

Aukin þekking á heilnæmi íslenskrar bláskeljar – rannsóknir á sambandi eitraðra svifþörunga í sjó og uppsöfnun eiturs í bláskel

**AVS verkefni á vegum Fjarðarskeljar, Matís,
Hafrannsóknarstofnunar og Skelræktar 2015-
2017**

Verknúmer R-010-16

Elvar Árni Lund – f.h. Fjarðarskeljar og Skelræktar
Hafsteinn Guðfinnsson f.h. Hafrannsóknarstofnunar
Helga Gunnlaugsdóttir f.h. Matís
Sophie Jensen f.h. Matís

Skýrsluágrip fyrir AVS verkefni R-010-16

Kræklingarækt á Íslandi hefur verið stunduð í áratugi en neysla kræklinga hefur líklega verið til staðar um aldir. Ljóst er að fólk var meðvitað um að kræklingur og annar skelfiskur gat verið óheilmæmur til neyslu á ákveðnum árstíma og því voru ákveðin viðmið fyrir hvenær væri óhætt að tína hann í fjörum og neyta. Á síðari tímum hafa rannsóknir vísindamanna leitt í ljós hvenær sé, með óyggjandi hætti, óhætt að neyta kræklinga. Í þeim löndum þar sem bláske (kræklingur) er vel þekkt neysluvara eru ræktunarsvæði skeljarinnar vöktuð m.t.t. þörungablóma og magn eiturs í holdi.

Fjarðarskel ehf. hóf ræktun kræklinga árið 2013 í Hvalfirði og forsvarsmenn fyrirtækisins komust fljótlega að því að erfitt var að áætla uppskerutíma í samanburði við önnur framleiðslulönd. Þá hefur það verið svo að íslenskir skelræktendur hafa þurft að senda holdsýni til greiningar á eitri erlendis þar sem tækni og búnaður til að gera slíkt hefur ekki verið til staðar á Íslandi, fyrr en nú, með tilheyrandi kostnaði og biðtíma eftir niðurstöðum.

Matís hafði áður sent inn umsóknir til AVS og rannsakað bláskel og eitur í henni og skömmu áður en þetta verkefni var sett á laggirnar hafði Matís loks eignast rannsóknatæki sem gerði það mögulegt að mæla magn eiturs í skel. Mikil vinna var þó framundan við að koma tækinu í gagn, til þess þurfti margar mælingar með samanburði við þekktar niðurstöður.

Hafrannsóknastofnun hefur lengi vel mælt og talið fjölda eiturþörungum m.a. fyrir Matvælastofnun – MAST, í þeim tilgangi að vara við hugsanlegu eitri í kræklingi og að fá hugmynd um hvort nauðsynlegt væri að taka holdsýni áður en MAST gæti gefið út uppskeruleyfi til handa skelframleiðendum. Það þótti því tilvalið að þessir þrír aðilar, Fjarðarskel, Matís og Hafró myndu leiða saman hesta sína með því markmiði að byggja upp tækni og þekkingu á Íslandi til að greina samband milli eitraðra svifþörungum í sjó og þörungaeiturs í bláskel. Skelrækt – samtök skelræktenda á Íslandi vildu svo líka slást í hópinn en á vettvangi þeirra þótti kjörið að kynna niðurstöðurnar fyrir skelræktendum.

Upphaflega stóð til að verkefnið yrði til eins árs en þátttakendur voru sammála um að halda því áfram, lengur en styrkur AVS náði til, því niðurstöður mælinga frá sumrinu 2016 gáfu til kynna fylgni á milli fjölda þörungum í sjósýnum og magn eiturs í skel sem skynsamlegt þótti að fylgja eftir eins og fjárráð leyfðu. Því er að finna mælingar bæði frá 2016 og 2017 sem spanna heilt ár í niðurstöðum.

Ávinningur verkefnisins var fyrst og fremst sá að flýta fyrir að koma tækjabúnaði Matís í gagn, en til þess þurfti m.a. röð af sýnum sem tekin eru á sama stað með reglulegu millibili, sem og að finna tengsl á milli fjölda þörungum í sjó og eiturs í holdi bláskellar.

Í heild sinni gefa niðurstöður verkefnisins til kynna umfang og uppsöfnun þörungaeiturs í bláskel af völdum eitraðra svifþörungum í Hvalfirði. Svipaðar niðurstöður hafa fundist annars staðar í íslenskum fjörðum þó eiturefnamælingar í þeim séu mun strjálari en í þessum rannsóknum. Samanborið við niðurstöður greininga svifþörungasýna er hægt að sjá sterk tengsl á milli magns eitraðra tegunda svifþörungum og magns eiturs í skelsýnum. Þetta á bæði við um DSP og PSP eiturefnin.

Hinsvegar var styrkur DSP eiturs mælt í holdi kræklinga umtalsvert hærra en magn af *Dinophysis* eiturþörungum í sjó frá því í lok september 2016 og fram í byrjun apríl 2017. Þar sem fjöldi *Dinophysis* eiturþörungum í sjó var hár fram á haustið þá viðhélst hátt magn DSP eiturefna í kræklingi þrátt fyrir fækkun í fjölda *Dinophysis* eiturþörungum.

Efnisyfirlit

Skýrsluágríp fyrir AVS verkefni R-010-16.....	2
Efnisyfirlit.....	3
1. Inngangur	4
2. Framkvæmd.....	5
2.1 Sýnataka	5
2.2 Greining sjó- og háfsýna	6
2.3 Greining á DSP (Diarrethic Shellfish Poison) og öðrum fituleysanlegum eiturefnum	6
2.3.1 Efni, leysar og DSP staðlar	6
2.4 Greining á PSP (Paralytic Shellfish Poison)	6
2.4.1 Efni, leysar og PSP staðlar.....	7
3. Niðurstöður	7
3.1 Sýnataka	7
3.2 Næringarefni og svifþörungar	7
3.3 Uppsetning, bestun og sannprófun greiningaaðferða fyrir eiturefni.....	11
3.3.1 Samanburðarpróf - DSP	11
3.3.2 Samanburðarpróf - PSP	13
3.4 Efnamælingar	13
3.4.1 DSP mælingar	13
3.4.2 PSP mælingar.....	14
3.5 Fylgni milli fjölda svifþörungum og eiturmagns í skel.....	15
4. Umræða og ályktanir.....	16
5. Þakkarorð	19
6. Heimildir (References).....	19
7. Viðaukar.....	21

1. Inngangur

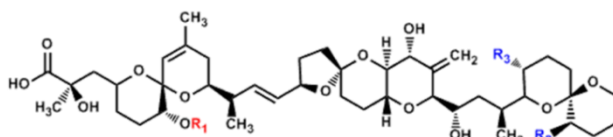
Á heimsvísu teljast eitradir svifþörungarblómar (Harmful Algal Bloom = HABs) ein mikilvægasta uppspretta eitrunar í skelfiski og fleiri dýrum (DSP, PSP, ASP og fleiri efni) í sjó. Slíkir blómar geta leitt til myndunar skaðlegra lífrænna eiturfna (phycotoxins) í háum styrk. Sömuleiðis hafa svifþörungarblómar valdið auknum vandamálum í matvælaíðnaði svo sem í skelrækt í sjó vegna vaxandi tíðni þeirra og alvarleika. Vandamálið hefur verið að breiðast út um allan heim ekki síst vegna starfsemi manna sem veldur mengun (Valdiglesias, et al. 2013; Suárez-Ulloa, et al. 2013a). Þörungar eru ein aðalfæða skelfisks, þar á meðal eiturþörungar, og þörungaeiturefnin sem þeir framleiða geta safnast upp í skelfiski sem nærast á eiturþörungunum og verið til staðar í það háum styrk að neysla á honum getur verið hættuleg fólki.

Við strendur Íslands eru þekktir margir hópar eiturþörungum sem valda eitrunum í skelfiski og komið hafa fram í ýmsum rannsóknum á Hafrannsóknastofnun. Má þar nefna hópa skorubörunga af ættkvísl *Alexandrium* sem hafa valdið PSP eitrunum og ættkvísl *Dinophysis* sem hafa valdið DSP eitrunum sem hafa báðar mælst oft í kræklingi á strandsvæðum við Ísland (Guðfinnsson, et al. 2015). Vöktun eiturþörungum í sjó við Ísland hefur farið fram á ýmsum stöðum innfjarða frá árinu 2005. Hjá Hafrannsóknastofnun liggur því allmikil vitneskja fyrir um dreifingu þeirra innan þessara staða og fleiri svæða og um þann fjölda eiturfna sem þeir geta myndað (ársskýrslur vöktunar eiturþörungum - <https://www.hafogvatn.is/is/moya/page/voktun-eiturthorunga>; Guðfinnsson, et al. 2015; Eydal, 2003; Guðmundsson & Eydal, 1998; Þórðardóttir & Eydal, 1996).

DSP (Diarrheic Shellfish Poison) eiturfna eru mjög algeng í svifþörungum á strandsvæðum Evrópu og er sá hópur þörungaeiturfna sem skiptir mestu máli, þar sem þessi eiturfni hafa annars vegar alvarleg áhrif á heilsu manna og hins vegar valda þau verulegu fjárhagslegu tjóni fyrir skelfiskræktendur vegna langvarandi lokunar á stórum uppskerusvæðum (Prego-Faraldo, et al. 2013; Suárez-Ulloa, et al. 2013b; McCarthy, et al. 2014).

DSP eiturfni er flokkur fitusækinna hitastöðugra pólýeter eiturfna. Þessi flokkur fituleysanlegra þörungaeiturfna er mjög algengur í Evrópu og eru þau framleidd af ákveðnum hópum sjávarskorubörunga t.d. af ættkvíslum *Dinophysis* og *Prorocentrum*. Þörungaeiturefnin geta safnast upp í skelfiski sem nærast á eiturþörungum. Eftir neyslu á eitruðum skelfisk geta þau valdið mönnum ógleði, uppköstum og niðurgangi (DSP heilkenni) (Landsberg, 2002; Munday, 2013).

Mikilvægasti efnahópur þessara fitusæknu þörungaeiturfna eru svokölluð súr eiturfni sem eru alls fjögur efni þ.e.a.s. ókadínsýra og afleiður þess sem kallast dínófýsistoxín (Mynd 1) (Draisci, et al. 1996).

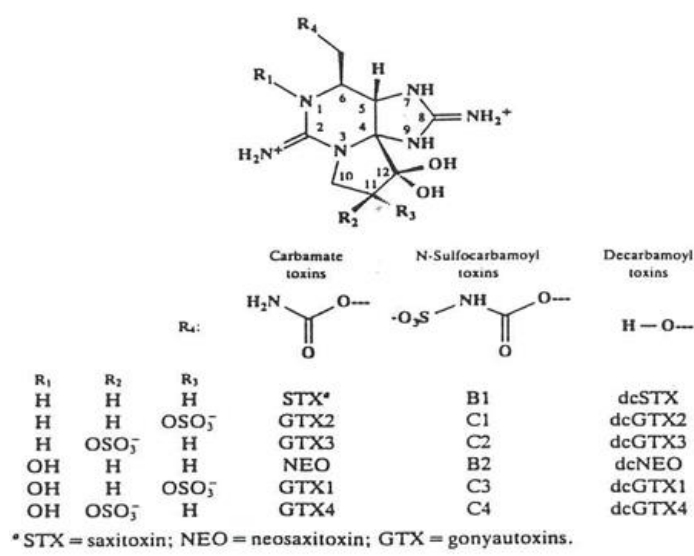


	R ₁	R ₂	R ₃
OA	H	H	CH ₃
DTX-1	H	CH ₃	CH ₃
DTX-2	H	CH ₃	H
DTX-3	Acyl	CH ₃	CH ₃

Mynd 1. Efnabygging ókadínsýru og dínófýsistoxína (DTX-1, 2 og 3).

Samtals eru fjórir efnahópar í flokki fituleysanlegra eiturfna: ókadínsýra (OA) (þ.m.t. dínófýsistoxín, DTX), pectenotoxin (PTX), azaspiracid (AZT) og yessotoxin (YTX).

PSP (Paralytic Shellfish Poison) eiturefnin er stór hópur þörungaeiturefna sem saxitoxin (STX) og afleiður þess tilheyra (Mynd 2) og eru þessi efni framleidd af skorupörungum af ættkvísl *Alexandrium* spp. PSP eiturefnin hafa áhrif á taugakerfi manna og geta valdið lömun og jafnvel dauða.



Mynd 2. Efnabygging PSP eiturefna

Evrópusambandið (ESB) hefur sett reglur um hámarksmagn eiturefna í skelfiski svo hann teljist neysluhæfur (reglugerð EB 853/2004 og 2074/2005) og gildir þessi reglugerð einnig hér á landi. Hámarksgildi fyrir OA, DTX, PTX og AZT eru 160 µg kg⁻¹ af skelfiski. Hámarksgildi fyrir heildar PSP-eiturefni eru 800 µg kg⁻¹ en einnig leyfist að gefa upp niðurstöðurnar fyrir PSP efnin í g STXx2 HCl ígildi kg⁻¹ í ESB.

Samkvæmt reglugerðinni (EB 2074/2005) má greina DSP þörungaeiturefnin með vökvaskilju (HPLC) sem er tengd við tandem massagreini (LC-MS/MS). Þegar um er að ræða PSP eiturefnin, er notast við HPLC með flúorljómunarnema til að greina efnin. Þessar aðferðir krefjast því hátækni rannsóknarbúnaðar sem er til staðar hjá Matís. Samkvæmt reglum um matvælaeftirlit er nauðsynlegt að fylgjast með innihaldi eiturefna í öllum skelfiski ætluðum til sölu á opinberum markaði með ofangreindri greiningartækni til að tryggja öryggi neytenda.

Markmið verkefnisins var að byggja upp tækni og þekkingu á Íslandi til að greina samband milli eitraðra svifþörungna í sjó og þörungaeiturs í bláskel. Þetta samband er ekki þekkt héraendis en er nauðsynlegt bæði fyrir yfirvöld sem veita leyfi til að uppskera og selja bláskel og framleiðendur bláskeljar. Með markmiðinu verður áhættustjórnun vegna vöktunar á þörungaeitri í bláskel bætt til muna með því að hefja reglulegar greiningar á eitruðum svifþörungum samhliða mælingum á þörungaeitri í íslenski bláskel, en svo markvissar greiningar hafa ekki verið gerðar á Íslandi áður.

2. Framkvæmd

2.1 Sýnataka

Sjó-, háf- og kræklingasýni voru alltaf tekin samhliða af sama framleiðsluvæði í Hvammsvík (N64°21,850 W21°31,800) í Hvalfirði á tímabilinu 17 maí 2016 til 31 maí 2017. Sýnin voru tekin samkvæmt ítarlegum sýnatöku leiðbeiningum og upplýsingar um þau færðar inn á sérstakt sýnatökueyðublað (sjá viðauka 1 og 2).

2.2 Greining sjó- og háfsýna

Næringarefni (N,P,Si) voru greind úr sjósýnum samkvæmt hefðbundnum aðferðum (Grasshoff, 1983) til að fá hugmynd um næringarefnamagn í sjó á ræktunarsvæðinu. Blágræna svifþörungur var mæld úr sjósýnum til að meta magn lífmassa svifþörungur í sjó á ræktunarsvæðinu (Anon, 1966).

Svifþörungur úr háfsýnum (20 µm) voru greindir í smásjá til tegundar eða ættkvíslar. Þannig fékkst yfirlit yfir tegundasamfélagið á hverjum tíma og vitneskja um hvort svifþörungur sem geta valdið eitrunum í skelfiski væru fyrir hendi í sjónum á kræklingaeldissvæðinu. Sjósýni voru greind í talningasmásjá (inverted microscope) eftir að felldir höfðu verið út 50 ml af sjósýni (Hasle, 1978a; Hasle, 1978b). Greiningar voru gerðar til tegundar eða ættkvíslar og frumufjöldi þeirra talinn. Þannig fékkst heildarfrumufjöldi tegunda, ættkvísla og svifþörungahópa (kísilþörungur, skorubörungur og smárra svifþörungur) í einum lítra af sjó (fj L⁻¹) sem er sú eining sem notuð er til að lýsa magni þeirra. Smáir svifþörungur voru taldir í tvo stærðarflokka þ.e. ≤5 µm að stærð og >5 – 10 µm. Niðurstöðurnar gáfu greinargóða skiptingu á svifþörungarfjölda í tegundum, ættkvíslum og flokkum. Þeir svifþörungur sem geta verið eittraðir voru taldir af sérstakri kostgæfni en það eru tegundir af ættkvísl *Dinophysis* (DSP) og *Alexandrium* (PSP) sem eru skorubörungur og einnig af ættkvísl *Pseudo-nitzschia* (ASP) sem eru kísilþörungur. Skimað var fyrir ASP eitri í kræklingi í þessari rannsókn, en það fannst ekki í neinu af sýnunum sem voru til rannsóknar.

Viðmiðunarmörk Matvælastofnunar þegar metið er hvort ræktunarsvæði eru opin eða lokuð fyrir uppskeru eru eftirfarandi fyrir fjölda eiturbörungur:

Dinophysis spp 500 frumur í lítra

Alexandrium spp 20 frumur í lítra

Pseudo-nitzschia spp 200.000 frumur í lítra.

2.3 Greining á DSP (Diarrethic Shellfish Poison) og öðrum fituleysanlegum eiturefnum

Fullgild CEN (16204:2012) aðferð var notuð (DIN EN 16204) fyrir magngreiningu þessara eiturefna. Í stuttu máli er skelfiskhold fjarlægt úr skel og gert einsleitt. Útdráttur eiturefnanna úr holdi er gerður í 80% metanóli og aðgreining efnanna framkvæmd með andhverfum fasa LC-MS/MS.

2.3.1 Efni, leysar og DSP staðlar

Eftirfarandi samanburðar sýni voru keypt frá QUASIMEME (www.quasimeme.org): QST217SS, QST218SS, QST219BT, QST220BT og QST221BT.

Staðlar (AZA-1, AZA-2, AZA-3, OA, DTX-1, DTX-2, YTX, h-YTX, DA and PTX2) og vottað viðmiðunarefni voru keypt frá cifga, Spánn (www.cifga.es).

LRM (Laboratory Reference Material) sýni og blank sýni voru fengin að gjöf frá BfR (The Federal Institute for Risk Assessment) sem er tilvísunarrannsóknarstofa fyrir þörungareiturefni í Þýskalandi.

Efni og leysar sem voru notaðir voru: methanol (LC-MS Ultra Chromasolv, Fluka), acetonitrile (Sigma-Aldrich) ammonium formate (Fluka), saltsýra (Sigma-Aldrich) og natríum hydroxíð (Riedel-deHaën).

2.4 Greining á PSP (Paralytic Shellfish Poison)

Viðurkennd AOAC aðferð (2005.06) (Lawrence, et al. 2005) var notuð til greiningar á PSP eiturefnum. Í stuttu máli er hold fjarlægt úr skel og gert einsleitt. Útdráttur eiturefna úr holdinu er framkvæmdur með þynntri ediksýru og hann hreinsaður á C18 SPE súlu. Greiningar eru gerðar með andhverfum fasa HPLC og flúorljómunarskynjun (RP-HPLC-FLD).

2.4.1 Efni, leysar og PSP staðlar

Eftirfarandi samanburðar sýni var keypt frá QUASIMEME (www.quasimeme.org): QST210BT. Staðlar dcGTX2,3, dcSTX, GTX2,3, GTX5, GTX1,4 og Neo voru keyptir frá cifga, Spánn (www.cifga.es), og staðlar STX, C1,2 og dcNeo voru keypt frá NRC (National Research Council, www.nrc-cnrc.gc.ca/eng) í Canada. Efni og leysar sem voru notaðir voru: methanol (Sigma-Aldrich), acetonitrile (LiChrosolv), ammonium formate (Fluka), glacial acetic sýra (Sigma-Aldrich), ammonium acetate (Fluka), natríum klóríð (Sigma-Aldrich), saltsýra (Sigma-Aldrich), disodium hydrogenphosphate (Sigma-Aldrich), natríum hydroxíð (Sigma-Aldrich), hydrogen peroxide (Sigma-Aldrich), periodic sýra (Sigma-Aldrich).

3. Niðurstöður

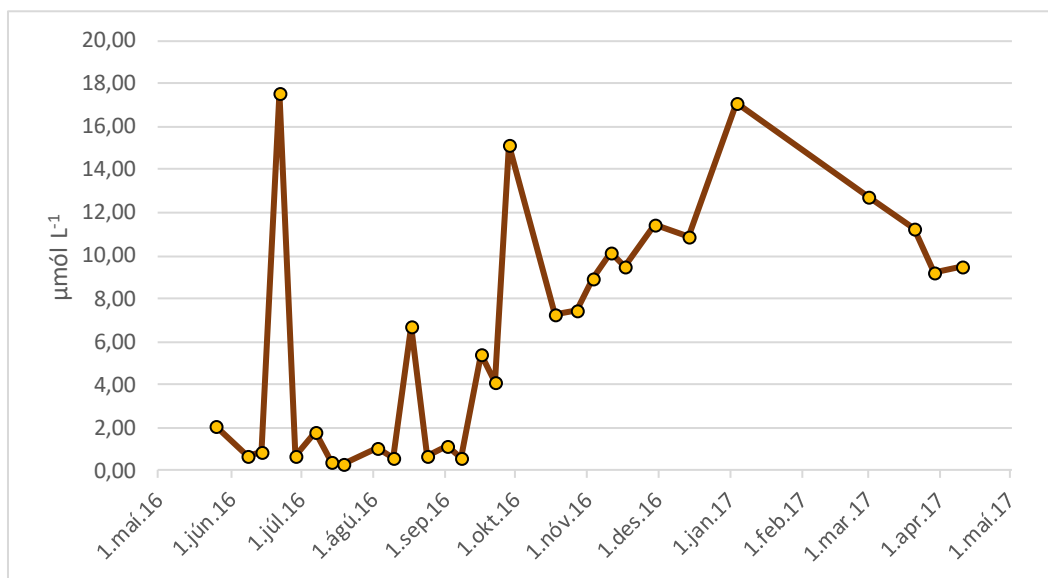
3.1 Sýnataka

Alls voru tekin 31 næringarefnasýni, 35 svifþörungasýni og 31 holdsýni af kræklingi.

3.2 Næringarefni og svifþörungar

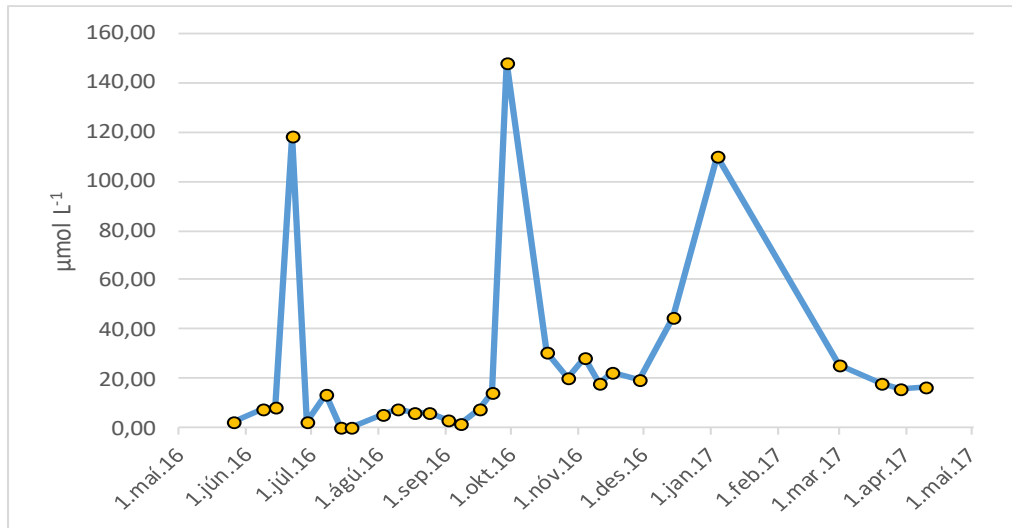
Þegar mælingar hófust í lok maí 2016 var styrkur nítrats mjög lár (Mynd 3) og lækkaði enn meira í kjölfarið. Yfir miðsumarið var styrkur nítrats einnig mjög lár alveg fram í september en þá hófst haust- og vetrarblöndun og styrkur nítrats fór hækkandi úr því.

Nokkrir mjög háir toppar nítrats mældust á tímabilinu frá sumri til hausts. Þannig varð styrkur nítrats mjög hár í tæplega vikutíma í kringum 21. júní og varð hæstur tæplega $18 \mu\text{mol L}^{-1}$. Í miðjan ágúst jókst styrkur nítrats skyndilega upp í tæplega $7 \mu\text{mol L}^{-1}$ og í lok september varð styrkur nítrats rúmlega $15 \mu\text{mol L}^{-1}$ en féll hratt aftur niður í miðlungsgildi. Styrkur nítrats var mjög hár fram á veturinn með hæsta gildi 3. janúar 2017 en þá var styrkur nítrats rúmlega $17 \mu\text{mol L}^{-1}$ en fór lækandi úr því.



Mynd 3. Styrkur nítrats ($\mu\text{mol L}^{-1}$) (0-10 m dýpi) í Hvammsvík í Hvalfirði frá 25. maí 2016 til 10. apríl 2017.

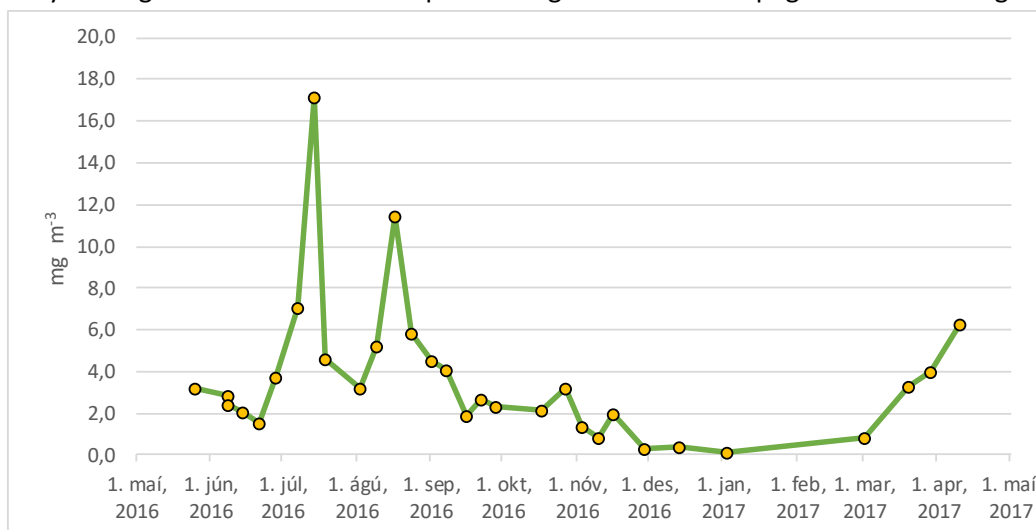
Styrkur kísils í lok maí 2016 var rúm 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ og sveiflaðist á milli 2 og 7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ allt sumarið með nokkrum undantekningum (mynd x2). Þar er fyrst að nefna að í kringum 21. júní mældist geysilegur toppur en þá var kísilstyrkur 118 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Í um eina viku eftir miðjan júlí var kísill nær uppurinn (0,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) (Mynd 4) en nokkur kísill til staðar út sumarið eins og áður sagði. Álíka toppar og sá er fram kom í júlí mældust líka í lok september og byrjun janúar 2017. Kísilstyrkur í lok vetrar var um 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$.



Mynd 4. Styrkur kísils ($\mu\text{mol L}^{-1}$) (0-10 m dýpi) í Hvammsvík í Hvalfirði frá 25. maí 2016 til 10. apríl 2017.

Blaðgræna

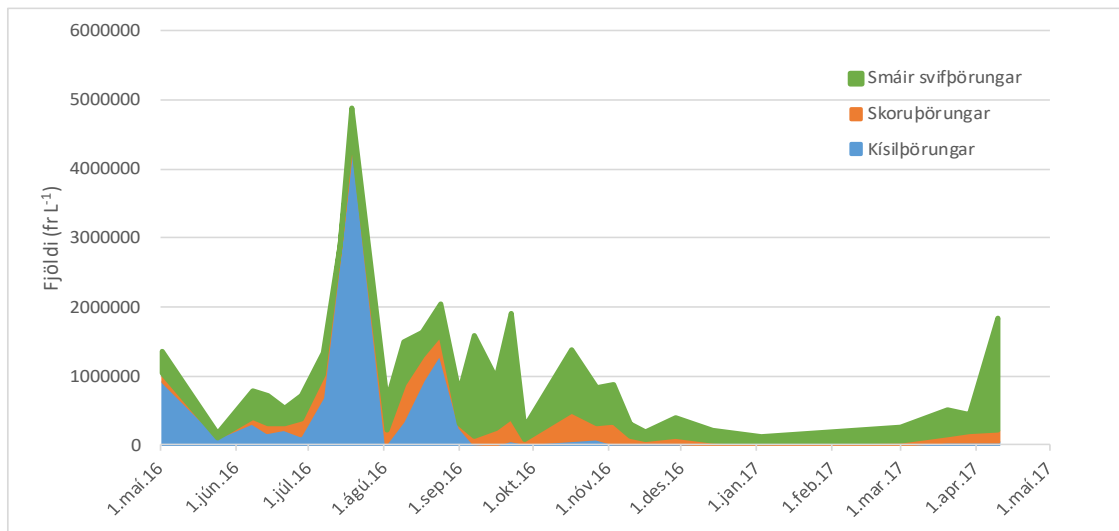
Þegar mælingar hófust í lok maí 2016 voru blaðgrænegildi í Hvammsvík á niðurleið miðað við fyrsta mælipunkten voru þó ekki lág (Mynd 5). Um miðjan júlí jókst magn svifþörunga geysimikið ($>17 \text{ mg m}^{-3}$) en lækkaði hratt aftur. Um miðjan ágúst jókst magn svifþörunga á ný og varð magn blaðgrænu rúmlega 11 mg m^{-3} . Úr því fór blaðgræna minnkandi fram á haustið og lágu gildin frá 2 til 3 mg m^{-3} allt fram í nóvember en fóru dvínandi úr því ($<1 \text{ mg m}^{-3}$). Vetrargildi blaðgrænu voru $<0,5 \text{ mg m}^{-3}$ en fóru að hækka aftur þegar kom fram í seinni hluta febrúar og jukust úr því til 10. apríl 2017 og voru þá komin vel yfir 6 mg m^{-3} . Vorhámarki hafði þó sennilega ekki verið náð þegar síðasta mæling fór fram í apríl.



Mynd 5. Styrkur blaðgrænu (mg m^{-3}) (0-10 m dýpi) í Hvammsvík í Hvalfirði frá 25. maí 2016 til 10. apríl 2017.

Svifþörungar

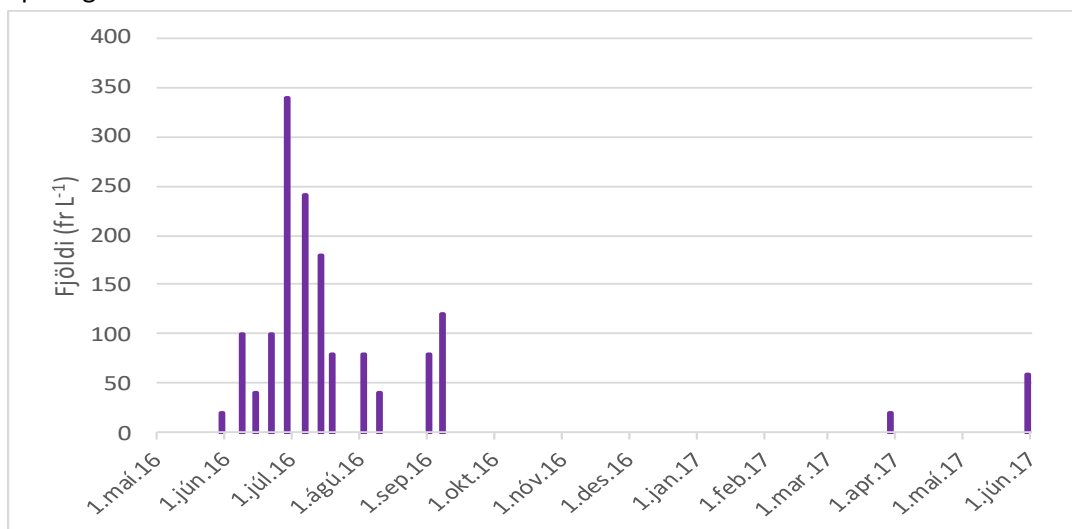
Talsvert var um kísilþörungum í upphafi mælinga í lok maí 2016 (Mynd 6) en magn þeirra fór minnkandi og því ljóst að vorhámark þeirra var yfirstaðið þegar mælingar hófust. Um miðjan júlí og miðjan ágúst varð kísilþörungablómi sem kemur vel heim og saman við blaðgrænutoppa á sama tíma. Er kemur fram í september fer magn kísilþörungum dvínandi fram á veturinn. Þegar mælingum lýkur að vori (apríl 2017) fer fjöldi þeirra vaxandi á ný. Fjöldi skorubörungum er mestur í júlí, ágúst og að hausti (mynd x4) en fjöldi smárra svifubörungum er einna minnstur þegar kísilþörungum blómstra í júlí en mun meiri í byrjun sumars en einnig síðla sumars og fram á haustið.



Mynd 6. Breytingar á heildarfjölda svifþörungahópa (frumufjöldi L^{-1} í 0-10 m dýpi) í Hvammsvík í Hvalfirði frá 25. maí 2016 til 10. apríl 2017. Blátt=Kísilþörungar (Diatoms), Brúnt=Skorubörungar (Dinoflagellates), Grænt=Smáir svifþörungar (Small flagellates).

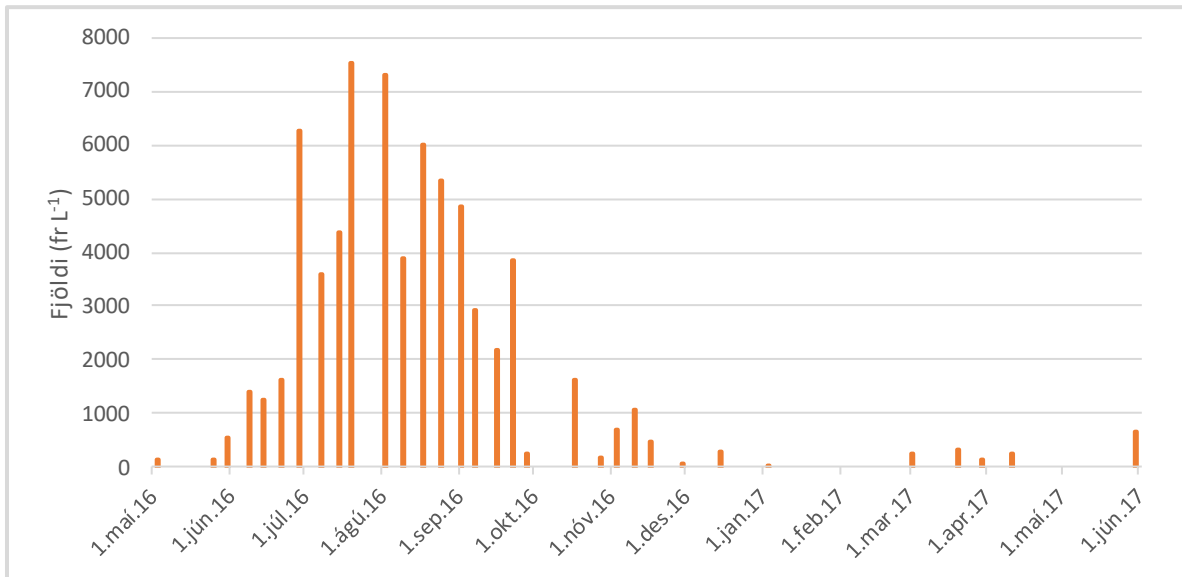
Eitraðir svifþörungar

Alexandrium svifþörungum (PSP) fundust frá júní til mánaðarmóta ágúst/september og var fjöldi þeirra yfir viðmiðunarmörkum um hættu á PSP eitrun í skel allan þann tíma (Mynd 7). Fjöldi þeirra var þó aldrei mikill en fór mest í $340 \text{ fr } L^{-1}$ og var $100 \text{ fr } L^{-1}$ eða meira í alls 6 vikur. Við síðustu sýnatökur í byrjun apríl og í lok maí 2017 fannst vottur af *Alexandrium*.



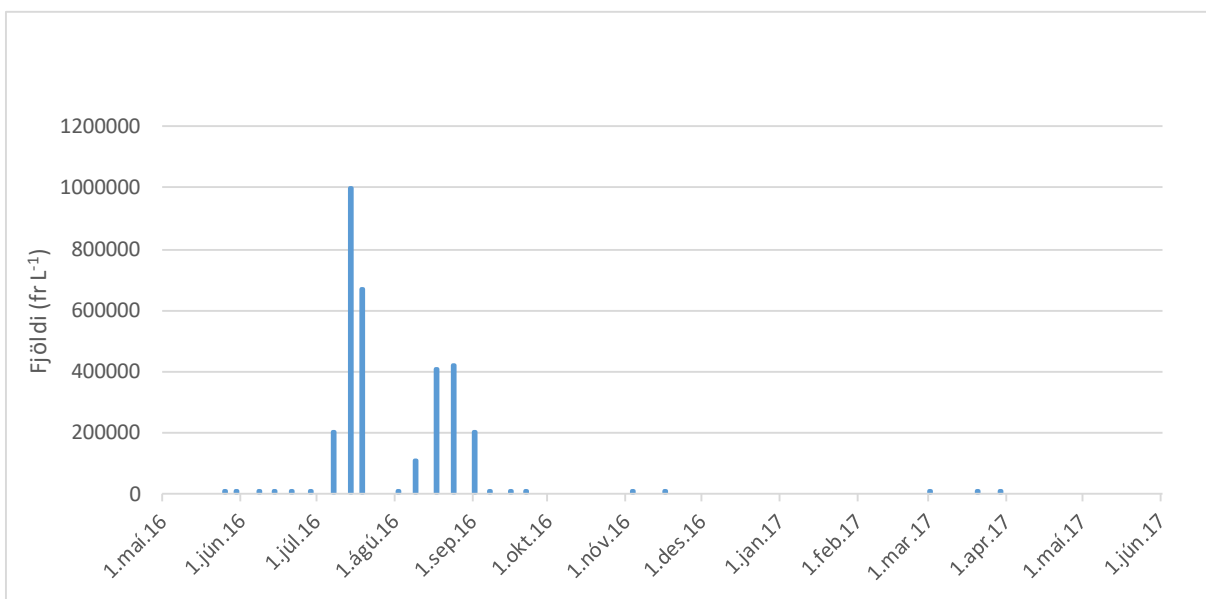
Mynd 7. Breytingar á heildarfjölda *Alexandrium* spp fruma ($fr L^{-1}$) (0-10m dýpi) í Hvammsvík í Hvalfirði frá 25. maí 2016 til 30. maí 2017.

Dinophysis svifþörungar fundust samfelld frá júní til janúar 2017 (mynd x6) og var fjöldi þeirra yfir viðmiðunarmörkum um hættu á DSP eitrun í skel nær allan þann tíma. Fjöldi þeirra var mikill (>1000 fr L⁻¹) langtímum saman eða frá júní til nóvember 2016 nánast samfleytt. Í 10 vikur var fjöldi þeirra að sumri meira en 3000 fr L⁻¹. *Dinophysis* svifþörungar fundust svo aftur vorið 2017 frá byrjun mars og þar til sýnatöku lauk 30. maí 2017 (Mynd 8).



Mynd 8. Breytingar á heildarfjölda *Dinophysis* spp fruma (fr L⁻¹) í Hvammsvík í Hvalfirði frá 25. maí 2016 til 30. maí 2017.

Pseudo-nitzschia tegundir fundust í tveimur vaxtartoppum annars vegar í júlí og hins vegar í ágúst 2016 (Mynd 9). Fjöldi þeirra náði 1 milljón fr L⁻¹ í júlí en 400 þúsund fr L⁻¹ í ágúst. Alls var fjöldi *Pseudo-nitzschia* tegunda í fjórar vikur yfir viðmiðunarmörkum um hættu á ASP eitrun í skelfiski.



Mynd 9. Breytingar á heildarfjölda *Pseudo-nitzschia* spp fruma (fr L⁻¹) í Hvammsvík í Hvalfirði frá 25. maí 2016 til 30. maí 2017.

3.3 Uppsetning, bestun og sannprófun greiningaaðferða fyrir eiturefni

Tveir sérfræðingar Matís voru sendir í fimm daga þjálfun í greiningum á fitusæknum og vatnssæknum sjávarlífeiturefnum hjá BfR í Þýskalandi (sjá nánar á www.bfr.bund.de). En BfR er tilvísunarrannsóknarstofa fyrir greiningu þessara eiturefna í Þýskalandi og hafa langa reynslu í að mæla þau. Þjálfunin náði yfir útdrátt efnanna, undirbúning staðla og viðmiðunarsýna, greiningar með LC-MS/MS og HPLC tækjabúnaði auk gagnavinnslu og túlkun mæliniðurstaðna. BfR veitti einnig Matís aðgang að Excel skjölum sem eru sérútbúin til útreikninga á magn efnana. Þar að auki var farið vandlega yfir kröfur um gæðaeftirlit fyrir báðar greiningaraðferðirnar.

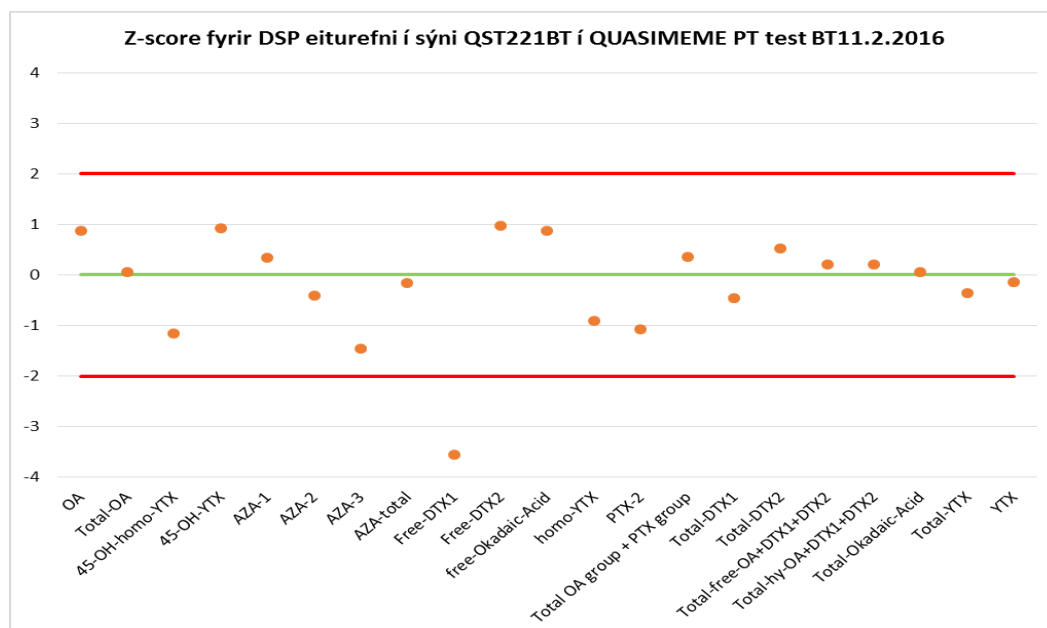
Viðurkenndar aðferðir til greiningar á þessum eiturefnum hafa verið settar upp hjá Matís og SOP (Standard Operating Procedure) fyrir aðferðirnar hafa verið útbúnar. Aðferðirnar hafa verið bestaðar með því að nota stöðluð viðmiðunarefni og sannreynðar með opinberu alþjóðlegu samanburðarprófi frá QUASIMEME (sjá Mynd 10).

3.3.1 Samanburðarpróf - DSP

Tekið var þátt í QUASIMEME samanburðarprófi BT11_2.2016 fyrir DSP eiturefni og sendar inn niðurstöður fyrir öll sýni sem voru móttækin. Samtals tóku 35 mismunandi rannsóknarstofur þátt og niðurstöðurnar úr því prófi voru teknar saman í skýrslu „BT11 DSP shellfish toxins – Report 2016.2“ (óopinber gögn). Á Mynd 3 er sett fram Z-score fyrir Matís niðurstöður fyrir eitt sýni, QST221BT. Það sýni var einsleitt sýni af bláskel sem innihélt öll fitusæknu sjávarlífeiturefni sem Matís mælir, nema PTX-1. Þetta samanburðarprófsýni var meðhöndlað og greint með mæliaðferðinni sem sett hefur verið upp hjá Matís og er því sambærilegt við mælingar á öðrum sýnum af bláskel sem framkvæmdar hafa verið hjá Matís.

Samkvæmt ISO/IEC 17043:2010 staðlinum er hægt að túlka Z-score sem hér segir fyrir rannsóknarstofur sem taka þátt í Quasimeme til að tryggja gæði niðurstaðna sem þær senda frá sér t.d. til notkunar í alþjóðlegum áætlunum um eftirlit með sjó:

$|Z| < 2$ Fullnægjandi árangur $|Z| < 3$ Vafasamur árangur $|Z| > 3$ Ófullnægjandi árangur



Mynd 10. Z-score fyrir Matís niðurstöður fyrir DSP eiturefni mæld í QST221BT frá QUASIMEME PT test BT11.2.2016.

Einnig var tekið þátt í EURLMB samanburðarprófi 2017-PT fyrir DSP eiturefni og voru niðurstöður sendar inn fyrir þrjú sýni (EURLMB/17/L/01-03) sem voru móttækin. Niðurstöðurnar fyrir Matís eru settar fram í mynd 11a-c. Flest gildi eru ásættanleg (z -score <2). Tvö gildi fyrir total OA eru með z -score >2 , en <3 , sem eru vafasamar niðurstöður og þarf ekki að grípa til aðgerða. Hinsvegar þarf að útskýra þessi vafasömu gildi en ástæðan var óstöðugleiki í tækjabúnaði sem gaf ósamræmandi niðurstöður og þar af leiðandi var rangur leiðréttingarstaðall valin til útreikninga. Einu óásættanlegu niðurstöðurnar voru fyrir yessotoxin efnin. Þar sem að þessi efni hafa aldrei mælst í íslenskum skelfisk eru þessi efni ekki forgangsmál, en gripið verður til aðgerða til þess að lagfæra og betrubæta mæligetu fyrir þennan hóp efna.



Mynd 11a-c. Z-score fyrir fyrir Matís niðurstöður fyrir DSP eiturefni mæld í EURL PT samanburðarprófi 2017.

3.3.2 Samanburðarpróf - PSP

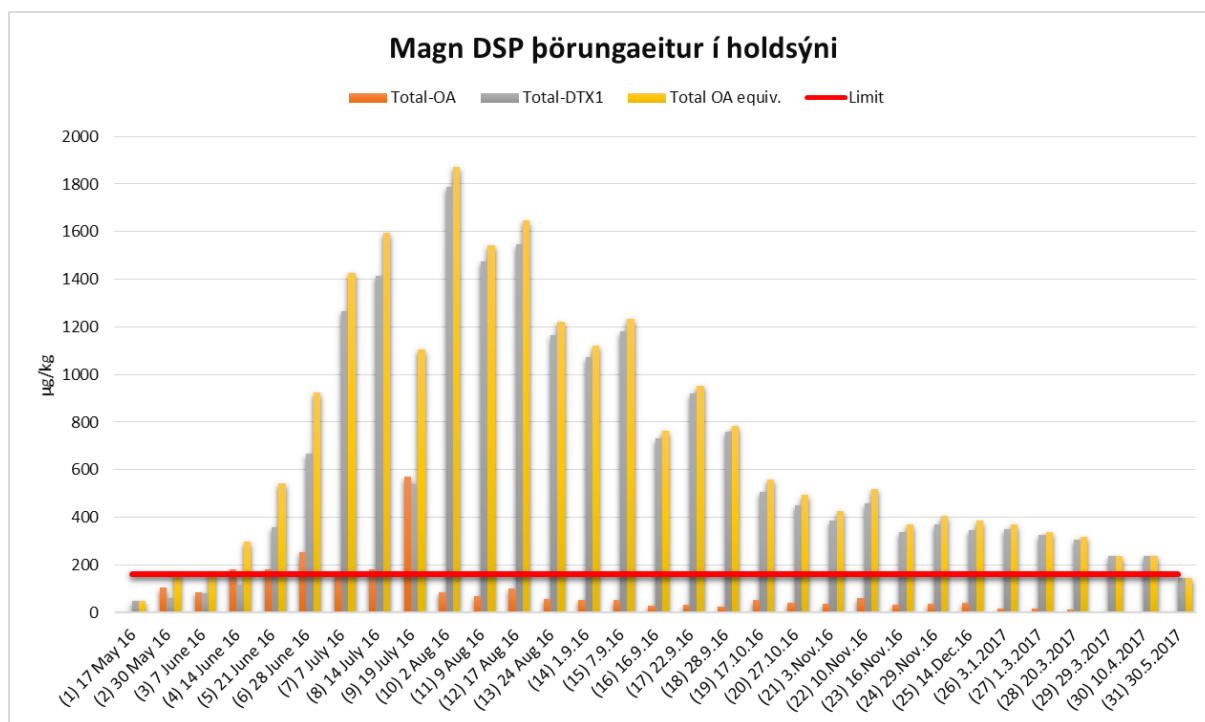
Mæld voru EURLMB samanburðarprófi 2017-PT fyrir PSP eiturefni. Því miður tókst ekki að senda inn niðurstöður fyrir þessi samanburðarsýni (EURLMB/17/P/01-03) fyrir skilafrest. Niðurstöðurnar benda til þess að enn eigi eftir að besta einn verkþátt aðferðarinnar, og er verið að vinna í því.

3.4 Efnamælingar

Þrjátíu og eitt holdsýni af bláskel úr Hvammsvík í Hvalfirði voru greind hjá Matís fyrir DSP og PSP eiturefni á verktímanum (17. maí 2016 – 31. maí 2017).

3.4.1 DSP mælingar

Á mynd 12 má sjá magn DSP eiturefna mæld hverju sinni á verktímanum. Einungis greindist OA, DTX-1 og DTX-3. Heildarmagn eiturefna var í nær öllum tilvikum yfir leyfilegu hámarksgildi ($160 \mu\text{g kg}^{-1}$ af skelfiski) og frá júlí fram í september 2016 voru gildin yfir $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$.



Mynd 12. Heildarmagn DSP eiturefnis mælt í holdsýni af bláskel á tímabilinu 17. maí 2016 til 31. maí 2017. Rauða línan markar leyfilegt hámarksgildi ($160 \mu\text{g kg}^{-1}$ af skelfiski) skv. Evrópu reglugerðinni.

Til þess að staðfesta þennan háa styrk voru 2 sýni (9 og 10) send til BfR til mælingar. Einnig voru 3 sýni (23, 28 og 31) send til MI (Marine Institute) á Írlandi í eftirlitsmælingu. Í töflu 1 má sjá niðurstöðurnar sem fengust hjá BfR og MI bornar saman við niðurstöðurnar fengnar hjá Matís fyrir sömu sýni.

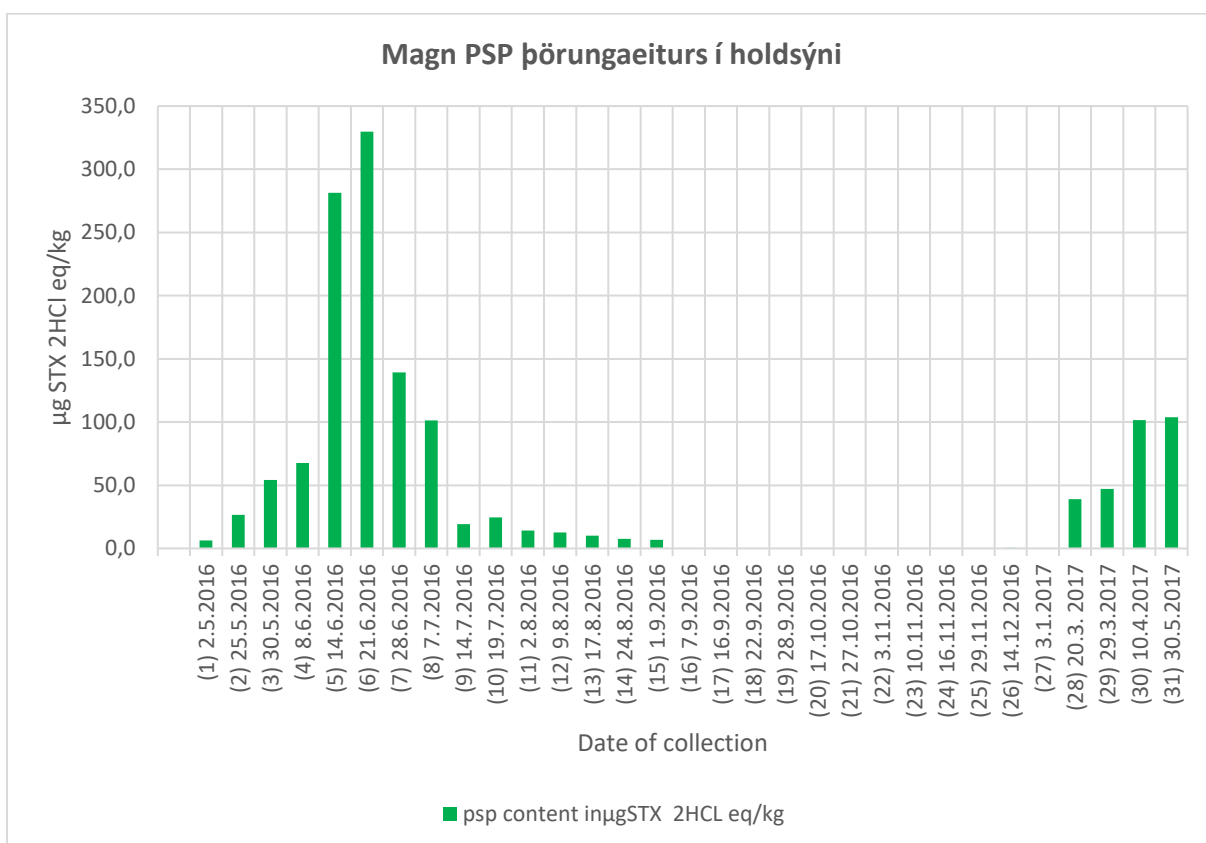
Tafla 1. Samanburður á niðurstöðum fyrir heildar OA og DTX1 frá BfR, Marine Institute Ireland og Matís.

Sýni - eitur	BfR ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	MI ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Matís ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
9 – OA total	568		569
9 – DTX1 total	523		537
10 - OA total	85,3		84
10 - DTX1 total	1656		1789

23 – Total DSP		440	369
28 – Total DSP		320	316
31 – Total DSP		150	147

3.4.2 PSP mælingar

Á mynd 13 eru settar fram niðurstöður mælinga á PSP eiturefnunum á verkímanum. Í sýnunum sem var safnað á tímabilinu sept-okt 2016 mældist ekkert PSP. Öll hin sýnin innihéldu GTX2,3 og STX (nema nr. 28, sem innihélt bara GTX2,3). Auk þessara eiturefna mældist einnig GTX5 í þremur sýnum (nr. 13, 15 og 29); dcSTX (nr. 6, 7 og 8) og dcGTX 2,3 (nr. 6, 30 og 31). Heildarmagn eiturefna var í öllum tilvikum undir leyfilegu hámarksgildi ($800 \mu\text{g STX 2HCl eq kg}^{-1}$ af skelfiski).



Mynd 13. Heildarmagn PSP eiturefnis mælt í holdsýnum af bláskel á tímabilinu 17. maí 2016 til 31. maí 2017.

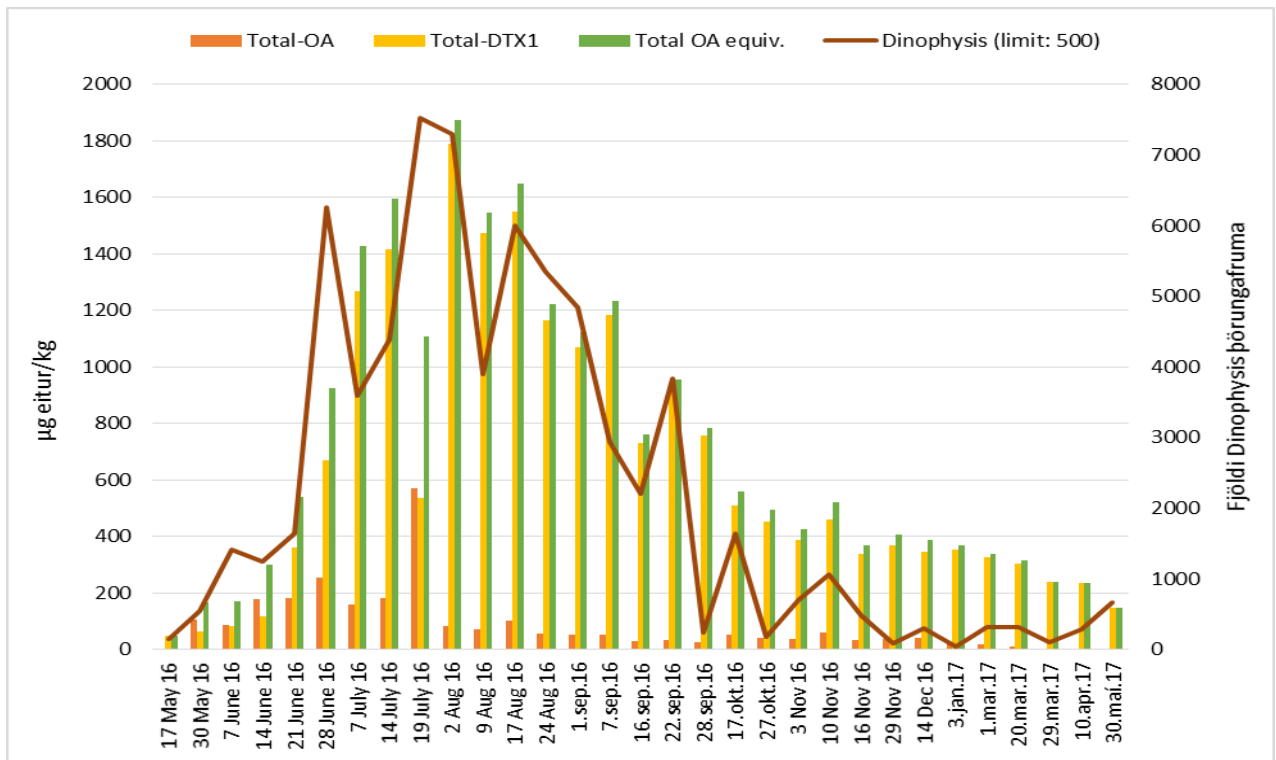
Til þess að meta greiningarhæfni rannsóknarstofu Matís fyrir PSP efnin var keypt sýni sem notað hafði verið í fyrra samanburðarprófi (QUASIMEME QST210BT) og er því með þekktan styrk fyrir PSP eiturefnin. Þetta samanburðarsýni var einnig sent til mælinga á rannsóknarstofu BfR. Í töflu 2 má sjá mæliniðurstöðurnar fyrir níu mismunandi PSP eiturefni sem fengust hjá BfR og Quasimeme borið saman við þær niðurstöður sem fengust hjá Matís.

Tafla 2. Samanburður á niðurstöðum fyrir PSP efni frá Matís, BfR og Quasimeme.

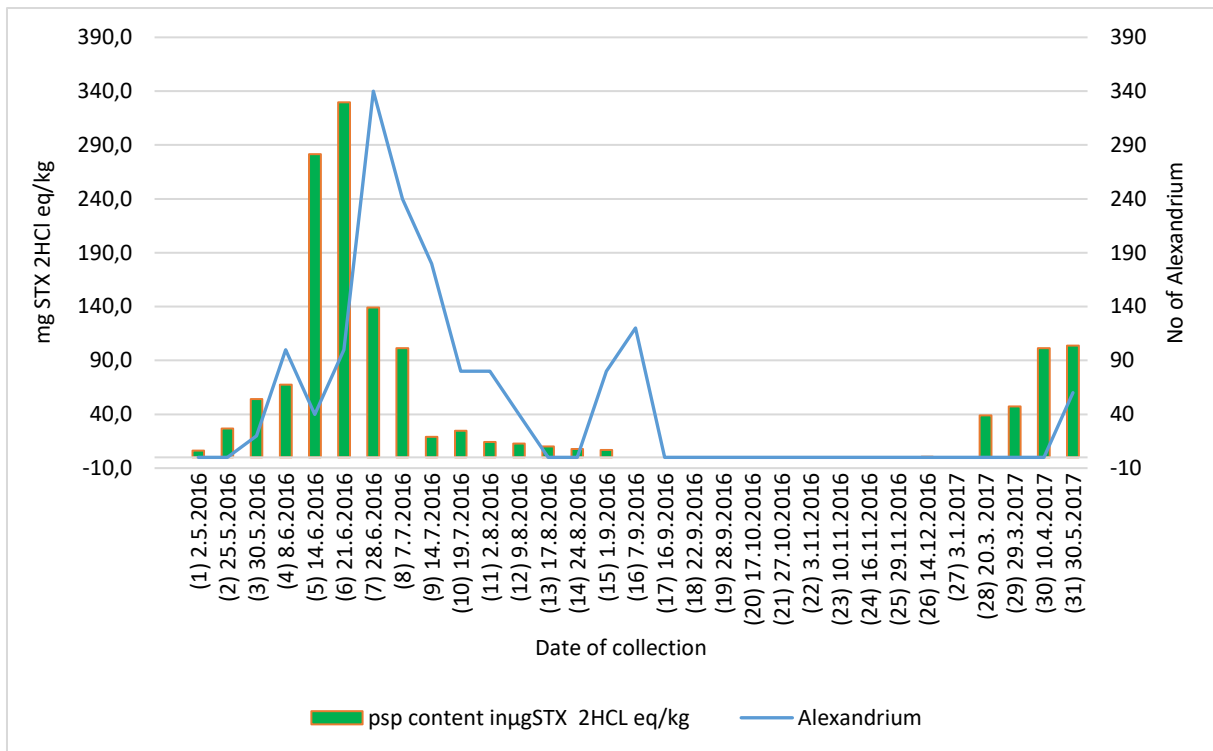
	Matís ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	BfR ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Quasimeme ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)
dcGTX2,3	-	-	0,3567
C1,2	0,88	0,46	0,34
dcSTX1	0,746	0,839	0,968
GTX2,3	0,669	0,95	1,35
GTX5	0,06	0,08	0,114
STX	0,228	0,295	0,33
Neo	-	0,129	0,11
GTX 1,4 (2) Fr 2	1,12	0,825	0,928
C3,4	0,25	-	-

3.5 Fylgni milli fjölda svifþörungna og eiturmagns í skel

Samband milli frumufjölda eitraðra svifþörungategunda og magn eiturs mælt í holdsýni af bláskel er sett fram í myndir 14 og 15.



Mynd 14. Fylgni milli frumufjölda (fj L^{-1}) eitraðra *Dinophysis* svifþörungna og magn DSP eiturs mælt í holdsýni af bláskel.



Mynd 15. Fylgni milli frumufjölda (fj L⁻¹) eittraðra *Alexandrium* svifþörungum og magn PSP eiturs mælt í kræklinga holdsýni.

4. Umræða og ályktanir

Söfnun sýna til mælinga á næringarefnum, blaðgrænu, svifþörungum og kræklingi vegna eiturmælinga tókst mjög vel og var sýnum safnað í rétt tæpt ár. Mælingar á næringarefnum gáfu til kynna að ferill þeirra var að mörgu leyti svipaður og áður hefur fundist í Hvalfirði (Agnes Eydal 2003). Þó komu fram veruleg frávik til hækkunar í styrk nitrats og kísils yfir sumartímamann sem ekki hafa verið útskýrð. Nítrat er venjulega það næringarefni sem er takmarkandi fyrir svifþörungum á íslensku hafsvæði að sumarlagi (Sólveig Ólafsdóttir 2006) en kísill getur einnig verið takmarkandi að sumarlagi fyrir kísilþörungum. Í nokkur skipti yfir sumarið jókst styrkur nitrats mjög hratt og upp í hærri gildi en venjuleg vetrarblöndun gefur af sér. Sama er að segja um kísil en styrkur hans var á tímabilum meira en 10 sinnum hærri en hámarks vetrargildi sýna á íslensku hafsvæði. Því er engu líkara en að þessi efni berist á einhvern hátt að svæðinu í Hvammsvík því svo hár styrkur nitrats og kísils fannst ekki á rannsóknastöðvum í innanverðum Hvalfirði árið 2003 (Agnes Eydal 2003) eða í Steingrímsfirði árin 2010-2011 (Hafsteinn Guðfinnsson og fleiri 2015). Ekki hafa fundist sennilegar skýringar á þessum háu nítrat- og kísilgildum en þau eru allflest hærri en hægt er að búast við í febrúar til mars í atlantískum sjó þegar þau eru í hæstum styrk eftir vetrarblöndun (Sólveig R. Ólafsdóttir 2006). Styrkur fosfats var hins vegar ekki ólíkur því sem þekkt er í Hvalfirði og Steingrímsfirði (Agnes Eydal 2003, Hafsteinn G. Guðfinnsson og fleiri 2015) og voru hæstu gildi ekki hærri en þar gerist um hæstu vetrargildi í þessum fjörðum. Lægstu sumargildi voru þó ef til vill heldur hærri en gerist við strendur landsins (Sólveig R. Ólafsdóttir 2006).

Ljóst er af blaðgrænegildum og næringarefnagildum að vorhámark svifþörungum er í rénum og nánast um garð gengið þegar sýnatökur hefjast í lok maí 2016. Þá er styrkur nitrats og kísils mjög lágur og því ekki vænlegar gróðurastæður lengur fyrir kísilþörungum. Kísilþörungur blómstruðu þó tvívegis seinna að sumrinu þ.e. í júlí og ágúst en á þeim tíma var nægur kísill í sjónum og nokkuð um nítrat. Slík aukning

á blaðgrænu á sumrin vegna aukins vaxtar kísilþörungum kemur ágætlega heim og saman við fyrri niðurstöður rannsókna í Hvalfirði (Agnes Eydal 2003) en þar komu fyrir álíka vaxtartoppur síðla sumars.

Ljóst er að kísilþörungur eru mikilvægasti svifþörungahópurinn frá vori til hausts en skorupörungur fara vaxandi er líður á sumarið og haustið og ná hámarki í ágúst til október. Smáir svifþörungur (<10 µm) eru til staðar frá vori til hausts en í mestum mæli seinni part sumars en í minnstum mæli þegar kísilþörungur finnast í mestu magni (mynd 6).

Alexandrium svifþörungur fundust strax í maí og júní þó ekki væri í miklum mæli eða frá nokkrum tugum fruma upp í mest 340 fr L⁻¹. Athyglisvert er að um leið og *Alexandrium* finnst í sjónum mælist PSP í kræklingi. Magn eitursins fór hæst í 330 µg kg⁻¹ á sama tíma og frumfjöldi *Alexandrium* var 340 fr L⁻¹. Magn eiturs var þó langt undir þeim viðmiðunarmörkum sem í gildi eru um heilnæmi skelfisks (800 µg kg⁻¹). Þá er einnig eftirtektarvert að svoltið PSP eitur mælist í kræklingi í maí þ.e. nokkrum vikum áður en *Alexandrium* frumur finnast í sjósýnum. Hvað getur valdið þessu? Sennilegasta skýringin er að dvalarform *Alexandrium* (cysts) hafi verið fyrir hendi í sjónum. Venjulegar frumur margra skorupörungum mynda síðla sumars og að hausti dvalarfrumur sem eru botnlægar að vetri og eru nú þekktar yfir 80 tegundir skorupörungum í sjó sem geta myndað slík dvalarform (Anderson et al. 2003, Matsuoka and Fukuyo 2003). Þær berast upp í svifið að vori og spíra í nýjar frumur og gætu valdið eitrun í skel áður en fullmyndaðar frumur sjást í sjósýnum. Slík dvalarform geta því verið aðgengileg fæða fyrir kræklinga áður en þær ummyndast í venjulegar *Alexandrium* frumur. Erfitt getur verið að greina slík form í sjósýnum þar sem þær hafa ekki alltaf auðgreinanleg einkenni. Því má bæta við að dvalarform *Alexandrium* fruma eru einnig eitradar og eru því taldar geta valdið PSP eitrun í skel jafnvel við lítinn fjölda dvalarforma í sjó. Þær tegundir sem fundust í þessari rannsókn þ.e. *Alexandrium tamarense* og *A. ostenfeldii* eru báðar þekktar fyrir að mynda dvalarform (cysts) en slíkt er eins og áður sagði nokkuð algengt hjá mörgum tegundum skorupörungum og telst hluti af lífsferli þeirra (Matsuoka and Fukuyo 2003).

Dinophysis þörungur fundust strax í byrjun rannsóknanna og var fjöldi þeirra í júní þegar kominn yfir 1000 fr L⁻¹. Frá þeim tíma skipti fjöldi þeirra þúsundum í lítra af sjó allt sumarið en fækkaði er kom fram á haustið. Þó voru yfir 1000 fr L⁻¹ alveg fram í nóvember. Segja má að DSP eitur hafi mælist í kræklingi frá sama tíma þ.e. byrjun júní og fór magn þess í kræklingi vaxandi samfara fjölgun *Dinophysis* fruma. Magn DSP eiturs í kræklingi náð einnig hámarki á sama tíma og fjöldi *Dinophysis* fruma var í hámarki (Mynd 14). Talið er að miklu skipti að kræklingur hafi aðra fæðu en eiturbörunga til að hafa möguleika á að skola eitrið út. Önnur fæða er þó ef til vill ekki fyrir hendi þegar eiturbörunga koma fyrir í miklum mæli í svifinu svo vikum skiptir. Þó má benda á að þegar kísilþörungur blómstra í júlí minnkar eitur í skel þrátt fyrir aukningu í fjölda *Dinophysis* á sama tíma. Aukið fæðuframboð á formi kísilþörungum virðist þannig vega upp á mót eiturrinnihaldi í kræklingi um stundarsakir. Þegar kísilþörungum fækkar eykst eiturmagn í skelinni að nýju. Við blóma kísilþörungum í ágúst lækkar einnig eiturmagn í skelinni sem einnig getur bent til hins sama. Reyndar minnkar einnig fjöldi *Dinophysis* fruma á sama tíma en fjöldi þeirra skiptir þó enn þúsundum. Því getur hér verið um samverkandi áhrif til lækkunar á eitri í skel að ræða. Af þeim niðurstöðum sem hér eru kynntar er ljóst að þegar fjöldi *Dinophysis* fruma hefur náð 500-1000 frumum í lítra í tiltölulega stuttan tíma (1-2 vikur) þá er DSP eiturmagn í kræklingi í Hvammsvík komið yfir viðmiðunarmörk (160 µg/kg) um neyslufæfi. Rannsóknir með einræktir af eitruðum *Dinophysis* tegundum í rannsóknastofu, sem einangraðar voru úr náttúrulegu umhverfi, hafa sýnt að DSP eitrun finnst þegar fjöldi þessara tegunda er á bilinu 100 til 1000 fr L⁻¹ (Lee et al. 1989).

Eins og áður sagði var fjöldi *Dinophysis* haustið 2016 umtalsverður. Slíkt hefur áður gerst í Hvalfirði svo þekkt sé t.d. árin 2005 og árið 2012 þegar fjöldi *Dinophysis* skipti þúsundum að hausti og var meiri en 1000 fr L⁻¹ er kom að áramótum (Hafsteinn Guðfinnsson óbirt gögn og ársskýslur vöktunar 2005-2014). Það er mjög sennilegt að þegar kræklingur fer inn í veturinn og inniheldur svo mikið DSP eins og þessar niðurstöður sýna, þá séu litlar líkur á að hann geti skolað út eitrið um veturinn þar sem fæðuframboð er af mjög skornum skammti þ.e.a.s. þetta gerist ekki fyrr en fer að vora á ný og vöxtur kísilþörunga hefst. Enda var það raunin að DSP í kræklingi í Hvammsvík var mörg hundruð $\mu\text{g kg}^{-1}$ allan veturinn og komst ekki undir viðmiðunarmörk fyrr en eftir hámark kísilþörunga þ.e. í lok maí 2017.

Samkvæmt erlendum rannsóknum geta *Dinophysis* tegundir verið mjög miseitraðar (Taylor et al. 2003). Í Hvalfirði voru til staðar fjórar tegundir *Dinophysis* þ.e. *D. acuminata*, *D. norvegica*, *D. acuta* og *D. rotundata* og eru þær allar taldar geta framleitt DSP eitri (Taylor et al. 2003). Tvær þær fyrst nefndu voru langalgengastar í þeim niðurstöðum sem hér liggja fyrir.

Viðurkenndar aðferðir til greiningar á fituleysanlegum og vatnsleysanlegum eiturefnum hafa verið settar upp hjá Matís. Um er að ræða tvær flóknar og mjög mismunandi greiningaraðferðir. Innanhús verkferlar (Standard Operating Procedure) fyrir aðferðirnar hafa verið útbúnar. Báðar aðferðirnar hafa verið bestaðar með því að nota stöðluð viðmiðunarefni og sannreyndar með þátttöku í opinberu alþjóðlegu samanburðarprófi. Niðurstöðurnar í mynd 10 sýna að Z-gildin eru innan marka fyrir öll efnin nema DTX-1. Úrbætur voru gerðar á greiningaraðferðinni til að lagafæra þetta. Eftir að úrbæturnar voru gerðar tók rannsóknarstofan þátt í samanburðarprófi frá EURL (European Reference Laboratory í Vigo, Spánn) bæði fyrir DSP og PSP. Þessar niðurstöður voru opinberaðar í október 2017. Yfir heildina litið standast þær niðurstöður kröfur og er gert ráð fyrir að hægt verði að sinna reglubundnum mælingum á sjávarlífeiturefnum á rannsóknarstofu Matís og næstu skref felast þá í því að faggilda þessar mælingar.

Einn mikilvægur þáttur í þessu verkefni voru sterk tengsl sem mynduðust við teymi sérfræðinga hjá BfR sem er í framvarðasveit á sviði sjávarlífeiturefnagreininga í Evrópu. Samstarfið við BfR hefur haldið áfram og mun BfR teymið halda áfram að styðja Matís þangað til að þessar greiningaraðferðir hafa að fullu verið innleiddar á Íslandi.

Í heild sinni gefa niðurstöður verkefnisins vísbendingu um umfang og uppsöfnun þörungaeiturs í bláskel af völdum eittraðra svifþörunga í Hvalfirði. Svipaðar niðurstöður hafa fundist annars staðar í íslenskum fjörðum þó eiturefnamælingar þeim séu mun strjálle en í þessum rannsóknum (Hafsteinn Guðfinnsson - óbirt gögn). Samanborið við niðurstöður greininga svifþörungasýna er hægt að sjá sterk tengsl á milli magns eittraða tegunda svifþörunga og magns eiturs í skelsýnum. Þetta á bæði við um DSP og PSP eiturefnin. Þar sem fjöldi *Dinophysis* eiturbörunga í sjó var hár fram á haustið þá viðhélst hátt magn DSP eiturefna í kræklingi í Hvammsvík í Hvalfirði þrátt fyrir fækkun í fjölda *Dinophysis* eiturbörunga. Þar af leiðandi virtist uppsafnaða magnið af þörungaeitri ekki skolast út og hélst í skelinni langt fram á vorið 2017, þangað til að kísilþörungum fór að fjölga í sjónum og fæða fyrir kræklinga jókst. Frá því í lok september 2016 og fram í byrjun apríl 2017 er styrkur DSP eiturs mælt í holdi kræklinga umtalsvert hærra en magn af *Dinophysis* eiturbörungum í sjó.

Að lokum þetta. Afurð þessa verkefnis er og verður ekki einkaleyfishæf og ekki þarf að huga að eignarrétti. Niðurstöðurnar sýna að fylgni er milli fjölda eiturbörunga í sjó og eiturmagns í kræklingi. Niðurstöður munu gagnast skelræktendum og eftirlitsaðilum sem þurfa að fylgjast fjölda eiturbörunga og með eitri í skelfiski á Íslandi. Aðferðir við mælingar á þörungaeitri í skelfiski munu gagnast þannig

að niðurstöður munu liggja hraðar fyrir en áður hefur þekkt. Þetta mun valda því að lengur verður hægt að uppskera skel með meiri vissu um heilnæmi skeljarinnar.

5. Þakkarorð

Sérstakar þakkir til BfR í Þýskalandi sem hefur veitt mikilvægan stuðning við að koma mælingum á eitri í skelfiski á laggirnar.

Sérstakar þakkir færum við einnig Alice Benoit-Cattin fyrir mælingar á næringarefnum, Kristínu J. Valsdóttur fyrir mælingar blaðgrænu og Sólveigu R. Ólafsdóttur fyrir yfirlestur handrits.

Síðast en ekki síst þá viljum við þakka AVS sjóðnum fyrir mikilvægan fjárstuðning við verkefnið sem réði úrslitum um að því væri hrint í framkvæmd.

6. Heimildir (References)

Anderson. (2003). Cyst methodologies. Í „Manual on Harmful Marine Microalgae“. Ed. G.M. Hallegraeff, D.M. Andersson and A.D. Cembella.

Anon. (1966). Determination of photosynthetic pigments in sea-water. UNESCO/SCOR, Paris. 69 p

Eydal. (2003). Áhrif næringarefna á tegundasamsetningu og fjölda svifþörunga í Hvalfirði. Hafrannsóknastofnun, Fjölrit nr. 99.

Grasshoff. (1983). Methods of Seawater Analysis, 2nd ed. Verlag Chemie GmbH, Weinheim.

Guðfinnsson, et al. (2015). Svifþörungar, næringarefni og sjávarhiti í Steingrímsfirði á Ströndum, 2010-2011. Hafrannsóknastofnun, Hafrannsóknir nr. 180.

Hasle. (1978a). The inverted microscope method. Í A. Sournia (ed), Phytoplankton manual, bls. 88 - 96.

Hasle. (1978b). Using the inverted microscope. Í A. Sournia (ed), Phytoplankton manual, bls. 191- 201.

Guðmundsson. (1998). Svifþörungar sem geta valdið skelfiskeitrun. Niðurstöður tegundagreininga og umhverfisathugana. 1. Ísafjarðardjúp 1987. 2. Eyjafjörður 1992. Hafrannsóknastofnun Fjölrit nr. 70.

Matsuoka, et al. (2003). Taxonomy of cysts. Í „Manual on Harmful Marine Microalgae“. Ed. G.M. Hallegraeff, D.M. Andersson and A.D. Cembella.

Ólafsdóttir. (2006). Styrkur næringarefna í hafinu umhverfis Ísland. Hafrannsóknastofnun, Fjölrit nr. 122.

Taylor, et al. (2003). Taxonomy of harmful dinoflagellates. Í „Manual on Harmful Marine Microalgae“. Ed. G.M. Hallegraeff, D.M. Andersson and A.D. Cembella.

Valdiglesias, et al. (2013). Okadaic acid: more than a diarrheic toxin. *Marine Drugs*, 11(11):4328-49.

Suárez-Ulloa, et al. (2013a). Bivalve Omics: State of the Art and Potential Applications for the Biomonitoring of Harmful Marine Compounds. *Marine Drugs*, 11(11):4370-4389.

- Prego-Faraldo, et al. (2013). Okadaic Acid Meet and Greet: An Insight into Detection Methods, Response Strategies and Genotoxic Effects in Marine Invertebrates. *Marine Drugs*, 11(8):2829-2845.
- Suárez-Ulloa, et al. (2013b). The CHROMEVALOA Database: A Resource for the Evaluation of Okadaic Acid Contamination in the Marine Environment Based on the Chromatin-Associated Transcriptome of the Mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Drugs*, 11(3):830.
- McCarthy, et al. (2014). Application of passive (SPATT) and active sampling methods in the profiling and monitoring of marine biotoxins. *Toxicon*, 89:77-86.
- Draisci, et al. (1996). First report of pectenotoxin-2 (PTX-2) in algae (*Dinophysis fortii*) related to seafood poisoning in Europe. *Toxicon*, 34(8):923-935.
- Landsberg. (2002). The Effects of Harmful Algal Blooms on Aquatic Organisms. *Reviews in Fisheries Science*, 10(2):113-390.
- Munday. (2013). Is Protein Phosphatase Inhibition Responsible for the Toxic Effects of Okadaic Acid in Animals? *Toxins*, 5(2):267-285.
- Lawrence, et al. (2005). Quantitative Determination of Paralytic Shellfish Poisoning Toxins in Shellfish Using Prechromatographic Oxidation and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88(6):1714-1732.
- DIN EN 16204. Foodstuffs - Determination of lipophilic algal toxins (okadaic acid group toxins, yessotoxins, azaspiracids, pectenotoxins) in shellfish and shellfish products by LC-MS/MS; German version EN 16204:2012.
- Pórðardóttir, et al. (1996). Phytoplankton at the Ocean Quahog Harvesting Areas off the Northwest Coast of Iceland 1994/Svifþörungur á kúffiskmiðum út af norðvesturströnd Íslands 1994. Hafrannsóknastofnun Fjölrit nr. 51.
- Guðfinnsson, et al. Vöktun eiturþörungna við Ísland 2005 til 2014 - Ársskýrslur. <http://www.hafro.is/voktun/arsskyrslur.html>

7. Viðaukar

Sýnatökuleiðbeiningar – eyðublað frá Matís

Sýnatökuseðill – eyðublað frá MAST