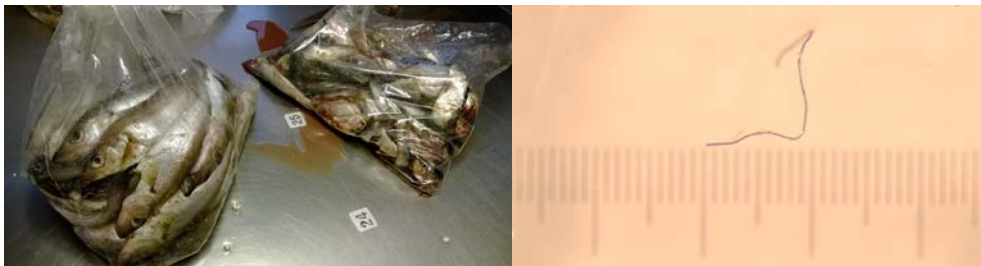


Analyse af marint affald i sild og hvilling fra det nordlige Storebælt



af Thomas Kirk Sørensen, Colin Stedmon, Kristina Enders og Ole Henriksen

December 2013

DTU Aqua
Institut for Akvatiske Ressourcer

RESUMÉ

Denne rapport beskriver resultaterne af en undersøgelse af ca. 100 fisk med formålet at give en indikation af, om fisk spiser plastik og i så fald i hvor stort omfang. Resultaterne af denne analyse af sild og hvilling fra det nordlige Storebælt viser forekomst af marint affald i fisk. Undersøgelsen fokuserede udelukkende på mikroaffald (dvs. affald <5 mm) i størrelsesspektret 0,5-5 mm. Ca. 30 % af undersøgte hvillinger og sild indeholdte mikroaffald. Størstedelen af de forekomster som observeredes bestod af fibre på mellem 0,5 mm og ca. 4 mm. Rapporten afsluttes med en række anbefalinger til hvordan problematikken kunne undersøges yderligere.

ENGLISH SUMMARY

This report describes the results of an analysis where approx. 100 marine fish were studied in relation to ingestion of microlitter, defined as litter smaller than 5 mm. The study focused only on litter in the 0,5-5 mm size range. Approx. 30 % of examined herring and whiting from the Great Belt (Denmark) had ingested microlitter, most of which consisted of 0,5-4 mm fibres. The report provides recommendations for future studies.

INTRODUKTION

Marint affald er et miljøproblem som i de seneste år har fået stadigt stigende opmærksomhed, og er nu inkluderet blandt Havstrategidirektivets 11 deskriptorer for god miljøtilstand (Anon 2008). Mikroskopisk affald (inkl. mikroplastik), defineret her som affald af størrelser under 5 mm (f.eks. TSG-ML 2011), har fået størst opmærksomhed i den videnskabelige litteratur. Et stigende antal undersøgelser har dokumenteret tilstedeværelsen af mikroskopisk affald i bl.a. vandsøjlen (f.eks. Magnusson & Norén 2011), strande og marine sedimenter (f.eks. Claessens et al. 2011) og i marint biota.

I forhold til marint biota inklusive fisk har der været særligt fokus på marine dyrs indtagelse af mikroplastik, bl.a. fordi det har været påvist (Wright et al. 2013a) at mikroplastiks overflade kan være en særligt effektiv vektor for hydrofobiske miljøskadelige stoffer som f.eks. PAH'er (polyaromatic hydrocarbons). Der har ligeledes været fokus på den fysiske påvirkning som indtagelse af mikroplast kan have på marint biota. Eksempelvis er det for nyligt påvist at sandormen *Arenicola marina* indtager mikroplastik partikler og at dette påvirker deres energireserver og dermed deres evne til at omsætte sedimenter (Wright et al. 2013b). Man har endvidere dokumenteret at mikroskopisk plastaffald som indtages af blåmuslinger kan trænge ind i blåmuslingers væv og forårsage skade på væv og på celleniveau (von Moos et al. 2012). Rochman et al. (2013) fodrede fisk i laboratoriet med polyetylen fragmenter fra havet og ("virgin") fragmenter fremstillet til formålet. De dokumenterede at fiskene som spiste marint mikroplastik ophobede kontaminanter fra fragmenternes overflade i deres væv og udviste tegn på stress i leveren. De fisk som spiste det nyfremstillede mikroplastik viste ligeledes tegn på fysisk stress men i mindre omfang.

Marine fisk og skaldyr indtag af plastik inkl. mikroplastik i naturen er ligeledes blevet dokumenteret. Fokoema et al. (2013) undersøgte 1.203 fisk i Nordsøen fordelt på syv kommercielt interessante arter. De observerede plastpartikler i 2,6 % af fiskene (filtermaskestørrelse = 0,2 mm), som regel med en partikel per fisk. Partiklerne havde en gennemsnitsstørrelse på 0,8 mm. Da Fokoema et al. fandt farvede tekstilfibre i næsten samtlige prøver udelukkede de fibre fra analysen grundet mistanke om kontaminering. Lusher et al. (2013) observerede mikroplastik i 10 fiskearter (inkl. hvilling) fra den Engelske Kanal. Ud af 504 fisk fandt de mikroplastik i fordøjelseskanaalen hos 36,5 % af fiskene. Fragmenter blev fundet via visuel inspektion i størrelsesspektret 0,13-14,3 mm mens de mest almindelige fragmenter var ca. 1-2 mm. I 68 % af tilfældene havde affaldet form som fibre. Polyamid og rayon var de plasttyper der forekom hyppigst. Mikroplastik er ligeledes fundet i Natura 2000 arten stavsild (*Alosa fallax*) i Østersøen (Skóra et al. 2012.). Murray og Cowie (2011) undersøgte maveindholdet hos jomfruhummere fra Clyde Sea og observerede plastik i maverne på 83% af dyrene. I 62% af tilfældene bestod mikroplastik af fibre som havde formet tætte fiberbolde i maverne. Fibrene stammede sandsynligvis fra fiskeredskaberne anvendt i jomfruhummerfiskeriet.

Denne undersøgelse af indholdet af mikroaffald i fordøjelsessystemet hos sild og hvilling har til formål at give en indikation af, om fisk også i indre danske farvande indtager marint affald og i givet fald hvor meget.

METODE

Fiskeprøver

46 hvilling (*Merlangius merlangus*) og 45 sild (*Clupea harengus* L.) blev fanget med bundtrawl med DTU Aquas fartøj Havfisken. Fiskene blev fanget på et trawltræk d. 21-22 november i det nordlige Storebælt ud for Sejerø Bugt (fig. 1). Herefter blev fiskene frosset ned og fragtet fra Nordjylland til DTU Aquas laboratorier i Charlottenlund.

Hvillinger og sild bestod af unge fisk og var relativt ensartede og små med en gennemsnitslængde på hhv. 179,6 mm og 145,5 mm. Hvillinger af denne størrelse kan både være demersale (knyttet til bunden) og pelagiske (knyttet til vandsøjlen) og er rovfisk med både bundlevende og pelagiske fisk samt bunddyr som bytte. Unge sild er udpræget pelagiske og lever af små organismer i vandsøjlen.



Fig 1. Sild og hvilling fanget med bundtrawl af DTU Aquas fartøj Havfisken på station 662 ud for Sejerøbugten.

Opløsning af væv og organisk materiale

Uddissekerede silde- og hvillingeindvolde blev lagt i 250 mL glasbeholdere (fig. 2), hvori 40 mL 10 % KOH af analysekvalitet blev tilsat. Efter 4 dage var langt størstedelen af vævet opløst. 40 mL natriumhypoklorit (14 % aktiv fri klor) blev dernæst tilsat og prøverne stod yderligere to dage. Alt væv var nu opløst undtagen noget af fedt fra omkring organerne, som havde dannet et lag øverst i glassene (se figur i Bilag 1).



Fig 2. Sild og hvillingeindvolde i glasbeholdere.

Filtrering af prøver

Efter opløsning af væv blev prøverne filtreret på 250 μm gennemsigtigt nylon planktonnet som forinden havde været vasket i 10 % HCl syrebåd og dernæst skyllet med ultrarent Millipore vand. Planktonnet blev skåret i stykker med diameter på 25 mm og filtreret med et vakuum filtrationssystem. For at sikre at alt blev overført fra glasbeholderne, tilsattes 100 mL ultrarent vand som efter endt omhvirvling blev filtreret. To blanke kontrolfiltre gennemgik samme procedure kun med ultrarent vand og reagens (se figur i Bilag 1). Efter filtration blev prøverne opbevaret i petriskåle med låg indtil inspektion under stereomikroskop.

Kontaminationsfare

Kontaminering af prøver er altid en risiko forbundet med analyse af mikroaffald. Mikroskopiske partikler (f.eks. fibre fra tøj) kan nemt komme til at kontaminere prøver og påvirker resultaterne. For at minimere dette blev det meste af håndteringen af prøverne foretaget i stinkskaab. Udover de blanke kontrolprøver til filtrering blev et filterpapir lagt ud på arbejdsbordet under dissektion af fisk for at opfange atmosfærisk kontaminering. Dette filter var ligesom filtreringskontrollen fri for partikler.

I en enkelt af vores prøver (Hvilling 3) fandt vi hvide fibre både på filter og i petriskålen omkring filter, hvilket gav en indikation at det kunne være en kontamineret prøve. Prøven blev derfor kasseret. Derimod indikerer fraværet af litter både i vores to kontrolprøver og størstedelen af prøverne at resultaterne er troværdige i relation til kontaminering. Det er essentielt at benytte kontroller også i fremtidige undersøgelser af mikroaffald.

Visuel inspektion af affald i filtrerede prøver

Efter endt filtrering blev prøverne inspiceret under stereomikroskop. Fragmenter der tydeligt adskilte sig fra naturligt forekommende fragmenter (som sandkorn og andre uorganiske partikler) blev målt, noteret, og i mange tilfælde løftet over på objektglas. Her blev fragmenter opvarmet nedefra med flamme for at undersøge om de smeltede, hvilket indikerer at objektet er fremstillet af syntetisk materiale (metode beskrevet af Kerstin Magnusson, Svenska Miljöinstitutet, pers. komm.). I denne undersøgelse blev kun fragmenter over 500 μm (0,5 mm) noteret. Mikroaffald af mindre størrelser blev observeret i prøverne men kunne ikke kvantificeres systematisk med den valgte metode. Derfor var de ikke taget med i tællingerne.

RESULTATER

Ud af de 45 fisk af hver undersøgte art indeholdte 14 hvilling og 12 sild mikroaffald større end 0,5 mm (Tabel 1). Dette svarer til hhv. 31 og 27 %. For hvilling var der en tendens til at mikroaffald hovedsageligt fandtes i de større fisk, men en t-test viste at denne forskel i gennemsnitslængde og -vægt mellem hvilling med og uden mikroaffald ikke var statistisk signifikant. For sild var der ingen størrelseseffekt, og derudover var de indsamlede sild meget ens i størrelsen (C.V. for sild længde var 5 %).

Tabel 1. Opsummering af antal, størrelse og vægt af fisk der indgik i studiet og fordeling mellem af fisk med og uden mikroaffald.

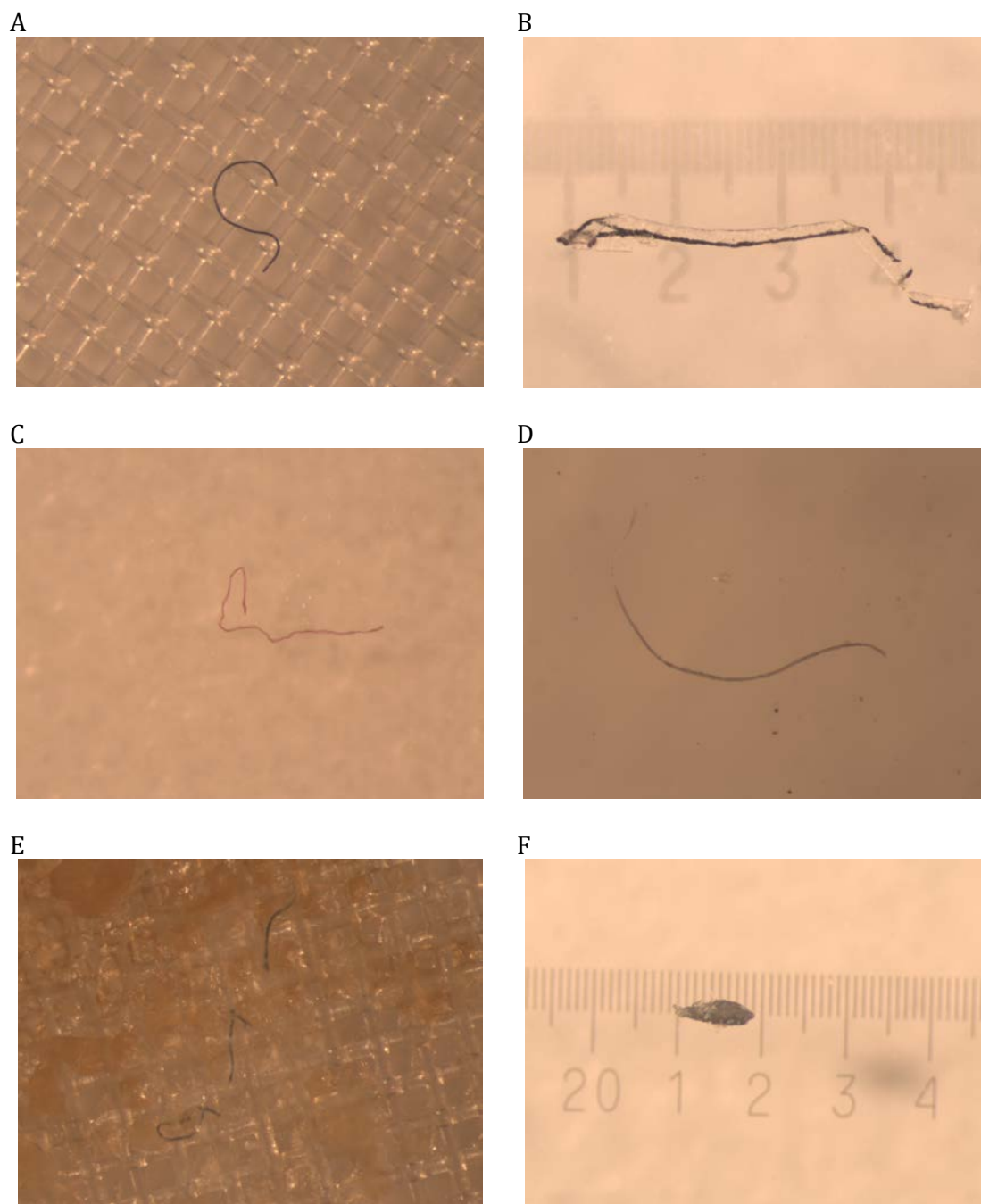
	Hvilling			Sild		
	Alle	Uden plast	Med plast	Alle	Uden	Med plast
Antal fisk	45	31	14	45	33	12
Længde (mm)						
<i>Mean</i>	179.6	175.0	189.7	145.4	145.5	145.3
<i>Stdev</i>	29.9	28.4	31.7	7.6	8.2	6.2
<i>Min</i>	114.0	114.0	141.0	127.0	127.0	137.0
<i>Max</i>	250.0	236.0	250.0	159.0	159.0	155.0
Vægt (g)						
<i>Mean</i>	47.9	43.4	57.9	18.8	18.7	19.1
<i>Stdev</i>	26.8	22.8	32.9	5.9	3.5	2.7
<i>Min</i>	9.3	9.3	19.1	27.6	12.8	14.7
<i>Max</i>	124.9	114.5	124.9	48.2	24.9	23.3

Størstedelen af de forekomster af mikroaffald større end 0,5 mm som vi observerede bestod af blålige/blåsorte eller sorte fibre/filamenter på mellem 0,5 mm og ca. 4 mm (Tabel 2; Figur 3). I få tilfælde var farven rød og i en enkelt prøve helt transparent med en sort kant.

Tabel 2 : Forekomst og sammensætning af mikroaffald i de fisk undersøgt.

Fisk	Sort granulat	Rød fiber	Blå fiber	Sort fiber
<i>Hvilling</i>	0	1	7	6
<i>Sild</i>	4	1	4	3

Vi observerede ligeledes irregulære, sorte granulater som mindede meget om kul i deres karakter. Det har ikke været muligt entydigt at konkludere om disse er syntetiske eller ej (f.eks. "black carbon"/sod fra ufuldstændig forbrænding) men disse er alligevel taget med her som mikroaffald da de i disse farvande sandsynligvis stammer fra antropogene (menneskeskabte) kilder.



Figur 3: Repræsentative eksempler på fragmenter fundet i fisk. A. sort fiber 0.9 mm; B. sort/klar plastikstrimmel 4.2 mm; C. rød fiber 2.2 mm; D. sort fiber 3 mm; E. blålig fiber 2.3 mm; F. sort granulat 1 mm.

Følgende tabeller (Tabel 3 og 4) viser antallet af elementer fundet i fiskenes fordøjelsessystem som antages at være antropogene. Elementerne er inddelt i kategorier baseret på udseende. Da ikke alle elementer blev testet i relation til smeltning er dette angivet separat i tabellerne. Størstedelen af det fundne mikroaffald fra sild bestod af sorte eller blålige fibre med længder på 0,5-3 mm (Tabel 3). Varmebehandling indikerede at flere af disse fibre bestod af syntetisk materiale mens andre ikke smeltede under høj varme men rettere forkullede,

hvilket indikerer at de er fremstillet af ikke-syntetisk materiale som f.eks. forarbejdet bomuld. I fire af sildene fandt vi to partikler og i de resterende fandt vi kun en enkelt partikel (Tabel 3). Det var ikke muligt gennem varmebehandlingen at få en entydig indikation af de sorte granulators sammensætning.

Tabel 3. Forekomst af mikroaffald i sildeprøverne. <i>S= Syntetisk, IS= Ikke-Syntetisk, IU= Ikke Undersøgt</i>			
SILD NR.	Affald beskrivelse	Affald beskrivelse	Antal per fisk
S3	Blå fiber 2 mm IU	Blå fiber 1 mm S	2
S5	Blå fiber 1,3 mm IS		1
S14	Sort granulat 0,5 mm IU	Sort granulat ca. 0,5 mm IU	2
S29	Sort granulat 0,6 mm. IU		1
S31	Blå fiber 1 mm. IU		1
S33	Rød- Sort fiber, 1,5 mm IU		1
S37	Sort fiber 0,9 mm S		1
S38	Sort granulat 1 mm IU		1
S42	Sort fiber 3 mm S	Sort fiber 1 mm IU	2
S45	Sort granulat/flage 0,75 mm IU		1
S46	Sort fiber 0,75 mm S		1
S48	Blå fiber 0,5 mm IU	Blå fiber 0,5 mm IU	2

I hvillingeprøverne var forekomsterne af mikroaffald også domineret af mørke fibre på maks 4 mm (Tabel 4). Selv om vi observerede sorte granulater mindre end 0,5 mm i prøverne var der ikke nogle der var klassificerbare efter den valgte metode (Tabel 2). I hvilling H29 fandt vi også den eneste forekomst af affald som ikke bestod af enten meget tynde fibre eller sorte granulater. Denne 4,2 mm klare plastikstrimmel med sort kant (se fig. 3B) smeltede helt tydeligt ved varmebehandling.

Tabel 4. Forekomst af mikroaffald i hvillingeprøverne. S= Syntetisk, IS= Ikke-Syntetisk, IU= Ikke Undersøgt

HVILLING NR.	Beskrivelse	Beskrivelse	Beskrivelse	Beskrivelse	Antal per fisk
H14	Sort fiber 0,5 mm IS				1
H15	Blå fiber 0,8 mm IS				1
H17	Blå fiber 2,5 mm IU				1
H19	Sort fiber 0,8 mm IS	Sort fiber 0,5 mm S			2
H20	Blå fiber 1 mm IU	Sort fiber, 0.8 mm IU	Sort fiber, 0.8 mm IU	Sort fiber, 0.8 mm IU	4
H21	Blå fiber 3 mm IU				1
H23	Blå fiber 2,3 mm IS				1
H26	Blå fiber 0,6 mm IS				1
H28	Blå fiber 4 mm IU				1
H29	Sort/ufarvet fiber 4,2 mm S				1
H30	Blå fiber 1,5 mm IS				1
H38	Sort fiber 0,6 mm IS				1
H42	Sort fiber 2 mm S	Sort fiber 1mm S			2
H43	Red fiber 2,2 mm IS				1

Diskussion

I overensstemmelse med tidligere studier i nordeuropæiske farvande (Lusher et al. 2013; Fokoema et al. 2013; Skóra et al. 2012) har vi i denne undersøgelse af fisk fra Storebælt ligeledes observeret forekomster af mikroskopisk plastik i fiskenes fordøjelsessystemer svarende til 31 % af undersøgte hvillinger og 27 % af sildene. Langt størstedelen af mikroaffald forekomsterne bestod af fibre mellem 0,5 mm og ca. 4 mm (Figur 3, Tabel 2). Nyere undersøgelser af marine sedimenter i danske farvande foretaget af DCE (J. Strand, AU pers. komm.) støtter vores resultater, da de ligeledes observerede fibre. Det tyder således på at sådanne fibre er meget udbredte i danske farvande både i sedimenter og i vandsøjlen. Tilstedeværelsen af mikroskopiske fibre i havvand og dermed i fiskene er ligeledes i overensstemmelse med resultaterne fra svenske observationer (Magnusson & Noren 2011), hvor man med anvendelse af 300 µm filtre i svensk farvand observerede en dominans af fibre af syntetiske og naturlige polymerer – sidstnævnte kalder de *ikke-syntetiske antropogene fibre*. Sådanne fibrer kan stamme fra bl.a. afløb fra vaskemaskiner og andre kilder (Magnusson & Norén 2011).

Både sild og hvilling spiser fra vandsøjlen. Det kan dog ikke udelukkes at affald i hvillinger kan stamme fra maveindholdet i fiskenes byttedyr (vi observerede eksempelvis fiskeknogler i flere af hvillingeprøverne). Det væsentlige er at der her er beviser for at mikroplastik indtræder i marine fødekæder og sandsynligvis akkumuleres. Sandsynligvis grundet fiskenes lave alder og størrelser har vi i denne undersøgelse ikke fundet større fragmenter (>5mm). DTU Aquas biologassistenter observerer dog jævnligt større plastikfragmenter i f.eks. torskemaver under diætanalysearbejde.

Konklusion

Resultaterne af denne analyse af marint affald i sild og hvilling fra det nordlige Storebælt giver en indikation af, at fisk spiser plastik, ikke-syntetiske antropogene fibre og muligvis også andre antropogene partikler som f.eks. affaldsprodukter fra forbrænding. Det er svært med en undersøgelse af denne størrelse og omfang at konkludere noget generelt om betydningen af marint affald for fisk. Vi kan konstatere at 50 fisk af hver art er en fornuftig minimumsprøvestørrelse og at mikroplastik forekommer i en grad svarende til 27-31 % af de undersøgte fisk. Svagheden i denne forundersøgelse er at der kun er anvendt to arter fanget i samme trawltræk på samme lokalitet. For at få et solidt indtryk af affaldsproblematikkens omfang i forhold til marine fisk af andre arter og aldre vil det være en fordel fremover at samtænkte arbejdet med eksisterende fiskeovervågning. Dette vil ligeledes være i overensstemmelse med Miljøministeriets Miljømålsrapport (Miljøministeriet 2012) i forbindelse med den danske implementering af Havstrategidirektivet.

Anbefalinger til fremtidige undersøgelser

På baggrund af denne undersøgelse kan vi anbefale følgende:

- *Undersøgelse af større fisk.* Anvendes større fisk bliver det nemmere at isolere mave og tarm og dermed reduceres fedtindhold i prøverne som forhindrer brug af fine filtre og dermed systematisk kvantificering af affald under 0,5 mm.
- *Undersøgelse af et bredere spektrum af fiskearter- og størrelser med større geografisk spredning.* Det anbefales i fremtidige undersøgelser at man baserer valget af fiskearter til analyse på deres fødestrategier så man får et utvetydigt indtryk af, hvor eventuel mikroaffald er spist.
- *Bestemmelse af kemisk sammensætning af marint affald.* Det vil være hensigtsmæssigt at udvide analysen til at også at inkludere måling af den kemiske sammensætning af marint affald med f.eks. Fourier Transform Infrarød Spektroskopi (FT-IR). Dette vil ligeledes medvirke til en kobling mellem det fundne affald og mulige forureningskilder.

Referencer

Anon. 2008. Europa-Parlamentets og Rådets Direktiv 2008/56/EF af 17. juni 2008 om fastlæggelse af en ramme for Fællesskabets havmiljøpolitiske foranstaltninger (havstrategirammedirektivet).

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 (2011) 2199–2204.

Foekema, E.M., De Gruijter, C., Mergia, M.T., van Franeker, J.A., Murk, A.J., Koelmans, A.A. 2013. Plastic in North Sea Fish. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47, 8818–8824.

Lusher, A.L., McHugh, M., Thompson, R.B. 2013. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Marine Pollution Bulletin* 67 (2013) 94–99.

Magnusson, K. & Norén, F. 2011. Mikroskopiskt skräp i havet - metodutveckling för miljöövervakning. Rapport af N-Research for Naturvårdsverket. Augusti 2011. 22 s.

Miljøministeriet 2013. Danmarks Havstrategi – Miljømålsrapport. 32 s.

Rochman, C.M., Hoh, E., Kurobe, T. & The, S.J. 2013. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. *Nature, Scientific Reports* 3, Article number: 3263.

Skóra, M.E., Sapota, M.R., Skóra, K.E., Pawelec, A. 2012. Diet of the twaite shad *Alosa fallax* (Lacépède, 1803) (Clupeidae) in the Gulf of Gdansk, the Baltic Sea. *Oceanological and Hydrobiological Studies. International Journal of Oceanography and Hydrobiology*. Volume 41, Issue 3:(24–32).

TSG-ML 2011. Monitoring Guidance for Marine Litter in European Seas. MSFD GES Technical Subgroup on Marine Litter (TSG-ML). DRAFT REPORT, July 2013.

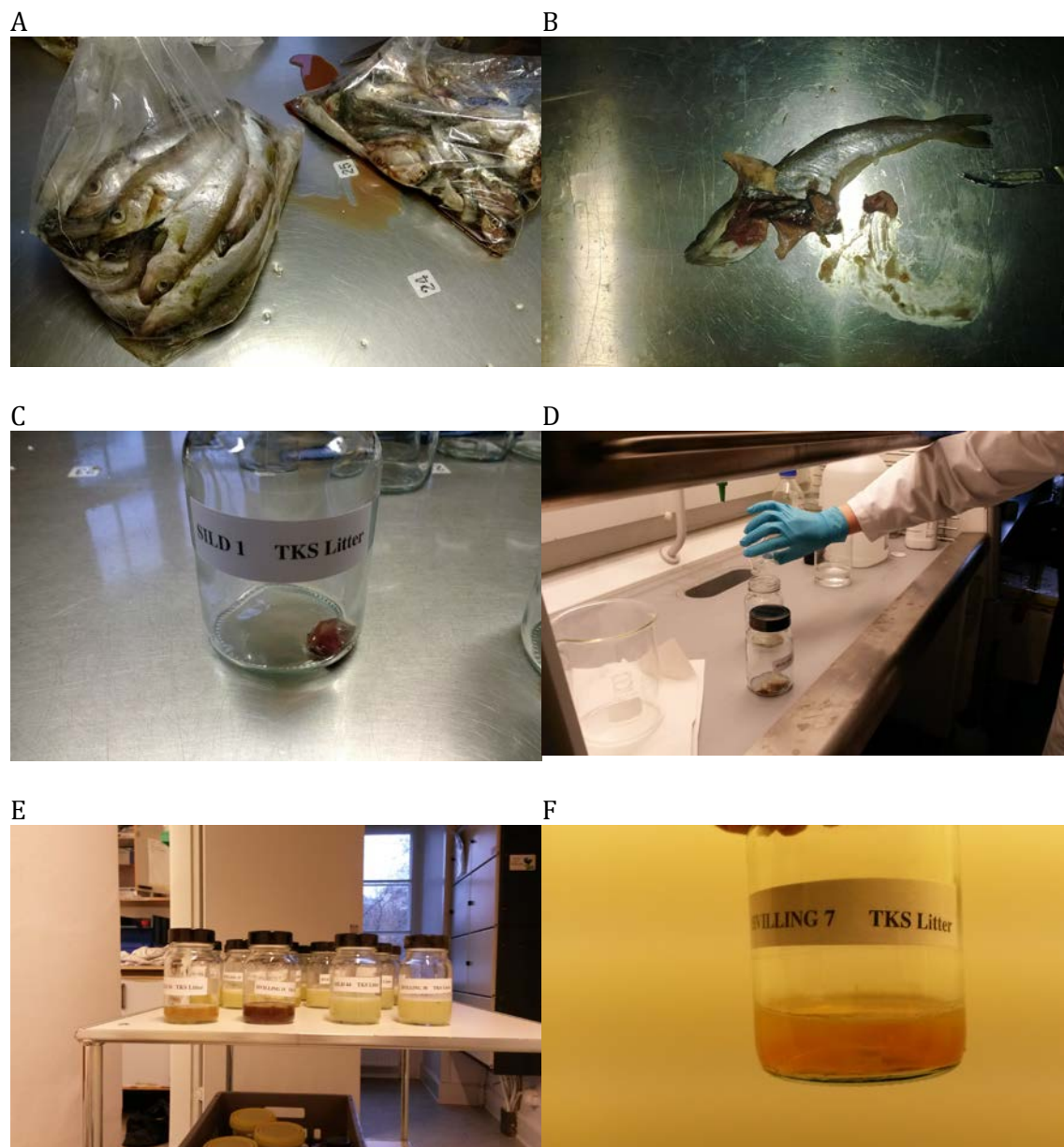
von Moos, N., Burkhardt-Holm, P. & Köhler, A. 2012. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. *Environ. Sci. Technol.* 2012, 46, 11327–11335.

Wright, S.L., Thompson, R.C., and Galloway, T.S. 2013a. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environ. Poll.* 178, 483–492.

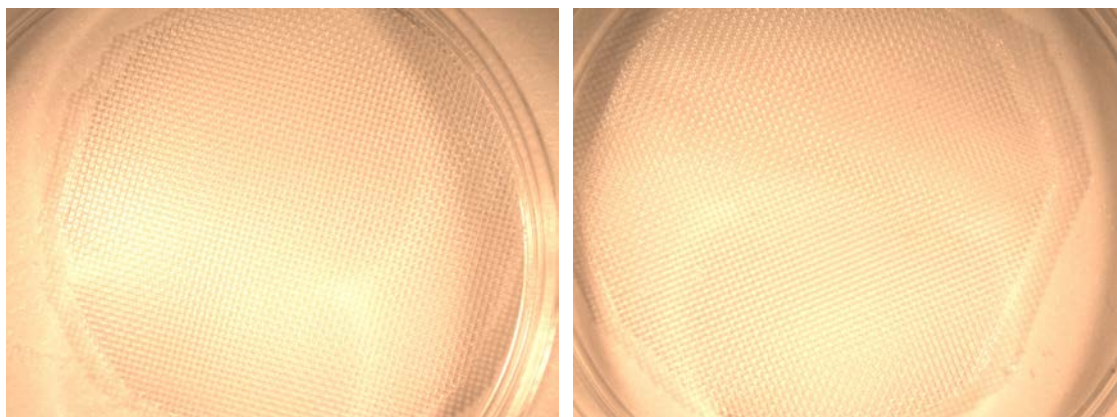
Wright, S.L., Rowe, D., Thompson, R.C. & Galloway, T.S. 2013b. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology*, Volume 23, Issue 23

Tak til Sven-Erik Lewinski, Stine Kærulf Andersen, Anna Rindorf, Heidi Andreassen, Aage Thaarup (DTU Aqua) og Kerstin Magnusson (Svenska Miljöinstitutet).

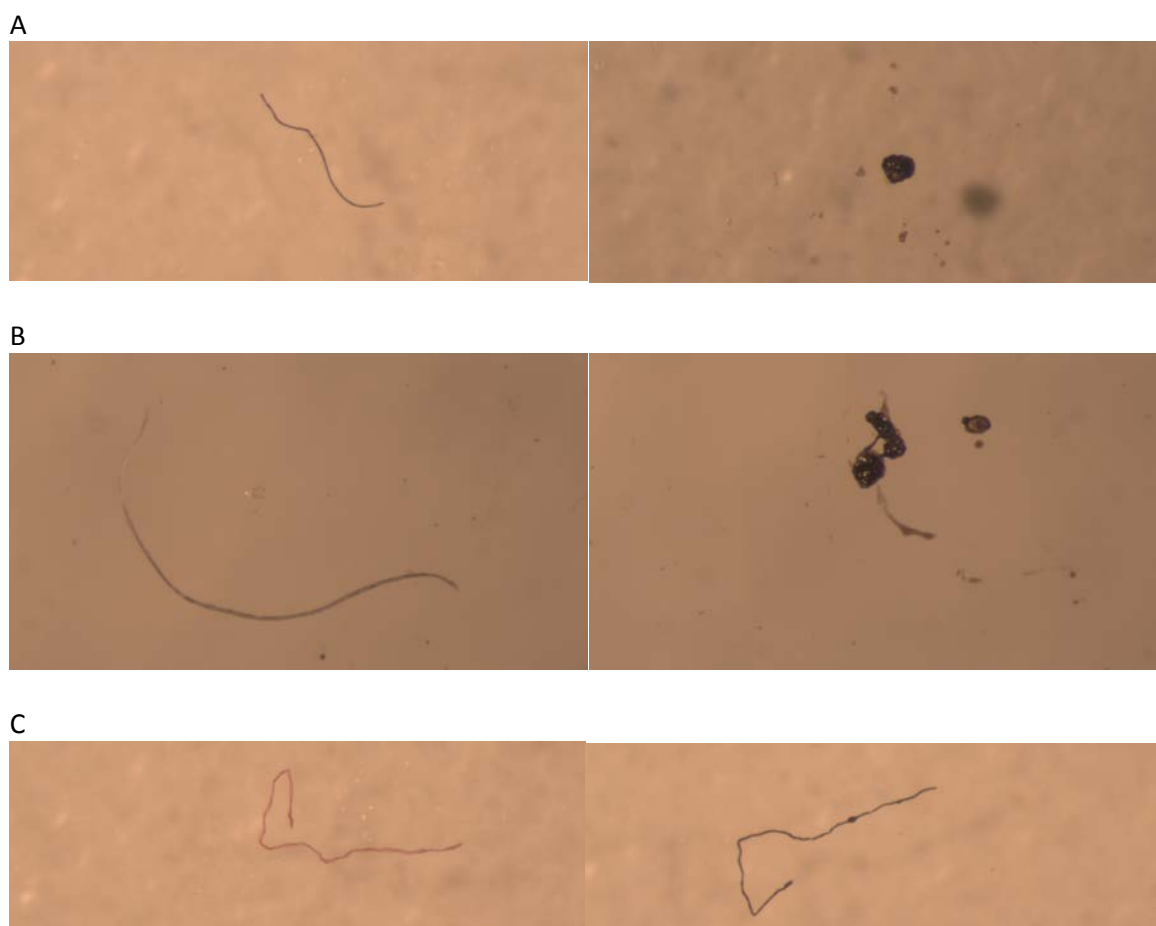
BILAG I: Diverse figurer



Figur 1: A. Sild og hvilling til analyse. B. Udissektion af indre organer. C. Organer i glasbeholder. D. KOH tilsættes til at opløse væv. E. Prøverne i opløsningsfasen. F. Prøver næsten opløst, hvorefter de tilsættes klor inden filtrering.



Figur 2: Kontrolfiltre fra filtering af opløste prøver. Der observeredes ikke affald eller andre partikler i de to kontrolfiltre.



Figur 3. Eksempler på fragmenter før og efter opvarmning på objektglas. A og B er tydeligvis syntetiske fibre. C beholder sin form efter opvarmning men bliver forkullet, hvilket indikerer at det ikke er af syntetisk materiale.