

639.3
B34

Arbejdsrapport fra Miljøstyrelsen

Nr. 36 1993

Chitosan i fiskefoder

639.3

B34

ex. 2

7624

**Arbejdsrapport fra Miljøstyrelsen
Nr. 36 1993**

Chitosan i fiskefoder

Per Bovbjerg

Dansk Institut for FiskeriTeknologi og Akvakultur

MILJØSTYRELSEN
BIBLIOTEKET
Strandgade 29
1401 København K

Miljøministeriet **Miljøstyrelsen**

Rapporten er udarbejdet med tilskud fra Rådet vedr. genanvendelse og mindre forurenende teknologi.

Det skal bemærkes, at de fremsatte synspunkter ikke nødvendigvis dækkes af Rådet eller Miljøstyrelsen.

Indhold

Forord	1
1. Materialer og metoder	2
1.1 Forsøgskar	2
1.2 Fisk	4
1.3 Foder	4
1.4 Tilsætningsstoffer	5
1.5 Forsøgsgang	7
1.6 Fækalieopsamling	7
1.7 Fysisk/kemiske parametre	8
1.8 Opvejning, fraktionering, fækaliestripning	8
1.9 Udvaskningsprofiler	8
2. Resultater	10
2.1 Vækstparametre	10
2.2 Foderspild	12
2.3 Fosfor-opsamling	15
2.4 Kvælstof-opsamling	19
2.5 Udvaskningsprofiler, fosfor	23
2.6 Udvaskningsprofiler, kvælstof	28
3. Konklusion	30
Litteratur	31
Bilag	32

Forord

Gennem de senere år er miljøbelastningen fra de ca. 450 danske ferskvandsdambrug reduceret væsentligt. Denne reduktion skyldes primært to faktorer, nemlig foderudvikling og forbedrede driftsprincipper:

- Foderudviklingen er sket fra det tidligere anvendte vådfoder over almindeligt tørfoder til det i dag anvendte ekstruderede højenergifoder, hvor en forøget del af fiskenes energibehov dækkes via olie.
- Driftsprincipperne er dels blevet forbedret gennem etablering af bundfældningsbassiner og/eller andre rensningsforanstaltninger som f.eks. mekaniske filtre, dels gennem bevidst indsats på miljømæssig drift fra dambrugerne.

Med de nævnte rensningsforanstaltninger kan dambrugene tilbageholde den bundfældelige del af fiskens fækalier og dermed reducere miljøbelastningen. Det er derfor af stor vigtighed i miljømæssig henseende, at så mange af de miljøbelastende stoffer i fiskenes fækalier som muligt findes i den bundfældelige del, således at de kan renses fra.

Stabiliteten af fækalierne er ligeledes af stor vigtighed, således at de indeholder størst mulig mængde næringsstoffer, når de kommer frem til rensningsenheden.

På denne baggrund er der i denne undersøgelse foretaget forsøg med tilsætning af chitin, chitosan samt diamol til foderet, for i givet fald at kunne dokumentere disse stoffers evne til at binde mere organisk stof og flere næringsstoffer i fækalierne, således at der opnås en større del på bundfældelig form og samtidigt opnås en større stabilitet af fækalierne.

Projektet er finansieret dels af de involverede virksomheder (Damolin A/S, Dansk Ørredfoder A/S, CIC-Marine og DIFTA, Dansk Institut for FiskeriTeknologi og Akvakultur), dels af Rådet for Genanvendelse og Mindre Forurenende Teknologi, administreret af Miljøstyrelsen.

Der har i forbindelse med gennemførelsen været nedsat en styregruppe med følgende medlemmer:

Lars Rudfeld	Miljøstyrelsen
Kaare Michelsen	Dansk Dambrugerforening
Niels Alsted	Dansk Ørredfoder A/S
Asbjørn Thoustrup	Damolin A/S
Per Bovbjerg	DIFTA

1. Materialer og metoder

1.1 Forsøgskar

Til forsøget anvendes 12 cylinderformede acryl-glas kar, designet af DIFTA. Af Figur 1 fremgår karrenes udseende og dimensioner.

Bundfældningsprincippet er, at fækalierne, efter at de er blevet afgivet fra fiskene, synker til bunds i et opsamlingsrør i bunden af karrene, hvor de kan ligge upåvirkede af vandudskiftningen m.v. Tab af næringsstoffer p.g.a. udvaskning søges derved elimineret. Opsamlingsrøret er påsat karret v.h.a. en kuglehane, således at der kan afspærres ved prøveopsamling samt ved fodring.

Tilløbsvandet ledes ind via et rør i siden af karret. Dette rør er afproppet for enden og forsynet med 6 stk. ø3 mm huller i længderetningen. Herved opnås en rundstrøm i karret selv ved lav vandudskiftning. Denne rundstrøm medvirker til en god opblanding samt til at fiskene har en vandbevægelse at orientere sig mod. Flowet til karrene kan reguleres v.h.a. en kuglehane.

For at fiskene ikke skal stå i bunden af karrene og påvirke fækalieopsamlingen, er karrene ved overgangen fra cylinderform til kegleform (det indsnævrende parti) forsynet med en bundrist. Denne rist har huller på 1x1 cm, og en stor hulprocent. Dette bevirker, at fækalier og evt. uspiste foderpiller nemt kan passere.

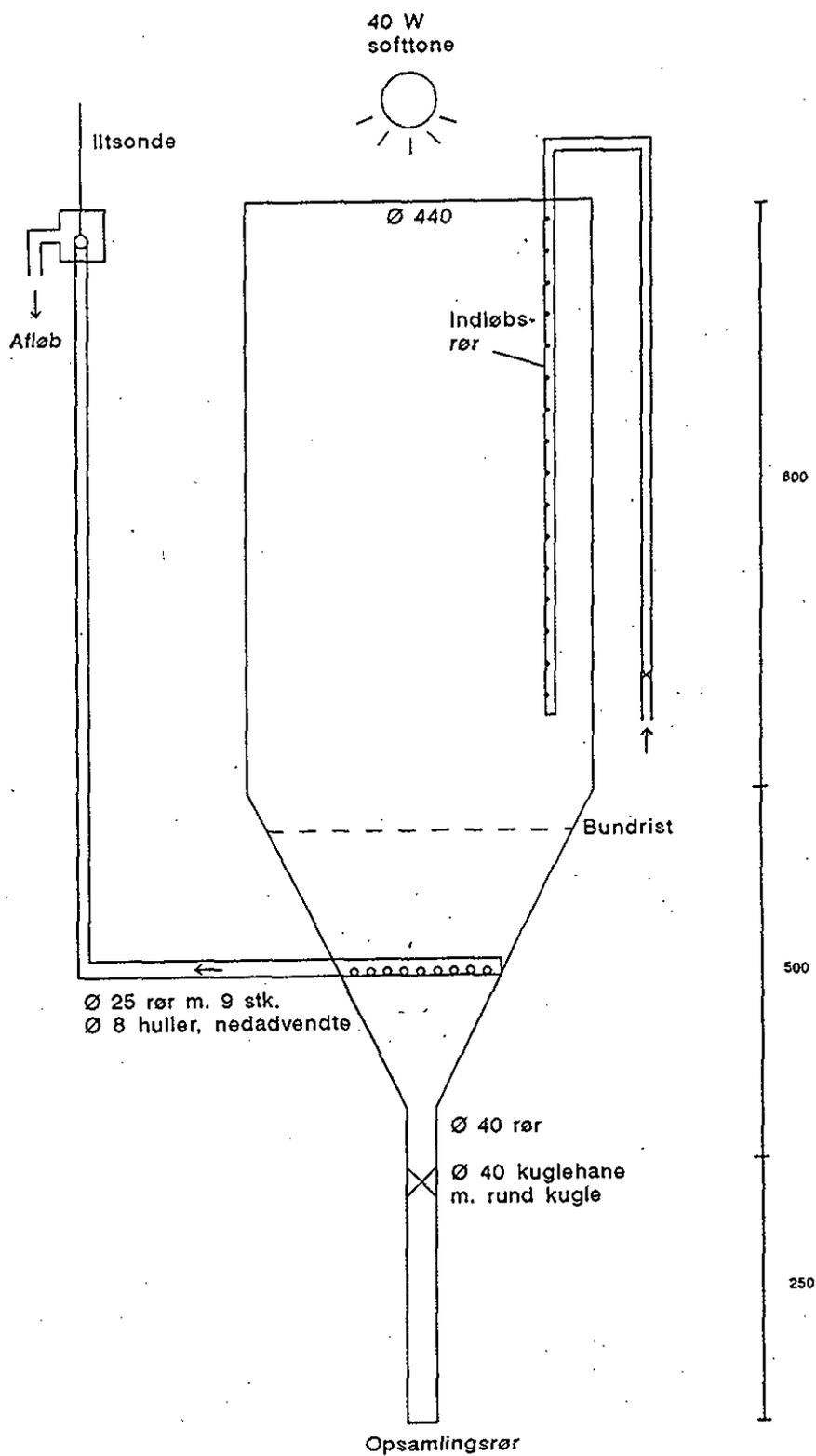
Afløbsvandet løber ud fra et tværrør anbragt i den kegleformede del af karrene, d.v.s. under bundristen. Dette tværrør er forsynet med 9 stk. nedadvendte ø8 mm huller, hvorigennem vandafløbet sker. Dette forhindrer fækalier og foderpiller i at blive suget ud og væk med afløbsvandet, og det sikres således, at partiklerne passerer til opsamlingsrøret.

Alle kar er forbundet med en iltsonde, som registrerer iltindholdet i afløbsvandet. Dette tilnærmes 70% mætning, dog således, at det aldrig bliver mindre.

Der er over hvert kar placeret en elektrisk pære (soft lys 40 W), som v.h.a. timere kan indstilles til at tænde henholdsvis slukke på 2 forudbestemte tidspunkter (9.30-22.00). Denne belysningsform sikrer, at bevægelser fra personer i rummet ikke kan registreres af fiskene, der således ikke stresses af skyggeeffekter.

Fra afløbsrøret kan udtages døgnprøver af afløbsvandet. Disse prøver udtages med programmerbar prøveudtager. Opsamlings-

beholderen opbevares i thermobox med is, således at temperaturen er tilnærmelsesvis 0 grader.



Figur 1
Skitse af de anvendte forsøgskar (alle mål i mm).

1.2 Fisk

På Skærum dambrug indfangedes med net ca. 40 kg regnbueørred af en størrelse mellem 40 og 120 g/stk. Af disse fisk blev i hver af de 12 forsøgskar isat 14 fisk af samme størrelse, 60-80 g/stk.

Fiskene var ca. en uge om at tilpasse sig forsøgsbetingelserne, hvilket vurderedes ved villigheden til at indtage føde og ved deres adfærd, herunder placering i vandsøjlen. Fiskene fodredes i denne periode med først 7 g pr. kar i 3 dage og derefter 10 g pr. kar af de til forsøget anvendte fodertyper.

1.3 Foder

Forsøgsfoderet blev fremstillet på Dansk Ørredfoders ekstruder, Clextral BC 45. Recepten blev tilstræbt enkel, med så få ingredienser som muligt.

Følgende recept blev anvendt:

	<u>Vægtprocent</u>
Fiskemel - LT kvalitet	64,05 %
Hvedemel	19,00 %
Fiskeolie	13,83 %
Vand	2,12 %
Vitamin & Mineralmix1	1,00 %

Denne recept skulle medføre følgende kemiske sammensætning af foderet:

Vand	9,00 %
Protein	48,00 %
Fedt	20,00 %
Kulhydrat	13,76 %
Energi (fordøjeligt)	17,2 MJ

Tilsætningen af chitin, chitosan og diamol skete ved at tilføre følgende procentsatser ekstra til ovennævnte recept:

- Kode 1: 1,5 % chitin
- Kode 2: 1,5 % chitosan
- Kode 3: 1,5 % diamol
- Kode 4: 0,25 % chitosan
- Kode 5: ingen tilsætning
- Kode 6 er en kommerciel fodertype, Ecolife 17.

Alle piller blev fremstillet med en diameter på 3 mm. Længderne på pillerne i de forskellige koder blev tilstræbt ensartede.

1.4 Tilsætningsstoffer

Chitin

Chitin findes i exoskelettet hos insekter og krebsdyr. Næst efter cellulose er chitin den hyppigst forekommende naturlige polymer. Chitin er således en væsentlig ingrediens i laksefisks naturlige føde. Enzymet chitinase, der medvirker til nedbrydning af chitin, findes i mave/tarm-systemet. Alligevel er laksefisk kun i ringe grad i stand til at nedbryde og udnytte chitin.

Chitin, chitosan og cellulose er kemisk nært beslægtede stoffer: Det er langkædede polysaccharider, bestående af monomerer kædet sammen via 1-4 bindinger. I cellulose er monomeren glucose, hvorimod det i chitin er N-acetyl-glucosamin. Af Figur 2 fremgår den kemiske opbygning af de tre stoffer.

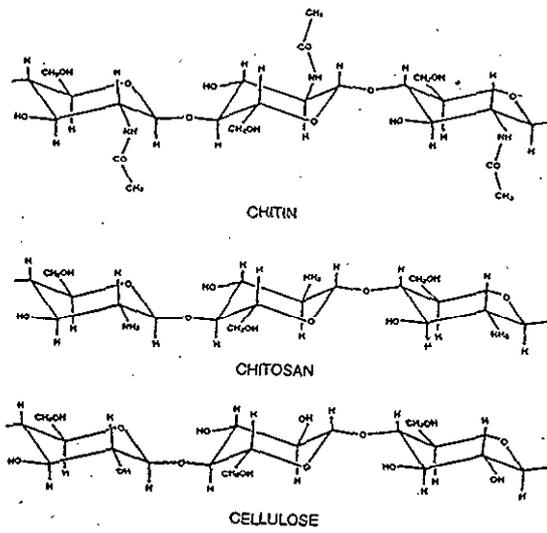
Chitin er beskrevet som havende positiv effekt på vækst og foderudnyttelse hos flere fiskearter (Kono *et al.*, 1987). Hos regnbueørreder er der derimod fundet en negativ effekt (Lindsay *et al.*, 1984).

Chitosan

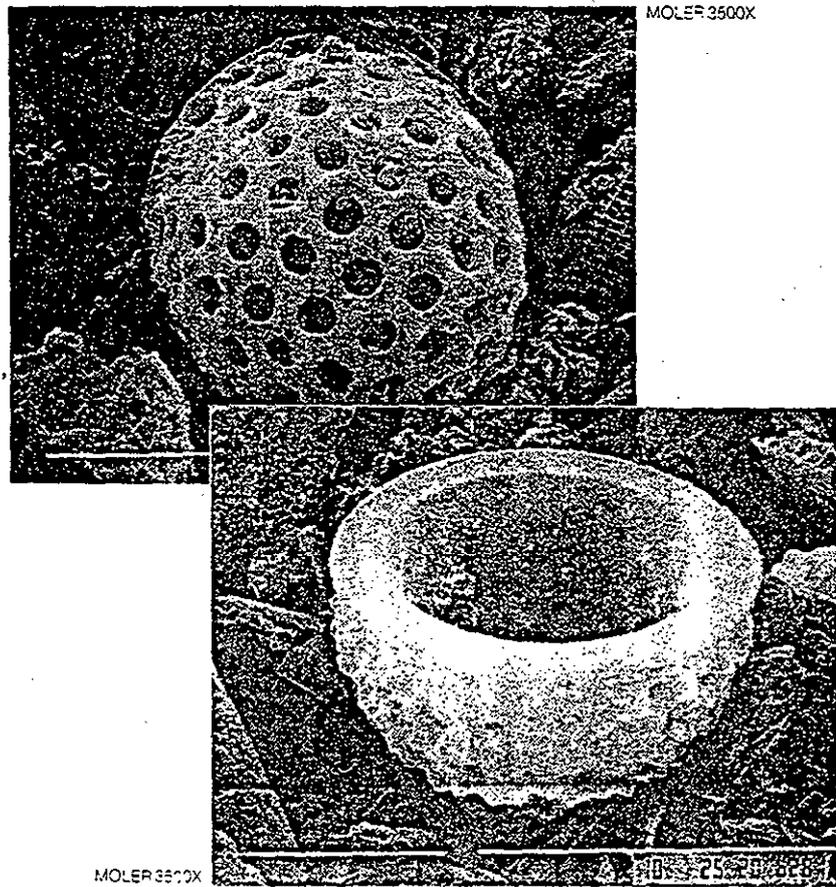
Chitosan er deacetyleret chitin. Når acetylgrupperne fjernes, opnås en polymer med mange frie aminogrupper, som er i stand til at danne stærke hydrogenbindinger og ionbindinger.

Diamol

Diamol er et molérprodukt, d.v.s. det består af en naturblanding af diatoméer og ler, som er separeret, tørret og formalet. Stoffet er kemisk set inaktivt, og som sådan ikke direkte i stand til at binde næringsstoffer. Diamols potentiale ligger i dets store overflade, som kan facilitere bindingen og udfældningen af fosfor og kvælstof (se Figur 3). Endvidere kan diamol tænkes at have en let forstoppende effekt, hvorved opholdstiden i tarmen øges, førende til en bedre fordøjelighed af foderet.



Figur 2
Den kemiske opbygning af chitin, chitosan og cellulose.



Figur 3
Forstørrelse af diamol, overflade og gennemskåret (x3500).

1.5 Forsøgsgang

Den 1/2 1993 startes forsøget, og fiskene vejes op. Dagen efter begynder fodringen, og fiskene tildeles 1.1% af biomassen dagligt frem til d. 9/2. Herefter bliver tildelingen reduceret til 1.0%.

De 12 kar hører sammen parvis (dublikat forsøgsrække med de 6 forskellige fodertyper).

Følgende kar fodres med samme slags foderpiller :

Kar nr.:	1-7	1,5% chitin
	2-8	1,5% chitosan
	3-9	1,5% diamol
	4-10	0.25% chitosan
	5-11	ingen tilsætning
	6-12	Ecolife 17: kontrol, kommerciel fodertype

Den nøjagtige fodermængde afvejes hver formiddag inden kl. 9.45, hvor fodring påbegyndes. Fodringen står på i ca. 1 time, alt efter fiskenes villighed til at acceptere foderet.

Halvdelen af foderet bliver udfodret til fiskene om formiddagen. Grundet det lave antal fisk gives ikke mere end 5-8 foderpiller pr. tildeling, og det tilses, at fiskene spiser pillerne.

For at undgå, at eventuelle uspiste foderpiller og fækalierne bliver blandet, lukkes kuglehanen til opsamlingsrøret altid før påbegyndelse af fodring.

Efter endt udfodring tages opsamlingsrøret af, og et fintmasket net sættes under karret til opsamling af vragede (uspiste) foderpiller, som fratrækkes den udfodrede mængde. Herved fås fodermængden indtaget. Opsamlingsrøret bliver herefter atter påsat, og kuglehanen åbnet igen til kl. 15, hvor proceduren gentages med den resterende fodermængde.

1.6 Fækalieopsamling

Hver morgen kl. 9.45 tømmes de enkelte opsamlingsrør for fækalier og vandfase i en til karret hørende plasticdunk, der herefter straks returneres til fryser (-18°C.). Prøverne fra én forsøgsperiode opsamles i samme dunk.

I den første uge blev der indsamlet prøver over to 3-døgn perioder, herefter blev der indsamlet prøver over fire 7-døgn perioder.

1.7 Fysisk/kemiske parametre

Der aflæses 1 gang hvert døgn temperatur og iltindhold i afløbsvand i hver enkelt kar.

Der udtages vandprøver af afløbsvandet med prøveudtager, programmeret til at opsamle 1 dl prøve pr. 15 min. over en 24 timers periode. Vandet fra det pågældende kar opsamles i en dunk placeret i is. Prøverne nedfryses og analyseres efterfølgende for total-fosfor og total-kvælstof.

Der ændres i denne periode ikke på flowet i karrene. Flowet måles sideløbende.

1.8 Opvejning, fraktionering, fækaliestripning

D. 10/3 opvejes alle fiskene i de enkelte kar.

Halvdelen af fiskene (7 stk.) tages ud af forsøget. De måles og vejes som hel fisk og fraktioneres i filet, skrog og indvolde, som opvejes individuelt for hver fisk. Herefter analyseres alle 7 fisk samlet for nitrogen, fosfor, tørstof og aske.

De resterende 7 fisk pr. tank tildeles 1% foder af de respektive fodertyper i henholdsvis 3 og 4 dage. De tages herefter op og holdes hårdt med bugsidens opad, og fækalier udpresses én gang med en finger fra bugfinnerne og ned til gattet, jævnføre proceduren beskrevet i (Austreng, 1978). Fækalierne udpresses direkte i vejet bægerglas og undersøges straks med henblik på udvaskningsprofiler af kvælstof og fosfor.

1.9 Udvasningsprofiler

I en laboratorieopstilling undersøges fækaliernes stabilitet og lækagen af næringsstoffer fra fækalierne.

Lækagen af fosfor og kvælstof fra fækalier til vand registreres over et 24 timers forløb ved 17°C. I forsøget skelnes mellem opløst/kolloidt materiale og suspenderet materiale efter DS 207. Som opløst (og kolloidt) defineres materiale, der passerer et 1,6 μ glasfiberfilter Whatman GF/A. Suspenderet materiale er det tilbageholdte på filteret (Fiskeriministeriets Forsøgslaboratorium, 1989).

Til lækageforsøgene presses fækalierne ud af 7 fisk jævnfør ovenstående. Vægten af fækalierne noteres. Efter tilsætning af 800 ml vand og omrøring med glasspatel udtages 100 ml prøve (tid 0); der suppleres med 100 ml vand. På denne måde udtages

prøver og fortyndes i alt 7 gange til tiderne 0, 5, 20, 40 minutter, 2, 4 og 24 timer. Prøverne filtreres over et Whatman glasfiberfilter GF/A, filtraterne analyseres individuelt, mens indholdet af kvælstof og fosfor i det suspenderede materiale opsamlet på filtrene analyseres som en samlet prøve. Prøverne analyseres for henholdsvis kvælstof og fosfor efter DS 221 og DS 292. Fækali-erne opsamles fra kar 1-6 og kar 7-12 efter henholdsvis 3 og 4 dages fodring efter fodertomhed.

Resultater

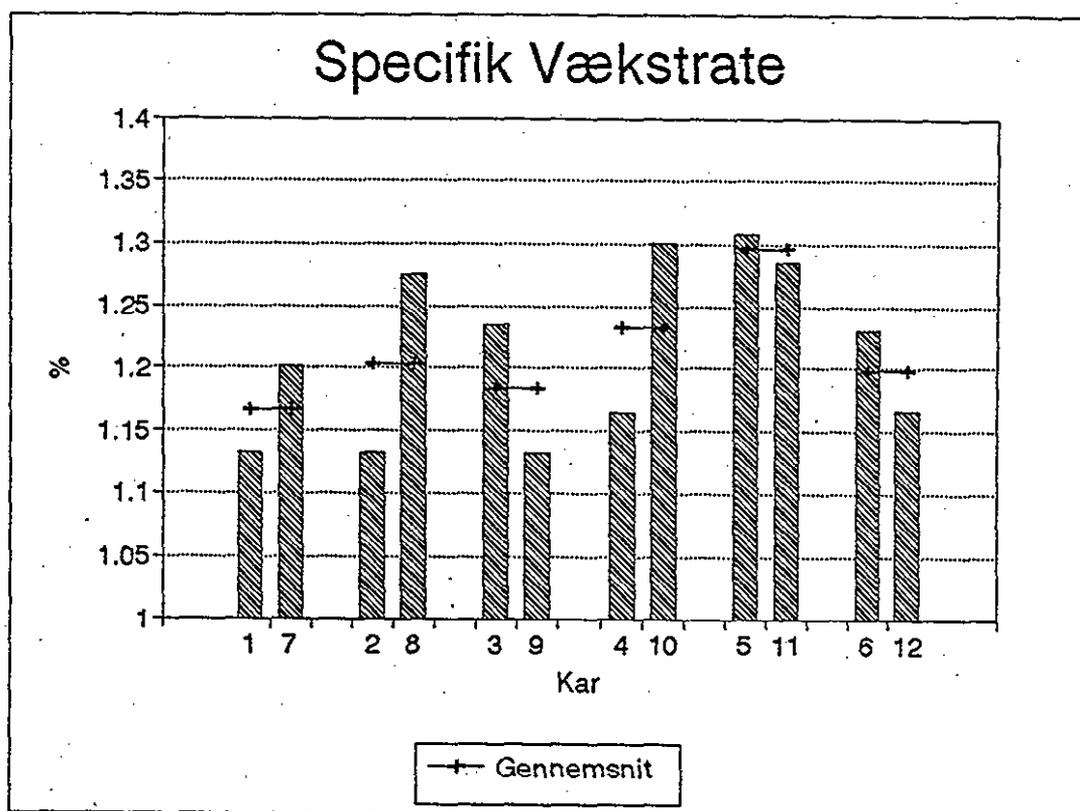
Vækstparametre

Figur 4 viser den specifikke vækstrate a , udregnet som
$$a = (\exp(\ln(W_t/W_0)/t)-1) \cdot 100$$

hvor W_t = vægt til tiden t (slutvægt)

W_0 = vægt til tiden 0 (startvægt)

t = tiden i dage

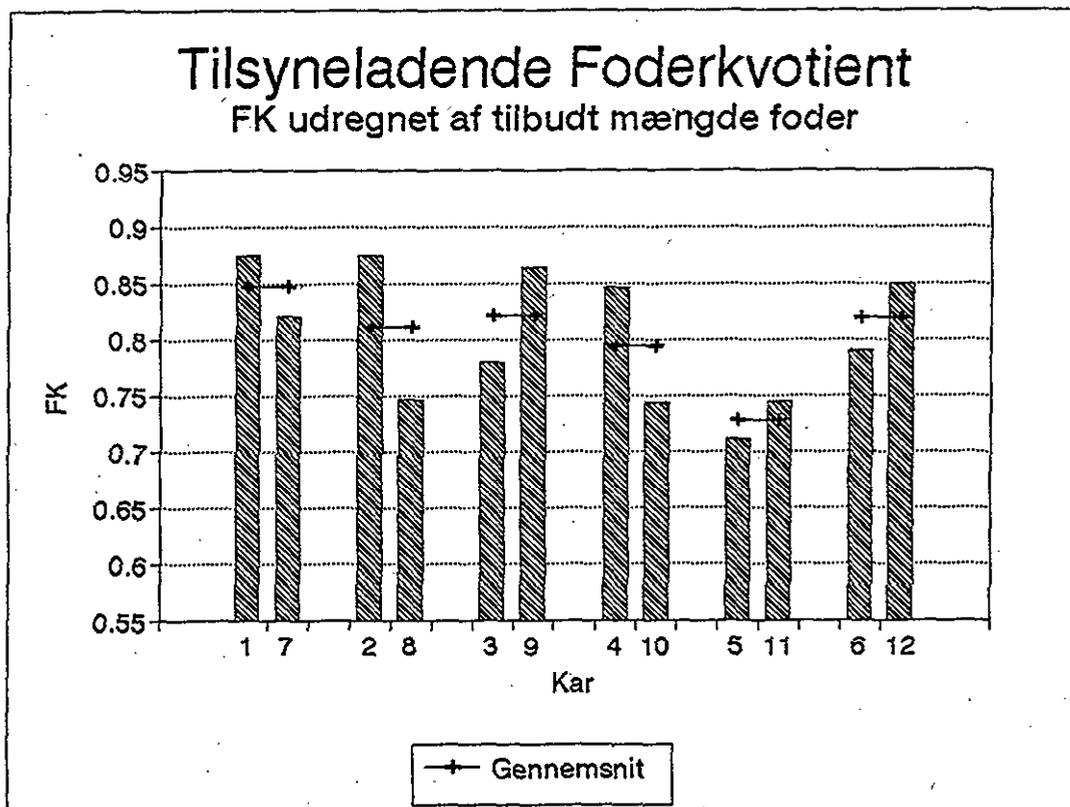


Figur 4

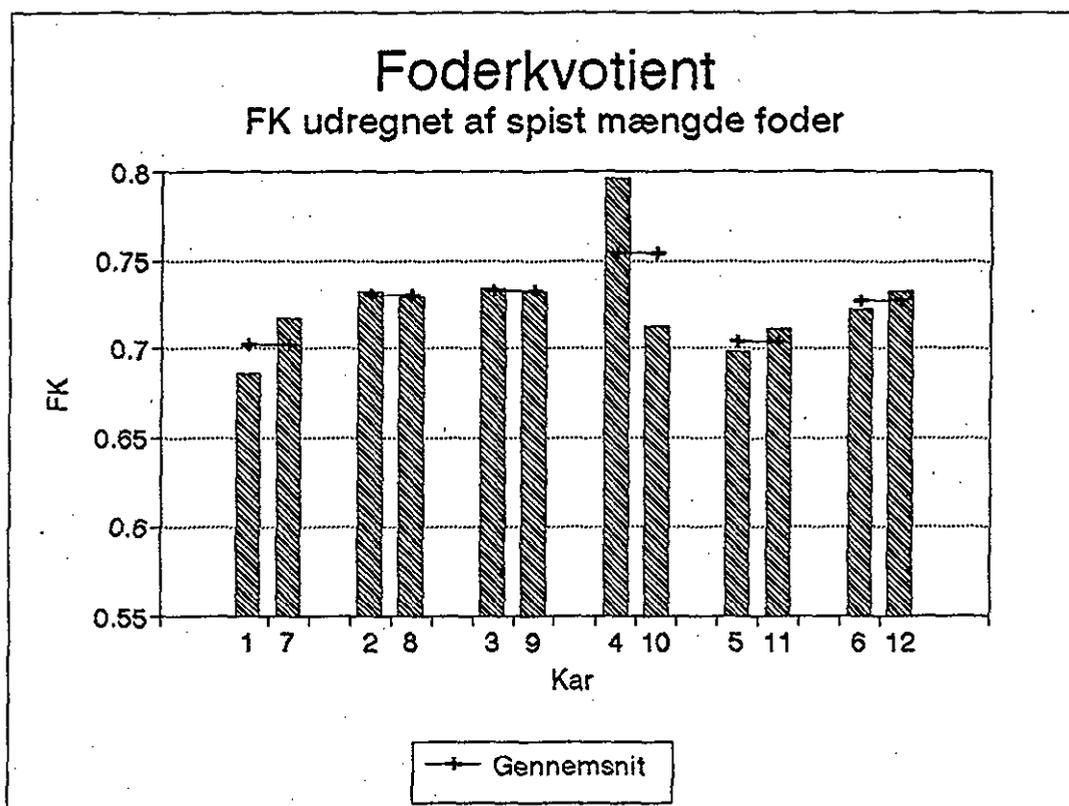
Den specifikke vækstrate i forsøgsperioden.

Som det fremgår, har der været tale om fisk i god vækst ved den pågældende temperatur ($\approx 8^\circ\text{C}$). For samtlige kar har den specifikke vækstrate været 1,2% i perioden.

Udregnes foderkvotienten (FK) som den tilbudte fodermængde divideret med den observerede tilvækst fås værdier som afbildet i Figur 5. Dette kunne kaldes den *tilsyneladende foderkvotient* (FK app.) idet der ikke tages højde for mængden af vragede foderpiller. Under praktiske forhold vil det være denne kvotient, som vil blive beregnet som foderkvotienten.



Figur 5
Den tilsyneladende foderkvotient, d.v.s. vragede piller medregnet.



Figur 6
Den reelle foderkvotient, d.v.s. vragede piller fraeregnet.

Indregnes mængden af vragede foderpiller, som i dette forsøg efterfølgende er opsamlet (se nedenstående afsnit), kan der også udregnes den reelle foderkvotient. Denne er afbildet i Figur 6. Set under ét bliver foderkvotienten ca. 9,5% lavere. For fodertyperne med den største procentvise vrugning bliver forbedringen noget bedre, som angivet i Tabel 1.

Tabel 1.

Kar nr.	FK-app.	% vragede foderpiller	FK
1	0,875	21,61	0,686
7	0,821	12,62	0,717
2	0,875	16,35	0,732
8	0,747	2,43	0,729
3	0,780	5,89	0,734
9	0,864	15,31	0,732
4	0,846	5,93	0,796
10	0,744	4,31	0,712
5	0,712	1,98	0,698
11	0,745	4,61	0,711
6	0,790	8,59	0,722
12	0,850	13,72	0,733

Der kan ikke påvises hverken en negativ eller en positiv effekt på foderkvotienten af tilsætningen af chitin, chitosan eller diamol.

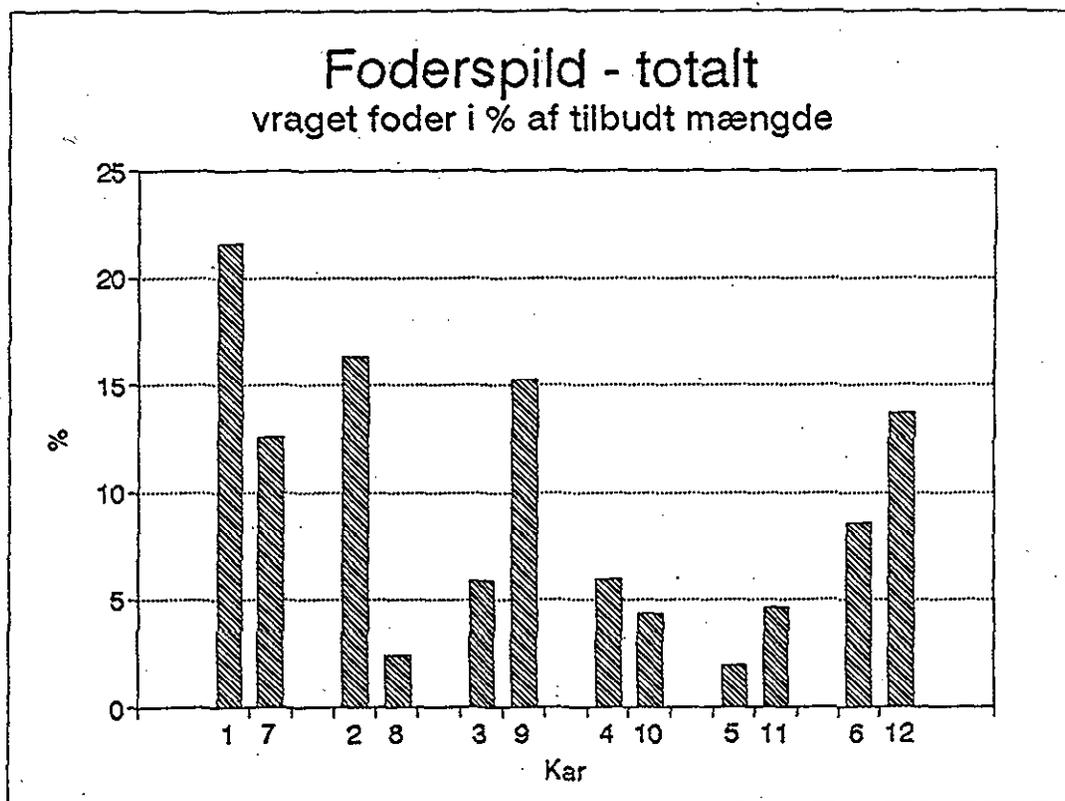
2.2 Foderspild

Figur 7 viser mængden af vragede piller totalt i forsøgsperioden, opgjort som procent af den tilbudte mængde. Referencefoderet uden tilsætning ses at have den laveste del vragede piller (kar 5+11), efterfulgt af typen med 0,25% chitosan (kar 4+10). Højest ligger 1,5% chitin (kar 1+7).

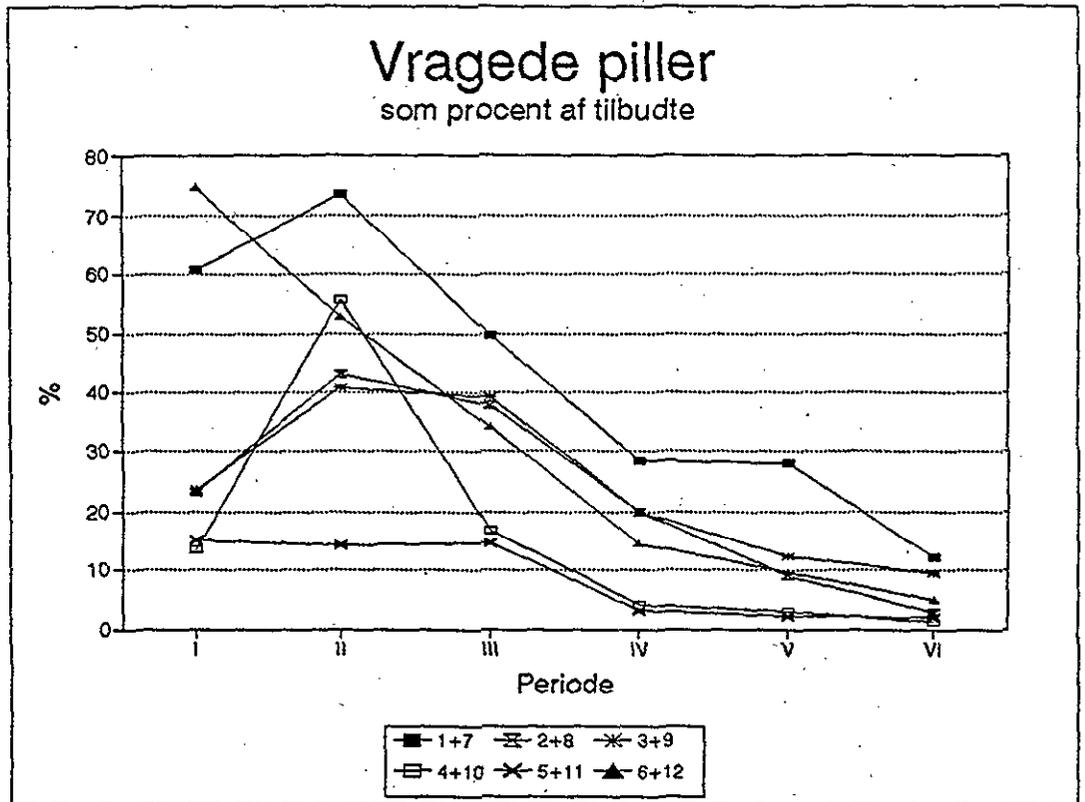
Opgøres procentdelen af vragede piller for de seks perioder, fremkommer et mønster som vist på Figur 8. Det fremgår tydeligt, at den vragede andel falder gennem perioden for samtlige fodertyper. Dette kan forklares med den procentvise lavere

indfodring gennem perioden, som skyldes, at foderkvotienten var estimeret for højt. Således var indfodringsprocenten mod slutningen reelt omkring 0,9% mod formodet 1%.

Ikke desto mindre er mønsteret det samme og kurverne holder indbyrdes nogenlunde samme placering. Baseret på disse tal må det formodes, at nogle af tilsætningsstofferne (chitin og diamol) ikke behager ørrederne. Dette kan skyldes to faktorer: enten er ørrederne i stand til at smage stofferne inden pillen sluges, eller også giver disse stoffer pillerne en ubehagelig overfladestruktur (f.eks. skarpe kanter). Endelig kan eventuelle forskelle i pillernes længde have indflydelse.



Figur 7
Den totale mængde af vragede piller i forsøgsperioden.



Figur 8
Andel af vragede piller i perioderne.

Overraskende ligger den kommercielle fodertype (kar 6+12) relativt højt m.h.t. andel af vragede piller. Dette må føre til overvejelser om årsagen til vragningen, idet en procentdel på ca. 4 ved en indfodring på ca. 0,89% af biomassen udgør en betydelig forureningsrisiko. Ved højere indfodring øges andelen.

På et dambrug i traditionel drift er der større kamp om foderet, og et langt større antal individer skal have mad. Dette vil reducere mængden af vraget foder.

Samtidigt skal det fremhæves, at der i dette forsøg regelmæssigt observeredes, at den samme pille blev vraget af flere fisk, og at vragningen ikke udelukkende synes at have noget at gøre med, om det var de først givne piller, hvor ørrederne var sultne, eller det var senere.

Vragningsandelen, eller ørredernes kræsenhed om man vil, synes således at have mere at gøre med fiskenes almene fodertildeling end med fodertildelingen på en given dag.

Det må derfor formodes, at der på et dambrug også sker en vis vrugning af foder. Hvor stor denne del er, vil afhænge af mange forskellige faktorer, men det forekommer interessant at undersøge, om andelen kunne nedsættes for eksempel ved hjælp af:

- 1) attraktanter på overfladen af pillerne / i den olie som bruges til coating af pillerne
- 2) den bedst mulige "struktur" af pillerne, herunder det bedste forhold mellem pillens diameter og længde

2.3 Fosfor-opsamling

Den kemiske sammensætning af foderet er angivet i Bilag 3.

De opsamlede bundfældnings-prøver fra perioderne I - V fra alle 12 kar er analyseret for fosfor. Resultaterne fra de enkelte perioder kan ses i Bilag 5.

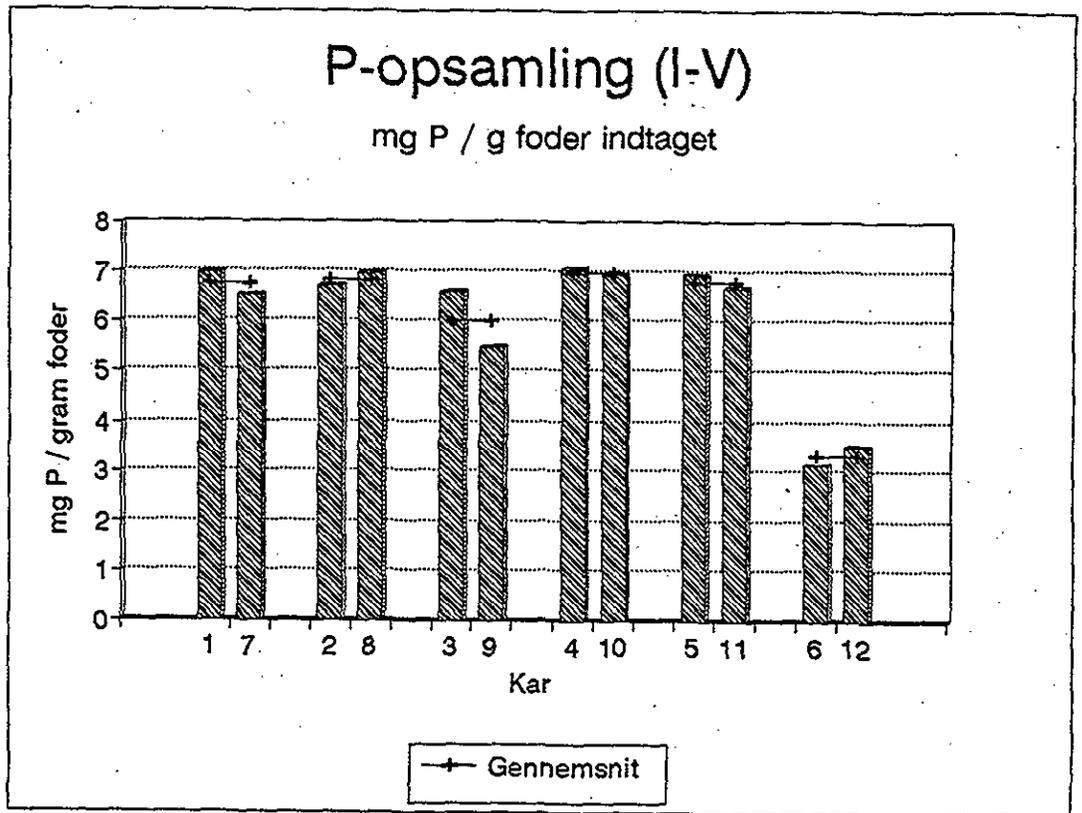
Af Figur 9 fremgår fosfor-opsamlingen for de fem perioder, opgjort som mg P opsamlet pr. g foder indtaget i de fem perioder. Der er god overensstemmelse mellem de parvist sammenhørende kar, men der er ingen signifikant forskel mellem karrene fodret med fodertyperne 1 - 5. Fodertype 6 (kar 6 og 12) er signifikant lavere.

I Figur 10 er fosfor-opsamlingen afbildet som mg P opsamlet pr. gram fisketilvækst i karrene. Heller ikke her er der en signifikant forskel mellem fodertyperne 1 - 5. Fodertype 6 er signifikant lavere.

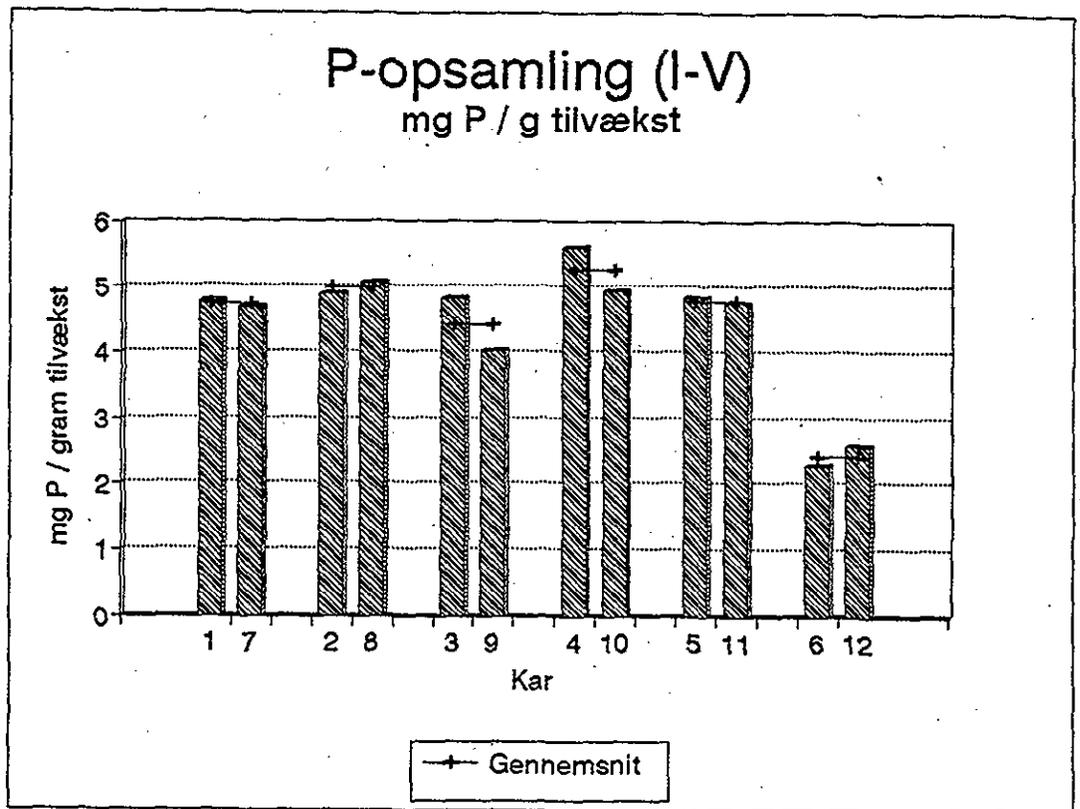
Der er således ikke belæg for at tillægge nogle af de afprøvede tilsætningsstoffer evne til at kunne øge mængden af fosfor på bundfældelig form.

At fodertype 6 giver lavere fosfor-opsamling skyldes, at fosforindholdet i denne fodertype er væsentligt lavere end i de fem andre typer.

Baseret på de fundne tal kan der opstilles et fosfor-regnskab. Dette er gjort i Tabel 2.



Figur 9
Mg fosfor opsamlet pr. gram foder indtaget.



Figur 10
Mg fosfor opsamlet pr. gram fisketilvækst.

Tabel 2.
Fosfor-regnskab.

Kar nr.	P i foder	P tildelt	P i fisk - analyse	P i tilvækst	P i fækalier - opsamlet	P til udledning i vand	P udledt i vand pr. kg foder	P udledt i vand pr. kg tilvækst
	g/kg	g	g/kg	g	g	g	g/kg	g/kg
1	15,4	4,34	3,04	1,25	1,88	1,21	4,30	2,95
7	15,4	4,63	3,06	1,28	1,87	1,48	4,92	3,53
2	15,5	4,49	2,94	1,16	1,88	1,45	5,01	3,67
8	15,5	6,25	3,08	1,70	2,79	1,76	4,36	3,18
3	14,5	5,54	2,98	1,55	2,53	1,46	3,82	3,82
9	14,5	4,77	2,95	1,31	1,84	1,62	4,93	3,61
4	15,6	5,48	3,10	1,37	2,34	1,77	5,03	4,00
10	15,6	5,25	3,07	1,45	2,28	1,52	4,52	3,22
5	15,6	5,44	3,02	1,51	2,41	1,52	4,36	3,04
11	15,6	5,76	2,94	1,53	2,45	1,72	4,65	3,31
6	9,4	3,07	2,98	1,35	0,98	0,74	2,26	1,63
12	9,4	2,77	2,85	1,15	0,95	0,67	2,27	1,66

søjle 2: jvnf. analyse
søjle 3: søjle 2 * foder tildelt
søjle 4: jvnf. analyse
søjle 5: gram tilvækst * P i fisk

søjle 6: gram fækalie opsamlet * P i fækalier
søjle 7: søjle 3 - søjle 5 - søjle 6
søjle 8: søjle 7 / kg foder tildelt
søjle 9: søjle 8 * FK fra Tabel 1

Resultaterne i søjle 4 (analyseresultaterne fra fosfor-analyserne af hel fisk), er tvivlsomme, formentlig forkerte, idet de ligger lavt sammenlignet med såvel diverse litteraturdata som med data tidligere fundet på vort laboratorium. For at opnå mere nøjagtige analyseresultater - specielt i forbindelse med proteinbestemmelsen - havde laboratoriet indført en ekstra hakning af prøverne gennem en hulskive med mindre huller end tidligere anvendt. Denne ekstra hakning medfører for lavt fosforindhold i prøverne, ved at en del af benfraktionen bliver tilbageholdt trods forholdsregler til imødegåelse af denne risiko.

På DIFTA's laboratorium er der efterfølgende udført en undersøgelse af prøveforberedelsesmetodens indflydelse på den målte fosforkoncentration. En redegørelse for denne undersøgelses resultater er vedlagt i Bilag 11. Det kan kort refereres, at fosforindholdet findes reelt at være 0,40%.

Den fundne værdi på 0,40% er i god overensstemmelse med (Christensen & Horsted, 1991), som angiver værdier på 0,41% for denne størrelse fisk.

Forudsættes derfor i stedet, jævnfør Bilag 11 og (Christensen & Horsted, 1991), et fosforindhold i fiskene på 0,41%, fås væsentligt lavere fosfor-udledning.

Disse fosforudledningstal er angivet i Tabel 3.

Tabel 3.

Fosfor-udledning, såfremt fosforindholdet i fisk sættes til 0,41%.

Kar nr.	P i tilvækst	P til udledning i vand	P udledt i vand pr. kg foder	P udledt i vand pr. kg tilvækst
	g	g	g/kg	g/kg
1	1,68	0,78	2,72	0,77
7	1,72	1,04	3,45	1,04
2	1,62	0,99	3,39	0,98
8	2,27	1,19	2,95	1,19
3	2,13	0,88	2,29	0,87
9	1,82	1,11	3,37	1,11
4	1,81	1,33	3,79	1,33
10	1,94	1,03	3,05	1,02
5	2,05	0,98	2,81	0,98
11	2,13	1,18	3,19	1,18
6	1,86	0,23	0,74	0,24
12	1,65	0,17	0,61	0,18

Ses resultatet fra de fem forsøgstyper under ét, fordeler den tildelte fosfor sig med 37% i fisketilvækst, 43% i bundfældelige fækalier og 20% til udledning i vand.

For den kommercielle fodertype med et væsentligt lavere fosforindhold bliver fordelingen 60% i fisketilvækst, 33% i bundfældelige fækalier og 7% til udledning i vand.

Døgnmålingerne udtaget ved de pågældende flow i karrene viser ingen forøgelse i fosforindholdet ved passage af karrene.

Det hér registrerede lave fosforbidrag til vandfasen bekræfter, at der med de nye højenergiholdige fodertyper med lavt fosforindhold er opnået mulighed for særdeles mærkbar reduktion i fosforbidraget fra danske ferskvandsdambrug.

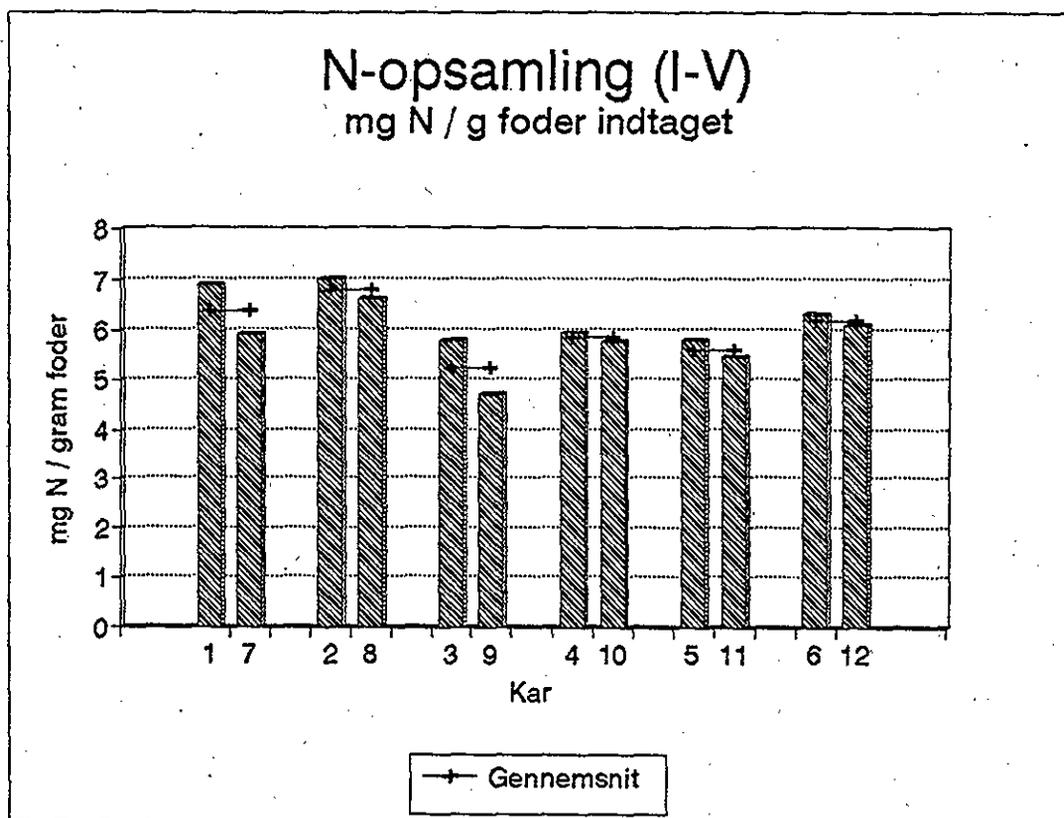
Der skal dog gøres opmærksom på, at den lave foderkvotient opnået i dette forsøg er en medvirkende årsag til den lave fosforudledning.

2.4 Kvælstof-opsamling

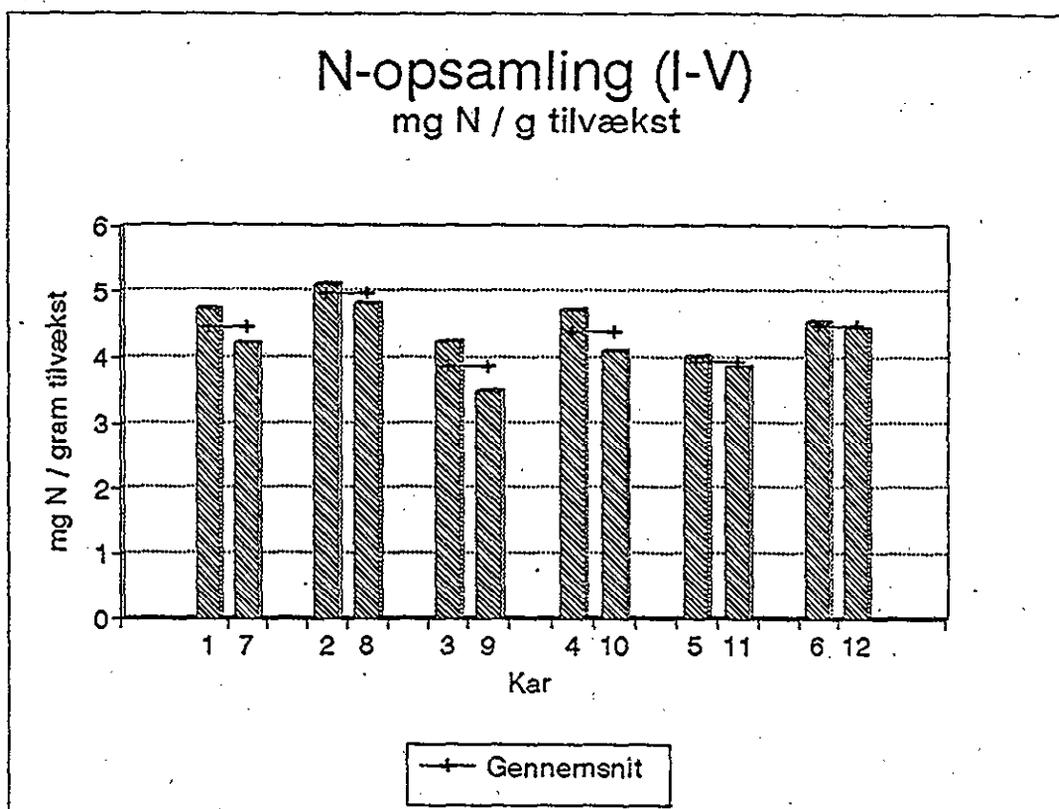
De opsamlede bundfældnings-prøver fra perioderne I - V fra alle 12 kar er analyseret for kvælstof. Resultaterne fra de enkelte perioder kan ses i Bilag 5.

Af Figur 11 fremgår kvælstof-opsamlingen for de fem perioder, opgjort som mg N opsamlet pr. g foder tildelt i de fem perioder. Der er rimelig god overensstemmelse mellem de parvist sammenhørende kar.

I Figur 12 er kvælstof-opsamlingen afbildet som mg N opsamlet pr. gram fisketilvækst i karrene.



Figur 11
Mg kvælstof opsamlet pr. gram foder indtaget.



Figur 12
Mg kvælstof opsamlet pr. gram fisketilvækst.

Der er udført multipel sammenligning (Tukeys Studentized Range Test) af opsamlingerne. Resultatet fremgår af Tabel 4.

Tabel 4.

Forskelle i kvælstof opsamlet. Gennemsnit med samme bogstavbetegnelse er ikke signifikant forskellige på 95%-niveau.

Foder-type	Kar nr.	mg N / g foder	Tukey gruppe		mg N / g tilvækst	Tukey gruppe
2	2 og 8	6,809	A		4,974	A
1	1 og 7	6,397	A B		4,479	A B
6	6 og 12	6,203	A B		4,512	A B
4	4 og 10	5,857	A B		4,420	A B
5	5 og 11	5,622	A B		3,959	B
3	3 og 9	5,260	B		3,875	B

Det ser ud som om tilsætning af 1,5% chitosan (fodertype 2) har en positiv effekt på den mængde kvælstof, som kan opsamles. Der er signifikant forskel på fodertype 2 og referencefoderet (type 5), når kvælstopmængden udtrykkes som mg N pr. gram tilvækst. Forskellen er ikke signifikant, når det udtrykkes som mg N pr. gram foder indtaget.

Den opsamlede mængde kvælstof kan også udtrykkes i % af den tildelte mængde. Opgjort således bliver resultatet som vist i Tabel 5.

Tabel 5.

Forskelle i kvælstof opsamlet, udtrykt i % af den tildelte mængde.

Fodertype	Kar nr.	% N opsamlet / tildelt
2	2 og 8	9,13
1	6 og 12	8,68
6	1 og 7	8,56
4	4 og 10	8,04
5	5 og 11	7,62
3	3 og 9	7,46

Der er ikke signifikant forskel mellem typerne.

Den tilsyneladende fordøjelighed (apparent digestibility), der udregnes som: (kvælstof indtaget - kvælstof i fækalier) / kvælstof indtaget, er for fodertype 5: 92,55 % (h.h.v. 92,3 % og 92,8 %) og for fodertype 6: 91,3 % (h.h.v. 91,1 % og 91,5 %).

Denne forskel i fordøjelighed kan forklares med anvendelsen af planteprotein i fodertype 6 mens der i fodertype 5 udelukkende er anvendt fiskemel af LT-kvalitet.

Baseret på de fundne tal for kvælstof kan der opstilles et kvælstof-regnskab. Dette er gjort i Tabel 6.

Tabel 6.
Kvælstof-regnskab.

Kar nr.	N i foder	N tildelt	N i fisk - analyse	N i tilvækst	N i fækalier - opsamlet	N til udledning i vand	N udledt i vand pr. kg foder	N udledt i vand pr. kg tilvækst
	g/kg	g	g/kg	g	g	g	g/kg	g/kg
1	71,78	20,21	26,06	10,70	1,87	7,64	27,14	18,62
7	71,78	21,59	25,39	10,65	1,70	9,24	30,72	22,02
2	73,30	21,22	25,28	10,00	1,98	9,24	31,92	23,37
8	73,30	29,57	25,57	14,15	2,64	12,78	31,68	23,09
3	65,89	25,18	24,59	12,80	2,22	10,16	26,59	19,52
9	65,89	21,67	24,80	10,98	1,57	9,12	27,73	20,60
4	74,24	26,08	25,30	11,17	1,98	12,93	36,80	29,29
10	74,24	24,98	25,28	11,95	1,91	11,12	33,04	23,53
5	74,80	26,08	26,24	13,11	2,00	10,97	31,47	21,96
11	74,80	27,64	25,28	13,14	2,00	12,50	33,83	24,05
6	68,11	22,27	25,22	11,42	1,98	8,87	27,13	19,59
12	68,11	20,10	25,49	10,26	1,70	8,14	27,58	20,22

søjle 2: jvnf. analyse
søjle 3: søjle 2 * foder tildelt
søjle 4: jvnf. analyse
søjle 5: gram tilvækst * N i fisk

søjle 6: gram fækalie opsamlet * N i fækalier
søjle 7: søjle 3 - søjle 5 - søjle 6
søjle 8: søjle 7 / kg foder tildelt
søjle 9: søjle 8 * FK fra Tabel 1

Ses de fem forsøgskoder under ét, fordeler den tildelte kvælstofmængde sig med 49% i fisketilvækst, 8% i bundfældelige fækalier og 43% til udledning i vandet.

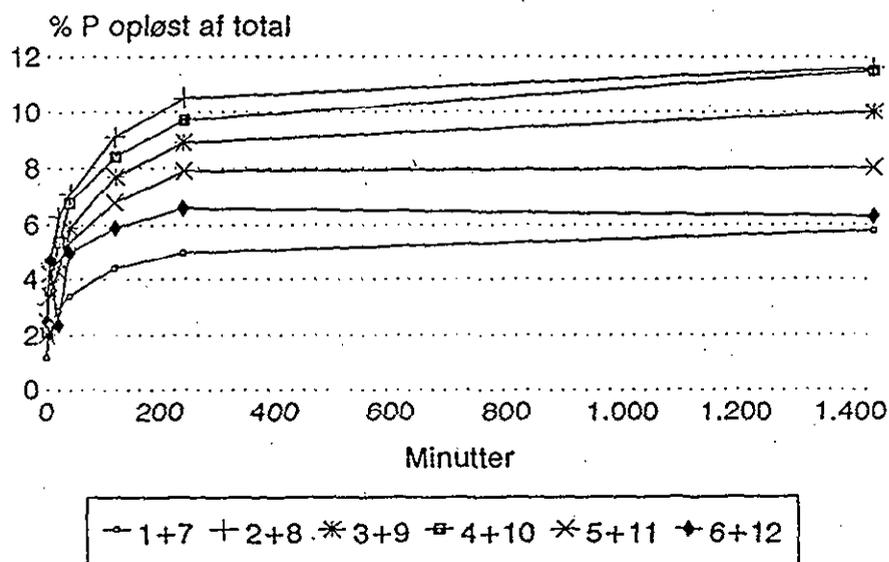
For den kommercielle fodertype er tallene 51% i tilvækst, 9% i bundfældelige fækalier og 40% til udledning i vandet.

2.5 Udvaskningsprofiler, fosfor

Mængden af fosfor opløst ud af det samlede fosforindhold i fækalierne over de første 24 timer er illustreret i Figur 13. De tilhørende data er angivet i Bilag 6. Figuren viser, at fra fækalier fra fisk fodret med foder tilsat chitosan (2+8, 4+10) og diamol (3+9) forsvinder 10-12% af fosforet ud i vandet i løbet af 24 timer. Fodring med chitin (1+7), referencefoder (5+11) og Ecolife 17 (6+12) medfører i dette forsøg en lidt lavere fosforudledning på 6-8%.

chitosan

P-lækage



fækalier

Figur 13

Procent opløst fosfor af det samlede fosforindhold i fækalierne. Gennemsnit for fodertyperne.

Lækagen er i dette forsøg generelt lavere end i forsøg udført af Alsted (1991) og Poulsen (1990), der begge finder ca. 20%

lækage af fosfor efter 24 timer. Det her udførte forsøg adskiller sig på flere punkter fra de to foregående:

I dette forsøg blev opblanding af materialet foretaget skånsomt med glasspatel før prøveudtagning, mens der i Alsteds forsøg (1990) blev der foretaget kontinuert omrøring af fækalierne med en magnetomrører med lav omdrejningshastighed. Skønt det blev tilset, at omrøreren ikke berørte fækalierne, kan den sidstnævnte fremgangsmåde have ført til, at en større del af fosforet gik fra suspenderet til opløst eller kolloid form sammenlignet med den manuelle, diskontinuerte omrøring.

I Poulsens forsøg (1991) blev prøverne omrørt med glasspatel, men ikke filtreret. Resultaterne på 20% lækage efter 24 timer inkluderer derfor det fosfor, som er bundet i suspenderet materiale. Mens der i de to tidligere undersøgelser er anvendt ionbyttet vand til opslemning af fækalierne, er der her brugt vandhanevand. Ca^{++} og Mg^{++} i vandet kan tænkes at have bundet en del af fosforet, så den bindes i den suspenderede fraktion.

Mens de nævnte forskelle i forsøgsudførelserne kunne forklare den lavere mængde fosfor udledt fra fækalier i dette forsøg, fremgår der ikke at have været en modsatrettet virkning af den højere temperatur (17°C) som disse forsøg blev udført under, hvor de tidligere forsøg blev udført ved 10°C. Fra tidligere forsøg med lækage af kvælstof fra pelleteret foder (Sheehan, 1989) vides det, at ved en højere temperatur forsvinder en større procentdel over i vandfasen (24°C blev sammenlignet med 2°C). Det var således at forvente, at den højere temperatur i dette forsøg kunne have en tilsvarende effekt på fosfor-lækagen fra fækalier som Sheehan (1989) fandt for kvælstof-lækage fra foderpiller. Det kan dog ikke konkluderes, at temperaturen ingen betydning har for fosfor-lækagen, da denne parameter ikke indgik i undersøgelsen.

Foretages en variansanalyse på procentdelen af fosfor, lækket i løbet af 24 timer, ses der at være en signifikant forskel både mellem udledningen fra fækalier fra forskellige fodertyper og mellem bestemmelserne udført to forskellige dage (Bilag 8). I nedenstående tabel er den gennemsnitlige fosforudledning fra de forskellige fækalietyper angivet. Kar med forskelligt bogstav har haft signifikant forskellig fosforlækage (Tukeys test, 95% niveau).

Tabel 7.

Den gennemsnitlige fosforudledning fra fækalier efter 24 timer ved 17°C. Kar med forskelligt bogstav har haft signifikant forskellig fosforlækage.

Kar	1+7	2+8	3+9	4+10	5+11
% P udledt	5,8 (a)	11,6 (b)	10,0 (ab)	11,5 (b)	8,0 (ab)

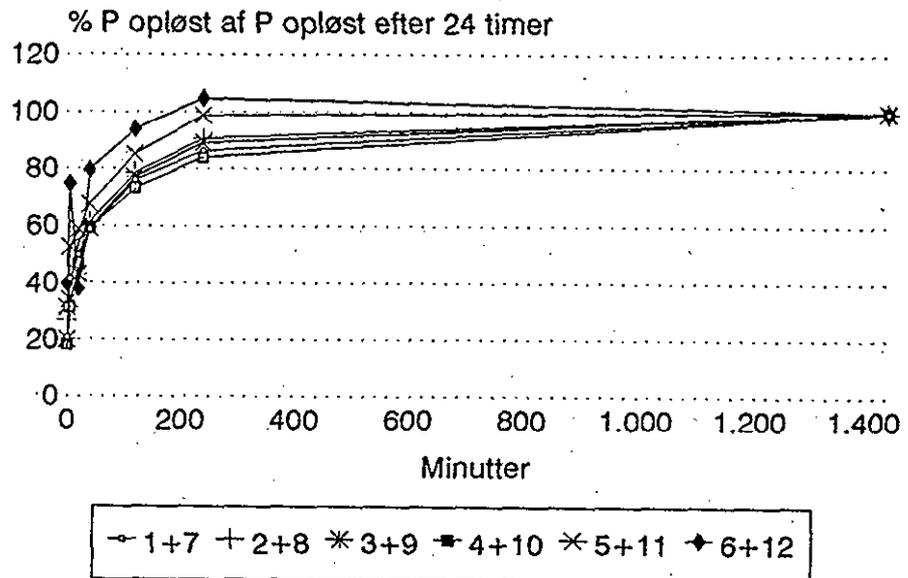
Fosforlækagen er, modsat forventningerne, højere fra fækalier fra fisk fodret med chitosan- og diamolholdigt foder. Det ser ud som om fosfor nok bindes til chitosan og diamol i tarmsystemet, men diffunderer bort ved kontakt med vandet. Årsagen kan være pH-betinget (pH er højere i vandet end i tarmsystemet) eller kan skyldes koncentrationsudligning af fosfor (lavere fosfor-koncentration i vandet).

Det må ud fra disse modelforsøg med fosforlækage fra fækalier konkluderes, at tilsætning af chitosan og diamol ikke er vist at kunne reducere fosforudledningen fra fækalier til det omgivende miljø. Den lavere fosforlækage fra chitinholdigt foder kan ikke umiddelbart forklares, men kunne skyldes en virkning af chitin på fækaliestrukturen.

Den relative hastighed, hvormed fosfor forsvinder fra fækalierne, synes ikke at være forskellig mellem fækalietyperne. I nedenstående Figur 14 vises forløbet af fosforlækagen, når fosfor opløst efter 24 timer sættes til 100%.

chitosan

P-lækage



fækalier

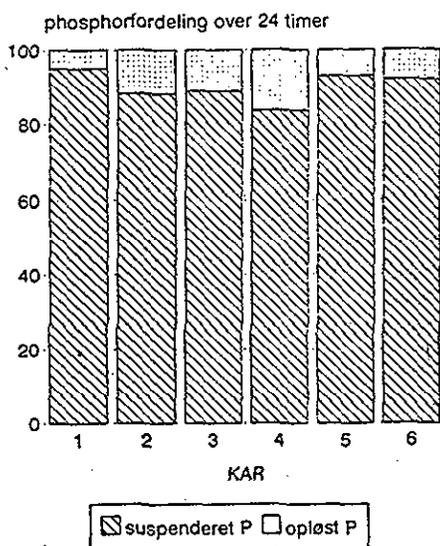
Figur 14

Fosforlækage i % af fosformængden udledt efter 24 timer. Gennemsnit for fodertyperne.

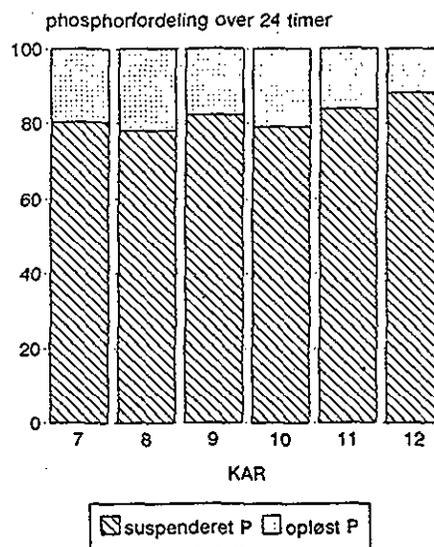
Af Figur 14 ses, at efter ca. 20 minutter findes 50% af det opløselige fosfor i vandet, og efter ca. 2 timer findes ca. 80% opløst i vandet. Den fundne lækagehastighed for fosfor er i overensstemmelse med Alsteds (1990) resultater.

Beregnes for alle prøver udtaget de første 24 timer andelen af opløst fosfor af summen af udtaget materiale (opløst + suspenderet), var den relative andel af opløst fosfor lidt mindre for bestemmelserne den første dag (kar 1-6) sammenlignet med den anden dag (kar 7-12). Dette er illustreret i Figur 15. Generelt ses det, at langt den største del af fosforet fanges i et 1,6 μ glasfiberfilter, og at for koderne med tilsat chitin (1+7), referencokoden (5+11) og Ecolife 17 (6+12) findes en lidt mindre del af fosforet på opløst form end for de øvrige.

chitosan
fordeling af P på opløst og suspenderet form



chitosan
fordeling af P på opløst og suspenderet form



Figur 15

Den procentvise fordeling af fosfor i udtaget materiale mellem opløst / kolloid form ($<1,6\mu$) og suspenderet form ($>1,6\mu$) for alle kar.

Mængden af fosfor udledt pr. kg fækalie er beregnet for kar 1-6, idet vejningerne for kar 7-12 ved en fejl ikke blev foretaget. Resultaterne er angivet i Tabel 8.

Tabel 8.

Mg fosfor opløst i løbet af 24 timer pr. kg fækalier

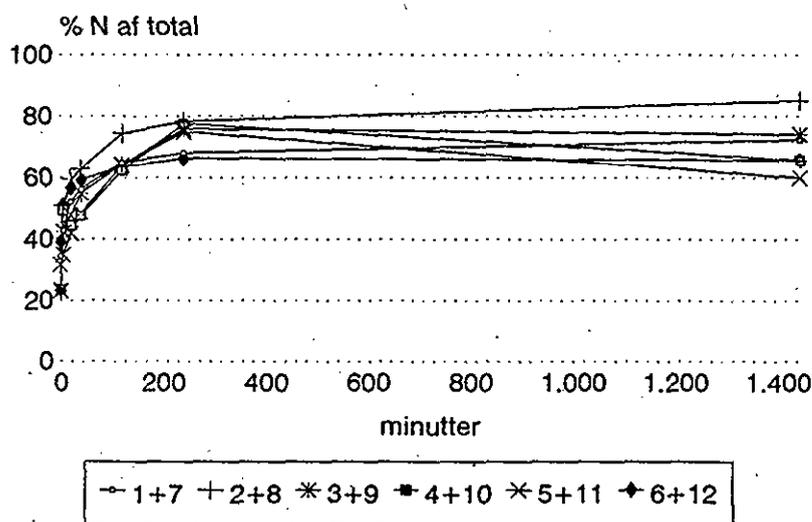
Kar	1	2	3	4	5	6
mg P opløst pr. kg fækalie	81	71	120	120	42	27

Af tabellen ses, at der i forsøget er blevet udledt fra 27-120 mg fosfor pr. kg fækalier i løbet af 24 timer. Resultaterne skal vurderes med det forbehold, at de er baseret på én bestemmelse.

2.6 Udvaskningsprofiler, kvælstof

For kvælstofudledningen er ligeledes beregnet opløselighedsforløbet over de første 24 timer. Af Figur 16 ses, at efter 24 timer er ca. 70% af den samlede mængde kvælstof opløst fra alle fækalietyper. Data findes i Bilag 7. Denne observation er i overensstemmelse med Alsted (1990) og Poulsen (1991). For nogle af karrene ses en tydelig reduktion i mængden af opløst kvælstof i perioden fra 2 timer til 24 timer. Årsagen formodes at være bakteriel omsætning af de kvælstofholdige forbindelser i vandet ved den relativt høje temperatur.

chitosan N-lækage

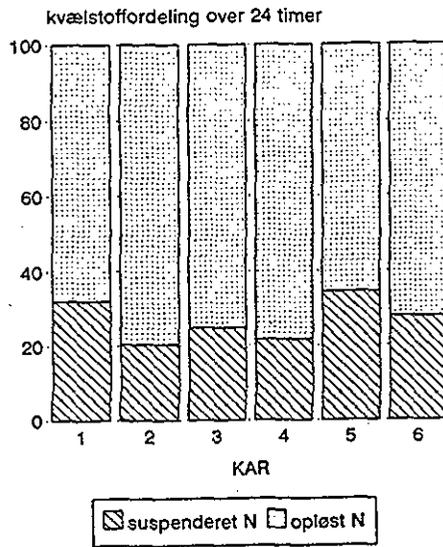


Figur 16
Procent kvælstof opløst af det samlede kvælstofindhold i fækalierne.

Beregnes fordelingen af kvælstof mellem opløst og suspenderet fraktion i prøverne udtaget i løbet af de første 24 timer, ses, at langt den største del af kvælstoffet findes på opløst eller kolloid form, se Figur 17. Som det var tilfældet for fosfor-fordelingen, ses der en forskel i fordelingen mellem de to dage.

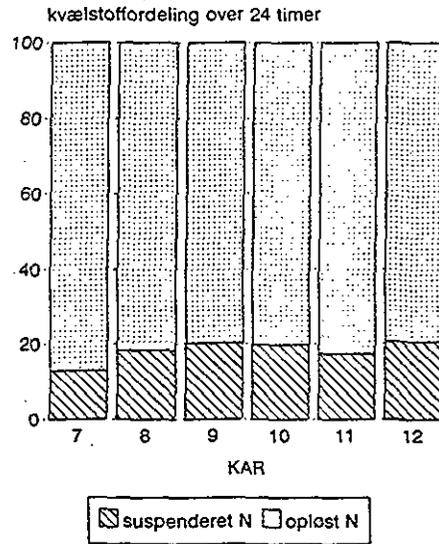
chitosan

fordeling af N på opløst og suspenderet form



chitosan

fordeling af N på opløst og suspenderet form



Figur 17

Den procentvise fordeling af kvælstof i udtaget materiale mellem opløst og kolloid form ($<1,6\mu$) og suspenderet form ($>1,6\mu$) for alle kar.

3. Konklusion

Det kan på baggrund af denne undersøgelse ikke konkluderes, at en tilsætning af chitin, chitosan eller diamol til fiskefoder kan føre til nogen reduktion i næringsstofbidraget fra ferskvandsdambrug, ligesom ingen af tilsætningsstofferne førte til forbedret foderudnyttelse.

Der er heller ikke belæg for at forvente en større stabilitet af fiskenes fækalier grundet disse tilsætninger.

Det kan ikke afvises, at en større tilsætningsprocent ville have ført til signifikante ændringer, men dette ville medføre så store ændringer i foderet, at det vurderes som uinteressant for fiskefoderproducenterne.

Idéen om at reducere næringsstofudledningen v.h.a. additivtilsætning til foderet forekommer dog stadig interessant. Andre stoffer kunne måske tænkes at have den ønskede effekt.

Generelt viser forsøget, at tabet af næringsstoffer til vandfasen er meget lavt ved de her opnåede foderkoefficienter. En måde, hvorpå foderkoefficienterne på dambrug synes at kunne forbedres, er via den fysiske udformning og/eller smageligheden af det anvendte foder, idet andelen af vragede foderpiller herved synes at kunne påvirkes.

LITTERATUR

Alsted, N. (1990): Miljøfoder til fisk. Erhvervsforskerrapport. Laboratoriet for Fiskeriindustri, DTH.

Austreng, E. (1978): Digestability determination in fish using chromic oxide marking and analysis of contents from different segments of the gastrointestinal tract. *Aquaculture*, 13, 265-278.

Christensen, K.D. og Horsted, J. (1991): Miljøbelastning fra havbrug og saltvandsdambrug. DFH rapport nr. 397. Danmarks Fiskeri- og Havundersøgelser.

Fiskeriministeriets Forsøgslaboratorium (1989): Procesvandrensning ved udnyttelse af organisk materiale til foderformål. Nordsøcentret, Hirtshals.

Kono, M., Matsui, T. and Shimizu, C. (1987): Effect of chitin, chitosan, and cellulose on diet supplements on the growth of cultured fish. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53 (1), 125-29.

Lindsay, G.J.H. et al. (1984): The growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing chitin and its relationship to chitinolytic enzymes and chitin digestability. *Aquaculture*, 37, 315-334.

Poulsen B.U. (1991): Fish Protein Hydrolysates for Aquacultural Feed. Dissertation. Technological Laboratory of Fisheries, Danish Ministry of Fisheries, Lyngby.

Sheehan, E. (1989): Leakage of nitrogen and phosphorus from feeds made from different types of fish meal. DIFTA, Hirtshals, intern rapport.

BILAG

1. Tilbudt mængde foder
2. Vragede foderpiller
3. Kemisk sammensætning, foderpiller
4. Kemisk sammensætning, hel fisk
5. Kemisk sammensætning, fækalier
6. Procent phosphor opløst fra fækalier
7. Procent kvælstof opløst fra fækalier
8. Variansanalyse for procent opløst fosfor
9. Fordeling af opløst og suspenderet fosfor og kvælstof over 24 timer
10. Uregelmæssigheder
11. Orienterende undersøgelse af prøveforberedelsesmetodens indflydelse på den målte fosforkoncentration i portionsørreder

Bilag 1. Tilbudt mængde foder.

I alle kar 14 stk. ørreder. Startvægte ved forsøgsstart.

Startvægt gennemsnit kg/kar =

1.1583

Snitvægt g/fisk =

82.738

Kar		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Startvægt		1.16	1.12	1.26	1.16	1.12	1.12	1.08	1.28	1.24	1.08	1.2	1.08
Dato	% ind-fodring												
2/2	1.1	12.8	12.3	13.9	12.8	12.3	12.3	11.9	14.1	13.6	11.9	13.2	11.9
3	1.1	12.9	12.4	14	12.9	12.4	12.4	12	14.2	13.7	12	13.3	12
4	1.1	13	12.5	14.1	13	12.5	12.5	12.1	14.3	13.8	12.1	13.4	12.1
I		38.7	37.2	42	38.7	37.2	37.2	36	42.6	41.1	36	39.9	36
5	1.1	13.1	12.6	14.2	13.1	12.6	12.6	12.2	14.4	13.9	12.2	13.5	12.2
6	1.1	13.2	12.7	14.3	13.2	12.7	12.7	12.3	14.5	14	12.3	13.6	12.3
7	1.1	13.3	12.8	14.4	13.3	12.8	12.8	12.4	14.6	14.1	12.4	13.7	12.4
II		39.6	38.1	42.9	39.6	38.1	38.1	36.9	43.5	42	36.9	40.8	36.9
8	1.1	13.4	12.9	14.5	13.4	12.9	12.9	12.5	14.7	14.2	12.5	13.8	12.5
9	1.1	13.5	13	14.6	13.5	13	13	12.6	14.8	14.3	12.6	13.9	12.6
10	1	13.6	13.1	14.7	13.6	13.1	13.1	12.7	14.9	14.4	12.7	14	12.7
11	1	13.7	13.2	14.8	13.7	13.2	13.2	12.8	15	14.5	12.8	14.1	12.8
12	1	13.8	13.3	14.9	13.8	13.3	13.3	12.9	15.1	14.6	12.9	14.2	12.9
13	1	13.9	13.4	15	13.9	12.82	13.4	13	15.2	14.7	13	14.3	13
14	1	14	13.5	15.1	14	12.9	13.5	13.1	15.3	14.8	13.1	14.4	13.1
III		95.9	92.4	103.6	95.9	91.22	92.4	89.6	105	101.5	89.6	98.7	89.6
15	1	14.1	13.6	15.2	14.1	13	13.6	13.2	15.4	14.9	13.2	14.5	13.2
16	1	14.2	13.7	15.3	14.2	13.1	13.7	13.3	15.5	15	13.3	14.6	13.3
17	1	14.3	13.8	15.4	14.3	13.2	13.8	13.4	15.6	15.1	13.4	14.7	13.4
18	1	14.4	13.9	15.5	14.4	13.3	13.9	13.5	15.7	15.2	13.5	14.8	13.5
19	1	14.5	14	15.6	14.5	13.4	14	13.6	15.8	15.3	13.6	14.9	13.6
20	1	14.6	14.1	15.7	14.6	13.5	14.1	13.7	15.9	15.4	13.7	15	13.7
21	1	14.7	14.2	15.8	14.7	13.6	14.2	13.8	16	15.5	13.8	15.1	13.8
IV		100.8	97.3	108.5	100.8	93.1	97.3	94.5	109.9	106.4	94.5	103.6	94.5
22	1	14.8	14.3	15.9	14.8	13.7	14.3	13.9	16.1	15.6	13.9	15.2	13.9
23	1	14.9	14.4	16	14.9	13.8	14.4	14	16.2	15.7	14	15.3	14
24	1	15	14.5	16.1	15	13.9	14.5	14.1	16.3	15.8	14.1	15.4	14.1
25	1	15.1	14.6	16.2	15.1	14	14.6	14.2	16.4	15.9	14.2	15.5	14.2
26	1	15.2	14.7	16.3	15.2	14.1	14.7	14.3	16.5	16	14.3	15.6	14.3
27	1	15.3	14.8	16.4	15.3	14.2	14.8	14.4	16.6	16.1	14.4	15.7	14.4
28	1	15.4	14.9	16.5	15.4	14.3	14.9	14.5	16.7	16.2	14.5	15.8	14.5
V		105.7	102.2	113.4	105.7	98	102.2	99.4	114.8	111.3	99.4	108.5	99.4
1/3	1	15.5	15	16.6	15.5	14.4	15	14.6	16.8	16.3	14.6	15.9	14.6
2	1	15.6	15.1	16.7	15.6	14.5	15.1	14.7	16.9	16.4	14.7	16	14.7
3	1	15.7	15.2	16.8	15.7	14.6	15.2	14.8	17	16.5	14.8	16.1	14.8
4	1	15.8	15.3	16.9	15.8	14.7	15.3	14.9	17.1	16.6	14.9	16.2	14.9
5	1	15.9	15.4	17	15.9	14.8	15.4	15	17.2	16.7	15	16.3	15
6	1	16	15.5	17.1	16	14.9	15.5	15.1	17.3	16.8	15.1	16.4	15.1
7	1	16.1	15.6	17.2	16.1	15	15.6	15.2	17.4	16.9	15.2	16.5	15.2
8	1	16.2	15.7	17.3	16.2	15.1	15.7	15.3	17.5	17	15.3	16.6	15.3
VI		126.8	122.8	135.6	126.8	118	122.8	119.6	137.2	133.2	119.6	130	119.6
IALT		507.5	490	546	507.5	475.62	490	476	553	535.5	476	521.5	476

Bilag 2. Vragede foderpiller.

Opgjort som antal gram, udregnet fra antal piller. Opdelt på formiddags- og eftermiddagsfodring.

	Kar 1		Kar 7		Kar 2		Kar 8		Kar 3		Kar 9		Kar 4		Kar 10		Kar 5		Kar 11		Kar 6		Kar 12		SUM
10g er:	319 piller		319		304		304		318		318		352		352		364		364		303		303		
Dato	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	form.	efterm.	
2/2 93	1.9749	2.8213	0.9718	1.7868	0.3289	1.9737	0	0.0658	0.0314	0.0314	0.0629	0.5975	0.0852	0.142	0	0.1705	0	0	0	0.1648	2.0132	2.4422	2.3432	3.4983	21.50614
3	2.9154	2.163	0.8464	2.2257	0.3289	2.0066	0.0987	0.0329	0.2516	0.0314	1.8553	1.6667	0.0568	0	0.7102	1.0227	0.1099	0.0275	0.7692	0.4121	0.8251	1.8861	0.8251	1.7162	22.28354
4	2.163	1.5047	1.7241	1.7241	2.0724	1.5461	0.2303	0	0.0314	0.1258	2.6415	2.4214	0.142	0.1136	1.6761	0.767	0.8791	0.4121	1.456	1.6484	4.1254	1.7162	3.8284	2.5083	35.45748
I - sum	13.542	9.279	9.279	9.279	8.2566	0.4276	0	0.5031	0.5031	9.2453	0.5398	4.3466	1.4286	4.4505	4.4505	12.508	14.719	14.719	14.719	14.719	2.9703	0.6271	43.01507	79.24716	
5	3.3229	2.7273	4.0125	3.2288	2.7303	2.1382	0.9868	0	0.3145	0.2201	3.9937	2.6415	1.4205	4.3466	1.0511	0.483	1.0714	0.4121	0.7143	0.6319	1.8482	1.1221	2.9703	0.6271	43.01507
6	0.8464	3.605	0.4389	2.2571	1.1842	3.2895	0.2632	0.1974	0.4403	0.5346	0.1887	3.0189	2.5852	3.2614	0.2273	1.0227	0.2473	0.6319	0.1923	0.3022	0.231	3.2013	0.462	3.3333	37.96188
7	1.0972	2.7273	2.1317	1.7241	2.1053	1.8092	0.7895	1.4145	0.2516	0.4717	1.3522	3.7107	0.0568	0.0568	0.767	0.5398	0.0824	0.1648	0.1374	1.044	0.5611	0.8251	1.7162	2.8713	28.40746
II - sum	14.326	13.793	13.793	13.257	13.257	3.6513	2.2327	14.906	17.727	4.0909	2.6099	3.022	2.0604	3.7363	2.2442	2.7393	2.8383	3.5974	2.4422	1.6832	34.61426	21.94828	16.33119	22.28454	18.7767
8	3.2915	3.3542	1.6928	2.0376	3.1908	2.8947	3.0592	2.0395	3.1132	2.3585	1.1006	4.9686	0	0.9659	1.3636	2.0739	0.7418	0.9066	2.0604	3.7363	2.2442	2.7393	2.8383	3.5974	56.36887
9	1.7241	2.4765	2.5392	1.5987	2.6974	2.6974	0.6908	0.0329	0.5346	3.8365	0.566	2.5786	0.566	1.4205	0.8523	0.5398	0.522	0.2747	0.3571	0.7143	2.2112	1.0561	2.4422	1.6832	34.61426
10	1.8809	1.442	0.4075	0.6897	1.8092	2.0724	0.1316	0	1.2893	0.8176	0.7862	1.8239	0.7955	0.0284	0.3409	0.5398	0.3022	0.0824	0.7418	0.8516	1.1881	1.2871	1.6502	0.9901	21.94828
11	2.0063	0.4702	1.3166	0.3762	1.5789	1.6447	0.0987	0.0658	0.9119	0.9119	1.3208	1.4465	0.0852	0	0.4545	0.0852	0.4121	0.0549	0.5495	0.1648	1.6832	0.165	0.297	0.231	16.33119
12	3.6991	1.0031	0.4075	0.5329	2.3355	1.6447	0.0658	0	0.6918	0.9119	3.6164	2.6415	1.4489	0.5682	0.2841	0.0852	0.2473	0.3846	0.1099	0.0549	0.198	0.198	0.6271	0.5281	22.28454
13	0.8777	1.6301	0.8464	0.7837	0.8882	1.5789	0.0658	0.0658	0.6289	0.6604	0.1887	0.2201	0.8523	0.1989	0.142	0.6818	0.0549	0	0.1099	0.2198	0.264	0.9581	0.6931	0.165	12.67454
14	1.0658	7.6803	0.2194	0.6583	1.9408	2.2697	0.0329	0.1316	0.1887	1.0377	0.4088	0.4088	0.7955	0.1136	0.0568	0.2557	0.0275	0.0549	0.0824	0.1923	0.363	0.264	0.297	0.231	18.7767
III - sum	32.602	14.107	14.107	29.243	6.4803	17.893	22.075	17.893	2.044	0.9375	0.0852	0.7955	0.142	0.1099	0	0.2473	0.2198	0.33	0.5611	2.9373	0.8581	28.05917	15.34065	11.34536	10.03917
15	4.1066	0.9718	1.348	0.5016	3.125	1.3158	0.0329	0	1.6667	2.327	3.3962	2.044	0.9375	0.0852	0.7955	0.142	0.1099	0	0.2473	0.2198	0.33	0.5611	2.9373	0.8581	28.05917
16	1.9122	1.0031	1.4107	0.6583	2.0724	1.5461	0.0658	0.0329	0.6604	0.566	0.6604	1.1321	0.3125	0	0.483	0.1136	0	0.0275	0.3846	0.0549	0.462	0.165	1.3531	0.264	15.34065
17	1.7555	1.1285	0.3762	0.2821	1.5132	2.4013	0.2303	0	0.2516	0.1258	0.283	0.9119	0.1136	0	0.0852	0.0284	0.0824	0.0275	0.2198	0.1099	0.396	0.033	0.5281	0.462	11.34536
18	2.2571	0.721	0.5016	0.5329	1.6118	1.5132	0.0987	0	0.283	0.0629	1.9497	0.0943	0.0284	0	0.1705	0.0568	0.0275	0.0275	0.1374	0.0549	0.5281	0.099	1.2871	0.198	12.24131
19	2.3824	0.721	0.4075	0.3135	1.0197	0.6579	0.1645	0	0.6604	0.1258	0.566	0.3748	0	0.0284	0.142	0	0.0275	0.0275	0.3571	0.1099	0.33	0.099	0.6271	0.297	10.03917
20	1.2539	0.5329	0.6897	0.8464	0.6579	0.6579	0.0658	0	0.0943	0.0314	1.6667	0.283	0	0	0.1989	0.0284	0.0549	0	0.3571	0.1099	0.198	0	0.5611	0.396	8.684301
21	0.4075	0.5329	0.4075	0.0627	0.1974	0.4276	0.0329	0	0	0	0.0314	0.4717	0.0568	0.0284	0.0284	0.0852	0.0275	0.0549	0.0824	0.1374	0.033	0.297	0.132	0.396	3.930845
IV - sum	19.687	8.386	8.386	18.717	7.297	6.8553	14.465	14.465	1.5909	2.358	4.945	2.5824	3.5314	10.297	89.54079	17.2128	9.946764	8.936489	9.023435	6.692862	8.508743	66.91491	6.192598	3.814567	4.795708
22	3.8245	1.1599	0.815	0.5329	2.3026	0.8882	0.0658	0.0658	0.1258	0.0943	2.3899	1.0377	0.0284	0.0568	0.3409	0.0852	0.0549	0	0.1923	0.0824	0.198	0.165	1.7822	0.9241	17.2128
23	1.348	2.2571	0.4702	0.3448	1.0855	0.9539	0.1974	0.0329	0.0314	0.0314	0.3774	0.5346	0.142	0.0284	0	0	0.0824	0.0549	0.2198	0.1374	0.165	0.099	0.7921	0.5611	9.946764
24	0.5956	0.6583	1.0658	1.0031	0.8882	0.2961	0.0658	0	0.0314	0	2.1069	0.1887	0.0568	0.0284	0.142	0	0.0549	0.0549	0.1374	0.1099	0.297	0.132	0.3571	0.066	8.936489
25	2.1003	1.2226	1.3166	0.5956	0.6908	0.0329	0.1316	0.0329	0.0629	0.0629	0.566	0.566	0	0	0.1136	0	0	0.0275	0.2473	0.1648	0.033	0.033	0.5941	0.429	9.023435
26	0.6897	0.9718	0.5643	0.7524	0.2303	0.0329	0.0329	0	0.2201	0	1.1321	0.4717	0.1136	0.0852	0.0852	0.0568	0	0.0275	0.1099	0.0275	0.264	0.066	0.297	0.462	6.692862
27	1.3793	0.9404	0.627	0.5643	0.2632	0.0987	0.2303	0	0.0629	0	1.6038	0.4717	0.7955	0.0284	0.2557	0	0	0.0275	0.1923	0.1099	0.198	0	0.462	0.198	8.508743
28	0.9718	0.8777	0.9091	0.5016	0.4276	0.0658	0.1645	0.0329	0.0943	0	0.6289	0.2841	0	0.1705	0.0568	0	0	0.2198	0	0.066	0	0.429	0.033	6.593822	
V - sum	18.937	10.063	10.063	8.2566	1.0526	8.176	12.736	12.736	1.6477	1.3068	0.3846	1.9505	1.7162	7.9868	66.91491	6.192598	3.814567	4.795708	6.692862	8.508743	66.91491	6.192598	3.814567	4.795708	6.692862
1/3 93	0.9404	0.721	0.5329	0.3135	0.3618	0	0.0987	0.0329	0.5975	0.0314	1.1635	0.3145	0.142	0	0.0284	0.0284	0	0	0.0275	0	0.198	0	0.5281	0.132	6.192598
2	0.6583	0.6583	0.2508	0.2194	0.1316	0.0329	0.1645	0	0.0629	0	0.283	0.4088	0.0284	0.0284	0.0568	0	0	0	0	0.1374	0.099	0.033	0.363	0.198	3.814567
3	0.3448	0.3448	0.2508	0.5016	0.1645	0.1316	0.0329	0	0.1572	0	1.3208	0.566	0.0284	0	0.0284	0	0.0275	0	0.1099	0.0275	0.198	0.066	0.264	0.231	4.795708
4	0.815	0.721	0.2821	0.094	0.0658	0.0987	0.0329	0.0329	0.4403	0.1572	0.3459	0.2201	0.0568	0	0.0852	0	0.0275	0	0.2747	0.1099	0.132	0.066	0.33	0.132	4.52021
5	0.815	0.5643	0.3135	0.2194	0.2303	0.0658	0.0329	0.0987	0.3459	0.0629	0.6604	1.6038	0	0	0.1705	0	0.0824	0	0.1648	0.1648	0.264	0	0.363	0.132	6.354432
6	0.2821	0.5016	0.2821	0.2508	0.1974	0.2632	0.1316	0	0.1258	0.2516	0.1572	0.4088	0	0.0852	0.0284	0	0	0.1374	0.2473	0.1374	0.231	0.33	0.495	0	4.543836
7	0.1881	0.5956	0.2194	0.3448	0.1974	0.1316	0.1974	0	0.283	0.3459	0.1572	0.3145	0	0.1705	0.1136	0.0568	0								

Bilag 3.**Kemisk sammensætning, foderpiller**

Kode	Tørstof %	Aske %	Protein %	Olie %	Phosphor %
1	92,58	9,24	44,86	21,1	1,54
2	92,20	9,45	45,81	20,5	1,55
3	93,59	10,11	41,18	21,9	1,45
4	92,53	9,56	46,40	20,4	1,56
5	93,22	9,57	46,75	20,8	1,56
6	88,97	7,35	42,57	20,8	0,94

Bilag 4.

Kemisk sammensætning, hel fisk

Kode	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Tørstof %	28,9	29,4	30,2	29,9	28,2	29,0	29,2	30,1	29,7	28,9	29,2	29,2	29,7
Aske %	1,52	1,52	1,50	1,60	1,49	1,56	1,54	1,58	1,53	1,54	1,49	1,44	1,85
Protein %	16,29	15,80	15,37	15,81	16,40	15,76	15,87	15,98	15,50	15,80	15,80	15,93	16,80
Phosphor %	0,304	0,294	0,298	0,310	0,302	0,298	0,306	0,308	0,295	0,307	0,294	0,285	0,347

Bilag 5.**Kemisk sammensætning, fækalier****I**

Kar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tørstof %	0,54	0,61	0,80	0,72	0,69	0,49	0,41	0,79	0,70	0,60	0,63	0,41
Nitrogen mg N / kg	213	226	266	256	254	199	145	308	217	210	231	152
Phosphor mg P / kg	218	249	336	350	292	129	178	263	276	285	305	124
Total vægt g	685	670	694	691	692	685	693	699	692	712	672	672

II

Kar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tørstof %	0,67	0,63	1,03	0,57	0,82	0,65	0,59	1,06	0,68	0,72	0,72	0,66
Nitrogen mg N / kg	291	256	365	211	310	266	219	427	222	275	283	261
Phosphor mg P / kg	304	263	421	257	376	133	252	471	246	328	321	179
Total vægt g	691	695	690	689	682	693	688	683	693	694	688	684

III

Kar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tørstof %	0,69	0,67	0,90	0,83	0,92	0,83	0,75	0,99	0,81	0,76	0,84	0,71
Nitrogen mg N / kg	282	304	326	328	351	333	285	421	257	307	339	293
Phosphor mg P / kg	293	271	359	350	424	150	310	417	308	350	379	141
Total vægt g	1608	1605	1603	1599	1603	1606	1588	1598	1603	1593	1603	1584

IV

Kar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tørstof %	0,73	0,72	0,94	0,90	0,79	0,85	0,81	0,90	0,89	0,77	0,85	0,72
Nitrogen mg N / kg	292	315	337	333	289	340	323	398	289	297	319	282
Phosphor mg P / kg	299	281	375	389	329	153	303	359	315	348	404	131
Total vægt g	1821	1820	1876	1819	1812	1817	1805	1809	1816	1803	1810	1808

V

Kar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Tørstof %	0,97	1,05	1,19	1,13	0,98	1,07	0,99	1,30	1,03	0,97	1,03	0,90
Nitrogen mg N / kg	381	449	429	420	366	410	361	519	345	401	399	354
Phosphor mg P / kg	402	412	496	494	466	199	426	588	414	471	522	171
Total vægt g	1596	1590	1587	1582	1586	1585	1592	1584	1595	1594	1580	1586

Bilag 6.

% phosphor opløst fra fækalier ved lækageforsøg over 24 timer, beregnet henholdsvis som % af total mængde phosphor i fækalier og som % af opløst mængde phosphor efter 24 timer.

KAR	1		7		2		8		3		9	
Tid	% af total	% af opløst										
0 minutter	1,6	22,9	0,7	15,6	4,0	28,6	2,1	22,8	2,3	20,4	1,6	18,4
2 -	2,1	30,0	-	-	5,5	39,3	-	-	-	-	-	-
5 -	3,5	50,0	1,2	26,7	6,8	48,6	2,4	26,1	4,4	38,9	2,3	26,4
20 -	3,9	55,7	1,9	42,2	9,1	65,0	3,4	37,0	5,2	46,0	3,3	37,9
40 -	4,4	62,9	2,3	51,1	10,0	71,4	4,2	45,7	8,1	71,7	3,7	42,5
2 timer	5,8	82,9	3,0	66,7	12,6	90,0	5,6	60,9	9,2	81,4	6,1	70,1
4 -	6,3	90,0	3,7	82,2	13,3	95,0	7,6	82,6	10,3	91,2	7,5	86,2
24 -	7,0	100,0	4,5	100,0	14,0	100,0	9,2	100,0	11,3	100,0	8,7	100,0

KAR	4		10		5		11		6		12	
TID	% af total	% af opløst										
0	2,5	21,0	1,6	14,5	3,3	38,8	1,6	21,6	3,3	42,9	1,9	38,8
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	4,0	33,6	3,1	28,2	5,6	65,9	2,8	37,8	6,4	83,1	2,9	59,2
20	6,1	51,3	4,6	41,8	5,8	68,2	3,6	48,6	1,2	15,6	3,5 1)	71,4
40	7,6	63,9	6,1	55,5	6,4	75,3	4,4	59,5	5,8	75,3	4,1	83,7
2	9,6	80,6	7,3	66,4	7,9	92,9	5,6	75,7	7,0	90,9	4,7 1)	95,9
4	10,6	89,1	8,8	80,0	9,6	112,9	6,1	82,4	7,7	100,0	5,4	110,2
24	11,9	100,0	11,0	100,0	8,5	100,0	7,4	100,0	7,7	100,0	4,9	100,0

1): Prøven mistet, værdien skønnet som gennemsnittet af prøverne før og efter

Bilag 7.

% kvælstof opløst fra fækalier ved lækageforsøg over 24 timer, beregnet henholdsvis som % af total mængde kvælstof i fækalier og som % af opløst mængde kvælstof efter 24 timer.

KAR	1		7		2		8		3		9	
Tid	% af total	% af opløst										
0 minutter	42,6	59,7	26,1	35,6	46,7	51,5	35,1	44,1	27,6	42,5	18,6	22,4
2 -	45,4	63,6	-	-	52,5	57,9	-	-	-	-	-	-
5 -	47,8	66,9	37,7	51,4	53,4	58,9	48,3	60,7	44,9	69,1	39,7	47,7
20 -	55,1	77,2	48,7	66,3	58,7	64,8	60,2	75,6	44,6	68,6	51,2	61,5
40 -	58,8	82,4	52,2	71,1	59,0	65,1	66,5	83,5	49,1	75,5	60,4	72,6
2 timer	68,8	96,4	60,9	83,0	72,2	79,7	76,6	96,2	59,1	90,9	69,7	83,8
4 -	69,1	96,8	67,1	91,4	75,4	83,2	81,2	102,0	72,6	111,7	79,0	95,0
24 -	71,4	100,0	73,4	100,0	90,6	100,0	79,6	100,0	65,0	100,0	83,2	100,0

KAR	4		10		5		11		6		12	
Tid	% af total	% af opløst										
0 minutter	23,3	32,0	23,4	83,6	44,7	71,8	18,4	27,7	48,9	71,8	29,0	45,7
2 -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 -	64,0	88,0	34,8	70,1	37,5	88,7	32,3	48,6	60,4	88,7	43,2	68,0
20 -	48,3	66,4	40,9	77,6	41,5	96,0	42,4	63,9	65,4	96,0	48,6 1)	76,5
40 -	50,2	69,1	45,1	91,6	49,0	95,0	48,2	72,6	64,7	95,0	53,9	84,9
2 timer	69,1	95,0	55,7	133,6	71,5	100,7	56,5	85,1	68,6	100,7	58,1 1)	91,5
4 -	98,5	135,5	56,5	162,6	87,0	103,4	62,7	94,4	70,4	103,4	62,2	98,0
24 -	72,7	100,0	58,9	100,0	53,5	100,0	66,4	100,0	68,1	100,0	63,5	100,0

1): Prøven mistet, værdien skønnet som gennemsnittet af prøverne før og efter

Bilag 8.

Variansanalysetabel for % phosphor opløst af total og for gentagelser.

Analysis of Variance for POPL.Popl - Type III Sums of Squares

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
MAIN EFFECTS					
A:POPL.KAR	49.630000	4	12.407500	10.183	.0226
B:POPL.dage	14.161000	1	14.161000	11.622	.0271
RESIDUAL	4.8740000	4	1.2185000		
TOTAL (CORRECTED)	68.665000	9			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Bilag 9.**Fordeling af opløst og suspenderet phosphor over 24 timer**

KAR	1	2	3	4	5	6
% opløst P	5,0	11,9	11,2	16,4	7,0	8,0
% suspenderet P	95,0	88,1	88,8	83,6	93,0	92,0
Ialt	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Fordeling af opløst og suspenderet phosphor over 24 timer

KAR	7	8	9	10	11	12
% opløst P	19,7	22,0	17,9	21,0	16,3	11,9
% suspenderet P	80,3	78,0	82,5	79,0	83,7	88,1
Ialt	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Fordeling af opløst og suspenderet kvælstof over 24 timer

KAR	1	2	3	4	5	6
% opløst N	67,8	79,6	75,2	78,4	65,4	72,3
% suspenderet N	32,2	20,4	24,8	21,6	34,6	27,7
Ialt	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Fordeling af opløst og suspenderet kvælstof over 24 timer

KAR	7	8	9	10	11	12
% opløst N	87,1	81,7	79,8	80,3	82,7	79,5
% suspenderet N	12,9	18,3	20,2	19,7	17,3	20,5
Ialt	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Bilag 10.

Uregelmæssigheder:

D. 6/2 observeres før fodring et lavt iltindhold i tank nr. 4. Som følge heraf et stort foderspild.

D 12/2 tages en død fisk op af tank 5. Fisken vejes, og vægten fratrækkes den beregnede biomasse.

Orienterende undersøgelse af prøveforberedelsesmetodens indflydelse på den målte fosforkoncentration i portionsørreder.

Indledning

Da der i forbindelse med et foderafprøvningsprojekt (Miljøstyrelsen, Chitosan i fiskefoder) blev sat spørgsmålstegn ved rigtigheden af de fundne fosforkoncentrationer i fiskene, besluttede laboratoriet at foretage en orienterende undersøgelse af den anvendte prøveforberedelsesmetodiks indflydelse på resultatet af fosforanalysen.

Beskrivelse af tidligere og nuværende metoder

I forbindelse med en tidligere undersøgelse (Rønsholdt, B; 1991) af fosfor- og kvælstofindholdet i store havbrugsørreder blev der udviklet en prøveforberedelsesmetodik, som bestod i en hakning/homogenisering på en KS-industrihakker - KS Durchlauf-Kutter, Type F 150 fra Karl Schnell, Maschinenfabrik, Winterbach-Stgt. Dette er en type hakker, som, såvidt det vides, ikke bruges industrielt længere.

Denne hakker kunne ud fra selv store havbrugsørreder med kraftige ben producere meget homogene hovedprøver, men anvendelsen af hakkeren havde dog betydelige ulemper.

For at hakkeren kunne bearbejde prøverne, var det nødvendigt, at ørrederne i frossen tilstand blev skåret i ret små stykker, som derefter i optøet eller halvfrossen tilstand blev tilført hakkeren. Ørredernes hoveder blev først hakket gennem en hulskive med Ø 5 mm huller, hvorefter resten af ørrederne blev hakket. Herefter blev maskinen adskilt og materialet, som ikke havde passeret hulskiven, blev opsamlet og blandet i den findelte prøve. Hele prøven blev herefter hakket endnu en gang gennem en skive med Ø 2 mm huller.

Restfraktionen inde i hakkeren havde helt tydeligt en sammensætning, som p.g.a. benstumper o.l. afveg væsentligt fra hovedfraktionen. Dette, sammenholdt med fraktionens størrelse, gjorde, at det var nødvendigt at gennemføre en komplet fosforanalyse på restfraktionen og derefter ud fra den vægtmæssige fordeling af prøven på hoved- og restfraktion beregne den oprindelige prøves sammensætning.

Anvendelse af denne hakker til prøvehomogenisering medførte således en særdeles omstændelig prøveforberedelse, en fordobling af antallet af fosforanalyser og tidsforbrug til ekstra vejninger og beregninger, hvorfor en fortsat generel anvendelse af denne fremgangsmåde blev anset for udelukket af økonomiske årsager. Desuden var hakkeren meget upraktisk specielt ved mindre prøver.

En undersøgelse af andre homogeniseringsmuligheder viste, at f.eks. portionsørreder udmærket kunne hakkes på en Fornax type C/20-B hakker, der i princippet er udformet som en almindelig husholdningsmaskine, men i en langt kraftigere udførelse og med en væsentligt stærkere motor.

Restfraktionen i denne maskine er gennemgående forholdsvis lille, og ved anvendelse af hulskiver med Ø ca. 4,5-6,5 mm huller kunne der ved sammenligning af hoved- og restfraktionen ikke umiddelbart konstateres forskelle, som sammenholdt med restfraktionens størrelse gav anledning til betæneligheder og yderligere undersøgelser.

Homogeniseringsgraden ved anvendelse af denne hulstørrelse i hakkeren gav imidlertid anledning til, at laboratoriepersonalet på et senere tidspunkt indførte en ekstra finhakning af disse "grovhakkede" prøver, idet afvigelserne på dobbeltbestemmelserne ved specielt råproteinanalysen syntes at være for store. Ved råproteinanalysen tages der gennemgående kun ca. 1 g prøvemateriale i arbejde, hvorfor der kræves forholdsvis homogene prøver, hvis afvigelserne skal være små. For at modvirke en eventuel fraktionering i forbindelse med finhakningen blev der ved afslutningen af finhakningen sendt en passende papirklump gennem hakkeren. Papirmængden blev afpasset således, at den kunne presse restfraktionen ud af maskinen, uden at der fulgte papir med ud gennem hulskiven. Denne fremgangsmåde så umiddelbart ud til at virke efter hensigten, hvorfor der ikke blev udført yderligere detaljerede analyser.

Undersøgelse af den ved Chitosanprojektet anvendte metode

Der blev gennemført 1 undersøgelse. I denne undersøgelse blev 10 tilfældigt udtagne portionsørreder slagtet og delt i 2 grupper (A og B) med 5 fisk i hver gruppe. De hele fisk blev derefter grovhakket gennem en skive med Ø ca. 6,5 mm huller. Efter omhyggelig blanding af hovedfraktionen blev der udtaget prøver, og ca. halvdelen af fraktionen blev derefter finhakket som tidligere beskrevet gennem en skive med Ø ca. 3 mm huller. Den finhakkede fraktion blev blandet, og der blev udtaget prøver. Herefter blev der gennemført fosforanalyser efter sædvanlig metodik på alle 4 prøver. Resultaterne af disse analyser er anført i tabel 1.

Tabel 1. Fosforkoncentration i prøver forberedt efter den ved Chitosanprojektet anvendte metode. Resultaterne er opgivet med ét betydende ciffer mere end normalt, så analyseusikkerheden bedre kan bedømmes.

Prøvegruppe	Hakning	Fosfor, %	Gennemsnit Fosfor, %
A	Grov	0,420	0,381
A	Grov	0,341	
A	Fin	0,309	0,313
A	Fin	0,317	
B	Grov	0,353	0,345
B	Grov	0,336	
B	Fin	0,303	0,300
B	Fin	0,296	
Kontrolprøve *)		1,946	1,941
Kontrolprøve *)		1,935	

*) Kontrolprøven er en fiskemelsprøve, som er analyseret adskillige gange i løbet af de sidste 2 år. Gennemsnittet af de indtil nu fundne analyseresultater viser, at prøvens fosforkoncentration er $1,91 \pm 0,04$ % P.

Ved normal analysegang ville analysen af den grovhakkede prøve A blive gentaget p.g.a. alt for stor afvigelse mellem de 2 enkeltbestemmelser. Dette er dog ikke gjort her, da resultaterne i tabel 1 er fuldt tilstrækkelige til at vise, at der ved den anvendte prøveforberedelsesmetodik mod forventning sker en fraktionering af prøvernes fosforindhold. En efterfølgende visuel undersøgelse af det ved finhakningen anvendte papir viste, at der ved total adskillelse af papirklumpen kunne findes små benrester skjult inde i klumpen. Papiret havde altså presset fiskens bløde dele ud af hakkeren og "skjult" benresterne.

Modificeret prøveforberedelsesmetode

På baggrund af de foranstående resultater og observationer blev det besluttet at gennemføre endnu en undersøgelse af prøveforberedelsen af portionsørreder. I denne undersøgelse blev der anvendt den i fig. 1 viste fremgangsmåde.

Ved fosforanalysen blev i begge tilfælde både hoved- og restfraktionen analyseret. Resultaterne af disse analyser fremgår af tabel 2.

Tabel 2. Fosforkoncentration i prøver forberedt efter den i fig. 1 viste metode. Resultaterne er opgivet med ét betydende ciffer mere end normalt, så analyseusikkerheden bedre kan bedømmes.

Prøvemærkning	Fosfor, %	Gennemsnit Fosfor, %
Hovedfraktion 1	0,358	0,381
Hovedfraktion 1	0,399	
Hovedfraktion 1	0,385	
Restfraktion 1	1,096	1,071
Restfraktion 1	1,046	
Hovedfraktion 2	0,337	0,339
Hovedfraktion 2	0,353	
Hovedfraktion 2	0,328	
Restfraktion 2 *)	0,796	0,847
Restfraktion 2 *)	0,897	
Kontrolprøve **)	1,918	1,940
Kontrolprøve **)	1,948	
Kontrolprøve **)	1,954	

*) Den ene af prøverne indeholdt et synligt stykke rygrad.

***) Se tabel 1.

Da der ved hver bestemmelse anvendes ca. 10g prøvemateriale - altså ca. 20g prøvemateriale til en normal dobbelt fosforanalyse - blev 50% eller mere af restfraktionerne anvendt ved analyserne. Gennemsnitsresultaterne af analyserne på restfraktionerne skønnes derfor at være repræsentative for fraktionernes fosforkoncentration, selvom der er ret store afvigelse mellem de 2 enkeltbestemmelser - specielt for restfraktion 2.

Resultaterne i tabel 2 antyder som ventet, at afvigelserne mellem resultaterne af enkeltbestemmelserne på hovedfraktionerne bliver forholdsvis store, når der anvendes så grov en homogenisering som hakning gennem en skive med \varnothing 8 mm huller. Der blev derfor gennemført 3 enkeltbestemmelser på hver hovedfraktion mod normalt 2.

I de efterfølgende beregninger regnes der med, at tab/spild fraktionen har samme fosforkoncentration som de respektive hovedfraktioner, og restfraktionernes fosforkoncentration er lig med gennemsnittet af de 2 enkeltbestemmelser.

Sættes fosforkoncentrationen i hovedfraktion 1 lig med det fundne gennemsnit (0,381% P) fås, at de hele ørreder havde et fosforindhold på 0,398% P. Anvendes derimod det laveste resultat (0,358% P) og det højeste (0,399% P) kan det beregnes, at de hele ørrederne indeholdt henholdsvis 0,375% P og 0,415% P. Resultaterne er igen opgivet med ét betydende ciffer mere end normalt, så resultaterne bedre kan bedømmes.

Gennemføres der en tilsvarende beregning på hoved- og restfraktion 2 med anvendelse af de gennemsnitlige fosforkoncentrationer bliver resultatet, at hovedfraktion 1 havde en fosforkoncentration på 0,366% P, samt at det således fundne resultat udgør 96,1% af det ved den direkte analyse fundne gennemsnitsresultat. Den ved denne metode beregnede fosforkoncentration i hovedfraktion 1 ligger således indenfor det ved den direkte analyse fundne koncentrationsområde, men dog i den lave ende.

Konklusion

Ved anvendelse af den prøveforberedelsesmetodik, som blev brugt af laboratoriet i forbindelse med analysen af ørrederne fra det i indledningen nævnte Chitosanforsøg, sker der en fraktionering af prøvernes fosforindhold. Dette bevirker, at de målte fosforkoncentrationer bliver for lave.

En efterfølgende undersøgelse har vist, at det ikke umiddelbart er muligt at fjerne denne fejlkilde, uden at det medfører større spredning på resultaterne og stærkt forøgede analyseomkostninger.

En simpel opblanding af restfraktionen fra hakningen i hovedfraktionen vil ikke løse problemet. Denne fremgangsmåde vil blot medføre, at der nu og da vil optræde dobbeltbestemmelser, hvis enkeltresultater afviger stærkt fra hinanden, fordi der med tilfældige mellemrum medtages en større benstump fra restfraktionen. I disse tilfælde vil analysen blive gentaget, og man vil efterfølgende vælge at se bort fra et stærkt afvigende enkeltresultat, idet dette resultat normalt vil blive anset for at være fejlbehæftet.

Spredningen på hovedfraktionens analyseresultaterne vil sandsynligvis kunne mindskes ved at gennemføre først en grovhakning og derefter en finhakning efter samme princip som ved anvendelse af KS-hakkeren.

Med de på nuværende tidspunkt til rådighed værende homogeniseringsmetoder kræver en korrekt bestemmelse af fiskenes fosforkoncentration, at der efter hakningen gennemføres analyser på både hoved- og restfraktion med efterfølgende beregning af fiskenes fosforkoncentration ud fra vægten af fraktionerne.

Litteratur

Rønsholdt, B. (1991): Kvælstof- og fosforindholdet af regnbueørred. Afsnit 3.0 i DFH rapport nr. 397, "Miljøbelastning fra havbrug og saltvandsdambrug", af K.D. Christensen og J. Horsted.

Hirtshals den 17. maj 1993

1059,9 g hel portionsørred

Hakning gennem skive med \varnothing 8 mm huller
Sammenblanding af rest- og hovedfraktion
Hakning gennem skive med \varnothing 8 mm huller

Tab/spild
66,5g = 6,3%

Restfraktion 1
25,6g = 2,4%

Hovedfraktion 1
967,8g = 91,3%

Prøver til P-analyse
242,2g hovedfraktion 1

724,6g grovhakket portionsørred

Hakning gennem skive med \varnothing 4,5 mm huller

Tab/spild
39,9g = 5,5%

Restfraktion 2
39,0g = 5,4%

Hovedfraktion 2
645,7g = 89,1%

Fig. 1. Oversigt over prøveforberedelsesmetoden ved den sidste undersøgelse. Restfraktionen består stort set udelukkende af materialet, som sidder mellem hakkerens fremføringssnegl og hulskiven. Tab/spild er rester af blod, slim, skæl, kødstumper o.l., som sidder spredt på knive, skåle og de inderste dele af hakkeren.

