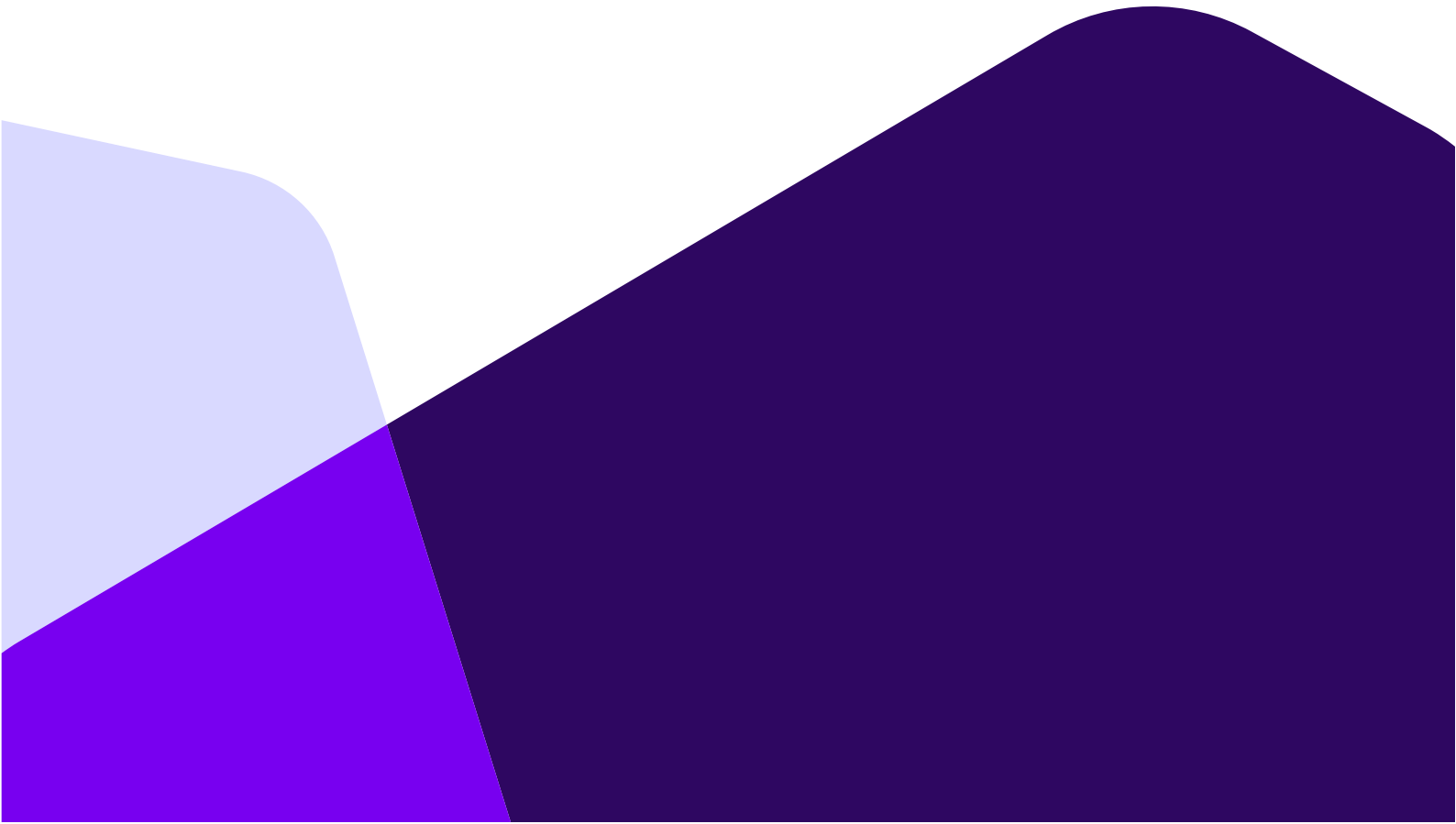


Rolf Fredrik Thorikaas, 8028

Mikroplast i elvesediment og kantsonen i Sauarelva, Telemark



Universitetet i Sørøst-Norge

Fakultet for teknologi, naturvitenskap og maritime fag

Institutt for natur, helse og miljø

Postboks 4

3199 Borre

<http://www.usn.no>

© 2024 Rolf Fredrik Thorikaas

Denne avhandlingen representerer 60 studiepoeng

Sammendrag.

Denne master oppgaven undersøker antall og størrelsesfordelingen av mikroplast i elved sedimentet i Sauarelven og i kantsonen rundt elven i Telemark. Tretten prøvepunkter ble valgt langs elven, punkt 1 var øverst i elven og punkt 13 var i enden av elven. Per prøvested ble to prøver tatt, en fra elven 1 meter ut fra elvekanten og en 1 meter fra elvekanten inn i kantsonen på land. Prøvene ble tørket til konstant vekt før sikting gjennom en 5 mm sikt og så en 1 mm sikt, det som kom gjennom 1 mm sikten ble brukt videre i analysen. For hvert prøvested ble det analysert tre paralleller på 10 gram hver. Prøvene ble behandlet med KOH:NaClO 30% løsning, for nedbrytning av organisk materiale før isolasjon av mikroplasten ved bruk av sentrifuge med tetthetsseparasjon og filtrering. Den isolerte mikroplasten ble innfarget med en løsning av Nile-red (10 µg/ml) og fotografert under belysning med 420-470 nm lys som gjør den Nile-red dekkede mikroplasten fluoriserende. Bilder av den fluoriserende mikroplasten ble brukt til å telle opp antall partikler og måle størrelsen på dem i form av arealet de hadde på bildene. Antall og størrelse av mikroplastpartiklene ble målt ved billedbehandling med Python og en manuell gjennomgang av hva som ble telt opp. Størrelsen på mikroplasten fra prøvepunktene, elven, kantsonen på land, jordbruksområdene, skogsområdene og mellomgruppene elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder ble målt som median areal til mikroplastpartiklene i mm².

Gjennomsnittlig antall mikroplastpartikler per prøvested varierte fra 2-34 partikler i sedimentet i kantsonen på land og 2-28 i elved sedimentet. Fra elved sediment hadde punkt 12 minst median (0.75 mm²) mens punkt 5 hadde størst (6.11 mm²). For mikroplastpartiklene i kantsonen på land hadde punkt 2 minst median (0.88 mm²) mens punkt 7 hadde størst (5.99 mm²).

De statistiske testene som ble utført viste ingen signifikant forskjell i antall mikroplastpartikler ut fra om prøvene var fra elven eller kantsonen på land, skog eller jordbruksområde eller om det var en av mellomgruppene av dem, elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder. En sterkt positiv korrelasjon mellom avstanden (m) fra bygninger til prøvepunktene og median (mm²) på mikroplastpartiklene fra elved sedimentet ble funnet med signifikant p-verdi ($P < 0.05$). Det ble funnet signifikant forskjell ($P = 0.036$) i størrelsen mellom mikroplastpartiklene fra elven og land, landgruppen hadde større median (mm²) for mikroplastpartiklene.

Det var signifikant forskjell ($P = 1.87E-04$) mellom prøver i elven i jordbruksområder og prøver fra land i jordbruksområder. Prøvene fra land hadde større median (mm²) for mikroplastpartiklene enn prøver fra elv i jordbruksområder. Det var og signifikant forskjell ($P = 0.013$) mellom områder på land hvor jordbruksområder hadde større median (mm²) for mikroplastpartikler enn de fra skogsområder.

Testene for forskjell i median (mm²) for mikroplastpartiklene mellom prøvepunktene på land viste en signifikant forskjell ($P < 0.05$) mellom prøvepunkt 7 med størst median (mm²) og punkter 1, 2, 5, 11, 12 og 13. Punkt 3 var og signifikant forskjellig fra punkt 2 og 11 hvor punkt 3 hadde større median (mm²) for partiklene. For prøvene i elven var det kun punkt 2 og 12 som hadde en signifikant forskjell, punkt 12 hadde større median (mm²). Hvorfor punkt 7 skilte seg ut fra 6 andre prøvepunkter er uklart.

Resultatene viser at størrelsen på mikroplastpartiklene ble påvirket av områdene rundt, men at antallet ikke ble påvirket av om det var prøver fra elven, kantsonen på land, skogsområder, jordbruksområder, elven i skogsområder, elven i jordbruksområder, land i skogsområder eller land i jordbruksområder.

Det var en mindre flom i Sauarelvnen før prøvene ble tatt som kan ha hatt en effekt på antall og størrelsesfordelingen av mikroplasten. Det er derfor behov for en ny runde med prøvetaking for å sjekke at resultatene fra denne oppgaven er representative for området under normaltilstander og ikke bare for etter flom hendelser.

Innhold

Sammendrag.	2
Forord	6
1 Innledning.	7
2 Problemstilling.	9
3 Material & Metoder.	10
Områdebeskrivelse.	10
Prøvetaking i felt.	11
Grov-bearbeiding av prøver.	12
Minimering av kontaminering.	13
Tillaging av løsninger.	13
Isolering, farging og fotografering av mikroplast.	15
Opptellingsmetode.	17
Statistisks behandling av data.	21
Utfordringer og feilkilder.	22
4 Resultater	24
Mikroplast i elven og på land.	24
Testing for Normalfordeling.	25
Differanse mellom Python opptelling og Python + manuell opptelling.	29
Testing for forskjell i antall og størrelse basert på Hoved (Land, Elv, Skog og Jordbruk) og mellomgrupper.	30
Spearman Korrelasjons.	32
5 Diskusjon	34

Valg av opptellings metode.	34
Tolking av resultater.	38
6 Konklusjon	42
<hr/>	
Referanser	44
<hr/>	
<hr/>	

Forord

Jeg vil gjerne takke min veileder Synne Kleiven for muligheten til å skrive denne oppgaven samt den hjelpen jeg har fått underveis.

Jeg vil og takke Frode Bergan for råd under planleggingen av feltarbeidet.

Jeg vil og takke min bror Johan Andreas Thorikaas for hjelpen han har gitt.

Til slutt vil jeg takke min farfar Daniel Thorikaas og min far Knut Øyvind Thorikaas for hjelpen jeg fikk før feltarbeidet, uten dem hadde prøvetakingen blitt betydelig mer krevende.

Bø i Telemark, 15.5.24

Rolf Fredrik Thorikaas

1 Innledning.

Plast er blitt en allestedsnærværende del av hverdagen til mennesker i det moderne samfunnet siden det første syntetiske plastmateriale ble produsert i 1856 (Mæhlum, 2023). De siste årene har plast produksjonen økt kraftig, fra 2000 til 2019 økte verdens plastproduksjon fra 234 millioner tonn (MT) til 460 MT (OECD, 2022).

Mengden plast søppel økte i samme takt fra 153 MT i 2000 til 353 MT i 2019. Av dette ble under 10 % resirkulert og 22 % ble uforsvarlig håndtert. I denne sammenhengen er uforsvarlig håndtert plastsøppel, plast som blir brent, kastet i søppelhauger eller lekket ut til miljøet (OECD, 2022).

Jambeck et al. (2015) estimerte at i 2010 ble 4.8 til 12.7 MT plast lekket ut i verdenshavene fra 197 kystnære land. Effekten av plastsøppel er godt kjent, bilder av døde fugler fulle av plastbiter, eller dyr som har blitt kvelt med plast rundt halsen er ofte ansiktet til plastsøppel problemet.

Et ikke like synlig problem er mikroplast.

Mikroplast er generelt definert som plastpartikler under 5 mm i diameter (Hartmann et al., 2019).

Mikroplast er delt inn i to hovedkategorier primær og sekundær mikroplast, primærmikroplast er allerede nyprodusert plast med størrelse >5 mm. Mens sekundær mikroplast kommer fra større plastobjekter som fragmenteres til mindre partikler enten via normal slitasje under bruk eller ute i naturen (Arthur et al., 2009). Den sekundære mikroplasten utgjør et unikt problem da den skapes selv under normal bruk av ting laget av plast, som når klær laget av syntetiske tekstiler blir vasket (De Falco et al., 2018).

På grunn av mengden plast som blir produsert og dens daglige bruk blir mikroplast spredt til alle verdens hjørner. Allen et al. (2019) fant mikroplast i de franske Pyreneene som hadde blitt tilført via atmosfærisk deposisjon. Kanhai et al. (2018) påviste mikroplast i havet i den arktiske sirkelen fra en dybde på 8 til 4369 meter med varierende antall mikroplastpartikler per prøve. Hasenmueller et al. (2023) undersøkte mikroplast i en stengt grotte i St.Louis, Missouri. De konkluderte med at mikroplast infiltrerer hulesystemer og setter seg i sedimentet. Dette viser at selv relativt beskyttede miljøer ikke er sikre mot mikroplast forurensning.

Mikroplasten ligger ikke bare ute i naturen som en form for forsøpling, men vi mennesker ender faktisk opp med å få den i oss. Mikroplast er funnet i vannet vi drikker, maten vi spiser og luften vi puster inn (Danopoulos et al., 2020; Jenner et al., 2022; Liebezeit & Liebezeit, 2013, 2014; Van Cauwenberghe & Janssen, 2014; Yang et al., 2015).

Fra disse kildene ender mikroplasten opp i kroppen vår og i 2022 ble det funnet i blodet til mennesker (Leslie et al., 2022).

Fra blodet kan det spre seg videre til morsmelken, organer og sette seg i avleiret kolesterol

(Marfella et al., 2024; Ragusa et al., 2022; Zhao et al., 2023).

Det er lite informasjon om effekten av mikroplast på mennesker, med det er utført flere studier på dyr som kan gi innsyn i de mulige problemene.

Jacob et al. (2020) fant ut fra 49 studier en rekke negative effekter hos fisk som hadde inntatt mikroplast. Effektene gikk fra skader på fordøyelses systemet, leveren og adferdsendringer.

Jin et al. (2019) undersøkte effekten av mikroplast på mus og påviste forstyrrelser på bakterie floraen i tarmene og metabolske forstyrrelser. Videre påviste Wang et al. (2022) svekkelse i hukommelsen og læringsevnen til mus som var gitt mikroplast. En studie utført på høner viste skader på hjertene til hønene som var blitt foret med vann med mikroplast (Zhang et al., 2022).

Et mer åpenbart problem kan være stoffene som er en del av plasten som kan lekke ut når mikroplasten sitter i kroppen. Abb et al. (2009) og Ait Bamai et al. (2014) påviste ftalater i mikroplast i husstøv som fungerer som hormonforstyrere og er blitt assosiert med kortere graviditetsvarighet (Latini et al., 2003).

Videre kan mikroplasten adsorbere kjemikalier som den kommer i kontakt med. Funn fra Wang et al. (2020) viser at 5 vanlige pesticider brukt i Kina var adsorberte i mikroplast.

Mikroplastproblemet har ført til at EU har inkludert mikroplast i flere lover og strategier for håndtering av forurensning. Norge gjennom EØS avtalen er med på dette (European Commission, 2023; Miljødirektoratet, 2024).

På grunn av punktene nevnt ovenfor er det viktig å forstå bedre hvordan mikroplast sprer seg i miljøet, slik at mikroplastproblemet kan bli bedre håndtert og færre tar skade av det.

2 Problemstilling.

Denne oppgaven undersøker om antall og/eller størrelsen på mikroplast vil være forskjellig ut fra om hvor prøvene kommer fra. I elven eller kantsonen på land, fra skog eller jordbruksområder og om det er forskjell imellom henholdsvis prøver fra elv i jordbruksområde, elv i skogsområder, land i jordbruksområder og land i skogsområder.

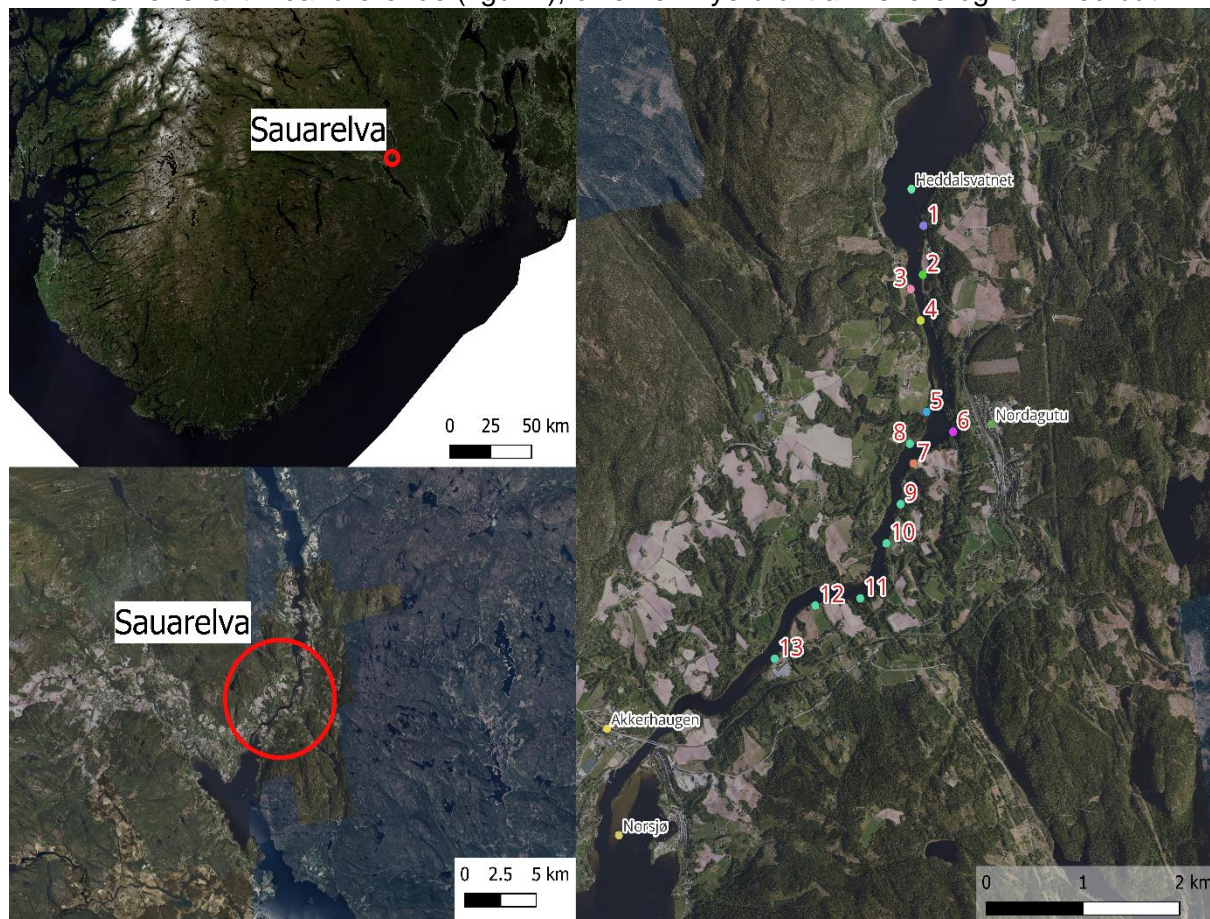
Det antas at det vil være et større antall mikroplastpartikler på land enn i elven, og at områder med jordbruk vil ha et større antall enn skogområder.

En hypotese er og at størrelsen på mikroplasten vil være mindre i elven enn på land og at det vil være en størrelsesforskjell mellom skog og jordbruksområder.

3 Material & Metoder.

Områdebeskrivelse.

Sauarelva strømmer fra Heddalsvatnet ned til Norsjø ved Akkerhaugen, en strekning på ca 6 km. Elven er svakt meandrerende (figur 1), elven er mye brukt av fiskere og folk med båt.



Figur 1: Sauarelva med start i Heddalsvatnet og utløp ved Akkerhaugen ut i Norsjø. Det er variert landskap rundt elva med skog, åkre, beitemark og noe mindre båtplasser. Prøvepunkter markert 1-13 i høyre seksjon. Bildet laget i Qgis.

Landskapet rundt elven er hovedsakelig preget av skog og jordbruk, av jordbruk er det åker og beitemarker.

Kantsonen rundt elven varierer i bredde fra noen få meter til >20 m, helningsgrad fra 0° til 20° innenfor en 10 m radius av prøvepunktene. Vegetasjonen i kantsonen på land varierer fra gress, siv, strå og mindre løv og barnåltrær. I områdene med skog var det hovedsakelig spredte unge trær nærme elvekanten før betydelig tettere fullvoksne trær lenger inn.

I elvekanten dominerer tettvokst siv rundt prøvepunktene, med små undervannsplanter i noen av punktene. 4 av punktene hadde ingen plantevekst i elven.

Sedimentene i prøvepunktene var hovedsakelig organisk jord på land med varierende grad av plantemateriale og mudder i elven med noen sand, sandig grus og mer jord lignende mudder.

Tabell 1 viser prøvestedene med bredde og lengdegrad som kan kopieres direkte inn i google maps for å se hvor prøvestedene er.

Tabell 1: Prøvesteder med koordinatene i WGS84 som kan kopieres inn i google maps for å se direkte hvor prøvestedene er.

Prøvesteder med koordinater (WGS84)			
Prøvested	Breddegrad	Lengdegrad	Dato for prøvetaking
1	59.43861	9.309345	30.9.23
2	59.43436	9.309158	30.9.23
3	59.43311	9.306956	30.9.23
4	59.4304	9.308742	30.9.23
5	59.42249	9.309719	30.9.23
6	59.42074	9.314567	30.9.23
7	59.41802	9.307297	30.9.23
8	59.41973	9.306682	14.9.23
9	59.4145	9.304935	14.9.23
10	59.41111	9.302314	14.9.23
11	59.40635	9.297489	14.9.23
12	59.40576	9.289314	14.9.23
13	59.40115	9.281866	14.9.23

Mulig kilder til mikroplast i området er generelle jordbruks aktiviteter, husstander og båtbygger langs elven. Spesielt relevant kilde for elven er Notodden by som er oppstrøms for elven som kan påvirke mikroplastnivået ved avrenning.

Prøvetaking i felt.

Prøvestedene ble valgt ut fra hvilket landskap som var rundt elvestrekningen og tatt i enden av en av de to landskapssonene (Landbruk/Skog) rundt elven.

Prøvene ble tatt i enden av sonene for å minimere andre soners påvirkning på antall mikroplast i elvesedimentet pga vannets strømning. Antall mikroplast i begynnelsen av en skogsone kan sannsynligvis være påvirket av landbrukssonen oppstrøms et stykke inn i skogsone.

To prøver per prøvested ble tatt for å kunne sammenligne antall mikroplast i elvesedimentet og i kantsonen.

Prøvene ble tatt en meter ut fra elvekanten og en meter inn fra elvekanten på land.

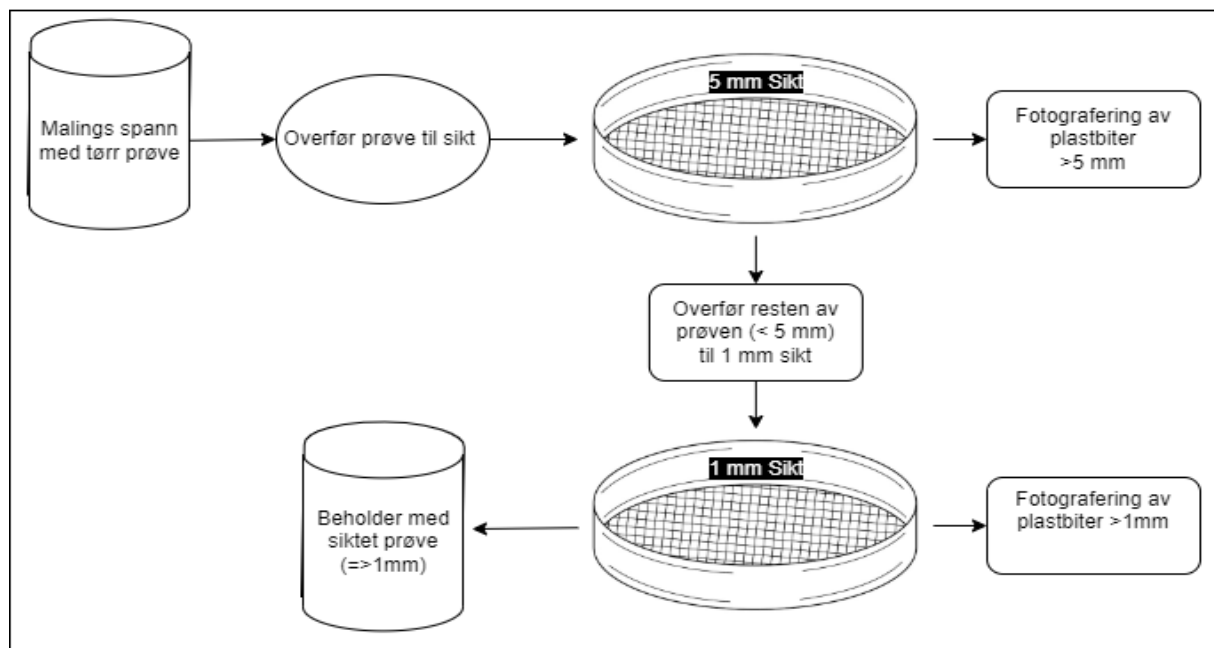
Bare de øverste 5 cm av sedimentet ble brukt til å ta prøver i elvesedimentet og på land ble

det øverste jordlaget med vegetasjon brukt da det antas at mikroplasten vil ligge øverst blant dette.

Prøvene ble lagret i tomme, nye 1L malings spann av metall for transport og tørking.

Grov-bearbeiding av prøver.

Etter prøvetaking ble prøvene lagret kaldt i 1-2 dager før de ble tørket på ca 95 C° i minimum 2 dager eller til en konstant vekt var oppnådd. Når konstant vekt var oppnådd fortsatte bearbeidingen (figur 2).



Figur 2: Skjema over grov bearbeiding av prøvene fra Sauarelva etter tørking.

Prøvene ble så siktet gjennom en 5 mm metallsikt (Retsch, TEST SIEVE 5mm) for å fjerne alt som var over 5 mm da mikroplast generelt er definert som plast < 5 mm (Bank, 2021). Alt materiale som var over 5 mm ble sett gjennom og eventuelle plastbiter ble avbildet og hvilken prøve de stammet fra ble notert.

Prøvene ble så siktet gjennom en 1 mm sikt (Retsch, TEST SIEVE 1mm) hovedsakelig for å skille ut alt av trebiter og annet organisk materiale som kunne gjøre videre analyser vanskeligere.

Sedimentet som var over 1 mm i størrelse ble sett gjennom og eventuelle mikroplastpartikler som kunne ses med det blotte øyet ble avbildet og notert hvilken prøve de kom fra.

Fra det ferdig siktete sedimentet ble minimum 100 gram sediment lagret i lukkede beholdere for videre analyse.

Minimering av kontaminering.

For å minimere mulig kontaminering, ble alt av løsninger og væsker filtrert gjennom et GF/C Whatman filter med porestørrelse 1.2 μm for å fjerne partikler som kunne kontaminere prøvene.

Alle beholdere var dekket til når de ikke trengte å være utildekket og alt utstyr ble skylt før og mellom bruk, 3 ganger med filtrert revers osmose deionisert (RO/DI) vann.

Utstyr laget i plast ble i størst mulig grad unngått for å hindre tilførsel av mikroplast fra dem.

Tillaging av løsninger.

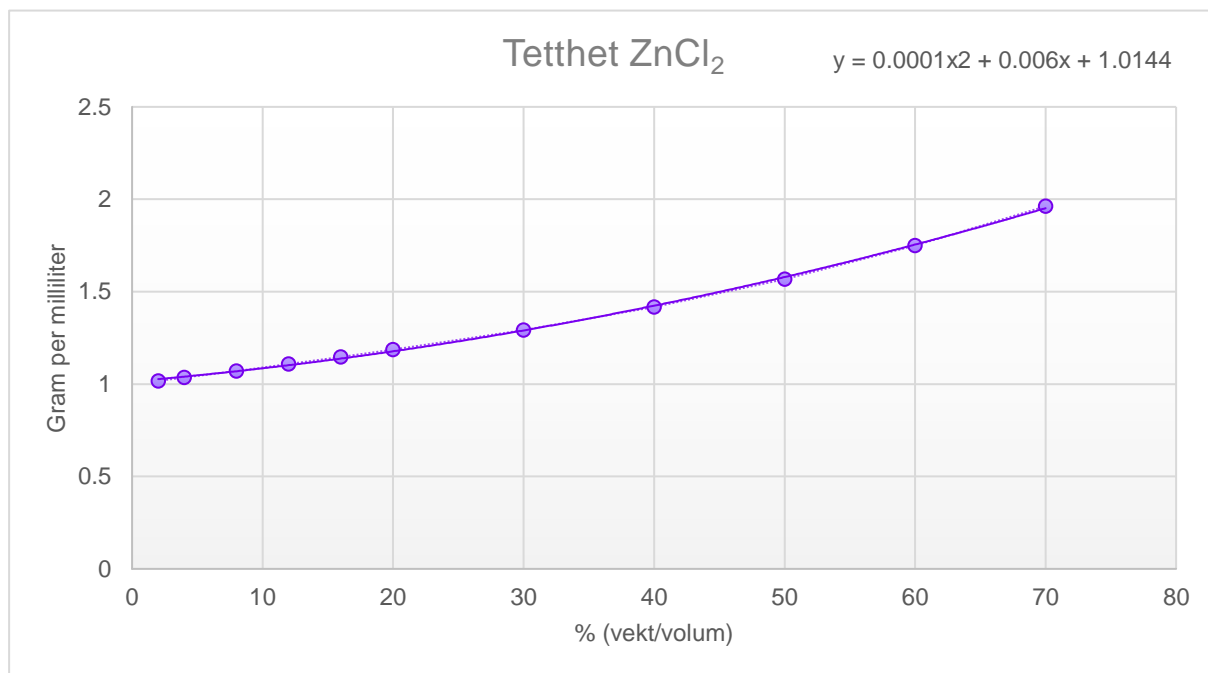
Kaliumhydroksid:Natriumklorat 30% Volum/volum (KOH:NaClO 30% (v/v)).

For nedbrytning av organisk materiale i prøvene ble en KOH:NaClO 30% (v/v) løsningen valgt da Enders et al. (2016) ikke fant signifikant nedbrytning av plast, men god nedbrytning av organisk materiale ved bruk av løsningen. Løsningen ble laget i mindre volum i 1-2 liter, da løsningen er sterkt etsende og lagring av større volum ble sett på som unødvendig samt risikabelt hvis det skulle skje et uhell. Ved tillaging av 1L løsning ble 150 ml av mettet løsning av KOH (Emsure, pellets for analysis) og 150 ml løsning av 14% NaClO (VWR, 14% (w/v), Technical grade) blandet. Dette ble gjort under avkjøling da tillaging av løsningen utviklet varme. Denne ble så fortynnet med RO/DI vann til 1L og filtrert før den ble lagret i en merket erlenmeyerkolbe med kork for videre bruk.

Sink klorid (ZnCl_2) 1.4 g/ml tetthet.

ZnCl_2 (Sigma-Aldrich, reagent grade, $\geq 98\%$) ble valgt som salt for bruk i tetthetsseparasjon da det kan oppnås høy tetthet som er anbefalt, sammenlignet med enn en rekke andre salter (Schütze et al., 2022). Det trengs heller ikke spesielle forholdsregler utenom vanlige lab regler når det jobbes med.

For å finne blandingsforholdet til 1.4 g/ml tetthets løsning av ZnCl_2 ble data fra Poling et al. (2000) om tettheten til uorganiske løsninger underforskjellig konsentrasjon brukt. Disse dataen ble benyttet til produksjonen av figur 3 og til å beregne mengden ZnCl_2 salt som trengtes.



Figur 3: Endringen i tetthet til $ZnCl_2$ løsnings når masse % $ZnCl_2$ i løsningen går fra 0% til 70%, data fra Poling et al. (2000).

Når løsningen var laget, ble tetthet sjekket og fin justert til den nådde 1.4 g/ml for så å bli filtrert før bruk. Etter bruk ble løsningen lagret i et avtrekkskap, tettheten sjekket og justert til den nådde 1.4 g/ml igjen før den ble filtrert og gjenbrukt.

Tilberedning av Nile-red løsning (10 $\mu\text{g/ml}$).

For innfarging av mikroplast ble en løsning på 10 $\mu\text{g/ml}$ Nile-red valgt da Maes et al. (2017) fant at den konsentrasjonen ga en god balanse mellom styrken på mikroplastens fluorescens og bakgrunns støyen fra Whatman-filteret.

En 10 ml stam løsning på 1 mg/ml Nile-red (Sigma-Aldrich, technical grade, powder form) i aceton (EMSURE, ACS, ISO, REAG. pH Eur) ble laget som utgangspunkt for å lage den endelige løsningen på 10 $\mu\text{g/ml}$.

For å lage løsningene ble 10 mg Nile-red pulver veid ut på en vekt av type Sartorius, AX124, Nile-red pulveret ble blandet med 10 ml aceton. Dette ble lagret i en merket 25 ml erlenmeyerkolbe med kork. Når den endelige løsningen skulle lages ble 1 ml av stam løsningen fortynnet til 100 ml for å oppnå konsentrasjonen på 10 $\mu\text{g/ml}$.

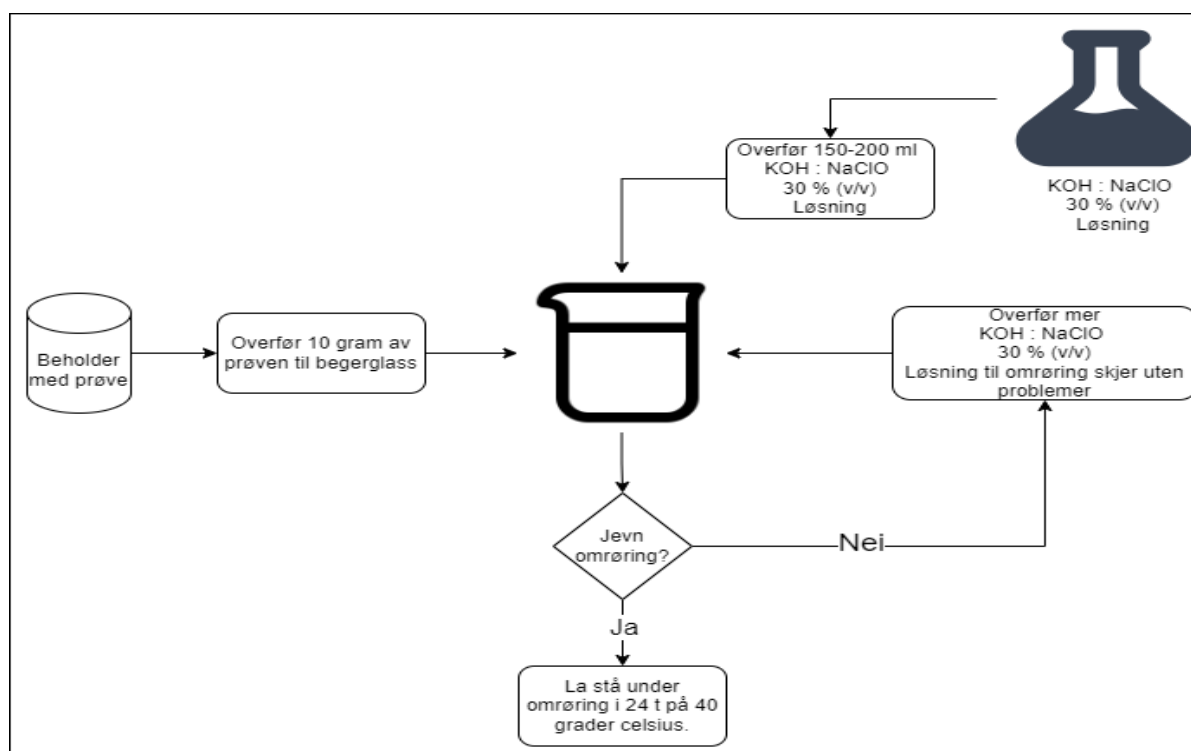
Løsningen ble så filtrerte gjennom et GF/C whatman filter og lagret i en merket 250 ml erlenmeyerkolbe med kork. Da aceton er flyktig ble korken på erlenmeyerkolbene kun fjernet når løsningene skulle brukes og kolbene ble lagret på et kjølerom.

Isolering, farging og fotografering av mikroplast.

Isolering av mikroplast.

Denne delen av prosessen er basert på Grause et al. (2022) sin metode for isolering av mikroplast, hovedforskjellen i denne oppgaven er bruken av KOH:NaClO 30% (v/v) istedenfor fentons reagens som er en blanding av H₂O₂ og FeSO₄.

10 gram sediment ble veid ut og plassert i et begerglass for så å bli tilført 150-200 ml KOH:NaClO 30% (v/v) løsning og deretter satt under omrøring i 24 timer på 40 C° (figur 4).



Figur 4: Diagram av prosessen for nedbrytning av organisk materiale i sediment- og jordprøvene fra Sauarelva. Prøven ble da satt til omrøring på 40 °C i 24 timer.

Sammensetningen av sediment-prøvene varierte fra mer eller mindre ren sand fra elven til nærmere ren jord fra kantsonen på land.

Den mer rene jorden ekspanderte under tilførelsen av KOH:NaClO 30% (v/v) løsningen og hindret omrøring. For å unngå dette ble mer løsning tilført til omrøring skjedde uhindret.

Etter nedbrytning av det organiske materiale ble prøvene sentrifugert. Sentrifugeringen er delt inn i 3 steg, overføring av nedbrutt prøve til prøverør, vasking av prøve i prøverøret og tetthets separasjon.

Overføring av nedbrutt prøve til prøverør:

Innholdet i begerglassene ble overført til 10 ml prøverør som ble plassert i en sentrifuge (Hettich, ROTINA 35 R) for å skille sedimentet/slammet fra den gjenværende KOH:NaClO 30% (v/v) løsningen.

Prøvene ble sentrifugert i, 10 min på 3700 rotasjoner per minutt (rpm).

Etter sentrifugering ble den resterende væsken dekantert av og filtrert gjennom et GF/D whatman filter med porestørrelse 2.7 μm , for å samle opp eventuelle mikroplastpartikler. Et GF/D filter blir brukt istedenfor et GF/C filter da GF/C filteret med sin mindre porestørrelse blir raskt tett noe som ville kreve mange filtre per parallell.

Hvis det var mer av den nedbrutte prøven og/eller væske i begerglasset ble det overført og prosessen gjentatt til begerglasset var tomt.

Når begerglasset var tomt ble filtrert RO/DI vann brukt til å skylle begerglasset og væsken overført for å få med mest mulig mikroplastpartikler. Dette ble så sentrifugert en gang til og væsken dekantert av gjennom samme GF/D filter.

Vasking av prøve i prøverøret:

Filtrert RO/DI vann ble tilsatt og prøverørene ble ristet godt til alt av prøven blandet seg med vannet for å fjerne alt av KOH:NaClO 30% (v/v) restene da det reagerer med ZnCl_2 løsningen som brukes senere. Produktet av denne reaksjonen er et hvitt pulver som tetter filteret.

Etter risting, ble prøverørene sentrifugert og resterende væske ble dekantert over samme GF/D filter som ble brukt under overførings steget for å sikre at så mye som mulig av mikroplastpartiklene ble fanget opp.

Dette ble gjennomført 3 ganger per prøve. GF/D filteret ble så skylt med filtrert RO/DI vann for å fjerne rester av KOH:NaClO 30% (v/v) løsningen som kunne sitte i filteret.

Når filteret var skylt ble filterkolben koblet av, tømt for væske og skylt godt med filtrert RO/DI vann for å fjerne alt av KOH:NaClO 30% (v/v) løsningen. Kolben ble koblet på igjen før neste steg i prosessen begynte.

Tetthets separasjon:

Etter vasking ble ZnCl_2 løsningen med tetthet på 1.4 g/ml brukt for å skille mikroplasten fra restene etter den organiske nedbrytningen og vaskingen via tetthets separasjon.

ZnCl_2 løsningen ble tilsatt til prøverørene opp til 10 ml merket. Prøven ble ristet til sedimentet/slammet som var igjen var blandet godt med løsningen.

Prøverørene ble så satt til sentrifugering på 3700 rpm over 10 min, etter sentrifugering ble væsken dekantert av og filtrert gjennom samme GF/D filter. Dette ble gjort 3 ganger per prøve.

ZnCl₂ løsningen i filterkolben ble så fjernet før filterkoppene og filteret ble spylt med filtrert RO/DI vann for å få med eventuelt mikroplast som kan sitte på sidene av filterkoppene. Den brukte ZnCl₂ løsningen ble spart på for å kunne brukes igjen, tetthet ble sjekket og justert til den nådde 1.4 g/ml og filtrert gjennom et GF/C filter før den ble brukt igjen.

Tre paralleller per prøve ble laget på denne måten for å kunne få et gjennomsnitt/utelukke utliggere fra resultatet samt kompensere for ujevn fordeling av mikroplast i prøven.

Farging & fotografering.

Når prøvene var ferdig filtrert, ble 5 ml Nile-red løsning tilført jevnt utover filteret og ble liggende på filteret i 30 min. Etter de 30 min ble resterende løsning sugd av og sidene av glasset spylt ned en gang til for å sikre at mest mulig mikroplastpartikler satte seg på filteret. Deretter ble filteret overført til en petriskål med lokk som ble plassert i et varmeskap på 70 °C i nye 30 min for å sikre et bedre feste av Nile-red på mikroplasten (Maes et al., 2017).

Etter varmeskapet ble filteret fotografert under lys med bølgelengde 420-470nm fra en lommelykt (Foster + Freeman, Crime-lite 2 Blue 420-470nm) for å få mikroplasten til å fluoresere.

Filteret ble fotografert under 20x forstørrelse med Zeiss Discovery.V20 lupe som gir hver pixel en størrelse på 3.6 µm. Fokus ble funnet manuelt ved å se på filteret under normalt lys før lommelykten ble skrudd på. Når lommelykten var skrudd på var et lys filter (529 nm, Schott OG550 AG, 1% nom, cut off wavelength 550 nm Foster+Freeman) festet med teip over linsen til mikroskopet som filtrerte ut lyset fra lommelykten.

Seksjoner av filteret ble så fotografert og disse seksjonene ble så satt sammen ved bruk av programmet «image composite editor» (Microsoft, ICE, Version 2.0.3.0). ICE er et gratis bildesammensetnings program laget av Microsoft. Programmet er ikke støttet lenger og ikke tilgjengelig via Microsoft sine nettsider, men det er lett tilgjengelig fra tredjepart kilder på nettet.

Bildene av seksjonene av filtrene og de sammensatte bildene ble lagret i .tiff format og bare noen eksempler av de sammensatte bildene blir lagt med i en .zip fil pga at alle bildene totalt tar opp over 150 gb lagringsplass. Ved forespørsel kan alle bildene bli gjort tilgjengelig.

Opptellingsmetode.

Valg av opptellingsmetoder for mikroplastpartikler sto mellom to metoder.

Den ene manuell opptelling ved bruk av imageJ hvor man så på bildene og markerte av hvor mikroplasten var med et merke som hadde stigende tall. En tabell kunne så eksporteres hvor posisjonen til merkene var listet.

Den andre, et selvlaget Python-skript som ga antall og areal, skriptet følger stegene i figur 5

og er vedlagt i vedlegg 1. Hvis koden ble avsluttet før den lager .CSV filen så må den startes manuelt på nytt. Python skriptet er basert på et Matlab-skript laget under bachelor oppgaven (Thorakaas, 2022).



Figur 5: Diagram over de forskjellige trinnene i Python-skriptet som finner objekter på bildene av filtrene.

En maskin lærings modell «YOLOv8» trent opp på bilder tatt under bachelor-oppgaven ble og testet.

Maskin lærings modellen som en opptellingsmetode ble ikke brukt videre da den ikke presterte godt nok i forhold til de andre metodene samt den betydelige tiden den trengte per

trenings syklus > 24 timer og hvor krevende den var for datamaskinen å kjøre.

Selv om den ikke presterte godt nok under denne oppgaven betyr ikke det at den kan ekskluderes fra fremtidige oppgaver da den har vist seg å fungere godt når andre har brukt den til opptelling (Dave et al., 2023; Escobar et al., 2023; P. Li et al., 2023; S. Li et al., 2023; Oh & Lim, 2023; Xiao et al., 2023).

All koding ble gjort i det integrerte utvikler miljøet «Pycharm versjon 2023.3.3».

Valg av opptellings metode.

For å bestemme den beste måten å telle opp antall mikroplastpartikler per filter, ble et tilfeldig utvalg av 3 filtre fra landprøvene og 3 fra elveprøvene per metode valgt.

10 % av opptelte objekter på de utvalgte filterne ble valgt ut for å sjekke om de var plast, i tilfeller der det var få partikler ble minimum 1 partikkel sjekket.

De ble tilfeldig valgt ved å bruke tilfeldig nummer generering med antall filtre som maks nummer når filtre ble valgt. Antallet opptelt mikroplastpartikler på de utvalgte filterne ble brukt som maks tall når utvalgte partikler skulle velges.

Når de 6 filterne for manuell opptelling ble valgt, telte man opp antall mikroplastpartikler på filterne. Partiklene var ikke telt opp før filterne ble valgt.

Bekreftelse av at partiklene var mikroplast ble gjort ved å overføre dem til et objektglass for hvor man sjekket fargen og formen.

Objektglasset ble så plassert på en varmeplate satt til 200 C° i 5 min der det ble observert om de smeltet eller ble avrundet.

Partiklene som smeltet eller ble avrundet, ble antatt å være plast mens de som ikke gjorde det ble antatt å være noe annet.

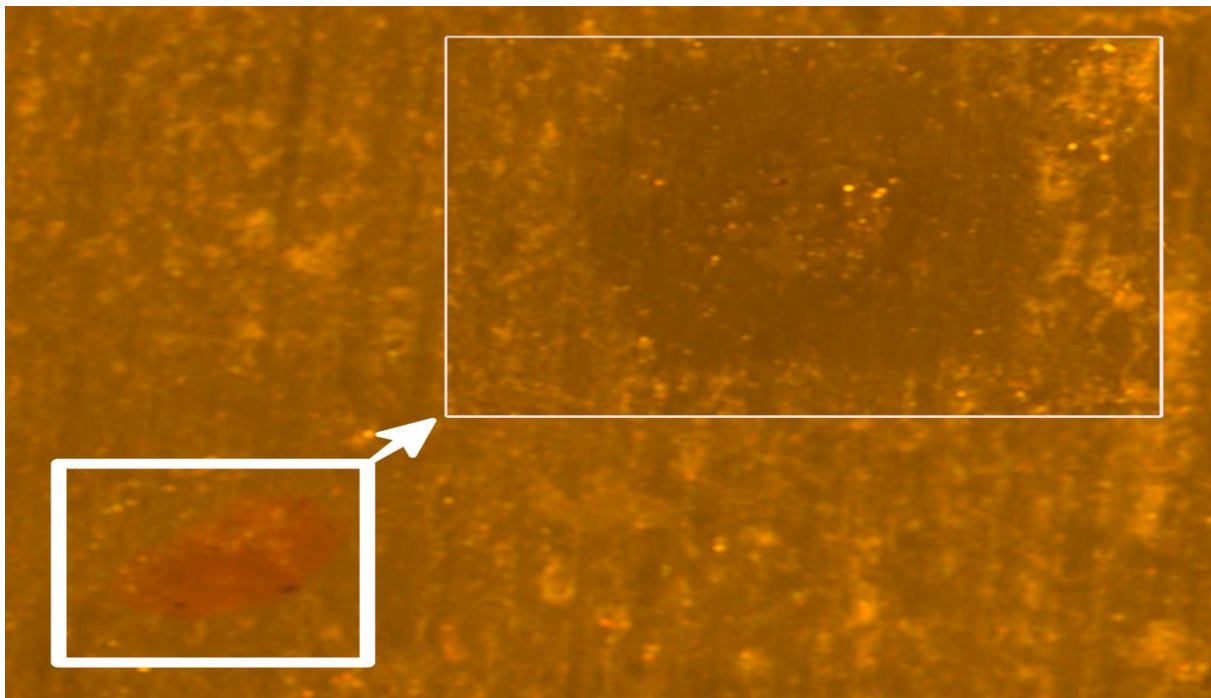
Da flere av de utvalgte mikroplastpartiklene var veldig små, ble det brukt en fuktig nål til å plukke dem opp fra filteret.

Tabell 2 viser utvalget av filtre per metode samt nummeret til mikroplastpartiklen som ble testet. Der det er understrek etter de 4 første tegnene ble prøven fordelt over 2 filtre. Står det 1 etter understreken er det filter 1 av 2 og står det 2 etter er det filter 2 av 2.

Tabell 2: Oversikt over tilfeldig utvalgte filtre og opptellingsmetode, Python kode eller Manuell opptelling og hvilke mikroplastpartikler som ble testet. L står for land, E for elv og P står for parallell.

Filter manuell	Antall	Utvalg nr.	Filter Python	Antall	Utvalg nr.
L4P2_2	7	3	L6P2	7	1
L1P2	47	24. 38. 11.	L11P3	4	3
L11P1	53	48. 11. 20.	L3P1	12	9
E6P1	4	3	E6P3	12	5
E9P1	9	4	E2P2_1	1	1
E11P1	10	3	E12P2	8	8

En kunne tydelig se de større utvalgte mikroplastpartiklene i smeltet tilstand (figur 6). De mindre partiklene var kun mulig å se i smeltet tilstand når objektet ble vinklet slik at lyset skimtet over den smeltede partikkelen.



Figur 6: Bilde av mikroplastpartikkel nr. 11 fra filter L1P2. Bildet nede til venstre viser en liten rødlig mikroplastpartikkel før varmebehandling og oppe til høyre etter varmebehandling i smeltet tilstand.

Statistisks behandling av data.

Prøvestedene er delt inn i 4 hovedgrupper land, elv, skog og jordbruk ut fra hvor prøvene ble tatt og hvilken av de to landskaps typene som var rundt dem. Fire mellomgrupper består av overlappet mellom land, elv, skog og jordbruk gruppene (figur 7).



Figur 7: Oversikt over de 4 hovedgruppene og mellomgruppene mellom dem som inngår i den statistiske behandlingen av mikroplastresultatene fra Sauarelven

Først ble det sjekket om dataen var normalfordelt for hver av de 4 hovedgruppene og mellomgruppene.

For antall mikroplastpartikler var ingen av dataen normalfordelt med unntak av mellomgruppe elv i jordbruksområde, ikke-parametriske tester ble da valgt med 0.05 som signifikansnivå.

For størrelsen (mm^2) på mikroplastpartiklene var dataen bare normalfordelt for 3 prøvesteder (E3, E5 og L6), da resten av dataen ikke var normalfordelt ble ikke-parametriske tester valgt.

Kurskal-wallis test ble brukt for å sjekke om det var en forskjell i antall basert på hoved og mellomgruppene. Ved forskjell ble dunn testen valgt som post hoc test for å finne hvor forskjellene var.

Spearman korrelasjons test ble brukt for å sjekke om det var en korrelasjon mellom følgende parametere.

- Antall mikroplastpartikler i elved sediment og prøver fra kantsone (Elv og land)
- Medianen areal på mikroplasten (Elv og Land)
- Distanse fra bygg (menneskeskapt bygninger av alle slag) til prøvestedet.

Utfordringer og feilkilder.

Prøvetaking i felt.

Prøvetaking ble først forsøkt den 23 september 2023, men det var flom i Sauarelva den dagen (figur 8). Vannstanden var godt over 1 meter lenger inn på land enn normalt.



Figur 8: Bilde tatt under første felt dag 23.9.23, viser vannstanden i Sauarelva langt over elvebredden. Foto Rolf Fredrik Thorakaas.

Det ble da ikke tatt prøver den dagen på grunn av vannstanden og prøver ble da tatt senere den 30 september for prøvesteder 1-7 og den 14 oktober for prøvesteder 8-13 (tabell 1).

Det mistenkes at flommen kan ha hatt en effekt på antall mikroplast og størrelsesfordelingen deres.

Under utførelse av analysen.

I starten av analyse arbeidet var metoden som ble brukt for å isolere mikroplasten, tetthetsseparasjon.

10 gram av prøvene ble suspendert i en 100 ml målekolbe fylt med $ZnCl_2$ løsning med tetthet på 1.4 g/ml under omrøring.

Dette fungerte for sediment prøvene hvor hovedbestanddelen var av silt, sand og grus.

Problemet oppstod med prøvene som hadde betydelige mengder dødt plantemateriale og annet organisk materiale. Under suspensjon fløt dette materiale opp til toppen og etter lang ventetid (30 min +) ville ikke det plante/organiske materialet synke.

Denne metoden ble da forkastet og den nye metode basert på Grause et al. (2022) sin metode ble brukt istedenfor.

Denne metoden viste seg å fungere bra med tanke på problemene med plante og det organiske materialet.

Metoden brukte mer tid og var mer komplisert med flere steg hvor ting kunne gå galt, noe som det gjorde et par ganger hvor prøverøret med prøven tippet over før den var lukket og man mistet innholdet. Heldigvis ble det tatt høyde for at uhell kunne skje når det ble valgt å ha 100 gram sediment lagret for hvert prøvested slik at paralleller kunne gjøres om igjen.

Den nye metoden førte til en ny mulig kontamineringskilde, prøverørene som ble kjørt i sentrifugen var laget av plast og kan ha tilført noe mikroplast.

4 Resultater

Tabell 3 viser data over gjennomsnittlig antall mikroplast per 10 gram prøve for parallellene fra land og i elven og differansen mellom antallet til dem. Tabellen illustrerer også størrelse i form av median areal (mm^2) på mikroplastpartiklene fra kantsonen på land og i elven per prøvepunkt.

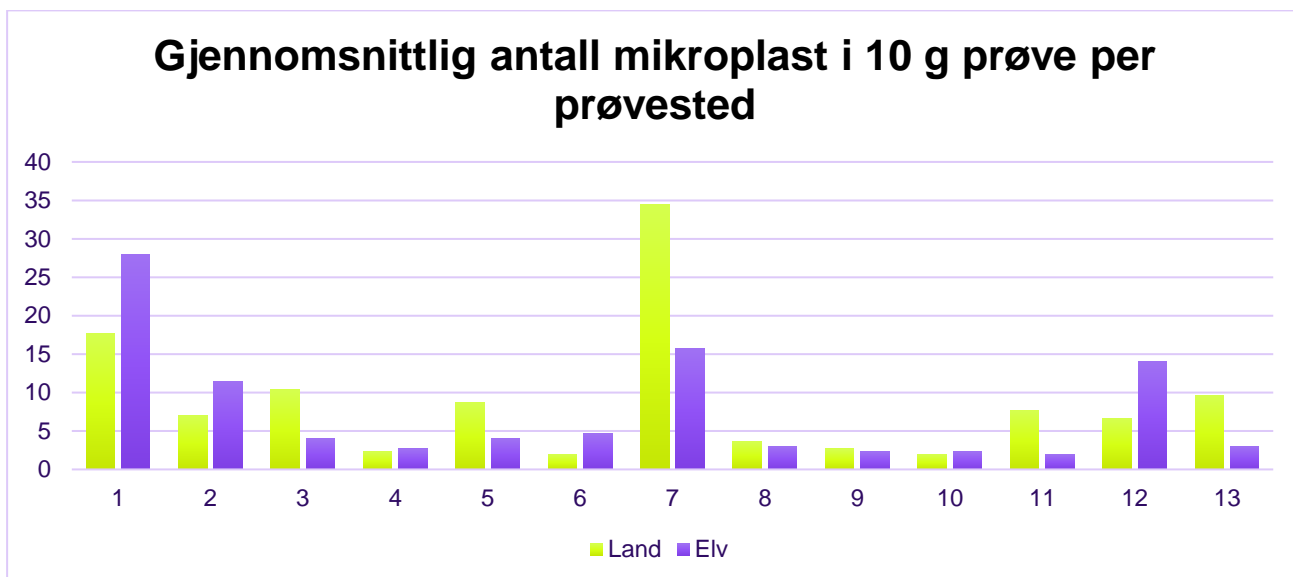
Tabell 3: Gjennomsnittlig antall mikroplastpartikler for tre paralleller av 10 gram sediment fra prøvepunkter i elven og fra land og differansen mellom antall partikler fra land og elven i Sauarelven. Median (mm^2) for mikroplastpartiklene fra prøvepunktene for land vises som L-median areal og elven E-median areal.

Sted	Land	Elv	Diff	L-median (mm^2)	E-median (mm^2)	Dist_B (m)	Landskap
1	17.67	28.00	-10.33	1.33	1.12	204.46	Skog
2	7.00	11.50	-4.50	0.88	1.33	99.30	Jordbruk
3	10.33	4.00	6.33	3.44	2.02	212.15	Jordbruk
4	2.33	2.67	-0.33	1.1	4.95	311.97	Skog
5	8.67	4.00	4.67	1.07	6.10	248.14	Jordbruk
6	2.00	4.67	-2.67	1.16	0.96	157.65	Skog
7	34.50	15.67	18.83	5.99	1.03	100.53	Jordbruk
8	3.67	3.00	0.67	1.72	1.06	209.61	Skog
9	2.67	2.33	0.33	1.42	3.48	244.46	Skog
10	2.00	2.33	-0.33	1.65	0.99	124.77	Jordbruk
11	7.67	2.00	5.67	0.91	1.83	308.37	Skog
12	6.67	14.00	-7.33	1.01	0.75	20.96	Jordbruk
13	9.67	3.00	6.67	1.18	1.06	72.77	Jordbruk

Mikroplast i elven og på land.

Figur 9 viser en oversikt over antall mikroplastpartikler per prøvested i kantsonen på land og i elven, 5 prøvesteder 1, 2, 4, 6, og 12 hadde høyere antall mikroplastpartikler i elven enn på land. I de andre prøvepunktene var det et høyere antall mikroplastpartikler i kantsonen på land enn i elven. Prøvepunkt 1 i elven hadde størst antall mikroplastpartikler for prøver fra elven mens prøvepunkt 7 hadde størst antall partikler for prøver tatt på land.

Punkt 1 hadde 10.3 partikler mer i elvesediment enn i prøver fra land og punkt 7 18.8 flere mikroplastpartikler i prøver fra land enn i elva. Dette var de med størst differanse i antall mikroplastpartikler.



Figur 9: Gjennomsnittlig antall mikroplastpartikler per prøvested i Sauarelven i en 10 gram prøve. Prøver fra land i grønt og prøver fra elven i fiolett.

Testing for Normalfordeling.

Bare prøvene fra elven i jordbruksområder har en Shapiro p-verdi > 0.05 med median og modus som overlapper, men gjennomsnittet var nesten dobbelt så stort som medianen (tabell 4). Verdiene for alle gruppene viser at ingen følger reglen med nærliggende gjennomsnitt, median og modus for normalfordeling.

Tabell 4: Gjennomsnitt, median, modus og p-verdi (shapiro-test 0.05 signifikans nivå) for antall mikroplastpartikler per hoved og mellomgruppene i prøver fra Suaarelva.

Gruppe	G.snitt (mm)	Median (mm)	Modus (mm)	P-verdi
Elv	7.47	4	2.33	9.8E-04
Elv.Jordbruk	7.78	4	4	0.06
Elv.Skog	7.11	2.83	2	2.1E-4
Jordbruk	9.52	7.83	4	2.4E-03
Land	8.83	7	2	1.1E-03
Land.Jordbruk	11.26	8.66	2	3.6E-03
Land.Skog	6	3.16	2	0.01
Skog	6.55	2.83	2	1.7E-04

For hoved og mellomgruppene falt ikke gjennomsnitt, median og modus nært hverandre og p-verdien fra Shapiro testen var < 0.05 for alle. Ingen av dem var da normalfordelt (tabell 5).

Tabell 5: Gjennomsnitt, median, modus av arealet (mm²) og p-verdi (shapiro-test 0.05 signifikans nivå) for mikroplastpartikler per hoved og mellomgruppe for prøvene fra Sauerelven.

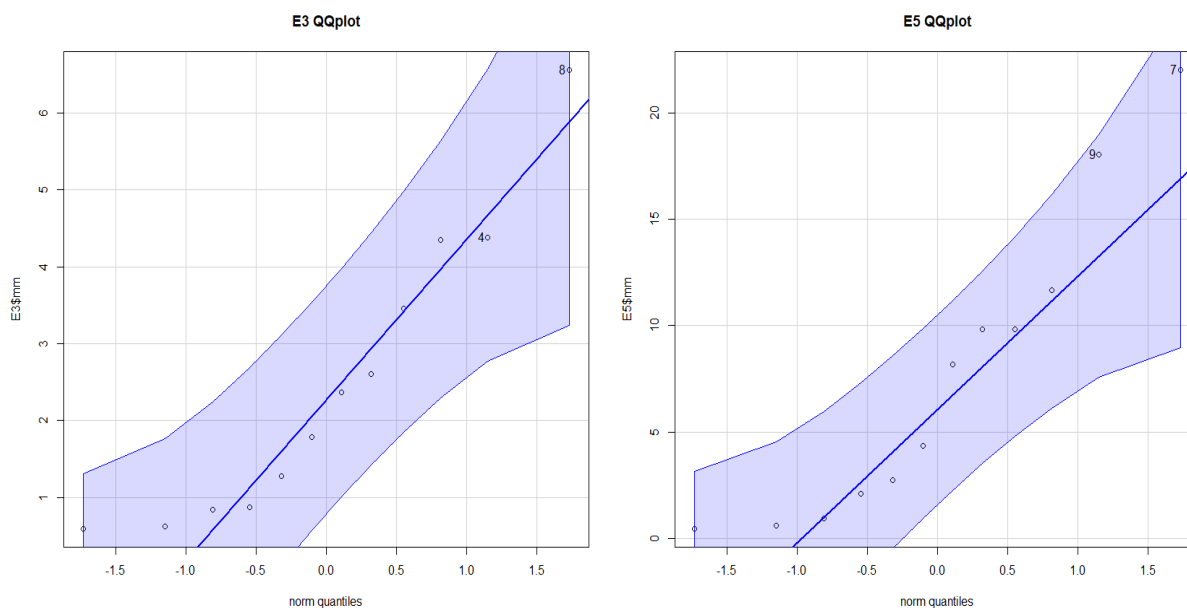
Gruppe	G.snitt (mm ²)	Median (mm ²)	Modus (mm ²)	P-verdi
Elv	5.84	1.15	0.76	2.37E-31
Land	8.18	1.40	0.63	6.86E-33
Jordbruk	6.50	1.34	0.65	1.23E-31
Skog	7.72	1.22	0.58	8.38E-32
Elv.Jordbruk	3.49	1.10	0.57	8.22E-25
Elv.Skog	8.19	1.22	0.55	1.07E-21
Land.Jordbruk	8.90	1.86	0.59	3.31E-22
Land.Skog	7.23	1.20	0.58	4.48E-24

For størrelsen (mm²) på mikroplastpartiklene per prøvepunkt hadde punkter 3 & 5 i Elven Shapiro-verdien >0.05 og gjennomsnitt, median og modus som falt nær hverandre (tabell 6).

Tabell 6: Gjennomsnitt, median, modus av arealet (mm²) og p-verdi (shapiro-test 0.05 signifikans nivå) for mikroplastpartikler per prøvepunkt fra elven.

Prøvepunkt Elv	G.snitt (mm ²)	Median (mm ²)	Modus (mm ²)	P-verdi
E1	7.09	1.15	0.64	5.45E-15
E2	10.72	1.37	10.12	1.88E-09
E3	2.47	2.08	1.27	0.11
E4	31.71	5.09	0.68	3.09E-05
E5	7.55	6.27	9.81	0.10
E6	5.11	0.98	0.76	4.21E-05
E7	2.31	1.06	0.58	8.17E-10
E8	3.63	1.09	22.35	2.89E-06
E9	6.17	3.58	0.84	0.01
E10	1.33	1.01	3.16	1.4E-03
E11	9.94	1.88	1.31	2.4E-04
E12	1.82	0.78	0.57	2.02E-12
E13	1.88	1.09	0.61	1.2E-03

QQplottet i figur 10 under viser at størrelses verdiene (mm^2) til mikroplastpartiklene faller nærme streken. Verdier for punkter 3 & 5 i elven er da tilnærmet normalfordelt.

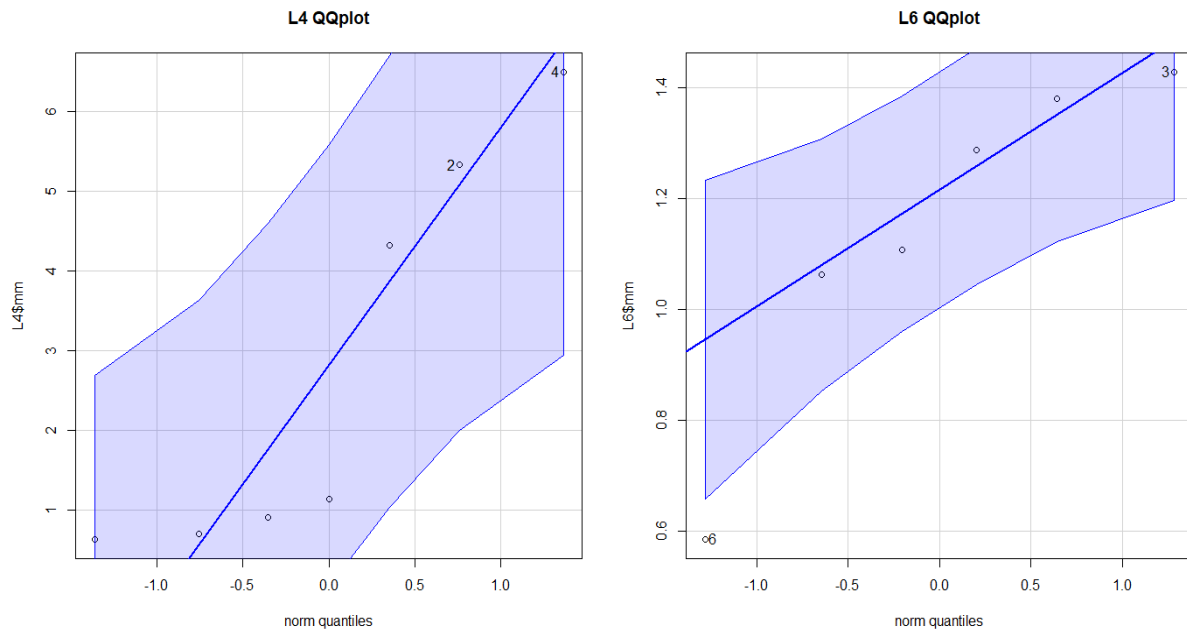


Figur 10: QQplot over størrelsen (mm) på mikroplastpartiklene i punktene 3 (til venstre) & 5 (til høyre) i fra elvelokalitetene i Sauarelva.

For punkter på land hadde punkter 4 og 6 Shapiro-verdi >0.05 , for punkt 4 er gjennomsnitt, median og modus ikke nærme hverandre. Punkt 6 har gjennomsnitt, median og modus nærme hverandre (tabell 7).

Tabell 7: Gjennomsnitt, median, modus av arealet (mm^2) og p-verdi (shapiro-test 0.05 signifikans nivå) for mikroplastpartikler per prøvepunkt fra kantsonen på land ved Sauarelva.

Prøvepunkt Elv	G.snitt (mm^2)	Median (mm^2)	Modus (mm^2)	P-verdi
L1	7.12	1.37	0.98	3.36E-15
L2	1.67	0.91	1.42	6.21E-09
L3	15.97	3.54	1.33	4.16E-09
L4	2.78	1.13	0.69	0.052
L5	16.24	1.1	1.22	1.99E-10
L6	1.14	1.19	1.28	0.257
L7	13.18	6.16	9.03	1.44E-07
L8	4.16	1.76	1.85	8.10E-06
L9	7.15	1.45	12.23	0.004
L10	6.17	1.70	19.74	0.021
L11	1.74	0.93	0.85	8.64E-07
L12	2.02	1.04	1.08	3.19E-05
L13	1.69	1.21	1.20	1.15E-04

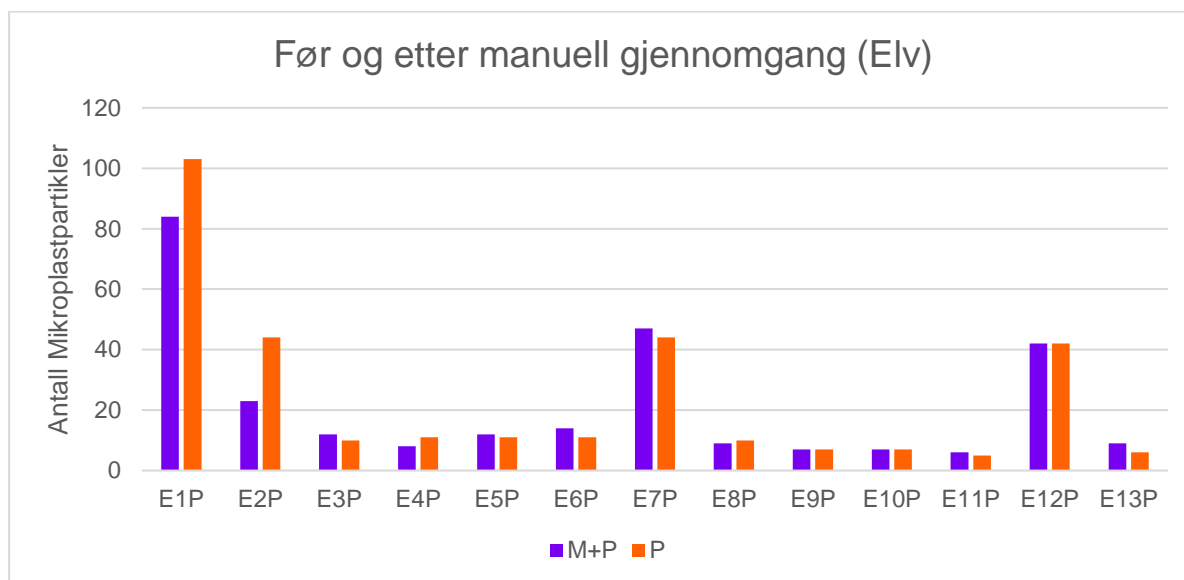


Figur 11: QQplot over størrelsen (mm^2) på mikroplastpartikler i punkter 4 (til venstre) & 6 (til høyre) på land ved Sauarelva.

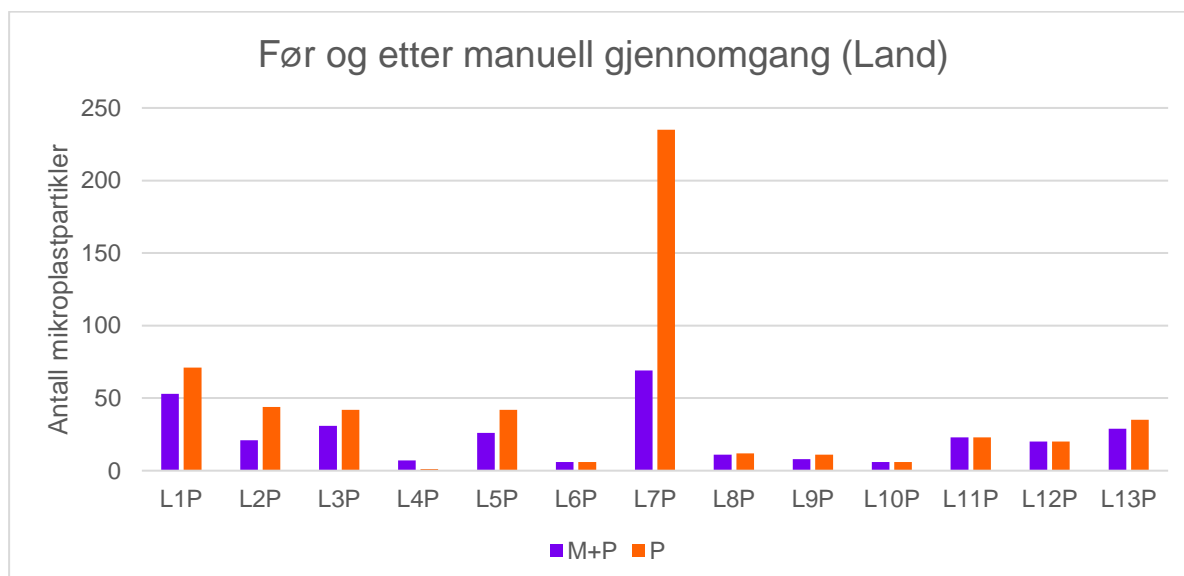
I figur 11 følger verdiene i plottet for prøvested 4 ikke linjen, for prøvested 6 følger punktene linjen nærmere. Fordelingen i punkt 6 er da tilnærmet normalfordelt.

Differanse mellom Python opptelling og Python + manuell opptelling.

Figurer 12 & 13 viser differansen mellom opptelte mikroplastpartikler direkte fra Python skriptet merket «P» og etter manuell gjennomgang merket «M+P».



Figur 12: Antall mikroplastpartikler per sted i elven, opptelt med Python koden i oransje og manuell gjennomgang av Python koden i lilla.



Figur 13: Antall mikroplastpartikler per sted på Land, opptelt med Python koden i oransje og manuell gjennomgang av Python koden i lilla.

Diagrammene viser at med unntak av punkter 3, 5, 6, 7 og 13 fra elven og 4 fra kantsonen på land var nivået av mikroplast lavere etter manuell gjennomgang.

Testing for forskjell i antall og størrelse basert på Hoved (Land, Elv, Skog og Jordbruk) og mellomgrupper.

Tabell 8 viser oversikten over p-verdien fra den ikke parametriske testen, Kruskal-wallis med tanke på antall mikroplastpartikler. Mellom gruppene Land – Elv, Skog – Jordbruk og mellomgruppene av dem, elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder.

Tabell 8: Kruskal-Wallis test for forskjell i antall mikroplastpartikler for hoved (land, elv, skog og jordbruk) og mellomgruppene (Land - Elv x Skog – Jordbruk), elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder. Med signifikansnivå på 0.05 var ingen signifikant forskjellige.

Grupper	P-Verdi	Signifikant?
Land – Elv	0.719	Nei
Skog – Jordbruk	0.093	Nei
Land - Elv x Skog – Jordbruk	0.398	Nei

Med signifikans nivå på 0.05 sier p-verdiene at det ikke er noen forskjell i antall mikroplastpartikler mellom Land – Elv og Skog - Landbruk. Det var heller ikke signifikant forskjell for mellomgruppene, elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder.

Tabell 9 viser samme test utført på median størrelse (mm²) av mikroplastpartiklene. P-verdien viser statistisk signifikant forskjell mellom Land – Elv med signifikansnivå 0.05. Land hadde større partikler med median på 1.41 mm² for land og 1.22 mm² for elven. Den viser og signifikant p-verdi for mellomgruppene, elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder.

Tabell 9: Kruskal-wallis testen for median størrelse (mm²) for mikroplastpartiklene for hoved (land, elv, skog og jordbruk) og mellomgruppene (Land – Elv x Skog – Jordbruk), elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder.

Gruppe	P-verdi	Signifikant
Land – Elv	0.036	Ja
Jordbruk – Skog	0.59	Nei
Land – Elv x Skog – Jordbruk	2.03E-04	Ja

Resultatene i tabell 10 viser hvilke av mellomgruppene som hadde statistisk signifikant forskjell i median størrelse (mm²) etter dunn testen. Jordbruksområder hadde signifikant forskjell i median størrelse (mm²) mellom prøvene fra

kantsonen på land (1.96 mm²) og sedimentet i elven (1.17 mm²).

For prøver på land var det signifikant forskjell i median størrelsen (mm²) mellom områdene med jordbruk og skog, jordbruksområdene hadde større partikler (1.96 mm² for jordbruk og 1.2 mm² for skog). P.adj er justert p-verdi for å ta høyde for mulig type 1 feil når flere sammenligninger blir gjort.

Tabell 10: Post-hoc dunn test for forskjeller i median størrelse (mm²) for mikroplastpartikler i de forskjellige mellomgruppene av hovedgruppene. Når både p.unadj og p.adj er under 0.05 er det signifikant forskjell.

Post-hoc dunn test	P.unadj	P.adj	Signifikant? Størst median (mm ²).
Elv.Jordbruk - Elv.Skog	0.015	0.093	ikke signifikant forskjell
Elv.Jordbruk - Land.Jordbruk	3.12E-05	1.87E-04	Signifikant forskjell Land.Jordbruk
Elv.Skog - Land.Jordbruk	0.082	0.497	ikke signifikant forskjell
Elv.Jordbruk - Land.Skog	0.373	1	ikke signifikant forskjell
Elv.Skog - Land.Skog	0.157	0.946	ikke signifikant forskjell
Land.Jordbruk - Land.Skog	0.002	0.013	Signifikant forskjell Land.Jordbruk

Tabell 11 viser resultatene fra post hoc dunn testen av median størrelse (mm²) på mikroplastpartiklene mellom prøvesteder på land og prøvesteder i elven.

Tabell 11: Tabell over resultatene for post hoc dunn testen av median størrelse (mm²) på mikroplastpartiklene mellom prøvesteder på land og mellom prøvesteder i elven, bare de med signifikant P.adj er listet.

Sammenligning	P.unadj	P.adj	Størst median (mm ²)
L11 - L3	2.87E-04	0.022	L3
L2 - L3	8.39E-05	0.006	L3
L1 - L7	1.15E-04	0.008	L7
L11 - L7	1.50E-06	1.17E-04	L7
L12 - L7	1.36E-04	0.01	L7
L13 - L7	4.58E-05	0.003	L7
L2 - L7	3.33E-07	2.60E-05	L7
L5 - L7	3.58E-05	0.002	L7
E12 - E2	5.27E-04	0.041	E2

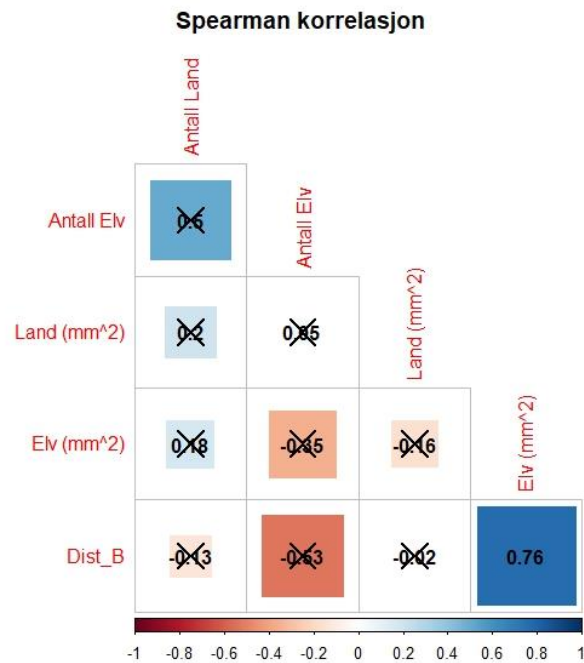
Prøvested 7 på land skiller seg ut da den er signifikant forskjellig fra 6 av 13 prøvesteder.

Prøvested 3 på land skiller seg og ut med signifikant forskjell fra sted 2 & 11, for elven er det

bare prøvested 2 og 12 som er signifikant ulike med sted 2 med større median (mm^2), gjennomsnitt (mm^2) og modus (mm^2).

Spearman Korrelasjons.

Figur 14 visualiserer resultatene for den ikke parametriske Spearman korrelasjonen for de forskjellige parameterne.



Figur 14: Spearman korrelasjon mellom mikroplast Antall, median (mm^2) og Distanse fra bygg, r-verdi med kryss over indikerer p -verdi >0.05 og derfor ikke statistisk høy sjanse for at korrelasjon er mer en sjanse. Distanse fra bygg (Dist_B) og gjennomsnittlig størrelse på mikroplast for elven er eneste med p -verdi (<0.05). X-aksen er r-verdier fra -1 til 1. Laget i Rstudio.

Kun korrelasjonen mellom Distanse fra bygg og median (mm^2) på mikroplasten i elved sediment har et statistisk signifikant forhold med positiv korrelasjon (figur 14).

Tabell 12 viser oversikten over Spearman korrelasjonen mellom de forskjellige parameterne og p-verdien for testen.

Tabell 12: Oversikt over r-verdiene mellom de forskjellige parameterne og p-verdien fra Spearman testen, bare distanse fra bygg (Dist_B) og median (mm²) på mikroplasten (Elv (mm²)) fra elven har p-verdi(<0.05).

Kombinasjon	r-verdi	P-verdi
Land – Elv	0.501	0.08
Land – Land (mm ²)	0.203	0.504
Land – Elv (mm ²)	0.178	0.558
Land – Dist_B	-0.134	0.660
Elv - Land (mm ²)	0.046	0.879
Elv - Elv (mm ²)	-0.353	0.236
Elv – Dist_B	-0.532	0.061
Elv (mm) – Land (mm ²)	-0.164	0.590
Dist_B – Land (mm ²)	-0.021	0.943
Dist_B – Elv (mm ²)	0.763	0.002

Flere viser moderate r-verdier >0.4, men p-verdier >0.05 som indikerer at korrelasjonene ikke er mer en sjanse.

5 Diskusjon

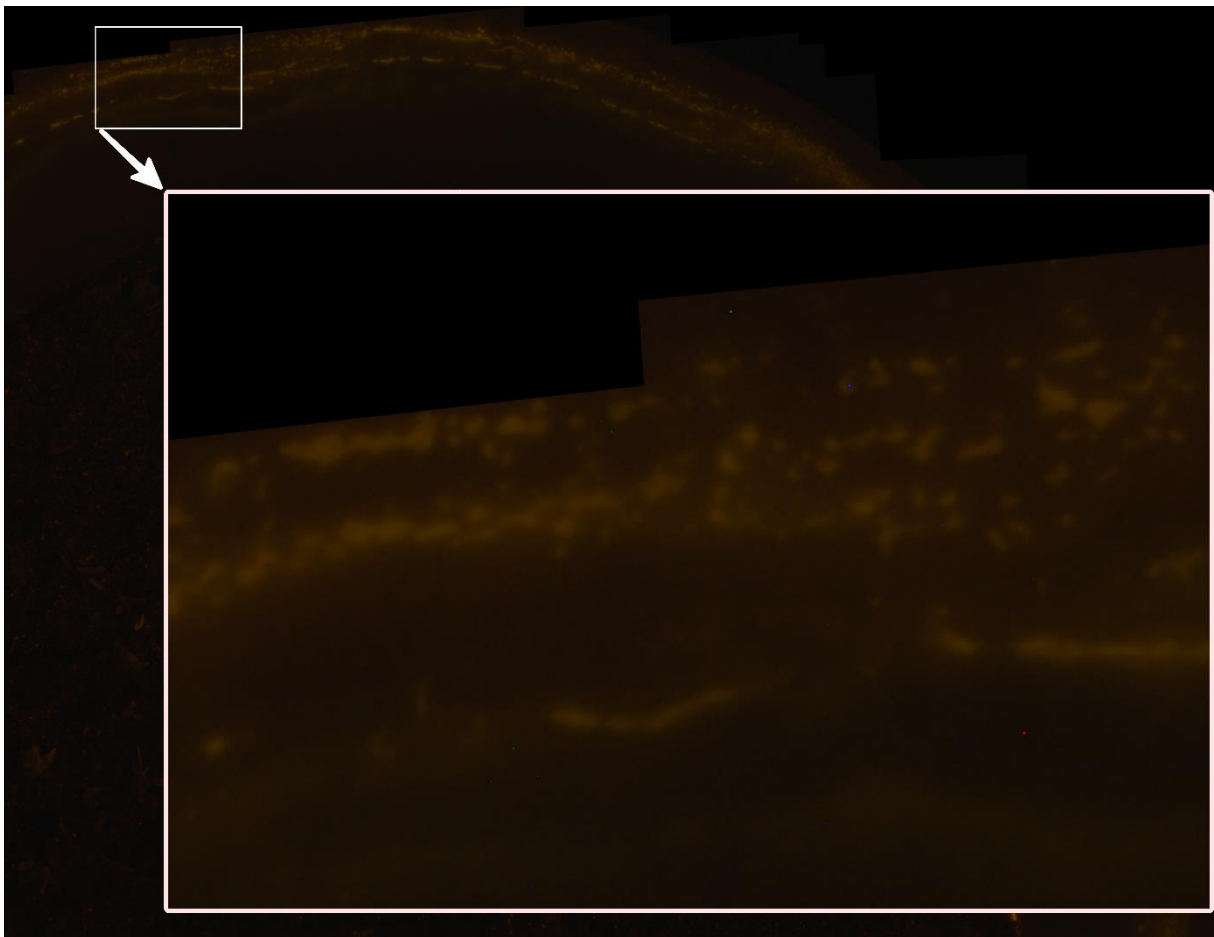
Valg av opptellings metode.

Resultatet fra testingen av opptellings metodene viste at alt som var merket som mikroplast fra de 10 % utvalgte mikroplast bitene fra filtrene for begge metodene var mikroplast.

Det ble allikevel valgt å kombinere metodene, først gikk en over med Python-skriptet og så en gang til ved å manuelt merke mikroplastpartikler.

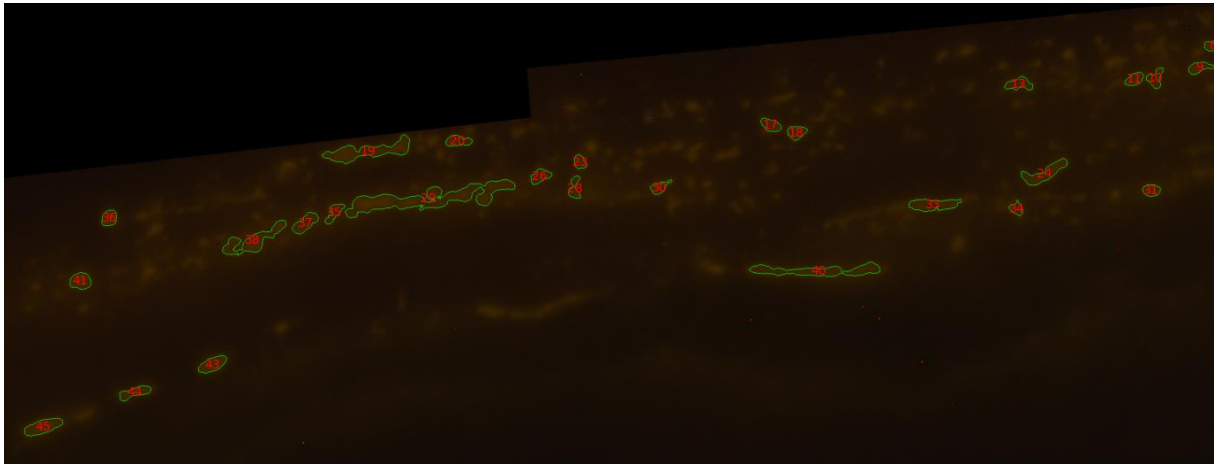
Dette valget ble gjort da en kunne se at Python-skriptet ikke alltid telte opp alt man gjerne ville telle opp hvis en manuell opptelling hadde blitt utført.

En kunne og se problemer under opptellingen med Python koden når deler av kanten på filteret som var utenfor den indre sirkelen til filterkoppens lyste opp (figur 15).



Figur 15: Uthevning av en del av kanten på filter L8P3 der man kan se kanten av filteret lyse opp. Dette skaper problemer ved bruk av Python-skriptet for mikroplast opptelling.

De lyse områdene ble da telt opp som mikroplast av koden noe som ga en mye høyere sum av mikroplast enn det som faktisk var på filteret (figur 16).

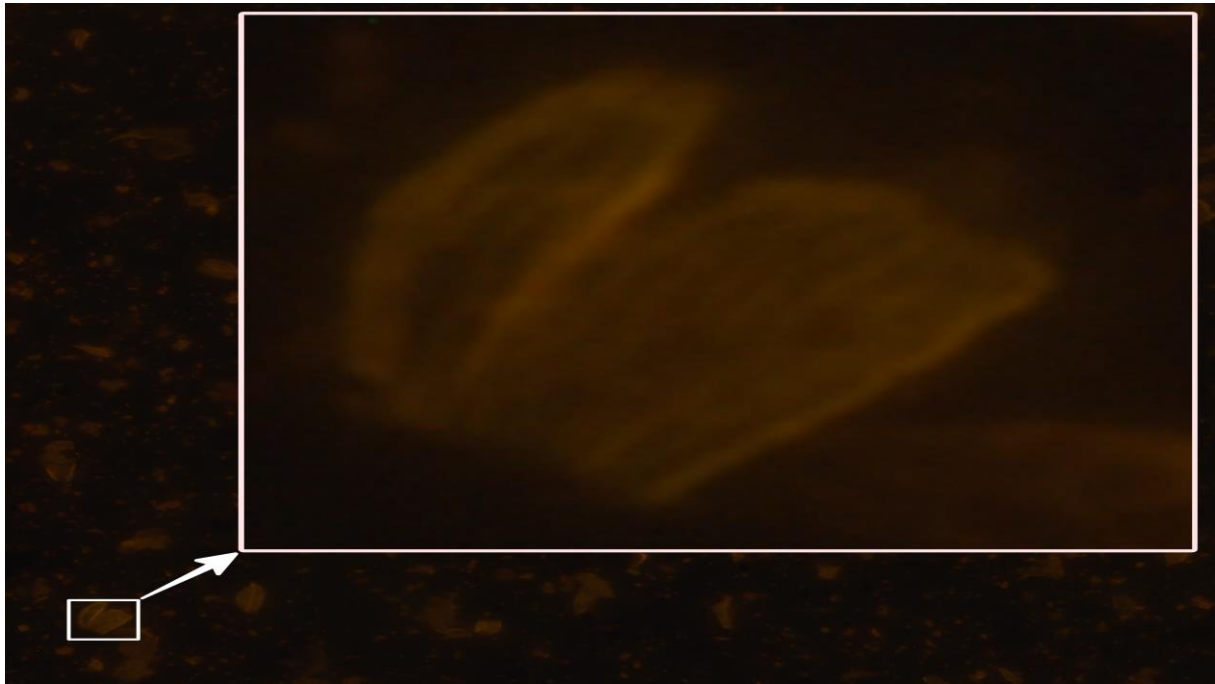


Figur 16: Eksempel på hvordan de lyse områdene på kanten av filteret ble telt opp av koden noe som ga feilaktig antall mikroplastpartikler på filteret.

Hvorfor kanten på filteret lyste opp er usikkert da det ikke burde være noe som Nile-red løsningen kan feste seg på langs kanten og som vil føre til fluorisering under belysning. I tilfellene der kanten på filteret lyste opp, ble det valgt å beskjære bildet slik at bare den delen av filteret som var innenfor den indre kanten til filterkoppene var med på bildet.

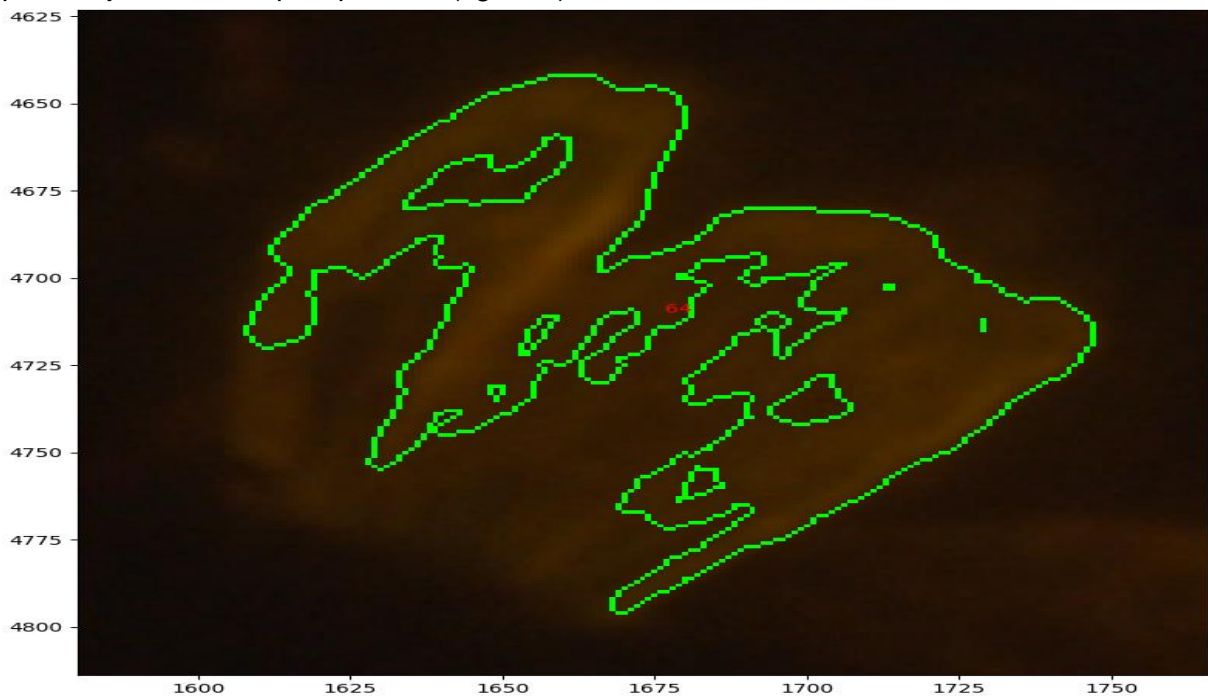
Det kan nok være at dette er bakgrunnsstøyen som Maes et al. (2017) snakket om med tanke på konsentrasjonen til Nile-red løsningen. Selv om beskjæringsmetoden fungerer er det nok verdt å undersøke hvordan andre konsentrasjoner av Nile-red løsningen vil fungere slik at beskjæringssteget ikke trengs.

I noen av prøvene var det betydelige mengder plantemateriale som ikke var særlig nedbrutt. Når det ble tatt bilder av filterene fra disse prøvene, var det tydelig at organisk materiale hadde blitt farget. Under belysning fluoriserte disse som om det ville være mikroplast (figur 17).



Figur 17: Utklipp av filter (L2P2) der betydelige mengder organisk plantemateriale har kommet seg gjennom den organiske nedbrytningsprosessen. I uthevingen kan man se det som ser ut som strukturen til et blad/siv som lyser opp på samme måte som mikroplastpartikler ville gjort.

Når bildet så ble kjørt gjennom Python-koden ble deler av dette organiske materialet telt opp på lik linje med mikroplastpartikler (figur 18).



Figur 18: Resultatet av å kjøre Python koden på filter L2P2. Bildet viser samme plantebit som i figur 17, opptelt som om det skulle være mikroplast.

I andre tilfeller hvor mikroplastpartikler ikke fluoriserte like sterkt over hele overflaten ble de telt opp som mer enn en sammenhengende bit, noe som førte til et høyere antall mikroplast enn det som det faktisk var.

En løsning på problemet med organisk materiale som ikke ble nedbrutt, kan være lengre omrøring med KOH:NaClO 30 % (v/v) løsningen for å sikre fullstendig nedbrytning av organisk materiale.

På grunn av de problemene ble den manuelle opptellingsmetoden og Python-skriptet kombinert for å sikre en så nøyaktig opptelling som mulig. Dette var tidskrevende, men mindre tidskrevende enn den manuelle metoden. Størrelsen på mikroplastpartiklene ble ikke målt med den manuelle metoden med mindre man tegnet rundt mikroplasten og manuelt noterte ned størrelsen. Med Python koden fikk man med størrelsen automatisk.

Tolking av resultater.

Forskjell i mikroplast antall og størrelse mellom Hovedgruppene (land, elv, skog og jordbruk), mellomgruppene og prøvestedene.

Antall mikroplastpartikler.

Ut fra p-verdiene fra Kruskal-Wallis testene er det ikke statistisk signifikant forskjell i antall mikroplastpartikler mellom hovedgruppene land, elv, Skog og Landbruk eller mellomgruppene elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og prøver fra land i jordbruksområder

Det ble forventet forskjell i antall mikroplastpartikler ut fra om området rundt var skog eller landbruk, men det ble ikke påvist

Dette kan ha med flommen å gjøre som kan ha utjevnet ulikhetene mellom gruppene.

Det finnes lite publisert informasjon rundt endring i mikroplast nivået på land og i elvesediment etter flom-hendelser.

En av de få artiklene som direkte tar for seg endringer relatert til flom er Hurley et al. (2018) som viste betydelig mindre mengder mikroplast i elvesedimenter i 28 av 40 steder etter en flomperiode i vinteren 2015/16 enn prøver tatt på samme punkter tidligere under normal vannføring.

De beskriver flommene i perioden som alvorlige, i kontrast til flommen som rammet Sauarelven som var ganske liten.

Ockelford et al. (2020) undersøkte effekten av flommer på utvekslingen av mikroplast mellom elvesediment og vannsøylen. De fant at ved flom hendelser økte transporten av mikroplast i sedimentet til vannsøylen grunnet bevegelse av sedimentet.

Man har ikke topografiske modeller over sedimentet i elven som kan brukes til å vurdere effekten av flommen eller satellittbilder med høy nok oppløsning for å kunne se mulig endring i elvesedimentet. Dette gjør det vanskelig å vurdere effekten flommen har hatt på målingene fra elven med tanke på både antall og størrelsen til mikroplastpartiklene.

Med tanke på flommens effekt på prøvene tatt i kantsonen på land fant Han et al. (2022) at kraftig regn hadde større evne til å vaske vekk mikroplast enn hyppigere mildere regnfall som hadde en liten effekt.

Flommen vil nok fungere på samme måte som veldig sterkt regnfall og skylle vekk noen mikroplastpartikler.

Han et al. (2022) fant og at mindre planter som gress og siv senket mengden mikroplast som ble skylt vekk av regn og at mindre mikroplastpartikler var mer mobile enn større partikler.

Rolf et al. (2022) fant lignende resultater når de undersøkte effekten av hyppigheten av flom og topografien på antall mikroplastpartikler i en flomslette i Tyskland langs Rhinen. De fant at flomsletten hadde større mengder mikroplast hvor det var mye gress, og jo lenger inn fra elvekanten prøvene ble tatt.

Det mistenkes derfor at flommen i Sauarelvva har hatt en effekt på antall mikroplast og størrelsesfordelingen på land. Om effekten er fjerning eller tilførelse av mikroplast og om den førte til forskyvning av størrelsesfordelingen mot større partikler er usikkert.

En annen faktor som kan påvirke antall mikroplastpartikler i området er mengden forsøpling i et område, da en av kildene til mikroplast er fragmentering og nedbrytning av større plastbiter til mikroplast (Cole et al., 2011).

I forbindelse med prøvetaking langs Sauarelvven ble det ikke observert betydelige mengder plast søppel liggende ute i naturen. Det ble funnet et par tomme brus-flasker flytende i elven og et lite sitteunderlag. Det ble heller ikke observert noen større plastbiter (>5 mm) under sikting eller mikroplastpartikler (>1 mm) som kunne være en mulig kilde.

Området langs Sauarelvven er ikke tungt befolket, med hovedsakelig spredte boliger ned mot elven. Mer utbygde områder vil ha mer mikroplast og mindre utbygde vil ha mindre (Cakaj et al., 2023; Parameswarappa Jayalakshamma et al., 2023; Su et al., 2020).

En annen mulig årsak er at fraksjonen av sedimentet som lå mellom 1 – 5 mm ikke ble brukt i analysen. Den delen av sediment fraksjonen kunne muligens endret resultatene avhengig av hvor mye mikroplast i den størrelsesfraksjonen det var. Dette fører og til at resultatene bare er representative for fraksjonen av partikler fra 1 mm og nedover.

Størrelse.

Kruskal-wallis testen for median størrelse (mm^2) på mikroplastpartiklene viser signifikant forskjell mellom land og elv samt mellomgruppene, elv i skogsområder, elv i jordbruksområder, land i skogsområder og land i jordbruksområder.

Dunn testen som ble brukt for å finne hvor forskjellene var i mellomgruppene viser at median størrelse (mm^2) for gruppen elv i Jordbruksområder var forskjellig fra land i Jordbruksområder. Gruppen land i jordbruksområder var og signifikant forskjellig fra land i skogsområder, hvor land i jordbruksområder hadde større median for størrelsen (mm^2). Videre viser resultatene at Punkt 3 har større median for størrelsen (mm^2) på mikroplastpartiklene enn de fra punkter 2 og 11. Punkt 7 er signifikant forskjellig fra punkter 1, 2, 5, 11, 12 og 13 for landmålingene, hvor punkt 7 hadde større median størrelse (mm^2) på partiklene.

For målinger i elven er punkt 12 forskjellig fra punkt 2, hvor punkt 12 hadde større median størrelse (mm^2) enn punkt 2 for partiklene.

For median størrelse (mm^2) på mikroplasten på land og i elven er størrelsen høyere på land, både gjennomsnittlig størrelse (mm^2) og median størrelse (mm^2) er større på land enn i elven. Dette kan komme av at større mikroplastpartikler krever mer for å bli transportert fra jorden ut til elven, mens mindre partikler er mer mobile (Han et al., 2022).

Lignende resultat for jordbruksprøver fra land og elven kan ha samme grunnen, men områdene er utsatt for mer potensial forurensing fra aktiviteter relatert til jordbruk som kan øke forskjellene av den grunnen.

Det ble ikke funnet noe informasjon om bruken av avløpslam på jordbruksområdene, dette kan ha en effekt da det inneholder mikroplast (Schell et al., 2022; Tagg et al., 2022). Hvis avløpslam brukes kan kombinasjonen av tilførelsen av mikroplast og at mindre mikroplastpartikler er mer mobile føre til at de større mikroplastpartiklene fra avløpslammet ligger igjen mens de mindre partiklene blir vasket vekk av regn. Områdene med kornproduksjon ligger og med bart jordlag i perioder som kan føre til lettere utvasking av mindre mikroplastpartikler da det ikke er noe vegetasjon som kan holde det tilbake (Han et al., 2022).

Forskjellen i median størrelse (mm^2) til mikroplastpartiklene mellom jordbruks og skogsområder på land gir intuitiv mening. Områder med skog har mindre ferdsel og menneskelige aktiviteter som kan føre til økt tilførsel av mikroplast. Da de mindre mikroplast partiklene er mer mobile enn de større vil nok prøvestedene i områdene med skog som alle er et godt stykke (100 m +) unna bygg for det meste få tilført de mindre mikroplastpartiklene (Han et al., 2022).

Det som er overaskende, er at det ikke er forskjell mellom områdene i elven med jordbruk rundt seg og de med skog. Dette kan bety at områdene rundt elven ikke har noen målbar signifikant effekt på størrelsen på mikroplasten som sedimenteres ned.

En annen grunn kan være at det ikke ble valgt områder i elven med mye vannplanter når man tok prøvene, da det heller ble valgt steder der det var lettere å ta prøver. Dette kan ha ført til et feilaktig bilde av effekten områdene rundt har. Helcoski et al. (2020) fant at plantevegetasjon fungerte som et filter som økte mikroplastpartiklenes sedimentasjon. Liu et al. (2022) fant lignende resultater med høyere nivåer av mikroplast i områder med mangrover.

For forskjell i median størrelse (mm^2) på mikroplastpartiklene per prøvested var det kun punkt 7 på land som skilte seg spesielt ut da den var statistisk signifikant forskjellig fra 6 av 13 prøvepunkter fra kantsonen på land. I motsetning til prøven fra land i punkt 3 som bare var signifikant forskjellig fra prøven fra land i punkt 2 og 11, samt prøven fra punkt 2 i elven som var signifikant forskjellig fra punkt 12.

Hvorfor prøven i punkt 7 er forskjellig fra de 6 andre prøvepunktene er usikkert, gjennomsnittlig areal for mikroplastpartiklene i punkt 7 er større enn 5 av 6 punkter. Median størrelse (mm^2) til mikroplastpartiklene i punkt 7 er betydelig større enn de andre med 6.16 mm^2 hvor den nest største median for partiklene ble dokumentert for punkt 1 med 1.38 mm^2 . Området rundt punkt 7 er ikke spesielt forskjellig fra de andre områdene.

Det er et større jordbruksområde ovenfor prøvepunktet og ut fra historiske flyfoto over området kan en ikke se at det har vært noe større byggeprosjekt eller aktiviteter rundt prøvepunktet som kan være årsaken.

En mulig forklaring kan være punktutslipp fra en kilde som ikke kunne ses under prøvetaking. Da det er jordbruksområde kan det og være utslipp grunnet slitasje av deler laget i plast som brukes under drift av området.

For resten av punktene kan det heller ikke ses en klar grunn til forskjell i median størrelse (mm^2) på mikroplastpartiklene. Det kan hende at disse punktene skiller seg pga punkt utslipp som har ført til større mikroplastpartikler i områdene rundt punkter 3 og 2. Som nevnt for antallet kan det være at hvis alt av sedimentet med størrelse fra 5 mm og nedover ble brukt ville resultatet vært annerledes.

Det kan også være rene tilfeldigheter som er årsaken. Uten å dra tilbake og undersøke områdene på nytt er det nok umulig å bestemme hvorfor de skiller seg ut.

Spearman korrelasjonen.

Den eneste signifikante korrelasjonen var mellom distanse fra bygg til prøvepunktene og median størrelse (mm^2) på mikroplasten i elven. Det er usikkert om denne korrelasjonen faktisk er korrekt eller om det er feil selv om p-verdien er signifikant.

Hvis utslipp fra bygg eller aktiviteter knyttet til byggene generelt gir større mikroplastpartikler kan det kanskje argumenteres for at større mikroplastpartikler trenger mer tid til å sedimentere pga økt overflate. Dette gjør dem mer påvirket av strømmen til vannet og vil da fraktes lenger nedstrøms før de stopper. Dette er et svakt argument da det allerede er argumentert for at mindre mikroplastpartikler er mer mobile og større partikler er mindre mobile. Ut fra dette ville en negativ korrelasjon vært forventet. Da datagrunnlaget for testen bare er fra 13 prøvepunkter vil nok et større datasett gi et annet resultat.

6 Konklusjon

Resultatene fra denne oppgaven støtter problemstillingen om at området rundt vil ha en effekt på størrelsesfordelingen på mikroplastpartiklene i Sauarelva. Resultatene støtter ikke antagelsen om at områdene rundt vil påvirke antall mikroplastpartikler da ingen av testene for antall ga noen signifikante p-verdier.

Det var signifikant forskjell i median størrelse (mm^2) til mikroplastpartiklene mellom prøver fra elven og kantsonen på land hvor landprøvene hadde større median (mm^2) på mikroplastpartiklene. Prøver fra elven i jordbruksområder og fra land i jordbruksområder hvor prøvene fra land hadde større median (mm^2) på mikroplastpartiklene og mellom prøver fra skog og jordbruksområder på land.

Det var større mikroplastpartikler på land i forhold til elven og større partikler i områder med jordbruk i forhold til områder med skog.

Dette tyder på at arealbruk har en innvirkning på størrelsesfordelingen av mikroplastpartikler.

Det ble og funnet signifikante forskjeller mellom median mikroplaststørrelse (mm^2) ved prøvepunkter:

- L3 ulik L11 og L2
- L7 ulik L1, L2, L5, L11, L12 og L13
- E12 ulik E2

Det er mer uklart hvorfor de skiller seg ut og det trengs mer undersøkelse for å finne grunnen til det.

Flommen gjør resultatene mindre pålitelige og det er behov for gjentakelse av undersøkelsen for å finne ut om den hadde en effekt eller om resultatene representerer normal tilstanden for mikroplastforekomsten. Da kun sediment med størrelse fra 1 mm og nedover ble brukt kan det heller ikke sies at det er representativt for hele størrelsesspekteret for mikroplast før en ny test med alt fra 5 mm og nedover blir testet.

Ut fra resultatene og diskusjonen vil det anbefales at det ved en lignende undersøkelse tas prøver lenger inn på land for å minimere effekten flom kan ha på antall og størrelsesfordelingen.

Det anbefales også lengre nedbrytningstid på laboratoriet for prøver med mye organisk materiale for å sikre at alt er nedbrutt og unngå at plantemateriale blir telt opp som mikroplast.

Mengden sediment som testes burde og vurderes, i denne oppgaven ble 10 gram brukt. Det går nok fint å redusere det til 5 gram for å gjøre prosessen med overføring av nedbrutt prøve til prøverør lettere. Hvis det blir valgt å bruke hele størrelsesspekteret til mikroplasten i fremtidige undersøkelser er det nok enda viktigere.

Utbytting av plastprøverør med et annet materiale burde og undersøkes da minimering av kontamineringskilder er en prioritet. Med tanke på kontaminering burde en lage blanke

prøver som kan brukes for å sjekke kontaminering som kommer med under utførelsen av testene. Dette ble ikke gjort noe som gjør resultatene mindre pålitelige.

Kontamineringen underveis i testene vil trolig ikke ha en signifikant effekt, men hvis det hadde blitt laget blanke prøver kunne man utelukket det helt sikkert.

Konsentrasjonene av Nile-red løsningen burde og vurderes da 10 µg/ml kanskje ikke er den best mulige konsentrasjonen. På bildene av filtrene var det variert styrke på fluorosenes til partiklene, ved andre konsentrasjoner kan muligens sterkere fluorosenes oppnås som kan gjøre opptelling lettere.

Som opptellingsmetode anbefales det å bruke en automatisert metode da manuell opptelling var slitsomt og veldig tidskrevende.

Med Python-skriptet kunne en og få mer enn bare antall mikroplast, størrelsen i form av antall pixler til partiklene ble og målt.

Det burde og være mulig å legge til kriterier for klassifisering av formen til partiklene slik at flere tester kan utføres. Ved bruk av en automatisk metode elimineres også mye av den ubeviste skjevheten man har, som kan påvirke hva som blir telt opp.

Referanser

- Abb, M., Heinrich, T., Sorkau, E., & Lorenz, W. (2009). Phthalates in house dust. *Environment International*, 35(6), 965-970. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.04.007>
- Ait Bamai, Y., Araki, A., Kawai, T., Tsuboi, T., Saito, I., Yoshioka, E., Kanazawa, A., Tajima, S., Shi, C., Tamakoshi, A., & Kishi, R. (2014). Associations of phthalate concentrations in floor dust and multi-surface dust with the interior materials in Japanese dwellings. *Science of The Total Environment*, 468-469, 147-157. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.107>
- Allen, S., Allen, D., Phoenix, V. R., Le Roux, G., Durántez Jiménez, P., Simonneau, A., Binet, S., & Galop, D. (2019). Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. *Nature geoscience*, 12(5), 339-344. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41561-019-0335-5>
- Arthur, C., Baker, J. E., & Bamford, H. A. (2009). Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris, September 9-11, 2008, University of Washington Tacoma, Tacoma, WA, USA. *NOAA technical memorandum NOS-OR&R 30*
- Bank, M. S. (2021). *Microplastic in the Environment* (M. S. Bank, Ed.). Springer International Publishing AG. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-030-78627-4>
- Cakaj, A., Lisiak-Zielińska, M., Drzewiecka, K., Budka, A., Borowiak, K., Drapikowska, M., Cakaj, A., Qorri, E., & Szkudlarz, P. (2023). Potential Impact of Urban Land Use on Microplastic Atmospheric Deposition: A Case Study in Pristina City, Kosovo. *Sustainability*, 15(23), 16464. <https://www.mdpi.com/2071-1050/15/23/16464>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar Pollut Bull*, 62(12), 2588-2597. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
- Danopoulos, E., Twiddy, M., & Rotchell, J. M. (2020). Microplastic contamination of drinking water: A systematic review. *PloS one*, 15(7), e0236838. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236838>
- Dave, B., Mori, M., Bathani, A., & Goel, P. (2023, 2023). Wild Animal Detection using YOLOv8.
- De Falco, F., Gullo, M. P., Gentile, G., Di Pace, E., Cocca, M., Gelabert, L., Brouta-Agnésa, M., Rovira, A., Escudero, R., Villalba, R., Mossotti, R., Montarsolo, A., Gavignano, S., Tonin, C., & Avella, M. (2018). Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics. *Environ Pollut*, 236, 916-925. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.057>
- Enders, K., Lenz, R., Beer, S., & Stedmon, C. A. (2016). Extraction of microplastic from biota: recommended acidic digestion destroys common plastic polymers. *ICES Journal of Marine Science*, 74(1), 326-331. <https://doi.org/10.1093/icesims/fsw173>
- Escobar, F. I. F., Alipo-on, J. R. T., Novia, J. L. U., Tan, M. J. T., Abdul Karim, H., & AIDahoul, N. (2023). Automated counting of white blood cells in thin blood smear images. *Computers & electrical engineering*, 108, 108710. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compeleceng.2023.108710>
- European Commission, D.-G. f. E. (2023). EU action against microplastics. In: Publications Office of the European Union.
- Grause, G., Kuniyasu, Y., Chien, M.-F., & Inoue, C. (2022). Separation of microplastic from soil by centrifugation and its application to agricultural soil. *Chemosphere*, 288(Pt 3), 132654-132654. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132654>
- Han, N., Zhao, Q., Ao, H., Hu, H., & Wu, C. (2022). Horizontal transport of macro- and microplastics on soil surface by rainfall induced surface runoff as affected by

- vegetations. *Sci Total Environ*, 831, 154989-154989.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154989>
- Hartmann, N. B., Hüffer, T., Thompson, R. C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A. E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M. P., Hess, M. C., Ivleva, N. P., Lusher, A. L., & Wagner, M. (2019). Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environmental Science & Technology*, 53(3), 1039-1047.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297>
- Hasenmueller, E. A., Baraza, T., Hernandez, N. F., & Finegan, C. R. (2023). Cave sediment sequesters anthropogenic microparticles (including microplastics and modified cellulose) in subsurface environments. *Science of The Total Environment*, 893, 164690. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164690>
- Helcoski, R., Yonkos, L. T., Sanchez, A., & Baldwin, A. H. (2020). Wetland soil microplastics are negatively related to vegetation cover and stem density. *Environ Pollut*, 256, 113391-113391. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113391>
- Hurley, R., Woodward, J., & Rothwell, J. J. (2018). Microplastic contamination of river beds significantly reduced by catchment-wide flooding. *Nature geoscience*, 11(4), 251-257.
<https://doi.org/10.1038/s41561-018-0080-1>
- Jacob, H., Besson, M., Swarzenski, P. W., Lecchini, D., & Metian, M. (2020). Effects of Virgin Micro- and Nanoplastics on Fish: Trends, Meta-Analysis, and Perspectives. *Environmental Science & Technology*, 54(8), 4733-4745.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b05995>
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347(6223), 768-771. <https://doi.org/doi:10.1126/science.1260352>
- Jenner, L. C., Rotchell, J. M., Bennett, R. T., Cowen, M., Tentzeris, V., & Sadofsky, L. R. (2022). Detection of microplastics in human lung tissue using μ FTIR spectroscopy. *Science of The Total Environment*, 831, 154907.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154907>
- Jin, Y., Lu, L., Tu, W., Luo, T., & Fu, Z. (2019). Impacts of polystyrene microplastic on the gut barrier, microbiota and metabolism of mice. *Science of The Total Environment*, 649, 308-317. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.353>
- Kanhai, L. D. K., Gårdfeldt, K., Lyashevskaya, O., Hassellöv, M., Thompson, R. C., & O'Connor, I. (2018). Microplastics in sub-surface waters of the Arctic Central Basin. *Mar Pollut Bull*, 130, 8-18. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.011>
- Latini, G., Felice, C. D., Presta, G., Vecchio, A. D., Paris, I., Ruggieri, F., & Mazzeo, P. (2003). In utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate and duration of human pregnancy. *Environmental Health Perspectives*, 111(14), 1783-1785.
<https://doi.org/doi:10.1289/ehp.6202>
- Leslie, H. A., van Velzen, M. J. M., Brandsma, S. H., Vethaak, A. D., Garcia-Vallejo, J. J., & Lamoree, M. H. (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environ Int*, 163, 107199-107199.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>
- Li, P., Zheng, J., Li, P., Long, H., Li, M., & Gao, L. (2023). Tomato Maturity Detection and Counting Model Based on MHSA-YOLOv8. *Sensors (Basel)*, 23(15), 6701.
<https://doi.org/10.3390/s23156701>
- Li, S., Huang, H., Meng, X., Wang, M., Li, Y., & Xie, L. (2023). A Glove-Wearing Detection Algorithm Based on Improved YOLOv8. *Sensors (Basel)*, 23(24), 9906.
<https://doi.org/10.3390/s23249906>
- Liebezeit, G., & Liebezeit, E. (2013). Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(12), 2136-2140.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2013.843025>

- Liebezeit, G., & Liebezeit, E. (2014). Synthetic particles as contaminants in German beers. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(9), 1574-1578. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.945099>
- Liu, X., Liu, H., Chen, L., & Wang, X. (2022). Ecological interception effect of mangroves on microplastics. *J Hazard Mater*, 423(Pt B), 127231-127231. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127231>
- Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., & Mayes, A. G. (2017). A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Sci Rep*, 7(1), 44501-44501. <https://doi.org/10.1038/srep44501>
- Marfella, R., Prattichizzo, F., Sardu, C., Fulgenzi, G., Graciotti, L., Spadoni, T., D'Onofrio, N., Scisciola, L., Grotta, R. L., Frigé, C., Pellegrini, V., Municinò, M., Siniscalchi, M., Spinetti, F., Vigliotti, G., Vecchione, C., Carrizzo, A., Accarino, G., Squillante, A., . . . Paolisso, G. (2024). Microplastics and Nanoplastics in Atheromas and Cardiovascular Events. *New England Journal of Medicine*, 390(10), 900-910. <https://doi.org/doi:10.1056/NEJMoa2309822>
- Miljødirektoratet. (2024). *EU-regelverk oversikt* <https://www.miljodirektoratet.no/ansvarsomrader/internasjonalt/eu-regelverk/eu-regelverklister/?so=asc&sc=title>
- Mæhlum, L. (2023). *Alexander Parkes*. Store norske leksikon. Retrieved 7.5.24 from https://snl.no/Alexander_Parkes
- Ockelford, A., Cundy, A., & Ebdon, J. E. (2020). *Storm Response of Fluvial Sedimentary Microplastics*. London :.
- OECD. (2022). *Global Plastics Outlook*. <https://doi.org/doi:https://doi.org/10.1787/de747aef-en>
- Oh, G., & Lim, S. (2023). One-Stage Brake Light Status Detection Based on YOLOv8. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 23(17), 7436. <https://doi.org/10.3390/s23177436>
- Parameswarappa Jayalakshamma, M., Na Nagara, V., Borgaonkar, A., Sarkar, D., Sadik, O., & Boufadel, M. (2023). Characterizing microplastics in urban runoff: A multi-land use assessment with a focus on 1–125 µm size particles. *The Science of the total environment*, 904, 166685-166685. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166685>
- Poling, B. E., Thomson, G. H., & Friend, D. G. (2000). *Perry's Chemical Engineers Handbook, Section 2*. McGraw-Hill Professional Publishing. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/ucsn-ebooks/detail.action?docID=4656422>
- Ragusa, A., Notarstefano, V., Svelato, A., Belloni, A., Gioacchini, G., Blondeel, C., Zucchelli, E., De Luca, C., D'Avino, S., Gulotta, A., Carnevali, O., & Giorgini, E. (2022). Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk. *Polymers (Basel)*, 14(13). <https://doi.org/10.3390/polym14132700>
- Rolf, M., Laermanns, H., Kienzler, L., Pohl, C., Möller, J. N., Laforsch, C., Löder, M. G. J., & Bogner, C. (2022). Flooding frequency and floodplain topography determine abundance of microplastics in an alluvial Rhine soil. *Sci Total Environ*, 836, 155141. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155141>
- Schell, T., Hurley, R., Buenaventura, N. T., Mauri, P. V., Nizzetto, L., Rico, A., & Vighi, M. (2022). Fate of microplastics in agricultural soils amended with sewage sludge: Is surface water runoff a relevant environmental pathway? <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118520>
- Schütze, B., Thomas, D., Kraft, M., Brunotte, J., & Kreuzig, R. (2022). Comparison of different salt solutions for density separation of conventional and biodegradable microplastic from solid sample matrices. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(54), 81452-81467. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21474-6>
- Su, L., Sharp, S. M., Pettigrove, V. J., Craig, N. J., Nan, B., Du, F., & Shi, H. (2020). Superimposed microplastic pollution in a coastal metropolis. *Water research (Oxford)*, 168, 115140-115140. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115140>

- Tagg, A. S., Brandes, E., Fischer, F., Fischer, D., Brandt, J., & Labrenz, M. (2022). Agricultural application of microplastic-rich sewage sludge leads to further uncontrolled contamination. *Sci Total Environ*, 806(Pt 4), 150611-150611. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150611>
- Thorakaas, R. F. (2022). *Nile red metoden for identifikasjon av mikroplast, Tilpasset for instituttet for natur, helse og miljø, USN. Universitetet i Sørøst-Norge*. Upubliseret.
- Van Cauwenberghe, L., & Janssen, C. R. (2014). Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environ Pollut*, 193, 65-70. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>
- Wang, S., Han, Q., Wei, Z., Wang, Y., Xie, J., & Chen, M. (2022). Polystyrene microplastics affect learning and memory in mice by inducing oxidative stress and decreasing the level of acetylcholine. *Food and Chemical Toxicology*, 162, 112904. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112904>
- Wang, T., Yu, C., Chu, Q., Wang, F., Lan, T., & Wang, J. (2020). Adsorption behavior and mechanism of five pesticides on microplastics from agricultural polyethylene films. *Chemosphere*, 244, 125491. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125491>
- Xiao, B., Nguyen, M., & Yan, W. Q. (2023). Fruit ripeness identification using YOLOv8 model. *Multimedia tools and applications*. <https://doi.org/10.1007/s11042-023-16570-9>
- Yang, D., Shi, H., Li, L., Li, J., Jabeen, K., & Kolandhasamy, P. (2015). Microplastic Pollution in Table Salts from China. *Environmental Science & Technology*, 49(22), 13622-13627. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03163>
- Zhang, Y., Yin, K., Wang, D., Wang, Y., Lu, H., Zhao, H., & Xing, M. (2022). Polystyrene microplastics-induced cardiotoxicity in chickens via the ROS-driven NF-κB-NLRP3-GSDMD and AMPK-PGC-1α axes. *Science of The Total Environment*, 840, 156727. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156727>
- Zhao, Q., Zhu, L., Weng, J., Jin, Z., Cao, Y., Jiang, H., & Zhang, Z. (2023). Detection and characterization of microplastics in the human testis and semen. *Science of The Total Environment*, 877, 162713. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162713>