



Titel: Miljøfarlige stoffer i muslinger			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA nr.: M22	Version: 1	Oprettet: 21.05.2013
Forfattere: Martin M. Larsen	Gyldig fra: 21.05.2013		
	Sider: 12		
	Sidst ændret:		
TA henvisninger	M25		

0 Indhold

1 Indledning	1
2 Metode	2
2.1 Tid, sted og periode.....	2
2.2 Udstyr	3
2.3 Procedure.....	3
2.3.1 Depurering (udsanding)	4
2.3.2 Måling af skallængden	4
2.3.3 Dissektion og vejning	4
2.3.4 Opbevaring og transport af dissekeret materiale	5
2.4 Tjekliste	6
2.5 Vedligehold af instrumenter	6
2.6 Særlige forholdsregler - faldgruber	7
3 Databehandling	8
4 Kvalitetssikring	9
4.1 Kvalitetssikring af metode	9
4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering	9
5 Referencer	10
6 Bilag	11
6.1 Kode lister	11
6.2 Relaterede TA'er	11
7 Oversigt over versionsændringer	12

Udgået dokument
se senere version

1 Indledning

Denne tekniske anvisning er udarbejdet for at sikre sammenlignelighed af målinger udført med det formål at undersøge forekomsten af miljøfarlige stoffer generelt i det marine miljø. Den beskriver prøveindsamling til analyse af miljøfarlige stoffer i bentiske organismer (muslinger).

Muslinger indsamles i de specielt udvalgte områder. Biologiske variabler (længde, vægt, etc.), som kan være af betydning ved en senere bedømmelse af resultatet, måles og noteres. Prøven dissekeres, det specifikke organ forbehandles og opløses, og koncentrationen af miljøfarlige stoffer bestemmes (kvantificeres).

2 Metode

2.1 Tid, sted og periode

Muslinger indsamles i oktober-november.

Den samme art skal derefter bruges hvert år i det samme område, se også tabel 1.

Tabel 1 Arter og antal prøver pr. station/lokalitet.

Art [§]	Antal [#]	Størrelse	Køn	Vævstype
Blåmusling <i>Mytilus edulis</i>	Delprøver á ca. 100 muslinger (For antal delprøver pr. station se i årets MFS programoversigt)	30-40 mm	-	Hele bløddyrsdelen
Sandmusling ^{##} <i>Mya arenaria</i>	Delprøver med en bløddelsvægt på min. 100 g (For antal delprøver pr. station se i årets MFS programoversigt)	min. 20 mm		Hele bløddyrsdelen

For muslinger skal der normalt være ca. 100 g efter dissektion i hver pool, minimum 10 muslinger pr. delprøve. Hvis muslingerne er meget små, kan det være nødvendigt med flere muslinger pr. pool, end det er angivet her.

I Ringkøbing Fjord og andre steder, fx i Limfjorden, hvor der ikke forefindes *Mytilus edulis*. Manglende nyrekruttering af muslinger (specielt i Ringkøbing Fjord) gør det svært at holde samme størrelse og alder.

§ For Østersøen (HELCOM) er *Macoma balthica* også en accepteret art, hvis der ikke findes blåmuslinger eller sandmuslinger på en station. I dette tilfælde er anbefalingen fra HELCOM, at prøverne tages i september.

2.2 Udstyr

- Muslingskraber eller dykker på dybere vand
- Rilsan-poser til indsamling af muslinger
- Vandflaske til indsamling af vand fra stationen til depurering (typisk 5 liter/prøve)
- Helglas-akvarier til depurering
- Temperaturindikator til at sætte direkte på akvarieglaset (for at undgå kontaminering fra et alm. termometer)
- Beluftningsanlæg med filtre
- Rustfri stålskalpel og limfri blade til dissektion til analyse af miljøfremmede stoffer
- Rustfri stålskalpel med titanium eller et keramisk materiale til metalanalyse
- Pincet af rustfrit stål til miljøfremmede stoffer
- Farveløse pincetter af polyætylen eller teflon til tungmetaller
- Talkumfri handsker (pulverfri nitrilhandske)
- Laminar flow-bænk
- evt. glødet CF/G filter

2.3 Procedure

Muslingerne indsamles ved hjælp af muslingskraber eller dykker på dybere vand og med hånden på vandflader/lavt vand og sorteres i passende længdeintervaller på stationen:

Hvor det ikke er muligt at finde muslinger indenfor den korrekte størrelse, indsamles muslinger så tæt på de angivne størrelsesintervaller som muligt, dog mindst 20 mm.

Muslingerne lægges i Rilsan-poser og holdes fugtige med en vædet klud eller tang fra lokaliteten.

Udtag 5 liter vand fra prøvetagningsstationen til depurering/udsanding. Opbevar vandet ved samme temperatur, som på prøvetagningsstationen.

2.3.1 Depurering (udsanding)

De levende muslinger placeres i et akvarium af glas.

Akvariet skylles og fyldes med vand fra prøvetagningsstedet.

Vandet skal renses for partikler ved at filtrere det gennem et glødet GF/C-filter eller ved at lade partiklerne sedimentere i prøvetagningsbeholderen og derefter forsigtigt dekantere vandet ned i akvariet.

Muslingerne skal blive i akvariet i ca. 20 timer ved ca. samme temperatur som på prøvetagningsstedet. En temperaturindikator sættes på ydersiden af glasset til overvågning af temperaturen.

Vandet iltes med luft, der filtreres for at undgå partikler.

2.3.2 Måling af skallængden

Samtlige muslingers længde måles med en skydelære til den nærmeste mm. Længden noteres i en logbog. Skallerne gemmes (se nedenfor). Længden kan måles før eller efter dissektionen, hvis skallerne er intakte.

For at kunne beregne konditionsindeks skal sammenhængende længde, skalvægt og bløddelsvægt bestemmes (se afsnit 2.3.3).

2.3.3 Dissektion og vejning

Inden dissektion vaskes og skylles hænderne omhyggeligt og tørres i et rent håndklæde. Håndlotion må ikke anvendes. Hvis der anvendes handsker skal det være pulverfrit nitril handsker.

Prøvehåndteringen og dissektionen skal gøres i en såkaldt ren bænk (laminar flow-bænk), hvor luften filtreres for partikler gennem et filter.

Muslinger åbnes levende med så lidt skade som muligt på bløddelene. Dette gøres ved at løsgøre adduktormusklen fra indersiden. Ved overskæringen af adduktormuskel og den efterfølgende dissektion skal man være opmærksom på ikke at skrabe noget af perlemorslaget af, da dette kan kontaminere prøven.

Muslingen stilles på højkant og drænes på et rent sugende underlag i ca. 5 minutter.

Muslingen dissekeres derefter så hurtigt som muligt. Muslinger fra den samme "pool" af prøver samles i en beholder, og vægten af den enkelte musling registreres ved at veje beholderen løbende med mindst 0,01 grams nøjagtighed. Vægten noteres i en logbog eller elektronisk.

Skallerne tørres, hvorefter de vejes, og vægten noteres i en logbog.

Skalpellen/pincetten skal skylles mellem hver prøve. Det anbefales at vaske skalpellen/pincetten i acetone eller alkohol og demineraliseret vand (Milli-Q eller vand af tilsvarende kvalitet)

De dissekerede muslinger puljes med ca. 100 blåmuslinger i hver pulje eller ca. 100 g sandmusling i hver pulje.

2.3.4 Opbevaring og transport af dissekeret materiale

De dissekerede prøver skal opbevares dybfrosne ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) eller frysetørrede i hertil velegnede beholdere, se Tabel 2. Prøver til metal-, PCB-, dioxin- og organotinanalyser kan opbevares dybfrosne i op til et år.

Prøver til PAH og bromerede flammehæmmere skal analyseres så hurtigt som muligt og senest inden 4 måneder.

Prøverne skal transporteres dybfrosne eller frysetørrede. Som ved transport af levende muslinger kan et enkelt min./maks. termometer – eller bedre en temperaturlogger – bruges til at kontrollere temperaturen under længere transporter. Prøverne må ikke optøs under transporten, og temperaturen ved ankomst til laboratoriet skal være $<5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Prøver, der er tøet op, kan ikke anvendes.

Udgået dokument
se senere version

Tabel 2 Oversigt over egnede prøvebeholdere til lagring af vævsprøver

Parameter/stofgrupper	Beholder og låg	Rensningsprocedure
Organiske stoffer (PCB, PAH, bromerede flammehæmmer, dioxiner og organotin)	Glas/aluminium Teflon	Beholderen skal vaskes med en detergent, skylles, opvarmes og straks inden brug skylles med et organisk opløsningsmiddel (fx hexan/acetone). For yderligere detaljer se bilag i teknisk appendiks 2 for organiske forbindelser
Metaller	Glas/polyethylen Teflon	Beholderen skal vaskes i 10 % v/v HNO ₃ og derefter skylles tre gange med demineraliseret vand

2.4 Tjekliste

- Indsamling af muslinger og vand fra stationen
- Depurering udsending
- Dissektion og puljning af muslinger fra station
- Homogenisering før uddeling til analyse (foretages typisk på analyselaboratoriet)

2.5 Vedligehold af instrumenter

Akvarier og pumper til depurering rengøres og kontrolleres. Skift blade jævnt ved dissektion.

2.6 Særlige forholdsregler - faldgruber

Under depuration skal man være særlig opmærksom på, at iltningen ikke bidrager med metal-/olieforurening.

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 skalpeller pakket enkeltvis uden lim.

Udgået dokument
se senere version

3 Databehandling

En udførlig beskrivelse af databehandlingen vil blive udarbejdet i en separat datateknisk anvisning knyttet til denne tekniske anvisning.

Udgået dokument
se senere version

4 Kvalitetssikring

4.1 Kvalitetssikring af metode

Prøvetagning kvalitetssikres ved at udtage dobbelt- eller tredobbeltprøver på hver tidstrendstation.

4.2 Kvalitetssikring af data og dataaflevering

En udførlig beskrivelse af kvalitetssikringen vil blive udarbejdet i en separat datateknisk anvisning knyttet til denne tekniske anvisning.

Udgået dokument
se senere version

5 Referencer

Bekendtgørelse nr. 900 af 17. august 2011. Bekendtgørelse om kvalitetkrav til miljømålinger

<https://www.retsinformation.dk/Forms/R0710.aspx?id=138231>

Hedges, J. I. & Stern, J.H. 1984: Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. – Limnology and Oceanography 29(3): 657-663.

Loring, D.H. & Rantala, R.T.T 1992: Manual for the geochemical analyses of marine sedi-ments and suspended particulate matter. - Earth Science Reviews 32: 235-283.

OSPAR 2010: JAMP Guidelines for Monitoring Contaminants in sediment. Updated in 2009-2010. Ref no: Agreement 2002-16.

http://www.ospar.org/content/content.asp?menu=0012000000135_00000_0_000000 (under revision 2011, forventes opdateret i 2012).

HELCOM COMBINE manual 2008

http://www.helcom.fi/groups/monit/CombineManual/en_GB/Contents/

Quevauviller, Ph. (Ed.) 1995: Quality assurance in environmental monitoring. Sampling and sample pretreatment. VCH Publishers, Inc., Weinham and New York, 306 pp.

Quevauviller, Ph., Rose P. Vereet, G. (Ed.) 2011: Chemical Marine Monitoring. Policy Framework and Analytical Trends. John Wiley & Sons, Ltd., , 466 pp. Chicester, GB

6 Bilag

6.1 Kodelister

http://www2.dmu.dk/1_Om_DMU/2_tvaer-funk/3_fdc_mar/vejledning/Biotasporstof.asp

6.2 Relaterede TA'er

TA M24 Miljøfarlige stoffer i sediment

TA M25 Miljøfarlige stoffer i fisk

Udgået dokument
se senere version

7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne:	Ændring:

Udgået dokument
se senere version