

# **Undersøgelse af eventuelle miljøpåvirkninger ved anvendelse af hjælpestoffer og medicin i ferskvandsdambrug samt metoder til at reducere/eliminere sådanne påvirkninger**

Af

Ole Sortkjær

*Danmarks Miljøundersøgelser (Redaktør)*

Per Bovbjerg

Svend J. Steinfeldt

*Danmarks Fiskeriundersøgelser*

Morten S. Bruun

*Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole*

Inger Dalsgaard

*Danmarks Fiskeriundersøgelser*

Peder Nielsen

Per Aarup

*Dansk Dambrugerforening*

April 2000

# Indhold

<b>1</b>	<b>Indledning</b>	<b>7</b>
1.2	Baggrund	8
1.3	Miljøkvalitetskriterier	10
1.4	Forbrug af medicin og hjælpestoffer i perioden 1996 – 98	12
<b>2</b>	<b>Litteratursøgning</b>	<b>15</b>
2.1	En vurdering af databaselitteraturen	15
2.2	On-line søgning	17
2.3	Fordeling af artikler om hjælpestoffer efter emne	19
<b>3</b>	<b>Simpel model</b>	<b>21</b>
3.1	Et modeldambrug	21
3.2	Dimensioneringen af et fældningsbassin	22
3.3	Koncentrationsberegning i damme, bagkanal og fældningsbassin	22
3.4	Koncentration i vandløbet	25
3.5	Koncentrationsberegning når flere damme behandles samtidigt	25
3.6	Koncentrationsberegning når bagkanalen behandles	26
3.7	Betydningen af opblandingsgraden i bagkanalen	26
3.8	Betydningen af vandets opholdstid	27
3.9	Stofomsætning	28
3.10	Konklusion	28
<b>4</b>	<b>Videreudvikling af fortydningsmodeller til beregning af koncentrationer ved ændrede forudsætninger, eksempelvis ved recirkulering af vandet</b>	<b>31</b>
4.1	Dambrugs type I	31
4.2	Dambrugsmodel type II	41
<b>5</b>	<b>Formalin (Formaldehyd)</b>	<b>51</b>
5.1	Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af formalin på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer, der er aktuelle	51
5.2	Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning af de pågældende stoffer	54
5.3	Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen	58
5.4	Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningsstørrelse	59
5.5	Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer, der kan have indflydelse på denne	59
5.6	Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger	60
5.7	Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering	

- af udledning til miljøet 60
- 5.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 60
- 5.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen 60
- 5.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 5.9 resulterende udledninger 62
- 5.11 Anbefalinger vedrørende doseringspraksis 63
- 5.12 Konklusion vedr. formalin, herunder behov for ny viden 63

## **6 Kloramin-T 67**

- 6.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af kloramin-T på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer, der er aktuelle 67
- 6.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning 68
- 6.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 74
- 6.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse 75
- 6.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer, der kan have indflydelse på denne 75
- 6.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 76
- 6.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 77
- 6.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 77
- 6.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen 78
- 6.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 6.9 resulterende udledninger 79
- 6.11 Anbefalinger vedrørende doseringspraksis 80
- 6.12 Konklusion vedr. kloramin-T, herunder behov for ny viden 80

## **7 Kaliumpermanganat, $\text{KmnO}_4$**

- 7.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af kaliumpermanganat på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer, der er aktuelle 87
- 7.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning af de pågældende stoffer 87
- 7.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 88
- 7.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse 88
- 7.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer, der kan have indflydelse på denne 88
- 7.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 89

- 7.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 89
- 7.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 89
- 7.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen 90
- 7.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 7.9 resulterende udledninger 91
- 7.11 Anbefalinger vedrørende doseringspraksis 92
- 7.12 Konklusion vedr. kaliumpermanganat, herunder behov for ny viden 92

## **8 Hydrogenperoxid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

- 8.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af hydrogenperoxid på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer, der er aktuelle 95
- 8.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning af de pågældende stoffer 99
- 8.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 103
- 8.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse 104
- 8.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer, der kan have indflydelse på denne 104
- 8.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 104
- 8.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 104
- 8.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 105
- 8.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen 105
- 8.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 8.9 resulterende udledninger 106
- 8.11 Anbefalinger vedrørende doseringspraksis 107
- 8.12 Konklusion, herunder behov for ny viden 107

## **9 Kobbersulfat (Blåsten) og Kobberklorid 111**

- 9.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af kobbersulfat på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer, der er aktuelle 111
- 9.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning af de pågældende stoffer 112
- 9.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 119
- 9.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse 120
- 9.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer, der kan have indflydelse på denne 121
- 9.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige rense-

- foranstaltninger 121
- 9.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 122
- 9.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 122
- 9.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen 123
- 9.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 9.9 resulterende udledninger 125
- 9.11 anbefalinger vedrørende doseringspraksis 125
- 9.12 Konklusion vedr. kobbersulfat, herunder behov for ny viden 125

## **10 Jodofor 131**

- 10.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug 131
- 10.2 Effekter på organismer og økosystemer 131
- 10.3 Konklusion 132

## **11 Tribriksen 133**

### **11.1 Trimethoprim 133**

- 11.1.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug 133
- 11.1.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter 133
- 11.1.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 134
- 11.1.4 Status for omfanget af bundfældningen 134
- 11.1.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug 134
- 11.1.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 134
- 11.1.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 134
- 11.1.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 134
- 11.1.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger 134
- 11.1.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens 134
- 11.1.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt 135

### **11.2 Sulfadiazin 135**

- 11.2.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug 135
- 11.2.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter 136
- 11.2.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 136
- 11.2.4 Status for omfanget af bundfældningen 136
- 11.2.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug 136
- 11.2.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 137
- 11.2.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 137
- 11.2.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 137
- 11.2.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger 137
- 11.2.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens 138

- 11.2.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt 139

## **12 Oxolinsyre 141**

- 12.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug 141
- 12.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter 141
- 12.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 142
- 12.4 Status for omfanget af bundfældningen 142
- 12.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug 142
- 12.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 143
- 12.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 143
- 12.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 143
- 12.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger 143
- 12.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens 144
- 12.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt 145

## **13 Oxytetracyclin 149**

- 13.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug 149
- 13.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter 150
- 13.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 150
- 13.4 Status for omfanget af bundfældningen 151
- 13.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug 151
- 13.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 152
- 13.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 153
- 13.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 153
- 13.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger 153
- 13.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens 154
- 13.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt 156

## **14 Amoxicillin 159**

- 14.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug 159
- 14.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter 159
- 14.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 160
- 14.4 Status for omfanget af bundfældningen 160
- 14.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug 160
- 14.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 161

- 14.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 161
- 14.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 161
- 14.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger 161
- 14.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens 162
- 14.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt 162

## **15 Florfenicol**

- 15.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug 165
- 15.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter 165
- 15.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 166
- 15.4 Status for omfanget af bundfældning 166
- 15.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug 166
- 15.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger 166
- 15.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 166
- 15.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug 166
- 15.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger 167
- 15.11 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens 167
- 15.12 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt 168

## **16 Chlorbutanol 171**

- 16.1 Effekter på organismer og økosystemer 171
- 16.2 Konklusion 171

## **17 Benzocain 173**

- 17.1 Effekter på organismer og økosystemer 173
- 17.2 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen 174
- 17.3 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 174

## **18 Immunostimulerende stoffer 175**

- 18.1 Vacciner 175
- 18.2 Konklusion 175

## **19 Probiotika 177**

- 19.1 Anvendelse af probiotika i akvakultur 177
- 19.2 Økologiske effekter på organismer og økosystemer 178
- 19.3 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet 178

## **20 Konklusion 181**

- 20.1 Litteraturindsamling 181
- 20.2 Modeller 181
- 20.3 Hjælpestoffer 182

- 20.4 Lægemidler 187
- 20.5 Forslag til videnopbygning 192

**Bilag 197**



# 1 Indledning

Af Per Bovbjerg og Peder Nielsen

## Forord

Projektet "Undersøgelse af eventuelle miljøpåvirkninger ved anvendelse af hjælpestoffer og medicin i ferskvandsdambrug samt metoder til at reducere/eliminere sådanne påvirkninger" er udført i et samarbejde mellem følgende institutioner og organisationer:

- Dansk Dambrugerforening (Peder Nielsen og Per Aarup Jensen)
- Danmarks Miljøundersøgelser, Afdeling for Vandløbsøkologi (Ole Sortkjær)
- Danmarks Fiskeriundersøgelser, Institut for Fiskebiologi (Per Bovbjerg Pedersen og Svend J. Steinfeldt)
- Danmarks Fiskeriundersøgelser, Institut for Hav- og Kystøkologi,
- Fiskepatologisk Laboratorium (Inger Dalsgaard)
- Den Kongelige Veterinær- og Landbohøjskole, Institut for Veterinær Mikrobiologi, Laboratorium for Fiskesygdomme (Morten S. Bruun)

Til projektet har endvidere været tilknyttet en følgegruppe med følgende sammensætning:

### Formand

Peder Nielsen, Dansk Dambrugerforening

### Øvrige medlemmer

Lars Herfort, Skov- og Naturstyrelsen  
Viggo Hørlyck, Foderfabrikantforeningen  
Lars Diernæs, Strukturdirektoratet  
Leif Løkke Nielsen, Amtsrådsforeningen  
Torsten Ostefeld, Amtsrådsforeningen  
Ole Grønberg, Aalborg Universitet  
Jens Ole Frier, Aalborg Universitet  
Henrik Korsholm, Fødevaredirektoratet  
Preben Olsen, Fødevaredirektoratet

Finansieringen af projektet er sket ved tilsagn fra Strukturdirektoratet om finansiering via tilskud dels fra Europakommissionen i medfør af RFO 3699/93 og dels fra den danske stat i medfør af bekendtgørelse 113771996.

## 1.2 Baggrund

*Lovgivningsmæssigt krav om, at alle dambrug i den nærmeste fremtid skal behandles i henhold til miljøbeskyttelseslovens godkendelsesbestemmelser*

I fiskeproduktion anvendes medicin og hjælpestoffer til sygdomsbehandling (mod bakterier, parasitter m.v.) og desinfektion af udstyr etc. Der har i den senere tid været debat om eventuelle miljømæssige effekter af denne anvendelse. Denne debat bunder dels i et lovgivningsmæssigt krav om, at alle dambrug i den nærmeste fremtid skal behandles i henhold til miljøbeskyttelseslovens godkendelsesbestemmelser (lovens kap. 5) samt manglen på eksakt viden om de miljømæssige konsekvenser ved brugen af disse stoffer på dambrug.

*Recipientmyndigheden skal fastsætte kvalitetskrav for vandløbene, samt evt. driftsvilkår der sikrer, at de opstillede kvalitetskrav kan overholdes*

Ved behandlingen af ansøgninger om godkendelse efter miljøbeskyttelseslovens kapitel 5 skal godkendelsesmyndigheden endvidere forholde sig til Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 921 af 8. oktober 1996 vedrørende kvalitetskrav til vandområder og krav til udledning af visse farlige stoffer. Bekendtgørelsen bestemmer bl.a. at recipientmyndigheden skal fastsætte kvalitetskrav for vandløbene samt evt. driftsvilkår der sikrer, at de opstillede kvalitetskrav kan overholdes.

Brugen af hjælpestoffer og medicin giver særlige problemer i akvakultur sammenlignet med anvendelsen i traditionelt jordbrug, idet dambrugsopdræt foregår i direkte tilknytning til vandløb i modsætning til landbrugsarealer, hvor de dyrkede områder betragtes som værende produktionsarealer.

Der var i 1997 registreret 433 ferskvandsdambrug i drift i Danmark (Miljøstyrelsen, 1998). Den samlede produktion var i 1998 på 33.445 tons fisk (årlige indberetninger til amterne, 1999).

Produktionen foregår hovedsageligt i traditionelle jorddamme med gennemstrømmende vand. Typisk forefindes vandindtaget ved et stemmeværk, hvor den nødvendige trykhøjde til vandets gennemløb af dambruget genereres. Vandet løber via en fødekanal ind i de enkelte damme og forlader dammene gennem munke, hvorefter det føres via en bagkanal til et lovbealet bundfældningsanlæg, hvorfra vandet ledes tilbage til vandløbet.

Kravene til bundfældningsanlægget er fastlagt i bekendtgørelse om ferskvandsdambrug (Miljø- og Energiministeriet nr. 204, 1998), herunder bl.a. at opholdstiden som minimum skal være 25 minutter, at vandhastigheden ikke må overskride  $2,5 \text{ cm s}^{-1}$ , at der skal etableres slamsump i området nærmest indløbet og at der skal ske regelmæssig oprensning.

*Ifølge Dansk Dambrugerforening anvender ca. 15 % af dambrugene mikrosigter og 3 % anvender både mikrosigter og biofiltre*

Mange dambrug har etableret yderligere renseforanstaltninger. Ifølge Dansk Dambrugerforening anvender ca. 15 % af dambrugene mikrosigter og 3 % anvender både mikrosigter og biofiltre. Disse tal er stigende. Omkring 40 dambrug har etableret betondamme til produktionen og 10 dambrug anvender cirkeldamme (Danmarks Fiskeriundersøgelser, 1997).

Mere intensive produktionsformer findes også, herunder i en betydelig del af yngelanlæggene, hvor der er etableret recirkulering via biofiltre med henblik på øget kontrol med især temperaturen.

*I bundfældningsanlægget såvel som i damme og kanaler sker der en bundfældning og nedbrydning af organisk materiale*

I bundfældningsanlægget såvel som i damme og kanaler sker der en bundfældning og en omsætning/nedbrydning af organisk materiale, herunder også af hjælpestoffer og medicin. Ligeledes bidrager fjernelse/omsætning af hjælpestoffer og medicin i de mekaniske og biologiske renseforanstaltninger til at reducere udledningen. Afhængig af størrelsen af denne interne reduktion, vil øget recirkulering medvirke til en yderligere reduktion i udledningens størrelse.

## 1.2 Miljøgodkendelser

Indførelsen af dambrugsbekendtgørelsen i 1989 skete med henblik på en ensartet regulering af dambrugserhvervet landet over. Dambrugsbekendtgørelsen havde som overordnet reguleringsmetode at lægge loft over produktionen, idet man frygtede en øget miljøbelastning i konsekvens af et stigende foderforbrug.

*En godkendelse efter miljøbeskyttelseslovens kapitel 5 skal tage udgangspunkt i den konkrete ansøgning*

Samtlige ferskvandsdambrug skulle ved udgangen af 1998 have indsendt en ansøgning om kapitel 5-godkendelse af dambruget. En godkendelse efter miljøbeskyttelseslovens kapitel 5 skal tage udgangspunkt i den konkrete ansøgning og ikke i generelle betragtninger, som reguleringen efter dambrugsbekendtgørelsen var baseret på.

*En ansøgning kræver en redegørelse for type og mængde af medicin og hjælpestoffer der anvendes*

En ansøgning om kapitel 5-godkendelse kræver bl.a. en redegørelse for type og mængde af medicin og hjælpestoffer der anvendes, ligesom der skal redegøres for de mulige miljøtoksiske effekter. Hvor den hidtidige praksis har været, at hjælpestoffer blev anvendt efter behov og medicin anvendt efter konsultation med dyrlæge, er der nu i forbindelse med disse kapitel 5-ansøgninger opstået problemer med at godkende anvendelsen. Dette skyldes, at miljølovgivningen generelt ikke tillader udledning af miljøfremmede stoffer til vandløb, ligesom de mulige miljøtoksiske effekter af stofferne ikke kendes/ikke er belyst.

*Gældende lovgivning tillader ikke, at der anvendes ret mange typer medicin og hjælpestoffer*

Gældende lovgivning tillader ikke, at der anvendes ret mange typer medicin og hjælpestoffer i danske dambrug, såfremt der udledes rester heraf med effekt på miljøet i vandløbet. For de fleste af stoffernes vedkommende gælder det, at en manglende godkendelse af anvendelsen vil ramme erhvervet meget hårdt.

Anvendelsen af hjælpestoffer i dambrug omfatter dels stoffer som er naturligt forekommende (f.eks. ilt og kalk), dels stoffer som helt eller delvist omsættes før udløb til miljøet (f.eks. brintoverilte) og dels mere konservative stoffer. Der er i Danmarks Fiskeriundersøgelser (1997) listet en lang række stoffer, som i større eller mindre grad finder anvendelse på danske dambrug. En del anvendes som hjælpestoffer direkte i opdrætsvandet med udledningsrisiko til følge.

Omsætningen af miljøfremmede stoffer afhænger af en række faktorer inkluderende rent fysisk/kemiske parametre som temperatur, pH og opblanding i produktionsanlægget samt den pågældende anvendelsespraksis på det enkelte dambrug.

For medicin skal det endvidere anføres, at udelukkelse af medicinanvendelse vil komme i modstrid med veterinærlovgivningen og de dyreetiske målsætninger som ligger i dyreværnsloven, hvorefter syge dyr skal behandles.

Da omfanget af udfældningen og omsætningen på dambruget ikke er belyst/dokumenteret, kunne myndighederne derfor, ud fra en forsigtighedsbetragtning, sagsbehandle, som om udledningen forekommer i recipienten som følge af en simpel fortynding alene.

*Således er behovet for redegørelse på etablering af en forvaltningspraksis åbenlys*

Således er behovet for redegørelse og dokumentation med henblik på etablering af en forvaltningspraksis på dette område åbenlys. Formålet er, at brug af fremmedstoffer gennem typevalg og anvendelsespraksis kan ske med minimal udledning og uden skade for miljøet.

### 1.3 Miljøkvalitetskriterier

*Ud fra stoffets effekt på enkelte arter mener man at kunne beskytte hele økosystemer*

Miljøkvalitetskriterier fastsættes for at beskytte miljøet mod belastninger af stoffer, som man ikke kender effekterne af. Det generelle princip er, at man ud fra stoffets effekt på enkelte arter mener at kunne beskytte hele økosystemer. De effekter som anvendes er ofte letale eller subletale, og alt efter hvor mange forskellige organisme-grupper (trofiske niveauer) der er medtaget, kan man anvende en applikationsfaktor. Denne repræsenterer i princippet den manglende viden. Jo mindre viden jo større applikationsfaktor. Applikationsfaktoren går ofte fra 10 til 1000. Det burde være et krav, at den der fastsætter miljøkvalitetskriterier også forsøger at finde så megen relevant viden om stoffet i litteraturen som overhovedet muligt.

*Jo mindre viden jo større applikationsfaktor*

Princippet er godt. Man kan nøjes med at udføre simple laboratorietest i stedet for at udsætte et helt økosystem som f.eks. et vandløb for stoffer, der så siden viser sig er være skadelige.

Miljøkvalitetskriterier dækker over stoffets toksicitet, men også oplysninger om dets biotilgængelighed, optagelse og akkumulering. Men inden stoffet når miljøet er dets omsætning, bionedbrydelighed, spredning og fordeling i miljøet, dets skæbne, en afgørende faktor for de koncentrationer og dermed doser, der kan komme til udtryk i miljøet.

*Store krav til de test der skal danne baggrund for miljøkvalitetskriterierne*

Dette stiller store krav til de test, der skal danne baggrund for miljøkvalitetskriterierne. Først er der udvælgelse af de arter, der skal anvendes. I dag er man enige om, at det er mest relevant at benytte organismer fra de økosystemer, man ønsker at beskytte, og ikke som tidligere hvor der blev brugt tropiske organismer, da de er relative

lette at holde i akvarier. De mest anvendte effekter på indikatororganismer er dødelighed, reduktion i fotosyntese eller manglende vækst, men der anvendes også andre subletale effekter som ændringer i blodets kemi, enzymatiske aktiviteter, eller ændringer i ionpermeabiliteten over membraner. Det kan være problematisk at anvende de sidstnævnte, da organismene ikke kan undgå at reagere på omgivelserne, hvadenten det skyldes stoffet eller forsøgsbetingelserne. Ofte kan der heller ikke spores ændringer i vækst og reproduktion selv om der kan måles ændringer i et enzyms aktivitet.

*I litteraturen findes mange dårligt funderede data*

I litteraturen findes mange dårligt funderede data og også forkerte data, som skyldes fejlskrivninger i de tabeller, der oplister effekter. Det må være et krav, at de data der anvendes ikke kun følger "God Laboratorie Praksis" (GLP), men at det også klart fremgår af kildematerialet, om det undersøgte stofs koncentrationer er kendt gennem hele forsøget, og at det er den aktive komponent i stoffet, der er analyseret for. Generelt er det en svaghed ved den ældre litteratur, at man kun kender startkoncentrationen. I den nyere litteratur - halvfemsernes - er det mere almindeligt, at stoffets skæbne under forsøget er kortlagt. Det skyldes ikke mindst de bedre analysemetoder som anvendes i dag.

*Der er ikke er nogle egentlige metoder til at ekstrapolere fra toxicitet til "no effect level", NOEC*

I 1980'erne blev der sammensat tests, der skulle opstille kriterier for stoffers giftighed og ikke mindst, hvor giftige de var i forhold til hinanden. I begyndelsen af 1990'erne sammenstillede OECD og EF (EU) retningslinier for, hvordan man kan ekstrapolere resultater fra simple tests til forudsigelse af effekter. Hvis stoffet ikke overskrider den med metoden fastsatte værdi, vil der ikke ske skade på økosystemet med en sandsynlighed på f.eks. 95 %. Denne form for beregninger kan der læses om i Miljøstyrelsens Miljøprojekt nr. 250 fra 1994. Det fremgår også, at der ikke er nogle egentlige metoder til at ekstrapolere fra toxicitet til "no effect level", NOEC. Den mindste applikationsfaktor på 10 anvendes, hvis man kender NOEC værdierne.

Disse kan dog ikke anvendes, når der er tale om essentielle mikronæringsstoffer som f.eks. kobber, hvor der, hvis koncentrationerne bliver for lave, opstår vækstophør eller død. Det samme gælder for stoffer der dannes i naturen, som f.eks. formalin og hydrogenperoxid. Det ville også være voldsomt at forbyde naturen det. Tilsvarende ved vi, at for de lægemidler, der har en effekt, vil mange alger og bakterier kunne danne stoffer med tilsvarende effekt. Disse eksempler viser, at der ved fastsættelse af miljøkvalitetskriterier ikke altid kan anvendes en simpel procedure. Det kan kræve en betydelig indsamling af viden og data. Tilbage står kloramin-T, som tilhører den kategori som ekstrapoleringsmetoderne kan anvendes på.

Af de ovennævnte grunde har litteraturindsamlingen i dette projekt været meget omfattende, for at vi bedre har kunnet foretage en økotoxikologisk vurdering af hjælpestofferne, der består i en vurdering af effekter såvel som af deres skæbne i naturen.

I litteraturen er der enkelte eksempler på undersøgelser i vandsystemerne, hvor det fremgår, at f.eks. fisk ikke forekommer, hvis koncentrationen er over en bestemt værdi eller at artsdiversiteten er ændret, selv om enkelttest ikke tyder på det. Dette kan skyldes, at organismene i naturen kan flygte fra en forureningskilde, hvilket de ikke kan i en normal testopstilling.

*Der er foretaget mange undersøgelser af fauna sammensætningen opstrøms og nedstrøms dambruget*

I dambrugserhvervet har man i mange år brugt hjælpestoffer og der er foretaget mange undersøgelser af faunasammensætningen opstrøms og nedstrøms dambruget. I stedet for at basere sin analyse på ekstrapolering af test på enkelte arter, som ofte er lidet repræsentative for danske vandløb, vil det være naturligt at indrage dambrugserhvervets undersøgelser i projektets anden fase og anvende disse relevante data, når nu eksperimentet er gjort i fuld skala.

## **1.4 Forbrug af medicin og hjælpestoffer i perioden 1996 - 98**

Som led i projektet er der indhentet oplysninger om forbruget af medicin og hjælpestoffer i perioden 1996 - 98 ved samtlige dambrugsamter. Indberetningerne er indhentet af amterne i henhold til indberetningspligten jvf. dambrugsbekendtgørelsen.

*Dambrugsbekendtgørelsen fastsætter krav til, hvilke oplysninger der skal indberettes*

Dambrugsbekendtgørelsen fastsætter krav til, hvilke oplysninger der skal indberettes. Der stilles imidlertid ikke krav til formen af de indberettede oplysninger.

*De indberettede oplysninger har ikke været på formaliseret form*

De indberettede oplysninger har ikke været på formaliseret form, og en betydelig variation kunne konstateres fra amt til amt. De foreliggende data kan derfor ikke danne baggrund for en statistisk vurdering af udviklingen i forbrugsmønstret af medicin og hjælpestoffer.

Behovet for anvendelse af medicin og hjælpestoffer er påvirket af en række udefra kommende faktorer, som er uden for dambrugenes kontrol. Eksempelvis kan nævnes:

- Vandkvalitet i det indkomne vand
- Iltforhold i det indkomne vand
- Temperaturforhold

Specielt vil pludselige variationer i ovenstående ofte virke som katalysator for udvikling af stress hos fiskene, der ofte vil fremprovokere en behandlingskrævende tilstand i besætningen. Da de ovenstående faktorer svinger fra år til år, vil der være en naturlig variation i forbruget af medicin og hjælpestoffer. Opgjort efter de ovennævnte indberetninger har forbruget for de tre foregående år været som vist i table 1.1, 1.2 og 1.3.

*Dambrugerne har pligt til, én gang om året, at indsende oplysningsskema*

### **Kommentar til indberetningerne**

Dambrugerne har i henhold til dambrugsbekendtgørelsen pligt til, en gang om året, at indsende oplysningsskema, der bl.a. omfatter oplysninger om forbruget af medicin og hjælpestoffer, foderforbrug og produktion. Ud fra disse indberetninger har amtskommunerne en forpligtigelse til at udarbejde en samlet årlig oversigt til de centrale myndigheder. Indberetningerne til og fra tilsynsmyndigheden har dog ikke siden implementering af dambrugsbekendtgørelsen afstedkommet bemærkninger til formen.

De årlige indberetninger, der indsendes til amtskommunerne fra dambrugene, foretages på indberetningsskemaet tilsendt alle dambrug fra Dansk Dambrugerforening. Detaljeringsgraden af oplysningsskemaet er i øjeblikket under evaluering med henblik på en tilpasning til de øgede krav til indberetningerne og efterfølgende statistisk bearbejdning.

**Tabel 1.1** Forbrug af medicin i dambrug i 1996-1998

<b>Sygdomsbekæmpelse - oral tildeling</b>	<b>1996</b>	<b>1997</b>	<b>1998</b>
Branzil (kg)*	157,1	165,3	157,0
Inoxyl (kg) *	3,0	5,5	0,0
Oxolinsyre rent (kg)	31,9	37,0	66,4
Amoxicillin (kg)	143,8	87,2	71,1
Tribrissen(kg)**	125,9	665,4	526,4
Sulfadiazin (kg)	0,0	0,0	3,0
Sulfamerazin (kg)	6,2	2,0	0,0
Oxytetracyklin (kg)	40,2	32,1	1,0
Aquavet (kg)***	0,0	0,0	41370,4
Andet - oralt doseret	36,1	17,3	7,6

\* aktivt stof: oxolinsyre. \*\* sulfadiazin og trimetoprim \*\*\* Omfatter: oxolinsyre, tribrissen og florfenicol, der er tale om foder iblandet et af de foranstående stoffer, og således ikke mængden af aktivt stof.

**Tabel 1.2.** Forbrug af hjælpestoffer i dambrug i 1996-98

<b>Hjælpestoffer/desinfektionsmidler</b>	<b>1996</b>	<b>1997</b>	<b>1998</b>
Kalk (kg)	1620001	1711077	1374320
Formalin - 24 & 37 % (l)	144198	183148	165625
Blåsten (kg) (CuSO <sub>4</sub> )	9385	9586	10190
Kloramin (kg)	4655	12517	10490
KMnO <sub>4</sub> (kg)	0	6	0
Virkon (kg) (kalium-mono-persulfat)	3	0	0
Actomar (l)	108	234	84
Iobac P (l)**	0	0	10
Salt (kg)	0	750	2175
Detarox (l) ***	0	0	503
Ilt (m3)	0	0	30549
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (l)	150	200	244

**Tabel 1.3** Forbrug af vacciner i dambrug i 1996-98

<b>Vacciner</b>	<b>1996</b>	<b>1997</b>	<b>1998</b>
Emvax (l)	27,0	30,0	18,0
Andet kg	11878,1	8010,3	3800,0

*Indberetningerne er ikke specificerede nok*

Indberetningerne viser, at kategorien "Andet" udgør det største eller et af de største årlige forbrug. Alene dette viser, at indberetningerne ikke er specificerede nok. Der er ingen grund til at antage at "Andet" dækker over stoffer, som ikke allerede er på listen. Der er dog en tendens til, at denne kategori reduceres år for år, idet den er faldet fra 1996 - 1998 med 68 % til nu 3.800 kg. Men faldet på ca. 8.000 kg er ikke blevet fordelt på de øvrige kategorier. Noget kunne tyde på at "Andet" dækker over f.eks. foder iblandet medicin, hvor medicinen jo kun udgør meget lidt af den samlede vægt. Dette problem genfindes også på forbruget af Aquavet, der pludselig optræder i 1998 med et forbrug på 41.317 kg, hvilket formodes at være et uoplyst medicinindhold iblandet 41.317 kg foder.

*Uoplyst medicinindhold iblandet foder*



*En stigning af iltningsmidler. Det kunne tyde på, at disse midler er begyndt at fortrænge de traditionelle hjælpestoffer*

Formodentlig er statistikken over forbruget af hjælpestoffer/desinfektionsmidler lidt mere konsistent, da disse stoffer umiddelbart også er lettere at opgøre. Forbruget af hjælpestofferne formalin, blåsten og kloramin-T er størst i 1997 af de 3 opgjorte år. Samtidig med faldet i de traditionelle hjælpestoffer fra 1997 til 1998 er der en stigning af iltningsmidler. Noget kunne tyde på, at disse midler er begyndt at fortrænge de traditionelle hjælpestoffer. Desværre forefindes der ingen statistik over infektionstrykket, så det er ikke umiddelbart muligt at belyse, om et ændret forbrug skyldes ændring i infektionstrykket eller ændret adfærd hos dambrugerne.

## **Referencer**

Perspektivplan for akvakultur, Danmarks Fiskeriundersøgelser, 1997 (ISBN 87/88 047-20-2)

## 2 Litteratursøgning

Af Ole Sortkjær

### 2.1 En vurdering af databaselitteraturen

Litteratursøgningen havde til formål at finde så mange relevante videnskabelige artikler som muligt, således at det var muligt at vurdere relevans og lødighed, og ikke være afhængig af data, hvor vi ikke havde mulighed for at komme bag disse. Søgningen er foregået i flere faser.

Indledningsvis opstillede vi en liste over nøgleord, som vi ønskede oplysninger om.

I nogle tilfælde var der tale om synonymer.

**Tabel 2.1** Nøgleord til litteratursøgning

#### Key words

absorption efficiency	benzocaine
Actomar B100	bioaccumulation
Actomar K30	bioavailability
adsorption	biodegrada*
algae	Branzil vet.
Amoxicillin	breakpoints
Amoxicillin-Trihydricum	Calcium cyanide Ca(CN) <sub>2</sub>
amoxycillin	Calcium hydroxide
anaesthetic	chemotherap*
antibacterial	chloramine
antibiotic therapy	Chloramine –T
antibiotic*	chloramphenicol
antimicrobial	chlorbuthanol
antiparasitic agents	conjugation
aquaculture	contaminants
aquaculture therapeutic agents	copper
aquatic organisms	copper chloride
benzalkonium chloride	

*Testkørsel med stoffet oxolinic acid*

For at få et indtryk af hvor mange artikler der kunne ventes udførtes en testkørsel med stoffet oxolinic acid.

På de almindelige benyttede litteraturdatabaser ASFA og Current contents (CC) fandtes 90 artikler. Da der var overlapninger mellem de 2 baser gav det i alt ca. 75 artikler fra perioden 1995 - 99. Ved disse søgninger får man automatisk abstract med, og kan derfor vurdere relevansen af artiklerne.

*Udvidet søgning i 17 databaser fra perioden 1994 -1999*

Med en udvidet søgning i 17 databaser (tabel 2.2) fra perioden 1994 -1999 fandtes 358 artikler, hvoraf halvdelen var uinteressante. Vurderingen var foretaget udelukkende på basis af titlerne, da der ikke automatisk fulgte abstracts med. Den eneste oplysning man fik

ved søgningen var titlen på artiklen. Det kostede ca. 30 - 60 \$ pr. stof at søge. Ønskedes også forfatternavne, tidsskrift og abstract kostede det 2,5 \$ pr. artikel.

**Tabel 2.2** De 17 benyttede databaser til litteratursøgning

AGRICOLA 70	1999/Jul
Biosis Previews(R) 1993	1999/Jul W1
CAB Abstracts 1972	1999/Jun
AGRIS 1974	1999/May
Life Sciences Collection 1982	1999/May
Aquatic Sci&Fish Abs 1978	1999/Aug
Zoological Record Online(R) 1978	1999/V135P28
Water Resour.Abs. 1967	1999/Jun
ELSEVIER BIOBASE 1994	1999/Jun W3
EMBASE 1974	1999/Jul W2
Enviroline(R) 1975	1999/Jun
Biol. & Agric. Index 1983	1999/Jun
Current Contents Search(R) 1990	1999/Aug W1
PASCAL 1973	1999/JUN
Env.Bib. 1974	1999/Jun
GEOBASE(TM) 1980	1999/Jun
GEOREF 1785	1999/JUL B2

*Begrænse antallet af uinteressante artikler*

For at begrænse antallet af uinteressante artikler skulle følgende nøgleord også optræde sammen med oxolinic acid:

Lake, pond, river, stream, aquatic, sediment, fishfarm, fish culture, aquaculture, cultered fish, fishes, trout, salmon, bivalve, degrada\*, biodegrada\*

Denne søgning gav 218 artikler, hvoraf 46 var uinteressante (tabel 2.3).

Sammenlignet med søgningen med oxolinic acid som eneste søgeord fik vi alle interessante artikler med, på nær 4 rene fysik/kemiske artikler.

**Tabel 2.3** Oversigt over antal artikler fundet med forskellige søgninger

1994-99 Oxolinic acid	Hit	Yderst relevante
ASFA og Current contents	75 (90)	67
17 databaser	358	179
Lake, pond, river, stream, aquatic, sediment Fishfarm, fish culture, aquaculture, cultered fish, fishes, Trout, salmon, bivalve, degrada*, biodegrada*	218	175

Da der ikke er overensstemmelse med perioden, der er kørt på den udvidede søgning og for ASFA og CC, skønnedes at ASFA og CC kun ville give halvdelen af de relevante artikler. Derfor blev litteratursøgningen udført på de 17 databaser.

Følgende stoffer: Formaldehyde, hydrogenperoxide, oxytetracycline og oxolinic acid., gav "for mange artikler". Derfor blev de yderligere afgrænset med fate, effect(s), toxicity, toxicology (2. Hit)

**Tabel 2.4** Antal artikler fundet i databaserne og antal udvalgte til videre studium

Stof	1. Hit	2. Hit	Udvalgt
Amoxillin	447		9
Benzalkonium chloride	53		
Benzocaine	51		9
Calcium cyanide/Calcium hydroxid	100		15
Chloramin t	113		29
Chlorbutanol	3		
Copper	8306		70
Florfenicol	38		7
Formaldehyde	1003	579	37
Formalin	654		
Hydrogenperoxide	1752	775	27
Iobac	0		
Jodine	499		
Jodophor	18		3
Methane tricaine sulphonate	0		
Oxytetracycline	434	358	19
Oxolinic acid		320	14
Potasium Permanganate	103		18
Probiotica	447		16
Probiotica- fisk		80	
Quaternary Ammonium	335		
Sodium chloride	815		
sulphadiazine	168		8
Trimethoprim	263		17
Total	15602		298

*Trods begrænsninger i søgeprofilen blev der udskrevet 15602 titler*

Trods de indlagte begrænsninger i søgeprofilen blev der udskrevet 15.602 titler. Mere end halvdelen handlede om kobber. Dette helt uoverskuelige materiale blev begrænset væsentligt ved, udfra titlen, der jo er den korteste form for abstract, at vælge ca. 300 artikler ud. Ved gennemlæsning af de udvalgte artiklers litteraturliste kunne den ældre litteratur findes. Hvis der kom anden relevant litteratur frem skulle den også anskaffes.

## 2.2 On-line søgning

*On- line på Internettet på PubMed medline*

Samtidig med at de udvalgte artikler blev rekvireret, blev der også søgt on-line på Internettet på PubMed medline, der kan benyttes gratis på følgende adresse:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/entrez/>

Det er en medicinsk database med megen veterinær litteratur. Søgmaskinen til databasen er meget brugervenlig. De fundne artikler har altid forfatter, titel og tidsskrift med og findes der et abstract er det også medtaget. Der kan også søges på forfatternavn.

On-line søgning med oxolinic acid gav:

Oxolinic acid	442 artikler.
Oxolinic acid +effect	134
Oxolinic acid + fisk	46
Oxolinic acid + metabolism	200
Oxolinic acid + metabolism + fish	25
Oxolinic acid +sediment	2

Basen er ikke indekseret til biologi. Således er alle fisk ikke akvatiske. Det er de kun, hvis begge ord står samtidig i titel eller abstract. Det giver heller ikke noget at søge på river, stream osv. med mindre det direkte er nævnt i titlen.

Alene for hjælpestofferne kobber, kloramin-T og formalin blev der hentet yderligere 30 relevante artikler ved at søge on line i "PubMed medline".

Ud over den fra databaser fundne litteratur, er der inddraget litteratur, som i forvejen var i projektdeltagernes hænder. Da projektet er begrænset ressourcemæssigt, er der alt i alt inddraget 298 artikler (tabel 2.5) til udarbejdelse af den færdige rapport.

**Tabel 2.5** Antal artikler medtaget i rapporten fordelt på stoffer

Stof	Antal benyttede artikler
Amoxillin	9
Benzalkonium chloride	
Benzocaine	9
Calcium cyanide/Calcium hydroxid	15
Chloramin t	29
Chlorbutanol	
Copper	70
Florfenicol	7
Formaldehyde	37
Formalin	X
Hydrogenperoxide	27
Iobac	
Jodine	
Jodophor	3
Methane tricaine sulphonate	
Oxytetracycline	19
Oxylinic acid	14
Potasium Permanganate	18
Probiotica	16
Probiotica- fisk	
Quaternary Ammonium	
Sodium chloride	
Sulphadiazine	8

Trimethoprim	17
Total	298

### Udvælgelse af stoffer til vurdering

De i tabel 2.5 listede stoffer bruges i dambrug i større eller mindre grad, som det også fremgår af opgørelsen over forbruget af medicin og hjælpestoffer i kapitel 1.

*De afsatte ressourcer til projektet bevirker også, at det ikke er muligt at gå i dybden med alle medicinostoffer*

Litteraturgennemgangen afslørede, at det for en del stoffer ikke var muligt at finde nyere relevante artikler. Det drejede sig især om Benzalkonium chloride, Chlorbutanol, Iobac, Jodine og Methane tricaine sulphonate, der i øvrigt kun bruges i meget små mængder. De afsatte ressourcer til projektet bevirker også, at det ikke er muligt at gå i dybden med alle medicinostoffer. Med disse begrundelser er følgende stoffer udvalgt og i tabel 2.6 er angivet, hvor mange artikler der er medtaget til udarbejdelse af rapporten.

### 2.3 Fordeling af artikler for hjælpestoffer efter emne

Af de 298 medtagne artikler kunne 4 ikke indpasses i tabel 2.6. Flere artikler omhandler flere organismegrupper og stoffer, hvorfor det samlede antal i tabel 2.6 bliver større end antallet af indhentede artikler.

*De fleste artikler omhandler dambrugsfisk med i alt 121*

*Generelt er der fundet flest artikler omhandlende hjælpestofferne med i alt 191 artikler*

De fleste artikler omhandler dambrugsfisk med i alt 123, derefter følger vildfisk, mikroorganismer i vandfasen og sygdomsvoldere fra 23 til 20 artikler. De højere planter optræder kun i en enkelt artikel. Kun for kobbersulfat er alle organismegrupper repræsenteret. Generelt er der fundet flest artikler omhandlende hjælpestofferne med i alt 191 artikler. For de egentlige medicinostoffer er der fundet 92 og for bedøvelsesmidler og probiotika er der fundet 35. Blandt medicinostofferne er det især oxolinsyre og oxytetracyclin, der omhandler andre organismegrupper end dambrugsfisk.

**Tabel 2.6** Antal artikler fordelt på stoffer og emner

	Dam- fisk	Vild- fisk	Zooplank ton	Fytoplank ton	Mikroorg Vandfase	Mikroorg Sediment	Sedi- ment- levende org.	Planter	Sygdoms voldere	Fysik/ke mi forhold	Biorensni ng	Økosyste m-niveau	Resi- stens	Total
Formalin	17	4				8	3	2		3	4	2	2	45
Kloramin-T	30	7	1			3	1			5	6		2	55
Kaliumpermang anat	6		1	1				1		1	2			12
Hydrogenperoxi d	11	3	1	3	2				7	1	1			29
Kobbersulfat	9	3	7	8	2	2	8	1	1	1	1		3	45
Jodofor	5													5
Trimethoprim	2			1	1					3			1	8
Sulfadiazin	6	1		1						3		1	1	13
Oxytetracyklin	7	1		2	4	3	2			3			8	30
Oxolinsyre	10	2		1	2	2	2			5			3	27
Amoxicillin	2			1						3				6
Florfenicol	3									2			3	8
Chlorbutanol	2	1												3
Benzocain	6									2				6
Imunstimulere nde stoffer	3													3
Probiotika	4	1					1		3					9
Total	123	23	10	18	22	11	16	1	20	35	3	8	16	306

### Konklusion

Litteraturindsamlingen har især koncentreret sig om den nyere litteratur fra de sidste 6 - 7 år. Næsten halvdelen af den anvendte litteratur omhandler fisk. Denne skæve fordeling af artikler på de øvrige organismegrupper illustrerer, at der er mangel på viden om de effekter stofferne har, hvilket får betydning for muligheden for at foretage egentlige økotoksikologiske vurderinger.

### 3 Simpel model

Af Ole Sortkjær

*Der er tale om en teoretisk matematisk model, der ikke er verificeret i et eksisterende dambrug*

Modellen er udviklet til at beregne koncentrationer i dambrugets forskellige damme og bassiner samt naturligvis i vandløbet nedstrøms dambruget til ethvert tidspunkt. Sammenholdt med den indsamlede litteraturs oplysninger om de enkelte stoffers effekter kan der udarbejdes en økotoksikologisk vurdering. Der er tale om en teoretisk matematisk model, der ikke er verificeret i et eksisterende dambrug, hvor beregnede værdier sammenlignes med værdier for prøveudtagninger i de enkelte bassiner.

Modellen er udført som en simpel fortyndingsmodel, hvor der pr. tidsenhed tilføres en mængde med en bestemt koncentration, og samtidig løber der den samme mængde vand ud med den oprindelige koncentration. Traditionelt løses en sådan ligning som koncentrationsændringen pr. differentiell tid.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{Q}{V}(C_{ind} - C_{ud})$$

*Udregningen skal foregå i et simpelt regneark, så alle der har en pc kan anvende modellen*

Matematisk skal udregningen foregå i et simpelt regneark, så alle, der har en pc, kan anvende modellen. Desuden skal det være muligt at indsætte det antal damme og størrelsen på disse, som man ønsker. Selv om der er tale om teoretiske beregningsværdier, må de gerne kunne tilpasses et eksisterende anlæg.

For lettere at forstå hvad der sker i en sådan model, er den her blevet løst ud fra ændringen i massen ( $dC \cdot V$ ) pr. tidsskridt. Da der pr. tidsskridt også løber en bestemt volumen, er tidsskridtenes størrelse bestemt af denne volumen, idet beregningerne viser, hvad der sker når en bestemt volumen med en kendt mængde stof løber ind i et bassin, og det igen løber ind i næste bassin. Det er lettere at forestille sig, hvad der sker, når der løber vand ind i et bassin, end hvad der sker over tid. Derfor er denne utraditionelle løsningsform anvendt. Samtidig kan modellen checkes ved at lægge masserne sammen i alle damme, bassiner og hvad der udledes til vandløbet. Denne sum skal være den samme til ethvert tidspunkt.

Modellen er brugt til at udregne koncentrationerne for de mest benyttede hjælpestoffer så som formalin, kloramin-T og blåsten (kobbersulfat). Hvordan disse stoffer doseres kan ses i kapitlerne for de enkelte stoffer.

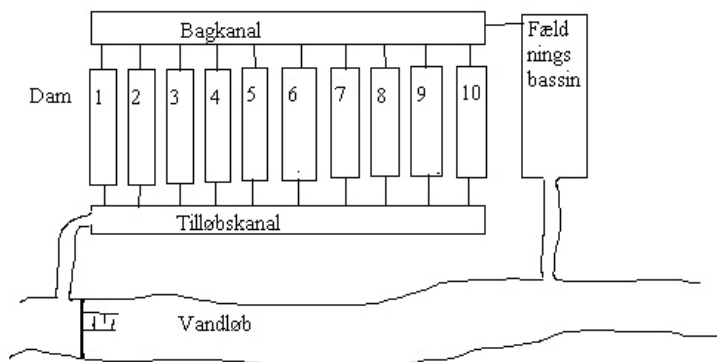
#### 3.1 Et modeldambrug

Udover at kunne beregne stofkoncentrationerne er det også vigtigt at vide, hvor lang tid stoffet har den pågældende koncentration for at kunne beregne den eksponering, organismerne vil være udsat for i vandløbet nedstrøms et dambrug.



For at kunne gøre dette, er der designet et "modeldambrug" (figur 1) bestående af 10 parallelle damme af samme størrelse ( $30 \times 7 \text{ m}^2$ ), hvor vandet løber ud i en fælles bagkanal ( $88 \times 7 \text{ m}^2$ ), hvorfra vandet igen kan løbe til et fældningsbassin ( $46 \times 7 \text{ m}^2$ ).

Der redegøres i det følgende for dimensioneringen.



**Figur 1.** Principskitse af modeldambrug. 10 parallelle damme leder vand til samme bagkanal. Vandet løber derfra til et fældningsbassin, som så tømmer ud i vandløbet. I vandløbet er antydnet et stemmeværk med fisketrappe.

### 3.2 Dimensioneringen af et fældningsbassin.

*Myndighedskravet til et fældningsbassin*

Myndighedskravet til et fældningsbassin er, at vandets minimumsopholdstid er på 25 min., og at det har en maksimal hastighed på 2,5 cm i sek. Et dambrug med 10 damme, hvor hver dam har et flow på  $15 \text{ l s}^{-1}$ , kræver et volumen på:  $15 \times 10 \times 60 \times 25 = 225.000 \text{ l}$  vand. Anvendes de samme dimensioner som for dammene (7 m bredt og 0,7 m dybt), vil kravet til fældningsbassinet være mindst en længde på 46 m. Med en maks. hastighed på  $2,5 \text{ cm s}^{-1}$  vil vandet være 30 min. om at passere.

### 3.3 Koncentrationsberegning i damme, bagkanal og fældningsbassin

*Formlerne for beregning af stofkoncentrationen er opstillet således, at antallet af damme og vandhastigheder let kan ændres*

Formlerne for beregning af stofkoncentrationen er opstillet således, at antallet af damme og vandhastigheder let kan ændres, hvis andre "dambrug" skal testes. Det er dog en forudsætning, at dammene altid har samme volumen, og at vandflowet gennem dammene er ens.

Den initiale koncentration kendes på det tidspunkt, hvor vandet efter doseringen løber ud i bagkanalen. For formalin og kloramin-T er det halvdelen af den anbefalede koncentration, og for kobber er det den opgivne koncentration. Under hele processen med tømning af dammen til halv vandstand og dosering af hjælpestoffer løber der fortsat vand til dammen for at sikre iltforholdene. Det giver en god opblanding, samtidig med at fiskenes bevægelser er med til at opblande hjælpestofferne. I en dam på  $147 \text{ m}^3$  vil det tage ca. 1 time

og 20 minutter at fylde den op igen ved en tilledning på 15 l s<sup>-1</sup>. Det kan derfor antages, at stoffet bliver totalt opblandet. I det øjeblik vandet igen begynder at løbe ud i bagkanalen, sker der en kontinuerlig fortynding.

### Beregning af stofkoncentrationen i en dam

Koncentrationen i dammen kan bestemmes af følgende formel:

$$C_n = C_0((V-d)/V)^n$$

hvor  $C_0$  er den initiale koncentration  
 $V$  er dammens volumen  
 $d$  er det differentielle volumen  
 $n$  er antal gange  $d$  er løbet igennem dammen

Det differentielle volumen er i alle eksemplerne sat til 1 m<sup>3</sup>. Det betyder, at for hver gang der er løbet 1 m<sup>3</sup> ind og ud af dammen beregnes koncentrationen. Med et flow på 15 l s<sup>-1</sup> tager det 67 sekunder at tillede 1 m<sup>3</sup>, således at der for ca. hvert minut foretages en beregning. Der er intet til hinder for at vælge et andet differentiel volumen ( $d$ ) alt efter, hvor mange punkter man ønsker til at beskrive sine kurver.

Den samme formel kan anvendes på bagkanalen, hvis fiskene behandles direkte i denne. Flowet er da i det skitserede "forsøgsdambrug" 10 gange den enkelte dams flow og sættes  $d$  til 10 m<sup>3</sup> fås samme tidsmæssige opløsning som for dammen.

### Beregning af koncentrationen i bagkanalen efter behandling af fiskene i damme

En dam behandles og tømmes ud i en bagkanal hvortil  $k$  damme tilleder vand. Det forudsættes, at vandet bliver fuldt opblandet i bagkanalen, og at alle damme tilleder den samme mængde vand pr. tidsenhed. Koncentrationen i bagkanalen efter tilledning af  $n$  gange det differentielle volumen,  $d$  fra 1 dam er:

$$C_n = d(C_{d1} * F_b^n + C_{d2} * F_b^{n-1} \dots \dots \dots C_{dn} * F_b) / V_b$$

hvor  $C_{d1}$ ,  $C_{d2}$  .....  $C_{dn}$  er koncentrationen i den behandlede dam for hver differentiel udtømning ( $d$ ),  $V_b$  er bagkanalens volumen og  $F_b$  er fortyndingsfaktoren.

$$F_b = (V_b - k*d) / V_b$$

### Beregning af koncentrationen i fældningsbassin

Formlen til beregning af koncentrationen ( $C_{fn}$ ) i fældningsbassinet er den samme som for bagkanalen:

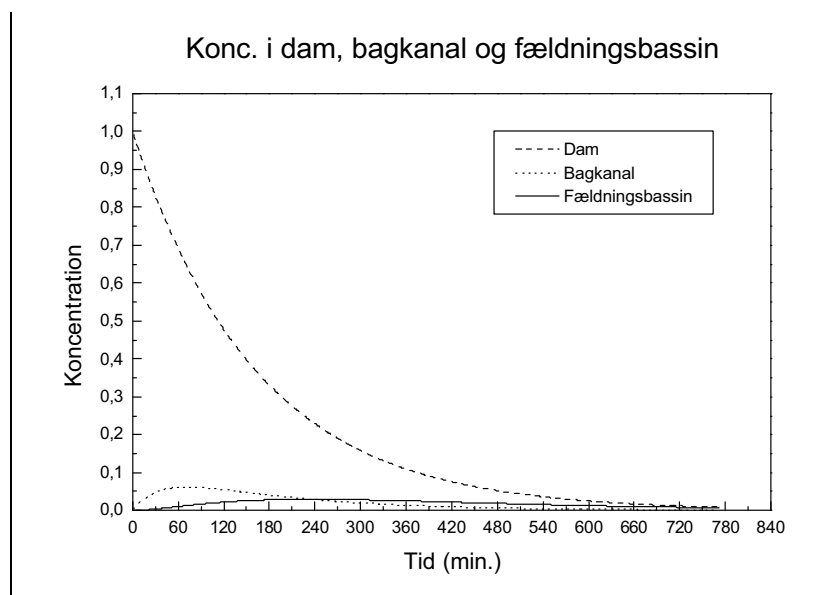
$$C_{fn} = (d*k)*(C_{b1} * F_f^n + C_{b2} * F_f^{n-2} \dots \dots \dots C_{bn} * F_f) / V_f$$

hvor  $C_{b1}$ ,  $C_{b2}$  .....  $C_{bn}$  er koncentrationen i bagkanalen for hver differentiel udtømning ( $d * k$ ),  $V_f$  er fældningsbassinets volumen og  $F_f$  er fortyndingsfaktoren.

$$F_f = (V_f - k \cdot d) / V_f$$

Formlerne giver således mulighed for at beregne koncentrationer til et hvilket som helst tidspunkt, således at koncentrationsændringerne kan følges i dam, bagkanal og fældningsbassin. I figur 3.2 er vist et sådant forløb, hvor den initiale koncentration i dammen er sat til 1. I bilag 3 er der redegjort nærmere for, hvordan beregningerne er udført og hvordan de gennemføres i regnearket.

**Figur 3.2.**  
Koncentrationsberegninger i dam, bagkanal, fældningsbassin ved behandling af 1 dam



Koncentrationen i dammen er halveret efter 112 min og er nede på 10 % efter 374 min., men der er stadig 1 % tilbage af det tilledte stof efter 744 min. I bagkanalen bygges koncentrationen hurtigt op og efter 72 min. er maksimumskoncentrationen nået på 0,062 af start koncentrationen i dammen. Denne koncentration når dammen først efter 452 min. Når den maksimale koncentration er nået, falder koncentrationen eksponentielt i bagkanalen på samme måde som i dammen. I bagkanalen er der 10 % af den maksimale koncentration tilbage efter 490 min. og 1 % efter 864 min.

I fældningsbassinet opnås den maksimale koncentration på 0,056 af startkoncentrationen i dammen efter 103 min., 10 % er tilbage efter 527 min. og 1 % er fortsat tilbage efter 902 min. Indsættes de initiale koncentrationer for de 3 stoffer, opnås følgende koncentrationer i fældningsbassinet (tabel 3.1)

**Tabel 3.1.** Koncentrationer af formalin, kloramin-T og kobber.

Koncentration	Opnået efter (min)	Formalin (mg l <sup>-1</sup> )	Kloramin-T (µg l <sup>-1</sup> )	Cu (hårdt vand*) (ng l <sup>-1</sup> )	Cu (blødt vand*) (ng l <sup>-1</sup> )
max	103	3,416	364	1456	146
10 %	527	0,342	36,4	146	14,6
1 %	902	0,034	3,64	14,6	1,46

\* Værdier er taget efter From (1993)

### 3.4 Koncentration i vandløbet

*Den forventede koncentration i vandløbet er afhængig af den procentvise del af vandføringen, der indtages af dambruget. Det værste tænkelige tilfælde er, at 100 % går til dambruget*

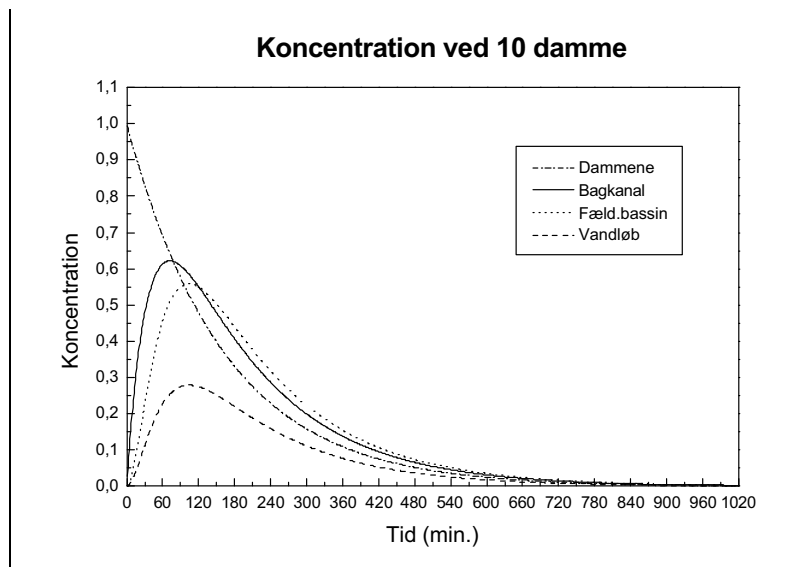
Den forventede koncentration i vandløbet er afhængig af den procentvise del af vandføringen, der indtages af dambruget. Det værste tænkelige tilfælde er, at 100 % går til dambruget, hvilket betyder, at de ovennævnte koncentrationer i tabellen også vil være dem, der findes i vandløbet nedstrøms dambruget.

Det opstillede "forsøgsdambrug" har 10 damme. Var dambruget større, ville bagkanal og fældningsbassin også være tilsvarende større, og koncentrationsberegningerne ville være de samme, så længe 1/10 af dambrugets damme behandles samtidigt. Et dambrug med 100 damme vil kunne tillade at behandle 10 damme samtidigt, uden at de beregnede koncentrationer ændrede sig i bagkanal og fældningsbassin.

### 3.5 Koncentrationsberegning når flere damme behandles samtidigt

Behandles flere damme samtidigt i "forsøgsdambruget", vil de beregnede koncentrationer til enhver tid i følge formlerne være tilsvarende proportional højere. Samtidighedsfaktoren, forholdet mellem antal damme der behandles samtidig og det totale antal damme, har derfor meget stor betydning for den forventede stofkoncentration i vandløbet. I figur 3.3 er vist de beregnede koncentrationer, når alle kanaler behandles samtidigt.

**Figur 3.3**  
Koncentrationsberegninger i damme, bagkanal, fældningsbassin og vandløb når samtlige damme behandles samtidig.

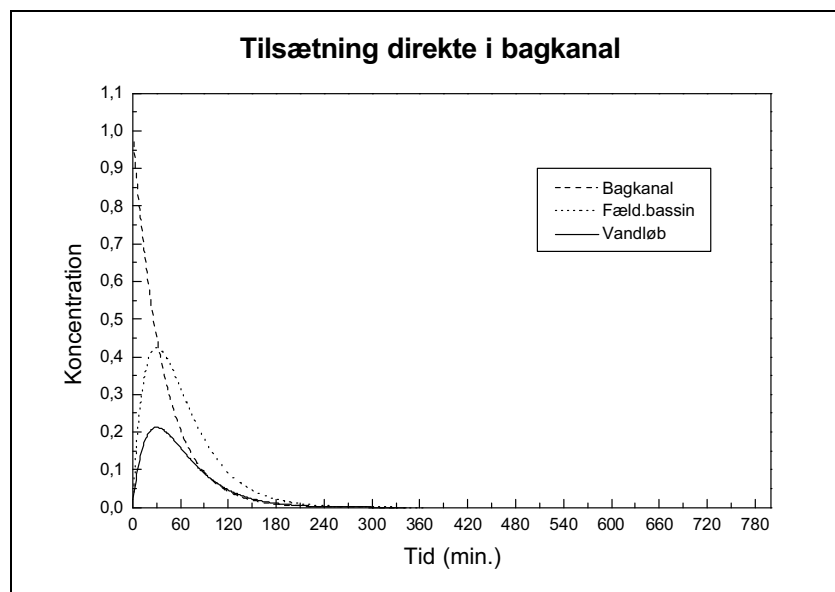


### 3.6 Koncentrationsberegning når bagkanalen behandles

*Det er sandsynligvis sjældent, at fiskene i bagkanalen behandles, da det er særdeles vanskeligt at dosere stofferne korrekt*

Det er sandsynligvis sjældent, at fiskene i bagkanalen behandles, da det er særdeles vanskeligt at dosere stofferne korrekt. Skulle det indtræffe, viser figur 3.4 koncentrationsforløbet i bagkanalen og fældningsbassinet.

**Figur 3.4**  
Koncentrationsberegning i bagkanal, fældningsbassin og vandløb, når der medicineres direkte i bagkanalen.

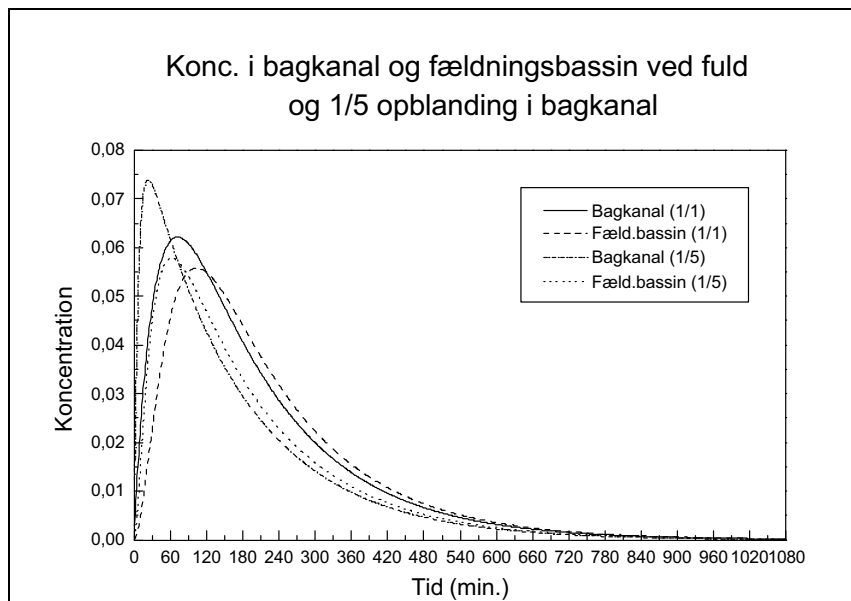


Den maksimale koncentration i fældningsbassinet er på 0,43 gange den initiale koncentration i bagkanalen og opnås efter 30 min. Det er 7,6 gange større, end hvis en enkelt dam behandles. Først efter 113 min. falder koncentrationen til den, der maksimalt kan opnås ved behandling af 1 dam.

### 3.7 Betydningen af opblandningsgraden i bagkanalen

I bagkanalen er der en strømretning mod afløbet til fældningsbassinet. Det kan derfor forventes, at vandet fra den behandlede dam vil blive opblandet i mindre mængder vand jo tættere på bagkanalens afløb, dammen tømmer ud i denne. Vandet fra damme fjernest bagkanalens afløb vil have en større sandsynlighed for at være totalt opblandet, hvorimod damme tæt på afløbet ikke vil være det. Beregningsmæssigt er dette foretaget ved at nedsætte volumen i bagkanalen.

**Figur 3.5** Koncentrationen i bagkanalen og fældningsbassinet når hele bagkanalens volumen indgår og når 1/5 af volumen indgår i opblandingen fra den behandlede dam.



*Den maksimale koncentration vil være ca. 2 % større hvis opblandingen kun finder sted i den bageste femtedel af bagkanalen, end hvis hele bagkanalen var involveret i opblandingen*

For at vurdere dette, er der beregnet hvad koncentrationen vil være i bagkanal og fældningsbassin, hvis hele bagkanalens volumen indgår, og når kun 1/5 indgår (figur 3.5). Så vil den maksimale koncentration opnås i bagkanalen ved dets udløb efter 23 min. og ikke efter 103 min. og koncentrationen ville være 1,19 gange højere, end hvis det var totalt opblandet. I fældningsbassinet vil den maksimale koncentration opnås efter 62 min. i stedet for 103 min., og koncentrationen vil være 1,04 gange større, end hvis hele bagkanalens volumen medtages i opblandingen. Dette betyder igen, at ved udtømning i vandløbet (ved en 50 % fortynding), vil den maksimale koncentration være ca. 2 % større, hvis opblandingen kun finder sted i den bageste femtedel af bagkanalen, end hvis hele bagkanalen involveres i opblandingen. Derimod er opholdstiden kortere såvel i bagkanal som i fældningsbassin, og det kan have betydning for stoffets omsætning og eventuelle sedimentering gennem dambruget.

Var modeldambruget udformet således, at der lå 5 damme på hver side af bagkanalen, ville denne nødvendigvis kun være halv så lang, og bagkanalens volumen være det halve. Som det fremgår af beregningseksemplet, har et mindre opblandningsvolumen i bagkanalen kun meget ringe indflydelse på den maksimale koncentration, der kan forventes i vandløbet.

### 3.8 Betydningen af vandets opholdstid

*I den reelle verden vil opblandingen være afhængig af bassinets udformning, placering af dammenes udløb i forhold til bagkanalen osv.*

I det hidtidige har det været forudsat, at vandet er fuldt opblandet, og at det sker momentant i hele dambruget, således at så snart den første kubikmeter vand er løbet fra dammen ud i bagkanalen, vil stoffet også kunne spores i såvel fældningsbassin som i vandløbet, og koncentrationen vil være den samme, uanset hvor der måles i bagkanal eller fældningsbassin. Dette er naturligvis en idealtilstand. Det kan ikke undgås, at der er en forsinkelse som følge af opblandingen og transportvejen til bagkanalens udløb. Vandets gennemsnitlige opholdstid i bagkanalen beregnes som, bagkanalens

volumen divideret med vandtilførslen fra de 10 damme ( $347000/15 \cdot 10 = 2313$  sek. = 39 min.). Måles stofkoncentrationerne i afløbet til såvel bagkanal som fældningsbassin, vil der være en tidsforskydning af kurverne, således at stoffet først viser sig 39 min senere i bagkanalens udløb og igen 30 min. senere i vandløbet. Det vil således tage ca. 1 time og 10 min., før stoffet viser sig i vandløbet, fra det begyndte at løbe fra dammen ind i bagkanalen og videre ud i vandløbet. Dette er imidlertid en ny idealtilstand, at alt tilført vand har den samme opholdstid. I den reelle verden vil opblandingen være afhængig af bassinets udformning, placeringen af dammenes udløb i forhold til bagkanalen osv., faktorer der kan være med til at nedsætte den tilgængelige volumen, stoffet kan opblandes i. Men som det blev vist for beregningen af koncentrationerne i vandløbet som følge af ændret opblandingsvolumen, har dette kun en meget beskeden indflydelse. De opnåede koncentrationer er bestemt af stoftilførslingen fra dammen, både hvad den maksimale koncentration kan blive, og hvor længe der i det hele taget kan spores stof.

Derimod er stofkoncentrationskurverne i vandløbet så godt som uændret uanset beregningsformen for vandets opholdstid og dermed den beregnede eksponeringstid, som organismernes udsættes for i vandløbet. Der er kun tale om en forsinkelse.

I den efterfølgende præsentation af koncentrationsberegninger over formalin, kloramin-T og kobber i damme, bagkanal og fældningsbassin er den gennemsnitlige opholdstid i bagkanal og fældningsbassin lagt til grund.

### 3.9 Stofomsætning

*De beregnede koncentrationer i dam, bagkanal og fældningsbassin er alle baseret på, at stofferne opfører sig konservativt*

De beregnede koncentrationer i dam, bagkanal og fældningsbassin er alle baseret på, at stofferne opfører sig konservativt, det vil sige, at de ikke omsættes eller fældes på deres vej gennem dambruget. Det er faktisk kun alm. kogesalt, der opfører sig sådan, så godt som alle andre stoffer vil nedbrydes eller bindes kemisk til partikler, der så kan fældes. Set ud fra koncentrationsforløbet (figur 2) er koncentrationen i dammen høj i mange timer set i forhold til bagkanal. I fældningsbassinet er koncentrationen lavere end i bagkanal. Kan stoffet nedbrydes mikrobielt, vil en væsentlig del af nedbrydningen finde sted allerede i dammen. Kompleksbindes stoffet eller hæfter det til partikeloverflader, vil det føres dertil, hvor der er størst sandsynlighed for, at det fældes, og det burde være i fældningsbassinet. Fordi stoffet fældes, er det ikke ude af systemet, da kompleksbindingens styrke kan være afhængig af forskellige fysik-kemiske forhold. Det betyder, at hvor det fældes, kan det pludselig frigives, hvis f. eks. iltforhold, pH, temperatur osv. ændres. Disse forhold er behandlet i kapitlerne for de enkelte stoffer.

### 3.10 Konklusion

*Modellen beregner de højest mulige koncentrationer og varigheden af disse. Modellen er ikke verificeret*

Den opstillede teoretiske model kan beregne fordelingen af stof i damme, bagkanal, fældningsbassin og vandløb under den forudsætning, at stoffet ikke omsættes eller fældes undervejs. På denne måde kan man få en ide om hvilke størrelsesordner af koncentrationer, der kan opstå i de enkelte damme og bassiner og nok så vigtigt i vandløbet nedstrøms dambruget. Disse koncentrationer kan så sammenholdes med de effekter der er angivet i den indsamlede litteratur og dermed kan der opstilles en økotoxikologisk vurdering. Modellen beregner således de højest mulige koncentrationer og varigheden af disse. Det skal dog understreges, at modellen ikke er verificeret, og så længe dette er tilfældet, er der kun tale om teoretiske beregningsstørrelser.

Den opstillede model vil kunne anvendes til andre stoffer og doseringsforhold og justeres til andre fysiske udformninger af et dambrug. Modellen kan ikke håndtere recirkulering eller rensningsforanstaltninger, hvilket der er taget hensyn til i det følgende kapitel med videreudvikling af fortyndingsmodellen.



## 4 Videreudvikling af fortyndingsmodeller til beregning af koncentrationer ved ændrede forudsætninger, eksempelvis ved recirkulering af vandet

Af Ole Sortkjær

Formålet med at videreudvikle den simple model (kapitel 3) er at få en ide om koncentrationsstørrelsen i vandløbet nedstrøms dambruget af de stoffer, der anvendes til dambrugsdriften, når der er tale om delvis recirkulering og indsættelse af rensningsforanstaltninger som biofiltre. De beregnede koncentrationer kan da sammenholdes med de koncentrationer, der giver effekter ifølge litteraturen og indgå i en økotoxikologisk vurdering.

*Beregningerne for de videreudviklede modeller skulle kunne foretages i et simpelt regneark på en pc*

Som for den simple model var udgangspunktet, at beregningerne for de videreudviklede modeller skulle kunne foretages i et simpelt regneark på en pc. Da det er yderst vanskeligt at ændre strukturen i beregningerne, som følge af regnearkets stive opbygning i kolonner, er der udarbejdet 2 modeller baseret på hver sin dambrugstype.

*Dambrugstype I er karakteriseret ved at anlæggene er serieforbundet. I dambrugstype II er de 3 anlæg parallelforbundet*

Dambrugstype I er karakteriseret ved, at anlæggene er serieforbundne, hvilket vil sige, at den samme vandmængde først passerer gennem anlæg 1 videre til anlæg 2 for til sidst at løbe til anlæg 3. I dambrugstype II, der svarer mere til et traditionelt jorddambrug, er de 3 anlæg parallelforbundet, og hvert anlæg kan tage den nødvendige vandmængde ind fra en fælles fødekanal. I begge typer kan vandet recirkuleres, og for dambrugstype II kan der kobles henfaldstider og rensningsforanstaltninger på. Det skal påpeges, at modellerne for begge typer udregner teoretiske værdier, og modellerne ikke er verificerede. Dokumentationen for begge modeller findes i bilag 4.

### 4.1 Dambrugstype I

#### Forudsætningerne

Der er så vidt muligt lagt vægt på "worst case"-situationer, hvor den maksimale vandmængde anvendes. Ved totalt gennemløb (recirkuleringsprocent = 0) er der kalkuleret med et vandindtag på  $170 \text{ l s}^{-1}$ . Der doseres kun et anlæg ad gangen, og der er lukket for beluftningen. Alle behandlede damme er doseret med den samme koncentration. Stofferne betragtes som konservative, hvilket betyder, at de ikke omsættes undervejs. Modelberegningerne er baseret på, at stoffet i alle situationer er totalt opblandet.

Da vandet fra anlæg 1 og 2 løber gennem anlæg 3 og videre ud i bundfældningsbassinet, beskrives beregningsforudsætningerne for anlæg 3 først (se principskitse).

### Anlæg 3

Bagkanalen indeholder 26 m<sup>3</sup>, hvor 10 kummer a 31 m<sup>3</sup> løber ud i. Maksimalt doseres 2 kummer samtidig. Bagkanalen løber ud i et bundfældningsbassin på 250 m<sup>3</sup>. Derefter løber det ud i tidligere damme, der fungerer som en ca. 6.000 m<sup>2</sup> plantelagune. Det er i modelberegningerne forudsat, at der står 0,5 m vand i dette, og arealet er på 5.000 m<sup>2</sup> for også at tage hensyn til dammenes skrå sider. Det giver en plantelagune på 2.500 m<sup>3</sup>. I modellen er koncentrationerne beregnet for bagkanalen (26 m<sup>3</sup>), bundfældningsbassinet (250 m<sup>3</sup>) og plantelagunen (2.500 m<sup>3</sup>).

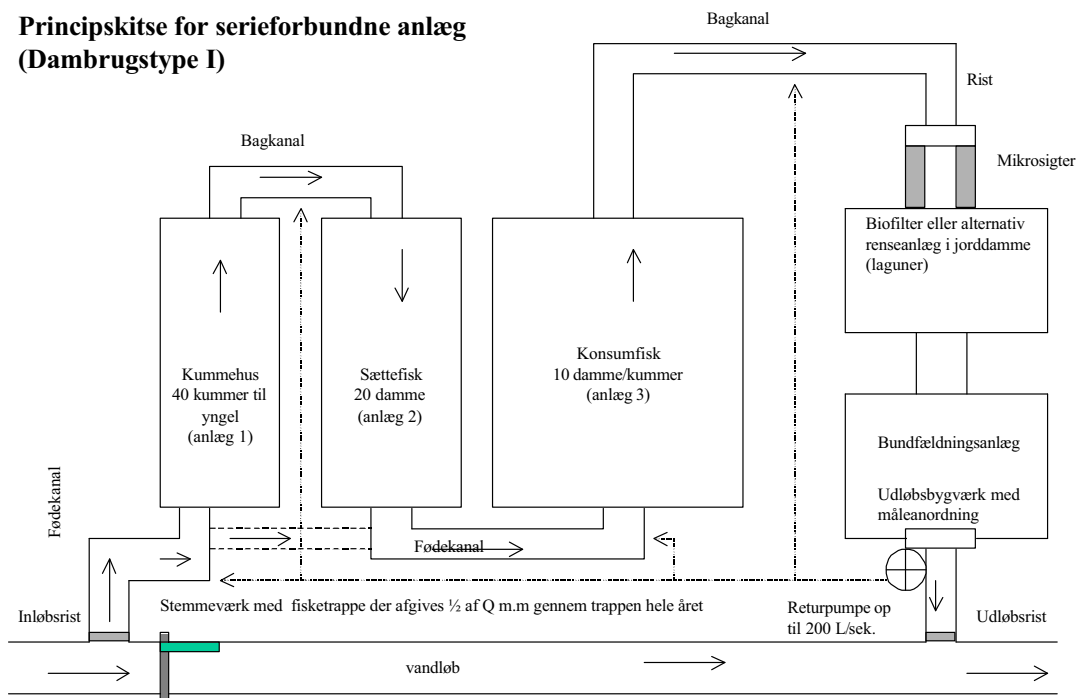
### Anlæg 2

20 kummer a 13,2 m<sup>3</sup> løber ud i en bagkanal på 26 m<sup>3</sup>. I beregningsformlen udgør anlæg 2's "bagkanal" den egentlige bagkanal (26 m<sup>3</sup>) + anlæg 3, i alt 468 m<sup>3</sup>.

Anlæg 2's "bagkanal":

Den egentlige bagkanal	26	
Beluftningsanlæg	100	
Fødekanal		32
10 kummer a 31	310	
I alt		468

### Principskitse for serieforbundne anlæg (Dambrugstype I)



Returpumpen benyttes til at sikre et konstant vandflow



### Anlæg 1

40 kummer a 6,2 m<sup>3</sup> løber ud i en bagkanal på 26 m<sup>3</sup>. I beregningsformlen udgør anlæg 1's "bagkanal" den egentlige bagkanal + anlæg 3 + anlæg 2, i alt 858 m<sup>3</sup>.

Anlæg 1's "bagkanal":

Den egentlig bagkanal	26	
Beluftningsanlæg	100	
20 kummer a 13,2	264	
Anlæg 3		468
I alt (m <sup>3</sup> )		858

*For alle anlæg er der beregnet et kurveforløb af stofkoncentrationen*

### Modelberegningerne

For alle anlæg er der beregnet et kurveforløb af stofkoncentrationen i "bagkanal", bundfældningsbassin og plantelagunen, der repræsenterer de koncentrationer, der kan forefindes i vandløbet, når anlægget drives som et gennemstrømningsanlæg. Y-aksen angiver fortyndingen. Koncentrationen i kummen er sat til 1 på det tidspunkt ( $t = 0$ ), hvor vandet fra den behandlede kumme netop begynder at løbe ud i bagkanalen. Til et hvert tidspunkt kan stofkoncentrationen beregnes ved at multiplicere stoffernes startkoncentrationen med fortyndingen. Kurveforløbet er således ens for alle stoffer.

I anlæg 1 behandles maksimalt  $8 \cdot 6,2 = 49,6$  m<sup>3</sup> vand på en gang, for anlæg 2 er det  $4 \cdot 13,2 = 52,8$  m<sup>3</sup> og for anlæg 3 er det  $2 \cdot 31 = 62$  m<sup>3</sup>. Kun et anlæg behandles ad gangen.

### Koncentrationsberegninger ved fuldt gennemløb (0 procent recirkulering)

#### A. koncentrationsforløb ved engangsdosering

##### Anlæg 1

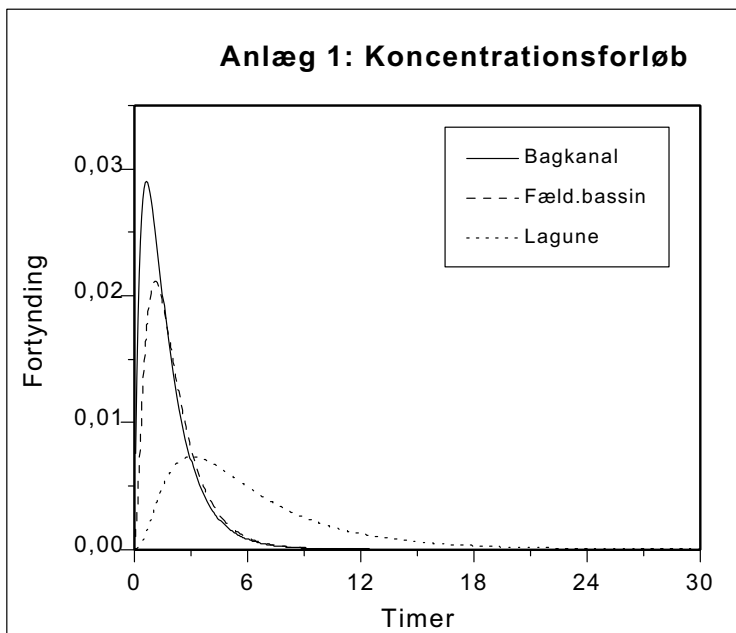
Koncentrationsforløbet i bagkanal, bundfældningsbassin og plantelagune er vist i figur 4.1, hvor 8 kummer er behandlet samtidigt.

I tabel 4.1 er beregnet den maksimale koncentration og hvornår den indtræffer, efter at kummerne i anlæg 1 begynder at løbe ud i bagkanalen.

**Tabel 1** Maksimale koncentrationer efter dosering af 8 kummer i anlæg 1.

	Tidspunkt for maks. konc.	Fortynding
Bagkanal	40 min.	0,02902
Bundfæld. bassin	64 min.	0,00211
Plantelagune	188 min.	0,00730

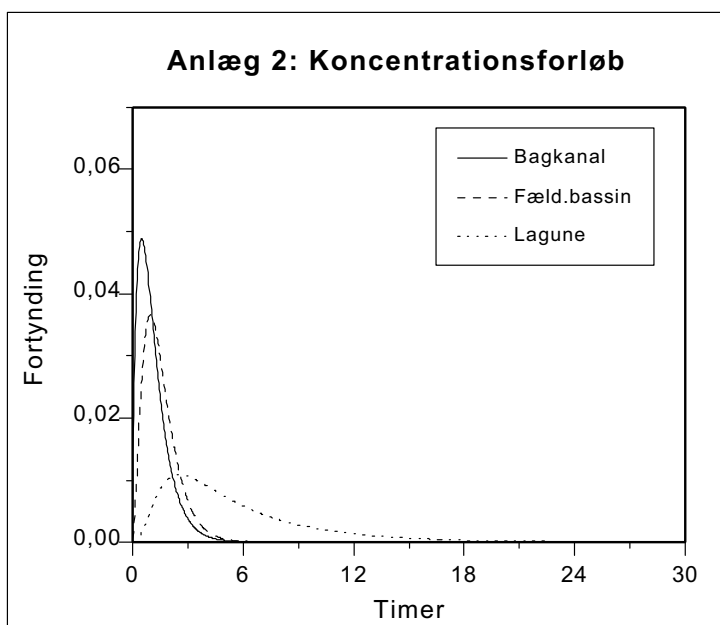
**Figur 4.1**  
 Koncentrationsforløb i  
 bagkanal,  
 bundfældningsbassin og  
 plantelagune for anlæg 1



**Anlæg 2**

Koncentrationsforløbet i bagkanal, bundfældningsbassin og plantelagune er vist i figur 4.2, hvor 4 kummer er behandlet samtidigt.

**Figur 4.2**  
 Koncentrationsforløb i  
 bagkanal,  
 bundfældningsbassin og  
 plantelagune i anlæg 2



Den maksimale koncentration og hvornår den indtræffer er vist i tabel 4.2.

**Tabel 4.2** Maksimale koncentrationer efter dosering af 4 kummer i anlæg 2.

	Tidspunkt for maks. konc.	Fortynding
Bagkanal	32 min.	0,04887

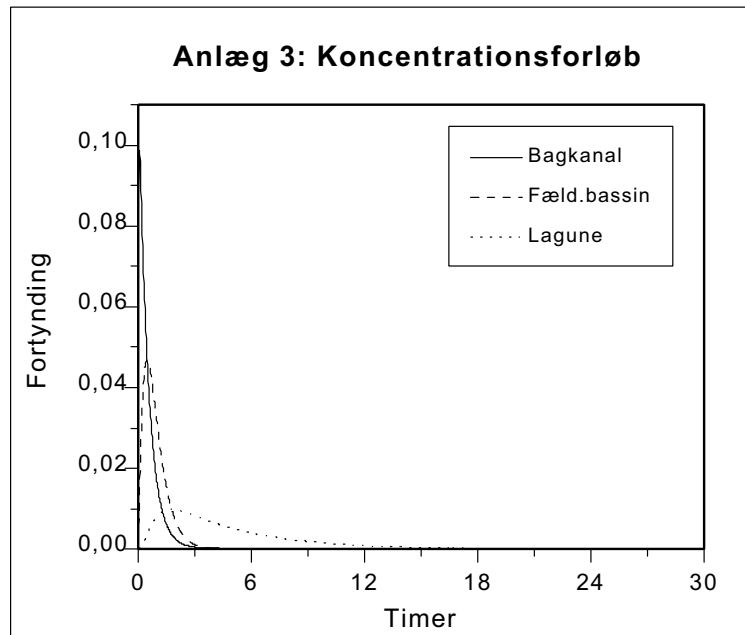
Bundfæld. bassin	58 min.	0,03662
Plantelagune	154 min.	0,01088

### Anlæg 3

Anlæg 3 repræsenterer den situationen, hvor den største udledningskoncentration kan forekomme, idet der er kortest tid og mindst vandmængde til rådighed for fortynding.

Koncentrationsforløbet ses i figur 4.3.

**Figur 4.3**  
Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsbassin og plantelagune i anlæg 3



I tabel 4.3 er beregnet den maksimale koncentration, og hvornår den opstår, efter at kummerne begynder at løbe ud i bagkanalen.

**Tabel 4.3** Maksimale koncentrationer efter dosering af 2 kummer i anlæg 3.

	Tidspunkt for maks. konc.	Fortynding
Bagkanal	6 min.	0,0985
Bundfæld. bassin	28 min.	0,0467
Plantelagune	106 min.	0,0099

*De maksimale koncentrationer ligger for formalin mellem 0,22 og 0,33 mg l<sup>-1</sup> og for kloramin-T fra 0,018 - 0,027 mg l<sup>-1</sup>*

Indsættes de af Jon From (1993) anbefalede startkoncentrationerne for de mest anvendte hjælpestoffer, formalin og kloramin-T, vil de maksimale koncentrationer være for formalin mellem 0,22 og 0,33 mg l<sup>-1</sup> og for kloramin-T fra 0,018 - 0,027 mg l<sup>-1</sup> og indtræffer 106 - 188 minutter efter at de doserede kummer begynder at løbe ud i bagkanalen. I recirkulerende anlæg anvendes ikke kobbersulfat, hvorfor dette stof ikke er medtaget i beregningerne.

### B. Intervaldosering

Ud fra koncentrationsforløbet i plantelagunen kan det konstateres, at der efter 11 - 14 timer er en koncentration på 10 % af den maksimale, og efter ca. 21 til 24 timer er koncentrationen ca. 1 %, afhængig af hvilket anlæg der er doseret (tabel 4.4). Den maksimale koncentration i plantelagunen udgør knapt 1 % af den oprindelige i kummen, og

efter ca. 24 timer er koncentrationen i plantelagunen lige under 0,0001% af denne. I tabel 4.4 er vist, hvor længe stoffet holder sig i plantelagunen.

**Tabel 4.4** Tidspunktet for forskellige koncentrationer i plantelagunen, når der doseres i anlæg 1, 2 og 3

	Anlæg 1	Anlæg 2	Anlæg 3
Maks. konc	3 t 8 min.	2 t 34 min.	1 t 46 min.
10 % af maks.	14 t 4 min	12 t 52 min.	11 t 47 min.
1 % af maks.	23 t 24 min.	22 t 30 min	21 t 9 min.
0,1 % af maks.	32 t 44 min.	31 t 34 min.	30 t 32 min.

Koncentrationsforløbet viser, at efter ca. 12 timer er ca. 90 % af stoffet løbet ud i vandløbet.

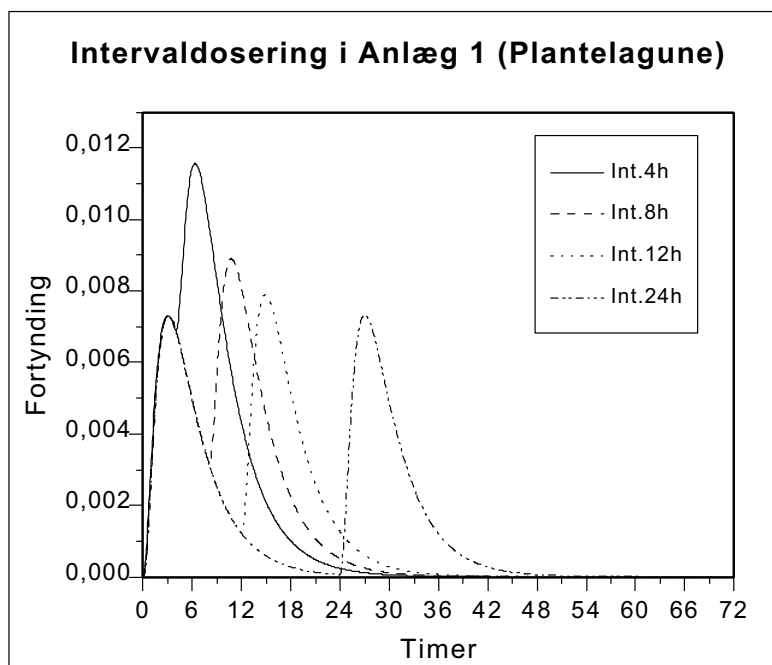
Koncentrationsforløbet i plantelagunen er fulgt for alle 3 anlæg ved dosering henholdsvis 4, 8, 12 og 24 timer efter den første dosering. Beregningsmæssigt er det underordnet om det er de samme kummer, der behandles igen, eller at det er et tilsvarende antal kummer i samme anlæg, der doseres.

For de enkelte anlæg kan koncentrationsforløbet følges grafisk i figur 4.4 - 4.6. Alle forløb for hvert enkelt anlæg er lagt ind i samme graf. For hvert forløb er der således kun tale om 2 toppe, en fra startdoseringen og en fra den efterfølgende dosering.

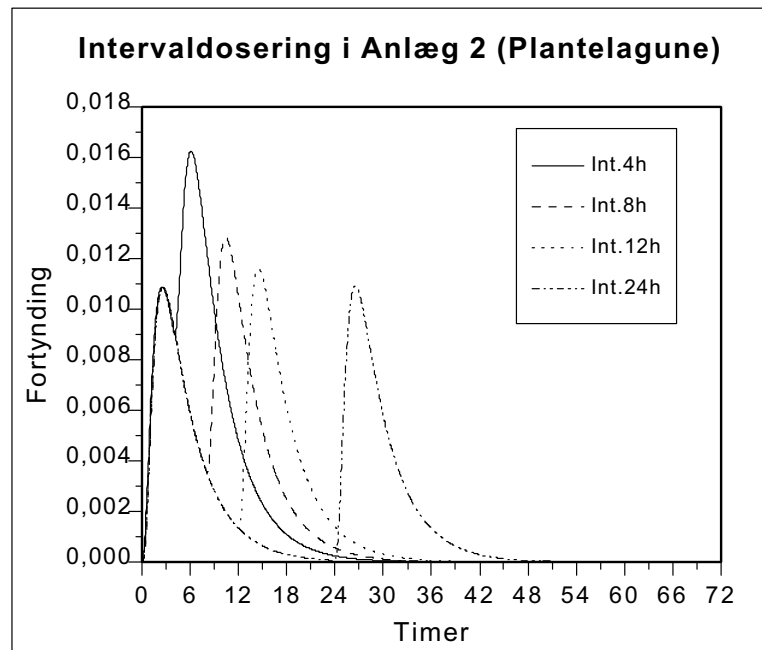
For alle anlæg gælder, at der er en meget lille stigning i koncentration i plantelagunen ved dosering 12 timer efter den første dosering, og efter 24 timer så godt som ingen ændring. Derimod er der en mindre stigning ved en yderligere dosering efter 4 timer, og en svag stigning ved 8 timer efter den første dosering.

**Figur 4.4**

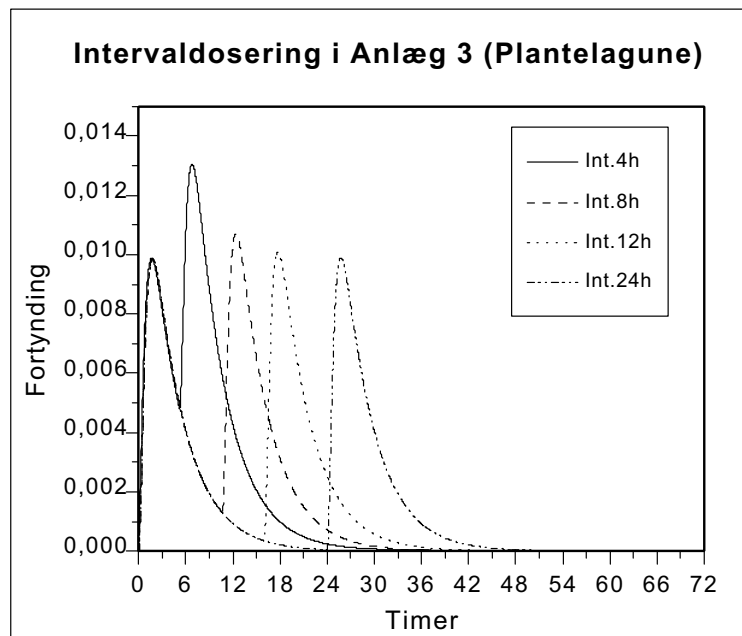
Koncentrationsforløb i plantelagunen i anlæg 1 af 2 på hinanden følgende doseringer henholdsvis 4, 8, 12 og 24 timer efter start



**Figur 4.5**  
 Koncentrationsforløb i  
 plantelagunen i anlæg 2 af 2  
 på hinanden følgende  
 doseringer henholdsvis 4, 8,  
 12 og 24 timer efter start



**Figur 4.6**  
 Koncentrationsforløb i  
 plantelagunen i anlæg 3 af 2  
 på hinanden følgende  
 doseringer henholdsvis 4, 8,  
 12 og 24 timer efter start



7

### Koncentrationsberegninger ved recirkulering

Der er valgt at fokusere på anlæg 3, der repræsenterer "worst case", da de tilsatte stoffer ikke først fortyndes i henholdsvis anlæg 1 og/eller 2, derfor vil de højeste koncentrationer i vandløbet opstå, når anlæg 3 doseres. Modellen er opbygget således, at bagkanalen er anlæg 3's på 26 m<sup>3</sup>. Afhængig af cirkuleringsgraden kan en del af vandet løbe til bundfældningsbassinet eller til et "fællesbassin", der består af, beluftningsanlæg (100 m<sup>3</sup>) + fødekanal (32 m<sup>3</sup>) + 8



kummer á 31 m<sup>3</sup>. I alt udgør fællesbassinet 380 m<sup>3</sup>. Vandet kan yderligere løbe tilbage til de to kummer, der doseres. Det er en forudsætning for beregningerne, at der altid løber den samme mængde vand pr. tidsenhed igennem alle 10 kummer. Ved en recirkuleringsprocent på 25 løber der pr. tidsenhed 25 % af vandet tilbage til kummerne, og 75 % løber videre til bundfældningsbassinet og via plantelagunen til vandløbet. Det betyder, at jo større recirkuleringsgraden er, jo længere tid tager det at fortynde stoffet i de doserede kummer.

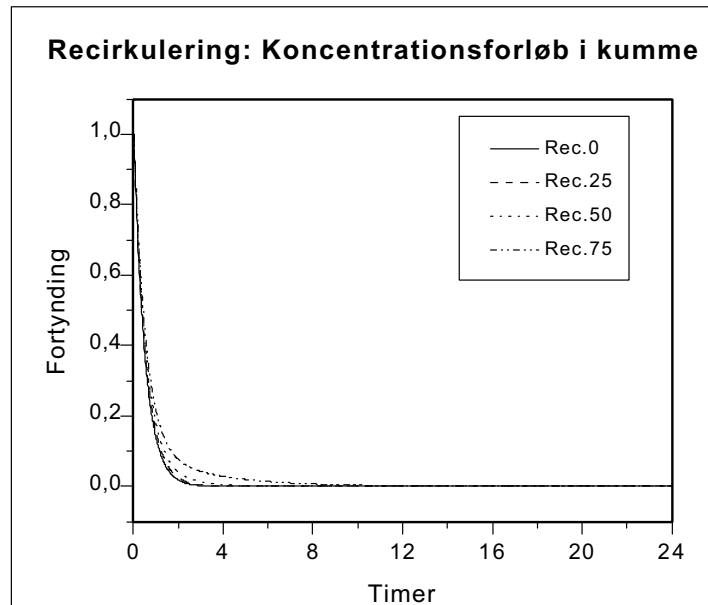
Beregningerne er foretaget således, at koncentrationsforløbet kan følges for hvert minut i doseret kumme, bagkanal, (fællesbassin), bundfældningsbassin, plantelagune og vandløb.

*Der er mange kombinationsmuligheder ved recirkulering af anlæggene*

Der er mange kombinationsmuligheder ved recirkulering af anlæggene. Yderpunkterne kunne være scenarium A: hvor alle 3 anlæg recirkulerede med den samme procent, hvilket betyder, at vandindtaget i dambruget reduceres, og resten af vandløbsvandet løber udenom, samtidig med at flow'et igennem de enkelte kummer er det samme, som når der ikke recirkuleres. Derved vil stofkoncentrationen i plantelagunen ved udløb i vandløbet blive tilsvarende reduceret. Scenarium B kunne være, at alt vandet fortsat løb gennem dambruget, og der kun blev recirkuleret i et anlæg, f.eks. i anlæg 3. Hvis dette er tilfældet vil stoffet blive tilsvarende reduceret i bundfældningsbassinet og videre gennem plantelagunen, der repræsenterer vandløbet. Det endelige koncentrationforløb i vandløbet nedstrøms dambruget vil i det store og hele være ens for begge scenarier.

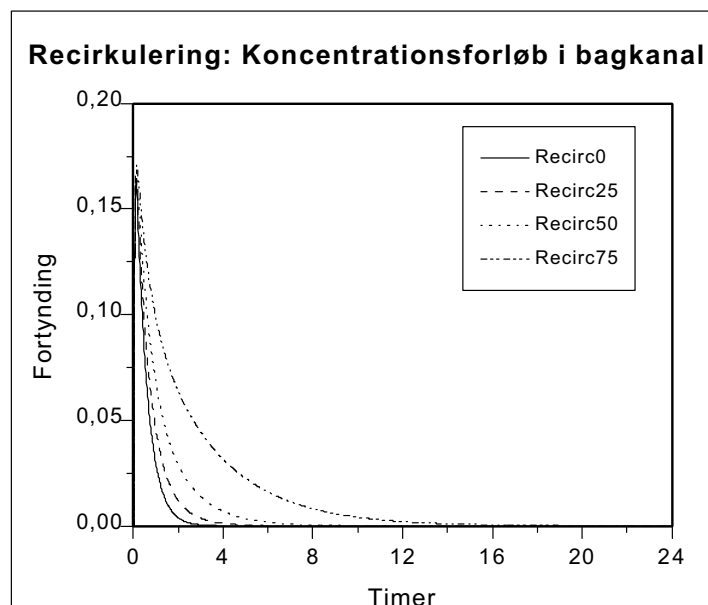
I det følgende er det valgt at beregne stofkoncentrationsforløbet under scenarium A, hvor doseringen finder sted i 2 kummer samtidig i anlæg 3. Der er beregnet koncentrationsforløbet ved 0, 25, 50 og 75 % recirkulering for bagkanal (figur 4.7), bundfældningsbassin (figur 4.8), plantelagune (figur 4.9) og endelig i vandløbet (figur 4.10).

**Figur 4.7**  
Koncentrationsforløb i doseret kumme ved 0, 25, 50, 75 procent recirkulering i anlæg 3.



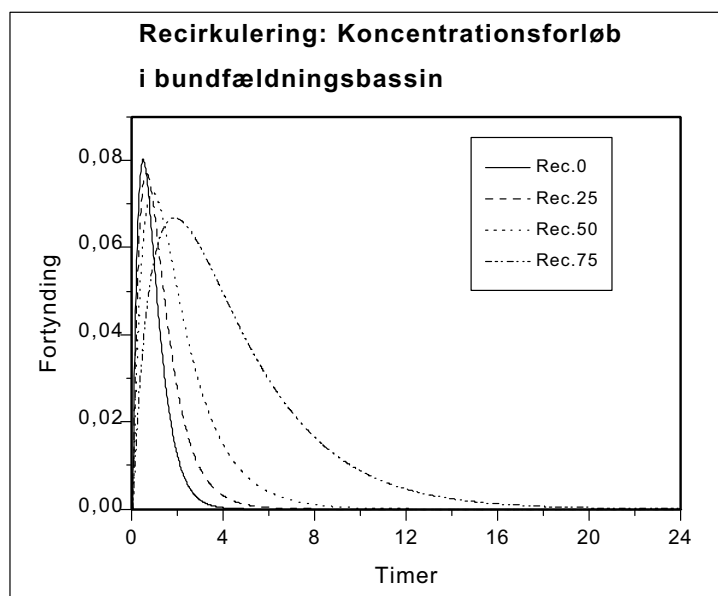
I de doserede kummer udtømmes stoffet langsommere med øget recirkuleringsgrad (figur 4.7). Da bagkanalens volumen på 26 m<sup>3</sup> er meget beskeden i forhold til de to doserede kummer på 2\*31 m<sup>3</sup>, vil den maksimale koncentration i bagkanalen være bestemt af de første differentiale mængder, hvorfor koncentrationen også er ens uanset recirkuleringsgrad (figur 4.8). Da det differentiale volumen i denne beregning er sat til ca. 1 m<sup>3</sup>, opnås en højere maksimal koncentration end i modelberegningen for anlæg 3 ved gennemstrømning, hvor den er ca. det halve. Betydningen af differentialets størrelse mindskes gennem dambruget, hvor den differentiale mængde bliver opblandet i større og større vandvolumen.

**Figur 4.8**  
Koncentrationsforløb i bagkanal ved 0, 25, 50, 75 procent recirkulering i anlæg 3



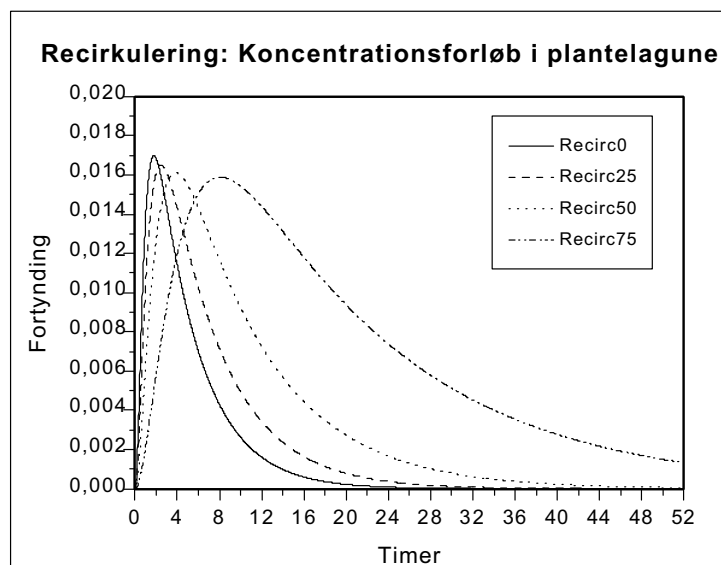
Allerede i bundfældningsbassinet (figur 4.9) ses betydningen af recirkuleringen. Med øget recirkuleringsprocent falder den maksimale koncentration, den indtræder senere og senere, og udtømmningen tager længere og længere tid.

**Figur 4.9**  
Koncentrationsforløb i bundfældningsbassin ved 0, 25, 50, 75 procent recirkulering i anlæg 3



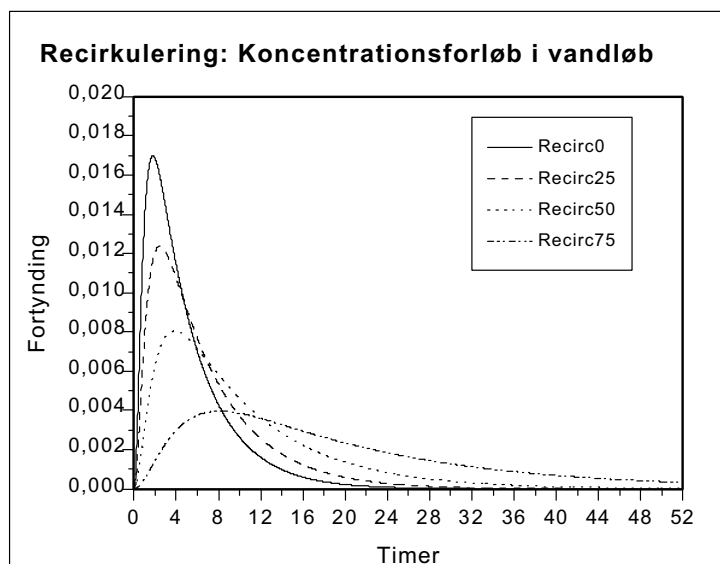
Den maksimale koncentration i plantelagunen (figur 4.10) er den halve af den opnåede i bundfældningsbassinet.

**Figur 4.10**  
Koncentrationsforløb i plantelagune ved 0, 25, 50, 75 procent recirkulering i anlæg 3



I selve vandløbet kommer forskellene tydeligst frem. Den maksimale koncentration falder næsten proportionalt med recirkuleringsgraden, og tidspunktet, hvor den indtræffer, er senere og senere (figur 4.11).

**Figur 4.11**  
 Koncentrationsforløb i  
 vandløb ved 0, 25, 50, 75  
 procent recirkulering i  
 anlæg 3



Med øget recirkulering udstrækkes udtømningsperioden. Da alt doseret stof kommer ud i vandløbet, repræsenterer arealet under de enkelte kurver den udledte stofmængde. Ved en recirkuleringsprocent på 75 er koncentrationen i vandløbet fortsat på ca. 0,05 % af den initiale koncentration i kummen efter 2 døgn. Det er dog en forudsætning, at stofferne også er konservative.

Uanset hvilke af modellerne, der ligger til grund for beregningerne, er den største koncentration i vandløbet for formalin ca. 0,4 mg l<sup>-1</sup>, og denne koncentration holder sig kun kortvarigt.

For kloramin-T er den største koncentration ca. 0,03 mg l<sup>-1</sup>.

## 4.2 Dambrugsmodel type II

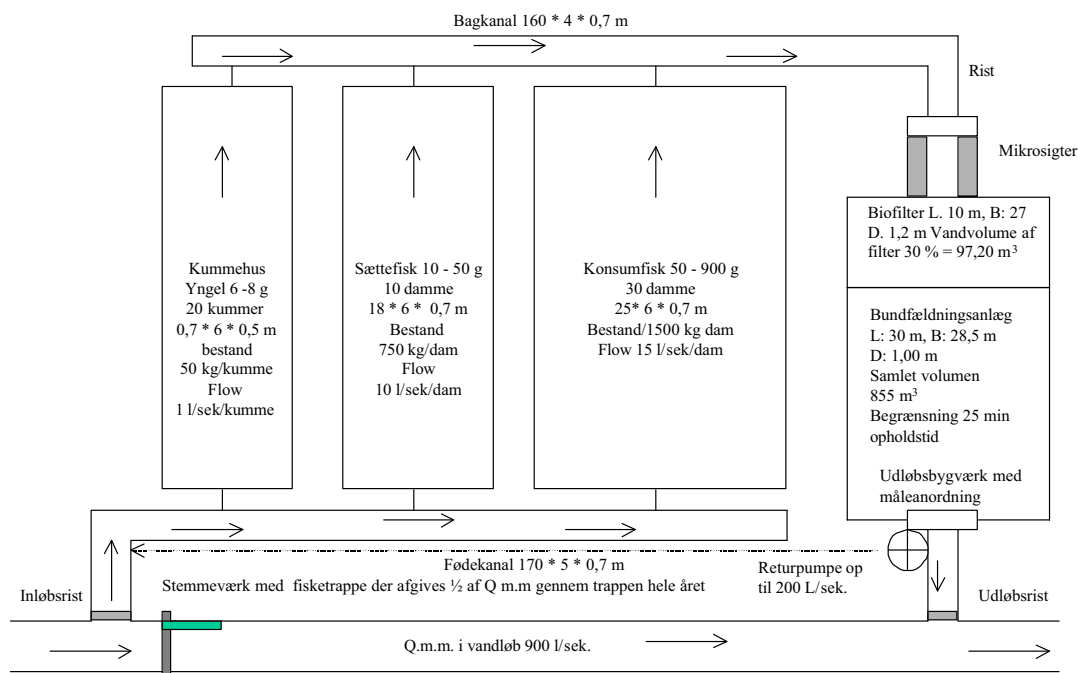
Et traditionelt jorrdambrug

### Anlægsbeskrivelse (se principskitse)

Vandet løber fra et vandløb ind i en 595 m<sup>3</sup> (170 m lang\*5 m bred\*0,7 m dyb) fødekanal. Herfra kan anlæg 1, der består af et kummehus til yngelopdræt med 20 kummer, hver på 2,1 m<sup>3</sup>, forsynes med et flow på 1 l s<sup>-1</sup> pr. kumme. Anlæg 2 er til sættefisk og består af 10 damme på 75,6 m<sup>3</sup>. Her er flowet sat til 10 l pr. dam. Anlæg 3 er et damanlæg til konsumfisk og består af 30 damme hver på 105 m<sup>3</sup> med et flow på 15 l s<sup>-1</sup>. Fra dammene løber vandet videre til en 448 m<sup>3</sup> (160 m lang\*4 m bred\*0,7 m dyb) bagkanal, hvor vandet behandles i en mikrosigte og et biofilter på ca. 90 m<sup>3</sup>. Efterfølgende løber vandet ud i et bundfældningsanlæg på 855 m<sup>3</sup> (30 m langt\*28,5 m\*1 m dybt).

Fra bundfældningsanlægget kan vandet løbe direkte ud som i et gennemstrømningsanlæg eller en vis procentdel kan ved hjælp af en pumpe føres tilbage til fødekanalen og dermed indgå i recirkuleringen.

## Principskitse for dambrugstype II Et traditionelt jorddambrug



Returpumpen benyttes til at sikre et konstant vandflow på 570 l/sek

### Beregningsforudsætninger

*Det er en forudsætning for modellen, at de enkelte anlægs damme er lige store, og at flowet er det samme i alle damme eller kummer*

Det er en forudsætning for modellen, at de enkelte anlægs damme er lige store, og at flowet er det samme i alle damme eller kummer. Behandles flere damme samtidigt fra samme anlæg, skal startkoncentration være ens i disse. Derimod kan der godt behandles damme fra flere anlæg samtidig, men starttidspunktet skal være det samme for alle anlæg.

*I modellen er der indlagt muligheden for at der kan ske en løbende omsætning af stoffet*

Når der recirkuleres, vil vandindtaget fra vandløbet blive reduceret med mængden af det recirkulerede vand for at opretholde det samme vandflow. Det antages, at maksimalt halvdelen af median-minimum vandføringen på  $900 \text{ l s}^{-1}$  bliver ført til dambruget og vil derfor repræsenterer "worst case". I modellen er der indlagt mulighed for, at der kan ske en løbende omsætning af stoffet. Det kræver dog, at stoffets halveringstid er kendt. Derudover kan rensningsprocent i biofilteret lægges ind, således at modellen tager højde for, at der sker en løbende reduktion af den mængde stof, der tilføres fældningsanlægget. Sættes stoffets halveringstid og rensningsprocent til 0, er der tale om en almindelig fortyndningsmodel for konservative stoffer. Det er en forudsætning, at stoffet er totalt opblandet.

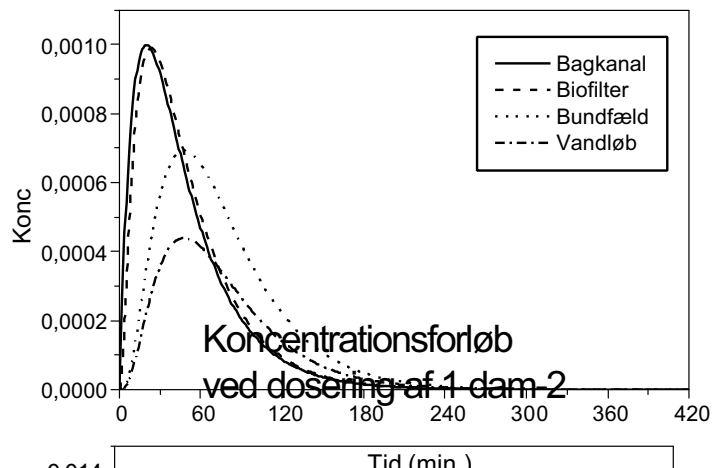
Til et hvert tidspunkt kan stofkoncentrationen beregnes ved at multiplicere stoffernes startkoncentrationen med fortyndingen. Kurveforløbet er således ens for alle stoffer

**Figur 4.12**

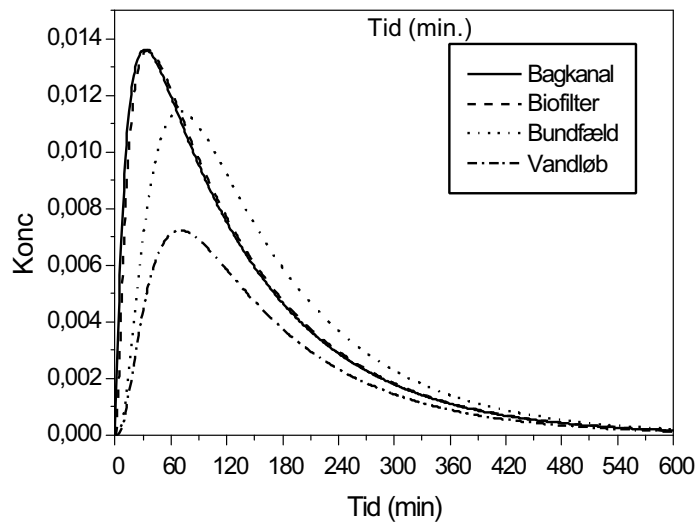
Koncentrationsforløbet i bagkanal, biofilter bundfældningsanlæg og vandløbet når der doseret 1 dam i anlæg 1 og der ingen rensning er i biofilter eller bundfældningsanlæg

For alle anlæg er der beregnet et kurveforløb af stofkoncentrationen i bagkanal, biofilter bundfældningsanlæg og vandløb, når anlægget drives som et gennestrømningsanlæg (0 procent recirkulering). Ved recirkulering er der også vist koncentrationen i den behandlede dam og de tilsvarende ubehandlede damme i det pågældende anlæg, desuden er vist koncentrationsforløbet for fødekanalen. Y-aksen angiver fortyndingen. Koncentrationen i kummen er sat til 1 på det tidspunkt ( $t = 0$ ), hvor vandet fra den behandlede kumme netop begynder at løbe ud i bagkanalen. Til ethvert tidspunkt kan stofkoncentrationen beregnes ved at multiplicere stoffernes startkoncentrationen med fortyndingen. Kurveforløbet er således ens for alle stoffer. X-aksen repræsenterer tiden efter doseringen. Den differentielle tid er sat til 1 minut. Der er vist flest beregninger for anlæg 3, da dammene her er størst og en dosering af disse vil repræsentere "worst case".

**Koncentrationsforløb ved dosering af 1 dam-1**



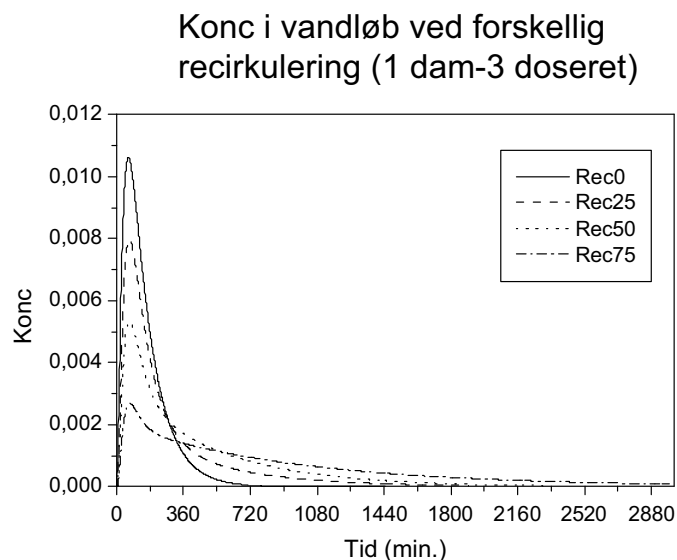
**Koncentrationsforløb ved dosering af 1 dam-2**



**Figur 4.13**

Koncentrationsforløbet i bagkanal, biofilter bundfældningsanlæg og vandløbet når der doseret 1 dam i anlæg 2 og der ingen rensning er i biofilter eller bundfældningsanlæg.

**Figur 4.14**  
 Koncentrationsforløbet i  
 bagkanal, biofilter  
 bundfældningsanlæg og  
 vandløbet når der doseret 1  
 dam i anlæg 3 og der ingen  
 rensning er i biofilter eller  
 bundfældningsanlæg.



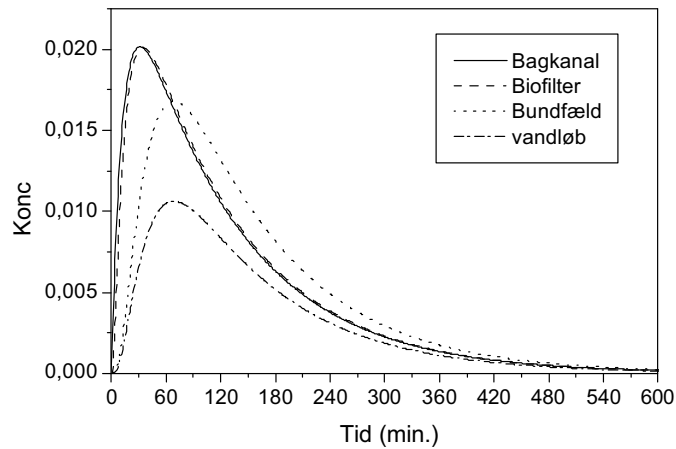
I modellen kan alle de forudsatte flowstørrelser, antal damme, vandflow, osv. ændres efter ønske blot ved at indsætte nye værdier for de eksisterende. Dette vil blive beskrevet nøjere i afsnittet om dokumentation.

#### **Koncentrationsforløb ved engangs dosering uden recirkulering**

Der er ingen rensning i biofilter eller reduktion af stof undervejs. Den maksimale koncentration i bagkanalen er 0,001 når anlæg 1 doseres (figur 4.12) og 0,0136 når anlæg 2 doseres (figur 4.13) og størst på 0,02, når anlæg 3 doseres (figur 4.14). Tilsvarende bliver koncentrationen i vandløbet henholdsvis 0,0042 for anlæg 1, og stoffet er væk efter ca. 250 min. For anlæg 2 er koncentrationen i vandløbet 0,0072 og så godt som 0 efter ca. 750 min. For anlæg 3 er koncentrationen 0,013 eller ca. 1 % af startkoncentrationen, og stoffet er ligeledes væk fra vandløbet efter ca. 720 min. (12 timer).

**Figur 4.15** Koncentrationen  
 i vandløbet ved forskellige  
 recirkuleringsgrader i anlæg  
 3, når 1 dam er doseret.

## Koncentrationsforløb ved dosering af 1 dam-3



### Koncentrationsforløb ved engangs dosering med recirkulering

Der er ingen rensning i biofilter eller reduktion af stof undervejs.

*Den maksimale koncentration i vandløbet er omvendt proportional med recirkuleringsprocenten, og udtømmningstiden er proportional med denne.*

Denne situation er vist for anlæg 3, hvor koncentrationen i vandløbet er beregnet ved forskellige recirkuleringsprocenter (fig 4.15). Den maksimale koncentration i vandløbet er omvendt proportional med recirkuleringsprocenten, og udtømmningstiden er proportional med denne.

En recirkuleringsgrad på 75 % giver en maksimal koncentration på 0,0026 og er først udtømt efter mere end 3000 min. svarende til mere end 2 døgn.

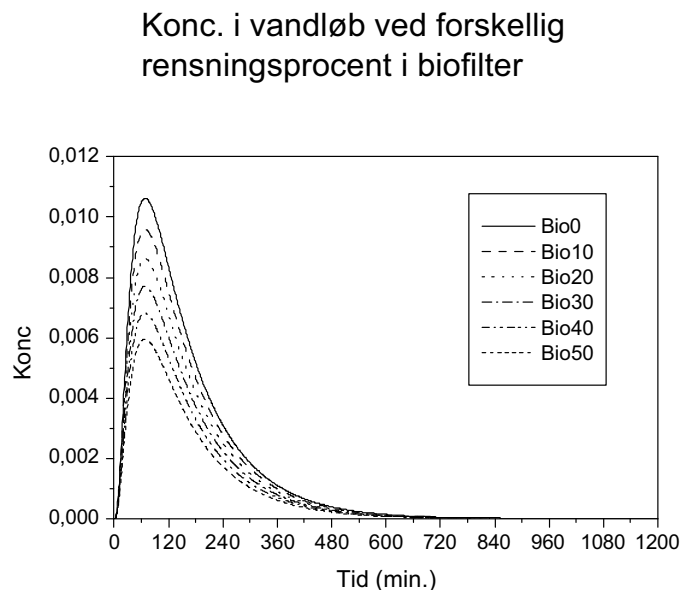
### Koncentrationsforløb ved engangs dosering med recirkulering

Der er ingen reduktion af stof undervejs undtagen i biofilteret.



Igen er eksemplet taget fra anlæg 3. Den maksimale koncentration i vandløbet optræder som hidtil efter ca. 1 time, og koncentrationen er omvendt proportional med rensningsprocenten (figur 4.16). Til gengæld er udtømmningstiden den samme uanset rensningsprocenten på ca. 720 minutter. Med en rensningsprocent på 50 bliver den maksimale koncentration på 0,0059.

**Figur 4.16**  
Koncentrationsforløbet i vandløbet ved forskellige rensningsgrader i biofilteret, når 1 dam i anlæg 3 bliver doseret.



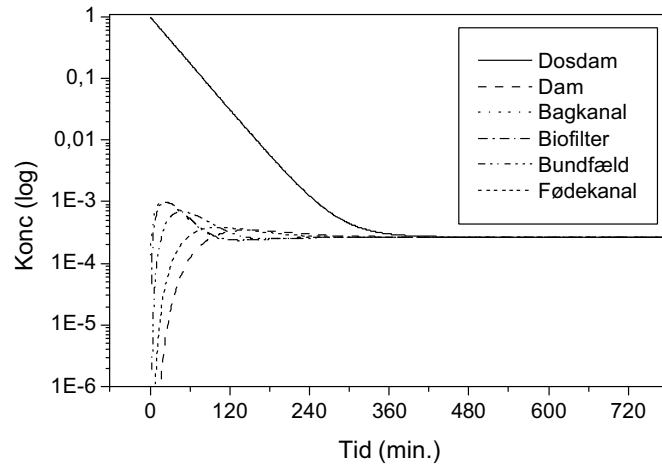
### Koncentrationsforløb ved engangs dosering med 100 % recirkulering

Der er ingen rensning i biofilter eller reduktion af stof under vejs.

Ved en 100 % recirkulering vil det doserede stof med tiden fordele sig i alle damme og kanaler og slutte med den samme koncentration over alt i dambruget. Hvordan koncentrationsforholdene er i anlæggets forskellige enheder kan ses af de 3 følgende grafer. Doseres 1 dam i anlæg 1 opnås ligevægt efter 475 minutter på en koncentration på 0,00013 (figur 4.17). For anlæg 2 opnås ligevægten efter ca. 1.250 min. på ca. 0,01 (figur 4.18), og for anlæg 3 opnås ligevægten efter ca. 1.000 min. med en koncentration på ca. 0,013 (figur 4.19).

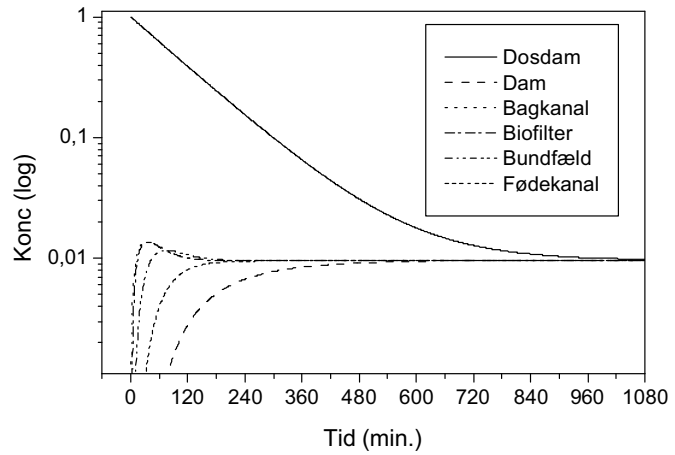
### Konc i dambrug ved 100 % recirkulering og dosering af 1 dam-1

**Figur 4.17**  
Koncentrationsforløbet i dambruget ved 100% recirkulering, når 1 dam doseres i anlæg 1.



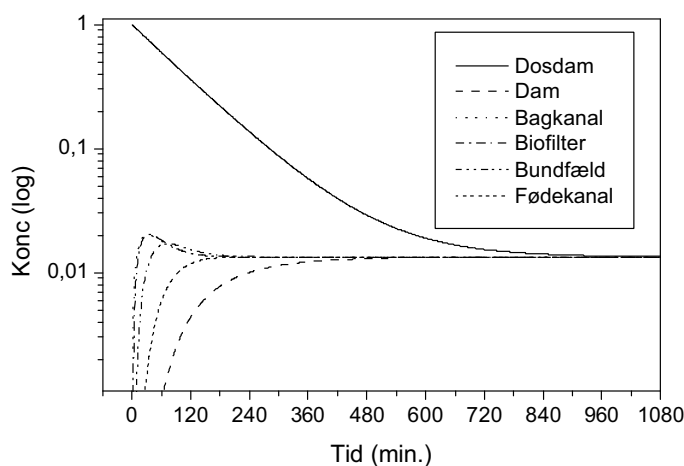
### Konc i dambrug ved 100 % recirkulering og dosering af 1 dam-2

**Figur 4.18**  
Koncentrationsforløbet i dambruget ved 100 % recirkulering, når 1 dam doseres i anlæg 2.



**Figur 4.19**  
 Koncentrationsforløb i  
 dambruget ved 100 %  
 recirkulering, når 1 dam  
 doseres i anlæg 3

Konc. i dambrug ved 100 % recirkulering  
 og dosering af 1 dam-3



### Koncentrationsforløb ved engangs dosering med 100 % recirkulering

Biofilteret renser med 30 %.

Biofilterets betydning for koncentrationsforløbet ses tydeligt, når anlægget kører med 100 % recirkulering. Det er vist for anlæg 2, hvor 1 dam er doseret (figur 4.20). Løbende reduceres stofmængden for hver gang vandmængden passerer igennem biofilteret, og efter ca. 1.200 minutter er koncentrationen den samme over hele anlægget. Hædningskoefficienten størrelse på kurverne er proportionalt med biofilterets rensningsgrad.

### Bundfældningsanlæggets betydning

Som for biofilteret er det muligt at indsætte en rensningsprocent for bundfældningsanlægget. Denne er hovedsagelig bestemt af sedimentationshastighederne.

### Generel halveringstid

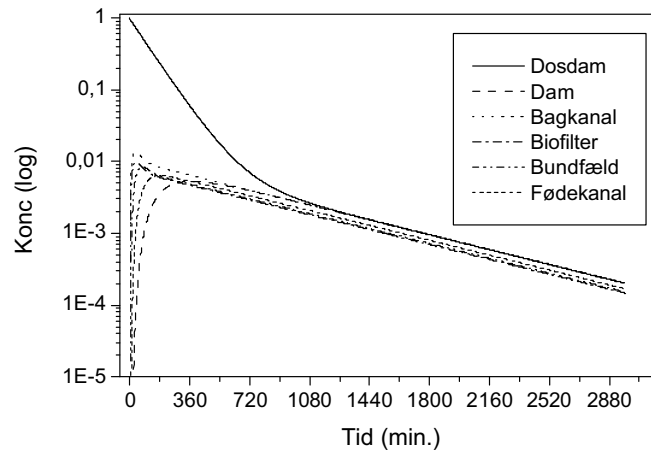
Modellen kan håndtere en løbende reduktion af stoffet som følge af dets omsætning, hvad enten den er biologisk eller fysik/kemisk baseret. Kravet er blot, at processen løber ved stoffets blotte tilstedeværelse. I modellen kaldes faktoren modifikationsfaktoren.

### Intervaldosering

Modellen kan ikke håndtere intervaldosering direkte. Ønskes sådanne beregninger, kan det gøres i selve regnearket ved at kopierer resultatet af en kørsel tidsforskudt til den næste søjle i regnearket og derefter i en 3. søjle at beregne tværsummen.

Figur 4.20  
 Koncentrationsforløbet i  
 dambruget ved 100 %  
 recirkulering, når 1 dam i  
 anlæg 3 doseres og  
 biofilteret renser 30 %.

Konc i dambrug ved 100 % recirkulering  
 og 30 % rensning i biofilter når 1 dam-2  
 er doseret



### Dokumentation for modellen

Se bilag 4 d.

### Brugerfladen

For dambrugstype 2 er der i regnearket udarbejdet et skema, hvor data, der beskriver anlægget og under hvilke betingelser kørslerne ønskes fortaget, f.eks. hvor mange damme, der skal doseres osv. (figur 4.21) lægges ind. I grafvinduet kan resultatet straks ses.

### Konklusion

*Begge modeller (type I og II) gør det let at beregne koncentrationerne over alt i dambruget og i vandløbet nedstrøms på et vilkårligt tidspunkt efter doseringen. Det skal understreges, at der er tale om teoretiske beregninger baseret på eksisterende anlæg, og at modellerne ikke er verificerede*

Begge modeller (type I og II) gør det let at beregne koncentrationerne overalt i dambruget og i vandløbet nedstrøms på et vilkårligt tidspunkt efter doseringen. Modellerne håndterer let ændringer i antal damme, flow osv., men kan ikke arbejde med ændret flow-retning mellem anlæggene eller forskellige damstørrelser i samme anlæg. Modellerne tager ikke hensyn til tidsforsinkelsen gennem vandløbet, men det kan manuelt udføres i regnearket. Det skal understreges, at der er tale om teoretiske beregninger baseret på eksisterende anlæg, og at modellerne ikke er verificerede. Så længe dette er tilfældet, må modelberegningerne nøjes med at give et indtryk af de størrelsesordener, koncentrationer kan opnå i vandløbet som følge af doseringen, ligesom betydningen af recirkuleringen og rensningsforanstaltningerne kan skønnes.

## Gennemstrøms, recirkulerende og cirkulerende dambrug

### En model for parallelforbunden damanlæg

Udført af Ole Sortkjær, DMU, Silkeborg

Vandindtag:	
Dambrugets vandindtag (l/s)	570
Vandløbets vandføring (l/s)	900

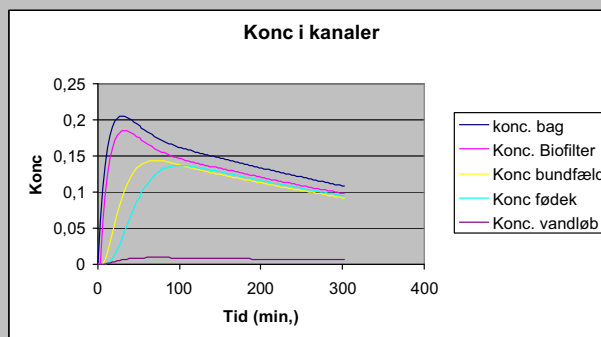
Dambrugets opbygning	
Bagkanalens volumen (m <sup>3</sup> )	448
Biofilter volumen (m <sup>3</sup> )	97,2
Bundfældningsanlæg vol (m <sup>3</sup> )	855
Fødekanalens volumen vol (m <sup>3</sup> )	595

Anlæggenes opbygning	Anlæg 1	Anlæg 2	Anlæg 3
Anlæggets vandindtag (l/s)	20	100	450
Dammenes volumen (m <sup>3</sup> )	2,1	75,6	105
Antal damme	20	10	30
Antal behandlede damme	0	5	0
Startkoncentration i dammene	0	3	0

Beregnet differentiell volumen	Anlæg 1	Anlæg 2	Anlæg 3	Total
m <sup>3</sup>	3,6	18	81	102,6

Kørselsbetingelser		Faktor
Differentieringstid (min)	3	
Recirkulerings procent	90	0,1
Rensningsprocent i mikrofilteret	10	0,1052526
Rensningsprocent i Bundfældning	10	0,0125637
Stoffets halveringstid (min)	1440	0,998557

Dato for kørsel: 29-2 2000



Figur 4.21 Brugersiden i Excel-regneark for Dambrugstype 2.

## 5 Formalin (Formaldehyd)

Af Per Borgbjerg, Ole Sortkjær, Svend Steinfeldt og Per Aarup

### 5.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af formalin på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer, der er aktuelle

*Formalin anvendes til desinfektion af vand i kummehuse, damme og kanaler for at forebygge eller decimere et parasitangreb på hud og gæller eller skimmel (Saprolegnia) på æg og afstrøgne moderfisk*

Formalin anvendes til desinfektion af vand i kummehuse, damme og kanaler for at forebygge eller decimere et parasitangreb på hud og gæller eller skimmel (*Saprolegnia*) på æg og afstrøgne moderfisk. Det er endvidere et meget brugt desinfektionsmiddel i recirkuleret opdræt, da formalin ikke skader biofiltrene, som benytter det som kulstofkilde. Gradvis tilvænnning er dog nødvendig. Andre anvendelser er desinfektion af støvler og udstyr eller bekæmpelse af snegle ved alvorlige angreb af øjenikter.

Formalin virker bedst ved temperaturer mellem 8 og 16 grader C. Ved lavere temperatur er virkningen begrænset og ved højere temperatur tilrådes stor forsigtighed ved doseringen, da giftigheden øges meget ved høj temperatur. Forsigtig dosering tilrådes også i surt vand (pH under 7,0).

Det anbefales, at fiskene er sultet et halvt døgn før, og at der ventes med at fodre til et par timer efter behandlingen. Beluftning eller iltning af vandet under desinfektionen tilrådes, især ved højere temperaturer. Fisk med bakteriel gælleinfektion tåler ikke formalin.

Ved svære parasitangreb desinficeres flere gange, men der anbefales kun en badning pr dag og kun to dage i træk uden pause, da fiskenes gæller kan tage skade ved hyppig påvirkning i længere tid.

*Der behandles sjældent mere end nogle få damme ad gangen*

Doseringsvejledning er forskellig fra dambrug til dambrug og fra tilfælde til tilfælde, og i mange situationer er dambrugeren henvist til at prøve sig frem, startende med en lav dosis i en dam eller to. Der behandles sjældent mere end nogle få damme ad gangen enten af hensyn til arbejdsrytme og overvågning, eller fordi problemet kun er akut i et mindre antal damme.

*Det kræver en del erfaring at dosere korrekt i en bagkanal*

Da bagkanalen også får en dosis hver gang, der desinficeres i dammene, er det sjældent nødvendigt at bruge formalin direkte i bagkanalen, men det hænder, at en parasitinfektion i bagkanalen bliver så voldsom, at desinfektion ikke kan undgås. Det er imidlertid meget vanskeligt og kræver en del erfaring at dosere korrekt i en bagkanal. Dambrugeren er henvist til at prøve sig frem med hensyn til dosis og fordeling af den afmålte mængde formalin i f.eks. afløbsmunkene fra dammene.

*Formalin er i de seneste år mere og mere blevet afløst af brintoverilte, især når det drejer sig om præventiv desinfektion*

Formalin er i de seneste år mere og mere blevet afløst af oxyderende desinfektionsmidler med indhold af brintoverilte, især når det drejer sig om præventiv desinfektion. En hudparasit som *Costia*, som er meget hyppig i opdræt, har dog i praksis vist sig vanskelig at bekæmpe med oxyderende midler, hvorfor man ikke skal forvente, at formalin helt udgår som anvendt hjælpestof.

Formalin forhandles og anvendes i to styrkegrader, henholdsvis 37 % og 24,5 % (vægtprocent).

Brugen af 37 % kræver gifttilladelse, som mange dambrugere er i besiddelse af. Nedenfor er anført anbefalet dosering for begge styrker.

### **Bekæmpelse af parasitter**

I kummer/bassiner:

37 % formalin: 1 : 4000 = 0,25 liter pr. 1000 liter vand i 1 time

24,5 % formalin: 1 : 2700 = 0,37 liter pr. 1000 liter vand i 1 time

Kummens vandvolumen beregnes, og den dertil afmålte mængde formalin fortyndes i en spand vand og fordeles i kummen. Der lukkes for vandet, idet man lader ynglen henstå i formalinbadet i ca. 1 time uden vandtilførsel. Der tilføres ilt ved beluftning, så længe behandlingen varer.

Kan der ikke tilføres ilt, eller er bestanden for stor, vil ovennævnte badning medføre dødelighed som følge af iltmangel, hvorfor der må anvendes en alternativ metode. Kummen trækkes ned, og der skrues ned for vandtilførslen, så kummen stemmes langsomt op igen. Den afmålte mængde formalin tilsættes bassinets indløbsende fordelt over 3 omgange.

I nogle tilfælde kan man heller ikke med denne metode strække desinfektionen over en time. Kan fiskene ikke klare sig uden frisk vand så længe, bør man i stedet anvende kortvarige bade et par dage i træk.

I damme:

37 % formalin 1 : 6000 = 0,17 liter pr. 1000 liter vand

24,5 % formalin 1 : 4000 = 0,25 liter pr. 1000 liter vand

*I damme tilrådes en lavere dosering end i kummer*

I damme tilrådes en lavere dosering end i kummer, dels fordi rumfanget i en dam ikke kan beregnes med så stor nøjagtighed som i en kumme, og dels fordi der normalt er meget langsommere vandudskiftning i en dam. Til gengæld får fiskene en længere opholdstid i formalinopløsningen.

Inden behandlingen trækkes dammen ned til halvt vandindhold, og vandvolumen i den nedtrukne dam beregnes. Der lukkes for afløbet. Den afmålte mængde formalin opblandes i en balje vand og tilsættes langsomt indløbsvandet f.eks. med en hævert. Tilsætningen skal ske

*Generelt gælder, at jo længere opholdstid desto lavere dosering*

over en periode på 20 - 40 minutter. Når dammen er stemt helt op med formalinopløsningen, åbnes igen for afløbet.

Generelt gælder at jo længere opholdstid desto lavere dosering. Ved præventiv badning anvendes gerne lavere dosering end ved akutte parasitangreb. I kummer er det almindeligt med præventive badninger en gang ugentligt eller en gang hver 14. dag. Ved yngelopdræt i damme er præventiv badning en gang hver 14. dag i de fleste tilfælde tilstrækkeligt. Nogle dambrug har erstattet formalin med oxyderende midler i det forebyggende arbejde.

### **Bekæmpelse af skimmel på æg**

Den beskrevne metode anvendes uden at afbryde vandgennemstrømningen i renden. Der anvendes 24,5 % formalin i en dosis på 1 : 4000 i indløbsvandet over 1 time. Formalinen doseres fra en beholder, som tilfører den afmålte mængde formalin til indløbet i løbet af 1 time.

*Desinfektionen startes når man ser den første skimmel på døde æg og gentages hver dag frem til øjenægstadiet*

Man gør følgende: Mål den mængde vand i liter, der løber gennem klækkerenden i løbet af 1 minut. Denne mængde ganges med 60 for at finde gennemløbet i liter pr. time. Dette tal divideres med 4000 for at beregne hvor mange liter formalin, der skal anvendes. Afmål den beregnede mængde formalin med et målebæger eller decilitermål og hæld den i beholderen. Fyld beholderen op med rent vand. Afpas udløbet fra beholderen, så den tømmes i løbet af 1 time. Desinfektionen startes, når man ser den første skimmel på døde æg og gentages hver dag frem til øjenægstadiet.

### **Desinfektion ved skimmel på afstrøgne moderfisk**

Der anvendes samme dosering og fremgangsmåde som ved parasitangreb i damme.

*Formalin har været det bedste middel siden malakitgrønt blev forbudt for 10 år siden.*

Dårlig effekt over for skimmel på moderfisk, men formalin har været det bedste middel siden malakitgrønt blev forbudt for 10 år siden.

*Undertiden forekommer masseinvasion i fisk af øjeniktens cercarier*

### **Bekæmpelse af snegle ved angreb af øjenikter**

Undertiden forekommer masseinvasion i fisk af øjeniktens cercarier. Bekæmpelsen består i at afbryde øjeniktens livscyklus ved at bekæmpe fugle på dambruget samt mosesnegle (*Lymnea*) i indløbskanal og damme. Rengøring og kalkning af damme og indløbskanal kan næppe altid finde sted med tilstrækkelig hyppighed til at klare problemet på tilfredsstillende måde. Derfor suppleres med følgende desinfektionsmetode:

Dammen trækkes så langt ned som forsvarligt. Med en rygsprøjte sprøjter man et tyndt lag ren formalin (24,5 %) på damkantens vegetation og på den blotlagte dambund hurtigt efter, at dammen er trukket ned, således at sneglene ikke når at vandre ned i vandet. Til en normal dam på cirka 6x30 m anvendes cirka 5 liter formalin. Beskyttelsesmaske bør anvendes, da formalindampe er giftige.

I den varme sommertid må sprøjtning med ca. 3 ugers mellemrum anbefales, mens man i kølige perioder ikke behøver sprøjte så ofte.



Efter hver sprøjtning henstår dammen nedtrukket i et par timer, således at formalinen får tid til at virke på alle snegle og snylteræg. Kort tid efter sprøjtningen udskiller sneglene store mængder slim, hvorefter de dør. Metoden anvendes i dag sjældent, da øjenikter ikke så ofte forekommer i massive mængder. Det er især dambrug med vandforsyning fra søer, der kan have problemet.

#### **Desinfektion af udstyr, transportbassiner, støvler etc.**

Af 37 % formalin anvendes 50 – 100 ml pr. 10 liter vand.

Af 24,5 % formalin anvendes 80 – 200 ml pr. 10 liter vand.

#### **Recirkulerede anlæg**

Ion From (1993) anfører doser fra 1 : 5000 til 1 : 1500 af en 30 % formalin. Den generelle anbefaling er at prøve sig forsigtigt frem med gradvis forøgelse af dosis fra gang til gang, indtil parasitterne er væk.

Yderligere oplysninger findes i : Meddelelse fra forsøgdambruget nr. 65, nr. 78 og nr. 84.

## **5.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning af de pågældende stoffer**

*Af arbejdsmiljømæssige årsager er der interesse for at få reduceret forbruget af formalin*

Formalin bruges i store mængder i industrien. Af arbejdsmiljømæssige årsager er der interesse for at få reduceret forbruget af formalin, da det er mistænkt for at være kræftfremkaldende. Der er dog fortsat mange produkter fra kosmetik til beklædning, hvor forbrugerne bliver udsat for stoffet. Traditionelt har formalin desuden været brugt til konservering af biologisk materiale. Dets desinficerende egenskab udnyttes til sygdomsbekæmpelse i dambrugserhvervet. Især anvendes det til behandling mod hudsnyltere og skimmelsvampe.

#### **Forekomst i naturen**

*Formalin kan dannes af organismer i naturen*

Formalin kan dannes af organismer i naturen, ligesom det kan optages og omsættes af disse; der er således ikke tale om et miljøfremmed stof. Formalin indgår i det biokemiske kredsløb i organismerne, og den mængde stof, der er tilgængelig for de enkelte organismer, er et samspil mellem tilførsel ved brug, organismernes produktion og nedbrydningen. Således fandt Edelkraut og Brockmann (1995), at formalin dannes naturligt i Elben i koncentrationer op til 180 µg l<sup>-1</sup>. Det dannes især af alger, som udskiller det og optages af heterotrofe bakterier. I brakvandsområder har man fundet en produktion på 2,7 mg formalin t<sup>-1</sup>\*m<sup>2</sup>.

Da formalinkoncentrationen i litteraturen ofte er angivet i ml l<sup>-1</sup> eller i volumenprocent, uden at det er angivet hvilken koncentration, der er anvendt til behandlingen, kan det være vanskeligt at sammenligne resultaterne. I sådanne tilfælde er artiklerne udelukket i den videre

litteraturbehandling. Hvor det har været muligt, er koncentrationerne omregnet til mg formalin l<sup>-1</sup>.

### **Biotilgængelighed**

*Formalin kan nedbrydes såvel abiotisk som ved anaerob eller aerob mikrobiel nedbrydning*

Formalin kan nedbrydes såvel abiotisk som ved anaerob eller aerob mikrobiel nedbrydning. Disse emner bliver særskilt behandlet i nedenstående. I dette afsnit bliver de mikrobielle processer berørt, der især har betydning for en økotoksikologisk vurdering.

*Store koncentrationer op til 100 mg l<sup>-1</sup> formalin kan nedbrydes kontinuerligt*

Abiotiske eksperimenter viste at formalinkoncentrationen blev reduceret med 10 - 11% i forsøgets første dag som følge af fordampning eller kemiske omdannelser (Omil et al., 1999). Store koncentrationer op til 100 mg l<sup>-1</sup> formalin kan nedbrydes kontinuerligt. Der skal dog tilsættes en kulstofkilde som f.eks. glucose (Vidal et al., 1999)

Til bortskaffelse af formalin i industrielt spildevand er der foreslået en anaerob nedbrydning. På trods af at litteraturen er rig på artikler, der viser, at formalin er toksisk over for mikroorganismer, er der andre artikler, som viser det modsatte, ikke mindst når det gælder mikrobiel nedbrydning af formalin selv under tilstedeværelse af andre organiske stoffer. I kontinuerlige systemer kan formalin nedbrydes i koncentrationer op til 1.000 mg l<sup>-1</sup>. I batch-kulturer favoriseres nedbrydningen af formalin til methan eller methanol af høje acetatkoncentrationer. Formalin hæmmer nedbrydningen af flygtige fedtsyrer, idet 125 mg formalin l<sup>-1</sup> kan hæmme fedtsyrenedbrydningen med 50 % og ved højere koncentrationer øges hæmningen yderligere, og der akkumuleres methanol, da kun formalin selv indledningsvis bliver nedbrudt (Omil et al., 1999).

Hudceller fra regnbueørred kan dyrkes som cellekulturer, hvor formalin påvirker fedt- og fedtsyremetabolismen (Ghioni et al., 1998).

*Under nedbrydning dannes metanol der senere kunne omsættes til metan*

Uden tilsætning af andre organiske stoffer blev formalin nedbrudt i anaerobe biologiske filtre. Ved koncentrationer på 1,67 nM (50 µg l<sup>-1</sup>) og 3,33 nM (100 µg l<sup>-1</sup>) blev formalin fuldstændig nedbrudt efter et par dage. Under nedbrydning dannes metanol, der senere kunne omsættes til metan. Ved højere koncentrationer (9,33 nM) blev nedbrydningen af formalin betydeligt reduceret, og der dannedes kun metanol. Formalin har også betydning for omsætningen af andre organiske stoffer som eddikesyre og smørsyre. Ved koncentrationer på 5 nM (150 µg l<sup>-1</sup>) kan der være en lagfase på 3 dage, før nedbrydningen af disse stoffer går i gang, men nedbrydningen af formalin er fortsat i gang. (Der er angivet en nedbrydningsvej for formalin) (Omil et al., 1999).

Ved en initial tilsætning af formalin på 30 mg l<sup>-1</sup> forløb formalinnedbrydningen efter en Monod-ligning med en ratekonstant på 0,35 - 0,46 d<sup>-1</sup>.

Nedbrydningen er dog afhængig af biomassen. I aktivt slam hæmmes iltomsætningen ved koncentrationer på 30 mg l<sup>-1</sup>

10 mg l<sup>-1</sup> (0,33 mM) formalin hæmmer den mikrobielle omsætning af acetat. Ved en initial tilsætning af formalin på 30 mg l<sup>-1</sup> forløb formalinnedbrydningen efter en Monod-ligning med en ratekonstant på 0,35 - 0,46 d<sup>-1</sup>. (Det vil sige, at 30 til 50 % omsættes pr. dag). Ved en initial koncentration på 60 mg l<sup>-1</sup> formalin hæmmedes nedbrydningen. Nedbrydningen er dog afhængig af biomassen. Hvis den initiale formalin i forhold til biomassen er 0,1, nedbrydes al formalin selv op til koncentrationer på 95 mg l<sup>-1</sup>. Formalin kan hæmme bakterier ned til 1-2 mg l<sup>-1</sup>. I aktivt slam hæmmes iltomsætningen ved koncentrationer på 30 mg l<sup>-1</sup>. Formalin kan også nedbrydes aerobt ved koncentrationer på 2 - 5 mg i aktivt slam.

Bakterien *Pseudomonas putida* A2 er i stand til at nedbryde formalin i koncentrationer på 250 mg l<sup>-1</sup>. Det er ikke muligt at akklimatisere en bakteriel kultur til en hurtigere nedbrydning af acetat når formalin er til stede (Qu & Bhattacharya, 1997).

I økotoksikologisk sammenhæng er det også vigtigt at vide, om formalin har indflydelse på næringsaltudvekslingen over sedimentet, og det viste sig, at formalinkoncentrationer mellem 0,02 til 0,04 % kunne standse den mikrobielle aktivitet, men at formalin som sådan ingen indflydelse havde på selve saltudvekslingen mellem sediment og vandfase (Tuominen et al., 1994).

### Toksicitet

En væsentlig betingelse for at vurdere et stofs toksicitet er, at dets koncentration følges under testen, således at den dosis, organismerne udsættes for, er kendt og ikke blot beregnet ud fra den tilsatte mængde. Til måling af formalin kan der anvendes en spektrofotometrisk metode til bestemmelse af formalin ned til 0,6 µg l<sup>-1</sup>. Formalin tilsat i flodvand gav en genfinding på 93 % af det tilsatte (Girousi et al., 1997). En sammeligning af to spektrofotometriske metoder og to gaskromatografiske metoder til bestemmelse af formalin i vand viste, at de spektrofotometriske lider af interferens og bør bruges med stor varsomhed og eventuelt helt udelukkes. De gaskromatografiske metoder fungerer i området 0,06- 20 mg l<sup>-1</sup> (Velikonja et al., 1995).

### Fisk

Viden om de toksikologiske effekter på såvel sygdomsvoldere som fisk stammer fra sygdomsbehandlingen af fisk i dambrug

En væsentlig viden om de toksikologiske effekter på såvel sygdomsvoldere som fisk stammer fra sygdomsbehandlingen af fisk i dambrug. Her anvendes koncentrationer i størrelsesordenen op til ca. 200 mg l<sup>-1</sup>, der er den koncentration, som reducerer de sygdomsfremkaldende organismer.

Ved regnbueørred (180 g) behandlet med terapeutiske koncentrationer af formalin på 0,2 ml l<sup>-1</sup> 37 % og kloramin-T på 10 mg l<sup>-1</sup> til behandling en gang om ugen i fire uger var der ingen effekt på mukuslaget, men der var ændringer i epidermis. De epidermale mukusceller var mindre, når fiskene var behandlet med kloramin-T, hvor imod formalin ikke gav denne effekt (Sanchez et al., 1998).

Behandling af laks, *Salmon salar*, med formalinkoncentrationer på 167 eller 250 mg l<sup>-1</sup> hver anden uge i 12 uger havde heller ingen synlig effekt på gællernes mukusceller. Derimod kunne man hos regnbueørred behandlet to gange om ugen i 12 uger med 200 mg l<sup>-1</sup> formalin se en forøgelse af antallet af mukusceller på gællernes lameller (Speare et al., 1997).

Behandlingshyppigheden kan således have betydning for mukuslaget, men det ser ikke ud til at have indflydelse på respirationen, således som man fandt for Kloramin-T behandlede fisk. Regnbueørred behandlet med formalin i koncentrationer på 200 og 400 µl l<sup>-1</sup> eller kloramin-T på 10 µl l<sup>-1</sup> gav ikke anledning til ændringer i iltforbruget. Formalinkoncentrationer op til 1.600 µl l<sup>-1</sup> gav ikke anledning til iltmangel. En efterfølgende fiskedød er således ikke knyttet til iltforbruget (Speare et al., 1996).

Behandling af regnbueørreder kan forårsage fald i vækstraten. Stress er ikke årsagen til en dårligere udnyttelse af føden

Behandling af regnbueørreder kan forårsage fald i vækstraten som følge af, at fiskene udnytter føden dårligere, når de er behandlet med Kloramin-T (10 mg l<sup>-1</sup>) og formalin (200 mg l<sup>-1</sup>). Behandlede fisk har dog forhøjet cortisol-indhold i blodet, som igen falder til normalt niveau 24 timer efter behandlingen. Stress er ikke årsagen til en dårligere udnyttelse af føden (Sanchez et al., 1997).

Generelt spores der ingen synlige effekter af behandling af regnbueørred (57 g) med formalin ved 200 mg l<sup>-1</sup>

Generelt spores der ingen synlige effekter af behandling af regnbueørred (57 g) med formalin ved 200 mg l<sup>-1</sup>, hvad enten fiskene er større eller mindre end 16 cm (Speare & Macnair, 1996, id 131). Det samme er tilfældet for laks, *Salmon salar* (Powell et al., 1996).

Benyttes formalin til behandling af fiskeæg fås den højeste klækningsprocent (fra 64 - 100 %), når en koncentration på 1.500 µl l<sup>-1</sup> (37 % formalin = 600 mg l<sup>-1</sup>) anvendes, hvorimod ubehandlede æg kun klækkede i 0 - 63 % i 5 undersøgte fiskearter. At klækningen i ubehandlede æg ikke var større, skyldes at ubehandlede æg blev inficeret (Rach et al., 1997).

Svampeinfektion med *Saprolegnia parasitica* på *Oncorhynchus tshawytscha* (fall chinook salmon) æg kunne behandles ved daglige behandlinger med 500 mg l<sup>-1</sup> formalin eller 1.000 mg l<sup>-1</sup> hydrogenperoxid, men også med salt (NaCl) der dog først er effektivt ved 30.000 mg l<sup>-1</sup> (Waterstrat & Marking, 1995).

Toksiciteten øges med temperaturen og mindskes med fiskens størrelse

Formalin er mere toksisk over for heltling (*Coregonus albula*) med en LC<sub>50</sub> (48 h) på 102 mg l<sup>-1</sup> end for regnbueørred med 135 mg l<sup>-1</sup> og for ørred med 157 mg l<sup>-1</sup>. Temperaturen og fiskens størrelse er afgørende for toksiciteten, der øges med temperaturen og mindskes med fiskens størrelse. Større fisk er mere robuste (Ritola & Lyytikäinen, 1995, id 132). Det ses også af, at for unge regnbueørred (gennemsnit 0,3755 g) var LC<sub>50</sub> (96h) ved 10 grader på 0,129 ml l<sup>-1</sup> (37%) (Van Heerden et al., 1995).

#### Andre akvatiske organismer

Waterstrat & Marking (1995) har sammenlignet toksicitetstest udført på rene kemikalier af formalin og fenol, og når de tilsvarende stoffer

optræder sammen i spildevand. De har udvalgt tester således, at de opfylder OECDs kvalitetetskrav. Der er anvendt en bakteriekultur fra et rensningsanlæg, en grønalgetest med *Scenedesmus*, en daphnietest og endelig en test med 10 cm store regnbueørred. Spildevandet indeholdt 22,5 mg l<sup>-1</sup> formalin og 70 mg l<sup>-1</sup> fenol. 60 % af stofferne var nedbrudt efter 10 dage. Spildevandet havde størst effekt over for daphnier og regnbueørred og mindre over for *Scenedesmus* og bakteriekulturen. Testen med bakteriekulturen var rettet mod iltforbruget og *Scenedesmus*-testen mod iltproduktionen. For daphnier var det mobiliteten, og for regnbueørred var det letaliteten.

I følge OECD skal den laveste værdi (*Scenedesmus*) divideres med 100 for at få en kravværdi, som i dette tilfælde vil være på 147 µg l<sup>-1</sup>

Spildevandets toksicitet var bestemt af de enkelte stoffers følsomhed over for organismerne. Således er fenol mere toksisk end formalin over for regnbueørred, hvorfor toksiciteten over for spildevandet her er bestemt af fenolens toksicitet. For *Scenedesmus* er det omvendt, her er formalin mere toksisk end fenol. Toksicitets-testene for formalin uden spildevand gav for bakteriekulturen en EC<sub>50</sub> (120h) på 43,1 mg l<sup>-1</sup>, for *Scenedesmus* EC<sub>50</sub> (24h) på 14,7 mg l<sup>-1</sup>, for daphnier en EC<sub>50</sub> (48h) på 19,4 - 32,2 mg l<sup>-1</sup> og for regnbueørred en LC<sub>50</sub> (48h) på 42,3 - 86 mg l<sup>-1</sup> (Waterstrat & Marking, 1995). Ifølge OECD skal den laveste værdi (*Scenedesmus*) divideres med 100 for at få en kravværdi, som i dette tilfælde vil være på 147 µg l<sup>-1</sup>.

LC<sub>50</sub> (48h) - værdier for andre, mindre dyr er generelt noget lavere end for fisk

LC<sub>50</sub> (48h) -værdier for andre, mindre dyr er generelt noget lavere end for fisk. Ghosh and Konar 1983 angiver LC50-værdier for zooplanktonarten *Cyclops viridis* til 11,2 mg l<sup>-1</sup> og for ormen *Branchiura sowerbyi* til 2,03. Frost *et al.* konstaterer høj følsomhed hos marine blåmuslinger (*Mytilus edulis*) forstærket af højere temperaturer.

For helt at slå bakterier ihjel skal der ofte store koncentrationer til under laboratorieforhold. 0,5 % formalin dræber *Flavobacterium branchiophilum* (Derksen *et al.*, 1999), og 2 % formalin kan forhindre aggregeringen af suspenderede partikler, idet denne proces ofte er betinget af bakteriel aktivitet (Rao *et al.*, 1991), (Leigh & Hyne, 1998).

### 5.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen

Formalin anvendes hovedsageligt til bekæmpelse af parasitangreb, jvf. afsnit 5.1.

Adskillige artikler beskriver tolerancen af laksefisk og -æg over for formalin (Marking *et al.* 1994, Heerden *et al.* 1995, Howe *et al.* 1995, Ritola & Lyytikäinen 1995, Waterstrat & Marking 1995, Rach *et al.* 1997), ligesom diverse ændringer/skader og stresspåvirkninger er grundigt belyst (Williams & Wootten 1981, Sanchez *et al.* 1997, Powell *et al.* 1996, Speare *et al.* 1996, 1997, Speare & MacNair 1996, Ghioni *et al.* 1998, Yildiz & Pulatsü 1999).

*Generelt er der for laksefiskene tale om ret høje LC<sub>50</sub> (48h)-værdier på omkring 125 - 150 mg l<sup>-1</sup>, mens æggene tåler meget højere koncentrationer på 500 - 1.500 mg l<sup>-1</sup> uden negative effekter*

Generelt er der for laksefiskene tale om ret høje LC<sub>50</sub> (48h)-værdier på omkring 125 - 150 mg l<sup>-1</sup>, mens æggene tåler meget højere koncentrationer på 500 - 1.500 mg l<sup>-1</sup> uden negative effekter. Ligeledes har regelmæssige behandlinger med 100 - 250 mg l<sup>-1</sup> i 1 time ingen eller kun marginale sekundære effekter/påvirkninger.

Den normale anvendelsespraksis (From 1993) består i, at en dam trækkes ned til halv volumen, hvorefter der tilsættes 75 mg l<sup>-1</sup> (aktivt stof) formalin udregnet efter tilstedeværende vandvolumen. Dammen stemmes op, og vandtilførslen til dammen fortsætter som normalt.

Såfremt en yderligere reduktion af dammens vandvolumen ved start er mulig, vil dette naturligvis reducere den nødvendige mængde formalin, som skal tilføres, men dette kan være vanskeligt/umuligt i praksis.

*Da effekten af formalin er betinget af såvel koncentration som tid, kunne den samme effekt opnås ved brug af mindre mængde formalin*

Da effekten af formalin er betinget af såvel koncentration som tid, kan den samme effekt opnås ved brug af mindre mængde formalin, såfremt vandtilførslen bliver stoppet/kraftigt reduceret under behandling, imens ilttilførslen bliver sikret f.eks. via beluftning.

Der savnes en belysning af sammenhængen mellem effekt og temperatur, således at doseringen kan relateres til den aktuelle temperatur.

## **5.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse**

*Formalin opløses forholdsvis let i vand og stoffet fordeles jævnt i opdrætsvandet*

Formalin opløses forholdsvis let i vand og under forudsætning af god iblanding under tilsætningen, vil stoffet fordeles jævnt i opdrætsvandet. Der kan generelt ikke forventes nogen udfældning/bundfældning af stoffet, dog kan der ved temperaturer under 4 °C dannes den tungtopløselige polymer paraformaldehyd, som i givet fald vil udfælde (Howe et al., 1995).

## **5.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer der kan have indflydelse på denne**

*Formalin kan benyttes som substrat/kulstofkilde af mange mikroorganismer*

Formalin kan benyttes som substrat/kulstofkilde af mange mikroorganismer. Udover oxidation (til myresyre, til vand og kuldioxid) kan formalin indgå i f.eks. methylering (formalin og ammonium bliver til methylamin og myresyre) og cannizzaro reaktion (formalin + vand bliver til metanol og myresyre), ligesom det kan bindes til proteiners aminogrupeer og derved danne broer/krydsbindinger.

*Bech & Sørensen (1998) viste en omsætning på 1,6 g formalin/m<sup>2</sup>/døgn i biofiltre ved 23 °C.*

*Dannelse, anvendelse og nedbrydning af formalin i naturlige omgivelser er også velkendte.*

Ved lave-moderate koncentrationer (under 100-150 mg l<sup>-1</sup>) af formalin iagttages ikke nogen baktericideffekt i f.eks. biofiltre, tværtimod vil der under aerobe betingelser ske en hurtig omsætning af formalinen. En af de hyppigst forekommende bakterier i biofilm, *Pseudomonas putida*, er påvist at have mindst to enzymer, som katalyserer oxidation af formalin (Ogushi et al. 1984, 1986). Bech & Sørensen (1998) viste en omsætning på 1,6 g formalin/m<sup>2</sup>/døgn i biofiltre ved 23°C udover almindelig driftsomsætning af organisk stof. Dannelse, anvendelse og nedbrydning af formalin i naturlige omgivelser er også velkendte (Nuccio et al. 1995).

Også under anaerobe betingelser, som f.eks. i fabriksrensingsanlæg inden for spånpladeindustrien, kan formalin nedbrydes, såfremt en øvre koncentrationsgrænse ikke overskrides. Denne grænse er afhængig af substratet og mængden af organisk stof i øvrigt (Qu & Bhattacharya 1997, Lu & Hegemann 1998, Vidal et al. 1999), men ligger generelt omkring 150-200 mg l<sup>-1</sup>.

*Der sker en temmelig stor reduktion i formalinkoncentration og -mængde under såvel behandlingen i dammen som under den efterfølgende passage af bagkanal og bundfældningsanlæg*

Det forekommer således overvejende sandsynligt, at der sker en temmelig stor reduktion i formalinkoncentration og -mængde under såvel behandlingen i dammen som under den efterfølgende passage af bagkanal og bundfældningsanlæg, idet der alle steder er såvel biologisk aktiv overflade (fast film og aktivt slam) som organisk materiale til stede.

Størrelsen af denne reduktion vil afhænge af bl.a. arealets størrelse, stofkoncentrationer, temperatur og pH, men burde kunne fastlægges ved simple forsøg.

## **5.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige rensforanstaltninger**

*Mekanisk filtrering vil ikke bevirke nogen reduktion i formalinkoncentrationen*

Mekaniske filtre skønnes ikke at have nogen reducerende effekt på mængden af aktivt formalin, så mekanisk filtrering vil ikke bevirke nogen reduktion i formalinkoncentrationen.

*Biologiske filtre kan reducere formalinmængden*

Biologiske filtre vil jævnfør ovenstående, og generel erfaring fra fiskeopdræt i recirkuleringsanlæg i øvrigt, kunne reducere formalinmængden. Dette sker ved såvel abiotiske processer som ved biologisk nedbrydning.

Størrelseordenen er afhængig af især opholdstid, temperatur og ilttilgængelighed samt tilstedeværelse af organisk stof, og som allerede nævnt er der påvist en omsætning på 1,6 g formalin/m<sup>2</sup>/døgn i biofiltre ved 23 °C.

## **5.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

Recirkulering vil generelt forøge formalinens opholdstid i anlægget og derved dels reducere udledningskoncentrationen via fortynding, dels forøge reduktionsgraden pga. større biologisk omsætning.

Såfremt recirkuleringsgraden øges, vil formalin-reduktionen kunne forøges yderligere

Såfremt recirkuleringsgraden under/efter behandling kan øges, vil formalinreduktionen kunne forøges yderligere, såfremt der kunne etableres recirkulering f.eks. over biofiltret alene. Forøget opholdstid i bundfældningsanlægget vil også reducere udledningens størrelse.

## 5.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug

Med den lette og hurtige omsætning af formalin vil eventuelle restmængder tilført slammet blive omsat. Brug af formalin vil derfor ikke skabe problemer vedr. dette punkt.

## 5.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen

Der er i det nedenstående beregnet og vist eksempler på koncentrationer i vandløbet når 1 stor dam doseres. De maksimale værdier som opnås i vandløbet afhænger som tidligere beskrevet af mange parametre. I tabel 5.1 er disse maksimale værdier beregnet som følge af variationer i recirkuleringsgrad og den procentvise reduktion ved hver passage af biofilter og bundfældningsanlæg.

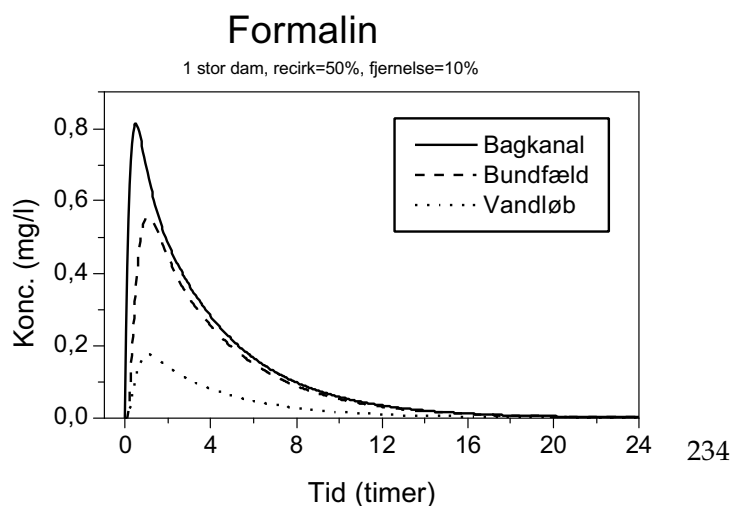
**Tabel 5.1** Maksimale værdier i vandløbet ved dosering af 80 mg/l til det halve volumen i 1 stor dam i modeldambruget.

	0 % recirkulering	50 % recirkulering	90 % recirkulering
0 % reduktion	0,42 mg l <sup>-1</sup>	0,21 mg l <sup>-1</sup>	0,04 mg l <sup>-1</sup>
10% reduktion	0,38 -	0,20 -	0,04 -
50 % reduktion	0,27 -	0,14 -	0,03 -

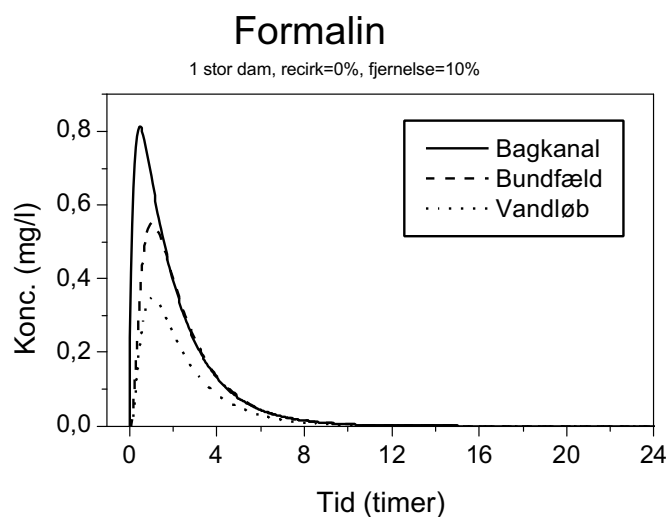
Såfremt forløbet for de tre grader af recirkulering afbildes grafisk, tager det sig således ud:

**Figur 5.1**  
Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb ved dosering af 1 stor dam og 0% recirkulering

**Figur 5.2**  
Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb ved dosering af 1 stor dam og 50% recirkulering

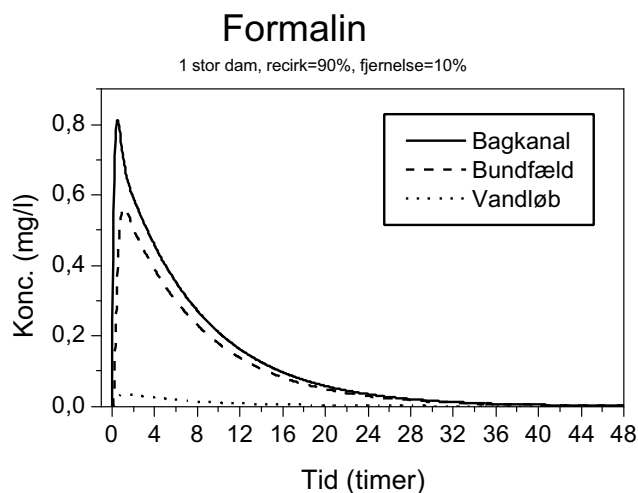






Den maksimale koncentration indtræder godt 1 time efter, at vandet igen begynder at løbe fra den doserede dam ind i bagkanalen.

**Figur 5.3**  
 Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb ved dosering af 1 stor dam og 90% recirkulering.



Formalinen er så godt som væk efter ca. 10 timer uden recirkulering og ca. 20 timer med 50 % eller 90 % recirkulering

Halveringstiden for formalin er i disse regneeksempler sat til 1440 minutter, svarende til 1 døgn. Ifølge personlig kommunikation med kemikere og praktikere, er denne halveringstid formentlig urealistisk høj, idet flere påpeger, at med det forholdsvis høje indhold af organisk stof samt specifikt ved passage af bundfældningsanlæg og biofilter vil en stor del af formalinen blive nedbrudt eller bundet kemisk.

I Walker (1975) anføres det, at formalin er en af de mest reaktive organiske stofforbindelser som kendes, idet det kan reagere med utallige såvel organiske som uorganiske forbindelser.

## 5.10 Økotoxikologisk vurdering af de under punkt 5.9 resulterende udledninger

*I aktivt slam hæmmes iltomsætningen ved 30 mg l<sup>-1</sup>*

Formalin dannes naturligt i cellerne og kan også udskilles. Alger kan producere formalin, som kan optages i bakterier. Der skal store koncentrationer på 0,5 % (500 mg l<sup>-1</sup>) til for at slå bakterier ihjel som f.eks. *Flavobacterium branchiofillum*. 10 mg l<sup>-1</sup> hæmmer den mikrobielle omsætning. I aktivt slam hæmmes iltomsætningen ved 30 mg l<sup>-1</sup>. Formalin omsættes relativt let med en biologisk halveringstid på ca. 1 døgn.

Der mangler generelt data for invertebrater og især for planter/alger for at kunne udføre en økotoxikologisk vurdering. Derfor må man anvende den mere traditionelle fastsættelse af sikre grænseværdier ved at multiplicere med en applikationsfaktor.

*Den laveste værdi divideres med 100 for at angive kravværdien på 147 µg l<sup>-1</sup>*

Formalin er mere toksisk over for heltling end for regnbueørred og ørred med en LC<sub>50</sub> (48 h) på 102 mg l<sup>-1</sup>. Toksiciteten øges med temperaturen og falder med fiskens vægt. En traditionel toksicitetstest på 4 trofiske niveauer viste, at algen *Scenedesmus* var den mest følsomme med en EC<sub>50</sub> (24h) på 14,7 mg l<sup>-1</sup>, hvorimod den for regnbueørred var på 42-86 mg l<sup>-1</sup>. Ifølge OECD's måde at fastsætte kvalitetskravs, skal den laveste værdi divideres med 100 for at angive kravværdien på 147 µg l<sup>-1</sup> for kroniske påvirkninger. På den anden side dannes der helt naturligt i vandsystemer koncentrationer op til 180 µg l<sup>-1</sup>, så en mere realistisk grænseværdi er vel snarere 200 µg l<sup>-1</sup> eller 0,2 mg l<sup>-1</sup>.

I det opstillede scenarium kan denne værdi overholdes, hvis der finder en 50 % recirkulering sted. Er der samtidig tale om en fjernelse af formalin, kan recirkuleringsprocenten nedsættes. Der kan alene behandles 1 dam ad gangen af de 30 store damme. Hvis der ikke er recirkulering, vil værdien på 0,2 mg l<sup>-1</sup> overskrides i godt 2 timer med en maksimal koncentration på ca. 0,4 mg l<sup>-1</sup>. Det skal dog ses på baggrund af, at de 0,2 mg l<sup>-1</sup> er fastsat som kronisk påvirkning.

Som nævnt flere gange er det videnskabelige grundlag for at fastsætte halveringstider og reduktionsrater desværre ikke til stede i dag.

## 5.11 Anbefalinger vedrørende doseringspraksis

Såfremt OECD-kravværdier ikke på noget tidspunkt skal overskrides, bør kun en stor dam behandles ad gangen, ligesom der under behandling bør etableres recirkulering af minimum 50 % af vandet.

## 5.12 Konklusion vedr. formalin, herunder behov for ny viden

Der er behov for bestemmelse af biologiske halveringstider i dambrugsvand og - sediment, herunder også halveringstidens afhængighed af relevante parametre såsom temperatur, BI<sub>5</sub>-indhold og iltniveau. Dette kan gøres i simpel laboratorieopstilling.

Der er behov for fastlæggelse af omfanget af binding/omsætning (biologisk og kemisk) under passage af biofilter og bundfældningsanlæg. Også her bør sammenhængen mellem temperatur, BI<sub>5</sub> og iltforhold undersøges. Dette bør gøres vha. målinger på dambrug under dosering af formalin, korrektionskoefficienter for temperatur, BI<sub>5</sub> og ilt-indhold fastlægges dog formentlig bedst ved laboratorieforsøg.

Der er behov for at få fastlagt, hvorledes doseringspraksis kan reguleres efter de givne parametre (temp., BI<sub>5</sub>, ilt) på doseringstidspunktet, uden at effekten nedsættes.

### Referencer

Bech P. and Sørensen L. (1998): Mikrobiologiske og vandkemiske undersøgelser af biofilmreaktorer. Specialrapport, Københavns Universitet.

Derksen, J.A., V.E. Ostland, and H.W. Ferguson. Effects of hydrogen peroxide on clearance of formalin-killed *Flavobacterium branchiophilum* from the gills of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum).  
Journal of Fish Diseases 22: 59-67, 1999

Edelkraut, F. and Brockmann, U. Formaldehyde in the Elbe Estuary: Distribution and processes.  
Acta. hydrochim. hydrobiol. 23, vol 5, 219-225, 1995

From, J. Fiskeopdræt I & II. Silkeborg 1993.

Frost, T.K. *et al.* Factors affecting toxicity of formaldehyde in *Mytilus edulis*  
*In:* Environmental and biological factors affecting toxicity of formaldehyde.

Ghioni, C., Tocher, D.R. and Sargent, J.R. Effects of dichlorvos and formalin on fatty acid metabolism of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin cells in primary culture  
Fish Physiology and Biochemistry 18, 241-252, 1998

Ghosh, T.K. and Konar, S.K. Effects of Formalin on Aquatic Ecosystem.  
Environ. & Ecol. 1, 273-276, 1988

- Girousi, S.T., E.E. Golia, A.N. Voulgaropoulos, and A.J. Maroulis. Fluorometric determination of formaldehyde. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 358: 667-668, 1997
- Heerden, E. van *et al.* LC50 determination for malachite green and formalin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. *Water SA* 21, 1, 1995
- Howe, G.E. *et al.* Efficacy and Toxicity of Formalin Solutions Containing Paraformaldehyde for Fish and Egg Treatments. *The Progressive Fish-Culturist* 57, 147-152, 1995
- Kristjansson, B.A. *et al.* Effects on growth of Arctic charr of handling, anaesthesia and repeated formalin bathing shortly after first exogenous feeding. *Journal of Fish Biology* 46, 163-165, 1995
- Leigh, K.A. and Hyne, R.V. Inhibition of particle aggregation in fluvial suspended sediment by formaldehyde. *Wat. Res.* 33, 1101-1107, 1999
- Lu, Z. and Hegemann, W. Anaerobic toxicity and biodegradation of formaldehyde in batch cultures. *Wat. Res.* 32 (1), 209-215, 1998
- Marking, L.L. *et al.* Evaluation of Antifungal Agents for Fish Culture. *The Progressive Fish-Culturist* 56, 225-231, 1994
- Meddelelse fra forsøgsdambruget nr. 65, nr. 78 og nr. 84.
- Nuccio, J. *et al.* Biological production of formaldehyde in the marine environment. *Limnol. Oceanogr.* 40 (3), 521-527, 1995
- Ogushi S. *et al.* Substrate specificity of formaldehyde dehydrogenase from *Pseudomonas putida*. *Agric. Biol. Chem.* 48 (3), 597-601, 1984
- Ogushi S. *et al.* Formaldehyde dehydrogenase from *Pseudomonas putida*: the role of a cysteinyl residue in the enzyme activity. *Agric. Biol. Chem.* 50 (10), 2503-2507, 1986
- Omil, F., D. Mendez, G. Vidal, R. Mendez, and J.M. Lema. Biodegradation of formaldehyde under anaerobic conditions. *Enzyme and Microbial Technology* 24: 255-262, 1999
- Powell, M.D., Speare, D.J. Fulton, A.E. and Friars, G.W. Effects of Intermittent Formalin Treatment of Atlantic Salmon Juveniles on Growth, Condition Factor, Plasma Electrolytes and Hematocrit in Freshwater and after Transfer to Seawater. *Journal of Aquatic Animal Health* 8, 64-69, 1996
- Qu, M. and Bhattacharya, S.K. Toxicity and Biodegradation of Formaldehyde in Anaerobic Methanogenic Culture.

Biotechnology and Bioengineering 55 (5), 727-736, 1997

Rach, J.J., Howe, G.E. and Schreier, T.M. Safety of formalin treatments on warm- and coolwater fish eggs. *Aquaculture* 149, 183-191, 1997

Rao, S. S., Droppo I. G., Taylor C. M. and Burnison B. K. Freshwater bacterial aggregate development: effect of dissolved organic matter *Water Pollut.. Res. J. Can* 26, 163-171, 1991

Ritola, O. and Lyytikäinen, T. Acute toxicity of formalin to vendace (*Coregonus albula*). *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues Advanc. Limnol.* 46, 357-360, 1995

Sanchez, J.G., Speare D.J., Johnson, G.J. and Homey, B.S.J. Evaluation of the Stress Response in Healthy Juvenile Rainbow Trout after Repetitive Intermittent Treatment with Chloramine-T or Formalin. *Journal of Aquatic Animal Health* 9, 301-308, 1997

Sanchez, J.G., D.J. Speare, D.E. Sims, and G.J. Johnson. Morphometric assessment of epidermal and mucous-bio film changes caused by exposure of trout to chloramine-T or formalin treatment. *Journal of comparative pathology.* 118: 81-87, 1998

Sills, J.B. Residues of Formaldehyde Undetected in Fish Exposed to Formalin. *The Progressive Fish-Culturist* 41 (2), 67-68, 1979

Speare, D.J. and MacNair, N. Effects of Intermittent Exposure to Therapeutic Levels of Formalin on Growth Characteristics and Body Condition of Juvenile Rainbow Trout. *Journal of Aquatic Animal Health* 8, 58-63, 1996

Speare, D. J. *et al.* Effects of Formalin and Chloramine-T Treatments on Oxygen Consumption of Juvenile Salmonids. *Journal of Aquatic Animal Health* 8, 285-291, 1996

Speare, D. J., Arsenault, G., MacNair, N., and Powell, M.D. Branchial lesions associated with intermittent formalin bath treatment of Atlantic salmon, *Salmo salar*, and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Diseases* 20, 27-33, 1997

Statens Forurensningstilsyn, Norge. Desinfektionsmidler i fiskeoppdrett – miljøeffekter. Rapport 95:10, 1995

Tisler, T. and J. Zagorc-Koncan. Comparative assessment of toxicity of phenol, formaldehyde, and industrial wastewater to aquatic organisms. *Water Air and Soil Pollution* 97: 315-322, 1997

Tuominen, L., T. Kairesalo, and H. Hartikainen. Comparison of methods for inhibiting bacterial activity in sediment. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 3454-3457, 1994

Ueno, R. *et al.* Study of Quality in Fish and Shellfish as Food – Concentration of Formaldehyde in Various Tissues of Cultured Eel by Formalin Bath.  
Bull. Fac. Fish. Mie Univ. 11, 37-42, 1984

Velikonja, S., Jarc, I., Zupancic-Kralj, L. and Marsel, J. Comparison of gas chromatographic and spectrophotometric techniques for the determination of formaldehyde in water.  
Journal of Chromatography A, 704, 449-454, 1995

Vidal, G., Jiang, Z.P., Omil, F., Thalasso, R., Mendez, R. and Lema, J.M. Continuous anaerobic treatment of wastewaters containing formaldehyde and urea.  
Bioresource Technology 70, 283-291, 1999

Walker J.F. Formaldehyde. Robert E. Krieger publ. Comp. 2<sup>nd</sup> ed. 1975

Waterstrat, P.R. and Marking, L.L. Clinical Evaluation of Formalin, Hydrogen Peroxide and Sodium Chloride for the Treatment of *Saprolegnia parasitica* on Fall Chinook Salmon Eggs.  
The Progressive Fish-Culturist 57, 287-291, 1995

Williams, H.A. and Wooten, R. Some effects of therapeutic levels of formalin and copper sulphate on blood parameters in rainbow trout.  
Aquaculture 24, 341-353, 1981

Wolfersberger, S. Bacterial Degradation of Formaldehyde in Water Impingement Samples.  
Proceedings of 94<sup>th</sup> ASM general meeting.

Yildiz, H.Y. and Pulatsü, S. Evaluation of the secondary stress response in healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after treatment with a mixture of formalin, malachite green and methylene blue  
Aquaculture Research 30, 379-383, 1999

## 6 Kloramin-T

Af Svend Steinfeldt, Ole Sortkjær, Per Borgbjerg og Per Aarup

### 6.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af kloramin-T på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer der er aktuelle

*Kloramin-T anvendes til desinfektion af vand i yngelkummer og yngel-damme for at decimere bakteriel gælleinfektion*

Kloramin-T anvendes til desinfektion af vand i yngelkummer og yngeldamme for at decimere bakteriel gælleinfektion, der er en meget almindelig sygdom i yngelopdræt og især i kummer. Anvendes også til større fisk, men ikke så hyppigt. Gællesygdomme har været i tiltagende i de senere år, hvilket formentlig også afspejles i forbruget af kloramin-T og andre desinfektionsmidler. Præventivt anvendes kloramin-T i kummeopdræt sædvanligvis en gang ugentligt.

Der er stor forskel i fiskenes kloramin-tolerance fra dambrug til dambrug. Generelt tilrådes **altid** at prøve sig frem med dosering. Særlig forsigtighed bør udvises ved høj temperatur eller i surt vand. Ved pH under 7,0 tåler fiskene ofte kun en fjerdedel af normal dosis. Koncentrationen bør også afpasses efter behandlingstiden. I kontrollerede forsøg under standard-betingelser ved 20 grader C fandt Jon From følgende sammenhæng mellem behandlingstid og den maksimale dosis, som regnbueørreder kunne tåle:

koncentration	325 mg/liter			behandlingstid	0,1 time		
-	45	-	-	-	1	-	-
-	30	-	-	-	4	-	-
-	20	-	-	-	12	-	-

De doser, som er nødvendige for at reducere smittepresset ved bakteriel gælleinfektion, er meget lavere end ovenstående. Jon From (1993) testede virkningen i en række eksperimenter med 3 forskellige koncentrationer af kloramin. Forsøgene mundede ud i en generel anbefaling af følgende koncentrationer ved en behandling:

#### I kummer / bassiner:

6,5 mg/liter - 1 : 100.000 (vol.) , ca. 1 time

#### I damme:

4,5 mg/liter - 1 : 150.000 (vol.) , ca. 1 time.

Fremgangsmåden ved desinfektion i kummer er den, at kloramindosis for en fuldt opstemmet kumme beregnes, og pulveret opløses i vand. Nogle lukker dernæst for vandet (beluftning påkrævet) og fordeler kloraminopløsningen i bassinet. Det anbefales imidlertid at trække kummen ned og hælde kloraminopløsningen langsomt i indløbet, idet der ikke lukkes for vandet. Herved får

Yngelen en stor koncentration i starten, men når kummen langsomt fyldes med vand bliver koncentrationen svagere og svagere.

Ved badning af yngel i damme anbefales det at trække dammen halvt ned og beregne volumen af den tilbageværende vandmængde. Den mængde kloraminpulver, der svarer til det nedtrukne volumen, afmåles og opløses i en balje vand. Opløsningen tilsættes med en hævert til indløbsvandet i løbet af en time, idet dammen samtidigt stemmes op til normalt vandindhold.

En enkelt desinfektion er ofte nok, men i nogle tilfælde bør der bades 2 - 3 gange på en uge, og i meget svære tilfælde er det nødvendigt med et dagligt bad i op til en uge.

Badning i op til 4 timer med en meget lav dosis har været praktiseret med held, men da der lukkes for vandtilførslen, er det nødvendigt med tilførsel af ren ilt eller tilstrækkelig beluftning. Dosering af kloramin varierer meget fra dambrug til dambrug afhængigt af vandkvalitet m.v. De fleste dambrug har eksperimenteret sig frem til en dosis og tilsætningsmetode, der er virksom under de forhåndenværende forhold.

*Kloramin-T er det mest effektive desinfektionsmiddel, når der er konstateret bakteriel gælleinfektion*

Kloramin-T er det mest effektive desinfektionsmiddel, vi har, når der er konstateret bakteriel gælleinfektion. Det afløses nu i en del tilfælde af brintoverilteholdige produkter, når det drejer sig om forebyggelse, men det er ikke indtrykket, at disse helt kan erstatte kloramin-T.

Kloramin-T anvendes ikke i recirkuleret opdræt, med mindre man kan lukke det kloraminholdige vand udenom biofiltrene, fordi der er risiko for negativ påvirkning af filterhudens bakterier.

## **6.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning**

*Klorholdige midler er hovedsagelig anvendt som desinfektionsmiddel i levnedsmiddelindustrien. Da klor er vanskelig at dosere og fordele i vandmasserne, tilsættes det i en formulering, hvor klor gradvist frigøres. Eksempelvis anvendes kloramin-T, der omsættes til p-toluensulphonamid (p-TSA) og den aktive komponent hypoclorit, ClO-*

Klorholdige midler er hovedsagelig anvendt som desinfektionsmiddel i levnedsmiddelindustrien, men også i papirfremstilling er det brugt som blegemiddel og er i denne forbindelse udledt i store mængder til elve i de nordiske lande. De klorholdige stoffer anvendes desuden til desinficering af overfladevand til vandforsyningen og i svømmebade. I en del lande anvendes de klorholdige midler til desinfektion af spildevand, hvor der dog afklorificeres i en vis grad før udledning til recipienten. Litteraturen beskæftiger sig især med høje koncentrationer, hvor formålet er at desinficere og med at sikre recipienten fra udledninger, hvor vandet har været desinficeret. Trods den massive brug af klorholdige midler til behandling af spildevand i USA, er litteraturmængden vedrørende effekter i recipienten beskedet. Da klor er vanskelig at dosere og fordele i vandmasserne tilsættes det i en formulering, hvor klor gradvist frigøres. Eksempelvis anvendes kloramin-T, der omsættes til p-toluensulphonamid (p-TSA) og den aktive komponent hypoclorit, ClO-



I Israel anvendes Monochloramin til bekæmpelse af insektlarver (myggelarver) i drikkevandsbassiner. Der anvendes høje værdier som 70 mg l<sup>-1</sup> i 1-2 timer, hvorved også andre arter dør. Myggelarvers (*Chironomus* sp.) LC<sub>50</sub> (75 min.) er = 32 mg l<sup>-1</sup> (Broza et al., 1998). Kloramin-T i koncentrationer på 12,2 mg l<sup>-1</sup> benyttes også til desinficering af flodvand til menneskebrug (franske tropper). En desinficering på 30 min. har vist sig ikke at være tilstrækkelig. Der anbefales natriumdichlorisocyanate i stedet.

*I dambrugserhvervet forsøger man også at erstatte kloramin-T med hydrogenperoxid (brintoverilte).*

I industrien har man forsøgt alternativer til klorering og forsøgt sig med ozon, chlordioxid og chloramin dog mest for at undgå kræftfremkaldende mellemprodukter i forbindelse med tilsætningen (Richardson et al., 1998). I dambrugserhvervet forsøger man også at erstatte kloramin-T med hydrogenperoxid (brintoverilte).

*Kloramin-T er et velegnet stof til bekæmpelse af forskellige fiske sygdomme, som bakteriel gællesyge*

Kloramin-T er et velegnet stof til bekæmpelse af forskellige fiske sygdomme, som bakteriel gællesyge. Søges i litteraturen på kloramin-T og ferskvandsorganismer består hovedparten af litteraturen om stoffets egenskab til at bekæmpe fiske sygdomme og dets effekt på fiskene selv.

## Toksicitet

### Effekt på fisk

*Klorforbindelserne i vandet optages over fiskenes gæller. Der findes en del litteratur vedrørende effekter af disse forbindelser på gællerne*

Klorforbindelserne i vandet optages over fiskenes gæller. Der findes en del litteratur vedrørende effekter af disse forbindelser på gællerne, ikke mindst hos regnbueørred.

Regnbueørreder (16,5 g) fik tilsat 0, 5, 10, og 20 mg kloramin-T l<sup>-1</sup> 2 gange om ugen i 4 uger. Koncentrationer på 10 og 20 mg l<sup>-1</sup> giver opsvulmede gæller, reduktion i antallet af mukusdannende celler og en forøgelse i antallet af kloridceller. Kloramin-T forøger epitellets ionpermeabilitet samtidig med at vandinflux øges, hvilket giver ødemdannelse (Powell et al., 1995). Andre beskriver at regnbueørreder (98 g), behandlet 2 gange ugentlig med kloramin-T i 11 uger, kun viser svag stigning i antallet af mukusproducerende celler og et skift fra neutral til sur mucinproduktion. Væksten blev reduceret sidst i perioden grundet reduceret fødeudnyttelse (Sanchez et al., 1996). Det er også beskrevet, at en daglig behandling med 10 mg l<sup>-1</sup> kloramin-T i 1 time kun forårsager små ændringer af gællernes mukusproduktion (Sanchez et al., 1997).

Forskellene i effekt på gællerne kan skyldes fiskenes alder eller fisketætheden.

Opsvulmede gæller og ændringer i mukuslaget vil have betydning for de respiratoriske forhold. Kloramin-T frigiver klor i vandet ved substitution, og der dannes hypochloritioner, OCl<sup>-</sup>. Giftigheden øges, når temperaturen stiger, og når pH eller hårhedsgraden falder. Kloramin-T og nedbrydningsproduktet pTSA optages i gællerne, men elimineres hurtigt igen.

Regnbueørred blev behandlet med 9 mg l<sup>-1</sup> kloramin-T, 0,45 mg natriumhypochlorit og 9 mg l<sup>-1</sup> pTSA. De behandlede fisk viste forøget respiration og CO<sub>2</sub> udskillelse ved behandling med kloramin-T og hypochlorit. Hypochlorit forårsagede også acidosis og betydelig reduktion i arterielt iltindhold. Der var ingen effekt af pTSA. De respiratoriske ændringer skyldes ændringer i mukussektionen i gællerne. Respirationsændringerne blev normale 90 min. efter, at hypoklorit tilsætningen var fjernet. (Powell & Perry, 1996) .

Andre forfattere har ligeledes målt en effekt i regnbueørredernes blodkemi. 9 mg l<sup>-1</sup> og 2 mg l<sup>-1</sup> forårsager respiratoriske forstyrrelser og ændringer i syre-baseforholdet i blod (Powell, 1998).

Der var ingen forskel på iltoptagelsen, når ørred (Salvelinus fontinalis) blev behandlet i et gennemstrømningskammer i 1 time med 200 og 400 µl l<sup>-1</sup> formalin og 10 µl l<sup>-1</sup> kloramin-T. Der opstod ikke iltmangel ved koncentrationer op til 1600 µl l<sup>-1</sup> formalin eller til 10 µl l<sup>-1</sup> kloramin-T (Speare et al., 1996).

*På sunde regnbueørreder er effekten af kloramin-T 6 gange mere giftig ved pH 6,5 end ved pH 9,5*

Da kloramin-T tilsættes direkte i dammene vil såvel syge som raske fisk blive udsat for behandlingen. På sunde regnbueørreder er effekten af kloramin-T 6 gange mere giftig ved pH 6,5 end ved pH 9,5. Sunde fisk behandlet med 5, 10 og 20 mg l<sup>-1</sup> kloramin-T gav kun væksthæmning ved 20 mg l<sup>-1</sup>. Derimod faldt hæmatokritværdierne ved alle behandlinger. Der var et koncentrationsafhængigt fald af natrium og chlorid i plasma. Infektioner i halefinnerne kan forekomme efter behandling af sunde fisk (Powell et al., 1995)

*Kloramin-T kan nedsætte fødeomsætningen hos regnbueørred og forårsage ringere vækst. Stress forårsager ikke vækstreduktion, det er stofpåvirkningen. Hyppig behandling med kloramin-T (2 gange ugentlig med 10 mg l<sup>-1</sup>) forårsager ikke kliniske ændringer eller død hos regnbueørred*

Kloramin-T kan nedsætte fødeomsætningen hos regnbueørred og forårsage ringere vækst. 1 time efter behandling med 10 mg l<sup>-1</sup> har fisken forhøjet cortisolniveau, som dog falder til niveauet før behandlingen efter 24 timer. Stress forårsager ikke vækstreduktion, det er stofpåvirkningen (Sanchez et al., 1997)

Hyppig behandling med kloramin-T (2 gange ugentlig med 10 mg l<sup>-1</sup>) forårsager ikke kliniske ændringer eller død hos regnbueørred. Der er dog tale om en væksthæmning, der senere delvis kompenseres (Sanchez et al., 1996)

Som vist af Gottardi (1992) dannes der hypoklorit, og der er mulighed for dannelse af chloraminer, når kloramin-T tilsættes. Hypoklorit såvel som mono og dichloraminer er giftige for fisk. En LC<sub>50</sub> (20 min.) på regnbueørred gav for monochloramin 1,35 mg l<sup>-1</sup>, for dichloramin 0,57 mg l<sup>-1</sup> og for hypochlorit på 0,46 mg l<sup>-1</sup> (Brooks & Bartos, 1984).

Kloramin-T 's toksicitet aftager med kemikaliets alder, hvor koncentrationen ikke falder så hurtigt som toksiciteten. Det bevirker også, at der er stor forskel på LC<sub>50</sub>-værdier fra statiske og gennemstrømnings-test. Det skyldes, at det tager tid at spalte chlorit fra kloramin-T, og tilsættes der hele tiden nyt kloramin-T, vil chloritkoncentration være lavere i gennemstrømningstestene i forhold til de statiske dog afhængig af, hvordan opløsningerne er

fremstillet. Det kunne løses ved, at man kontrollerer chlorit-koncentrationen og ikke kun kloramin-T koncentrationen.

*Hos fisk er ørreder mest følsomme over for kloramin-T. Eksempelvis har regnbueørred en LC<sub>50</sub> (96h) på = 2,8 mg l<sup>-1</sup>*

Hos fisk er ørreder mest følsomme over for kloramin-T. Eksempelvis har regnbueørred en LC<sub>50</sub> (96h) på = 2,8 mg l<sup>-1</sup>. Hvilket er det halve af typiske LC<sub>50</sub> værdier for andre fisk.

12 mg l<sup>-1</sup> i en time anses for at være harmløs for fisk (Bills et al., 1998). En sammenligning af toksicitet over for kloramin-T vil kun være mulig, når såvel koncentrationen af kloramin-T og hypochlorit er målt under testen, hvilket desværre er yderst sjældent.

I forbindelse med udledning af blegemidler fra papirindustrien til elve er der udført flere undersøgelser af effekterne på fisk. Der er anvendt et klorholdigt blegemiddel og ikke kloramin-T. Resultaterne er dog relevante, idet det er den frigivne chlorition, der påvirker fiskene.

Ligesom for kloramin-T forårsager blegemidlerne, klordioxide en nedsættelse af bl.a. antallet af immunoglobulin secrenerende celler. Effekten forsvinder igen, når fisken overføres til rent vand (Aaltonen et al., 1997).

De effekter man fandt i laboratoriet på fisken, helt, ved at fortynde spildevandet til hhv. 0, 1,3, 2,3, 3,5 og 7 vol % tilsvarede påviste effekter i naturen. Koncentrationen på 3,5 % svarede til den man fandt 3,3 km fra udløbet. Vækstraterne var forøgede, dog mindst ved 7 vol %. Den hepatiske ethoxyresorufin O-deethylase var koncentrationsafhængig og forøgedes helt op til 12 gange (Soimasue et al., 1995)

Blegemidler fra papirmøller har også effekt på ørredæg. Klækkede æg døde efter 4 uger ved en spildevandsprocent på 2 (vol %). Effekter ved 0, 0,5, 1 og 2 vol % blev undersøgt efter 44 dages eksponering. Der var forøget dødelighed ved øget koncentration.

Ligeledes er effekten på naturlige populationer af brasen undersøgt i relation til afstanden fra udledningen. Effekterne er ikke længere så udtalte og er geografisk mindre end tidligere som følge af omlægninger i papirproduktionen. Klor kan give alvorlige biokemiske såvel som fysiologiske skader, som sikkert også kan føre til død (Förlin et al., 1995).

*Akklimatiseringen til en udledning kan være målbar*

Akklimatiseringen til en udledning kan være målbar og må være en vigtig faktor i vurderingen af den økotoksikologiske betydning, en udledning måtte have. Skaller akklimatiseret til papirindustriens blegemidler viste samtidig en nedsat evne til at akkumulere PCP. Der er ikke kun tale om en genetisk tilpasning, men også til en fysiologisk akklimatisering.

Fisken blev i 38 dage udsat for en koncentration på 0,035 gange den lethale koncentration i 48 timer LC<sub>50</sub> (48h) og derefter i 0,07\*LC<sub>50</sub> i 14 dage. Igennem forsøgsperioden var fiskenes vækst uændret i forhold

til kontrollerne. Fiskenes tolerance til stoffet blev målt i forhold til deres  $LC_{50}$  (48 h) værdi for ikke akklimatiserede fisk. Tolerancen til stoffet øgedes til 30 - 39 %, men aftog efter 31 dage. Samtidig øgedes tolerancen for PCB. PCB's bioakkumulering var 16 % lavere end for kontrollerne (Oikari & Kukkonen, 1988).

### Effekt på sygdomsvoldere

I økotoxikologisk sammenhæng er det interessant at følge hvilke koncentrationer, der skal til for at bekæmpe de sygdomsfremkaldende organismer, som tilhører et bredt udsnit af de dyreordner der lever i vandløbene.

Kloramin-T bruges til sygdomsbekæmpelse ofte sammen med andre stoffer. Effektiviteten fremgår af, at koncentrationerne 6, 10 og 15 mg  $l^{-1}$  kan nedsætte dødeligheden med 38 - 88 % afhængig af behandlingsform (Bowker & Erdahl, 1998).

I recirkuleringsanlæg kan kloramin-T i koncentrationerne 9 - 15 mg  $l^{-1}$  bekæmpe den bakterielle gællesyge, men ikke en medfølgende amøbe. Fisketætheden er medårsag til sygdomsudbrud. Med stigende fiskebiomasse i dammene falder kloramin-T's effektivitet som sygdomsbekæmper og bliver yderligere reduceret af tilstedeværelse af foder og fækalier (Schnick, 1988).

*Kloramin-T bruges ofte sammen med formalin og salt*

Kloramin-T bruges ofte sammen med formalin og salt. I de senere år er også hydrogenperoxid anvendt for at forbedre sygdomsbekæmpelsen. En daglig behandling af regnbueørreder med formalin (0,167 ml  $l^{-1}$ ) eller kloramin-T (10 mg  $l^{-1}$ ) kan ikke slå en infektion helt ud. Formalin er vist mest effektiv, men giver større efterfølgende fiskedødelighed (Ostland et al., 1995)

Hydrogenperoxid (200 mg  $l^{-1}$ ) er lige så effektiv som behandling med kloramin-T hos regnbueørred. Der er dog observeret en kortvarig væksthæmning, men efter 7 uger er der ingen forskel på behandlede syge fisk og ikke syge fisk, idet de tidligere syge fisk har en kompenserende vækst de sidste 4 uger (Speare & Arsenault, 1997). Det er hævdet, at hydrogenperoxid er mere effektiv til bekæmpelse af bakteriel gællesyge end kloramin-T. 2 behandlinger med 48 timers interval med 250 mg hydrogenperoxid  $l^{-1}$  var mere effektiv end 10 mg kloramin-T  $l^{-1}$ . I statiske bade er kloramin-T dog fundet mest effektiv (Lumsden et al., 1998)

Kloramin-T (15 mg  $l^{-1}$ ) var mere effektiv til at bekæmpe *Aeromonas salmonicida* i huden af inficerede ørreder end en kombination af formalin (250 mg  $l^{-1}$ ) og salt (3 %) (Cipriano et al., 1996).

### Andre mikrobielle effekter

Graden af kloramin-T's toksicitet på bakterier er uafhængig af den cellulære aktivitet. Efter desinfektionen er der en større del af cellerne, der fortsat er levende, men som ikke er i stand til at dele sig. Effekten af klor er ikke knyttet til ændringer i cellemembranens permeabilitet. Der er en tendens til, at behandlede colibakterier aggregerer (Arana et al., 1999). Kloramin-T forårsager en forholdsvis

lang lag-fase på 0,1 til 5 timer afhængig af hvilke mikroorganismer, der er tale om (Fuursted et al., 1997).

Vand desinficeret med klor kan give kromosomale forandringer. Chlordioxid giver mindre effekt end klorineret vand. Ved højt pH hydrolyseres klor, og der kan dannes chloroform (Itoh et al., 1995).

*I USA er det meste spildevand desinficeret med klor*

I USA er det meste spildevand desinficeret med klor. Inden det udledes igen, afgiftes vandet ved deklorineret med sulfit eller svovldioxid til en residualkoncentration omkring 0,11 mg klor l<sup>-1</sup>. EPA's grænseværdi er 10 gange lavere. Trods deklorificeringen er det tilbageværende vand toksisk og kan påvirke det akvatiske miljø (Maccrehan et al., 1998).

Det er ikke muligt at finde en direkte sammenhæng mellem desinficeret spildevand og populationerne af protozoer i ferskvand, selv om klor provokerer et fald i protozoantallet og en forsinkelse af bakteriernes vækst. Generelt kan bakterierne i spildevandet gro efter en udledning af desinficeret spildevand, hvor 1-2 mg l<sup>-1</sup> hypochlorit er anvendt i 15 min. Restkoncentrationen af klor er fulgt kontinuerligt.

*Selvom mange stoffer har en bred antimikrobiel effekt, behøver de ikke at have en hæmmende effekt på nitrifikationsprocessen. Stoffer, der hæmmer nitrifikationsprocessen, kan forårsage ammoniakdannelse og dermed forgiftning*

Selvom mange stoffer har en bred antimikrobiel effekt og især på gramnegative bakterier, behøver de ikke at have en hæmmende effekt på nitrifikationsprocessen, der skyldes de gramnegative bakterier, *Nitrosomonas* og *Nitrobacter*. Det kan skyldes kompleksdannelse under mere naturlige miljøforhold (Isomaa et al., 1994). Stoffer, der hæmmer nitrifikationsprocessen, kan forårsage ammoniakdannelse og dermed forgiftning. Ammonium tilsat biofiltre i et system behandlet med kloramin-T viste en doseafhængig hæmning af ammoniumomsætningen og af nitratproduktionen. Kobbersulfat, tetracycline og trimetoprim havde ikke nogen effekt (Nimenya et al., 1999). Monochloramin er ustabil og omsættes under oxidation af N<sub>2</sub> og NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Ved tilstedeværelse af naturligt organisk stof, oxideres dette i takt med monochloramins forsvinden (Vikesland et al., 1998). Da fiskene udskiller ammoniak, kan det ikke udelukkes i fiskedamme, at antimikrobielle stoffer kan fremme stressreaktioner på fiskene, som følge af for højt ammoniakkoncentrationer.

### **Effekt på andre akvatiske organismer**

*Toksiciteten er afhængig af den mængde klor der forbliver i opløsningen og ikke af den tilsatte mængde*

Brungs (1973) har for 26 år siden skrevet en indsigtfuld oversigtsartikel, baseret på mere end 170 artikler: Effects of residual chlorine on aquatic life. Heri påpeges, at toksiciteten er afhængig af den mængde klor der forbliver i opløsningen og ikke af den tilsatte mængde, og at der er mere opløst klor tilstede ved lavt pH. Mange tester i 60'erne baseret på statiske tester viste lav toksicitet af klor, grundet klors langsomme frigivelse gennem forsøgsperioden. Den opløste klorkoncentration blev ikke estimeret.

Klorering af drikkevand i koncentrationer på 0,5 - 1,0 mg klor, havde ikke effekt på mennesker

Ørredfisk var de mest følsomme over for klor, og fandtes ikke ved koncentrationer over 0,02 mg l<sup>-1</sup>

Klorering af drikkevand i koncentrationer på 0,5-1,0 mg klor havde ikke effekt på mennesker. Ligeledes er klor blevet tilsat vandværk i koncentrationer på 0,05 - 0,5 mg l<sup>-1</sup> for at undgå begroning i rørene.

I USA er det almindeligt at klorere spildevand. Hvis koncentrationen af klor i recipienten overstiger 0,37 mg l<sup>-1</sup> finder man ingen fisk. Ved en koncentration på 0,1 mg l<sup>-1</sup> faldt artsdiversitetsindexet for fisk med 50 %. Ørredfisk var de mest følsomme over for klor og fandtes ikke ved koncentrationer over 0,02 mg l<sup>-1</sup>. *Daphnia magna* døde ved 0,0114 mg l<sup>-1</sup>, og en acceptabel reproduktion fandt kun sted ved koncentrationer under 0,003 mg l<sup>-1</sup>. En koncentration på 0,03 mg l<sup>-1</sup> reducerer planktons fotosyntese med 20 %. (Brungs, 1973).

Bekæmpelse af ciliaten, *Anophyoides haemophila* på den amerikanske hummer, *Homarus americanus* med formalin (200 mg l<sup>-1</sup>) og kloramin-T (10 mg l<sup>-1</sup>) havde ikke effekt på hummerens adfærd, og ingen effekt på biokemiske ændringer af hæmolympfen. Derimod reagerede hummeren på salt. Koncentrationerne var ikke store nok til at bekæmpe parasitten, men var i stand til at holde sygdommen nede. En blanding af salt og formalin kunne dog dræbe ciliaten *Anophyoides haemophila* (Speare et al., 1996)

Subletale effekter på krabber som følge af klorins oxidationsprodukter forsvinder igen, når de overføres til rent vand (Key & Scott, 1986).

I USA har EPA påvist skader på organismer i akvatiske systemer ved koncentrationer under 100 µg l<sup>-1</sup> for kloramin-T, og laboratorieforsøg har vist effekter ved 10 µg l<sup>-1</sup>. I Australien tilsætter man mange steder drikkevandet 1 del hypochlorit og 3 dele ammonium for at danne chloramin, der langtsommere frigiver hypochlorit. Tester af ammonium og hypochlorits toksicitet hver for sig og i kombination efter OECD's retningslinier på cladoceraen, *Ceriodaphnia dubia*, kongerejen *Penaeus plebeus* og algen *Raphidocellus subcarpitata* (tidligere *Selenastrum carpicornutum*) og *Ankistrodesmus* påviste den laveste nuleffektværdi på 30 µg klor l<sup>-1</sup>. Ifølge OECD skal denne værdi divideres med 10. Det giver en kravværdi på 3 µg klor l<sup>-1</sup>. Anvendes kun akutte tester, skal man i følge OECD divideres med 100, og det giver en kravværdi på 1,8 µg klor l<sup>-1</sup>. Canada bruger en kravværdi på 2 µg klor l<sup>-1</sup>, og USA anvender 11 µg klor l<sup>-1</sup>. Manning et al., 1996). 1 µg klor svarer til klorindholdet i 6,4 µg kloramin-T.

De beregnede kravværdier til undgåelse af effekter i det akvatiske miljø er baseret på kronisk eksponering og ikke spontane påvirkninger.

### 6.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen

Anvendt dose er 10-15 mg l<sup>-1</sup> i 1 time

Ved standard doceringspraksis standses vandudskiftningen i en dam. Dammen trækkes ned til halvt vandvolumen, og der kompenseres for fiskenes iltforbrug ved beluftning. Anvendt dose er 10-15 mg l<sup>-1</sup> i 1

time. Herefter lukkes der op for vandgennemstrømningen og ikke reageret kloramin-T vaskes ud ( From, 1993).

En yderligere reduktion af dammens vandvolumen under behandling vil selvsagt reducere mængden af kloramin-T, der er til rådighed for udvaskning. Det er dog næppe muligt at reducere vandmængden væsentligt, uden at fiskene skades.

En reduceret behandlingsdosis i længere tid kunne tænkes at have samme effekt som den nuværende behandlingsform, samtidig med at residualmængden af kloramin-T bliver mindre. Talrige arbejder har beskrevet effekterne af "standarddosis" på laksefisk (Bass & Heath, 1977; Bowker & Erdahl, 1998; Bullock et al., 1991; Cipriano et al., 1996; Powell et al., 1994; Powell et al., 1995; Powell & Perry, 1996; Powell & Perry, 1997; Powell & Perry, 1998; Sanchez et al., 1997; Sanchez et al., 1998; Speare et al., 1996 og Zeitoun, 1997).

*Litteratursøgningen har ikke indikeret, at der er udført undersøgelser. hvor lavere doser og længere behandlingstid har været forsøgt*

Litteratursøgningen har ikke indikeret, at der er udført undersøgelser, hvor lavere doser og længere behandlingstid har været forsøgt. Powell et al. (1994) indikerer dog, at 10 ppm og 20 ppm i en time er en relativt hård behandling, idet raske fisk udsat for denne behandling havde tegn på skadede halefinner. Dette blev ikke observeret ved fisk behandlet ved 5 ppm. At der var samme skader på fisk ved 10 og 20 ppm understreger, at mængden af aktivt stof tilsyneladende ikke ændres væsentligt ved øget tilsætning af kloramin T. Dette bekræftes af Gottardi (1999).

Initialkoncentrationen af aktivt klor burde dog heller ikke falde væsentligt ved 5 ppm. Den observerede reducerede skadevirkning på halefinnerne (Powell et. al. 1994) ved 5 ppm i en time indikerer, at mængden af aktivt klor bliver reduceret væsentligt inden for den time, behandlingen varer, og at koncentrationen derfor falder i perioden.

#### **6.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse**

Kloramin-T vil være opløst i vandfasen (Gottardi, 1999), og der kan ikke forventes bundfældning i bundfældningsbassinet. Opholdstiden i bundfældningsanlægget vil øge den samlede opholdstid af kloramin-T på dambruget, hvorunder en nedbrydning finder sted. Eventuel kontakt med organisk materiale i bundfældningsbassinet vil øge omsætningen af kloramin-T (se punkt 5 for forklaring). Det må dog forventes, at langt størsteparten af vandet passerer hen over det sedimenterede materiale, uden at der er kontakt mellem kloramin-T og sedimentet.

## 6.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer, der kan have indflydelse på denne

*Kloraminer nedbrydes, når de kommer i kontakt med organisk materiale*

Kloraminer nedbrydes, når de kommer i kontakt med organisk materiale. Monokloramin reduceres i løbet af 5 døgn til 50 % ved 3,3 mg NOM l<sup>-1</sup> (NOM = naturligt organisk materiale) ved pH 6,5 og til 20 % ved pH 7,5. Kloramin-T vil i vandig opløsning i destilleret vand have en halveringstid på 73 dage (pers. kom. Superfos Agro). Tilstedeværelsen af organisk materiale vil indvirke på ligevægten, idet der fjernes hypoklorit ved oxidation af det organiske materiale. Der vil derfor være tale om væsentligt lavere halveringstider i dambrugsvand.

*En egenomsætningsrate for kloramin-T i dambrugsvand kendes ikke*

En egenomsætningsrate for kloramin-T i dambrugsvand kendes ikke, men det er almindeligt antaget, at øgede koncentrationer af NOM resulterer i øgede nedbrydningsrater, ganske som det er tilfældet for kloraminer (Vikesland, et al 1998). Den betydelige effekt af pH på nedbrydningen af kloraminer er interessant. En ændring i pH fra 7,5 til 6,5 giver mere end en fordobling af kloraminers nedbrydningshastighed (Vikesland, et al 1998). Ovennævnte pH-ændringer kunne genereres i dambrug. Det bør derfor også anbefales, at der ved eventuel behandling tages hensyn til indflydelsen af pH.

Bundfældningsanlægget medvirker til at øge opholdstiden på dambruget. Forudsættes det, at kloramin-T har samme halveringstid som kloraminer, vil den i Dambrugsbekendtgørelsen krævede opholdstid på 25 minutter kun reducere kloramin-T koncentrationerne i begrænset omfang.

En observeret dødelighed efter behandling har givet anledning til teorier om, at fiskene døde af iltmangel. Speare et al. (1996) har målt iltkoncentrationer i gennemstrømmende vand (2 °C) med juvenile salmonider (*Salvelinus fontinalis*) hhv. med og uden kloramin-T behandling. Fiskene øgede ikke iltforbruget ved 1 times behandling med kloramin-T (10 µl l<sup>-1</sup>).

Gælleforandringer, som har været tilskrevet høje koncentrationer af ammoniak, kan være forårsaget af en kombineret reaktion mellem ammoniak og residual klor fra eksempelvis behandlinger med kloramin-T (Mitchell & Cech, 1983).

En 4 måneders konstant eksponering for ammoniak (NH<sub>4</sub>Cl) i en koncentration på 530 µl l<sup>-1</sup> NH<sub>3</sub>-N havde ingen effekt på gællerne hos catfish (*Ictalurus punctatus*). En samtidig tilsættelse af Ca(OCl)<sub>2</sub> til dannelse af 70 µg monokloramin l<sup>-1</sup> (udtrykt som Cl) gav tydelige skader på gællerne. (Mitchell & Cech, 1983). Årsagen er, at residual Cl reagerer med ammoniak og danner monokloramin. Den observerede effekt af ammoniak er altså afhængig af klorerede forbindelser, der kan give ophav til dannelse af kloraminer.

Anvendelsen af bakteriedræbende hjælpestoffer vil alt andet lige også indebære en reduceret nitrifikation i dammene. Kloramin-T i



koncentrationerne 10 og 20 mg l<sup>-1</sup> har i laboratorieforsøg vist sig at reducere nitrifikationen med hhv. 25,3 og 50,6 % over en 24 timers periode (Nimenya et al., 1999).

I recirkulerede anlæg med høje grader af recirkulering er en nedsættelse af nitrifikationen ikke hensigtsmæssig, idet det kan føre til en ammoniakforgiftning af fiskene. Et biologisk filter på et dambrug vil dog ikke blive udsat for en konstant koncentration af kloramin-T igennem 24 timer i en behandlingssituation, og effekten på biofilterets nitrifikation vil derfor være væsentligt mindre.

## 6.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige rensforanstaltninger

*Mekaniske filtre vil ikke være istand til at fjerne kloramin-T*

Mekaniske filtre vil ikke være istand til at fjerne kloramin-T. Tilstedeværelsen af mekaniske filtre vil derimod reducere mængden af organisk materiale i vandet og vil derved alt andet lige kunne nedsætte nedbrydningen af kloramin-T.

Biofiltret vil ved hjælp af den store kontaktflade mellem organisk materiale og det opløste kloramin-T kunne medvirke til en nedbrydning af kloramin-T. Det skal dog her bemærkes, at det eksperimentelt har været vist, at en 10 ppm opløsning kloramin-T i et biofiltermateriale i 24 timer reducerede nitrifikationensprocesserne med over 25 % (Nimenya et al., 1999).

## 6.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet

En reduktion af vandvolumet vil reducere mængden af kloramin-T, der skal tilsættes dammen. Kombineres denne metode med en behandlingspraksis, der indebærer, at kun 1 dam behandles ad gangen, vil den maksimale koncentration i recipienten reduceres.

Eftersom der sker en egenomsætning af kloramin-T, vil der ved recirkulering kunne opnås en betydelig reduktion af belastningen af recipienten. Det bør dog undersøges nærmere, hvorledes residualmængderne af kloramin-T i genbrugsvandet påvirker fiskene på dambruget.

*Der sker en øget omsætning af kloramin-T, når mængden af organisk stof i vandfasen øges*

Der sker en øget omsætning af kloramin-T, når mængden af organisk stof i vandfasen øges. Dette kunne indgå i en bevidst praksis på dambrugene og medvirke til at forøge nedbrydningshastigheden af kloramin-T. Det bør dog understreges, at dambrugspraksis bør tilstræbe minimal mængde opløst organisk materiale i dammene, hvor fiskene behandles. Dette vil øge virkningen af behandlingen, idet effekten af kloramin-T øges, når der er mindre organisk materiale at oxidere. Dette kan til en vis grad opnås ved at forhindre, at bundfældet materiale ophvirvles, og der bør især ikke behandles, når vandet på grund af regnskyl er rigt på opslemmet materiale.

Nedstrøms dammene vil en øget omsætning af residualmængder af kloramin-T afhænge af tilstedeværelse af organisk materiale. Her vil en ophvirvling af bundfældet materiale altså alt andet lige reducere udledningen af kloramin-T. Biofiltre vil som beskrevet ovenfor have samme virkning.

## 6.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug

*Kloramin T vil ved nedbrydning danne 7 stoffer*

Kloramin T vil ved nedbrydning danne 7 stoffer (HOCl, OCl<sup>-</sup>, R-NCl<sup>-</sup>, R-NHCl, R-NCL<sub>2</sub>, R-NH<sub>2</sub>, R-NH<sup>-</sup> (R = CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-SO<sub>2</sub>) (Gottardi 1999). Der er ikke i litteraturen fundet indikationer, på at nedbrydningsprodukterne skulle være toksiske, bortset fra effekterne af de aktive klorgrupper. Der kan derfor ikke forventes problemer ved at deponere slam indeholdende kloramin-T eller disses nedbrydningsprodukter. Den store kontaktflade mellem kloramin-T og slammet i et slamdepot vil øge nedbrydningen af kloramin-T, og en fuldstændig nedbrydning må forventes inden for dage eller maksimalt uger.

## 6.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen

Langt hovedparten af behandlinger med kloramin-T finder sted på yngel og fisk under 100 g. Typisk vil halvdelen af dammene blive behandlet ad gangen.

Nedenstående tabel viser maksimale koncentrationer opnået i vandløbet efter behandling af 5 ud af de eksisterende 10 damme (type 2 damme). Dammenes volumen er halveret under behandlingen. I tabellen er graden af recirkulering varieret fra ingen recirkulering (0 %) over 50 % til 90 % recirkulering af vandet. Dette er sammenholdt med en varierende reduktion af stoffet pr. gennemløb af anlægget (hhv. 0 %, 10 %, og 50 %).

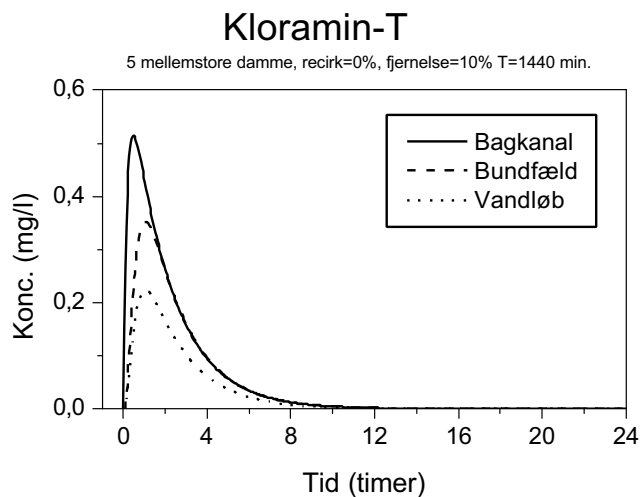
**Tabel 6.1** Den maksimale koncentration i vandløb ved en behandling af 5 mellemstore damme med 15 mg l<sup>-1</sup> kloramin-T. Dammenes volumen er halveret under behandlingen. Tabellen illustrerer effekterne af forskellige grader af stoffjernelse og recirkulering. Alle koncentrationer er i mg l<sup>-1</sup>

Fjernelse pr. gennemløb	Grad af recirkulering		
	0 %	50 %	90 %
0 %	0,268	0,135	0,027
10 %	0,248	0,124	0,025
50 %	0,171	0,085	0,017

Nedenstående figurer illustrerer koncentrationen af kloramin-T i hhv. bagkanalen, bundfældningsbassinet og vandløbet som funktion af tiden ved 10 % reduktion pr. gennemløb (dvs. omsætning i biofilter og bundfældningsbassin) ved 3 forskellige grader af recirkulering (0 %, 50 % og 90 %).

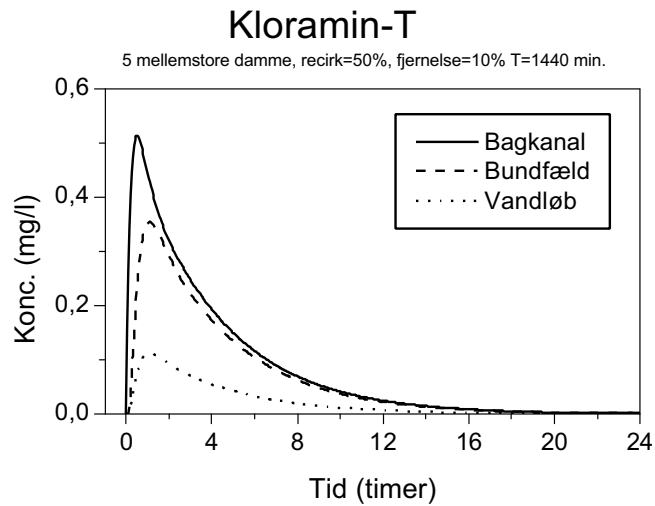
**Figur 6.1**

Koncentrationsforløbet i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 5 mellemstore damme doseres med 15 mg l<sup>-1</sup> kloramin-T. Dammenes volumen er halveret under behandlingen og recirkuleringen er 0 %. Halveringstiden er sat til 1440 min.

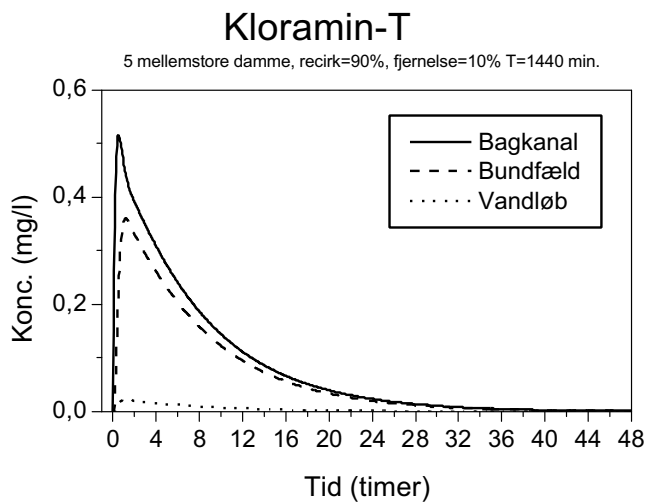


**Figur 6.2.**

Koncentrationsforløbet i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 5 mellemstore damme doseres med 15 mg l<sup>-1</sup> kloramin-T. Dammenes volumen er halveret under behandlingen og recirkuleringen er 50 %. Halveringstiden er sat til 1440 min.



**Figur 6.3.**  
 Koncentrationsforløbet i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 5 mellemstore damme doseres med 15 mg l<sup>-1</sup> kloramin-T. Dammenes volumen er halveret under behandlingen og recirkuleringen er 90 %. Halveringstiden er sat til 1440 min.



Den maksimale koncentration indtræffer efter ca. 1 time i vandløbet. Uden recirkulering er stoffet ude af dambruget efter ca. 10 timer og med recirkulering på 50 og 90 % er den væk efter 24 timer.

## 6.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 6.9 resulterende udledninger

*Fjernes kloramin-T restitueres fiskene hurtigt efter de skader stoffet har påført dem*

Der optræder mange forskellige LC<sub>50</sub>-værdier for samme art. Således eksisterer der en LC<sub>50</sub> (20 min.) for hypochlorit på regnbueørred på 0,46 mg l<sup>-1</sup> svarende til klorindholdet i ca. 3 mg kloramin-T l<sup>-1</sup>. Dette er overraskende, idet den gængse behandlingskoncentration, der er 3 gange højere, ikke dræber fiskene ved en eksponering på 1 time. Da toksiciteten er størst ved lavt pH, kan denne faktor dog spille ind. Fjernes kloramin-T restitueres fiskene hurtigt efter de skader stoffet har påført dem.

*Ørredfiskene anses for at være blandt de mest følsomme over for klorpåvirkning*

Ørredfiskene anses for at være blandt de mest følsomme over for klorpåvirkning, ofte dobbelt så følsomme som andre fiskearter. En LC<sub>50</sub> (96 h) for kloramin-T på 2,8 mg l<sup>-1</sup> må anses at være mere i overensstemmelse med erfaringerne for sygdomsbekæmpelse.

I toksicitetstest kan fiskene ikke flygte fra eksponeringen. I naturen ser det ud til, at de ikke vil opholde sig i vandløb, hvor koncentrationen konstant er på 0,02 mg l<sup>-1</sup>. Daphnier har kun en acceptabel reproduktion ved langvarige koncentrationer under 0,003 mg klor l<sup>-1</sup>. Akvatiske systemer påvirkes generelt ved 0,1 mg klor l<sup>-1</sup>.

Da der i det store og hele kun i litteraturen er oplysninger om effekter på fisk, er det nødvendigt at anvende den traditionelle vurderingsform med at inkludere en applikationsfaktor. Ved traditionelle langtids toksicitetstests på 3 trofiske niveauer var nuleffekt-værdien 0,03 mg klor l<sup>-1</sup>. Anvendes OECD's anbefaling, vil en grænseværdi på 1/10 af nuleffekt-værdien på 0,003 mg klor l<sup>-1</sup>, være påkrævet for kronisk påvirkning. De 3 µg klor l<sup>-1</sup> svarer til ca. 20 µg kloramin-T l<sup>-1</sup> eller 0,02 mg kloramin-T l<sup>-1</sup>. Dette krav kan i de her skitserede regneeksempler kun opfyldes ved en recirkuleringsgrad på 90 % og en stofreduktion på 50 % pr. gennemløb, eller ved at enkelte af de 10 damme kan behandles samtidig.

*Dette scenarie er dog baseret på en konservativ betragtning af kloramin-T, idet der her er indregnet en henfaldstid på 1 døgn*

Dette scenarie er dog baseret på en konservativ betragtning af kloramin-T, idet der her er indregnet en henfaldstid på 1 døgn. Alle henfaldstider på over 10 timer har en minimal effekt på maksimalkoncentrationen. Henfaldstiden for kloramin-T i dambrugsvand karakteriseret ved et relativt højt indhold af organisk materiale er ukendt.

## **6.11 Anbefalinger vedrørende doseringspraksis**

Under forudsætning af at OECD-værdierne skal holdes, må højst 5 af de 10 mellemstore damme behandles samtidig, og recirkuleringsgraden skal holdes over 90 % i en periode i størrelsesordenen 2 - 5 timer efter behandlingen. Hvis recirkuleringsprocenten er lavere, kan endnu færre damme behandles samtidig.

## **6.12 Konklusion vedr. kloramin-T, herunder behov for ny viden**

*Det er vanskeligt at anvende kloramin-T i større sektioner af det skitserede dambrug samtidigt uden at overskride kravværdierne*

Det er vanskeligt at anvende kloramin-T i større sektioner af det skitserede dambrug samtidigt uden at overskride kravværdierne. Høj grad af recirkulering og omsætning i biofilter/bundfældningsbassin er en forudsætning for ikke at overskride grænseværdierne.

Det anbefales, at henfaldstiden af kloramin-T i dambrugsvand beskrives. Herunder bør en beskrivelse af dambrugsvandets indhold af organisk materiale analyseres, og betydende parametre som vandføring/nedbørs effekt på mængderne af organisk materiale samt fiskeaktivitet beskrives.

Det anbefales, at grundlaget for en mere nuanceret behandlingspraksis skabes ved at fastslå sammenhængen mellem effekt af behandling med kloramin-T og mængden af organisk materiale i vandet. Desuden bør effekten af parametre som temperatur og pH belyses.

Der mangler viden om kloramin-T's indflydelse på invertebratfaunaen og de bentiske alger nedstrøms dambrug.

## Referencer

Aaltonen, T.M., E.T. Valtonen, and E.I. Jokinen. Immunoreactive of roach, *Rutilus rutilus*, following laboratory exposure to bleached pulp and paper mill effluents.

*Ecotoxicology and Environmental Safety* 38: 266-271, 1997.

Arana, I., P. Santorum, A. Muela, and I. Barcina. Chlorination and ozonation of waste-water: Comparative analysis of efficacy through the effect on *Escherichia coli* membranes.

*Journal of Applied Microbiology* 86: 883-888, 1999.

Bass, M. L. and Heath, A. G. Cardiovascular and respiratory changes in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, exposed intermittently to klorine. *Water research* 497-502, 1977

Bills, T.D., L.L. Marking, V.K. Dawson, and J.J. Rach. Effects of environmental factors on the toxicity of Kloramin-T to fish.

*Invest.Fish Control* 96: 1-6, 1998.

Bowker, J. and D. Erdahl. Observations on the efficacy of kloramin-T treatment to control mortality in a variety of salmonids.

*Progressive Fish-Culturist* 60: 63-66, 1998.

Broza, M., M. Halpern, B. Teltsch, R. Porat, and A. Gasith. Shock chloramination: potential treatment for Chironomidae (Diptera) larvae nuisance abatement in water supply systems. *Journal of Economic Entomology* 91: 834-840, 1998.

Brungs, W.A. Effects of residual chlorine on aquatic life.

*Jorunal WPCF* 45: 2180-2193, 1973.

Bullock, G., R. Herman, J. Heinen, A. Noble, A. Weber, and J. Hankins.

Observations on the occurrence of bacterial gill disease and amoeba gill infestation in rainbow trout cultured in a water recirculation system.

*Journal of Aquatic Animal Health* 61: 310-317, 1994.

Bullock, G. L., Herman, R. L., and Waggy, C. Hatchery efficacy trials with Kloramin-T for control of bacterial gill disease.

*J.Aquat.Anim.Health* 3, 48-50. 1991.

Cipriano, R.C., L.A. Ford, C.E. Starliper, J.D. Teska, J.T. Nelson, and B.N. Jensen. Control of external *Aeromonas salmonicida*: Topical disinfection of salmonids with kloramin-T.  
Journal of Aquatic Animal Health 81: 52-57, 1996.

Dannan, H., P.A. Crooks, L.W. Dittert, and A. Hussain. Kinetics and mechanism of chlorine exchange between kloramin-T and secondary Amines.  
Journal of Pharmaceutical Sciences 81: 652-656, 1992.

E.A.F.P.- bulletin : What should I do ? A practical Guide for the Fresh Water Fish Farmer. 1995.

From, J : Fiskeopdræt 1 & 2. Akvakulturcentret 1993.

From, J : Chloramine-T for Control of Bacterial Gill Disease. The Progressive Fish-Culturist, Vol. 42, No. 2, April 1980.

Fuursted, K., A. Hjort, and L. Knudsen. Evaluation of bactericidal activity and lag of regrowth (postantibiotic effect) of five antiseptics on nine bacterial pathogens. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 40:221-226, 1997.

Förlin, L., T. Anderson, L. Balk, and A. Larsson. Biochemical and physiological effects in fish exposed to bleached kraft mill effluents. Ecotoxicology and Environmental Safety 30: 164-170, 1995.

Gottardi, W. Wässrige Kloramin T lösungen als desinfektionsmittel: chemische zusammensetzung, reaktivität und toxicität. Archiv der Pharmazie 325, 377-384. 1999

Itoh, S., H. Murakami, and H. Sumitomo. Activities inducing chromosomal aberrations of waters treated with disinfectants and their stability Selected papers from the JWISA international specialized conference on advanced treatment and integrated water system management into the 21st century. WATER SUPPLY 13: 89-94, 1995.

Lumsden, J.S., V.E. Ostland, and H.W. Ferguson. Use of hydrogenperoxide to treat experimentally induced bacterial gill disease in rainbow trout.  
Journal of Aquatic Animal Health 10: 230-240, 1998.

Key, P.B. and G.I. Scott. Lethal and sublethal effects of Chlorine, phenol, and Chlorine phenol Mixtures on the Mud Crap, *Panopeus herbstii*.  
Environmental Health Perspectives 69: 307-312, 1986.

Maccrehan, W.A., J.S. Jensen, and G.R. Helz. Detection of sewage organic chlorination products that are resistant to dechlorination with sulfite.  
Environmental Science & Technology 32: 3640-3645, 1998.

Manning, T.M., S.P. Wilson, and J.C. Chapman. Toxicity of chlorine and other chlorinated compounds to some Australian Aquatic organisms. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 56: 971-976, 1996.

Meddelelse fra Forsøgsdambruget nr. 52, nr. 78 og nr. 84.

Mitchell, S. J. and Cech, j. j. (1983). Ammonia-caused gill damage in channel catfish (*ictalurus punctatus*): confounding effects of residual klorine. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.* **40**, 242-247.

Muela, A., P. Santorum, I. Arana, J.M. Garcia-Bringas, and I. Barcina. Discharge of disinfected wastewater in recipient aquatic systems: fate of allochthonous bacterial and autochthonous protozoa populations. *Journal of Applied Microbiology* 85: 263-270, 1998.

Nimenya, H., A. Delaunois, D. La Duong, S. Bloden, J. Defour, B. Nicks, and M. Ansay. Short-term toxicity of various pharmacological agents on the in vitro nitrification process in a simple closed aquatic system.

*ATLA Alternatives to Laboratory Animals (ATLA ALTERN.LAB.ANIM)* 27: 121-135, 1999.

Oikari, A. and J. Kukkonen. Acclimatization of Roach, *Rutilus rutilus* (L.) to toxic components of kraft Pulp Mill Effluents. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 15: 282-288, 1988.

Ostland, V.E., P.J. Byrne, D.J. Speare, M.A. Thorburn, A. Cook, D. Morrison, and H.W. Ferguson. Comparison of formalin and kloramin-T for control of a mixed gill infection (bacterial gill disease and ichthyobodiasis) in rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health* 71: 118-123, 1995.

Powell, M.D. The Pathophysiology of Chloramine-t On Rainbow Trout Gills. *Dissertation Abstracts International Part B - Science & Engineering* 58: 45521998.

Powell, M., D.J. Speare, and N. Macnair. Effects of intermittent kloramin-T exposures on growth, serum biochemistry, and fin condition of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51:1728-1736, 1994.

Powell, M.D. and S.F. Perry. Respiratory and acid-base disturbances in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) blood during exposure to chloramine T, paratoluenesulphonamide, and hypochlorite. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53: 701-708, 1996.

Powell, M. D. and Perry, S. F. Branchial ionic flux responses in rainbow trout to Kloramin-T after acclimation to different levels of water hardness. *J.Aquat.Anim.Health* 9(3), 196-202. 1997.



Powell, M. D. and Perry, S. F.. Acid-base and ionic fluxes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during exposure to Kloramin-T. *Aquatic Toxicology* 43, 13-24, 1998

Powell, M.D., G.M. Wright, and D.J. Speare. Morphological changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gill epithelia following repeated intermittent exposure to kloramin-T. *Canadian journal of zoology*. 73: 154-165, 1995.

Richardson, S.D., A.D.J. Thruston, T.V. Caughran, T.W. Collette, K.S. Patterson, and B.W.J. Lykins. Chemical by-products of chlorine and alternative disinfectants. *Food technology*. 52: 58-61, 1998.

Sanchez, J. G. *et al.* Morphometric assessment of epidermal and mucus-biofilm changes caused by exposure of trout to Kloramin-T or formalin treatment. *Journal of comparative pathology* 118, 81-87, 1998

Sanchez, J.G., D.J. Speare, and G.J. Johnson. Morphometric and histochemical assessment of the branchial tissue response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), associated with kloramin-T treatment. *Journal of Fish Diseases* 20: 375-38 1, 1997.

Sanchez, J.G., D.J. Speare, G.J. Johnson, and B.S.J. Homey. Evaluation of the stress response in healthy juvenile rainbow trout after repetitive intermittent treatment with kloramin-T or formalin. *Journal of Aquatic Animal Health* 9: 301-308, 1997.

Sanchez, J. G., D. J. Speare, N. Macnair, and G. Johnson. Effects of a prophylactic kloramin-T treatment on growth performance and condition indices of rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health* 8: 278, 1996.

Sanchez, J.G., D.J. Speare, N. MacNear, G. Johon, and G. Johnson. Effects of a Prophylactic Chloramin-t treatment on growth performance and condition indices of rainbow Trout. *Journal of Aquatic Animal Health* 8: 278-284, 1996.

Schnick, R.A. The impetus to register new therapeutants for aquaculture. *The Progressive Fish-culturist* 50: 190-196, 1988.

Soimasue, R., T. Aaltonen, M. Nikinmaa, j. Pellinen, T. Ristola, and A. Oikari. Physiological toxicity of low-chlorine bleached pulp and paper mill effluent on whitfish (*Coregonus lavaretus* L.): A laboratory exposure simulating lake pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 31: 228-237, 1995.

Speare, D.J. and G.J. Arsenault. Effects of intermittent hydrogen peroxide exposure on growth and columnaris disease prevention of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 2653-2658, 1997.

Speare, D.J., G. Goff, P. Macisaac, J. Wecherkiwsky, and N. Macnair. Effects of formalin and kloramin-T treatments on oxygen consumption of juvenile salmonids. *Journal of Aquatic Animal Health* 81: 285-291, 1996.

Speare, D.J., R.J. Cawthorn, B.S. Homey, R. MacMillan, and A.L. MacKenzie. Effects of formalin, kloramin-T, and low salinity dip on the behavior and hemolymph biochemistry of the American lobster. *Can. Vet.J.* 37: 729-734, 1996.

Zeitoun, I. H. The effect of klorine toxicity on certain blood parameters of adult rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Env.Biol.Fish.* 1, 189-195, 1997

Vikesland, P.J., K. Ozekin, and R.L. Valentine. Effect of natural organic matter on monochloramine decomposition: Pathway elucidation through the use of mass and redox balances. *Environmental Science & Technology* 32: 1409-1416, 1998.

## 7 Kaliumpermanganat, $\text{KMnO}_4$

Af Svend Steinfeldt, Ole Sortkjær, Per Bovbjerg og Per Aarup

### 7.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af $\text{KMnO}_4$ på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer der er aktuelle

*Kaliumpermanganat har i et begrænset omfang været brugt i akvakultur.*

*Kaliumpermanganat anvendes kun yderst sjældent på danske dambrug*

Kaliumpermanganat har i et begrænset omfang været brugt i akvakultur til bekæmpelse af skimmel hos afstrøgne moderfisk eller til bekæmpelse af hudparasitter, bl.a. Fiskedråber. Det omtales i C.J. Rasmussens "Håndbog i Ørredopdræt", 1967 som et ældre middel, der ikke er så effektivt som det nye middel, som på det tidspunkt var malakitgrønt. I Forsøgsdambrugets oversigt over desinfektionsmidler i 1990 anføres en dosis på 2 - 5 gram pr. kubikmeter vand. Jon From (1993) anfører, at en koncentration på 10 mg pr. liter har en effekt overfor *Saprolegnia*, men at en sådan koncentration dræber angrebne fisk, mens raske fisk overlever. Kaliumpermanganat anvendes kun yderst sjældent på danske dambrug.

### 7.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning

*Kaliumpermanganats giftvirkning aftager hurtigt på grund af, at det oxiderer andre stoffer*

Kaliumpermanganats giftvirkning aftager hurtigt på grund af, at det oxiderer andre stoffer, f.eks. organisk stof, hvorved det selv bliver til manganoxid. I laboratorieforhold er giftvirkningen væk efter 144 timer. Der er fundet følgende  $\text{LC}_{50}$ -værdier: plankton, *Diatomus forbesi* (96 h), på 0,18 mg  $\text{l}^{-1}$ , for ormen, *Branchiura sowerbyi* (96 h) 0,38 mg  $\text{l}^{-1}$ , for fisk, *Heteropneustes fossilis*, (24 h) på 16,0 mg  $\text{l}^{-1}$  og karpen, *Cyprinus carpio* (96 h), på 3,05 mg  $\text{l}^{-1}$ . Tilsættes kaliumpermanganat i ikke letale doser sammen med cadmium, øges dennes giftvirkning. (Das & Kaviraj, 1994, id 83). For fisken *Oreochromis niloticus* var  $\text{LC}_{50}$  (96 h) på 3 - 5 mg  $\text{l}^{-1}$  afhængig af vandkvaliteten (Salami & Ouyemi, 1996). Lidt lavere værdier fandt Maccrehan et al. (1998), hvor hhv. 9 dage og 1 måned gamle, striped bass, (*Morone saxatilis*) havde en  $\text{LC}_{50}$  (96h) på 1,02 mg  $\text{l}^{-1}$  og 0,96 mg  $\text{l}^{-1}$ . I begge tilfælde steg toksiciteten med stigende salinitet. Ved højt pH kunne der fældes  $\text{MnO}_2$  ud på gællerne, som derved farvedes brune.

*Kaliumpermanganat kan beskytte uinficerede fiskeæg mod infektioner, men er ikke i stand til at bekæmpe allerede inficerede æg*

Kaliumpermanganat kan beskytte uinficerede fiskeæg mod infektioner, men er ikke i stand til, at bekæmpe allerede inficerede æg. Blev laksefisk behandlet med 2 mg kaliumpermanganat  $\text{l}^{-1}$  i 1 time 3 dage i træk, døde 80 %, hvis de umiddelbart efter sidste behandling blev overført til saltvand. Blev de behandlede fisk holdt i ferskvand i 4 dage efter behandlingen døde 12 %, når de blev overført til saltvand. Kaliumpermanganat har indflydelse på gællernes natrium/kalium pumpe.  $\text{KMnO}_4$  reducerer iltkravene, da det spaltes

til mangandioxyd ( $MnO_2$ ) og ilt, der kan oxidere organisk stof (Smith et al., 1995).

### **7.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen**

*En reduktion af dammens vandvolumen under behandling vil reducere mængden, der er til rådighed for udvaskning*

En reduktion af dammens vandvolumen under behandling vil reducere mængden, der er til rådighed for udvaskning. Det er dog næppe muligt at reducere vandmængden væsentligt uden at fiskene skades. Det er væsentligt at reduktionen af dammens volumen ikke giver anledning til ophvirvling af organisk materiale, idet dette vil reducere behandlingens effektivitet (Jee & Plumb, 1981).

Idet effekten er koncentrations- samt tidsafhængig vil reduceret vandskifte under behandling alt andet lige medføre reduceret docering.

### **7.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse**

Baseret på eksisterende viden om udvalgte hjælpestoffer redegøres for sandsynligheden for, at/om der sker bundfældning samt omfanget af en sådan.

*Kaliumpermanganat vil være opløst i vandfasen, og der kan ikke forventes bundfældning i bundfældningsbassinet*

Kaliumpermanganat vil være opløst i vandfasen, og der kan ikke forventes bundfældning i bundfældningsbassinet. Opholdstiden i bundfældningsanlægget vil øge den samlede opholdstid af stoffet på dambruget, hvorunder en nedbrydning finder sted. Eventuel kontakt med organisk materiale i bundfældningsbassinet vil øge omsætningen af kaliumpermanganat.

### **7.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer der kan have indflydelse på denne**

Kaliumpermanganat har internationalt været anvendt til reduktion af respirationen i fiskedamme ved at oxidere materiale i dammene og reducere mængderne af bakterier/alger, der forbruger ilt (Tucker & Boyd, 1977, Kemp et al., 1966 og Lay, 1971). Effektiviteten af en sådan behandlingspraksis er dog ikke dokumenteret, og handlingerne har i praksis været udført på et rent empirisk grundlag.

I Danmark har kaliumpermanganat været anvendt mere målrettet til bekæmpelse af parasitære infektioner (DFU-rapport nr. 52-98).

*Idet kaliumpermanganat er et uorganisk kraftigt oxidationsmiddel, må egenomsætningen forventes at være betydelig*

Idet kaliumpermanganat er et uorganisk kraftigt oxidationsmiddel, må egenomsætningen forventes at være betydelig. Oxidationsmidlet omsættes ved kontakt med både organisk og uorganisk materiale (Jee & Plumb 1981, Marking & Bills, 1975).

*En egenomsætningsrate for kaliumpermanganat i dambrugsvand kendes ikke*

En egenomsætningsrate for kaliumpermanganat i dambrugsvand kendes ikke, men der er sammenhæng mellem koncentrationer af organisk materiale i vandfasen og nedbrydningsraten. Bundfældningsanlægget medvirker til at øge opholdstiden på dambruget og vil derfor alt andet lige medvirke til øget egenomsætning.

## **7.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige rensesforanstaltninger**

*Mekaniske filtre vil kunne nedsætte nedbrydningen af kaliumpermanganat*

Tilstedeværelsen af mekaniske filtre vil desuden reducere mængden af organisk materiale i vandet og vil derved alt andet lige kunne nedsætte nedbrydningen af kaliumpermanganat.

Biofiltret vil ved hjælp af den store kontaktflade mellem organisk materiale og det opløste kaliumpermanganat kunne medvirke til en nedbrydning af kaliumpermanganat.

## **7.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

*Eftersom der sker en egenomsætning af kaliumpermanganat, vil der ved recirkulering kunne opnås en reduktion af belastningen af recipienten*

En reduktion af vandvolumet vil reducere mængden af anvendt kaliumpermanganat. Tilstræbes behandlingspraksis hvor kun én dam behandles ad gangen, vil den maksimale koncentration i recipienten reduceres. Eftersom der sker en egenomsætning af kaliumpermanganat, vil der ved recirkulering kunne opnås en reduktion af belastningen af recipienten.

Sammenhængen mellem nedbrydningsraten af kaliumpermanganat og mængden af organisk stof i vandfasen kunne indgå i en bevidst praksis på dambrugene og medvirke til at forøge nedbrydningshastigheden af stoffet.

Det bør dog understreges, at dambrugspraksis bør tilstræbe minimal mængde opløst organisk materiale i dammene, hvor fiskene behandles. Dette vil øge effekten af en given mængde tilsat af stoffet. Nedstrøms dammene vil en øget omsætning af residualmængder kaliumpermanganat afhænge af tilstedeværelse af organisk materiale. Her vil en ophvirvling af bundfældet materiale altså alt andet lige reducere udledningen. Biofiltre må forventes at medvirke til nedbrydningen af stoffet.

Eftersom der sker en egenomsætning af kaliumpermanganat, vil der ved recirkulering kunne opnås en betydelig reduktion af belastningen af recipienten. Det bør dog undersøges nærmere, hvorledes residualmængderne af kaliumpermanganat i genbrugsvandet påvirker fiskene på dambruget.

## 7.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug

*Nedbrydningen af kaliumpermanganat i et slamdepot må forventes at være hurtig*

Kaliumpermanganat nedbrydes til mangedioxid, kalium og ilt. Ingen af disse stoffer skulle udgøre nogen risiko. Der kan derfor ikke forventes problemer ved at deponere slam indeholdende kaliumpermanganat eller dets nedbrydningsprodukter. Nedbrydningen af kaliumpermanganat i et slamdepot må forventes at være hurtig.

## 7.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen

Hovedparten af behandlinger med kaliumpermanganat finder sted på yngel og fisk under 100 g. Typisk vil halvdelen af dammene blive behandlet ad gangen.

Nedenstående tabel viser maksimale koncentrationer opnået i vandløbet efter behandling af 5 ud af de eksisterende 10 mellemstore damme. Dammenes volumen er halveret under behandlingen.

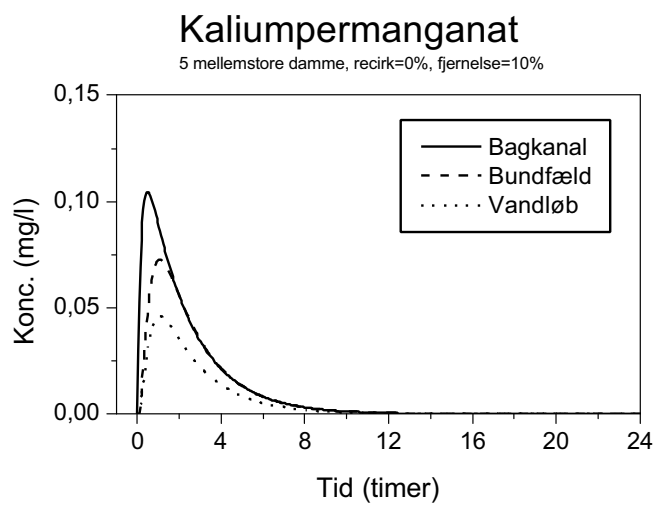
I tabel 6.1 er graden af recirkulering varieret fra ingen recirkulering (0 %) over 50 % til 90 % recirkulering af vandet. Dette er sammenholdt med en varierende reduktion af stoffet pr. gennemløb af anlægget (hhv. 0 %, 10 %, og 50 %).

Tabel 6.1 Den maksimale koncentration i vandløb ved en behandling af 5 mellemstore damme med  $3 \text{ mg l}^{-1}$  kaliumpermanganat. Dammenes volumen er halveret under behandlingen. Tabellen illustrerer effekterne af forskellige grader af stoffjernelse og recirkulering. Alle koncentrationer er i  $\text{mg l}^{-1}$

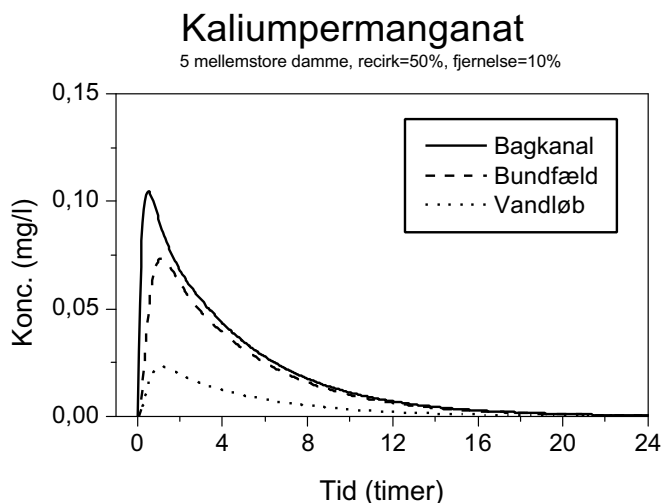
Fjernelse pr. gennemløb	Grad af recirkulering		
	0 %	50 %	90 %
0 %	0,054	0,027	0,005
10 %	0,050	0,025	0,005
50 %	0,034	0,017	0,003

Nedenstående figurer illustrerer koncentrationen af kaliumpermanganat i hhv. bagkanalen, bundfældningsbassinet og vandløbet som funktion af tiden ved 10 % reduktion pr. gennemløb (dvs. omsætning i biofilter og bundfældningsbassin) ved 3 forskellige grader af recirkulering (0 %, 50 % og 90 %).

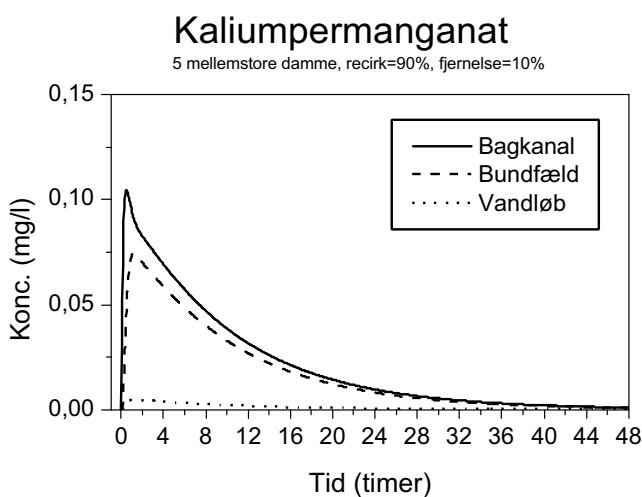
**Figur 1.** Koncentration i bagkanal, bundfældningsbassin og vandløb ved dosering af 5 af de 10 mellemstore damme. Startkoncentrationen i den halve dam var  $3 \text{ mg l}^{-1}$ . Pr. gennemløb fjernes der 10 %. Recirkuleringsprocenten er lig 0.



**Figur 2** Koncentration i bagkanal, bundfældningsbassin og vandløb ved dosering af 5 af de 10 mellemstore damme. Startkoncentrationen i den halve dam var  $3 \text{ mg l}^{-1}$ . Pr. gennemløb fjernes der 10 %. Recirkuleringsprocenten er lig 50.



**Figur 3** Koncentration i bagkanal, bundfældningsbassin og vandløb ved dosering af 5 af de 10 mellemstore damme. Startkoncentrationen i den halve dam var  $3 \text{ mg l}^{-1}$ . Pr. gennemløb fjernes der 10 %. Recirkuleringsprocenten er lig 90.



## 7.10 Økotoxikologisk vurdering af de under punkt 7.9 resulterende udledninger

Kaliumpermanganat afgiftes let under tilstedeværelse af organisk materiale og kan derved reducere effekter af lavt iltindhold. Normale behandlingskoncentrationer på  $1,2 \text{ mg l}^{-1}$  er væk på 3 - 4 døgn. Der blev kun fundet en beskedne mængde litteratur, der hovedsageligt beskæftigede sig med toksiciteten hos fisk. For de mest følsomme arter lå toksiciteten på ca.  $1 \text{ mg KMnO}_4 \text{ l}^{-1}$ . For plankton, *Diaptomus forbesi* lå  $LC_{50}$  (96 h) på  $0,18 \text{ mg KMnO}_4 \text{ l}^{-1}$ .

Den begrænsede mængde data giver anledning til en vis forsigtighed i tolkningen. Efter OECD's anbefalinger skal applikationsfaktoren sættes til 100, hvilket betyder, at kaliumpermanganatkoncentrationen sættes til  $0,18/100 \text{ mg l}^{-1} = 0,0018 \text{ mg l}^{-1}$  eller ca.  $2 \mu\text{g l}^{-1}$  ved kroniske



påvirkninger. Dette krav kan i de skitserede regneeksempler ikke opfyldes. Mindsteværdierne ved 90 % recirkulering og 50 % reduktion i renseforanstaltningerne er dobbelt så høje som efter OECD's kravværdifastsættelse. Ved udledningen kan det forventes at de  $2 \mu\text{g l}^{-1}$  er overskredet i ca. 14 timer. Overholdelse af kravene kræver, at antallet af behandlede damme reduceres til 2 samtidig med, at recirkuleringen og reduktionen i renseforanstaltningerne bibeholdes på hhv. 90 % og 50 %.

Dette scenarium er dog baseret på en konservativ betragtning af kaliumpermanganat, idet der her er indregnet en henfaldstid på 1 døgn. Med en så høj henfaldstid er effekten af henfaldet på maksimalkoncentrationen minimal. Henfaldstiden for kaliumpermanganat i dambrugsvand, karakteriseret ved et relativt højt indhold af organisk materiale, er ukendt.

### 7.11 anbefalinger vedrørende doseringspraksis

*Under forudsætning af at OECD kravværdierne skal holdes, må højst 2 af de mellemstore damme behandles samtidig, og recirkuleringsgraden skal holdes over 90 %*

Under forudsætning af at OECD kravværdierne skal holdes, må højst 2 af de mellemstore damme behandles samtidig, og recirkuleringsgraden skal holdes over 90 % i en periode i størrelsesordenen 2-5 timer efter behandlingen.

### 7.12 Konklusion vedr. kaliumpermanganat, herunder behov for ny viden

*Kaliumpermanganat afgiftes let under tilstedeværelse af organisk materiale*

Kaliumpermanganat afgiftes let under tilstedeværelse af organisk materiale og kan derved reducere effekter af lavt iltindhold. Normale behandlingskoncentrationer på  $1,2 \text{ mg l}^{-1}$  er væk på 3 - 4 døgn. Der blev kun fundet en beskedent mængde litteratur, der hovedsageligt beskæftigede sig med toksiciteten hos fisk. For de mest følsomme arter lå toksiciteten på ca.  $1 \text{ mg KMnO}_4 \text{ l}^{-1}$ . For plankton, *Diaptomus* forbesi lå  $\text{LC}_{50}$  (96 h) på  $0,18 \text{ mg KMnO}_4 \text{ l}^{-1}$ .

Den begrænsede mængde data giver anledning til en vis forsigtighed i tolkningen, således at kaliumpermanganatkoncentrationen ved kronisk påvirkning sættes til  $0,18/100 \text{ mg l}^{-1} = 0,0018 \text{ mg l}^{-1}$  eller ca.  $2 \mu\text{g l}^{-1}$  ved kroniske påvirkninger.

*Det er vanskeligt at anvende kaliumpermanganat i det skitserede dambrug uden at overskride grænseværdierne*

Det er vanskeligt at anvende kaliumpermanganat i det skitserede dambrug uden at overskride grænseværdierne. Behandling af små sektioner af dambruget og høj grad af recirkulering og omsætning i biofilter/bundfældningsbassin er en forudsætning for ikke at overskride grænseværdierne.

Det anbefales, at henfaldstiden af kaliumpermanganat i dambrugsvand beskrives.

Herunder bør en beskrivelse af dambrugsvandets indhold af organisk materiale analyseres, og betydende parametre som vandføring/nedbørs effekt på mængderne af organisk materiale beskrives.

Omsætningen i biologiske filtre såvel i bundfældningsbassinet bør estimeres under hensyntagen til disses varierende udformning mht. kontaktflade, opholdstid m.m.

Det anbefales, at grundlaget for en mere nuanceret behandlingspraksis skabes ved at fastslå sammenhængen mellem effekt af behandling med kaliumpermanganat og mængden af organisk materiale i vandet. Desuden bør effekten af parametre som temperatur og pH belyses.

## Referencer

Das, B.K. and A. Kaviraj. Individual and interactive lethal toxicity of cadmium, potassium permanganate and cobalt chloride to fish, worm and plankton.

Geobios (Jodhpur) 21: 223-227, 1994.

DFU. Redegørelse for det tekniske grundlag for miljøgodkendelse af dambrug. 52-98. Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri, 1998  
From, J. Fiskeopdræt 1 & 2, Ferskvandscenteret, 1993

Jee, L. K. and Plumb, A. Effects of organic load on potassium permanganate as a treatment for *Flexibacter columnaris*. Transactions of the American Fisheries Society **110**, 86-89, 1981.

Kemp, H. T., Fuller, R. G., and Davidson, R. S. (). Potassium Permanganate as an algicide. American Water Works Association **58**, 255-263, 1966

Lay, B. A. Applications for potassium permanganate in fish culture. Transactions of the American Fisheries Society **100**, 813-815, 1971

Maccrehan, W.A., J.S. Jensen, and G.R. Helz. Detection of sewage organic chlorination products that are resistant to dechlorination with sulfite.

Environmental Science & Technology 32: 3640-3645, 1998.

Marking, L. L. and Bills, T. D. Toxicity of Potassium Permanganate to fish and its effectiveness for detoxifying antimycin. Transactions of the American Fisheries Society **104**, 579-583, 1975

Rasmussen, C.J. Håndbog i Ørredopdræt, Rhodos, 1967

Salami, A.A. and Ogunyemi. Acute toxicity of Potassium permanganate, petroleum products and textile effluent to *Oreochromis niloticus*.

The Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture. 1996.

Smith, S.D., R.W. Gould, W.S. Zaugg, L.W. Harrell, and C. Mahnken, V. Prerelease disease treatment with potassium permanganate for fall chinook salmon smolts.

Progressive Fish-Culturist 57: 102-106, 1995.

Tucker, C. S. and Boyd, C. E. (). Relationships between potassium permanganate treatment and water quality.

Transactions of the American Fisheries Society **106**, 481-488, 1977

## 8 Hydrogenperoxid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Af Per Borgbjerg, Ole Sortkjær, Svend Steinfeldt og Per Aarup

### 8.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer der er aktuelle.

*Oxiderende desinfektionsmidler med indhold af brintoverilte har haft stigende betydning for decimering af hudparasitter, bakteriel gælleinfektion samt skimmel på æg og afstrøgne moderfisk. Selvom anvendelsen af brintoverilte har været i stærk fremmarch i 1999 ser der foreløbigt ikke ud til, at det giver sig udslag i statistikken*

Oxiderende desinfektionsmidler med indhold af brintoverilte er nye i dansk dambrugsdrift, men har siden starten i 1997 haft stigende betydning for decimering af hudparasitter, bakteriel gælleinfektion samt skimmel på æg og afstrøgne moderfisk. Specielt med hensyn til den præventive brug ser det ud til, at brintoverilte i et betydeligt omfang kommer til at afløse både formalin, kloramin-T og blåsten, men erfaringerne er endnu for sparsomme til at udtale sig med sikkerhed. Der har i praksis været meget stor forskel på effektiviteten af desinfektionen. En dosering og fremgangsmåde, der har været effektiv på det ene dambrug, har tilsyneladende slet ikke haft nogen effekt på det andet dambrug, og der synes at være lang vej igen før en generel brugervejledning kan udarbejdes. Nogle dambrugere er meget glade for de nye midler, mens andre allerede har opgivet dem igen, og er vendt tilbage til de gammelkendte metoder. Selvom anvendelsen af brintoverilte har været i stærk fremmarch i 1999 ser der foreløbigt ikke ud til, at det generelt har udvirket en så markant forbedring af sygdomssituationen, at det giver sig udslag i statistikken. Der er imidlertid en hel del enkelttilfælde, hvor der beviseligt har været en gavnlig effekt, så måske er det et spørgsmål om, at lære at håndtere og bruge produkterne rigtigt og vurdere i hvert enkelt tilfælde, hvilket middel der vil have størst effekt.

Kommercielt er mindst 3 produkter i brug: 1) ren brintoverilte i en 35 % opløsning, 2) Detarox AP, en vandig opløsning af brintoverilte og eddikeperoxydsyre og 3) forskellige pulver-produkter med navne som Oxyper, Natriumpercarbonat eller Natriumcarbonatperoxyhydrat. 1 og 3 forhandles af foderfirmaerne mens 2 importeres fra Italien af et privat firma. Andre handelsnavne er på banen for produkter af forskellig sammensætning og varierende indhold af brintoverilte, men svarende omtrent til ovennævnte.

Selvom der i øjeblikket ikke er nogen klar tendens i anvendelse og virkning, kan der dog fremdrages nogle foreløbige erfaringer ved brugen af brintoverilteholdige produkter.

*Ved temperaturer over 13 °C skal brintoverilte doseres med stor forsigtighed. Forkert brug kan da give alvorlige gælleskader og stor dødelighed*

Ved temperaturer over 13 °C skal brintoverilte doseres med stor forsigtighed. En dambruger meddelte i 1998 til advarsel, at han ved 13 °C skulle ned på ca. 1/3 af doseringen ved 11 °C og derunder. Også i litteraturen rapporteres om en stærk temperaturafhængighed. I Norge bruges brintoverilte i bekæmpelsen af lakselus med én dosering ved temperaturer under 8 °C, en cirka 20 % lavere dosering ved 8 – 13 °C og ved temperaturer over 13 °C må det ikke bruges, da sikkerhedsmarginen er for lille. Forkert brug kan da give alvorlige gælleskader og stor dødelighed.

Ved lave temperaturer har brintoverilte beviseligt en gavnlig effekt overfor såvel hudsnyltere som bakteriel gælleinfektion. I 1998 blev brintoverilte prøvet på sættefisk i damme med en vandtemperatur på 2 – 4 °C. Der var både gælleinfektion og forskellige slags hudsnyltere på fiskene. 2 – 3 behandlinger med midlet fik både gælleinfektion og hudsnyltere til at forsvinde, undtagen *Costia*.

Der er også i 1999 kommet tilbagemeldinger om meget gavnlig virkning af brintoverilte i okkerbelastede dambrug med gællesyge fisk. Ved siden af de almindelige foranstaltninger til afhjælpning af okkerproblemet, har blåsten hidtil været det eneste desinfektionsmiddel, der har kunnet medvirke til at rette gællerne op i den situation, men dette skal anvendes med meget stor forsigtighed og er ikke uden risiko. Et nyt anvendeligt middel vil derfor blive hilst velkommen .

*Ved lave temperaturer er oxiderende desinfektionsmidler givet et alternativ til kloramin-T, blåsten og formalin*

Ved lave temperaturer er oxiderende desinfektionsmidler givet et alternativ til kloramin-T, blåsten og formalin. Blot skal man huske på, at virkningen kan være forskellig på forskellige parasitter. *Costia* har f.eks. i praksis vist sig vanskelig at decimere med Detarox under danske forhold. Muligvis har de øvrige produkter heller ikke i alle tilfælde den tilsligtede virkning.

Det er en almindelig erfaring, at jo renere vandet er, desto mindre skal dosis være af de oxiderende midler og desto bedre resultat får man. Det er således meget nemmere at styre en behandling i yngeldambrug med bore- eller kildevandsforsyning end i åvand.

*Når brintoverilte bruges i vand nedbrydes det til vand og ilt*

Når brintoverilte bruges i vand nedbrydes det til vand og ilt. Nedbrydningshastigheden er afhængig af de fysisk-kemiske forhold i vandet, som varierer meget. Doseringen i åvand vil derfor være stærk afhængig af vandtemperaturen og vandkvaliteten. Den betydelige variation i åvands kvalitet fra sted til sted og fra dag til dag er formentlig årsag til de meget uensartede erfaringer med hensyn til effekten af brintoverilte. Skal brintoverilte for alvor slå igennem som desinfektionsmiddel ved de nævnte hyppigt forekommende sygdomme, må dette doseringsproblem løses og en letforståelig vejledning udarbejdes.

Når man hælder et brintoverilteprodukt i vandet ses ofte en voldsom brusen af frigivet ilt, og måler man samtidigt på vandets iltindhold, vil man i et tidsrum efter tilsætningen kunne registrere en overmætning i vandet. Overmætningens størrelse er et mål for, hvor

stor doseringen har været og hvor kraftig brintoverilten har reageret med åvandet. En arbejdsgruppe undersøger i øjeblikket, om man gennem en række forsøg på et dambrug kan udnytte dette forhold til at skabe en simpel model for, hvordan man skal dosere fra dag til dag.

Flere forskellige typer findes som nævnt. Nedenfor nævnes de mest udbredte.

### **35 % brintoverilte-opløsning:**

Indeholder 16,5 % aktiv ilt. Vægtfylde ca. 1,1 (tungere end vand).

Foreløbig meget begrænset anvendelse og kun få tilbagemeldinger om praktisk brug.

Blev introduceret af Forsøgsdambruget fra 1996 til desinfektion af æg med 1 daglig behandling i 15 minutter, med en dosis på ca. 1,5 ml pr. liter vand. Iwaki doseringspumpe blev samtidigt markedsført, men interessen var ikke stor.

En enkelt tilbagemelding fra 1998, hvor en dambruger brugte det til yngel i kummer ved ca. 10 °C. Han trak kummen halvt ned, dvs. til et vandvolumen på 500 liter og tilsatte 1 liter 35 % brintoverilte, hvorefter kummen blev stemt op til fuldt volumen (1.000 l vand) på 10 min.

I litteraturen ses ofte angivet en dosis på ca. 5 mg l<sup>-1</sup> med behandling flere dage i træk.

### **Oxyper, Natriumpercarbonat, Natriumcarbonat-peroxyhydrat :**

Hvidt krystallinsk stof i pulverform som købes i sække. Indeholder 13,5 % aktiv ilt. Vægtfylde 0,9 - 1,2. Opløselighed i vand ved 20 °C 150 g l<sup>-1</sup>. pH (1 % opløsning) = 10,5.

Dette har været brugt i tyske dambrug i en årrække til bekæmpelse af parasitter, specielt fiskedråber, i en dosering på 30 - 50 gram pr. 1.000 liter vand i 5 - 7 dage. Behandlingstid ukendt. Pulveret hældes direkte ned i dammen/kummen ved indløbet.

Stoffet har også været brugt præventivt af og til i et dansk dambrug gennem en længere årrække med følgende dosering: 5 kg oxyper opløses i 100 liter lunkent vand. 20 liter af opløsningen tildeles hver dam, hvilket svarer til en dosis på 22 g pr. 1.000 liter vand i 4 dage. Resultat: "ikke bedre end andre midler" (citater 1995).

Stoffet blev lanceret af foderfirmaerne som hjælpestof i dambrug i 1998 (efter en dambrugsudflugt til Sydtyskland i 1997), med en anbefalet dosering på 30 - 50 g/1.000 l vand i 5 - 7 dage. Mange dambrug havde på det tidspunkt problemer med fiskedråber, der ikke kan bekæmpes effektivt med de gængse desinfektionsmidler, hvorfor afprøvning af nye midler er i fokus.

Stoffet havde i 1998 en god effekt overfor fiskedråber nogle steder. Et dambrug med massivt angreb af fiskedråber prøvede på samme tid formalin, detarox og oxyper, 3 damme til hvert middel. Vandtemperaturen var 12 °C. Fiskene blev kontrolleret for parasitter efter hver badning og en uge efter desinfektionens ophør. Formalin havde ved denne afprøvning en meget ringe effekt, mens både detarox og oxyper havde god effekt. Der var ingen dødelighed under badningen og for begge midlers vedkommende var fiskenes appetit og opførsel i dammene meget bedre efter badningen.

Oxyper blev først doseret med 4 kg pr. dam (70 kubikmeter), svarende til 57 g pr. kubikmeter 6 dage i træk. Der var dagen efter kurens afslutning en meget god effekt af desinfektionen. Dosis var efter dambrugers opfattelse på grænsen af, hvad fiskene kunne tåle ved den pågældende temperatur. Der blev også prøvet en lavere dosering på 3 - 3,4 kg pr. dam eller 43 - 49 g pr. kubikmeter ved 13 °C. Der var god effekt af desinfektionen, men der var ved denne dosis flere parasitter tilbage på fiskene.

I andre tilfælde havde en kur med oxyper slet ingen virkning over for fiskedråber, eller der var meget bedre virkning med formalin. I løbet af sommeren kom der så varierende tilbagemeldinger om oxyperes virkning, at det ikke kunne lade sig gøre at konkludere noget som helst. På trods heraf er forbruget af oxyper steget kraftigt i 1999 og bruges både til yngel i kummer og til større fisk i damme og kanaler. Det har fået en stor udbredelse som forebyggende middel, både med hensyn til parasitter og gælleinfektion, men det er opfattelsen, at mange dambrugere doserer lidt i blinde og uden at have kontrol med virkningen. Når det alligevel er blevet så populært, kan det hænge sammen med, at det er meget nemmere at håndtere end de flydende produkter og ikke så ubehageligt at arbejde med som formalin.

Den mest almindelige fremgangsmåde i 1999 har været at trække dammen ned og hælde pulveret i indløbet, eller fordele det i dammen, mens der langsomt stemmes op til fuldt volumen. Doseringen har været meget forskellig og doseringstiden ligeledes. Generelt har man doseret mere end ovenfor anført ved forsøgene i 1998, måske med 60 - 90 gram pr. kubikmeter vand som en middelværdi, men meget højere doser har også været praktiseret. Der er indtil videre så vidt vides ikke blevet slået fisk ihjel med det.

Det er opfattelsen, at der i høj grad mangler kontrollerede forsøg med produktet og retningslinier for, hvornår og hvordan det skal bruges. Det er af dambrugerforeningens helsetjeneste i flere tilfælde anbefalet at holde op med at bruge det i en periode, fordi man mener at have registreret en skadelig effekt af daglig eller hyppig brug. Der er observeret flere tilfælde af yngel i kummer med gæller, der har hævet gælleepithel og blæner (eller ødemer) på gællerne samtidig med, at der ligger et tykt men ikke sammenhængende lag slimceller løst hen over gælleoverfladen. Ved udspørgning, viser det sig næsten hver gang, at dambrugeren har brugt et af pulver-produkterne i kummen dagligt i en periode. Det kan dog ikke afvises, at produkterne kan få en varig plads som forebyggende middel i akvakultur.

### Detarox AP

Detarox AP er en opløsning af 4,5 % eddikeperoxydsyre, 20 % brintoverilte samt stabilisator og destilleret vand op til 100 %. Vægtfylde 1,12. Helt vandopløseligt. pH (1 % opløsning) = 3,0. Stoffet er registreret af det italienske sundhedsministerium. Afprøvet og godkendt i Danmark som desinfektionsmiddel i levnedsmiddelindustrien (Fødevarerdirektoratet). Er for nylig optaget på EU's MRL-liste (maximum residues list). Udbredt anvendelse i italiensk akvakultur. Anbefalet doserings- og brugsvejledning forefindes. Importøren har løbende udsendt informationsbreve til dambrugere.

Midlet er for tiden under afprøvning i Norge (Nordland Research Institute) til bekæmpelse af parasitter på lakseyngel. Mange akvarieforsøg er gennemført og storskala-forsøg er i gang. Foreløbig konklusion: "ved behandling af lakseyngel bør højeste koncentration være 40 mg l<sup>-1</sup> og længste eksponeringstid 30 min" (statusrapport, januar 2000).

I det seneste nyhedsbrev (november 1999) fra importøren anbefales følgende doseringer:

Til desinfektion af æg: 17-20 ml pr. 0,1 sekundliter. Detarox fortyndes og tilsættes ved indløb af klækkerenden fra plastikdunk over 30-60 min., 1 gang dagligt.

I kummer og damme: til bekæmpelse af parasitter og gælleinfektion. 25 - 30 ml pr. kubikmeter vand i 1 time. Træk dammen ned og stem langsomt op. Flere behandlinger er som regel nødvendig (2-5).

Kontrollerede afprøvninger i 1998 og 1999 med ægdesinfektion og bekæmpelse af gælleinfektion og parasitter har været tilfredsstillende, undtagen overfor *Costia*. Er et godt middel at bruge om vinteren ved lave temperaturer. Producenten oplyser, at temperaturen ikke har indflydelse på farligheden over for fisk. Bruges i Italien ved 18 °C uden problemer. Producenten fraråder dog brug af blåsten 1 døgn før brug af Detarox. Stoffet kan ifølge importøren anvendes i recirkuleringsanlæg uden problemer.

Har med held været benyttet af en dambruger til bekæmpelse af *Saprolegnia* på afstrøgne moderfisk, dog i højere koncentration end anført ovenfor.

Selvom der næsten kun er positive tilbagemeldinger har produktet ikke fået særlig stor udbredelse, da mange mener det er for dyrt eller for besværligt at arbejde med.

## 8.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økotoksikologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning af de pågældende stoffer

*Hydrogenperoxid er et effektivt middel mod bakteriel gællesyge forårsaget af *Flavobacterium branchiophilum**

Hydrogenperoxid er et effektivt middel mod bakteriel gællesyge forårsaget af *Flavobacterium branchiophilum*. (Derksen et al., 1999). Derudover er det et effektivt svampemiddel og aflusningsmiddel mod *Lepeophtheirus salmonis*. I USA er det et af de få stoffer der er godkendt til fiskeopdræt i koncentrationer op til 500 µl l<sup>-1</sup> (ca. 59,5 mg l<sup>-1</sup>) (Rach et al., 1998).

### Effekter på lakselus

To undersøgelser viser, at der skal ret høje koncentrationer til at bekæmpe eller som minimum inaktivere lakselusen, *Lepeophtheirus salmonis*. Lakselusen har mange stadier i sin udvikling, og det blev undersøgt hvordan de reagerer ved tilsætning af 1.500 mg l<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i 20 minutter. De mobile voksne og prevoksne kunne efter 1 behandling igen sætte sig på fisken. De hunlige voksne genetablerer sig dog i væsentlig mindre antal. Chalimus stadiene I og II påvirkes ikke, men udviklingen til stadie III og IV var forsinket. Nauplie og copepodit-stadierne døde så godt som alle efter 1 times behandling, men nogle få overlever (McAndrew et al., 1998).

Alle voksne og pre-voksne lakselus blev inaktive efter 20 min. behandling med 1.500 mg l<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Efter 1 time var 35 % aktive igen og efter 24 timer var 85 % aktive. Chalimus-stadierne var tilsvarende påvirket og 90 - 100 % blev aktive igen. Mængden af inaktive lakselus var positivt korreleret med H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koncentrationen og med temperaturen (Treasurer & Grant, 1997.)

### Effekter på fisk

*Hydrogenperoxid anvendes mere og mere til bekæmpelse af svampeinfektioner hos ørredæg*

Hydrogenperoxid anvendes mere og mere til bekæmpelse af svampeinfektioner hos ørredæg. Såfremt regnbueørredæg blev behandlet med hydrogenperoxid i 15 min. hver anden dag frem til klækningen kunne svampen *Saprolegnia parasitica* holdes i ave. De mest effektive koncentrationer var 500 - 1.000 µl l<sup>-1</sup> (ca. 60 - 119 mg l<sup>-1</sup>) (Schreier et al., 1996).

*Æg behandlet med 1000 µl l<sup>-1</sup> (119 mg l<sup>-1</sup>) havde større klækning end kontrollerne, der blev svampeangrebet af *Saprolegnia parasitica**

Fiskeæg fra 7 arter blev dagligt behandlet i 15 min. med hydrogenperoxid i koncentrationer fra 0 - 6.000 µl hydrogenperoxid l<sup>-1</sup> (35 % w/v) (ca. 0 - 714 mg l<sup>-1</sup>). Æg behandlet med 1.000 µl l<sup>-1</sup> (119 mg l<sup>-1</sup>) havde større klækning end kontrollerne, der blev svampeangrebet af *Saprolegnia parasitica*. Højere koncentrationer kan dog reducere angreb fra flere forskellige svampearter. Stoffets toksicitet blev målt som reduktion i klækningsraten. De fleste af de undersøgte arter havde størst klækning ved 1.000 µ l<sup>-1</sup> (119 mg l<sup>-1</sup>), ved højere koncentrationer var Northern pike (*Esox lucius*) dog upåvirket af H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selv ved 3.000 µl l<sup>-1</sup> (ca. 357 mg l<sup>-1</sup>), hvorimod paddelfisks (*Polydon spathula*) klækningsrate faldt med stigende hydrogenperoxid-koncentration. For blommesæk- yngel var NOEC (no effect level) på samme niveau som for æg (Rach et al., 1998).



Regnbueørredæg behandlet med 500 µl l<sup>-1</sup> (59,5 mg l<sup>-1</sup>) havde en reduceret klækning på 1,4 - 5,9 % og ved 3.000 µg l<sup>-1</sup> (357 mg l<sup>-1</sup>) var reduktionen øget til 13,2 - 25,3 %

Gaikowski et al., 1998 har dog påvist, at regnbueørredæg behandlet med 500 µl l<sup>-1</sup> (59,5 mg l<sup>-1</sup>) havde en reduceret klækning på 1,4 - 5,9 % og ved 3.000 µg l<sup>-1</sup> (357 mg l<sup>-1</sup>) var reduktionen øget til 13,2 - 25,3 %. Æggenes dødelighed steg i perioden 6 til 10 dage efter behandlingen. Der var ingen dødelighed hos blommesæk-ungel ved koncentrationer under 1.000 µl l<sup>-1</sup> (35 % w/v) (ca. 119 mg l<sup>-1</sup>).

Som nævnt kræver behandling mod lakselus væsentlig højere koncentrationer end behandling af æg. Gællerne hos regnbueørred (fisk på 25 g) bliver beskadiget ved kortvarige bade (20 min.) med H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i koncentrationer på 1.000 - 1.500 mg l<sup>-1</sup> og samtidig er der en væksthæmning de næste 6 uger. Hydrogenperoxid i koncentrationer på 200 - 300 mg l<sup>-1</sup> giver ingen skader på gællerne og betragtes som sikker for fisk (Speare et al., 1999).

Laks, *Salmo salar*, som blev behandlet med 1,37 g l<sup>-1</sup> i 20 min. fik ingen skader, men en koncentration på 2,58 g l<sup>-1</sup> var letal og allerede efter 10 min. døde enkelte fisk. En typisk behandling mod lakselus og mod fiskelusen *Caligus elongatus* foregår ved 1,5 - 2 g l<sup>-1</sup>. Der er en signifikant korrelation mellem dosis og skader på gællerne (Kierner & Black, 1997, id 9).

At det kan knibe for fiskene at overleve de høje koncentrationer viste Arndt & Wagner (1997). For regnbueørred og ørred (*Oncorhynchus clarki*) var LC<sub>50</sub> på 514 - 636 mg l<sup>-1</sup>. (30 min.), 322 - 506 mg l<sup>-1</sup> (60 min.) og for 120 min. var den på 189 - 280 mg l<sup>-1</sup>. Der blev kun fundet skader på gællerne hos de fisk, der døde umiddelbart efter den initiale tilsætning.

En undersøgelse på mange fiskearter viste, at dødeligheden kunne indtræde 30 timer efter behandlingen, men ofte vil der kunne observeres dødelighed allerede kort tid efter den initiale behandling

En anden undersøgelse på mange fiskearter, 11 på larvestadiet og 13 på yngelstadiet, viste, at dødeligheden kunne indtræde 30 timer efter behandlingen, men ofte vil der kunne observeres dødelighed allerede kort tid efter den initiale behandling. Nogle arter kunne behandles uden skader med en koncentration på 150 µl l<sup>-1</sup> (35 % w/v) (ca. 9 mg l<sup>-1</sup>) i 60 min, og de fleste kunne klare 100 µl l<sup>-1</sup> (ca. 6 mg l<sup>-1</sup>) (Kitancharoen et al., 1997, id 7), hvilket også blev bekræftet af Rach et al., (1997) der viste, at af 6 fiskearter kunne de 5 tolerere H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konc. på 100 µl l<sup>-1</sup> med behandling hver anden dag i 15 eller 45 min. Wallyeye, *Stizostedion vitreum* kunne kun klare 100 µl l<sup>-1</sup>.

Hydrogenperoxid kan erstatte Kloramin-T til bekæmpelse af den bakterielle gællesyge

Lumsden et al., 1998 viste, at hydrogenperoxid kan erstatte Kloramin-T til bekæmpelse af den bakterielle gællesyge forårsaget af *Flavobacterium branchiophilum*. Den optimale behandling er afhængig af antal behandlinger, intervallet mellem dem og sygdommens stadium. 50 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> var mere effektivt end behandling med kloramin-T, når der behandlede 2 gange med 48 timers interval. (Lumsden et al., 1998).

Speare & Arsenault (1997) påviste, at 2 ugentlige behandlinger med 200 mg l<sup>-1</sup> i 1 time var lige så effektivt som tilsvarende behandling med Kloramin-T af *Flexibacter columnaris* hos regnbueørred.

*Fiskene beskytter sig mod hydrogenperoxid og de afledte iltradikaler med forskellige afværgereaktioner*

De første 3 uger efter behandlingen er der væksthæmning, men efter 7 uger er der ingen forskel på behandlede fisk og ikke-inficerede ubehandlede fisk (kontrolgruppen). Fiskene beskytter sig mod hydrogenperoxid og de afledte iltradikaler med forskellige afværgereaktioner. Regnbueørred gør det ved at danne askorbinsyre, glutathion, vitaminer og enzymer som katalaser og peroxidaser, der kan binde eller direkte nedbryde det. Eksponering i 1 time op til 100 mg l<sup>-1</sup> forårsager ingen synlige kliniske tegn eller ultrastrukturelle skader på det respiratoriske epitel (Derksen et al., 1999).

Ål forbruger ilt men producerer superoxider og hydrogenperoxidase i forholdet 2:2:1. Kun enzymet katalase kunne nedsætte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koncentrationen så meget at bakterier ikke dræbes i modsætning til superoxid, dismutase, mannitol og benzosyre (Itou et al., 1997).

### **Effekter på planter**

*Algefotosyntesen er temmelig modstandsdygtig overfor H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*

Kloroplaster fra spinat blev hæmmet i at binde CO<sub>2</sub> ved koncentrationer på 10<sup>-4</sup> M (3,4 mg l<sup>-1</sup>), men det havde ikke effekt på algerne *Euglena* og *Chlamydomonas*. Algefotosyntesen er temmelig modstandsdygtig overfor H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hvilket skyldes en reduceret følsomhed over for svovlholdige enzymer. (Takeda et al., 1995).

Planter danner H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eller O<sub>2</sub><sup>-</sup> radikaler under fotosyntesen i størrelsesordenen på 160 - 80 μM s<sup>-1</sup>. (2,7 - 5,4 mg l<sup>-1</sup>s) Planterne afgifter sig selv med dannelse af forskellige enzymer som katalaser og peroxidaser, samt andre organiske forbindelser med lignende egenskaber.

### **Naturlig forekomst**

*UV-lys kan interferere med organisk stof og danne H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*

To artikler omhandler hydrogenperoxids dannelse under naturlige forhold i vandsystemer. Xenopoulos & Bird (1997) fandt, at UV-lys kan interferere med organisk stof og danne H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i koncentrationer ned til 50 nM (1,7 μg l<sup>-1</sup>) i en humus-rig sø og hæmme bakterievæksten. 100 nM (3,4 μg l<sup>-1</sup>) hæmmede bakterievæksten med 40 %. Disse små koncentrationer stimulerede til gengæld fotosyntesen i algerne. Tilsættes katalase for at modvirke effekten af H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stimuleredes bakterieproduktionen, og der var ingen effekt på algernes evne til at optage CO<sub>2</sub>.

*Hydrogenperoxid kan dannes naturligt op til 800 nM (27 μg l<sup>-1</sup>) i søer. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koncentrationen følger UV-lyset der veksler gennem døgnet. Når koncentrationen er højest om morgenen er den på 5000 nM (0,170 mg l<sup>-1</sup>)*

Hydrogenperoxid kan dannes naturligt op til 800 nM (27 μg l<sup>-1</sup>) i søer, og dannelsen er ofte korreleret med koncentrationen af opløst organisk stof. Koncentrationen skifter gennem dagen og med dybden. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> angriber DNA, RNA, lipider og proteiner samt forårsager en mutagen effekt i bakterier og eventuelt forårsager deres død. Hydrogenperoxid nedbrydes af mikroorganismene som står for den største del af nedbrydningen. Muligvis frigøres der ortho-fosfat fra det organiske stof, der kan komme algerne til gavn. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> koncentrationen følger UV-lyset, der veksler gennem døgnet. Når koncentrationen er højest om morgenen, er den på 5.000 nM (0,170 mg l<sup>-1</sup>), og det giver ikke skade på fotosyntesen i algerne som følge af detoksifikationskapaciteten. Om eftermiddagen er 50 nM (1,7 μg l<sup>-1</sup>) nok til at hæmme bakterieproduktionen.

Hydrogenperoxid dannet i regnvand kan indeholde 30 - 50  $\mu\text{M}$ . (1-1,7  $\text{mg l}^{-1}$ ). 10 mm regn kan øge indholdet i en søs øverste meter med 550 nM (18,7  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). En koncentration der kan hæmme bakterieproduktionen med 50 %.

*H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dannes i overfladen, men nedbrydes i hele vandsøjlen afhængig af, om der er en lagdeling i søen*

I en undersøgelse fra New Zealand er H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-indholdet fulgt over døgnet i fra helt rene (oligotrofe) søer til overgødskede damme. Koncentrationen er bestemt af dannelse via UV-lyset og af den biologiske og kemiske nedbrydning. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dannes i overfladen men nedbrydes i hele vandsøjlen afhængig af, om der er en lagdeling i søen. Nedbrydningen skyldes især bakteriel katalase og peroxydase.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kan i forbindelse med UV-lys gå i forbindelse med organisk stof. Tilsvarende kan metaller oxideres af H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fra f.eks. Fe<sup>++</sup> til Fe<sup>+++</sup>, hvorved H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nedbrydes til OH<sup>-</sup>. Nedbrydningen kan således katalyseres af metaller eller O<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Fotokemisk dannes hydrogenperoxid fra organisk materiale, der frigiver en elektron eller H<sup>+</sup>. Alger kan ligeledes danne H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i ret så store koncentrationer. Store koncentrationer af organisk stof (140  $\text{mg l}^{-1}$ ) kan bevirke en kemisk induceret nedbrydning af H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> som følge af at det bliver oxideret. Ligesom Xenopoulos & Bird (1997) fandt R. Hermann (1996), at regnvand kan indeholde op til 60  $\mu\text{M}$  (2  $\text{mg l}^{-1}$ ), og at vinden kan inducere turbulens og mikse H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> længere ned i vandsøjlen.

### **8.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen**

Hydrogenperoxid (brintoverilte) anvendes til bekæmpelse af svampe- og gælleinfektion samt parasitangreb. Adskillige artikler beskriver tolerancen af laksefisk og -æg over for brintoverilte (Marking et al., 1994, Waterstrat, 1995, Schreier et al., 1996, Arndt & Wagner, 1997, Kitancharoen et al., 1997, Rach et al., 1997, Gaikowski et al., 1998, Rach et al., 1998, Gaikowski et al., 1999), ligesom diverse ændringer/skader og stresspåvirkninger er blevet belyst (Marking et al., 1994, Kiemer and Black, 1997, Rach et al., 1997, Speare et al., 1999).

*Giftigheden over for laksefiskene er afhængig af fiskestørrelse og temperatur, men generelt anbefales værdier under 100-200  $\text{mg/l}$  ved badbehandling i 1 time*

Giftigheden over for laksefiskene er afhængig af fiskestørrelse og temperatur, men generelt anbefales værdier under 100-200  $\text{mg l}^{-1}$  ved badbehandling i 1 time. LC<sub>50</sub>(2h)-værdien er udregnet til 189 - 280  $\text{mg l}^{-1}$  for ørredyngel, mens æggene tåler meget højere koncentrationer på 500 - 1.000  $\text{mg l}^{-1}$  uden negative effekter. Ligeledes har regelmæssige behandlinger med 100  $\text{mg l}^{-1}$  i 1 time ingen eller kun marginale påvirkninger.

Da stoffet først nyligt har fundet anvendelse i akvakultur, er anbefalet anvendelsespraksis endnu ikke klart beskrevet. Oftest trækkes en dam ned til f.eks. halv volumen, hvorefter der tilsættes 5  $\text{mg l}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (aktivt stof) udregnet efter tilstedeværende vandvolumen. Dammen stemmes op, og vandtilførslen til dammen

fortsætter som normalt. Behandlingen gentages gerne 3 - 4 dage i træk

Såfremt en yderligere reduktion af dammens vandvolumen ved start er mulig, vil det reducere den nødvendige mængde, som skal tilføres, men det kan være vanskeligt/umuligt i praksis.

*Da effekten formentligt er betinget af såvel koncentration som tid, kunne den samme effekt opnås ved brug af mindre mængde, såfremt vandtilførslen blev stoppet eller kraftigt reduceret under behandling*

Da effekten formentligt er betinget af såvel koncentration som tid, kunne den samme effekt opnås ved brug af mindre mængde, såfremt vandtilførslen blev stoppet eller kraftigt reduceret under behandling, alt imens ilttildelingen blev sikret f.eks. via beluftning.

Der savnes en beskrivelse af sammenhængen mellem effekt og temperatur, således at doseringen kan relateres til den aktuelle temperatur. Tilsvarende er sammenhængen med pH heller ikke beskrevet.

#### **8.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse**

Brintoverilte opløses meget let i vand. Under forudsætning af god iblanding under tilsætningen, vil stoffet fordeles jævnt i opdrætsvandet. Der kan ikke forventes nogen udfældning/bundfældning af stoffet.

#### **8.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer der kan have indflydelse på denne**

Brintoverilte (hydrogenperoxid) er et oxidationsmiddel, som nedbrydes til vand og ilt:  $H_2O_2 = H_2O + O_2$

I recirkulerende anlæg til f.eks. åleopdræt er der ved lave til moderate koncentrationer (5-10 mg l<sup>-1</sup>) af brintoverilte ikke iagttaget nogen bacteriocid effekt i f.eks. biofiltre, da biofiltrene skønnes at have uændret omsætningseffektivitet efter behandlingerne.

*Det forekommer sandsynligt, at der sker en temmelig stor reduktion i brintoveriltekoncentration og -mængde under såvel behandlingen i dammen som under den efterfølgende passage af bagkanal og bundfældningsanlæg*

Det forekommer overvejende sandsynligt, at der sker en temmelig stor reduktion i brintoveriltekoncentration og -mængde under såvel behandlingen i dammen som under den efterfølgende passage af bagkanal og bundfældningsanlæg, idet der overalt er såvel opløst som partikulært organisk materiale til stede.

Størrelsen af denne reduktion vil afhænge af bl.a. vandvolumenets størrelse, opholdstiden, stofkoncentrationer, temperatur og pH, men burde retningsgivende kunne fastlægges ved simple forsøg.

#### **8.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger**

Mekaniske filtre skønnes ikke at have nogen reducerende effekt på mængden af aktivt brintoverilte.

*Biologiske filtre kunne reducere mængden*

Biologiske filtre vil jævnfør ovenstående og jævnfør generel erfaring fra fiskeopdræt i recirkuleringsanlæg i øvrigt, kunne reducere mængden. Størrelseordenen af denne reduktion er afhængig af især opholdstid og temperatur samt tilstedeværelse af organisk stof.

## **8.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

*Recirkulering vil forøge reduktionsgraden*

Recirkulering vil generelt forøge stoffets opholdstid på anlægget og derved i sig selv forøge reduktionsgraden p.g.a. større omdannelse. Såfremt recirkuleringsgraden under eller efter behandling kan øges, vil reduktionen kunne forøges yderligere. Ikke mindst hvis der kunne etableres recirkulering f.eks. over biofiltret alene. Forøget opholdstid i bundfældningsanlægget vil også reducere en eventuel udledning.

## **8.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug**

Med den lette og meget hurtige omsætning af brintoverilte vil eventuelle restmængder tilført slammet blive omsat. Brug af brintoverilte vil derfor ikke skabe problemer vedr. dette punkt.

## **8.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen**

Der er i det nedenstående beregnet og vist eksempler på den resulterende koncentration i vandløbet af et stof, såfremt én stor dam doseres (tabel 8.1). De maksimale værdier som opnås i vandløbet afhænger som tidligere beskrevet af mange parametre. Disse maksimale værdier er beregnet som følge af variationer i recirkuleringsgrad og den procentvise reduktion ved hver passage af biofilter og bundfældningsanlæg.

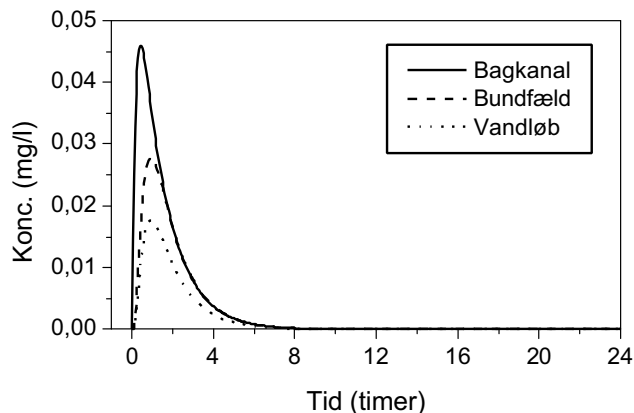
Koncentrationsforløbet er fulgt i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb under forskellige recirkuleringsgrader (figur 8.1, 8.2 og 8.3)

**Figur 8.1**  
Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb, når 1 stor dam doseres med en koncentration på  $5 \text{ mg l}^{-1}$  ved halvvolumen. Der fjernes 10 % pr. gennemløb i biofilter og bundfældningsanlæg. Halveringstiden er 180 min. og recirkuleringsprocenten er lig 0.

*Den maksimale koncentration opnås efter ca. 1 time. Efter ca. 6 timer er*

## Hydrogenperoxid

1 stor dam, recirk=0%, fjernelse=10%, t1/2= 180 min.



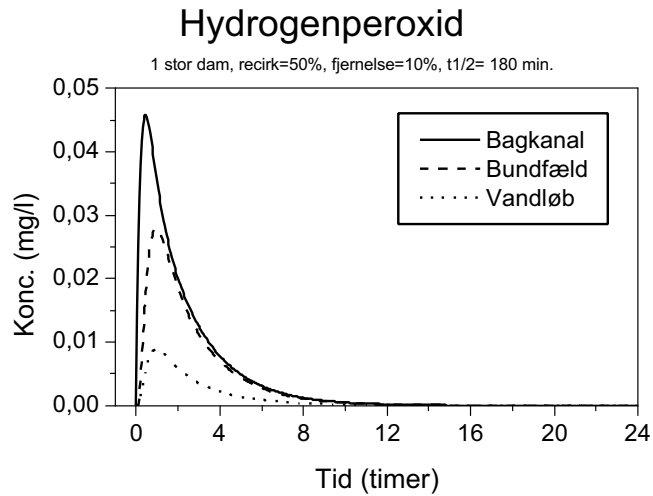
Den maksimale koncentration opnås efter ca. 1 time. Allerede i bagkanalen er den maksimale koncentration kun 1/10 af den doserede. Efter ca. 6 timer er koncentrationen nul (figur 8.1).

**Tabel 8.1** Maksimale værdier i vandløbet ved dosering af  $5 \text{ mg l}^{-1}$  ( $5 \text{ mg l}^{-1}$  aktivt stof) til det halve volumen i én stor dam i modeldambruget.

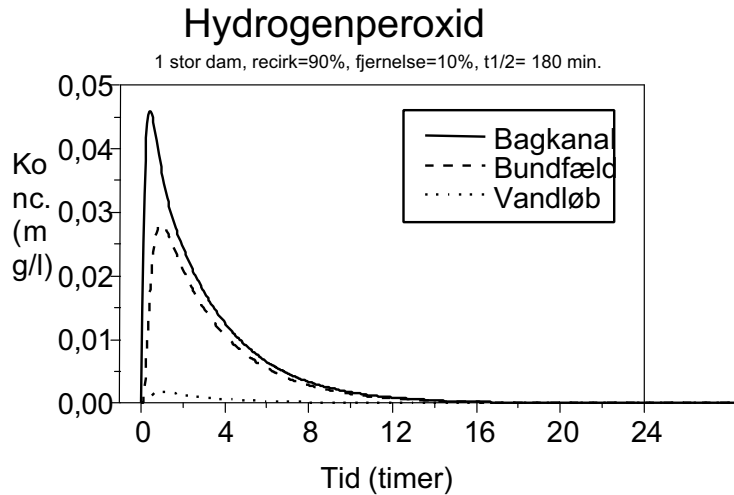
	0 % recirkulering	50 % recirkulering	90 % recirkulering
0 % reduktion	0,02 $\text{mg l}^{-1}$	0,01 $\text{mg l}^{-1}$	0,002 $\text{mg l}^{-1}$
10 % reduktion	0,02 -	0,01 -	0,002 -
50 % reduktion	0,01 -	0,007 -	0,001 -

### Figur 8.2

Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb, når 1 stor dam doseres med en koncentration på  $5 \text{ mg l}^{-1}$  ved halvvolumen. Der fjernes 10 % pr. gennemløb i biofilter og bundfældningsanlæg. Halveringstiden er 180 min. og recirkuleringsprocenten er lig 50.



**Figur 8.3**  
 Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb, når 1 stor dam doseres med en koncentration på  $5 \text{ mg l}^{-1}$  ved halvvolumen. Der fjernes 10 % pr. gennemløb i biofilter og bundfældningsanlæg. Halveringstiden er 180 min. og recirkuleringsprocenten er lig 90.



Med en øget recirkuleringsgrad udstrækkes den periode hvormed stoffet udledes til vandløbet, men tilgængelig er den maksimale koncentration reduceret betydeligt.

## 8.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 8.9 resulterende udledninger

*I regnvand kan UV-lyset danne koncentrationer på  $2 \text{ mg l}^{-1}$  og dermed give høje koncentrationer i vandløb og søer. Den største nedbrydning sker mikrobielt*

Hydrogenperoxid dannes i naturen under fotosyntesen i vandplanter og kan give koncentrationer op til  $170 \mu\text{g l}^{-1}$ . I regnvand kan UV-lyset danne koncentrationer på  $2 \text{ mg l}^{-1}$  og dermed give høje koncentrationer i vandløb og søer. Nede i vandet kan UV-lyset gå i forbindelse med det organiske materiale og danne koncentrationer på  $27 \mu\text{g l}^{-1}$ . Det kan også oxidere det organiske materiale såvel som metaller som jern, hvorved det selv nedbrydes. Den største nedbrydning sker dog mikrobielt, selv om bakterierne hører til de mest følsomme organismer, hvor væksten hæmmes ved få mikrogram  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

*Dyr såvel som planter, er fremragende til at afgifte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*

Fisk, både som æg og yngel, er upåvirkede af koncentrationer på ca. 6 mg l<sup>-1</sup>, hvilket dog også kun er 4 ‰ af de koncentrationer, der bruges til bekæmpelse af lakselus (krebsdyr). Selv ved behandlinger med 1,5 g l<sup>-1</sup> inaktivers lakselusen, og få timer senere er den aktiv igen. Organismer, dyr såvel som planter, er fremragende til at afgifte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ikke mindst ved dannelse af enzymerne katalase og hydrogenperoxidase. Hydrogenperoxid-koncentrationer op til 0,5 - 1 mg l<sup>-1</sup> kan naturligt opnås i naturen ved overfladisk afstrømning til vandløbene. Lejlighedsvis tilledninger af H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> i dette koncentrations-interval kan således ikke siges at påvirke de naturlige vandsystemer.

### **8.11 Anbefalinger vedrørende doseringspraksis**

*Uden risiko for vandløbene kan, ifølge ovenstående doseres samtidigt i 10 af de store damme. Dette endog uden recirkulering og med op til kun 10 % reduktion ved passage af biofilter/bundfældningsbassin*

Uden risiko for vandløbene kan i følge ovenstående doseres samtidigt i 10 af de store damme. Dette endog uden recirkulering og med op til kun 10 % reduktion ved passage af biofilter/bundfældningsbassin. Ved større reduktionsgrader samt ved en kortere halveringstid end 180 minutter, kan yderligere damme doseres samtidigt om ønsket. Da det normalt højst vil være praksis at dosere 1 - 5 damme samtidigt, skønnes der ikke at være behov for særlige foranstaltninger vedr. f.eks. recirkulering ved brug af brintoverilte. Såfremt recirkuleringsgraden øges under brugen, reduceres udledningen dog yderligere. Koncentrationsforløbet igennem dambruget viste, at efter 6 timer kan der atter doseres, uden at det har betydning for koncentrationen i vandløbet.

### **8.12 Konklusion, herunder behov for ny viden**

Der er behov for bestemmelse af biologiske halveringstider i dambrugsvand og -sediment, herunder også halveringstidens afhængighed af relevante parametre såsom temperatur, BI<sub>5</sub>-indhold og iltniveau. Dette kan gøres i simpel laboratorieopstilling.

Der er behov for fastlæggelse af omfanget af binding/omsætning (biologisk og kemisk) under passage af biofilter og bundfældningsanlæg. Også her bør sammenhængen med temperatur, BI<sub>5</sub> og iltforhold undersøges. Dette bør gøres v.h.a. målinger på dambrug under dosering. Korrektions-koefficienter for temperatur, BI<sub>5</sub> og ilt-indhold fastlægges dog formentlig bedst ved laboratorieforsøg.

Effekt og doseringspraksis bør undersøges yderligere, og det bør undersøges, i hvor stort omfang stoffet kan erstatte andre midler.

### **Referencer**

Arndt R.E. and Wagner E.J. The toxicity of hydrogen peroxide to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki*) fry and fingerlings. Journal of the World Aquaculture Society 18 (2), pp. 150-157, 1997



Barnes et al. Peroxide-inducible catalase in *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicidae* protects against exogenous hydrogen peroxide and killing by activated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) macrophages.

Microbial Pathogenesis 26, pp. 149-158, 1999

Derksen J.A., Ostland, V.E. and Ferguson, H.W. Effects of hydrogen peroxide on clearance of formalin-killed *Flavobacterium branchiophilum* from the gills of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Fish Diseases* 22, pp. 59-67, 1999

Gaikowski M.P. Rach, J.J., Olson, J.J., Ramsay, R.T. and Wolgamood, M. Toxicity of hydrogen peroxide treatments to rainbow trout eggs. *Journal of Aquatic Animal Health* 10, pp. 241-251, 1998

Gaikowski M.P. et al. Acute toxicity of hydrogen peroxide treatments to selected lifestages of cold-, cool-, and warmwater fish. *Aquaculture* 178, pp. 191-207, 1999

Hermann, Reimer. The daily changing pattern of hydrogen peroxide in New Zealand surface waters.

*Environmental Toxicology and Chemistry* 15: 652-622, 1996

Itou, T., T. Iida, and H. Kawatsu. The importance of hydrogen peroxide in

phagocytic bactericidal activity of Japanese eel neutrophils.

*Fish Pathology* 32: 121-125, 1997 (ref. ID: 8)

Kiemer M.C.B. and Black K.D. The effects of hydrogen peroxide on the gill tissues of Atlantic salmon, *Salmo salar*.

*Aquaculture* 153, pp. 181-189, 1997 (ref. ID:9)

Kitancharoen N. et al. Fungicidal effect of hydrogen peroxide on fungal infection of rainbow trout eggs.

*Mycoscience* 38, pp. 375-378, 1997

Kitancharoen N. et al. Effects of sodium chloride, hydrogen peroxide and malachite green on fungal infection in rainbow trout eggs.

*Biocontrol Science* 3 (2), pp. 113-115, 1998

Kitancharoen, N., A. Yamamoto, K. Hatai, M.A. Xenopoulos, and D.F.Bird. Fungicidal effects of hydrogen peroxide on fungal infection of rainbow trout eggs.

Effect of acute exposure to hydrogen peroxide on the production of phytoplankton and bacterioplankton in a mesohumic lake. *Mycoscience* 38: 375-378, 1997

Lumsden, J.S., Ostland, V.E. and Ferguson, H.W. Use of hydrogen peroxide to treat experimentally induced bacterial gill disease in rainbow trout.

*Journal of Aquatic Animal Health* 10: 230-240, 1998

Marking, L.L. et al. Evaluation of Antifungal Agents for Fish Culture. *The Progressive Fish-Culturist* 56, pp. 225-231, 1994

McAndrew K.J., Sommerville, C., Wootten, R. and Bron, J.E. The effects of hydrogen peroxide treatment on different life-cycle stages of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis*.  
Journal of Fish Diseases 21, pp. 221-228, 1998

Rach, J.J., Schreier, T.M., Howe, G.E. and Redman, S.D. Effect of species, life stage, and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish.  
The Progressive Fish-Culturist 59, pp. 41-46, 1997

Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Howe, H.E. and Schreier, T.M. Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogen peroxide treatments on eggs of warm- and coolwater species.  
Aquaculture 165, pp. 11-25, 1998

Schreier T.M., Rach, J.J. and Howe, G.E. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs.  
Aquaculture 140, pp. 323-331, 1996

Speare, D.J. and Arsenault, G.J. Effects of intermittent hydrogen peroxide exposure on growth and columnaris disease prevention of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).  
Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 54: 2653-2658, 1997

Speare, D.J., Carvajal, V. and Homey, B.S. Growth suppression and branchitis in trout exposed to hydrogen peroxide.  
Journal of Comparative Pathology 120, pp. 391-402, 1999

Takeda T., Yokota, A. and Shigeoka, S. Resistance of photosynthesis to hydrogen peroxide in algae.  
Plant Cell Physiology 36 (6), pp. 1089-1095, 1995

Treasurer J.W. and Grant A. The efficacy of hydrogen peroxide for the treatment of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*, infested with sea lice (Copepoda: Caligidae)  
Aquaculture 148, pp. 265-275, 1997

Waterstrat, P.R. and Marking, L.L. Clinical Evaluation of Formalin, Hydrogen Peroxide and Sodium Chloride for the Treatment of *Saprolegina parasitica* on Fall Chinook Salmon Eggs.  
The Progressive Fish-Culturist 57, pp. 287-291, 1995

White K. and Hwang. H. The fate of hydrogen peroxide as an oxygen source for the *in-situ* biodegradation process.  
96<sup>th</sup> ASM General Meeting

Xenopoulos M.A. and Bird D.F. Effect of acute exposure to hydrogen peroxide on the production of phytoplankton and bacterioplankton in a mesohumic lake.  
Photochemistry and Photobiology 66 (4), pp. 471-478, 1997

# 9 Kobbersulfat (Blåsten) og Kobberklorid

Af Ole Sortkjær, Per Bovbjerg, Svend Steenfelt og Per Aarup

## 9.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse af kobbersulfat på dambrug, herunder hvilke mængder og koncentrationer der er aktuelle

*Kobbersulfat anvendes til forebyggelse og desinfektion af vand, især i damopdræt, sjældnere til yngel i kummer*

Kobbersulfat anvendes til forebyggelse og desinfektion af vand, især i damopdræt, sjældnere til yngel i kummer. Det bruges ved tilfælde af bakteriel gælleinfektion, miljøbettinget gællesyge og encellede parasitter. Derudover anvendes det i kombination med formalinbade til decimering af Fiskedreber.

Midlet har en udpræget præventiv anvendelse i mange vestjyske, okkerbelastede dambrug eller andre åvandsdambrug med dårlig vandkvalitet. Der er dambrug, som bruger blåsten dagligt eller 2 - 3 gange ugentligt i længere perioder.

Blåsten har, måske tidligere, været brugt som algebekæmpelsesmiddel og omtales som sådant i C. J. Rasmussen: Håndbog i ørredopdræt, 1967. Frank Bregnballe omtaler det i Meddelelse fra Forsøgsdambrug nr. 78, 1990 som et desinfektionsmiddel, der ikke har særlig udbredt anvendelse.

*Blåsten er omtrent lige så giftigt for fiskene som for de organismer, det skal ramme*

Blåsten har ligesom formalin haft udbredt anvendelse i 1990-erne, og det hænger måske sammen med, at malakitgrønt blev forbudt for 10 år siden. Blåsten er omtrent lige så giftigt for fiskene som for de organismer, det skal ramme, hvorfor dosering er vanskelig. Fiskene vænner sig imidlertid gradvist til det, og hvor det bliver brugt hyppigt, er der en tendens til, at dosis jævnlige skal øges for at få den tilsigtede virkning. En del dambrugere, der har brugt stoffet rutinemæssigt og hyppigt, er nu forsøgsvis holdt op med at bruge det. En dambruger har meldt tilbage, at han nu ikke har anvendt blåsten i 3 måneder, men fiskene trives lige så godt som før. På den anden side forekommer der tilfælde med alvorlige gælleinfektioner, hvor det viser sig, at dambrugeren er holdt op med de profylaktiske behandlinger.

*I de sidste par år er blåsten flere og flere steder afløst af brintoverilte*

I de sidste par år er blåsten flere og flere steder afløst af brintoverilteprodukterne, men nogle har også opgivet disse midler igen og er gået tilbage til blåsten i det profylaktiske arbejde.

Disse forhold siger noget om, at situationen er meget forskellig fra dambrug til dambrug, afhængig af vandkvaliteten og driftsforholdene i øvrigt. Hver dambruger finder frem til et

desinfektionsmiddel og en metode, der passer bedst til hans dambrug og temperament.

Blåsten er meget mere giftigt i blødt vand end i hårdt vand og skal også anvendes med stor forsigtighed i surt vand. Overdosering kan skade gællerne, så de ikke er til at rette op igen, idet store dele af de sekundære gællelameller kan være forsvundet. Denne tilstand iagttages især, hvor det har været benyttet til småyngel.

*Til desinfektion med større fisk anvendes blåsten ofte skiftevis med kloramin T*

Til desinfektion af opdrætsenheder med større fisk, der har alvorlig gælleinfektion, anvendes blåsten ofte skiftevis med kloramin-T, idet midlet virker slimopløsende, hvorefter der bliver bedre angrebsflade for kloramin-T. Der behandles dog ikke med begge midler samme dag.

Jon From (1993) anbefaler en dosis af blåsten på 0,01 - 0,10 mg l<sup>-1</sup>, opløst i vand og tilsat dammens indløb. Andre steder anbefales en dosis på 0,25 g pr. kubikmeter, og doseringen sker i damopdræt mest ved, at dambrugeren går en tur langs damkanten og spreder lidt pulver ud. Metoden med at trække dammen halvt ned er også brugt. I så fald opløses den afmålte mængde blåsten i en balje vand, som tilsættes indløbet langsomt, mens der stemmes op.

Da det er uhyre forskelligt, hvad fiskene kan tåle, kan der i virkeligheden ikke anbefales nogen bestemt dosis. Dambrugeren er henvist til at prøve sig frem, men erfaringen lærer ham efterhånden, hvad niveauet skal være på hans dambrug. Blåsten anvendes ikke i forbindelse med recirkuleret opdræt.

*Kobberklorid (CuCl<sub>2</sub>) anvendes til at desinficere en dams moderfisk, der er angrebet af fiskeigler*

Kobberklorid (CuCl<sub>2</sub>) anvendes meget sjældent og da til at desinficere en dams moderfisk, der er angrebet af fiskeigler. Disse kan ikke bekæmpes med de gængse parasitmidler, men kobberklorid er virksomt. Det er et krystallinsk stof, der minder om blåsten, men er lysere i farven.

Vandindholdet i den fuldt optrukne dam beregnes, og der afmåles 4 gram kobberklorid pr. kubikmeter vand. Dammen trækkes halvt ned, og der lukkes for afløbet, mens dammen atter stemmes op. Når dammen er trukket ned, tilsættes 1/6 af den afvejede mængde kobberklorid direkte i indløbet. Efter 40 minutter tilsættes atter 1/6 af den totale dosis og så fremdeles med 40 min. mellemrum, indtil hele mængden er brugt efter 3 timer og 20 min.

Fiskene kan godt tåle større doser, hvilket man benytter sig af, hvis behandlingen sker inde i et bassin. Ved anvendelse af 50 g kobberklorid pr. kubikmeter vand falder iglerne af fiskene efter 20 - 40 minutter og dør kort efter, hvis de forbliver i det giftige vand.

Mindre fisk er mere følsomme over for giftvirkningen, men angribes næsten aldrig af igler.

## 9.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter på organismer og økosystemer ved given udledning

*Kobber er et essentielt mikronæringsstof*

Kobber er et essentielt mikronæringsstof, der indgår som coenzym i flere biokemiske processer. Det betyder, at organismene ret let kan optage det og for en dels vedkommende også ophobe ret store koncentrationer. Samtidig er kobber også et giftstof. Koncentrationen er derfor altafgørende for, om det er til skade eller til gavn for organismens trivsel.

I vandige opløsninger dissocieres kobbersulfat,  $\text{CuSO}_4$  til  $\text{Cu}^{++}$  og  $\text{SO}_4^-$ , og det er kobberionen, der udgør den aktive del i kobbersulfaten. Derfor omhandles kobber i det følgende. Den gennemgåede litteratur vil således også dække andre kobberpræparater, der måtte være på markedet så som kobberklorid.

### Forekomst i naturen

*I vandløb findes kobber typisk i koncentrationen 1 - 2  $\mu\text{g l}^{-1}$*

I vandløb findes kobber typisk i koncentrationen 1-2  $\mu\text{g l}^{-1}$ , der eksisterer dog bjergvandløb med lavere værdier. I søer ligger koncentrationerne generelt lidt højere (2-3  $\mu\text{g kobber l}^{-1}$ ). Disse koncentrationer for ferskvand er normalt store nok, til at organismene kan få kobber nok som mikronærings salt. Visse steder kan kobber være begrænsende for algevæksten i naturlige vandsystemer (Knauer et al., 1997).

I udlandet tilføres kobber til vandløb fra både eksisterende og nedlagte mineindustrier, og data herfra kan sige noget om ophobning i sediment. Opløste metaller fra mineindustrier bindes ret effektivt til partiklerne i vandløbene (floder) og sedimenterer. I Sarawwak (Malaysia) lå sediment indholdet på 1,1 - 4,5 mg kobber  $\text{kg}^{-1}$  sediment (Lau, S. et al., 1998)

Andre steder har man direkte tilført kobber til vandreservoirer for at forhindre algevækst

*Kobberet frigives ved lavt iltindhold og kan være en fordel for fotosyntesen da planterne kan mangle kobber*

I opsamlingsbassiner (damme) der tidligere er behandlet med kobber, kan kobberindholdet i sedimentet være på 2 mg  $\text{g}^{-1}$  sediment (tørvægt) og føre til et indhold i vandfasen på 99  $\mu\text{g l}^{-1}$  ved en resuspension. Kobberet frigives ved lavt iltindhold, og det kan være en fordel for fotosyntesen da planterne kan mangle kobber (Nalewajko & Prepas, 1996)

*Kobber kompleksbindes til en lang række stoffer, blandt andet organisk stof i vandløbene*

Kobber kompleksbindes til en lang række stoffer, blandt andet organisk stof i vandløbene. Det betyder også, at der kan blive tilført metaller til dambrugene. Det bør understreges at kobber igen kan frigives fra organisk materiale og sediment.

*Metallerne frigives, når der er ilt tilstede*

Tungmetaller herunder kobber bliver under iltfrie forhold bundet i sedimentet som sulfid-metaller. Metallerne frigives, når der er ilt til stede. De mikrobiologiske processer spiller også en rolle for frigivelsen af partikelbundet metal (Petersen & Wiliamowski, 1997)

De samme kompleksdannelsesprocesser, der gør sig gældende i sediment og vandfase, finder sted på fiskenes gæller. Gællerne udskiller  $H^+$  og  $NH_4$ , der i det mikronære område af gællerne kan have betydning for kobberets bindingsevne og biotilgængelighed.

Der kan ligefrem opstilles en toksikologisk relevant stabilitetskonstant  $\log K$ , der angiver om kobberionerne har større affinitet til de organiske stoffer på gællerne eller det organiske stof i vandfasen (MacRae et al., 1999)

*Selv små koncentrationer af opløst organisk stof beskytter fiskenes gæller mod kobber*

Selv små koncentrationer af opløst organisk stof beskytter fiskenes gæller mod kobber. Kobber har indflydelse på Na og Cl influx. Naturligt organisk opløst stof i koncentrationen 8 mg  $l^{-1}$  beskytter effektivt mod kobber, men ikke mod Cd i blødt vand. Der kan opstilles en model for kobbers bindingsevne til gællerne, når opløst organisk stof er til stede (Richards et al., 1999)

### **Bioakkumulering**

Goodyear & McNeill, 1999 har i en review-artikel undersøgt litteraturen for bioakkumulering af kobber i vandlevende makroinvertebrater opdelt efter deres fødegrundlag. Mange arter indgår, men det er vanskeligt at lave sammenligninger, da det er usædvanligt, at forfattere har ladet flere arter indgå i samme test. De mest undersøgte arter findes inden for Diptera (de tovingede, f.eks. myg) og Ephemeroptera (døgnfluer). Der er meget stor spredning i resultaterne som følge af variation i fødegrundlag, metalforbindelser, de geografiske lokaliteter dyrene kommer fra, ukorrekt klassificering af dyrenes fødekarakteristik, forskellig aldersfordeling af dyrene, nøjagtigheden af resultaterne, hvor ofte kun gennemsnittet er medtaget men ikke spredningen og endelig variationen i pH, temperatur, ledningsevne og vandets hårdhed (Goodyear & McNeill, 1999)

Makroinvertebraterne har ofte mange larve- og ungdomsstadier før voksenstadiet. De forskellige udviklingsstadier er kendetegnet ved forskelligt fødegrundlag.

*De makroinvertebrater, der lever af partikler, har kobberkoncentrationer i kroppen, der signifikant er korreleret med vandets og sedimentets kobberkoncentration*

De makroinvertebrater, der lever af partikler, som græssere på overflader eller som rovdyr, har kobberkoncentrationer i kroppen, der signifikant er korreleret med vandets og sedimentets kobberkoncentration, således at koncentrationen i dyret altid er større end i vandet og mindre end i sedimentet. Makroinvertebraterne akkumulerer kobber, hvad enten det er partikulært eller opløst kobber, men der er ikke tale om en biomagnification (hvor kobberindholdet stiger gennem fødekæden). Der er udarbejdet matematiske ligninger for optagelsen af kobber for de enkelte arter. Vævsindholdet ligger mellem 10-1000  $\mu g$  kobber  $g^{-1}$ .

Sedimentlevende græssende dyr opnår de højeste værdier helt op til 10.000  $\mu g$   $g^{-1}$ . Dyr der lever i vandfasen og æder partikler når ligeledes op på 10.000  $\mu g$   $l^{-1}$ . Trods de mange data er det ikke nok til en forståelse af bioakkumuleringen. (Goodyear & McNeill, 1999)

Kobbers bioakkumulering er undersøgt i to amerikanske ferskvandssnegle, *Leptoxis praerosa* og *Mudalia dilatata*. Når kobberindholdet i vandet når  $27 \mu\text{g l}^{-1}$  er koncentrationen i det organiske materiale på vandløbets overflader det dobbelte. I vævet på sneglene er koncentrationen målt til ca.  $100 - 150 \mu\text{g g}^{-1}$  væv. Foderforsøg har vist, at biokoncentrationen kan være 10 gange større, når sneglen indtager kobber med foderet, end hvis det kun optages fra vandfasen. Det tog sneglepopulationen 2 år at overvinde en kobberforurening efter ophør af minedrift (Reed-Judkins et al., 1998)

Opløste metaller fra mineindustrier bindes effektivt til partiklerne i vandløb, hvorefter det sedimenterer. Muslingerne, *Brotia costula* og *Melanoides tuberculata* levede i sedimentet i floder, som havde virket som recipient for mineindustrien, akkumulerede hovedsagelig kobber i bløddelene og kun mindre mængder i skallerne. Akkumuleringen var ca. 38 - 55 gange højere end koncentration i sedimentet ( $1,1 - 4,5 \text{ mg Cu kg}^{-1}$ ). For muslingen *Clithon* sp., der lever på hårde overflader og som græsser alger, var bioakkumuleringen det halve. (Lau et al., 1998)

Som for de andre vandlevende organismer optages der også kobber i regnbueørred, mest i leveren, når de eksponeres for metalforurenede spildevand, som det sker i norditalienske floder (Camusso et al., 1995)

Mange forskellige dyr, også pattedyr, kan ophobe kobber i deres væv. Værdier på  $200 - 300 \text{ mg kg}^{-1}$  væv (tørvægt) er ofte fundet også i den australske frø *Hyla arborea*, der lever i forureningsfrie omgivelser (Beck, 1956). I det nordlige Grækenland kan frøen *Rana ridibunda* akkumulere over  $1.000 \text{ mg kobber kg}^{-1}$  lever. Kobberet kommer hovedsageligt fra marker sprøjtet med kobberholdige pesticider, der skylles ud i vandløbet. Leveren ser ud til at være afgiftningsorganet (Loumbourdis & Wray, 1998)

Det er dog også muligt for organismer at skille sig af med kobber primært vha. leveren

Det er dog også muligt for organismer at skille sig af med kobber primært vha. leveren. Ormen *Turbifex turbifex*, der lever i ret så forurenede områder, kan overleve i et sediment, der indeholder  $400 \text{ mg kobber kg}^{-1}$  sediment og hvor vandfasen har  $90 \mu\text{g Cu l}^{-1}$ . Ormen optager kobberet og akkumulerer det hovedsageligt i halen, som den kan afstøde. Koncentrationen kan være 40 gange ( $600 \mu\text{g g}^{-1}$  tørvægt) større i halen end i "hovedet". Regenerationsevnen var dog ikke større i forurenede områder end i andre (Lucan & Vernet, 1999)

I indiske fiskedamme har man undersøgt kobberindholdet i damme og organismer. Metalholdig vand ledes ind i 6 damme, der lå serielt efter hinanden. Kobberindholdet i den første dam var på  $150 \mu\text{g l}^{-1}$  og faldt ned igennem systemet til  $70 \mu\text{g l}^{-1}$  i den sjette. Kobberkoncentrationen i fyttoplankton var højere end i vandfasen. Fiskenes kobberindhold var relateret til kobberkoncentration, men forskellig fra art til art. Akkumuleringen af kobber aftager med stigende trofisk niveau. Det høje niveau i sediment skyldes fyttoplanktonets sedimentation (Balasubramanian et al., 1997)

## Toksicitet

Da litteraturen om kobbers effekter er ret omfangsrig, er den opdelt under de enkelte organismegrupper.

*Kobber er et nødvendigt mineral for fisk og andre organismer, dog særdeles toksisk i høje doser*

## Fisk

Kobber er et nødvendigt mineral for fisk og andre organismer, men er dog særdeles toksisk i høje doser. Under naturlige forhold optræder der også andre metalioner, der konkurrerer om optagelsen og som kan have betydning for kobbers toksiske effekt.

De tidligste stadier af karper fra de første celledelinger til fiskelarver med ægsæk er særdeles følsomme for kobber. Således forårsager koncentrationer på 0,8  $\mu\text{M}$  (50  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) deformering og øget dødelighed. Ved 0,3  $\mu\text{M}$  (28  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) er der en begyndende effekt. De hollandske grænseværdier for karpevand er på 0,5  $\mu\text{M}$  (31  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) og kan skade de mest følsomme stadier af karpen. (Stouthart et al., 1996)

Lakseyngels vækst blev hæmmet efter 3 mdr., når de blev fodret med 500 mg Cu  $\text{kg}^{-1}$  fisk i forhold til fisk fodret med 35 mg Cu  $\text{kg}^{-1}$  fisk. Proteinindholdet er mindre i fisken, når kobberindholdet i foderet er højt. Koncentrationer højere end 500 mg  $\text{kg}^{-1}$  fisk giver toksisk effekt som følge af en antagonistisk interaktion med selen. (Berntssen et al., 1999).

*Udsættes regnbueørreder for kobberkoncentrationer op til 26,9  $\mu\text{g l}^{-1}$  i 3 uger, er en sublethal effekt påvist*

Udsættes regnbueørreder for kobberkoncentrationer op til 26,9  $\mu\text{g l}^{-1}$  i 3 uger, er en sublethal effekt påvist. Ørredernes immunsystem påvirkedes, og der var en øgning i procenten af monocytter i blodet og et fald i lymfocytter. Samtidig øgedes kobberkoncentration i leveren. Der var en vis overdødelighed ved kobberkoncentrationer på 16 og 26,9  $\mu\text{g l}^{-1}$  de første 2 døgn, hvorefter dødeligheden faldt. Det kunne tyde på en vis akklimatisation til kobber. Kobberkoncentrationerne havde ingen målelig effekt på væksten (Dethloff & Bailey, 1998),

I Otra elven i Norge var tilstedeværelsen af indkapslede parasitiske larver i øreder positivt korreleret med koncentrationen af Ni og Cu. Fiskene længst væk fra et nedlagte metalværk havde et indhold af kobber på  $29,6 \pm 12,3$  i leveren og i musklerne på  $0,52 \pm 0,28 \mu\text{g g}^{-1}$ . Fiskene nærmest værket havde et indhold på  $117,2 \pm 35,5$  i lever og  $11,5 \pm 12,2 \mu\text{g g}^{-1}$  i musklerne. Disse fisk var mindre end den gruppe med mindst kobberindhold (Brotheridge et al., 1998)

For regnbueørreds yngel er der udregnet en tidsafhængig (ILLs)  $\text{LC}_{50}$  på 14  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Er der Cobolt til stede, kan det virke antagonistisk de første 48 - 96h, hvorefter det bliver en additiv effekt (Marr et al., 1998). Det er ikke muligt direkte at sammenligne disse data med andre  $\text{LC}_{50}$  værdier, da de er anderledes statistisk funderet.

*Dødeligheden er størst ved lavt pH og hårdt vand*

$\text{LC}_{50}$ (94 h) er for de to fiskearter, *Mystus vittatus* på 0,70 mg  $\text{l}^{-1}$  og *Colisa fasciatus* 0,9 mg  $\text{l}^{-1}$ . Dødeligheden er størst ved lavt pH og hårdt vand (Pande & Shukla, 1994)



## Planter/alger

Kobber kan hæmme væksten i højere planter

Kobber kan hæmme væksten i højere planter, hvor photosystem II påvirkes fra koncentrationer på 250  $\mu\text{M}$  (16  $\text{mg l}^{-1}$ ) (Yruela et al., 1996) For algers vedkommende afhænger kobbers toksicitet af art, fysiologisk tilstand og miljømæssige forhold samt af metallets kemiske form.

Væksthæmning på algen, *Scenedesmus quadricauda* skyldes en forhøjet respiration i forhold til fotosyntesen.  $\text{EC}_{50} = 0,38$  (0,32 - 0,42 (95 %)) over 12 dage. Algerne optog i forsøg 17 % af kobberet i vandet og kan derved være medvirkende til at nedsætte kobberkoncentrationen og dermed effekten på andre organismer. Der er stor variation i, hvad *Scenedesmus* kan tolerere. Laborariestammer kunne ikke gro ved 0,04  $\text{mg l}^{-1}$ , men tages organismen fra søer var grænsen 0,4  $\text{mg l}^{-1}$  (Hutchinson & Stockes, 1975 og Fargasova et al., 1999). Kobbers toksicitet er stærkt afhængig af det medium algerne gror i (Ivorra et al., 1995)

I mange tidligere laboratorietest med alger har man ikke været opmærksom på, at det vækstmedium algerne gror i er for begrænset, hvad angår mikronæringsalte

I mange tidligere laboratorietest med alger har man ikke været opmærksom på, at det vækstmedium algerne gror i er for begrænset hvad angår mikronæringsalte. Når kobber tilsættes selv i meget små koncentrationer konkurrerer det om optagelsen på cellemembranen, hvorved algerne bliver begrænset af mangel på mikronæringsalte. Resultaterne er dog set tolket, som en toksisk effekt af kobber.

EDTA har ofte været benyttet til binding af metaller i laboratorieforsøg, og EDTA-komplekserne er mindre biotilgængelige end ikke kompleks bundet kobber. EDTA kan i sig selv virke hæmmende på væksten, da det binder andre nødvendige mikronæringsalte (Stark, 1998). Algetest uden EDTA viste en  $\text{EC}_{50}$  fra 3 - 80  $\mu\text{g kobber l}^{-1}$  og 20 - 1.000  $\mu\text{g kobber l}^{-1}$  med EDTA. (Laake, 1982). Den tilsvarende problemstilling gør sig naturligvis også gældende over for andre vandlevende organismer.

Grønalgens *Selenastrum capricornutum* producerer fedtsyrer som andre grønalger. Ændringen af lys- og temperaturforholdene har stor betydning for fedtsyresammensætningen. Denne effekt ses især efter 7 dage, hvorimod der kun er ringe effekt over et enkelt døgn. Eksponering med kobber havde ringe effekt set over 1 og 7 døgn, men efter 20 døgn var der en betydelig forskel i fedtsyresammensætningen selv ned til 1  $\mu\text{M}$  (63,5  $\mu\text{g l}^{-1}$ ). Det havde dog ingen indflydelse på væksten. (McLarnon-Riches et al., 1998)

Grønalgens kan i laboratoriet fremstilles som syretolerante og ikke-syretolerante samt som kobbertolerante og ikke-kobbertolerante. Det tyder på, at kobbers toksicitet er et spørgsmål om den anvendte *Scenedesmus*stammes evne til at udskille protoner over membranen (Nalewajko et al., 1997)

Spildevands toksicitet kan skyldes såvel tungmetaller som organiske stoffer. Ved at tilsætte EDTA kan man binde metalionerne og teste reststofferne toksicitet ved f.eks. en algetest. Forfatterne påpeger, at

det også er vigtigt at konstatere hvilke skader, der forårsages på cellerne (Wong et al., 1995)

### Hvirvelløse dyr (invertebrater)

Følsomheden overfor kobber hos invertebrater er bl. a. afhængigt af hvilken mængde kobber dyrene allerede har optaget

Følsomheden over for kobber hos invertebrater er bl.a. afhængig af, hvilken mængde kobber dyrene allerede har optaget. LC<sub>50</sub> for *Gammarus pulex* var på 0,2mg l<sup>-1</sup> (24h), 0,17 (42h), 0,12 (72h) og 0,1 (96h). Eksponeres *Gammarus* for kobber i 4 dage, skal der den halve koncentration til at dræbe halvdelen af dyrene. Kobberet optages efter følgende ligning:  $\log y = 1,523 + 0,078 \log x$ , hvor y er den akkumulerende mængde og x koncentrationen i vandfasen. (Wong et al., 1995)

Den kinesiske vandflue *Moina irrasa* har en LC<sub>50</sub>(24h) på 1,42 - 19,67 µg l<sup>-1</sup> kobber. Toksiciteten er størst ved lav pH (5) og høj temperatur (30 °C). Sammenlignes den med andre cladoceracerer ved deres LC<sub>50</sub> (48h) er den mere følsom overfor kobber end *Daphnia magna* og *Ceriodaphnia reticulata* (Zou & 1994)

Da kobber let kompleksbindes og sedimentere, vil kobber herved komme i kontakt med sedimentlevende dyr

Da kobber let kompleksbindes og sedimentere, vil kobber herved komme i kontakt med sedimentlevende dyr. Metallernes toksicitet er knyttet til koncentrationen i porevandet. Derfor kan den varierer flere potenser afhængigt af sedimenttypen. Toksiciteten er afhængig af biotilgængeligheden og denne er bestemt af metalsulfid-komplekset og af carbon metalkomplekset. (Ankley et al., 1996)

Den bentske amphipod *Corophium sp.* er udbredt over det meste af kloden i ferskvand og brakvand. Den er velegnet til toksicitetstest i sediment. Den foretrækker sedimentet med en partikelstørrelse på ca. 63 µm. I vandfasen er LC<sub>50</sub> (96h) = 80 - 86 µg l<sup>-1</sup> for kobber. For sedimentet er det 840 mg kg<sup>-1</sup> i en 10 dages test og for porevand er LC<sub>50</sub> (10d) = 99 µg l<sup>-1</sup>. Altså samme størrelsesorden som for vandfasen (Hyne & Everett, 1998).

Oligochaeten, *Lambriculus variegatus* akkumulerer kobber 22 gange ved 14 dages eksponering ved lavt organisk indhold i sedimentet, og det er 15 gange højere end ved højt indhold af organisk stof. EC<sub>50</sub> for *Tubifex tubifex* var på 8,4 - 8,9 mg l<sup>-1</sup> og for *Lambriculus* var den 3,9 mg l<sup>-1</sup> målt på reproducerbarhed over 28 dage.

Sedimentprøvetagningen og opbevaringen af sedimentet kan have stor betydning ved længerevarende test. Der er påvist variation i testresultater på *Hyalella czteca* og *Chironimus tentans* forårsaget af varierende opbevaringstid (DeFoe et al., 1998).

I naturen kan mange organismer fjerne sig fra påvirkningen. Generelt undgår amphipoden kontaminerede områder, selv om den kan tolerere kobber.

I naturen kan mange organismer fjerne sig fra påvirkningen. Den marine amphipod *Corophium volutator* overlever bedre, hvis der er sediment til stede selv om dosen af kobber er den samme. LC<sub>50</sub>(96h) er 38 mg l<sup>-1</sup>, når der er sediment til stede og det halve når sediment er fraværende. Generelt undgår amphipoden kontaminerede områder, selv om den kan tolerere kobber (Bat et al., 1998).

En undersøgelse af kobbers påvirkning af et naturligt pelagisk samfunds struktur har vist, at en koncentration på  $140 \mu\text{g l}^{-1}$  over 14 dage reducerer biomassen af zooplankton, ciliater, flagellater og autotroft fyttoplankton. Bakteriebiomassen øges derimod, idet mængden af bakteriegræssere er reduceret. (Lehman & Mills, 1994)

*I svenske undersøgelser har man fundet, at øget koncentration af kobber reducerer individtætheden i sedimentet*

I svenske limnologiske undersøgelser har man fundet, at øget koncentration af kobber reducerer individtætheden i sedimentet. Følsomheden for et stof kan variere med en amplitude på 10.000 mellem de mest følsomme til de mindst følsomme arter, hvilket gør det vanskeligt at opstille en effektprofil for et metal (Lithner, 1994)

*Mange steder er den legale accepterede kobberkoncentration sat til  $2 - 5 \mu\text{g l}^{-1}$ , hvilket nærmer sig de naturlige værdier i det vandige miljø*

Mange steder er den legale accepterede kobberkoncentration sat til  $2 - 5 \mu\text{g l}^{-1}$ , hvilket nærmer sig de naturlige værdier i det vandige miljø (Davies, 1998).

Eisler (1997) har skrevet et 90 sider stort review med titlen "Copper Hazards to fish, Wildlife, and invertebrates; A synoptic review", der omhandler alt fra kobberindhold i jord, luft og vand, samt hvor meget kobber man finder i organismerne, og hvilke effekter de forårsager. I og for sig kommer han ikke med noget nyt i forhold til den litteratur, der allerede er behandlet, men den imponerer ved de utroligt mange oplysninger, der findes. Således er der en tabel på 15 sider med kobbers effekter overfor enkelt arter eller grupper af organismer. De følgende oplysninger er taget fra reviewet og henføres ikke til separate artikler.

Kobber tilsat i en koncentration på  $0,25 \text{ mg l}^{-1}$  i 20 dage til bekæmpelse af algeblomst i søer i Wisconsin havde ingen fatale effekter på fisk, krebsdyr, snegle og amfibier.  $0,03 \text{ mg l}^{-1}$  kan dog hæmme væksten i vandplanter. En udledning der gav  $1 \text{ mg l}^{-1}$  i et vandløb kunne holde alger og vandplanter nede  $1,6 \text{ km}$  nedstrøms i 6 måneder. Om vinteren var  $0,25 \text{ mg l}^{-1}$  nok. Det samme var tilfældet med andre zooplanktonsamfund i ferskvand. De var mere følsomme for en 5 ugers eksponering med  $20 - 40 \mu\text{g l}^{-1}$  om foråret, hvor det organiske materiale i vandsystemet er lille i modsætning til om sommeren og efteråret. 43-88 % af kobberet er ofte bundet i moderat forurenede vand.

*Toksiciteten er knyttet til kobberionen,  $\text{Cu}^{2+}$*

Toksiciteten er knyttet til kobberionen,  $\text{Cu}^{2+}$ . Mange organismer kan detoksificere sig ved at optage store mængder kobber. Det gælder f.eks. planter og dyr, der kan koble dem til specielle metalbindende proteiner. Det betyder også, at kobber kan akkumuleres gennem fødekæden.

*Norge er ferskvandsfisk kun til stede, hvis kobberindholdet er under  $60 \mu\text{g l}^{-1}$  og der samtidig er humusstoffer til stede i vandet. Generelt ligger mange  $\text{LC}_{50}$  værdier på  $10 - 20 \mu\text{g l}^{-1}$*

Kobbers effekter er i review'et ofte angivet som  $\text{LC}_{50}$ -værdier eller væksthæmninger, men der er også enkelte oplysninger fra naturen. I Norge er ferskvandsfisk kun til stede, hvis kobberindholdet er under  $60 \mu\text{g l}^{-1}$ , og der samtidig er humusstoffer til stede i vandet. De laveste koncentrationer, der giver effekt, er algevæksthæmning forårsaget af kobberkoncentrationer under  $5 \mu\text{g l}^{-1}$ , citeret fra en EPA-kilde fra 1980. For dyregrupperne er de laveste værdier ofte knyttet sammen

med meget lange eksponeringer fra 20 - 100 dage. Generelt ligger mange LC<sub>50</sub>-værdier på 10-20 µg l<sup>-1</sup>.

Eisler anbefaler på baggrund af det enorme datamateriale, at for 96 timers eksponeringer skal koncentrationerne være under 5 - 10 µg l<sup>-1</sup> (afhængig af vandets hårdhed) for recipienten, hvorimod drikkevand til dyr og mennesker kan ligge 1.000 gange højere, men bør dog ligge under 3 mg l<sup>-1</sup> (Eisler, 1997).

### 9.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen

*Kobber vil i sin egenskab af grundstof ikke nedbrydes. Der er 3 processer som vil indvirke på koncentrationen af opløst frit kobber i vandfasen: kompleksbinding, udfældning og adsorption*

Kobber vil i sin egenskab af grundstof ikke nedbrydes. Kobbersalte vil i vandige opløsninger dissocieres, således at kobber optræder som en divalent kat-ion (Cu<sup>++</sup>) Comeaux (1996). Der er 3 processer, som vil indvirke på koncentrationen af opløst frit kobber i vandfasen: kompleksbinding, udfældning og adsorption (Flemming & Trevors, 1989). Processerne har betydning for kobbers endelige form i systemet, idet de kan generere en reaktionsvej for kobberet. De er derfor af stor betydning for kobberets biotilgængelighed og toksicitet.

I ørreddamme vil tilstedeværelsen af organiske forbindelser fra foder og fisk som kvælstofholdige ekskretionsprodukter og organiske syrer reducere toksiciteten af kobberet (Comeaux, 1996 og Cabaniss & Shuman, 1988)

*Kobberets kompleksbinding til organisk materiale giver mulighed for, at det kan fældes med disse partikler*

Kobberets kompleksbinding til organisk materiale giver mulighed for, at det kan fældes med disse partikler. Sedimentationsraterne er selvsagt afhængige af partiklernes størrelse, vægt og vandets viskositet .

Kobberet kan også udfældes som salte. Typiske kobberholdige salte i vandige miljøer er Cu(OH)<sub>2</sub>, CuO, Cu(OH)<sub>2</sub>(CO<sub>3</sub>) m.fl. Disse salte er lavt opløselige og vil for størstepartens vedkommende udfældes (Sunda & Hanson, 1979).

*Kobber vil adsorberes til mineraler (silicater), organisk materiale, levende og døde celler m.m. Kobber, der er bundet/adsorberet, vil kunne frigøres igen*

Den tredje og vigtige proces er adsorption. Kobber vil adsorberes til mineraler (silicater), organisk materiale, levende og døde celler m.m. Det må understreges, at det organiske materiale, som findes i vandet og på bunden i ferskvandsdambrug, vil have en stor bindingsevne idet kation-udskiftningskapaciteten er stor for organisk materiale, samt at maksimum udskiftningskapaciteten ligger omkring pH 7 (Flemming & Trevors, 1989). Ovenstående bindinger er ikke irreversible. Kobber, der er bundet/adsorberet og eventuelt udfældet, vil kunne frigøres igen. Tilstedeværelsen af stærke kobberbindende stoffer som CN<sup>-</sup> eller divalente kationer Ca<sup>++</sup> eller Mg<sup>++</sup> vil kunne frigøre bundet kobber. I behandling af tørlagte damme samt ved dambrug med okkerproblemer anvendes hydreret kalk Ca(OH)<sub>2</sub>. Størrelsesordenen af frigørelse af kobber afhænger af koncentrationerne af stofferne og deres ionbytningskapaciteter (Eisler, 1997). Der er ikke fundet analyser af den temporære kobberbinding/udfældning som følge af enkeltdosseringer, og det er

derfor ikke muligt at redegøre for frigivelsen af kobber fra dambrug til vandløb.

#### **9.4 Status for omfanget af bundfældning på dambrug og belysning af sammenhæng mellem bundfældning og udledningens størrelse**

*Kobber bundet til partikulært materiale vil udfældes med dette i sedimentationsbassinet*

Kobber bundet til partikulært materiale vil udfældes med dette i sedimentationsbassinet. Størrelsesordenen af tilbageholdelsen/sedimentationen afhænger af effektiviteten af sedimentationsbassinet. Der er ikke fundet belæg for, at kobberet skulle have nogen indflydelse på sedimentationsprocessen. Der er heller ikke dokumenteret nogen særlig størrelsesgruppe af organiske partikler med ekstraordinær evne til at binde kobber. Det må derfor forventes, at der er en korrelation mellem sedimentationsbassinets evne til at tilbageholde organisk materiale i almindelighed og dets evne til at tilbageholde kobber.

*Opløst kobber vil ved absorption eller adsorption ligeledes kunne tilbageholdes i sedimentationsbassinet*

Opløst kobber vil ved absorption eller adsorption ligeledes kunne tilbageholdes i sedimentationsbassinet ved kontakt med det sedimenterede materiale.

Det må dog forventes, at langt størsteparten af vandet passerer hen over det sedimenterede materiale, uden at der er kontakt mellem det opløste kobber og sedimentet.

#### **9.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug og faktorer der kan have indflydelse på denne**

Kobber vil i sin egenskab af grundstof ikke nedbrydes, og der kan derfor ikke forventes en egenomsætning af kobber.

#### **9.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige rensesforanstaltninger**

*Mekaniske filtres fjernelse af større partikulært materiale vil fjerne kobber bundet til sådanne partikler*

Mekaniske filtres fjernelse af større partikulært materiale (typisk partikler større end 40µm) vil fjerne kobber bundet til sådanne partikler. De faktiske mængder, der fjernes vil afhænge af størrelsesfordelingen af det organiske materiale samt dets evne til at binde kobber ved absorption eller adsorption.

Mekaniske filtre vil sønderdele en vis mængde af de større partikler. En kvantificering af betydningen af mekaniske filtre kræver derfor estimater for sønderdelingen samt en redegørelse for de tilbageholdte partiklers evne til at binde kobber.

*Kobber, som allerede er bundet til partikulært materiale i dammene, og som har passeret det mekaniske filter, vil kunne tilbageholdes i det biologiske filter*

Biologiske filtre af lecatypen (fastmediefiltre), som typisk findes på danske dambrug, er karakteriseret ved en stor evne til at tilbageholde partikulært materiale grundet deres store sediment/vand overflade. Kobber som allerede er bundet til partikulært materiale i dammene og som har passeret det mekaniske filter vil kunne tilbageholdes i det biologiske filter. Opløst kobber vil ved absorption eller adsorption

ligeledes kunne tilbageholdes i filteret. For at opretholde det biologiske filters primære funktion (nitrifikation) vil dambrugeren jævnlige rense filteret og fjerne opsamlet slam. Herved fjernes bundet kobber fra anlægget. Igen vil en kvantificering afhænge af filterets egenskaber som dybdefilter, og det partikulære materiales evne til at binde kobber samt filteroverfladens evne til at absorbere/adsorbere opløst kobber.

Flydende medie-filtre har ikke samme evne til at tilbageholde partikulært materiale, og der vil efter en tids drift forventes en ligevægtstilstand, hvor yderligere materiale inkl. kobber ikke vil absorberes/adsorberes til filteroverfladen. En vis buffereffekt kan dog ikke udelukkes, idet kobber efter en behandling vil kunne absorberes/adsorberes til filteroverfladen og afgives igen over en længere tidsperiode.

## 9.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet

*Minimering af doseringen bør være første tiltag i en nedbringelse af udledningen af kobber. Toksiciteten af kobber viser en klar sammenhæng med både pH og mængden af organisk materiale i vandet*

Minimering af doseringen bør selvsagt være første tiltag i en nedbringelse af udledningen af kobber.

Toksiciteten af kobber viser en klar sammenhæng med både pH og mængden af organisk materiale i vandet (Meador, 1991). En pH-stigning på 1 giver en reduktion af H<sup>+</sup>-koncentrationen på en faktor 10. Dette har indflydelse på bindingen af kobber, idet der er færre kationer i vandfasen til at konkurrere om kompleksbindingsstederne på stoffer i vandet (Cusimano & Brakke, 1986; Laurén & McDonald, 1986; Meador, 1991; Pagenkopf, 1983; Stouthart et al. 1996 og Hudson, 1998). Derfor falder kobberionkoncentrationen i vandet og dermed behandlingens toksicitet (Meador, 1991).

*En maksimal effekt af behandlingen vil finde sted ved lav pH*

En maksimal effekt af behandlingen vil derfor finde sted ved lav pH. Det er praktisk muligt at sænke pH i en dam med eksempelvis ½ pH enhed, uden at det skader fiskene (From, 1993). Dette vil medføre, at mængden af kobber kan reduceres til halvdelen uden nedsættelse af behandlingens effektivitet (Meador, 1991).

Dambrug, der er lokaliseret på steder, hvor pH i vandet naturligt fluktuerer, som f.eks. ved dambrug beliggende nedstrøms søer, vil det være optimalt at behandle om natten eller tidligt om morgenen før fotosythesen hæver pH.

Reduceres mængden af organisk materiale i vandet, vil mængden af bindingssteder for de frie kobberioner reduceres, og toksiciteten af kobber vil stige.

*Dambrugspraksis bør derfor tilstræbe minimal mængde opløst organisk materiale i dammene, hvor fiskene behandles*

Dambrugspraksis bør derfor tilstræbe minimal mængde opløst organisk materiale i dammene, hvor fiskene behandles. Dette kan til en vis grad opnås ved at forhindre, at bundfældet materiale ophvirvles, men der bør især ikke behandles mod snyltere, når vandet grundet regnskyl er rigt på opslemmet materiale. Behandling

mod snyltere er ikke afhængig af øjeblikkelig indsats, men kan med fordel finde sted, når forholdene er optimale.

En maksimal fjernelse af organisk materiale internt på dambruget, det være sig i dammene, kanalerne, biofiltre og sedimentationsbassinene, vil nedbringe mængden af kobber, der frigives fra dambruget til vandløbet.

Der er ikke fundet beskrivelser af kemiske fældningsmetoder, der kunne finde sted på dambrug.

## 9.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug

Kobber bundet i slammet vil ikke omsættes. Der vil ved lagring og udvanding af slammet ske en opkoncentrering af kobberindholdet.

## 9.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger vha. fortyndingsmodellen

Langt hovedparten af behandlinger med kobbersulfat finder sted på yngel og fisk under 100 g. Typisk vil halvdelen af dammene blive behandlet ad gangen.

Nedenstående tabel (9.1) viser maksimale koncentrationer opnået i vandløbet efter behandling af 5 ud af de eksisterende 10 damme (type 2 damme) med 0,25 mg l<sup>-1</sup> kobbersulfat. Det er forudsat, at dammenes volumener er halveret under behandlingerne.

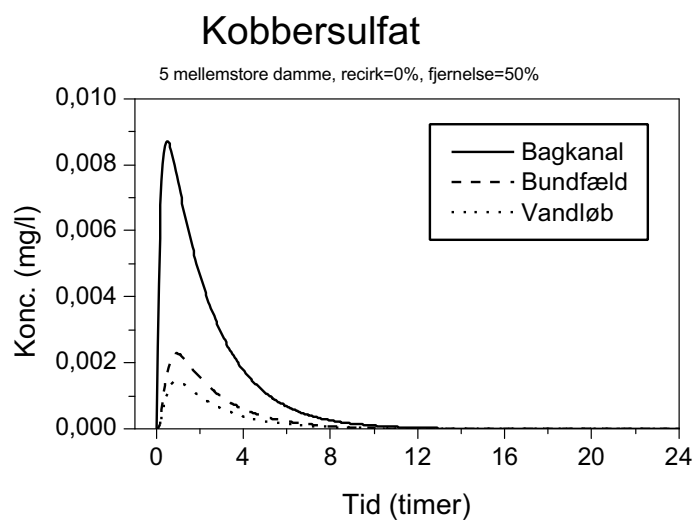
I tabellen er graden af recirkulering varieret fra ingen recirkulering (0 %) over 50 % til 90 % recirkulering af vandet. Dette er sammenholdt med en varierende reduktion af stoffet pr. gennemløb af anlægget (hhv. 0 %, 10 %, og 50 %).

**Tabel 9.1** Den maksimale koncentration i vandløbet efter behandling af 5 mellemstore damme med 0,25 mg l<sup>-1</sup>, ved forskellige grader af stoffjernelse og recirkulering. Dammenes volumen er halveret under behandlingen. Alle koncentrationer er i µg kobbersulfat l<sup>-1</sup>.

Reduktion pr. gennemløb	Grad af recirkulering		
	0 %	50 %	90 %
0 %	4,6	2,3	0,5
10 %	3,8	1,9	0,4
50 %	1,4	0,7	0,1

Nedenstående figurer illustrerer koncentrationen af kobbersulfat i hhv. bagkanalen, bundfældningsbassinet og vandløbet som funktion af tiden ved 50 % reduktion pr. gennemløb og 3 forskellige grader af recirkulering (0 %, 50 % og 90 %).

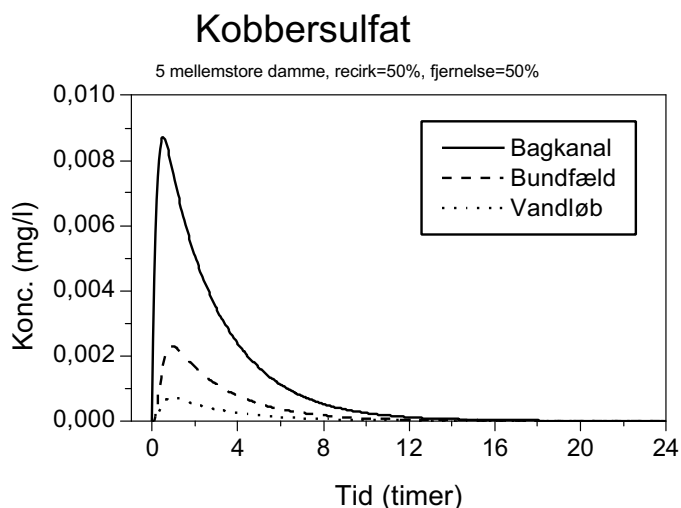
**Figur 9.1**  
Koncentrationsforløb i  
bagkanal,  
bundfældningsanlæg og  
vandløb når 5 mellemstore  
damme doseres samtidig  
med 0,25 mg kobbersulfat  
ved halv vandvolumen og  
fjernelsen er 50 % og  
recirkuleringen er 0 %.





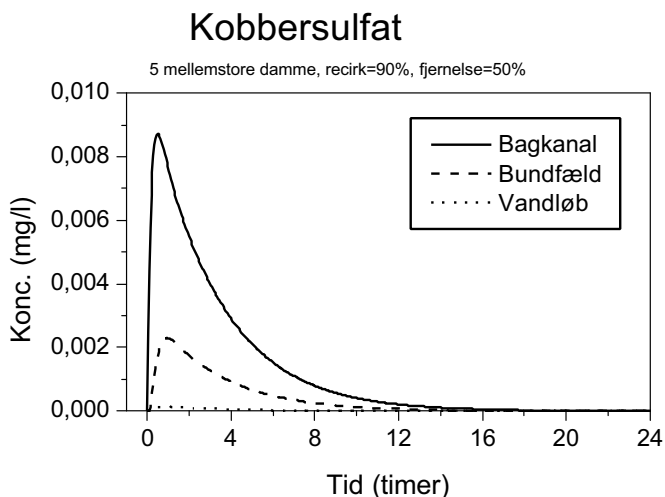
**Figur 9.2**

Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 5 mellemstore damme doseres samtidig med 0,25 mg kobbersulfat ved halv vandvolumen og fjernelsen er 50 % og recirkuleringen er 50 %.



**Figur 9.3**

Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 5 mellemstore damme doseres samtidig med 0,25 mg kobbersulfat ved halv vandvolumen og fjernelsen er 50 % og recirkuleringen er 90 %.



Den maksimale koncentration indtræder ca. 1 time efter, at vandet igen løber ud af de doserede damme, og koncentrationen i vandløbet er så godt som ikke eksisterende efter 8 - 12 timer afhængig af recirkuleringen.

Kobber udfældes overalt i dambruget ved kontakt med organisk materiale. Størrelsesordenen af denne udfældning er ikke dokumenteret. Udfældningen af organisk materiale i renseforanstaltningerne er i størrelsesordenen 50 %. Det er forudsat at kobber udfældes i samme rate som det organiske materiale.

## 9.10 Økotoksikologisk vurdering af de under punkt 9.9 resulterende udledninger

*Kobberet optages let og akkumuleres i store mængder i mange dyr og planter. Fjernes forureningskilden vil faunaen genetableres.*

### Konklusion

Kobberet forekommer naturligt i koncentrationer på 1-3  $\mu\text{g l}^{-1}$ , højest i søer. Kobber er et essentielt mikronæringsstof. Det optages let og akkumuleres i store mængder i mange dyr og planter. Kobberets effekt er afhængig af den mængde kobber, organismene allerede har optaget. Der kan hos fisk være tale om en akklimatisering. Fjernes forureningskilden vil faunaen genetableres.

Litteraturen anbefaler at kobberkoncentrationerne holdes under 5 - 10  $\mu\text{g l}^{-1}$ . I Danmark er kvalitetskravet i ferskvand på 12  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 921, 1996). Andre lande har sat en grænseværdi på 2 - 5  $\mu\text{g kobber l}^{-1}$ , det dobbelte af det naturligt forekommende. Det svarer til 5 - 13  $\mu\text{g CuSO}_4 \text{ l}^{-1}$ .

*Vandløbskoncentrationerne i de pågældende scenarier, hvor 50% fjernes per gennemløb ligger alle under 1,4  $\mu\text{g CuSO}_4 \text{ l}^{-1}$ . Når halvdelen af de mellemstore damme behandles samtidig, vil kobberkoncentrationen i vandløbet ligge inden for det område, hvor kobber forekommer naturligt i vandmiljøet*

Vandløbskoncentrationerne i de pågældende scenarier, hvor 50% fjernes per gennemløb ligger alle under 1,4  $\mu\text{g CuSO}_4 \text{ l}^{-1}$ . Det svarer til 0,6  $\mu\text{g Cu l}^{-1}$ . Et eksemplet giver dog en koncentration på 4,6  $\mu\text{g CuSO}_4 \text{ l}^{-1}$  (1,2  $\mu\text{g Cu l}^{-1}$ ) ved gennemstrømmende vand og manglende tilbageholdelse i anlægget, hvilket dog fortsat er væsentligt under den laveste kravværdi i litteraturen. Selv når halvdelen af de mellemstore damme behandles samtidig, vil tilledningen i værste fald kun øges så lidt, at kobberkoncentrationen i vandløbet fortsat vil ligge inden for det område, hvor kobber forekommer naturligt i vandmiljøet. Koncentrationerne ligger alle under de danske såvel som de internationale anbefalede kravværdier.

*Recirkulering vil reducere de maksimale koncentrationer af kobber i vandløbet til størrelsesordener, hvor det er vanskeligt at skelne dem fra de naturligt forekommende værdier*

### 9.11 Anbefalinger vedrørende doceringspraksis

De resulterende højst opnåede koncentrationer i regneeksemplerne ligger tæt på de naturlige koncentrationer. Der er dog intet til hinder for, at der kan doseres med 12 timers intervaller. Recirkulering vil reducere de maksimale koncentrationer af kobber i vandløbet til størrelsesordener hvor det er vanskeligt at skelne dem fra de naturlige forekomne værdier.

*Det er muligt at behandle større sektioner af det skitserede dambrug samtidigt med kobbersulfat uden at overskride kravværdierne*

### 9.12 Konklusion vedr. kobbersulfat, herunder behov for ny viden

Det er muligt at behandle større sektioner af det skitserede dambrug samtidigt med kobbersulfat uden at overskride kravværdierne. Det er endog muligt med recirkulering at reducere maksimalkoncentrationerne til værdier, der ligger meget tæt på de naturligt forekommende kobberkoncentrationer i vandløbene.

Det anbefales, at kobbers binding til det organiske materiale i dambrugsvand beskrives.

Herunder bør en beskrivelse af dambrugsvandets indhold af organisk materiale analyseres, og betydende parametre som vandføring/nedbør, fiskeaktivitet beskrives.

Tilbageholdelsen af kobber i damme/kanaler såvel som i mekaniske/biologiske filtre samt i bundfældningsbassinet bør estimeres.

Det anbefales, at grundlaget for en mere nuanceret behandlingspraksis skabes ved at fastslå sammenhængen mellem effekt af behandling af kobber og mængden af organisk materiale i vandet samt temperatur og pH.

## Referencer

Ankley, G.T., D.M. Di Toro, D.J. Hansen, and W.J. Berry. Assessing the ecological risk of metals in sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15: 2053-2055, 1996.

Balasubramanian, S., R. Pappathi, A.J. Bose, and S.P. Rah. Bioconcentration of copper, nickel and cadmium in multicell sewage fed fish ponds. *Journal of Environmental Biology* 18: 173-179, 1997.

Bat, L., D. Raffaelli, and I.L. Marr. The accumulation of copper, zinc and cadmium by the amphipod *Corophium volutator* (Pallas). *J.EXP.MAR.BIOL.ECOL* 223: 167-184, 1998.

Beck, A.B. The copper content of the liver and blood of some invertebrates. *Aust. J. Zool.* 14: 1-18, 1956

Berntssen, M.H.G., A. Lundebye, and A. Maage. Effects of elevated dietary copper concentrations on growth, feed utilisation and nutritional status of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fry. *Aquaculture* 174: 167-181, 1999.

Bregnballe, F.: Meddelelse fra Forsøgsdambruger nr. 78, 1990,

Brotheridge, R.M., K.E. Newton, and S.W. Evans. Presence of a parasitic nematode (*Eustrongyloides* sp.) in brown trout (*Salmo trutta*) from a heavy metal contaminated aquatic ecosystem. *Chemosphere* 37: 2921-2934, 1998.

Cabaniss, S. E. and Shuman, M. S. Copper binding by dissolved organic matter: II. Variation in type and source of organic matter. *Geochimica et cosmochimica acta* 52, 195-200, 1988

Camusso, M., L. Vigano, and R. Balestrini. Bioconcentration of trace metals in rainbow trout: A field study. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 31: 133-141, 1995.

Comeaux, J. L. Effects of copper on benthic communities in artificial microcosms. 1996. Virginia Polytechnic Institute and State University.

Ref Type: Thesis/Dissertation

Cusimano, R. F. and Brakke, D. F.. Effects of pH on the toxicities of Cadmium, Copper, and Zinc to Steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *Can.J.Fish.aquat.Sci.* 43, 1497-1503, 1986

Davies, C.M., S.C. Apte, and A.L. Johnstone. A bacterial bioassay for the assessment of copper bioavailability in freshwaters. *Environmental Toxicology and Water Quality* 13: 263-271, 1998.

DeFoe, D.L. and G.T. Ankley. Influence of storage time on toxicity of freshwater sediments to benthic macroinvertebrates. *ENVIRONMENTAL POLLUTION* 99: 123-131, 1998.

Dethloff, G.M. and H.C. Bailey. Effects of copper on immune system parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 17: 1807-1814, 1998.

Eisler, R. Copper hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. 33, 1-99. 1997. Washington, D. C., U.S. Department of the Interior, U.S. Geological survey. Biological Science Report.

Fargasova, A., A. Bumbalova, and E. Havranek. Ecotoxicological effects and uptake of metals ( $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{6+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{V}^{5+}$ ) in freshwater alga *Scenedesmus quadricauda*. *Chemosphere* 38: 1165-1173, 1999

Flemming, C. A. and Trevors, J. T. (1989). Copper toxicity and chemistry in the environment: A review. *Water, Air and Soil Pollution* 44, 143-158.

Goodyear, K.L. and S. McNeill. Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: A review. *Science of the Total Environment* 229: 1-19, 1999.

Güven, K., C. Özbay, E. Unlu, and A. Satar. Acute lethal toxicity and accumulation of copper in *Gammarus pulex* (L.) (Amphipoda). *Turkish Journal of Biology* 23: 513-521, 1999.

Havens, K.E. Structural and functional responses of a freshwater plankton community to acute copper stress. *ENVIRONMENTAL POLLUTION* 86: 259-266, 1994.

Hudson, R.J.M. Modeling the fate of metals in aquatic systems: The mechanistic basis of particle water partitioning models. *Critical Reviews Inanalytical Chemistry* 1998 28: 19-26, 1998.

Hutchinson, T. C. and Stockes, P. M. Heavy metal toxicity and algal bioassays. *Water quality parameters*. pp. 320-343. ASTM STP 573. American Society for Testing Materials. Philadelphia. 1975.

- Hyne, R.V. and D.A. Everett. Application of a benthic amphipod, *Corophium* sp., as a sediment toxicity testing organism for both freshwater and estuarine systems. *Archives of environmental contamination and toxicology* 34: 26-33, 1998.
- Ivorra, N., M.H.S. Kraak, and W. Admiraal. Use of lake water in testing copper toxicity to desmid species. *Wat. Res.* 29: 2113-2117, 1995.
- Knauer, K., R. Behra, and L. Sigg. Effects of free  $Cu^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  ions on growth and metal accumulation in freshwater algae. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 220-229, 1997.
- Laake, M (Ed), *Ekotoxikologiska metoder för akvatisk miljö, del 2: forskningsrapport.* Nordforsk, Miljövärdserien publikation 1982:2
- Lau, S., M. Mohamed, A.T.C. Yen, and S. Su'ut. Accumulation of heavy metals in freshwater molluscs. *Science of the Total Environment* 214:113-121, 1998.
- Laurén, D. J. and McDonald, D. G.. Acclimation to copper by rainbow trout, *Salmo gairdneri*: *Biochemistry. Can.J.Fish.aquat.Sci.* 44, 105-111, 1987
- Lehman, R.M. and A.L. Mills. Field evidence for copper mobilization by dissolved organic matter. *Water Research* 28: 2487-2497, 1994.
- Lithner, G. Biological effects of metals in a freshwater system. *Vatten* 50: 64-69, 1994.
- Loumbourdis, N.S. and D. Wray. Heavy-metal concentration in the frog *Rana ridibunda* from a small river of Macedonia, Northern Greece. *Environ.Int.* 24: 427-431, 1998.
- Lucan, B., R. Biagianti, F. Arzac, and G. Vernet. An original decontamination process developed by the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex* exposed to copper and lead. *Aquatic Toxicology* 45: 9-17, 1999.
- McLarnon-Riches, C.J., C.E. Rolph, D.L.A. Greenway, and P.K. Robinson. Effects of environmental factors and metals on *Selenastrum capricornutum* lipids. *Phytochemistry* 49: 1241-1247, 1998.
- MacRae, R.K., D.E. Smith, N. Swoboda-Colberg, J.S. Meyer, and H.L. Bergman. Copper binding affinity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) gills: Implications for assessing bioavailable metal. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18: 1180-1189, 1999.

Marr, J.C.A., J.A. Hansen, J.S. Meyer, D. Cacela, T. Podrabsky, J. Lipton, and H.L. Bergman. Toxicity of cobalt and copper to rainbow trout: Application of a mechanistic model for predicting survival. *Aquatic Toxicology* 43: 225-238, 1998.

Meador, J. P. The interaction of pH, dissolved organic carbon, and total copper in the determination of ionic copper and toxicity. *Aquatic Toxicology* 19, 13-32, 1991  
Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 921 af 8 oktober 1996: Bekendtgørelse om kvalitetetskrav for vandområder og krav til udledning af visse farlige stoffer til vandløb, søer eller havet.

Nalewajko, C., B. Colman, and M. Olaveson. Effects of pH on growth, photosynthesis, respiration, and copper tolerance of three *Scenedesmus* strains. *Environmental and experimental botany*. 37:153-160, 1997.

Nalewajko, C. and E.E. Prepas. Responses of phytoplankton photosynthesis and phosphorus kinetics to resuspended sediments in copper sulfate-treated ponds. *Journal of environmental quality*. 25: 80-86, 1996.

Pagenkopf, G.K.. Gill surface interaction model for trace-metal toxicity to fishes: Role of complexation, pH, and water hardness. *Environ.Sci.Technol.* 17, 342-347, 1983

Pande, R.K. and G.K. Shukla. Acute toxicity and efficacy of herbicide CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O, used in aquaculture, when applied to waters of different quality on certain fresh water teleosts. *Zeitschrift für Angewandte Zoologie* 3: 297-312, 1994.

Petersen, W., E. Wilier, and C. Wiliamowski. Remobilization of trace elements from polluted anoxic sediments after resuspension in oxic water. *Water Air and Soil Pollution* 99: 515-522, 1997.

Rasmussen, C. J. : Håndbog i ørredopdræt, 1967.

Reed-Judkins, D.K., J.L. Farris, D.S. Cherry, and J. Cairns. Foodborne uptake and sublethal effects of copper and zinc to freshwater snails. *HYDROBIOLOGIA* 364: 105-118, 1998.

Richards, J.G., B.K. Burnison, and R.C. Playle. Natural and commercial dissolved organic matter protects against the physiological effects of a combined cadmium and copper exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 56: 407-418, 1999.

Schuitheis, A.S., M. Sanchez, and A.C. Hendricks. Structural and functional responses of stream insects to copper pollution. *HYDROBIOLOGIA* 346: 85-93, 1997.

Stark, J.S. Effects of copper on macrobenthic assemblages in soft sediments: A laboratory experimental study. *Ecotoxicology* 7:161-173, 1998.

Stouthart, X.J.H.X., J.L.M. Haans, R.A.C. Lock, and B.S. Wendelaar. Effects of water pH on copper toxicity to early life stages of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 15: 376-383, 1996.

Sunda, W. G. and Hanson, P. J. Chemical speciation of copper in river Water. 93, 147-180. Washington, D. C., American Chemical Society. ASC symposium series, 1979

Wong, S.L., J.F. Wainwright, and J. Pimenta. Quantification of total and metal toxicity in wastewater using algal bioassays. *Aquatic Toxicology* 31: 57-75, 1995.

Zou, E. and S. Ru. Acute toxicity of copper, cadmium, and zinc to the water flea, *Moina irrasa*

(Cladocera). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 52: 742-748, 1994.

Yruela, I., J.J. Pueyo, P.J. Alonso, and R. Picorei. Photoinhibition of photosystem II from higher plants effect of copper inhibition. *The Journal of biological chemistry* 271: 27408-27415, 1996.

# 10 Jodofor

Af Inger Dalsgaard og Per Aarup

*Desinfektion af æg og redskaber*

Jodoforer anvendes til desinfektion af ørredæg og til desinfektion af redskaber samt bekæmpelse af svampeinfektioner i klækkerier (kun æg kan behandles). Desinfektion kan foregå af nybefrugtede æg (inden hærkning/vandoptagelse) og øjenæg. Eksperimentelt er det vist, at desinfektion af æg ikke er 100 % effektivt. Nok sker der en reduktion af bakterier på overfladen af æggene, men hvis patogener forekommer i højt antal, er det ikke muligt at desinficere sig ud af problemet (Dorson et al., 1997, Kumagai et al., 1998). Desinfektionsmidlet ACTOMAR® K30 er en jodofor med 1,0 % tirerbart jod, der er virksomt over for bakterier og svampe. En anden jodforbindelse IOBAC® P indeholder fosforsyre og må derfor kun anvendes til desinfektion af redskaber.

## 10.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug

*Behandling af nybefrugtede æg og øjenæg*

Æg behandles i 10 - 15 min. med 40 - 80 ml Actomar K30 til 10 liter vand, svarende til en 0,4 - 0,8 % opløsning. Dette må måles nøjagtigt af, da lavere koncentration ikke har effekt på bakterier, og højere koncentration kan slå æggene ihjel. Forholdet mellem æg og væske bør være 1:5.

I forbindelse med forebyggelse af yngeldødelighedssyndromet kan nybefrugtede æg desinficeres. Ved nybefrugtede æg er det nødvendigt, at desinfektionen foregår i en fysiologisk saltvands opløsning (90 g kogsalt i 10 liter vand) (Alderman, 1984, Bregnballe et al., 1994). Ved desinfektion af øjenæg anvendes samme fremgangsmåde. Dog er det ikke nødvendigt at anvende saltvand. Anvendes 1 - 3 gange under klækning og i forbindelse med køb/salg af æg til videre opdræt på et andet dambrug end avlstdambruget. 1 liter brugsopløsning rækker til 2.000 æg. Det er vigtigt at lægge mærke til farveomslag. Så snart opløsningen begynder at blive gullig, er det nødvendigt at skifte hele opløsningen ikke blot supplere med nyt Actomar K30.

Ved kontinuerlig desinfektion i recirkulerede anlæg (til æginkubation) kan anvendes 0,025 liter Actomar K30 pr. 1000 liter vand.

## 10.2 Effekter på organismer og økosystemer

*Jodoforer er giftige for fisk*

Toksiciteten af jodoforer i forbindelse med vandhærkning af æg er blevet undersøgt for forskellige laksearter (Alderman, 1984, Brown & Shrable, 1994). Det er vist, at ægdødelighed ikke kun er afhængig af varighed og dosis, men også fiskeart. Toksiciteten er endvidere afhængig af pH. Jo højere pH, desto højere koncentration kan tolereres. Effekten af jodoforer nedsættes i forbindelse med organisk



stof. Endvidere er den aktive jodforbindelse mest stabil ved lave vandtemperaturer. Jodforbindelsen beskrives i lærebøger at være giftig for fisk. Der er ved søgningen ikke fundet videnskabelig litteratur, som bekræfter det.

### 10.3 Konklusion

Den tilgængelige litteratur omhandler hovedsagelig desinfektion af æg for at forebygge overførsel af smitstoffer til æg. Endvidere er jod et grundstof, som naturligt kan findes i miljøet.

### Referencer

Alderman, D.J. The toxicity of iodophors to salmonid eggs. *Aquaculture* 40: 7-16, 1984.

Bregnballe F., N. Karas, and E. Lorenzen. Nye veje i yngelopdrættet. Meddelelse fra Forsøgdambruget nr. 84. 1994.

Brown, D.R., and J. B. Shrable. Survival of arctic grayling eggs water-hardened in various concentrations of iodophor. *Progressive Fish-Culturist* 56: 262-264, 1994.

Dorson, M., P. Rault, P. Haffray, and C. Torhy. Water-hardening rainbow trout eggs in the presence of an iodophor fails to prevent the experimental egg transmission of infectious pancreatic necrosis virus. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 17: 13-16, 1997.

Kumagai, A., K. Takahashi, S. Yamaoka, and H. Wakabayashi. Ineffectiveness of iodophore treatment in disinfecting salmonid eggs carrying *Cytophaga psychrophila*. *Fish Pathol.* 33: 123-128, 1998.

# 11 Tribriksen

Af Morten S. Bruun og Per Aarup

## Trimethoprim + Sulfadiazin (Tribriksen)

Tribriksen, der er et receptpligtigt lægemiddel godkendt til behandling af fisk i dambrug, består af stofferne Trimethoprim og Sulfadiazin. Derfor er disse stoffer behandlet under samme kapitel.

### 11.1 Trimethoprim

5 - (3, 4, 5 - trimethoxybenzyl) -2, 4 - diaminopyrimidin

Handelsnavne: (se Sulfadiazin, findes desuden i andre kombinationsmedikamenter, som borgal®vet, duoprim®vet, potrox®vet) (Veterinærmedicinsk produktkatalog 2000)

Trimethoprim (TMP) er en svag base med  $pK_a = 7,6$ . Optræder som et hvidt eller gulhvidt pulver eller krystaller uden lugt. TMP er tungt opløseligt i vand ( $400 \text{ mg l}^{-1}$  ved  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ ) og letopløseligt i alkohol ( $8,1 \text{ g l}^{-1}$ ). (Manius, 1978)

Virkningsmekanisme:

TMP hæmmer reduktion af dihydrofolsyre til tetrahydrofolsyre, som er den aktive form i bakteriernes DNA syntese, og bakterierne kan derfor ikke dele sig. Virker synergistisk med sulfonamiderne (se sulfadiazin) (Booth & McDonald, 1988).

#### 11.1.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug

Kun i kombination med Sulfonamider (se sulfadiazin).

#### 11.1.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter

*Antimikrobielle stoffer er konstrueret således, at deres toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier eller prokaryoter generelt*

Generelt må det nævnes, at antimikrobielle stoffer er konstrueret således, at deres toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier eller prokaryoter generelt. Holten Lützhöft et al. (1999) undersøgte toksiciteten overfor tre alge-arter og fandt  $EC_{50}$ -værdier på  $112 \text{ mg l}^{-1}$  overfor *Microcystis aeruginosa*, som er en ferskvandslevende cyanobakterie,  $130 \text{ mg l}^{-1}$  for den ferskvandslevende grønalg *Selenastrum capricornutum*, og endelig  $16 \text{ mg l}^{-1}$  ved test med *Rhodomonas salina* - en marin cryptophycean. Der skal altså ret høje niveauer af TMP til at påvirke alger.

### **11.1.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen**

Se sulfadiazin.

### **11.1.4 Status for omfanget af bundfældningen**

Kendes ikke.

### **11.1.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug**

Tan & Wall (1995) genfandt ca. 15 % af TMP uomdannet i urinen efter IV injektion af stoffet i regnbueørreder og nævner, at der yderligere kan ske udskillelse af uomdannet TMP over gællerne. De fandt desuden en halveringstid for TMP på 36,1 timer. Samuelsen et al. (1995) har undersøgt farmakokinetikken for Romet<sup>30</sup> (sulfadimethoxine:ormethoprim i forholdet 5:1) hos laks - altså i saltvand ved 10 °C, hvor de fandt en halveringstid på 25,6 timer

### **11.1.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger**

Kendes ikke.

### **11.1.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

Se sulfadiazin.

### **11.1.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug**

Der foreligger ingen undersøgelser af bundfældning af TMP.

### **11.1.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger**

Biotilgængelighed: Samuelsen et al. (1995) fandt en biotilgængelighed for analogen ormethoprim i laks på 85 % efter indgivelse af medicineret foder med sonde. Undersøgelsen blev foretaget i saltvand ved 10 °C.

De i kapitel 3 og 4 opstillede modeller kan ikke håndtere ikke opløselige stoffer. Derfor er der ikke foretaget koncentrationsberegninger.

### 11.1.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens

*Der er både fundet kromosomal-, plasmid- og transposom-kodet resistens over for trimethoprim*

Der er både fundet kromosomal-, plasmid- og transposom-kodet resistens over for trimethoprim. Hos både gram-negative og -positive bakterier findes en række trimethoprim-resistente dihydrofolatreduktase-enzymmer, hvor bindingsstedet for trimethoprim er modificeret og bakterierne derfor er resistente (Russel & Chopra, 1996). Visse af generne som koder for trimethoprim-resistens er detekteret som indhold i genkassetterne fra integroner hos motile *Aeromonas spp.* isoleret fra danske vandløb (Schmidt & Bruun, ikke publiceret).

### 11.1.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt

Se sulfadiazin.

## 11.2 Sulfadiazin

Sulfadiazin: 4-amino-N-2-pyrimidinyl-benzenesulfonamide ( $C_{10}H_{10}N_4O_2S$ ).

Handelsnavne (alle formuleret som blandingsmedikamenter med sulfadiazin og trimethoprim i forholdet 5:1 (S/T)): *Aquavet*, Norodine vet, tribrissen@vet, trimazin forte@vet, tucoprim@vet (Veterinærmedicinsk produktkatalog 1999).

Sulfadiazin (SDZ) tilhører gruppen af sulfonamider, som er bygget over en sulfanilamidkerne og er bredspektrede antibiotika. SDZ optræder som krystaller eller et hvidt, gullighvidt eller lyserødt krystallinsk pulver uden lugt. Er uopløseligt i vand ( $0,074 \text{ mg ml}^{-1}$ ). Na-saltet er mere opløseligt i vand ( $500 \text{ mg ml}^{-1}$ ), og er oftest brugt. Sulfonamiderne er svage syrer og deres Na-salte reagerer derfor basisk i opløsning (Stober & DeWitte, 1982).

Virkningsmekanisme:

SDZ virker som en para-aminobenzoesyre-analog og hæmmer kompetitivt indbygningen af PABA i folinsyre, hvorved bakteriernes syntese af folinsyre blokeres (et trin i bakteriernes DNA-syntese). Dermed hæmmes celledeling og vækst (bakteriostatisk). I kombination med trimethoprim ses en synergistisk effekt, idet TMP hæmmer et senere trin i DNA-syntesen. Kombinationen af SDZ og TMP har baktericid effekt (Russel & Chopra, 1996).

*I kombination med trimethoprim ses en synergistisk effekt idet TMP hæmmer et senere trin i DNA-syntesen*

### 11.2.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug

*S/T er et af de to godkendte antibiotika til brug i fisk. Ved det enkelte sygdomsudbrud forårsaget af S/T-følsomme bakterier behandles altså via foderet med 30mg kg<sup>-1</sup> fisk i 5 dage*

I danske ferskvandsdambrug bruges S/T til behandling af infektioner forårsaget af S/T-følsomme bakterier hos både yngel og større fisk. S/T er et af de to godkendte antibiotika til brug i fisk. Der har tilsyneladende været en stigning i forbruget i dambrug med 126 kg i 1996 og 665 kg i 1997, hvorefter forbruget var en anelse mindre i 1998 med 526 kg. Det skal dog nævnes, at tal for alle anvendte antibiotika skal tages med et vist gran salt, fordi der kan gemme sig en del oplysninger under punktet "andet", som udgør en forholdsmæssig stor mængde stof, ligesom der i 1998 er dukket et punkt op, som hedder "aquavet". Aquavet er medicineret foder, men det tilblandede antibiotikum kan både være S/T, oxolinsyre og florfenicol. Medicinfoderet Aquavet S/T fås med 2 standard doseringer. Til yngel anvender man en mængde aktivt stof i foderet på 3 g pr. kg og en udfodring på 1 % af biomassen dagligt. Til større fisk anvender man en mængde aktivt stof i foderet på 6 g pr. kg og en daglig udfodring på 0,5 % af biomassen. Ved det enkelte sygdomsudbrud forårsaget af S/T-følsomme bakterier, behandles altså via foderet med 30 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 5 dage.

*Til yngel og sættefisk udskrives tribrissen formentlig tiere end oxolinsyre*

Tilbageholdelsestid efter ophørt medicineret er 40 dage ved vandtemperaturer over 10 °C og 80 dage ved temperaturer under 10 °C. Til yngel og sættefisk udskrives tribrissen formentlig tiere end oxolinsyre. Til store fisk foretrækkes oxolinsyre mange gange på grund af kortere tilbageholdelsestid.

### 11.2.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter

*Alger er mere følsomme overfor antimikrobielle stoffer end krebsdyr og fisk*

Generelt må det nævnes at antimikrobielle stoffer er konstrueret således, at deres toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier eller prokaryoter generelt. Holten Lützhøft et al. (1999) undersøgte toksiciteten overfor tre alge-arter og fandt EC<sub>50</sub>-værdier på 0,135 mg l<sup>-1</sup> over for *Microcystis aeruginosa*, som er en ferskvandslevende cyanobakterie, 7,8 mg l<sup>-1</sup> for den ferskvandslevende grønalge *Selenastrum capricornutum*, og endelig 403 mg l<sup>-1</sup> ved test med *Rhodomonas salina* - en marin cryptophycean. Der konkluderes endvidere efter sammenligning med eksisterende undersøgelser, at alger er mere følsomme overfor antimikrobielle stoffer end krebsdyr og fisk. Blandt alger er cyanobakterier mest følsomme. Migliore et al. (1996) fandt, at analogen sulfadimethoxine bioakkumulerede i planter og koncentrationer på 1 mM nedsatte væksthastigheden af de testede planter (gulerod, majs, hirse og ært).

### 11.2.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen

*Ændring af doseringspraksis bør ikke foretages ukritisk*

Ændret doseringspraksis kunne være en mulighed, men kræver veldokumenterede dosis/effekt-undersøgelser. Ændringer bør ikke foretages ukritisk, da nedsat stofkoncentration og/eller for hurtig ophør af behandling kan være årsag til at sygdommen persisterer i dambruget, og dermed kræver gentagne behandlinger.

*Det er vigtigt, at alle angrebne damme/kummer behandles samtidig*

Tidsforskudt behandling er udelukket, da det er vigtigt, at alle angrebne damme/kummer behandles samtidig. Behandlingen kan dog sagtens tænkes at blive tidsforskudt, idet den bakterielle sygdom kan manifestere sig i dammene på forskellige dage, og behandlingen iværksættes straks sygdommen er diagnosticeret.

### 11.2.4 Status for omfanget af bundfældningen

Kendes ikke.

### 11.2.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug

*En halveringstid for sulfadiazin på 2,8 dage*

Fisk: I muskelvæv fra "chinook salmon" holdt i ferskvand ved ca. 11°C fandt McErlane & Kitts (1997) en halveringstid for sulfadiazin på 2,8 dage. De konkluderer desuden, at trimethoprim udskilles hurtigt fra chinook laks. Hos laks i saltvand ved 10 °C er halveringstiden for det analoge stof sulfadimethoxin 9,9 timer (Samuelsen et al., 1995). For et tredje sulfonamid, nemlig sulfadimidine, fandt van Ginneken et al. (1991) halveringstider i regnbueørred på 20,6 timer ved 10 °C og 14,7 timer ved 20 °C. Samme gruppe har også lavet farmakokinetiske undersøgelser over sulfadiazin og trimethoprim, men tilsyneladende kun i karper (Nouws et al., 1993), hvor de ved 10 °C fandt en halveringstid for sulfadiazin på 47,1 timer og for trimethoprim på 40,7 timer - de gør dog opmærksom på, at halveringstiden for trimethoprim er omtrent tre gange længere i karpefisk i forhold til ørreder ved samme temperatur. Udskillelsen i regnbueørreder sker hovedsagelig via galden (Bergsjø et al., 1979).

### 11.2.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger

Kendes ikke.

### 11.2.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet

*Vaccination efter foreskrifterne vil givetvis reducere eller eliminere sygdomsudbrud forårsaget af disse bakterier*

Den væsentligste faktor til reduktion/eliminering af brugen af S/T vil være en reduktion/eliminering af S/T-krævende infektioner - i danske ferskvandsdambrug drejer det sig blandt andet om rødmundsyge (*Yersinia ruckeri*) og furunkulose (*Aeromonas salmonicida*). For disse to sygdomme findes mulighed for vaccination med effektive vacciner. Vaccination efter foreskrifterne vil givetvis

reducere eller eliminere sygdomsudbrud forårsaget af disse bakterier. Der vil dog også være mulighed for infektion med andre bakterier, som man ikke kan vaccinere imod, og som kan behandles med S/T efter diagnosticering. Desuden kan almene driftstiltag som f.eks. at undgå for høj fisketæthed, at minimere håndtering og at sørge for god vandkvalitet nedsætte infektionstrykket.

### 11.2.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug

Der foreligger ingen undersøgelser af bundfældning af S/T.

### 11.2.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger

*Biotilgængeligheder  
afhængig af dosis - fra 34 til  
63 % i regnbueørreder*

Biotilgængelighed: Samuelson et al. (1995) fandt i et studie af laks i saltvand ved 10 °C en biotilgængelighed for et andet sulfonamid (sulfadimethoxin) på 39 % efter indgivelse af medicineret foder med sonde. En anden undersøgelse, som også benyttede laks i saltvand, fandt biotilgængelighed for sulfadiazin på 46 %, og for trimethoprim på 100% (Horsberg et al., 1997). Kleinow & Lech (1988) fandt varierende biotilgængeligheder afhængig af dosis - fra 34 til 63 %; for sulfadimethoxin, men i regnbueørreder holdt i ferskvand. Ud fra denne undersøgelse ses, at mindst 47 % af den indtagne mængde S/T passerer tarmkanalen uden at blive optaget, og vil udskilles med fæces. Hertil kommer den mængde, der udskilles uomdannet fra fisken efter optagelse, og endelig den mængde, som tilføres miljøet via ikke-indtaget foder. I modelberegningerne bruges den totale mængde tilført S/T som udgangspunkt, og man må så have for øje, at koncentrationerne i dambrugene vil være lavere som følge af den mængde, der optages og omdannes i fiskene.

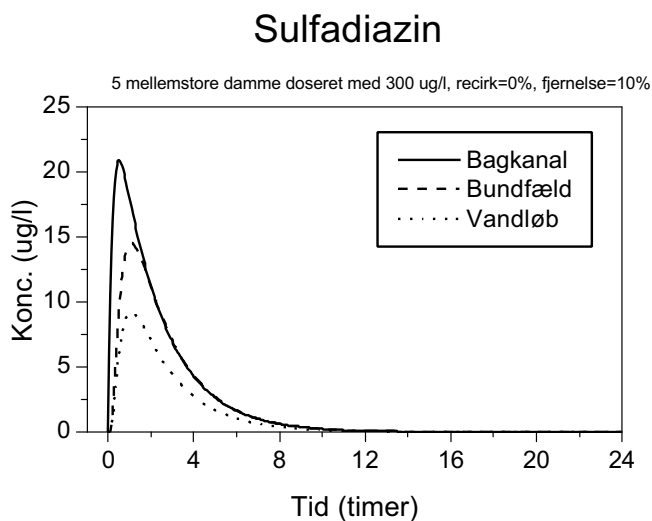
Koncentrationerne, som angives er for sulfadiazin, og koncentrationerne af trimethoprim vil altså være fem gange lavere (eller endnu lavere pga. højere biotilgængelighed).

Anvendes modellen for dambrugstype II med i en mellemstor dam 750 kg fisk der får tilført 30 mg sulfadiazin, vil startkoncentrationen være på 300 µg l<sup>-1</sup>. Det forudsættes, at 5 af de 10 damme doseres samtidigt.

**Figur 11.1** Koncentrationsforløbet i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb, når 5 damme doseres samtidig.

Den forventede maksimale koncentration vil således være betragtelig under de estimerede ca.  $10 \mu\text{g l}^{-1}$

Problemet med anvendelse af modellen er, at stoffet ikke er opløseligt, og at stoffet kun for en mindre del kan forventes at fordele sig i vandfasen. Til gengæld er det kutyme, at behandle flere dage efter hinanden, hvorved der over en længere periode vil føres stof igennem dambruget. Den forventede maksimale koncentration vil således være betragtelig under de estimerede ca.  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ , og udløbstiden vil være flere gange de 12 timer, som ses af figur 11.1.



### 11.2.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens

Både kromosomal og plasmidbåret sulfonamid-resistens er beskrevet (Russel & Chopra, 1996). Dvs. sulfonamid-resistens vil i nogle tilfælde kun kunne overføres vertikalt, mens andre typer resistens over for sulfonamider kan overføres mellem bakteriearter. Horsberg et al. (1997) viste, at otte ud af 42 *Aeromonas salmonicida* isolater var resistente overfor S/T in vitro. Det genetiske grundlag for resistensen blev ikke undersøgt.

Et gen som koder for sulfonamid-resistens er desuden en fast bestanddel af integroner, som er en genetisk struktur, der kan findes både på kromosomet, plasmider og transposomer

Et gen, som koder for sulfonamid-resistens, er desuden en fast bestanddel af integroner, som er en genetisk struktur, der kan findes både på kromosomet, plasmider og transposomer. Overførsel af integronet via mobile elementer vil altså også resultere i en overførsel af sulfonamid-resistens (Hall & Stokes, 1993). Integroner er fundet i mange forskellige bakteriearter - også i bakterier isoleret fra akvatiske miljøer (Rosser & Young, 1999; Schmidt & Bruun, ikke publiceret)



### 11.2.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt

*Ud fra et miljømæssigt synspunkt vil det være bedre at "substituere" antibiotikabehandlingen med vaccination*

Brugen af S/T er tilsyneladende steget fra 1996 til 1998 på trods af, at der findes effektive vacciner på markedet. Det er en mulighed at substituere S/T med et andet antibiotikum, f.eks. oxolinsyre, som også er godkendt til brug i fisk, hvis bakterien som er årsag til den aktuelle infektion, er følsom overfor oxolinsyre. Ud fra et miljømæssigt synspunkt vil det være bedre at "substituere" antibiotikabehandlingen med vaccination i stedet for at bruge et antibiotikum fra en anden stofgruppe. I kraft af at vaccination over for rødmundsyge og furunkulose er mulig, må det anbefales at forebygge og dermed næsten undgå visse af de S/T-krævende infektioner. På sigt bliver vaccination om muligt mere effektiv, og der udvikles måske andre alternativer så som probiotika og immunostimulantia, som kan medvirke en nedgang i brugen af antimikrobielle midler i dambrug. Men står man med et udbrud af en bakteriel sygdom, vil antibiotika endnu være en nødvendighed i terapien.

#### Referencer

Bergsjø T, Nafstad I, Ingebrigtsen K. The distribution of <sup>35</sup>S-sulfadiazine and <sup>14</sup>C-trimethoprim in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **Acta Vet Scand** 1979; **20**: 25-37.

Booth NH, McDonald LE. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 1988.

Hall RM, Stokes HW. Integrons: novel DNA elements which capture genes by site-specific recombination. **Genetica** 1993; **90**: 115-132.

Holten Lützhöft H-C, Halling-Sørensen B, Jørgensen SE. Algal Toxicity of Antibacterial Agents Applied in Danish Fish Farming. **Arch Environ Contam Toxicol** 1999; **36**: 1-6.

Horsberg TE, Martinsen B, Sandersen K, Zernichow L. Potentiated Sulfonamides: In Vitro Inhibitory Effect and Pharmacokinetic Properties in Atlantic Salmon in Seawater. **Journal of Aquatic Animal Health** 1997; **9**: 203-210.

Kleinow KM, Lech JJ. Review of the Pharmacokinetics and Metabolism of Sulfadimethoxine in the Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*). **Vet Hum Toxicol** 1988; **30**: 26-30.

Manius GJ. Trimethoprim. **Analytical Profiles of Drug Substances** 1978; **7**: 445-475.

McErlane KM, Kitts DD. High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Antibiotics and Determination of Wash-Out Times in Salmonids. In: Shahidi F, Jones Y, Kitts DD, eds. *Seafood Safety*,

Processing, and Biotechnology, Lancaster, PA (USA): Technomic Publishing Company, Inc. 1997: 33-40.

Migliore L, Brambilla G, Casoria P, Civitavecchia C, Cozzolino S, Gaudio L. Effects of antimicrobials for agriculture as environmental pollutants. **Fresenius Envir Bull** 1996; **5**: 735-739.

Nouws JFM, van Ginneken VJT, Grondel JL, Degen M. Pharmacokinetics of sulphadiazine and trimethoprim in carp (*Cyprinus carpio* L.) acclimated at two different temperatures. **J vet Pharmacol Therap** 1993; **16**: 110-113.

Rosser SJ, Young H-K. Identification and characterization of class 1 integrons in bacteria from an aquatic environment. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 1999; **44**: 11-18.

Russel AD, Chopra I. Understanding Antibacterial Action and Resistance. 1996.

Samuelsen OB, Ervik A, Wennevik V. Absorption, tissue distribution, metabolism and excretion of ormetoprim and sulphadimethoxine in Atlantic salmon (*Salmo salar*) after intravenous and oral administration of Romet30. **Xenobiotica** 1995; **25**: 1169-1180.

Stober H, DeWitte W. Sulfadiazine. **Analytical Profiles of Drug Substances** 1982; **11**: 523-551.

Tan WP, Wall RA. Disposition kinetics of trimethoprim in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Xenobiotica** 1995; **25**: 315-329.

van Ginneken VJT, Nouws JFM, Grondel JL, Driessens F, Degen M. Pharmacokinetics of sulphadimidine in carp (*Cyprinus carpio* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) acclimated at two different temperature levels. **The Veterinary Quarterly** 1991; **13**: 88-96.

Veterinærmedicinsk Produktkatalog, 2000.

## 12 Oxolinsyre

Af Morten S. Bruun og Per Aarup

*OXA er især virksomt overfor gram-negative bakterier, men der ses også en vis effekt på svampe, protozoer og nogle parasitter*

**5-ethyl-5,8-dihydro-8-oxo-1,3-dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid (C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>). Handelsnavne: Aquavet, Branzil vet (Veterinærmedicinsk produktkatalog 2000)**

Oxolinsyre (OXA) tilhører gruppen af quinoloner. Opløseligheden i vand er 4,1 mg l<sup>-1</sup> og pKa værdien er 6,9. Det rene stof er et farveløst pulver eller krystaller. OXA er en 1.-generations-quinolon, og er ikke særlig bredspektret. OXA er især virksomt overfor gram-negative bakterier, men der ses også en vis effekt på svampe, protozoer og nogle parasitter (Wells, 1995). OXA hæmmer den bakterielle DNA-gyrase, og virker bakteriocid (Russel & Chopra, 1996).

### 12.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug

*I ferskvandsdambrug anvendes OXA til bekæmpelse af bakterielle sygdomme hos fisk i alle aldersklasser*

I danske ferskvandsdambrug anvendes OXA til bekæmpelse af bakterielle sygdomme hos fisk i alle aldersklasser. OXA er et receptpligtigt lægemiddel, som er godkendt til brug i fisk, ligesom sulfadiazin/trimethoprim kombinationsproduktet. Der har været en svag stigning af forbruget i dambrug med 192 kg i 1996, 208 kg i 1997 og 223 kg i 1998.

*Behandlingen foregår via medicineret foder og behandlingsstrategien er 12 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 7 dage*

Behandlingen foregår via medicineret foder og behandlingsstrategien er 12 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 7 dage. Fabriksfremstillet medicinfoder med oxolinsyre forhandles under navnet Aquavet OA og udleveres kun på basis af dyrlægens recept, hvoraf medicinindhold, behandlingsmåde og -tid samt damnumre, fiskevægt og fiskestørrelse skal fremgå. Kopi af recept leveres med foderet til dambrugeren. Medicinfoderet fås med 3 standarddoseringer relateret til pillestørrelse. Til yngel anvendes en dosering på 1,25 gram aktivt stof pr. kg foder og en daglig udfodring på 1 % af biomassen (12,5 gram aktivt stof pr. ton fisk pr. dag). Til større fisk doseres 2,5 gram pr. kg foder og en daglig udfodring på 0,5 % af biomassen (12,5 gram aktivt stof pr. ton fisk pr. dag). Til de største fisk (8 mm foderpiller) doseres 3,75 gram pr. kg foder og en daglig udfodring på 0,33 % af biomassen.

#### **Oxolinsyre foretrækkes tit frem for Tribriksen til større fisk på grund af den kortere tilbageholdelsestid**

Tilbageholdelsestiden efter ophørt medicinering er 30 dage ved temperaturer over 10 °C og 60 dage ved temperaturer under 10 °C.

### 12.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter

Generelt må det nævnes at antimikrobielle stoffer er konstrueret således, at deres toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier eller prokaryoter generelt.

Holten Lützhøft et al. (1999) undersøgte toksiciteten over for tre algearter og fandt EC<sub>50</sub>-værdier på 0,18 mg l<sup>-1</sup> over for *Microcystis aeruginosa*, som er en ferskvandslevende cyanobakterie, 16 mg l<sup>-1</sup> for den ferskvandslevende grønalge *Selenastrum capricornutum*, og endelig 10 mg l<sup>-1</sup> ved test med *Rhodomonas salina* - en marin cryptophycean. Der konkluderes endvidere efter sammenligning med eksisterende undersøgelser, at alger er mere følsomme overfor antimikrobielle stoffer end krebsdyr og fisk. Blandt alger er cyanobakterier mest følsomme.

*OXA har en hæmmende virkning på immunsystemet i regnbueørreder*

Lundén et al. (1998) beskriver, at OXA har en hæmmende virkning på immunsystemet i regnbueørreder, hvor både antistof-produktionen nedsættes og antallet af hvide blodlegemer falder.

Barker et al. (1990) undersøgte effekten af OXA på æg fra regnbueørred. Selv om de fandt en signifikant effekt i form af færre bakterier og en ændret bakterieflora på de behandlede æg, kunne de ikke vise ændring i klækkeprocenten.

### **12.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen**

Ændret doseringspraksis kunne være en mulighed, men kræver veldokumenterede dosis/effekt-undersøgelser. Ændringer bør ikke foretages ukritisk, da nedsat stofkoncentration og/eller for hurtig ophør af behandling kan være årsag til, at sygdommen persisterer i dambruget, og dermed kræver gentagne behandlinger.

Tidsforskudt behandling er udelukket, da det er vigtigt, at alle angrebne damme/kummer behandles samtidig.

### **12.4 Status for omfanget af bundfældningen**

Pouliquen et al. (1994) har beskrevet en HPLC-metode til bestemmelse af OXA i saltvand, sediment og østers, men metoden har ikke været anvendt i praksis.

Adsorptionen til sediment er mindre end for oxytetracyclin (Pouliquen & le Bris, 1996).

### **12.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug**

*Halveringstider i regnbueørred på 20 - 43 timer*

Kleinow et al. (1994) fandt en halveringstid i regnbueørred på 81,3 timer. Hustved (1992) fandt halveringstider i regnbueørred på 20 - 43 timer. Hustved & Salte (1991) angiver en halveringstid på 52,6 timer i regnbueørred holdt i ferskvand. Björklund et al. (1992) undersøgte udskillelsen af OXA fra regnbueørreder ved forskellige temperaturer og konkluderer, at resultaterne stemmer med at en temperaturforøgelse på én grad medfører en stigning på 10 % i fiskens stofskifte og dermed i udskillelsen. Ishida (1992) konkluderer at nedbrydningen og udskillelsen af OXA tager betydeligt længere tid i regnbueørreder holdt i ferskvand end i den samme art i

saltvand. Halveringstider for OXA i forskellige fisk holdt i saltvand er ca. 50 timer for helleflynder (Samuelsen & Ervik, 1999), 51 - 78 timer for laks (Hustved, 1992)

Nedbrydning af OXA øges tilsyneladende ikke, når stoffet udsættes for synligt lys (Lunestad et al., 1995). Den antibakterielle effekt af OXA falder 40 - 60 gange i havvand. Antagonismen er sandsynligvis forårsaget af  $Mg^{2+}$ -ioner (Barnes et al., 1995).

*Halveringstiden i sediment er mindre for OXA end for oxytetracyclin*

Halveringstiden i sediment er mindre for OXA end for oxytetracyclin, idet koncentrationen i mikrokosmos nåede detektionsgrænsen 6 dage efter ophør af "behandling". Også under havbrug som havde behandlet, kunne OXA kun detekteres i små koncentrationer i få dage efter behandlingen (Björklund et al., 1991). Samuelsen et al. (1994) beskriver i modsætning hertil en meget høj grad af persistens af OXA i sediment under laboratorieforhold. De finder praktisk talt ingen nedbrydning efter 180 dage.

## **12.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger**

Kendes ikke.

## **12.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

*Den væsentligste faktor til reduktion/eliminering af brugen af OXA vil være en reduktion/eliminering af OXA-krævende infektioner*

Den væsentligste faktor til reduktion/eliminering af brugen af OXA vil være en reduktion/eliminering af OXA-krævende infektioner - i danske ferskvandsdambrug vil det først og fremmest dreje sig om rødmundsyge og furunkulose. Mulighed for vaccination. Almene driftstiltag som kan anbefales. Minimering af stressfaktorer så som for høj fisketæthed, håndtering og dårlig vandkvalitet vil give færre infektioner.

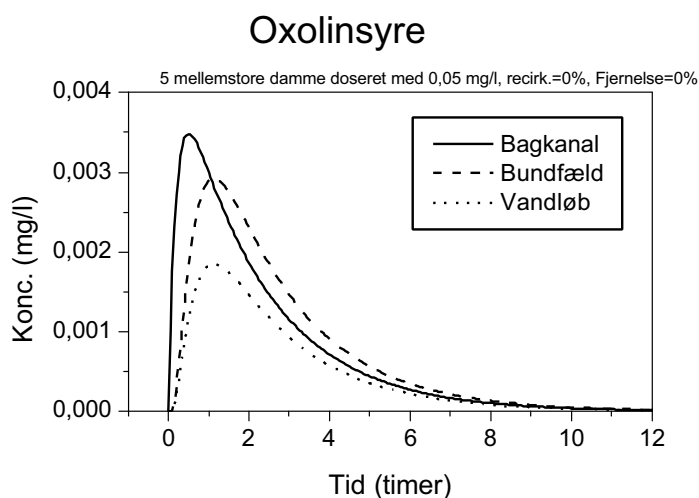
## **12.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug**

OXA nedbrydes tilsyneladende hurtigt i sediment (Björklund et al., 1991).

## **12.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger**

Biotilgængeligheden hos regnbueørred er sandsynligvis dosisafhængig, og der rapporteres vidt forskellige værdier. Kleinow et al. (1994) fandt en biotilgængelighed på 90,7 % hos regnbueørreder ved 14 °C efter en dosis på 5 mg  $kg^{-1}$  fisk. Biotilgængeligheden for OXA i fisk holdt i saltvand er tilsyneladende meget lavere, 25 % i laks ved 9 °C (Hustved et al., 1991).

**Figur 12.1**  
 Koncentrationsforløbet i  
 bagkanal,  
 bundfældningsanlæg og  
 vandløb når 5 af 10  
 mellemstore damme  
 doseres.



Opløseligheden i vand er lav på  $4 \text{ mg l}^{-1}$ , men den anvendte koncentration er på  $0,05 \text{ mg l}^{-1}$ . Der doseres 5 af 10 damme til sættefisk (de mellemstore damme), og der tages ikke hensyn til eventuelt fjernelse eller omsætning undervejs.

Den maksimale koncentration er på ca  $0,002 \text{ mg l}^{-1}$  eller  $2 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$  og stoffet er ude af dambruget igen efter 12 timer.

## 12.10 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens

*Bakteriel resistens overfor quinoloner skyldes hovedsageligt kromosomale mutationer*

Bakteriel resistens over for quinoloner skyldes hovedsageligt kromosomale mutationer på et eller flere gener, som er involveret i syntesen af DNA-gyrase eller celle-membran-proteiner. Resistens som følge af gyrase-mutationer medfører ingen krydsresistens, men der kan også ses resistens overfor OXA som følge af ændringer i membranpermeabiliteten, og en sådan resistens vil oftest give krydsresistens overfor andre antibiotika. Plasmidbåret og dermed overførbart resistens er beskrevet, men er tilsyneladende sjælden (Baquero, 1990). Guardabassi et al. (2000) fandt øget frekvens af oxolinsyre-resistente *Acinetobacter spp.* ved udløbet fra et dambrug i op til 28 dage efter, der var behandlet med dette antibiotika.

*Øget frekvens af resistens i sediment tilsat OXA fundet*

Nygaard et al. (1992) fandt øget frekvens af resistens i sediment tilsat OXA. Baggrundsniveauet i sedimentet var  $7 \pm 1 \%$  OXA-resistente bakterier. Efter tilsætning af 10 ppm OXA og henstand på havbunden i 10 måneder var niveauet  $14 \pm 2 \%$  resistente bakterier, og efter 12 måneder  $20 \pm 2 \%$ . Ved slutningen af forsøgsperioden var OXA-koncentrationen faldet til 1 ppm. Samtidig viste de en vis krydsresistens til andre antibiotika - oxytetracyklin og furazolidon - som kunne tyde på, at den observerede resistens er af en uspecifik natur f.eks. i form af mutationer, som fører til ændret membranpermeabilitet. Ervik et al. (1994) fandt en øget frekvens af OXA-resistente bakterier i blåmuslinger og vildfisk fanget i nærheden af havbrug, som anvendte OXA.

## 12.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt

*Substitueringen kan ikke foretages ud fra miljømæssige hensyn.*

*Vaccination overfor rødmundsyge og furunkulose er mulig*

Som det fremgår, er brugen af OXA nogenlunde konstant, og alternativerne til behandling af bakterielle sygdomme i udbrud er sullfadiazin/trimethoprim eller andre antibiotika efter godkendelse fra Fødevarerdirektoratet. Substitueringen kan ikke foretages ud fra miljømæssige hensyn, da disse er ufuldstændigt belyst, men udelukkende for at anvende det, stof der til en given tid er mest effektivt overfor den pågældende sygdom. Ud fra et miljømæssigt synspunkt vil det være bedre at "substituere" antibiotikabehandlingen med vaccination, i stedet for at bruge et antibiotikum fra en anden stofgruppe. I kraft af at vaccination overfor rødmundsyge og furunkulose er mulig, må det anbefales at forebygge og dermed næsten undgå visse af de OXA-krævende infektioner. På sigt bliver vaccination om muligt mere effektiv, og der udvikles måske andre alternativer så som probiotika og immunostimulantia, som kan medvirke til en nedgang i brugen af antimikrobielle midler i dambrug. Men står man med et udbrud af en bakteriel sygdom, vil antibiotika endnu være en nødvendighed i terapien.

### Referencer

Baquero F. Resistance to Quinolones in Gram-Negative Microorganisms: Mechanisms and Prevention. *Eur Urol* 1990; **17**: 3-12.

Barker GA, Smith SN, Bromage NR. Effect of oxolinic acid on bacterial flora and hatching success rate of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, eggs. *Aquaculture* 1990; **91**: 205-222.

Barnes AC, Hastings TS, Amyes SGB. Aquaculture antibacterials are antagonized by seawater cations. *J Fish Dis* 1995; **18**: 463-465.

Björklund HV, Eriksson A, Bylund G. Temperature-related absorption and excretion of oxolinic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 1992; **102**: 17-27.

Björklund HV, Råbergh CMI, Bylund G. Residues of oxolinic acid and oxytetracycline in fish and sediments from fish farms. *Aquaculture* 1991; **97**: 85-96.

Ervik A, Thorsen B, Eriksen V, Lunestad BT, Samuelson OB. Impact of administering antibacterial agents on the wild fish and blue mussels *Mytilus edulis* in the vicinity of fish farms. *Dis aquat Org* 1994; **18**: 45-51.

Guardabassi L, Dalsgaard A, Raffatellu M, Olsen JE. Increase in the prevalence of oxolinic acid resistant *Acinetobacter* spp. Observed in a stream receiving the effluent from a freshwater trout farm following

- treatment with oxolinic acid-medicated feed. **Aquaculture** 2000 (accepted).
- Holten Lützhöft H-C, Halling-Sørensen B, Jørgensen SE. Algal Toxicity of Antibacterial Agents Applied in Danish Fish Farming. **Arch Environ Contam Toxicol** 1999; **36**: 1-6.
- Hustvedt SO. Pharmacokinetics of oxolinic acid in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). **Acta Pharm Nord** 1992; **4**: 111-112.
- Hustvedt SO, Salte R. Distribution and elimination of oxolinic acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) after a single rapid intravascular injection. **Aquaculture** 1991; **92**: 297-303.
- Hustvedt SO, Salte R, Vassvik V. Absorption, distribution and elimination of oxolinic acid in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after various routes of administration. **Aquaculture** 1991; **95**: 193-199.
- Ishida N. Tissue levels of oxolinic acid after oral or intravascular administration to freshwater and seawater rainbow trout. **Aquaculture** 1992; **102**: 9-15.
- Kleinow KM, Jarboe HH, Shoemaker KE, Greenless KJ. Comparative Pharmacokinetics and Bioavailability of Oxolinic Acid in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Can J Fish Aquat Sci** 1994; **51**: 1205-1211.
- Lundén T, Miettinen S, Lönnström L-G, Lilius E-M, Bylund G. Influence of oxytetracycline and oxolinic acid on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology** 1998; **8**: 217-230.
- Lunestad BT, Samuelsen OB, Fjelde S, Ervik A. Photostability of eight antibacterial agents in seawater. **Aquaculture** 1995; **134**: 217-225.
- Nygaard K, Lunestad BT, Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V. Resistance to oxytetracycline, oxolinic acid and furazolidone in bacteria from marine sediments. **Aquaculture** 1992; **104**: 31-36.
- Pouliquen H, le Bris H. Sorption of Oxolinic Acid and Oxytetracycline to Marine Sediments. **Chemosphere** 1996; **33**: 801-815.
- Pouliquen H, Pinault L, le Bris H. Determination of oxolinic acid in seawater, marine sediment, and japanese oyster (*Crassostrea gigas*) by high-performance liquid chromatography. **Journal of Liquid Chromatography** 1994; **17**: 929-945.
- Russel AD, Chopra I. Understanding Antibacterial Action and Resistance. 1996.



Samuelsen OB, Ervik A. A single-dose pharmacokinetic study of oxolinic acid and vetoquinol, an oxolinic acid ester, in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., held in sea water at 9°C. **J Fish Dis** 1999; **22**: 13-23.

Samuelsen OB, Lunestad BT, Ervik A, Fjelde S. Stability of antibacterial agents in an artificial marine aquaculture sediment studied under laboratory conditions. **Aquaculture** 1994; **126**: 283-290.

Veterinærmedicinsk Produktkatalog, 2000.

Wells R. Oxolinic acid. **FAO Food and Nutrition Paper** 1995; **41/7**: 69-88.

# 13 Oxytetracyklin

Af Morten S. Bruun

Handelsnavne:

Terramycin®vet, Alamycin vet, Aquacycline®vet, Bivatop®vet, Duphacyclin vet, Engemycin®vet, Maxicyklin®vet. (Veterinærmedicinsk produktkatalog 2000)

*Oxytetracyklin (OTC) er et bredspektret antibiotikum i gruppen tetracykliner*

Oxytetracyklin (OTC) er et bredspektret antibiotikum i gruppen tetracykliner. Stoffet produceres af *Streptomyces rimosus*. Det rene stof er et gult krystallinsk pulver uden lugt. Tetracykliner er amfolytter og danner salte med både syrer og baser (pK1: 3.27, pK2: 7.32, pK3: 9.11). I denne sammenhæng er det vandopløselige oxytetracyklin hydrochlorid ( $C_{22}H_{24}N_2O_9 \times HCL$ ) mest interessant. Dette salt er letopløseligt i vand ( $1000 \text{ g l}^{-1}$ ) med en moderat sur reaktion (Booth & McDonald, 1988)

*OTC virker ved at trænge ind i bakterien og inhiberer proteinsyntesen*

Virkningsmekanisme:

OTC virker ved at trænge ind i bakterien via en aktiv pumpemekanisme og inhiberer proteinsyntesen i forlængelsesstadiet ved at binde sig til A-sitet på ribosomernes 30S del. Virkningen er bakteriostatisk, og der er størst effekt over for bakterier i vækstfasen. Ved høje dosi kan ses bakteriocid effekt (Schnappinger & Hillen, 1996). Tetracykliner er næsten upåvirkelige af organisk materiale (Booth & McDonald, 1988)

Humant har tetracykliner været brugt siden 1948, og bruges stadig til behandling af infektioner forårsaget af tetracyklinfølsomme mikroorganismer. Veterinært har oxytetracyklin tidligere været brugt i forholdsvis stor udstrækning som væksthæmmer ("det gule pulver") til især svin. Denne brug er nu forbudt, men oxytetracyklin har stadig mange anvendelsesområder indenfor den veterinære medicin ved behandling af diverse infektioner fremkaldt af tetracyklinfølsomme grampositive og gramnegative bakterier, rickettsier, spirochaeter, mycoplasma og chlamydia. Tetracyklinerne anvendes både til produktionsdyr og mindre husdyr.

## 13.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug

Oxytetracyklin er ikke godkendt til brug i dambrug i Danmark, men det er muligt for dyrlæger at opnå speciel godkendelse til brug af stoffet til behandling af yngeldødelighedssyndromet (YDS) forårsaget af *Flavobacterium psychrophilum*. Godkendelsen er i princippet begrænset til et specifikt sygdomsudbrud. I forbindelse med ferskvandsdambrug i Danmark er det altså primært yngel der behandles med oxytetracyklin, og der er sket et mindre fald i forbrugt mængde fra 1996 til 1997 (40,2 kg til 32,1 kg) og derefter et meget markant fald i 1998 (1,0 kg). Til behandling af YDS blandes OTC i

foderet i koncentrationen 1 % og ynglen behandles med 80 mg/kg fisk i 10 dage.

Tilbageholdestiden før levering af fisk fastsættes på mindst 500 graddage. Tilbageholdelsestiden har dog ingen relevans, da der kun er/var tale om at behandle yngel, som havde mere end et års opvækst foran sig, før konsumering.

### 13.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter

Toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier.

Ved høje doser kan der (som for alle andre stoffer) ses toksicitet overfor andre dyrearter.

Generelt må det nævnes, at antimikrobielle stoffer er konstrueret således, at deres toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier eller prokaryoter generelt. For tetracyklinernes vedkommende opnås denne specificitet ved at stofferne binder til en komponent i ribosomerne, som kun findes hos prokaryoter - nemlig 30S rRNA. Ved høje doser kan der (som for alle andre stoffer) ses toksicitet overfor andre dyrearter.

Arzul et al. (1996) testede effekten af to doser OTC over for tre forskellige organismer under akvarieforhold med pighvarre (*Psetta maxima*). Den non-toksiske diatom *Chaetoceros gracile*, hvis vækstrate blev nedsat både ved OTC-koncentrationer på 0,2 mg l<sup>-1</sup> og 2 mg l<sup>-1</sup>. Over for den toksiske dinoflaggelat *Gymnodium nagasakiense* observerede de en koncentrationsafhængig effekt, idet vækstraten blev øget ved en OTC-koncentration på 0,2 mg l<sup>-1</sup> og nedsat ved en OTC-koncentration på 2 mg l<sup>-1</sup>. Endelig fandt de en øget vækstrate for den toksiske dinoflaggelat *Alexandrium minutum* ved begge de testede koncentrationer af OTC. De observerede effekter kan både være resultater af en ændring i økosystemet som følge af OTC, og/eller de kan skyldes en direkte effekt på test-organismerne.

Holten Lützhøft et al. (1999) undersøgte toksiciteten over for tre algearter og fandt EC<sub>50</sub>-værdier på 0,21 mg l<sup>-1</sup> overfor *Microcystis aeruginosa*, som er en ferskvandslevende cyanobakterie, 1,6 mg l<sup>-1</sup> for den ferskvandslevende grønalge *Selenastrum capricornutum* og endelig 4,5 mg l<sup>-1</sup> ved test med *Rhodomonas salina* - en marin cryptophycean. Der konkluderes endvidere efter sammenligning med eksisterende undersøgelser, at alger er mere følsomme overfor antimikrobielle stoffer end krebsdyr og fisk. Blandt alger er cyanobakterier mest følsomme.

Indvirkning på immunsystemet

Lundén et al. (1998) har undersøgt OTC indvirkning på immunsystemet hos regnbueørreder. De specifikke antistoffer i plasma blev nedsat efter behandling med OTC ligesom "respiratory burst" og antal hvide blodlegemer var nedsat.

### 13.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen

*Den eksisterende doseringspraksis er noget nær optimal. Tidsforskudt behandling er udelukket, da det er vigtigt, at alle angrebne damme/kummer behandles samtidig.*

Ændret doseringspraksis kunne være en mulighed, men kræver veldokumenterede dosis/effekt-undersøgelser. Sådanne undersøgelser er foretaget for de fleste antimikrobielle stoffer før disse anvendes i praksis, og sammenholdt med et vist erfaringsgrundlag må man derfor formode, at den eksisterende doseringspraksis er noget nær optimal. Ændringer bør ikke foretages ukritisk, da nedsat stofkoncentration og/eller for hurtig ophør af behandling kan være årsag til, at sygdommen persisterer i dambruget, og dermed kræver gentagne behandlinger. Tidsforskudt behandling er udelukket, da det er vigtigt, at alle angrebne damme/kummer behandles samtidig.

### 13.4 Status for omfanget af bundfældningen

*Den biologiske aktivitet af OTC er markant nedsat ved tilstedeværelse af ferskvands-sediment*

Smith (1996) samler i en review-artikel viden om OTC i relation til sedimentering, og han kommer frem til at kun i størrelsesordenen 1,1±0,9 % af den tilførte mængde OTC til havbrug aflejres i sediment, og at sedimentering altså ikke er den vigtigste slutskabne for OTC. Samtidig fastslår Vaughan & Smith (1996), at den biologiske aktivitet af OTC er markant nedsat ved tilstedeværelse af ferskvands-sediment.

*Tetracykliner er næsten upåvirkelige af organisk materiale*

Adsorption til sediment er i størrelsesordenen 21 til 93 mg OTC pr. g sediment, afhængig af bl.a. sedimenttypen (Pinck et al., 1961, 1). Sedimenteringshastigheder for henholdsvis fæces og foderpartikler er 0,12 og 0,04 m s<sup>-1</sup> (Warrer-Hansen, 1982 citeret i Smith et al. 1994). I kraft af adsorption til foderpartikler og fæces vil der forventes en vis bundfældning af OTC, men tilsyneladende er denne effekt ret begrænset, og det er derfor rimeligt, som i de simple modeller, at antage, at stoffet opløses og fordeles i vandfasen. Tetracykliner er næsten upåvirkelige af organisk materiale (Booth & McDonald, 1988)

### 13.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug

*Halveringstider hos regnbueørred ved 15°C*

Uno et al. (1991) fandt halveringstider hos regnbueørred ved 15 °C i henholdsvis serum, muskeltvæv og lever på 23,2, 81,5 og 87,1 timer, og elimineringstider efter oral dosering af 100 mg OTC pr kg fisk på 5,0, 11,8 og 22,1 dage i de samme væv.

De fleste andre undersøgelser har givet væsentlig længere halveringstider, muligvis pga. den lavere temperatur disse forsøg er foretaget under. Rogstad et al. (1991) fandt en plasmahalveringstid på 11,6 dage ved 7 °C hos regnbueørred i ferskvand. Bjørklund & Bylund (1990) fandt serumhalveringstider hos regnbueørreder i ferskvand på henholdsvis 8,9 dage ved 5 °C og 4,8 dage ved 16 °C. Grondel et al. (1989) fandt ligeledes i regnbueørreder, men ved 12 °C og efter henholdsvis IV og IM administration af OTC, halveringstider på 89,5 og 94,7 timer. En halveringstid på 94,2 timer hos regnbueørred og en biotilgængelighed på 30,3 % blev fundet af Abedini et al. (1998), der iøvrigt konkluderer, at værdierne for

regnbueørred i ferskvand og "chinook salmon" i saltvand er sammenlignelige og farmakokinetiske undersøgelser af laksefisk kan sammenlignes, uanset om de er foretaget i fersk- eller saltvand.

Jacobsen (1989) har undersøgt nedbrydningen i regnbueørreder med henblik på at fastlægge tilbageholdelsestider. Der udregnes ikke halveringstider, men ud fra figurerne anslås det, at halveringstiden for OTC i hele regnbueørreder er 11 - 12 dage ved 6 °C og ca. 5 dage ved 18 °C.

*I vandige opløsninger sker nedbrydningen af OTC hovedsagelig som photo-oxidation*

*OTC kompleksbindes og dette gør det nærmest umuligt at sammenligne de forholdsvis mange undersøgelser over OTC-aktivitet, -persistens og -nedbrydning*

I vandige opløsninger sker nedbrydningen af OTC hovedsagelig som photo-oxidation. Dvs. OTC nedbrydes hurtigst under forhold, hvor synligt lys og UV-lys kan påvirke stoffet (Miskosi et al., 1998).

OTC kompleksbindes af kalcium, magnesium, jern o. lign. (Lunestad & Goksøyr, 1990), og dette gør det nærmest umuligt at sammenligne de forholdsvis mange (norske) undersøgelser over OTC-aktivitet, -persistens og -nedbrydning i marint miljø med forhold der er relevante for denne undersøgelse - nemlig ferskvand. Lunestad et al. (1995) fandt at OTC blev nedbrudt hurtigt i marint overfladevand. Efter 9 dage var OTC-koncentrationen faldet fra 50 mg l<sup>-1</sup> til 1 mg l<sup>-1</sup>, og på dag 21 var der under 1 % af begyndelseskoncentrationen tilbage målt med HPLC. De målte også aktiviteten i et bioassay, hvor OTC havde mistet sin aktivitet allerede efter den første uge.

De fleste undersøgelser er også her foretaget i marine miljøer, hvor sammensætningen af sedimentet, og de fysiske forhold i det hele taget, ikke direkte kan sammenlignes med forholdene i et dansk ferskvandsdambrug. I marint sediment er der fundet halveringstider for OTC varierende fra 9 til 419 dage, og det konkluderes i denne undersøgelse, at der nok snarere er tale om en udvaskning af OTC end en egentlig nedbrydning. De store forskelle i halveringstid kan således forklares ved forskellige strømforhold, da andre faktorer som pH (6,4), temperatur (15 °C) og sediment (anoxisk) var sammenlignelige (Bjørklund et al., 1990). Hektoen et al. (1995) fandt en halveringstid på 151 dage i det øverste sedimentlag (0 - 1 cm), mens halveringstiden i de dybereliggende sedimentlag (5 - 7 cm) var over 300 dage.

*Der sker tilsyneladende ikke mikrobiel nedbrydning af OTC*

I mikrokosmos med marint sediment fandt Capone et al. (1996) en halveringstid på 36 dage ved 13 - 15 °C. De fandt desuden OTC i sedimentet under havbrug i størrelsesordenen 1,5 µg g<sup>-1</sup> til 4,2 µg g<sup>-1</sup> ved temperaturer på 10 - 12 °C. Der sker tilsyneladende ikke mikrobiel nedbrydning af OTC (Brander & Pugh, 1977 citeret i Capone et al., 1996).

### **13.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger**

Undersøgelser fra ferskvandsdambrug er sjældne, men Smith et al. (1994) har berørt dette emne. De har målt OTC-koncentrationer i et ferskvandsdambrug (lakseklækkeri) vha. HPLC med en detektionsgrænse på 0,02 µg ml<sup>-1</sup>. Dambruget havde et "circulating

drum filter" (Algas) med 50 µm porestørrelse og en kapacitet på 500 – 80.000 l min<sup>-1</sup>, og prøver fra udløbsvandet før og efter filteret samt filtermateriale blev analyseret. Der blev ikke detekteret OTC i udløbsvandet efter filtreringen, men i to tilfælde blev der fundet OTC i udløbsvandet før filteret. De fundne koncentrationer var her 0,03 og 0,06 µg ml<sup>-1</sup>. I filtermaterialet blev der konstant fundet OTC i niveauer 0,57 til 13,0 µg ml<sup>-1</sup>.

At OTC findes konstant i filtermaterialet giver formodning om, at en filtrering af vandet vil nedsætte udledningen af OTC i kraft af adsorption til filtermaterialet.

### **13.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

*Minimering af stressfaktorer så som for høj fisketæthed, håndtering og dårlig vandkvalitet vil give færre infektioner*

Den væsentligste faktor til reduktion/eliminering af brugen af OTC vil være en reduktion/eliminering af OTC-krævende infektioner - i danske ferskvandsdambrug vil det sige YDS. Da der stadig er mange uafklarede spørgsmål vedrørende YDS så som smittevej og mulighed for vaccination, vil det være ret almene driftstiltag som kan anbefales. Minimering af stressfaktorer så som for høj fisketæthed, håndtering og dårlig vandkvalitet vil give færre infektioner.

*Recirkulering vil ligesom sedimenteringsbassinet reducere udledningen*

Desuden vil recirkulering i sammenhæng med den interne nedbrydning af OTC i vandfasen selvsagt reducere udledning til miljøet. Ligesom sedimenteringsbassinet vil reducere udledningen i kraft af en forøget opholdstid og dermed nedbrydning inde på dambruget. Endelig må man formode en øget nedbrydning (photo-oxidation) af OTC efter passage gennem et UV-anlæg, men dette er ikke undersøgt i praksis.

### **13.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug**

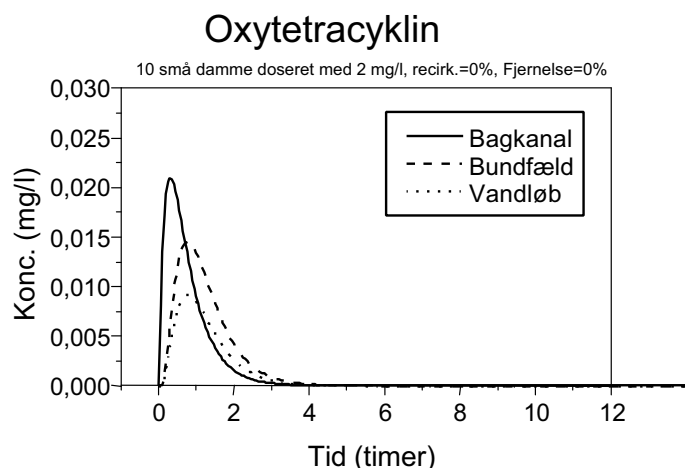
Selv om bundfældning ikke er vigtig for OTC, vil restkoncentrationer i sediment sandsynligvis hurtigt nedbrydes, hvis praksis indebærer at slammet udsættes for sollys.

### **13.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger**

En forudsætning for at foretage disse beregninger er kendskab til hvordan OTC "opfører" sig efter dosering af stoffet til fiskene/miljøet.

*Biotilgængeligheden af OTC efter medicinering i foder til regnbueørreder er ret lav. En betydelig del af det administrerede OTC vil havne uomdannet i miljøet efter passage af fiskens tarm.*

Biotilgængeligheden af OTC efter medicinering i foder til regnbueørreder er ret lav. Kun 7 - 9 % af OTC blev absorberet efter fodermedicinering (Cravedi et al., 1987). Selve optagelsen af OTC over fiskens tarm er forholdsvis langsom og de højeste serum og muskel-koncentrationer opnås først efter henholdsvis 72 og 96 timer efter oral administration af 150 mg OTC pr. kg fisk ved 7 °C (Rogstad et al., 1991). Samme undersøgelse viste, at kun 2,6 % af de oralt indgivne 150 mg OTC pr. kg regnbueørred blev absorberet til fiskens plasma og væv. Det ses, at OTC kun absorberes og fordeles til fiskens



**Figur 13.1**

Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 10 af 20 damme med yngel doseres.

væv i ringe udstrækning, og dette betyder samtidig, at en betydelig del af det administrerede OTC vil have uomodannet i miljøet efter passage af fiskens tarm.

Under forudsætning af, at der anvendes det vandopløselige præparat, kan modellen anvendes. Der er i estimatet ikke taget hensyn til nogen omsætning undervejs eller fjernelse i filteret. Der er doseret 10 af de 20 damme med yngel.

Den maksimale koncentration i vandløbet er ca. 0,01 mg l<sup>-1</sup> og stoffet vil være udtømt på ca. 4 timer.

### 13.10 Redegørelse for medicineringens effekt/ resistens

*Resistens overfor tetracykliner kan skyldes genetiske determinanter.*

*En mulighed for spredning af determinanterne i et miljø der favoriserer deres tilstedeværelse*

*Metode til bestemmelse af hvad de kalder minimum effect concentration (MEC)*

Mere interessant end at se på toksiciteten er det måske at kigge på muligheden for udvikling/selektering af resistente bakterier som følge af brugen af OTC i dambrug. Resistens over for tetracykliner kan skyldes et væld af forskellige genetiske determinanter. Disse determinanter kan findes både på bakteriens kromosom, på plasmider og andre mobile elementer, og vil derfor både kunne nedarves når bakterierne deler sig (vertikalt) og overføres til andre bakterier i miljøet (horizontalt) (Russel & Chopra, 1996). Der kan altså være en mulighed for spredning af determinanterne i et miljø der favoriserer deres tilstedeværelse.

Man har indtil for nylig ikke haft et redskab til at bestemme hvilket niveau af antibiotika, man skal overstige for at få en mulighed for udvikling af resistente bakterier. Denne pendant til toksicitetstestens NOEL er måske udviklet nu? I en ny artikel af O'Reilly & Smith (1999) beskrives en metode til bestemmelse af, hvad de kalder minimum effect concentration (MEC), som de argumenterer for, er det samme som en minimum selection concentration (MSC). De har ved to metoder opnået sammenlignelige resultater ved testning af OTC over for E. coli. Teknikkerne er henholdsvis en

spektrofotometrisk metode og en indirekte konduktans-teknik. De fandt en MEC som var 10 gange lavere end MIC-værdien for deres sensitive *E. coli*-stamme. Nærmere bestemt fandt de en MEC/MSC på 0,625 µg ml<sup>-1</sup>. Om denne værdi så er en universel værdi for OTC vil tiden vise, men der er stor sandsynlighed for at finde andre værdier, hvis der bruges alternative bakteriestammer og andre fysiske forhold under forsøgene. (Man kan dog forestille sig, at forholdet mellem MIC-værdien og MEC/MSC mere universelt viser sig at være en faktor 10. Det vil f.eks. for visse følsomme *F. psychrophilum*-stammer, med MIC = 0,063 µg ml<sup>-1</sup> betyde at MEC er 0,006 µg ml<sup>-1</sup>.)

*tilsætning af OTC-holdigt  
foder til marine  
mikrokosmos medførte en  
øget frekvens af OTC-  
resistente bakterier*

I havbrug er der lavet en del undersøgelser med henblik på at korrelere tilstedeværelse eller forbrug af antibiotika med resistens over for det pågældende stof. Nygaard et al. (1992) fandt øget frekvens af resistens i sediment tilsat OTC. Baggrundsniveauet i sedimentet var 5±1 % OTC-resistente bakterier. Efter tilsætning af 50 ppm OTC og henstand på havbunden i 10 måneder, var niveauet 10 ± 2 % resistente bakterier, og efter 12 måneder 16 ± 1,5 %. Ved slutningen af forsøgsperioden var OTC-koncentrationen faldet til 5 ppm. Samtidig viste de en vis krydsresistens til andre antibiotika - oxolinsyre og furazolidon, som kunne tyde på at den observerede resistens er af en uspecifik natur f.eks. i form af mutationer, som fører til ændret membranpermeabilitet. Herwig & Gray (1997) fandt, at tilsætning af OTC-holdigt foder til marine mikrokosmos medførte en øget frekvens af OTC-resistente bakterier, mens de ikke observerede denne stigning i mikrokosmos tilsat OTC-fri foder.

Der er desuden lavet en række mere epizootiologiske undersøgelser hvor man forsøger at korrelere forbrug af OTC med resistens fundet i mikrofloraen det pågældende sted. I disse undersøgelser vil der uundgåeligt være mange faktorer, som kan spille ind, og billedet er ofte "mudret". Smith et al. (1995) giver en ide om vanskelighederne, idet de sår tvivl om konklusionen i en tidligere artikel af Husevåg & Lunestad (1995). Husevåg & Lunestad havde fundet 0,79 % OTC-resistente bakterier i sedimentet under havbrug, og konkluderede at denne resistens var en følge af OTC-anvendelse i havbrugene. Smith et al. undersøgte sedimentprøver med samme metode fra lokaliteter mindst 5 km fra havbrug, og fandt OTC-resistens på 0,76 %. Kerry et al. (1994) undersøgte to havbrug som brugte OTC, hvor de fandt næsten ens niveauer af OTC i sedimentet. Ved det ene brug fandt de ingen øget resistens i forhold til baggrundsniveauet (omkring 1 %), mens de ved det andet havbrug fandt øget frekvens af OTC-resistente bakterier (16 %). Frekvensen mindskedes efter ophør af behandling og havde nået baggrundsniveauet efter 73 dage (halveringstid på 26 dage). DePaola et al. (1995) fandt også øget frekvens af OTC-resistens efter behandling med OTC i ferskvandsdambrug (catfish). Her blev baggrundsniveauet nået igen 21 dage efter ophør af behandlingen. Jones (1986) undersøgte resistens-niveauerne i et å-system i England, og fandt den højeste forekomst af resistente bakterier i et ret "uberørt" åløb opstrøms (som skulle være baggrundsniveauet), mens niveauet var lavere i en sø, der modtog vand fra rensningsanlæg og afløb fra



marker, og den laveste forekomst af resistens blev fundet direkte i udløbet fra et rensningsanlæg.

*Det er også vist, at man både i dambrug og i akvarieforsøg kan finde øget frekvens af OTC-resistens efter tilsætning af ikke-medicineret foder. Miljøer med meget organisk materiale og igangværende nedbrydningsprocesser kan selektere for OTC-resistens.*

Det er også vist, at man både i dambrug og i akvarieforsøg kan finde øget frekvens af OTC-resistens efter tilsætning af ikke-medicineret foder. Vaughan et al. (1996) fandt OTC-resistens frekvenser på 0,47 % i slam fra et filter og 38 % i sediment fra sedimenteringsbassinet på samme lokalitet. I filteret var der stor gennemstrømning, mens vandet nærmest var stillestående i sedimenteringsbassinet, hvor meget organisk materiale (foder og fæces) blev omsat/nedbrudt anaerobt. Konklusionen er, at visse miljøer med meget organisk materiale og igangværende nedbrydningsprocesser kan selektere for OTC-resistens. Baggrunden for en sådan resistens kendes ikke, men kunne være ændret membran-permeabilitet, og er i så fald ikke overførbart til andre mikroorganismer. Kapetanaki et al. (1995) nåede til mere eller mindre samme konklusion efter akvarieforsøg. Efter tilsætning af steril og OTC-fri fiskefoder til akvarier, fandtes øget frekvens af OTC-resistens efter 70 dage.

### **13.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt**

*Der er gennem de senere år set en øget resistens blandt F. psychrophilum overfor OTC. Det har været nødvendigt at finde alternativer.*

Som det fremgår, er brugen af OTC aftaget kraftigt, og alternativerne til behandling af YDS er stofferne amoxicillin og florfenicol, som nu ofte foretrækkes frem for OTC. Substitueringen er ikke foretaget ud fra miljømæssige forbedringer, men udelukkende for at anvende det stof, der til en given tid er mest effektivt overfor den pågældende sygdom. Da der gennem de senere år er set en øget resistens blandt F. psychrophilum overfor OTC (Bruun, M.S. et al., in press), og denne udvikling har givet udslag i nedsat/manglende effektivitet ved behandling af YDS med OTC i praksis, har det været nødvendigt at finde alternativer. Indtil videre er alternativerne også antibiotika, som dog tilhører andre stofgrupper, men i fremtiden vil det måske være muligt at forebygge og dermed helt eller næsten undgå YDS. Men indtil der er udviklet effektive vacciner, probiotika og immunostimulantia, vil antimikrobielle midler være nødvendige i bekæmpelsen af YDS og andre bakterielle sygdomme i dambrug.

### **Referencer**

Abedini S, Namdari R, Law FCP. Comparative pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in rainbow trout and chinook salmon. **Aquaculture** 1998; **162**: 23-32.

Arzul G, Clément A, Pinier A. Effects on phytoplankton growth of dissolved substances produced by fish farming. **Aquat Living Resour** 1996; **9**: 95-102.

Björklund HV, Bondestam J, Bylund G. Residues of Oxytetracycline in Wild Fish and Sediments from Fish Farms. **Aquaculture** 1990; **86**: 359-367.

Booth NH, McDonald LE. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 1988.

Bruun MS, Schmidt AS, Madsen L, Dalsgaard I. Antimicrobial resistance patterns in Danish isolates of *Flavobacterium psychrophilum*. **Aquaculture** 2000; **in press**:

Capone DG, Weston DP, Miller V, Shoemaker C. Antibacterial residues in marine sediments and invertebrates following chemotherapy in aquaculture. **Aquaculture** 1996; **145**: 55-75.

Cravedi J-P, Choubert G, Delous G. Digestibility of chloramphenicol, oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout and influence of these antibiotics on lipid digestibility. **Aquaculture** 1987; **60**: 133-141.

DePaola A, Peeler JT, Rodrick GE. Effect of Oxytetracycline-Medicated Feed on Antibiotic Resistance of Gram-Negative Bacteria in Catfish Ponds. **Applied and Environmental Microbiology** 1995; **61**: 2335-2340.

Grondel JL, Nouws JFM, Schutte AR, Driessens F. Comparative pharmacokinetics of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and African catfish (*Clarias gariepinus*). **J vet Pharmacol Therap** 1989; **12**: 157-162.

Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V, Yndestad M. Persistence of antibacterial agents in marine sediments. **Aquaculture** 1995; **133**: 175-184.

Herwig RP, Gray JP. Microbial response to antibacterial treatment in marine microcosms. **Aquaculture** 1997; **152**: 139-154.

Holten Lützhöft H-C, Halling-Sørensen B, Jørgensen SE. Algal Toxicity of Antibacterial Agents Applied in Danish Fish Farming. **Arch Environ Contam Toxicol** 1999; **36**: 1-6.

Jacobsen MD. Withdrawal times of freshwater rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after treatment with oxolinic acid, oxytetracycline and trimethoprim. **J Fish Dis** 1989; **12**: 29-36.

Jones JG. Antibiotic resistance in aquatic bacteria. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** 1986; **18**: 149-154.

Kapetanaki M, Kerry J, Hiney MP, O'Brien C, Coyne R, Smith P. Emergence, in oxytetracycline-free marine mesocosms, of microorganisms capable of colony formation on oxytetracycline-containing media. **Aquaculture** 1995; **134**: 227-236.

Kerry J, Hiney MP, Coyne R, Cazabon D, NicGabhainn S, Smith P. Frequency and distribution of resistance to oxytetracycline in micro-organisms isolated from marine fish farm sediments following therapeutic use of oxytetracycline. **Aquaculture** 1994; **123**: 43-54.

Lundén T, Miettinen S, Lönnström L-G, Lilius E-M, Bylund G. Influence of oxytetracycline and oxolinic acid on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish & Shellfish Immunology** 1998; **8**: 217-230.

Lunestad BT, Goksøyr J. Reduction in the antibacterial effect of oxytetracycline in sea water by complex formation with magnesium and calcium. **Dis aquat Org** 1990; **9**: 67-72.

Lunestad BT, Samuelsen OB, Fjelde S, Ervik A. Photostability of eight antibacterial agents in seawater. **Aquaculture** 1995; **134**: 217-225.

Miskoski S, Sánchez E, Garavano M, López M, Soltermann AT, Garcia NA. Singlet molecular oxygen-mediated photo-oxidation of tetracyclines: kinetics, mechanism and microbiological implications. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology** 1998; **43**: 164-171.

Nygaard K, Lunestad BT, Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V. Resistance to oxytetracycline, oxolinic acid and furazolidone in bacteria from marine sediments. **Aquaculture** 1992; **104**: 31-36.

O'Reilly A, Smith P. Development of methods for predicting the minimum concentrations of oxytetracycline capable of exerting a selection for resistance to this agent. **Aquaculture** 1999; **180**: 1-11.

Pinck LA, Holton WF, Allison FE. Antibiotics in Soils: 1. Physico-chemical Studies of Antibiotic-Clay Complexes. **Soil Science** 1961; **91**: 22-27.

Rogstad A, Hormazabal V, Ellingsen OF, Rasmussen KE. Pharmacokinetic study of oxytetracycline in fish. 1. Absorption, distribution and accumulation in rainbow trout in freshwater. **Aquaculture** 1991; **96**: 219-226.

Schnappinger D, Hillen W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. **Arch Microbiol** 1996; **165**: 359-369.

Smith P. Is sediment deposition the dominant fate of oxytetracycline used in marine salmonid farms: a review of available evidence. **Aquaculture** 1996; **146**: 157-169.

Smith P, Donlon J, Coyne R, Cazabon D. Fate of oxytetracycline in a fresh water fish farm: influence of effluent treatment systems. **Aquaculture** 1994; **120**: 319-325.

Smith P, Pursell L, McCormack F, O'Reilly A, Hiney MP. On the Significance of Bacterial Resistance to Oxytetracycline in Sediments under Norwegian Fish Farms. **Bull Eur Ass Fish Pathol** 1995; **15**: 105-106.

Uno K, Aoki T, Ueno R. Pharmacokinetic Study of Oxytetracycline in Cultured Rainbow Trout, Amago Salmon, and Yellowtail. **Nippon Suisan Gakkaishi** 1992; **58**: 1151-1156.

Vaughan S, Smith P. Estimation of the influence of a river sediment on the biological activity of oxytetracycline hydrochloride. **Aquaculture** 1996; **141**: 67-76.

Vaughan S, Coyne R, Smith P. The critical importance of sample site in the determination of the frequency of oxytetracycline resistance in the effluent microflora of a fresh water fish farm. **Aquaculture** 1996; **139**: 47-54.

Veterinærmedicinsk Produktkatalog, 2000.

# 14 Amoxicillin

Af Morten S. Bruun

$\forall$ -amino-*p*-hydroxybenzylpenicillin (C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S)

Handelsnavne: Amoxinol vet, betamox vet, clamoxyl®vet, curamox®vet, synulox®vet (Veterinærmedicinsk produktkatalog 2000)

*AMX er et bredspektret antibiotikum med effekt på både grampositive og gramnegative bakterier*

Amoxicillin (AMX) er et  $\exists$ -laktam antibiotikum, som tilhører gruppen af penicilliner og er et aminopenicillin. AMX er et bredspektret antibiotikum med effekt på både grampositive og gramnegative bakterier. AMX er en svag organisk syre. Letopløseligt i vand (ca. 4 mg ml<sup>-1</sup>) og ethanol (3,4 mg ml<sup>-1</sup>), uopløseligt i benzen (Bhattacharyya & Cort, 1978).

Amoxicillin virker som andre penicilliner på cellevægssyntesen og er bakteriocid overfor bakterier i vækst.

## 14.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug

*I danske ferskvandsdambrug bruges AMX næsten udelukkende til bekæmpelse af yngeldødeligheds-syndromet forårsaget af Flavobacterium psychrophilum*

I danske ferskvandsdambrug bruges AMX udelukkende til bekæmpelse af yngeldødeligheds-syndromet forårsaget af *Flavobacterium psychrophilum*. Da AMX ikke er godkendt til brug i fisk kræver anvendelsen, at dyrlægen i hvert tilfælde ansøger om en tilladelse til brug af stoffet. Der har tilsyneladende været et lille fald i anvendelsen med 144 kg i 1996, 87 kg i 1997 og 71 kg i 1998. Behandlingen foregår via medicineret foder, og behandlingsstrategien er 80 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 10 dage og udelukkende til yngel. Tilbageholdelsestiden fastsættes på mindst 500 graddage, men det har ingen praktisk betydning, da det kun er yngel, der behandles.

## 14.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter

Generelt må det nævnes, at antimikrobielle stoffer er konstrueret således, at deres toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier eller prokaryoter generelt.

Ved høje doser kan der (som for alle andre stoffer) ses toksicitet overfor andre dyrearter.

Holten Lützhøft et al. (1999) testede AMX's algetoksicitet og fandt følgende EC<sub>50</sub>: 3,7 µg ml<sup>-1</sup> overfor cyanobakterien *M. aeruginosa*, 3.108 mg ml<sup>-1</sup> over for *R. salina* og anslog en NOEC på 250 mg ml<sup>-1</sup> over for *S. capricornutum*. Der konkluderes endvidere efter sammenligning med eksisterende undersøgelser, at alger er mere følsomme over for antimikrobielle stoffer end krebsdyr og fisk. Blandt alger er cyanobakterier mest følsomme.

### 14.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen

*Konkrete farmakokinetiske undersøgelser af AMX i regnbueørreder og fisk i det hele taget er en mangelvare*

Ændret doseringspraksis kunne være en mulighed, men kræver veldokumenterede dosis/effekt-undersøgelser. Ændringer bør ikke foretages ukritisk, da nedsat stofkoncentration og/eller for hurtig ophør af behandling kan være årsag til, at sygdommen persisterer i dambruget, og dermed kræver gentagne behandlinger. Konkrete farmakokinetiske undersøgelser af AMX i regnbueørreder og fisk i det hele taget er en mangelvare.

*Tidsforskudt behandling praktiseres ofte, idet det er sjældent, at alle kummer får YDS i udbrud samtidigt*

Tidsforskudt behandling kan ikke planlægges, da det er vigtigt, at alle angrebne damme/kummer behandles samtidig. Men tidsforskudt behandling af et bestemt hold fisk praktiseres ofte, idet det er sjældent, at alle kummer får YDS i udbrud samtidigt. Har man f.eks. et fiskehold fordelt på 10 kummer, kan det være, at der opstår YDS i 2 kummer, hvorefter der går en halv eller hel uge eller 14 dage før der er YDS i udbrud i andre kummer, og måske kommer det slet ikke til udbrud i alle kummerne. Det er vigtigt straks at slå til med medicinering, når YDS er konstateret, men kun i de kummer der er i udbrud. Det nytter ikke at behandle de kummer, hvor der først ville være kommet udbrud om en uge eller 14 dage eller måske aldrig. Man kan ikke forebygge med medicinen. Hvis man behandler hele holdet, så snart man iagttager YDS i en kumme, vil man med meget stor sandsynlighed skulle efterbehandle nogle kummer om 3 uger eller 1 måned. I praksis tilrådes derfor ofte en tidsforskudt og gradvis medicinering af et hold. Dambrugeren vil måske nok i nogle tilfælde være tilbøjelig til at medicinere hele holdet med det samme, fordi gradvis indsats er mere besværlig og arbejdskrævende, men tilrådeligt er det bestemt ikke. Det er økonomisk mere forsvarligt og samtidig bedre for både fisk og miljø at få fiskene kontrolleret ugentligt eller hver 14. dag, hvis man får YDS problemer i et hold yngel. Herved sikres tidsforskudt behandling og samtidig kontrol af, at ledsagesygdomme som gælleinfektion eller parasitangreb ikke forstyrrer medicineringens gavnlige virkning.

*Det er vigtigt straks at slå til med medicinering, når YDS er konstateret*

*Det er økonomisk mere forsvarligt og samtidig bedre for både fisk og miljø, at få fiskene kontrolleret ugentligt eller hver 14. dag*

### 14.4 Status for omfanget af bundfældningen

Kendes ikke.

### 14.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug

Efter oral dosering via medicineret foder (80 - 120 mg kg<sup>-1</sup> biomasse) fandt Inglis et al. (1993) i Atlanterhavslaks en maksimal serumkoncentration efter 2 timer på 0,8 µg ml<sup>-1</sup>, som i løbet af 5 timer var faldet til 0,3 µg ml<sup>-1</sup>. Ang et al. (1998) doserede 110 mg kg<sup>-1</sup> catfish med sonde og detekterede efterfølgende AMX i muskeltvæv med HPLC. Der var stor variation i koncentrationen efter 6 timer: 36 - 265 ng g<sup>-1</sup>, mens koncentrationen efter 24 timer var omkring 5 ng g<sup>-1</sup>, efter 48 timer 2,9 ng g<sup>-1</sup> og detektionsgrænsen på 1,2 ng g<sup>-1</sup> var nået efter 72 timer.

*Penicilliner inaktiveres bl.a. af tungmetalioner og oxiderende forbindelser*

Penicilliner inaktiveres bl.a. af tungmetalioner og oxiderende forbindelser. Vandige opløsninger opretholder kun aktiviteten i få dage. Lunn et al. (1994) fandt, at AMX i vandig opløsning udsat for UV-lys, blev nedbrudt til 1,2 % af startkoncentrationen (=1 mg ml<sup>-1</sup>) i løbet af 2 timer, og nedbrydningshastigheden øgedes, hvis der var H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> til stede.

Der foreligger ingen undersøgelser om nedbrydningen af AMX i sediment, men AMX vil også her kunne inaktiveres af bl.a. tungmetaller.

#### **14.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger**

Kendes ikke.

#### **14.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

Den væsentligste faktor til reduktion/eliminering af brugen af AMX vil være en reduktion/eliminering af AMX-krævende infektioner, og i danske ferskvandsdambrug vil det sige YDS. Da der stadig er mange uafklarede spørgsmål vedrørende YDS så som smittevej og mulighed for vaccination, vil det være ret almene driftstiltag, som kan anbefales. Minimering af stressfaktorer så som for høj fisketæthed, håndtering og dårlig vandkvalitet vil give færre infektioner.

*Recirkulering vil i sammenhæng med den interne nedbrydning af AMX i vandfasen reducere udledning til miljøet*

Recirkulering vil i sammenhæng med den interne nedbrydning af AMX i vandfasen reducere udledning til miljøet. Ligesom sedimenteringsbassinet vil reducere udledningen i kraft af en forøget opholdstid og dermed nedbrydning inde på dambruget. Endelig må man formode en øget nedbrydning af AMX efter passage gennem et UV-anlæg, men dette er ikke undersøgt i praksis.

#### **14.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug**

Der foreligger ingen undersøgelser af bundfældning af AMX, men eventuelle restkoncentrationer i sediment vil sandsynligvis hurtigt nedbrydes, hvis praksis indebærer, at slammet udsættes for sollys.

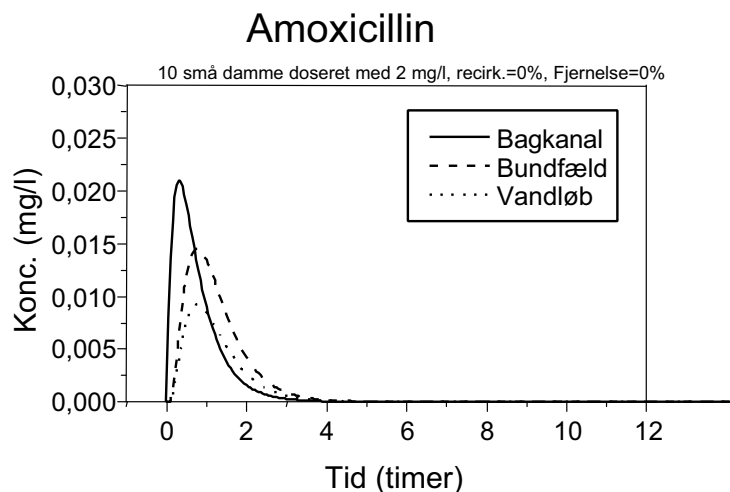
#### **14.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger**

Som følge af den meget sparsomme litteratur må koncentrationsberegningerne bygge på en antagelse om, at hele den doserede mængde AMX tilføres og fordeles i vandmasserne på dambruget.

Der er foretaget et estimat under følgende forudsætninger, at stoffet ikke omsættes eller fjernes i biofilteret undervejs gennem dambruget. Der er doseret i 10 af 20 yngeldamme.

Den maksimale koncentration i vandløbet er på 0,01 mg l<sup>-1</sup>, og stoffet er ude af dambruget efter 4 timer.

**Figur 14.1**  
Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 10 af 20 yngeldamme doseres samtidigt.



## 14.10 Redegørelse for medicineringens effekt/ resistens

*Der foreligger ingen undersøgelser over udviklingen af resistens overfor amoxicillin i dambrug eller i akvatiske miljøer i det hele taget*

Resistensudvikling:

Generelt kan resistens over for  $\beta$ -laktam antibiotika skyldes tre forskellige mekanismer:

1. Nedsat permeabilitet af den ydre membran hos gram-negative bakterier - f.eks. mangel på poriner s.f.a. mutationer.
2. Produktion af  $\beta$ -laktamase. Der findes en del enzymer som kan fungere som  $\beta$ -laktamaser, og mange af disse findes på plasmider eller transposomer og kan derfor overføres mellem bakterier.
3. Modifikation af en eller flere penicillin-bindende proteiner. Kan både skyldes mutationer og erhvervet resistens i form af recombination (Russel & Chopra, 1996). Der foreligger ingen undersøgelser over udviklingen af resistens over for amoxicillin i dambrug eller i akvatiske miljøer i det hele taget.



## 14.11 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt

Alternativerne til behandling af YDS er stofferne oxytetracyclin og florfenicol.

Det må indtil videre betragtes som en nødvendighed at anvende antibiotika ved udbrud af bakterielle sygdomme i dambrug

Brugen af AMX er aftaget en smule, hvilket måske kan skyldes en dårligere behandlingseffektivitet som følge af begyndende resistensudvikling blandt *F. psychrophilum* (Bruun et al., in press). Alternativerne til behandling af YDS er stofferne oxytetracyclin og florfenicol. Der ses også resistens over for oxytetracyclin, mens vi i Danmark endnu har god effektivitet af florfenicol over for YDS. Hvilket antibiotikum der anvendes ved det enkelte udbrud må afhænge af den diagnosticerende dyrlæges erfaringer og undersøgelser af sensitiviteten over for de tre mulige alternativer. Det må indtil videre betragtes som en nødvendighed at anvende antibiotika ved udbrud af bakterielle sygdomme i dambrug, da dette for indeværende er den eneste mulighed for at behandle disse dyr forsvarligt i henhold til dyreværnsloven. Forhåbentlig vil det i fremtiden være muligt at forebygge og dermed helt eller næsten undgå YDS. Men indtil der er udviklet effektive vacciner, probiotika og immunostimulantia, vil antimikrobielle midler være nødvendige i bekæmpelsen af YDS og andre bakterielle sygdomme i dambrug.

### Referencer

Ang CYW, Lyo WH, McKim K, Hansen EBJ, Lay JOJ, Lochmann R. Amoxicillin concentrations in catfish muscle following oral administration of the drug. **Abstracts of Papers American Chemical Society** 1998; **215**.

Bhattacharyya PK, Cort WM. Amoxicillin. **Analytical Profiles of Drug Substances** 1978; **7**: 19-41.

Bruun MS, Schmidt AS, Madsen L, Dalsgaard I. Antimicrobial resistance patterns in Danish isolates of *Flavobacterium psychrophilum*. **Aquaculture** 2000; **in press**:

Holten Lützhöft H-C, Halling-Sørensen B, Jørgensen SE. Algal Toxicity of Antibacterial Agents Applied in Danish Fish Farming. **Arch Environ Contam Toxicol** 1999; **36**: 1-6.

Inglis V, Palmer R, Shatwell JP, Branson EJ, Richards RH. Amoxicillin concentrations in the serum of Atlantic salmon (*Salmo salar* L) during furunculosis therapy. **The Veterinary Record** 1993; **18**: 617-621.

Lunn G, Rhodes SW, Sansone EB, Schmuft NR. Photolytic Destruction and Polymeric Resin Decontamination of Aqueous Solutions of Pharmaceuticals. **Journal of Pharmaceutical Sciences** 1994; **83**: 1289-1293.

Russel AD, Chopra I. Understanding Antibacterial Action and Resistance. 1996.

Veterinærmedicinsk Produktkatalog, 2000.

# 15 Florfenicol

Af Morten S. Bruun

Florfenicol:  $H_{14}C_{12}FNO_4S$

Handelsnavne: Nuflor vet, Aquavet FF (Veterinærmedicinsk produktkatalog 2000)

*Florfenicol (FLO) er et flourineret derivat af thiamphenicol og tilhører samme stofgruppe som kloramphenikol. FLO er et bredspektret antibiotikum som er effektivt overfor både gram-negative og gram-positive bakterier (Sams, 1995).*

Opløselighed i vand: 1.3 g/l, ethanol: 31.8 g/l (ved 25°C) (Schering Plough, pers. comm.)

FLO virker bakteriostatisk ved at binde til 70S ribosomer, som er unikke for bakterier. Herved hæmmes peptidyl transferase reaktionen, og dannelsen af peptid-bindinger forhindres, men kun i bakterier (Russel & Chopra, 1996).

## 15.1 Redegørelse for omfang og praksis ved anvendelse på dambrug

*I danske ferskvandsdambrug bruges FLO til bekæmpelse af yngeldødelighedssyndromet*

I danske ferskvandsdambrug bruges FLO til bekæmpelse af yngeldødelighedssyndromet (YDS) forårsaget af *Flavobacterium psychrophilum*. Da FLO ikke er godkendt til brug i fisk kræver anvendelsen, at dyrlægen i hvert tilfælde ansøger om en tilladelse til brug af stoffet. Der har været et forholdsvis konstant forbrug af Nuflor vet i dambrug med 10 l i 1996, 12 l i 1997 og 7 l i 1998 (Nuflor vet indeholder 300 mg florfenicol pr. ml). Behandlingen foregår via medicineret foder, og behandlingsstrategien er 10 mg  $kg^{-1}$  fisk i 10 dage og udelukkende til yngel. Tilbageholdelsestiden angives at være 500 graddage.

## 15.2 Sammenfatning af eksisterende litteratur vedrørende de økologiske effekter

Generelt må det nævnes, at antimikrobielle stoffer er konstrueret således, at deres toksicitet er forholdsvis specifikt rettet mod bakterier eller prokaryoter.

Der forefindes ingen undersøgelser over de økologiske effekter af FLO.

Lundén et al. (1999) beskriver en uspecifik hæmning af immunsystemet (nedsat respiratorisk burst) 5 - 6 uger efter vaccination i den gruppe regnbueørreder, som var behandlet med FLO.

### **15.3 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen**

Ændret doseringspraksis kunne være en mulighed, men kræver veldokumenterede dosis/effekt-undersøgelser. Ændringer bør ikke foretages ukritisk, da nedsat stofkoncentration og/eller for hurtig ophør af behandling kan være årsag til, at sygdommen persisterer i dambruget og dermed kræver gentagne behandlinger. Tidsforskudt behandling kan ikke planlægges, da det er vigtigt, at alle angrebne damme/kummer behandles samtidig (se amoxicillin).

### **15.4 Status for omfanget af bundfældningen**

Omfanget af bundfældningen kendes ikke, men Hormazabal et al. (1996) beskriver en HPLC-metode til bestemmelse af florfenicol og nedbrydningsproduktet florfenicol-amin (som ikke er aktiv) i sediment. Undersøgelsen beretter dog intet om koncentrationer i praksis, og er kun en metodebeskrivelse, hvor der bruges sedimentprøver med florfenicol tilsat i laboratoriet.

### **15.5 Belysning af egenomsætningen på dambrug**

Horsberg et al. (1996) fandt en halveringstid for florfenicol på 14,7 timer hos laks i 10 °C saltvand og Martinsen et al. (1993) angiver halveringstiden til at være 12,2 timer.

Hektoen et al. (1995) fandt en halveringstid på 4,5 dage i sediment under et havbrug.

### **15.6 Redegørelse for den mulige betydning af øvrige renseforanstaltninger**

Kendes ikke.

### **15.7 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet**

Den væsentligste faktor til reduktion/eliminering af brugen af FLO vil være en reduktion/eliminering af FLO-krævende infektioner og i danske ferskvandsdambrug vil det sige YDS. Da der stadig er mange uafklarede spørgsmål vedrørende YDS, så som smittevej og mulighed for vaccination, vil det være ret almene driftstiltag som kan anbefales. Minimering af stressfaktorer så som for høj fisketæthed, håndtering og dårlig vandkvalitet vil give færre infektioner.

### **15.8 Beskrivelse af slambehandlingspraksis på dambrug**

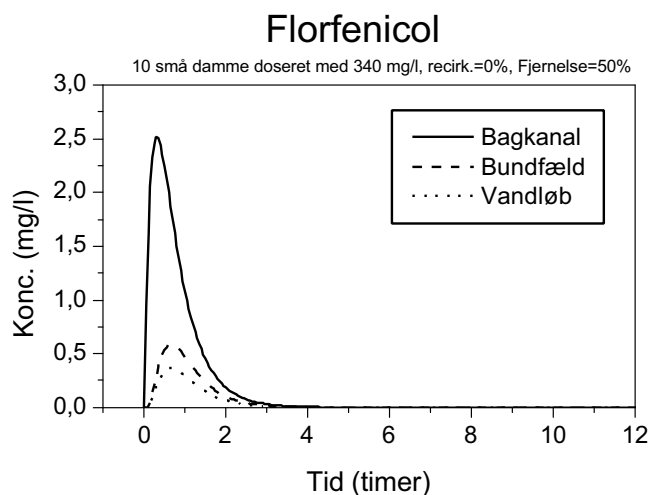
Der foreligger ingen undersøgelser af bundfældning af FLO og dets videre skæbne i slam.

## 15.9 Udarbejdelse af koncentrationsberegninger

*En ret stor del af den optagne florfenicol nedbrydes til det inaktive produkt florfenicol-amin*

Efter oral indtagelse i fisk findes en meget høj biotilgængelighed af FLO hos laks i saltvand. Angivne værdier er fra 96,5 % (Martinsen et al., 1993) til 99 % (Horsberg et al., 1996). Og en ret stor del af den optagne florfenicol nedbrydes til det inaktive produkt florfenicol-amin, som udskilles i urin og galde (Horsberg et al., 1994). Dette viser at modelberegningerne vil give overestimerer for florfenicolkoncentrationerne, når man som udgangspunkt regner med at hele den doserede mængde FLO fordeles i dambrugsvandet. I beregningen er der taget højde for, at florfenicol let omsættes, idet fjernelse pr. gennemløb i filter og bundfældningsanlæg er sat til 50 %. Da stoffet er vandopløseligt, burde modellen kunne anvendes. Den maksimale koncentration i vandløbet er 0,6 mg l<sup>-1</sup> når 10 af de 20 yngeldamme behandles samtidigt.

**Figur 15.1**  
Koncentrationsforløb i bagkanal, bundfældningsanlæg og vandløb når 10 af 20 små damme doseres samtidigt.



## 15.11 Redegørelse for medicineringens effekt/resistens

*Brugen af FLO kan derfor give øget resistens over for kloramfenikol og thiamphenicol*

Overførbar resistens overfor kloramfenikol skyldes ofte inaktivering af stoffet. Inaktiveringen forårsages af plasmid- eller transposombårne kloramfenikol acetyltransferaser (CAT), som nedbryder kloramfenikol til inaktive derivater (Russel & Chopra, 1996). Florfenicol nedbrydes ikke af CAT, og bakterier som er resistente overfor kloramfenikol og thiamphenicol kan meget vel være følsomme overfor florfenicol. Florfenicol inducerer dog alligevel CAT, og brugen af FLO kan derfor give øget resistens over for kloramfenikol og thiamphenicol. Der findes endvidere andre resistensmekanismer, som rammer alle stofferne i denne gruppe. Det gælder f.eks. ændringer i bakterie-membranen og reduktion af en nitro-gruppe (Sams, 1995). Arcangioli et al. (1999) har, fra en genkassette i et integron, desuden identificeret et nyt gen (*floR*), som koder for en effluks-pumpe, der giver resistens overfor både kloramfenikol og florfenicol.

## 15.12 Belysning af muligheder for at substituere med alternative stoffer med reduceret eller elimineret miljøeffekt

Der findes dog ikke dokumenterede undersøgelser, som kan underbygge en substituering ud fra miljømæssige forbedringer

FLO bruges til behandling af YDS ligesom stofferne amoxicillin og oxytetracyclin, som hver især vil kunne bruges, bare bakterierne i det pågældende sygdomsudbrud er følsomme. Der findes dog ikke dokumenterede undersøgelser, som kan underbygge en substituering ud fra miljømæssige forbedringer, og i praksis anvendes det stof, der til en given tid er mest effektivt overfor YDS. Da der gennem de senere år er set en øget resistens blandt *F. psychrophilum* over for oxytetracyclin og til dels også over for amoxicillin (Bruun et al., in press), og denne udvikling har givet udslag i nedsat/manglende effektivitet ved behandling af YDS med disse stoffer i praksis, er FLO blevet et indtil videre effektivt alternativ. Indtil der er udviklet effektive vacciner, probiotika og immunostimulantia, vil antimikrobielle midler være nødvendige i bekæmpelsen af YDS og andre bakterielle sygdomme i dambrug.

### Referencer

Arcangioli M-A, Leroy-Sétrin S, Martel J-L, Chaslus-Dancla E. A new chloramphenicol and florfenicol resistance gene flanked by two integron structures in *Salmonella typhimurium* DT104. **FEMS Microbiology Letters** 1999; **174**: 327-332.

Bruun MS, Schmidt AS, Madsen L, Dalsgaard I. Antimicrobial resistance patterns in Danish isolates of *Flavobacterium psychrophilum*. **Aquaculture** 2000; in press:

Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V, Yndestad M. Persistence of antibacterial agents in marine sediments. **Aquaculture** 1995; **133**: 175-184.

Hormazabal V, Steffenak I, Yndestad M. Simultaneous extraction and determination of florfenicol and the metabolite florfenicol amine in sediment by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A** 1996; **724**: 364-366.

Horsberg TE, Hoff KA, Nordmo R. Pharmacokinetics of Florfenicol and Its Metabolite Florfenicol Amine in Atlantic Salmon. **Journal of Aquatic Animal Health** 1996; **8**: 292-301.

Horsberg TE, Martinsen B, Varma KJ. The disposition of 14-C-florfenicol in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Aquaculture** 1994; 97-106.

Lundén T, Miettinen S, Lönnström L-G, Lilius E-M, Bylund G. Effect of florfenicol on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Veterinary Immunology and Immunopathology** 1999; **67**: 317-325.

Martinsen B, Horsberg TE, Varma KJ, Sams R. Single dose pharmacokinetic study of florfenicol in Atlantic salmon (*Salmo salar*) in seawater at 11 degree C. **Aquaculture** 1993; **112**: 1-11.

Russel AD, Chopra I. Understanding Antibacterial Action and Resistance. 1996.

Sams RA. Florfenicol: Chemie und Metabolismus eines neuen Breitspektrum-Antibiotikums. **Tierärztl Umschau** 1995; **50**: 703-707.

Veterinærmedicinsk Produktkatalog, 2000.

## **16 Chlorbutanol**

Af Inger Dalsgaard

*Bedøvelse af fisk kan anvendes ved stryging og vaccinerings*

I forbindelse med stryging eller vaccinerings kan anvendes bedøvelse af fisk. Chlorbutanol er det foretrukne middel, der hidtil er anvendt i Danmark. Chlorbutanol (1,1,1-trichloro-2-methyl-2-propanol) er et farveløst, krystallinsk pulver, der er opløselig i vand og alkohol. Chlorbutanol har dog den ulempe, at det er svært opløseligt i vand. Derfor anbefales det, at stoffet først opløses i alkohol, og herefter hældes i den vandmængde, der skal anvendes til bedøvelsen (Hørlyck, 1989).

## 16.1 Effekter på organismer og økosystemer

*Chlorbutanol giver en let bedøvelse, og betragtes som et sikkert bedøvelsesmiddel til fisk*

Den litteratur, der er tilgængelig om bedøvelsesmidler, omhandler hovedsageligt forhold vedrørende dosering og varighed af bedøvelsen (Ross & Ross, 1984). Chlorbutanol giver en let bedøvelse, og betragtes som et sikkert bedøvelsesmiddel til fisk. Undersøgelser foretaget af Mattson & Riple (1989) har dog vist, at det ikke bør anvendes til bedøvelse af torsk, hvor der forekommer varierende dødelighed uafhængig af den dosering, der anvendes. Da stoffet har sundhedsfarlige egenskaber, skal personer, der arbejder med stoffet, foretage de nødvendige sikkerhedsforanstaltninger.

## 16.2 Konklusion

*Chlorbutanol bør erstattes af andre bedøvelsesmidler*

Resterne af stamopløsningen, som fremstilles ud fra 30 g pulver i 100 l 96 % ethanol, afleveres til kommunekemi. Ud fra stamopløsningen anvendes 10 ml til 10 l beluftet vand. Nedbrydningen eller omsætning af chlorbutanol i bedøvelsesvæsken er ikke beskrevet i den tilgængelige litteratur. Anvendes altid i lukkede systemer.

I følge litteraturen ser det ikke ud til, at chlorbutanol anvendes ret meget uden for Skandinavien. Formentlig på grund af sikkerheden for personer, der anvender stoffet.

## Referencer

Hørlyck, V. Notitser fra Forsøgsdambruget Bedøvelse af fisk. Ferskvandsfiskeri bladet 87: 58, 1989.

Mattson, N.S., and T.H. Riple. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and phenoxyethanol. Aquaculture 83: 89-94, 1989.

Ross L.G., and B. Ross, B. Anaesthetic and sedative techniques for fish.

University of Stirling, Scotland. pp. 34. 19

**&4**

# 17 Benzocain

Af Inger Dalsgaard

*Bedøvelse af fisk kan anvendes ved stryging og vaccinerings*

Benzocain (ethyl-4-aminobenzoat) er et bedøvelsesmiddel, der kan anvendes på dambrug i forbindelse med stryging og injektionsvaccinerings. Det er et hvidt eller farveløst fast pulver, der er tungt opløseligt i vand (1 : 2500), lettere opløseligt i ethanol, kloroform og ether. Der fremstilles en 10 % opløsning i ethanol, der skal opbevares i en mørk flaske ved stuetemperatur.

Tricain (MS 222) er beslægtet med benzocain og er i modsætning til denne let opløseligt i vand. Benzocain er i opløsning neutral og menes derfor at være mindre stressende at anvende end tricain, der ved brug sænker pH i vandmiljøet. Saltforbindelsen, benzocain hydroklorid, er dog mere vandopløseligt.

*Ved bedøvelse af fisk anvendes stoffer, der optages hurtigt og tilsvarende har en hurtig udskillelse*

Ved bedøvelse af fisk anvendes stoffer, der optages hurtigt og tilsvarende har en hurtig udskillelse. Da dosis er afhængig af fiskeart og individ, bør den anbefalede dosis, der for regnbueørred er 5 - 10 ml af en 10 % opl. pr. 10 l vand (Dalsgaard & Bjerregaard, 1991). afprøves frøst på et mindre antal fisk for at være sikker på, at den rette dosis anvendes. Da benzocain er fedtopløseligt, kan bedøvelsen vare længere i ældre fisk. Dosis er endvidere temperaturafhængig. Bedøvelse af fisk foregår ved tilsætning af stoffet til vandet, og da iltmangel er en bivirkning, skal det foregå under beluftning. Opløseligheden af benzocain påvirkes ikke af vandets hårdhed og pH, hvorimod der ses en stigning i opløseligheden ved stigende temperatur (Allen et al., 1994).

## 17.1 Effekter på organismer og økosystemer

*Benzocain elimineres hurtigt fra plasma*

Benzocain hydrolyseres til *para*-aminobenzosyre. Under eksperimentelle forhold var den tilsatte koncentration af benzocain konstant i vand uden fisk i mere end 4 timer (Stehly et al., 1998). Efter at en fisk havde opholdt sig mellem 150 og 240 min. i benzocainbadet var koncentrationen af benzocain i plasma ca. 2 gange badkoncentrationen, men efter overflytning af fisken til rent vand ved 6 °C skete der en kraftig eliminering af benzocain i plasmaet fra 1538 ng ml<sup>-1</sup> til 242 ng ml<sup>-1</sup> efter 2,5 min. (Stehly et al., 1998). Meinertz et al. (1996) har også foretaget farmakokinetiske undersøgelser af benzocain i regnbueørreder og tilsvarende vist, at benzocain elimineres hurtigt fra plasma. Benzocain er et hypoxæmisk (lavt ilttension i blod og væv) stof, som forårsager, at der er nedsat vandudskiftning over gællerne forårsagende fysiologiske forandringer som øget koncentration af glukose, mælkesyre, kalium, magnesium og hæmoglobin i blodet og øget elektrolyttab gennem



Effekter på  
økosystemer kendes  
ikke

nyrerne. En tilstand som kan bibeholdes 4 til 7 dage efter bedøvelsen (Brown 1993).

Effekten på økosystemet er tilsyneladende ikke undersøgt.

## 17.2 Analyse af mulige foranstaltninger til minimering/eliminering af udledningsrisikoen

Efter optagelse af benzocain i regnbueørred udskilles den gennem gællerne enten uforandret eller som acetylbenzocaine, og gennem urinen som *p*-aminobenzosyre og *p*-acetamidobenzosyre (Bernardy et al., 1996).

Hvad der yderligere sker i vandmiljøet med de nævnte forbindelser er tilsyneladende ikke undersøgt

## 17.3 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminering af udledning til miljøet

Behandling foregår i lukkede systemer.

Bedøvelse af fisk anvendes hyppigst i forbindelse med stryging og med stikvaccinering. I begge tilfælde tilsættes bedøvelsesmidlet et mindre vandvolumen, og behandlingen foregår altid i et lukket system.

Da der findes en velbeskrevet metode (væskekromatografi) til påvisning af benzocain (Bernardy et al., 1996), vil det være muligt at påvise stoffet i vandmiljøet.

## Referencer

Allen, J.L., Vang, G., Steege, S., and Xiong, S. (1994). Solubility of benzocaine in freshwater. *Prog.Fish Cult.* 56: 145-146.

Bernardy, J.A., Coleman, K.S., Stehly, G.R., Gingerich, W.H. (1996). Determination of benzocaine in rainbow trout plasma. *J. AOAC Internat.* 79: 623-627.

Brown, L.A. (1993). Anesthesia and restraint. I *Fish Medicine*, M.K. Stoskoppe (ed.) pp. 79-90.

Dalsgaard, I., Bjerregaard, J. (1991). Behandling af fiske sygdomme i akvakultur. *Dansk Veterinærtidsskrift* 74: 700-704.

Meinertz, J.R., Stehly, G.R., Gingerich, W.H. (1996). Pharmacokinetics of benzocaine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after intraarterial dosing. *Aquaculture* 148: 39-48.

Stehly, G.R., Meinertz, J.R., Gingerich, W.H. (1998). Effect of temperature on the pharmacokinetics of benzocaine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after bath exposures. *J. vet. pharmacol. therap.* 21: 121-127.



# 18 Immunostimulerende stoffer

af Inger Dalsgaard

For at forebygge sygdomme ønskes et forbedret immunforsvar, som kan opnås ved anvendelse af vacciner og/eller immunostimulerende stoffer.

*Immunostimulerende stoffer forventes at øge modstandskraften hos fisk over for infektionssygdomme*

Immunostimulerende stoffer forventes at øge modstandskraften hos fisk over for infektionssygdomme. Ikke som ved en vaccinering at påvirke det specifikke immunforsvar, men ved at påvirke det non-specifikke immunforsvar.

*Forskning inden for immunostimulerende stoffer er stigende*

Forskning inden for immunostimulerende stoffer er stigende og allerede nu ses anvendelse ved opdræt af fisk. Mange forskellige forbindelser har vist ner, som er komplekse kulhydrater udvundet fra gær, vitaminerne C og E, polyumættede fedtsyrer og ekstrakter fra dyr og planter. Hovedparten af de immunostimulerende stoffer tilsættes foderet, men den bedste effekt ses ved injektion. Bivirkningerne ved anvendelse er endnu dårligt belyst. En overdosering har vist sig at nedsætte immunforsvaret.

## 18.1 Vacciner

*I Danmark er der registreret vacciner til fisk mod sygdommene: rødmundsyge, vibriose og furunkulose*

Princippet ved en vaccinering er, at når fiskens immunsystem udsættes for fremmede antigener fra en sygdomsfremkaldende mikroorganisme, udvikles der immunitet. Udviklingen kan forekomme ved, at fisken overlever en naturlig infektion, eller gennem en vaccination tilføres antigener i en uskadelig form. Når fisken så igen udsættes for samme smitstof, vil den være modstandsdygtig- immun - for sygdom. Denne form for resistens er specifik. I Danmark er der registreret vacciner til fisk mod sygdommene: rødmundsyge, vibriose og furunkulose (furunkulosevaccinen fås kun kombineret med rødmundsyge og vibriose). Vaccinering foregår enten ved injektion eller bad.

## 18.2 Konklusion

*Hvis der er effektive vacciner tilgængelige, er det den bedste måde at forebygge sygdomme på*

Både vacciner og immunostimulerende stoffer anvendes til at forebygge sygdomme. Hvis der er effektive vacciner tilgængelige, er det den bedste måde at forebygge sygdomme på. Her fås en længerevarende specifik påvirkning i forhold til de immunostimulerende stoffer, som til gengæld har et bredere virkefelt. Påvirkning på miljøet er ikke belyst, men antages at være af mindre betydning.

## Referencer

Galeotti, M. Some aspects of the application of immunostimulants and a critical review of methods for their evaluation. J. Appl. Ichthyol. 14:189-199, 1998.

Larsen, J.L., and K. Pedersen. Vaccination strategies in freshwater salmonid aquaculture.

I Fish vaccinology. Eds. Gudding, R., A. Lillehaug, P.J. Midtlyng, and F. Brown. Dev. Biol. Stand. Basel, Karger. 90: 391-400, 1997.

Raa, J. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming

Sakai, M. Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture 172:63-92, 1999.

# 19 Probiotika

Af Inger Dalsgaard

*Probiotika er blevet defineret som levende mikroorganismer, der tilsættes levnedsmidler/foder*

Probiotika er blevet defineret som levende mikroorganismer, der tilsættes levnedsmidler/foder for at forbedre den mikrobielle balance i tarmsystemet og derved forbedre sundheden hos mennesker og husdyr (Fuller, 1989). De mest kendte mikroorganismer der anvendes, er mælkesyre bakterier, som virker hæmmende over for sygdomsfremkaldende mikroorganismer i tarmkanalen hos varmblodede dyr (Tannock, 1999). Forskningen inden for probiotika til fisk har inden for de sidste ti år været stigende forårsaget af kravet om et mere miljøvenligt opdræt.

*Forskningen inden for probiotika til fisk er stigende*

I forhold til andre husdyr, hvor mikrofloraen er residerende, er mikrofloraen i fiskens fordøjelsessystem påvirket af omgivelserne (Moriarty 1990, citeret fra Gatesoupe 1999). Fisk er vekselvarme, og mikrofloraen kan variere med temperatursvingninger og med saltholdighed. Ændringer i vandmiljøet har især betydning for fiskelarver, hvor fordøjelseskanaalen og immunsystemet endnu ikke er fuldt udviklet. Derfor vil en behandling med probiotika især være ønskelig i yngelopdræt. Vandmiljøets påvirkning af sammensætningen af tarmmikrofloraen har resulteret i, at probiotika til fisk også anvendes som tilsætning til vandmiljøet. Derfor er følgende definition på probiotika, der anvendes til fisk, foreslået af Gatesoupe (1999): "microbial cells that are administered in such a way as to enter the gastrointestinal tract and to be kept alive, with the aim of improving health".

## 19.1 Anvendelse af probiotika i akvakultur

Der findes adskillige kommercielle produkter til forbedring af vandkvaliteten, som så efterfølgende skulle forbedre sundhedsstatus hos fisk (Gatesoupe, 1999). Disse produkter kaldes også "probiotika", og mange af dem indeholder nitrificerende bakterier og/eller *Bacillus*-arter. De sidstnævnte kan, ved at nedbryde organisk materiale, forbedre vandkvaliteten. For at fremme væksten hos regnbueørred tilsatte Adámek (1994) foderet et såkaldt probiotikum, som i dette tilfælde ikke bestod af levende mikroorganismer.

*Probiotika, anvendt til fisk eller skaldyr, har været isoleret fra vand- og tarmmiljøet*

Probiotika, der har været anvendt til fisk eller skaldyr, har været isoleret fra vand- og tarmmiljøet, såsom bakterieslægterne *Vibrio*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, mælkesyrebakterier og gær (Austin et al., 1995, Gibson, 1999, Gram et al., 1999, Jöborn et al., 1997, Smith & Davey, 1993, Moriarty, 1998). Evnen til at konkurrere med mulige patogene bakterier i fisk og vandmiljøet kan være gennem antibiotisk effekt, konkurrence for næringsstoffer eller enzymatisk effekt. Man kender imidlertid ikke hvilke faktorer, der udgør den egentlige betydning, og tilsyneladende er der ikke sammenhæng mellem de

resultater, der ses under laboratorieforhold og i praksis (Gatesoupe, 1999).

*Udvælgelse af relevante mikroorganismer som probiotika*

For at kunne udvælge relevante mikroorganismer som probiotika anvendes følgende krav: 1) at mikroorganismen ikke forårsager sygdom hos værten 2) at der er øget modstandskraft over for de sygdomme, som fisk eksperimentelt inficeres med.

## 19.2 Økologiske effekter på organismer og økosystemer

Gram et al. (1999) fandt, at den probiotiske mikroorganisme *Pseudomonas fluorescens* skulle være til stede i et betydeligt højere antal end den patogene mikroorganisme, og viste endvidere, at den probiotiske organisme skulle tilsættes over en længere periode for at have effekt. Ved at der ikke ses dødelighed vises indirekte, at den anvendte bakterie ikke er patogen for regnbueørred. Jöborn et al. (1997) viser ved infektionsforsøg, at *Carnobacterium* sp. ikke er virulent for laksefisk.

Jöborn et al. (1997) fandt, at tarmkanalen var en økologisk niche for *Carnobacterium* sp., og at det var muligt at indgive levende mikroorganismer gennem foderet. Det blev påvist, at celler af denne bakterie var metabolisk aktive i tarmepitelet, og at *Carnobacterium* sp. kunne undertrykke væksten af de fiskepatogene bakterier *Aeromonas salmonicida* og *Vibrio anguillarum* i regnbueørreder. Der er ingen tvivl om, at adhæsion til tarmepitelet er en vigtig koloniseringsfaktor. Det vides ikke, om koloniseringen er en essentiel forudsætning for den probiotiske aktivitet i tarmen, men da opholdsstiden i tarmen har betydning for virkningen af den probiotiske organisme, vil en adhæsion forebygge, at organismen bliver fjernet ved hjælp af peristaltiken i tarmen.

## 19.3 Diskussion og evt. forslag til reduktion/eliminerings af udledning til miljøet

*Hvad der sker i miljøet, både vand- og tarmmiljøet, med den anvendte mikroorganisme er ikke beskrevet*

De hidtidige undersøgelser af anvendelse af probiotika i akvakultur synes lovende, men endnu er der mange spørgsmål, der mangler at blive belyst. De fleste undersøgelser drejer sig om isolering af "probiotiske" mikroorganismer, som kun udgør en mindre del af den naturlige mikroflora. Det fremgår af undersøgelser af mikrofloraen i tarmkanalen hos karper og det omgivende miljø foretaget af Sugita et al. (1997), at ud af 344 bakterie-isolater fandtes kun 2 - 3 isolater, der havde en hæmmende effekt på *Aeromonas salmonida* under eksperimentelle forhold. Det skal dog pointeres, at det i dag ikke vides, om der er sammenhæng mellem antagonistisk aktivitet fundet i laboratoriet - og probiotisk effekt hos levende organismer.

For at påvise og spore de anvendte probiotika bør der udvikles immunologiske og molekylære prober

Hvad der sker i miljøet, både vand- og tarmmiljøet, med den anvendte mikroorganisme er ikke beskrevet. Bør obligate tarmbakterier kun anvendes, så der ikke er mulighed for overlevelse og vækst i vandmiljøet? For at påvise og spore de anvendte probiotika bør der udvikles immunologiske og molekylære prober. Med hensyn til sikkerheden vil man stille de samme sikkerhedsmæssige krav til probiotika til fisk som til mennesker (Salminen et al., 1998). Det er muligt, at der i fremtiden vil blive anvendt genetisk manipulering af mikroorganismer for at opnå probiotika med højere aktivitet.

## Referencer

Adámek, Z. (1994). Effect of ascogen probiotics supplementation on the growth rate of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under conditions of intensive culture. *Zivocisna Vyroba* **39**, 247-253.

Austin, B., Stuckey, L.F., Robertson, P.A.W., Effendi, I., Griffith, D.R.W. (1995). A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *J. Fish Dis.* **18**, 93-96.

Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378.

Gatesoupe, F.J. (1999). The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* **180**, 147-165.

Gibson, L.F. (1999). Bacteriocin activity and probiotic activity of *Aeromonas media*. *J. Appl. Microbiol. Symp. Suppl.* **85**, 243S-248S.

Gram, L., Melchiorson, J., Spanggaard, B., Huber, I., Nielsen, T.F. (1999). Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2, a possible probiotic treatment of fish. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 969-973.

Jöborn, A., Olsson, J.C., Westerdahl, A., Conway, P.L., Kjelleberg, S. (1997). Colonization in the fish intestinal tract and production of inhibitory substances in intestinal mucus and faecal extracts by *Carnobacterium* sp. strain K1. *J. Fish Dis.* **20**, 383-392.

Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, W.M., Fondén, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, S.-E., Mattila-Sandholm, T. (1998). Demonstration of safety of probiotics - a review. *Int. J. Food Microbiol.* **44**, 93-106.

Smith, P., Davey, S. (1993). Evidence for the competitive exclusion of *Aeromonas salmonicida* from fish with stress-inducible furunculosis by a fluorescent pseudomonad. *J. Fish Dis.* **16**, 521-524.

Sugita, H., Shibuya, K., Hanada, H., Deguchi, Y. (1997). Antibacterial abilities of intestinal microflora of the river fish. *Fisheries Sci.* **63**, 378-383.

Tannock, G.W. (ed.) (1999). Probiotics. A critical review. Horizon Scien. Press, Norfolk, England, pp. 161.



## 20 Konklusion

I forbindelse med kapitel-5 godkendelser er det nødvendigt at kende det enkelte dambrugs forbrug af medicin og hjælpestoffer og hvordan de bliver doseret. Fra opgørelsen af medicin og hjælpestoffer i perioden 1996 - 98 i danske dambrug (kapitel 1, tabel 1.1 - 1.3), som er summen af de enkelte dambrugs indberetninger, viser det sig, at der er store forskelle fra år til år inden for visse medicinstoffer. Det skyldes formodentlig, at der ikke er tale om aktivstof, men om opgørelser af foder iblandet medicin, og hvoraf det ikke fremgår præcist, hvad det indeholder. Dog ser det ud til, at oplysningerne om hjælpestofferne er bedre funderet. Bedre statistiske oplysninger om forbrug ville være ønskværdigt.

Denne litteraturundersøgelse har ikke haft til formål at foreslå miljøkvalitetskriterier men ud fra den indsamlede litteratur at vurdere, hvilke effekter, de pågældende stoffer har på det vandige miljø. I mange tilfælde oplyses, at stofferne omsættes eller sedimenterer, men ikke i hvilket omfang det sker, hvilket gør det endnu vanskeligere at omsætte det til danske dambrugsforhold. For dog at få et indtryk af størrelsesforholdene er der udviklet nogle fortyndingsmodeller, der kan indicere koncentrationerne i vandløbet efter en dosering.

Det skal understreges, at modelkørslerne og dermed nogle af de nedenstående kommentarer knytter sig til de beskrevne modeldambrug og de dermed forbundne parametre (vandføring i og uden for dambruget, antal og størrelse af damme). For en mere eksakt vurdering af forholdene på det enkelte dambrug er det nødvendigt med en specifik sagsbehandling vedrørende de konkrete forhold. Det er hertil nødvendigt at udarbejde en mere modificérbar og dermed praktisk anvendelig model, hvilket derfor indgår i projektets fase 2.

Sidst i kapitlet (20.5) er der listet en lang række forslag om videnopbygning, der er nødvendig for, at man med større sikkerhed kan udtale sig om de økotoksikologiske forhold i forbindelse med dambrugsdrift. Disse forslag vil ligeledes indgå i projektets fase 2.

### 20.1 Litteraturindsamling

Litteraturindsamlingen har især koncentreret sig om den nyere litteratur fra de sidste 6 - 7 år. Der er gennemgået ca. 15.000 titler og udpeget ca. 300, der indgår som referencer i denne undersøgelse. Næsten halvdelen af den anvendte litteratur omhandler fisk. Samtidig er der en skæv fordeling af artikler på de øvrige organismegrupper, hvilket illustrerer, at der er mangel på viden om mange af stofferne. Dette får betydning for muligheden af at foretage egentlige økotoksikologiske vurderinger.

## 20.2 Modeller

Der er udarbejdet en simpel og to udvidede modeller, der alle kan køre i et simpelt regneark. Den simple teoretiske model kan beregne fordelingen af stof i damme, bagkanal, fældningsbassin og vandløb, under den forudsætning, at stoffet ikke omsættes eller fældes undervejs. På denne måde kan man få en ide om hvilke størrelsesordner af koncentrationer, der kan opstå i de enkelte damme og bassiner og nok så vigtigt i vandløbet nedstrøms dambruget. Disse koncentrationer kan så sammenholdes med de effekter, stofferne giver fra den indsamlede litteratur, og dermed kan der opstilles en økotoxikologisk vurdering. Modellen beregner således de højest mulige koncentrationer og varigheden af disse. Det skal dog understreges, at modellen ikke er verificeret, og så længe det er tilfældet, er der kun tale om teoretiske beregningsstørrelser.

Den opstillede model vil kunne anvendes til andre stoffer og doseringsforhold og justeres til andre fysiske udformninger af et dambrug. Modellen kan ikke håndtere recirkulering eller rensningsforanstaltninger. Det er der taget hensyn til i de 2 videreudviklede fortyndingsmodeller.

Den ene beskriver koncentrationsforholdene i et dambrug, hvor anlæggene er forbundet i serie (type I), den anden i parallelforbundne anlæg (type II).

Begge modeller gør det let at beregne koncentrationerne overalt i dambruget og nedstrøms i vandløbet på et hvilket som helst tidspunkt efter doseringen. Modellerne håndterer let ændringer i antal damme, flow osv., men kan ikke arbejde med ændrede flow-retninger mellem anlæggene eller forskellige damstørrelser i samme anlæg. Modellerne tager ikke hensyn til tidsforsinkelsen gennem vandløbet, men det kan manuelt udføres i regnearket. Det skal understreges at der er tale om teoretiske beregninger baseret på eksisterende anlæg, og at modellerne ikke er verificerede. Så længe det er tilfældet, må modelberegningerne nøjes med at give et indtryk af de størrelsesordener, koncentrationer kan opnå i vandløbet som følge af doseringen, ligesom betydningen af recirkuleringen og rensningsforanstaltningerne kan skønnes.

## 20.3 Hjælpestoffer

Af de her behandlede hjælpestoffer er kloramin-T og kaliumpermanganat ikke naturligt forekommende og må betragtes som miljøfremmede stoffer, hvilket dog ikke betyder, at de ikke kan omsættes. Formalin og hydrogenperoxid (brintoverilte) dannes i naturen og omsættes let igen. Kobber og jod findes i omgivelserne og i det vandige miljø, kobber er tilmed nødvendig for organismernes overlevelse, og jod har stor betydning for flere dyr. Trods hjælpestoffernes forskellige oprindelse har de det tilfælles, at såfremt de anvendes i en passende koncentration er de også et giftstof. Det er denne funktion der udnyttes i dambrugene til at bekæmpe bakterier, svampe og parasitter, der ellers ville inficere dambrugsfiskene. Det

der gør stofferne meget anvendelige er, at de i de koncentrationer, som anvendes, er i stand til at bekæmpe de sygdomsvoldende organismer, hvorimod det ikke skader de fisk nævneværdigt, som behandles.

Denne forskel i reaktionsmønstre gælder også for stoffernes effekter på vandløbets dyre- og planteliv. Derfor gælder det om, at stofferne undervejs gennem dambruget nedbrydes eller omsættes, således at de stofmængder, der kommer ud, ikke skader miljøet. En anden måde at reducere udledningen er at dosere stofferne i dammene på en sådan måde, at de undervejs i dambruget bliver fortyndet tilstrækkeligt, så der opnås så lave koncentrationer, der må antages ikke at skade miljøet. Det vil f.eks. for kobbers vedkommende sige funktionsmæssigt at gå fra giftstof til et nyttigt mikronæringsstof, som ingen levende organismer kan undvære.

Da der i litteraturen ikke findes nogle egentlige undersøgelser over de økologiske konsekvenser, der optræder nedstrøms et dambrug som følge af anvendelse af hjælpepestofferne, er man nødsaget til at stykke oplysninger sammen fra den videnskabelige litteratur.

Desværre har det vist sig trods grundig litteratursøgning, at der ikke findes særligt meget relevant litteratur. Dette får den konsekvens, at det på grund af manglende viden er nødvendig at anvende store sikkerhedsfaktorer for at sikre miljøet.

### **Formalin**

Formalin dannes naturligt i celler og kan også udskilles. Alger kan producere formalin, som så igen kan optages i bakterier. Der skal store koncentrationer på 0,5 % (500 mg l<sup>-1</sup>) til for at slå bakterier ihjel. Den mikrobielle omsætning hæmmes ved 10 mg l<sup>-1</sup>. I aktivt slam hæmmes iltomsætningen ved 30 mg l<sup>-1</sup>.

Formalin omsættes relativt let med en biologisk halveringstid på anslået ca. 1 døgn.

Generelt mangler der data for effekter på invertebrater og især på planter/alger for at kunne udføre en økotoksikologisk vurdering. Derfor må man anvende den mere traditionelle fastsættelse af sikre grænseværdier ved at multiplicere med en sikkerhedsfaktor.

Formalins LC<sub>50</sub> (48h) for ørredfisk ligger på 40 - 100 mg l<sup>-1</sup> afhængig af art. Toksiciteten øges med temperaturen og falder med fiskens vægt. En traditionel toksicitetstest på 4 trofiske niveauer viste at algen *Scenedesmus* var den mest følsomme med en EC<sub>50</sub> (24h) på 14,7 mg l<sup>-1</sup>, hvorimod den for regnbueørred var på 42 - 86 mg l<sup>-1</sup>. Ifølge OECD skal den laveste værdi divideres med 100 for at angive grænseværdien 147 µg l<sup>-1</sup> for kroniske påvirkninger. På den anden side dannes der helt naturligt i vandsystemer koncentrationer op til 180 µg l<sup>-1</sup>, så en mere realistisk grænseværdi er snarere 200 µg l<sup>-1</sup> eller 0,2 mg l<sup>-1</sup>.

I det opstillede scenarium for testdambruget kan denne værdi overholdes, hvis der finder en 50 % recirkulering sted. Er der samtidig tale om en fjernelse af formalin, kan recirkuleringsprocenten nedsættes. Der kan alene behandles 1 dam ad gangen af de 30 store damme. Hvis der ikke sker recirkulering vil værdien på 0,2 mg l<sup>-1</sup> overskrides i godt 2 timer med en maksimal koncentration på ca. 0,4 mg l<sup>-1</sup>. Dette skal dog ses på baggrund af at de 0,2 mg l<sup>-1</sup> er fastsat som kronisk påvirkning.

Såfremt OECD-grænsen ikke på noget tidspunkt skal overskrides, bør kun én stor dam behandles ad gangen, ligesom der under behandling bør etableres recirkulering af minimum 50 % af vandet.

Som allerede nævnt flere gange, er det videnskabelige grundlag for at fastsætte halveringstider og reduktionsrater desværre ikke til stede i dag.

### **Kloramin-T**

Kloramin-T virker ved, at det langsomt fraspaltes hypochloritioner, der er den aktive del af stoffet. Der er en beskedent litteratur om effekten af klorholdige desinfektionsmidler og blegemidlers effekt på vandsystemer, og det til trods for, at de bruges massivt i mange lande.

I litteraturen optræder mange forskellige LC<sub>50</sub>-værdier for samme art. Således eksisterer der en LC<sub>50</sub> (20 min.) for hypochlorit på regnbueørred på 0,46 mg l<sup>-1</sup> svarende til klorindholdet i ca. 3 mg kloramin-T l<sup>-1</sup>. Dette er imidlertid kun ca. 1/3 af normal behandlingskoncentration, der ikke dræber fiskene ved en eksponering i 1 time. Da toksiciteten er størst ved lavt pH, kan denne faktor dog spille ind. Fjernes kloramin-T, overvinder fiskene hurtigt de skader stoffet har påført dem.

Ørredfiskene anses for at være blandt de mest følsomme over for klorpåvirkning, ofte dobbelt så følsomme som andre fiskearter. En LC<sub>50</sub> (96h) for kloramin-T på 2,8 mg l<sup>-1</sup> må anses at være mere i overensstemmelse med erfaringerne for sygdomsbekæmpelse.

I toksicitetstesten kan fiskene ikke flygte fra eksponeringen. I naturen ser det ud til, at de ikke ønsker at opholde sig i vandløb, hvor koncentrationen konstant er på 0,02 mg l<sup>-1</sup>. Daphnier har kun en acceptabel reproduktion såfremt langvarige koncentrationer er under 0,003 mg klor l<sup>-1</sup>. Akvatiske systemer påvirkes generelt ved 0,1 mg klor l<sup>-1</sup>.

Da der i det store og hele i litteraturen kun er oplysninger om effekter på fisk, er det nødvendigt at anvende den traditionelle vurderingsform med at inkludere en sikkerhedsfaktor efter OECD's kriterier, og det giver en grænseværdi værdi på 0,003 mg klor l<sup>-1</sup> for kronisk påvirkning. De 3 µg klor l<sup>-1</sup> svarer til ca. 20 µg kloramin-T l<sup>-1</sup> eller 0,02 mg kloramin-T l<sup>-1</sup>. Dette krav kan i de her skitserede regneeksempler kun opfyldes ved en recirkuleringsgrad på 90 % og

en stofreduktion på 50 % pr. gennemløb, eller ved at kun enkelte damme af de 10 i modellen kan behandles samtidig. Det betyder, at der skal udvises stor forsigtighed ved anvendelse af kloramin-T.

Dette scenarium er dog baseret på en konservativ betragtning af kloramin-T, idet der her er indregnet en henfaldstid på 1 døgn. Alle henfaldstider på over 10 timer har minimal effekt på maksimalkoncentrationen. Henfaldstiden for kloramin-T i dambrugsvand karakteriseret ved et relativt højt indhold af organisk materiale er ukendt.

Under forudsætning af at OECD-værdierne skal holdes, må højst 5 af de 10 mellemstore damme behandles samtidigt, og recirkuleringsgraden skal holdes over 90 % i en periode i størrelsesordenen 2 - 5 timer efter behandlingen. Hvis recirkuleringsgraden er lavere kan endnu færre damme behandles samtidig.

For de øvrige hjælpestoffer bliver litteraturen mere sporadisk og handler især om effekten på de fisk der behandles og naturligvis på sygdomsvolderne. Det gælder især kaliumpermanganat.

### **Kaliumpermanganat**

Kaliumpermanganat afgiftes let under tilstedeværelse af organisk materiale og kan anvendes til at reducere effekter af lavt iltindhold. Normale behandlings-koncentrationer på 1-2 mg l<sup>-1</sup> er væk på 3 - 4 døgn. Der blev kun fundet en beskedent mængde litteratur, som hovedsageligt beskæftigede sig med toksiciteten hos fisk. For de mest følsomme arter lå toksiciteten på ca. 1 mg KMnO<sub>4</sub> l<sup>-1</sup>. For plankton *Diaptomus forbesi* lå LC<sub>50</sub> (96 h) på 0,18 mg KMnO<sub>4</sub> l<sup>-1</sup>.

Den begrænsede mængde data giver anledning til en vis forsigtighed i tolkningen. Efter OECD's anbefalinger skal applikationsfaktoren sættes til 100, hvilket betyder, at kaliumpermanganats grænseværdi vil være ca. 2 µg l<sup>-1</sup> ved kroniske påvirkninger. Dette krav kan i de skitserede regneeksempler ikke opfyldes. Mindsteværdierne ved 90 % recirkulering og 50 % reduktion i rensforanstaltningerne er dobbelt så høje som efter OECD's beregningsmetode. Ved udledningen kan det forventes, at de 2 µg l<sup>-1</sup> er overskredet i ca. 14 timer. Overholdelse af kravene kræver, at antallet af behandlede damme reduceres til 2 samtidig, med at recirkuleringen og reduktionen i rensforanstaltningerne bibeholdes på hhv. 90 % og 50 %.

Kaliumpermanganat kan derfor kun anvendes i meget beskedent omfang.

Dette scenarium er dog baseret på en konservativ betragtning af kaliumpermanganat, idet der her er indregnet en henfaldstid på 1 døgn. Med en så lang henfaldstid er effekten af henfaldet på maksimalkoncentrationen forsvindende. Henfaldstiden for

kaliumpermanganat er ukendt i dambrugsvand, karakteriseret ved et relativt højt indhold af organisk materiale.

Under forudsætning af at OECD-værdierne skal holdes, må højst 2 damme af type 2 behandles samtidigt, og recirkuleringsgraden skal holdes over 90 % i en periode på 2 - 5 timer efter behandlingen.

### **Hydrogenperoxid (brintoverilte)**

Hydrogenperoxid dannes i naturen under fotosyntesen i vandplanter og kan give koncentrationer op til 170  $\mu\text{g l}^{-1}$ . I regnvand kan UV-stråler danne koncentrationer på 2  $\text{mg l}^{-1}$  og dermed give høje koncentrationer i vandløb og søer. Nede i vandet kan UV-lyset gå i forbindelse med organisk materiale og danne koncentrationer på 27  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Det kan også oxidere det organiske materiale såvel som metaller f.eks. jern, hvorved det selv nedbrydes. Den største nedbrydning sker dog mikrobielt, selv om bakterier hører til de mest følsomme organismer, idet væksten hæmmes ved få mikrogram  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Fisk, både som æg og yngel, er upåvirket af koncentrationer på ca. 6  $\text{mg l}^{-1}$ , hvilket dog også kun er 4 % af de koncentrationer, der i Norge bruges til bekæmpelse af lakselus (krebsdyr). Selv ved behandlinger med 1,5  $\text{g l}^{-1}$  inaktiveres lakselus kun og er få timer senere aktiv igen. Dyr såvel som planter er fremragende til at afgifte  $\text{H}_2\text{O}_2$ , ikke mindst ved dannelse af enzymerne catalase og hydrogenperoxidase. Hydrogenperoxid-koncentrationer op til 0,5-1  $\text{mg/l}$  kan opnås i naturen ved overfladisk afstrømning til vandløbene. Lejlighedsvisse tilledninger af  $\text{H}_2\text{O}_2$  i dette koncentrations-interval kan således ikke siges at påvirke de naturlige vandsystemer.

Uden risiko for de naturlige vandsystemer kan der ifølge ovenstående doseres samtidigt i 10 af de store damme, dette endog uden recirkulering og med ned til kun 10 % reduktion under passage af biofilter/bundfældningsbassin. Ved større reduktionsgrader, samt ved en kortere halveringstid end 180 minutter, kan yderligere damme doseres samtidigt, hvis det ønskes. Da det normalt højst vil være praksis at dosere 1 - 5 damme samtidigt, skønnes der ikke at være behov for særlige foranstaltninger vedr. f.eks. recirkulering ved brug af brintoverilte. Såfremt recirkuleringsgraden øges under brugen, reduceres udledningen dog yderligere. Koncentrationsforløbet igennem dambruget viser, at efter 6 timer kan der atter doseres uden at det har betydning for koncentrationen i vandløbet.

### **Kobber**

Det bedst undersøgte hjælpestof er kobber, og her er det ikke mindst litteraturen om vandløb (floder), der har fungeret som recipient for kobberværker, som er relevante.

Kobber forekommer naturligt i koncentrationer på 1 - 3  $\mu\text{g l}^{-1}$  højest i søer. Kobber er et essentielt mikronæringsstof. Det optages let og akkumuleres i store mængder i mange dyr og planter. Kobberets effekt er afhængig af den mængde kobber, organismene allerede har

optaget. Der kan hos fisk være tale om en akklimatisering. Fjernes forureningskilden vil faunaen genetableres.

Litteraturen anbefaler, at kobberkoncentrationerne holdes under 5 - 10  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Flere lande har sat en grænseværdi på 2 - 5  $\mu\text{g kobber l}^{-1}$ , det dobbelte af det naturligt forekommende. Dette svarer til 5 - 13  $\mu\text{g CuSO}_4 \text{ l}^{-1}$ .

De resulterende vandløbskoncentrationer i de pågældende dambrugsmodeller der ligger til grund for denne undersøgelse, ligger alle lavere end 5  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Den højeste koncentration, som blev beregnet, var på 4,86  $\mu\text{g CuSO}_4 \text{ l}^{-1}$  ved gennemstrømmende vand og manglende tilbageholdelse i anlægget, hvilket fortsat er under den laveste grænseværdi i litteraturen. I dette tilfælde er koncentrationen endda kun over 2,5  $\mu\text{g CuSO}_4 \text{ l}^{-1}$  i ca. 4 timer. Anvendes kobbersulfat i dambrugene som skitseret i denne undersøgelse, vil det ikke udgøre nogen effekt på miljøet.

De resulterende maksimalt opnåede koncentrationer i regneeksemplerne ligger tæt på de anbefalede mindste koncentrationer. Der er derfor ikke plads til yderligere tiltag, der giver anledning til øgede udledte kobberkoncentrationer. Der er dog intet til hinder for, at der kan doseres med 12 timers interval.

Recirkulering vil reducere de maksimale koncentrationer af kobber i vandløbet til størrelsesorden væsentligt under de anbefalede mindsteværdier.

### **Jodofor**

Jodofor er et jod-præparat, hvor det aktive stof er jod, som naturligt findes i miljøet. Den tilgængelige litteratur omhandler hovedsagelig desinfektion af æg for at forebygge overførsel af smitstoffer til æg.

Toksiciteten af jodofor i forbindelse med vandhærdning af æg er blevet undersøgt for forskellige laksearter. Det er vist, at ægdødelighed ikke kun er afhængig af varighed og dosis, men også fiskeart. Toksiciteten er endvidere afhængig af pH, jo højere pH desto højere koncentration kan tolereres. Effekten af jodofor nedsættes i forbindelse med organisk stof. Endvidere er den aktive jodforbindelse mest stabil ved lave vandtemperaturer.

Jodforbindelsen beskrives i lærebøger at være giftig for fisk. Der er ved søgningen ikke fundet videnskabelig litteratur, som bekræfter dette. Der er ikke fundet litteratur, som gør det muligt at fastsætte en grænseværdi.

## **20.4 Lægemidler**

I danske ferskvandsdambrug anvendes lægemidlerne oxolinisyre og kombinationspræparatet sulfadiazin/trimethoprim til bekæmpelse af bakterielle sygdomme hos fisk. Begge lægemidler er godkendt til

brug i fisk og anvendes ved behandling af rødmundsyge (*Yersinia ruckeri*) og furunkulose (*Aeromonas salmonicida*).

De godkendte lægemidler er ikke effektive ved behandling af yngeldødelighedssyndromet (YDS) forårsaget af *Flavobacterium psychrophilum*. I den situation er det muligt for dyrlæger at opnå godkendelse fra Lægemiddelstyrelsen til brug af lægemidlerne oxytetracyklin, amoxicillin og florfenicol.

Ud fra et miljømæssigt synspunkt vil det være bedre at forebygge ved vaccination for de sygdomme, hvor det er muligt. På sigt bliver vaccination om muligt mere effektiv, og der udvikles måske andre alternativer så som probiotika og immunostimulerende stoffer, som kan medvirke til en nedgang i brugen af antimikrobielle midler i dambrug. Men står man med et udbrud af en bakteriel sygdom, vil antibiotika være en nødvendighed som behandlingsmiddel.

### **Tribrissen®vet**

Tribrissen, der er et bredspektret kemoterapeutikum, består af stofferne sulfadiazin og trimethoprim i forholdet 5:1. De to stoffer blokerer hvert sit trin i folinsyresyntesen, hvorved der fås en synergistisk virkning (baktericid-effekt). Behandlingen foregår via medicineret foder, og behandlingsstrategien er 30 mg/kg fisk i 5 dage.

Ved toksicitetsundersøgelser over for 2 ferskvandsalgearter fandtes EC<sub>50</sub>-værdier, der viser, at der skal være forholdsvis høje niveauer af trimethoprim og sulfonamid til stede for at give en toksisk effekt. Andre undersøgelser viser, at alger er mere følsomme over for antimikrobielle stoffer end krebsdyr og fisk.

Ved nedbrydning i regnbueørreder genfandt ca. 15 % af trimethoprim uomdannet i urinen efter intravenøs injektion af stoffet, endvidere kan der ske en udskillelse af uomdannet trimethoprim over gællerne. Der er fundet en halveringstid for trimethoprim på 36,1 timer. For et sulfonamid (sulfadimidine) fandtes halveringstider i regnbueørred på 20,6 timer ved 10 °C og 14,7 timer ved 20 °C.

I forbindelse med medicinerer ser ud til, at mindst 47 % af den indtagne mængde Tribriksen passerer tarmkanalen uden at blive optaget og udskilles med fæces. Hertil kommer den mængde, der udskilles uomdannet fra fisken efter optagelse, og endelig den mængde som tilføres miljøet via ikke-indtaget foder. I modelberegningerne bruges den totale mængde tilført Tribriksen som udgangspunkt, og man må så have for øje, at koncentrationerne i dambrugene vil være lavere som følge af den mængde, der optages og omdannes i fiskene. Den forventede maksimale koncentration vil således være betragtelig under de estimerede ca. 10 µg l<sup>-1</sup>.

### **Resistensudvikling:**

Der er endnu ikke registreret problemer med Tribriksen resistente fiskepatogene bakterier i danske dambrug. Der er dog påvist



trimethoprim- og sulfonamid-resistens både blandt fiskepatogene bakterier og miljøbakterier. Både kromosomal-, plasmid- og transposom-kodet resistens er beskrevet.

### **Oxolinsyre**

Oxolinsyre tilhører gruppen af quinoloner. Oxolinsyre er en 1.-generations-quinolon, og er ikke særlig bredspektret. Oxolinsyre hæmmer den bakterielle DNA-gyrase og virker bakteriocidt. Behandlingen foregår via medicineret foder, og behandlingsstrategien er 12 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 7 dage.

Toksiciteten over for 2 ferskvandsalger viste EC<sub>50</sub>-værdier på henholdsvis 0,18 mg l<sup>-1</sup> (*Microcystis aeruginosa*) og 16 mg l<sup>-1</sup> (*Selenastrum capricornutum*).

OXA har en hæmmende virkning på immunsystemet i regnbueørreder, hvor både antistof-produktionen nedsættes, og antallet af hvide blodlegemer falder.

Biotilgængeligheden hos regnbueørred er sandsynligvis dosisafhængig, og der rapporteres vidt forskellige værdier, f. eks. nævnes en biotilgængelighed på 90,7 % hos regnbueørreder ved 14° C efter en dosis på 5 mg kg<sup>-1</sup> fisk. Ved nedbrydning i fisk er der fundet halveringstider i regnbueørred varierende fra 20 timer op til 81,3 timer. Halveringstiden synes at være temperaturafhængig, en temperaturforøgelse på én grad medfører en stigning på 10 % i fiskens stofskifte og dermed i udskillelsen.

Opløseligheden i vand er lav 4 mg l<sup>-1</sup>, men den anvendte koncentration er på 0,05 mg l<sup>-1</sup>. Ved modelleringen doseres 5 af 10 damme til sættefisk, den maksimale koncentration er på ca. 0,002 mg l<sup>-1</sup> eller 2 µg l<sup>-1</sup>, og stoffet er ude af dambruget igen efter 12 timer.

Der sker tilsyneladende en hurtig nedbrydning af oxolinsyre i sediment. Ved udsættelse for synligt lys øges nedbrydningen af oxolinsyre tilsyneladende ikke.

### **Resistensudvikling:**

Bakteriel resistens over for quinoloner skyldes hovedsagelig kromosomale mutationer på et eller flere gener, som er involveret i syntesen af DNA-gyrase eller celle-membran-proteiner. Der er fundet øget frekvens af resistens i sediment tilsat oxolinsyre. Endvidere er set en vis krydsresistens til andre antibiotika - oxytetracyklin og furazolidon, som kunne tyde på, at den observerede resistens er af en uspecifik natur f.eks. i form af mutationer, som fører til ændret membranpermeabilitet.

### **Oxytetracyklin**

Oxytetracyklin er et bredspektret antibiotikum. Tetracyklin hæmmer proteinsyntesen i bakterier og har en bakteriostatisk virkning. Til behandling af yngeldødelighedssyndromet blandes oxytetracyklin i

foderet i koncentrationen 1 %, og der behandles med 80 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 10 dage.

Toksicitetsundersøgelser med 2 ferskvandsalger viste EC<sub>50</sub>-værdier på henholdsvis 0,21 mg l<sup>-1</sup> (*Microcystis aeruginosa*) og 1,6 mg l<sup>-1</sup> (*Selenastrum capricornutum*).

Oxytetracyklin har indvirkning på immunsystemet hos regnbueørreder. De specifikke antistoffer i plasma blev nedsat efter behandling med oxytetracyklin, ligesom "respiratory burst" og antal hvide blodlegemer var nedsat.

Biotilgængeligheden af oxytetracyklin efter medicinering i foder til regnbueørreder er ret lav. Kun 7 - 9 % af oxytetracyklin blev absorberet efter fodermedicinering. Selve optagelsen over fiskens tarm er forholdsvis langsom, og de højeste serum og muskelkoncentrationer opnås først efter henholdsvis 72 og 96 timer efter oral tilsætning af 150 mg pr. kg fisk ved 7 °C. Det ses altså, at oxytetracyklin kun absorberes og fordeles til fiskens væv i ringe udstrækning, og dette betyder samtidig, at en betydelig del af det administrerede oxytetracyklin vil havne uomdannet i miljøet efter passage af fiskens tarm.

Ved anvendelse af modellen er der ikke taget hensyn til nogen omsætning undervejs eller fjernelse i filteret. Der er doseret 10 af de 20 damme med yngel. Den maksimale koncentration i vandløbet er ca. 0,01 mg l<sup>-1</sup>, og stoffet vil være udtømt på ca. 4 timer.

Det tyder på, at sedimentering ikke er den vigtigste slutskabne for oxytetracyklin, vist ved at kun i størrelsesordenen 1,1±0,9 % af den tilførte mængde oxytetracyklin til havbrug aflejres i sediment. Endvidere er det fastslået, at den biologiske aktivitet af oxytetracyklin er markant nedsat ved tilstedeværelse af ferskvands-sediment. I kraft af adsorption til foderpartikler og fæces vil der forventes en vis bundfældning, men tilsyneladende er denne effekt ret begrænset, og det er derfor rimeligt, som i de simple modeller at antage, at stoffet opløses og fordeles i vandfasen.

Halveringstider hos regnbueørred ved 15 °C er påvist i henholdsvis serum, muskelvæv og lever på 23,2, 81,5 og 87,1 timer, og elimineringsstider efter oral dosering af 100 mg pr. kg fisk på 5,0, 11,8 og 22,1 dage i de samme væv. Der ses en kortere halveringstid ved stigende vandtemperaturer.

I vandige opløsninger sker nedbrydningen af oxytetracyklin hovedsagelig under forhold, hvor synligt lys og UV-lys kan påvirke stoffet. Undersøgelser fra ferskvandsdambrug er sjældne, men i en undersøgelse er der målt koncentrationer i et ferskvandsdambrug (lakseklækkeri) ved hjælp af HPLC med en detektionsgrænse på 0,02 µg ml<sup>-1</sup>. Oxytetracyklin blev fundet i filtermaterialet, hvilket giver formodning om, at en filtrering af vandet vil nedsætte udledningen af oxytetracyklin i kraft af adsorption til filtermaterialet.

Resistensudvikling:

Oxytetracyclin er kendt for udvikling/selektering af resistente bakterier. Der er gennem de senere år set en øget resistens blandt *Flavobacterium psychrophilum* over for oxytetracyclin, og denne udvikling har givet udslag i nedsat/manglende effektivitet ved behandling af YDS i praksis. Der er fundet øget frekvens af oxytetracyclin resistens efter behandling i ferskvandsdambrug.

Det er også vist, at man i dambrug kan finde øget frekvens af oxytetracyclinresistens efter tilsætning af ikke-medicineret foder. Konklusionen er, at visse miljøer med meget organisk materiale og igangværende nedbrydningsprocesser kan selektere for oxytetracyclin resistens. Baggrunden for en sådan resistens kendes ikke, men kunne være ændret membran-permeabilitet, og er i så fald ikke overførbart til andre mikroorganismer.

### **Amoxicillin**

Amoxicillin er et bredspektret antibiotikum, som tilhører gruppen af penicilliner og har bakteriocid effekt. Til behandling af yngeldødelighedssyndromet blandes amoxicillin i foderet, og der behandles med 80 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 10 dage.

Toksiciteten over for 2 ferskvandsalger viste EC<sub>50</sub>: 3,7 µg ml<sup>-1</sup> (*Microcystis aeruginosa*) og en anslået NOEC-værdi på 250 mg ml<sup>-1</sup> over for *Selenastrum capricornutum*.

Modellen er anvendt under forudsætningen af, at stoffet ikke omsættes eller fjernes i biofilteret undervejs gennem dambruget. Der er doseret i 10 af 20 yngeldamme. Den maksimale koncentration i vandløbet er på 0,01 mg l<sup>-1</sup>, og stoffet er ude af dambruget efter 4 timer.

Resistensudvikling:

Der er set en begyndende resistensudvikling blandt *Flavobacterium psychrophilum*. Derudover foreligger ingen undersøgelser over udviklingen af resistens over for amoxicillin i dambrug eller i akvatiske miljøer i det hele taget.

### **Florfenicol**

Florfenicol tilhører samme stofgruppe som kloramfenikol og er et bredspektret antibiotikum med bakteriostatisk effekt.

Til behandling af yngeldødelighedssyndromet blandes florfenicol i foderet, og der behandles med 10 mg kg<sup>-1</sup> fisk i 10 dage.

Der er beskrevet en uspecifik hæmning af immunsystemet (nedsat respiratorisk burst) 5 - 6 uger efter vaccination i den gruppe regnbueørreder, som var behandlet med florfenicol.

Efter oral indtagelse i fisk findes en meget høj biotilgængelighed af florfenicol hos laks i saltvand. Angivne værdier er fra 96,5 % til 99 %. En stor del af den optagne florfenicol nedbrydes til det inaktive

produkt florfenicol-amin, som udskilles i urin og galde. Dette viser, at modelberegningerne vil give overestimerer for florfenicolkoncentrationerne, når man som udgangspunkt regner med, at hele den doserede mængde florfenicol fordeles i dambrugsvandet.

I beregningen er der taget højde for at florfenicol let omsættes, idet procent fjernelse pr. gennemløb i filter og bundfældningsanlæg er sat til 50 %. Da stoffet er vandopløseligt, burde modellen kunne anvendes. Den maksimale koncentration i vandløbet er 0,6 mg l<sup>-1</sup>, når 10 af de 20 yngeldamme behandles samtidigt.

Resistensudvikling:

Der er endnu ikke påvist resistens blandt *Flavobacterium psychrophilum* over for florfenicol. Der er mulighed for, at brugen af florfenicol kan give øget resistens over for kloramfenicol og thiamphenicol.

### **Bedøvelsesmidler**

I forbindelse med stryging eller vaccinerings kan anvendes bedøvelse af fisk. Chlorbutanol er det foretrukne middel, der anvendes i Danmark.

### **Chlorbutanol**

Den litteratur, der er tilgængelig om chlorbutanol, omhandler hovedsagelig forhold vedrørende dosering og varighed af bedøvelsen. Da stoffet har sundhedsfarlige egenskaber, skal personer, der arbejder med stoffet, foretage de nødvendige sikkerhedsforanstaltninger.

### **Benzocain**

Benzocain hydrolyseres til *para*-aminobenzosyre. Under eksperimentelle forhold var den tilsatte koncentration af benzocain konstant i vand uden fisk i mere end 4 timer. Efter optagelse af benzocain i regnbueørred udskilles den gennem gællerne enten uforandret eller som acetylbenzocain, og gennem urinen som *p*-aminobenzosyre og *p*-acetamidobenzosyre. Farmakokinetiske undersøgelser af benzocain i regnbueørreder har vist, at benzocain elimineres hurtigt fra plasma.

### **Forebyggende tiltag**

For at forebygge sygdomme ønskes et forbedret immunforsvar, som kan opnås ved anvendelse af vacciner og/eller immunostimulerende stoffer. Endvidere er forskningen inden for probiotika til fisk stigende forårsaget af kravet om et mere miljøvenligt opdræt.

### **Immunostimulerende stoffer**

Forskning inden for immunostimulerende stoffer er stigende og allerede nu ses anvendelse ved opdræt af fisk. Mange forskellige forbindelser har vist sig at have en effekt på immunsystemet. Bivirkningerne ved anvendelse er endnu dårligt belyst. En overdosering har vist sig at nedsætte immunforsvaret.

### **Vacciner**

I Danmark er der registreret vacciner til fisk mod sygdommene: rødmundsyge, vibriose og furunkulose (furunkulosevaccinen fås kun kombineret med rødmundsyge og vibriose). Vaccinering foregår enten ved injektion eller bad.

### **Probiotika**

Ændringer i vandmiljøet har især betydning for fiskelarver, hvor fordøjelseskanalen og immunsystemet endnu ikke er fuldt udviklet. Derfor vil en behandling med probiotika især være ønskelig i yngelopdræt.

## **20.5 Forslag til videnopbygning**

### **Modeller**

De mange beregninger og modelkørsler der er foretaget i denne rapport, har vist at for nogle stoffer kan samtlige damme i et anlæg doseres samtidig, uden at det vil føre til koncentrationer der kan skade vandløbets dyre- og planteliv. For andre stoffer er det nødvendigt at lægge begrænsninger på antallet af damme der kan doseres samtidigt, og det kan være nødvendigt at recirkulere vandet, for at de resulterende koncentrationer i vandløbet ikke skal overskride en given værdi.

- Det er nødvendigt at verificere modeller til koncentrationsberegninger i vandløbet og i dambruget.
- Der skal opbygges en mere fleksibel model baseret på et modelværktøj.

Som påpeget vides der generelt for lidt om stoffernes omsætning og binding i dambrugets damme, biofilter og bundfældningsanlæg. Ingen af de anvendte hjælpestoffer kan i virkelighedens verden forventes at optræde som konservative. I det følgende er listet nødvendig viden, såfremt man skal kunne forudsige, hvilke koncentrationer der resulterende vil findes i vandløbet.

### **Formalin**

- Der er behov for bestemmelse af biologiske halveringstider i dambrugsvand og -sediment, herunder også halveringstidens afhængighed af relevante parametre såsom temperatur, BI<sub>5</sub>-indhold og iltniveau. Dette kan gøres i simpel laboratorieopstilling.
- Der er behov for fastlæggelse af omfanget af binding/omsætning (biologisk og kemisk) under passage af biofilter og bundfældningsanlæg. Også her bør sammenhængen med temperatur, BI<sub>5</sub> og iltforhold undersøges. Dette bør gøres vha. målinger på dambrug under dosering af formalin. Korrektionskoefficienter for temperatur, BI<sub>5</sub> og iltindhold fastlægges dog

formentlig bedst ved laboratorieforsøg under kontrollerede betingelser.

- Der er behov for at få fastlagt, hvorledes doseringspraksis kan reguleres efter de givne parametre (temperatur, BI<sub>5</sub>, ilt) på doseringstidspunktet, uden at effekten nedsættes.

#### **Kloramin-T**

- Det er vanskeligt at anvende kloramin-T samtidig i større sektioner af det skitserede dambrug uden at overskride grænseværdierne. Høj grad af recirkulering og omsætning i biofilter/bundfældningsbassin er en forudsætning for ikke at overskride grænseværdierne.
- Det er derfor nødvendigt at få beskrevet henfaldstiden af kloramin-T i dambrugsvand. Herunder bør eksisterende analysesæt af dambrugsvands indhold af organisk materiale analyseres, og betydende parametre som vandføring/nedbørs effekt på mængderne af organisk materiale samt fiskeaktivitet beskrives og kvantificeres.
- Grundlaget for en mere nuanceret behandlingspraksis bør skabes ved at fastslå sammenhængen mellem effekt af behandling med kloramin-T og mængden af organisk materiale i vandet. Desuden bør effekten af parametre som temperatur og pH belyses.
- Der mangler viden om kloramins indflydelse på invertebrat-faunaen og de benthiske alger nedstrøms dambrug.

#### **Kaliumpermanganat**

- Det anbefales, at henfaldstiden af kaliumpermanganat i dambrugsvand beskrives. Herunder bør dambrugsvandets indhold af organisk materiale beskrives/analyseres, og betydende parametre som vandføring/nedbørs effekt på mængderne af organisk materiale belyses.
- Omsætningen i såvel bundlag som i biologiske filtre og i bundfældningsbassiner bør estimeres under hensyntagen til disses varierede udformning mht. kontaktflade, opholdstid m.v.
- Det anbefales, at grundlaget for en mere nuanceret behandlingspraksis skabes ved at fastslå sammenhængen mellem effekt af behandling med kaliumpermanganat og mængden af organisk materiale i vandet. Desuden bør effekten af parametre som temperatur og pH belyses.
- Det anbefales at undersøge effekter på planter (alger på bunden) nedstrøms dambrug, da det især er disse, som er følsomme over for kaliumpermanganat.

### **Hydrogenperoxid**

- Der er behov for bestemmelse af biologiske halveringstider i dambrugsvand og -sediment, herunder også halveringstidens afhængighed af relevante parametre såsom temperatur, BI<sub>5</sub>-indhold og iltniveau. Dette kan gøres i simpel laboratorieopstilling.
- Der er behov for fastlæggelse af omfanget af binding/omsætning (biologisk og kemisk) under passage af biofilter og bundfældningsanlæg. Også her bør sammenhængen med temperatur, BI<sub>5</sub> og iltforhold undersøges. Dette bør gøres vha. målinger på dambrug under dosering. Korrektions-koefficienter for temperatur, BI<sub>5</sub> og iltindhold fastlægges dog formentlig bedst ved laboratorieforsøg under kontrollerede betingelser.
- Effekt og doseringspraksis bør undersøges yderligere, og det bør undersøges, i hvor stort omfang stoffet kan erstatte andre midler.

### **Kobbersulfat**

- Det anbefales, at kobbers binding til organisk materiale i dambrugsvand beskrives. Herunder bør en beskrivelse af dambrugsvandets indhold af organisk materiale analyseres, og betydende parametre som vandføring/nedbør og fiskeaktivitet beskrives.
- Tilbageholdelsen af kobber i damme/kanaler såvel som i mekaniske/biologiske filtre samt i bundfældningsbassinet bør estimeres.
- Det anbefales, at grundlaget for en mere nuanceret behandlingspraksis skabes ved at fastslå sammenhængen mellem effekt af behandling med kobber og mængden af organisk materiale i vandet samt temperatur og pH.

### **Tribrissen®vet**

- Der mangler undersøgelser, der kan belyse omsætningen af tribrissen i ferskvandsmiljøer med opdræt af regnbueørreder.
- Resistensudviklingen i både patogene og miljøbakterier bør følges løbende (er også gældende ved de efterfølgende antibiotika).

### **Oxolinsyre**

- Der er beskrevet en HPLC-metode til bestemmelse af oxolinsyre, men metoden har ikke været anvendt i praksis.
- Der mangler oplysninger om halveringstider i sedimenter under ferskvandsdambrug. De undersøgelser, der foreligger, viser, at koncentrationen i mikrokosmos nåede detektionsgrænsen 6 dage efter ophør af "behandling", og også under havbrug, som havde været behandlet, kunne oxolinsyre kun detekteres i små koncentrationer i få dage efter behandlingen. Andre beskriver i modsætning hertil en meget høj grad af persistens af oxolinsyre i

sediment under laboratorieforhold. De finder praktisk talt ingen nedbrydning sted efter 180 dage.

### **Oxytetracyclin**

- Oxytetracyclin kompleksbindes af kalcium, magnesium, jern o. lign., og dette gør det nærmest umuligt at sammenligne de forholdsvis mange undersøgelser over aktivitet, persistens og nedbrydning i marint miljø med forhold, der er relevante for denne undersøgelse - nemlig ferskvand.
- Desuden vil recirkulering i sammenhæng med den interne nedbrydning af oxytetracyclin i vandfasen selvsagt reducere udledning til miljøet. Ligesom sedimenteringsbassinet vil reducere udledningen i kraft af en forøget opholdstid og dermed nedbrydning inde på dambruget.
- Endelig må man formode en øget nedbrydning (photo-oxidation) af oxytetracyclin efter passage gennem et UV-anlæg, men dette er ikke undersøgt i praksis. Selv om bundfældning ikke synes vigtig, vil restkoncentrationer i sediment sandsynligvis hurtigt nedbrydes, hvis praksis indebærer at slammet udsættes for sollys.

### **Amoxicillin**

- Der foreligger enkelte undersøgelser af nedbrydning af amoxicillin i fisk og vandmiljøet, men de er kun foretaget på laks og i marint miljø. Konkrete farmakokinetiske undersøgelser af amoxicillin i regnbueørreder og fisk mangler.
- Der foreligger ingen undersøgelser af bundfældning af amoxicillin, men eventuelle restkoncentrationer i sediment vil sandsynligvis hurtigt nedbrydes, hvis praksis indebærer, at slammet udsættes for sollys. Endelig må man formode en øget nedbrydning af amoxicillin efter passage gennem et UV-anlæg, men dette er ikke undersøgt.

### **Florfenicol**

- Der forefindes ingen undersøgelser af de økologiske effekter af florfenicol. Ligeledes foreligger ingen undersøgelser af bundfældning af florfenicol og dets videre skæbne i slam.
- Der foreligger en HPLC-metode til bestemmelse af florfenicol og nedbrydningsproduktet florfenicol-amin (som ikke er aktivt) i sediment. Undersøgelsen beretter dog intet om koncentrationer i praksis og er kun en metodebeskrivelse, hvor der bruges sedimentprøver med florfenicol tilsat i laboratoriet. Nedbrydning af florfenicol er undersøgt i laks, men kendes ikke hos ørreder.

### **Chlorbutanol**

- Nedbrydningen eller omsætning af chlorbutanol i bedøvelsesvæsken er ikke beskrevet i den tilgængelige litteratur.



### **Benzocain**

- Hvad der yderligere sker i vandmiljøet med den nævnte forbindelse er tilsyneladende ikke undersøgt. Effekten på økosystemet er heller ikke undersøgt. Da der findes en velbeskrevet metode (væskekromatografi) til påvisning af benzocain, vil det være muligt at påvise stoffet i vandmiljøet.

### **Immunostimulerende stoffer**

- Bivirkningerne ved anvendelse af immunostimulerende stoffer er dårligt belyst. Hvis der er effektive vacciner tilgængelige, er det den bedste måde at forebygge sygdomme på. På nuværende tidspunkt findes der ikke en registreret vaccine mod yngeldødelighedssyndromet. Påvirkning på miljøet er ikke belyst, men antages at være af mindre betydning.

### **Probiotika**

- Det er ikke beskrevet, hvad der sker i miljøet både vandmiljøet og fiskenes tarmmiljø med den anvendte mikroorganisme. For at påvise og spore de anvendte probiotika bør der udvikles immunologiske og molekylære prober.