

RAPPORT LNR 3625-97

Forsøk med dosering av silikat-lut ved Syrtveit Fiskeanlegg



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
5008 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 Forsøk med dosering av silikat-lut ved Syrtveit Fiskeanlegg | Løpenr. (for bestilling) 3625-97 | Dato 1997.03.10 |
| | Prosjektnr. Undernr. O-96128 | Sider Pris 22 |
| Forfatter(e) Åtland, Åse Hektoen, Halvor Håvardstun, Jarle Kroglund, Frode Lydersen, Espen Rosseland, Bjørn Olav | Fagområde Sur nedbør | Distribusjon |
| | Geografisk område Aust-Agder | Trykket NIVA 1997 |

| | |
|--|-------------------|
| Oppdragsgiver(e) Otteraaens Brugseierforening | Oppdragsreferanse |
|--|-------------------|

Sammendrag

Effektene av vannbehandling med henholdsvis lut og silikat har vært undersøkt på den relikte Atlantiske laksen blege ved Syrtveit Fiskeanlegg. I tillegg til avsyring av råvannet fra Byglandsfjorden med de to metodene, ble det også gjort forsøk med tilsetning av 50 µg Al/L for å simulere en sur episode. Til tross for at det kjemisk sett ikke var mulig å måle klare forskjeller i aluminiumskjemi mellom kar behandlet med lut og silikat, var det store forskjeller mellom fisk i kar med de to avsyrimetodene. 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. I kar hvor en tilsatte ekstra Al ved 10 minutters oppholdstid hadde fisk i kar med lut hele 6 ganger mer Al på gjellene, mens i tilsvarende kar uten Al tilsetning var mengden 4 ganger høyere hos fisk i kar med lut i forhold til silikat. Dette bildet understøttes av de histologiske gjellestudiene. Forskjellene skyldes mest sannsynlig at silikat, i motsetning til lut, reagerer svært raskt med aluminium og danner komplekser som ikke lengre bindes til fiskegjellen, og dermed blir ugiftige. På bakgrunn av disse resultatene vil NIVA anbefale at en går over til å bruke silikat som avsyrimiddel ved Syrtveit Fiskeanlegg.

Fire norske emneord

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

Fire engelske emneord

1. Acid water
2. Neutralization
3. Silica
4. Landlocked Atlantic salmon



Åse Åtland

Prosjektleder

ISBN 82-577-3183-8



Bjørn Olav Rosseland

Forskningssjef

**Forsøk med dosering av silikat-lut ved
Syrtveit Fiskeanlegg**

Forord

Basert på vannkjemisk overvåking, og et innledende forsøk med dosering av silikat fikk NIVA våren 1996 i oppdrag å utrede videre bruk av silikatlut som alternativt avsyrmiddel ved Syrtveit Fiskeanlegg. Forsøkene ble gjennomført i perioden 22. mai til 18. juni 1996. Denne rapporten oppsummerer resultatene, og gir på grunnlag av disse anbefalinger med tanke på driften av anlegget. Undersøkelsen har vært gjennomført i samarbeid med Norges Veterinærhøgskole, veterinær Halvor Hektoen og Laboratorium for Analytisk kjemi ved Norges Landbrukshøgskole. Akzo-PQ Silica leverte kostnadsfritt silikat til forsøket.

Vi vil takke for oppdraget og for et godt samarbeid med Syrtveit Fiskeanlegg og med Otteraaens Brugseierforening som har vært oppdragsiver.

Bergen, 7. mars 1997

Åse Åtland

Innhold

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| Sammendrag | 5 |
| Summary | 6 |
| 1. Innledning | 7 |
| 2. Forsøksoppsett og metoder | 7 |
| 3. Resultater og diskusjon | 9 |
| 3.1 Kjemi | 9 |
| 3.2 Fisk | 12 |
| 4. Konklusjon | 19 |
| 5. Referanser | 20 |
| Vedlegg A. | 21 |

Sammendrag

På bakgrunn av forsøk utført med dosering av silikat-lut ved Syrtveit Fiskeanlegg i 1995 ble det gjennomført et mer omfattende eksperiment i 1996 for å sammenligne effektene av avsyring av råvannet med lut og silikat på blege. I tillegg til avsyring av råvannet med de to metodene, ble det også gjort forsøk med tilsetning av 50 µg Al pr. liter for å simulere en sur episode i råvannet. Til tross for at det kjemisk sett ikke var mulig å måle klare forskjeller i mengden uorganisk monomert (labilt) Al mellom vannbehandling med henholdsvis lut og silikat, var det store forskjeller mellom fisk i kar med de to avsyrimetodene. Resultatene viste klare fordeler med bruk av silikat i forhold til lutbehandling, spesielt ved korte oppholdstider etter avsyring (10 min). I karene med ekstra Al tilsetning var det ingen dødelighet når vannet var behandlet med silikat, mens to og en av 25 fisk døde i karene med lutbehandling ved henholdsvis 10 og 30 minutters oppholdstid. Blodprøvene viste ingen signifikante forskjeller mellom lut og silikat, men det var en tendens til større spredning i plasmaklorid-verdiene (større standardavvik) i kar avsyret med lut. Større spredning i blodkjemi-verdiene er ofte observert som en første indikasjon på at en gruppe fisk er stresset. Det som imidlertid gav de tydeligste forskjellene mellom lut og silikat, var kvantitative målinger av mengden utfelt aluminium på gjellene ved forsøkets avslutning. Her var det gjennomgående mye mer aluminium på gjellene til fisk som gikk på lutbehandling i forhold til silikat. I kar med kort oppholdstid (10 min) var det 4 ganger mer Al på gjellene i kar med lutbehandlet vann, mens i tilsvarende karene med tilsetning av ekstra Al var det hele 6 ganger mer Al på gjellene når vannet ble avsyret med lut. Ved kort oppholdstid på vannet etter lutinnblanding (10 min) var det mer Al på gjellene enn det var i det ubehandlede råvannet, sannsynligvis på grunn av at det oppstår ustabil Al kjemi i disse karene. Ved en halv time oppholdstid på vannet var forskjellene mellom lut og silikat mindre, men fremdeles signifikante. Dette bildet understøttes av de histologiske gjellestudiene. Forskjellene skyldes mest sannsynlig at silikat, i motsetning til lut, reagerer svært raskt med aluminium og danner komplekser som ikke lenger er giftige for fisken. På bakgrunn av disse resultatene vil NIVA anbefale at en går over til å bruke silikat som avsyrimiddel ved Syrtveit Fiskeanlegg.

Summary

Title: Experiments to test dosing of silica in Syrtveit fish hatchery

Year: 1997

Author: Åtland, Å., H. Hektoen, J. Håvardstun, F. Kroglund, E. Lydersen and B.O. Rosseland

Source: Norwegian Institute for Water Research, ISBN No.: 82-577-3183-8

The Syrtveit fish-hatchery produces landlocked Atlantic salmon ("blege") to protect and conserve this population in the large Lake Byglandsfjorden, Southern Norway. The naturally occurring population was threatened by extinction, due to acidification, and therefore recruitment had to be aided by stocking. The stock water-quality of the fish hatchery is acidic, and therefore not good enough. Based on a preliminary experiment conducted on Syrtveit fish hatchery in 1995, a more elaborated experiment was conducted to compare treatment of moderately acidified water with sodium hydroxide-neutralization with the use of basic silicate ($\text{SiO}_2 \text{Na}_2\text{O}$). In spite of the fact that it was not possible to separate the effects of sodium hydroxide and silica on the amount of inorganic monomeric (labile) aluminium in the tanks, there were significant differences between fish with the two treatments. The results showed clear advantages by use of silica, especially at short retention times (10 min) after dosing. In tanks where 50 $\mu\text{g/L}$ of extra Al was added to simulate acidic episodes in the water source, some mortality occurred with the use of sodium hydroxide, but not with silica. With a retention time of 10 min, the total amount of aluminium on the gills were 4 times higher for fish in tanks treated with sodium hydroxide compared to tanks treated with silica, whereas the corresponding number was 6 times higher for the tanks where extra aluminium was added. Histological studies supported these results. The mechanism causing these differences is probably related to the ability of silica to rapidly form stable, non-toxic complexes with aluminium. Based on these results it is recommended that Syrtveit fish hatchery change their water-treatment strategy from using sodium hydroxide to using basic silicate.

1. Innledning

NIVA gjennomførte i perioden 1994-1995 en undersøkelse av vannkvaliteten ved Syrtveit Fiskeanlegg. Det ble konkludert med at inntaksvannet fra Byglandsfjorden i perioder har konsentrasjoner av aluminium som er giftig for blege (Rosseland *et al.* 1996). Det ble videre konkludert med at anleggets lutdosering stort sett har fungert bra, men forsøk med dosering av flytende silikat viste positive effekter utover ordinær lutbehandling. Ulikevekt av aluminium med pågående polymerisering, ofte omtalt som giftig blandsoneskjemi (Rosseland *et al.* 1992), kan oppstå som en følge av vannbehandling av surt vann. Tiden fram til en likevektssituasjon vil bl.a. være avhengig av mengden lavmolekylært aluminium som kan polymerisere, og av vanntemperaturen. Dette er et aktuelt problem ved Syrtveit Fiskeanlegg, ettersom det i perioder med stort vannforbruk vil være problematisk å kunne få tilstrekkelig oppholdstid på vannet etter lutbehandling.

Fra litteraturen er det rapportert at silikat kan eliminere de toksiske effektene av aluminium (Birchall m.fl. 1989). Dette skyldes trolig at silikat har en unik evne til å reagere med uorganisk aluminium, og danner hydroxy-aluminium-silikat komplekser som reduserer aluminiums giftighet allerede ved en moderat tilsetning av silikat. Forsøkene ved Syrtveit i 1996 antydte at nødvendig oppholdstid på vannet etter nøytralisering var kortere ved vannbehandling med silikat enn med lut (Rosseland *et al.* 1996). På denne bakgrunn ønsket en derfor å få dette nærmere undersøkt, for på denne måte å kunne vurdere hvorvidt en burde gå over til silikatbehandling ved Syrtveit Fiskeanlegg.

2. Forsøksoppsett og metoder

Forsøkene ved Syrtveit ble startet den 22. mai og varte i 4 uker fram til 18. juni 1996. Blege ble fordelt på i alt 20 kar med ulik vannkvalitet eller oppholdstid (**Figur 1**). Karene var 70 liters murerstamper i svart plast. For å kunne sammenligne dagens lutdosering med dosering av silikat-lut ble fisk eksponert i råvann som var avsyret med henholdsvis lut og silikat-lut. Hver av disse vannkvalitetene var seriekoblet slik at en fikk 4 ulike oppholdstider (10, 20, 25 og 30 min). Disse tidene representerer oppholdstid på vannet etter nøytralisering ved ulike driftssituasjoner ved anlegget, dvs. 10 minutter ved maksimalt vannforbruk. For å simulere en sur episode med økte aluminiumskonsentrasjoner i råvannet, ble det laget to tilsvarende seriekoblede kar-rekker hvor en doserte 50 µg/L total aluminium inn i råvannet for deretter å avsyre med henholdsvis lut og silikat. I tillegg ble det tatt prøver av fisk som hadde gått i råvann før lutdosering, i driftsvann (med ordinær luttilsetning), og fra kar i hovedanlegget (driftsvann). Vanngjennomstrømmingen i systemet var 5 L/min i de to øverste kar-rekkene (10 og 20 min oppholdstid), mens dette ble fordelt med 3,3 L/min til karene på nest nederste nivå (25 min oppholdstid) og 1,7 L/min til karene på nederste nivå (30 min oppholdstid).

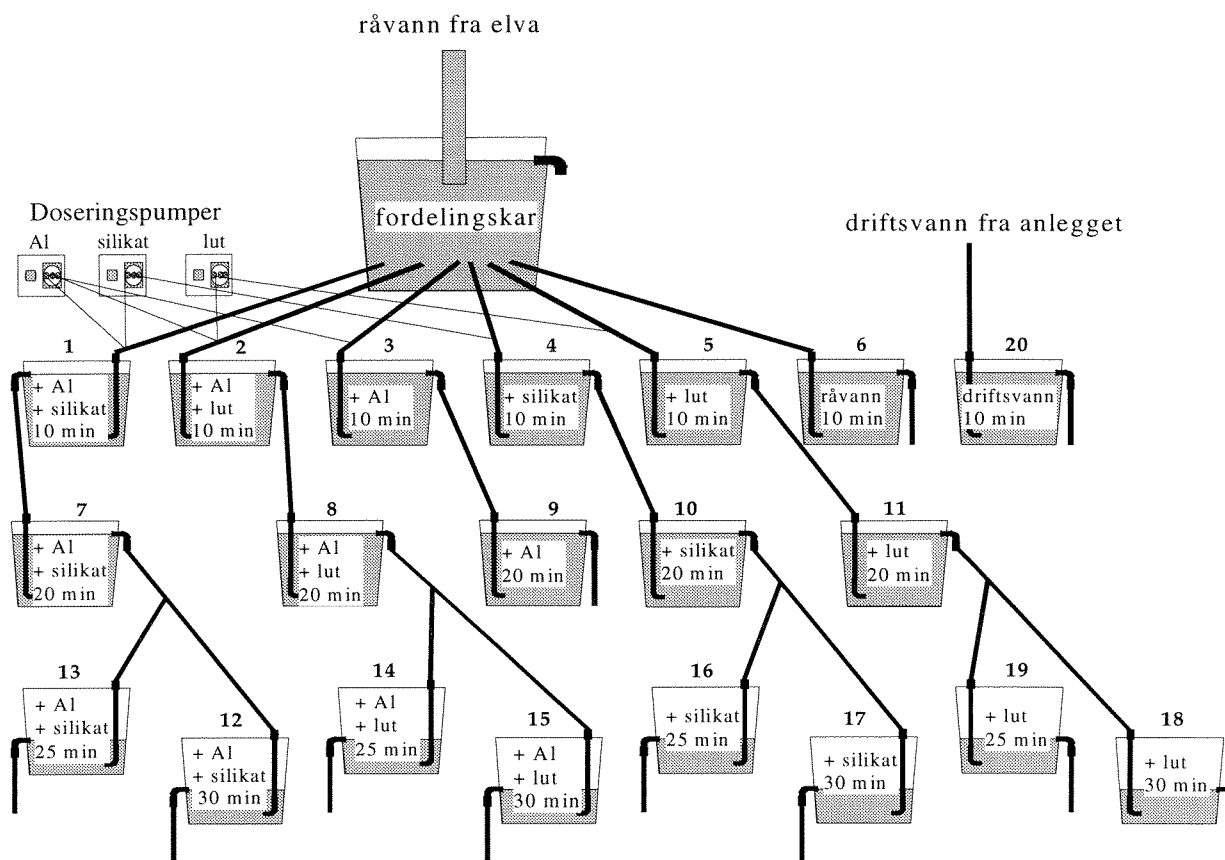
All tilsetning av lut, silikat og aluminium skjedde i innløpet til de øverste karene slik det fremgår av **Figur 1**. Til lutdoseringen ble det brukt lut (NaOH) av samme type som brukes i anleggets normale vannbehandling. Silikat ble tilsatt som silikatlut av typen natronvannglass (3,25) 38/40 fra Akzo-PQ Silica. Både lut- og silikat-lut ble fortynnet slik at tilsetningen av stamløsning var på ca. 1 mL/min. En stamløsning for dosering av 50 µg Al pr. liter ble laget ved oppløsning av $\text{AlCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 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.

Vannkjemien i karene ble karakterisert ved daglige pH målinger samt ved mer omfattende prøver som ble tatt i hvert av toppkarene 5 ganger i løpet av forsøksperioden (etter 0, 6, 14, 21 og 27 dager). Disse

prøvene ble analysert ved NIVAs laboratorium for pH, ledningsevne, SiO₂, Na, reaktivt Al (RAI) og organisk monomert (Alo, ikke labilt Al). Råvann og driftsvann ble i tillegg analysert på følgende parametre: ALK, Cl, SO₄, NO₃-N, Ca, Mg, Na, K, og TOC. For å se på andelen uorganisk monomert aluminium (Ali) ble vann fra hvert kar ionebyttet direkte på stedet før de ble sendt til Al analyse. Andelen uorganisk monomert aluminium ble for hvert kar beregnet som differansen mellom RAI i toppkaret i den aktuelle kar-rekken og RAI-mengden etter ionebytting (dvs. Alo) i hvert enkelt kar.

Forsøksfisken var produsert ved anlegget, og var første-generasjons avkom av villfanget stamfisk. Fisken hadde dermed gått hele livet i anleggets driftsvann som var lutbehandlet råvann med lang oppholdstid (30-60 minutter) (se Rosseland *et al.* 1996). Blega som ble brukt hadde gjennomsnittlig lengde på 16,0 cm (min 13,2, max 19,4 cm) og veide gjennomsnittlig 39,6 gram (min 20,0, max 76,0 gram). Tidspunktet for forsøket ble valgt for å sammenfalle med blegas smoltifisering, som er antatt å være det mest følsomme stadiet med tanke på effekter av surt vann og aluminium. Det ble tatt prøver av fisken ved oppstart av eksperimentet (dag 0), etter 6 og 14 dager, og ved avslutningen etter 27 dager. Ved hvert tidspunkt ble 6 fisk fra hvert kar prøvetatt for blod og gjeller i tillegg til bestemmelse av lengde og vekt. Blodprøvene ble tatt ved halekutting og hematokrittverdi og plasmaklorid-konsentrasjon ble bestemt. Gjelleprøver ble tatt både for histologisk analyse ved Norges veterinærhøgskole, og for kvantitativ bestemmelse av aluminiumsinnhold ved Norges Landbrukshøgskole.

For histologisk undersøkelse ble andre gjellebue på fiskens venstre side dissekert ut og fiksert i fosfatbufret formalin. Ved Veterinærhøgskolen ble så vevet 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).



Figur 1. Oversikt over forsøksoppsettet på Syrtveit med de ulike vannkvaliteter og oppholdstider. Karvolumet var 70 L.

3. Resultater og diskusjon

3.1 Kjemi

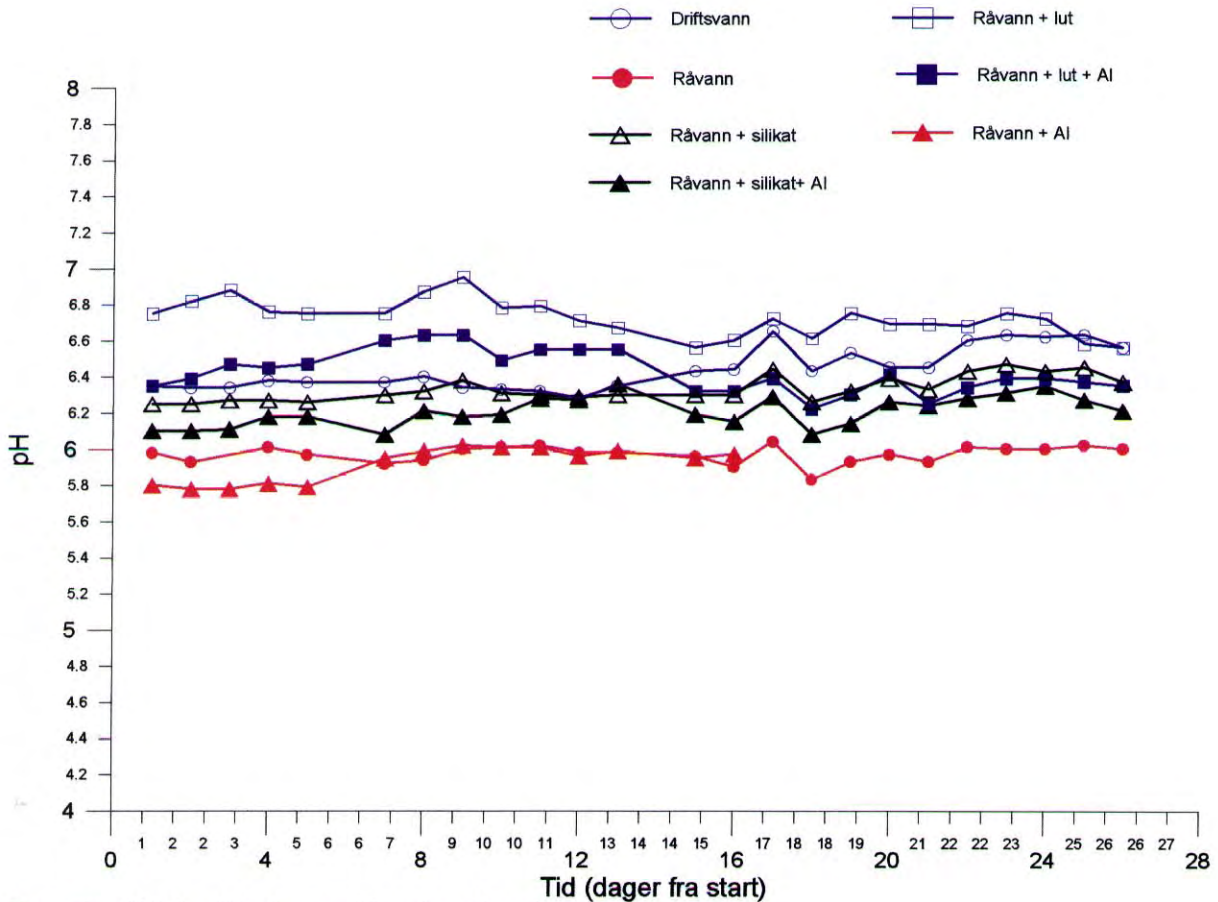
I karene som ble behandlet med silikat-lut ble det observert en økning i konsentrasjonen av SiO_2 fra 1,3-1,4 mg/L til 2,1-2,2 mg/L, det vil si at en doserte i underkant av 1 mg/L SiO_2 (**Tabell 1**).

Konsentrasjonen av SiO_2 ble målt i toppkarene med 10 minutters oppholdstid, og var stabil gjennom forsøksperioden bortsett fra et lite fall den 12. juni i karene hvor en doserte silikat.

pH målingene viser noe større svingninger enn konsentrasjonen av silikat (**Figur 2**). Lutdoseringen så ut til å gi en noe ustabil pH, og spesielt i begynnelsen av forsøket lå den noe høyere enn pH i karene hvor en doserte silikat. Råvannets pH varierte i forsøksperioden mellom 5,9 og 6,0.

Tabell 1. Oversikt over silikatkonsentrasjonen, målt som mg SiO₂ pr. liter i de ulike vannkvalitetene. Alle data er fra toppkarene som hadde 10 minutters oppholdstid.

| Kar | Driftsvann (20) | Råvann (6) | Råvann +silikat (4) | Råvann +silikat+Al (1) | Råvann +lut (5) | Råvann +lut+Al (2) | Råvann +Al (3) |
|----------------|--------------------|-----------------|---------------------------|------------------------------|-----------------------|--------------------------|----------------------|
| 22/5 | 1,3 | 1,3 | 2,5 | 2,2 | 1,5 | 1,3 | 1,4 |
| 28/5 | 1,4 | 1,4 | 2,4 | 2,3 | 1,4 | 1,3 | |
| 5/6 | 1,3 | 1,3 | 2,2 | 1,9 | 1,3 | 1,3 | |
| 12/6 | 1,2 | 1,3 | 1,7 | 1,7 | 1,3 | 1,3 | |
| 18/6 | 1,4 | 1,4 | 2,2 | 2,2 | 1,4 | 1,4 | |
| Snitt | 1,32 | 1,34 | 2,20 | 2,06 | 1,38 | 1,32 | |
| +/- std | +/- 0,08 | +/- 0,05 | +/- 0,31 | +/- 0,25 | +/- 0,08 | +/- 0,04 | |



Figur 2. pH i de ulike karene i løpet av forsøksperioden.

Bakgrunnsverdien av reaktivt Al (RAI) i råvannet ligger på 40-50 µg/L (Tabell 2). Det var bra samsvar mellom RAI konsentrasjonene i de to karene hvor en doserte aluminium og avsyret med henholdsvis silikat og lut. Dersom en ser bort fra en midlertidig stans i Al doseringen den 5. juni ligger gjennomsnittlig RAI på ca 80 µg/L for begge disse vannkvalitetene. Uorganisk monomert Al (Ali) verdiene presentert i Tabell 2 er basert på vannprøver som ble ionebryttet etter at de ankom

(Ali) verdiene presentert i **Tabell 2** er basert på vannprøver som ble ionebyttet etter at de ankom NIVAs laboratorium. Disse verdiene er noe mer variable enn prøvene som ble ionebyttet direkte, og en kan ikke se noen vesentlig forskjeller mellom vannkvalitetene bortsett fra at råvannet med og uten Al-tilsetning skiller seg ut med høy konsentrasjon av Ali. Det er et velkjent fenomen at gode analyseresultater på uorganisk monomert Al er avhengige av at prøvene ionebyttes umiddelbart (Lydersen *et al.* 1994). Vannprøvene ble derfor ionebyttet direkte ved tre av prøvetakingsdatoene, og i tillegg ble det tatt prøver fra toppkarene med 10 minutters oppholdstid som først ble ionebyttet etter at de ankom NIVAs laboratorium (**Tabell 3**). For de fleste vannkvalitetene er det tydelig at forsendelse av prøvene gir en underestimering av Ali i forhold til om prøvene blir ionebyttet direkte (dvs. den Ali som fisken ble eksponert for).

På prøvene som ble ionebyttet umiddelbart var det ikke signifikante forskjeller i Ali mellom de ulike vannkvalitetene (ANOVA). Det var heller ingen tydelig sammenheng mellom Ali og vannets oppholdstid i hver av kar-rekkene (**Figur 3**).

Tabell 2. Reaktivt (RAI) og uorganisk monomert (Ali) aluminium fra hovedkarene i forsøket på Syrtveit. Verdiene er for karene med 10 min oppholdstid og er presentert som gjennomsnitt +/- standardavvik (std) for perioden 22. mai til 18. juni, og er basert på 5 prøvetakingstidspunkter. Ali er basert på at prøvene ble ionebyttet etter ankomst til NIVAs laboratorium.

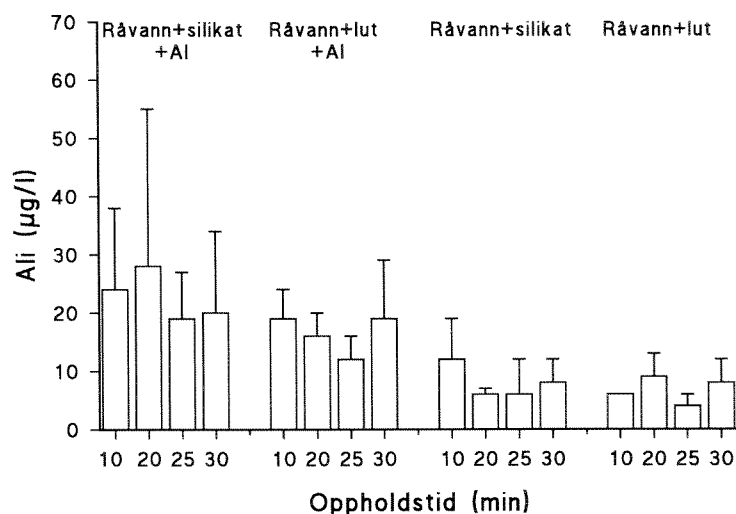
| Vannkvalitet | RAI ($\mu\text{g/L}$) snitt +/- std | Ali ($\mu\text{g/L}$) snitt +/- std |
|-----------------------|--|--|
| Driftsvann | 40 +/- 3 | 7 +/- 3 |
| Råvann | 47 +/- 2 | 14 +/- 4 |
| Råvann + silikat | 50 +/- 5 | 4 +/- 5 |
| Råvann + lut | 40 +/- 5 | 9 +/- 7 |
| Råvann + silikat + Al | 84 +/- 3 | 7 +/- 3 |
| Råvann + lut + Al | 73 +/- 15* | 6 +/- 5* |
| Råvann + Al | 64 ** | 17** |

* Midlertidig stans i Al-doseringen den 5. juni 1996. Dersom gjennomsnittet beregnes uten denne verdien fra denne datoen vil snittet være 80 $\mu\text{g/L}$ for RAI og 7 $\mu\text{g/L}$ for Ali.

** Kun måling fra den første datoen (22/5) ettersom all fisk i karet var døde etter dette tidspunktet.

Tabell 3. Ali verdier fra prøver tatt i toppkarene med 10 minutters oppholdstid den 28. mai, og den 5 og 18. juni. Verdiene er vist for de tre datoene hvor en både hadde prøver som ble ionebyttet direkte (Ali*) og prøver som først ble ionebyttet etter at de ankom NIVAs laboratorium (Ali). Differansen i Ali konsentrasjon mellom disse to er også vist.

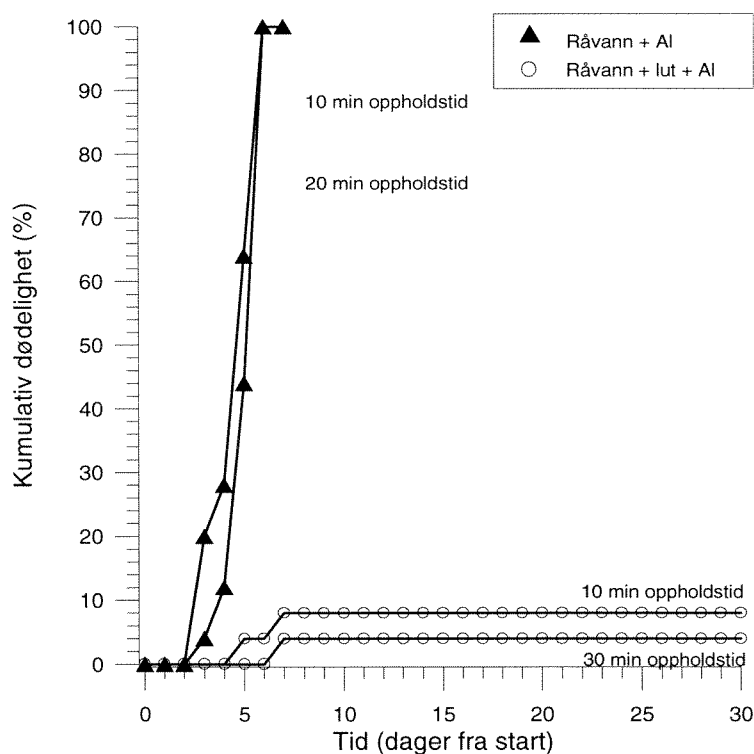
| Beskrivelse | 28/5 | | | 5/6 | | | 18/6 | | |
|-------------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|
| | Ali* | Ali | Diff | Ali* | Ali | Diff | Ali* | Ali | Diff |
| +Al+silikat | 23 | 10 | 13 | 38 | 5 | 33 | 11 | 2 | 9 |
| +Al+lut | 23 | 9 | 14 | 20 | 2 | 18 | 13 | 1 | 12 |
| +silikat | 10 | 2 | 8 | 19 | 1 | 18 | 6 | 1 | 5 |
| +lut | 6 | 11 | -5 | 6 | 7 | -1 | 6 | 6 | 0 |
| råvann | | 15 | | 27 | 12 | 15 | 8 | 11 | -3 |
| driftsvann | 4 | 9 | -5 | 25 | 9 | 16 | 2 | 7 | -5 |



Figur 3. Sammenheng mellom uorganisk monomert Al (Ali) og oppholdstid i de ulike karene. Dataene er basert på vannprøver som ble ionebyttest direkte ved tre tidspunkter, den 28. mai, og den 5. og 8. juni.

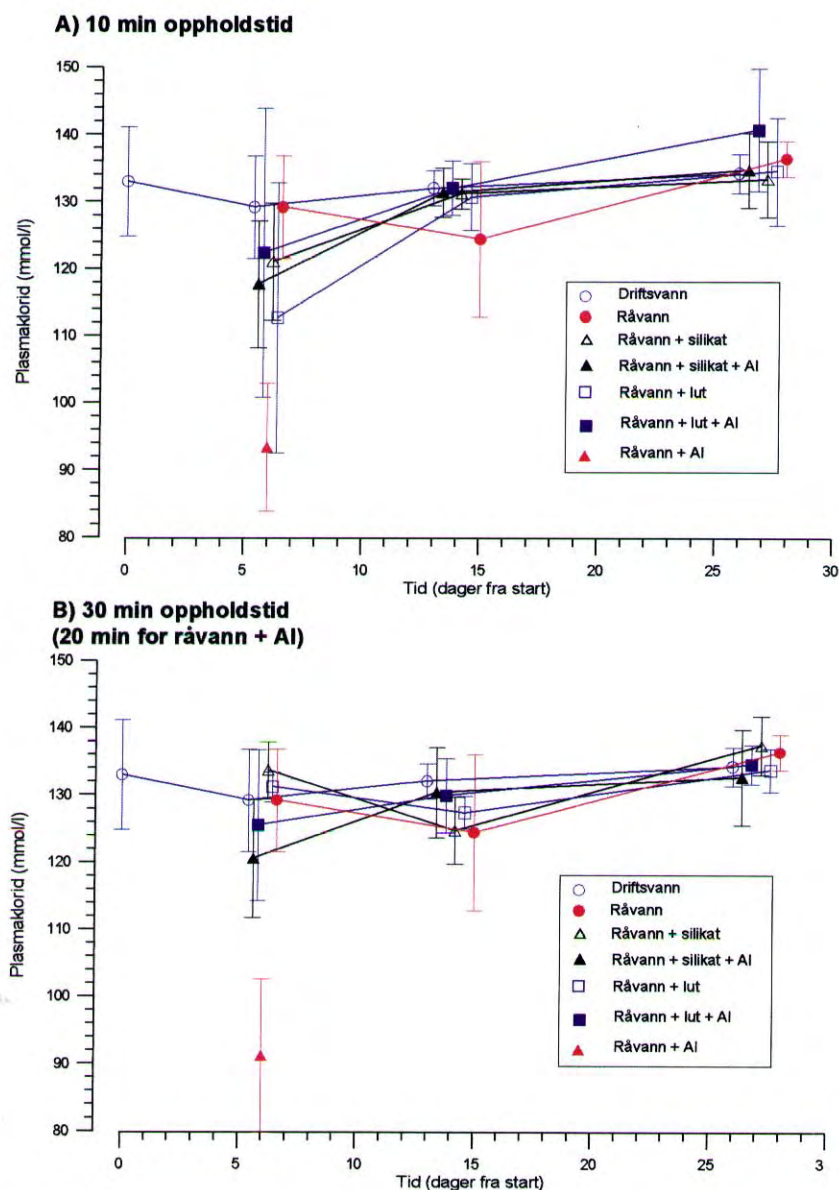
3.2 Fisk

Det ble observert dødelighet i 4 av fiskekarene i løpet av forsøket (**Figur 4**). All fisk døde i de to karene med tilsetning av aluminium til råvannet, men dette skjedde noe raskere i karet med 10 min oppholdstid enn i karet med 20 min oppholdstid etter aluminiumstilsetning. I tillegg var det også dødelighet i to av karene med aluminiumstilsetning som var avsyret med lut (10 og 30 min oppholdstid). Her var det to fisk som døde i karet med 10 min oppholdstid, og en som døde i karet med 30 min oppholdstid.



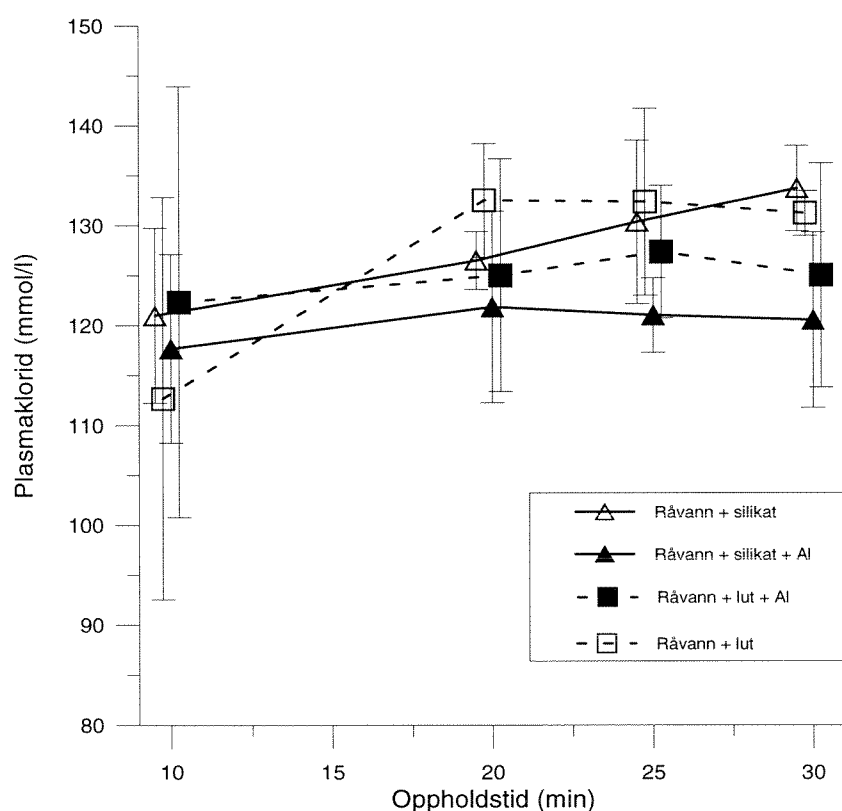
Figur 4. Oversikt over dødelighet (%) hos blege i løpet av forsøksperioden. Antallet fisk pr. kar var 25.

Det var ikke tydelige forskjeller i fiskens plasmaklorid-konsentrasjon mellom gruppene i forsøket, bortsett fra at fisk i råvann med aluminiumstilsetning skiller seg ut med svært lave kloridverdier på dag 6 fra forsøksstart (**Figur 5**). Dette var da også fisk som enten var døde eller som døde få dager senere. Forøvrig ser en at spredningen i materialet var størst på det første prøvetakingstidspunktet etter oppstart (dag 6), og i karene med kortest oppholdstid (10 min). Den store spredningen ved dag 6 tyder på at fisken i enkelte grupper hadde problemer med ionreguleringen som den var i stand til å kompensere utover i forsøket.



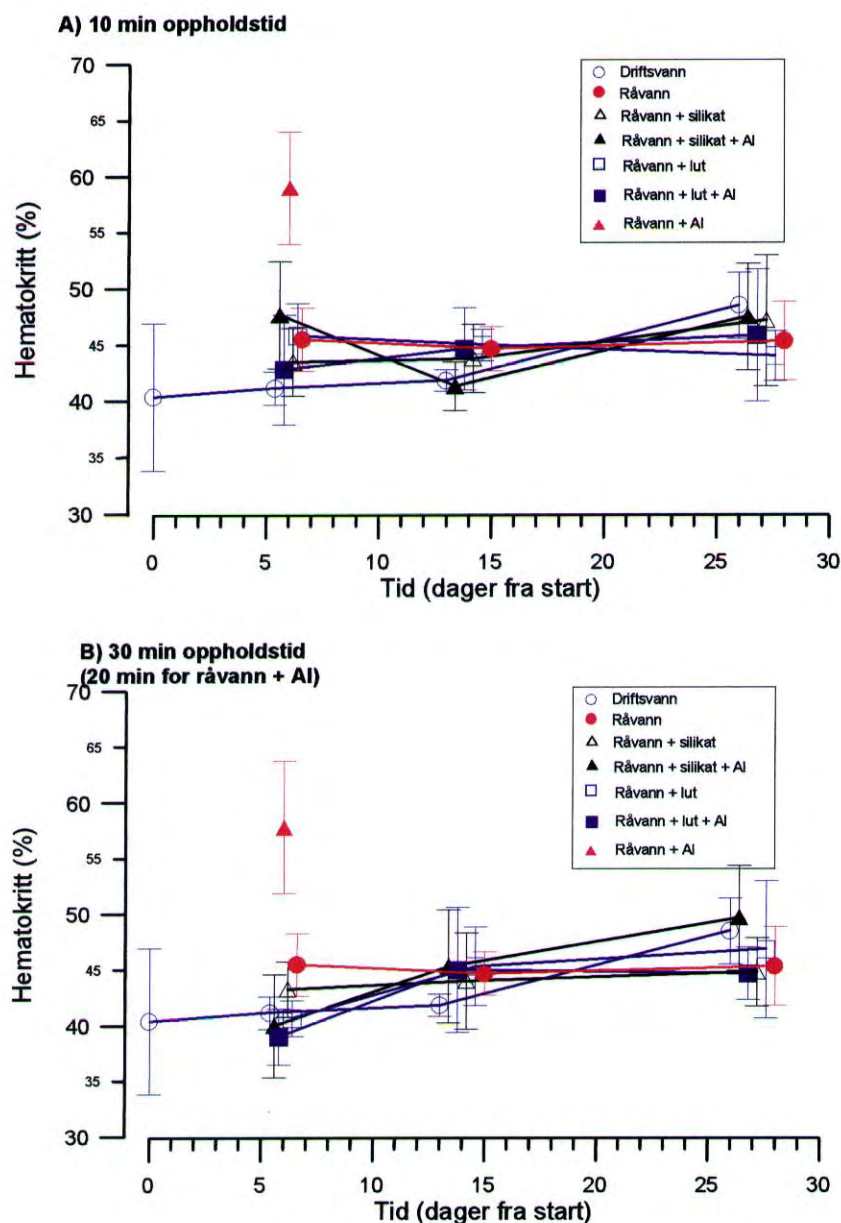
Figur 5. Plasmaklorid-konsentrasjon hos fisk i A) kar med 10 minutters oppholdstid og B) kar med 30 minutters oppholdstid i løpet av forsøksperioden.

På denne bakgrunn var det derfor interessant å sammenlikne kloridverdiene i kar av samme vannkvalitet, men med ulik oppholdstid. Plasmaklorid-verdiene hos fisk ved dag 6 fra ble brukt ettersom det var her en fant størst spredning (**Figur 6**). Lineær regresjon viste en signifikant økning i plasmaklorid-konsentrasjon med økende oppholdstid på vannet etter aluminiumstilsetning for karene med tilsetning av både lut ($p < 0,01$, r^2 0,28) og silikat ($p < 0,01$, r^2 0,38) mens det ikke var noen tilsvarende sammenheng for karene der det i tillegg var dosert 50 μg aluminium pr. liter. Dette kan tyde på at 20-30 minutters oppholdstid gir en viss forbedring av vannkvaliteten for fisk med dagens råvanns-kvalitet, men at det ikke er tilstrekkelig i en episode hvor Al konsentrasjonen øker. I karene hvor det ikke ble dosert ekstra aluminium synes det også å være en tendens til at plasmaklorid konsentrasjonen er noe høyere ved silikattilsetning på 10 min oppholdstid enn den var ved luttilsetning, men denne forskjellen er ikke statistisk signifikant. Det er også en tendens at fisk i karene med lut har gjennomgående større standardavvik på plasmaklorid enn det som er tilfellet for fisk i lutdoserte kar. Dette er også vanlig å observere i en tidlig stressfase, hvor skadene på fisken ikke kommer til uttrykk i signifikante forskjeller i gjennomsnittsverdier (Muniz *et al.* 1978)



Figur 6. Plasmaklorid-konsentrasjon ved dag 6 plottet mot oppholdstid for de fire kar-rekkene.

Hematokrittverdiene for fisk i karene med 10 og 30 minutters oppholdstid er vist i **Figur 7**. Bildet her er for en stor del det samme som for kloridverdiene; den eneste gruppen som skiller seg ut er råvannet med aluminiumstilsetning som hadde signifikant høyere hematokrittverdi enn de andre gruppene. Forøvrig lå hematokrittverdiene jevnt mellom gruppene i forsøket.



Figur 7. Hematokrittverdier for fra fisk i A) kar med 10 minutters oppholdstid og B) kar med 30 minutters oppholdstid i løpet forsøksperioden.

Gjelleundersøkelsene omfattet både histologiske undersøkelser og kvantitativ bestemmelse av mengden utfelt aluminium. Histologiske gjelleundersøkelser ble gjort på prøver tatt ved forsøksstart, og på utvalgte grupper av fisk etter 6 og 27 (sluttdag) dager. Som det fremgår av **Tabell 4** omfatter de histologiske studiene også farging for aluminium, og en skjønsmessig vurdering av mengde både på gjelleoverflaten, og i gjelleepitèlet. For å gjøre det enklere å sammenlikne Al-utfellingene mellom fisk som har gått i vann avsyret med lut og silikat er resultatene for disse gruppene i tillegg presentert grafisk i **Figur 8**. De følgende vurderingene er basert på fisk i kar med 10 min oppholdstid ettersom det er her en finner de største forskjellene mellom gruppene. Etter 6 dagers eksponering i karene med ekstra aluminium var det moderate mengder av Al både på epitelceller og i epitelceller for fisk som hadde gått på både lut og silikat, men graden av lamellfortykninger var større for fisken i kar med

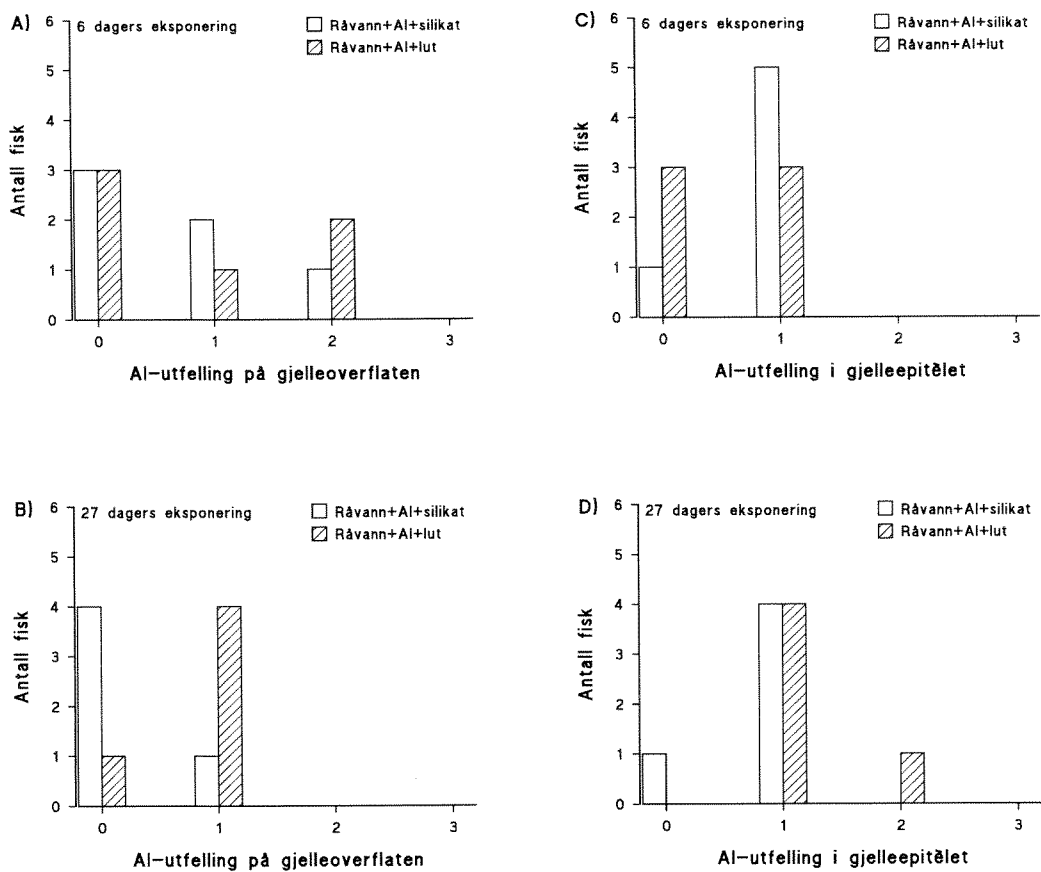
lutbehandling. Ved avslutningen av forsøket (etter 27 dager), hadde fisken som hadde gått i kar med silikat lite Al på epitelceller og moderate mengder i cellene. Graden av lamellfortykning var større enn etter 6 dager. Fisk i kar behandlet med lut hadde mer Al både på og i epitelcellene, omtrent samme grad av lamellfortykning men større grad av hyperplasi av slimceller (dvs. økt antall celler) enn fisk eksponert i silikat. I sum betyr dette en større grad av irritasjon av gjellene hos fisk som blir eksponert for Al når vannet behandles med lut enn når vannet behandles med silikat, men det er viktig å være klar over at forskjellene er såvidt små at de histologiske dataene gir mer tendenser enn statistisk signifikante forskjeller. Det er også verd å merke seg at referansecfisken som gikk på anleggets driftsvann hadde noe Al i gjelleepitelet. Dette er med på å sannsynliggjøre at dagens vannbehandling med lut ikke er optimal med tanke på avgiftning av aluminium.

I motsetning de histologiske undersøkelsene som kun viste tendens til mindre Al på gjellene til fisk i silikat-behandlet vann, viser de kvantitative undersøkelsene av Al-mengde store og statistisk signifikante forskjeller mellom gruppene (**Figur 9**). I karene med 10 min oppholdstid hvor en tilsatte ekstra aluminium for å simulere en sur episode, viste det seg at mengden Al på gjellene var hele 6,3 ganger høyere i karene som var lutbehandlet i forhold til karene som var behandlet med silikat. Ved 30 min oppholdstid var mengden Al på gjellene dobbelt så høy i det lutbehandlede vannet. Det var også store forskjeller mellom lut- og silikatbehandling i kar hvor en ikke tilsatte ekstra Al: ved 10 min oppholdstid var det 4.1 ganger mer Al på gjellene hos fisk som hadde gått på lutbehandlet vann i forhold til silikatbehandling. Også ved 30 min oppholdstid var mengden Al signifikant høyere hos fisk i karene avsyret med lut i forhold til silikat, men her lå verdiene ca 20% høyere.

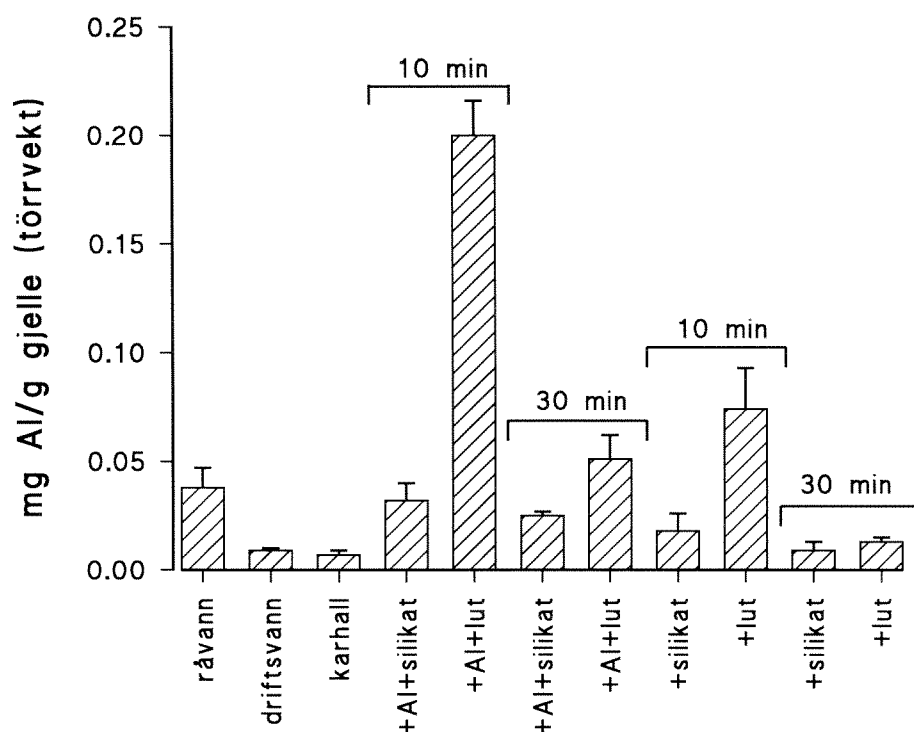
Resultatene illustrerer tydelig at ved kort oppholdstid på vannet etter avsyring, vil silikat ha klare fordeler framfor lut ved at avgiftningen av aluminium skjer svært raskt. Problemet med ustabil Al kjemi etter lutbehandling kommer tydelig fram ved at ved 10 minutters oppholdstid etter lutbehandling ligger mengden utfelt Al på gjellene 1,9 ganger høyere enn i det ubehandlede råvannet. Ved stort vannbehov i anlegget som medfører kortere oppholdstid på vannet etter lutinnblanding, ser det med andre ord ut for at luttilsetting kan forverre situasjonen for fisken i forhold til det ubehandlede råvannet. Dette ble nevnt som et potensielt problem i forbindelse med den forrige undersøkelsen ved Syrtveit (Rosseland *et al.* 1996), men er nå tydelig dokumentert.

Tabell 4. Histologiske undersøkelser av gjeller fra fisk eksponert i ulike vannkvaliteter ved starten av forsøket samt etter 6 og 27 dager. 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.

| Gruppe | Dager fra start | ASA + på gjelleoverflaten | ASA+ i gjelleepitelet | Lameller med adhesjoner | Fortykkede lameller | Hyperplasi |
|--|-----------------|---------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------|------------|
| REF (20) | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| +Al 10 min (3) | 6 | 3 | 1 | 4 | 3 | 0 |
| | | 3 | 0 | 3 | 3 | 0 |
| | | 3 | 0 | 4 | 3 | 0 |
| +Al 20 min (9) | 6 | 3 | 1 | 3 | 3 | 0 |
| | | 3 | 1 | 4 | 3 | 0 |
| | | 3 | 1 | 4 | 3 | 0 |
| | | 3 | 1 | 4 | 4 | 0 |
| | | 3 | 0 | 4 | 4 | 0 |
| +Al+Si 10 min (1) | 6 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| +Al+lut 10 min (2) | 6 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 2 | 0 | 1 | 2 | 0 |
| Råvann 10 min (6) | 6 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 3 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| REF (20) | 6 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| +Al+Si 10 min (1) | 27 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| +Al+lut 10 min (2) | 27 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 |
| | | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Råvann 10 min (6) | 27 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| REF (20) | 27 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| | | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |



Figur 8. Grafisk framstilling av mengden aluminium som var utfelt på gjellene ut fra kvalitativ vurdering av ASA-fargereaksjon på gjellesnitt. Mengdeangivelsene er for gjelleoverflaten (a,b) og i gjelleepitèlet (c,d) for fisk som har blitt eksponert i råvann med aluminiumstilsetning og avsyret med henholdsvis silikat (åpne søyler) og lut (skraverete søyler). Tallene er for kar med 10 min oppholdstid. Skalaen går fra 0 (ingen utfelling) til 3. Vurderingssystemet er nærmere beskrevet i vedlegg A.



Figur 9. Kvantitative målinger av gjennomsnittlig mengde Al på gjellene (+/- standardavvik) til fisk i en del utvalgte grupper ved avslutningen av forsøket på Syrtveit. Verdiene er basert på 6 fisk i hver gruppe, bortsett fra gruppen som har gått på Al +silikat med 30 min oppholdstid hvor antall prøver var 5.

4. Konklusjon

Resultatene av denne undersøkelsen har klart bidratt til å klargjøre forskjellene mellom bruk av lut og silikat-lut som vannbehandlingmetode ved Syrtveit Fiskeanlegg. Både forskjellene i dødelighet, blodkjemi og histologiske skader samt aluminiumsutfellinger på gjellene tyder på at silikat er bedre egnet til å avgifte aluminium enn dagens avsyring med lut. Mengden utfelt Al på gjellene viser tydelig at lut er dårlig egnet ved kort oppholdstid etter dosering. Faktisk viste resultatene større Al utfellinger på fiskens gjeller med lutilsetning (10 min oppholdstid) enn når fisken hadde gått i ubehandlet råvann. Dette skyldes mest sannsynlig ustabil aluminiumskjemi tilsvarende det som tidligere er beskrevet som giftige blandsoner (Rosseland *et al.* 1992). I motsetning til lut virker silikat både ved at den hever vannets pH, men også ved at det raskt dannes stabile aluminiumsilikat komplekser som ikke lengre er giftige for fisken. Dette illustreres tydelig i mengden Al på gjellene; med lutdosering var det store forskjeller mellom mengden Al på gjellene i vann med 10 og 30 minutters oppholdstid, mens det ved bruk av silikat var lite Al på gjellene enten vannets oppholdstid var 10 eller 30 minutter.

Basert på resultatene av denne undersøkelsen vil vi anbefale at en ved Syrtveit Fiskeanlegg går over fra å bruke lut til å bruke silikat-lut i vannbehandlingen. Dette vil etter vår oppfatning både kunne gi gevinst ved dagens vannforbruk i anlegget, men vil også kunne gi mulighet til å gå ned i oppholdstid etter dosering dersom en skulle komme i en situasjon hvor dette var nødvendig.

5. Referanser

- 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.
- Denton, J., A.J. Freemont, and J. Ball. 1984. Detection and distribution of aluminium in bone. *Journal of Clinical Pathology* 37: 136-142.
- Lydersen, E., F. Kroglund, M. Nandrup Pettersen, A.B.S. Polø, 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.
- Muniz, I.P., H. Leivestad, and B.O. Rosseland. 1978. Stressmålinger på fisk i norske vassdrag. *Nordforsk publ.* 1978, 2, 233-247.
- 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 3446. 17 s.
- 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.

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. ASA-positivt materiale betegner metallutfelling.

| 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 (økt celleantall) | | Vanskelig å påvise | Relativt lett å påvise | Kan påvises uten leting i preparatet | |