

Integratie van een zeewierreactor in een marien recirculatiesysteem: effecten op vis en waterkwaliteit

Edward Schram, Rian Schelvis, Corrina Hinrichs,
Jan van der Heul

Rapport C93/12



IMARES Wageningen UR

(IMARES - Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Opdrachtgever:

Hortimare B.V.
E. de Boer - van Rijkpark 20
1705 LN Heerhugowaard

Publicatiedatum:

25 juli 2012

IMARES is:

- een onafhankelijk, objectief en gezaghebbend instituut dat kennis levert die noodzakelijk is voor integrale duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van de zee en kustzones;
- een instituut dat de benodigde kennis levert voor een geïntegreerde duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van zee en kustzones;
- een belangrijke, proactieve speler in nationale en internationale mariene onderzoeksnetwerken (zoals ICES en EFARO).

P.O. Box 68	P.O. Box 77	P.O. Box 57	P.O. Box 167
1970 AB IJmuiden	4400 AB Yerseke	1780 AB Den Helder	1790 AD Den Burg Texel
Phone: +31(0)317 480900	Phone: +31 (0)317 48 09 00	Phone: +31 (0)317 48 09 00	Phone: +31 (0)317 48 09 00
Fax: +31 (0)317 48 73 26	Fax: +31 (0)317 48 73 59	Fax: +31 (0)223 63 06 87	Fax: +31 (0)317 48 73 62
E-Mail: imares@wur.nl	E-Mail: imares@wur.nl	E-Mail: imares@wur.nl	E-Mail: imares@wur.nl
www.imares.wur.nl	www.imares.wur.nl	www.imares.wur.nl	www.imares.wur.nl

© 2011 IMARES Wageningen UR

IMARES is onderdeel van Stichting DLO
KvK nr. 09098104,
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

A_4_3_1-V12.2

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	3
Samenvatting	4
1. Inleiding	5
2. Kennisvragen	5
3. Materialen en methoden	5
4. Resultaten & Discussie	9
5. Figuren	13
6. Tabellen	27
7. Conclusies	32
8. Kwaliteitsborging	32
Verantwoording	33
Bijlage A. Natriumbicarbonaat, pokon en magnesiumsulfaat dosering	34
Bijlage B. Samenstelling Pokon	38
Bijlage C. Waterverversing van de experimentel systemen	39
Bijlage D. Uitslag diagnostiek CVI	42
Bijlage E. Foto's verkennende sensorische analyse	47

Samenvatting

In opdracht van Hortimare BV en in het kader van het VIP project Vis, Schelp en Wier onderzocht IMARES de integratie van een zeewierreactor in een marien recirculatiesysteem (RAS) voor de kweek van tarbot. Onderzocht werden de effecten van de aanwezigheid van een zeewierreactor met *Ulva* in een marien RAS op de waterkwaliteit, de productie en gezondheid van tarbot, de kwaliteit van de vis als eindproduct en het functioneren van de zeewierreactor. Hiertoe werden in een experiment van 68 dagen metingen verricht aan de *Ulva*, tarbot en het water in vier gelijke, kleinschalige mariene RAS. Alle vier de experimentele RAS waren voorzien van een zeewier-reactor, echter slechts twee van de vier reactoren werden voorzien van 200g *Ulva* (twee behandelingen in duplo).

De *Ulva*-biomassa kon stabiel gehouden worden op 200g per reactor door de *Ulva* wekelijks te oogsten en het surplus niet terug te zetten in de reactoren. Het bleek mogelijk om *Ulva* te produceren in een zeewierreactor binnen een marien recirculatiesysteem met tarbot. De groei varieerde echter van een maximale biomassa toename van 45% per week tot een biomassa afname van 8% per week. De groei van de *Ulva* leek niet gecorreleerd aan en beperkt door het nutriëntenaanbod.

Uit parallel uitgevoerde batchtesten is gebleken dat blootstelling van de *Ulva* aan hoge ammonia concentraties kan leiden tot een proces, hoogstwaarschijnlijk nitrificatie, waarbij ammonia wordt verwijderd en nitraat en nitriet worden geproduceerd. Het is niet duidelijk of dit proces wordt uitgevoerd door de *Ulva* zelf of door microbiota op het bladoppervlak van de *Ulva*.

De tarbotten werden op de eerste en laatste dag van het experiment gewogen om de groei vast te stellen. De voeropname door de tarbotten werd dagelijks gemeten. Op de laatste dag van het experiment werd het hematocrietgehalte en de miltindex van de tarbotten gemeten. Een productie- of gezondheid bevorderend effect op tarbot van de aanwezigheid van een zeewierreactor met *Ulva* in het kweekstelsel kon niet worden aangetoond.

Na afloop van het experiment werd een verkennende sensorische analyse uitgevoerd op vijf tarbotten uit elk van de vier systemen. Daaruit is gebleken dat tarbot die gekweekt is in een systeem zonder zeewier een lichtere kleur heeft en tarbot die gekweekt is in een systeem met zeewier een donkere kleur heeft. Een verschil in de smaak van de gekookte filet werd niet waargenomen.

1. Inleiding

Het in dit rapport gepresenteerde onderzoek is uitgevoerd in opdracht van Hortimare BV in het kader van het VIP project Vis, Schelp en Wier. IMARES had als opdracht onderzoek te doen naar het effect van de integratie van een zeewier-reactor in een marien recirculatiesysteem (RAS) op vis en waterkwaliteit.

2. Kennisvragen

Wat is het effect van de aanwezigheid van een zeewier-reactor in een marien recirculatiesysteem op:

- De waterkwaliteit in het systeem?
- De visproductie?
- De gezondheid van de vis?
- De kwaliteit van de vis als eindproduct?

Hoe functioneert de zeewier-reactor binnen een marien RAS?

- Kan een stabiele zeewier biomassa gehandhaafd worden?
- Wat is de groeisnelheid van het zeewier?

3. Materialen en methoden

Behandelingen en experimentele opzet

Het experiment bestond uit drie behandelingen:

1. Mariene RAS met een zeewier-reactor (RAS met zeewier);
2. Mariene RAS zonder zeewier-reactor (RAS zonder zeewier);
3. Zeewier-reactor gevoed met een nutriëntenoplossing (Zeewier Controle).

Alle drie de behandelingen werden gelijktijdig en in tweevoud uitgevoerd (I en II). Het aantal experimentele eenheden kwam daarmee op zes.

De behandelingen 1 en 2 dienden ter beantwoording van de kennisvragen omtrent het effect van de aanwezigheid van een zeewier-reactor in een mariene RAS op de vis en de waterkwaliteit.

Behandeling 3, de zeewiercontrole, diende ter beantwoording van de kennisvragen omtrent het functioneren van de zeewier-reactor binnen een marien RAS. In de zeewiercontrole werd het zeewier onder optimale omstandigheden gehouden zodat deze als referentie voor het functioneren van het zeewier binnen de mariene RAS gebruikt kon worden.

Fasering van het experiment

Het experiment bestond uit twee perioden: de acclimatisatieperiode voor de vis en de experimentele periode. Nadat alle experimentele systemen in gereedheid waren gebracht, werd de acclimatisatieperiode gestart door op 6 juli 2011 de vier RAS bezet met tarbot te bezetten. Tijdens de acclimatisatieperiode konden de vissen wennen aan de nieuwe omgeving. De acclimatisatie werd op 20 juli 2011 beëindigd omdat de voeropname door de vis in alle systemen voldoende goed was. Op dezelfde dag werden de vier zeewierreactoren bezet met *Ulva* (200g natgewicht per reactor). Op 21 juli startte de experimentele periode (Dag 1). De experimentele periode duurde in totaal 68 dagen (21 juli t/m 27 september 2011).

Opzet van de experimentele mariene RAS met zeewier-reactoren

Voor de behandelingen 1 en 2 is gebruik gemaakt van vier identieke kleinschalige recirculatiesystemen. Elk systeem bestond uit een vistank, een tank met een bezinkcompartiment en een pompcompartiment een 'trickling filter' met daaronder een opvangbak, een tweede pompbak en een zeewier-reactor. Het bezinkcompartiment dient voor de afscheiding van vaste delen (mest en niet gegeten voer). Het 'trickling

filter' is een kolom van dragermateriaal waarop microbiota groeien. De functie van het 'trickling filter' is de biologische oxidatie van het door de vissen geproduceerde ammonia tot nitraat (nitrificatie).

Elk van de vier experimentele RAS werd voorzien van een identieke zeewier-reactor. Voor behandeling 1, RAS met zeewier, werden de zee-wierreactor voorzien van zeewier. Voor behandeling 2, RAS zonder zeewier, werden de zeewier-reactoren niet voorzien van zeewier. Op deze manier was de configuratie van de experimentele RAS gelijk voor alle vier systemen en voor beide behandelingen. Het enige verschil tussen de behandelingen was de aan- of afwezigheid van het zeewier.

Het rond stromende water binnen de experimentele RAS passeerde als volgt de verschillende systeemonderdelen (te beginnen bij de vistank):

1. Het effluent van de vistank stroomde naar het bezinkcompartiment.
2. Vervolgens bereikte het water het pompcompartiment van waaruit het bovenop het 'trickling filter' gepompt werd.
3. Het water liep van boven naar beneden over het 'trickling filter' (Debiet 1). Het effluent van het 'trickling filter' werd opgevangen in de tweede pomptank.
4. Vanuit de tweede pompbak werd een deelstroom onderin de zeewierreactor gepompt (Debiet 2)
5. Het water stroomt door de zeewierreactor omhoog om via een overstort terug te stromen naar de vistank.

Vanuit de tweede pompbak stroomt het deel van het water dat niet door de zeewier-reactor gepompt wordt ($\text{Debiet 1} > \text{Debiet 2}$) via een overstort terug naar de vistank ($\text{Debiet 3} = \text{Debiet 1} - \text{Debiet 2}$). Door in alle systemen het volledige effluent van de vistank eerst over de bezinker en het trickling filter te leiden voordat het water de zeewier-reactor bereikte, was de belasting met nutriënten van de bezinker en het 'trickling filter' voor beide behandelingen gelijk. De passage van de zeewier-reactor was daardoor zuiver een toegevoegde waterbehandeling; de zeewierreactor kon in deze configuratie geen omzetting capaciteit van het 'trickling filter' overnemen. De gemeten debieten worden weergegeven in Bijlage A.

Een zeewier-reactor bestond uit cilindervormige polyester tank met een conische bodem. Alle reactoren, dus ook de reactoren zonder zeewier, werden 16 uur per dag belicht (200W spaarlamp 6500k). Alle reactoren werden belicht om het zeewier in suspensie te houden.

In alle vier de experimentele RAS werd tweemaal per week de bezinker afgelaten, schoongemaakt en opnieuw met zeewater gevuld. Dit had als doel het bezonken materiaal uit de systemen te verwijderen en periodiek een deel van het systeemwater te verversen. De verversing wordt weergegeven in Bijlage C. Het experimentele RAS inclusief de daarop aangesloten zeewier-reactor wordt schematisch weergegeven in Figuur 1. In Tabel 1 worden de dimensies en instellingen weergegeven.

Zeewier controle systemen

De zeewier controle systemen (behandeling 3) bestonden uit een zeewier-reactor, zoals hierboven beschreven, aangesloten op een pomptank (50L). Het water in de zeewier controle systemen werd rondgepompt over de zeewier-reactor en de pomptank met een debiet gelijk aan het debiet over de reactoren binnen de RAS (Debiet 2).

In de zeewier controle systemen werden eenmaal per week nutriënten gedoseerd. Aan elk systeem werd in de eerste weken 1 tot en met 6 250 ml Pokon toegevoegd. In de weken 7 tot en met 9 werd deze dosis gehalveerd en werd 125 ml pokon per week en per zeewiercontrole systeem, gedoseerd. Daarnaast werd wekelijks en gelijktijdig met de pokon dosering 10 ml van een 0.47M magnesiumsulfaat oplossing toegevoegd aan elk zeewiercontrole systeem. De samenstelling van de pokon wordt weergegeven in Bijlage B. De waterverversing van deze systemen wordt weergegeven in Bijlage C.

Het zeewier

Vier van de zes zeewier-reactoren werden voorzien van 200 g *Ulva* (*Ulva lactuca*) afkomstig van Plant Research International, Wageningen UR.

De *Ulva* biomassa is wekelijks gemeten in alle vier de zeewier-reactoren met *Ulva*. Het natte gewicht werd gemeten door met een net alle *Ulva* uit de reactor te verwijderen en handmatig op gestandaardiseerde wijze met een slacentrifuge te centrifugeren en vervolgens te wegen. Na weging werd eventueel surplus aan *Ulva* als gevolg van groei verwijderd en de oorspronkelijk *Ulva* biomassa van 200 g teruggeplaatst in de zeewier reactor.

De vissen

Elk RAS werd bezet met 31 tarbotten (*Psetta maxima*) met een gemiddeld (SD) gewicht van 166.9 (4.4) g. De gemiddelde (SD) visdichtheid bij aanvang van het experiment was 10.6 (0.3) kg/m². In elk systeem werden de vissen tweemaal daags met de hand naar behoefte gevoerd tot visueel waargenomen verzadiging. Het streven was maximale voeropname en minimale voerverspilling te realiseren.

De visbiomassa is gemeten door aan het begin en het einde van het experiment per systeem door de vissen in bulk te wegen. Het gemiddelde individuele gewicht aan het begin en einde van het experiment volgt uit de totale visbiomassa en het aantal vissen op beide tijdstippen voor elk systeem afzonderlijk. De gemiddelde individuele gewichten zijn gebruikt om per systeem te gerealiseerde specifieke groeisnelheid (SGR) te berekenen:

$$SGR = (\ln(W_t) - \ln(W_1)) \times \frac{100}{t}$$

waar SGR = specifieke groeisnelheid (%/d), W_t = gemiddeld gewicht op dag 68 (g), W_1 = gemiddelde gewicht op dag 1 (g) en t = 68 dagen.

De voergift werd dagelijks vast gesteld voor elk systeem. Door nauwkeurig met de hand te voeren tot dat de vissen niet meer willen eten is de voeropname vrijwel gelijk aan de voergift. De dagelijkse voergift is gecorrigeerd voor het verschil in aantal vissen per experimentele eenheid door de voergift uit te drukken per vis (g/vis). De totale voergift in elk systeem per vis volgt uit de som van de dagelijkse voergiften. De voederconversie (FCR) is berekend als het quotiënt van de totale voergift per vis en de individuele visbiomassa toename.

Aan het einde van het experiment zijn alle vissen individueel gewogen en de standaard lengte is gemeten. Hieruit is de conditiefactor (CF) berekend:

$$Conditie\ factor = \left(\frac{\text{lichaamsgewicht}}{\text{totale lengte}^3} \right) \times 100$$

Uit elk systeem met vissen is van 10 vissen een bloedmonster genomen voor het meten van het hematocrietgehalte:

$$Hematocriet\ (\%) = \left(\frac{\text{hoogte bloedcellen}}{\text{hoogte totale kolom}} \right) \times 100\%$$

Van dezelfde vissen is de milt verwijderd en gewogen om de miltindex (SI) vast te kunnen stellen:

$$\text{Milt index}(\%) = \left(\frac{\text{miltgewicht}}{\text{lichaamsgewicht}} \right) \times 100\%$$

Visgezondheid

Vanwege hoge sterfte in alle systemen zijn direct na afloop van het experiment (dag 68) uit systemen 1 (RAS met zeewier) en 2 (RAS zonder zeewier) drie vissen verzonden naar het visziektenlaboratorium van het Centraal Veterinair Instituut (CVI) te Lelystad voor diagnostiek.

Waterkwaliteitsbepalingen

In alle experimentele systemen werd de waterkwaliteit gemeten met als doel de omstandigheden voor de vissen te bewaken, de experimentele condities te beschrijven en de effecten van experimentele behandelingen op de waterkwaliteit vast te stellen.

Dagelijks werd in alle experimentele systemen de zuurstofconcentratie, water temperatuur en pH gemeten (allen Hach Lange Multimeter). Tweemaal per week werden watermonsters genomen uit alle systemen voor de fotometrische bepaling (Hach Lange DR2800) van de ammonia- ($\text{NH}_3\text{-N} + \text{NH}_4\text{-N}$, Hach Lange testkit LCK305, nitraat- (Hach Lange testkit LCK339) en nitriet-stikstofconcentraties (Hach Lange testkit LCK341). De watermonsters werden genomen op maandagen en donderdagen voordat de bezinkers werden afgelaten. Op deze tijdstippen werden de hoogste concentraties verwacht.

Nitrificatie in de zeewier controle systemen

In de zeewier-controle systemen werd een daling van de ammoniacconcentratie in combinatie met een stijging van de nitraatconcentratie waargenomen. Dit suggereerde dat er nitrificatie plaatsvond in deze systemen. Om nitrificatie te bevestigen zijn aansluitend op het experiment gelijktijdig vier batch testen uitgevoerd. In vier emmers met daarin circa 10L zeewater werd 10g *Ulva* gedaan afkomstig uit een van de vier zeewierreactoren waarin tijdens het experiment *Ulva* werd gehouden. Op $t = 0$ werd aan elke emmer ammoniumchloride toegevoegd zodat een totaal ammoniacconcentratie van circa 20 mg/L ontstond. Op $T=0$, 24 en 94 uur werden uit elke emmer watermonsters genomen ten behoeve van het meten van de totaal ammonia-, nitriet- en nitraatstikstofconcentratie. De meetmethode was gelijk aan de hierboven beschreven methoden voor deze componenten.

Verkennde sensorische analyse tarbot

Per variant (tarbot uit RAS met zeewier en uit RAS zonder zeewier) zijn 5 vissen geslacht op dinsdag 27 september 2011. Deze zijn bewaard op ijs bij 0°C . Op 30 september 2011 hebben drie deskundigen op het gebied van sensorische kwaliteitsbeoordeling een individuele kwalitatieve omschrijving/beoordeling gegeven over het uiterlijk en de geur van de hele vis en de smaak van de gekookte filet. Voor de sensorische beoordeling van de hele vis zijn de vissen (5 per variant) geplaatst in een platte kist met ijs. Op het ijs lag een plastic vel. Van elk exemplaar is aan de donkere zijde een foto gemaakt. Na de individuele beoordeling zijn de resultaten plenair bediscussieerd en zijn de vissen zijn gegroepeerd naar variant.

Na de beoordeling van de hele vis zijn de vissen gefileerd. De filets zijn per vis apart gehouden en gekookt in een hete lucht oven (10 minuten 200°C). de filet was bedekt met aluminium folie. Na het koken is de filet overgebracht op schaaltes en per vis beoordeeld op smaak.

4. Resultaten & Discussie

Tarbot

De resultaten voor de productieparameters en indicatoren voor visgezondheid worden weergegeven in Tabel 2. In alle systemen trad een te hoge sterfte op (Tabel 2). Wanneer de vissen gezond zijn en de omstandigheden goed, kan een overleving van 98-100% gehaald worden. De lage overleving geeft aan dat de gezondheid van de vissen al bij aanvang van het experiment niet optimaal was en dat wellicht ook de omstandigheden niet optimaal waren. In systeem 3 was de sterfte extreem hoog waardoor aan het einde van het experiment slechts een vis over was. Door de zeer hoge sterfte in systeem 3 is een van herhalingen van de behandeling RAS met zeewier verloren gegaan. Hierdoor konden met uitzondering van overleving ende totale voeropname, de in Tabel 2 weergegeven parameters niet gemeten of berekend worden voor systeem 3. Door het ontbreken van een herhaling is het ook niet mogelijk de resultaten te toetsen op significante effecten van de behandelingen.

De tarbot heeft in geen van de systemen goed gepresteerd tijdens dit experiment. De dagelijks waargenomen motivatie om te eten (niet gemeten) was laag, hetgeen zich uit in een lage voeropname en groei. De voederconversie was redelijk. Ondanks de slechte groei, werd het opgenomen voer redelijk goed benut voor groei door de vis.

Voor hematocriet en conditie factor werden normale waarden gevonden. De miltindex was vrij hoog in alle systemen. Een vergrote milt is ook geconstateerd tijdens het visziektenonderzoek door CVI (vissen uit systemen 1 en 2). Een vergrote milt wijst op een verhoogde activiteit van het immuunsysteem, bijvoorbeeld als gevolg van een infectieziekte. De resultaten van het bacteriologische onderzoek door CVI wijzen echter niet duidelijk in die richting. Een eenduidige oorzaak voor de lage overleving en groei werd niet gevonden (zie Bijlage D).

Op basis van de resultaten van de metingen verricht aan de tarbotten lijkt er geen effect van de aanwezigheid van *Ulva* te zijn op het presteren en de gezondheid van de vis. Behandelingseffecten kunnen door het ontbreken van een van de herhalingen niet getoetst worden.

Ulva productie in de reactoren verbonden aan de RAS

In de eerste week van het experiment werd in de zeewier reactoren verbonden aan een RAS een grote toename van de *Ulva* biomassa waargenomen van 45% en 38% (Tabel 3, Fig. 2). In de rest van het experiment werd een dergelijke hoge *Ulva* biomassa toename niet meer waargenomen. In de zeewier reactor verbonden aan RAS met zeewier 1 vond gedurende het hele experiment productie van *Ulva* plaats. Deze productie varieerde van week tot week (Fig. 3). In de andere zeewier reactor verbonden aan een RAS (RAS met zeewier 3) vond in de eerste zeven weken een hogere *Ulva* productie plaats dan in RAS met zeewier 1, ondanks de lagere voergift en daarmee lagere nutriënten aanbod in RAS met zeewier 3 (Tabel 2). Een verband tussen de voergift aan de tarbot enerzijds en de productie van *Ulva* anderzijds is echter niet gevonden (Fig. 4). Dit duidt er op dat in geen van beide systemen het nutriënten aanbod beperkend was voor de groei van de *Ulva*. In de laatste twee weken van het experiment vond geen *Ulva* productie meer plaats in RAS met zeewier 3. De *Ulva* biomassa nam zelfs af (Fig. 2 en 3).

Ulva productie in de zeewier controle reactoren

De zeewier controle systemen zijn in het experiment opgenomen als positieve controle op de zeewierreactoren verbonden aan de RAS. Door een optimaal nutriënten aanbod zou de in maximaal haalbare *Ulva* productie in de gebruikte reactoren gerealiseerd moeten worden. Op basis daarvan zou de in de zeewier reactoren verbonden aan de RAS gerealiseerde *Ulva* productie op waarde geschat kunnen worden. In werkelijkheid werd slechts in de eerste week van het experiment grote *Ulva* productie van 30% en 72% gerealiseerd in de zeewier controle systemen. Tijdens de rest van de looptijd van het experiment was afwisselend sprake van een geringe wekelijkse toename of afname van de biomassa (Tabel 3, Fig. 2 en 3).

Waterkwaliteit

Een overzicht van de waterkwaliteit in de experimentele systemen wordt weergegeven in Tabel 4 en 5.

Saliniteit, zuurstofconcentratie en temperatuur

De gemiddelde saliniteit was vrijwel gelijk in de experimentele systemen en liep uiteen van 24.6 tot 25.5 g/L (Tabel 4). De hoogste gemiddelde zuurstofconcentraties werden gemeten in de zeewiercontrole systemen (~7.7 mg/L, Tabel 4). In de RAS waren de zuurstofconcentraties iets lager, waarschijnlijk door het zuurstofverbruik van de vissen. De RAS met zeewier laten een iets hogere gemiddelde zuurstofconcentratie zien dan de RAS zonder zeewier. Mogelijk werd dit veroorzaakt door zuurstofproductie door het zeewier. De gemiddelde watertemperatuur was vrijwel gelijk in de experimentele systemen en liep uiteen van 19.9 tot 20.1 °C.

pH in de RAS

Het verloop van de pH in de RAS tijdens het experiment wordt weergegeven in de Figuren 5a t/m d. In dezelfde figuren wordt tevens de dosering van natriumbicarbonaat weergegeven. In de RAS systemen was sprake van continue H^+ productie door het nitrificatieproces. Regelmatige dosering van natriumbicarbonaat was daarom noodzakelijk om de pH niet te ver te laten wegzakken. Natriumbicarbonaat werd naar behoefte gedoseerd, in de regel zodra de pH onder de 7 zakte. In de RAS lag de pH tussen de 6.87 en 7.96 (Tabel 4). De aanwezigheid van zeewier in een RAS zou pH verhogend kunnen werken door de opname van kooldioxide en door de opname van ammonia. De opname van ammonia leidt tot minder nitrificatie en bijbehorende H^+ productie. Een pH verhogend effect van zeewier blijkt echter niet uit de pH metingen. Een dergelijk effect was mogelijk slecht waarneembaar doordat in dit experiment de pH in de RAS sterk beïnvloed werd door de regelmatige dosering van natriumbicarbonaat. De totale natriumbicarbonaat dosering, min of meer gelijk aan de behoefte, verschilde echter niet tussen de experimentele RAS met of zonder zeewier (Bijlage A). Dit duidt er op dat het zeewier geen sterk pH verhogend effect had. De hogere pH en lagere natriumbicarbonaat dosering in RAS met zeewier 3 ten opzichte van de andere RAS wordt veroorzaakt door het kleinere visbestand en de daaraan gekoppelde lagere voergift. Een lagere voergift leidt tot een lagere ammonia productie en dus een lagere H^+ productie door nitrificatie.

pH in de zeewier controle systemen

Het verloop van de pH in de zeewier controle systemen tijdens het experiment wordt weergegeven in de Figuren 5e en f. In dezelfde figuren wordt tevens de dosering van natriumbicarbonaat weergegeven. In de eerste helft van het experiment was de pH vrij hoog en stabiel in de zeewiercontroles. In de tweede helft van het experiment trad een sterke verzuring op. Deze werd gecompenseerd door dosering van natriumbicarbonaat, hetgeen resulteerde in een sterk fluctuerende de pH in beide zeewiercontroles. De verzuring werd waarschijnlijk veroorzaakt door nitrificatie (zie hieronder).

Ammonia, nitraat, nitriet in de RAS

De ammonia ($NH_3 + NH_4^+$) en nitriet concentraties in de RAS (Fig. 6 en 7) waren laag, hetgeen in overeenstemming is met een goed functionerend nitrificerend trickling filter. De fluctuaties in de tijd worden veroorzaakt door de periodieke verversing van een deel van het systeem water (Bijlage C). De nitraatconcentraties in de RAS (Fig. 8) stijgen in de loop van het experiment. Deze accumulatie van nitraat wordt veroorzaakt doordat de nitraat productie door nitrificatie groter is dan de nitraat verwijdering door waterverversing. Waterverversing leidt wel tot een tijdelijke verlaging van de nitraatconcentraties waardoor het concentratieverloop in de tijd een golfbeweging laat zien. Het punt waarop de nitraatconcentratie dermate hoog is dat de verwijdering door waterverversing in evenwicht is met de productie en de nitraatconcentratie zich stabiliseert, werd niet bereikt tijdens dit experiment. De lagere nitraat concentraties in RAS met zeewier 3 worden veroorzaakt door lagere nitraat productie als

gevolg van het kleinere visbestand in dit systeem. In RAS met zeewier 1 is de nitraatconcentratie over het algemeen lager dan in beide RAS zonder zeewier, terwijl de voergiften aan deze drie systemen niet sterk uiteenlopen. Dit wijst op nitraatverwijdering als gevolg van nitraatopname door het zeewier.

Ammonia, nitraat, nitriet in de zeewier controle systemen

De ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), nitriet en nitraatconcentraties in de zeewier controle systemen worden weergegeven in de Figuren 9, 10 en 11. De concentraties van deze stikstofverbindingen zijn het saldo van dosering van Pokon (ammonia en nitraat), opname en uitscheiding door het zeewier en omzetting en productie door microbiota. In het algemeen valt op dat de concentraties in beide reactoren sterk overeenkomen.

In de eerste helft van het experiment is er niet of nauwelijks nitriet aanwezig (Fig. 10). Dit is in overeenstemming met de afwezigheid van nitriet in Pokon (Bijlage B). In de tweede helft van het experiment wordt wel nitriet waargenomen. Waarschijnlijk wordt het nitriet geproduceerd als tussen product van de biologische oxidatie van ammonia tot nitraat (nitrificatie). Dit proces vindt in twee stappen plaats: van ammonia naar nitriet en van nitriet naar nitraat. De opstart van de eerste stap verloopt in het algemeen sneller dan de tweede stap. Hierdoor wordt tijdens de opstart van het nitrificatieproces in veel gevallen een tijdelijke accumulatie van nitriet waargenomen. In dit experiment was tot het einde toe sprake van nitrietproductie, hetgeen wijst op een nog niet volledig opgestart nitrificatieproces. De sterke fluctuaties in de nitrietconcentratie worden veroorzaakt door de periodieke verversing van het water in de zeewierreactoren.

Waterverversing heeft datzelfde effect op de concentraties van ammonia en nitraat. De fluctuaties in de concentraties van deze stoffen worden echter ook beïnvloed door de wekelijkse dosering van Pokon. De ammonia concentraties zijn in de eerste helft van het experiment duidelijk hoger dan in de tweede helft (Fig. 9). In de tweede helft van het experiment wordt een deel van het ammonia omgezet in nitriet. De nitraatconcentraties laten geen stijgende trend zien (Fig. 11). Dit duidt er op dat de tweede stap van het nitrificatieproces, de omzetting van nitriet in nitraat, in beperkte mate plaatsvindt.

Het optreden van nitrificatie in de zeewier controle systemen werd nader onderzocht in batch experimenten (zie hieronder).

Nitrificatie door Ulva

De resultaten van de batch testen met *Ulva* worden weergegeven in de Figuren 12 t/m 19. Figuren 12 en 13 laten zien dat de totaal ammonia-, nitriet- en nitraatstikstofconcentraties in de batch testen met *Ulva* afkomstig uit de experimentele RAS (systemen 1 en 3) vrijwel niet veranderen in de tijd. Dit wijst er op dat er geen opname, uitscheiding of omzetting van de stikstofverbindingen plaatsvond. De batch testen met de *Ulva* afkomstig uit de zeewiercontrole systemen laten een heel ander beeld zien (Fig. 14 en 15). Daarin daalt de totaal ammoniastikstofconcentratie terwijl de nitriet- en nitraatstikstofconcentraties stijgen. Dit wijst er op dat er nitrificatie plaatsvond.

De Figuren 16 t/m 19 laten de absolute hoeveelheden stikstof en de verdeling hiervan over ammonia, nitriet en nitraat zien op de drie monsterpunten voor de vier batch experimenten. In de batch experimenten met *Ulva* afkomstig uit de experimentele RAS was de totale hoeveelheid stikstof stabiel tijdens het experiment en vond geen verschuiving plaats tussen de drie gemeten stikstof fracties (Fig. 16 en 17). Dit is in overeenstemming met het beeld dat al door de Figuren 12 en 13 geschetst werd. In de batch experimenten met *Ulva* afkomstig uit de zeewier controle systemen vond wel een verschuiving plaats tussen de drie gemeten stikstof fracties (Fig. 18 en 19). Ook dit is in overeenstemming met het al eerder geschetste beeld op basis van de gemeten concentraties (Fig. 14 en 15). Wat echter ook blijkt is dat in de beide batch testen de totale hoeveelheid stikstof na 94 uur met respectievelijk 72% en 49% was toegenomen ten opzichte van $T = 0$. Mogelijk werd dit veroorzaakt door de uitscheiding van stikstofverbindingen door de *Ulva*. Data die deze verklaring onderbouwen ontbreken echter.

Deze resultaten laten zien dat de aanwezigheid van *Ulva* kan leiden tot een daling van de ammonia- en een stijging van de nitraatconcentratie. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt door de omzetting van

ammonia in nitraat door nitrificatie maar met zekerheid kan dit gezegd worden. Ook is niet duidelijk of de concentratieveranderingen toegeschreven moeten worden aan de *Ulva* of aan microbiota op het *Ulva* oppervlak (biofilm).

Het verschil tussen het resultaat van de batch testen met *Ulva* afkomstig uit de experimentele RAS enerzijds en de batchtesten met *Ulva* afkomstig uit de zeewier controle systemen anderzijds kan mogelijk verklaard worden door het verschil in ammoniablootstelling van beide *Ulva* varianten tijdens het experiment. In de zeewier controle systemen werd de *Ulva* aan hoge ammoniac concentraties blootgesteld (Fig. 9). Deze blootstelling stimuleerde mogelijk de groei van een nitrificerende biofilm op de *Ulva*. In de zeewierreactoren in de viskweeksystemen was deze stimulans niet aanwezig. De ammoniac concentraties in de viskweeksystemen waren namelijk laag doordat het door de vissen uitgescheiden ammonia grotendeels in het trickling filter al werd omgezet in nitraat (Fig. 6). Deze resultaten duiden er op dat een zeewierreactor met *Ulva* kan bijdragen aan de voor viskweeksystemen essentiële verwijdering van ammonia uit viskweekwater.

Verkennde sensorische analyse tarbot

De resultaten van de beoordelaars zijn weergegeven in Tabel 6 en 7. Het meest opvallende resultaat was het verschil in uiterlijk van de donkere zijde van de hele vis. De beoordeelde vissen worden weergegeven in Bijlage E.

De individuele vissen konden op basis van het uiterlijk in twee groepen ingedeeld worden:

Groep 1: Waren de donkere vissen (nummer 1, 3, 5, 6 en 7) en bleken allen afkomstig uit het kweekstelsel waarbij zeewier bij zat.

Groep 2: Waren de lichter vissen (nummer 2, 4, 8, 9 en 10) en bleken allen afkomstig uit het kweekstelsel waar geen zeewier bij zat.

De beoordelaars vonden verder geen afwijkingen in de geur, de smaak of anderszins.

5. Figuren

Figuren

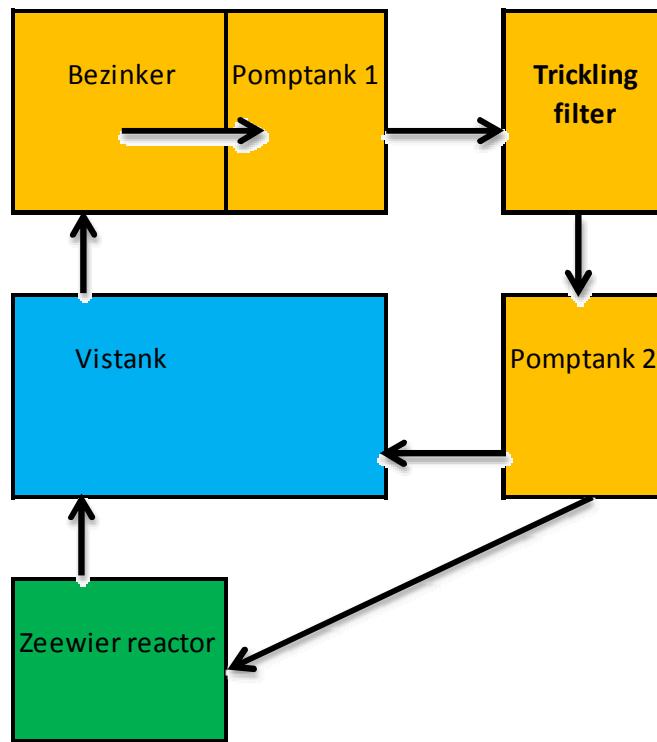


Fig. 1. Schematische weergave van de experimentele recirculatiesystemen met een zeewierreactor. De dimensies worden weergegeven in Tabel 1. De pijlen geven de stroomrichting van het water aan.

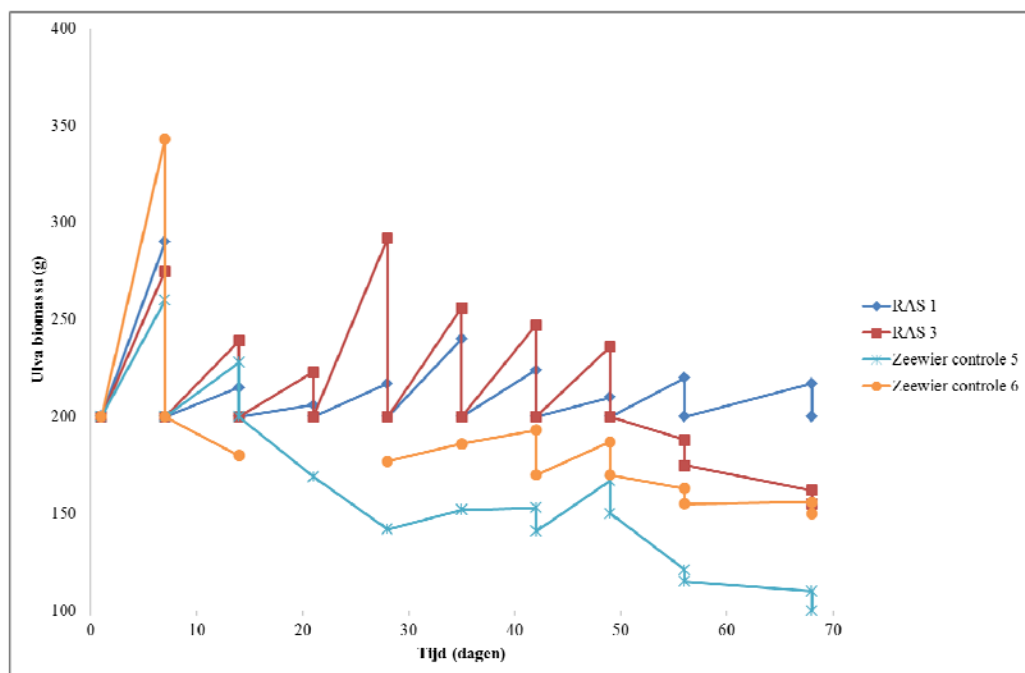


Fig. 2. De *Ulva* biomassa (ww) in de zeewier reactoren gekoppeld aan de RAS en in de zeewier controle systemen tijdens de loop van het experiment. Het zaagtandprofiel wordt veroorzaakt door de wekelijks oogst van *Ulva* waardoor de biomassa, indien in voldoende mate aanwezig, weer teruggebracht werd naar 200g.

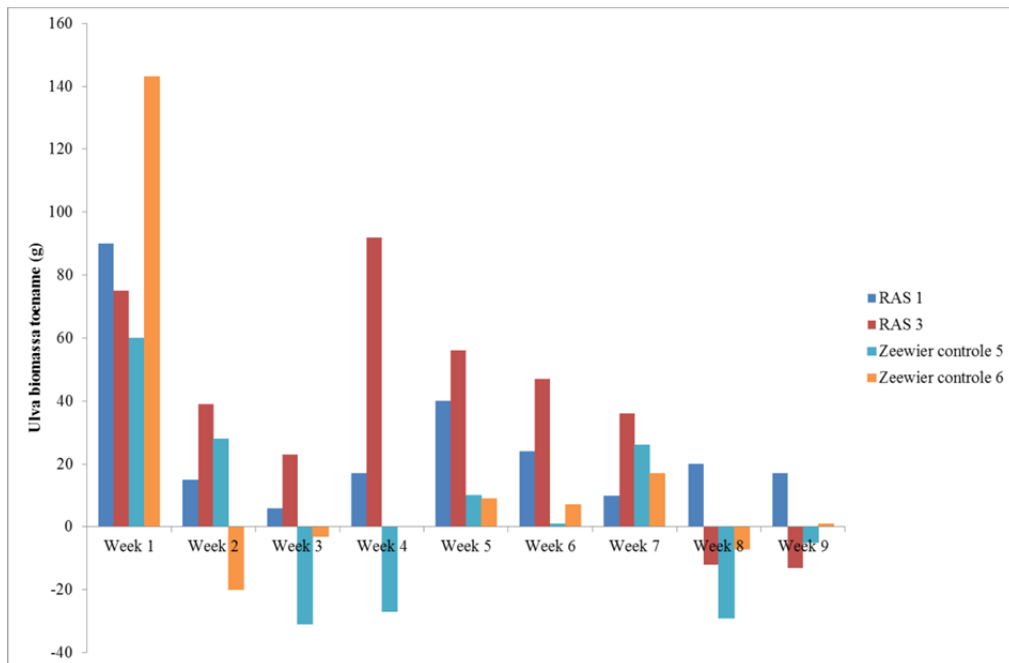


Fig. 3. De wekelijkse Ulva biomassa toename in de zeewier reactoren gekoppeld aan de RAS en in de zeewier controle systemen tijdens de loop van het experiment.

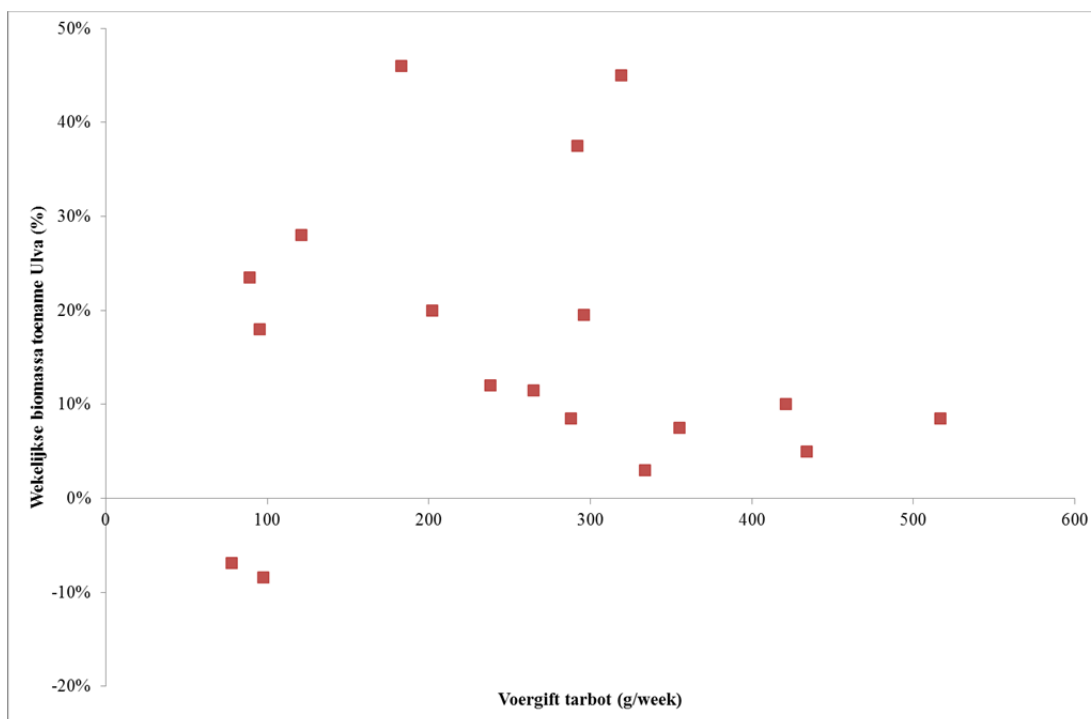
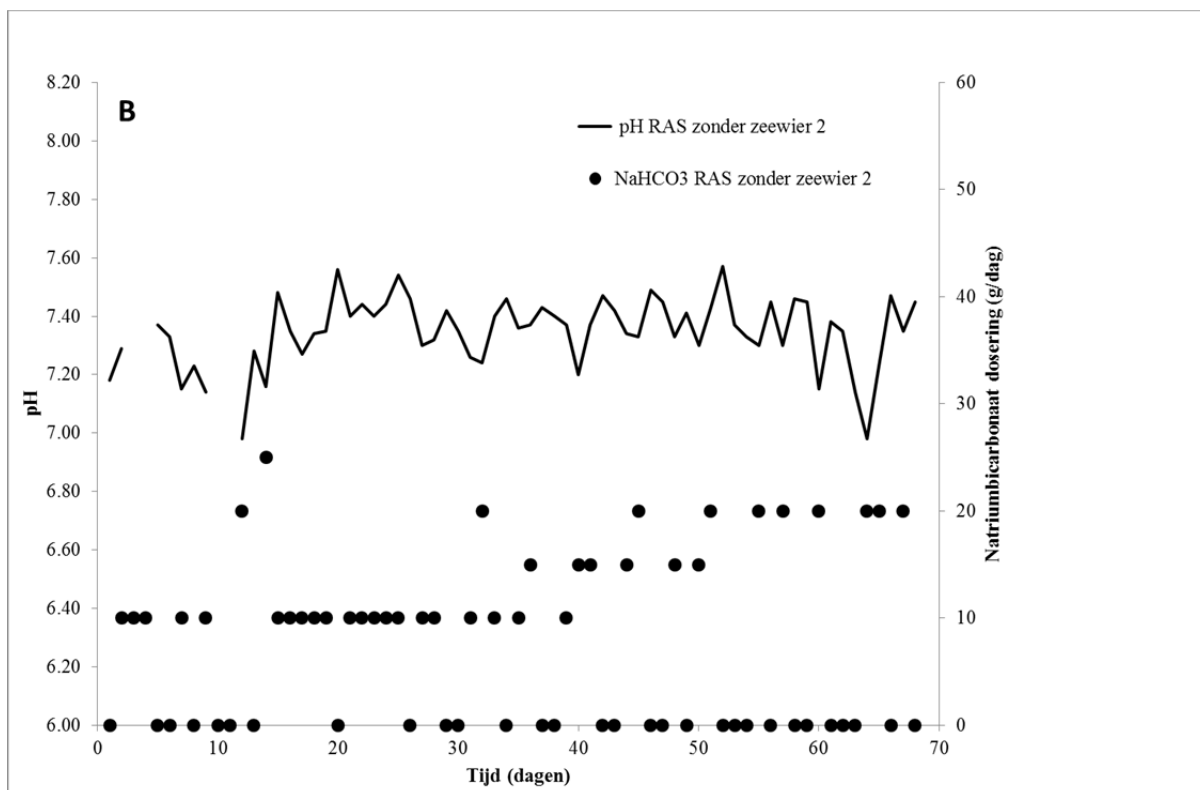
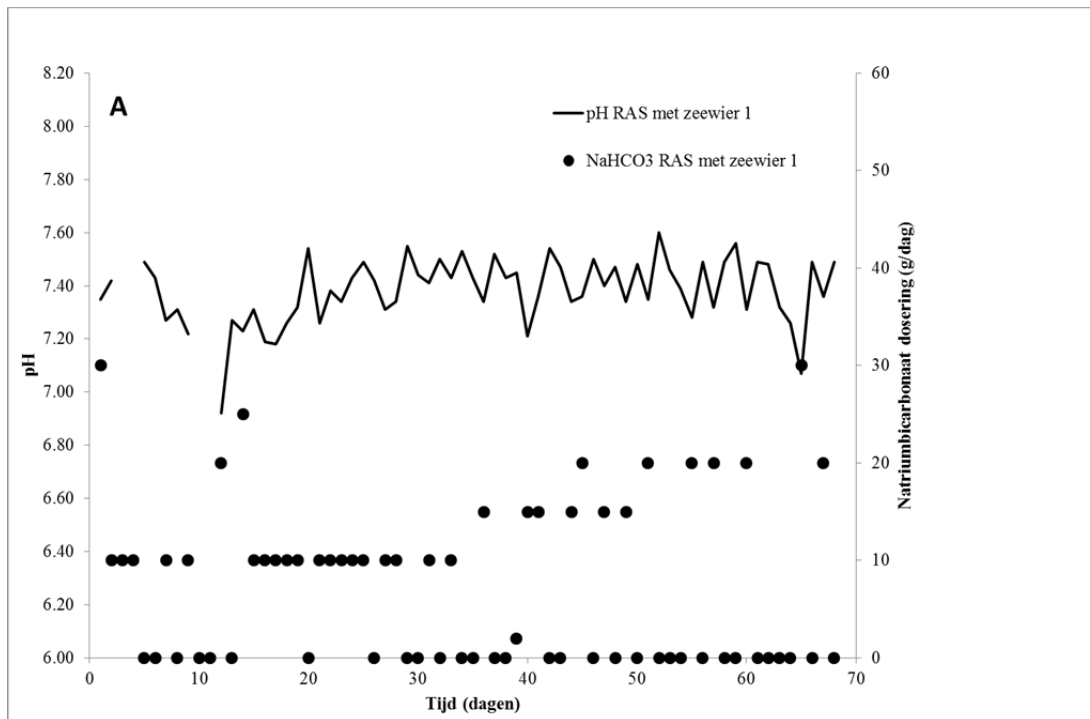
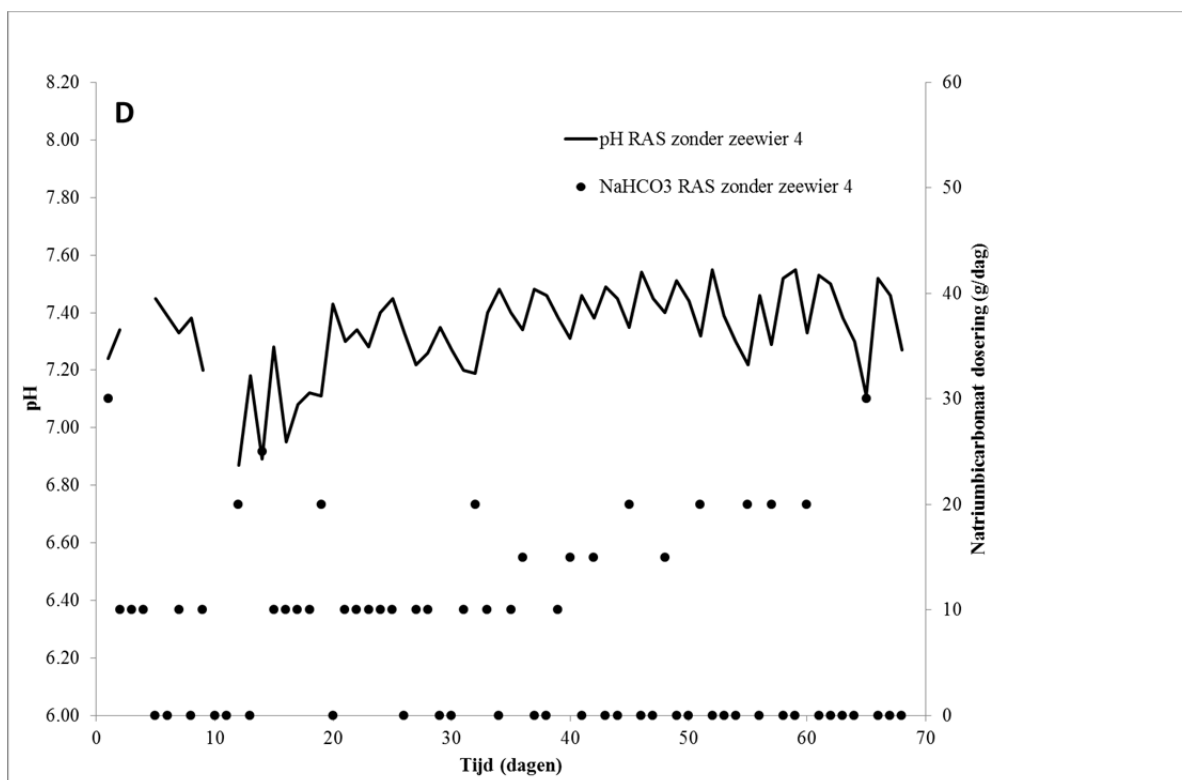
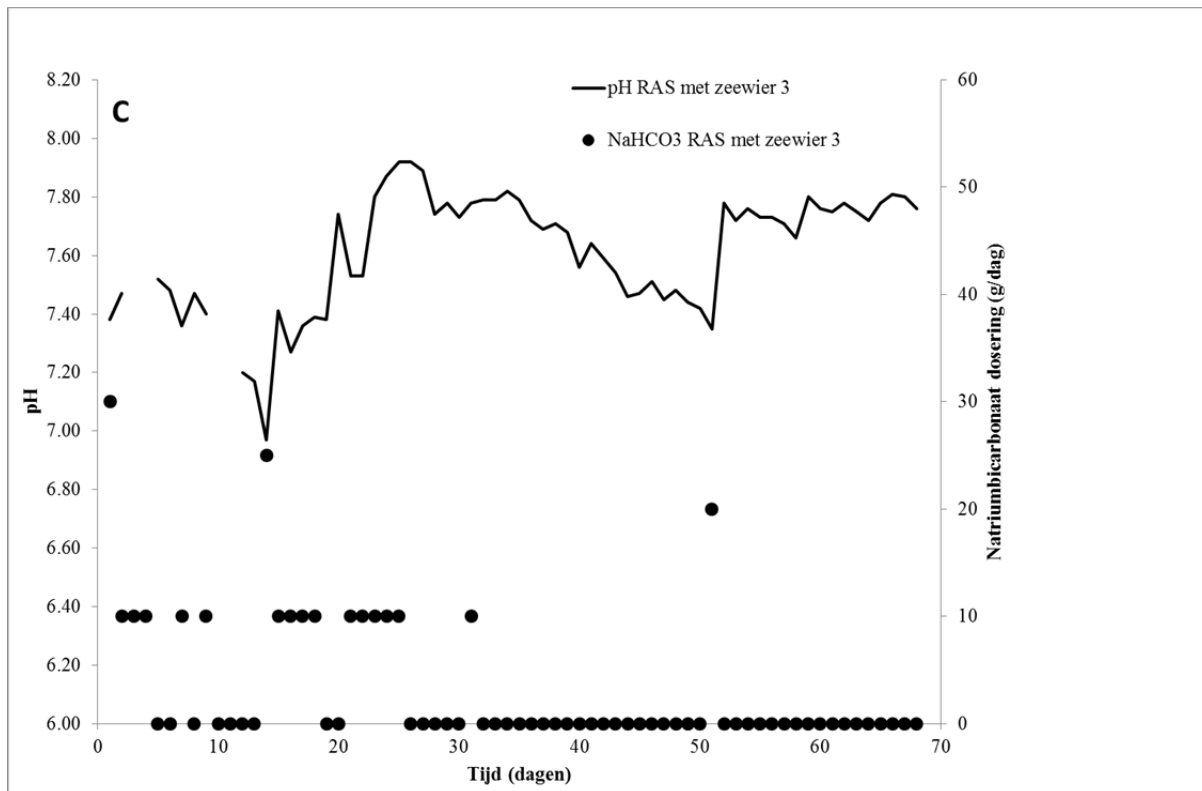


Fig. 4. Wekelijkse voergift aan de tarbot in relatie tot de wekelijkse Ulva biomassa toename. Geaggregeerde data van RAS met zeewier 1 en 3.





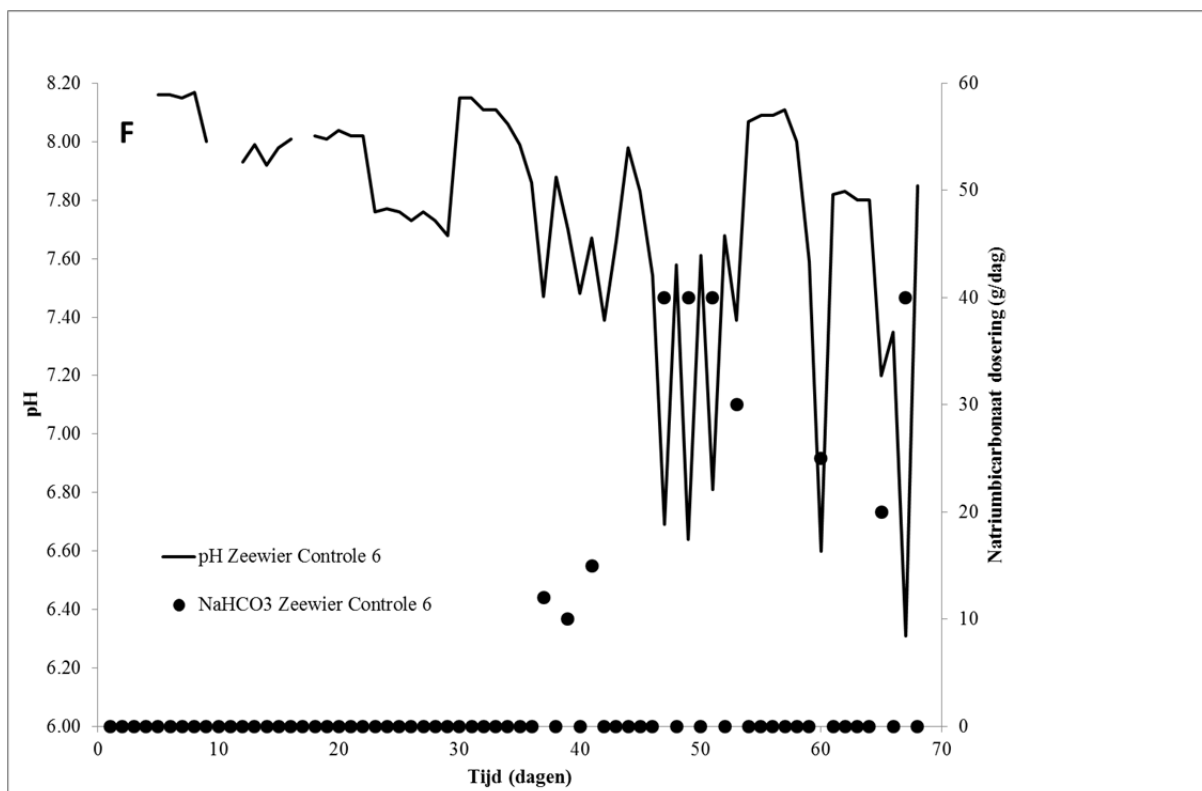
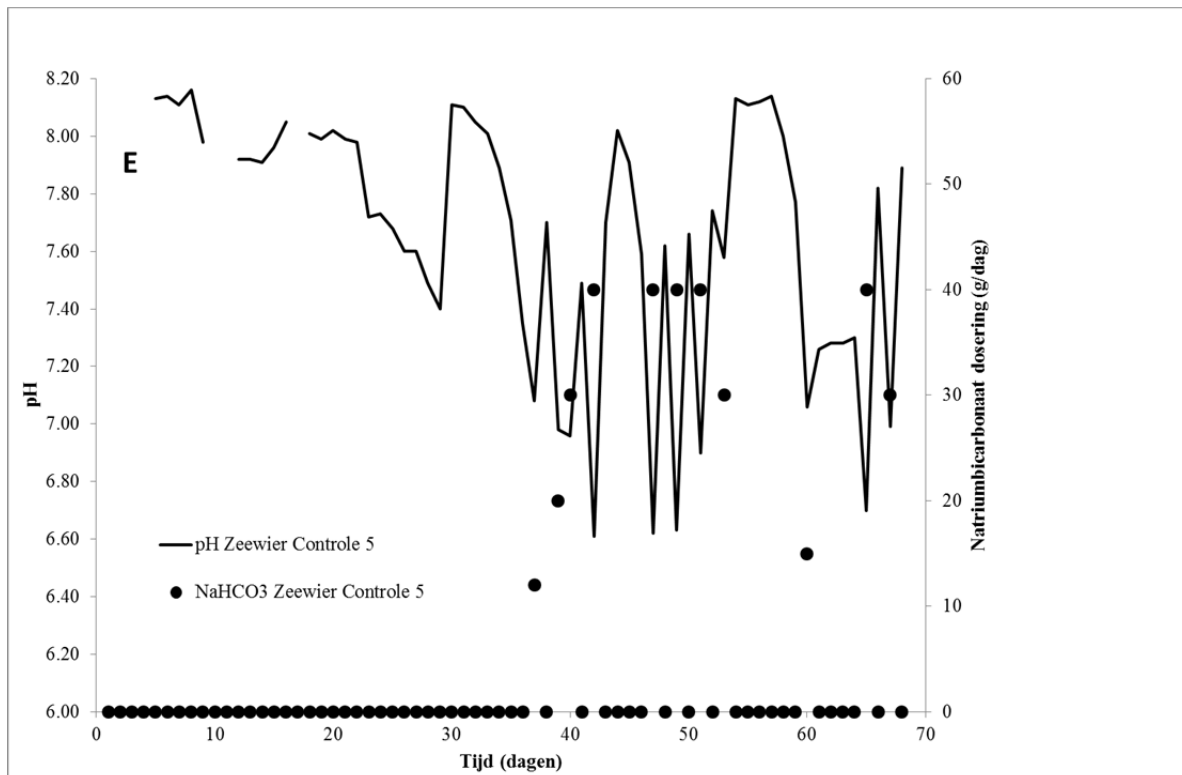


Fig. 5 A t/m E. pH en natrumbicarbonaat dosering in de experimentele systemen tijdens het experiment

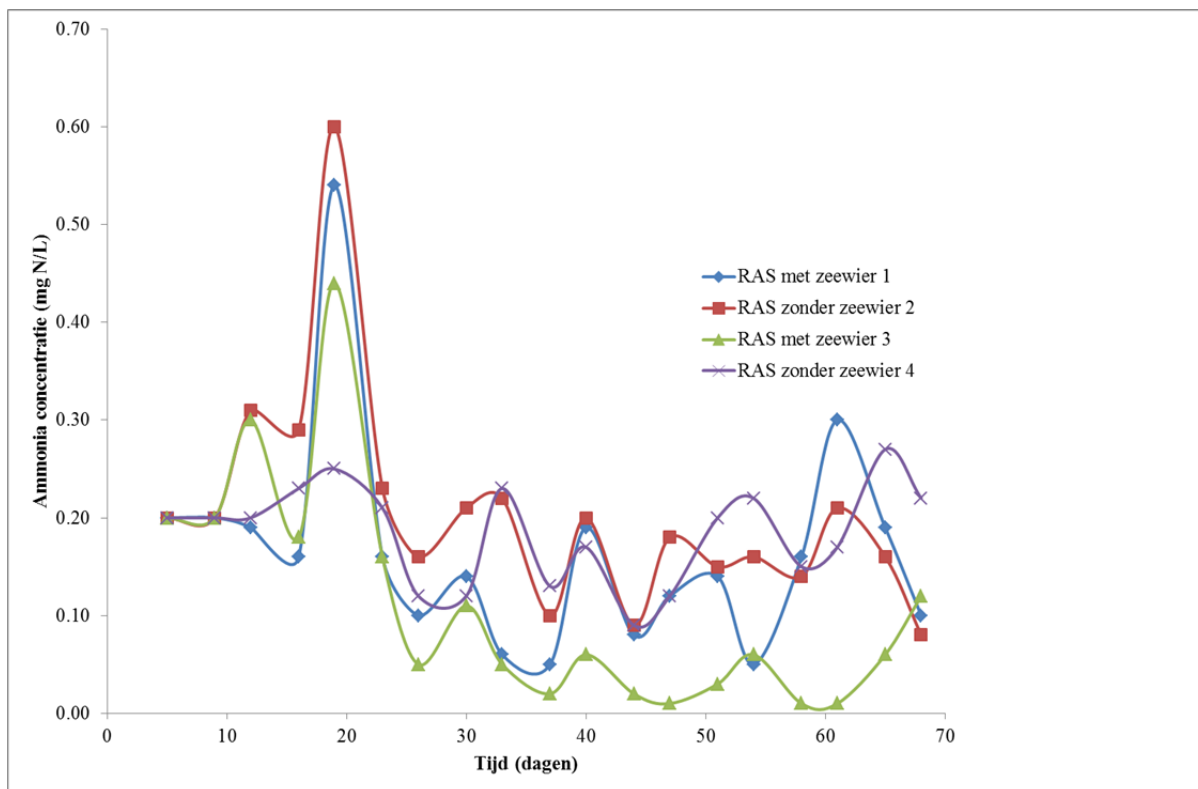


Fig. 6. Totaal ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) stikstof concentraties in de RAS tijdens het experiment.

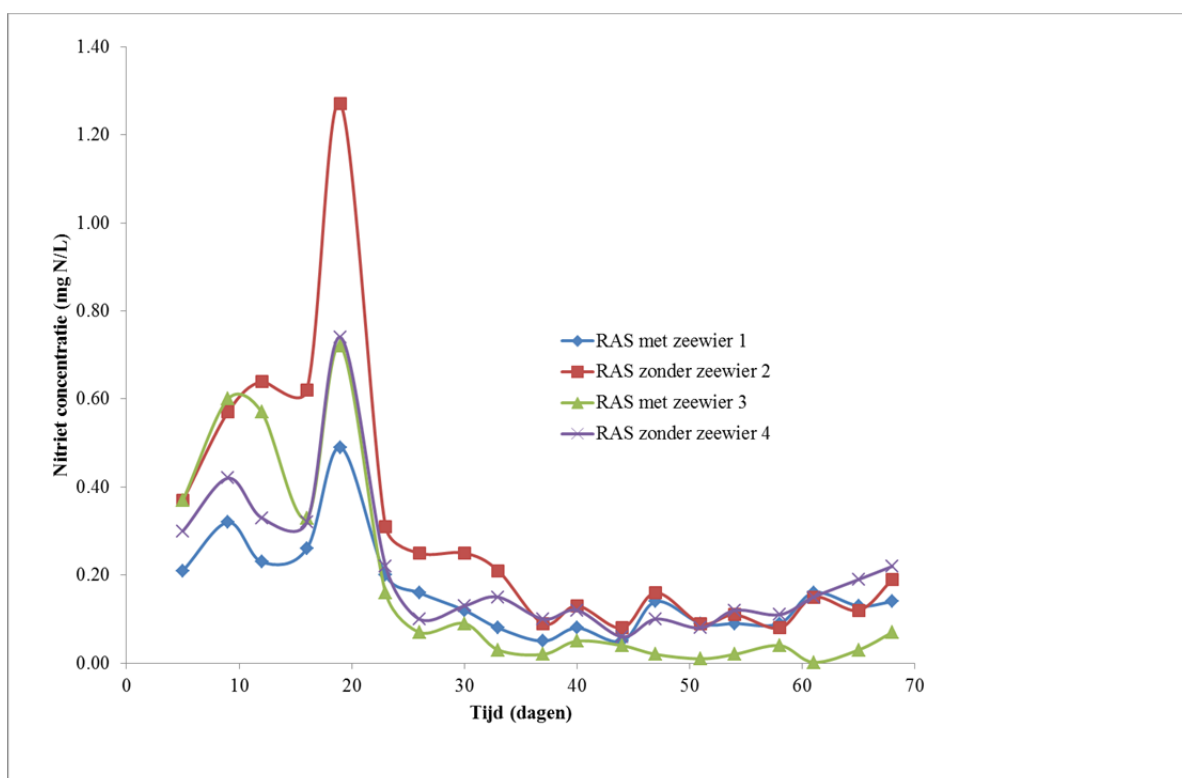


Fig. 7. Nitrietstikstof concentraties in de RAS tijdens het experiment.

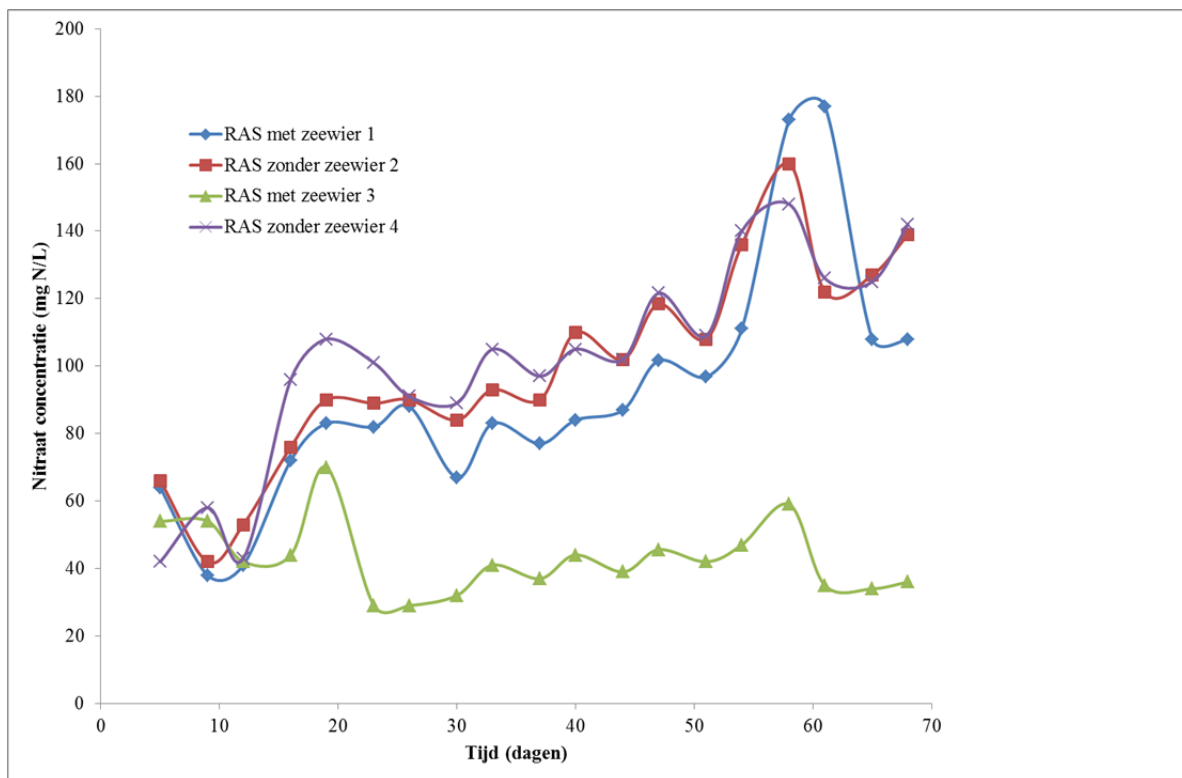


Fig. 8. Nitraatstikstof concentraties in de RAS tijdens het experiment

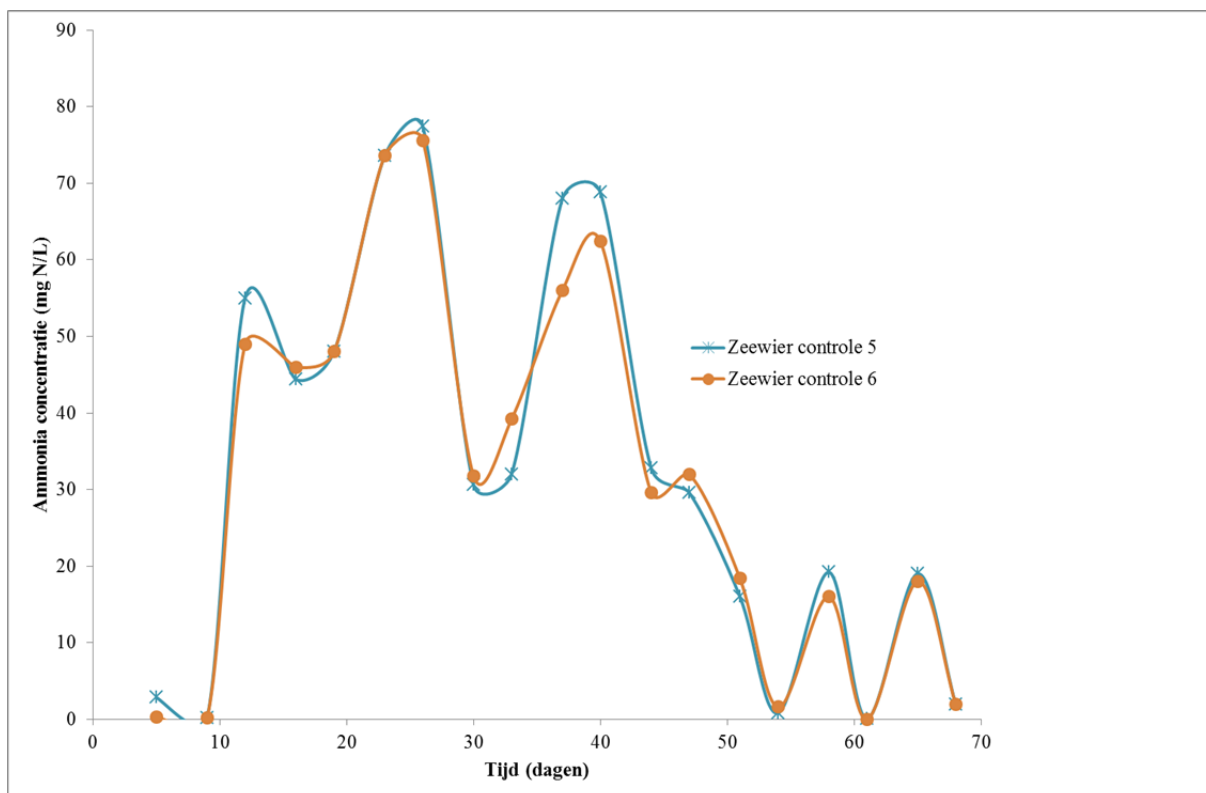


Fig. 9. Totaal ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$) stikstof concentraties in de Zeewier controle systemen tijdens het experiment.

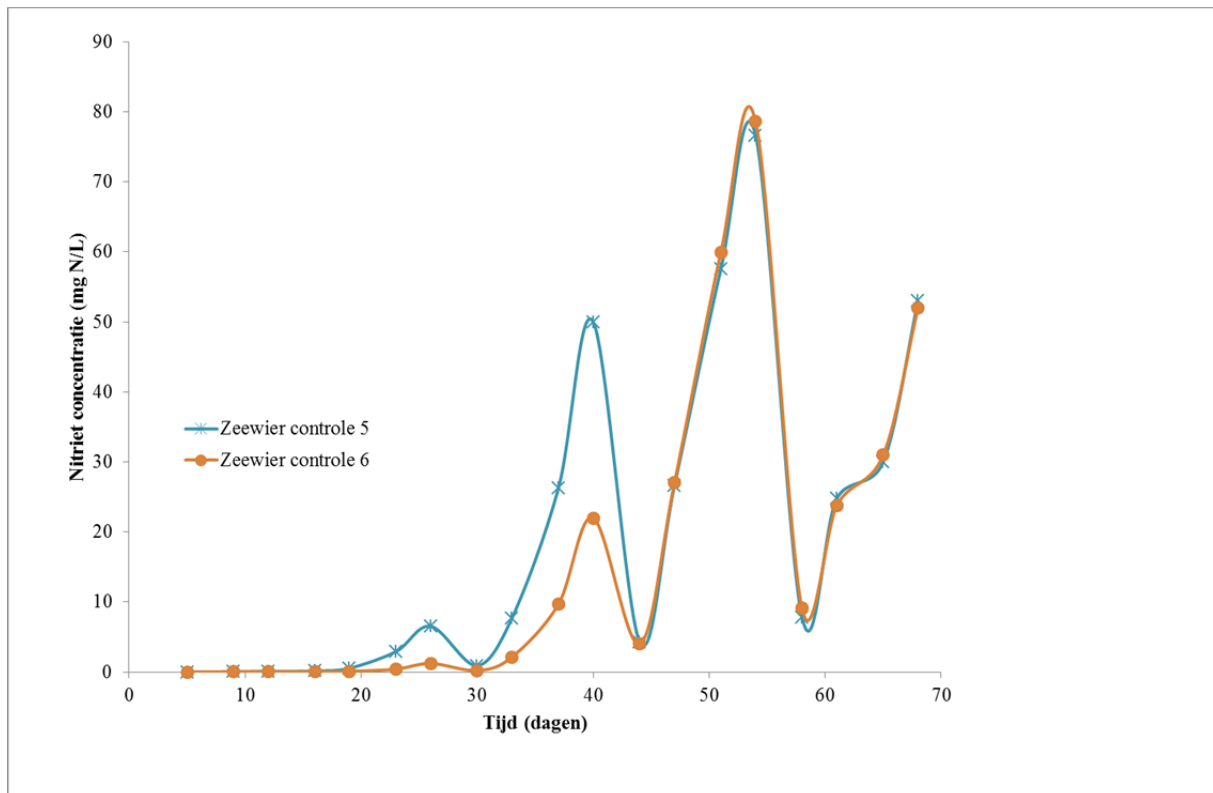


Fig. 10. Nitrietstikstof concentraties in de Zeewier controle systemen tijdens het experiment.

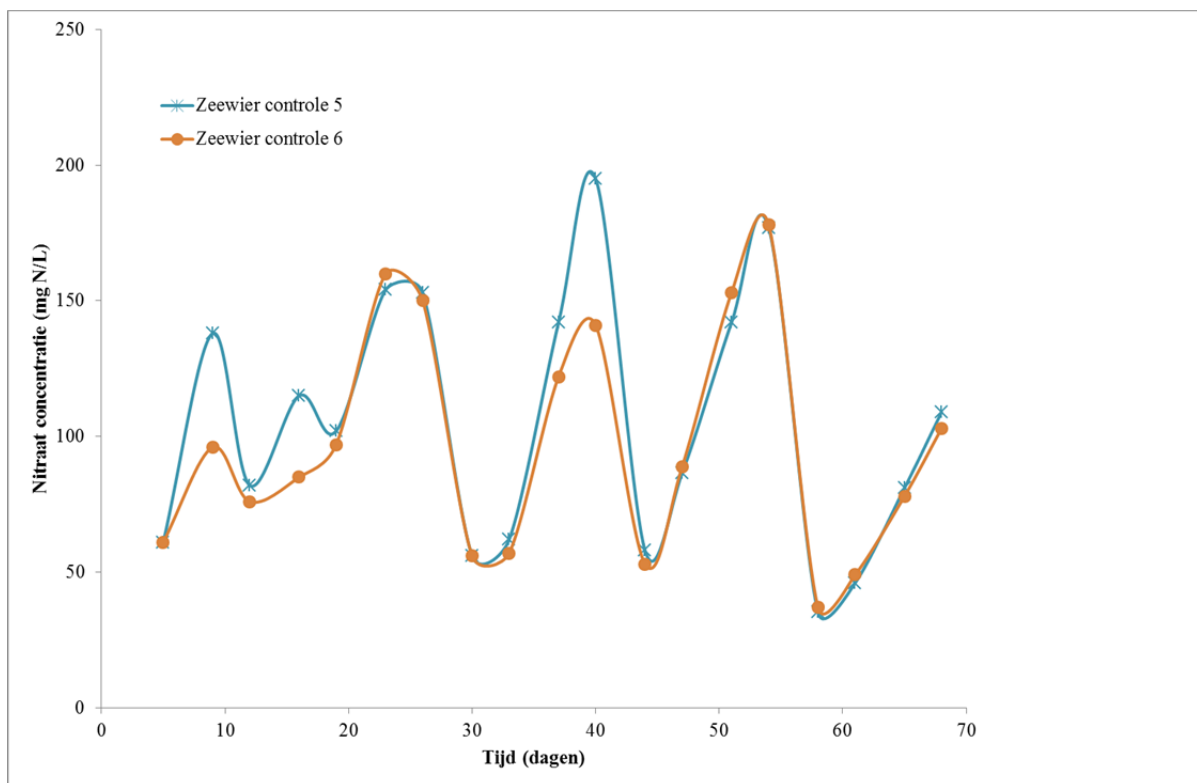


Fig. 11. Nitraatstikstof concentraties in de Zeewier controle systemen tijdens het experiment.

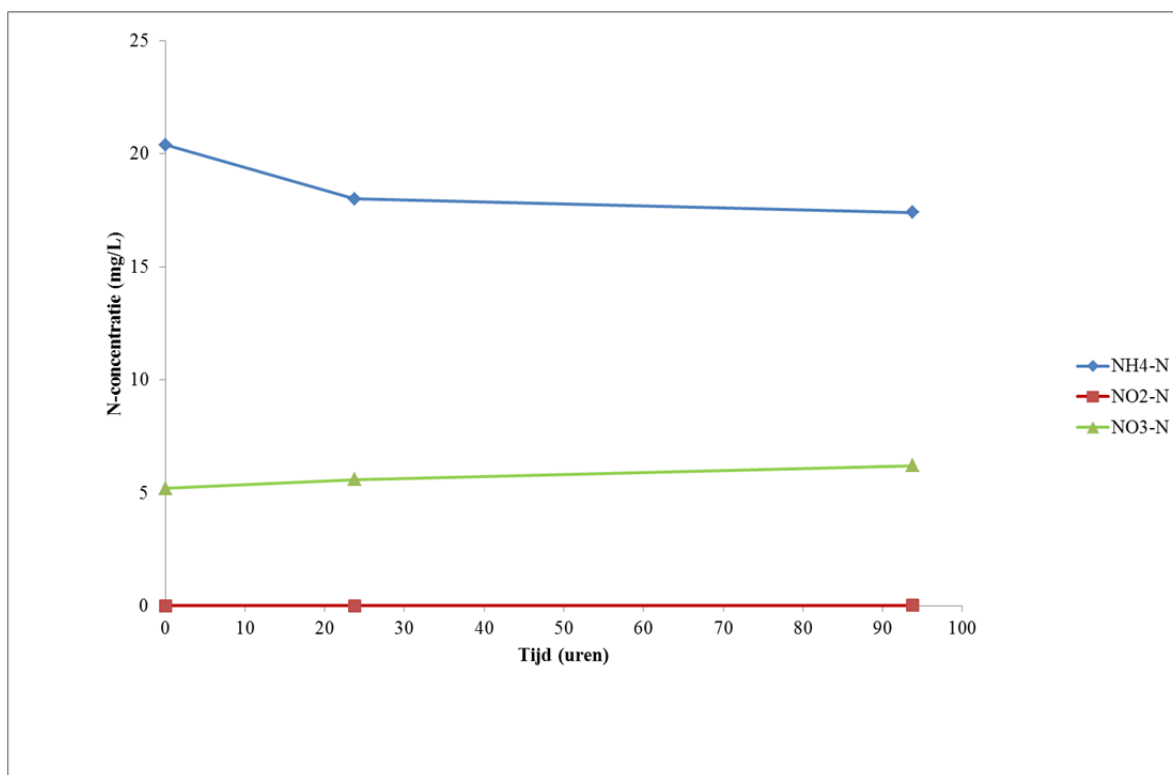


Fig. 12. Totaal ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), nitriet- en nitraatstikstof concentraties tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit RAS met Zeewier 1.

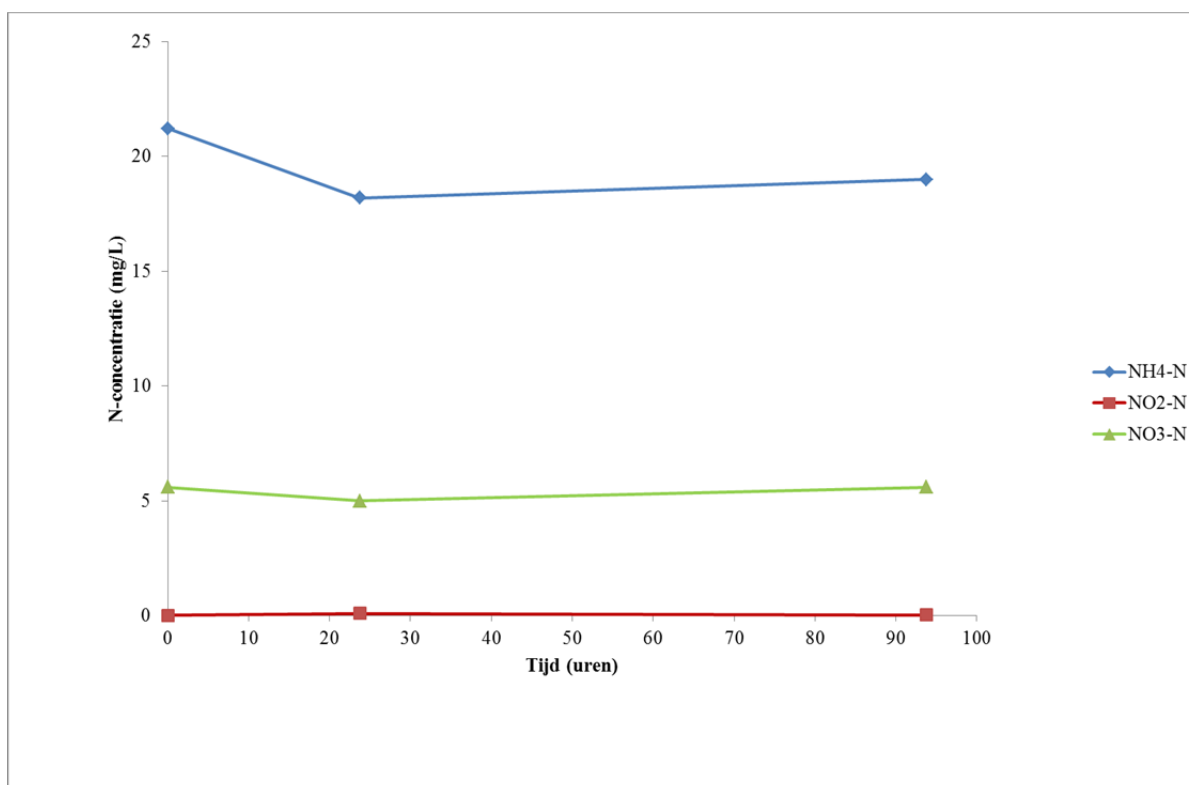


Fig. 13. Totaal ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), nitriet- en nitraatstikstof concentraties tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit RAS met Zeewier 1.

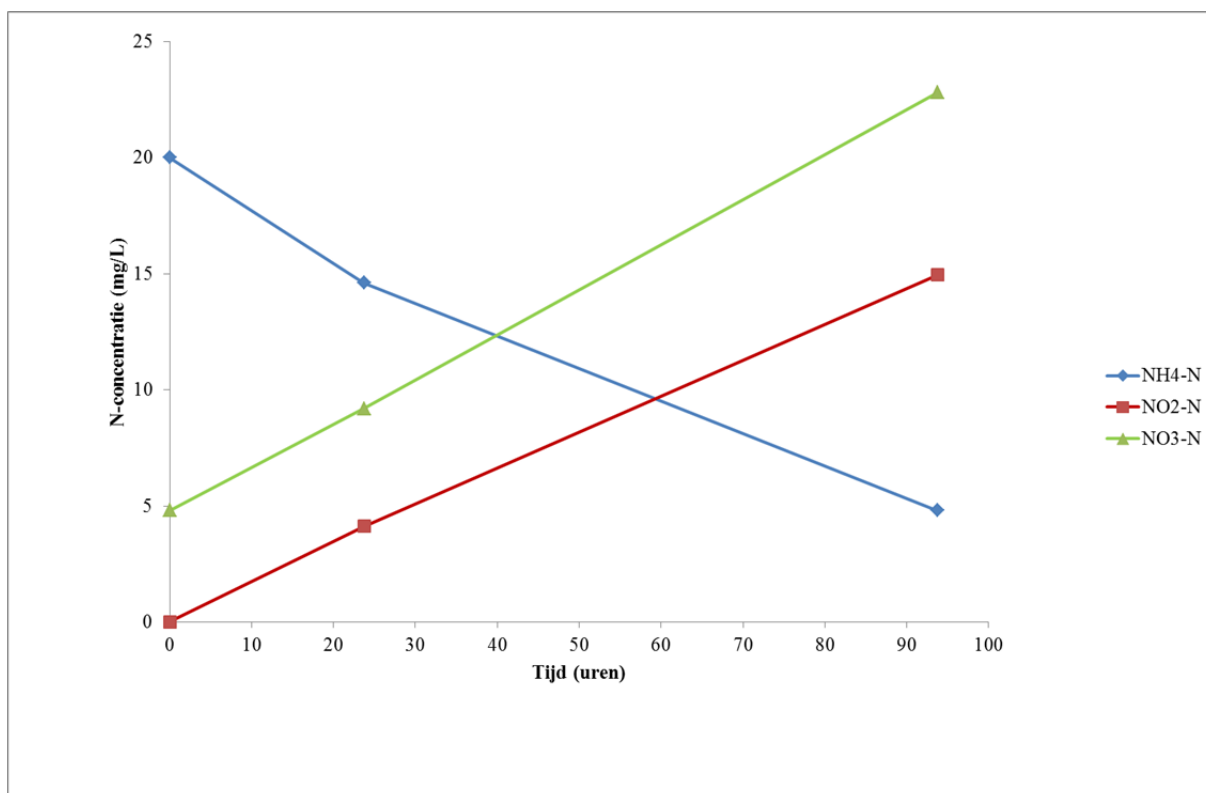


Fig. 14. Totaal ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), nitriet- en nitraatstikstof concentraties tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit Zeewier controle 5.

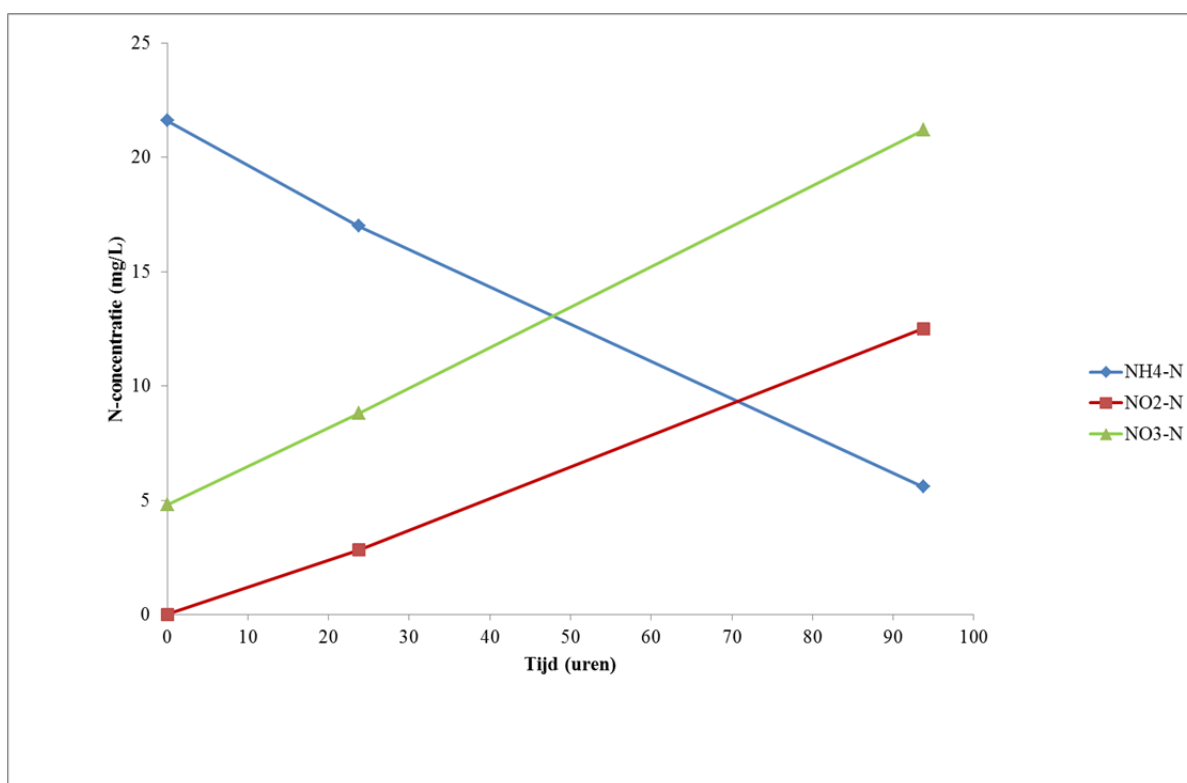


Fig. 15. Totaal ammonia ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$), nitriet- en nitraatstikstof concentraties tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit Zeewier controle 6.

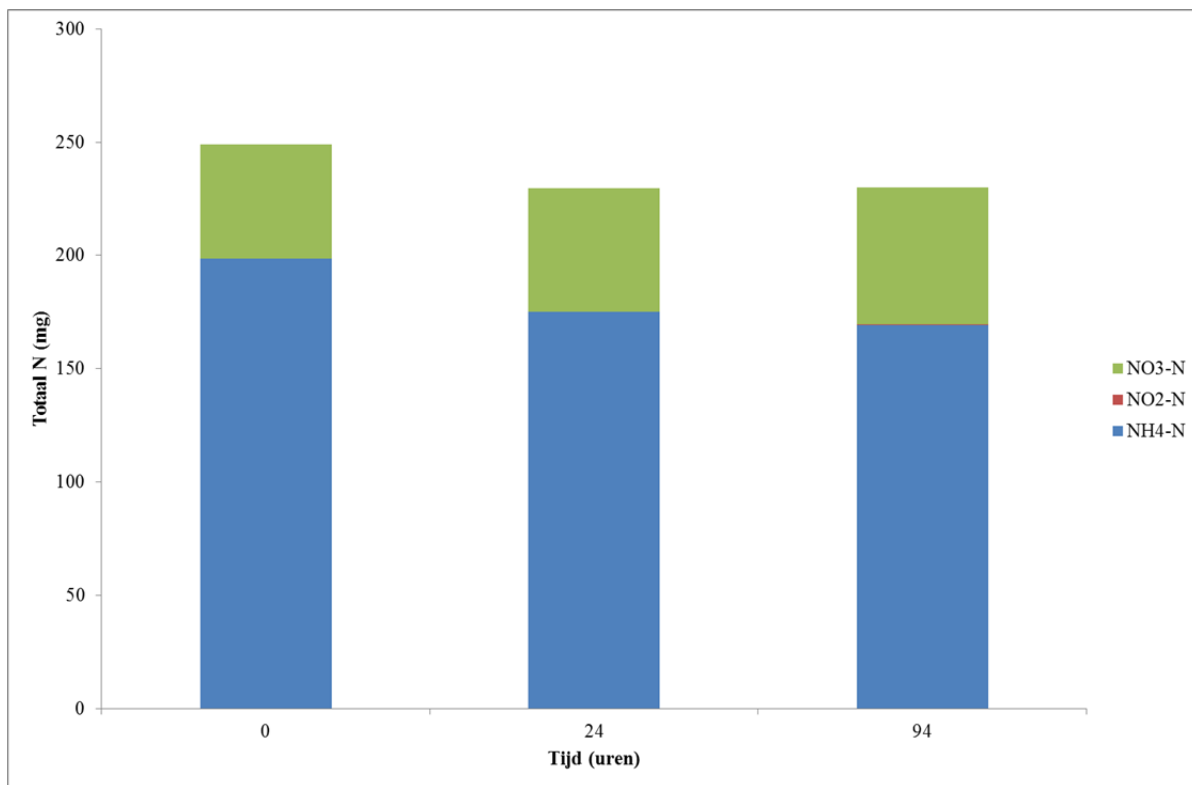


Fig. 16 De totale hoeveelheden ammonia, nitriet- en nitraatstikstof tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit RAS met Zeewier 1.

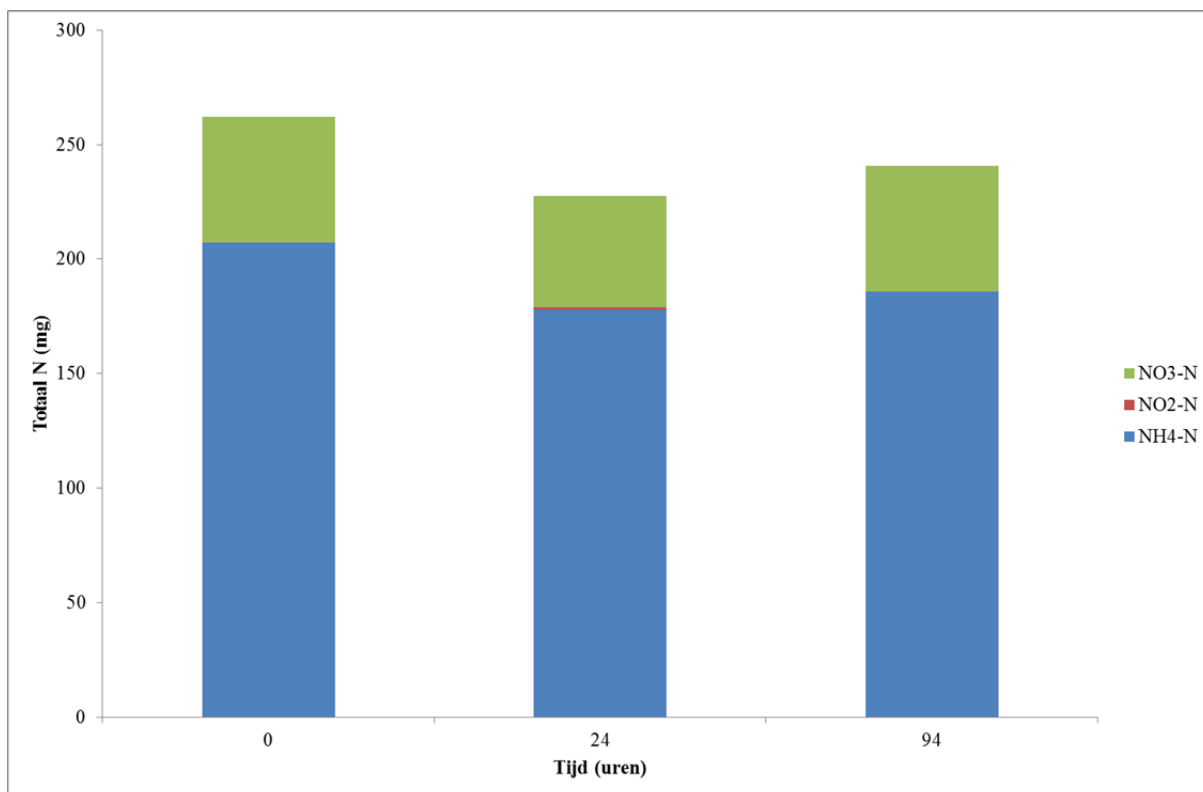


Fig. 17 De totale hoeveelheden ammonia, nitriet- en nitraatstikstof tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit RAS met Zeewier 3.

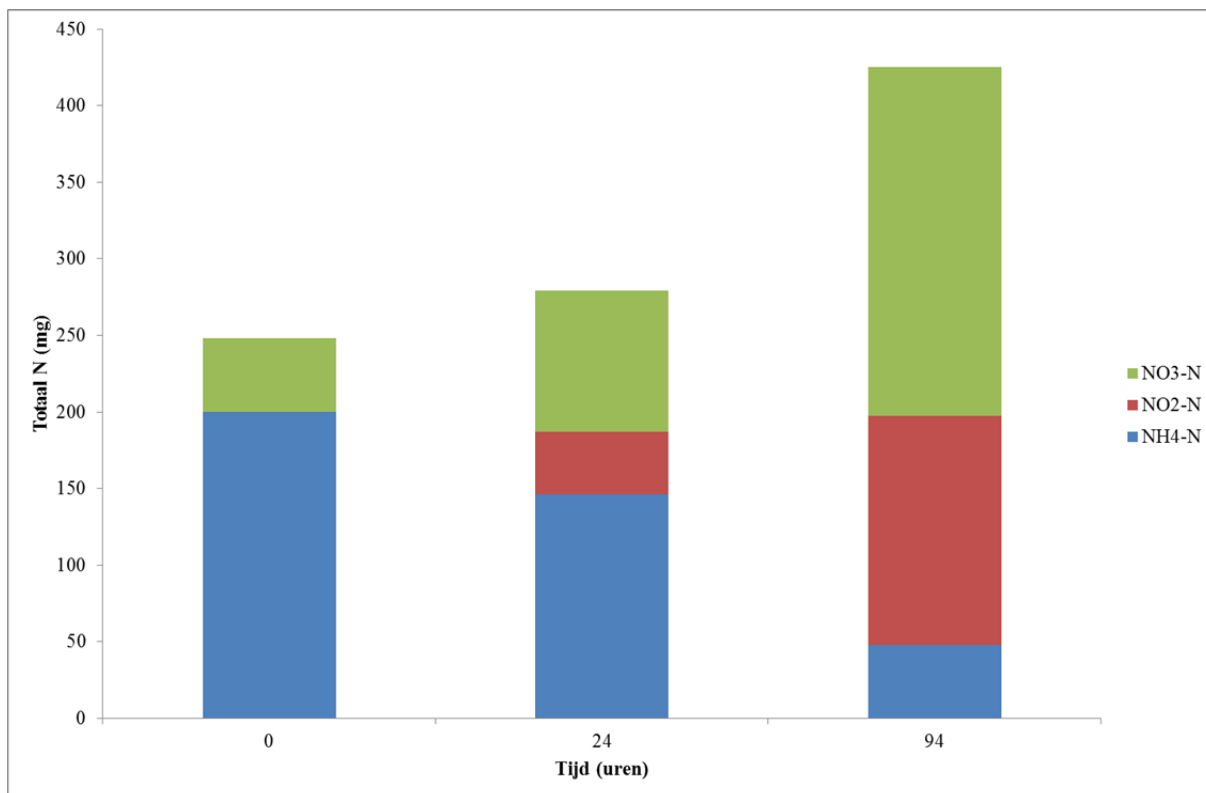


Fig. 18 De totale hoeveelheden ammonia, nitriet- en nitraatstikstof tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit Zeewier controle 5.

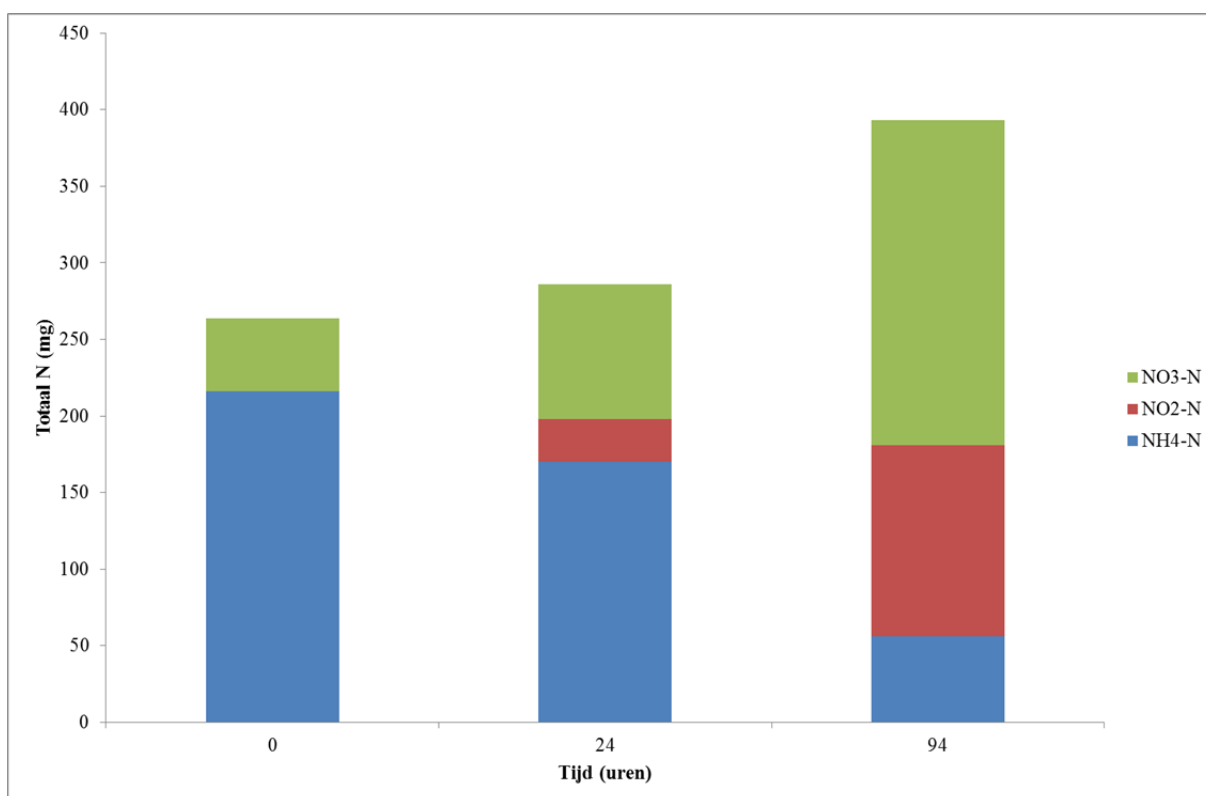


Fig. 19 De totale hoeveelheden ammonia, nitriet- en nitraatstikstof tijdens het batch experiment met Ulva afkomstig uit Zeewier controle 6

6. Tabellen

Tabellen

Tabel 1. Dimensies en instellingen experimentele RAS

Volume vistank (L)	180
Volume bezinker (L)	30
Volume trickling filter (L)	74
Volume pomptank 1 (L)	40
Volume pomptank 2 (L)	
Oppervlakte trickling filter (m ²)	15
Volume zeewierreactor (L)	192
Totaal systeem volume (L)	
Debiet 1*, over trickling filter (L/uur)	591
Debiet 2*, over zeewier reactor (l/uur)	472

*) gemiddelde van metingen. Zie Bijlage B voor de afzonderlijke debiet metingen

Tabel 2. Meetresultaten voor de productieparameters en indicatoren voor gezondheid van de tarbot: gemiddeld individueel begin- (Wo) en eindgewicht (Wt), overleving, specifieke groeisnelheid (SGR), totale voeropname per vis (TFI), voederconversie (FCR), conditie factor (CF), hematocriet en miltindex (SI).

Behandeling	S y s t e m	Wo (g)	Wt (g)	Overleving	SGR (%/d)	TFI (g/vis)	FCR	CF	Hematocriet (%)	SI (%)
RAS met zeewier	1	172	253.1	94%	0.57	103.0	1.26	1.99	21.5	0.08
RAS zonder zeewier	2	169	251.9	97%	0.59	106.1	1.28	1.93	19.6	0.11
RAS met zeewier	3	161	-	6%	-	127.1	-	-	-	-
RAS zonder zeewier	4	165	227.0	87%	0.46	92.2	1.50	1.92	22.1	0.10

Tabel 3. Ulva productie in de zeewier reactoren verbonden aan RAS 1 en 3 en in de controle zeewier systemen 5 en 6.

	1 - RAS met zeewier				3 - RAS met zeewier				5 - Zeewier controle				6 - Zeewier controle			
Week	Oogst	Groei	Groei	Totale	Oogst	Groei	Groei	Totale	Oogst	Groei	Groei	Totale	Oogst	Groei	Groei	Totale
	(g)	(g)	(%)	productie	(g)	(g)	(%)	productie	(g)	(g)	(%)	productie	(g)	(g)	(%)	productie
1	90	90	45%	90	75	75	38%	75	60	60	30%	60	143	143	72%	143
2	15	15	8%	105	39	39	20%	114	28	28	14%	88	0	-20	10%	123
3	6	6	3%	111	23	23	12%	137	0	-31	16%	57	0	-3	-2%	-3
4	17	17	9%	128	92	92	46%	229	0	-27	16%	30				
5	40	40	20%	168	56	56	28%	285	0	10	7%	40	0	9	5%	6
6	24	24	12%	192	47	47	24%	332	12	1	1%	41	23	7	4%	7
7	10	10	5%	202	36	36	18%	368	17	26	17%	67	17	17	10%	24
8	20	20	10%	222	13	-12	-7%	356	6	-29	25%	38	7	-7	-5%	17
9	17	17	9%	239	7	-13	-8%	343	10	-5	-5%	33	6	1	1%	18

Tabel 4. Saliniteit, pH, zuurstofconcentratie en temperatuur in de experimentele systemen tijdens het experiment.

Gemiddelde waarden met standaard deviaties (SD) en de ranges op basis van de dagelijkse metingen (n = 64).

	Saliniteit (g/L)		pH	Zuurstofconcentratie (mg/L)		Temperatuur (°C)	
Behandeling	Gemiddeld (sd)	Range	Range	Gemiddeld (SD)	Range	Gemiddeld (SD)	Range
1- RAS met zeewier	25.3 (0.75)	24.2 - 27.4	6.92 – 7.60	6.74 (0.23)	6.28 – 7.27	20.0 (0.36)	18.9 – 20.7
2 - RAS zonder zeewier	25.5 (0.71)	24.5 – 27.2	6.98 – 7.57	6.40 (0.28)	5.90 – 7.11	20.0 (0.32)	18.7 – 20.6
3 - RAS met zeewier	25.3 (0.56)	24.4 – 26.7	6.97 – 7.92	7.31 (0.37)	6.23 – 7.90	19.9 (0.34)	18.9 – 20.5
4 - RAS zonder zeewier	25.0 (0.55)	23.9 – 26.2	6.87 – 7.55	6.68 (0.24)	6.11 – 7.18	20.1 (0.34)	18.9 – 20.6
5 – Zeewier controle	24.7(0.64)	23.0 – 26.5	6.61 – 8.33	7.71 (0.15)	7.38 – 8.02	20.0 (0.37)	18.8 – 20.6
6 – Zeewier controle	24.6 (0.53)	23.3 – 26.0	6.31 – 8.34	7.79 (0.13)	7.52 – 8.05	20.1 (0.35)	19.0 – 20.6

Tabel 5. Totaal ammonia- ($\text{NH}_4 + \text{NH}_3$), nitriet- en nitraatstikstofconcentraties in de experimentele systemen tijdens het experiment.

Gemiddelde waarden met standaard deviaties (SD) en de ranges op basis van de dagelijkse metingen (n = 18).

Behandeling	Totaal ammonia (mg N/L)		Nitriet (mg N/L)		Nitraat (mg N/L)	
	Gemiddeld (sd)	Range	Gemiddeld (SD)	Range	Gemiddeld (SD)	Range
1- RAS met zeewier	0.16 (0.11)	0.05 - 0.54	0.16 (0.11)	0.05 – 0.49	92 (35.5)	38 – 177
2 - RAS zonder zeewier	0.20 (0.11)	0.08 – 0.60	0.30 (0.30)	0.08 - 1.27	100 (30.0)	42 – 160
3 - RAS met zeewier	0.11 (0.11)	0.01 - 0.44	0.17 (0.23)	0.00 – 0.72	43 (10.6)	29 – 70
4 - RAS zonder zeewier	0.18 (0.05)	0.09 - 0.27	0.21 (0.16)	0.06 - 0.74	103 (29.9)	42 – 148
5 – Zeewier controle	32.6 (26.6)	0.08 – 77.4	19.8 (23.7)	0.02 – 78.6	105 (47.2)	35 – 195
6 – Zeewier controle	31.6 (25.2)	0.01 – 75.6	16.9 (23.5)	0.02 – 78.6	97 (42.5)	37 - 178

Tabel 6. Kwalitatieve omschrijving van de verse hele vis.

nr	Variant	uiterlijk	Geur	Overige opmerkingen
1	Met zeewier	Donker, redelijk Donker, klein, glimt niet mooi Donker groen gespikkeld	Goed Geurloos Neutraal	Gevlekte pigment onderkant
2	Zonder zeewier	Licht, ingevallen ogen Licht ingevallen oog Licht gespikkeld	Goed Bijna geurloos Metalig	Pigmentatie
3	Met zeewier	Donker, flauwe ogen Donker, droge plekken, dik, rode kieuw Donker groen gespikkeld	Goed Sterke geur Neutraal	Pigmentatie aan de onderkant dikker
4	Zonder zeewier	Licht, goudkleurige rand om de ogen Licht, rozige kieuw, mager Licht gespikkeld	Goed Geurloos Neutraal	Pigmentatie aan de onderkant
5	Met zeewier	Donker, bolle ogen, goed Donker, onderkant soort vriesbrand Donker gespikkeld, gelijk bruin	Goed Sterke geur Neutraal	Pigmentatie aan de onderkant
6	Met zeewier	Mooi, ogen goed Donker, waterig slijm Donker gespikkeld	Goed Metaal achtig Neutraal	Pigmentatie aan de onderkant
7	Met zeewier	Iets ingevallen ogen Donker, dik, droger, kieuw met witte vlek Donker groen	Goed Ruikt minder vers Fris zilt	Pigmentatie aan de onderkant dikker
8	Zonder zeewier	Ingevallen ogen Licht, klein, rode kieuw Beige gespikkeld	Goed Iets sterkere geur Metalig	Pigmentatie aan de onderkant
9	Zonder zeewier	Ogen goed Licht, mooie glans Midden groen gespikkeld	Goed Iets metaal, bijna geurloos Fris	Pigmentatie aan de onderkant
10	Zonder zeewier	Ogen goed, lichte kleur, goed Licht gespikkeld	Goed Metaal achtig Fris metalig	Redelijk wit

Tabel 7. Kwalitatieve omschrijving van de smaak van de gekookte filet.

nr	Variant	smaak
1	Met zeewier	Neutraal Lekker, stevig gronderig
2	Zonder zeewier	Vissmaak Droog, minder Neutraal zacht
3	Met zeewier	Vissmaak Sappig! Lekker Neutraal, zacht, zoet
4	Zonder zeewier	Vissmaak Minder stevig, wateriger Licht gronderig, zoet
5	Met zeewier	Droog/vissig Goed, stevig, vissig Neutraal, zoet, stevige textuur
6	Met zeewier	Neutraal Iets droog, wel stevig Neutraal
7	Met zeewier	Niet lekker, kruimig Licht gronderig, romig
8	Zonder zeewier	Droog, kruimig net als 7 Neutraal romig
9	Zonder zeewier	Mals neutraal Beetje metaalachtige smaak Gronderig, neutraal
10	Zonder zeewier	Droog, randje, smaak apart Gronderig

5. Conclusies

Het huidige experiment leidt tot de volgende antwoorden op de onderzoeksvragen.

Wat is het effect van de aanwezigheid van een zeewier-reactor in een marien recirculatiesysteem op:

- De waterkwaliteit in het systeem?

Een zeewierreactor met Ulva binnen een recirculatiesysteem met Ulva lijkt te leiden tot een lagere nitraataccumulatie in het kweekwater.

- De visproductie?
- De gezondheid van de vis?

Een productie- of gezondheid bevorderend effect op tarbot van de aanwezigheid van een zeewierreactor met Ulva in het kweekstelsel kon niet worden aangetoond. Het kan echter niet uitgesloten worden dat een positief effect van Ulva gemaskeerd werd door het in het algemeen slecht groeien van de vis.

- De kwaliteit van de vis als eindproduct?

Op basis van de verkennende sensorische analyse is gebleken dat tarbot die gekweekt is in een systeem met zeewier een donkerdere kleur heeft en tarbot die gekweekt is in een systeem zonder zeewier een lichtere kleur heeft. Er is geen verschil waar genomen in de smaak van de gekookte filet.

Hoe functioneert de zeewier-reactor binnen een marien RAS?

- Kan een stabiele zeewier biomassa gehandhaafd worden?
- Wat is de groeisnelheid van het zeewier?

Het is mogelijk om Ulva te produceren in een zeewierreactor die is opgenomen in een marien recirculatiesysteem met tarbot. Door periodiek Ulva te oogsten kan een stabiele zeewierbiomassa gehandhaafd worden. De groei varieerde echter van een maximale biomassa toename van 45% per week tot een biomassa afname van 8% per week. De groei van de Ulva lijkt niet gecorreleerd aan en beperkt door het nutriëntenaanbod.

Daarnaast is gevonden dat in een zeewierreactor met Ulva de blootstelling van de Ulva aan hoge ammonia concentraties kan leiden tot een proces, hoogstwaarschijnlijk nitrificatie, waarbij ammonia wordt verwijderd en nitraat en nitriet worden geproduceerd. Het is niet duidelijk of dit proces wordt uitgevoerd door de Ulva zelf of door microbiota op het bladoppervlak van de Ulva.

Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2008 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 57846-2009-AQ-NLD-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2012. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Milieu over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 27 maart 2013 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

Verantwoording

Rapport C93/12

Projectnummer: 4304100701

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

Akkoord: Julia Wald
Onderzoeker Plant Research International Wageningen UR

i.a.



Handtekening:

Datum: 25 juli 2012

Akkoord: Henk van der Mheen
Hoofd afdeling Aquacultuur IMARES Wageningen UR



Handtekening:

Datum: 25 juli 2012

Bijlage A

Bijlage A. Natriumbicarbonaat, pokon en magnesiumsulfaat dosering tijdens het experiment. Gemeten debieten over de trickling filters en de zeewierreactoren. 1,3 = RAS met zeewier; 2,4 = RAS zonder zeewier; 5,6 Zeewier controle systemen.

Dag		Datum	NaHCO ₃ dosering (g/dag)						Debiet Trickling filter (L/uur)				Debiet zeewier reactor (L/uur)						Pokon (ml)		0.47 M MgSO ₄ (ml)	
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	5	6	5	6
1	Donderdag	21-jul	30	0	30	30	0	0	613	658	617	611										
2	Vrijdag	22-jul	10	10	10	10	0	0											250	250	10	10
3	Zaterdag	23-jul	10	10	10	10	0	0														
4	Zondag	24-jul	10	10	10	10	0	0														
5	Maandag	25-jul	0	0	0	0	0	0														
6	Dinsdag	26-jul	0	0	0	0	0	0	605	610	591	569	380	402	439	250	444	389				
7	Woensdag	27-jul	10	10	10	10	0	0	602	590	580	556	493	415	433	413	434	435				
8	Donderdag	28-jul	0	0	0	0	0	0	597	542	575	538	492	416	461	508	473	493	250	250	10	10
9	Vrijdag	29-jul	10	10	10	10	0	0														
10	Zaterdag	30-jul	0	0	0	0	0	0														
11	Zondag	31-jul	0	0	0	0	0	0														
12	Maandag	1-aug	20	20	0	20	0	0														
13	Dinsdag	2-aug	0	0	0	0	0	0														
14	Woensdag	3-aug	25	25	25	25	0	0														
15	Donderdag	4-aug	10	10	10	10	0	0	596	599	628	518	469	362	591	465	408	480	250	250	10	10
16	Vrijdag	5-aug	10	10	10	10	0	0														
17	Zaterdag	6-aug	10	10	10	10	0	0														
18	Zondag	7-aug	10	10	10	10	0	0														
19	Maandag	8-aug	10	10	0	20	0	0														
20	Dinsdag	9-aug	0	0	0	0	0	0														
21	Woensdag	10-aug	10	10	10	10	0	0														
22	Donderdag	11-aug	10	10	10	10	0	0	567	499	638	519	467	437	579	328	260	490	250	250	10	10
23	Vrijdag	12-aug	10	10	10	10	0	0	601	578		534	481	485		438	538					
24	Zaterdag	13-aug	10	10	10	10	0	0														

Dag		Datum	NaHCO ₃ dosering (g/dag)						Debiet Trickling filter (L/uur)				Debiet zeewier reactor (L/uur)						Pokon (ml)		0.47 M MgSO ₄ (ml)	
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	5	6	5	6
25	Zondag	14-aug	10	10	10	10	0	0														
26	Maandag	15-aug	0	0	0	0	0	0														
27	Dinsdag	16-aug	10	10	0	10	0	0	582	498	602	489	471	481	567	389	559	488				
28	Woensdag	17-aug	10	10	0	10	0	0														
29	Donderdag	18-aug	0	0	0	0	0	0	664	541	670	551	360	488	358	486	328	411	250	250	10	10
30	Vrijdag	19-aug	0	0	0	0	0	0				608										
31	Zaterdag	20-aug	10	10	10	10	0	0														
32	Zondag	21-aug	0	20	0	20	0	0														
33	Maandag	22-aug	10	10	0	10	0	0	670	516	685	609	431	445	497	480	445	449				
34	Dinsdag	23-aug	0	0	0	0	0	0	587	556	595		497									
35	Woensdag	24-aug	0	10	0	10	0	0														
36	Donderdag	25-aug	15	15	0	15	0	0	579	550	589	607	513	500	507	498	439	443	250	250	10	10
37	Vrijdag	26-aug	0	0	0	0	12	12		620				470			482	477				
38	Zaterdag	27-aug	0	0	0	0	0	0														
39	Zondag	28-aug	2	10	0	10	20	10														
40	Maandag	29-aug	15	15	0	15	30	0				572				531						
41	Dinsdag	30-aug	15	15	0	0	0	15				631				558						
42	Woensdag	31-aug	0	0	0	15	40	0	572	624	595	641	526	467	506	527	505	506				
43	Donderdag	1-sep	0	0	0	0	0	0	615					491			506	509	250	250	10	10
44	Vrijdag	2-sep	15	15	0	0	0	0														
45	Zaterdag	3-sep	20	20	0	20	0	0														
46	Zondag	4-sep	0	0	0	0	0	0														
47	Maandag	5-sep	15	0	0	0	40	40														
48	Dinsdag	6-sep	0	15	0	15	0	0														
49	Woensdag	7-sep	15	0	0	0	40	40	593	554	580	656	513	513	507	578	493	499				
50	Donderdag	8-sep	0	15	0	0	0	0		600	601	587				509			125	125	10	10

Dag		Datum	NaHCO3 dosering (g/dag)						Debiet Trickling filter (L/uur)				Debiet zeewier reactor (L/uur)						Pokon (ml)		0.47 M MgSO4 (ml)	
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	5	6	5	6
51	Vrijdag	9-sep	20	20	20	20	40	40														
52	Zaterdag	10-sep	0	0	0	0	0	0														
53	Zondag	11-sep	0	0	0	0	30	30														
54	Maandag	12-sep	0	0	0	0	0	0														
55	Dinsdag	13-sep	20	20	0	20	0	0	601	594	611	545	511	469	524	455	489	497				
56	Woensdag	14-sep	0	0	0	0	0	0				616				601						
57	Donderdag	15-sep	20	20	0	20	0	0											125	125	10	10
58	Vrijdag	16-sep	0	0	0	0	0	0														
59	Zaterdag	17-sep	0	0	0	0	0	0														
60	Zondag	18-sep	20	20	0	20	15	25														
61	Maandag	19-sep	0	0	0	0	0	0														
62	Dinsdag	20-sep	0	0	0	0	0	0														
63	Woensdag	21-sep	0	0	0	0	0	0														
64	Donderdag	22-sep	0	20	0	0	0	0	555	592	607	631	506	498	490	587	485	475	125	125	10	10
65	Vrijdag	23-sep	30	20	0	30	40	20								496						
66	Zaterdag	24-sep	0	0	0	0	0	0														
67	Zondag	25-sep	20	20	0	0	30	40														
68	Maandag	26-sep	0	0	0	0	0	0														
Gemiddeld									600	573	610	579	474	459	497	479	456	469				
Standaard deviatie									30	44	31	47	49	42	64	88	75	36				
Maximum			30	25	30	30	40	40														
Minimum			0	0	0	0	0	0														
Totaal			537	525	255	535	337	272											2125	2125	100	100

Bijlage B. **Samenstelling Pokon**

Gehalte	Ingrediënt
2.9%	Nitraatstikstof
1.8%	Ammoniumstikstof
2.3%	Ureumstikstof
3.0%	Fosforpentoxide
7.0%	Kaliumoxide
0.02%	Boor
0.004%	Koper
0.04%	IJzer
0.02%	Mangaan
0.002%	Molybdeen
0.004%	Zink

Bijlage C. Waterverversing van de experimentele systemen. 1,3 = RAS met zeewier; 2,4 = RAS zonder zeewier; 5,6 Zeewier controle systemen.

Dag		Datum	Verversing zoetwater (L/dag)						Verversing zeewater (L/dag)						Verversing totaal (L/dag)					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	Maandag	18-jul		0			10	10	48.8	45.3	41.6	37.9	0	0	48.8	45.3	41.6	37.9	10	10
	Dinsdag	19-jul		0			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Woensdag	20-jul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	Donderdag	21-jul	20	20	20	20	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	20	20	0	0
2	Vrijdag	22-jul	0	0	0	0	0	0	41.4	33.1	37.1	41.5	0	0	41.4	33.1	37.1	41.5	0	0
3	Zaterdag	23-jul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Zondag	24-jul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Maandag	25-jul	10	10	10	10	10	10	30	30	30	30	0	0	40	40	40	40	10	10
6	Dinsdag	26-jul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	Woensdag	27-jul	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0	10	10	10	10	10	10
8	Donderdag	28-jul	15.4	8.1	11.8	10	0	0	0	0	0	0	0	0	15.4	8.1	11.8	10	0	0
9	Vrijdag	29-jul	20	20	20	0	0	0	20	20	20	20	0	0	40	40	40	20	0	0
10	Zaterdag	30-jul	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0
11	Zondag	31-jul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	Maandag	1-aug	10	10	10	0	5	5	27.1	29.1	31.3	25.7	5	5	37.1	39.1	41.3	25.7	10	10
13	Dinsdag	2-aug	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0
14	Woensdag	3-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	Donderdag	4-aug	15	10	10	0	40	40	0	0	0	0	95	90	15	10	10	0	135	130
16	Vrijdag	5-aug	20	20	20	6	0	0	20	20	20	20	0	0	40	40	40	26	0	0
17	Zaterdag	6-aug	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0
18	Zondag	7-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dag		Datum	Verversing zoetwater (L/dag)						Verversing zeewater (L/dag)						Verversing totaal (L/dag)					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
19	Maandag	8-aug	40	29.1	79.2	36.1	0	0	94.7	28.1	155	39.2	0	0	134.7	57.2	234.2	75.3	0	0
20	Dinsdag	9-aug	0	0	0	0	10	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
21	Woensdag	10-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	Donderdag	11-aug	10	6	60	10	0	0	10	10	120	0	0	0	20	16	180	10	0	0
23	Vrijdag	12-aug	10	10	10	3	10	5	28.2	23.5	30.2	23	0	0	38.2	33.5	40.2	26	10	5
24	Zaterdag	13-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	Zondag	14-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	Maandag	15-aug	10	10	10	10	7	10	29.9	30.2	30	26	0	0	39.9	40.2	40	36	7	10
27	Dinsdag	16-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	Woensdag	17-aug	20	20	18	10	0	0	37	43.8	40.6	48.1	0	0	57	63.8	58.6	58.1	0	0
29	Donderdag	18-aug	5	0	0	0	51.9	55.8	5	0	0	0	139.8	142.1	10	0	0	0	191.7	197.9
30	Vrijdag	19-aug	10	15	15	15	10	2	29.4	20.2	26	23.8	0	0	39.4	35.2	41	38.8	10	2
31	Zaterdag	20-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	Zondag	21-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	Maandag	22-aug	20	20	20	20	5	5	22.1	23.6	21.1	19.9	0	0	42.1	43.6	41.1	39.9	5	5
34	Dinsdag	23-aug	10	10	15	10	0	0	-10	-10	-15	-10	0	0	0	0	0	0	0	0
35	Woensdag	24-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	Donderdag	25-aug	7	10	8	9	0	0	0	0	0	0	0	0	7	10	8	9	0	0
37	Vrijdag	26-aug	15	15	15	15	0	0	20.2	22.1	19.1	16.4	0	0	35.2	37.1	34.1	31.4	0	0
38	Zaterdag	27-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	Zondag	28-aug	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0	1	0	3	0	0	0
40	Maandag	29-aug	15	15	15	15	5	5	22.5	24.9	20.7	20.1	4.6	4.4	37.5	39.9	35.7	35.1	9.6	9.4
41	Dinsdag	30-aug	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	Woensdag	31-aug	4	4	6	4	5	6	4	4	3	4	0	0	8	8	9	8	5	6
43	Donderdag	1-sep	5	5	2	2	50	50	0	0	0	0	145	145	5	5	2	2	195	195
44	Vrijdag	2-sep	12	12	20	15	12	10	23.4	22.7	28.1	18.5	0	0	35.4	34.7	48.1	33.5	12	10
45	Zaterdag	3-sep	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0

Dag		Datum	Verversing zoetwater (L/dag)						Verversing zeewater (L/dag)						Verversing totaal (L/dag)					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
46	Zondag	4-sep	4	0	1.5	0	0	0	4	0	1.5	0	0	0	8	0	3	0	0	0
47	Maandag	5-sep	15	10	10	15	0	0	22.3	22.9	26.5	18.9	0	0	37.3	32.9	36.5	33.9	0	0
48	Dinsdag	6-sep	0	8	8	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	8	8	0	5	5
49	Woensdag	7-sep	8	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	7	0	0
50	Donderdag	8-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	Vrijdag	9-sep	25	17	17	17	6	6	26.9	22.6	18.1	18.7	0	0	51.9	39.6	35.1	35.7	6	6
52	Zaterdag	10-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	Zondag	11-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	Maandag	12-sep	10	20	10	10	0	0	31.2	38.9	33.9	25	0	10	41.2	58.9	43.9	35	0	10
55	Dinsdag	13-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	Woensdag	14-sep	10	5	10	13	5	0	0	0	0	0	0	8	10	5	10	13	5	8
57	Donderdag	15-sep	3	0	0	4	50	50	3	0	0	4	130	130	6	0	0	8	180	180
58	Vrijdag	16-sep	10	10	10	10	0	0	30	30	30	30	0	0	40	40	40	40	0	0
59	Zaterdag	17-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	Zondag	18-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
61	Maandag	19-sep	10	10	10	10	0	0	33.5	32	32	25.8	0	0	43.5	42	42	35.8	0	0
62	Dinsdag	20-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
63	Woensdag	21-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
64	Donderdag	22-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65	Vrijdag	23-sep	30	30	30	30	3	5	9.1	8.1	11	8.1	6	11	39.1	38.1	41	38.1	9	16
66	Zaterdag	24-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
67	Zondag	25-sep	0	0	0	0	0	0	8	5	5	8	0	0	8	5	5	8	0	0
68	Maandag	26-sep	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Totaal		438	404	513	396	300	290	624	535	777	505	525.4	545.5	1062	939	1290	901	825.3	835.3



Bijlage 1

1. Diagnostiek van visziekten

- **Herkomst inzending:** Edward Schram te IJmuiden.
- **Samenstelling inzending:** 3x levende tarbot uit Systeem 1, van ca. 20cm.
- **Datum ontvangst inzending:** 29-9-2011.
- **Anamnese volgens inzender:** Te hoge mortaliteit binnen experimentele groep.

2. Bevindingen onderzoek

- **Sectie**

Uitwendig: Geen duidelijke afwijkingen.

Huid: geen parasieten, geen schimmel, niet veel bacteriën.

Kieuwen: geen parasieten, geen schimmel, niet veel bacteriën. iets verdikte top van de kieuwlamellen met wat dik slijm op de kieuwen, verder gaaf.

Bloed: geen slaapziekteverwekkers gevonden.

Inwendig: 1x iets vergrote milt; 3x bleke lever, die iets papperig was; darmen iets gevuld (gelig) en geen parasieten; verder geen afwijkingen of parasieten.

- **Bacteriologisch onderzoek**

TBC-onderzoek: Uitstrijkjes van de levers waren Ziehl Nielsen negatief: geen verdenking op vissen-TBC.

Bacterie-isolatie:

Van de huid werd *Vibrio ichthyenteri/scophthalmi* en *Pseudoalteromonas* sp. geïsoleerd

Uit de inwendige organen groeiden geen bacteriën.

Tabel: antibiogram

Antibioticum	<i>Vibrio ichthyenteri/scophthalmi</i>	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.
Tetracycline	S	S
Oxolinezuur/flumequine	S	S
Trimethoprim+sulfa	S	R
Neomycine	R	S
Enrofloxacin	S	S
Nitrofurantoin	S	R

R = resistent

S = gevoelig (sensitive)



- **Virologisch onderzoek**

Virusisolatie was negatief: geen virus gevonden.

3. Diagnose

De tarbot had een lichte bacteriologische infectie van de huid, met o.a. *Vibrio ichthyenteri/scophthalmi*. Er is geen virus aangetoond.

Met vriendelijke groet,

Dr.ir. Olga Haenen

Hoofd Vis- en Schelpdierziektenlaboratorium, Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR



CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

AANVULLING OP 11016950 (Tarbot): op verzoek van Edward Schram is hiervan ook virusisolatie gedaan, maar de uitslag van de andere onderzoeken was al in gerapporteerd, vandaar deze annex :

BEVINDINGEN ONDERZOEK:

- **Virologisch onderzoek**

Virusisolatie was negatief: geen virus gevonden.

Met vriendelijke groet,

Olga Haenen



Bijlage 1

1. Diagnostiek van visziekten

- **Herkomst inzending:** IMARES, via Edward Schram, te Yerseke.
- **Samenstelling inzending:** 3x levende Tarbot ca. 28 cm lang.
- **Datum ontvangst inzending:** 28 september 2011.
- **Anamnese volgens inzender:** Te hoge mortaliteit binnen experimentele groep. Ten behoeve van toekomstige experimenten is gewenst dat oorzaak bekend is.

2. Bevindingen onderzoek

- **Sectie**

Uitwendig: 2x bleke tarbot, 1x geen duidelijke afwijkingen.

Huid: geen parasieten, geen schimmel en niet veel bacteriën.

Kieuwen: geen parasieten, geen schimmel en niet veel bacteriën, verder geen afwijkingen.

Bloed: geen slaapziekte verwekkers aangetoond.

Inwendig: 1x iets bleke nieren, 3x bleke en papperige lever, darmen iets gevuld (gelig) zonder parasieten; verder geen parasieten of afwijkingen.

- **Bacteriologisch onderzoek**

Bacterie-isolatie:

De huid leverde een reinkweek op van *Vibrio ichthyoenteri*.

De inwendige organen leverden geen bacteriegroei op.

Tabel: antibiogram

<i>Antibioticum</i>	<i>Vibrio ichthyoenteri</i>
Tetracycline	S
Oxolinezuur/flumequine	S
Trimethoprim+sulfa	S

R = resistent

S = gevoelig (sensitive)

TBC-check: ZN-preparaat van de levers waren negatief. Er zijn geen zuurvaste-staafjes, duidend op *Mycobacterium* aangetoond.



CENTRAL VETERINARY INSTITUTE
WAGENINGEN UR

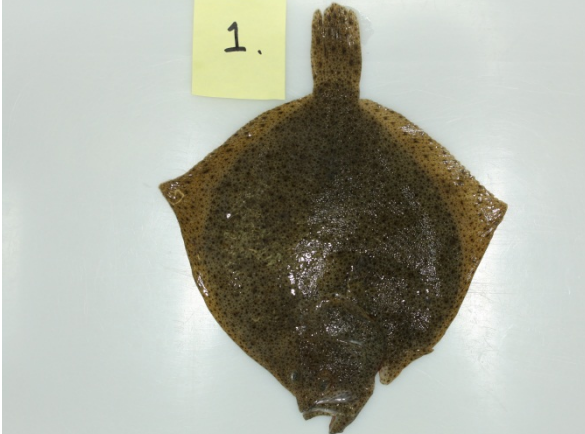
3. Diagnose

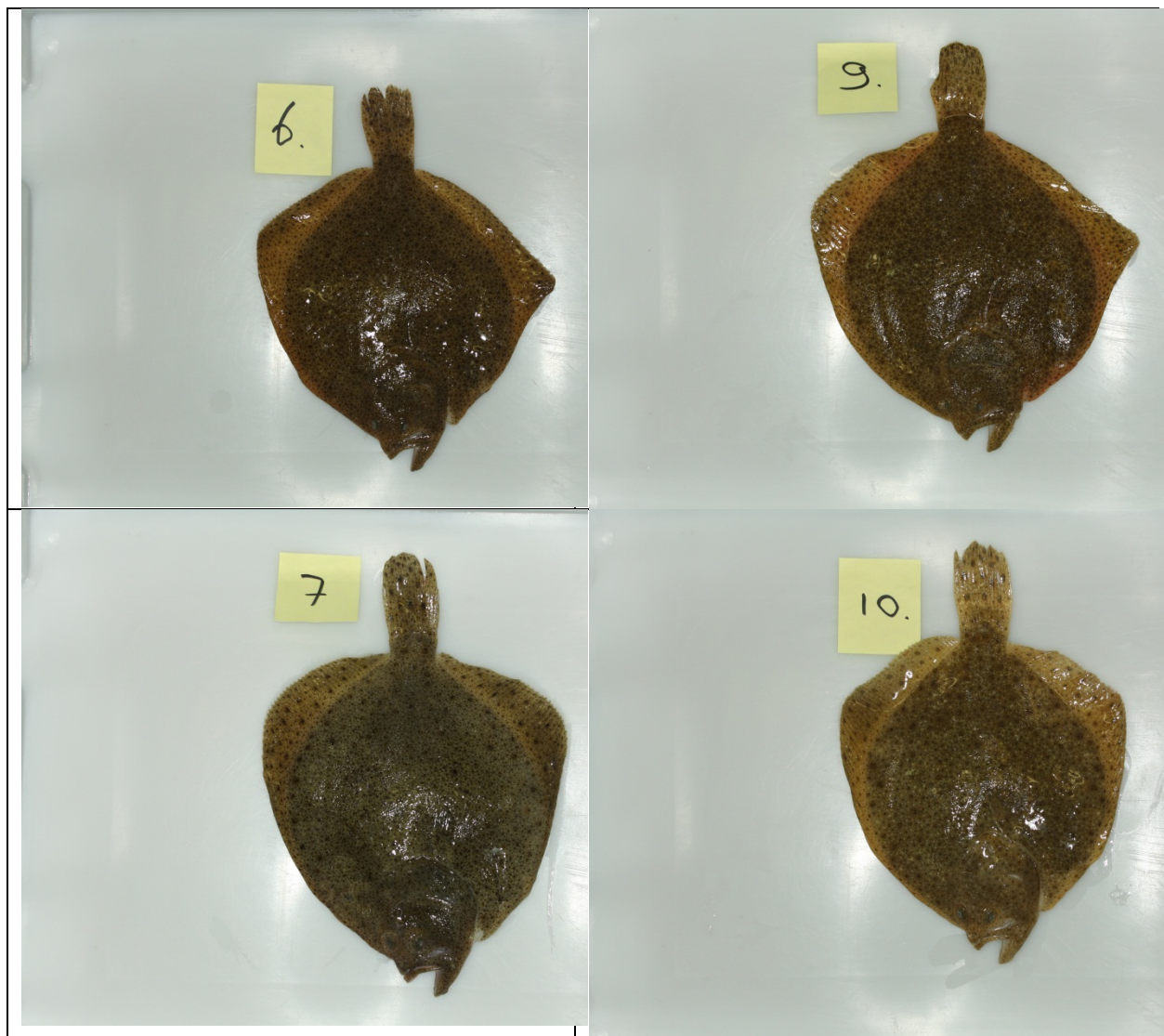
Leververvetting, en huidinfectie door *Vibrio ichthyenteri*. *Vibrio ichthyenteri* is onderdeel van de normale bacteriële microflora in zeewater. Er zijn maar een beperkt aantal publicaties over *Vibrio ichthyenteri*. Daarbij is de bacterie is onder andere beschreven bij de kweek van tarbot maar niet zozeer als pathogeen.

Met vriendelijke groet,

Dr.ir. Olga Haenen
Hoofd Vis- en Schelpdierziektenlaboratorium,
Centraal Veterinair Instituut van Wageningen UR

Bijlage E. Foto's verkennende sensorische analyse

Met zeewier	Zonder zeewier
 1.	 2.
 3.	 4.
 5.	 8



Sensory assessment



