

RAPPORT LNR 3714-97

Feltforsøk med dosering av silikat-lut i Tangedalselva



Hovedkontor

Postboks 173, Kjelsås
0411 Oslo
Telefon (47) 22 18 51 00
Telefax (47) 22 18 52 00

Sørlandsavdelingen

Televeien 1
4890 Grimstad
Telefon (47) 37 29 50 55
Telefax (47) 37 04 45 13

Østlandsavdelingen

Sandvikaveien 41
2312 Ottestad
Telefon (47) 62 57 64 00
Telefax (47) 62 57 66 53

Vestlandsavdelingen

Nordnesboder 5
5005 Bergen
Telefon (47) 55 30 22 50
Telefax (47) 55 30 22 51

Akvaplan-NIVA A/S

Søndre Tollbugate 3
9000 Tromsø
Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 77 68 05 09

Tittel Feltforsøk med dosering av silikat-lut i Tangedalselva	Løpenr. (for bestilling) 3714-97	Dato 04/09 1997
	Prosjektnr. Undernr. O-96245	Sider Pris 31
Forfatter(e) Åtland, Åse (NIVA) Bjerknes, Vilhelm (NIVA) Hektoen, Halvor (NVH) Håvardstun, Jarle (NIVA) Salbu, Brit (NLH) Teien, Hans Christian (NLH)	Fagområde Sur nedbør	Distribusjon
	Geografisk område Hordaland	Trykket NIVA

Oppdragsgiver(e) Direktoratet for Naturforvaltning (DN)	Oppdragsreferanse 655 30/96
--	--------------------------------

Sammendrag

På bakgrunn av forsøk med bruk av silikat-lut ved Syrtveit fiskeanlegg, samt resultater beskrevet i litteraturen, ble det satt i gang forsøk for å undersøke om dette var en egnet metode for å avgifte aluminium også i naturlige elvesystemer. Tangedalselva i Masfjorden kommune i Hordaland, en sur, aluminiumsrik sideelv til det kalkede Frøysetvassdraget, ble valgt som studielokalitet. Det ble dosert silikat-lut tilsvarende 2 mg SiO₂ pr. liter. Doseringen var pH-styrt, og den valgte dosen tilsvarte en pH-økning i råvannet fra pH 4,8 til pH 5,6. Høstmolt av laks fra Matre Havbruksstasjon ble eksponert i 1) det ubehandlede vannet fra Tangedalselv, 2) like etter silikat-lut tilsetning, 3) i Tangedalselv like før samløpet med Frøysetelv 1,5 km lengre nede, 4) i den kalkede Frøysetelva og 5) i en renne hvor de to sistnevnte vannkvalitetene ble blandet i forholdet 1:1 ("blandsonen"). Fisk eksponert i ubehandlet vann fra Tangedalselva hadde høy dødelighet, svikt i ionereguleringen og massive aluminiumsutfelling på gjellene. Etter silikattilsetning (ca. 10 minutters oppholdstid) var dødeligheten eliminert, fisken hadde normal blodkjemi, og mengden aluminium på gjellene var redusert til 1/5. Fisken som gikk i Tangedalselva like før samløpet med hovedelva var noe mer stresset, men det ble ikke observert dødelighet. Fisk i blandsonen ved Frøyset hadde også normal blodkjemi, ingen dødelighet og lite aluminium på gjellene. De biologiske responsene samsvarte godt med endringene i aluminiumskjemi. Silikatdoseringen medførte en halvering av konsentrasjonen uorganisk monomert aluminium (Al_i) fra råvannet (32 µg/L) til det silikatdoserte vannet (15 µg/L).

Fire norske emneord

1. Surt vann
2. Nøytralisering
3. Silikat
4. Laks

Fire engelske emneord

1. Acid water
2. Neutralization
3. Silicate
4. Atlantic salmon



Åse Åtland

Prosjektleder

ISBN 82-577-3282-6



Bjørn Olav Rosseland

Forskningsjef

Feltforsøk med dosering av silikat-lut i Tangedalselva

Forord

Den foreliggende rapporten er sluttrapport for prosjektet "Feltforsøk med silikatdosering". Prosjektet har vært gjennomført på oppdrag fra Direktoratet for Naturforvaltning, og ble startet i slutten av oktober 1996. Feltarbeidet ble gjennomført i perioden 7. - 22. november 1996. Prosjektet har vært et samarbeid mellom NIVA, Laboratorium for Analytisk kjemi (LAK) ved Norges Landbrukshøgskole og silikatleverandøren Akzo-pq Silica. Undertegnede har vært ansvarlig for prosjektet. Fra NIVA bidro i tillegg Vilhelm Bjerknes og Jarle Håvardstun med fiskeundersøkelsene samt Morten Wilbergh som hadde ansvaret for tekniske løsninger knyttet til dosering av silikat og automatisk overvåking av vannkvaliteten. Hans Christian Teien fra LAK hadde i samarbeid med Brit Salbu ansvaret for aluminiumsanalyser både av vann og fiskegjeller. Histologiske vurderinger av gjellene ble gjort av veterinær Halvor Hektoen i samarbeid med Norges Veterinærhøgskole (NVH). Anders Haavik fra Akzo-pq Silica hadde ansvar for levering av silikat-lut og doseringsutstyr. Vi vil ellers takke Fylkesmannens Miljøvernavdeling i Hordaland, Masfjorden kommune, og grunneierne for et godt samarbeid i løpet av prosjektperioden. Matre Havbruksstasjon takkes for at de vederlagsfritt bidro med fisk til forsøket.

Bergen, 4. september 1997

Åse Åtland

Innhold

Sammendrag	5
Summary	6
1. Innledning	7
2. Materiale og metoder	8
2.1 Dosering i elv med eksponering av fisk	8
2.1.1 Prøvetaking og analyser av vann	10
2.1.2 Eksponering av fisk	12
2.2 Renneforsøk	13
2.2.1 Prøvetaking og analyser av vann i renneforsøket	13
2.2.2 Eksponering av fisk i rennene	13
3. Resultater og diskusjon	15
3.1 Vær- og vannføringsforhold under forsøksperioden	15
3.2 Dosering i elv med eksponering av fisk	17
3.2.1 Vannkjemiske resultater	17
3.2.2 Fisk	20
3.3 Renneforsøk med økt aluminiumskonsentrasjon	26
3.3.1 Vannkjemiske resultater fra renneforsøket	26
3.3.2 Fisk i renneforsøket	27
4. Konklusjon	28
5. Litteratur	30
6. Vedlegg A (Vurderingssystem for histologi)	30
7. Vedlegg B (Resultater histologi)	31

Sammendrag

Dosering av flytende silikat-lut for å avgifte aluminium i surt vann har tidligere vært utprøvd med gode resultater bl.a. ved Syrtveit Fiskeanlegg. På bakgrunn av forsøkene ved Syrtveit samt data fra litteraturen, ble det besluttet å teste ut dosering av flytende silikat-lut i et naturlig elvesystem for å finne ut om denne metoden kan være et egnet alternativ til kalking. En annen viktig målsetning med prosjektet var å undersøke om en kunne unngå blandsonetoksitet i samløpet mellom en sur aluminiumsrik sideelv og et kalket hovedvassdrag ved å behandle sideelva med silikat-lut. Tangedalselva i Masfjorden kommune i Hordaland ble valgt som studielokalitet ettersom dette er en sur, aluminiumsrik sideelv til det kalkede Frøysetvassdraget. Det ble dosert silikat-lut tilsvarende ca. 2 mg SiO₂ pr. liter i Tangedalselva ved utløpet av Tangedalsvatnet. Doseringen var pH-styrt, og den valgte dosen tilsvarte en pH-økning i råvannet fra pH 4,8 til pH 5,6. Høstsmolt av laks fra Matre Havbruksstasjon ble eksponert i 1) det ubehandlede vannet fra Tangedalselv, 2) like etter silikat-lut tilsetning, 3) i Tangedalselv like før samløpet med Frøysetelv 1,5 km lengre nede, 4) i den kalkede Frøysetelva og 5) i en renne hvor de to sistnevnte vannkvalitetene ble blandet i forholdet 1:1. I tillegg ble fisk eksponert i renner hvor total-konsentrasjonen aluminium ble økt ved tilsetning av AlCl₃ · 6 H₂O til ca. 300 µg/L i henholdsvis råvannet og det silikat-behandlede vannet. Vannkjemien ble fulgt med daglig prøvetaking på alle stasjoner, og i tillegg ble det gjennomført *in situ* fraksjonering av aluminium ved hulfiber-ultrafiltrering, ionebytting og ekstraksjon.

Resultatene viste at tilsetning av silikat-lut tilsvarende ca. 2 mg SiO₂ pr. liter, med en pH-økning fra pH 4,8 til pH 5,6, var i stand til å avgifte vannet i Tangedalselva. Fisk eksponert i ubehandlet vann fra Tangedalselva hadde høy dødelighet, svikt i ionereguleringen og massive aluminiumsutfelling på gjellene. Etter silikattilsetning (ca. 10 minutters oppholdstid) var dødeligheten eliminert, fisken hadde normal blodkjemi, og mengden aluminium på gjellene var redusert til 1/5. Fisken som gikk i Tangedalselva like før samløpet med hovedelva hadde noe redusert plasmaklorid, og ved et av tidspunktene også forhøyede hematokritt-verdier. Det ble imidlertid ikke observert dødelighet på denne stasjonen. Årsaken til at fisken her hadde tegn på fysiologisk ubalanse, var trolig at det tok noe tid før en fikk full effekt av silikatdoseringen på denne stasjonen som lå 1,5 km nedstrøms doseringsstedet, noe en også ser av de vannkemiske målingene. Fisk i blandsonen ved Frøyset hadde også normal blodkjemi, ingen dødelighet og lite aluminium på gjellene. Gjellehistologien viste tydelige aluminiums-utfellinger og store gjelleforandringer hos fisken som ble eksponert i det ubehandlede vann fra Tangedalselva, mens fisken på de øvrige stasjonene hadde gjelleforandringer i mindre grad. De biologiske responsene samsvarte godt med avsetning av aluminium på gjellene som igjen reflekterte endringene i tilstandsformer av aluminium i vannet. Silikatdoseringen medførte en halvering av konsentrasjonen av uorganisk monomert aluminium (Al_i) fra råvannet (32 µg/L) sammenlignet med det silikatdoserte vannet (15 µg/L). Ved prøvetakingen som ble gjort etter at pH og silikatkonsentrasjonen hadde innstilt seg på samme nivå i Tangedalselva like etter dosering og i Tangedalselva ved Frøyset, var det ingen forskjeller i fordelingen av de ulike Al-species mellom de to stasjonene. Dette viser at effekten av silikat-lut på avgiftning av aluminium skjer svært raskt. I rennene hvor det ble tilsatt ekstra aluminium til ca 300 µg/L var den valgte dosen silikat-lut ikke tilstrekkelig, og det var høy dødelighet på fisken.

Resultatene er med på å bekrefte de positive effektene ved å bruke silikat-lut som en har funnet i tidligere forsøk. Det er dermed grunnlag for å arbeide videre med denne metoden for aluminiumsavgiftning også i naturlige elvesystemer. Den raske avgiftningen som ble observert, selv ved den lave temperaturen på 2 °C, er lovende med tanke på behandling av laksevassdrag.

Summary

Title: Field experiments to test the effect of dosing basic silicate in the acid, aluminium-rich River Tangedalselv, Western Norway

Year: 1997

Author: Åtland, Å., V. Bjerknes, H. Hektoen, J. Håvardstun, B. Salbu and H.C. Teien.

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: 82-577-3282-6

Earlier experiments conducted by NIVA have shown that dosing of basic silicate ($\text{SiO}_2 : \text{Na}_2\text{O}$) to moderately acid, aluminium-rich water in a fish farm can be an effective method for Al-detoxification. The mechanism causing this is probably related to the ability of silicate to rapidly form stable, non-toxic complexes with aluminium. Based on these results, we wanted to test whether this could be an appropriate alternative or supplement to liming of acid rivers or tributaries. A problem which can occur in limed rivers is the formation of toxic mixing-zones in areas where an acid, aluminium-rich tributary enters the limed main-river. The toxicity of these zones is related to the ongoing polymerization of aluminium from the acid tributary, caused by the pH increase as it enters the limed main-river. A second objective was therefore to test if silicate-treatment of an acid tributary would also ameliorate mixing-zone toxicity to fish.

The experiment was conducted in the River Tangedalselv which is an acid, aluminium-rich tributary to the limed River Frøysetelv in Western Norway. The dose of basic silicate corresponded to a concentration of ca. 2 mg SiO_2/L , and caused a pH-increase from pH 4,8 in untreated water to pH 5,6. Dosing was continuously adjusted to this pH to compensate for changes in water discharge. After 10 days of exposure, Atlantic salmon smolts exposed in untreated water experienced high mortality, ionoregulatory failure and Al-depositions on the gills, whereas fish exposed in silicate-treated water (10 minutes after dosing) showed no mortality, normal ionoregulation and the amount of aluminium on the gills was reduced to 1/5. Fish exposed 1,5 km from the dosing point had reduced plasma chlorides and at one sampling also increased haematocrit values. This was most likely caused by the fact that the silicate-treatment had full effect at this station only at the end of the exposure period. Fish exposed in a channel where the latter water-quality was mixed with water from the limed River Frøysetelv showed no signs of mortality or physiological disturbance caused by aluminium polymerization. *In situ* fractionation of aluminium by ion-exchange and hollow-fiber ultrafiltration showed that the concentration of inorganic, monomeric aluminium was reduced from 32 $\mu\text{g}/\text{L}$ in untreated River Tangedalselv water to 15 $\mu\text{g}/\text{L}$ 10 minutes after silicate-addition. In conclusion, the present results show that basic silicate also can be used as water-quality treatment in acid, aluminium-rich rivers.

1. Innledning

Fra litteraturen er det rapportert at silikat kan eliminere de toksiske effektene av aluminium for fisk (Birchall m.fl. 1989). Dette skyldes trolig at silikat har evne til å reagere med uorganisk aluminium, og danner hydroxy-aluminium-silikat forbindelser som reduserer aluminiums giftighet allerede ved en moderat tilsetning av silikat. Forsøk har vist at når aluminium reagerer med silikat er aluminium-silicium forbindelsene som dannes i stor grad høymolekylære (Salbu *et al.* 1995)

NIVAs forsøksvirksomhet knyttet til bruk av silikat som vannbehandlingsmetode ble startet på Syrtveit Fiskeanlegg i 1995 (Rosseland *et al.* 1996). Inntaksvannet til anlegget fra Byglandsfjorden har i perioder konsentrasjoner av aluminium som er giftig for den relikte innlandslaksen ("blege") som kultiveres i anlegget. For å bøte på dette hadde anlegget satt i gang med dosering av lut. Dette hadde stort sett fungert bra fordi vannet etter pH-heving fikk lang oppholdstid grunnet liten biomasse ved anlegget. Ved større belegg i anlegget og dermed kortere oppholdstid på vannet, ville lutdoseringen kunne ha medført såkalt blandsoneskjemi med ulikevekt av aluminium (Rosseland *et al.* 1992, Polø *et al.* 1994, Lydersen *et al.* 1994). De første forsøkene med dosering av flytende silikat viste tendenser til positive effekter utover ordinær lutbehandling (Rosseland *et al.* 1996).

På bakgrunn av disse resultatene satte NIVA, i samarbeid med Laboratorium for Analytisk kjemi, i gang mere kontrollerte forsøk for å undersøke effekten av silikatdosering i forhold til dosering av lut ved ulike oppholdstider (Åtland *et al.* 1997). Resultatene viste klare fordeler med bruk av silikat i forhold til lutbehandling, spesielt ved korte oppholdstider etter avsyring (10 min). I karene med Al tilsetning var det ingen dødelighet når vannet var behandlet med silikat, mens det var noe dødelighet i kar med lutbehandling. Blodprøvene viste ingen signifikante forskjeller mellom lut og silikat, men det var en tendens til større spredning i plasmaklorid-verdiene (større standardavvik) for fisk i kar avsyret med lut. Det som gav de tydeligste forskjellene mellom lut og silikat var kvantitative målinger av mengden utfelt aluminium på gjellene. Det var gjennomgående mye mer aluminium på gjellene til fisk som gikk i kar med lut i forhold til silikat (opptil 6 ganger mer).

Ettersom erfaringene med silikat fra Syrtveit var så positive, var det naturlig å vurdere om dosering av silikat også kunne være egnet til bruk i naturlige elvesystemer. En var spesielt interessert i den tilsynelatende raske avgiftningen av aluminium som ble observert, og hvorvidt denne metoden kunne brukes til å kompleksbinde aluminium og dermed forhindre giftige blandsoner i laksevassdrag. Tangedalselva i Frøysetvassdraget i Masfjorden kommune i Hordaland ble valgt ut på grunn av at dette er en sur, svært aluminiumsrik sideelv som renner ut nederst i et kalket hovedvassdrag. Slike områder hvor en kan vente å finne giftige blandsoner er det viktig å ha en egnet strategi for å avgifte. Slike aluminiums-blandsoner kan være skadelige for laksesmolt i forbindelse med utvandring til sjøen. Frøysetvassdraget overvåkes vannkjemisk i regi av NIVA, mens Laboratorium for ferskvannøkologi og innlandsfiske (LFI) ved Universitetet i Bergen har ansvaret for den biologiske overvåkingen. I regi av NIVA har det vært utført blandsoner-forsøk ved samløpet mellom Frøysetelva og Tangedalselva, og dette var et viktig grunnlag for dette prosjektet (Bjerknes *et al.* in press).

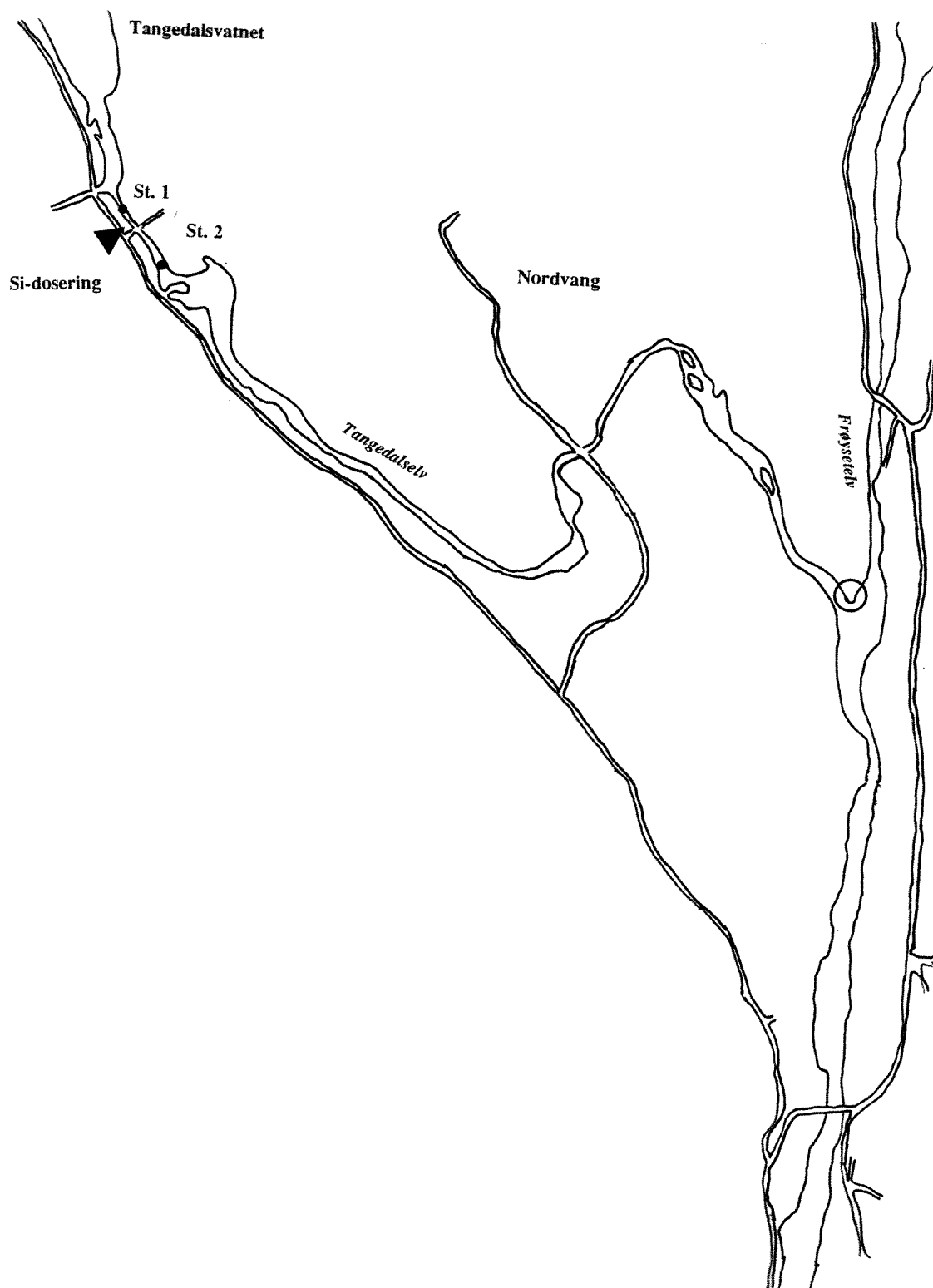
2. Materiale og metoder

Forsøkene ble gjennomført i det kalkede Frøysetvassdraget som ligger i Masfjorden kommune i Hordaland. Tangedalselva er ei sur, ukalket sideelv som munner ut i den nederste delen av det kalkede hovedvassdraget (figur 1). Et av NIVA's mobile laboratorier var plassert ved doseringsstedet, og brukt til hus for doseringspumpe, pH-logging, styringsenhet, og til fiskeeksponering.

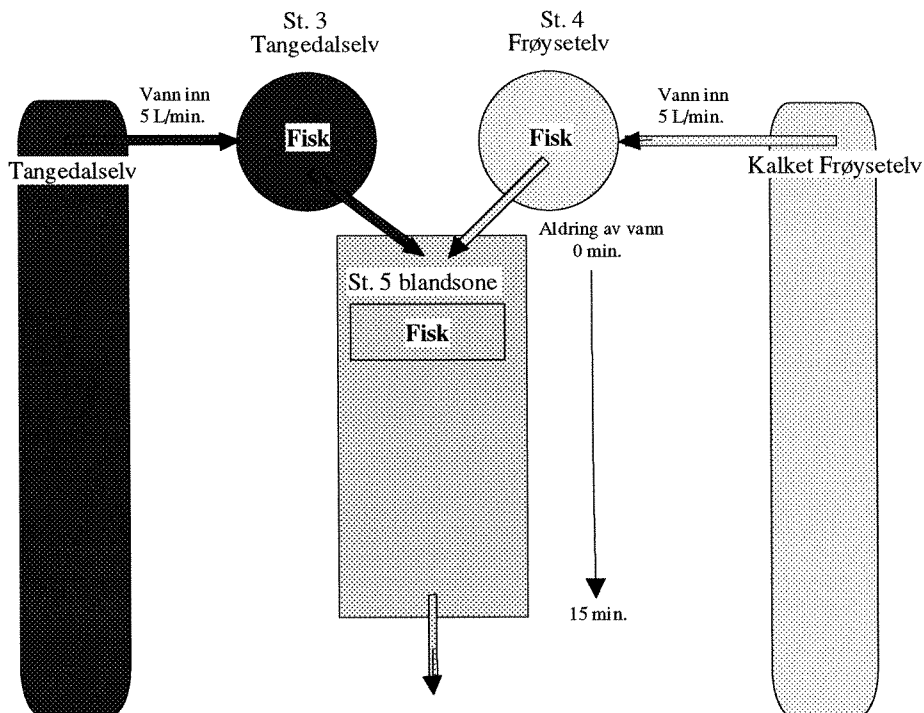
Dosen silikat-lut ble valgt å tilsvare ca. 2 mg SiO₂ pr. liter. Dette innebærer en høyere dose enn den som ble brukt i forbindelse med forsøkene på Syrtveit (1 mg SiO₂/L). pH i Tangedalselva var imidlertid om lag en pH-enhet lavere enn pH i råvannet på Syrtveit. Ved å dosere ca. 2 mg SiO₂ pr. liter økte pH i Tangedalselva fra 4,8 til 5,6. Bakgrunnen for at den valgte dosen var å teste effekten av en moderat dose silikat, hvor pH-hevingen i seg selv ikke skulle være tilstrekkelig til å gi en egnet vannkvalitet for laks. Tidligere forsøk har vist at Al toksisiteten for laks ble sterkt redusert selv ved så lav pH som 5,0 ved at silikat danner kompleksforbindelser med aluminium (Birchall mfl. 1989), og det var derfor interessant å teste ut effekten av silikat ved en moderat pH-økning.

2.1 Dosering i elv med eksponering av fisk

Dosering av flytende silikat-lut ("natronvannglass", dvs. SiO₂:Na₂O i molratio 3:4) ble gjennomført i Tangedalselva like nedstrøms utløpet av Tangedalsvatnet (figur 1). Ved titreringsberegninger viste det seg at den valgte dosen silikat korresponderte til pH 5,6 når utgangs-pH i råvannet var 4,8. Doseringen av silikat var pH-styrt. Ubehandlet råvann fra Tangedalselva ble pumpet inn til en overløps-tank inne i mobillaboratoriet. Herfra ble vann fordelt til fiskekar, til pH-logging og til utdosering av silikat. Konsentrert silikat-lut ble pumpet fra en utendørs 30 m³ tank ved hjelp av en Sera doseringspumpe av typen RF 409.1-90e, og ble så fortynnet med ubehandlet råvann før den gikk ut gjennom et perforert rør som var lagt tvers over Tangedalselva. For å kontrollere effekten av denne dosen umiddelbart etter tilsetning, ble vann fra Tangedalselva pumpet tilbake til mobillaboratoriet fra et punkt ca. 50 meter lengre nede i elva. Vannet ble pumpet opp i en overløpstank, og gikk derfra til fiskeeksponering og automatisk registrering av pH og ledningsevne. Ved å måle pH når silikatdoseringen ble slått av eller på, fant en ut at dette vannet var ca. 10 minutter gammelt etter tilsetning av silikat ved den vannføringen som var på det tidspunktet når prøvene til Al-analyse ble tatt. Effekten av doseringen ble fulgt opp med eksponering av fisk på 5 stasjoner som vist i figur 1 og 2. I tillegg til stasjonene ved doseringspunktet, ble det foretatt kjemisk prøvetaking og eksponering av fisk ved samløpet mellom Tangedals- og Frøysetelva (figur 2).



Figur 1. Kart over nedre del av Frøysetvassdraget med Tangedalselva. Dosering av silikat-lut skjedde ved utløpet av Tangedalsvatnet. Eksponering i området ved samløpet mellom de to elvene (inringet område) er vist i figur 2.



Figur 2. Oversikt over forsøksoppsettet med de ulike stasjonene for prøvetaking ved samløpet mellom Frøyset- og Tangedalselv.

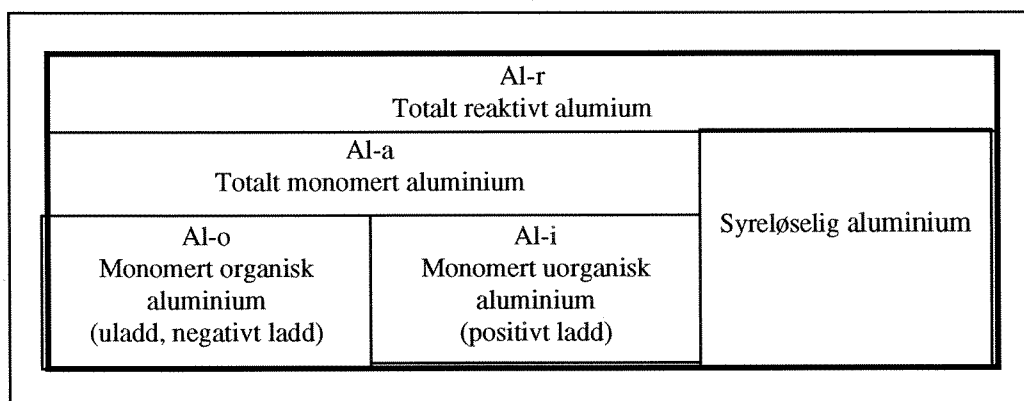
2.1.1 Prøvetaking og analyser av vann

pH og temperatur ble logget kontinuerlig gjennom hele forsøket i Tangedalselva like før samløpet med Frøysetelva og i selve Frøysetelva oppstrøms samløpet. Verdiene ble logget hvert minutt, men er presentert som gjennomsnitt pr. time. I tillegg ble pH, ledningsevne og temperatur logget i Tangedalselv før og like etter silikatdosering (10 minutters oppholdstid). Vannhøyde i elva ved doseringspunktet ble også logget kontinuerlig ved hjelp av en trykksensor. På grunn av teknisk svikt i dataenheten øverst i Tangedalen finnes disse dataene kun for den første delen av forsøket.

Vannprøver ble tatt ved hjelp av automatiske prøvetakere på tre stasjoner: Tangedalselv før silikattilsetning (Stasjon 1), Tangedalselv like etter tilsetning (Stasjon 2), og Tangedalselv før samløp med Frøysetelva (Stasjon 3). Disse prøvene ble tatt hvert 144 minutt, det vil si en døgn-blandprøve som bestod av 10 delprøver à 50 mL. På de siste 3 dagene ble prøvene på stasjon 3 tatt manuelt en gang daglig på grunn av problemer med at vannet frøs i tilførselsslagen til den automatiske prøvetakeren.

Vannprøvene ble analysert ved NIVAs laboratorium med hensyn på følgende parametre: pH, konduktivitet, alkalitet, silikat (SiO_2), kalsium, magnesium, natrium, jern, reaktivt aluminium og TOC (totalt organisk karbon). pH-verdiene som ble målt ved NIVAs laboratorium lå jevnt over 0,2 pH-enheter høyere enn de loggede verdiene, og det som ble målt direkte i felt.

I tillegg til tradisjonell prøvetaking ble det gjort *in situ* fraksjonering av aluminium på alle stasjoner ved slutten av forsøket etter at pH hadde stabilisert seg på samme nivå nederst i Tangedalen som øverst like etter dosering av silikat (dvs. den 20. og 21. november). Både prøvetaking og senere analyser ble utført i regi av Laboratorium for Analytisk kjemi ved Norges Landbrukshøgskole. Behandlingen av prøvene i felt omfattet hulfiber-ultrafiltrering (10 000 Dalton), ionebytting (Amberlite ionebyttermasse) og ekstraksjon etter Barnes-Driscoll metoden (Barnes 1975, Driscoll 1984). I følge Driscoll er monomert aluminium delt inn i to grupper: monomere uladde og negativt ladde aluminiums-organiske komplekser og monomere positivt ladde aluminiums-forbindelser. Den fraksjonen av aluminium som ikke er monomert, er syreløselig aluminium. Syreløselig aluminium er kolloidalt aluminium, polymert aluminium og sterkt bundet organisk aluminium. Syre-løselig aluminium og monomert aluminium utgjør til sammen totalt aluminium. Dette er illustrert i figur 3.



Figur 3. Oppdeling av aluminiums tilstandsformer (Driscoll, 1984).

Bestemmelse av totalt reaktivt aluminium, Al_r

Al_r omfatter aluminium som løses ved $pH < 2$ og som lar seg ekstrahere. Til bestemmelse av totalt aluminium ble det tatt ut 100 ml prøve i 100 ml plastflasker av polyetylen. Prøvefraksjonen ble surgjort med 1 ml konsentrert saltsyre til $pH 1$ på labben 2 dager etter feltarbeidet. Prøven ble lagret i 10 dager ved $4^{\circ}C$ før videre ekstraksjon og fotometrisk bestemmelse.

Bestemmelse av totalt monomert aluminium, Al_a

Totalt monomert aluminium er positivt ladd, uladd og negativt ladd aluminium som lar seg ekstrahere. Prøvefraksjonen blir direkte ekstrahert i felt, lagret 2 dager ved $4^{\circ}C$ før fotometrisk aluminiumsbestemmelse. Ved ekstraksjonen vil også polymert aluminium komme med. Dette fører til at polymert aluminium også inkluderes i fraksjonen Al_a .

Bestemmelse av syreløselig reaktivt aluminium, $Al_r - Al_a$

Syreløselig aluminium lar seg ekstrahere. Denne fraksjonen beregnes ut fra totalt aluminium minus totalt monomert aluminium, og denne fraksjonen representerer en aluminiumsfraksjon som løses med syre. Fraksjonen vil inkludere kolloidalt aluminium og aluminium som desorberes fra partikkeloverflater.

Bestemmelse av monomert organisk aluminium, Al_o

Al_o er uladd og negativt ladd aluminium som lar seg ekstrahere. Al_o er ofte kalt organisk monomert aluminium. De uladde eller de negativt ladde formene av aluminium holdes ikke tilbake ved ionebytting av prøven. For å bestemme denne fraksjonen av aluminium, ble den aktuelle vannprøven ionebyttet gjennom en kolonne med kationbyttermedie Amberlit i felt. På denne ionebytteren holdes positivt ladd aluminium tilbake i ionebyttermassen, og kun fraksjoner som er uladd eller negativt ladd vil passere

gjennom (elueres). Ionebyttede prøver ble ekstrahert i felt og lagret 2 dager ved 4°C før fotometrisk Al_i-bestemmelse.

Bestemmelse av monomert uorganisk aluminium, Al_i

Al_i er kationbytte-reaktivt aluminium som lar seg ekstrahere. Denne positivt ladde aluminium fraksjonen er ofte kalt uorganisk monomert aluminium. Differansen mellom Al_a og Al_o vil angi konsentrasjonen av monomert positiv ladd aluminium (ligning 1).

Monomert uorganisk aluminium = Totalt monomert aluminium - Monomert organisk aluminium

$$(1) \quad Al_i = Al_a - Al_o$$

Positivt ladd aluminium = Positivt, uladd og negativt ladd aluminium - uladd og negativt ladd aluminium.

Al-konsentrasjonene i de ulike ekstraherte prøvene ble bestemt på laboratoriet med spektrofotometer, og ekstraktet ble absorbert for bølgelengde 395 og 600 nm.

2.1.2 Eksponering av fisk

Fisk ble eksponert på 5 stasjoner i Tangedals- og Frøysetelva som vist i figur 1 og 2. Fisken som ble brukt var høstsmolt av laks fra Matre Havbruksstasjon med gjennomsnittslengde på 19,1 cm (std 1,1 cm), gjennomsnittsvekt 66,3 gram (std 11,4 g), og gjennomsnittlig K-faktor var 0,94 (std 0,06). Fisken ble hentet ved Matre Havbruksstasjon den 15. november kl. 10.30 og var plassert i karene i Tangedalen innen kl. 12.30, og på stasjonene ved samløpet med Frøysetelv kl. 13.00. For å studere effekter av transportstress ble det tatt blod- og gjelleprøver av fisken umiddelbart etter at all fisk var utplassert i kar (kl. 13.45).

Fiskene ble i forsøket eksponert i adskilte 70L sorte plastkar fylt med 50L gjennomstrømmende vann. Hver gruppe bestod av 24 fisk. Karene ble tilført vann (5L/min) slik at oppholdstiden i karet var ca. 10 minutter. Vanntilførselen var plassert slik at det ble generert vannstrøm i karet. Karene var delvis dekket av lokk for å unngå direkte lys på fisken. En av intensjonene med forsøket var å studere hvorvidt dosering av silikat i Tangedalselva kan være med å bidra til redusert toksisitet når dette vannet blandes med det kalkede vannet fra Frøysetelva. For å undersøke dette ble fisk eksponert i bur i en renne hvor vann fra Tangedals- og Frøysetelva ble blandet i forholdet 1:1. Renne hadde en vanngjennomstrømming på 10 liter pr. minutt og oppholdstiden var ca 15 minutter totalt. Buret med fisk var plassert øverst i renna slik at fisken ble eksponert umiddelbart etter blanding av de to vannkvalitetene.

Dødelighet ble sjekket 4 ganger daglig på stasjonene i mobillaboratoriet (St. 1 og 2), og daglig på stasjonene ved samløpet (St. 3, 4 og 5). Det ble tatt blod- og gjelleprøver av 6 fisk i hvert av karene i mobillaboratoriet etter 2, 4 og 6 dager og på stasjonene 3, 4 og 5 etter 3, 5 og 7 dagers eksponering. Før prøvetaking ble fisken drept med et slag i hodet. Lengde og vekt ble bestemt. Blod fra kaudal-årene ble samlet i hepariniserte tuber, sentrifugert og plasma ble deretter frosset ned. Blodplasmaklorid-nivå ble senere bestemt med en Radiometer CMT-10 klorid-titrator. Hematokritt ble fastsatt direkte etter sentrifugering (Compur M 1100 mikrosentrifuge).

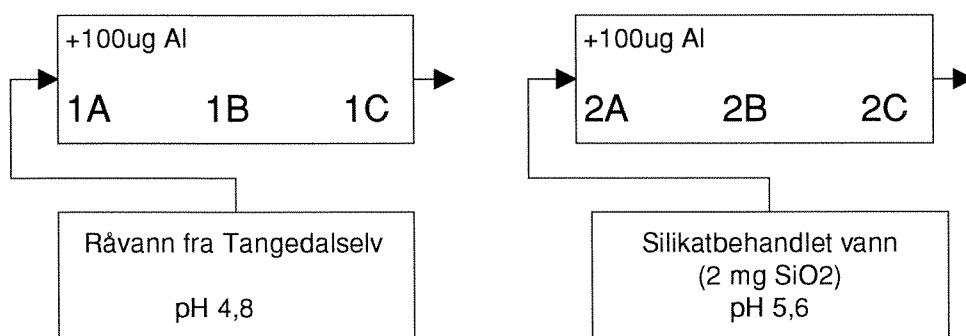
Det ble tatt prøver av fiskegjeller som senere ble analysert histologisk ved Norges veterinærhøgskole. Andre gjellebue på fiskens venstre side ble dissekert ut og fiksert i fosfatbufret formalin. Vevet ble så etter standard metode dehydrert og støpt i parafin for skjæring av tynne snitt. Fra hver gjelle ble ett snitt farget etter standard hemalun-eosin metode, og ett med solokrom azurin i sur løsning (ASA) for påvisning av metaller, blant annet aluminium og jern (Denton *et al.* 1984). Metaller som reagerer med

fargestoffet benevnes som ASA-positivt materiale. Gjellesnittene ble undersøkt ved lysmikroskopi, og de mest fremtredende og mest gjennomgående forandringer ble gradert etter en skala som er satt opp ut fra den variasjonsbredde som vanligvis kan påvises i fiskegjeller (Vedlegg A).

Andre gjellebue på fiskens høyre side ble prøvetatt og lagt på forhåndsveide, syrevaskede telleglass til senere kvantitativ bestemmelse av aluminiums-konsentrasjon ved LAK. Etter ankomst til laboratoriet ble gjellene frysetørket, veid og deretter oppløst i 10% HNO₃. Aluminiumsinnholdet ble målt på ICP, og er angitt som mengde aluminium (mg) pr g gjelle i tørrvekt.

2.2 Renneforsøk

I tillegg til karforsøkene ble det satt i gang renneforsøk for å undersøke hvorvidt den valgte dosen silikat var tilstrekkelig når vannets aluminiumsinnhold ble økt med ca. 100 µg/L til ca. 300 µg/L (figur 4). På grunn av unøyaktighet med doseringspumpen fikk renna med råvann totalt 278 µg Al pr. liter, mens renna med det silikatbehandlede vannet hadde totalt 315 µg Al/L. Aluminium ble tilsatt som Al-klorid. En stamløsning for dosering av aluminium ble laget ved oppløsning av AlCl₃ · 6 H₂O til vann. For å være sikker på at all aluminium i stamløsningen var oppløst, ble pH i denne løsningen justert med konsentrert HCl til pH 3,0.



Figur 4. Skjematisk oversikt over renneforsøket hvor det ble tilsatt ekstra aluminium til henholdsvis råvann (1) og silikatbehandlet vann (2). Fisk ble eksponert i bur helt øverst og helt nederst i hver renne (på stasjonene A og C).

2.2.1 Prøvetaking og analyser av vann i renneforsøket

Det ble tatt daglige pH-målinger i rennene løpet av forsøket. I tillegg ble prøver fraksjonert med hensyn på tilstandsformer av aluminium på samme måte som i fiskekarene med hulfiber-ultrafiltrering, ionebytting og ekstraksjon. Disse prøvene ble tatt øverst i renna, i midten og ved utløpet, og dette vil representere oppholdstider etter Al-tilsetning på ca. 1, 7 og 14 minutter (stasjonene A, B, og C). Det ble ikke tatt vannkjemiske prøver utover dette, ettersom aluminiumstilsetningen er det eneste som skiller disse vannkvalitetene fra råvannet og det silikatbehandlede vannet.

2.2.2 Eksponering av fisk i rennene

Laksesmolt ble eksponert i bur helt øverst og helt nederst i hver renne, dvs. på stasjonene A og C. I hvert av burene ble det satt inn 25 fisk. Dødelighet ble registrert morgen og kveld, og det ble tatt blod- og gjelleprøver av fisken etter 3 døgns eksponering. Prøvetakingsmetodikk var samsvarende med den øvrige fiskeprøvetakingen.

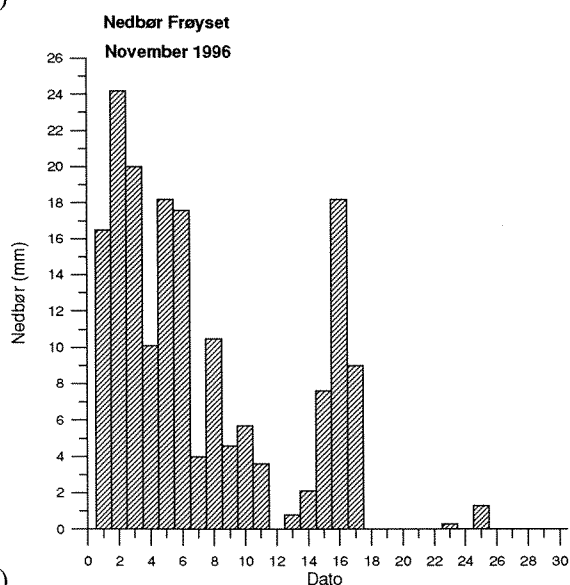
3. Resultater og diskusjon

3.1 Vær- og vannføringsforhold under forsøksperioden

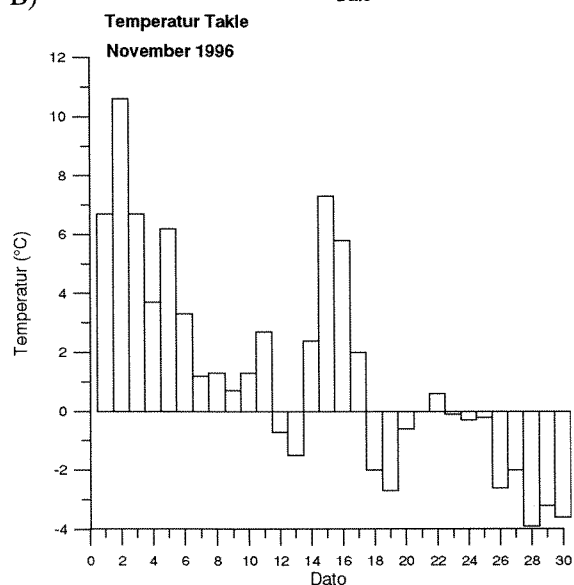
Forsøkene ble gjennomført i en periode med skiftende værforhold. Forut for forsøkene var det en periode med mye nedbør, deretter synkende temperatur og nedbøren kom som snø (figur 5). Ved forsøksstart (den 15/11) steg temperaturen igjen og snøen smeltet. Som en ser av figur 6 medførte dette en kraftig økning i vannføringen i Tangedalselv registrert som økt vannhøyde natt til 15. november. Denne natten klarte ikke pumperegulatoren å få pumpen til å dosere nok silikat, og i løpet av natten sank pH i det silikatdoserte vannet fra pH 5,6 til pH 4,9. Ved å justere opp pumpens slagvolum var pH igjen oppe i 5,6 ved doseringsstedet før fiskeforsøket startet.

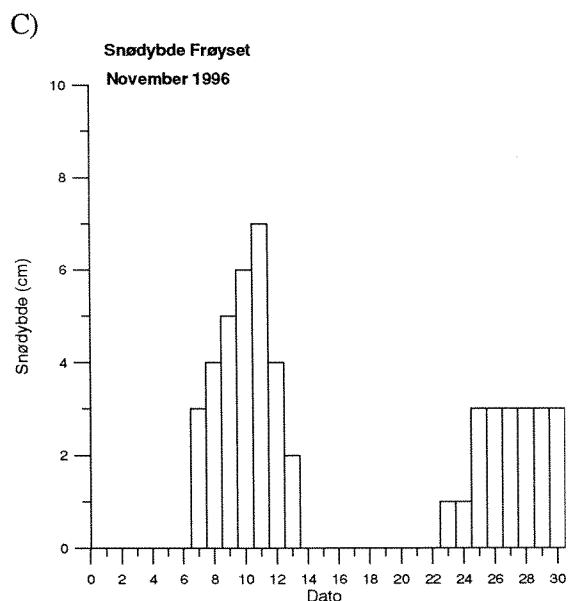
Den gjennomsnittlige vanntemperaturen i fiskekarene var ca. 2°C på de tre stasjonene i Tangedalselva, ca. 5°C i Frøysetelva og 3,5°C i renna hvor de to vannkvalitetene ble blandet.

A)

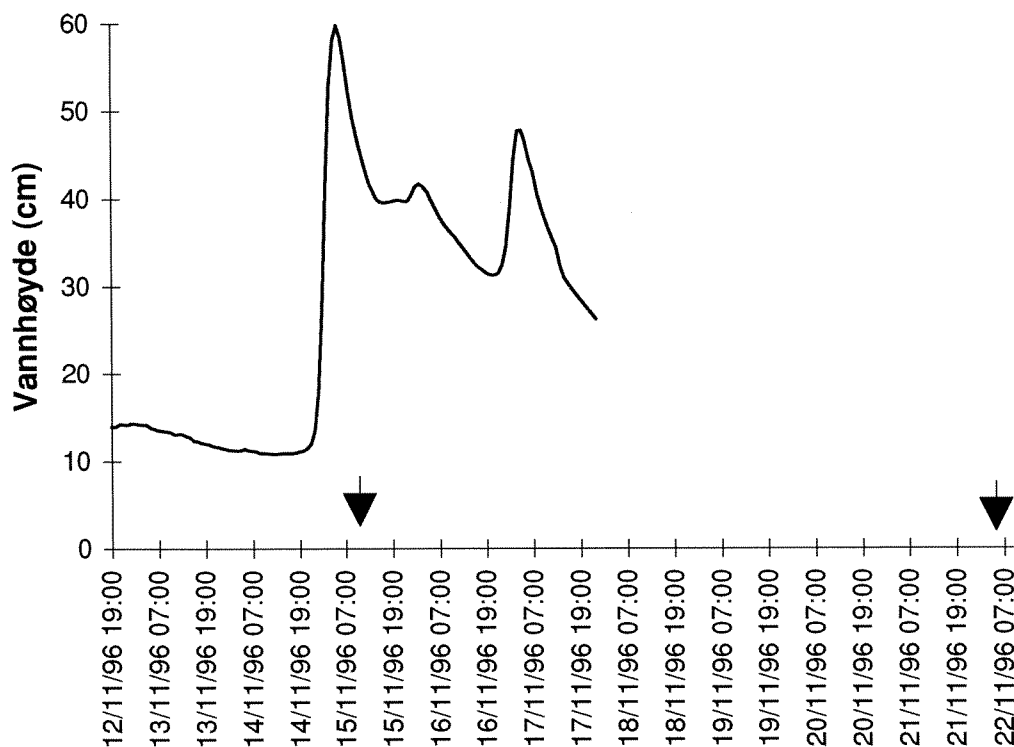


B)





Figur 5. Nedbør (A), temperatur (B) og snødybde (C) for november måned 1996. Temperatur-dataene er fra Takle, mens nedbør og snødybde er registrert ved Frøyset. Alle data fra Meteorologisk institutt. Fiskeeksponering foregikk i perioden 15. til 22. november.



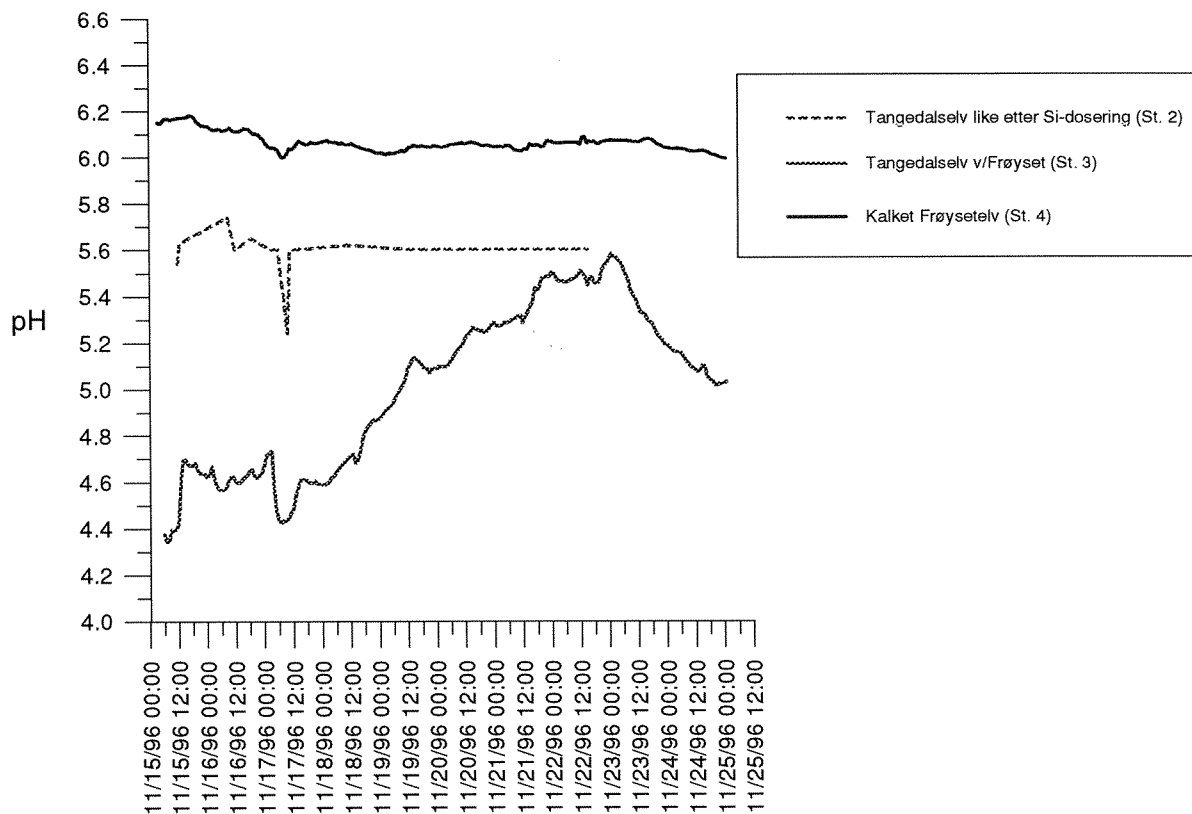
Figur 6. Loggede verdier for vannhøyde i cm ved doseringspunktet i Tangedalselv. Pilene markerer start og avslutningstidspunkt for fiskeforsøket. På grunn av teknisk svikt i loggerenheten mangler registreringer av vannhøyde for den siste delen av forsøket.

3.2 Dosering i elv med eksponering av fisk

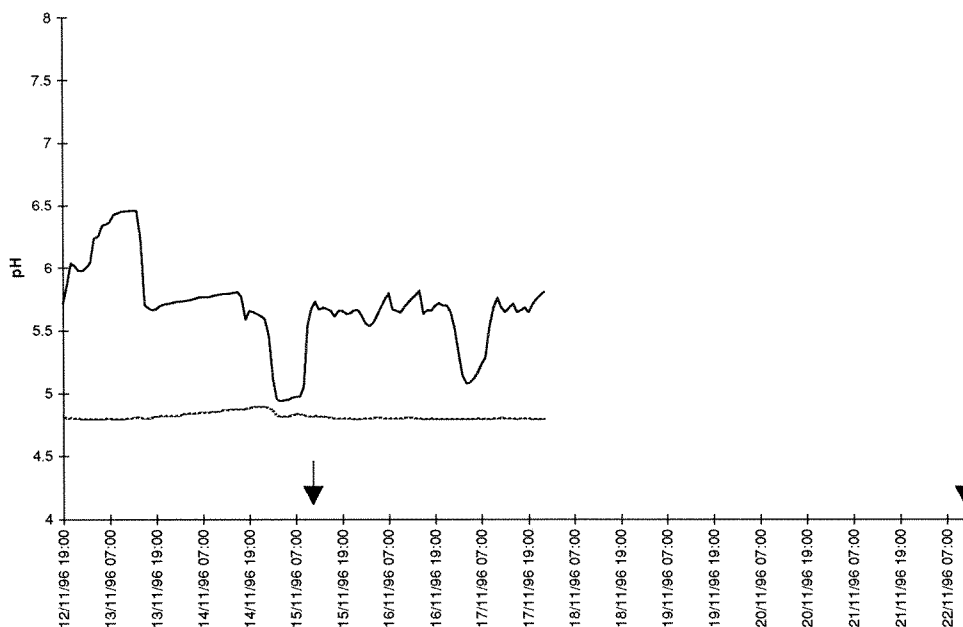
3.2.1 Vannkjemiske resultater

Doseringen av silikat fungerte stort sett bra gjennom forsøksperioden. Som nevnt var det et pH-fall målt i Tangedalselv like nedenfor Si-doseringen (St. 2) natten før fisken ble satt inn i forsøket, og i tillegg til dette var det et noe mindre pH-fall i løpet av natt til 17. november (figur 7 og 8). Oppstrøms doseringspunktet var pH stabilt lav. pH-loggeren samt pH-målinger gjort på stedet viste pH omkring 4,8, mens prøvene som ble målt etter at de ankom NIVAs laboratorium viste pH omkring 5,0 (figur 8 og 9).

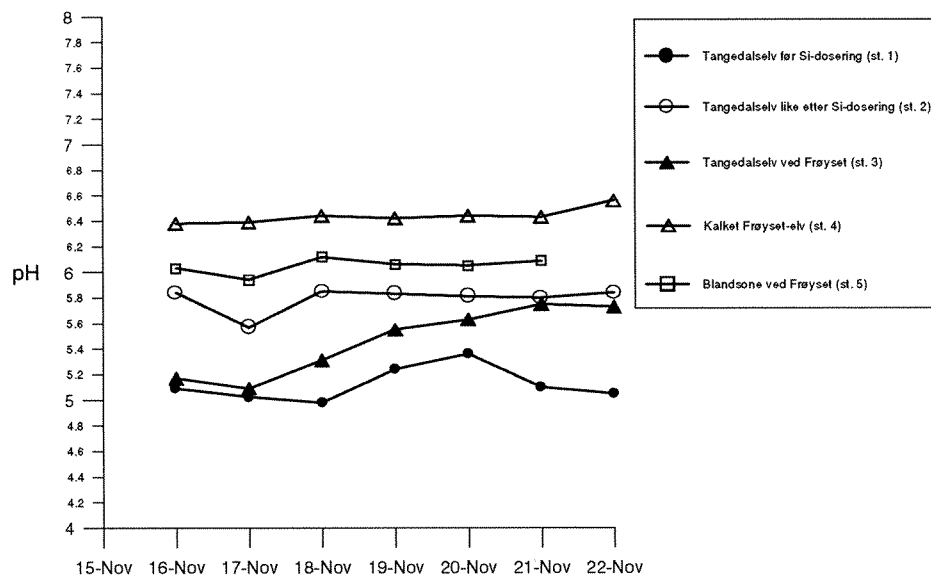
Automatiske pH-registreringer fra Frøysetelva like oppstrøms samløpet mellom de to elvene viste stabil pH, men de loggete verdiene ca. 0,2 pH-enheter over det som ble målt etter at prøvene ankom NIVAs laboratorium (figur 7 og 9). Tangedalselv ved Frøyset viste en gradvis økende pH i løpet av forsøksperioden, og etter ca. en uke var pH kommet opp på samme nivå som ved doseringspunktet (pH 5,6) (figur 7).



Figur 7. Loggete pH-verdier i løpet av forsøksperioden for Tangedalselv ved Frøyset (St. 3), og for den kalkede Frøysetelva (St. 4). pH-verdiene fra øvre del av Tangedalselva like etter tilsetning av silikat (St. 2) er målt på stedet.



Figur 8. Loggede pH-verdier Tangedalselv oppstrøms (markert med rødt) og like nedstrøms (markert med blått) doseringspunktet. Pilene markerer start og avslutningstidspunkt for fiskeforsøket. På grunn av teknisk svikt i loggerenheten mangler registreringene for den siste delen av forsøket.

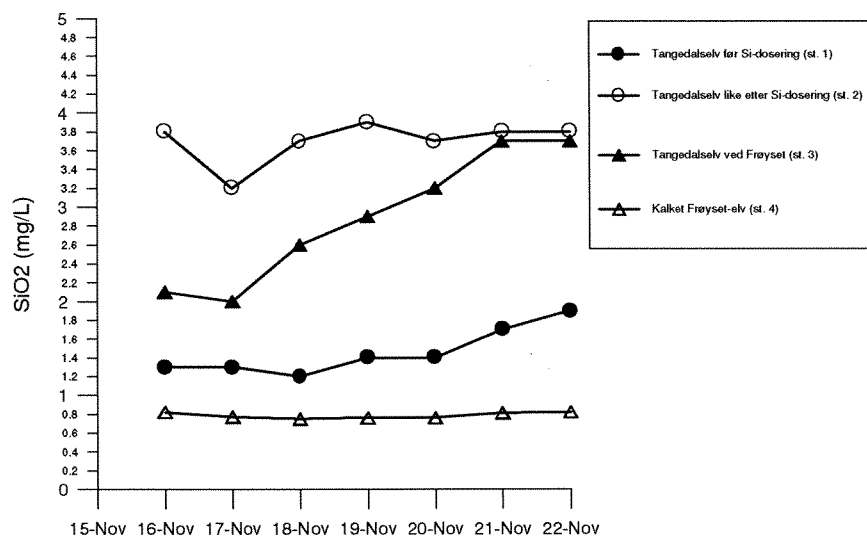


Figur 9. pH på de tre stasjonene i Tangedalselva, i Frøysetelva og øverst i renna hvor de to vannkvalitetene ble blandet i forholdet 1:1. Målingene er gjort ved NIVAs laboratorium.

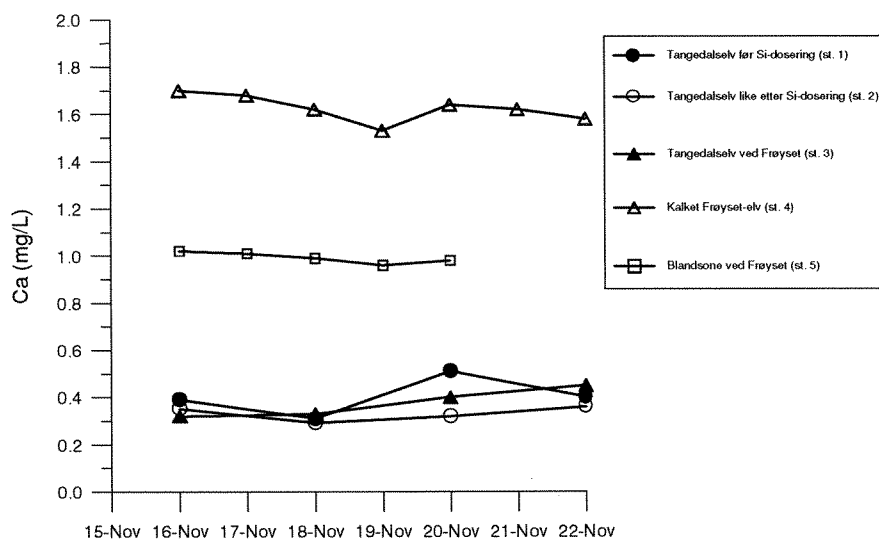
Bakgrunnsnivået av silikat lå like i overkant av 1 mg/L i Tangedalselva, mens konsentrasjonen var noe lavere i den kalkede Frøysetelva (ca 0,8 mg/L) (figur 10). På samme måte som en observerte et pH-fall natt til 17. november, var det også et fall i silikatkonsentrasjonen nedstrøms doseringspunktet på dette tidspunktet. Forøvrig ligger doseringen omkring 2 mg SiO₂ pr. liter. I Tangedalselv ved Frøyset (St. 3) var det observert en gradvis økning i silikatkonsentrasjonen koblet til pH-økningen. Avstanden mellom doseringspunktet og Frøyset er ca. 1,5 km, og i utgangspunktet skulle en tro at en ville ha observert

økning i pH og silikatkonsentrasjonen tidligere. Dette kan ha sammenheng med at steiner og elvebunn først må "mettes" med silikat. Dette er tatt opp som et vesentlig spørsmål å få klarlagt i forbindelse med videre feltstudier.

Kalsiumkonsentrasjonen i Tangedalselv lå lavt gjennom hele forsøksperioden, på 0,2-0,4 mg/L, mens tilsvarende konsentrasjon i den kalkede Frøysetelva var på om lag 1,5-1,7 mg/L (figur 11). Ut fra kalsiumkonsentrasjonen i blandsonen mellom de to elvene stemmer det bra at blandingen var 1:1.



Figur 10. Konsentrasjonen av silikat (SiO₂) i mg/L på de tre stasjonene i Tangedalselva, og i Frøysetelva. Prøvene er analysert ved NIVAs laboratorium.



Figur 11. Ca-konsentrasjon på de tre stasjonene i Tangedalselva, i Frøysetelva og øverst i renna hvor de to vannkvalitetene ble blandet i forholdet 1:1. Prøvene er analysert ved NIVAs laboratorium.

Al-analysene, på prøvene som ble tatt etter at pH og silikatkonsentrasjonen i Tangedalselv ved Frøyset hadde stabilisert seg på samme nivå som like etter doseringspunktet, viste at konsentrasjonen av total aluminium var høy i Tangedalselva, 160 µg/L (tabell 1). På stasjonen ovenfor silikattilsetningen (St. 1), forelå 32 µg/L av dette som uorganisk monomert aluminium (Al_i), og av dette var nesten alt (28 µg/L) på lavmolekylær form (<10 000 Dalton). På stasjonen like etter tilsetning av silikat (St. 2) var Al_i-konsentrasjonen redusert til 15 µg/l hvorav kun 9 µg/L var på lavmolekylær form. I Tangedalselva ved Frøyset (St.3) var Al_i-konsentrasjonene nøyaktig de samme som på St. 2, både med hensyn på de lav- og de høymolekylære formene. Konsentrasjonen av de ulike aluminiumsfraksjonene var med andre ord de samme 10 minutter etter Si-dosering som de var 1,5 km lengre nede i elva. Dette viser at endringene skjer raskt og at fordelingen av tilstandsformer deretter er relativt stabil. Erfaring fra tidligere blandsonforsøk, hvor en ikke har tilsatt silikat, tilsier at "levetiden" av toksiske Al-species trolig ville vært lengre enn 10 minutter ved så lave temperaturer som i dette forsøket (2°C) hvis dette hadde vært en ren pH-effekt.

I renna hvor vann fra Tangedalselv ble blandet med vann fra den kalkede Frøysetelva, var verdiene stort sett slik en skulle vente ut fra de teoretisk beregnede verdiene (tabell 1). I denne renna ble det kjørt aluminiumsfraksjonering både på toppen av renna, i midten og nær avløpet. Av tabellen ser en at konsentrasjonen av Al_i avtar med tiden, og dette er tilfellet for både de høy- og de lavmolekylære formene. Etersom konsentrasjonen av Al_i allerede er halvert i utgangspunktet som en følge av silikat-doseringen, er det mulig at denne endringen med tid etter blanding ikke ville hatt noen praktisk betydning for fisk i et elvesystem.

Tabell 1. Oversikt over konsentrasjoner (µg/L) av de ulike aluminiumsfraksjonene basert på *in situ* fraksjonering den 20.-21. november. For hver av fraksjonene er det tatt med gjennomsnittsverdier og standardavvik (sd). Prøvene er bearbeidet og analysert av Laboratorium for Analytisk kjemi ved Norges Landbrukshøgskole. Beliggenheten til de ulike stasjonene er gitt i figur 1 og 2. Verdier for St. 5 teor. viser teoretisk beregnede verdier forutsatt 1:1 blanding av det silikatbehandlet vann fra Tangedalselv og kalket vann fra Frøysetelva.

Stasjon	Tid min	Total		LMW										HMW											
		Al-r	sd	Al-a	sd	Al-o	sd	Al-i	sd	Al-r	sd	Al-a	sd	Al-o	sd	Al-i	sd								
St. 1		160	1	81	1	49	4	32	6	114	3	58	3	30	1	28	3	46	1	23	3	18	5	4	8
St. 2		167	0	74	1	59	4	15	5	115	0	50	1	41	0	9	1	53	0	24	1	18	4	6	4
St. 3		162	0	70	2	55	3	15	1	120	3	53	4	44	2	9	4	41	3	17	4	11	5	5	5
St. 4		124	0	39	3	36	2	3	3	80	2	29	1	26	1	3	2	44	1	10	3	10	2	1	3
St. 5 teor.	0	144	0	55	2	46	3	9	2	101	1	42	2	36	0	6	2	43	1	14	3	11	3	3	3
St. 5a	1	150	1	62	2	52	1	11	4	93	2	41	2	34	1	7	2	57	2	22	1	18	2	4	2
St. 5b	7-8	143	2	60	2	56	1	4	1	93	1	43	3	39	0	4	3	50	2	18	4	17	1	2	3
St. 5c	15	144	0	63	3	58	2	4	0	99	0	46	1	39	1	5	1	45	1	17	2	19	2	0	0

St. 1. Tangedalselv før Si-dosering

St. 2. Tangedalselv like etter si-dosering

St. 3. Tangedalselv ved Frøyset

St. 4. Kalket Frøysetelva

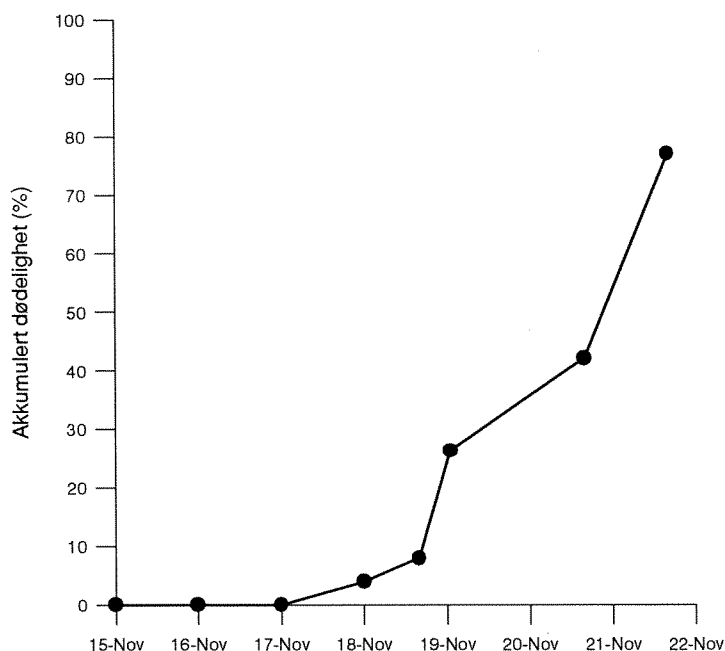
St. 5. Blandson a) umiddelbart etter blanding, b) 7 og c) 15 minutter etter blanding

3.2.2 Fisk

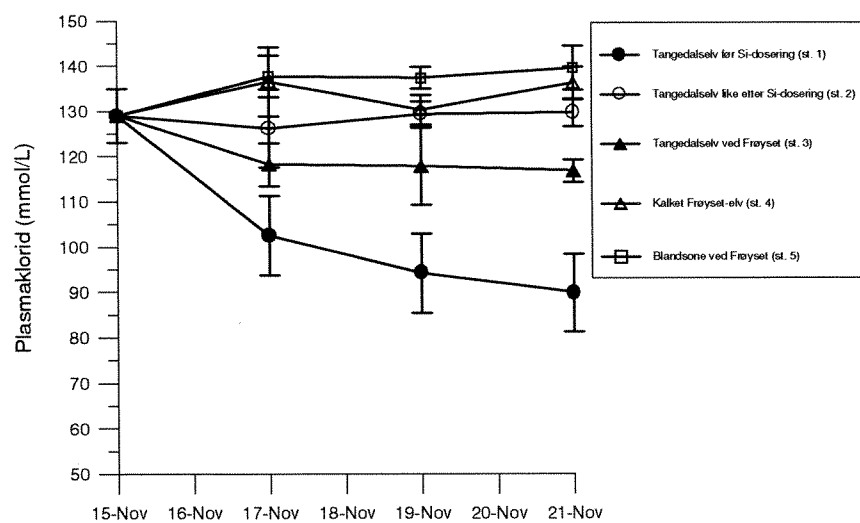
I hovedforsøket døde det kun fisk i den gruppen som gikk i det ubehandlede råvannet fra Tangedalselv (St. 1). Dødeligheten startet etter to døgns eksponering, og ved avslutningen av forsøket den 22. november var totalt ca. 80% av fisken i denne gruppen døde (figur 12).

Målinger av plasmakloridkonsentrasjon viste rask reduksjon i plasmakloridnivåene hos fisk som gikk i det ubehandlede råvannet fra Tangedalselva (figur 13). Fisk som gikk på vann like etter silikattilsetting (St.2), i den kalkede Frøysetelva (St.4) og i blandsoneren (St. 5) hadde jevnt over normale plasmakloridverdier. Fisk som gikk på vann fra Tangedalselva ved Frøyset (St. 3) hadde noe redusert plasmaklorid (figur 13). Dette har trolig sammenheng med at denne fisken ikke har hatt samme vannkvalitetsutvikling som like nedenfor doseringspunktet for silikat, men gjennomlevd en gradvis endring i vannkvaliteten fra surt vann med høy konsentrasjon av Al_3 til vann med høyere pH og redusert Al_3 , som en forsinket effekt av silikatdoseringen. Hematokritt-verdiene viste mye av det samme bildet som for plasmaklorid (figur 14). Etter transporten fra Matre hadde fisken noe forhøyede verdier for hematokritt. Denne utviklingen fortsatte for fisk som ble plassert i Tangedalselv oppstrøms dosering, mens for de øvrige gruppene avtok verdiene gradvis til normalverdier i løpet av forsøksperioden (figur 14). Fisk i Tangedalselva ved Frøyset hadde høye hematokrittverdier etter 4 dagers eksponering, men verdiene var normale ved avslutningen av forsøket etter 6 dager.

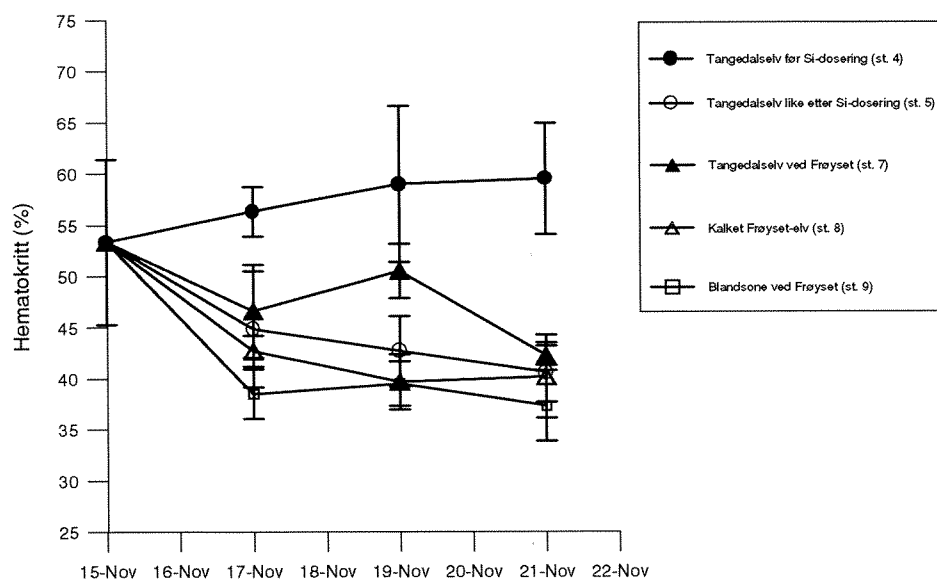
Blodets glukoseinnhold er en stressparameter som relativt nylig er tatt i bruk i forbindelse med våre fiskeforsøk. Det en ofte ser, er at fisk som er stresset mobiliserer energi fra glykogenlagrene, og dette kan registreres som økt glukoseinnhold i blodet (Mazeaud og Mazeaud 1981). Hos døende fisk har vi ofte i våre forsøk observert et fall i glukoseinnholdet igjen like før fisken dør. Glukosemålinger ble foretatt på stasjonene 1 og 2 i Tangedalselva. For begge gruppene var det en økning i glukoseverdier i løpet av forsøksperioden: verdiene ved dag 4 og 6 var signifikant (ANOVA, Tukey test St. 1: $p < 0.05$, St. 2: $p < 0,001$) høyere enn ved dag 2 for begge gruppene. Fisken i det ubehandlede råvannet hadde gjennomgående signifikant høyere glukoseverdier enn fisken som gikk i silikatbehandlet vann ved dag 4 ($p < 0,001$) og 6 ($p < 0,01$) (figur 15). Økningen i glukoseverdier for fisken som var eksponert på stasjon 2 (silikatbehandlet vann) kan enten skyldes at vannkvaliteten ikke var fullt ut optimal, eller det kan være en kareffekt. Forskjellene i glukose-nivå mellom fisken i kar før - og etter silikatbehandling viser imidlertid tydelig at silikatbehandlet fisk var betydelig mindre påvirket enn fisken som gikk i det ubehandlede råvannet.



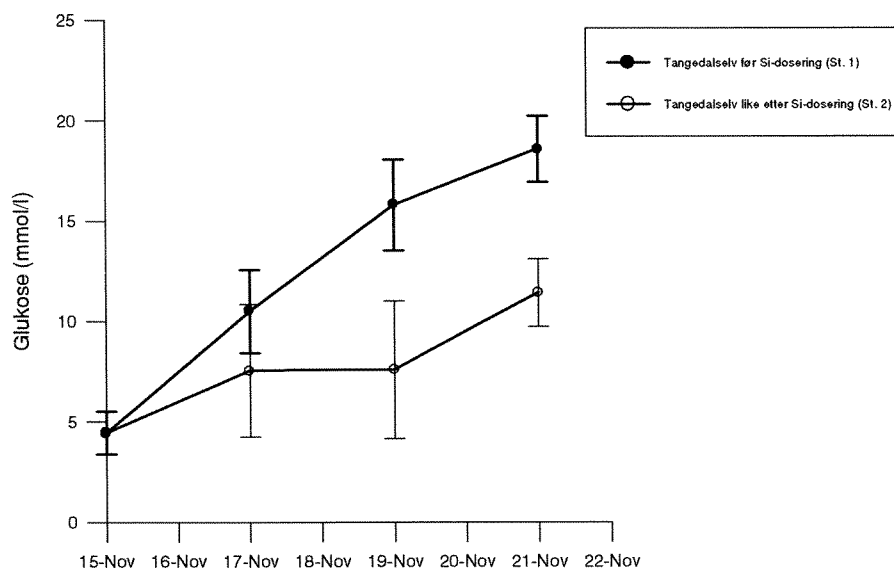
Figur 12. Akkumulert dødelighet (i %) for fisk eksponert i ubehandlet råvann fra Tangedalselva (Stasjon 1) gjennom forsøksperioden. Dette var den eneste av stasjonene i elveforsøket hvor det ble observert dødelighet.



Figur 13. Plasmakloridkonsentrasjon hos fisk på de ulike stasjonene i løpet av forsøksperioden.



Figur 14. Hematokrittverdier hos fisk på de ulike stasjonene i løpet av forsøksperioden.

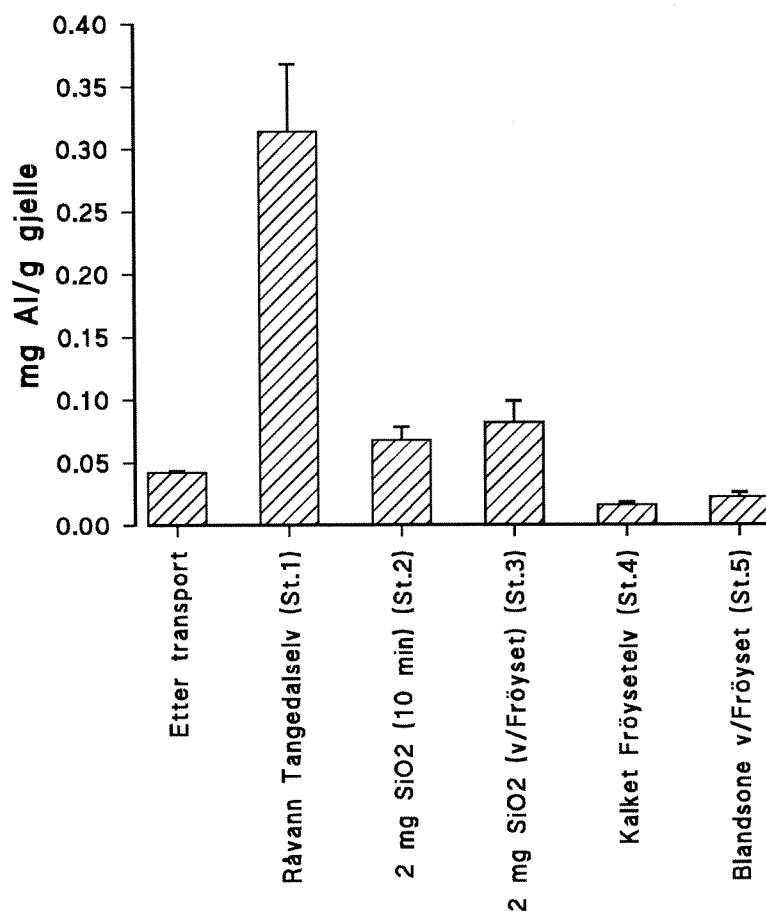


Figur 15. Glukoseverdier (mmol/L) hos fisk på stasjon 1 og 2 i løpet av forsøksperioden.

Resultater av kvantitative målinger av mengden utfelt aluminium på gjellene er vist i figur 16. Silikatdoseringen medførte en kraftig reduksjon i konsentrasjonen av Al på gjellene fra 0,314 mg/g i råvannet (St. 1) til 0,068 mg/g like etter silikattilsetning (St. 2) etter en ukes eksponering. Etter transporten fra Matre hadde fisken relativt lave mengder aluminium på gjellene (0,042 mg/g). Etter en ukes eksponering var mengden økt signifikant ($p < 0,001$) hos fisk som gikk i ubehandlet vann fra Tangedalselva (St. 1), mens det ikke var signifikante forskjeller mellom kontrollen og noen av de andre gruppene verken med silikatbehandling eller i det kalkede råvannet. Fisk som gikk i den kalkede Frøysetelva (St. 4) hadde de laveste mengdene aluminium på gjellene (0,016 mg/g), og mengden var signifikant lavere enn på begge de to stasjonene i Tangedalselva nedstrøms silikattilsetningen (St. 2: 0,068 mg/g, St. 3: 0,082 mg/g). Det er usikkert om de sistnevnte forskjellene har noen betydning for fiskens helsetilstand, og det ble derfor gjort histologiske gjellestudier. Tidligere studier har indikert at en må opp i konsentrasjoner av Al omkring 0,100 mg/g for med rimelig sikkerhet kunne fastslå at fisken er negativt påvirket av aluminium (Brit Salbu pers. medd.).

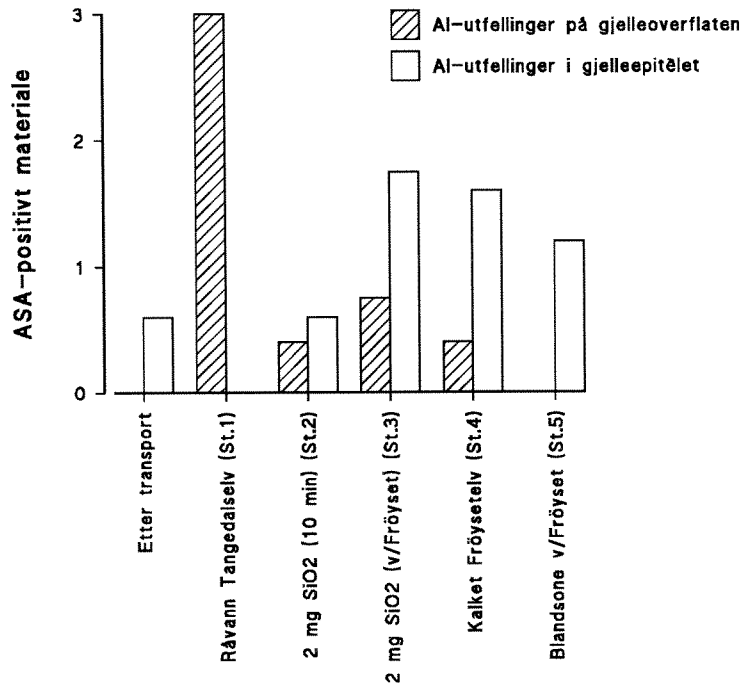
Det var bra samsvar mellom mengde utfelt aluminium målt ved LAK og de histologiske vurderingene. Gjellehistologien viste tydelige forskjeller mellom kontrollene (etter transport fra Matre) og de ulike vannkvalitetene etter en ukes eksponering (Vedlegg B). For å illustrere resultatene er vurderingene satt opp i figur 17. Det er viktig å være klar over at dette er snakk om vurderinger på en ikke-kontinuerlig skala, og det er derfor ikke grunnlag for å sette opp standardavvik eller gjøre statistiske beregninger. Prøvene som ble tatt umiddelbart etter transporten viste normale gjeller uten aluminium på overflaten, men med moderat til lite aluminium i gjelleepitèlet. Det var en svak tendens til reaksjon i slimceller og kloridceller. Dette har trolig sammenheng med at vannkvaliteten på Matre Havbruksstasjon, hvor fisken kommer fra, til en viss grad er påvirket av surt, aluminiumsrikt vann. Tilsvarende og har vært observert i forbindelse med andre forsøk hvor det har vært benyttet fisk fra Matre (Frode Kroglund pers. medd.). Fisken som hadde gått i ubehandlet vann fra Tangedalselva (St. 1) hadde store mengder aluminium som belegg på gjelleepitèlet, og partier av gjellene hadde store forandringer med sammenvoksninger av sekundærlameller, fortykkede lameller og økt slimdannelse. Fisk eksponert i silikatbehandlet vann like etter silikattilsetning (St. 2) hadde moderate mengder aluminium i gjelleepitèlet, noe fortykkede sekundærlameller og kloridcelleproliferasjon (økt antall celler). På stasjonen i Tangedalselv ved Frøyset (St. 3) hadde fisken relativt store mengder aluminium intracellulært, en av fiskene hadde også aluminium på gjelleoverflaten. Forøvrig var det lite til moderate reaksjoner på gjellene med moderat

kloridcelleproliferasjon. Sekundærlamellene var ikke fortykket. Fisken som gikk på vann fra den kalkede Frøysetelva (St. 4) hadde noe mindre aluminium på og i gjelleepitèlet enn på st. 3, men gjellemorfologien forøvrig var relativt lik på de to gruppene. Dette er svært interessant sett på bakgrunn av at Tangedalseva med silikat-behandling hadde vesentlig lavere pH (pH 5,6) enn den kalkede Frøysetelva (pH 6,2). Fisk eksponert i blandsonen (St. 5) hadde ingen Al utfellinger på gjelleoverflaten, små mengder aluminium i gjellepitèlet, ikke fortykkede sekundærlameller, men moderat kloridcelleproliferasjon.

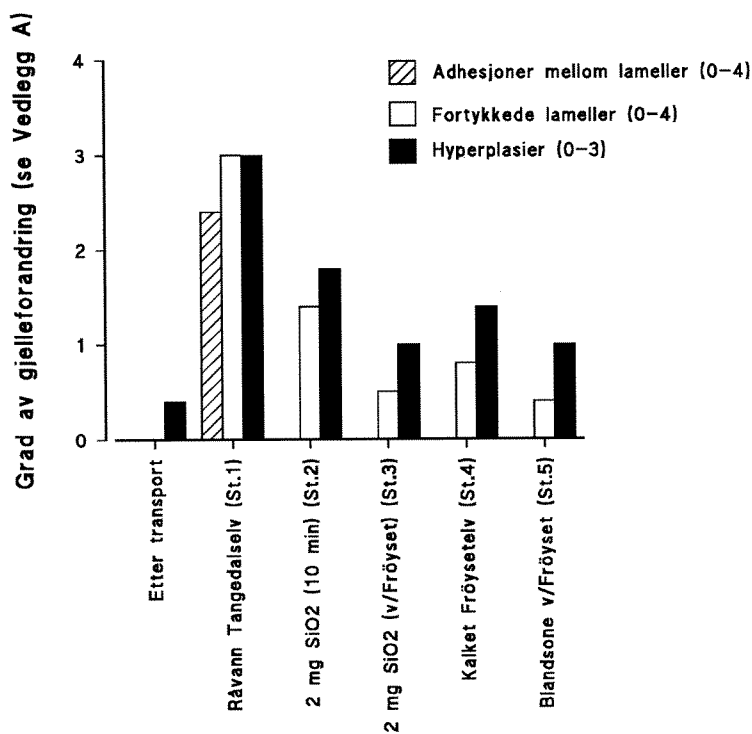


Figur 16. Kvantitative målinger av gjennomsnittlig mengde Al på gjellene (+/- standardavvik) til fisk like etter transporten fra Matre, og på de ulike stasjonene ved avslutningen av forsøket etter en ukes eksponering. Verdiene er basert på 6 fisk i hver gruppe. Analysene er utført ved LAK/NLH

A)



B)



Figur 17. Illustrasjon av de histologiske vurderingene med A) ASA-farging og B) de mer generelle histologiske vurderingene (se tabell i vedlegg B).

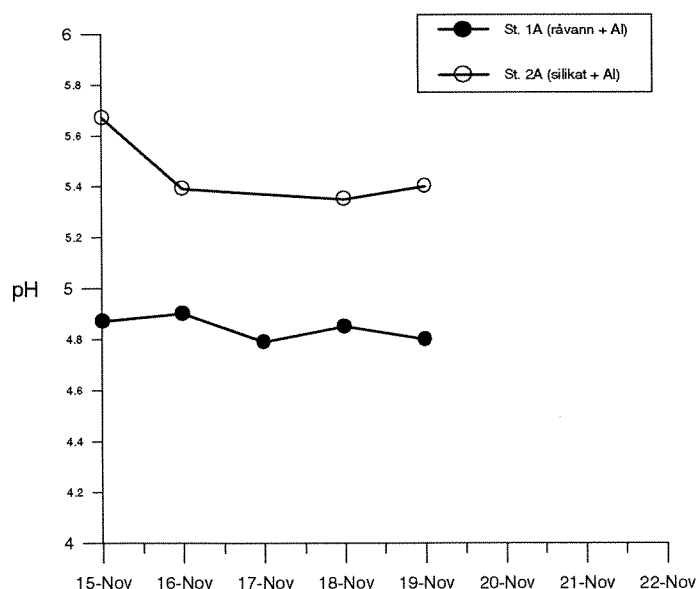
3.3 Renneforsøk med økt aluminiumkonsentrasjon

For å teste effekten av den valgte silikatdosen ved forhøyede aluminiumkonsentrasjoner (total Al på ca. 300 µg/L), ble det satt i gang et renneforsøk hvor fisk ble eksponert i bur helt foran og helt bakerst i en renne med 10 minutters oppholdstid etter tilsetning av aluminium til det ubehandlede råvannet, og til det silikatbehandlede vannet fra stasjon 2.

3.3.1 Vannkjemiske resultater fra renneforsøket

Rennenes pH-verdi samsvarte stort sett med pH i råvannet fra St. 1 og det silikatbehandlede vannet fra St.2, ettersom tilsetningen av aluminium var den eneste kjemiske endringen som ble gjort. For det silikatbehandlede vannet medførte imidlertid Al tilsetningen et pH-fall på ca. 0,3 pH-enheter (figur 18).

Al tilsetningen ble noe høyere (40 µg/L) enn beregnet i det silikatbehandlede vannet sammenlignet med tilsetningen til råvannet (tabell 2). Til tross for denne forskjellen i total aluminium, var total Al_i konsentrasjonen noe lavere i vannet som på forhånd var behandlet med silikat. Dette var spesielt tydelig for lavmolekylær Al_i; i råvannet holdt konsentrasjonen av lavmolekylær Al_i seg på noenlunde samme nivå (95-90 µg/L) nedover i renna, mens i det silikatbehandlede vannet avtok lavmolekylær Al_i fra 76 til 56 µg/L fra starten til slutten av renna. Dette kan delvis være en pH effekt, men det er rimelig å anta at silikat har vært medvirkende til den raske (< 10 minutter) polymeriseringen av aluminium.



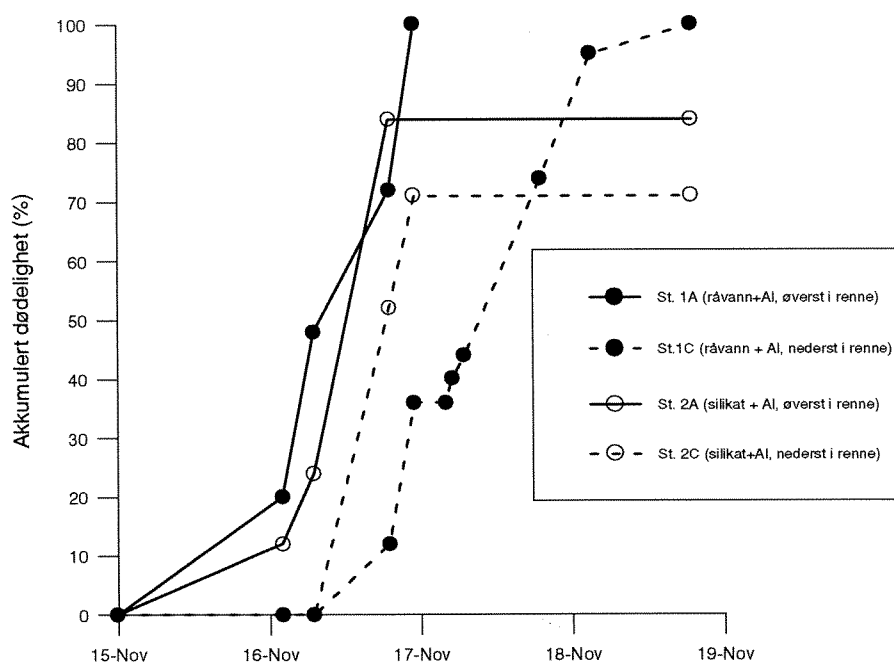
Figur 18. pH målt i rennene hvor ekstra aluminium ble tilsatt. Renneforsøket ble avsluttet etter 5 dager på grunn av at all fisken da hadde dødd ut.

Tabell 2. Oversikt over konsentrasjoner +/- standard avvik for de ulike aluminiumsfraksjonene, basert på *in situ* fraksjonering, i de to rennene hvor aluminium ble tilsatt ubehandlet råvann (1A-C) og silikatbehandlet vann (2A-C). Oppholdstid etter Al-tilsetning var henholdsvis 1, 7 og 13 minutter for stasjonene A, B, og C. Prøvene er bearbeidet og analysert av Laboratorium for Analytisk kjemi ved Norges Landbrukshøgskole.

Stasjon	Tid min	Total						LMW						HMW											
		Al-r	sd	Al-a	sd	Al-o	sd	Al-i	sd	Al-r	sd	Al-a	sd	Al-o	sd	Al-i	sd	Al-r	sd	Al-a	sd	Al-o	sd	Al-i	sd
Råvann + Al																									
St. 1A	1	278		158	2	49	0	109	2	183	3	128	1	33	1	95	0	97	30	16	1	14	2		
St. 1B	7	264		162		60		102		200		139		49		91		64	23	14		11			
St. 1C	13	242		159		61		98		204		139		49		90		38	20	12		8			
Si-behandlet vann + Al																									
St. 2A	1	315	40	188	7	87	2	101	5	228	7	136	1	61	2	76	1	87	33	52	6	27	0	26	6
St. 2B	7	297	1	181	1	91	2	90	4	201		108		56		52		96	72	34		36			
St. 2C	13	297	2	180	2	89	1	91	3	187	0	109	5	54	2	56	6	110	3	71	7	36	2	35	10

3.3.2 Fisk i renneforsøket

Ved de høye aluminiumskonsentrasjonene i renneforsøket var den valgte silikatdosen ikke tilstrekkelig til å avgifte aluminium for fisk. Det var rask og høy dødelighet i begge de to vannkvalitetene, men 100% dødelighet ble kun oppnådd i burene med råvann tilsatt aluminium (figur 19). Felles for begge de to vannkvalitetene var at dødeligheten startet øverst i renna, umiddelbart etter tilsetning av aluminium. Dette er helt i tråd med hva som er funnet i andre blandsonesforsøk.



Figur 19. Akkumulert dødelighet (i %) for fisk eksponert i renner hvor aluminiumskonsentrasjonen ble økt til ca. 300 µg/L i ubehandlet råvann og i silikatbehandlet vann. Fisk var plassert i bur helt øverst (A), og helt nederst (C) i hver av rennene.

Plasmaklorid ble målt ved starten av forsøket, og etter at fisken hadde vært eksponert i rennene i to døgn. Etter to døgns eksponering i råvannsrenna med Al (1) var fisken så stresset i det første buret (1A) at det kun var mulig å få nok blod til kloridmåling for én fisk (85 mmol/L), i det nederste buret (1C) var gjennomsnittlig plasmaklorid-konsentrasjon var 89±5 mmol/L (tabell 3). I den silikatbehandlede renna var det ikke mulig å ta prøver av fisken i A-buret, mens verdien var 71±9 mmol/L for fisk som hadde stått nederst i renna (2C). Denne verdien er signifikant lavere enn for fisk i det tilsvarende buret i råvann tilsatt aluminium (1C) (t-test, $p < 0,05$), men denne forskjellen har liten biologisk betydning ettersom ionereguleringsvikten er alvorlig for fisk i begge gruppene. Også hematokritt og glukoseverdiene viste hardt stresset/døende fisk i begge rennene (tabell 3).

Aluminiumskonsentrasjoner på fiskegjellene viste høye aluminiumskonsentrasjoner hos fisk i begge gruppene, men med signifikant ($p < 0,001$) høyere konsentrasjoner hos fisk eksponert i renna med silikatbehandlet vann tilsatt Al. Denne forskjellen reflekterer trolig at dosen aluminium var høyere i renna med silikat. Imidlertid er det interessant at resultatene indikerer lik aluminiumskonsentrasjon på gjellene hos fisk i A og C-buret i renna med råvann og aluminium, mens det var en reduksjon i konsentrasjonen fra A til C-buret i den silikatbehandlede renna.

Tabell 3. Plasmaklorid, hematokritt, glukose og aluminiumsverdier på gjellene +/- standard avvik for fisk i renneforsøket hvor aluminium ble tilsatt ubehandlet råvann (St. 1) og silikatbehandlet vann (St. 2). Prøvene er tatt etter to døgns eksponering. Antall fisk i hver gruppe er vist i parentes. A-burene var plassert øverst i hver renne umiddelbart etter Al-tilsetning, mens B-burene var plassert nederst i hver renne dvs. ca. 15. minutters oppholdstid etter Al-tilsetning.

Gruppe	Plasmaklorid mmol/L	Hematokritt %	Glukose mmol/L	Gjelle Al mg/g gjelle tørrvekt
1A	85 (1)	74 (1)	7,4 (1)	0,44 (1)
1C	89±5 (4)	69±3 (5)	9,3±1,3 (4)	0,46±0,06 (5)
2A	-	-	3,2 (1)	0,93±0,16 (2)
2C	71±9 (3)	76±10 (5)	7,0±1,4 (4)	0,66±0,09 (5)

4. Konklusjon

Resultatene viser at dosering av silikat-lut i elv kan gi den ønskede avgiftning av aluminium for fisk. En dose silikat-lut tilsvarende ca. 2 mg SiO₂ pr. liter, med en pH-økning fra pH 4,8 til pH 5,6, medførte at dødeligheten ble eliminert og fysiologiske effekter på laksesmolt ble sterkt redusert. Mengden utfelt aluminium på gjellene var redusert til 1/5 sammenlignet med fisk eksponert i råvannet. Dette gjelder for fisk som ble eksponert i vann som ble pumpet inn fra elva 50 meter nedenfor doseringsstedet, eller med ca. 10 minutters oppholdstid etter tilsetning ved den vannføringen som var ved slutten av forsøket. Til tross for at vanntemperaturen var svært lav i forsøksperioden (ca. 2 °C), var det tydelig at det hadde skjedd en avgiftning av aluminium ved at konsentrasjonen uorganisk monomert aluminium var redusert til det halve. Dette er med på å understreke at silikat gir en rask avgiftning av aluminium slik en også fant i forbindelse med forsøkene på Syrtveit (Åtland *et al.* 1997). Videre tyder det på at denne avgiftningen også skjer raskt nok til å gi akseptabel vannkvalitet for laks ved lave temperaturer der kjemiske prosesser går langsomt, og hvor en skulle vente at toksiske forhold ("giftig blandsoneskjemi") skulle vare over lengre tid.

Fisk som ble eksponert ved utløpet av Tangedalselva ved Frøyset hadde noe redusert plasmaklorid og økte hematokrittverdier, men heller ikke her ble det observert dødelighet. Dette har trolig sammenheng med at vannkvaliteten på denne stasjonen var dårlig ved starten av forsøket på grunn av at det tok noe tid før en fikk effekt av silikatdoseringen. Fisken som gikk på vann fra den kalkede Frøysetelva (St. 4) hadde noe mindre aluminium på og i gjelleepitèlet enn på st. 3, men gjellemorfologien forøvrig var relativt lik på de to gruppene. Dette er svært interessant sett på bakgrunn av at Tangedalseva med silikat-behandling hadde vesentlig lavere pH (pH 5,6) enn den kalkede Frøysetelva (pH 6,2). Fisk eksponert i blandsonen ved Frøyset viste ingen tegn på fysiologiske effekter av Al polymerisering, tvertimot ble det observert en svak reduksjon i mengden aluminium på gjellene i forhold til det fisken hadde ved forsøksstart.

Ved de høye aluminiumskonsentrasjonene som ble brukt i renneforsøket (ca. 300 µg/L), var den valgte dosen silikat ikke i stand til å avgifte vannet tilstrekkelig. Fisk eksponert i bur både like etter Al-tilsetning og etter ca. 15 minutter hadde høy dødelighet, sterkt redusert plasmaklorid og høye hematokrittverdier. Dødelighetsutviklingen tydet på at fiskeresponsen hadde sammenheng ustabil aluminiumskjemi i rennene: dødeligheten startet først i burene med kortest oppholdstid. I renna med råvann og aluminium holdt konsentrasjonen Al_i seg konstant fra øverst til nederst i renna, mens det var en tydelig reduksjon i Al_i i renne hvor aluminium ble tilsatt det silikatbehandlede vannet. Resultatene er i overensstemmelse med tidligere forsøk hvor en har vist Al-silikat-kompleksring (Salbu *et al.* 1995), selv om en pH økning også vil bidra til til den observerte endringen i tilstandsformer av Al.

En viktig fordel med dosering av flytende silikat sammenlignet med kalking, er at en ikke får problemer med partikler og tilslamming i områdene nedstrøms doseringen. Spesielt ved lave temperaturer kan dette være et problem ved at kalkpartiklene forårsaker gjelleirritasjoner hos fisken. Silikat-lut er flytende og løser seg svært lett i vann.

Før en setter i gang storskala forsøk med dosering av silikat i elvesystemer som nå er kalket, er det viktig å få klarlagt om denne silikat kan ha noen uønskede, negative effekter på elvas naturlige flora og fauna.

5. Litteratur

- Barnes, R.B. 1975. The determination of specific forms of aluminium in natural water. *Chem. Geol.* 15: 177-191.
- Birchall, J.D., C. Exley, J.S. Chappel, and M.J. Philips. 1989. Acute toxicity of aluminium to fish eliminated in silicon-rich acid waters. *Nature* 338: 146-148.
- Bjerknes, V., Å. Åtland, og A. Hobæk. 1996. Kalking av Yndesdals - Frøysetvassdraget. Situasjonsrapport januar 1996. NIVA-notat V 96/01, 7 sider.
- Bjerknes, V., Å. Åtland, og M. Berntssen. In press. Frøysetvassdraget. Blanding av vann fra kalket hovedvassdrag og sure sideelver. Effekter av H⁺ og aluminium på laks og aure. Trykkes i DN-rapport.
- Denton, J. A.J. Freemont, and J. Ball. 1984. Detection and distribution of aluminium in bone. *Journal of Clinical Pathology* 37: 136-142.
- Driscoll, C.T. 1984. A procedure for the fractionation of aqueous aluminum in dilute acidic waters. *J. Environ. Anal. Chem.* 16: 267-283.
- Lydersen, E., F. Kroglund, M. Nandrup Pettersen, A.B.S. Poléo, B.O. Rosseland, G. Riise, and B. Salbu. 1994. The importance of "in situ" measurements to relate toxicity and chemistry in dynamic aluminium freshwater systems. *J. Ecol. Chem.* 3: 357-365.
- Mazeaud, N.M., and F. Mazeaud. 1981. Adrenergic responses to stress in fish. pp. 49-75. In: A.D. Pickering (ed.). *Stress and Fish*. Academic Press 1981.
- Poléo, A.B.S., E. Lydersen, B.O. Rosseland, F. Kroglund, B. Salbu, R. Vogt og A. Kvellestad. 1994. Increased mortality of fish due to changing Al-chemistry of mixing zones between limed streams and acidic tributaries. *Water, Air, and Soil Pollut.* 75: 339 - 351.
- Rosseland, B.O., I.A. Blakar, A. Bulger, F. Kroglund, A. Kvellestad, E. Lydersen, D.H. Oughton, B. Salbu, M. Staurnes, and R. Vogt. 1992. The mixing zone between limed and acidic river waters: complex aluminium chemistry and extreme toxicity for salmonids. *Env. Poll.* 78: 3-8.
- Rosseland, B.O., E. Lydersen, og F. Kroglund. 1996. Overvåking av vannkvaliteten ved Syrtveit Fiskeanlegg og forsøk med dosering av lut og kisel. NIVA rapport nr. 3446.
- B.Salbu, E.Lydersen, D.H. Oughton, A. Poléo, G. Riise and M.N Pettersen. 1995. Part B. Detailed report of the contractors and sub-contractors Agricultural University of Norway. European Commission Environment research programme. Contract No. EV5V - CT92- 0073 Final report
- Åtland, Å., H. Hektoen, J. Håvardstun, E. Lydersen, og B.O. Rosseland, 1997. Forsøk med dosering av silikat-lut ved Syrtveit Fiskeanlegg. NIVA rapprt nr. 3625.

Vedlegg A.

Kriterier for gradering av histologiske forandringer. Graderingen går fra 0-3, bortsett fra adhesjoner mellom lameller og lamellfortykninger som er gradert fra 0-4.

Type forandring	Ikke påvist	Sparsom forekomst	Moderat forekomst	Uttalt forekomst	Særdeles uttalt forekomst
	0	1	2	3	4
ASA-positivt materiale på overflaten		Materialet sitter stort sett fast til overflaten	Omlag like mye av materialet både løst og fast	Mesteparten av materialet ligger løst mellom lameller og filamenter	
ASA-positivt materiale i epitèlet: antall ansamlinger pr. 10 lamell		< 1	1 - 2	> 2	
Eksfoliering av nekrotiske epitèlceller		Vanskelig å finne	Relativt lett å finne	Kan påvises uten leting i preparatet	
Adhesjoner mellom lameller: andel av lameller med forandring		< 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	> 3/4
Fortykkede lameller: andel av lameller med forandring		< 1/4	1/4 - 1/2	1/2 - 3/4	> 3/4
Hyperplasier		Vanskelig å påvise	Relativt lett å påvise	Kan påvises uten leting i preparatet	

Vedlegg B.

Histologiske undersøkelser av gjeller fra fisk eksponert i ulike vannkvalitetene. Undersøkelsene er utført av veterinær Halvor Hektoen. Ved bearbeidelsen av prøvene var disse kodet slik at det ikke var mulig å vite hvilken vannkvalitet fisken hadde vært eksponert i. Skalaen som er brukt går fra 0 (ingen skade) til 3, bortsett fra adhesjoner mellom lameller og lamellfortykninger som er gradert fra 0-4.

Vurderingssystemet finnes i vedlegg A.

Stasjon	ASA + på gjelle- overflaten	ASA+ i gjelle- epitelet	Lameller med adhesjoner	Fortykkede lameller	Hyperplasi
Etter transport	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	1	0	0	1
	0	1	0	0	1
Råvann Tangedalselv (St. 1)	3	0	2	3	3
	3	0	3	3	3
	3	0	2	3	3
	3	0	2	3	3
Tangedalselv 2 mg SiO₂ (St. 2)	2	0	0	2	2
	0	1	0	0	2
	0	1	0	2	2
	0	0	0	2	2
Tangedalselv v/Frøyset (St. 3)	0	1	0	0	0
	0	1	0	0	0
	1	3	0	1	0
	2	2	0	1	0
Kalket Frøysetelv (St. 4)	0	1	0	1	1
	1	2	0	2	2
	1	2	0	1	2
	0	1	0	0	1
Blandsone v/Frøyset (St. 5)	0	2	0	0	1
	0	1	0	0	0
	0	1	0	0	0
	0	2	0	0	0
Blandsone v/Frøyset (St. 5)	0	1	0	0	0
	0	1	0	0	0
	0	1	0	1	0
	0	1	0	1	0