



FFI Forsvarets
forskningsinstitutt

24/01277

FFI-RAPPORT

Vurdering av metoder for å overvåke dumpet kjemisk ammunisjon i Skagerrak

John Aasulf Tørnes
Arnt Magne Johnsen
Marita Ljønes
Ida Vaa Johnsen

Vurdering av metoder for å overvåke dumpet kjemisk ammunisjon i Skagerrak

John Aasulf Tørnes
Arnt Magne Johnsen
Marita Ljønes
Ida Vaa Johnsen

Emneord

Dumpet ammunisjon
Kjemiske stridsmidler
Metoder
Miljøovervåking

FFI-rapport

24/01277

Prosjektnummer

5836

Elektronisk ISBN

978-82-464-354 7-3

Engelsk tittel

Evaluation of surveillance methods for dumped chemical munitions in Skagerrak

Godkjenner

Øyvind Voie, *forskningsleder*

Morten Aronsen, *fungerende forskningsdirektør*

Dokumentet er elektronisk godkjent og har derfor ikke håndskreven signatur.

Opphavsrett

© Forsvarets forskningsinstitutt (FFI). Publikasjonen kan siteres fritt med kildehenvisning.

Sammendrag

Denne rapporten beskriver en visuell undersøkelse av tilstanden til tre vrak i Skagerrak. Utstyrskamrer med blåskjell, kjempefiskjell og passive prøvetakere ble utplassert ved ett av vrakene for å undersøke hvilke metoder som er best egnet til å overvåke forurensningen fra dumpet kjemisk ammunisjon. Prøver fra Havforskningsinstituttets bunntåltokt i nærheten av dumpfeltet er også analysert for innhold fra denne ammunisjonen. Hensikten med arbeidet har ikke vært å kartlegge forurensningssituasjonen ved vrakene. Til dette var antall prøveposisjoner for lite.

Vrakene ble undersøkt visuelt med en fjernstyrt miniubåt for å se etter endringer i tilstanden siden forrige inspeksjon i 2002 og for å se om det var normalt marint liv rundt vrakene. Undersøkelsen viser at vrakene i Skagerrak ikke har startet å falle sammen, men at det var strukturelle endringer i lette konstruksjoner. Ammunisjonen synes ikke å ha påvirket det marine livet vesentlig, ettersom det ble observert en rekke arter ved vrakene.

To av utstyrskammene ble hentet inn etter 10 uker, mens én av rammene, av uforutsette grunner, sto utplassert i 51 uker. Det ble funnet spormengder av 4-nitrotoluen, 2,4- og 2,6-dinitrotoluen forbundet med eksplosiver, samt nedbrytningsprodukter fra sennepstridsmiddel og arsenholdige stridsmidler i de analyserte prøvene. Mengdene gir ingen grunnlag for bekymring med tanke på konsum, men viser at slike forbindelser er spredt over et stort område på havbunnen. Passive prøvetakere av typen SPMD-EWL er egnet til å ta opp kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser og kan være et godt alternativ til skjell.

En histologisk analyse (en vevsanalyse) av skjellenes tilstand etter opptak viste at blåskjellene var sterkt svekket med passivt og nedbygget fordøyelsesvev og tydelige nedbrytningsprosesser i flere vev. Endringene tyder på at blåskjellene ikke vil fungere som overvåkningsorganisme over lang tid på dypt vann. Kjempefiskjellene hadde moderate endringer i vevene, og dette tyder på at tilgangen på føde var lavere enn ved referanseposisjonen på grunt vann. Kjempefiskjellene vil egne seg som overvåkningsorganisme på dypt vann.

Det ble funnet metallinnhold i skjellene på nivå med det som finnes andre steder langs norskekysten, mens innholdet av organiske arsenforbindelser var svært lavt. Funn av tungmetaller i skjell og i passive prøvetakere skyldes sannsynligvis metalldeleer fra vraket eller andre kilder i området.

På bakgrunn av rapporten har vi presentert tolv anbefalinger for videre arbeid med vrakene. Blant annet bør tilstanden til flere vrak med ulik grad av nedbrytning undersøkes og gjenværende skrogtykkelse måles. Prøver av sediment, porevann og passive prøvetakere fra flere posisjoner bør analyseres for å bestemme hvor langt ut fra vrakene forurensningen strekker seg, hvordan forurensningen spres og hvor mye av de toksiske forbindelsene som er tilgjengelig for opptak i biota. Det bør undersøkes om blåskjell er egnet for utsetting i korte perioder på inntil én måned og evaluere svamp og andre typer aktive og passive prøvetakere for mer effektiv prøvetaking. Flere av de foreslåtte tiltakene bør gjennomføres samtidig og i samarbeid med andre aktører for å redusere kostnadene.

Summary

This report describes a visual inspection of the condition of three scuttled wrecks in Skagerrak. Landers with blue mussels, European giant file clam, and passive samplers were deployed at one wreck to establish the best monitoring methods for pollution from chemical munitions around the wrecks. In addition, we analysed samples from the annual shrimp survey conducted by the Norwegian Institute of Marine Research. Our goal was not to map the pollution in the area. For that, the number of sampling positions would have been too small.

To visually inspect the condition of the wrecks, we used a remotely operated underwater vehicle. We looked for changes in their condition since the last inspection in 2002 and observed whether marine life around the wrecks was normal. Our findings indicate that the wrecks in Skagerrak have not started to collapse, but certain light constructions are on the verge of breaking due to corrosion. The ammunition does not seem to affect marine life in the area.

Two of the landers were retrieved after 10-week deployment, while the last one was retrieved after 51 weeks at the sea bottom. We found traces of 4-nitrotoluene, 2,4- and 2,6-dinitrotoluene associated with explosives and decomposition products from chemical warfare agents containing sulphur mustard and arsenic in the analysed samples. The levels do not give rise to concern but show that these compounds are spread over a large area on the sea bottom. Passive samplers of SPMD-EWL type were well suited for collecting chemical warfare agents and related compounds and could be a good alternative to bivalves.

A histological examination of the bivalves showed that the blue mussels had passive and partially degraded digestive tissues and severe degradative changes in several tissues. The observed changes indicate that the blue mussels will not be suitable as an indicator organism for long periods under these conditions. The file clam had only moderate tissue alterations, indicating that they had less food available, compared to the reference position at shallow water. The file clam is therefore a suitable surveillance organism for deep water.

The concentration of metals in the shellfish were at the same level as elsewhere along the Norwegian coastline and the content of organoarsenic compounds were low. The heavy metal content in shellfish and passive samplers are therefore probably due to metal parts from the wrecks or other sources in the area.

Twelve recommendations for further investigations of the wrecks have been set up. The condition of more wrecks with different degree of deterioration should be investigated and the remaining hull thickness measured. Samples of sediments, pore water, and passive samplers from several locations should be analysed to measure how far from the wreck the pollution stretch out, how it is dispersed and how much is available for uptake in biota. The use of blue mussels as indicator for periods up to one month and the usefulness of sponges and other types of passive samples should be evaluated for more efficient sampling. Several of the suggested recommendations should be carried out at the same time and in cooperation with other actors to save money.

Innhold

Sammendrag	3
Summary	4
Forord	8
1 Innledning	9
2 Formål	10
3 Undersøkelser ved vrak nr. 13	11
3.1 Utvelgelse av posisjoner for prøvetaking	11
3.2 Beskrivelse av utstyrsrammene	13
3.3 Valg og utplassering av passive prøvetakere	15
3.3.1 Metaller	16
3.3.2 Eksplosiver, kjemiske stridsmidler og deres nedbrytningsprodukter	16
3.3.3 Utplassering av de passive prøvetakerne	17
3.4 Undersøkelser med en Remotely Operated Vehicle	18
3.5 Måling av strøm nær bunnen	20
3.6 Innhenting av to utstyrsrammer i desember 2022	21
3.7 Innhenting av den siste utstyrsrammen i oktober 2023	21
4 Undersøkelse av tre vrak med en fjernstyrt miniubåt	23
4.1 Gjennomføring av undersøkelsen	23
4.2 Forslag til identifikasjon av de undersøkte vrakene	25
4.3 Tilstanden til vrakene	26
4.4 Ammunisjonstyper på og rundt vrakene	28
4.5 Grad av korrosjon av ammunisjonen	35
4.6 Observasjoner av marint liv	36
5 Opparbeidelses- og analysemetodikk	37
5.1 Skjell (blåskjell og kjempefilskjell)	37
5.1.1 Homogenisering og forsendelse av prøver til analyse	37

5.1.2	Tilstanden til skjellene	37
5.1.3	Innhold av metaller	38
5.1.4	Innhold av eksplosiver, kjemiske stridsmidler og nedbrytningsprodukter fra kjemiske stridsmidler	38
5.2	Passive prøvetakere	39
5.3	Svamp	40
5.4	Plaststav med påvisningspapir	40
5.5	Prøver av fisk og skaldyr fra Havforskningsinstituttets bunnråltokt	41
6	Resultater	42
6.1	Strøm nær bunnen	42
6.2	Tilstanden til skjellene	43
6.2.1	Blåskjell	43
6.2.2	Kjempefilskjell	45
6.3	Metaller i skjellprøvene	46
6.4	Eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser i biota	49
6.5	Passive prøvetakere	54
6.5.1	Metaller	54
6.5.2	Kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser	56
6.5.3	Eksplosiver	58
6.6	Gummikork fra plaststav	58
7	Konklusjoner og anbefalinger	59
7.1	Oppsummering	59
7.2	Læringspunkter fra prosjektet	63
7.3	Anbefalinger når det gjelder videre arbeid med skagerrakvrakene	64
	Forkortelser	68
	Vedlegg	69
A	Histologisk undersøkelse av blåskjell, <i>Mytilus</i> sp. og kjempefilskjell, <i>Acesta excavata</i> fra forsøk med nedsenking i regi av FFI	70
A.1	Mikroskopering av blåskjell	70
A.2	Mikroskopering av kjempefilskjell	76
B	Resultater fra analyse av metaller	79
B.1	Metaller i skjell fra Ramme 1 (utført av FFI)	79
B.2	Blåskjell Drøbaksundet – innmat prøve 22-066 (utført av HI)	81
B.3	Blåskjell Ramme 2 – innmat prøve 22-068 (utført av HI)	82

B.4	Kjempefilskjell Ramme 2 – innmat prøve 22-069 (utført av HI)	83
B.5	Blåskjell Ramme 3 – innmat prøve 22-070 (utført av HI)	84
B.6	Kjempefilskjell Ramme 3 – innmat prøve 22-071 (utført av HI)	85
B.7	Kjempefilskjell Drøbaksundet – innmat prøve 22-072 (utført av HI)	86
C	Analyse av skjellprøver med hensyn på eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser	87
C.1	Analyse utført av WAT i Polen – April 2023	87
C.2	Analyse utført av WAT i Polen – Desember 2023	97
C.3	Analyse utført av University of Helsinki – VERIFIN	112
C.3.1	Samples	112
C.3.2	Target analytes	113
C.3.3	Methods	113
C.3.4	Results	116
D	Analyse av passive prøvetakere	118
D.1	Metaller (FFI)	118
D.2	Kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser (UH-VERIFIN)	120
	Referanser	121

Forord

Denne rapporten beskriver resultater fra testing av noen utvalgte metoder for å overvåke vrakene med kjemisk ammunisjon som ble dumpet i Skagerrak etter andre verdenskrig. Rapporten har blitt mer omfattende enn opprinnelig planlagt. Dette er gjort for å beskrive grundig alle de ulike metodene som er testet. Rapporten beskriver også tilstanden til noen av vrakene og gir grunnlag for å kunne velge hvilke metoder som kan benyttes ved senere miljøovervåking av disse vrakene. Prosjektet har vært gjennomført fra 2022 til 2024.

Det har vært mange eksterne bidragsytere i dette arbeidet, og mesteparten av det eksterne arbeidet har blitt foretatt uten finansiell støtte fra Forsvarets forskningsinstitutt (FFI). Forfatterne vi gjerne takke alle som har bidratt, og vil spesielt nevne Espen Saastad fra Spiro Marine, for bruk av en fjernstyrt miniubåt ved utsetting av utstyrsrammene og visuell inspeksjon av tre vrak, Jean Baptiste fra Havforskningsinstituttet (HI), for lån av transpondere og bistand ved utsett av rammene, HI og fartøyet G.O. Sars for opptak av utstyrsrammen som ikke kom opp til overflaten i 2022, Sjøforsvarets sikkerhetssenter for sikker håndtering av rammen om bord på G.O. Sars og Redningsselskapet for bistand til transport ut til G.O. Sars. HI har også bidratt med biologiske prøver fra sine årlige bunnråttokt i Skagerrak. Det er flere institutter, i tillegg til FFI, som har vært involvert i analyse av de innsamlede prøvene; Tungmetaller og skjelltilstand ved HI, eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser ved Military University of Technology i Warszawa, Polen, samt passive prøvetakere og noen skjellprøver ved University of Helsinki – VERIFIN, Finland. Ammunisjonseksperter Uwe Wichert, Tyskland, har vært til god hjelp ved identifikasjon av ammunisjonen som ble observert på og utenfor vrakene.

Det rettes også en stor takk til arbeidsgruppa satt ned av Kystverket for arbeid med skagerrakvrakene. Den har jevnlig møter og bidratt med gode tilbakemeldinger og konstruktive ideer underveis i arbeidet. Arbeidsgruppa har bestått av:

Knut Markus Arnhus – leder fram til juni 2023 (Kystverket)

Ingrid Johanne Lauvrak – leder fra juli 2023 (Kystverket)

Thor Dagfinn Pedersen (Kystverket)

Hilde Dolva (Kystverket)

Hilde Beate Keilen (Miljødirektoratet)

André Marcel Bienfait (HI)

Arnt Magne Johnsen (FFI)

Petter Lågstad (FFI)

John Aasulf Tørnes (FFI)

Kjeller, 23. juli 2024

John Aasulf Tørnes

1 Innledning

I perioden 1946–48 ble det dumpet store mengder kjemisk ammunisjon i den dypeste delen av Skagerrak. Dette ble gjennomført ved at man lastet ammunisjonen om bord i utrangerte skip som så ble senket. En regner med at det er dumpet mellom 130 000 tonn og 160 000 tonn (bruttovekt) fordelt i et trettitalls vrak fra denne tidsperioden [1]. Det er gjennomført flere kartlegginger for å lokalisere disse vrakene og det er funnet 36 vrak innenfor det avmerkede dumpfeltet som med stor sannsynlighet er lastet med kjemisk ammunisjon [1]. I tillegg er det lokalisert to vrak like utenfor dumpfeltet som også sannsynligvis tilhører denne kategorien.

Undersøkelser gjort i 2015 og 2016 viser at noen vrak er ganske intakte, mens andre er brukket i flere deler med ammunisjon spredd utover bunnen [2]. Visuelle undersøkelser med en fjernstyrt miniubåt (Remotely Operated Vehicle, ROV) i 2002 viste stor variasjon i tilstanden til ammunisjonen. Noen objekter var korrodert hull i slik at innholdet var eksponert for miljøet, mens andre var tilnærmet intakte [3]. Bilder tatt med en autonom undervannsfarkost (AUV) i 2019 viser at mye av ammunisjonen er nedbrutt av korrosjon, og at deler av innholdet er eksponert for sjøvannet [4].

Enkelte vrak er undersøkt tidligere, og det er påvist rester av kjemiske stridsmidler i miljøet [1,3,5]. Det er derfor av nasjonal interesse å overvåke situasjonen i dumpfeltet for kjemisk ammunisjon i Skagerrak, fordi det med tiden kan forventes en degradering av vrakene og ammunisjonen, slik at innholdet i den kjemiske ammunisjonen i større grad vil bli blottlagt.

Gjennom et oppdrag fra Kystverket i 2022–23 [6] har Forsvarets forskningsinstitutt (FFI) foretatt undersøker for å evaluere ulike metoder for å overvåke den kjemiske ammunisjonen som er dumpet i Skagerrak. Resultatene fra disse undersøkelsene er beskrevet i denne rapporten.

2 Formål

Formålet med oppdraget var å teste ut noen metoder for å overvåke kjemisk ammunisjon i Skagerrak. Dybden i dumpfeltet i Skagerrak er på mer enn 500 m og standard overvåkningsmetoder kan derfor være lite egnet, siden de er tilrettelagt for bruk på grunt vann. I dette oppdraget er det undersøkt om blåskjell som lever og ofte benyttes som overvåkningsorganisme på grunt vann og kjempefilskjell (*Acesta excavata*) kan fungere som overvåkningsorganismer. Kjempefilskjell lever normalt på dypt kaldt vann (40 – 3200 m) og har en forventet levetid på 50-80 år [7]. Slike skjell var derfor forventet å fungere bedre enn blåskjell som overvåkningsorganisme ved vrakene i Skagerrak.

Passive prøvetakere kan simulere levende organismer og er enklere å håndtere enn levende skjell. Funksjonen til flere typer passive prøvetakere er derfor testet ut i dette oppdraget. Det ble også planlagt å samle inn svamp som vokste på vraket med ROV, for å undersøke om dette kunne være en egnet overvåkningsorganisme. Sedimentprøver vil gi et øyeblikksbilde av bunnforurensningen rundt vraket, men vil ikke være godt egnet til å overvåke hva som lekker ut til omgivelsene i dag. Slike prøver ble derfor ikke samlet inn i denne studien.

Formålet med oppdraget var også en visuell undersøkelse av tre utvalgte vrak, for å vurdere tilstanden til vrakene, identifisere ammunisjonstyper på og rundt vrakene, samt å vurdere grad av korrosjon på ammunisjonen. I tillegg ble det gjort et forsøk med å påvise kjemiske stridsmidler ved hjelp av påvisningspapir nede i en bombe det var rustet hull i. Målet var å undersøke om en slik enkel teknikk kan benyttes for å finne ut om en bombe er tom eller om den har gjenværende stridsmidler.

Formålet var ikke å kartlegge utbredelsen av forurensning fra den kjemiske ammunisjonen rundt vraket eller om skjellene er trygge å spise etter eksponering ved vrakene. Til dette er antall prøvepunkter for lite.

Det ble utarbeidet noen forskningsspørsmål som undersøkelsen skulle gi svar på:

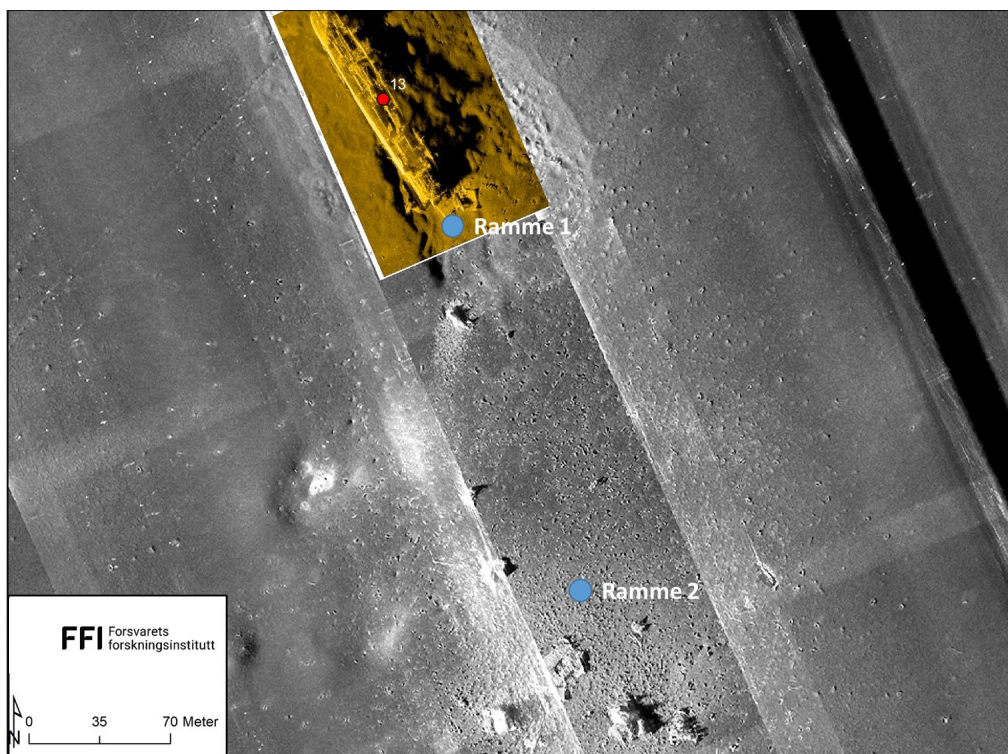
- Hva er hastigheten til bunnstrømmen i området?
- Har skjellene overlevd og tatt til seg næring?
- Er skjellene egnet til overvåkning av metaller fra ammunisjon?
- Er det påvist eksplosiver eller kjemiske stridsmidler i prøvene?
- Er passive prøvetakere egnet til å måle innhold av metaller, eksplosiver og kjemiske stridsmidler?
- Er svamp egnet som en indikatororganisme?
- Hva var tilstanden til vrakene?

3 Undersøkelser ved vrak nr. 13

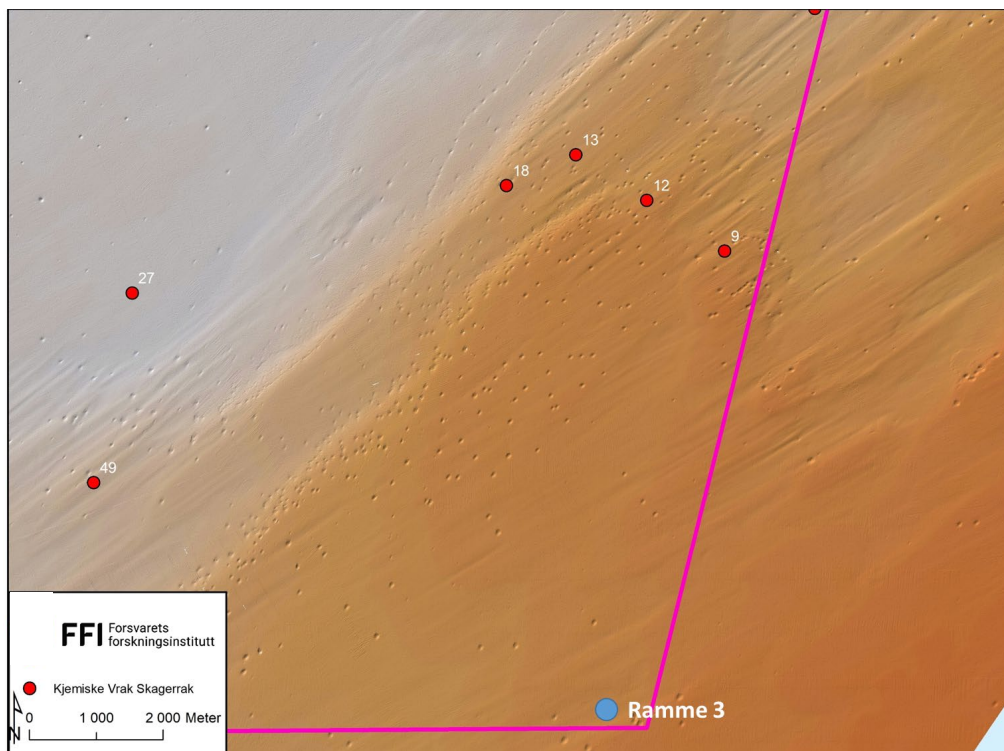
3.1 Utvelgelse av posisjoner for prøvetaking

Tre aluminiumsrammer med påmonterte skjellteiner, passive prøvetakere og en strømningsmåler ble satt ut ved vrak nr. 13 i Skagerrak 3–4 oktober 2022. Dette vraket ble valgt med bakgrunn i at det består av flere deler med ammunisjon spredd ut på havbunnen, samtidig som det tidligere er blitt undersøkt i flere omganger. Tre posisjoner ble valgt ut for utsetting av rammene; To posisjoner på ca. 580 m dybde i nærheten av vrak nr. 13 (Figur 3.1) og en posisjon på ca. 550 m dybde langt unna alle kjente vrak (Figur 3.2).

To av rammene ble tatt opp 15. desember 2022, mens den siste rammen ikke kom til overflaten som planlagt. Den ble isteden hentet opp med god hjelp fra Havforskningsinstituttet (HI) den 13. oktober 2023. Den visuelle undersøkelsen ble utført ved hjelp av en ROV fra firmaet Spiro Marine i perioden 3–4 oktober 2022. Denne ble også benyttet for å se til at rammene ble plassert riktig sted på bunnen. Kystverkets oljevern fartøy OV Ryvingen ble benyttet til utsetting av rammene og som moderfartøy for ROV-undersøkelsene.



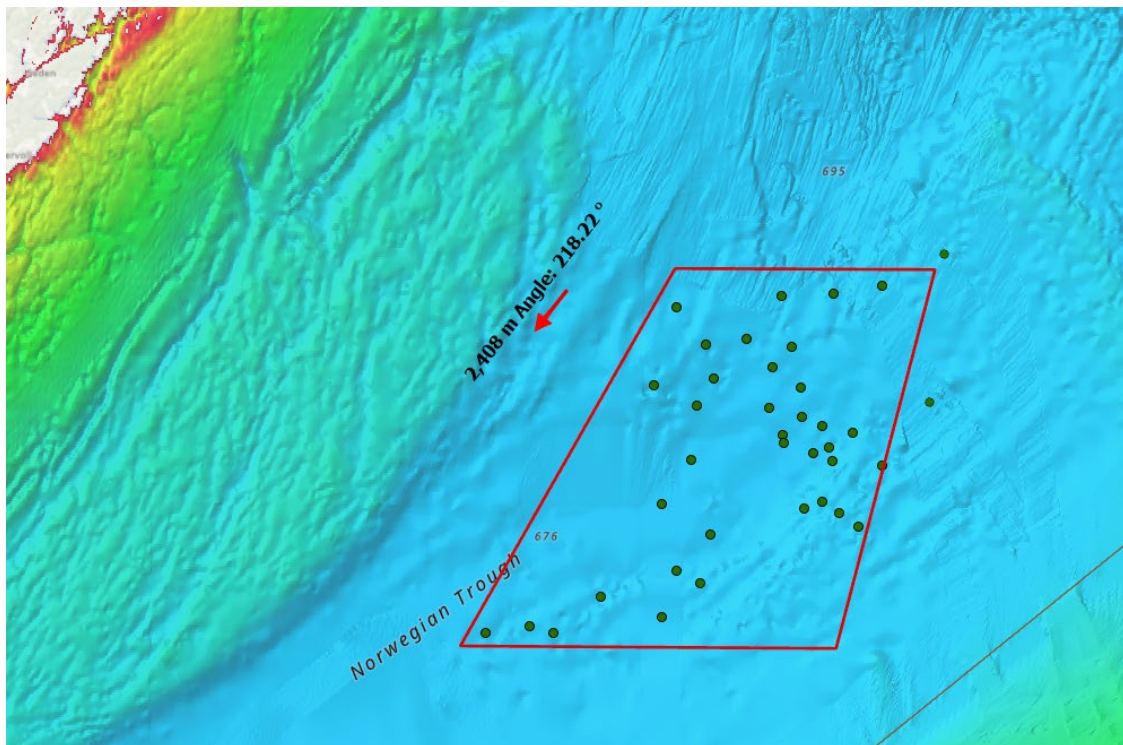
Figur 3.1 Plassering av Ramme 1 og Ramme 2 i nærheten av vrak nr. 13. (Bilde: FFI).



Figur 3.2 Plassering av Ramme 3 i utkanten av dumpfeltet. Plasseringen av de nærmeste vrakene 9, 12, 13, 18, 27 og 49 er også avmerket. (Bilde: FFI).

Baugen på vrak nr. 13 er sprengt vekk og ammunisjonen spredt ut over et stort område på havbunnen. Ramme 1 ble plassert så nær den gjenværende delen av vraket som mulig der den var brukket av, mens Ramme 2 ble plassert ca. 180 m sør for vraket i et område med store mengder vrakgods, sannsynligvis fra den ødelagte baugen på skipet (Figur 3.1). Her var det også lokalisert mye ammunisjon på havbunnen. Ramme 3 ble plassert innenfor det avmerkede dumpfeltet i Skagerrak, men i en avstand på mer enn sju km fra nærmeste kjente vrak (Figur 3.2).

HI gjennomfører årlige bunntåletokt etter dypvannsreke i Skagerrak og Norskerenna for å overvåke rekebestanden. En av tråleposisjonene er like vest for dumpfeltet i Skagerrak på dybder fra 530 m til 546 m (Figur 3.3). Avstanden til nærmeste vrak er på det minste 6,5 km. Det ble i 2022 trålt i sørvestlig retning i 30 min med en hastighet på 2,56 knop, det vil si en lengde på 1,3 NM (2,4 km). Under dette toktet, gjennomført med fartøyet Kristine Bonnevie i perioden 5.–28. januar, ble det samlet inn prøver for FFI av lever og muskel fra artene skolest, havmus, skate, flyndre og trollhummer i tillegg til dypvannsreker. Noen av disse prøvene ble analysert sammen med skjellene som ble satt ut i dumpfeltet.

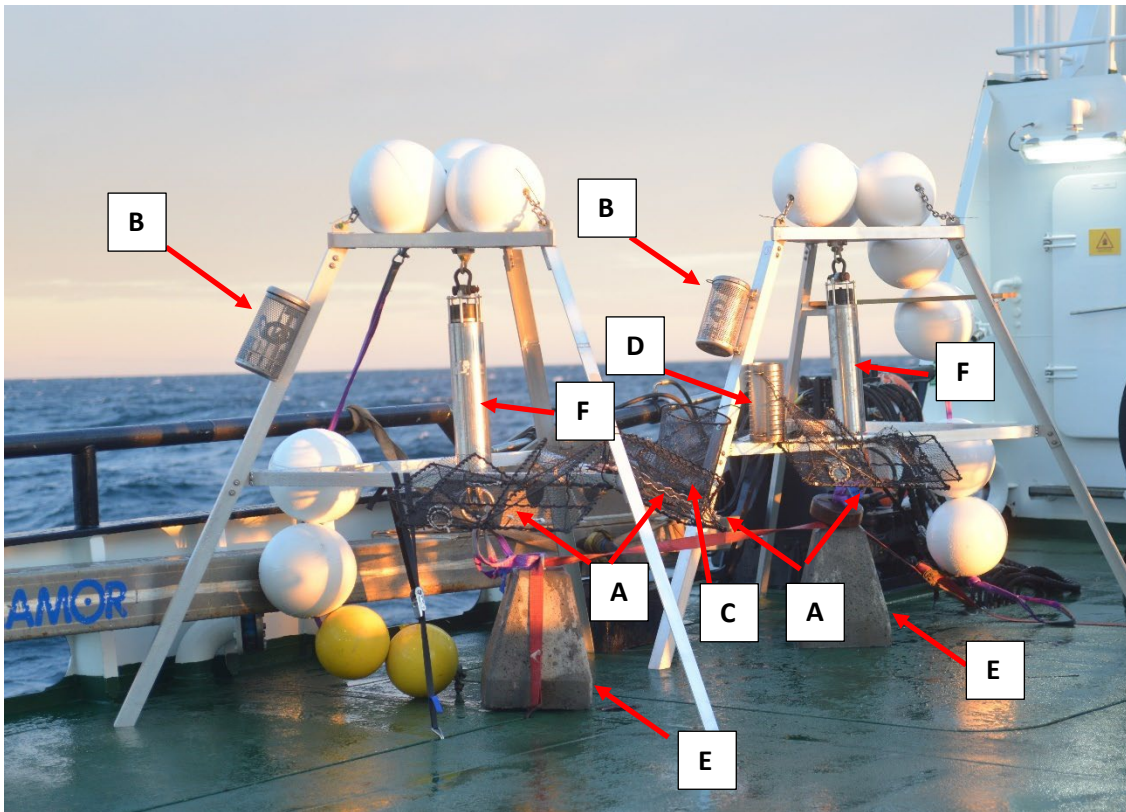


Figur 3.3 Trålespor fra HIs bunnråltokt i januar 2022 markert med rød pil vest for dumpfeltet. Det ble trålt 30 min i sørvestlig retning. Kjente vrak er markert med grønne punkt, mens området der det er forbud mot oppankring og fiske ved bruk av bunnredskaper er vist som en rød polygon. (Kart: FFI, batymetrisk bakgrunnskart fra GEBCO Compilation Group, 2023 [8].)

3.2 Beskrivelse av utstysrammene

De tre utstysrammene ble produsert i aluminium av enhet for produktutvikling, test og verifikasjon (PTV) ved FFI og ble påmontert bur for passive prøvetakere, samt teiner for blåskjell og kjempesilskjell (Figur 3.4). Ramme 2 hadde dessuten påmontert en akustisk strømningsmåler for registrering av hastighet og retning av havstrømmen nær denne rammen.

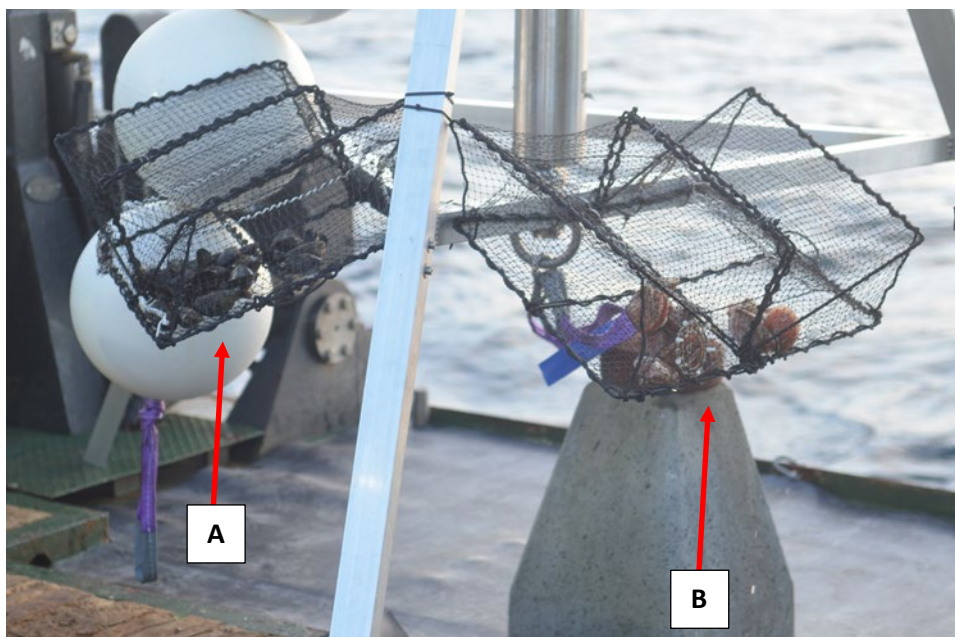
Ustysrammene var balansert med tilstrekkelige mengder oppdriftskuler, slik at de ved utløsning ville flyte opp til overflaten. Ramme 1 var påmontert 6 trålkuler fra Mørenot, samt to trålkuler med ukjent leverandør. Ramme 2 var påmontert 7 trålkuler, mens Ramme 3 var påmontert 6 trålkuler, alle fra Mørenot for å gi en oppdrift på 120 kg. Under rammene var det festet lodd på til sammen 184 kg for å holde den ned mot bunnen etter utsett. Avstanden mellom lodd og rammer var beregnet slik at beina på rammene ikke skulle trenge ned i sedimentene, noe som kunne ha hindret oppdrift til overflaten ved utløsning. Trålkulene var oppgitt å ha en arbeidsdybde på 800 m under 4 timer.



Figur 3.4 Utstysrammer klar til utsetting med påmonterte skjellteiner (A), bur med passive prøvetakere (B), tom kurv for svamp (C) og strømningsmåler (D). Rammene hadde også oppdriftskuler (hvite og gule), lodd i form av sementblokker (E), samt akustiske utløsere (F). (Bilde: FFI).

Blåskjell og kjempefilskjell ble satt ut for å fastslå om de tok til seg næring og ikke tok skade av utsetting på dypt vann. I tillegg ble det foretatt kjemisk analyse av innmaten for å fastslå eksponering for metaller, kjemiske stridsmidler eller eksplosiver.

Blåskjellene ble hentet fra ca. 5 m dyp og kjempefilskjellene fra 35–40 m dyp av lokale dykkere i Drøbaksundet. Skjellene ble mellomlagret i Drøbak akvarium til de ble transportert i sjøvann med bil til Grimstad samme dag som utsett i Skagerrak. Ved ankomst stasjon i Skagerrak ble skjellene rett før utsett overført fra beholderen med sjøvann til teinene som var montert på rammene (merket A og B i Figur 3.5) om bord på OV Ryvingen. Ved utsett ble rammene holdt litt under overflaten i noen minutter for å gi skjellene mulighet til å slippe ut luft, før de ble senket til bunnen.



Figur 3.5 Utstyrsrammene hadde påmonterte teiner med blåskjell (A) og kjempefilskjell (B). (Bilde: FFI).

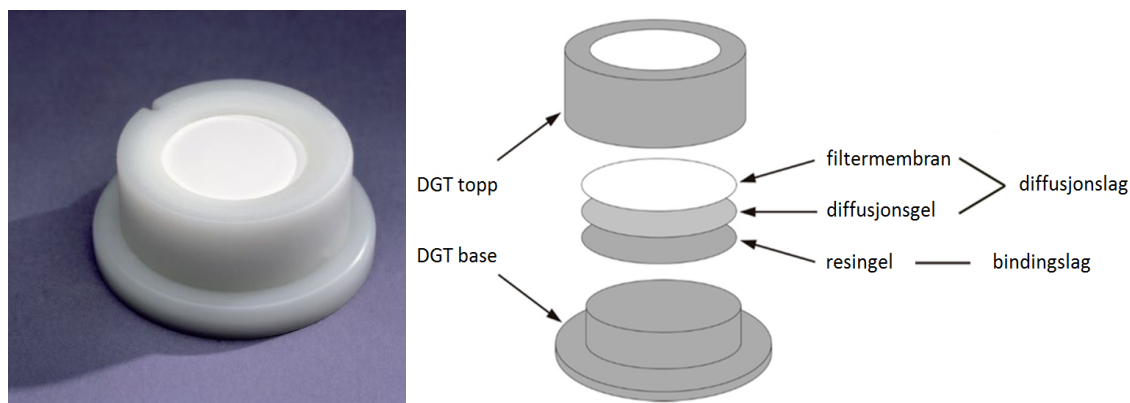
3.3 Valg og utplassering av passive prøvetakere

Ulike passive prøvetakere ble satt ut for å undersøke om slike kan fungere godt som metode for å overvåke forurensning fra ammunisjonen ved senere undersøkelser. Det ble valgt ut prøvetakere beregnet for metaller (oksidasjonstrinn er gitt i parentes), samt for polare, semipolare og upolare kjemiske forbindelser:

- LSNT-NP fra DGT Research Ltd (Lancashire, UK) kunne ta opp metallene arsen (As(III) og As(V)), molybden (Mo(VI)), fosfor (P(V)), antimon (Sb(V)), selen (Se), vanadium (V(V)) og wolfram (W(VI)).
- LSM-NP fra DGT Research Ltd kunne ta opp metallene aluminium (Al), kalsium (Ca), kadmium (Cd), kobolt (Co), krom (Cr(III)), kobber (Cu), jern (Fe), magnesium (Mg), mangan (Mn), nikkel (Ni), bly (Pb), sink (Zn) og uran (U) og sjeldne jordart-metaller.
- Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS) diskere fra Exposmeter AB (Tavelsjö, Sverige) for polare og semipolare kjemiske forbindelser.
- Semipermeable Membrane Device (SPME) pølser fra Exposmeter AB for upolare (lipofile) forbindelser.

3.3.1 Metaller

Diffusive gradients in thin film (DGT) er en metode for å måle konsentrasjonen av biotilgjengelige metaller i vann eller jord [9]. DGT består av et diffusjonslag som tillater diffusjon av oppløste forbindelser i vannet, og et bindingslag som selektivt binder de oppløste forbindelsene av interesse. Bilde og skisse av DGT er vist i Figur 3.6.



Figur 3.6 Bilde og skisse av DGT passiv prøvetaker for metaller [10,11].

Konsentrasjonen av et metall som tas opp i DGT er direkte proporsjonal med konsentrasjonen av metallet i vannet og diffusjonshastigheten av metallet gjennom gelen i DGT [12].

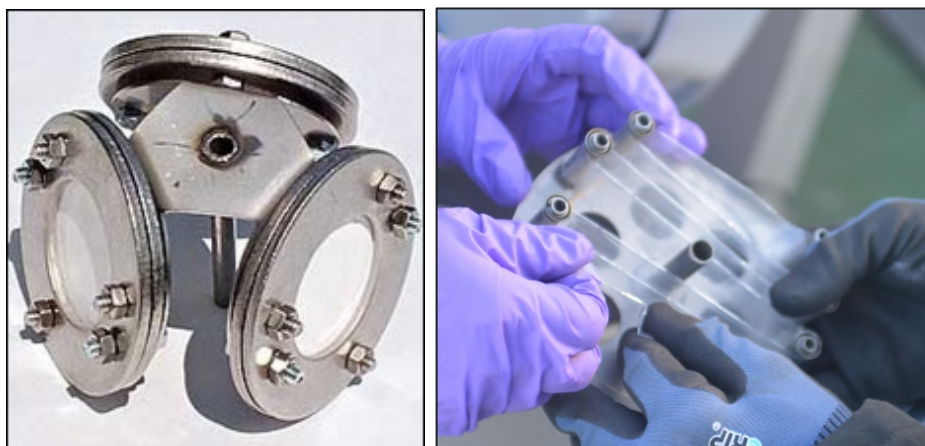
Konsentrasjonen av metallet i vannet målt med DGT (C_{DGT}) kan beregnes ved bruk av likning (3.1).

$$C_{DGT} = \frac{\text{Opptatt metall i gel} \times \text{tykkelse membran og gel}}{\text{diffusjonskoeffisient} \times \text{tid} \times \text{areal gel}} \quad (3.1)$$

DGT-prøvetakerne som ble benyttet i denne undersøkelsen var av typene LSNM-NP og LSNT-NP. LSNM-NP består av et chelex bindingslag, mens LSNT-NP består av et titandioksid (TiO_2 , Metsorb) bindingslag. Optimal eksponeringstid for begge typene DGT er 3-21 dager.

3.3.2 Eksplosiver, kjemiske stridsmidler og deres nedbrytningsprodukter

Passive prøvetakere av typen POCIS (til venstre i Figur 3.7) er konstruert for å ta opp hydrofile organiske forbindelser og er ofte brukt til å kvantifisere eksplosiver i vann (se for eksempel [13, 14]). Disse ble derfor valgt til denne studien. FFI har tidligere hatt god erfaring med bruk av semipermeable membraner av typen SPME (til høyre i Figur 3.7) til å overvåke relativt upolare forbindelser som polyklorerte bifenyler (PCB) [15]. Det ble også valgt å utplassere slike prøvetakere i Skagerrak.



Figur 3.7 Passive prøvetakere av typen POCIS (EST-Lab, venstre) og SPME (FFI, høyre).

3.3.3 Utplassering av de passive prøvetakerne

Utstyrsrammene ble firt ned til sjøbunnen i en vaier fra OV Ryvingen, der rammene ble plassert på forhåndsbestemte steder som vist i Figur 3.1 og Figur 3.2 under oppsyn fra ROV-en (se kapittel 3.4).

POCIS og SPME ble plassert i bur på hver ramme (merket B i Figur 3.4), mens LSNT-NP og LSMN-NP ble plassert i egne holdere inne i teinene med blåskjell (Figur 3.8).

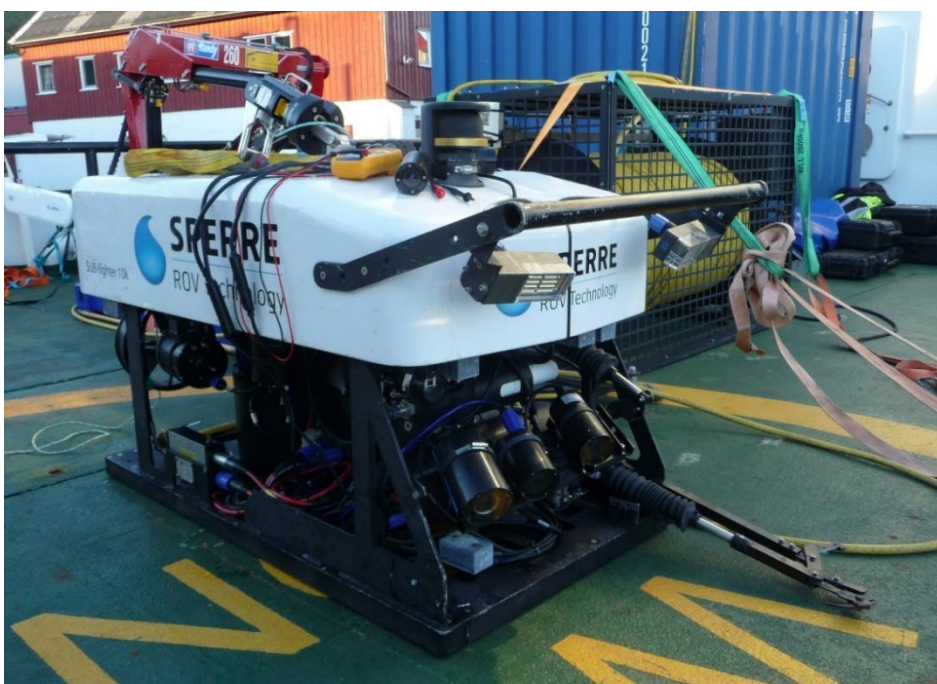


Figur 3.8 Passive prøvetakere for metaller (LSNT og LSMN) markert med rød pil i teinene med blåskjell. (Bilde: FFI).

3.4 Undersøkelser med en Remotely Operated Vehicle

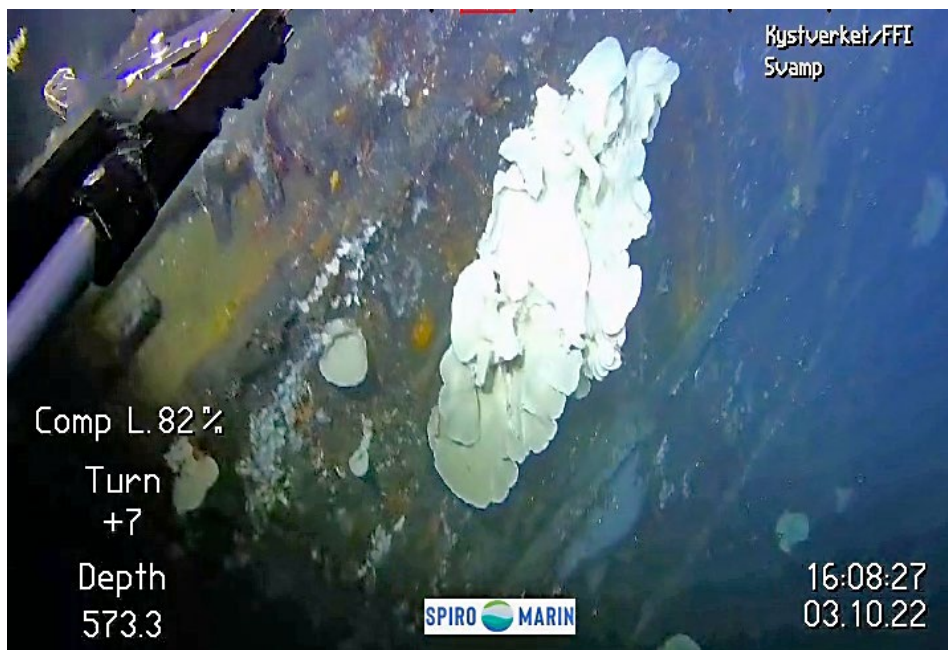
En ROV med operatører fra firmaet Spiro Marine ble leid inn av Kystverket for å se at utstyrskommene ble plassert på riktig sted nær vrak nr. 13, og at de ble stående riktig i forhold til underlaget. Dette skjedde i perioden 3–4 oktober 2022. ROV-en var av typen Sub-Fighter 10K, med en størrelse på ca. 140 cm x 81 cm x 90 cm og hadde én manipulatorarm (Figur 3.9).

Etter at rammene var satt ned på bunnen, ble ROV-en benyttet til å samle inn prøver av det som trolig var en viftesvamp (*Phakellia ventilabrum*) fra skutesiden på vrak nr. 13 (Figur 3.10). Svampen ble valgt fordi den har lang levetid og sitter fast på vraket. Denne svampen ble plassert i en kurv festet til Ramme 1 (se Figur 3.4).

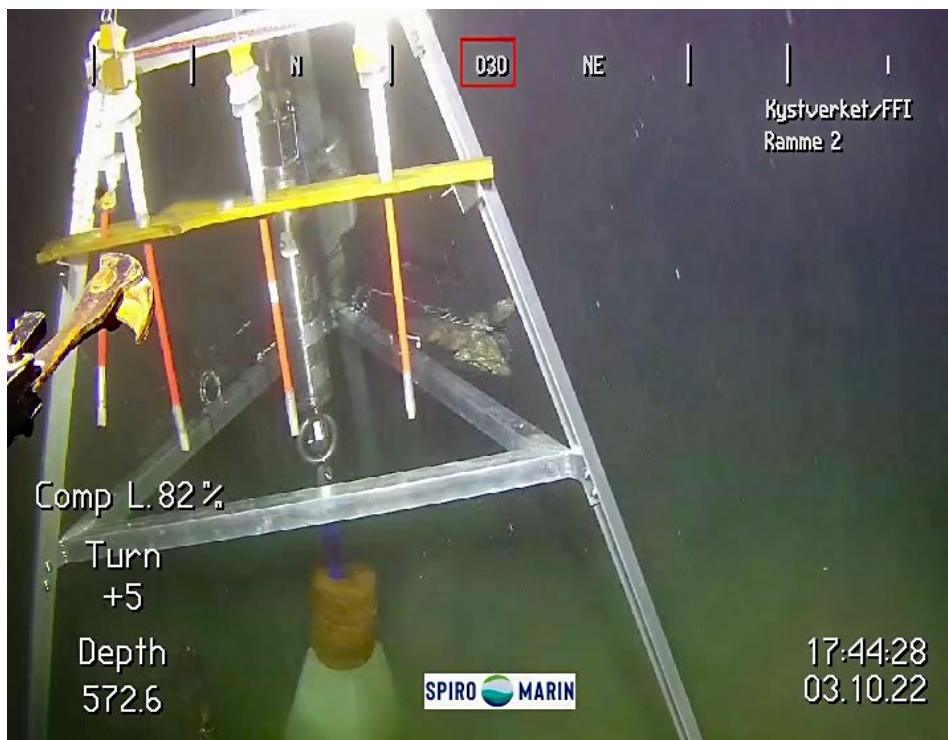


Figur 3.9 ROV fra Spiro Marine brukt under utsetting av utstyrskommene. (Bilde: FFI).

Det ble gjort et forsøk på å påvise kjemiske stridsmidler inne i en delvis opprustet bombe ved hjelp av påvisningspapir for kjemiske stridsmidler av typen M8 montert på en plaststav (brøytstikk). Plaststaven ble holdt fast og ført inn i bomben ved hjelp av manipulatorarmen på ROV-en. Staven hadde lodd av stål montert inne i nedre del og oppdriftsmateriale i toppen for bedre å kunne håndteres med manipulatorarmen (Figur 3.11). Påvisningspapiret var festet utenpå en gummikork på enden av plaststaven og vil skifte farge ved kontakt med kjemiske stridsmidler. Dette ble utført som en test på en enkel metode for å se om bomben var tom, eller om den hadde rester av kjemiske stridsmidler i bunnen.



Figur 3.10 En svamp ble samlet inn fra skutesiden på vrak nr. 13 og plassert i kurven på Ramme 1. (Bilde: Spiro Marine).



Figur 3.11 Ramme 2 med plaststaver (brøytstikk) påmontert påvisningspapir type M8 for forsøkene med å eksponere dem for innholdet i en korrodert bombe. (Bilde: Spiro Marine).

Det viste seg at denne metoden ikke fungerte som planlagt. På grunn av vanskeligheter med å holde ROV-en stabilt i ro nær bunnen, måtte det gjøres flere forsøk før staven med påvisningspapir traff hullet i bomben (se Figur 3.12). En av stavene knakk under forsøket på å sette den tilbake. Det viste seg også å være umulig å plassere staven tilbake i stativet på Ramme 2 etter bruk på grunn av for små hull i stativet. Det var da ikke mulig å inspisere fargen på papiret som planlagt ved hjelp av kameraet på ROV-en. Den andre ble derfor tatt med til overflaten i manipulatorarmen etter å ha vært eksponert for innholdet i bomben.



Figur 3.12 En plaststav (brøytstikk) med påmontert påvisningspapir ble ført inn i en korrodert bombe for å se om papiret skiftet farge i kontakt med kjemiske stridsmidler. (Bilde: Spiro Marine).

3.5 Måling av strøm nær bunnen

For å bestemme strømningshastighet og -retning nær bunnen i nærheten av vraket, ble en doppler strømmåler av typen Seaguard RCM IW lånt fra HI. Denne måleren ble plassert på Ramme 2 og sto utplassert i perioden 3. oktober–15. desember 2022, det vil si ca. 10 uker.

3.6 Innhenting av to utstyrsrammer i desember 2022

De tre utstyrsrammene skulle hentes opp igjen ved hjelp av FFIs forskningsfartøy H.U. Sverdrup II den 15. desember 2022, etter ca. 10 uker i sjøen. Ramme 2 og Ramme 3 kom opp til overflaten som planlagt, mens Ramme 1 kom ikke opp, selv om utløseren fungerte og løste ut rammen fra loddet på bunnen. Denne rammen hadde teiner med blåskjell og kjempefilskjell, passive prøvetakere og kurven med svampen som ble samlet inn ved hjelp av ROV den 3. oktober 2022.

Skjellene fra Ramme 2 og Ramme 3 ble plassert i to isolerte bokser med sjøvann om bord på H.U. Sverdrup II. Sjøvannet ble skiftet om lag hvert døgn fra opptak 15. desember til videre behandling den 19. desember.

Tre kjempefilskjell og fire store blåskjell fra teinene som hadde vært utplassert i Skagerrak, ble holdt i live og sendt til HI mandag 19. desember for studie av skjelltilstanden og om de hadde tatt til seg næring under oppholdet i sjøen. Dette ble utført ved en histologisk analyse av flere organer. De resterende skjellene ble dissekert for å ta ut innmaten, veid og frosset ned til ca. -20 °C.

Som en referanse ble noen blåskjell og kjempefilskjell som ikke var satt ut i dumpfeltet dissekert og tatt med til FFI. Etter homogenisering ble disse prøvene sendt som postpakke over natt til HI for bestemmelse av metallinnhold. Noen kjempefilskjell ble i tillegg samlet inn fra ca. 30 m dyp i Drøbaksundet i oktober 2023 og sendt levende til HI for analyse av skjelltilstand. Dette ble gjort da HI hadde liten erfaring med normal tilstand i kjempefilskjell.

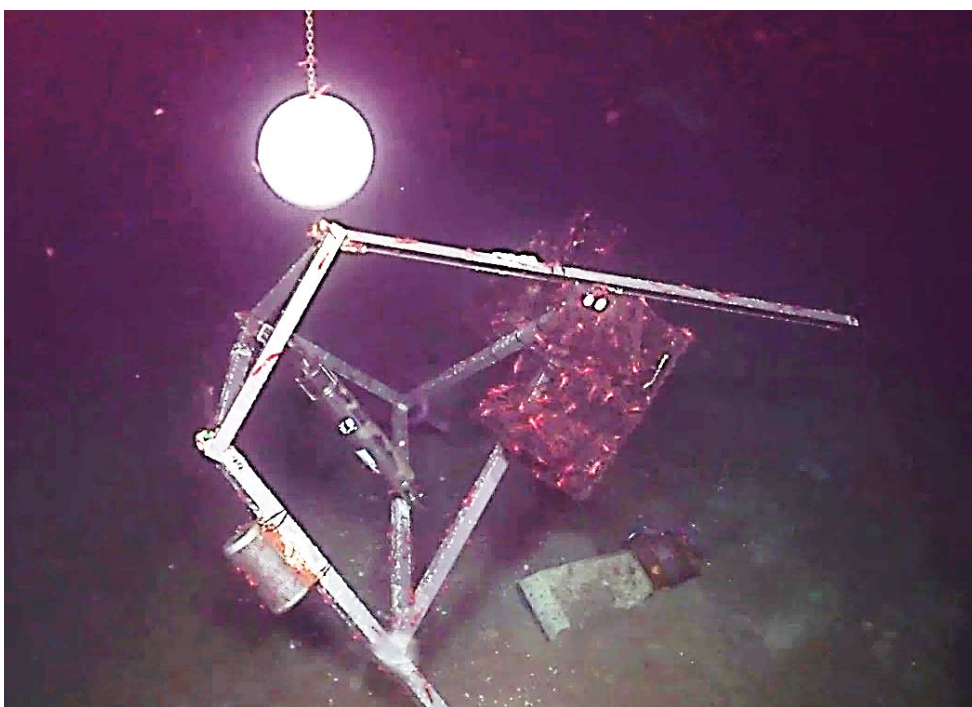
De passive prøvetakerne fra Ramme 2 og Ramme 3 ble tatt ut av holderne sine om bord på H.U. Sverdrup II straks etter opptak av rammene. LSNT-NP og LSNM-NP ble skylt i destillert vann, ristet og plassert i individuelle plastposer og deretter oppbevart kjølig i kjøleboks (ikke frosset) inntil transport for analyse. POCIS- og SPME-prøvetakerne ble pakket i aluminiumsfolie og plassert i individuelle plastposer og frosset ned i en tett boks. Etter ankomst FFI, ble de plassert i en fryser (< -18 °C) inntil transport for analyse.

3.7 Innhenting av den siste utstyrsrammen i oktober 2023

Ramme 1 kom ikke opp til overflaten da utløseren ble aktivert i desember 2022. Det ble foretatt noen nye «ping» fra H.U. Sverdrup II den 7. januar 2023 og mannskapet fikk da signal tilbake fra rammen som viste at den lå på samme sted som den var satt ut.

HI gjennomførte et tokt i Skagerrak 7.–15. oktober 2023, der de også hadde en ROV om bord. HI kunne i løpet av dette toktet bistå med å hente opp den siste utstyrsrammen som da hadde stått 51 uker i sjøen. To personer fra Sjøforsvarets sikkerhetssenter (SSS) ved Haakonsværn orlogsstasjon hadde ansvaret for sikker håndtering av ramme og ROV som kunne ha vært i kontakt med kjemiske stridsmidler og eventuell rens av disse etter opptak.

Video fra opptakingen viste at to av de tre kjettingfestene til oppdriftskulene var røket, slik at mange av oppdriftskulene var forsvunnet (Figur 3.13). Dette skjedde trolig på grunn av at sjaklene til kjettingen med kulene var underdimensjonert og at noen av oppdriftskulene var implodert og bristet. Oppdriften var derfor ikke stor nok til at rammen kom opp etter at loddet i bunnen var utløst.



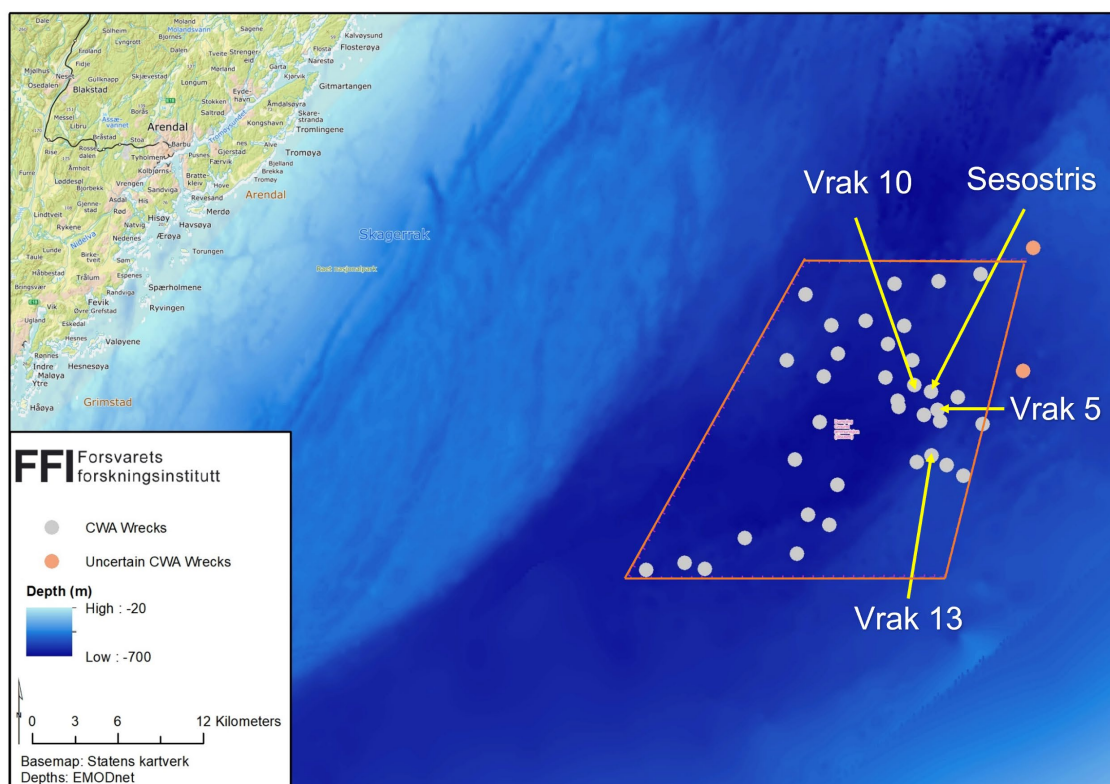
Figur 3.13 Bilde av Ramme 1 fra ROV-videoen som viser at festene til to av de tre kjettingene med oppdriftskuler var røket. Legg merke til reke som hadde samlet seg utenpå skjellteinene (Bilde: HI).

Det kan videre bemerkes til Figur 3.13 at det hadde samlet seg mye reker på skjellteinene. De fleste forsvant på vei opp med ROV-en, men noen kom på dekk og ble artsbestemt av HI til *Atlantopandalus propinquus*. Det ble også observert store mengder reker på vrakene. Reker kan derfor være en aktuell art for senere undersøkelser i Skagerrak.

4 Undersøkelse av tre vrak med en fjernstyrt miniubåt

4.1 Gjennomføring av undersøkelsen

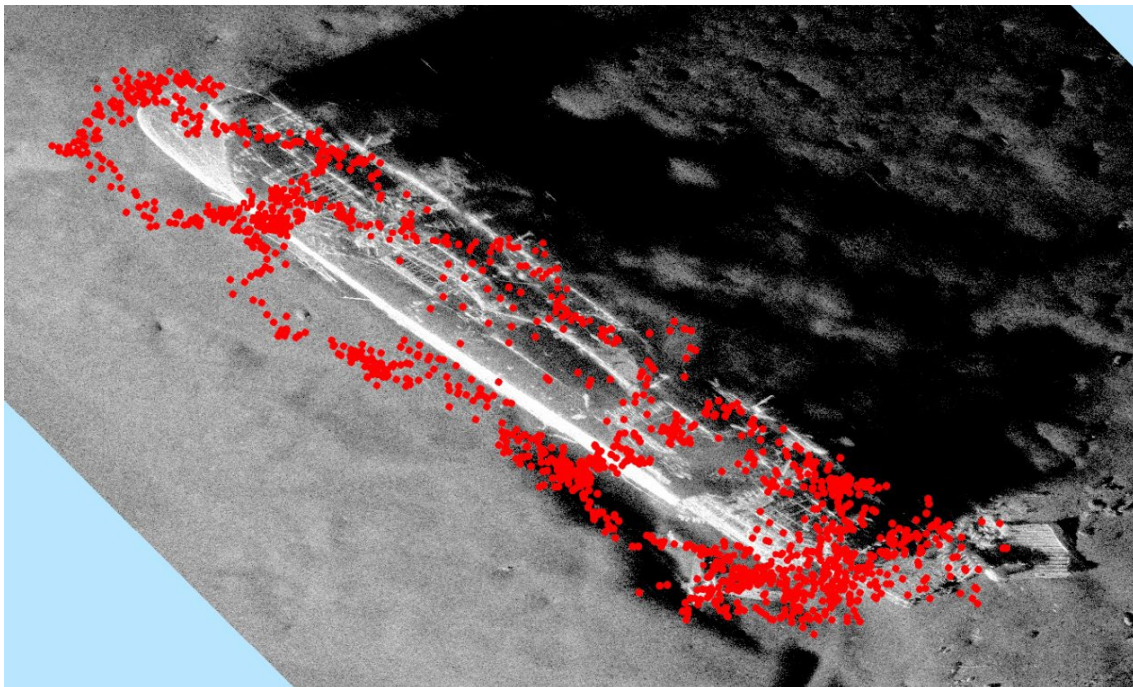
En ROV ble i oktober 2022 benyttet for å gjøre en visuell tilstandsundersøkelse av tre utvalgte vrak, inkludert tilstanden til ammunisjonen på og ved vrakene. Vrakene som ble valgt ut var i prioritert rekkefølge, vrak nr. 13, vrak nr. 5 og vrak nr. 10 (Figur 4.1).



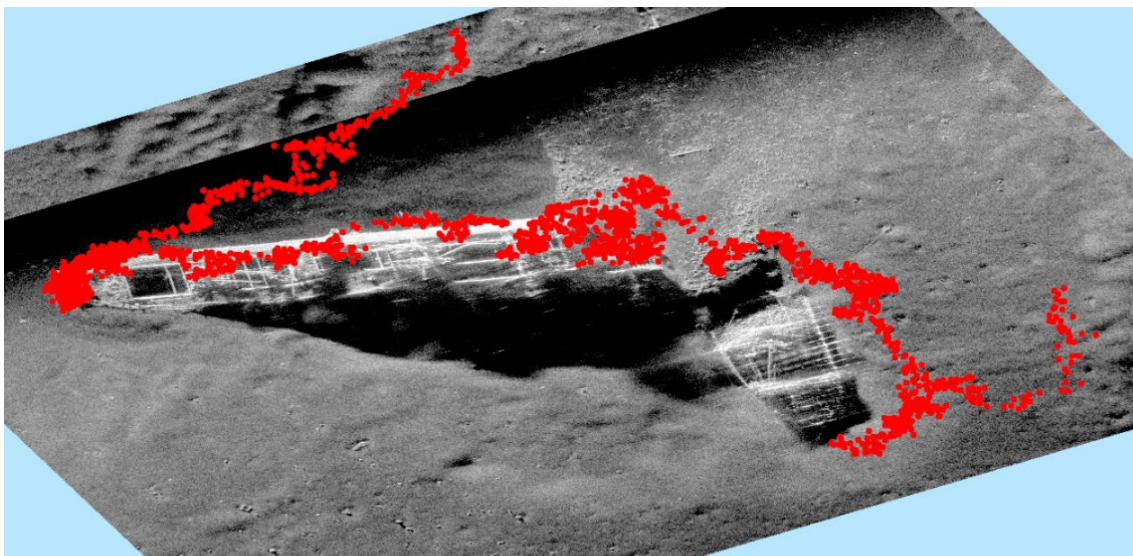
Figur 4.1 Vrakene som ble utvalgt for visuelle undersøkelser med ROV var vrak nr. 13, vrak nr. 5 og vrak nr. 10. Plasseringen til vraket av Sesostris, identifisert i 2002, er også vist. (Kart: FFI).

Formålet med disse undersøkelsene var å få kunnskap om tilstanden til vrakene, hvilke ammunisjonstyper som kunne observeres på og i nærheten av vrakene, graden av korrosjon på denne ammunisjonen, samt hvilke former for marint liv som var til stede på og nær vrakene. En ønsket også om mulig å identifisere skipsnavn på vrakene.

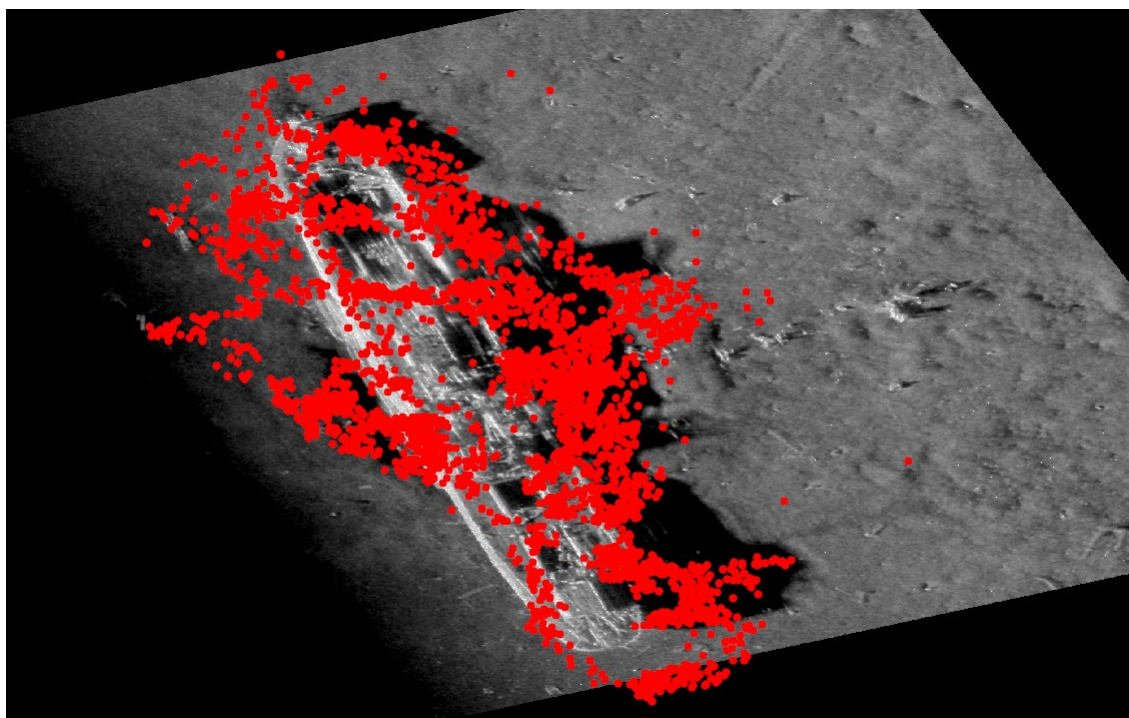
Alle tre vrakene ble undersøkt med kamera montert på ROV ved å kjøre farkosten rundt vrakene som vist i Figur 4.2, Figur 4.3 og Figur 4.4. Observasjonene som ble gjort er beskrevet i delkapitlene 4.2 til 4.6.



Figur 4.2 ROV-undersøkelse av vrak nr. 13. Posisjonen til ROV-en er vist med røde prikker. Prikkene har en liten posisjoneringsfeil som det ikke er korrigert for. (Bilde: FFI).



Figur 4.3 ROV-undersøkelse av vrak nr. 5. Prikkene har en liten posisjoneringsfeil som det ikke er korrigert for. (Bilde: FFI).



Figur 4.4 ROV-undersøkelse av vrak nr. 10. Prikkene har en liten posisjoneringsfeil som det ikke er korrigert for. (Bilde: FFI).

4.2 Forslag til identifikasjon av de undersøkte vrakene

Dataanalytiker Erlend Larsen Bonderud har gått gjennom sonarbilder fra HUGIN og kommet med forslag til identifikasjon av vrakene. Han angir sannsynligheten til 55-74 % for at vrak nr. 13 er Karl Leonard og sannsynligheten til 75-89 % for at vrak 10 er Freiburg. Under ROV-inspeksjonen av vrak nr. 5 ble det observert deler av skipsnavnet, samt at hjemmehavnen var Hamburg. Det vraket med last av kjemisk ammunisjon som passer best med disse opplysningene er D/S Duburg som hadde en netto registervekt på 1572 tonn og var lastet med 3175 tonn kjemisk ammunisjon [16] (Tabell 4.1).

Tabell 4.1 Last av kjemisk ammunisjon sammenlignet med netto registertonasje fra Lloyds register.

Skip	Last av kjemiske våpen (tonn) [16]	Netto registerton ¹ fra Lloyds register ² (tonn)	Lastekapasitet (m ³)
Karl Leonhard	7 256	3676	10 403
Freiburg	5 896	3097	8 765
Duburg	3 175	1572	4 449

¹ Netto register tonnasje er et uttrykk for skipets totale lastekapasitet, der «1 Net Register Ton» (1 NRT) tilsvarer 100 ft³ (2.83 m³).

² Lloyds register 1945-46, www.lr.org

4.3 Tilstanden til vrakene

Det var av interesse å undersøke tilstanden til vrakene og vurdere om det var noen observerbare endringer fra tidligere inspeksjoner. Både vrak nr. 13 og vrak nr. 10 ble undersøkt med ROV i 2002, noe som gjorde en sammenligning mulig. Vrak nr. 5 har ikke vært undersøkt tidligere.

Fra videoundersøkelsen var det ikke mulig å konkludere med at vrakene hadde en vesentlig endring av tilstanden sammenlignet med 2002. Vrak nr. 13 og vrak nr. 5 ble sannsynligvis brutt opp i flere deler som følge av senkningen etter 2. verdenskrig og ikke som følge av korrosjon. Vrak nr. 10 er nokså intakt.

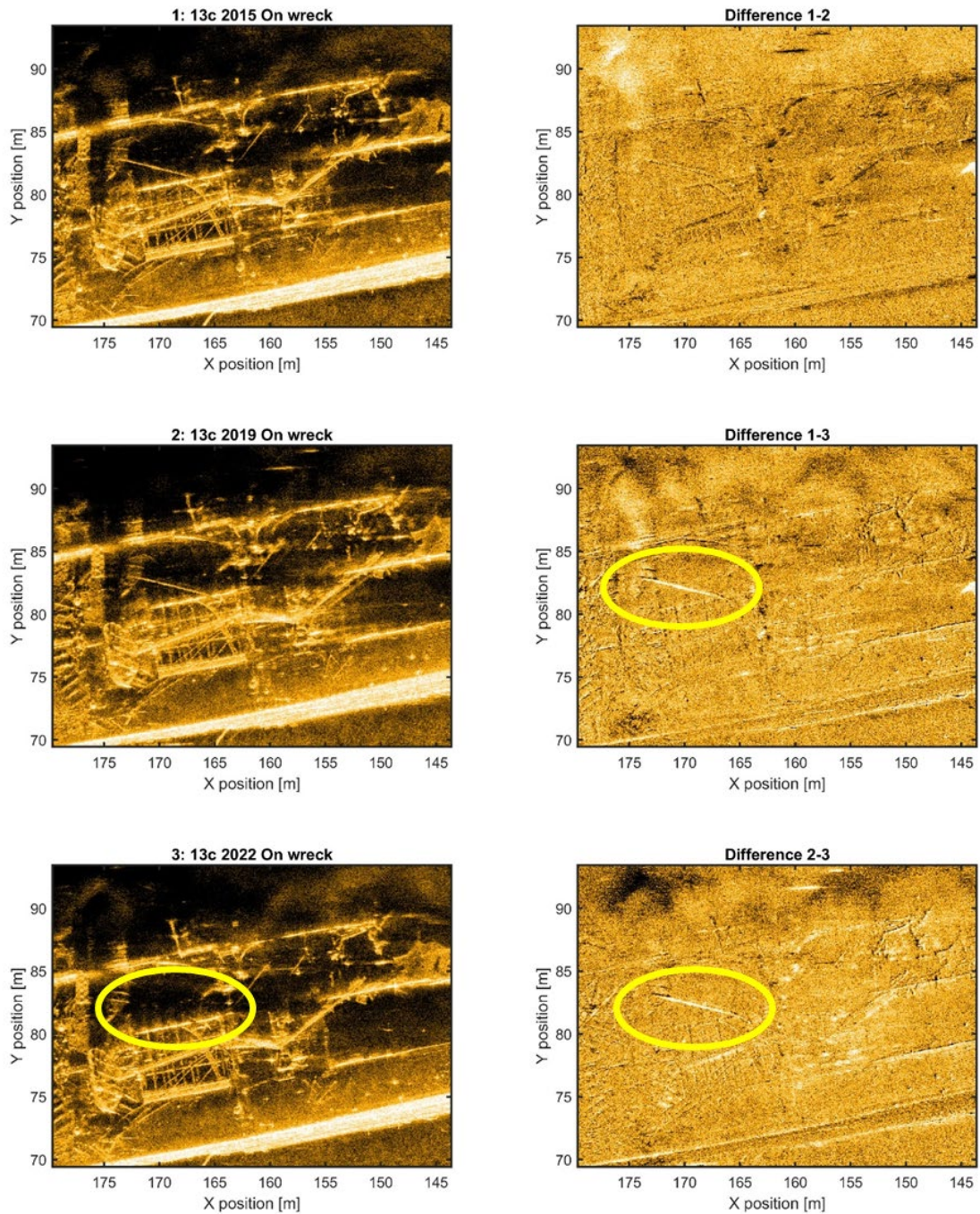
Ved å studere videobilder av noenlunde det samme stedet der baugen til vrak nr. 13 er brutt av, kan det se ut til bruddet var «renere» i 2002 enn i 2022 og at mer vrakgods nå har løsnet fra bruddet og ligger på bunnen ved bruddstedet (Figur 4.5). Det var i 2022 også et tynt lag med sedimenter som dekker vraket og gjorde det litt vanskeligere å se detaljer.



Figur 4.5 Videobilder fra stedet på vrak nr. 13 der baugen er brutt av. Bildet til venstre er fra 2002, mens bildet til høyre er fra 2022. (Bilder: KNM Tyr og Spiro Marine).

FFI har som en del av EU-Interreg prosjektet North Sea Wrecks, utført en evaluering av om HUGIN med Syntetisk Aperture Sonar (SAS) kan benyttes til å oppdage større eller mindre endringer i strukturen av vrakene [17]. Dette ble utført ved å sammenligne data samlet inn fra samme vrak i ulike år. Figur 4.6 viser SAS-bilder fra vrak nr. 13 i 2015, 2019 og 2022 og viser tydelig enkelte små detaljer som har endret seg.

Denne teknikken vil være velegnet til å se endringer i strukturen av vrakene uten å være avhengig av å bruke ROV. Metoden vil kunne benyttes til å overvåke tilstanden til vrakene kostnadseffektivt ved bruk av AUV.



Figur 4.6 Sammenligning av SAS-bilder fra vrak nr. 13 samlet inn i 2015 (øverst), 2019 (midten) og 2022 (nederst). Endringene er vist til høyre. Endringen avmerket med gul oval er en stang eller lignende fra f.eks. mast, lastekran eller reling som finnes i bildene fra 2015 og 2019, men som er borte i 2022 [17,18].

4.4 Ammunisjonstyper på og rundt vrakene

Baltic Marine Environment Protection Commission innenfor Helsinkikommissjonen (HELCOM) har i sin rapport fra 2013 beskrevet de vanligste typene av tysk kjemisk ammunisjon som ble benyttet under andre verdenskrig [19]. Disse er vist i Tabell 4.2.

Tabell 4.2 Ammunisjonstyper brukt i tyske kjemiske våpen [19]. Vekten av stridsmiddel (nettovekten) avhenger av type kjemisk innhold. Vektforholdet angir andel stridsmiddel av totalvekten.

Ammunisjons- type	Bruttovekt (Kg)	Nettovekt (Kg)	Vektforhold (%)	Kjemisk innhold
75 mm infanterigrana	5	1,4	28	α -kloracetofenon
105 mm felthaubitser- granat	13-15	0,5-1,8	<14	Adamsitt/Clark I/ClarkII/ arsinolje, svovelsenepstrids- middel, tabun og taktiske blandinger av disse
150 mm felthaubitser- granat	37-42	1,5-4,8	<13	Samme som 105 mm granater + nitrogensenepstridsmiddel
100 mm bombekaster- granat	7	1,5	21	Svovelsenepstridsmiddel i taktiske blandinger med Clark I og II
150 mm rakett	35	3,1-4,6	13	Svovelsenepstridsmiddel/tabun/ nitrogensenepstridsmiddel
Sprühbüchse 37 (mine)	>12	10 liter	Høyt	(Fortykket) svovelsenepstridsmiddel
KC 50 bombe	43	13-15	30-35	Adamsitt
KC 250 bombe	140-146	86-110	60-75	(Fortykket) sennepstridsmiddel, også i taktiske blandinger med Clark I og II/ α -kloracetofenon/ tabun/ fosgen

Videomaterialet fra ROV-inspeksjonen av de tre vrakene (vrak nr. 5, vrak nr. 10 og vrak nr. 13) ble gjennomgått for å registrere hvilke ammunisjonstyper som kunne observeres. Vi fikk god hjelp av ammunisjonsekspert Uwe Wichert i Tyskland til dette arbeidet. Observasjonene er basert på gjennomgang av et redigert videomateriale. Det er derfor ikke sikkert disse representerer all ammunisjonen om bord. De observerte bombene synes hovedsakelig å være av typen KC 50 og KC 250 (se Tabell 4.2), mens granatene kan være av kaliber 105 mm og 150 mm.



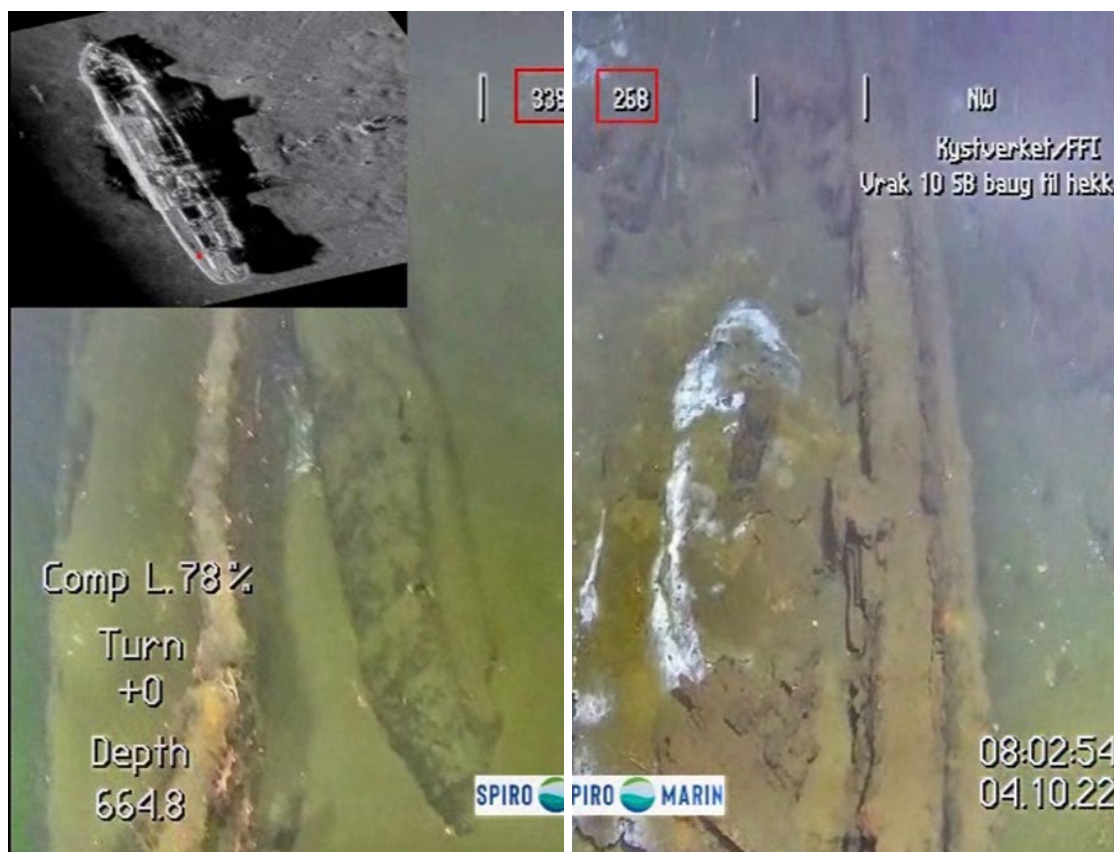
Figur 4.7 Vrak nr. 5 med observert 10 liter kjemisk mine (Sprühbüchse 37) [20] (venstre) og trekasser med 105 mm granater [21] (høyre). (Bilder: Spiro Marine).



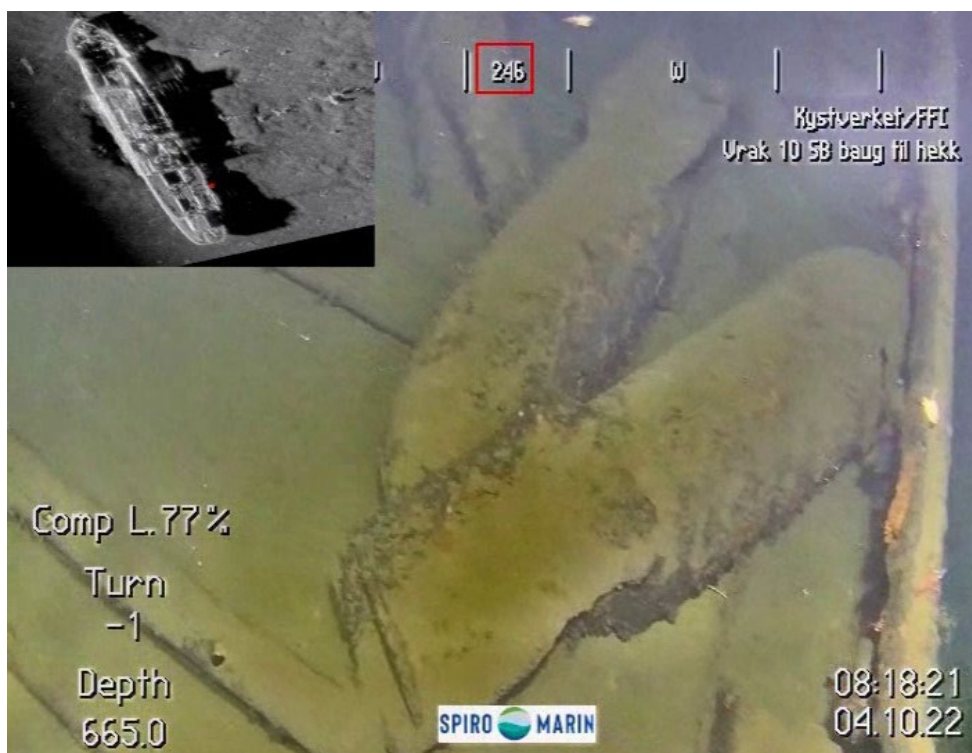
Figur 4.8 Vrak nr. 5 med observerte 105 mm (venstre rød pil) og 150 mm (høyre rød pil) granater. (Bilde: Spiro Marine).



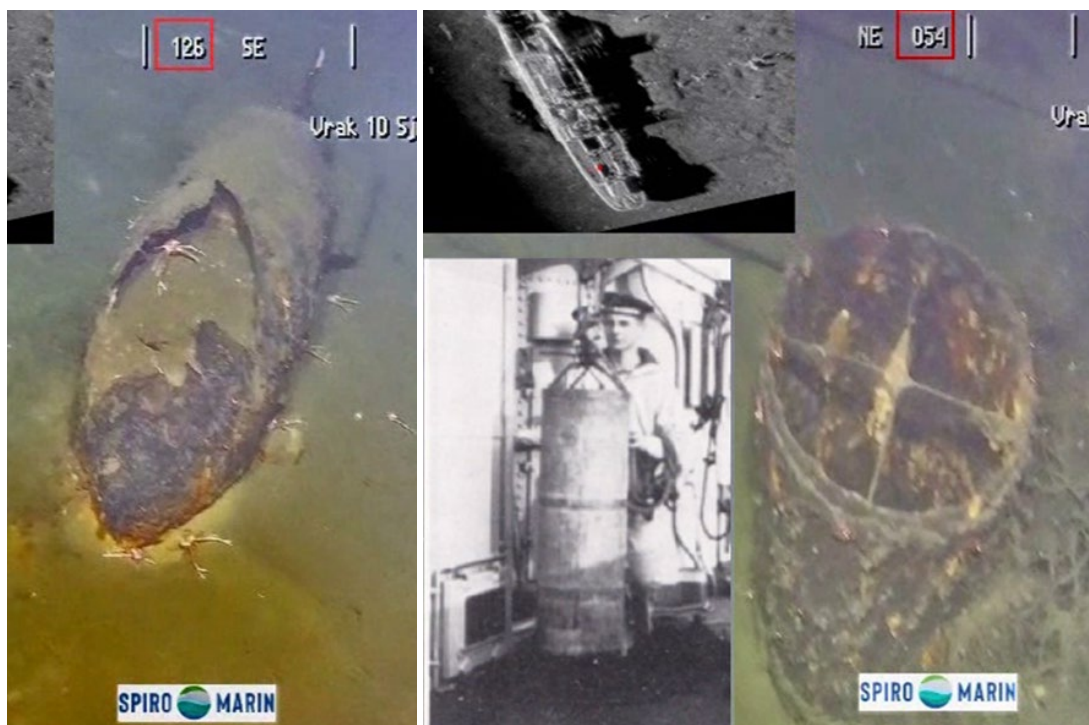
Figur 4.9 Vrak nr. 10 med KC 250 bombe [22] (venstre) og en mulig 150 mm granat (høyre). (Bilder: Spiro Marine).



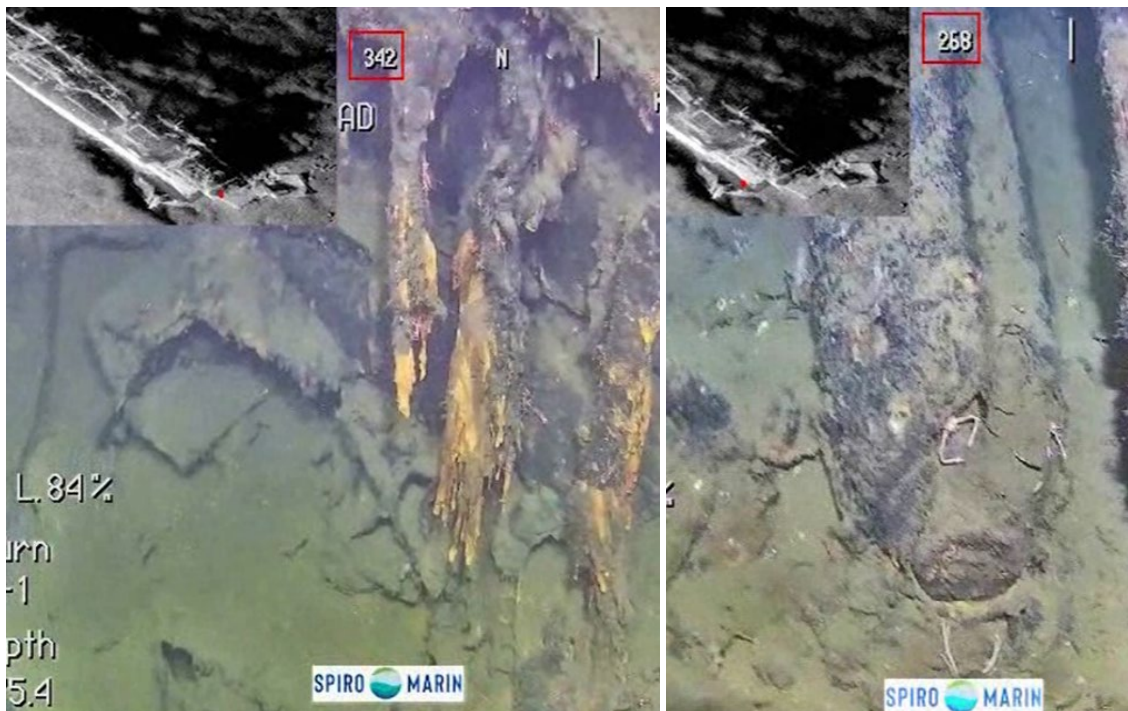
Figur 4.10 Vrak nr. 10 med mulig KC 50 bombe (venstre) og 105 mm granat til høyre. (Bilder: Spiro Marine).



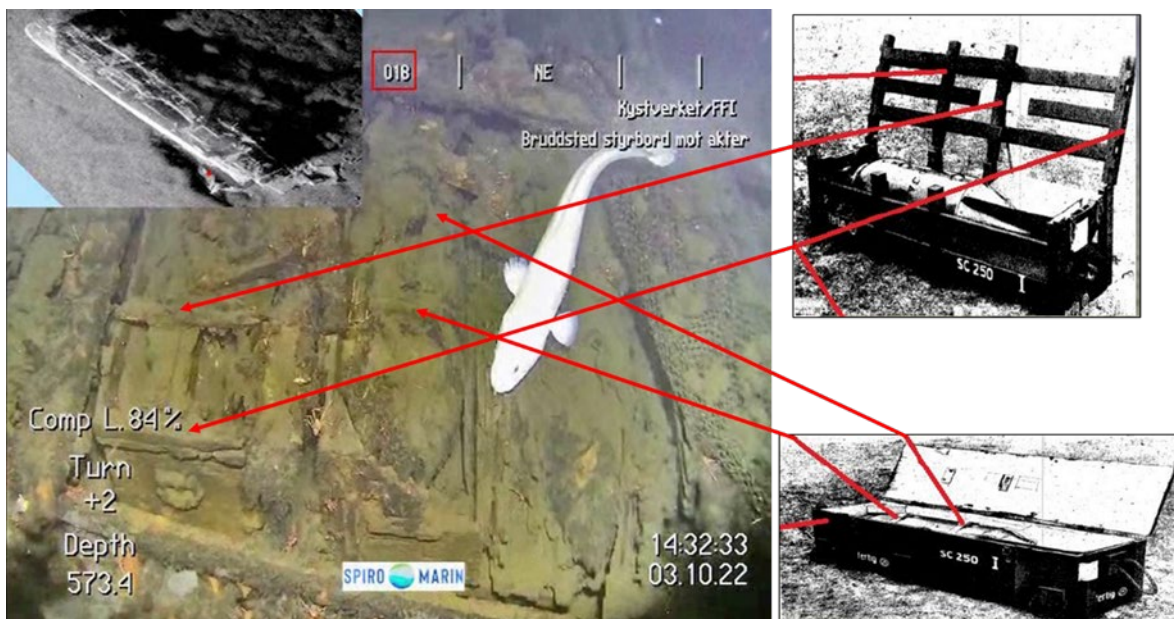
Figur 4.11 Vrak nr. 10 med KC 250 bomber. (Bilde: Spiro Marine).



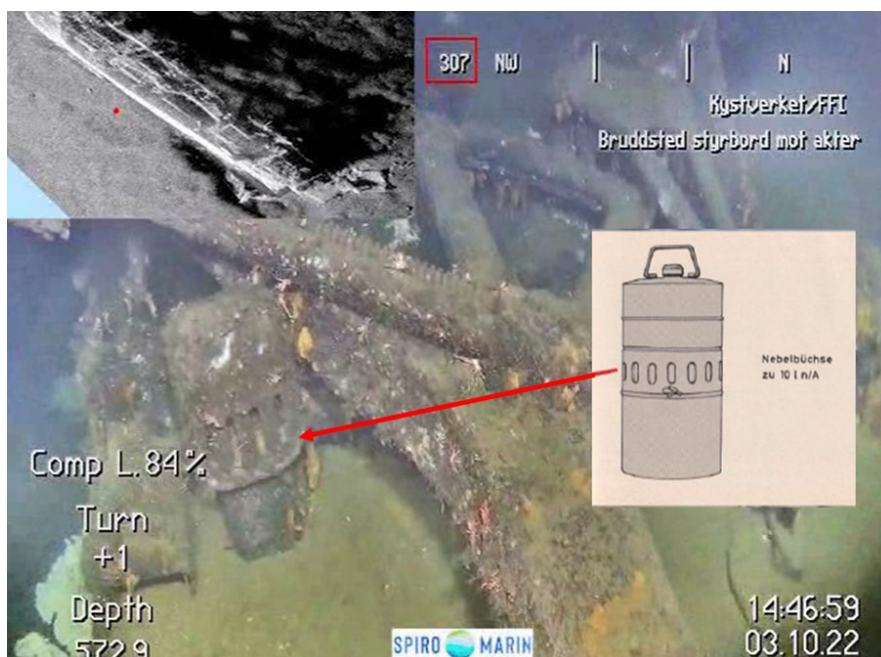
Figur 4.12 Vrak nr. 10 med KC 250 bombe (venstre) og transportcontainer for 105 mm granater (høyre) benyttet til å løfte ammunisjonen opp fra lasterommet [23]. Legg merke til krepsdyret inne i bomba til venstre. (Bilde: Spiro Marine).



Figur 4.13 Vrak nr. 13 med KC 250 bomber (venstre) og mulig KC 50 bombe (høyre). (Bilde: Spiro Marine).



Figur 4.14 Vrak nr. 13 med KC 250 bomber i «Lattencontainer» av tre (venstre på bildet) og i trekasser (høyre på bildet) [24]. (Bilde: Spiro Marine).



Figur 4.15 Vrak nr. 13 med røykboks (Nebelbüchse), vanligvis uten innhold av kjemiske stridsmidler (CWA) [25]. (Bilde: Spiro Marine).



Figur 4.16 Vrak nr. 13 med KC 250 bombe (til venstre) og KC 50 bombe (til høyre). (Bilde: Spiro Marine).

I tillegg til ammunisjon, ble det også observert flere 900 liters tanker (Nachschubbehälter) brukt til transport av kjemiske stridsmidler [26] i et av lasterommene på vrak nr. 10. Beholderne var laget av 3-5 mm stål og ble kun i liten grad benyttet under andre verdenskrig. De ble derfor fylt med kjemiske stridsmidler og dumpet i havet etter krigen [27].



Figur 4.17 900 liters tanker brukt til transport av kjemiske stridsmidler (Nachschubbehälter) [26] observert i et av lasterommene på vrak nr. 10. (Bilde: Spiro Marine).

På vrak nr.10 ble det observert et hvitt belegg på flere av bombene i samme lasterom (Figur 4.18), mens andre bomber ikke hadde noe slikt belegg. Dette belegget er sannsynligvis kolonier av mikroorganismer som lever av noe på eller ved bombene. Årsaken til at de kun ble observert enkelte steder er ukjent. Belegget ligner det som omtales som mikrobielle matter eller biofilmer¹ som tidligere er observert på skipsvrak på dypt vann [28]. Det er foretatt artsbestemmelse av en lang rekke mikroorganismer rundt vrak med ammunisjonslaster i Østersjøen og Nordsjøen. Det ble her identifisert organismer som er med på å bryte ned forbindelser i ammunisjonen, som sennepstridsmiddel i Østersjøen [29] og polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH) i Nordsjøen [30].

¹ Se for eksempel: <https://ocean.si.edu/ocean-life/microbes/marine-microbes>.



Figur 4.18 Bomber på vrak nr. 10 belagt med et hvitt belegg som sannsynligvis er mikroorganismer. (Bilde: Spiro Marine).

4.5 Grad av korrosjon av ammunisjonen

Det ble observert både tilsynelatende intakt ammunisjon og gjennomrustet ammunisjon på vrakene. Dette gjaldt særlig bomber som er antatt å ha hatt en skalltykkelse på om lag 1,6 mm [31]. De artillerigranatene som ble observert var tilsynelatende ikke gjennomrustet. Slike artillerigranater hadde en høyere skalltykkelse, fra 10-15 mm og oppover [31] og trenger derfor lengre tid til gjennomrusting enn bombene. En årsak til ulik korrosjon kan også være at noen av de kjemiske stridsmidlene er mer korrosive enn andre. Disse vil kunne angripe metallet fra innsiden og øke korrosjonshastigheten.

Ammunisjonen ble, ifølge RPS Consultants Ltd, aldri fylt helt opp med kjemiske stridsmidler [31]. Ifølge beregninger gjort av RPS, vil de fleste bomber av typen KC 250 III Gr implodere og åpnes på et trykk tilsvarende 732 m havdyp. Dette er omtrent det samme som den dypeste delen av dumpfeltet i Skagerrak. Noen av de observerte bombene synes å være sammentrykket og kan derfor være revnet, noe som kan ha ført til at en del av innholdet lekket ut allerede som en følge av dumping i 1945-47.

4.6 Observasjoner av marint liv

HI gjennomfører årlige bunntåletokt etter dypvannsreke i Skagerrak og Norskerenna for å overvåke rekebestanden. Under disse toktene blir det også registrert hvilke andre arter som blir funnet. En av de faste stasjonene (trålestasjon nummer 103) ligger like vest for dumpfeltet i Skagerrak (posisjon 58° 21,6'N 09° 24,2'E), mens en annen stasjon (trålestasjon nummer 77) ligger sørøst for dumpfeltet (posisjon 58° 07,3'N 09° 53,5'E).

Under toktet i 2020, ble det funnet ni arter med forekomst i mer enn 70 % av alle 111 trålestasjonene i Norskerenna og Skagerrak. Forekomstfrekvensen (1 tilsvarer 100 % av stasjonene) av de ulike artene i trålestasjonene var [32]:

Øyepål	0,99
Dypvannsreke	0,91
Blekkspruter	0,87
Gapeflyndre	0,87
Svarthå	0,87
Makrell	0,85
Glassreker	0,81
Havmus	0,79
Vassild	0,70

Det er angitt at blålange, breiflabb, havmus, hvitting, hyse, kolmule og kveite er de viktigste rekepredatorene i området med en fangstrate på mer enn 11 kg/NM.

Mareano er et nasjonalt, tverrfaglig program for kartlegging av havbunnen i norske havområder. De gjennomfører årlig flere tokt til ulike områder langs norskekysten. Under Mareanotokt 2023 leg 2, 13-15 juli 2023, ble det i det dypeste området i Skagerrak observert trollhummer, ulike sjøfjær, reker, langpigget kråkebolle, slimål, skolest og rundskate [33].

I nærheten av de vrakene i Skagerrak som ble inspisert som en del av denne rapporten, ble det i 2022 observert reker, trollhummer, skolest, brosme, sei, skate, breiflabb og lysing.

5 Opparbeidelses- og analysemetodikk

5.1 Skjell (blåskjell og kjempefilskjell)

De innhentede skjellene ble analysert med hensyn på

- Skjelltilstand av HI
- Innhold av metaller av HI (referanseskjell fra Drøbak, Ramme 2 og Ramme 3) og FFI (Ramme 1)
- Innhold av eksplosiver av Military University of Technology (WAT), Polen og University of Helsinki – Verifin (UH-VERIFIN)
- Innhold av kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser av WAT og UH-VERIFIN

5.1.1 Homogenisering og forsendelse av prøver til analyse

Før prøvene ble sendt til analyse, ble de opptint fra frossen tilstand og homogenisert ved hjelp av en stavmikser. Stavmikseren ble rensert med rent vann mellom hver prøve. Om lag 20 g av hver prøve ble pakket i aluminiumsbeger med aluminiumsfolie som lokk og plassert i hver sin plastpose med lynlås. Prøvene ble deretter transportert til WAT og UH-VERIFIN nedkjølt med tørris. Det var fremdeles tørris igjen i pakkene ved ankomst.

De levende skjellene ble pakket i en isolasjonskasse med fryseelementer i bunnen med et isolerende lag av bobleplast over. Deretter ble det lagt et lag av fuktig papir før skjellene ble plassert med en våt handduk over seg. På toppen var det tilstrekkelig bobleplast til at det ble et press på skjellene når lokket på isolasjonskassen ble lukket. Skjellene ble sendt over natt med Posten til HI i Bergen for histologisk analyse. Levende skjell fra Ramme 1 ble oppbevart på fartøyet G.O. Sars inntil de ankom Bergen etter ca. 2 ½ døgn.

5.1.2 Tilstanden til skjellene

Innholdet i skjellene ble veid etter å ha stått 10 eller 51 uker i sjøen (Tabell 5.1). Skjellene ble ikke veid før utsetting i sjøen. Vi har derfor ikke informasjon om vektforandring de første 10 ukene. Ifølge HI, gir ikke vektforandring noe godt bilde av tilstanden til skjellene siden vekten vil være sterkt avhengig av vanninnholdet i skjellene når de veies [34]. Noen av skjellene ble derfor valgt ut og sendt levende til HI der de ble obdusert ved mottak. Det ble deretter gjennomført en histologisk undersøkelse av skjellene som beskrevet i Vedlegg A.

Tabell 5.1 Vekt av skjellinnmat etter opptak.

Ramme nr.	Skjelltype	Tid i sjøen (uker)	Antall skjell	Vektspenn (g)	Middelerdi ± Stdav (g)
1	Blåskjell	51	14	3,5 – 12,5	6,64 ± 2,44
2	Blåskjell	10	27	2,14 – 9,18	5,30 ± 1,95
3	Blåskjell	10	25	1,91 – 9,22	5,69 ± 2,27
1	Kjempefilskjell	51	7	20,0 – 40,1	29,8 ± 7,62
2	Kjempefilskjell	10	16	9,52 – 37,52	18,1 ± 6,85
3	Kjempefilskjell	10	7	8,79 – 26,41	16,1 ± 6,38

5.1.3 Innhold av metaller

Skjellprøvene fra Ramme 1 ble analysert med hensyn på metaller ved FFI, mens prøvene fra Ramme 2 og Ramme 3 ble analysert ved HI.

Ved FFI ble ca. nøyaktig 0,5-0,7 g (våtvekt) av den homogene massen veid ut, og en representativ prøve ble sikret ved å ta ut 5–8 delprøver forskjellige steder i prøven. Hver prøve ble oppsluttet og analysert i triplikater. Prøvene ble tilsatt 7 ml HNO₃ (67 % Suprapure) og oppsluttet ved 220 °C i 10 minutter i UltraWave (Milestone). Sammen med prøvene ble det analysert en blank prøve samt et sertifisert referansmateriale (RYE GRASS, ERM-CD281). Oppsluttede prøver ble fortynt med ultrarent vann og analysert for metaller med induktivt koblet plasma-massespektrometri (ICP-MS) (iCap TQ, Thermo Scientific).

Metallene ble kvantifisert ved å benytte en fempunkts kalibreringskurve. Sertifiserte referanseløsninger (TM-25.4 og PERADE-09, Environmental Canada) ble analysert samtidig med prøvene for å sikre nøyaktighet. En internstandard ble injisert sammen med prøvene for å sikre høy presisjon.

HI benyttet internt metodenummer 197 som er mikrobølgeassistert oppslutning med konsentrert HNO₃ i en UltraWave (Milestone) og analyse med iCap Q ICP-MS (Thermo Scientific).

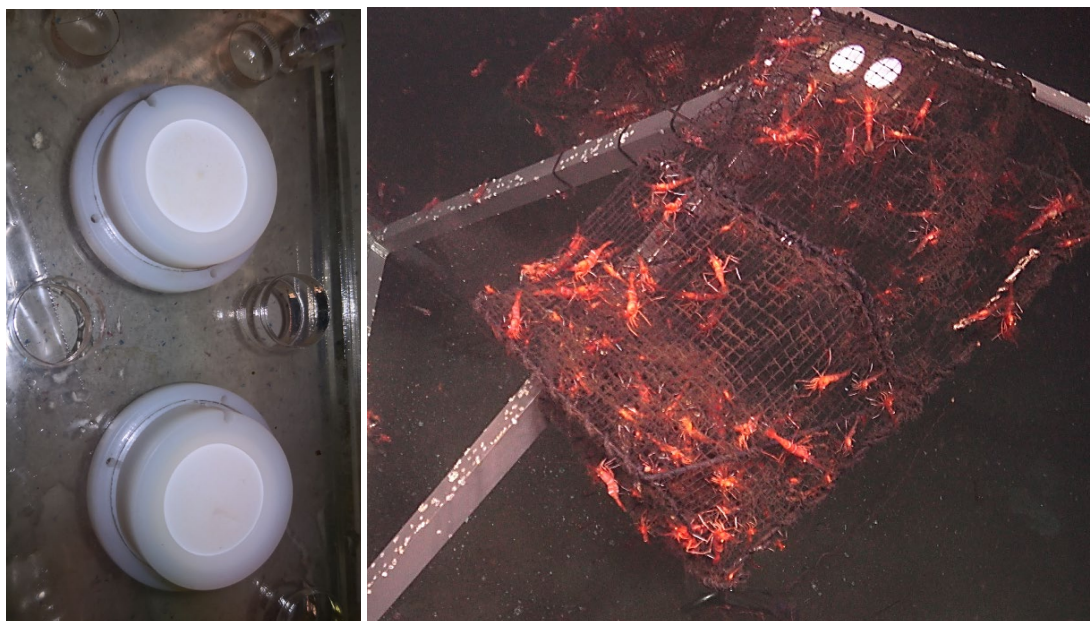
5.1.4 Innhold av eksplosiver, kjemiske stridsmidler og nedbrytningsprodukter fra kjemiske stridsmidler

Innholdet av 26 ulike eksplosiver, kjemiske stridsmidler og noen av deres nedbrytningsprodukter ble bestemt i kloroformekstrakt av innmaten i skjellene ved hjelp av gasskromatografi-tandem massespektrometri (GC-MS/MS) både direkte og etter derivatisering. Ekstraksjonsmetoden er beskrevet i Vedlegg C. I tillegg ble innholdet av fire polare forbindelser bestemt i acetonitrilekstrakt ved hjelp av væskechromatografi-tandem massespektrometri (LC-

MS/MS) eller væskechromatografi-høyoppløselig massespektrometri (LC-HRMS). Resultatene fra disse analysene, inkludert deteksjonsgrenser og kvantifiseringsgrenser er gitt i Vedlegg C.1 for analyser utført i april 2023 og i Vedlegg C.2 for analyser utført i desember 2023.

5.2 Passive prøvetakere

De passive prøvetakerne av typene LSNM-NP, LSNT-NP og POCIS var lite begrodd etter oppholdet i sjøen (Figur 5.1). Pølsene med de passive prøvetakerne SPMD-EWL var noe mer begrodd på utsiden.



Figur 5.1 De passive prøvetakere for metaller av typen LSNM-NP og LSNT-NP (venstre) og for organiske forbindelser, POCIS (høyre), var lite begrodd etter ett år i sjøen. Legg også merke til rekene som var både inne i og på utsiden av teina. (Bilder: FFI og HI).

Ekstraksjon av LSNM-NP og LSNT-NP ble utført i henhold til prosedyre beskrevet av DGT Research. For begge typene ble bindingslaget fjernet og lagt i et 50-ml prøverør. LSNM-NP ble tilsatt 3 ml 1 M HNO₃ (laget av 67 % suprapure HNO₃ løsning og ultrarent vann) og ble hensatt i ca. 24 timer, deretter ble restene av bindingslaget fjernet, og løsningen fortynnet til 15 ml med ultrarent vann. LSNT-NP bindingslaget ble først tilsatt 5 ml ultrarent vann, og hensatt i 1 time. Vannet ble deretter fjernet, og bindingslaget ble tilsatt 3 ml 1 M NaOH løsning (laget av NaOH pellets og ultrarent vann). Etter ca. 24 timer ble bindingslaget fjernet og løsningen ble nøytralisert med 1 M HNO₃ og fortynnet til 15 ml.

Analyse av metaller ble utført med induktivt koplet plasma massespektrometer («inductively coupled plasma mass spectrometry», ICP-MS) (iCap TQ, Thermo Fischer Scientific). Metallene ble kvantifisert ved å benytte en fempunkts kalibreringskurve. Sertifiserte referanseløsninger

(TM-25.4 og PERADE-09, Environmental Canada) ble analysert samtidig med prøvene for å sikre nøyaktighet. En internstandard ble injisert sammen med prøvene for å sikre høy presisjon.

De passive prøvetakerne ble analysert med hensyn på V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Cd, Sb og Pb. Av disse ble Cu, Zn, As, Cd, Sb og Pb ansett som relevante for dumpet ammunisjon. Deteksjonsgrensene for metoden ble beregnet for et gjennomsnitt av blanke prøver (ultrarent vann) + standard blanke prøver og var for disse metallene:

Cu: 5 ng/prøvetaker
Zn: 170 ng/prøvetaker
As: 13 ng/prøvetaker
Cd: 0,9 ng/prøvetaker
Sb: 16 ng/prøvetaker
Pb: 21 ng/prøvetaker

Siden prøvetakerne hadde stått utplassert i sjøen i varierende tidsrom fra 10 uker (Ramme 2 og Ramme 3) til 51 uker (Ramme 1), og det er usikkert når eller om en likevekt oppstår, ble mengdene gjenfunnet fra prøvetakerne ikke omregnet til vannkonsentrasjon.

POCIS og SPME prøvetakerne ble kun skylt med sjøvann før pakking og forsendelse til UH-VERIFIN for analyse. De ble ekstrahert med to ganger 25 ml LC-MS kvalitet acetonitril ved hjelp av en Vortex mikser og tørket over natten med vannfri natriumsulfat ved 20 °C. Separate porsjoner av ekstraktene ble analysert ved hjelp av LC-MS både uderivatisert og etter oksidasjon med hydrogenperoksid, samt ved hjelp av GC-MS både uderivatisert og etter derivatisering med propyltiol eller N,O-Bis(trimetylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA) (nærmere beskrivelse er gitt i Vedlegg C.3).

5.3 Svamp

Svampen ble plassert i en nettingkurv montert på Ramme 1, og ble forsøkt tatt opp i oktober 2023. På grunn av høy sjøgang under opptaket, falt svampen ut av nettingkurven da rammen var nær overflaten og kunne derfor ikke analyseres nærmere.

5.4 Plaststav med påvisningspapir

Gummi kan være et materiale som absorberer kjemiske stridsmidler godt. Gummikorken som lå under påvisningspapiret brukt for å undersøke innholdet i en åpen bombe på havbunnen (se kapittel 3.4) ble derfor analysert ved WAT, Polen. Korken ble ekstrahert med kloroform og analysert på samme måte som skjellene (se 5.1.4).

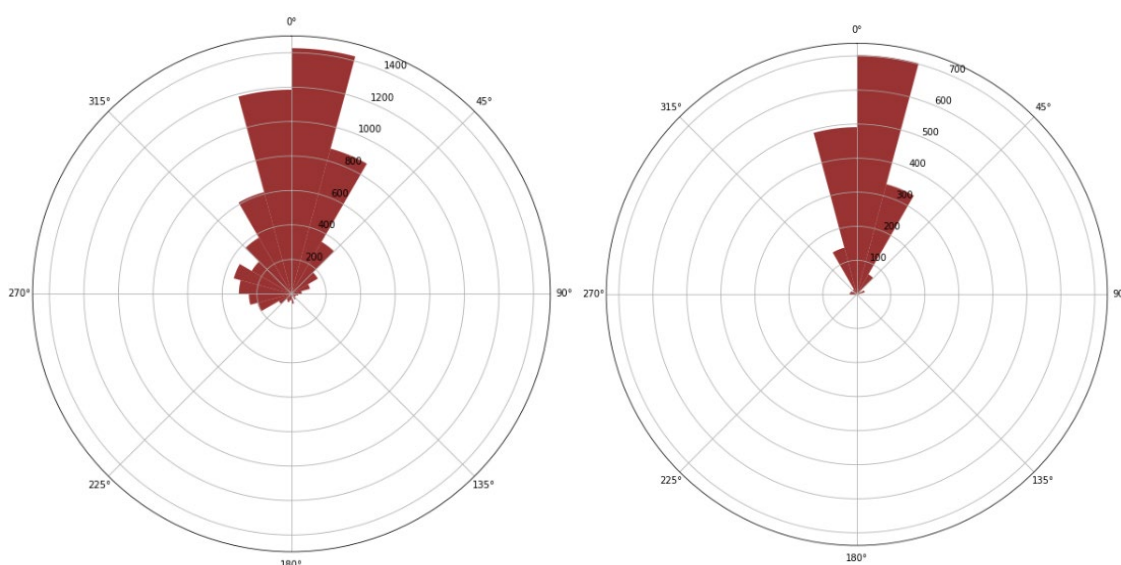
5.5 Prøver av fisk og skaldyr fra Havforskningsinstituttets bunntåltokt

Det ble valgt ut tre prøver fra HIs bunntåltokt etter reker gjennomført i 2022 like vest for dumpefeltet. Prøvene ble analysert sammen med skjellprøvene ved WAT i Polen i desember 2023 med hensyn på eksplosiver, kjemiske stridsmidler og noen av deres nedbrytningsprodukter. Disse prøvene var skolestlever, dypvannsreker (hele reken ble most) og trollhummer (hele hummeren ble most).

6 Resultater

6.1 Strøm nær bunnen

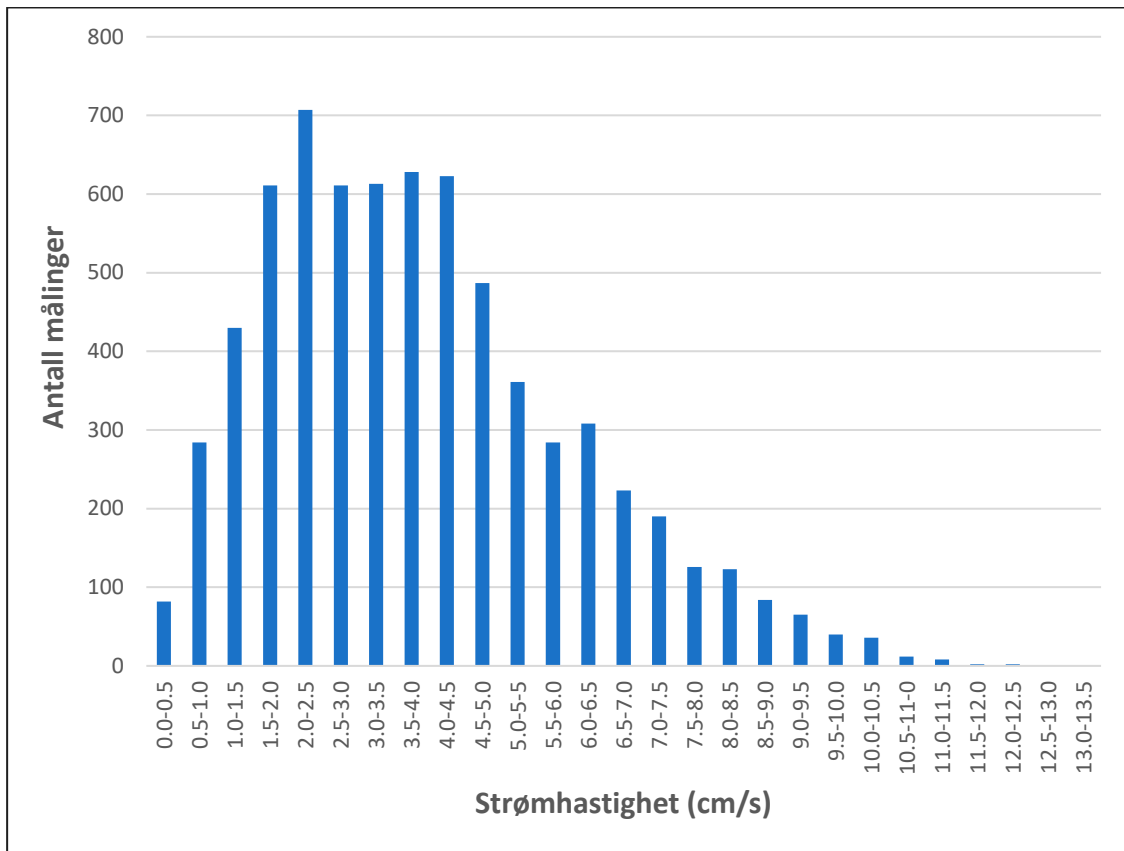
Resultatene fra strømmåleren som ble satt ut ved vrak nr. 13 viste at strømretningen var hovedsakelig nordlig, men med noe mer variasjon i de laveste strømhastighetene (Figur 6.1). Måleren viste en laveste strømhastighet på 0,05 cm/s og en høyeste strømhastighet på 13,3 cm/s med et gjennomsnitt på 3,91 cm/s og en medianverdi på 3,61 cm/s i perioden 3. oktober–15. desember 2022.² Det ble registrert en måling hvert 15. min og disse er vist som stolpediagram i Figur 6.2.



Figur 6.1 Strømretninger ved vrak nr. 13. Figurene viser alle datapunkter (venstre) og datapunktene over 5 cm/s (høyre). (Figur: FFI).

Havstrømmene går hovedsakelig moturs, det vil si nordøstover i sørlige deler og sørvestover i nordlige deler av Skagerrak. I den sentrale delen av Skagerrak er havstrømmene svakere og har en mer varierende retning [35]. Dette stemmer med observasjonene fra den utplasserte strømmåleren (Figur 6.1). Den målte strømhastigheten (Figur 6.2) er tilsvarende det som er rapportert fra den dypeste delen av Skagerrak tidligere (5–10 cm/s) [3,36].

² Ett målepunkt på 17.6 cm/s er fjernet fra datasettet.



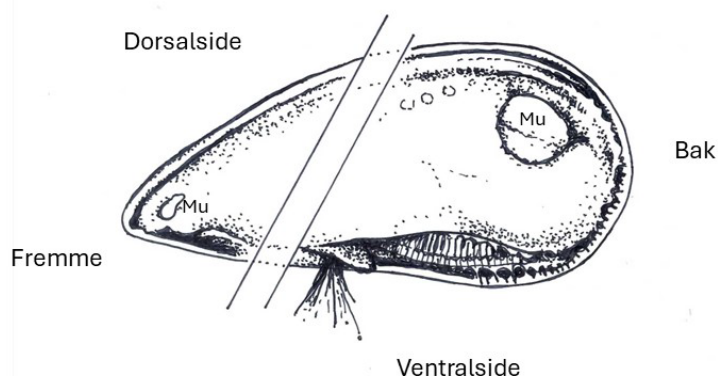
Figur 6.2 Antall målinger med ulike strømhastigheter uavhengig av retning ved vrak nr. 13 i perioden 3. oktober – 15. desember. (Figur: FFI).

6.2 Tilstanden til skjellene

6.2.1 Blåskjell

Det var liten forskjell i vekten av innmaten i blåskjellene fra 10 uker i sjøen (desember 2022) til 51 uker i sjøen (oktober 2023) (Tabell 5.1). Det ble observert at innmaten i skjellene etter 51 uker så magrere ut enn etter 10 uker.

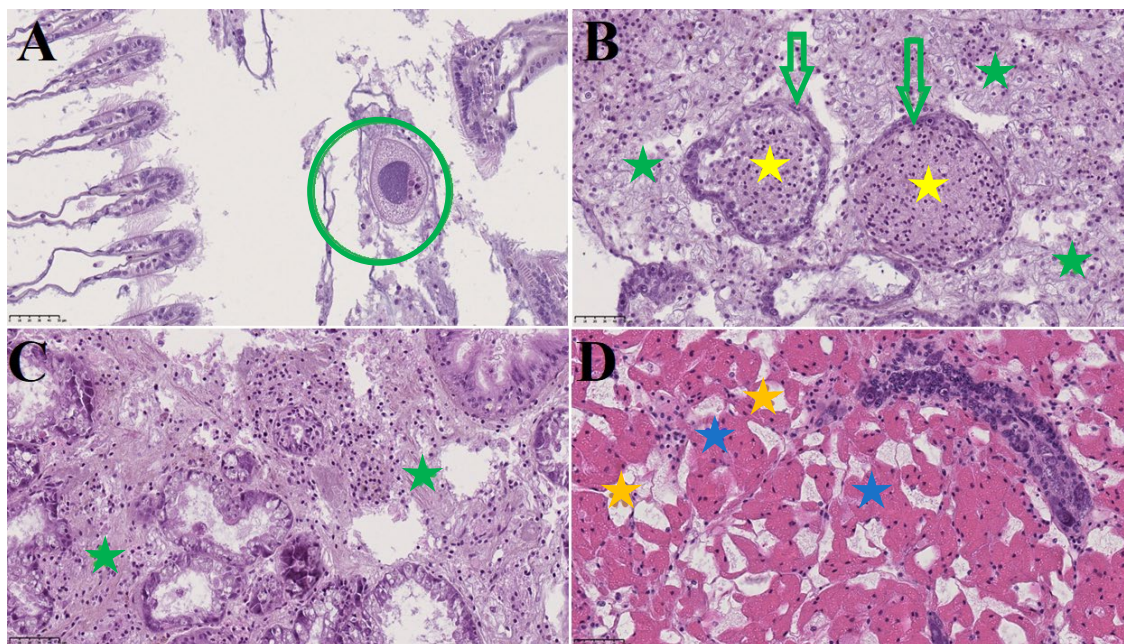
Det ble foretatt histologisk undersøkelse av tilstanden til seks blåskjell fra Ramme 1 (51 uker), fire fra Ramme 2 (10 uker) og fire fra Ramme 3 (10 uker). Det ble utført et dorsoventralt snitt som vist i Figur 6.3. Skjellene var åpne ved mottak, og hadde sluppet vannet. Funnene fra undersøkelsen er vist i Vedlegg A.1.



Figur 6.3 Fra hvert blåskjell ble det tatt ut en seksjon vev (dorsoventralt snitt) som inneholder både fordøyelsesvev, lagringsvev, kappe og gjeller). Mu er lukkemuskel. Snittene ble prosessert, farget og mikroskopert for å kunne vurdere vevenes tilstand (Illustrasjon Stein Mortensen, HI).

Blåskjellene fra Ramme 2 og Ramme 3 som hadde stått ute i 10 uker, så ut til å være svekket og i relativt dårlig tilstand, med lys fordøyelseskjertel (som er et tegn på at skjellet ikke tar til seg føde eller er svekket). Lagringsvevet er imidlertid normalt (D i Figur 6.4) Skjellene var inne i en prosess der de bruker all tilgjengelig opplagsnæring og derfor avmagres. Det er normalt at blåskjell bygger ned fordøyelsesvevet i perioder med lite fødetilgang, men at dette kan bygges opp igjen når fødetilgangen øker [34]. Det er ikke mulig å se om skader og endringer i vev er et resultat av påvirkning fra ammunisjonen eller på grunn av feil miljø.

Etter 51 uker i sjøen var fordøyelsesvevene passive, nedbygget og relativt oppløst (A-C i Figur 6.4). De skiller ut vakuoler, kanskje for å kvitte seg med nedbygget cellemateriale. Dette er sannsynligvis en respons på stress og mangel på føde. Skjellene var i live etter 51 uker, men i disse skjellene er det omfattende nekoser og celledød i folliklene.



Figur 6.4 *A* viser gjellevev fra blåskjell etter 51 ukers nedsenking. Grønn sirkel viser en ciliat. *B* viser follikler (grønne piler) fylt med hemocytter og nekrotisk materiale (gul asterisk). Bindevetet er tett og det er dannelse av fibrinøst materiale (grønn asterisk) og forhøyet hemocytaktivitet. *C* viser at lagringsvevet (VCT) er tomt og ser nedbygget ut, erstattet med fibrinøst materiale (Grønn asterisk); *D* viser tilsvarende område som *C* fra blåskjell som har vært nedsenket i 10 uker. Her er lagringsvev (ADG (Blå asterisk) og VCT (Orange asterisk) normalt. (Bilde: HI).

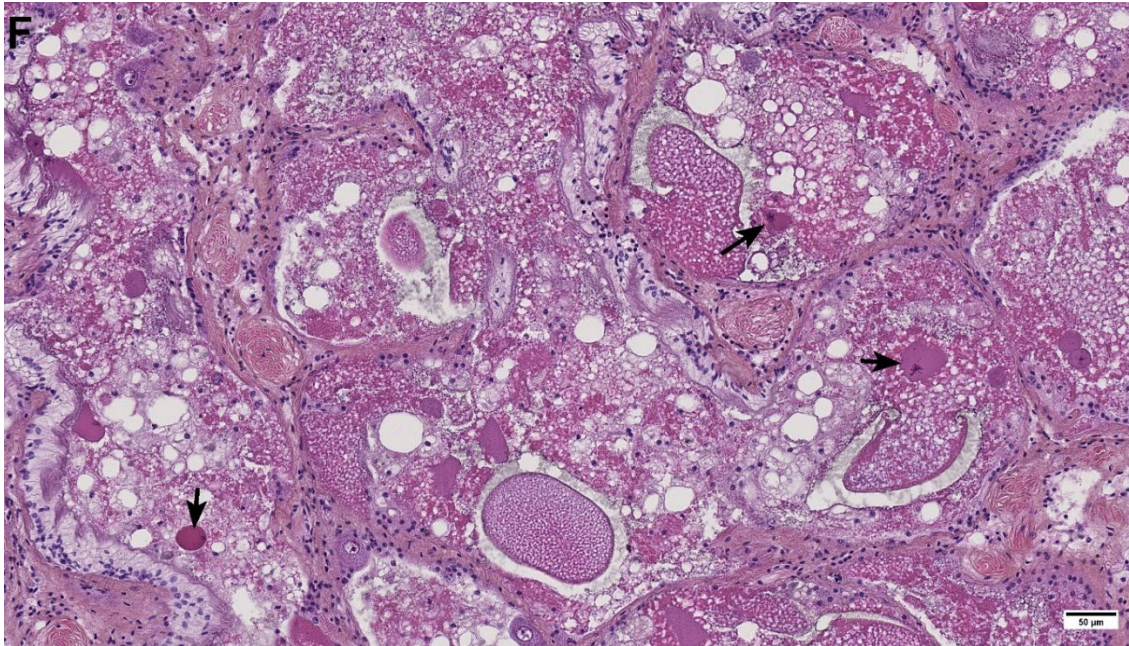
6.2.2 Kjempefilskjell

Kjempefilskjellene hadde økt i vekt fra en middelerdi på 17,11 g etter 10 uker i sjøen (desember 2022) til 29,8 g etter 51 uker (oktober 2023) (Tabell 5.1).

Det ble foretatt histologisk undersøkelse av tre kjempefilskjell fra Ramme 1 (51 uker), tre fra Ramme 2 (10 uker) og tre fra Ramme 3 (10 uker). I tillegg ble tre nylig innhentede referanseskjell fra Drøbaksundet undersøkt. Det ble tatt ut flere biter, fordelt på flere blokker, for å få med flest mulig organer. Skjellene gapte og hadde sluppet vannet. Gjellene til skjellene var skadd, men dette var sannsynligvis skjedd under transport til laboratoriet siden de er svært tynne og blir raskt skadd når skjellene tas ut av vann og mister vannet. Funnene fra undersøkelsen er vist i Vedlegg A.2.

Et av skjellene fra Ramme 2 (10 uker) viste tegn på nekrose³ og at det var svekket eller døende (Figur 6.5). De øvrige skjellene hadde gjennomgående normale vev.

³ Nekrose er lokal celle- eller vevsdød forårsaket av forhold som ødelegger cellenes lokale miljø (Store Norske Leksikon).



Figur 6.5 Kjempetilskjell med nekrotisk egg (piler). (Bilde: HI).

Undersøkelsen av kjempetilskjellene som hadde stått i sjøen 51 uker viste at fødetilgangen på dypt vann i Skagerrak var lavere enn for referanseskjellene fra Drøbaksundet, men skjellene hadde gjennomgående normale vev.

6.3 Metaller i skjellprøvene

Skjellprøvene ble analysert med hensyn på de metallene som anses å være relevante å finne i nærheten av dumpet ammunisjon. Dette er kobber, sink, arsen, bly og kvikksølv [37].

Følgende prøver ble analysert:

22-066: Blåskjell fra Drøbaksundet før utsett i Skagerrak oktober 2022⁴

22-072: Kjempetilskjell fra Drøbaksundet før utsett i Skagerrak oktober 2022⁴

22-070: Blåskjell Ramme 3

22-071: Kjempetilskjell Ramme 3

22-068: Blåskjell Ramme 2 (180 m sør for vrak nr. 13)

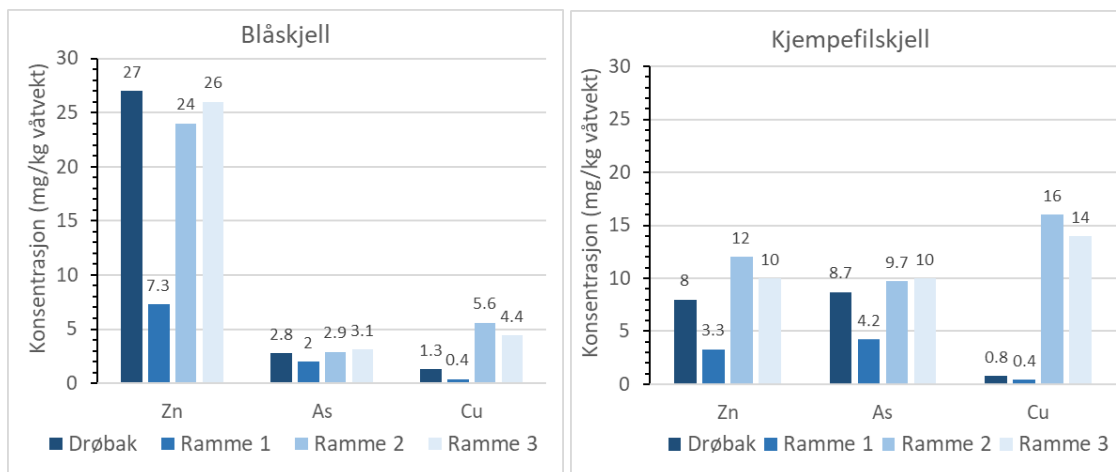
22-069: Kjempetilskjell Ramme 2 (180 m sør for vrak nr. 13)

23-299: Blåskjell Ramme 1 (like ved vrak nr. 13)

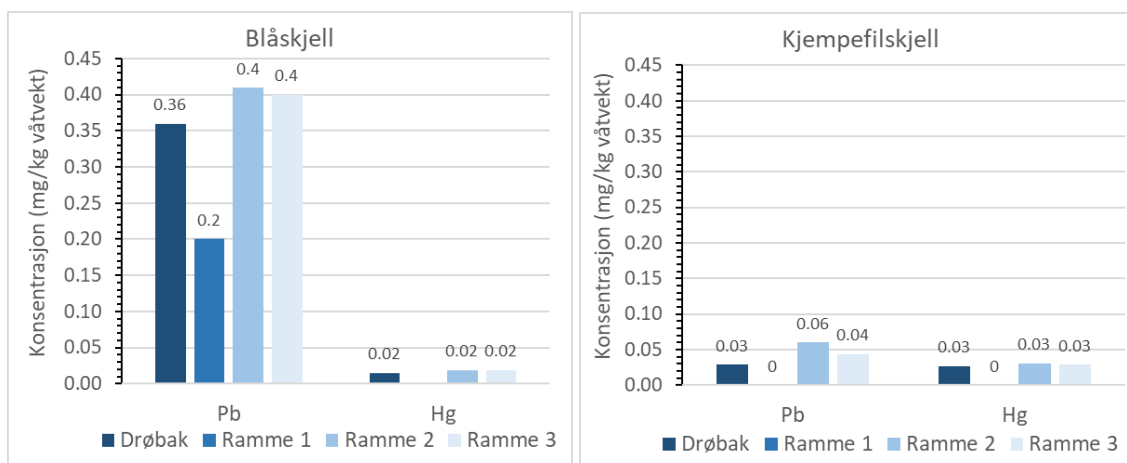
23-300: Kjempetilskjell Ramme 1 (like ved vrak nr. 13)

⁴ Disse skjellene representerte referanseprøver som ikke var eksponert i Skagerrak.

Lokaliseringen av de enkelte prøveposisjonene er beskrevet i kapittel 3.1. Resultatene fra analyse av metaller i blåskjell og kjempefilskjell er oppsummert i Figur 6.6 og Figur 6.7, mens analyserapportene fra HI (2023) og FFI (2024) er gitt i Vedlegg B.



Figur 6.6 Konsentrasjoner (mg/kg våtvekt) av metallene sink, arsen og kobber i blåskjell og kjempefilskjell. (Figur: FFI).



Figur 6.7 Konsentrasjoner (mg/kg våtvekt) av metallene bly og kvikksølv i blåskjell og kjempefilskjell. Konsentrasjonen av kvikksølv ble ikke bestemt i prøvene fra Ramme 1 analysert ved FFI. Grenseverdiene for konsum er for bly 1,5 mg/kg våtvekt og for kvikksølv 0,5 mg/kg våtvekt [45] (Figur: FFI).

Metallinnholdet i skjellene fra Ramme 1 nærmest vraket var generelt lavere enn i Ramme 2 og Ramme 3. Årsaken til dette er uklar, men kan skyldes strømningsmønsteret av vannmassene rundt vraket eller at skjellene hadde vært utplassert over en betydelig lengre periode i Ramme 1 enn i de andre utstyringsrammene. Ifølge analyse av skjelltilstand var blåskjellene fra Ramme 1 i dårlig forfatning, mens kjempefilskjellene hadde gjennomgående normale vev, men var likevel preget av at fødetilgangen var lavere enn i Drøbaksundet der de ble tatt fra (se kapittel 6.2). Kvikksølv ble ikke analysert i prøven fra Ramme 1.

Resultatene i Figur 6.6 og Figur 6.7 viser at det med unntak av Ramme 1, ikke er store forskjeller i metallinnholdet mellom prøvene når vi ser de to skjelltypene hver for seg. Unntaket er kobber i skjellene som ikke var utplassert i Skagerrak, der konsentrasjonen var mye lavere enn i de utplasserte skjellene. Til sammenligning var kobberkonsentrasjonen i blåskjell fra Solbergstrand (1,6 mg/g våtvekt) [38] tilsvarende det som ble funnet i de ikke-utplasserte blåskjellene fra Drøbaksundet i vår undersøkelse (1,3 mg/kg våtvekt). Konsentrasjonen av de aktuelle metallene i blåskjell fra Skagerrak ligger gjennomgående over nivåene fra Solbergstrand og er på nivå med svakt påvirkede prøver fra overvåkningsprogrammet MILKYS [39] (Tabell 6.1). At nivået øker i utsatte blåskjell kan tyde på at de eksponeres for en høyere konsentrasjon i Skagerrak sammenlignet med Drøbaksundet. Siden kobber er et essensielt metall, kan det være at biologiske prosesser som følge av utplassering på stort dyp har medført en økning i nivået. I Ramme 1 som har stått ute i 51 uker er konsentrasjonen av kobber nede på samme nivå som en observert i Drøbaksundet før utsett av skjell.

Det var ulikheter i konsentrasjonene av metaller i de to skjelltypene. Innholdet av sink og bly var høyest i blåskjell, mens innholdet av arsen, kobber og kvikksølv var høyest i kjempeskjell. For kvikksølv var det liten forskjell.

Arseninnholdet i slimål er tidligere bestemt i prøver fra dumpfeltet i Skagerrak innsamlet i 2015. Den gjennomsnittlige konsentrasjonen av arsen i ulike deler av slimål fanget ved vrak nr. 13 var 36 mg/kg i filet (5 posisjoner), 38 mg/kg i lever (5 posisjoner) og 62 mg/kg i galleblære (5 posisjoner) [5]. Alle disse verdiene var høyere enn verdiene i skjellprøvene fra 2022 og 2023. Arseninnholdet vil være avhengig av hvordan metallet akkumuleres i de ulike organismene og er derfor ikke direkte sammenlignbart med skjellprøvene.

Andre undersøkelser som det kan være relevant å sammenligne med, er bestemmelse av noen metaller i taskekrabbe fra 47 posisjoner fra hele norskekysten [40] og i blåskjell eller o-skjell fra 14 havneområder i Norge [41] (Tabell 6.1). Alle måleverdiene fra Skagerrak ligger betraktelig lavere enn det som er funnet i disse undersøkelsene.

HI har analysert reker fra Nordsjøen i 2007 og deretter årlig fra 2014 til 2020 og funnet at nivået av kadmium, bly og kvikksølv er under Norges og EUs grenseverdier for trygg sjømat [42] som er 0,5 mg/kg for disse metallene i muskelkjøtt av krepsdyr.⁵ Bakgrunnskonsentrasjonene (BAC) i skjell definert av OSPAR er 1,30 mg/kg våtvekt for bly, 0,96 mg/kg våtvekt for kadmium og 0,090 mg/kg våtvekt for kvikksølv [43].

⁵ <https://miljostatus.miljodirektoratet.no/tema/hav-og-kyst/havindikatorer/nordsjoen-skagerrak/forurensende-stoffer/forurensning-i-reker-i-nordsjoen/>

Tabell 6.1 Innhold av noen metaller i taskekrabbe, blåskjell og o-skjell.

Metall	Middelverdi (mg/kg våtvekt)		Maksimumsverdi (mg/kg våtvekt)	Medianverdi (mg/kg våtvekt)	
	Klokjøtt krabbe [40]	Brunmat krabbe [40]	Blåskjell/o-skjell [41]	Blåskjell Solbergstrand [38]	Blåskjell MILKYS ^{a)} [39]
Arsen	29,9	19,4	3,52	1,700	1,382/3,392
Bly	0,01	0,049	10,0	0,100	0,105/0,449
Kadmium	0,25	3,9	1,77	0,140	0,131/0,344
Kobber			14,9	1,600	0,930/1,465
Kobolt			0,18	0,059	
Krom			1,06		0,082/0,449
Kvikksølv	0,40	0,095	0,091	0,013	0,008/0,029
Mangan			45		
Nikkel			1,65	0,240	0,153/0,355
Selen	1,15	1,27			
Sink			326		13,400/23,460

a) Verdier fra det norske overvåkningsprogrammet (Norwegian coastal monitoring program, MILKYS) angitt som bakgrunnsnivå / nivå i svakt påvirkede prøver.

Miljøkvalitetsstandarder⁶ for metaller i levende organismer er etablert for kvikksølv og kvikksølvforbindelser med en grense på 20 µg/kg våtvekt [44]. Kvikksølvverdiene i blåskjell fra Skagerrak ligger omkring denne kvalitetsstandarden (middelverdi 17,7 µg/kg våtvekt), mens verdiene i kjempesilskjell ligger litt over kvalitetsstandarden (middelverdi 29,0 µg/kg våtvekt).

Det er i Norge kun etablert grenseverdier for konsum for tre metaller i muslinger. Dette gjelder bly:1,50 mg/kg våtvekt, kadmium:1,0 mg/kg våtvekt og kvikksølv:0,5 mg/kg våtvekt [45]. Ingen av de observerte nivåene oversteg disse grensene.

6.4 Eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser i biota

Bestemmelse av innholdet av 30 ulike eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser i biotaprøvene ble utført av WAT, Polen. De foretok både en polar ekstraksjon med acetonitril og en upolar ekstraksjon med kloroform. Acetonitril-ekstraktene ble analysert enten ved hjelp av LC-MS/MS, april 2023 eller LC-HRMS, desember 2023 og ved hjelp av GC-MS/MS etter derivatisering. Kloroform-ekstraktene ble analysert ved hjelp av GC-MS/MS både direkte og etter derivatisering. En beskrivelse av ekstraksjonsmetodene og hvilke teknikker som

⁶ Miljøkvalitetsstandarder (på engelsk EQS:environmental quality standard) er en grense mellom god og dårlig kjemisk tilstand (Miljødirektoratet, Veileder 02:2018)

er brukt for hver enkelt forbindelse, samt resultatene fra analysene, er vist i Vedlegg C.1 for prøvene analysert i april 2023 og i Vedlegg C.2 for prøvene analysert i desember 2023. Resultatene fra prøver med positive funn er sammenstilt i Tabell 6.2.

I prøvene fra Ramme 1, like ved stedet der baugen fra vrak nr. 13 er brutt av, ble det identifisert spormengder (under kvantifiseringsgrensen) av 1,4,5-oxadithiepan (1,4,5-oxa, et nedbrytningsprodukt eller biprodukt fra sennepstridsmiddel), samt trifenyarsinoksid (TPAO) som er et oksidasjonsprodukt fra trifenyarsin (TPA), en av forbindelsene i arsenolje [46]. I tillegg ble både TPA og TPAO funnet i henholdsvis trollhummer og dypvannsreke fra HIs bunntråltokt i 2022 utenfor dumpefeltet i noenlunde samme konsentrasjoner som i skjellene fra Ramme 1. Konsentrasjonen av de arsenholdige forbindelsene er mindre enn 30 µg/kg våtvekt, dvs. mindre enn 1 % av konsentrasjonen av totalarsen. Strukturformlene til forbindelsene er vist i Faktaboks 1.

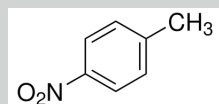
I prøvene fra Ramme 2, 180 m sør for vrak nr. 13 ble det identifisert små mengder av 4-nitrotoluen (4-NT) (0,05 µg/kg i kjempefilskjell og 0,06 µg/kg i blåskjell). Den samme forbindelsen ble også funnet i prøvene fra Ramme 3 i litt høyere konsentrasjon (0,22 µg/kg). Det ble i tillegg identifisert 2,6-dinitrotoluen (2,6-DNT) i prøven fra Ramme 3.

En prøve av kjempefilskjell fra Ramme 3 (prøvenummer 22-071) ble analysert på nytt hos WAT i desember 2023 (da med prøvenummer 23-301), fordi funnet av eksplosiver i skjellene fra Ramme 3 var litt overraskende. Det ble ikke funnet 4-NT eller 2,6-DNT i de reanalyserte prøvene. Det ble derimot funnet TPAO, som ikke ble påvist i første analyse. Funn av TPAO ved reanalysen kan skyldes en endring i LC-MS instrumenteringen fra LC-MS/MS til LC-HRMS, noe som gir en sikrere identifisering av forbindelsen.⁷ Mangel på funn av eksplosiver i reanalysen kan muligens skyldes at prøven hadde vært lagret nedfrosset i nesten ett år før den ble analysert på nytt.

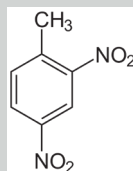
⁷ Personlig meddelelse fra Dr. Michał Grabka, WAT, 4. januar 2024.

Faktaboks 1: Strukturformlene til relevante forbindelser

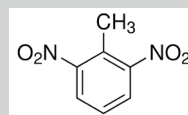
Nitroaromater



4-Nitrotoluen
(4-NT)

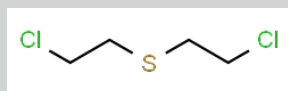


2,4-Dinitrotoluen
(2,4-DNT)

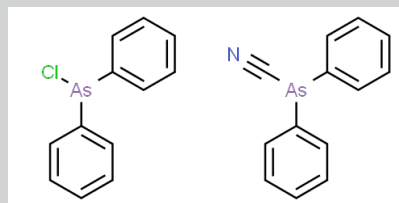


2,6-Dinitrotoluen
(2,6-DNT)

Ikke-nedbrutte kjemiske stridsmidler



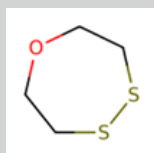
Sennspgass
(HD)



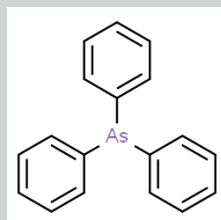
Clark I

Clark II

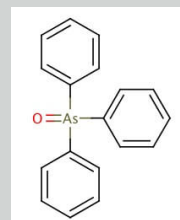
Nedbrytningsprodukter av kjemiske stridsmidler



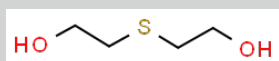
1,4,5-oxadithiepan
(1,4,5-oxa)



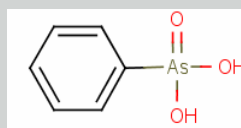
Trifenyarsin
(TPA)



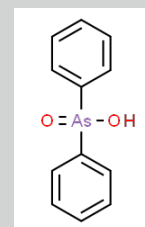
Trifenyarsinoksid
(TPAO)



Tiodiglykol
(TDG)



Fenylarsonsyre
(PAA)



Fenylarsonsyre
(DPAA)

Tabell 6.2 Biotapróver med positive funn av kjemiske stridsmidler og eksplosiver.

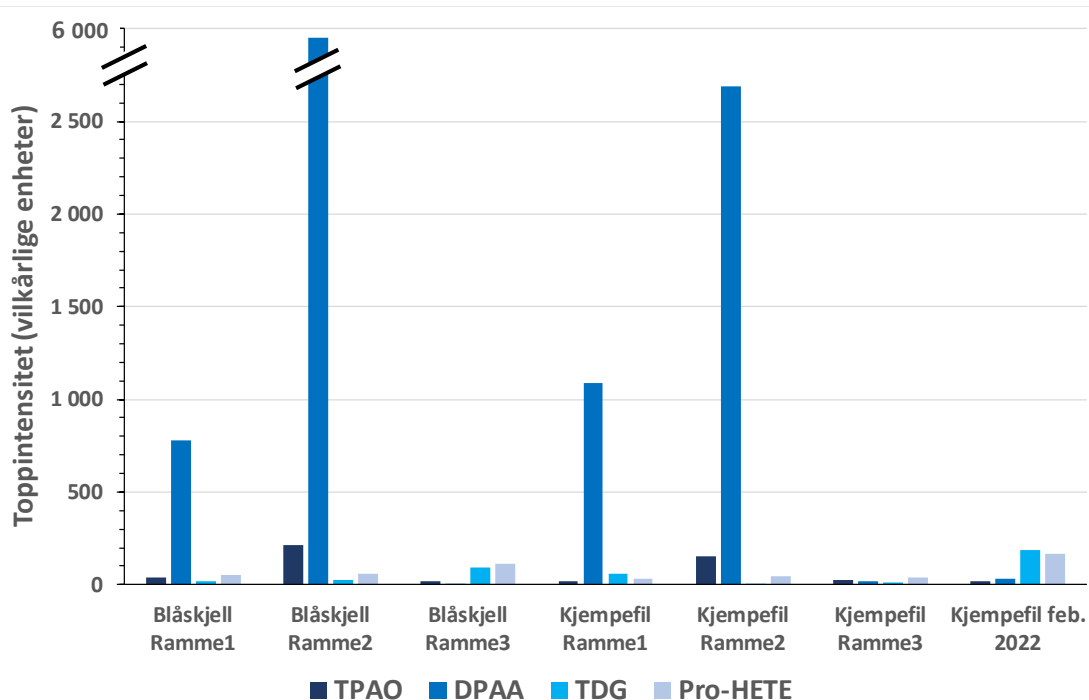
Nr.	Prøvebeskrivelse	Konsentrasjon (µg/kg våtvekt)					
		4-NT	2,6-DNT	2,4-DNT	1,4,5-oxa	TPA	TPAO
23-299	Ramme 1 blåskjell, like ved vrak nr. 13	< LOD	< LOD	< LOD	< 0,05*	< LOD	6,17
23-300	Ramme 1 kjempefilskjell, like ved vrak nr. 13	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	28,92
22-068	Ramme 2 blåskjell 180 m sør for vrak nr. 13	0,06	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
22-069	Ramme 2 kjempefilskjell 180 m sør for vrak nr. 13	0,05	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
22-070	Ramme 3 blåskjell fra Skagerrak	0,08	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
22-071	Ramme 3 kjempefilskjell fra Skagerrak	0,22	15,22	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
23-301	Reanalyse Ramme 3 kjempefilskjell fra Skagerrak	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	11,78
23-302	Lever fra skolest	< LOD	67,82	190	< LOD	< LOD	< LOD
23-303	Dypvannsreke, hel	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	7,15
23-304	Trollhummer, hel	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	29,25	< LOD

*: Konsentrasjonen var under nedre kvantifiseringsgrense (0,05 µg/kg).

< LOD: Konsentrasjonen var mindre enn deteksjonsgrensene oppgitt i Vedlegg C.1 og Vedlegg C.2.

Flere studier har vist at eksplosiver fra dumpet ammunisjon kan gjenfinnes i prøver av fisk og skalldyr [47,48,49]. En nylig gjennomført analyse av blåskjell som ble samlet inn fra 1985 til 2021 til den tyske miljøprøvebanken German Environmental Specimen Bank, viser en økning i innhold av TNT, 4-amino-2,6-dinitrotoluen (4-ADNT), 2-amino-4,6-dinitrotoluen (2-ADNT) og 1,3-dinitrobensen (1,3-DNB), men konsentrasjonen er fremdeles lav [50]. En studie utført på skjell og passive prøvetakere utplassert i nærheten av det tyske WW II-skipet «Vorpostenboot 1302» (sivilt navn John Mahn), senket utenfor kysten av Belgia viste også at disse hadde tatt opp nitroaromatiske forbindelser fra vraket [51]. Små mengder TNT, 4-ADNT og 2-ADNT ble i denne studien også funnet i fiskefilet (< 5 ng/g tørrvekt) og galle fra fisk (< 0,5 ng/ml).

UH-VERIFIN analyserte prøver av blåskjell og kjempefilskjell fra alle tre utstyrssammene. De analyserte samtidig en prøve av kjempefilskjell tatt opp 3 km fra nærmeste vrak (betegnet Kjempefil feb. 2022). Dette var prøver fra en test gjennomført i februar 2022 for å se om skjellene overlevde 6 uker i sjøen. Resultatene fra UH-VERIFIN er vist i Figur 6.8.



Figur 6.8 Nedbrytningsprodukter fra kjemiske stridsmidler i blåskjell og kjempefilskjell (Kjempefil) identifisert ved UH-VERIFIN. Se teksten for forklaring av de øvrige forkortelsene. Det ble i tillegg funnet spormengder av PAA i blåskjell fra Ramme 2. (Figur: FFI).

Det største innholdet av de detekterte forbindelsene ble funnet i skjellene fra Ramme 2 som var plassert ca. 180 m sør for vrak nr. 13. I dette området ligger det ganske tett med bomber på havbunnen. I mange av disse er det korrodert hull, slik at innholdet har kommet ut og blitt utsatt for nedbrytning. Skjellene som var festet på Ramme 1 inneholdt de samme forbindelsene, men i mindre mengder. Dette kan skyldes at blåskjellene på Ramme 1 var betydelig svekket etter 51 uker i sjøen, mens kjempefilskjellene hadde hatt lavere fødetilgang enn i Drøbaksundet. I prøvene lengst unna vrakene (Ramme 3 og i skjellene fra februar 2022) ble det hovedsakelig funnet Tiodiglykol (TDG) og Pro-HETE. TDG er et hydrolyseprodukt fra sennepstridsmiddel, mens Pro-HETE er et sennepstridsmiddel-addukt til aminosyren prolin. De resterende forbindelsene fenylarsensyre (PAA), difenylarsinsyre (DPAA) og trifenylarsin oksid (TPAO) er arsenholdige nedbrytningsprodukter eller tilsetningsstoffer i de kjemiske stridsmidlene Clark I eller Clark II.⁸

⁸ Clark I og Clark II omdannes til de samme forbindelsene i kontakt med vann og kunne inneholde de samme tilsetningsstoffene. Det er derfor ikke mulig å si om de detekterte forbindelsene stammer fra Clark I eller Clark II.

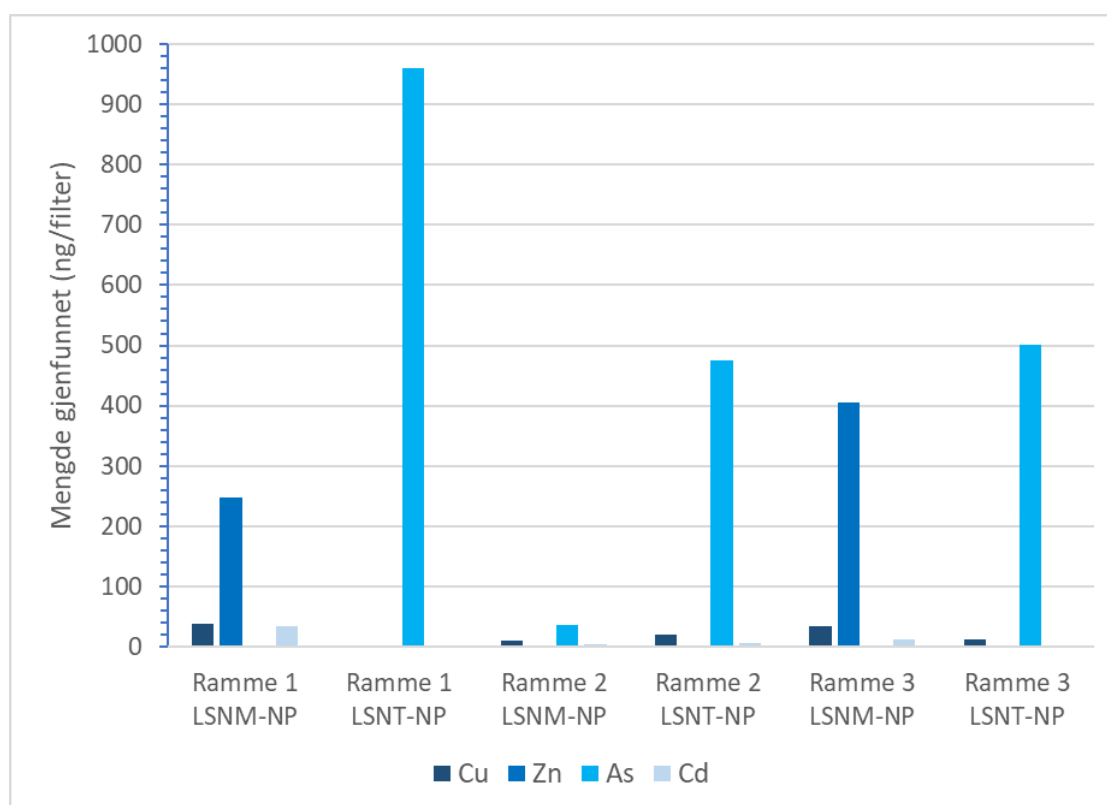
6.5 Passive prøvetakere

Det ble plassert ut passive prøvetakere av fire ulike typer på hver av de utplasserte utstyrskrammene. Dette var to typer for oppsamling av metaller, en type for polare organiske forbindelser og en type for upolare organiske forbindelser (se kapittel 3.2).

6.5.1 Metaller

De passive prøvetakerne for metaller (LSNT-NP og LSMN-NP) ble analysert ved hjelp av ICP-MS ved FFI (se metodebeskrivelse i Vedlegg D.1). Fordi prøvetakerne hadde stått utplassert i sjøen i varierende tidsrom fra 10 uker (Ramme 2 og Ramme 3) til 51 uker (Ramme 1), og det er usikkert når eller om en likevekt oppstår, ble mengdene gjenfunnet fra prøvetakerne ikke omregnet til konsentrasjon i vannfasen.

Innholdet av metallene kobber, sink, arsen og kadmium oppsamlet i bindingslaget fra de passive prøvetakerne er vist i Figur 6.9. Figuren viser kun verdier over deteksjonsgrensene gitt i Vedlegg D.1. Innholdet av antimon og bly var under deteksjonsgrensen i alle de passive prøvetakerne.



Figur 6.9 Innhold av metallene kobber, sink, arsen og kadmium i de passive prøvetakerne av type LSMN-NP og LSNT-NP fra DGT Research Ltd analysert ved FFI. Kun verdier over deteksjonsgrensene er vist i figuren. Det ble ikke funnet antimon eller bly over deteksjonsgrensene i noen av prøvetakerne. (Figur: FFI).

Det ble funnet høyest konsentrasjon av arsen i prøvetakerne av typen LSNT-NP. Resultatene i Figur 6.9 viser også at arseninnholdet var høyest fra Ramme 1, som var utplassert nærmest vrak nr. 13. Det er i Østersjøen ikke funnet noen klar sammenheng mellom konsentrasjonen av uorganiske arsenforbindelser og arsenholdige kjemiske stridsmidler [52]. Det er derfor sannsynlig at høyere innhold av arsen ved Ramme 1 skyldes innhold av uorganisk arsen i komponenter på eller ved vraket, eller at prøvetakerne har hatt lengre oppholdstid i sjøen (51 uker). Produsenten oppgir at optimal eksponeringstid i vann er mellom 3 og 21 dager.⁹

Sink finnes hovedsakelig i prøvetakeren av typen LSNM-NP. Innholdet av sink var høyest i prøver fra Ramme 3 lengst unna vrakene. Funnet av sink kan derfor komme fra andre kilder enn ammunisjonen ved vrakene. Det ble også funnet små mengder kadmium i denne typen prøvetaker, med høyest konsentrasjon fra Ramme 1. Det er mest sannsynlig at kadmium kommer fra selve vraket, for eksempel fra korrosjonsbeskyttende maling, og ikke fra ammunisjonen. Antall prøvepunkter er for lite til å si noe om hvordan metallinnholdet fordeles i sjøvannet nær vrakene.

Det ble funnet små mengder kobber i enkelte av prøvetakerne, både fra LSNM-NP og LSNT-NP. Det ser ikke ut til å være noen tydelig forskjell på innholdet av kobber mellom de ulike rammeposisjonene.

De passive prøvetakerne var plassert ca. 1 m over bunnen og var etter 51 uker fremdeles fri for begroing eller andre urenheter på overflaten (Figur 6.10). Ved ekstraksjon er det derfor rimelig å anta at metallinnholdet stammer fra forbindelser som er løst i vannet og ikke fra eventuelle sedimentrester på overflaten.



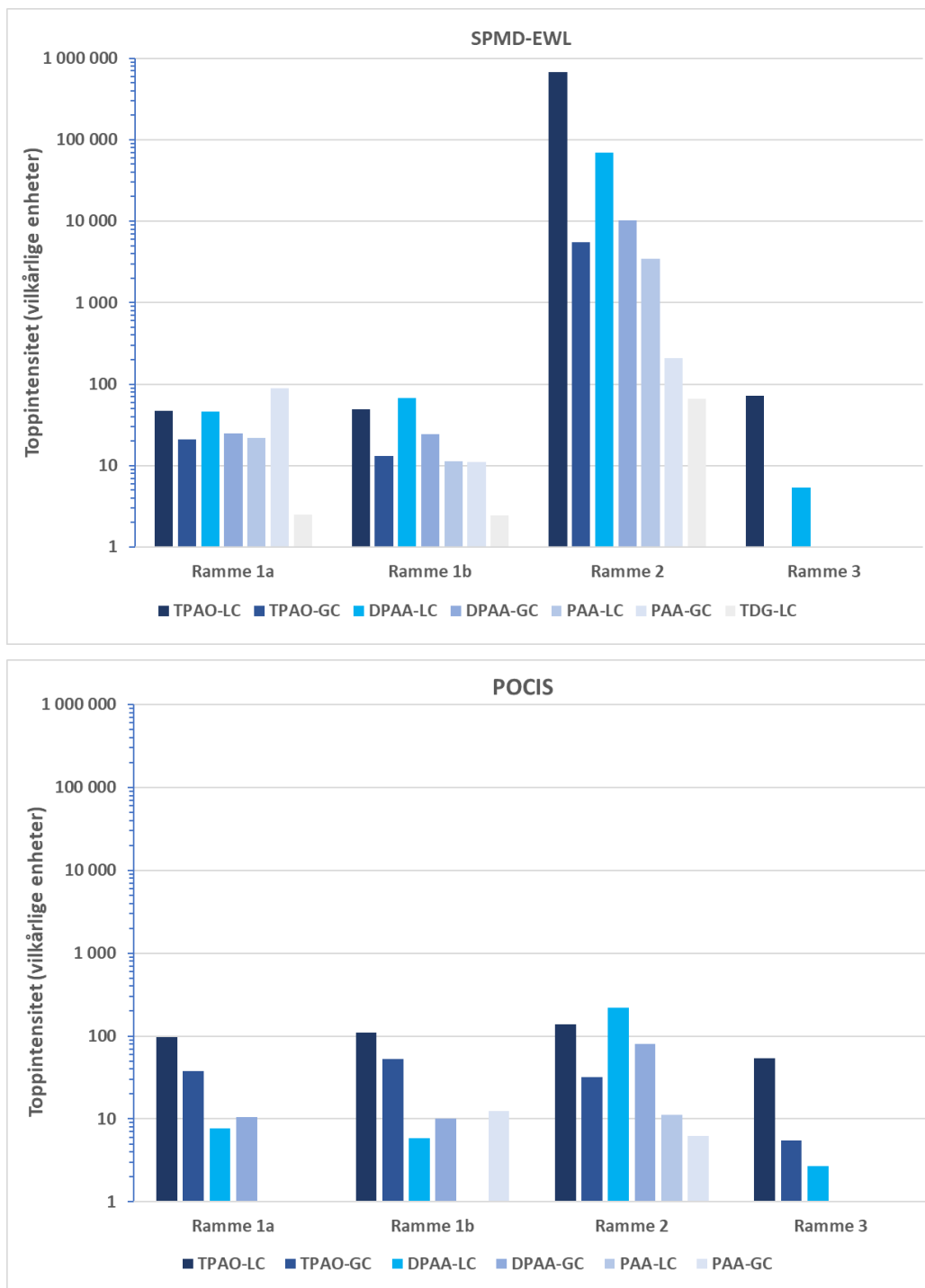
Figur 6.10 Passive prøvetakere for absorpsjon av metaller etter 51 uker i sjøen ved vrak nr. 13. (Bilde: FFI).

⁹ Datablad fra DGT Research - Metals (oxyanionic) and P using DGT with a titanium oxide BL, DGT Research Ltd, Lancaster, Lancashire, UK.

6.5.2 Kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser

De passive prøvetakerne av typene SPMD-EWL og POCIS ble analysert ved UH-VERIFIN i henhold til metoden beskrevet i Vedlegg D.2. Membranene i prøvetakerne ble tatt ut og ekstrahert med acetonitril og deretter analysert ved hjelp av LC-MS og GC-MS. På samme måte som for metaller, ble det ikke foretatt kvantifisering av gjenfunnet mengde. Dette fordi det er ukjent hvor lang tid prøvetakerne bruker for å oppnå en eventuell likevekt med vannfasen samtidig som oppholdstiden i vannfasen varierte. Toppintensiteten til de ulike forbindelsene analysert med LC-MS og GC-MS er vist i Figur 6.11 (logaritmisk skala). Disse topphøydene viser ikke innholdet i de passive prøvetakerne direkte, men er estimert til å representere mengder på middels til høye parts per billion (ppb) nivåer. Det ble analysert to parallelle prøvetakere fra Ramme 1 (kalt Ramme 1a og Ramme 1b) men kun en prøvetaker fra hver av rammene 2 og 3.

Det ble funnet TDG, et hydrolyseprodukt fra sennepstridsmiddel, i de passive prøvetakerne, samt tre nedbrytningsprodukter fra arsenholdige stridsmidler; Fenylarsensyre (PAA), difenylarsensyre (DPAA) og trifenylarsinoksid (TPAO). Resultatene i Figur 6.11 viser at den største mengden av disse forbindelsene ble funnet i SPMD-EWL-pølsene fra Ramme 2 som var plassert ca. 180 m sør for vrak nr. 13. Prøvetakerne fra Ramme 1, like ved vrak nr. 13, inneholdt de samme forbindelsene, men i mindre mengder, mens det hovedsakelig var TPAO som ble gjenfunnet i Ramme 3, sju km fra nærmeste vrak. Det ble også søkt etter stridsmidlene adamsitt, tabun, kloracetofenon, og deres nedbrytningsprodukter, men disse ble ikke funnet i ekstraktene fra noen av de passive prøvetakerne. Det ble funnet noen flere stridsmiddelrelaterte forbindelser i de passive prøvetakerne, sammenlignet med prøver fra biota (kapittel 6.4). TDG ble ikke funnet i skjellprøvene, mens TPAO også ble funnet i noen av skjellprøvene og i dypvannsreke.



Figur 6.11 Nedbrytningsprodukter fra kjemiske stridsmidler gjenfunnet i passive prøvetakere av typene SPMD-EWL (øverst) og POCIS (nederst) fra de tre rammene analysert av UH-VERIFIN. TPAO-LC, DPAA-LC, PAA-LC og TDG-LC er resultater fra analyser på LC-MS, mens TPAO-GC, DPAA-GC og PAA-GC er resultater fra analyser på GC-MS. Se teksten for forklaring av de øvrige forkortelsene. Det er analysert to parallelle prøvetakere av hver type fra Ramme 1. (Figur: FFI).

6.5.3 Eksplosiver

UH-VERIFIN har lett etter eksplosiver i de passive prøvetakerne ved å benytte samme metode som for kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser (Vedlegg D.2). Det ble ikke funnet noen eksplosiver i prøvene.

6.6 Gummikork fra plaststav

Det var ikke mulig å se fargeomslag på påvisningspapiret festet utenpå en gummikork på enden av plaststaven som ble stukket ned i en korrodert bombe på havbunnen. Siden gummi kan være et materiale som absorberer kjemiske stridsmidler godt, ble gummikorken som hadde vært i kontakt med en åpen bombe ekstrahert med diklormetan og analysert av WAT på samme måte som skjellene. Det ble imidlertid ikke funnet noen kjemiske stridsmidler eller relaterte forbindelser i korken.

7 Konklusjoner og anbefalinger

7.1 Oppsummering

Et av formålene med arbeidet var å undersøke om skjell kunne fungere som overvåkningsorganisme for ammunisjon med kjemiske stridsmidler eller eksplosiver dumpet på dypt vann. Resultatene viser at både blåskjell og kjempefilskjell overlever utplassering på dypt vann. Blåskjellene var svekket etter å ha vært utplassert i 10 uker, mens etter nesten ett år var det omfattende nekroser og celledød. Kjempefilskjell ser ut til å tilpasse seg miljøet bedre enn blåskjell, og vil derfor være bedre egnet enn blåskjell som overvåkningsorganisme på dypt vann. Kjempefilskjell er imidlertid mindre tilgjengelig enn blåskjell.

Det andre formålet var å undersøke om passive prøvetakere kunne fungere som metode for å overvåke ammunisjon med kjemiske stridsmidler. Her ble forskjellige typer prøvetakere benyttet for å få en indikasjon på hvilke som er best egnet for de forbindelsene som er assosiert med dumpet kjemisk ammunisjon. Passive prøvetakere beregnet for metaller vil ikke kunne ta opp organiske arsenforbindelser fra den dumpede ammunisjonen. Resultatene viser at det er opptak av forbindelser relatert til kjemisk ammunisjon i de begge typer passive prøvetakene (POCIS og SPMD-EWL). Det ser ut til at det er semipermeable membraner (SPMD-EWL) som fungerer best til formålet. Det er ingen av de undersøkte passive prøvetakerne som fungerer bra for eksplosivrelaterte forbindelser.

Det tredje formålet med arbeidet var å utføre en visuell undersøkelse av tre skipsvrak i dumpfeltet for å få et bilde av tilstanden til disse vrakene, samt å identifisere ammunisjonstyper ved vrakene. I tillegg ble det undersøkt hvilke marine arter som befant seg ved vrakene.

Det bør ikke trekkes konklusjoner om forurensningsgraden i dumpfeltet, eller om skjellene vil kunne medføre noen helseisiko ved konsum på bakgrunn av prøver fra kun tre lokaliteter. Dette var heller ikke hensikten med arbeidet.

De fleste av forskningsspørsmålene som ble satt opp ved starten av prosjektet er besvart.

Hva er hastigheten til bunnstrømmen i området?

Bunnstrømmen ved vrak nr. 13 i perioden mellom 3. oktober og 15. desember 2022 var fra 0,1 cm/s til 13,3 cm/s, hovedsakelig i en nordlig strømretning. Strømhastigheten hadde et gjennomsnitt på 3,91 cm/s og en medianverdi på 3,61 cm/s. Dette viser at det er mest sannsynlig at forurensning fra vraket vil transporteres med vannmassene i en nordlig retning.

Har skjellene overlevd og tatt til seg næring?

Blåskjellene var svekket og i relativt dårlig tilstand ved opptak etter 10 uker. Likevel var de fleste blåskjellene i live og hadde god lukkereflex. Histologisk undersøkelse av blåskjellene

etter 10 uker viser at de hadde lys fordøyelseskjertel, noe som tyder på at de ikke tar til seg føde eller er svekket. Fordøyelsesvevet er passivt og bygges ned, men kan bygges opp igjen dersom fødetilgangen øker. Blåskjellene som ble tatt opp etter 51 uker var også i live og var visuelt sammenlignbare med de som ble tatt opp etter 10 uker med god lukkerefleks. Etter 51 uker i sjøen var fordøyelsesvevet helt passivt, ytterligere nedbygget og delvis oppløst, sannsynligvis på grunn av stress eller mangel på føde. Det vil sannsynligvis ikke være mulig å bygge dette vevet opp igjen ved økt fødetilgang.

De fleste kjempefilskjellene var i live ved opptak etter 10 og 52 uker og hadde kraftig lukkerefleks ved åpning. Et av kjempefilskjellene fra Ramme 2 (10 uker) var svekket og døende. De andre skjellene hadde gjennomgående normale vev ved histologisk undersøkelse. Dette gjaldt både skjellene samlet inn etter 10 uker og de som hadde stått 51 uker i sjøen. Resultatene viser derfor at kjempefilskjell klarer seg godt ved utsett på dypt vann og kan sannsynligvis benyttes som overvåkningsorganisme i slike miljø.

Er skjellene egnet til overvåkning av metaller fra ammunisjon?

Det ble funnet innhold av uorganisk sink, arsen, kobber, bly og kvikksølv i skjellprøvene. Det er kun etablert grenseverdier for metallene bly, kadmium og kvikksølv ved konsum av muslinger [45] og verdiene funnet ved vrak nr. 13 er betydelig lavere enn disse verdiene. Skjellene vil etter hvert skille ut metallene igjen og innholdet vil derfor kun reflektere konsentrasjonen nær bunnen i løpet av de siste dagene eller månedene før opptak.

Innholdet av organiske arsenforbindelser i skjellprøvene var svært lavt (< 30 µg/kg våtvekt). Totalinnholdet av arsen og andre tungmetaller i skjellprøvene stammer sannsynligvis fra ammunisjonsbøssingen, brannrøret, eller fra andre kilder i området, blant annet fra korrosjonsbeskyttelsen på skipene. Bestemmelse av metallinnholdet i kan derfor benyttes til å overvåke metaller i nærheten av vrakene, men ikke si noe om utlekking av den kjemiske ammunisjonen.

Er det påvist eksplosiver eller kjemiske stridsmidler i prøvene?

De eneste eksplosivrelaterte forbindelsene som ble identifisert i de utplasserte skjellene var 4-NT i fire prøver fra Ramme 2 og Ramme 3 og 2,6-DNT i en prøve fra Ramme 3. Det ble ikke funnet eksplosivrelaterte forbindelser i skjell fra Ramme 1 (nærmest vraket). I tillegg ble det funnet både 2,6-DNT og 2,4-DNT i leverprøver fra skolest fanget under HIs bunntåltokt i 2022 fra en posisjon like vest for dumpfeltet. Innholdet (< 0,19 mg/kg våtvekt) er langt under dødelige konsentrasjoner (LC₅₀) for akvatiske organismer som er 4,4 mg/kg – 20 mg/kg for 2,4-DNT og 5,0 mg/kg – 65 mg/kg for 2,6-DNT [53].

I skjellene fra Ramme 1 ble den arsenholdige forbindelsen TPAO identifisert. Dette er et nedbrytningsprodukt fra TPA, en av de arsenholdige forbindelsene som er rapportert dumpet i Skagerrak. Både TPA og TPAO ble også funnet i henholdsvis trollhummer og dypvannsreke fra HIs bunntåltokt like vest for dumpfeltet. Det ble også identifisert spormengder av 1,4,5-oxa som er et nedbrytningsprodukt eller biprodukt fra sennepstridsmiddel med høy vannløselighet

(16 000 mg/l) [54]. Denne forbindelsen er også tidligere funnet i sedimentprøver samlet inn i dumpefeltet i Skagerrak [3,55].

Konsentrasjonen av de arsenholdige forbindelser (trifenyarsin og TPAO) funnet i blåskjell og kjempefiskkjell fra Ramme 1, samt i dypvannsreke og trollhummer fra HIs bunntråttokt i Skagerrak, er lave, det vil si mindre enn til 29 µg/kg. Dette er forbindelser som ikke naturlig finnes i sjømat og som derfor med all sannsynlighet stammer fra den dumpede kjemiske ammunisjonen. TPA er en av forbindelsene i «arsin oil» som er rapportert dumpet i Skagerrak [3,16]. TPA kan videre oksideres til TPAO og begge disse forbindelsene er relativt lite vannløselige (respektivt 0,12 mg/l og 0,07 mg/l) [54]. Det er noe overraskende at det ble funnet like høye konsentrasjoner av disse arsenholdige forbindelsene i trollhummer og dypvannsreke fanget under HIs bunntråttokt, mer enn 6,5 km fra nærmeste skipsvrak, som i prøvene av skjell nær vraket. Dette er imidlertid frittsvømmende organismer som kan ha tatt opp forbindelsene i nærheten av vraket.

TPAO er tidligere påvist i spormengder i slimål fanget i dumpefeltet i Skagerrak [55]. Forbindelsen er også funnet i smørflyndre og hummer fra Måseskär-området på den svenske vestkysten [56]. I prøver av sjøkreps, smørflyndre, dypvannsreke og slimål fanget i teiner eller feller i en avstand på 200–250 m fra dumpede vrak utenfor Måseskär, ble det funnet difenyarsinoksid (<0,29 µg/kg) og TPAO (<1,67 µg/kg). Det ble også funnet spormengder (< LOQ) av disse to forbindelsene i torsk fanget i området [57,58,59].

De kjemiske analysene med hensyn på eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser ved WAT og UH-VERIFIN ga noe ulike resultater. UH-VERIFIN analyserte prøvene som en del av et doktorgradsarbeid for å studere nedbrytningsprodukter av arsenholdige stridsmidler. De brukte derfor ikke generelle metoder beregnet på å lete etter eksplosiver eller et stort antall kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser.

Er passive prøvetakere egnet til å måle innhold av metaller, eksplosiver og kjemiske stridsmidler?

Hensikten med å teste ut passive prøvetakere var ikke å kartlegge forurensningen i dumpefeltet, men å teste ut om disse var egnet til å ta opp kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser, eksplosiver og metaller i vannfasen ved vrakene.

Forsøkene viser at passive prøvetakere av typen LSNT-NP kan være egnet til å undersøke innholdet av arsen i sjøvannet ved vrakene. Mengden arsen var høyest (960 ng/filter) i prøvetakeren plassert nærmest vraket, men denne hadde også vært utplassert lengst tid, det vil si 51 uker i motsetning til 10 uker for det to andre posisjonene lengre unna vraket. Det ble ikke funnet forhøyede verdier av metallene antimon, bly, kadmium eller kobber i de passive prøvetakerne.

Det ble funnet sink i prøvetakere av typen LSNM-NP. Her var imidlertid konsentrasjonen høyest (410 ng/filter) i Ramme 3 som var plassert lengst unna kjente vrakposisjoner og som hadde vært utplassert i kun 10 uker. Det er derfor lite sannsynlig at sinkinnholdet stammer fra

ammunisjonen eller andre objekter ved vrakene, men representerer det naturlige innholdet av sink i sjøvann.

UH-VERIFIN har lett etter eksplosiver i de passive prøvetakerne ved å benytte samme metode som for kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser. Det ble ikke funnet noen eksplosiver i prøvene. Dette er til forskjell fra biotaprøver, der det ble funnet spormengder av tre eksplosivrelaterte forbindelser. Det er tidligere blitt gjort noen forsøk med passive prøvetakere for å ta opp ulike typer eksplosiver, der POCIS ga høyest gjenfinning av de typene som ble testet [60].

Det var ikke store forskjeller mellom de to typene SPMD-EWL og POCIS med hensyn på opptak av kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser, men SPMD-EWL ga noe høyere gjenfinning og opptak av flere forbindelser enn POCIS. SPMD-EWL bør derfor velges ved nye undersøkelser. De passive prøvetakerne plassert ved ramme 2, 180 m sør for vraket i et område med mye vrakgods og ammunisjon, hadde høyere verdier av arsenholdige forbindelser og TDG enn de to andre prøveposisjonene. Ved Ramme 2 er det større tetthet av ammunisjon på bunnen i umiddelbar nærhet av utstysrammen sammenlignet med Ramme 1. Forskjellen kan også skyldes at rammen nærmest vraket stod nesten ett år i sjøen, noe som er langt over anbefalt tid på to uker til åtte uker, der fire uker er mest vanlig.¹⁰ Det ble også funnet nedbrytningsprodukter fra kjemiske stridsmidler i prøvetakerne plassert sju km fra nærmeste vrak. Disse forbindelsene ser derfor ut til å være spredt i et stort område i Skagerrak.

Siden det er ukjent om eller hvor lang tid de passive prøvetakerne bruker for å oppnå likevekt med vannfasen i Skagerrak, kan resultatene som er funnet i denne undersøkelsen ikke benyttes til å kvantifisere konsentrasjonen av forurensningsstoffer i vannet.

Det ble funnet noen flere stridsmiddelrelaterte forbindelser i de passive prøvetakerne, sammenlignet med prøver fra biota. Passive prøvetakere kan derfor være velegnet til å overvåke slike forbindelser.

Er svamp egnet som en indikatororganisme?

Svampen falt ut av nettingkurven like før utstysrammen ble heist om bord på forskningsfartøyet G.O. Sars ved opptak. Det var derfor ikke mulig å besvare spørsmålet om svamp kan være en egnet indikatororganisme.

Hva var tilstanden til vrakene?

Det kunne fra ROV-inspeksjonen ikke observeres noen vesentlige endringer på de to vrakene (vrak nr. 10 og vrak nr. 13) som er undersøkt tidligere. Det ble observert store mengder ammunisjon både på og rundt vrak nr. 10 og vrak nr. 13. Ved vrak nr. 5 ble det observert flere objekter som kan være en type maskindeler i tillegg til noe ammunisjon. Vrak nr. 5 er av tilsvarende alder som vrakene senket med kjemisk ammunisjon, og deler av navnet som var

¹⁰ Informasjon fra Environmental Sampling Technologies, EST-Lab.com

synlig kan tyde på at skipet er Duburg. Det er sannsynlig at også dette vraket inneholder kjemisk ammunisjon, da Duburg var ett av skipene som ble lastet med kjemisk ammunisjon og senket i Skagerrak.

HUGIN, som er en autonom undervannsfarkost, har ved tre ulike tidspunkter (2015, 2019 og 2022) samlet inn SAS-data og detektert endringer på vrak nr 13. FFI har, som en del av EU-INTERREG prosjektet North Sea Wrecks, utført en sammenligning av disse endringene. Det var mulig å observere små endringer som ville vært for tidkrevende å lokalisere ved å studere video fra ROV. Dette indikerer at lettere konstruksjoner på fartøyene nå er i ferd med å korrodere i så stor grad at de begynner å kollapse. Bruk av en autonom undervannsfarkost og automatisert endringsdeteksjon kan være en kostnadseffektiv metode for å overvåke dannelse av strukturelle endringer av vrak.

7.2 Læringspunkter fra prosjektet

- Kystverkets fartøy OV Ryvingen var godt egnet til oppdraget.
- To av festene til kjettingene som holdt trålkulene på plass på Ramme 1 var løsnet, slik at noen trålkuler forsvant i løpet av utsettingsperioden. Dette førte til at rammen ikke kom opp til overflaten ved aktivering av utløser. Spesifikasjonene og kvaliteten på kulene må kontrolleres før neste tokt og det må benyttes oppdriftskuler som har en arbeidsdybde større enn 800 m.
- ROV-en var nokså ustabil i vannet med mye vertikale bevegelser, noe som gjorde video-observasjoner og bruk av manipulatorarmen vanskelig.
- Kameraet på ROV-en hadde en oppløsning på 720x576 piksler. Det ville vært ønskelig med bedre oppløsning på kamera, for eksempel HD-videokvalitet, for å studere detaljer på vrakene.
- Det ble observert mye reker og trollhummer ved vrakene. Dette kan være egnede prøveorganismer, selv om de ikke er svært stedbundne.
- Det er ble observert et hvitt belegg på noen bomber. Det anbefales ved en senere anledning å ta prøver av belegget som ble observert på bombene ved vrak nr. 10 for å identifisere disse mikroorganismene. Mikroorganismene kan være med på å bryte ned de kjemiske forbindelsene i ammunisjonen.
- Svampen som ble samlet inn falt ut av kurven i overflaten grunnet en del sjø ved opptak. Skal svamp fanges må en ha en bedre beholder for dette.
- Stavene med påvisningspapir for deteksjon av kjemiske stridsmidler fra en rustet bombe fungerte dårlig. Stavene var for lange og festeanordningen på Ramme 2 hadde for små hull, slik at det var umulig å plassere stavene tilbake etter bruk. Bruk av magneter for

feste av stavene ville ha fungert bedre eller traktlignende åpninger på å sette staven på plass.

- Et alternativ til påvisningspapir, er bruk av elektronisk påvisningsutstyr basert på Raman-spektroskopi for å identifisere innhold i bombene. Dette finnes på markedet og er egnet til bruk under vann. Instrumentet må imidlertid være i nær kontakt med prøveobjektet for å kunne fungere.

7.3 Anbefalinger når det gjelder videre arbeid med skagerrakvrakene

I denne rapporten beskriver vi resultatene fra testing av noen utvalgte metoder for å overvåke vrakene med kjemisk ammunisjon som ble dumpet i Skagerrak etter andre verdenskrig. Vi valgte metodene som vi forventet best resultat fra, samtidig som de skulle være praktisk og økonomisk gjennomførbare i løpet av den relativt korte perioden oppdraget varte. I etterkant av oppdraget har FFI, som en del av prosjektet «1701 – Krigsetterlatenskapers lokalisering og risiko II», satt i gang en litteraturstudie for å undersøke nedbrytningshastigheten av skrogene til noen vrak på havbunnen og evaluere tilgjengelige modelleringsverktøy for spredning av toksiske forbindelser fra ammunisjonen i vrakene.

Det er ikke etablert norske eller internasjonale grenseverdier, verken for miljøpåvirkning eller konsum, for kjemiske stridsmidler eller deres nedbrytningsprodukter. Uten slike grenseverdier er det vanskelig å vurdere i hvor stor grad de detekterte mengdene utgjør miljø- eller helserisiko, og om myndighetene bør vedta risikoreduserende tiltak. Denne mangelen følges nå opp i internasjonale fora som omhandler dumpet ammunisjon, for eksempel EU INTERREG-prosjektene REMARCO og MUNIMAP.

Kunnskapen om miljørisikoen som de dumpede stridsmidlene representerer, på kort og lang sikt, er fortsatt mangelfull. Mye av ammunisjonen som ligger fritt på havbunnen er det allerede rustet hull i, slik at innholdet har blitt eksponert for sjøvann, noe som øker nedbrytningen. Mange av vrakene er derimot fremdeles tilsynelatende intakte og kan utgjøre en miljørisiko i fremtiden. Basert på funnene i denne rapporten har vi satt opp noen punkter for videre arbeid med skagerrakvrakene for å øke kunnskapen om hvordan innholdet påvirker det marine miljøet. I dette arbeidet er det ikke utformet kriterier for å prioritere de anbefalte tiltakene. Tiltakene er derfor ikke satt opp i prioritert rekkefølge.

Tilstanden til vrakene

- For å kunne vurdere tilstanden til vrakene i Skagerrak og si noe om den reelle nedbrytningshastigheten må den gjenværende tykkelsen på skroget måles. Som en videreføring av den pågående litteraturstudien anbefaler vi derfor å måle dette på noen utvalgte vrak ved hjelp av ultralyd og sammenligne de reelle dataene med modellerte verdier. Det vil også gi svar på hvor godt egnet de valgte modellene er. Vrak av ulike typer, for eksempel lite solide Liberty-skip, lastefartøy og militære fartøy, bør undersøkes.

-
-
- Noen av vrakene i Skagerrak er brutt i flere deler, mens andre er tilsynelatende intakte. Vrakene i denne rapporten har mye vrakrester liggende på utsiden av skroget, mens det er gjennomført få undersøkelser ved vrak som ikke er brutt i flere deler. Derfor bør det foretas tilsvarende undersøkelser ved vrak som er mer intakte enn vrak nr. 13 for å få et bilde av hvordan forurensningen er spredt rundt vrak med ulik grad av nedbrytning.
 - Liberty-skip er ikke undersøkt visuelt med fjernstyrt miniubåt tidligere. En videokartlegging av et slikt skip vil være nyttig for å vurdere tilstanden til disse og sammenligne dem med de vrakene som er undersøkt tidligere. Vi antar at Liberty-skip har mindre gjenværende strukturell styrke enn andre lastefartøy fra samme tidsperiode.
 - Den totale mengden av de ulike typene kjemiske stridsmidler dumpet i Skagerrak er kjent, men fordelingen av disse mellom de ulike vrakene er fremdeles ukjent. Etter at hele dumpfeltet nå er kartlagt med høyoppløselig sonar og man derfor har en viss formening om hvor de navngitte skipene er lokalisert, vil man gjennom søk i arkiver kunne finne hvilke ammunisjonstyper og mengder som de ulike vrakene var lastet med. Å skaffe informasjon om dette vil gi et mer nyansert og detaljert bilde av miljørisikoen som de dumpede stridsmidlene ved de enkelte vrakene representerer.

Spredning av kjemiske stridsmidler og eksplosiver fra vrakene

- Det er ikke klarlagt hvor mye av de toksiske forbindelsene rundt vrakene som er tilgjengelig for opptak av biota i området. De fleste av disse forbindelsene er lite vannløselige og bindes sterkt til sedimenter. Vi anbefaler at det tas prøver av sediment, porevann og utplasserte passive prøvetakere fra de samme lokalitetene rundt ett eller flere vrak. Det vil gjøre at man kan finne ut hvordan forbindelsene fordeler seg mellom disse fasene, og dermed hvor tilgjengelige forbindelsene er for opptak [61]. Prøver fra flere nærliggende prøvepunkter kan samles inn og homogeniseres for uttak av én blandeprøve (såkalt multi-inkrementell prøvetaking), noe som vil gi mer representative prøver og redusere analysekostnaden.
- Vi fant innhold av kjemiske forbindelser relatert til den dumpede ammunisjonen i biota i et stort område rundt vrakene. Det er uklart om dette skyldes at de påvirkede organismene er lite stasjonære, om forbindelsene tas opp og spres av levende organismer (bioakkumulering), eller om de spres sammen med sedimentene langs bunnen, blant annet ved episoder med økt sedimenttransport eller ved bioturbering.¹¹ For å få mer kunnskap om hvordan og hvor langt forurensningen spres i det aktuelle området, trengs det mer forskning. Horisontal forurensningstransport kan blant annet bestemmes ved bruk av sedimentfeller.
- Havforskningsinstituttet gjennomfører årlige tokt til flere trålstasjoner nær dumpfeltet i Skagerrak, der tilstedeværende biota samles inn og artsbestemmes. Analyser av prøver samlet inn under disse toktene kan gi oss mer kunnskap om spredningen av kjemiske forbindelser fra vrakene og opptak i ulike arter. Dette vil være en kostnadseffektiv måte å

¹¹ Bioturbering er omrøring av jord eller sedimenter forårsaket av dyr som lager grave ganger (Store norske leksikon).

innhente prøver fra området på. En annen aktuell samarbeidspartner kan være MAREANO, som kartlegger bunnforhold og forurensning på havbunnen.¹²

- Undersøkelsene beskrevet i denne rapporten har vist at det har rustet hull i mye av den frittliggende ammunisjonen på havbunnen, mens mye av ammunisjonen om bord på vrakene fremdeles er tilsynelatende hel. Det bør undersøkes om den frittliggende ammunisjonen på og utenfor vrakene fortsatt inneholder kjemiske stridsmidler som kan spres til omgivelsene, eller om innholdet har lekket ut. Ved å utvikle og teste metoder som er bedre egnet enn den som ble brukt i denne undersøkelsen, for eksempel ved å bruke Raman-spektroskopi, vil dette kunne avdekkes uten at ammunisjonen trenger å heves til overflaten.

Påvirkning på marin biota

- Den gjennomførte studien har vist at blåskjell ikke er egnet som overvåkingsorganisme for perioder på 2,5 måneder eller lengre på det aktuelle dypet. Siden blåskjell er mye lettere tilgjengelig enn kjempefilskjell, anbefaler vi å undersøke om blåskjell likevel kan benyttes for overvåking på dypt vann i perioder på en måned eller mindre.
- Vi valgte svamp som en aktuell organisme for prøvetaking fordi den er stasjonær og vokser på vrakene. Svampen som ble samlet inn fra vrak 13, kom ikke opp til overflaten og kunne derfor ikke analyseres. Vi anbefaler å samle inn og analysere ny fastvoksende svamp for å finne ut om den kan være en overvåkningsorganisme for forurensning som kommer fra vraket.
- Bruk av passive prøvetakere er en metode som ofte benyttes for å etterligne opptak i biota. Undersøkelsene viste at det ikke var én enkelt passiv prøvetaker som var egnet for alle de aktuelle kjemiske forbindelsene. Det var heller ikke enkelt å bestemme konsentrasjonen i vannet basert på innholdet i disse prøvetakerne siden opptaksraten kan variere fra lokalitet til lokalitet. For å forenkle framtidig prøvetaking og gjøre den kjemiske analysen mer kostnadseffektiv, bør det undersøkes om det finnes aktive eller passive prøvetakere som mer effektivt kan samle opp og kvantifisere både kjemiske stridsmidler, eksplosiver og nedbrytningsprodukter av disse.
- Vi observerte et hvitt belegg, trolig bestående av mikrobiologiske forbindelser, på enkelte av ammunisjonsobjektene på vrakene, mens andre tilsvarende objekter ikke hadde slikt belegg. Mikroorganismer som er med på å bryte ned forbindelser i ammunisjonen, er identifisert både i Østersjøen og i Nordsjøen. Vi anbefaler å samle inn prøver av belegget for å identifisere de aktuelle mikrobiologiske forbindelsene i belegget og finne ut om disse bidrar til en raskere nedbrytning av kjemiske stridsmidler til mindre farlige eller ufarlige komponenter på havbunnen.

¹² Mareano er et nasjonalt, tverrfaglig program for kartlegging av havbunnen i norske havområder, www.mareano.no.

En betydelig del av kostnadene ved slike miljøundersøkelser er fartøysleie og andre toktkostnader. Ved planlegging av nye undersøkelser bør derfor flere av de foreslåtte tiltakene gjennomføres samtidig for å utnytte tilgjengelig fartøystid best mulig og dermed redusere total kostnadene.

Forkortelser

1,3-DNB: 1,3-dinitrobensen

1,4,5-oxa: 1,4,5-oxaditiepan

2-ADNT: 2-amino-4,6-dinitrotoluen

2,4-DNT: 2,4-dinitrotoluen

2,6-DNT: 2,6-dinitrotoluen

4-ADNT: 4-amino-2,6-dinitrotoluen

4-NT: 4-nitrotoluen

AUV: Autonom undervannsfarkost (autonomous underwater vehicle)

BSTFA: N,O-Bis(trimetylsilyl)trifluoracetamide

CWA: Kjemiske stridsmidler (chemical warfare agents)

DPAA: Difenylarsinsyre

FFI: Forsvarets forskningsinstitutt

GC-MS/MS: Gasskromatografi-tandem massespektrometri

HELCOM: Helsinkikommisjonen

HI: Havforskningsinstituttet

HD: Svovelsenepstridsmiddel

ICP-MS: Induktivt koblet plasma-massespektrometri

LC-MS/MS: Væskekromatografi-tandem massespektrometri

LC-HRMS: Væskekromatografi – høyopløselig massespektrometri

PAA: Fenylarsensyre

PAH: Polysykliske aromatiske hydrokarboner

PPB: parts per billion (deler av en milliard)

Pro-HETE: Proline-hydroxyethylthioethyl (sennepstridsmiddeladdukt til prolin)

PTV: Produktutvikling, test og verifikasjon (PTV)

ROV: Fjernstyrt undervannsfarkost (remotely operated vehicle)

TDG: Tiodiglykol

TPA: Trifenylarsin

TPAO: Trifenylarsinoksid

UH-VERIFIN: University of Helsinki, Verifin

WAT: Military University of Technology, Warszawa

Vedlegg

A Histologisk undersøkelse av blåskjell, *Mytilus* sp. og kjempefilskjell, *Acesta excavata* fra forsøk med nedsenking i regi av FFI

Skjellene ble sendt med over-natt-post og obdusert ved Havforskningsinstituttet ved mottak. Fra blåskjellene ble det tatt et standard dorso-ventralt snitt som inkluderer de fleste organer (gonade, lagringsvev, fordøyelseskjertel, mage, gjeller og kappe). Fra filskjellene ble det tatt ut flere biter, fordelt på flere blokker, for å få med flest mulig organer. Prøver ble fiksert på formalinbasert, Davidsons fikseringsvæske, prosessert og innstøpt i parafinblokker, snittet ved 3 µm, farget med HES-farge og mikroskopert. Alle snitt ble mikroskopert individuelt av to avlesere (SM og DBG).

A.1 Mikroskopering av blåskjell

Blåskjell, RIGG 1 (skjell 1 – 4) 10 ukers nedsenking

Blåskjell, RIGG 3 (skjell 5 – 8) 10 uker nedsenking

Skjellene var åpne ved mottak, og hadde sluppet vannet. Skjellene så ut til å være svekket og i relativt dårlig kondisjon, med lys fordøyelseskjertel (som er et tegn på at skjellet ikke tar til seg føde eller er svekket).

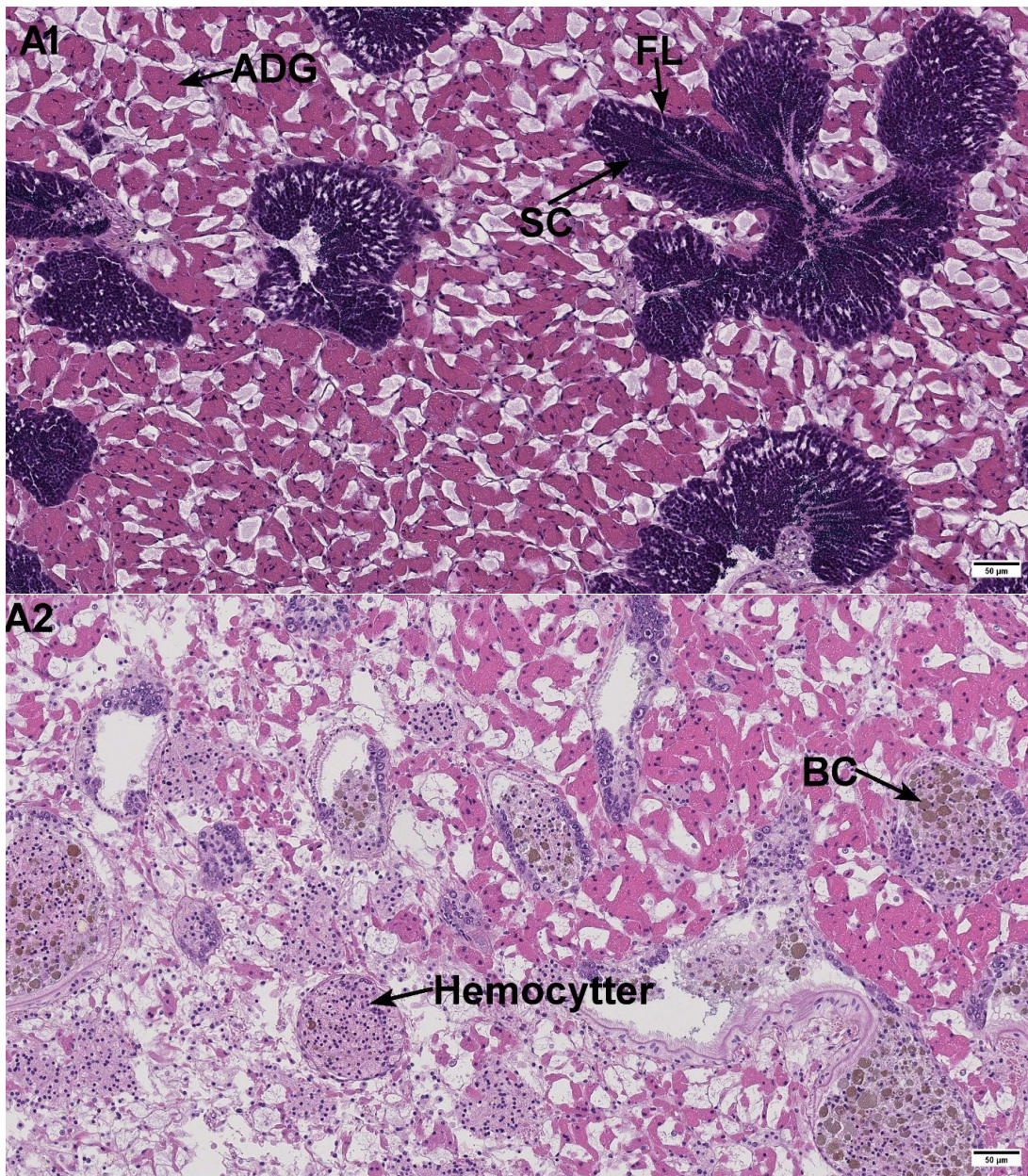
Ved mikroskopering er det generelle bildet at blåskjellene er passive og har hatt lite eller ingen tilgjengelig føde og mulig fysiologisk stress. De har tomme gonader med generelt mye hemocytter (som tilsvarer hvite blodlegemer) og «brune celler», som tyder på resorpsjon. De brune cellene er en type «ryddeceller» som fjerner dødt materiale, fremmedstoffer og resorbert eggmasse. Resorpsjonen er en prosess hvor skjellene gjenbraker materialet i gonaden for å sikre seg nok energi (Figur A2). Skjellene har generelt passiv fordøyelse, lave fordøyelsesepitel, variable områder, stedvis små nekroser eller atrofi (nedbygget vev) (Figur B2). Det er forhøyet hemocytaktivitet i deler av bindevev – lagringsvev (Figur D2). Det er delvis nekrotiske gjeller (Figur C2, Skjell 8). Det ble observert et tidlig stadium av hemisk neoplasi i ett individ. Dette er en form for leukemi som vi tidvis observerer i blåskjell, sannsynligvis uavhengig av kondisjon og ytre forhold. Det er ikke observert parasitter i vevene.

Blåskjell, RIGG 3 (skjell 1-6) 51 uker nedsenking

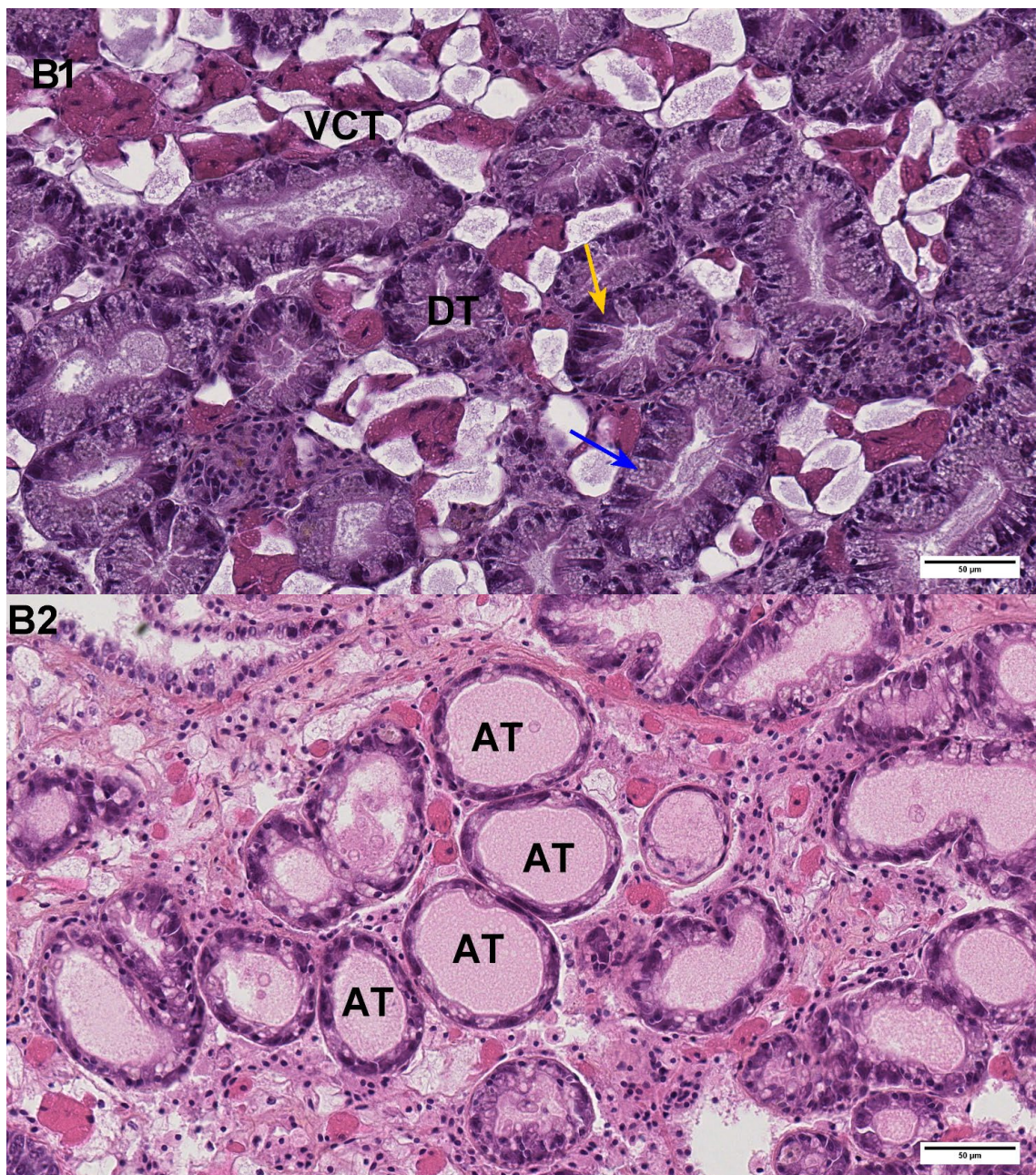
Mikroskopering av skjellene som hadde vært nedsenket i 51 uker tyder på at blåskjellene er ytterligere svekket. Med unntak av ett skjell er gonadene nedbygget, folliklene dilaterte, og spermatozoider er sluppet inn i lumen i folliklene, noe som tyder på begynnende celledød. Lagringsvevene er tomme. Det er forhøyet hemocytaktivitet og områder i binde- og lagringsvev er fylt med fibrinøst materiale. Fordøyelsesvevet er variabelt, men det overordnede bildet er nedbygging (atrofi) og passive fordøyelsesvev.

Konklusivt viser mikroskoperingen at blåskjellene er generelt svekket og går inn i en prosess hvor de bruker all tilgjengelig opplagsnæring og avmagres. Skjellene er i live etter 51 uker, men i det siste uttaket er det omfattende nekoser og celledød i folliklene. Mange av endringene i vevene er diffuse, men viser at skjellene er langt fra en normaltstand. Skjellene tar ikke opp næring, fordøyelsesvevet er passivt og bygges ned. De skiller ut vakuoler, kanskje for å kvitte seg med nedbygget cellemateriale. Det er høy hemocytaktivitet, særlig i kappevev og gonade, som kan være et tegn på stress. Gonadene resorberes, sannsynligvis for å brukes som næring. Gonadene er også unormale, det er døde kjønnsceller og deler med nedbygget vev.

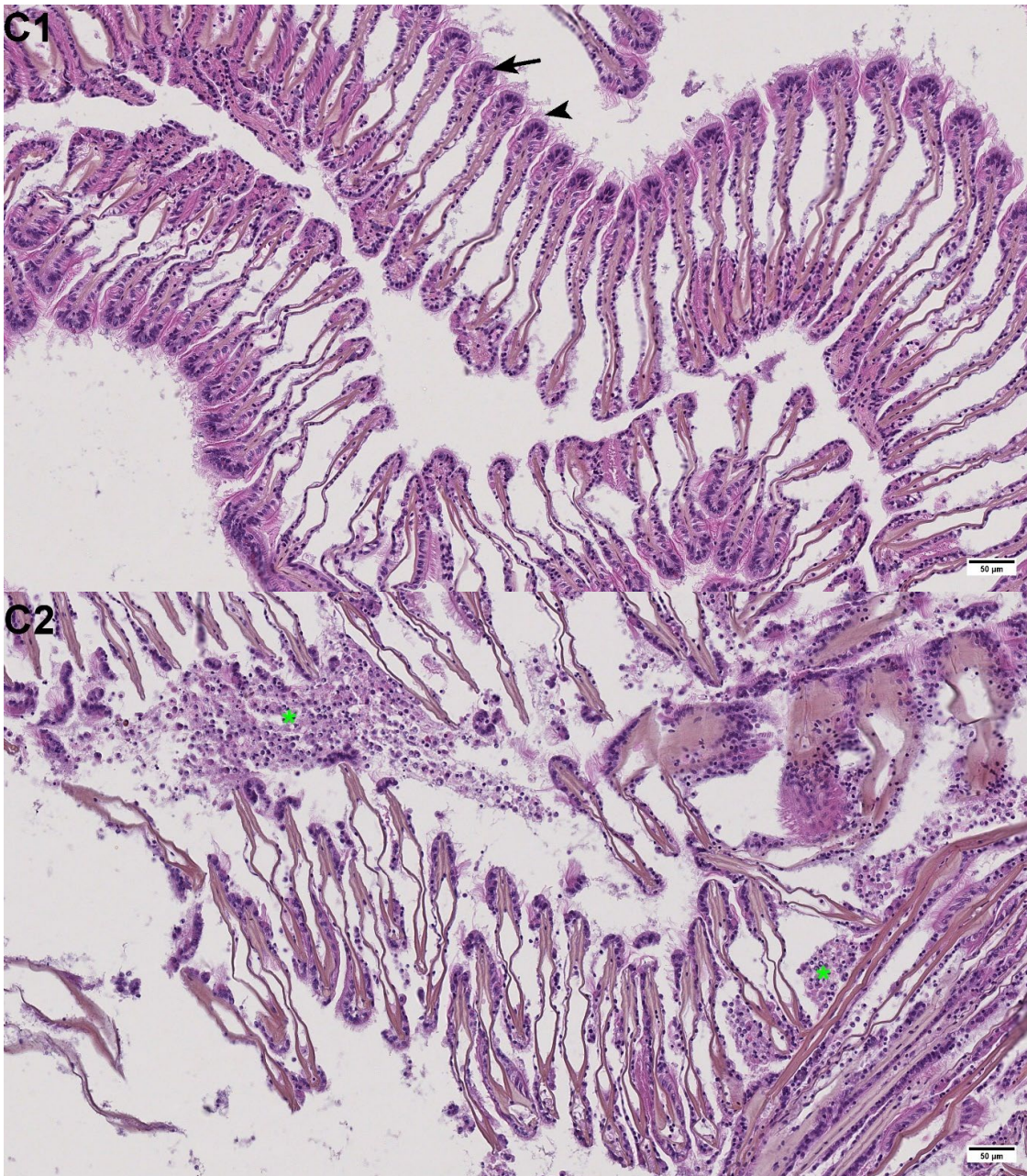
Det ble tatt histologiske bilder av blåskjell farget med hematoxylin, erythrosin og saffron (HES, 3µm). Figurene A1 & B1 er ikke en del av prøvene for FFI-prosjektet; de ble hentet fra databasen med skannede bilder av blåskjell, som tilhører overvåkningsprogram for skjellsykdommer for å vise hvordan normale strukturer av kappen og fordøylseskjertelen til friske blåskjell ser ut når sammenlignes med unormale vev i syke og stressede skjell.



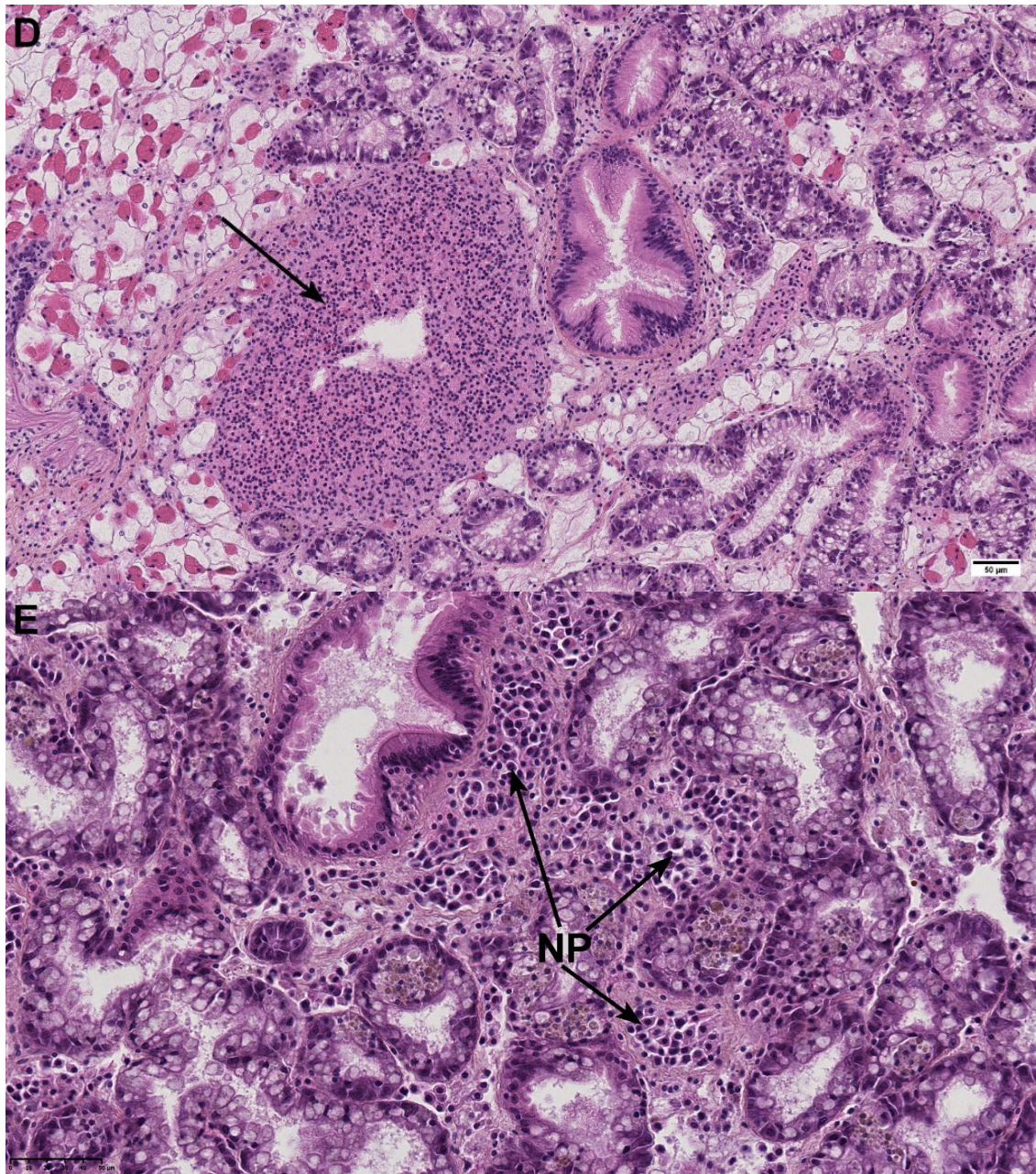
Figur A.1. Normal struktur i kappen hos et frisk skjell. Lyse (VTC) og røde (ADG) celler er lagringsvev . ADG: Adipogranulære celler. De mørke feltene er normale follikler med sperm. SC: spermceller; FL: Follikellvegg. **Figur A2.** Patologisk forandring, hvor normale celler er erstattet av diffus aggregering av brune celler (BC) og infiltrasjon av hemocytter, mest i follikler (RIGG 1, skjell nr. 4). Det røde og hvite «marmorerte» vevet viser at det fremdeles er lagringsmateriale til stede.



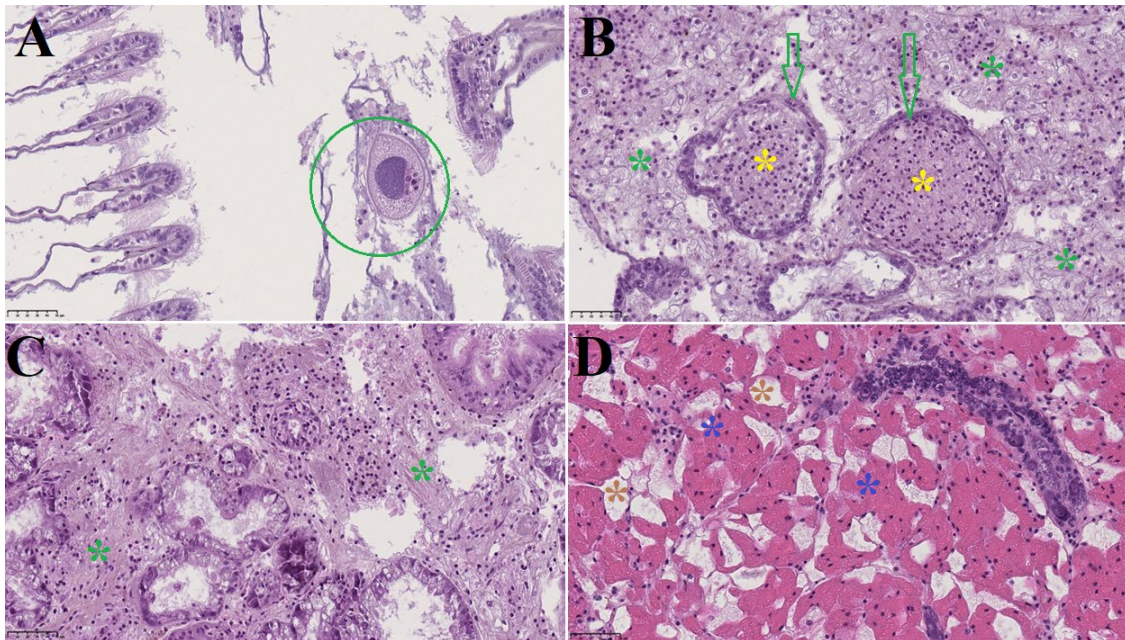
Figur B1. Normal struktur av fordøyelseskjertel i friskt skjell. VCT: vesicular connective tissue; DT: digestive tubule. Tubulene har normal form med høye epitel med basofile (oransje pil) og fordøysesceller (digestive cells, blå pil). **Figur B2.** Tilsvarende område med atrofi (nedbygging) (AT) av fordøyseskjertelen (DT) med tynne epitel og stort lumen (RIGG 3, Skjell nr. 6) som viser at skjellene ikke tar til seg næring.



Figur C1. Normale gjeller. Gjelleepitelet (pil) og flimmerhår (pilspiss) er uskadde og relativt godt behold (RIGG 1, Skjell nr. 3). **Figur C2.** Nekrotiske gjeller med infiltrasjon av hemocytter (*); de fleste gjellefilamentene er uten flimmerhår (RIGG 1, Skjell nr. 1).



Figur D. Inflammatorisk område (Inflammatory nodule) i bindevev av fordøyelseskjertelen (RIGG 3, Skjell nr. 5). **Figur E.** Unormale, neoplastiske, hemocytter (piler) med stor kjerne og små mengder av perifert cytoplasma i bindevev av fordøyelseskjertelen. NP: Neoplasia (RIGG 3, Skjell nr. 7).



Figur E. A viser gjellevev fra blåskjell etter 51 ukers nedsenking. Grønn sirkel viser en ciliat. B viser follikler (grønn pil) fylt med hemocytter og nekrotisk materiale (gul asterix). Bindevevet er tett og det er dannelse av fibrinøst materiale (grønn asterix) og forhøyet hemocytaktivitet. C) Lagringsvev (VCT) er tomt og ser nedbygget ut, erstattet med fibrinøst materiale (Grønn asterisk); D viser tilsvarende område som C fra blåskjell som har vært nedsenket i 10 uker. Her er lagringsvev (ADG (Blå asterisk) og VCT (Orange asterisk) normalt. Scale bar: 50µm.

A.2 Mikroskopering av kjempefilskjell

Kjempefilskjell, RIGG 2 (skjell 9 – 11)

Kjempefilskjell, RIGG 3 (skjell 12 – 14)

Skjellene gapte og hadde sluppet vannet. Mørk (normal) fordøyelseskjertel og ingen unormale tegn ved obduksjon.

Skjell 9: Normal mage, tarm, fot og muskel, men her er fordøyelseskjertel passiv, og stedvis atrofisk (oppløst) og vakuolisert (Figur G). Også gonaden er nekrotisk, eller det skjer en kraftig resorpsjon (Figur F). Noen få intakte egg. Dette tyder på at skjellet er svekket eller døende.

Skjell 10. gjennomgående normale vev, men resorpsjon i gonade og passive fordøyelsesvev. Gjellene var skadd, men dette kan skyldes skade grunnet transport (gjellene er svært tynne og blir raskt skadd når skjellene tas ut av vann og mister vannet).

Skjell 11. Gjennomgående normale vev. Litt skade på gjeller.

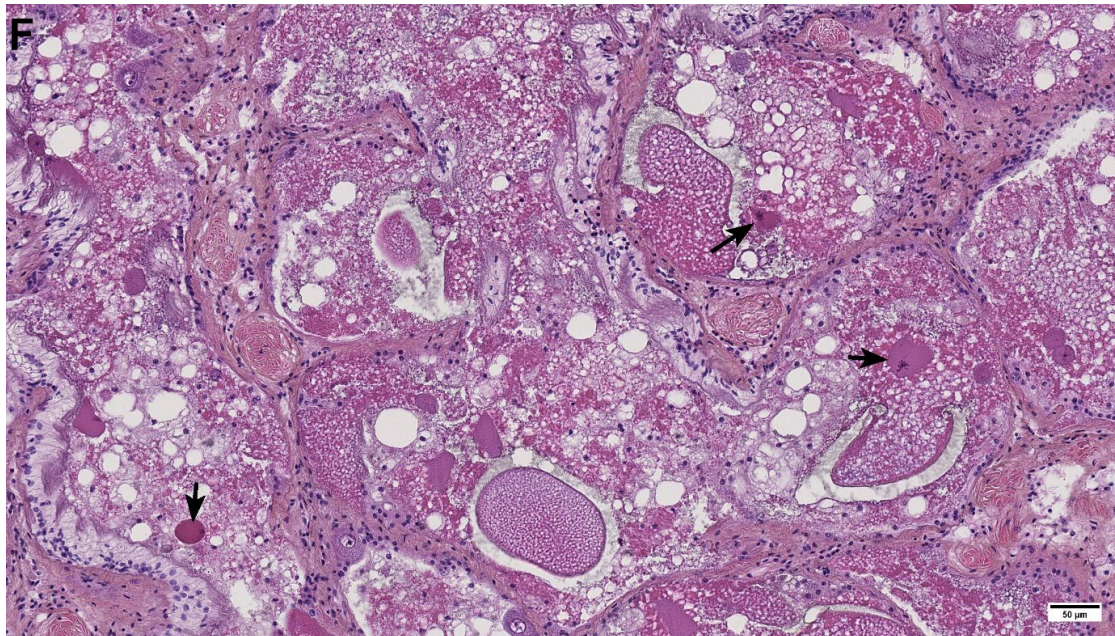
Skjell 12, 13 og 14. Gjennomgående normale vev. Litt skade på gjeller.

Filskjellene fra siste uttak (Drøbak) har gjennomgående bedre kondisjon enn skjellene fra riggene.

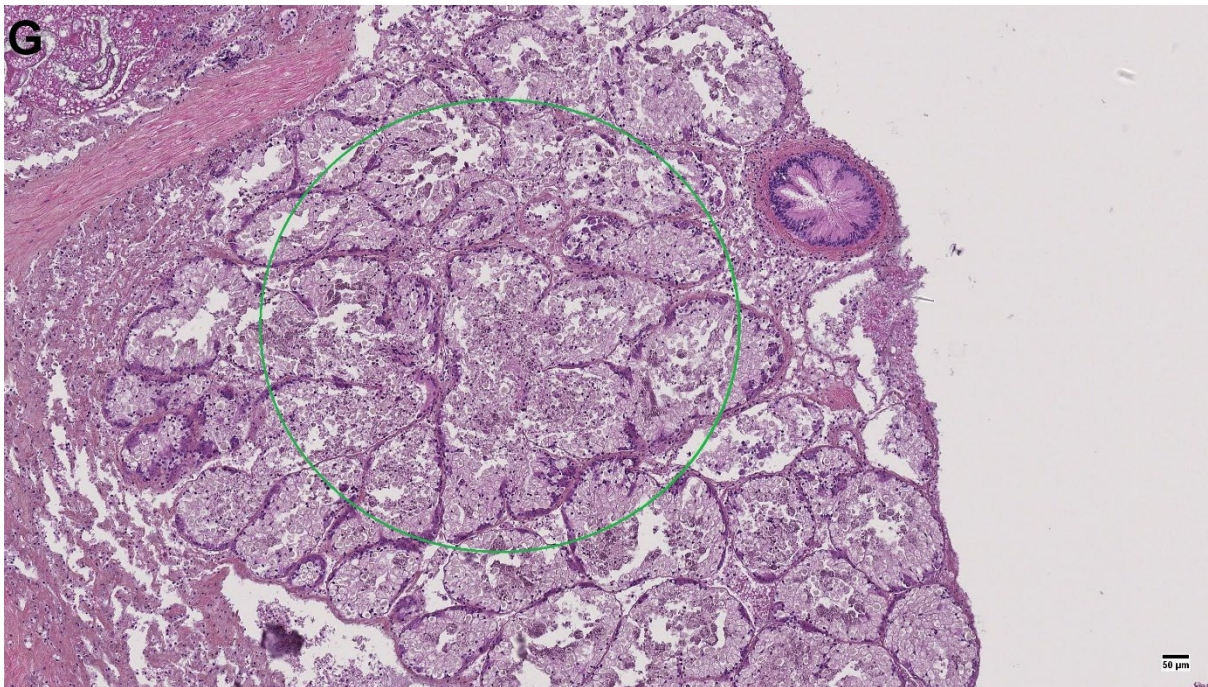
Konklusjon: Vi har lite erfaring fra mikroskopering av stort filskjell. Generelt ser vevene fra filskjellene normale ut, med unntak av gjellene og begrensede områder med inflammasjon og begynnende nekroser. Siden filskjellene ikke kan lukke seg vil de tape vannet under transport. Gjellevev er svært fragilt og vil raskt bli skadd.

Bergen, 22.03, 2024

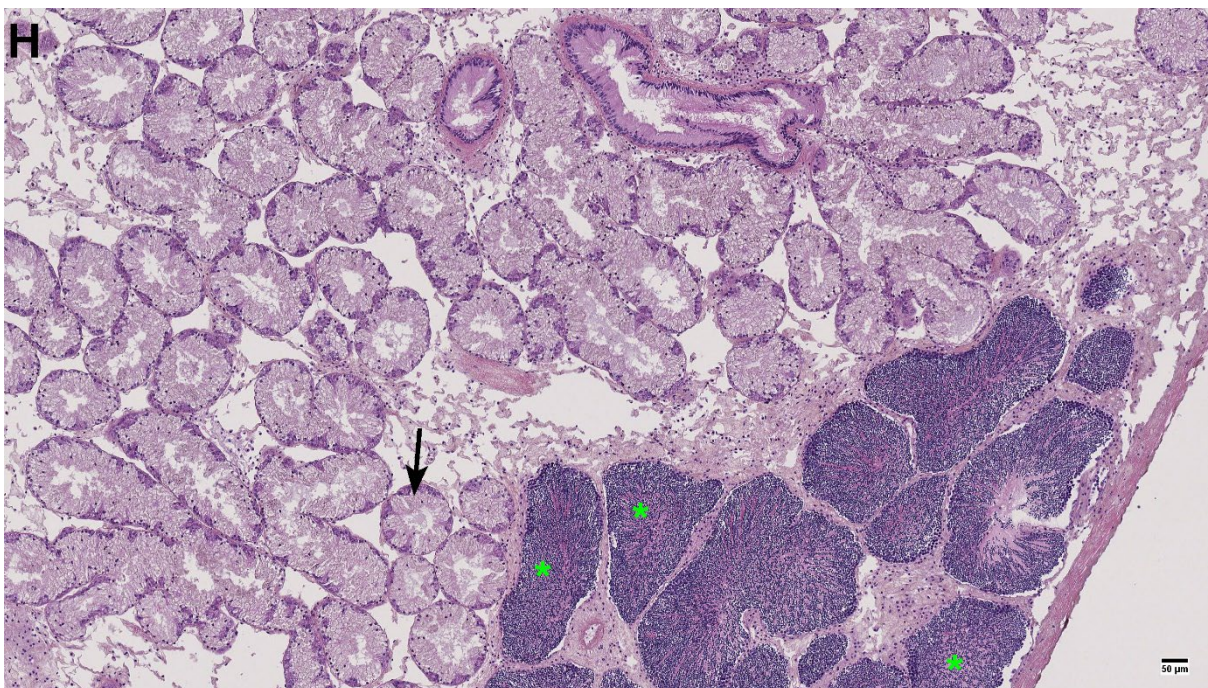
Stein Mortensen Dawit B. Ghebretsaie



Figur F. Kjempefilskjell med nekrotisk egg (pil). RIGG 2, Skjell nr. 11.



Figur G. Kjempefilskjell med delvis oppløst fordøyelseskjertel (grønn sirkel). RIGG 2, Skjell nr. 9.



Figur H. Kjempefilskjell med normale fordøyelsesvev (pil) og testikler (grønn asterix). RIGG 3, Skjell nr. 12.

B Resultater fra analyse av metaller

B.1 Metaller i skjell fra Ramme 1 (utført av FFI)



Forsvarets forskningsinstitutt
Avdeling Totalforsvar

Dato: 18.03.24

Analysereport

Side 1 av 2

Analysereport

Oppdragsgiver:

Antall prøver: 6

Anmerkninger: Analyse av skjell

Analysereporten gjelder følgende analyser:

Analyse- parametere	Metode identitet	Måleområde mg/kg
Vanadium, V	A1	0,01-100
Krom, Cr	A1	0,01-100
Mangan, Mn	A1	0,01-100
Jern, Fe	A1	0,01-100
Kobolt, Co	A1	0,01-100
Nikkel, Ni	A1	0,01-100
Kobber, Cu	A1	0,01-100
Sink, Zn	A1	0,01-100
Arsen, As	A1	0,01-100
Molybden, Mo	A1	0,01-100
Kadmium, Cd	A1	0,01-100
Antimon, Sb	A1	0,01-100
Bly, Pb	A1	0,01-100

Denne analysereporten består av i alt 2 sider. Analysereporten gjelder analyse av prøvene slik de ble mottatt av FFI. Rapporten kan ikke gjengis i utdrag uten skriftlig godkjenning av FFI.

Kjeller, 18.03.24

Ida Vaa Johnsen

Saksbehandler : Ida Vaa Johnsen

Innvalg : 63 80 78 04

Telefax : 63 80 75 09

Organisasjonsnr: 970 963 340 MVA

Adresse : Postboks 25, 2007 Kjeller

Sentralbord : 63 80 70 00

Mil retn nr: 0505

Bankgiro: 7101.05.00030

Postgiro: 0801 5045745



ANALYSE AV METALLER

Instrument: ICP-MS, iCap TQ Thermo

Operator: Ida Vaa Johnsen

FFI-nr	Prøveidentifikasjon
23-299-1	Blåskjell stasjon 1, parallell 1
23-299-2	Blåskjell stasjon 1, parallell 2
23-299-3	Blåskjell stasjon 1, parallell 3
23-300-1	Kjempefilskjell stasjon 1, parallell 1
23-300-2	Kjempefilskjell stasjon 1, parallell 2
23-300-3	Kjempefilskjell stasjon 1, parallell 3

FFI-nr.	mg/kg												
	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Cd	Sb	Pb
23-299-1	0,2	0,6	7	20	0,0	1,4	0,4	6	2	0,5	0,1	0,01	0,2
23-299-2	0,2	0,7	10	23	0,1	1,4	0,5	8	2	0,2	0,2	0,004	0,2
23-299-3	0,0	0,6	8	20	0,1	1,4	0,4	8	2	0,4	0,1	0,01	0,2
23-300-1	0,4	0,3	20	37	0,04	1	0,4	3	5	0,2	0,2	0,005	0,02
23-300-2	0,3	0,3	18	33	0,04	1	0,4	3	4	0,1	0,2	0,004	0,01
23-300-3	0,3	0,3	19	35	0,04	1	0,4	3	4	0,1	0,2	0,004	0,01

B.2 Blåskjell Drøbaksundet – innmat prøve 22-066 (utført av HI)



ANALYSEBEVIS



Oppdragsgiver:
Forsvarets forskningsinstitutt
Postboks 25
2027 Kjeller

Prøve ID: 2023-192/1

Rapportdato: 02.03.2023

Side 1 av 1

Prøvemateriale: Blåskjell, Innmat
Prøvetilstand: Frossen
Kundemerking: 22-066
Mottatt dato: 08.02.2023

Analysedato	Analyse	Parameter	Resultat	Benevnelse
28.02.2023	197	V *	0,19	mg/kg
		Cr *	0,18	mg/kg
		Mn *	1,1	mg/kg
		Fe *	23	mg/kg
		Co *	0,13	mg/kg
		Ni *	0,24	mg/kg
		Cu	1,3	mg/kg
		Zn	27	mg/kg
		As	2,8	mg/kg
		Se	0,75	mg/kg
		Mo *	0,14	mg/kg
		Ag *	0,006	mg/kg
		Cd	0,27	mg/kg
		Hg	0,015	mg/kg
		Pb	0,36	mg/kg

Metodikk:

197 - (V,Mn,Fe,Co,Cu,Zn,As,Se,Mo,Ag,Cd,Hg,Pb,Ni,Cr) – Multielement bestemmelse (ICP_MS)

Analysebeviset er elektronisk godkjent av underskriftsberettiget Marita Eide Kristoffersen

Resultatene er oppgitt i våtvekt, hvis annet ikke er spesifisert. Måleusikkerhet kan oppgis på forespørsel.
Analysebeviset kan ikke gjengis i utdrag, uten skriftlig godkjenning fra Havforskningsinstituttet.
Resultatene gjelder bare for mottatte prøver i den tilstand de ankom Havforskningsinstituttet.
Stjerne * angir resultater som ikke dekkes av akkrediteringen.

Postadresse	Besøksadresse	Internett: www.hi.no
Havforskningsinstituttet	Havforskningsinstituttet	Telefon: 55 23 85 00
Postboks 1870 NORDNES	Nordnesgaten 50	E-post: postmottak@hi.no
5817 BERGEN	5005 BERGEN	Org.no. 971 349 077

B.3 Blåskjell Ramme 2 – innmat prøve 22-068 (utført av HI)



ANALYSEBEVIS



Oppdragsgiver:
Forsvarets forskningsinstitutt
Postboks 25
2027 Kjeller

Prøve ID: 2023-192/2

Rapportdato: 02.03.2023

Side 1 av 1

Prøvemateriale: Blåskjell, Innmat
Prøvetilstand: Frossen
Kundemerking: 22-068
Mottatt dato: 08.02.2023

<u>Analysedato</u>	<u>Analyse</u>	<u>Parameter</u>	<u>Resultat</u>	<u>Benevnelse</u>
23.02.2023	197	V *	0,26	mg/kg
		Cr *	0,11	mg/kg
		Mn *	11	mg/kg
		Fe *	37	mg/kg
		Co *	0,064	mg/kg
		Ni *	0,20	mg/kg
		Cu	5,6	mg/kg
		Zn	24	mg/kg
		As	2,9	mg/kg
		Se	0,61	mg/kg
		Mo *	0,10	mg/kg
		Ag *	0,016	mg/kg
		Cd	0,23	mg/kg
		Hg	0,019	mg/kg
		Pb	0,41	mg/kg

Metodikk:

197 - (V,Mn,Fe,Co,Cu,Zn,As,Se,Mo,Ag,Cd,Hg,Pb,Ni,Cr) – Multielement bestemmelse (ICP_MS)

Analysebeviset er elektronisk godkjent av underskriftsberettiget Marita Eide Kristoffersen

Resultatene er oppgitt i våtvekt, hvis annet ikke er spesifisert. Målesikkerhet kan oppgis på forespørsel.
Analysebeviset kan ikke gjengis i utdrag, uten skriftlig godkjenning fra Havforskningsinstituttet.
Resultatene gjelder bare for mottatte prøver i den tilstand de ankom Havforskningsinstituttet.
Stjerne * angir resultater som ikke dekkes av akkrediteringen.

Postadresse
Havforskningsinstituttet
Postboks 1870 NORDNES
5817 BERGEN

Besøksadresse
Havforskningsinstituttet
Nordnesgaten 50
5005 BERGEN

Internett: www.hi.no
Telefon: 55 23 85 00
E-post: postmottak@hi.no
Org.no. 971 349 077

B.4 Kjempefilskjell Ramme 2 – innmat prøve 22-069 (utført av HI)



ANALYSEBEVIS



Oppdragsgiver:
Forsvarets forskningsinstitutt
Postboks 25
2027 Kjeller

Prøve ID: 2023-192/3

Rapportdato: 02.03.2023

Side 1 av 1

Prøvemateriale: Kjempefilskjell - musling art, Innmat
Prøvetilstand: Frossen
Kundemerking: 22-069
Mottatt dato: 08.02.2023

<u>Analysedato</u>	<u>Analyse</u>	<u>Parameter</u>	<u>Resultat</u>	<u>Benevnelse</u>
28.02.2023	197	V *	0,39	mg/kg
		Cr *	0,14	mg/kg
		Mn *	15	mg/kg
		Fe *	63	mg/kg
		Co *	0,063	mg/kg
		Ni *	0,12	mg/kg
		Cu	16	mg/kg
		Zn	12	mg/kg
		As	9,7	mg/kg
		Se	0,82	mg/kg
		Mo *	0,16	mg/kg
		Ag *	0,16	mg/kg
		Cd	0,37	mg/kg
		Hg	0,031	mg/kg
		Pb	0,06	mg/kg

Metodikk:

197 - (V,Mn,Fe,Co,Cu,Zn,As,Se,Mo,Ag,Cd,Hg,Pb,Ni,Cr) – Multielement bestemmelse (ICP_MS)

Analysebeviset er elektronisk godkjent av underskriftsberettiget Marita Eide Kristoffersen

Resultatene er oppgitt i våtvekt, hvis annet ikke er spesifisert. Målesikkerhet kan oppgis på forespørsel.
Analysebeviset kan ikke gjengis i utdrag, uten skriftlig godkjenning fra Havforskningsinstituttet.
Resultatene gjelder bare for mottatte prøver i den tilstand de ankom Havforskningsinstituttet.
Stjerne * angir resultater som ikke dekkes av akkrediteringen.

Postadresse	Besøksadresse	Internett: www.hi.no
Havforskningsinstituttet	Havforskningsinstituttet	Telefon: 55 23 85 00
Postboks 1670 NORDNES	Nordhesgaten 50	E-post: postmottak@hi.no
5817 BERGEN	5005 BERGEN	Org.no. 971 349 077

B.5 Blåskjell Ramme 3 – innmat prøve 22-070 (utført av HI)



ANALYSEBEVIS



Oppdragsgiver:
Forsvarets forskningsinstitutt
Postboks 25
2027 Kjeller

Prøve ID: 2023-192/4

Rapportdato: 02.03.2023

Side 1 av 1

Prøvemateriale: Blåskjell, Innmat
Prøvetilstand: Frossen
Kundemerking: 22-070
Mottatt dato: 08.02.2023

<u>Analyse dato</u>	<u>Analyse</u>	<u>Parameter</u>	<u>Resultat</u>	<u>Benevnelse</u>
28.02.2023	197	V *	0,34	mg/kg
		Cr *	0,14	mg/kg
		Mn *	14	mg/kg
		Fe *	47	mg/kg
		Co *	0,078	mg/kg
		Ni *	0,19	mg/kg
		Cu	4,4	mg/kg
		Zn	26	mg/kg
		As	3,1	mg/kg
		Se	0,67	mg/kg
		Mo *	0,13	mg/kg
		Ag *	0,022	mg/kg
		Cd	0,24	mg/kg
		Hg	0,019	mg/kg
		Pb	0,40	mg/kg

Metodikk:

197 - (V,Mn,Fe,Co,Cu,Zn,As,Se,Mo,Ag,Cd,Hg,Pb,Ni,Cr) – Multielement bestemmelse (ICP_MS)

Analysebeviset er elektronisk godkjent av underskriftsberechtiget Marita Eide Kristoffersen

Resultatene er oppgitt i våtvekt, hvis annet ikke er spesifisert. Måleusikkerhet kan oppgis på forespørsel.
Analysebeviset kan ikke gjengis i utdrag, uten skriftlig godkjenning fra Havforskningsinstituttet.
Resultatene gjelder bare for mottatte prøver i den tilstand de ankom Havforskningsinstituttet.
Stjerne * angir resultater som ikke dekkes av akkrediteringen.

Postadresse	Besøksadresse	Internett: www.hi.no
Havforskningsinstituttet	Havforskningsinstituttet	Telefon: 55 23 85 00
Postboks 1870 NORDNES	Nordnesgaten 50	E-post: postmottak@hi.no
5817 BERGEN	5005 BERGEN	Org.no. 971 349 077

B.6 Kjempefilskjell Ramme 3 – innmat prøve 22-071 (utført av HI)



ANALYSEBEVIS



Oppdragsgiver:
Forsvarets forskningsinstitutt
Postboks 25
2027 Kjeller

Prøve ID: 2023-192/5

Rapportdato: 02.03.2023

Side 1 av 1

Prøvemateriale: Kjempefilskjell - musling art, Innmat
Prøvetilstand: Frossen
Kundemerking: 22-071
Mottatt dato: 08.02.2023

<u>Analysedato</u>	<u>Analyse</u>	<u>Parameter</u>	<u>Resultat</u>	<u>Benevnelse</u>
28.02.2023	197	V *	0,44	mg/kg
		Cr *	0,14	mg/kg
		Mn *	20	mg/kg
		Fe *	66	mg/kg
		Co *	0,066	mg/kg
		Ni *	0,14	mg/kg
		Cu	14	mg/kg
		Zn	10	mg/kg
		As	10	mg/kg
		Se	0,85	mg/kg
		Mo *	0,16	mg/kg
		Ag *	0,11	mg/kg
		Cd	0,24	mg/kg
		Hg	0,029	mg/kg
		Pb	0,044	mg/kg

Metodikk:

197 - (V,Mn,Fe,Co,Cu,Zn,As,Se,Mo,Ag,Cd,Hg,Pb,Ni,Cr) – Multielement bestemmelse (ICP_MS)

Analysebeviset er elektronisk godkjent av underskriftsberettiget Marita Eide Kristoffersen

Resultatene er oppgitt i våtvekt, hvis annet ikke er spesifisert. Måleusikkerhet kan oppgis på forespørsel.
Analysebeviset kan ikke gjengis i utdrag, uten skriftlig godkjenning fra Havforskningsinstituttet.
Resultatene gjelder bare for mottatte prøver i den tilstand de ankom Havforskningsinstituttet.
Stjerne * angir resultater som ikke dekkes av akkrediteringen.

Postadresse
Havforskningsinstituttet
Postboks 1670 NORDNES
5817 BERGEN

Besøksadresse
Havforskningsinstituttet
Nordnesgaten 50
5005 BERGEN

Internet: www.hi.no
Telefon: 55 23 86 00
E-post: postmottak@hi.no
Org.no. 971 349 077

B.7 Kjempefilskjell Drøbaksundet – inmat prøve 22-072 (utført av HI)



ANALYSEBEVIS



Oppdragsgiver:
Forsvarets forskningsinstitutt
Postboks 25
2027 Kjeller

Prøve ID: 2023-192/6

Rapportdato: 02.03.2023

Side 1 av 1

Prøvemateriale: Kjempefilskjell - musling art, Inmat
Prøvetilstand: Frossen
Kundemerking: 22-072
Mottatt dato: 08.02.2023

<u>Analysedato</u>	<u>Analyse</u>	<u>Parameter</u>	<u>Resultat</u>	<u>Benevnelse</u>
23.02.2023	197	V *	0,25	mg/kg
		Cr *	0,12	mg/kg
		Mn *	1,7	mg/kg
		Fe *	31	mg/kg
		Co *	0,061	mg/kg
		Ni *	0,10	mg/kg
		Cu	0,79	mg/kg
		Zn	8,0	mg/kg
		As	8,7	mg/kg
		Se	0,87	mg/kg
		Mo *	0,20	mg/kg
		Ag *	0,11	mg/kg
		Cd	0,34	mg/kg
		Hg	0,027	mg/kg
		Pb	0,029	mg/kg

Metodikk:

197 - (V,Mn,Fe,Co,Cu,Zn,As,Se,Mo,Ag,Cd,Hg,Pb,Ni,Cr) – Multielement bestemmelse (ICP_MS)

Analysebeviset er elektronisk godkjent av underskriftsberettiget Marita Eide Kristoffersen

Resultatene er oppgitt i våtvekt, hvis annet ikke er spesifisert. Måleusikkerhet kan oppgis på forespørsel.
Analysebeviset kan ikke gjengis i utdrag, uten skriftlig godkjenning fra Havforskningsinstituttet.
Resultatene gjelder bare for mottatte prøver i den tilstand de ankom Havforskningsinstituttet.
Stjerne * angir resultater som ikke dekkes av akkrediteringen.

Postadresse
Havforskningsinstituttet
Postboks 1570 NORDNES
5817 BERGEN

Besøksadresse
Havforskningsinstituttet
Nordnesgaten 50
5005 BERGEN

Internett: www.hi.no
Telefon: 55 23 85 00
E-post: postmottak@hi.no
Org.no. 971 349 077

C Analyse av skjellprøver med hensyn på eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser

C.1 Analyse utført av WAT i Polen – April 2023

Sample preparation

Polar compound extraction

The 5 ± 0.5 g samples were transferred into 15 mL Falcon tubes. Then 20 mL of ACN was added. Samples were shaken vigorously for 15 min followed by centrifugation for 4 min at 5000g. The acetonitrile phase was separated and washed twice with 20 mL of n-hexane. The acetonitrile phase was evaporated to dryness at 45°C under a gentle stream of nitrogen and reconstituted in 0.8 mL of acetonitrile. Samples were filtered with pore size 0.45 μm filters followed by LC-MS/MS analysis.

BSTFA GC-MS/MS derivatization of ACN extracts

To 200 μL of ACN extracts was added 10 μL of BSTFA solution. Then the sample was shaken for 2 minutes at 2000 shocks/min and heated for 40 min at 70°C. Samples prepared in this way – were analyzed by using GC-MS/MS.

Thiol GC-MS/MS derivatization of ACN extracts

To every 200 μL of ACN extracts was added 10 μL of 1-propanethiol solution. Then the sample was shaken for 2 minutes at 2000 shocks/min and heated for 10 min at 60°C. The sample prepared in this way – was analyzed by using GC-MS/MS.

Non-polar compound extraction

The 2 ± 0.1 g samples were transferred into 15 mL Falcon tubes. Then 4 mL of chloroform was added. Samples were shaken vigorously for 15 min. Then to the sample was added 0.8 g MgSO_4 and 0.2 g NaCl. Samples were shaken vigorously for 2 min, followed by centrifugation for 10 min at 5000 g. The chloroform phase was separated, and to the organic phase was added 300 mg MgSO_4 and 70 mg PSA (primary secondary amine sorbent – used to remove sugars and fatty acids). Samples were shaken vigorously for 2 min, followed by centrifugation for 10 min at 5000 g. The chloroform phase was separated and concentrated 5 times under a gentle stream of nitrogen. Samples prepared in this way – were analyzed by using GC-MS/MS.

Thiol GC-MS/MS derivatization of ACN extracts

To every 200 µL of chloroform extracts was added 10 µL of 1-propanethiol solution. Then the sample was shaken for 2 minutes at 2000 shocks/min and heated for 10 min at 60°C. Samples prepared in this way – were analyzed by using GC-MS/MS.

Compound list

#	Chemical (acronym) CAS	Description	GC-MS/MS	LC-MS/MS
1	Sulfur mustard (H) 505-60-2	Dumped CW agent	x	
1.1	Thiodiglycol (TDG) 111-48-8	Hydrolysis product of 1		x
1.1S	Bis(2-trimethylsilyloxyethyl)sulfide (TDG-2TMS derivative) 20486-03-7	BSTFA derivative of 1.1	x	
1.1O	Thiodiglycol sulfoxide 3085-45-8	The oxidation product of 1 (either natural or with H ₂ O ₂)		x
1.1OS	Bis(2-silyloxyethyl)sulfoxide 97916-03-05	BSTFA derivative of 1.1O	x	
1.2	1,4-Dithiane 505-29-3	Degradation product of 1	x	
1.3	1,4-Oxathiane 15980-15-1	Degradation product of 1	x	
1.4	1,4,5-Oxadithiepane 3886-40-6	Degradation product or by-product of 1	x	
1.5	1,2,5-Trithiepane 6576-93-8	Degradation product or by-product of 1	x	
1.6	Thiodiglycolic acid (TDGA) 123-93-3	Bacterial metabolite of 1.1		x
1.6S	Bis(trimethylsilyl) 2,2'-thiodiacetate 20486-03-7	BSTFA derivative of 1.6	x	
2	Adamsite (DM) 578-94-9	<i>Dumped CW agent</i>		<i>Not analyzed as such</i>

20	5,10-Dihydrophenoarsazin-10-ol 10-oxide 4733-19-1	The oxidation product of 2 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
3a	Clark I (DA) 712-48-1	<i>Dumped CW agent. Also, component in dumped arsine oil.</i>	x	
3b	Clark II (DC) 23525-22-6	<i>(Possibly) dumped CW agent</i>	Not analyzed as such	
30	Diphenylarsinic acid (DPAA) 4656-80-8	The oxidation product of 3a and 3b and all of their degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
3T	Diphenylpropylthioarsine 17544-92-2	Derivative of 3a and 3b and all of their degradation products	x	
4	Triphenylarsine (TPA) 603-32-7	The component in dumped arsine oil	x	
40	Triphenylarsine oxide (TPAO) 1153-05-5	The oxidation product of 4 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
5	Phenyldichloroarsine (PDCA) 696-28-6	<i>Dumped CW agent. Also, component in dumped arsine oil.</i>	Not analyzed as such	
50	Phenylarsonic acid (PAA) 98-05-5	The oxidation product of 5 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
5T	Dipropyl phenylarsonodithioite 1776-69-8	Thiol derivative of 5 and all of its degradation products	x	
6	α-Chloroacetophenone (CN) 532-27-4	<i>Dumped CW agent</i>	x	
7	Lewisite I (L1) 541-25-3	<i>Dumped CW agent</i>	Not analyzed as such	
70	2-Chlorovinylarsonic acid (CVAA) 64038-44-4	The oxidation product of 7 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
7T	Dipropyl (2-chlorovinyl)-arsonodithioite 677354-97-1	Thiol derivative of 7 and all of its degradation products	x	
8	Lewisite II (L2) 40334-69-8	<i>Dumped CW agent</i>	Not analyzed as such	
80	Bis(2-chlorovinyl)arsinic acid (CVAOA) 157184-21-9	The oxidation product of 8 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x

8T	Bis(2-chlorovinyl) propylthioarsine 677355-04-3	Thiol derivative of 8 and all of its degradation products	x	
9	2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) 118-96-7	<i>Dumped explosive, component of many explosive compositions used during WWII</i>	x	x
9.1	4-Nitrotoluene (4-NT) 99-99-0	<i>Degradation products and impurity of 9</i>	x	x
9.2	1,3-Dinitrobenzene (1,3-DNB) 99-65-0	<i>Degradation products and impurity of 9</i>	x	x
9.3	1,3,5-Trinitrobenzene (1,3,5-TNB) 99-35-4	<i>Degradation products and impurity of 9</i>	x	x
9.4	2,4-Dinitrotoluene (2,4-DNT) 121-14-2	<i>Degradation products of 9</i>	x	x
9.5	2,6-Dinitrotoluene (2,6-DNT) 606-20-2	<i>Degradation products of 9</i>	x	x
9.6	2,4-Dinitroaniline (2,4-DNA) 97-02-9	<i>Degradation products of 9</i>	x	x
9.7	4-Amino-2,6-dinitrotoluene (4A-2,6-DNT) 19406-51-0	<i>Degradation products of 9</i>	x	x
9.8	2-Amino-4,6-dinitrotoluene (2-A-4,6-DNT) 35572-78-2	<i>Degradation products of 9</i>	x	x
10	Tabun (GA) 77-81-6		x	
11	Nitrogen mustard (HN-3) 555-77-1		x	

Selectivity

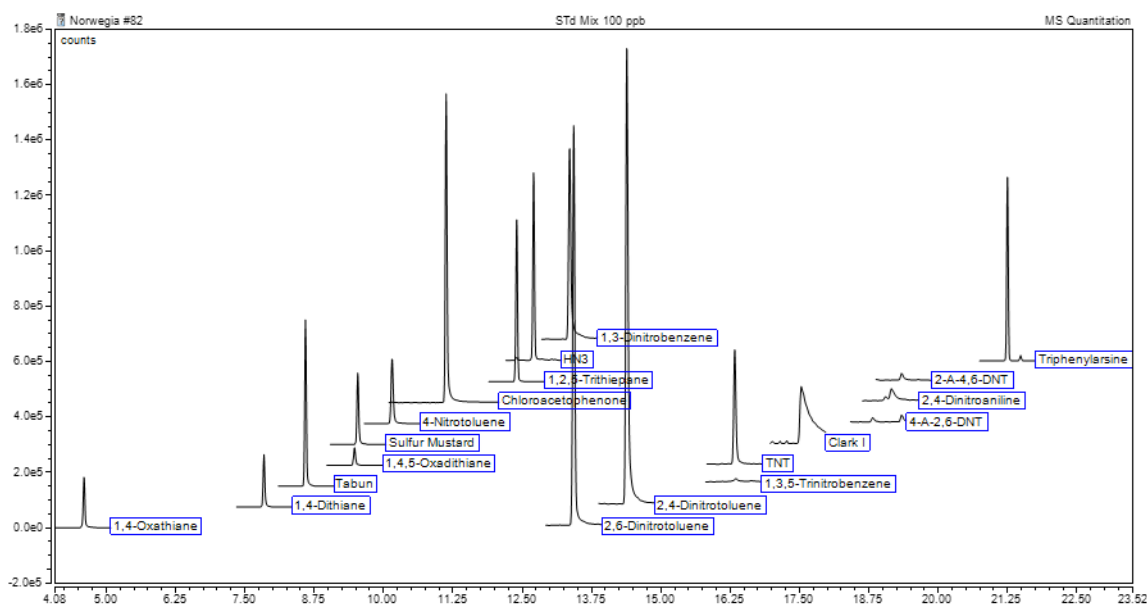


Figure C.1 Chromatogram obtained during the analysis of non-polar standards of CWAs, explosives, and their degradation products at a concentration of 100 ng/mL.

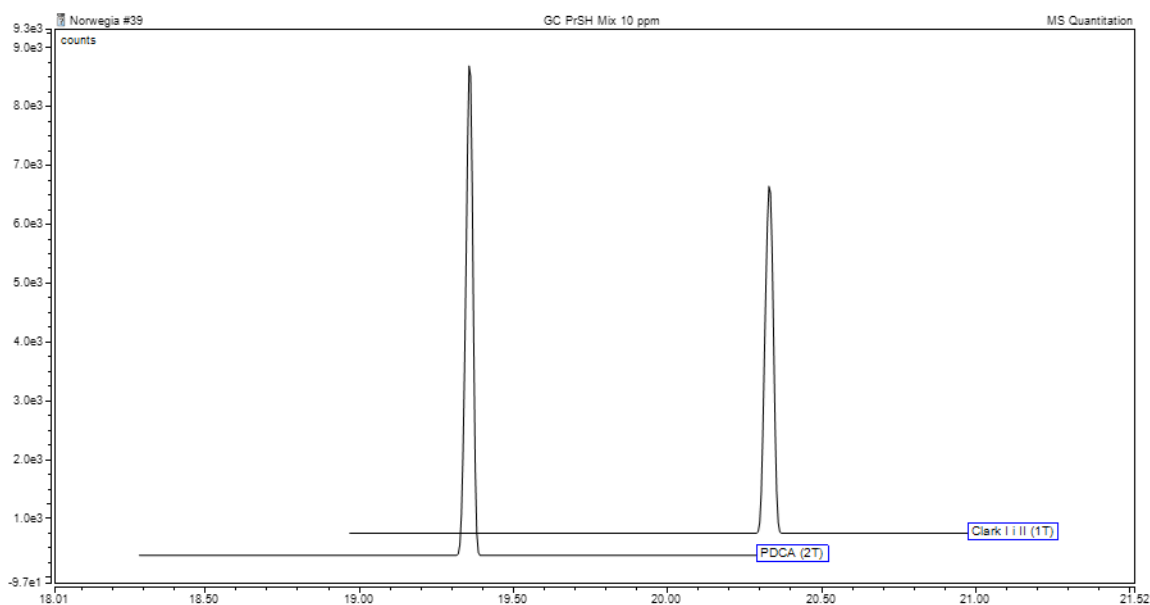


Figure C.2 Chromatogram obtained during the analysis of PDCA, as well as Clark I and II after thiol derivatization at a concentration of 10 µg/mL.

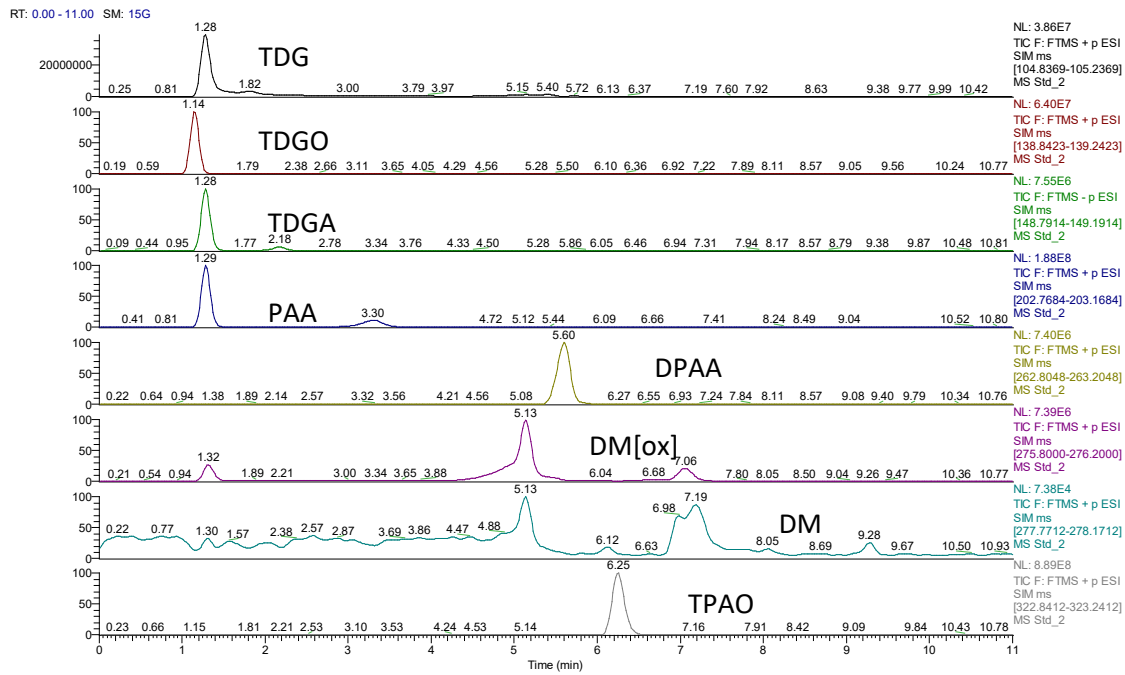


Figure C.3 Set of chromatograms obtained during the analysis of polar standards of CWA degradation products; all standards in a concentration of 1 µg/mL.

Table C.1 Limit of detection and quantification

Compound	LOD in solution [ng/mL]	LOQ in solution [ng/mL]	LOD in the sample [ng/g]	LOQ in the sample [ng/g]
1	0.17	0.50	0.03	0.10
1.2	0.50	1.50	0.10	0.30
1.3	0.50	1.50	0.10	0.30
1.4	0.17	0.50	0.03	0.10
1.5	0.50	1.50	0.10	0.30
1.6	3.33	10.00	0.67	2.00
3a	8.33	25.00	1.67	5.00
3T	0.50	1.50	0.10	0.30
4	10.00	30.00	2.00	6.00
5T	0.33	1.00	0.07	0.20
6	0.17	0.50	0.03	0.10
7T	0.83	2.50	0.17	0.50
8T	0.83	2.50	0.17	0.50
9	0.33	1.00	0.07	0.20
9.1	0.03	0.10	0.01	0.02
9.2	0.17	0.50	0.03	0.10
9.3	0.17	0.50	0.03	0.10
9.4	0.50	1.50	0.10	0.30
9.5	0.50	1.50	0.10	0.30
9.6	0.83	2.50	0.17	0.50
9.7	5.17	15.50	1.03	3.10
9.8	5.17	15.50	1.03	3.10

In addition, was the LOD and LOQ for compound 40 (Triphenylarsine oxide) reported to be 0.05 ng/g and 0.15 ng/g, respectively.

Table C.2 Results

No	Compound name	Concentration [ng/g]					
		GC Blk	R 68	R 69	R 70	R 71	R 73
1	1,4-Oxathiane	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
2	1,4-Dithiane	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
3	Tabun	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

4	1,4,5-Oxadithiane	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
5	Sulfur Mustard	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
6	4-Nitrotoluene	< LOD	0.06	0.05	0.08	0.22	< LOD
7	Chloroacetophenone	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
8	1,2,5-Trithiepane	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
9	HN-3	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
10	1,3-Dinitrobenzene	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
11	2,6-Dinitrotoluene	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	15.22	< LOD
12	2,4-Dinitrotoluene	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
13	TNT	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
14	1,3,5-Trinitrobenzene	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
15	Clark I	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
16	4-A-2,6-DNT	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
17	2,4-Dinitroaniline	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
18	2-A-4,6-DNT	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
19	Triphenylarsine (TPA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
20	Thiodiglycol (TDG)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
21	Thiodiglycol oxide (TDGO)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
22	Thiodiglycolic acid (TDGA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
23	Phenylarsonic acid (PAA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
24	Diphenylarsinic acid (DPAA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
25	Adamsite (DM)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
26	DM[ox]	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
27	Triphenylarsine oxide (TPAO)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

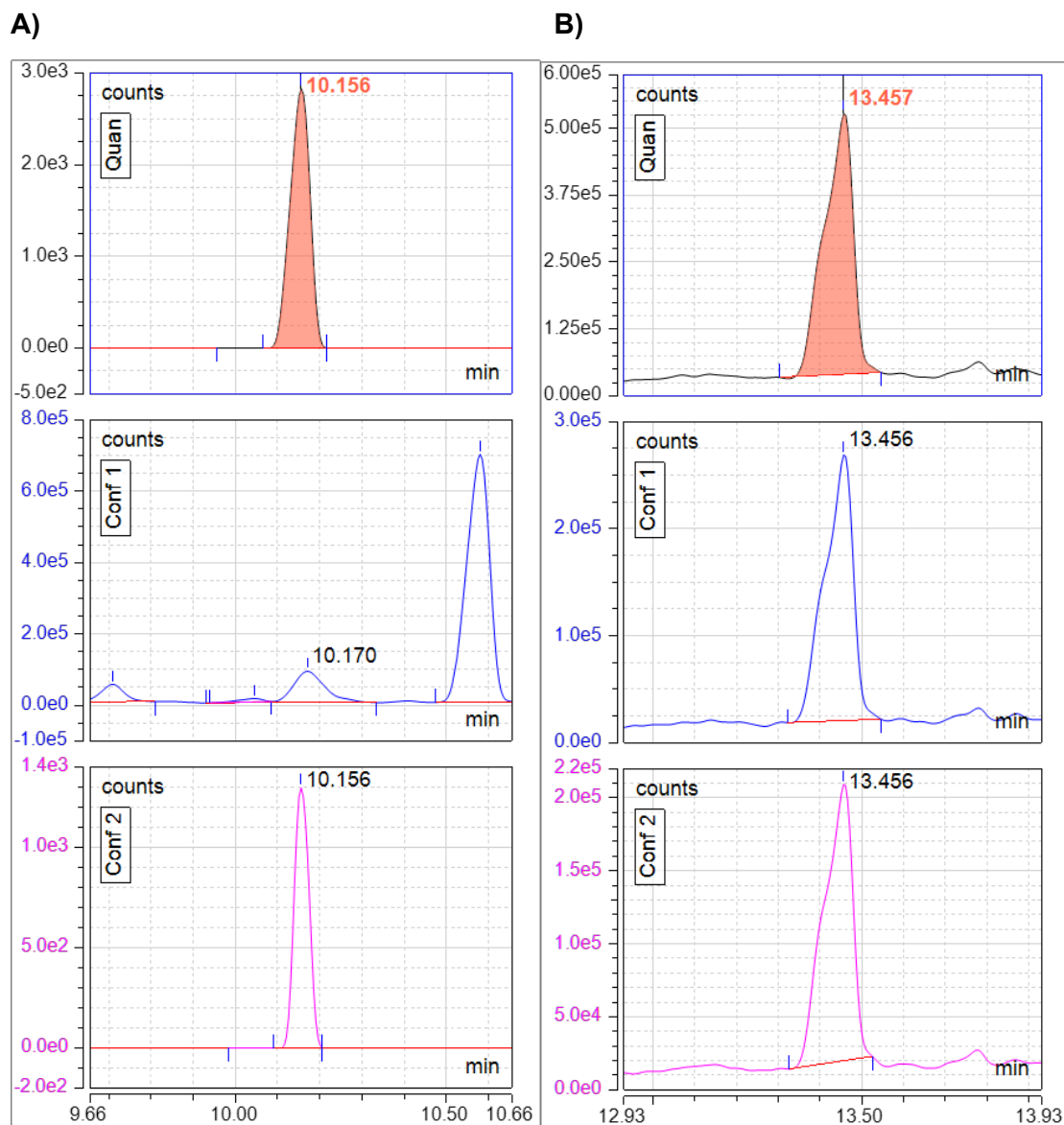


Figure C.4 Set of chromatograms obtained during the analysis of sample R71 confirming the presence of A) 4-nitrotoluene and B) 2,6-dinitrobenzene

Conclusion

1. During the first analysis, we found the presence of TDG, but in fact, it was not TDG but a different though similar compound. During repeated analysis, HRMS (LC-Orbitrap) was additionally used, showing that the analyzed compound has ions slightly different in mass from characteristic TDG ions. Therefore, this compound is not TDG because the weight

deviation is above 100 ppm and should be below 5 ppm. Thus, we excluded the presence of TDG in the tested samples using HRMS.

2. The analysis of extracts from the supplied cork/stopper showed no presence of sulfur mustard.
3. After the entire analytical procedure (including derivatization with propanethiol) no presence of diphenyl propylthioarsine (CAS: 17544-92-2) was found, which means that there were no diphenylarsinic acid, Clark I, Clark II or bis(diphenylarsin) oxide in the samples.
4. Similarly as in point 3 – dipropylphenylarsonothioite (CAS: 1776-69-8) was not detected, which proves the lack of phenyldichloroarsine and phenylarsonic acid in the samples.

Analytical work was carried out by the team from the Military University of Technology (WAT):

- 1. Stanisław Popiel**
- 2. Jakub Nawala**
- 3. Daniel Dzedzic**

C.2 Analyse utført av WAT i Polen – Desember 2023

Analytical laboratory

Name of the laboratory/institute:	Military University of Technology/Faculty of Advanced Technologies and Chemistry
Contact person:	Michał Grabka, Stanisław Popiel
Address:	Gen. S. Kaliskiego 2 Street, 00-908 Warsaw
Telephone number:	+48 26 183 90 97
Email address:	michal.grabka@eat.edu.pl , stanislaw.popiel@wat.edu.pl
Date of sample receipt:	23.11.2023
Date of report:	13.12.2023

Analysts and authentication

	Name	Title	Signature
1	Popiel Stanisław	Prof.	<i>Stanisław Popiel</i>
2	Nawała Jakub	Ph.D.	<i>Jakub Nawała</i>
3	Dziedzic Daniel	Ph.D.	<i>Daniel Dziedzic</i>
3	Grabka Michał	Ph.D.	<i>Michał Grabka</i>

Scope of analysis

The aim of the analysis was to identify and quantify chemical warfare agents, explosives and related degradation compounds according to Table C.3 in six samples collected in the marine environment. The analysis was performed using GC-MS/MS and HPLC-HRMS. The quantification and detection limits of the analyzed compounds are presented in Table C.4.

Table C.3 List of compounds selected for analysis.

#	Chemical (acronym) CAS	Description	GC-MS/MS	LC-HRMS
1	Sulfur mustard (H)	Dumped CW agent	x	
	505-60-2			
1.1	Thiodiglycol (TDG)	Hydrolysis product of 1	Not analyzed as such	
	111-48-8			
1.1S	Bis(2-trimethylsilyloxyethyl)sulfide (TDG-2TMS derivative)	BSTFA derivative of 1.1	x	
	20486-03-7			
1.1O	Thiodiglycol sulfoxide	The oxidation product of 1 (either natural or with H ₂ O ₂)	Not analyzed as such	
	3085-45-8			
1.1OS	Bis(2-silyloxyethyl)sulfoxide	BSTFA derivative of 1.1O	x	
	97916-03-05			
1.2	1,4-Dithiane	Degradation product of 1	x	
	505-29-3			
1.3	1,4-Oxathiane	Degradation product of 1	x	
	15980-15-1			
1.4	1,4,5-Oxadithiepane	Degradation product or by-product of 1	x	
	3886-40-6			
1.5	1,2,5-Trithiepane	Degradation product or by-product of 1	x	
	6576-93-8			
1.6	Thiodiglycolic acid (TDGA)	Bacterial metabolite of 1.1	Not analyzed as such	
	123-93-3			
1.6S	Bis(trimethylsilyl) 2,2'-thiodiacetate	BSTFA derivative of 1.6	x	
	20486-03-7			
2	Adamsite (DM)	Dumped CW agent	Not analyzed as such	
	578-94-9			

2O	5,10-Dihydrophenoarsazin-10-ol 10-oxide 4733-19-1	The oxidation product of 2 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
	Clark I (DA) 712-48-1	Dumped CW agent. Also, component in dumped arsine oil.	x	
3b	Clark II (DC) 23525-22-6	(Possibly) dumped CW agent	Not analyzed as such	
	Diphenylarsinic acid (DPAA) 4656-80-8	The oxidation product of 3a and 3b and all of their degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
3T	Diphenylpropylthioarsine 17544-92-2	Derivative of 3a and 3b and all of their degradation products	x	
	Triphenylarsine (TPA) 603-32-7	The component in dumped arsine oil	x	
4O	Triphenylarsine oxide (TPAO) 1153-05-5	The oxidation product of 4 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
	Phenyldichloroarsine (PDCA) 696-28-6	Dumped CW agent. Also, component in dumped arsine oil.	Not analyzed as such	
5O	Phenylarsonic acid (PAA) 98-05-5	The oxidation product of 5 and all of its degradation products (either natural or with H ₂ O ₂)		x
	Dipropyl phenylarsonodithioite 1776-69-8	Thiol derivative of 5 and all of its degradation products	x	
6	α -Chloroacetophenone (CN) 532-27-4	Dumped CW agent	x	
	Lewisite I (L1) 541-25-3 64038-44-4	Dumped CW agent	Not analyzed as such	
7T	Dipropyl (2-chlorovinyl)-arsonodithioite 677354-97-1	Thiol derivative of 7 and all of its degradation products	x	
	Lewisite II (L2) 40334-69-8 157184-21-9	Dumped CW agent	Not analyzed as such	
8T	Bis(2-chlorovinyl)propylthioarsine 677355-04-3	Thiol derivative of 8 and all of its degradation products	x	
	2,4,6-Trinitrotoluene (TNT) 118-96-7	Dumped explosive, component of many explosive compositions used during WWII	x	

9.1	4-Nitrotoluene (4-NT)	Degradation products and impurity of 9	x	
	99-99-0			
9.2	1,3-Dinitrobenzene (1,3-DNB)	Degradation products and impurity of 9	x	
	99-65-0			
9.3	1,3,5-Trinitrobenzene (1,3,5-TNB)	Degradation products and impurity of 9	x	
	99-35-4			
9.4	2,4-Dinitrotoluene (2,4-DNT)	Degradation products of 9	x	
	121-14-2			
9.5	2,6-Dinitrotoluene (2,6-DNT)	Degradation products of 9	x	
	606-20-2			
9.6	2,4-Dinitroaniline (2,4-DNA)	Degradation products of 9	x	
	97-02-9			
9.7	4-Amino-2,6-dinitrotoluene (4A-2,6-DNT)	Degradation products of 9	x	
	19406-51-0			
9.8	2-Amino-4,6-dinitrotoluene (2-A-4,6-DNT)	Degradation products of 9	x	
	35572-78-2			
10	Tabun (GA)	Dumped CW agent	x	
	77-81-6			
11	Nitrogen mustard (HN-3)	Dumped CW agent	x	
	555-77-1			

Table C.4 Limit of detection and quantification.

Compound	LOD in solution [ng/mL]	LOQ in solution [ng/mL]	LOD in the sample [ng/g]	LOQ in the sample [ng/g]
1	0.17	0.50	0.02	0.05
1.1S	0.61	1.80	0.06	0.18
1.1OS	0.12	0.35	0.01	0.04
1.2	0.50	1.50	0.05	0.15
1.3	0.50	1.50	0.05	0.15
1.4	0.17	0.50	0.02	0.05
1.5	0.50	1.50	0.05	0.15
1.6S	3.33	10.00	0.33	1.00
2O	1.83	5.5	0.18	0.55
3a	8.33	25.00	0.83	2.50

3O	14.70	44.10	1.47	4.41
3T	0.50	1.50	0.05	0.15
4	10.00	30.00	1.00	3.00
4O	1.27	3.8	0.13	0.38
5O	7.50	22.50	0.75	2.25
5T	0.33	1.00	0.03	0.10
6	0.17	0.50	0.02	0.05
7T	0.83	2.50	0.08	0.25
8T	0.83	2.50	0.08	0.25
9	0.33	1.00	0.03	0.10
9.1	0.03	0.10	0.003	0.01
9.2	0.17	0.50	0.02	0.05
9.3	0.17	0.50	0.02	0.05
9.4	0.50	1.50	0.05	0.15
9.5	0.50	1.50	0.05	0.15
9.6	0.83	2.50	0.08	0.25
9.7	5.17	15.50	0.52	1.55
9.8	5.17	15.50	0.52	1.55
10	0.19	0.57	0.02	0.06
11	0.21	0.63	0.02	0.06

Sample preparation

The 2 ± 0.1 g samples were transferred into 15 mL falcon tubes. Then 4 mL of acetonitrile was added. Samples were shaken vigorously for 15 min. Then to the sample was added 0.8 g $MgSO_4$ and 0.2 g NaCl. Samples were shaken vigorously for 3 min, followed by centrifugation for 10 min at 4000 rpm. The acetonitrile phase was separated using filter paper, and to the organic phase was added 300 mg $MgSO_4$ and 70 mg PSA (primary secondary amine sorbent – used to remove sugars and fatty acids). Samples were shaken vigorously for 2 min, followed by centrifugation for 10 min at 4000 rpm. The acetonitrile phase was separated and concentrated 10-fold under a gentle stream of nitrogen. Samples prepared in this way – were analyzed by using GC-MS/MS and LC-HRMS.

BSTFA GC-MS/MS derivatization of extracts

To 80 μ L of ACN extracts was added 50 μ L of BSTFA agent. Then the sample was shaken for 2 minutes at 2000 shocks/min and heated for 60 min at 50°C. Samples prepared in this way – were analyzed by using GC-MS/MS.

Thiol GC-MS/MS derivatization of extracts

To every 80 µL of acetonitrile extracts was added 30 µL of 1-propanethiol and 30 µL of triethylamine. Then the sample was shaken for 2 minutes at 2000 shocks/min and heated for 60 min at 50°C. Samples prepared in this way – were analyzed by using GC-MS/MS.

Results

The obtained results are presented in Table C.5. Concentrations of the analyzed compounds in the tested samples are presented in Table C.5.

Table C.5. Concentration of the target compounds in the analyzed samples.

Compound name	Concentration [ng/g]						
	M Blk	23-299	23-300	23-301	23-302	23-303	23-304
Sulfur mustard (H)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Thiodiglycol (TDG)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Thiodiglycol sulfoxide (TDGO)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
1,4-Dithiane	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
1,4-Oxathiane	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
1,4,5-Oxadithiepane	< LOD	0.05*	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
1,2,5-Trithiepane	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Thiodiglycolic acid (TDGA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
5,10-Dihydrophenoarsazin-10-ol 10-oxide (DM[ox])	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Clark I (DA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Diphenylarsinic acid (DPAA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Sum of Clark I, Clark II and their degradation products	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Triphenylarsine (TPA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	29.25
Triphenylarsine oxide (TPAO)	< LOD	6.17	28.92	11.78	< LOD	7.15	< LOD
Phenylarsonic acid (PAA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Sum of Phenylchloroarsine and its degradation products	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

Compound name	Concentration [ng/g]						
	M Blk	23-299	23-300	23-301	23-302	23-303	23-304
α -Chloroacetophenone (CN)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Sum of Lewisite I and its degradation products	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Sum of Lewisite II and its degradation products	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
2,4,6-Trinitrotoluene (TNT)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
4-Nitrotoluene	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
1,3-Dinitrobenzene	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
1,3,5-Trinitrobenzene (1,3,5-TNB)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
2,4-Dinitrotoluene (2,4-DNT)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	190.02	< LOD	< LOD
2,6-Dinitrotoluene (2,6-DNT)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	67.82	< LOD	< LOD
2,4-Dinitroaniline (2,4-DNA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
4-Amino-2,6-dinitrotoluene (4A-2,6-DNT)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
2-Amino-4,6-dinitrotoluene (2-A-4,6-DNT)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Tabun (GA)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Nitrogen mustard (HN-3)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

* - below LOQ

The compound present in four samples was **Triphenylarsine oxide (TPAO) (40)**. The following compounds were also detected in individual samples: **1,4,5-Oxadithiepane (1.4)**; **2,4-Dinitrotoluene (2,4-DNT) (9.4)**; **2,6-Dinitrotoluene (2,6-DNT) (9.5)** and **Triphenylarsine (TPA) (4)**. Chromatograms and mass spectra confirming the presence of these compounds in the tested samples are presented in Figures 1-6.

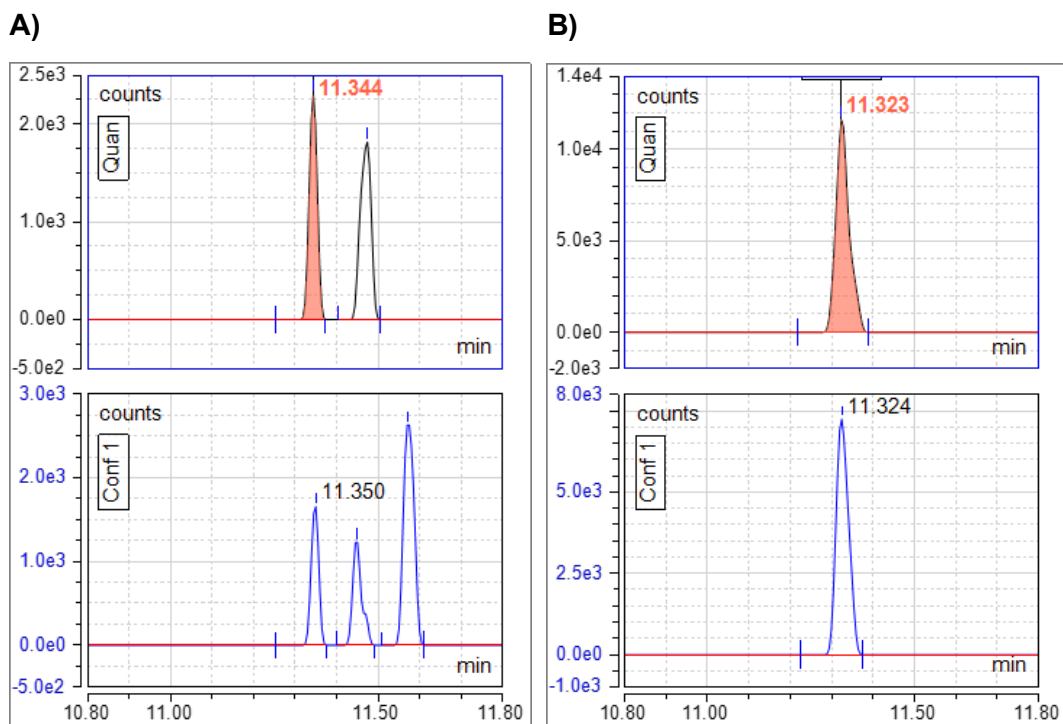


Fig. 1. Set of chromatograms GC-MS/MS obtained during the analysis of sample 23-299 confirming the presence of 1,4,5-Oxadithiepane (1.4). A) sample, B) standard

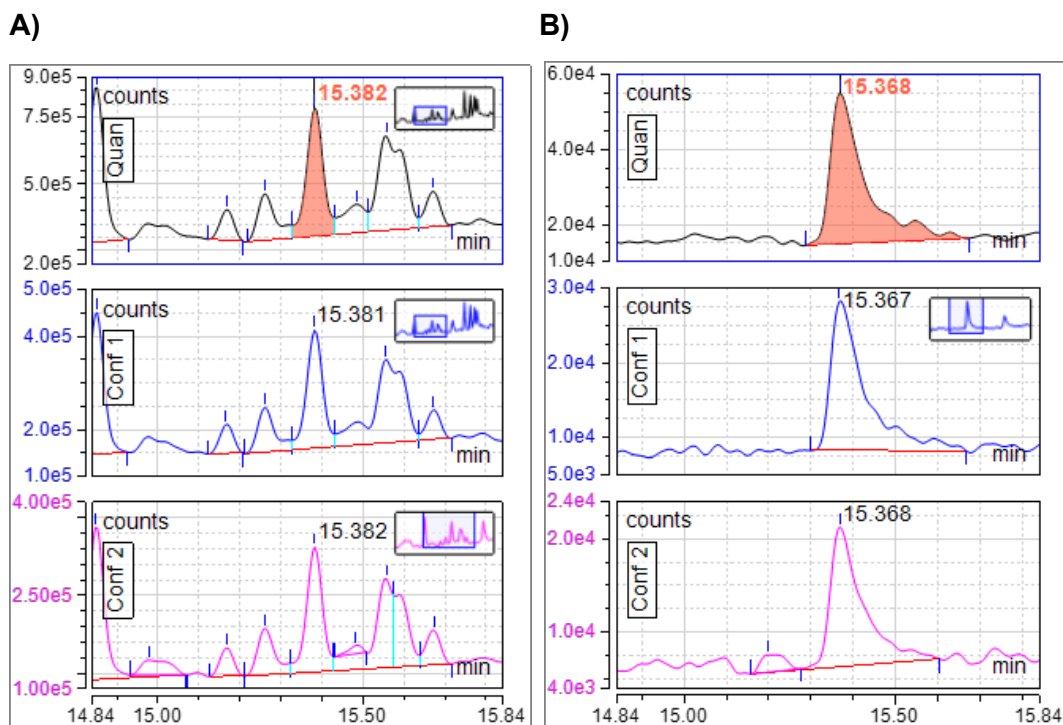


Fig. 2. Set of chromatograms GC-MS/MS obtained during the analysis of sample 23-302 confirming the presence of 2,6-Dinitrotoluene (2,6-DNT) (9.5). A) sample, B) standard.

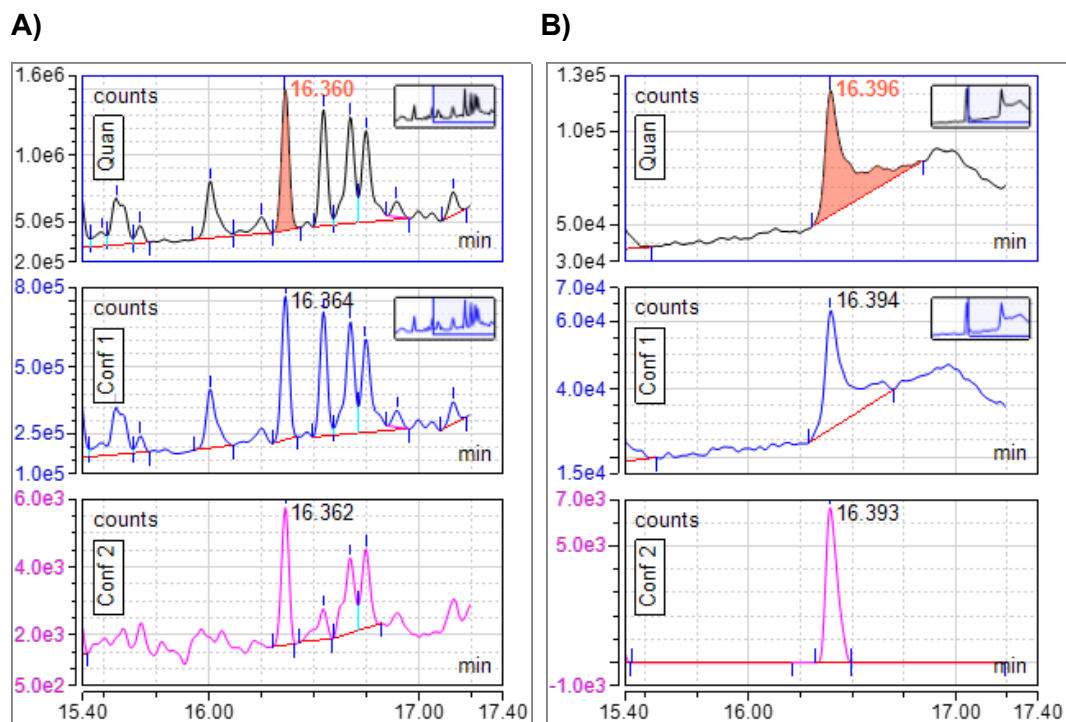


Fig. 3. Set of chromatograms GC-MS/MS obtained during the analysis of sample 23-302 confirming the presence of 2,4-Dinitrotoluene (2,4-DNT) (9.4). A) sample, B) standard.

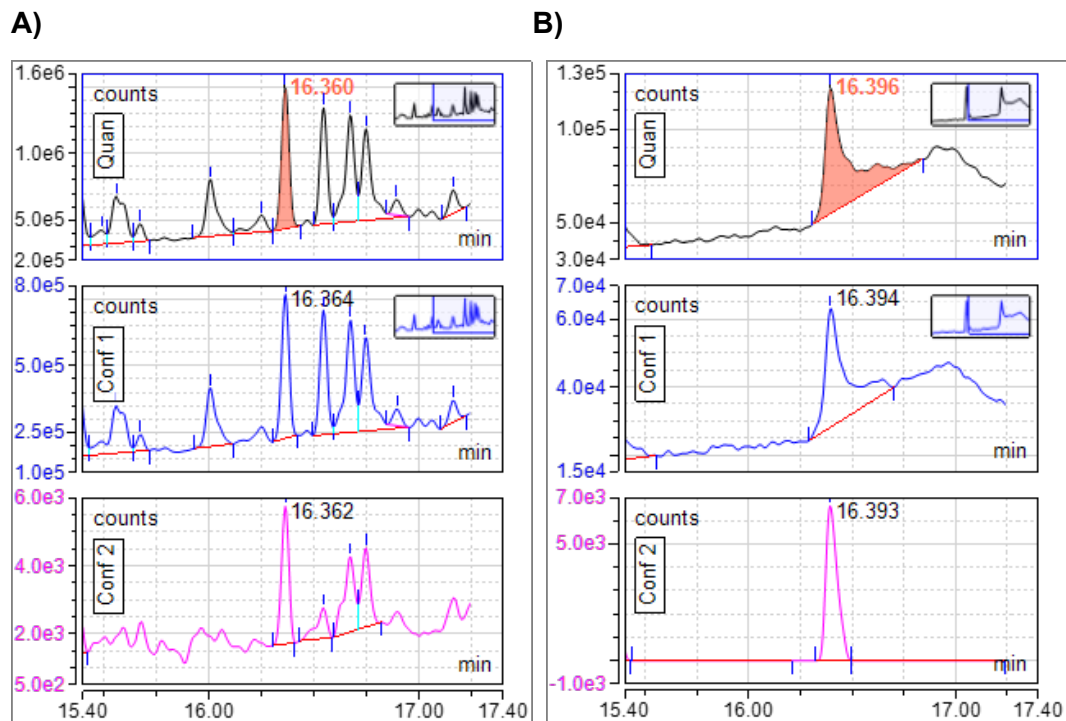
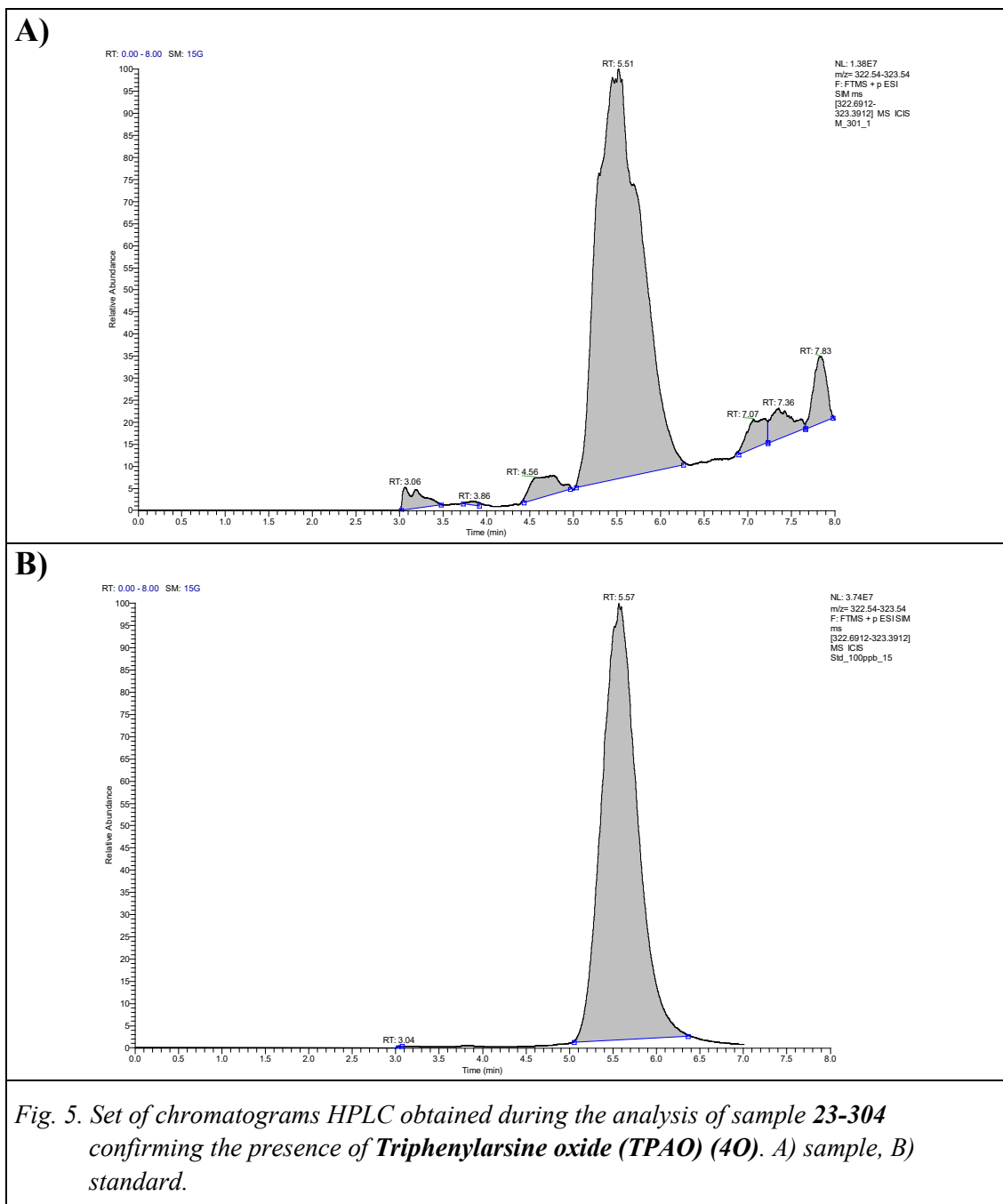
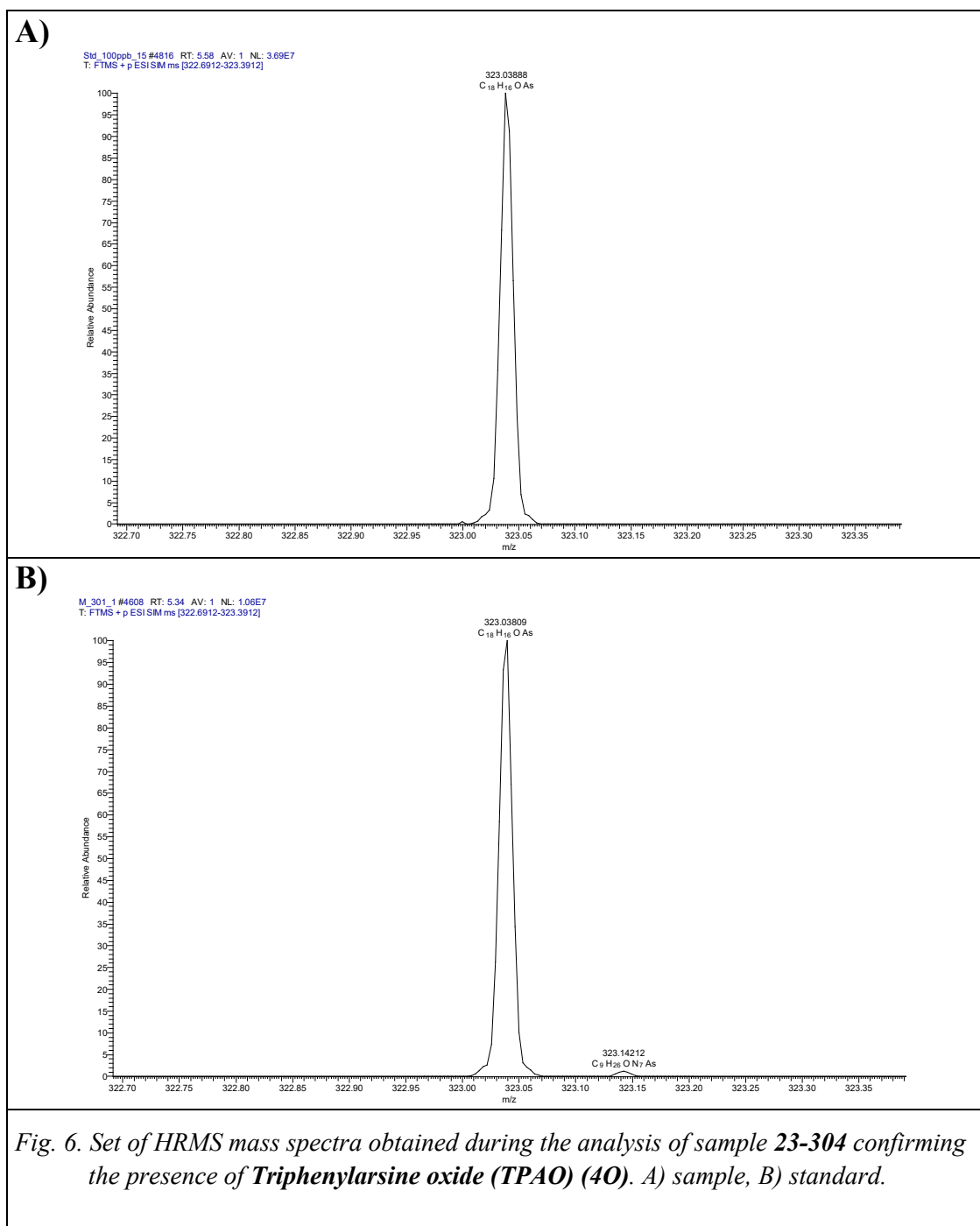


Fig. 4. Set of chromatograms GC-MS/MS obtained during the analysis of sample 23-304 confirming the presence of Triphenylarsine (TPA) (4). A) sample, B) standard.





**GC-EI-MS/MS TECHNIQUE
METHOD AND ANALYSIS DESCRIPTION**

GC Instrument manufacturer and type: Thermo Fisher Scientific Trace 1310
Carrier gas: He
Flow control/rate: 1 mL/min
Injection mode: Splitless, Splitless time - 2 min
Injector temperature: 270°C
Column brand/phase: ZB-5MSplus / 5% Diphenyl - 95% dimethylpolysiloxane
Column Length x ID x Film thickness: 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
GC temperature programme: 40°C (1 min) → (10°C/min) → 270°C (5 min)

MS Instrument manufacturer and type: Thermo Fisher Scientific TSQ8000Evo
Solvent delay time: 3.0 min
Electron energy: 70 eV
Mass resolution: 1 Da
Scan type: Selected Reaction Monitoring (SRM)

Table 7.1. SRM transitions used during GC-MS/MS analysis.

Compound	Mass	Product Mass	Collision Energy [eV]
1	109	63	5
	109	73	10
	158	109	5
1.1S	116	73	15
	116	101	10
	147	73	15
1.1OS	73	45	20
	117	45	25
	117	73	20
1.2	92	46	10
	120	61	15
	120	105	10
1.3	104	46	15
	104	61	15
	104	74	10
1.4	136	43	10
	136	64	15
	136	92	5
1.5	152	60	20
	152	87	10
	152	92	10

1.6S	204	73	30
	204	117	25
	204	147	25
3a	154	115	35
	154	151	30
	154	152	30
3T	74	46	20
	261	107	15
	261	183	15
4	152	51	35
	152	77	30
	306	152	5
5T	227	107	15
	227	185	10
	302	259	5
6	105	51	20
	105	77	15
	154	105	35
7T	243	165	20
	286	43	10
	286	176	5
8T	74	46	5
	104	46	15
	229	203	5
9	210	207	50
	210	208	50
	210	209	45
9.1	91	65	15
	137	91	15
	137	107	5
9.2	168	122	30
	168	166	50
	168	167	50
9.3	213	167	40
	213	210	50
	213	212	45
9.4	165	118	30
	165	163	50

	165	164	50
9.5	165	162	50
	165	163	50
	165	164	50
9.6	153	152	50
	183	181	45
	183	182	45
9.7	180	178	45
	180	179	45
	197	196	50
9.8	180	178	45
	180	179	45
	197	196	50
10	70.1	68	45
	133.1	132.1	45
	162.1	70.1	20
11	154.1	151.9	50
	154.1	153.1	50
	156.2	154.9	50

**LC-HRMS TECHNIQUE
METHOD AND ANALYSIS DESCRIPTION**

LC Instrument manufacturer and type: Thermo Fisher Scientific Vanquish Core

Injection volume: 10 μ L

Eluent composition: A = 0.1% HCOOH in H₂O

B = 0.1% HCOOH in ACN

Elution programme: 0 – 0.5 min (10% B). 0.5 – 4 min (10% → 100% B). 4 – 8 min (100% B).

8 – 8.1 min (100% → 10% B). 8.1 – 10 min (10% B)

Flow rate: 300 μ L/min

Column brand/phase: Hypersil GOLD aQ

Column Length x ID x Particle size: 150 x 4 mm, Particle Size 3 μ m

Column temperature: 25°C

MS Instrument manufacturer and type: Thermo Fisher Scientific Exploris 120

Ionization type: ESI

Ionisation polarity: Positive

Electrospray/APCI voltage: 3.5 kV

Orbitrap resolution: 30000

Quadrupole resolution: 0.7 Da

Scan type: Selected Ion Monitoring (SIM)

Mass precision: 5 ppm

Table 7.2. SIM ions used during LC-HRMS analysis.

Compound	Exact Mass in Sim Mode
20	276.00057
30	263.00532
40	323.04171
50	202.96894

C.3 Analyse utført av University of Helsinki – VERIFIN

UH-VERIFIN analyserte homogenater fra blåskjell og kjempefilskjell med hensyn på noen eksplosiver, kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser. Analyserapporten er gjengitt nedenfor. Denne inneholder også analyse av de passive prøvetakerne som ble analysert hos UH-VERIFIN.

Passive samplers and biota homogenates from Skagerrak

Noora-Kaisa Rantanen, noora-kaisa.rantanen@helsinki.fi

Finnish Institute for Verification of the Chemical Weapons Convention VERIFIN, University of Helsinki

C.3.1 Samples

Samples collected from Skagerrak dumping site and a control site were provided by Norwegian Defence Research Establishment (FFI). The samples consisted of biota homogenates (7 samples) and two types of passive samplers (8 samples) (Table C.6). The samples were delivered on dry ice to Finnish Institute for Verification of the Chemical Weapons Convention (VERIFIN) for analysis. At VERIFIN the samples were stored at -80 °C until analysis and as cold as possible during the sample preparation and analysis.

Table C.6 Analysed samples.

VERIFIN Sample code	Sample type	Sample information
R6736	Biota homogenate	22-068
R6737	Biota homogenate	22-070, F
R6738	Biota homogenate	22-069
R6739	Biota homogenate	22-071, F
R6740	Biota homogenate	22-073
R6741	Passive sampler (SPMD-EWL)	Rig 2
R6742	Passive sampler (SPMD-EWL)	Rig 3, F
R6743	Passive sampler (POCIS)	Rig2
R6744	Passive sampler (POCIS)	Rig 3, F
R6752	Biota homogenate	23-299
R6753	Biota homogenate	23-300
R6754	Passive sampler (SPMD-EWL)	23-305
R6755	Passive sampler (SPMD-EWL)	23-306
R6756	Passive sampler (POCIS)	23-307
R6757	Passive sampler (POCIS)	23-308

F = Sampling site further away from wrecks.

C.3.2 Target analytes

The samples were analysed for selected chemical warfare agents (CWAs), their degradation products and explosives.

Table C.7 Target CWAs and their degradation products.

Analyte	CAS number
Tabun	77-81-6
Sulphur mustard	506-60-2
1,4-Dithiane	505-29-3
1,4-Oxathiane	15980-15-1
1,4,5-Oxadithiepane	3886-40-6
1,2,5-Trithiepane	6576-93-8
Tris(2-chloroethyl)amine (Nitrogen mustard 3)	555-77-1
Adamsite	578-94-9
Diphenylchloroarsine (Clark I)	712-48-1
Diphenylcyanoarsine (Clark II)	23525-22-6
Triphenylarsine	603-32-7
Phenyldichloroarsine	696-28-6
5,10-Dihydrophenarsazine-10-ol 10-oxide	4733-19-1
Diphenylarsenic acid	4656-80-8
Triphenylarsine oxide	1153-05-5
Phenylarsonic acid	98-05-5
Bis(diphenylarsin)oxide	2215-16-9
Chloroacetophenone	532-27-4

C.3.3 Methods

Sample preparation: Passive samplers

The samplers were opened and the membranes containing the adsorbent material were transferred into 50 ml centrifugal tubes. 25 ml of LC-MS-grade acetonitrile (ACN) was added to the tubes, after which the samples were vortexed for 30 min at room temperature. The extracts were filtered through Whatman 5 filters into 50 ml volumetric flasks. The extraction was repeated with additional 25 ml of ACN and the extracts were combined. The volumes of the extracts were made to 50 ml, after which they were transferred in 50 ml centrifugal tubes to which approximately 1 g of anhydrous sodium sulphate had been added. The extracts were allowed to dry over night at -20 °C. Similarly, un-used passive samplers and an ACN (empty centrifugal tube in the extraction) sample were prepared as blank control samples

For **analysis by LC-MS¹³ techniques**, 20 ml aliquots of the extracts were evaporated to dryness under N₂ flow. 500 µl of LC-MS-grade methanol (MeOH) was added to the evaporation residues and the samples were vortexed for 15 min. 500 µl of ultra-pure water was added to the samples

¹³ (UHP)LC = (ultra-high performance) liquid chromatography; GC = gas chromatography; (HR)MS = (high-resolution) mass spectrometry; MS/MS = tandem mass spectrometry; MRM = multiple reaction monitoring

and vortexing was continued for 15 min. The samples were centrifuged for 5 min at 3000xG and the liquid was filtered using 0.2 µm syringe driven filters into vials. **Untarget screening** of the samples was performed with UHPLC-HRMS¹³ in both polarities. 100 µl aliquots of all samples were also taken in separate vials, **oxidized** by adding 10 µl of 33% H₂O₂ solution and analysed by UHPLC-HRMS for oxidised analytes.

For **analysis by GC-MS¹³ based techniques**, 20 ml aliquots of the extracts were concentrated under N₂ flow to < 1 ml volume. The volumes were adjusted to 1 ml after which the samples were filtered (0.2 µm) into vials. 200 µl aliquots of the extracts were evaporated to dryness and the residues were dissolved in 200 µl of dichloromethane (DCM). Half of the DCM solution was taken in a separate vial, derivatised by adding 10 µl of **propylthiol (PrSH)** solution, incubated for 30 min at room temperature and analysed by GC-HRMS¹³ for propanethioethers of arsenicals. The other half of the DCM sample was analysed directly with GC-HRMS, after which the samples were derivatised by adding 100 µl of **N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA)** solution, incubation for 30 min at 60 °C and analysed again by GC-HRMS for trimethylsilyl derivatives. For the **analysis of explosives** a third aliquot (200 µl) of the extracts were solvent exchanges as described above and analysed with GC-MS/MS¹³ using an MRM-method¹³.

Sample preparation: Biota samples

To extract small molecules 0.5 ± 0.02 g sample of the biota homogenates were taken in 2 ml Eppendorf tubes and 1500 µl of ACN was added. The samples were vortexed for 15 min. Samples were centrifuged (5 min, 14.8 kg/min) to separate the solid and the liquid phase. The supernatants were collected in kimax tubes and the extraction was repeated twice with 1500 µl of ACN. Supernatants were combined and then evaporated to dryness under N₂ flow. 300 µl of ACN was added to the evaporation residues and the samples were then vortexed for 10 min. Next 300 µl of ultra-pure water was added and vortexing was continued for 10 min. 100 µl aliquots of the samples were taken for analysis by UHPLC-HRMS.

The precipitates left after the ACN-extraction were air dried over night at room temperature. 500 µl of freshly prepared 50 mM ammonium bicarbonate (AmBic) solution was added to the precipitates and the samples were thoroughly homogenised. 100 µl of the suspensions were taken in 1.5 ml Eppendorf tubes and 100 µl of a 10 mg/ml pronase (in AmBic) solution was added to them. Samples were vortexed and then incubated over night at 37 °C with mixing (600 rpm). The pronase digested samples were centrifuged (5 min, 14.8 kg/min) and the supernatant was centrifuged through 3 kDa filters. The filters were washed with 200 µl of 50 mM AmBic. The filtrates were combined and 200 µl aliquots of each sample were taken in inserts, acidified with 20 µl 5% formic acid (FA) and analysed by UHPLC-HRMS for **modified amino acids**.

To analyse the **protein bound sulphur mustards**, 0.5 ± 0.02 g of the homogenates were taken in 2 ml Eppendorf tubes. Proteins in the samples were precipitated by adding 1 ml of acetone to the tubes. The samples were vortexed for 15 min, then centrifuged (5 min, 14.8 kg/min) and the supernatant was collected in 15 ml centrifugal tubes. The extraction was repeated twice with 1 ml of acetone. The supernatants were combined and the precipitate was allowed to air dry at room

temperature for approximately one hour. 1 ml of concentrated hydrochloric acid (HCl) was added to the samples and the samples were allowed to react for approximately one hour before the tubes were sealed and incubated at 80 °C for 35 minutes. The dark brown digestions were allowed to cool to room temperature and 500 µl of n-hexane was added to them. Samples were vortexed for 15 min and then centrifuged (5 min, 14.8 kg/min) to separate the organic and aqueous phases. The hexane phases were collected in kimax tubes, and then the hexane extraction was repeated three times and extracts were combined. The hexane phases (approximately 2 ml) were concentrated to 100 µl and analysed by GC-MS/MS for intact mustards using a multi-reaction monitoring (MRM) method, and by GC-HRMS. Once the analysis was finished, the samples were evaporated to dryness¹⁴ and then 100 µl hexane was added to them. After thorough vortexing, 100 µl of ultra-pure water was added. The samples were vortexed and left to hydrolyse over the weekend. The aqueous layer was collected and analysed for sulphur mustards with UHPLC-MS/MS using an MRM-method.

The **total amount of sulphur mustards** in the biota was done similarly to the protein bound sulphur mustards. 0.5 ± 0.02 g of the homogenates were weighed in Eppendorf tubes and 1 ml of concentrated HCl was added to them. The samples were allowed to react for approximately 1 h, after which they were incubated, extracted, concentrated and analysed as described previously for the protein bound sulphur mustards.

For **GC-HRMS analysis** subsamples of the homogenates were extracted with DCM. 0.5 ± 0.02 g of the homogenates were weighed in Eppendorf tubes and 1.5 ml of DCM was added to the samples. The samples were vortexed for 15 min and then centrifuged (5 min, 14.8 kg/min) to separate the solid and liquid phases. The supernatant was collected in kimax-tubes, after which the extraction was repeated twice with 1.5 ml of DCM. The supernatants were combined and then evaporated to dryness under N₂ flow. The evaporation residues were dissolved in 400 µl of DCM and vortexed for 10 min. The liquid was collected in vials and analysed with GC-HRMS.

¹⁴ The samples were dried because some of the samples had evaporated to dryness during the analysis.

C.3.4 Results

Passive samplers

The analytes detected in the passive sampler extracts are presented in Table C.8. Three degradation products of phenylarsenic CWAs were detected: phenylarsenic acid (PAA), diphenylarsenic acid (DPAA) and triphenylarsine oxide (TPAO) were detected by UHPLC-HRMS (un-oxidised and oxidised samples) and as the corresponding thioether derivatives (PA-(PRS)₂, DPA-PrS) or as reduced chemical (TPA) by GC-HRMS. The accurate mass of Thiodiglycole (TDG), the primary degradation product of sulphur mustard (HD), was detected in some samples (un-oxidised samples). However, the measured TDG signal is too low for accurate verification. HD or its degradation products were not detected by GC-HRMS. Adamsite, Tabun, chloroacetophenone and their degradation products, and explosives were not found.

Table C.8 Analytes detected in the passive sampler extracts. Empty cells indicate that the analyte was not detected and the values represent the peak areas (MS/MS) or peak intensities (HRMS).

Analyte	Technique	Sample							
		R6741	R6742	R6743	R6744	R6754	R6755	R6756	R6757
TPAO ^a	LC-HRMS	6.76E7	7.14E4	1.39E5	5.39E4	4.71E4	4.91E4	9.69E4	1.10E5
	GC-HRMS	5.57E5		3.20E4	5.44E3 ^b	2.08E4	1.31E4	3.74E4	5.31E4
DPAA ^a	LC-HRMS	7.00E6	5.42E3	2.21E5	2.71E3	4.65E4	6.72E4	7.75E3	5.85E3
	GC-HRMS	1.03E6		7.96E4		2.51E4	2.45E4	1.06E4	1.00E4
PAA	LC-HRMS	3.45E5		1.11E4		2.21E4	1.14E4		
	GC-HRMS	2.07E4		6.25E3		8.82E4	1.11E4		1.25E4
TDG ^c	LC-HRMS	6.56E3				2.48E3	2.46E3		

^a There is TPAO and DPAA contamination in the instrument. Distinguishing between contamination and true analyte occurrence is difficult. The signal in R6742 and R6744 is on the same level as the background.

^b The signal is very weak. Probably carry-over or cross contamination.

^c The accurate mass is detected, however, the concentration is too low for reliable identification.

Biota samples

The analytes detected in the biota samples are compiled in Table C.9. Three primary oxidation products of phenylarsenic CWAs (PAA, DPAA, TPAO) were detected in the ACN- extracts of the biota homogenates. The accurate mass of TDG was also detected in the extracts, but the low signals and high background makes it difficult to say whether the analyte is actually present in the samples. In the analysis of the protein-bound HD using GC-MS/MS the transitions of HD could be detected in most biota samples, but just like for TDG, the low quantity of the analyte and the complex matrix hindered verification. The accurate mass of the mustard adduct proline-hydroxyethylthioethyl (Pro-HETE) was found in all of the pronase digested protein samples. The high-resolution fragmentation pattern of the ion suggests that the detected ion is Pro-HETE. Preparation of a reference sample for verification was unsuccessful.

Table C.9 Analytes detected in the biota samples. Empty cells indicate that the analyte was not detected and the values represent the peak areas (MS/MS) or peak intensities (HRMS).

Analyte	Technique	Sample						
		R6736	R6737	R6738	R6739	R6740	R6752	R6753
TPAO ^a	LC-HRMS	2.15E5	1.75E4	1.55E5	2.27E4	1.87E4	3.62E4	2.20E4
DPAA	LC-HRMS	5.86E6	2.89E3	2.69E6	1.70E4	3.30E4	7.78E5	1.09E6
PAA	LC-HRMS	6.35E3 ^b						
HD ^c	GC-MS/MS			x	x	x	x	x
TDG ^d	LC-HRMS	2.49E4	8.94E4	3.54E3	1.51E4	1.86E5	1.82E4	6.24E4
Pro-HETE	LC-HRMS	5.78E4	1.12E5	4.40E4	3.89E4	1.70E5	5.47E4	3.09E4

^a There is TPAO and DPAA contamination in the instrument. The DPAA and TPAO contamination disappears during the sample runs, but the signal in the samples does not decrease steadily. Therefore, the analytes might be present in the samples. In addition, all the DPAA signals are higher than the background signal.

^b The signal is weak

^c The right fragments are detected at the right retention time but due to coeluting matrix components it is difficult to say whether the analyte detected is truly HD and to evaluate signal intensities/areas.

^d The correct accurate mass and fragments are detected but the concentration is too low for reliable identification.

D Analyse av passive prøvetakere

D.1 Metaller (FFI)



Forsvarets forskningsinstitutt
Avdeling Totalforsvar

Dato: 18.03.24

Analysereport

Side 1 av 2

Analysereport

Oppdragsgiver:

Antall prøver: 12

Anmerkninger: Analyse av DGT

Analysereporten gjelder følgende analyser:

Analyse- parametere	Metode identitet	Måleområde mg/kg
Vanadium, V	A1	0,01-100
Mangan, Mn	A1	0,01-100
Jern, Fe	A1	0,01-100
Kobolt, Co	A1	0,01-100
Nikkel, Ni	A1	0,01-100
Kobber, Cu	A1	0,01-100
Sink, Zn	A1	0,01-100
Arsen, As	A1	0,01-100
Molybden, Mo	A1	0,01-100
Kadmium, Cd	A1	0,01-100
Antimon, Sb	A1	0,01-100
Bly, Pb	A1	0,01-100

Denne analysereporten består av i alt 2 sider. Analysereporten gjelder analyse av prøvene slik de ble mottatt av FFI. Rapporten kan ikke giengis i utdrag uten skriftlig godkjenning av FFI.

Kjeller, 18.03.24

Ida Vaa Johnsen

Saksbehandler: Ida Vaa Johnsen
Adresse : Postboks 25, 2007 Kjeller

Innvalg : 63 80 78 04
Sentralbord : 63 80 70 00

Telefax: 63 80 75 09
Mil retn nr: 0505

Organisasjonsnr: 970 963 340 MVA
Bankgiro: 7101.05.00030
Postgiro: 0801 5045745



ANALYSE AV METALLER

Instrument: ICP-MS, iCap TQ Thermo

Operator: Ida Vaa Johnsen

FFI-nr	Proveidentifikasjon
23-263	område 1 LSNM-NP
23-264	område 1 LSNT-NP
23-265	område 2 LSNM-NP
23-266	område 2 LSNT-NP
23-267	område 3 LSNM-NP
23-268	område 3 LSNT-NP
23-263-Dif	område 1 LSNM-NP, Diffusjonsfilter
23-264-Dif	område 1 LSNT-NP, Diffusjonsfilter
23-265-Dif	område 2 LSNM-NP, Diffusjonsfilter
23-266-Dif	område 2 LSNT-NP, Diffusjonsfilter
23-267-Dif	område 3 LSNM-NP, Diffusjonsfilter
23-268-Dif	område 3 LSNT-NP, Diffusjonsfilter

FFI-nr.	ng/filter											
	V	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Mo	Cd	Sb	Pb
23-263	4	1058	516	3	358	37	248	<13	<94	35	<16	<21
23-264	3222	17	176	3	203	<5	<170	959	526	<0,9	<16	<21
23-265	68	247	324	2	49	11	<170	37	165	4	<16	<21
23-266	812	23	546	8	214	20	<170	476	619	5	<16	<21
23-267	10	585	808	9	85	35	406	<13	114	12	<16	<21
23-268	871	22	395	5	232	11	<170	501	761	2	<16	<21
23-263-Dif	36	253	1916	4	145	20	<170	27	172	5	<16	32
23-264-Dif	699	799	2364	7	173	36	307	213	227	8	33	24
23-265-Dif	67	117	7034	8	119	376	<170	<13	<94	1,3	<16	<21
23-266-Dif	172	459	2406	4	186	29	196	85	182	4	19	<21
23-267-Dif	32	149	2103	3	110	20	<170	<13	<94	1,1	<16	<21
23-268-Dif	198	799	2383	9	235	26	297	102	216	4	21	<21

Analyse av metaller

D.2 Kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser (UH-VERIFIN)

De passive prøvetakerne av typen POCIS og SPMD-EWL ble analysert med hensyn på kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser av UH-VERIFIN. Resultatene er beskrevet sammen med resultatene fra analyse av skjellprøvene og er samlet i Vedlegg C.3.

Referanser

- [1] J.A. Tørnes, Ø. A. Voie, E. Mariussen, P. Lågstad (2015), «Kjemisk ammunisjon senket utenfor norskekysten etter andre verdenskrig – hva er senket og hvilke effekter har dette på marine organismer?», FFI-rapport 2015/00925, Forsvarets forskningsinstitutt.
- [2] T. O. Sæbø and O. J. Lorentzen (2015), «Synthetic aperture sonar images and bathymetries from the 2015 survey of the Skagerrak World War II Chemical Munitions Dump Site», FFI-rapport 2015/02345, Forsvarets forskningsinstitutt.
- [3] J. A. Tørnes, Ø. A. Voie, M. Ljønes, A. M. Opstad, L. H. Bjerkeseth, F. Hussain (2002), «Investigation and Risk Assessment of Ships Loaded with Chemical Ammunition Scuttled in Skagerrak», FFI/RAPPORT-2002/04951, Forsvarets forskningsinstitutt.
- [4] R. E. Hansen, M. Geilhufe, E. M. Bakken, T. O. Sæbø (2019, July). «Comparison of synthetic aperture sonar images and optical images of UXOS from the Skagerrak chemical munitions dumpsite». 5th Underwater Acoustic Conference and Exhibition, Crete, Greece.
- [5] J. A. Tørnes, A. M. Opstad, M. Ljønes, B. Harstad Gilljam (2018), «Investigation of samples from sediment and hagfish related to the chemical warfare agents dumping area in Skagerrak», FFI-NOTAT Eksternnotat 18/00057, Forsvarets forskningsinstitutt.
- [6] Forsvarets forskningsinstitutt, Oppdragsavtale mellom Forsvarets forskningsinstitutt (FFI) og Kystverket (Oppdragsgiver) angående bruk av skjell og passive prøvetakere for overvåking av vrak i Skagerrak, FFI-81439, august 2022
- [7] M. L. Correa, A. Freiwald, J. Hall-Spencer and M. Taviani, «Distribution and habitats of *Acesta excavata* (Bivalvia: Limidae) with new data on its shell ultrastructure» in Freiwald A, Roberts JM (eds), 2005, Cold-water Corals and Ecosystems. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp 173-205
- [8] GEBCO Compilation Group (2023), GEBCO 2023 Grid <https://doi.org/10.5285/f98b053b-0cbc-6c23-e053-6c86abc0af7b> .
- [9] I. Vaa Johnsen, J. Aaneby, «Forurensning, prøvetaking og avrenning av metaller på Steinsjøen skyte- og øvingsfelt – uttesting og evaluering av metode», FFI-rapport 23/02396, Forsvarets forskningsinstitutt.
- [10] Y. Yao, m fl. (2016) «The Combination of DGT Technique and Traditional Chemical Methods for Evaluation of Cadmium Bioavailability in Contaminated Soils with Organic Amendment», *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **13**(6), s. 595. Tilgjengelig fra: <http://www.mdpi.com/1660-4601/13/6/595> .
- [11] DGT Research, www.dgtresearch.com .
- [12] M. Pesavento, G. Alberti, R. Biesuz (2009) «Analytical methods for determination of free metal ion concentration, labile species fraction and metal complexation capacity of environmental waters: A review», *Analytica Chimica Acta*, **631**(2), s. 129-141. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2008.10.046> .
- [13] J. B. Belden, G. R. Lotufo, J. M. Biedenbach, K.K. Sieve og G. Rosen (2014), Application of POCIS for exposure assessment of munitions constituents during constant and fluctuating exposure, *Environ. Toxicol. Chem.* **34** (2014) 957-967
- [14] G. R. Lotufo, R. D. George, J. B. Belden, C. M. Woodley, D. L. Smith and G. Rosen (2018), Investigation of polar organic chemical integrative sampler (POCIS) flow rate dependence for munition constituents in underwater environments, *Environ Monit Assess* **190** (2018) 171

-
-
- [15] A. Johnsen, H. K. Rossland (1999), Akkumulering av miljøgifter i blåskjell og semipermeable membraner i delområde i og deponiene ved haakonvern orlogsstasjon. Oppfølgende undersøkelser. FFI/RAPPORT-99/06337
- [16] H. L. Arison III (2013). «European Disposal Operations, The Sea Disposal of Chemical Weapons», ISBN 13: 978-1490927657, ISBN: 1490927645.
- [17] R. E. Hansen (2022), «Change detection on shipwrecks using synthetic aperture sonar – North Sea Wrecks Task 3.5 Deep Water Case Study», FFI-RAPPORT 22/02441, Forsvarets forskningsinstitutt.
- [18] R.E. Hansen (2022), «Challenges in synthetic aperture sonar imaging of shipwrecks for change detection». In Proceedings of the 7th Underwater Acoustic Conference and Exhibition, Kalamata, Greece, June 2023.
- [19] HELCOM. (2013). «Chemical Munitions Dumped in the Baltic Sea». Report of the ad hoc Expert Group to Update and Review the Existing Information on Dumped Chemical Munitions in the Baltic Sea (HELCOM MUNI) Baltic Sea Environment Proceeding (BSEP) No. 142.
- [20] SciTech, «Old Chemical Weapons Reference Guide», May 1998, SciTech, Arlington, MD, USA.
- [21] Landeskriminalamt Schleswig-Holstein, SH Jahrbuch 1959, Kampfmittelräumdienst, besøkt 20 februar 2023.
- [22] National Archive, CW photos, USA.
- [23] M. E. Mäkelä (1984), «Das Geheimnis der Magdeburg - Die Geschichte des Kleinen Kreuzers und die Bedeutung seiner Signalbücher im Ersten Weltkrieg», Bernhard & Gräfe, Koblenz, Germany.
- [24] Munitions-Handbuch - Teil 1: Minenbomben - Heft 2: SC 250, Bund Deutscher Feuerwerker und Wehrtechniker e.V. BDFWT, Deutschland.
- [25] H. Rielau (1965), «Geschichte der Nebelgruppe», ABC- und Selbstschuttschule, Deutschland.
- [26] R. Frank (1991), «Lehrbuch der militärchemie Band 1», Militärverlag der Deutschen Demokratische Republik.
- [27] U. Wichert, Consultant BLANO, MEKUN and HELCOM SUBMERGED, 24351 Damp, Germany, Personlig meddelelse, 26 august 2023.
- [28] L. J. Hamdan et al. (2021), «Deep-sea shipwrecks represent island-like ecosystems for marine microbiomes», *The ISME Journal* (2021) **15**:2883-2891, <https://doi.org/10.1038/s41396-021-00978-y>.
- [29] N. Medvedeva et al. (2009), «Microbial responses to mustard gas dumped in the Baltic Sea», *Marine Environmental Research* **68** (2009) 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.04.007>.
- [30] J. Van Landuyt et al. (2022), «80 years later: Marine sediments still influenced by an old war ship», *Fron. Mar. Sci.* **9**:1017136. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1017136>.
- [31] RPS Consultants Ltd, «Desktop Environmental Impact Assessment Report for Operation Sandcastle Dumpsites», RPS/RA9163/TR5, Issue 1, October 2017, Basingstoke, UK.
- [32] G. Søvik, T. Hauge Thangstad, «TOKTRAPPORT Reketokt i Norskerenna og Skagerrak januar 2020», Toktrappport/Havforskningsinstituttet/ISSN 15036294/Nr. 3–2021.
- [33] P. Buhl-Mortensen m.fl., MAREANOTOKT 2023 LEG 2, Toktrappport 2023001009, Havforskningsinstituttet Toktrappport 2024-2, ISSN:1503-6294
- [34] S Mortensen, Havforskningsinstituttet, personlig meddelelse, mars 2024.

-
-
- [35] Falkenhaus, T., Broms, C., Bagøien, E., & Nikolioudakis, N. (2022). Temporal variability of co-occurring *Calanus finmarchicus* and *C. helgolandicus* in Skagerrak. *Frontiers in Marine Science*, 9, 779335. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.779335>
- [36] Rodhe, J. (1987). The large-scale circulation in the Skagerrak; interpretation of some observations. *Tellus A*, 39(3), 245-253. <https://doi.org/10.3402/tellusa.v39i3.11757>
- [37] A. Johnsen, «Påvirkes fisk og skalldyr av dumpet ammunisjon? – en undersøkelse i fire dumpfelt for krigsetterlatenskaper», FFI-RAPPORT 21/01396, Forsvarets forskningsinstitutt.
- [38] M. Schøyen m.fl., «Contaminants in coastal waters of Norway 2020, Miljøgifter i norske kystområder 2020», NIVA Report, 7686-2021.
- [39] J. Beyer m. fl., «Blue mussels (*Mytilus edulis* spp.) as sentinel organisms in coastal pollution monitoring: A review», *Marine Environmental Research* **130** (2017) 338-365.
- [40] K. Julshamn, B. Nilsen, S. Valdersnes, S. Frantzen, "Årsrapport 2011. Mattilsynets program: Fremmedstoffer i villfisk med vekt på kystnære farvann: Delrapport I: Undersøkelser av miljøgifter i taskekrabbe". NIFES rapport, 2012.
- [41] Klima- og forurensningsdirektoratet, "Miljøgifter i marine organismer. Kartlegging av miljøgifter i organismer i 14 havneområder langs norskekysten. Oppdatering av bakgrunnsdata for vurdering av kostholdsråd og forurensningssituasjonen". TA-2852, 2011.
- [42] EU Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006, EU, 25 April 2023.
- [43] OSPAR, Status and Trend for Heavy Metals (Mercury, Cadmium and Lead) in Fish, Shellfish and Sediment, OAP OSPAR Assessment Portal, <https://oap.ospar.org/en/ospar-assessments/quality-status-reports/qsr-2023/indicator-assessments/heavy-metals-biota-sediment/#:~:text=Status%20and%20Trend%20for%20Heavy,mercury%20above%20the%20environmental%20threshold.>
- [44] Miljødirektoratet, «Klassifisering av miljøstandard i vann, vannportalen», Veileder 02:2018.
- [45] Helse- og omsorgsdepartementet, "Forskrift om visse forurensende stoffer i næringsmidler." FOR-2015-07-03-870, 2018.
- [46] S. Franke. «Lehrbuch der Militarchemie». Band, vol. 1. Militairverlag der Deutschen Demokratischen Republik; 1976. 512 pp.
- [47] D. Appel, J S Strehse, H-J Martin og E Maser, «Bioaccumulation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) and its metabolites leaking from corroded munition in transplanted blue mussels (*M. edulis*)», *Marine Pollution Bulletin* **135** (2018) 1072–1078, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.028> .
- [48] D. Koske, K Straumer, N I Goldenstein, R Hanel, T Lang, U Kammann, «First evidence of explosives and their degradation products in dab (*Limanda limanda* L.) from a munition dumpsite in the Baltic Sea», *Marine Pollution Bulletin* **155** (2020) 111131, <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111131> .
- [49] A. J. Beck, M Gledhill, M Kampmeier, C Fenga, C Schlosser, J Greinert, E P. Achterberg, «Explosives compounds from sea-dumped relic munitions accumulate in marine biota», *Science of the Total Environment* **806** (2022) 151266, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151266> .

-
- [50] J. S. Strehse, T H Bünning, J Koschorreck, A Künitzer, E Maser, «Long-Term Trends for Blue Mussels from the German Environmental Specimen Bank Show First Evidence of Munition Contaminants Uptake», *Toxics* 2023, **11**(4), 347; <https://doi.org/10.3390/toxics11040347> .
- [51] E. Maser, T. H. Bünning, M Brenner, S Van Haelst, M De Rijcke, P Müller, U Wichert, J S. Strehse, «Warship wrecks and their munition cargos as a threat to the marine environment and humans: The V 1302 “JOHN MAHN” from World War II», *Science of the total Environment*, **857** (1) 2023, 159324, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159324> .
- [52] M. Czub m.fl., «Deep sea habitats in the chemical warfare dumping areas of the Baltic Sea», *Science of the Total Environment* **616–617** (2018) 1485–1497, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.165> .
- [53] G. R. Lotufo (2017), «Toxicity and Bioaccumulation of Munition Constituents in Aquatic and Terrestrial Organisms», in M.K. Shukla et a. (eds), *Energetic Materials, Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics*, 25, Springer International Publishing AG. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59208-4_13 .
- [54] I. M. A. Christensen, M. S. Storgaard, P. Fauser, S. F. Hansen, E. Baatrup og H. Sanderson, «Acute toxicity of sea-dumped chemical munitions: luminating the environmental toxicity of legacy compounds», *Global Security: Health, Science and Policy*, **1:1**, 39-50, 2016, <http://dx.doi.org/10.1080/23779497.2016.1219962> .
- [55] H. Niemikoski, «New approach in the assessment of impact of arsenic-based chemical warfare agents on marine environment», Academic Dissertation, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Helsinki, Finland, April 8th 2022.
- [56] H. Niemikoski, M Söderström, and P Vanninen, «Detection of Chemical Warfare Agent-Related Phenylarsenic Compounds in Marine Biota Samples by LC-HESI/MS/MS», *Analytical Chemistry* 2017 **89** (20), 11129-11134, <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.7b03429> .
- [57] J. Ahlsén, J. Bergkvist, M. Magnusson, Å. Granmo, «Undersökning av biota i anslutning till dumpade fartyg med kemisk ammunition», Rapport 2018:21, Havs- och vattenmyndigheten, Göteborg, Sverige.
- [58] J. Ahlsén, J. Bergkvist, Å. Granmo, «Undersökning av biota och sediment i anslutning till dumpningsområden av kemisk ammunition på väst-och östkusten 2019», Rapport 2020:15, Havs-och vattenmyndigheten, Göteborg, Sverige.
- [59] J. Ahlsén, J. Bergkvist, M. Magnusson, «Provviske väster om Måseskär i anslutning till vrak med dumpade kemiska stridsmedel», Rapport – 2022:10, Havs-och vattenmyndigheten, Göteborg, Sverige.
- [60] F. Moi og L. Veen Billingstad (2018), «Uttesting av passive prøvetakere for eksplosivrelaterte forbindelser i sjøvann», Bacheloroppgave, OsloMet – Storbyuniversitetet, Fakultet for teknologi, kunst og design, Oslo, Norge.
- [61] Norsk standard: NS 9436:2021 Vannundersøkelse - Prøvetaking av porevann i marine sedimenter for bestemmelse av miljøgifter.

Om FFI

Forsvarets forskningsinstitutt ble etablert 11. april 1946. Instituttet er organisert som et forvaltningsorgan. Med særskilte fullmakter underlagt Forsvarsdepartementet.

FFIs formål

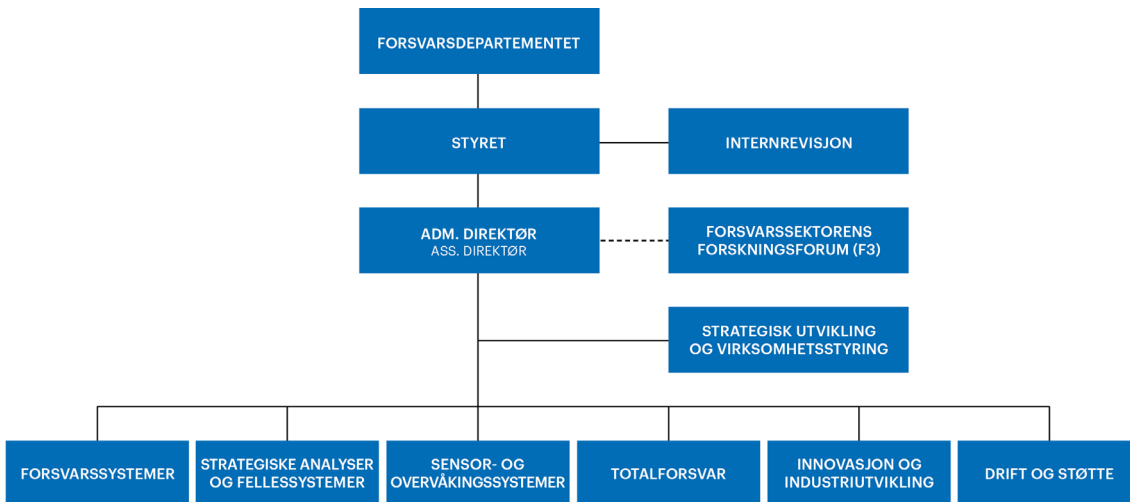
Forsvarets forskningsinstitutt er Forsvarets sentrale forskningsinstitusjon og har som formål å drive forskning og utvikling for Forsvarets behov. Videre er FFI rådgiver overfor Forsvarets strategiske ledelse. Spesielt skal instituttet følge opp trekk ved vitenskapelig og militærteknisk utvikling som kan påvirke forutsetningene for sikkerhetspolitikken eller forsvarsplanleggingen.

FFIs visjon

FFI gjør kunnskap og ideer til et effektivt forsvar.

FFIs verdier

Skapende, drivende, vidsynt og ansvarlig.



Forsvarets forskningsinstitutt (FFI)
Postboks 25
2027 Kjeller

Besøksadresse:
Kjeller: Instituttveien 20, Kjeller
Horten: Nedre vei 16, Karljohansvern, Horten

Telefon: 91 50 30 03
E-post: post@ffi.no
ffi.no

Norwegian Defence Research Establishment (FFI)
PO box 25
NO-2027 Kjeller
NORWAY

Visitor address:
Kjeller: Instituttveien 20, Kjeller
Horten: Nedre vei 16, Karljohansvern, Horten

Telephone: +47 91 50 30 03
E-mail: post@ffi.no
ffi.no/en