



(12) **PATENT**

(19) **NO**

(11) **323529**

(13) **B1**

NORGE

(51) **Int Cl.**

A23K 1/00 (2006.01)

A23K 1/16 (2006.01)

A23K 1/18 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20051993	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	
(22)	Inng.dag	2005.04.25	(85)	Videreføringsdag	
(24)	Løpedag	2005.04.25	(30)	Prioritet	2004.05.13, NO, 20041973
(41)	Alm.tilgj	2005.11.14			
(45)	Meddelt	2007.06.04			
(73)	Innehaver	Trouw International BV, Veerstraat 38, 5831JN BOXMEER, Nederland			
(72)	Oppfinner	Wolfgang M Koppe, Balders gate 12, 4011 STAVANGER Andries Jan Roem, Jhr. Mr Molleruslaan20, 7316A V APELDOORN, Nederland Alexander Brinker, Hinzistobler Strasse 5, 88212 RAVENSBURG, Tyskland			
(74)	Fullmektig	Håmsø Patentbyrå ANS, Postboks 171, 4302 SANDNES			
(54)	Benevnelse	Fremgangsmåte for reduksjon av innholdet av uønskede næringsstoffer i avløpsvann fra fiskeoppdrettsanlegg.			
(56)	Anførte publikasjoner	Fox, J.E., 1992, Seed gums, In: Imeson, A. (ed), Thickening and gelling agents for food, Blackie Academic& Professional, London,s 262-282 Onsøyen, E.,1992, Alginates, In: Imeson, A. (ed), Thickening and gelling agents for food, Blackie Academic& Professional, London, s 22-44. Spyridakis et al., 1989, "Studies on nutrient Digestibility in _l .", Aquacult, 77, s 71-73. Storebakken&Austreng, 1987, "Binders in fish feeds _l II", Aquacult.,60,s 121-131 Storebakken, T., 1985, "Binders in fish feeds _l I", Aquacult., 47,s 11-26			
(57)	Sammendrag				

Oppdrettsfôr for fisk i ferskvann, hvor fôret er av presset eller ekstrudert type og inneholder stivelse som ordinært bindemiddel, hvor det i fôret ut over innholdet av stivelse som ordinært bindemiddel er tilsatt inntil 25 g pr. kg inngående fôringredienser av et fekalt bindemiddel av ikke--stivelses-type. Fremgangsmåte for reduksjon av innholdet av uønskede næringsstoffer i avløpsvann fra et fiskeoppdrettsanlegg, hvor det til fôringrediensblandingen for et oppdrettsfôr av presset eller ekstrudert type og inneholdende stivelse som ordinært bindemiddel, tilsettes inntil 25 g pr. kg inngående fôringredienser av et fekalt bindemiddel av ikke-stivelses-type ; fisken føres med oppdrettsfôret, og avføringen fjernes fra fiskeoppdrettsanlegget.

FRAMGANGSMÅTE FOR REDUKSJON AV INNHOLDET AV UØNSKEDE NÆRINGSSTOFFER I AVLØPSVANN FRA FISKEOPPDRETTSANLEGG

Oppfinnelsen vedrører en framgangsmåte for å redusere innholdet av uønskede næringsstoffer i avløpsvann fra et fiskeoppdrett, nærmere bestemt ved at oppdrettsfisk føres med et oppdrettsfôr som er tilført en ingrediens som øker partikkelstørrelsen til ørretavføring (feces), hvoretter avføringen fjernes fra avløpsvannet ved mekanisk filtrering.

Fiskeoppdrett i ferskvann representerer en forurensingskilde ved at fôrrester og avføring (feces) i fast og oppløst form vil kunne tilføre et nærliggende vassdrag uønskede næringsstoffer via avløpsvannet fra oppdrettsanlegget. Særlig tilførselen av fosfor er vurdert å være et problemområde for næringen.

Innholdet av næringsstoffer forsøkes redusert ved å anvende lettfordøyelig fôr, ved å unngå fôrtap, ved teknisk god kvalitet på oppdrettsanlegget og ved behandling av avløpsvannet. Selv om mange tiltak har vist seg å være effektive, er et ytterligere forbedringspotensial vurdert til å være forholdsvis lite på grunn av fysiske, biologiske og økonomiske restriksjoner.

Avløpsvannet fra et typisk ørretoppdrett i ferskvann viser følgende karakteristiske trekk:

Avføringen som i stor grad foreligger som suspenderte partikler, inneholder det meste av fosforet, det meste av det biologisk nedbrytbare materialet og en betydelig del av det totale nitrogeninnholdet. Mekanisk rensing av avløpsvannet viser likevel store variasjoner i behandlingseffekt (Cripps, S.J. (1994): *Minimizing outputs: treatment*. Journal of Applied Ichthyology, 10, 284-294):

Tabell 1: Prosent partikkelbundne forurensende stoffer i forhold til totalmengde samt effektivitet av trommelfiltrering av avløpsvann fra ørretoppdrett

	Partikkelbundet fraksjon	Fjernet ved rensing	
		Nedre grense	Øvre grense
Totalmengde fosfor	Opptil 90 %	47 %	84 %
Totalmengde nitrogen	Opptil 32 %	7 %	32 %
BOD ₅	Over 80 %	21 %	80 %
Faststoffer	-	19 %	91 %

BOD₅ = Biological Oxygen Demand, biologisk oksygenbehov

En hovedårsak til disse forskjellene er forvitringen av de suspenderte avføringspartiklene til finere og mer oppløselige partikler. Forvitringen oppstår fordi skjærkreftene i turbulente soner i vannet, dannet av for eksempel fiskens bevegelse, pumper, strømningsfall m.m., bryter ned partiklene.

Oppfinnelsen har til formål å avhjelpe ulempene ved kjent teknikk.

Formålet oppnås ved trekk som er angitt i nedenstående beskrivelse og i etterfølgende patentkrav.

Formålet oppnås ved at avføringspartiklers skjærmotstand økes, slik at en nedbryting til partikler med mindre størrelse unngås.

I industrielt oppdrett av fisk er såkalt tørrfôr den mest brukte fôrtypen. Dette tørrfôret var tidligere såkalt presset fôr, men dette er mer og mer erstattet med såkalt ekstrudert fôr. Felles for begge fôrtyper er at de selges som tørre partikler eller fôrstykker. Disse fôrstykkene betegnes som pellets. Pelletene er i hovedsak sylinderformete der diameter/lengde-forholdet typisk er fra 1:1 til 1:2. Fisk av ulik størrelse krever ulik størrelse på pelleten. Således kan diameteren variere fra 1 mm til 12 mm. Pellets av andre størrelser og former forekommer også.

Ved produksjon av fiskefôr er det vanlig å tilsette et bindemiddel til fôrblendingen før forming i en presse eller en ekstruder. Dette er fordelaktig for å kunne gi pelletene stor nok mekanisk styrke til å bevare sin form fram til utfôring. For dårlig styrke vil medføre at pelleten knekkes eller knuses under lagring og transport, og dette medfører et tap siden støv og små bruddstykker av fiskefôr ikke kan føres til fisk. Den mekaniske styrken er også nødvendig for at pelleten skal tåle håndtering i utfôringsanlegg og for at den ikke skal løses opp i vann før den blir spist av fisken.

Det vanligst brukte bindemiddel er stivelse. Ved oppvarming sammen med vann og damp vil stivelsesgranulene swelle og danne et stivelsesnettverk. Dette skjer delvis i en såkalt forkondisjonør, delvis i pressen hvis en slik anvendes, og delvis i ekstruderen hvis en slik anvendes. En del ekstrudere opereres uten forkondisjonør slik at hele prosessen foregår i ekstruderen.

Den mest brukte stivelseskilden er hvete. Av økonomiske grunner brukes hel hvete som males sammen med de øvrige tørre råvarer som inngår i resepten for fiskefôret. Hvis resepten er "trang" kan det brukes hvetemel. Andre stivelser som gir binding er potetstivelse og maisstivelse, men også andre stivel-

ser som for eksempel tapioka kan brukes. Hvete inneholder proteinet gluten. Dette spesielle proteinet vil også være med på å binde sammen de øvrige ingrediensene i fiskefôr.

Mange fiskearter kan bare i begrenset grad nyttiggjøre seg rå stivelse. Laksefisk har for eksempel låg fordøyelighet av rå stivelse, men de kan i større grad fordøye kokt stivelse. Ekstruderings teknikken er derfor spesielt fordelaktig fordi det meste av stivelsen blir kokt i løpet av prosessen.

Innholdet av stivelse varierer fra fôrtype til fôrtype. I resepter der det ønskes et høyt innhold av både fordøyelig protein og fordøyelig fett, er hveteinnholdet lågt. Et hveteinnhold på omtrent 8 % (tørrvektsbasis) er representativt for slike resepter. I andre resepter kan ønsket være at det skal være forholdsvis mindre mengder av både fordøyelig protein og fordøyelig fett. I slike resepter trengs det fyllstoff, og hel hvete egner seg til dette formålet fordi hvete er et billig råstoff for fiskefôrindustrien. I slike resepter kan hveteinnholdet overstige 20 % (tørrvektsbasis).

Det er også kjent å bruke andre bindemidler for tillaging av fiskefôr. I noen sammenhenger er det ønskelig å bruke fersk eller frossen fiskemasse som ingrediens. I slike fôr er det vanlig å bruke polymerer som alginater og guar gummi som bindemiddel. Slike polymerer regnes for å være ufordøyelige for fisk. Dette i seg selv er en ulempe, og i tillegg er det kjent at alginat og guar gummi reduserer fordøyeligheten til protein og til fett. Således viser Storebakken (Storebakken, T. (1985): *Binders in fish feeds. I. Effect of alginate and guar gum on growth, digestibility, feed intake and passage through the gastrointestinal tract of rainbow trout*. *Aquaculture*, 47, 11-26) at proteinfordøyelighet og fettfordøyelighet avtar med økende mengde av disse bindemidlene i fôret. Den negative effekten var størst for guar gummi. I dette arbeidet

var lågeste innblanding 2 % av enten alginat eller guar gummi mens høyeste innblanding var 10 %. I eksperimentene som angikk fordøyelighet, ble det ikke brukt andre bindemidler.

Storebakken rapporterte også at vanninnholdet i fiskens avføring økte ved bruk av bindemiddel i forhold til fôr som ikke inneholdt bindemiddel.

I et seinere arbeid der Storebakken undersøkte betydningen av bindemidlets viskositet, ble seks forskjellige typer alginat brukt som bindemiddel. I denne studien ble det brukt 5 % alginat. Konklusjonene var de samme: Proteinfofordøyelighet og fettfordøyelighet var lavere enn for kontrollfôret uten bindemiddel, og tørrstoffinnholdet i fiskens avføring var mindre enn ved fôring av kontrollfôret (Storebakken, T. (1987): *Binders in fish feeds. II. Effect of different alginates on the digestibility of macronutrients in rainbow trout*. Aquaculture, 60, 121-131).

Spyridakis et al., 1989, *Studies on nutrient digestibility*, Aquaculture, vol. 77, s. 71-73, omtaler forsøk med europeisk havabbor ("sea bass") (*Dicentrarchus labrax*), hvor protein- og fettfordøyelighet ikke reduseres selv om det blandes inn økende mengde natriumalginat i fôret. Dette er i motsetning til det som er rapportert for pattedyr og det som er rapportert for regnbueørret.

Onsøyen, E., 1992, Alginates, i Imeson, A. (ed), *Thickening and gelling agents for food*, Blackie Academic & Professional, London, s. 22-44 omtaler generelt de kjennetegnene som er avgjørende for alginatenes virkning som tilsetningsstoff til matvarer. Det beskrives særlig hvordan naturen til brunalger, som anvendes til alginatframstilling, bestemmer alginatsammensetningen og dermed de funksjonelle egenskapene til alginatene. Fox, J.E., 1992, Seed gums, i Imeson A. (ed), *Thickening and gelling agents for food*, Blackie Academics &

Professional, London, s. 262-282 omtaler egenskapene til galaktomannaner, en gruppe tungt fordøyelige polysakkarider i frø, blant annet guar gummi.

Det har nå overraskende vist seg at ved å blande inn mindre
 5 mengder ufordøyelige bindemidler av ikke-stivelse-type (heretter også kalt fekale bindemidler) så som alginater og guar gummi, i fiskefôr der det anvendes stivelse som ordinært bindemiddel, oppnås det at avføringspartiklene får en bedre skjærmotstand. Samtidig viser det seg overraskende at pro-
 10 teinfordøyeligheten og fettfordøyeligheten ikke påvirkes negativt og at tørrstoffinnholdet i avføringen heller ikke forandres. Fekale bindemidler kan påvirke viskositet, elastisitet og strukturell stabilitet til fôrstoffer under fordøyelse og avføring. Tilsetning av fekale bindemidler til et
 15 fiskefôr kan også brukes til å regulere stabiliteten til avføringspartikler når disse befinner seg i vann. Til dette formålet kreves bare meget små mengder av et eller flere ufordøyelige bindemidler, idet dette/disser vil bli konsentrert under fordøyelsen og oppnår sin virksomme konsentrasjon
 20 lengst ute i fordøyelseskanalen.

Dette er fordelaktig av biologiske grunner siden negative effekter på fordøyelighet unngås eller minimaliseres.

Basert på disse effektene forårsaker tilsetning av visse fekale bindemidler til oppdrettsfôr for ferskvannsfisk, særlig
 25 til laksefisk, en økning i avføringspartiklenes hydromekaniske stabilitet, det vil si at partiklene i større grad motstår vannbevegelsens nedbrytende effekt, idet skjærmotstanden øker. En øket skjærmotstand reduserer nedbrytingen av partiklene når de utsettes for skjærkrefter, dvs. at når partikler
 30 med ulik skjærmotstand blir utsatt for samme hydromekaniske påkjenning, vil stabiliserte partikler opprettholde en større dimensjon. Store partikler vil bli mer effektivt utskilt ved

mekanisk behandling i for eksempel filter eller sedimenteringsbasseng. I tillegg vil en større andel av det totale næringsstoffinnholdet forbli bundet i partiklene fordi lekkasje fra større partikler er redusert pga. en redusert vannkontaktflate.

Oppfinnelsen vedrører således en framgangsmåte for reduksjon av innholdet av uønskede næringsstoffer i avløpsvann fra et fiskeoppdrettsanlegg idet det til føringrediensblandingen for et oppdrettsfôr av presset eller ekstrudert type og inneholdende stivelse som ordinært bindemiddel, tilsettes et tillegg av inntil 25 g pr. kg inngående føringredienser av et fekalt bindemiddel av ikke-stivelse-type; fisken føres med pressede eller ekstruderte oppdrettsfôret, og avføringen fjernes fra fiskeoppdrettsanlegget.

Det fekale bindemiddelet som anvendes i nevnte framgangsmåte, er fortrinnsvis hentet fra gruppen bestående av algemel, kalsiumalginat og guar gummi.

Det fekale bindemiddelet som anvendes i nevnte framgangsmåte, er fordelaktig en kombinasjon av to eller flere av bindemidlene i gruppen bestående av algemel, kalsiumalginat og guar gummi.

Med uttrykket "inngående føringredienser" menes de faktiske mengder av ulike råvareingredienser på våtvektbasis, inkludert fettstoffer som fiskeolje og vegetabilsk olje, som inngår i fôrblandingen for framstilling av det pressede eller ekstruderte fôret, før eventuell nødvendig vanntilsetting for pressings- eller ekstruderingsprosessen og før eventuell nødvendig vannfjerning i tørkeprosessen som følger etter pressings- eller ekstruderingsprosessen.

Uttrykket "føringrediensblanding" henleder på samme forhold som beskrevet for "inngående føringredienser".

I det etterfølgende beskrives ikke-begrensede eksempler på foretrukne utførelsesformer som er anskueliggjort med beskrivelse av laboratorieforsøk og vedlagte figurer; hvor:

Fig. 1 viser visuell forskjell i stabiliteten til avføring fra ørret føret med en basisdiett (A) og fra ørret føret med samme basisdiett med tillegg av guar gummi som fekalt bindemiddel (B), idet avføringen er samlet ved dissekering av fordøyelseskanalen;

Fig. 2 viser viskositets- og elastisitetsmodul hos avføringsprøver fra ørret i avhengighet av fekalt bindemiddelinnhold i anvendte dietter;

Fig. 3 viser volumavhengig kumulativ størrelsesfordeling av suspenderte partikler etter nedbryting ved definert hydromekanisk påkjenning i avhengighet av fekalt bindemiddelinnhold i anvendte dietter; og

Fig. 4 viser partikulært nitrogen- og fosforinnhold i suspendert faststoff med økende partikkelstørrelse etter utvasking i 1 time (gjennomsnitt + standardavvik).

Materialer og metoder

Dietter og fekale bindemidler - innledende forsøk

I innledende forsøk er basisdiett sammenlignet med forskjellige behandlinger hvor ulike bindemidler i visse konsentrasjoner har blitt tilsatt en basisdiett. Følgende bindemidler ble anvendt:

Ligninsulfonat, algemel, modifisert (ikke gelatinisert) stivelse, kalsiumalginat, fiskegelatin, guar gummi, fast stivelse og cellulosepulver.

Diettene ble gitt til grupper av regnbueørret i minimum 5 uker. Ekstrudert fôr med 3,0 mm eller 4,5 mm pelletstørrelse

ble brukt. Basisdiettsammensetningene var sammenlignbare med
fôrblandinger av vanlig handelsvare. Ved dissekering ble det
tatt ut avføringsprøver fra nedre del av endetarmen, og mak-
roskopiske undersøkelser av disse og av avføring avsatt i
5 karbunnen samt sedimenteringsforsøk utført i Imhoff-konuser
ble anvendt for å finne bindemiddeleffektene på stabiliteten
til avføringspartiklene. Tilsynelatende fordøyelighet (råpro-
tein, rålipid), spesifikk tilvekst og fôrutnyttelse ble målt
for å finne mulige negative effekter av bindemidler på
10 fôrkvaliteten.

De fekale bindemiddelkonsentrasjonene som gav de mest stabile
avføringspartiklene uten å innvirke på fordøyelighet, til-
vekst og fôropptak, ble brukt i de to videre fôringsforsøke-
ne.

15 Oppdrett av regnbueørret

Regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*, alle hunnfisk av Hofer-
stamme) ble fôret opp i sirkulære, grønne fiberglasskar (dia-
meter 1 m, høyde 0,7 m) med 0,5 m³ vannvolum. Fisken var av
konvensjonell, uspesifisert mikrobiologisk status. Fiskepato-
20 genfritt vann ble skaffet tilveie fra en grunnvannsbrønn.

Inngående vann ble behandlet ved lufting med små bobler for å
fjerne elementær nitrogen og karbondioksid så vel som for å
tilføre oksygen til nær metningsgrad. Vannet ble levert til
hvert kar gjennom et vertikalt PVC innløpsrør med 45° vinkel.

25 Innløpet var tangentielt orientert nær karveggen for å skaffe
tilveie en lett sirkulær strømming hvor fisken kunne oriente-
re seg. Karets selvrensende form sørget for at all avføring
ble ført til et sentralt avløp som var dekket med en perfo-
rert plate (platediameter 0,2 m med hulldiameter 0,01 m). Det
30 var derfor unødvendig å reingjøre karene. Vanngjennomstrøm-
ningen ble justert til 7-9 l/min. Karene var daglig opplyst
12 timer (mellom 07.00 og 19.00) uten skumring. Oksygeninn-

hold ($\pm 0,1$ mg O₂/l), pH ($\pm 0,1$) og temperatur ($\pm 0,1^\circ$ C) ble målt daglig en halv time etter manuell føring ved vanninnløpet. Vannparametrene ble målt i henhold til tysk standardmetode for analyse av vann, avløpsvann og slam (modifisert i henhold til Gewässerschutzkommission, *Der Bodensee in den Abflussjahren 1996 und 1997 zugeführte Stofffrachten*, s. 42. Internationale Gewässerschutzkommission für den Bodensee, 2000), utført som beskrevet ovenfor, men bare under igangsetting og avslutning av hvert forsøk. Vannparametrene var alle innenfor det anbefalte området for oppdrett av regnbueørret. Gjennomsnittstallene var:

Parameter	Forsøk 1	Forsøk 2
Oksygen (mg/l) (pt)	8,1	7,8
pH (pt)	8,1	8,1
Temperatur $^\circ$ C	11,7	13,2

Forsøk 1 og 2								
NH ₄ -N (μ g/l)	NO ₂ -N (μ g/l)	NO ₃ -N (μ g/l)	Klorid (mg/l)	Sulfat (mg/l)	PO ₄ -P (μ g/l)	Ledevne (μ S/cm)	Bufferevne (mmol/l)	Jordalkalier (mmol/l)
164,8	2,6	1889	7,4	18,8	72	580	6,5	19,7

I forsøk 1 ble det føret på forsøksdietter totalt 75 ørret pr. kar og i forsøk 2 totalt 99 ørret pr. kar. For de forskjellige forsøkene ble grupper av ørret utvalgt, bedøvet og avlivet (n= 15, 25 eller 30 pr. kar). Innledende gjennomsnittsvekt for ørreten var i forsøk 1 184 g og i forsøk 2 191 g.

Fôring og diettsammensetning

Tabell 2. Benyttede fekale bindemidler

Fekalt bindemiddel	Produktspesifikasjon	Kjennetegn (oppløselighet*, viskositet, gelstyrke*, fordøyelighet)	Prisnivå	Tilsatt mengde
Algemel	ALGIBIND (p.c. 5221025), Algae a.s.	Oppløselig i kaldt vann, låg viskositet, låg gelstyrke, delvis fordøyelig	Låg	0,1-2%
Kalsiumalginat	ALGINATE (Scogin HV Alginate-2205000, FMC BioPolymer	Oppløselig i kaldt vann, middels viskositet, middels gelstyrke, ufordøyelig	Høg	1%
Guargummi		Oppløselig i kaldt vann, meget høg viskositet, høg gelstyrke, ufordøyelig	Middels	0,1-1,0%

*) Konsentrasjonsavhengig viskositet og gelstyrke ifølge opplysninger fra distributør.

- 5 Fisken ble fôret med 1,2 % av dens kroppsvekt seks dager pr. uke (mandag til lørdag). Omkring 40 % av den daglige rasjonen ble gitt manuelt under kontinuerlig observasjon av adferd ved inntak mellom kl. 07.30 og 09.00. Det gjenværende fôret ble gitt ved hjelp av en fôringsautomat som fôret kontinuerlig
- 10 inntil kl. 18.00. Med dette fôringsmønsteret gav de innledende forsøkene utskilling av avføring omkring kl. 10.00.

Seks dietter ble formulert (se tabell 2). De avvek fra hverandre bare i innholdet av fekalt bindemiddel. Diettene inneholdt alle samme mengde protein og energi. De inneholdt balanserte nivåer av aminosyrer, fettsyrer, vitaminer og

15 mineraler og ligger over anbefalte verdier (Council N.R.: Nutrient requirements of fish, Committee on Animal Nutrition, Board of Agriculture, 1993). Det fekale bindemidlet ble til-

satt som tørt pulver til de øvrige tørre ingrediensene før ekstrudering av massen. Diettene ble ekstrudert (maksimale verdier ved ekstrudermatrisen 120 °C, 22 bar), med en diameter på 4,5 mm.

5 Basisdietten inneholdt pr. kg. fôr:

	Fiskemel:	305,09 g
	Semikonsentrat soya	
	(Hamlet protein):	200,00 g
	Maisgluten:	192,80 g
10	Hvete:	122,23 g
	Monokalsiumfosfat ^a :	6,61 g
	Fiskeolje:	168,00 g
	Mineralblanding ^b :	2,35 g
	Vitaminblanding ^c :	2,35 g
15	Lysin-HCl:	3,00 g
	Carophyll pink:	0,60 g
	Yttriumoksid ^d :	0,10 g

a) Tilgjengelig fosfor 4,71 g/kg.

b) Mineralblandingen inneholdt:

20 kalsium 150 g/kg, magnesium 8000 mg/kg, kalium 120 mg/kg, jern 10000 mg/kg, sink 35000 mg/kg, mangan 4000 mg/kg, koppper 800 mg/kg, selen 25 mg/kg, jod 50 mg/kg.

c) Vitaminblandingen inneholdt:

25 Vit A 550000 IU/kg, Vit D 420000 IU/kg, Vit E 45000 mg/kg, Vit K 2500 mg/kg, Vit B1 2200 mg/kg, Vit B2 4100 mg/kg, Vit B6 4500 mg/kg, Vit B5 13000 mg/kg, Niacin 15000 mg/kg, Folate 900 mg/kg.

d) Yttriumoksid ble tilsatt som en markør for fordøyelighetsmåling

Tabell 3. Tilsetning av fekalt bindemiddel i forsøksdiettene

Fekalt bindemiddel	Måleenhet	Diett 1 BD	Diett 2 GG 0.1	Diett 3 GG 0.3	Diett 4 AB1	Diett 5 AB2	Diett 6 AT1
Guargummi (GG)	g/kg		1,00	3,00	-	-	-
Algibind (AD)	g/kg	-	-	-	3,00	6,00	-
Alginate (AT)	g/kg	-	-	-	-	-	10,00

Fordøyelighet, spesifikk tilvekst, forutnyttelse

For fordøyelighetsmålinger ble 54 ørreter pr. behandling i forsøk 1 og 75 ørreter pr. behandling i forsøk 2 bedøvet med kryddernellikolje (konsentrasjon 0,1 ml/l, eksponeringstid ca. 1 min.) og avføring fjernet fra endetarmsåpningen. Avføringen ble umiddelbart frosset i flytende nitrogen, frysetørket og homogenisert. Innholdet av tørrstoff, protein, fett, fosfor og yttriumoksid ble bestemt. Fordøyeligheten til protein, fett og fosfor i de ulike diettene ble beregnet.

Tørrstoffinnholdet ble bestemt som forholdet mellom våtvekt og tørrvekt etter frysetørrking. Råprotein ble analysert ifølge EU-kommisjonsdirektiv 93/28/EEC (Kjeldahlmetoden), men med selen som katalysator. Rålipid ble analysert ifølge EU-kommisjonsdirektiv 84/4EEC (metode B), men med dietyler som løsningsmiddel. Fosfor og yttrium ble bestemt eksternt (Jordforsk, Ås, Norge). Prøvene ble tilsatt 10 ml 6M salpetersyre (p.a.) og 0,5 ml hydrogenperoksid (p.a.) i en mikrobølgeovn og fortynnet med destillert vann. Endelig ble prøvene analysert i en ICP-AES (induktiv koplet plasma-atomemisjonsspektroskop). Fiskens våtvekt ble bestemt individuelt (± 1 g)

rett etter avliving for de etterfølgende prøvene med dissekert avføring. Spesifikk tilvekstrate ble bestemt som

$$\text{SGR [\%]} = 100 * \frac{\ln(\text{sluttvekt}) - \ln(\text{startvekt})}{T(\text{slutt dato}) - t(\text{start dato})}$$

Fôrkonverteringsraten ble beregnet som

$$\text{FCR} = \frac{\text{Fôr [kg]}}{\text{Tilvekst [kg]}}$$

Innsamling av avføringsprøver

For reologi- og partikkelstørrelsesregistrering ble visse grupper av ørret i hvert kar tatt ut, bedøvet med kryddernelikolje (0,1 ml/l, 1 min.) og avlivet med slag mot hodet. Avføringspartiklene nærmest endetarmsåpningen ble tatt ut ved dissekering. Bare tydelig slimdekkede avføringspartikler ble brukt. Avføringen ble lagt i aluminiumsskåler, hermetisk forseglet med en plastfilm for å forhindre dehydrering og deretter avkjølt til 4 °C for å forsinke mikrobielle nedbrytingsprosesser. Alle målinger ble avsluttet innen 8 timer etter dissekering. Avføring og tarmer ble undersøkt makroskopisk for å avdekke irriterte slimhinner i tarmene, eksudativ enteritt (væskende tarmbetennelse) og hemorroide-enteritt (blødende tarmbetennelse).

Reologiske målinger

For reologiske målinger ble 15 ørreter (forsøk 1) og 25 ørreter (forsøk 2) tatt ut som ovenfor. Avhengig av størrelsen ble tre til fire avføringspartikler (nødvendig volum pr. måling ~ 3 cm³) slått sammen og overført til et reometer (Paar Physica UDS 200). Den anvendte målemetoden var MP 313 (plate-diameter 50 mm, 0°) med et gap på 1 mm. Skjærbelastningsfaktoren var 2,0371833 og skjærratefaktoren var 2,6179939. Måletiden var 12 sek. Ved tidsregistreringen ble det anvendt en deformasjon med en amplitude på $\gamma = 60$ % ved en frekvens på

1Hz. For frekvensregistrering ble det anvendt en deformasjon med amplitude på $\gamma = 40\%$ ved frekvenser på 50; 32,1; 20,6; 13,2; 8,47; 5,43; 3,49; 2,24; 1,43; 0,92; 0,59; 0,38; 0,24; 0,16 og 0,10Hz. Måletiden var 30 sek. Temperaturen i eksperimentenheten var satt til 4 °C og luftfuktigheten ble justert til 100 % metning. Alle målingene ble deformasjonskontrollert. Hver måling startet med tidsregistrering med 50 enkle deformasjoner etterfulgt av frekvensregistrering etter 60 sekunders pause.

10 Partikkelstørrelsesfordeling

For partikkelstørrelsesmålinger ble 15 ørreter (forsøk 1) og 30 ørreter (forsøk 2) tatt ut som ovenfor. Først ble avføringspartikler fra kontrollen med vekt 2 g brutt opp under foreskrevne betingelser inntil de viste samme partikkelstørrelsesfordeling (PSF) som registrert i avløpsvann fra ørret oppdrett. Dette ble utført ved en metode hvor turbulens er brakt tilveie ved en konstant luftgjennomstrømning nedenfra i 2 l destillert vann. Den forutbestemte innstillingen, dvs. 0,05 Mpa og virketid på 8 min. ble anvendt i alle eksperimentene. Mengden av avføring var 2 g ($\pm 0,01$ g) våtvekt for forsøk 1 g og 3 g ($\pm 0,01$ g) våtvekt for forsøk 2. Partikkelstørrelsesmålingene ble gjennomført ved anvendelse av en non-invasiv partikkelmålelaser (GALAI: CIS-1) utstyrt med en strømningsstyring (GALAI: LFC-100) og en gjennomstrømningscelle (GALAI: GM-7). Siden den øvre målegrensen for en partikkelmålelaser er 600 μm , ble alle verdier korrigert med prosenten av partikler større enn 600 μm . Denne verdien ble fastlagt ved å bruke et såld.

Resultater

Forsøk 1

Fordøyelighet, spesifikk vekstrate, forutnyttelse

- Spesifikk tilvekstrate var $1,13 \% \pm 0,069 \%$ (gj.sn. kar-
5 middel $\pm$ standardavvik).
- Gjennomsnittlig forkonverteringsrate var $0,90 \pm 0,046$.
- Ved avslutning var gjennomsnittsvekten 257 til 292 g.
- Ingen makroskopisk påvisbare spor av fekalt bindemiddel
kunne påvises i fordøyelseskanalen.
- 10 • Ved inntil to individer pr. behandling ble det observert
lett tarmirritasjon (rubor), men dette ble også obser-
vert i kontrollgruppene.
- Tre individ føret med ulike dietter viste forekomst av
hemorroide-enteritt.
- 15 • Det fekale bindemiddelet påvirket ikke den observerte
fordøyeligheten til protein, lipid og fosfor (se tabell
4).

Tabell 4. Effekten av fekal bindemiddelbehandling på fordøyelighetskoeffisient (%) for protein, lipid og fosfor.

Fôr	Protein	Lipid	Fosfor
Basisdiett	87,2 %	90,1 %	48,2 %
+ Guargummi (0,1 %)	87,3 %	91,6 %	47,9 %
+ Guargummi (0,3 %)	85,6 %	89,0 %	51,0 %
+ Algibind (0,3 %)	86,9 %	92,5 %	47,0 %
+ Algibind (0,6 %)	86,6 %	90,7 %	53,3 %
+ Alginate (1,0 %)	88,3 %	90,8 %	56,5 %

5 Forsøk 1

Reologiske målinger

Minst tre gjentak ble utført. Målingene for guargummi (0,1 %)-leddet gav feil verdier grunnet feil i styreprogrammet for reometeret. Disse målingene ble fjernet fra analysene.

- 10 Tilførsel av alle anvendte fekale bindemidler gav signifikant bedring i viskositet og elastisitetsmodul hos avføring fra fisk (fig. 2, tabell 5). Dette er mest tydelig i forsøk 1. Basisdietten gav i forsøk 1 mindre stabile avføringspartikler enn i forsøk 2 (fig. 2). Sammenlignet med basisdietten førte
- 15 guargummi til den største økningen i viskositet (183 %) og Alginate førte til den største økningen i elastisitetsmodul (173 %). I kombinasjon av begge viskoelastisitetsparametrene

gav guar gummi best resultat. (155,5 %) etterfulgt av Alginate (136 %).

Alle viskoelastiske funksjoner viser en svekkelse over tid, noe som er mest tydelig for elastisitetsmodul for Alginate-leddet.

Algibind er anvendt i to ulike mengder i forsøk 1. Viskositets- så vel som elastisitetsmodul økte signifikant ved øket innhold.

Tabell 5. Justert gjennomsnittsverdi for viskositets- og elastisitetsmodul hos avføring fra ørret føret med en basisdiett eller en basisdiett tilsatt fekalt bindemiddel.

Diett	Viskositet		Elastisitetsmodul	
	Gj.sn.	Forbedret	Gj.sn.	Forbedret
Basisdiett	38,6 Pas	-	110,7 Pa	-
+ guar gummi (0,3 %)	109,3 Pas	+183 %	252,5 Pa	+128 %
+ Algibind (0,1 %)	59,6 Pas	+54 %	197,2 Pa	+78 %
+ Algibind (0,3 %)	72,4 Pas	+88 %	235,2 Pa	+112 %
+ Alginate (1,0 %)	77,4 Pas	+100 %	302,5 Pa	+173 %

Forsøk 1

Partikkelstørrelsesfordeling

All partikkelstørrelsesfordeling registrert i avføring fra fisk føret med dietter inneholdende fekalt bindemiddel viste en øket partikkelstørrelse (se fig. 3). Effekten på partik-

kelstørrelsen ble forsterket ved økning av innholdet av det respektive fekale bindemiddelet (fig. 4, tabell 6). Guargummi gav den beste forbedringen. Generelt var effekten tydeligere med øket partikkelstørrelse.

- 5 Tabell 6 viser den prosentvise andelen av total partikkelmengde under 100 μm , henholdsvis under 600 μm i avhengighet av behandling. Guargummi og Alginate førte til signifikant mindre partikkelmengde under begge størrelser, mens Algibind ikke gav samme effekt. Ved hjelp av filtreringspotensialet
- 10 knyttet til en suspensjon med disse størrelseskarakteristikene, kan effekten på innholdet av partikler i avløpsvannet beregnes ved proporsjonalitet. Ved tilførsel av guargummi (0,3 %) ble partikkelmengden inntil størrelse 100 μm i avløpsvannet redusert med 40,2 % og 600 μm med 24,6 %, mens det
- 15 for Alginate (1,0 %) ble funnet en reduksjon på 30,6 % for størrelse 100 μm og 13,3 % for 600 μm .

Tabell 6. Prosentandel av totalt partikkelvolum under 100 μm og under 600 μm av suspendert fiskeavføringspartikler fra fisk føret med samme basisdiett med ulikt innhold av fekalt bindemiddel.

Forbedret = prosentvis forbedring i forhold til basisdiett i gjenværende avfallsbelastning etter filtrering ved 100 μm og 600 μm .

Diett	Ved 100 μm		Ved 600 μm	
	Kumulativ %	Forbedret	Kumulativ %	Forbedret
Basisdiett	38,8	-	92,0	-
+ Guargummi (0,1 %)	27,8	-28,3 %	75,2	-18,3 %
+ Guargummi (0,3 %)	23,2	-40,2 %	69,4	-24,6 %
+ Algibind (0,1 %)	36,3	-6,4 %	90,4	-1,7 %
+ Algibind (0,3 %)	35,1	-9,5 %	89,1	-3,2 %
+ Alginate (1,0 %)	26,9	-30,6 %	79,8	-13,3 %

Forsøk 2

10 Fordøyelighet, spesifikk vekstrate, førutnyttelse

- Spesifikk tilvekstrate var $1,11 \% \pm 0,082 \%$ (gj.sn. kar-middel $\pm$ standardavvik).
- Gjennomsnittlig forkonverteringsrate var $0,73 \pm 0,026$.
- Ved avslutning var gjennomsnittsvekten 417 til 490 g.
- 15 • Ingen makroskopisk påvisbare spor av fekalt bindemiddel

kunne påvises i fordøyelseskanalen.

- Ved inntil to individer pr. behandling ble det observert lett tarmirritasjon (rubor), men dette ble også observert i kontrollgruppene.
- Tre individ føret med ulike dietter viste forekomst av hemorroide-enteritt.
- Det fekale bindemiddelet påvirket ikke den observerte fordøyeligheten til protein, lipid og fosfor (se tabell 7).

Tabell 7. Effekten av fekal bindemiddelbehandling på fordøyelighetskoeffisient (%) for protein, lipid og fosfor.

Fôr	Protein	Lipid	Fosfor
Basisdiett	89,7 % ± 0,17 %	95,7 % ± 0,25 %	46,7 % ± 0,23 %
+ Guargummi (0,3%)	89,1 % ± 0,23 %	94,6 % ± 0,45 %	51,5 % ± 0,90 %
+ Alginate (1,0%)	89,4 % ± 0,09 %	95,98 % ± 0,13 %	50,4 % ± 0,36 %

Forsøk 2

Reologiske målinger

Minst ni gjentak ble utført. Målingene for guargummi (0,1 %) - leddet gav feil verdier grunnet feil i styreprogrammet for reometeret. Disse målingene ble fjernet fra analysene.

Tilførsel av alle anvendte bindemidler gav signifikant bedring i viskositet og elastisitetsmodul hos avføring fra fisk (fig. 2, tabell 8). Dette er tydeligere i forsøk 1 enn i for-

søk 2. Basisdietten gav i forsøk 2 mer stabile avføringspartikler enn i forsøk 1 (fig. 2). Sammenlignet med basisdietten førte guar gummi til den største økningen i viskositet (140 %) og Alginate førte til den største økningen i elastisitetsmodul (125 %). I kombinasjon av begge viskoelastisitetsparametrene gav guar gummi best resultat (108,5 %) etterfulgt av Alginate (86,5 %).

Alle viskoelastiske funksjoner viser en svekkelse over tid, noe som er mest tydelig for elastisitetsmodul for Alginateleddet.

Tabell 8. Justert gjennomsnittsverdi for viskositets- og elastisitetsmodul hos avføring fra ørret føret med en basisdiett eller en basisdiett tilsatt fekalt bindemiddel.

Diett	Viskositet		Elastisitetsmodul	
	Gj.sn.	Forbedret	Gj.sn.	Forbedret
Basisdiett	49,4 Pas	-	161,2 Pa	-
+ guar gummi (0,3 %)	118,3 Pas	+140 %	284,6 Pa	+76 %
+ Alginate (1,0 %)	72,5 Pas	+47 %	362,6 Pa	+125 %

Forsøk 2

Partikkelstørrelsesfordeling

All partikkelstørrelsesfordeling registrert i avføring fra fisk føret med dietter inneholdende fekalt bindemiddel viste en øket partikkelstørrelse (se fig. 3). Effekten på partikkelstørrelsen ble forsterket ved økning av innholdet av det respektive fekale bindemiddelet (fig. 4, tabell 9). Den reduserte effekten av fekalt bindemiddel i forsøk 2 samsvarer med

den tilsvarende reduserte effekten på viskoelastisitetsparametrene i forsøk 2. Guargummi gav den beste forbedringen. Effekten er mindre tydelig i forsøk 2, hvor Alginate viste den beste effekten for partikkelstørrelse under 128 μm . Generelt var effekten tydeligere med øket partikkelstørrelse.

Tabell 9 viser den prosentvise andelen av total partikkelmengde under 100 μm , henholdsvis under 600 μm i avhengighet av behandling. Guargummi og Alginate førte til signifikant mindre partikkelmengde under begge størrelser, mens Algibind ikke gav samme effekt. Ved hjelp av filtreringspotensialet knyttet til en suspensjon med disse størrelseskarakteristikene, kan effekten på innholdet av partikler i avløpsvannet beregnes ved proporsjonalitet. Ved tilførsel av guargummi (0,3 %) ble partikkelmengden inntil størrelse 100 μm i avløpsvannet redusert med 18,2 % og 600 μm med 14,7 %, mens det for Alginate (1,0 %) ble funnet en reduksjon på 23,3 % for størrelse 100 μm og 2,9 % for 600 μm .

Tabell 9. Prosentandel av totalt partikkelvolum under 100 μm og under 600 μm av suspendert fiskeavføringspartikler fra fisk føret med samme basisdiett med ulikt innhold av fekalt bindemiddel. Forbedret = prosentvis forbedring i forhold til basisdiett i gjenværende avfallsbelastning etter filtrering ved 100 μm og 600 μm .

Diett	Ved 100 μm		Ved 600 μm	
	Kumulativ %	Forbedret	Kumulativ %	Forbedret
Basisdiett	35,1	-	93,4	-
+ Guargummi (0,3 %)	28,7	-18,2 %	79,7	-14,7 %
+ Alginate (1,0 %)	26,9	-23,3 %	90,7	-2,9 %

Effekten av partikkelstørrelsen på utvaskingsprosessen

- 10 Utvaskingsforsøk med 125 avføringssuspensjoner fra et tidligere forsøk viste signifikant økning i nitrogen- og fosforinnhold med økende partikkelstørrelse (se fig. 4), noe som indikerer at større partikler har et større potensiale til å holde på disse stoffene.
- 15 For å undersøke utvaskingseffektene av den fekale bindemiddeltilsetningen må utgangsmaterialet av avføring være identisk med hensyn til tørrvekt og næringsinnhold. Tørrvekten av avføring fra 75 ørreter pr. kar ble fastlagt med ett gjentak pr. bindemiddelledd. Tørrvekten i kontrollledet (basisdiet-
- 20 ten) var 11,4 % ($\pm 0,2$ %) (gjennomsnitt $\pm$ standardavvik), for guargummi (0,3 %) 11,6 % $\pm 0,3$ %, og for Alginate (1,0 %) 10,9 % $\pm 0,1$ % uten statistisk signifikante forskjeller. Det var heller ingen signifikante forskjeller i næringsinnhold.

For kontrolleddet og guar gummi (0,3 %) (n=15) og for Alginate (1,0 %) (n=16) ble prøver med 3 g avføring utvasket i 1 time. De gjenværende faststoffene viste ingen signifikant forskjell i innhold av nitrogen eller fosfor (se tabell 10). Et signifikant høyere innhold av tørrstoff (+ 5 %) og partikulært fosfor (+ 14,9 %) kunne registreres i avføring fra guar gummi-leddet sammenlignet med basisdietten. Alginatbehandling viste ingen signifikant økning i bibeholdelse av faststoff i form av tørrstoff, nitrogen eller fosfor sammenlignet med kontrolleddet (basisdietten).

Tabell 10. Gjennomsnittsverdier for gjenværende totalmengde tørrstoff (TS), partikulær nitrogen (N) og partikulær fosfor (P) etter suspensjon av 3 g ørret-avføringsprøver i 1 time i destillert vann ved forskjellige behandlinger (gjennomsnitt $\pm$ standardavvik)

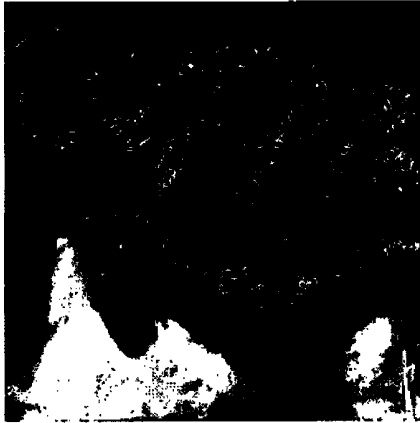
Diett	TS [mg]	For- bed- ring	NH ₄ -N [mg]	For- bed- ring	PO ₄ [mg]	For- bed- ring	P [%]	N [%]
Basisdiett; n=15	236,9 $\pm$ 4,4	-	6,452 $\pm$ 0,205	-	7,717 $\pm$ 0,265	-	3,3 $\pm$ 0,89	2,7 $\pm$ 0,94
+ guar gummi (0,3 %); n=15	249,5 $\pm$ 3,3	+5,1 %	6,324 $\pm$ 0,328	-1,9%	8,863 $\pm$ 0,353	+14,9 %	3,3 $\pm$ 0,12	2,3 $\pm$ 0,12
+ Alginate (1,0 %); n=16	238,0 $\pm$ 3,0	+0,8 %	5,524 $\pm$ 0,184	-14,4%	7,872 $\pm$ 0,219	+2,0 %	3,6 $\pm$ 0,76	2,5 $\pm$ 0,76

P a t e n t k r a v

1. Framgangsmåte for reduksjon av innholdet av uønskede næringsstoffer i avløpsvann fra et fiskeoppdrettsanlegg, k a r a k t e r i s e r t v e d a t
5 - det til føringrediensblandingen for et oppdrettsfôr av presset eller ekstrudert type og inneholdende stivelse som ordinært bindemiddel, tilsettes et tillegg av inntil 25 g pr. kg inngående føringredien-
ser av et fekalt bindemiddel av ikke-stivelsetype;
10 - fisken føres med det pressede eller ekstruderte oppdrettsfôret; og
- avføringen fjernes fra fiskeoppdrettsanlegget.
2. Framgangsmåte i henhold til krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d a t det fekale bindemiddelet er
15 hentet fra gruppen bestående av algemel, kalsiumalginat og guar gummi.
3. Framgangsmåte i henhold til krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d a t innholdet av algemel er fra 1 til 20 g pr. kg inngående føringredienser.
- 20 4. Framgangsmåte i henhold til krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d a t konsentrasjonen av algemel er fra 1 til 5 g pr. kg inngående føringredienser.
5. Framgangsmåte i henhold til krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d a t konsentrasjonen av kalsiumalginat er fra 5 til 15 g pr. kg inngående føringredien-
25 ser.
6. Framgangsmåte i henhold til krav 2, k a r a k t e r i s e r t v e d a t konsentrasjonen av kalsiumalginat er fra 8 til 12 g pr. kg inngående føringredien-
30 ser.

7. Framgangsmåte i henhold til krav 2, k a r a k t e -
r i s e r t v e d at konsentrasjonen av guargummi er
fra 1 til 10 g pr. kg inngående føringredienser.
8. Framgangsmåte i henhold til krav 2, k a r a k t e -
r i s e r t v e d at konsentrasjonen av guargummi er
fra 1 til 5 g pr. kg inngående føringredienser.
9. Framgangsmåte i henhold til krav 1, k a r a k t e -
r i s e r t v e d at det fekale bindemiddelet er en
kombinasjon av to eller flere av bindemidlene i grup-
pen bestående av algemel, kalsiumalginat og guargummi.

1/4



A) Basisdiätt

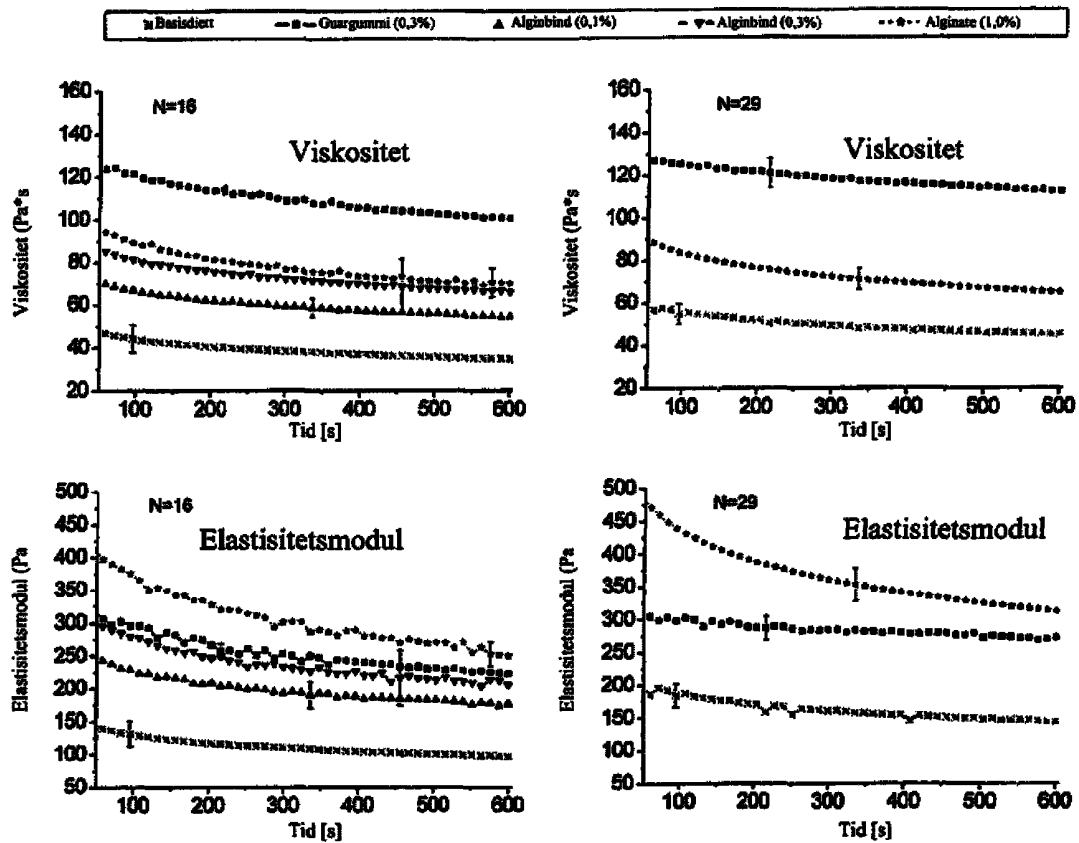


B) Basisdiätt + guargummi

Fig. 1

Forsøk 1:

Forsøk 2:



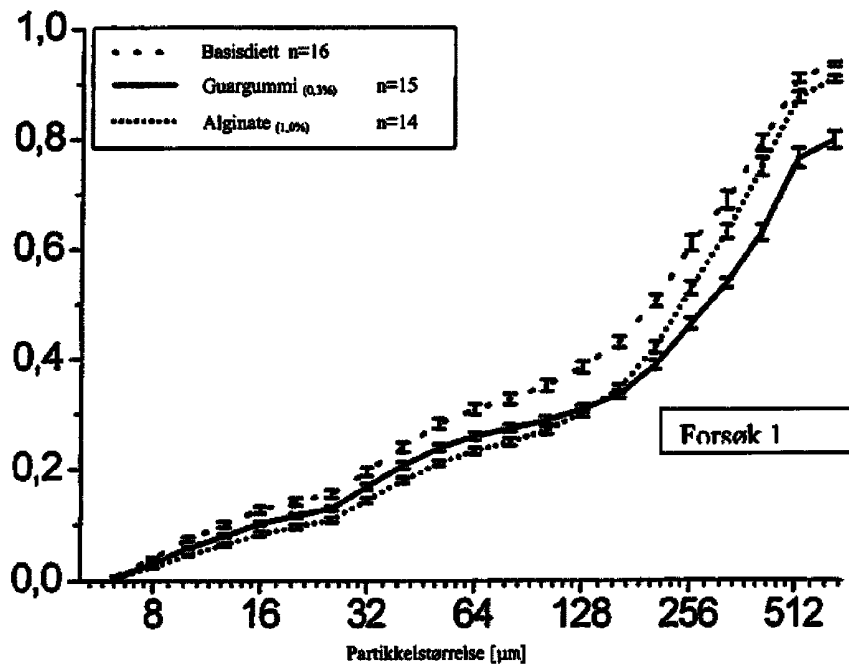
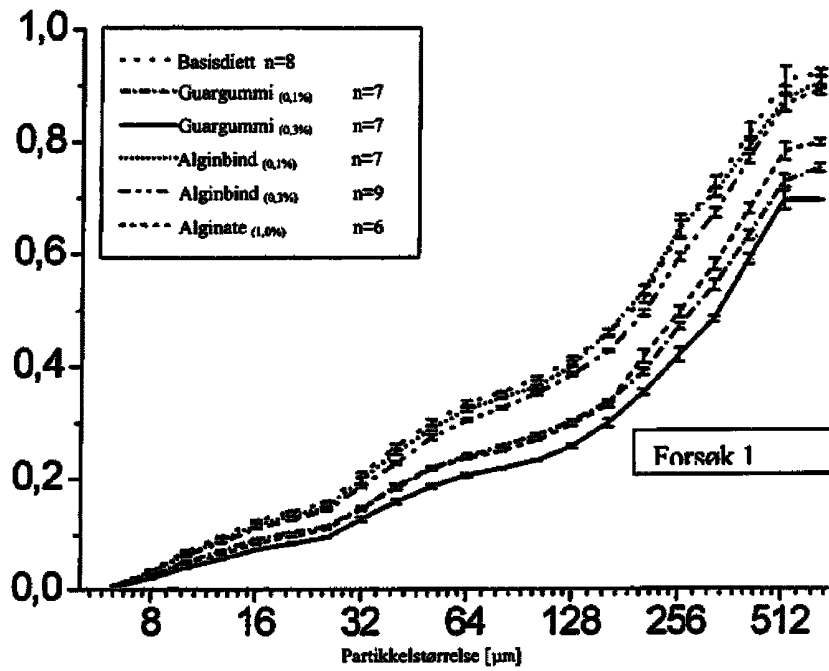


Fig. 3

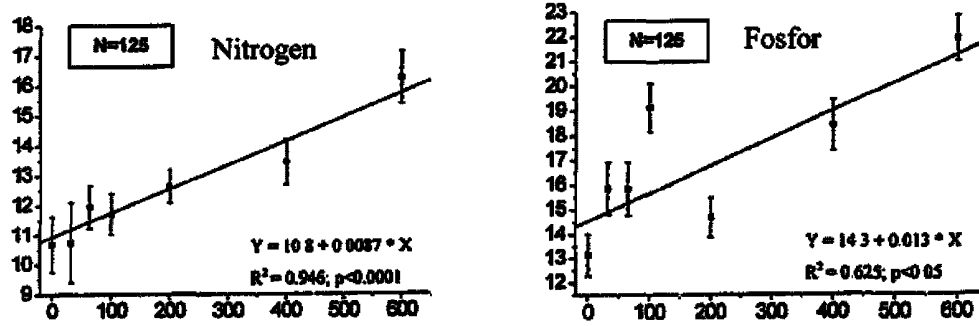


Fig. 4