

Simen Langeteig

# Bakgrunnsnivåer av hydrogensulfid i RAS, produksjon av hydrogensulfid fra fiseslam ved ulike saliniteter, og effekten av å tilsette nitrat

Masteroppgave i MSc Ocean Resources

Veileder: Rolf Erik Olsen

Juni 2019



Simen Langeteig

# Bakgrunnsnivåer av hydrogensulfid i RAS, produksjon av hydrogensulfid fra fiseslam ved ulike saliniteter, og effekten av å tilsette nitrat

Masteroppgave i MSc Ocean Resources

Veileder: Rolf Erik Olsen

Juni 2019

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

Fakultet for naturvitenskap

Institutt for biologi



Kunnskap for en bedre verden



## Anerkjennelse

Denne oppgaven ble skrevet ved NTNU senter for fiskeri og akvakultur (SeaLab) under masterstudiet Ocean Resources. Prøver og arbeid på laboratorium ble utført på SeaLab og utvalgte kommersielle settefiskanlegg. NIVA leverte og analyserte prøvetakere brukt under arbeidet ute i felt.

Jeg vil takke min veileder Rolf Erik Olsen, og medveiledere Kari Attramadal, Åse Åtland og Carlos L. Gordo, for veiledning og støtte i løpet av oppgaven. Jeg vil også takke alle disse for ideer og oppsett på laboratorieforsøk og prøvetakning.

Videre vil jeg takke alle ansatte ved SeaLab og Dag Altin for hjelp og tilrettelegging av laboratoriestyr og analyser gjort på laboratoriene ved SeaLab. I tillegg vil jeg takke Pernilla Marianne Carlsson ved NIVA for analyse og hjelp med prøver tatt i felt.

Jeg vil også takke alle de kommersielle settefiskanleggene som la til rette for, og lot meg komme å ta prøver ved deres anlegg, samt få tilgang til produksjonsdata. I tillegg vil jeg takke alle oppdretterne som svarte på spørreundersøkelsen gjort i forbindelse med oppgaven.

Jeg er også takknemlig for alle mine medstudenter som har gjort tiden med skriving av oppgaven så bra som mulig.

I tillegg vil jeg takke familie og venner som har støttet meg og gitt tilbakemeldinger gjennom arbeidet med oppgaven. Til slutt, men ikke minst, vil jeg takke Eirin for all hjelp og støtte gjennom hele prosessen med oppgaven.

## Sammendrag

De siste årene har det forekommet et økende antall hendelser med hydrogensulfid ( $H_2S$ ) ved norske settefiskanlegg som har ført til stor fiskedød. Oppdretterne har valgt å produsere større deler av biomassen på land, i resirkulerende systemer (RAS) som gjør det mulig å produsere mer fisk med mindre vann. Dette fordi de ønsker å utnytte sine eksisterende tillatelser bedre, for å kunne produsere mer fisk, da myndighetene har vært restriktive med å utdele nye konsesjoner grunnet problemer sykdom, lakselus og rømming. Økt fiskestørrelse på land, har ført til økt bruk av sjøvann i RAS, som har ført med seg flere vannkvalitetsutfordringer, blant annet den giftige gassen  $H_2S$ , som i små mengder kan være dødelig for fisk. Gassen oppstår ved at organisk materiale brytes ned av bakterier uten oksygen tilstede. Disse bakteriene vil da gå over til reduksjon av sulfat, noe som det finnes mye av i sjøvann, som fører til at hydrogensulfid dannes. Ved fravær av oksygen kan bakteriene også redusere nitrat, som vil være foretrukket av bakteriene foran sulfat, noe som ikke danner  $H_2S$ . Det finnes i dag lite dokumentert informasjon om hendelser med  $H_2S$  på landbaserte oppdrettsanlegg med laks.

Formålet med denne oppgaven var å avdekke eventuelle bakgrunnsnivåer av hydrogensulfid ved kommersielle oppdrettsanlegg på land, analysere  $H_2S$ -produksjon ved ulike saliniteter, se på hvilken effekt nitrat har på  $H_2S$  og kartlegge hendelser og kunnskap om  $H_2S$  blant anlegg med RAS.

Det ble plassert ut passive  $H_2S$ -målere på 5 kommersielle RAS-anlegg i ca. 1 uke for hver målerunde. Målerne viste at det er lave, men målbare mengder av  $H_2S$  ved RAS-anlegg med laks. Det ble målt  $H_2S$ -mengder fra 1 til 27,7  $\mu g/L$  i anleggene, og det så ut til å være lokale variasjoner i systemene. Bakgrunnsnivåene av  $H_2S$  så også ut til å øke med tid, fôring, salinitet og biomasse. Labforsøk viste at det produseres kritiske mengder  $H_2S$  fra fiskeslam etter få dager, både ved lav og høy salinitet. Det var i midlertidig stor forskjell i  $H_2S$ -konsentrasjon mellom sjøvann og ferskvann, det ble produsert 0,80 mg  $H_2S/g$  slam i ferskvann og 20,5 mg  $H_2S/g$  slam i sjøvann ved høyeste  $H_2S$ -konsentrasjon. Nitrat ( $NO_3^-$ ) så ut til å ha en positiv effekt på  $H_2S$  når det ble tilsatt vanmasser med  $H_2S$ -konsentrasjoner. 10 minutter etter tilsetning var opprinnelig  $H_2S$ -konsentrasjon redusert med 35-40%. Nitrat kan dermed se ut å være et viktig verktøy mot  $H_2S$ . Oppdretterne så ut til å være oppmerksomme på  $H_2S$  og dataene fra spørreundersøkelsen viser at RAS-anlegg bør være oppmerksomme på partikkelfjerning, sedimentering, vask og gode driftsrutiner for å minimere risikoen for  $H_2S$ .

## Abstract

In recent years there has been an increasing number of events with hydrogen sulphide ( $\text{H}_2\text{S}$ ) at Norwegian fish farms that have led to large fish deaths. The farmers have chosen to produce larger parts of their biomass on land, in recycling aquaculture systems (RAS), which makes it possible to produce more fish with less water. This is because they want to better utilize their existing permits, in order to produce more fish, as the authorities have been restrictive of distributing new licenses due to problems with diseases and sea lice. Increased fish size on land, has led to increased use of seawater in RAS, which has brought with it several water quality challenges, including the toxic gas  $\text{H}_2\text{S}$ , which in small amounts may be deadly for fish. The gas is formed by the decomposition of organic matter by bacteria without oxygen present. These bacteria will then switch to the reduction of sulphate, which leads to hydrogen sulphide formation. In the absence of oxygen, the bacteria can also reduce nitrate, which will be preferred by bacteria before sulphate, which does not form any  $\text{H}_2\text{S}$ . There is little documented information on happenings with  $\text{H}_2\text{S}$  on land-based fish farms with salmon.

The purpose of this thesis was to uncover any background levels of hydrogen sulfide at commercial farms on land, analyze  $\text{H}_2\text{S}$  production at various salinities, look at what effect nitrates have on  $\text{H}_2\text{S}$  and map events and knowledge of  $\text{H}_2\text{S}$  among farmers with RAS.

Passive  $\text{H}_2\text{S}$  measure units were placed on 5 commercial RAS plants for approx. 1 week for each round of measurement. The units showed that there are low but measurable amounts of  $\text{H}_2\text{S}$  at RAS plants with salmon.  $\text{H}_2\text{S}$  levels were measured from 1 to 27.7  $\mu\text{g} / \text{L}$  in the plants, and there were local variations in the systems. Background levels of  $\text{H}_2\text{S}$  also looked like they were increasing with time, feeding, salinity and biomass. Laboratory trials also showed that critical amounts of  $\text{H}_2\text{S}$  are produced from fish sludge after a few days, both at low and high salinity. But there was a large difference in  $\text{H}_2\text{S}$  concentration between seawater and fresh water. It was produced 0.80 mg  $\text{H}_2\text{S}/\text{g}$  sludge in freshwater and 20.5 mg  $\text{H}_2\text{S}/\text{g}$  sludge in seawater at the highest  $\text{H}_2\text{S}$  concentrations. Nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) was found to have a positive effect on  $\text{H}_2\text{S}$  when added to water with  $\text{H}_2\text{S}$  concentrations. 10 minutes after the addition, the original  $\text{H}_2\text{S}$  concentration was reduced by 35-40%. Nitrate can therefore look like an important tool against  $\text{H}_2\text{S}$ . The farmers appeared to be aware of  $\text{H}_2\text{S}$  and the data from the survey show that RAS plants should be aware of particle removal, sedimentation, washing and good operating routines to minimize the risk of  $\text{H}_2\text{S}$ .

# Innholdsfortegnelse

<b>1. Introduksjon</b> .....	<b>1</b>
1.1 RAS-anlegg og H <sub>2</sub> S .....	2
1.2 H <sub>2</sub> S og giftighet .....	4
1.2.1 Dannelse av hydrogensulfid og organisk nedbrytning .....	6
1.2.2 Effekten av nitrat og oksidering av svovel.....	7
1.2.3 Sulfatreduserende bakterier .....	8
1.2.4 Målemetoder for hydrogensulfid .....	8
1.3 Mål.....	9
<b>2. Materiale og metode</b> .....	<b>10</b>
2.1 Prøvetakning av H <sub>2</sub> S på RAS-anlegg .....	10
2.1.1 Utplassering av DGT på anlegg.....	10
2.1.2 Analyse av DGT .....	11
2.2 H <sub>2</sub> S-produksjon ved ulike salinitet i slamreaktor .....	11
2.2.1 Analysemetode for H <sub>2</sub> S fra slamreaktorer .....	12
2.3 Tilsetning av nitrat.....	13
2.4 Spørreundersøkelse.....	13
<b>3. Resultater</b> .....	<b>14</b>
3.1 Prøver fra kommersielle RAS-anlegg.....	14
3.2 Labforsøk med slamreaktorer .....	18
3.3 Reduksjon av H <sub>2</sub> S med nitrat.....	20
3.4 Spørreundersøkelse.....	20
3.4.1 Anlegg med H <sub>2</sub> S-hendelser .....	20
3.4.2 Anlegg uten H <sub>2</sub> S-hendelser.....	22
3.4.3 Tiltak mot H <sub>2</sub> S, vask og anleggsdesign.....	22
3.4.4 Spørreundersøkelse fra Fiskehelse rapporten 2018 .....	25
<b>4. Diskusjon</b> .....	<b>26</b>
4.1 Bakgrunnsnivåer på RAS-anlegg.....	26
4.2 Labforsøk.....	28
4.3 Dagens H <sub>2</sub> S-situasjon ved norske RAS-anlegg .....	29
<b>5. Konklusjon</b> .....	<b>32</b>
<b>6. Referanser</b> .....	<b>33</b>
<b>Appendiks 1 – Spørsmål fra spørreundersøkelse</b> .....	<b>37</b>



# Liste over tabeller og figurer

## Tabeller

<b>Tabell 1:</b> Gjennomsnittlig H <sub>2</sub> S-mengde målt i µg/L på ulike punkter i 5 kommersielle RAS-anlegg. .	14
<b>Tabell 2:</b> Gjennomsnittlige produksjonsdata fra måleperiodene på de 5 kommersielle RAS-anlegge. For enkelte anlegg var ikke data tilgjengelig, eller mulig å måle. ....	15
<b>Tabell 3:</b> Mengde slam (tørrvekt) (g/L) som ble tilsatt hver slamreaktor, og mg H <sub>2</sub> S/g slam som ble produsert ved høyeste konsentrasjon. ....	19
<b>Tabell 4:</b> Reduksjon i H <sub>2</sub> S-konsentrasjoner 10 minutter etter tilsetning av 40 mg/l NO <sub>3</sub> -N, ved tre ulike konsentrasjoner. ....	20
<b>Tabell 5:</b> Liste over hva RAS-anleggene svarer på spørsmål relatert til H <sub>2</sub> S-hendelser i anlegget, og hvor mange som har svart. N=8. ....	21
<b>Tabell 6:</b> Liste over hva RAS-anleggene svarer på hvorfor de tror de ikke har opplevd noen H <sub>2</sub> S-hendelser, og hvor mange som har svart det samme. ....	22
<b>Tabell 7:</b> Liste over hva RAS-anleggene svarte på om hvilke tiltak de bruker mot H <sub>2</sub> S, hva de tror er sårbare punkter i RAS, om de måler H <sub>2</sub> S og hvilke andre vannparametre de måler. ....	23
<b>Tabell 8:</b> Liste over hva RAS-anleggene svarte på hvor ofte de vasker karene, hvilke typer biofilter de har, hvor ofte de vasker fixed bed biofilter og hvilket vannskifte de opererer med. ....	24
<b>Tabell 9:</b> Liste over alder på RAS hos anleggene, hvor mye biomasse som produseres årlig, hvilke størrelser som produseres og hvilke saliniteter som brukes. ....	24

## Figurer

<b>Figur 1:</b> Kjøp av varige driftsmidler i norsk settefiskbransje per år, med verdi i MNOK (Fiskeridirektoratet, 2018) .....	2
<b>Figur 2:</b> Likevekten mellom hydrogensulfid (H <sub>2</sub> S), bisulfid (HS <sup>-</sup> ) og sulfid (S <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) vist ved fordelingen ved ulike pH (Åtland & K. Stenberg, 2019). ....	5
<b>Figur 3:</b> Organisk aerob og anaerob nedbrytning med oksygen, nitrat og sulfat. Modifisert fra figurer og ligninger av Manahan, (1994). ....	6
<b>Figur 4:</b> Montering av DGT-måler for utplassering i et RAS-anlegg, og en ubrukt DGT-måler. ....	11
<b>Figur 5:</b> Oppsett av slamreaktor for produksjon av H <sub>2</sub> S ved ulike saliniteter. Flaske plassert på magnetrører, og prøvetakning via ventilorkork med sprøyte tilkoblet. ....	12
<b>Figur 6:</b> H <sub>2</sub> S-mengde (µg/L) målt i kar, biofilter og pumpesump i RAS A, ved første og andre målerunde. ....	15
<b>Figur 7:</b> H <sub>2</sub> S-mengde (µg/L) målt i kar, biofilter og lufter, ved første og andre målerunde. ....	16
<b>Figur 8:</b> H <sub>2</sub> S-mengden (µg/L) målt av replikatene plassert i kar på RAS B.1. ....	16
<b>Figur 9:</b> H <sub>2</sub> S mengde (µg/L) målt i RAS C i kar, trommelfilter, biofilter og lufter. ....	17
<b>Figur 10:</b> H <sub>2</sub> S-konsentrasjoner (µg/L) målt i kar og pumpesump i RAS E. ....	17
<b>Figur 11:</b> H <sub>2</sub> S-konsentrasjonen (mg/L) målt i slamreaktorene med salinitet på 35, 14, 0 ppt, over tid. *Konsentrasjonene for 14 ppt er ikke riktige etter dag 2. ....	18
<b>Figur 12:</b> H <sub>2</sub> S-konsentrasjon (mg/L) i ferskvann og brakkevann reaktorene, over tid. Konsentrasjonene for brakkevann (14ppt) er ikke riktige etter dag 2. ....	19
<b>Figur 13:</b> Målte H <sub>2</sub> S-konsentrasjoner (mg/L) fra reaktorer i Figur 11, etter 2 dager. ....	19

<b>Figur 14:</b> Fordeling av RAS-anlegg med H <sub>2</sub> S-hendelser med oversikt på hvilken dødelighet som oppstod, samt hvilken salinitet og nitratkonsentrasjon det var i systemet ved hendelsen. ....	21
<b>Figur 15:</b> Fordeling av RAS-anlegg og gjennomstrømningsanlegg (FT) sine svar på om de har opplevd, eller mistenkt, H <sub>2</sub> S-hendelser på sine anlegg i prosent. RAS N= 21, FT N= 30. Data fra spørreundersøkelsen i Fiskehelse rapporten 2018, gjengitt med tillatelse fra Veterinærinstituttet og NIVA. (Fiskeridirektoratet, 2019). ....	25

## Forkortelser

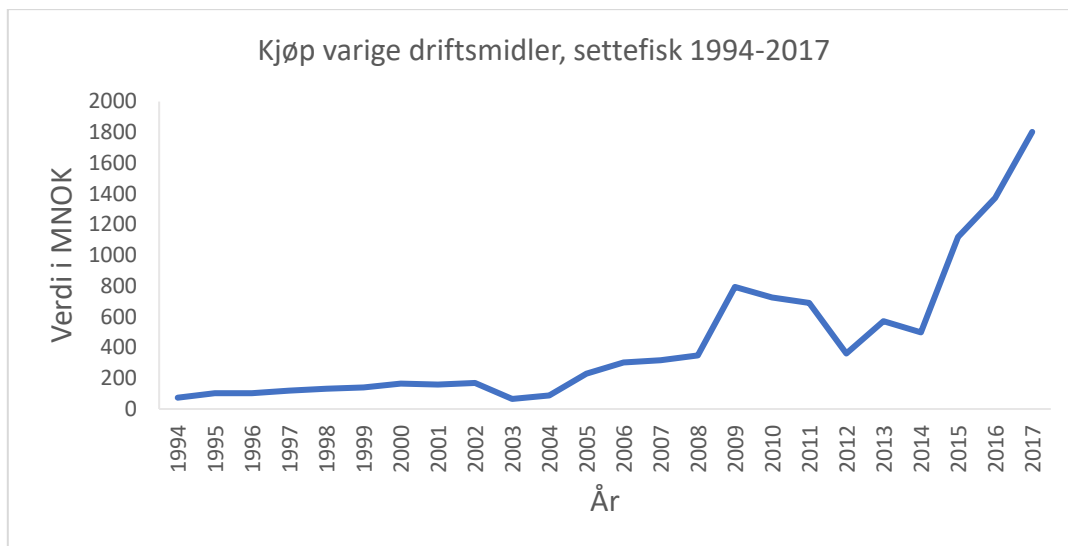
DGT	Diffusiv gradient i tynne filmer
FBBR	Fixed bed biofilter reactor (fiksert biomedium biofilter reaktor)
FT	Flow through (gjennomstrømning)
MBBR	Moving bed biofilter reactor (bevegelig biomedium biofilter reaktor)
MTB	Maks tillatt biomasse
RAS	Resirkulerende akvakultur system

# 1. Introduksjon

Norsk oppdrett av laks (*Salmo salar*) har ikke hatt noen betydelig økning i produsert biomasse de siste årene, og siden 2012 har den totale produksjonen av oppdrettslaks, og ørret, ligget mellom 1,2 til 1,3 millioner tonn per år (Fiskeridirektoratet, 2018). De norske myndighetene har vært restriktive med å tildele nye tillatelser for oppdrett, med to tildelingsrunder av oppdrettskonsesjoner siden 2012: i 2013 og 2018, samt en tillat økning i biomasse på 5% med strenge reguleringer vedtatt i 2015 (Fiskeridepartementet, 2013, 2015a, 2017). Grunnen til dette er økende problemer med oppdrett og produksjon av laksefisk i sjø, samt politisk uenighet rundt målet og hensikten med tildeling av tillatelsene (Fiskeridepartementet, 2015b). Noen av problemene er parasitter og økende utbrudd av virussykdommer som for eksempel pankreassykdom som er svært utbredt på Vestlandet (Hjeltnes, B. Jensen, Bornø, Haukaas, & S. Walde, 2019). Oppdrett av laks fører også til problemer med villaks, der villaksstammer blant annet blir påvirket genetisk av rømt oppdrettslaks (Glover, Quintela, Wennevik, Besnier, Sørvik, Skaala, & Krkosek, 2012). Norske myndigheter har derfor vært restriktive med å utdele tillatelser til produksjon av laksefisk i sjø, så lenge disse problemene vedvarer.

En av mange løsninger på disse problemene, har vært å korte ned på sjøvannsfasen for fisken, slik at tiden den blir eksponert for sjøvann reduseres. Dette har blant annet blitt gjort ved å produsere en større smolt på land, kalt postsmolt (Iversen, Hermansen, Andreassen, K. Brandvik, Marthinussen, & Nystøyl, 2015). Flere oppdrettere har latt større del av veksten foregå i landbaserte oppdrettsanlegg, kalt postsmolt anlegg, for å kunne få en bedre kapasitetsutnyttelse av tillatelsene (maksimal tillat biomasse, MTB) man har tilgjengelig (Iversen, Hermansen, Nystøyl, Marthinussen, & Harshol, 2018). Dette har resultert i at det i de siste årene har blitt investert i flere og flere postsmoltanlegg, noe som trolig gjenspeiles i investeringene gjort i varige driftsmidler for settefisk de siste årene (Figur 1). Den gjennomsnittlige smoltvekten ved utsett har også økt, fra 100 til 130g siden 2012, og andelen av smolt over 250g har økt fra 3-4% i 2016 til ca. 10% i 2018 (Iversen et al., 2018). Ønsket om å produsere mer av biomassen på land, fører til at ferskvannstilgangen for mange oppdrettere blir knapp. Dette har mange valgt å løse ved å gjenbruke produksjonsvannet til fisken. Dette kan gjøres med et resirkulerende akvakultursystem, forkortet til RAS. RAS-anlegg benytter seg av flere vannbehandlingskomponenter, som fjerner organiske og uorganiske stoffer fra vannet, og som gjør det mulig å resirkulere opptil 98% av produksjonsvannet (Kolarevic, Baeverfjord, Takle, Ytteborg, Reiten, Nergård, & Terjesen, 2014). Vannkvalitet er et veldig viktig tema i

RAS-anlegg, da feil i vannbehandlingskomponentene kan påvirke vannkvaliteten og dermed fiskehelsen. RAS-anlegg har ført med seg flere utfordringer, blant annet den giftige gassen hydrogensulfid ( $H_2S$ ), noe 57,2% av oppdrettere med RAS-anlegg svarer de har erfart i fiskehelsereporten 2018 (Hjeltnes et al., 2019).  $H_2S$  nevnes også som en betydelig faktor i en konsekvensanalyse av landbasert oppdrett gjort av SINTEF Ocean (Hilmarsen, A. Holte, Brendeløkken, Høyli, & S. Hognes, 2018).



Figur 1: Kjøp av varige driftsmidler i norsk settefiskbransje per år, med verdi i MNOK (Fiskeridirektoratet, 2018)

## 1.1 RAS-anlegg og $H_2S$

Det vites lite om dagens situasjon for  $H_2S$  i RAS-anlegg, og det er vanskelig å finne dokumenterte hendelser og informasjon. Men det kan se ut til at  $H_2S$  er et problem for først og fremst RAS-anlegg, og ikke de mer tradisjonelle gjennomstrømningsanleggene (FT). Dette har sannsynligvis sammenheng med at vannet resirkuleres, og dermed har større sannsynlighet for både å oppkonsentrere  $H_2S$  i systemet og å føre  $H_2S$  til fisken. Dette kan sees på statistikken til forsikringsselskapet Gjensidige (Gjensidige Forsikring ASA, Norge) over erstatningssaker hos settefiskanlegg i Norge, der vannmiljø står for 25% hos RAS-anlegg og 2% hos FT-anlegg (Egeland, 2019). Ved erstatningssakene på vannmiljø hos RAS-anleggene, er det  $H_2S$ -hendelser som har ført til økt dødelighet på fisken. En av de største fordelene med RAS sammenlignet med et FT-anlegg er at det kan driftes uavhengig av årstid, da man holder på vanntemperaturen ved resirkulering av produksjonsvannet. RAS-anlegg for laks holder typisk temperaturen på 12-14 grader. Det er flere hendelser med store fisketap de siste 10 årene der  $H_2S$  mistenkes (Hilmarsen et al., 2018), men det er få som er dokumenterte.

I et typisk RAS-anlegg består vannbehandlingskomponentene av et mekanisk filter, biofilter, lufter og oksygenkjegler, og enkelte systemer bruker i tillegg denitrifikasjonsfiltre og fosforfelling ved ekstra høy resirkulasjonsgrad (Lekang, 2013). Det benyttes også pH-regulering ved buffertilsetning og salt eller sjøvann for å regulere saliniteten. Ofte er systemet designet slik at alt vannet går igjennom alle komponentene i en sløyfe, mens enkelte har systemkomponenter som tar ut en delstrøm fra sløyfen for vannbehandling. Uansett design går vannet gjennom flere komponenter og steg sammenlignet med et FT-anlegg, der vannet blir brukt kun en gang før det går ut av anlegget. Det første steget etter at vannet har vært i karet, er mekanisk filtrering som fjerner organiske stoffer, avføring og fôrrester, som utgjør partikkelmengden i vannet (Dalsgaard & Pedersen, 2011). Det er ønskelig å fjerne disse partiklene så effektivt som mulig, da de kan være substrat for uønskede bakterier (Pedersen, von Ahnen, Fernandes, Naas, Pedersen, & Dalsgaard, 2017), påvirke gjellene til fisken (Au, Pollino, Wu, Shin, Lau, & Tang, 2004), og sedimentere ukontrollert. Dette kan skape anaerobe soner, som vil produsere H<sub>2</sub>S-gass fra de anaerobe sedimentene (Dunnette, Chynoweth, & Mancy, 1985).

Etter mekanisk filtrering går vannet gjennom et biofilter. To typer biofilter, som ofte brukes innenfor fiskeoppdrett, er neddykkede biofiltre med fiksert eller bevegelig biomedium. Biofilteret er fylt med biomedium for å øke overflaten som bakteriene kan vokse på, og er det som angir effektiviteten til biofilteret sammen med vannmiljøet (Ebeling & Timmons, 2012; Lekang, 2013). Fikserte biofilter, kalt fixed bed biofilter reaktor (FBBR), må vaskes for å unngå at partikler etterhvert tetter filteret. Bevegelige biofilter, kalt moving bed biofilter reaktor (MBBR), trenger ikke å vaskes da biomedium blir satt i bevegelse med luft, og er i konstant bevegelse som hindrer at partikler samler seg. Biofilterets oppgave er hovedsakelig å håndtere nitrogenforbindelser. Fisken skiller ut ammoniakk, som omdannes til nitritt og så til nitrat, av bakterier i biofilteret (Ebeling & Timmons, 2012; Lekang, 2013). Ammoniakk (NH<sub>3</sub>) og nitritt (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) er giftig for fisken i små mengder, og mattilsynet har satt veiledende grenseverdier på 2 µg/L NH<sub>3</sub> og 0,1 mg/L NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Hjeltnes, Bæverfjord, Erikson, Mortensen, Rosten, & Østergård, 2012). Nitrat er kun giftig i større konsentrasjoner over 75 mg/l, som vist på regnbueørret (Davidson, Good, Welsh, & Summerfelt, 2014; Westin, 1974). Det anbefales å holde konsentrasjonen av NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N under 100 mg/l for postsmolt laks i RAS-anlegg (Davidson, Good, Williams, & Summerfelt, 2017). Etter biofilteret blir vannet «luftet» for blant annet å fjerne CO<sub>2</sub> som fisken skiller ut (Lekang, 2013). Slik unngår man for høye konsentrasjoner som kan være skadelig og veksthemmende for fisken dersom det får akkumulere i vannet (Mota, Nilsen, Gerwins, Gallo, Ytteborg, Bæverfjord, Kolarevic, Summerfelt, & Terjesen, 2019). Etter

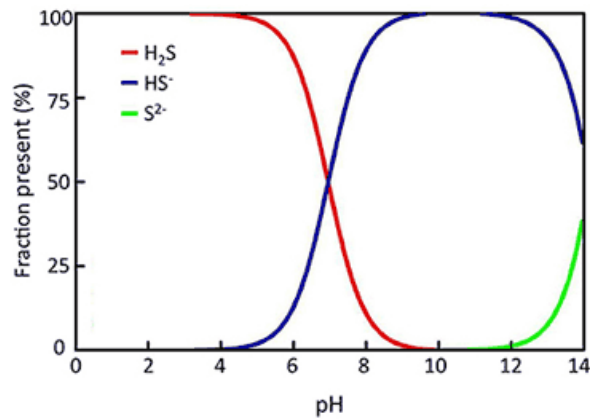
lufteren tilsettes oksygen, ofte via oksygenkjegler, for å holde ønsket nivå av oksygen for fisken.

RAS-anlegg må dimensjoneres etter produksjon og fôring slik at det er mulig å holde ønsket vannkvalitet i systemet (Terjesen, Summerfelt, Nerland, Ulgenes, Fjæra, Megård Reiten, Selset, Kolarevic, Brunsvik, Bæverfjord, Takle, Kittelsen, & Åsgård, 2013). Størrelsen på komponentene dimensjoneres etter biomasse produsert, som igjen bestemmer hvor mye som må fôres. Vannskiftet beregnes ut fra fôr som blir tilsatt systemet, og nytt vann per kilo fôr kan brukes som en benevning på dette.

## 1.2 H<sub>2</sub>S og giftighet

Da det ikke finnes mye forskning eller artikler på hydrogensulfid i RAS-anlegg, blir kloakksystemer det nærmeste relevante forskningsområdet, som til en viss grad har lignende problemstillinger med gassen (Zhang, De Schryver, De Gusseme, De Muynck, Boon, & Verstraete, 2008). Hydrogensulfid (H<sub>2</sub>S) er en naturlig forekommende gass, som finnes i mange biologiske systemer, og kan være veldig farlig da den hindrer ånderettsmetabolismen (Forgan & Donald, 2016). H<sub>2</sub>S har en molekylvekt på 34,08g og er i likevekt med bisulfid (HS<sup>-</sup>) og sulfid (S<sub>2</sub><sup>-</sup>) (Reiffenstein, Hulbert, & Roth, 1992).

Alle disse svovelforbindelsene utgjør den totale sulfidkonsentrasjonen, og fordelingen er avhengig av pH (Yongsiri, Hvitved-Jacobsen, Vollertsen, Tanaka, Yongsiri, Bertrand-Krajewski, & Chebbo, 2003). Dette gjør at H<sub>2</sub>S og HS<sup>-</sup> hovedsakelig er de aktuelle forbindelsene i et kloakksystem, da pH ligger på rundt 7 (Yang, Vollertsen, Hvitved-Jacobsen, Yang, & Matos, 2005). Det samme prinsippet vil gjelde i et RAS-system der pH også normalt ligger omkring 7. Sulfid er ikke aktuell i RAS-sammenheng da andelen av denne først øker ved pH 12, som er et uaktuelt nivå i fiskeproduksjon. Bisulfid er mye mindre giftig sammenlignet med H<sub>2</sub>S, som er svært løselig i vann og luftes dermed ikke så lett ut (Åtland & K. Stenberg, 2019). Som vi ser av Figur 2, vil andelen H<sub>2</sub>S øke raskt når pH synker, og ved pH 6 er nærmere 90% av totalt sulfid H<sub>2</sub>S. Ved pH 7 vil fordelingen ligge på 50/50 hydrogensulfid og bisulfid.



Figur 2: Likevekten mellom hydrogensulfid (H<sub>2</sub>S), bisulfid (HS<sup>-</sup>) og sulfid (S<sup>2-</sup>) vist ved fordelingen ved ulike pH (Åtland & K. Stenberg, 2019).

H<sub>2</sub>S er en giftig gass både for mennesker og dyr, og har en sterk, gjenkjennelig lukt (Manahan, 1994). Det har blitt rapportert at en 20 minutters akutt dose på 22-29 µM H<sub>2</sub>S per liter, som tilsvarer 0,95 mg/l, førte til betraktelig stress og betydelig skader på gjellevev hos atlantisk laksesmolt på 150-200g (Kierner, Black, Lussot, Bullock, & Ezzi, 1995). De viktigste observasjonene var fortykning av primære lameller mens sekundære lameller klumpet seg og fusjonerte. Kierner et al. (1995) avdekket også at kroniske konsentrasjoner på 0,25 mg/L over 18 uker førte til skader på lever hos laksesmolt på 40-55g, men uten at vekten ble påvirket. Fisken viste også delvis tegn til tilpasning, og det oppstod ingen økt dødelighet.

På regnbueørret- (*Oncorhynchus mykiss*) og brunørretyngel (*Salmo trutta*) er H<sub>2</sub>S vist å være giftig i langt lavere konsentrasjoner. På brunørretyngel var akutt 96 timers LC<sub>50</sub> (dødelig dose for 50% av individene etter 96 timer) på 7 µg/liter (Reynolds & Haines, 1980), og for regnbueørret var konsentrasjonen på 12,7 µg/liter (Smith, 1976). I tillegg har det blitt vist at små kroniske konsentrasjoner av H<sub>2</sub>S kan ha en positiv effekt på overlevelsen til fisk (Reynolds & Haines, 1980; Smith Jr, Oseid, Kimball, & El-Kandelgy, 1976). På brunørretyngel ble det vist at en kronisk konsentrasjon på 2-5 µg/liter over 8 og 22 dager, ga 100 % overlevelse, mens kontrollgruppen med 0 µg/liter hadde en dødelighet på 8-15%. Grunnen til dette er at man tror H<sub>2</sub>S kan ha en antibiotisk effekt (Smith Jr et al., 1976), men det er også observert at fisk likevel viser ubehag ved mindre aktivitet og økt respirasjon, selv om disse observasjonene ikke kunne kvantifiseres (Reynolds & Haines, 1980). Ulike fiskearter har også ulike toleranse overfor H<sub>2</sub>S. Smith (1976) foreslår en akutt grense på 8,7 µg/liter for regnbueørret, mens tilsvarende grense for gullfisk foreslås til 84 µg/liter.

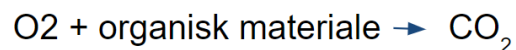


### 1.2.1 Dannelse av hydrogensulfid og organisk nedbrytning

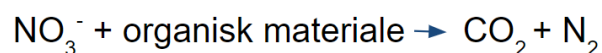
H<sub>2</sub>S kan forekomme naturlig ved anaerob bakteriell nedbrytning av organisk materiale ved redusering av sulfat, og i kloakksystemer skjer dette ofte i biofilm eller sedimenter under vann (Beardsley, Krottinger, & Rigdon, 1958; Carpenter, 1932; Parande, Ramsamy, Ethirajan, Rao, & Palanisamy, 2006). Det er også observert at H<sub>2</sub>S-produksjon skjer lettere i kloakksystemer med lav vannhastighet under 30cm pr sekund, dårlig lufting og temperaturer på 15-20 °C (Hvitved-Jacobsen, Vollertsen, Tanaka, Hvitved-Jacobsen, Stuetz, & Boon, 2000). På 80-tallet ble H<sub>2</sub>S-produksjon fra sedimenter under oppdrettsmerder mistenkt å forårsake sykdommer og redusert tilvekst ved anlegg som hadde vært i drift i 2 år (Braaten, Aure, Ervik, & Boge, 1983). Dette ble bekreftet ved funn av svart slam uten dyreliv som luktet av hydrogensulfid (Aure, Ervik, Johannessen, & Ordemann, 1988).

Så lenge oksygen er tilstede, vil det fungere som elektronakseptor for nedbrytning av organisk materiale til karbondioksid (CO<sub>2</sub>). Når oksygen forsvinner vil bakteriene begynne å redusere nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) for å kunne fortsette nedbrytningen, dette kalles denitrifikasjon. I denne prosessen er dinitrogen (N<sub>2</sub>) og CO<sub>2</sub> produktene som dannes. Når nitrat forsvinner, vil sulfat (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) bli den neste foretrukne elektronakseptoren for de anaerobe bakteriene. I disse tilfellene blir det produsert H<sub>2</sub>S (Manahan, 1994). Dette kan visualiseres med forenklete ligninger, som i Figur 3 (modifisert fra Manahan, 1994). I sjøvann finnes det naturlig større mengder sulfat, enn i ferskvann. I sjøvann finner man opptil 2700 mg/l sulfat (Morris & Riley, 1966), mens i ferskvann er konsentrasjonen betydelig lavere. Gjennomsnittlig sulfatkonsentrasjon i Glomma var 3,93 mg/L i 2018 (NRVA, 2018). FN's miljøovervåking for vann har også anslått at vanlig sulfatkonsentrasjon i ferskvann ligger på rundt 20 mg/L på verdensbasis (UNEP Water, 1987). Derfor vil det trolig være et høyere potensiale for H<sub>2</sub>S-produksjon i sjøvann enn ferskvann.

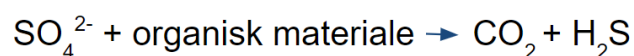
Aerob nedbrytning



Anaerob nedbrytning med nitrat



Anaerob nedbrytning med sulfat



Figur 3: Organisk aerob og anaerob nedbrytning med oksygen, nitrat og sulfat. Modifisert fra figurer og ligninger av Manahan, (1994).

H<sub>2</sub>S i RAS-anlegg kan ha flere kilder. Det har vært tilfeller med store mengder tapt fisk, der H<sub>2</sub>S mistenkes, og utbruddet har blitt opplevd som plutselig, og fra intet. Det er rapportert at partikler har sedimentert ett sted i systemet, og skapt anaerobe soner med slam som fører til produksjon av H<sub>2</sub>S, og tap av fisk (Sørgård, 2019). I andre tilfeller kan det være at stillestående vann, i for eksempel ubrukte rør, som skaper anaerobe forhold og produserer H<sub>2</sub>S. Små mengder av gassen kan også trolig komme fra biofilm i anlegget. RAS-anlegg har store overflater når man inkluderer hele systemet med kar, rør og vannbehandling. Det er vist at redokspotensialet synker jo dypere man går inn i biofilmen, og at reduksjon av sulfat finner sted i anaerobe soner i biofilmen (Yu & Bishop, 1998). Det har blitt rapportert at oksygen er oppbrukt 550µm ned i biofilmen fra overflaten, og at reduksjonspotensialet minker raskt i et lag på 50µm mellom den aerobe og anaerobe sonen i biofilmen (Bishop & Bishop, 1998). Ved tykk biofilm vil man derfor kunne forvente en betydelig H<sub>2</sub>S-produksjon i RAS.

### **1.2.2 Effekten av nitrat og oksidering av svovel**

Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) virker ikke å ha fått så mye fokus og oppmerksomhet i RAS-anlegg annet enn at det er et produkt av nitrifikasjonen som skjer i biofilteret, og må fjernes med kontinuerlig og kontrollert vannskifte, eller med denitrifikasjonsfiltre (Lekang, 2013). Innenfor forskning på kloakksystemer har det lenge vært kjent at nitrat kan ha en reduserende effekt på H<sub>2</sub>S (Allen, 1949; Bentzen, Smit, Bennett, Webster, Reinholt, Sletholt, & Hobsont, 1995; Yang et al., 2005), og kan brukes som en tilsetning for å redusere mengden H<sub>2</sub>S produsert, da det vil bli redusert før sulfat under oksygenfattige forhold i kloakksystemer (Heukelekian, 1943). Under forsøk med slam fra kloakk, har det blitt funnet at 1,0g nitrat per liter kan forhindre sulfid produksjon i minst 29 dager, på grunn av økt redokspotensial forårsaket av nitrat (Allen, 1949). Videre forskning har vist at et redokspotensial på over 300mV i vannet kan kontrollere sulfid produksjonen, blant annet ved at bakteriene som står for produksjonen først bli aktive ved -200mV (Poduska & Anderson, 1981). Det har også blitt observert at H<sub>2</sub>S kan omdannes til sulfat ved reduksjon av nitrat, der svovel er mellomprodukt, noe som krever 0,18 til 0,44 g NO<sub>3</sub> per gram svovel oksidert (Gadekar, Nemati, & Hill, 2006; Yang et al., 2005). Dette betyr også at sulfatkonsentrasjonen kan øke i sulfatfattige vannmasser der det er svovelforbindelser tilstede i det organiske materialet, og igjen øke potensialet for sulfatreduksjon dersom det oppstår miljøendringer.

Den Danske bransjeorganisasjonen AquaCircle har i en intern rapport, anbefalt at RAS-anlegg holder en konsentrasjon på minimum 40 mg/l NO<sub>3</sub>-N, for å være på den sikre siden mot H<sub>2</sub>S (Højgaard, 2017). De mener at et typisk scenario for et H<sub>2</sub>S utbrudd i RAS er når fisken blir sultet blant annet før levering, og nitrat konsentrasjonen går ned på grunn av lavere omsetning av nitrogenforbindelser i biofilteret.

### **1.2.3 Sulfatreduserende bakterier**

De bakteriene som står for produksjonen av H<sub>2</sub>S blir kalt sulfatreduserende bakterier (SRB) og er spesialtilpasset for å bryte ned organisk materiale under anaerobiske forhold (Muyzer & Stams, 2008). Disse mikroorganismene er utbredt i anaerobe habitater, og det er antatt at de står for mer enn 50% av den organiske karbonomsetningen i marine sedimenter (Jørgensen, 1982). I denne oppgaven er det ikke lagt vekt på hvordan disse bakteriene påvirker H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner, men de er en viktig faktor for produksjonen av H<sub>2</sub>S. Det vites lite om hvordan de lever i RAS-anlegg, hvordan de blir introdusert eller replikerer under slike forhold.

### **1.2.4 Målemetoder for hydrogensulfid**

Måling av H<sub>2</sub>S i akvakultur sammenheng virker ikke å være veldig utbredt og vanlig. Vannprøver ved RAS-anlegg tas med sensorer eller manuelt med vannprøvesett der man tilsetter reagenser og leser av fargeintensitet med spektrofotometri. Det finnes også automatiske målestasjoner fra produsenter som Blue Unit (Blue Unit A/S, Danmark), der målinger kan utføres flere ganger hele døgnet, for blant annet H<sub>2</sub>S. Både sensoriske og kjemiske metoder kan brukes for å måle H<sub>2</sub>S. En vanlig kjemisk metode er metylene-blå, som er utviklet av Fischer (1883), og forbedret av Fonselius og Cline (1969) (Grasshoff, Kremling, & Erhardt, 1999). Reagensene reagerer med mengden H<sub>2</sub>S og utvikler tilsvarende blåfarge, som deretter måles med spektrofotometri. Sensoriske metoder, kan være håndholdte apparater med membransensorer, blant annet levert av AquaMS (Aqua Monitoring System SAS, Frankrike). Slike sensorer senkes ned i vann og lar H<sub>2</sub>S passere over en membran og reagere med en katalysator der resultatet er et produkt som oksideres av en elektrode som kan leses av elektronisk (AquaMS, 2018). En annen metode som kan benyttes, er “diffusive gradient i tynne filmer”, kalt DGT (Teasdale, Hayward, & Davison, 1999). Disse blir også kalt passive målere, da de ikke aktivt måler mengden H<sub>2</sub>S i vannet, men reagerer med mengden i vannet over tid. En DGT-måler består av to lag med tynne gel-filmer. Vannet diffunderer gjennom en polyacrylamide hydrogel og H<sub>2</sub>S reagerer med sølvjodid (AgI) innlemmet i overflaten på den andre gelen. Dette danner disølv sulfid (Ag<sub>2</sub>S) som gir en svart farge. Avhengig av

konsentrasjonen av  $\text{H}_2\text{S}$  tilstede, vil DGT-måleren gi en gradient av gråfarge som kan analyseres og  $\text{H}_2\text{S}$  belastningen for perioden kan regnes ut. Disse målerne er sensitive overfor lys og høye temperaturer, og må derfor oppbevares mørkt og kjølig.

### 1.3 Mål

Målet med denne oppgaven var å lære mer om situasjonen rundt  $\text{H}_2\text{S}$  på settefiskanlegg med RAS-teknologi, ved å kartlegge bakgrunnsnivåer i kommersielle anlegg. I tillegg var det et mål å undersøke produksjon av gassen ved ulike saliniteter (innblandingsforhold mellom sjøvann og ferskvann). Det var også et mål å undersøke effekten av å tilsette nitrat til vann med  $\text{H}_2\text{S}$ . Arbeidet med oppgaven bestod derfor i å:

1. Kartlegge eventuelle bakgrunnsnivåer av hydrogensulfid, og lokale variasjoner i konsentrasjoner i kommersielle settefiskanlegg med RAS.
2. Analysere produksjon av hydrogensulfid ved forskjellige saliniteter.
3. Analysere effekten av å tilsette nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) til vann med  $\text{H}_2\text{S}$ .
4. Kartlegge erfaringer og tiltak mot uhell med  $\text{H}_2\text{S}$  blant kommersielle settefiskanlegg med RAS.

## **2. Materiale og metode**

Arbeidet har vært delt i fire deler. En del bestod av prøvetakning med passive H<sub>2</sub>S-målere i kommersielle settefiskanlegg med RAS. Den andre delen bestod av analyse av H<sub>2</sub>S fra slam ved forskjellige saliniteter i slamreaktorer. Den tredje bestod av å undersøke den reduserende effekten tilsatt nitrat har på H<sub>2</sub>S. Den fjerde delen bestod av en spørreundersøkelse hos settefiskanlegg med RAS, om hvilke erfaringer de har med H<sub>2</sub>S, og hvordan de jobber med problemstillingen.

### **2.1 Prøvetakning av H<sub>2</sub>S på RAS-anlegg**

Prøvetakning ble gjort ved 5 ulike RAS-anlegg, og av hensyn til anleggene er identiteten anonymisert. Det ble valgt anlegg som kjører RAS på ulike salinitets-nivå, og det ble målt på ulike steder i systemet for å kunne fange opp evt. lokal dannelse av H<sub>2</sub>S i anlegget. På alle målepunkter ble målere satt ut i parallell. Grunnet ulik design og utforming på anleggene som deltok, kunne ikke målere settes ut på like eller tilsvarende steder på alle anlegg. Alle målinger ble gjort i kommersielle anlegg i full drift, så enkelte hensyn måtte tas for målerne og utplasseringen av dem. Valgt målemetode falt på DGT-målere levert fra Norsk institutt for vannforskning (NIVA).

#### **2.1.1 Utplassering av DGT på anlegg**

I dialog med de ansatte på RAS-anleggene ble DGT satt ut på passende steder, slik at de sto trygt og ikke var i veien for daglig drift. Det ble også forsøkt å finne sårbare steder der man trodde vannhastigheten var lavere eller partikkelmengden høyere. Alle DGT ble plassert i parallell, med sensorgelen (stempelet) vendt innover i en rørstump, som sørget for å skjerme gelen mot direkte lys (Figur 4).

Ved behov ble det festet et lodd på denne rørstumpen, slik at den holdt seg mer stabil i vannmassene. Et tau ble festet i røret, slik at det kunne senkes ned til bunnen, og lett tas opp igjen. Alle DGT ble plassert ut i minimum 1 uke, i parallell, og fikk stå i ro hele perioden. Etter en uke ble de tatt opp, og puttet i lufttette ziplock-posere. Temperatur og eksponeringstid ble registrert, og sendt inn sammen med DGT-målerne til NIVA for analyse. Gjennomsnittlige produksjonsdata ble hentet fra anleggenes egne målesystemer, vannprøver og registreringer.



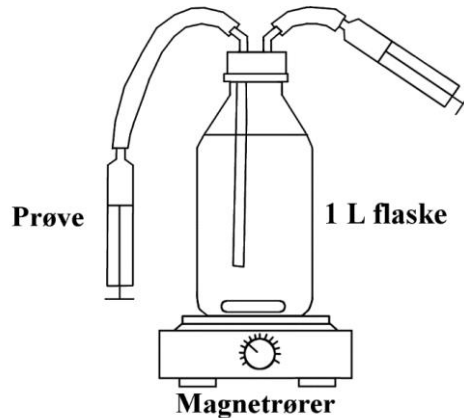
Figur 4: Montering av DGT-måler for utplassering i et RAS-anlegg, og en ubrukt DGT-måler.

### 2.1.2 Analyse av DGT

Analysering ble utført av NIVA i Tromsø. Analysen av DGT-målerne ble gjort ved å overføre den fargede gelen til et hvitt papir, for så å skanne arket med en digital scanner, slik at man fikk en digital fil. Denne filen ble så behandlet i bildeprogrammet ImageJ, der gråfargen ble analysert. Denne verdien ble utregnet fra en standardkurve, basert på andre DGT som har målt kjent konsentrasjon av  $H_2S$  på laboratorium hos NIVA.

### 2.2 $H_2S$ -produksjon ved ulike salinitet i slamreaktor

For denne delen av oppgaven ble det brukt oppsett fra Carlos L. Gordo ved Danmarks tekniske universitet (DTU). Fiskeslam fra sjøvann ble innhentet fra anlegg med fisk på NTNU SeaLab og fiskeslam fra fersk- og brakkvann ble hentet fra et RAS-anlegg i Trøndelag, Norge. Slammet ble puttet i 1 liters Duran glassflasker, 3 replikater per salinitet, og plassert på hver sin magnetrører for å sikre konstant bevegelse og homogen fordeling av  $H_2S$ -konsentrasjon i flasken. Om lag 20-25 gram slam per liter (tørrvekt) ble plassert i hver reaktor og fylt opp med ferskvann, sjøvann eller brakkvann. Mengde gram slam ble målt ved å tørke en 10ml prøve tatt fra reaktorene, i et tørkeskap ved 90 grader celsius i 24 timer. Flasken ble tettet av en skrukork med ventil med en gummislange, og ført ned i reaktormassen. På utsiden av ventilkorken ble det festet en gummislange med en sprøyte i enden for prøvetakning (Figur 5). Alle reaktorene ble plassert i et inkubatorskap med en kontinuerlig temperaturregulering på 14 °C.



Figur 5: Oppsett av slamreaktor for produksjon av  $H_2S$  ved ulike saliniteter. Flaske plassert på magnetrører, og prøvetakning via ventilkork med sprøyte tilkoblet.

Vannprøver ble tatt med sprøyten, og en klemme ble satt på gummislangen når sprøyten ble koblet av, deretter ble sprøyten koblet til igjen. Ved prøvetakning ble sprøyten fylt og tømt internt med vannet fra reaktoren for å sikre en homogen prøve uten eventuell påvirkning fra vann som kan ha ligget stille i slangen. Fra reaktorene ble det tatt 10 ml for hver prøve når fortynning ikke var nødvendig, og 5 ml når fortynning ble gjort. Prøven ble overført til et rent glass og deretter ble korrekt mengde pipettert over til et prøveglass. Alle prøver ble sentrifugert i 15 minutter på 4500 omdreininger i minuttet. Prøver ble tatt ved dag 0, 1 og 2 etter oppstart og deretter annenhver dag i 4 uker.

### 2.2.1 Analysemetode for $H_2S$ fra slamreaktorer

Til analyse av prøvene fra slamreaktorene ble analysesett med produktnummer 223801 fra Hach (Hach Company, USA) brukt. Det er basert på metylene-blå metoden, innført av Fischer i 1883, og brukes enda i ulike metoder for totalsulfid. I analysesettet er det brukt to reagenser: svovelsyre og kaliumdikromat. Syren tilsettes for å senke pH, slik at sulfidlikevekten går over til  $H_2S$ , og kaliumdikromat oksiderer  $H_2S$ -gassen til svovel, og i prosessen utvikles en klar blå farge. Basert på metode av Cline (1969), analyseres mengden metylene-blå i spektrometer ved 670 nm. Spektrofotometeret ble nullstilt ved å tilsette reagensene til samme vann som ble brukt til å fylle reaktorene, og lese av disse som blanke. Ved fortynning av prøvene ble oksygenfritt destillert vann brukt. Dette ble gjort ved å boble nitrogen gjennom destillert vann, med en diffusor, for å få små bobler, og deretter måle oksygennivået.  $H_2S$ -konsentrasjonen ble regnet ut fra en standardkurve basert på en stamløsning med kjent mengde  $H_2S$ , regnet ut fra kjent  $Na_2S$  tilsatt til oksygenfritt destillert vann.

## **2.3 Tilsetning av nitrat**

Oksygenfritt vann ble produsert som nevnt i 2.2.1. Det ble deretter tilsatt H<sub>2</sub>S fra stamløsning og analysert med samme metode brukt i 2.2.1. Når opprinnelig H<sub>2</sub>S-konsentrasjon var målt, ble nitratsalt tilsvarende 40 mg/l NO<sub>3</sub>-N tilsatt, og prøvebeholderen vendt til nitratsaltet var oppløst. En kontrollprøve ble vendt samtidig som prøven med tilsatt nitrat. H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen ble så analysert etter 10 minutter.

## **2.4 Spørreundersøkelse**

Spørreundersøkelsen ble laget og distribuert digitalt. Tjenesten Google forms ble brukt til å sette sammen spørreskjemaet, som genererer en link som kan deles via e-post. For å finne aktuelle anlegg og personer for å sende skjemaet til, ble RAS-anlegg kartlagt og identifisert ved å spørre myndigheter som mattilsynet og fiskeridirektoratet, samt søke opp anlegg via internett og nyhetssaker. Spørreskjemaet ble bygget opp ved å stille spørsmål i en innledende del der anleggets størrelse, system, design og utforming, samt personalets tanker om H<sub>2</sub>S ble kartlagt. Undersøkelsen var deretter delt i to spor: ett spor for dem som oppga å ha hatt H<sub>2</sub>S-hendelser og ett spor for dem som oppga å ikke ha hatt H<sub>2</sub>S-hendelser. Spørsmålene fra spørreundersøkelse finnes i appendiks 1.



### 3. Resultater

#### 3.1 Prøver fra kommersielle RAS-anlegg

Det ble målt H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner fra 1 til 27,7 µg/L på de fem anleggene (Tabell 1), og standardavviket lå på 0,3 til 2,8 med unntak av den høyest målte konsentrasjonen, som har et standardavvik på 26,5. Dette grunnet stor forskjell på de to replikatene som målte konsentrasjoner på henholdsvis 8,9 og 46,5 µg/L. Det ble målt H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner i alle målerundene, sett bort fra RAS C.2 og RAS D.1. Ved disse to anledningene regnes det med at DGT-målerne som ble brukt ikke fungerte, og ga dermed ingen utslag for H<sub>2</sub>S.

Det ble målt noen lokale variasjoner i H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner på anleggene. I RAS A ble det målt H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner fra 1 til 10,8 µg/L. Ved første runde ble det målt veldig lave nivåer, mens ved andre runde ble det målt høyere konsentrasjoner i kar, biofilter og pumpeump. RAS B viste H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner fra 0 til 27,7 µg/L, og ved første runde måles den høyeste konsentrasjonen av alle anleggene, målt i karet, men standardavviket var stort grunnet stor forskjell på de to replikatene. Det ble også målt H<sub>2</sub>S i biofilter og lufter. Ved andre runde måles det mer H<sub>2</sub>S i lufteren sammenlignet med første runde, noe lavere nivå i biofilter og ingen H<sub>2</sub>S ble målt i kar. I RAS C ble det målt H<sub>2</sub>S på alle punkter med nivåer fra 7,7 til 22,7 µg/L, hvor den høyeste konsentrasjonen ble målt i karet. Ved andre runde viste ingen av de utplasserte DGT-målerne H<sub>2</sub>S. RAS E viste tilnærmet lik konsentrasjon ved begge målepunkt, med 12,5 og 12,9 µg/L H<sub>2</sub>S.

Tabell 1: Gjennomsnittlig H<sub>2</sub>S-mengde målt i µg/L på ulike i punkter i 5 kommersielle RAS-anlegg.

<b>DGT H<sub>2</sub>S</b>	<b>µgram pr. liter</b>				
	<b>Anlegg/posisjon</b>	<b>Bunn av kar</b>	<b>Biofilter</b>	<b>Pumpeump</b>	<b>Trommelfilter</b>
<b>RAS A.1</b>	1,0 (±1,5)	0,0	1,0 (±1,3)	-	-
<b>RAS A.2</b>	10,8 (±1,7)	8,6 (±0,9)	8,9 (±0,5)	-	-
<b>RAS B.1</b>	27,7 (±26,5)	7,2 (±1,2)	-	-	8,3 (±1,4)
<b>RAS B.2</b>	0,0	6,5 (±0,9)	-	-	19,0 (±0,5)
<b>RAS C.1</b>	22,7 (±0,3)	8,9 (±1,7)	-	9,1 (±1,5)	7,7 (±0,8)
<b>RAS C.2</b>	0,0	0,0	-	0,0	-
<b>RAS D.1</b>	-	0,0	0,0	0,0	-
<b>RAS E.1</b>	12,5 (±2,8)	-	12,9 (±2,3)	-	-

De gjennomsnittlige produksjonsdataene fra de ulike anleggene viste temperaturer fra 8,1 til 14,9 grader og en salinitet fra 0 til 20,6 promille (Tabell 2). Det var mindre variasjon i pH og oksygen nivåer blant anleggene, mens nitrat konsentrasjonen var fra 5,6 til 66,3 mg/L nitrat-N. Fiskeveksten viser også hvor stor snittvekten på fisken i system var i begynnelsen og i

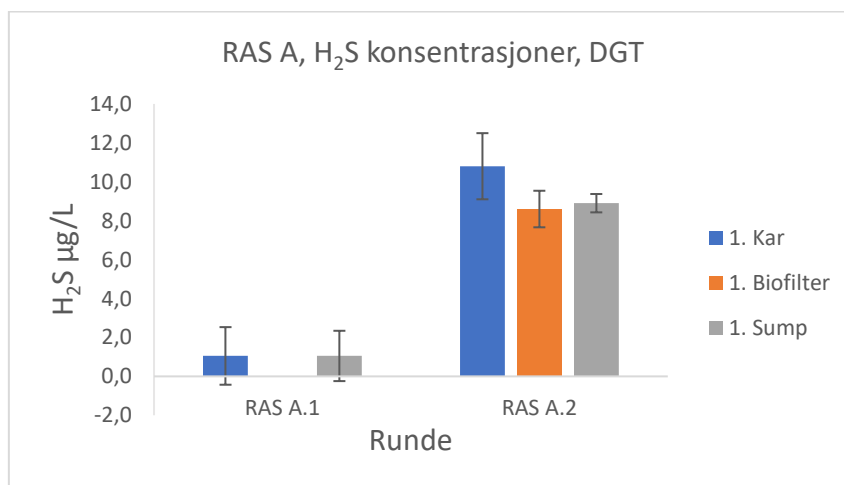
slutten av perioden. Tabellen viser også gjennomsnittlig, hvor mye nytt vann per kilo fôr som ble brukt i måleperioden.

Tabell 2: Gjennomsnittlige produksjonsdata fra måleperiodene på de 5 kommersielle RAS-anlegge. For enkelte anlegg var ikke data tilgjengelig, eller mulig å måle.

DGT	Gjennomsnittlige produksjonsdata for måleperiode på RAS-anlegg A-E							
Anlegg	Temp	Sal ppt	pH	% O2	Redox mV	mg/L NO3-N	Vekt g	L vann/kg fôr
RAS A.1	14,6	16,7	7,20	92,4	293	-	-	-
RAS A.2	14,9	20,6	7,10	85,1	287	-	-	-
RAS B.1	13,4	2,4	6,90	90,0	-	5,6*	50-60	ca. 1000
RAS B.2	11,0	14,2	6,94	90,0	-	-	105-115	ca. 1000
RAS C.1	9,1	1,5	6,95	94,8	-	61,0	160-180	ca. 600
RAS C.2	8,1	1,5	6,94	93,3	-	66,3	175-190	ca. 600
RAS D.1	-	-	-	-	-	-	-	-
RAS E. 1	12,0	0	7,09	96,2	-	6,0	5-6	ca. 2100

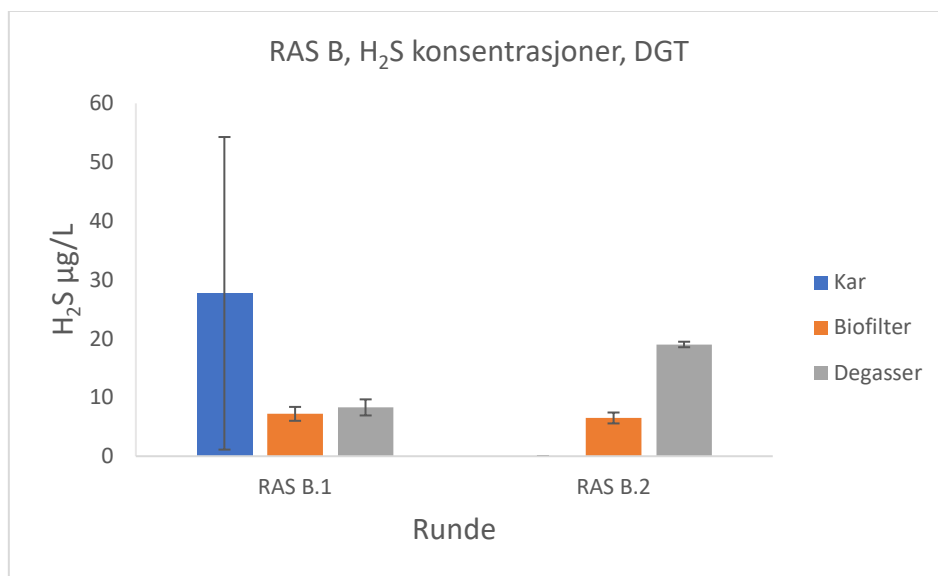
\*Kun en enkel måling tatt i løpet av måleperioden.

Målingene ved RAS A ble utført på samme fiskegruppe, henholdsvis midt under produksjonen og rett før utsett av fisken. DGT ble plassert i bunn av et av karene, i biofilteret og i pumpesump (Figur 6). Første runde ga ingen betydelig H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner, men ved andre runde ble det målt H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner fra 8,6 til 10,8 µg/L. Saliniteten økte fra 16,7 første runde, til 20,6 andre runde, og gjennomsnittlig oksygen og reduksjonspotensiale var noe lavere ved andre runde. Det forelå ikke nøyaktig biomasse og fôringsdata fra dette anlegget, men både biomasse og total fôring var økt fra første til andre runde. Anlegget opererer med et konstant vannskifte, som gjør at vann per kg fôr minker jo mer som fôres.



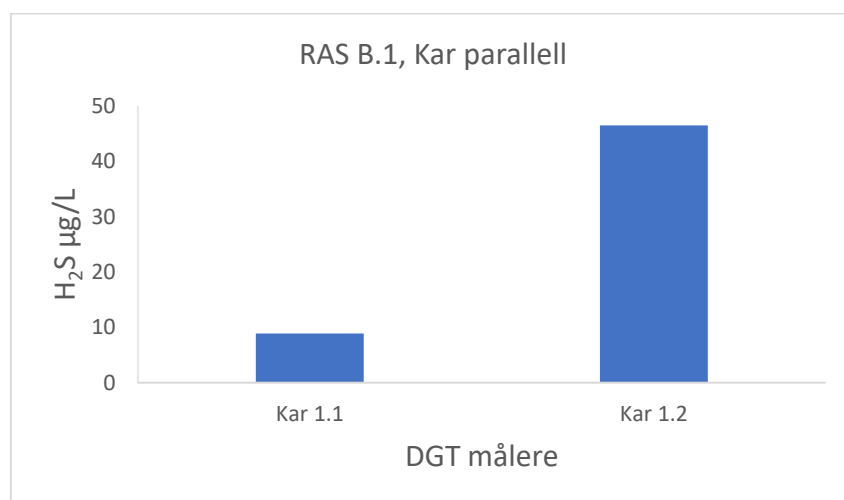
Figur 6: H<sub>2</sub>S-mengde (µg/L) målt i kar, biofilter og pumpesump i RAS A, ved første og andre målerunde.

Ved RAS B, ble målingene utført på to ulike fiskegrupper men i samme RAS (Figur 7). Det ble plassert DGT-målere i kar, etter biofilter og i lufteren, begge runder. Ved første runde var saliniteten på 2,36 og fisken hadde en størrelse på 50-60 gram, mens ved andre runde var saliniteten 14,2 og fisken hadde en størrelse på 105-116 gram. Vannskiftet var likt ved begge runder (1000 liter nytt vann per kg fôr), og begge runder var det utslag på samtlige DGT målere, med unntak i karet ved andre runde. Den målte konsentrasjonen i lufteren var høyere ved andre runde, sammenlignet med første runde, mens det ikke var noen betydelig forskjell i konsentrasjon i biofilteret mellom rundene.



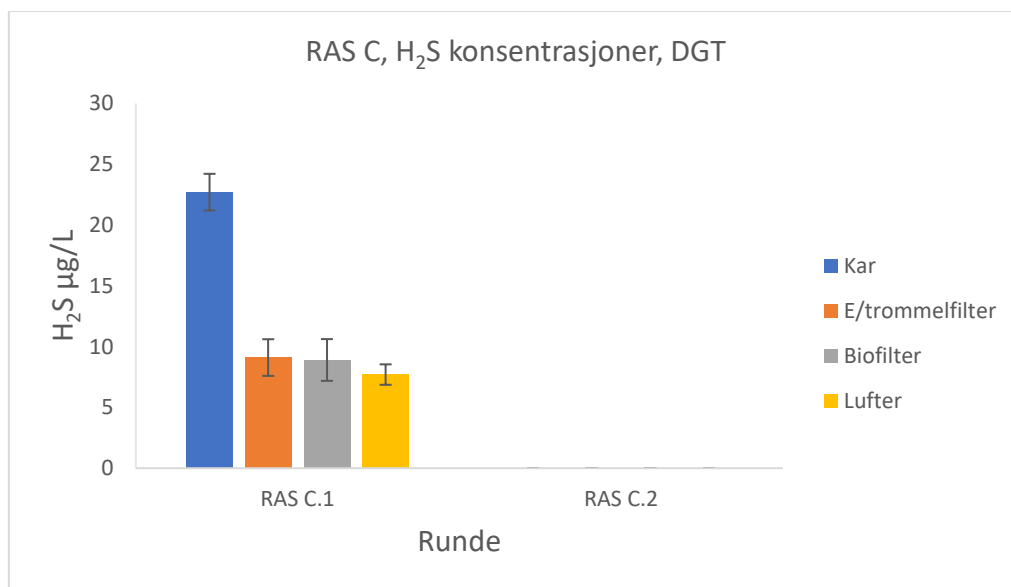
Figur 7: H<sub>2</sub>S-mengde (µg/L) målt i kar, biofilter og lufter, ved første og andre målerunde.

Ved første runde i RAS B var det stor forskjell på de to replikatene plassert i karet (Figur 8). Replikant 1 viste en H<sub>2</sub>S-mengde på 8,9 µg/L, mens replikat 2 viste en mengde på 46,5 µg/l.



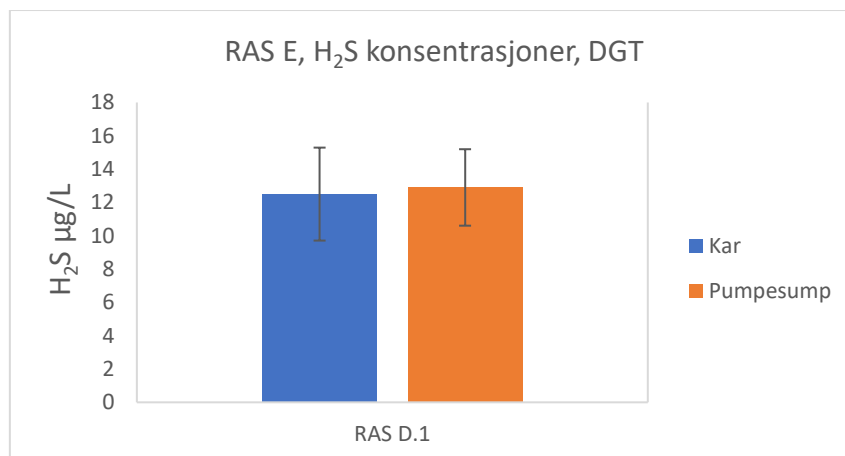
Figur 8: H<sub>2</sub>S-mengden (µg/L) målt av replikatene plassert i kar på RAS B.1.

I RAS C ble det plassert ut DGT i kar, etter trommelfilter, på toppen av biofilter og etter lufteren (Figur 9). Ved første runde, ble det målt H<sub>2</sub>S på samtlige steder. Høyeste konsentrasjon ble målt i kar, på 22,7 µg/L H<sub>2</sub>S, noe som er mer enn dobbelt så mye som konsentrasjonene som ble målt andre steder i systemet. Ved de tre andre plasseringene ble det målt en H<sub>2</sub>S-konsentrasjon på 7,7 til 9,1 µg/L. Under første runde var det 1,5 promille salinitet, 9,0 °C, 61 mg/L nitrat-N og fiskevekt på 160-175 gram. Vannskiftet per kg fôr lå på 600 liter. Andre runde ga ingen utslag på samtlige av målerne som var utplassert. Her ble ikke målerne plassert ut i samme RAS, men i et helt identisk system med samme skala og konfigurasjon.



Figur 9: H<sub>2</sub>S mengde (µg/L) målt i RAS C i kar, trommelfilter, biofilter og lufter.

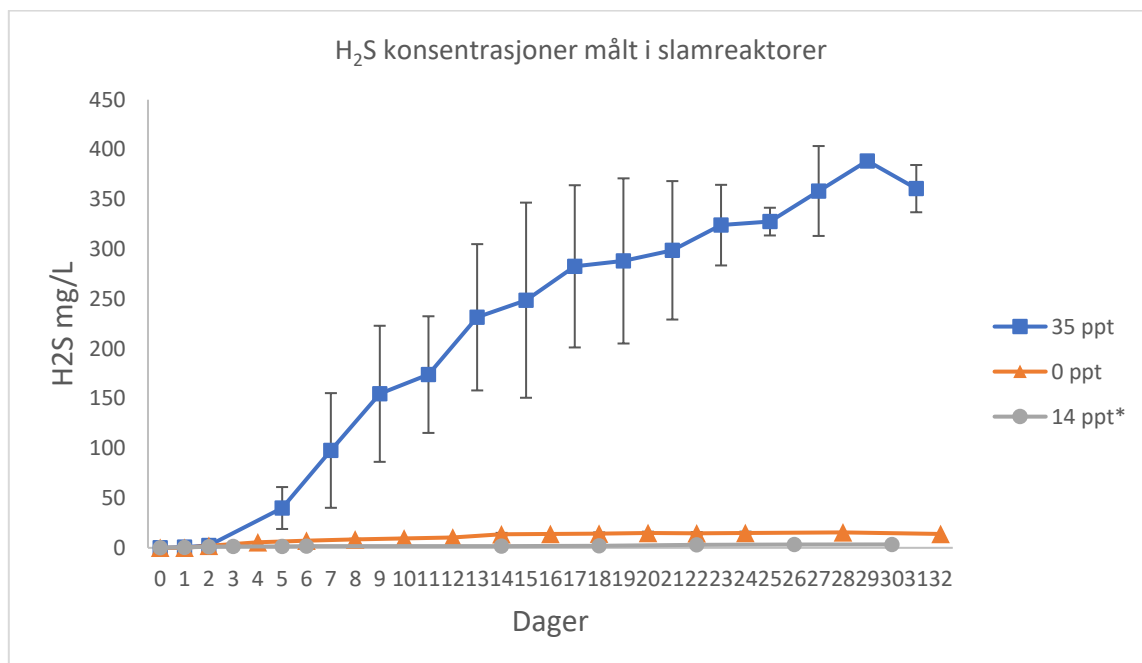
I RAS E ble DGT plassert i bunn av et kar, og i en sensorkum med kontinuerlig flow fra pumpeump (Figur 10). Det ble målt ganske lik mengde på begge målesteder, med 12,5 og 12,9 µg H<sub>2</sub>S per liter.



Figur 10: H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner (µg/L) målt i kar og pumpeump i RAS E.

### 3.2 Labforsøk med slamreaktorer

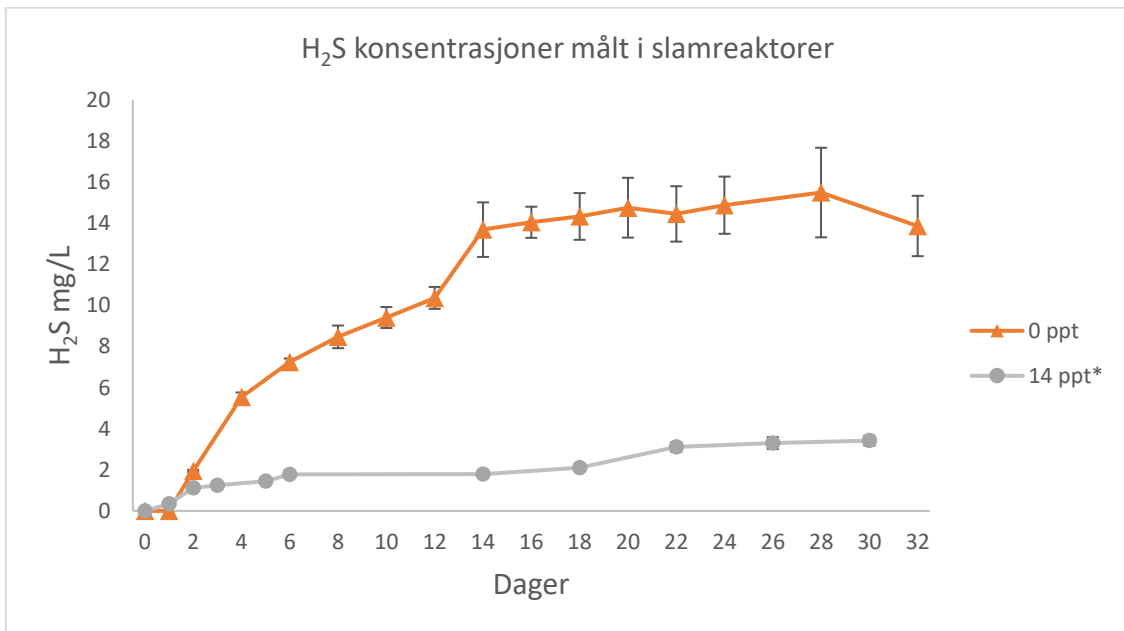
Det ble produsert H<sub>2</sub>S i samtlige reaktorer, men med ulike konsentrasjoner (Figur 11). Det ble tilsatt ca. 21 gram fiskeslam i ferskvann- (0ppt) og sjøvannsreaktorene (35ppt), og ca. 26 gram i brakkvannsreaktoren (14ppt), og fra høyeste H<sub>2</sub>S-konsentrasjon ble det produsert 0,80 mg H<sub>2</sub>S per gram slam i ferskvann, og 20,5 mg H<sub>2</sub>S per gram slam i sjøvann (Tabell 3). Grunnet problemer med prøvene fra brakkvann stemmer ikke konsentrasjonene for disse, men det regnes med at prøvene fra de to første dagene er riktige. H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen i sjøvann viser en rask og tidlig produksjon, og ga utslag på vannprøvene allerede etter dag 1, og ved dag 2 ble det målt konsentrasjoner som regnes som kritiske (Figur 11). Det var stor variasjon mellom alle de tre sjøvannsreplikantene, og de nådde høyeste konsentrasjon ved ulike dager, men ved dag 29 ble høyeste gjennomsnittlige konsentrasjon målt, og deretter minket den. Ferskvann ga mye lavere konsentrasjoner sammenlignet med sjøvann (Figur 12), men ga i likhet med sjøvann, en kritisk H<sub>2</sub>S-konsentrasjon etter 2 dager, noe som kan ses mer nøyaktig på Figur 13. Høyeste konsentrasjon ble nådd ved dag 28 i ferskvannsreaktoren, og deretter minket den. I brakkvann kunne det også måles H<sub>2</sub>S etter første dag (Figur 12), men lavere sammenlignet med sjøvann. Det ble også målt en kritisk konsentrasjon ved dag 2 i brakkvann, men lavere sammenlignet med sjøvann og ferskvann.



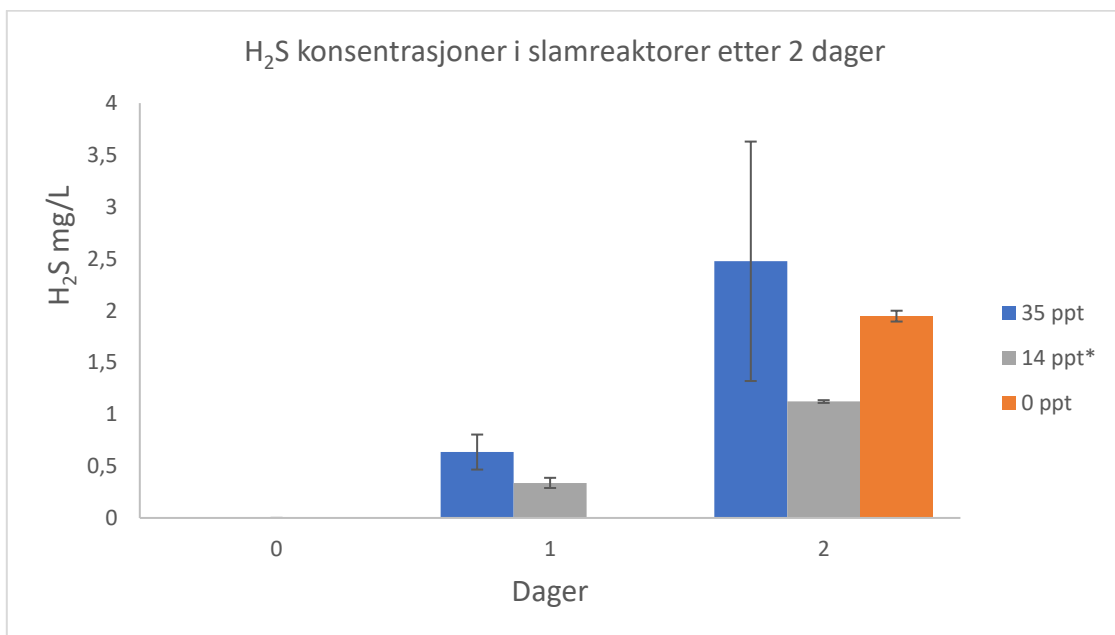
Figur 11: H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen (mg/L) målt i slamreaktorene med salinitet på 35, 14, 0 ppt, over tid.  
\*Konsentrasjonene for 14 ppt er ikke riktige etter dag 2.

Tabell 3: Mengde slam (tørrvekt) (g/L) som ble tilsatt hver slamreaktor, og mg H<sub>2</sub>S/g slam som ble produsert ved høyeste konsentrasjon.

Slamreaktor	Slam tilsatt (g/L) Tørrvekt	mg H <sub>2</sub> S/g slam ved høyeste konsentrasjon
Ferskvann (0ppt)	21,7(±0,6)	0,80(±0,7)
Brakkvann (14ppt)	25,8(±1,3)	-
Sjøvann (35ppt)	21,1(±0,7)	20,5(±0,1)



Figur 12: H<sub>2</sub>S-konsentrasjon (mg/L) i ferskvann og brakkvann reaktorene, over tid. Konsentrasjonene for brakkvann (14ppt) er ikke riktige etter dag 2.



Figur 13: Målte H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner (mg/L) fra reaktorer i Figur 11, etter 2 dager.

### 3.3 Reduksjon av H<sub>2</sub>S med nitrat

Reduksjon av H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen kunne observeres i samtlige replikater, etter tilsetning av 40 mg/L nitrat-N (Tabell 4). H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen på 0,4 mg/L ble redusert til 0,26 mg/L, som betyr en reduksjon på 35%. Det samme kunne observeres i replikatene med høyere H<sub>2</sub>S-konsentrasjon, men disse viste en noe bedre reduksjon. Det så ut til at høyere konsentrasjon av H<sub>2</sub>S, ga en mer effektiv reduksjon da replikatene med 2,25 mg/L H<sub>2</sub>S hadde en reduksjon på 39,6%.

Tabell 4: Reduksjon i H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner 10 minutter etter tilsetning av 40 mg/l NO<sub>3</sub>-N, ved tre ulike konsentrasjoner.

H <sub>2</sub> S mg/l		Etter 10 min
Før nitrat	Etter nitrat (10 min)	% reduksjon
0,40(±0,01)	0,26(±0,26)	35,0(±1,43)
1,92(±0,03)	1,20(±1,20)	37,6(±1,19)
2,25(±0,03)	1,36(±1,36)	39,6(±0,26)

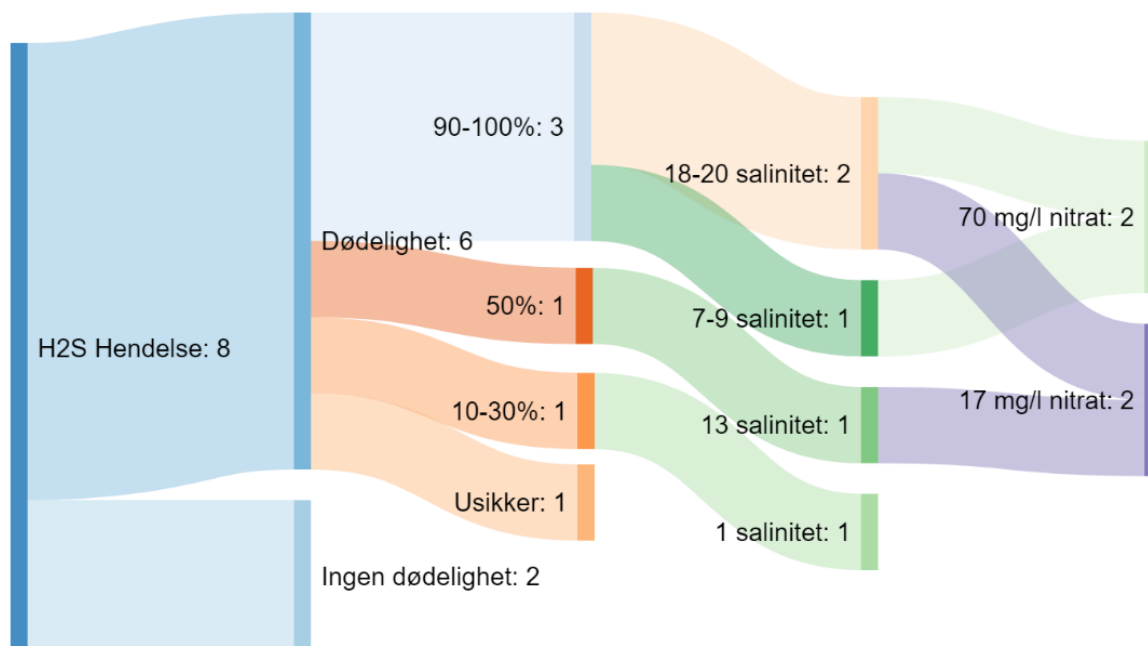
### 3.4 Spørreundersøkelse

Totalt ble 19 svar registrert på spørreundersøkelsen, men en besvarelse hadde ikke RAS-anlegg, og er fjernet fra resultatene. I tillegg ble data fra en spørreundersøkelse gjort i forbindelse med fiskehelse rapporten 2018, brukt med tillatelse fra Veterinærinstituttet og NIVA. I egen spørreundersøkelse ble kun RAS-anlegg spurt, mens i spørreundersøkelse fra fiskehelse rapporten ble 21 RAS-anlegg, og 30 gjennomstrømningsanlegg spurt.

#### 3.4.1 Anlegg med H<sub>2</sub>S-hendelser

Fra egen spørreundersøkelse svarte 10 av anleggene at de ikke hadde opplevd hendelser med H<sub>2</sub>S, mens 8 anlegg har det. Av de 8 anleggene som rapporterte H<sub>2</sub>S-hendelse svarte 6 at de har hatt dødelighet, og 2 svarte at ingen økt eller akutt dødelighet oppstod (Figur 14). Av de 6 som svarte at de har opplevd dødelighet svarte 3 anlegg at 90-100% av fisken døde, ett anlegg svarte at 50% døde, ett anlegg svarte at 10-30% døde, mens ett anlegg ikke kjente til antallet. Dette er visualisert i Figur 14.

Hos de anlegg som hadde dødelighet fra 50-100% (totalt 4 stk.), var saliniteten fra 7 til 20 promille før og etter hendelsen, og pH var fra 6,8 til 7,5. To av de tre anleggene med 90-100% dødelighet, hadde 70 mg nitrat/L ved hendelsen, mens ett hadde 17 mg nitrat/L. Anlegget med 50% dødelighet hadde også 17 mg nitrat/L ved hendelsen.



Figur 14: Fordeling av RAS-anlegg med H<sub>2</sub>S-hendelser med oversikt på hvilken dødelighet som oppstod, samt hvilken salinitet og nitratkonsentrasjon det var i systemet ved hendelsen.

Anleggene med H<sub>2</sub>S-hendelser iverksatte tiltak, fant slam etter hendelsen og observerte flere atferdsendringer på fisken under hendelsen (Tabell 5). Tre av anleggene opplevde at fisken svimte og ble slapp, mens to opplevde at fisken stod høyt i vannet, eller hadde kaotiske bevegelser. Enkelte anlegg rapporterte at fisken svømte på siden, sluttet å spise, eller snappet etter luft. Flere av anleggene fant også slam i vannbehandlingssystemet eller i karet. Tre anlegg fant slam i biofilter, to fant i lufter eller pumpeump. Enkelte anlegg fant slam i vantårn eller under utstyr i karet.

På hvilke tiltak som ble gjort i etterkant av hendelse, svarte tre anlegg at de har innført bedre rutiner for sjekk av dødsoner og vasking. To anlegg svarte de har utført nedvask og fjerning av slam, mens enkelte anlegg svarte at de har bygget om, begynt å bruke ozon eller økt vannhastigheten. Flere svarte at grunnen til at de mistenker H<sub>2</sub>S er fordi de har funnet svart slam, og noen sier at de brukt eliminasjonsmetoden og utelukket andre muligheter.

Tabell 5: Liste over hva RAS-anleggene svarer på spørsmål relatert til H<sub>2</sub>S-hendelser i anlegget, og hvor mange som har svart. N=8.

Tiltak etter H <sub>2</sub> S-hendelse	Antall svart
Innført bedre rutiner for sjekk og vask	3
Nedvask og fjerning av slam	2
Bygget om	1
Bruk av ozon	1
Økt vannhastighet	1



<b>Slam funnet ved H<sub>2</sub>S-hendelse</b>	
Biofilter	3
Luffer	2
Pumpesump	2
Vanntårn	1
Under utstyr i kar	1
<b>Atferdsendringer på fisk ved H<sub>2</sub>S-hendelse</b>	
Svimer/slapp	3
Står høyt i vannet	2
Kaotisk bevegelse	2
Svømming på siden	1
Slutter å spise	1
Snapper etter luft	1
<b>Hvorfor mistenkes H<sub>2</sub>S</b>	
Funn av slam/svart slam	5
Eliminasjon	3
Lukt	2
Oksygen målt til 0%	1

### 3.4.2 Anlegg uten H<sub>2</sub>S-hendelser

Av de 10 anleggene som svarte at de ikke hadde opplevd noen H<sub>2</sub>S-hendelser, ble det oppgitt 9 forskjellige svar (Tabell 6). Tre anlegg svarte at de har fokus på kunnskap og drift eller at de ikke bruker sjøvann. To anlegg svarte at de har fokus på få partikler i vannet eller bruker lite sjøvann. Enkelte anlegg svarte at de alltid har høy flow, rutinemessig vask av biofilter, bruker kun moving bed biofilter reaktor (MBBR), god vannutskiftning eller bruker salsnesfilter.

Tabell 6: Liste over hva RAS-anleggene svarer på hvorfor de tror de ikke har opplevd noen H<sub>2</sub>S-hendelser, og hvor mange som har svart det samme.

<b>Hvorfor ingen H<sub>2</sub>S-problemer?</b>	<b>Antall svart</b>
Fokus på kunnskap og drift	3
Bruker ikke sjøvann	3
Få partikler i vannet	2
Bruker lite sjøvann	2
Alltid høy flow	1
Rutinemessig vask av biofilter	1
Bruker kun MBBR	1
God vannutskiftning	1
Bruker salsnesfilter	1

### 3.4.3 Tiltak mot H<sub>2</sub>S, vask og anleggsdesign

Anleggene nevnte flere ulike tiltak de bruker mot H<sub>2</sub>S, hva de tror er sårbare punkter i anlegget, samt at de måler nitrogenforbindelser, oksygen, CO<sub>2</sub> og temperatur, men ikke H<sub>2</sub>S (Tabell 7). Av tiltakene som ble nevnt, er det fjerning av slam og å unngå sedimenteringssoner som ble

svart av flest, etterfulgt av rutinemessig vasking og tømning av ubrukke rør. Noen anlegg svarte at de ikke bruker sjøvann, eller lite sjøvann, og andre svarte at de alltid har full flow i anlegget og kontroll på nitrat konsentrasjonen i anlegget. Enkelte svarte at de bruker ozon, har kontroll på pH, bruker godt design på anlegget sitt og at de har nitrat i beredskap.

Flere av anleggene tror at ukjente dødsoner er et sårbart punkt når det gjelder H<sub>2</sub>S, noen svarte fixed bed biofilter, og transportrør med ubrukt vann. Det var ingen anlegg som svarte at de måler for H<sub>2</sub>S, sett bort fra ett anlegg, som måler i luft ved vask av biofilter. Få anlegg måler turbiditet, redox og tar bakterieprøver, mens ingen anlegg måler antall partikler i vannet.

De fleste anleggene vasker kar etter hver produksjonssyklus med fisk eller hver gang karet står tomt, flere bruker moving bed biofilter og 500-1000 liter nytt vann per kg fôr, mens det er ulike rutiner på vasking av fixed bed biofilter (Tabell 8).

Tabell 7: Liste over hva RAS-anleggene svarte på om hvilke tiltak de bruker mot H<sub>2</sub>S, hva de tror er sårbare punkter i RAS, om de måler H<sub>2</sub>S og hvilke andre vannparametre de måler.

<b>Sårbare punkter</b>	<b>Antall svart</b>
Ukjente dødsoner	7
Fixed bed	5
Transportrør	5
Trommelfilter	3
Sedimentering i RAS	3
Pumper	1

<b>Tiltak mot H<sub>2</sub>S</b>	<b>Antall svart</b>
Fjerne/støvsuge slam	6
Unngå død-/sedimenteringssoner	5
Rutinemessig vasking	4
Tømning av ubrukke rør	4
Bruke lite sjøvann	3
Alltid full flow i anlegget	3
Ikke bruke sjøvann	3
Kontroll på nitrat	2
Bruk av ozon	1
Kontroll på pH	1
Bruke godt design	1
Nitrat i beredskap	1

<b>Måler H<sub>2</sub>S</b>	
Nei	15
Nei, planlegges	2
Ja, i luft ved biofiltervask	1

<b>Vannprøveparameter</b>	
TAN, Nitritt, Nitrat, CO <sub>2</sub> , O <sub>2</sub> , Temp	18
Alkalinitet	15
Redox	5
Turbiditet	3
Bakterieprøver	1

Tabell 8: Liste over hva RAS-anleggene svarte på hvor ofte de vasker karene, hvilke typer biofilter de har, hvor ofte de vasker fixed bed biofilter og hvilket vannskifte de opererer med.

<b>Vask av kar</b>	<b>Antall svart</b>
Etter hvert innlegg	11
Ved behov	4
Hver gang karet er tomt	11
<b>Biofilter</b>	
Moving bed	17
Fixed bed	10
<b>Vask av fixed bed biofilter</b>	
Hver uke	4
Hver 2. uke	3
Hver 3. uke	3
Hver mnd.	1
Ved behov	3
<b>Vannskifte, nytt vann per kg fôr</b>	
300 liter	1
500-1000 liter	15
Under 100 liter	1

Spørreundersøkelsen viste videre at RAS-anleggene har en alder fra 0 til over 20 år, at det produseres fra 1000-5000 tonn fisk per anlegg, at det brukes flere saliniteter blant anleggene, og at det for det meste er stor smolt som produseres (Tabell 9). Flere av anleggene har flere systemer med ulik alder. Fem oppdrettere svarer at de har to eller flere RAS med ulik alder på sine anlegg. Det var kun to systemer som er over 10 år gamle, mens resten er under 10 år. Av disse, er 14 systemer fra 0-5 år gamle, mens 8 er mellom 5 og 10 år gamle.

Når det gjelder biomasse, så svarte flest anlegg at de har en biomasse på under 1000 tonn, eller mellom 1000-3000 tonn, og at fisken som produseres er opp til 300-500g. De fleste anleggene bruker en salinitet fra 0-3 promille, men det er flere anlegg som har en salinitet opp til 16 promille. Svarene viste at anleggene bruker flere ulike saliniteter i systemene sine.

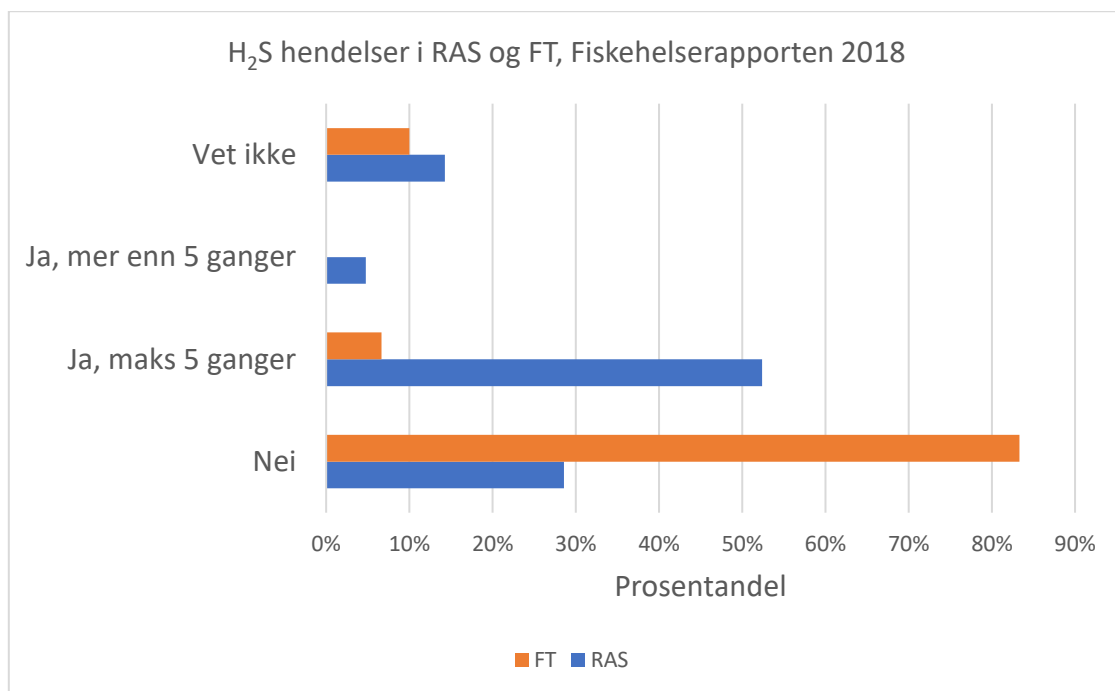
Tabell 9: Liste over alder på RAS hos anleggene, hvor mye biomasse som produseres årlig, hvilke størrelser som produseres og hvilke saliniteter som brukes.

<b>Alder på RAS</b>	<b>Antall svart</b>
0-2 år	8
3-5 år	6
5-10 år	8
10-20 år	1
Over 20 år	1
<b>Biomasse produsert årlig</b>	
Under 1000 tonn	8
1000-3000 tonn	8
3000-5000 tonn	2

<b>Saliniteter brukt i anlegget</b>	
0-3 promille	14
4-9 promille	6
10-16 promille	9
16-25 promille	3
10-15 promille	2
over 25 promille	1
<b>Størrelse fisk produsert</b>	
0 til 100-200g	11
100 til 300-500g	11
0 til 80g	3

### 3.4.4 Spørreundersøkelse fra Fiskehelse rapporten 2018

Data fra spørreundersøkelsen i Fiskehelse rapporten 2018 er gjengitt med tillatelse fra Veterinærinstituttet og NIVA. 21 RAS-anlegg og 30 gjennomstrømningsanlegg (FT), som produserer settefisk i Norge, ble spurt om de har opplevd eller mistenkt H<sub>2</sub>S-hendelser i sitt anlegg (Figur 15). For RAS-anleggene har 28,6% aldri hatt H<sub>2</sub>S-hendelser på sitt anlegg. 57,1% har opplevd eller mistenkt H<sub>2</sub>S, hvor 4,8% har opplevd eller mistenkt det mer enn 5 ganger. For FT er andelen mye lavere. Her har 6,7% opplevd H<sub>2</sub>S maks 5 ganger, mens 83,3% aldri har opplevd, eller mistenkt H<sub>2</sub>S.



Figur 15: Fordeling av RAS-anlegg og gjennomstrømningsanlegg (FT) sine svar på om de har opplevd, eller mistenkt, H<sub>2</sub>S-hendelser på sine anlegg i prosent. RAS N= 21, FT N= 30. Data fra spørreundersøkelsen i Fiskehelse rapporten 2018, gjengitt med tillatelse fra Veterinærinstituttet og NIVA. (Fiskeridirektoratet, 2019).

## 4. Diskusjon

Fra resultatene kan det se ut som H<sub>2</sub>S er synonymt med slam i RAS-anlegg. Det kunne måles H<sub>2</sub>S i små mengder ved flere av anleggene under normal drift, noe som det har vært svært lite kunnskap om tidligere, fordi det er svært få anlegg som måler dette. Ingen anlegg som deltok i undersøkelsen måler H<sub>2</sub>S til vanlig, bortsett fra ett anlegg som måler konsentrasjonen i luft ved vask av biofilter. Dette kan komme av at det ikke har vært gode nok løsninger tilgjengelig på markedet som kan måle lave konsentrasjoner av H<sub>2</sub>S under aktuelle forhold. De passive målerne brukt i denne oppgaven, er også nettopp blitt tilgjengelig fra NIVA. Allikevel virker det som mange av anleggene er klar over problemstillingene rundt slam og H<sub>2</sub>S-produksjon, og tar avgjørelser basert på faren for H<sub>2</sub>S-produksjon som er dødelig for fisken. I slamreaktorene under labforsøket, ble det målt høye konsentrasjoner med H<sub>2</sub>S ved alle saliniteter. Dette viser som forventet at, slam fra laks er i stand til å produsere høye konsentrasjoner av H<sub>2</sub>S, under anaerobe forhold. Nitrat (40 mg/L Nitrat-N) så ut til å redusere konsentrasjonen av H<sub>2</sub>S med 30-40% i et kontrollert labforsøk, men da i en lukket enhet uten vannflow, i motsetning til et RAS-anlegg.

Det mistenkes at H<sub>2</sub>S er ansvarlig for flere store tap hos landbaserte oppdrettsanlegg i Norge de siste årene, men vi vet veldig lite om problemstillingen. Målene med denne oppgaven var å avdekke eventuelle bakgrunnsnivå av H<sub>2</sub>S på RAS-anlegg, analysere H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner ved ulike saliniteter og undersøke hvordan nitrat påvirker H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner for å kunne bruke dette i videre arbeid med å forstå hvordan man kan håndtere og jobbe med H<sub>2</sub>S-problematikk, knyttet til RAS-anlegg.

### 4.1 Bakgrunnsnivåer på RAS-anlegg

Resultatene viste at det er lave, men målbare nivå av H<sub>2</sub>S i kommersielle anlegg med RAS-teknologi. Ser man bort fra de passivmålerne (DGT) som mistenkes å ikke ha virket, så var det utslag på H<sub>2</sub>S i alle anlegg som ble målt i denne oppgaven. Dette kan tyde på at H<sub>2</sub>S-produksjon forekommer mer eller mindre naturlig, men i små mengder under produksjonsforholdene i RAS for laks. De målte H<sub>2</sub>S-mengdene i RAS A, viser at H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen øker med økende biomasse og fôring, og/eller over tid utover i produksjonssyklusen. Dette kan tyde på at H<sub>2</sub>S-produksjonen henger sammen med økende partikkelmengde/slammengde og/eller økende biofilm/biofilmtykkelse, som antas å øke utover i produksjonen.

I RAS B, hvor saliniteten økte fra første til andre runde, ble den målte H<sub>2</sub>S-mengden i lufteren doblet, mens det ikke ble registrert noen stor forskjell i biofilteret. Den økte mengden i lufteren kan potensielt ha vært et resultat av økt salinitet og mer tilgjengelig sulfat, men dette kan ikke fastslås når biofilteret og karet viste lavere og null mengde H<sub>2</sub>S. I RAS C ble det målt dobbelt så mye H<sub>2</sub>S i karet, sammenlignet med de andre målepunktene i systemet. Det kan se ut som det har vært en lokal H<sub>2</sub>S-produksjon i karet, hvor mengden H<sub>2</sub>S er større enn de andre målepunktene i systemet. Det kan også se slik ut i RAS B.1, der mengden målt i karet er høy, men usikker på grunn av stor forskjell på replikatene. Dette kan muligens komme av en kort øket lokal produksjon av H<sub>2</sub>S, som kun har gitt utslag på den ene måleren, eller at biofilm eller partikler har lagt seg på den ene måleren og gitt høyere utslag.

Det understrekes at målingene i dette arbeidet ikke er noen kontinuerlig måling over lengre tid, men heller nærmere et øyeblikksbilde av situasjonen i løpet av en generasjon med fisk som går gjennom anlegget. Det var lavere mengder H<sub>2</sub>S som ble registrert, og ingen av anleggene har rapportert om noen uvanlige hendelser i løpet av perioden målerne har vært utplassert. Likevel er det et viktig funn at man kan registrere små mengder på flere anlegg.

Flere av anleggene bruker ett sted mellom 500 til 1000 liter nytt vann per. kilo fôr tilsatt systemet. Det kan tyde på at dette nivået av resirkulering, gir en svak H<sub>2</sub>S-produksjon og akkumulering, uavhengig av ukontrollerte slamansamlinger eller stillestående vannvolum. Det kan være resultatet av den store totale overflaten i systemet (kar, rør, vannbehandlingskomponenter) der biofilm vokser seg tykkere over tid. De innerste lagene i biofilmen kan være anaerobe og uten nitrat, selv om vannet har tilstrekkelige verdier, fordi både oksygen og nitrat brukes opp fort på vei inn i biofilmen (Yu & Bishop, 1998). Nitratkonsentrasjonen i RAS B.1 var mye lavere enn i RAS C.1, likevel ble det målt H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner i begge systemene. RAS C.1 hadde i tillegg en nitratkonsentrasjon over det som er anbefalt av Højgaard (2017), noe som kan vise at H<sub>2</sub>S-produksjon kan forekomme selv om det er optimale forhold i systemet. Denne bakgrunnsproduksjonen av H<sub>2</sub>S kommer i tillegg til H<sub>2</sub>S som produseres i eventuelle slamansamlinger og stillestående områder i systemet. Forsøkene med slamreaktorene viste at H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen kan øke raskt hvis forholdene er optimale for produksjon av gassen. Det vil derfor være særdeles viktig å ha kontroll over sedimenteringssoner, for å unngå forhold som tillater raskt produksjon av H<sub>2</sub>S, som demonstrert i forsøket med slamreaktorene i denne oppgaven.

## 4.2 Labforsøk

I slamreaktorene oppstod det raskt relativt høye nivåer av  $H_2S$ , og konsentrasjonen økte også raskt i flere av reaktorene. Grunnet problemer med prøvene fra brakkvannsreaktorene, blir ikke resultatene fra disse diskutert i helhet, men det antas at de to første dagene ga korrekte målinger da konsentrasjonen var relativt lav.

Den raskeste og største konsentrasjonsøkningen ble observert i slamreaktorene med fullt sjøvann. Allerede etter 24 timer blir det målt betydelige  $H_2S$ -konsentrasjoner, og ved dag 2 ble det målt en konsentrasjon på 2,47 mg/L som ville vært svært kritisk for fisken. Konsentrasjoner på over 0,95 mg/L i 20 minutter gir betydelige gjelleskader på fisken (Kierner et al., 1995). Høyeste konsentrasjon målt var over 380 mg/L, et nivå som ikke vil være relevant i RAS sammenheng, men det viser potensialet for  $H_2S$ -produksjon i sjøvann. Det er viktig å merke seg at ferskvannsreaktorene, som inneholder mye mindre mengder sulfat enn sjøvann, også nådde en betydelig konsentrasjon av  $H_2S$  med tanke på hva som er giftig for fisk. I likhet med sjøvannsreaktorene, var det etter to dager også blitt produsert en kritisk mengde  $H_2S$  i ferskvann. Det samme kunne observeres i brakkvann, men med en noe mindre konsentrasjon. Det viser at  $H_2S$  kan være like kritisk i ferskvann, som i sjøvann. Dette kan være fordi det er svovelforbindelser i vannet eller fôret som kan omdannes til sulfat (Gadekar et al., 2006), og dermed øke sulfatkonsentrasjonen. Ferskvann brukte tilnærmet like lang tid som sjøvann på å oppnå sin høyeste konsentrasjon, og deretter minket begge konsentrasjonene. Mest sannsynlig fordi alt tilgjengelig sulfat var oppbrukt, og det ikke var mulighet for mer  $H_2S$ -produksjon, siden det antas et overskudd av tilgjengelig organisk materiale i reaktorene. Eller fordi mengden  $H_2S$  som går fra vann til luft, var større enn produksjonen av  $H_2S$ .

Selv om det ble produsert over 20 ganger mer  $H_2S$  per gram slam i sjøvann sammenlignet med ferskvann, så ser det ut til at det kan oppstå problematiske konsentrasjoner på kort tid i begge saliniteter. Likevel viste den store mengden som ble dannet i sjøvann at  $H_2S$ -konsentrasjonen er sterkt avhengig av økt salinitet, som gir økt sulfatkonsentrasjon. Av de anleggene som svarte de opplevde betydelig dødelighet fra  $H_2S$  i spørreundersøkelsen, hadde samtlige salinitet over 7 promille. Dette kan videre støtte påstanden om at større mengder sulfat, som det vil være med økt salinitet, øker potensialet for betydelig  $H_2S$ -produksjon. Det kunne ikke måles  $H_2S$  etter 24 timer i ferskvannreaktorene, men i sjøvann kunne det måles 0,64 mg/L, som viser at mer sulfat øyeblikkelig tilgjengelig gir en raskere dannelse av  $H_2S$ . Det samme kunne observeres i brakkvann der konsentrasjonen ble målt til 0,33 mg/L  $H_2S$  etter 24 timer.

Under reelle forhold i et RAS-anlegg vil det være flere påvirkninger og et mer dynamisk vannmiljø sammenlignet med slamreaktorene, og eventuell H<sub>2</sub>S-produksjon vil mest sannsynlig bli fortynnet i det store vannvolumet som er i bevegelse gjennom anlegget. Men flere dødsoner der partikler kan sedimentere, og en tykk biofilm, kan potensielt til sammen danne betydelige H<sub>2</sub>S-konsentrasjoner og påvirke fisken, noe som trolig vil skje raskere i et anlegg med høyere salinitet. Det ville vært interessant å se hvordan sulfatkonsentrasjonen endret seg i takt med produksjonen av H<sub>2</sub>S, slik at man kan anslå hvor mye sulfat det trengs for å produsere en bestemt mengde H<sub>2</sub>S, samt måle nitratkonsentrasjonen og se hvordan denne blir påvirket over tid. Videre vill det vært også vært interessant å kontinuerlig måle reduksjonspotensialet i slamreaktoren for å se hvordan det blir påvirket.

Resultatene fra reduksjon av H<sub>2</sub>S med nitrat viser at nitrat har en positiv effekt på H<sub>2</sub>S, ved at det blir redusert til sulfat, som vist av Allen, 1949 og Yang et al., 2005. Dette viser at nitrat kan ha en viktig rolle i RAS-anlegg som et tiltak mot H<sub>2</sub>S, og eventuelt bør tilsettes dersom nitratkonsentrasjonen i systemet synker på grunn av redusert fôring eller økt vannskifte. En synkende nitratkonsentrasjon utenom disse tilfellene, kan bety at nitrat blir redusert i anaerob nedbrytning eller ved omdannelse av H<sub>2</sub>S til sulfat (Allen, 1949; Yang et al., 2005). Derfor kan det være nødvendig å overvåke nitratkonsentrasjonen i anlegget nøye, og vurdere tilsetning dersom konsentrasjonen minker unormalt mye. Likevel kan en lokal produksjon av H<sub>2</sub>S potensielt «gå under radaren» der små konsentrasjoner mest sannsynlig ikke vil oppdages i starten, etterfulgt av større og dødelige konsentrasjoner som oppstår etter få dager, som sett i slamreaktorene i denne oppgaven. I sjøvannsreaktorene ble det målt en H<sub>2</sub>S-konsentrasjon på 40 mg/L etter fem dager, som viser hvor kjapt gassen kan produseres i uforstyrrede anaerobe forhold med større mengder sulfat tilgjengelig. Om effekten av tilsatt nitrat vil være stor nok til å redde fisken under et akutt utbrudd av H<sub>2</sub>S i et RAS-anlegg er usikkert, men ved små konsentrasjoner kan tilsetning av nitrat trolig bedre utfallet og gi et bredere handlingsrom for oppdretteren.

### **4.3 Dagens H<sub>2</sub>S-situasjon ved norske RAS-anlegg**

Fra spørreundersøkelsen kan det observeres at mange av RAS-anleggene er relativt sett nye, flere er fra 0-2 år gamle, og at biomassen som produseres er fra under 1000 tonn til 3000 tonn. Dette bekrefter at det er flere nybygg innenfor settefisk med RAS, og at de produserer en betydelig biomasse. Anleggene bruker også økt salinitet i systemene sine, men det skal nevnes at spørreundersøkelsen ikke har kartlagt hvor mange av disse som bruker kunstig sjøvann ved



å tilsette salt, istedenfor å benytte sjøvann. Men det virker som bruk av sjøvann og økt salinitet i slike anlegg er etablert, og er den del av produksjonsstrategien. Resultatene viser også at oppdretterne er klare over farene ved sedimentering og ukjente dødsoner, som gjør at det ser ut som de er kjent med problemstillingen rundt H<sub>2</sub>S. Det nevnes mange tiltak, der de tre oftest svarte innebærer å unngå sedimentering, fjerning av slam og vasking. Samtlige svarte at de måler nitrat, men ikke H<sub>2</sub>S eller partikkelmengde, og få måler turbiditet eller redoxnivå. Det viser at oppdretterne har få indikatorer, tiltak, og målinger på parametere som kan påvirke H<sub>2</sub>S-produksjonen i systemet, annet enn å fjerne slam og måle nitrat. Turbiditetsmålinger eller partikkelmengde kan potensielt avdekke perioder med mye partikler i vannet, og gi mer fokus på å unngå sedimenter, mens en reduksjonsmåler kan avdekke eventuelle dropp i reduksjonspotensialet som kan indikere økt reduksjon i systemet. Allikevel er alle målinger i et stort system ingen garanti, da det potensielt kan oppstå lokal produksjon av H<sub>2</sub>S, som ikke fanges opp av sentrale måleinstrumenter. Selv om samtlige anlegg svarte at de måler nitrat, er det kun to anlegg som svarte at de har kontroll på nitrat som et tiltak mot H<sub>2</sub>S, mens ett anlegg svarte at de har nitrat i beredskap. Det kan vise at fokuset på nitrat er å holde det under anbefalt nivå, og trolig bruke det som en indikator på at nitrogenforbindelsene blir omsatt i biofilteret, og ikke som et verktøy mot H<sub>2</sub>S-produksjon.

Kun ett anlegg svarte at god design av anlegget er et tiltak de benytter. Dette vil trolig være veldig viktig i det videre arbeidet mot H<sub>2</sub>S, da et anleggsdesign som eliminerer faren for ukontrollert sedimentering og dannelse av tykk biofilm, kan være et kritisk punkt for å unngå H<sub>2</sub>S-hendelser i fremtiden. Når man ser på data fra spørreundersøkelsene i denne oppgaven under ett, så har over 50% av RAS-anleggene mistenkt eller hatt hendelser med H<sub>2</sub>S, mens det knapt er rapportert i FT-anlegg. Det kan tyde på at dagens design og drift av RAS-anlegg ikke er optimale og tilrettelagt for å unngå forhold som fremmer produksjon av H<sub>2</sub>S. Det vil også trolig være større designmessige utfordringer hos RAS sammenlignet med FT-anlegg, da resirkulasjonen av vannet fører til utfordringer med vannkvaliteten, og økt belastning av partikler i systemet. Det er hovedsakelig de store partiklene som blir fjernet i RAS-anlegg, mens de mindre partiklene akkumuleres og er vanskeligere å fjerne med mekaniske filtre (Krumins, Ebeling, & Wheaton, 2001; Summerfelt, Hankins, Weber, & Durant, 1997). Det er også vist at det kan oppstå en knusing av større partikler i trommelfiltre (Fernandes, Pedersen, & Pedersen, 2015) og at pumping, noe som skjer kontinuerlig i et RAS-anlegg, kan påvirke størrelsesfordelingen på partiklene (McMillan, Wheaton, Hochheimer, & Soares, 2003). Godt

design og effektiv partikkelhåndtering vil derfor mest sannsynlig være en viktig forsikring mot problemer med H<sub>2</sub>S.

Flere av anleggene svarte at de ikke har hatt problemer med H<sub>2</sub>S, og det oppgis flere ulike svar på hvorfor. Det kan se ut til at fokus på rutiner, drift og kunnskap, samt bruk av lite sjøvann kan være forsikringer mot H<sub>2</sub>S i anleggene. De fleste anleggene svarte også at de har gode vaskerutiner av kar, og fixed bed biofilter. Intervallene på biofiltervask var noe varierende mellom anleggene, men det viser at det er innførte rutiner på vask og kontroll av sedimentering i fixed bed biofiltre. Det kan også se ut til at fokus på å ha få partikler i vannet kan ha en hjelpende effekt på sedimentering og H<sub>2</sub>S-problemer i RAS-anlegg, på bakgrunn av svarene fra spørreundersøkelsen.

## 5. Konklusjon

Det ser ut til å være lave men detekterbare bakgrunnsnivå av H<sub>2</sub>S i kommersielle RAS-anlegg med laks, som øker med tid, salinitet, biomasse og fôring. Det ser også ut som det kan oppstå kritiske mengder H<sub>2</sub>S både ved høy og lav salinitet, men med stor forskjell i høyeste konsentrasjon mellom sjøvann og ferskvann. Den store forskjellen i konsentrasjon viser at H<sub>2</sub>S-produksjonen fra fiske­slam er sterkt avhengig av saliniteten i vannet, da det kan produseres over 20 ganger med H<sub>2</sub>S i sjøvann sammenlignet med ferskvann. Dette kan bety at kontroll på vannkvaliteten, sedimenteringssoner og rutiner for vask svært viktig på slike anlegg, da H<sub>2</sub>S raskt kan oppstå i store mengder fra fiske­slam, både i sjøvann og ferskvann.

Nitrat ser ut til å ha en positiv effekt på H<sub>2</sub>S ved at H<sub>2</sub>S-konsentrasjonen blir redusert etter tilsetning av nitrat, men det er uvisst hvordan eventuell nitrattilsetning vil fungere i praksis på store RAS-anlegg. Fra spørreundersøkelsen viste resultatene at flere oppdrettere har opplevd hendelser på sine RAS-anlegg og at det er en betydelig problemstilling som mange har iverksatt bevisste tiltak mot. Spørreundersøkelsen viste også at partikkelmengde og partikkelfjerning bør være i fokus, da dette hovedsakelig er kilden til anaerobe soner og sedimenter som kan produsere H<sub>2</sub>S. I tillegg til gode driftsrutiner på vask og vedlikehold, vil trolig også godt design på anlegg være viktig for å unngå ukontrollert sedimentering.

Funnene i denne oppgaven kan bidra til å senke risikoen for store tap i RAS-anlegg, ved å øke og dele kunnskapen rundt H<sub>2</sub>S, under slike produksjonsforhold.

## 6. Referanser

- Allen, L. (1949). The effect of nitro-compounds and some other substances on production of hydrogen sulphide by sulphate-reducing bacteria in sewage. *Applied Microbiology*, 12(2), 26-38.
- AquaMS. (2018). Dissolved H<sub>2</sub>S and sulphides measurements. Retrieved from <http://www.aquams.com/submersible-probes/dissolved-h2s/?lang=en>
- Au, D. W. T., Pollino, C. A., Wu, R., Shin, P., Lau, S. T. F., & Tang, J. Y. M. (2004). Chronic effects of suspended solids on gill structure, osmoregulation, growth, and triiodothyronine in juvenile green grouper *Epinephelus coioides*. *Marine Ecology Series*, 266, 255-264. doi:10.3354/meps266255
- Aure, J., Ervik, A., Johannessen, P., & Ordemann, T. (1988). Resipientpåvirkning fra fiskeoppdrett i saltvann. *Fisken og Havet*, 53-87.
- Beardsley, C. W., Krottinger, N. J., & Rigdon, J. H. (1958). Removal of Sewer Odors by Scrubbing with Alkaline Solutions. *Sewage and Industrial Wastes*, 30(2), 220-225.
- Bentzen, G., Smit, A. T., Bennett, D., Webster, N. J., Reinholt, F., Sletholt, E., & Hobsont, J. (1995). Controlled dosing of nitrate for prevention of H<sub>2</sub>S in a sewer network and the effects on the subsequent treatment processes. *Water Science and Technology*, 31(7), 293-302. doi:[https://doi.org/10.1016/0273-1223\(95\)00346-0](https://doi.org/10.1016/0273-1223(95)00346-0)
- Bishop, P., & Bishop, P. (1998). Stratification of microbial metabolic processes and redox potential change in an aerobic biofilm studied using microelectrodes. *Water Science & Technology*, 37(4/5), 195-198. doi:10.1016/S0273-1223(98)00104-8
- Braaten, B., Aure, J., Ervik, A., & Boge, E. (1983). *Pollution problems in Norwegian fish farming*. Retrieved from [https://imr.brage.unit.no/imr-xmlui/bitstream/handle/11250/103766/CM\\_1983\\_F\\_26.pdf?sequence=1](https://imr.brage.unit.no/imr-xmlui/bitstream/handle/11250/103766/CM_1983_F_26.pdf?sequence=1)
- Carpenter, W. T. (1932). Sodium nitrate used to control nuisance. *Water Works Sewerage*, 79, 175-176.
- Dalsgaard, J., & Pedersen, P. B. (2011). Solid and suspended/dissolved waste (N, P, O) from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 313(1), 92-99. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.037>
- 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. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.01.003>
- Davidson, J., Good, C., Williams, C., & Summerfelt, S. T. (2017). Evaluating the chronic effects of nitrate on the health and performance of post-smolt Atlantic salmon *Salmo salar* in freshwater recirculation aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 79, 1-8. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.08.003>
- Dunnette, D. A., Chynoweth, D. P., & Mancy, K. H. (1985). The source of hydrogen sulfide in anoxic sediment. *Water Research*, 19(7), 875-884. doi:10.1016/0043-1354(85)90146-0
- Ebeling, J. M., & Timmons, M. B. (2012). Recirculating aquaculture systems. In Wiley-Blackwell (Ed.), *Aquaculture production systems* (pp. 246-277).
- Egeland, S. (2019). *Hvorfor bryr forsikringselskapene seg om H<sub>2</sub>S?* . Paper presented at the TEKSET 2019, Trondheim. <https://tekset.no/wp-content/uploads/2019/02/PRES-2.2-TEKSET-2019-Hvorfor-bryr-forsikringselskapene-seg-om-H2S-Stine-Egeland-Gjensidige.pdf>
- Fernandes, P., Pedersen, L.-F., & Pedersen, P. B. (2015). Microscreen effects on water quality in replicated recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 65, 17-26. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.10.007>
- Fiskeridepartementet. (2013). Forskrift om tildeling av løyve til havbruk med matfisk av laks, aure og regnbogaure i sjøvann i 2013. *Lovdata, FOR-2013-09-18-1095*.

- Fiskeridepartementet. (2015a). Forskrift om auke av maksimalt tillaten biomasse for løyve til akvakultur med laks, aure og regnbøgeaure i 2015. *Lovdata, FOR-2016-11-15-1330*.
- Fiskeridepartementet. (2015b). Forutsigbar og miljømessig bærekraftig vekst i norsk lakse- og ørretoppdrett. *Meld. St. 16 (2014-2015)*.
- Fiskeridepartementet. (2017). Forskrift om kapasitetsøkning for tillatelser til akvakultur med matfisk i sjø av laks, ørret og regnbueørret i 2017–2018. *Lovdata, FOR-2017-12-20-2397*.
- Fiskeridirektoratet. (2018). Solgt mengde av laks og regnbueørret (matfiskproduksjon). *Nøkkeltall fra Norsk havbruksnæring 2017(1893-6946)*, 14-18.
- Forgan, L. G., & Donald, J. A. (2016). Subchapter 103C - Hydrogen Sulfide. In Y. Takei, H. Ando, & K. Tsutsui (Eds.), *Handbook of Hormones* (pp. 609-e103C-602). San Diego: Academic Press.
- Gadekar, S., Nemati, M., & Hill, G. A. (2006). Batch and continuous biooxidation of sulphide by *Thiomicrospira* sp. CVO: Reaction kinetics and stoichiometry. *Water Research, 40*(12), 2436-2446. doi:<https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.04.007>
- Glover, K. A., Quintela, M., Wennevik, V., Besnier, F., Sørvik, A. G. E., Skaala, Ø., & Krkosek, M. (2012). Three Decades of Farmed Escapees in the Wild: A Spatio-Temporal Analysis of Atlantic Salmon Population Genetic Structure throughout Norway (Genetic Impact of Farmed Escapees). *PLOS One, 7*(8), e43129. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043129>
- Grasshoff, K., Kremling, K., & Erhardt, M. (1999). Determination of hydrogen sulphide. In *Methods of Seawater Analysis* (3 ed., pp. 91-100). Kiel: Wiley-VCH.
- Heukelekian, H. (1943). Effect of the addition of sodium nitrate to sewage on hydrogen sulfide production and BOD reduction. *Sewage Works Journal, 255-261*.
- Hilmarsen, Ø., A. Holte, E., Brendeløkken, H., Høyli, R., & S. Hognes, E. (2018). *Konsekvensanalyse av landbasert oppdrett av laks – matfisk og post-smolt (A21169)*. Retrieved from [https://www.sintef.no/globalassets/upload/fiskeri\\_og\\_havbruk/internasjonalt\\_radgivning/lu\\_kkede\\_anlegg\\_forprosjekt\\_endelig\\_med-endret-tabell.pdf](https://www.sintef.no/globalassets/upload/fiskeri_og_havbruk/internasjonalt_radgivning/lu_kkede_anlegg_forprosjekt_endelig_med-endret-tabell.pdf)
- Hjeltnes, B., B. Jensen, B., Bornø, G., Haukaas, A., & S. Walde, C. (2019). *Fiskehelse rapporten 2018 (6A)*. Retrieved from <https://www.vetinst.no/rapporter-og-publikasjoner/rapporter/2019/fiskehelse rapporten-2018>
- Hjeltnes, B., Bæverfjord, G., Erikson, U., Mortensen, S., Rosten, T., & Østergård, P. (2012). Water quality parameters and potential risk factors related to fish welfare. In VKM (Ed.), *Risk Assessment of Recirculation Systems in Salmonid Hatcheries (09-808-Final ed., pp. 17-25)*: VKM.
- Hvitved-Jacobsen, T., Vollertsen, J., Tanaka, N., Hvitved-Jacobsen, T., Stuetz, R., & Boon, A. (2000). An integrated aerobic/anaerobic approach for prediction of sulfide formation in sewers. *Water Science & Technology, 41*(6), 107-115.
- Højgaard, J. K. (2017). *Mass mortality in RAS – Solved?* Retrieved from Denmark: <http://www.aquacircle.org/images/pdfdokumenter/efterret18/Mass%20mortality%20in%20RAS%20Solved-final.pdf>
- Iversen, A., Hermansen, Ø., Andreassen, O., K. Brandvik, R., Marthinussen, A., & Nystøyl, R. (2015). Kostnadsdrivere og modellerte enhetskostnader. In Nofima (Ed.), *Kostnadsdrivere i lakseoppdrett* (pp. 11-28): Nofima.
- Iversen, A., Hermansen, Ø., Nystøyl, R., Marthinussen, A., & Harshol, L. D. (2018). Økte smoltkostander. In Nofima (Ed.), *Kostnadsdrivere i oppdrett 2018, fokus på smolt og kapitalbinding* (pp. 5-14): Nofima.
- Jørgensen, B. B. (1982). Mineralization of organic matter in the sea bed—the role of sulphate reduction. *Nature, 296*(5858), 644.
- Kiemer, M. C. B., Black, K. D., Lussot, D., Bullock, A. M., & Ezzi, I. (1995). The effects of chronic and acute exposure to hydrogen sulphide on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture, 135*(4), 311-327. doi:[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01025-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01025-4)
- Kolarevic, J., Bæverfjord, G., Takle, H., Ytteborg, E., Reiten, B. K. M., Nergård, S., & Terjesen, B. F. (2014). Performance and welfare of Atlantic salmon smolt reared in recirculating or flow

- through aquaculture systems. *Aquaculture*, 432, 15-25.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.033>
- Krumins, V., Ebeling, J. M., & Wheaton, F. (2001). Ozone's effects on power-law particle size distribution in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 25(1), 13-24.  
doi:[https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00064-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00064-4)
- Lekang, O. I. (2013). Ammonia Removal, Traditional Recirculation and Water Re-use Systems. In Wiley (Ed.), *Aquaculture engineering, second edition* (2 ed., pp. 179-189, 190-200).
- Manahan, S. E. (1994). Aquatic microbial biochemistry. In *Environmental Chemistry* (pp. 139-178, 681-682): Lewis publishers.
- McMillan, J. D., Wheaton, F. W., Hochheimer, J. N., & Soares, J. (2003). Pumping effect on particle sizes in a recirculating aquaculture system. *Aquacultural Engineering*, 27(1), 53-59.  
doi:[https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(02\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(02)00038-9)
- Morris, A. W., & Riley, J. P. (1966). The bromide/chlorinity and sulphate/chlorinity ratio in sea water. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, 13(4), 699-705.  
doi:[https://doi.org/10.1016/0011-7471\(66\)90601-2](https://doi.org/10.1016/0011-7471(66)90601-2)
- Mota, V. C., Nilsen, O. N., Gerwins, J., Gallo, M., Ytteborg, E., Baevefjord, G., Kolarevic, J., Summerfelt, S. T., & Terjesen, B. F. (2019). The effects of carbon dioxide on growth performance, welfare, and health of Atlantic salmon post-smolt (*Salmo salar*) in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture*, 498, 578-586.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.075>
- Muyzer, G., & Stams, A. J. (2008). The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature reviews microbiology*, 6(6), 441.
- NRVA. (2018). *Gjennomsnittsverdier for råvann (Glomma), forsyningsvann og nettvann*. Retrieved from <http://www.nrva.no/images/pdf/publikasjoner/Gj.sn-verdier-2018.pdf>
- Parande, A. K., Ramsamy, P. L., Ethirajan, S., Rao, C. R. K., & Palanisamy, N. (2006). Deterioration of reinforced concrete in sewer environments. *Proceedings of the Institution of Civil Engineers: Municipal Engineer*, 159(1), 11-20. doi:10.1680/muen.2006.159.1.11
- Pedersen, P. B., von Ahnen, M., Fernandes, P., Naas, C., Pedersen, L.-F., & Dalsgaard, J. (2017). Particle surface area and bacterial activity in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 78, 18-23. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.04.005>
- Poduska, R. A., & Anderson, B. (1981). Successful storage lagoon odor control. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 299-310.
- Reiffenstein, R., Hulbert, W. C., & Roth, S. H. (1992). Toxicology of hydrogen sulfide. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 32(1), 109-134.
- Reynolds, F. A., & Haines, T. A. (1980). Effects of chronic exposure to hydrogen sulphide on newly hatched brown trout *Salmo trutta* L. *Environmental Pollution*, 22(1), 11-17.  
doi:[https://doi.org/10.1016/0143-1471\(80\)90077-X](https://doi.org/10.1016/0143-1471(80)90077-X)
- Smith Jr, L. L., Oseid, D. M., Kimball, G. L., & El-Kandelgy, S. M. (1976). Toxicity of hydrogen sulfide to various life history stages of bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Transactions of the American Fisheries Society*, 105(3), 442-449.
- Smith, L. L. (1976). Goldfish, Rainbow trout. In *Effect of hydrogen sulfide on fish and invertebrates* (pp. 72-101, 176-197): US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development.
- Summerfelt, S. T., Hankins, J. A., Weber, A. L., & Durant, M. D. (1997). Ozonation of a recirculating rainbow trout culture system II. Effects on microscreen filtration and water quality. *Aquaculture*, 158(1), 57-67. doi:[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00064-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00064-1)
- Sørgård, E. (2019). *Konstruksjonsmessige utfordringer kan få store konsener styreleder Erik Sørgård Nordnorsk smolt*. Paper presented at the TEKSET 2019, Trondheim. <https://tekset.no/wp-content/uploads/2019/02/PRES-2.1-TEKSET-2019-Konstruksjonsmessige-utfordringer-kan-f%C3%A5-store-konsener-styreleder-Erik-S%C3%B8rg%C3%A5rd-Nordnorsk-smolt.pdf>

- Teasdale, P. R., Hayward, S., & Davison, W. (1999). In situ, high-resolution measurement of dissolved sulfide using diffusive gradients in thin films with computer-imaging densitometry. *Analytical chemistry*, 71(11), 2186-2191.
- Terjesen, B. F., Summerfelt, S. T., Nerland, S., Ulgenes, Y., Fjæra, S. O., Megård Reiten, B. K., Selset, R., Kolarevic, J., Brunsvik, P., Bæverfjord, G., Takle, H., Kittelsen, A. H., & Åsgård, T. (2013). Design, dimensioning, and performance of a research facility for studies on the requirements of fish in RAS environments. *Aquacultural Engineering*, 54, 49-63. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.11.002>
- UNEP Water, G. (1987). Gems water data summary report 1982-1984. *Canada Center Inland Waters, Burlington, Ont.*
- Westin, D. T. (1974). Nitrate and Nitrite Toxicity to Salmonoid Fishes. *The Progressive Fish-Culturist banner*, 36(2), 86-89.
- Yang, W., Vollertsen, J., Hvitved-Jacobsen, T., Yang, W., & Matos, J. (2005). Anoxic sulfide oxidation in wastewater of sewer networks. *Water Science & Technology*, 52(3), 191-199.
- Yongsiri, C., Hvitved-Jacobsen, T., Vollertsen, J., Tanaka, N., Yongsiri, C., Bertrand-Krajewski, J., & Chebbo, G. (2003). Introducing the emission process of hydrogen sulfide to a sewer process model (WATS). *Water Science & Technology*, 47(4), 85-92.
- Yu, T., & Bishop, P. L. (1998). Stratification of microbial metabolic processes and redox potential change in an aerobic biofilm studied using microelectrodes. *Water Science and Technology*, 37(4), 195-198. doi:[https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(98\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(98)00104-8)
- Zhang, L., De Schryver, P., De Gussemme, B., De Muynck, W., Boon, N., & Verstraete, W. (2008). Chemical and biological technologies for hydrogen sulfide emission control in sewer systems: A review. *Water Research*, 42(1), 1-12. doi:<https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.07.013>
- Åtland, Å., & K. Stenberg, S. (2019). Vannkvalitet. In Veterinærinstituttet (Ed.), *Fiskehelserapporten 2018* (pp. 96-99): Veterinærinstituttet.

## Appendiks 1 – Spørsmål fra spørreundersøkelse

Spørsmål	Antall svar
Totalt karvolum på anlegget?	17
Hvilken fisk produseres?	18
Størrelse på produsert fisk i RAS?	18
Hvor mye fisk produseres totalt på anlegget i året?	18
Hvor mye nytt vann brukes i timen inn til RAS-anlegget?	15
Hvor lenge står fisken i RAS-avdelingen?	18
Hvor ofte vaskes avdeling og kar?	18
Hvilken RAS leverandør har levert systemet?	18
Alder på anlegget? Huk av flere ved avdelinger med ulik alder	18
Hvilket type biofilter? Huk av flere ved behov	18
Har RAS systemet denitrifisering?	18
Vannskifte, nytt vann per kg fôr?	17
Vanlig salinitet i anlegget?	18
Hovedfôrleverandør?	18
Hvor ofte "vaskes" biofilter/tømmes for slam? (For deg med fixed bed)	12
Hvor ofte tas vannprøver vanligvis?	18
Hvilke vannparameter måles det vanligvis på?	18
Måler dere for H <sub>2</sub> S?	18
Hvilke tiltak brukes, eller planlegges mot H <sub>2</sub> S?	18
Hvor er de mest sårbare punktene i anlegget? Hva er mest kritisk?	16
Har du hatt hendelser, problemer eller mistenkt H <sub>2</sub> S?	18
Har du hatt plutselige hendelser med akutt dødelighet av fisk, knyttet til H <sub>2</sub> S?	8
Hvor stor andel av fisken i det aktuelle RAS systemet døde?	6
Hvilke tiltak ble gjort? Hva funket og hva funket ikke?	5
Hendelser med redusert fiskehelse eller økt dødelighet, knyttet til H <sub>2</sub> S?	8
Hvilke atferdsendringer på fisken?	6
Salinitets nivå før og etter hendelsen?	5
pH nivå før og etter hendelsen?	5
Nitrat nivå før og etter hendelsen?	4
Noen andre uvanlige målinger?	4
Hvorfor mistenkes H <sub>2</sub> S?	7
Hvor ble slam funnet?	6
Noen håndteringer gjort i forkant av hendelsen?	6
Hva tror du grunnen til du ikke har problemer med H <sub>2</sub> S?	10
Noe du vil legge til?	3



