

Miljørisiko ved bruk av hydrogenperoksid

Økotoksikologisk vurdering og grenseverdi for effekt



Foto: Gjermund Bahr

This page is intentionally left blank

Rapporttittel / Report title Miljørisiko ved bruk av hydrogenperoksid. Økotoksikologisk vurdering og grenseverdi for effekt	
Forfatter(e) / Author(s) Gro Harlaug Refseth Kristin Sæther Magnus Drivdal Ole Anders Nøst Starrlight Augustine Lionel Camus Luca Tassara Ann-Lisbeth Agnalt Ole B. Samuelsen	Akvaplan-niva rapport nr / report no 8200
	Dato / Date 23.12.2016
	Antall sider / No. of pages 56 + 0
	Distribusjon / Distribution Offentlig
Oppdragsgiver / Client FHF	Oppdragsg. referanse / Client's reference Kjell Maroni, FHF-prosjekt 901249
Sammendrag / Summary <p>Hydrogenperoksid brukes som lusemiddel i norsk oppdrettsnæring, men det finnes lite informasjon om mulige effekter på nærliggende miljø. I dette prosjektet er et internasjonalt anerkjent miljørisikovurderingsverktøy tatt i bruk for å foreta en objektiv vurdering av effekter av lusemiddelet. Det er utarbeidet økotoksikologiske grenseverdier for viktige økologiske og kommersielle norske arter. Disse verdiene er satt i sammenheng med modellerte konsentrasjoner i miljøet. Resultatene viser at konsentrasjonen av hydrogenperoksid fortynnes raskt etter utslipp. Hvor raskt fortynningen skjer avhenger av lokale vær- og strømforhold. Hydrogenperoksid vil i hovedsak fortynnes i overflatevannet når vannsøylen er lagdelt og under rolige vær og strømforhold. Hydrogenperoksid kan synke til bunns når vannsøylen er godt blandet, noe som er vanligere i vinterhalvåret. Risiko for påvirkning er avhengig av hvor fort de ulike dyrene responderer til eksponering, om lokaliteten er strømsvak eller strøms sterk, og om sensitiv art eller livsstadie er til stede i nærheten av utslippspunktet. Vi forventer ikke effekt på de artene som responderer langsamt på eksponering til hydrogenperoksid, som for eksempel torsk og torskeegg. For de dyreartene som responderer raskt til hydrogenperoksid, kan det oppstå dødelighet ved korttidseksponering i et begrenset område. Raudåte er den mest sensitive av de artene vi har testet. Arbeidet i denne rapporten har resultert i ny informasjon som tilsammen utgjør et viktig steg mot etablering av et verktøy for vurdering av miljøpåvirkning fra lusemiddel i havbruk.</p>	
Prosjektleder / Project manager Gro Harlaug Refseth og Kristin Sæther	Kvalitetskontroll / Quality control Anita Evenset

INNHOLDSFORTEGNELSE

1 INNLEDNING.....	3
2 PROBLEMSTILLING OG FORMÅL	6
3 PROSJEKTGJENNOMFØRING	7
3.1 Oversikt	7
3.2 Økotoksdatabase	7
3.3 Økotoksikologiske eksperimenter	7
3.3.1 Forsøk gjennomført av Akvaplan-niva	9
3.3.2 Forsøk gjennomført i regi av Havforskningsinstituttet.....	12
3.4 Økotoksmodellering	14
3.4.1 LC ₅₀ og NEC	14
3.4.2 NEC kalkulering i DEBtox	15
3.5 Modellering av konsentrasjoner	16
3.5.1 Fysiske egenskaper	16
3.5.2 Modellering	16
3.5.3 Modell-område og utslippspunkter.....	17
3.6 Risikovurdering.....	18
4 RESULTATER.....	19
4.1 Målte konsentrasjoner i behandlingsvann	19
4.2 Økotoksdatabase	19
4.3 Økotoks eksperimenter og økotoksmodellering	19
4.3.1 Rangering av arter basert på følsomhet for hydrogenperoksid	29
4.4 Spredning og konsentrasjonsutbredelse	30
4.4.1 Spredning og konsentrasjonsutbredelse.....	30
4.4.2 Nedsynkning og spredning på bunn	36
4.4.3 Oppsummering konsentrasjonsmodellering.....	40
4.5 Sammenfatning av PEC/PNEC.....	40
4.5.1 Håndtering av miljørisiko	42
4.5.2 Eksponeringstid	42
5 DISKUSJON	46
5.1 Forsøksoppsett	46
5.2 Forsøksgjennomføring	46
5.3 Akutte versus kroniske effekter	47
5.4 Anbefalinger for videre arbeid.....	47
6 KONKLUSJON	49
7 LITTERATURLISTE	50

Forord

Det er kunnskapshull med hensyn til miljøkonsekvenser ved bruk av kjemikalier for behandling mot lakselus. Dette gjelder også hydrogenperoksid. Problemstillingen forsterkes av at hydrogenperoksid anses som det mest miljøvennlige lusemiddel, og bruken av hydrogenperoksid har derfor økt over flere år.

I dette prosjektet er et internasjonalt anerkjent og akseptert miljørisikovurderingsverktøy som brukes i andre industrier, inkludert petroleumsindustrien, tatt i bruk for å foreta en objektiv vurdering av miljøeffekter av lusemiddel i havbruk. Arbeidet fokuserer på økotoksikologiske vurderinger og er et viktig steg mot etablering av et verktøy for vurdering av miljøpåvirkning av lusemiddel i havbruk.

Prosjektet består av fem hoveddeler:

- 1. Økotoksdatabase for hydrogenperoksid (fra litteratur)**
- 2. Økotoksikologiske eksperimenter på norske arter**
- 3. Modellering for å beregne økotoksikologiske verdier for hydrogenperoksid**
- 4. Konsentrasjon og spredningsmodellering**
- 5. Risikovurdering**

Prosjektet er ledet av Akvaplan-niva og gjennomført i samarbeid med Havforskningsinstituttet.

Prosjektdeltagere:

Fra Akvaplan-niva (APN): Ole Anders Nøst, Magnus Drivdal, Starrlight Augustine, Luca Tassara, Lionel Camus, Kristin Sæther, Gro Harlaug Refseth

Fra Havforskningsinstituttet (HI): Ann-Lisbeth Agnalt, Ole Samuelsen

Referansegruppen for prosjektet har bestått av: Bjørn Munro Jenssen, Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet (NTNU), Even Jørgensen, Universitetet i Tromsø-Norges arktiske universitet (UIT), Anders Goksøyr, Universitetet i Bergen (UiB).

Prosjektledere er Gro Harlaug Refseth og Kristin Sæther.

Prosjektet er finansiert av Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond (FHF).

1 Innledning

Hydrogenperoksid (H_2O_2) anses som det mest miljøvennlige middelet mot lakselus, fordi det ikke akkumuleres i sjøen, men omdannes til oksygen og vann. Det er blitt fremmet påstander om at stoffet har negative effekter på omkringliggende miljø, men det finnes lite undersøkelser av hvilke effekter dette lusemiddelet kan ha for det øvrige miljø utover laks og lakselus.

Fra 2013 til 2014 ble bruken av hydrogenperoksid i Norge 4-doblet, til mer enn 31000 tonn hydrogenperoksid per år. Enkelte laboratoriestudier har dokumentert negative effekter på enkeltarter (e.g. BurrIDGE og VanGeest 2014, Brokke 2015), men per i dag blir det ikke gjort risikovurdering ved bruk av hydrogenperoksid, og det finnes ingen grenseverdier for hvilke konsentrasjoner som vil kunne ha uheldig effekt på omkringliggende miljø.

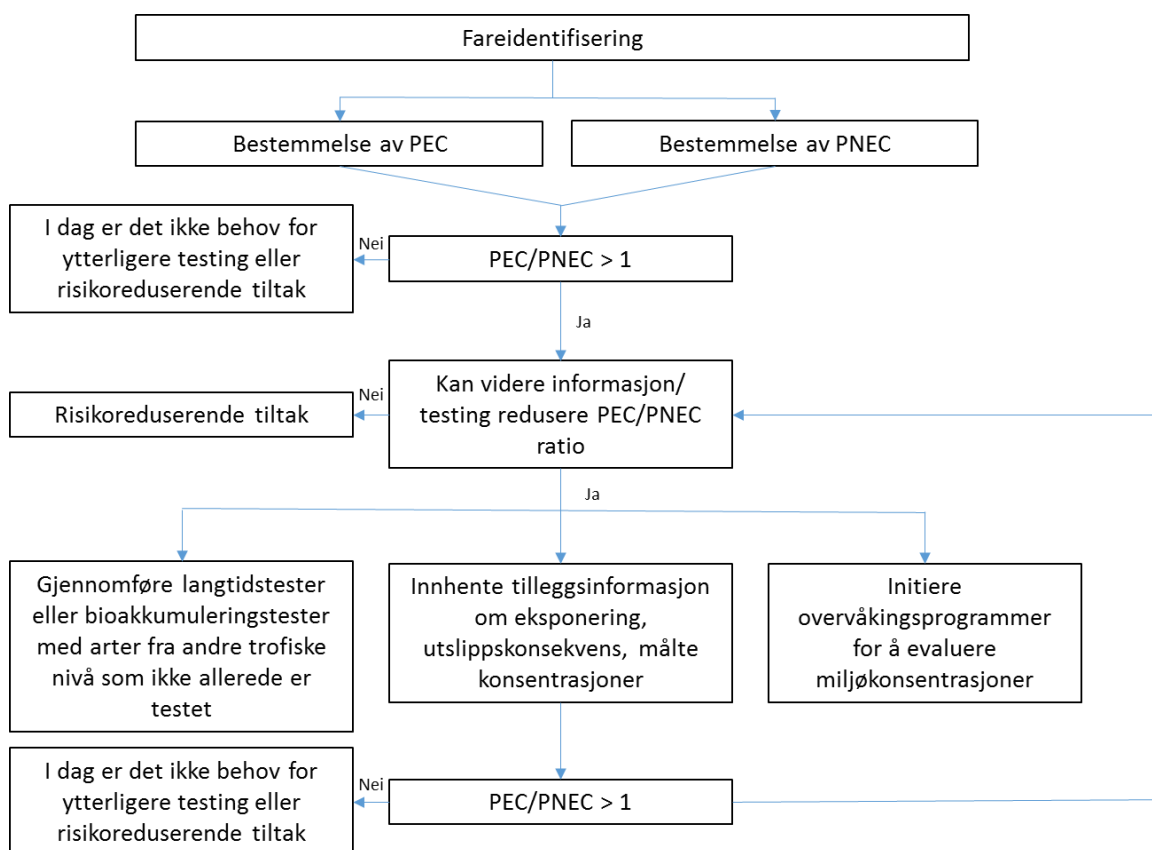
Det er økende forventninger i samfunnet til at det foretas miljørisikovurderinger for kjemikalier og produkter, og det er også i enkelte tilfeller påkrevd av myndighetene. I dagens risikovurderingsmetoder brukes ulike mål på arters toleranse for kjemisk eksponering. Disse målene muliggjør en evaluering av potensielle miljøeffekter (Forbes and Calow, 2002; Calow and Forbes, 2003).

De ulike målene som brukes i risikovurderinger bestemmes på grunnlag av standard toksisitetstester som uttrykker ulike arters toleranse til kjemiske substanser (Newman and Dixon, 1996). Ulike mål for overlevelse som ofte brukes i risikovurderingssammenheng er konsentrasjoner som dreper 50% av de eksponerte individene (LC_{50}) og "no-effect concentration" (NEC). NEC representerer den høyeste konsentrasjonen i miljøet som ikke vil kunne gi effekt, selv etter langtids-eksponering, basert på det endepunktet som er undersøkt. NEC-verdier blir ofte brukt som utgangspunkt i risikovurdering/miljøpolitikk.

EIF (Environmental Impact Factor) (Johansen 2003) er en metode som benyttes til å foreta en objektiv vurdering av sannsynlighet for skadelig effekt på en organisme eller en gruppe av organismer etter forandring i levemiljø (f.eks. etter eksponering til kjemikalier). Ved hjelp av EIF kan en vurdere om et gitt utslipp fører til skade på miljøet. Metoden brukes også til å dokumentere at en industri opererer innenfor gitte rammeverk. EIF rammeverket er utviklet ved å følge prinsippene i "EU Technical Guidance Document of risk assessment" (EC 2003) (Figur 1) og US-EPA Guidance on risk assessment. Dette er oppgitt som den anbefalte metoden for risikovurdering av EC 2003 og er et internasjonalt anerkjent, og akseptert miljørisikovurderingsverktøy. Verktøyet brukes i oljeindustrien for å overvåke risiko forbundet med industrielle utslipp (Johnson et al. 2000). Arbeidet som er gjort i prosjektet som beskrives her er basert på prinsippene som ligger til grunn i EIF-metoden.

Økotoksikologiske effekter på ulike organismer er en sentral del av risikovurderingen. I ETG sammenlignes "predicted no effect concentration" (PNEC) med forventet konsentrasjon av et kjemikalie ute i miljøet (PEC) (Figur 1). For å definere PNEC brukes ofte såkalte SSD kurver (species sensitivity distribution curves). SSD kalkuleres på bakgrunn av datasett fra økotokstester som dekker arter fra ulike taksonomiske grupperinger, og gir uttrykk for grenseverdi for effekt for et økosystem.

PEC/PNEC ratio gir en indikasjon på om skadelige effekter vil oppstå som følge av et utslipp. Om PEC/PNEC verdien er mindre enn 1 antar man at det ikke er effekter. Er ratioen større enn 1, kan negative effekter på miljøet oppstå, og man må se nærmere på miljørisikoen (Figur 1) (EC 2003).



Figur 1. PEC/PNEC tilnærmingen basert på "EU Technical Guidance Document of risk assessment" (ETG) (EC 2003).

Per i dag finnes det ikke tilstrekkelig kunnskap for å evaluere potensielle negative effekter på miljø grunnet utslipp av hydrogenperoksid, og det eksisterer heller ikke nok informasjon til å kunne gjennomføre risikovurdering basert på ETG.

Arbeidet som er gjort i prosjektet som beskrives her er basert på prinsippene som ligger til grunn i ETG-metoden. Vi har gjennomført toksisitetstester på kommersielt og økologisk viktige arter fra ulike taksonomiske grupperinger fra norske marine økosystem. Vi bruker resultatene til å definere grenseverdier for effekt, og disse blir sammenlignet med modellerte PEC-verdier. Resultatene tolkes med tanke på om eventuell overskridelse utgjør en risiko.

Det har ikke vært innenfor rammen av dette prosjektet å foreta en fullstendig miljørisikovurdering i henhold til ETG.

Forkortelser brukt i rapporten og i databasen:

Som definert i "Guidance Document on Statistical Methods for Environmental Toxicity Tests":

LC₅₀ "*median lethal concentration*" - kjemikaliekonsentrasjon i vann eller sediment som er estimert dødelig for 50 % av testorganismene.

EC₅₀ "*median effective concentration*" - kjemikaliekonsentrasjonen i vann eller sediment som gir en spesifikk effekt (f.eks. immobilitet) hos 50 % av testorganismene.

LOEC "*lowest observed effect concentration*" - den laveste konsentrasjonen av et kjemikalie som har effekt.

NOEC "*no observed effect concentration*" –konsentrasjon med ingen observerbar effekt.

SSD "*species sensitivity distribution curve*" – arters sensitivitetsskurve.

EIF "*environmental impact factor*".

PEC "*predicted environmental concentration*" - forventet kjemikaliekonsentrasjon i miljøet.

PNEC "*predicted no effect concentration*" - konsentrasjon som forventes å ikke gi effekt på miljøet.

NEC "*no effect concentration*" - kjemikaliekonsentrasjon der man ikke forventer effekt på en art.

ETG "*EU Technical Guidelines*".

FABM "*Framework for Aquatic Biochemical Models*".

DEBtox Økotoxikologisk modell.

FVCOM "*The unstructured grid Finite Volume Community Ocean Model*".

2 Problemstilling og formål

Hovedmål med dette prosjektet er å vurdere potensiell miljørisiko forbundet med utslipp av hydrogenperoksid. Vurderingen baseres på det veletablerte risikovurderingsverktøyet ETG (EC 2003). Vi tester ulike norske marine arters følsomhet for hydrogenperoksid. Disse resultatene settes i sammenheng med forventede konsentrasjoner av hydrogenperoksid i miljøet.

Vi gir også anbefalinger om modifikasjoner som bør gjennomføres før risikovurderingsverktøyet kan tas i bruk i akvakultursammenheng. Verktøyet er velprøvd og anerkjent, og tilpasningen vil kunne gi et objektivt og kunnskapsbasert svar på om et planlagt utslipp av hydrogenperoksid i forbindelse med avlusing har negativ effekt på miljøet.

Delmål

1. Innsamle data fra litteraturen og opprette en økotoksikologisk database.
2. Gjennomføre økotokstester og for å etablere grenseverdier for hydrogenperoksid for utvalgte arter.
3. Beregning og modellering av spredning i vannmassene- modellering av forventede hydrogenperoksid konsentrasjoner ute i miljøet.
4. Risikovurdering gjennom sammenfatning og tolkning av økotoksparametere med resultat fra konsentrasjonsmodellering.

3 Prosjektgjennomføring

3.1 Oversikt

En kort oppsummering av arbeidet, og en detaljert beskrivelse av metodikken følger i kapitlene under.

For å begrense prosjektets varighet og kostnader, undersøkte vi først om allerede eksisterende økotoksikologiske data kan brukes i videre økotoksmodellering, og vi utarbeidet en database. Deretter utførte vi standard toksisitetstester på utvalgte arter som dekker viktige funksjonelle og taksonomiske grupper fra norske marine økosystem. Forsøkene ble utført på APN og HI. Resultatene fra forsøkene ble analysert, og LC₅₀ og NEC for hver enkelt art ble bestemt ved å bruke en biologi-basert modell (DEBtox).

PEC ble kalkulert ved å bruke en spredningsmodell (FVCOM) satt opp i 3D for å beregne temperatur, salinitet og strøm både horisontalt og vertikalt. Hydrogenperoksid ble modellert som et sporstoff med en gitt nedbrytningsrate funnet fra oppgitte halveringstider, ved bruk av FABM (Bruggeman og Bolding, 2014). Faktiske målinger av hydrogenperoksid konsentrasjoner, utført av Aqua Kompetanse i april 2016 (Andersen og Hagen, 2016), ble også sammenlignet med våre beregninger.

Til slutt ble PEC og NEC verdier sammenlignet for å se om grenseverdier overskrides. Disse resultatene ble avslutningsvis tolket og evaluert for å vurdere risiko forbundet med hydrogenperoksid utslipp, samt for å gi videre anbefalinger. De ulike delene av prosjektgjennomføringen er beskrevet i de neste avsnitt.

3.2 Økotoksdatabase

For å få oversikt over hvilke økotoksikologiske data som er tilgjengelig for hydrogenperoksid, har vi gjennomført en litteraturstudie og laget en økotoksdatabase (se egen leveranse). Vi brukte US EPA ECOTOX database for akvatisk toksisitetsdata for å lete etter studier. Parametre i databasen er eksponeringstid, art (latin), vanlig navn, taksonomi, habitat, livsstadie, endepunkt, konsentrasjon, referanse, funn, handelsnavn, datatype, respons, enhet, temperatur, eksponeringstype, endepunkt, effektkonsentrasjon, og full referanse. Rådata fra studier med tilstrekkelig økotoksikologisk informasjon for relevante arter ble videre brukt til å estimere NEC verdi med en økotoksmodell. Databasen blir tilgjengelig på FHF sine nettsider.

3.3 Økotoksikologiske eksperimenter

Vi har valgt økologisk og kommersielt viktige arter fra norske marine økosystem for gjennomføring av økotokseksperimenter. For å sikre økologisk relevans, samt undersøke potensiell forskjell i sensitivitet mellom ulike dyregrupper, ble det valgt ut arter som dekker ulike taksonomiske grupperinger, funksjonelle grupper og arter fra ulike habitat. Studerte arter er: dypvannsreke (*Pandalus borealis*), rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*), kråkebolle (*Strongylocentrotus droebachiensis*), kongsnegl (*Buccinum undatum*), atlantisk torsk (*Gadus morhua*), raudåte (*Calanus finmarchicus*) strandreke (*Palaemon elegans*) og tangmyside (*Praunus flexuosus*) (Tabell 1).

Rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*) er en vanlig fiskeart langs hele norskekysten. Rognkjeks fiskes i Norge på grunn av rognen, som går til kaviarproduksjon. Om våren kommer rognkjeks

inn til kysten for å gyte på grunt vann. De første to årene holder ungfiskene til i strandsonen, og vandrer senere ut på dypt vann. Voksne fisker lever pelagisk på 50–150 m dyp, og spiser pelagiske krepsdyr og maneter (Schopa 1974, Vasconcelos et al. 2004).

Dypvannsreke (*Pandalus borealis*) lever like over bunnen på dyp mellom 50 og 600 m med leirbunn. Den kan også forekomme så grunt som 15–20 meter. Den foretar periodiske vandringer med døgnvise migrasjoner opp i frie vannmasser (beiteatferd) og årvisst til grunnere områder (gytevandring). Dypvannsreke gyter om høsten, og hunnene bærer eggene festet til bakkroppens svømmeføtter til neste vår. Larver som klekker fra eggene, lever pelagisk i ca. tre måneder, før de søker ned mot bunnen. I Norge er dypvannsreken den kommersielt viktigste krepsdyrarten. (Sivard og Samard 1990), (http://www.imr.no/temasider/skalldyr/reke/reke_i_nordsjoen_og_skagerrak/nb-no).

Kråkebolle (*Strongylocentrotus droebachiensis*) er blant de vanligste artene langs vår kyst (Moen og Svensen, 2008). Kråkeboller er en viktig økologisk art, da den inngår i dietten til en rekke arter som for eksempel krabber, fisk og pattedyr.

Kongsnegl (*Buccinum undatum*) er en vanlig marin art i Nord-Atlanterhavet, og langs kysten av Norge, og andre nord- europeiske land. Denne arten lever i sublittoral og littoral sone, på sand og mudderbunn ned til 100 meters dyp (<https://snl.no/kongsnegl>).

Atlantisk torsk (*Gadus morhua*) er en fiskeart i torskefamilien. Denne arten er en viktig kommersiell art i Norge. Kysttorsken gyter både inne i fjordene og i skjærgården. Den velger beskyttede områder, ofte innerst i fjordarmene, i poller, våger eller bukter, hvor gytingen typisk foregår på 20-60 m dyp. Eggene flyter stort sett i de øverste 30 m av vannsøylen og klekker etter 2-3 uker (info fra Havforskningsinstituttet).

Raudåte (*Calanus finmarchicus*), utgjør hovedmengden av dyreplanktonet i økosystemet i Norskehavet, og er således en meget viktig økologisk art. Raudåta beiter på planteplankton, og er et viktig byttedyr for fiskelarver og voksen pelagisk fisk. For mange fiskearter (larver), utgjør raudåte egg og nauplii den viktigste matkilden.

Strandreke (*Palaemon elegans*) er en vanlig rekeart i Nordsjøen, Østersjøen, Øst-Atlanterhavet, Middelhavet og Svartehavet (Ozen, 2009). Den lever på stein eller sandbunn på grunne dyp i tidevannssonen. Strandreken er generalist og opportunist, da den spiser en variert (omnivore) diett og finnes i ulike habitat (Berglund, 1980).

Tangmysiden (*Praunus flexuosus*) er en av de vanligste mysidaeartene i Norge. *P. flexuosus* er en pelagisk art, i øverste del av tidevannssonen. Tangmysiden er filterspiser og/ eller predator (spiser kopepoder, alge eller amfipoder (Tattersall og Tattersall, 1951).

Tabell 1. Oversikt over arter som inngår i prosjektet.

Art	Taksonomi (klasse)	Habitat	Funksjonell gruppe	Kilde (forsøk)	Lengde (mm)	Våtvekt (g) (gj.snitt)	Livsstadie	Temp. (°C)
Rognkjeks (<i>Cyclopterus lumpus</i>)	Actinopterygii	Pelagisk	Predator	APN	-	75	Juvenile	10.2
Dypvannsreke (<i>Pandalus borealis</i>)	Malacostraca	Bentisk/ Pelagisk	Predator	APN	-	20,7	-	10.2
Kråkebolle (<i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>)	Echinoidea	Bentisk	Beiter	APN	-	65	Voksen	10.4
Kongsnegl (<i>Buccinum undatum</i>)	Gastropoda	Bentisk Sub-littoral sone	Predator	APN	-	2,6	Juvenile	10.3
Torskeegg (<i>Gadus morhua</i>)	Actinopterygii	Pelagisk		HI	-		Egg (4dager)	-
Raudåte (<i>Calanus finmarchicus</i>)	Copepoda	Pelagisk	Beiter	(Esco-bar Lux 2016) HI	-		Voksen Copepoditt stadie V	8.0
Strandreke <i>Palaemon elegans</i>	Malacostraca	Bentisk Grunne dyp tidevans- sonen	Generalist, opportunist	(Brokke 2015) HI	Total lengde: 40.8 (+/- 13.9) Kropps- lengde: 9.9 (+/- 0.016)	-	Voksen	12.9
Tangmyside (<i>Praunus flexuosus</i>)	Malacostraca	Pelagisk	Filterspiser predator	(Brokke 2015) HI		-	Voksen	12.9

3.3.1 Forsøk gjennomført av Akvaplan-niva

Forsøkene ble gjennomført på Akvaplan-nivas laboratorie i Tromsø. Alle artene ble akklimatisert i tanker med sand-filtrert sjøvann før forsøkene ble satt i gang. For hver art ble 5 konsentrasjoner av hydrogenperoksid og en kontroll forberedt før dyrene ble plassert i behandlings karene. For alle behandlingene ble det brukt 5 liters tanker fylt med 4 l filtrert sjøvann pumpet inn fra et inntak på ca. 60 m dyp. Vannet ble varsomt oksygenert ved bruk av akvariepumpe med plastikkslanger og luftstein. Lufttilførsel ble regulert ved å bruke regulatorklypen på slangen.

Eksponeringen ble utført i et avkjølt rom der vanntemperaturen var stabil på rundt 10°C gjennom hele eksperimentet (Tabell 1). Konstant eksponering ble benyttet i alle forsøkene.

For hver art ble det forberedt seks behandlinger: 5 doser hydrogenperoksid (100, 200, 300, 400, 500 mg/L) og kontroll. For hver behandling var det 4 replikater for hver konsentrasjon, noe som utgjorde 20 behandlingstanker per art (pluss kontroll). Hver tank ble tilført 5 individer av testarten, bortsett fra rognkjeks (reduert til 4 pga. størrelse og tilgjengelighet). Dyrene ble plassert i tankene for akklimatisering (rent vann) i 24 timer før eksponerings start. Behandlingen ble bare satt i gang om dyrene ikke viste tegn til stress.

På grunn av fluktnespons og for å unngå krysskontaminering ble hver tank dekket til med et plastikk lokk som ble fjernet ved visuell observasjon av overlevelse ved hvert tidspunkt.

Observasjoner av dyrene ble utført ved 8 ulike tidspunkt (angitt som timer): T0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24. Ved hver observasjon ble dyrene sjekket, for å evaluere om de var levende eller døde. For å minimere forstyrrelser ble så lite lys som mulig benyttet ved inspeksjon. Aktiviteten til dyrene ble observert, og reaksjon fremprovosert for å verifisere om dyrene var døde eller

fortsatt var i live (bevegelse). De døde dyrene ble fjernet fra eksponeringstankene ved sjekk tidspunkt. Endret atferd ble også notert på de overlevende individene. Etter observasjon ble lokket satt tilbake.

Endepunkt for eksperimentene var dødelighet, og videre utarbeidede økotoksverdier er basert på dødelighet som endepunkt, med unntak av kråkeboller.

Temperatur og løst oksygen ble målt ved T0 og T24 i en tilfeldig valgt replikat fra hver behandling. Hydrogenperoksid konsentrasjoner ble målt ved samme tidspunkt i en tilfeldig valgt replikat for hver konsentrasjon ved å bruke Abcam's Hydrogen Peroxide Assay Kit. (https://www.chemetrics.com/index.php?route=product/product&product_id=497).

Mattilsynet, region sør og vest, avdeling for nasjonale oppgaver, har godkjent dyreforsøkene. Forsøkene er gjennomført i henhold til norsk lov.

Se avsnitt under for informasjon om hver test-art.



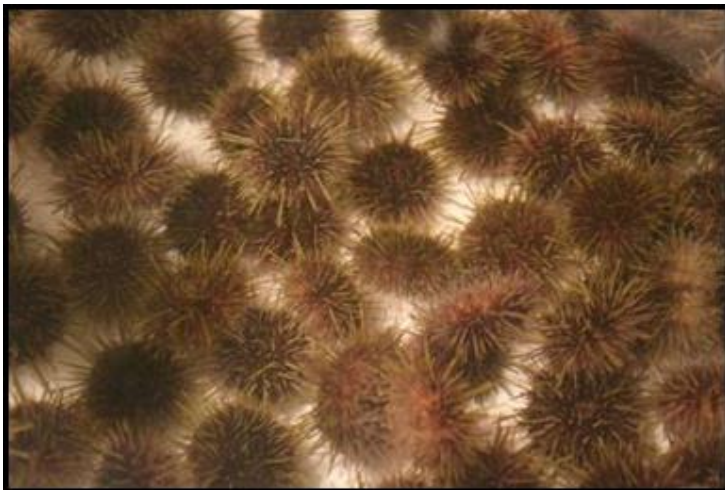
Figur 2. Rognkjeks, *Cyclopterus lumpus*. Foto: Akvaplan-niva

Juvenile rognkjeks (gjennomsnittsvekt 75 g, Figur 2) som ble benyttet i forsøkene er produsert ved Akvaplan-niva AS, og har vært holdt under standard oppdrettsbetingelser med kontinuerlig lys, naturlig sjøvannstemperatur, kontinuerlig fôring med artemia og kommersielt tørrfor siden klekking. For å redusere fôringsstress ble fisken fastet i 48 timer før eksponeringsstart og gjennom eksponeringsforsøket.



Figur 3. Dypvannsreke, *Pandalus borealis*. Foto: Luca Tassara

Dypvannsreker (Figur 3) med gjennomsnittsvekt på 20 g ble samlet inn i Laksefjorden i Finnmark. Inne i laboratoriet ble rekene plassert i spesialtanker med rennende sjøvann (*in situ* temperatur) og 1 cm med sand og grus på bunnen. Dyrene ble akklimatisert i 4 uker før eksponeringen startet. Hunner med egg ble ikke brukt i eksperimentet.



Figur 4. Kråkebolle, *Strongylocentrotus droebachiensis*. Foto: Gro Harlaug Refseth

Kråkeboller (*S. droebachiensis*, Figur 4) med gjennomsnittsvekt 65 g ble samlet inn i Kvalsundet (69° 45' 15.9"N; 19° 01' 51.4"W) på 2,5 – 3 meter. Kråkebollen ble transportert til forskningsstasjonen og holdt i en 300 liters tank med rennende sjøvann (*in situ* temperatur) og redusert lys. Kråkebollene ble akklimatisert i 72 timer før eksperimentet startet. Kråkebollene ble ikke matet før eller under eksperimentet.

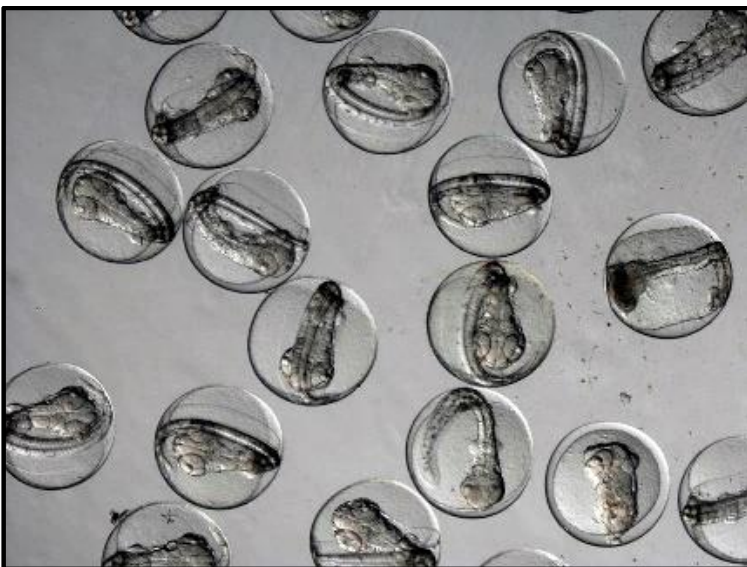


Figur 5. Kongsnegl, *Buccinum undatum*. Foto: (Gjermund Bahr)

Juvenile kongsnegl (Figur 5) med gjennomsnittsvikt 2,6 g ble samlet inn fra Kvalsundet (69° 45' 15.9"N; 19° 01' 51.4"W) ved lavvann. Sneglene ble akklimatisert i 30 liters tanker (*in situ* temperatur) i minst 24 timer før igangsetting av eksperimentet.

3.3.2 Forsøk gjennomført i regi av Havforskningsinstituttet

Forsøk på artene som beskrives under er gjennomført ved Havforskningsinstituttets forskningsstasjoner i Austevoll eller Parisvatnet. Konstant eksponering ble benyttet i alle forsøkene. Mattilsynet har godkjent dyreforsøkene, og forsøkene er gjennomført i henhold til norsk lov. Se avsnitt under for informasjon om hver test art.



Figur 6. Torskeegg, *Gadus morhua*. Foto: Havforskningsinstituttet

4 dager gamle torskeegg (Figur 6) ble eksponert for syv ulike konsentrasjoner av hydrogenperoksid (0, 90, 180, 360, 540, 720 og 900 mg/l). Det var konstant eksponering uten vannskifting. Døde egg ble telt og fjernet hver dag.



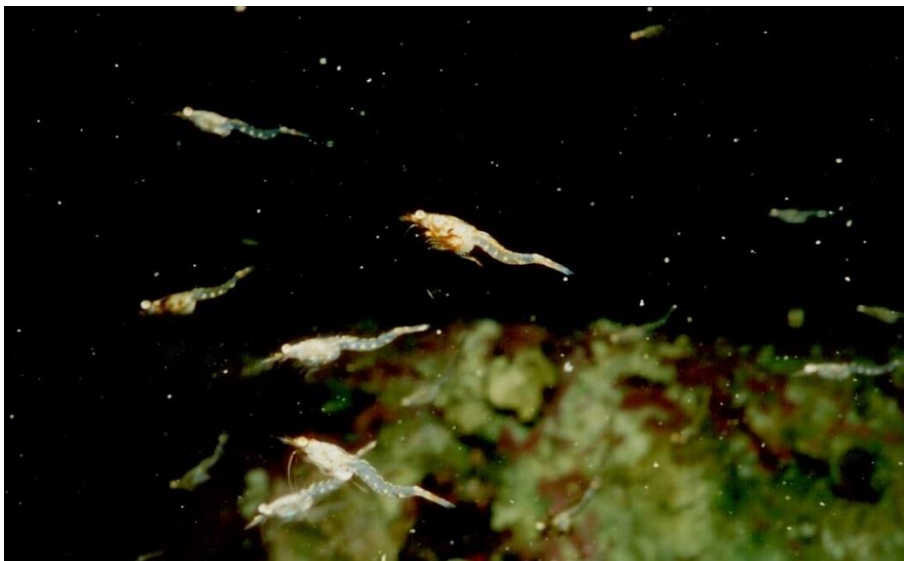
Figur 7. Raudåte, *Calanus finmarchicus*. Foto: Louise Kiel Jensen.

Data på raudåte (Figur 7) er hentet fra masteroppgaven til Escobar Lux (2016): "The effects of an anti-sea lice chemotherapeutant, hydrogen peroxide, on mortality, escape response and oxygen consumption of *Calanus* spp." To ulike livsstadier er studert: voksen raudåte og kopepode stadium V. Eksponeringen ble satt i gang 34 timer etter dyrene ble samlet inn fra havet. Dyrene ble plassert i tanker, og fire konsentrasjoner av hydrogenperoksid ble brukt: 8,5, 17,0, 85,0 og 170,0 mg/l. For hver av disse behandlingene var det tre replikater med 200-250 dyr i hvert replikat. Dyrene ble eksponert i en time. Kopepodene ble ansett som døde når de ble misfarget, deformerte og når en ikke så bevegelse selv etter forsiktig ekstern stimuli. For en mer detaljert beskrivelse av forsøksoppsett, se Escobar Lux (2016).



Figur 8. Strandreke, *Palaemon elegans*. Foto: from a creative common source: Roberto Pillon, 2012 (<http://www.marinespecies.org/photogallery.php?album=717&pic=53607>).

Glasskar på 2000 ml ble fylt med 1000 ml sjøvann og hydrogenperoksid ble tilsatt. 5 strandreker (Figur 8) ble tilsatt hver behandling, og for hver behandling var det fire replikater. Se Brokke (2015) for detaljer på eksponeringsoppsett.



Figur 9. Myside Foto: (Gjermund Bahr)

Glasskar på 2000 ml ble fylt med 1000 ml sjøvann og hydrogenperoksid ble tilsatt. Fem mysider (Figur 9) ble tilsatt hver behandling, og for hver behandling var det fire replikater. Se Brokke (2015) for detaljer på eksponeringsoppsett.

3.4 Økotoksmodellering

NEC og LC_{50} er viktige økotoksparametre som brukes i miljørisikovurderinger. I dette prosjektet har vi brukt DEBtox modellen til å kalkulere LC_{50} verdier og NEC ut ifra rådata fra laboratoriet, samt kalkulert NEC for to arter der tilstrekkelig rådata var tilgjengelig i litteraturen. Under beskrives tekniske aspekter ved LC_{50} og NEC, samt DEBtox modellen og hvordan denne ble brukt.

3.4.1 LC_{50} og NEC

LC_{50} er en av flere økotoksparametre som gir mål på toksisitet, og som brukes i stor grad i økotoksikologiske vurderinger. For å få et mer omfattende bilde av toksisitet brukes også verdier som NOEC, LOEC og NEC. NEC er en anbefalt risikovurderingsparameter, men blir imidlertid sjeldnere kalkulert i økotoksikologiske studier sammenlignet med LC_{50} . For å kunne estimere NEC, må man ha tilgang på rådata fra laboratoriestudiene. Dette er data som ikke alltid er tilgjengelig i publikasjoner. Selv med tilgang på rådata er det ikke alltid mulig å kalkulere NEC, det er avhengig av hvordan dyrene responderer til kjemikaliet. Om de fleste dyrene dør fra et tidspunkt til neste, eller om dyrene dør i starten av forsøket, og det ikke blir en jevn fordeling av dødelighet utover i eksperimentet, kan ikke NEC kalkuleres. NEC kan heller ikke kalkuleres ved å bruke DEBtox om det forventes betydelig vekst av dyrene i løpet av forsøket (www.debtox.info/software.php).

LC_{50} verdier rapportertes med tidsenhet som spesifiserer hvor lenge dyrene ble eksponert i laboratoriet, f.eks LC_{50} (96 timer), som ofte brukes petroleumsindustrien. Fordelen med NEC er at den er tidsuavhengig (altså uavhengig av hvor lenge eksponeringen i laboratoriet varer),

og dette er grunnen til at NEC ikke oppgis med en tidsenhet slik som LC_{50} (t). NEC kan kalkuleres ut ifra akutte eller kroniske toksisitetsdata.

For å se på økosystem under ett kan LC_{50} eller NEC verdier settes sammen til en SSD kurve, og man definerer en PNEC-verdi som skal være gjeldene for det gitte samfunn (Kooijman, 1987). Dette gjøres ved å plote økotoksverdier mot kjemisk konsentrasjon ved å bruke en log-normal fordeling. PNEC skal være beskyttende for 95% av artene (Kooijman 1987). Plotting av SSD forutsetter at man har punkttestimat for arter fra ulike taksonomiske og funksjonelle grupperinger.

Endepunkt for laboratoriestudiene vi har utført er dødelighet. NEC representerer derfor i denne sammenheng den verdien som ikke vil gi dødelighet, uavhengig av hvor lenge dyrene måtte bli eksponert. Kroniske, sub-letale effekter vurderes ikke i dette prosjektet.

3.4.2 NEC kalkulering i DEBtox

Kalkulering av NEC og LC_{50} ble gjort i DEBtox modellen, med unntak av torskeegg, og raudåte der LC_{50} er kalkulert i regi av HI og HI's samarbeidspartnere. Rådataene fra våre forsøk og fra litteraturen ble brukt i en biologi-basert modell for å kalkulere NEC-verdier for de ulike artene (OECD standard, 2006). For å etablere NEC valgte vi modellering fra GUTS rammeverket (Jager et al., 2011). Kalkuleringene ble gjort i forskningsprogramvaren DEBtox (www.debtox.info/software.php). Koden ble kjørt i Matlab versjon 2015b. DEBtox modellen er ekvivalent til GUTS-SIC-SD beskrevet i Jager et al. (2011) for å trekke ut modell-parametere fra dataene.

Prosessen er kort forklart under:

For å evaluere sensitiviteten for hydrogenperoksid for de ulike artene, brukte vi en toksikokinetisk–toksikodynamisk (TKTD) modell (DEBtox) fra rammeverket General Unified Threshold Model of Survival (GUTS, (Jager og Albert et al. 2011)) for å observere mortalitets mønster over tid. Parameterne som beskriver toksisk effekt er:

- En grenseverdi- konsentrasjoner under denne verdien gir ikke effekt. Denne parameteren kalles NEC (oppgitt i mg/L).
- En annen parameter beskriver alvorlighetsgrad av effekt: "killing rate" for overlevelse, k_k (oppgitt i l/mg/h).
- En toksiko-kinetisk parameter, eliminasjonsraten (k_e) (1/h) som er relatert til tidsforløpet av toksiske effekter.

Disse tre parameterne er estimert fra toksisitetsdata ved å bruke følgende formel:

$$\frac{dC}{dt} = k_e(C_d - C)$$
$$h_z = k_k \max(0, C - z)$$

$$\frac{dS}{dt} = -(h_z + h_b)S$$

C (mg/l) er skalert indre konsentrasjon og C_d (mg/l) er hydrogenperoksid konsentrasjon i miljø (eksponeringstank). Fare kalkulert fra hydrogenperoksid, h_z (h^{-1}) er proporsjonen til indre konsentrasjon når NEC (mg/L) er forbigått. Proporsjonalitetsfaktor er "killing rate" k_k (l/mg/h). Noen ganger kan det være mortalitet som ikke kan forklares av kjemikaliet, denne mortaliteteten er indusert ved bakgrunnsfare, h_b (d^{-1}), som er en modellparameter. S er overlevelsessannsynlighet som er tatt proporsjonelt til summen av fareraterne. For en nøyere

beskrivelse og diskusjon av disse parametrene, se (Jager og Albert et al. 2011). BYOM pakken for Matlab og GUTS2 pakken kan lastes ned fra <http://www.debttox.info/byom.html> .

I de tilfellene det ikke var mulig å kalkulere NEC, brukte vi 1/4 av LC₅₀-verdiene som toksisitetsgrense. Denne verdien omtales som qLC₅₀ fra nå og utover i rapporten. Vi gjør oppmerksom på at dette ikke er reelle NEC-verdier for hydrogenperoksid, men et røft mål på NEC. De reelle verdiene kan ligge over eller under den valgte verdien. Det er imidlertid vanlig å bruke LC₅₀ verdi med en sikkerhetsfaktor som PNEC, der reell NEC ikke foreligger.

3.5 Modellering av konsentrasjoner

3.5.1 Fysiske egenskaper

Hydrogenperoksid er biologisk nedbrytbart. Aerobe bakterier produserer katalase enzymer som omdanner hydrogenperoksid til vann og oksygen, og hydrogenperoksid kan defineres som biologisk nedbrytbar i akvatiske miljø (EC 2003). Estimert halveringstid for hydrogenperoksid i akvatisk miljø er fem dager i overflatevann. Ved temperaturer på 4°C og 15°C, omdannes henholdsvis 21% og 54% etter 7 dager (Bruno og Raynard, 1994). Hydrogenperoksid er en reaktivt polar substans, og ingen bioakkumulering er forventet. Estimert log Kow for hydrogenperoksid er rundt -1.5, noe som indikerer lite potensiale for bioakkumulering i akvatiske organismer.

3.5.2 Modellering

Simuleringene av spredning i sjø har blitt utført med modellen FVCOM (The unstructured grid Finite Volume Community Ocean Model, Chen et al., 2003). FVCOM er utviklet ved The Marine Ecosystem Dynamics Modeling Laboratory ved University of Massachusetts-Dartmouth (USA) og er spesielt godt egnet til å simulere strøm i områder med irregulær og komplisert kystlinje. Grunnen til dette er at FVCOM er en ustrukturert grid-modell som tillater at man varierer avstanden mellom modellens beregningspunkter (oppløsning) fra område til område i modelldomenet. For å produsere gode resultater trengs det for eksempel mye høyere oppløsning (kort avstand mellom beregningspunkter) i smale deler av en fjord enn på åpent hav, der lavere oppløsning (stor avstand mellom beregningspunkter) kan være akseptabelt.

Modellen ble satt opp i 3D, dvs. at modellen beregner temperatur, salinitet og strøm både horisontalt og vertikalt. Modellen er drevet av elveavrenning (data fra NVE), atmosfæriske data og strøm, temperatur og salt fra en grovere havmodell som dekker et større område. De atmosfæriske feltene er beregnet av Havforskningsinstituttet ved bruk av atmosfæremodellen WRF (The Weather Research & Forecasting model, <http://www.wrf-model.org/index.php>), og består av vind, regn, langbølget og kortbølget stråling, samt følbare og latente varmekuller mellom hav og atmosfære. Data fra den grovere havmodellen brukes til å spesifisere verdier av strøm, salt og temperatur på modellens render og disse dataene er hentet fra Havforskningsinstituttets modell Norkyst-800 (Albretsen et al, 2011).

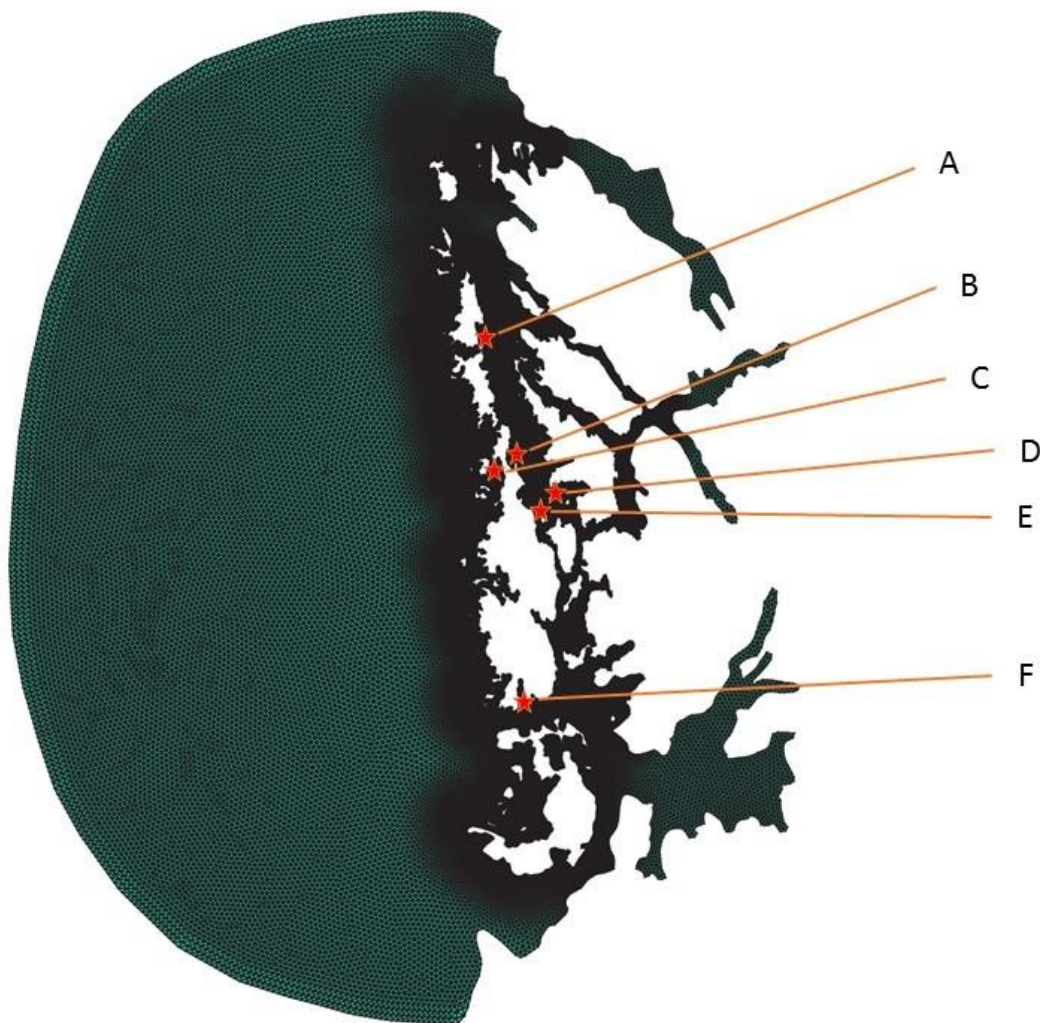
Hydrogenperoksid ble modellert som et sporstoff med en gitt nedbrytningsrate funnet fra oppgitte halveringstider. Til dette har vi brukt FABM (Framework for Aquatic Biochemical Models, Bruggeman og Bolding, 2014). For Hydrogenperoksid har vi brukt en nedbrytningsrate som er avhengig av temperatur. Her har vi brukt en såkalt Q10 formulering tilpasset data fra litteraturen (Bruno og Raynard, 1994). Q10 gir nedbrytningsrate som funksjon av temperatur som følger:

$$R = R_{ref} Q_{10}^{\frac{T-T_{ref}}{10}},$$

Hvor R er nedbrytningsrate, T er temperatur, R_{ref} er nedbrytningsrate ved temperaturen T_{ref} og Q_{10} er en konstant. Vi har brukt $T_{ref} = 10\text{ }^{\circ}\text{C}$, $Q_{10} = 3,28$ og $R_{ref} = 0,074$, som tilsvarer en halveringstid på 9,4 dager.

3.5.3 Modell-område og utslippspunkter

De fysiske simuleringene som her har blitt gjennomført er gjort innenfor et område som dekker flere lokaliteter på Vestlandet. Modellområdet er det samme som brukt i Andersen og Hagen (2016). Modellområdet strekker seg et stykke ut i havet, med finere oppløsning nærmere øyene (Figur 10). Utslipp fra 6 forskjellige anlegg i området har blitt simulert med utslippspunkt som anvist i Figur 10. All modelleringen er gjort for 2013, og i alt 28 utslipp (4 per måned med utslipp på dag 1, 8, 16 og 24) har blitt modellert fra hvert anlegg, i månedene fra og med april til og med oktober. Totalt sett har altså $28 \times 6 = 168$ utslipp blitt simulert her. Således representerer de ulike utslippene forskjellige strøm- og værforhold, samt sesong-variasjonen i temperatur og saltholdighet fra vår til høst i vannmassene.



Figur 10. Modell-område med oppløsning og aktuelle utslippspunkter (stjerner).

Utslipp av hydrogenperoksid blir simulert på den måten at konsentrasjonen settes til null overalt bortsett i fra de gridpunktene som ligger på lokalitetene til anleggene som vi ønsker å studere (Figur 10). I disse punktene blir konsentrasjonen i øverste modell-lag (3 meters dyp) satt til

behandlingskonsentrasjon (her har vi brukt en konsentrasjon på 1600 mg/L i alle simulerte utslipp). Siden modellens oppløsning varierer, vil volumet som slippes ut variere fra sted til sted. For eksempel har modell-området rundt lokalitet A, som er et område med sterk strøm, høy oppløsning på omtrent 50 m. Her vil det simulerte utslippsvolumet da være ca. 7500 m³. Anlegget ved lokalitet A består av firkantmerder, og ved en fortynningsstudie av hydrogenperoksid som ble gjort i april 2016 (Andersen og Hagen 2016) ble merdene heist til ca. 10 m dyp ved behandling. For firkantmerder på 40x20 m heist til 10 m vil volumet være 8000 m³ (Se f.eks. Fiskeridirektoratet og mattilsynets anbefalinger: "For stor merd eller for mange fisk" (2010)). De simulerte utslippene vi har gjort for denne lokaliteten er dermed sammenlignbare med utslippene som er beskrevet av Andersen og Hagen (2016). For de andre lokalitetene er den horisontale oppløsningen i modellen noe lavere, slik at de simulerte utslippene har et høyere utgangsvolum. For utslipp fra anlegget ved C, som også er vist i kap. 4.4, er utgangsvolumet ca. 19900 m³. Dette er sammenlignbart med volumet til en stor sirkelmerd (157 m omkrets), som heist til 10 m har et volum på 19600 m³ (Fiskeridirektoratet og Mattilsynets anbefalinger: "For stor merd eller for mange fisk" (2010)).

Blandingen av hydrogenperoksid og vann vil fortynnes gjennom blanding både horisontalt og vertikalt avhengig av vær og strøm samt tetthetsfordelingen i vannsøylen. Hydrogenperoksid har en større tetthet enn sjøvann, og vil derfor øke tettheten på vannet når det blandes med det omliggende vannet. Under de fleste forhold, når vannet har en vertikal sjiktning i tetthet, vil denne økningen ikke være så stor at blandingen synker helt ned til bunnen, og fordelingen av blandingen vil bli slik at de høyeste konsentrasjonene befinner seg høyere oppe i vannsøylen. Under forhold der vannsøylen er relativt homogen, vil imidlertid en hydrogenperoksidblanding kunne synke konvektivt ned til bunnen på kort tid, og derfra bre seg ut horisontalt. I kapittel 5 ser vi på horisontal utbredelse i det øverste modell-laget (hvor konsentrasjonen normalt er høyest), mens nedsynking og spredning fra bunn har blitt vurdert i et eget underkapittel (4.4.2).

3.6 Risikovurdering

For å vurdere miljørisiko forbundet med utslipp av hydrogenperoksid, sammenfattes resultatene fra økotoksmodelleringen (kap. 3.4) og konsentrasjonsmodelleringen (kap. 3.5) ved bruk metoden oppgitt i ETG (EC 2003).

Hvis PEC/PNEC-verdien er mindre enn 1 antar man at det ikke er behov for å redusere utslipp. Er ratioen større enn 1, kan negative effekter på miljøet oppstå, og man må foreta videre undersøkelser.

PNEC er basert på SSD kurver (species sensitivity distribution curves). Om man ikke har tilstrekkelig økotoksdata for et tilstrekkelig antall arter fra ulike taksonomiske grupperinger og funksjonelle grupper er det en utfordring å kalkulere PNEC. Man må da bruke NEC for enkeltarter. Dette vil også gjøres om det er viktig å se på grenseverdier for arter man ønsker å beskytte (f.eks. viktige kommersielle eller økologiske arter).

Risiko vurderes også ved å bruke andre økotoksparametre enn NEC, for eksempel LC₅₀ verdier (e.g. Brokke 2015, HI risikovurdering 2016). I dette prosjektet vurderes NEC for hver enkelt art. I de tilfeller der det ikke er tilstrekkelige økotoksikologisk informasjon til å utarbeide NEC, bruker vi LC₅₀ med en sikkerhetsfaktor (qLC₅₀ som er ¼ av LC₅₀).

Plottene fra FVCOM simuleringene viser PEC-verdier for modellområdet (forventet konsentrasjon ute i miljøet, se avsnitt 3.5). PEC-verdiene blir sammenlignet med NEC-verdier som er funnet fra økotoksmodelleringen (se avsnitt 3.4). Om evalueringen viser at PEC verdier overskrider NEC verdier (PEC/PNEC>1), må vi vurdere resultatene med tanke på om det finnes forhold som må tas med i vurdering av risiko.

4 Resultater

4.1 Målte konsentrasjoner i behandlingsvann

Resultatene for målte konsentrasjoner i behandlingsvann vises i Tabell 2 for eksperimentene gjort i regi av Akvaplan-niva.

Tabell 2. Nominelle og målte hydrogenperoksidkonsentrasjoner (mg/l) ved forsøket start (T0) og slutt (T24) for rognkjeks, kråkeboller, dypvannsreke og kongssnegl.

Nominell [H ₂ O ₂]	Rognkjeks		Kråkeboller		Dypvannsreke		Kongssnegl
	T0	T24	T0	T24	T0	T24	T0
0	18	16	11	10	22	2	11
100	108	104	101	98	118	90	103
200	205	199	205	205	221	190	213
300	302	298	304	300	298	192	307
400	412	400	400	401	388	269	394
500	499	486	497	488	442	241	477

4.2 Økotoksdatabase

De fleste økotoksstudier på hydrogenperoksid rapportert i litteraturen er gjennomført på terrestriske arter og ferskvannsarter. Databasen etablert i dette prosjektet fokuserer på marine arter, og 52 studier er inkludert i databasen. Eksponeringstid varierer fra 20 minutter til 32 dager. Forsøkene varierer også i eksponeringsmetode (f.eks. konstant, semi-statisk og flow-through). De fleste studier oppgir LC₅₀ som endepunkt, samt noen EC₅₀ verdier.

Vi har evaluert innsamlede data, for å sjekke om det finnes relevante data (LC₅₀ og NEC), samt rådata fra laboratoriet som kan brukes til NEC kalkuleringer. I dette prosjektet ønsker vi å vurdere risiko for norske arter, derfor har vi bare plukket ut arter som finnes i det marine miljøet i Norge. Ved gjennomgang fant vi 2 arter som oppfyller våre krav. Den ene er tangmysiden *Praunus flexuosus* og den andre er strandreken *Palaemon elegans* (Brøkke 2015). For disse artene oppgis det LC₅₀ (24t) verdier for hydrogenperoksid. For en fullstendig oversikt over innsamlet data, se egne leveranse (økotoksdatabase).

Når man skal utarbeide en SSD-kurve bør endepunktene som legges inn i kurven være sammenlignbare. For å kunne benytte resultatene fra Brøkke (2015) til å utarbeide en SSD-kurve for hydrogenperoksid i dette prosjektet ble det derfor besluttet å følge et lignende oppsett i våre laboratorieforsøk, dvs. 24 t eksponering for hydrogenperoksid.

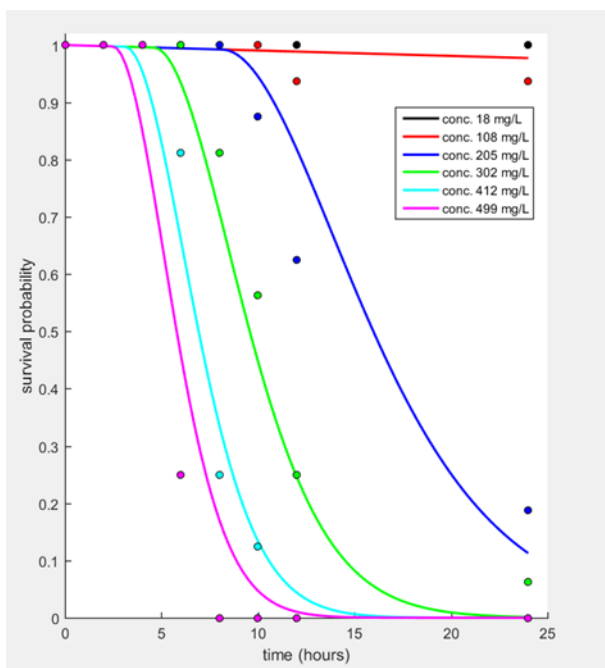
4.3 Økotoks eksperimenter og økotoksmodellering

Rådata fra laboratorieforsøk, DEBtox modellering av overlevelse som funksjon av tid, samt LC₅₀ og NEC verdier presenteres under for hver art.

Rognkjeks (*Cyclopterus lumpus*)

Tabell 3 Antall overlevende rognkjeks per tidspunkt. Konsentrasjoner er målte verdier.

	K1	K2	K3	K4	K5	K6
Tid (t)	18 (mg/l)	108 (mg/l)	205 (mg/l)	302 (mg/l)	412 (mg/l)	499 (mg/l)
0	16	16	16	16	16	16
2	16	16	16	16	16	16
4	16	16	16	16	16	16
6	16	16	16	16	13	4
8	16	16	16	13	4	0
10	16	16	14	9	2	0
12	16	15	10	4	0	0
24	16	15	3	1	0	0

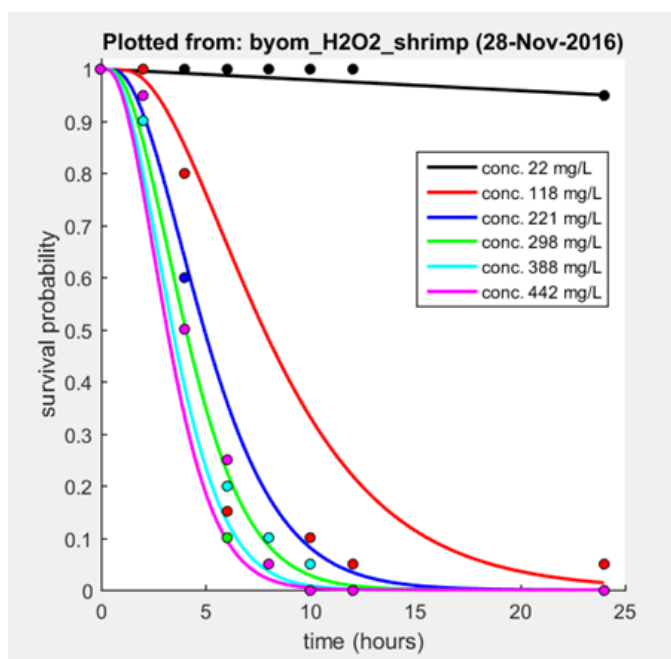


Figur 11. Overlevelse som funksjon av tid for rognkjeks. Symboler: observerte verdier. Linjer DEBtox model prediksjoner. Konsentrasjoner er målte verdier ved eksperimentets begynnelse.

Dypvannsreke (*Pandalus borealis*)

Tabell 4. Antall overlevende dypvannsreke telt ved hvert tidspunkt. Konsentrasjoner er målte verdier ved eksperimentets start.

	K1	K2	K3	K4	K5	K6
Tid (t)	22 (mg/l)	118 (mg/l)	221 (mg/l)	298 (mg/l)	388 (mg/l)	442 (mg/l)
0	20	20	20	20	20	20
2	20	20	18	18	18	19
4	20	16	12	10	10	10
6	20	3	4	2	4	5
8	20	2	2	1	2	1
10	20	2	0	1	1	0
12	20	1	0	0	0	0
24	19	1	0	0	0	0



Figur 12 Overlevelse som funksjon av tid for dypvannsreke. Symboler: observert; Linjer: DEBtox model prediksjoner. Konsentrasjoner er målte verdier ved eksperimentets begynnelse.

Laveste målte konsentrasjon for hydrogenperoksid var 22 mg/l. Vi antar at dødelighet i kontrollgruppen ikke skyldes hydrogenperoksid-konsentrasjonen i inntaksvannet, siden dyrene hadde blitt akklimatisert uten å vise tegn til stress i 24 t før forsøksstart. Derfor ble bakgrunns mortalitet (mortalitet som skyldes andre årsaker enn kjemikalie) estimert. NEC, "killing rate" og eliminasjonsrate, ble kalkulert ved den forutsetningen at NEC må være høyere enn konsentrasjonen i kontrollgruppa (K1).

Kråkeboller (*Strongylocentrotus droebachiensis*)

I motsetning til de andre artene, var det en utfordring å bestemme om kråkebollene faktisk var døde eller ikke. De ble derfor ikke tatt ut av behandlingskarene, men registrert som døde (tabell 5). Ved eksperimentets slutt ble antatt "døde" individer plassert i en recovery tank. Etter 48 timer var det bare 3, 4, 5 og 7 individer som ikke kom seg i 205, 304, 400 og 497 mg/L behandling, respektivt. Økotoksmålene fra dette eksperimentet er derfor basert på atferd, og ikke dødelighet. DEBtox kunne ikke kalkulere atferd over tid da vi ikke fikk en jevn fordeling over tid. Vi har ikke økotoksikologiske punkttestimat for denne arten. NEC (basert på atferd) antar vi ligger et sted mellom 10 og 100 mg/L (gitt at kråkebollene ikke kommer seg). Dette estimatet kan regnes som økotoksverdi for atferdsendringer, men det kan være en overestimering her, da vi observerte at kråkebollene kom seg igjen etter 48 timer i rent vann. Resultatene kan indikere at eksponering for en konsentrasjon (alt fra 10-100 mg/L) kan føre til atferdsendringer hos kråkeboller. Usikkerheten rundt disse tallene er store, og vi vil derfor ikke diskutere disse tallene opp mot PEC verdier.

Tabell 5. Antall kråkeboller som viser tegn på overlevelse (tubeføtter beveges eller suges fast) ved tidspunkt 0-24. K=konsentrasjon av hydrogenperoksid (målte verdier i behandlingsvann ved starten av forsøket). Merk: da antatt døde kråkeboller kom seg etter endt eksponering er ikke dette et mål på akutt dødelighet, men atferds forandringer.

	K1	K2	K3	K4	K5	K6
tid (t)	11 (mg/l)	101 (mg/l)	205 (mg/l)	304 (mg/l)	400 (mg/l)	497 (mg/l)
0	20	20	20	20	20	20
2	20	0	0	0	0	0
4	20	0	0	0	0	0
6	20	0	0	0	0	0
8	20	0	0	0	0	0
10	20	0	0	0	0	0
12	20	0	0	0	0	0
24	20	0	0	0	0	0

Kongssnegl (*Buccinum undatum*)

For kongssnegl var det heller ikke mulig å observere overlevelse over tid, da alle sneglene døde mellom starttidspunkt og første observasjon.

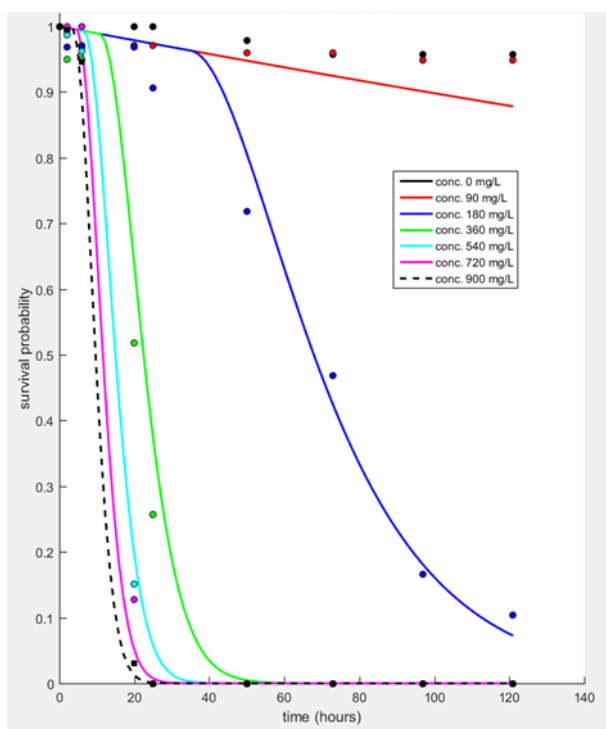
Tabell 6. Antall levende kongssnegl per tidspunkt. K=konsentrasjon av hydrogenperoksid (målte verdier i behandlingsvann ved starten av forsøket).

Tid (t)	K1	K2	K3	K4	K5	K6
	11 (mg/l)	103 (mg/l)	213 (mg/l)	307 (mg/l)	394 (mg/l)	477 (mg/l)
0	20	20	20	20	20	20
2	20	0	0	0	0	0
4	20	0	0	0	0	0

Torskegg (*Gadus morhua*)

Tabell 7. Antall levende torskeegg per tidspunkt. Konsentrasjon er nominell konsentrasjon. Ved tid 0 er det oppgitt antall egg brukt i de ulike behandlingene.

	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7
tid (t)	0 (mg/l)	90 (mg/l)	180 (mg/l)	360 (mg/l)	540 (mg/l)	720 mg/l	900 (mg/l)
0	93	174	96	199	159	141	166
2	93	173	93	189	157	141	165
6	93	169	93	189	153	141	157
20	93	169	93	103	24	18	5
25	93	169	87	51	0	0	0
50	91	167	69	0	0	0	0
73	89	167	45	0	0	0	0
97	89	165	16	0	0	0	0
121	89	165	10	0	0	0	0



Figur 13. Overlevelse som funksjon av tid for torskeegg. Symboler: observert; Linjer: DEBtox model prediksjoner. Konsentrasjon er nominell konsentrasjon. Vi antar at eggene ikke vokste i løpet av eksponeringstiden.

Raudåte (voksen og kopepoditt stadi V) (*Calanus finmarchicus*)

Tabell 8. Prosent overlevelse av raudåte etter 1 times eksponering for 4 forskjellige konsentrasjoner av hydrogenperoksid uten restitusjonstid (data: Escobar Lux 2016).

	K1	K2	K3	K4
	8,5 (mg/l)	17 (mg/l)	85 (mg/l)	170 (mg/l)
Kopepoder stadium V	100 %	86 %	86 %	62 %
Voksne hunner	100 %	86 %	26 %	3 %

Tabell 9. Prosent overlevelse av raudåte etter 1 times eksponering for 4 forskjellige konsentrasjoner av hydrogenperoksid med 24 timers restitusjonstid i rent sjøvann.

	K1	K2	K3	K4
	8,5 (mg/l)	17 (mg/l)	85 (mg/l)	170 (mg/l)
Kopepoder stadium V	100 %	70 %	66 %	8 %
Voksne hunner	100 %	86 %	11 %	0 %

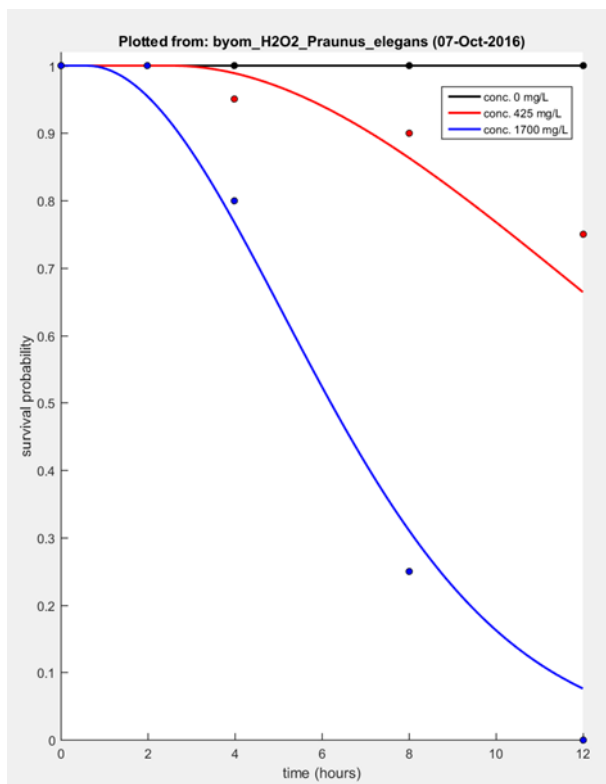
Etter en times eksponering ble det oppnådd 97 % dødelighet i den høyeste konsentrasjonen. Etter endt eksponering (1 time) ble de overlevende kopepodene plassert i rent sjøvann i 24 timer. Det ble da oppnådd 100 % dødelighet.

I forsøket på raudåte (Escobar Lux) var det ikke gjort mange nok observasjoner i løpet av eksponeringstiden (1 time) til at DEBtox kunne gi grafer på overlevelse over tid.

Strandreke (*Palaemon elegans*) (data fra appendix, Brokke 2015)

Tabell 10. Antall levende *P. elegans* pr. tidspunkt. 12 t eksponering etterfulgt av 12 timer i rent vann (Data: appendix i Brokke 2015, side 101-102).

Tid (h)	K1	K2	K3
	0 (mg/l)	425 (mg/l)	1700 (mg/l)
0	10	20	20
2	10	20	20
4	10	19	16
8	10	18	5
12	10	15	0



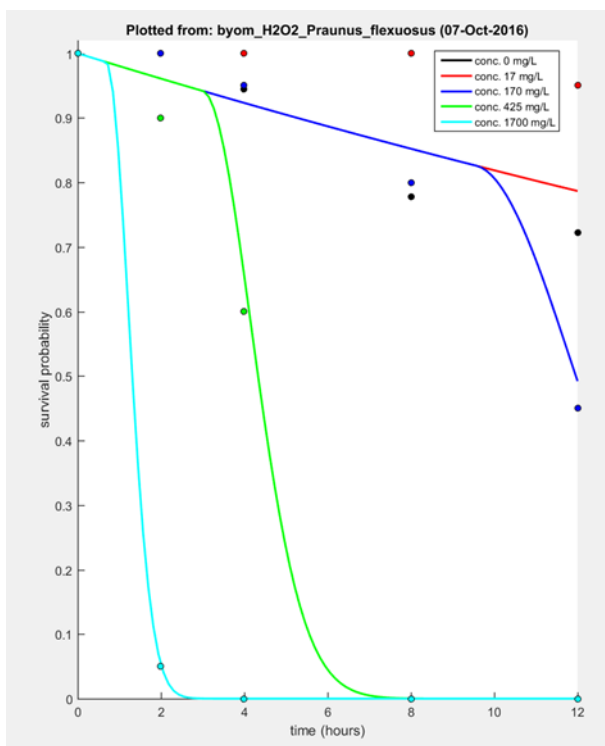
Figur 13. Overlevelse som funksjon av tid for stranderke. Symboler: observerte verdier, Linjer DEBtox model prediksjoner. Konsentrasjon er nominell konsentrasjon.

Det ble også utført flere forsøk på hydrogenperoksid og *P. elegans* i Brokke (2015). Disse forsøkene ble gjort med en times eksponering, og det ble ikke oppnådd 100% dødelighet i høyeste konsentrasjon, LC_{50} kunne derfor ikke kalkuleres (se Brokke 2015 for detaljer). I et 24 t eksperiment var alle individene i live i kontrollen, og ved neste dose (425 mg/L) var alle døde (Bokke 2015). I det siste forsøket i Brokke 2015 ble *P. elegans* eksponert 12 timer og deretter overflyttet til rent vann i 12 t. Forsøket viste at det oppstod dødelighet på de overlevende rekene etter at de ble satt i rent vann, det oppsto altså en "forsinket" effekt (Brokke 2015). Dette forsøket er det vi har brukt videre for å kalkulere LC_{50} og NEC i DEBtox, da dette var det som gav nok informasjon om overlevelse over tid. Siden det bare var eksponering de første 12 timene i disse forsøkene, har vi kun brukt data fra de tolv første timene i våre DEBtox kalkuleringer, og estimert LC_{50} (24) ut ifra disse.

Tangmyside (*Praunus flexuosus*)

Tabell 11. Antall levende tangmysider pr. tidsenhet. 12 timers eksponering etterfulgt av 12 timer i rent vann (Data: appendix i Brokke 2015, side 97-99).

Tid (t)	K0	K1	K2	K3	K4
	0 (mg/l)	17 (mg/l)	170 (mg/l)	425 (mg/l)	1700 (mg/l)
0	18	20	20	20	20
2	18	20	20	18	1
4	17	20	19	12	0
8	14	20	16	0	0
12	13	19	9	0	0



Figur 14. Overlevelse som funksjon av tid for tangmysid. Symboler: observerte verdier, Linjer DEBtox modell prediksjoner Konsentrasjon er nominell konsentrasjon.

Det ble også utført flere forsøk på hydrogenperoksid og *P. flexuosus* i Brokke (2015) (slik beskrevet over for *P. elegans*) (Se Brokke 2015 for detaljer). I det siste forsøket i Brokke 2015 ble *P. flexuosus* eksponert 12 timer før de ble flyttet over i rent vann i 12 t. I likhet med *P. elegans* oppstod det dødelighet på de overlevende rekene etter at de ble satt i rent vann, og forsøket viser derfor "forsinket" effekt (Brocke 2015). Dette forsøket er det vi har brukt videre for å kalkulere LC_{50} og NEC i DEBtox, da dette gav nok informasjon om overlevelse over tid. Siden det bare var eksponering de første 12 timene i disse forsøkene, har vi brukt data kun fra de tolv første timene i våre DEBtox kalkuleringer, og estimert LC_{50} (24) ut ifra disse.

Tabell 12 viser ulike økotoksparametre estimert i DEBtox for de artene det lot seg gjøre.

Tabell 12. DEBtox parameter estimater for: *C. lumpus*, *P. borealis*, *S. droebachiensis*, *B. undatum*, *P. flexuosus*, *P. elegans*. NEC verdien som oppgis er beste estimat og med 95% konfidens intervall i parentes. * basert på atferdsforandringer og ikke tatt hensyn til "recovery" etter 48 timer. ** verdien er tvunget, se seksjon for *P. borealis* for detaljert informasjon rundt estimeringen.

	NEC (mg/L)	24 t LC ₅₀ (mg/L)	Eliminasjonsrate k_e (1/h)	"Killing rate" k_k (l/mg/d)	Bakgrunns- fare h_b (1/h)
<i>Cyclopterus lumpus</i>	128 (88-156)	167	0,12 (0,07-0,18)	0,003 (0,002- 0,005)	0,001 (5,6 10 ⁻⁵ – 0,004)
** <i>Pandalus borealis</i>	23 (23 - 38)	37	0,19(0, 12-0,33)	0,003 (0,002 – 0,004)	0,002
* <i>Strongylocentrotus droebachiensis</i>	Mellom 10 og 100		-	-	-
<i>Buccinum undatum</i>	Mellom 10 og 100		-	-	-
<i>Praunus flexuosus</i>	98 (54 - 139)	117	0,08 (0,04 - 0,34)	0,027 (0,003 - 0,084)	0,02 (0,01 - 0,03)
<i>Palaemon elegans</i>	60 (0 - 107)	238	0,06 (0,04- 0,43)	0,0005 (0,0001 - 0,03935)	-
<i>Gadus morhua</i> egg	147 (141-153)	342	0.048(0.044- 0.055)	0.0012(0.0010- 0.0014)	0.0010 (0.0007722 - 0.001447)

Tabell 13 viser de økotoksparametre som brukes videre i sammenligning med PEC konsentrasjoner. Her er økotoksparametre som ikke er modellert via DEBtox modellen også oppgitt (økotoksparametre utarbeidet av HI). Der NEC ikke foreligger, har vi kalkulert qLC50 som er grovt anslag for NEC.

Tabell 13. Økotoksparametre for ulike norske arter som er testet for følsomhet for hydrogenperoksid. Det er disse verdiene som brukes i videre sammenligning med PEC verdier. *punkttestimat ikke kalkulert
**usikre tall, brukes ikke videre

Art	NEC (mg/L)	LC50 (mg/L)	LC50 (t)	9LC50 (mg/L)
<i>Cyclopterus lumpus</i>	128	167	24	
<i>Pandalus borealis</i>	23	37	24	
<i>Strongylencotrus droebachiensis</i> **	10-100	10-100		
<i>Buccum undatum</i> *	10-100	10-100		
<i>Gadus morhua</i>	147	342	24	
<i>Calanus finmarchicus</i> (voksen)		35	1	9
<i>Calanus finmarchicus</i> (copepoditt stadi V)		173	1	43
<i>Praunus flexuosus</i>	98	117	24	
<i>Praunus elegans</i>	60	238	24	

4.3.1 Rangering av arter basert på følsomhet for hydrogenperoksid

Basert på våre økotoksresultater har vi foretatt en rangering av artene vi har testet så langt. De mest sensitive artene av de vi har testet er: raudåte (voksen og copepoditt stadi V) og kongsnegl. De minst sensitive er torskeegg, rognkjeks og tangmysiden. Kråkeboller er noe uvisst da verdiene er basert på atferd og ikke dødelighet, og derav vanskelig å sammenligne. Når det gjelder dypvannsreke, har den en lav NEC verdi, men vi observerer at de fleste rekene er i live etter 2 timers eksponering for konsentrasjoner opp til 442 mg/L (Tabell 3). Vi anser derfor rekene som mer robust sammenlignet med de mest sensitive artene der alle testindividene var døde etter 1 og 2 timers eksponering (Tabell 5 og 7). Rekene er imidlertid mer sensitive enn de mest robuste artene.

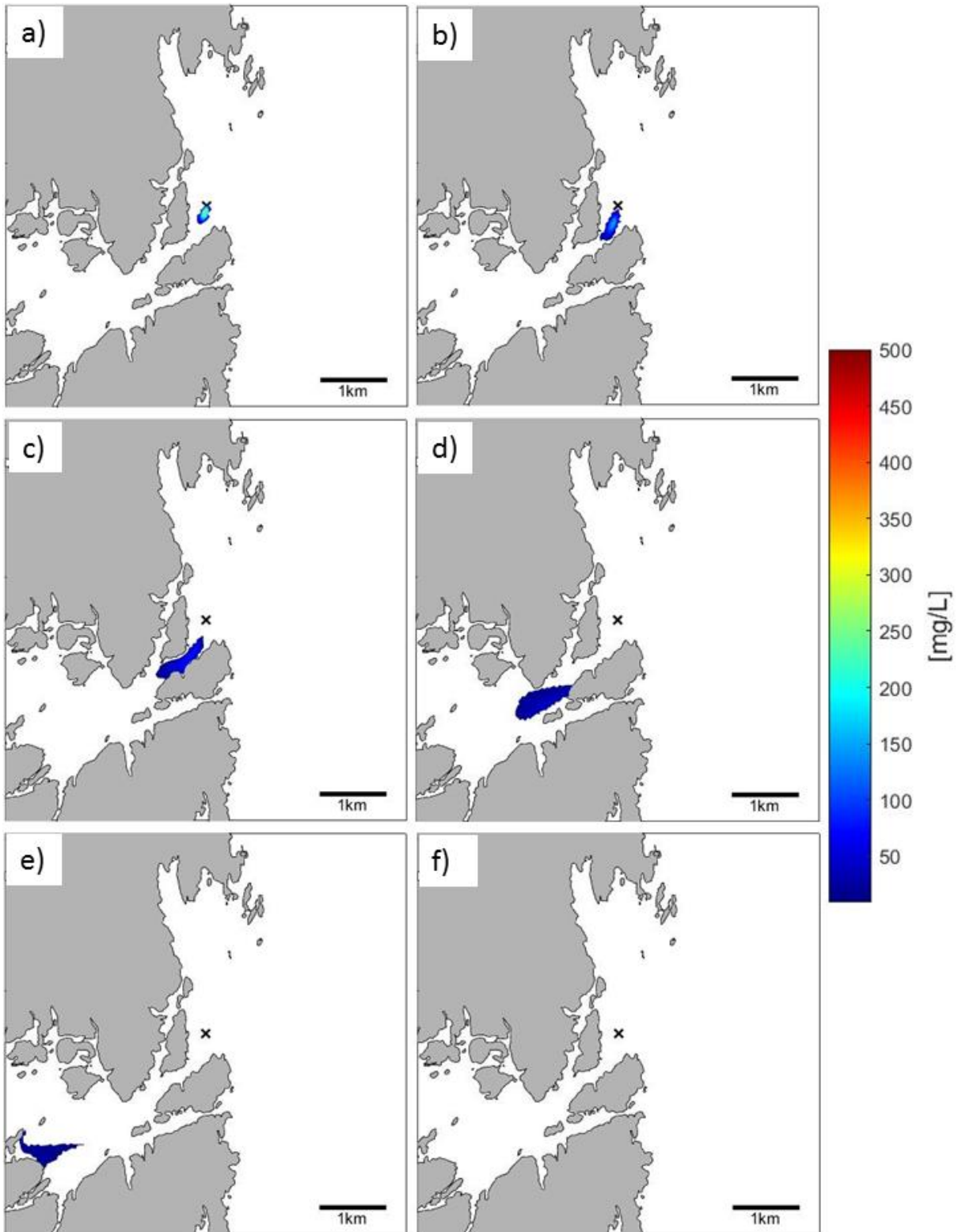
Vi setter ikke sammen økotoksdataene for de individuelle artene til en SSD kurve pga. følgende forhold:

- Vi har ikke punkttestimat for to av artene som er representanter for viktige taksonomiske grupper. SSD må ha arter som representerer mange ulike taksonomiske grupperinger.
- Vi ønsker å diskutere følsomheten til hver enkelt art, da vi har testet viktige kommersielle og økologiske arter.
- Basert på resultater fra konsentrasjonsmodelleringen i neste kapittel (4.4) bør fremtidige økotoksforsøk med hydrogenperoksid utføres med kortere eksponeringstid.

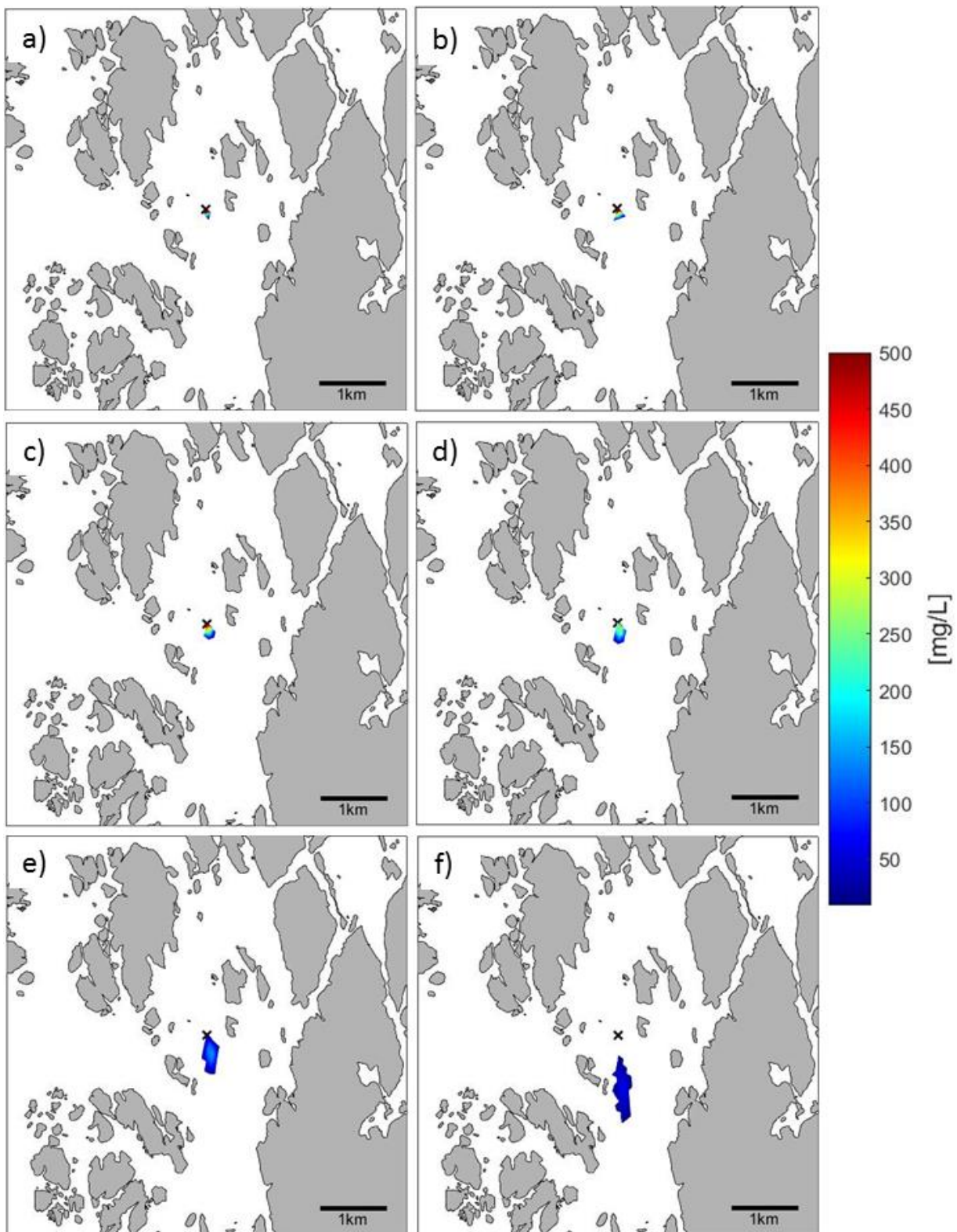
4.4 Spredning og konsentrasjonsutbredelse

4.4.1 Spredning og konsentrasjonsutbredelse

I alle simuleringene vi har gjort her synker konsentrasjonen av hydrogenperoksid raskt etter utslipp pga. fortytning, og i alle tilfeller er fortytningen så raskt at nedbrytningsraten i praksis har liten betydning for konsentrasjonen. Lokalitet har imidlertid relativt stor betydning for hvor stort utbredelses-område som påvirkes og hvor høye konsentrasjonene av hydrogenperoksid blir. Generelt kan man se at fortytningen er raskest for utslipp fra lokaliteter som er mer eksponert for strøm- og vind, og typiske eksempler på dette er illustrert i Figur 15 og 16. Siden det her er målet å vurdere risiko har vi i figurene vist område med hydrogenperoksid-konsentrasjoner over 10 mg/L. Denne verdien tilsvarer laveste NEC-verdi for de artene som her er undersøkt. Figur 15 og 16 viser begge simulerte utslipp på samme tidspunkt (1/6-13), men Figur 15 viser en strømsterk lokalitet (A), mens Figur 16 viser en lokalitet med mindre strøm (C).



Figur 15. Simulert spredning og fortynning av hydrogenperoksid fra lokalitet A (utslippspunkt markert med kryss) ved utslipp 01/06-13. Farge indikerer konsentrasjon ved a) 12 min., b) 24 min., c) 36 min., d) 1 time, e) 2 timer, f) 4 timer. Nedre grense for konsentrasjon som er vist er 10 mg/L.

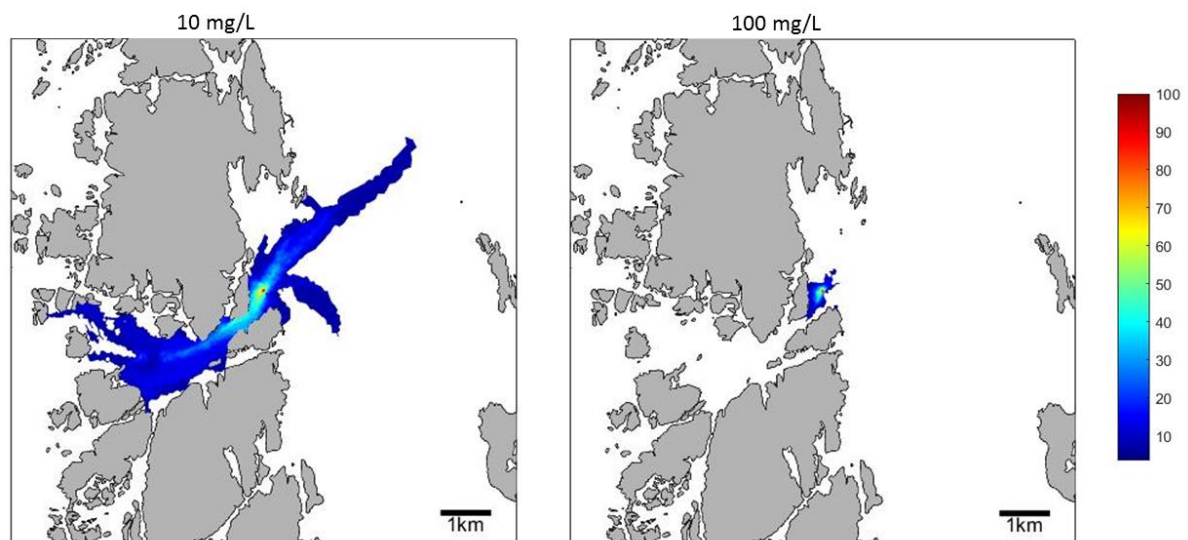


Figur 16. Simulert spredning og fortynning av hydrogenperoksid fra Lokalitet C (utslippspunkt markert med kryss) ved utlipp 01/06-13. Farge indikerer konsentrasjon ved a) 12 min., b) 24 min., c) 36 min., d) 1 time, e) 2 timer, f) 4 timer. Nedre grense for konsentrasjon som er vist er 10 mg/L.

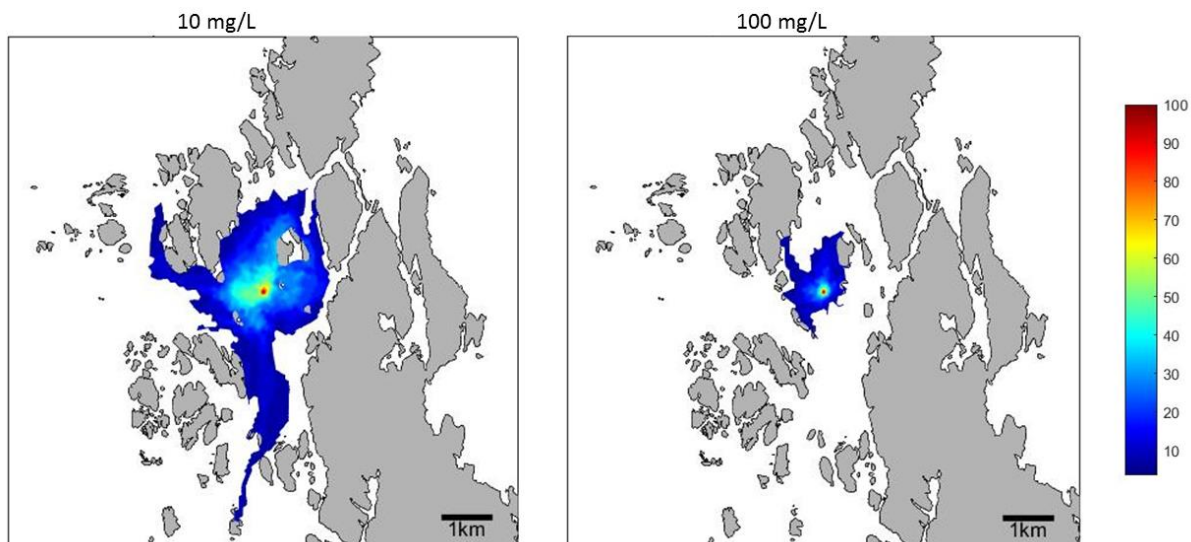
Som man ser fra Figur 15 så vil strømmen i dette tilfellet føre hydrogenperoksid vestover og ut gjennom sundet, og konsentrasjonen faller raskt fra ca. 250 mg/L 12 minutter etter utslippet

(Figur 15-a) til rundt 100 mg/L etter 36 minutter (Figur 15-c). Den raske spredningen av utslippet gjør at områder er eksponert for konsentrasjoner over 10 mg/L i kort tid, samtidig som at uttynningen fører til at konsentrasjonen av hydrogenperoksid i hele området er under 10 mg/L etter 4 timer (borte i Figur 15-f). Tidevannsstrømmen vil vekselvis transportere vann ut og inn gjennom sundet og har en stor påvirkning på spredningen av utslipp fra Lokalitet A. For det simulerte utslippet vist i Figur 16 fører mindre strøm til at konsentrasjonen av hydrogenperoksid holder seg høyere i lengre tid, samtidig som utslippet spres en kortere avstand fra anlegget. I Figur 16 vises konsentrasjons-utbredelsen i inntil 4 timer etter utslippet, men områder med konsentrasjoner over 10 mg/L kan finnes i inntil 10 timer for dette tilfellet.

Figur 15 og 16 gir eksempler på hvordan hydrogenperoksid spres og fortynnes etter ett enkelt utslipp. Siden vind- og strømforhold varierer for hver lokalitet, vil spredningen variere fra ett utslipp til et annet. Figur 17 og 18 viser hvilke områder som kan oppnå konsentrasjoner på eller over 10 og 100 mg/L. Fargeskalaen i figurene angir hvor mange prosent av de 28 utslippene som gir konsentrasjoner på de gitte verdiene ved noe tidspunkt.



Figur 17. Områder hvor konsentrasjonen har oversteget 10 mg/L (venstre panel) og 100 mg/L (høyre panel) i løpet av 28 simulerte utslipp fra Lokalitet A. Fargeskalaen viser hvilken andel i prosent av utslippene som har gitt konsentrasjoner over de gitte verdiene.



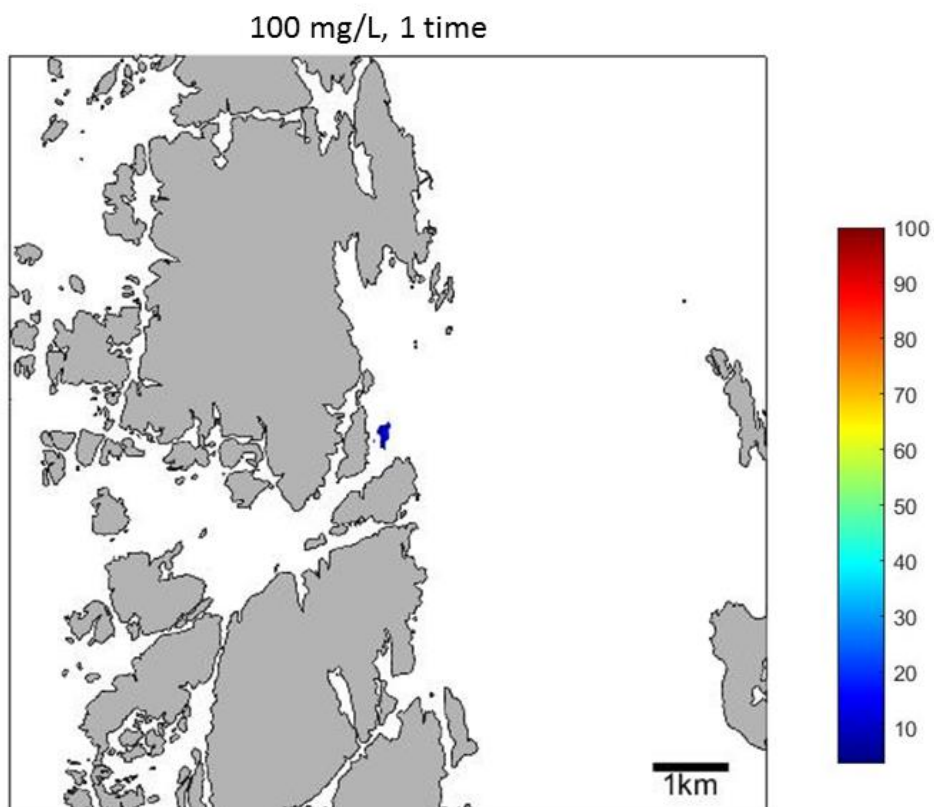
Figur 18. Områder hvor konsentrasjonen har oversteget 10 mg/L (venstre panel) og 100 mg/L (høyre panel) i løpet av 28 simulerte utslipp fra Lokalitet C. Fargeskalaen viser hvilken andel i prosent av utslippene som har gitt konsentrasjoner over de gitte verdier.

Siden fargeskalaen indikerer prosent av 28 utslipp per utslippspunkt, vil for eksempel mørkeblå farge bety at 1 av 28 utslipp har gitt konsentrasjoner over den gitte verdien her. Figurene viser tydelig at områdene blir mye mindre for høyere konsentrasjoner, og for å finne konsentrasjoner over 100 mg/L må man stort sett innenfor en radius på 1-2 km rundt anleggene. Her er det viktig å understreke at vi ser på områder påvirket av alle de 28 utslippene fra hvert anlegg, og at Figur 17 og 18 altså ikke representerer områder påvirket av ett enkelt utslipp. Hvilken retning og hvilket område som påvirkes ved hvert enkelt utslipp varierer i stor grad med strømforholdene ved det enkelte tidspunkt, som indikert ved store blå områder i Figur 17 og 18. Utbredelsesområdene vist i Figur 17 og 18 gir en indikasjon på hvilke områder som har høyest sannsynlighet for å få konsentrasjoner av hydrogenperoksid over henholdsvis 10 og 100 mg/L.

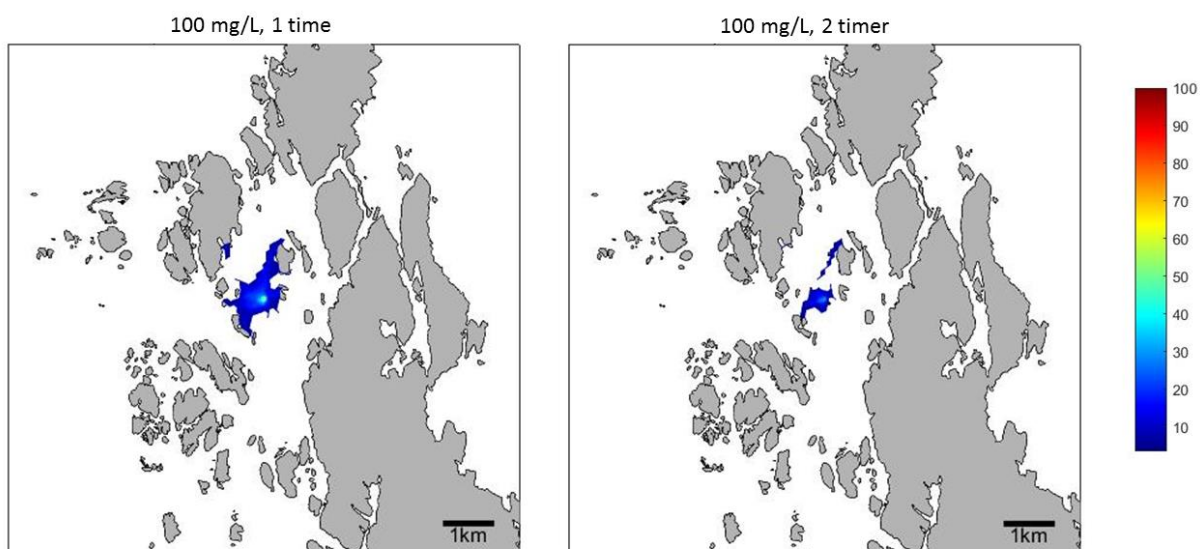
Fra alle simuleringer ser vi at kun områder nær anleggene (<1km avstand) ser ut til å oppleve konsentrasjoner over 300 mg/L. Fortynningen av hydrogenperoksid etter et utslipp er også studert ved målinger i felt i et studie av Aqua kompetanse AS fra 2016 (Andersen og Hagen 2016). I rapporten for dette studiet beskrives målinger fra 14. og 15. april 2016 som er tatt ved det samme anlegget som er brukt i simuleringene vist i Figur 15 og 17 (Lokalitet A). Disse målingene er tatt nærme selve anlegget (maksimum 37m fra senter av nota), og i forhold til modellens oppløsning (>50m) ligger måle-stasjonene så tett at en direkte sammenligning av fortynning ikke er mulig. Imidlertid kan man se at resultatene fra denne studien stemmer kvalitativt overens med resultatene vi finner her med tanke på at konsentrasjonen av hydrogenperoksid fortynnes raskt i tid og rom. Modell-simuleringene indikerer at lave konsentrasjoner av hydrogenperoksid kan finnes et stykke unna anleggene (se f.eks. Figur 15-e) i opptil flere timer etter utslippet. Hvor slike små "flekker" med rester av hydrogenperoksid befinner seg varierer med de lokale strømforholdene (se Figur 17 og 18), og blir i praksis vanskelige å fange opp med et begrenset antall stasjonære målepunkter.

Figur 17 og 18 viser kun områder hvor konsentrasjoner har oversteget 10 og 100 mg/L på ett eller flere tidspunkt i løpet av alle simuleringer, og tar ikke hensyn til hvor lang eksponeringstiden har vært. For å vurdere eksponeringstid har vi i Figur 19 og 20 illustrert hvilke områder som i løpet av alle utslipp er eksponert for konsentrasjoner over 100 mg/L i

over 1 og 2 timer. Disse figurene viser altså det samme som Figur 17 og 18, men med en minimumstid for eksponering.



Figur 19. Område hvor konsentrasjonen av hydrogenperoksid har oversteget 100 mg/L i mer enn 1 time etter simulerte utlipp fra Lokalitet A. Fargeskalaen viser hvilken andel i prosent av utlippene som har gitt konsentrasjoner over 100 mg/L i over 1 time.



Figur 20. Område hvor konsentrasjonen av hydrogenperoksid har oversteget 100 mg/L i mer enn 1 time (venstre) og 2 timer (høyre) etter simulerte utlipp fra Lokalitet C. Fargeskalaen viser hvilken andel i prosent av utlippene som har gitt konsentrasjoner over 100 mg/L i over 1 og 2 timer.

Figur 19 viser hvilke områder som etter de simulerte utslippene fra Lokalitet A har hatt konsentrasjoner av hydrogenperoksid over 100 mg/L i over 1 time. Det er kun et lite område rundt selve anlegget dette gjelder, og for denne lokaliteten gir ingen av de 28 utslippene konsentrasjoner over 100 mg/L i mer enn ca. 1,5 timer. For Lokalitet C lenger sør, som vist i Figur 20, er det i små områder i nærheten av anlegget konsentrasjoner av hydrogenperoksid som holder seg over 100 mg/L i mer enn 2 timer etter enkelte utslipp. Tabell 14 viser maksimal eksponeringstid for konsentrasjoner over 10, 50, 100, 150, 200, 250 og 300 mg/L i noe punkt i hele modellområdet (dvs. utslipp fra alle 6 anlegg), midlet over alle 28 utslippstidspunkter.

Tabell 14. Maksimal tid i noe punkt over ulike konsentrasjoner midlet over alle simulerte utslipp.

Konsentrasjon (mg/L)	10	50	100	150	200	250	300
Maksimum antall timer over konsentrasjon	3,12	2,04	1,69	1,46	1,32	1,17	1,1

4.4.2 Nedsynkning og spredning på bunn

Figurene 15 til 20 er basert på konsentrasjonen i det øverste laget i modellen (0-3 m). Selv om hydrogenperoksid også blandes ned til dypere lag som følge av turbulens, vil konsentrasjonen under de fleste forhold være høyest nær overflaten, og den horisontale spredningen her gir et godt bilde på hvordan hydrogenperoksidet brer seg ut fra utslippene. I tillegg til turbulent nedblanding, er som nevnt konvektiv nedsynkning av hydrogenperoksid mulig under spesielle forhold. I forfettingsstudien gjennomført av Aqua kompetanse AS (Andersen og Hagen 2016) ble det ved ett tilfelle målt konsentrasjoner på 43% av behandlingskonsentrasjonen på bunnen (70 m dyp) 8 minutter etter et utslipp ved Lokalitet A. I dette utslippet var volumet sammenlignbart med de simulerte utslippene vi har gjort for denne lokaliteten (se Figur 15), men med en litt høyere behandlingskonsentrasjon (1700 mg/L i Aqua Kompetanse AS sitt studie mens vi brukte 1600 mg/L i de simulerte utslippene). Siden hverken turbulent blanding eller vertikale hastigheter i havet normalt vil kunne virke så raskt, anser vi konvektiv synkning ("plume-synking") som eneste sannsynlige forklaringen på hvorfor dette skjer. Den høye konsentrasjonen som er målt på bunn av Aqua kompetanse AS korrelerer med en topp i strømstyrke (se deres Figur 3.1 – 3.5) og er relativt kort etter en topp i vind-hastighet (deres Figur V4.3). Sterk vind og strøm over tid har i dette tilfellet sannsynligvis ført til at vannsøylen er godt blandet i det utslippet blir gjort, slik at den økningen i tetthet man får når hydrogenperoksid blandes med overflatevann er nok til at blandingen får høyere tetthet enn selv vannet ved bunn og dermed kan synke helt ned. Siden modellen vi har brukt her, i likhet med de aller fleste havmodeller, antar hydrostatisk balanse i vertikal retning vil en slik plume-synking ikke være ordentlig representert. For å ta hensyn til dette har vi her gått gjennom tetthetsfordelingen med dypet i modellen for alle de simulerte utslippene for å se på hvor ofte forholdene ligger til rette for en slik nedsynkning. Videre har vi simulert hvordan hydrogenperoksid som har nådd bunnen vil kunne spres horisontalt langs bunnen, og viser noen eksempler her.

Tetthetsfordeling og plume-synking

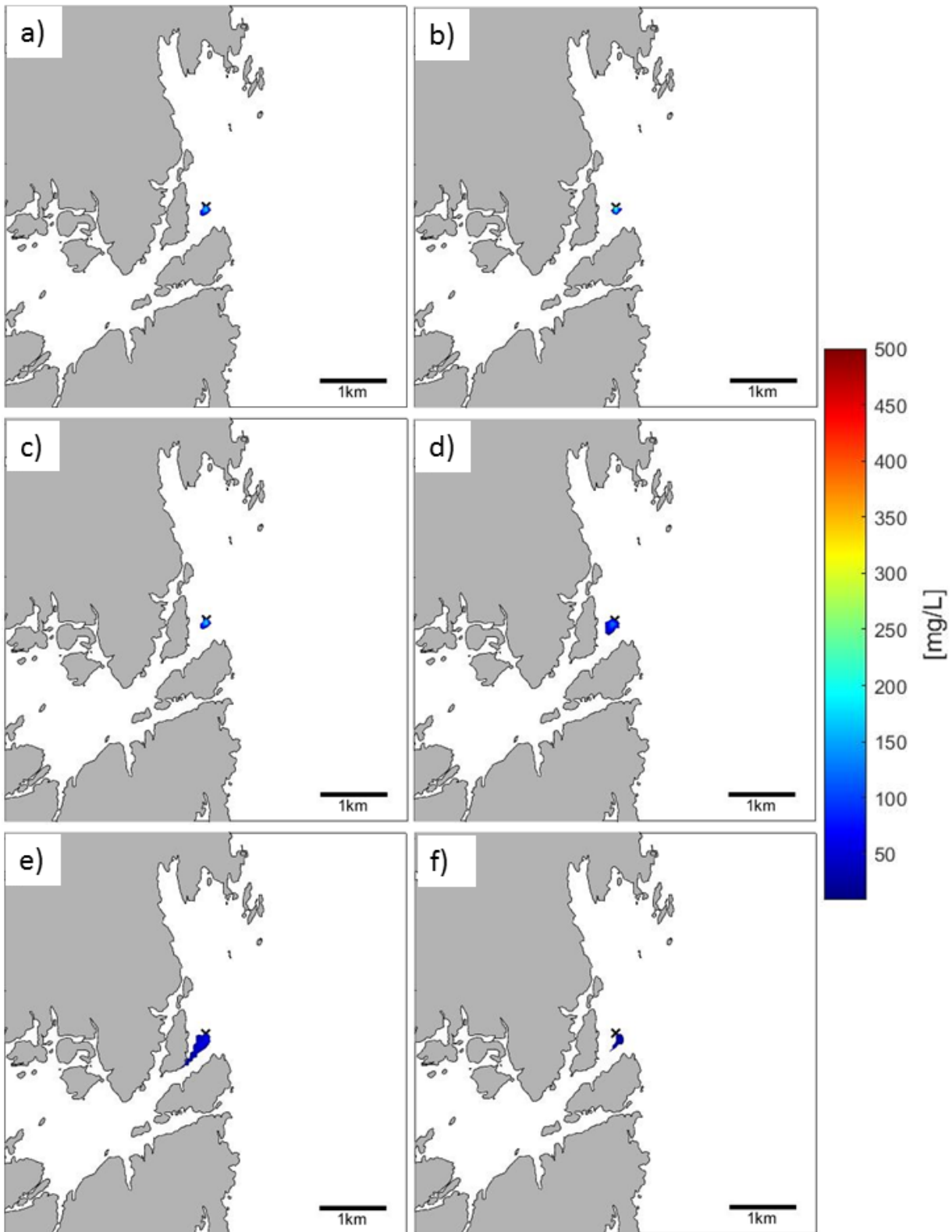
Tettheten til hydrogenperoksid er 1450 kg/m³, og tilsetning av 1600 mg/L til sjøvann vil øke tettheten til blandingen med ca. 0,5 kg/m³ relativt til sjøvannet, avhengig av den opprinnelige tettheten. For eksempel vil sjøvann med en tetthet på 1025 kg/m³ (4°C og 33‰ saltinnhold) tilsatt 1600 mg/L hydrogenperoksid gi en blanding med tetthet på 1025,47 kg/m³. Selv om dette er en liten økning, vil det kunne føre til en rask nedsynkning dersom vannsøylen er godt blandet (har lik tetthet gjennom hele dypet). Dersom man opprinnelig har lik tetthet i alle dyp og antar

at friksjon og innblanding av omliggende vann under nedsynkning er neglisjerbar vil en slik tetthetsforskjell gi en akselerasjon nedover på

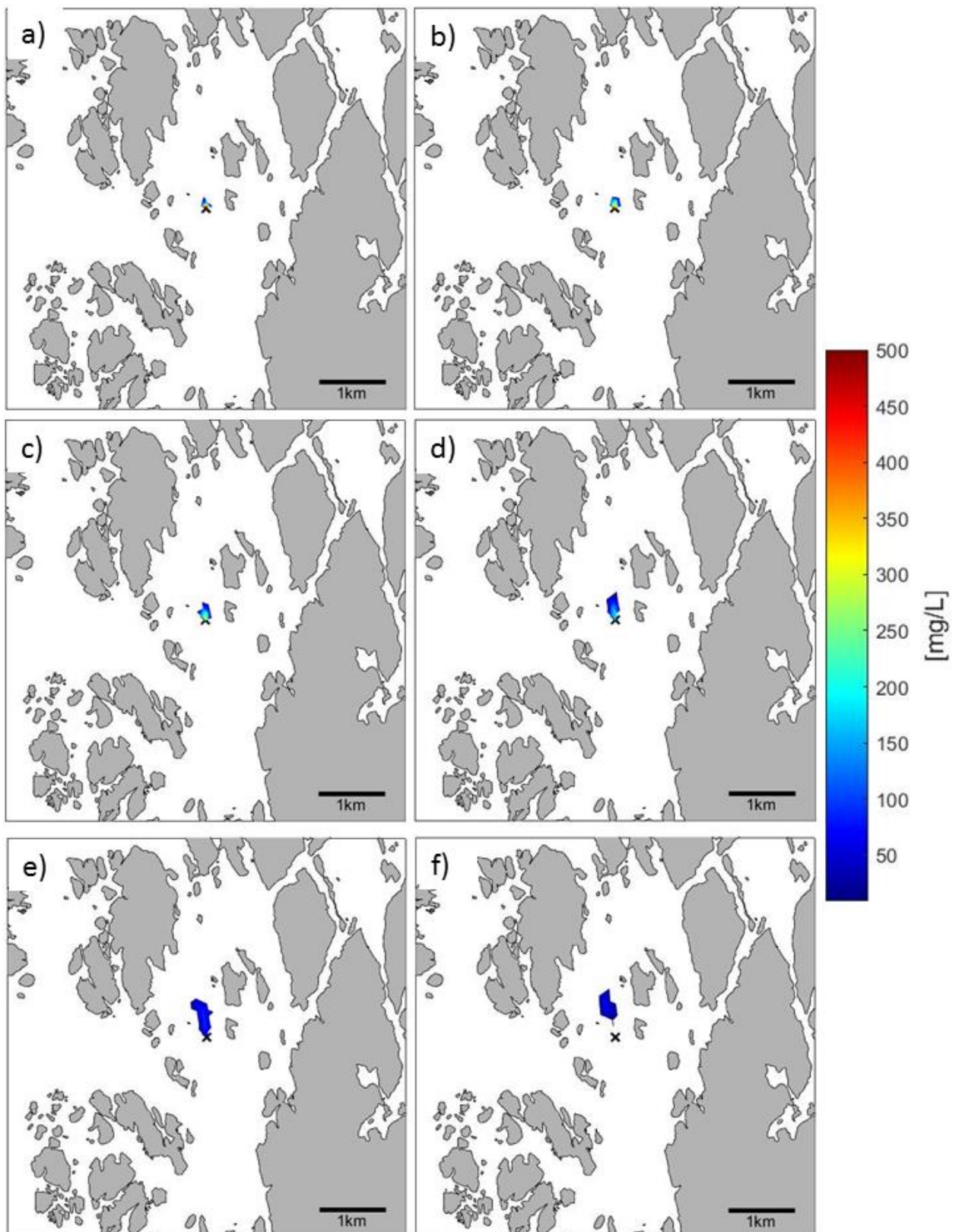
$a = \frac{g\Delta\rho}{\rho_a} \approx 0,005 \text{ m/s}^2$, hvor g er gravitasjons-konstanten, $\Delta\rho$ er tetthets forskjellen og ρ_a er tettheten til det omliggende vannet. Tiden det da vil ta for at dette vil synke til 70 meters dyp (som er dypet ved Lokalitet A) er da gitt av $t = \sqrt{\frac{2 \cdot 70}{a}} \approx 167 \text{ s}$, altså ca. 2,8 minutt. I realiteten vil friksjon og innblanding påvirke nedsynkningen, men den forenklete betraktningen over gir en pekepinn på hva slags tidsskala man kan forvente seg. En mer presis matematisk beskrivelse av slik nedsynkning finner man i klassisk "plume-teori" som først ble beskrevet av Morton et al. (1956).

En forutsetning for at blandingen av hydrogenperoksid og vann kan synke helt ned til bunnen er altså at tilsetningen av hydrogenperoksid til vannet i overflaten fører til at blandingen får en tetthet som er større enn tettheten til bunnvannet. For hvert av de simulerte utslippene har vi her regnet ut tettheten til utslippet gitt en behandlingsskonsentrasjon på 1600 mg/L, og sammenlignet med tettheten til bunnvannet. For Lokalitet A finner vi da at for i alt 5 av de 28 simulerte utslippene er en slik nedsynkning mulig. Tar man hensyn til andre forhold som variasjon i tetthetsgradienten nedover i vannet, strøm og fortynning under nedsynkning vil antallet slike tilfeller være lavere. Forhold som kan gi nedsynkning har en sterk sesongvariasjon, og av de 5 tilfellene for Lokalitet A er 3 i april, 1 i mai og 1 i oktober. Stratifikasjonen er generelt svakere i vinterhalvåret langs norskekysten, og for månedene vi her har simulert (april-oktober) ser vi for alle lokalitetene at forholdene ligger best til rette for nedsynkning i april, fulgt av mai og oktober. For lokalitetene B, E, D, C og F er det hhv. 6, 2, 1, 10 og 9 av 28 tilfeller hvor plume-synkning til bunns er mulig. Resultatene viser dermed at spredning til bunn må tas hensyn til i risikovurderingen. Sannsynlighet for nedsynkning er avhengig av både lokalitet og årstid.

I Figur 21 og 22 har vi simulert et utslipp (1/4-13) som har sunket til bunns, og viser spredningen horisontalt fra bunn. Uttynningen som skjer gjennom innblanding under nedsynkning er avhengig av mange faktorer og usikkerheten er derfor stor. I tillegg til de fysiske forholdene som strøm og stratifikasjon spiller også utgangsvolumet en stor rolle for fortynningen. Som et forsiktig anslag har vi her antatt at uttynningen ved nedsynkning til bunnen er på 50%, som gir lignende bunnkonsentrasjon som ble målt av Aqua kompetanse AS ved Lokalitet A (disse fant 43% av behandlingsskonsentrasjon ved bunn), altså er behandlingsskonsentrasjonen på 1600 mg/L halvert til 800 mg/L. I praksis vil fortynningen antageligvis i de fleste tilfeller være sterkere, slik at konsentrasjonen kan være enda lavere ved bunn. Som Figur 21 og 22 viser, vil transporten horisontalt langs bunn være liten, og konsentrasjoner over 10 mg/L finner man innenfor 1 km fra utslippet. Siden fortynningen på bunn er mindre vil konsentrasjonene holde seg over 10 mg/L lengre enn i overflaten, og for disse utslippene (1/4-16) forekommer små områder med slike konsentrasjoner i opptil 5 timer for Lokalitet A og 10 timer for Lokalitet C.



Figur 21. Spredning fra bunn ved Lokaltet A. 1/4-13. Utgangskonsentrasjon er 800 mg/L. Farge indikerer konsentrasjon ved a) 12 min., b) 24 min., c) 36 min., d) 1 time, e) 2 timer, f) 4 timer. Nedre grense for konsentrasjon som er vist er 10 mg/L



Figur 22. Spredning fra bunn ved Lokalitet C1/4-13. Utgangskonsentrasjon er 800 mg/L. Farge indikerer konsentrasjon ved a) 12 min., b) 24 min., c) 36 min., d) 1 time, e) 2 timer, f) 4 timer. Nedre grense for konsentrasjon som er vist er 10 mg/L

4.4.3 Oppsummering konsentrasjonsmodellering

- Konsentrasjonen av hydrogenperoksid fortynnes raskt etter utslipp, og områder utenfor en radius på ca. 1 km rundt anleggene har i våre simuleringer ikke oppnådd konsentrasjoner høyere enn ca. 300 mg/L. Områder som opplever konsentrasjoner over 100 mg/L ligger innenfor en radius på ca. 2 km rundt anleggene. For eksponeringstid over 2 timer er områdene som opplever konsentrasjoner over 100 mg/L vesentlig mindre i utstrekning, men små flekker med slike konsentrasjoner kan i enkelte tilfeller bli liggende i strømsvake områder opptil 2 km unna anleggene. For hele modellområdet (dvs. utslipp fra alle 6 anlegg), midlet over alle 28 utslippstidspunkter, ligger den maksimale eksponeringstiden for konsentrasjoner over 100 mg/L på 1,69 timer.
- Hvor raskt hydrogenperoksid fortynnes for det enkelte utslipp avhenger av lokale vær og strømforhold, og således er lokaliteten til det aktuelle anlegget avgjørende for hvor stort område som påvirkes og hvor raskt fortynningen skjer. Generelt vil utslipp fra anlegg i strømsvake områder fortynnes saktere og dermed gi høyere konsentrasjoner i begrensede områder. Kjemisk nedbrytning av hydrogenperoksid har liten betydning sett i forhold til fortynning.
- Under vær og strøm forhold som gjør at vannsøylen er relativt godt blandet, kan hydrogenperoksid blandingen synke konvektivt og nå helt ned til bunn i løpet av minutter etter utslipp. Horisontal spredning fra bunn vil generelt nå et mindre område, men konsentrasjonen vil fortynnes saktere. På noen få lokaliteter kan inntil 1/3 av utslippene forventes å opptre på denne måten.
- Forhold som gjør det mulig for konvektiv nedsynkning er når vannsøylen er godt blandet og dette varierer med sesong. Konvektiv nedsynkning har størst sannsynlighet for å skje i perioden oktober til mai. For en strømsterk lokalitet som A viser våre modelleringsresultat at maksimalt 5 av 28 simulerte utslipp (i perioden f.o.m. april t.o.m. oktober 2013) har et potensiale til konvektiv nedsynkning til bunn, og 4 av disse er i april og mai og 1 i oktober. Hvor høye konsentrasjoner som faktisk når bunn er avhengige av mange faktorer, som tetthetsfordelingen i vannsøylen, strøm og initialt volum av utslippet, og er dermed vanskelig å anslå.

4.5 Sammenfatning av PEC/PNEC

Basert på Figur 15 og 16 som viser konsentrasjoner i miljøet etter et enkelt utslipp av hydrogenperoksid ser vi at vi kan forvente å finne konsentrasjoner i miljøet som overskrider grenseverdier (NEC eller qLC_{50}) for alle artene vi har testet (se

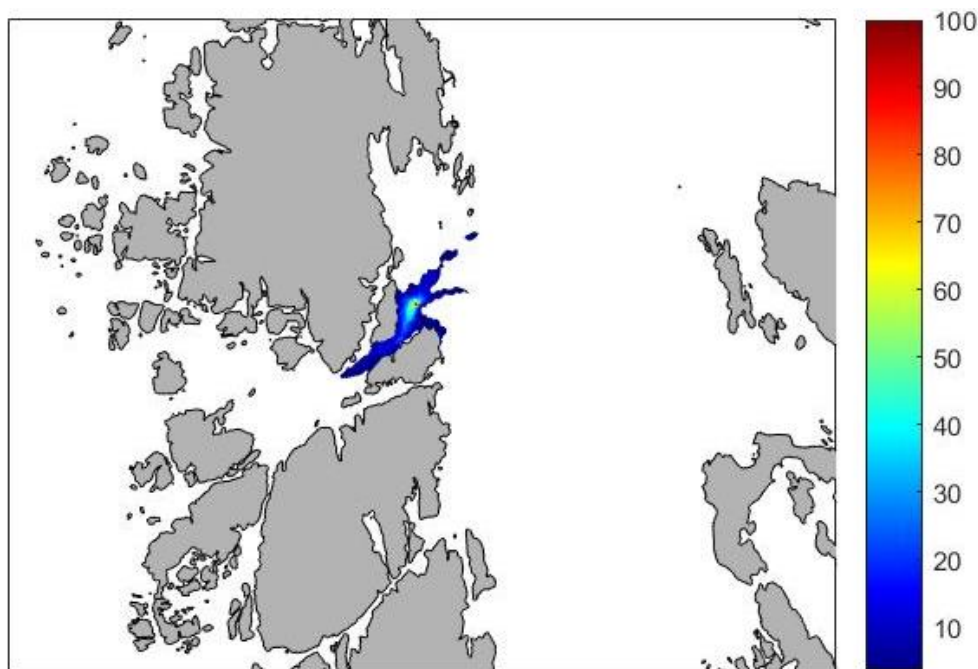
Tabell 13). Det er imidlertid ikke overraskende at PEC overskrider NEC, da hydrogenperoksid slippes ut i konsentrasjoner som er ment å ta livet av lakselusa. At NEC-verdi overskrides betyr at effekt kan oppstå, men det sier ingenting om når og eventuelt omfanget av dette.

Figur 17 viser hvilke områder som kan treffes av konsentrasjoner over 10 mg/l etter behandling med hydrogenperoksid. 10 mg/l tilsvarer den laveste NEC-verdi som er beregnet (voksen raudåte). Raudåte var den arten som viste seg mest sensitiv, og kan derfor sammenlignes med Figur 17.

Det er viktig å minne om at fremstillinga i Figur 17 ikke representer områder som påvirkes av ett utslipp: Det er tatt utgangspunkt i 28 forskjellige utslipp, med varierende vær, strøm og vindforhold. (Eksempler på enkeltutslipp ble vist i Figur 15 og 16). Områdene i umiddelbar nærhet til lokaliteten har stor sannsynlighet for å berøres av behandlingskonsentrasjoner over NEC. Fargeskalaen viser at det er mindre sannsynlighet for treff i områder i større avstand fra lokaliteten.

Modellering av en enkelt behandling viser at for raudåte er konsentrasjoner over NEC tilstede i området i opptil 10 timer etter behandling. De øvrige arter i dette prosjektet har høyere NEC-verdier, dvs. de tåler høyere konsentrasjoner av hydrogenperoksid før det oppstår en risiko for skadelig effekt.

Dersom man tar utgangspunkt i behandlingskonsentrasjoner på 50 mg/l får man en mulig utbredelse som vist i Figur 23.



Figur 23. Sannsynlighet for utbredelse av hydrogenperoksid-konsentrasjoner på 50 mg/L etter behandling med 1600mg/L.

Som forventet viser figuren at det er mindre områder som potensielt treffes av konsentrasjoner over 50 mg/L sammenlignet med konsentrasjoner over 10 mg/L.

Strandreken (*P.elegans*) har en NEC-verdi på 60, og kan derfor sammenlignes med Figur 23. Kartet viser at området hvor strandreken kan påvirkes dekker et mindre område enn for den mer sensitive raudåta.. Området som er farget i skala rødt – grønt vil med sannsynlighet på ≥ 50 % ha konsentrasjoner over NEC for strandreken etter en behandling. Sannsynligheten er synkende med mørkere blåfarge. **Dypvannsreke** har en NEC på 23, nærmeste kart til sammenligning er Figur 17 og Figur 23.

Ut ifra tabell over NEC-verdier kan en se at **rognkjeks** og **tangmysiden** har NEC-verdier på omkring 100 mg/L (hhv 128 og 98), som vist i Figur 17. Der vises områder hvor det er sannsynlighet for at en kan få konsentrasjoner på mer enn 100 mg/L. Figuren viser at det er kun i området rundt merden (her inntil ca. 500 m fra merden) at det kan oppstå konsentrasjoner over 100 mg/L.

Kongsnegl har en NEC mellom 10 og 100 mg/L. Denne arten lever på bunn. Figur 21 viser konsentrasjoner over 10 mg/L ved utslipp på bunn. Hydrogenperoksid fra strømsvake lokaliteter vil på tidspunkt med lite vind og strøm fortynnes og spres sakte, og konsentrasjonene kan finnes i omkringliggende miljø i flere timer. Behandlingsvannet kan under uheldige vær og vindforhold drive mot land og påvirke sensitive arter i littoralsonen, som kongsnegl. Forholdene ligger best til rette for synking i vinterhalvåret, fra oktober til april (se 4.4.2).

Når det gjelder **kråkeboller** vil vi ikke sammenligne NEC med PEC, grunnet forhold presentert i avsnitt 4.2.

Resultatene er basert på konservative tilnærminger både ved beregning av grenseverdier for effekt og i spredningsmodellen.

4.5.1 Håndtering av miljørisiko

Som omtalt tidligere gir EIF-metoden en anbefaling av hvordan en skal håndtere miljørisiko.

Når en har utslipp med konsentrasjoner (PEC) som overstiger NEC anbefaler EIF-metode at man ser nærmere på miljørisikoen. Vanlig uttrykk for risiko er gitt av formelen:

$$\text{Risiko} = \text{Alvorlighetsgrad} * \text{Størrelse på utslipp}$$

Alvorlighetsgrad vurderes ved å fremskaffe informasjon om fordeling av arter, andel innen influensområdet, spesielt viktige arter (nøkkelarter i økosystemet, økonomisk viktige arter), eventuelle stedege bestander (f.eks. torskestammer inne i en fjord), osv. Videre bør man vurdere hvor stor andel av en bestand/populasjon som befinner seg innen antatt påvirket volum, hvilken restitusjonstid bestanden/ populasjonen har osv.

Hydrogenperoksid har en relativt kort nedbrytningstid med en halveringstid på < 1 uke. Miljørisiko ved bruk av hydrogenperoksid reduseres med dette både ved at konsentrasjoner over NEC er tilstede i korte tidsperioder etter utslipp, og ved at stoffet brytes ned til oksygen og vann i løpet av kort tid.

Størrelse på utslipp vurderes i form av i hvor store vannvolum effekt kan oppstå.

PEC/PNEC-ratioen brukes i oljeindustrien blant annet for å vurdere miljøeffekter av kontinuerlige og semi-kontinuerlige utslipp, som f.eks. produsert vann. Bruken av PEC/PNEC-ratio er utformet med utgangspunkt i at man skal beskytte 95% av artene i økosystemet ved kontinuerlig påvirkning av en konsentrasjon. Ved kortvarig påvirkning, som ved uhellsutslipp eller andre utslipp som ikke er kontinuerlige (som forventes et visst antall ganger i løpet av en periode), må utslippsfrekvens og eksponeringstid tas med i betraktning når en vurderer reell miljørisiko. En vanlig betraktning vil være å se på antall timer påvirkningen finner sted sett i forhold til antall timer i året.

4.5.2 Eksponeringstid

Strømmodelleringen viser at konsentrasjonene vil være over de etablerte NEC-verdier i en begrenset tidsperiode, i et begrenset område. Av modelleringen ser vi at utslipp av hydrogenperoksid fortynnes hurtig. Ifølge våre resultater er det bare konsentrasjoner på under 100 mg/L som kan være tilstede i over 2 timer.

NEC er verdier som gir grense for hva som kan slippes ut kontinuerlig uten at det forventes å ha effekt på undersøkte arter. Miljørisiko vil med dette kunne bli overestimert hvis vi ensidig ser på forholdet mellom PEC og NEC. Vi ser at konsentrasjoner over grenseverdier forekommer i miljøet. Spørsmålet er om konsentrasjonene er der lenge nok til at dyrene begynner å dø. Basert på informasjonen om at hydrogenperoksid ikke forblir lenge i miljøet, har vi gjort ytterligere DEBtox kalkuleringer i forhold til tidsaspektet. Vi har kalkulert tid det tar for de ulike artene å nå effekt (dødelighet) ved ulike konsentrasjoner, i de tilfellene det lot seg gjøre. Metoden er beskrevet i Baas og Jager et al. (2009).

Tabell 15. Tid for å nå effekt (i timer) for *C. lumpus*, *P. borealis*, *P. flexuosus*, *P. elegans* og *G. morhua* egg.

	<i>t</i> (h) ved 50 mg/l	<i>t</i> (h) ved 100 mg/l	<i>t</i> (h) ved 150 mg/l	<i>t</i> (h) ved 200 mg/l	<i>t</i> (h) ved 250 mg/l	<i>t</i> (h) ved 300 mg/l
<i>Cyclopterus lumpus</i>	-	-	16,0	8,5	6,0	4,6
<i>Pandalus borealis</i>	3,2	1,4	0,9	0,6	0,5	0,4
<i>Praunus flexuosus</i>	-	30,1	11,7	7,6	5,7	4,5
<i>Praunus elegans</i>	-	15,3	8,5	5,9	4,6	3,7
<i>Gadus morhua</i> egg	-	-	81,5	27,7	18,5	14,0

Tabell 15 illustrerer at det er stor forskjell i hvor lang tid de ulike arter trenger å eksponeres for en gitt konsentrasjon for å nå effekt. For de artene som responderer hurtig på hydrogenperoksid, vil det kunne være konsentrasjoner tilstede i miljøet lenge nok til at dødelighet oppstår, som for eksempel for dypvannsreke. Dette forutsetter at reken er tilstede i området der konsentrasjonen er høy, og at den ikke svømmer bort fra behandlingsplumen. For rognkjeks, strandreke, tangmyside og torskeegg vil hydrogenperoksid ikke være lenge nok i miljøet til at overlevelse kan påvirkes. Eventuelle sub-letale effekter er ikke vurdert her.

I motsetning til NEC, sier LC₅₀ verdier noe om omfang av effekt, dvs. den konsentrasjonen der 50 % av testindividene dør etter en gitt eksponeringstid. Forsøkene er satt opp for å finne verdier basert på 24 timers forsøk.

Av dyrene som er evaluert i vårt prosjekt, er økotoksdata utarbeidet fra forsøket på raudåte (Escobar Lux, 2016) de mest realistiske med tanke på eksponeringer i felt. LC₅₀ verdiene fra raudåte kan derfor sammenlignes med verdier ute i felt for å si noe om forventet effekt.

For de andre artene er det utarbeidet LC₅₀ verdier på grunnlag av lengre eksponeringstid. Vi kan ikke direkte sammenligne disse verdiene med våre PEC data da de fleste LC₅₀ verdiene er utarbeidet på grunnlag av 24 timers eksponering. Dette vet vi nå er for lange eksponeringstider i forhold til det dyrene faktisk blir eksponert for ute i miljøet.

Vi velger derfor å se om rådata gir grunnlag for vurdering av risiko. I disse rådataene har vi mål på overlevelse. Ifølge modelleringsresultatene vil hydrogenperoksid fortynnes til under 100 mg/L i løpet av de første 2 timene (på den strømsterke lokaliteten). Om denne konsentrasjonen vil gi dødelighet er arts-avhengig.

I våre forsøk ble det ikke vist akutte effekter (dødelighet) på 100 mg/L i løpet av de 2 første timene for artene dypvannsreke, torskeegg, tangmyside, strandreke eller rognkjeks. Forsøkene viser akutte effekter for kongsnegl mellom forsøksstart og 2 timer, og for raudåte (voksen og kopepoditt stadiet V) etter 1 time ved konsentrasjoner også under 100 mg/L. Neste observasjon i laboratorieforsøkene var etter fire timer.

Modelleringen av områder som har konsentrasjoner på 100 mg/L i 1 timer eller mer ble vist i Figur 19 og Figur 20.

De ulike arters sensitivitet for kjemikalier avhenger av hvilke konsentrasjoner av et middel de utsettes for og av hvor lang tid de utsettes for påvirkningen. Generelt sett vil en art tåle eksponering for høye konsentrasjoner i et kortere tidsrom enn lave konsentrasjoner.

Figur 15 og Figur 16 viste hvordan ulike konsentrasjoner kan være tilstede i miljøet etter en avlusing.

I dette eksemplet ble det vist at behandlingsvannet forventes å bli fortynnet til under 500 mg/L i løpet av de første 24 min. Etter 36 min var høyeste konsentrasjon mellom 200 og 300 mg/L. Etter 1 time er høyeste konsentrasjon 150 mg/L, og behandlingsvannet har beveget seg noe bort fra behandlingsmerden. Etter 2 timer er konsentrasjonene under 50 mg/L, og behandlingsplumen har beveget seg ytterlig bort fra merden.

Vi har også gjort beregninger av hvor lenge man maksimalt kan forvente å ha ulike konsentrasjoner i miljøet etter en behandling. Dette ble vist i Tabell 14. Beregningene er gjort for en strømsvak lokalitet og representerer dermed en verstefalls tilnærming.

Ved strømsvake lokaliteter kan man ha hydrogenperoksid-konsentrasjoner i over 300 mg/L i nærheten av merd (modelleringen viser dette som det nærmeste området til merd) i over 1 time etter utslipp. Dette vil kunne gi akutte effekter på arter som befinner seg i nærheten av merden på utslippstidspunktet. Effekten vil være høyere på de mer sensitive artene, som f.eks. raudåte og dypvannsreke.

Sammenfattet med laboratorieforsøkene vurderer vi at konsentrasjonen av hydrogenperoksid fortynnes og spres så hurtig etter en behandling at kombinasjonen lave konsentrasjoner over lang tid (i kombinasjon som gir akutt effekt) eller høye konsentrasjoner i kortere tid (i kombinasjon som gir akutt effekt), ikke forventes å være tilstede for torskeegg, strandreke, tangmyside og rognkjeks.

Det er risiko for akutte effekter på raudåte. Utslipp av hydrogenperoksid forventes å ha effekt på raudåte i vannsøylen i spredningsområdet. Påvirkningsområde avhenger av vær- og strømforhold på utslippstidspunktet, samt dybde på lokaliteten. I risikovurderings sammenheng, evalueres ofte den økologiske betydningen til den mest sensitive arten. Raudåte er en meget viktig økologisk art, da kopepoditt stadiene er essensielle for juvenile fisk i oppvekstområder (Runge and de Lafontaine, 1996; Heath and Lough, 2007). LC_{50} verdi etter 1 times eksponering for denne arten er 35 mg/L for voksne individer (Escobar Lux 2016). Basert på konsentrasjonsmodelleringen kan vi finne verdier rundt 35 mg/L i miljøet i over en time etter behandling. Når det gjelder kopepoditt stadiet V har den en LC_{50} (1t) verdi på 173 mg/L. Basert på konsentrasjonsmodelleringen kan vi finne lignende forhold i miljøet.

Resultatene fra konsentrasjonsmodelleringen viser at vi ikke finner hydrogenperoksid i utstrakte områder fra merden. Dødelighet på raudåte forventes derfor ikke i utstrakte områder

etter et utslipp. Raudåte er den mest sensitive arten vi har testet, og vi vurderer at risikoen for effekt på raudåte som befinner seg innen beregnet influensområde er høyere sammenlignet med de andre artene vi har testet.

Risiko for påvirkning på kongsnegl avhenger av mulighet for synking, og dermed av sesong. Det vil være størst risiko på vinterhalvåret. Påvirkning vil også være avhengig av dybde på lokaliteten.

Dypvannsreke er mer sensitiv enn rognkjeks, torskeegg, tangmyside og strandreke, men den er mindre sensitiv enn raudåte og kongsnegl. Dypvannsreke lever i hovedsak like over bunnen på dypt vann, men den foretar periodiske vandringer og døgnvise migrasjoner opp i frie vannmasser. Resultatene indikerer at effekter kan oppstå på reker som befinner seg i nærområde til et utslipp. Risiko for dødelighet avhenger av flere faktorer, som om behandlingsvannet synker eller ikke, i hvilken retning spredning skjer, og om arten er tilstede i områdene sammenfallende med at konsentrasjoner er toksiske for dem.

5 Diskusjon

5.1 Forsøksoppsett

Vi har ikke grunn til å tro at PNEC verdi utarbeidet fra en SSD satt sammen av artene vi har testet ville gitt en PEC/PNEC ratio under 1. Dette fordi en slik kurve vil være basert på de artene vi har testet, og alle disse viser en NEC som er høyere enn PEC (uavhengig av tid). Da PNEC verdi brukes til å vurdere om videre undersøkelser bør gjøres, ville således resultatet ikke blitt annerledes, vi måtte gått videre med vurderingene våre selv om PNEC var utarbeidet av SSD.

Dersom det gjennomføres nye økotoksforsøk med samme eksponeringstid for alle arter kan disse settes sammen i en SSD-kurve og en kan bestemme forventet NEC for økosystemet (PNEC). Vi anbefaler at det gjøres flere eksperimenter for å finne punkttestimater mellom null effekter og dødelighet for mer presise estimater av NEC. Erfaringer fra forsøkene som er omtalt i dette prosjektet bør tas med i utforming av senere forsøk.

Grunnet faktorer beskrevet over, samt at dyphavsreke er en viktig kommersiell art, anbefaler vi at det gjøres ekstra undersøkelser for denne arten. Eksponeringen bør da gjøres med et mer realistisk eksponeringsscenario, slik som for eksempel "pulsed exposure" før en endelig vurdering for denne arten kan gjennomføres. "Pulsed exposure" er designet for å etterlikne eksponering som kan variere i konsentrasjon, varighet og frekvens.

Resultater fra konsentrasjonsmodelleringene viser at hydrogenperoksid fortynnes hurtig. Våre økotoksforsøk ble designet før informasjon fra spredningsmodelleringer var tilgjengelig, og de er derfor basert på den eneste studien som oppgir LC₅₀ verdier for hydrogenperoksid for norske arter (Brokke 2015). Basert på resultatene fra vårt prosjekt, anbefaler vi at fremtidige økotoksforsøk for hydrogenperoksid gjennomføres med kortere eksponeringstid. Et slikt design vil gi mer realistiske økotoksverdier for en risikovurdering av utslipp av hydrogenperoksid.

Det er lite økotoksdata tilgjengelig for hydrogenperoksid på marine arter. Vi vil derfor understreke at dette er første forsøk på å gjennomføre en risikovurdering basert på PEC/PNEC, og at dette er gjort med begrenset datatilgang. Data er ikke ensartet med tanke på utforming. Noe av dette er tatt hensyn til ved å bruke DEBtox modelleringer, med det bør gjennomføres flere forsøk med flere eksponeringsgrupper, og med kortere eksponeringstid.

5.2 Forsøksgjennomføring

Resultatene fra måling av hydrogenperoksid-konsentrasjoner i vannet brukt i laboratoriet for eksponering av dyr viser hydrogenperoksid konsentrasjoner fra 2-22 mg/l (Tabell 2). Dette er høyere enn bakgrunns konsentrasjoner, av ukjente årsaker. Hydrogenperoksid finnes naturlig i overflatevann, 0.0034 mg/L er rapportert i Ruzak et al. (2005), og høyere konsentrasjoner kan finnes i overflatevann med høy DOC (Wilson 2000).

Overflatevann ved forsøksstasjonen, viste verdi på 9,1 mg/L, og 11 mg/L to påfølgende dager. Vannet som ble benyttet under eksponeringsforsøkene ble imidlertid hentet fra ca. 60 m vanddyb, hvor konsentrasjonene sannsynligvis er lavere.

Resultatene våre viser god nøyaktighet på nominelle verdier og målte verdier på de andre behandlingene, så usikkerhet i måleinstrumentet er lite sannsynlig. Vi har også testet kittet ved å måle konsentrasjoner av hydrogenperoksid i destillert vann. Måleinstrumentet viste da en hydrogenperoksid konsentrasjon på 0 mg/L for destillert vann. Deteksjonsgrense for metoden er 0,01 mg/L, noe som indikerer at våre konsentrasjoner er vel innenfor de verdiene metoden

kan måle. Vi har derfor grunn til å tro at vårt måleinstrument har fungert optimalt, og at de relativt høye verdiene i kontrollen er reelle verdier.

Vi tror ikke det har vært en kryss-kontaminering mellom tankene, da det var lokk på tankene under eksponering. Årsaken til høyere konsentrasjon enn bakgrunnsnivå er derfor ukjent.

For øvrig er våre økotoksverdier basert på de målte reelle konsentrasjoner, og ikke på nominell konsentrasjon, således tas det hensyn til de målte verdiene ved kalkulering av NEC og LC₅₀. Forsøkene i regi av HI, med unntak av *Calanus*, er basert på nominelle konsentrasjoner. De reelle konsentrasjonene i disse forsøkene derfor ukjent. Den laveste målte verdien i forsøket på *Calanus finmarchicus* (Escobar Lux 2016) var 8,5 mg/l, og denne konsentrasjonen oppgis som konsentrasjon 1. Grunnet forhøyede nivåer av hydrogenperoksid i våre kontroller, tilsvarer også her den laveste konsentrasjonen eksponering 1.

5.3 Akutte versus kroniske effekter

Sub-letale effekter kan oppstå ved konsentrasjoner langt under akutte grenseverdier (Barata et al., 2002). Det finnes lite informasjon om mulige sub-letale effekter etter hydrogenperoksid eksponering når det gjelder de artene som er testet her. I studiet fra Escobar Lux (2016) konkluderes det med at sub-letale effekter på raudåte oppstår etter hydrogenperoksid eksponering. Dette er sub-letale effekter som har innvirkning på senere overlevelse. I et annet studie kunne en se tydelige effekter på gjellevevet hos blomsterreker som hadde blitt eksponert i 6 t for 3,5 mg/L eller høyere doser av hydrogenperoksid (Fagereng 2016). Vi har ikke tatt høyde for mulige subletale effekter i dette prosjektet. Det er heller ikke testet ulike livsstadier av artene foruten for raudåte. Dette har vært utover dette prosjektets økonomiske og tidsmessige rammer, og det kan dermed foreligge en underestimert effekt.

Det bør også gjøres videre undersøkelser på virkningsmekanismer for hydrogenperoksid, og hvordan dette skal behandles i DEBtox. Hydrogenperoksid kan ha en raskere effekt enn f.eks. oljeforbindelser eller pesticider på grunn av "burning". Det må undersøkes nærmere om det oppstår langtidsskade eller "recovery", og hvordan man skal ta hensyn til dette i DEBtox modellering.

5.4 Anbefalinger for videre arbeid

Risikoanalysen som gjøres i tilknytning til andre typer næringsvirksomhet er ikke direkte overførbart til oppdrett. Utslipp av hydrogenperoksid arter seg annerledes enn typiske utslipp fra f.eks. oljenæringa hvor en benytter PEC/PNEC ratio for f.eks. semikontinuerlige/kontinuerlige utslipp av produksjonsvann. Hydrogenperoksid har en relativt kort nedbrytningstid med en halveringstid på < 1 uke, og utslipp av hydrogenperoksid er punktutslipp som forekommer et begrenset antall ganger i løpet av et år.

Ved vurdering av miljøeffekt av utslipp av lusemiddel har vi sett en metodisk utfordring. Oljeindustriens PEC-NEC system forutsetter i hovedsak kontinuerlige utslipp. Et laboratorieforsøk skal være en kontrollert studie som likner mest mulig på hva som er de naturlige forhold. I dette tilfelle vil det si de konsentrasjonene det vil være i naturen av de kjemikalier som skal testes.

Havbruksnæringens utslipp av lusemiddel er episodisk. Konsentrasjonen vil være høy ved utslippspunktet i utslippøyeblikket. Deretter avtar konsentrasjonen raskt ved økende fortykning og kjemisk/biologisk nedbrytning. Dette innebærer at man ikke uten videre kan benytte oljeindustriens overvåkingssystem.

Ved å etablere økotoksverdier på bakgrunn av kort eksponering i laboratoriet, antar vi at man vil få et riktigere bilde av effektverdier for vurdering av miljørisiko ved hydrogenperoksid-

utslipp. Vi vil også foreslå at det gjøres en vurdering av hvordan man best kan beskrive en vitenskapelig metodikk som både kan anvendes i kontrollerte tålegrenseforsøk i laboratorium, og beskrive fortykning/nedbrytning i naturen. Når disse grenseverdiene er på plass kan man på en god måte beskrive influensområdet og graden av miljøeffekter fra et episodisk utslipp av lusemiddel innen influensområdet.

All næringsvirksomhet gir et "fotavtrykk" i miljøet og det er vanlig å etablere akseptkriterier, som angir hvilke fotavtrykk som er innenfor akseptable grenser. Det finnes foreløpig ingen omforent definisjon av "akseptabel miljørisiko" ved et gitt utslipp fra oppdrettsnæringa. Hva som defineres som akseptabel utslipp er ikke en oppgave for forskningen, men for myndighetene. Resultatene fra dette prosjektet må derfor sees på som et utgangspunkt for diskusjon/videre analyser når man skal vurdere om effektene av hydrogenperoksidbehandling er akseptable eller ikke.

6 Konklusjon

I dette prosjektet har vi modellert konsentrasjoner i omkringliggende miljø etter utslipp av hydrogenperoksid, og sammenlignet med økotoksdata for viktige økologiske og kommersielle norske arter. Våre resultater viser at konsentrasjonen av hydrogenperoksid fortynnes raskt etter utslippet. Hvor raskt hydrogenperoksid fortynnes for det enkelte utslipp avhenger av lokale vær- og strømforhold, og således er lokaliteten til det aktuelle anlegget avgjørende for hvor stort område som påvirkes og hvor raskt fortynningen skjer. Generelt vil utslipp fra anlegg i strømsvake områder fortynnes langsommere enn utslipp fra anlegg i strømsterke lokaliteter.

Når vi sammenligner konsentrasjonsmodelleringene med de utarbeidede NEC-verdiene fra de testede artene, ser vi at konsentrasjoner over NEC finnes i miljøet. Overskridelse av NEC er ikke ensbetydende med effekt, da NEC ikke sier noe om når man kan forvente effekt. Når NEC overskrides har vi derfor fulgt anbefalingene om videre analyser for å vurdere om overskridelser utgjør reell risiko.

Grunnet rask fortynning av hydrogenperoksid, vil konsentrasjonene ikke være tilstede lenge nok i miljøet til å kunne påvirke de artene som responderer sakte etter eksponering for hydrogenperoksid. Andre arter som responderer raskt rekker å nå verdier over NEC ved eksponering selv i korte perioder. For å finne ut om eksponeringen kan føre til dødelighet for de studerte artene, har vi sammenlignet de modellerte konsentrasjonene med dødelighetsobservasjoner fra laboratoriet etter kort eksponeringstid. Vi har ikke gjort direkte sammenligninger med LC₅₀ verdier (konsentrasjoner der 50% av test dyrene dør), da disse sannsynligvis er satt for lavt i forhold til hvor lenge hydrogenperoksid kan forventes å finnes i miljøet.

Vi ønsker å understreke at dette er første gang en risikotilnærming basert på PEC/PNEC gjøres for hydrogenperoksid på økologisk og kommersielt viktige norske arter. Vurderingene er gjort på grunnlag av begrenset datatilgang. Basert på disse første resultatene, gjør vi følgende vurderinger:

Hydrogenperoksid fortynnes raskt og vi forventer ikke effekt (dødelighet) på torskeegg, strandreke, rognkjeks og tangmyside.

Raudåte (voksen og kopepoditt stadiet V) er den mest sensitive arten vi har testet. Denne arten responderer raskt til hydrogenperoksid, og det kan oppstå dødelighet ved korttids-eksponering. Når det gjelder denne arten er det sannsynlig at effekt vil oppstå innen et begrenset område. Omfanget vil være avhengig av lokale vær- og strømforhold på utslippstidspunktet, og om raudåta befinner seg på dypet (vinterdvale) eller er i overflatevannet.

For de middels sensitive artene, som dypvannsreke, anbefaler vi videre testing før vi konkluderer. Vi har indikasjon på at effekt kan oppstå ved uheldige forhold, men da i et begrenset område. Det må tas hensyn til at denne arten foretar døgnvandring, og kan derfor svømme inn og ut av områder med ulike hydrogenperoksid konsentrasjoner. Vi har kun sett på voksne individer uten rogn. Sensitivitet kan også variere med ulike livsstadier, videre undersøkelser bør derfor gjøres.

Vi anbefaler at arbeidet med å etablere en vitenskapelig metodikk som både kan anvendes i kontrollerte tålegrenseforsøk for hydrogenperoksid i laboratorium og som beskriver fortynning/nedbrytning i naturen fortsetter. Videre å studere sub-letale effekter, da vi ikke har tatt høyde for dette i våre vurderinger. Vi anbefaler også at det igangsettes et arbeid med å etablere akseptkriterier ved bruk av hydrogenperoksid.

7 Litteraturliste

- Albretsen, J., Sperrevik, A.K., Staalstrøm, A., Sandvik, A.D., Vikebø, F. & Asplin, L. 2011. NorKyst-800 report no. 1: User manual and technical descriptions. Fisker og Havet, Institute of Marine Research 2/2011, 51 s.
- Andersen P.A. og Hagen L. 2016. Fortynningsstudier – Hydrogenperoksid, september 2016. Aqua Kompetanse Rapport nr 156-8-16.
- Berglund 1980. Niche Differentiation between Two Littoral Prawns in Gullmar Fjord, Sweden: *Palaemon adspersus* and *P. squilla*. *Holarctic Ecology*, 3, 111-115.
- Bruggeman J. og Bolding K. 2014. A general framework for aquatic biogeochemical models- Environmental Modelling and Software 61:249-265.
- Bruno D.W. og Raynard R.S. 1994. Studies on the use of hydrogen peroxide as a method for the control of sea lice on Atlantic salmon. *Aquacult. Int.* 2: 10-18.
- Brokke K. 2015. Mortality caused by de-licing agents on the non-target organisms chameleon shrimp (*Praunus flexuosus*) and grass prawns (*Palaemon elegans*). Master thesis accomplished at The University of Bergen (UIB) in collaboration with the Institute of Marine Research (IMR).
- Burrige L.E. og Van Geest J.L. 2014. A review of potential environmental risks associated with the use of pesticides to treat salmon against infestations of sea lice in Canada.
- Calow, P., Forbes, V.E., 2003. Does ecotoxicology inform ecological risk assessment? *Environmental Science and Technology* 37, 146A-151A.
- Chapman, P.M., 1995. Extrapolating laboratory toxicity results to the field. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 927-930.
- Chen, C., H. Liu, R. C. Beardsly, An unstructured grid, finite-volume, three-dimensional, primitive equation ocean 10 model: Application to coastal ocean and estuaries, *J. Atm. Oce. Tech.*, Vol 20, 2003.
- Escobar Lux, H.R. 2016. The effects of an anti-sea lice chemotherapeutant, hydrogen peroxide, on mortality, escape response and oxygen consumption of *Calanus* spp. Master thesis Universite Pierre et Marie Curie og Havforskningsinstituttet.
- European Commission (EC), 2003. Technical Guidance Document on Risk Assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances commission regulation (EC) no 1488/94 on risk assessment for existing substances directive 98/8/EC of the European parliament and of the council concerning the placing of biocidal products on the market. Technical report EUR 20418 EN/2, European commission joint research centre, Ispra, Italy.
- European Commission (EC), 2003-Hydrogenperoxide. Summary risk assessment report. Special Publication I.03.148. European commission joint research centre, Ispra, Italy.
- Fagereng, M. B. (2016). Bruk av hydrogenperoksid i oppdrettsanlegg; fortynningstudier og effekter på blomsterreke (*Pandalus montagui*). Masteroppgave. Senter for farmasi, Universitetet i Bergen og Havforskningsinstituttet.
- Forbes, V.E., Calow, P., 2002. Extrapolation in ecological risk assessment balancing pragmatism and precaution in chemical controls legislation. *BioScience* 52, 249-257.

- Herrmann R. og Herrmann K. 1994. Chemodynamics of hydrogen peroxide in shallow lagoons on the Mediterranean coast. *Aqua Fennica* **24**, 3-8.
- Jager T., Albert C., Preuss T.G. og Ashauer R. 2011. General unified threshold model of survival-a toxicokinetic-toxicodynamic framework for ecotoxicology. *Environ. Sci. Technol.* 2011. 45: 2529-40.
- Johnsen S., Frost T.K., Hjelsvold M., Utvik T.I.R. 2000. The environmental impact factor – a proposed tool for produced water impact reduction, management, and regulation. SPE paper no. 61178, Stavanger 2000.
- Kooijman, S.A.L.M., 1987. A safety factor for LC50 values allowing for differences in sensitivity among species. *Water Research* 21, 269e276.
- Moen, F.E. og Svensen, E. (2008). *Dyreliv i havet*. 5. utgave. 768 sider. Kom forlag.
- Morton, B. R., Geoffrey Taylor, and J. S. Turner. "Turbulent gravitational convection from maintained and instantaneous sources." In *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 234, no. 1196, pp. 1-23. The Royal Society, 1956.
- Newman, M.C., Dixon, P.M., 1996. Ecologically meaningful estimates of lethal effects in individuals. In: Newman, M.C., Jagie, C.H. (Eds.), *Ecotoxicology: a hierarchical treatment*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 225-253.
- OECD guidelines for the testing of chemicals 2006.
- Olsen, G. H., Smit, M. G. D., Carroll, J., Jæger, I., Smith, T., Camus, L. 2011. Arctic versus temperate comparison of risk assessment metrics for 2-methyl-naphthalene. *Mar Environ Res*, 72:179–187.
- Ozen, O. B., Samsun, O. 2009. Sexual seasonal growth variation and reproduction biology of the rock pool prawn, *Palaemon elegans* (Decapoda: Palaemonidae) in the southern Black Sea. *Scientia Marina*, 73, 239-247.
- Ruzak, Steven A., Richard, L. E. Peake, B. M. "Steady state hydrogen peroxide concentrations across the Subtropical Convergence east of New Zealand." *Chemical Congress of the Pacific Basin Societies, Honolulu, HI Dec.* 2005.
- Schopka S. A. (1974). Preliminary results from tagging of lump sucker (*Cyclopterus lumpus*), in Icelandic waters 1971–1974. ICES CM.1974/F:18. Demersal Fish Northern Committee; 1974. p. 6p.
- Simard, Y and Savard, L. (1990). Variability, Spatial Patterns and Scales of Similarity in Size–Frequency Distributions of the Northern Shrimp (*Pandalus borealis*) and its Migrations in the Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1990, 47(4): 794-804, 10.1139/f90-092.
- Tattersall, W. M og Tattersall, O. S. 1951. *The British Mysidacea*, London, Bernard Quaritch LTD.
- Technical guidance document on risk assessment. TGD. European Commission. Joint Research Centre. European Communities, 2003.
- US-EPA Guidance on risk assessment: <https://www.epa.gov/risk/risk-assessment-guidelines>.
- Vasconcelos, P., Monteiro, C.C., Santos M.N., og Gaspar M.B (2004). «First record of the lumpfish (*Cyclopterus lumpus* Linnaeus, 1758) off the Algarve coast (southern Portugal):

southward extension of the species distributional range. *Journal of Applied Ichthyology*, 20 (2), s. 159–160. [doi:10.1046/j.1439-0426.2003.00531.x](https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00531.x). ISSN 1439-0426.

Wilson, C., L., Hinman N. W., Sheridan, R. P. (2000). Hydrogen peroxide formation and decay in iron-rich geothermal waters: the relative roles of abiotic and biotic mechanisms. *Photochem Photobiol*: 71(6):691-9.