



Miljögiftsundersökning i Öresund med transplanterade musslor

En studie av metallupptag och biomarkörer i blåmussla efter utplacering på
kustnära platser i Öresund



ÖVF RAPPORT 2018:9

2018-06-07

ISSN 1654-0689

www.oresunds-vvf.se

TOXICON AB

SE-556837-7294

ROSENHÄLLSVÄGEN 29 S-261 92 HÄRSLÖV

TEL. 0418-707 00; e-mail: toxicon@toxicon.se

Miljögiftsundersökning med transplanterade musslor under hösten 2017 till våren 2018

FÖRFATTARE:
ANDERS SJÖLIN

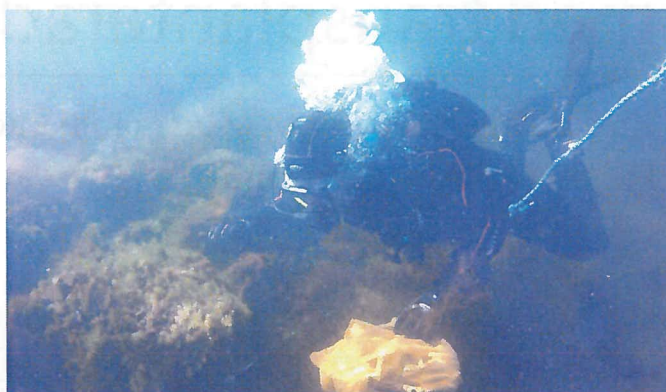
FÄLTARBETE:
FREDRIK LUNDGREN
WESTE NYLANDER
ANDERS SJÖLIN
REBECCA LJUNGDAHL
PER OLSSON

PROVBEREDNING:
WESTE NYLANDER
REBECCA LJUNGDAHL
ANDERS SJÖLIN

KEMISKA ANALYSER:
ALS SCANDINAVIA AB

BIOLOGISKA ANALYSER:
ANDERS SJÖLIN

FOTO:
FREDRIK LUNDGREN
MATS PERSSON



TOXICON AB
ROSENHÄLLSVÄGEN 29
261 92 HÄRSLÖV

TELEFON: 0418-70700
FAX: 0418-70300
E-POST: toxicon@toxicon.com
WWW.toxicon.com

ORGANISATIONSNUMMER: 556383-7294

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1. Sammanfattning	4
2. Inledning	5
3. Metodik	
3.1 Exponering av blåmusslor	2
3.1.1 Kontroll av filtreringskapacitet hos blåmussla	7
3.2 Provberedning av blåmusslor	7
3.2.1 Biomarkörstudier	7
3.2.2 Konditionsindex och emiska analyser	7
3.3 Biomarkörstudier	8
3.3.1 Acetylcholinesterase-aktivitet	8
3.3.2 Lysosomal membranstabilitet	9
3.4 Kemiska analyser	10
3.5 Bedömningsgrunder/gränsvärden	10
3.5.1 Biomarkörer	10
3.5.2 Metallhalter i blåmussla	10
4. Resultat och diskussion	
4.1 Filtreringskapacitet hos blåmussla	10
4.2 Skallängd och konditionsindex	10
4.3. Biomarkörer	11
4.3.1 Acetylcholinesteras-aktivitet i gäle	11
4.3.2 Lysosomal membranstabilitet i hematocyter	12
4.4 .Metallhalter i blåmussla	13
4.4.1 Avikelseklassning	15
4.4.2 Gränsvärden	15
4.5 Slutsatser	15
5. Referenser	16
6. Bilagor	
Bilaga 1. Analysrapport - Blåmussla (ALS Scandinavia AB)	

1. SAMMANFATTNING

- En miljögiftsundersökning har utförts med transplanterade (utplacerade) blåmusslor (*Mytilus edulis*) under hösten 2017 till våren 2018 på uppdrag av Öresunds Vattenvårdsförbund. I undersökningen har analys av metaller och biomarkörer i blåmussla genomförts. Målet med undersökningen var att ge en bild av hur miljösituationen är på kustnära platser i Öresund. Detta har alltså gjorts med hjälp av bestämning av musslors hälsotillstånd efter exponering i "musselkorgsstudier".
- **Transplanteringen** (eller exponeringen) av blåmusslor under ca ett halvårstid tid på kustnära lokaler gick enligt planerna. Dock med undantag för att en musselkorg som placerades invid inloppet till Malmö hamn inte återfanns efter 7 månaders exponering.
- **Blåmusslornas fysiologiska kondition** hos de transplanterade musslorna i recipient-lokalerna var lika bra eller bättre än konditionen hos de transplanterade musslorna i referenslokalerna.
- **Biomarkörstudien** visade att aktiviteten av enzymet acetylkinesteras, som hämmas vid närvaro av miljögifter, inte skilde sig signifikant mellan referens- och recipientlokaler i båda de två musselkorgsstudierna. Detta indikerar att generell stress inte detekterades i musslorna från recipientlokalerna med avseende på en inhibering av acetylkinesteras. Resultat från användandet av biomarkören lysosomal membranstabilitet, vilken bestämdes via "Neutral Red Retention-assay", visade däremot att musslorna från samtliga recipientlokaler i de två musselkorgsstudierna var "mycket stressade" enligt ICES bedömningsmall. Detta innebär att de var i ett ej kompenserbart/ej återhämtningsbart tillstånd. Musslornas hälsa var alltså kraftigt nedsatt. Det var dock så att referenslokalen i södra Öresund också uppvisade musslor som var "mycket stressade" medan musslorna i referenslokalen i norra Öresund hade tillståndet "stressad"; ett kompenserbart tillstånd. Den generellt sett höga stressen hos musslorna skulle möjligen kunna sättas i samband med den relativt långa transplanterings tiden. En likartad stressnivå som den i föreliggande undersökning har dock tidigare redovisats för blåmusslor i lokaler längs västkusten.
- **Halten metaller i blåmussla** på lokal "Helsingborg ARV" i norra Öresund uppvisade tydligt högre metallhalter jämfört med före transplanteringen. Detta gällde speciellt för bly, zink och krom som uppvisade tydlig till stor avvikelse från Naturvårdsverkets jämförvärde. Bly uppvisade dessutom dålig miljöstatus enligt HELCOM på lokalen. Lokal "Klagshamns ARV" var den lokal i södra Öresund där sammantaget högst metallhalter noterades efter transplanteringen. Skillnaden jämfört med referenslokalens ("Höllviken") metallhalter var dock inte så tydlig för "Klagshamns ARV" som den var mellan "Helsingborgs ARV" och referenslokal "Domsten" för ett antal metaller.
- **Sammanfattningsvis** kan sägas att musselkorgsundersökningen fungerade bra. Biomarkören lysosomal membranstabilitet som mättes med "Neutral red retention-assay" visades vara en känsligare biomarkör i denna undersökning än mätning av acetylkinesteras-aktivitet. En ökad halt av flertalet metaller efter exponeringen noterades speciellt utanför Helsingborgs reningsverk.

2. INLEDNING

En miljögiftsundersökning har utförts med transplanterade (utplacerade) blåmusslor (*Mytilus edulis*) under hösten 2017 till våren 2018 på uppdrag av Öresunds Vattenvårdsförbund. I undersökningen har analys av metaller och biomarkörer i blåmussla genomförts. Målet med undersökningen var att ge en bild av hur miljösituationen är på kustnära platser i Öresund. Detta har alltså gjorts med hjälp av bestämning av musslors hälsotillstånd efter exponering i en "musselkorgsstudie".

3. METODIK

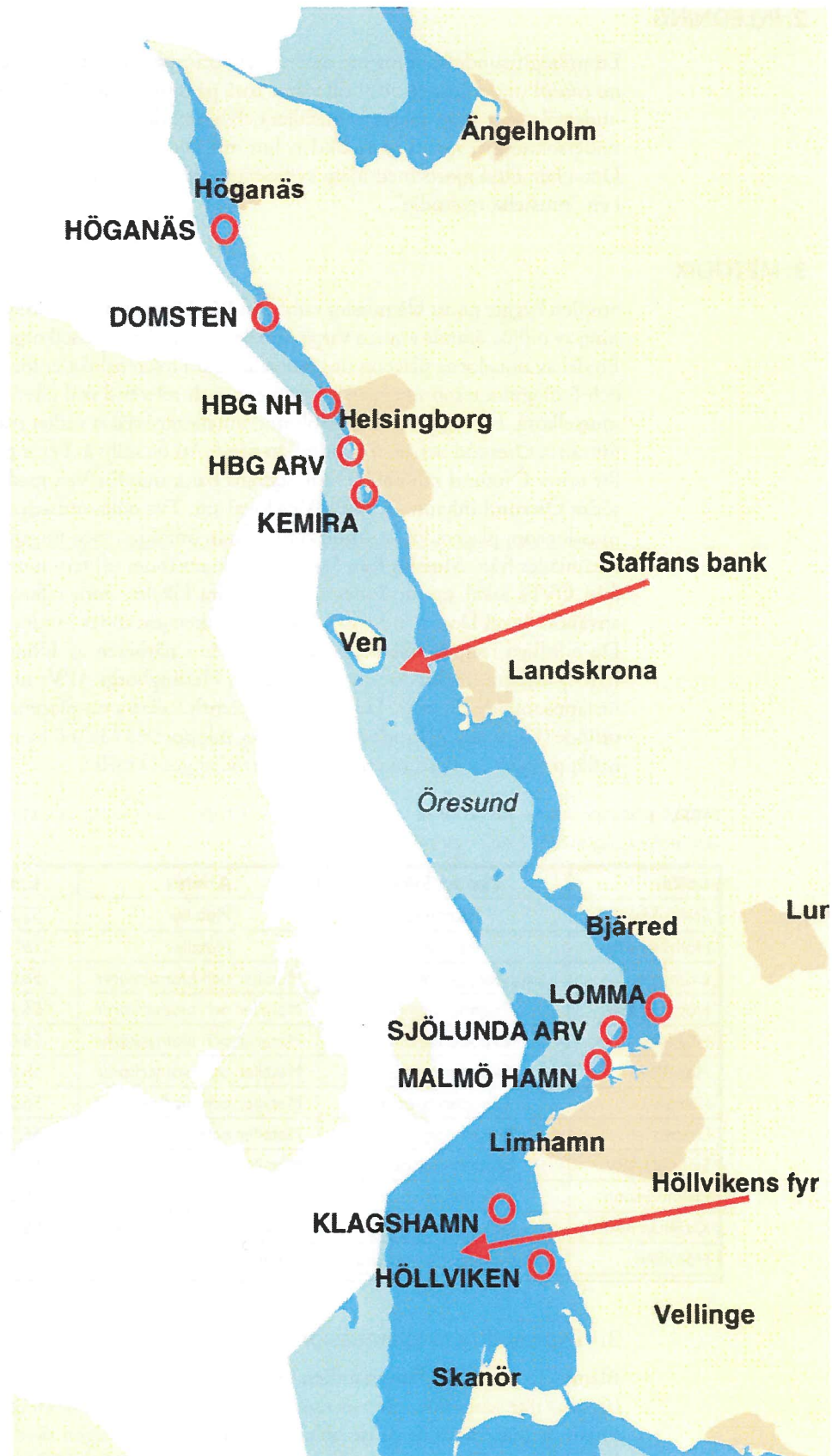
Studien bygger på att blåmusslor samlas in från ett område som antas ha en relativt låg belastning av miljöstörande ämnen varpå musslorna sätts ut i musselkorgar i olika recipientlokaler. En del av musslorna placeras ut i musselkorgar i referenslokaler för att kunna jämföra halter och biologiska responser mellan recipient- och referenslokal efter en viss tids exponering i musselkorg. Föreliggande undersökning innefattar i själva verket två musselkorgsstudier; en för norra Öresund och en för södra Öresund. Att de skiljs åt beror på att musslor till studien för norra Öresund inhämtats från Staffans bank utanför Ven medan musslor till studien i södra Öresund inhämtats från ÖVFs lokal 5:6. Två olika musselpooler användes för att de musslor som placerades ut skulle komma från områden med ungefär samma salthalt som de insamlades från. Musslor från Staffans bank användes till fem nordliga lokaler och musslor från ÖVFs lokal 5:6 användes till fem södra lokaler. Som referenslokal i norra Öresund användes lokal Domsten medan lokal Höllviken användes i södra Öresund (figur 1 och 2). De nordliga recipientlokalerna var placerade i närheten av Höganäs avloppsreningsverks (ARV) utsläpp, Helsingborgs norra hamn, Helsingborgs ARVs utsläpp och Kemira utsläppsområde (figur 1). De sydliga recipientlokalerna var placerade i närheten av Höjeåns utflöde (Lomma), Sjölunda ARVs utsläpp, inloppet till Malmö hamn och Klagshamns ARVs utsläpp (figur 2). Positionerna för lokalerna anges i tabell 1.

TABELL 1. Startpositioner för de lokaler i WGS-84 decimal (lat, lon) där insamling (Staffans bank och Höllvikens fyr) och utplacering (övriga lokaler) av blåmussla skett.

Lokal	Typ av lokal	Analys	Latitud	Longitud
Staffans bank	Insamling	Metaller	55,52,976	12,45,209
Höllvikens fyr	Insamling	Metaller	55° 30,70	12° 50,90
Domsten	Exponering-referens norr	Metaller och biomarkörer	56,07,044	12,36,020
Höganäs ARV	Exponering-norr	Metaller och biomarkörer	56,12,001	12,32,047
Hbg NH	Exponering-norr	Metaller och biomarkörer	56,02,988	12,40,910
Hbg ARV	Exponering-norr	Metaller och biomarkörer	56,02,087	12,41,393
Kemira	Exponering-norr	Metaller och biomarkörer	56,00,682	12,42,130
Lomma	Exponering-söder	Metaller och biomarkörer	55,39,778	13,02,904
Sjölunda ARV	Exponering-söder	Metaller och biomarkörer	55,38,813	13,00,677
Malmö Hamn	Exponering-söder	Metaller och biomarkörer	55,37,645	12,59,058
Klagshamn ARV	Exponering-söder	Metaller och biomarkörer	55,32,190	12,50,992
Höllviken	Exponering-referens söder	Metaller och biomarkörer	55,29,323	12,53,435

3.1 Exponering av blåmusslor

Blåmusslor till musselkorgsstudien i norra Öresund samlades in från Staffans bank SO Ven (figur 1) 18:e september 2017 av dykare. Musslorna fick gå i syrebubblat havsvatten över natt innan de placerades ut på de olika lokalerna. Utplaceringen skedde 20:e september (lokal Höganäs och Domsten) respektive 19:e september (lokal Helsingborg NH, Helsingborg ARV och Kemira). Blåmusslor till musselkorgsstudien i södra Öresund samlades in från ÖVFs lokal 5:6 (benämnd "Höllvikens fyr" i undersökningen) (figur 1) 23:e augusti 2017 av dykare. Musslorna placerades ut på lokalerna samma dag som de insamlades (lokal Höllviken, Klagshamns ARV, Malmö hamninlopp, Sjölunda ARV och Lomma).



FIGUR 1. Lokaler i södra och norra Öresund där transplanterade blåmusslor exponerades under ca 5-7 månaders tid. Höllviken och Domsten är referenslokaler medan övriga är recipientlokaler.. Insamlingsplatserna Höllvikens fyr och Staffans bank är också angivna.

Musslorna placerades 1-2 m ovanför botten i små plastkorgar med flytskiva (ca 30 musslor/bur) och korgarna var förankrade till tyngd (figur 2). Djupet på lokalerna var ca 4-8 m. Musslorna i norra Öresund exponerades under drygt fem månader i musselkorgarna (21 februari och 6 mars 2018 togs musslorna upp) medan musslorna i södra Öresund exponerades under ca sju månader i musselkorgarna (20 och 26 mars 2018 togs musslorna upp). En del musslor från insamlingsplatserna Staffans bank och ÖVFs lokal 5:6 (Höllvikens fyr) placerades inte i musselkorg utan transporterades (under fuktad handduk i kylback) samma dag till laboratorium och syrebubblades över natt i havsvatten från respektive insamlingsplats. Dagen därpå frystes musslorna in för senare preparation av mjukdelarna. Musslorna som transplanterats hanterades varsamt vid upptaget för att undvika stressmoment. Tex skars aggregerade musslors byssustrådar av då avslitning av byssustrådar visats påverka biomarköranalyserna (LMS). Under transport till laboratorium förvarades de transplanterade musslorna under fuktad handduk i kylback.



FIGUR 2. Musselkorg med musslor (fäst till betongklump) före utplacering och under exponeringen.

3.1.1 Kontroll av filtreringskapacitet hos blåmussla

Vid en klorofyllkoncentration under 0,5 µg/l slutar blåmusslan att filtrera och stänger sitt skal (Riisgård & Larsen, 2000). För att få en indikation på musslornas filtreringskapacitet under exponeringstiden har klorofylldata från några av ÖVFs hydrografilokaler använts.

3.2 Provberedning av blåmusslor

3.2.1 Biomarkörstudier

Musslorna fick efter insamlandet gå i rent, luftat havsvatten (från respektive lokal) i 24 timmar varpå gälar dissekerades fram från tio musslor från vardera lokal. Gälarna frystes separat i flytande kväve innan de placerades i -80°C frys. De frysta gälarna användes till analys av acetylcholinesterase-aktivitet (AChE-aktivitet). För bestämning av hemocyternas (blåmusslans blodceller) lysosomala stabilitet (NRR-assay) användes tio blåmusslor som gått i luftat havsvatten (från respektive lokal) mellan 1-3 dygn efter insamling. AChE-aktivitet och NRR-assay är biomarkörer som ger ett mått på blåmusslans hälsotillstånd.

3.2.2 Konditionsindex och kemiska analyser

Musslorna fick efter insamlandet gå i rent, luftat havsvatten (från respektive lokal) i 24 timmar för att tömma ut eventuellt tarminnehåll. Skallängden mättes varpå musslor mättes varpå musslorna öppnades och fick rinna av i ca 15-20 minuter. Därefter preparerades mjukdelarna från musslorna fram och vägdes. Mjukdelar från minst 20 musslor poolades till ett samlingsprov. och frystes in i plastburkar för senare analys av metaller. De frysta proverna skickades till ALS Scandinavia AB för analys.

Konditionsindex (KI) bestämdes på 40 musslor utifrån erhållen skallängd och våtvikt av mjukdelarna. Indexet bestämdes på följande sätt: Våtvikt (g)/(längd*längd*längd).



FIGUR 3. Dissektion av gälar från blåmussla (till vänster) och uttag av hämolymfa från blåmussla (till höger).

3.3 Biomarkörstudier

3.3.1 Acetylcholinesterase-aktivitet

Extraktion av gälar för analys av acetylcholinesterase-aktivitet (AChE-aktivitet) utfördes i princip enligt ICES metod (Bocquene & Galgani, 1998). Gälarna homogeniserades med en Potter-glashomogenisator i 20 mM fosfatbuffert (pH=7,0), innehållande 0,1% Triton-X 100, i ett gälar-buffertförhållande på 1:5 w/v. Homogenatet (extraktet) centrifugeras vid 10 000 g i 20 minuter vid 4°C i en bordskylcentrifug (Labofuge 400R). Den resulterande supernatanten (S₉) används för bestämning av halten protein och AChE-aktivitet. Halten protein bestämdes enligt Bradford (1976) i en SpectraMax mikroplattläsare (Molecular Devices) med BSA (bovint serum albumin) som standard. Halten protein i proverna togs fram utifrån standardkurvan över BSA.

ACETYLCHOLINESTERASE-AKTIVITET -

Enzymet acetylcholinesterase (AChE) finns hos de flesta djur och utför nedbrytningen av nervtransmittorsubstansen acetylcholin till acetat och cholin. Syftet är att reglera nervsignalen genom att minska koncentrationen acetylcholin i nervändarna. Om enzymets aktivitet hämmas kan detta leda till kontinuerlig stimulering av muskelfibrer eller nervfibrer, som slutligen kan ge upphov till akuta effekter såsom paralysering och död.

Det är känt att enzymets aktivitet hämmas av pesticider (organofosfater och karbamater), men även av tungmetaller, kolväten och detergent. En mätning av AChE kan därför fungera som en biomarkör för påvisandet av generell fysiologisk stress hos marina organismer. AChE finns i flera olika organ hos blåmussla men vanligast ät mätning av AChE i hematocyter (musslors blodceller) och gälar. Metoden rekommenderas av både ICES och OSPAR för biologisk effektövervakning i fält.

Det finns också bakgrunds- och effektgränsvärden för AChE-aktiviteten hos blåmussla föreslagna av ICES/OSPAR. Gränsvärdena är dock inte anpassade för blåmussla från Sveriges kust då de framtagits för blåmussla från Atlanten. Därför måste AChE-aktiviteter från recipientmusslor alltid jämföras med AChE-aktiviteter från referensområdesmusslor.

Analys av AChE-aktivitet har beskrivits av Ellman et al (1961) där acetylthiocholinjodid (ACTI) används som substrat. Metoden bygger på att den ökning i gul färg, som sker då thiocolin binder till dithiobinitrobensoate (DTNB), avläses vid 412 nm. Analysen i denna undersökning utfördes i enlighet med Galloway et al. (2002). Analysen utfördes vid 25°C i en SpectraMax mikroplattläsare (Molecular Devices). Provet eller buffertblank (50 µl) inkuberades 5 minuter med 150 µl DTNB (270 µM) i en 50 mM Na-fosfatbuffert (pH=7,4). Aktivitetsmätningen startades vid tillsats av 50 µl ACTI (15 mM) så att 3 mM erhöles i mikroplattbrunnarna. Aktiviteten uttrycks som µmol ACTI/min*mg protein.

3.3.2 Lysosomal membranstabilitet

För att mäta lysosomal membranstabilitet har Neutral Red Retention (NRR)-assay använts. Utförandet följer ICES metod No. 56 "Lysosomal membrane stability in mussels" (Martinez-Gomez et al, 2015). I metoden som bygger på infärgning med neutralrött blandas en Neutral Red stamlösning (100 mM) med DMSO (Dimetylsulfoxid). Inför varje analys-tillfälle blandas en neutral red working solution (NRWS) genom att ta 10 µl Neutral Red stamlösning till 5 ml filtrerat havsvatten (från den specifika lokalen).

Hämolympfa (musslornas "blod") (ca 0,1 ml) togs ut från adduktormuskeln med 1 ml spruta försedd med kanyl (0,6 mm*30 mm) innehållande ca 0,1 ml filtrerat havsvatten från den aktuella lokalen. Hämolympfa/havsvatten fördes över till mikrorör på is. Prov (40 µl) togs från rören och sattes på objektglas i duplikat (ett replikat för avläsning och ett kontrollreplikat som avlästes vid behov) i ljustäta fuktkammare. Efter 15-20 minuter (då cellerna fästs på glaset) fick överflödigt vätska rinna av och 40 µl NRWS tillsattes till objektglaset. Efter 15 minuter avlägsnades överflödigt vätska från glaset och 40 µl filtrerat havsvatten tillsattes varpå ett täckglas lades på objektglaset. Avläsning i mikroskop utfördes på minst tio individer per lokal 15, 30, 60, 90, 120, 150 och 180 minuter efter att NRWS hade tillsats. Vid varje tillfälle avlästes glaset mikroskopiskt (i 100-400 gångers förstoring). Det som observerades var lysosomala avvikelser och läckage av neutralrött från lysosomerna. Påverkan på lysosomerna utvärderades utifrån NRRT (Neutral Red Retention Time). NRRT motsvarar den sista tidsperioden mindre än 50% av hämolympfacellerna uppvisade läckage eller lysosomala abnormiteter. Vid avläsning bestäms den tid då mer än 50% av cellerna uppvisar läckage eller morfologiska avvikelser. Retentionstiden (NRRT) anses vara tiden före 50% av cellerna uppvisar avvikelser såsom lysosomal förstoring, färgläckage och/eller avrundning av cellerna.

LYSOSOMAL MEMBRANSTABILITET -

Lysosomer finns i celler och de innehåller en rad enzymer som är involverade i flertalet cellulära funktioner såsom immunrespons, reproduktion, regenerering av skadad vävnad mm. Skador på cellernas lysosomer har därför stor betydelse för musslors hälsotillstånd. En rad olika miljögifter såsom PAH, tungmetaller och TBT har visats kunna ge negativa effekter på lysosomer. Lysosomer har ett membran som skyddar cellens organiska material som proteiner (enzymer) och genetisk material (DNA). Miljögifter kan på ett eller annat sätt skada membraners stabilitet, vilket får till följd att membranet lättare går sönder och leder till celldöd.

För att mäta den lysosomala membranstabiliteten kan metoden Neutral Red Retention-assay (NRR-assay) användas. Neutral Red är ett färgämne som tas upp i lysosomerna och hålls kvar så lång tid som membranet är helt. Efter en viss tid går membranet också sönder hos friska musslor i en NRR-assay. Hos musslor som är stressade går membranet dock sönder snabbare än hos friska musslor. Retentionstiden är den tid då 50% eller mer av cellerna är döda. Hos friska musslor är retentionstiden ca 150-180 minuter medan musslor som är "stressade" har en retentionstid på 50-120 minuter och musslor som är "mycket stressade" har en retentionstid kortare än 50 minuter.

Metoden rekommenderas av ICES som biologisk effektmarkör (biomarkör) och används i flera europeiska länder, t ex Spanien, Danmark och Norge. I Danmark används LMS som en av flera biomarkörer för att undersöka miljöstatusen i olika danska havsområden och har använts i danska övervakningsprogrammet i 15 års tid. Metodiken kan användas både på vilda musslor och på transplanterade musslor.

3.4 Kemiska analyser

Samtliga analyser av metaller i blåmussla utfördes av ALS Scandinavia AB. Använd analysmetodik var ICP-SFMS (induktivt kopplad plasma).

3.5 Bedömningsgrunder/gränsvärden

3.5.1 Biomarkörer

ICES har tagit fram ett förslag på gränsvärden för acetylcholinesteras-aktivitet hos blåmussla (ICES, 2013). Musslorna i denna undersökning är från ett brackvattensområde (Öresund) med en salthalt på ca 10-20‰. Detta skiljer sig från ICES gränsvärden som baseras på musslor från atlantat med ett marint vatten (salthalt på ca 33‰).

För mätning av lysosomal membranstabilitet finns bedömningskriterier för NRRT. Enligt ICES-metod No. 56 innebär en retentionstid på <50 minuter att musslorna är "mycket stressade" medan en retentionstid på mellan 50-120 minuter indikerar att musslorna är "stressade". Om tiden överstiger 120 minuter bedöms musslorna som "ej stressade". Det skall dock tilläggas att bedömningskriterierna togs fram då NRRT ansågs vara den tidsperiod då mer än 50% av hemocyterna uppvisade läckage eller lysosomala abnormiteter. Detta skiljer sig alltså från ICES-metoden (Martinez-Gomez et al, 2015) där NRRT är tidsperioden *före* mer än 50% av cellerna registreras som påverkade.

3.5.2 Metallhalter i blåmussla

Uppmätta halter i mussla har relaterats till Naturvårdsverkets avvikelse- och tillståndsklassningar "Bedömningsgrunder för kust och hav" (Naturvårdsverket, 1999). Metaller i blåmussla avvikelseklassades enligt:

klass 1	● ingen/obetydlig avvikelse
klass 2	● liten avvikelse
klass 3	○ tydlig avvikelse
klass 4	● stor avvikelse
klass 5	● mycket stor avvikelse

Metaller i blåmussla avvikelseklassas utifrån halter (jämförvärden) som kan betraktas som "naturliga" eller som "opåverkade" områden. För blåmussla anges dessa jämförvärden för två olika typområden, Västerhavet och Östersjön, vilka har olika jämförvärden för ett givet ämne. Gränsdragningen mellan dessa två typområden dras vid Lernacken i södra Öresund. Blåmusslorna var insamlade/exponerade i grunt område (ca 4-8 m) med en salthalt på ca 10‰, liggande ovan salthaltssprångskiktet, vilket innebär att miljön här präglas av ett bräckt ytvatten härstammande från Östersjön. Därför har jämförvärden för Östersjön ansetts mer relevanta i föreliggande undersökning.

Jämförelser har också gjorts mot framtagna ekotoxikologiska gränsvärden från HELCOM. Som gräns för god respektive dålig miljöstatus har statistiskt framtagna bakgrundsgränsvärden (BAC) respektive effektgränsvärden (EAC) använts för kvicksilver, kadmium och bly (HELCOM, 2013). EAC-värdet är omräknat från gränsvärdet för födoingtag (EU/1881/2006). HELCOMs gränsvärden överensstämmer med OSPARs (Oslo-Paris kommissionen) gränsvärden (OSPAR, 2009 och OSPAR, 2010). Ekotoxikologiska gränsvärden är mer ekologiskt relevanta än Naturvårdsverkets avvikelse- och tillståndsklassningar då de säger något om negativa effekter på miljön kan tänkas föreligga eller ej.

4. RESULTAT OCH DISKUSSION

Genomförandet av exponeringen av musslor i så kallade musselkorgar i södra och norra Öresund gick överlag mycket bra. Samtliga korgar med undantag för musselkorgen som placerades utanför inloppet till Malmö hamn återfanns efter 5-7 månaders exponering på plats.

4.1 Filtreringskapacitet hos blåmussla

Under den tidsperiod musslorna var utplacerade på lokalerna låg klorofyllhalten på ÖVFs lokaler över 0,5 µg/l med undantag för i februari 2018 i Lomma och Klagshamn (tabell 2). En klorofyllhalt på 0,5 µg/l anses vara den gräns varunder blåmusslor slutar filtrera (Riisgård & Larsen, 2000). Även om mätningarna endast ger en ögonblicksbild av klorofyllhalten under transplanteringsperioden så indikerar detta att det generellt sett över hela perioden har varit så höga klorofyllhalter att musslorna i musselkorgarna troligen filtrerat vatten och därmed kunnat ackumulera eventuella miljögifter från vattenfasen (i löst eller partikulär form).

TABELL 2. Resultat från mätning av klorofyllinnehållet (µg/l) på utvalda ÖVF-hydrografilokaler under augusti 2017 till och med mars 2018. Värdena är för både yta och botten..

Månad	Höganäs (ÖVF 1:1)	Landskrona (ÖVF 3:6)	Lomma (ÖVF 4:11)	Klagshamn (ÖVF 5:2)
Augusti-2017	0,8-1,0	1,0	0,9-1,0	0,6-1,1
September-2017	5,0-6,5	2,4-3,2	2,5-5,5	1,4
Oktober-2017	3,9-5,8	1,8-2,1	2,4-3,2	2,1-2,4
November-2017	2,9-5,8	0,7-1,1	1,0-1,1	1,4-1,7
December-2017	1,1-1,5	0,6-1,4	0,6-1,0	0,9
Januari-2017	0,6-0,8	0,8	1,0-2,1	0,8
Februari-2017	0,5-0,8	0,8	0,2-0,5	0,3-0,4
Mars-2017	2,3-6,3	2,3	0,8-1,3	0,5-1,0

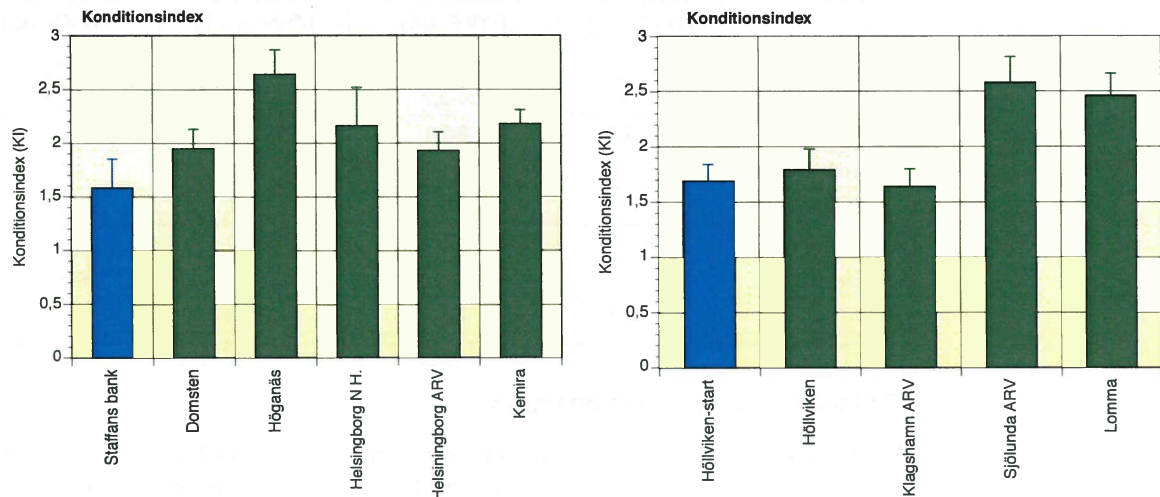
4.2 Skallängd och konditionsindex

Blåmusslorna som användes till biomarköranalyserna, kemiska analyser och bestämning av konditionsindex på lokalerna i norra Öresund (från insamlingsplats Staffans Bank) hade en medelskallängd på 60-62 mm (tabell 3). Det var således mycket liten skillnad i skallängd mellan lokalerna och materialet kan anses vara likvärdigt. Musslorna som inhämtades från lokal ÖVF 5:6 var mindre än de på Staffans bank, troligen beroende på att salthalten var högre på insamlingsplats Staffans bank (insamling skedde på ca 10 m djup) jämfört med ÖVF lokal 5:6 (insamling skedde på ca 1-3 m djup). Musslorna som användes till biomarkörer i musselkorgsstudien i södra Öresund hade en medelskallängd på 48-52 mm medan musslor som analyserades på metaller var något mindre (44-46 mm) på lokalerna (tabell 3). Den lägre medellängden av musslorna från insamlingsplats "Höllvikens fyr" (tabell 3) berodde på att de största musslorna användes till musselkorgsstudien.

TABELL 3. Medelskallängd±95% konfidensintervall (mm) för musslor som använts till bestämning av acetylcholinesteras-aktivitet (AChE), lysosomala membranstabilitet (LMS), konditionsindex (KI) och metallanalyser. EU= Ej utfört.

Lokal	Medelskallängd -AChE-	Medelskallängd -LMS-	Medelskallängd -KI-	Medelskallängd -metallanalyser-
Staffans bank	EU	EU	62,2±2,5	62,2±2,5
Höllvikens fyr	EU	EU	36,5±0,8	36,5±0,8
Domsten	61,0±4,1	61,0±4,1	59,8±1,7	59,8±1,7
Höganäs ARV	61,2±3,0	61,2±3,0	61,2±1,6	61,2±1,6
Hbg NH	62,0±2,9	62,0±2,9	59,6±2,8	59,6±2,8
Hbg ARV	62,1±3,0	62,1±3,0	60,7±1,2	60,7±1,2
Kemira	62,8±3,7	62,8±3,7	60,4±1,4	60,4±1,4
Lomma	48,7±1,7	48,7±1,7	45,0±1,8	45,0±1,8
Sjölunda ARV	51,7±2,3	51,7±2,3	46,6±1,8	46,6±1,8
Malmö Hamn	-	-	-	-
Klagshamn ARV	48,3±1,8	48,3±1,8	44,0±1,2	44,0±1,2
Höllviken	50,8±2,2	50,8±2,2	45,6±1,1	45,6±1,1

Konditionsindex, vilket är ett mått på den fysiologiska konditionen, var likvärdigt eller högre på recipientlokalerna jämfört med referenslokalerna i norra och södra Öresund (figur 4). Detta indikerar att konditionen inte var sämre i recipientlokalerna än i referenslokalerna. Konditionsindex hos musslorna i musselkorgsstudien i norra Öresund hade ökat under den fem månader långa exponeringen på samtliga lokaler jämfört med vid starten (Staffans bank, blå stapel) (figur 4). I musselkorgsstudien i södra Öresund uppvisade däremot endast lokal "Sjölöunda ARV" och "Lomma" ökat konditionsindex. Möjligen kan den högre konditionen hos musslorna som placerats ut i lokal "Sjölöunda ARV" och "Lomma" samt i lokal "Höganäs ARV" vara ett uttryck för en relativt sett bättre födosituation för musslorna här. Om transplantationen (placeringen av musslor i burar) påverkat konditionsindex går inte att fastställa då inga musslor från insamlingsplatserna provtogs i slutet av exponeringstiden utan endast vid starten av musselkorgstudierna.

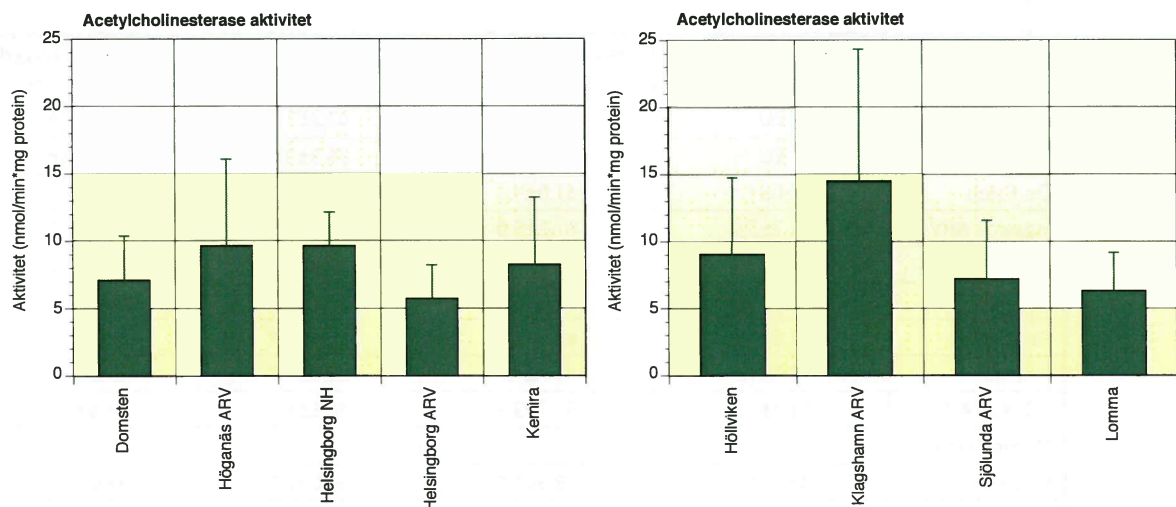


FIGUR 4. Konditionsindex (medelvärde±konfidensintervall) för de olika lokalerna i norra och södra Öresund. Blå stapel indikerar musslor från insamlingsplats till studien av norra (Staffans bank) respektive södra Öresund (Höllvikens fyr här benämnd Höllviken-start).

4.3 Biomarkörer

4.3.1 Acetylcholinesteras-aktivitet i gäle

Aktiviteten av enzymet acetylcholinesteras skilde sig inte statistiskt åt mellan lokalerna i de två musselkorgsstudierna (ANOVA-test). Enzymaktiviteten i musslorna som placerats ut i recipienterna bedömdes därmed inte ha en hämmad aktivitet jämfört med musslorna från



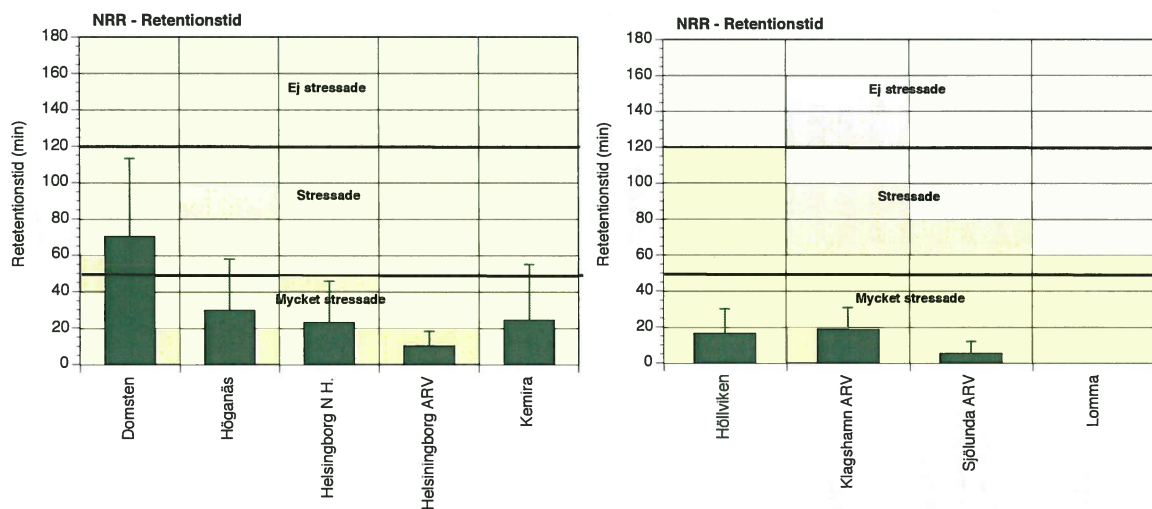
FIGUR 5. Acetylcholinesterase-aktivitet i nmol/min*mg protein (medelvärde±95% konfidensintervall) i gäle från blåmussla.

referenslokalernas (figur 5). Lokal "Klagshamn ARV" hade två individer med en relativt hög AChE-aktivitet vilket gav en stor spridning och drog upp medelvärdet jämfört med övriga lokaler.

4.3.2 Lysosomal membranstabilitet i hematocyter

Samtliga musslor i de två musselkorgsstudierna var stressade eller mycket stressade jämfört med gränsvärden för retentionstid från ICES (Martinez-Gomez et al, 2015) (figur 6). Musslorna från referenslokal "Domsten" uppvisade en medelretentionstid som angav att de var stressade men inte så stressade att de inte kan återhämta sig. Musslorna från de fyra recipient-lokalerna i musselkorgstudien i norra Öresund var däremot mycket stressade enligt ICES bedömningsmall och detta anses vara ett ej kompenserbart/ej återhämtningsbart tillstånd. Samtliga recipientlokaler hade signifikant lägre retentionstid än "Domsten" ($p < 0,05$, Tukey Kramers posthoc-test).

Samtliga lokaler i södra Öresund hade en retentionstid som visade att de var mycket stressade. Retentionstiden var signifikant lägre i recipientlokal "Sjölunda ARV" och "Lomma" jämfört med referenslokal "Höllviken" ($p < 0,05$, Tukey Kramers posthoc-test).



FIGUR 6. Retentionstid i minuter (medelvärde \pm 95% konfidensintervall) från Neutral Red Retention-assay på hematocyter från blåmussla. ICES gränser för om organismerna ej är stressade, är stressade eller är mycket stressade är inlagda.

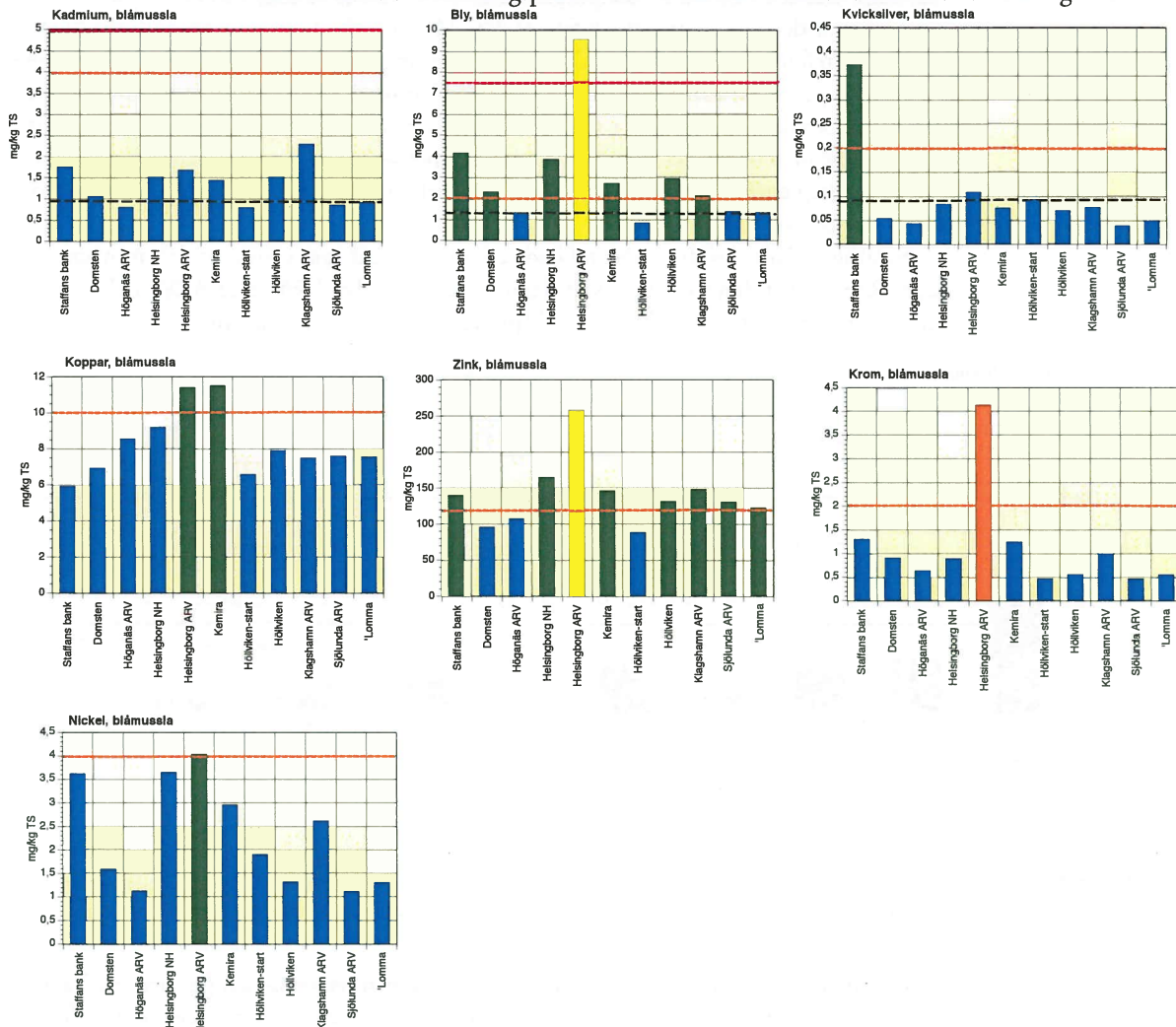
Det är tänkbart att transplanteringen i sig stressar musslorna och ger nedsatt lysosomal status, speciellt efter en så lång exponering som 5-7 månader. Så låga värden som redovisats i denna undersökning har dock också hittats längs västkusten i Bohuslän 2014 (Magnusson & Hammar, 2015). I undersökningen på västkusten som utfördes på vilda (ej transplanterade) musslor låg medelretentionstiden på mellan 0-23 minuter på lokaler intill punktkällor (recipientlokaler) vilket är i nivå med vad som erhöles i föreliggande undersökning. Referenslokalen Fjällbacka låg däremot i nivån "stressad" med en medelretentionstid på 85 minuter och detta är i nivå med vad som noterades på den norra referenslokalen i Öresund ("Domsten").

En avvikelse som observerades i musselkorgsstudierna var förstoring av lysosomerna (score 2), vilket ibland ledde till att de förstörade lysosomerna uppvisade läckage av neutralrött (score 3). En annan avvikelse var ett läckage (av neutralrött) från ej förstörade lysosomer (score 2). Detta stadiet ledde många gånger till att cellerna fragmenterades/blev avrundade (score 5).

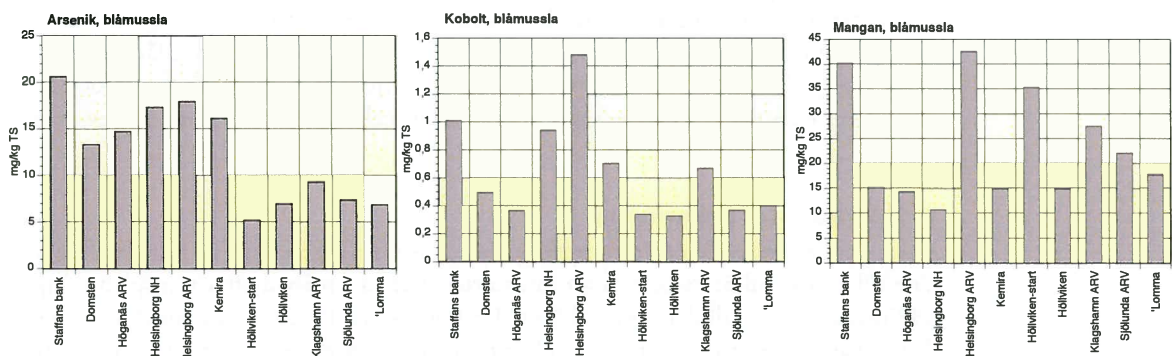
4.4 Metallhalter i blåmussla

Användandet av resultat från transplanterade musslor (utplacering av musslor från ett område till en ny miljö) bygger på att musslorna efter ca 1 månad efter transplanteringen har aklimatiserats sig till den nya miljön (Martinić *et al*, 1992). Detta innebär att halten av den metallhalt som mäts i musslor efter minst en månads exponering på en specifik plats motsvarar belastningen på platsen.

Resultaten från metallanalyserna presenteras i figur 7 och 8 samt i bilaga 1 (i bilagan är resultaten från insamlingsplats ÖVF lokal 5:6 felaktigt angiven som "Klagshamn" och lokal "Lomma" är angiven som "Höjeå" i analysrapporten). Vid jämförelser med halten i transplanterade musslor med de från insamlingsplatsen, i detta fallet Staffans bank och ÖVF lokal 5:6 ("Höllvikens fyr"), kan man få en uppfattning om halterna minskat, ökat eller ej förändrats relativt insamlingsplatsen. Då metallhalter också varierar under säsongen får man



FIGUR 7. Halter av metaller för vilka gränsvärden/jämförvärden finns (mg/kg TS) i blåmussla. Orange streckad linje anger i förekommande fall Naturvårdsverkets jämförvärde (bakgrunds nivå) som avvikelseklassningen relateras till. Avvikelseklassningar anges i staplarna enligt: Ingen/obetydlig avvikelse- blå färg, liten avvikelse- grön färg, tydlig avvikelse- gul färg, stor avvikelse- orange färg och mycket stor avvikelse- röd färg. Röd streckad linje anger i förekommande fall HELCOMs gräns för dålig miljöstatus (EAC-värdet) medan svart streckad linje anger HELCOMs gräns för god miljöstatus (BAC-värdet),



FIGUR 8. Halter av metaller för vilka gränsvärden/jämförvärden (mg/kg TS) i blåmussla inte finns.

dock inte hela bilden. Musslorna från Staffans bank hade en tydligt högre kvicksilver- och arsenikhalt än musslorna från "Höllvikens fyr" (figur 7 och 8). Dessa två metaller minskade efter transplanteringen i norr vilket indikerar att metallerna delvis "vädrats ut". Att halten av arsenik i musslor från de norra musselkorgslokalerna var högre än halten i mussla från de södra lokalerna indikerar att arsenikbelastningen är högre i norra Öresund. Halten av bly, zink, krom, kobolt och mangan ökade efter transplantering i norra Öresund endast i lokal "Helsingborg ARV" (figur 7 och 8). Lokal "Helsingborg ARV" är den lokal i norra Öresund som också har högst halt av övriga metaller (figur 7 och 8). För övriga lokaler är metallhalterna efter transplanteringen lägre eller i stort sett oförändrat jämfört med halterna på Staffans bank vid undersökningens start (figur 7 och 8). Undantaget är koppar som har något högre halt i de transplanterade lokalerna jämfört med lokal "Staffans bank".

För lokalerna i södra Öresund så var halterna generellt sett i nivå eller något högre än startvärdet ("Höllvikens fyr"). Den lokal som sammantaget har högst halt av metaller i musselkorgsstudien i södra Öresund är lokal "Klagshamn ARV", t ex för kobolt, nickel, kadmium och krom (figur 7 och 8).

4.4.1 Avvikelseklassning

För de metaller där Naturvårdsverket har jämförvärden för avvikelseklassning (alla metaller i undersökningen undantaget arsenik, kobolt och mangan) ligger samtliga lokaler under jämförvärdet eller uppvisar liten avvikelse relativt jämförvärdet med undantag för bly, zink och krom på lokal "Helsingborg ARV". Här är avvikelsen tydlig till stor för metallerna.

4.4.2 Gränsvärden

För bly, kadmium och kvicksilver finns gränsvärden framtagna av HELCOM (Helsingforskommissionen) i form av bakgrundsgränsvärden (BAC) och effektgränsvärden (EAC). EAC-värdet är en gräns för varöver ekotoxikologiska effekter inte kan uteslutas. Majoriteten av lokalerna låg över BAC-värdet för kadmium och bly medan endast Helsingborg ARV låg över BAC för kvicksilver. EAC-värdet för bly överskreds i Helsingborg ARV. Detta indikerar dålig miljöstatus enligt HELCOM.

4.5 Slutsatser

- Förfarandet med utplacering av musselkorgar fungerade bra, även trots den långa exponeringsperioden (transplanteringsperioden).
- Blåmusslornas kondition var inte nedsatt i recipientlokalerna efter transplanteringen.
- Lysosomal membranstabilitet som mättes med "Neutral red retention-assay" var en känsligare biomarkör i denna undersökning än mätning av acetylkolinesteras-aktivitet.
- Musslorna på samtliga lokaler kan karakteriseras som "mycket stressade", med undantag för referenslokal Domsten (i norra Öresund) där de var "stressade". Detta tillstånd anses i motsats till "mycket stressade" vara kompenserbart.
- Lokal "Helsingborg ARV" var den lokal i norra Öresund som uppvisade tydligt högre metallhalter efter exponeringen. Detta gällde speciellt för bly, zink och krom som uppvisade tydlig till stor avvikelse från Naturvårdsverkets jämförvärde. Bly uppvisade dessutom dålig status på lokalen enligt HELCOM.
- Lokal "Klagshamns ARV" var den lokal i södra Öresund där sammantaget högst metallhalter noterades efter exponeringen. Skillnaden jämfört med referenslokalens metallhalter var dock inte så tydlig för "Klagshamns ARV" som den var mellan "Helsingborgs ARV" och referenslokal "Domsten" för ett antal metaller.
- Sammanfattningsvis kan sägas att musselkorgsundersökningen fungerade bra. Biomarkören lysosomal membranstabilitet som mättes med "Neutral red retention-assay" visades vara en känsligare biomarkör i denna undersökning än mätning av acetylkolinesteras-aktivitet. En ökad halt av flertalet metaller efter exponeringen noterades speciellt utanför Helsingborgs reningsverk.

5. REFERENSER

- Bocquene, G. & F. Galgani (1998). Biological effects of contaminants: Cholinesterase inhibition by organophosphate and carbamate compounds. ICES techniques in marine environmental sciences No. 22.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- EG-förordning nr 1881/2006. Kommissionens förordning (EG) nr 1881/2006 av den 19 december 2006 om fastställande av gränsvärden för vissa främmande ämnen i livsmedel.
- Galloway, T.S., Millward, N., Browne, M.N. and M.H. Depledge (2002) Rapid assessment of organophosphorous/carbamate exposure in the bivalve mollusc *Mytilus edulis* using combined esterase activities as biomarkers. *Aquatic Toxicology* 61: 169-180.
- HELCOM 2013. HELCOM Core indicator of Hazardous Substances. Metals (lead, cadmium and mercury). Authors: Elisabeth Nyberg, Martin M. Larsen, Anders Bignert, Elin Boalt, Sara Danielson and the CORESET expert group for hazardous substances indicators.
- HVMFS 2013:19. Havs- och vattenmyndighetens föreskrifter om klassificering och miljö kvalitetsnormer avseende ytvatten. Konsoliderad utgåva, Uppdaterad 2015-05-01.
- Magnusson, M. och J. Hammar (2015). Miljögifter och miljögiftseffekter i blåmussla. Miljöövervakning i västra Götalands län 2014. Rapport 2015:18.
- Martinez-Gomez, C. , Bignell, A. and D. Lowe (2015). Lysosomal stability in mussels. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences.* No. 56.
- Martinić, D., Kwokal, Z., Peharec, Z., Margus, D. and M. Branica. 1992. Distribution of Zn, Pb, Cd and Cu between seawater and transplanted mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *The Science of the total Environment* 119: 211-230.
- Naturvårdsverket (1999). Bedömningsgrunder för miljö kvalitet - Kust och hav.- Rapport 4914
- OSPAR, 2009, "Background document on CEMP Assessment Criteria for QSR 2010.", Publication number 461/2009, ISBN 978-1-907390-08-1
- OSPAR, 2010, "Agreement on CEMP Assessment Criteria for the QSR 2010." Agreement number 2009-2
- Rank, J., Lehtonen, K.K., Strand, J. and M. Laursen (2007). DNA damage, acetylcholinesterase activity and lysosomal stability in native and transplanted mussels (*Mytilus edulis*) in areas close to coastal chemical dumping sites in Denmark. *Aquatic Toxicology* 84: 50-61.
- Riisgård, H.U. & P.S. Larsen (2000). Comparative ecophysiology of active zoobenthic filter feeding, essence of current knowledge. *J. Sea. Res.* 44: 169-193.

Rapport

T1727219

Sida 1 (2)

9T1UKO6NMJ



Ankomstdatum 2017-10-04
Utfärdad 2017-11-06

Toxicon AB
Anders Sjölin

Rosenhällsvägen 29
261 92 Härslov
Sweden

Projekt ÖVF musselkorgstudie
Bestnr 046-17

Denna rapport med nummer T1727219 ersätter tidigare utfärdad rapport. Tidigare utsänd rapport bör kastas.

Ändrade resultat indikeras med skuggade rader.

Biota

Er beteckning	Staffans bank					
Provtagare	Olsson					
Labnummer	O10929726					
Parameter	Resultat	Osäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	8.7		%	1	W	ULKA
As	20.6	5.6	mg/kg TS	1	H	ULKA
Cd	1.75	0.33	mg/kg TS	1	H	ULKA
Co	1.01	0.23	mg/kg TS	1	H	ULKA
Cr	1.31	0.35	mg/kg TS	1	H	ULKA
Cu	5.94	1.12	mg/kg TS	1	H	ULKA
Hg	0.374	0.124	mg/kg TS	1	H	ULKA
Mn	40.1	7.3	mg/kg TS	1	H	ULKA
Ni	3.62	0.97	mg/kg TS	1	H	ULKA
Pb	4.18	0.85	mg/kg TS	1	H	ULKA
Zn	139	27	mg/kg TS	1	H	ULKA



* efter parameternamn indikerar icke ackrediterad analys.

	Metod
1	<p>Paket M-4. Bestämning av metaller. Kontakta laboratoriet för metodbeskrivning Analys med ICP-SFMS har skett enligt SS EN ISO 17294-1, 2 (mod) samt EPA-metod 200.8 (mod).</p> <p>Rev 2015-07-24</p>

	Godkännare
ULKA	Ulrika Karlsson

	Utf
H	<p>Mätningen utförd med ICP-SFMS För mätningen svarar ALS Scandinavia AB, Aurorum 10, 977 75 Luleå, som är av det svenska ackrediteringsorganet SWEDAC ackrediterat laboratorium (Reg.nr. 2030).</p>
W	<p>Våtkemisk analys För mätningen svarar ALS Scandinavia AB, Aurorum 10, 977 75 Luleå, som är av det svenska ackrediteringsorganet SWEDAC ackrediterat laboratorium (Reg.nr. 2030).</p>

Mätosäkerheten anges som en utvidgad osäkerhet (enligt definitionen i "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", JCGM 100:2008 Corrected version 2010) beräknad med täckningsfaktor lika med 2 vilket ger en konfidensnivå på ungefär 95%.

Mätosäkerhet anges endast för detekterade ämnen med halter över rapporteringsgränsen.

Mätosäkerhet från underleverantör anges oftast som en utvidgad osäkerhet beräknad med täckningsfaktor 2. För ytterligare information kontakta laboratoriet.

Denna rapport får endast återges i sin helhet, om inte utfärdande laboratorium i förväg skriftligen godkänt annat.

Resultaten gäller endast det identifierade, mottagna och provade materialet.

Beträffande laboratoriets ansvar i samband med uppdrag, se aktuell produktkatalog eller vår webbplats www.alsglobal.se

Den digitalt signerade PDF filen representerar originalrapporten. Alla utskrift från denna är att betrakta som kopior.

¹ Utförande teknisk enhet (inom ALS Scandinavia) eller anlitat laboratorium (underleverantör).

Rapport

T1727220

Sida 1 (4)

9T1VG3E90B

Ankomstdatum 2017-10-04
Utfärdad 2017-11-06Toxicon AB
Anders SjölinRosenhällsvägen 29
261 92 Härslöv
SwedenProjekt ÖVF miljögifter i mussla, ÖVF musselkorgstudie
Bestnr 045-17, 046-17

Denna rapport med nummer T1727220 ersätter tidigare utfärdad rapport. Tidigare utsänd rapport bör kastas.

Ändrade resultat indikeras med skuggade rader.

Biota

Er beteckning	Klagshamn					
Provtagare	Olsson					
Labnummer	O10929727					
Parameter	Resultat	Osäkerhet (±)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	12.4		%	1	W	ULKA
As	5.15	1.39	mg/kg TS	1	H	ULKA
Cd	0.797	0.152	mg/kg TS	1	H	ULKA
Co	0.340	0.081	mg/kg TS	1	H	ULKA
Cr	0.472	0.124	mg/kg TS	1	H	ULKA
Cu	6.59	1.23	mg/kg TS	1	H	ULKA
Hg	0.0935	0.0364	mg/kg TS	1	H	ULKA
Mn	35.3	6.5	mg/kg TS	1	H	ULKA
Ni	1.89	0.51	mg/kg TS	1	H	ULKA
Pb	0.847	0.171	mg/kg TS	1	H	ULKA
Zn	88.3	17.3	mg/kg TS	1	H	ULKA
fett	1.3	0.20	g/100g	2	1	CL
naftalen	<0.0050		mg/kg	3	1	CL
acenaftylen	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
acenaften	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
fluoren	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
fenantren	0.0027		mg/kg	3	1	CL
antracen	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
fluoranten	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
pyren	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
bens(a)antracen	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
krysen	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
bens(b)fluoranten	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
bens(k)fluoranten	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
bens(a)pyren	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
dibenso(ah)antracen	0.0011		mg/kg	3	1	CL
benso(ghi)perylene	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
indeno(123cd)pyren	<0.0010		mg/kg	3	1	CL
summa 16 EPA-PAH*	0.00380		mg/kg	3	1	CL
PAH cancerogena*	0.0011		mg/kg	3	1	CL
PAH, summa övriga*	0.0027		mg/kg	3	1	CL
PCB 28	<0.00020		mg/kg	4	1	CL
PCB 52	<0.00020		mg/kg	4	1	CL

Rapport

T1727220

Sida 2 (4)

9T1VG3E90B



Er beteckning	Klagshamn					
Provtagare	Olsson					
Labnummer	O10929727					
Parameter	Resultat	Osäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
PCB 101	<0.00020		mg/kg	4	1	CL
PCB 118	<0.00020		mg/kg	4	1	CL
PCB 138	0.00049		mg/kg	4	1	CL
PCB 153	0.00086		mg/kg	4	1	CL
PCB 180	<0.00020		mg/kg	4	1	CL
PCB, summa 7*	0.00135		mg/kg	4	1	CL
monobutyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
dibutyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
tributyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
tetrabutyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
monooktyltenn	<2.0		μ g/kg	5	1	CL
dioktyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
tricyklohexyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
monofenyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
difenyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
trifenyltenn	<1.0		μ g/kg	5	1	CL
pentaklorbensen	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
hexaklorbensen	<0.001		mg/kg	6	1	CL
alfa-HCH	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
beta-HCH	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
gamma-HCH (lindan)	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
aldrin	<0.001		mg/kg	6	1	CL
dieldrin	<0.001		mg/kg	6	1	CL
endrin	<0.001		mg/kg	6	1	CL
isodrin	<0.001		mg/kg	6	1	CL
telodrin	<0.001		mg/kg	6	1	CL
heptaklor	<0.001		mg/kg	6	1	CL
cis-heptakloreoxid	<0.001		mg/kg	6	1	CL
trans-heptakloreoxid	<0.001		mg/kg	6	1	CL
o,p'-DDT	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
p,p'-DDT	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
o,p'-DDD	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
p,p'-DDD	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
o,p'-DDE	<0.0002		mg/kg	6	1	CL
p,p'-DDE	0.00046		mg/kg	6	1	CL
alfa-endosulfan	<0.001		mg/kg	6	1	CL
hexaklorbutadien	<0.001		mg/kg	6	1	CL
hexakloretan	<0.001		mg/kg	6	1	CL



* efter parameternamn indikerar icke ackrediterad analys.

	Metod
1	<p>Paket M-4. Bestämning av metaller. Kontakta laboratoriet för metodbeskrivning Analys med ICP-SFMS har skett enligt SS EN ISO 17294-1, 2 (mod) samt EPA-metod 200.8 (mod).</p> <p>Rev 2015-07-24</p>
2	<p>Bestämning av fetthalt med gravimetri.</p> <p>Rev 2016-12-06</p>
3	<p>Paket OB-1. Bestämning av polycykliska aromatiska kolväten, PAH (16 föreningar enligt EPA). Mätning utförs med GC-MS.</p> <p>PAH cancerogena utgörs av benso(a)antracen, krysen, benso(b)fluoranten, benso(k)fluoranten, benso(a)pyren, dibenso(ah)antracen och indeno(123cd)pyren.</p> <p>Rev 2013-10-07</p>
4	<p>Paket OB-2A. Bestämning av polyklorerade bifenyler PCB (7 kongener). Mätning utförs med GC-MS.</p> <p>Rev 2013-10-10</p>
5	<p>Paket OB-19A Bestämning av tennorganiska föreningar enligt §64 LFGB L 10.00-9. Mätning utförs med GC-FPD.</p> <p>Rev 2014-03-11</p>
6	<p>Paket OB-3A. Bestämning av klorerade pesticider enligt metod §64 LFGB L 00.00-34. Mätning utförs med GC-MS.</p> <p>Rev 2013-04-22</p>

	Godkännare
CL	Camilla Lundeborg
ULKA	Ulrika Karlsson

	Utf ¹
H	<p>Mätningen utförd med ICP-SFMS För mätningen svarar ALS Scandinavia AB, Aurorum 10, 977 75 Luleå, som är av det svenska ackrediteringsorganet SWEDAC ackrediterat laboratorium (Reg.nr. 2030).</p>
W	<p>Våtkemisk analys För mätningen svarar ALS Scandinavia AB, Aurorum 10, 977 75 Luleå, som är av det svenska ackrediteringsorganet SWEDAC ackrediterat laboratorium (Reg.nr. 2030).</p>
1	<p>För mätningen svarar GBA, Flensburger Straße 15, 25421 Pinneberg, Tyskland, som är av det tyska ackrediteringsorganet DAkkS ackrediterat laboratorium (Reg.nr. D-PL-14170-01-00). DAkkS är signatär till ett MLA</p>

¹ Utförande teknisk enhet (inom ALS Scandinavia) eller anlitat laboratorium (underleverantör).



Utf
<p>inom EA, samma MLA som SWEDAC är signatär till. Laboratorierna finns lokaliserade på följande adresser: Flensburger Straße 15, 25421 Pinneberg Daimlerring 37, 31135 Hildesheim Brekelbaumstraße1, 31789 Hameln Im Emscherbruch 11, 45699 Herten Bruchstraße 5c, 45883 Gelsenkirchen Meißner Ring 3, 09599 Freiberg Goldtschmidtstraße 5, 21073 Hamburg</p> <p>Kontakta ALS Stockholm för ytterligare information.</p>

Mätosäkerheten anges som en utvidgad osäkerhet (enligt definitionen i "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", JCGM 100:2008 Corrected version 2010) beräknad med täckningsfaktor lika med 2 vilket ger en konfidensnivå på ungefär 95%.

Mätosäkerhet anges endast för detekterade ämnen med halter över rapporteringsgränsen.

Mätosäkerhet från underleverantör anges oftast som en utvidgad osäkerhet beräknad med täckningsfaktor 2. För ytterligare information kontakta laboratoriet.

Denna rapport får endast återges i sin helhet, om inte utfärdande laboratorium i förväg skriftligen godkänt annat.

Resultaten gäller endast det identifierade, mottagna och provade materialet.

Beträffande laboratoriets ansvar i samband med uppdrag, se aktuell produktkatalog eller vår webbplats www.alsglobal.se

Den digitalt signerade PDF filen representerar originalrapporten. Alla utskrift från denna är att betrakta som kopior.

Rapport

Sida 1 (5)



L1810792

PDRW7PG3M7



Ankomstdatum 2018-04-20
Utfärdad 2018-05-08

Toxicon AB
Anders Sjölin

Rosenhällsvägen 29
261 92 Härslöv
Sweden

Projekt 046-17

Analys: M4

Er beteckning	Höganäs					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450348					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C	11.3		%	1	W	TV
As	14.7	3.9	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	0.797	0.151	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.365	0.081	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	0.643	0.169	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	8.57	1.60	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0441	0.0255	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	14.3	2.6	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	1.13	0.30	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	1.35	0.27	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	107	21	mg/kg TS	2	H	IR

Er beteckning	Domsten					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450349					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C	8.4		%	1	W	TV
As	13.3	3.5	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	1.06	0.20	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.494	0.110	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	0.907	0.240	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	6.95	1.31	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0545	0.0306	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	15.1	2.8	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	1.58	0.42	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	2.33	0.47	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	95.6	18.7	mg/kg TS	2	H	IR

ALS Scandinavia AB
Aurorum 10
977 75 Luleå
Sweden

Webb: www.alsglobal.se
E-post: info.lu@alsglobal.com
Tel: + 46 920 28 9900
Fax: + 46 920 28 9940

Dokumentet är godkänt och digitalt
signerat av

Jenny Lundmark
ALS Scandinavia AB
Client Service
jenny.lundmark@alsglobal.com
2018.05.08 17:11:49

Rapport

Sida 2 (5)



L1810792

PDRW7PG3M7



Er beteckning	N Helsingborg					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450350					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	8.4		%	1	W	TV
As	17.3	4.5	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	1.51	0.29	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.939	0.209	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	0.895	0.236	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	9.21	1.74	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0839	0.0311	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	10.7	2.0	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	3.65	0.96	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	3.84	0.77	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	165	32	mg/kg TS	2	H	IR

Er beteckning	Helsingborg ARV					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450351					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	9.8		%	1	W	TV
As	17.9	4.7	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	1.68	0.32	mg/kg TS	2	H	IR
Co	1.48	0.33	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	4.13	1.09	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	11.4	2.1	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.109	0.040	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	42.5	7.9	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	4.03	1.06	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	9.57	1.94	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	258	51	mg/kg TS	2	H	IR

Er beteckning	Kemira					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450352					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	9.7		%	1	W	TV
As	16.1	4.2	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	1.44	0.27	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.703	0.155	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	1.25	0.33	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	11.5	2.2	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0748	0.0296	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	14.9	2.8	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	2.96	0.79	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	2.74	0.55	mg/kg TS	2	H	IR

ALS Scandinavia AB
Aurorum 10
977 75 Luleå
Sweden

Webb: www.alsglobal.se
E-post: info.lu@alsglobal.com
Tel: + 46 920 28 9900
Fax: + 46 920 28 9940

Dokumentet är godkänt och digitalt
signerat av

Jenny Lundmark
ALS Scandinavia AB
Client Service
jenny.lundmark@alsglobal.com

2018.05.08 17:11:49

Rapport

Sida 3 (5)



L1810792

PDRW7PG3M7



Er beteckning	Kemira					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450352					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
Zn	146	29	mg/kg TS	2	H	IR

Er beteckning	Höjeå					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450353					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	10.0		%	1	W	TV
As	6.84	1.81	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	0.931	0.177	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.400	0.090	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	0.553	0.146	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	7.54	1.41	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0489	0.0246	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	17.7	3.3	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	1.30	0.34	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	1.35	0.27	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	123	24	mg/kg TS	2	H	IR

Er beteckning	Sjölunda ARV					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450354					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (\pm)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	11.1		%	1	W	TV
As	7.32	1.95	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	0.860	0.163	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.368	0.084	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	0.464	0.123	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	7.63	1.43	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0393	0.0212	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	22.1	4.1	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	1.11	0.30	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	1.40	0.28	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	130	25	mg/kg TS	2	H	IR

Er beteckning	Klagshamn ARV					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450355					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (±)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	9.9		%	1	W	TV
As	9.23	2.43	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	2.29	0.44	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.669	0.148	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	0.998	0.262	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	7.52	1.41	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0771	0.0308	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	27.5	5.0	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	2.62	0.69	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	2.15	0.43	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	148	29	mg/kg TS	2	H	IR

Er beteckning	Höllviken					
Provtagare	Anders Sjölin					
Labnummer	U11450356					
Parameter	Resultat	Mätosäkerhet (±)	Enhet	Metod	Utf	Sign
TS 105°C*	10.4		%	1	W	TV
As	6.91	1.84	mg/kg TS	2	H	IR
Cd	1.51	0.29	mg/kg TS	2	H	IR
Co	0.328	0.074	mg/kg TS	2	H	IR
Cr	0.568	0.149	mg/kg TS	2	H	IR
Cu	7.93	1.49	mg/kg TS	2	H	IR
Hg	0.0705	0.0289	mg/kg TS	2	H	IR
Mn	14.9	2.8	mg/kg TS	2	H	IR
Ni	1.31	0.35	mg/kg TS	2	H	IR
Pb	2.94	0.59	mg/kg TS	2	H	IR
Zn	131	26	mg/kg TS	2	H	IR

Rapport

Sida 5 (5)



L1810792

PDRW7PG3M7



Metod	
1	Analys enligt SS 028113.
2	<p>Ett separat delprov har torkats vid 105°C enligt svensk standard SS028113. Upplösning har skett i mikrovågsugn i slutna teflonbehållare med HNO₃ / H₂O₂. Elementhalterna är omräknade till torrsubstans.</p> <p>Analys med ICP-SFMS har skett enligt SS EN ISO 17294-1, 2 (mod) samt EPA-metod 200.8 (mod). Analys med ICP-AES har skett enligt SS EN ISO 11885 (mod) samt EPA-metod 200.7 (mod).</p> <p>Notera att rapporteringsgränser kan påverkas om det t.ex. finns behov av extra spädning pga provmatrisen men även om provmängden är begränsad.</p>

Godkännare	
IR	Ilia Rodioushchine
TV	Tiina Vikeväinen

Utf ¹	
H	ICP-SFMS
W	Våtkemi

* efter parameternamn indikerar icke ackrediterad analys.

Mätosäkerheten anges som en utvidgad osäkerhet (enligt definitionen i "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", JCGM 100:2008 Corrected version 2010) beräknad med täckningsfaktor lika med 2 vilket ger en konfidensnivå på ungefär 95%.

Mätosäkerhet anges endast för detekterade ämnen med halter över rapporteringsgränsen.

Mätosäkerhet från underleverantör anges oftast som en utvidgad osäkerhet beräknad med täckningsfaktor 2. För ytterligare information kontakta laboratoriet.

Denna rapport får endast återges i sin helhet, om inte utfärdande laboratorium i förväg skriftligen godkänt annat.

Resultaten gäller endast det identifierade, mottagna och provade materialet.

Beträffande laboratoriets ansvar i samband med uppdrag, se aktuell produktkatalog eller vår webbplats www.alsglobal.se

Den digitalt signerade PDF filen representerar originalrapporten. Alla utskrift från denna är att betrakta som kopior.

¹ Utförande teknisk enhet (inom ALS Scandinavia) eller anlitat laboratorium (underleverantör).

