

# DGT - nytt verktøy for å forutsi stress fra aluminium hos ørret

Av Oddvar Røyset, Bjørn Olav Rosseland, Torstein Kristensen, Frode Kroglund, Øyvind Aaberg Garmo\* og Eiliv Steinnes\*

Norsk Institutt for Vannforskning, NIVA, Oslo

\* Institutt for kjemi, NTNU, Trondheim

Den passive prøvetakeren DGT (Diffusive Gradients in Thin Films) måler gjennomsnittlig konsentrasjon av løste metallioner i vann over tid, omtrent på samme måte som et dosimeter. Forskning på NIVA har vist at denne prøvetakeren er et nyttig verktøy for å forutsi stress hos ørret eksponert for surt vann med forhøyede konsentrasjoner av løste reaktive ioner av aluminium. NIVAs resultater ble nylig publisert i det anerkjente amerikanske tidsskriftet *Environmental Science and Technology* i februar 2005.

## Aluminium – det lette metallet med de besværlige sure egenskapene

Aluminium finnes i prosentmengder i alle mineraler og dermed også høye i konsentrasjoner i all overflatejord. Når jordsmonnet tappes for basekationer (kalsium, magnesium, natrium, kalium) slik som etter langvarig tilførsel av sur nedbør i jord med lite kalkinnhold, er aluminium et av de første metallene som begynner å gå i løsnings- og transporteres over i vannet. Løste ioner av aluminium er

svært reaktive og binder seg til det meste rundt seg. For ferskvannsfisk binder aluminium seg til fiskegjellene og forstyrrer oksygenopptaket og ionebalansen. Dette stresser fisken og kan ved langvarig eksponering føre til fiskedød. Dette har vært en av de viktigste årsakene til fiskedød i elver og innsjøer påvirket av sur nedbør i Sør-Norge. Det er også problematisk i anlegg for produksjon av settefisk (smolt) til norsk akvakultur, der man må benytte surt råvann. Ørret og laks er av de mest følsomme artene for disse effektene.

Inntil år 2000 var målinger av de giftige aluminiumsforbindelser hovedsakelig basert på laboratorieanalyser. Dette har vært problematisk da de giftige formene av aluminium er ustabile og kan omdannes til mindre giftige forbindelser på veien til laboratoriet. Det er mulig å analysere i felt, men feltmetoden krever tilgang til et mobilt laboratorium og trenede operatører. Med feltmålinger får man fortsatt bare stikkprøver, og det må tas prøver over flere dager for å beregne en midlere belastning over tid.

## Kunne DGT bli et nytt verktøy for å måle de giftige aluminiumsforbindelsene?

DGT prøvetakeren ble utviklet av en gruppe på universitetet i Lancaster (Zhang og Davison, 1994, 1995). NIVA innledet et samarbeid med disse i 2000. Vi var på jakt etter et nytt verktøy for å måle de giftige formene av aluminium i surt vann. Fordelen med DGT'ene er at de kan eksponeres i vannet sammen med fisken og registrerer det samme som fisken eksponeres for. De fanger opp de løste ionene direkte (in-situ) uten tidsforsinkelse fra prøvetaking til lagring. Så snart det tas opp av vannet, stoppes prøvetakingen og de kan sendes til laboratoriet for avlesning uten problematiske lagringseffekter. De kan ligge i vannet over en periode fra noen dager til noen uker og kan dermed betraktes som et dosimeter, som integrerer mengden av de giftige formene av aluminium over tid. Dessuten fanger de hovedsakelig opp de løste ionene av aluminium som vi mener er mest giftige overfor fisk (Garmo, Røyset et al 2003). Fra 2001 til 2003 ble DGT'ene testet i to NFR-PROFO prosjekter: DGT-prosjektet (Oddvar Røyset) og ANC-RECOVERY (Bjørn Olav Rosseland). Ved siden av forskere fra NIVA deltok hovedfagstudenter og stipendiater ved NTNU, UiO og UMB.

Via disse prosjektene ble det utført eksponeringsforsøk med aluminium overfor ørret (*Salmo trutta L.*) i surt vann, der vi målte vi en rekke fysiologiske parametere for å registrere stress-effekter, bl.a. blodsukker (glukose) og

plasmaklorid. Dersom gjellene blir skadet må fisken arbeide hardere for å få nok oksygen og da stiger blodsukkeret. Fisken får problemer med ionereguleringen i gjellene og konsentrasjonen av plasmaklorid faller.

## DGT korrelerer godt med stress-effekter fra aluminium

Figuren 1 - 4 viser de viktigste resultatene fra dette arbeidet (Røyset, Garmo et al 2005). Figur 1 viser at gjelleopptak av aluminium fremkaller stress, økning i blodsukker og fall i plasmaklorid. Dette visste vi fra tidligere, men hvordan finne en måte å forutsi dette på uten å ta gjelleprøver og dermed drepe fisken? Figur 2 viser at DGT-målinger forutsier stress-effekten fra aluminium like godt som ved bruk av gjelleanalyser. Vi sammenliknet forskjellige DGT eksponeringsperioder fra 1 til 2 uker og fant da gode korrelasjoner mellom DGT-integrert aluminium og stress-effekt samt relativt stabile koeffisienter for regresjonsligningene, mao høy forutsigbarhet (Røyset, Garmo et al 2005).

Figur 3 viser den samme relasjonen som i Figur 2, men her basert på laboratoriemålinger av de reaktive aluminium-forbindelsene (basert på den klassiske pyrocatecholviolett metoden (PCV), utviklet på NIVA i forbindelse med sur nedbør forskningen på 1980-tallet (Henriksen og Roegeberg, 1985). Også her oppnås gode korrelasjoner, men det er en viktig forskjell i forhold til figur 2. Laboratoriemetoden måler for lavt reaktivt aluminium i forhold til fiskens respons, da kurvene er

parallellforskjøvet til venstre i forhold til Figur 2. Fisken er tydelig stresset selv om vi måler bare 5 - 10 ug Al/L med PCV-metoden. Blodsukkeret er 2 – 3 ganger høyere en det normale nivået på ca 5 millimolar, og plasmakloridnivået er merkbart senket. Ved så lave konsentrasjoner av reaktivt aluminium skulle fisken være nesten upåvirket. Figur 4 viser årsaken til det underlige mønsteret i Figur 3. DGT måler betydelig høyere konsentrasjonen (20-30 ug Al/L) enn laboratorie-metoden.

## Nytt og bedre verktøy?

Vi mener at de resultatene vi har fått, viser at DGT-prøvetakerne kan forutsi disse stresseffektene på en bedre måte enn vår gamle laboratoriemetode. De viktigste fordelene er:

- Fysiologiske stress målt via blodsukker og plasmaklorid er relativt trege reaksjoner. Tidsintegreert DGT-aluminium målt over en til to uker, ser ut til å være en god indikasjon for slike trege reaksjoner.
- DGT tar prøvene in-situ, dvs. at den samler opp de giftige formene direkte i vannet og måler det samme som fisken er eksponert for.
- Reaktivt aluminium målt med laboratoriemetoder kan gi for lave verdier, hovedsaklig fordi en del av de reaktive giftige formene av aluminium kan forsvinne under lagring. Dette problemet er størst ved vannbehandling innen fiskeoppdrett slik som ved kalking/silikatbehandling for fjerne de giftige formene av aluminium. Da blir aluminiumskjemien ustabil og endres raskt over kort tid. Her

trenger vi feltmålinger for å overvåke at vannbehandlingen virker før vannet kommer ut i anlegget med oppdrettsfisk.

- Lagringsproblemet gjelder for alle laboratorie-metoder. Reaktivt aluminium må "fanges i flukten" og der har DGT en unik egenskap.
- DGT er enkle og lite arbeidskrevende å benytte. Kombinert med rimelige analyser og god effektindikasjon, gir de mye kunnskap med liten innsats.

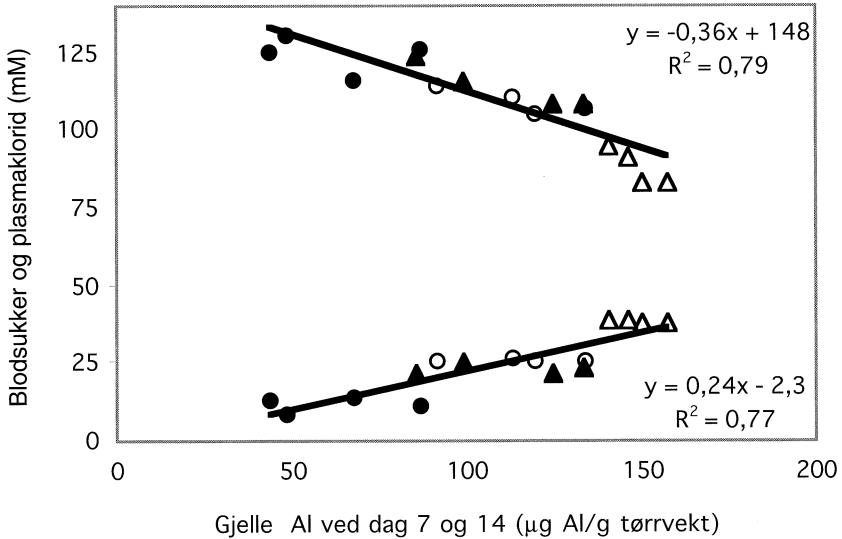
## Referanser

Davison, W.; Zhang, H. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature*, 1994, 367, 546-548.

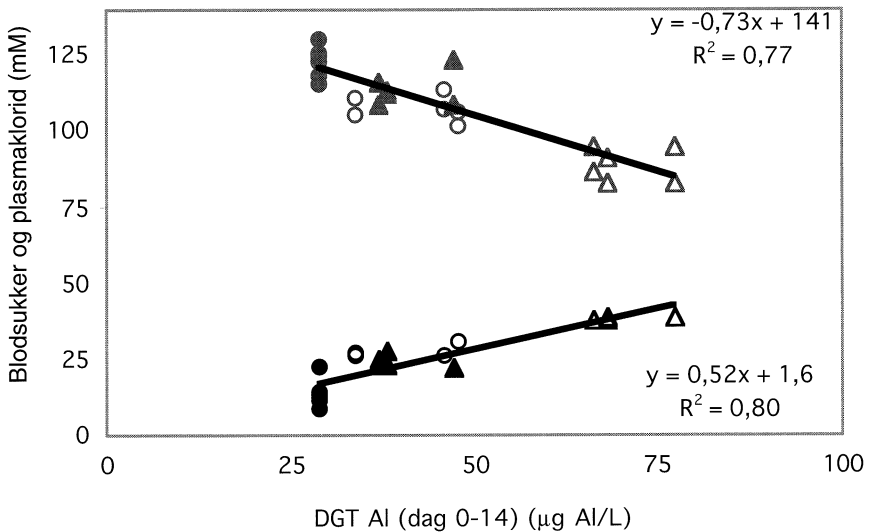
Zhang, H.; Davison, W. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. *Anal Chem*, 1995, 67, 3391-4000.

Garmo, Ø.A.; Røyset, O.; Steinnes, E.; Flaten, T.P. Performance study of diffusive gradients in thin films (DGT) for 55 elements. *Anal. Chem.* 2003, 75(14), 3573-3580.

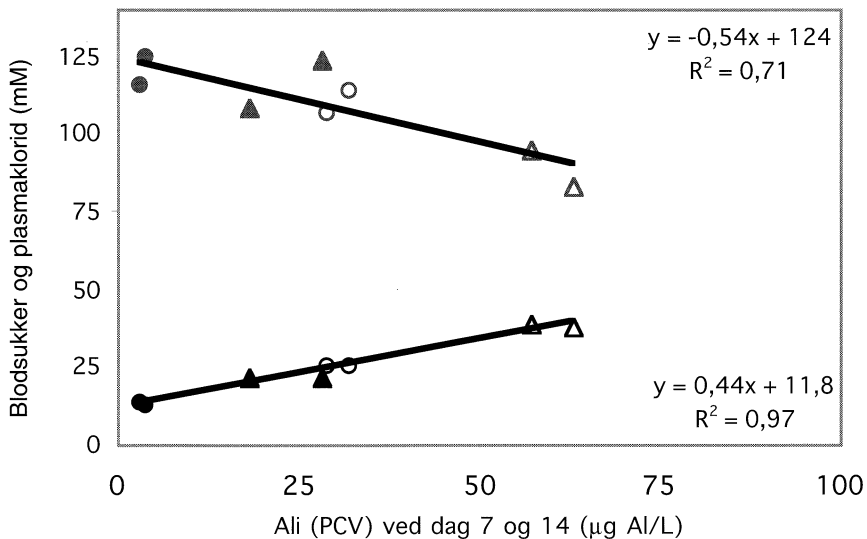
Røyset, O, Garmo, ØA, Rosseland, BO, Kroglund, F, Kristensen, T, Steinnes, E, Diffussive Gradients in Thin Films Sampler Predicts Stress in Brown Trout (*Salmo trutta* L.) Exposed to Aluminum in Acid Fresh Waters, *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39, 1167-1174.



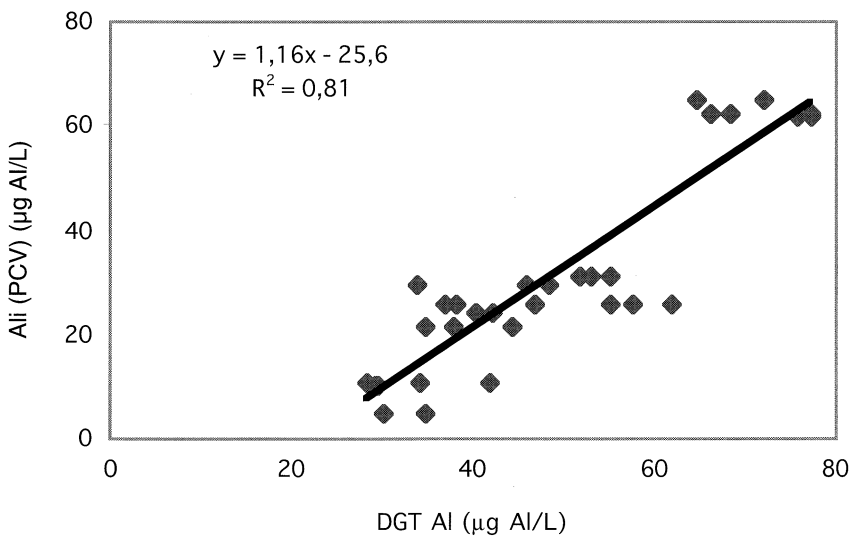
Figur 1. Sammenheng mellom plasmaklorid (øvre kurve), blodsukker (nedre kurve) og gjelleopptak av aluminium.



Figur 2. Sammenheng mellom plasmaklorid (øvre kurve), blodsukker (nedre kurve) og DGT-Al integrert over 14 dager (x-akse)



Figur 3. Sammenheng mellom plasmaklorid (øvre kurve), blodsukker (nedre kurve) og reaktivt aluminium målt med laboratorie-metoden (PCV)



Figur 4. Sammenheng mellom reaktivt aluminium målt med DGT (DGT-Al) og basert på laboratoriemålinger (Ali) med PCV metoden