

# Undersökningstyp - Metaller och organiska miljögifter i ägg av sillgrissla

Version 1:2, 2021-03-17

Programområde: Kust och Hav  
Handledning för miljöövervakning



Foto: Eva Kylberg, Naturhistoriska Riksmuseet. Sillgrisslägg från Stora Karlsö.

## Innehåll

Bakgrund och syfte med undersökningstypen .....	3
Samordning.....	3
Strategi .....	3
Havsmiljödirektivet.....	3
Helcom .....	4
Ospar .....	4
Statistiska aspekter.....	4
Tidsserieövervakning .....	4
Rumslig övervakning .....	5
Antal prover .....	5
Mätprogram .....	5
Variabler.....	6
Frekvens och tidpunkter .....	7
Observations/provtagningsmetodik.....	7
Tillvaratagande av prov, analysmetodik.....	7
Kvalitetssäkring .....	8
Databehandling, datavärd.....	8
Rapportering, utvärdering.....	9
Tids- och kostnadsuppskattning.....	9
Fasta kostnader .....	9
Analyskostnader.....	9
Tidsåtgång .....	9
Författare och kontaktpersoner .....	10
Referenser.....	11
Metodreferenslista.....	11
Uppdateringar, versionshantering .....	13
Bilaga 1. Provtagningsmetodik.....	13
Bilaga 2. Tillvaratagande av prov .....	14
Förvaring .....	15
Variabler.....	15
Bilaga 3. Dokumentation.....	16
Fältprotokoll .....	16
Bakgrundsinformation.....	16
Provberedning inför kemisk analys.....	16

## Bakgrund och syfte med undersökningstypen

Syftet är att följa hur halterna av metaller och organiska miljögifter varierar med tiden vid lokalen i egentliga Östersjön.

Sillgrisslan kan med fördel användas vid övervakning av miljögifter i marin miljö eftersom den äter fisk, övervintrar i Östersjön och dess ägg har en hög och stabil fetthalt. Resultaten från miljögiftsanalyser uppvisar låg slumpmässig variation mellan olika år, vilket ger en hög statistisk styrka vid tidsseriestudier.

Undersökningstypen kan användas för att följa utveckling och status hos den marina miljön i förhållande till EU:s havsmiljödirektiv samt miljömålen *Giftfri miljö* och *Hav i balans samt levande kust och skärgård* och kan utgöra grund för åtgärdsförslag och uppföljning av utförda åtgärder.

## Samordning

Miljöövervakningen enligt denna undersökningstyp bör i tillämpliga fall samordnas med beståndsuppskattningar.

Överväg om det är lämpligt att samordna med övervakning enligt undersökningstyperna ”Metaller och organiska miljögifter i fisk” och ”Metaller och organiska miljögifter i blåmussla”.

## Strategi

Tidsserieövervakning används för att visa förändringar med tiden. Detta kan innebära att beskriva belastningsstatus och detektera förändringar i belastning och effekter av åtgärder. Vid tidsserieövervakning regleras kravet på precision av ambitionen att inom rimlig tid kunna påvisa förändringar. Tidsserierna är också viktiga för att beskriva naturlig variation.

### Havsmiljödirektivet

Havsmiljödirektivet är implementerat i svensk lagstiftning genom havsmiljöförordningen. Här framgår att följande ska övervakas:

- Tillförsel av ämnen (t.ex. syntetiska ämnen, icke syntetiska ämnen, radionuklider) – diffusa källor, punktkällor, atmosfärisk deposition, akuta händelser

Vid bedömning av belastningarna bör hänsyn tas till deras nivåer i den marina miljön och, i tillämpliga fall, tillförselgraden (från landbaserade eller atmosfäriska källor) till den marina miljön.

Bedömningen baseras på att koncentration av ämne i biota jämförs mot tröskelvärden. Koncentrationen avser medelvärde och beräknas per provtagningslokal. Tröskelvärdet klaras då medelvärdet understiger tröskelvärdet

Det finns även en miljökvalitetsnorm för tillförsel av farliga ämnen (B.1) med en indikator (B.1.1) där målvärdet uppnås när halterna av farliga ämnen i fisk, musslor och sillgrisslägg inte uppvisar någon signifikant ökande trend jämfört med närmast föregående sexårsperiod

B1 – Tillförsel av farliga ämnen från mänsklig verksamhet ska minska tills den inte orsakar halter av farliga ämnen som förhindrar att god miljöstatus uppnås.

B.1.1 Trend för ackumulerade farliga ämnen i biota.

### Helcom

Som part i Helsingforskonventionen ska Sverige delta i arbetet med att skydda Östersjön samt följa de rekommendationer som tas fram inom konventionen. Farliga ämnen i biota ingår i HELCOM Monitoring Manual i sub-programmet [Contaminants in biota](#).

I Baltic Sea Action Plan (BSAP) bidrar data över koncentrationer av farliga ämnen till att följa upp mål under tema Hazardous substances: *Concentrations of hazardous substances close to natural levels*.

### Ospar

Som part i Ospar-konventionen ska Sverige delta i arbetet med att skydda Nordsjön samt följa de beslut, rekommendationer och överenskommelser som tas fram inom konventionen.

Övervakning av farliga ämnen ingår i [OSPAR CEMP](#) som är en del i Joint Assessment and Monitoring Programme (JAMP); tema H – Hazardous substances.

I [North East Atlantic Environmental Strategy](#) framgår att ett övergripande mål är att förhindra förorening av havet genom att minska utsläppen av farliga ämnen, med det slutliga målet att uppnå koncentrationer nära bakgrundsvärdet för naturligt förekommande ämnen och nära noll för syntetiskt framställda substanser.

## Statistiska aspekter

För att välja lämplig statistisk bearbetning eller metoder rekommenderas den handledning i [Dataanalys och hypotesprövning för statistikanvändare](#), som finns på Naturvårdsverkets webbplats (<https://www.naturvardsverket.se/Stod-i-miljoarbetet/Vagledning/Miljoovervakning/Handledning/Utformning-av-program-och-statistik/>) samt webbplatsen: [www.miljostatistik.se](http://www.miljostatistik.se). Se också kapitel 7 i referens [1] samt referens [2].

### Tidsserieövervakning

Utvärdering av tidsserier diskuteras bl.a. i referens [1]. Då studien utformas är det viktigt att syftet är klart fastställt och att man bestämmer med vilken säkerhet och hur snabbt en förändring över tid ska kunna detekteras. Man bör även väga in känsligheten i tidsserien, hur stora förändringar samt hur snabba förlopp som ska

beskrivas Detta avgör hur många prover som ska analyseras och hur ofta provtagning ska utföras.

Inledningsvis ska provtagning alltid utföras varje år. Är det stora variationer i uppmätta halter måste provtagningen även fortsättningsvis ske årligen.

Om man strävar efter en statistisk styrka på 80 % och vill kunna upptäcka en genomsnittlig årlig förändring ned till 10 % krävs ofta en övervakningsperiod på mellan 10 och 15 år. Periodens längd varierar dock med mätvariabel, provtagningsmatris och station.

I det nationella övervakningsprogrammet för Kust och hav analyseras i sillgrissleägg metaller, PCB och klorerade pesticider, polybromerade difenyletrar och HBCDD i individuella prov (10 individuella prov per år och lokal). Dioxiner och perfluorerade ämnen analyseras i ett poolat prov av 10 ägg per år. Fördelar och nackdelar med individuella respektive poolade prov finns i viss mån redovisade i referens [4] och var under 2008 föremål för en grundligare utredning initierad av Naturvårdsverket. Valet mellan poolade prov eller individuella prov är beroende av syftet med undersökningen samt tidigare kunskap om variation i matrisen som undersöks [21, 22].

### **Rumslig övervakning**

Typiska mål vid geografiska undersökningar kan vara att visa skillnader mellan exempelvis belastade områden och referensområden, påvisa geografiska gradienter (exempelvis kust - hav), upptäcka "hot spots" eller klassificera områden i förhållande till olika gränsvärden. När syfte och kvantitativt uppställda mål har preciserats kan man beräkna hur många prov som behövs [2].

### **Antal prover**

Antal ägg som bör samlas in är beroende av den naturliga variationen i populationen och tillgången på ägg. För att erhålla ett någotsånär tillförlitligt medelvärde krävs som regel minst 10 individuellt analyserade prover. Detta ska endast ses som ett vägledande förslag. Det är förhållandena i de enskilda fallen som är styrande för var gränsen går för statistiskt säkerställda data.

Om det är möjligt bör minst 10 ägg samlas in per lokal och år.

## **Mätprogram**

Inom den nationella miljöövervakningen samlas sillgrissleägg in från två lokaler i Östersjön, Stora Karlsö (egentliga Östersjön) och Bonden (Bottenhavet) men det är bara ägg från Stora Karlsö som analyseras för miljögifter. Från Bonden samlar man endast in rötägg.

För att samla in ägg krävs att man söker tillstånd från Naturvårdsverket för insamling av ägg för vetenskapliga ändamål. Aktuella bestämmelser som ansökan bedöms utifrån är 31 § första stycket och 32 § andra stycket i jaktförordningen.

## Variabler

**Tabell 1.** Översiktstabell med variabler och tidsperioder, m.m.

Område	Företeelse (Matris)	Mätvariabel	Enhet / klassade värden	Prioritet	Frekvens och tidpunkter	Referens till provtagningsmetodik	Referens till analysmetod	
Lokal	Ägg (alt. Ägg, okläckta)	Antal						
		Ägg	Läggningsföljd				Bilaga 1	
	Vikt		g					
	Längd		mm					
	Bredd		mm					
	Aggskal	Vikt	g					
		Tjocklek						
		Skalindex*	g/cm <sup>2</sup>					
	Ägg-innehåll	Färg						
		Lukt						
		Fetthalt			Obl. för organiska miljögifter	Bestäms i samband med analys		Ref [1]
		Vattenhalt				Bestäms i samband med analys		

**Tabell 2.** Översiktstabell av miljögifter

Område	Företeelse (Matris)	Mätvariabel	Enhet / klassade värden	Statistisk värdetyp	Priorite	Frekvens och tidpunkter	Referens till provtagningsmetodik	Referens till analysmetod
	Agginnehåll resp. Embryo	Halter av Metaller (Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Zn, As, Ag, Sn, Se)	µg/g torrsvikt					[1]
		Hg	ng/g färsksvikt					
		Halter av Klorerade ämnen (PCB-28, -52, -101, -118, -138, -153, -180, DDT, DDE, DDD, α-, β-, γ-HCH, HCB)	µg/g fettsvikt					
		Halter av Polybromerade flamskyddsmedel (BDE-47, -99, -100, 153, 154, HBCDD)	ng/g fettsvikt					
		Halter av Dioxiner (dioxiner, dibensofuraner, dioxinlika-PCB:er)	pg/g färsksvikt	Medelvärde (Samling sprov)				
		Halter av Perfluorerade föreningar (perfluorerade karboxylater (PFCAs))	ng/g färsksvikt	Medelvärde (Samling sprov)				

		och perfluorerade sulfonater (PFSs),						
--	--	--------------------------------------	--	--	--	--	--	--

### **Frekvens och tidpunkter**

Provtagningsfrekvensen är beroende av hur snabba förlopp som skall beskrivas. Ändrade utsläpp eller insatta åtgärder kan göra att halterna i organismer förändras på mycket kort sikt. För att detektera förändringarna krävs med största sannolikhet årlig provtagning. Vill man trots det göra avsteg från årlig provtagning måste detta särskilt motiveras.

### **Observations/provtagningsmetodik**

Undersökningstypen följer huvudsakligen de riktlinjer för miljöövervakning som rekommenderas av HELCOM [18] och OSPAR [19] samt museets riktlinjer för insamling, provberedning och lagring av fågelägg, beskrivet i Bilaga 1. För beskrivning av provtagningsmetoder hänvisas till Bilaga 1. I Bilaga 3 beskrivs dokumentation kring insamling och provtagning.

### **Tillvaratagande av prov, analysmetodik**

De analysmetoder som rekommenderas finns beskrivna i referens [1]. De PCB-kongener som mäts i det nationella övervakningsprogrammet är CB-28, CB-52, CB-101, CB-118, CB-138, CB-153 samt CB-180, vilka rekommenderas av ICES. Halterna av dessa är i de flesta fall mätbara. Metoden beskriver även analys av DDT och dess nedbrytningsprodukter DDD och DDE, samt HCB och tre hexaklorocykloalkaner. Koncentrationen av dessa ämnen samt fetthalt fås ur samma analys. Den första delen, d.v.s. extraktion och upprening är samma för PCB och pesticider som för BDE:er och HBCDD, men analysen är olika. För PCB och pesticider använder man GC-ECD och för BDE:er och HBCDD använder man GC-MS med negativ kemisk jonisation [12]. Analys av dioxiner och plana PCB följer i stort sett samma provbearbetning men kräver några ytterligare steg av upprening följt av masspektrometrisk analys beskriven i referens [1].

Metaller som analyseras inom det nationella övervakningsprogrammet är Hg, Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Zn, As, Sn, Se samt Ag. Den rekommenderade analysmetoden hänvisas till i referens [1].

För metod som används för analys av perfluorerade ämnen inom det nationella miljöövervakningsprogrammet hänvisas till referens [1].

Det är av stort värde att insamlat material sparas i Naturhistoriska riksmuseets Miljöprovbank för att möjliggöra retrospektiva studier. Diskutera gärna med någon av författarna som listas i slutet av dokumentet.

För mer information kring hantering av insamlade ägg, se Bilaga 1. ”Provtagningsmetodik”.

För information om tillvaratagande av prov samt lagring, se Bilaga 2. ”Tillvaratagande av prov”.

För information om dokumentation vid insamling och provberedning, se Bilaga 3. ”Dokumentation”.

## Kvalitetssäkring

Provinsamling, hantering, transport, preparering, provberedning och analysverksamhet ska genomföras enligt utvecklade och dokumenterade rutiner för kvalitetssäkring [1, Bilaga 1 och 2]. Det krävs att inblandade laboratorier är ackrediterade och regelbundet deltar i provningsjämförelser. Uppgifter om analysmetoder och modifieringar av dessa registreras tillsammans med mätdata. För att bibehålla en hög kvalitet krävs att provet/organismen fryses snarast möjligt efter insamling. Övriga praktiska instruktioner framgår av provtagningsmetodiken.

## Databehandling, datavärd

Datavärden lagras uttryckta på färskvikts- eller fettviktsbasis i en databas (se tabell 2). För alla organiska ämnen anges även provets fetthalt (med undantag för perfluorerade ämnen). För Hg lagras data uttryckt i färskvikt medan data för övriga metaller lagras som torrsvikt. Det ska tydligt framgå om mindre-än-värden (<) avser detektionsgräns eller kvantifieringsgräns.

Kvalitetssäkrade data från uppdraget skall skickas till datavärd. Från 2018 är SGU datavärd (SGU, Sveriges Geologiska Undersökning (kontakt: miljogifter.datavardskap@sgu.se)). Vid leverans av resultat till datavärdskapet blir resultaten offentliga.

Kontaktperson:

Annika Dahlgren

Tel: 018-17 90 77

Sveriges geologiska undersökning (SGU)

Box 670

751 28 Uppsala

Datavärdskapets leveransmall för biota ska användas vid leverans av data till datavärd ([inrapportering-av-data-till-datavardskap-for-miljogifter.pdf](#)).

Leveransmallen bör därför laddas ner före undersökningens början så att samtliga uppgifter som krävs för leveransen samlas in. Det är också viktigt att se till att ProvpplatsID är registrerat i stationsregistret samt att ämneskoder och övriga relevanta koder är inlagda i Miljödatasamverkan, i annat fall måste utföraren begära att stationerna registreras samt att koder skapas.



## Rapportering, utvärdering

Resultat bör redovisas årligen. Referens [1 och 13] visar exempel på årsrapporter från det nationella miljöövervakningsprogrammet. I görligaste mån ska också resultaten jämföras med och utvärderas tillsammans med resultat från andra undersökningar i området.

Resultaten kan användas för uppföljning av EU:s havsmiljödirektiv samt miljömålen *Giftfri miljö* och *Hav i balans samt levande kust och skärgård*.

## Tids- och kostnadsuppskattning

### Fasta kostnader

Kostnaden för insamling av ägg från en provtagningslokal varierar stort mellan olika lokaler. Kostnaderna påverkas i stor utsträckning av tillgängligheten av undersökningsområdet och om utomstående provtagare måste tas in. Kostnaden av insamling av ägg från en lokal uppskattas till mellan 10 000 och 15 000 kr. Kostnader för provberedning inklusive accessionsföring i provbank beräknas till 800/prov.

### Analyskostnader

Ofta analyseras liknande ämnen tillsammans och de priser som presenteras nedan är ungefärliga paketpriser från år 2021, de ämnen som vanligtvis ingår står skrivna inom parentes.

<i>Analys av</i>	<i>kr/prov</i>
Metaller (Pb, Cd, Ni, Cr, Cu, Zn, Hg, As, As, Sn, Se)	2 000
Klorerade ämnen (PCB (7 kongener), DDE, DDD, DDT, $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -HCH och HCB)	3 500 – 4 800
Bromerade ämnen (PBDE (4-6 brom) samt HBCDD)	4 600 - 5 900
Dioxiner (dioxiner, dibensofuraner, dioxinlika-PCB:er (dioxinlika-PCB saknar kloratomer i de fyra positionerna närmast bindningen mellan bensenringarna och är lika dioxiner i sin struktur)	10 000
PFAS (perfluorerade karboxylater (PFCAs) och perfluorerade sulfonater (PFSs)	4 800

### Tidsåtgång

Den arbetstid som krävs för att söka tillstånd samt insamling av ägg från en lokal varierar stort beroende på olika faktorer som exempelvis hur lokalen är belägen, tillgången på ägg o.s.v. Generellt sett kan man uppskatta tidsåtgången till en 1-2 arbetsdagar à två personer.

När det gäller själva prepareringen för analys och lagring i Miljöprovbank tar det ca 6 timmar att preparera (skära upp, tömma på innehåll, homogenisera, disk etc.) de 10 ägg som ska på analys, och sedan 2-3 timmar att provbereda dem.

## Författare och kontaktpersoner

*Programansvarig, Naturvårdsverket:*

Elisabeth Nyberg  
Miljögiftsenheten  
Naturvårdsverket  
106 48 Stockholm  
Epost: [elisabeth.nyberg@naturvardsverket.se](mailto:elisabeth.nyberg@naturvardsverket.se),  
Tel: 010-698 17 68

*Författare:*

Sara Danielsson  
Enheten för miljöforskning och övervakning  
Naturhistoriska Riksmuseet  
Box 500 07  
114 18 Stockholm  
Tel: 08-519 540 23  
E-post: [sara.danielsson@nrm.se](mailto:sara.danielsson@nrm.se)

Eva Kylberg  
Enheten för miljöforskning och övervakning  
Naturhistoriska Riksmuseet  
Box 500 07  
114 18 Stockholm  
Tel: 08-519 541 04  
E-post: [Eva.Kylberg@nrm.se](mailto:Eva.Kylberg@nrm.se)

*Övriga kontaktpersoner:*

Livsmedelsverket (analys av PCB, OCP (samlingsnamn för klorerade pesticider),  
PBDE, och HBCDD)

Marie Aune  
Tel 018-17 56 79  
E-post: [Marie.Aune@slv.se](mailto:Marie.Aune@slv.se)

ACES (analys av metaller)  
Marcus Sundbom  
Tel 08-674 72 42  
E-post [Marcus.Sundbom@aces.su.se](mailto:Marcus.Sundbom@aces.su.se)

SLU (analys av PFAS)  
Karin Wiberg  
Tel. 018 – 67 31 15  
E-post: [Karin.Wiberg@slu.se](mailto:Karin.Wiberg@slu.se)

Inst för Miljökemi, Umeå Universitet (analys av dioxiner och dioxinlika PCB)  
Peter Haglund  
Tel: 090-786 66 67  
E-post: [peter.haglund@chem.umu.se](mailto:peter.haglund@chem.umu.se)

## Referenser

### Metodreferenslista

1. Bignert, A., Danielsson, S., Ek, C., Faxneld, S., Nyberg, E. 2017. Comments Concerning the National Swedish Contaminant Monitoring Programme in Marine Biota, 2017 (2016 years data), 10:2017, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden
2. Naturvårdsverket 2008. Provtagningsdesign – rumslig övervakning. i: Övervakning av ytvatten. Handbok / Naturvårdsverket 2008:2, s. 92-110 (Bilaga 2).  
<http://www.naturvardsverket.se/Documents/publikationer/620-0152-0.pdf>
3. Bignert, A. 2002. The power of ICES contaminant trend monitoring. *ICES Marine Science Symposia*, 215: 195-201.
4. Bignert, A., Göthberg, A., Jensen, S., Litzén, K., Odsjö, T., Olsson, M. och Reutergårdh, L. 1993. The need for adequate biological sampling in ecotoxicological investigations: a retrospective study of twenty years pollution monitoring. *The science of the total environment* 128 (1993) 121-139.
5. Bignert, A., Riget, F., Braune, B., Outridge, P., Wilson, S. 2004. Recent temporal trend monitoring of mercury in Arctic biota – how powerful are the existing datasets? *J. Environ. Monit*, 6, 351 – 355.
6. Eriksson, U., Häggberg, L., Kärsrud A-S., Litzén, K., Asplund L.2003: Analytical method for determination of chlorinated organic contaminants in biological matrices. Department of Environmental Science, Stockholm University. ITM rapport 59.
7. Borg, H., Edin, A., Holm, K., Sköld, E. 1981. Determination of metals in fish livers by flameless atomic absorption spectroscopy. *Water research* Vol.15. pp.1291-1295.
8. May, K. and Stoeppler, M. 1984. Pretreatment studies with biological and environmental materials. *Fresenius J. Anal.Chem* 317:248-251.
9. Lindsted, G. and Skare, I. 1971. Microdetermination of mercury in biological samples. *Analyst*, Vol.96, pp. 223-229.

10. Nordic environmental specimen banking : methods in use in ESB : manual for the Nordic countries. TemaNord 1995:543. Copenhagen : Nordiska Ministerrådet.  
<http://esb.nrm.se/manual.htm>
11. Powley CR., Buck RC. 2005. Matrix-effect free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in biological samples. Poster presented at the Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), 15th Annual Meeting of SETAC Europe, Lille, France, May 22–26, 2005.
12. Sellström, U., Bignert, A., Kirkegaard, A., Häggberg, L., de Wit, C.A., Olsson, M., Jansson, B. 2003. Temporal Trend Studies on Tetra- and Pentabrominated Diphenyl Ethers and Hexabromocyclododecane in Guillemot Egg from the Baltic Sea. *Environmental Science and Technology* 37. pp. 5496-5501.
13. Danielsson, S., Ek, C., Faxneld, S., Winkens Pütz K. 2019. The Swedish National Monitoring Programme for Contaminants in marine biota (until 2017 year's data) – Temporal trends and spatial variations. 2:2019, Swedish Museum of Natural History, Stockholm, Sweden
14. Bignert, A., Litzén, K., Odsjö, T., Persson, W. and Reutergårdh, L. 1995. Time-related factors influence the concentrations of sDDT, PCBs and shell parameters in eggs of Baltic guillemot (*Uria aalge*), 1861–1989.

### Rekommenderad litteratur

15. Bignert, A., Nyberg, E., Asplund, L., Berger, U., Eriksson, U., Holmström, K., Wilander, A., Haglund, P. 2007. Miljögifter– klassgränser att diskutera. i: Havet : om miljötillståndet i svenska havsområden, 2007. Stockholm, Naturvårdsverket 2007, s. 72-76.
16. Bignert, A., Nyberg, E. 2006. Underlag för dimensionering av nationell miljögiftsövervakning i kust och hav : sakrapport. Naturhistoriska riksmuseet. 14 pp.  
[http://www.naturvardsverket.se/upload/02\\_tillstandet\\_i\\_miljon/Miljoovervakning/rapporter/hav/underlag\\_dimension\\_miljogiftsoverv.pdf](http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/rapporter/hav/underlag_dimension_miljogiftsoverv.pdf)
17. Bignert, A., Olsson, M., Persson, W., Jensen, S., Zakrisson, S., Litzén, K., Eriksson, U., Häggberg, L. and Alsberg, T. 1998. Temporal trends of organochlorines in Northern Europe, 1967-1995. Relation to global fractionation, leakage from sediments and international measures. *Environmental Pollution* 99:177-198.
18. HELCOM, 2001. Manual for marine monitoring in the Combine Programme of HELCOM. Updated 2007.  
[http://www.helcom.fi/groups/monas/CombineManual/en\\_GB/Contents/](http://www.helcom.fi/groups/monas/CombineManual/en_GB/Contents/)
19. OSPAR Commission 1999. JAMP guidelines for monitoring contaminants in biota. OSPAR Commission. Monitoring guidelines 1999-2  
<http://www.ospar.org/documents/dbase/decrecs/agreements/99-02e.doc>
20. Sandström, O., Larsson, Å., Andersson, J., Appelberg, M., Bignert, A., Ek, H., Förlin, L., Olsson, M. 2005. Integrated fish monitoring in Sweden. *Water Quality Research Journal of Canada*. Volume 40, No. 3.
21. Bignert, A. 2008. Some consequences using pooled samples versus individual samples and pooled samples with various relation between sampling error and

uncertainty due to chemical analysis. Swedish Museum of Natural History  
[http://www.naturvardsverket.se/upload/02\\_tillstandet\\_i\\_miljon/Miljoovervakning/rappor/ter/hav/consequences\\_pooled\\_samples.pdf](http://www.naturvardsverket.se/upload/02_tillstandet_i_miljon/Miljoovervakning/rappor/ter/hav/consequences_pooled_samples.pdf)

22. Bignert A., U. Eriksson, E. Nyberg, A. Miller, and S. Danielsson. 2014. Consequences of using pooled versus individual samples for designing environmental monitoring sampling strategies. *Chemosphere* 94, 177-182.
23. van Leeuwen S., Kärrman A., Zammit A., van Bavel B., van der Veen I., Kwadijk C., de Boer J. Lindstöm, G. 2005. 1st worldwide interlaboratory study on perfluorinated compounds in human and environmental matrices. Report August 11, 2005. Netherlands Institute for Fisheries Research (ASG-RIVO), IJmuiden, The Netherlands, 2005.
24. SMNH (Swedish Museum of Natural History). 2012. Manual for collection, preparation and storage of fish. Available at:  
<http://www.nrm.se/download/18.9ff3752132fdaeccb6800029077/1367705573979/Fiskhandbok+1.0.pdf>

## Uppdateringar, versionshantering

Version 1:0 2009-03-31. Ny undersökningstyp.

Version 1:1 2014-03-31. Uppdatering referenser samt text.

Version 1:2 2021-03-17. Uppdatering referenser samt text.

## Bilaga 1. Provtagningsmetodik

För övervakning av miljögifter i egentliga Östersjön har ägg av sillgrissla visat sig vara en mycket användbar matris. Sillgrisslan hämtar sin föda bestående av fisk i det öppna havet och integrerar på ett ändamålsenligt sätt föroreningsbilden i det område den representerar.

**Insamlingsområden:** Insamling av ägg av sillgrissla kan endast ske i de områden där sillgrisslan häckar i tillräckligt stora kolonier för att tåla insamling. Insamling av sillgrissleägg i Östersjön är förlagd till Stora Karlsö utanför Gotland och till Bonden i Norra Kvarken i Bottenhavet. Vid Bonden samlas endast rötägg in de år det finns tillgång.

**Insamlingsstillfälle, förska ägg:** Ägg insamlas årligen. Äggen insamlas så snart som möjligt efter att läggningen är avslutad och ej senare än 14 dagar efter det att första äggen lagts i kolonien. Ett ägg per bo insamlas (sillgrisslan lägger vanligtvis bara ett ägg per häckning).

**Insamlade prover, förska ägg:** Inom den nationella miljöövervakningen insamlas normalt 20 ägg för kemisk analys och för förvaring av prover i miljöprovbank. I möjligaste mån noteras äggläggningstid/datum för att undvika insamling av eventuella ägg som lagts som ersättning (omläggningsägg) till förlorat ägg. Halten av miljögifter i ett omläggningsägg har visat sig vara högre för vissa miljögifter jämfört med det ”första” ägget [14].

**Insamlingsteknik:** Insamlingen skall ske med iakttagande av följande punkter:

- äggen skall utväljas så att läggningsdatum är känt;
- Information om det insamlade ägget noteras på en blankett där namn på arten, insamlingsplats, insamlingsdatum, samt insamlarens namn och adress anges;
- äggen skall efter insamlingen placeras i kylskåp så snart möjligt och förvaras där tills de transporteras till laboratorium;

**Tillstånd:** Tillstånd att insamla ägg måste inhämtas från Naturvårdsverket.

**Transport:** Äggen skall före transport förpackas omsorgsfullt så att de inte skadas under transporten. Varje ägg skall läggas separat i en sluten plastpåse av polyetylen för att samla upp eventuellt utrunnet ägginnehåll. Därefter placeras äggen i en stötsäker låda, väl åtskilda från varandra med mjukt, stötuppfångande material (t.ex. äggkartong eller andra anpassade lådor i trä eller plast). Äggen får inte ligga så tätt intill varandra att de kan stöta sönder varandra om lådan utsätts för kraftiga stötar. Äggen skall ej frysas före eller under transport då risken är stor att skalén då spricker.

## Bilaga 2. Tillvaratagande av prov

Då det insamlade äggmaterialet anländer till laboratoriet vidtas en första inspektion av samtliga ägg för att kontrollera att skalén inte är skadade samt att äggen är riktigt artbestämda i fält.

**Registrering:** I samband med inspektion registreras varje ägg och ges ett individuellt id-nummer (accessionsnummer). På accessionsblanketten antecknas även:

- art;
- insamlingsplats (namn, latitud, longitud);
- koordinater alternativt stationsnamn eller områdesnamn om platsen är registrerat i stationsregister;
- insamlingsdatum;
- antal ägg i provomgången från insamlingsplatsen;
- oregelbundenheter och onormala tillstånd;
- insamlarens namn, adress och ev. institutionstillhörighet;
- biologiska parametrar (enligt nedan och under *Variabler*).

**Preparering:** Om nödvändigt rengörs äggskalet i ljummet vatten för prepareringen. Helst skall destillerat eller avjoniserat vatten användas för att inte skada skalets mikrostruktur. Längd och bredd mäts med skjutmått. Ägget vägs med innehåll. Samtliga data noteras på accessions-blanketten.

Ett litet hål borrar på skalets ekvator för att lätta på eventuellt tryck. Därefter sågas en lucka upp (ca 1,5x1,5 cm), med hålet som del av luckan. Sågen är ett handhållet rotationsverktyg med sågklinga (t.e.x. Dremel). Luckan läggs åt sidan med hjälp av en pincett av rostfritt stål. Äggets innehåll töms med hjälp av gravitation och en spatel ned i en rengjord bägare. Ägginnehållet vägs och homogeniseras därefter i glasbägaren med hjälp av en elektrisk homogenisator (Ultra Turrax). Om ägget eventuellt innehåller ett utvecklat embryo vägs och mäts det (längd mätes ”crown-tail”). Det utvecklade foster sparas separat, i dessa fall finns ofta inget flytande ägginnehåll kvar. Eventuellt kort gånget embryo homogeniseras tillsammans med det flytande ägginnehållet, då embryot ofta är i ”geleform”. En avpassad mängd prov tas ut för analys, varefter resten omedelbart fryses för vidare lagring i provbank.

Det tömda äggskalet sköljs invändigt med vatten tills det är fritt från rester av innehållet (skalhinnan ska vara kvar i ägget eller sparas på/vid ägget ifall den åker ut) och märks med accessionsnummer. Därefter lämnas skalet, luckan samt eventuell skalhinna som kan ha släppt från skalet att torka i rumstemperatur tills skalvikten visar sig vara konstant. Äggskalets konstanta vikt noteras i protokollet. Äggskalstjockleken inklusive skalhinnorna mäts runt tömningshålet med hjälp av en för ändamålet speciellt konstruerad mikrometer.

## **Förvaring**

Homogenat av ägginnehållet (gula och vita tillsammans) hålls i specialdiskade glasburkar, som försluts med aluminiumfolie och plastlock och förvaras etiketterade med accessionsnummer för identifiering i frysbox vid  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Eventuellt utvecklat embryo förvaras separat och etiketterat med accessionsnummer, inpackat i aluminium och sedan plastpåsar avsedda för vakuumpackning.

Det ägginnehåll som ska analyseras fördelas på för ändamålet avsedda behållare. Resten av materialet fördelas och sparas enligt nedan:

Homogenat av sillgrissleägg (10 ägg, 30-50 g per ägg och år) ompackas individuellt i laboratoriet i glasburkar, märks individuellt med innehåll och accessionsnummer och överförs till lågtemperaturfrys ( $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Homogenat av sillgrissleägg (10 ägg, 2 prov per ägg, om 30-50 g, per år) ompackas individuellt i laboratoriet i glasburkar, märks individuellt med innehåll och accessionsnummer och överförs till miljöprovbanken ( $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

## **Variabler**

Ägg: Totalvikt, längd, bredd, skalvikt, skaltjocklek, skalindex, fosterlängd, fostervikt. Även färg, lukt och konditionsstatus på innehållet noteras ifall det avviker från ”färskt”.

## Bilaga 3. Dokumentation

### Fältprotokoll

Lokalbeskrivning:	lokalnamn position med koordinater län kommun
Insamling:	information om redskapstyp fångstdatum art antal övrig information (tex fartygstyp, redskapens tid i vattnet etc)
Insamlare, kontaktperson:	namn adress telefon e-post

### Bakgrundsinformation

Vid ankomst till labbet upprättas ett protokoll med stödvariabler enligt nedan:

Lokalbeskrivning:	plats län kommun fångstbeskrivning (metod, dödsdatum, ankomstdatum till labb)
Insamlare:	namn adress telefon e-post

### Provberedning inför kemisk analys

Inför provberedning upprättas ett protokoll med stödvariabler enligt nedan:

Dissektör:	namn
------------	------



Provberedning:                   accessionsnummer (unikt nr för ett objekt som förs till en samling)  
  analysnummer (nr på ett prov som tas vid ett tillfälle för ett ändamål)  
  art  
  totalvikt  
  längd  
  bredd  
  skalvikt  
  skaltjocklek  
  skalindex  
  fosterlängd  
  färg  
  lukt  
  konditionsstatus

Analyslaboratorium:           namn  
  adress  
  telefon  
  analysdatum  
  förvaring fram till analys

Stödvariabler från provberedningen (se ovan) samt parametrar från analys såsom fetthalt och torrhalt utgör viktig information för tolkning av resultat. Information från annan miljöövervakning från samma undersökningsområde kan utgöra värdefulla komplement i samband med tolkningen av de egna resultaten.