

Kommentarer til prøvetagning af vandprøver til undersøgelser for giftige alger i produktionsområder for søpølser

Vandprøver til undersøgelser for giftige alger i produktionsområder for søpølser

Notat fra DCE - Nationalt Center for Miljø og Energi

Dato: 7. maj 2015

Hans H. Jakobsen
Institut for Bioscience

Rekvirent:
Fødevarestyrelsen
Antal sider: 7

Faglig kommentering:
Jens Würgler Hansen

Kvalitetssikring, centret:
Susanne Boutrup



AARHUS
UNIVERSITET

DCE - NATIONALT CENTER FOR MILJØ OG ENERGI

Tel.: +45 8715 0000
E-mail: dce@au.dk
<http://dce.au.dk>

Indhold

Vandprøver til undersøgelser for giftige alger i produktionsområder for søpølser	3
Baggrund	3
Vertikal heterogenitet	3
Anbefaling til prøvetagning	3
Referencer	4

Vandprøver til undersøgelser for giftige alger i produktionsområder for søpølser

Baggrund

Fødevarestyrelsen har anmodet DCE – Nationalt Center for Miljø og Energi, Aarhus Universitet vurdere retningslinjerne for prøvetagningen for toksiske alger, som kan opfylde kravet om repræsentativ prøveudtagning i produktionsområder for søpølser.

Fødevarestyrelsen har udarbejdet reviderede retningslinjer for prøvetagningen, der tager udgangspunkt i bestemmelser om udtagning af prøver til undersøgelse for giftige alger og som findes i bekendtgørelse nr. 1013 af 19. oktober 2011 om muslinger m.m. (Muslingebekendtgørelsen). Herefter refereres den reviderede muslingebekendtgørelse som "søpølsebekendtgørelse". Det reviderede udkast til søpølsebekendtgørelsen, der er forlagt DCE, er vedlagt som bilag til nærværende notat med de relevante ændringer markeret med gult.

Vertikal heterogenitet

Fra slutningen af foråret til sidst på sommeren/begyndelsen af efteråret er der en skarp vertikal adskillelse af vandsøjlen, "lagdeling", der opstår som følge af opvarmning af overfladevandet og som følge af afstrømning af ferskvand. Dette resulterer i en adskillelse af overfladevand og bundvand, hvor der typisk er lavere koncentrationer af næringsstoffer (eksempelvis nitrogen og fosfor) i overfladevandet end i det tungere lag (koldere og mere salt) af bundvand. Såfremt lagdelingen ligger i en dybde, hvor der stadig er tilstrækkeligt lys, vil der hyppigt forekomme opblomstringer af fytoplankton omkring skillefladen. Dette er veldokumenteret i Nordsøen, hvor der typisk i perioden med lagdeling findes høje koncentrationer af fytoplankton i et veldefineret ca. 50 cm tykt lag i dybder på omkring 10 – 15 meters dybde (Richardson et al., 1998; Richardson et al., 2000).

Anbefaling til prøvetagning

DCE er blevet anmodet om at kommentere søpølsebekendtgørelsen generelt og med særligt fokus på spørgsmålet om prøvetagningsdybden.

Der planlægges fiskeri efter søpølser på positioner i Skagerrak og Norske Rende fra dybder, der kan overstige 500 meter. Den vertikale heterogenitet, der periodisk karakteriserer Nordsøen, vanskeliggør udtagning af en repræsentativ vandprøve på tre standarddybder. Eksempelvis vil det kræve avanceret prøvetagningsudstyr på dybder over 50 m, og det er derfor vanskeligt at følge anvisningerne til prøvetagningsdybder i muslingebekendtgørelsen.

DCE vurderer, at de optimale vandprøver dannes ud fra prøver, der er indsamlet i den øverste del af vandsøjlen. En netprøve anbefales indsamlet i de øverste 20 meter efter anvisningerne i den reviderede søpølsebekendtgørelse (se bilag), samt en blandingsprøve bestående af prøver indsamlet med Niskinvandhendet fra to dybder. DCE anbefaler desuden, at der udtages en prøve fra overfladen i 0-1 meters dybde samt en prøve fra en dybde på 15 meter. De to delprøver blandes og konserveres efter retningslinjerne i muslingebekendtgørelsen. Rationalet bag denne anbefaling er, at blandingsprøven udtaget i en fuldt opblandet vandsøjle indeholder de væsentligste og mest relevante arter af

fytoplankton til overvågning af toksisk fytoplankton. I sommersituationen, hvor vandsøjlen er lagdelt, og fytoplanktonsamfundet derfor er heterogent fordelt vertikalt, vil prøven udtage i 15 meters dybde i størst muligt omfang indeholde den højeste koncentration af fytoplanktonarter. DCE forslår derfor, at søpølsebekendtgørelse ændres på disse punkter punkt og har indføjet ændringerne i bilaget til dette notat (markeret med gult).

DCE er ligeledes blevet bedt om at forholde sig til omfanget af arter, der specifik adresseres i søpølsebekendtgørelsen, med henblik på om der er andre relevante arter, der bør tilføjes listen. DCE vurderer, at artlisten er fyldestgørende og fuldt dækkende med den nuværende viden om arter, deres udbredelse samt giftighed.

Referencer

Richardson,K., Nielsen,T.G., Pedersen,F.B., Heilmann,J.P., Løkkegaard,B., Kaas,H., 1998. Spatial heterogeneity in the structure of the planktonic food web in the North Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 168, 197-211.

Richardson,K., Visser,A.W., Pedersen,F.B., 2000. Subsurface phytoplankton blooms fuel pelagic production in the North Sea. *J Plankton Res* 22(9), 1663-1671.

Vandprøver til undersøgelser for giftige alger i produktionsområder for søpølser

Kapitel 1

Udtagning og opbevaring af prøver

- 1) I hver uge, hvor der høstes i et produktionsområde, skal der udtages to sæt vandprøver med størst mulig geografisk afstand i produktionsområdet. Hvert vandprøvesæt skal bestå af en kvalitativ prøve (netprøve) og en kvantitativ prøve (vandprøve)
- 2) Netprøven udtages ved hjælp af et 20 µm planktonnet, som trækkes fra 20 meters dybde til overfladen mindst tre gange, og indtil den indeholder en synlig mængde af alger. De koncentrerede alger hældes på en flaske, som efterfyldes med ca. 100 ml vand fra lokaliteten og konserveres med Lugol, jf. nr. 8.
- 3) Vandprøver fra produktionsområder udtages ved hjælp af en Niskin-type vandhenter, volumen 1 liter, i følgende to dybder:
 - a) i overfladen (0-1 meters dybde),
 - b) i 15 meters dybde
- 4) Prøverne fra de i nr. 3 nævnte to dybder blandes i en ren spand, som er skyllet mindst tre gange i vand fra lokaliteten, og der udtages en vandprøve på ca. 100 ml fra blandingen, som hældes i en flaske og konserveres med Lugol.
- 5) Til konserveringen skal bruges 1 ml Lugol pr. 100 ml prøve. Prøven får herved en farve som lys cognac. Lugolen skal være tilsat eller tilsættes vandprøven umiddelbart efter, at prøven er hældt i flaskerne. Flaskerne må ikke fyldes op til låget.
- 6) Lugol skal fremstilles af: 43,5 g jod + 87,0 g kaliumjodid + 869,5 g demineraliseret vand.
- 7) Prøveudtagning skal foregå således, at prøver med sikkerhed kan identificeres. Vandprøvesættene skal mærkes med:
 - a) Prøveudtagningsdato.
 - b) Prøveudtagningsposition i grader og decimalminutter med 3 decimaler, som angives i WGS 84-systemet..
 - c) Produktionsområdets nummer og evt. geografiske navn.
 - d) Fartøjets nummer og navn.
 - e.
 - f) Teksten ”netprøve” eller ”vandprøve”.
- 8) Net og vandprøver skal opbevares således, at de ikke fryser og ikke udsættes for direkte solllys.

Kapitel 3

Indsendelse af prøver

- 1) Netprøver og vandprøver pakkes forsvarligt inden indsendelse.
- 2) Prøverne skal hurtigst muligt og senest dagen efter landing indsendes til analyse på et laboratorium, som Fødevarestyrelsen har indgået aftale med om udførelse af analyserne.

Kapitel 4

Analyse af prøver

- 1) Laboratoriet skal påbegynde analysen hurtigst muligt og senest dagen efter modtagelse af prøven.

Kvalitative undersøgelser

- 1) Den kvalitative algeundersøgelse skal udføres på det opkoncentrerede plankton fra netprøven.
- 2) I laboratoriet udtages delprøver af netprøven, som skal undersøges ved lysmikroskopi og for de thekate furealgers vedkommende også ved epifluorescens mikroskopi ved anvendelse af fluoro-

kromet Calco Fluor White eller et tilsvarende fluorokrom, som er specifikt for cellulosen i de thekate furealgers plader.

- 3) Indenfor *Dinophysis* slægten identificeres som minimum følgende arter:
 - a) *Dinophysis acuminata*
 - b) *Dinophysis acuta*
 - c) *Dinophysis dens*
 - d) *Dinophysis norvegica*
 - e) *Dinophysis rotundata*
 - f) Andre *Dinophysis* arter, der kan henføres til artsgruppen *Dinophysis* spp.
- 4) Indenfor *Alexandrium* slægten identificeres som minimum følgende arter:
 - a) *Alexandrium tamarense*
 - b) *Alexandrium ostenfeldii*
 - c) *Alexandrium minutum*
 - d) *Alexandrium pseudogonyaulax*
 - e) Andre *Alexandrium* arter, der kan henføres til artsgruppen *Alexandrium* spp.
- 5) Indenfor *Pseudo-nitzschia* slægten identificeres som minimum arten *Pseudo-nitzschia seriata*. Andre arter fra slægten, der kan henføres til artsgruppen *Pseudo-nitzschia* spp.
- 6) Indenfor slægten *Prorocentrum* identificeres som minimum følgende arter:
 - a) *Prorocentrum micans*
 - b) *Prorocentrum minimum*
 - c) *Prorocentrum lima*
 - d) *Prorocentrum triestinum*
 - e) *Prorocentrum balticum*
 - f) Andre arter fra slægten *Prorocentrum*, der kan henføres til artsgruppen *Prorocentrum* spp.
- 7) Indenfor slægten *Protoceratium* identificeres som minimum arten *Protoceratium reticulatum*. Andre arter fra slægten, der kan henføres til artsgruppen *Protoceratium* spp.
- 8) Indenfor slægten *Lingulodinium* identificeres som minimum arten *Lingulodinium polyedrum*. Andre arter fra slægten, der kan henføres til artsgruppen *Lingulodinium* spp.
- 9) Indenfor slægten *Azadinium* identificeres arten *Azadinium spinosum*, 10) Indenfor slægten *Karenia* identificeres som minimum arten *Karenia mikimotoi*. Andre arter fra slægten, der kan henføres til artsgruppen *Karenia* spp.
- 11) Indenfor slægten kiselalger identificeres som minimum arten *Pseudo-nitzschia seriata*. Andre arter fra slægten, der kan henføres til artsgruppen *Pseudo-nitzschia* spp.
- 12) Indenfor klassen blågrønialger (cyanobakterier) identificeres som minimum arten *Nodularia spumigera* og arter fra slægten *Anabaena*, som alle kan henføres til artsgruppen *Anabaena* spp.

Kvantitative undersøgelser

- 1) De kvantitative algeundersøgelser skal udføres på vandprøver indsamlet som blandingsprøver, jf. dette bilags kapitel 1, nr. 4-6.
- 2) Kvantificeringen af de potentielt toksiske alger udføres ved hjælp af omvendt mikroskop og epifluorescensmikroskopi, jf. P. Andersen og J. Thronsdén, "Estimating cell numbers", (2003), og G.M. Hallegraeff, D. M. Anderson og A. D. Cembella (eds.), "Manual on Harmful Marine Microalgae", p. 99-130, (2003), UNESCO Publishing.
- 3) Ved anvendelse af omvendt mikroskop og et kammervolumen på mindre end eller lig med 25 ml skal sedimentationstiden være mindst 12 timer. Ved anvendelse af kammervolumener større end 25 ml skal sedimentationstiden være mindst 24 timer.
- 4) Kvantificeringen af alger skal for koncentrationer mindre end 10.000 celler/l udføres ved at tælle på hele tællearealet.
- 5) Ved anvendelse af et tælle volumen på 25 ml og tælling af hele tællearealet svarer fundet af én celle til 40 celler/l (= 0,04 celler/ml). Da denne koncentration baseres på fundet af en enkelt algecelle, med en deraf følgende stor usikkerhed på den beregnede koncentration, anvendes i

praksis en nedre koncentrationsgrænse for registrering af koncentrationen af alger på 100 celler/l. Dette svarer til, at der bliver fundet 2 algeceller ved tællingen af hele tællearealet.

- 6) Ved koncentrationer af alger større end 10.000 celler/l kan der tælles på delområder af tællearealet.
- 7) I forbindelse med fund af algegifte i søpølser bestemmes koncentrationer af alger med en præcision, som gør det muligt at vurdere udviklingen i toksinindholdet i søpølser I praksis betyder det, at 95% konfidensintervallet er på max. 30% af den beregnede gennemsnitskoncentration. Dette svarer til, at der bør være talt mere end 50 celler.
- 8) For at kunne bestemme koncentrationen af arterne fra slægterne *Dinophysis* og *Alexandrium*, som kan medføre ophobning af algegifte i søpølser ved relativt lave koncentrationer (200-500 celler/l) med denne sikkerhed, skal det kvantificeres ved anvendelse af prøve-volumener på 50-200 ml. Dette skal ske ved anvendelse af sedimentationskamre eller ved hjælp epifluorescensmikroskopi baseret på nedfiltrering og farvning af de thekate furealger med Calcofluor White, jf. P. Andersen og H. S. Kristensen, "Rapid and precise identification of thecate dinoflagellates using epifluorescence microscopy", (1995), og "Proceedings from the 6th International Conference on Toxic Marine Phytoplankton", Nantes 1993, p. 713-718, (1995), Lavoisier, Paris.
- 9) Alle resultater rapporteres i skemaform med angivelse af artsnavn og den beregnede koncentration af de kvantificerede arter.
- 10) Hvis en art kun registreres ved den kvalitative analyse, eller hvis arten registreres i en koncentration på mindre end 100 celler/l, angives den med et X i skemaet.