassifikasjon

Klassifikasjon av mikroplast domineres fortsatt av manglende konsistens innen forskningslitteraturen. Størrelse, kjemisk oppbygging, form, tetthet, additiver, erosjon, løselighet og opprinnelse er utgangspunkt for klassifikasjon, der forskjellig litteratur i mange tilfeller bruker forskjellige termer og definisjoner (Hartmann et al., 2019; Hidalgo-Ruz et al., 2012). Forskjellig tilgang til, og kompetanse i bruk av analyseverktøy har vært en av grunnene til manglende forskningsmessig konsensus. Mange artikler er basert på visuell identifikasjon av plast. Renner, Schmidt og Schram (2018) anbefaller ikke visuell sortering av partikler under 500  $\mu\text{m}$  grunnet stor fare for menneskelig feil. En av utfordringen er altså økende usikkerheten ved minkede størrelse på objektene. 20 til 70% av objekter visuelt identifisert som plast viser seg ved kjemisk analyse med FT-IR mikroskopi å ikke være plast (Hidalgo-Ruz, Gutow, Thompson og Thiel, 2012). Manglende teknologi for kjemisk analyse har også vært med å legge grunnlaget for hva en regner som viktig å se på ved studier av mikroplast. Når en ikke har hatt mulighet til kjemisk analyse, har egenskaper som farge og form ofte blitt beskrevet inngående (Hidalgo Ruz et al., 2012). Ny teknologi er ikke ensbetydende med at dette nå er uviktig, men muligheten for direkte identifikasjon av objektets kjemiske oppbygging vil i mange tilfeller gjøre andre parametere overflødig. Et annet eksempel på klassifikasjon med utgangspunkt i praktiske hensyn er en nedre *cut-off* på 333 mikrometer. Dette er synlig i en god del litteratur med årsak i at denne



filterdiameteren vanlig i planktonnett, uten videre teoretisk bakgrunn for valget av denne *cut-off*-en (Hartmann et al., 2019).

Hva som videre skal puttes innenfor og utenfor gruppen plast er omdiskutert, men også her tar Hartmann et al., (2019) tak i eksisterende litteratur og med denne kommer forslag til premisser. Størrelseskategorier foreslått av Hartmann et al., (2019) er nanoplast (1-1000nm), mikroplast (1-1000 $\mu$ m), mesoplast (1-10mm) og makroplast (>10mm). Det kunne her synes praktisk å følge SI-enhetene for lengde og med det heller ha kategorier som nanoplastikk, mikroplastikk, milliplast, centiplast og deciplast, men med litteraturen som allerede er skrevet innen temaet mikroplast synes dette urealistisk.

Denne masterstudien baserer seg på terminologi for størrelse basert på Frias et al., (2018), der disse på bakgrunn av diskusjoner, workshop og de siste fagfelleverderte artikler definerer mikroplast. En utfordring ved klassifisering etter størrelse er fiber. Her foreslår Hartmann et al., (2019) at objektets lengste akse skal være gjenstand for objektets størrelse. Dette vil forenkle og standardisere (Hartmann et al., 2019). Remy et al., (2015) viser hvordan over 27% av deres undersøkelse av makrofauna (*Posidonia oceanica*) ved Korsika, Middelhavet hadde viskosefiber i tarmkanalen. Klassifisering av fiber er følgelig relevant innen forskning på mikroplast. Lusher et al., (2013) fant over halvparten av polymerene spist av fisk i den engelske kanal å være Rayon-fiber. Denne klareringen er til tross for kontroverser om viskose og Rayon skal klassifiseres som plast eller ei viktig for korrekt kvantifisering og konsentrasjonsberegning av mikroplast i fauna. Rayon og viskose som plast eller ikke fører oss over i diskusjonen om hva som er plast, og ikke plast.

Hartmann et al., (2019, s. 1042) gjengir SI-enhetenes definisjon på hva plast er; “material which contains as an essential ingredient a high molecular weight polymer and which, at some stage in its processing into finished products, can be shaped by flow”. Utfordringen med denne definisjonen er blandt annet at visse polymerer faller utenfor denne definisjonen. Gummi, krystallinske fiber som ikke er formet ved “flow”, og PVC er eksempler. Ved å hypotetisk sett utelate gummi og PVC fra det vi ser på som mikroplast vil dette være motstridende i forhold til en rekke studier som i dag regnes som mikroplaststudier (Rezania et al., 2018) og vil følgelig være en klassifikasjon som ikke passer inn i dagens akademiske virkelighet når det kommer til mikroplast. Modifiserte naturlige polymerer som Rayon, cellulose og naturgummi foreslås av

Hartmann et al., (2019) til klassifikasjon innenfor gruppen plast. Dette grunnet deres svært omfattende og industrielle bearbeiding. Videre anbefales silikon og bioplast plassert innen samme kategori, og det samme gjelder polymerer med høyt innhold additiver, da disse vil kunne bli borte ved degradering. Kopolymerer er laget av flere enn en monomer, men er ikke nødvendigvis et tungt makromolekyl. Med utgangspunkt i at det er syntetisk laget, industrielt produsert og ender opp i miljøet som annen plast foreslås disse kategorisert som plast.

Unntak er flokkuleringsmidler som i vann vil opptre viskøst. Dette gjelder for eksempel polyakrylamid. Disse regnes da ikke som «particular matter» og bør ifølge Hartmann et al., (2019) holdes utenom plastkategorien og forbli i en egen kategori for «gels». Følgelig blir manglende evne til løselighet (ved 20 °C temp) og tilstedeværelse i miljøet, men uten å være til nytte for det objekt(e) var ment for, kriterier som må fylles for at plast skal kunne kalles plast.

I denne studien holdes semisyntetiske fiber utenom plast-kategorien. Dette da det er stor overlapp mellom FT-IR spektrene i en Rayon eller viskosefiber opp mot naturlige cellulosefiber. Denne studien tar ikke i bruk visuell mikroskopi og følgelig blir distinksjonen usikker. Denne studien skiller heller ikke mellom plast og gels; polyakrylamid er i denne studien derfor innberegnet som plast. Det samme gjelder PVC og gummi, grunnet mulighet for sammenligning av resultater med tilsvarende studier.

For å gjennomføre en relevant analyse er formålet med en studie naturlig nok avgjørende. Det er liten grunn til å beskrive plastobjekter eller klassifisere disse etter mål som ikke er relevant for studien. Et eksempel på dette er farge, der dette i få tilfeller, utover eventuell mulighet til å spore plastens kilde, eller ved biologisk opptak der biota selekterer matinntak etter farge, gir relevant ekstra informasjon dersom man har tilgang til en kjemisk analyse som kan bestemme hvilken plast man har å gjøre med. I denne studien er farge og form derfor ikke undersøkt.

Hvor ulike plastpolymerer har sitt opphav har heller ikke vært en viktig del av denne studien, men der det er naturlig er dette nevnt i diskusjonen, for eksempel for polyakrylamid.

### 3.2 Transport av plast mot havbunnen

Plastens tetthet og med det egenvekt, nedbryting fra fotolyse, termal oksidasjon, hydrolyse og biologisk nedbrytning påvirker hvordan plasten oppfører seg i biosfæren og i havet. I havet er det hovedsakelig fotolyse som står for forvitring av plast, men dette avhenger av polymeren og størrelse, og når plast ender under grensen for lysinntrengning er ikke dette en faktor som aktivt påvirker partikkelen (Andrady, 2017).

Sjøvann har en tetthet på ca  $1,02 \text{ g/cm}^3$ . Partikler med lavere egenvekt vil naturlig nok flyte, og tyngre vil synke. En rekke plastsorter, finner vi derimot i sedimentene på havbunnen eller i bentisk fauna selv om den spesifikke polymeren har egenvekt under  $1,02$ . Dette gjelder for eksempel polypropylen (PP) og polyetylen (PE)-plast (Miljødirektoratet, 2018b; Bergmann et al., 2017). En partikkel utsatt for fotooksidasjon vil i tillegg få redusert sin egenvekt. Det er lansert forskjellige teorier for hvordan disse lette partiklene ender på havbunnen. Dannelse av biofilm på plastpartikkelen kan skje i løpet av noen få dager, og kan øke den totale massetettheten slik at partikkelen synker (Kooi, 2017; Rummel, Jahnke, Gorokhova, Kühnel, Schmitt-Jansen, 2017). Det er også vist at mikroplast med lav egenvekt kan transporteres vertikalt gjennom vannsøylen ved å være innkapslet i avføring fra zooplankton (Cole et al., 2016).

### 3.3 Mikroplast i bentisk fauna

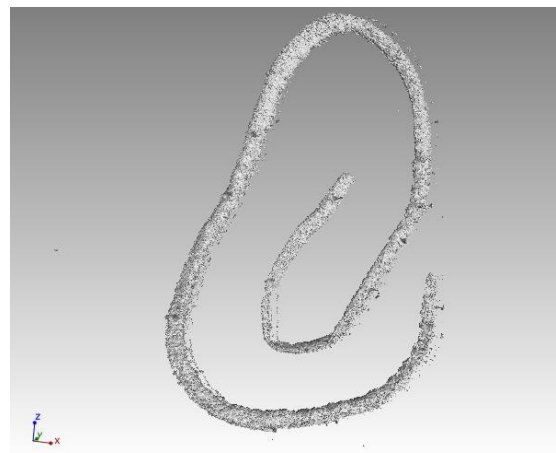
Av studier som retter seg mot bentisk fauna presenterer Bour et al., (2018) delvis relevante data. Disse undersøkte blant annet bentisk fauna i Indre Oslofjord, Norge. Utover dette er litteraturen om mikroplast i bentisk fauna mangelfull (Miljødirektoratet, 2019; Bour et al., 2018).

Skjell er for øvrig noe studert. Blåskjell (*Mytilus edulis*) er for eksempel studert langs hele norskekysten, og det er funnet mikroplast i nært alle prøver med høyest konsentrasjon i Finnmark og i Oslofjorden (Bråte et al., 2018). Muslingene hadde på det meste et snitt på 1.5 ( $\pm$  2.3) partikler pr. individ og 0.97 ( $\pm$ 2.61) partikler  $>70 \mu\text{m/g}$  ww der 83% var fiber. Hva gjelder bentisk fauna i indre Oslofjord fant Bour et al., (2018) plast i alle prøver, men konsentrasjonen var avhengig av beitemønster, uten å finne konsentrasjonsforskjeller basert på trofisk nivå eller habitat. De fant et snitt på en til to mikroplastpartikler pr. individ, men de kommenterer ikke antall pr. gram eller kilo våtvekt. Bour et al., (2018) studerte partikler ned til  $41 \mu\text{m}$  og er derfor sammenlignbar med denne studiens nedre *cut-off*.

#### 3.3.1 Polychaeter, *Owenia*



Figur 3. Bruk QR-leser for mobil for å se stort og zoombart bilde (Figur 4) av *Owenia*.



Figur 4. 3D-modell av *Owenia*. Mikro CT-scan, 33x forstørrelse, oppløsning  $5.9 \mu\text{m}$  pr. pixel. Av: Santiago Quinteros.

Gruppen *Polychaeter* (bentiske ormer) er en stor gruppe med tusenvis av familier under seg. Under hver familie finner vi en rekke arter, og morfologisk er mange arter like. I denne studien er slekten *Owenia* studert (Tabell 1).

Morfologisk, utbredelsesmessig og med utgangspunkt i artsliste forelagt av Thomas Møskeland i Det Norske Veritas og Germanischer Lloyd (DNV-GL) anses artene undersøkt for hovedsakelig å bestå av *Galethowenia Oculata* [Zachs, 1923] (tidligere navn *Myriochele oculata* [Zachs, 1923]) og *Owenia Fusiformis* [Delle Chiaje, 1844]. Gjennom besvarelsen brukes hovedsakelig slektsnavnet *Owenia*. Dette da artsbestemmelse er utfordrende, og kan være en potensiell feilkilde. Anatomi og furasjeringsstrategi blir beskrevet med utgangspunkt i artsbestemmelsen over. Sammenligning med andre studier er ikke utelukkende forbeholdt hverken *Owenia* eller *Polychaeter*, da faktagrunnlaget per dags dato er svært begrenset.

Tabell 1. Klassifikasjon av *Galathowenia oculata* sp. [Zachs, 1923] / *Owenia Fusiformis* sp. [Delle Chiaje, 1844].

Enhet	Annelida
Klasse	<i>Polychaeta</i>
Orden	<i>Sabellida</i>
Familie	<i>Oweniidae</i>
Slekt	<i>Owenia</i>
Art	<i>Galathowenia oculata</i> / <i>Owenia fusiformis</i>

Familien *Owiniidae* er registrert i et spenn fra fjæresonen og ned til 4500 m dybde (Tyler, 2008). *Owenia Fusiformis* er utbredt rundt de britiske øyer, i Nordsjøen og i Barentshavet<sup>2</sup>. Tettheten er registrert med opptil 4660 individer per m<sup>2</sup> sediment. Arten er foruten i nordvest-Europa, utbredt i Middelhavet, det indiske hav og Stillehavet (Tyler, 2018). Markens vekst er stor sommerstid, lav om vinteren i det som minner om en dvaletilstand, med en reaktiviserende “ut av hiet” periode i April, for den nordlige halvkule (Gentil, Dauvin & Menard, 1990). Dokumentasjonen

<sup>2</sup> The Marine Biological Association. (u.å.) A tubeworm (*Owenia fusiformis*). Hentet fra: <https://www.marlin.ac.uk/species/detail/1703>

og informasjonen om *Galathowenia oculata* er mangelfull, men ifølge World Register of Marine Species<sup>3</sup> er den registrert over hele den nordlige halvkule.

Havbørstemarkene beskrevet er sylindriske med et eksoskjelett de selv bygger, også kalt tube, som består av sedimenter. Hovedresultatene som blir presentert er et resultat av analyser av både eksoskjelett og mark samlet, men det foreligger også data der disse studeres adskilt. Med disse dataene kan en si noe om fordelingen av mikroplast mellom hva marken tar opp som næring og hva den bygger sitt eksoskjelett av. Sedimentskjelettet er laget av sandkorn og fragmenter fra skjell og er limt sammen av marken (Figur og Figur ), i en overlappende struktur (Oug et al., 2011). *Owenia fusiformis* beiter på både sedimenter og vannsjiktet rett over havbunnen (Rouse & Pleijel, 2001, s.187). I følge Dales (1957) kan partikler mindre enn 200 µm bli tatt opp, mens de største partiklene vil gå til bygging av eksoskjelett. *Polychaeter* bruker et leppeorgan til å sortere partikler der noen går til bygging av tube/eksoskjelett, mens andre blir spist (Noffke, Hertweck, Kröncke & Wehrmann, 2009). Ved test av opptak i *O. Fusiformis* sp.'s kropp (furasjering), viste disse ingen seleksjon for spesifikke størrelser mellom 3 og 324 µm. *O. fusiformis* viste derimot selektivitet for lette partikler (Self & Jumars, 1988). Normale byggematerialer for tubestrukturen (se Figur ) hva gjelder *Owenia fusiformis* er kvarts, biter av kråkebolleskall, foraminifera, og skjellfragmenter, med hovedvekt på kvarts (Noffke et al., 2009). Noffke et al (2009) viser til at vekten på sedimentene i tuben til *O. fusiformis* er opp til 16 ganger høyere enn sedimentene rundt. Fager (1964) viste til 25 ganger økt konsentrasjon av mineralet hornblende i *O. fusiformis* sammenlignet med i sedimentene rundt. Dette tilsier sammen med minkende kornstørrelse fra hode til organismens bakpart, og en preferanse for partikler med en flat side, at organismen selektivt velger partiklene den bygger tube av. *O. fusiformis* blir 2-3 år gammel og den bygger bare en tube i løpet av livsløpet (Noffke et al., 2009).

I en gjennomgang av litteratur om mikroplast gjort av FNs miljøprogram UNEP (GESAMP, 2016) er det bare nevnt én feltstudie og syv laboratoriestudier som omhandler, eller innbefatter gruppen *Annelida*. Likeså er det begrensede datamaterialet representert i boka *Microplastic Pollutans*, av Crawford og Quinn (2017) i form av at disse tar for seg de samme studiene som beskrevet av UNEP. Rezania et al., (2018) presenterer en gjennomgang av litteraturen gjeldende

---

<sup>3</sup> World Register of Marine Species, *Galathowenia oculata* (Zachs, 1923). (u.å.). Hentet fra: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=146950#distributions>

studier som omhandler mikroplast i biota fra 2013 til 2018. De viser til én relevant studie som ikke overlapper med funnene i UNEP. Ytterligere to relevante studier om *Annelida* er avdekket i denne studien. Dette er en artikkel av Bour et al (2018) med resultater fra indre Oslofjord omtalt tidligere i dette kapitlet, og i en studie av Mathalon & Hill (2014). Feltstudien beskrevet av UNEP (GESAMP, 2016) er skrevet av Van Cauwenberghe et al., (2015) og tar for seg blant annet konsentrasjonen av mikroplast i børstemark (*Arenicola Marina*) langs hele kysten av Belgia. De finner mikroplast i alle børstemarkene, med en snitt konsentrasjon på  $1.2 \pm 2.8$  (15-100  $\mu\text{m}$ ) partikler per gram biota, etter at tarmkanalen var tømt. *A. Marina* er en børstemark som utelukkende furasjerer på sedimentene, den har ikke eksoskjelett, og prøvene samlet av Van Cauwenberghe et al., (2015) kom fra fjæresonen. Sammenlignbarheten med *Oculata/fusiformis* fra norsk kontinentalsokkel, er derfor noe begrenset, men opptak fra markens tarmkanal og inn i kjøttet, eller materiale som kan være «fanget» i tarmkanalen kan ha overføringsverdi. Disse resultatene står i kontrast til resultater fra mikroplast i sedimenter og i avføring hos *Clymenella torquata* og *Alitta Vires*, der disse ble funnet tilnærmet like, og tilsier med det liten grad av oppkonsentrasjon i organismen (Mathalon & Hill, 2014).

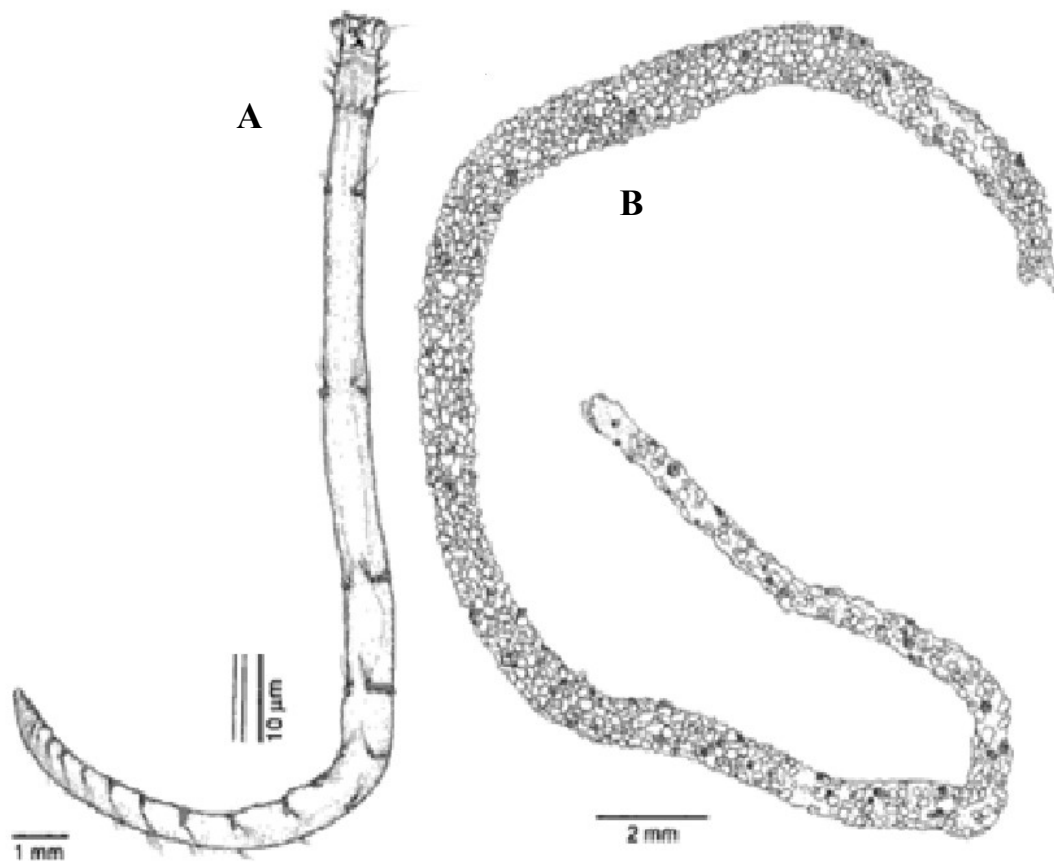
Laboratoriestudiene (fra UNEP) besto av fem studier på *A. Marina* (Thompson et al., 2004; Wright et al., 2013; Browne et al., 2008; Green et al., 2016 og Besseling et al., 2013), en om *Galeolaria Caespitosa* (Bolton & Havenhand, 1998) og én om *Marenzelleria* sp. (Setälä et al., 2014). Av disse er det Setälä et al., (2014), Green et al., (2016) og Bolton og Havenhand (1998) som har brukt plast i relevante størrelser i forhold til denne studien.

To av disse tre studiene studerte larver fra *Polychaetene* (Setälä et al., 2014; Bolton og Havenhand, 1998). Det ble funnet mikroplast i alle artene med zooplankton Setälä et al., (2014) utsatte for mikrosfærer med polystyrene i unaturlig høye konsentrasjoner, og det ble beviselig funnet at mikroplast kan vandre over trofiske nivå fra mikrozooplankton til makrozooplankton. All plasten som ble spist av planktonet ble også skilt ut av tarmkanalen, men sett i lys av mikroplast sin evne til å opptre som vektor for miljøgifter, med økt konsentrasjon av persistente organiske miljøgifter (POPs) sammenlignet med omkringliggende miljø (Paul-Pont et al., 2016; Cole et al., 2011; Ivar do Sul and Costa, 2014) spekuleres det i om plast som vandrer gjennom tarmkanalen til organismer også utgjør en toksikologisk risiko (Setälä et al., 2014; Paul-Pont et al., 2016).

Selv om mikroplast har vist seg å absorbere POPs og at dette kan tas opp i både fisk, muslinger og børstemark, er konsentrasjonen av mikroplast i vannsøylen, sammenlignet med andre naturlige partikler, de fleste steder lav, og visse laboratoriestudier tilsier at den kjemiske faren for forgiftning fra mikroplast som bærer av POPs er liten (Paul-Pont et al., 2016; Hartmann 2017). Det er gjennomført laboratoriestudier der en har forsøkt å etterligne et økosystem med tilstedeværende mikroplast i naturlig realistiske konsentrasjoner ( $80 \mu\text{g L}^{-1}$  vann) (Green et al., 2015). Det ble ikke spesifikt omtalt hvordan de seks av totalt 26 artene som var del av mesokosmoset responderte på mikroplasten tilgjengelig, men antall arter totalt ble redusert ved tilstedeværelse av mikroplast. Det samme gjaldt den totale biomassen – som minket ved økt mikroplastkonsentrasjon (Green et al., 2016).

Wright et al., (2013) har gått gjennom den til da eksisterende litteratur omhandlende fysikalske effekter mikroplast har på biota. For både kamskjell og blåskjell finner de litteratur som tilsier akkumulasjon, og i blåskjell viser de til translokasjon over i hemolymfen. Det samme er funnet for krabbe (Farrell & Nelsson, 2013), selv om dette gjaldt svært små plastpartikler ( $0,5 \mu\text{m}$ ), og derfor ikke av direkte relevans for denne studien.





Figur 5. A: *Owenia*. A: Kropp. B: Eksoskjelett/tube. Illustrasjon redigert med utgangspunkt i illustrasjon gjengitt av Anderson, s. 175. (2001).

I, der omhandler konsentrasjon av mikroplast i tubebyggende *Owenia*, og/eller BSAF for *Polychaeter*.

Tabell 2 vises litteratursøk på ulike språk gjennomført i denne studien spesifikt med mål om å avdekke studier omhandlende mikroplast i tubebyggende *Polychaeter* spesielt, eller studier om BSAF for *Polychaeter* generelt. På portugisisk ble det funnet tre masteroppgaver, men ingen av disse omhandlet tubebyggende *Polychaeter*. På russisk ble det ikke funnet relevante studier, ei heller på kinesisk, spansk eller norsk. På engelsk ble det funnet en studie omhandlende

bioturbasjon av plast, der Gebhardt og Forster (2018), i et kontrollert mesokosmos, viste at *A. Marina* sp. kan forflytte plastpartikler vertikalt nedover i sedimenter. Denne studien synes derfor som den første av sitt slag, der omhandler konsentrasjon av mikroplast i tubebyggende *Owenia*, og/eller BSAF for *Polychaeter*.

Tabell 2. Litteratursøk på forskjellige språk.

Søkeord på engelsk. Oversatt av de som har gjennomført søket.	Litteratursøk gjennomført av	Språk	Treff	Søkemotor
BSAF polychaete microplastic / Polychaete tubeworm microplastic / Polychaete tube worm microplastic / Polychaete tube-worm microplastic	Jakob B. Cyvin Masterstudent NMBU	Engelsk	Bioturbasjon av <i>A. Marina</i> sp. Eksperiment i <i>mesocosm</i> (Gebhardt & Forster, 2018).	Google Scholar Oria
	Jakob B. Cyvin Masterstudent NMBU	Norsk	Ingen	Google Scholar Oria
	Dr. Ana Lucia Lacerda, University Federal de Rio Grande	Portugisisk	Tre masteroppgaver, men ingen der omhandlet konsentrasjon i <i>Polychaeter</i> generelt, eller <i>Owenia</i> spesielt.	Google Scholar
	Dr. Anna Sanchez Vidal GRC Geociències Marines, Dept. de Dinàmica de la Terra i de l'Oceà Barcelona	Spansk	Ingen relevante treff	Google scholar
	Irina Rogozhina Førsteamanuensis NTNU	Russisk	Ingen relevante treff	www.yandex.ru
	Yitong Sun Mastersutdent, Bioteknologi, NTNU	Kinesisk	Ingen relevante treff	www.cnki.net <a href="https://xueshu.baidu.com">https://xueshu.baidu.com</a>

### 3.4 Overføring mellom trofiske nivå

Det er naturlig å se *Polychaeter* lavt i næringskjeden i en større økologisk sammenheng. *Galathowenia Oculata* og *Owenia fusiformis* er begge funnet som mageinnhold i blant annet hyse (Schückel, Ehrich, Kröncke & Reiss, 2010), forskjellige flyndrearter (Yeung og Yang, 2014) og Liten Krokulke (*Arteidiellus atlanticus*) (Källgren, Pedersen & Nilssen, 2015). I Beringstredet besto  $61 \pm 30\%$  av dietten til Gul Finnsåle (*Limanda aspera*), Nordlig Bergsåle (*Lepidopsetta polyxystra*) og Rødspette (*Pleuronectes quadrituberculatus*) av *Polychaeter*, der *Galethowenia Oculata* sto for 49% av *Polychaetene* i havbunnssedimentene målt i vekt. Tilstedeværelsen i dette spekteret av fisk sier noe om potensialet for at denne bentiske faunaen potensielt kan transportere mikroplast fra havbunnssedimenter og oppover i næringskjeden; uten at denne studien vil diskutere dette.

### 3.5 Sedimenter

Flere av studiene som her vil bli presentert, vil bli sett i sammenheng med lignende studier, eller studier der for eksempel resultatene av studie A fører til en justering av resultatene i studie B og C. Dette presenteres her i teorikapittelet da dette ansees som grunnlaget for hva denne studiens resultater skal diskuteres opp mot. Forskjellig metodikk gir generelt forskjellige resultater, og det synes nyttig å rydde opp i dette her, framfor en blanding av litteratordiskusjon og diskusjon av egne resultater i kapittel «6.0 Resultater og diskusjon: Hypotesene diskutert».

Mikroplast er tidligere, fra samme lokaliteter som *Polychaetene*, analysert til en konsentrasjon på  $6 \pm 11$  til  $58 \pm 77$  mg mikroplast pr. kilo sediment, eller  $494 \pm 814$  til  $4408 \pm 5837$  partikler pr. kilo (Miljødirektoratet, 2018). Fra andre steder rundt om på kloden er det rapportert om mikroplast i nært alle sedimentprøver undersøkt. Fra fire forskjellige dyphavslokasjoner (1176-4843 m) ble det i snitt funnet en plastpartikkel pr.  $25 \text{ cm}^3$  (Van Cauwenberghe et al., 2013). I prøver langs, og utenfor kysten av Belgia ble det funnet mikroplast i samtlige sedimentprøver, med høyest konsentrasjon i havnene ( $390 \pm 32.6$  partikler pr.  $\text{kg}^{-1}$ , nedre *cut-off*  $38 \mu\text{m}$ ) (Claessens et al., 2011). Foreløpige studier av sedimenter i "Arctic central basin" tilsier at det også her er mikroplast til stede, med plast i syv av elleve sedimentprøver – hver på ca 10gram,  $>100 \mu\text{m}$  (Kanhai et al., 2019). Det samme gjelder sedimenter fra kysten av Tunisia, med 141 til 461 partikler per  $\text{kg}^{-1}$  tørre sedimenter (0.1 mm til 5 mm). Resultatene tilsier medium konsentrasjon

av mikroplast sammenlignet med en skala fra lite plast i kystsedimenter fra Portugal ( $10 \pm 1.0$  partikler  $\text{kg}^{-1}$  tørt sediment) (Fastelli et al., 2016) til resultater fra lake Ontario i Canada (Ballent et al., 2016), med dertil beregnet 27 830 partikler pr. kg tørre sedimenter. Den maksimale konsentrasjonen presentert av Ballent et al., (2016) er av Abidli et al., (2018) gjengitt uten videre diskusjon. Går man inn i disse kildene og ser på størrelse og metodikk for analyse, finner man derimot en forskjell i nedre *cut-off* hva gjelder størrelser analysert. Fastelli et al., (2016) har brukt 63  $\mu\text{m}$  som sitt nedre *cutt off*, mens Ballent et al., (2016) hadde 250 mikrometer som nedre *cutt off*. Den høye konsentrasjonen på 27 830 partikler pr. kilo (Ballent et al., 2016) er også en ekstremalverdi som i stor grad er et resultat av at sedimentprøven viste seg å inneholde store mengder alger, og med det ga et feil mål for antall pr. vektenhet sediment, sett opp mot volum sediment. Også i Lake Ontario, Canada lå hovedvekten av prøver på mellom 140 og 980 partikler pr. kg tørre sedimenter. Begge studiene har brukt visuell identifikasjon som metode for identifikasjon. Dette kan på hver sin måte både underestimere og overestimere andelen mikroplast. 70% av partikler vi gjennom visuell identifikasjon anser som plast, har vist seg å være andre partikler (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Lenz et al., 2015). På den annen side er det fra tester av sand fra strender vist at FT-IR analyser avdekker opp til 7,9 ganger flere plastpartikler enn det vi visuelt identifiserer som mikroplast (Song et al., 2015).

Dette betyr altså at prøvene fra Tunisia (Abidli et al., 2018) sannsynligvis underestimerer andelen mikroplast. Disse ble først plukket ut visuelt, med en mulighet for at råmaterialet da inneholdt opptil 7,9 ganger mikroplast enn det som ble identifisert (Song et al., 2015). Bare 15 partikler visuelt identifisert som plast ble undersøkt med FT-IR mikroskopi. I prøvene fra Belgia (Claessens et al., 2011) ble også sedimentene først visuelt sortert for plast eller “annet“. I prøvene fra Nordsjøen og Barentshavet (Miljødirektoratet, 2019) ble sedimentene analysert med FT-IR uten noen initiell utplukking. Faktoren mellom gjennomsnittresultatene i disse resultatene (snitt korresponderende til 673 partikler pr. kg tørt sediment: FT-IR bekreftet resultat) var i overkant av 1:6,9, opp mot resultatene fra Belgia (snitt på 97,2 mikroplastpartikler pr. kg tørre sedimenter fra BCS: Belgisk kontinentalsokkel). Forklaringen på dette kan altså delvis ligge hos Song et al., (2015).

Sammenlignbar metodikk med denne studien ble utført av Bargmann et al., (2017) med gjennomsnittlig konsentrasjon på 495 mikroplastpartikler pr. kg (størrelse over 50 µm).<sup>4</sup>

Prøvene fra Nordsjøen ble analysert ved at materiale ble plukket ut med pinsett og /eller spatel. Dette gjør at man kan ha mistet de minste partiklene. Det er disse prøvene som nå er reanalysert, og som presenteres i denne studien. Denne gangen er hele eller større deler av materialet analysert med FT-IR uten mekanisk utplukking, men med vasking av et filter over på et nytt 13 mm filter for analyse i FT-IR (se 5.0 Metode).

### 3.6 Biota-sediment akkumulasjonsfaktor (BSAF)

Bioakkumulasjonsfaktor er i forbindelse med mikroplast, ofte relatert til bioakkumulasjon av miljøgifter der plasten opererer som en vektor, med opptak til organismer (Besseling et al., 2012; Paul-Point et al., 2016). Bioakkumulasjon fra sedimenter til biota, og da spesifikt bentisk fauna, der plastpartiklene i seg selv er objektet som bioakkumuleres er lite omtalt i litteraturen.

Bioakkumulasjon av gull nanopartikler (Lasagna-Reeves, 2010) og sølv nanopartikler (Fabrega et al., 2011) omtales i litteraturen, og et skille mellom nano- og mikropartikler synes derfor kunstig når det gjelder bruken av termen bioakkumulasjon selv om gull og sølv i seg selv diskuteres som toksiske. Flere vitenskapelige artikler bruker også termen bioakkumulasjon for beskrivelse av akkumulering av mikroplast i seg selv, sammenlignet med omgivelsene rundt (Su et al., 2011; Grigorakis et al., 2017; Lwanga et al., 2016; Harrison, Schrazberger, Sapp & Osborne, 2011; Sun et al., 2017). Et motstridende hensyn i min undersøkelse, er derimot at det bare er eksoskjelettet som direkte stammer fra sedimentene. Tarmkanalen ble av praktiske hensyn ikke skilt fra resten av markens *kropp*, ei heller sier denne studien noe om hvor stor andel av marken som er et resultat av furasjering fra vannmassene – *filtrerende* - eller hvor stor andel som stammer fra sedimenter. En kan riktignok anta at den andelen plast som er suspendert i vannmassene bare millimeter over havbunnen vil sedimenteres, men dette vil være en antagelse basert på fysiske prinsipper heller enn praktisk empiri, og dette sier ikke noe om marken

---

<sup>4</sup> Beregnet ut fra rådata fra artikkelen til Bergmann et al., (2017): Bergmann, M., Wirzberger, V., Krumpen, T., Lorenz, C. Primpke, S. og Tekman, M. B. (2017). High Quantities of Microplastic in Arctic Deep-Sea Sediments from the HAUSGARTEN Observatory. *Environmental Science and Technology*, 51(19), 11000-11010. DOI: 10.1021/acs.est.7b03331  
Rådata hentet fra: <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.879737?format=html#download>

akkumulerer plast fra sedimentene, og om det er en faktor mellom sedimentene og marken – altså at det skjer en akkumulasjon av plasten i marken.

Nedre størrelsesmessige *cut-off* i denne oppgaven er under grensen for når man ser plastpartikler forflyttes<sup>5</sup> fra tarmkanal og over i lymfe (World Health Organization, 2019; review av Hussain, Jaitley og Florence, 2001). Det vitenskapelige grunnlaget for denne grensen er for øvrig begrenset både i antall studier, og type polymerer. Det samme gjelder foreløpige konklusjoner om den eventuelle faren ved mikroplast. World Health Organization (2019) har blant annet vurdert farene fra drikkevann, uten at de der kan finne reelle faremomenter for mennesket. Også dette med forbehold om store hull og mangler i den eksisterende faglitteraturen.

Andelen identifiserte plastpartikler i havbørstemarkene, sammenlignet med andelen plastpartikler i sedimentene kan gi en indikasjon på om marken oppkonsentrerer plasten, selv om studien ikke kan si noe om andelen av furasjering som kommer fra filtrering av vann versus sedimentopptak. Når det gjelder eksoskjelettet er dette derimot utelukkende laget av sedimentene, og en eventuell oppkonsentrasjon av plast i dette sammenlignet med i omkringliggende sedimenter vil være en oppkonsentrering av plast i eksoskjelettet som følge av markens selektering eller bortselektering av materiale.

Noen av årsakene til den akademiske interessen for en eventuell bioakkumulasjon er plastens evne til å fungere som vektor for miljøgifter (Paul-Pont et al., 2016; Cole et al., 2011; Ivar do Sul & Costa, 2014). Som motsats til dette, er samtidig faren for miljøgifter funnet neglisjerbar sammenlignet med naturlig opptak av miljøgiftene (Hartmann et al., 2017), bakterier (Harrison, Schrazberger og Osborne, 2014; Viršek, Lovšin, Koren, Kržan, og Peterlin, 2017) og plastens eventuelle toksiske effekt i seg selv, når den tas opp i biota (Cole et al., 2013; Germanov, Marshall, Bejder, Fossi & Loneragan, 2018). Konsentrasjonen som er brukt i laboratorieforsøk for å vise overføring fra tarm og over i lymfe og blod er derimot langt utenfor den konsentrasjonen som en normalt finner i det ytre miljø. Den eventuelle faren ved forflytning av partikler inn i vev og organer blir ikke behandlet i denne oppgaven, da resultatene utelukkende omhandler konsentrasjon og eventuell bioakkumulasjon. Oppgaven vil derfor ikke gå dypere inn i dette, men det synes naturlig å nevne for å sette oppgaven i kontekst av fagfeltet.

---

<sup>5</sup> Her vises det til det engelske begrepet *translocate*. Brukt i litteratur om mikroplast, hos blant annet Van Cauwenberghe (2014).

### 3.7 Oksidasjon

Oksidasjon av det biologiske materialet er nødvendig for å få frem eventuelle mikroplastpartikler, og gjennomføres før annen laboratorieanalyse. Oksidasjonen bør være effektiv i fjerning av både cellulose, vev fra biota, og i prøver fra havet bør også kitin løses opp. Plasten bør også påvirkes minst mulig.

Kitin er et polysakkarid, på lik linje med cellulose, men har i motsetning til cellulose sin lineære struktur en krystalinsk molekylærstruktur med intra og intermolekulære hydrogenbindinger. Dette gir Kitin unike egenskaper både hva gjelder stabilitet mot temperatur og kjemisk oppløsning (Zhang, Li & Yu, 2009) og materialet kan være vanskelig å løse opp.

NaOH/Urea løst i vann danner et NaOH-hydrat med hydrogenbindinger til urea. Ved nedkjøling til under  $-20^{\circ}\text{C}$  binder kitin seg til NaOH/thiourea hydratet med hydrogenbindinger og forstyrrer med det komplekset av kitin og/eller cellulose som danner makromolekyler. De intermolekulære hydrogenbindingene blir forstyrret, og ved lav temperatur oppstår *clusters* med NaOH, thiourea og vann. Ved romtemperatur er ionene i både NaOH og thiourea relativt ustabile, mens disse ved lavere temperatur holder seg mer stabile. Nedkjøling viser seg derfor viktig for å danne stabil forbindelse med cellulose, som igjen fører til løsning i vann (Lue, Zhang & Ruan, 2007). Urea er en stabiliserende faktoren som akkumulerer seg rundt den hydrofobiske delen av det “oppdelte” cellulosemolekyl og hindrer dette fra å binde seg til andre hydrofobiske molekyler eller deler av molekyler. I tillegg kan Urea binde seg til  $\text{H}_2\text{O}$  molekyler med hydrogenbindinger og med det “føre cellulosen bort”. Thiourea fungerer på samme måte som urea og er funnet å øke hastigheten på prosessen dersom dette tilsettes. (Zhang et al., 2009; Xiong et al., 2014). To trinns fordøyelse med 8% NaOH, 8% urea og 6.5% thiourea løst i milliQ-vann (Olsen et al., upublisert) i første runde og 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  i andre runde har vist seg effektivt, og skånsomt.

Oksidasjon med  $\text{H}_2\text{O}_2$  er gjengitt i en rekke artikler som metodikk for nedbrytning av organisk materiale i studier omhandlende mikroplast. Noen har etter utprøving med 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  på fordøyelse av organisk rike sedimenter vært kritiske til bruken grunnet betydelig oksidativ nedbrytning av PP og PE plast (Nuelle et al., 2014), og bare 25% fullstendig nedbrytning av organiske partikler  $<1$  mm diameter. Fordøyelsen ble av Nuelle et al., (2014) gjennomført over syv dager, uten bruk av NaOH. Resultaten står i kontrast til en annen undersøkelse (Karami et al., 2017), der fiskemuskel og skinn ble fordøyd i 35%  $\text{H}_2\text{O}_2$  med 87,4% nedbrytning ved  $25^{\circ}\text{C}$

grader, og høy recovery rate for både PET, PVC, PS, HDPE, LDPE og PP. Karami (2017) fant for øvrig noe mere degradering av PVC, nylon og nylon-66, særlig ved økende temeperatur over 25°C grader. Økt temperatur vil naturlig nok også påvirke degradering av plasten, og gir dårligere resultat for bruk av H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> med tanke på *recovery*. Dette kommer fram da deres konklusjon er at 10% KOH er den meste optimale metodikken for nedbrytning av biologisk materiale og beholde plastpartikler uten at disse påvirkes i negativ forstand.

Bruk av NaOH/Urea/Thiourea som et første steg, og H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> som del to har vist seg svært effektivt også ved temperatur 20°C grader, selv om Olsen et al., (upublisert) ikke gjorde forsøk som omhandlet biota (*tissue*) spesifikt (Olsen et al., upublisert). Erfaringer under metodeutviklingen for dette masterprosjektet sammenfalt med Olsen et al., (upublisert) og erfaringer fra NGI (Pers. med. Arp og Knutsen, 2018) der bruken av denne to-trinns fordøyelsesprosessen ga et godt resultat både med hensyn til fordøyelsesgrad og *recovery* for plasten; også for biota.

Singdahl-Larsen (Singdahl-Larsen, 2019) gjennomførte undersøkelser på samme laboratorium, under samme tidsperiode og med identisk bruk av kjemikalier og oksidasjon som denne studien. *Spike*-prøvene hennes er presentert i Tabell 3.



Tabell 3. Spesifikasjon på spiket blanks. Gjengitt med tillatelse fra Singdahl-Larsen (Singdahl-Larsen, 2019, Tabell 2.9a). Oversatt av forfatter Cyvin, J. B.

Form	Polymertype	Produsent	Tetthet (g/cm <sup>3</sup> )	Størrelse
Pulver	Polyethylene terephthalate (Polyester, PET)	Goodfellow Cambridge Ltd. (UK) Catalogue no. ES306030	1,4	Diameter: < 300 µm
Fibre		Goodfellow Cambridge Ltd. (UK) Catalogue no. ES305720/1		Diameter: 17 µm Lengde 2-3 cm
Granul		Goodfellow Cambridge Ltd. (UK) Catalogue no. ES306312		Diameter: 3 mm Lengde: 2.5 mm

Resultater av disse spikene ga  $88.7 \pm 3.2$  recovery for pulver,  $100.0 \pm 0.0$  for granuler, mens metodiske utfordringer gjorde at resultatene for fiber ble utelatt, grunnet klumping sammen med sedimentene under tetthetsseparasjon (Singdahl-Larsen, 2019). Samtlige prøver gjennomgikk både tetthetsseparasjon med Zinkklorid, og to trinns oksidasjon. Sedimentprøvene som er reanalysert i denne studien, har gjennomgått den samme prosedyren, og konsentrasjonen er justert med utgangspunkt i recovery tester tatt parrallelt med disse; denne ble etter disse testene satt til 0,77 av snittet fra recovery av PE-fiber og PET-pulver (Miljødirektoratet, 2018b). Økt recovery i Singdahl-Larsen (2019) sine prøver kan tyde på at laboratoriemetodikken har blitt bedre siden disse prøvene ble analysert. Konsentrasjonen av mikroplast i sediment er altså justert for et tap på 23% under tetthetsseparasjon. Polymersammensetningen av disse spikeprøvene var tilsvarende som Singdal-Larsen (2019) sine prøver.

### 3.8 Ultralydbad

Ultralydbad er mye brukt i studier av mikroplast; fra rensing av fiskemager (Wagner et al., 2017) til frigjøring av plast i avløpsvann (Simon, van Alst & Vollertsen, 2018), og rensing av mikroplastpartikler fra filter (Bergmann et al., 2017). Skjør og nedbrutt mikroplast kan ifølge Löder og Gerds, (2015) gå i ytterligere oppløsning når de blir utsatt for ultralyd. I litteraturen er denne faren tatt til etterretning ved å redusere tiden mikroplast blir utsatt for ultralydbølger. Til

tross for dette kan det synes som at hva som regnes som liten tid er svært variabel. Noen artikler holder seg til eksponering under 30sek (Caron et al., 2018), mens andre holder seg til 20 minutter (Enders, Lenz, Stedmon & Nielsen, 2015), eller til og med en time (Hintersteiner, Himmelsback og Buchberger, 2014) selv om sistnevnte brukte det for å få fram plastpartikler i kosmetikkprodukter. Ingen av de overnevnte studiene henviser til egne erfaringer som tilsier fragmentering ved bruk av ultralyd. Ingen av artiklene henviser heller til artikler som viser dette utenom en referanse til Löder & Gerdts (2015). Disse henviser til "*personal observation*", men uten noen systematisk undersøkelse eller studie. Personlig kommunikasjon med kjemiprofessor Hans Peter Arp (2019) tilsier at faren for fragmentering, basert på de kjemiske bindingenes struktur er minimal ved bruk av ultralyd, med mindre partiklene uansett er så nedbrutt at de ved fysisk berøring eller håndtering lett vil smuldre til mindre biter. Visuelle undersøkelser gjennomført i denne studien; før og etter ultralydbad (mikroskopi med 100x forstørrelse, og samme 60W ultrabad som er brukt for alle prøvene i studien) i 40 min for både ren polypropylene, svært degradert, nært oppsmuldret polyethylene og gammel polystyren ga visuelt sett ingen nedbrytning eller fragmentering. Utgangspunktet for resultatene er på bakgrunn av dette at bruken av ultralydbad sannsynligvis i svært liten grad påvirker partiklene, selv om nedbrytning ikke kan utelukkes for gitte polymerer. Det tas dermed utgangspunkt i at dette er neglisjerbart for resultatene presentert i denne studien, men det er en potensiell feilkilde.

### 3.9 FT-IR-mikroskopi

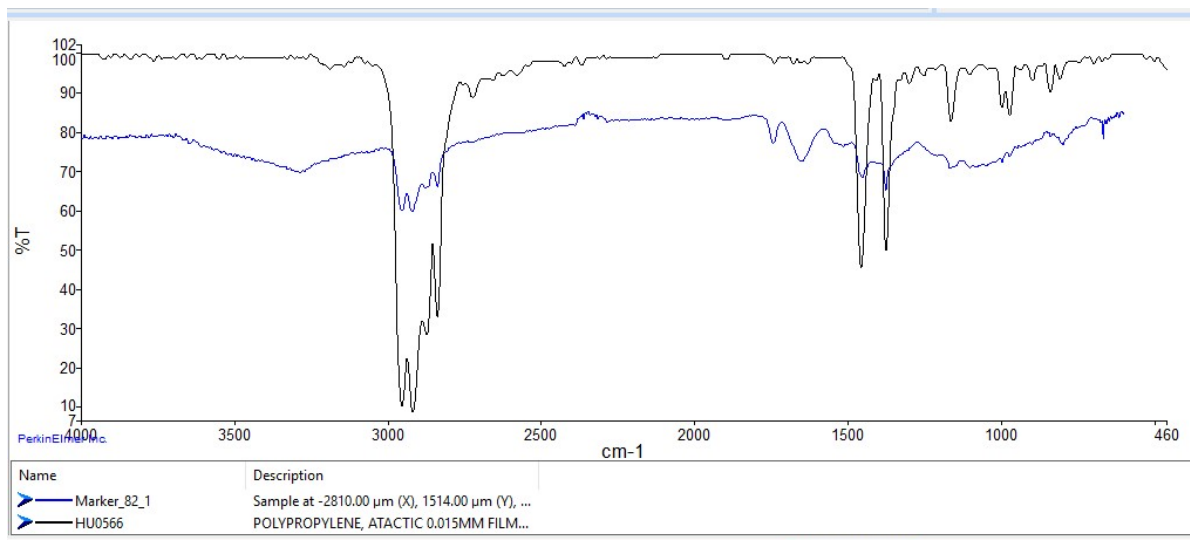
FT-IR mikroskopi betyr Fouriertransformert infrarød mikroskopi. Fouriertransformasjon er et matematisk prinsipp som brukes for å danne en graf med utgangspunkt i tid. I praksis betyr det i denne sammenhengen at lysets refleksjon eller gjennomtrengning (*transmittance*) danner en graf ut ifra hvilke bølgelengder som helt eller delvis absorberes og hvilke som reflekteres eller ikke slipper igjennom materialet (Crawford & Quinn, 2017, s. 241-243; Goda & Jalali, 2013)

Analysemetoden brukes til å bestemme polymerer og avdekke om partikler er plast eller ikke. Teknologien baserer seg på at lys i det infrarøde spekteret eksiterer molekyler. Visse bølgelengder eksiteres av forskjellige molekyler og bindinger, og plastpolymerer kan gi svært spesifikke spekter. Ved å sende IR-lys med forskjellige bølgelengder gjennom en plastpartikkel, eller detektere det lyset som reflekteres fra en partikkel kan man registrere hvilke bølgelengder som absorberes. Dette danner da et spekter i en graf, der X-aksen representerer bølgelengden og Y-aksen grad av eksitasjon for hver gitt bølgelengde. Ved å sammenligne et spekter med eksisterende, og kjente spektra fra rene og kjente molekyler, kan man avgjøre hvilket molekyl som hovedsakelig dominerer materialet en undersøker. Vann absorberer infrarødt lys svært godt, og tørre prøver er derfor en forutsetning. Svarte prøver er også problematiske grunnet høy absorpsjonsevne (Löder & Gerds, 2015, s. 241-267).

Ren og degradert plast gir forskjellige spekter ved FT-IR-mikroskopi. Dette er en utfordring da en spesifikk plastpartikkel vil gi et annet og potensielt svakere spekter enn den rene utgaven av samme materiale som er scannet inn som referanse i biblioteket hver partikkel sammenlignes med. FT-IR-mikroskopi er for øvrig, til tross for utfordringer mye brukt ved studier av mikroplast, og ansees sammen med Raman-spektroskopi som et av to alternativer som er nødvendige for med sikkerhet å analysere konsentrasjon av mikroplast (Hidalgo-Ruz et al., 2012; Song et al., 2015), særlig hva gjelder partikler <1 mm (Song et al., 2015).

Produsenten av mikroskopet benyttet i denne studien; en Perkins Elmer, leverer flere bibliotek med spekter. Mikroskopet skanner seg gjennom flere spekterbibliotek, der disse heter «Polymer», «ATR-Spectra», «Transmission-Spectra» og «Fluka». Inkludert i disse spektrene er det ikke bare plastpolymerer, men en rekke organiske substanser, salter og mineraler. Mange av disse er i utgangspunktet ikke relevante for marine prøver.

Teorien bak IR-spektroskopi er hvordan forskjellige molekyler og bindinger gir infrarødt lys forskjellig respons. De fleste plastsorter gir derimot en tydelig signatur (se eksempel fra en partikkel Polypropylen med score 0,73 visualisert i Figur 6) – altså en graf over hvilke bølgelengder (reflektert/absorbert/eksitert) som er distinkte og gitte for den enkelte polymer (Löder & Gerdts, 2015). Se figur 6 for et eksempel av FT-IR spekter av polypropylen (PP).



Figur 6. FT-IR spekter av polypropylene (PP).

Spekteret kan sammenlignes med et polymerbibliotek, og man får da ut en verdi, altså en *score* over spekterets prosentvise likhet med kjente polymerer. Det er ikke etablert en ensartet grense for hva som regnes som god nok *score* i litteraturen. Det må tas hensyn til at additiver og nedbrytning gjør at *scoren* blir dårligere. Når vi ser på partikler på havbunnen, der partikkelen må ha vært i miljøet en stund før analysen gjennomføres er det naturlig at kvaliteten er redusert og ved FT-IR analyse gir et mere uklart spekter for tolkning og med det lavere *score* i sammenligning med gitte polymerbibliotek. Partikler med svært høy *score* ( $>0.95$ ) kan gi indikasjon på mulig kontaminasjon fra laboratoriet.

Det foregår en akademisk diskusjon om hvilken grense mellom godkjent og ikke godkjent som skal benyttes, og på sikt er andre statistiske metoder kanskje bedre enn å bestemme en gitt grense for når partikkel skal aksepteres eller ei. Statistisk *clustering* og valg av «godkjent *match*» der to *cluster* skiller seg fra hverandre med et gap på min 10% er blant annet foreslått (Pers. Med. Prof.

Elena Gorokhova, 2019). Foreløpig er bruk av grensen  $\geq 0,7$  (70%) mye brukt i litteraturen (for eksempel Obbard, 2014; Woodall et al., 2014; Bergmann et al., 2017).

## 4.0 Datamateriale

### 4.1 Innsamling av prøver

Alle prøvene ble samlet med Van Veen grabb (vedlegg, bilde 8) med et totalt areal på 0,15m<sup>2</sup>. Det biologiske materialet analysert var videre et resultat av 0,1m<sup>2</sup> av grabben. Biota funnet i grabbene ble sortert i fem hovedgrupper av dyr der *Polychaeter* var en av disse. Posisjon ble registrert, og marinbiolog Thomas Møskeland sto for utplukking av biota. Lagring av biota foregikk på 70% etanol med en dråpe fargestoff (rosa Bengal) for å enklere skille individene fra hverandre under analysen. Prøvene ble tatt av DNV-GL i mai-juni 2017 (Per. Med. Thomas Møskeland, 2019).

Det ble laget fem replikater med biologiske prøver fra hver grabb. Av disse blir det her presentert data fra alle glassene med *Owenia*.

Dybden og typen sediment ble rapportert av DNV-GL, og dataene ble gjengitt i rapport 0050, Rev. 01., Miljødirektoratet. Dataene presentert i Tabell 2. er en gjengivelse av disse, med oversettelse av forfatteren. Dataene gjelder for både sedimentprøvene og prøvene av analyserte *Owenia*. Mengden organisk materiale (TOC), ble av Miljødirektoratet (2018a) rapportert å være fra 0,48% og nedover, for samtlige sedimentprøver, fra samme stasjoner som data rapportert i denne masterstudien.

Tabell 4. Dybden og typen sediment ved posisjon for prøvetagning, registrert av DNV-GL, delvis gjengitt i rapport 0050, Rev. 01., Miljødirektoratet. Samtlige dublikater er ikke her presentert.

Station	Mikrometer filter	Område	Type prøve	Bunnforhold	Dybde	Oljeplattform	Avstand*
Reg1-06	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	72	Regional	nd.
Reg1-09	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	66	Regional	nd.
Reg1-14	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	80	Regional	nd.
Val-15	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	76	Valhall	500
ULA-06	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	71	Ula	250
KV-01	45	Nordlige Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	187	Kvitebjørn	250
VI-30	45	Nordlige Nordsjøen	Hel mark	Silt og leire	316	Viksund	250
KRT-14	45	Barentshavet	Hel mark	Silt og leire	440	Kråketind	0
KF2-6	45	Barentshavet	Hel mark	Silt og leire	242	Korpefjell	900
Reg1-02	26	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	67	Valhall	500
Val02	26	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Fin sand	67	Valhall	500
Reg	45	Sentrale Nordsjøen	Innmat	Fin sand	67-80	Regional	nd.
Reg	45	Sentrale Nordsjøen	Innmat	Fin sand	67-80	Regional	nd.
KF-2-6	45	Barentshavet	Innmat	Silt og sand	242	Korpefjell	900
Reg	45	Sentrale Nordsjøen	Tube	Fin sand	67-80	Regional	nd.
Reg	45	Sentrale Nordsjøen	Tube	Fin sand	67-80	Regional	nd.
KF-2-6	45	Barentshavet	Innmat	Silt og sand	242	Korpefjell	900

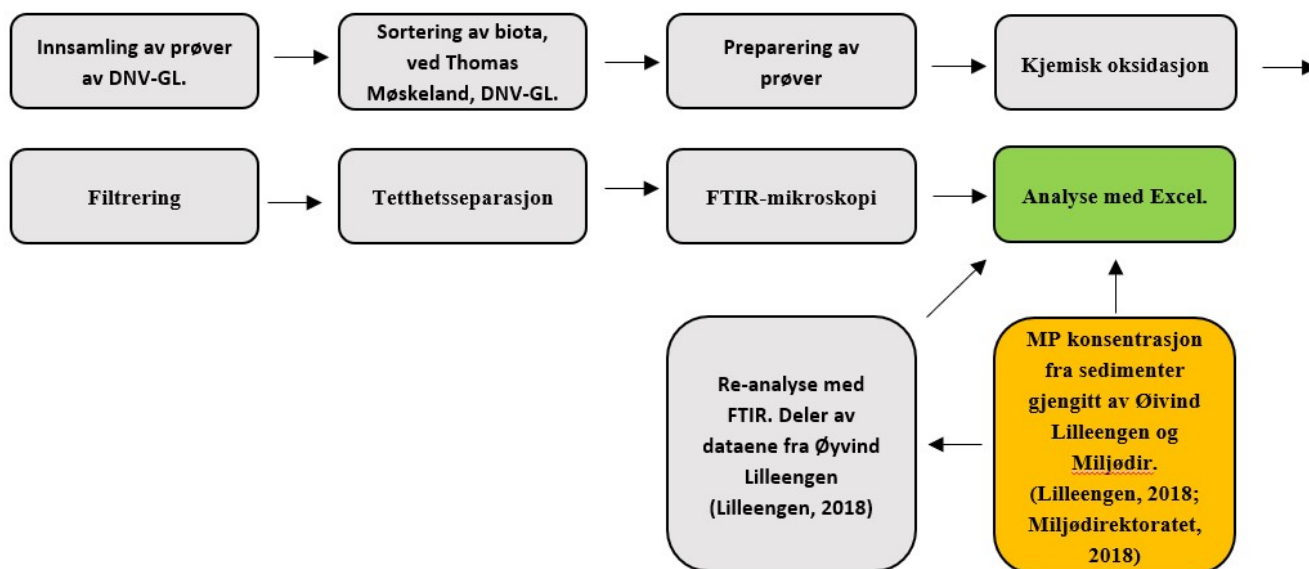
## 4.2 Prøvetagningsområde



Figur 7. Kart over Sentrale Nordsjøen, Nordlige Nordsjøen og Barentshavet med omkringliggende landområder. Prøvetagningsområder avgrenset med grå kvadrat. Kart modifisert av Jakob Cyvin og Christian Totland. Kartkilde: Norgeskart, Geodata AS, ESRI.

## 5.0 Metode

For å kunne si noe konsistent om konsentrasjonen av mikroplast ved flest mulig stasjoner ble en art tilstede i flest mulig prøver valgt. Fra de fleste av prøvetakningspunktene analysert med 45 µm filter er benyttet, er det analysert duplikater med 5 individer av *Owenida*, – sannsynligvis *Galathowenia oculata* eller *Owenia fusiformis*. Disse artene har et eksoskjelett, der de fleste prøvene er et resultat av analyser av hele marken med eksoskjelett, men det er også gjennomført to duplikater av marken og tuben/eksoskjelettet adskilt. Biota er fordøyd, tetthetsseparert og filtrert over på filter som så er analysert med FT-IR mikroskopi (se Figur ). Resultatene gir en indikasjon på om marken spiser plast eller bygger eksoskjelettet sitt av plast, begge deler, eller ingen av delene.



Figur 8. Flow-skjema over gjennomføring av studien. Fra innsamling av *Owenia* sp. til analyse av mikroplast funnet i disse, og reanalyse av sedimentdata fra Lilleengen (2018).

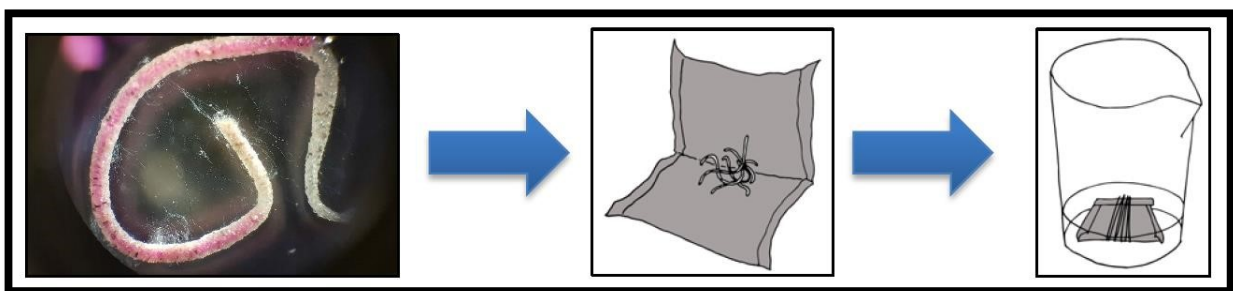


## 5.1 Preparering av prøvene

Fra et glass med *Polychaeter* lagret på ethanol, til et filter som kan analyseres med FT-IR mikroskopi må prøvene gjennom flere steg med behandling. I første omgang ble det gjennomført en rekke tester med forskjellig mengde biota opp imot antall steg med fordøying og mengde materiale nødvendig for analyse. Resultatene av disse testene endte i et valg om å bruke fem *Owenia* i hver prøve, for den store majoriteten av prøvene. For to prøver var det ikke mulig å finne riktig art, og blandede prøver (flere ukjente arter av *Polychaeter*) ble brukt. Prøvematerialet ble i siste steg, av praktiske hensyn overført til FT-IR-vennlige filter (13mm stålfiler) fordelt på to like filter. Disse ble i etterkant slått sammen og presenteres som en prøve i resultatene.

Første steg var å legge de fem individene i filterposer. Dette kan sammenlignes med en te-pose, men laget av stålfiler med porestørrelse 45 µm. Filtrene lages ved å klippe ut ca 4x5cm store rektangler av filteret, legge individene i midten, brette filteret i to og deretter brette de tre åpne sidene minimum tre ganger. Deretter surres ståltråd rundt pakken slik at den ikke skal gå opp (se Figur for illustrasjon av et åpent filter før det brettes).

Filterposen med innhold ble lagt i milliQ vann over natten og deretter tørket på 60 °C neste natt. Posene ble så veid for å beregne tørrvekt. For å komme fram til våtvekt ble to triplikater med et større antall individer (15-30stk) tatt opp av etanol, luftet slik at det ikke dryppet eller hang dråper fra prøven for deretter å bli lagt i små begerglass med vann. Disse ble så veid både før og etter tørking. Prosedyren ble gjennomført fordi fordampning av etanol under pakking av individer og brette av filterposene, under pilotering viste seg å endre vekten og gi skjeve resultater mellom første og siste prøve.



Figur 9. Photo: Jakob Cyvin. Illustrasjoner: Kjersti Synneva Moen

Alle vektdata som omhandler våtvekt er følgelig et resultat av utregning fra tørrvekt, med en omregningsfaktor (se Vedlegg, Tabell 4 og 5).

## 5.2 Eksoskelleton og mark

For å kunne analysere eksoskjelettet og markens kropp adskilt, ble det brukt pinsett for å dra innmaten ut av eksoskjelettet. Først ble marken tatt ut av oppbevaringsglasset, skylt med metanol og skilt fra eksoskjelett. Marken ble holdt mellom fingrene, med rene gummihansker mens marken ble dradd ut av sedimenttuben. Dette lot seg ofte ikke gjøre – og ca 80% av forsøkene feilet. Mange mark tilgjengelig ga allikevel grunnlag for å gjennomføre arbeidet med tilstrekkelig antall mark. Noe størrelse var nødvendig, og utvelgelsen ble derfor ikke helt tilfeldig.

## 5.3 Kjemisk oksidasjon

Oksidasjon ble gjennomført for å fjerne organisk materiale som ikke var plast fra prøvene. Oksidasjon ble gjennomført ved en totrinns prosess. Ved trinn én ble Urea, NaOH og thiourea løst i vann og løsningen ble tilsatt prøvene. Glassene ble så nedkjølt til  $-20^{\circ}\text{C}$  og deretter, under omrøring på magnetrører normalisert til romtemperatur. Dette trinnet løser opp organiske polymerer som kitin og cellulose. Metodikken er inspirert av Olsen et al., (upublisert) og erfaringer fra Hans Peter Arp (Pers. med. 2018), Heidi Knutsen (Pers. med., 2018) ved NGI og Mahat (2017), og er i første rekke inspirert av blant annet papirindustriens metodikk for oppløsning av cellulose. I steg én er det tidligere benyttet 8% NaOH, 8% urea og 6.5% thiourea løst i illiQ-vann. Dette ga sammen med steg to; fordøyelse i 30% hydrogenperoxid med 10M NaOH som katalysator en recovery på  $99\% \pm 1\%$  for LDPE, PS, PET, PP og Nylon (Olsen et al., upublisert). Den samme løsningen er brukt i denne studien.

Det ble ikke utført *spike*-prøver av prøver for prøver med *Owenia*. Altså prøver med *Owenia*, tilført en kjent mengde og polymersammensetning plast. Ideelt sett skulle marken da vært injisert med mikroplast (*spike*-prøver), men dette ble funnet tidsmessig, og praktisk ikke gjennomførbart; *spike*-prøver ble i sum ikke funnet nødvendig ved mål om å ikke overestimere andelen plast (unngå falskt positive resultater).

I Prøvene med *Owenia*, er altså ikke konsentrasjonene justert for det eventuelle tapet av materiale under oksidasjon, mer dette potensielt kan gi en underestimert konsentrasjon. Valget om å ikke justere, ble gjort for å være sikker på at studien ikke overestimerer konsentrasjonen av mikroplast, og i neste rekke BSAF, sammen med *recovery*-resultatene presentert tidligere i dette kapittelet (Olsen et al., upublisert).

Etter endt fordøyelse trinn en ble hver prøve vasket minimum ti ganger med milliQ vann, og satt til «hvile» i minimum 15 minutter, i milliQ-vann. Noe materiale blir ikke løst opp og vasket ut under denne prosessen, men alt materiale vil være påvirket av oksidasjonen. Dette legger til rette for en effektiv fordøyelsesprosess del to (Zhang et al., 2009).

Trinn to av oksidasjonsprosessen foregikk ved å tilsette 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> slik at det dekket filterposen i hvert prøveglass. Noen dråper 10M NaOH ble tilsatt som katalysator. Prøvene ble de første to timene satt på magnetrøring. Deretter sto de i 65-75 timer til oksidasjon i glass med aluminiumsfolie som lokk. Glassene ble satt i plastflasker med halvveis avkappet lokk for å samle eventuel hydrogenperoksid som måtte spre seg gjennom eksoterm reaksjon. Prøvene ble etter trinn to vasket, tørket og veid som etter trinn én.

## 5.4 Ultralydbad

Under bearbeidelse av prøver ble det brukt ultralydbad for å løsne partikler fra filterpapir, for slik å kunne filtrere hele prøven etter endt oksidasjon uten at partikler hadde satt seg fast i filterpappiret. Filterposen ble åpnet, lagt i milli-Q vann og satt i ultralydbad i maksimalt 30min før de ble skylt med spruteflaske og vannet ble filtrert. For teoretisk diskusjon og vurdering av ultralydbad som metode se kapittel 3.8 *Ultralydbad*.

## 5.5 Tetthetsseparasjon og filtrering

For å skille tunge partikler som sand, fra plast ble det gjennomført en tetthetsseparasjon. Filtrert  $\text{ZnCl}_2:\text{CaCl}_2$ -løsning med tetthet  $> 1.52 \text{ g/cm}^3$  ble benyttet som medium for tetthetsseparasjon



Figur 10. Tetthetsseparasjon i Funnel.

(Figur 10). Prøve med tilsatt zinkklorid ble tilsatt en separasjonsfunnel der materialet tyngre enn zinkkloriden vil falle til bunns og kan tappes av først, mens lettere partikler - som plast - vil bli værende på toppen og tappes av til slutt.

Etter å ha sluppet ned all zinkkloriden ble funnelen skylt minimum to ganger med både milliQ vann og metanol for å fjerne resterende zinkklorid og eventuelle partikler på innsiden av funnelen.

Av 42 vanlig typer plast kan fire av disse opptrer med egenvekt over  $1,52 \text{ g/cm}^3$ . Dette gjelder PVC, PET, og to typer PTFE (Crawford og Quinn, 2017, s. 211-212). Polivinyklorin (PVC) og polyetylen ephtalate (PET) står for øvrig for mere enn 17% av plastproduksjonen i Europa (Plastics Europe, 2015) og bruken av zinkklorid med tetthet  $1,52 \text{ g/cm}^3$  kan derfor gi underrepresentasjon av den faktiske konsentrasjonen plast. Selv om protokoll

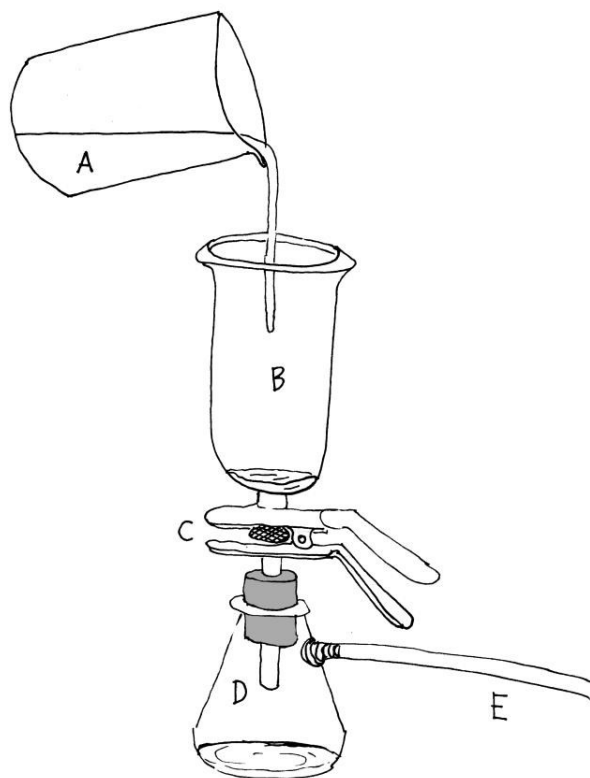
for tetthetsseparasjon av sedimenter, utgitt i Science i 2004, av Thompson et al., (2004) blir gjengitt av Crawford og Bill, (2017, s. 209) og berømmet som en svært effektiv protokoll, har jeg valgt å la prøven sedimentere i funellen i minimum 30 minutter, opp mot de anbefalte 10 minuttene presentert av Thompson (2004). Valget er gjort med utgangspunkt i synlig bevegelse av partikler nedover i zinkkloriden, også etter noen minutter med separering. Det var derfor ønskelig med høyest mulig kvalitet på separasjonen samtidig som tidsbruken ble holdt rimelig for noe grad av effektivitet. Tettheten på Zinkklorid ble beregnet ut fra:

$$\text{Tetthet } (\rho) = \frac{g}{\text{cm}^3} = \frac{(m_m + m_{\text{ZnCl}_2 - \text{CaCl}_2}) - m_m}{V_m}$$

Formel 1. Tetthet Zinkklorid

Hvor  $m_m$  er vekt (g) av målekolben,  $m_{ZnCl_2-CaCl_2}$  er vekten (g) av løsningen, og  $V_m$  er volumet ( $cm^3$ ) av målekolben.

Analysen av partiklene ble gjort i FT-IR-mikroskop. For at denne analysen skal kunne gjennomføres må innholdet i filterposen overføres til et 13mm sirkulært filter. Dette ble gjennomført ved å overføre innholdet i filterposen til milliQ-vann i et begerglass (Figur , A) som ble filtrert ved hjelp av vakuum fra en vakuumpumpe (Figur . vakuum fra E), over på 13 mm filter (C i Figur .) For å få med samtlige partikler som kunne ha satt seg fast på innsiden av filterposen ble denne lagt i et eget glass med milliQ-vann og satt i ultralydbad (60W i inntil 30 min) før filtrering med samme prosedyre som overstående beskrevet, over på eget 13 mm filter (for informasjon om bruken av ultralydbad, se *kapittel 5.4 og 3.8.*). Det ble tatt blankprøver som fulgte begge oppsettene for å korrekt kunne korrigere for kontaminasjon under arbeidet.



*Figur 11. Filtrering. A: prøveinnhold i milliQ-vann. B: trakt for filtrering over på filteret plassert ved C. C: Filterets plassering. D: oppsamling av filtrert væske. E: vakumslange.*

*Illustrasjon: Kjersi Synneva Moen*

Tetthetsseparasjonen av sedimentene har gjennomgått den samme tetthetsseparasjonen som presentert i Miljødirektoratets rapport Rap. 2018-0050, Rev.1<sup>6</sup>, der disse nå er reanalysert.

---

<sup>6</sup> For detaljer se side 22-23 i Miljødirektoratet, (2018b). *Microplastics in sediments on the Norwegian Continental Shelf II: Identification through FT-IR analysis*. Miljødirektoratet rapport M-1231. Hentet fra: <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/M976/M976.pdf>

## 5.6 Sedimenter

De analyserte sedimentprøvene er en reanalyse av prøver tidligere analysert av Øyvind Lilleenge i hans masteroppgave (Lilleenge, 2018) og resultater fra disse prøvene er også publisert i rapporten «Microplastics in sediments on the Norwegian Continental Shelf II: Identification through FT-IR.» (Miljødirektoratet, 2018b). Prøvene lå lagret som utbredte filterposer med pleksiglass over og under, tapet sammen på to sider. Tidligere forarbeid og metodikk for opparbeidelse av disse prøvene kan leses i Miljødirektoratets rapport 2018-0050, Rev 1.<sup>7</sup>

Metodikken gikk ut på å hente ut sedimentprøver fra havbunnen gjennom samme metodikk som beskrevet under kapittelet «Innsamling av prøver». Disse ble deretter tetthetsseparert i en bauta med zinkklorid. Prinsippet er tilsvarende som beskrevet under *kapittel «5.5 Tetthetsseparasjon og filtrering»*, men i større skala for å kunne behandle større sedimentprøver. Forskjellen er at det letteste materialet i toppen av bautaen her separeres av fra toppen, heller enn å slippe ned sedimentene først for deretter å slippe ned det lette materialet. Prøven ble videre sendt gjennom en to stegs oksidasjon i filterposer tilsvarende beskrevet i *kapittel «5.3 Kjemisk oksidasjon på side 33»*.

Prøvene er tidligere analyser, både visuelt og med FT-IR, men da ble færre partikler plukket ut, og det ble brukt pinsett eller spatel for å overføre partikler til et analyserbart 13 mm diameter filter (for FT-IR). Min reanalyse av disse prøvene har blitt gjennomført ved å åpne pleksiglasset, ta ut filteret og vaske dette på oversiden med metanol. Pleksiglasset som lå ned mot filteret, og filteret ble vasket med metanol på spruteflaske, og materialet ble slik overført til 13 mm filter (et til tre stk. avhengig av hvor mye materiale som var tilstede).

Samme prosedyre ble fulgt for parallelle blankprøver.

Materialet ble vasket over på 26 µm filter, men i og med at filterposene fra oksidasjonsprosessen var 45 µm, er nedre cut-off for disse prøvene fortsatt 45 µm.

---

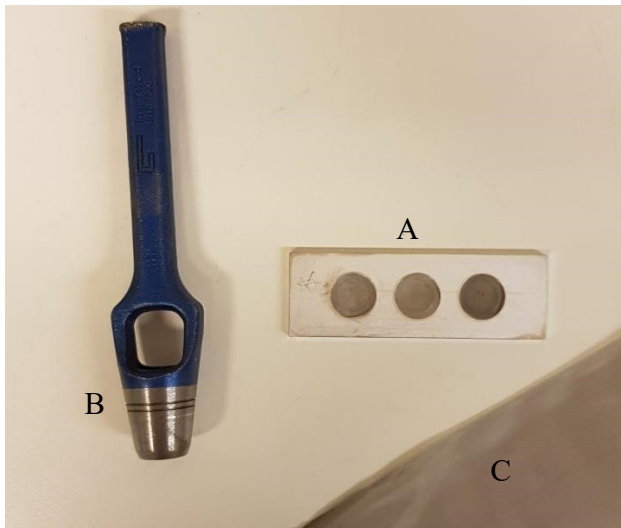
<sup>7</sup> Miljødirektoratet, (2018b). *Microplastics in sediments on the Norwegian Continental Shelf II: Identification through FT-IR analysis*. Miljødirektoratet rapport M-1231. Hentet fra: <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/M976/M976.pdf>



## 5.7 FT-IR mikroskopi

Praktisk sett er metodikken som følger. For å gjøre klar mikroskopet må man fylle flytende nitrogen for deretter å la det stå å “hvile” i 20 min. Man kan så starte opp mikroskopet.

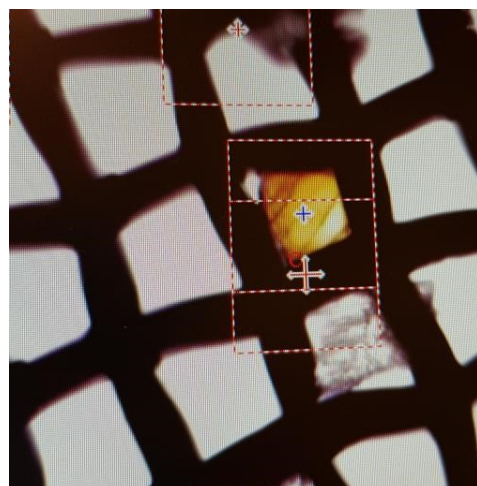
Materialet filtreres på et 13 mm stålfiler (Figur 12. C), som stemples ut (Figur 12. A) og legges i en aluminiumsramme (se Figur , A) som videre legges i mikroskopet.



Figur 12. A: Aluminiumsramme for montering av inntil tre stk. 13mm (diameter) filter. B: verktøy for utstempling av filter. C: filter (45  $\mu\text{m}$ )

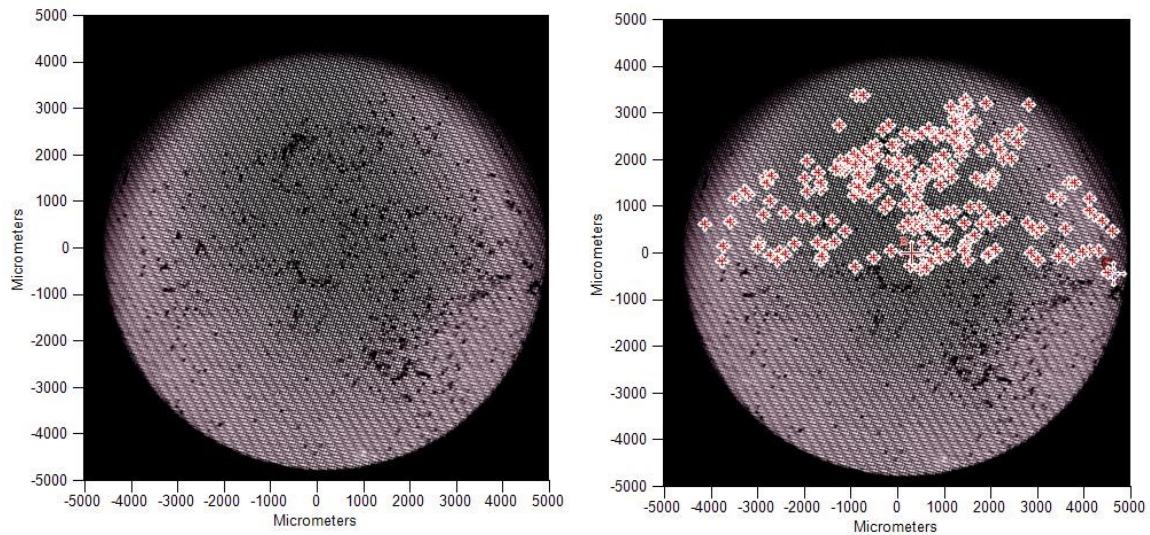
mikroskopet er da 400  $\mu\text{m}$  x 400  $\mu\text{m}$ . Et eksempel er vist i Figur 13, der man på PC-skjermen får opp et utsnitt av filteret, gjennom et digitalt sanntidsmikroskop. For å få oversikt og kontroll lar man instrumentet først ta et bilde av hele filteret (se Figur 14, venstre). Dette tar ca 20 min og er satt sammen av 625 bilder. På skjermen sitter nå igjen med et foto av filteret (Figur 14, venstre), der *cursoren* beveger seg over fotoet, ut fra hvor man navigerer i sanntidsmikroskopet (Figur 13).

Mikroskopet kan så stilles inn på gjennomlysning eller refleksjon. Prøvene er analysert med gjennomlysning (*transmittance mode*). Dette med bakgrunn i økt nøyaktighet, da hele partikkelens tykkelse blir analysert, ikke bare overflaten. Dette er mest effektivt for bruk på små eller tynne objekter. Med en joystick kan man så styre seg rundt på filteret. Vinduet vi navigerer rundt – altså det synlige utsnittet i



Figur 13. Sanntidsmikroskop Plassering av koordinater på 45  $\mu\text{m}$  filter i FT-IR.

Panorering rundt på filteret foregår med en joystick. Ved å legge ut koordinater på bildet der man ser partikler eller fiber, dannes en liste over koordinater på filteret, for slik å kunne å kjøre en felles FT-IR analyse i samtlige punkter registrert (se Figur 14, høyre).



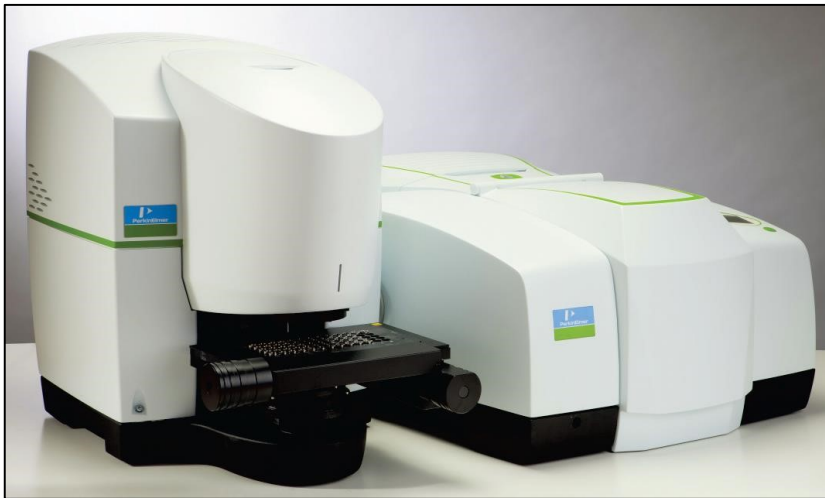
Figur 14. Venstre: Bilde 10mm utsnitt av 13mm 45µm filter. Høyre: Alle partikler innenfor 50% av filteret.

Partikler mindre enn filterdiameteren bli utelatt og waypunktene blir forsøkt lagt der gjennomskinnsevnen til partikkelen er størst da dette gir best spekter (Pers. Med., Prof. Hans Peter Arp, 2018).

På filter med svært mye materiale er filteret visuelt delt i to eller i fire (se figur 14, høyre) for i etterkant å bli ekstrapolert opp.

Hele systemet består av mikroskop fra Perkins Elmer (Figur15); Spotlight 200 FT-IR mikroskop med et Frontier FT-IR spektrometer, PC, joystick med *stage controller* for å navigere prøven og stålfilteret (#300 Mesh – 45 µm / 26 µm Aperture - 0.04mm Wire Diameter - SS316 Grade - Woven Wire). Kjøpt fra “the Mesh Company”, Warrington UK) til å analysere prøven på. Prøvene ble analysert i *transmittance* mode. Dette betyr at det infrarøde lyset ikke blir reflektert som i *reflectance* mode. Produsenten (Perkin-Elmer) rapporterer, ved bruk av µ-FT-IR om korrekt spekter for objekter ned til 10 µm (PerkinElmer, 2019).

Grensen for godkjent score i denne studien ble satt til 0,7. Dette betyr at det treffet i biblioteket med beste sammenhengen over  $score \geq 0,7$  ble valgt som godkjent. Unntak fra dette, var når flere spekter ga resultat om et spesifikt materiale mens dette ikke gjaldt materialet med best score. For eksempel ble polymer A tilsidesatt til fordel for polymer B dersom alle bibliotekene utenom den med best score ga utslag på polymer B. Partikler med verdi  $\leq 0,7$  er rapportert som ukjent.



Figur 15. Spotlight 200 – FT-IR mikroskop fra Perkins-Elmer. Kilde: PerkinElmer, 2019.

## 5.8 Blankprøver

Blankprøver er tatt parallelt med prøvene og har gjennomgått identisk de samme trinnene med prøvebearbeidelse som de reelle prøvene.

Alt arbeid med oksidasjon er gjennomført i avtrekkskap. For å få ned blankverdiene ble alt arbeidet etter hvert flyttet inn i et eget avtrekkskap som ble grundig vasket både før bruk og jevnlig underveis i arbeidet. Dette ga synlige resultater ved nedadgående antall partikler i blankprøvene fra studiens start mot studiens slutt.

Blankprøvene fra sedimentprøvene som er reanalysert er prøver som tidligere er gjennomgått den samme behandlingen som sedimentprøvene.

Det ble levert to feltblanker i form av tomme oppbevaringsglass. Disse skal ha stått åpne i tilsvarende tidsrom, og like lenge som sedimentprøvene med *Owenia* sp. var eksponert for luft etter prøvetagning med Van-Ween grab. Prøvene ble skylldt med metanol, og filteret ble filtrert på 26 µm filter på NGIs laboraorium.

Feltblanker fra prøvetagningen med Van-Veen grabb er en utfordring da blanke prøver i svært få tilfeller kan gjennomgå det eksakt samme testregime som prøver med materiale.

## 5.9 Kjemikalier

Følgende kjemikalier er brukt under analyse på laboratoriet.

Tabell 5. Liste over kjemikalier benyttet under studien.

Kjemikalium	Molekylær formel	Produsent/Distributør	Renhet (%)
Zinkklorid	ZnCl <sub>2</sub>	VWR International	97
Kalsiumklorid	CaCl <sub>2</sub>	VWR International	90-98
Hydrogenperoksid	30% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	VWR International	Analytical grade
Urea	CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	Sigma Aldrich	≥ 98
Thiourea	CH <sub>4</sub> N <sub>2</sub> S	Merck K GaA	≥ 98
Natrium hydroksyd	NaOH	Merck K GaA	99 – 100
Natrium dodecyl sulphate	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>11</sub> OSO <sub>3</sub> Na	Sigma Aldrich	≥ 99 (Chromatography)
Metanol	CH <sub>3</sub> OH	VWR International	nd.

## 5.10 Renhold på laboratoriet

En utfordring ved arbeid med mikropartikler er kontaminasjon. Under arbeidet med prøver er det brukt bomulls og ull-klær, laboratoriefrakk, briller og hansker. Alle glass, pinsetter, magnetrørere, flasker med metanol og milliQ vann og annet materiell som har vært i direkte kontakt med prøvene eller filterposene ble vasket minimum to ganger med milliQ vann for å til slutt bli skylldt med metanol. Samtlige prøver har gjennom alle trinn i prosessen vært tildekket med aluminiumsfolie. Luftforurensningen på laboratoriet ble testet flere ganger i løpet av studien, og det ble ikke avdekket mikroplast på 13 mm filter som ble lagt relevante steder på laboratoriet gjennom en dag med arbeid.

## 5.11 Analyse i Excel

Hvert filter analysert med FT-IR danner en liste, der hver linje representerer det skannede resultatet fra FT-IR-skanningen. Disse dataene eksporteres til Excel, der hvert filter representerer hver sin fane. Et forhåndsprogramert regneark (Excel) er tidligere benyttet som verktøy for analyse iblant annet rapporter til Miljødirektoratet og masteroppgaver (Miljødirektoratet, 2018b, Miljødirektoratet, 2019; Lilleengen, 2018; Signdahl-Larsen, 2019). Denne studien benytter samme regneark.

For å klassifisere hver partikkel som plast, organisk eller *petro-pyro* benyttes en Excel macro, som stadig utvikles under bruk. Macroen inneholder nå ca 900 av de ca 3000 forskjellige materialene i bibliotekene FT-IR-mikroskopet skanner resultatet mot. Dette betyr at dersom en partikkel får navnet «CH4O-1 METHANOL GAS BUTBER WASCHFL.CA 12% D=10CM», er dette i *macroen* oversatt til «Organic». Isteden for å måtte gjenkjenne eller søke opp hvert enkelt navn gitt i biblioteket forenkler dette prosessen og er tidsbesparende. For de resterende ca 2700 mulige treffene i biblioteket må man manuelt sette inn hvilket materiale som er funnet. Manuell gjennomgang av samtlige partikler skannet er derfor nødvendig.

Blankprøver legges i regnearket som de andre filtrene, men disse benyttes til å trekke fra materiale i de respektive prøvene de tilhører. Dette betyr i praksis at dersom det blir funnet fire PP, og to PE-klorert partikler i en prøve, og en PP og en PE-klorert i tilhørende blankprøve trekkes dette antallet fra prøven, og vi sitter igjen med en prøve med tre partikler PP og en PE-klorert som vi antar stammer fra marken, og ikke fra kontaminering på laboratoriet.

For sedimentprøvene er blank-verdien for PTFE satt til 1000. Dette da denne studien ikke kan rapportere om PTFE i sedimentprøver grunnet kontaminering fra en pakning i sediment-separatoren på toppen av tetthetsseparatoren (for utfyllende diskusjon av analyse av sedimenter, se 3.5 *Sedimenter*, side 18).

## 5.12 Kildeføring

Det er gjennom hele denne masteroppgaven benyttet kildeføring i henhold til retningslinjene for APA6. Det er for øvrig benyttet fotnoter noen få steder, der dette har syntes hensiktsmessig for at leseren raskt skal kunne benytte informasjon fra eksterne kilder uten å måtte ta seg fram i kildelisten. Dette gjelder linker til rapporter fra Miljødirektoratet, en nettside med rådata og nettsider om biota diskutert i denne oppgaven. Avviket i kildeføringen er gjort for å øke oppgavens lesbarhet.

## 6.0 Resultater og diskusjon: Hypotesene diskutert

Resultatene vil her bli presentert som både antall partikler pr. mark og ekstrapolerte data til antall partikler pr. gram og/eller kg. Videre blir det skilt mellom hel mark, og mark der marken og dets eksoskjelett er skilt fra hverandre. Sedimentprøvene blir i all hovedsak rapportert og diskutert som antall partikler pr. kg tørt sediment (dw). Når det rapporteres om vekt av sedimenter er det tørrvekt av sedimentene som rapporteres. Biota-sediment akkumulasjonsfaktor (BSAF) presenteres som forholdet mellom antall plastpartikler pr. gram våt mark opp mot antall plastpartikler pr. gram tørt sediment. Våt-vekt (ww) av mark er beregnet ut fra tørrvekt justert for faktor mellom tørr og våt mark beregnet ut fra et større antall mark. Dette da få mark veier svært lite og fordampning under veiing påvirker vekta (se Vedlegg: Tabell 4. og 5. for vektdata). Gjennomsnittelig prosentvis reduksjon i vekt ved tørking, var 35% med 18% variasjon mellom prøvene. Det er naturlig å tenke seg at oppbevaring i metanol har endret våt-vekten sammenlignet med naturlig vekt i sjøen.

Videre presenteres data over hvilke polymerer som ble funnet og andelen disse polymerene står for av den totale plastmengden identifisert.

Spektrum fra FT-IR undersøkelsene blir presentert i metodekapittelet for å belyse metodikken, mens spektrum ikke blir presentert her i resultatkapittelet. Dette da hver partikkel får hvert sitt spektrum, og det synes lite hensiktsmessig å presentere store mengder av disse rådataene. Et eksempel over rådata eksportert fra FT-IR-mikroskopet og til Excel, med hver partikkel identifisert som plast eller annet materiale er presentert i Tabell 6 i Vedlegg.

Blankprøver er rapportert som antall pr. prøve, og er trukket fra prøvene med innhold for hver respektive polymer. Vekt ble ikke benyttet for blankprøver da vekten i stor grad var under grensen for hva som kunne veies (LOD).

Resultatene fra konsentrasjon av mikroplast i *Owenia* sp. og sedimenter presenteres i Tabell 6, Tabell 7, Tabell 8, Tabell 9 og i Figur 16.

Produksjonen av forskjellige typer plast i verden, er mangefasettert, og distribusjonen i havet er global. Denne studien har ingen empiri over kildene til plasten som er funnet og rapportert i sedimenter og *Owenia* sp. og dette omtales derfor ikke i teksten.

Som nevnt i metodekapittelet er sedimentdataene justert for *recovery* blanker, ut fra tester av hvor mye materiale plast som blir borte under tetthetsseparasjon av sedimenter. Dette er ikke gjennomført for mikroplast i *Owenia* sp. grunnet lite tap under samme oksidasjon gjennomført av Olsen (upublisert). Tap av materiale under tetthetsseparasjon av *Owenia* er sannsynlig, men i mindre grad enn under separasjon av sedimenter. Manglende justering vil kunne ha påvirket prøvene i retning underestimering av konsentrasjonen av mikroplast. Konsentrasjonen, og i neste rekke BSAF som her presenteres er derfor heller et lavt, enn høyt estimat av den faktiske mikroplastkonsentrasjonen. Det ble her gjort en vurdering av kontaminering av utstyr og risiko for kontaminering av påfølgende prøver opp mot nytteverdien av å gjennomføre *spikete* prøver eller blanke *recovery*-tester fra tetthetsseparasjon i funnel, med dertil oksidasjon. Det ligger også en usikkerhet i hvor representative *recovery*-prøver i et tomt filter ville vært sammenlignet med *spikede* (tilsatte) partikler i tamakanalen til en mark, eller i eksoskjelettet. Det ble derfor tatt utgangspunkt i resultatene fra Olsen et al., (upublisert) der fant nær 100% *recovery* fra oksidasjonsprosessen.

Samtlige resultater er avhengige av hvilken FT-IR-score som er valgt som grensen for *godkjent* likhet opp mot biblioteket. Degradert materiale vil naturlig ha lavere score, og biblioteker med degraderte polymerer vil fram i tid gjøre at vi godkjenner partikler som plast, der vi i dag ikke kan gjøre det grunnet dårlig match mellom biblioteket (rene, nye partikler) og degraderte partikler. Minimumskonsentrasjon rapportert i denne studien er antall partikler som har gitt en likhet på  $\geq 0,7$  mellom et bibliotek polymerer og andre materialer, og den gitte partikkel analysert. Resultatene påvirkes av biblioteket for identifikasjon. Et bibliotek med degraderte polymerer ville gitt høyere score, og med det høyere konsentrasjon mikroplast.

Denne klare numeriske grensen for hva som regnes som godkjent gir rom for at prøver der oksidasjonen har vært ufullstendig eller bakgrunnsscanning eller kalibrering av instrumentet har vært suboptimal kan påvirke resultatene, og potensielt gi alle partiklene i den gitte prøven lavere score uten at dette betyr manglende tilstedeværelse av plast.

Mange filter som er analysert har hatt et svært stort antall partikler, og det er derfor foretatt en utvelgelse av en gitt prosentandel av filteret, der det siden er gjennomført en ekstrapolering for å komme fram til antall mikroplastpartikler i hele prøven (hele filteret). Utvelgelsen av en gitt prosentandel av filteret er basert på kvalitativ vurdering og er gjenstand for feilkilder og dette kan ha påvirket resultatene. For gjennomsnittsverdier kan man anta at eventuelle feil jevnes noe ut grunnet et større antall filter med både over, - og under estimat. Kvantitative mål på andelen og plasseringen av materiale på filteret vil kunne gjøre den nå kvalitative vurderingen kvantitativ. Dette kunne for eksempel vært gjennomført i programvaren ImageJ.

Mange studier velger innitielt, før bruk av FT-IR, å foreta visuell mikroskopi. Av tidshensyn, og manglende argumentasjon for hvorfor dette skulle være nyttig i denne studien ble ikke dette foretatt. En slik undersøkelse ville kunne gitt data om farge og form på partiklene. Dette kan i seg selv være interessant, men bruken av FT-IR i denne studien ga liten mulighet til sikker kobling mellom partikler studert i lysmikroskop og analysert i FT-IR. Dette syntes derfor overflødig. Visuell mikroskopi er også svært usikkert og en vil bruke mye tid på å studere partikler man ikke tror er plast, men som er plast, og mange partikler man tror er plast, men som ikke er plast (Song et al., 2015).

I tabellene står nd. for *no data*, altså ingen data.

### **6.1 Mikroplast i *Polychaeta*, *Owenia* sp. fra norsk kontinentalsokkel og Barentshavet**

Konsentrasjonen fra hver stasjon varierer fra  $11 \pm 15$  til  $792 \pm 1120$  partikler / gram (ww) og er representert både i eksoskjelettet og i marken (Tabell 6). I enkeltprøver er verdien fra 0 til 1583 for hele mark (kropp og tube). Forholdet mellom markens kropp og tube er ca 1:10. Altså ti ganger flere partikler i tuben, enn i kroppen. Med nedre *cut-off* på 45  $\mu\text{m}$  hva gjelder filterdiameter synes marken derfor hovedsakelig å opptre i eksoskjelettet. Gitt opptak av mindre partikler i andre filterfødende organismer synes det sannsynlig at forholdet ville vært annerledes, og med mere plast i marken dersom denne studien også så på mindre partikler. Setälä et al.,



(2014) viser at en rekke zooplankton kan ta opp mikroplast ned til 10  $\mu\text{m}$ . Denne studien synes med utgangspunkt i overnevnte å underestimere de totale konsentrasjonene av plast grunnet manglende mulighet for analyse av de minste partiklene. Mathalon og Hill (2014) argumenterer for at konsumering av mikroplast hos *Polychaeter* i stor grad er i likevekt med utskillelsen av disse gjennom avføringen. Gitt Mathalon og Hill (2014) sin studie er konsentrasjonen i kroppen i likevekt med partiklene marken spiser, og skiller ut som avføring. Dette vil for øvrig ikke gjelde markens tube. Resultatene her presentert står i kontrast til Van Cauwenberghe et al., (2015) som fant  $1,2 \pm 2,8$  (15-100  $\mu\text{m}$ ) partikler pr. gram biota *A. Marina* (børstemark), også etter at tarmkanalen var tømt. Det er således usikkert om majoriteten av mikroplastkonsentrasjonen funnet i kroppen til *Owenia* i denne studien (Tabell 6 og 7) stammer fra tarmkanalen eller om partikler har forflyttet seg ut av tarmkanalen.<sup>8</sup>

Fra Oslofjorden fant Bour et al., (2018) en til to mikroplasparktikler pr. individ børstemark. Konsentrasjon gjengitt pr. individ synes vanskelig å sammenligne med andre studier, men dersom det alikevel gjøres, finner denne studien noe mindre plast pr. individ, med et snitt på  $0,8 \pm 0,8$  partikler pr. individ (Tabell 7). Da Bour et al., (2018) ikke rapporterer om vekt eller antall partikler pr. vektenhet synes sammenligningen noe uhensiktsmessig. Muslinger (*Mytilus* sp.) er på den annen side undersøkt (Bråte et al., 2018), og konsentrasjon mikroplast er kalkulert pr. gram våt vekt. Her ble det funnet  $0,97 (\pm 2,61)$  partikler pr. gram våt vekt. Dette er betydelig mindre enn samtlige prøver i denne studien, der det ble funnet plast, med minste detekterte konsentrasjon i R1-14\_45 (hel mark) og Reg1(B)\_45, kropp (Tabell 6) med henholdsvis 21 og 37 partikler pr. gram våt vekt. Muslingene filtrerer forøvrig vannet, og prøvene ble tatt fra 0-2 meter under vann. Sammenligningen foretas da det er begrenset med studier omhandlende mikroplast i biota. De mest frekvente polymerene i muslingene var cellulosebaserte, samt EVA-skum, asfaltgummi og ellers en rekke andre polymerer. Denne studien om *Owenia* sp. utelater alle cellulosebaserte polymerer grunnet muligheten for feil match ved FT-IR, og forholdet mellom markens kropp i denne studien og Bråte et al., (2018) sine resultater fra blåskjell synes derfor enda større enn hva tallene i utgangspunktet tilsier. Bråte et al., (2018) ser *Mytilus* sp. som en potensiell art for overvåkning av mikroplast i vannmassene. Denne overvåkingen vil utelukkende finne plast suspendert i vannmassen. Resultatene fra *Owenia* sp., tilfører

---

<sup>8</sup>Det henvises her til det engelske begrepet *translocate*.

informasjon om plast som ender på havbunnen og som tas opp i biota. Med utgangspunkt resultater i Tabell 11 (s. 60) og forskning som tilsier at majoriteten av de polymerene som ender i havet ser ut til å ende på havbunnen (Kanhai et al., 2019; Van Cauwenberghe et al., 2013) er det ved valg av arter for miljøovervåkning av mikroplast, naturlig å velge arter som kan gjenspeile konsentrasjonen av mikroplast både i vannmassen og på havbunnen. Dette gjør ikke nødvendigvis *Owenia* sp. til en bedre art enn *Mytilus* sp. for overvåkning, men arten vil tilføre annen og ekstra informasjon.

Det ble funnet mikroplast i *Polychaeter*, *Owenida*, *Galethowenia Oculata* / *Owenida Fusiformis* både i sentrale Nordsjøen, nordlige Nordsjøen og i Barentshavet. Nullhypotesen ( $H0_1$ : *Mikroplast er ikke detekterbart i Polychaeter, Owenia sp. fra Norsk kontinentalsokkel og Barentshavet.*) er overordnet sett avkreftet, men i to prøver med *Owenia* sp. og en blandet *Polychaete*-prøve (Tabell 6) ble det ikke funnet mikroplast.

### 6.1.1 Mark samlet konsentrasjon

Resultatene i tabell 7, og visuelt framstilt i figur 16, viser gjennomsnittlig konsentrasjon av mikroplastpartikler fra alle stasjonene, der nedre *cut-off* 45  $\mu\text{m}$  ga  $0,8 \pm 0,8$  partikler pr. mark, og  $2,1 \pm 2,0$  partikler for nedre *cut-off* 26  $\mu\text{m}$ . Konsentrasjonen var høyere i det nordlige Nordsjøen sammenlignet med sentrale Nordsjøen og Barentshavet. Denne forskjellen er for øvrig ikke signifikant grunnet få målepunkter ( $n=2$ ) i nordlige Nordsjøen og Barentshavet sammenlignet med Sentrale Nordsjøen ( $n=8$ ). Forskjellen i konsentrasjon mellom 45  $\mu\text{m}$  – gjennomsnittelig  $339 \pm 525$  partikler / g (ww) og 26  $\mu\text{m}$  –  $920,8 \pm 821$  partikler / g (ww) synes tydelig (Tabell 7 og Figur 16), men heller ikke dette er signifikant, grunnet få prøver (liten  $n$ ). Resultatene er for øvrig overlappende med studier der en finner økt konsentrasjon av mikroplast i sedimenter med minkende størrelse (Bergmann et al., 2017), og en kan derfor forvente økt konsentrasjon av mikroplast ved minkende nedre størrelsesmessige *cut-off*. Samtidig vil faren for kontaminering under analyse, blant annet fra luftbårene kilder øke når man analyserer ser etter mindre partikler. Se ufullende diskusjon av Bergmans resultater i *kapittel 6.2.1*.

Tabell 7 viser standardavvik som kan gi negative resultater. Dette er naturlig nok ikke tilfellet, men denne fremstillingen (aritmetisk istedenfor geometrisk) er mye benyttet i rapportering av mikroplast, og visualiserer variasjonen omkring snittet av prøvene presentert. I tabell 7 er det også foretatt en kvalitativ vurdering av de kvantitative dataene, der kvaliteten på prøvene er visualisert ved en tredelt skala over prøvenes kvalitet; lav (0-5), medium (6-10) og høy (> 10) mikroplastpartikler i hver prøve etter fratrekk for blankprøvene. Desto flere partikler avdekket, desto mer robuste er resultatene. Dersom det bare er avdekket en partikkel, vil en partikkel i falsk positiv eller negativ retning gi en dobling eller ahvlering av resultatet. Få bekreftede mikroplastpartikler gir også en større ekstrapoleringsgrad, med dertil usikkerhet. Denne kvalitetsvurderingen er grunnet ekstrapolering ikke nødvendigvis i korrelasjon med antall partikler pr. gram.

Tabell 6. Konsentrasjon plast funnet i samtlige prøver. Prøvenavn stammer fra området de er tatt med henvisning til nærmeste oljefelt. Reg og R1 betyr regional – alstå områder utenfor oljefeltene. Prøvenavnene er ikke relevante i denne studien ut over av hensyn til systematisering.

Prøve	Antall mark (n)	Hel mark /tube/inmat	Mikroplast (partikler / individ)	Mikroplast (partikler /g ww)	Område
R1-4(4-5)_45	5	hel mark	0,8	204	Sentrale nordsjøen
R1-04 (4-5)_45	5	hel mark	0,9	179	Sentrale nordsjøen
R1-6-1,2,3_45*	15	hel mark	0,7	140	Sentrale nordsjøen
R1-06_45	5	hel mark	1,2	252	Sentrale nordsjøen
R1-9-1_45	5	hel mark	0,2	42	Sentrale nordsjøen
R1-9-2_45	5	hel mark	1,0	59	Sentrale nordsjøen
R1-14_45	5	hel mark	0,0	0	Sentrale nordsjøen
R1-14_45	5	hel mark	0,2	21	Sentrale nordsjøen
Val15_45	5	hel mark	1,9	883	Sentrale nordsjøen
ULA-06-A_45	5	hel mark	2,0	1319	Sentrale nordsjøen
ULA-06-B_45	5	hel mark	0,4	111	Sentrale nordsjøen
KRT-14-A_45	5	hel mark	0,0	0	Barentshavet
KRT-14-B_45	5	hel mark	0,4	95	Barentshavet
KF-2-6-A_45	5	hel mark	0,0	0	Barentshavet
KF-2-6-B_45	5	hel mark	2,4	1583	Barentshavet
KF-2-6-C_45	5	kropp	0,6	274	Barentshavet
KF-2-6(D)_45	5	kropp	0,0	0	Barentshavet
KF-2-6(C1)_45	10	eksoskjelett	1,2	2250	Barentshavet
KF-2-6(D1)_45	10	eksoskjelett	1,5	645	Barentshavet
Reg1(A)_45	2	kropp	1,0	130	Sentrale nordsjøen
Reg1(B)_45	2	kropp	1,2	37	Sentrale nordsjøen
Reg1 (A1)_45	2	eksoskjelett	1,0	609	Sentrale nordsjøen
Reg1(B1)_45	2	eksoskjelett	0,8	63	Sentrale nordsjøen
KV-01_45	13	hel mark	0,8	290	Nordlige nordsjøen
VI-30_45	10	hel mark	0,0	0	Nordlige nordsjøen

\*Denne prøven er en samlet konsentrasjon av 15 mark, fra samme stasjon. Data ble slått sammen for analyse i Excel, og gir ikke rom for å vise variasjonsbredde mellom hver av de tre prøvene som ligger til grunn for konsentrasjonen.

Tabell 7. Samlet mikroplastkonsentrasjon i hele Polychaeter fra alle prøvetagningsstasjoner slått sammen til gjennomsnitt der det forelå duplikater. Minimum 45 µm.

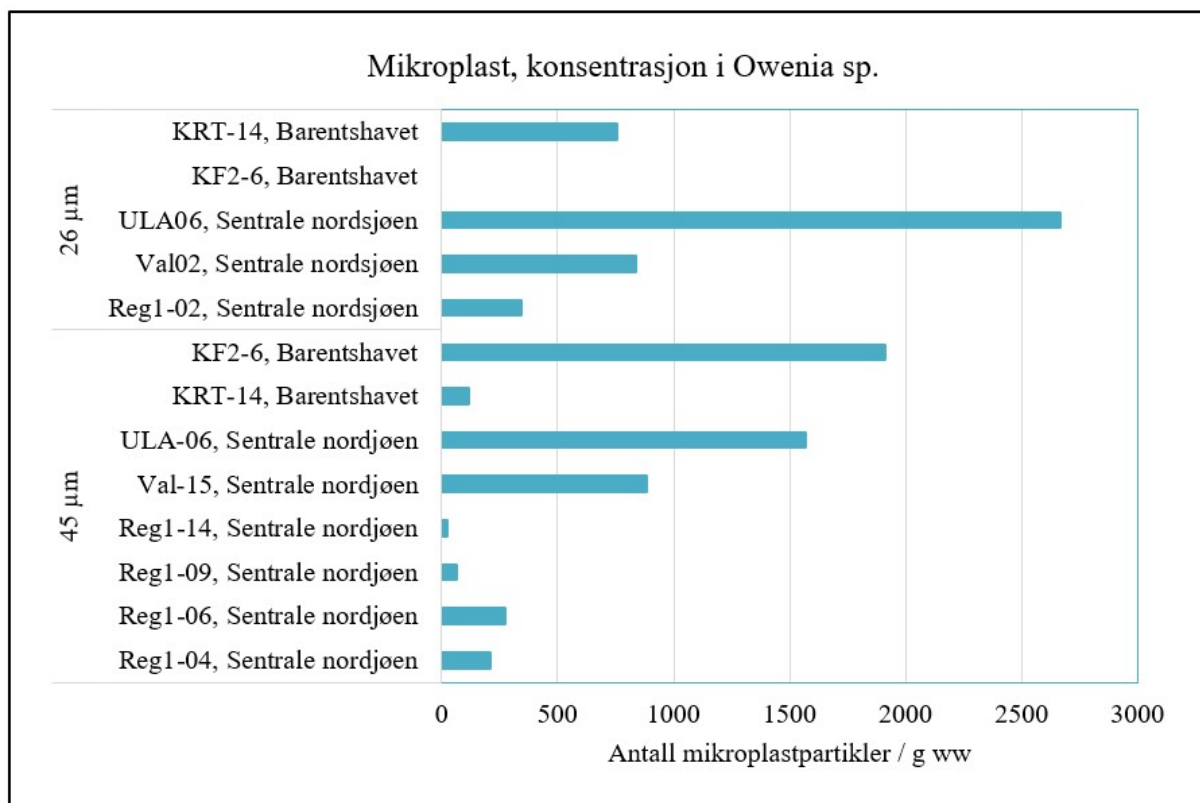
Station	Filter-diameter (µm)	Antall Owenia (n)	Mikroplast (partikler / individ)	Mikroplast (partikler /g ww)	Kvalitativ vurdering av prøvenes kvalitet. Lav, medium, høy.
Reg1-04	45	10	0,9 ± 0,1	191 ± 17	Medium
R1-06	45	5	1,2	252	Medium
Reg1-09	45	10	0,6 ± 0,1	51 ± 12	Medium
Reg1-14	45	10	0,1 ± 0,1	11 ± 15	Lav
Val-15	45	5	1,9	883	Medium
ULA-06	45	10	1,2 ± 1,4	715 ± 854	Høy
KRT-14	45	10	0,2 ± 0,3	48 ± 67	Lav
KF2-6	45	10	1,2 ± 1,7	792 ± 1 120	Medium
<b>Gjennomsnitt***</b>	<b>45</b>	<b>85</b>	<b>0,8 ± 0,8</b>	<b>339 ± 525</b>	
<i>R1-6-1,2,3</i>	45	15	0,7	140	Medium
<i>KV-01*</i>	45	13	0,8	290	Medium
<i>VI-30*</i>	45	10	0	0	Lav
Reg1-02	26	5	5,6	343	Høy
Val02	26	10	1,2	837	Høy
ULA06**	26	5	1,6	2667	Medium
KF2-6**	26	10	0	0	Lav
KRT-14**	26	10	1,9	757	Høy
<b>Snitt 26</b>	<b>26</b>	<b>40</b>	<b>2,1 ± 2,0</b>	<b>920,8 ± 821</b>	

\* Blandete prøver. Ikke artsbestemte Polychaeter uten tube.

\*\*Omtales ikke videre i teksten da disse stasjonene overlapper med prøver med nedre cut-off 45 µm og dermed kan sammenlignes med resultater fra sedimentene.

\*\*\* Skala basert på lav (0-5), medium (6-10) og høy (> 10) kvalitet på dataene. Antallet er plast, gummi eller oxy-resin partikler pr. filter etter fratrek for blankprøver. Få partikler gir høy grad av ekstrapolasjon og prøven blir sårbar for variasjon.

\*\*\*\*Gjennomsnitt av samtlige prøver som inngår. Hver enkelt prøve fra hver stasjon beregnet som en adskilt verdi. R1, 6-1,2,3 er holdt utenfor grunnet metodiske utfordringer med bruk av disse dataene for beregning av gjennomsnitt.



Figur 16. Visuell framstilling av kolonne fem i tabell 7, uten variasjonsbredde.

### 6.1.2 Mikroplast i tube og kropp, *Owenia*

Markens kropp viser seg (Tabell 8) å inneholde ca ti ganger mindre plast pr. gram enn markens tube. Det gjøres oppmerksom på at enda høyere grad av ekstrapolering ved resultater fra markens kropp (svært lav vekt) gir et mere usikkert resultat for markens kropp, enn for markens tube. Vekt av mark er presentert i Tabell 3, 4 og 5 i Vedlegg.

Tabell 8. Konsentrasjon plast. Summert for innmat vs. tube. Prøvene er slått sammen fra stasjoner definert i første kolonne.

Prøve	Område	Størrelse (µm)	Type prøve	Antall replikater (n)	Totalt antall mark (n)	Mikroplast (partikler /individ)	Mikroplast (partikler /g ww)
Reg1 og KF-2-6	Barentshavet og sentrale Nordsjøen	45	Kropp	4	14	0,5	49 ± 54
Reg1 og KF-2-6	Barentshavet og sentrale Nordsjøen	45	Tube	4	14	1,2	406 ± 430

Til tross for betydelig lavere konsentrasjon av mikroplast i markens kropp, enn i tuben, finner denne studien plast også i kroppen. Om dette er plast på veg gjennom tarmkanalen, eller plast som har beveget seg over i muskulaturen kan ikke denne studien belyse. Problemstillingen er diskutert i kapittel «6.0 Resultater og diskusjon: Hypotesene diskutert», fra side 45.

Konsentrasjonen i tube og kropp, opp mot hele mark er logisk, da konsentrasjonen pr. gram er høyere for tube, enn hele mark. Mellom kroppen og tuben vil det etter tørrvektprosenten å dømme ligge væske. Antall partikler pr. gram våt vekt vil derfor være høyere i tuben, da forskjellen mellom tørr og våt vekt er mindre for tube enn hel mark. Dette kan for øvrig ikke gi en ti ganger høyere konsentrasjon i tuben enn i marken.

Tuben bygges én gang i løpet av livet til *O. fusiformis* (Noffke et al., 2009). Det ble funnet 1,2 partikler pr. individ (Tabell 8) i markens tube, og sånn sett kan det virke usannsynlig at denne partikkelen vil påvirke hvert enkelt individ negativt, for eksempel ved overføring av labil POP fra overflaten (Paul-Pont et al., 2016; Cole et al., 2011; Ivar do Sul & Costa, 2014). Gitt riktighet i resultater presentert i Tabell 8, og dersom konsentrasjon på 0,5 partikler pr. individ i *Owenia*'s kropp til enhver tid er gjeldende, vil marken i løpet av et livsløp ha transportert et stort antall partikler gjennom tarmkanalen. Det er spekulert i om dette kan gi en toksikologisk risiko (Setälä et al., 2014; Paul-Pont, et al., 2016), uten at dette vil bli diskutert mere inngående her.

Fisk i Nordsjøen spiser *Owenia* sp., (Schückel, Ehrich, Kröncke and Reiss, 2010; Yeung og Yang, 2014; Källgren, Pedersen & Nilssen, 2015) og skiller ikke mellom tube

og kropp. Dette gjør distingsjonen mellom tube og kropp lite relevant for opptak til fisk, og med utgangspunkt i resultatene i Tabell 7 og figur 16, kan det synes som at fisken får i seg gjennomsnittelig  $339 \pm 525$  mikropartikler / g (ww) over  $45 \mu\text{m}$ , eller  $920,8 \pm 821$  mikroplastpartikler / g (ww) føde.

## 6.2 Sammenheng mellom konsentrasjonen av mikroplast i sedimentene og i *Owenia* sp. (BSAF).

### 6.2.1 Konsentrasjon i sedimenter

BSAF er beregnet ut fra resultatene fra sedimenter opp mot *Owenia* sp. Snittet av antall partikler funnet i sedimenter, ekstrahert av Øivind Lilleengen (2018) og presentert i Lilleengen (2018) og Miljødirektoratet (2018) gir en gjennomsnittlig minimumskonsentrasjon på 323 partikler/kg - med grense  $\geq 0,6$  mellom bibliotek og FT-IR-resultat - fra Barentshavet, 308 partikler/kg i sentrale Nordsjøen og 522 partikler/kg i nordlige Nordsjøen. Det totale snittet for minimumskonsentrasjon funnet i denne studien ( Tabell 9) er noe høyere, og med innberegnet Lilleengens bruk av lavere grense for «*godtatt partikkel*» viser reanalyserte prøver en betydelig høyere konsentrasjon enn tidligere resultater. Grunnet et begrenset antall målepunkter reanalysert hva gjelder sedimenter synes det lite hensiktsmessig å skille mellom de forskjellige regionene.

I

Tabell 9 vises gjennomsnittlig konsentrasjon, med et snitt på  $827 \pm 2\,151$  partikler pr. kg (dw). Vasking av filteret over på FT-IR-vennlige filter fremfor utplukking av materialet med pinsett og/eller spatel synes å være en sannsynlig årsak til disse økte verdiene. De reanalyserte dataene har sannsynligvis favnet bredere<sup>9</sup> hva gjelder størrelse, der flere små partikler har blitt overført til 13 mm filter sammenlignet med metodikken utført av Lilleengen (2018) og data presentert av Miljødirektoratet (Miljødirektoratet, 2018b). Resultatene i denne studien er sammenlignbare med konsentrasjonen plast funnet i sedimenter fra havner i Belgia (Claessens et al., 2011), men finner med hensyn til visuell identifikasjon og *cut-off* på  $100 \mu\text{m}$  fra kysten av Tunisia (Fastelli et al., 2016) mindre plast. Fra studie gjennomført av Bergman et al., (2017) fra havbunnen mellom

---

<sup>9</sup> Kan sammenlignes med økt romlig oppløsning.



Svalbard og Grønland (Hausgarten observatorium), ble det i snitt funnet 495 partikler pr. kilo tørt sediment > 50 µm. Resultatet i studien kan geografisk sett, i noen grad sammenlignes med denne studien, og de gir et noe sammenfallende resultat – 495 partikler pr. kg (dw) (Bergmann et al (2017) opp mot 827 partikler pr. kg (dw) i denne studien. Bergman et al., (2011) hadde en lavere størrelsesmessig *cut-off* enn denne studien og majoriteten av partiklene var mindre. Det er derfor naturlig å tenke seg at konsentrasjonen av plast i undersøkte områder er større enn det denne studien rapporterer, og at dette kunne blitt avdekket dersom nedre størrelsesmessige *cut-off* hadde vært mindre.

Tabell 9. Mikroplastkonsentrasjon i sedimenter.

Station	Mikroplast (partikler / kg dw)	Mikroplast (partikler / g dw)
Reg1-06	979	1,0
Reg1-09	76	0,1
Reg1-14	107	0,1
Val-15	89	0,1
ULA-06	1895	1,9
KRT-14	53	0,1
KF2-6	71	0,1
Reg1-02	0	0,0
Val02	395	0,4
<b>Snitt</b>	<b>407 ± 637</b>	<b>0,4 ± 0,68</b>
KV-01	405	0,4
VI-30	3370	3,4
<b>Snitt KV og VI</b>	<b>1 888 ± 2 097</b>	<b>1,9 ± 2,12</b>
<b>Totalt snitt alle stationer</b>	<b>827 ± 2 151</b>	<b>0,8 ± 2,3</b>

### 6.2.2 Biota-sediment-akkumulasjonsfaktor (BSAF)

BSAF for markens kropp, kan synes noe intetsigende da det er ukjent hvor stor andel av spiseadferden (furasjering) som foregår fra vannmassene sammenlignet med fra sedimentene, og forskjellig strategi for hvordan mat tas opp i forhold til hvordan tuben bygges. Dette rapporteres derfor ikke.

Vekt er basert på et estimat (formel 2.) - ikke på målinger - av både plastens gjennomsnittlige tetthet (basert på tettheten av de mest frekvente polymerene) og et estimat av størrelsen på plasten basert på visuelle observasjoner. Massen er beregnet ved følgende formel:

$$Masse_{partikkel}(\mu m) = V_{partikkel}(\mu m^3) \times P_{partikkel}\left(\frac{\mu m}{\mu m^3}\right)$$

Formel 2.

Usikkerhetsmomenter knyttet til estimat av gjennomsnittlig tetthet, størrelse og form svekker resultatene (i Tabell 10) noe opp mot beregningen av antall, basert på målinger av konsentrasjon i sedimenter og i *Owenia*. Det er naturlig at vekt-estimatet er noe mindre grunnet laver egenvekt på plasten enn sedimentene, men dette svarer ikke til hele forskjellen.

BSAF (kalkulert ved formel 3) varierer tallmessig fra faktor 1:1 til 1:9904. Variasjonen er altså stor ved estimat av forholdet mellom konsentrasjon av mikroplast i *Owenia* sammenlignet med omkringliggende sedimenter. Med utgangspunkt i en estimert gjennomsnittlig egenvekt på 1,2 g/ml for plastpartiklene, og et estimat om at de er sfæriske og 60  $\mu m$  i diameter, får vi en faktor fra 1:2 til 1:101 med et gjennomsnitt på  $29 \pm 21$ . Dersom vi reduserer den estimerte egenvekten til 1,1 og størrelsen på partiklene til 50  $\mu m$ , ender vi på en faktor fra 1:1 til 1:49 med et snitt på  $14 \pm 10$  (Tabell 10). Disse dataene gjelder tube-byggende *Owenia*, filtrert med filterdiameter 45  $\mu m$ ; sammenlignbart med sedimentene filtrert på 45  $\mu m$  filter.

Disse resultatene må sees i sammenheng med resultatene over hvilke polymerer som er mest frekvent i henholdsvis sedimentene og marken. De mest frekvente polymerene i sedimentene er ikke i særlig grad gjenspeilet i *Owenia* sp. Dette kan tilsa at estimatene over BSAF er underestimert (se side 60 og Tabell 12).

Det er altså en biota-sediment-akkumulasjonsfaktor (BSAF), (se Tabell 11 og 12) mellom sedimentene og *Owenia* sp. Nullhypotesen  $H_0$ : *Det er ingen sammenheng mellom konsentrasjonen av mikroplast i sedimentene og i Owenia*, synes derfor avkreftet

Biota-sediment akkumulasjonsfaktor (BSAF) er beregnet ved formelen:

$$BSAF = \frac{\text{antall MP i polychaeter (g ww)}}{\text{antall i sedimenter (g dw)}}$$

Formel 3.

Tabell 10. Sammenligning av konsentrasjon av mikroplast i *Polychaeter* og omkringliggende sedimenter. Biota-sediment-akkumulasjonsfaktor, BSAF.

Prøve	Filter $\mu\text{m}$	Område	Type prøve	BSAF (partikler / gww)/ (partikler / gdw)	BSAF ( $\mu\text{gMP}$ / gww)/ ( $\mu\text{gMP}$ / gdw) <sup>10</sup>	BSAF $\mu\text{gMP}$ / gww)/ ( $\mu\text{gMP}$ / gdw) <sup>11</sup>
Reg1-06	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	258	3	1
Reg1-09	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	729	16	8
Reg1-14	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	130	nd.	nd.
Val-15	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	9904	101	49
ULA-06	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	248	3	1
KRT-14	45	Barentshavet	Hel mark	770	6	3
KF2-6	45	Barentshavet	Hel mark	4089	43	21
KV-01 <sup>12</sup>	45	Nordlige Nordjøen	Hel mark	(716)	(7)	(4)
VI-30 <sup>11</sup>	45	Nordlige Nordjøen	Hel mark	nd.	nd.	nd.
<b>Gjennomsnitt</b>	45			<b>2 304 ± 1 464</b> <b>(2 106 ± 1 302)</b>	<b>29 ± 21</b> <b>(26 ± 18)</b>	<b>14 ± 10</b> <b>(12 ± 9)</b>
Reg1-02	26	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	nd.	nd.	nd.
Val02	26	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	2120	21	10

### 6.3 Polymersammensetning i *Owenia* og sedimenter

I synkende rekkefølge er de tre mest vanlige plast-polymerene funnet i *Owenia* sp. på norsk kontinentalsokkel og i Barentshavet er PET, PVC og polyakrylamid (Tabell 11). I eksoskjelettene er dominerende polymer Melamine, mens dominerende polymer i eksoskjelettene er PET. Hva som er årsaken til at verdens totale produksjon av forskjellige plast-

<sup>10</sup> Et overslag med utgangspunkt i at hver partikkel har en tetthet på 1,2 g/mL, har sverrisk form og diameter 60  $\mu\text{m}$ .

<sup>11</sup> Et overslag med utgangspunkt i at hver partikkel har en tetthet på 1,0 g/mL, har sverrisk form og diameter 50  $\mu\text{m}$ .

<sup>12</sup> KV-01 og VI-30 er stasjoner der det er tatt artsmessig blandet-prøver av *Polychaeter*. Ikke bare tube-byggende *O. fusiformis* eller *G. Oculata*. Det er her sett bort i fra nd.

sorter, og innholdet i *Owenia* sp. er forskjellig er vanskelig å si, men en jevn distribusjon i verdenshavene synes usannsynlig. For polymeren PP, blir denne funnet i sedimentene, og i marken, men mere i sedimentene. PP har en egenvekt på ca 0,92 g/ml og skulle i utgangspunktet flytt, og ikke sunket. Som diskutert tidligere er det flere teorier for hvordan plast ender nedover i vannsøylen eller på bunnen til tross for lav tetthet. Blant annet kan dannelse av biofilm (Kooi, 2017; Rummel et al., 2017) og innkapsling i avføring fra zooplankton (Cole et al., 2016) øke egenvekten og gi sedimentasjon av ellers lette partikler.

En av grunnene til at *Owenia* sp. ikke tar opp PP plast i like stor grad som PET, PVC og polyakrylamid kan nettopp være PP sin lave egenvekt. *Owenia* sp., er funnet å selektivt velge tunge mineraler til bygging av tube, noe som kanskje kan ha sammenheng med nevnte forskjell i konsentrasjon mellom sedimenter og mark hva gjelder PP (Noffke et al., 2009).

Antall prøver gir ikke mulighet for sikre korrelasjonsanalyser og det kan ikke utelukkes at forskjellen i konsentrasjon av PP mellom sedimenter og mark ikke er valid.

Materialsammensetninger er sammensatt, men sammenfaller i noe grad med både hypotesen, og produksjonen i verden. Nullhypotesen  $H_0$ : *Dominerende polymerer er ikke polyethylentereftalat (PET), polyetylen (PE), polypropylen (PP) og polivinylklorid (PVC)*, er delvis avkreftet, men ikke fullstendig.

### 6.3.1 Sammensetning av mikroplastpartikler funnet i *Polychaeter*

Tabell 11. Frekvens av polymerer i *Owenia* sp. («mest frekvent», «nest mest» og «tredje mest» frekvent) basert på prosentvis sammensetning av partikler (ekstrapolert til helt filter) analysert med FT-IR.

Station	Filter $\mu\text{m}$	Område	Type prøve	Mest frekvent polymer	Nest mest frekvent polymer	Tredje mest frekvente polymer
Reg1-06	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Polyakrylamide	Phenoxy Resin	PET
Reg1-09	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	PE	PE:PE	nd.
Reg1-14	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	PE:PP	nd.	nd.
Val-15	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	PET	Nylon	Gummi
ULA-06	45	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	Polyaklylamid	PVC	nd.
KRT-14	45	Barentshavet	Hel mark	PP	nd.	Nd.
KF2-6	45	Barentshavet	Hel mark	PET	PP-klorert	PVC
KV-01 <sup>13</sup>	45	Nordlige Nordjøen	Hel mark	PVC	nd.	nd.
VI-30	45	Nordlige Nordjøen	Hel mark	nd.	nd.	nd.
Reg1 & KF-2-6	45	Sammenstilt	Innmat	Melamine	PU	PP
Reg1 & KF-2-6	45	Sammenstilt	Tube	PET	PE-klorert	PVC
Reg1-02	26	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	PVC	Ubestemt plast	Gummi
Val02	26	Sentrale Nordsjøen	Hel mark	PET	Gummi	nd.

### 6.3.2 Sammensetning av polymerer i sedimenter opp mot *Owenia* sp.

Sammensetningen av polymerer identifisert med FT-IR-mikroskopi i sedimenter sammenliknet *Owenia* sp. er til dels samenfållende (Re1 & KF-2-6, Val-02), men spriker også betydelig.

Funnene av Polyakrylamid i *Owenia* sp. er et av resultatene som skiller seg ut, da Polyakrylamid

<sup>13</sup> KV-01 og VI-30 er stasjoner der det er tatt artsmessig blandet-prøver av Polychaeter. Ikke bare tubebyggende *O. fusiformis* eller *G. Oculata*

i liten grad er å finne i sedimentprøvene (Tabell 12, og Tabell 1 i Vedlegg). Polyakrylamid (PAM) er et materiale som benyttes av oljebransjen, blant annet til å minimere friksjonen mellom en væske og et rør væsken pumpes gjennom, og til fracking (Xiong et al., 2018). PAM benyttes også som et anti-jord erosjonsmiddel i jordbruket (Weston et al., 2009). I norsk sammenheng benyttes det blant annet ved produksjonen av biogass hos Oslo kommune, der tørrstoffet i siste rekke benyttes som gjødsel med inntil 0.1% innhold av PAM (Serikstad, 2015, s. 25). Tilstedeværelsen av stoffet i Nordsjøen og Barentshavet er derfor ikke ulogisk, sett med utgangspunkt iblant annet oljebransjens tilstedeværelse i regionen. Det er for øvrig, i denne studien, ikke mulig med bakgrunn i empiri, å si noe om årsakene til at PAM i liten grad er tilstede i sedimentprøvene, men opptrer i både hele mark, og markens tube adskilt. Det er interessant at *Owenia* selektivt velger denne polymeren eller partikler der denne polymeren er til stede på partikkelens overflate. Denne studien omhandler ikke PAMs eventuelle toksisitet eller effekt på biota (Se *Kapittel 8.0*).

Klorert polyethylene (PE) er en polymer som er funnet mest frekvent i flere sedimentprøver, men som også i liten grad er funnet i *Owenia*. Dette gjelder både hele mark, og markens kropp. Klorinert PE har en egenvekt på 0.93-0.96 g/cm<sup>3</sup> i ren utgave. Som føde, har *Owenia fusiformis* vist seg å selekere lette partikler framfor tunge (Self og Jumars, 1988), og på fjerde plass over mest frekvente polymerer, er nettopp PE-plast representert, utelukkende i markens kropp (Tabell 2 i Vedlegg). En sammenligning av markens kropp og sedimentene er for øvrig vanskelig da *Owenia* sp. henter partikler både fra vannmassene og sedimentene, med ukjent andel av hver (Noffke et al., 2009). Gummi synes å være vanlig i sedimentene, men finnes i liten grad i *Owenia* sp. (Tabell 12). Igjen kan det virke sannsynlig at marken selektivt velger harde partikler (Fager, 1964; Noffke et al., 2009), også når de benytter plastpartikler i bygging av eksoskjelett, med mindre disse er falskt positive resultater fra prøvetagningen av sedimenter. PET og PVC er harde plast-sorter og er de vanligste polymerene funnet i *Owenia* sp. rapportert i denne studien. (Tabell 12.). Ingen prøver utenom Val02 viser overlappende resultater mellom sedimenter og *Owenia* sp, når det kommer til hvilke polymerer som er mest, eller nest mest frekvent.

Tabell 12. Sammenligning av polymerer i sedimenter og i *Owenia* sp.

Station	Mest frekvent polymer Sediment	Nest mest frekvent polymer Sediment	Type prøve i <i>Owenia</i> sp.	Mest frekvent polymer <i>Owenia</i>	Nest mest frekvent polymer <i>Owenia</i>
Reg1-06	Gummi	PE-oksideret	Hel mark	Polyakrylamide	Phenoxy Resin
Reg1-09	PP	PE-klorosulfonert	Hel mark	PE	PE:PE
Reg1-14	PP	PVC	Hel mark	PE:PP	nd.
Val-15	PS	PVC	Hel mark	PET	Nylon
ULA-06	PET	PS	Hel mark	Polyakrylamid	PVC
KRT-14	Gummi	Phenoxy Resin	Hel mark	PP	nd.
KF2-6	PE-kloretert	nd.	Hel mark	PET	PP-kloretert
<i>KV-01<sup>14</sup></i>	<i>Gummi</i>	<i>PE:PP</i>	<i>Hel mark</i>	<i>PVC</i>	<i>nd.</i>
<i>VI-30<sup>15</sup></i>	<i>Phenoxy Resin</i>	<i>nd.</i>	<i>Hel mark</i>	<i>nd.</i>	<i>nd.</i>
Reg1 & KF-2-6	nd. og PE-kloretert	nd. og PE:PP	Kropp	Melamine	PU
Reg1 & KF-2-6	nd. og PE-kloretert	nd. og PE:PP	Tube	PET	PE-kloretert
Reg1-02	nd.	nd.	Hel mark	PVC	Ubestemt plast
Val02	Gummi	PE-kloretert	Hel mark	PET	Gummi

<sup>14</sup>Blandete Polychaeter. Ikke tubebyggende.

<sup>15</sup>Blandete Polychaeter. Ikke tubebyggende.

## 6.4 Validitet og reliabilitet

Dataenes kvalitet, og dertil generaliserbarhet ville økt ved flere replikater fra hver stasjon. For seks av åtte prøver med 45 µm som nedre *cut-off* er det benyttet duplikater, men stor variasjon gjør at triplikater hadde vært å foretrekke. Variasjonen totalt sett mellom disse prøvene var fra 0 til 1583 mikroplastpartikler pr. gram våt vekt hel havbørstemark. Også to replikater fra samme geografiske sted ga en variasjon på nært hundre ganger. Validiteten, og med det generaliserbarheten kunne økt ved triplikater fra alle stasjonene. Hovedårsaken til at dette ikke ble gjennomført, er bruk av feil filter i starten av prosjektet. Høyt sannsynlig skyldtes dette en feil fra fabrikkens side. Dette gikk utover tidsbruken og deler av prøvene måtte forkastes.

Hadde prøvene også blitt analysert med andre analytiske metoder enn FT-IR kunne dette gitt komplementære resultater, som også ville økt reliabiliteten og i neste rekke studiens kredabilitet som helhet. Raman-spektroskopi og Gass-Cromatografi-Masse Seppektroskopi (GC-MS) er eksempler på mulige analyseformer, mye brukt på mikroplast, som ville vært aktuelle metoder for analyse av de samme prøvene. Feltblanken fra prøvetagningen ute i båt (tomme glass) ble filtrert og analysert kvalitativt; visuelt. Det ble avdekket enkelte fiber, og én partikkel. Fiber var i liten grad en del av mikroplasten funnet i *Owenia* sp. Som en oppfølging, ble det foretatt visuell analyse med lysmikroskop, av et 26 µm filter der det ble dryppet 10 dråper metanol fra en av prøveglassene med *Polychaeter* på filteret. Her ble det avdekket en partikkel, men denne var mindre enn 45 µm i diameter. Ti dråper metanol veide ca. 0.04 g og svarer dermed til vekten av fra en til to hele prøver (med fem *Owenia* sp.). Kontamineringen under prøvetagning synes med utgangspunkt i dette neglisjerbar, men flere triplikater med feltblanker burde ideelt sett fulgt prøvene helt fra utvasking og prøvetagningen med Van Veen grabb, sortering av biota og til laboratoriet på NGI, og blitt analysert kvantitativt for å kvalitetssikre dataene ytterligere. Bruk av «dummy»-mark gjennom hele prosessen ville også kunne gjort feltblankene likere de reelle prøvene, men dette er ikke gjennom denne studien funnet brukt av andre forskningsmiljøer.

Metodikk for realistiske feltblanker under sortering, artsbestemming og prøvetagning med Van Veen grab vil altså kunne økt kvaliteten på resultatene. Uten dette vil dataene potensielt kunne gi falskt positive resultater. Motsatt kan manglende *recovery-blank* prøver fra oksidasjon og tetthetsseparasjon gi falskt negative resultater, og med det underestimering av konsentrasjon. I en studie gjennom NGUs Mareano-prosjekt, gjennomført av NGI, ble det for sedimentprøver funnet



at falskt positive resultater hovedsakelig kom fra kontaminering under prøvetagning i felt, og under analyse i laboratoriet (Pers. med. Heidi Knutsen, 2019).

Valg av annen grenseverdi for godkjent vs. ikke godkjent identifikasjon av spekteret (FT-IR) for hver partikkel sammenlignet med spekter-bibliotek ville gitt andre resultater. Det samme er tilfellet dersom det hadde blitt benyttet andre kriterier for hva som ble regnet som godkjent eller ikke godkjent. Sannsynligvis ville analysen blitt mere presis dersom spektervidden hadde vært rettet spesifikt mot visse spekterområder. Motsatt kunne dette gitt falskt negative svar dersom det var antropogene partikler med bølgespekter utenfor det gitte fokusområde.

Deteksjonsgrense for antall mikroplastpartikler, er i denne studien ikke basert på vekt, da de fleste blankprøvene da ville vært under den vektmessige deteksjonsgrensen. Deteksjonsgrensen i studien kan sies å være grensen for godtatt identifikasjon mellom polymerbibliotek og FT-IR-score. For ytterligere konservativt mål på antall sikre plastpartikler funnet, vil en dobling, tredobling eller tidobling av blankprøvene være aktuelt. Et altfor konservativt krav kan gi negative resultater, og i motsatt ende vil et lavt krav gi falskt positive resultater. Isolert sett gir benyttet metodikk for blank-korreksjon større sjanse for falskt positive, enn falskt negative resultater.

## 7.0 Hva betyr resultatene i et videre perspektiv?

Hovedfunnene i denne studien er at mikroplast spises av *Polychaeter*, *Owenia* (*Galethowenia Oculata* sp. / *Owenia Fusiformis* sp.) og at disse selektivt velger ut plastpartikler under bygging av eksoskjelett/tubestruktur. De vanligste polymerene detektert i marken sammenlignet med de vanligste i sedimentene overlapper noe, men ikke fullstendig. Dette styrker funnene av selektiv utvelgelse av visse polymerer. Den mest vanlige polymeren i markens kropp er funnet å være Melamin, mens den mest vanlige i tubnestrukturen, og marken sett under ett er Polyvinylklorid (PVC). Konsentrasjonen i eksoskjelettet var også betraktelig høyere enn i kroppen. Faktoren mellom sedimenter og *Owenia* (BSAF) er funnet å være fra 1:1 til 1:9904 avhengig av hvilken prøve som er beregnet, og om beregningen er gjort på bakgrunn av antall partikler, eller ved en estimert vekt av plast opp mot sedimenter.

Det er beregnet forskjellige BSAF-verdier, og hvilke polymerer som er tilstede i sedimenter og i *Owenia* sp. fra både norsk kontinentalsokkel og Barentshavet. Studien har ikke avdekket kilder til disse polymerene, ei heller effekt partiklene kan ha på biota.

Prøvene er tatt i mai-juni (pers. med. Møskeland, 2019). Dette betyr at *Owenia* er i en periode der de spiser fra vannmassene, grunnet oppblomstring i havet. En tilsvarende studie som denne, men der prøvene hadde blitt tatt om vinteren, når marken er i dvaletilstand ville kunne avdekket om plasten funnet i kroppen hovedsakelig stammer fra tarmkanalen og fortløpende skiftes ut, eller om de har beveget seg over i kjøttet. En kan med utgangspunkt i årstiden anta at *Owenia* undersøkt i denne masteroppgaven hadde føde i tarmkanalen.

Mikroplast som blant annet tas opp i *Owenia*, og som igjen blir spist av fisk og bunnlevende (bentiske) organismer (Schückel, Ehrich, Kröncke and Reiss, 2010; Yeung og Yang, 2014; Källgren, Pedersen og Nilssen, 2015) vil bidra til mobilisering av mikroplast fra sedimentene og tilbake inn i næringskjeden. Gitt at resultatene i denne studien er riktig, kan mikroplast istedenfor å sedimenteres vertikalt nedover i havbunnen, bidra til at plasten blir værende i de øvre sedimentlagene, gjennom akkumulasjon i tube-byggende *Polychaeter*, eller ved at disse tilbakeføres til annen biota. Dette står i kontrast til laboratorietester av *Polychaeten A. Marina* sp. der disse bidro til bioturbasjon av plast nedover i sedimentene (Gebhardt & Forster, 2018). Dominerende art havbørsteormer kan derfor synes å påvirke hvordan mikroplast vil distribueres.

Funnene av mikroplast viser i et bredere perspektiv menneskets påvirkning av alle jordens utposter. Studien føyer seg dermed i rekken av studier som finner mikroplast i både sedimenter og biota i fjerntliggende områder på kloden (Se eksempelvis: Van Cauwenberghe et al., 2013; Kanhai et al., 2019; Besseling et al., 2012; Setälä et al., 2014).

Denne studien avdekker havbørsteormer i familien *Owenia* sp. som en mulig art for biomonitorering av mikroplast. Familien finnes naturlig i rikt antall over store geografiske områder, forskjellige steder i verden og mikroplastkonsentrasjonen i disse organismene kan si noe om både konsentrasjon og polymersammensetning i vannsøylen rett over havbunnen, og i havbunnsedimenter de siste to årene. Dette gjør arten lite sårbar for temporære svingninger, men kan gi et bilde av konsentrasjon over et lengere tidsspenn.

I geopolitikken begynner plast og plast på avveie, å komme på agendaen. I 2015 implementerte EU-kommisjonen en plan for sirkulærøkonomi. I denne er plast rangert som “key priority” og i januar 2018 kom en egen strategiplan for plast fra EU-kommisjonen (European Commission, 2018). Denne stemte europaparlamentet over, og forbud mot bruk av engangsplast ble innenfor EU vedtatt ved lov i desember 2018 og trer i kraft i 2021 (European Parliament, 2018). Dette er et skritt i retning av reduserte utslipp, med global befolkningsvekst, og til nå stadig økende produksjon av plast (Jambeck et al., 2015), tilsier fortsatt prognosene at produksjon og i neste rekke utslippene vil øke. Til tross for at kunnskapen om effekter av mikroplast er begrenset, tilsier laboratoriestudier at artsmangfold kan reduseres ved høye mikroplastkonsentrasjoner (Green et al., 2015), og forflytning fra tarmkanalen kan forekomme (Farrell & Nelsson, 2013; Wright et al., 2013; World Health Organization, 2019; review av Hussain, Jaitley og Florence, 2001). Resultatene presentert i denne masteroppgaven, føyer seg i rekken av studier som avdekker mikroplast i organismer i fjerntliggende strøk.

## 8.0 Kilder

- Abidli, S., Antunes, J. C., Ferreira, J. L., Lahbib, Y., Sobral, P. & Menif, N. T. E. (2018). Microplastics in sediments from the littoral zone of the north Tunisian coast (Mediterranean Sea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 205, 1-9. DOI: 10.1016/j.ecss.2018.03.006
- Anderson, D. T. (2001). Polychaetes and allies: The southern synthesis. Fauna of Australia. Vol 4a. Polychaeta, Myzostomida, Pogonophora, Echiura, Sipuncula. *Bulletin of Marine Science*, 68(2), 180-206.
- Andrady, A. L. (2017). The plastic in microplastic: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 119(1), 12-22. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.01.082
- Andrady, A. L. & Neal, M. L. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philos. Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 364(1526), 1977-1984. DOI: 10.1098/rstb.2008.0304
- Avio, G. C., Gorbi, S., Milan, M., Benedette, M., Fattorini, D., d'Errico, G., ..., Regoli, F. (2015). Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Pollution*, 198, 211-222. DOI: 10.1016/j.envpol.2014.12.021
- Bakir, A., Rowland, S. J. & Thompson, R. C. (2012). Competitive sorption of persistent organic pollutants onto microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 2782-2789. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2012.09.010
- Ballent, A., Corcoran, P. L., Madden, O., Helm, P. A. & Longstaffe, F. J. (2016). Sources and sinks of microplastics in Canadian Lake Ontario nearshore, tributary and beach sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 383-395. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.06.037
- Bergmann, M., Wirzberger, V., Krumpfen, T., Lorenz, C., Primpke, S. & Tekman, M. B. (2017). High Quantities of Microplastic in Arctic Deep-Sea Sediments from the HAUSGARTEN Observatory. *Environmental Science and Technology*, 51(19), 11000-11010. DOI: 10.1021/acs.est.7b03331
- Bergmann, M., Wirzberger, V., Krumpfen, T., Lorenz, C., Primpke, S. og Tekman, M. B. (2017). High Quantities of Microplastic in Arctic Deep-Sea Sediments from the HAUSGARTEN Observatory. *Environmental Science and Technology*, 51(19), 11000-11010. Rådata hentet fra: <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.879737?format=html#download>
- Besseling, E., Wegner, A., Foekema, A. M., van den Heuvel-Greve, M. J. & Koelmans, A. A. (2013). Effects of Microplastic on Fitness and PCB Bioaccumulation by the Lugworm *Arenicola marina* (L.) *Environmental Science & Technology*, 47, 593-600. DOI: 10.1021/es302763x
- Bolton, T. F. & Havenhand, J. N. (1998). Physiological versus viscosity-induced effects of an acute reduction in water temperature on microsphere ingestion by trochophore larvae of the serpulid polychaete *Galeolaria caespitosa*. *Journal of Plankton Research*, 20(11), 2153-2164. DOI: 10.1093/plankt/20.11.2153

- Bour, A., Avio, C. G. Gorbi, S., Regoil, F. & Hylland, K. (2018). Presence of microplastics in benthic and epibenthic organisms: Influence of habitat, feeding mode and trophic level. *Environmental Pollution*, 243, 1217- 1225. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.09.115
- Brandon, J., Goldstein, E. & Ohman, M. D. (2015). Long-term aging and degradation of microplastic particles: Comparing in situ oceanic and experimental weathering patterns. *Marine Pollution Bulletin*, 110, 299-308. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.06.048
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T. & Thompson, R. (2011). Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *Environmental Science & Technology*, 45, 9175-9179. DOI: 10.1021/es201811s
- Browne, M. A., Dissanayake, A., Galloway, T.S., Lowe, D. M. & Thompson, R. C. (2008). Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science and Technology*, 42(13), 383-393. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.08.077
- Bråte, I. L. N., Hurley, R., Iversen, K., Beyer, J., Thomas, K. V., Steindal, C. C., Green, N. W., ... Lusher, A. (2018). *Mytilus* spp. as sentinels for monitoring microplastic pollution in Norwegian coastal waters: A qualitative and quantitative study. *Environmental Pollution*, 243, 383-393. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.08.077
- Carlini, G. & Kleine, K. (2018). Advancing the international regulation of plastic pollution beyond the United Nations Environment Assembly resolution on marine litter and microplastics. *RECIEL*, 27, 234-244. DOI: 10.1111/reel.12258
- Caron, A. G. G., Thomas, C. R. Berry, K. L. E., Motti, C. A., Ariel, E. & Brodie, J. E. (2018). Validation of an optimised protocol for quantification of microplastics in heterogenous samples: A case study using green turtle chyme. *MethodsX*, 1, 812-823. DOI: 10.1016/j.mex.2018.07.009
- Claessens, M., De Meester, S., Van Landuyt, L., De Clerck, K. & Janssen, C. R. (2011). Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 62(10), 2199-2204. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2011.06.030
- Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Clarc, J., Lewis, C. Halsband, C. & Galloway, T. S. (2016). Microplastics Alter the Properties and Sinking Rates of Zooplankton Faecal Pellets. *Environmental Science and Technology*, 50(6), 3239-3246. DOI: 10.1021/acs.est.5b05905
- Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C. & Galloway, T. S. (2015). The Impact of Polystyrene Microplastics on Feeding, Function and Fecundity in the Marine Copepod *Calanus helgolandicus*. *Environmental Science & Technology*, 49, 1130-1137. DOI: 10.1021/es504525u
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C. & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 63, 2588-2597. DOI:10.1016/j.marpolbul.2011.09.025
- Crawford, C. B. & Quinn, B. (2017). *Microplastic Pollutants*. Amsterdam: Elsevier Inc.

- Dales, R. P., (1957). The feeding mechanism and structure of the gut of *Owenia fusiformis* Delle Chiaje. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 36, 81-89. DOI: 10.1017/S0025315400017082
- Ege, R. T. (20. Jan. 2016). I 2050 er det mere plast enn fisk I havet. *Verdens gang (VG)*. Hentet fra: <https://www.vg.no/nyheter/utenriks/i/72EM3/i-2050-er-det-mer-plast-enn-fisk-i-havet> (November 2019).
- Enders, K., Lenz, R., Stedmon, C. A. & Nielsen, T. G. (2015). Abundance, size and polymer composition of marine microplastics  $\geq 10 \mu\text{m}$  in the Atlantic Ocean and their modelled vertical distribution. *Marine Pollution Bulletin*, 1(15), 70-81. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.09.027
- Eriksen, M., Lebreton L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C. ... Reisser, J. (2014) Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLOS ONE* 9(12): e111913. DOI: 10.1371/journal.pone.0111913
- European Commission. (2018). *COMMUNICATION FROM THE COMMISSION TO THE EUROPEAN PARLIAMENT, THE COUNCIL, THE EUROPEAN ECONOMIC AND SOCIAL COMMITTEE AND THE COMMITTEE OF THE REGIONS, A European Strategy for Plastics in a Circular Economy* (SWD(2018) 16 final). Hentet fra: [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/api/files/document/print/en/ip\\_18\\_5/IP\\_18\\_5\\_EN.pdf](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/api/files/document/print/en/ip_18_5/IP_18_5_EN.pdf)
- European Parliament. (2019). *Directive (EU) 2019/904 of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 on the reduction of the impact of certain plastic products on the environment*. Hentet fra: <http://data.europa.eu/eli/dir/2019/904/oj>
- Fabrega, J., Luoma, S. N., Tyler, C. R., Galloway, T. S. & Lead, J. R. (2011). Silver nanoparticles: Behavior and effects in the aquatic environment. *Environmental International*, 37(2), 517-531. DOI: 10.1016/j.envint.2010.10.012
- Farrell, P. & Nelson, K. (2013). Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution*, 188, 1-3. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.01.046
- Fastelli, P., Blašković, A., Bernardi, G., Romeo, T., Čížmek, H., Andaloro F., ... Renzi, M. (2016). Plastic litter in sediments from a marine area likely to become protected (Aeolian Archipelago's islands, Tyrrhenian sea). *Marine Pollution Bulletin*, 113(1-2), 526-529. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.08.054
- Frias et al., (2018). *Standardised protocol for monitoring microplastics in sediments*. JPI-Oceans BASEMAN project. DOI: 10.13140/RG.2.2.36256.89601/1
- Frias, J. P. G. L., Sobral, P. & Ferreira, A. M. (2010). Organic pollutants in microplastics from two beaches of the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, 60, 1988-1992. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2010.07.030
- Gebhardt, C. & Forster, S. (2018). Size-selective feeding of *Arenicola marina* promotes long-term burial of microplastic particles in marine sediments. *Environmental Pollution*, 242(B), 1777-1768. DOI: 10.1016/j.envpol.2018.07.090

- Gentil, F., Dauvin, J. C. & Menard, F. (1990). Reproductive biology of the -IRaete *Owenia fusiformis* Delle Chiaje in the Bay of Seine (eastern English Channel). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 142, 13-23. DOI: 10.1016/0022-0981(90)90134-X
- Germanov, E. S., Marshall, A. D., Bejder, L., Fossi, M. C. & Loneragan, N. R. (2018). Microplastics: No Small Problem for Filter-Feeding Megafauna. *Trends in Ecology & Evolution*, 33(4), 227-232.
- GESAMP (2016). *Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment*. (Kershaw, P. J., ed.). (IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection). Rep. Stud. GESAMP No. 90, 96 p. Publisert av: International Maritime Organisation.
- Geyer, R., Jambeck, J. R. & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7). DOI: 10.1126/sciadv.1700782
- Goda, K. & Jalali, B. (2013). Dispersive Fourier transformation for fast continuous single-shot measurements. *Nature Photon*, 7, 102-112. DOI: 10.1038/nphoton.2012.359
- Green, D. S. (2016). Effects of microplastics on European flat oysters, *Ostrea edulis* and their associated benthic communities. *Environmental Pollution*, 216, 95-103. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.05.043
- Grigorakis, S., Mason, S. A. & Drouillard, S. (2017). Determination of the gut retention of plastic microbeads, and microfibers in goldfish (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, 169, 233-238. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.11.055
- Harrison, J. P., Schratzberger, M. S. M. & Osborn, A. M. (2011). Interactions Between Microorganisms and Marine Microplastics: A call for research. *Marine Technology Society Journal*, 45(2), 12-20. DOI: 10.4031/MTSJ.45.2.2
- Harrison, J. P., Schratzberger, M. S. M. & Osborn, A. M. (2014). Rapid bacterial colonization of low-density polyethylene microplastics in coastal sediment microcosms. *BMC Microbiology*, 14(232). DOI: 10.1186/s12866-014-0232-4
- Hartmann, N. B., Hüffer, T., Thompson, R. C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A. E., Rist, S., ... Wagner, M. (2019). Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environmental Science and Technology*, 53(3), 1039-1047. DOI: 10.1021/acs.est.8b05297
- Hartmann, N. B., Rist, S., Bodin, J., Jensen, L. H. S., Schmidt, S. N., Mayer, P. ..., Baun, A. (2017). Microplastics as Vectors for Environmental Contaminants: Exploring Sorption, Desorption, and Transfer to Biota. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13(3), 488-489. DOI: 10.1002/ieam.1904
- Helseth, L. E. (2019). *Polyetylen*. Hentet fra <https://snl.no/polyetylen>
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C. & Thiel, M. (2012). Microplastics in the marine Environment: A review of the Methods Used for Identification and Quantification. *Environmental Science & Technology*, 46, 3060-3075. DOI: 10.1021/es2031505

- Hintersteiner, I., Himmelsback, M. & Buchberger, W. W. (2014). Characterization and quantitation of polyolefin microplastics in personal-care products using high-temperature gel-permeation chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(4), 1253-1259. DOI: 10.1016/j.mex.2018.07.009
- Hoffman, E. & Stroobant, V. (2007). *Mass Spectrometry, Principles and Applications*. Cichester, West Sussex, England: John Wiley & Sons Ltd.
- Hussain, N., Jaitley, V. & Florence, A. T. (2001). Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50, 107-142.
- Ivar do Sul, J. A. & Costa, M. F. (2014). The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental Pollution*, 185, 352-364. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.10.036
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R. Perryman, M., Andrady, A., Narayan. & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223). DOI: 10.1126/science.1260352
- Jennings, S. & Collingridge, K. (2015). Predicting Consumer Biomass, Size-Structure, Production, Catch Potential, Responses to Fishing and Associated Uncertainties in the World's Marine Ecosystems. *PLOS ONE* 10(7), e0133794. DOI: 10.1371/journal.pone.0133794
- Kanhai, L. D. K., Johansson, C., Frias, J. P. G. L., Gardfeldt, K., Thompson, R. C., & O'Connor, I. (2019). Deep sea sediments of the Arctic Central Basin: a potential sink for microplastics. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 145, 137–142. DOI: 10.1016/j.dsr.2019.03.003
- Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C. K., Romano, N., Ho, Y. B. & Salamatinia, B. (2017). A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of the Total Environment*, 578(1), 485-494. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.213
- Kauffman, G. B., Gent, A. N., Bierwagen, G. P., Stevens, M. P., Preston, J. & Rodriguez, F. (2016). Hentet fra: <https://www.britannica.com/topic/industrial-polymers-468698/Polyesters#ref608742> den 09.03.2018
- Kirstein, V. I., Kirmizi, S., Wichels, A., Garin-Fernandez, A., Erler, R., Löder, M. & Gerdt, G. (2016). Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. *Marine Environmental Research*, 120, 1-8. DOI: 10.1016/j.marenvres.2016.07.004
- Koelmans, A., Bakir, A., Burton, G. & Janssen, C. (2016). Microplastic as a Vector for Chemicals in the Aquatic Environment: Critical Review and Model-Supported Reinterpretation of Empirical Studies. *Environmental Sci. Technology*, 50(7): 3315-26. DOI: 10.1021/acs.est.5b06069
- Kooi, M., van Nes, E. H., Scheffer, M. & Koelmans, A. A. (2017). Ups and Downs in the Ocean: Effects of Biofouling on Vertical Transport of Microplastics. *Environmental Science & Technology*, 51(14), 7963-7971. DOI: 10.1021/acs.est.6b04702



- Källgren, E. K., Pedersen, T. & Nilssen, E. M. (2015). Food resource partitioning between three sympatric fish species in Porsangerfjord, Norway. *Polar Biology*, 38(4), 583-589. DOI: 10.1007/s00300-014-1611-x
- Lasagna-Reeves, C., Gonzalez-Romero D., Barria M. A., Olmedo, I., Clos A., Sadagopa, V. M., ... Soto, C. (2010). Bioaccumulation and toxicity of gold nanoparticles after repeated administration in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 393(4), 649-655. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.02.046
- Laville, S. & Taylor, M. (28. jun. 2017). A million bottles a minute: world's plastic binge 'as dangerous as climate change'. Theguardian. Hentet fra: <https://www.theguardian.com/environment/2017/jun/28/a-million-a-minute-worlds-plastic-bottle-binge-as-dangerous-as-climate-change> (November 2019).
- Lenz, R., Enders, K., Stedmon, C. A., Mackenzie, D. M. A. & Nielsen, T. G. (2015). A critical assessment of visual identification of marine microplastic using Raman-spektroskopi spectroscopy for analysis improvement. *Marine Pollution Bulletin*, 100, 82-92. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.09.026
- Lower, S. (2017). *Chem1 Virtual Textbook*. Hentet fra: <http://www.chem1.com/acad/webtext/states/polymers.html> (November 2019).
- Lue, A., Zhang, L. & Ruan, D. (2007). Inclusion Complex Formation of Cellulose in NaOH-Thiourea Aqueous System at Low Temperature. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 208(21), 2359-2366. DOI: 10.1002/macp.200700177
- Löder, M. G. J. & Gerds, G. (2015). Methodology Used for the Detection and Identification of Microplastics-A Critical Appraisal. I Bergmann, M., Gutow, L. & Klages, M. (Red.). *Marine Anthropogenic Litter*, 201-227. Hentet fra DOI: 10.1007/978-3-319-16510-3
- Lwanga, E. H., Gertsen, H., Gooren, H., Peters, P., Salanki, T., van der Ploeg, M., ... Geissen, V. (2016). Microplastics in the Terrestrial Ecosystem: Implications for *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Environmental Science and Technology*, 50(5), 2685-2691. DOI: 10.1021/acs.est.5b05478
- Mahat, S (2017). *Separation and quantification of microplastics from beach and sediment samples using the Bauta microplastic-sediment separator* (Mastergradsavhandling). Norsk Miljø- og biovitenskapelige Universitet (NMBU). Hentet fra: <http://hdl.handle.net/11250/2459114> (Nov. 2019).
- Mathalon, A. og Hill, P. (2014). Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. *Marine Pollution Bulletin*, 81(1), 69-79.
- Miljødirektoratet, (2018a). *Microplastics in sediments on the Norwegian Continental Shelf*. Miljødirektoratet rapport 2018-0050, Rev.01. Date: 2018-02-23. <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/M976/M976.pdf>
- Miljødirektoratet, (2018b). *Microplastics in sediments on the Norwegian Continental Shelf II: Identification through FT-IR analysis*. Miljødirektoratet rapport M-1231. <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/M976/M976.pdf>
- Miljødirektoratet (2019). *Microplastics in polychaetes from the Norwegian Continental Shelf*. Miljødirektoratet rapport M-

1222. <https://www.miljodirektoratet.no/globalassets/publikasjoner/m1222/m1222.pdf>
- Mulder, K & Knot, M. (2001). PVC plastic: a history of systems development and entrenchment. *Technology in Society*, 23(2), 265-286. DOI: 10.1016/S0160-791X(01)00013-6
- Noffke, A., Hertweck, G., Kröncke, I. & Wehrmann, A. (2009). Particle size selection and tube structure of the polychaete *Owenia fusiformis*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 81(2), 160-168. DOI: 10.1016/j.ecss.2008.10.010
- Nuelle, M., Dekiff, J. H., Remy, D. & Fries, E. (2014). A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution*, 184, 161-169. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.07.027
- Obbard, R. W., Sadri, S., Wong, Y. Q., Khitun, A. A., Baker, I. & Thompson, R. C. (2014). Global warming releases microplastic legacy frozen in Arctic Sea ice. *Earth's Future*, 2(6), 315-320. DOI: 10.1002/2014EF000240
- Olsen et al., (upublisert). Facilitating microplastic quantification in marine samples through the introduction of cellulose dissolution step. Norwegian Geotechnical Institute (NGI). Upublisert manuskript.
- Oug, E., Cochrane, S. K. J., Sundet, J. H., Norling, & Nilsson, H. C. (2011). Effects of the invasive red king crab (*Paralithodes camtschaticus*) on soft-bottom fauna in Varangerfjorden, northern Norway. *Marine Biodiversity under Change*, 41, 467-479. DOI: 10.1007/s12526-010-0068-6
- Paul-Pont, I., Lacroix, C., Fernández, C. G., Hégaret, H., Lambert, C., Goïc, N., ... Soudant, P. (2016). Exposure of marine mussels *Mytilus* spp. to polystyrene microplastics: Toxicity and influence on fluoranthene bioaccumulation. *Environmental Pollution*, 216, 724-737. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.06.039
- PerkinElmer. (u. å.). Spotlight 200i FT\_IR Microscopy System. Hentet 29.09.19 fra <https://www.perkinelmer.com/product/spotlight-150-mct-frontier-system-11860169>
- PlasticsEurope, (2009). *The compelling facts about plastics, analysis of plastics production, demand and recovery for 2008 in Europe*. Belgium: PlasticsEurope. Hentet fra: [http://www.plasticseurope.org/application/files/5315/1689/9286/2009CompellingFacts\\_PubSept2009.pdf](http://www.plasticseurope.org/application/files/5315/1689/9286/2009CompellingFacts_PubSept2009.pdf) den 09.03.2018
- Ralston, B. E. & Osswald, T. A. (2008). The History of Tomorrow's Materials: protein-Based Biopolymers. *Technical Insight*, 64(2).
- Remy, F., Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G. & Lepoint, G. (2015) *Environmental Science & Technology*, 49(18), 11158-11166. DOI: 10.1021/acs.est.5b02005
- Renner, G., Schmidt, T. C. & Schram, J. (2018). Analytical methodologies for monitoring micro(nano)plastics: Which are fit for purpose? *Environmental Science & Health*, 1, 55-61. DOI: 10.1016/j.coesh.2017.11.001
- Rezania, S., Park, J., Din, M. F. M., Taib, S. M., Talaiekhosani, A., Yadav, K. K. & Kamyab, H. (2018). Microplastics pollution in different aquatic environments and biota: A review of recent studies. *Marine Pollution Bulletin*, 133(1), 191-208. DOI: /10.1016/j.marpolbul.2018.05.022

- Rocha-Santos, T. & Duarte, A. C. (2015). A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior microplastic in the environment. *Trends in Analytical Chemistry*, 65, 47-53. DOI: 10.1016/j.trac.2014.10.011
- Rouse, G. & Pleije, F. (2001). *Polychaetes*. New York: Oxford University Press.
- Rummel, C. D., Jahnke, A., Gorokhova, E., Kühnel, D. & Schmitt-Jansen, M. (2017). Impacts of Biofilm Formation on the Fate and Potential Effects of Microplastic in the Aquatic Environment. *Environmental Science and Pollution Lett.*, 4, 258-267. DOI: 10.1021/acs.estlett.7b00164
- Ryan, P. G., Connell, A. D. & Gardner, B. D. (1988). Plastic Ingestion and PCBs in Seabirds: Is there a Relationship? *Marine Pollution Bulletin*, 19(4), 174-176. DOI: 10.1016/0025-326X(88)90674-1
- Self, R. F. L. & Jumars, P. A. (1988). Cross-phyletic patterns of particle selection by deposit feeders. *Journal of Marine Research*, 46, 119-143.
- Serikstad, G. L. (2015). *Bruk av råtnest i økologisk landbruk* (Bioforsk Rapport Vol. 10, nr 7.). Hentet fra: <http://orgprints.org/30085/1/BIOFORSK%20RAPPORT%20%20Biorest%20Del%20I%20%26%202%20nr%207%202015.pdf>
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V. & Lehtiniemi, M. (2014). Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental pollution*, 185, 77-83. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.10.013
- Schückel, S., Ehrich, S., Kröncke, I. & Reiss, H. (2010). Linking prey composition of haddock *Melanogrammus aeglefinus* to benthic prey availability in three different areas of the northern North Sea. *Journal of Fish Biology*, 77(1), 98-111. DOI: 10.1111/j.1095-8649.2010.02657.x
- Simon, M., van Alst, M. & Vollertsen, J. (2018). Quantification of microplastic mass and removal rates at wastewater treatment plants applying Focal Plane Array (FPA)-based Fourier Transform Infrared (FT-IR) imaging. *Water Res*, 142(1), 1-9. DOI: 10.1016/j.watres.2018.05.019
- Singdahl-Larsen, C. (2019). *Accumulation of microplastic in fjord sediments – the Bunnefjord, inner Oslofjord, Norway*. (Mastergradsavhandling). Universitetet i Oslo (UiO), Oslo.
- Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M., Han, G. M., Rani, M., Lee, J. & Shim, W. J. (2015). A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin*, 93, 202-209. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.01.015
- Su, L., Xue, Y., Li, L., Yang, D., Kolandhasamy, P., Li, D. & Shi, H. (2016). Microplastics in Taihu Lake, China. *Environmental Pollution*, 216, 711-719. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.06.036
- Sun, X., Li, Q., Zhu, M., Liang, J., Zheng, S. & Zhao, Y. (2017). Ingestion of microplastics by natural zooplankton groups in the northern South China Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 115(1-2), 217-224. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.12.004
- The Marine Biological Association. (u.å.) A tubeworm (*Owenia fusiformis*). Hentet fra: <https://www.marlin.ac.uk/species/detail/1703>

- Thompson, R. C., Olsen, Y., Mitchell, R. P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W. G., ... Reiss, H. (2004). Lost at Sea: Where is All the Plastic? *Science*, 304(5672), 838. DOI: 10.1126/science.1094559
- Tyler, L. BIOTIC - Biological Traits Information Catalogue. Hentet fra: <http://www.marlin.ac.uk/biotic/browse.php?sp=4410> (November 2018).
- Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M. B. & Janssen, C. R. (2014). Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution*, 199, 10-17. DOI: 10.1016/j.envpol.2015.01.008
- Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbins, J. & Janssen, C. R. (2015). Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. *Marine Environmental Research*, 111, 5-17. DOI: 10.1016/j.marenvres.2015.06.007
- Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J. & Janssen, C. R. Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution*, 182, 495-499. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.08.013
- Viršek, M. K., Lovšin, M. N., Koren, Š., Kržan, A. & Peterlin, M. (2017). Microplastics as a vector for the transport of the bacterial fish pathogen species *Aeromonas salmonicida*, *Marine Pollution Bulletin*, 125(1-2), 301-309. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.08.024.
- Wagner, J., Gassel, M. & Wang, Z. (2017). Novel methods for the extraction and identification of microplastics in ocean trawl and fish gut matrices. *Analytical methods*, 9, 1479-1490. DOI: 10.1039/c6ay02396g
- Walker, C. H., Sibly, R. M. & Peakall, D. B. (2012). *Principles of Ecotoxicology*. United States of America: CRC Press.
- World Economic Forum. (2016). *The new Plastic Economy, Rethinking the future of plastics*. Hentet fra: [http://www3.weforum.org/docs/WEF\\_The\\_New\\_Plastics\\_Economy.pdf](http://www3.weforum.org/docs/WEF_The_New_Plastics_Economy.pdf) den 09.03.2018
- Weston, D. P., Lentz, R. D., Cahn, M. D., Ogle, R. S., Rothert, A. K. og Lydy, M. J. (2009). Toxicity of Anionic Polyacrylamide Formulations when Used for Erosion Control in Agriculture. *Journal of Environmental Quality*, 38, 238-247. DOI: 10.2134/jeq2008.0109
- Woodall, L. C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G. L. J., Coppock, R., Sleight, V. ... Thompson, R. C. (2014). The deep sea is a major sink for microplastic debris. *Royal Society Open science*, 1(4), 1-8. DOI: 10.1098/rsos.140317 [http://www3.weforum.org/docs/WEF\\_The\\_New\\_Plastics\\_Economy.pdf](http://www3.weforum.org/docs/WEF_The_New_Plastics_Economy.pdf) den 09.03.2018
- World Health Organization. (2019). *Microplastic in drinking-water*. ISBN: 978-92-4-151619-8 Hentet fra: [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/microplastics-in-drinking-water/en/](https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/microplastics-in-drinking-water/en/)
- World Register of Marine Species, *Galathowenia oculata* (Zachs, 1923). (u.å.). Hentet fra: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=146950#distributions>

- Wright, S. L., Thompson, R. C. & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environmental Pollution*, 178, 483-492. DOI: 10.1016/j.envpol.2013.02.031
- Xiong, B., Miller, Z., Roman-White, S., Tasker, T., Farina, B., Piechowicz, B., ... Kumar, M. (2018). Chemical Degradation of Polyacrylamide during Hydraulic Fracturing. *Environmental Science and Technology*, 52(1), 327-336. DOI: 10.1021/acs.est.7b00792
- Xiong, B., Zhao, P. og Hu, K. (2014). Dissolution of cellulose in aqueous NaOH/urea solution: role of urea. *Cellulose*, 21, 1183-1192. DOI: 10.1007/s10570-014-0221-7
- Yarsley, V. E. og Couzens, E. G. (1941). *Plastics*. London: Penguin.
- Yeung, C. & Yang, M. (2014). Habitat and infauna prey availability for flatfishes in the northern Bering Sea. *Polar Biology*, 37, 1769-1784. DOI: 10.1007/s00300-014-1560-4
- Zettler, E. R., Mincer, T. J. & Amaral-Zettler, L. A. (2013). Life in the "Plastisphere": Microbial Communities on Plastic Marine Debris. *Environmental Science & Technology*, 47, 7137-7146. DOI: 10.1021/es401288x
- Zhang, S., Li, S. & Yu, J. (2009) Preparation of cellulose/chitin blend Bio-fibers via direct dissoultion. *Cellulose chemistry and technology*, 43(9-10), 393-398.

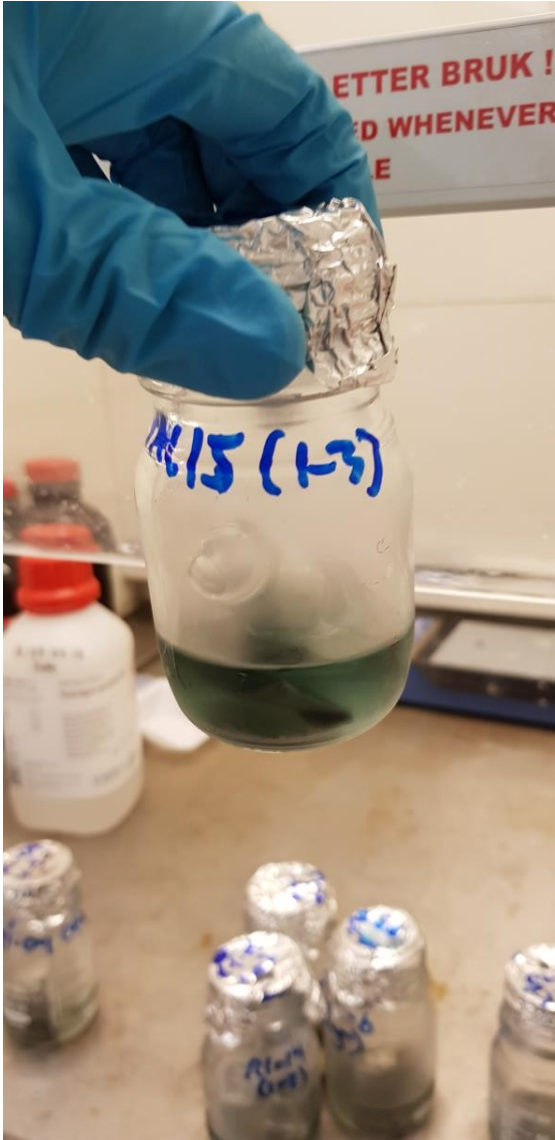
## 9.0 Ordliste, forkortelser og definisjoner

Akryl	Plastfiber, laget av polyakrylonitril
Bentisk	Organismer som lever i, på eller i umiddelbar nærhet av havbunnen
BSAF	Biota-sediment akkumulasjonsfaktor. Forholdet mellom konsentrasjon i sedimenter og biota
Biodegradering	Biologisk nedbrytning
Cellulose	Trefiber
Celluloid	Synonym for trefiber, brukes ofte om den molekylære formen av materialet
DNV-GL	Det Norske Veritas–Germanischer Lloyd
Etanol	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH, en alkohol
Feltblank	Prøve uten prøvemateriale, tatt i felt, i samme tidsrom som den virkelige prøven, for å avdekke eventuell forurensning under prøvetagningen.
Fiber	En partikkel der den ene akselen er betydelig lengere enn tverrsnittsdiameteren
Film	Flat «hinne» av plast der en akse er svært kort sammenlignet med flate arealet
FT-IR	Fourier transformert infrarød mikroskopi
GESAMP	“Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection” – fungerer som et rådgivende organ for FN
Granul	En tredimensjonal partikkel
Partikkel	En enhet med masse og lengde i tre akser
PCB	Polycarbonerte bifenyler
PET	Polyetylen
POP	Perisistente organiske miljøgifter
Polyester	Plastfiber, mye brukt i tekstiler. Laget av PET
Polymer	Flere monomerer som sitter sammen. Et stort molekyl sammensatt av mange mindre. Plast er polymerer
PP	Polypropylen
PVC	Polivinyllorid
Kasein	Melkeprotein brukt som formbart materiale
Kollonialisering	Ettablring av en art på et til da «rent» objekt.
Makromolekyl	Et stort molekyl
Metanol	CH <sub>3</sub> OH, en alkohol
Mikrometer	1 / 1 x 10 <sup>6</sup> m. Forkortes µm
Mikroplast	Plast i størrelsen 1–5000 µm. Forkortes MP
Monomer	Et molekyl som kan danne flere (polymer) gjennom en polymerisering
NGI	Norges geotekniske institutt
NMBU	Norges Miljø og Biovitenskapelig Universitet
Rayon	Industrielt framstilt bomull, synonym med viskose
Recovery	Gjenoprettelse. Altså hvor mye plast som blir funnet igjen etter å ha tilsatt en kjent mengde

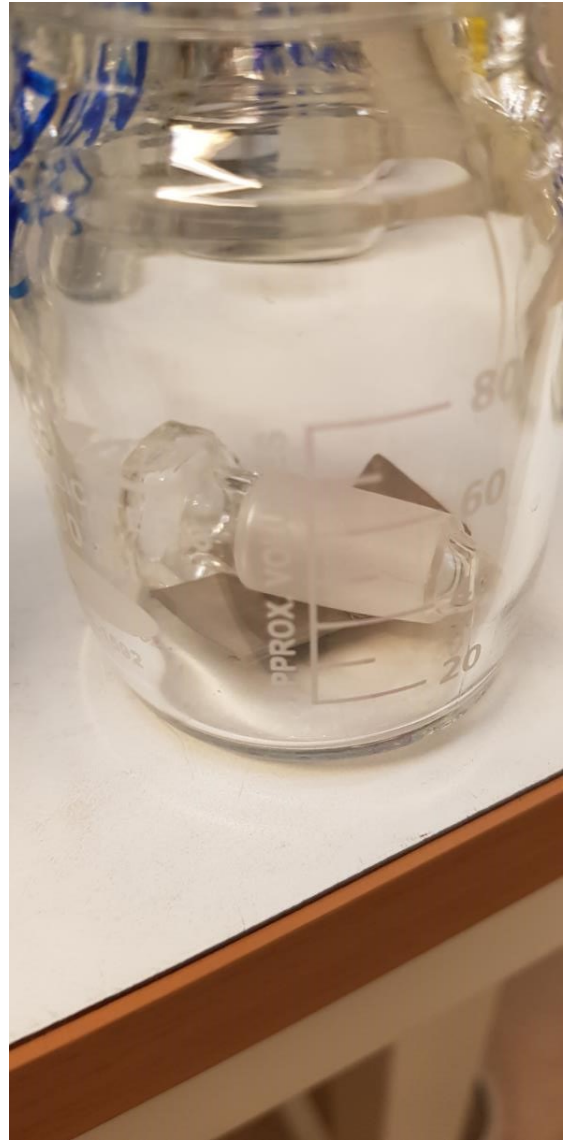
<i>Recovery</i> -blank	Prøver uten innhold av prøvemateriale, men med tilsatt et kjent antall eller en kjent mengde mikropplast. Tilsvarende <i>spike</i> -prøve, men uten prøvemateriale
Sediment	Grus, sand, silt og leire
Sirkulærøkonomi	Økonomisk system der varer gjenbrukes og omsettes en rekke ganger
<i>Spike</i> -prøver	Prøve med prøvemateriale som blir tilført kjent antall eller mengde mikropplast, for deretter å analysere hvor mange partikler som er igjen etter endt analysemetodikk
Syntetisk	Menneskelig produsert eller sterkt modifisert
Tørrvekt	Vekt etter tørking
Viskose	Industrielt fremstilt bomull, synonym med Rayon
Milli-Q vann	Avionisert og filtrert vann. Filtrert gjennom 0,22 µm membranfilter
Vektor	Et objekt som transporterer noe. For eksempel en miljøgift som blir transportert på en plastpartikkel, der plastpartikkelen blir en vektor
Våtvekt	Vekt av biota når det er levende, nylig død eller er oppbevart i væske
Zinkklorid	ZnCl <sub>2</sub> -CaCl <sub>2</sub> en zinkløsning med høy egenvekt

## Vedlegg

### Bilder



*Bilde 1. Oksidasjon. Foto: Jakob Cyvin, 2019*

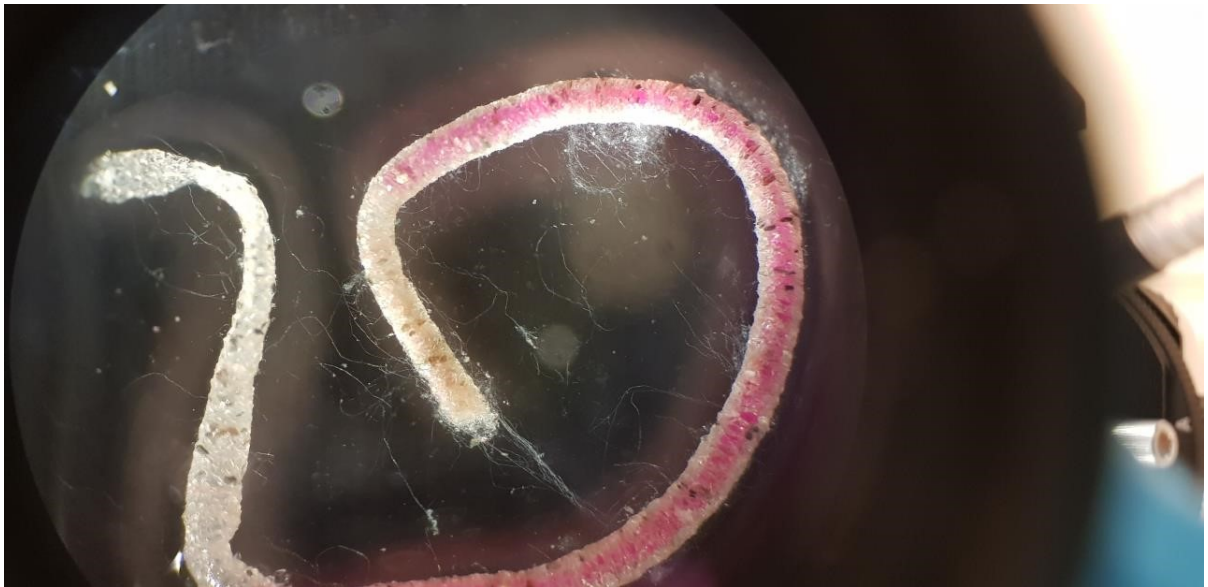


*Bilde 2. Oksidasjon i filterpose med glasskorker som vekt. Foto: Jakob Cyvin, 2019*

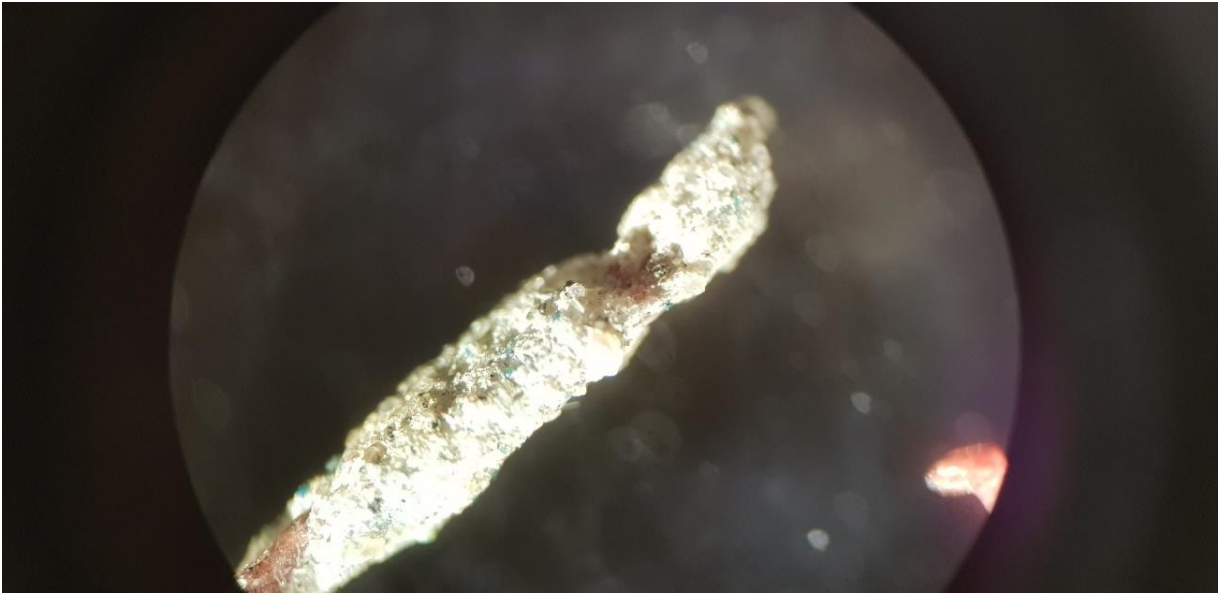




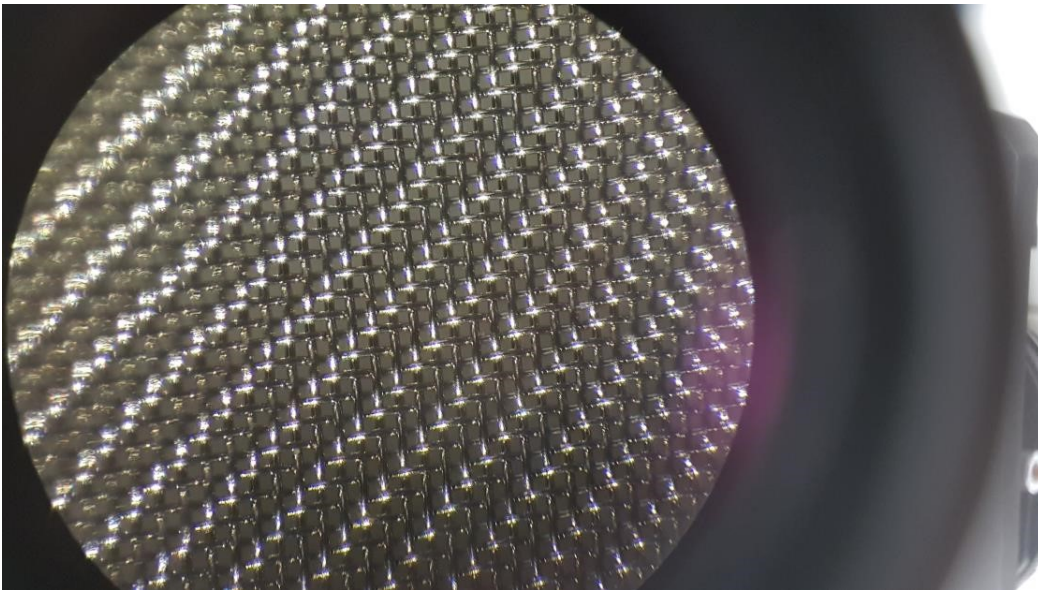
*Bilde 3. Oksidasjon i avtrekksskap. Foto: Jakob Cyvin, 2019*



*Bilde 4. Polychaete, Owenia. Foto: Jakob Cyvin, 2019*



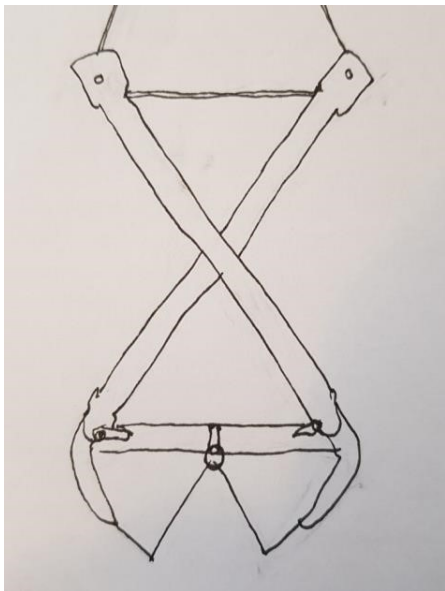
*Bilde 5. Polychaete, Owenia. Foto: Jakob Cyvin, 2019*



*Bilde 6. Rent 13mm filter. Foto: Jakob Cyvin, 2019*



*Bilde 7. Vekt på veiebord. Foto: Jakob Cyvin*



*Bilde 8. Van Veen grab. Illustrasjon: Kjersti Synneva Moen.*

## Tabeller

Tabell 1. Polymersammensetning, de fire mest vanlige polymerer i sedimenter.

Station	Mest frekvent plastpolymer	Nest mest frekvent plastpolymer	Tredje mest frekvente plastpolymer	Fjerde mest frekvente plastpolymer
Reg1-06	Rubber	PE-oksideret	PE-klorert	Phenoxy Resin
Reg1-09	PP	PE-	nd.	nd.
Reg1-14	PP	PVC	PE	nd.
Val-15	PS	PVC	nd.	nd.
ULA-06	PET	PS	Plastics	Phenoxy Resin
KRT-14	Rubber	Paint(Tin)	Plastics	PP
KF2-6	PE-klorert	nd.	nd.	nd.
KV-01	<i>Rubber</i>	<i>PE:PP</i>	<i>Paint(Tin)</i>	<i>PE</i>
<i>VI-30</i>	<i>Phenoxy Resin</i>	<i>nd.</i>	<i>nd.</i>	<i>nd.</i>
Reg1 & KF-	nd. & PE-klorert	n.d. & PE:PP	n.d. &	nd. & PE-klorert
Reg1 & KF-	nd. & PE-klorert	n.d. & PE:PP	n.d. &	nd. & PE-klorert
Reg1-02	nd.	nd.	nd.	nd.
Val02	Gummi	PE-klorert	nd.	nd.

Tabell 2. Polymersammensetning, de fire mest vanlige polymerer i Owenia sp.

Station	Prøve	Mest frekvent	Nest mest frekvent	Tredje mest frekvent	Fjerde mest frekvent
Reg1	Hel mark	PE-kloretert	Melamine	PE	PET
Reg1-02	Hel mark	nd.	nd.	nd.	nd.
Reg1-04	Hel mark	PE-kloretert	Polyakrylamide	PET	Melamine
Reg1-06	Hel mark	Polyakrylamide	Phenoxy Resin	PET	PP
Reg1-09	Hel mark	PE	PE:PP	Unresolved	nd.
Reg1-14	Hel mark	PE:PP	nd.	nd.	nd.
Val-15	Hel mark	PET	Nylon	Rubber	PVC
ULA-06	Hel mark	Polyakrylamide	PVC	Nd.	nd.
KRT-14	Hel mark	PP	Nd	Nd.	nd.
KF2-6	Hel mark	PET	PP-kloretert	PVC	Polyakrylamide
KV-01	Hel mark	PVC	nd.	nd.	nd.
VI-30	Hel mark	nd.	nd.	nd.	nd.
Reg1 & KF-2-6*	Innmat	Melamine	PU	PP	PE
Reg1 & KF-2-6*	Tube	PET	PE-kloretert	PVC	Polyakrylamide
Reg1-02	Hel mark	PVC	Ubestemt plast	Gummi	PE-kloretert
Val-02	Hel mark	PET	Gummi	nd.	nd.

Tabell 3. Tørr- og våtvekt, *Owenia*.

Prøve	Type prøve	Antall	Våtvekt (ww) prøve (gram) <sup>16</sup>	Tørrvekt (dw) prøve (gram)
I_Reg1(A)_45	innmat	2	0,0153	0,0021
I_Reg1(B)_45	innmat	2	0,0635	0,0087
S_Reg1 (A1)_45	exoskeleton	2	0,0033	0,0012
S_Reg1(B1)_45	exoskeleton	2	0,0246	0,0090
R1-4(4-5)_45	whole worm	5	0,0196	0,007
R1-04 (4-5)_45	whole worm	5	0,0255	0,0091
R1-6-1,2,3_45	whole worm	15	0,0713	0,0254
R1-06_45	whole worm	5	0,0238	0,0085
R1-9-1_45	whole worm	5	0,0269	0,0096
R1-9-2_45	whole worm	5	0,0842	0,0300
R1-14(1-2)_45	whole worm	5	0,0255	0,0091
R1-14(3-5)h_45	whole worm	5	0,0466	0,0166
Val15(4-5)_45	whole worm	5	0,0109	0,0039
ULA-06-A_45	whole worm	5	0,0076	0,0027
ULA-06-B_45	whole worm	5	0,0180	0,0064
KV-01	whole worm	13	0,0345	0,0123
VI-30	whole worm	10	0,0365	0,0130
KRT-14-A_45	whole worm	5	0,0275	0,0098
KRT-14-B_45	whole worm	5	0,0211	0,0075
KF-2-6-A_45	whole worm	5	0,0079	0,0028
KF-2-6-B_45	whole worm	5	0,0076	0,0027
I_KF-2-6©_45	innmat	5	0,0110	0,0015
I_KF-2-6(D)_45	innmat	5	0,0584	0,0080
S_KF-2-6(C1)_45	exoskeleton	5	0,0027	0,0010
S_KF-2-6(D1)_45	exoskeleton	5	0,0115	0,0042

<sup>16</sup> Våtvekt er beregnet med utgangspunkt i tørrvekt, justert etter tørrvektspersent (våtvekt= tørrvekt/"snitt" i Vedlegg, Tabell 4. og 5.) for et større antall mark. Se appendix 4. og 5.

Tabell 4. Utrekning av tørrvektsprosent hele mark, *Owenia sp.*

Vektreduksjon -	Våtvekt	Tørrvekt	% hvor mye er igjen
nr1 - 15 stk	0,0556	0,0209	0,3759
nr2 15 stk	0,0747	0,0192	0,2570
nr3 - 30stk	0,1509	0,0470	0,3115
a - 15 stk	0,0374	0,0138	0,3690
b - 15 stk	0,0299	0,0135	0,4515
c - 30stk	0,0652	0,0243	0,3727
		<b>Snitt</b>	<b>0,3563</b>
		<b>Standarddeviasjon</b>	<b>18%</b>

Tabell 5. Tørrvekstprosent. Utrekning av tørrvektsprosent eksoskjelett og kropp, *Owenia sp.* Tilsvarende beregninger ble gjort også tidlig i studien, med tilsvarende prosentmessige utfall med nært alle prøvene. Disse ble tilsidesatt for underliggende beregninger grunnet feil under loggføring av en av replikatene. Resultatene synes representative til trots for moderat antall mark, sett i lys av tidligere underøkelser med tilsvarende resultat.

Innmat	Våtvekt	Tørrvekt	% hvor mye er igjen
Innmat 1 – 10stk	0,0168	0,0022	0,1309
Innmat A – 11stk	0,0119	0,0017	0,1428
Skjelett A – 9stk	0,0222	0,0082	0,3693
Skjelett B – 10stk	0,0105	0,0038	0,3619
		<b>Snitt innmat</b>	<b>0,1369</b>
		<b>Snitt eksoskjelett</b>	<b>0,3656</b>

Tabell 6. Eksempel på rådata fra FT-IR analyse, kopiert fra tekstfil og inn i Excel.

Individual/Scan	Sample Name	Search Score	Search Best Hit	FT-IR indication	General Classification (Plastic/ Paint/ Rubber / Petro-pyro/ Mineral/ Organic/ Unkown/ )	Plastic, Paint, Rubber type
Marker_15453	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.932986	FB0173	AZLON [CASEIN]	Organic	
Marker_15448	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.92355	FB0173	AZLON [CASEIN]	Organic	
Marker_15444	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.890556	DR619B	ZINC BACITRACIN KBR DISC	Organic	
Marker_15455	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.88738	HU0103	CELLULOSE + LIGNIN 1.5/335MG KBR 0-00-0	Organic	Cellulose
Marker_15449	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.885639	DR619B	ZINC BACITRACIN KBR DISC	Organic	
Marker_15454	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.840808	HO008U	TETRACOSACTIDE OR.SP.12MIN.	organic	
Marker fiber_601	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.825045	DA3342	COURTAULDS/RAYON(FIBRO)/WHSTAPLE13.5U1.5DEN SOAPFINISH/NBS-A0320	Organic	Rayon
Marker_15450	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.818277	DR406A	NISIN KBR DISC	Organic	Polypeptide
Marker fiber_602	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.78296	DA3326	NO. AMERICAN RAYON/RAYON/WH FIL 26.9U 300DEN 50FILS/NBS-A0224	Organic	Rayon
Marker_15452	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.76117	DA3167	AVTEX FIBER /AVRIL (RAYON) WH STAPLE (BRIGHT) 11-14U NBS-A0094	Organic	Synthetic fiber
Marker fiber_603	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.751265	HO008U	TETRACOSACTIDE OR.SP.12MIN.	organic	
Marker_15439	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.717192	DR406A	NISIN KBR DISC	Organic	Polypeptide
Marker fiber_596	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.62772	DA3340	COURTAULDS/RAYON(FIBRO)/WH STAPLE 31.1U 8DEN CRIMPED/NBS-A0318	Unknown	Rayon
Marker_15442	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.612027	FB0173	AZLON [CASEIN]	Unknown	
Marker_15447	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.608684	PC0930	F22742.SP F22742CHITOSAN (MEDIUM MOLECULAR WEIGHT)* BIOCHEMIKA	Unknown	Chitosan
Marker_15451	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.591151	FI0006	CTA 87 A0324 GLASS	Unknown	
Marker_15441	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.542549	PC2101	F62800.SP F62800LYCOPODIUM	Unknown	
Marker fiber_604	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.542291	PC0769	F17782.SP F17782TRIGLYCEROL PURUM C9H20O7	Unknown	
Marker fiber_600	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.483446	PC2499	F74667.SP F74667NOURSEOTHRICIN SULFATE* BIOCHEMIKA	Unknown	
Marker fiber_594	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.465398	PC1363	F36814.SP F36814DIDYMIN* BIOCHEMIKA C28H34O14	Unknown	
Marker_15443	Library 1, ATRSPE~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.4577	PC2467	F73653.SP F736534-NITROPHENYL-ALPHA-D-GALACTOPYRANOSIDE* BIOCHEMIKA	Unknown	



Marker fiber_598	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.457562	PC1695	F48160.SP F48160(2,2')-FURILDIOXIME MONOHYDRATE, MIXTURE OF ISOMERS PUR	Unknown	
Marker fiber_599	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.443617	PC2709	F80460.SP F80460PICROLIC ACID PA C10H8N4O5	Unknown	
Marker_15440	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.440391	PC0211	F03858.SP F03858DIMETHYLGLYOXIME PRACT C4H8N2O2	Unknown	
Marker fiber_597	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.438667	PC1340	F36065.SP F360652,4-DICHLORO-6-NITROPHENOL PURUM C6H3CL2NO3	Unknown	
Marker_15445	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.416633	F23090	CHLORAL ANHYDROUS	Unknown	
Marker_15446	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.389551	F91320	TRICHLORONITROMETHANE	Unknown	
Marker fiber_595	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.372506	PC3389	F93327.SP F93327TRIS(HYDROXYMETHYL)AMINOMETHANE CARBONATE* MICR	Unknown	
Marker_15438	Library 1, ATRSPÉ~1, FLUKA , POLYMER , TRANSM~1	0.343491	PC2239	F66807.SP F668074,5-METHYLENEDIOXY-1,2- PHENYLENEDIAMINE DIHYDROCHLORIDE	Unknown	



**Norges miljø- og biovitenskapelige universitet**  
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet  
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003  
NO-1432 Ås  
Norway