

# Fiskeresponser (Salmo salar) som følge av eksponering for trinatriumsitrat



# RAPPORT

**Hovedkontor**

Gaustadalléen 21  
0349 Oslo  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 22 18 52 00  
Internett: www.niva.no

**Sørlandsavdelingen**

Jon Lilletuns vei 3  
4879 Grimstad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 37 04 45 13

**Østlandsavdelingen**

Sandvikaveien 59  
2312 Ottestad  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 62 57 66 53

**Vestlandsavdelingen**

Thormøhlensgate 53 D  
5006 Bergen  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 55 31 22 14

**NIVA Midt-Norge**

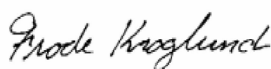
Pirsenteret, Havnegata 9  
Postboks 1266  
7462 Trondheim  
Telefon (47) 22 18 51 00  
Telefax (47) 73 54 63 87

Tittel Fiskeresponser ( <i>Salmo salar</i> ) som følge av eksponering for trinatriumsitrat	Løpenr. (for bestilling) 6442-2012	Dato 11. nov. 2012
	Prosjektnr. Undemr. O-12348	Sider Pris 16
Forfatter(e) Frode Kroglund	Fagområde Vannkvalitet	Distribusjon Åpen
	Geografisk område Sunndalsøra	Trykket NIVA

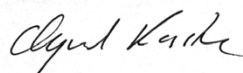
Oppdragsgiver(e) Statkraft Development AS	Oppdragsreferanse 4500115762
--	---------------------------------

<p>Sammendrag</p> <p>Statkraft Development AS ønsker å bygge et saltkraftverk i Sunndalsøra. Kjernen i et saltkraftverk er en osmosemembran. Ulike stoffer i ferskvann og sjøvann vil kunne akkumuleres på membranen og dermed redusere effektiviteten av anlegget. Noen få ganger i året vil det være nødvendig med en kjemisk vask av membransystemet. Et mulig vaskemiddel er trinatriumsitrat. Etter bruk vil dette slippes i elva. Giftigheten av dette stoffet for fisk er dårlig kjent. Forventet konsentrasjon etter fortykning i elvevann/estuariet vil være omkring 10 mg trinatriumsitrat/l. Det ble derfor igangsatt et forsøk hvor lakseparr ble eksponert i en konsentrasjonsgradient etablert ved å multiplisere nominell dose med 0,1, 0,3, 3 og 10. Eksponeringsvarighet var på 6 døgn. Vi forsøkte her å simulere et "worst-case" scenario hvor både konsentrasjon og varighet var betydelig lengre enn det som vil være relevant ved osmosekraftverket. Ingen fisk døde i løpet av forsøket. Det ble heller ikke påvist statistisk eller biologisk signifikante endringer i blodverdier. Ut fra dette synes trinatriumsitrat å ha liten gifteffekt på lakseparr. Laks vil ofte være den mest følsomme fiskearten i norske elver. Basert på disse eksperimentelle resultatene fra eksponering av lakseparr til trinatriumsitrat er det lite sannsynlig at andre fiskearter vil påvirkes negativt. Laksesmolt er mer sårbar enn lakseparr. Inntil data foreligger bør utslipp i smoltutvandringsperioden unngås.</p>
---

<p>Fire norske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Saltkraftverk</li> <li>2. Trinatriumsitrat</li> <li>3. Laks</li> <li>4. Vannkvalitet</li> </ol>	<p>Fire engelske emneord</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Osmotic powerplant</li> <li>2. Trisodiumcitrate</li> <li>3. Salmon</li> <li>4. Water quality</li> </ol>
--	--



Frode Kroglund  
Prosjektleder



Øyvind Kaste  
Forskningsleder



Brit Lisa Skjelkvåle  
Forskningsdirektør

# Fiskeresponser (*Salmo salar*) som følge av eksponering for trinatriumsitrat

## **Forord**

NIVA har på oppdrag fra Statkraft Development AS utredet mulige miljøkonsekvenser ved drift av et saltkraftverk ved Sunndalsøra i Møre og Romsdal (Staalstrøm mfl. 2012). Her ble det anbefalt langvarige fiskeforsøk for å vurdere fortynningsfaktor mm.

Innsamling av fisk til forsøket er utført av Jim Güttrup. Forsøket er gjennomført med tillatelse fra Forsøksdyrutvalget (søknad id: 4634- 2012/182154)

Grimstad, nov. 2012

*Frode Kroglund*

---

# Innhold

<b>Sammendrag</b>	<b>5</b>
<b>Summary</b>	<b>6</b>
<b>1. Innledning</b>	<b>7</b>
1.1 Bakgrunn	7
1.2 Problemstilling	7
1.3 Formål	8
<b>2. Metode</b>	<b>9</b>
2.1 Forsøksoppsett	9
2.2 Doseringsløsning	10
2.3 Doseringskontroll	11
2.4 Valg av fiskeart	11
2.5 Fisk	12
2.6 Fiskeresponser	12
<b>3. Resultat</b>	<b>13</b>
3.1 Eksponeringskonsentrasjoner	13
3.2 Fisk	13
<b>4. Diskusjon</b>	<b>15</b>
<b>5. Referanser</b>	<b>16</b>

---

## Sammendrag

Statkraft Development AS ønsker å bygge et saltkraftverk i Sunndalsøra. Kjernen i et saltkraftverk er en osmosemembran. Ulike innholdsstoffer i ferskvann og sjøvann vil kunne akkumuleres på membranen og dermed redusere effektiviteten av anlegget. Noen få ganger i året vil det være nødvendig med en kjemisk vask av membransystemet. Etter vask vil kjemikaliene slippes ut i elva/estuariat. Et mulig vaskemiddel er trinatriumsitrat. Giftigheten av dette stoffet for fisk er dårlig kjent. For å sikre kunnskap om eventuell giftighet eller andre forhold som ville ha betydning for valg av vaskemiddel ble det igangsatt et fiskeforsøk.

Trinatriumsitrat er en chelator. Denne vil binde opp ioner i vannet. Fisk kan respondere negativt på kjemikaliene i seg selv, eller på endringene i vannkvalitet forårsaket av kjemikaliene.

Forsøket er gjennomført i oktober 2012 med bruk av eldre lakseparr (1+). Laks er normalt den mest følsomme fiskearten i norske elver. Det mest følsomme livsstadiet er laksesmolt. Smolt foreligger ikke om høsten. Bruk av oppdrettet høstsmolt frarådes i slike forsøk ettersom fiskestørrelse kan ha avgjørende betydning for resultatet. For å sikre kunnskap om vaskevannets eventuelle giftighet ble eksponeringer igangsatt med bruk av lakseparr.

Utslipp av vaskevann forventes å ha en varighet på inntil 4 timer for å sikre tilstrekkelig fortykning av avløpsvannet. Fisk ble her eksponert over 6 døgn for å fremprovosere eventuelle negative effekter av vaskemidlet.

Forventet konsentrasjon av trinatriumsitrat etter blanding av vaskevann med elvevann i estuariat vil være i området 10 mg/l. For å identifisere konsentrasjoner som kunne resultere i en negativ respons ble fisk eksponert for doser som var 0,1, 0,3, 3 og 10 ganger nominell dose. Forsøket ble gjennomført som gjennomstrømningsforsøk hvor kjemikaliene ble tilsatt kontinuerlig i en vannstrøm.

Ingen fisk døde i løpet av forsøket. Det ble ikke påvist statistiske eller biologisk signifikante endringer i blodverdier i forhold til kontrollgruppen. Det var tendenser til at fluktnespons var noe svakere hos fisk eksponert ved 30 og 100 mg trinatriumsitrat/l enn ved konsentrasjoner fra 10 mg/l og lavere. Denne responsen var først synlig tilstedeværende etter 4 døgn.

Ut fra det gjennomførte forsøket synes trinatriumsitrat opp til en konsentrasjon på 100 mg/l å ha små og uvesentlig gifteffekt på laksparr.

Laks er normalt den mest følsomme fiskearten i norske elver. Parrstadiet er imidlertid mindre følsomt enn smoltstadiet. Smoltstadiet kjennetegnes ved at fisken skal forlate elva for å utvikle seg videre i saltvann. Forsøket kan med fordel repeteres med bruk av smolt. Samtidig, ettersom den viktigste smoltutvandningsperioden varer 2-3 uker om våren med ca 6 uker fra start til stopp bør det være mulig å begrense utslipp av vaskevann denne perioden.

Inntil det er avklart bør utslipp av vaskevann ikke utføres den perioden laks- og ørretsmolt er på utvandring fra elva. Denne livsfasen er mer følsom enn lakseparr.

## Summary

Title: Fish responses (*Salmo salar*) after exposure to trisodiumcitrate

Year: 2012

Author: Frode Kroglund

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: ISBN 978-82-577-6177-6.

Statkraft Development AS wants to build an osmotic power plant in Sunndalsøra, Norway. Osmotic power means that the osmotic pressure between fresh and saltwater is utilized where the two water sources are separated by a membrane. These membranes need to be washed. A few times a year washing will include use of chemicals. Trisodiumcitrate is here a relevant chemical. The toxicity of trisodiumcitrate with respect to fish is poorly documented. To bridge this knowledge gap prior to finalizing the project plans, a range-finder test was performed to identify possible adverse effects of the chemical.

Trisodiumcitrate is a chelator and will bind to and create loose complexes with ions. Fish can respond negatively to the chemical in itself and/or to water quality changes caused by the chemical addition.

The exposures were performed using wild salmon parr, collected by electrofishing in Storelva, Norway. Salmon is normally the most sensitive species to contaminants in Norwegian rivers. The most sensitive life stage is the smolt stage, when the fish undergo physiological changes in preparation for a marine life. Smolt is not present in fall. The use of hatchery reared fall-smolt is not recommended due to differences in size. To provide data to be used in the planning of the power plant, exposures were therefore performed using parr (1+).

The wash water will be released over a four hour time span to ensure sufficient dilution. The fish were exposed for 6 days to provoke possible negative responses to the chemicals.

Following dilution in the river/estuary, a nominal dose of trisodiumcitrate will be in the range of 10 mg/l. To identify concentrations that could cause negative responses, fish were exposed to a concentration gradient that was 0.1, 0.3, 3 and 10 times the nominal dose. The exposures were performed in a flow-through setup where the chemicals were added continuously to the water.

No fish died during the exposure. There were no statistically or biologically significant difference in blood chemistry between the groups and the control. There was a slight tendency towards fish exposed to 30 or 100 mg trisodiumcitrate/l had reduced fright response. This change occurred first after day 4, and was subtle.

Salmon is the most sensitive fish species present in Norwegian rivers. The parr stage is less sensitive than the smolt stage. The main smolt run lasts for 2 to 3 weeks in spring with around 6 weeks from start to end. The test can be repeated using smolt to verify the lack of toxicity. It should be possible to avoid discharge of wash water during the main smolt run-period.

Based on this exposure, trisodiumcitrate up to 100 mg/l has no visible adverse effect on salmon parr.

# 1. Innledning

## 1.1 Bakgrunn

Miljøkonsekvensene ved drift av et saltkraftverk i Sunndalsøra ble vurdert våren 2012 (Staalstrøm mfl. 2012). Prinsippet bak et osmoseanlegg som produserer kraft ved å utnytte entropiendringen når ferskvann og saltvann blandes er her beskrevet. Kjernen i et saltkraftverk er en osmosemembran. Ulike innholdsstoffer i fersk- og sjøvann vil kunne akkumulere seg i membranen eller på dens overflater og dermed redusere effektiviteten av anlegget. Denne effekten motvirkes i vanlig drift med vaskeprosedyrer uten bruk av kjemikalier. Noen få ganger i året vil det imidlertid være nødvendig med en kjemisk vask av membransystemet. Vaskevannet vil slippes ut i elva, alternativt i fjordmunningen. Statkraft Development AS har vurdert bl.a. trinatriumsitrat som mest hensiktsmessig.

Osmoseanlegget vil bestå av flere adskilte membranseksjoner. Vasking av én seksjon produserer anslagsvis 60 m<sup>3</sup> vaskevann ved en kjemisk vask. Når vaskevannet fra en membranseksjon slippes ut over en 4-timers periode vil 60 m<sup>3</sup> vaskevann slippes ut sammen med en brakkvannsstrøm på 6 m<sup>3</sup>/s, noe som gir en fortykning på omtrent 1400 ganger (Staalstrøm mfl. 2012). Utslippets varighet kan økes for å redusere konsentrasjonen i utslippsvannet.

Det konkluderes i Staalstrøm mf. (2012) at et utslipp i elva vil ha liten effekt på miljøet, hvis mindre enn omtrent 1/200 av den oppgitte konsentrasjonen av trinatriumsitrat benyttes. Utslipp i havna vil ha liten effekt med hensyn på kjemikalier hvis kun 1/230 av den oppgitte konsentrasjonen av trinatriumsitrat benyttes.

## 1.2 Problemstilling

Siden det er begrenset med kunnskap om kjemikalienes virkning på miljøet over tid, benyttes en sikkerhetsfaktor på 1000 for å ekstrapolere fra kunnskap utført som akutte tester. Denne sikkerhetsfaktoren er nedfelt i OECD-protokollen (Organisation for Economic Co-operation and Development) for å kunne fastsette en PNEC-verdi (predicted chronic no-effect concentration) når kunnskap om effekter av et stoff er begrenset (OECD 2012). Så lenge PNEC-verdien ikke overskrides forventes det ikke påviselige effekter i miljøet målt som overlevelse, vekst eller utvikling. For at konsentrasjonen av trinatriumsitrat skal bli tilstrekkelig lav til at det ikke er noen mulig effekt på miljøet slik testprosedyren til OECD utformer denne er det nødvendig å fortenne utslippet ytterligere 1400 ganger i forhold til den fortykningen som oppnås ved å slippe ut vaskevannet i løpet av 4 timer. Denne fortykningen vil være urealistisk å oppnå. Hvis det foreligger bedre grunnlagsdata på mulige miljøeffekter kan andre fortenningsfaktorer benyttes. Her er det primært ønskelig med langtidsforsøk. Langtidsforsøk er ressurs- og tidskrevende og lite hensiktsmessig å gjennomføre hvis korttidsforsøk kan sannsynliggjøre mulige negative effekter.

Trinatriumsitrat (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>·nH<sub>2</sub>O (n = 2 or 0)) er en chelator, dvs. et stoff som har evnen til å «binde opp»/danne løselige komplekser med visse positivt ladde ioner, herunder metallioner. Stoffets løselighet er god, oppgitt til 425 g/l (Permakem AS, 2008). Giftighetstester viser ingen detekterbar giftighet for alger, målt som veksthemming, opp til 1000 mg/l. Derimot viser én studie at sitrat kan fremskynde sporedannelse for blågrønnalgen *Anabaena sp* ved konsentrasjoner på 300 mg/l (Kanta & Sarma, 1980). Det konkluderes ikke hva slags effekt dette kan ha for økosystemet. For krepsdyr er laveste EC50 rapportert til 735 mg/l for vannloppen *Ceriodaphnia dubia* (Warne & Schifko, 1999). For fisk er det rapportert en grenseverdi for dødelighet over en 24-timers periode på 10 mg/l i forsøk med 3 ulike fiskearter (MacPhee & Ruelle, 1969), men det har ikke lyktes å få fatt i originalreferansen for å vurdere grunnlaget for denne verdien. Hvis fisk er så følsom som antydningene over er det ønskelig å få



dette bekreftet gjennom nye forsøk og da med bruk av en fiskeart som vil være relevant for Norske forhold.

### **1.3 Formål**

Hvis trinatriumsitrat er giftig for fisk er det viktig å ta hensyn til dette i videre planlegging av kraftverket. Fisk ble eksponert for en stor konsentrasjonsgradient for på denne måte å finne konsentrasjoner som kunne påvirke fisken negativt. Forsøket ble gjennomført over 6 dager for å ha en langvarig eksponering i forhold til forventet varighet av et utslipp av vaskevann. Samlet ble dette gjort for å fremprovosere eventuelle responser på trinatriumsitrat.

Forsøket utføres i ferskvann. Sammenlignet med brakkvann vil dette vannet være meget ionefattig (faktor på >1000). Tilsetning av en chelator forventes å ha større effekt på vannkvalitet i ferskvann enn i brakkvann. Resultat fra ferskvann kan derfor representere en verst tenkelig situasjon.

## 2. Metode

### 2.1 Forsøksoppsett

Forsøkene ble gjennomført ved Skjerka stamfiskanlegg i Storelva, Tvedestrand. Anlegget får vann fra Skjerka. Dette vannet er kalka og har tilfredsstillende vannkvalitet under normale forhold. Selve forsøket startet 23. oktober 2012.

Fisk ble eksponert i 6 dager til en konsentrasjonsgradient av trinatriumsitrat. I samråd med Statkraft Development ble det bestemt at 10 mg/l skulle representere en nominell dose, hvor gradienten skulle etableres ved å multiplisere nominell dose med 0.1, 0.3, 3.0 og 10.0. Dette ville gi en gradient hvor fisk eksponeres for trinatriumsitrat konsentrasjoner på 1, 3, 10, 30 og 100 mg/l. Fiskeresponser i eksponeringskarene sammenlignes mot fisk holdt i ubehandlet vann (kontroll).

Det ble før forsøksstart bygd opp en forsøksrigg basert på kontinuerlig vanntilførsel. Fordelen med et slikt karsystem er at fisken hele tiden får tilført friskt oksygenrikt vann og hvor det ikke er fare for opphopning av avfallsstoffer fra fisken. Dette kan påvirke resultat i statiske system. Utfordringen i gjennomstrømmingssystem er å holde eksponeringsmiljøet rimelig stabilt. Konsentrasjonene i de enkelte karene vil kunne variere på grunn av variasjon i vanntilførsel, i utdosert mengde kjemikalier og som følge av feil konsentrasjon i stamløsningene.

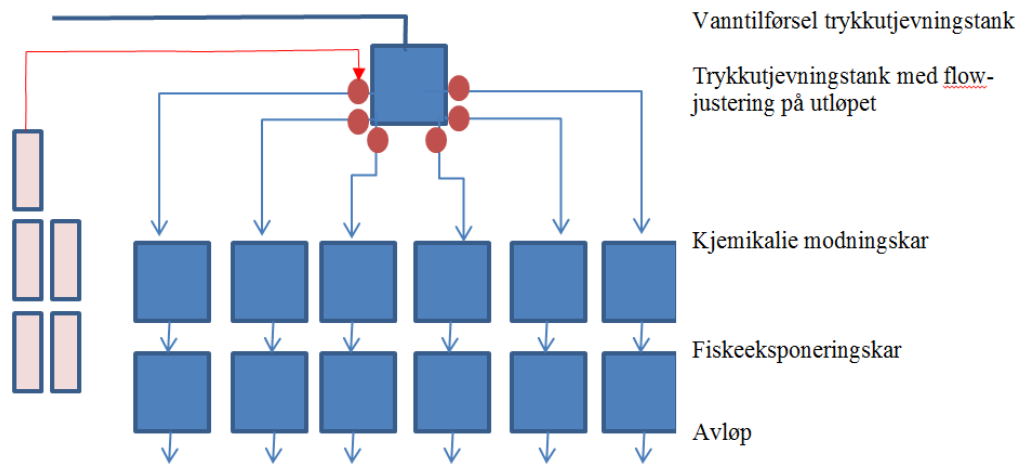
Konsentrasjonsgradienten kan etableres ved å manipulere flere enkeltkomponenter i forsøksoppsettet. Vi valgte kun å variere konsentrasjonen på stamløsningen og holde andre forhold fast. Når utdosert stamløsning/min og vannforbruk/min holdes fast blir eksponeringskonsentrasjonen en funksjon av konsentrasjonsgradienten i stamløsningene alene. Korrekt doseringsvolum ble etablert med bruk av en Watson-Marlow slangepumpe (modell 530) påført et 5-hodet slangeholder isatt Marprene slanger (kode grønn grønn) til dosering. Det ble kontinuerlig utdosert ca 5,5 ml/min gjennom hele forsøksperioden. Kjemikaliene ble transportert fra stamløsningsbeholderne til pumpa og til hver karrekke i 1 mm silikonslanger.

Vanntilførselen til eksponeringskarene vil være stabil så lenge vanntrykket holdes konstant og ventiler ikke åpnes/lukkes. For å etablere et stabilt vanntrykk ble det benyttet et vannfordelingskar med overløp. Fra dette karet ble vann ført til eksponeringskarene samt i overløp. Så lenge det går vann til overløp er trykket i systemet konstant. For å kunne kontrollere og reetablere korrekt vanntilførsel etter rensing av ventiler mm ble det satt inn flow-kontrollere etter ventilene. Disse gjør det mulig å overvåke vannforbruket uten å bruke tid på å kontrollmåle denne.

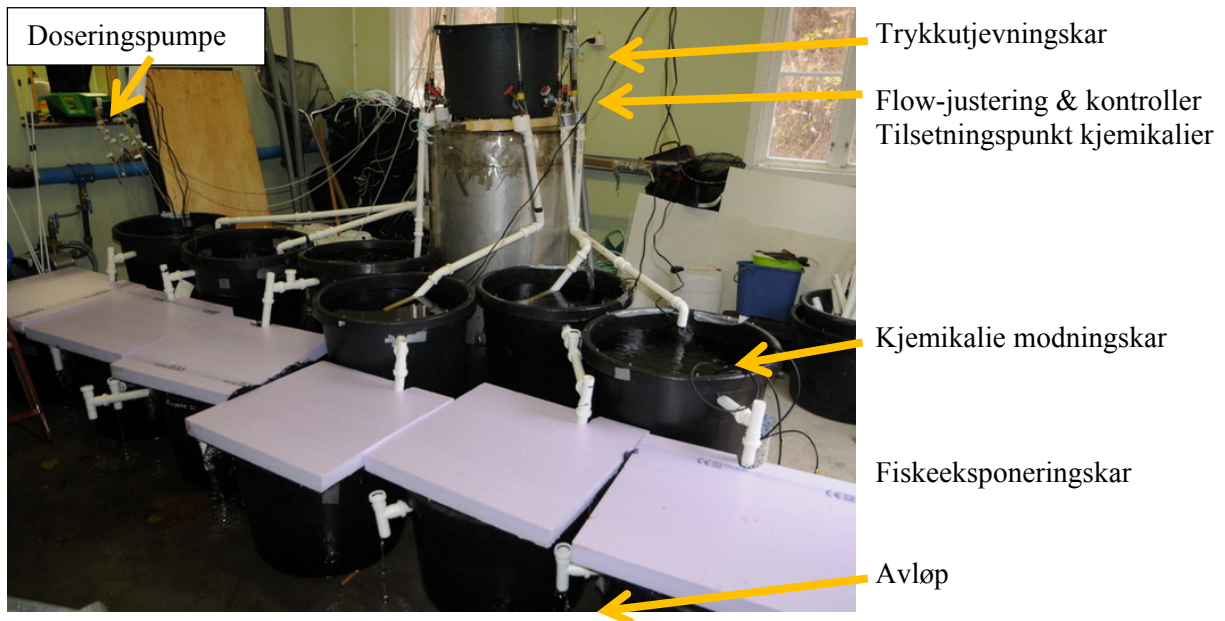
Kjemikaliene ble tilsatt vannstrømmen på utløpet fra flow-kontrollere. God innblanding ble etablert i tilførselrørene til modningskaret. Dette ble kontrollert ved å overvåke variasjon i konduktivitet over tid. Så lenge denne var stabil ut av røret antar at de tilsatte kjemikaliene var blandet.

Før vannet ble tilført fiskekaret ble vannet modent gjennom ett eget kar. I dette var det plassert en sirkulasjonspumpe som pumpet hele vannvolumet hvert 2 minutt. Teoretiske oppholdstid i karene var på ca. 27 minutter. Sirkulasjonspumpen vil dermed ha blandet vannet mange ganger før det ble ledet til fisken. Samlet ble disse tiltakene gjennomført for å sikre stabile eksponeringsforhold.

Fisk ble eksponert i nederste karrekke. Herifra gikk vann til avløp.



**Figur 1.** Skisse over eksponeringsoppsettet. Vann renner inn i oppsettet på toppen og fordeles til modningskar samt eksponeringskar gjennom rør. Stamløsningsbeholdere er gitt en lilla farge mens modnings- og eksponeringskar er gitt blå farge. Plassering av flow-kontrollere er vist som lilla sirkler.



**Figur 2.** Bilde av forsøksoppsettet. Fisken eksponeres i nederste karrekke. Her er disse dekket med plater for å skjerme fisken mot lys og bevegelser.

## 2.2 Doseringsløsning

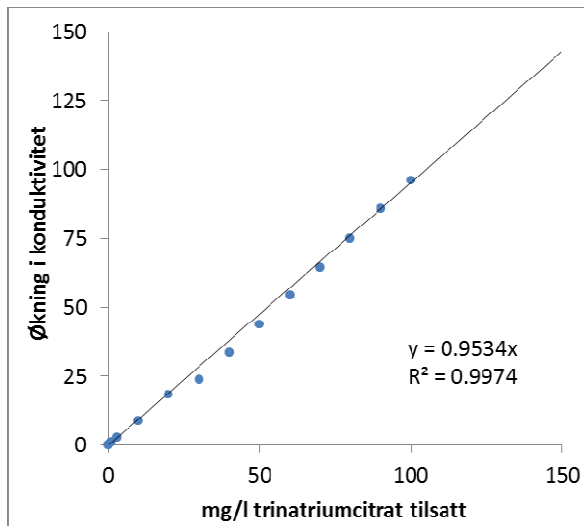
De ulike doseringskonsentrasjonene ble etablert ved å løse trinatriumsitrat pulver levert oss fra Statkraft Development. Det ble benyttet trinatriumsitrat av samme kvalitet (teknisk) som vil være aktuelt å benytte under praktisk drift av osmoseanlegget. Mengde trinatriumsitrat som ble benyttet i de ulike stamløsningene varierte med dosemaal hvor det i utveingene ble tatt hensyn til forskjeller i vann- og doseringsflow mellom karene (**Tabell 1**).

**Tabell 1.** Tabell over planlagt konsentrasjonsgradient, karkode, vanntilførsel (Q; l/min), doseringsflow (q; ml/min) og mengde trinatriumsitrat løst i 20 l vann.

Planlagt konsentrasjon mg/l	Kar kode	Flow Q	Doseringsflow q	Stamløsning g/20 L
1	F	2.8	5.3	10,5
3	E	2.8	5.0	34
10	B	2.5	4.8	105
30	A	2.6	5.3	297
100	C	2.5	5.0	1008
Kontroll	D	2.5	0	0

## 2.3 Doseringskontroll

Trinatriumsitrat er et salt. Konduktivitet ville derfor øke med økende konsentrasjon. Det ble laget en enkel titreringskurve mellom tilsatt kjemikalium og økning i konduktivitet i felt (fig 3). Denne ble senere benyttet for å kontrollere at målt forskjell i konduktivitet mellom karene var i henhold til forventet økning. Til måling av konduktivitet ble det benyttet WTW 3010.



**Figur 3.** Sammenheng mellom mg/l trinatriumsitrat tilsatt og økningen i konduktivitet. Sammenhengen var tilstrekkelig robust til at denne kunne benyttes til å kontrollere doseringene.

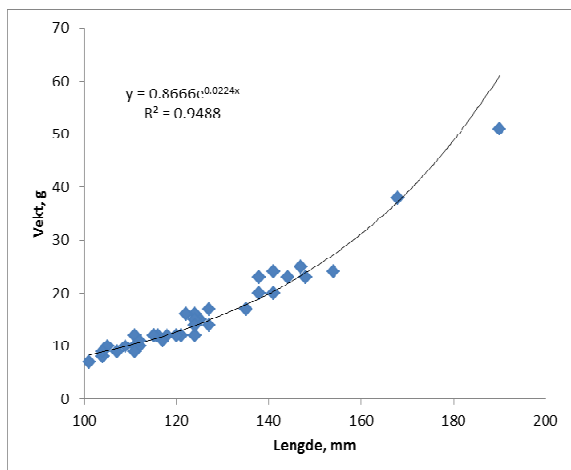
## 2.4 Valg av fiskeart

Valg av fiskeart avviker fra OECD-protokollen. Vi ønsket å benytte en art som er vanlig forekommende i Norge. Laks representerer den tradisjonelt mest følsomme arten i våre vassdrag. I forsøket ble det benyttet parr (1+). Det hadde vært ønskelig å kunne gjennomføre forsøkene med bruk av smolt (individer som er klare til å forlate elva for å utvikle seg videre i saltvann). Smolt er imidlertid ikke tilgjengelig på høsten. Det hadde vært mulig å benytte oppdrettet smolt. Denne er imidlertid større enn villsmolt og derfor lite representativ for villfisk. Eldre yngel av villaks vurderes derfor som en meget relevant fisk- og responsindikator i et pilotforsøk.

## 2.5 Fisk

Det ble innfanget eldre lakseunger til bruk i forsøket fra Storelva i Holt. Fisken ble fanget med bruk av elektrisk fiskeapparat og holdt i kar tilført råvannet benyttet i forsøket i 7 dager før forsøksstart. Dette gir en tilvenning til vannkvalitet i forsøksvannet før denne ble påvirket av kjemikalietilsetningene.

Det var noe spredning i fiskestørrelse. Fisken var i snitt  $12,5 \pm 1,9$  cm lang og veide  $15,9 \pm 8,7$  g. Majoriteten av fisken var mellom 10 og 15 cm og veide mellom 9 og 25 g. Dette vil være presmolt, eller fisk som ville ha utvandret våren 2013. Erfaringsmessig vil denne ha alder 1+ høsten før utvandring.



Figur 4. Sammenheng mellom lengde og vekt til eldre lakseunger benyttet i forsøket.

## 2.6 Fiskeresponser

Det ble gjennomført en daglig subjektiv vurdering av fluktrespons. Denne vil erfaringsmessig avta med økende grad av negativ påvirkning. Fluktrespons ble rangert etter en skala hvor 4 tilsier normal fluktrespons når lokket over karet ble løftet bort, 3 at fisken viste fluktrespons først når hånden ble beveget raskt over karet, 2 at fisken reagerte på bevegelse, men hvor bevegelsene var vanskelig å fremtvinge og 1 at fisken ikke reagerte. Nivå 3 og 4 erfares normalt i kontrollkar. Nivå 2 kan være vanlig etter lengre tids eksponering, men også hos fisk som er negativt påvirket. Nivå 1 antyder normalt stressa fisk.

Fisken ble før prøvetaking avlivet med et slag til hodet. Lengde og vekt og ytre trekk ble notert før blodprøver ble tatt fra kaudalårene. Blod ble analysert med bruk av I-STAT 300 fra Abott Point-of-Care Inc, USA. Blodet ble analysert med bruk av EG 8+ analysekassetter. Denne analyserer ioneinnhold, blodsukker og blodgasser. Analysene utføres umiddelbart etter prøvetaking og data vil foreligge etter 2 minutter. Blodgassene må korrigeres for vanntemperatur. Dette er gjort i henhold til formler gitt oss fra Abbott.

Samtidig med blodprøvetakingen ble det gjort notater på grad av "slimethet" eller "glattethet". Normalt er fisken ved prøvetaking "glatt". Når denne derimot er stressa vil slimet som omgir kroppen bli mer "klissete" eller "klebrig". Dette kan analyseres. Her er det derimot kun benyttet en subjektiv skala, hvor 4 betyr vanlig glatt og 1 svært klissete.

## 3. Resultat

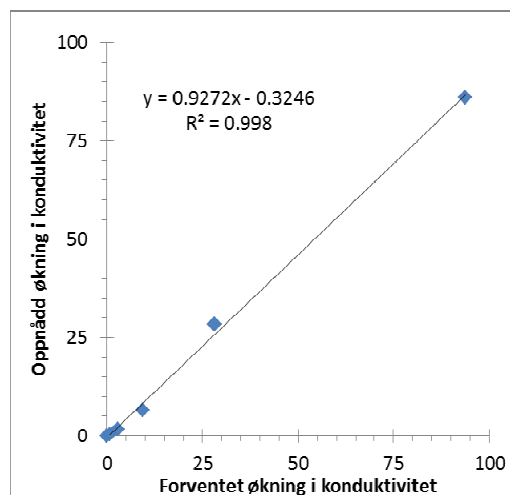
### 3.1 Eksponeringskonsentrasjoner

Eksponeringskonsentrasjonen ble litt lavere enn planlagt. Ettersom forsøket var startet med fisk når dette avviket ble oppdaget ble forsøket videreført uten å justere tilsetningene ytterligere. Avviket vurderes ikke som vesentlig for forsøket. Eksponeringsgradienten ble fra 0,6 til 92 mg/l og ikke fra 1 til 100 mg/l (**Tabell 2**). Spredningen i konsentrasjon var i henhold til plan (

Figur 5).

**Tabell 2.** Tabell over planlagt eksponeringskonsentrasjon og forventet og oppnådd endring i konduktivitet. Forholdet mellom disse ble deretter benyttet til å beregne faktisk eksponeringskonsentrasjon. Denne er her angitt med maks/min verdier basert på daglige målinger av konduktivitet.

Planlagt trinatrisitrat konsentrasjon	Kar-kode	Forventet økning konduktivitet	Målt økning konduktivitet	Eksponerings konsentrasjon mg/l
0	D	0.0	0.0±0,04	
1	F	0.9	0.5±0,04	0,6 (0,5-0,6)
3	E	2.8	1.6±0,8	1,7 (0,9-2,5)
10	B	9.4	6.6±0,4	7,1 (6,6-7,5)
30	A	28.1	28.5±4,1	30 (25-34)
100	C	93.8	86.1±2,8	92 (89-95)



Figur 5. Sammenheng mellom planlagt og oppnådd dose.

### 3.2 Fisk

All fisk overlevde. Det var en antydning til svekket fluktrespons og endret slimkvalitet hos fisk eksponert ved 30 og 100 mg trinnatriumsitrat/l eller 3 og 10 ganger nominell dose i mer enn 4 dager. Effekten var så moderat at fysiologiske responser ikke forventes.

Det var ingen statistisk signifikant forskjell i blodparametere mellom de ulike gruppene (**Tabell 3**, **Tabell 4**). Det var likevel tendenser til at fisk i de høyeste konsentrasjonsgruppene hadde større spredning i verdiene enn i de laveste gruppene. Dette kan observeres delvis med endring i middelerverdi, delvis som økning i standardavvik (SD). Forskjellene mellom gruppene er ikke biologisk signifikant.

**Tabell 3.** Subjektivt satte verdier for fluktrespons og grad av glatthet (slimkvalitet), dødelighet og målte verdier for blodelektrolytter samt hematokritt. Alle målinger er utført med bruk av en I-STAT.

	Dose	Fluktklasse	Glatthet	Dødelighet	Natrium mM	Kalium mM	Klorid mM	Glukose mM	Hematokritt %
D	0	4	4	0	142.0+2,6	3.8+0,5	133.5+2,6	1.5+0,3	24,5+1,7
F	1	4	4	0	145.3+2,5	3.6+0,2	131.0+2,0	1.5+0,2	25,5+1,0
E	3	3	3	0	143.3+1,0	3.8+0,7	131.0+1,2	1.9+0,8	28,0+3,6
A	10	3	3	0	142.0+3,7	4.5+0,7	134.5+2,7	1.8+0,5	26,0+5,0
B	30	3	3	0	137.7+8,3	4.1+0,8	130.3+7,6	3.1+1,8	25,3+5,3
C	100	3	2	0	142.5+2,2	4.0+0,6	132.0+3,5	2.5+0,5	24,5+5,8

**Tabell 4.** Målte verdier for blodgasser. Alle målinger er utført med bruk av en I-STAT og temperaturkorrigert til vanntemperaturen (ca 6°C).

	Dose	Hb	pH(Tp)	pCO <sub>2</sub> (Tp)	pCO <sub>2</sub> (Tp)	tCO <sub>2</sub> TP	HCO <sub>3</sub> TP	BE-b	BE-ecf	Angap
D	0	8.4+0,6	7.257+0,06	0.4+0,2	3.0+0,8	1.4+0,5	1.4+0,5	-23.2+1,4	-21.1+0,4	10,9+4,5
F	1	8.7+0,3	7.246+0,05	0.4+0,1	2.9+0,6	1.3+0,2	1.2+0,2	-23.4+0,8	-21.1+0,8	16,6+3,5
E	3	9.5+1,2	7.219+0,06	0.3+0,0	2.6+0,2	1.1+0,1	1.1+0,1	-24.0+1,0	-20.8+1,0	14,9+2,2
A	10	8.8+1,7	7.225+0,09	0.4+0,1	3.1+0,6	1.3+0,2	1.3+0,2	-23.8+1,6	-20.7+1,3	10,7+1,8
B	30	8.6+1,8	7.205+0,05	0.3+0,0	2.4+0,2	1.0+0,1	1.0+0,1	-24.5+0,8	-20.7+0,7	9,9+1,5
C	100	8.3+2,0	7.258+0,10	0.4+0,2	2.8+0,7	1.3+0,4	1.3+0,4	-23.4+1,4	-21.2+1,3	13,2+4,2

## 4. Diskusjon

Det foreligger ikke etter hva vi erfarer tidligere data på konsentrasjonsgradienter og effekter av trinatriumsitrat på fiskearter relevant for Norge. Det var ut fra dette ønskelig å få gjennomført en test av stoffet før planleggingen av osmoseanlegget hadde kommet så langt at endringer i tekniske løsninger og valg av kjemikalier ville ha betydning for fremdriften og kostnader. Forsøket hadde som formål å påvise om en langvarig (6 dager) eksponering av trinatriumsitrat ville påvirke fisk negativt.

Erfaringsmessig er laks en av de mer følsomme artene i Norsk natur og den mest følsomme fiskearten i forhold til kjemikalieutslipp. Det ble av denne årsak benyttet laks som responsindikator. Laksesmolt er det mest følsomme livsstadiet. Dette livsstadiet er ikke tilgjengelig om høsten. Forsøket ble derfor gjennomført med eldre lakseunger (parr). I slike forsøk er det ikke ønskelig å benytte oppdrettet laksesmolt. Disse avviker fra villaks med sin størrelse. Fisken benyttet i forsøket ble innfanga i Storelva, Tvedestrand og holdt i kar fram til eksponering.

Trinatriumsitrat er en chelator. Fisk vil kunne reagere på stoffet i seg selv, eller på endringer i vannkvalitet forårsaket av kjemikaliene. Det ble her valgt å lage en worst-case scenario for å kunne si mer om sannsynligheten for at et korttidsutslipp kunne påvirke fisk negativt. Fisk ble eksponert i 6 dager. Dette er betydelig lengre enn 4 timer som er forventet varighet av et utslipp. Nominell dose etter fortykning i elv/estuariet er forventet å ligge omkring 10 mg trinatriumsitrat/l. Fisk ble eksponert til en gradient fra 0,1 til 10 ganger nominell dose for å skaffe informasjon om hvilke konsentrasjonsnivåer som eventuelt hadde effekt. Både eksponeringsvarighet og konsentrasjoner var dermed høyere enn det som sannsynligvis vil inntreffe i praksis. Fisk ble eksponert over lang tid til en konsentrasjonsgradient for å kunne framtinge eventuelle negative effekter for dermed å kunne sette grenser.

En respons kan spenne fra dødelighet til kun å være påvisbar gjennom fysiologiske målinger. Hvis stoffet er akutt giftig vil fisken dø raskt (timer til noen få dager). Hvis stoffet er kronisk dødelig vil dødelighet først inntreffe etter flere dager til uker. Mens man ikke trenger å kunne påvise fysiologiske forandringer hvis dødeligheten er svært akutt vil slike forandringer være forventet hvis stoffet er kronisk giftig. Ettersom ingen fisk døde i forsøket var vannet ikke akutt giftig.

Eventuelle subletale skader kan påvises med fysiologiske målinger. Subletale responser er her vurdert ut fra fiskens atferd i karet samt ut fra blodprøver. Atferdsendringer er mer vanskelig å måle i et karforsøk, men ved å notere trekk ved adferd samt trekk ved for eksempel "sliming" kan en subjektiv vurdering gjøres. Det ble ikke påvist avvik fra kontroll som tyder på biologisk signifikante responser. Det var ingen statistisk forskjell mellom gruppene. Basert på de målte blodverdiene konkluderes det med at eksponering for trinatriumsitrat i konsentrasjonsområdet 1 til 100 mg/l over 6 dager ikke er skadelig for lakseparr.

Fravær av fysiologiske responser tyder på at vannkvaliteten heller ikke var subletal. Hverken lang eksponeringstid eller høy konsentrasjon resulterte i påviselige responser. Ut fra dette må det konkluderes med at trinatriumsitrat opp til konsentrasjonsnivåer på 100 mg/l ikke har negative effekter på fisk. Forsøket ble gjennomført over lang tid og ved høye konsentrasjoner for å fremprovosere responser. Dette klarte vi ikke. En kritisk grense vil således være ved en høyere dose enn den vi her har benyttet. En kritisk grense vil sannsynligvis være på et nivå som er irrelevant.

Vi kan ikke ut fra dette forsøket konkludere i forhold til smolt, men vurderer det som mindre sannsynlig at smolt vil påføres skader ved nominell dose. Dette kan etterprøves om våren når smoltstadiet er tilgjengelig. Ettersom smoltutvandningsperioden er kortvarig (ca 6 uker, med størst utvandring over en 2-3 ukers periode) kan det tas særskilt hensyn til dette livsstadiet ved å ikke slippe kjemikalier ut denne perioden om våren.



## 5. Referanser

Kanta, S., og Sarma, T.A. 1980. Biochemical Studies on Sporulation in Blue-Green Algae II. Factors Affecting Glycogen Accumulation. *Z. Allg. Mikrobiol.*20(7): 459-463

OECD 1992. Adopted by the Council on 17th July 1992. OECD guidelines for testing of chemicals. Adopted by the Council on 17th July 1992

Permakem AS. 2008. Produktdatablad for Trinatriumsitrat

Staalstrøm, A., Farnen, E. og Gitmark, J. 2012. Miljøutredning for et saltkraftverk i Sunndalsøra. NIVA-rapport 6397. 39s.

Warne, M.S og Schifko, A.D. 1999. Toxicity of laundry detergent components to a freshwater cladoceran and their contribution to detergent toxicity. *Ecotoxicol Environ Saf.* 44(2):196-206.

MacPhee, C., og Ruelle, R. 1969. Lethal Effects of 1888 Chemicals upon Four Species of Fish from Western North America. *Bull.No.3, Forest, Wildl.and Range Exp.Stn., Univ.of Idaho, Moscow,* ID:112 p.

NIVA: Norges ledende kompetansesenter på vannmiljø

NIVA gir offentlig vannforvaltning, næringsliv og allmennheten grunnlag for god vannforvaltning gjennom oppdragsbasert forsknings-, utrednings- og utviklingsarbeid. NIVA kjennetegnes ved stor faglig bredde og godt kontaktnett til fagmiljøer i inn- og utland. Faglig tyngde, tverrfaglig arbeidsform og en helhetlig tilnæringsmåte er vårt grunnlag for å være en god rådgiver for forvaltning og samfunnsliv.



Norsk institutt for vannforskning

Gaustadalléen 21 • 0349 Oslo  
Telefon: 02348 • Faks: 22 18 52 00  
[www.niva.no](http://www.niva.no) • [post@niva.no](mailto:post@niva.no)