

Titel: Miljøfremmede stoffer og tungmetaller i vandløb: sediment og biota			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA. nr.: V20	Version: 2	Oprettet: 12.5.2011
Forfatter: Peter Wiberg-Larsen, Jes Jessen Rasmussen FDC for Ferskvand, DCE, AU	Gyldig fra: 26.10.2017		
	Sider: 14		
	Sidst ændret: 26.10.2017		
TA henvisninger	V18		

## 0.0 Indhold

0.0 Indhold .....	1
1.0 Indledning.....	2
2.0 Metode .....	3
2.1 Tid, sted og periode.....	3
2.1.1 Sediment .....	3
2.1.2 Fisk (biota) .....	3
2.2 Udstyr .....	3
2.3 Procedure.....	3
2.3.1 Indsamling af sedimentprøver .....	3
2.3.2 Indsamling af prøver fra biota (fisk) .....	5
2.3.3 Behandling af sedimentprøver inden analysering.....	6
2.3.4 Bearbejdning af prøver fra biota (fisk) .....	7
2.4 Tjekliste .....	8
2.5 Vedligeholdelse af instrumenter .....	8
3.0 Databehandling .....	9
3.1 Beregninger.....	9
3.2 Data og koder.....	9
4.0 Kvalitetssikring .....	10
4.1 Kvalitetssikring af metode .....	10
4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering .....	10
5.0 Referencer .....	11
6.0 Bilag.....	12
7.0 Oversigt over versionsændringer.....	14

## **1.0 Indledning**

Den tekniske anvisning har til formål at bidrage til undersøgelse af forekomsten af udvalgte miljøfremmede stoffer og tungmetaller i hhv. sediment og biota i vandløb. Der beskrives, hvordan prøver af sediment og fisk skal indsamles i vandløb, samt hvordan prøverne skal håndteres fra prøveindsamling til analyse på laboratoriet.

Miljøfremmede stoffer forekommer både i vand, sediment og biota, og kan i høje koncentrationer have betydeligt negativ effekt på organismene i vandløbene.

## **2.0 Metode**

### **2.1 Tid, sted og periode**

#### **2.1.1 Sediment**

Sedimentprøverne udtages ved den aktuelle station i "strømsvage" dele af vandløbet. Det betyder i praksis, at sedimentet fortrinsvis skal indsamles i den brednære zone eller i grødeøer, hvor der typisk akkumuleres transporteret partikulært materiale. Det er tilladt og anbefalelsesværdigt, at gennemsøge så lang en strækning, som det er nødvendigt, for derved at finde de bedst egnede steder at indsamle en tilstrækkelig mængde sediment. Det er således tilladt at indsamle også uden for den aktuelle station, men naturligvis i tilknytning til denne.

Prøveindsamlingen foretages i perioden 15. august til 30. september.

#### **2.1.2 Fisk (biota)**

Prøveindsamlingen foretages i perioden 1. august til 31. oktober. Det er hensigtsmæssigt at foretage indsamlingen af fisk i forbindelse med allerede planlagte fiskeundersøgelser.

### **2.2 Udstyr**

Kajakrør (areal 21 cm<sup>2</sup>)  
Gummiprop til Kajakrør  
Stativ til kajakør, fx kasse til øl/sodavand  
Andet indsamlingsudstyr (se 2.3.1)  
2 liter glasflasker/Rilsanposer  
Tragt  
Elektrofiskeudstyr (se V18)  
Vægt (nøjagtighed 0,1 g)

### **2.3 Procedure**

Denne omfatter forbehandling af prøvebeholdere (glasflasker), indsamling af prøver, behandling af prøver inden hjemtransport til Miljøstyrelsesenheden, forberedelse til forsendelse til analyselaboratoriet, samt forbehandling af prøver ved analyselaboratoriet.

#### **2.3.1 Indsamling af sedimentprøver**

Det er vigtigt, at der kun indsamles det fine sediment/slam, som er aflejret på vandløbsbunden i løbet af sommeren. Dette vil være lyst og med ret løs struktur; der må altså ikke indsamles gammelt sort slam.

Der er neden for beskrevet flere måder, som dette sediment kan indsamles på. Valget af metode vil i høj grad være afhængig af forholdene. Overordnet set skal der indsamles sediment svarende til minimum 75 g tørstof. De ud-

tagne delprøver af sedimentet puljes, indtil denne mængde er indsamlet (se 2.3.2).

1. Der udtages sedimentsøjler med Kajakrør (areal 21 cm<sup>2</sup>). Gå ikke dybere end nødvendigt (så dybt at det er muligt at kunne placere en prop i bunden af røret). De øverste ca. 1-2 cm fint organisk slam (men det kan være mere eller mindre afhængigt af, hvordan aflejningsforholdene er på bunden) fra hver sedimentsøjle puljes til én prøve. Undgå at få grovkornet, uorganisk materiale (sand og grus) med i prøverne. Rørene med sediment placeres i stativ (fx øl-/sodavandskasse), så de ikke vælter. Tages prøverne på steder med meget lille vanddybde, kan der med fordel anvendes korte kajakrør.

Adskillelsen af det øvre sediment fra den nedre del af søjlen foretages, efter at overfladesedimentet i rørene har haft tid til at bundfældes. Proceduren er følgende: Hæld **forsigtigt** vandet over sedimentet fra, og når der kun er det fine sediment tilbage hældes dette (med vand – det kan ikke undgås) over i passende stor glasflaske. Der skal som "tommelfingerregel" være mindst 750 ml sediment i flasken efter henstand i minimum ½ time. Hvis sedimentet er meget løst, kan det alternativt overføres fra Kajakrørene med slange eller pipette. Adskillelsen af overfladesedimentet fra vandfasen foretages på stedet. Derved er det lettere at sikre, at der indsamles nok materiale.

2. Overfladesedimentet opsamles (opsuges) direkte fra vandløbsbunden ved hjælp af en centrifugalpumpe, som er monteret på en batteridrevet boremaskine. Her skal der udvises **forsigtighed**, så der ikke pumpes for hårdt, således af det underliggende sediment kommer med. Prisbillige pumper kan købes hos fx Harald Nyborg, byggemarkeder eller lignende. Alternativt kan anvendes en form for pipette, bestående af en lang, gennemsigtig plast/silikoneslange, i den ene forsynet med en stor pipettebold. Undgå at suge for meget vand med op. Det kan evt. være nødvendigt at filtrere det oppumpede sediment+vand igennem et filter (kaffefiltre i stor størrelse vil være egnede), og så overføre sedimentet til prøvebeholderen.
3. Andre kreative løsninger er tilladte. En mulighed er en "våd-støvsuger", som dog må bruges med forsigtighed for ikke at få for meget uønsket materiale (sand, grus) med.

Anvendes "bløde" slanger i forbindelse med opsamling af sediment, anbefales det at kontrollere tab af fx phthalater og andre stoffer fra disse.

Det skal sikres, at der ved den anvendte metode ikke sker en opblanding af overfladesedimentet med det underliggende sediment, som det fx kan ske ved brug af forskellige typer af "grabs".

Det indsamlede sediment overføres – uanset indsamlingsmetode – i forvaskede glasflasker eller "rilsanposer", se afsnit 2.3.3.

### 2.3.2 Indsamling af prøver fra biota (fisk)

Fiskene til analyser af både perflourerede forbindelser og kviksølv indsamles ved elektrofiskeri som beskrevet i V18. Der fiskes effektivt i en time på lokaliteten. Hvis der på 100 m strækningen ikke fanges tilstrækkeligt med egnede fisk til prøveindsamling afsøges en udvidet strækning på op til 500 m op- og nedstrøms. Udnyt gerne lokalkendskab til vandløbet og benyt egnede steder på den udvidede strækning for at øge fangsten af egnede fisk. Fiskene aflives umiddelbart efter fangst (hovedet knuses med totenschläger, eller brækkes bagover så rygsøjlen brydes).

Til analyserne anvendes så vidt muligt kun én fiskeart: ørred (bækørred). Denne art er den mest udbredte i danske vandløb. I mangel på bækørred kan der anvendes andre rovfisk som aborre, gedder eller sandart. Hvis der ikke findes rovfisk i fangsten, kan der vælges andre arter i følgende prioriteringsrækkefølge:  
skalle>rudskalle>hundestejle>smelt.

Der anvendes som udgangspunkt individer i størrelsesintervallet 15-20 cm. Derved undgås i et vist omfang, at udsætning af ørredyngel får indflydelse på analyserne; yngel udsat samme år som undersøgelsen foretages vil således ikke afspejle belastningsniveauet, mens dette snarere vil være tilfældet, efter mindst én vækstsæson i vandløbet. For bækørred er det således gældende, at individer med længde under 15 cm ikke indsamles. Der arbejdes kun med hele cm, så der afrundes efter behov (fx medtages bækørred med længde 14,6 cm mens bækørred med længde 14,4 ikke medtages). Der må ligeledes ikke analyseres på havørred eller søørred, som heller ikke vil afspejle det lokale miljø i vandløbet på grund af deres vandreadfærd til vandløb i forbindelse gydning.

Der indsamles som udgangspunkt minimum 4 individer af samme art fra lokaliteten. I de tilfælde, hvor det ikke er muligt at indsamle 4 individer af samme art med længde  $\geq 15$  cm suppleres med flere arter, også med længde  $\geq 15$  cm, indtil der er fanget 4 individer. Der må højst indsamles 3 forskellige arter. I tilfælde af, at der kun forekommer hundestejler eller andre små arter (længde  $< 15$  cm), indsamles et individantal svarende til en samlet vådvægt af 50 g. Det er vigtigt, at denne pulje af små fisk kun består af samme art. Findes ingen store fisk (længde  $\geq 15$  cm) men flere arter af små fisk, prioriteres den art som står højst på ovenstående prioriteringsrækkefølge. Se også tabel 1 for opsummering af hvilke arter og størrelser, der kan anvendes til prøveindsamlingen.

Tabel 1. Principper for, hvornår der laves analyser i forhold til fiskeart og -størrelse

Fiskeart og længde (i hele cm)	Hg (muskel)	Perflourerede forbindelser (lever)
Rovfisk: Ørred, Aborre, Gedde, Sandart Fredfisk: Skalle, rudskalle Længde $\geq$ 15 cm	4 enkeltprøver af fisk af samme art, samt en blandingsprøve	1 blandingsprøve af 4 -5 fisk af samme art
2 forskellige arter. Længde $\geq$ 15 cm	Enkeltprøver af hver art samt en blandingsprøve af de fisk, der tilhører den art der står først i prioriteringsordenen: ørred, aborre, gedde etc.	En blandingsprøve af de fisk, der tilhører den art der står først i prioriteringsordenen: ørred, aborre, gedde etc.
3 forskellige arter Længde $\geq$ 15 cm	Her analyseres kun enkeltprøver på fisk. Ingen blandingsprøver.	Ikke anvendelig
Hundestejler	Kun enkeltanalyse på 5 puljede prøver af ca. 10 g.	Ikke anvendelig
Samme art (gælder ikke bækørred) Længde $<$ 15 cm	Kun enkeltanalyse på 5 puljede prøver af ca. 10 g.	Ikke anvendelig
Flere forskellige arter Længde $<$ 15 cm	Ikke anvendelig	Ikke anvendelig

### 2.3.3 Behandling af sedimentprøver inden analysering

Inden sedimentprøverne ankommer til analyselaboratoriet

Den puljede prøve fra hver vandløbsstation anbringes i enten (1) forvasket glasflaske med skruelåg (med indlæg af teflon), eller (2) "rilsanpose".

Forvask af glasflasker forventes at være udført af analyselaboratoriet. Forvasken kan optimalt udføres således:

(1) Vask med detergent (fx 2 % RBS) enten i opvaskemaskine eller ved nedsænkning i kar i 12 timer

(2) Afskyl med 3 x hanevand og dernæst 3 x milliQ vand

(3) Skyl evt. med halvkoncentreret salpetersyre (til metaller) efterfulgt af afskylning med 3 x milliQ vand

(4) Tørring ved 105 °C i 2 timer

(5) Glødning ved 450 °C i 6 timer med sølvpapir for flaskeåbningerne. Emner der ikke tåler glødning skylles i methanol og hexan (eller heptan).

Prøver fra den enkelte vandløbsstation mærkes med vandløbsnavn, lokalitet, stationsnummer, dato, prøveudtager. Der udfyldes desuden følgeseddel (se bilag 6.1). Sørg for at anvende pen/etikette, som kan modstå fugt. Ved

brug af flasker, mærkes både selve flasken og det tilhørende låg. Det er fordelagtigt at foretage afmærkning inden prøvetagningen.

Prøverne placeres i kølekasser efter udtagning (5-10 °C) og under transport til Miljøstyrelsesenheden. Her nedfryses de hurtigst muligt (- 18 °C). Flasker fyldes maksimalt 1/2 og lægges horisontalt, så de ikke går i stykker under frysningen. Flasker vendes flere gange i løbet af indfrysningen.

Frosne prøver skal indsendes til analyse inden for højst 1 måned.

Prøverne sendes i frosen tilstand til det aktuelle analyselaboratorium. Sørg for kortest mulig transporttid – og isoler transportkassen, således at prøverne ikke kan nå at tø op undervejs. Sørg for at pakke flasker omhyggeligt for at sikre at de ikke kan gå i stykker, uanset hvilken fysisk behandling de udsættes (pak glasflasker ind hver for sig i "bobleplastik", og sørg for at de ikke kan "flytte sig" rundt i kassen).

Ved fremsendelse skal der sikres den kortest mulige transporttid. Den anvendte transportbeholder skal være isoleret, således at ikke-frosne prøver er nedkølede (< 5 °C), ligesom frosne prøver ikke når at tø op.

Det anbefales at koordinere forsendelsen af prøverne, således at analyselaboratoriet får et optimalt antal prøver at arbejde med.

På analyselaboratoriet – supplerende parametre

Ud over de enkelte parametre for miljøfremmede stoffer og tungmetaller, analyseres for støtteparametre beregnet til at støtte tolkningen af de fundne resultater. Disse støtteparametre fremgår af bilag 6.2.

### **2.3.4 Bearbejdning af prøver fra biota (fisk)**

Inden fiskene ankommer til analyselaboratoriet

De indsamlede fisk opbevares i kølekatte ved 5-10 °C under transport fra lokaliteten til den lokale Miljøstyrelsesenhed. Her nedfryses fiskene straks efter hjemkomst enkeltvis (for at sikre hurtigst mulig nedfrysning) - i plastpose (4 (5) poser i alt) for fisk til kun Hg-analyser. Fisk til analyse for Hg og perfluorerede forbindelser nedfryses enkeltvis i rilsanposer. De frosne fisk fra hver station opbevares i større plastpose (Hg) eller rilsanpose (Hg og PFAS)(for den givne lokalitet). Mål længde og vægt af hver fisk, inden den fryses. Angiv disse oplysninger – ligesom artsnavnet - på mærkat, der placeres i plastposen.

Er der indsamlet hundestejler eller andre små arter, placeres disse med ca. 10 g i hver pose (5 poser i alt).

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 at isolere transportkassen, således at fiskene ikke kan nå at tø op undervejs.

På analyselaboratoriet – dissektion og homogenisering  
Fiskene dissekeres i delvist frossen (ikke fuldt optøet) tilstand. Der udtages prøve af væv fra højre rygmuskel, umiddelbart under rygfinnen, til analyse af Hg. Udtag så vidt muligt ensartede mængder fra fisk til fisk. Undgå at få overhud/skind eller subkutant fedt med i prøven. Til analyse af PFAS anvendes leveren fra samme fisk. Bemærk at fisk < 15 cm ikke indgår i disse analyser.

De udtagne prøver homogeniseres hver især inden analyse. Der foretages Hg analyse enkeltvis på 4 individer, samt på en puljet prøve bestående af materiale fra de fire fisk, i alt fem prøver. I tilfælde af, at der kun er hundestejler (eller andre små fisk af samme art – andre end ørred) til rådighed for analyse, foretages analyser på 5 x "puljede" individer for at sikre tilstrækkeligt store mængder muskelvæv til analyserne for Hg. Hver "pulje" skal omfatte i alt 10 g fisk, og hovederne skæres bort inden homogenisering.

Analysen for kviksølv suppleres med måling tørstofprocenten. Eftersom der ofte analyseres på tørret prøve, er det vigtigt at kontrollere for tab af kviksølv, som er flygtigt.

Der udtages lever fra 4(-5) individer af samme art (pulje prøve). Materialet homogeniseres og der analyseres for PFAS på den puljede prøve.

## 2.4 Tjekliste

- Anskaf forvaskede glasflasker fra analyselaboratoriet, såfremt sådanne planlægges anvendt
- Pak bil med det nødvendige udstyr (prøveflasker/prøveposer, prøvetagningsudstyr, kølekasser med fryseelementer)
- Indsaml de nødvendige prøver
- Sørg for omhyggelig mærkning af prøverne
- Transporter prøverne til Naturstyrelsesenheden i nedkølet tilstand
- Nedfrys prøverne straks efter hjemkomst
- Forbered forsendelse af prøver til analyselaboratoriet. Adviser dette i god tid
- Kontroller nøje de modtagne resultater fra analyselaboratoriet
- Indberet data til FDC.

## 2.5 Vedligeholdelse af instrumenter

Ingen særlig (se dog V18).

## **3.0 Databehandling**

### **3.1 Beregninger**

Ingen særlige – ud over analyselaboratoriets beregning af koncentrationer.

### **3.2 Data og koder**

Sedimentdata for samtlige undersøgte stationer det pågældende år indlæses i STOQ, hvorfra data vil kunne trækkes til ODA. For biota indlæses data i MFsbasen, og kvalitetssikres i ODA.

Brug de relevante standardkoder.

## **4.0 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 truffe aftaler om omfang og detektionsgrænser, samt om resultaterne er sandsynlige ud fra kendskabet til lokale forhold og tilsvarende undersøgelser.

## 5.0 Referencer

Pedersen, B. & Larsen, M.M. (2004) NOVANA - Teknisk anvisning for marin overvågning. 5.4. Miljøfremmede stoffer i sediment. Miljøministeriet, Danmarks Miljøundersøgelser.

Pedersen, B. & Larsen, M.M. (2004) NOVANA - Teknisk anvisning for marin overvågning. 6.2. Miljøfarlige stoffer i fisk. Miljøministeriet, Danmarks Miljøundersøgelser.

## 6.0 Bilag

Bilag 6.1: Følgeskema til analyse af MFS i vandløbssedimentprøver/biota

Vandløb:				
Lokalitet:				
DMU nr.:				
Dato:				
Prøvetype:	Sediment:	Fisk:		
Prøveudtagningsmetode:				
Fiskeart:				
Antal fisk (evt. vægt):				
Størrelse (længde/vægt) af fisk:				
Konservering/opbevaring:				
Prøveudtager:				
Miljøstyrelsesenhed:				
Analyseparametre/-pakke:				
Bemærkningsfelt:				

## Bilag 6.2 Støtteparametre i forbindelse med sedimentanalyser

Parameter	Formål
Tørstof og glødetab (organisk indhold)	Vurdering af niveauer af organiske forbindelser, som især bindes til organisk stof
Litium	Vurdering af bindingskapacitet for metaller i forhold til lerpartikler

## 7.0 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne:	Ændring:
1.0	2011.05.12	Intet	Ingen
2.0	2017.10.26	Perflourerede forbindelser	<p>Perflourerede forbindelser er inkluderet i analyseprogrammet, og TA V20 er opdateret i forhold til prøveindsamling til disse analyser.</p> <p>Der er lavet en handlingsplan for, hvad der skal gøres i de tilfælde, hvor der ikke kan fanges nok fisk af tilstrækkelig størrelse eller hvor der ikke kan fanges nok individer af samme art.</p>