

# Mikroplastik in Fisch

Warum gibt es noch keine belastbaren Daten?

Julia Süssmann

Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch

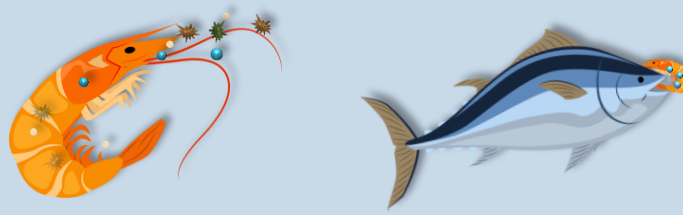
## Wie kommt Mikroplastik auf den Teller?

- Mikroplastik: Partikel unterschiedlichster Kunststoffarten & Herkunft abgegrenzt durch Größe (1  $\mu\text{m}$  – 5000  $\mu\text{m}$ ) von Nano-, Meso- & Makroplastik
- Freisetzung durch Degradation großer Kunststoffabfälle, Kosmetika, Textilien,...
- Aufnahme von Kunststoffpartikeln durch (Meeres)Organismen bei der Nahrungsaufnahme

direkt



indirekt



- kein Verzehr des Verdauungstraktes: Mikroplastik relevant?
  - Translokation von Mikroplastik in essbares Gewebe<sup>[4,6,16]</sup>
  - Adsorption persistenter organischer Verbindungen & Additive<sup>[19,24,25,30]</sup>
  - Mikroplastik als Fremdkörper im Lebensmittel?

## Wie viel Mikroplastik esse ich beim Verzehr von Fisch & Meeresfrüchten?

mehr Fasern durch Hausstaub während einer Mahlzeit als durch Verzehr von Muscheln aufgenommen<sup>[7]</sup>

0 – 3 Partikel im Fischmuskel<sup>[23]</sup>

Aufnahme von bis zu 11.000 Partikeln durch Verzehr von Weichtieren im Jahr möglich<sup>[32]</sup>

Mikroplastik in 20 % der Dosensardinen von Herstellern weltweit<sup>[22]</sup>

0,16 – 1,51 Partikel pro Gramm Fischfleisch<sup>[2]</sup>

in 65 % der Nordseegarnelen ist Mikroplastik<sup>[13]</sup>

kein Mikroplastik in Fischfilet<sup>[31]</sup>

[2] Abbasi et al. 2015

[7] Catarino et al. 2018

[13] Devriese et al. 2015

[22] Karami et al. 2018

[23] Karami et al. 2017

[31] Su et al. 2018

# Wie viel Mikroplastik esse ich beim Verzehr von Fisch & Meeresfrüchten?

enzymatischer Verdau  
 Filtration > Ø 8 µm  
 Identifikation FTIR (50 %)<sup>[7]</sup>

basischer Verdau  
 Filtration > Ø 150 µm  
 Identifikation µ-Raman<sup>[23]</sup>

basischer Verdau  
 Filtration > 149 µm  
 Identifikation µ-Raman<sup>[22]</sup>

saurer Verdau  
 Filtration > Ø 2 µm  
 keine Identifikation<sup>[2]</sup>

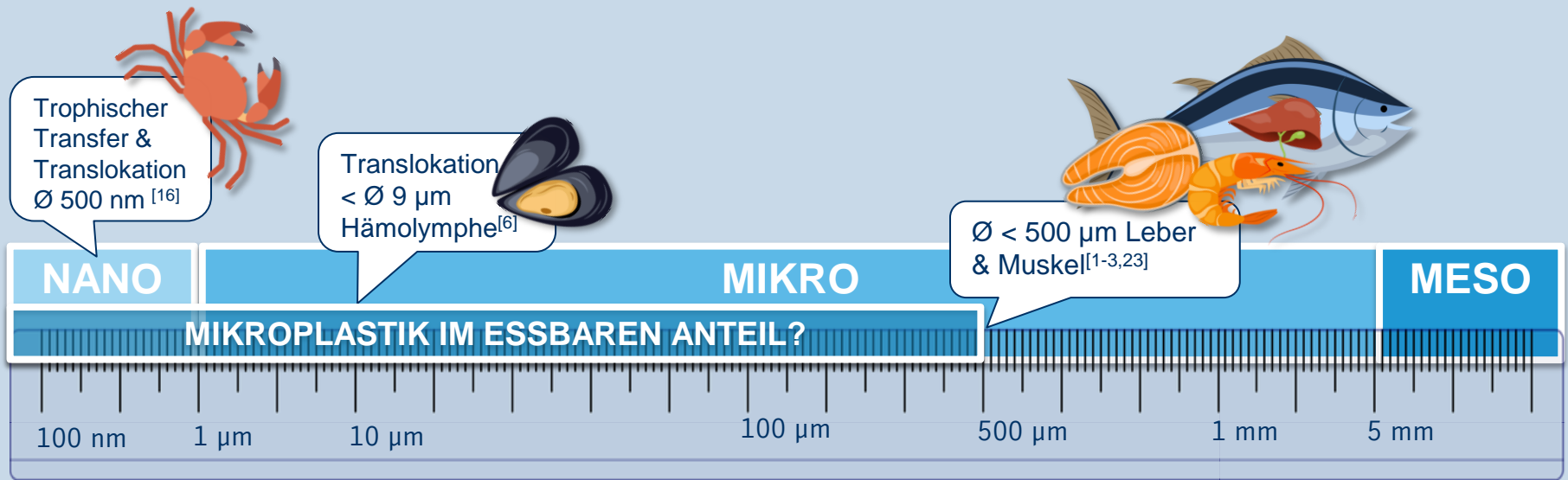
saurer Verdau  
 Filtration > Ø 5 µm  
 Identifikation mit µ-Raman<sup>[32]</sup>

saurer Verdau  
 Filtration > Ø 10 µm  
 keine Identifikation<sup>[13]</sup>

oxidativer Verdau  
 Filtration > Ø 20 µm  
 Identifikation FTIR (39 %)<sup>[31]</sup>

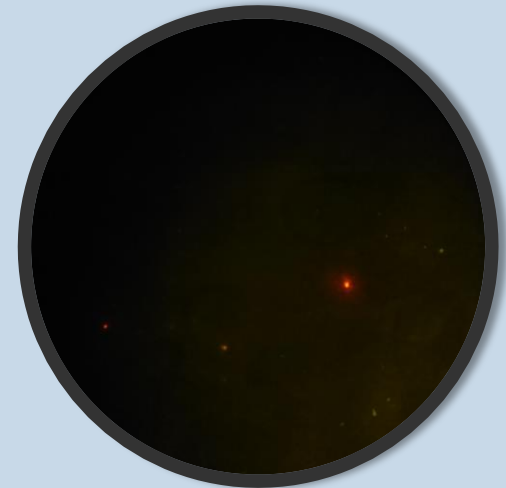
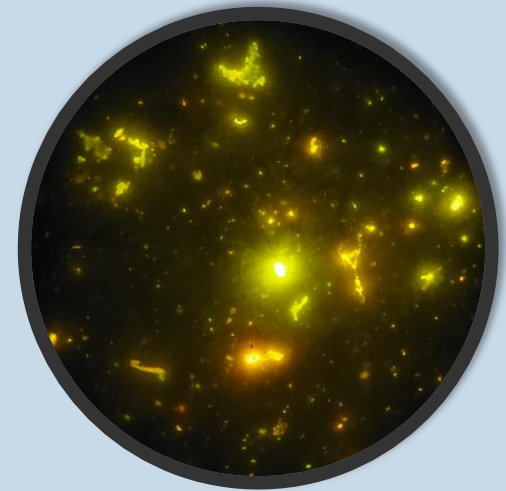
[2] Abbasi et al. 2015  
 [7] Catarino et al. 2018  
 [13] Devriese et al. 2015  
 [22] Karami et al. 2018  
 [23] Karami et al. 2017  
 [31] Su et al. 2018

# Herausforderungen der Analytik



## Herausforderung I: Kontaminationsprävention

- Mikroplastik ubiquitär: Luft, Chemikalien, Personal,...
- Maßnahmen, um Kontaminationen durch Probenahme, Aufarbeitung & Messung zu vermeiden<sup>[11]</sup>
  - Arbeiten unter Sicherheitswerkbank
  - Verzicht auf Laborgeräte aus Kunststoff, gründliche Reinigung
  - Einsatz von Lösungen statt Feststoffen, Vorfiltration
  - Schutzkleidung aus Baumwolle, Schutzhandschuhe
- Messung von Blindwerten (ohne Probenmaterial)
- insbesondere bei **kleinen Partikeln mit geringer Anzahl** ist eine niedrige Belastung der Probe mit Partikeln durch die Aufarbeitung wichtig

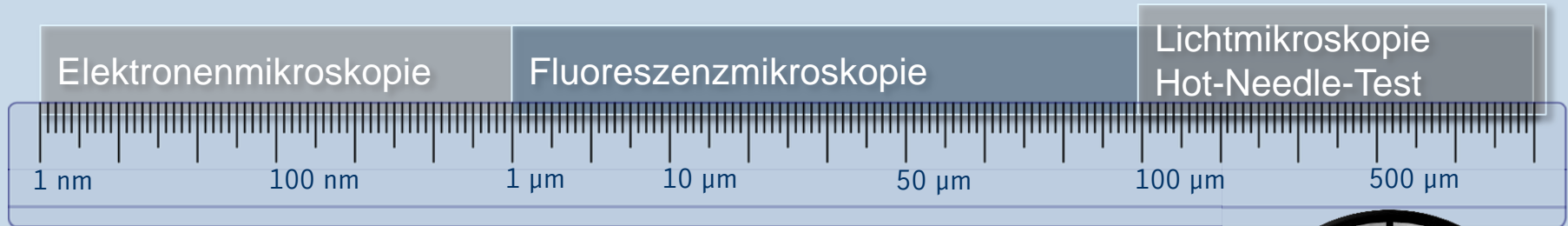


Mit Nilrot gefärbte Partikel einer vorfiltrierten Pepsinlösung (unterschiedliche Hersteller) unter FITC-Filter. Quelle: MRI, eigene Abbildung.

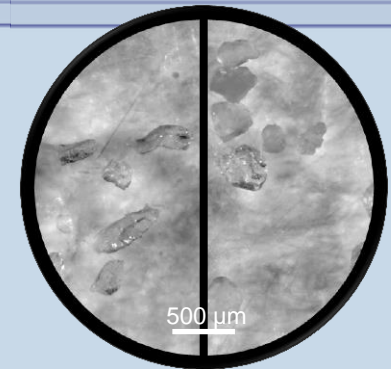
## Herausforderung II: Extraktion

- geringe Partikelzahl im Verdauungstrakt mariner Organismen
  - Translokation nur bei sehr geringem Teil der aufgenommenen Partikel, selbst im Nano-Bereich (0,04 % - 0,3 %)<sup>[27]</sup> → hohe Probeneinwaage
  - Partikel vermutlich eher klein → geringe Porengröße des Filters notwendig
- Effizienter Probenverdau mit kunststoffschonender Methode
  - saurer Verdau mit starken, z.T. konzentrierten Säuren sehr effizient, aber aggressiv gegenüber einigen Kunststoffarten<sup>[12]</sup>
  - basischer Verdau (Kalilauge) und/oder oxidativer Aufschluss (z.B. Wasserstoffperoxid) über mehrere Stunden bis Tage; häufig eingesetzt<sup>[12]</sup>
  - enzymatisch schonend, aber z.T. bei großer Probenmenge sehr teuer<sup>[8]</sup>
- enzymatische Methoden mit 88 – 97 % Effizienz beschrieben<sup>[8,10]</sup>
  - Filtration über 1 µm Porengröße z.T. erst ab 99 % Effizienz möglich

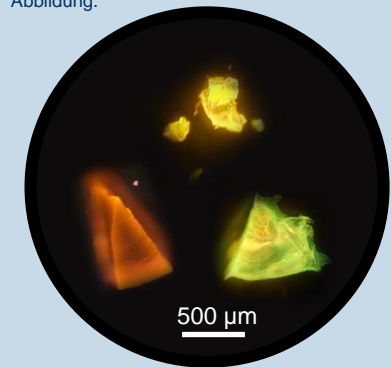
## Herausforderung III: Detektion mit mikroskopischen Verfahren<sup>[29]</sup>



- Lichtmikroskopie/Hot-Needle: Morphologie, Schmelzverhalten
  - Verwechslung mit Partikeln natürlicher Herkunft
  - besonders schwierig bei kleinen Partikeln
  
- Fluoreszenzmikroskopie: lipophiler Fluoreszenzfarbstoff<sup>[17,29]</sup>
  - bessere Wiederfindung, insbesondere kleine, farblose Partikel
  - Unterscheidung von anorganischen Partikeln (z.B. Sand)
  - Verwechslung mit natürlichen organischen Partikeln (z.B. Chitin)
  
- Elektronenmikroskopie: Auflösung im Nanometerbereich
  - Energiedispersive Röntgenspektroskopie - Elementzusammensetzung



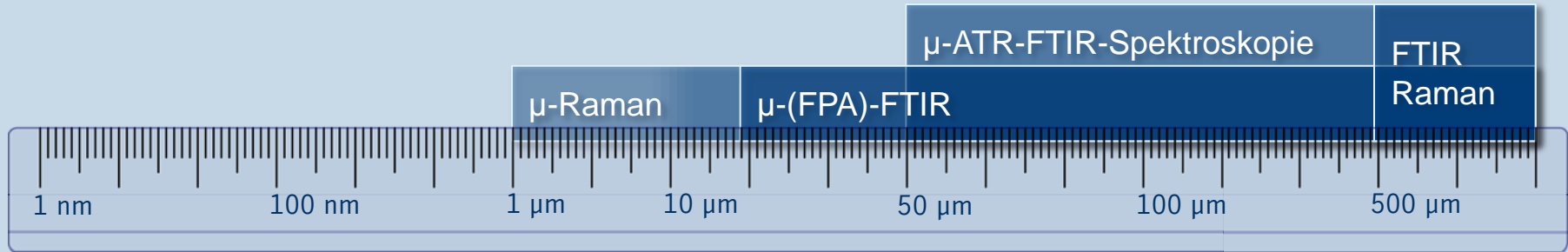
Lichtmikroskopische Aufnahme von PET-Partikeln (links) und Sand (rechts). Quelle: MRI, eigene Abbildung.



Mit Nilrot gefärbte Kunststoffpartikel; FITC-Filter. Polysulfon (rot), Polystyrol (gelb), Polyethylen (grün) Quelle: MRI, eigene Abbildung.



## Herausforderung III: Identifikation mit spektroskopischen Verfahren<sup>[5,17,21,29]</sup>



■ Identifikation durch materialspezifische Spektren

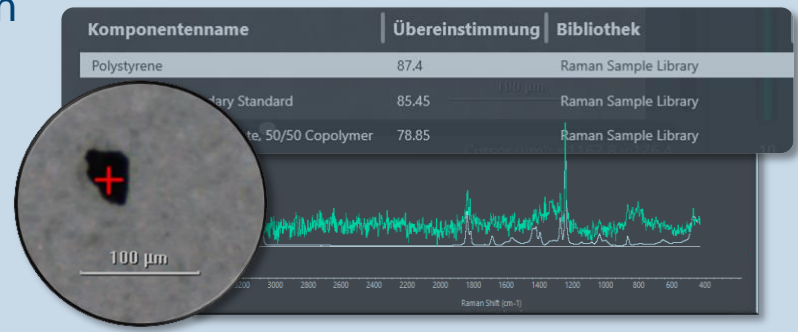
- FTIR: Absorption spezifischer (Infrarot-)Wellenlängen empfindlich für polare Atomgruppen
- Raman: Streuung monochromatischen Laserlichts empfindlich für unpolare Atomgruppen

■ schnelle Analytik größerer Partikel mit μ-FTIR

- Insbesondere bei μ-FPA-FTIR bis zu ein Filter pro Tag
- Transmissionsmodus begrenzt auf Partikeldicke (< 100 μm)
- Reflektionsmodus (ATR) abhängig von Partikelform

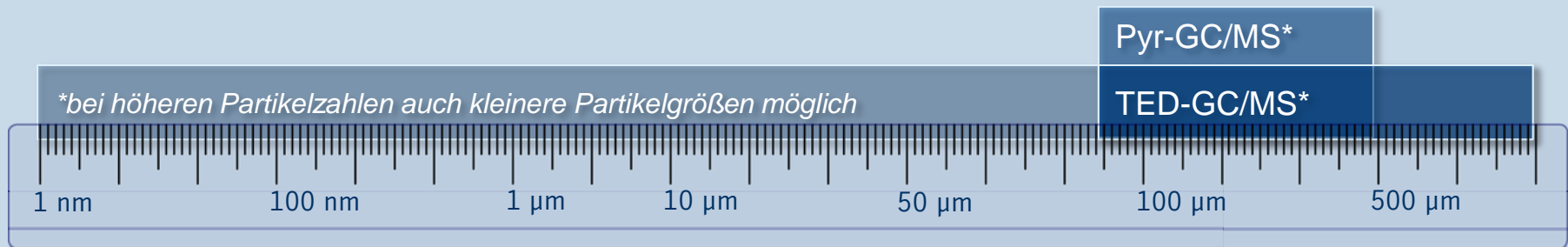
■ langsamere Messung kleinerer Partikel mit μ-Raman

- unempfindlich gegenüber Wasser & Partikelmorphologie
- lange Analysendauer (~ 10 Partikel/Tag<sup>[17]</sup>), v.a. bei (Eigen-)Fluoreszenz

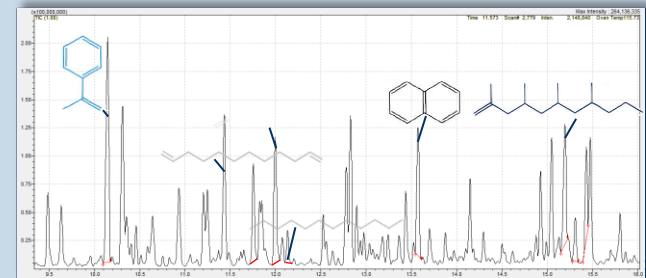


Schematische Darstellung einer Partikelmessung am μ-Raman. Quelle: MRI & Universität Hamburg, eigene Abbildung.

## Herausforderung III: Identifikation mit thermoanalytischen Verfahren<sup>[14,15,18,21,28]</sup>



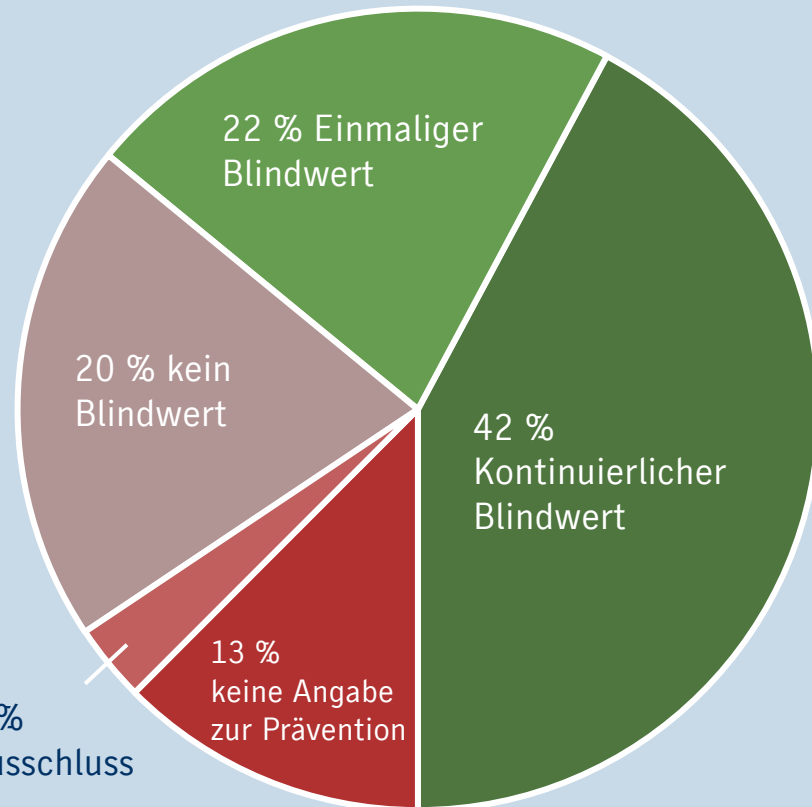
- thermische Zersetzung des Kunststoffes
- Identifikation über charakteristische Pyrolyseprodukte
- Bestimmung von Kunststoffgemischen möglich
- kurze Analysenzeit (30 min – 1 h pro Filter)
- Massenanteil von Kunststoff in Probe bestimmbar
- unabhängig von Partikelgröße & -form
- keine Informationen zu Partikelzahl & -morphologie
  
- TED-GC/MS: über größeren Massenbereich (µg – mg)
- bei Thermoextraktions-Desorptions(TED)-GC/MS werden Produkte an Festphase adsorbiert und kontrolliert desorbiert
- Pyr-GC/MS simultane Bestimmung von Additiven



GC-Chromatogramm (TIC) von Polymergemisch mit Polymer-spezifischen Verbindungen. Quelle: MRI, eigene Abbildung.

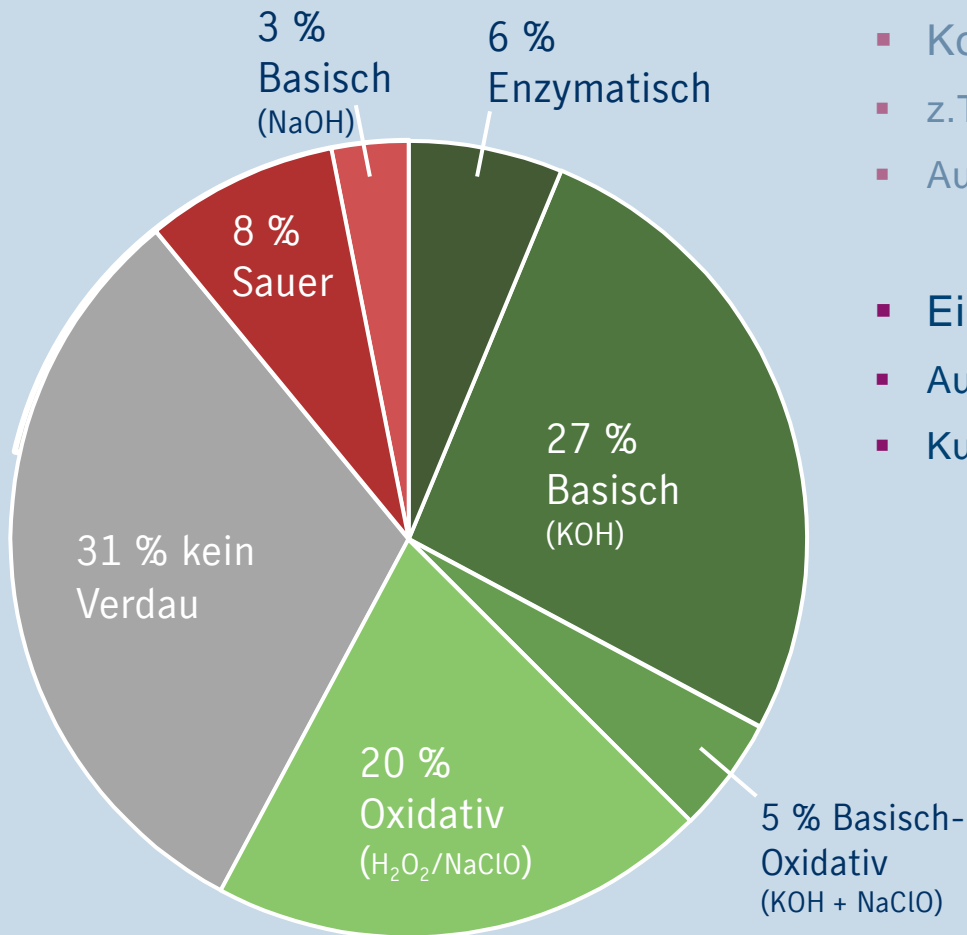
## Warum sind die bisher bestimmten Gehalte problematisch zu bewerten?

- Kontaminationsprävention
- z.T. keine Blindwert-Kontrollen
- Ausschluss bestimmter Partikelfractionen



Anteil angewandter Methoden zur Kontaminationsprävention & -kontrolle, die bei der Analytik von Fischen, Krebstieren und Weichtieren angewandt wurden. (64 Studien aus den Jahren 2011 – 2018) Quelle: MRI, eigene Abbildung.

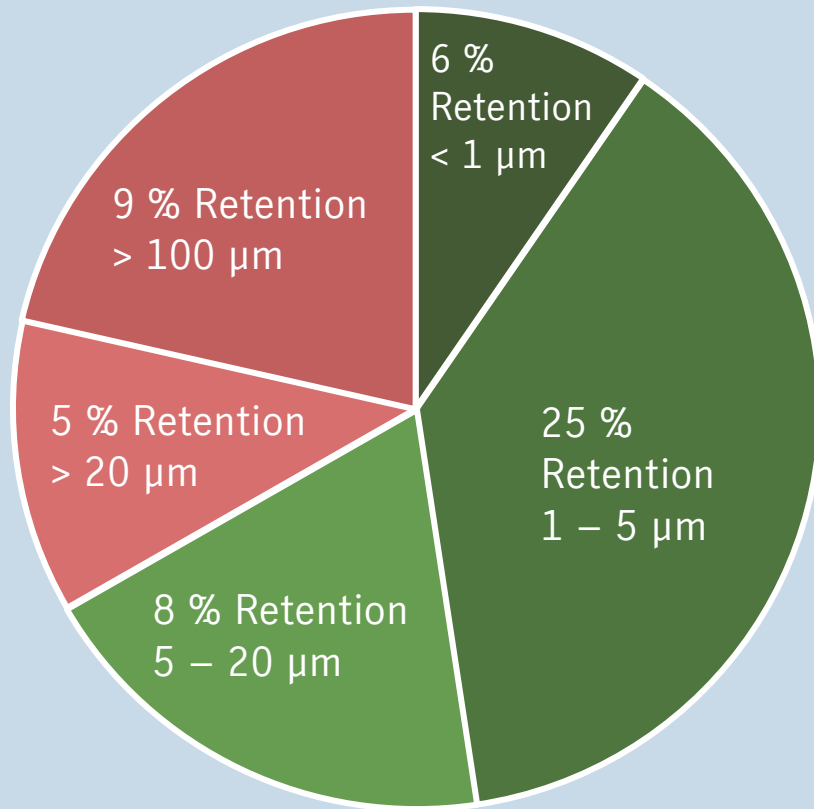
## Warum sind die bisher bestimmten Gehalte problematisch zu bewerten?



- Kontaminationsprävention
- z.T. keine Blindwert-Kontrollen
- Ausschluss bestimmter Partikelfractionen
  
- Eignung der Aufarbeitungsmethode
- Ausreichende Menge Probenmaterial
- Kunststoff-schonender Abbau der Matrix

Anteil angewandter Methoden, die zum Verdau von Fischen, Weichtieren & Krebstieren (inkl. Verdauungstrakt) zur Analyse von Mikroplastik angewandt wurden. (64 Studien aus den Jahren 2011 – 2018)  
 Quelle: MRI, eigene Abbildung.

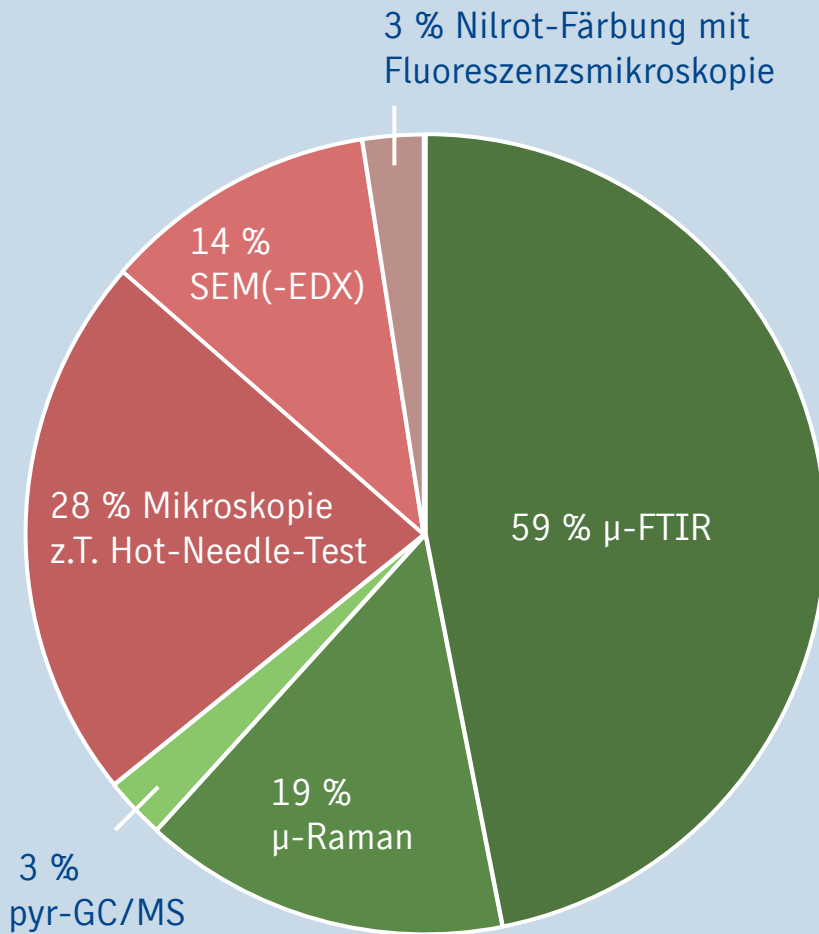
## Warum sind die bisher bestimmten Gehalte problematisch zu bewerten?



- Kontaminationsprävention
- z.T. keine Blindwert-Kontrollen
- Ausschluss bestimmter Partikelfractionen
  
- Eignung der Aufarbeitungsmethode
- Ausreichende Menge Probenmaterial
- Kunststoff-schonender Abbau der Matrix
  
- Nachweisgrenze bedingt durch Filterwahl
- Translokation vermutlich eher Partikel < Ø 10 µm
- Prozesskontamination alle Größen denkbar

Anteil angewandter Methoden, die bei der Analytik von Mikroplastik in Fischen, Weichtieren & Krebstieren (inkl. Verdauungstrakt) angewandt wurden. (64 Studien aus den Jahren 2011 – 2018) Quelle: MRI, eigene Abbildung.

## Warum sind die bisher bestimmten Gehalte problematisch zu bewerten?



Anteil der Filter mit unterschiedlicher Partikelretention, die bei der Analytik von Mikroplastik in Fischen, Weichtieren & Krebstieren (inkl. Verdauungstrakt) angewandt wurden. (64 Studien aus den Jahren 2011 – 2018)  
Quelle: MRI, eigene Abbildung.

- Kontaminationsprävention
- z.T. keine Blindwert-Kontrollen
- Ausschluss bestimmter Partikelfractionen
  
- Eignung der Aufarbeitungsmethode
- Ausreichende Menge Probenmaterial
- Kunststoff-schonender Abbau der Matrix
  
- Nachweisgrenze bedingt durch Filterwahl
- Translokation vermutlich eher Partikel < Ø 10 µm
- Fremdkörper „Mikroplastik“ alle Größen denkbar
  
- nur Detektion der Partikel nicht ausreichend
- Fehlerquote bis 70 % bei reiner Lichtmikroskopie<sup>[29]</sup>
- Identifikation bei Partikeln Ø ≤ 100 µm empfohlen
- Partikelzahl oder Partikelmasse oder beides?

## Was steht noch aus?

- **Validierte Prüfmethoden**
- Kontaminationsprävention & -kontrolle
- effiziente, materialschonende Aufarbeitung
- geeignete Identifikationsmethode (nicht ausschließlich Detektion)
  
- **Toxikologische Bewertung**
- Spektroskopische Methoden für Partikelzahl & -größe
- Thermoanalytische Methoden für Partikelmasse
  
- **Eintragsweg: Mikroplastik aus dem Meer - Mikroplastik aus der Verarbeitung**
  
- **Analytik von Nanoplastik**

## Vielen Dank für die Unterstützung...

Max Rubner Institut – Institut für Sicherheit und Qualität bei Milch und Fisch

- Prof. Dr. Jan Fritsche
- Dr. Ute Ostermeyer
- Dr. Torsten Krause
- Enken Jacobsen

Max Rubner Institut – Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik

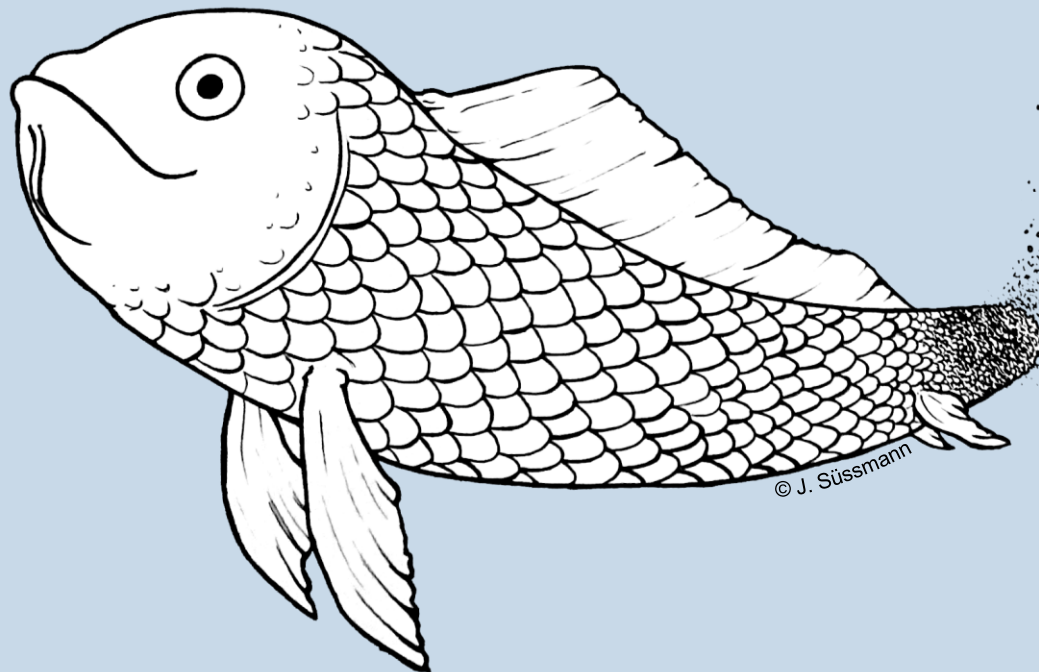
- Dr. Ralf Greiner
- Elke Walz
- Volker Gräf

Universität Hamburg – Arbeitsgruppe Geosystemanalyse

- Dr. Elke Fischer
- Matthias Tamminga



**Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit!**



## Literatur

- [1] Avio, C.G., et al., Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: First observations in commercial species from Adriatic Sea, *Marine Environmental Research* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.014>.
- [2] Abbasi, S., et al., Microplastics in different tissues of fish and prawn from the Musa Estuary, Persian Gulf, *Chemosphere* (2015), <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.076>.
- [3] Akhbarizadeh, R., et al., Investigating a probable relationship between microplastics and potentially toxic elements in fish muscles from northeast of Persian Gulf, *Environmental Pollution* (2018), <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.028>.
- [4] Bergmann, M., et al., *Marine Anthropogenic Litter*, Springer Open (2009), <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3>.
- [5] Braun, U., et al., Mikroplastik-Analytik: Probenahme, Probenaufbereitung und Detektionsverfahren, Bundesministerium für Bildung und Forschung, <https://bmbf-plastik.de/sites/default/files/2018-10/Diskussionspapier%20Mikroplastik-Analytik.pdf>, 10.05.2019.
- [6] Browne, M.A., et al., Ingested microplastics translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.), *Environmental Science and Technology* (2008), <http://dx.doi.org/10.1021/es800249a>.
- [7] Catarino, A., et al., Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal, *Environmental Pollution* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.069>.
- [8] Cole, M., et al., Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms, *Scientific Reports* (2014), <http://dx.doi.org/10.1038/srep04528>.
- [9] Correia, M., Loeschner, K., Detection of nanoplastics in food by asymmetric flow field-flow fractionation coupled to multi-angle light scattering: possibilities, challenges and analytical limitations, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2018), <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0919-8>.
- [10] Courtene-Jones, W., et al., Consistent microplastic ingestion by deep-sea invertebrates over the last four decades (1976e2015), a study from the North East Atlantic, *Environmental Pollution* (2019), <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.090>.
- [11] Dehaut, A., et al., Current frontiers and recommendations for the study of microplastics in seafood, *Trends in Analytical Chemistry* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.011>.

## Literatur

- [12] Dehaut, A., et al., Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization, *Environmental Pollution* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.018>.
- [13] Devriese, L., et al., Microplastic contamination in brown shrim (*Crangoncrangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area, *Marine Pollution Bulletin* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.06.051>.
- [14] Dümichen, E., et al., Analysis of polyethylene microplastics in environmental samples, using a thermal decomposition method, *Water Research* (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.002>.
- [15] Dümichen, E., et al., Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method, *Chemosphere* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.010>.
- [16] Farrell, P., Nelson, K., Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.), *Environmental Pollution* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.046>.
- [17] Fischer, E., Distribution of microplastics in marine species of the Wadden Sea along the coastline of Schleswig-Holstein, Germany, Final Report University Hamburg (2019) und persönlicher Kontakt (seit Oktober 2018).
- [18] Fischer, M., Scholz-Böttcher, B., Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas-Chromatography-Mass Spectrometry, *Environmental Science & Technology* (2017), <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.6b06362>.
- [19] Hermabessiere, L., et al., Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review, *Chemosphere* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096>.
- [20] Käßler, A., et al., Analysis of environmental microplastics by vibrations microspectroscopy: FTIR, Raman or both?, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2016), <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-016-9956-3>.
- [21] Käßler, A., et al., Comparison of  $\mu$ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2018), <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1185-5>.
- [22] Karami, A., et al., Microplastic and mesoplastic contamination in canned sardines and sprats, *Science of the Total Environment* (2018), <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.005>.

## Literatur

- [23] Karami, A., et al., Microplastics in eviscerated flesh and excised organs of dried fish, Scientific reports (2017), <http://doi.org/10.1038/s41598-017-05828-6>.
- [24] Koelmans, A.A., et al., Microplastic as a Vector for Chemicals in the Aquatic Environment: Critical Review and Model-Supported Reinterpretation of Empirical Studies, Environmental Science and Technology (2016), <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.5b06069>.
- [25] Lehner, R., et al., Emergence of nanoplastic in the environment and possible impact on human health, Environmental Science and Technology (2019), <http://dx.doi.org/10.1021/es800249a>.
- [26] Löder, M., et al., Enzymatic Purification of Microplastics in Environmental Samples, Environmental Science & Technology (2017), <http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.7b03055>.
- [27] Lusher, A., et al., Microplastics in fisheries and aquaculture, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 615 (2017), <http://www.fao.org/3/a-i7677e.pdf>, 10.05.2019.
- [28] Minetig, S.M., et al., Closing the gap between small and smaller: towards a framework to analyse nano- and microplastics in aqueous environmental samples, Environmental Science Nano (2018), <http://dx.doi.org/10.1039/c8en00186c>.
- [29] Prata, J.C., et al., Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment: a critical review, Trends in Analytical Chemistry (2014), <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.029>.
- [30] Smith, M., et al., Microplastics in Seafood and the Implications for Human Health, Current Environmental Health Reports (2018), <https://doi.org/10.1007/s40572-018-0206-z>.
- [31] Su, L., et al., The occurrence of microplastic in specific organs in commercially caught fishes from coast and estuary area of east China, Journal of Hazardous Materials (2018), <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.11.024>.
- [32] Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., Microplastics in bivalves cultured for human consumption, Environmental Pollution (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>.

### Weitere Bildquellen

Laborgeräte: Landesbildungsserver Baden-Württemberg, 26.09.2018.

Sicherheitswerkbank: <https://laftech.com.au/product/aura-vertical-s-d-4-laminar-flow-cabinets/>, 16.05.2019.

µ-Raman-Gerät: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/IQLAADGABFFAHCMAPB>, 16.05.2019.

µ-FTIR-Gerät: <https://jascoinc.com/products/spectroscopy/ftir-microscopes/>, 16.05.2019.

Pyr-GC/MS-Gerät: <https://www.shimadzu.com/an/gcms/n9j25k00000e4swe.html>, 16.05.2019.