

**Bewertung und
Quantifizierung von
Auswirkungen mariner Abfälle
auf Meeresorganismen (gemäß
Deskriptor 10 MSRL):
Mikroplastik in pelagischen
und demersalen Fischen in
Nordsee (Niedersächsisches
Wattenmeer) und Ostsee
(Wismar-Bucht / nördl. Rügen)**

TEXTE 146/2021

Umweltforschungsplan des
Bundesministeriums für Umwelt,
Naturschutz und nukleare Sicherheit

Forschungskennzahl 3712 25 229
FB000645

**Bewertung und Quantifizierung von
Auswirkungen mariner Abfälle auf
Meeresorganismen (gemäß Deskriptor 10
MSRL): Mikroplastik in pelagischen und
demersalen Fischen in Nordsee
(Niedersächsisches Wattenmeer) und Ostsee
(Wismar-Bucht / nördl. Rügen)**

von

Dr. Barbara Scholz-Böttcher, Marten Fischer, Melanie Meyer
Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM)
Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, Carl von Ossietzkystraße 9-12,
26129 Oldenburg

Dr. Jens Gercken
Institut für angewandte Ökosystemforschung GmbH (IfAÖ), Neu Brodersdorf

Im Auftrag des Umweltbundesamtes

Impressum

Herausgeber:

Umweltbundesamt
Wörlitzer Platz 1
06844 Dessau-Roßlau
Tel: +49 340-2103-0
Fax: +49 340-2103-2285
buergerservice@uba.de
Internet: www.umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt.de

 /umweltbundesamt

Durchführung der Studie:

Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM)
Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
Carl von Ossietzkystraße 9 - 12
26129 Oldenburg

Abschlussdatum:

August 2015

Redaktion:

Fachgebiet II 2.3 Meeresschutz
Stefanie Werner, Dagmar Larws

Publikationen als pdf:

<http://www.umweltbundesamt.de/publikationen>

ISSN 1862-4804

Dessau-Roßlau, November 2021

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autorinnen und Autoren.

Kurzbeschreibung

Pelagische und demersale Fischarten aus Nord- und Ostsee wurden mikroskopisch auf auffällige Partikel und durch Pyrolyse Gaschromatographie Massenspektrometrie auf insgesamt 9 Kunststoffe (Polyethylen (PE), Polypropylen (PP), Polystyrol (PS), Polyvinylchlorid (PVC), Polyethylenterephthalat (PET), Polymethymethacrylat (PMMA), Polycarbonat (PC), Polyurethan (PUR), Polyamid (PA)) qualitativ und quantitativ untersucht. Dies erfolgte nach enzymatisch, chemisch-oxidativer Aufarbeitung und in einigen Fällen einer Dichtentrennung.

Im Mittel wurde in 69% der untersuchten Fischproben aus Nord- und Ostsee Mikroplastik <1mm (S-MP) nachgewiesen. Die Fische der Ostsee enthielten tendenziell häufiger S-MP und eine größere Vielfalt an Kunststoffarten. Mit Ausnahme von PP wurden alle Kunststoffarten (s.o.) nachgewiesen. Als solche erkennbare, größere Kunststoffpartikel (> 1mm) fehlten vollständig. Es gab keinen pauschalen Trend zwischen der Häufigkeit der S-MP-Aufnahme, den nachgewiesenen, einzelnen Kunststoffarten und dem pelagischen oder benthischen Habitat der jeweiligen Fischarten. Menge und Qualität von S-MP scheinen mit der Art und Qualität der Nahrungsaufnahme der einzelnen Spezies zu variieren. Das S-MP Vorkommen ist wahrscheinlich stärker von lokalen Strömungs- und Sedimentationsbedingungen und physikalischen Kräften abhängig als von der Dichte der Kunststoffe. Eine semi-quantitative Abschätzung ergibt für Fische der Ostsee S-MP-Gehalte unterhalb von 20 µg in denen der Nordsee unterhalb von 15 µg/Probe. Die Mengen einzelner Kunststoffarten liegen vielfach unterhalb des derzeitigen Kalibrierbereiches.

Die im Rahmen dieser Pilot-Studie untersuchten Fischarten eignen sich grundsätzlich, als vergleichsweise leicht verfügbare Indikatororganismen, zur Erfassung der Belastung ihres Lebensraums mit Mikroplastik. Sie sind von lokaler Aussagekraft und bei Langzeitstudien ein Trendindikator für die MP-Belastung. Eine Einschätzung zum Belastungszustand von Nord- und Ostseefischen mit MP sowie der potentiellen Gefährdung des Menschen durch Verzehr von Fischen wird gegeben.

Abstract

Pelagic and demersal fishes from North and Baltic Sea were studied for conspicuous particles microscopically and additionally analyzed for their qualitative and quantitative plastic content regarding 9 common polymers (polyethylene (PE), polypropylene (PP), polystyrene (PS), polyvinylchloride (PVC), polyethyleneterephthalate (PET), polymethylmethacrylate (PMMA), polycarbonate (PC), polyurethane (PUR), polyamide (PA) using pyrolysis-gas chromatography mass spectrometry. An enzymatic and chemical-oxidative clean-up as well as density separation as needed were performed in the forefront of analysis.

On average 69% of North- and Baltic Sea fishes were positive of small microplastic < 1mm (S-MP). Fishes from the Baltic Sea had a higher S-MP load and variety of polymers by trend. Except PP, absent in the S-MP fraction, all other polymers were detected. Bigger particles (> 1mm) addressable as plastic were completely absent. There was no overall trend between S-MP uptake, single detected polymer types and pelagic or benthic habitat of respective fish species. Amount and quality of S-MP seem to vary with nature and quality of food intake. S-MP occurrence and distribution seem to be more effected by local currents, sedimentation and physical forces than density of polymer types. A semi quantitative estimation resulted S-MP contents below 20 µg per fish for Baltic Sea fishes and below 15 µg per sample (2-5 fishes) for North Sea fishes.

Generally, the fish species of this pilot study are suitable as easily accessible indicator organisms to detect the MP-load of their habitat. Here they are of local significance and MP-trend indicators for long term studies. An assessment of MP-pollution of fishes from North and Baltic Sea as well as the risk exposure of humans at consumption of these fish is given.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis.....	9
Abkürzungsverzeichnis.....	10
Zusammenfassung	11
Summary	18
1 Einleitung.....	24
1.1 Zielsetzung	25
2 Wissenschaftlicher Hintergrund	26
2.1 MP in marinen Organismen	26
2.2 Analyse von MP	27
2.2.1 Kurzdarstellung der verwendeten Py-GCMS-Methode	28
3 Material und Methoden	30
3.1 Fischproben	30
3.1.1 Herkunft und Fangart	30
3.1.2 Untersuchte Fischarten	31
3.1.3 Maßnahmen zur Reduktion des Kontaminationsrisikos mit MP aus der Umgebung.....	31
3.1.4 Probenvorbereitung.....	32
3.1.5 Zur Aufarbeitung verwendete Chemikalien und Materialien	33
3.1.6 Probenvorbehandlung zur Kunststoffkonzentration.....	34
3.2 Optisch-mikroskopische Analyse.....	35
3.3 Py-GCMS.....	36
3.3.1 Messbedingungen	36
3.3.2 Qualitative und quantitative Bestimmung der Kunststoffe	36
4 Ergebnisse und Diskussion.....	39
4.1 Untersuchungen der Isolate auf MP durch optische Analyse	39
4.2 Untersuchungen der aufgearbeiteten Proben auf MP durch Py-GCMS	44
4.2.1 Blindwerte	44
4.2.2 Anwendung der Py-GCMS auf natürliche Proben.....	45
4.2.3 Qualitativer Vergleich der Kunststoff-Belastung von pelagischen und demersalen Fischen in Nord- und Ostsee unter Berücksichtigung aller Daten	49
4.2.4 Quantitative MP Untersuchungen.....	59
4.3 Einschätzung der Belastungssituation von Fischen in Nordsee (Jadebusen) und Ostsee	61

4.4	Einschätzung der menschlichen Belastung durch den Verzehr von Fischen	61
4.5	Kunststoffadditive	62
4.6	Einschätzung der Eignung von Fischen als Indikatororganismen im Rahmen des Monitoring gemäß Deskriptor 10 der MSRL	62
5	Quellenverzeichnis.....	64

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Lage der Probenahmeorte.....	30
Abbildung 2:	Sektion der Mägen bzw. M/D-Trakte pelagischer und demersaler Fische (Beispiele).....	32
Abbildung 3:	Mehrstufiges Aufarbeitungsschema der Fischproben zur MP-Analyse	35
Abbildung 4	Ausgewählte Beispiele von Objekten auf Zählfiltern.....	40
Abbildung 5:	Identifizierung und Quantifizierung von PMMA und PET am Beispiel einer Probe juveniler Heringe (5 Fischmägen) aus der Nordsee (Jadebusen). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.	46
Abbildung 6:	Identifizierung und Quantifizierung von PC am Beispiel einer Flunder- (1 Fischmagen) und einer Sprotten-Probe (5 Fischmägen) aus der Ostsee (Seegebiet Baltic II). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.....	46
Abbildung 7:	Identifizierung und Quantifizierung von PET und PE am Beispiel einer Flunder- (1 Fischmagen) aus der äußeren Wismarbucht (Poel, Ostsee). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.....	47
Abbildung 8:	Identifizierung und Quantifizierung von PS am Beispiel einer Sprotten-Probe (5 Fischmägen) aus dem Gebiet Baltic II (Ostsee). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.....	48
Abbildung 9:	Pelagische Fische und demersale Fische aus Nord- und Ostsee – Relative Anteile an MP-positiven Funden und Anzahl an MP-Arten	51
Abbildung 10:	Relative Häufigkeiten der neun Kunststoffarten in allen untersuchten pelagischen und demersalen Fischen der Nord- und Ostsee	53
Abbildung 11:	Vergleich der relativen Häufigkeiten einzelner Plastikarten in den untersuchten pelagischen Fischarten von Nord- und Ostsee.....	56
Abbildung 12:	Relative Häufigkeit von einzelnen Kunststoffarten in verschiedenen demersalen Fischarten aus Nord- und Ostsee....	57
Abbildung 13:	Kunststoffarten und deren relative Häufigkeit in juvenilen Heringen aus dem Jadebusen (Nordsee) unterschiedlicher Fangzeitpunkte	59

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	In die Untersuchung einbezogene pelagische und demersale Fischarten	31
Tabelle 2:	Liste der verwendeten Chemikalien	33
Tabelle 3:	Liste der eingesetzten Materialien.....	33
Tabelle 4:	Verwendete Kunststoffstandards	36
Tabelle 5:	Kalibrierfunktionen für die einzelnen Plastikarten	37
Tabelle 6:	Vergleich der unterschiedlich gefärbten Faseranteile in den untersuchten Fischproben. Linke Spalte: Prozentualer Anteil an Proben mit diesen Fasern, rechte Spalte: Prozentualer Anteil der Fasertypen an den Gesamtfasern	41
Tabelle 7:	Auffällige Partikel (AP) in den insgesamt 15 Prozessblindwerten der optischen Analyse.....	42
Tabelle 8:	Streuung in der Anzahl an APs in den untersuchten Fischproben der Kategorie Faser (5 Unterkategorien) und der Kategorien Fragment, Folie und Pellet. Die Werte in Klammern geben die auf Basis der verschiedenen Prozessblindwerte korrigierten Zahlen wieder.....	43
Tabelle 9:	Optischer Nachweis von AP (Blindwert-korrigiert) in pelagischen und demersalen Fischarten aus Nord- und Ostsee.....	44
Tabelle 10:	Ungefähre Durchschnittsgehalte an Einzelkunststoffen in den untersuchten pelagischen und demersalen Fischproben mit positivem MP Nachweis Tabellenbeschriftung.....	60

Abkürzungsverzeichnis

AP	Auffällige Partikel
BW	Blindwert
CP	Conspicuous particle
CP-Py	Curie-Punkt Pyrolyse
EGS	Ecosystem Goods and Services
GC	Gaschromatographie
L-MP	Large micro plastic
MP	Mikroplastik
MSRL	Meeresstrategie-Rahmenrichtlinie
MS	Massenspektrometrie
PA	Polyamid
PC	Polycarbonat
PE	Polyethylen
PET	Polyethylenterephthalat
PMMA	Polymethylmethacrylat
PP	Polypropylen
PS	Polystyrol
PUR	Polyurethan
PVAL	Polyvinylalkohol
PVC	Polyvinylchlorid
Py	Pyrolyse
SDS	Natriumdodecylsulfat
S-MP	Small micro plastic
TMAH	Trimethylammoniumhydroxid

Zusammenfassung

Die Mägen bzw. Magen- und Darmtrakte pelagischer und demersaler Fische aus Nord- und Ostsee wurden im Rahmen einer Pilotstudie 2015/2016 auf das Vorkommen von Kunststoffpartikeln untersucht. Dies erfolgte nach vorhergehender Aufarbeitung und Konzentrierung zum einen mikroskopisch, wobei hier im Ergebnis „auffällige Partikel (AP)“ angesprochen werden, da eine belastbare, rein optische Identifizierung nicht möglich ist. Zum anderen wurde mit Hilfe der Pyrolyse-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (Py-GCMS) eine qualitative und quantitative Analyse auf 9 Kunststoffarten (PE, PP, PS, PET, PVC, PA, PC, PUR, PMMA) durchgeführt, die in ihrer Zusammensetzung über 80% der aktuellen Kunststoffproduktion repräsentieren (Fischer und Scholz-Böttcher 2017).

Fanggebiete waren in der Nordsee im Niedersächsischen Wattenmeer der zentrale Jadebusen und in der Ostsee die Wismar-Bucht bzw. ein Seegebiet 35 km nördlich von Rügen (Seegebiet Windpark Baltic II).

Insgesamt wurden 258 pelagische und 132 demersale Fische untersucht. Hierbei waren sowohl juvenile als auch Speisefischgrößen vertreten. In Abhängigkeit der Größen verfügbarer Individuen wurden diese zu 66 pelagischen bzw. 43 demersalen Proben „gepoolt“. Bei den pelagischen Arten handelte es sich um Hering (*Clupea harengus*) und Sprotte (*Sprattus sprattus*), bei den demersalen Arten um Plattfische und zwar um Flunder (*Platichthys flesus*), Kliesche (*Limanda limanda*), Seezunge (*Solea solea*) und Scholle (*Pleuronectes platessa*). Die Untersuchung beschränkte sich auf die Mägen bei den pelagischen bzw. Magendarmtrakte bei den demersalen Arten, da hier eine klare Abgrenzung von Magen und Darm in vielen Fällen nicht möglich war. Diese wurden als Ganzes einer enzymatisch/chemisch oxidativen Aufarbeitung unterzogen, um potentielle Kunststoffpartikel auf Filtern zu isolieren und aufzukonzentrieren. Vor allem bei den Plattfischen war eine zusätzliche Dichtentrennung u.a. zur Entfernung aufgenommenen Sandes notwendig. Eine Sekundärkontamination mit Mikroplastik während der Aufarbeitung wurde durch verschiedene Maßnahmen minimiert, außerdem wurden parallel zu den Fischproben 30 Prozessblindwerte aufgearbeitet und bei der Bewertung berücksichtigt.

Mikroskopie

55 Proben und 15 Blindwerte wurden auf Zählfiltern unter dem Binokular (max. Vergrößerung 120-fach) fotografisch erfasst und ausgezählt. Auffällige Partikel (APs) wurden basierend auf das Größenspektrum der Funde in die Kategorien Fasern (0,3 – 3 mm lang, < 0,05 mm breit), mit farblich abgegrenzten Untergruppen, Fragmente (Ø 0,05 – 0,6 mm), Folie (Ø 0,3 mm) und Pellet/Granula (Ø 0,1 – 0,2 mm) eingeordnet.

Mit Ausnahme der Fasern wurden in den Fischproben keine APs oberhalb von 1 mm nachgewiesen. Aufgrund der Aufarbeitung (Verdau der gesamten Mägen bzw. Magendarmtrakte) kann ein Verlust kompakter Kunststoffpartikel >1 mm ausgeschlossen werden. Entsprechend kann es sich bei potentiell vorliegendem Plastik ausschließlich um Mikroplastik (MP) der kleinen Fraktion (S-MP) handeln.

Trotz umfangreicher Maßnahmen zur Vermeidung von Kontamination wurden in den Blindwerten Fasern und vereinzelt Partikel festgestellt. Die Fasern verschiedener Färbung konnten aufgrund ihres optischen Erscheinungsbildes in den überwiegenden Fällen als Baumwolle/Cellulose und damit natürliches Material angesprochen werden. Sowohl vor aber noch offensichtlicher nach Blindwertkorrektur enthielten die untersuchten Fischproben nur wenige APs. Im Vergleich mit den pelagischen Fischarten wurden bei den demersalen Fischarten aus Nord- und Ostsee häufiger APs festgestellt. Die maximale Anzahl betrug in Ausnahmefällen 13 Fasern (9 nach Blindwertkorrektur) (Probe aus 2 Flundern, Jadebusen) und 12 Fragmente (eine Scholle, Seegebiet Baltic II, Ostsee), lag aber in der Regel weit darunter (Fasern < 6, Fragmente < 3). APs der Kategorie Folie bzw. Pellet wurden nur je einmal angesprochen.

Zusammenfassend handelte es sich bei den optisch erfassten APs (mit Ausnahme einiger Fasern) ausschließlich um die S-MP-Fraktion (< 1 mm). Eine belastbare Ansprache der APs als MP nur anhand ihres optischen Erscheinungsbildes war nicht möglich. In wenigen Fällen wurde ein Vorkommen von MP vermutet. Eine stichpunktartige Überprüfung durch Py-GCMS konnte dies jedoch nicht erhärten. Bei der zur MP Konzentrierung notwendigen Probenaufarbeitung, bei der in erheblichem Maße Gewebe und Magen-Darminhalt zersetzt werden mussten, ließen sich nicht immer alle organischen Matrixbestandteile vollständig entfernen bzw. abauen. In extremen Fällen wurde die Prozedur wiederholt. Diese Matrixreste erschwerten mitunter die mikroskopische Analyse der vergleichsweise kleinen Zählfilter ($\varnothing 15$ mm).

Pyrolyse-Gaschromatographie Massenspektrometrie

71 Proben und 15 Blindwerte wurden auf Anodisc-Filtern als Ganzes, mit Hilfe der Py-GCMS analysiert. Hierfür wurden alle, nach der Aufarbeitung vorliegenden, organischen Bestandteile auf dem inerten Filtermaterial (Aluminiumoxid) pyrolysiert, d.h. unter definierten Bedingungen in charakteristische Pyrolyseprodukte zersetzt, chromatographisch als Funktion der Zeit aufgetrennt und massenspektrometrisch detektiert.

Für die jeweiligen Kunststoffarten wurden einzelne, charakteristische und möglichst intensive Indikator-Pyrolyse-Produkte ausgewählt. Die Proben wurden auf diese Verbindungen hin gezielt untersucht. Die chromatographische Auftrennung und die mit der massenspektrometrischen Auswertung verbundene hohe Selektivität machten die Detektion dieser Komponenten in den trotz massiver Reduktion der Fischmatrix (d.h. Gewebe und Magen-Darminhalte) häufig noch sehr komplexen Pyrogrammen möglich.

Die Kunststoffe PMMA, PC, PET, PP, PUR und PA ließen sich auf diese Weise sehr selektiv und empfindlich nachweisen.

Der analytische Spurennachweis von PE, PS und PVC ist in Matrix-freien Proben ebenfalls problemlos. Aufgrund ihrer vergleichsweise unspezifischen Hauptpyrolyseprodukte kann ihre Detektion bei Restbeständen von organischer Matrix aus den Mageninhalten der Fische gestört werden, da einige Matrixbestandteile eine potentielle Quelle dieser Produkte sein können. Die Auswertung bedurfte entsprechender Vorsicht und erforderte, wenn möglich, eine zusätzliche Absicherung durch weitere, weniger intensive Indikatorprodukte.

Möglicherweise vorliegende Copolymere, die eine oder mehrere der untersuchten Kunststoffarten enthalten, wurden durch die Py-GCMS ebenfalls in ihren Anteilen erfasst und anschließend als das jeweilige Einzelpolymer angesprochen und bestimmt. Copolymere als solche werden nicht erkannt.

Das Pyrolyseverhalten von Kunststoffen kann abhängig von der jeweiligen Kunststoffart graduell abweichen. Hiervon bleibt ihr qualitativer Nachweis unberührt. Eine Quantifizierung setzt allerdings idealerweise voraus, dass identische Kunststoffe vorliegen. Die für die Kalibrierung eingesetzten Polymere sind handelsüblich, bei den in den Proben vorliegenden wird von vergleichbaren Kunststoffen ausgegangen.

In keinem der untersuchten Prozessblindwerte ließen sich die neun genannten Kunststoffe nachweisen. Demgegenüber wurden in einigen Fällen typische Produkte detektiert, wie sie bei der Pyrolyse von Kohlenhydraten (z.B. Cellulose bzw. Baumwolle) entstehen, was sich mit dem mikroskopischen Erscheinungsbild von Baumwollfasern deckte.

Relative Häufigkeit von MP

In 69% der Nord- und Ostsee-Fischproben konnte MP nachgewiesen werden. Bei den Nordseefischen handelte es sich um ausschließlich gepoolte Proben mit 2-5 Mägen bzw. MD-Trakten juveniler Fische, bei den Ostseeproben wurden mit Ausnahme der Sprotten (5-6 Mägen pro Probe) einzelne

adulte Individuen untersucht. In der überwiegenden Zahl der Fälle enthielten die Proben eine oder zwei Kunststoffarten, seltener drei. In fünf Fischproben aus der Ostsee wurden jeweils vier Kunststoffarten gleichzeitig detektiert.

Diese Ergebnisse unterscheiden sich erheblich von denen zweier anderer Studien aus Nord- bzw. Nord- und Ostsee mit weniger (36%, einschließlich der halbsynthetischen Faser Rayon als Hauptvertreter, Lusher et al. 2013) oder sehr viel weniger (< 8,6%, Rummel 2014, Rummel et al. 2016) MP positiver Proben. Im Gegensatz zu diesen Studien, bei denen die MP-Partikel vor der qualitativen Analyse immer mikroskopisch aus den Inhalten der Fischmägen aussortiert und nahezu ausschließlich Partikel > 200 µm durch FT-IR identifiziert worden sind, wurden bei der vorliegenden Untersuchung die gesamten Mägen mit Inhalt verdaut. Es fand entsprechend keinerlei optische und entsprechend größenabhängige Vorauswahl statt. Mögliche Plastikpartikel > 200 µm wurden zudem nicht festgestellt (s.o.). Außerdem wurde durch die Aufarbeitung nicht nur die MP-Anteile erfasst, die die Fische unabhängig von der Nahrung aufgenommen hatten, sondern auch diejenigen, die sich in den aufgenommenen Nahrungsorganismen befanden. Aus diesen werden potentielle MP-Anteile durch die Verdauungsschritte ebenfalls freigesetzt und analytisch berücksichtigt. Bedingt durch die verwendeten Filtertügel wurden Partikel > 10 µm erfasst.

Vergleich des MP Vorkommens zwischen pelagischen und demersalen Fischarten

Von den Fischen aus dem Jadebusen (Wattenmeer, Nordsee) enthielten 45% der pelagischen und 83% der demersalen Arten MP. In diesem Fall liegt der Rückschluss nahe, dass die Meeresboden-nah lebenden demersale Arten im Vergleich häufiger und mehr MP aufnehmen. Ursache hierfür können MP Anreicherungen im Sediment aufgrund der lokalen Sedimentationsbedingungen innerhalb dieser tidal geprägten, nicht ästuarinen Meeresbucht sein.

Im Gegensatz hierzu ließen sich bei den Fischen aus der Ostsee keine auffälligen Unterschiede im MP Vorkommen zwischen pelagischen (68,5%) und demersalen (69%) feststellen. Hier war der Unterschied innerhalb der pelagischen Arten eines Fanggebietes sehr viel ausgeprägter (57% bei Heringen vs. 80% bei Sprotten). Dies kann u.a. auf unterschiedliche Fraßgewohnheiten, z.B. hinsichtlich der bevorzugten Nahrungsorganismen, zurückzuführen sein, die ihrerseits in unterschiedlich starkem Maße MP aufnehmen.

Die Ergebnisse lassen keinen pauschalen Zusammenhang zwischen dem pelagischen oder benthischen Lebensraum der untersuchten Fischarten und der Häufigkeit einer MP-Aufnahme erkennen. Das ist konsistent mit Daten früherer Untersuchungen (Rummel 2014, Rummel et al 2016). Vermutlich sind für die MP-Aufnahme vor allem lokale Sedimentationsbedingungen und Fraßgewohnheiten der einzelnen Spezies von Relevanz.

Qualitative Zusammensetzung des MP & Einfluss der Dichte

Aufgrund der sehr empfindlichen Py-GCMS Messungen konnten acht der neun untersuchten Kunststoffarten in den zur Verfügung stehenden Proben nachgewiesen werden. In keiner Probe wurde PP detektiert. PUR und PA ließen sich nur in einer Flunder aus der Wismarbucht identifizieren.

Alle Fischarten aus dem Jadebusen hatten konsistent PC, PET und PMMA aufgenommen. Zusätzlich enthielten einige Heringe PE sowie PS und einige demersale Fischproben PVC. Spezies aus der Ostsee enthielten PE, PC, PET, PMMA, PVC und PS. In den demersalen Arten wurde außerdem PA und PUR nachgewiesen.

Die unterschiedlichen Dichten verschiedener Kunststoffe geben zu der Hypothese Anlass, dass sich diejenigen geringer Dichte (z.B. PE, PP, extrudiertes PS) bevorzugt in der pelagischen Zone anreichern, während Kunststoffe hoher Dichte (z.B. PET, PVC) auf den Meeresboden absinken und sowohl in der benthischen Zone als auch im Sediment akkumulieren.

In dieser Studie gab es keinen pauschalen Trend zwischen der Dichte der nachgewiesenen, einzelnen Kunststoffarten und dem Habitat der jeweiligen Fischarten. Während sich im Jadebusen dieser Trend durch das Vorkommen von Polymeren geringer Dichte nur in pelagischen Fischen (Heringe) andeutete, war das in der Ostsee nicht der Fall. Hierdurch wird ein ausschließlich auf die Dichte zurückführbarer, einfacher Zusammenhang bei der Betrachtung von Kunststoffanreicherungen in Lebensräumen in Frage gestellt. Für das Sedimentationsverhalten kleiner MP-Partikel sind Suspensions- und Resuspensionseffekte verursacht durch Oberflächenspannung, Temperaturgradienten und die durch andere Kräfte angetriebene Partikeldynamik ebenfalls von hoher Relevanz und lokale Bedingungen entscheidend. Der Aufenthaltsraum von MP Partikeln im Meer wird nicht allein durch ihre Dichte bestimmt.

Wie bereits angesprochen scheint ein nicht unerheblicher Anteil an S-MP über die Nahrungskette der Fische aufgenommen zu werden. Entsprechend hat die MP-Aufnahme durch Plankton einen direkten Einfluss auf die qualitative MP-Zusammensetzung, die in den Fischen beobachtet wird.

Die Fische aus der pelagischen und benthischen Zone des Jadebusens unterscheiden sich z.T. in den nachgewiesenen Plastikarten vor allem aber in der Häufigkeit MP-positiver Funde. In der Ostsee waren pelagische und demersale Arten ähnlich häufig MP-positiv, allerdings wurden in den demersalen Spezies mehr unterschiedliche Kunststoffarten beobachtet. Außerdem wurden innerhalb der pelagischen und demersalen Arten Unterschiede in der Häufigkeit MP-positiver Funden und der Vielfalt an Kunststoffarten festgestellt. Die Heterogenität dieser Ergebnisse unterstreicht erneut die nicht unerhebliche Relevanz der unterschiedlichen Nahrungsaufnahme für die MP-Belastung der untersuchten Fische.

Menge und Qualität von S-MP-Vorkommen in der marinen Umwelt sind vermutlich eng mit lokalen Strömungs- und Sedimentationsbedingungen verknüpft und variieren mit der Art und Qualität der Nahrungsaufnahme der einzelnen Spezies. Dieser Befund stimmt mit einem Ergebnis aus der Literatur überein, wo von zwei untersuchten pelagischen Arten die Makrelen MP-positiv waren, während in Heringen kein MP nachgewiesen wurde (Rummel 2014, Rummel et al. 2016).

Unterschiede zwischen den Fischarten einer Region

Im Jadebusen (Nordsee) wurden Kunststoffe geringer Dichte, PE und PS, nur in den Heringsmägen detektiert. Bei den aufgenommenen Plastikarten mit einer Dichte oberhalb von Meerwasser wurden keine auffälligen Unterschiede zwischen pelagischen (Heringe) und demersalen Fischarten (Flunder, Seezunge, Kliesche) festgestellt. Entsprechend scheint die qualitative MP-Zusammensetzung aller Fischmägen ein konsistentes Bild der S-MP-Belastung des Jadebusens widerzuspiegeln. Dieses sollte allerdings durch entsprechende Daten aus der Wassersäule und Sedimenten noch bestätigt werden. Auch das Alter der Fische (hier nur an Klieschen untersucht) scheint sich nicht auf die qualitative MP-Zusammensetzung auszuwirken. Dies ist mit den Ergebnissen von Foekema et al. (2013) konsistent, die keine Abhängigkeit der MP-positiven Funde und der Größe bzw. dem Gewicht der Fische zeigten.

Die demersalen Arten der Ostsee unterschieden sich hinsichtlich der detektierten Plastikarten. In Flundern wurden bis zu acht der neun Kunststoffarten nachgewiesen, bei Schollen waren es nur drei der insgesamt neun. Unterschiede in der Nahrungsaufnahme sind auch hier die wahrscheinlichste Ursache, allerdings wurde nur eine geringe Anzahl an Schollen untersucht. In Flundern der Ostsee wurde das größte Kunststoffarten-Spektrum dieser Studie angetroffen.

Variationen über die Jahreszeit

Die Ergebnisse der Kunststoffanalysen aus juvenilen Heringen des Jadebusens (Nordsee), die über mehrere Fangmonate durchgeführt wurden, ließen keine Unterschiede in Kunststoffhäufigkeiten und -verteilungen erkennen, die auf eine konkrete jahreszeitliche Variabilität hinweisen würden.

Quantitative Abschätzungen

In den untersuchten Fischproben lagen die Signale der Kunststoffe und die daraus abgeleiteten Konzentrationen unterhalb oder im Bereich der Signale, die für die kleinsten, zum gegenwärtigen Zeitpunkt möglichen Kalibrierpunkte erhalten wurden. Sie sind daher eher semiquantitativ zu interpretieren und dienen vor allem dazu, die vorgefundenen Größenordnungen an einzelnen Kunststoffarten abzubilden.

Im Fall von PE und PS, den Gewichts-quantitativ häufigsten Kunststoffen, kam es in diesen niedrigen Bereichen in einigen Fällen zu Störsignalen, die durch unvollständige Matrixabtrennung verursacht wurden. In diesen Fällen wurde nicht quantifiziert. Für PE lag der niedrigste Kalibrierpunkt bei 20 µg. In dieser Größenordnung lagen die PE Gehalte zweier Flundern aus der Wismarbucht (Ostsee). Zwei Heringsproben aus dem Jadebusen enthielten etwa 15 µg, eine Sprottenprobe der Ostsee weniger als 10 µg PE. Bei diesen Proben wurden jeweils 5 Fischmägen gepoolt. Alle anderen PE-Gehalte lagen deutlich niedriger. PS wurde nur in den Proben quantifiziert, in denen ein weiteres Indikatorsignal vorlag. Die vier quantifizierten PS-positiven Proben (2 Heringsproben, Nordsee, eine Poolprobe aus 5 Sprotten bzw. eine Flunder, Ostsee) enthielten je 3-4 µg PS. Erst ab dieser Menge ist auch das zweite, ungestörte Indikatorsignal detektierbar. Die Gehalte aller anderen potentiell PS-positiven Proben lagen darunter.

Die Gehalte an PVC bewegten sich in den Fällen, wo sie detektiert werden konnten, unterhalb von 6 µg. Ähnliches gilt für PUR, das in nur einem Fisch nachgewiesen wurde. Die quantifizierten Gehalte aller anderen nachgewiesenen Polymere lagen unterhalb von 1 µg/Probe.

In der Summe lagen die detektierten Gehalte an MP auf Basis der quantitativen Abschätzungen in den Fischen der Ostsee unterhalb von 20 µg in denen der Nordsee unterhalb von 15 µg/Probe.

Ein sinnvoller Vergleich zwischen der mikroskopischen und Py-GCMS Analyse erwies sich bedingt durch das Fehlen von L-MP Partikeln und der insgesamt nur geringen S-MP Gehalte, als nicht durchführbar.

Einschätzung der MP Belastungssituation von Fischen in Nordsee (Jadebusen) und Ostsee

In den untersuchten Fischen unterschiedlicher Größe aus Nord- und Ostsee ließen sich bei den pelagischen in 45% und darüber und bei den demersalen in 69% und darüber S-MP nachweisen und nach Kunststoffart differenzieren. Demgegenüber fehlten größere, als solche erkennbare Kunststoffpartikel (L-MP, > 1mm) vollständig. Ihr Fehlen in den Fischmägen lässt sich als Hinweis darauf werten, dass die Aufnahme von MP durch die Fische weniger als angenommen durch Verwechslung mit in der Wassersäule aufgenommenen Nahrung direkt erfolgt. Wahrscheinlicher ist eine indirekte Ingestion über die Nahrungsorganismen, die ihrerseits die sehr viel kleinere S-MP-Fraktion (<< 1mm) als Nahrung aufnehmen. Der Nachweis von MP in den Fischproben belegt sein Vorkommen in dem marinen Nahrungsnetz.

Die Häufigkeit von positiven Plastiknachweisen und die z.T. angetroffene Diversität von Kunststoffarten legen nahe, dass die Fische in der Ostsee tendenziell einer höheren MP-Fracht und Vielfalt ausgesetzt sind. Die quantitativen Abschätzungen unterstützen diese Beobachtung.

Inwieweit Fische mit derart geringen Kunststoffgehalten tatsächlich als belastet betrachtet werden können, erscheint gegenwärtig fraglich und muss durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Es ist davon auszugehen, dass die Fische das aufgenommene S-MP auch wieder ausscheiden. Dennoch ist diesbezüglich anzumerken, dass die Bioverfügbarkeit von S-MP mit sinkender Partikelgröße zunimmt und damit einen sehr viel größeren Effekt auf die Organismen haben kann (z.B. auch Zellpassage) als größere Bruchstücke, was die Ergebnisse dieser Studie in einem anderen Licht erscheinen lässt. Hier besteht weiterer Untersuchungsbedarf.

Einschätzung der menschlichen Belastung mit MP durch den Verzehr von Fischen

Im Rahmen dieser Studie wurden Fischmägen bzw. Magen-Darmtrakte auf das Vorhandensein von MP untersucht. Dabei wurden nur geringe Mengen von MP nachgewiesen. Eine Aufnahme dieser Anteile durch den Menschen käme nur zustande, wenn auch der Magen der Fische mitverzehrt würde. Dies wäre z.B. beim vollständigen Verzehr von Sprotten der Fall. Die abgeschätzte Summe aus allen detektierten MP-Arten (PE, PS, PC, PVC, PET, PMMA) liegt bei Sprotten unter 10 µg in 5 Fischen. Nach dem momentanen Wissensstand ist davon auszugehen, dass Menschen, ebenso wie Fische, das aufgenommene MP durch den Verdauungstrakt wieder ausscheiden. Inwieweit eine Aufnahme von S-MP-Partikeln z.B. durch den Darm erfolgen kann und mit welchen Auswirkungen diese Aufnahme (Translokation) in das Lymphsystem, die Blutbahn bzw. Zellen verbunden ist, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

10 µg MP entsprechen bei verschiedenen Plastikarten beispielsweise ca. 10 PE-Sphären mit einem Durchmesser von 100 µm, ca. 10 PET-Fasern (2 mm x < 40 µm), ca. 1 PC-Partikel mit einem Durchmesser von 200 µm oder ca. 1 PS-Partikel mit einem Durchmesser von 200 µm. Diese Angaben sollen der ungefähren Vorstellung einer Größenordnung dienen.

Vermutlich liegt die tägliche orale und inhalative Aufnahme von MP durch die Luft (z.B. über Hausstaub) oder durch den aktiven Gebrauch von Kunststoffgegenständen wie z.B. Kunststoffschüsseln, Mikro- und Kunstfasergeweben (Putztücher, Handtücher, Kleidung) verursachten Abrieb in einer ähnlichen wenn nicht sogar größeren Dimension.

Kunststoffadditive

Es liegt zweifelsfrei ein kausaler Zusammenhang zwischen in vielen Organismen und ubiquitär in der Umwelt nachweisbaren Additiven aus Kunststoffen vor. Durch Zeit- und Substanz-abhängige Leachingprozesse gelangen die nicht chemisch an das Polymer gebundenen Komponenten in die Umwelt und haben sich dort abhängig von ihren Stoffeigenschaften in unterschiedlichen Kompartimenten (z.B. Wasser, Sediment, Organismen) angereichert. Hierbei kommt es u.a. innerhalb der Nahrungskette der Fische zu einer Bioakkumulation verschiedenster Kunststoffadditive.

Die Ableitung eines direkten und alleinigen Quellenbezugs zwischen den in den Fischen dieser Pilotstudie in geringen Mengen angetroffenen Kunststoffen und den möglicherweise im Fischgewebe angetroffenen Additiven bzw. Additivmustern herzustellen, erscheint demgegenüber unrealistisch. So enthalten die MP Partikel abhängig von ihrer Größe, d.h. ihrer damit verbundenen Oberfläche, sowie ihrer Aufenthaltszeit im Meerwasser unterschiedliche Restmengen bzw. keine mehr nachweisbaren Additive. Das Signal verschiedenster Kunststoffadditive, die sich über lange Zeiträume in den Lebensräumen und innerhalb der Nahrungsketten der Fische angereichert haben, wird demgegenüber das Signal aus einer direkten Kunststoffaufnahme in jedem Fall überprägen.

Einschätzung der Eignung von Fischen als Indikatororganismen im Rahmen des Monitoring gemäß Deskriptor 10 der MSRL

Die im Rahmen dieser Studie untersuchten Fischarten eignen sich als vergleichsweise leicht verfügbare Indikatorarten grundsätzlich zur Erfassung der Belastung ihres Lebensraums mit Mikroplastik.

Ob sich z.B. die Häufigkeit MP-positiver Fische als Indikator für die qualitative und quantitative MP-Belastung des direkten Habitats (Wassersäule bzw. Sediment) der Fische nutzen lässt, kann erst beantwortet werden, wenn entsprechende Mikroplastik-Daten für die Wassersäule und das Sediment der jeweiligen Standorte zur Verfügung stehen und ein Vergleich mit den Ergebnissen der Fischuntersuchungen möglich ist. Dies wäre nach den Ergebnissen dieser Pilotstudie dann vor allem von

lokaler Aussagekraft für einen konkreten Standort und bei Langzeitstudien ein Trendindikator für dessen MP-Belastung.

Da u.a. leichter Kunststoff (PE) in demersalen und Kunststoffe von vergleichsweise hoher Dichte (PET und PVC) in den Mägen pelagischer Arten gefunden wurden, zeichnet sich nicht ab, dass die qualitative Verteilung des S-MP im marinen Umfeld nur auf Basis seiner Dichte stattfindet. Bei Partikeln der Größe von S-MP ist mit großer Wahrscheinlichkeit die Dichte dem Einfluss anderer physikalischer Effekte (z.B. Oberflächenspannung, Strömung, Konvektion) untergeordnet. Die Ergebnisse dieser Pilotstudie zeigen in pelagischen wie demersalen Arten ein vergleichbares, nahezu deckungsgleiches Spektrum an Kunststoffarten innerhalb der jeweils untersuchten Meeresgebiete und ergeben ein konsistentes Bild der dort vorliegenden S-MP-Zusammensetzung. Durch die Beprobung einer repräsentativen Anzahl von pelagischen und demersalen Fischarten in regelmäßiger Frequenz (z.B. Frühjahr und Herbst) sowie die Bestimmung und Quantifizierung der ingestierten MP-Arten, sollte sich die MP-Belastung von Biota und jeweiligem Lebensraum im Fanggebiet abschätzen lassen. Welche Meeresgebiete als repräsentativ gelten können, sollte in weiteren Studien abgeklärt werden.

Als Fischarten für ein MP-Monitoring kommen diejenigen in Frage, bei denen mit einer relativ hohen Häufigkeit eine Aufnahme von S-MP in dieser Pilotstudie und in anderen Studien festgestellt wurde. Hinsichtlich pelagischer Arten wären z.B. Sprotten und Makrelen, hinsichtlich demersaler Arten z.B. Klieschen und Flundern geeignet. Der Füllstand des beprobten Verdauungstraktes sollte dabei zwingend berücksichtigt werden.

Summary

The stomachs or gastrointestinal tracts of pelagic and demersal fish from the North Sea and Baltic Sea were examined for the presence of plastic particles as part of a pilot study performed in 2015/2016. This was performed after prior preparation and pre-concentration steps by two approaches. On one hand microscopically, whereby "conspicuous particles (APs)" are addressed in the result, since a reliable, purely optical identification is not possible. On the other hand, with the help of pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry (Py-GCMS), a qualitative and quantitative analysis was carried out on 9 types of plastics (PE, PP, PS, PET, PVC, PA, PC, PUR, PMMA), which in their composition represent over 80% of the current plastics production (Fischer und Scholz-Böttcher 2017).

Fishing areas were located in the North Sea in the Lower Saxony Wadden Sea the central Jade Bay and in the Baltic Sea the Wismar Bay and a sea area 35 km north of Rügen (sea area Baltic II wind farm).

A total of 258 pelagic and 132 demersal fish were examined. Both juvenile and edible fish sizes were included. Depending on the sizes of available individuals, these were "pooled" into 66 pelagic and 43 demersal samples. The pelagic species were herring (*Clupea harengus*) and sprat (*Sprattus sprattus*), and the demersal species were flatfish, namely flounder (*Platichthys flesus*), dab (*Limanda limanda*), sole (*Solea solea*), and plaice (*Pleuronectes platessa*). The examination was limited to the stomachs in case of the pelagic and gastrointestinal tracts in case of the demersal species, as a clear distinction between stomach and intestine was not possible in many cases. The samples were subjected as a whole to enzymatic/chemical oxidative processing in order to isolate and pre-concentrate possible plastic particles on filters. Especially for the flatfish, additional density separation was necessary to remove ingested sand, among other things. Secondary contamination with microplastics during processing was minimized by various measures, and 30 process blanks were processed in parallel with the fish samples as well and taken into account in the assessment.

Microscopy

55 samples and 15 blanks were photographed and counted on counting filters under binoculars (max. magnification 120x). Conspicuous particles (APs) were categorized as fibers (0.3 – 3 mm long, << 0.05 mm wide), with color-coded subgroups, fragments (Ø 0.05 - 0.6 mm), foil (Ø 0.3 mm), and pellets/granules (Ø 0.1 - 0.2 mm) based on the size spectrum of the findings.

With the exception of fibers, no APs above 1 mm were detected in the fish samples. Due to the processing (digestion of the entire stomachs or gastrointestinal tracts), a loss of compact plastic particles >1 mm can be excluded. Accordingly, potentially present plastic can only be microplastics (MP) of the small fraction (S-MP).

Despite extensive measures to avoid contamination, fibers and isolated particles were detected in the blank values. Due to their optical appearance, the fibers of different coloration could in the majority of cases be addressed as cotton/cellulose and thus natural material. Both before but even more obviously after blank correction, the fish samples examined contained few APs. In comparison with the pelagic fish species, APs were detected more frequently in the demersal fish species from the North and Baltic Seas. The maximum counts were 13 fibers (9 after blank correction) in exceptional cases (sample from 2 flounders, Jadebusen) and 12 fragments (one plaice, Baltic II sea area, Baltic Sea), but was usually far below that (fibers < 6, fragments < 3). APs of the category foil or pellet were addressed only once each.

In summary, the optically detected APs (with the exception of some fibers) were exclusively the S-MP fraction (< 1mm). A reliable identification of the APs as MP only on the basis of their optical appearance was not possible. In a few cases, a presence of MP was suspected. However, a spot check by Py-

GCMS could not substantiate this. During the sample processing necessary for MP concentration, in which tissue and gastrointestinal contents had to be decomposed to a considerable extent, it was not always possible to completely remove or degrade all organic matrix components. In extreme cases, the procedure was repeated. These matrix residues sometimes made microscopic analysis of the comparatively small counting filters ($\varnothing$ 15 mm) difficult.

Pyrolysis-gaschromatography-mass spectrometry

71 samples and 15 blank values were analyzed on alumina oxide (Anodisc®) filters as a whole, using Py-GCMS. For this purpose, all organic components present after pre-processing were pyrolyzed on the inert filter material, i.e. decomposed under defined conditions into characteristic pyrolysis products, separated chromatographically as a function of time and detected by mass spectrometry.

Individual, characteristic and most intensive indicator pyrolysis products of the respective polymer types were chosen. The samples were specifically analyzed for these indicator compounds. Chromatographic separation and the high selectivity associated with mass spectrometric evaluation made it possible to detect these components selectively in the sample pyrograms, which are often still very complex despite massive reduction of the fish matrix (i.e., tissue and gastrointestinal contents).

The plastics PMMA, PC, PET, PP, PUR and PA were detected very selectively and sensitively in this way.

Analytical trace detection of PE, PS and PVC is also straightforward in matrix-free samples. Due to their comparatively unspecific main pyrolysis products, their detection may be interfered when residual organic matrix from the stomach contents of the fish is present, as some matrix components may be a potential source of these products. Accordingly, the evaluation requires appropriate caution and, if possible, additional safeguarding by further, less intensive indicator products.

Co-polymers containing one or more of the investigated plastic types are not separated and detected in their proportions by Py-GCMS and subsequently addressed and determined as the respective single polymer. Copolymers as such are not determined.

The pyrolysis behavior of plastics may vary gradually depending on the type of plastic in question. This does not affect their qualitative detection. Ideally, however, quantification requires the presence of identical plastics. The polymers used for the calibration are commercially available, and are assumed to be representative for those found in environmental samples.

None of the nine plastics mentioned could be determined in any of the process blanks investigated. In contrast, typical products were detected in some cases, as they are formed during the pyrolysis of carbohydrates (e.g. cellulose or cotton), which coincided with the microscopic appearance of cotton fibers.

Relative frequency of MP

MP was detected in 69% of the North Sea and Baltic Sea fish samples. The North Sea fish samples were exclusively pooled samples containing 2-5 stomachs or GI-tracts of juvenile fish, while the Baltic Sea samples contained single adult individuals, with the exception of the sprats (5-6 stomachs per sample). In the vast majority of cases, samples contained one or two plastic species, rarely three. In five fish samples from the Baltic Sea, four plastic species were detected simultaneously in each case.

The results of this study differ significantly from those of two former ones from the North or North and Baltic Seas with fewer (36%, including the semisynthetic fiber rayon as the main representative, Lusher et al. 2013) or much fewer ($< 8.6\%$, Rummel 2014, Rummel et al. 2016) MP positive samples. In contrast to these studies, in which MP particles were pre-selected microscopically from the contents of the fish stomachs prior to qualitative analysis. Accordingly, almost exclusively particles

> 200 µm were identified by FT-IR. In contrast, the entire stomachs were digested with contents in the present study. Here, no optical and size-dependent pre-selection took place and, as already mentioned, potential plastic particles > 200 µm were not found. In addition, via Py-GCMS, not only the MP fractions directly ingested by the fish, but also those MP particles that were present in the ingested food organisms were recorded by the applied processing. Here, potential MP fractions from the overall sample are released by the digestion steps and taken into account analytically. Due to the filter crucibles used, all MP particles > 10 µm were included.

Comparison of MP occurrence between pelagic and demersal fish species

Of the fish from the Jade Bay (Wadden Sea, North Sea), 45% of the pelagic and 83% of the demersal species contained MP. Here, the conclusion that the demersal species living close to the seafloor ingest MP more frequently and more often suggests itself. The reason for this may be MP accumulation in the sediment due to local sedimentation conditions within this tidally influenced, non-estuarine bay.

In contrast, no striking differences in MP occurrence between pelagic (68.5%) and demersal (69%) fish from the Baltic Sea was determined. Here, the difference within the pelagic species of a fishing area was much more pronounced (57% for herring vs. 80% for sprat). This may be due to different feeding habits, e.g. with respect to the preferred food organisms, which in turn consume MP to different extents.

The results do not indicate an overall relationship between the pelagic or benthic habitat of the fish species studied and the determined frequency of MP uptake. This is consistent with data from previous studies (Rummel 2014, Rummel et al 2016). Presumably, local sedimentation conditions and feeding habits of the individual species are most relevant for MP uptake.

Qualitative composition of MP & influence of polymer density

Due to the very sensitive Py-GCMS measurements, eight of the nine investigated plastic types could be detected in the available samples. PP was not detected in any sample. PUR and PA could be identified in one flounder from the Wismar Bay, only.

All fish species from the Jade Bay had consistently ingested PC, PET and PMMA. In addition, some herring contained PE as well as PS and some demersal fish samples contained PVC. Species from the Baltic Sea contained PE, PC, PET, PMMA, PVC, and PS. PA and PUR were detected in the demersal species.

The different densities of different plastics give rise to the hypothesis that those of low density (e.g. PE, PP, extruded PS) preferentially accumulate in the pelagic zone, while plastics of high density (e.g. PET, PVC) sink to the seafloor and accumulate both in the benthic zone and in the sediment.

In this study, there was no overall trend between the density of the detected, individual plastic types and the habitat of the respective fish species. While in the Jade Bay this trend was indicated by the occurrence of low-density polymers only in pelagic fish (herring), this was not the case in the Baltic Sea. This puts a simple relationship exclusively attributed to polymer density into question when considering plastic accumulation in respective habitats. For the sedimentation behavior of small MP particles, suspension and resuspension effects caused by surface tension, temperature gradients and particle dynamics driven by other forces are also of high relevance and local conditions are crucial. The residence time of MP particles in the marine environment is not determined by their density alone.

As already addressed, a noteworthy fraction of S-MP seems to be taken up via the fish food chain. Accordingly, the MP uptake by plankton has a direct influence on the qualitative MP composition observed in the fish.

Fish from the pelagic and benthic zones of the Jade Bay differed partly in the types of plastics detected, but mainly in the frequency of MP-positive findings. In the Baltic Sea, pelagic and demersal species were similarly MP-positive in frequency, but more different plastic types were observed in the demersal species. In addition, differences in the frequency of MP-positive detections and diversity of plastic species were observed within pelagic and demersal species. The heterogeneity of these results again underlines the crucial relevance of the different dietary intake for the MP load of the fish species.

The quantity and quality of S-MP occurrences in the marine environment are suspected to be closely linked to local flow and sedimentation conditions and vary with the type and quality of foraging by individual species. This finding is consistent with a finding in the literature where, of two pelagic species studied, mackerel were MP positive while no MP was found in herring (Rummel 2014, Rummel et al. 2016).

Regional differences between fish species

In the Jade Bay (North Sea), low density plastics, like PE and PS, were detected in herring stomachs, only. No noticeable differences between pelagic (herring) and demersal fish species (flounder, sole, dab) were determined in the recorded plastic types with densities above seawater. Accordingly, the qualitative MP composition of all fish stomachs seems to reflect a consistent picture of S-MP pollution in the Jade Bay. However, this should be confirmed by corresponding data from the water column and sediments. Furthermore, the age of the fish (studied here only on dab) does not seem to affect the qualitative MP composition. This is consistent with the results of Foekema et al. (2013), who showed no dependence of MP-positive detections and fish size or weight.

Demersal species in the Baltic Sea differed in terms of plastic species detected. In flounder, up to eight of the nine plastic types included in this study were detected, while in plaice, only three of the total nine were found. Differences in feeding patterns are again the most likely cause, but it should be emphasized that only a small number of plaices were examined. The largest range of plastic species in this study was detected in Baltic flounder.

Annual variations

The results of plastic analyses from juvenile herring of the Jade Bay (North Sea), conducted over several fishing months, did not indicate differences in plastic abundances and distributions that gave indication to specific seasonal variability.

Quantitative Estimates

In the fish samples examined, the signals of the plastics and the derived concentrations were below or in the range of the signals obtained for the smallest calibration points possible at the present time. They are therefore to be interpreted rather semi-quantitatively and serve first of all to represent the orders of magnitude found for individual plastic species.

In the case of PE and PS, the most common plastics by weight, interfering signals caused by incomplete matrix separation occurred in some cases in these low ranges. Here, quantification was refrained. For PE, the lowest calibration point was 20 µg. The PE contents of two flounder from the Wismar Bay (Baltic Sea) were in this order of magnitude. Two herring samples from the Jade Bay contained about 15 µg, one sprat sample from the Baltic Sea less than 10 µg PE. In each of these samples, 5 fish stomachs were pooled. All other PE contents were significantly lower. PS was only quantified in the samples where another indicator signal was present. The four quantified PS-positive samples (2 herring samples, North Sea, one pooled sample of 5 sprats and one flounder, Baltic Sea, respectively) each contained 3-4 µg PS. Only at this level the second, undisturbed PS indicator signal was detected. The contents of all other potentially PS-positive samples were lower.

The levels of PVC were below 6 µg in those cases of detectable signals. The same applies to PUR, which was detected in one fish sample only. The quantified contents of all other polymers detected were below 1 µg per sample.

In total, based on the quantitative estimates, the detected levels of MP in the fish of the Baltic Sea were below 20 µg in those of the North Sea below 15 µg per sample.

A meaningful comparison between the microscopic and Py-GCMS analysis proved not to be feasible due to the absence of L-MP particles and the overall low S-MP content.

Assessment of the MP contamination of fish in the North Sea (Jade Bay) and the Baltic Sea

Fishes of different sizes from the North and Baltic Sea were examined for S-MP and differentiated according to plastic type. S-MP could be detected in pelagic fish in 45% and above and in demersal fish in 69% and above. In contrast, larger plastic particles (L-MP, > 1mm) recognizable as such were completely absent. Their absence in the fish stomachs is interpreted as an indication that the ingestion of MP by fishes due to confusion with food ingested in the water column is less direct than assumed. Here, more likely is the indirect ingestion via the food organisms (plankton, smaller fishes), which in turn ingest the much smaller S-MP fraction (< 1mm) as food. The detection of MP in the fish samples proves its presence throughout in the marine food web.

The frequency of positive plastic detections and the diversity of plastic species encountered in some cases suggest that fish in the Baltic Sea tend to be exposed to a higher MP load and diversity. The quantitative estimates support this observation.

The extent to which fish with such low plastic contents be regarded as contaminated appears questionable at present and must be clarified by further investigations. It is assumed that fishes also excrete most of the ingested S-MP. Nevertheless, it should be noted here that the bioavailability of S-MP increases with decreasing particle size and can thus have a much greater effect on organisms (e.g., also cell passage) than larger fragments, which casts the results of this study in a different light. Further investigation is needed here.

Assessment of human exposure to MP from fish consumption

In this study, fish stomachs or gastrointestinal tracts were examined for the presence of MP. Only small amounts of MP were detected. An uptake of these proportions by humans would only occur if the stomach of the fish is also consumed. This would be the case, for example, if sprats are consumed in their entirety. The estimated sum of all detected MP species (PE, PS, PC, PVC, PET, PMMA) in sprats is below 10 µg in 5 fish (pool). According to the current state of knowledge, it is assumed that humans, as well as fish, excrete the ingested MP through the digestive tract. The extent to which S-MP particles can be absorbed, e.g. through the intestine, and the effects of this uptake (translocation) into the lymphatic system, the bloodstream or cells, must be investigated further.

For example, 10 µg MP correspond to approx. 10 PE spheres with a diameter of 100 µm, approx. 10 PET fibers (2 mm x < 40 µm), approx. 1 PC particle with a diameter of 200 µm or approx. 1 PS particle with a diameter of 200 µm for different types of plastic. These specifications are intended to give an approximate idea of an order of magnitude.

Presumably, the daily oral and inhalation uptake of MP through the air (e.g. via house dust) or abrasion caused by the active use of plastic objects such as plastic bowls, micro and synthetic fiber fabrics (cleaning cloths, towels, clothing) is in a similar if not larger dimension.

Plastic additives

There is undoubtedly a causal relationship between additives from plastics that are detectable in many organisms and ubiquitously in the environment. Through time and substance-dependent

leaching processes, those components that are not chemically bound to the polymer enter the environment and have accumulated there in different compartments (e.g. water, sediment, organisms) depending on their substance properties. This leads to a bioaccumulation of various plastic additives within the food chain of fish.

The derivation of a direct and sole source relationship between the plastics found in small amounts in the fish of this pilot study and the additives or additive patterns possibly found in the fish tissue, on the other hand, seems unrealistic. Thus, depending on their size, i.e. their associated surface area, as well as their residence time in seawater, the MP particles contain different residual amounts or no longer detectable additives. In contrast, the signal from a wide variety of plastic additives, which have accumulated in the habitats over long time periods and within the food chains of the fish as well, will overpower the signal from a direct plastic uptake in any case.

Assessment of the suitability of fish as indicator organisms in the context of monitoring according to descriptor 10 of the MSFD

As comparatively readily available indicator species, the fish species investigated in this study are fundamentally suitable for recording the microplastic pollution of their habitat.

Whether, for example, the abundance of MP-positive fish can be used as an indicator for the qualitative and quantitative MP pollution of the direct habitat (water column or sediment) of the fish can only be answered when corresponding microplastic data for the water column and the sediment of the respective sites are available and a comparison with the results of the fish surveys is possible. According to the results of this pilot study, this would then primarily be of local significance for a specific site and, in the case of long-term studies, a trend indicator for its MP pollution.

Since, among others, light plastics (PE) have been found in demersal and plastics of comparatively high density (PET and PVC) in the stomachs of pelagic species, it does not appear that the qualitative distribution of S-MP in the marine environment occurs solely on the basis of its density. For particles of the size of S-MP, density is most likely subordinate to the influence of other physical effects (e.g., surface tension, current, convection). The results of this pilot study show a comparable, almost congruent spectrum of plastic species in both pelagic and demersal species within each of the investigated marine areas and provide a consistent picture of the S-MP composition present there. By sampling a representative number of pelagic and demersal fish species at regular intervals (e.g. spring and autumn) and determining and quantifying the ingested MP species, it should be possible to estimate the MP load of biota and respective habitat in the fishing area. Which marine areas can be considered representative should be clarified in further studies.

1 Einleitung

Kunststoffe zeichnen sich durch hohe Stabilität, Langlebigkeit, vielfältigste Materialeigenschaften und geringes Gewicht aus und sind zum integralen Bestandteil der modernen Gesellschaft geworden. Seit dem Jahr 1950 wurden weltweit 6,1 Mrd. Tonnen Kunststoffe produziert; davon 1,8 Mrd. Tonnen in Europa (hochgerechnet, (PlasticsEurope 2014)). Durch den bislang praktizierten Umgang mit Kunststoffen enden hiervon ca. 10 % langfristig in den Ozeanen (Thompson 2007). Jambeck et al. (2015) schätzten, dass im Jahr 2010 von 192 Küstenstaaten ein Eintrag von 4,8 bis 12,7 Mio. Tonnen Plastikmüll in die Meere erfolgte. Ursache hierfür liegt u.a. in der Qualität des Abfall-Managements der Anrainer. Plastik lässt sich inzwischen global im Ozean nachweisen und unterliegt neben Fouling unterschiedlichsten Fragmentierungsprozessen, was sich in einer kontinuierlichen Zunahme von Mikroplastik (MP, Größenklasse < 5 mm) niederschlägt. Innerhalb der Größenklasse von MP wird zwischen dem makroskopisch noch erkennbarem Large Microplastic (1-5mm; L-MP) und dem nur mit leistungsfähigen Stereomikroskopen sichtbarem S-MP (20µm-1mm; Small-MP) unterschieden (Galgani et al. 2013). Mit abnehmender Größe sinkt die Wahrnehmung von MP, aber es steigt dessen Umweltrelevanz. MP-Partikel wechselwirken aufgrund der vergrößerten Oberfläche intensiver mit der Umgebung, können Schadstoffe akkumulieren und als Transportvektor für diese dienen, werden leichter von Organismen aufgenommen und können hierbei verschiedene Schadstoffe freisetzen. Seit den siebziger Jahren wird auf die Gefahr von MP für Meeresorganismen hingewiesen (Carpenter and Smith, K. 1972). Retrospektive Analysen von Planktonproben dokumentieren einen kontinuierlichen Anstieg von MP seit den sechziger Jahren in der Wassersäule (Thompson et al. 2004). Das Ausbreitungs- und Akkumulationsverhalten von MP in der marinen Umwelt ist aufgrund der geringen Datenbasis vergleichsweise schlecht verstanden. MP wird weniger in der freien Wassersäule, als vielmehr zu einem erheblichen Teil in Sediment, Organismen und allgemein in Küstenzonen vermutet. So gehören MP-Partikel höchstwahrscheinlich zu den häufigsten Plastikpartikeln im Meer, wobei die Quellen und Senken von MP nur schwer zu identifizieren sind, da sowohl Transportmechanismen als auch Fragmentierungsraten unbekannt sind (Cózar et al. 2014a; Eriksen et al. 2014; Law and Thompson 2014). Schätzungsweise handelt es sich bei 92 % aller Plastikpartikel um MP (Eriksen et al. 2014). Aktuelle Studien zeigen, dass primäres MP, welches direkt in Produkten verwendet oder durch Nutzung/Abrieb von Produkten generiert wird (z.B. Microbeads in Kosmetik und Textilfasern), über häusliches Abwasser und größere MP-Partikel wie Pellets (1 mm - 5 mm) hauptsächlich über Transportverluste der Schifffahrt in die Umwelt gelangen (u.a. (Browne 2015)). Eine weitere schwer erfassbare Quelle stellt sekundäres MP dar, das aus Makroplastik durch Fragmentierung entsteht. Küstenregionen haben aufgrund ihrer geringen Wassertiefe und Wind- und Wellen verursachte mechanische Aktivität höhere Fragmentierungsraten (Corcoran et al. 2009) als der offene Ozean.

In der Umwelt adsorbiert und reichert Mikroplastik in Abhängigkeit von der Kunststoffart persistente organische Schadstoffe an und kann ggf. hormonwirksame Additive (z.B. Weichmacher) freisetzen (Mato et al. 2001; Teuten et al. 2009; Rochman et al. 2013). Aufgrund der geringen Größe kann Mikroplastik potentiell von Meeresorganismen aller Trophie-Stufen aufgenommen werden. Neben potentiellen direkten Schadwirkungen auf Organismen besitzt MP das Potenzial, sich in der Nahrungskette anzureichern und Schadstoffe abzugeben, die zu möglichen Beeinträchtigungen der betroffenen Organismen führen (Wright et al. 2013; Law and Thompson 2014; Rochman 2015). In der Meeresstrategie-Rahmenrichtlinie (MSRL, 2008/56/EG) der Europäischen Union wird daher explizit auf die Notwendigkeit der Untersuchung der „Trends von Mengen, Verteilung und möglichst Zusammensetzung von Mikropartikeln (insbesondere Mikroplastik)“ hingewiesen und die Entwicklung von Untersuchungsstrategien im Rahmen des Deskriptors 10 der Richtlinie (Abfälle im Meer) gefordert.

1.1 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Pilotstudie ist eine erste qualitative und möglichst quantitative Untersuchung zum Vorkommen von S-MP in pelagischen und demersalen Fischen der Nord- und Ostsee. Hierbei sollten auch Plastik-Fractionen erfasst werden, die sich der mikroskopischen Detektion weitestgehend entziehen ($< 100 \mu\text{m}$) bzw. sich nicht mehr zweifelsfrei von natürlichen Partikeln unterscheiden lassen.

Bei den folgenden Untersuchungen stehen die Abschätzung der Größenordnung und die Diskussion der Ergebnisse unter Berücksichtigung verschiedener Aspekte wie Herkunft, Lebensraum, Fischart und ggf. Alter/Größe sowie unterschiedlicher Standorte im Vordergrund.

Folgende Fragestellungen sollen durch die Studie verfolgt und soweit möglich beantwortet werden:

- Enthalten die Fische aus Beispielregionen von Nord- und Ostsee Mikroplastik?
- Welche Kunststoffarten werden angetroffen?
- Bestehen Unterschiede zwischen der Häufigkeit und Zusammensetzung von MP in pelagischen und demersalen Arten?
- Bestehen diesbezüglich Unterschiede zwischen Nord- und Ostsee?
- Lassen sich die detektierten Kunststoffarten Gewichts-quantitativ erfassen und wieviel MP ist in den Fischen enthalten.

Aus den Ergebnissen sollen anschließend eine Einschätzungen der Belastungssituation von Fischen in Nord- und Ostsee, der menschlichen Belastung mit MP durch den Verzehr von Fischen, der Eignung von Fischen als Indikatororganismen im Rahmen des Kriteriums 10.1.3 der MSRL und zum Risiko der potentiellen MP-Aufnahme durch den Menschen bei dem Verzehr von Fisch vorgenommen werden.

2 Wissenschaftlicher Hintergrund

2.1 MP in marinen Organismen

Mikroplastik wurde inzwischen in zahlreichen marinen Organismen nachgewiesen, das Vorkommen erstreckt sich auf das komplette Nahrungsnetz. Eine umfangreiche Literaturübersicht über das Vorkommen von Mikroplastik in der marinen Umwelt wurde von Lusher (2015) erstellt.

Der wahrscheinlichste Weg der Aufnahme von MP durch Organismen ist die Nahrungsaufnahme bzw. das Verschlucken. Dabei ist MP grundsätzlich, aufgrund seiner geringen Größe, für ein großes Spektrum von benthischen und pelagischen Tierarten potentiell verfügbar. MP wurde in verschiedenen Arten an der Basis des Nahrungsnetzes wie z.B. Plankton und bei filtrierenden und substratfressenden Organismen nachgewiesen (Cole et al. 2013; Van Cauwenberghe et al. 2015). Da diese Tiere als Beute für räuberische Arten dienen, kann MP im Zuge der Nahrungsaufnahme auch in Top-Prädatoren gelangen (Fische, Vögel, Säuger).

Manche Organismen sind offensichtlich nicht in der Lage, zwischen Nahrung und MP zu unterscheiden. Andere nehmen MP möglicherweise auch gezielt auf. Die Größe von MP in Relation zum betroffenen Tier hat Einfluss auf den möglichen Schadeffekt von MP. Größere Partikel (1-5mm) behindern potentiell Nahrungsaufnahme und Verdauung, während kleinere Partikel (<1mm) den Verdauungstrakt offenbar lediglich passieren und wieder ausgeschieden werden (Lusher, 2015). Dass oral aufgenommenes MP lediglich den Magendarmtrakt passiert, gilt offenbar auch für Fischlarven, wie Laborversuche mit Larvenstadien des Europäischen Wolfsbarsches (*Dicentrarchus labrax*) gezeigt haben (Mazurais et al. 2015).

Das Vorkommen von MP in Fischen wurde bereits in den 1970er Jahren für Küstengewässer der USA (Carpenter et al. 1972) und von Großbritannien (Kartar et al. 1973; Kartar et al. 1976) beschrieben. Mit der Intensivierung von Untersuchungen zum Vorkommen von anthropogenem Müll in unterschiedlichen marinen Kompartimenten mehrten sich auch die weltweiten Nachweise von Müllpartikeln aus dem Magendarmtrakt von Fischen. So wurde z.B. die Aufnahme von MP bei mesopelagischen Fischen aus dem Gebiet des sog. „Müllstrudels“ im Nordpazifik beobachtet (Boerger et al. 2010, Choy und Drazen 2013).

(Rochman et al. 2015) untersuchten verschiedene kommerzielle Fischarten, die sie auf Fischmärkten in Indonesien (Sulawesi) und den USA (Kalifornien) erwarben. 28% der Fische aus indonesischen Meeresgebieten hatten Kunststoff aufgenommen, während dies bei Fischen aus den USA bei 25% der Fall war.

Feldstudien zum Vorkommen von Plastikmüll in Fischen wurden auch in verschiedenen europäischen Meeren unternommen. In der Adria wurde MP im Magendarmtrakt bei 28% der untersuchten Fische nachgewiesen. Pelagische Arten waren seltener als benthische Arten betroffen. Mit einer Häufigkeit von 65% war PE die dominierende Kunststoffart (Avio et al. 2015).

Von 26 kommerziellen Fischarten aus Meeresgebieten vor Portugal wiesen 17 Arten MP im Verdauungstrakt auf. Von allen Fischen mit MP waren 63,5% benthische und 36,5% pelagische Arten. Fasern waren mit 65,8% ungefähr doppelt so häufig wie Fragmente mit 34,2% (Neves et al. 2015).

Bei Magenuntersuchungen an großen pelagischen Top-Prädatoren wie Schwertfisch und Tunfischspezies aus dem Mittelmeer wurden nicht nur MP sondern auch größere Kunststofffragmente angetroffen (Romeo et al. 2015).

Weitere Feldstudien befassten sich mit der Belastung von pelagischen und demersalen Fischen in Nord- und Ostsee sowie dem Ärmelkanal.

So untersuchten Lusher et al. (2013) mittels Stereomikroskop insgesamt 504 adulte (?) Fische aus dem Englischen Kanal auf Mikroplastik. Hierbei waren 5 pelagische und demersale Arten (Grund- und Plattfische) vertreten. Bei den durch FT-IR identifizierten 351 Plastikpartikeln dominierte der MP-Größenbereich von 1-2 mm. In 36,5% der Fischmägen konnten sie MP feststellen, wobei 1-15 Partikel pro Fisch gefunden wurden. Als MP wurde in dieser Studie auch Rayon, eine halbsynthetische Faser, gezählt, das über 50% des MP-Anteils ausmachte. Die anderen durch FT-IR identifizierten Plastikarten waren PA (35,6%), Polyester (5%), PS (0,9%, nur in 3 Individuen nachgewiesen) sowie LDPE und Polyacryl (jeweils 0,3% je einmal nachgewiesen).

Der beobachtete Anteil an Fasern insgesamt lag bei 68%, 16,1% waren Fragmente, 11,5% Kügelchen. Alle pelagischen und demersalen Arten hatten MP aufgenommen. Hieraus folgern Lusher et al., dass die Aufnahme von MP unabhängig vom Ort der Nahrungsaufnahme erfolgt.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Mageninhalte von 1203 adulten Fischen 7 verschiedener Arten der Nordsee (Foekema et al. 2013) wurden in 5 pelagischen Arten bei 2,6% der Individuen MP-Partikel nachgewiesen. Die positiv-Funde variierten Breitengrad-abhängig und waren in der südlichen Nordsee (49-54°N) höher (5,4 %) als in der nördlichen (55-60°N) mit 1,2%. In den überwiegenden Fällen wurde ein Partikel pro Individuum, selten 2 oder 3 und in einem Fall 4 gezählt. Der Größenbereich lag bei >0,2 bis 4,8 mm. Kleine Fasern wurden nicht in die Kalkulation einbezogen und vor allem als Kontamination gewertet. Heringe enthielten als Art am seltensten MP. Nur 2% von 566 untersuchten Fischen waren MP positiv. 6 Partikel wurden exemplarisch durch FT-IR identifiziert. Hierbei handelte es sich in zwei Fällen um PE, in zweien um PP sowie je einmal um PET und Styrolacrylat. Es wurde kein Zusammenhang zwischen Größe und Gewicht auf der einen und positiven Plastikfunden auf der anderen Seite festgestellt.

Rummel (2014; veröffentlicht in Rummel et al. 2016) untersuchte in seiner Diplomarbeit die Mägen von 290 adulten pelagische und demersale Fische, 148 aus der Nord- und 142 aus der Ostsee. 54 Partikel (>500 µm) wurden optisch als potentiell MP selektiert von denen 23 durch FT-IR als Plastikpartikel identifiziert, 6 (~25%) als PE, 4 (17%) PA, 2 PP (Filmstück > 6mm und blaue Faser ~5 mm), und je einer PET, Polyester, PS (Industriepellet), PUR und Gummi. Von den 6,1% MP positiven Nordseefischen konnte nur in Makrelen (5 von 38) und Kliesen (4 von 74) Plastik nachgewiesen werden. 2 Kliesen der Küsten-nähesten Beprobungsstation, südwestlich von Helgoland, enthielten einen PUR- und einen nicht identifizierten Partikel. Weder in Heringen noch Flundern wurde MP nachgewiesen. Die Ostseefische enthielten demgegenüber zu 5,5% MP. Dies verteilte sich auf mehrere Arten: Makrelen, Dorsch, Flundern und Kliesen. Unter den pelagischen Arten wurde in Makrelen sowohl in Nord- als auch in Ostsee im Vergleich am häufigsten MP nachgewiesen.

In der Zusammenschau wurde in Fischen aus dem Englischen Kanal MP vergleichsweise häufig, wenn auch in geringer Partikelzahl angetroffen, die Abundanz in Fischen der Ostsee ist hingegen eher gering.

2.2 Analyse von MP

Die Analyse von Mikroplastik in Umweltproben erfolgt meistens durch eine optische Untersuchung mittels Stereomikroskop. Optional werden anschließend aus den Proben Partikel aussortiert, gegebenenfalls gewogen und spektrometrisch die Kunststoffart bestimmt, (Hidalgo-Ruz et al. 2012; Rocha-Santos and Duarte 2014). Dies erfolgt vor allem durch die zeit- und kostenintensiven Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie (FT-IR) und RAMAN-Spektroskopie sowie durch Pyrolyse Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Kopplung (Py-GCMS) (Löder and Gerds 2015 und Zitate hierin), wobei Größen- und Anzahl-basierte Daten erhalten werden.

Die vielen Kunststoffarten, vielfältige Partikelformen und deren unspezifische Färbung schränken die Belast- und Vergleichbarkeit von erhaltenen Daten mit abnehmender Partikelgröße (<200 µm) stark

ein. Bisher fehlt eine schnelle Übersichtsmethode, mit der simultan verschiedene Kunststoffe identifiziert und nach Möglichkeit auch kleinste Partikel im Spurenbereich (semi-) quantitativ erfasst werden können. Die Notwendigkeit einer solchen Methode wird insbesondere im Hinblick auf kürzlich veröffentlichte Studien deutlich (Cózar et al. 2014, Eriksen et al. 2014; Cózar et al. 2014b und Isobe et al. 2014). In diesen Studien wurden Oberflächenwasserproben untersucht und eine drastische Abnahme der Häufigkeit von Partikeln unter 1 mm verzeichnet, obwohl zu erwarten ist, dass diese mit zunehmendem Zerfall von Plastik ansteigt. Zum Verbleib dieser Plastikpartikel wurden mehrere Hypothesen aufgestellt, die einen schnellen Abbau von Mikroplastik zu Nanoplastik, vermehrtes Absinken in die Wassersäule oder Ablagerung an Stränden sowie einen Konsum durch mesopelagische Fische beinhalten (Eriksen et al. 2014; Cózar et al. 2014b; Reisser et al. 2015). Neben den möglichen Senken dieser Größenfraktion, ist es auch möglich, dass kleinere Plastikpartikel nicht erkannt wurden, da in diesen Studien die Partikel visuell aussortiert wurden. Fehlzugeordnungen vermeintlicher Plastikpartikel bei bisherigen Analysen können durchaus bei 40-70 % (Hidalgo-Ruz et al. 2012; Rocha-Santos and Duarte 2014) und z.T. eklatant darüber liegen. Beispielsweise konnten Löder & Gerdt (2015) aus einer Probe von als MP aussortierten Partikeln nur 1,4% tatsächlich als synthetische Polymere identifizieren.

Im Vorfeld zu diesem Projekt wurde eine Py-GCMS Methode zur qualitativen und quantitativen Analyse für 9 relevante Kunststoffe entwickelt (Fischer und Scholz-Böttcher 2017), deren Eignung im Rahmen der vorgestellten Pilotstudie getestet wurde. Diese Methode ermöglicht die empfindliche Analyse von Mikroplastik-Partikel, unabhängig von ihrer Erscheinungsform oder einer vorangegangenen optischen Detektion. Verschiedene Kunststoffarten lassen sich durch sie vergleichsweise schnell, simultan und polymerspezifisch identifizieren sowie im Anschluss im Mikro- bis Nanogrammbereich quantifizieren.

2.2.1 Kurzdarstellung der verwendeten Py-GCMS-Methode

2.2.1.1 Py-GCMS in der Kunststoffanalytik

Die Py-GCMS ist eine etablierte Methode, um polymere Komponenten, wie z.B. Kunststoffe, auf Basis der gebildeten charakteristischen Pyrolyseprodukte zu identifizieren (Tsuge et al. 2011). Qualitativ findet sie routinemäßig u.a. Anwendung bei der Charakterisierung von industriellen Kunststoffen und deren Additiven. Ihre Verwendung zur Analyse von mit MP kontaminierten Sedimenten wurde bereits von verschiedenen Autoren beschrieben (de Leeuw et al. 1986; Fabbri et al. 1998; Fabbri et al. 2000; Fabbri 2001). Zur qualitativen Analyse von MP in Sedimenten der Deutschen Nordseeküste wurde die Py-GC/MS in jüngerer Zeit von verschiedenen Autoren erfolgreich genutzt (Fries et al. 2013; Dekiff et al. 2014; Nuelle et al. 2014). Hierzu wurden die MP-Partikel vorher visuell aussortiert und anschließend einzeln identifiziert. Eine Quantifizierung durch Py-GC/MS erfolgte nicht.

Die Py-GCMS eignet sich durchaus auch zur quantitativen Spurenanalyse von Kunststoffen (Weiss et al. 2004; Wampler 2006; Yang et al. 2012). Sie wurde bislang jedoch nur selten und beschränkt auf wenige Kunststoffe bei der Analyse von Umweltproben eingesetzt (Fabbri et al. 2000; Kronimus and Schwarzbauer 2007; Antić et al. 2011).

Die im Rahmen der vorliegenden Pilotstudie genutzte Py-GCMS Methode (Fischer & Scholz-Böttcher 2017), ermöglicht die simultane chemische Spurenanalyse von 9 Kunststoffen (PE, PP, PS, PET, PVC; PMMA, PC, PA, PUR), die in ihrer Zusammensetzung über 80% der produzierten Kunststoffe repräsentieren (PlasticsEurope 2015). Hierbei sind ihre Identifizierung bzw. Quantifizierung unabhängig von einer vorherigen optischen Vorauswahl oder der Größe der einzelnen MP-Partikel. Die Methode wurde explizit für die Identifizierung und Quantifizierung der ausgewählten Kunststoffe im Spurenbereich d.h. < 1 mg konzipiert. Die erreichten Nachweisgrenzen sind stark abhängig von der jeweiligen Kunststoffart. Basierend auf dem Signal-zu-Rausch-Verhältnis der bislang analysierten kleinsten

Standards liegen die Nachweisgrenzen im Nano- bis Mikrogrammbereich (vergl. Tabelle 3.3.2). Die Bestimmungsgrenzen werden z.Zt. maßgeblich durch die untersten Kalibrierpunkte der Kunststoffe beeinflusst. Durch die sichere chemische Zuordnung von Kunststoffen eignet sich die Methode idealerweise zur Analyse von S-MP. Die dabei erhaltenen gewichtbezogenen Daten ermöglichen z.B. eine Vergleichbarkeit unterschiedlicher Standorte und Belastungssituationen. Diese ist unabhängig von der morphologischen Erscheinungsform (z.B. Faser, Fragment) der vorliegenden MP Partikel.

Im Vorfeld der Analyse ist eine entsprechende Isolierung und Aufkonzentrierung des S-MP aus den natürlichen Proben erforderlich. Dies ist zur Reduktion des bei der Pyrolyse entstehenden chemischen Untergrundes und potentieller überlagernder Signale obligat.

Die Identifizierung und Quantifizierung der Kunststoffe findet durch die selektive Analyse von indikativen, für jeden Kunststoff spezifischen Pyrolyseprodukten statt, die mit Hilfe der GCMS-Kopplung als Funktion der Zeit aufgezeichnet werden. Die Identität und Signalintensität dieser Indikatorkomponenten werden zur simultanen Identifizierung der einzelnen Kunststoffe und deren Quantifizierung genutzt. Für letzteres wird jeweils eine externe Kalibrierung mit den jeweiligen Einzelkunststoffen herangezogen und hierüber der Gehalt des Ursprungkunststoffes berechnet. Bei der Py-GCMS handelt es sich um eine destruktive Methode, bei der vor allem bei sehr geringen zu erwartenden Gehalten sinnvollerweise die gesamte Probe zum Einsatz kommt.

Mit der vorgestellten Methode werden empfindlich neun der häufigsten Gebrauchskunststoffe detektiert, die gewichtsquantitativ über 80% der in die Umwelt gelangenden Kunststoffsorten repräsentieren und von denen anzunehmen ist, dass sie in vergleichsweise großen Mengen in die Umwelt gelangen. Die Signale der positiv detektierten Kunststoffe schließen potentielle Co-Polymere der jeweiligen Kunststoffart entsprechend ihren relativen Anteilen ein.

3 Material und Methoden

3.1 Fischproben

3.1.1 Herkunft und Fangart

3.1.1.1 Orte der Probenahme

Die in dieser Pilotstudie untersuchten Fischproben entstammen aus zwei küstennahen Buchten (Jadebusen, Nordsee und Wismarbucht, Ostsee) und einem küstenfern gelegenen Standort 35 km nördlich von Rügen (Ostsee).

Der Kartenausschnitt in Abb. 1 zeigt die Beprobungsorte in Nord- (D) und Ostsee (A, B, C).

Abbildung 1: Lage der Probenahmeorte



A: Baltic II, B: vor Poel (äußere Wismarbucht), C: Seebrücke Wendorf (innere Wismarbucht),
D: zentraler Jadebusen (Tonne V8),
(Grafik erstellt über <http://gps0.de/maps/>)

3.1.1.2 Nordsee

Es standen Fische aus 5 Beprobungskampagnen (Dr. Andreas Dähnhardt), die zwischen Frühjahr und Herbst 2014 im zentralen Jadebusen (Tonne V8) durchgeführt wurden, zur Verfügung. Der Bezug wurde freundlicherweise durch die Fa. MarChemConsult, Varel (Dr. Gerd Liebezeit) vermittelt. Die Fische unterschiedlicher Individuengröße wurden mit Hamen (7 x 7 m, 12 mm im Steert) gefangen, nach Arten sortiert und bis zur weiteren Bearbeitung tiefgefroren.

3.1.1.3 Ostsee

Die Ostseefische entstammen von drei Lokationen. Die Fische aus der inneren (Seebrücke Wendorf) und äußeren Wismar-Bucht (vor Poel) stammen aus gewerblicher Stellnetzfischerei und haben durchgängig Speisefischgröße. Die Fänge erfolgten im Fall der Seebrücke Wendorf bei 2,5 - 3 m, bei der Insel Poel zwischen 5,5 und 7 m Wassertiefe. Die Fänge im Seegebiet nördlich von Rügen (Windpark Baltic II) wurden mit Grundschleppnetzen durchgeführt. Die Größen der hier gefangenen Fische waren variabler. In allen Fällen wurden die Fische bis zur weiteren Bearbeitung tiefgefroren.

3.1.1.4 Proben

Insgesamt wurden 258 (196 aus der Nordsee, 62 aus der Ostsee) pelagische Fische und 132 (116 aus der Nordsee und 22 aus der Ostsee) demersale Fische mit dem Ziel der Kunststoffisolierung und –anreicherung aufgearbeitet. In Abhängigkeit von der jeweiligen Größe wurden die Fische z.T. gepoolt, d.h. mehrere Individuen zu einer Probe zusammengefasst. Dies betrifft vor allem die juvenilen Heringsproben und Plattfische der Nordsee (Jadebusen), sie wurden zu 40 Proben à 5 Fische bzw. 21 Proben à 2-18 Fische gepoolt, sowie die Sprotten der Ostsee (Baltic II) (9 Proben à 5-6 Fische).

Von den aufgearbeiteten Proben wurden 35 Proben mikroskopisch ausgewertet und 71 Proben mit der Py-GCMS untersucht. Im Rahmen der Aufarbeitung wurden 30 parallele Prozessblindwerte angefertigt von denen je 15 optische bzw. pyrolytische analysiert und in die Bewertung einbezogen.

3.1.2 Untersuchte Fischarten

In der vorliegenden Pilotstudie wurden insgesamt 6 Fischarten untersucht. Von diesen wiesen zwei Arten eine pelagische und vier Arten eine demersale Lebensweise auf. Welche Arten in welchem Gebiet zur Verfügung standen fasst Tabelle 1 zusammen.

Tabelle 1: In die Untersuchung einbezogene pelagische und demersale Fischarten

Pelagische Arten	Demersale Arten
Nordsee	Nordsee
Hering (<i>Clupea harengus</i>)	Flunder (<i>Platichthys flesus</i>)
	Seezunge (<i>Solea solea</i>)
	Kliesche (<i>Limanda limanda</i>)
Ostsee	Ostsee
Hering (<i>Clupea harengus</i>)	Flunder (<i>Platichthys flesus</i>)
Sprotte (<i>Sprattus sprattus</i>)	Scholle (<i>Pleuronectes platessa</i>)

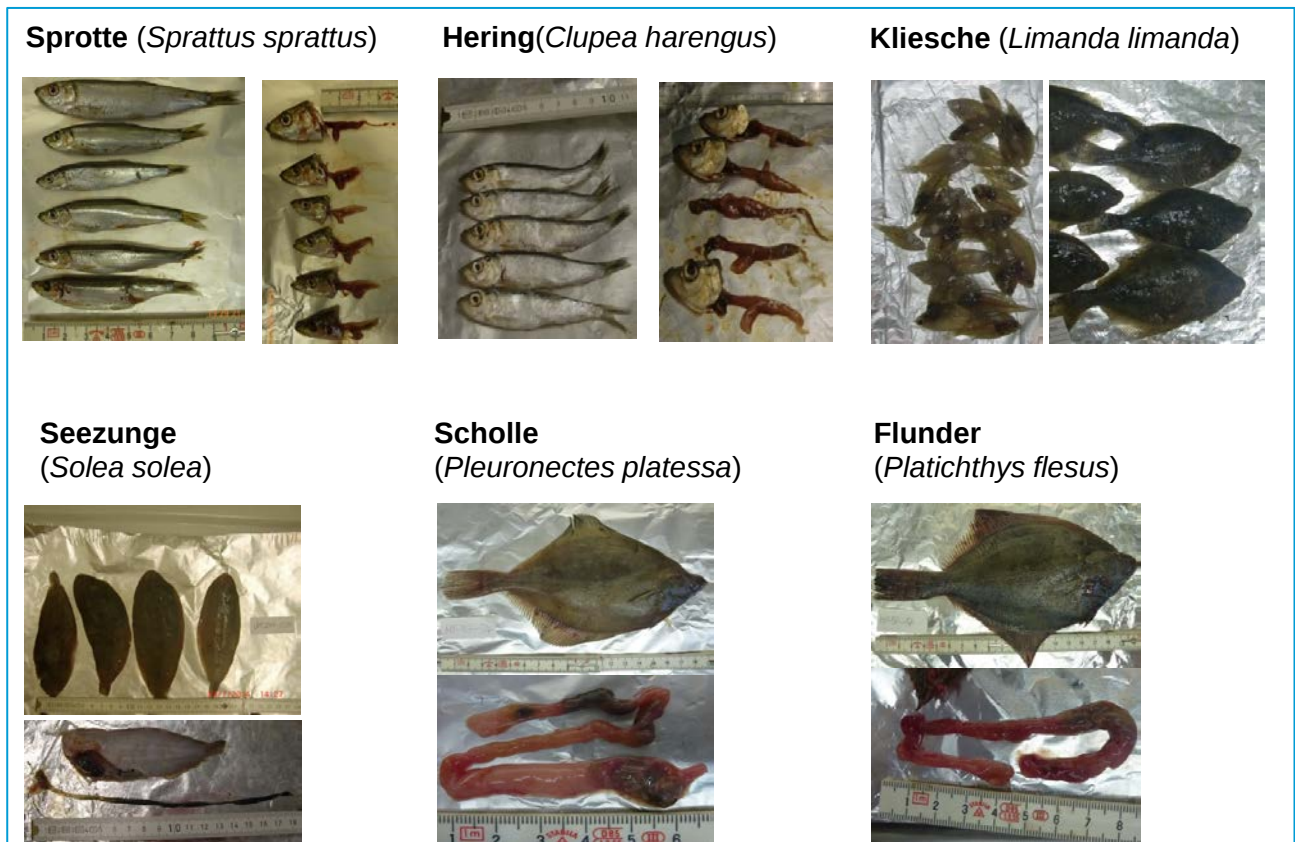
Vor allem aufgrund fehlender Abundanz konnten nicht an allen Probenahme-Orten zu jedem Zeitpunkt alle Fischarten beprobt werden.

3.1.3 Maßnahmen zur Reduktion des Kontaminationsrisikos mit MP aus der Umgebung

Im Rahmen der Analyse von MP ist eine Sekundär-Kontamination der Proben durch in der Arbeitsumgebung befindliches MP durch geeignete Maßnahmen bestmöglich zu vermeiden. Hierzu wurden alle genutzten Lösungsmittel/Lösungen vor Gebrauch durch 0,45 µm Glasfaserfilter (Typ A/E, Fa. Pall Life Science) filtriert und anschließend in Glasschliffflaschen aufbewahrt. Sämtliche Gerätschaften sowie die genutzte Aluminiumfolie wurden vor Gebrauch mit filtriertem Wasser und Ethanol gründlich gereinigt und in Aluminiumfolie gelagert. Die Arbeiten fanden, soweit möglich, unter einem penibel gereinigten Abzug statt. Alle Gefäße und Behältnisse wurden im Verlauf der Arbeitsschritte nur zur Dosierung von Reagenzien geöffnet und während weiterer Schritte durch eine Alufolie abgedeckt. Die bearbeitenden Personen trugen zum einen möglichst ausschließlich Kleidungsstücke aus natürlichen Fasern und außerdem einen Baumwollschutzhittel. Parallel zur Probenaufarbeitung wurden regelmäßige Blindwerte angefertigt, die den gesamten Bearbeitungsprozess durchliefen und damit eine realistische Einschätzung einer potentiellen Kontamination erlaubten und Rückschlüsse auf ihre Quellen zuließen.

3.1.4 Probenvorbereitung

Abbildung 2: Sektion der Mägen bzw. M/D-Trakte pelagischer und demersaler Fische (Beispiele)



© Scholz-Böttcher et al. 2015

Vor der Sektion wurden die eingefrorenen Fische zunächst aufgetaut. Bei den pelagischen Fischarten (Hering, Sprotte) wurden die Mägen für die anschließende Untersuchung auf MP isoliert. Bei den demersalen Plattfischen (Flunder, Seezunge, Kliesche, Scholle) wurde der gesamte Magen-Darm-Trakt als Probe entnommen, da bei diesen Fischarten der Übergang vom Magen zum Darm nicht sicher zu bestimmen war.

Im Fall der juvenilen Fische, deren Standardlänge unterhalb von 12 cm lag, wurden i.d.R. 5 Mägen zu einer Sammelprobe zusammengefasst. Von Fischen mit Größen zwischen 12 und 17 cm wurden Proben aus 2-3 Fischmägen gebildet. Abbildung 2 zeigt Beispiele der untersuchten Fische und isolierten Mägen bzw. Magen-Darmtrakte. Bei Fischen von Speisefischgröße (>17 cm) diente jeweils ein Magen oder ein Magen-Darm-Trakt als Probe.

Die seziierten und teilweise gepoolten Mägen bzw. Magen-Darm-Trakte wurden in mit Alufolie abgedeckten, vorbehandelten Glasgefäßen bis zur Weiterbearbeitung tiefgefroren bei -20°C gelagert.

3.1.5 Zur Aufarbeitung verwendete Chemikalien und Materialien

In den Tabellen 2 und 3 sind die zur Aufarbeitung verwendeten Chemikalien und Materialien zusammengestellt.

Tabelle 2: Liste der verwendeten Chemikalien

Chemikalie	Bezugsquelle
Ethanol <i>p.a.</i>	<i>Fisher Scientific, Loughborough, Leicestershire, UK</i>
Natriumdodecylsulfat (SDS) 5%	<i>Applichem, Darmstadt, Deutschland</i>
Petrolether <i>p.a.</i>	<i>Fisher Scientific, Loughborough, Leicestershire, UK</i>
Phosphat gepufferte Salzlösung (PBS-Puffer):	
Natriumchlorid <i>p.a.</i>	<i>Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland</i>
Kaliumchlorid <i>p.a.</i>	<i>Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland</i>
Natriumhydrogenphosphat <i>p.a.</i>	<i>Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland</i>
Kaliumdihydrogenphosphat <i>p.a.</i>	<i>Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland</i>
Natriumhydroxid	<i>Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland</i>
Protease A01	<i>ASA Spezialenzyme GmbH, Wolfenbüttel, Deutschland</i>
Chitinase	<i>ASA Spezialenzyme GmbH, Wolfenbüttel, Deutschland</i>
Wasserstoffperoxid (30%ig)	<i>VWR International, Darmstadt, Deutschland</i>
Salzsäure (6 molar)	<i>Fisher Scientific, Loughborough, Leicestershire, UK</i>
Natriumjodid	<i>Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland</i>

Tabelle 3: Liste der eingesetzten Materialien

Material	Kopfzeile
Sezierbesteck, Alufolie	<i>Chemikalienlager, Uni Oldenburg, Deutschland</i>
Glasfaserfilter, 1 µm. Typ A/E	<i>Pall Life Sciences, Dreieich, Deutschland</i>
Glasfiltertiegel (50 ml, 3D, Por.4)	<i>Schott, Mainz, Deutschland</i>
Anodisc 13 mm Aluminiumoxidfilter 0,2µm	<i>Watman, UK</i>
Cellulosenitratfilter („Zählfilter“), 0,45 µm mit Raster	<i>Satorius Stedim Biotech</i>
Filtrationsapparatur	<i>Satorius, Göttingen, Deutschland</i>
Filtrationsreduktionseinheit (6 und 9 mm)	<i>Eigenbau, Kunststoffwerkstatt, Uni Oldenburg</i>

3.1.6 Probenvorbehandlung zur Kunststoffkonzentration

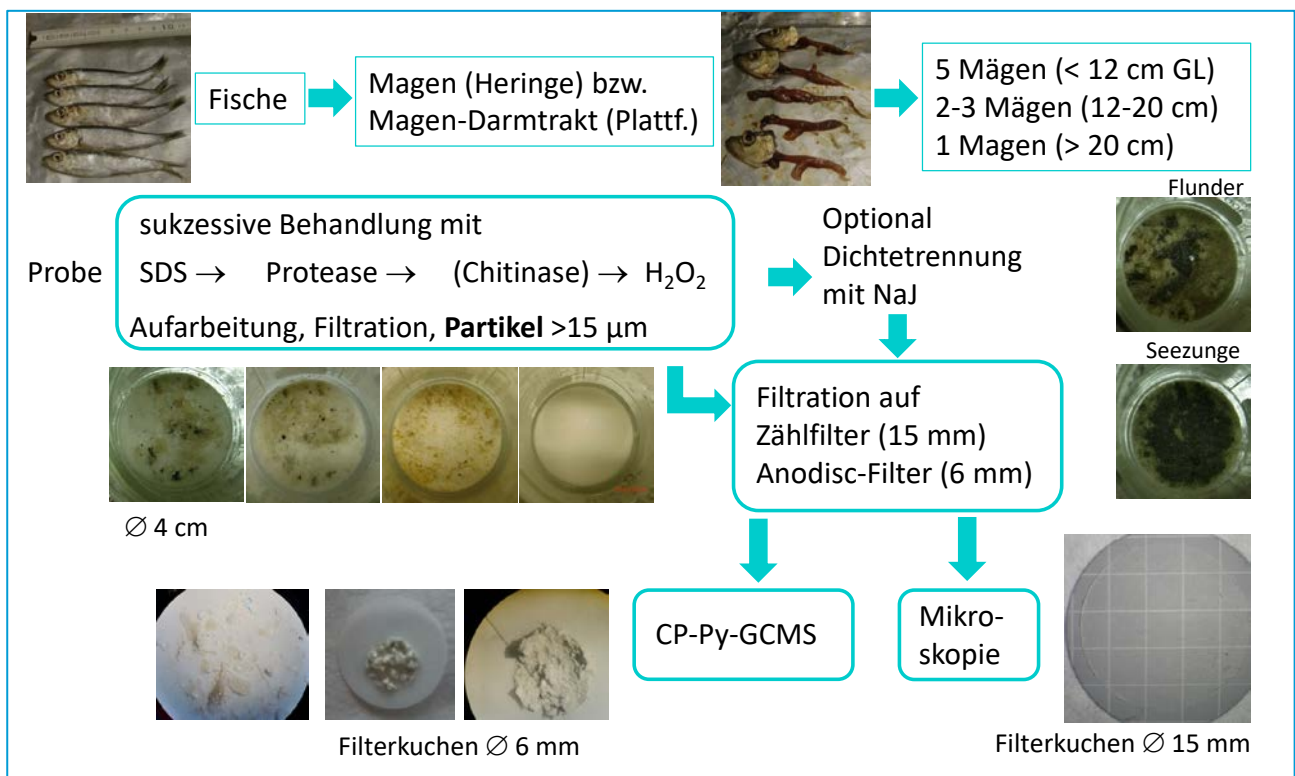
Es wurden die kompletten Fischmägen bzw. Magen-Darm-Trakte der Fische für die Isolierung von Kunststoffpartikeln und deren Aufkonzentrierung eingesetzt. Dies hatte den Vorteil, dass der komplette Mageninhalt der Fische erfasst und eine Sekundärkontamination durch eine weitere Sektion und Überführungsprozesse vermieden wurden. Die enzymatischen und oxidativen Behandlungsschritte orientierten sich, mit Ausnahme der Dichtentrennung, weitestgehend an bereits beschriebenen Methoden (Cole et al. 2014, Mintening et al. 2014). Die praktische Durchführung wurde für die vorliegende Untersuchung der Fischmägen modifiziert und optimiert. Besonderes Augenmerk bestand darauf, die Gewebematrix möglichst schonend auf überwiegend enzymatischem Weg aufzulösen und bei der chemischen Oxidation die potentiell enthaltenen Kunststoffe nicht anzugreifen.

Die seziierten Mägen oder Magen-Darm-Trakte wurden in einen Glasfiliertiegel überführt und mit einer gründlich gereinigten Sezierschere grob zerkleinert. Der Tiegel wurde in ein Becherglas gestellt und mit 35 ml 5%iger SDS-Lösung versetzt. Die Probe wurde mit Alufolie abgedeckt und nach einer Ultraschallbehandlung von 5 min für 3 h bei 50°C im Trockenschrank gehalten. Nach erneuter Ultraschallbehandlung wurde der Filiertiegel auf eine Absaugapparatur gesteckt und der Überstand unter gründlichem Spülen mit Wasser abgesaugt. Der Tiegel wurde zurück in das Becherglas gestellt und nach Zugabe von 30 ml Protease-PBS-Puffer (1:5, pH 9) abgedeckt für 24 h bei 50°C (Trockenschrank) inkubiert. Anschließend wurde die Probe 5 min im Ultraschallbad suspendiert, die Lösung im Filiertiegel mit Hilfe der Absaugapparatur abgesaugt und der Rückstand gründlich mit Wasser gespült. Sofern auffällige Fettanteile auftraten, wurde der Tiegel nach Vorlagenwechsel mit Petrolether (40/60) gespült, trockengesaugt und der Inhalt erneut mit Wasser gewaschen. Der Filiertiegel wurde zurück in das Becherglas gesetzt, mit 40 ml H₂O₂ (30%) versetzt und abgedeckt 3-4 h bei 50°C (Trockenschrank) gehalten. Dieser Oxidationsschritt sollte eine erhebliche Reduktion der organischen Matrix bewirken und wurde im Bedarfsfall wiederholt. Bei gutem Erfolg wurde der Inhalt des Tiegels unter gründlichem Nachspülen mit Wasser und 10%iger ethanolischer Lösung auf einen Zählfilter oder Anodisc-Filter überführt. Der Filter wurde im Anschluss in eine zuvor gründlich gespülte Glaspetrischale gelegt und staubfrei gelagert.

Sofern eine Probe viele Reste von Muschelschalen und/oder Chitin enthielt (z.B. adulte Heringe), wurde sie mit 10 ml HCL (6 molar) versetzt und abgedeckt für 12 h bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschließend wurde erneut abgesaugt und sehr gründlich mit Wasser nachgewaschen. Eine weitere Option zur Reduktion von Chitinresten war die Behandlung mit 10 ml Chitinase-PBS-Puffer (1:20, pH 5,6) für 48 h bei 37°C. Anschließend wurde die Lösung abgesaugt und gründlich mit Wasser nachgespült. Der Erfolg dieses enzymatischen Abbaus von Chitin war allerdings häufig unbefriedigend. In den Plattfischmägen befanden sich neben Nahrungsorganismen erhebliche Anteile an Muschelschalen und Sand. In diesen Fällen war eine Dichteseperation erforderlich. Hierzu wurden in die Filiertiegel 15 ml NaJ-Lösung ($\rho = 1,6 \text{ g/ml}$) gegeben, 15 min im Ultraschallbad behandelt, der Tiegelinhalt mit weiteren 15 ml Dichtelösung in einen Scheidetrichter (100 ml) gespült und mit Aluminiumfolie abgedeckt. Nach vorsichtigem aber gründlichem Schwenken und Absetzen über Nacht wurde das Sediment vorsichtig abgelassen. Der Vorgang wurde mit kürzeren Absetzzeiten bis zu 4 x wiederholt, hierbei sollten insgesamt nicht mehr als 2/3 der Lösung abgelassen werden. Die verbleibende Lösung wurde auf einen Zählfilter bzw. Anodisc-Filter abgelassen und sehr gründlich mit Wasser und ethanolischer Lösung nachgespült. Die Aufbewahrung der Filter erfolgte in einer gründlich gespülten, verschlossenen Glaspetrischale.

Zu einer Aufarbeitungsserie von 5 Proben gehörten zwei parallel aufbereitete Blindwerte (je einer für die optische Analyse und Py-GCMS), die unter identischen Bedingungen aufgearbeitet wurden (Prozessblindwerte). Abbildung 3 fasst die einzelnen Aufarbeitungsschritte schematisch zusammen.

Abbildung 3: Mehrstufiges Aufarbeitungsschema der Fischproben zur MP-Analyse



© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

3.2 Optisch-mikroskopische Analyse

Für die optische Analyse wurde das in mehreren Aufarbeitungsschritten (3.1.6) behandelte Probenmaterial auf Filter aus Cellulosenitrat (Zählfilter) mit einem Durchmesser von 15 mm übertragen. Die Filter besaßen eine Porengröße von 0,45 µm und ein aufgedrucktes Gitternetz mit Quadraten von 3,2 x 3,2 mm Seitenlänge. Die Gitternetzlinien wiesen eine Rastereinteilung von jeweils ca. 100 µm Länge auf. Diese Rastereinteilung ermöglichte eine einfache Größenbestimmung der auf dem Filter befindlichen Objekte.

Die optische Auswertung der Zählfilter erfolgte mit einem Olympus SZH 10 Stereomikroskop oder mit einem Leica MZ 125 Stereomikroskop. Zur Auflichtbeleuchtung der Filter wurden immer Kaltlichtquellen verwendet. Für die Aufnahme von Fotos waren die Stereomikroskope jeweils mit einer Digitalkamera (Olympus oder Canon) versehen. Für die visuelle Auswertung der isolierten Partikel auf den Zählfiltern wurden jeweils Übersichtsaufnahmen des halben bis ganzen Filters und in der Regel auch mehrere Detailbilder von einzelnen Filterquadraten oder von ausgewählten Objekten gemacht. Schriftliche Aufzeichnungen ergänzten die fotografische Dokumentation.

Es wurden nur auffällige Objekte von mutmaßlich anthropogenem Ursprung erfasst. Diese Objekte werden im Folgenden als „Auffällige Partikel“ (AP) bezeichnet. Anhand ihrer Morphologie wurden die auf den Filtern erfassten AP in folgende Kategorien eingeteilt:

- Fasern: blau/violett, orange/rot, gelb/grün, schwarz
- Fragment (klare Kanten, „dreidimensional“)
- Folie (flach, „zweidimensional“)
- Pellet/Granula (abgerundet, rund).

3.3 Py-GCMS

3.3.1 Messbedingungen

Die aufbereiteten Proben bzw. Standards wurden in einen tiegelförmigen Leiterstab (CP Temperatur 590°C, GSG Analysensysteme, Bruchsal, Deutschland) überführt, mit TMAH (25% w/w in Wasser, Fluka, Steinheim, Deutschland) versetzt und in einem Pyrolyseliner 15 s mit einem Curiepunkt Pyrolysator (Pyromat (Fa. GSG Analysegeräte), pyrolysiert. Der Pyrolysator war über eine Metallkanüle direkt mit dem Gaschromatographen (Agilent 6890N) verbunden. Der Transfer der Pyrolyseprodukte erfolgte direkt in dessen heißen SSL-Injektor (Split Modus 1:15, 300°C). Zur chromatographischen Trennung der Pyrolyseprodukte wurde eine DB-5 Säule (0,25 mm ID, 30 m Länge, 1,25 µm Filmdicke, J&W Scientific) verwendet. Die anfängliche Säulentemperatur betrug 50°C, diese wurde 2 min gehalten und anschließend mit 3°C pro min auf 310°C aufgeheizt. Die Endtemperatur wurde für 10 min gehalten. Das Trägergas (Helium) wurde mit konstanter Fließgeschwindigkeit von 0,8 ml/min betrieben. Als Detektor wurde der massenselektive Detektor Agilent MSD 5793 N verwendet. Die Ionisierungsenergie betrug 70 eV, der aufgezeichnete Massenbereich umfasste 50 – 500 amu und die Scanrate betrug 2,48 scans/s.

3.3.2 Qualitative und quantitative Bestimmung der Kunststoffe

Die Identifizierung der einzelnen Kunststoffe erfolgte über die Messung verschiedener Referenzkunststoffe. Die erhaltenen Pyrogramme und Massenspektren wurden mit den in der Literatur umfangreich verfügbaren Pyrolysedaten von Polymeren abgeglichen (u.a. (Tsuge et al. 2011)).

Zur Quantifizierung wurde von den neun Kunststoffen (Tabelle 4), durch Einwaage (Mikro- und Ultramikrowaage, Fa. Satorius) von definierten Einzelkunststoffen, jeweils eine externe Kalibrierung vorgenommen. Hierbei wurden charakteristische Pyrolyseprodukte ausgewählt und repräsentative Fragmentationen für die Quantifizierung eingesetzt. Die Signalintensitäten dieser Ionen wurden als Funktion der Einwaage aufgetragen. Tabelle 5 fasst alle diesbezüglichen Daten und die erhaltenen Kalibrierfunktionen zusammen.

Tabelle 4: Verwendete Kunststoffstandards

Kunststoffstandard	Abkürzung	Bezugsquelle
Polyamid 6 (K891)	PA	Ter Hell GmbH, Hamburg, Deutschland
Polycarbonat (K883)	PC	Ter Hell GmbH, Hamburg, Deutschland
Polyethylen hoher Dichte (MG754)	PE	Institut für Polymerforschung (IPF), Dresden, Deutschland
Polyethylenterephthalat (K896)	PET	Ter Hell GmbH, Hamburg, Deutschland
Polymethylmethacrylat (K964)	PMMA	Ter Hell GmbH, Hamburg, Deutschland
Polypropylen (isotaktisch)	PP	Verpackungsfolie bzw. Pellets Uni Bayreuth, Deutschland
Polystyrol (K834)	PS	Ter Hell GmbH, Hamburg, Deutschland
Polyvinylchlorid (Hart & Weich)	PVC	Teichfolie; Pellets Uni Bayreuth, Deutschland
Polyurethan (TP4 KMG)	PUR	Geba GmbH, Ennigerloh, Deutschland

Tabelle 5: Kalibrierfunktionen für die einzelnen Plastikarten

Polymer	Indikatorverbindung	Schlüssel-fragment (m/z)	Kalibrierbereich (µg)	Kalibrierfunktion	R ²	SD (+/-) µg	S/N *
PE	<i>n</i> -C ₁₆₋₂₆ Alkan & Alken	83, 85	4- 600 4-160	$y = 4.28 \cdot 10^4 + 2.04 \cdot 10^3 \cdot x$ $y = 3.51 \cdot 10^4 + 2.41 \cdot 10^3 \cdot x$	0.938 0.767	203 71	INF
PP	2,4-Dimethyl-1-hepten	70, 126	30-530 30-180	$y = 5.1 \cdot 10^5 + 2.1 \cdot 10^4 \cdot x - 23.3 \cdot x^2$ $y = 1.8 \cdot 10^5 + 2.1 \cdot 10^4 \cdot x$	0.708 0.958	140 68	300
PS	Styrol	104	1,2-570	$y = -2.05 \cdot 10^5 + 9.92 \cdot 10^4 \cdot x$ $y = -2.62 \cdot 10^5 + 9.98 \cdot 10^4 \cdot x$	0.993	210 43	INF
	Styrol-Trimer	91	1,2-120 1,2-500 1,2-33	$y = -1.27 \cdot 10^5 + 3.61 \cdot 10^4 \cdot x$ $y = -2.57 \cdot 10^5 + 3.82 \cdot 10^4 \cdot x$	0.991 0.938 0.862	10	INF
PVC	Benzol	78	27-1173 27-110	$y = 1.6 \cdot 10^6 + 1.7 \cdot 10^4 \cdot x$ $y = -4.25 \cdot 10^5 + 4.3 \cdot 10^4 \cdot x$	0.954 0.955	352 43	277
PMMA	Methyl-methacrylat	100	1-660 1-6,5	$y = 2.0 \cdot 10^6 + 1.8 \cdot 10^5 \cdot x - 1.2 \cdot 10^2 \cdot x^2$ $y = -7.0 \cdot 10^4 - 1.1 \cdot 10^5 \cdot x + 3.9 \cdot 10^4 \cdot x^2$	0,964 0,999	202 2	INF
PA	Caprolactam, Methyl-caprolactam	113, 127	12-150	$y = -2.5 \cdot 10^5 + 1.4 \cdot 10^4 \cdot x$	0,993	50	INF
PET	Dimethylterephthalat	163	6-270 6-50	$y = 1.8 \cdot 10^6 + 4.2 \cdot 10^6 \cdot x - 8.6 \cdot 10^3 \cdot x^2$ $y = -1.8 \cdot 10^7 + 5.3 \cdot 10^6 \cdot x$	0.946 0.956	92 16	358
PC	Dimethylbisphenol-A	241	1-32	$y = 1.2 \cdot 10^7 + 2.3 \cdot 10^7 \cdot x - 3.5 \cdot 10^5 \cdot x^2$	0.953	12	INF
PUR	1-Dimethylamino-4-phenylmethyl	211	5,5-22	$y = -3.0 \cdot 10^4 + 6.2 \cdot 10^3 \cdot x$	0.999	7	INF

* Das angegeben Signal zu Rausch-Verhältnis (S/N) bezieht sich auf den kleinsten verwendeten Standard der Kalibrierung und Anmerkungen; INF = unendlich.

© Scholz-Böttcher et al., ICBM Uni-Oldenburg

Der optimale Einsatzbereich der Methode zur Quantifizierung von Kunststoffen liegt in Abhängigkeit von der jeweiligen Kunststoffart im Intervall zwischen 1 und 1000 Mikrogramm (μg).

4 Ergebnisse und Diskussion

Die aufgereinigten und -konzentrierten Proben wurden entweder ausschließlich optisch (Stereomikroskop mit hoher Vergrößerung, max. 120-fach) oder nach optischer Erfassung (Stereomikroskop, 40-fach) destruktiv durch Py-GCMS untersucht. Ausgewählte Proben wurden nach der mikroskopischen Analyse zusätzlich für die Py-GCMS aufbereitet, um hierdurch die erhaltenen Ergebnisse vergleichen und das Potential beider Methoden gegenüberstellen zu können.

4.1 Untersuchungen der Isolate auf MP durch optische Analyse

In allen Filterproben der Fischarten aus Nord- und Ostsee wurden Objekte augenscheinlich anthropogenen Ursprungs optisch nachgewiesen. In allen Proben waren alle vier morphologischen Kategorien (Faser, Fragment, Folie, Pellet) vertreten.

Die Größe der APs lag durchgängig weit unterhalb 5 mm Maximallänge und somit im Größenbereich von Mikroplastik (MP). Mit Ausnahme der Fasern, die gelegentlich >1 mm Länge aufwiesen, waren die übrigen APs (Fragment, Folie, Pellet) fast immer kleiner als 1 mm (S-MP).

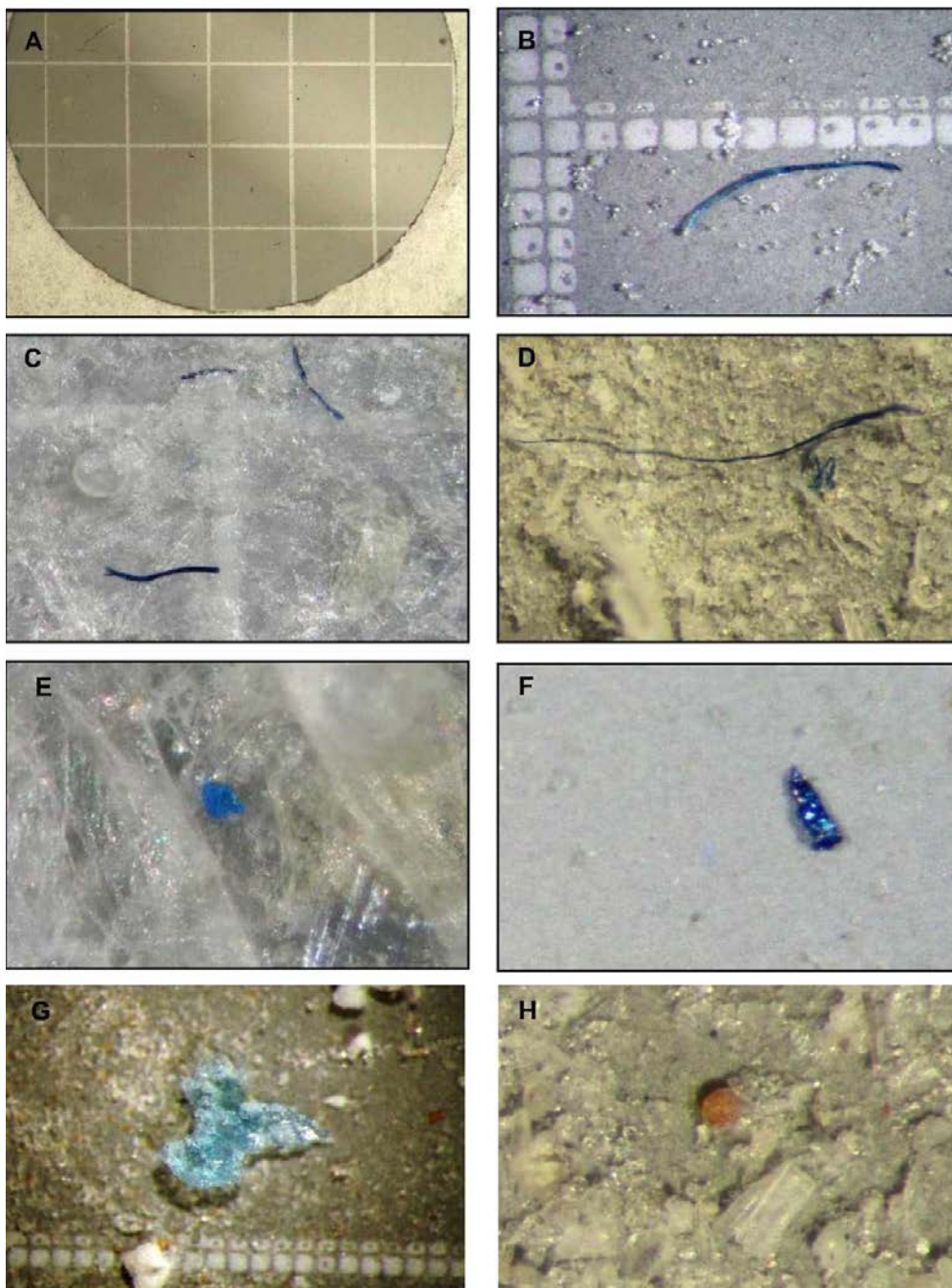
Die optische Auswertung erlaubte keine belastbare Aussage zur Herkunft bzw. zum Material der einzelnen AP. Dies lag zumeist an ihrer geringen Größe, da mit abnehmender Größe die Möglichkeit, Objekte allein anhand weniger morphologischer Merkmale zu unterscheiden, sinkt (Lenz et al. 2015). Unterhalb von 1 mm ist es prinzipiell schwierig, Partikel aus Plastik von solchen aus anderen Materialien zu unterscheiden (Song et al. 2015). Erschwerend kam hinzu, dass relativ häufig ein Rückstand der Probenmatrix auf dem Filter verblieb. Dabei handelte es sich i.d.R. um nicht vollständig beseitigte Nahrungsbestandteile wie z.B. Chitinreste von Kleinkrebsen, Schalenbruchstücke oder anderes organisches Material. Insbesondere bei farblosen bzw. hellen kleinen Partikeln war eine Unterscheidung zwischen AP und natürlichem Material unsicher. Trotz dieser Einschränkungen bleibt festzustellen, dass sich nur wenige Fragmente augenscheinlich als MP ansprechen ließen. In Abbildung 4 sind beispielhaft einige der erfassten APs unterschiedlicher Kategorie abgebildet.

Fasern wurden mit Abstand am häufigsten beobachtet. Das galt sowohl für Zählfilter der 15 Prozessblindwerte als auch für Filter mit Probenmaterial. Bei der Erfassung von Fasern wurden verschiedene Farben unterschieden. Blaue/violette Fasern wurden bei den pelagischen Arten am häufigsten nachgewiesen. Bei den Heringen aus Nord- und Ostsee kam dieser Farbtyp bei 69 bzw. 83% der Proben vor, während er bei Sprotten in allen Proben vertreten war.

Blaue/violette Fasern nahmen auch den größten Anteil an den insgesamt ermittelten Fasern ein. Bei den Heringsproben aus dem Jadebusen und der Ostsee waren 63 bzw. 55% aller Fasern blaue/violett und bei den Sprotten 52%. Ungefärbte/transparente und orange/rote Fasern kamen bei Heringen am zweit- oder dritthäufigsten vor. Bei den Sprotten wurden in allen Proben orange/rote Fasern nachgewiesen. Schwarze Fasern wurden nur bei Heringen und Sprotten aus der Ostsee beobachtet. Fasern mit gelb/grüner Färbung wurden bei den pelagischen Arten nicht angetroffen (Tabelle 6).

In den Proben der demersalen Plattfische traten alle Farbtypen, mit Ausnahme von gelb/grün, häufig auf. Gelbe/grüne Fasern wurden nur bei Flundern, und dort nur in geringer Häufigkeit, ermittelt. In Bezug auf die insgesamt nachgewiesenen Fasern nahmen die blauen/violetten Fasern immer einen hohen Anteil ein (Tab. 6).

Abbildung 4 Ausgewählte Beispiele von Objekten auf Zählfiltern



- A: Blindwert: Filter
 B: Blaue Faser, offenbar Baumwolle (ca. 0,6 mm)
 C: Hering: Faserstücke (0,2 – 0,3 mm), auf dem Filter amorphe Reste von Chitin
 D: Kliesche: blaue Faser (ca. 2 mm), Filter mit organischen Resten
 E: Hering: blaues Fragment (0,1 mm) auf dem Filter amorphe Reste von Chitin
 F: Hering: blaues Fragment (0,2 mm)
 G: Scholle: blaues Fragment (ca. 0,8 mm)
 H: Kliesche: Pellet, auf dem Filter Material vom Glasfilter und organischer Rest.

Tabelle 6: Vergleich der unterschiedlich gefärbten Faseranteile in den untersuchten Fischproben. Linke Spalte: Prozentualer Anteil an Proben mit diesen Fasern, rechte Spalte: Prozentualer Anteil der Fasertypen an den Gesamtfasern

		n	Anteil Proben (%) mit Fasertyp					Anteil Fasertypen (%) an insgesamt ermittelten Fasern				
			farblos	blau/ violett	orange/ rot	gelb/ grün	schwarz	farblos	blau/ violett	orange/ rot	gelb/ grün	schwarz
pelagisch	Hering (Nordsee)	12	46	69,2	30,8	0	0	29,6	63,0	7,4	0	0
	Hering (Ostsee)	6	50	83,3	50	0	33,3	18,2	54,5	18,2	0	9,1
	Sprotte (Ostsee)	4	25	100	100	0	50	8,7	52,2	26,8	0	23,0
demersal	Kliesche (Nordsee)	3	66,7	66,7	66,7	0	66,7	13,0	52,2	8,7	0	26,1
	Seezunge (Nordsee)	2	100	100	100	0	100	25	33,3	16,7	0	25
	Flunder (Nordsee)	2	100	50	50	50	100	30	30	10	5	25
	Flunder (Ostsee)	4	50	50	75	25	75	15,4	38,5	23,1	3,8	19,2
	Scholle (Ostsee)	2	50	100	100	50	50	7,1	50,0	21,4	7,1	14,4
	Blindwerte	15	93,3	73,3	60,0	0	33,3	46,2	28,3	19,8	0	5,7

© ©
© ©

Gercken, IfAÖ

Viele der beschriebenen Fasertypen und Fragmente wurden auch in den Prozessblindwerten angetroffen. Trotz verschiedenster Vorsichtsmaßnahmen zur Vermeidung einer Kontamination bestand somit eine Grundbelastung an diesen Partikeln. Sie ist gemessen an Anzahl und Partikelgröße nicht hoch aber dennoch offensichtlich. Bei den Fasern (ein Beispiel aus einer Probe zeigt Abb. 4 D) handelte es sich vielfach um längere (1 – 3 mm), sehr dünne (ca. 20 µm), abgeflachte, gedrehte Fasern, mit einer, so vorhanden, ungleichmäßigen und meist durchscheinenden Färbung (Goodway 1987; CCI Textile Lab 2010; Brooks 2012). In den meisten Fällen dürfte es sich aufgrund des typischen Erscheinungsbildes um Baumwoll- bzw. Cellulosefasern gehandelt haben. Daher ist in vielen Fällen ein natürlicher und nicht synthetischer Ursprung naheliegend. Die Fasern entstammten überwiegend der Raumluft, da sie sowohl in Proben als auch Blindwerten vorlagen. Potentielle Quellen stellten u.a. Baumwollkleidung und im Labor genutzte Papier-Wischtücher dar. Die Py-GCMS-Messung der parallelen für diese Messungen angefertigten Prozessblindwerte sowie exemplarisch nach mikroskopischer Analyse für die Py-GCMS aufbereitete und vermessene Blindwerte bestätigten diese Vermutung. In keinem Fall wurde bei Untersuchung der Blindwerte einer der 9 ausgewählten und analysierten Kunststoffe nachgewiesen. Dieser Aspekt wird in Abschnitt 4.2.1 nochmals aufgegriffen. Tabelle 7 fasst verschiedenen Angaben zu den verschiedenen Typen innerhalb der Kategorie Fasern und den Kategorien Fragment, Folie, Pellet für die Prozessblindwerte zusammen. Die Dimensionsangaben der einzelnen Partikel beziehen sich sowohl auf die Blindwerte als auch auf diejenigen in den Fischproben (s. Tab. 8).

Tabelle 7: Auffällige Partikel (AP) in den insgesamt 15 Prozessblindwerten der optischen Analyse

Blindwerte								
	Fasern					Fragment	Folie	Pellet/ Granula
	farblos	blau/violett	orange/rot	gelb/grün	schwarz			
Dimension (mm)*	0,3-3					0,05-0,6	Ø 0,3	Ø 0,1-0,2
Gesamt Streuung	0 - 9	0 - 6	0 - 4	0	0 - 2	0 - 4	0	0
MW (n= 15)	3,6	2,8	2,3	0	1,2	2,6	0	0

* die Größenangaben gelten auch für die Fischproben in Tabelle 8.

© Gercken, IfAÖ

Insgesamt unterstreichen die Partikelfunde in den Blindwerten die unbedingte Notwendigkeit von parallel zu den Proben aufzuarbeitenden Prozessblindwerten. Diese sind immer parallel zu den entsprechenden Probereihen zu betrachten. Eine entsprechende Blindwertkorrektur (s. u.) kann in den jeweiligen Einzelfällen die rein optisch ausgewerteten Befunde relativieren.

Eine Korrektur der einzelnen Fischproben mit den zugehörigen Prozessblindwerten verändert die Streuung der einzelnen Partikelfunde. Diese sind in Tabelle 8 gegenübergestellt. Die enthaltenen Werte geben die Streuung der Proben vor (oberer Wert) und nach (unterer Wert in Klammern) der Korrektur wieder. Stark negative Werte reflektieren vergleichsweise hohe Partikelzahlen in den Blindwerten im Vergleich zur Probe.

Insgesamt ergeben sich nach Blindwertkorrektur nur sehr geringe Anzahlen an APs (in Tabelle 8 fett gesetzt) in den untersuchten Fischproben. Hierbei fällt auf, dass bei den demersalen Fischarten sehr viel häufiger APs mikroskopisch festgestellt wurden (gelb hinterlegt) als bei den pelagischen Arten.

Tabelle 8: Streuung in der Anzahl an APs in den untersuchten Fischproben der Kategorie Faser (5 Unterkategorien) und der Kategorien Fragment, Folie und Pellet. Die Werte in Klammern geben die auf Basis der verschiedenen Prozessblindwerte korrigierten Zahlen wieder.

		n	Kategorie Faser (Anzahl)					Kategorie (Anzahl)		
			farblos	blau/ violett	orange/ rot	gelb/ grün	schwarz	Fragment	Folie	Pellets
pelagisch	Hering (Nordsee)	12	0 - 4 (-9 - 2)	0 - 8 (-6 - 6)	0 - 1 (-4 - 0)	0	0 (-1-0)	0 - 5 (-1 -3)	1 - 3 (1 - 3)	0
	Hering (Ostsee)	6	0 - 2 (-3 - 0)	0 - 3 (-6 - 1)	0 - 2 (-5 - 1)	0	0 - 1 (-1 - 1)	0 - 3 (-4 - 1)	0 - 1 (0 - 1)	0 - 1 (0 - 1)
	Sprotte (Ostsee)	4	0 - 2 (-9 - 1)	2 - 5 (-4 - 4)	1-3 (-4 - -2)	0	0-2 (-2 - 2)	0-3 (-3-0)	0	0
demersal	Kliesche (Nordsee)	3	0 - 2 (-4 - -2)	0 - 8 (-2 - 2)	0 - 1 (-2)	0	0 - 5 (-1 - 4)	0 - 6 (0 - 2)	0	1 (1)
	Seezunge (Nordsee)	2	1 - 2 (-3 - -1)	1 - 3 (-1 - 2)	1 (0)	0	1 - 2 (0 - 2)	1 - 2 (0)	0	0
	Flunder (Nordsee)	2	2 - 4 (-3 - 2)	0 - 6 (-2 - 5)	0 - 2 (-1 - 1)	1 1	2 - 3 (1 - 3)	1 1	1 1	0
	Flunder (Ostsee)	4	0 - 2 (-3 - 0)	0 - 5 (0 - 3)	0 - 3 (-1 - 3)	1 1	0 - 3 0 - 3	0 - 2 (-5 - 0)	1 1	2 2
	Scholle (Ostsee)	2	0 - 1 (-2 - -1)	2 - 5 (2 - 5)	1 - 2 (1 - 2)	1 1	2 2	1 - 12 (1 - 12)	0	0

©

Gercken, IfAÖ

Die Ergebnisse der optischen Analyse von insgesamt 35 mikroskopisch auf APs ausgezählten Fischproben sind Blindwert-korrigiert in Tabelle 9 zusammengefasst und stellen sich in der Synthese wie folgt dar:

Bei den Poolproben von Heringen aus der Nordsee (Jadebusen) streute die Anzahl ermittelter APs der Kategorie Faser zwischen 2 -6, die der Kategorie Fragment/Folien zwischen 1 –3. In Heringen (Einzeltiere) und Sprotten (Poolproben) aus der Ostsee wurden 1-2 bzw. 4 – 5 APs der Kategorie Faser bzw. 1-2 APs der Kategorie Fragment (hier nur Heringe) nachgewiesen. In den Proben der Plattfische aus Nord- und Ostsee variierte die Anzahl erfasster APs der Kategorie Faser zwischen 1-9 und der Kategorie Fragment/Folie/Pellet zwischen 0 und 12 (Tab. 9).

Fasern blieben auch nach Blindwertkorrektur die mit Abstand am häufigsten beobachteten APs. Fasern waren nach Blindwertkorrektur in 50% und darüber der optisch ausgewerteten Zählfilter vorhanden. Fragmente wurden immer am zweithäufigsten angetroffen. Bei den pelagischen Heringen wurden sie in 16,7% (Ostsee) bzw. 33% (Nordsee) der Proben detektiert, während die Proben demersaler Plattfische; mit Ausnahme der Flundern (Ostsee), zu 66,7 – 100% Fragmente aufwiesen. APs der Kategorie „Folie“ wurden lediglich bei Heringen und Flundern nachgewiesen, wobei jeweils Proben aus Nord-und Ostsee betroffen waren. Am seltensten kamen Pellet-artige APs vor. Sie wurden lediglich in jeweils einem einzelnen Hering aus der Ostsee und einer Poolprobe von Klieschen aus dem Jadebusen angetroffen.

Tabelle 9: Optischer Nachweis von AP (Blindwert-korrigiert) in pelagischen und demersalen Fischarten aus Nord- und Ostsee.

	Fischart	Fang-gebiet	Proben-typ	Proben-zahl	Faser (%)	AP-Zahl (Streuung)	Fragment (%)	Folie (%)	Pellet (%)	AP-Zahl (Streuung)
pelagisch	Hering	Nordsee	Pool	12	50	2-6	33	16,7	0	1-3
	Hering	Ostsee	Individuum	6	50	1-2	16,7	16,7	16,7	1-2
	Sprotte	Ostsee	Pool	4	50	4-5	0	0	0	0
demersal	Flunder	Nordsee	Pool	2	100	4-9	100	50	50	1-3
	Flunder	Ostsee	Individuum	4	50	3-6	0	25	25	1-2
	Scholle	Ostsee	Individuum	2	100	5-8	100	0	0	1-12
	Seezunge	Nordsee	Pool	2	100	2	100	0	0	0
	Kliesche	Nordsee	Pool	3	66,7	2-4	66,7	0	33,3	1-2

© Gercken, IfAÖ

Insgesamt bleibt festzustellen, dass die optisch erfassten APs alle der S-MP-Fraktion zuzuordnen waren. Sie waren überwiegend von geringer Größe, so dass eine Ansprache nur über die Auffälligkeit ihres Erscheinungsbildes durchgeführt werden konnte. Eine belastbare Zuordnung zu MP war nicht möglich, in wenigen Ausnahmefällen wurde das Vorliegen von MP vermutet.

Bei der Aufarbeitung der viel Gewebe und Magen-Darminhalt umfassenden Proben von Heringen und Plattfischen aus der Ostsee mit Speisefischgröße wurden nicht immer alle organischen Bestandteile entfernt. Mehrfach blieben auf den vergleichsweise kleinen Filtern ($\varnothing$ 15 mm) Rückstände der nicht vollständig verdauten bzw. aufgelösten Probenmatrix zurück, wodurch die mikroskopische Analyse erschwert wurde.

4.2 Untersuchungen der aufgearbeiteten Proben auf MP durch Py-GCMS

4.2.1 Blindwerte

Zu jeder Probenaufarbeitungsserie wurde ein mikroskopischer Blindwert (BW) und ein BW zur Py-GCMS angefertigt. Die 15 Prozessblindwerte, die zur Pyrolyse präpariert und vor der Überführung in die Leiterstäbe mit dem Binokular (Vergrößerung 40fach) betrachtet wurden, waren nahezu frei von APs der Kategorie Fragment. Quelle für immer wieder beobachtete, sehr feinkörnige ($< 10 \mu\text{m}$), glasartige Partikel war vor allem Abrieb des Keramikmaterials aus den verwendeten Glasfiltertiegeln, welcher bei der Überführung von Proben auf die Messfilter z.T. abgetragen wurde. Das mikroskopische Bild der BW (s. 4.1) wurde häufiger von einer variablen Anzahl an Fasern unterschiedlicher Länge und Färbung geprägt. Ihr häufiges Erscheinungsbild (abgeflachte Form, Verdrillung, uneinheitliche Färbung) (s. auch Abschnitt 4.1) legt einen biologischen Ursprung (Baumwolle/Cellulose), nahe. Als Eintragsquelle ist vor allem die Laborluft zu sehen. Alle Lösungen und Geräte wurden vor Gebrauch filtriert bzw. mikroskopisch auf Partikelfreiheit kontrolliert.

Exemplarisch wurden Fasern einiger Blindwerte einzeln mit der PY-GCMS vermessen. Weder in diesen Einzelproben noch bei der Vermessung der jeweils als Gesamtfilterprobe gemessenen 15 Blindwerte ließen sich die Indikatorsignale der untersuchten neun Kunststoffarten durch Py-GCMS nachweisen. Eine Ausnahme waren anfänglich kleine Styrol-Monomer Signale. Ihr Ursprung ließ sich durch Quelleneingrenzung auf die aus Polystyrol bestehenden Behältnisse zurückführen, in denen die verwendeten Filter herstellerseitig verpackt und gelagert werden. Das Signal wird vermutlich

durch ausgasendes und am Filtermaterial adsorbiertes Styrol-Monomer verursacht, das bei der Pyrolyse desorbiert wird. Es ließ sich durch gründliches Spülen der Filter vor Gebrauch entfernen.

Bei einigen Blindwerten, deren Parallelblindwerte in der Mikroskopie auffällig viele Fasern enthielten, konnten nach gezielter Suche typische Produkte (u.a. verschiedene Furanderivate (Pouwels et al. 1989)), wie sie bei der Pyrolyse von Cellulose entstehen, nachgewiesen werden. Dies unterstützt die Vermutung, dass Baumwollfasern vorlagen.

Ähnliche Fasern wie in den Blindwerten wurden vereinzelt auch in aufgearbeiteten Proben gefunden (vergl. Abschnitt 4.1). Diese Fasern natürlicher Materialien beeinflussten die Ergebnisse der qualitativen und quantitativen Kunststoffanalysen nicht. Das Styrol-Monomer wurde zur Quantifizierung nicht herangezogen (s. 4.2.2).

4.2.2 Anwendung der Py-GCMS auf natürliche Proben

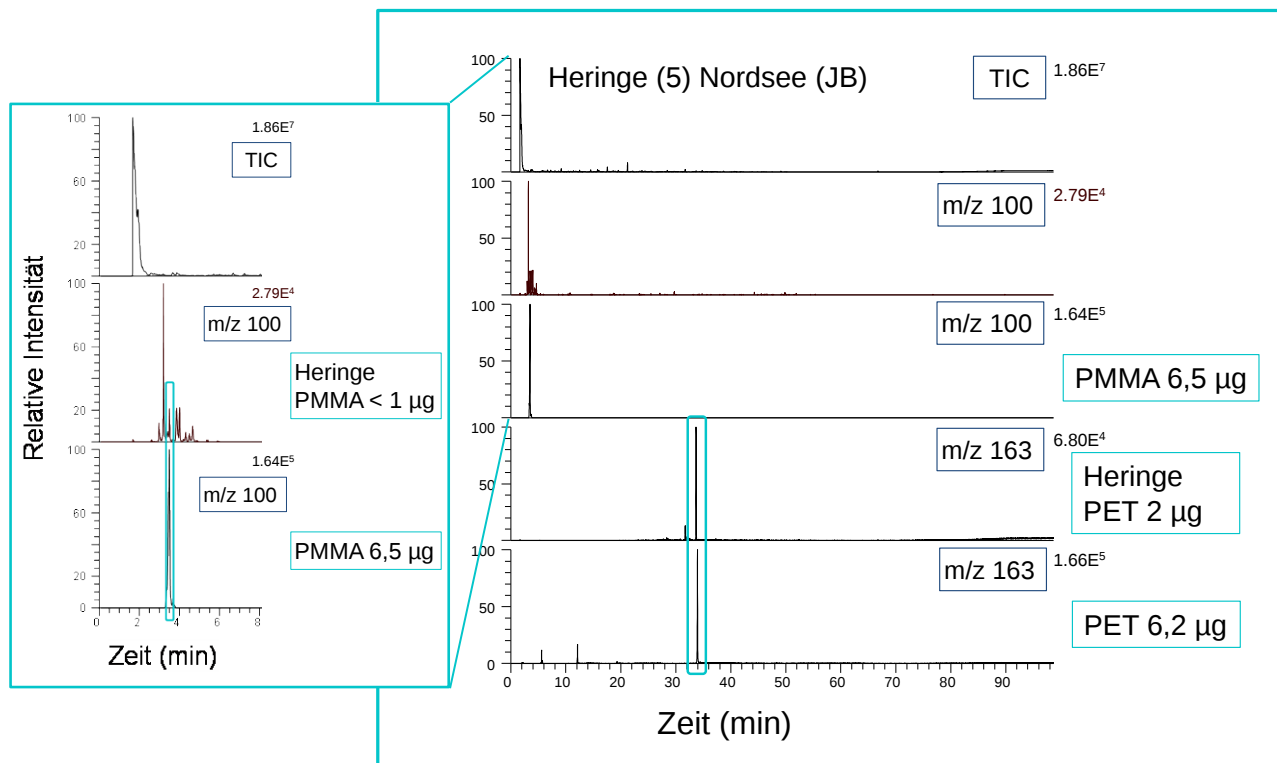
Die beschriebene Py-GCMS Methode (vergl. 2.2.1 bzw. 3.3) ließ sich erfolgreich zur qualitativen und quantitativen MP Analyse in Mägen oder Magen-Darm-Trakten verschiedener Fischarten einsetzen.

Die Pyrogramme wurden gezielt auf die für die jeweiligen Kunststoffarten charakteristischen Indikator-Pyrolyseprodukte und deren Indikatorionen hin untersucht. Die chromatographische Auftrennung und die mit der massenspektrometrischen Auswertung verbundene hohe Selektivität ermöglichten die Detektion dieser Komponenten auch in den trotz massiver Reduktion der ursprünglichen Fischmatrix (Gewebe und Magen-Darminhalte) häufig noch sehr komplexen Pyrogrammen.

Die Kunststoffe PMMA, PC, PET, PP, PUR und PA ließen sich sehr selektiv nachweisen. Die Abbildungen 5, 6 und 7 zeigen hierfür Beispiele in verschiedenen Fischarten aus Nord- und Ostsee. Die Abbildungen stellen das Totalionenstromchromatogramm (TIC) der Fischproben und die Ionenchromatogramme der jeweiligen Indikatorfragmente charakteristischer Pyrolyseprodukte aus den Pyrogrammen von Standardkunststoffen und Fischproben gegenüber. In einigen Fällen werden ausgewählte Elutionsbereiche vergrößert. Die Indikatorsignale sind in den zugehörigen Ionenchromatogrammen farblich markiert.

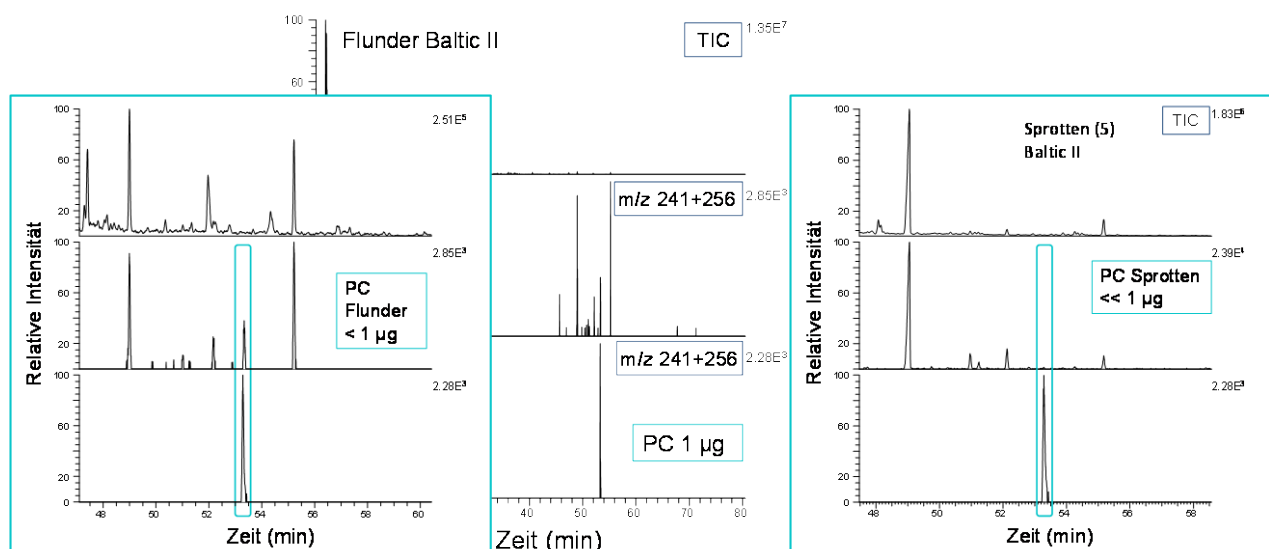
Die aus den Signalen und den externen Kalibrierungen abgeleiteten Gehalte an Kunststoffen in den jeweiligen Proben lagen in allen Fällen im Bereich oder unterhalb des kleinsten Kalibrierpunktes. Auch wenn vielfach ein zweifelsfreier Nachweis durch die Indikator-Ionen vorlag, war eine belastbare Quantifizierung nicht durchführbar. In diesen Fällen werden im Folgenden die Angabe $< X \mu\text{g}$ bzw. $\ll X \mu\text{g}$ gewählt, um den Eindruck einer Größenordnung zu vermitteln (vergleiche hierzu auch Tabelle 5).

Abbildung 5: Identifizierung und Quantifizierung von PMMA und PET am Beispiel einer Probe juveniler Heringe (5 Fischmägen) aus der Nordsee (Jadebusen). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.



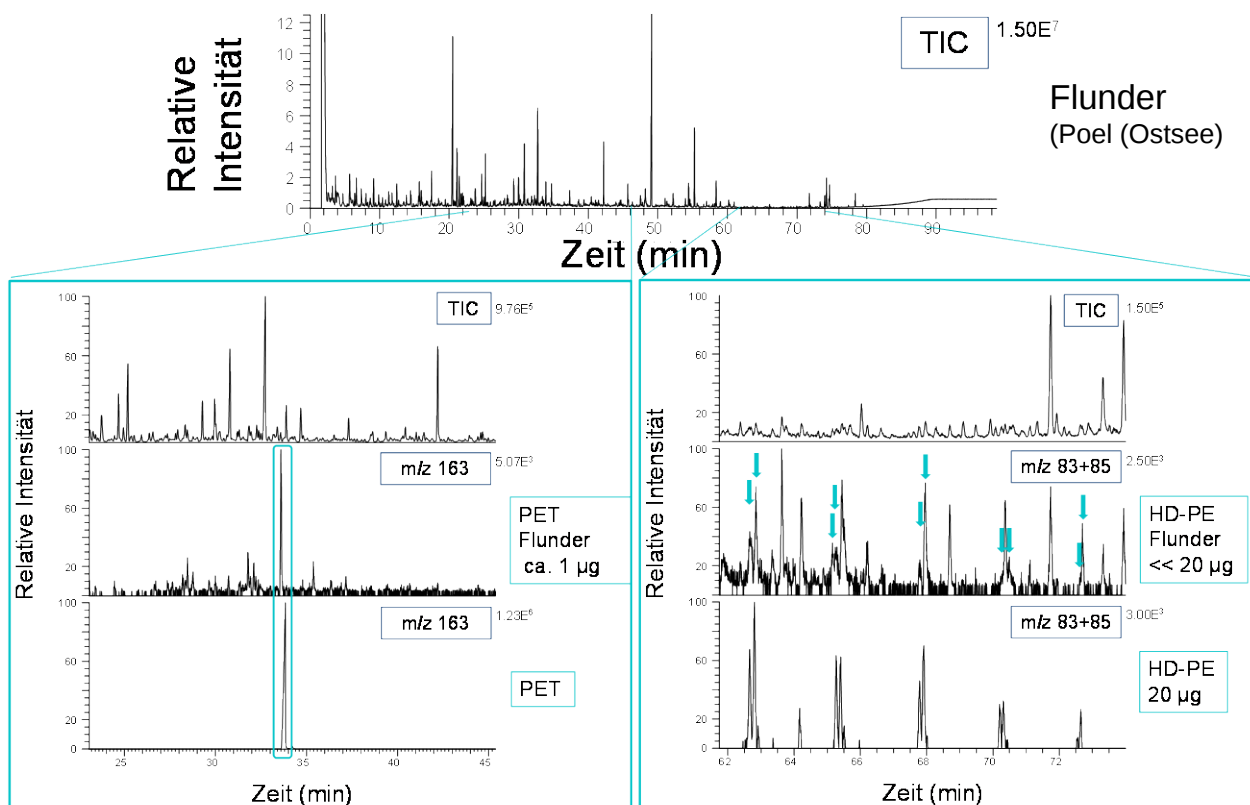
TIC = Totalionenstromchromatogramm, m/z = Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

Abbildung 6: Identifizierung und Quantifizierung von PC am Beispiel einer Flunder- (1 Fischmägen) und einer Sprotten-Probe (5 Fischmägen) aus der Ostsee (Seegebiet Baltic II). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.



TIC = Totalionenstromchromatogramm, m/z = Masse-zu-Ladungs-Verhältnis
© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

Abbildung 7: Identifizierung und Quantifizierung von PET und PE am Beispiel einer Flunder- (1 Fischmagen) aus der äußeren Wismarbucht (Poel, Ostsee). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.



TIC = Totalionenstromchromatogramm, m/z = Masse-zu-Ladungs-Verhältnis

© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

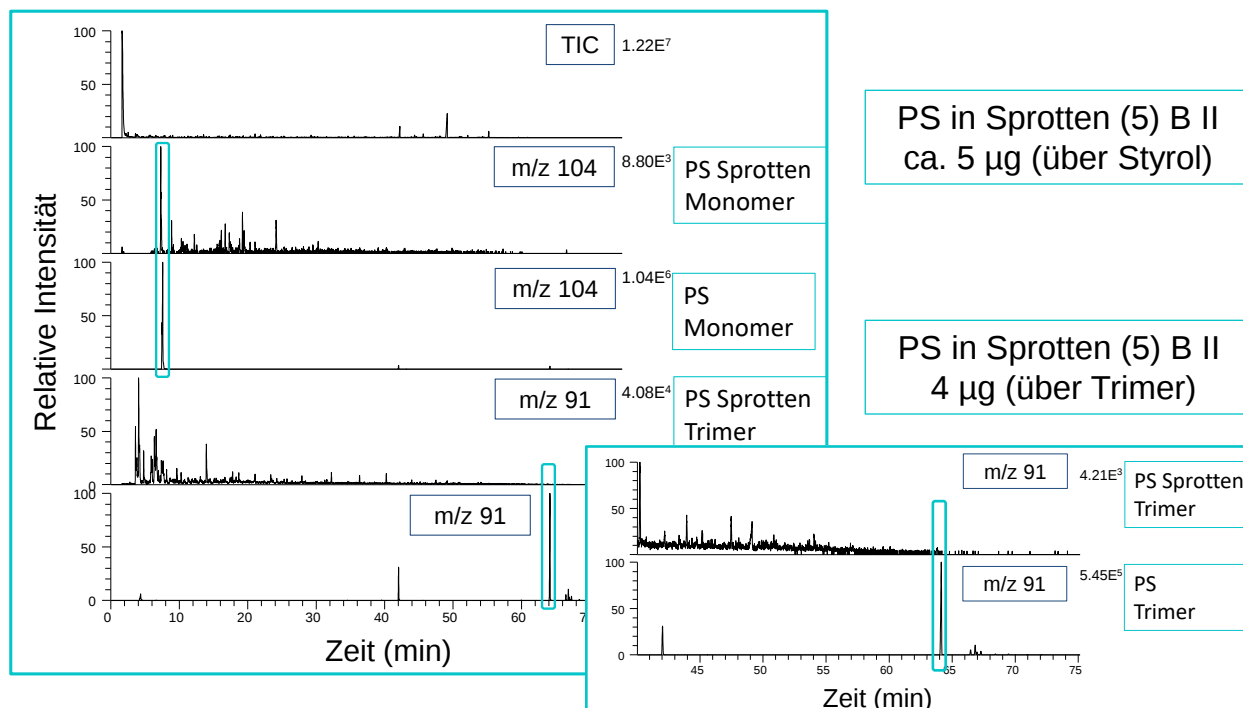
Der analytische Spurennachweis von PE, PS und PVC ist in Matrix-freien Proben ebenfalls problemlos. Aufgrund ihrer vergleichsweise unspezifischen Hauptpyrolyseprodukte kann ihre Detektion bei Restbeständen von organischer Matrix aus den Mageninhalten der Fische gestört werden, da einige Matrixbestandteile eine potentielle Quelle dieser Produkte sein können. Trotz umfangreicher Verdauerschritte konnte diese in einigen Fällen nicht komplett durch die Aufarbeitung entfernt werden, was den Py-GCMS-Nachweis dieser Kunststoffe bei Matrix-haltigen Proben gegenüber reinen Standardkomponenten erschwerte. Die Auswertung bedurfte entsprechender Vorsicht und erforderte, wenn möglich, eine zusätzliche Absicherung durch weitere, allerdings weniger prominente Indikatorprodukte.

Im Fall von PE sind es vor allem hoch aliphatische Naturstoffe (u.a. Wachse, Lipide), die eingeschlossen in die Nahrungsorganismen der Fische (u.a. Copepoden) in Einzelfällen nicht vollständig durch enzymatisch-chemischen Verdau erfasst werden, aber auch Erdöl-bürtige Paraffine und Teerpartikel. Diese setzen, wenn in Spuren vorhanden, durch die Pyrolyse ebenfalls *n*-Alkane und *n*-Alkene frei. Die zum Nachweis von PE spezifisch nutzbaren *n*-Alkadiene lassen sich wiederum bei Konzentrationen unterhalb von 50 µg in den Pyrogrammen nicht mehr erkennen (Abb. 7). Während bei Lipid-generierten *n*-Alkanen und *n*-Alkenen vor allem die C-Zahlen C₁₂ bis C₂₂ überwiegen, dominieren in Paraffin-Pyrogrammen *n*-Alkane (z.B. von *n*-C₂₄ bis *n*-C₃₁). In beiden Fällen werden PE-bürtige Signale in diesem Elutionsbereich überlagert. Für PE sind auch die Signale höherer Homologe (> C₂₃)

charakteristisch und lassen auf dessen Vorliegen schließen. Nur diejenigen untersuchten Proben, bei denen sich auch hier die typischen *n*-Alken-Alkan-Paare nachweisen ließen, wurden als positiv gewertet (z.B. Abb. 7). In verschiedenen Fällen deuteten die *n*-Alkan-/*n*-Alken-Muster auf PE hin, allerdings waren häufig die höheren Homologen so gering vertreten, dass ein potentiell Vorliegen von PE nur vermutet werden konnte. In einigen Abbildungen wird PE deshalb in diesen Fällen durch ein (x) symbolisiert und zweimal aufgeführt (vergl. z.B. Abb. 10).

Das Styrol-Monomer als intensivstes Pyrolyseprodukt von Polystyrol entsteht auch bei der Pyrolyse von Naturprodukten wie z.B. Chitin, wo Styrol in geringer Intensität unter anderen Pyrolyseprodukten entsteht. Chitin ist sehr stabil und befand sich bei einigen Proben trotz intensiver Behandlung noch sichtbar auf den Filtern der Proben. Das Monomer lässt sich zwar für die Quantifizierung des reinen Polymers ideal und empfindlich einsetzen (vergl. Kalibrierung und auch z.B. (Fabbri et al. 2000), sobald aber eine Matrix vorliegt entstehen Störungen. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde daher für einen sicheren Nachweis von PS das zusätzliche Vorliegen des pyrolytisch aus PS gebildeten Styrol-Trimers vorausgesetzt. Es wird, wenn auch in deutlich geringerer Intensität als das Styrol-Monomer, bei Gehalten von ca. 4 µg nachgewiesen und kann quantifiziert werden. Für die folgenden Auswertungen wurden nur bei einer Detektion des Trimers (vergl. Abb. 8) Proben als positiv gewertet und quantifiziert. Dies galt auch für die Fälle, in denen keine oder nur kleinste Chitinreste mikroskopisch zu erkennen waren und ein sehr intensives Styrol-Signal den Verdacht auf vorliegendes Styrol nahelegte.

Abbildung 8: Identifizierung und Quantifizierung von PS am Beispiel einer Sprotten-Probe (5 Fischmagen) aus dem Gebiet Baltic II (Ostsee). Abgebildet ist ein Ausschnitt des Totalionenstromchromatogramms, jeweils darunter sind die Ionenchromatogramme der zugehörigen Kunststoffstandards.



TIC = Totalionenstromchromatogramm, m/z = Masse-zu-Ladungs-Verhältnis

© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

Hauptpyrolyseprodukte von PVC sind Salzsäure und Benzol. Salzsäure wird in der Py-GCMS nicht erfasst. Alle weiteren Pyrolyseprodukte sind von geringer Intensität und wie auch Benzol nicht ausschließlich typisch für PVC. Einzig geringe Anteile an Chlorbenzol weisen auf Chlor hin. Die Intensität des Chlorbenzolsignals ist mit < 1% relativ zum Benzolsignal allerdings sehr gering. Benzol eignet sich ohne Matrix empfindlich zur Kalibrierung von PVC. Es kann aber als Pyrolyseprodukt von Naturstoffen gebildet werden. Parallele Untersuchungen haben gezeigt, dass Benzol-bildende natürliche Ausgangsverbindungen durch die Aufarbeitung massiv reduziert werden. Während Styrol auch bei kleinen Resten von Chitin pyrolytisch gebildet wird, ist dies bei Benzol nicht der Fall. Eindeutige Negativbefunde für PVC untermauern diese Beobachtung, so dass ein erkennbares Benzol Signal in den aufgearbeiteten und optisch weitgehend matrixfreien Proben als positiver Befund für PVC gewertet werden kann.

4.2.3 Qualitativer Vergleich der Kunststoff-Belastung von pelagischen und demersalen Fischen in Nord- und Ostsee unter Berücksichtigung aller Daten

Insgesamt wurden 71 Proben, die zusammen 255 Fische aus Nord- und Ostsee umfassten, untersucht. Ob es sich jeweils um Sammel- oder um Einzelproben handelte, ist bei den entsprechenden Abbildungen aufgeführt bzw. wird im Text angesprochen.

4.2.3.1 Relative Häufigkeit von MP-positiven Proben

Bereits bei den mikroskopischen Untersuchungen war aufgefallen, dass die Mägen der in dieser Pilotstudie untersuchten Fischarten und –größen keine auffälligen, als Plastik ansprechbaren Partikel >> 1mm (abgesehen von einzelnen Fasern) enthielten. Da der komplette Magen bzw. Magen-Darmtrakt zur Aufarbeitung eingesetzt und die Aufarbeitung konstant in einem Behälter durchgeführt wurde, ist ein methodisch bedingter Verlust von größeren Kunststoffpartikeln auszuschließen. Bei der optischen Analyse wurden einige auffällige kleinere aber noch „pickbare“ Partikel, bei denen es sich möglicherweise um Plastik handeln könnte, herausgesucht und direkt durch Py-GCMS charakterisiert. In keinem Fall handelte es sich bei diesen Partikeln um Plastik.

Aufgrund der hohen Nachweisempfindlichkeit der Py-GCMS ließen sich in den untersuchten Fischmagenproben bis zu acht der neun in die Untersuchung einbezogenen Kunststoffe in Spuren nachweisen. PP wurde in keiner Probe detektiert. PUR und PA wurden nur im Magen einer Flunder aus der Wismar-Bucht gefunden.

In positiven Proben wurden meistens eine oder zwei Plastikarten nachgewiesen. Seltener waren drei und im Fall von drei demersalen Fischen (Flundern, 2 x Poel, 1 x B II) und zwei Sprottenproben (Baltic II) der Ostsee auch 4 Plastikarten gleichzeitig enthalten. Die sehr geringen Signalintensitäten in den Messungen (s. 4.2.2) dokumentieren sehr kleine Mengen an S-MP in den Mägen bzw. MD-Trakten der entsprechenden Fischarten und damit eine nur geringe MP-Aufnahme. Aufgrund der offensichtlich sehr kleinen Partikelgröße erscheint eine MP-Aufnahme durch die Fische sowohl direkt über die Wassersäule als auch über Nahrungsorganismen plausibel.

Abbildung 9 gibt eine Übersicht über die relative Häufigkeit von MP-positiven Proben. Hierbei werden die Proben aus Nord- und Ostsee einander gegenübergestellt. Außerdem werden pelagische und demersale Arten unterschieden. Die positiven Funde (farbiger Bereich der Kreise) werden zudem in Abhängigkeit von der Anzahl an gleichzeitig in einer Probe angetroffenen Plastikarten farblich differenziert.

Von den insgesamt untersuchten Nordseefisch-Proben waren im Mittel 69% MP-positiv (s. Abb. 9c). Es handelte sich hierbei immer, bis auf einen einzigen ausgewachsenen Hering, um Poolproben von 2-5 Fischen, die in keinem Fall Speisefischgröße besaßen. Die MP-positiven Funde bewegten sich in der Ostsee im Mittel ebenfalls bei 69%. Mit Ausnahme der Sprotten- und zweier Heringsproben (Abb. 9b&d) wurden hier immer die Mägen oder Magen-Darm-Trakte einzelner Fische untersucht.

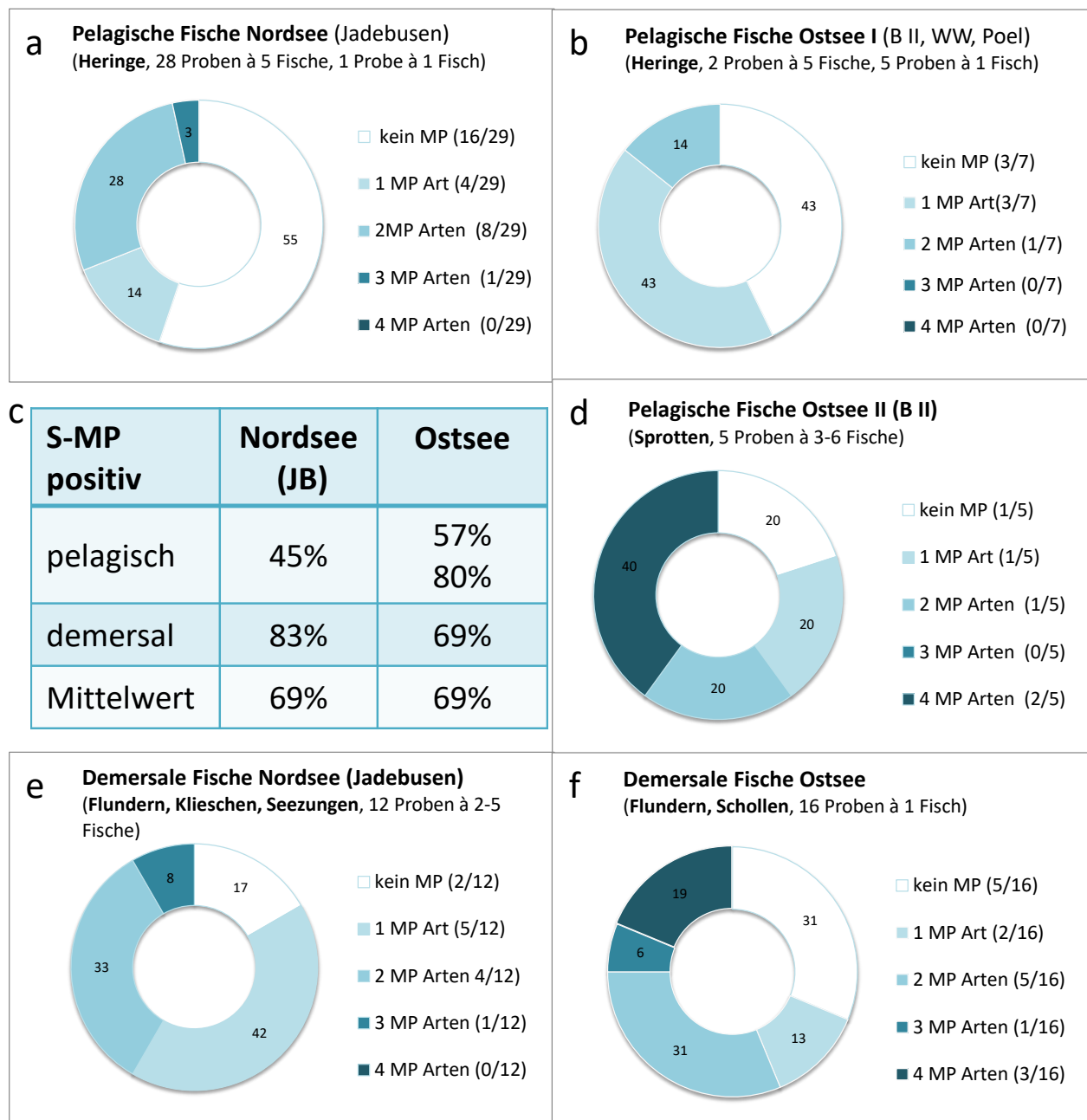
Der in dieser Pilot-Studie gefundene Anteil an MP-positiven Proben von 69% (Mittelwert aus pelagischen und demersalen Arten, vergl. Abb. 9c), liegt erheblich über dem, was in bisherigen Studien ermittelt wurde, die sich ebenfalls mit Fischen aus Nord- und Ostsee befasst haben.

Lusher et al. (2013) untersuchten mikroskopisch insgesamt 504 (adulte) Fische aus dem Englischen Kanal auf Mikroplastik. Hierunter waren je 5 Arten pelagischer und demersaler Grund- und Plattfische vertreten. In 36,5% der Fischmägen konnte MP festgestellt werden, wobei 1-15 Partikel pro Fisch gefunden wurden. Bei den durch FT-IR identifizierten 351 Plastikpartikeln dominierte der MP-Größenbereich von 1-2 mm. Über 50% der von Lusher et al (2013) als MP-positiv gewerteten Fischproben sind auf Rayon-Fasern, eine auf Cellulose - basierende, halbsynthetische Kunstfaser, zurückzuführen. Wird Rayon, wie in der vorliegenden Studie, nicht berücksichtigt, halbieren sich die MP-positiven Befunde. Bei einer neueren Untersuchung von allerdings nur drei Heringen aus dem Englischen Kanal wurde kein Rayon nachgewiesen (Collard et al. 2015). Bei den von Lusher et al. (2013) untersuchten Arten waren keine Heringe vertreten.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der Mageninhalte von 1203 adulten Fischen 7 verschiedener Arten der Nordsee (Foekema et al. 2013) wurden in 5 pelagischen Arten bei 2,6% der Individuen MP-Partikel nachgewiesen. Die positiven Funde variierten Breitengrad-abhängig und waren in der südlichen Nordsee (49-54°N) um 1,2% höher (5,4 %) als in der nördlichen (55-60°N). In den überwiegenden Fällen wurde 1 Partikel pro Individuum, selten 2 oder 3 und in einem Fall 4 gezählt. Der Größenbereich lag bei >0.2 bis 4,8 mm. Nur 2% von 566 untersuchten Heringen waren MP positiv.

Rummel (2014) untersuchte in seiner Diplomarbeit die Mägen von 290 adulten pelagischen und demersalen Fischen, 148 aus der Nord- und 142 aus der Ostsee. 54 Partikel (>500 µm) wurden optisch als potentiell MP selektiert und 23 durch FT-IR als Plastikpartikel identifiziert. Von den untersuchten Nordseefischen waren 6,1%, von den Ostseefischen 5,5% MP-positiv.

Abbildung 9: Pelagische Fische und demersale Fische aus Nord- und Ostsee – Relative Anteile an MP-positiven Funden und Anzahl an MP-Arten



© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

Foekema et al. 2013 und Rummel (2014; Rummel et al. 2016) konnten bei ihren Untersuchungen trotz einer hohen untersuchten Individuenzahl nur sehr wenige MP-positive Partikel optisch identifizieren. Dies passt zu dem vorliegenden Befund, bei dem, mit Ausnahme von Fasern, praktisch keine mikroskopisch augenscheinlich als Plastik identifizierbaren Partikel gefunden wurden.

Für den vergleichsweise hohen Anteil an MP-positiven Befunden der vorliegenden Studie lassen sich zwei mögliche Gründe anführen:

1. Bei den o.g. Studien wurden die MP-Partikel vor der qualitativen Analyse immer mikroskopisch aus den Inhalten der Fischmägen aussortiert und nahezu ausschließlich Partikel > 200 µm betrachtet. Bei der vorliegenden Untersuchung wurden demgegenüber die gesamten Mägen mit Inhalt verdaut.

Es fand entsprechend keinerlei optische und entsprechend größenabhängige Vorauswahl statt. Bedingt durch den verwendeten Filtertiegel wurden Partikel $> 10 \mu\text{m}$ erfasst.

2. Durch die Aufarbeitung wurde nicht nur der MP-Anteil erfasst, den die Fische unabhängig von der Nahrung aufgenommen hatten, sondern auch derjenige, der sich in den aufgenommenen Nahrungsorganismen befand. Aus diesen werden potentielle MP-Anteile durch die Verdauungsschritte ebenfalls freigesetzt und analytisch berücksichtigt.

In 45 % der pelagischen Proben (hier überwiegend juvenile Heringe) des Jadebusens (Nordsee) wurde MP nachgewiesen (Abb. 9a). Bei den MP positiven Proben handelte es sich überwiegend um Proben mit nur einer (14%) oder zwei Plastikarten (28%). Demgegenüber enthielten die Proben pelagischer Fische aus der Ostsee häufiger MP (Abb. 9 b, d). Hier unterscheiden sich außerdem die ange-troffenen Relationen innerhalb der beiden untersuchten Arten. Während die relative Häufigkeit von 57 % MP-positiven Funden in den Heringsmägen (Abb. 9b) denen der Heringe aus der Nordsee äh-neln, enthielten 80% der Sprotten MP (Abb. 9d), davon zwei der 5 Poolproben sogar vier unterschied-liche Arten.

In demersalen Fischen aus Nord- und Ostsee ließ sich häufig MP nachweisen (Abb. 9e, f). In den un-tersuchten Fischproben des Jadebusens wurde hierbei öfter MP angetroffen (83%) als in denen der Ostsee (62%). Demgegenüber ließen sich in den Ostseeproben vermehrt mehrere Arten von Plastik in einer Probe (was hier einem Fischmagen entspricht) und in drei Fällen sogar jeweils vier unterschied-liche nachweisen.

Die gezeigten Ergebnisse lassen keinen grundsätzlichen Unterschied zwischen den untersuchten pelagischen und demersalen Arten in Bezug auf die Häufigkeiten der MP-positiven Befunde festzu-stellen. Diese Beobachtung deckt sich mit der von Lusher et al. (2013).

Wird der Jadebusen isoliert betrachtet, zeigt eine deutlich erhöhte S-MP Abundanz in den Plattfisch-arten. Dies lässt sich möglicherweise mit den tidal geprägten Sedimentationsbedingungen im Jade-busen, als abgeschirmte, nicht-ästuarine Bucht, in Zusammenhang bringen. Das Hin- und Herpen-deln des Wasserkörpers, ermöglicht eine verstärkte Sedimentation, so dass der Jadebusen eine po-tentielle Senke für MP darstellt. S-MP könnte sich so im Sediment anreichern. Die dann mögliche, bevorzugte Aufnahme durch demersale Fischarten würde die hohen positiven Befunde erklären.

Die untersuchten Ostseefische lassen demgegenüber keinen klaren Unterschied zwischen pelagi-schen und demersalen Fischarten bezogen auf die Häufigkeit einer MP-Aufnahme erkennen. Eine we-niger ausgeprägte Sedimentation und/oder stärkere Durchmischung des in Wassersäule und Sedi-ment enthaltenen MP an den Beprobungsorten könnte hierfür die Ursache sein. Rummel et al. (2014; Rummel et al. 2016) fanden bei Untersuchungen von Fischen der (offenen) Nordsee Mikroplastik in 8,6% der pelagischen und 4,4% der demersalen Arten. Bei Ostseefischen wurde in 6,1% der pelagi-schen und 4,8%, der demersalen Fische MP nachgewiesen. Ähnliche Häufigkeiten zwischen Nord-und Ostsee, wenn auch zu deutlich geringeren Anteilen, decken sich mit den vorliegenden Ergebnis-sen. Die erhöhte MP-Häufigkeit in pelagischen gegenüber demersalen Fischarten, ähnelt den in der Ostsee gemachten Beobachtungen und ist möglicherweise das Ergebniss eines gut durchmischten Wasserkörpers. MP-positiv waren bei den von Rummel et al. untersuchten pelagischen Arten der Nordsee allerdings nur Makrelen, die in dieser Studie nicht untersucht wurden. Weder in Heringen aus Nord-und Ostsee, noch in Flundern aus der Nordsee konnte MP $> 500 \mu\text{m}$ nachgewiesen werden. Nur Klieschen aus Nord- und Ostsee sowie Flundern der Ostsee enthielten wenige MP-Partikel.

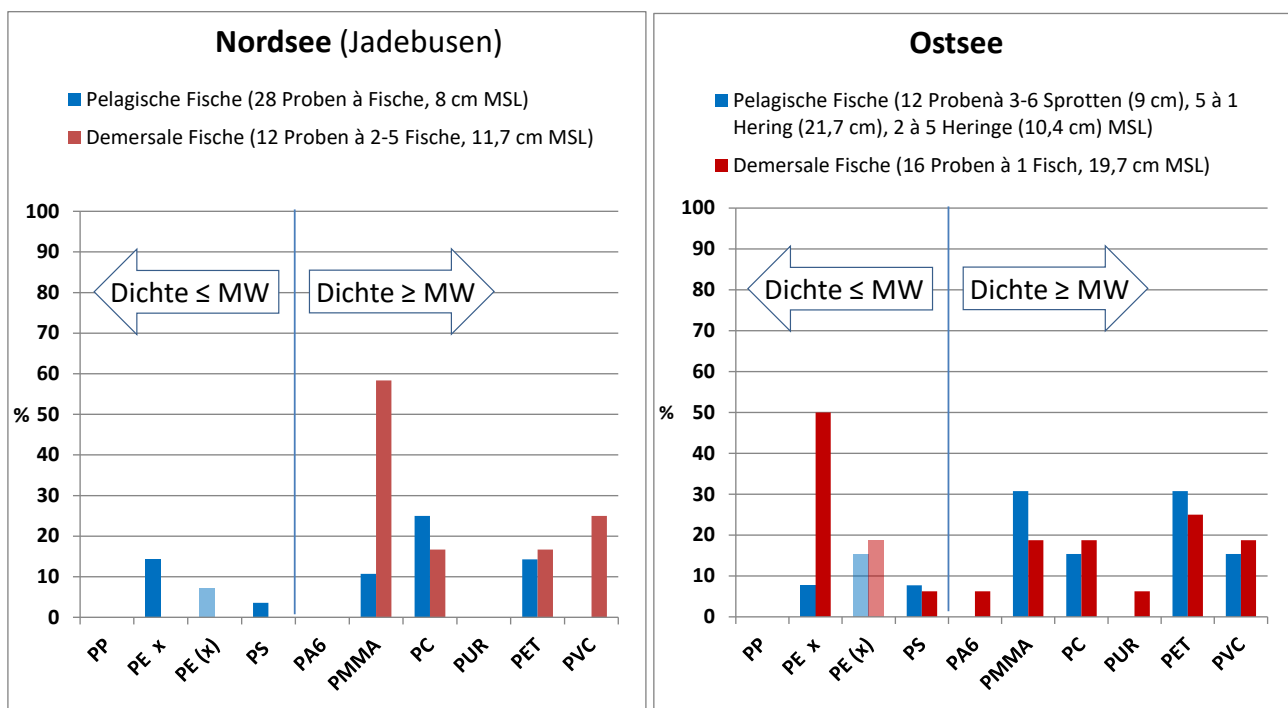
Der bei den pelagischen Arten der Ostsee bestehende Unterschied in der MP Aufnahme könnte in ei-ner unterschiedlichen Präferenz der Sprotten und Heringe für Nahrungsorganismen und dem dort enthaltenen MP begründet liegen. Wird z.B. nur das Fanggebiet B II (nördlich Rügen) verglichen, aus dem alle Sprottenproben entstammen, kann in den dort gefangenen Heringsproben (2 Proben à 5 Fi-sche) kein MP nachgewiesen werden.

Die Gegenüberstellung (Abb. 9) verdeutlicht, dass Fische sowohl aus Nord- als auch der Ostsee unabhängig vom Lebensraum Mikroplastik aufnehmen. Der Vergleich legt im Fall der Fische aus dem Jadebusen den Rückschluss nahe, dass demersale, dem Sediment nahe lebende Fische relativ mehr Plastikarten und häufiger MP aufnehmen als pelagische Fische deren Lebensraum die Wassersäule ist. Dieser Unterschied ist bei den Fischen der Ostsee nicht erkennbar.

4.2.3.2 Relative Häufigkeit einzelner Kunststoffarten

Die relativen Häufigkeiten der neun untersuchten Plastikarten sind in Abbildung 10 jeweils für die pelagischen und demersalen Fischarten aus Nord und Ostsee dargestellt. In den Fischproben ließen sich acht der neun untersuchten Kunststoffarten nachweisen. PP ließ sich in keiner der Proben detektieren.

Abbildung 10: Relative Häufigkeiten der neun Kunststoffarten in allen untersuchten pelagischen und demersalen Fischen der Nord- und Ostsee



MSL = mittlere Standardlänge, MW = Meerwasser (Dichte 1,02-1,03 g/cm³)

© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

PE ist in Abbildung 10 jeweils zweimal aufgeführt, zum einen als Prozentsatz positiver Funde (PE x, intensive Balkenfärbung) zum anderen als mögliche PE Funde (PE (x), schwache Balkenfärbung) (s. Ausführungen Abschnitt 4.2.2.).

In 50% der demersalen und 8 % der pelagischen Fische der Ostsee ließ sich PE feststellen und in jeweils zusätzlich ca. 15% vermuten. Demgegenüber enthielten nur pelagische Fische im Jadebusen PE und zwar zu 14%. Bei weiteren möglichen 7 % lagen matrixbedingte Störsignale vor.

Ein sicherer Nachweis von PS (über das Trimer) erfolgte bei zwei Heringsproben aus dem Jadebusen sowie je einer pelagischen und einer demersalen Probe aus der Ostsee (nördl. Rügen). Die Häufigkeit von PS-Nachweisen lag dementsprechend bei mindestens 5% (s. 4.2.2.).

In den demersalen Fischen des Jadebusens (Nordsee) wurde am häufigsten PMMA als Kunststoff angetroffen (58%). Demgegenüber enthielten die untersuchten Heringe im Jadebusen deutlich seltener

PMMA. In diesem Zusammenhang ist anzumerken, dass die Anwendungsgebiete von Polymethylmethacrylaten u.a. je nach Polymerisierungsgrad divers sind und sich nicht auf eine Anwendungsform beschränken. So sind sowohl Baumaterialien (Plexiglas, Leiterplatten u. v. a.), Beschichtungen, Anstriche und Klebstoffe als auch Acrylfasern aus Polyacryl. Entsprechend ist davon auszugehen, dass das detektierte Py-GCMS-Signal neben Plexiglas (quervernetztes, hartes Polyacryl, PMMA, zur Kalibrierung eingesetzt) und Textilfasern auch z.B. Schiffsanstriche und Farbreste (kürzere und flexiblere Polyacryle) enthält. Es spiegelt somit den aufsummierten anthropogenen Methylmethacrylat-Eintrag wider.

PC und PET wurden bei pelagischen und demersalen Fischen aus dem Jadebusen in ähnlicher Häufigkeit nachgewiesen. PVC wurde nur in demersalen Fischen der Nordsee nachgewiesen.

Die demersalen und pelagischen Arten der Ostsee enthielten ähnlich häufig PC, PVC, PET und PMMA (knapp 20 bis 30%). Mit 30% waren PET und PMMA öfter in den untersuchten pelagischen Arten anzutreffen. Nur in einem Fall waren in einer demersalen Probe (Flunder, Poel) sowohl PUR als auch PA nachweisbar.

Die in dieser Untersuchung nachgewiesenen Kunststoffarten lassen sich nur bedingt mit denen der Literatur vergleichen. Die Identifizierung der Kunststoffe erfolgte in den anderen, sich mit Fischen befassenden, Studien immer nach manueller Sortierung durch FT-IR Techniken.

PA wurde zu 35 % (Lusher et al., 2013) bzw. 17% (4 von 23 identifizierten MP-Partikeln) (Rummel 2014; Rummel et al. 2016) in MP-positiven Fischen identifiziert. Als Quelle dieser Funde, z.T. durch die Erscheinung der Partikel direkt erkennbar, wurden in beiden Untersuchungen u.a. Fischernetzfasern vermutet. In Analysen dieser Pilotstudie waren von den Nordseefischproben keine, in denen der Ostsee lediglich eine einzige PA-positiv, Reste von Fasern aus dem Fischfang waren nicht zu erkennen.

PET und PMMA waren die in dieser Studie am häufig- und durchgängigsten detektierten Kunststoffe. PET wurde zuvor in Fischen der Nordsee (Foekema et al. 2013) und in der Ostsee (Rummel 2014; Rummel et al. 2016) in Einzelfällen nachgewiesen. Bei Rummel decken sich hierbei das Fanggebiet eines positiven PET Fundes in einer Flunder mit dem hier untersuchten Gebiet Baltic II. Auch Collard et al. (2015) wiesen PET neben PP und PE in Fischen nach, ordneten die Plastikfunde allerdings keinen Fischarten zu, so dass unklar bleibt, ob der PET-Fund den drei untersuchten Heringen aus dem Englischen Kanal entstammt. Acryl, das Lusher et al. (2013) bei 0,3% der aus den Fischen isolierten Plastikfunde nachwies, fällt unter das hier als PMMA zusammengefasste Signal. Rummel (2014; Rummel et al. 2016) identifizierte 6 von 23 MP-Partikeln als PE. Sie entstammten Fischen der Nord und Ostsee, allerdings aus Fanggebieten, die nicht mit den hier untersuchten übereinstimmen. Foekema et al. (2013) fanden ebenfalls PE als aufgenommene Plastikart (2 von 6 isolierten Partikeln). Beide Untersuchungen zeigten die Aufnahme von PE durch Fische, die auch hier, vor allem bei Plattfischen der Ostsee, festgestellt wurde. Das in Einzelfällen (Foekema et al. 2013, Collard et al. 2015, Rummel 2014; Rummel et al. 2016) in Fischmägen der Nordsee festgestellte PP wurde hier nicht angetroffen.

Auch andere Autoren unterstreichen den Eintrag an MP in die hier untersuchten oder benachbarten marinen Gebiete. Bei MP-Untersuchungen von Strandsedimenten auf Norderney wurden bei ausgewählten Partikeln die Kunststoffe PP, PE, PET, PVC, PS und PA nachgewiesen (Dekiff et al. 2014; Mintening et al. 2014). Mintening et al. 2014 fanden in Kläranlagenabläufen Nordwestdeutschlands, u.a. mit direktem Ablauf in die Nordsee, verschiedene Arten von MP, auch die hier untersuchten. Die qualitative MP-Zusammensetzung des Kläranlagenablaufs Varel (am Jadebusen gelegen), mit vor allem PE, PVAL, PP und PEST (inkl. PET), zeigte allerdings nur begrenzt Ähnlichkeit mit den Kunststoffarten, die hier in den Jadebusen-Fischen nachgewiesen wurden. Das Kunststoffspektrum, das an

Ständen (Dekiff et al. 2014) und allgemein in Kläranlagenabläufen (Mintening et al. 2014) nachgewiesen wurde, deckt sich zu großen Teilen mit dem hier festgestellten.

In Gewässern und Sedimenten des westlichen Englischen Kanals wurden vor allem Einträge von PA, PE, PP, PUR und Acrylaten festgestellt (Browne et al. 2010; Browne et al. 2011; Cole et al. 2014). In Sedimenten der belgischen Küste wurden PS, PE, PP, Nylon und Polyvinylalkohol identifiziert (Claessens et al. 2013), in Organismen dieser Gewässer LDPE, HDPE und PS nachgewiesen. In Küstengewässern von Westschweden wurden zahlreiche MP Partikel isoliert, jedoch nicht weiter identifiziert (Noren 2007). Stolte et al. (2015) klassifizierten und quantifizierten entlang der Ostseeküste und im Jadebusen Fasern unterschiedlichster Färbung numerisch. Sie vermuteten deren anthropogenen Ursprung und dass es sich mit sehr großer Wahrscheinlichkeit um Kunststoffe handelte. Dies wurde allerdings nicht analytisch überprüft. Insgesamt liegen vergleichsweise wenige Daten vor, die eine Identifizierung von MP-Partikeln in der Ostsee vornehmen. Das Vorkommen von MP steht allerdings außerfrage.

Zusammenfassend spiegelt das in den Fischen der Nord- und Ostsee im Rahmen der vorliegenden Studie angetroffene Spektrum an MP-Arten weitgehend die oben beschriebenen MP-Arten aus Sediment und Wassersäule wider.

Einfluss der Dichte

Große Dichteunterschiede zwischen einzelnen Plastikarten legen die Vermutung nahe, dass sich im Pelagial eher Kunststoffe niedriger Dichte finden, (z.B. PE, PP oder extrudiertes PS) während Kunststoffe hoher Dichte (z.B. PET, PVC) auf den Meeresboden absinken und sowohl in der benthischen Zone als auch im Sediment akkumulieren.

Auffällig ist, dass im Jadebusen Kunststoffarten mit einer Dichte $\leq$ Meerwasser (hier PE und PS) ausschließlich in den pelagischen Proben angetroffen wurden, während die demersalen Arten ausschließlich diejenigen mit einer Dichte über der von Meerwasser enthielten (vergl. Abb. 10). Drei dieser Kunststoffe (PMMA, PC und PET) wurden auch in den Heringen nachgewiesen. PMMA wurde wesentlich häufiger, PET häufiger und PVC als Kunststoff sehr hoher Dichte ausschließlich in den demersalen Arten nachgewiesen (Abb. 10). Diese Ergebnisse lassen sich gut mit einer dichteabhängigen Sortierung der Kunststoffarten zwischen der Wassersäule und dem Sediment erklären. Die deutlich häufigeren MP positiven Befunde in den demersalen verglichen mit den pelagischen Fischen des Jadebusens (Abb. 9e vs. 9a) lassen zudem eine zusätzliche Anreicherung des MP im Sediment vermuten.

Demgegenüber enthielten die verschiedenen Fischarten der Ostsee Kunststoffe unterschiedlicher Dichte ohne einen erkennbaren Bezug zum Habitat. In pelagischen und demersalen Fischarten wurden viele der untersuchten Kunststoffe in ähnlichen Häufigkeiten angetroffen, PE als Kunststoff geringer Dichte wird öfter in demersalen, PMMA und PET öfter in den pelagischen Arten (Abb.10) nachgewiesen. Gemeinsam mit den fehlenden Unterschieden bei den relativen Häufigkeiten von MP-positiven Proben zwischen pelagischen und demersalen Fischarten der Ostsee (vergl. 4.2.3.1) legen die Ergebnisse nahe, dass hier keine dichteabhängige Sortierung in der Wassersäule bzw. Anreicherung der Kunststoffarten im Sediment stattfindet.

Die sehr unterschiedlichen Ergebnisse aus Nord- und Ostsee machen einen einfachen Bezug zwischen der Dichte von Kunststoffen und einer daraus resultierenden potentiellen Anreicherung in der Wassersäule bzw. im Sediment unwahrscheinlich. Anhand der gezeigten Ergebnisse lässt sich dementsprechend kein genereller Bezug zwischen der Häufigkeit angetroffener Plastikarten und dem Lebensraum der untersuchten pelagischen und demersalen Arten feststellen. Zusätzlich oder sogar ausschlaggebend scheint das lokale bzw. regionale Strömungs- und Sedimentationsregime die Verteilung der MP Partikel zu sein. Bei sehr kleinen Teilchen sind Resuspensionsprozesse und Dynamik in Folge von u.a. Oberflächenkräften des Wassers, Temperaturunterschieden und Strömungen möglicherweise von höherer Bedeutung als die Dichte. So fanden Stolte et al. (2015), dass erst bei

Partikeln oberhalb von 1500 µm die Gravitationskraft zum Absinken von Partikeln höherer Dichte als der des umgebenden Wassers führt. Die Oberflächenspannung des Wassers bewirkt, dass kleinere Partikel, z.B. auch dichtere Materialien wie Sand (Dichte 2,5 g/cm³), aufschwimmen.

Da mit hoher Wahrscheinlichkeit auch ein großer Teil des MP über die Nahrungskette in die verschiedenen Fische gelangt, spielen weiterhin die Ernährungsgewohnheiten ihrer Nahrungsorganismen und die MP-Fracht an deren Aufenthaltsorten eine entscheidende Rolle für die qualitative MP-Zusammensetzung.

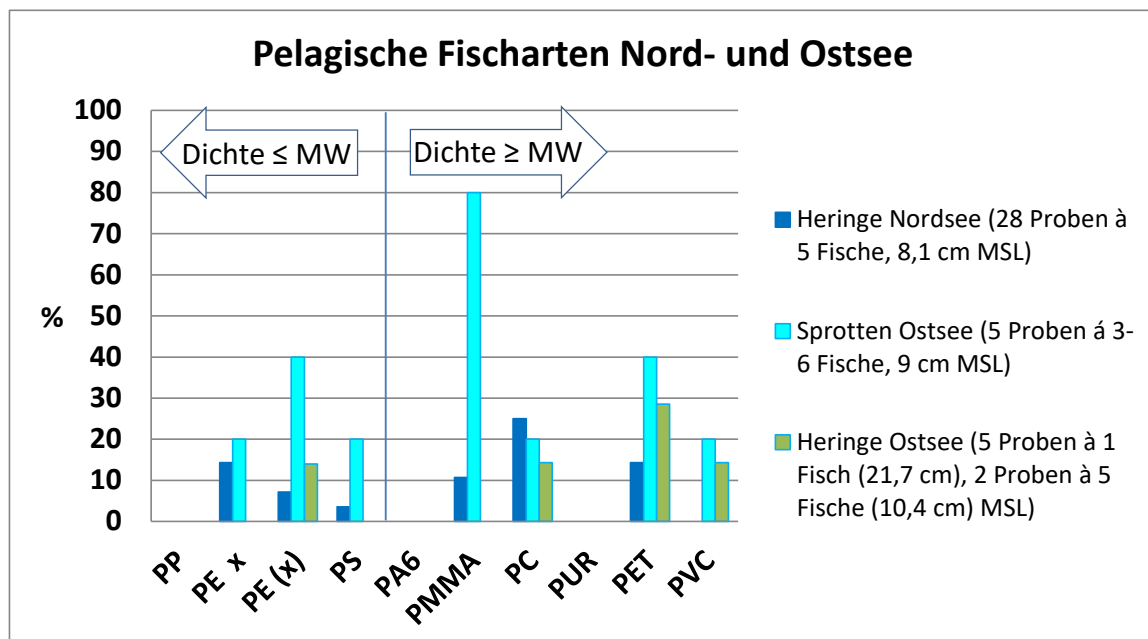
Zusammenfassend sind Häufigkeit und Zusammensetzung von MP-Funden in Fischarten Strömungs- und damit Standort-abhängig und variieren außerdem mit der Art und Qualität ihrer Nahrungsausnahme.

4.2.3.3 Variabilität der MP-Zusammensetzung bei pelagischen Fischen

In Nord- und Ostsee sind PC, PET und PE die in den untersuchten pelagischen Fischen am häufigsten angetroffenen Kunststoffe unabhängig von der jeweiligen Art und dem Standort (Abb. 11). PVC ließ sich nur in den Ostseefischen je einmal bei Sprotten (Baltic II) und Heringen (Wismarbucht) nachweisen. PS wurde sicher in einer Sprottenprobe nachgewiesen. PE wurde in Heringen des Jadebusens, sowie in Sprotten und mit hoher Wahrscheinlichkeit auch in Heringen der Ostsee gefunden (s. 4.2.2). PMMA war in ca. 10 % der Jadebusenproben und in 80% der Sprottenproben enthalten, während sich in den Mägen der adulten Ostsee-Heringe kein PMMA fand.

An pelagischen Fischarten wurden im Jadebusen (Nordsee) nur juvenile Heringe untersucht. Von ihrer Standardlänge sind sie vergleichbar mit den Sprotten der Ostsee. Bei beiden Fischarten wurden wegen der geringen Größe fünf Mägen zu einer Probe gepoolt. Die Sprotten, alle aus dem Seegebiet nördlich von Rügen, enthielten PVC, häufiger PET und PMMA. Dies lässt auf eine möglicherweise erhöhte MP-Fracht der Ostsee bzw. der Nahrungsorganismen im entsprechenden Gebiet schließen. Die zwei von insgesamt 7 adulten Heringsproben (in Abb. 11 nicht differenziert), die aus dem Fanggebiet Baltic II stammten, enthielten im Gegensatz hierzu kein MP.

Abbildung 11: Vergleich der relativen Häufigkeiten einzelner Plastikarten in den untersuchten pelagischen Fischarten von Nord- und Ostsee



MSL = mittlere Standardlänge, MW = Meerwasser (Dichte 1,02-1,03 g/cm³)

© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

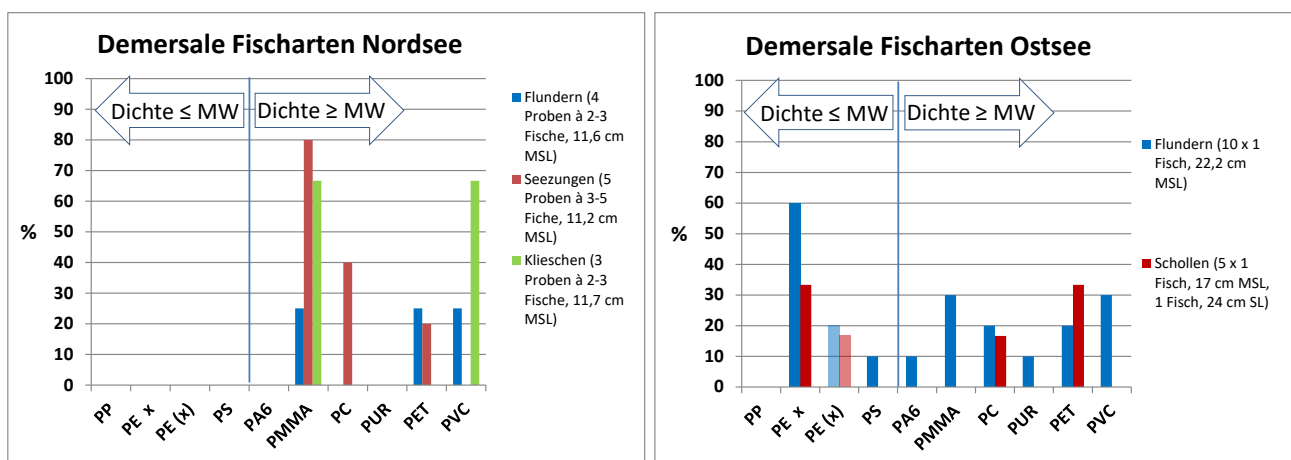
Der konsistente Nachweis von MP hoher Dichte in Fischen der Wassersäule unterstreicht erneut die Vermutung, dass das Sinkverhalten von kleinsten S-MP-Partikeln nur untergeordnet, wenn überhaupt von der Kunststoffart (und deren Dichte) abhängt.

Wie häufig MP in pelagischen Fischen angetroffen wird hängt offensichtlich, wie sich aus den Unterschieden zwischen Heringen und Sprotten der Ostsee andeutet, von den einzelnen Arten und vermutlich von der Art der aufgenommenen Nahrung ab. So fand z.B. auch Rummel (2014; Rummel et al. 2016) kein MP in Heringen der Nordsee, wies aber in Makrelen sowohl der Nord- als auch Ostsee im Vergleich am häufigsten MP nach.

4.2.3.4 Variabilität der MP Zusammensetzung demersaler Fischarten

Mit Ausnahme der Anzahl an Flundern (10 Proben entsprechend 10 Fische) in den Untersuchungsgebieten der Ostsee waren die Probenzahlen für die anderen erfassten Plattfischarten vergleichsweise niedrig, so dass erkennbare Unterschiede mit Vorbehalt zu interpretieren sind. Im Fall der Nordse Plattfische handelte es sich allerdings immer um Proben von zwei und mehr Individuen. Darunter waren auch Klieschen unterschiedlichen Alters vertreten, zum einen 2 Proben juveniler Kleinfische (Proben gepoolt zu Mägen von 14 bzw. 15 Fischen), die das Augenpaar bereits auf der einer Seite trugen und sich damit im demersalen Lebensraum aufhielten, sowie 3 Proben mit je 2-3 größeren Tieren, die allerdings noch keine Speisefischgröße hatten. Inwieweit einzelne demersale Spezies Kunststoffe in unterschiedlichem Ausmaß aufnehmen zeigt der grafische Vergleich in Abb. 12 (ohne Kleinstklieschen).

Abbildung 12: Relative Häufigkeit von einzelnen Kunststoffarten in verschiedenen demersalen Fischarten aus Nord- und Ostsee



MSL = mittlere Standardlänge, MW = Meerwasser (Dichte 1,02-1,03 g/cm³)

© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

Wie bereits angesprochen enthalten die demersalen Fische des Jadebusens ausschließlich Kunststoffarten mit einer Dichte oberhalb von Meerwasser. Unabhängig von Art und Alter war PET in den Mägen aller demersale Spezies des Jadebusens nachweisbar, bei den Klieschen allerdings nur in einer Poolprobe aus 14 Kleinfischen (4,9 cm MSL), die nicht in Abb. 12 enthalten ist. Zusammen mit den positiven PET-Nachweisen in den Heringen des Jadebusens unterstreicht dieser Befund, dass PET zu den im zentralen Jadebusen prominenten Plastikarten gehört. PMMA wurde in allen Plattfischarten gefunden, während PVC in Klieschen und Flundern, nicht jedoch in Seezungen detektiert wurde. Diese enthielten wiederum als einzige Plattfisch-Spezies im Jadebusen PC.

Auf Basis der vorliegenden Daten lässt sich kein klarer qualitativer Unterschied zwischen den von

den einzelnen Plattfischen aufgenommenen MP-Arten erkennen. Auch das Fischalter (Klieschen) scheint keine Rolle zu spielen. Dies folgerten auch Foekema et al. (2013), die keinen Zusammenhang zwischen Größe und Gewicht auf der einen und positiven Plastikfunden auf der anderen Seite feststellten.

In der Zusammenschau mit der in den Nordsee Heringen gefundenen Verteilung ergeben die Daten aller vier Fischarten beider Lebensräume ein konsistentes Bild von der MP-Zusammensetzung im Jadebusen.

Bei den Plattfischen der Ostsee fällt der Nachweis von acht der neun untersuchten Kunststoffarten in den Flundern auf. Hierbei wurde PS nur in einer Flunder aus der zentralen Ostsee, PA und PUR in einer Flunder aus der Wismarbucht detektiert. In Schollen wurden nur drei der auch in den Flundern detektierten Kunststoffarten gefunden. Ob dies auf unterschiedliche Nahrungsaufnahme zwischen den beiden Spezies oder auf die geringere untersuchte Probenzahl bei den Schollen zurückzuführen ist, kann an dieser Stelle nicht gesagt werden. Offensichtlich liegt eine höhere MP-Vielfalt in der Ostsee vor, die sich besonders in den Flundern widerspiegelt.

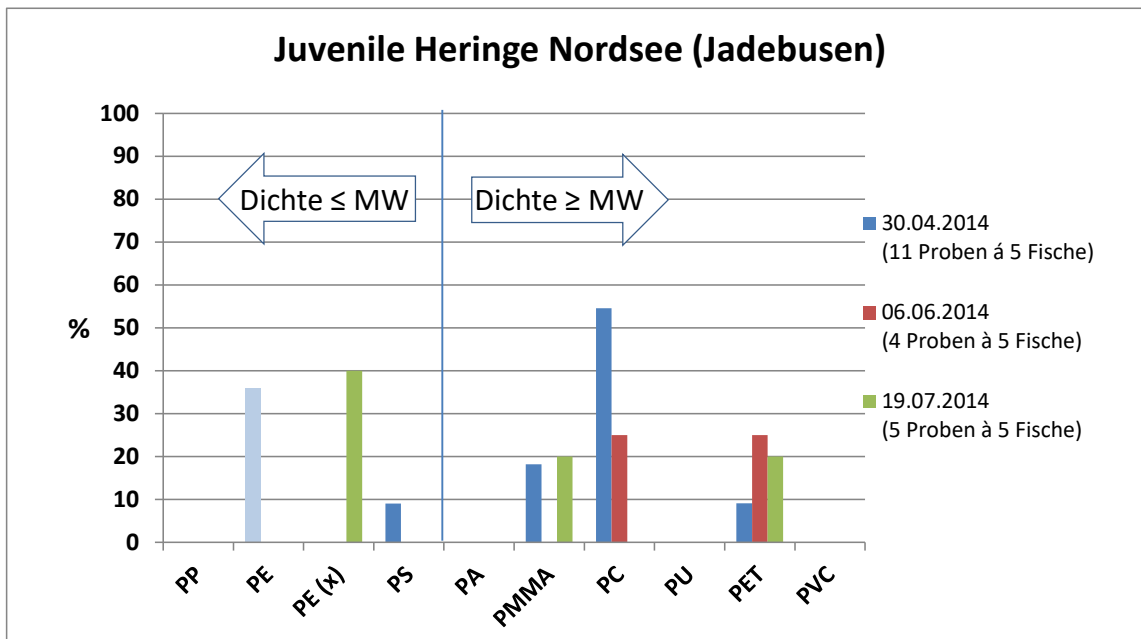
Wenige Daten zur vergleichenden Belastung von demersalen Fischen mit MP enthalten die bereits in den vorangegangenen Abschnitten diskutierten Studien. Bei den Untersuchungen von Lusher et al. (2013) enthielten eine Seezungenart aus dem Nordostatlantik (*Microchirus varigates*) und eine Zwergzungenart (*Buglossissum luteum*) am wenigsten MP (22 bzw. 28%) relativ zu den anderen untersuchten pelagischen und demersalen Arten. Hierbei wurde allerdings nicht auf verschiedene Plastikarten eingegangen. Rummel (2014; Rummel et al. 2016) konnte von 6,1% MP positiven Nordseefischen nur in Makrelen (5 von 38) und Klieschen (4 von 74) Plastik nachweisen. 2 Klieschen des küsten-nahesten Probenahmeorts, südwestlich von Helgoland, enthielten einen PUR- und einen nicht identifizierten Partikel. Weder in Heringen noch Flundern wurde MP nachgewiesen. Die Ostseefische enthielten demgegenüber zu 5,5% MP. Dies verteilte sich auf die Arten Makrelen (9 von 51), Dorsch (1 von 81), Flundern (2 von 36) und Klieschen (4 von 89). Auch diese Untersuchungen lassen keine auffällige MP Anreicherung innerhalb einer Plattfischart erkennen.

Zur Beobachtung von Langzeittrends im Rahmen eines Monitorings mariner Lebensräume wird bereits die Kliesche, die als standorttreuer Plattfisch gilt, als Indikatororganismus genutzt. Die im Rahmen dieser Studie beobachtete MP-Belastung der Kliesche kann als repräsentativ für die demersalen Fische, zumindest im Jadebusen, gesehen werden. Somit käme sie als Indikatorfischart für vergleichende Untersuchungen zu vorhandenen Kunststoffarten infrage.

4.2.3.5 Jahreszeitliche Variabilität (Nordsee)

Heringe aus dem Jadebusen standen aus 5 Fängen von Ende April bis September 2014 zur Verfügung. In den Fängen August und September (jeweils 5 Proben mit je 5 Fischen) konnte kein MP nachgewiesen werden, sie wurden daher nicht in Abb. 13 berücksichtigt. Die positiven MP Funde aus den 3 verbleibenden Fängen sind in Abb. 13 nach relativen Häufigkeiten der Kunststoffarten gegenübergestellt. Der Vergleich lässt keine Unterschiede in den Kunststoffhäufigkeiten und -verteilungen erkennen, die auf eine jahreszeitliche Variabilität hinweisen. Die Fänge von Ende April und Juli 2014 hatten mit Ausnahme von PC und PS das gleiche Spektrum an Kunststoffarten, während im Juni nur PC und PET in den Heringen nachgewiesen wurden. PET ist die einzige Kunststoffart, die in allen drei Fängen gefunden wurde.

Abbildung 13: Kunststoffarten und deren relative Häufigkeit in juvenilen Heringen aus dem Jadebusen (Nordsee) unterschiedlicher Fangzeitpunkte



MSL = mittlere Standardlänge, MW = Meerwasser (Dichte 1,02-1,03 g/cm³)

© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

Für die durchgängig negativen MP Befunde (August und September 2014) können die nicht genau bekannte Entnahmezeitpunkte aus den Netzen verantwortlich sein. Möglicherweise hat zuvor eine vollständige Darmentleerung ohne erneute Nahrungsaufnahme stattgefunden. Die Füllungszustände der Fischmägen sind von entscheidender Bedeutung. Sie waren, im Gegensatz zu den untersuchten adulten Fischen, bei vielen juvenilen Heringen während der Entnahme aufgrund der geringen Größen der Mägen nicht oder nur schwer zu erkennen. Die Schlussfolgerung, dass im Spätsommer kein MP durch die untersuchten Heringe aufgenommen wurde, erscheint daher nicht angebracht. Vor allem eine höhere Probenanzahl, wie sie von dem April-Fang untersucht wurde, kann diese Problematik verringern, aber vermutlich nicht ausschließen.

Bei systematischen Untersuchungen der Müllzusammensetzung in der Nordsee wurden u.a. die Müllfunde an Tonne 8 im Jadebusen erfasst (Brandt and Krumwiede 2014). Im Jahreszeitlichen Trend wurden besonders im Frühjahr 2013 erhöhte Müllmengen, dominiert von Plastik und Styropor (dort separat angesprochen) festgestellt. Die Kunststoffzusammensetzung wurde hinsichtlich verteilter Polymertypen nicht weiter differenziert. Auch in den Fischen aus dem Fang von Ende April 2014 wurde das im Vergleich vielfältigste Spektrum an Kunststoffen gefunden. Beides macht das Frühjahr zu einem geeigneten Zeitraum für vergleichende Langzeitstudien.

4.2.4 Quantitative MP Untersuchungen

In den bisherigen Abbildungen wurden die Ergebnisse zunächst qualitativ zusammenfassend dargestellt. Es wurde bereits angesprochen (s. 4.2.2), dass die in den untersuchten Proben festgestellten Spuren an Einzelpolymeren vielfach unterhalb der mit den bisher durchgeführten Kalibrierungen quantifizierbaren Signalintensitäten liegen (vergl. Tab. 5).

Um hier trotzdem eine Aussage über die Größenordnung der durchschnittlichen Polymergehalte in den positiven Proben zu bekommen, wurden die Flächen aller Positivfunde der Proben einer Lokation/Fischart aufsummiert, die Gesamtkonzentration über die jeweilige Kalibrierfunktion bestimmt

und diese durch die Anzahl der Positivproben geteilt. Der erhaltene Durchschnittswert bezieht sich auf eine Durchschnittsprobe, diese repräsentiert im Fall der Plattfische aus dem Jadebusen die Mägen von 2-5 Fischen und aus der Ostsee den Magen eines Fisches. Im Fall der pelagischen Fische der Nordsee werden die Durchschnittsgehalte von 5 und der Ostsee von ein (Heringe) bzw. 5 (Sprotten) Fischmägen wiedergegeben. Die erhaltenen Daten fasst Tabelle 10 zusammen. Sie stellen semi-quantitative Werte dar und dienen der ungefähren Einschätzung einer Größenordnung.

Im Fall von PE und PS, den Gewichts-quantitativ häufigsten Kunststoffen, kam es in diesen niedrigen Bereichen in einigen Fällen aufgrund unvollständiger Matrixabtrennung zu Störsignalen, hier wurde nicht quantifiziert. Im Fall von PE lag der niedrigste Kalibrierpunkt bei 20 µg. In dieser Größenordnung lagen die PE Gehalt zweier Flundern aus der Wismarbucht (Ostsee). Zwei Heringsproben aus dem Jadebusen enthielten etwa 15 µg, eine Sprottenprobe der Ostsee weniger als 10 µg PE. Bei diesen Proben wurden jeweils 5 Fischmägen gepoolt. Alle anderen PE-Gehalte lagen deutlich niedriger. PS wurde nur in den Proben quantifiziert, in denen ein weiteres Indikatorsignal vorlag. Die vier quantifizierten PS-positiven Proben (2 Heringsproben, Nordsee, eine Poolprobe aus 5 Sprotten bzw. eine Flunder, Ostsee) enthielten je 3-4 µg PS. Erst ab dieser Menge ist auch das zweite, ungestörte Indikatorsignal detektierbar. Die Gehalte aller anderen potentiell PS-positiven Proben lagen darunter.

Tabelle 10: Ungefähre Durchschnittsgehalte an Einzelkunststoffen in den untersuchten pelagischen und demersalen Fischproben mit positivem MP Nachweis Tabellenbeschriftung.

Kunststoffart	Nordsee pelagisch µg/Probe	demersal µg/Probe	Ostsee pelagisch µg/Probe	demersal µg/Probe
PE	≤ 15	?	<< 10	≤ 20
PS	<4	?	< 4	< 4
PC	<<1	<<1	<<1	<< 1
PP	nn	nn	nn	nn
PVC	nn	ca. 2	ca. 6	ca. 3
PET	0,9	<<1	0,9	0,8
PMMA	ca. 1	ca. 0,3	ca. 0,6	ca. 0,7
PUR	nn	nn	nn	5
PA	nn	nn	nn	<< 1

© Scholz-Böttcher, ICBM Uni-Oldenburg

Die Gehalte an PVC bewegten sich in den Fällen, wo sie detektiert werden konnten, bei ca. 6 µg und darunter. PUR wurde nur in nur einem Fisch mit ca. 5 µg nachgewiesen. Die quantifizierten Gehalte aller anderen nachgewiesenen Polymere lagen unterhalb von 1 µg/Probe.

Für eine zuverlässige Quantifizierung in diesem Spurenbereich muss die Kalibrierung der Py-GCMS Methode weiter im unteren Mikro- und Nanogramm-Bereich optimiert werden. Alternativ besteht die Möglichkeit, eine noch größere Anzahl an Proben zu poolen. Letzteres hätte allerdings zur Konsequenz, dass auch die Interferenzen stark zunehmen würden. Die Anforderungen an den ebenfalls noch weiter zu optimierenden Verdau zum Abbau der Begleitmatrix steigen hierbei ebenfalls.

In der Summe liegen die durchschnittlichen Gehalte an MP auf Basis der in Tabelle 9 gemachten, quantitativen Abschätzungen in den Fischen der Ostsee unterhalb von 20 µg in denen der Nordsee vermutlich unterhalb von 15 µg/Probe.

Ein sinnvoller Vergleich zwischen der mikroskopischen und Py-GCMS Analyse erwies sich bedingt durch das Fehlen von L-MP Partikeln und der insgesamt nur geringen S-MP Gehalte als nicht durchführbar.

4.3 Einschätzung der Belastungssituation von Fischen in Nordsee (Jadebusen) und Ostsee

In den untersuchten Fischen unterschiedlicher Größe aus Nord- und Ostsee ließen sich bei den pelagischen in 45% und darüber und bei den demersalen in 69% und darüber S-MP nachweisen und nach Kunststoffart differenzieren. Demgegenüber fehlten als solche erkennbare Kunststoffpartikel (L-MP, > 1mm) vollständig. Das Fehlen größerer Partikel in den Fischmägen lässt sich als Hinweis darauf werten, dass die Aufnahme von MP durch die Fische weniger als angenommen durch Verwechslung mit Nahrung aus der Wassersäule direkt erfolgt. Wahrscheinlicher ist eine indirekte Ingestion über die Nahrungsorganismen, die ihrerseits die sehr viel kleinere S-MP-Fraktion (< 1mm) unselektiv als Nahrung aufnehmen. Zweifelsfrei ließ sich MP als Bestandteil der marinen Nahrungskette nachweisen.

Die Häufigkeit von positiven Plastiknachweisen und die z.T. angetroffene Diversität von Kunststoffarten legen nahe, dass die Fische in der Ostsee tendenziell einer höheren MP-Fracht und Vielfalt ausgesetzt sind. Die quantitativen Abschätzungen unterstützen diese Beobachtung.

Inwieweit Fische mit derart geringen Kunststoffgehalten tatsächlich als belastet betrachtet werden können, erscheint gegenwärtig fraglich und muss durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Es ist davon auszugehen, dass die Fische das aufgenommene S-MP auch wieder ausscheiden. Dennoch ist diesbezüglich anzumerken, dass die Bioverfügbarkeit von S-MP mit sinkender Partikelgröße zunimmt und damit einen sehr viel größeren Effekt auf die Organismen haben kann (z.B. auch Zellpassage) als größere Bruchstücke, was die Ergebnisse dieser Studie in einem anderen Licht erscheinen lässt. Hier besteht weiterer Untersuchungsbedarf.

4.4 Einschätzung der menschlichen Belastung durch den Verzehr von Fischen

Im Rahmen dieser Studie wurden Fischmägen bzw. Magen-Darmtrakte auf das Vorhandensein von MP untersucht. Dabei wurden nur geringe Mengen von MP nachgewiesen. Eine Aufnahme dieser Anteile durch den Menschen käme nur zustande, wenn auch der Magen der Fische mitverzehrt würde. Dies wäre z.B. beim vollständigen Verzehr von Sprotten der Fall. Die abgeschätzte Summe aus allen in Sprotten detektierten MP-Arten (PE, PS, PC, PVC, PET, PMMA) liegt bei Sprotten unter 10 µg in 5 Fischen. Nach dem momentanen Wissensstand ist davon auszugehen, dass Menschen, ebenso wie Fische, das aufgenommene MP durch den Verdauungstrakt wieder ausscheiden. Inwieweit eine Aufnahme von S-MP-Partikeln z.B. durch den Darm erfolgen kann und mit welchen Auswirkungen diese Aufnahme (Translokation) in das Lymphsystem, die Blutbahn bzw. Zellen verbunden ist, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

10 µg MP entsprechen bei verschiedenen Plastikarten beispielsweise ca. 10 PE-Sphären mit einem Durchmesser von 100 µm, ca. 10 PET-Fasern (2 mm x <40 µm), ca. 1 PC-Partikel mit einem Durchmesser von 200 µm oder ca. 1 PS-Partikel mit einem Durchmesser von 200 µm. Diese Angaben sollen der ungefähren Vorstellung einer Größenordnung dienen, um einen ungefähren Vergleich von gewichtsquantitativen mit numerisch quantitativen Daten zu ermöglichen.

Vermutlich liegt die tägliche orale und inhalative Aufnahme von MP durch die Luft (z.B. über Hausstaub) oder durch den aktiven Gebrauch von Kunststoffgegenständen wie z.B. Kunststoffschüsseln,

Mikro- und Kunstfasergeweben (Putztücher, Handtücher, Kleidung) und den hierbei verursachten Abrieb in einer ähnlichen wenn nicht sogar größeren Dimension.

4.5 Kunststoffadditive

Die Mehrheit von Kunststoffen enthält einen je nach Art variierenden Anteil an Kunststoffadditiven. Diese werden in unterschiedlichen Zeitskalen und mit abnehmender Partikelgröße aus den jeweiligen Polymeren herausgelöst und gelangen in die Umwelt, somit auch ins Meer. Aufgrund von Indikatorsignalen konnten in den untersuchten Proben immer wieder z.B. Phthalate nachgewiesen werden. Da in dieser Studie nur kleine MP-Mengen gemessen wurden, ist keine Quantifizierung von Weichmachern erfolgt.

Meerwasser enthält in nachweisbaren Mengen Weichmacher (z.B. Phthalate) und ihren Metabolite (z.B. Blair et al. 2009), die ursächlich auf langjährige Leaching-Prozesse vor allem aus Kunststoffeinträgen aber auch u.a. durch ihre Verwendung in verschiedenartigen Anstrichen zurückzuführen sind. Es liegt entsprechend zweifelsfrei ein kausaler Zusammenhang zwischen den in vielen Organismen und inzwischen ubiquitär in der Umwelt nachweisbaren Additiven und den eingetragenen Kunststoffen vor.

Die Ableitung eines direkten und alleinigen Quellenbezugs zwischen den in den Fischen dieser Pilotstudie in sehr geringen Mengen angetroffenen Kunststoffen und den möglicherweise im Fischgewebe angetroffenen Additiven bzw. Additivmustern herzustellen, erscheint demgegenüber unrealistisch. So enthalten die MP Partikel abhängig von ihrer Größe, d.h. ihrer damit verbundenen Oberfläche, sowie ihrer Aufenthaltszeit im Meerwasser unterschiedliche Restmengen bzw. keine mehr nachweisbaren Additive. Das Signal verschiedenster Kunststoffadditive, die sich über lange Zeiträume in den Lebensräumen und innerhalb Nahrungsketten der Fische angereichert haben, wird demgegenüber das Signal aus einer direkten Kunststoffaufnahme in jedem Fall überprägen.

4.6 Einschätzung der Eignung von Fischen als Indikatororganismen im Rahmen des Monitoring gemäß Deskriptor 10 der MSRL

Die im Rahmen dieser Studie untersuchten Fischarten eignen sich als vergleichsweise leicht verfügbare Indikatorarten grundsätzlich zur Erfassung der Belastung ihres Lebensraums mit Mikroplastik.

Ob sich z.B. die Häufigkeit MP-positiver Fische als Indikator für die qualitative und quantitative MP-Belastung des direkten Habitats (Wassersäule bzw. Sediment) der Fische nutzen lässt, kann erst beantwortet werden, wenn entsprechende Mikroplastik-Daten für die Wassersäule und das Sediment der jeweiligen Standorte zur Verfügung stehen und ein Vergleich mit den Ergebnissen der Fischuntersuchungen möglich ist. Dies wäre nach den Ergebnissen dieser Pilotstudie dann vor allem von lokaler Aussagekraft für einen konkreten Standort und bei Langzeitstudien ein Trendindikator für dessen MP-Belastung.

Da u.a. leichter Kunststoff (PE) in demersalen und Kunststoffe von vergleichsweise hoher Dichte (PET und PVC) in den Mägen pelagischer Arten gefunden wurden, zeichnet sich nicht ab, dass die qualitative Verteilung des S-MP im marinen Umfeld nur auf Basis seiner Dichte stattfindet. Bei Partikeln der Größe von S-MP ist mit großer Wahrscheinlichkeit die Dichte dem Einfluss anderer physikalischer Effekte (z.B. Oberflächenspannung, Strömung, Konvektion) untergeordnet. Die Ergebnisse dieser Pilotstudie zeigen, sowohl in pelagischen wie auch demersalen Arten, ein vergleichbares, nahezu deckungsgleiches Spektrum an Kunststoffarten innerhalb der jeweils untersuchten Meeresgebiete und ergeben ein konsistentes Bild der dort vorliegenden S-MP-Zusammensetzung. Durch die Beprobung einer repräsentativen Anzahl von pelagischen und demersalen Fischarten in regelmäßiger Frequenz (z.B. Frühjahr und Herbst) sowie die Bestimmung und Quantifizierung der ingestierten MP-Arten lässt

sich die MP-Belastung von Biota im jeweiligen Lebensraum im Fanggebiet abschätzen. Welche Meeresgebiete dabei als repräsentativ gelten können, sollte in weiteren Studien abgeklärt werden.

Als Fischarten für ein MP-Monitoring kommen diejenigen in Frage, bei denen mit einer relativ hohen Häufigkeit eine Aufnahme von S-MP in der vorliegenden Pilotstudie und in anderen Studien festgestellt wurde. Hinsichtlich pelagischer Arten wären z.B. Sprotten und Makrelen, hinsichtlich demersaler Arten z.B. Klieschen und Flundern geeignet.

Für die Nutzung von Fischen als Indikatororganismen ist die Berücksichtigung bzw. die Kenntnis ihrer Magen- und Darmfüllzustände zwingend. Es sollten also möglichst solche Indikatorfischarten und -größen gewählt werden, bei denen Beides klar ersichtlich ist. Juvenile bzw. Kleinfische besitzen gegenüber größeren Exemplaren einen größeren Unsicherheitsfaktor, hier müsste entsprechend auf eine höhere Individuenzahl zurückgegriffen werden.

5 Quellenverzeichnis

- Antić V V., Antić MP, Kronimus A, et al (2011) Quantitative determination of poly(vinylpyrrolidone) by continuous-flow off-line pyrolysis-GC/MS. *J Anal Appl Pyrolysis* 90:93–99. doi: 10.1016/j.jaap.2010.10.011
- Avio CG, Gorbi S, Milan M, et al (2015) Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environ Pollut* 198:211–222. doi: 10.1016/j.envpol.2014.12.021
- Blair JD, Ikonomou MG, Kelly BC, et al (2009) Ultra-Trace Determination of Phthalate Ester Metabolites in Seawater, Sediments, and Biota from an Urbanized Marine Inlet by LC/ESI-MS/MS. *Environ Sci Technol* 43:6262–6268. doi: 10.1021/es9013135
- Brandt A-K, Krumwiede A (2014) Mülleintrag in die Nordsee über die Ästuare von Elbe , Weser und Ems und Müllvorkommen im Jadebusen im Jahr 2013 anhand von Hamenfängen.
- Brooks MM (2012) Identifying Fibres and Fabrics -Workshop.
- Browne MA (2015) Sources and Pathways of Microplastics to habitats. In: Bergmann M, Gutow L, Klages M (eds) *Marine Anthropogenic Litter*. Springer Berlin / Heidelberg, pp 229–244
- Browne M a, Galloway TS, Thompson RC (2010) Spatial patterns of plastic debris along Estuarine shorelines. *Environ Sci Technol* 44:3404–9. doi: 10.1021/es903784e
- Browne MA, Crump P, Niven SJ, et al (2011) Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. *Environ Sci Technol* 45:9175–9. doi: 10.1021/es201811s
- Carpenter EJ, Smith, K. L (1972) Plastics on the Sargasso Sea Surface. *Science* (80-.). 175:1240–1241.
- CCi Textile Lab (2010) The Identificatio of natural Fibres. *CCI Notes* 13 / 18 1–4.
- Claessens M, Van Cauwenberghe L, Vandegehuchte MB, Janssen CR (2013) New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Mar Pollut Bull* 70:227–33. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.03.009
- Cole M, Webb H, Lindeque PK, et al (2014) Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Sci Rep* 4:4528. doi: 10.1038/srep04528
- Corcoran PL, Biesinger MC, Grifi M (2009) Plastics and beaches: A degrading relationship. *Mar Pollut Bull* 58:80–84. doi: 10.1016/j.marpolbul.2008.08.022
- Cózar A, Echevarría F, González-Gordillo JI, et al (2014a) Plastic debris in the open ocean. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:10239–10244. doi: 10.1073/pnas.1314705111
- Cózar A, Echevarría F, González-Gordillo JI, et al (2014b) Plastic debris in the open ocean. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:10239–10244. doi: 10.1073/pnas.1314705111
- de Leeuw JW, de Leer EWB, Sinninghe Damsté JS, Schuyl PJW (1986) Screening of anthropogenic compounds in polluted sediments and soils by flash evaporation/pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry of Soils. *Anal Chem* 58:1852–1857.
- Dekiff JH, Remy D, Klasmeier J, Fries E (2014) Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney. *Environ Pollut* 186:248–256. doi: 10.1016/j.envpol.2013.11.019
- Eriksen M, Lebreton LCM, Carson HS, et al (2014) Plastic Pollution in the World’s Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS One* 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0111913

- Fabbri D (2001) Use of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to study environmental pollution caused by synthetic polymers: a case study: the Ravenna Lagoon. *J Anal Appl Pyrolysis* 58–59:361–370. doi: 10.1016/s0165-2370(00)00170-4
- Fabbri D, Tartari D, Trombini C (2000) Analysis of poly (vinyl chloride) and other polymers in sediments and suspended matter of a coastal lagoon by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 413:3–11.
- Fabbri D, Trombini C, Vassura I (1998) Analysis of Polystyrene in Polluted Sediments by. 36:600–604.
- Fischer M, Scholz-Böttcher, B (2017) Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology* 51: 5052-5060. doi: 10.1021/acs.est.6b06362
- Foekema EM, De Gruijter C, Mergia MT, et al (2013) Plastic in north sea fish. *Environ Sci Technol* 47:8818–24. doi: 10.1021/es400931b
- Fries E, Dekiff JH, Willmeyer J, et al (2013) Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ Sci Process Impacts* 15:1949–56. doi: 10.1039/c3em00214d
- Galgani F, Hanke G, Werner S, et al (2013) Guidance on Monitoring of Marine Litter in European Seas. Publication office of the European Union
- Goodway M (1987) FIBER IDENTIFICATION IN PRACTIC. *J Am Institute Conserv* 1:27–44.
- Hidalgo-Ruz V, Gutow L, Thompson RC, Thiel M (2012) Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. *Environ Sci Technol* 46:3060–3075. doi: 10.1021/es2031505
- Isobe A, Kubo K, Tamura Y, et al (2014) Selective transport of microplastics and mesoplastics by drifting in coastal waters. *Mar Pollut Bull* 89:324–330. doi: 10.1016/j.marpolbul.2014.09.041
- Jambeck JR, Wilcox C, Siegler TR, et al (2015) Saving the ocean from plastic waste. *McKinsey Q* 347:5–7.
- Kartar S, Abou-Seedo F, Sainsbury M (1973) Polysterene waste in the Severn Estuary. *Mar Pollut Bull* 7:52.
- Kartar S, Abou-Seedo F, Sainsbury M (1976) Polystyrene spherules in the Severn Estuary—a progress report. *Mar Pollut Bull* 7:52.
- Kronimus A, Schwarzbauer J (2007) Analysis of structurally modified polyacrylamides by on-line thermochemolysis-GC-MS. *J Anal Appl Pyrolysis* 80:471–476. doi: 10.1016/j.jaap.2007.06.004
- Law KL, Thompson RC (2014) Microplastics in the seas. *Science* (80-) 345:144–145. doi: 10.1126/science.1254065
- Lenz R, Enders K, Stedmon CA, et al (2015) A critical assessment of visual identification of marine microplastic using Raman spectroscopy for analysis improvement. *Mar Pollut Bull* 100:82–91. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.09.026
- Löder MGJ, Gerdt G (2015) Methodology used for detection and identification of microplastics - A critical appraisal. In: Bergmann M, Gutow L, Klages M (eds) *Marine Anthropogenic Litter*. Springer, pp 201–227
- Lusher a. L, McHugh M, Thompson RC (2013) Occurrence of microplastics in the gastrointestinal

- tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Mar Pollut Bull* 67:94–9. doi: 10.1016/j.marpolbul.2012.11.028
- Mato Y, Isobe T, Takada H, et al (2001) Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. *Environ Sci Technol* 35:318–24.
- Mazurais D, Ernande B, Quazuguel P, et al (2015) Evaluation of the impact of polyethylene microbeads ingestion in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Mar Environ Res* 112:78–85. doi: 10.1016/j.marenvres.2015.09.009
- Mintening S, Int-Veen I, Löder M, Gerdts G (2014) Mikroplastik in ausgewählten Kläranlagen des Oldenburgisch- Ostfriesischen (OOWV) in Niedersachsen - Probenanalyse mittels Mikro-FTIR Spektroskopie. Abschlussbericht an den Oldenburgisch-Ostfriesischen Wasserverband (OOWV) und den Niedersächsischen Landes.
- Neves D, Sobral P, Pereira T (2015) Marine litter in bottom trawls off the Portuguese coast. *Mar Pollut Bull*. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.07.044
- Noren F (2007) Small plastic particles in Coastal Swedish waters . KIMO Sweden.
- Nuelle M-T, Dekiff JH, Remy D, Fries E (2014) A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environ Pollut* 184:161–9. doi: 10.1016/j.envpol.2013.07.027
- PlasticsEurope (2014) Plastics - the Facts 2014 An analysis of European plastics production , demand and waste data. 1–33.
- PlasticsEurope (2015) Plastics – the Facts 2014/2015 An analysis of European plastics production, demand and waste data.
- Pouwels AD, Eijkel GB, Boon JJ (1989) Curie-point pyrolysis - Capillary gas chromatography-high-resolution mass spectrometry of microcrystalline cellulose. *J Anal Appl Pyrolysis* 14:237–80.
- Reisser J, Slat B, Noble K, et al (2015) The vertical distribution of buoyant plastics at sea: an observational study in the North Atlantic Gyre. *Biogeosciences* 12:1249–1256. doi: 10.5194/bg-12-1249-2015
- Rocha-Santos T, Duarte AC (2014) A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. *TrAC Trends Anal Chem*. doi: 10.1016/j.trac.2014.10.011
- Rochman CM (2015) The Complex Mixture, Fate and Toxicity of Chemicals Associated with Plastic Debris in the Marine Environment. In: Bergmann M, Gutow L, Klages M (eds) *Marine Anthropogenic Litter*. Springer International Publishing, Cham, pp 117–140
- Rochman CM, Hoh E, Hentschel BT, Kaye S (2013) Long-term field measurement of sorption of organic contaminants to five types of plastic pellets: implications for plastic marine debris. *Environ Sci Technol* 47:1646–54. doi: 10.1021/es303700s
- Rochman CM, Tahir A, Williams SL, et al (2015) Anthropogenic debris in seafood: Plastic debris and fibers from textiles in fish and bivalves sold for human consumption. *Sci Rep* 5:14340. doi: 10.1038/srep14340
- Romeo T, Pietro B, Pedà C, et al (2015) First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Mar Pollut Bull*. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.04.048
- Rummel C (2014) Occurrence and potential effects of plastic ingestion by pelagic and demersal fish from the North Sea and Baltic Sea by. Johannes Gutenberg-Universität Mainz
- Rummel CD, Löder MGJ, Fricke NF, et al (2016) Plastic ingestion by pelagic and demersal fish from the

- North Sea and Baltic Sea. Mar Pollut Bull 102:134–141. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.11.043
- Song YK, Hong SH, Jang M, et al (2015) A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. Mar Pollut Bull 1–8. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.01.015
- Stolte A, Forster S, Gerdt G, Schubert H (2015) Microplastic concentrations in beach sediments along the German Baltic coast. Mar Pollut Bull 99:216–229. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.07.022
- Teuten EL, Saquing JM, Knappe DRU, et al (2009) Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 364:2027–45. doi: 10.1098/rstb.2008.0284
- Thompson RC (2007) Plastic debris in the marine environment: consequences and solutions. In: Marine Nature Conservation in Europe 2006. p 276
- Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, et al (2004) Lost at sea: where is all the plastic? Science 304:838. doi: 10.1126/science.1094559
- Tsuge S, Ohtani H, Watanabe C (2011) Pyrolysis-GC/MS Data Book of Synthetic Polymers. Elsevier B.V.
- Wampler TP (2006) Pyrolysis Techniques in the Analysis of Polymers and Rubbers. In: Encyclopedia of Analytical Chemistry. Wiley-VCH,
- Weiss JM, McKay AJ, Derito C, et al (2004) Development and application of pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry for the analysis of bound trinitrotoluene residues in soil. Environ Sci Technol 38:2167–2174. doi: 10.1021/es034911v
- Wright SL, Thompson RC, Galloway TS (2013) The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. Environ Pollut 178:483–492. doi: 10.1016/j.envpol.2013.02.031
- Yang S-H, Shen JY, Chang MS, Wu GJ (2012) Quantification of vehicle paint components containing polystyrene using pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry. Anal Methods 4:1989. doi: 10.1039/c2ay05809j