

LNR: 7127-2017

Skrevet av: Anders J. Fjellheim (Marine Harvest), Ole-Kristian Hess-Erga (NIVA), Kari Attramadal (SINTEF) and Olav Vadstein (NTNU). Basert på heftet skrevet av Anders J. Fjellheim (NIVA, 2009).

Resirkulering av vann i settefiskproduksjon

Bakgrunnshefte til kurs i resirkulerings-
teknologi for settefiskproduksjon.

Utgave 2, 2016



Innhold

1. BAKGRUNN	3
1.1 DEFINISJON RESIRKULERINGSGRAD	3
1.2 FISKENS METABOLISME	4
1.3 SYSTEMSKISSE AV RAS.....	4
2. FISKEHELSE	4
2.1 KRAV I DRIFTSFORSKRIFTEN	4
2.2 GRENSEVERDIER FOR FISKEHELSE/FISKEVELFERD .	5
2.2.1 Ammonium.....	5
2.2.3 Nitrat.....	6
2.2.4 CO ₂	6
2.2.5 Partikler og organisk materiale.....	7
3. VANNKJEMI	7
3.1 pH	7
3.2 BUFFER KAPASITET	7
3.3 GASSER I VANN.....	7
4. INNTAKSVANNET	7
4.1 BIOSIKKERHET	8
4.2 pH	8
4.3 ALKALITET	8
4.4 KALSIMUM.....	8
4.5 TOTALT ORGANISK KARBON	9
4.6 METALLER	9
4.7 TEMPERATUR.....	9
4.8 OVERFLATEVANN VERSUS GRUNNVANN	10
5. ORGANISKE PARTIKLER	10
5.1 KAR- OG UTLØPSDESIGN	10
5.2 ULIKE TYPER MEKANISKE FILTERE.....	11
6. KARBONDIOKSID (CO₂)	11
6.1 CO ₂ -FJERNING	11
7. BIOFILTERET	13
7.1 BIOFILM.....	13
7.2 FAKTORER SOM PÅVIRKER NITRIFIKASJONEN	14
7.2.1 Konsentrasjon av substrat (TAN).....	14
7.2.2 Oksygen i vannet.....	14
7.2.3 Turbulens.....	14
7.2.4 Organisk materiale	14
7.2.5 Temperatur	14
7.2.6 pH	15
7.2.7 Alkalitet.....	15
7.3 ULIKE TYPER BIOFILTER.....	15
7.3.1 Rislefilter.....	16
7.3.2 Dykkede biologiske filtere.....	16
7.3.3 Denitrifisering og anaerobe biofilter	16
7.4 VASKING, DESINFEKSJON OG OPPSTART AV BIOFILTER.....	16
8. BUFFERLØSNINGER	17
9. MIKROBIOLOGI I RAS	18
9.1 AUTOTROFE NITRIFISERENDE BAKTERIER	19
9.2 HETEROTROFE BAKTERIER PÅVIRKER FISKEHELSE	19
9.3 MIKROBIELL KONTROLL FOR GOD FISKEHELSE...	19
10. DESINFEKSJON	20
10.1 SOPP (<i>OOMYCETES</i> , <i>SAPROLEGNIA</i>).....	21
10.2 UV-BELYSNING	21
10.2.1 Virkning av UV-desinfeksjon.....	21
10.2.2 Reparasjonsmekanismer	21
10.2.3 Faktorer som hemmer virkning av UV.....	21
10.2.4 UV-følsomhet.....	21
10.2.5 Plassering av UV.....	22
10.3 OZON.....	22
10.3.1 Virkning av ozon.....	22
10.3.2 Plassering	22
10.3.3 Effekt på nitrifikasjon	22
10.3.4 Remobilisering av metaller.....	22
11. OVERVÅKING AV VANNKVALITET	22
11.1 OVERVÅKNINGSSYSTEMER	23
11.1.1 Hyppighet av vannkvalitetsmålinger	23
11.1.2 Målemetoder TAN, nitritt og nitrat	23
12. REFERANSELISTE	25

1. BAKGRUNN

Grunnet teknologiske fremskritt og økt press på ferskvannsressurser har bruken av resirkuleringsteknologi innen smoltoppdrett økt markert de senere år.

Fordeler ved bruk av resirkuleringsystemer (RAS) i oppdrett av smolt er mange. Behovet for ferskvann og energibehovet ved oppvarming av driftsvann reduseres. Nye produksjonsstrategier kan benyttes for utsett av smolt til andre tider av året, personell- og kar-kapasitet utnyttes bedre på settefiskanleggene hvis optimal temperatur opprettholdes hele året, samt at man kan oppnå full kontroll over driftsvannets vannkvalitet.

Bakdeler ved bruk av resirkuleringsteknologi er et økt kompetansebehov i bedriften, økt avhengighet av alarmsystemer og økt behov for at back-up løsninger er operative og virker umiddelbart.

Dette heftet vil gi en innføring i oppbygging av resirkuleringsanlegg og hva som ligger til grunn for de ulike vannbehandlingsstrinnene i resirkuleringsanlegg som brukes for oppdrett av laks. Grenseverdier for ulike vannkvalitetsparametere både som myndighetskrav og for fiskevelferd blir også gjennomgått. Heftet belyser hvilke parametere som er viktige for å få et velfungerende biofilter, inkludert en gjennomgang av mikrobiologien som ligger til grunn. Heftet er ment å være til hjelp ved praktisk drift av resirkuleringsanlegg, og hovedfokuset er derfor på problemstillinger som er relevante i denne sammenheng

1.1 DEFINISJON RESIRKULERINGSGRAD

Graden av resirkulering er et viktig begrep som kan defineres på ulike måter. Her er en kort presentasjon av tre vanlige måter å definere resirkulering på. Definisjonene eksemplifiseres ved et tenkt anlegg som har en vanngjennomstrømming på 2000 m³ i timen, et totalt vannvolum på 2000 m³ (~1 time utskiftingstid av vann i karene), tilsetter 10 m³ nytt vann i timen (166 liter/min), og en utføring på 500 kg/dag.

(1) Resirkuleringsgrad i %:

$$\text{Resirkuleringsgrad} = \left(\frac{\text{Vannmengde til kar per time}}{\text{nytt vann per time} + \text{vannmengde til kar per time}} \right) \times 100$$

Eksempel = $(2000 \text{ m}^3 / (10 \text{ m}^3 + 2000 \text{ m}^3)) \times 100 = 99,5\%$

(2) Utskifting per dag i %:

$$\text{Utskifting per dag} = \left(\frac{\text{Tilførsel av nytt vann per dag}}{\text{totalt vannvolum i anlegget}} \right) \times 100$$

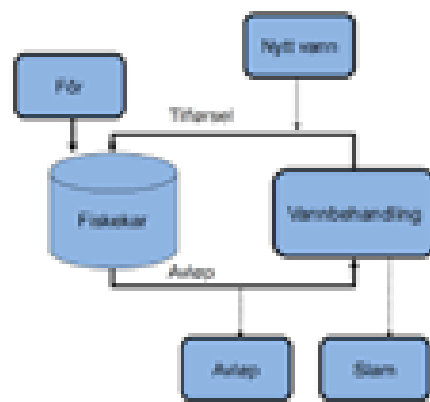
Eksempel = $(240 \text{ m}^3 / 2000 \text{ m}^3) \times 100 = 12\%$

(3) Utskifting per dag per kg fôr:

$$\text{Utskifting/kg fôr} = \frac{\text{Tilførsel av nytt vann per dag}}{\text{daglig fôrforbruk}}$$

Eksempel = $240 \text{ m}^3 / 500 \text{ kg} = 480 \text{ liter/kg fôr}$

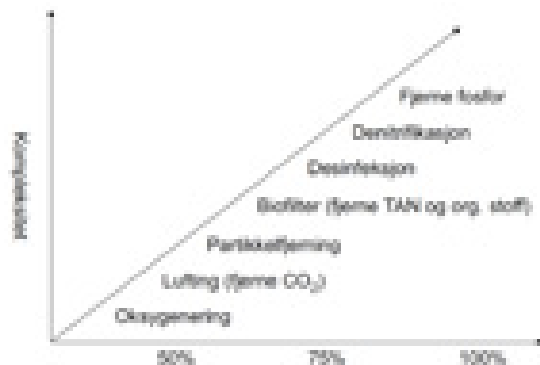
De to første definisjonene tar ikke hensyn til hvor mye fôr som tilføres resirkuleringssystemet. Mengden fôr vil i stor grad være det som bestemmer "belastningen" som systemet utsettes for og dermed behovet for behandling og dimensjoneringen av vannbehandlingen. Uten tilførsel av fôr vil fiskens utskillelse av avføring og TAN (Total Ammonium Nitrogen) synke raskt. Forskjellen på disse to definisjonene er at den første sier noe om hvor rask sirkulasjonen i resirkuleringsystemet er, mens den andre kun sier noe om mengden nytt vann. Den tredje definisjonen tar hensyn til mengden fôr som tilføres til systemet, og relaterer dette til mengden nytt vann som tilføres i systemet. Definisjon 3 sier derimot ikke noe om hvor raskt vannet sirkulerer i systemet.



Figur 1.1: Prinsippkisse av resirkuleringsanlegg, relatert til resirkuleringsgrad.

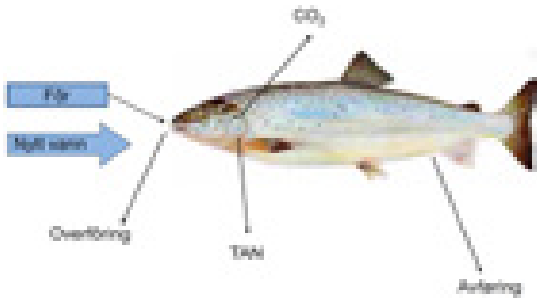
Med økende grad av resirkulering vil kompleksiteten av resirkuleringsystemet måtte øke som en følge av at flere vannbehandlingsprosesser må inkluderes i systemet (Figur 1.2).

Figur 1.2: Sammenheng mellom grad av resirkulering og kompleksitet.



1.2 FISKENS METABOLISME

Fiskens metabolisme vil påvirke vannkvaliteten i driftsvannet ved at fôret omdannes til CO₂, TAN, avføring og urea som skilles ut (Figur 1.3). Vannbehandlingen i et resirkuleringsystem må kontinuerlig fjerne de stoffene som tilføres, for å unngå konsentrasjoner som skader fisken.



Figur 1.3: Fiskens metabolisme og påvirkning på vannkvalitet

Overføring bør unngås i resirkuleringsystemer, da det vil tilføre organisk materiale som kan gi dårligere vannkvalitet og lavere omsetning av TAN i biofilteret (se kapittel 7.2.4). Bakteriell nedbrytning av fôrspill bidrar betydelig til oksygenforbruket og ammoniakk- og CO₂-produksjonen i anlegget og kan utgjøre en tredjedel av bidraget fra fisken. Avføring fra fisken og eventuell overføring bør fanges skånsomt opp og fjernes så raskt som mulig fra vannet. Godt designede selvrensende kar med optimal hydraulikk og utløp er nyttig for dette. Partiklene vil fanges opp i det mekaniske filteret. CO₂ må fjernes fra vannet ved at det luftes ut. TAN fjernes fra vannet ved at to grupper bakterier som sitter hovedsakelig i det biologiske filteret bruker TAN og nitritt som energikilder. De omsetter TAN via nitritt til nitrat ved tilgang på oksygen. Fisk tåler høyere konsentrasjon av nitrat i forhold til ammoniakk og nitritt.



Figure 1.4. Startfôrings RAS ved Marine Harvest Nordheim.

1.3 SYSTEMSKISSE AV RAS

Rekkefølgen av vannbehandlingskomponenter og plassering av pumpetynn varierer mellom ulike leverandører av resirkuleringsanlegg. Figur 1.5 viser en mulig rekkefølge av vannbehandlingskomponenter. Det finnes også anlegg som har utelatt desinfeksjonstrinnet, og anlegg som bruker komponenter som kombinerer vannbehandlingsprosesser (for eksempel vil et rislefilter både fungere som biofilter og lufter ut CO₂).

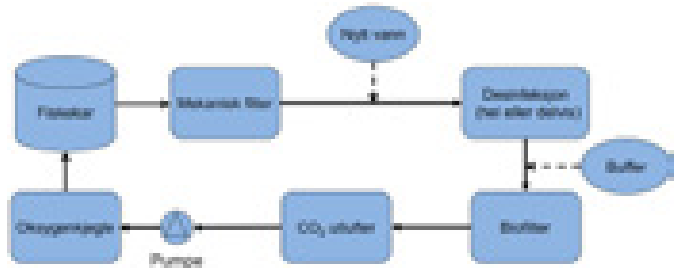


Figure 1.5: Systemskisse av et typisk resirkuleringsanlegg.

2. FISKEHELSE

Grenseverdier for fiskehelse og fiskevelferd er definert i akvakulturdriftsforordningen. Det er i tillegg gjort mange vitenskapelige undersøkelser for å definere grenseverdiene. Faktorer som er spesielt viktige i resirkuleringsanlegg blir gjennomgått her.

2.1 KRAV I DRIFTSFORSKRIFTEN

Krav til vannkvalitet etter akvakulturdriftsforordningen § 22 (høringsforslag som endelig fastsettes høsten 2016) skiller ikke mellom vannkvalitet for gjennomstrømningsanlegg og resirkuleringsanlegg. Kravene som stilles er som følger:

Mattilsynet legger følgende størrelser til grunn som veiledende måleparametere for landbaserte settefiskanlegg med laks (merk at disse verdiene er basert på forhold som ikke fullt ut er relevante for kommersiell produksjon i resirkuleringsanlegg jfr. VKM rapport om resirkuleringsanlegg):

Parameter	Verdier
pH innløp	6,2 – 7,8
Oksygenmetning i kar	Ikke over 100 prosent

NOTATER

Oksygen (avløp)	Over 80 prosent
Totalgassmetning (TGP) i karvann	Ikke over 100 prosent
Karbondioksid	Under 15 milligram/liter
Aluminium (labilt)	Under 5 mikrogram/liter
Aluminium (gjeller)	Ikke over 15 mikrogram/gram gjelle tørrvekt før utsett i sjø
Nitritt (ferskvann)	Under 0,1 milligram/liter
Nitritt (sjøvann)	Under 0,5 milligram/liter
Total Ammonium Nitrogen (TAN)	Under 2 milligram/liter
Ammoniakk	Under 2 mikrogram/liter

Tabellen er i utgangspunktet veiledende. Avvik fra tabellen kan derfor i en del tilfeller være i samsvar med kravene i § 22 dersom det kan dokumenteres relevante kompensierende tiltak eller dersom det foreligger gunstig samspill mellom ulike parametere, jf. kommentarene i tabellen. Dersom produksjonen skal basere seg på andre grenseverdier enn de veiledende, forventes det at det fremgår av akvakulturanleggets internkontrollsystem hvilke grenseverdier som legges til grunn for produksjonen, og hvordan fisken sikres gode levekår.

Det står ikke spesifisert i tabellen om det er nitritt-N eller nitritt som er benevnelsen, men nitritt-N nevnes i selve forskriftsteksten. Forskjellen på nitritt-N (molevekt 14) og nitritt (molevekt 46) er $46/14 = 3,3$. Dette medfører at 3,3 mg/l målt som nitritt, er det samme som 1,0 mg/l målt som nitritt-N. Det samme gjelder for ammonium grenseverdien, men her er det mye mindre forskjell mellom de to benevnelsene (ammonium-N 14, ammonium 18, $18/14=1,3$).

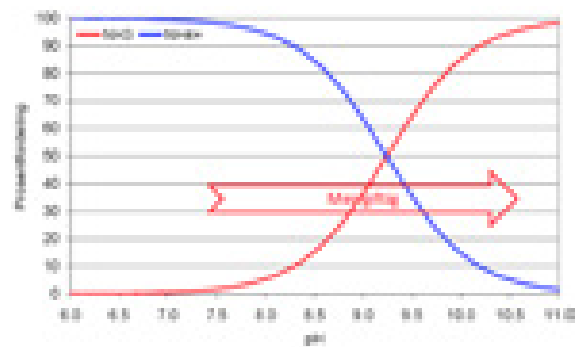
2.2 GRENSEVERDIER FOR FISKEHELSE/FISKEVELFERD

Fiskens helse og velferd vil avhenge av mange faktorer i et resirkuleringsanlegg, som i et gjennomstrømningsanlegg. Oksygeninnhold i vannet vil være eksempel på en faktor som er like viktig i begge systemene. Her er en oversikt og virkningsbeskrivelse av vannkvalitetsparametere som det er spesielt viktig å ha kontroll med i resirkuleringsanlegg.

2.2.1 Ammonium

Ammoniakk skilles ut av fisken og omsettes via nitritt til nitrat i biofilteret (se kapittel 7). Ammoniakk er det viktigste ekskresjonsprodukt fra nitrogenmetabolismen hos de fleste beinfisker, og vil også frigis gjennom bakteriell nedbrytning av

organisk materiale (fôrspill og avføring). Utskilt ammoniakk vil foreligge i to tilstandsformer; uionisert NH_3 og ionisert NH_4^+ . Den relative konsentrasjonen av disse to tilstandsformene er hovedsakelig avhengig av pH (Figur 2.1), men også av salinitet og temperatur i vannet. Summen av NH_3 og NH_4^+ kalles Total Ammonium Nitrogen (TAN). Det er den uioniserte NH_3 -formen som er giftig for fisk, dette medfører at vannets pH i hovedsak vil bestemme om en gitt TAN verdi er giftig eller ikke (Tabell 2.1).



Figur 2.1: Forholdet mellom NH_3 og NH_4^+ i vannet, avhengig av pH.

Giftvirkningen av ammoniakkeksponering gir effekter på plasmakortison og plasmakatekolaminer, respirasjon, vann- og ionebalanse, hematologiske faktorer og vevstruktur i gjeller, lever og nyre.

Tabell 2.1: Andel NH_3 ved ulike pH-verdi (ved 10 grader) i ferskvann.

Målt TAN	pH	$\text{NH}_3\text{-N}$ (mg/L)
2	6	0,00037
2	6,5	0,0011
2	7	0,0037
2	7,5	0,012
2	8	0,036
2	8,5	0,11

En konservativ grense for ammoniakk (NH_3) i vannet som er giftig for laks, er 0,002 – 0,005 mg $\text{NH}_3\text{-N/l}$, avhengig av temperatur (Rosseland 1999).

Dersom mengden NH_3 er for høy i anlegget kan aktuelle tiltak være å: redusere/stoppe fôring og senke pH litt for å redusere andelen giftig ammoniakk.

2.2.2 Nitritt

Nitritt (NO_2^-) er mellomproduktet i nitrifikasjonen, omdannelsen av TAN til nitrat (se kapittel 7). Akkumulering av nitritt er naturlig i en oppstartsperiode for et nytt biofilter og episoder med nitrittakumulering kan også inntreffe i forbindelse med driftsforstyrrelser ved vanlig drift.

Nitritt blir aktivt tatt opp over gjellene, i konkurranse med klorid (Kroupova et al. 2005). Dette vil medføre at når nitritt er tilstede i vannet, blir en del av kloridopptaket erstattet med nitrittopptak. I og med at dette er et aktivt opptak, vil nitritt konsentrasjonen i blodet kunne bli mange ganger høyere enn nitrittkonsentrasjonen i vannet. En kritisk konsekvens av nitrittakumulering er oksidasjon av hemoglobin til metahemoglobin, og dermed lav evne til oksygentransport i blodet. Både lengden på eksponering og dosen av eksponering vil være viktig i forhold til giftighet for fisk. Generelt vil 24-48 timers eksponering være nødvendig for maksimal akkumulering i fisk.

Nitrittforgiftning kan motvirkes ved å tilsette klorid i vannet eller innblanding av sjøvann. Forholdet mellom $\text{Cl}:\text{NO}_2^-$ -N anbefales å være 17 til 20 for laks. Ved å legge dette til grunn kan man regne ut hvilken promille som trengs i vannet, avhengig av nitrittkonsentrasjonen i vannet (Tabell 2.2). Resultater fra nyere forsøk med parr antyder imidlertid at den vanlig brukte $\text{Cl}:\text{NO}_2^-$ -N forholdet på 20:1 (saltdosering), ikke beskytter Atlantisk laks i ferskvann tilfredsstillende mot tidlig vekstreduksjon eller nitrittakumulering i plasma. Derfor anbefales et $\text{Cl}:\text{NO}_2^-$ -N forhold på 100:1 for å unngå giftvirkning forårsaket av høye nitritnivåer (Gutierrez et al. 2011). Det antas også at innholdet av kalsium ioner beskytter noe mot nitritgiftighet.

Mengden oksygen i vannet vil påvirke nitritgiftighet fordi nitritt reduserer blodets evne til oksygentransport. Av samme grunn vil temperatur og hvor aktiv/stresset fisken er kunne påvirke virkningen av nitritt. En aktiv/stresset fisk vil ha større behov for oksygentransport enn en fisk som er rolig. Med bakgrunn i dette er det veldig vanskelig å sette eksakte grenseverdier for når nitritt er giftig for laks, da dette vil avhenge av mange faktorer.

Dersom mengden NO_2^- er for høy i anlegget kan aktuelle tiltak være å: redusere/stoppe føring og tilsette salt (NaCl).

Tabell 2.2: Salinitet som trengs i driftsvannet for å oppnå et forhold på 20:1 mellom klorid og nitritt-N ved ulike nitritt-N konsentrasjoner i vannet.

Nitritt konsentrasjon (mg NO_2^- -N/L)	Salinitet (promille) for å oppnå 20:1
0,5	0,05
1	0,1
2	0,2
5	0,5

2.2.3 Nitrat

Nitrat (NO_3^-) er sluttproduktet i nitrifikasjonen og er mindre giftige enn ammoniakk og nitritt. I resirkuleringssystemer kontrolleres nitratnivå vanligvis ved vannutskifting, men anlegg med lav grad av vannutskifting kan ha behov for denitrifikasjonsfilter (som omgjør nitrat til nitrogen-gass).

Post smolt av atlantisk laks (oppdrettet til ~ 1 kg) ble ikke påvirket negativt av kronisk eksponering til ~ 100 mg/l av NO_3^- -N, ved oppdrett i replikate ferskvanns RAS (Davidson et al. 2016). Derimot viser en lignende studie at unge regnbueørret som ble eksponert for nitrat konsentrasjon på 80-100 mg N/l fikk kroniske helse- og velferdsproblemer og derfor anbefales en øvre grense på 75 mg/l NO_3^- -N for regnbueørret (Davidson et al. 2014).

2.2.4 CO_2

Høy CO_2 vil redusere pH i karvannet dersom bufferevnen er lav i vannet. Det finnes ingen entydige og universelle grenseverdier for CO_2 , men i litteraturen er det beskrevet en terskelverdi for akutt gifteffekt i området 20-100 mg CO_2 /l, avhengig av art, livsstadium, pH, temperatur, oksygeninnhold og generell vannkvalitet.

Ved høye konsentrasjoner av karbondioksid i vannet reduseres fiskens kapasitet for oksygenopptak og syre-/base-regulering ved at CO_2 konsentrasjonen i fiskens blod øker, blod-pH senkes og hemoglobinet oksygenbinding reduseres. Såkalt "nefrocalcinose" (nyresten), er påvist ved vannkonsentrasjoner ned mot 10 mg CO_2 /l etter lang tids eksponering. Data fra Vannkvalitets (VK) -undersøkelsene synes å antyde et problemområde for laksesmolt når $\text{CO}_2 > 13$ til 15 mg/l. Erfaring fra næringen antyder at hyppige og brå svingninger er mer problematisk enn at CO_2 nivået gradvis øker.

NOTATER

2.2.5 Partikler og organisk materiale

Organisk materiale akkumuleres til en viss grad i resirkuleringsanlegg som en følge av overføring, fôrstøv, avføring fra fisk og avskalling av biofilm fra overflater i systemet. Økt mengde organisk materiale vil kunne føre til gjelleirritasjon hos fisken. Anbefalt grense for total suspendert stoff (TSS) er 10 mg/l.

Organisk materiale fungerer som vekstmateriale for bakterier (mest som Dissolved Organic Carbon – DOC) og kan resultere i oppblomstring av bakterier i systemet. Nedbrytningen av organisk materiale gir økt oksygenforbruk og avfallsproduksjon (CO₂ og ammoniakk). Høye nivåer av partikler og organisk materiale vil føre til en lavere effektivitet av ammoniakk- og nitrittomdannelsen i biofilteret på grunn av konkurranse om spesielt oksygen for de to bakteriegruppene; nitrifiserende bakterier – autotrofe, og bakterier som lever av organisk materiale - heterotrofe (se kapittel 5). Høye partikkelnivåer i vannet vil også redusere effektiviteten av desinfeksjon med UV og ozon (se kapittel 10). Konstant ozonering med lav dose kan være et effektivt hjelpemiddel for å bryte ned og øke effektiviteten på partikkelfjerning.

3. VANNKJEMI

Noe kunnskap om de vannkjemiske prosessene som foregår er viktig for å forstå hva som skjer, og hva som potensielt kan skje i vannet i et resirkuleringsanlegg. Her er en meget kort gjennomgang av noen viktige punkter. Vannkjemiske forhold omtales også i andre kapitler.

3.1 pH

pH er et mål for vannets surhetsgrad. pH er egentlig den negative logaritmen til konsentrasjonen av H⁺-ioner i vannet. En nøytral løsning har pH 7. Sure løsninger har pH lavere enn 7 (høyere [H⁺]) og basiske løsninger har pH høyere enn 7 (lavere [H⁺]). pH i en løsning vil i mange tilfeller være bestemmende for ulike kjemiske forbindelsers tilstandsform, og dermed giftigheten for fisken. De viktigste pH-avhengige forbindelsene er; CO₂, NH₃ og aluminium, og derfor er stabil pH veldig viktig for en stabil vannkvalitet i RAS.

3.2 BUFFER KAPASITET

Bufferevne er vannets evne til å nøytralisere syre med en påfølgende liten endring i pH. Ulike parametere sier noe om vannets bufferegenskaper. **Alkalitet** er den vanligste parameteren som brukes til å bestemme bufferevnen.

Vannets syrenøytraliserende kapasitet (ANC) er en variant av alkalitet. **Ledningsevnen** til vannet sier noe om hvor mye ioner det er i vannet, generelt gir større mengde ioner bedre bufferegenskaper. Vannets **hardhet** (innhold av toverdige ioner, hovedsakelig Ca²⁺ og Mg²⁺) er også ofte proporsjonal med vannets bufferkapasitet.

Det viktigste bidraget til vannets bufferevne i ferskvann gir karbonat-systemet (se Figur 6.1):



Alkaliteten i vannet kan angis med flere benevnelser:

Som mg/liter CaCO₃ ekvivalent, som milliekvivalenter/liter (meq/l) eller som millimol/liter (mmol/l). Sammenhengen mellom disse er:

$$1 \text{ mmol/L} = 1 \text{ meq/L} = 50 \text{ mg/L CaCO}_3.$$

3.3 GASSER I VANN

Løselighet av en gass i vann avhenger av temperatur, andre løste stoffer (bl.a. salinitet), gassens egenskaper (ulike gasser har forskjellig løselighet) og gasstrykket. Total gassmetning i vann vil være forholdet mellom totalt gasstrykk i vann og atmosfæretrykket. Problemer oppstår når totalgasstrykket i vann er høyere enn gasstrykket i atmosfæren, da vil vannet være overmettet og bobledannelse kan oppstå. Bobledannelse kan oppstå både i vannet og i fisken. Hvis bobler dannes i fisken vil transport av blod kunne blokkeres. Ved høyere grad av overmetning vil bobler dannes i gjeller og øyne.

Totalgassovermetning vil i stor grad kunne unngås i resirkuleringsanlegg fordi vannet luftes for å fjerne CO₂. Hvis et svakt undertrykk (sug/vakuum) benyttes ved utlufting av CO₂ minker sjansen for gassovermetning enda mer. Punkter som vil være utsatte for å gi gassovermetning er: 1) der vannet tilsettes luft under trykk (inkludert luft tilsatt dypere enn 1m), 2) bruk av trykksatt vann (f.eks. dypvannsinntak eller trykksatt vann fra innsjøer), 3) oppvarming og blanding av kaldt og varmt vann 4) hvis pumper suger luft, 5) hvis luftbobler i vannet trykkes etter f.eks. en utluftingsenhet.

4. INNTAKSVANNET

Kvaliteten på vannet som tilføres et resirkuleringsanlegg vil være av betydning for om råvannet må forbehandles før det tilføres systemet, og det vil være av betydning for vannbehandlingen internt i systemet. Basert på tall fra VK

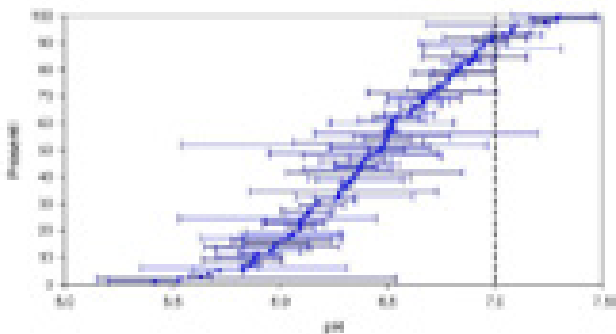
databasen (Kristensen et al. 2009) gis her en gjennomgang av vannkvaliteten i norske settefiskanlegg generelt, sammenliknet med krav som stilles til vannkvalitet i resirkuleringsanlegg. Det brukes mye mindre råvann per tidsenhet i RAS enn i tradisjonelle gjennomstrømningsanlegg.

4.1 BIOSIKKERHET

Det er viktig å beskytte seg mot mikroorganismer som kan skape sykdom kommer inn i anlegget. Det beste er selvsagt om kilden til inntaksvannet ikke inneholder skadelige mikroorganismer. Uansett er det viktig å desinfisere vannet inn til anlegget for å minimere risikoen for inntak av smitte.

4.2 pH

En generell anbefaling fra leverandører av resirkuleringsanlegg for laks er at pH bør være rundt 7 for å oppnå effektiv nitrifisering i biofilteret og på samme tid sikre god fiskevelferd. Råvannet i norske settefiskanlegg har generelt lav pH, sammenlignet med det som er optimalt i resirkuleringsanlegg

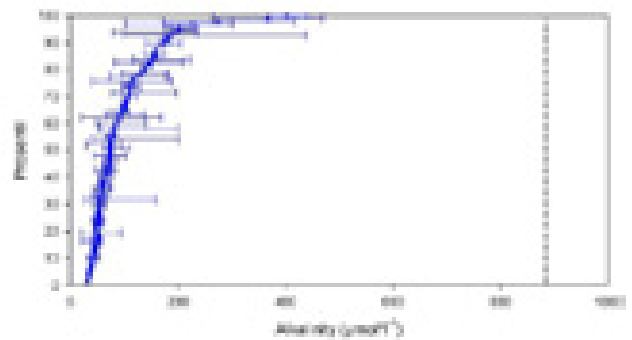


(Figur 4.1).

Figur 4.1: pH i råvannet fra norske settefiskanlegg (VK databasen). Δ angir middelvei, vertikale linjer angir variasjonsbredde som minimums og maksimumsverdier. Antall prøver fra hvert anlegg (totalt 143 anlegg) varierer fra 1 til 8, med 2,5 prøver som gjennomsnitt. Ønsket nivå i resirkuleringsanlegg er angitt med -----.

4.3 ALKALITET

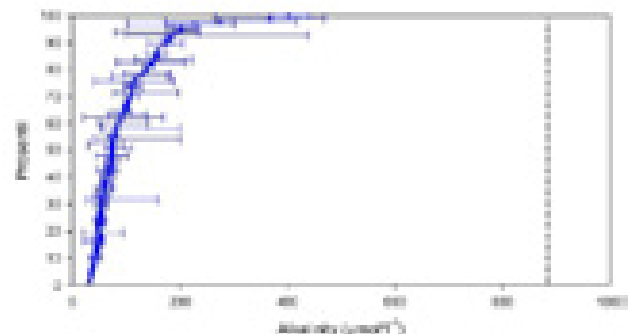
Alkalitet er et mål på vannets bufferkapasitet. Alkalitet kan være en begrensende faktor for nitrifikasjonen i biofilteret i et resirkuleringsanlegg. Alkaliteten i råvannet til norske settefiskanlegg er lav i forhold til kravene i et resirkuleringsanlegg (Figur 4.2), dette medfører at alkalitet må tilføres. Hvilken buffer og hvilke mengder buffer som skal brukes for å heve alkalitet og pH i et gitt system vil påvirkes av råvannskvaliteten.



Figur 4.2: Alkalitet i råvann fra norske settefiskanlegg (VK databasen). Δ angir middelvei, vertikale linjer angir variasjonsbredde som minimums og maksimumsverdier. Antall prøver fra hvert anlegg (totalt 143 anlegg) varierer fra 1 til 8, med 2,5 prøver som gjennomsnitt. Ønsket nivå i resirkuleringsanlegg er angitt med -----.

4.4 KALSIMUM

Innholdet av kalsium i råvannet beskytter gjellene til fisk mot at metaller som er løst i vannet binder seg til gjellene (Playle 1998). Det vil derfor være ønskelig å ha en kalsiumkonsentrasjon i vannet som gir denne beskyttende effekten. Innholdet av kalsium i råvannet til settefiskanlegg i Norge er relativt lavt (Figur 4.3). Ved å bruke en bufferløsning som inneholder kalsium (for eksempel CaO, Ca(OH)₂ eller CaCO₃) i resirkuleringsanlegg, vil man kunne heve kalsiuminnholdet og dermed oppnå en fisk som er bedre beskyttet mot metaller løst i vannet. Den beskyttende virkning av kalsium øker ikke vesentlig ved konsentrasjoner over 2,5-3 mg/liter (Rosseland 1999).

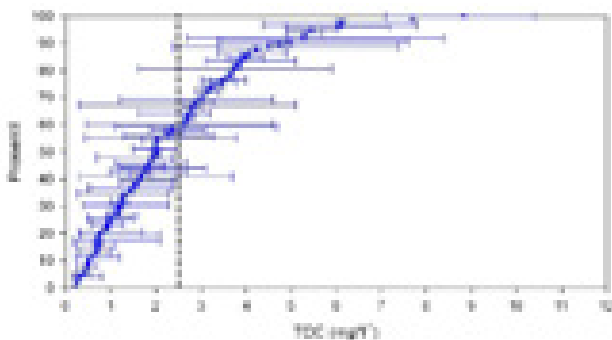


Figur 4.3: Kalsium i råvannet fra norske settefiskanlegg (VK databasen). Δ angir middelvei, vertikale linjer angir variasjonsbredde som minimums og maksimumsverdier. Antall prøver fra hvert anlegg (totalt 143 anlegg) varierer fra 1 til 8, med 2,5 prøver som gjennomsnitt. Ønsket nivå i resirkuleringsanlegg er angitt med -----.

NOTATER

4.5 TOTALT ORGANISK KARBON

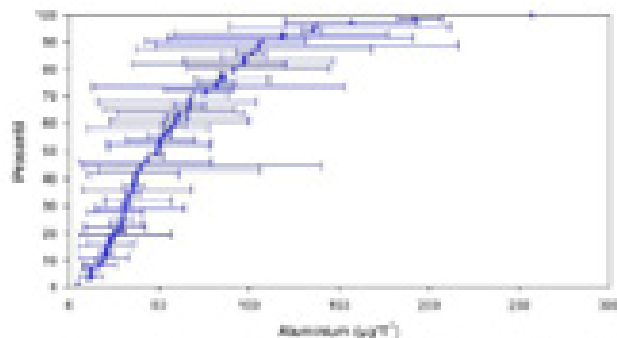
Innholdet av totalt organisk karbon (TOC) er relativt høyt i mange vannkilder til norske settefiskanlegg (Figur 4.4), men ca. 60 % av anleggene er innen det som defineres som "meget god" vannkvalitet (Andersen et al. 1997). Høy TOC bidrar til transport av metaller, men metaller som er bundet til humus er mindre biotilgjengelige enn lavmolekylære metallioner (Teien et al. 2006). Det er vist at bruk av ozon kan frigjøre metaller som er bundet til humus. Ozon brukes i resirkuleringsanlegg for å klarne vannet og for desinfisering. Metoder for å fjerne TOC fra vannet er i bruk i drikkevannsbehandling (Liltved & Norgaard 1999), og disse kan vurderes til behandling av råvannet før det tilføres resirkuleringsssystemet. Dette vil kunne hindre problemer med remobilisering av metaller under vannbehandlingen i resirkuleringsystemet.



Figur 4.4: TOC i råvannet fra norske settefiskanlegg (VK databasen). Δ angir middelvei, vertikale linjer angir variasjonsbredde som minimums og maksimumsverdier. Antall prøver fra hvert anlegg (totalt 143 anlegg) varierer fra 1 til 8, med 2,5 prøver som gjennomsnitt. Kravet for "meget god" vannkvalitet er angitt med -----.

4.6 METALLER

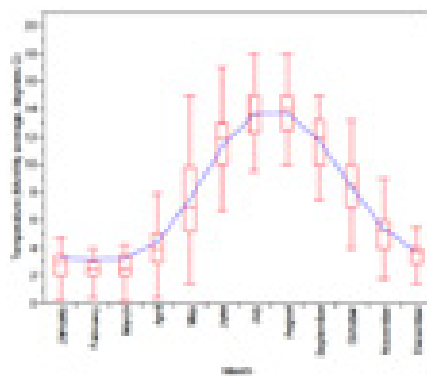
I Norge er problemer med metaller i vann tradisjonelt relatert til lav pH og aluminium (Teien et al. 2006). Men også jern og kobber har gitt problemer for fisk i settefiskanlegg. Smoltstadiet er spesielt utsatt når det gjelder metaller i vannet (Kroglund et al. 2007). Når det gjelder aluminium, er det konsentrasjonen av labilt, uorganisk aluminium som vil være gjellereaktiv og som dermed vil være problematisk for fisk. Ved endringer i pH eller ionestyrke kan aluminium frigjøres og gå over fra organisk bundet til giftige, labile former (Teien et al. 2004). Nivået av total aluminium varierer mye mellom anlegg og mellom ulike prøvetakinger i det enkelte anlegg (Figur 4.5). I hvilken grad metaller kan gå fra organisk bundet til giftige, labile former ved vannbehandlingsprosesser i resirkuleringsanlegg er lite kjent. Men det er vist at bruk av ozon kan gi økning i andelen gjellereaktive former. Fjerning av humøse partikler før råvannet benyttes i resirkuleringsanlegget, vil minke andelen metaller som tilføres.



Figur 4.5: Total aluminium i råvannet fra norske settefiskanlegg (VK databasen). Δ angir middelvei, vertikale linjer angir variasjonsbredde som minimums og maksimumsverdier. Antall prøver fra hvert anlegg (totalt 143 anlegg) varierer fra 1 til 8, med 2,5 prøver som gjennomsnitt.

4.7 TEMPERATUR

Optimal temperatur i oppdrett av laksesmolt er ansett å være i området 12 til 14 grader for å oppnå god vekst hos fisken, og allikevel unngå misdannelser som kan oppstå ved for høy temperatur. Muligheten for å holde optimal temperatur hele året i settefiskanlegg vil bidra til å utnytte kapasiteten i anlegget bedre, det vil også bidra til at smolt vil kunne settes ut i sjøen til andre tider av året enn det man kan i gjennomstrømsanlegg. Oppvarming av vann er en svært energikrevende prosess, spesielt i anlegg med gjennomstrømmingsteknologi. I resirkuleringsanlegg vil derimot energimengden som går med til oppvarming av vannet være mye mindre, i og med at det er et mye mindre volum av nytt vann som må varmes opp og systemet i seg selv genererer varme. Vanntemperaturen i råvannet til norske settefiskanlegg er i optimalt område for vekst i kun 4 av 12 måneder (Figur 4.6), slik at potensialet for økt utnyttelse av anleggene er stort ved å gå over til resirkuleringsteknologi og holde temperaturen i vannet på 12 til 14 grader hele året. Oppsummert vil RAS kunne føre til bedre utnyttelse av sjøkonsesjonene.



Figur 4.6: Gjennomsnittlig vanntemperatur i norske settefiskanlegg (VK databasen).

4.8 OVERFLATEVANN VERSUS GRUNNVANN

Nedbør som ikke fordampes eller lagres som grunnvann finner vi igjen som overflatevann i bekker, elver og innsjøer. Den kjemiske sammensetningen av overflatevann er i hovedsak bestemt av ioner fra nedbryting av mineraler og ionebytting i jordsmonnet. Vannet tar del i ulike prosesser i jordsmonnet som er med på å endre vannets kjemi. Norske innsjøer har generelt lave konsentrasjoner av oppløste ioner i vannet. Dette skyldes en kombinasjon av at berggrunnen brytes sakte ned og avgir lite ioner, samtidig med at det er lite løsmasser og tynde jordsmonn. I tillegg vil store nedbørsmengder som gir høy avrenning virke fortynnende på ionekonsentrasjonene.

Grunnvann er det vannet som fyller porene og sprekkeene i grunnen under oss. Løsmasser av grus og sand kan inneholde betydelige mengder med vann. På samme måte som overflatevann vil grunnvann påvirkes av de løsmasser og bergarter det kommer i kontakt med gjennom ulike kjemiske reaksjoner. Fra nedbør og overflatevann infiltrerer grunnen og til det når grunnvannspeilet gjennomgår vannet oftest en omfattende rensing og en endring i kjemisk sammensetning. Grunnvann har derfor vanligvis en annen sammensetning av oppløste bestanddeler enn overflatevann. Generelt inneholder grunnvann hentet fra løsmasser mindre oppløste bestanddeler enn grunnvann pumpet ut fra en brønn i fjell. Dette er fordi grunnvann i fjell som regel har lenger oppholdstid i bakken enn grunnvann i løsmasser. Normalt har grunnvann i Norge relativt lite organisk stoff, men har høyere innhold av basekationer, høyere ionestyrke og pH enn overflatevann. I tillegg har grunnvann gjerne en stabil temperatur og kvalitet gjennom året. Likevel er bruk av grunnvann til vannforsyning for fiskeoppdrett ikke uten problemer. For høyt innhold av radon, fluorid, jern og mangan er et problem i mange fjellbrønner, mens i løsmassebrønner er lav pH-verdi, lav alkalitet og for høyt jern- og manganinnhold de vanligste kvalitetsproblemene.

5. ORGANISKE PARTIKLER

Organisk materiale tilføres vannet i et resirkuleringssystem fra fiskeavføring og fra fôr som ikke blir spist. Det oppløste materialet vil foreligge i både oppløst og i partikulær form. Både partikulært og oppløst organisk materiale vil fungere som vekstsubstrat for heterotrofe bakterier, og disse bakteriene vil konkurrere med de nitrifiserende bakteriene om plass og oksygen i biofilteret, men også forårsake høyere forbruk av oksygen i fiskekarene. Vekstpotensialet for heterotrofe bakterier er mye større enn for nitrifiserende bakterier og de har lavere oksygenkrav. Heterotrofe bakterier vil dermed

utkonkurrere nitrifiserende bakterier i et system med høy organisk belastning, og gi lav nitrifikasjonsrate i biofilteret (se 7.2.4).

Fjerning av partikler fra vannet som skal benyttes i resirkuleringsanlegg er viktig fordi partikler kan forårsake stress og gjelleproblemer hos fisken, skjerme fiskepatogene mikroorganismer for UV-bestråling slik at effekten blir dårlig, gi slamansamling i rør og kar og føre til anaerobe soner, samt gi nedsatt nitrifikasjonshastighet i biofilteret. I tillegg vil den bakterielle nedbrytningen av partiklene øke oksygenkonsumet og CO₂- og ammoniakkproduksjonen i systemet.

Den suspenderte andelen av det partikulære materialet kvantifiseres ved filtrering gjennom et glassfilter med lysåpning på 0,45 µm (Norsk Standard – 1,2 µm). Det som passerer gjennom filteret betegnes som løst materiale. Det suspenderte tørrstoffet (SS) i vannet bestemmes ved å tørke det forhåndsveide filteret og det som blir holdt tilbake av filteret ved 105°C (Norsk Standard - 60°C) til konstant vekt, veiing og utregning av vektforskjellene som SS. Vannets turbiditet kan benyttes som et indirekte mål på partikkelinnholdet. Målemetoden er enkel å gjennomføre og baserer seg på partiklenes evne til å spre lys. Verdien blir oppgitt som FNU.

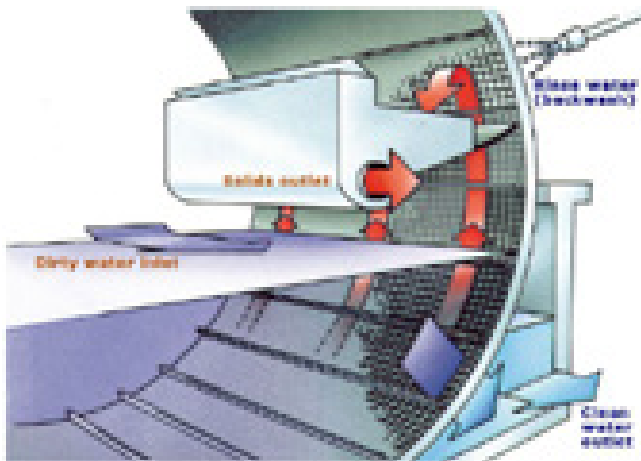
5.1 KAR- OG UTLØPSDESIGN

Fjerningen av partikler starter allerede i karutformingene. Ved å fjerne fôrspill og avføring raskt og skånsomt hindrer man at store partikler går i oppløsning og blir til mange mindre partikler som er vanskeligere å fjerne. Selvreinsende sirkulære kar der diameter/dybde-forholdet bidrar til gode primær- og sekundærstrømmer vil bevege avfallspartikler inn mot senter av karet, ofte kalt "tekoppeeffekten". Primærstrømmen, som er en roterende strøm sett ovenfra, kan optimaliseres ved riktig vinkling av innløp (15° vinkel på tangenten av karet). Sekundærstrømmen går utover fra senter i overflaten, ned langs karveggene og inn mot sentrum ved bunnen. For vide kar i forhold til dybde vil gi dårligere blanding i soner av karet og kan gi sedimentering i en ring et stykke ut fra sentrum. Fiskens bevegelser skaper turbulens som hjelper til med å flytte partiklene raskt til utløp. Dobbeltutløp "dual drain", med et utløp i bunnen og et i vannsøylen/sideutløp, kan være en god løsning som gjør at man kan skille slamstrømmen i bunn og senter (~10% av strømmen) fra resten av vannstrømmen (~90%). Da kan man bruke ulike og tilpasset vannbehandling til de to strømmene.

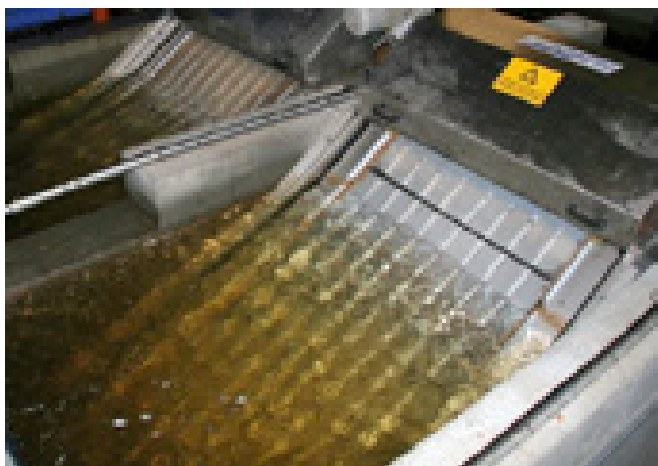
NOTATER

5.2 ULIKE TYPER MEKANISKE FILTERE

Mange typer mekaniske filtre finnes på markedet, men de to som hovedsakelig er i bruk i resirkuleringsanlegg for laks er trommefilter (Figur 5.1 og 5.3) og beltefilter (Figur 5.2). Fordelen med beltefilter hevdes å være at partikler blir mer skånsomt fjernet fra vannet, mens bakkdelen er noe høyere kostnad.



Figur 5.1: Prinsipp trommefilter.

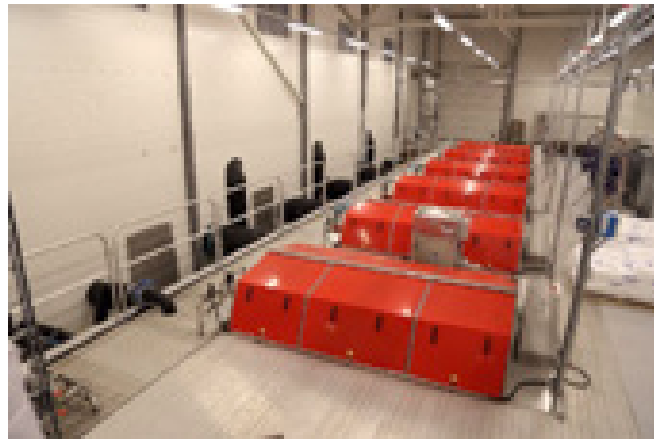


Figur 5.2: Beltefilter for rensing av avløpsvann.

Hydroykloner fjerner større partikler raskt og skånsomt, og er ofte brukt direkte etter utløp fra kar før vannstrømmen går videre til mekanisk filtrering.

Renseeffekten i mekaniske filtre vil generelt øke med økende innhold av SS (suspended solids). Renseeffektivitet opp mot 90 % er rapportert ved høyt innhold av SS, mens renseeffektiviteten kan komme opp i 60-70 % ved lavt innhold av SS (Timmons et al. 2002).

Sedimentering av partikler i resirkuleringsystem bør unngås. Hvis sedimenter bygges opp vil det etter hvert oppstå oksygenfrie soner i sedimentene med produksjon av giftig metangass og H_2S -gass (særlig i sjøvann/brakkvann).



Figur 5.3: Trommefilter ved Marine Harvest Steinsvik.

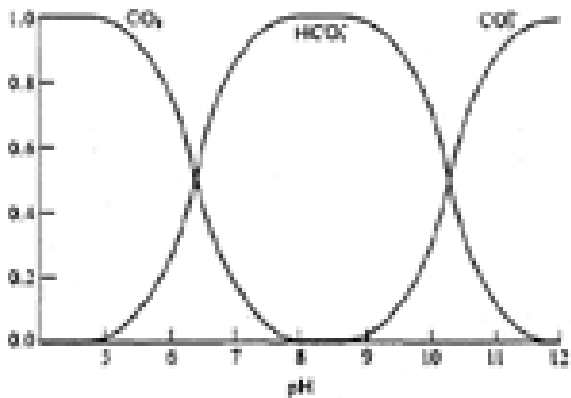
6. KARBONDIOKSID (CO_2)

I et resirkuleringsystem vil CO_2 tilføres vannet fra fiskens metabolisme og fra metabolismen til heterotrofe bakterier, i tillegg vil CO_2 være tilstede i varierende grad i inntaksvannet.

Høye konsentrasjoner av løst CO_2 i vannet har negative konsekvenser for laks. Høye CO_2 verdier fører til at HCO_3^- buffersystemet forskyves (Figur 6.1) med den følge at laks får lavere pH og mer HCO_3^- i blodet. Løst CO_2 påvirker vannkvaliteten ved at pH senkes, og kan dermed i neste rekke påvirke kjemiske forbindelser som har en pH-avhengig tilstand (Fivelstad et al. 1999). Dette kan påvirke fisken siden mange forbindelser har en tilstandsavhengig giftighet (f.eks. ammoniakk).

6.1 CO_2 -FJERNING

Når luft er i kontakt med vann vil de oppløste gassene i vannet søke å nå likevekt med partialtrykket av de enkelte gassene i luften. To viktige faktorer ved utlufting av gasser fra vann er størrelsen på kontaktflaten mellom luft og vann og konsentrasjonsforskjellen mellom vannfase og gassfase som den drivende kraften for utlufting. For effektiv utlufting av gasser i vann kreves stor kontaktflate mellom luft og vann.



Figur 6.1: Forholdet mellom CO₂, HCO₃⁻ og CO₃²⁻ i vannet avhengig av pH.

Løst CO₂ kan luftes ut i et rislefilter. Vannet renner da over biologemeer med stor overflate, slik at det oppnås stor kontaktflate mellom luft og vann. Høyden på denne lufteren påvirker effektiviteten som vil øke opp til ca 2 meters høyde (Vinci et al. 1998). Effektiviteten vil også øke med økende luft:vann-forhold. Effektiviteten øker opp til et forhold mellom 5:1 og 10:1. Hvor stor konsentrasjonen av CO₂ er i utgangspunktet vil også påvirke effekten av CO₂-utlufting. Ved 20 mg/l CO₂ i vannet vil slike luftere kunne ha en effektivitet på 70-80 %. Effektiviteten av CO₂-utluftingen øker med synkende pH, så det kan være en fordel å la dette være det punktet i systemet med lavest pH og ha pH-økning etter dette trinnet. På den annen side vil biofilteret fungere best ved høyere pH, så den riktige plasseringen for pH-kontroll bør vurderes ut fra begge disse prosessene.



Figur 6.2: CO₂ utlufting ved Marine Harvest Nordheim.

Fritt CO₂ kan luftes ut av vannet ved at luft pumpes inn i vannmassene ved bruk av perforerte luftesteiner eller lignende (Figur 6.2). Også her vil det gjelde at forholdet mellom

mengden luft som pumpes inn, og mengden vann som skal behandles, bør være stort.

Den ejetorbaserte vannbehandleren til Flatsetsundet Engineering (Rosten 2000) fjerner gjennomsnittlig 36 % CO₂ i en kommersiell oppdrettssituasjon med 0-årig smolt. Den stabiliserte pH i karet, økte oksygeninnholdet og bidro til å minske store svingninger i oksygen, pH og CO₂. Ejetorlufteren medførte ikke nitrogenovermetning.

En tredje metode for å fjerne løst CO₂ er tilsetning av en alkalisk forbindelse som f.eks. hydratkalk, lut eller natrium bikarbonat. Tilsetning av sjøvann vil også kunne bidra til å redusere andelen av løst CO₂. Dette er en effekt av karbonat-systemets løselighet ved ulike pH-verdier (se Figur 6.1). Tilsetning av disse forbindelsene vil øke pH og dermed minske andelen fritt CO₂, mens andelen HCO₃⁻ øker.

Høyt CO₂-innhold i vannet medfører at CO₂ konsentrasjonen i omgivelsesluften i luftesystemet også blir høy slik at den drivende kraften for utlufting reduseres eller opphører. Dette krever at omgivelsesluften hele tiden skiftes ut med et stort volum av frisk luft (tilstrekkelig ventilasjon eller tilsetning av frisk luft) i forhold til vann.

Mulighet for å kontrollere CO₂ konsentrasjonen i karene er å redusere oppholdstiden av karvannet. CO₂-innholdet i innløpsvannet, fiskens produksjon av CO₂ og vannets oppholdstid i karet vil være bestemmende for CO₂-nivået i fiskekaret.

CO₂-nivået i produksjonsvannet i et resirkuleringsanlegg vil være avhengig av hvor effektiv CO₂-utluftingen i vannbehandlingen er. Hvis CO₂ er 15 mg/l ut av fiskekaret og effektiviteten til CO₂-lufteren er 80 %, vil innvannet til kar ha et CO₂-innhold på 3 mg/l.

Fiskens produksjon av CO₂ avhenger av temperaturen i vannet, antall fisk, fiskens størrelse og om fisken føres. Høy temperatur, høy biomasse og intensiv fôring fører til produksjon av mer CO₂.

Vannets oppholdstid i fiskekaret er en viktig faktor for å holde ønsket CO₂-nivå i fiskekaret. En vanlig tommelfingerregel for fiskens oksygenforbruk er 0,25 kg O₂ forbrukt pr kg fôr. Hvis vi har et 8 meters kar med 100 m³ karvolum og 50 kg fisk/m³ (totalt 5 tonn) med 2 % daglig fôring (100 kg/dag), medfører dette at CO₂ i fiskekaret blir (gitt at effektivitet av CO₂-utlufting er 80% i vannbehandlingen) 18 mg/l ved 60 min oppholdstid, men reduseres til 12 mg/l ved 40 min oppholdstid.

NOTATER

7. BIOFILTERET

Hovedmengden av nitrogen som fisken skiller ut, skiller ut som TAN (total ammonium nitrogen). Andre nitrogenholdige avfallsstoffer brytes også ned til TAN av bakterier i vannet. Bakteriell nedbrytning av fôrspill og fiskeavføring bidrar også med TAN til vannet. TAN foreligger i to former (NH_3 og NH_4^+), avhengig av pH. Ved høy pH vil relativt mer være i den uioniserte formen (NH_3), det er denne formen som er mest giftig for fisk. Se kapittel 2.2.1. for effekt på laksefisk, måling og forklaring av begreper.

I biofilteret foregår nitrifikasjon. Nitrifikasjon er den bakterielle prosessen der TAN (NH_4^+ + NH_3) omdannes via nitritt (NO_2^-) til nitrat (NO_3^-). Denne prosessen har inntil nylig blitt antatt utført av to grupper nitrifiserende bakterier; de ammoniumoksidierende bakteriene (AOB) som omsetter TAN til nitritt (trinn 1) og de nitrittoksidierende bakteriene (NOB) omsetter nitritt til nitrat (trinn 2). For rundt 10 år siden ble det oppdaget at også arker (prokaryote som ikke er bakterier) kan oksidere ammonium og vi kaller dem ammoniumoksidierende arker (AOA). Videre ble det oppdaget at noen bakterier som tilhører familien *Nitrospira* (som man inntil nylig trodde måtte ha nitritt til vekst) kunne utføre komplett oksidasjon av ammonium til nitrat i en og samme organisme.

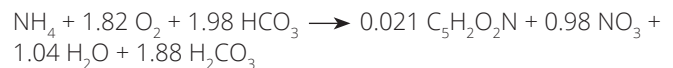
For å oppnå god omdanning må forholdene legges til rette for at de nitrifiserende bakteriene skal trives og opptre i stort antall i biofilteret. Biofilteret har stor overflate i forhold til volum for å kunne ha et stort antall fastsittende nitrifiserende bakterier i et forholdsvis lite volum. Utfordringen er at disse bakteriene vokser meget langsomt. Både AOB og NOB er autotrofe bakterier, det vil si bakterier som bruker CO_2 som karbonkilde for vekst. AOB og NOB er aerobe siden de krever oksygen, men taper i konkurransen om oksygen med de normalt rikt tilstedeværende heterotrofe bakteriene (bakterier som benytter organisk materiale som karbonkilder til vekst). Hovedutfordringen ved utformingen av et godt fungerende biologisk nitrifikasjonstrinn handler derfor i stor grad om å sikre effektiv oksygenforsyning for de nitrifiserende bakteriene ved å holde den heterotrofe veksten nede og effektiv oksygentransport til biofilmen. Nitrifikasjon består av to trinn som forenklet er:



Begge prosessene er avhengig av og forbruker oksygen. Trinn 1 vil produsere H^+ , dvs. alkalitet forbrukes og senker pH. Typisk

veksthastighet for disse to bakteriegruppene er omtrent en dobling i døgnet.

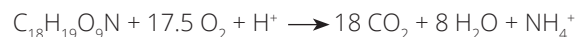
Hele nitrifikasjonsprosessen kan framstilles som følger:



$\text{C}_5\text{H}_2\text{O}_2\text{N}$ representerer den bakterielle biomassen som dannes. Dette viser at bikarbonat (HCO_3) forbrukes og at karbonsyre dannes. Karbonsyre står i likevekt med CO_2 i vannet, og vil således bidra til økt CO_2 i vannet.

Nitritt dannes som mellomprodukt i nitrifikasjonsprosessen (Trinn 1). Akkumulering av nitritt er naturlig i en oppstartsperiode for et nytt biofilter, dvs. før de nitrittoksidierende bakteriene (NOB) har etablert seg i tilstrekkelig antall til å omsette nitritt i vannet til nitrat. Episoder med nitrittakkumulering inntreffer også under stabil drift. Dette skyldes at bakterier som oksiderer nitritt til nitrat er mye mer ømfintlige for endringer i vannkvalitet enn bakterier som oksiderer ammonium til nitritt (Graham et al. 2007). Dette betyr at ulike driftsforstyrrelser kan medføre akutt nitrittakkumulering i systemet. Se kapittel 2.2.2 for giftighet av nitritt på laksefisk.

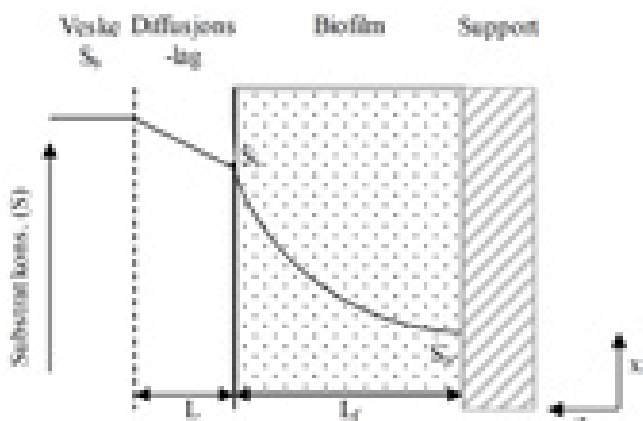
Nedbrytning av organisk materiale vil også foregå i biofilteret, dette utføres av heterotrofe bakterier. Denne prosessen er som følger ($\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_9\text{N}$ er en samleformel for biomasse/ulikt organisk materiale i vannet):



Denne prosessen er også avhengig av oksygen. H^+ forbrukes, dvs. at alkalitet tilføres (i liten grad) ved denne prosessen. CO_2 produseres av disse bakteriene, derfor vil det være hensiktsmessig å plassere CO_2 utlufter etter biofilteret (slik at CO_2 både fra fisk og heterotrofe bakterier luftes ut). I tillegg vil TAN produseres. Veksthastigheten til disse bakteriene er mye hurtigere enn for nitrifiserende bakterier, det finnes heterotrofe bakterier med doblingstider godt under 1 time under optimale forhold.

7.1 BIOFILM

Denitrifiserende bakteriene i et biofilter er organisert i en biofilm. Etablering av en biofilm tar tid. Konsentrasjonsgradienten som oppstår i en biofilm (Figur 7.1) vil medføre at bakterier som er langt inne i biofilmen kan få problemer med å få tilført substrat for vekst. Oksygen vil kunne bli brukt opp på vei inn gjennom biofilmen og kan dermed bli begrensende for nitrifikasjonen. Det er derfor en fordel at ikke biofilmen i biofilteret blir for tykk.



Figur 7.1: Skjematisk presentasjon av endring i substratkonsentrasjon (S) fra væskefase (Sb), gjennom diffusjonslaget og inn i biofilmen (Ss) og til det dypeste laget i biofilmen (Sw). Vannlaget i diffusjonsområdet er et ikke-turbulent lag med tykkelse L hvor transport er diffusjonsbegrenset. I biofilmen dannes konsentrasjonsgradienten av forskjeller mellom tilførsel ved diffusjonstransport inn i biofilmen og forbruk på grunn av biologisk aktivitet. Kurven er relevant for alt som blir forbrukt (oxygen og ammonium) (modifisert etter Heath et al. 1990).

7.2 FAKTORER SOM PÅVIRKER NITRIFIKASJONEN

Flere faktorer vil virke inn på hastigheten til nitrifikasjonen i biofilteret. Det vil være viktig å ha kunnskap om disse faktorene for å drifte et resirkuleringsanlegg mest mulig optimalt for fisk og biofilter.

7.2.1 Konsentrasjon av substrat (TAN)

Ammoniumkonsentrasjonen i vannet vil i seg selv kunne påvirke hastigheten på nitrifikasjonen i biofilteret, ifølge metningskinetikk. Som regel vil nitrifikasjonshastigheten øke proporsjonalt med en økning i ammoniumkonsentrasjon i området mellom 0 og 3 mg TAN/l. Ved høye konsentrasjoner vil nitrifikasjonsraten være konstant og på sitt maksimale, og uavhengig av TAN konsentrasjonen.

7.2.2 Oksygen i vannet

De nitrifiserende bakteriene er avhengig av oksygen for å omsette TAN og nitritt, og vil typisk kreve >2 mg O₂/l. Dette er behovet i lokalmiljøet inne i biofilmen, som er lavere enn konsentrasjonen i vannet på grunn av diffusjonsbegrensinger og forbruk. Av praktiske årsaker kan vi bare måle oksygenkonsentrasjonen i vannet. Forsøk med neddykkede fixed bed biofilter har vist at omsetningsraten i biofilteret stiger med økende oksygeninnhold i vannet opp til 9 mg O₂/l (Suhr et al. 2008). Disse forsøkene viste også at omsetningsraten synker markant under 7 mg O₂/l. Disse forsøkene var imidlertid

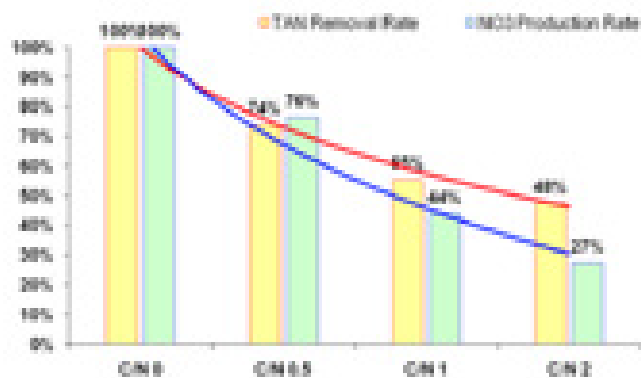
gjennomført med høy konsentrasjon NH₄-N (TAN) i vannet (~5,3 mg/l). Det er tidligere vist at i moving bed biofilter blir oksygen begrensende først når forholdet mellom O₂ og NH₄-N (TAN) er lavere enn ~3 (Hem et al. 1994). I resirkuleringsanlegg for laks ønsker man som regel å holde NH₄-N (TAN) under 1 mg/l.

7.2.3 Turbulens

Nitrifikasjonen foregår i en biofilm, og turbulens påvirker hvordan TAN og nitritt overføres mellom vannet og bakteriene i biofilmen. Derfor har turbulens stor betydning for overføring mellom vann og biofilm, og dermed i neste omgang stor betydning for nitrifikasjonshastigheten. Empiri tyder på at det kan være verdt å forsøke å dempe turbulensen/boblingen i biofilter som har kraftig omrøring dersom man sliter med omdanning fra nitritt til nitrat.

7.2.4 Organisk materiale

Organisk materiale i vannet vil gi vekst av heterotrofe bakterier, disse bruker organisk materiale både som energikilde og karbonkilde. Heterotrofe bakterier har et potensial for vekst som er mye større enn nitrifiserende bakterier. De heterotrofe bakteriene vil konkurrere med de nitrifiserende bakteriene om plass og oksygen, og dermed medføre en nedgang i nitrifikasjonen (Figur 7.2).



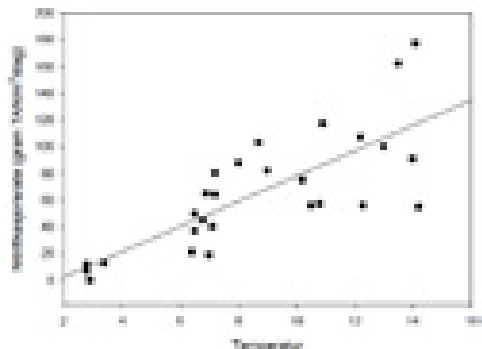
Figur 7.2: Effekt av økende karbon/nitrogen (C/N) forhold på nitrifikasjonsraten (Michaud et al. 2006)

7.2.5 Temperatur

Temperatur spiller en viktig rolle for nitrifisering som det gjør for mange biokjemiske reaksjoner. Nitrifiserende bakterier kan tilpasse seg ulike temperaturer, men generelt kan man si at økende temperatur gir økende nitrifisering i biofilteret (Figur

NOTATER

7.3). Optimal temperatur for de nitrifiserende bakteriene er 25-30 °C.



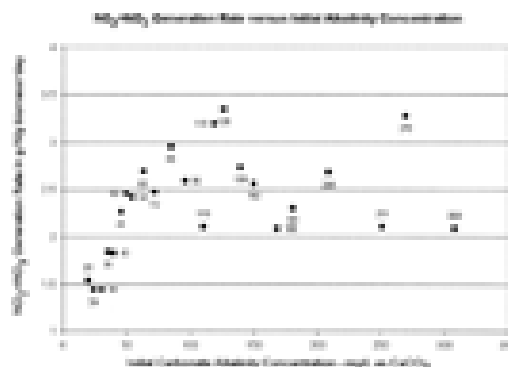
Figur 7.3: Omsetning av TAN i biofilteret relatert til temperatur i driftsvannet (Fjellheim 2009).

7.2.6 pH

Nitrifiserende bakterier har pH-optimum mellom 7 og 9 (Chen et al. 2006) og forsøk har vist at nitrifikasjonshastigheten økte lineært i området fra pH 5,5 til pH 7,5 og var ca. 4 ganger høyere ved pH 7,5 enn ved pH 5,5 (Millaverde et al. 1997). NOB er mer pH sensitive enn AOB og dermed er nitritt akkumulering det første tegnet på pH hemming. Disse observasjonene indikerer at pH bør være opp mot 7 for å få effektiv nitrifisering i biofilteret. Det er viktig å huske at på grunn av diffusjonsbegrensning og det faktum at selve nitrifikasjonen produserer protoner, kan pH inne i biofilmen være lavere enn i det omkringliggende vannet.

7.2.7 Alkalitet

Alkalitet er et mål på vannets bufferkapasitet. Alkalitet er en begrensende faktor for nitrifikasjonen i biofilteret i et RAS ved verdier lavere enn 45 målt som mg/l CaCO₃ (Biesterfeld et al. 2003) (Figur 7.4). Alkalitet i råvannet til norske settefiskanlegg er som hovedregel mye lavere enn dette (se kapittel 3), alkalitet må derfor tilføres vannet (se kapittel 8 for ulike bufferløsninger).



Figur 7.4: Sammenheng mellom alkalitet i vannet og nitrifikasjonshastighet i biofilteret. Figur fra (Biesterfeld et al. 2003).

7.3 ULIKE TYPER BIOFILTER

Et biofilter er et forsøk på å lage så stor overflate som mulig, på så liten plass som mulig, og samtidig oppnå de rette miljøforholdene for nitrifikasjon. Biofilter brukes fordi vi ønsker at de nitrifiserende bakteriene skal holde seg i systemet, og bli så mange som mulig. Det finnes flere ulike typer biofilter (Timmons et al. 2002) med ulik spesifikk overflate (antall kvadrat overflate/antall kubikk medium). Fluidiserte sand biofilter har størst spesifikk overflate (opptil 45 000 m²/m³) og biofilter medium for risefilter har lavest spesifikk overflate (fra 200 m²/m³). De vanligst brukte biofiltrene i resirkuleringsanlegg for laksesmolt er ulike typer dykkede biofilter (Figur 7.5).



Figur 7.5. Biofilter (Inter Aqua Advance) ved Marine Harvest Canada.

7.3.1 Rislefilter

I rislefiltere (Figur 7.6) renner vannet ned over et filtermateriale og vannet blir reoksygenert, CO₂ avgasses og ammonium nitrogen omsettes til NO₃⁻ ved bakteriell nitrifikasjon (brukes i liten grad, men finnes i enkelte eldre anlegg). Transporten av gassene foregår ved diffusjon. Rislefilter er derfor konstruert for å gjøre kontaktflaten mellom vannet og luften stor. Rislefiltermateriale har vanligvis spesifikk overflaten på 2-300 m²/m³ filtermateriale. Det avgjørende er å finne et materiale som kan bryte opp vannets struktur tilstrekkelig samtidig som frisk luft fritt kan passere inn igjennom filtret.



Figur 7.6: Rislefilter

7.3.2 Dykkede biologiske filtere

Dykkede biologiske filtre kan ha fastsittende (fixed bed) eller bevegelig (moving bed) biofiltermateriale. I filtre med fast biofiltermateriale vil man få en oppsamling av organisk materiale, slik at biofilmen vokser kontinuerlig. Denne typen biofiltere fungerer derfor også som effektive finpartikkelfiltre. Av samme grunn vil det imidlertid derfor også være nødvendig å rense biofilm av filtermaterialet med jevne mellomrom for å opprettholde god nitrifikasjon. Moving bed biofiltere er derimot selvrensende fordi biofilterbærerne hele tiden skraper mot og dermed renser hverandre og forhindrer at en tykk biofilm bygger seg opp. Mens fixed bed biofilter fjerner små partikler fra vannet avgir altså moving bed biofiltere små partikler til vannet, men trenger på den annen side mye mindre rengjøring. Dykkede aerobe biofiltere forbruker oksygen (som brukes både av nitrifiserende og heterotrofe bakterier) og frigir

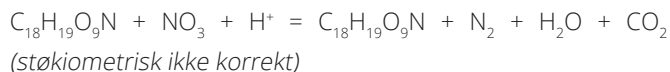
CO₂ (som produseres av heterotrofe bakterier). Avløpsvannet fra filterne bør derfor luftes og oksygeneres før vannet ledes til fiskekarene. Spesifikk overflate i dykkede biofilter varierer i området 500 – 2000 m²/m³ (Figur 7.7).



Figur 7.7: Biologemer i et moving bed biofilter.

7.3.3 Denitrifisering og anaerobe biofilter

Den minimale vannutskiftningen med nytt vann bestemmes i mange RAS av nivået som trengs for å fortynne nitrat fra systemet. Uten fjerning av nitrat vil man i dagens RAS typisk ha et forbruk på 300-400 liter nytt vann inn per kg fôr per dag for å holde nitratnivået i området 100-150 mg NO₃-N/l. Nitrat kan fjernes fra vannet ved hjelp av bakterier i anaerobe (=uten tilgang på oksygen) biofiltere, fordi mange bakteriearter kan bruke nitrat til å oksidere energikilden sin (organisk materiale) i fravær av oksygen:



Anaerobe biofiltere brukes på en delstrøm av RAS-vannet og fungerer ved at man tilfører passende doser organisk materiale (for eksempel eget slam eller metanol). Det er viktig at prosessen kontrolleres slik at det ikke dannes andre forbindelser som kan være farlige for fisken (som H₂S). Ved å bruke denitrifisering kan vannforbruket reduseres til 30-40 liter nytt vann inn per kg fôr per dag.

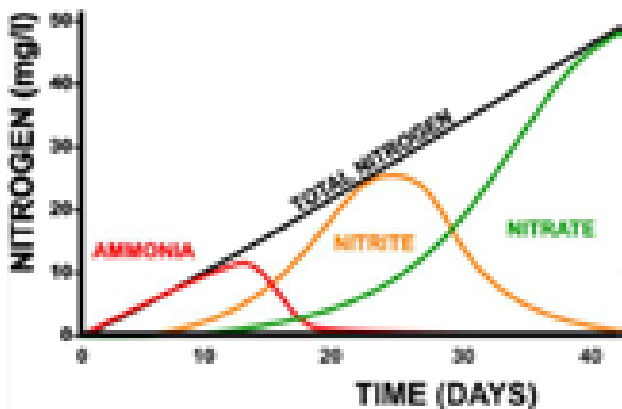
7.4 VASKING, DESINFEKSJON OG OPPSTART AV BIOFILTER

Det tar minimum 6 uker for å etablere et funksjonelt og stabilt biofilter fra nye biologemer. Det anbefales å sette vann på og starte opp lufting av biofilteret så snart som mulig før oppstart, for å «prime» biologemene overflate og dermed gjøre dem mer mottakelige for etablering av biofilm. For å øke antallet AOB må ammonium tilsettes (NH₄Cl). Dette kan gjøres ved lav eller ingen vannutskifting og med god lufting av biofilteret. Man kan starte med en enkel dose (for eksempel 3-5 mg/l TAN) og vente til ammonium er omdannet til nitritt (mål hver dag). Ved modning av biofilteret skal ammonium,

NOTATER

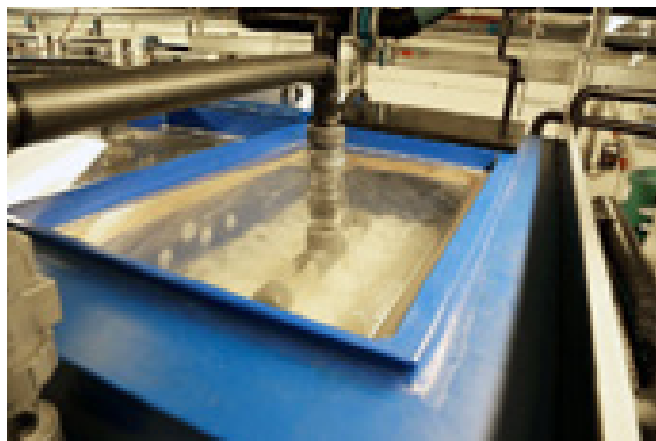
nitritt og nitrat utvikle seg som illustrert i Figur 7.8. Når målinger bekrefter reduksjon av ammonium, kan biofilteret settes på kontinuerlig tilsats av ammonium, for eksempel 30% av forventet belastning fra system vannet (mål hver dag). Øk stegvis til den planlagte belastningen og vannutskiftningen som er planlagt for det modne biofilteret. pH bør holdes mellom 6,8 og 8. Temperaturen kan være noen grader varmere (+ 3 °C) under modningen, enn det som planlegges under produksjonen. Alkaliteten bør ligge på 150-250 mg/l fra start og tilsett bikarbonat (NaHCO_3) eller bakepulver for å oppnå dette. Det kan og være lurt å tilsette litt nitritt (NaNO_2) fra start, slik at NOB ikke trenger å vent til AOB produserer nitritt, før de kan øke i antall. Et modent biofilter som er klart til bruk, omdanner ammonium til nitritt hurtig og viser akkumulering av nitrat (avhengig av vannutskifting) som vist i Figur 7.8. I tillegg anbefales det å tilsette litt organisk materiale (knust fôr, for eksempel 5-10% av planlagt fôring) hver dag i biofilteret, i løpet av de siste ukene av modningsprosessen. Da vil det bakterielle samfunnet kunne tilpasse seg konkurransen mellom heterotrofe og nitrifiserende bakterier som vil forekomme under normal drift. Dette vil hjelpe overgangen fra kjemisk modnet biofilter til normal drift.

Modningsprosessen kan få en god start ved å tilsette et inokulum med nitrifiserende bakterier eller brukte biologer fra et annet RAS eller fra naturen (elvesand). På grunn av biosikkerhet anbefales det ikke å bruke inokulum fra andre fiskeanlegg. Sikre bakteriekulturer kan kjøpes fra kommersielle kilder, men det er ingen garanti at disse vil være de mest fordelaktige til jobben. Ofte vil tilsatte bakterier bli utkonkurrert av lokale arter og dermed blir effekten usikker. Et godt tips er å holde et «mor-biofilter» som er tilpasset lokale forhold gående med separat vanntilførsel i eget anlegg. Dette kan brukes til å inokulere et nytt biofilter ved behov.



Figur 7.8: Typisk utvikling av TAN, nitritt og nitrat konsentrasjon under modningsprosessen av nitrifiserende biofilter (saltwateraquariumblog.com).

Akvakulturdriftsforskriften ble laget med gjennomstrømnings-system i tankene og inneholder derfor en beslutning om å desinfiseres mellom hvert innsett for å unngå kontaminering og sykdom. Mattilsynet forstår det uansett slik at dette ikke kreves i RAS, så fremt det ikke foreligger spesielle problemer eller sykdom (Mattilsynet 2015). I slike tilfeller vil det være tilstrekkelig å vaske biofilteret grundig før neste fiskegruppe settes inn i systemet. Dette vil bidra til rask igangsetting og gjenopptak av aktivitet. Hvis det derimot har vært indikasjoner på problemer eller sykdom ved siste runde, må biofilteret desinfiseres før neste fiskegruppe settes inn. Etter grundig mekanisk vask kan systemet desinfiseres med ozonert vann, syre, base eller liknende. Det mest effektive vil være en kombinasjon av disse metodene. I slike tilfeller må biofilteret modnes på nytt, noe som kan føre til mange ukers produksjonsstopp.



Figur 7.9. Biofilter i klekkrifasen (Alvestad Kube).

8. BUFFERLØSNINGER

Alkalitet og pH er viktige faktorer for nitrifikasjonen i et resirkuleringsanlegg (se kapittel 7). Det er flere prosesser som påvirker alkalitet og pH i vannet i resirkuleringsanlegg;

- Vannkvaliteten til inntaksvannet kan ha høy eller lavt pH/alkalitet.
- Produksjon av CO_2 fra fisk senker pH.
- Produksjon av CO_2 fra heterotrofe bakterier senker pH.
- Nitrifikasjon senker pH og alkalitet og produserer noe CO_2 .

Avhengig av kvalitet på inntaksvannet, grad av resirkulering

og hvor mye systemet belastes (biomasse, fôring) vil de aller fleste resirkuleringsanlegg ha behov for tilførsel av en bufferløsning som hever pH og alkalitet for å opprettholde optimal nitrifikasjon. Mange produkter kan brukes for å heve pH og alkalitet i vannet til resirkuleringsanlegg (se Tabell 8.1). Hvordan alkalitetssystemet påvirkes av ulike løsninger ses i Figur 8.1.

Tabell 8.1: Produkter til buffering av vann i resirkuleringsanlegg.

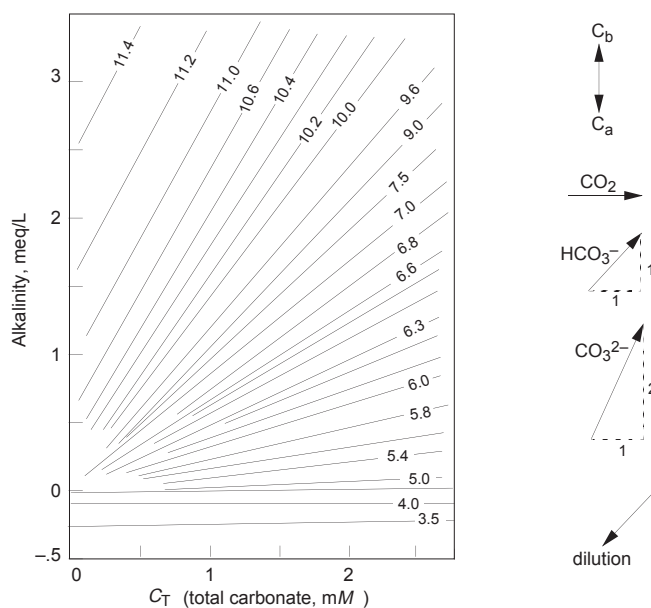
Navn	Kjemisk formel	Løselighet/hastighet for løselighet	Ekvivalent vekt (gr/eq)
Lut	NaOH	høy/rask	40
Natriumkarbonat	Na ₂ CO ₃	høy/rask	53
Natriumbikarbonat	NaHCO ₃	høy/rask	83
Kalsiumkarbonat	CaCO ₃	moderat/moderat	50
Brent kalk	CaO	høy/moderat	28
Hydrat kalk	Ca(OH) ₂	høy/moderat	37
Sjøvann		høy/rask	

Natriumprodukter er svært løselige i vann, mens kalsiumprodukter har en noe lavere grad av løselighet. Den siste kolonnen angir hvor mange gram av bufferen (i pulverform) som må tilføres for å oppnå en gitt alkalitetsøkning. Det betyr at for å oppnå en gitt alkalitetsøkning må det tilføres mer, jo høyere tallet i denne kolonnen er. I praksis betyr dette at man må tilsette 2.24 ganger mer av natriumbikarbonat sammenliknet med hydratkalk for å oppnå samme alkalitetsøkning ($83/37 = 2.24$).

Sjøvann har en alkalitet rundt 120 mg/l CaCO₃. Det er vanlig med 1-3 promille salinitet i resirkuleringsanlegg for laks. Sjøvannet som tilføres vil dermed kun tilføre en liten andel av det totale alkalitetsbehovet (i alle fall hvis det blandes med standard norsk overflatevann som har en alkalitet rundt 5 mg/l CaCO₃). Tilførsel av sjøvann vil dermed ha en viktigere effekt når det gjelder å beskytte fisken mot virkninger av nitritt i vannet (se kapittel 2.2.2).

Ved å bruke en bufferløsning som inneholder kalsium (for eksempel CaO, Ca(OH)₂ eller CaCO₃) i resirkuleringsanlegg, vil man kunne heve kalsiuminnholdet og dermed oppnå en fisk som er bedre beskyttet mot metaller løst i vannet. Sjøvann inneholder også kalsium, ved tilsetning av sjøvann til 1 promille salinitet vil sjøvannet bidra til at driftsvannet har en kalsiumkonsentrasjon på 12 mg/liter (så vil eventuelt kalsium

i ferskvannet komme i tillegg). Den beskyttende virkning av kalsium øker ikke vesentlig ved konsentrasjoner over 2,5-3 mg/liter (Rosseland 1999).



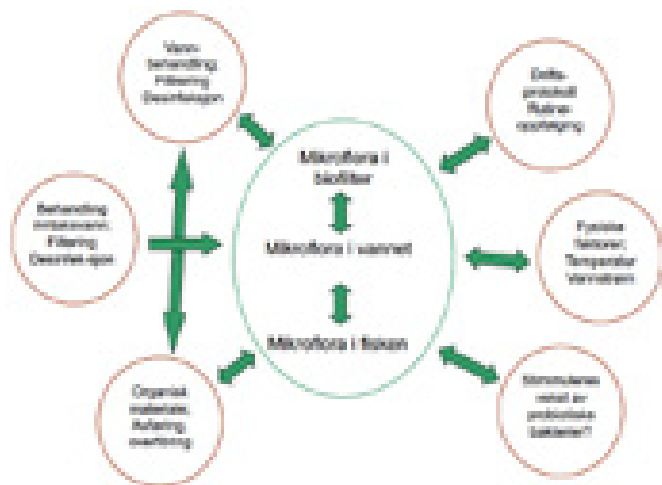
Figur 8.1: Deffeyes diagram viser sammenhengen mellom alkalitet, totalt karbonat innhold og pH i vannet. Pilene til høyre viser hvordan tilsetning av syre/base, CO₂, HCO₃⁻ og CO₃²⁻ påvirker systemet.

9. MIKROBIOLOGI I RAS

Bakterier er nødvendige for et velfungerende RAS siden de sikrer god kjemisk vannkvalitet. De påvirker de fleste viktige vannkjemiske variablene i RAS, både i positiv retning og negativ retning (Figur 9.1). For eksempel gjennom omdanning av ammoniakk til nitrat, forbruk av oksygen, produksjon av avfallsstoffer som CO₂ og ammoniakk ved nedbrytning av organisk materiale og partikler. I tillegg påvirker bakteriene fiskehelsen både positivt og negativt, og kan forårsake betennelse, infeksjon og sykdom.

Bakteriesamfunnet i et resirkuleringsanlegg er et komplekst økosystem som består av mange forskjellige arter, både autotrofe (som bruker CO₂ som karbonkilde, eks. nitrifiserende bakterier) og heterotrofe (som bruker organisk materiale som karbon- og energikilde). Med nye DNA-sekvenserings teknikker er det vist at vann i et system med Atlantisk torsk inneholder 300 til 600 forskjellige bakteriearter (Bakke et al. 2015) og i en nitrifiserende biofilm er det 15 til 35 ulike arter av nitrifiserende bakterier (Gonzalez-Silva et al. 2016).

NOTATER



Figur 9.1: Faktorer som påvirker bakteriesammensetningen og stabiliteten i et resirkuleringsanlegg.

9.1 AUTOTROFE NITRIFISERENDE BAKTERIER

Autotrofe nitrifiserende bakterier utgjør mindre enn 20 % av den totale bakteriebiomassen i et anlegg. De fleste nitrifiserende bakteriene sitter i biofilm, og er arbeidskraften for omdanning av giftig ammoniakk til nitritt og til mindre giftig nitrat i biofilteret. Nitrifisering foregår som beskrevet tidligere i to trinn. Ammonium (TAN) omdannes til nitritt (NO_2^-), og nitritt omdannes så til nitrat (NO_3^-). I praksis vil det være mange bakteriearter som bidrar til nitrifikasjonen i biofilteret (se over). Det viktigste i et resirkuleringsystem er ikke hvem som gjør jobben, men at jobben blir gjort! En biofilm med god artsrikdom av AOB og NOB er antatt å være mer robust mot forstyrrelser og mot mer permanente endringer i vannkjemi.

De nitrifiserende bakteriene påvirker vannkvaliteten i RAS negativt, ved å senke pH og konsumere oksygen. Autotrofe bakterier vil konkurrere med heterotrofe bakterier om oksygen og plass i biofilteret. Heterotrofe bakterier vil i de fleste tilfeller ha hurtigere vekst og lavere krav til oksygen enn autotrofe bakterier. Nitrifiseringseffektiviteten i biofilteret går ned dersom vekstbetingelsene er gode for de heterotrofe bakteriene (mye organisk materiale tilgjengelig) og hvis det totale biofilterarealet er for lavt, fordi det vil redusere oksygen- og plasstilgangen for de nitrifiserende bakteriene. Nitrifiserende bakterier bruker ikke organisk materiale og vil sannsynligvis ikke gi sykdom for fisken i systemet.

9.2 HETEROTROFE BAKTERIER PÅVIRKER FISKEHELSE

Heterotrofe bakterier som lever av organisk materiale utgjør over 80 % av bakteriene i et RAS, og de finnes både i biofilter, på partikler, som biofilm på alle neddykkede overflater og fritt i vannet. De heterotrofe bakteriene kan ha direkte interaksjon med fisken, både positive og negative. Det er ønskelig å opprettholde et godt bakteriemiljø for fisken ved normal drift og samtidig minimere smitterisikoen både inn til og innad i anlegget. Både antallet og sammensetningen av bakterier er viktig for et godt mikrobielt miljø for fisken. Antallet bakterier i systemet bestemmes av tilførselen av bakterier med vannet, tilførselen av bakteriemat og tilstedeværelsen av andre organismer som spiser bakteriene. Sammensetningen av bakterier bestemmes av sammensetningen i kildene og seleksjonspresset i systemet.

9.3 MIKROBIELL KONTROLL FOR GOD FISKEHELSE

Bakterier som er bra for fisken kan tilsettes vannet eller fôret (probiotika), men det er i de fleste tilfeller vanskelig å holde de probiotiske bakteriene i anlegget på grunn av sterkt seleksjonspress. Det er også utfordrende å finne riktig type probiotika med bevist effekt og mekanisme for riktig fiskeart og å finne den beste måten å tilføre probiotikaen på.

Det er hensiktsmessig å dele problembakteriene i to grupper: spesifikke patogene bakterier som gir sykdom, mens opportunistene *kan* gi sykdom dersom forholdene ligger til rette for det (Vadstein et al. 1993). Spesifikke patogene bakterier må holdes ute av anlegget. Dette kan man oppnå gjennom høy biosikkerhet ved desinfeksjon eller karantene av alle kilder inn til anlegget: rogn/fisk, fôr, luft og vann.

Mange av de mikrobielle problemene i oppdrett skyldes sykdom forårsaket av naturlig forekommende opportunistiske bakterier på fisk som er svekket av stress og suboptimale forhold (Vadstein et al. 2004). Disse bakteriene kan man ikke holdes ute av anlegget, siden noen av dem alltid vil være representert i bakteriesamfunnet. Ved å holde andelen opportunister lav kan man likevel redusere sannsynligheten for at fisken treffer på en potensielt skadelig bakterie (deSchryver & Vadstein 2014).

Framvekst av opportunister favoriseres ved ustabile forhold der tilgangen på mat er høy per bakterie. Opportunistene vil derimot klare seg dårligere i stabile miljøer der det er sterk bakteriekonkurranse om mattilgangen. Vanlige prosesser i landbaserte anlegg som legger til rette for framvekst av opportunistiske bakterier er desinfeksjon og tilsetning av organisk materiale ved fôring.

For å opprettholde et best mulig bakteriemiljø for fisken i den daglige drifta bør man sikte etter en stabil og lav organisk belastning på systemet. For å oppnå dette anbefales effektive tiltak for å fysisk fjerne bakterier, partikler og organisk materiale fra vannet i vannbehandlingsdelen, og direkte fra fiskekar ved å ha høye vannutskiftningsrater og effektiv fjerning av partikulært materiale (bl.a. avføring). Kontinuerlig fôring kan hjelpe til å holde miljøet stabilt og egenskaper ved fôret kan være viktige for å få fjernet mest mulig av den organiske belastningen på vannet.

Desinfeksjon øker mengden biotilgjengelig organisk materiale (organisk materiale og ødelagte mikroorganismer) samtidig som bakteriekonkurransen om næring reduseres betraktelig fordi de fleste konkurrentene dør. Dette gir gode forhold for gjenvekst av bakterier som overlever eller kommer til etter desinfeksjonen (fra for eksempel biofilm i rør). Oppportunistene favoriseres og bakteriesammensetningen i perioden med gjenvekst er ofte svært ulik den opprinnelige sammensetningen, med dominans av hurtigvoksende opportuniste (Hess-Erga et al. 2010).

Ved å la vannet rekoloniseres i et modent biofilter etter desinfeksjon kan man motvirke oppblomstring av opportuniste (Skjeremo et al. 1997). De heterotrofe bakteriene som holder til i et modent biofilter med stabil belastning vil være tilpasset hard konkurranse og det antas at disse sjelden er forbundet med sykdomsutbrudd. Bakterier tilføres hele tiden vannet fra biofilteret og bidrar til at bakteriemengden og -sammensetningen vil være stabil over tid og gunstig for fisken.

Et sjeldent unntak som bør nevnes er endringer som gir plutselige bakterieslipp fra biofiltere (typisk observert ved blakking av vannet), og som har vært knyttet empirisk til problemer hos fisken. Det er usikkert hva som kan være årsaker til slike hendelser, men det antas å henge sammen med en eller annen form for ustabilitet i biofilteret.

Sammenlignet med gjennomstrømningsanlegg gir RAS jevnere mattilgang for heterotrofe bakterier, større overflate for bakterievekst og mye lengre total oppholdstid av vannet i systemet. Selv om de fortynnes ut av fiskekar med høy vannutskiftning vil bakterier returnere gjennom vannbehandlingen i RAS, så lenge de ikke inaktiveres ved desinfisering på veien. Dette gjør at ved riktig utforming og drift kan RAS brukes som mikrobiell kontrollstrategi for å gi fisken stabile og gode mikrobielle forhold.

Det har vært vist i flere forsøk at RAS brukt bevisst for mikrobiell kontroll gir høyere overlevelse av marine fiskelarver

enn tradisjonelle gjennomstrømningsanlegg (Attramadal et al. 2012, 2014 og upubliserte).

10. DESINFEKSJON

Bakterie- sopp- og virussykdommer kan potensielt skape problemer for fisk både i gjennomstrømningsanlegg og i resirkuleringsanlegg. Det har også vært rapportert negative hendelser med mikroalger i RAS (Moestrup et al. 2014). Det er flere tiltak som bør gjennomføres for å unngå slike problemer. Fisken må få optimale forhold når det gjelder næringstilgang, vannkvalitet, unngå stress og liknende. Desinfeksjon er også et tiltak som kan være med å redusere faren for sykdomsutbrudd. I oppdrettssammenheng er det i hovedsak ozon og UV-belysning som brukes for desinfisering av vann. Begge metodene vil bli gjennomgått i dette kapittelet.

Ved bruk av UV og ozon vil bakteriemengden i vannet reduseres. Hvor stor reduksjonen i bakterieantall blir, vil avhenge av flere faktorer, bl.a. hvor tolerante organismene i vannet er for UV og ozon, hvilke doser og kontakttider som brukes, mengden partikler og organisk materiale i vannet osv.

En bieffekt av desinfeksjon er produksjon av lett nedbrytbart organisk materiale som fungerer som substrat (mat) for heterotrofe bakterier. Denne økningen i organisk materiale er forårsaket av inaktivering og lysing av organismer og oksidering av tungt nedbrytbart organisk materiale til lett omsettelig forbindelser (Hess-Erga et al. 2010). Disse to prosessene kan føre til høy heterotrof vekst etter en desinfisering og denne typen organisk materiale er ikke lett å fjerne med fysiske metoder. Det er viktig å ta hensyn til dette ved vurdering av desinfeksjon og posisjon av behandlingsenheten (Attramadal et al. under forberedelse).

Når det gjelder resirkuleringsanlegg er både desinfisering av inntaksvannet og desinfisering av driftsvannet aktuelt. Desinfeksjon av inntaksvannet vil oftest være et helt nødvendig tiltak for å hindre smitte fra å komme inn i anlegget. Desinfeksjonseffektiviteten av både UV og ozon reduseres betydelig med økning av farge og partikler i vannet. For inntaksvann er det oftest ganske lett å oppnå god desinfeksjonseffektivitet. I de fleste tilfeller vil derimot desinfisering av driftsvannet kun bidra til en midlertidig reduksjon i bakterietallet i vannet, og sånn sett ikke være en reell desinfeksjon. Derfor er ikke desinfeksjon en sikker hygienisk barriere inne i de fleste RAS. I tillegg til vannstrømmen kan biofilm rundt om i anlegget også potensielt romme smittsomme bakterier. Et godt tiltak for å redusere sjansen

NOTATER

for å få smitte gjennom hele systemet er å benytte mindre enheter som er fysisk separert fra hverandre og ikke deler vannstrøm. På denne måten kan et system tas ned ved sykdom, uten at resten av anlegget nødvendigvis blir smittet.

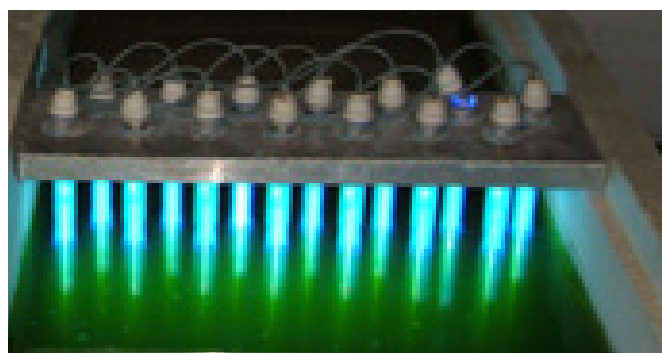
For inntaksvann, anbefales det å benytte multiple hygieniske barrierer, som er et grunnleggende prinsipp i drikkevannsrensing. Dette prinsippet går ut på at man benytter flere ulike typer rensing og desinfeksjon etter hverandre for å oppnå full sikkerhet, for eksempel UV-behandling og en form for fysisk filtrering. Ingen enkel metode gir total sikkerhet mot alle typer patogene organismer, men ved å kombinere metodene økes sikkerheten. Selv om biosikkerheten inn til anlegget er god er det veldig viktig å ha en plan for isolasjon og desinfeksjon av smittede enheter dersom man likevel skulle få inn smitte. Det er fundamentalt viktig at RAS-anlegget er bygget slik at det er mulig å ta ned en tank med sykdomsproblemer og at alle rør og tanker kan desinfiseres etter en slik hendelse, dette er det samme som for gjennomstrømningsanlegg.

10.1 SOPP (OOMYCETES, SAPROLEGNIA)

Kjemikalier som hydrogenperoksid, ozon, formalin og bronopol kan brukes for å behandle egg for Saprolegnia. For fisk og for å generelt holde soppen unna i vannsystemet er lave doser salt (fra 3 ppt NaCl) det mest effektive og praktiske, selv om det ikke alltid stopper veksten av sopp fullstendig. I tillegg til salt vil ozonering av vannet være effektivt, og en kombinasjon av salt og ozon er en god løsning i kampen mot sopp i systemet. For behandling av infisert fisk er formalin eller hydrogenperoksid en mulighet (etter avtale med veterinær).

10.2 UV-BELYSNING

Ultrafiolett belysning (UV) er elektromagnetisk stråling med kortere bølgelengde enn synlig lys (bølgelengder mellom 100 - 400 nm). UV deles inn i UV-A (320 - 400 nm), UV-B (280 - 320 nm) og UV-C (100 - 280 nm).



Figur 10.1: UV desinfisering av vann i resirkuleringsanlegg

10.2.1 Virkning av UV-desinfeksjon

UV-belysning er mest dødelig for bakterier og virus ved en bølgelengde på 254 nm (UV-C). Dette er den bølgelengden som mest effektivt blir absorbert av DNA. Den primære årsaken til at UV dreper bakterier og virus er den skaden strålingen utgjør på organismens DNA ved å stoppe replikasjon og normal funksjon. Det er ikke dokumentert uheldige bieffekter med hensyn til generell fiskehelse og vannkvalitet ved bruk av UV.

10.2.2 Reparasjonsmekanismer

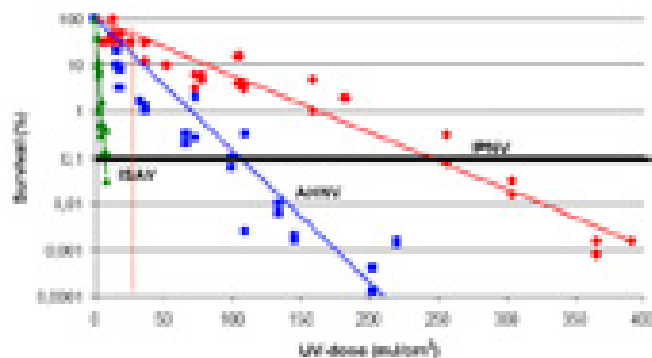
Skaden som UV gjør på DNA til bakterier kan repareres. Det er hovedsakelig to måter dette skjer på, enten ved fotoreparasjon eller med mørkereparasjon. Fotoreparasjon er avhengig av blått lys og intensiteten av dette lyset vil være av betydning for i hvilken grad fotoreparasjon vil kunne foregå. Virus har vanligvis ikke mulighet for fotoreparasjon. Mørkereparasjon foregår i fravær av lys. Hvis UV belysningen er kraftig nok, vil skadene på DNA være så store at de ikke kan repareres.

10.2.3 Faktorer som hemmer virkning av UV

Partikler i vannet vil kunne hemme virkningen av UV bestråling (Liltved and Cripps 1999). Bakterier vil kunne oppholde seg i eller på overflaten av partikler, og slik bli skjermet for UV-bestråling (Hess-Erga et al. 2008). Absorpsjon av UV lyset i partikler vil også redusere effekten av bestrålingen.

10.2.4 UV-følsomhet

Det er relativt store forskjeller mellom ulike bakterietyper og mellom ulike virus når det gjelder følsomhet for UV-bestråling (Liltved 2002). Generelt sett blir bakterier inaktivert ved lavere UV dose enn virus. Blant virus som er relevante i oppdrettssammenheng er spesielt IPN viruset meget resistent for UV bestråling (Liltved et al. 2006) (Figur 10.2).



Figur 10.2: UV doser som trengs for å inaktivere 3 ulike virus (ILA virus, Noda virus og IPN virus). Figur fra (Liltved et al. 2006).

10.2.5 Plassering av UV

Plassering av UV internt i et resirkuleringsanlegg vil ha betydning for hvordan bakteriesamfunnet påvirkes. Det vil i første rekke være en selvfølge at UV plasseres etter det mekaniske filteret, da virkningen av UV-bestrålingen vil avhenge av partikkelmengden i vannet. Hovedmengden av bakterier i et resirkuleringsanlegg vil være i biofilteret, men bakterier vil også foreligge i stort antall i vannet, på karoverflater og assosiert med fisken.

I biofilteret ønsker vi å optimalisere forholdene for nitrifiserende bakterier og unngå store mengder heterotrofe bakterier i biofilteret. På bakgrunn av dette vil det være naturlig å plassere desinfeksjon før biofilteret. Ved denne plasseringen vil mengden heterotrofe bakterier som kommer til biofilteret begrenses, slik at konkurransen med de nitrifiserende bakteriene reduseres.

Et modent biofilter vil generelt sett ikke gi gode vekstforhold for opportunister, men favorisere bakterier som er flinke til å konkurrere under begrensede næringsforhold. På denne måten er biofilteret med å forsyne anlegget med bakterier som antas å ikke være skadelige for fisken, samtidig som oppblomstring av opportunistiske bakterier etter desinfeksjon motvirkes. Dette taler også for at eventuell desinfeksjon bør foregå **før** biofilteret.

10.3 OZON

Ozon er en ekstremt reaktiv oksidant som er dødelig for både bakterier og virus. Ozon brukes også for å oppnå forbedring av vannkvaliteten, ved at farge reduseres og bidrar til at partikler lettere kan filtreres bort.

10.3.1 Virkning av ozon

Ozon ødelegger celleveggen på bakterier og er på denne måten dødelig. For å oppnå desinfeksjon med ozon er man avhengig av en gitt ozonkonsentrasjon og kontakttid. Avhengig av hvilken organisme som skal drepes og ozonkonsentrasjonen i vannet, vil nødvendig kontakttid kunne dreie seg om flere minutter.

Lave konsentrasjoner av ozon er giftig for fisk. Det er derfor viktig at rest-ozon ikke er i vannet som tilføres fiskekar. Restozon kan fjernes ved å luften vannet godt eller ved å la vannet passere aktive kullfiltre. Bruk av ozon i ferskvann gir ikke dannelse av andre giftige biprodukter, mens bruk av ozon i sjøvann vil gi utfordringer på dette området (Liltved 2002).

10.3.2 Plassering

Det er viktig at restozon ikke tilføres fiskekar. Ozon-tilsetning bør derfor skje tidligst mulig etter at vannet forlater fiskekarene. Plasseringen av ozon-tilsetning vil også avhenge av om den primære grunnen for bruk av ozon er et ønske om å forbedre vannkvaliteten eller å desinfisere vannet. Ved tilsetning av ozon før det mekaniske filteret vil ozonets egenskaper for å skape mikroflokkulering kunne gi økt virkning av partikkelfjerningen, særlig i proteinskimmere. Bakdelen er at ozon vil reagere kjapt med organisk materiale i vannet og brukes opp. Den desinfiserende virkningen blir da begrenset. Ved plassering av ozon-tilsetning etter det mekaniske filteret vil desinfeksjonen bli mer effektiv, men det vil være viktig at kontakttiden blir lang nok, og at ikke ozonkonsentrasjonen i vannet inn til biofilteret er så høy at bakterier der blir hemmet.

10.3.3 Effekt på nitrifikasjon

Ozon vil oksidere nitritt (NO_2^-) til nitrat (NO_3^-). I en situasjon hvor de nitrittoksidende bakteriene (NOB) ikke fungerer optimalt, kan ozon gi et viktig bidrag til å redusere nitrittnivået i vannet. Hvis bruken av ozon fører til at oppbygging av NOB hemmes grunnet mangel på substrat (som jo er NO_2^-), kan dette potensielt gi høy nitrittkonsentrasjon i vannet den dagen ozongeneratoren stopper uforutsett (og ifølge Murphy's lov kommer den til å gjøre det).

10.3.4 Remobilisering av metaller

Metaller er ofte bundet til organisk materiale i vannet. Det er stor variasjon i innholdet av metaller i vann til norske settefiskanlegg (se kapittel 4.6). Det er lite sannsynlig at UV bidrar til remobilisering av metaller som er organisk bundet i vannet. Imidlertid har forsøk vist at ved ozonering av humusrikt vann med metaller bundet til humus, kan både aluminium og jern gå fra en inert tilstand til en gjellereaktiv tilstand (Teien et al. 2008). Remobilisering av metaller i inntaksvannet kan være et begrenset problem siden det brukes lite nytt vann og det foregår en kontinuerlig partikkelfjerning i RAS.

11. OVERVÅKING AV VANNKVALITET

Et resirkuleringsanlegg for vann i smoltproduksjon er, i større grad enn tradisjonelle gjennomstrømningsanlegg, avhengig av at de tekniske løsningene fungerer. Vannet pumpes rundt i systemet, sensorer overvåker viktige vannparametere, mekaniske filter skal fungere, biofilteret bør ha gode vannkvalitetsforhold, desinfeksjonsløsning skal være operativ og så videre. Back-up-systemer må minst omfatte strømtilførsel og oksygentilførsel. Uten strøm vil det ikke

NOTATER

komme vann inn til fisken, ved høye temperaturer og tettheter vil det fort bli kritisk for fisken. Nødsystemer må være på plass og slå inn i fall vannet skulle stoppe opp. Det vil i tillegg være en fordel å ha mulighet til å øke mengden nytt vann betraktelig, i fall det skulle oppstå en situasjon der det er ønskelig å bytte ut driftsvannet fort.

Utviklingen av moderne resirkuleringsanlegg fokuserer i stor grad på å minimalisere energiforbruket. Dette gir utfordringer i forhold til design av anleggene, pumpehøyde, valg av pumper, oksygentilsetting, vanngjennomstrømming og så videre.

11.1 OVERVÅKNINGSSYSTEMER

Ifølge akvakulturdriftsforordningen § 21 (høringsforslag som endelig fastsettes høsten 2016) heter det:

«Dersom driften er avhengig av elektrisk strøm eller oksygentilførsel, skal det være reservesystem som ved svikt ivaretar fiskens behov på en forsvarlig måte. Det skal også være alarmsystem som varsler ved strømbrudd eller svikt i oksygentilførsel.

Akvakulturanlegg med lukkede produksjonsheter skal i tillegg ha alarmsystem som varsler ved lavt oksygeninnhold, lav vannmengde og annen systemsvikt som er av betydning for fiskens velferd eller risiko for rømming.

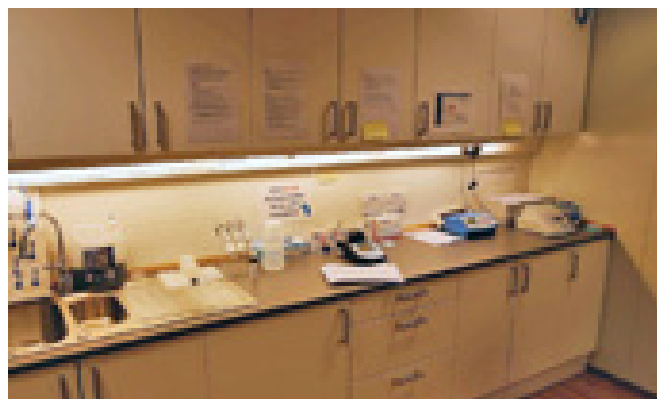
Alarmsystemene skal være tilpasset risikoen i det enkelte akvakulturanlegget, og slik at tiltak kan iverksettes så raskt som mulig.»

Det vil i resirkuleringsanlegg i tillegg være viktig å overvåke pH i vannet og vekselvirkningene mellom ulike vannparametere. Hvis systemet for buffertilsetting stopper opp, vil pH i vannet synke. Dette kan føre til at nitrifikasjonen kommer i ubalanse og nitrittverdiene kan stige fort. Det finnes også utstyr som overvåker konsentrasjonen av TAN, nitritt og nitrat i vannet kontinuerlig. Det vil ha stor forebyggende effekt å installere slike løsninger (bakdelen per i dag er at de er dyre og/eller lite driftssikre). Alarmsystemer for resirkuleringsanlegg bør også varsle ved pumpefeil (selv om reservepumpen slår automatisk inn).

11.1.1 Hyppighet av vannkvalitetsmålinger

Oksygeninnhold i fiskekarene, strømtilgang, vannnivå i pumpe-sumper, pH og at vannpumper er operative bør som et minimum overvåkes kontinuerlig av alarmsystemet i resirkuleringsanlegg. I tillegg må nivået av TAN og nitritt måles jevnlig. Det beste er kontinuerlig overvåkning av disse parameterne, det nest beste er manuelle målinger som

gjennomføres hyppig. Nivået av nitrat kan måles med lengre intervall, men vil være viktig for å sjekke at omsetningen i biofilteret fungerer.



Figur 11.1. Laboratorie for analyse av vannkvalitet Marine Harvest Steinsvik.

11.1.2 Målemetoder TAN, nitritt og nitrat

Det svært viktig å overvåke mengden TAN og nitritt i driftsvannet i resirkuleringsanlegg, da høye verdier av disse er giftig for fisk. Det vil også være relevant å måle nitratmengden i vannet for å overvåke resirkuleringsintensiteten og for å konstatere at nitrifikasjonen i biofilteret fungerer, og for å unngå nivåer som er skadelig for fisk.

Nessler-metoden og Salicylate-metoden kan brukes for påvisning av TAN i vann. I Nessler-metoden reagerer Nessler-reagensen (K_2HgI_4) med TAN i vannet og gir en gul løsning med intensitet som er proporsjonal med innholdet av TAN i vannet. Salicylate-metoden involverer flere reaksjoner før den endelige grønne fargen oppnås. Intensiteten på fargen er proporsjonal med innholdet av TAN i prøven.

Måling av nitritt kan gjøres ved at nitritt i vannet reagerer i sur løsning med sulfanilamid til en diazoforbindelse, som kobles med N-(1-naftyl)-etylendiamin til et azofargestoff (rosa). Absorbansen til dette måles spektrofotometrisk ved bølglengden 540 nm, og mengden nitritt i prøven er proporsjonal med fargens intensitet.

Målinger av nitrat i vann utføres ved at nitrat reduseres til nitritt, og deretter benyttes målemetode for nitritt.

Målinger av TAN, nitritt og nitrat kan gjennomføres med strips, test kit med manuell avlesing og test kit med spektrofotometrisk avlesing. Graden av nøyaktighet vil være høyest ved spektrofotometrisk avlesing, denne typen avlesing vil også være (mer) personuavhengig. Det finnes også ioneselektive elektroder for on-line måling av TAN og nitrat.

On-line måleutstyr for TAN, nitritt og nitrat er tilgjengelig fra avløpsvannsektoren, men prisene på dette utstyret er relativt høyt og ofte er deteksjonsgrensene høye i forhold til måleområdet man opererer for RAS.

Benevningen på de ulike formene for nitrogenholdige avfallsstoffer er varierende og ofte ufullstendig forklart i ulik litteratur og kan derfor være forvirrende. De viktigste formene for nitrogenforbindelser å holde kontroll på i RAS er ammoniakk og nitritt fordi de er giftige for fisken i lave konsentrasjoner. Nitrat forteller også noe om funksjon av biofilter og graden av vannutskiftning i anlegget (ammoniakk blir omdannet til nitritt og nitrat, nitrat vil dermed akkumulere i anlegget og nivået vil bestemmes av vannutskiftningen med nytt vann). For å kunne regne lett mellom de ulike formene er det hensiktsmessig å bare ta hensyn til nitrogenet (N) i molekylene, fordi ett mg ammoniakk-N kan omdannes til ett mg nitritt-N som kan omdannes til ett mg nitrat-N. Da tar man ikke hensyn til oksygenet eller hydrogenet i molekylene, og vekten blir mindre enn om man regner med hele molekyler. Forholdet mellom helmolekyl og N-delen varierer mellom formene: total ammoniakk-N (TAN) er 0,8 ganger vekten av total ammoniakk ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), nitritt-N ($\text{NO}_2\text{-N}$) er 0,3 ganger vekten av nitritt (NO_2) og nitrat-N ($\text{NO}_3\text{-N}$) er 0,2 ganger vekten av nitrat (NO_3). Dette betyr at det er viktig å vite hvilken benevning man snakker om og måler.

Ammoniakk i vann foreligger i en likevekt mellom uionisert ammoniakk (NH_3) og ammoniumionet (NH_4^+), hvor mye av den totale ammoniakken ($\text{TAN} = \text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) som foreligger i hvilken form avhenger først og fremst av pH og i mindre grad temperatur og salinitet. Det er den uioniserte formen (NH_3) som er mest giftig, og andelen av denne øker raskt ved økning av pH. Det vil derfor være viktig ikke bare å vite nivået av TAN (som kan være giftig eller ufarlig avhengig av pH), men også nivået av uionisert ammoniakk. Dessverre bidrar det til forvirringen at selv om måleapparater og kits ofte oppgir benevningen NH_3 eller $\text{NH}_3\text{-N}$ på målingen er det likevel ikke den uioniserte andelen som oppgis ved måling, men totalsummen av ammoniakk, dvs. $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+ / \text{TAN}$. Mengden NH_3 eller $\text{NH}_3\text{-N}$ må alltid regnes ut fra den målte TAN-verdien etter tabell med kjent pH, temperatur og salinitet.

NOTATER

12. REFERANSELISTE

- Attramadal, K. J. K., Salvesen, I., Xue, R., Øie, G., Størseth, T. R., Vadstein, O., Olsen, Y., 2012. Recirculation as a possible microbial control strategy in the production of marine larvae. *Aquacultural Engineering* 46, 27-39.
- Attramadal, K.J.K., Truong, T.M.H., Bakke, I., Skjermo, J., Olsen, Y., Vadstein, O., 2014. RAS and microbial maturation as tools of K-selection of microbial communities improve survival in cod larvae. *Aquaculture* 432, 483-490.
- Andersen, J.R., J.L. Bratli, E. Fjeld, B. Faafeng, M. Grande, L. Hem, H. Holtan, et al. 1997. *Klassifisering av miljøkvalitet i ferskvann*. SFT Rapport.
- Bakke I, Coward E, Andersen T, Vadstein O. 2015. Selection in the host structures the microbiota associated with developing cod larvae (*Gadus morhua*). *Environ Microbiol* 17: 3914-3924 doi:10.1111/1462-2920.1288
- Biesterfeld, S., G. Farmer, P. Russell, and L. Figueroa. 2003. Effect of alkalinity type and concentration on nitrifying biofilm activity. *Water environment research* 75, no. 3: 196-204.
- Chen, S., J. Ling, and J. P. Blancheton. 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural engineering* 34, no. 3: 179-197.
- Davidson J., et al., 2016. Aquaculture 2016 in Las Vegas, USA.
- Davidson, J., Good, C., Welsh, C., Summerfelt, S.T., 2014. Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems, *Aquacultural Engineering* 59, 30-40.
- De Schryver, P., Vadstein, O., 2014. Ecological theory as a foundation to control pathogenic invasion in aquaculture. *The ISME Journal*. vol. 8 (12).
- Fivelstad, S., A. B. Olsen, H. Kløften, H. Ski, and S. Stefansson. 1999. Effects of carbon dioxide on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts at constant pH in bicarbonate rich freshwater. *Aquaculture* 178, no. 1-2: 171-187.
- Fjellheim, A. J. 2009. Vannkvalitet i et kommersielt resirkuleringsanlegg for laks. *VANN*, no. 3.
- Gonzalez-Silva BM, Jonassen KR, Bakke I, Østgaard K, Vadstein O. 2016. Nitrification at different salinities: biofilm community composition and physiological plasticity. *Water Research* 95: 48-58. doi: 10.1016/j.watres.2016.02.050
- Gutierrez, A., Kolarevic, J., Sæther, B., Bæverfjord, G., Takle, H., Medina, H., Terjesen, B.F., 2011. Effects of sub-lethal nitrite exposure at high chloride background during the parr stage of Atlantic salmon. In: *Aquaculture Europe 2011 Proc.*, Rhodes, Greece, pp. 1080-1081.
- Graham, D. W., C. W. Knapp, E. S. Van Vleck, K. Bloor, T. B. Lane, and C. E. Graham. 2007. Experimental demonstration of chaotic instability in biological nitrification. *The ISME Journal* 1, no. 5: 385-393.
- Heath, M. S., Wirtel, S. A., & Rittmann, B. E. 1990. Simplified design of biofilm processes using normalized loading curves. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 62(2), 185-192.
- Hem, L.J., B. Rusten, and H. Ødegaard. 1994. Nitrification in a moving bed biofilm reactor. *Water Research* 28, no. 6: 1425-1433.
- Hess-Erga, O.-K., Blomvågnes-Bakke, B., Vadstein, O., 2010. Recolonization by heterotrophic bacteria after UV irradiation or ozonation of seawater; a simulation of ballast water treatment. *Water Res.* 44, 5439-5449.
- Hess-Erga, O.-K., Attramadal, K.J.K., Vadstein, O., 2008. Biotic and abiotic particles protect marine heterotrophic bacteria during UV and ozone disinfection. *Aquatic Biology* 4, 147-154.
- Kristensen, T., Å. Åtland, T. Rosten, H.A. Urke, and B.O. Rosseland. 2009. Important influent-water quality parameters at freshwater production sites in two salmon producing countries. *Aquacultural Engineering* (7).
- Kroglund, F., B. Finstad, S. O. Stefansson, T. O. Nilsen, T. Kristensen, B. O. Rosseland, H. C. Teien, and B. Salbu. 2007. Exposure to moderate acid water and aluminum reduces Atlantic salmon post-smolt survival. *Aquaculture* 273, no. 2-3: 360-373.
- Kroupova, H., J. Machova, and Z. Svobodova. 2005. Nitrite influence on fish: A review. *VETERINARNI MEDICINA-PRAHA*- 50, no. 11: 461.
- Liltved, H. 2002. Ozonation and UV-irradiation. In *Recirculating Aquaculture Systems*. 2nd ed. Cayuga Aqua Ventures.
- Liltved, H., and S. J. Cripps. 1999. Removal of particle-associated bacteria by prefiltration and ultraviolet irradiation. *Aquaculture Research* 30, no. 6: 445-450.
- Liltved, H., and E. Norgaard. 1999. *Fjerning av humus fra drikkevann ved felling med kitosan og etterfølgende direktefiltrering i Filtralite og kvartsand*.
- Liltved, H., C. Vogelsang, I. Modahl, and B. H. Dannevig. 2006. High resistance of fish pathogenic viruses to UV irradiation and ozonated seawater. *Aquacultural Engineering* 34, no. 2: 72-82.

Mattilsynet, 2015. Revisjon av forskrift om drift av akvakulturanlegg – bestemmelser gitt med hjemmel i dyrevelferdsloven og matloven, Brev til Nærings- og fiskeridepartementet (http://www.mattilsynet.no/fisk_og_akvakultur/akvakultur/drift_av_akvakulturanlegg/revisjon_av_akvakulturdriftsforskriften_bestemmelser_hjemlet_i_dyrevelferdloven_og_matloven.18618/binary/Revisjon%20av%20akvakulturdriftsforskriften:%20Bestemmelser%20hjemlet%20i%20dyrevelferdloven%20og%20matloven).

Michaud L, Blancheton JP, Bruni V & Piedrahita R, 2006. Effect of particulate organic carbon on heterotrophic bacterial populations and nitrification efficiency in biological filters. *Aquacult Eng* 34: 224–233.

Moestrup, Ø., Hansen, G., Daugbjerg, N., Lundholm, N., Overton, J., Vestergaard, M., Steinfeldt, S.J., Calado, A.J., Hansen, P.J. 2014. The dinoflagellates *Pfiesteria shumwayae* and *Luciella masanensis* cause fish kills in recirculation fish farms in Denmark. *Harmful Algae* 32: 33-39.

Playle, R.C. 1998. Modelling metal interactions at fish gills. *Science of The Total Environment* 219, no. 2-3 (August): 147-163.

Rosseland, B. O. 1999. *Fiskehelse og fiskesykdommer*.

Rosten, T. 2000. *Ejektorbasert vannbehandling i settefiskanlegg - Forsøk i kommersiell drift*.

Saltwateraquariumblog.com

Skjermo, J., Salvesen, I., Øie, G., Olsen, Y., Vadstein, O., 1997. Microbially matured water: a technique for selection of a non-opportunistic bacterial flora in water that may improve performance of marine larvae. *Aquac. Int.* 5, 13–28.

Suhr, K., P. B. Pedersen, L. M. Svendsen, K. Michelsen, and L. J. Plesner. 2008. *Omsætning af ammonium-kvælstof i biofiltre på modeldambrug*. Danmarks Fiskeriundersøgelser Hirtshals. Google Scholar.

Teien, H.C., F. Kroglund, B. Salbu, and B. O. Rosseland. 2006. Gill reactivity of aluminium-species following liming. *Science of the Total Environment* 358, no. 1-3: 206-220.

Teien, H.C., B. Salbu, F. Kroglund, and B. Olav Rosseland. 2004. Transformation of positively charged aluminium-species in unstable mixing zones following liming. *Science of the Total Environment* 330, no. 1-3: 217-232.

Timmons, M. B., J.M. Ebeling, F.W. Wheaton, S. T. Summerfelt, and B. J. Vinci. 2002. *Recirculating aquaculture systems*. 2nd ed. Cayuga Aqua Ventures.

Vadstein, O., Øie, G., Olsen, Y., Salvesen, I., Skjermo, J., Skjåk-Bræk, G., 1993. A strategy to obtain microbial control during larval development of marine fish. In: Reinertsen, H., Dahle, L.A., Jørgensen, L., Tvinnereim, K. (Eds.), *Proceedings of the First International Conference on Fish Farming Technology*, Trondheim, Norway, 9-12 August 1993. Balkema, Rotterdam, pp. 69–75.

Vadstein, O., Mo, T.A., Bergh, Ø., 2004. Microbial interactions, prophylaxis and diseases. In: Moksness, E., Kjørsvik, E., Olsen, Y. (Eds.), *Culture of Cold-water Marine Fish*. Blackwell Publishing, Oxford, pp. 28–72.

Villaverde, S., P. A. Garcia-Encina, and F. Fdz-Polanco. 1997. Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters. *Water Research* 31, no. 5: 1180–1186.

Vinci, B. J., M. B. Timmons, S. T. Summerfelt, and B. J. Watten. 1998. Carbon dioxide control in intensive aquaculture.

