

Automatiske biotestanlegg for overvåking av drikkevannskvalitet

Av Torsten Källqvist

Torsten Källqvist er ansatt som assisterende divisjonssjef ved Norsk Institutt for Vannforskning.

1. INNLEDNING

I forhold til de fleste andre land, er Norge rikelig forsynt med gode drikkevannskilder. De fleste steder er det derfor ikke behov for avanserte renseprosesser før vannet går ut på distribusjonsnett. Selv om råvannskvaliteten stort sett er god, vil imidlertid alltid risikoen for plutselig kontaminering ved forurensningsuhell eller sabotasje være tilstede, slik at akutt forgiftningsfare oppstår. Det er sjelden mulig å holde en tilstrekkelig kontroll av drikkevannskilden med hele dens nedslagsfelt, for å forsikre seg mot slike situasjoner. Den kvalitetskontroll av drikkevann som foregår gir heller ikke noen garanti mot akutte forurensningssituasjoner, fordi det vil kreve kontinuerlig overvåking.

I land hvor drikkevannskildene er mer utsatte for forurensningsstrussler, har man prøvd å dekke behovet for varsling om akutte forurensningsepisoder ved kontinuerlige fysisk/kjemiske målinger og biologiske sensorer (Källqvist og Arnesen 1983). Automatiske biotestanlegg har den fordelen fremfor kjemiske målinger, at de kan varsle om alle stoffer med toksisk virkning på testorganismen, mens de kjemiske målingene i høy grad er spesifikke. Bruken av kjemiske målinger i

alarmsystemer begrenses også av at man mangler sensorer for kontinuerlig måling av de fleste aktuelle giftstoffer.

Selv om en rekke forskjellige organismer kan benyttes i automatiske biotestanlegg, er det anlegg med fisk som testorganismer som til nå har vært mest brukt. Dette skyldes dels at fiskens fysiologiske respons på giftvirkning er forholdsvis godt kjent, og at virkning på fisk kan virke som en mer relevant indikasjon på stoffer med humantoksikologiske effekter enn om f.eks. mikroorganismer var brukt som testorganismer. En oversikt over metoder for kontinuerlig overvåking av kommunale og industrielle utslipp er laget av Traaen og Grande (1979). Mange av de samme metodene egner seg også for alarmsystemer i vannforsyningsanlegg.

2 RESPONSER OG MÅLEMETODER

Når en fisk blir utsatt for påvirkning av et giftstoff, vil man kunne registrere forskjellige fysiologiske og adferdsmessige reaksjoner ved konsentrasjoner som er lavere enn de som gir akutt dødelighet. Slike subletale effekter egner seg for bruk i automatiske biotestanlegg, hvis de kan måles automatisk. De mest benyttede av disse responsene er:

- Svømmeevne
- Respirasjon
- Adferd
- Gjellelokksbevegelser
- Hjerteslagsaktivitet.

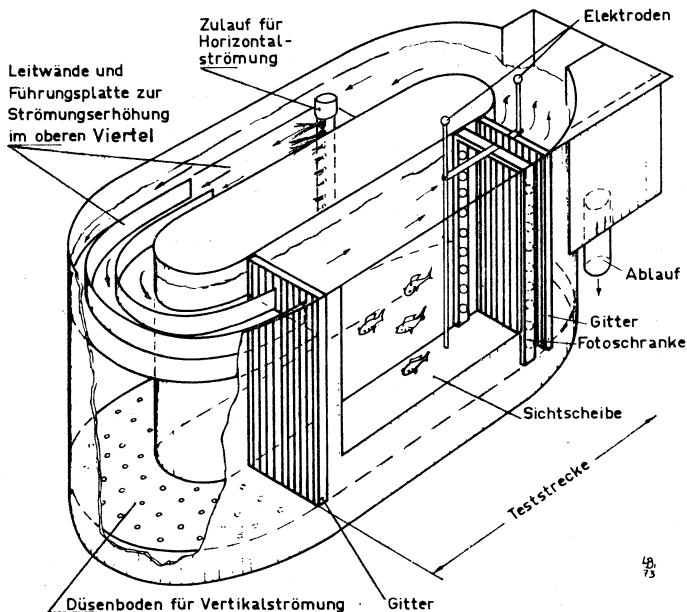
2.1. Svømmeevne

Svømmeevnen kan måles som fiskens evne til å stå imot en vannstrøm. I anlegg som bygger på dette prinsippet, blir fiskene holdt i en kanal som vannet strømmer igjennom (Poels 1975). Foran og bak fisken er det et gitter som begrenser fiskens bevegelser. Hvis fisken berører det bakre gitteret, utløses et svakt elektrisk sjokk. Dette medfører at fisken prøver å unngå dette området. Hvis fisken svekkes p.g.a. forgiftning, klarer den ikke lenger å stå imot strømmen og blir

ført mot det bakre gitteret. Dette kan registreres automatisk når fisken berører gitteret, eller med fotoceller.

Prinsippet for denne typen av biotest-anlegg er forholdsvis enkelt, men en ulempe er at fisken kan bli svekket ved å måtte svømme mot strømmen uavbrutt, noe som kan føre til falske alarmer. I en versjon av slike anlegg alterneres korte perioder med sterk horisontal gjennomstrømning med lengre perioder med langsom vertikal gjennomstrømning for å redusere stressen av fisken. (Besch et al. 1974), (Se fig. 1).

Et annet biotestanlegg registreres fiskens evne til å beholde orienteringen i en vannstrøm som roterer langs en horisontal aksel. (Bengtsson 1974). Når fisken svekkes, begynner den å rotere med vannstrømmen.



Figur 1. Biotestanlegg for registrering av fiskens svømmeevne (fra Besch et al. (1974)).

2.2. Respirasjon

Fiskens respirasjon påvirkes ved eksponering for toksiske stoffer og andre stressfaktorer. Dette kan registreres ved måling av oksygenopptaket. En vanlig respons ved giftpåvirkning er en økning av oksygenopptaket. Ved fortsatt eksponering kan oksygenforbruket igjen synke langsomt tilbake til normalnivået og t.o.m. under dette.

Biotestanlegg som baserer seg på respirasjonsmålinger er utformet som gjennomstrømningsakvarier, hvor oksygenkonsentrasjonen registreres med elektrode i akvariets innløp og utløp. Forholdet mellom vanngjennomstrømning og mengde fisk må velges slik at man får et målbart oksygenforbruk i systemet uten at oksygenkonsentrasjonen i akvariet blir for lav for fisken.

Anlegg av denne typen er ikke så vanlig brukt som noen av de andre som er beskrevet her, men et eksempel er beskrevet av O'Hara 1971 a, b). En ulempe med å bruke respirasjonsmålinger er at responsen kan være noe langsom. En fordel er imidlertid at prinsippet kan brukes for å måle effekter på de fleste typer av organismer enten de forbruker oksygen ved respirasjon, eller produserer oksygen ved fotosyntese (planter): Muligheten for å konstruere biotestanlegg med andre organismer enn fisk, og som kan være mer lettstelte og mindre plasskrevende er derfor tilstede ved bruk av oksygenregistreringer. Som eksempel kan nevnes et anlegg for varslning om toksiske industriavløpsvann ved registrering av oksygenforbruket i et mikroorganismesamfunn utviklet av Solyom et al. (1976) og et system for måling av produksjon og reproduksjon i periphytonsamfunn som etableres direkte på oksygenelektrodens membran, utviklet av Sortkjær (1978).

2.3. Adferd

Når en fisk blir utsatt for toksisk påvirkning, kan man som regel observere en endring i adferdsmønsteret. Fisken blir nervøs og prøver ofte å unnvike det giftige vannet. Responsen kan utnyttes i noen forskjellige typer av biotestanlegg. Man kan f.eks. gi fisken mulighet å velge oppholdssted i to forskjellige vannstrømmer. Hvis en av disse blir forurenset med et giftstoff, vil fisken unnvike denne. Hvor fisken oppholder seg kan registreres med fotoceller eller videoopptak (Westlake and Lubinski 1976).

Det er også mulig å analysere fiskens bevegelsesmønster i et enkelt gjennomstrømningsakvarium ved videoopptak og automatisk billedanalyse. Eksempel på bruk av dette prinsipp i et automatisk biotestanlegg er vist av Lubinski et al. (1978).

2.4. Gjellelokksbevegelser og hjerteslagsfrekvens

Blant de mest benyttede biotestanleggene er de hvor gjellelokksbevegelser og/eller hjerteslagsaktiviteten blir registrert. Begge disse funksjonene er koplet til fiskens respirasjon, og påvirkes av forskjellige former for stress, som f.eks. eksponering for giftstoffer. Den typiske responsen ved forgiftning er en økning i frekvensen av gjellelokksbevegelser og hjerteslag. Ved vedvarende eksponering i subletale konsentrasjoner går aktiviteten etter en tid tilbake mot normalverdiene. Ved lengre tids eksponering i letale eller nær letale konsentrasjoner går aktiviteten under normalverdiene.

I tillegg til de vanlige pustebevegelsene av gjellelokkene, har noen fisker en slags «hosterefleks». Når denne utføres, reverseres vannstrømmen forbi gjellene. Dette

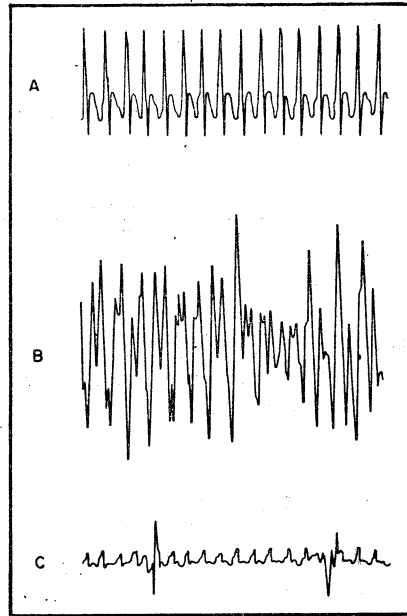
skjer normalt med regelmessige mellomrom. Giftpåvirkning gir en økt frekvens av hosterefleksene. Responsen er brukt for å påvise giftvirkning av Drummond et al. (1974).

Registrering av gjellelokksbevegelser og hjerteslagsaktivitet kan skje med elektroder som er nedsenket i akvariet. De meget svake impulsene fra muskelaktiviteten blir forsterket og signalene filtrert slik at bare de ønskede funksjonene blir registrert. Hver fisk blir holdt i et kammer slik at fiskenes individuelle respons kan måles. Flere automatiske biotestsystemer er utviklet etter dette prinsippet, og tatt i bruk for automatisk vannkvalitetsovervåking. En sammenligning av noen av de systemer som er beskrevet er gjort av Cairns & Gruber (1980). Eksempler på registreringer av gjellelokksbevegelser er vist i fig. 2.

3. ALARMSYSTEMER

Hvis de automatiske biotestanleggene skal ha en alarmfunksjon, må først den naturlige variasjonen i den respons som måles undersøkes. I den forbindelse må man ta hensyn til døgnvariasjonene i fiskens aktivitet. Når variasjonsmønsteret uten giftpåvirkning er kjent, kan man ved hjelp av statistiske metoder fastlegge terskelverdier for respons som skal utløse alarm. Bruk av mikrodatamaskiner gir de nødvendige forutsetninger for omfattende, men allikevel rask statistisk bearbeidning av data.

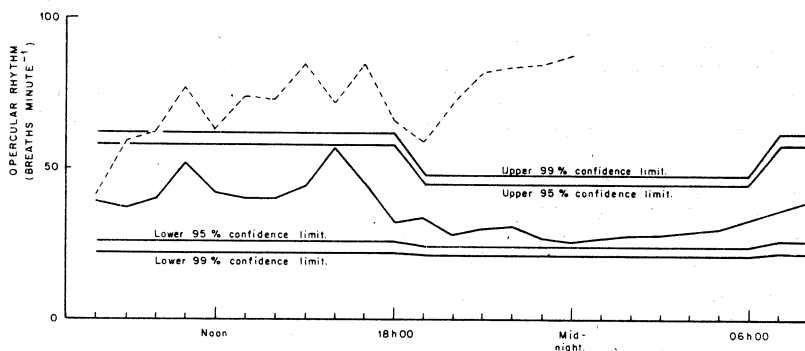
Fig. 3 viser det normale forløpet i gjellelokksaktivitet hos en fisk, med konfidensintervall (95 og 99%) gjennom et døgn. Når fisken utsettes for et giftstoff (1 mg kopper/l), avviker frekvensen av gjellelokksslag fra det normale (stiplet linje).



Figur 2.

Eksempel på registrering av gjellelokksbevegelser hos en fisk *Lepomis macrochirus*. A: kontroll, B: respons på stress med økt signallamplitud og frekvens. C: respons med minking av amplitud og frekvens. De to høyere toppene i C viser «hosterefleks». (Fra Cairns and Gruber (1979)).

I et biotestanlegg hvor gjellelokksaktiviteten måles hos fisker enkeltvis, må det naturlige variasjonsmønsteret hos hver enkelt fisk fastlegges og brukes som referanse. I et system utarbeidet ved Virginia Polytechnic Institute and State University, blir også referansedata for fiskene registrert og bearbeidet automatisk av en mikrodatamaskin som fastlegger terskelverdier for alarm. (Cairns and Gruber 1979).



Figur 3. Gjelleloksaktiviteten hos *Micropterus salmoides*. Heltrukket linje: normal aktivitet med konfidensintervaller. Stiplet linje: etter tilsetning av 1 mg kopper/l. (fra Morgan and Kühn (1974)).

4. MULIGHETER OG BEGRENSNINGER FOR BIOTEST-OVERVÅKING I DRILKEVANNSANLEGG

Avgjørende faktorer for de automatiske biotestanleggenes funksjon som varslings-system i drikkevannsanlegg er deres

- Følsomhet
- Responstid
- Pålitelighet.

4.1. Følsomhet

I de biotestanlegg som er beskrevet måles subletale effekter på fisk. Det betyr at toksiske stoffer kan detekteres i konsentrasjoner under de som gir akutt dødelighet. Hvor langt under vil variere for forskjellige stoffer, og er også avhengig av hvilken responstid man kan akseptere. I en undersøkelse av 11 forskjellige giftstoffer i et automatisk biotestanlegg med registrering av gjelleloksbevegelser, kunne Morgan (1977) registrere stoffene i konsentrasjoner fra 5—10% av letal-konsentrasjonene (LC—48) i løpet av 24

timer. I det samme arbeidet har Morgan (1977) sammenstilt resultater av forsøk med automatiske biotestanlegg for å sammenligne deteksjonsgrensene med vedtatte standarder for forskjellige stoffer i drikkevann. En lignende sammenstilling er gjort av Norup (1981) og Price (1978). Av disse opplysningene går det frem at biotestsystemer med fisk kan gi indikasjon på om vannet oppfyller kriterier for drikkevann når det gjelder enkelte forbindelser som f.eks. kopper. For de fleste toksiske forbindelser, hvor man har fastlagt kvalitetskriterier, er imidlertid følsomheten for lav for å kunne brukes for kontroll.

Den viktigste funksjonen for automatiske biotestanlegg i drikkevannssammenheng er imidlertid ikke å kontrollere om vannet oppfyller vannkvalitetskriteriene, men å varsle om situasjoner hvor det er risiko for akutt forgiftning ved bruk av drikkevannet. For å bedømme om biotestanleggene er tilstrekkelig følsomme for å kunne fylle den funksjonen, må man sammenligne deteksjonsgrensen i

fisketestester med en beregnet dose som konsumentene blir utsatt for ved bruk av drikkevannet. Jung (1973) har sammenlignet toksikologiske data for 970 stoffer og fant at for 96% av disse ville et biotestanlegg kunne varsle om konsentrasjoner som ville gi en akutt toksisk dose for varmblodige dyr. For mange av de undersøkte stoffene var følsomheten hos fisk så mye større enn hos varmblodige dyr, at Jung mente at et biotestsystem ville være altfor følsomt for kontroll av akutte toksiske stoffer i drikkevann.

For de fleste giftstoffer vil det altså være mulig å detektere konsentrasjoner i et område mellom det som er gjeldende kvalitetskriterier (når slike er fastlagt) og det som innebærer en risiko for akutt forgiftning av mennesker ved konsumsjon av drikkevann. For alarmsystem synes det derfor som følsomheten hos biotestanlegg med fisk er betryggende.

4.2. Responstid

Den tid det tar fra fisken blir utsatt for en gifteksponering til responsen kan avleses, er av stor betydning for hvilken verdi et biotestanlegg vil ha som alarmsystem for toksiske stoffer. Responstiden er også av betydning for hvor anlegget bør plasseres i et vannforsyningsssystem.

Uansett type av biotestanlegg er det ikke mulig å angi en bestemt responstid. Som nevnt i avsnittet om anleggenes følsomhet, varierer responstiden med konsentrasjonen av giftstoff. Konsentrasjoner som er akutt letale for fisk kan oppdages i løpet av noen timer, men lavere konsentrasjoner, som kun gir subletale effekter, vil kunne registreres først etter lengre tid. I en undersøkelse av Morgan & Kühn (1974) ble maksimal effekt av for-

skjellige giftstoffer på gjelleloksbevegelser funnet etter opp til 4 døgn etter at doseringen begynte. For varsling av giftstoffer som medfører risiko for akutt forgiftning, vil imidlertid en responstid på mindre enn 24 timer være tilstrekkelig.

4.3. Pålitelighet

Bruk av automatiske biotestanlegg som alarmsystemer i drikkevannsanlegg stiller store krav til systemets pålitelighet. Falske alarmer vil bli meget kostbare dersom de må følges opp med sikringstiltak. Dessuten vil falske alarmer raskt føre til svekket tillit til anlegget. Det er vanskelig å sikre seg helt mot falske alarmer, som kan skyldes biologiske årsaker eller teknisk svikt. Testorganismenes kondisjon må hele tiden være god. Det betyr at man må ha strenge rutiner for stell og kontroll av stamfisk, og regelmessig utskifting av fisken i biotestanlegget. Fisk som er svekket av sykdom eller annet kan lett føre til falske alarmer.

Faren for falske alarmer kan reduseres ved forsinkelse av alarmen, som gjør det mulig å teste om responsen er vedvarende. I testsystemer kan man legge inn en betingelse om at et bestemt antall fisker skal reagere for at alarmen skal utløses (Cairns & Gruber 1979).

Ved at de responser som kan måles i automatiske biotestanlegg med fisk, gir informasjon om en generell stress på organismen, vil en rekke faktorer andre enn giftstoffer kunne utløse alarmer. Biotestanleggene må derfor utformes og drives slik at de ikke blir utsatt for andre former for stress som plutselige variasjoner i temperatur og lys, sterk lyd, vibrasjoner etc.

Biotestsystemets plassering i et vannforsyningsanlegg må vurderes på bakgrunn

av den nødvendige responstiden og mulighetene for å iverksette tiltak når alarmen utløses. Vannets oppholdstid fra biotestanlegget og til det går ut på distribusjonsnettet må være tilstrekkelig lang for at det skal kunne stoppes ved en alarm. I praksis kan man tenke seg et system med to uavhengige vannkilder overvåket av biotestanlegg og med separate buffertbassenger med ca. 12 timers oppholdstid. Hvis bare en vannkilde er tilgjengelig, kan vannet ledes alternerende inn i to parallelle bassenger hvor innløpet overvåkes av et biotestanlegg.

5. KONKLUSJONER

Automatiske biotestanlegg har, særlig med de siste årenes raske utvikling av mikroprosessorer, åpnet nye muligheter

for automatisk overvåking av toksiske stoffer i vann. Komplette anlegg for dette formål er kommersielt tilgjengelige.

Følsomheten i biotestsystemer med fisk er tilstrekkelig for at disse skal kunne varsle om episoder med akutt forgiftningsfare ved konsumsjon av drikkevann for de aller fleste giftstoffer.

Behovet for alatmsystemer i norske vannverk vil med sikkerhet være økende. Forsøk med automatiske biotestanlegg bør derfor innledes nå ved at slike installeres i noen av de større vannverkene.

På lengre sikt må biotestsystemene bli en del av en komplett beredskapsplan, hvor alarm fra anlegget kan initiere sikringstiltak.

6. REFERANSER

- Bengtsson, B. E. (1974). The effect of zinc on the ability of the minnow, *Phoxinus phoxinus* to compensate for torque in a roating water current. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 12, 6: 654—658.
- Besch, W. K., Loseries, H. G., Meyer-Waarden, K., Schmitz, W. (1974). Warntest zum Nachweis akutt toxischer Konzentrationen von Wasserinhaltsstoffen. Arch-Hydrobiol. 74, 4: 551—565.
- Cairns, Jr. J. and Gruber, D. (1979). Coupling mini- and microcomputers to biological early warning systems. Bio Science 29 (11): 665—668.
- Cairns, Jr., J. and Gruber, D. (1980). A comparison of methods and instrumentation of biological early warning systems. Water Resources Bulletin 16 (2): 261—266.
- Drummond, R. A., Olson, G. F. and Batterman, A. R. (1974). Cough response and uptake of mercury to brook trout, *Salvelinus fontinalis*, exposed to mercuric compounds at different hydrogen — ion concentrations. Trans. Am. Fish. Soc. 103 (2): 244—249.
- Jung, K. D. (1973). Extrem fischtoxische Substanzen und ihre Bedeutung für ein Fischtest-Warnsystem. GWF-Wasser/Abwasser 114: 232—234.
- Källqvist, T. & Arnesen, R. T. (1983). Kontinuerlig automatisk vannkvalitetsovervåking. NIVA-rapport 0-82095: 62 pp.

- Libinski, K. L., Cairns Jr., J. Dickson, K. L.* (1978). Quantifying the effect of ammonia on the swimming behaviour of bluegills. In: Hemphill, D. D. (ed.) Trace Substances in Environmental Health, XII. University of Missouri, Columbia.
- Morgan, W. S. G.* (1977). Biomonitoring with fish: an aid to industrial effluent and surface water quality control. *Prog. Wat. Tech.* 9: 703—711.
- Morgan, W. S. G. and P. C. Kühn* (1974). A method to monitor the effects of toxicants upon breathing rate of largemouth bass (*Micropterus salmoide* Lacépède). *Wat. Res.* 8: 67—77.
- Norup, B.* (1981). Giftalarter. Automatisk biologisk monitoring af vands og spildevands giftighed. NORDFORSK, Ekotoksikologiska metoder för akvatisk miljö. Rapport 23, 57 pp.
- O'Hara, J.* (1971 a). Alterations in oxygen consumption by bluegills exposed to sublethal treatment with copper. *Water Research*, 5: 321—327.
- O'Hara, J.* (1971 b). A continuously monitored respiration chamber for fish. *Water Research*, 5: 143—145.
- Price, D. R. H.* (1978). Fish as indicators of water quality. *Wat. Pollut. Control Fed.* 285—296.
- Poels, C. L. M.* (1975). Continuous automatic monitoring of surface water with fish. *Water Treat. Exam* 24: 46—56.
- Solyom, P., Boman, B. and Bjørndal, H.* (1976). Continuous monitoring of acute-toxic substances in wastewater. *Prog. Wat. Technol.* 9: 193—198.
- Sortkjær, O.* (1978). Anvendelse af mikrobielle film til toxicitets tests. 14. Nord. Symp. Vattenforskning. NORDFORSK: 95—99.
- Traaen, T. S. og Grande, M.* (1979). Biologisk driftskontrol i forbindelse med kloakrensaneanlegg. NIVA-rapport 77035: 33 pp.
- Westlake, G. F. and Lubinski, K. S.* (1976). A chamber to monitor the locomotor behaviour of free-swimming aquatic organisms exposed to simulated spills. Proceedings of 1976 National Conference on Control of Hazardous Material Spills. Information Transfer, Inc. Rockville, Maryland.