



NOVANA

Teknisk anvisning for marin overvågning

6.2 Miljøfarlige stoffer i fisk

Britta Pedersen [†]
Martin M. Larsen
Afdeling for Marin Økologi

Miljøministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser

Indhold

6.2	Miljøfarlige stoffer i fisk	6.2-3
6.2.1	Formål	6.2-3
6.2.2	Princip	6.2-4
6.2.3	Prøvetagningsstrategi og kriterier for stationsplacering	6.2-4
6.2.3.1	Indledning	6.2-4
6.2.3.2	Arter, antal og størrelse	6.2-5
6.2.3.3	Område	6.2-6
6.2.3.4	Strategi for fastlæggelse af prøvetagningssted (lokalitet)	6.2-6
6.2.3.4.1	Fisk	6.2-6
6.2.3.4.2	Beskrivelse af lokalitet	6.2-7
6.2.3.5	Frekvens og prøvetagningstidspunkt	6.2-7
6.2.4	Prøvetagning og prøvehåndtering	6.2-8
6.2.4.1	Fisk	6.2-8
6.2.4.1.1	Prøvetagning	6.2-8
6.2.4.1.2	Dissekering	6.2-9
6.2.4.1.3	Homogenisering	6.2-10
6.2.4.1.4	Udtagelse af øresten	6.2-10
6.2.4.1.5	Opbevaring og transport af dissekeret materiale	6.2-10
6.2.5	Analysemetoder	6.2-10
6.2.5.1	Organiske miljøfarlige stoffer	6.2-11
6.2.5.1.1	Metoden	6.2-11
6.2.5.1.2	Fedt- og tørstofbestemmelse	6.2-11
6.2.5.2	Metaller	6.2-12
6.2.5.2.1	Metoden	6.2-12
6.2.5.2.2	Tørstofprocenten	6.2-12
6.2.6	Kvalitetssikring	6.2-12
6.2.6.1	Generelt	6.2-12
6.2.6.2	Kvalitetskrav, kvalitetskontrol og kvalitetssikring, til/af den kemiske analyse	6.2-13
6.2.6.2.1	Kvalitetskrav	6.2-13
6.2.6.2.1.1	Detektionsgrænser	6.2-13
6.2.6.2.1.2	Præcision	6.2-14
6.2.6.2.1.3	Intern kvalitetskontrol	6.2-14
6.2.6.2.1.4	Nøjagtighed og ekstern kvalitetskontrol (præstationsprøvnings)	6.2-14
6.2.6.2.1.5	Kvalitetssikring	6.2-14
6.2.6.2.1.6	Uddannelse	6.2-15
6.2.7	Datarapportering	6.2-15
6.2.8	Referencer	6.2-16
6.2.9	Bilag 1 - Indholdsfortegnelse for Manual for måling af miljøfarlige organiske stoffer og metaller	6.2-17

6.2 Miljøfarlige stoffer i fisk

Denne tekniske anvisning er udarbejdet for at sikre sammenlignelighed af målinger udført med det formål at undersøge forekomsten af miljøfarlige stoffer i det marine miljø. Den beskriver prøvetagningsstrategi, prøveindsamling, analyse og rapportering af data vedrørende miljøfarlige stoffer i fisk og er specielt udarbejdet med henblik på bestemmelse af metaller, klorerede bifenyler (PCB'er) og enkelte andre klorerede organiske forbindelser, f.eks. DDT, DDE, HCH, og HCB. Den kan også anvendes ved undersøgelser af koncentrationen i fisk af andre organiske forbindelser.

Denne tekniske anvisning består af en generel del, der er fælles for metaller og organiske klorforbindelser. Desuden er der udarbejdet tekniske appendikser for metaller og organiske klorforbindelse.

6.2.1 Formål

Formålet med en overvågning af miljøfarlige stoffer i fisk i det marine miljø er:

- at vurdere virkningen af de indgreb, der er foretaget for at reducere tilførslen af udvalgte miljøfarlige stoffer inklusive metaller til det marine miljø (tids trend overvågning)
- at vurdere de nuværende niveauer (og effekt) af forurening af udvalgte miljøfarlige stoffer inklusive metaller i danske farvande, fra åbent hav til fjord, fra Østersøen til Nordsøen (geografisk udbredelse)
- at kunne opfylde Danmarks internationale forpligtelser på området

Parametervalg

Valget af stoffer er hovedsagelig baseret på baggrund af en viden om disse stoffers forekomst og effekter i det marine miljø og de forpligtelser der foreligger i henhold til de internationale havkonventioner og EU. Såvel hvilke parametre som udvælgelseskriterier fremgår af stoflisten til Programbeskrivelsen for NOVANA.

Nye miljøfarlige stoffer tages løbende i brug i samfundet. F.eks. går udviklingen inden for brugen af pesticider i bundmaling stærkt. Det kan derfor senere i programmet blive et behov for justeringer med hensyn til stofvalg.

6.2.2 Princip

Organismer kan akkumulere forskellige stoffer til koncentrationer, der er betydeligt højere end dem der findes i de omkringliggende havområder. Denne bioakkumulation er et nettoresultat af et optag og en udskillelse. En vigtig forudsætning for kemisk biomonitoring er derfor at det er et enkelt forhold mellem koncentrationen i organismen (C_i) og koncentrationen i de omkringliggende farvande (C_e). Der er i forskellige laboratorie- og feltforsøg vist at der ofte opnås en ligevægt mellem C_i og C_e , så forholdet C_i / C_e , den såkaldte biokoncentrationsfaktor (BCF) er konstant. BCF varierer med forhold som art og stofgruppe. For at kunne sammenligne koncentrationer af et miljøskadeligt stof i biota indsamlet fra forskellige områder eller tidsperioder, er det derfor væsentligt, at den samme art bliver indsamlet i hele området/tidsperioden.

Da bioakkumulationen er en forholdsvis langsom proces (uger-månedes-år, afhængig af stofgruppen/organisme), repræsenterer koncentrationen i organismen ikke kun koncentrationen i omgivelserne i en kort periode lige inden indsamlingen af organismen, men en betydeligt længere periode. Organismen bliver herved en integrerende prøveopsamler.

Da C_i ofte er betydeligt større end C_e , kan der være nemmere at bestemme koncentrationen i en organisme end i en vandprøve, alt andet lige, på grund af den mindre risiko for kontaminering af prøven.

Fisk fanges/indsamles i de specielt udvalgte områder. Biologiske variabler (længde, vægt, fiskens alder etc.) som kan være af betydning ved en senere bedømmelse af resultatet måles og noteres. Prøven dissekteres, det specifikke organ forbehandles (opløses/ekstraheres) og koncentrationen af det miljøfarlige stof bestemmes (kvantificeres) som beskrevet i de enkelte forskrifter for det pågældende stof. Vedr. detaljer henvises til de enkelte tekniske appendikser.

6.2.3 Prøvetagningsstrategi og kriterier for stationsplacering

6.2.3.1 Indledning

Prøvetagningsstrategien skal sikre at man får en viden om variationen i koncentrationen af de enkelte stoffer og stofgrupper i et område samt årsagen hertil. Den skal desuden medvirke til at variationen i vores data på grund af den naturlige variation reduceres mest mulig. Dette gøres ved at minimere den biologiske co-variation i prøvematerialet, dvs. ved at udtage fisk med en specifik størrelse, alder, køn etc., se afsnit 6.2.3.2. For bedst muligt at afspejle en nylig eksponering bør unge dyr indsamles.

Et godt kendskab til og en minimering af variationen i de indsamlede data vil forbedre vore muligheder for at fortolke data rigtigt, f.eks. afgøre om der er en geografisk eller tidslig trend.

6.2.3.2 Arter, antal og størrelse

Ved valg af art skal der tages hensyn til nogle basale forudsætninger.

Den valgte art bør:

- afspejle en forandring i koncentrationen i omgivelsen, dvs. der er en sammenhæng mellem eksponering og indhold i organismen
- den enkelte art skal have den samme biokoncentrationsfaktor i hele undersøgelsesområdet
- akkumulere stoffet uden at blive alvorligt påvirket af det
- være repræsentativ for området
- forekomme hyppigt i området
- den valgte størrelse skal altid kunne indsamles i området
- være af en tilstrækkelig størrelse, for at sikre en passende mængde vævsmateriale til analyse
- være hårdfør og nem at håndtere, så der f.eks. kan udføres relevante forsøg i laboratoriet som f.eks. studier af optagelse af stoffet

Hvilke fiskearter, som er aktuelle i overvågningsprogrammet, fremgår af Tabel 6.2.1. Disse arter er valgt, da de opfylder de basale krav, der er beskrevet oven for.

Forskellige fiskearter repræsenterer forskellige geografiske områder på grund af deres forskellige vandringsmønstre. Ålekvabbe og skrubber er mere stationære end sild. Af de to førstnævnte arter er ålekvabbe den mest stationære og derfor bedst til at afspejle lokale forskelle. Flere arters vandringsmønstre varierer med alderen på fisken. Dette er f.eks. tilfældet for såvel sild som skrubber.

Det er derfor nødvendigt at indhente information om de forskellige arters forekomst og vandringsmønstre i et område, inden det endeligt kan fastlægges, hvilken art – af dem der er beskrevet i tabel 6.2.1 – der skal bruges i et specifikt område.

Den samme art skal derefter bruges hvert år i det samme område.

Tabel 6.2.1 Arter i overvågningsprogrammet.

Art	Antal#	Størrelse	Alder***	Køn	Vævstype#
Skrubber <i>Platichthys flesus</i>	min. 20	250-300 mm ##	2-3 år	Hunkøn	Muskel for Hg; lever for alle andre stoffer
Ålekvabbe <i>Zoarces viviparus</i>	min. 20	Lille og konstant længdeinterval	2-3 år	Hunkøn	Muskel for Hg; lever for alle andre stoffer
Sild** <i>Clupea Harengus</i>	min. 20	Lille og konstant længdeinterval	2-3 år	Hunkøn	Muskel for Hg; lever for alle andre stoffer
Rødspætte* <i>Pleuronectes platessa</i>	min. 20	250-300 mm	2-3 år	Hunkøn	Muskel for Hg; lever for alle andre stoffer

For fisk analyseres 10 lever og tilhørende muskler for metaller (Hg analyseres i muskel), og 10 lever for organiske emner. Bemærk at det er nødvendigt at indsamle flere end de nødvendige 20 fisk til analysen, hvis man ikke kan kønsbestemme fisken inden dissekering. Hvis leveren er stor nok til at alle analyser kan gennemføres i samme lever, er dette at foretrække.

Ca. 150 mm i Vadehavet, da man har erfaring for, at kun denne størrelse kan fanges årligt.

* Kun på DMU's stationer/positioner, hvor der findes lange tidsserier.

** Østersøen.

*** Kalenderår, dvs. en fisk født 1.december bliver 1 år 1. januar. Bestemmes ved hjælp af øresten.

6.2.3.3 Område

Ved udvælgelse af områder hvor de miljøfarlige stoffer skal måles, er der lagt vægt på følgende kriterier:

- områdevalg for det marine program koordineres med områdevalg for øvrige relevante programmer (kilder, vandløb)
- om der tidligere er udført undersøgelser i området
- området repræsenterer forskellige typer af påvirkning af miljøfarlige stoffer
- området repræsenterer forskellige danske kyst- og havtyper
- havstationer med lange tidsserier bevares
- i området udføres intensive eutrofieringsmålinger (stor viden om området vil blive etableret)

6.2.3.4 Strategi for fastlæggelse af prøvetagningssted (lokalitet)

6.2.3.4.1 Fisk

Fisk er ikke stationære som muslinger. De vil derfor repræsentere et større område end selve prøvetagningsstedet (lokaliteten). Ved valg af lokalitet skal der tages hensyn til de samme forhold, som beskrevet i den tekniske anvisning for 'Miljøfarlige stoffer i muslinger' (afsnit 4.4.3.4). Lokalitetens udbredelse defineres som det område, hvor fisken fanges fra.

6.2.3.4.2 Beskrivelse af lokalitet

For hvert område skal der for hver stofgruppe udarbejdes en beskrivelse af lokaliteterne.

Den skal bestå af en kort beskrivelse af:

- mulige kilder i området (hus- og industrispildevand, åer, havne, skibsruter, depoter, etc.)
- kort beskrivelse af lokaliteterne, herunder dybde, strøm og sedimentationsforhold
- information om der findes tidligere data fra området
- lokalitetens udbredelse skal defineres. Den rumlige variation af stofkoncentrationen på lokaliteten skal i princippet være kendt, for at sikre at de prøver, der udtages fra en lokalitet er repræsentative for hele lokaliteten. Dette ville imidlertid være alt for kostbart at fastlægge ud fra strikte statistiske principper, da det ville kræve, at et stort antal målinger inden programmets start. Lokalitetens udbredelse må derfor defineres ud fra et skøn om at variationen i koncentrationen i hele området sandsynligvis er lille, f.eks. ud fra et lokalkendskab til hydrografien, afstand til forventede kilder, tidligere data, bundforhold herunder glødetabsindhold.
- beskrivelse af hvordan prøverne skal udtages (med net etc.)

Beskrivelsen skal ledsages af et kort, hvor de relevante oplysninger er angivet.

Beskrivelsen af lokaliteter skal indgå i amtets 'Prøvetagningsmanual for måling af miljøfarlige organiske stoffer og metaller i biota'. For yderligere information om manualen se afsnit vedr. kvalitetssikring og bilag 1 'Indholdsfortegnelse for Prøvetagningsmanual'.

6.2.3.5 Frekvens og prøvetagningstidspunkt

Prøver skal indsamles en gang årligt på et tidspunkt, når organismen befinder sig i en stabil fysiologisk tilstand.

Fisk skal derfor hvert år fanges/indsamles i perioden oktober-november, dvs. på et tidspunkt som sandsynligvis er uden for deres gydeperiode, og hvor vægten er relativt konstant.

6.2.4 Prøvetagning og prøvehåndtering

6.2.4.1 Fisk

6.2.4.1.1 Prøvetagning

Prøver kan indsamles med net fra såvel et forskningsskib som et kommercielt skib eller ved brug af en motorjolle og bundgarnsnet. I alle tilfælde skal der sikres,

- at prøven ikke bliver udsat for ekstra kontaminering, når den tages ombord eller fjernes fra nettet, f.eks. fra olie fra på skibsdækket
- at fisk, der er syge eller beskadiget, ikke udtages
- at fisken renses med vand fra stedet for at fjerne alt evt. materiale, der sidder fast på fiskens skin
- at der findes rene =kontamineringsfri beholdere ombord til opbevaring af fisken (f.eks. plast- eller rilsanposer)

Prøven/beholderen skal mærkes på en unik måde, så den nemt kan identificeres senere.

Som minimum skal der registreres følgende oplysninger i en logbog:

- stationsnummer
- position fastlagt med GPS
- start- og sluttidspunkt af fiskeri med trawl
- prøvenummer og type af prøve
- prøvetagningsdato og navn på prøvetager

Den pen og evt. etiketter, der bruges ved mærkning, skal kunne modstå fugt.

NB: Hvis fisken ikke dissekeres direkte, skal den vejes til det nærmeste gram og måles til den nærmeste mm, inden den nedfryses. Resultatet skal registreres i en logbog.

Ikke dissekerede fisk skal opbevares nedfrosne (< -20°C) indpakket enkeltvis i et velegnet materiale.

Det er for

- *organiske analyser*: Aluminiumsfolie/stanniol alternativt rilsanposer, f.eks. fra PB Miljø A/S, Bjerringbro. Plastmateriel må principielt ikke bruges, uden at det er testet for en evt. kontaminering. Ved anvendelse af stanniol skal den blanke side pakkes ind mod

fisken, da den matte side er påsprøjtet anti-statisk middel, der kan kontaminere prøven

- *metalanalyser*: Almindelige rene plasticposer inkl. rilsanposer

Fiskene skal fryses ned enkeltvis for at sikre, at nedfrysningen går så hurtigt som muligt. Herved bevares fiskens indre organer mest muligt intakte, samtidig med at man, kan bevare sammenhæng mellem fiskens analyser og dens længde/vægt mål.

De frosne prøver skal opbevares i en større beholder for at undgå, at fisken beskadiges.

Frosne fisk til metal- og PCB-analyse kan opbevares i op til 1 år.

Fersk fisk skal opbevares og transporteres ved 5-15°C, helst ved <10°C.

En temperaturløgger eller et min./maks. termometer kan bruges til at kontrollere temperaturen under længere transporter.

6.2.4.1.2 Dissekering

En frosen fisk skal dissekeres, inden den er helt optøet, da dette er betydeligt nemmere, end hvis fisken er helt optøet, og man undgår at indre organer som f.eks. leveren begynder at opløses.

Hvis fisken optøs, kan væske indeholdende kontaminanter sive ud fra f.eks. leveren eller gallen til det omkringliggende væv og herved kompromittere analysen.

Fiskearter, hvor fedtindhold i leveren kan være meget højt, f.eks. torsk, bør dissekeres direkte og ikke først nedfryses, for at undgå at leveren begynder at opløses.

Dissekeringen skal gøres under forhold som beskrevet i den tekniske anvisning 'Miljøfarlige stoffer i muslinger' (afsnit 4.4.4.1.4). Det er specielt vigtigt, at det foregår under så rene forhold som muligt for at undgå en kontaminering af prøven – helst i en såkaldt ren bæk (laminar flow bæk) hvor luften filtreres for partikler gennem et filter. Arbejdet bør derfor udføres i det laboratorium, der skal udføre analysen.

Dissekering af muskelvæv

Ved udtagelse af en muskelprøve fra fisken skal det undgås, at der medtages nogen overhud eller subkutant fedt fra prøven, da koncentrationen i dette kan afvige fra det i muskelvævet. Prøven skal hver gang udtages fra den højre rygmuskel på rundfisk, og på fladfisk fra oversiden af fisken, dvs. den side der har været i mindst kontakt med bunden. Hvis muligt skal hele musklen udtages til senere homogenisering, hvorefter delprøver af homogenatet kan udtages til de enkelte analyser. Hvis dette ikke er muligt, f.eks. hvis hele prøven ikke kan homogeniseres, udtages hver gang den samme sektion/del af rygmusklen. Her skal den del af musklen udvælges, der ligger direkte under den første rygfinnen. Det er nødvendigt at sikre så stor ensartethed som muligt ved dissekeringen fra fisk til fisk, da

6.2-9

det er vist, at vand og fedtindhold kan variere signifikant i forskellige dele af musklen og herved også koncentrationen af visse stoffer.

Dissekering af lever

Ved dissekering af leveren skal man tilse, at den ikke kontamineres af andre organer som f.eks. gallen, der kan indeholde højere koncentrationer af visse stoffer. Hele leveren skal homogeniseres (se næste afsnit), inden evt. delprøver kan udtages.

Til metalanalyser kan leveren også frysetørres, inden den homogeniseres (se næste afsnit) og evt. delprøver kan udtages.

6.2.4.1.3 Homogenisering

Inden delprøver kan udtages til de enkelte analyser, skal prøven homogeniseres. Homogenisering af prøven udføres som beskrevet i de respektive tekniske appendikser.

6.2.4.1.4 Udtagelse af øresten

Fiskens kalenderalder bestemmes ved, at årringene i fiskens øresten tælles. Ørestenen udtages forsigtigt med en kniv og placeres i en mærket beholder, f.eks. i dertil indrettede papirkuverter eller i en glas- eller plasticbeholder. Det kan være svært at finde ørestenene, ligesom der er en risiko for at skære dem over i forsøget på at lokalisere dem.

6.2.4.1.5 Opbevaring og transport af dissekeret materiale

Som beskrevet i tilsvarende afsnit i den tekniske anvisning for 'Miljøfarlige stoffer i muslinger' (afsnit 4.4.4.1.5).

6.2.5 Analysemetoder

Forskellige analysemetoder kan bruges til at bestemme koncentrationen af miljøfarlige stoffer og metaller i biologisk materiale. Hvilken metode, det enkelte laboratorium vælger, kan være afhængig af det udstyr, man har adgang til. F.eks. kan både atomabsorptionsspektrofotometri (AAS) og induktiv koblet plasma massespektrometri ICP-MS med fordel bruges til den kvantitative bestemmelse af metaller i biota. Induktiv koblet plasma atomemission (ICP-AES) har normalt ikke nok følsomhed for bly og nikkel til at kunne anvendes.

Disse tekniske retningslinier er der derfor kun vejledende retningslinier for, hvordan den enkelte analyse skal udføres. Kun i de tilfælde hvor erfaring har vist, at metodikken kan have en afgørende betydning for analyseresultatet, vil det være beskrevet som et absolut krav, at analysen skal udføres med en bestemt metodik. Detaljer vedr. de forskellige analysemetoder er beskrevet i de tekniske appendikser.

Det er imidlertid vigtigt at bemærke, at for samtlige analysemetoder gælder det, at de til enhver tid skal kunne opfylde de kvalitetskrav, det er beskrevet i afsnit vedr. kvalitetssikring.

6.2.5.1 Organiske miljøfarlige stoffer

6.2.5.1.1 Metoden

En bestemmelse af koncentrationen af de organiske miljøfarlige stoffer i biota omfatter generelt følgende punkter:

- homogenisering
- tørring
- ekstraktion med et organisk opløsningsmiddel ved soxleth eller lignende metode
- oprensning og fjernelse eller destruktion af fedtstoffer
- fraktionering og separering med gas- eller væskrokromatografi
- detektion, hvor detektortypen vil være afhængig af den stofgruppe, man ønsker at analysere for. Afhængig af om detektoren er specifik eller ej, bruges en kolonne eller to kolonner med forskellig polaritet. F.eks. bestemmes PCB og andre chlorerede forbindelser enten på en kolonne med en massespektrometer som detektor eller på to kolonner med electron capture detektor (ECD).

6.2.5.1.2 Fedt- og tørstofbestemmelse

Organiske miljøfarlige stoffer opkoncentreres i fedtvæv. Oplysning om vævets fedtindhold er derfor af afgørende betydning ved bedømmelsen af resultatet og skal derfor bestemmes og rapporteres sammen med analyseresultatet. Forskellige metoder til fedtbestemmelse bestemmer forskellige fedtfraktioner. Det er derfor væsentligt, at alle bruger den samme metode.

Såvel den totale som den ekstraherbare fedtkoncentrationen skal bestemmes. Den ekstraherbare mængden fedt kan bestemmes ud fra ekstrakten til selve stoffbestemmelsen. Den totale fedt bestemmelse skal udføres i henhold til Bligh & Dyer (1959) eller Smedes (1999). Tørstofprocenten skal være kendt i deres metode og skal derfor også bestemmes og rapporteres.

Tørstofprocenten bestemmes

enten

- som vægttab efter tørring til konstant vægt ved 105 ° C af en delprøve af homogenatet der skal analyseres

eller

- som vægttab ved frysetørring til konstant vægt af en delprøve af homogenatet der skal analyseres

Tørstofindholdet angives i %.

For flere detaljer vedrørende analysen herunder fedtbestemmelse, henvises til det tekniske appendiks for organiske klorforbindelser.

6.2.5.2 Metaller

6.2.5.2.1 Metoden

En bestemmelse af koncentrationen af metaller i biota omfatter generelt følgende punkter;

- homogenisering
- tørring
- oplukning
- fortynding
- (evt. en matrix separation)
- detektion med en elementspecifik detektor (f.eks. AAS, ICP-MS, ICP-AES, NAA)

6.2.5.2.2 Tørstofprocenten

Tørstofprocenten i prøven (homogenatet) skal bestemmes og rapporteres sammen med indholdet af metaller. Metallerne analyseres ofte i en tørret prøve, dog skal man være opmærksom på at især kviksølv er flygtigt, således at tørre proceduren skal kontrolleres for tab af kviksølv.

Tørstofprocenten bestemmes og rapporteres som beskrevet for organiske analyser.

For flere detaljer vedrørende analysen henvises til det tekniske appendiks – Miljøfarlige stoffer.

6.2.6 Kvalitetssikring

6.2.6.1 Generelt

En kvalitetssikring af en måling af miljøfarlige stoffer og metaller i biota skal sikre, at de indsamlede data opfylder de kvalitetskrav, der er opstillet til målingen.

Den omfatter derfor ikke kun den analytisk kemiske del af målingen, dvs. det der i hovedsagen foregår i laboratoriet, men samtlige processer der indgår i målingen, dvs.:

- planlægning
- prøvetagning
- prøvehåndtering

- transport og opbevaring
- prøveforberedelse og analysen
- datahåndtering
- rapportering

Hver delproces skal derfor kvalitetssikres. Dette *skal* foregå ved, at

- de kritiske processer identificeres og beskrives i en manual for målinger af miljøfarlige stoffer og metaller i biota. Denne manual vil udgøre en del af det enkelte amts kvalitetsstyringsystem (vedr. en mere detaljeret beskrivelse af indholdet i en sådan manual henvises til Bilag 1)
- der udarbejdes en kontrolprocedure for de kritiske processer der beskrives
- der udpeges en ansvarlig for hver kontrolprocedure
- at kontrollen er udført dokumenteres, f.eks. ved at udfylde et skema (på papir eller som en logfil)

Til at identificere og beskrive de kritiske delprocesser kan et flow-diagram bruges, i hvilket der markeres, hvor der skal udføres en kontrolprocedure.

Manualen for målinger af miljøfarlige stoffer skal indsendes til Det Marine Fagdatacenter til arkivering sammen med de indsendte data.

6.2.6.2 Kvalitetskrav, kvalitetskontrol og kvalitetssikring, til/af den kemiske analyse

6.2.6.2.1 Kvalitetskrav

6.2.6.2.1.1 Detektionsgrænser

Krav til detektionsgrænser for de forskellige stoffer, der indgår i overvåningsprogrammet, opdelt pr. matrice (sediment, vand, biota) fremgår af Programbeskrivelsen for NOVANA.

Detektionsgrænsen er her defineret som 3x standardafvigelsen (inden for dagen) af en naturlig prøve med et lavt indhold af det pågældende stof (analyten) eller af en blankprøve, der har gennemgået hele analyseproceduren. For organiske stoffer **skal** blankprøven være tilsat analyten, "spiket", i et niveau på op til 5 gange detektionsgrænsen.

6.2.6.2.1.2 Præcision

Præcisionen på metoden skal være af en sådan kvalitet, så at de stillede krav til detektionsgrænser og ekstern kvalitetskontrol (præstationsprøvninger) kan opfyldes.

6.2.6.2.1.3 Intern kvalitetskontrol

Analyserne skal udføres i serier på maks. 20 prøver.

Laboratoriet skal i samme analyseserie som prøven analysere følgende kontrolprøver:

- blankprøver
- et relevant internt kontrolmateriale (LRM) eller certificeret reference materiale (CRM)
- et passende antal dobbeltbestemmelser af naturlige prøver, der dækker koncentrationsintervallet. Minimum en dobbeltbestemmelse pr analyseserie.

Hvis laboratoriet anvender LRM, skal der desuden regelmæssigt analysere et certificeret referencemateriale (CRM), og dette skal altid analyseres, når f.eks. der fremstilles en ny stamopløsning til kalibrering, når et internt kontrolmateriale erstattes af et nyt, eller når der er problemer med metoden. For yderligere information om relevante CRM, henvises til de respektive tekniske appendikser.

Laboratoriet skal føre kontrolkort over kontrolanalyserne og have defineret grænser, inden for hvilke kontrolprøvens resultater skal ligge for at analyseserien kan godkendes.

6.2.6.2.1.4 Nøjagtighed og ekstern kvalitetskontrol (præstationsprøvninger)

De deltagende laboratorier skal 1-2 gange pr. år deltage i en relevant præstationsprøvning, dvs. en præstationsprøvning, hvor prøverne består af marine prøver med et koncentrationsniveau, der svarer til det, der forekommer i naturlige prøver. Se også de tekniske appendikser. Det Marine Fagdatacenter kan også give yderligere oplysninger om eksisterende relevante præstationsprøvninger.

Laboratoriets resultater skal i princippet ligge inden for de acceptable grænser, der er sat af udbyderen af præstationsprøvningen.

6.2.6.2.1.5 Kvalitetssikring

Resultatet af

- præstationsprøvninger
- det interne og certificerede kontrolmateriale
- dobbeltbestemmelser

skal løbende rapporteres sammen med analyseresultatet.

6.2.6.2.1.6 Uddannelse

Der vil ca. en gang årligt blive arrangeret temadage af Det Marine Fagdatacenter, hvor specifikke problemer i relation til prøvetagning, måling af miljøfarlige stoffer inklusive metaller, vurdering af resultat og andre relevante emner vil blive diskuteret.

6.2.7 Datarapportering

Følgende data skal noteres og rapporteres sammen med analyseresultatet:

Prøvetagning

- stationsnavn
- position (er)
- dato og tid (UTC) for prøvetagning
- prøvetagningsdybde
- prøvetagningsudstyr
- navn på institut/laboratorium der har udtaget prøven
- evt. bemærkninger f.eks. om der har været nogle afvigelser i forhold til manualen

Biologiske parametre

Fisk

For hver enkel individ:

- art, længde, total vægt, køn, alder, (reproduktions status)
- prøvetype (f.eks. muskelvæv, lever)
- total vægt og tørstof af det dissekerede organ samt fedtprocent ved analyse af organiske parametre

Analyse- og kvalitetskontrolparametre

- LRM (type, referenceværdi, resultat)
- CRM (navn, certificeret værdi, resultat)
- præcisionen på metoden beregnet fra dobbeltbestemmelser af naturlige prøver
- detektionsgrænser for hver variabel

- metode (beskrivelse af ekstraktionsoprensning/opluknings- og instrumentel metode med kodesystem)
- deltagelse i præstationsprøvning (resultat samt hvilken prøvning)
- total fedtprocent og metodeangivelse
- tørvægtsprocent

6.2.8 Referencer

1. Oslo and Paris Commission (1996): Guidelines for Monitoring Contaminants in Biota.
2. HELCOM (1997): Draft Manual for Marine Monitoring in the COMBINE Programme of HELCOM, Part D. Programme for Monitoring of Contaminants and the Effects of Monitoring.
3. Quevauviller, Ph. (Ed.): Quality assurance in environmental monitoring. Sampling and sample pretreatment. VCH Publishers, INC., Weinham and New York, 306 pp.
4. Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959): A rapid method of total lipid extraction and purification. – Can. J. Bioche. Physiol. 37, 911-917.
5. Phillips, J.H.D. & Rainbow, S.P. (1994): Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants. Chapman and Hall, Alden Press Ltd, Oxford.
6. Smedes F. 1999: Determination of total lipid using non-chlorinated solvents. – The Analyst 124 (11): 1711-1718.

6.2.9 Bilag 1 - Indholdsfortegnelse for Manual for måling af miljøfarlige organiske stoffer og metaller

Prøvetagning og analyser

Amt

Formål med prøvetagning

Undersøgelserprogram

- Stationer med stationsbeskrivelse (lokalitetsbeskrivelse som tidligere beskrevet i afsnit 6.2.3.4.2 skal indgå her).
- Parameter og matrice

Tidsplan

- Plan over hvornår der er togt/prøvetagning
- Bemanning inkl. ansvarlig for prøvetagning

Ansvarsfordeling

- I princip en liste der løbende justeres, over hvem der gør hvad hvornår

Checkliste for prøvetagningsudstyr

- Udstyr der skal bruges som står på skib
- Prøveflasker, prøvebeholder, etiketter, pen (blyant), evt. akvarier, mv., der skal medbringes, herunder vask og klargøring af disse
- Beskrivelse af hvordan man dokumenterer, at procedurer for "checklisten" er fulgt, f.eks. ved at den ansvarlige noterer det i et skema.

Prøvetagnings fremgangsmåde

- Evt. stationsparametre der skal noteres på prøvetagningstidspunktet i en logfil/skema (vind, vejrforhold etc.)
- Detaljeret beskrivelse over hvordan fisken fanges, herunder en beskrivelse af evt. udstyr, der er brugt
- Beskrivelse af evt. aftaler med 3. person for udtagelse af prøver
- Beskrivelse af hvordan man sikrer/dokumenterer, at procedurer for prøvetagning er fulgt

Håndtering af prøver på skib/ved prøvetagning

- Mærkning
- Opbevaring
- Evt. anden behandling af prøver
- Beskrivelse af hvordan man sikrer/dokumenterer, at procedurer for "håndtering af prøver på skibet " er fulgt

Håndtering af prøver efter hjemkomst

- Hvem gør hvad, og hvor skal prøverne hen
- Beskrivelse af hvordan man sikrer/dokumenterer, at procedurer for håndtering af prøver efter hjemkomst er fulgt

Kvalitetssikring og analysemetoder

Kort beskrivelse over amtets inkl. laboratoriets kvalitetssikring og analysemetoder for de målte parametre, herunder

- Diagram/tabel over hvem, der analyserer for hvad, inkl. laboratoriets navn
- Beskrivelse af analysemetoder, f.eks. beskrevet med et skema over brugte metoder og litteraturhenvisning.

Analyse variabel	Analysemetode		
	Ekstraktion/ Oplukning	Separation (kolonnetype)	Detektions- grænse
Metaller			
PCB			

- **Kvalitetskontrolprøver:**
Beskrivelse af den interne kvalitetskontrol udført på laboratoriet herunder blankprøver, type kontrolprøver til den interne kvalitetskontrol, deltagelse i præstationsprøvninger.
- Beskrivelse af hvordan man sikrer, at procedurer for kvalitets-sikring er fulgt på laboratoriet.

Databehandling og rapportering

De målte data vil sandsynligvis indgå i forskellige typer rapporter. I alle tilfælde er det nødvendigt, at man har beskrevet en procedure for, hvordan man kontrollerer og dokumenterer, at data er korrekt beregnet, overført og behandlet. Det gælder alle registrerede data som f.eks. dato, tid, vanddybder og ikke kun analyseresultat.