

Titel: <b>Kviksølv i fisk i søer – prøveindsamling.</b>			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA. nr.: S09	Version: 2	Oprettet: 07.09.2011
Forfattere: Liselotte Sander Johansson Peter Wiberg-Larsen Fagdatacenter for Ferskvand Institut for Bioscience	Gyldig fra: 07.09.2011		
	Sider: 12		
	Sidst ændret: 09.06.2017		
TA henvisninger <a href="http://bios.au.dk/videnudveksling/til-myndigheder-og-saerligt-interessere-de/fagdatacentre/fdcfersk/">http://bios.au.dk/videnudveksling/til-myndigheder-og-saerligt-interessere-de/fagdatacentre/fdcfersk/</a>	TA S05, dTA 04		

## Indhold

1 Indledning .....	2
2 Metode .....	3
2.1 Tid, sted og periode.....	3
2.2 Udstyr .....	3
2.3 Procedure.....	3
2.3.1 Indsamling og bearbejdning i felten .....	3
2.3.2 Opbevaring og forsendelse af prøver .....	4
2.3.3 Ved fangst af udelukkende hundestejler eller andre meget små fisk .....	4
2.3.4 Dissektion .....	4
3 Databehandling .....	5
4 Kvalitetssikring .....	6
5 Referencer .....	7
6 Bilag .....	8
Bilag 6.1 Følgeskema til analyse for kviksølv i fisk i søer.....	9
Bilag 6.2 Behandling/dissektion af fisk til analyse for kviksølvindhold	10
7 Oversigt over versionsændringer .....	12

## 1 Indledning

Denne tekniske anvisning har til formål at bidrage til undersøgelse af forekomsten af kviksølv i fisk i søer. Der beskrives, hvordan fiskene udvælges til analyse, samt hvordan prøverne skal håndteres fra prøveindsamling til analyse på laboratoriet.

Miljøfremmede stoffer og tungmetaller, herunder kviksølv, forekommer både i vand, sediment og biota og kan i høje koncentrationer have betydeligt negativ effekt på organismernes i søerne.

## 2 Metode

### 2.1 Tid, sted og periode

Prøveindsamlingen foretages i perioden 15. august til 15. september i forbindelse med allerede planlagte fiskeundersøgelser (se Teknisk Anvisning nr. S05).

### 2.2 Udstyr

Se Teknisk Anvisning nr. S05 for udstyr til fiskeundersøgelser. Derudover medbringes:

- Almindelige plastikposer (fryseposer) til opbevaring af fiskene i fryser
- Mærkater til hver pose
- Køletaske med frosne køleelementer

### 2.3 Procedure

Proceduren omfatter indsamling af prøver, behandling af prøver inden hjemtransport og forberedelse til forsendelse til analyselaboratoriet. Der skal foretages analyse på muskelvæv fra fire individuelle fisk samt på en puljet prøve bestående af materiale fra de fire fisk, i alt fem prøver. Hvis prøven består af meget små fisk (f.eks. hundestejler eller smelt) skal der analyseres fem puljede prøver (se afsnit 2.3.3).

#### 2.3.1 Indsamling og bearbejdning i felten

Fiskene indsamles ved fiskeundersøgelser som beskrevet i Teknisk Anvisning nr. S05. Det kan i sjældne tilfælde forekomme, at der skal analyseres for kviksølv i fisk i søer, hvor der ikke foretages fiskeundersøgelser. Her må man vha. elektrofiskeri, fiskeri på stang, udsætning af enkelte net eller andet forsøge at fremskaffe de fornødne fisk til analyse. Indsamling af prøver til analyse for kviksølv foretages før de øvrige registreringer i fiskeundersøgelsen, således at disse kan komme på køl hurtigst muligt.

Der anvendes kun intakte fisk. I alle tilfælde skal rygmuskulaturen være uskadt. Hvis fiskene ikke er døde ved røgtningen af garnet, aflives de umiddelbart efter fangst (ved slag i hovedet med totenschläger el.lign. eller ved at brække hovedet bagover så rygsøjlen brydes).

Til analyserne anvendes så vidt muligt kun aborre i størrelsen 20-25 cm. Kun i nødstilfælde anvendes mindre individer eller andre arter. Aborren findes i de fleste danske søer og optræder som rovfisk, når den opnår en størrelse af ca. 10-15 cm. I mangel på aborre anvendes der andre rovfisk - gedde eller sandart. Hvis der ikke findes rovfisk i fangsten, kan der vælges andre arter i følgende prioriteringsrækkefølge:

skalle>rudskalle>hundestejle>smelt. I brakke søer prioriteres skrubbe, hvis den forekommer i mindst fire individer og dernæst hundestejle. Hvis der findes aborre vælges altid denne art, uanset størrelse.

Der anvendes individer med en forklængde mellem 20 og 25 cm. Hvis der ikke findes fisk af denne størrelse, vælges de fire største, indenfor samme art, i fangsten. Hvis hundestejle eller andre fiskearter i samme størrelse anvendes, skal der udtages flere til analyse (se afsnit 2.3.3).

Der indsamles fire individer (flere, hvis der anvendes hundestejler eller andre arter i samme størrelse, se afsnit 2.3.3) fra lokaliteten. Fiskene lægges enkeltvis (flere, hvis der anvendes hundestejler) i hver sin plastikpose (fire poser i alt). Art, længde og vægt noteres på en mærkat og lægges i posen. Feltskemaet (bilag 6.1) udfyldes.

### **2.3.2 Opbevaring og forsendelse af prøver**

De indsamlede fisk opbevares i kølekasse ved 5-10 °C under hjemtransport. Ved hjemkomst samles de fire enkelte poser med fisk i en større pose/ beholder og nedfryses straks til -18 °C.

Frosne fisk kan opbevares i op til 1 år ved - 18 °C.

Fisk forsendes i frosset tilstand til analyselaboratoriet. Sørg for kortest mulig transporttid og for at isolere transportkassen, således at fiskene ikke kan nå at tø op undervejs.

Analyselaboratoriet skal varsles om modtagelsen, således at prøverne bliver analyseret eller kommer på frost straks efter modtagelsen.

### **2.3.3 Ved fangst af udelukkende hundestejler eller andre meget små fisk**

I tilfælde af, at der kun forekommer hundestejler (eller kun små individer af andre arter) på en given lokalitet, indsamles de største individer. Fiskene fordeles ligeligt i fem poser med ca. 10 g (svarende til ca. 10 fisk) i hver.

### **2.3.4 Dissektion**

Udtagning af muskelprøve til analyse foretages normalt af analyselaboratoriet. Til orientering vedlægges beskrivelse af dissektion, bilag 6.2.

## **3 Databehandling**

### **3.1 Beregninger**

Ingen særlige – ud over analyselaboratoriets beregning af koncentrationer.

### **3.2 Data og koder**

Data indrapporteres i MFSBase og overføres til ODA.

## 4 Kvalitetssikring

### 4.1 Kvalitetssikring af metode

Den tekniske anvisning skal nøje følges på alle punkter, herunder hvad angår planlægning af prøveindsamling, prøvetagning, prøvehåndtering, transport og opbevaring, prøveforberedelse og -forsendelse.

### 4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering

Analyselaboratoriet er ansvarlig for at levere kvalitetssikrede resultater i overensstemmelse med analyseforskrifter og intern kvalitetskontrol. Men derudover skal rekvirenten kontrollere, at de modtagne resultater er i overensstemmelse med de trufne aftaler om omfang og detektionsgrænser, samt om resultaterne er sandsynlige ud fra kendskabet til lokale forhold og tilsvarende undersøgelser. Se endvidere dT04 – Biologisk effektmonitoring i fisk og muslinger, impo- og intersex i snegle samt miljøfarlige stoffer i biota – fisk og muslinger – og i marint sediment.

## 5 Referencer

Ingen

## **6 Bilag**

Bilag 6.1 Følgeskema til analyse af kviksølv i fisk fra søer.

Bilag 6.2 Behandling/dissektion af fisk til analyse for kviksølvindhold



### Bilag 6.1 Følgeskema til analyse for kviksølv i fisk i søer.

Sønavn:
Observationsstednr.:
Dato:
MST enhed:
Prøvetagere:

Fiskeart:	Forklængde (cm):	Vægt (g):

Bemærkninger:

--

## **Bilag 6.2 Behandling/dissektion af fisk til analyse for kviksølvindhold**

### **Udtagning af muskelprøve fra større fisk**

#### *Procedure:*

Fiskene dissekeres i delvist frossen (ikke fuld optøet) tilstand.

Dels er dissektionen nemmere, dels undgås, at indre organer (fx lever, galde) går i stykker og begynder at opløses, hvilket kan kontaminere muskelvævet og påvirke analysen.

Udtag prøve (minimum 10 g) af væv fra højre rygmuskel, umiddelbart under den første rygfinne. Sørg så vidt muligt for at udtage vævet fra samme del af rygmusklen på de enkelte fisk. Dette sikrer optimal ensartethed, idet vand- og fedtindhold kan variere signifikant i forskellige dele af muskelvævet, og kan derved indvirke på koncentrationen af de stoffer, som ønskes målt. Undgå at få overhud eller subkutant fedt med i prøven (OSPAR 2010, HELCOM 2006), da koncentrationen i dette kan afvige fra det i muskelvævet. Prøven udtages derfor under den mørk farvede, ydre del af musklen.

De udtagne prøver af muskelvæv frysetørres og homogeniseres. Hold prøver fra de enkelte fisk adskilt. En delprøve til evt. analyse for lipid til normalisering nedfryses uden frysetørring.

#### *Undgå kontaminering af vævsprøverne*

Det er vigtigt, at dissektionen foregår under så rene forhold som muligt for at undgå en kontaminering af prøven – helst i en såkaldt ren bænk (laminar flow bænk), hvor luften filtreres for partikler gennem et filter. Arbejdet bør derfor udføres i det laboratorium, der skal udføre analysen.

Brug en ren rustfri stål skalpel og farveløse pincetter af polyætylen eller teflon. Bær talkumfri handsker (fordi talkum kan indeholde metaller), brug fx. nitril handsker fra AnsellEdmont.

Skyl skalpellen/pincetten mellem hver prøve således: vask i acetone eller alkohol og skyl efter med demineraliseret vand (Milli-Q vand eller af tilsvarende kvalitet)

Nye instrumenter af rustfrit stål kan være overtrukket med et limlag. For at fjerne dette skal de derfor behandles enten i en varmeovn ved 460°C nogle timer eller ved 250°C i 24 timer. Hvis dette ikke er muligt, rengøres instrumentet omhyggeligt med opvaskemiddel, hvorefter det skylles i rigeligt demineraliseret vand (Milli-Q vand eller af tilsvarende kvalitet). Det anbefales at anvende sterile skalpeller, da de er pakkede enkeltvis uden lim.

## **Analyse på hele små fisk (hundestejler m.v.)**

### *Procedure:*

Fisken aftørres eller skylles med milliQ vand for at sikre, at der ikke er støv på den hele fisk før homogenisering. Selve homogeniseringen foretages i blender eller med "ultrathorax" før frysetørring. Der kan evt. udføres kuglemølle formaling efter frysetørring af den hele fisk for at rehomogenisere før prøveudtagning til analyse.

### **Opbevaring af prøver inden analyse**

De dissekerede prøver eller hele fisk skal opbevares mørkt og dybfrosne (-20°C) eller frysetørrede i almindelige plastikposer. Prøver til kviksølvanalyse kan opbevares dybfrosne i op til et år.

### **Referencer**

Oslo and Paris Commission 2010: JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in Biota. Updated 2010. Refno: Agreement 1999-02.

[www.ospar.org/v\\_measures/browse.asp](http://www.ospar.org/v_measures/browse.asp) [under revision 2011, forventes opdateret i 2012]

HELCOM 2006. COMBINE Manual, part D Programme for monitoring of contaminants and their effects.

[http://www.helcom.fi/groups/monas/CombineManual/PartD/en\\_GB/main/](http://www.helcom.fi/groups/monas/CombineManual/PartD/en_GB/main/)

## 7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne:	Ændring:
1	07.09.2011		Ingen
2	09.06.2017	Puljing af prøver, afsnit 2.3	Det er beskrevet, at muskelvæv fra fire individer samt en puljet prøve af disse fire prøver skal analyseres, i alt fem prøver.
		Valg af fiskeart til analyse, afsnit. 2.3.1	Beskrivelsen af, hvilke fisk, der skal vælges, hvis der ikke findes aborre i 20-25 cm størrelse er tydeliggjort. Skrubbe er tilføjet som mulighed i brakke søer
		Antal fisk til analyse, afsnit 2.3.1	Antallet af fisk, der skal sendes til analyse er nedsat fra fem til fire, se ovenfor.
		Kvalitetssikring, afsnit 4.2	Henvisning til DT04 er tilføjet
		Dissektion, bilag 6.2	Nyt bilag, som beskriver metode til udtagning af muskelprøve er tilføjet.