DIE EFFEK VAN BAKTERIEë EN SWAARMETALE IN BEHANDELDE RIOOLWATER OP DIE BABER, *CLARIAS GARIEPINUS*, AS MENSLIKE VOEDSELBRON

D J VAN DEN HEEVER

DIE EFFEK VAN BAKTERIEë EN SWAARMETALE IN BEHANDELDE RIOOLWATER OP DIE BABER *Clarias gariepinus* AS MENSLIKE VOEDSELBRON

deur Dawid Johannes van den Heever
N H Dip: Openbare Gesondheid

Departement Omgewingswetenskappe
Technikon OVS
Bloemfontein

Verhandeling voorgelê ter nakoming van die vereistes vir die Meestersdiploma in Tegnologie: Openbare Gesondheid aan die Technikon OVS

***Studieleier*: Dr BJ Frey**

... to love life through labour, is to be intimate with life's inmost secrets.

Kahlil Gibran

aan my ouers

ABSTRACT

Health risks associated with the utilization of waste water for fish production were studied by investigating the possible incorporation of pathogenic micro-organisms and heavy metals into fillets of fish. Fish were grown in cages in a stabilization pond at the Bloemspruit sewage works, while another group of fish was kept in a similar cage in the Krugersdrift dam.

Water and fish were analysed for total and faecal coliforms, *Salmonella*, colifages and *Escherichia coli*. Chemical analyses were also conducted on the water and fish for heavy metals and related trace elements.

Even though high numbers of faecal coliforms and colifages were detected in the treated waste water, and in some instances *Salmonella* was isolated, none of these micro-organisms were found in fish fillets. Concentrations of heavy metals showed no toxic evidence in fillets although chromium might be of some concern in future, should the concentration of the metal increase.

Results of this study indicate that fillets of *Clarias gariepinus* grown in treated waste water like the water of the Bloemspruit sewage works, are microbiologically and chemically safe for human consumption, provided that simple precautions are maintained in food-handling and -processing. The ponds are restricted to domestic waste with a minimum of industrial waste.

The fish in the Krugersdrift dam are also microbiologically and chemically safe for human consumption, although the concentrations of chemical compounds were generally higher in fillets of this fish group. Urgent attention must be given to the maintenance of stricter control of natural waters to prevent water pollution in this catchment area.

INHOUDSOPGAWE

1. INLEIDING 1

2. MATERIAAL, APPARATUUR EN ANALISE-TEGNIEKE 8

2.1 Aanhou, versameling en monstering van vis 8

2.2 Chemiese analise van water 10
2.2.1 Versameling van watermonsters 10
2.2.2 Voorbereiding van watermonsters 11
2.2.3 Metode van wateranalise 11

2.3 Chemiese analise van visweefsel 12
2.3.1 Monsterneming van visse 12
2.3.2 Voorbereiding van visweefsel 13
2.3.3 Monsterontbinding 13
2.3.3.1 Voorbereiding van biologiese monsters vir kwikanalise 14
2.3.4 Monsteranalise 14
2.3.4.1 Bepaling van Cu, Cr, Cd, Pb, Fe, Zn, Mn, Na, Mg en K in biologiese monsters 14
2.3.4.2 Bepaling van Hg in biologiese monsters 15

2.4 Chemiese analise van sedimentmonsters 15
2.4.1 Versameling van sedimentmonsters 15
2.4.2 Voorbereiding van sedimentmonsters 16
2.4.3 Monstervertering 16
2.4.4 Monsteranalise 16
2.4.4.1 Bepaling van Cu, Cr, Cd, Pb, Zn, Fe, Mn, Na, Mg en K in sedimentmonsters 16
2.4.5 Bepaling van kwik in sedimentmonsters 16
2.4.5.1 Voorbereiding van monsters 16
2.4.5.2 Monstervertering 17
2.4.5.3 Monsteranalise 17

2.5	Mikrobiologiese analise van water	17
2.5.1	Versameling van watermonsters	17
2.5.2	Voorbereiding van watermonsters vir die bepaling van totale en fekale kolivormige bakterieë	18
2.5.3	Metode vir groei en inkubasie	18
2.5.3.1.	Telling van kolonies	18
2.5.3.1.1	Totale kolivormige organismes	18
2.5.3.1.2	Fekale kolivormige organismes	19
2.5.3.1.3	Bevestiging en differensiasie	19
2.5.4	Voorbereiding van watermonsters vir die bepaling van *Salmonella*	20
2.5.4.1	Telling van kolonies	21
2.5.5	Voorbereiding van watermonsters vir die bepaling van kolifage	21
2.5.5.1	Metode vir groei en inkubasie	22
2.5.5.2	Telling van plakette	22
2.6	Versameling van visweefselmonsters vir mikrobiologiese analise	23
2.6.1	Weefsel- en bloedmonsterneming	23
2.6.2	Voorbereiding van weefsel- en bloedmonsters	24
2.6.3	Weefselmonsters	24
2.6.4	Bloedmonsters	24
2.6.5	Telling van organismes	25
2.7	Bepaling van die fisiese eienskappe van die water	25
2.8	Bepaling van reënvalsyfers	25

3.	**EKSPERIMENTELE BESKRYWINGS EN RESULTATE**		26
	3.1	Inleiding	26
	3.2	Fisiese eienskappe van water	27
	3.2.1	pH	27
	3.2.2	Hardheid	29
	3.2.3	Oksidasie-reduksiepotensiaal	29
	3.2.4	Temperatuur	31
	3.2.5	Konduktiwiteit	33
	3.3	Spoorelementkonsentrasies van water	33
	3.3.1	Inleiding	33
	3.3.2	Chemiese analise van water	36
	3.4	Sedimentanalises	48
	3.5	Spoormetaalkonsentrasies in visweefsel	49
	3.5.1	Inleiding	49
	3.5.2	Chemiese analise van visweefsel	53
	3.6	Mikro-organismes in water en visweefsel	71
	3.6.1	Inleiding	71
	3.6.2	Mikrobiologiese analises	73
	3.7	Reënvalsyfers in die Modderrivieropvang-gebied gedurende 1991	82
4.	**ALGEMENE BESPREKING**		84
	4.1	Inleiding	84
	4.2	Metaalioonkonsentrasies in water en visweefsel	84
	4.3	Mikro-organismes in water en visweefsel	97

5. OPSOMMING 101

6. DANKBETUIGINGS 105

7. LITERATUURVERWYSINGS 107

BYLAE A 127
Reagense en media vir chemiese- en biologiese analise

BYLAE B 131
Analise van watermonsters deur middel van induktiefgekoppelde emissie spektroskopie

BYLAE C 134
Voorbereiding van kwikstandaarde en blanko-oplossings

BYLAE D 136
Voorbereiding van membraanfilters en toerusting vir mikrobiologiese analise

BYLAE E 139
Maksimum blootstellingsvlakke vir menslike blootstelling aan metale met inname en biologiese monitering daarvan

1. INLEIDING

Periodieke watertekorte vir akwakultuur in groot dele van Suid-Afrika het die ondersoek van die gebruik van afvalwater, soos behandelde rioolwater van rioolsuiweringswerke wat ongeskik vir huishoudelike gebruik is, genoodsaak. Hierdie water wat ryk aan voedingstowwe is, word gewoonlik in riviere gestort sonder dat dit verder benut word. Die uitvloeisel van die meeste goed beplande verouderingsdamme in Suid-Afrika is in die algemeen van so 'n goeie kwaliteit dat baie visspesies gewoonlik daarin kan leef. Dit is bekend dat ten minste een so 'n sisteem, naby Kimberley in die Kaapprovinsie, bekend is vir die suksesvolle kommersiële produksie van babers, *Clarias gariepinus*.

Gepubliseerde rekords rakende die gebruik van huishoudelike uitvloeisel vir visproduksie in Suid-Afrika, dateer terug tot die begin van die tweede helfte van die twintigste eeu. Hey (1955) het reeds in die vyftigerjare oor die gebruik van riooluitvloeisel vir visproduksie gerapporteer. Rekords oor die praktiese kommersiële aanwending van diereresste en behandelde rioolwater, het ook gedurende die 1960's verskyn (Hepher & Schroeder, 1975).

Met die ontstellende hoë groeikoers van die Suid-Afrikaanse bevolking teen 2,3% per jaar, sal die totale huidige bevolking van die RSA in minder as 35 jaar tot soveel as 138 miljoen toeneem (Raad vir Bevolkingsontwikkeling, 1990). Die Raad het vasgestel dat die natuurlike waterbronne van die land nie meer as 80 miljoen mense sinvol kan bedien nie. Uit hierdie gegewens blyk die dringendheid van die ontwikkeling en/of benutting van alternatiewe waterbronne vir voedselproduksie dus duidelik. Fourie (1989) waarsku dat meer voedsel per eenheidsoppervlakte in Suid-Afrika geproduseer sal moet word om in die toekomstige huishoudelike behoeftes te voorsien.

'n Uitbreiding van die produksie van varswatervis in behandelde rioolwater kan 'n belangrike bydrae lewer tot die voorsiening van genoeg voedsel vir die Suid-Afrikaanse bevolking - veral om voedsel vir die derdewêreldse komponent in die een en twintigste eeu te verseker. Visboerdery in

Gazankulu verskaf reeds 'n alternatiewe en goedkoop bron van proteïene aan sy inwoners vir wie rooivleis reeds te duur en feitlik onbekombaar is (Anonymous, 1988).

Die primêre doel van hierdie studie was om vas te stel of behandelde rioolwater vir voedsel- en in die besonder visverbouing geskik is. Beweringe dat die aanhou van vis in behandelde rioolwater 'n gesondheidsrisiko vir die mens mag inhou indien sulke visse geëet word, kan sodoende bevestig of ongeldig verklaar word. Die baber (*Clarias gariepinus*) is as eksperimentele visspesie gekies, aangesien dit algemeen bekend is dat dit 'n geharde spesie is. Navorsing wat deur Prinsloo, Schoonbee, Van der Walt en Pretorius (1989) met *Clarias gariepinus* in verouderingsdamme in Lebowa gedoen is, het getoon dat hierdie vis as gevolg van die hoë organiese inhoud van die damme floreer.

'n Verdere bydrae wat met hierdie studie gelewer kan word, is dat die omvang van die besoedeling van natuurlike waterbronne deur behandelde riooluitvloeisel beter aangedui sal kan word. Volgens Watling en Watling (1982b) is sekere visspesies uiters geskik om die aanwesigheid van besoedelingstowwe in water aan te toon. In 'n land soos Suid-Afrika wat in die algemeen gesproke 'n tekort aan water het, moet gepoog word om, waar moontlik, die kwaliteit van beskikbare water te verbeter en afvalwater sover as moontlik te benut. Deur gereelde monitering van die kwaliteit van afvalwater sowel as die voorkoms van chemikalieë en patogene in die weefsel van visse wat daarin voorkom, kan beter beheer oor skadelike stowwe en die effekte daarvan op die biota uitgeoefen word.

Die aanhou van vis in verouderingsdamme van rioolsuiweringswerke word reeds vir 'n geruime tyd wêreldwyd ondersoek. Die hoof-aantrekkingskragte van hierdie metode van voedselverbouing is volgens Wrigley, Toerien & Gaigher (1988):

* Die beskikbaarheid en lae instandhoudingskoste van verouderingsdamme.
* Die stabilisering en moontlike verbetering van die waterkwaliteit van die uitvloeisel deur die teenwoordigheid van visse.

Nadele wat hierdie metode van visproduksie volgens Wrigley, *et al.* (1988) inhou, is die afkeer van die publiek aan rioolverwante voedsel en toestande wat stres by die visse kan veroorsaak. Wat die gesondheidsrisiko's van vis wat vir menslike gebruik in behandelde rioolwater aangehou word, betref, bestaan daar nog heelwat onduidelikhede wat uit die weg geruim moet word. Volgens Sandbank en Nupen (1984) is die grootste bekommernis rakende akwakultuur in afvalwaters, die akkumulasie van swaarmetale, patogene en plaagdoders in vis en as gevolg daarvan, die moontlike oordraging van siektes na die mens.

Alhoewel die gebruik van menslike en dierlike afval in visdamme reeds vir dekades bekend is (Feachem, Bradley, Garelick & Mara, 1978), is daar nie baie inligting rakende die aanhou van vis in huishoudelike afvalwater beskikbaar nie. Die water is 'n goeie bron van voedingstowwe, maar dit kan potensiële gevare vir hanteerders en verbruikers daarvan inhou (Guelin, 1962; Janssen, 1970; Reichenback-Klinke, 1973; Feachem, *et al.*, 1978; Lawton & Morse, 1980). Volgens Prinsloo, *et al.* (1989) bestaan daar, ten spyte van die feit dat die visse gesond lyk, wel die moontlikheid dat menslike patogene in die weefsel van die visse mag voorkom.

Bevindinge van Slabbert, Morgan en Wood (1989) het getoon dat filette van die karp (*Cyprinus carpio*) en die kurper (*Oreochromis mossambicus*) wat in munisipale verouderingsdamme aangehou is, vry van patogeniese organismes was. Dit is in ooreenstemming met die resultate van Nupen (1983) en Turner, Sibbald en Hemens (1986) vir visse in huishoudelike afvalwater. Gevalle is wel aangeteken waar vis wat met rou rioolwater in aanraking was, voedselvergiftiging en cholera by verbruikers daarvan veroorsaak het (Hobbs & Roberts, 1987).

Ander patogene soos trematode is wel deur Van As en Basson (1988) in eksemplare van *Clarias gariepinus* by vismarkte in die Caprivi gevind. Die moontlikheid dat die mens infestasie kan opdoen wanneer vis rou geëet of gedeeltelik in die son gedroog word, is volgens hierdie navorsers baie hoog. In Suid-Afrika is egter nog nie sulke gevalle aangemeld nie. Volgens Van As en Basson (1988) besit *Clarias gariepinus* 'n hoë omgewingsverdraagsaamheid wat dit baie geskik vir akwakultuur in byna

enige habitat maak. Die behandeling van visse teen parasitiese infestasies met terapeutiese of profilaktiese chemikalieë, kan egter die normale ontwikkeling van bevrugte ova by visse inhibeer (Van As & Basson, 1988). Die moontlikheid dat behandelde rioolwater soortgelyke chemikalieë bevat, moet nog ondersoek word.

Volgens Hejkal, Gerba, Henderson en Freeze (1983) is die besmettingspotensiaal baie hoog waar vis in afvalwater gekweek word as gevolg van die moontlikheid dat dit met bakterieë, virusse en toksiese chemikalieë besoedel kan word. Hierteenoor maak Hejkal *et al.* (1983) egter die stelling dat die gesondheidsrisiko verbonde aan die eet van visse wat onder die gekontroleerde toestande van verouderingsdamme aangehou word, nie groter kan wees as in die geval van visse onder ongekontroleerde toestande nie. Ongekontroleerde waterbronne kan te eniger tyd met besoedelingstowwe gekontamineer word.

Hepher en Pruginin (1981) vermeld dat vis 'n potensiële draer van menslike bakteriële en virale patogene kan wees. Daar blyk ook meningsverskil te wees oor die vraag of enterobakterieë in die spierweefsel en maag van die vis kan vermenigvuldig wat visse dan langtermynvektore van menslike siektes kan maak of dat die vis slegs sal dien as 'n passiewe draer van patogene. Hepher en Pruginin (1981) beklemtoon die belangrikheid van die natuurlike kapasiteit van damme waarin vis aangehou word om afvalwater te suiwer en sodoende die teenwoordige patogene te verminder. Die voorgenoemde outeurs waarsku dat dit moontlik maande kan neem om patogene uit die spierweefsel van visse te verwyder indien dit daartoe toegang sou verkry.

In die lig van bogenoemde beveel Prinsloo en Schoonbee (1992) aan dat 'n spesifieke ondersoek na die probleem van patogene in visdamme uitgevoer word waarin die moontlikheid van gesondheidsrisiko's as gevolg van die verbruik van visse bepaal kan word.

Afloopwater vanuit die Langeberg-Koöperasie Bpk se vrugte-inmaakfabriek bevat 'n verskeidenheid biologiese en chemiese besoedelingstowwe. Proefinstallasies om die afloop deur middel van

visteelt te suiwer, het egter groot belofte getoon. Volgens Warner (1982) sal só 'n stelsel op kommersiële skaal nie net die watervoorraadprobleem help oplos nie, maar ook 'n visbron, en selfs 'n klompie waterblommetjies, oplewer. In gevolge 'n kostebesparingsprogram is die projek opgeskort, maar dit verander egter nie die wetenskaplike welslae wat met die projek behaal is nie (Warner, 1982).

'n Ondersoek uitgevoer deur Bezuidenhoudt, Schoonbee en De Wet (1990) op sekere organe van die baber (*Clarias gariepinus*), wat in 'n dam gekontamineer met uitvloeisels van myne en metaalverwerkingsindustrieë aangehou is, het getoon dat daar merkbare verskille was in die konsentrasies van swaarmetale in die verskillende organe. Te oordeel aan die hoeveelheid sink en koper wat in die weefsel gevind is, is die vleis steeds geskik vir menslike gebruik (Bezuidenhoudt, *et al.*, 1990). Die hoogste voorkoms was dié van koper en volgens Bezuidenhoudt *et al.* (1990) hou die konsentrasies wat in *Clarias gariepinus* gevind is, geen karsinogeniese of mutageniese gevaar vir die mens in nie.

'n Studie uitgevoer deur Turner, *et al.* (1986) het getoon dat vis wat in damme aangehou en met gechloreerde riooluitvloeisel gevoed word, 'n swaarmetaalkonsentrasie bevat wat nie skadelik vir menslike inname is nie. Hierdie outeurs wys egter daarop dat die uitvloeisel wat gebruik word, slegs die minimum uitvloeisel van 'n industriële oorsprong moet bevat.

Waterlewe is baie kwesbaar vir lae konsentrasies van metaalbesoedeling en dit is baie maklik om die water te besoedel tot 'n vlak waar alle waterlewe uitgewis kan word. 'n Voorbeeld van so 'n vergiftiging is die storting van organiese kwik te Minamatabaai in Japan wat visse vergiftig en honderde mense se dood veroorsaak het (Waldron, 1988; Fourie, 1989).

Met 'n studie wat in Natal uitgevoer is om die hoeveelheid besoedeling te bepaal wat vanaf afvloeiwater uit die dorp na die opvanggebied gaan, is gevind dat daar tydens reëntoestande 'n groot toename in waterbesoedeling plaasvind. Stedelike afvloei is dus 'n voortdurende potensiële bedreiging vir die omgewing en 'n bron van skadelike en toksiese elemente. Verder is dit volgens Simpson en Stone (1988) ook 'n bron van plantvoedingstowwe

wat eutrofikasie in water bevorder. Skadelike en toksiese stowwe kan dus onwillekeurig in riviere en damme beland, terwyl goeie beheer kan verseker dat dieselfde nie met behandelde rioolwater plaasvind nie. In die lig hiervan kan dus geredeneer word dat visse in behandelde rioolwater beter "beskerm" behoort te wees teen toksiese stowwe as visse in riviere en damme.

Die moontlikheid bestaan dat behandelde rioolwater riviere sodanig organies kan verryk dat die waterkwaliteit nadelig kan beïnvloed word. Swaarmetale wat in die sediment van riviere voorkom en deur plante opgeneem word, het egter 'n minimale effek op die waterkwaliteit (Watling en Watling, 1982e). In Lebowa waar visse in verouderingsdamme aangehou is, was die fisies-chemiese eienskappe van die water in die damme deurgaans stabiel en het goed met verouderingsdamme sonder visse vergelyk, behalwe dat die nitraatkonsentrasies in eersgenoemde damme veel hoër was (Prinsloo, *et al.*, 1989).

Volgens Scholtz en Uys (1988) moet deurgaans verseker word dat die kwaliteit van water waarin vis aangehou word, van 'n goeie standaard is en nie verswak of die visse besoedel nie. Hiervoor beveel hulle behandelde rioolwater aan, maar wys tog daarop dat die betroubaarheid van die waterbron deur navorsing bevestig moet word.

In Suid-Afrika word die gebruik van afvalwater vir akwakultuur nie deur gesondheidsowerhede goedgekeur nie. Walmsley (1988) stel dit dat Suid-Afrikaanse wetgewing en standaarde van die strengste in die wêreld is en dat volgens sy opinie baie van die visproduksie-aanlegte in die Verenigde State van Amerika nie aan die Suid-Afrikaanse standaarde sal kan voldoen nie. Voorts wys hy daarop dat die standaarde nie doeltreffend geïmplementeer word nie. Min van die verskillende departemente het 'n duidelike perspektief van die algemene implikasies van akwakultuurontwikkeling en die voornemende entrepreneur word gou vasgevang in 'n web van burokrasie wat hom eerder ontmoedig as bemoedig. Walmsley (1988) dui ook aan dat druk op die sentrale regering uitgeoefen moet word en elke departement duidelike standaarde moet stel wat interdepartementeel gekoördineer moet word.

Laastens kan plaaslike owerhede wat dieselfde tipe rioolwerke bedryf as dié wat in hierdie studie ondersoek is, die resultate moontlik aanwend om hulle plaaslike verordeninge aan te pas en selfs visboerderye te begin wat fondse kan genereer. Hejkal, *et al.* (1983) het die stelling gemaak dat 'n akwakultuur-afvalwater-behandelingsisteem 'n potensieel waardevolle alternatief vir konvensionele rioolsuiwerings-installasies kan wees.

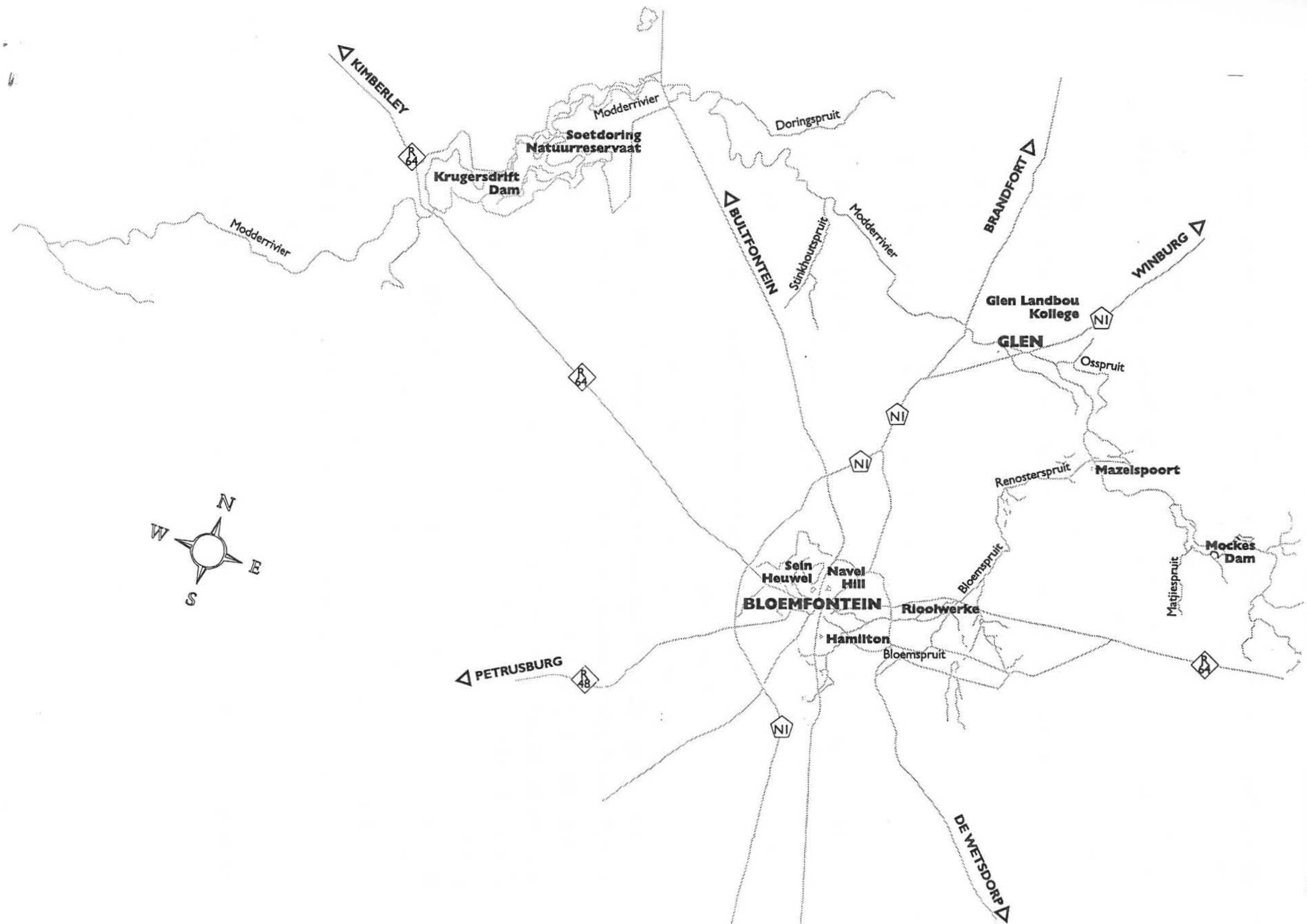
2. MATERIAAL, APPARATUUR EN ANALISE-TEGNIEKE

2.1 Aanhou, versameling en monstering van vis

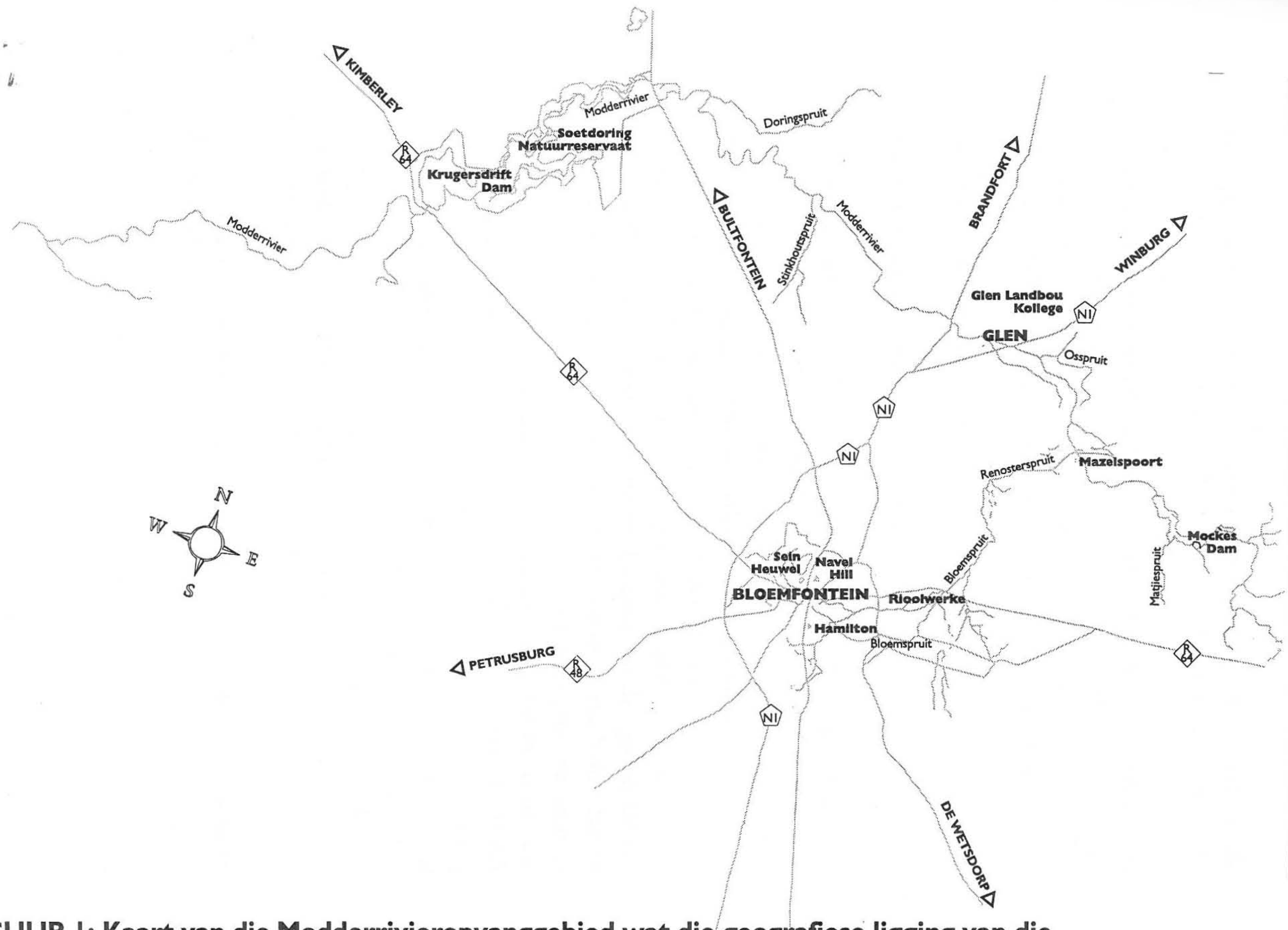
Gesonde babers, *Clarias gariepinus*, is gedurende Desember 1990 van 'n bekende baberboer in die Brandfort distrik verkry waarna hulle vir veertien dae in 'n poli-etileendam met 'n inhoudsmaat van 2150 liter geplaas is om van enige vreemde stowwe, indien dit in die weefsel teenwoordig sou wees, ontslae te raak. Tydens hierdie fase van die projek is die visse elke tweede dag met 'n kommersiële ontbytkos (Weet-bix) gevoer.

By elke lokaliteit, te wete, die Krugersdriftdam en die Bloemspruitrioolwerke soos in figuur 1 aangetoon, is hokke met 'n inhoudsmaat van 8 m^3 vooraf in die water geplaas. Die hokke het bestaan uit 'n kubiese raam van 5 cm gegalvaniseerde pyp wat in lengtes van 2 m x 2 m x 2 m aanmekaar gesweis is. Die pypraam is oorgetrek met gesweisde gegalvaniseerde maasdraad met openinge van 10 x 50 mm sodat water sonder weerstand deur die hok kon vloei. Aan die bo-kant van die hok is dit voorsien van 'n valdeur van 1 m^2 groot. Die hokke is in die water geplaas waar 'n goeie deurvloei van water moontlik was en dit stewig op die bodem van die dam kon staan. Die hokke was deurentyd sodanig met water gevul dat ten minste 20 cm van 'n hok bokant die water uitgesteek het vir die visse om, indien nodig, vars lug te skep.

Sestig visse is op 'n ewekansige wyse in twee groepe van 30 elk verdeel en na die onderskeie lokaliteite geneem waar dit in die hokke geplaas is. Die visse is aanvanklik met moggels (*Labeo umbratus*) gevoer wat in 'n laboratorium aangehou is om van enige moontlike skadelike stowwe ontslae te raak. Na die eerste twee maande van 1991 is die voer van visse gestaak, aangesien hulle deurgaans gesond voorgekom het en daar ook genoegsame voedsel in hulle mae gevind was by ondersoek.



FIGUUR 1: Kaart van die Modderrivieropvanggebied wat die geografiese ligging van die



FIGUUR 1: Kaart van die Modderrivieropvanggebied wat die geografiese ligging van die

Groepe van 9 visse elk is gedurende Junie en Desember 1991 uit die onderskeie hokke met 'n skepnet gehaal waarna dit in 200 liter poli-etileendromme wat met water van die onderskeie lokaliteite gevul was, na die laboratorium vervoer is. Alle visse is binne een uur na verwydering daarvan in die laboratorium vir eksperimente geslag. Die mortaliteit van visse in aanhouding was baie laag, sodanig dat geen rekord daarvan tydens die duur van die projek gehou is nie.

2.2 Chemiese analise van water

2.2.1 Versameling van watermonsters

Watermonsters is volgens die metode van Watling (1981) in voorafskoongemaakte hoëdigtheidspoli-etileenbottels met 'n inhoudsmaat van 2 liter versamel. Die bottels is skoongemaak deur dit in 'n 20 % (volume/volume) salpetersuur oplossing vir 24 ure te week, waarna dit met gedistilleerde water uitgewas en met 2 M soutsuur gevul, tot voor die gebruik daarvan, gestoor is. Onmiddellik voor monsterneming is die suur op die grond by die lokaliteit waar die monsters geneem is, uitgegooi en die bottel daarna drie maal met 'n watermonster uitgewas om agtergeblewe suur te verwyder. Die eksperimentele monster is geneem deur die omgekeerde bottel tot 'n diepte van ongeveer 0,5 m onder die water te dompel waarna die opening opwaarts gedraai is om dit met water te vul. Die monster is op die terrein met 10 ml gekonsentreerde salpetersuur (SAARCHEM) (AR) per liter monster aangesuur. Die bottel is daarna met 'n skroefprop van hoëdigtheidspoli-etileen verseël en in 'n monsterkas by 'n temperatuur van ongeveer 15 °C geplaas waarmee dit na die laboratorium vervoer is.

Die monsters is tot voor ontleding in die hoëdigtheidspoli-etileenbottels gestoor.

2.2.2 Voorbereiding van watermonsters

Die versamelde watermonsters is in drie submonsters verdeel waarna elk deur 'n 0,45 μm membraanfilter in 'n 335 ml hoëdigtheidspoli-etileenbottel met 'n poli-etileenprop gefiltreer is. Die eerste 20 ml van die gefiltreerde monsters is weggegooi. Onmiddellik na filtrasie is die monster met 3 ml hergedistilleerde salpetersuur wat in die laboratorium in klein vooraf skoongemaakte glasampules vir veldgebruik voorberei is, gepreserveer. Die monsterbottel is ook vooraf in die laboratorium skoongemaak deur dit te week in 0,05 volume fraksie-soutsuur vir 24 uur en 4 keer met gedistilleerde gedeïoniseerde water uitgespoel (Kempster, 1986). Die salpetersuur preservering dien om die pH-waarde van die water met twee eenhede te verlaag en verhoed sodoende absorpsie en hidrolise van metale (Kempster, 1986). Analitiese materiaal wat deur 'n 0,45 μm poriegrootte membraan filter, word volgens konvensie die opgeloste materiaal genoem (NHRMWDA, 1977).

'n Afsonderlike submonster van die 0,45 μm gefiltreerde watermonster is in 'n proefbuis versamel vir analise.

Hoë suiwerheid van water word volgens Kempster (1986) vir blanko-oplossings in spoormetaal-analise benodig. Dit is verkry deur distillasie gevolg met vloei deur 'n **Deomed RDT 30** deïoniseringsisteem wat water met 'n weerstand $> 0,2\ \mu S.cm^{-1}$ by 25 °C lewer. Die geaktiveerde koolstofkolomme van die apparaat is op dieselfde tydstip as die ioon uitruilingskolomme vervang om blanko-oplossings van hoë suiwerheid te lewer.

2.2.3 Metode van wateranalise

'n ARL **Induktiefgekoppelde plasma** spektrometer **(Model 3410)** is gebruik vir die bepaling van Cu, Cr, Cd, Pb, Fe, Zn, Mn, Na, Mg en K in watermonsters. Aangesien geen ander elemente wat 'n gesondheidsgevaar vir die mens mag inhou tydens die voorlopige verkenningstudie in die water gevind is nie, is die water slegs vir die

voorgenoemde spoormetale geanaliseer. Emissie-spektroskopie met die gebruik van induktiefgekoppelde plasma (IGP) emissiespektrometrie is deur Greenfield, Jones & Berry (1964) as 'n vinnige, sensitiewe en maklike metode vir die bepaling van metale in water- en afvalwatermonsters ontwikkel (Fishman & Bradford, 1982; USEPA, 1983; Garbarino & Taylor, 1985; ASTM, 1987).

Die omvang van monstertipes wat met die bogenoemde metode ontleed kan word, sluit atmosferiese, oppervlak- en grondwater, sediment, slyk- en afvalstortingsmateriale, plant- en diermateriaal in (Kempster, 1986).

Aangesien daar verskille tussen die verskillende soorte IGP-instrumente bestaan, is die analises streng volgens die instruksies van die ARL-vervaardigers uitgevoer (Clesceri, Greenberg & Rhodes Trussel, 1989).

2.3 Chemiese analise van visweefsel

2.3.1 Monsterneming van visse

Monsterneming vir chemiese analise is uitgevoer volgens die metode van Nupen (1983). Nadat die visse na die laboratorium vervoer is, is hulle afsonderlik uit die poli-etileendrom gehaal en met gedeïoniseerde water afgespoel. Disseksie van die vis is uitgevoer met konvensionele disseksie-toerusting vir die versameling van die lewer, niere en spierweefsel. Monsters wat versamel is, is afgespoel met lopende gedeïoniseerde water. Die versamelde monsters is lugdig in poli-etileensakkies verseël waarna dit tot -20 °C bevries is.

Die analise van visweefsel is volgens Kempster (1986) nutteloos indien weefselmonsters nie absoluut vars en onmiddellik na vangs bevries word nie. Dieselfde metode van versameling en monsterneming van visweefsel word deur Bruwer, Van Vliet,

Sartory & Kempster (1985) en Watling (1981) aanbeveel waar die monsters so vinnig as moontlik na vangs tot -20 °C bevries word.

2.3.2 Voorbereiding van visweefsel

Die metode van Watling (1981) is vir die voorbereiding van die biologiese monsters vir chemiese analise gebruik. Vir die analise van spierweefsel is 5 g van die monster op 'n **Sartorius** balans **(Model B310P)** afgeweeg. Die massa van die verskillende monsters is, afhangende van die organiese rykheid daarvan, bepaal, en daarom is slegs 1 g van die lewer en 1 g van die niere vir elke monster onderskeidelik afgeweeg. Elke monster is in triplikaat voorberei.

2.3.3 Monsterontbinding

Biologiese materiaal word gewoonlik volgens Kempster (1986) met behulp van 'n salpetersuur- perchloorsuurmengsel ontbind. Hierdie metode, die sogenaamde "natverteringsmetode", is ook in hierdie studie vir weefselmonsters van *Clarias gariepinus* gebruik. Droë verassing het die nadeel dat vlugtige elemente verlore mag gaan (Iyengar & Sansoni, 1980).

Die nat weefselmonster is na 'n skoon 200 ml Erlenmeyerfles oorgedra en in 'n oond by 95 °C vir 24 uur gedroog. Tydens droging vind geen verlies van die studie-elemente plaas nie (Watling, 1981). 20 ml gekonsentreerde salpetersuur is daarna by die monster gevoeg en die mengsel is vir 24 uur gelaat om te verteer. Hierna is die monster op 'n warmplaat by 120 °C ingedamp totdat dit byna droog was. Hierdie stap is herhaal totdat die residu wit van kleur geraak het. Na droging is 20 ml van 'n 4:1 mengsel van salpetersuur en waterstofperoksied bygevoeg. Volgens die metode van Watling (1981) word 'n mengsel van salpeter- en perchloorsuur bygevoeg, maar in hierdie studie is perchloorsuur met waterstofperoksied vervang om die ontploffing van die monster te voorkom. Waterstofperoksied het presies dieselfde werking en reaksie as perchloorsuur tot gevolg vir die vertering van die

monster. Die mengsel is weer ingedamp totdat dit feitlik droog en die supernatantoplossing óf helder óf liggeel was. Die monster is droog gevlam. In gevalle waar die supernatantvloeistof oranje was, is 'n verdere volume van die salpetersuur-waterstofperoksiedmengsel bygevoeg en die monster weer gevlam totdat dit droog was. Die droë residu is afgekoel en 10 ml 10 % salpetersuur is bygevoeg. Die mengsel is laat staan vir 2 ure met gereelde skud om die residu in suspensie te hou. Hierna is die hele monster oorgedra na 'n 20 ml "polytop"-flessie en gelaat sodat die residu kon afsak. Indien nodig, is die supernatantvloeistof gefiltreer of afgeskink alvorens 'n analise uitgevoer is. Hierdie metode is gebruik vir die voorbereiding van monsters vir die analise van koper, lood, sink, yster, mangaan, natrium, kalium, magnesium en chroom (Watling, 1981).

2.3.3.1 Voorbereiding van biologiese monsters vir kwik-analise.

Drie twee-gramhoeveelhede van die nat weefselmonster is akkuraat met 'n **Sartorius** balans **(Model B310P)** in 'n 150 ml Erlenmeyerfles wat van 'n borrel- (bubble) stopper voorsien is, afgeweeg. Daarna is 25 ml 6 % (massa/volume) kaliumpermanganaatoplossing (AR) en 1 ml gekonsentreerde swaelsuur (AR) bygevoeg. Die mengsel is in 'n waterbad by 55 °C vir 2 ure verhit of alternatiewelik totdat die weefsel opgelos was of die kaliumpermanganaat verkleur het. Daarna is 25 ml gekonsentreerde swaelsuur en 20 ml 6 % (massa/volume) kaliumpermanganaatoplossing bygevoeg en die mengsel vir 'n verdere 4 ure verhit. Die geöksideerde monster is voor analise in 'n verteringsfles gestoor.

2.3.4 Monsteranalise

2.3.4.1 Bepaling van Cu, Cr, Cd, Pb, Fe, Zn, Mn, Na, Mg en K in biologiese monsters

Die analise van biologiese monsters is volgens dieselfde metode as dié vir watermonsters (paragraaf 2.2.3) uitgevoer.

2.3.4.2 Bepaling van Hg in biologiese monsters

Vir die bepaling van Hg in biologiese monsters, is 'n **Varian Spectra 30** atoomabsorbsie-spektrofotometer gebruik. Die bepaling van die konsentrasie kwik is as volg uitgevoer: 5 ml 20 % (massa/volume) hidroksielammoniumchloriedoplossing is in die monsterfles gevoeg onmiddellik voor analise en daar is gewag totdat alle neergeslane mangaandioksied opgelos is. Die oplossing is daarna na 'n 100 ml volumetriese fles oorgedra en die volume opgemaak tot by die merk. 'n 25 ml volume van die oplossing is geskink in 'n 200 ml gaswasbottel en 50 ml gedistilleerde water is bygevoeg. Daarna is 2 ml 20 % (massa/volume) tinchloriedoplossing in 20 % (volume/volume) soutsuur gegooi en die mengsel vir een minuut laat staan. Nadat die tyd verstryk het, is die gaswasbottel met die analise-apparaat gekonnekteer en het die analis argon vir 2 minute teen 'n tempo van 600 ml/minuut deur die bottel laat borrel. Die versamelde kwik is deur die silwer wol-almalgamasiebuis gestuur waar tot 100 ng kwantitatief versamel kon word. Die omlyningsisteem is aangeskakel, die spektrometer op sero gestel en die weerstandsoond aangeskakel. Die kwikdamp is daarna deur die koue dampsel gestuur en die absorbansiewaarde genoteer. Absorbansieseine is gekwantifiseer deur dit met resultate van kunsmatige standaarde te vergelyk.

2.4 Chemiese analise van sedimentmonsters

2.4.1 Versameling van sedimentmonsters

Sedimentmonsters is versamel deur 'n 50 mm (deursnee) poli-vinielchloriedpyp met die hand in die sediment in te druk om sodoende 'n skoon, ongekompakteerde monster te verkry. Die pyp is ongeveer 300 mm diep ingedruk waarna die bo-punt met 'n dik plastieksak bedek is. In sommige gevalle is 'n prop in die bo-punt van die pyp gedruk om die pyp te seël sodat die sediment in die pyp kon bly. Die pyp is uit die water gehaal en die staafvormige

sedimentmonsters is in 'n plastieksak geplaas waarna dit in drie lengtes van 100 mm elk verdeel is (Watling, 1981).

2.4.2 Voorbereiding van sedimentmonsters

Die monsters is verseël in poli-etileensakke (Watling, 1981) en in ys-gevulde koelhouers na die laboratorium vervoer. Daarna is dit blootgestel aan 'n temperatuur van -20 °C (Bruwer *et al.*, 1985).

Nat monsters is gesif deur 'n 1 mm nylonsif voordat dit gedroog is. Die gemengde sediment is op 'n filterskyf tussen filtreerpapiervelle geplaas en vir sewe dae gelaat om by kamertemperatuur uit te droog (Watling, 1981).

2.4.3 Monstervertering

Nadat die monsters gedroog is soos beskryf in paragraaf 2.4.2, is 2 g van elke monster in 100 ml Erlenmeyerflesse geplaas en vertering is uitgevoer soos beskryf in paragraaf 2.3.3 (Watling, 1981).

2.4.4 Monsteranalise

2.4.4.1 Bepaling van Cu, Cr, Cd, Pb, Fe, Zn, Mn, Na, Mg en K in sedimentmonsters

Die analise van sedimentmonsters is uitgevoer soos beskryf in paragraaf 2.2.3.

2.4.5 Bepaling van kwik in sedimentmonsters

2.4.5.1 Voorbereiding van monsters

Die voorbereiding van die sedimentmonsters vir die bepaling van Hg is uitgevoer soos beskryf in paragraaf 2.4.2.

2.4.5.2 Monstervertering

2 g luggedroogte sediment (kleiner as 1 mm) is akkuraat met 'n **Sartorius**-balans **(Model B310P)** in 'n 150 ml Erlenmeyerfles wat van 'n borrelstopper voorsien is, afgeweeg. Vertering is verder uitgevoer soos beskryf in paragraaf 2.3.3.1 (Watling, 1981).

2.4.5.3 Monsteranalise

Die analise van sedimentmonsters vir die bepaling van kwik is uitgevoer soos beskryf in paragraaf 2.3.4.2 en die berekeninge is gedoen soos uiteengesit in BYLAE C.

2.5 Mikrobiologiese analise van water

2.5.1 Versameling van watermonsters

Watermonsters vir mikrobiologiese analise is volgens die metode van Watling (1981) in 250 ml wye-nek Schottbottels wat vooraf deeglik uitgewas is, versamel. Die bottels is gelaat om droog te word en daarna is die prop en nek van die bottels met aluminiumfoelie bedek. Die bottels is in 'n outoklaaf by 'n temperatuur van 121 ± 2 °C vir 15 minute gesteriliseer, waarna dit in 'n monsterkas geplaas en na die terrein van monsterneming vervoer is.

Om die bottel en die monster teen kontaminasie te beskerm, is van 'n spesiale aluminium-monsterstok gebruik gemaak met die bottel wat stewig aan die een punt vasklamp word. Die prop is daarna verwyder sonder om die nek of die prop te kontamineer. Die bottel is met die bek ondertoe, in die water gedruk en vinnig na bo gebring sodat dit water kon opskep. Monsters is op verskillende dieptes geneem en wel 0,5 m, 1,0 m en 1,5 m vanaf die oppervlak van die water. Tydens die neem van die monsters is die bottels tot ongeveer sewe-agtstes van die inhoud van die bottel gevul waarna die prop onmiddellik teruggeplaas is om kontaminasie te voorkom. Bottels is

slegs sewe-agtstes gevul sodat goeie vermenging van die monster op pad na die laboratorium kan plaasvind (Watling, 1981).

Alle monsters is in koelsakke na die laboratorium vervoer, aangesien die laboratorium ver van die monsternemingspunte geleë was. Dit het ongeveer een uur geneem om monsters vanaf die terrein na die laboratorium te vervoer.

2.5.2 Voorbereiding van watermonsters vir die bepaling van totale en fekale kolivormige bakterieë

Alle voorbereiding van watermonsters en toerusting is volgens die metode van Watling (1981) uitgevoer soos dit beskryf word in BYLAE D.

2.5.3 Metode vir groei en inkubasie

Nadat die membraan op die agar geplaas is, is die agarplate omgekeer en vir 18-24 uur by 35 ± 1 °C vir totale kolivormige organismes en 44,5 ± 0,25 °C vir fekale kolivormige organismes in 'n waterdigte houer geïnkubeer.

2.5.3.1 Telling van kolonies

2.5.3.1.1 Totale kolivormige organismes

Na inkubasie is die getal kolivormkolonies op die m-Endo-agarplate getel. Slegs kolonies wat 'n pienk tot donkerrooi kleur met 'n metaalagtige, goudgroen skynsel gehad het, is getel. Die skynselgrootte het gewissel van 'n speldekop tot die hele oppervlak van die kolonie. Kolonies sonder 'n skynsel is as nie-kolivormige bakterieë beskou (SABS, 1984).

Die getal kolivormige bakterieë per 100 ml water is as volg bereken:

Kolivormige bakterieë / 100 ml =

$$\frac{\text{Kolivormkolonies getel op alle filters x 100}}{\text{volume gefiltreerde monster (ml)}}$$

2.5.3.1.2 Fekale kolivormige organismes

Die mFc-agarplate is ondersoek en die getal kolonies wat verskillende skakerings van blou of 'n blou middelpunt met 'n wit omtrek getoon het, is getel. Hierdie kolonies is geïdentifiseer as verdagte fekale kolivorme. Die nie-fekale kolivormkolonies is grys- tot roomkleurig. Dieselfde formule as in 2.5.3.1.1 is gebruik om die getal fekale kolivormige bakterieë wat in 100 ml aanwesig was, te bereken (SABS, 1984).

2.5.3.1.3 Bevestiging en differensiasie

'n Kort bevestigings- en differensiasietegniek is in hierdie geval gebruik. Nadat die kolonies soos in paragraaf 2.5.3.1.2 getel is, is 'n buis met 5 ml triptoonwater met 'n verdagte kolonie wat met behulp van 'n geskikte entnaald geïsoleer is, geïnokuleer. Die geïnokuleerde buis is 24 uur lank by 44,5 ± 0,25 °C geïnkubeer. Daarna is 1 ml Kovacs-reagens (MERCK) bygevoeg om 'n oppervlaklaag van 2 mm diep te vorm. Die buis is liggies geskud en gelaat om 'n paar minute te staan sodat die resultaat waargeneem kon word.

'n Donkerrooi kleur in die oppervlaklaag van amielalkohol bevestig die aanwesigheid van indool, wat die geïsoleerde kolonie (waarskynlik *Escherichia coli*), 'n hoogs spesifieke aanduiding van fekale besoedeling, is. Geen verandering in die oorspronklike kleur van die reagens nie, dui aan dat die geïsoleerde kolonie 'n fekale kolivorm anders as *Escherichia coli* mag wees, wat 'n minder spesifieke aanduiding van fekale besoedeling is (SABS, 1984).

Wanneer druppels van die reagens op die oppervlak van die triptoonwater val, sal die vorming van 'n rooi of rooskleurige ring by die skeiding van die twee vloeistowwe, 'n positiewe reaksie bevestig (Watling, 1981).

2.5.4 Voorbereiding van watermonsters vir die bepaling van *Salmonella*

Die watermonsters is selektief in 'n groeimedium verryk om die groei van kolivormige bakterieë te onderdruk. Die verryking van die monster is essensieel, aangesien die soliede selektiewe agar toksies is vir patogene wat in klein hoeveelhede in die monster voorkom. Verryking van die monster is met twee verskillende mediums uitgevoer, aangesien geen enkele verrykingsmedium aanbeveel word vir die optimum groei van alle *Salmonella* serotipes nie (Clesceri, *et al.*, 1989). Rappaport-vassiliades-medium en Selenite cystine-sop is in parallel gebruik vir die verryking van die organismes. Selenite cystine-sop is gebruik, aangesien dit *Salmonella* mag uitwys wat nie deur ander verrykingsmedia voortgebring word nie (Clesceri, *et al.*, 1989).

Die onderskeie verrykingsmedia is voorberei soos uiteengesit in BYLAE A en tot 25 °C afgekoel nadat dit in steriele proefbuise geskink is. Daarna is 1 ml van die monster bygevoeg en by 35 °C vir 18 tot 24 uur geïnkubeer (Slabbert, *et al.*, 1989).

Seleksie van die verdagte kolonies is verkry deur die verrykte monster op Bismuth-sulfietagar te laat groei wat voorberei is soos uiteengesit in BYLAE A. Welige groei van baie *Salmonella*-spesies (insluitend *Salmonella typhi*) kan op die Bismuth-sulfietagar- medium verwag word (Clesceri, *et al.*, 1989). Hoeveelhede van 1 ml is op die plate in triplikaat gesprei. Daarna is die plate geïnkubeer by 35 ± 1 °C vir 18 ure. Volgens Clesceri, *et al.* (1989) kan meer *Salmonella* verkry word by temperature van 35 of 37 °C met Bismuth-sulfietagar as by hoër temperature. 'n Blanko monster is ook in triplikaat voorberei vir kontroledoeleindes. Geen

genusidentifikasie deur die gebruik van serologiese tegnieke is gedoen nie, aangesien daar ongeveer 1700 *Salmonella*-serotipes bestaan en die identifikasie van 'n bepaalde serotipe nie die teenwoordigheid of afwesigheid van ander serotipes waarvoor nie gesoek word nie, kan bevestig nie (Clesceri, *et al.*, 1989).

2.5.4.1 Telling van kolonies

Die plate is ondersoek na inkubasie van 18 - 24 uur by 35 ± 1 °C en die verdagte getal kolonies is met 'n elektroniese kolonieteller getel, d.w.s. kolonies wat 'n donker tot swart kleur met of sonder 'n metaalagtige skynsel het. Sommige van die kolonies het ook 'n metaalagtige groen skynsel getoon. Die skynselgrootte het gewissel van die grootte van 'n speldekop tot die hele oppervlak van die kolonie. Nadat die sigbare kolonies sorgvuldig gemerk is, is dieselfde plate weer vir 'n verdere 24 ure geïnkubeer om die stadiger groeiende *Salmonella*-spesies ook te kan kwantifiseer. Hierna is die nuwe kolonies getel en by die getal van die eerste telling gevoeg.

Die getal verdagte kolonies per 100 ml water is as volg bereken:

Getal verdagte *Salmonella*-kolonies / 100 ml =

$$\frac{\text{kolonies getel} \times 100}{\text{volume gefiltreerde watermonster (ml)}}$$

2.5.5 Voorbereiding van watermonsters vir die bepaling van kolifage

'n Gemodifiseerde dubbellaag-agarmetode (Adams, 1959) is gebruik vir groeibepalings.

2.5.5.1 Metode vir groei en inkubasie

(a) Gasheerkultuur: *Escherichia coli* C wat voorberei is volgens die metode van Clesceri, *et al.* (1989).
(b) Media: Die media vir die onderskeie lae is voorberei soos in BYLAE A uiteengesit. Nadat die onderste laag geskink is, is dit bedek met 'n warm laag wat 2,5 ml van die boonste-laagmedium, 0,2 ml van 'n 37 °C Difco verrykingssopkultuur van die gasheer (*Eschericia coli* C) en 1,0 ml van die toetsmonster bevat.

Monsters van 100 ml elk is ontleed deur 10 petribakkies met 1 ml elk van die onverdunde toetsmonster te skink. Plakette ("plaques") is getel na inkubasie vir 16 uur by 37 °C ± 0,5 °C.

2.5.5.2 Telling van Plakette

Bakteriofage infekteer en vermenigvuldig in sensitiewe bakterieë. Dit veroorsaak lise van die bakteriële selle en 'n vrylating van faagpartikels wat die aangrensende selle te infekteer. Soos die infektiewe kolivorm bakterieë geliseer word, ontwikkel deursigtige gate, bekend as plakette ("plaques") in die oppervlakte van die samevloeiende bakteriële groei (Adams, 1959; Clesceri, *et al.*, 1989).

Na inkubasie is die plakette op elke plaat met 'n donkerveld-kolonieteller getel en aangeteken. Die plakette het voorgekom as donker gate in die helder verligte laag van bakteriële groei. Die aantal plakette per 100 ml van die monster is as volg bereken:

Getal plakette per 100 ml =

$$\frac{\text{plakette getel} \times 100}{\text{volume onverdunde watermonster (1 ml)}}$$

Hoë tellings is getitreer deur plate van fisiologiese soutoplossing in triplikaat (Grabow, Coubrough, Nupen & Bateman, 1984).

2.6 Versameling van visweefselmonsters vir mikrobiologiese analise.

2.6.1 Weefsel- en bloedmonsterneming

Visse vir mikrobiologiese analise is lewendig na die laboratorium in poli-etileendromme met water van die onderskeie lokaliteite vervoer. Monsters van die spierweefsel met en sonder vel sowel as bloedmonsters, is versamel en voorberei volgens die metode van Nupen (1983). Visse is uit die poli-etileendrom gehaal, waarna dit met gedeïoniseerde water gewas en tussen steriele papierhanddoeke afgedroog is. Die vel is met 0,5 % gentian violetoplossing geverf om mikro-organismes op die oppervlak te inaktiveer. Steriele disseksietoerusting is gebruik om 'n velinsnyding te maak langs die basis van die stert en die dorsale vin. Met die hoek versigtig opgelig, is die vel met behulp van 'n steriele tang van die vleis losgeskeur om kontaminasie van spierweefsel deur die buite-oppervlak van die vel te verhoed. Spierweefsel is asepties verwyder en met 'n **Sartorius**-balans **(Model B310P)** in 'n steriele glasbeker afgeweeg totdat 'n 50 g monster verkry is.

In die gevalle waar spierweefsel met vel ontleed is, is die visse slegs afgespoel met gedeïoniseerde water en gedroog tussen steriele papierhanddoeke. Die disseksie van die monster is daarna uitgevoer deur 'n insnyding met die skalpel deur die vel en weefsel te maak. Die monster is op 'n **Sartorius**-balans **(Model B310P)** afgeweeg om 50 g daarvan te versamel.

Tydens die neem van bloedmonsters vir mikrobiologiese analise is 'n kombinasie van twee metodes gebruik. Volgens die metode van Nupen (1983) is die visse gekonsentreerde chloroform (PAL CHEMICALS) (AR) toegedien deur die chloroform op steriele watte te gooi en vir twee minute oor die kop van die vis te hou. Die vis is op sy rugkant neergesit en die oppervlakte tussen die pektoraalvinne is met 'n steriele oppervlakdepper wat in alkohol geweek is, afgevee. Die oppervlak is daarna met 'n ander steriele oppervlakdepper drooggevee. Dié stappe is aangewend om kontaminasie van die

monsternemingstoerusting te verhoed. Bloedmonsterneming is verder volgens Klontz en Smith (1968) met behulp van 'n 10 milliliter plastiekspuit, wat voorsien is van 'n nr. 18 naald, gemonster. Die naald is ongeveer 5 mm koudaalwaarts van die agterste basislyn van die gepaarde pektoraalvinne en presies op die liggaamsas in die hart ingesteek en wel sodanig dat dit 'n hoek van ongeveer 45 grade met die liggaamsoppervlak maak. Die diepte waarop die naald ingesteek is, het gewissel van 0,8 tot 1,8 cm, afhangende van die grootte van die vis. 'n Voortdurende, maar klein, negatiewe druk is met die spuit toegepas om hemolise te voorkom. Drie tot vier milliliter bloed is van elke vis versamel.

2.6.2 Voorbereiding van weefsel- en bloedmonsters

2.6.2.1 Weefselmonsters

Die weefsel wat versamel is, is bymekaargevoeg en gehomogeniseer met 'n gesteriliseerde **Polytron**-homogeniseerder totdat 'n dik vloeistof verkry is. Die vloeistof is met behulp van 5 ml (± 0,6 %) **Gilson** (LASEC)-pipette op die onderskeie agarmedia geïnokuleer vir die bepaling van totale kolivorms, fekale kolivorms, *Salmonella*, kolifage en *E. coli* (Nupen, 1983).

2.6.2.2 Bloedmonsters

Die individuele bloedmonsters is onmiddellik na versameling (vanuit die spuit nadat die naald verwyder is) op die mFc-, mEndo- en dubbellaag-agarmedia geplaas in hoeveelhede van 1 ml elk (Buras, Duek, Niv, Hepher & Sandbank, 1987). Vir *Salmonella* is hoeveelhede van 1 ml in proefbuise met Rappaport-vasilliadesmedium verryk en by 35 °C ± 1 °C vir 24 uur geïnkubeer. Die oorblywende bloedmonsters is saamgevoeg en in opvolging as kontrole ontleed. Monsters wat verryk is met Rappaport-vasilliadesmedium is na inkubasie op Bismuth-sulfietagar geplaas en geïnkubeer by 35 °C ± 1 °C vir 18 tot 24 uur (Buras, *et al.*, 1987).

2.6.2.3 Telling van organismes

Nadat die onderskeie monsters vir die spesifieke tye geïnkubeer is, is die organismes getel met 'n elektroniese **Optalabor**-kolonieteller. Die berekening van die hoeveelheid organismes het geskied soos beskryf vir elke spesifieke media. Die toets vir *E. coli* is uitgevoer vir monsters wat op mFc-agar gekweek is.

2.7 Bepaling van die fisiese eienskappe van die water

Die bepaling van die pH, konduktiwiteit, temperatuur en oksidasie-reduksiepotensiaal van die water is op die terrein met 'n **Hanna**-watertoetsmeter uitgevoer. Die watertoetsmeter is 'n vier-in-een draagbare meter wat ontwerp is vir vinnige en akkurate analise en monitering van waterkwaliteit. By aankoms in die laboratorium is die watermonsters wat versamel is, ook met 'n **Dionex**-wateranaliseerder getoets om die resultate te verifieer.

2.8 Bepaling van reënvalsyfers

Reënvalsyfers is deur die Departement van Omgewingsake te J B M Hertzog-lughawe, met behulp van 'n standaard reënmeter gemeet. Reënvalsyfers is gemeet in millimeter.

3. EKSPERIMENTELE BESKRYWINGS EN RESULTATE

3.1 Inleiding

Weens die groot onsekerheid rakende die gesondheidsrisiko verbonde aan visse wat as menslike voedselbron in behandelde rioolwater aangehou word, kan die oplossing vir hierdie probleem moontlik gevind word in die kwantifisering van verskillende fisiese, chemiese en biologiese parameters die waterbron (Nupen, 1983; Turner, *et al.*, 1986; Slabbert, *et al.*, 1989). Die volgende ondersoeke is daarom met betrekking tot bogenoemde parameters by die inloop van die Krugersdriftdam en die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke (figuur 1), waarin *Clarias gariepinus* in hokke aangehou is, uitgevoer:

* Fisiese eienskappe van die water en reënvalsyfers van die Modderrivierstelsel.
* Die voorkoms en konsentrasies van belangrike spoorelemente in die water.
* Die voorkoms van gesondheidsgevaarlike mikro-organismes in die water.
* Die voorkoms en konsentrasie van belangrike spoorelemente in die lewer-, nier- en spierweefsel van aangehoude visse.
* Die voorkoms van gesondheidsgevaarlike organismes in bloed en spierweefsel van visse in aanhouding.

Volgens Förstner en Wittmann, (1983) het die openbare kommer oor die agteruitgang van die omgewing gelei tot die algemene gebruik van die term "spoorelemente" in plaas van "spoormetale", "swaarmetale", "mikro-elemente" en "makro-elemente". Vir die doel van hierdie studie is ook op die gebruik van hierdie term besluit.

3.2 Fisiese eienskappe van die water

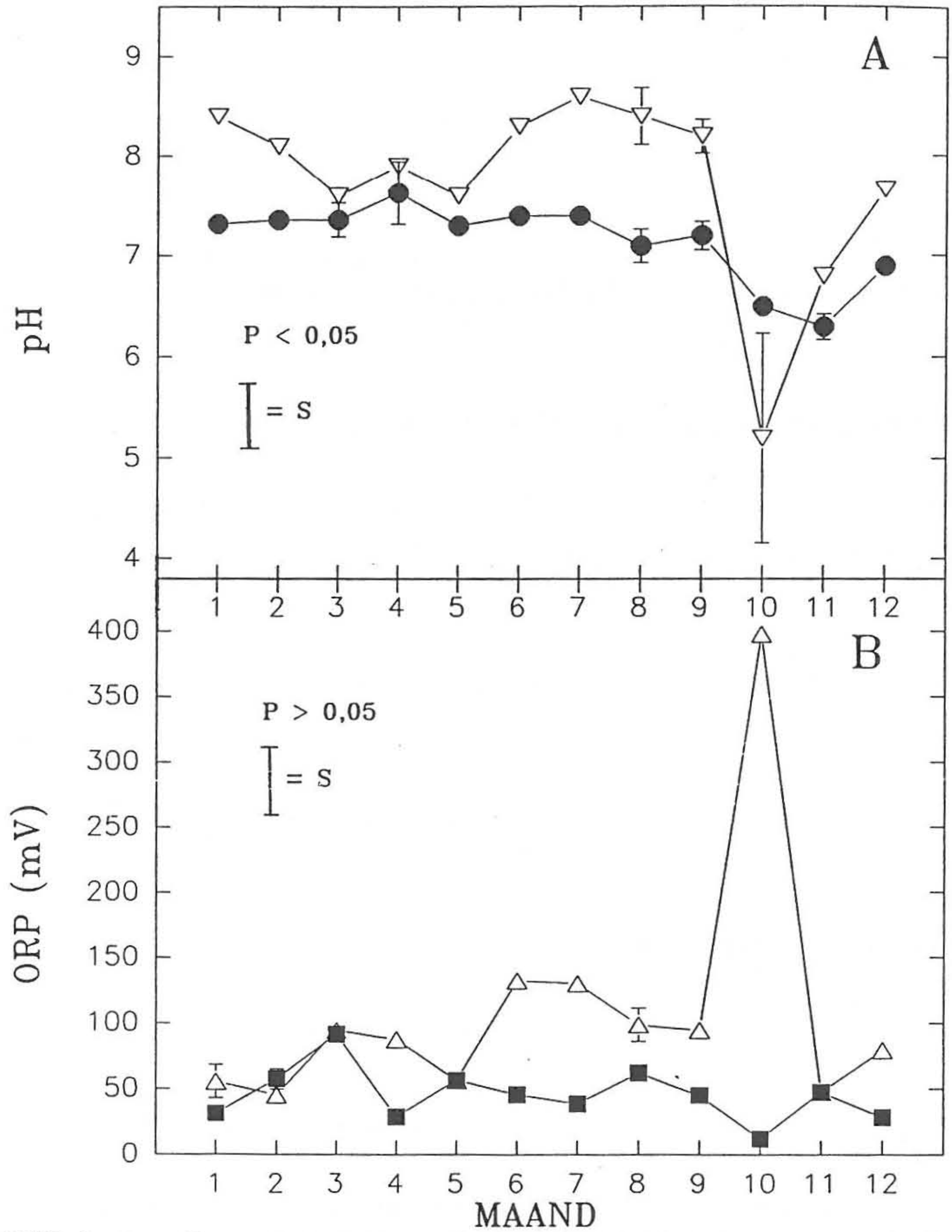
3.2.1 pH

Die pH van die water het gedurende 1991 in beide lokaliteite deurlopend bestendig vertoon, behalwe in Oktober 1991 waar 'n gemiddelde pH van 5,3 in die Krugersdriftdam gemeet is. Die maandelikse variasie in die pH van die water van die Krugersdriftdam en die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke vergelyk goed met waardes van verskeie Suid-Afrikaanse riviere (Du Preez, 1985; Du Preez & Steyn, 1992).

'n Verhoogde suurgehalte van oppervlakwater kan groot probleme met betrekking tot die metaalverryking van die water tot gevolg hê. Dit kan strek vanaf die toksifisering van drinkwater, die inhibering van die groei en voortplanting van akwatiese organismes (Gorham & Gordon, 1963; Beamish & Harvey, 1972; Hendrey, Borgstrøm & Raddum, 1976), 'n toenemende loging van voedingstowwe uit grond (Tamm, 1976), 'n verhoogde blootstelling van waterplante aan toksiese metale (Lucas en Davis, 1961), tot 'n versnelde vrystelling van metiel-kwik uit die sediment wat die toksisiteit verhoog (Fagerström & Jernelöv, 1972).

'n Vinnige afname in pH kan metale afkomstig uit afval in die water, vrystel wat vir dekades daarna nog in die water aanwesig kan wees (Förstner & Wittmann, 1983). Volgens laasgenoemde outeurs bestaan daar ook 'n direkte verband tussen die pH van water aan die een kant en swaarmetaalioonkonsentrasies, waterhardheid en die organiese inhoud van die water aan die ander kant. Eksperimente wat deur Shaw en Brown (1974) met koper in harde water by 'n pH van 8,0 uitgevoer is, het getoon dat die toksisiteit in die water afgeneem het deurdat die konsentrasie van die metaal in oplossing binne twee ure vanaf 1,1 $mg.L^{-1}$ na 0,5 $mg.L^{-1}$ verlaag het.

Die konsentrasie van 'n metaalioon in die beginstadium van presipitasie word bepaal deur die tipe ioon, graad van versadiging daarvan in die water en die heersende pH-waarde (Förstner & Wittmann, 1983). Die pH van



FIGUUR 2 A: pH van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Oksidasie-reduksie potensiaal van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (■ --- ■) en van die inloop van Krugersdriftdam (△ --- △) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

4,2 wat in Oktober 1991 in Krugersdriftdam gemeet is (figuur 2A), kon dus 'n wesenlike gevaar vir visse en ander akwatiese organismes inhou.

3.2.2 Hardheid

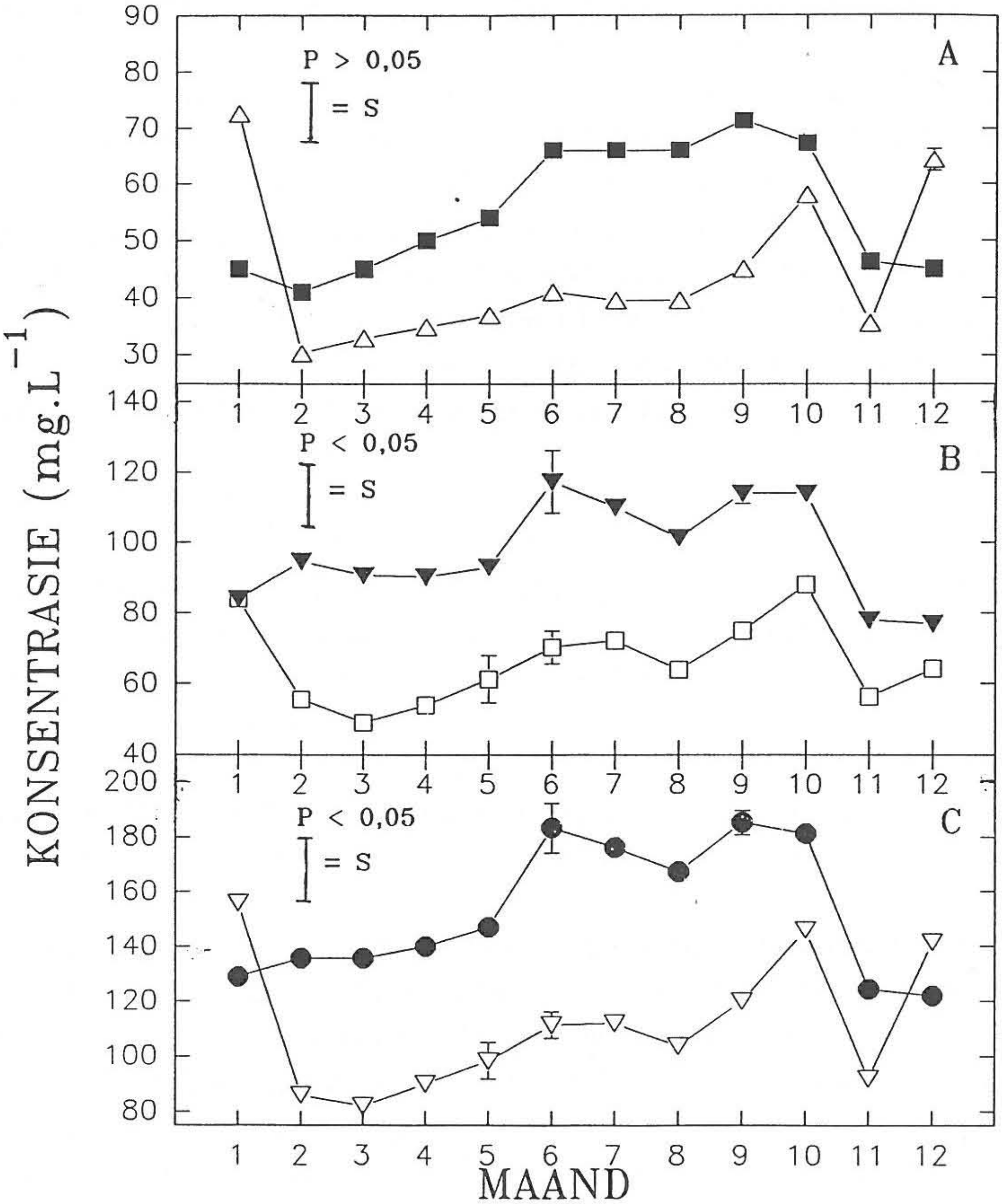
Die kalsium-, magnesium- en totale hardheid van die water van die onderskeie lokaliteite word in figuur 3 aangetoon. Vir beide lokaliteite kan die water as tussen sag en matig hard volgens die gegewens van die United States Environmental Protection Agency (USEPA, 1976) geklassifiseer word.

Die graad van hardheid van water bepaal die toksisiteit en die aktiwiteit van swaarmetale in water (Förstner & Wittmann, 1983). Hoe hoër die hardheid, hoe meer swaarmetaalione sal onoplosbare karbonate vorm of kalsiumkarbonaat adsorbeer. In harde water moet die konsentrasies swaarmetale in oplossing dus hoër wees om toksiese vlakke te bereik (Bell, 1976). Volgens Zitko en Carson (1976) kompeteer magnesium- en kalsiumione ook met dié van swaarmetale om in visweefsel te kan neerslaan.

Awadallah (1990) het totale hardheid in die Aswandam tussen 135,27 en 53,70 $mg.L^{-1}$ gemeet, wat aandui dat daardie water sagter is en dus meer toksies kan wees as die behandelde riool- en natuurlike damwater wat in hierdie studie gebruik is. Prinsloo, *et al.* (1989) het 'n gemiddelde totale hardheid van water in verouderingsdamme gevind wat laer is as die ooreenstemmende waarde in hierdie studie.

3.2.3 Oksidasie-reduksiepotensiaal

Figuur 2B dui die verandering in oksidasie-reduksiepotensiaal (ORP) van die water gedurende 1991 in beide lokaliteite aan. Alhoewel dit deurgaans bestendig was, kan die verlaging in pH gedurende Oktober 1991 in die Krugersdriftdam volgens die bevindinge van Hem (1970) verband hou met die viervoudige toename in ORP gedurende dieselfde maand.



FIGUUR 3 A: Mg-hardheid van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (■ --- ■) en van die inloop van die Krugersdriftdam (△ --- △) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Ca-hardheid van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (▼ --- ▼) en van die inloop van die Krugersdriftdam (□ --- □) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

C: Totale hardheid van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van die Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

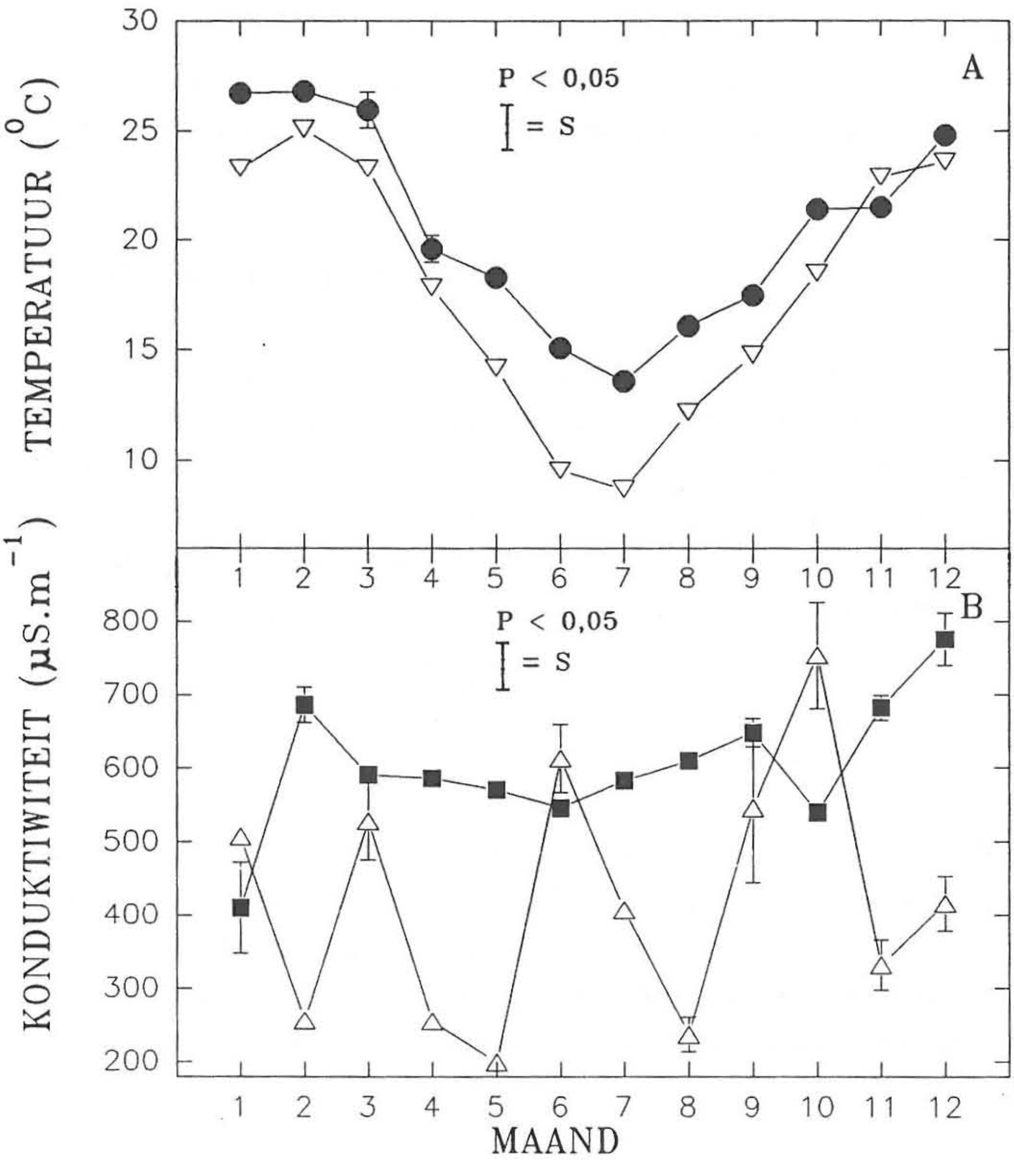
Volgens Förstner & Wittmann (1983) speel slegs 'n paar elemente (C, N, O, S, Fe en Mn) 'n aktiewe rol in die akwatiese redoksproses. Hoë ysterkonsentrasies kan volgens Hem (1970) lei tot 'n toenemende oksidasie van die metaal wat die toksisiteit daarvan in die water verhoog. David en Charpentier (1984) en Charpentier (1988) het weer bevind dat ORP-waardes tussen +200 en +400 mV die verwydering van stikstof uit water tot gevolg het. In geaktiveerde slykprosesse bevorder ORP-waardes groter as +200 mV die verwydering van skadelike stowwe uit die water deurdat dit in die slyk neerslaan (De la Ménardiére, Charpentier, Vachon & Martin, 1991). Dit kan dus ook verwag word dat swaarmetaalione in visweefsel by hierdie hoë ORP-waardes kan neerslaan.

3.2.4 Temperatuur

Die gemiddelde temperature van die water direk onder die wateroppervlak van die verskillende lokaliteite waar visse in die Krugersdriftdam en Bloemspruitrioolwerke aangehou is, word in figuur 4A aangedui. In 1991 was die hoogste temperature vir die behandelde rioolwater en natuurlike damwater in Februarie gemeet, naamlik 26,8 °C en 25,1 °C respektiewelik. Die laagste temperature is in Julie gemeet, naamlik 13,6 °C vir behandelde rioolwater en 8,7 °C vir natuurlike damwater.

Die effek van verhoogde temperatuur op die toksisiteit van swaarmetale in water is reeds deur Lloyd (1965) in eksperimente met forelle gedemonstreer. Hy het bevind dat forelle in water met sinksulfaat in oplossing 2,35 keer langer by 12 °C as by 22 °C oorleef wat aan die laer konsentrasies metaalione in oplossing by laer temperature toegeskryf kan word. Die verhoogde respiratoriese aktiwiteit van visse by hoër temperature kan hulle ook in 'n groter mate aan toksiese stowwe blootstel.

Die vermoë van visse om metaalione en -verbindings te akkumuleer en te detoksifiseer, is ook temperatuur-afhanklik. Dit is gedemonstreer in eksperimente met die forel *Salmo gairdneri* wat aan kwik, metiel-kwik en pheniel-kwik-asetaat blootgestel is (MacLeod en Pessah, 1973; Reinert, Stone & Willford, 1974; Ruohtula & Miettinen, 1975).



FIGUUR 4 A: Temperatuur van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van die Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Konduktiwiteit van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (■ --- ■) en van die inloop van die Krugersdriftdam (△ --- △) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

Temperatuur speel ook 'n belangrike rol in die oorlewing van mikro-organismes wat in water aangetref word. Geldenhuys en Pretorius (1989) het byvoorbeeld in watermonsters van die Kliprivier naby Pretoria wat met behandelde huishoudelike uitvloeisel besoedel is, 'n totale kolivormige organismetelling van 1,94 x 10^5 per 100 ml by 24 °C gevind teenoor slegs 1 x 10^2 per 100 ml by 7 °C.

3.2.5 Konduktiwiteit van die water

In figuur 4B word die wisseling in konduktiwiteit van die behandelde rioolwater en natuurlike damwater waarin *Clarias gariepinus* gedurende 1991 aangehou is, aangetoon. Die konduktiwiteit van behandelde rioolwater was oor die algemeen hoër as dié van natuurlike damwater. 'n Groter wisseling in konduktiwiteit is egter gedurende die jaar in die geval van natuurlike damwater aangetref. 'n Hoogste waarde van 750 $\mu S.m^{-1}$ is in Oktober 1991 en 'n laagste waarde van 199 $\mu S.m^{-1}$ in Mei vir natuurlike damwater gemeet.

Geldenhuys en Pretorius (1989) het 'n gemiddelde konduktiwiteitswaarde van 10,1 x 10^4 $\mu S.m^{-1}$ vir die Kliprivier wat met riooluitvloeisel besoedel is, vasgestel. Dit is heelwat hoër is as die gemiddelde waardes van 579,3 $\mu S.m^{-1}$ vir die behandelde rioolwater en 422,4 $\mu S.m^{-1}$ vir die natuurlike damwater in hierdie studie. Die konduktiwiteitswaardes wat Du Preez (1985) vir verskillende Suid-Afrikaanse riviere gerapporteer het, is ook van dieselfde omvang as dié van Geldenhuys en Pretorius (1989).

3.3 Spoorelementkonsentrasies van water

3.3.1 Inleiding

Die belangrikheid van die bepaling van skadelike effekte van spoorelemente op menslike gesondheid, het gedurende die afgelope dekade op beide wetenskaplike en emosionele gebied momentum verkry. Die rede waarom standaarde vir water gestel word, is hoofsaaklik om die gesondheid van die mens te beskerm (Förstner & Wittmann, 1983).

Standaarde vir drinkwater, lug en voedsel is bedoel om die konsentrasie van chemikalieë in hierdie media tot vlakke laer as dit wat vir die mens skadelik kan wees, te beperk. Dit vereis volgens Bull (1974) dat daar op 'n wetenskaplike wyse 'n databasis opgestel moet word waarvolgens maksimum blootstellingsvlakke vir 'n spesifieke chemiese stof vasgestel kan word.

Aanvaarbare kriteria vir die meeste anorganiese stowwe in water is volgens Robeck (1974) deur verskillende professionele liggame gestel, alhoewel die maksimum konsentrasies van sommige hiervan nie wetenskaplik gefundeer is nie. Volgens laasgenoemde outeur moet dit uit 'n analitiese oogpunt nie noodwendig as 'n tekortkoming beskou word nie, maar eerder as 'n gebrek aan 'n vinnige en betroubare metode om sommige metale by lae konsentrasies te kwantifiseer. Om hierdie rede is dit moeilik om die konsentrasies van sommige chemiese verbindings in onbesoedelde natuurlike waterbronne akkuraat te bepaal.

Vir die daarstelling van drinkwaterstandaarde, is 'n grondige kennis van die kwalitatiewe en kwantitatiewe effekte van toksiese stowwe op die mens se gesondheid nodig (Bull, 1974). Die probleem is egter dat die mens weens etiese redes nie aan skadelike chemikalieë blootgestel kan word om die effekte daarvan te bestudeer nie. Om hierdie rede is data wat deur middel van kliniese ondersoeke op mense en toksisiteitstudies op diere versamel is, aangewend om drinkwaterstandaarde daar te stel vir gebruik deur belanghebbende instansies.

Kwaliteitskriteria vir drinkwater, saamgevat deur Hattingh (1977) uit gegewens van die United States Public Health Service (USPHS), World Health Organization (WHO), Suid-Afrikaanse Buro vir Standaarde (SABS) en die United States Environmental Protection Agency (USEPA), is in hierdie studie gebruik om maksimum vlakke te stel waaronder natuurlike waters as onbesoedeld beskou kan word (tabel 1).

TABEL 1: Drinkwater-kwaliteitskriteria vir spoormetale ($\mu g.L^{-1}$) wat 'n effek op openbare gesondheid mag hê, indien dit oorskry word (Hattingh, 1977).

Element	USPHS (1962)	WHO (1971)	SABS (1984)	USEPA (1976)
Arseen	10	50	300	50
Barium	1000	--	--	1000
Kadmium	10	10	20	10
Chroom	50	--	50	50
Koper	1000	50	1000	--
Lood	50	100	100	50
Kwik	--	1	10	2
Selenium	10	10	50	10
Silwer	50	--	--	50
Sink	5000	5000	5000	5000

Spoorelementkonsentrasies blyk baie laag in onbesoedelde rivierwater te wees (Boyle & Edmond, 1975). Lae konsentrasies vir koper is deur Boyle (1979) in die Parkerrivier (1,08 $\mu g.L^{-1}$) en die Mullicarivier (1,53 $\mu g.L^{-1}$) in die VSA gemeet terwyl Sugawara (1978) kadmiumkonsentrasies so laag as 0,02 $\mu g.L^{-1}$ in die Suwameer in Japan gevind het. Schell en Nevisra (1977) het ook 'n konsentrasie van 0,02 $\mu g.L^{-1}$ in die Washingtonmeer aangetref. Sinkkonsentrasies in die Big Surrivier, Kalifornië, was ook nie hoër as 0,128 $\mu g.L^{-1}$ nie (Martin, Høgdahl & Phillpot, 1976). Volgens Kennedy en Sebetich (1976) is die hoogste sinkkonsentrasie van onbesoedelde rivierwater wat deur hulle gemeet is 0,5 $\mu g.L^{-1}$. Verdere swaarmetaalkonsentrasies wat verkry is van relatief onbesoedelde riviere regoor die wêreld, het onbeduidende toksikologiese verrykings getoon (Förstner en Wittmann, 1983).

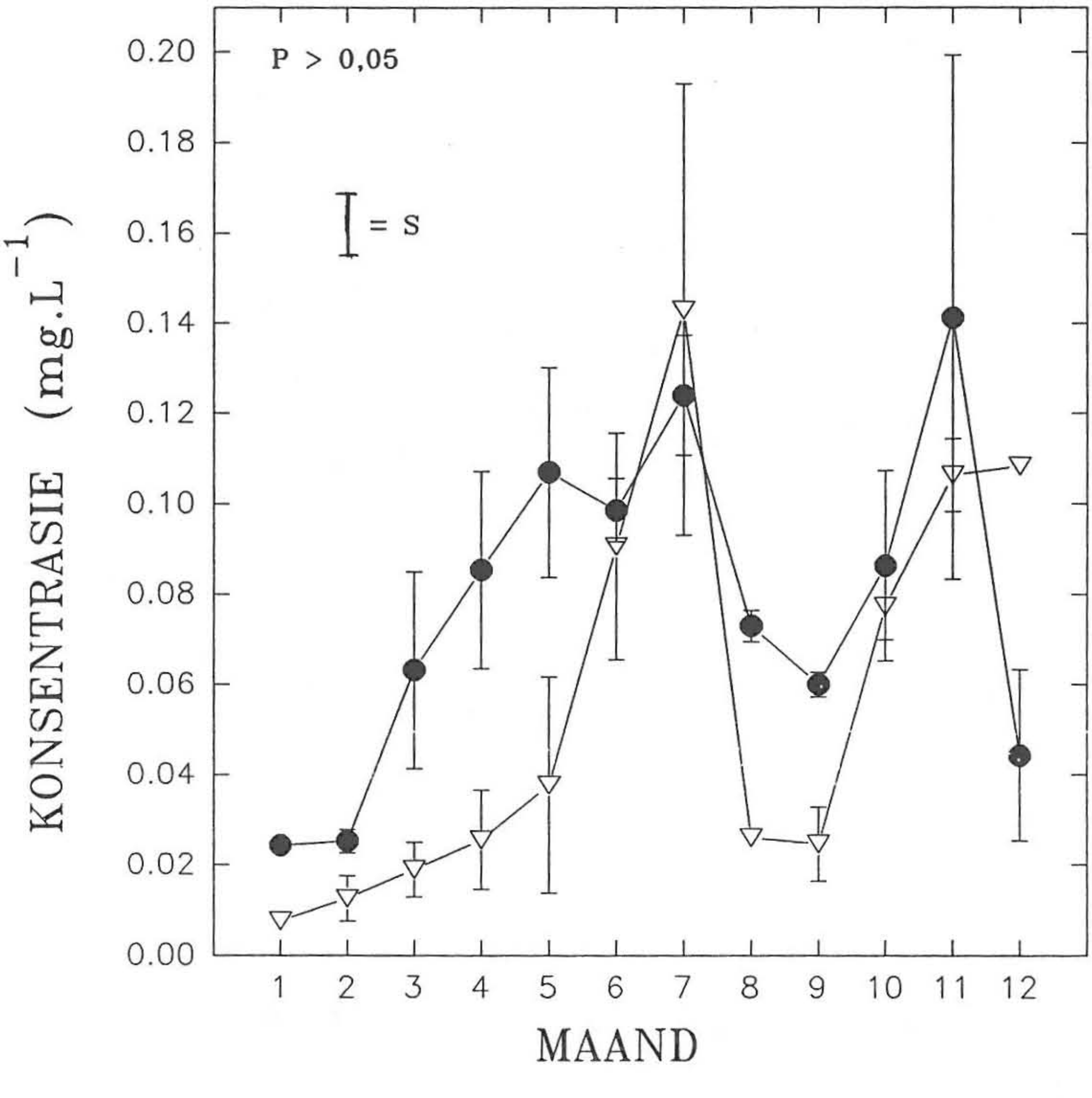
3.3.2 Chemiese analise van water

Watermonsters is maandeliks in drievoud direk langs die hokke waarin visse in die Krugersdriftdam en die Bloemspruitrioolwerke (figuur 1) aangehou is, geneem. Monsternemings en -analises is vanaf Januarie 1991 tot Desember 1991 uitgevoer en getoets vir konsentrasies kwik, lood, sink, yster, koper, mangaan, chroom, aluminium, kobalt, magnesium en natrium.

Lood- en kwikkonsentrasies in behandelde rioolwater en in natuurlike damwater was deurgaans laer as die deteksielimiet van 0,001 $mg.L^{-1}$ behalwe vir een gemiddelde loodkonsentrasie van 22,6 $\mu g.L^{-1}$ wat gedurende Februarie 1991 in die Krugersdriftdam gemeet is. Die werklike konsentrasies is nie bepaal nie, aangesien dit onbeduidende lae waardes sou toon en die koste van die projek onnodig sou verhoog.

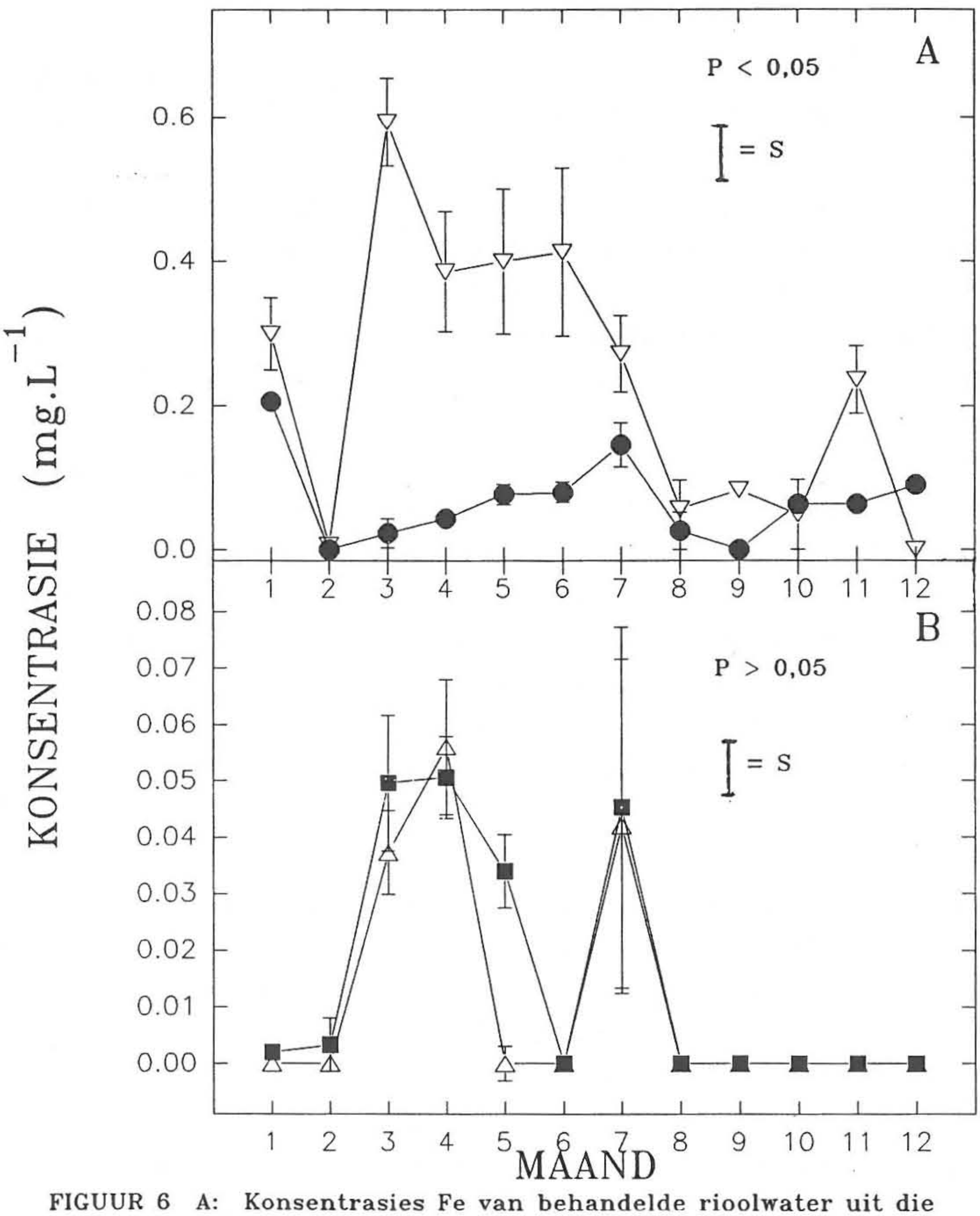
Die ***sinkkonsentrasie*** het gedurende die jaar in beide lokaliteite tussen 0,01 en 0,15 $mg.L^{-1}$ gewissel (figuur 5). Alhoewel die konsentrasies vir behandelde rioolwater in die algemeen hoër was as dié vir natuurlike damwater, is geen betekenisvolle verskil tussen die gemiddelde Zn-waardes vir die twee lokaliteite gevind nie. Hierteenoor het sinkkonsentrasies wat deur Massoud, Ezzat, El-Rayis & Hafez (1981) in die Mariutmeer in Egipte gemeet is, tussen 8.8 en 14.1 $\mu g.L^{-1}$ gewissel terwyl Du Preez (1985) 'n gemiddelde konsentrasie van 11 $\mu g.L^{-1}$ in water van riviere in die Transkei gemeet het.

Die ***ysterkonsentrasie*** het deur die jaar in behandelde rioolwater vanaf onbeduidende hoeveelhede tot 0,206 $mg.L^{-1}$ gewissel (figuur 6A). Die wisseling vir yster in natuurlike damwater was soortgelyk, maar vanaf onbeduidende hoeveelhede tot 0,593 $mg.L^{-1}$. 'n Toename in die konsentrasie van hierdie metaal is gedurende die herfstyd in beide lokaliteite aangetref, waarna dit weer 'n dalende tendens vir die maande met laer watertemperature getoon het. 'n Betekenisvolle verskil is gevind tussen die gemiddelde waardes vir yster in die water van die onderskeie twee lokaliteite. Watling en Watling (1982d) het ysterkonsen-



FIGUUR 5: Konsentrasies Zn van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie (maand 1) tot Desember (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)



FIGUUR 6 A: Konsentrasies Fe van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Konsentrasies Cu van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (■ --- ■) en van die inloop van Krugersdriftdam (△ --- △) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

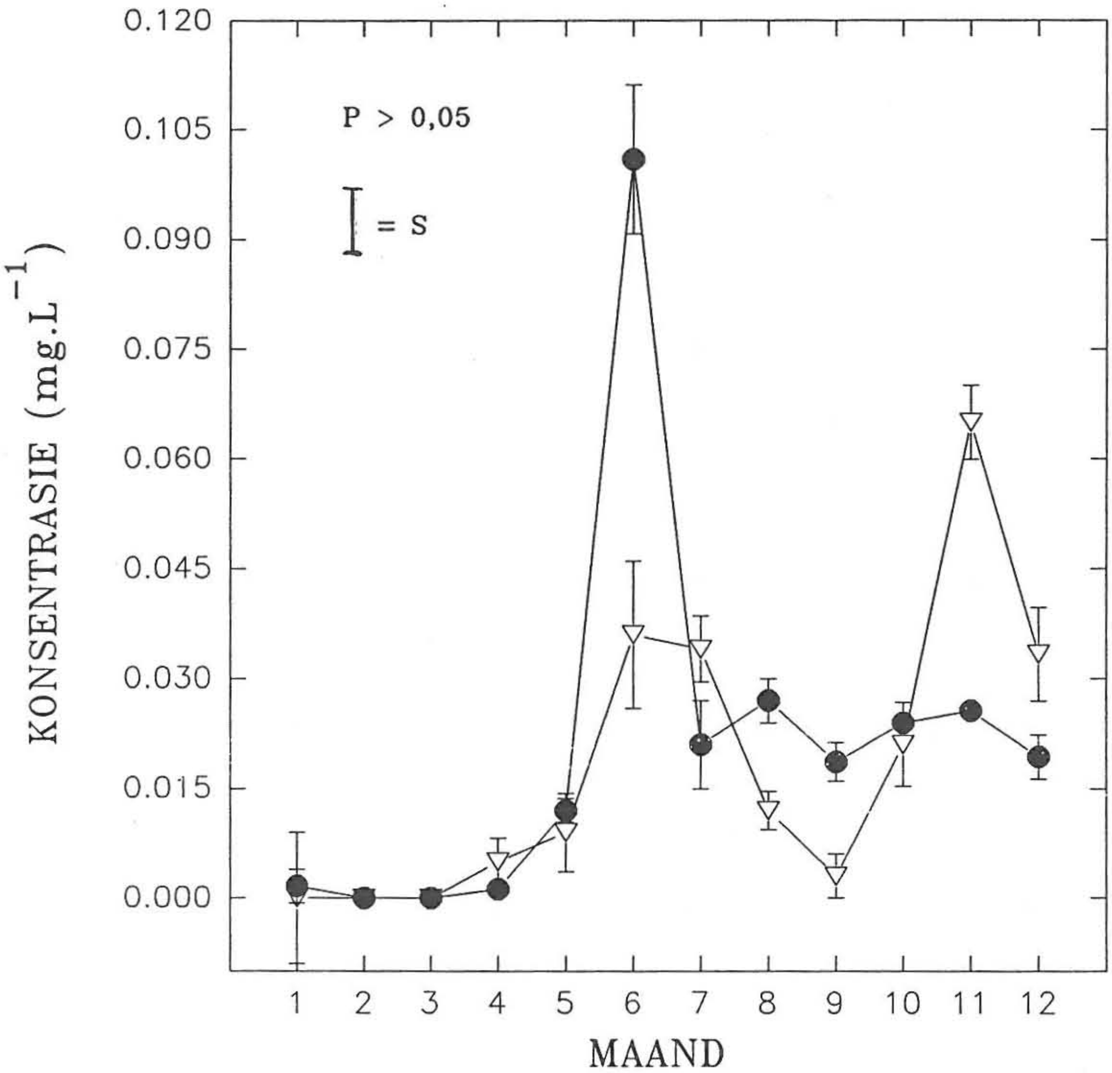
trasies met 'n maksimum van 135 $\mu g.L^{-1}$ in die Keurboomsrivier en 503 $\mu g.L^{-1}$ (Watling & Watling, 1982f) in die Sondagsrivier gerapporteer.

Koperkonsentrasies (figuur 6B) het in 1991 'n maksimum van 0,05 $mg.L^{-1}$ in behandelde rioolwater en 0,056 $mg.L^{-1}$ in natuurlike damwater bereik. Die wisseling in koperkonsentrasie het deur die jaar in beide lokaliteite dieselfde patroon gevolg, behalwe in die geval van die natuurlike damwater in April 1991. Die gemiddelde Cu-konsentrasies in die twee lokaliteite toon egter geen betekenisvolle verskille nie. Die gemelde konsentrasies is hoër as die gemiddelde waarde van 7 $\mu g.L^{-1}$ wat deur Du Preez (1985) in die Transkeise riviere gevind is.

Die ***mangaankonsentrasie*** was in Junie 1991 ongeveer drie keer hoër in behandelde rioolwater as op dieselfde tydstip in natuurlike damwater (figuur 7). Daarteenoor was die konsentrasie in November 1991 weer ongeveer twee keer hoër in natuurlike damwater as in behandelde rioolwater. Nieteenstaande hierdie verskille is daar geen betekenisvolle verskil tussen die gemiddelde Mn-konsentrasies in behandelde rioolwater en natuurlike damwater gevind nie. Die gemiddelde konsentrasies van mangaan in hierdie studie vergelyk goed met dit wat deur ander outeurs (tabel 2) in verskillende riviere gevind is.

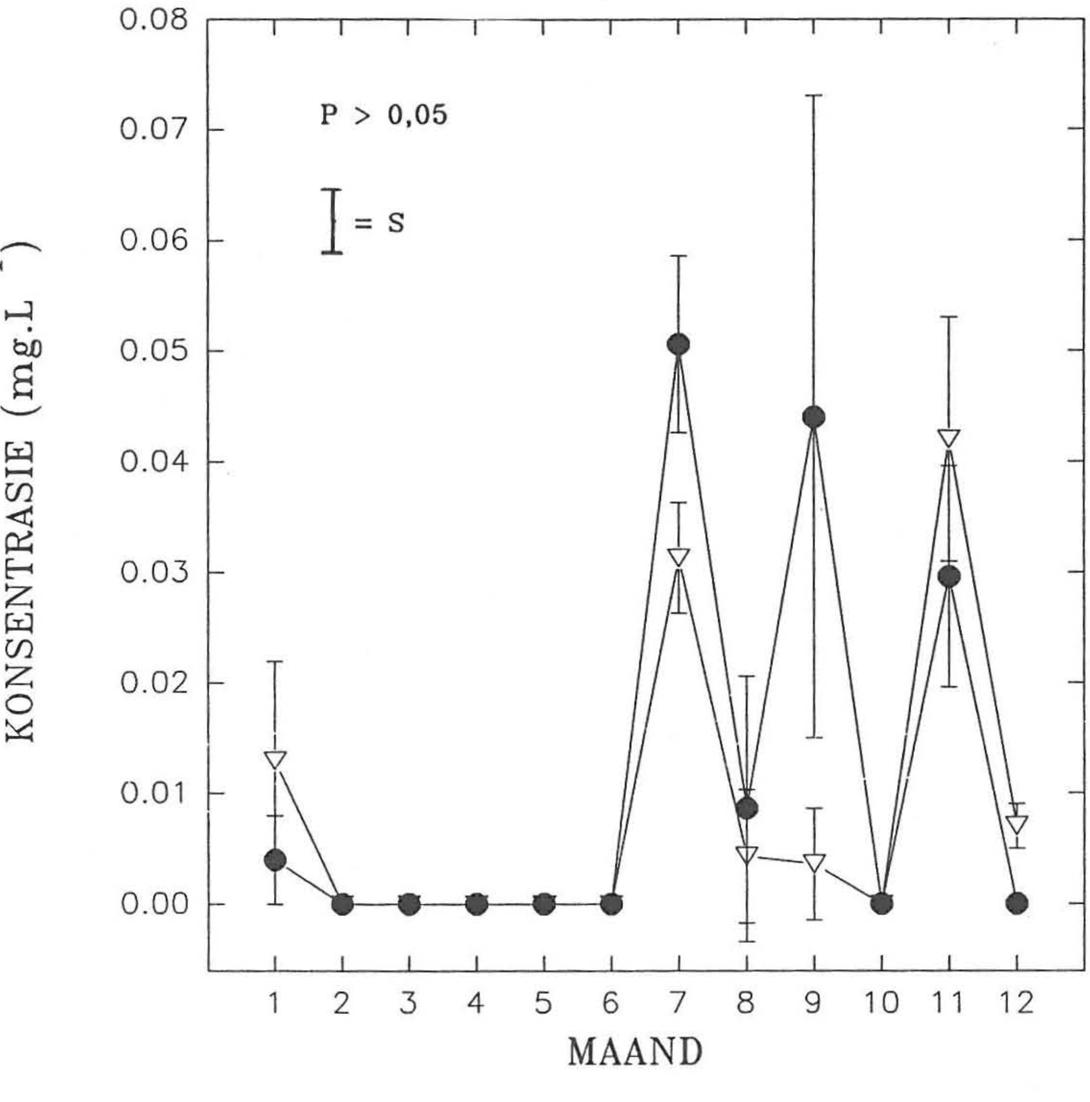
Die ***chroomkonsentrasies*** in die water van die twee lokaliteite was gedurende die eerste ses maande van 1991 onbeduidend laag, terwyl dit gedurende die tweede helfte van die jaar groot maandelikse variasies getoon het (figuur 8). Ten spyte van hierdie verskynsel is geen betekenisvolle verskille gevind tussen die gemiddelde Cr-konsentrasies (12,4 $\mu g.L^{-1}$) vir behandelde rioolwater en (9,24 $\mu g.L^{-1}$) vir natuurlike damwater nie. Die genoemde waardes was ook laer as die waardes van Watling en Watling (1982a-f) wat hulle vir twaalf Kaapse riviere bepaal het.

Aluminiumkonsentrasies was, met die uitsondering van Februarie, September en Oktober 1991, betekenisvol hoër in natuurlike damwater as in behandelde rioolwater (figuur 9). Relatiewe hoë konsentrasies



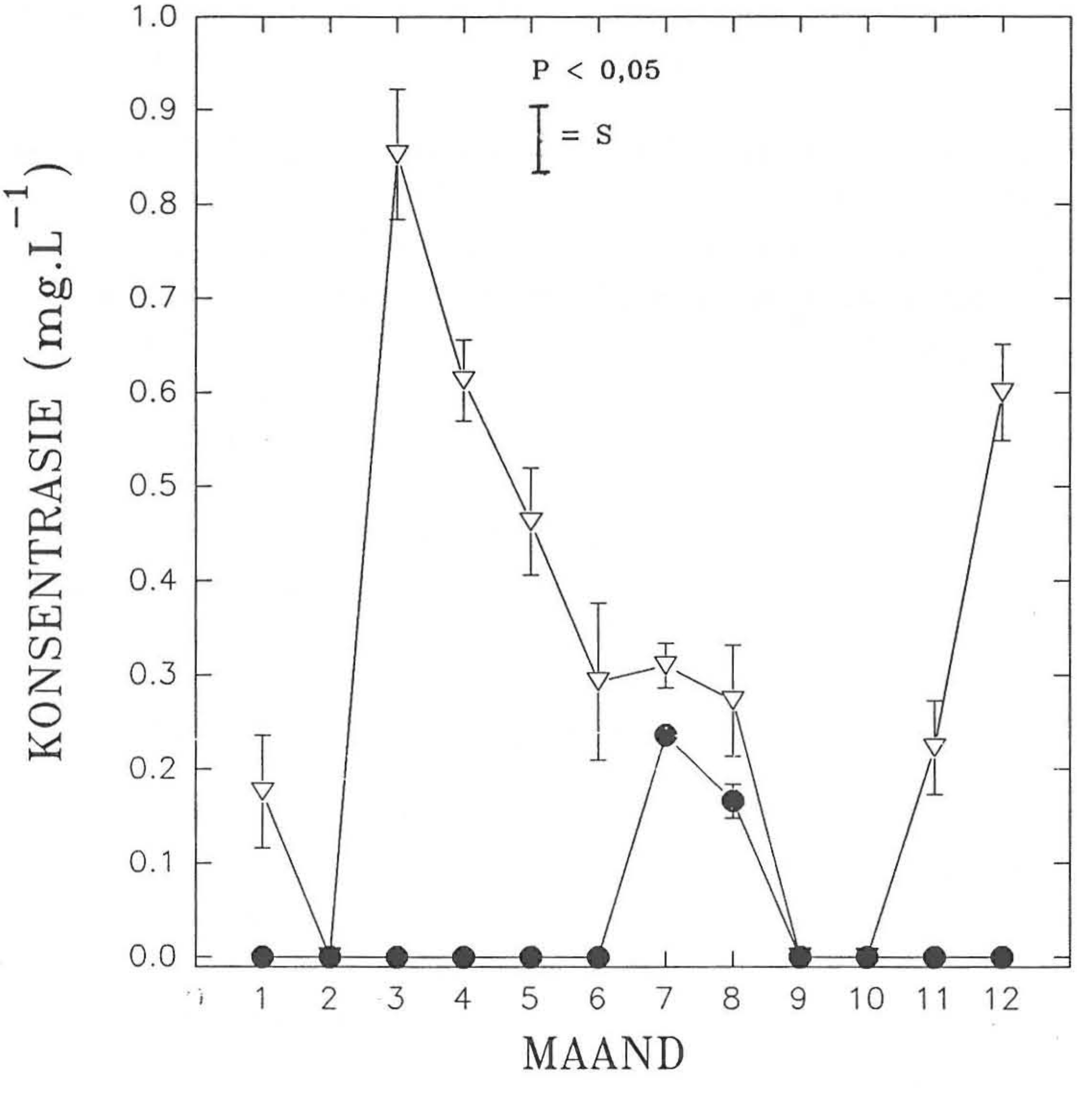
FIGUUR 7: Konsentrasies Mn van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes tussen die twee lokaliteite oor 12 maande aan)



FIGUUR 8: Konsentrasies Cr van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)



FIGUUR 9: Konsentrasies Al van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

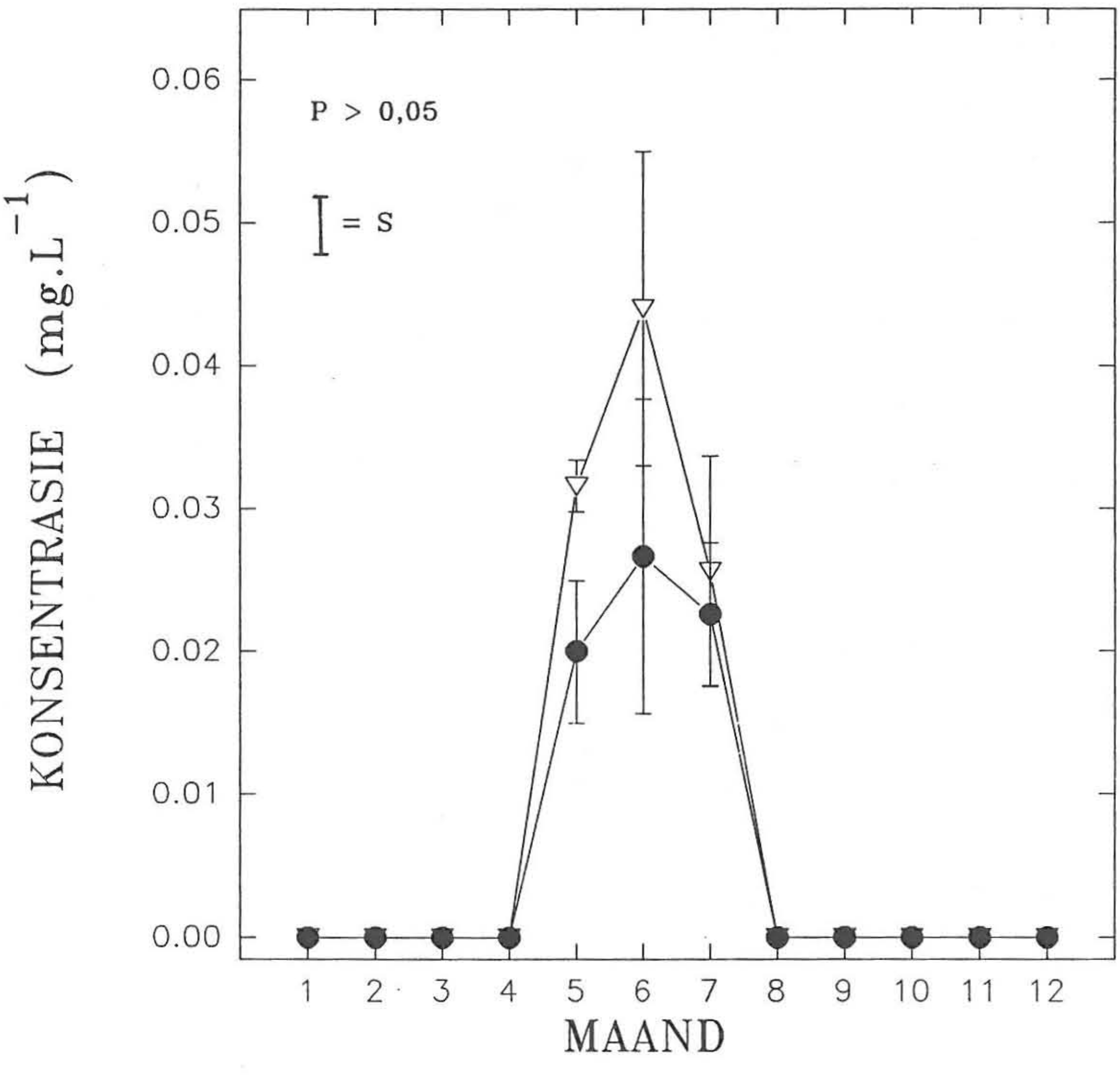
is in Maart (0,85 mg.L^{-1}) en Desember (0,6 mg.L^{-1}) in die geval van natuurlike damwater aangetref. In slegs twee gevalle is hierdie element in beduidende konsentrasies in behandelde rioolwater aangetref en wel in Julie (0,23 mg.L^{-1}) en Augustus (0,16 mg.L^{-1}). Die gemiddelde waardes wat in hierdie studie in die natuurlike damwater gemeet is, vergelyk goed met soortgelyke waardes in die Vaalrivier (Randwaterraad, 1982).

Kobalt is slegs in Mei, Junie en Julie 1991 in beduidende konsentrasies in die water aangetref (figuur 10). In al drie gevalle was die hoogste konsentrasie in natuurlike damwater gevind, alhoewel die gemiddelde konsentrasies vir 1991 tussen die twee lokaliteite nie betekenisvol verskil het nie. Die gemiddelde waardes van 60 μg.L^{-1} wat volgens die Randwaterraad (1982) in die Vaalrivier gemeet is, is egter baie hoër as dit wat vir dié element in hierdie studie aangeteken is.

Kalsium- (figuur 11A) en ***magnesiumkonsentrasies*** (figuur 11B) het gedurende 1991 deurlopend soortgelyke konsentrasiepatrone getoon. Konsentrasies was ook met die uitsondering van Januarie deurgaans betekenisvol hoër in behandelde rioolwater as in natuurlike damwater wat bevestig word deur die hardheidsdata in figuur 3.

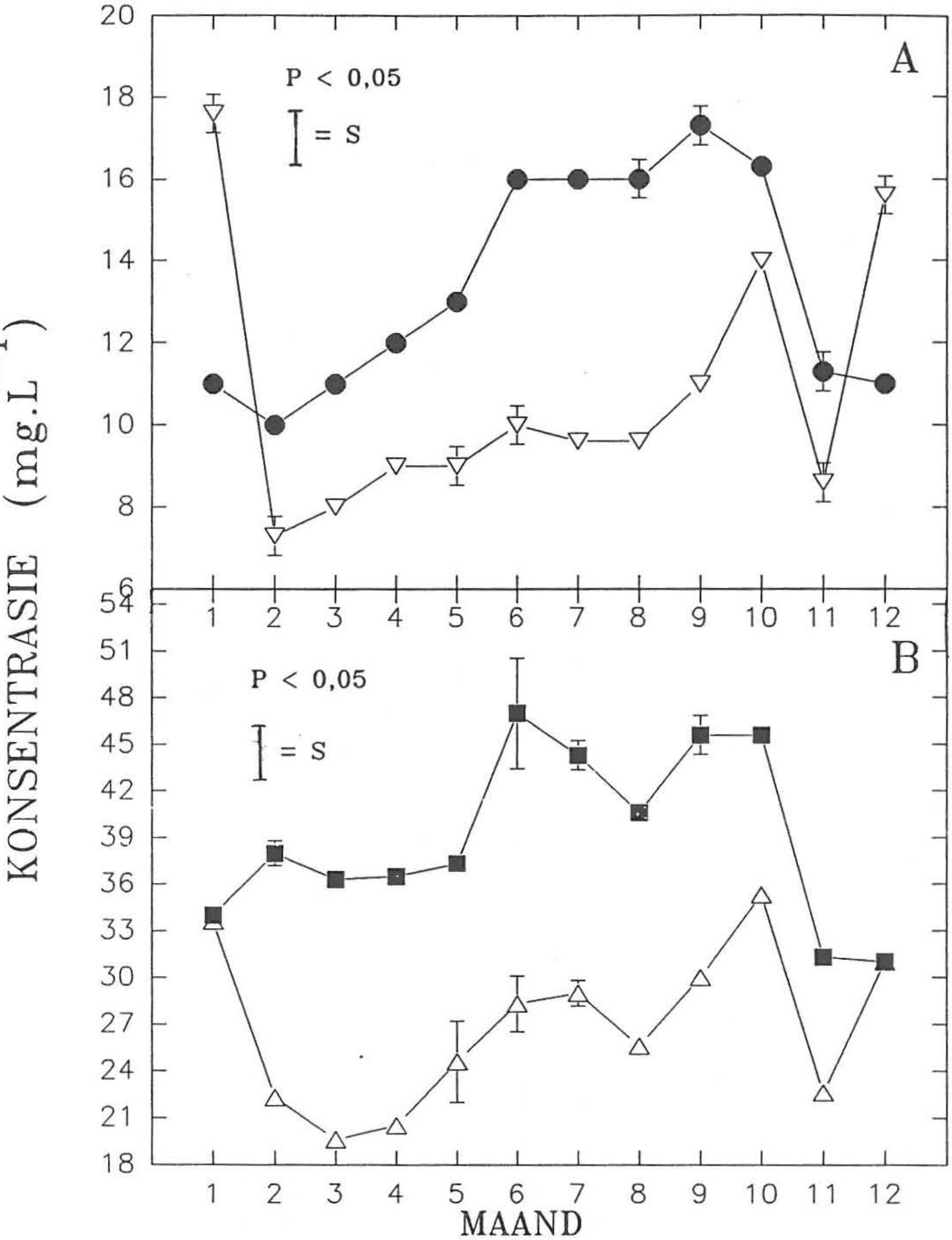
Kaliumkonsentrasies het naastenby dieselfde patroon in 1991 as die voorgenoemde twee elemente gevolg, maar die konsentrasie in behandelde rioolwater was ongeveer drie maal hoër as dié in natuurlike damwater (figuur 12). Gemiddelde konsentrasies van 18,2 en 5,03 mg.L^{-1} is respektiewelik vir die behandelde rioolwater en die natuurlike damwater bereken.

In tabel 2 word die gemiddelde konsentrasies van die meeste metale wat in hierdie studie in die Krugersdriftdam en die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke geanaliseer is, met soortgelyke waardes vir ander Suid-Afrikaanse waterbronne vergelyk. Met die uitsondering



FIGUUR 10: Konsentrasies Co van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

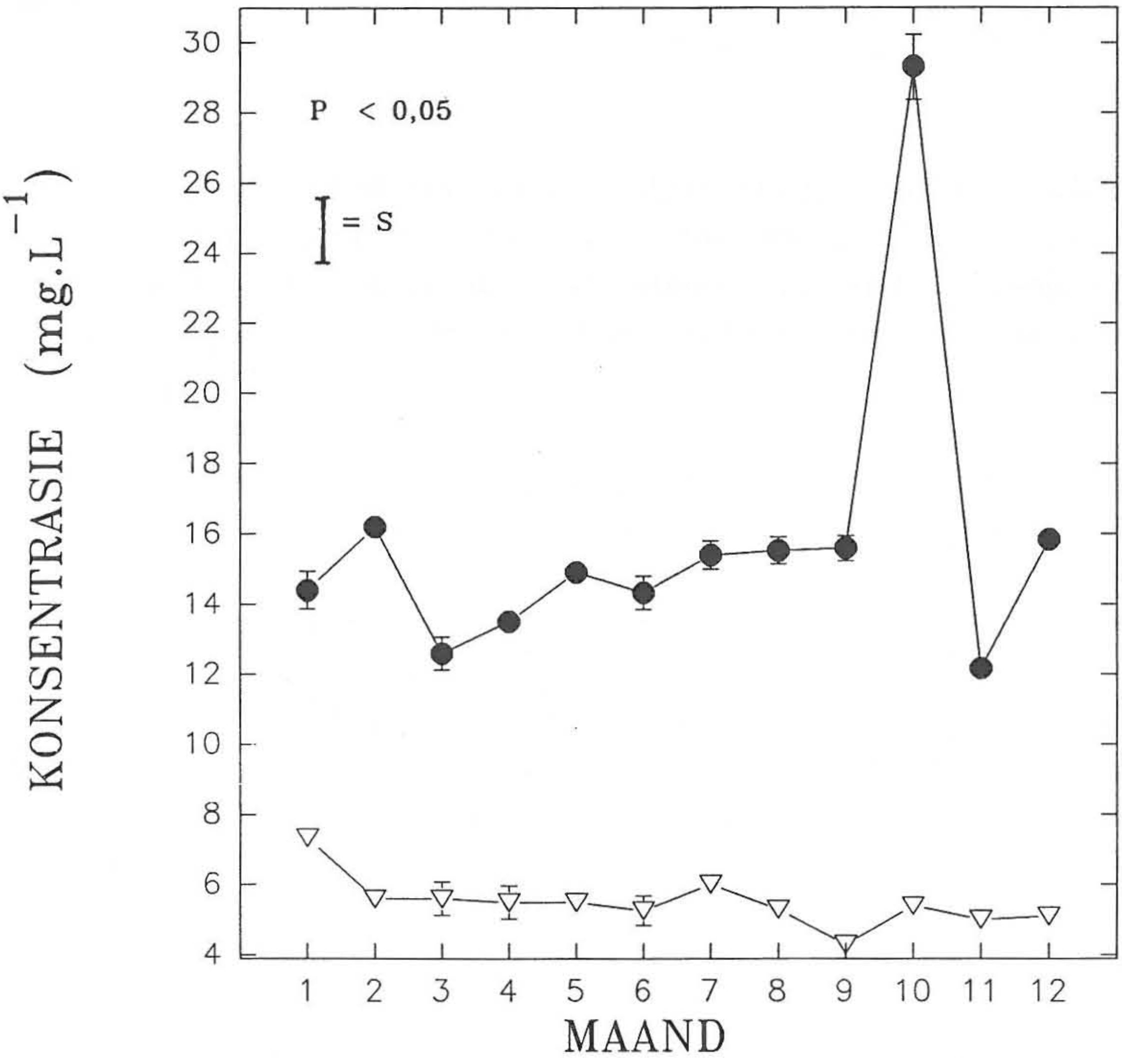
(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)



FIGUUR 11 A: Konsentrasies Ca van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Konsentrasies Mg van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (■ --- ■) en van die inloop van Krugersdriftdam (△ --- △) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes tussen lokaliteite aan).



FIGUUR 12: Konsentrasies K van behandelde rioolwater uit die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van die inloop van Krugersdriftdam (▽ --- ▽) gemeet vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

van sink, was die konsentrasies in die water van die twee lokaliteite heelwat laer as dié van die Vaalrivier. Wat die ander metale aanbetref, kan slegs die yster- en aluminiumkonsentrasies in die water van Krugersdriftdam op 'n mate van kontaminasie dui. Die konsentrasies van die metale wat in tabel 2 vir die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke aangedui word, kan in vergelyking met dié van ander waterbronne as gerusstellend beskou word.

TABEL 2: 'n Vergelyking tussen die resultate van spoorelement-analises van sommige Suid-Afrikaanse riviere met soortgelyke resultate verkry vanaf 'n natuurlike waterbron in die Oranje-Vrystaat (Krugersdriftdam) en behandelde rioolwater (Bloemspruitrioolwerke) ($\mu g.L^{-1}$).

RIVIER	Vaalrivier		12 Kaapse riviere	Transkei riviere	Verouderings dam	Natuurlike dam
PERIODE	Okt 1981–Sept 1982		Mei 1975–Aug 1981	Sept 1980–Jan 1982	Jan 1991–Des 1991	Jan 1991–Des 1991
BRON	Randwaterraad (1982)		Watling (1982a–f)	Du Preez (1985)		
Al	780	450	----	498	36,6	290,3
Co	70	70	0,2	10	4,4	6,3
Cr	60	60	0,8	5	12,4	9,24
Cu	40	40	1,9	7	13,7	12,3
Fe	350	230	328	481	68	229
Hg	1	1	0,03	26	<1,0	<1,0
Mn	60	120	27,3	54	23	19,4
Zn	40	40	4,4	11	77	59,4

3.4 SEDIMENTANALISES

Wanneer die moontlikheid van kontaminasie van 'n waterbron deur swaarmetale ondersoek word, kan chemiese analises ook van die sediment van die bron uitgevoer word. Volgens hierdie outeurs word die grootste hoeveelheid swaarmetale in die water as gevolg van fisies-chemiese prosesse in die sediment neergeslaan waar dit 'n groot gevaar vir bentiese organismes kan inhou. Verder kan dit ook in plant- en dierweefsel wat as voedselbronne vir ander organismes dien, akkumuleer (Förstner & Wittmann, 1983).

TABEL 3: Spoorelementkonsentrasies van sedimentmonsters geneem uit die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke en die Krugersdriftdam. Behalwe in die geval van kwik ($\mu g.g^{-1}$), is konsentrasies gemeet in $mg.g^{-1}$ (nat massa).

ELEMENT	VEROUDERINGSDAM $\bar{x}$	VEROUDERINGSDAM S	KRUGERSDRIFTDAM $\bar{x}$	KRUGERSDRIFTDAM S
Al	1119.34	248.96	1260.54	205.12
Fe	1095.87	300.24	1384.92	211.33
Mn	18.46	7.22	29.61	4.59
Zn	1.49	.23	3.38	0.74
Cr	4.31	0.85	3.61	0.84
K	105.34	21.07	167.35	25.45
Na	20.26	3.87	16.74	3.56
Cu	1.73	0.30	1.89	0.43
Mg	333.91	87.52	285.82	59.98
Pb	0.31	0.22	0.64	0.46
Hg	0.079	0.0046	0.047	0.003

$\bar{x}$: Gemiddelde konsentrasie gemeet gedurende 1991

S: Standaardafwyking van die gemiddelde waarde

Clarias gariepinus het die voedingsgewoontes van 'n omnivoor (Groenewald, 1964; Schoonbee, 1969; Van der Waal, 1972; Gaigher, 1977; Willoughby & Tweddle, 1978; Bruton, 1979) en voed hoofsaaklik op soöplankton, bentos soos Oligochaeta, Chironomidae larwes, Ephemeroptera en Hemiptera nimfe, watergrasse, detritus en kleiner vissoorte. Dit is algemeen bekend dat laasgenoemde organismes groot hoeveelhede metale uit die water kan opneem (Burrows & Whitton, 1983; Dixit & Witcomb, 1983; Yasuno, Hatakeyama & Sugara, 1985; Van der Merwe, Schoonbee & Pretorius, 1990) wat dan weer, indien dit geëet word, in die weefsel van die baber kan akkumuleer.

Met die uitsondering van chroom, natrium, magnesium en kwik, was die metaalioonkonsentrasies in die sediment van die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke laer as dié van die Krugersdriftdam (tabel 3). In die algemeen was die konsentrasies van die metale in die sediment van die twee lokaliteite baie soortgelyk. Dit dien ook vermeld te word dat die Bloemspruitrioolwerke die eerste rioolwerke in Suid-Afrika was en reeds in 1903 opgerig is (Osborn, 1987), terwyl die oprigting van die Krugersdriftdam in 1963 deur die parlement goedgekeur is (Verslag, 1970) en die bouwerk eers in 1970 voltooi is (Departement van Waterwese, 1986).

3.5 Spoorelementkonsentrasies in visweefsel

3.5.1 Inleiding

Eksperimentele getuienis dui daarop dat die funksionele rol en voorkoms van swaarmetaalione in lewende stelsels verband hou met die beskikbaarheid en hoeveelhede daarvan in die natuur (Williams, 1967; Vahrenkamp, 1973; Wood, 1975). Die natuurlike voorkoms en toksiese vlakke van metale in mens- en dierweefsel, word ook breedvoerig in die literatuur beskryf (Vahrenkamp, 1973; Wood, 1975; Overhoff en Forth, 1978; Duffus, 1983; Moriarty, 1991).

Essensiële metale word op grond van hulle voorkoms in die natuur en hul toksisiteit deur Duffus (1983) en Förstner en Wittmann (1983)

geklassifiseer. Volgens Overhoff en Forth (1978) is 'n element vir lewende organismes "essensieel" wanneer:

(i) Dit in alle gesonde weefsel aangetref word en die konsentrasies daarvan nie veel van spesie tot spesie verskil nie.

(ii) Simptome as gevolg van 'n tekort daaraan in die weefsel ontstaan wat weer verdwyn wanneer die element se vlak na normaal terugkeer.

(iii) Die simptome van 'n tekort toegeskryf kan word aan 'n biochemiese defek op molekulêre vlak.

Die volgende essensiële metale geniet prominente aandag in die literatuur:

Natrium en kalium. Hierdie metale kom gekonsentreerd en wydverspreid in liggaamsvloeistowwe voor. Beide hierdie metale word nie as spoorelemente beskou nie, maar eerder as makro-elemente en word nie by normale konsentrasies in die weefsel as toksies beskou nie.

Magnesium en kalsium. Hierdie metale kom ook wydverspreid in mens- en dierweefsel voor. Magnesiumione neem hoofsaaklik deel aan funksies in die sel, terwyl kalsium weer in bene en tande in die vorm van hidroksiel-apatiet, $Ca_5(PO_4)_3(OH)$ neerslaan. Kalsium kan dus beskou word as die metaal met die hoogste voorkoms in menslike en dierlike weefsel.

Yster. Die volopste oorgangsmetaal in die natuur en ook die mees bekende metaal in biologiese stelsels. As deel van die hemoglobienmolekule in bloed, word hierdie metaal met die binding van suurstof geassosieer.

Yster moet in groot hoeveelhede deur organismes ingeneem word ten einde toksiese effekte tot gevolg te hê, aangesien slegs 'n klein hoeveelheid daarvan deur die gastro-intestinale stelsel geabsorbeer word. In die

weefsel inhibeer ysterione die aktiwiteit van verskeie ensieme wanneer dit in oormatige hoeveelhede teenwoordig is (Duffus, 1983).

Mangaan. Die tweede volopste metaal in die natuur. Die biologiese belangrikheid van mangaan het na vore gekom met die ontdekking dat dit met die verbruik van glukose deur die liggaam verband hou.

Oormatige hoeveelhede mangaan in liggaamsweefsel kan lei tot hallusinasies, krampe, tremor, longontsteking en nierversaking (Duffus, 1983).

Kobalt. Relatief skaars in die aardkors, maar die menslike liggaam benodig Vitamien B_{12}, wat 'n kobalt(III)-kompleks is, vir hemoglobiensintese.

Blootstelling aan toksiese konsentrasies van kobalt kan tiroïed-, hart- en nierfunksies nadelig beïnvloed (Herndorn, Jacob & McCann, 1980).

Koper. Hierdie metaal kan in hoë konsentrasies in water, sediment en geassosieerde biota voorkom as 'n gevolg van mynbedrywighede en die gebruik daarvan as 'n fungisied. Lank voordat koper as essensiële element beskou is, is vasgestel dat dit in kombinasie met die bloedproteïene van sekere slakspesies voorkom. Dit is vandag bekend dat Cu(I) in ensieme aangetref word wat suurstof kan bind en vir die sintese daarvan noodsaaklik is.

Oormatige inname van koper lei tot die akkumulasie daarvan in lewerweefsel. Die toksisiteit van koper word gewoonlik verhoog deur 'n lae inname van Mo, Zn en SO_4^{-2}. Volgens Duffus (1983) kan die meeste visspesies deur slegs 'n paar dele per miljoen koper in die water gedood word en kan kopervergiftiging ook breinskade by hoër organismes tot gevolg hê.

Sink. Een van die volopste essensiële elemente in die liggaam en is sowat 100 keer meer volop as koper in die natuur. Soos in die geval van kobalt(II) word sink(II) ook met ensieme geassosieer.

THIS BOOK IS
THE PROPERTY
OF THE
- 3 AUG 1999

TECHNIKON
OVS/OFS
1993 -03- 08
PRIVAATSAK
PRIVATE BAG X20539
BLOEMFONTEIN

Sink word as een van die minder gevaarlike elemente vir lewende organismes beskou en akkumuleer skynbaar nie in voedselkettings nie. Volgens Förstner en Wittmann (1983) kan hoë konsentrasies sink die metabolisme van die mens, veral dié van kinders en pasiënte wat reeds onreëlmatige metabolisme ervaar, affekteer. Die toksisiteit van hierdie metaal kan ook in die teenwoordigheid van arseen, lood, kadmium en antimoon in die liggaam toeneem (Duffus, 1983).

Verskeie nie-essensiële metale wat in die natuur aangetref word, kan ook toksiese vlakke na inname daarvan in liggaamsweefsel bereik (Förstner en Wittmann, 1983; Duffus, 1983; Moriarty, 1991). Die volgende metale word in hierdie verband as belangrik beskou:

Chroom kom wydverspreid in die natuur voor en is in spoorhoeveelhede vir die meeste organismes 'n essensiële mikro-nutriënt vir vet- en koolhidraatmetabolisme (Duffus, 1983).

Chroom is een van die minder toksiese spoormetale wat in die natuur aangetref word. Soogdiere kan sowat 100 tot 200 keer meer chroom as die normale inhoud daarvan in die liggaam verdra. Chroom(VI) verbindings is wel 100 keer meer toksies as Cr(III) soute, maar word ná inname deur suurreaksies in die maag tot laasgenoemde vorm verander. Gastro-intestinale absorpsie van Cr(III) verbindings is laer as 1% (Förstner & Wittmann, 1983). Volgens Duffus (1983) kan chromaat-verbindings lewer- en nierskade tot gevolg hê. Chroom word deur laasgenoemde outeur as 'n gevaarlike metaal beskou, aangesien dit tot 'n groot mate in dier- en plantweefsel akkumuleer. In alge, byvoorbeeld, kan chroomkonsentrasies tot 'n vlak van 4000 keer hoër as in hulle onmiddellike omgewing voorkom (Duffus, 1983).

Lood stem, wat sy chemiese gedrag betref, baie meer ooreen met die aard-alkalimetale. Hierdie metaal is nie essensieel vir lewende organismes nie, maar word wel in alle weefsel en organe, veral skeletweefsel, van soogdiere aangetref (Förstner & Wittmann, 1983).

Lood(II) inhibeer die biosintese van hem, aangesien dit 'n groot affiniteit vir fosfaat-bevattende ligande toon. Volgens Duffus (1983) word dit deur rooibloedselle opgeneem, sirkuleer deur die liggaam en word uiteindelik in die lewer en niere gekonsentreer. Lood(II) affekteer ook die membraandeurlaatbaarheid van nier-, lewer- en breinselle (Förstner & Wittmann, 1983). Dit akkumuleer volgens laasgenoemde outeur tot 'n groot mate in liggaamsweefsel wat 'n verlaagde funksionering en 'n uiteindelike algehele afbreking van die weefsel tot gevolg het.

Kwik is, soos in die geval van lood, 'n nie-essensiële element en is in die vorm van alkiel-kwikverbindings hoogs toksies vir lewende organismes. Selfs lae konsentrasies daarvan kan 'n gesondheidgevaar vir die mens inhou, aangesien dit in voedselkettings akkumuleer (Förstner & Wittmann, 1983). Vergiftiging deur metiel-kwik kan groot neurologiese afwykings tot gevolg hê, soos gevind is tydens grootskaalse uitbrake daarvan in Japan en Irak (Irukayama, 1967).

Volgens Duffus (1983) is alle vorme van kwik potensieel toksies, maar dit varieer aansienlik. Anorganiese kwikverbindings is die minste toksies en word nie maklik deur die gastro-intestinale kanaal geabsorbeer nie. Kwikverbindings wat wel geabsorbeer word, kan in die lewer en niere akkumuleer, maar word weer vinnig in die uriene na buite uitgeskei. Wat hierdie metaal veral as gevaarlik laat klassifiseer, is die vermoë wat dit het om in sy ioonvorm deur anaërobiese mikro-organismes in akwatiese sediment na die toksiese alkielkwikverbindings, veral metiel- en dimetielkwik, getransformeer te word. Hierdie proses kan volgens Duffus (1983) ook in ontbindende visweefsel plaasvind.

3.5.2 Chemiese analises van visweefsel

In Junie 1991 is 'n groep van nege visse op 'n ewekansige wyse uit elk van die twee draadhokke wat respektiewelik in die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke en die inloop van die Krugersdriftdam geplaas is (sien paragraaf 2.1), verwyder. Elke groep van nege visse is weer in

drie groepe van drie elk verdeel. Dieselfde prosedure is in Desember 1991 gevolg.

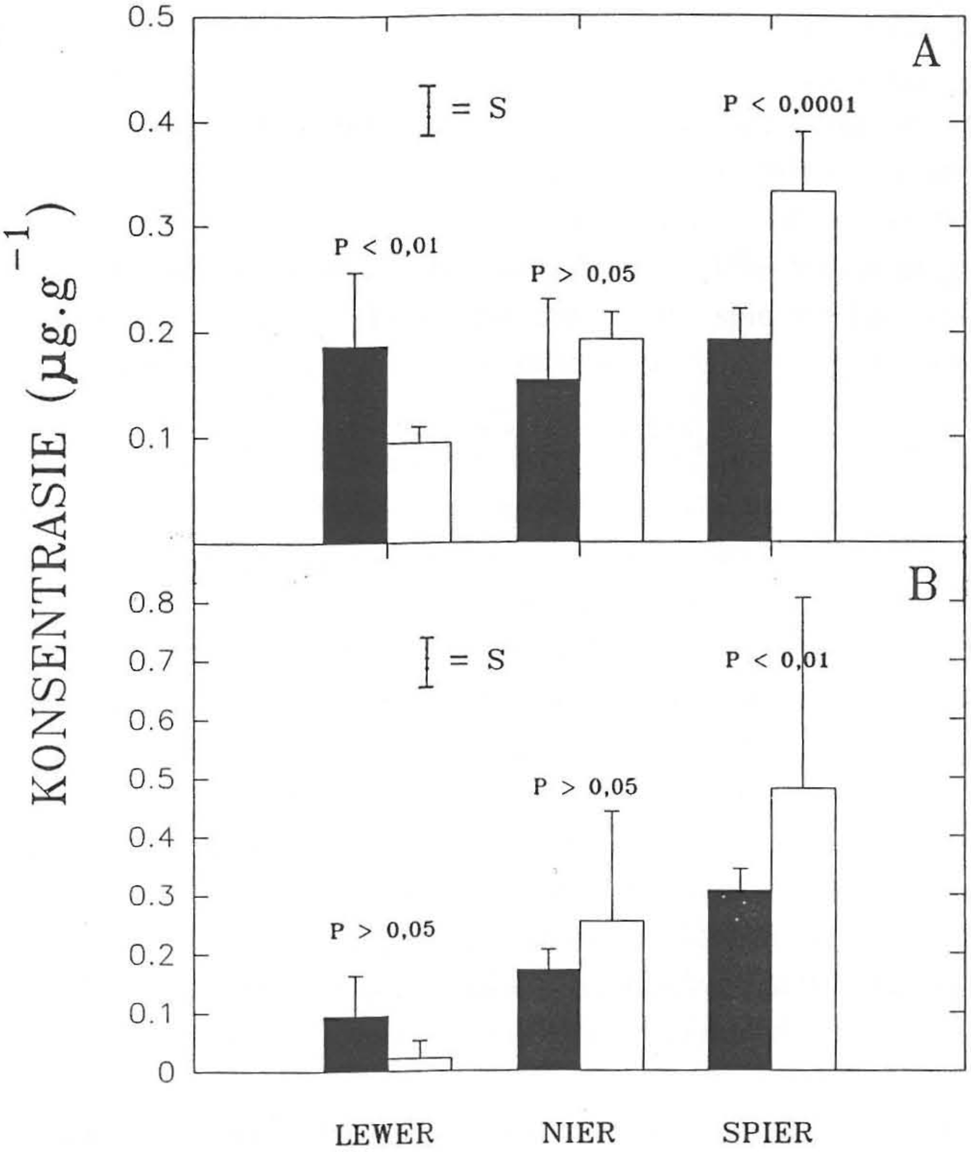
Vanuit elke groep van 3 visse, is aparte monsters van die lewer-, nier- en spierweefsel vir ontleding versamel. Weefseltipes van elke groep van drie visse is saamgevoeg, aangesien sekere visse nie voldoende hoeveelheid weefsel, soos deur die analiseprosedure vereis word, bevat het nie. Elke gesamentlike weefselmonster afkomstig van 'n groep van drie visse, is weer in drie gelyke massahoeveelhede vir analise verdeel. Drie analises per metaal vir elk van die drie groepe van drie visse is uitgevoer.

Visweefsel, te wete lewer-, nier-, en spierweefsel, is getoets vir konsentrasies kwik, lood, sink, yster, koper, mangaan, chroom, aluminium, magnesium, natrium en kalium.

Die gemiddelde ***kwikkonsentrasie*** in die spierweefsel van die visse in die Krugersdriftdam was in Junie sowel as in Desember betekenisvol hoër as dié wat gemeet is vir visse in behandelde rioolwater (figuur 13). 'n Opmerklike groter verskil is in Juniemaand tussen die konsentrasies van hierdie metaal in die spierweefsel gevind. Geen betekenisvolle verskille is egter gevind in die konsentrasies van kwik in die niere van die visse in die onderskeie habitats nie.

In teenstelling met die nier- en die spierweefsel, was die konsentrasie kwik in die lewer tydens Junie weer betekenisvol hoër in behandelde rioolwater as in natuurlike damwater. Dit blyk dat ook vir die lewer van visse in beide habitats hoër te wees in die winter as in die somermaande.

Die waardes in figuur 13 vergelyk goed met konsentrasies van kwik in die spierweefsel van ander visse soos beskryf in die literatuur. Turner, *et al.* (1986) het 0,206 $\mu g.g^{-1}$ (droë massa) vir *Oreochromis mossambicus* en *Liza macrolepis* in rioolwater en Potter, Kidd & Standiford (1975) 0,25 $\mu g.g^{-1}$ (nat massa) vir *Cyprinus carpio* in 'n mensgemaakte reservoir gemeet. By babers wat in die Mississippirivier gevang is, is 'n kwikkonsentrasie van 0,281 $\mu g.g^{-1}$ (nat massa) na ontleding gevind (Hartung, 1974).



FIGUUR 13: Konsentrasies Hg gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

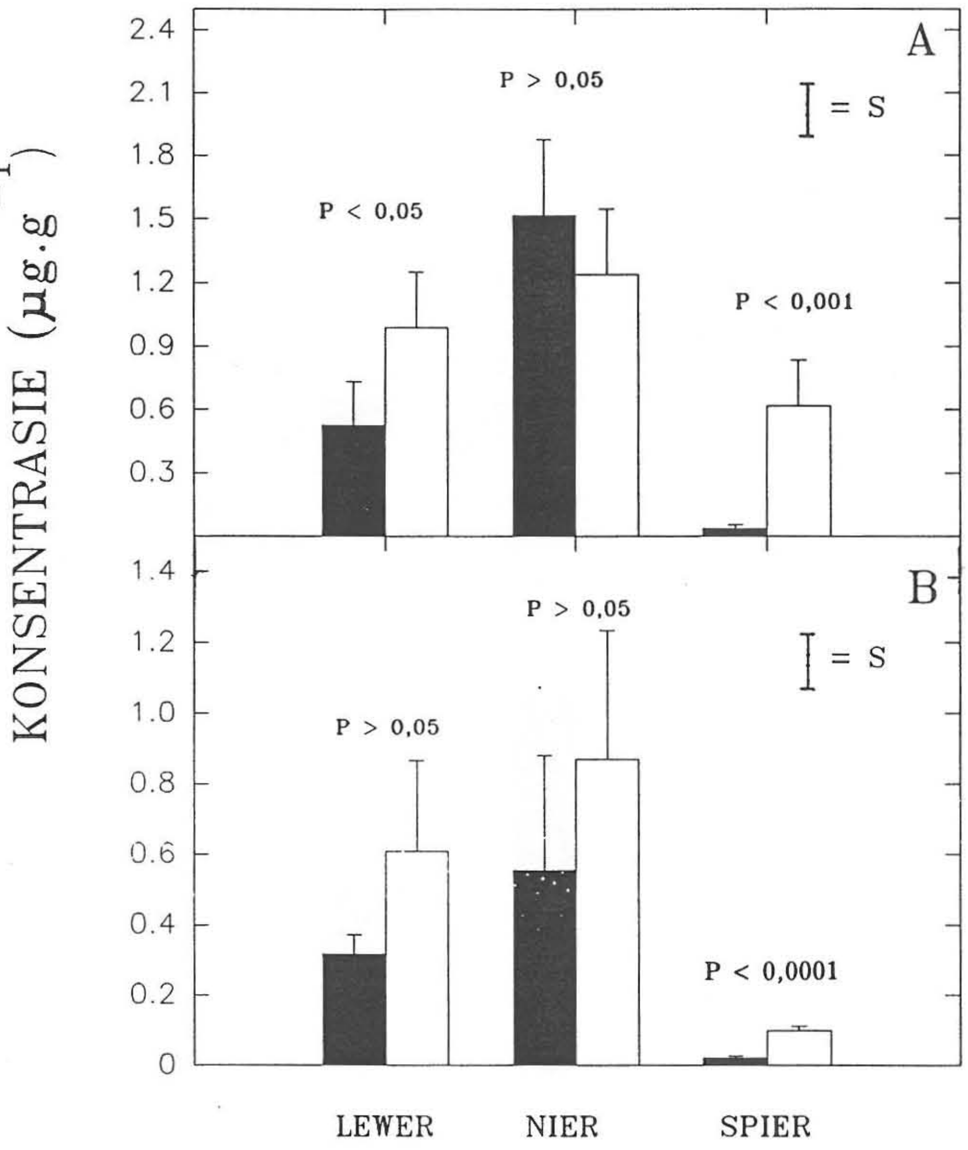
B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

Die ***loodkonsentrasies*** in die spier-, lewer- en nierweefsel van *Clarias gariepinus* word in figuur 14 aangedui. In aldrie weefseltipes was die konsentrasies lood opmerklik hoër by visse wat in Junie 1991 geanaliseer is. Die konsentrasie wat in Junie in die lewer van *Clarias gariepinus* gevind is, was betekenisvol laer by visse aangehou in behandelde rioolwater. Die loodkonsentrasies in die spierweefsel van visse aangehou in behandelde rioolwater was ook in beide Junie en Desember betekenisvol laer as by visse in natuurlike damwater. Die verhouding van alle loodkonsentrasies in die lewer tot dié in die spierweefsel van visse in behandelde rioolwater, was ook heelwat groter in Junie as in Desember.

Alhoewel die loodkonsentrasie in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* in Krugersdriftdam feitlik sesvoudig hoër was gedurende Junie as in Desember, vergelyk dit steeds goed met konsentrasies van hierdie metaal wat in die spierweefsel van ander visspesies gevind is. Die konsentrasies was vir alle weefseltipes laer as 0,01 $mg.g^{-1}$ (nat massa) wat baie goed ooreenstem met die konsentrasies wat deur Turner *et al.* (1986) vir *Oreochromis mossambicus* en *Liza macrolepis* in behandelde rioolwater gevind is. Dit is ook laer as die gemiddelde konsentrasie van 0,455 $mg.g^{-1}$ (nat massa) wat deur Mohamed, Awadallah en Gabr (1990) vir *Tilapia* gerapporteer is. Babers wat deur Hartung (1974) ontleed is, het 'n konsentrasie van 0,479 $\mu g.g^{-1}$ (nat massa) in die spierweefsel getoon. Die lae loodkonsentrasies in die weefsel van *Clarias gariepinus* kan te wyte wees aan die lae konsentrasies van hierdie metaal in die water.

Die ***sinkkonsentrasies*** wat in die weefsel van *Clarias gariepinus* gemeet is, word in figuur 15 voorgestel. Geen betekenisvolle verskille is gevind tussen die Zn-konsentrasies in die spierweefsel van visse in die onderskeie habitats nie. Die konsentrasies was egter vir sowel die lewer as die niere hoër in Desember as in Junie. Die sinkkonsentrasie in die niere van visse wat in behandelde rioolwater aangehou is, was in Desember ook heelwat hoër (7,117 $mg.g^{-1}$ nat massa) as die van natuurlike damwater (1,203 $mg.g^{-1}$ nat massa). Volgens die literatuur word sink hoofsaaklik gekonsentreer in die vel, bene, lewer, niere en kieue van visse (Mount, 1964; Mathiessen & Brafield, 1977; Holcombe, Benoit & Leonard, 1979).

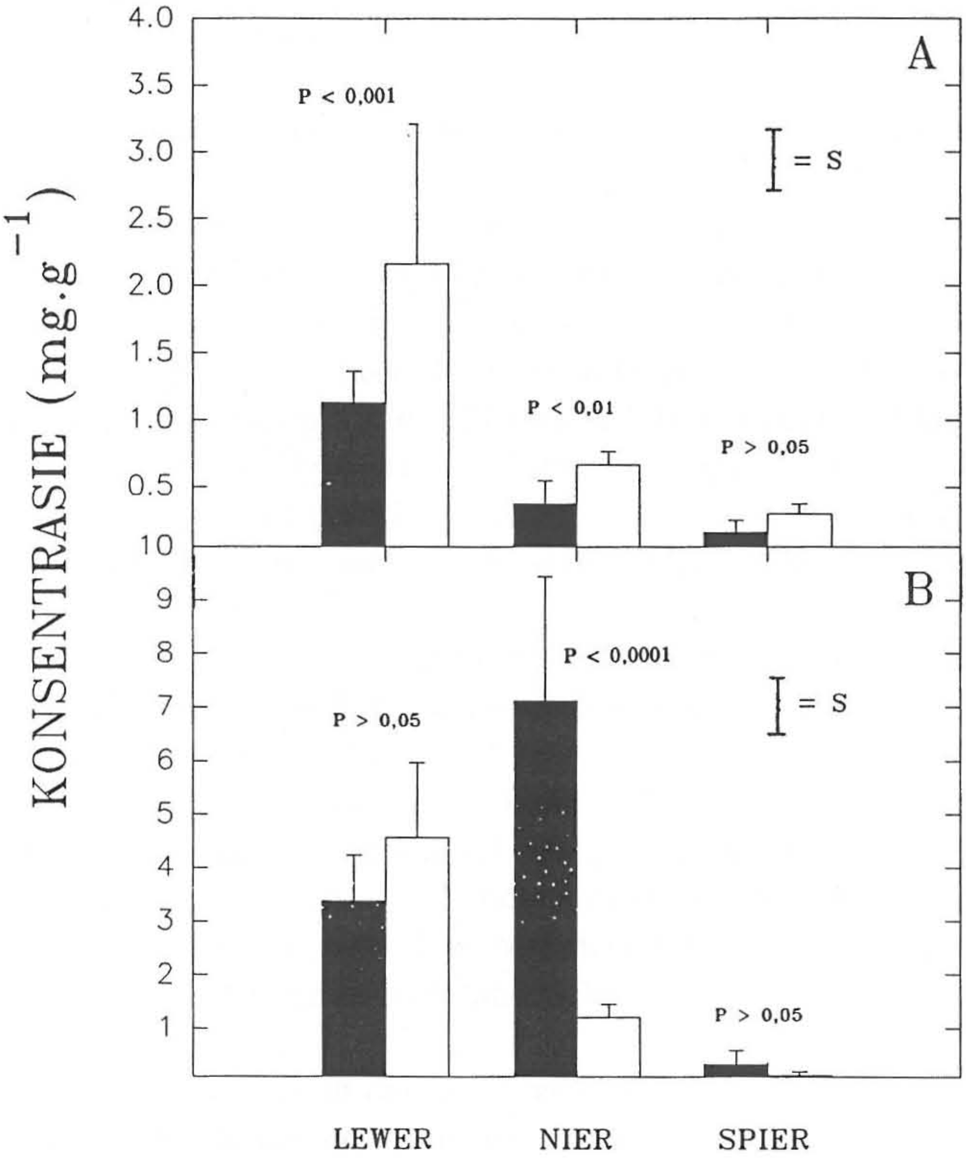


FIGUUR 14: Konsentrasies Pb gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)



FIGUUR 15: Konsentrasies Zn gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

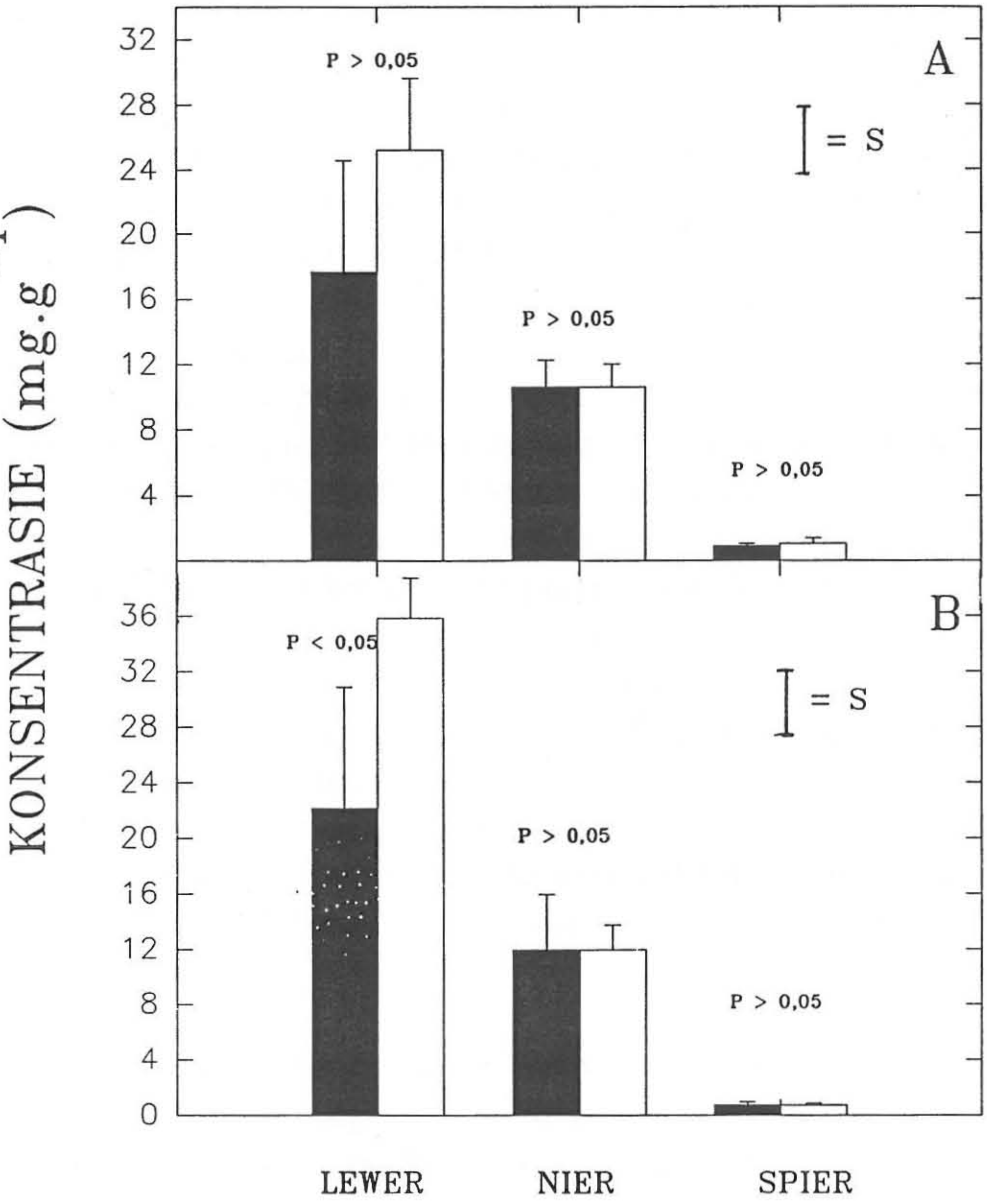
Die hoë konsentrasie sink wat in hierdie studie in Desember in die nier- en lewerweefsel gevind is, stem dus in 'n groot mate ooreen met die bevindinge van bogenoemde outeurs.

Die gemiddelde konsentrasie sink wat vir 1991 in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* gevind is, was 0,246 $mg.g^{-1}$ (nat massa) vir rioolwatervis en 0,213 $mg.g^{-1}$ (nat massa) vir die visse in natuurlike damwater. Hierteenoor het Bezuidenhout, *et al.* (1990) 'n gemiddelde konsentrasie van 0,059 $mg.g^{-1}$ (droë massa) in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* in industriële en mynafloopwater gevind en Mohamed *et al.*, (1990) 'n gemiddeld van 3,373 $mg.g^{-1}$ (nat massa) in *Tilapia nilotica* afkomstig uit die Nylrivier. *Cyprinus carpio* wat deur Mathis en Cummings (1973) in die Illinoisrivier gevang is, het 'n sinkkonsentrasie van 0,102 $mg.g^{-1}$ (nat massa) in die spierweefsel getoon.

Massoud *et al.* (1981) het gemiddelde konsentrasies sink van 0,1016 $mg.g^{-1}$ (droë massa) in Februarie en 0,2643 $mg.g^{-1}$ (droë massa) in Mei in die lewer van *Tilapia* in 'n meer in Egipte gevind. Spierweefselkonsentrasies van sink in *Tilapia* was in Februarie 0,0438 $mg.g^{-1}$ (droë massa) en 0,0311 $mg.g^{-1}$ (droë massa) in September (Massoud *et al.*, 1981). Al bogenoemde konsentrasies, droë massa waardes in ag genome, vergelyk goed met dit wat vir *Clarias gariepinus* in natuurlike damwater en behandelde rioolwater gemeet is.

Die *ysterkonsentrasie* in die lewer van *Clarias gariepinus* was vir beide behandelde rioolwater en natuurlike damwater hoër as dié in die nier- en spierweefsel (figuur 16). Met die uitsondering van die konsentrasies yster wat in die lewers van visse gedurende Desember gemeet is, is daar geen betekenisvolle verskille tussen die konsentrasies in die drie weefseltipes van visse afkomstig van die twee verskillende lokaliteite gevind nie.

In die geval van die niere is geen noemenswaardige verskille gevind in die gemiddelde konsentrasies yster wat in Desember (11,910 $mg.g^{-1}$ nat massa) en Junie (11,270 $mg.g^{-1}$ nat massa) in sowel behandelde rioolwater as in natuurlike damwater gemeet is nie. Dieselfde is ook gevind vir spierweefsel, alhoewel die konsentrasies in hierdie geval heelwat laer was



FIGUUR 16: Konsentrasies Fe gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

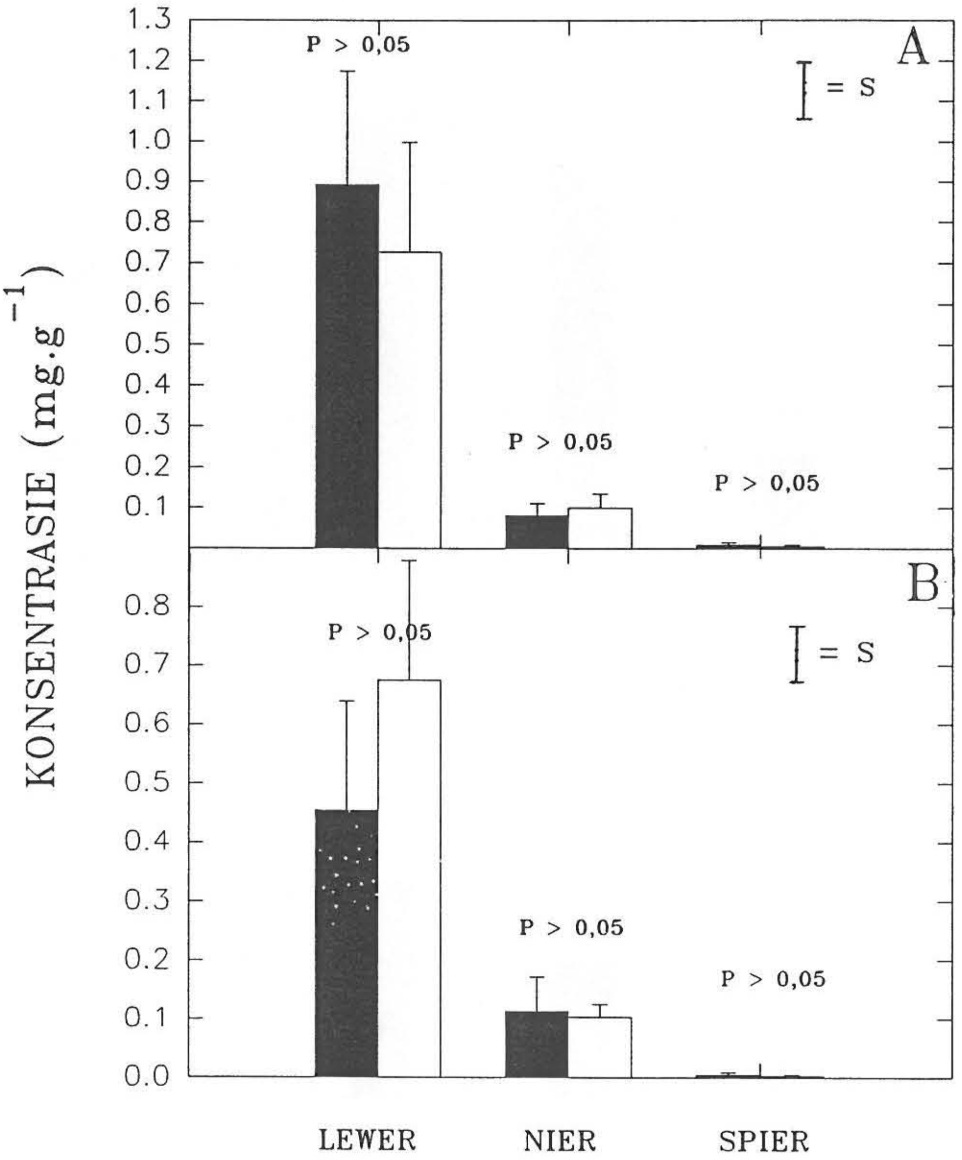
(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

(gemiddelde nat massa konsentrasies van 0,804 $mg.g^{-1}$ vir rioolwatervis en 0,880 $mg.g^{-1}$ vir visse in natuurlike damwater). Laasgenoemde waardes vergelyk goed met dit wat deur Massoud *et al.* (1981) in die spierweefsel van *Tilapia* gevind is, alhoewel die konsentrasies wat in die lewer en die niere van *Clarias gariepinus* gevind is, heelwat hoër is as in die geval van *Tilapia*. Hierdie bevinding korreleer goed met die hoë ysterooninhoud van die water (figuur 6A) en sediment (tabel 3) van beide lokaliteite.

Die ***koperkonsentrasie*** in die lewer van *Clarias gariepinus* was in beide Desember en Junie aansienlik hoër as in die niere en spierweefsel (figuur 17) Geen betekenisvolle verskille kon tussen die Cu-konsentrasies in aldrie weefseltipes van visse afkomstig vanaf die twee onderskeie lokaliteite aangetref word nie. Die konsentrasie omvang van 0,455 tot 0,891 $mg.g^{-1}$ (nat massa) vir koper in die lewer van visse in behandelde rioolwater, vergelyk ook gunstig met die droë massa waardes van 0,318 tot 0,568 $mg.g^{-1}$ wat Massoud *et al.* (1981) vir *Tilapia* vasgestel het. Die gemiddelde koperkonsentrasies van 0,006 $mg.g^{-1}$ (nat massa) en 0,003 $mg.g^{-1}$ (nat massa) wat respektiewelik in die spierweefsel van visse in behandelde rioolwater en in dié van natuurlike damwater gevind is, is ook heelwat laer as die 0,055 $mg.g^{-1}$ (droë massa) vir *Tilapia* (Massoud, *et al.*, 1981).

Die lae koperkonsentrasies wat in die weefsel van *Clarias gariepinus* gevind is, kan moontlik toegeskryf word aan die besondere vermoë van die vis om koper en sink uit te skei (Cross, Hardy, Jones & Barber, 1973; Bryan, 1976).

Die ***mangaankonsentrasies*** in die lewer-, nier- en spierweefsel van *Clarias gariepinus* word in figuur 18 aangedui. Mangaankonsentrasies in die weefsel van *Clarias gariepinus* afkomstig van die twee onderskeie lokaliteite toon in die algemeen min verskille. Die uitsondering was in Desember waar die konsentrasie van mangaan wat in die niere van visse in die Krugersdriftdam aangetref is (0,315 $mg.g^{-1}$ nat massa), egter betekenisvol hoër was as dié vir visse in behandelde rioolwater. Hierdie waarde oortref ook die waardes wat in Junie gemeet is. Die hoogste

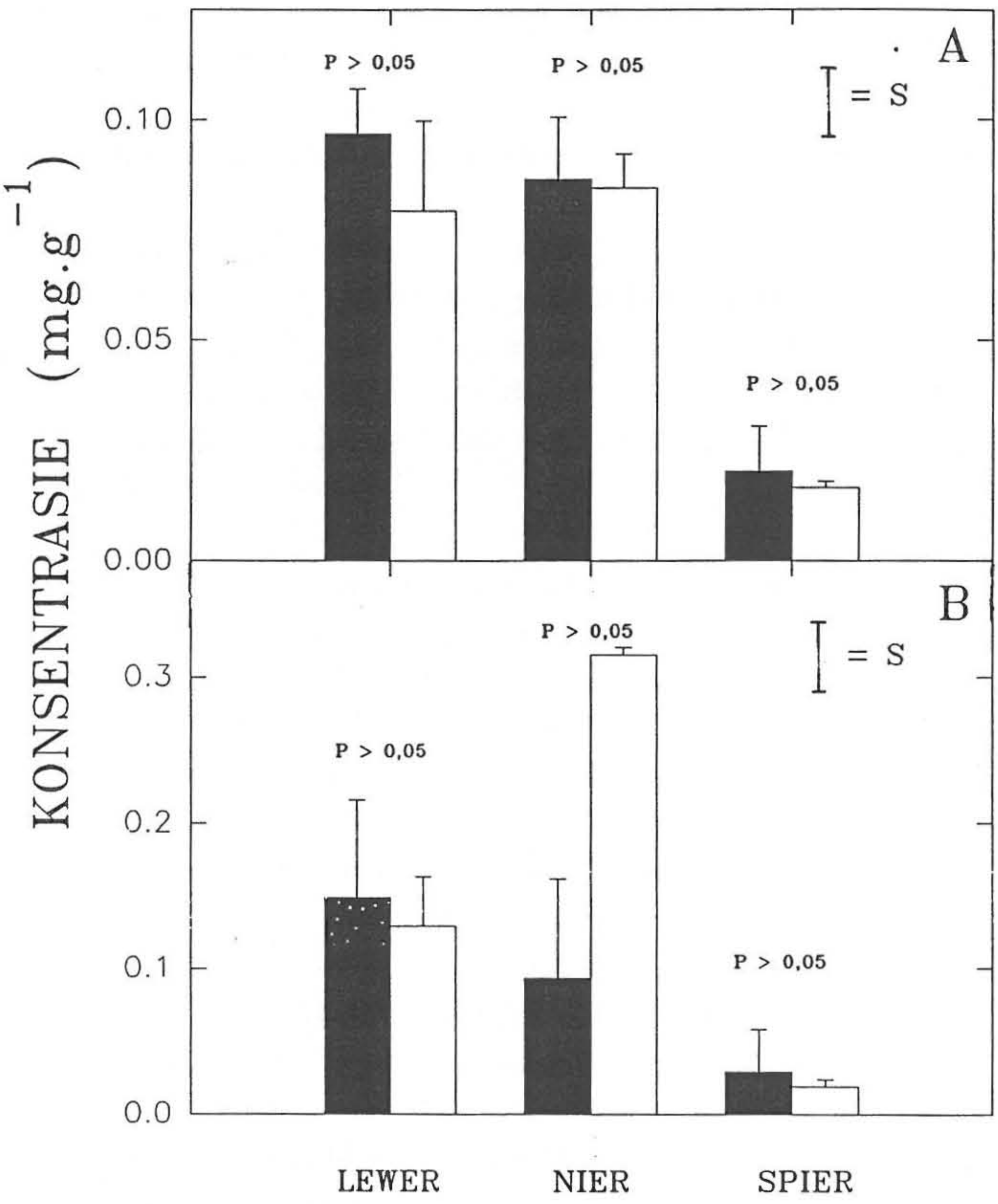


FIGUUR 17: Konsentrasies Cu gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)



FIGUUR 18: Konsentrasies Mn gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde riool-water (donker stafies) en natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenis-volheid van verskille tussen lokaliteite aan)

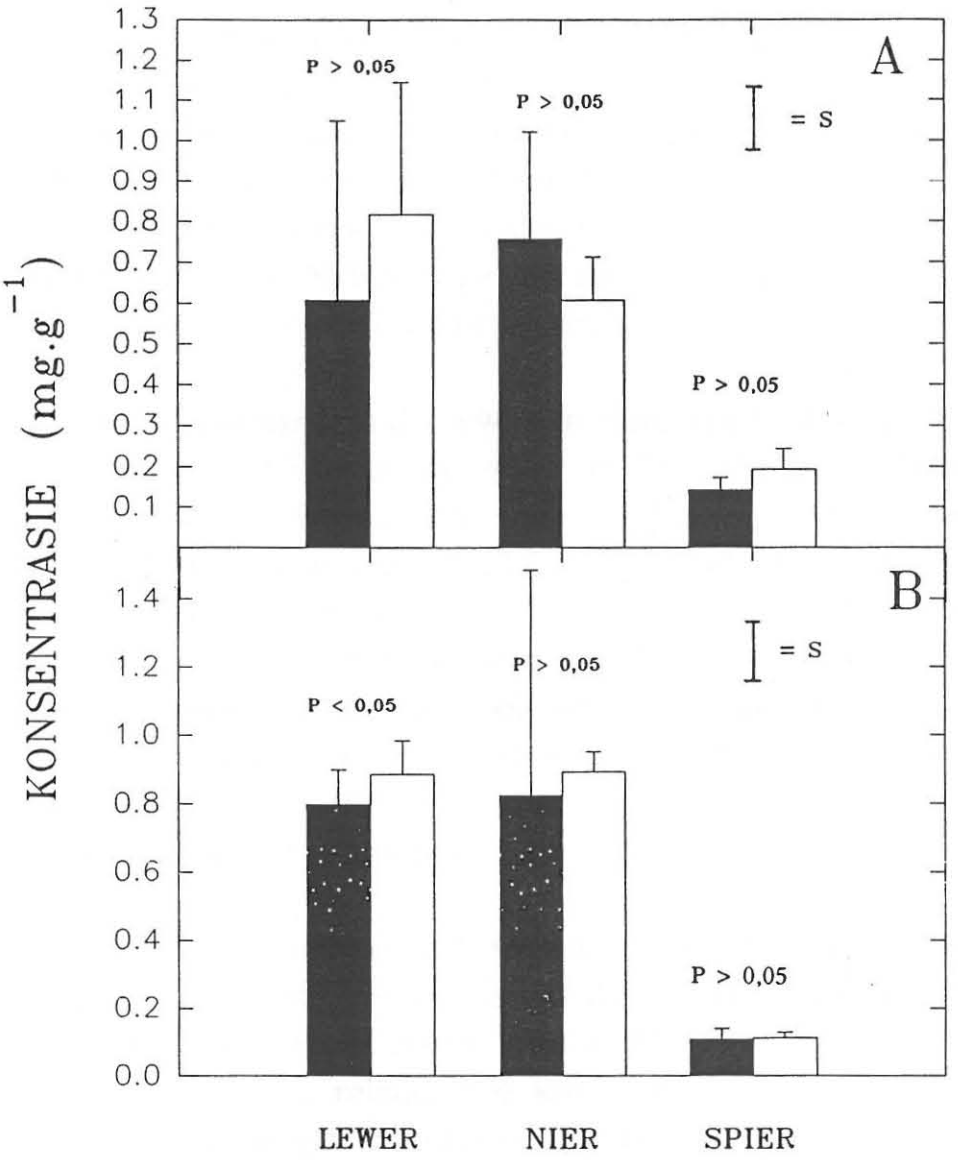
konsentrasie mangaan in die lewer is in Desember in behandelde rioolwater gemeet, naamlik 0,149 $mg.g^{-1}$ (nat massa), maar verskil nie betekenisvol van dié vir visse in natuurlike damwater nie. Gemiddelde waardes van 0,018 $mg.g^{-1}$ en 0,023 $mg.g^{-1}$ (nat massa) is in Junie en Desember respektiewelik in die spierweefsel gemeet.

Droë massa konsentrasies van mangaan wat Massoud *et al.* (1981) in die lewer van *Tilapia* in die Mariutmeer gevind het, het gewissel tussen 0,036 $mg.g^{-1}$ en 0,054 $mg.g^{-1}$. Du Preez en Steyn (1992) het in hulle ondersoek na swaarmetale in die weefsel van die tiervis, *Hydrocynus vittatus,* in die Olifantsrivier (RSA) 'n konsentrasie van 0,006 $mg.g^{-1}$ (nat massa) in die lewer van hierdie vis gevind.

In teenstelling met die hoër konsentrasies mangaan wat in hierdie studie in die lewer van *Clarias gariepinus* gevind is teenoor dit wat in die literatuur beskryf is, rapporteer Mohamed *et al.*, (1990) weer heelwat hoër konsentrasies (2,296 $mg.g^{-1}$ nat massa) in die spierweefsel van *Tilapia*. Hartung (1974) se waarde vir babers in die Mississippirivier (VSA) asook dié van Du Preez & Steyn (1992) vir tiervis in die Olifantsrivier, was egter weer heelwat laer (respektiewelik 0,0004 $mg.g^{-1}$ (nat massa) en 0,002 $mg.g^{-1}$ (nat massa).

Chroomkonsentrasies wat in die onderskeie weefseltipes van *Clarias gariepinus* gevind is, word in figuur 19 aangedui. Die hoogste konsentrasies chroom is in Desember in die lewer (0,888 $mg.g^{-1}$ nat massa) en die niere (0,894 $mg.g^{-1}$ nat massa) van die visse gemeet. Soos in die geval van die vorige metale was die laagste waardes vir chroom in die spierweefsel aangeteken met die Juniekonsentrasie vir visse in natuurlike damwater ietwat hoër as dié vir Desember. Die gemiddelde Junie-Desemberkonsentrasies van chroom in die spierweefsel was baie ooreenstemmend met waardes van 0,125 $mg.g^{-1}$ (nat massa) vir visse in behandelde rioolwater en 0,151 $mg.g^{-1}$ (nat massa) vir visse in natuurlike damwater.

Geen inligting is in die literatuur bekend aangaande chroomkonsentrasies in die lewer en niere van visse nie. In die geval van spierweefsel was die



FIGUUR 19: Konsentrasies Cr gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

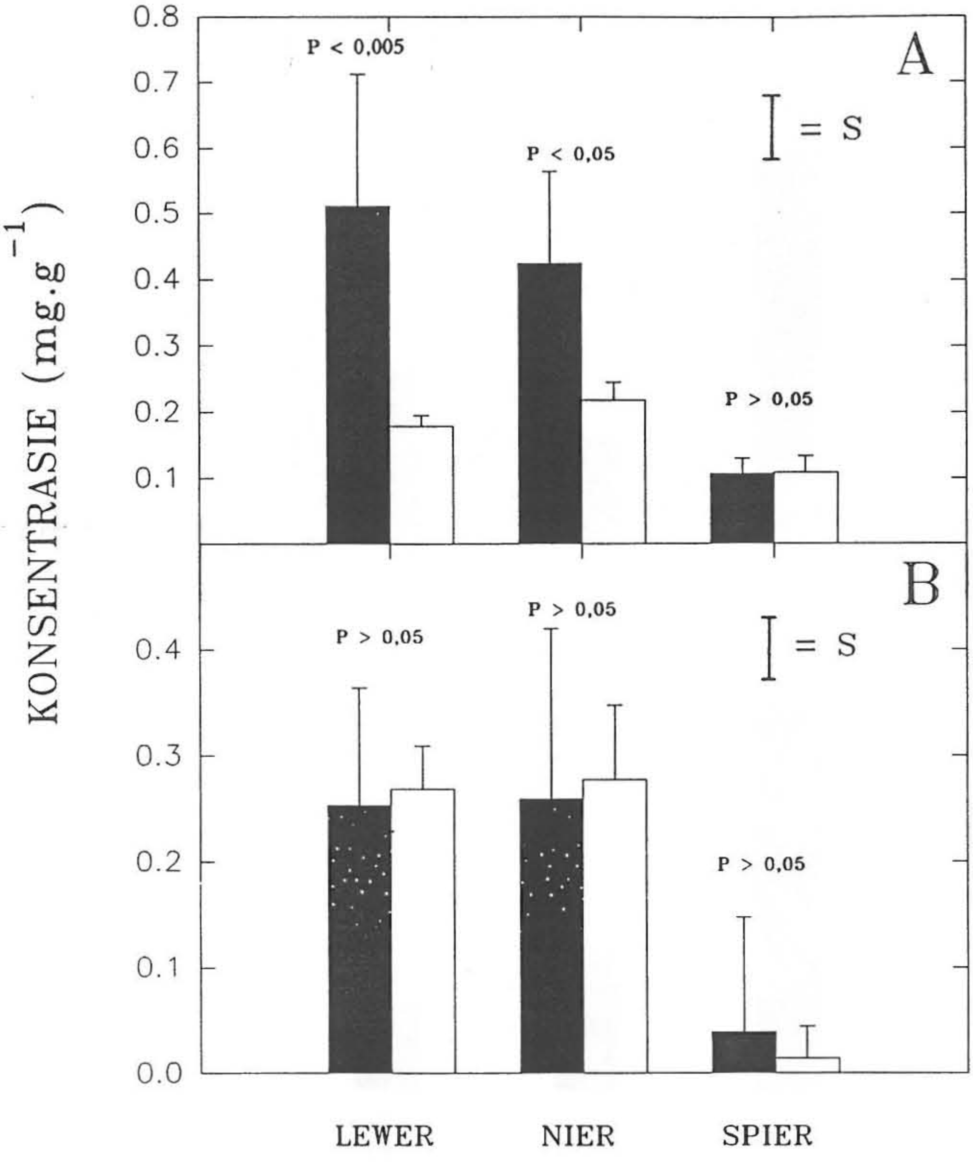
(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

konsentrasies vir *Clarias gariepinus* hoër as dié waaroor Turner *et al.* (1986) verslag lewer vir *Oreochromis mossambicus* (0,003 $mg.g^{-1}$ droë massa) en *Liza macrolepis* (0,002 $mg.g^{-1}$ droë massa) wat in seewater, gemeng met behandelde riooluitvloeisel, aangehou is. Mathis en Cummings (1973) se waardes vir *Cyprinus carpio* en *Carpoides cyprinus* in die Illinoisrivier (VSA) was ook van dieselfde omvang as die van Turner *et al.* (1986). Hierteenoor was die waardes wat Mohamed *et al.* (1990) vir *Tilapia nilotica* in die Nylrivier gevind het, weer heelwat hoër as dié van *Clarias gariepinus* in hierdie studie, naamlik 1,716 $mg.g^{-1}$ (droë massa).

Aluminiumkonsentrasies in die lewer en niere van *Clarias gariepinus* was in Junie betekenisvol hoër by visse in behandelde rioolwater as in natuurlike damwater (figuur 20). In die geval van die lewer was 'n gemiddelde konsentrasie van 0,511 $mg.g^{-1}$ (nat massa) en vir niere 'n gemiddelde konsentrasie van 0,425 $mg.g^{-1}$ vir visse in behandelde rioolwater aangeteken. In Desember was die konsentrasies vir beide die lewer en die niere van visse in rioolwater in ooreenstemming met dié vir natuurlike damwater. Die konsentrasies aluminium in die spiere van die visse was vir beide lokaliteite hoër in Junie ('n gemiddeld van 0,107 $mg.g^{-1}$ nat massa) as in Desember.

Geen waardes is in die literatuur vir aluminium in visweefsel beskikbaar nie. 'n Moontlike rede hiervoor is dat dit nie as gevaarlik vir menslike inname beskou word nie (Carson, Ellis & McCann, 1991). Dit is egter wel in die lig van die relatief hoë konsentrasies wat gedurende hierdie studie in die water aangetref is (figuur 20), ook in visweefsel gemeet.

Ione van ***alkali- en aard-alkalimetale*** was heelwat hoër in konsentrasie in die lewer-, nier- en spierweefsel van *Clarias gariepinus* as in die geval van swaarmetaalione (figure 21, 22, & 23). Die magnesiumkonsentrasies was in beide Junie en Desember 1991 in teenstelling met natrium hoër in spierweefsel as in die lewer en niere van die visse. Hoër konsentrasies natrium as magnesium is weer in die niere aangetref. Die resultate stem ooreen met die normale voorkoms van hierdie metale in die weefsel en organe van organismes. 'n Interessante verskynsel is egter die heelwat hoër konsentrasies kalium wat in Desember in die spierweefsel van *Clarias*

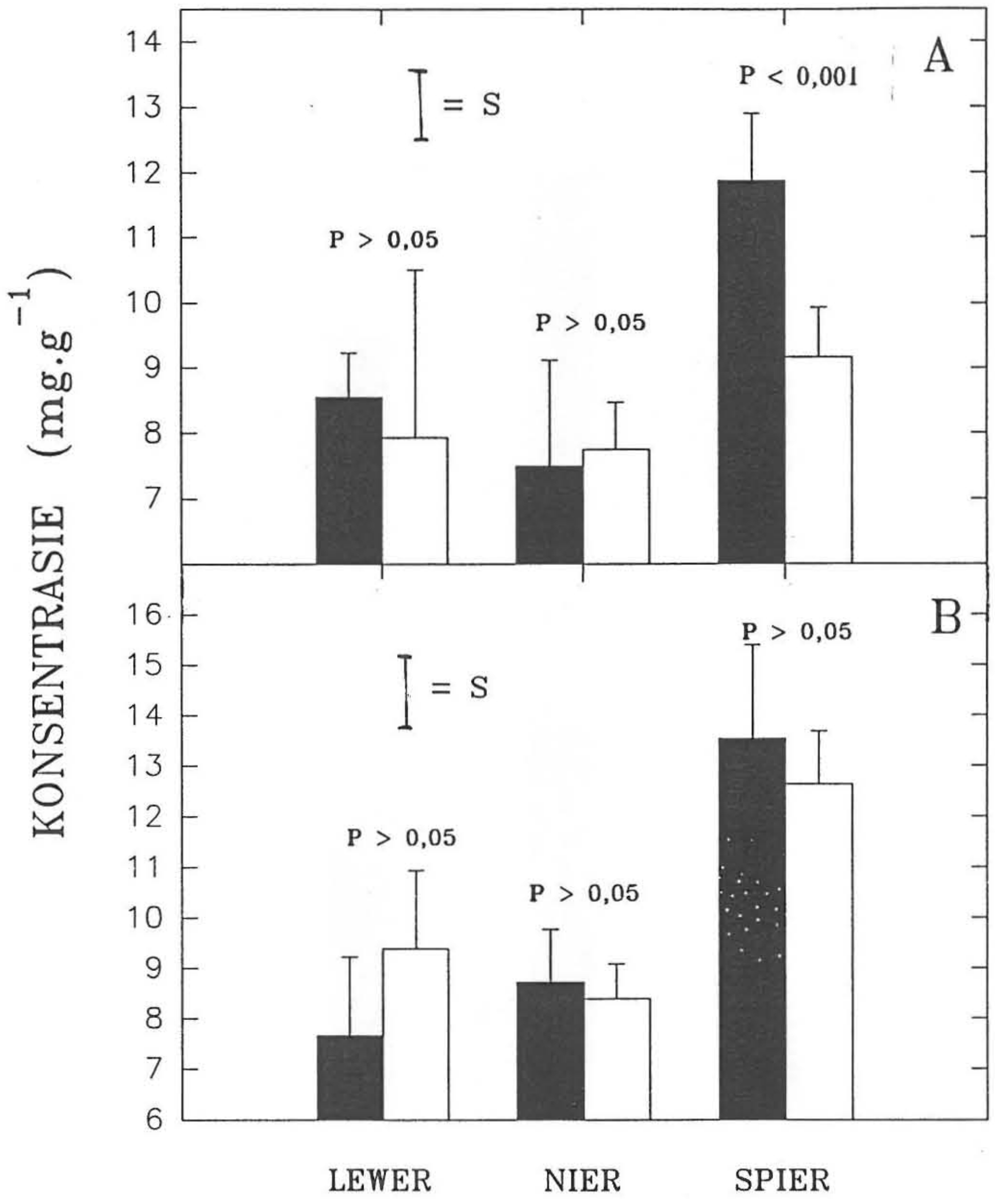


FIGUUR 20: Konsentrasies Al gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

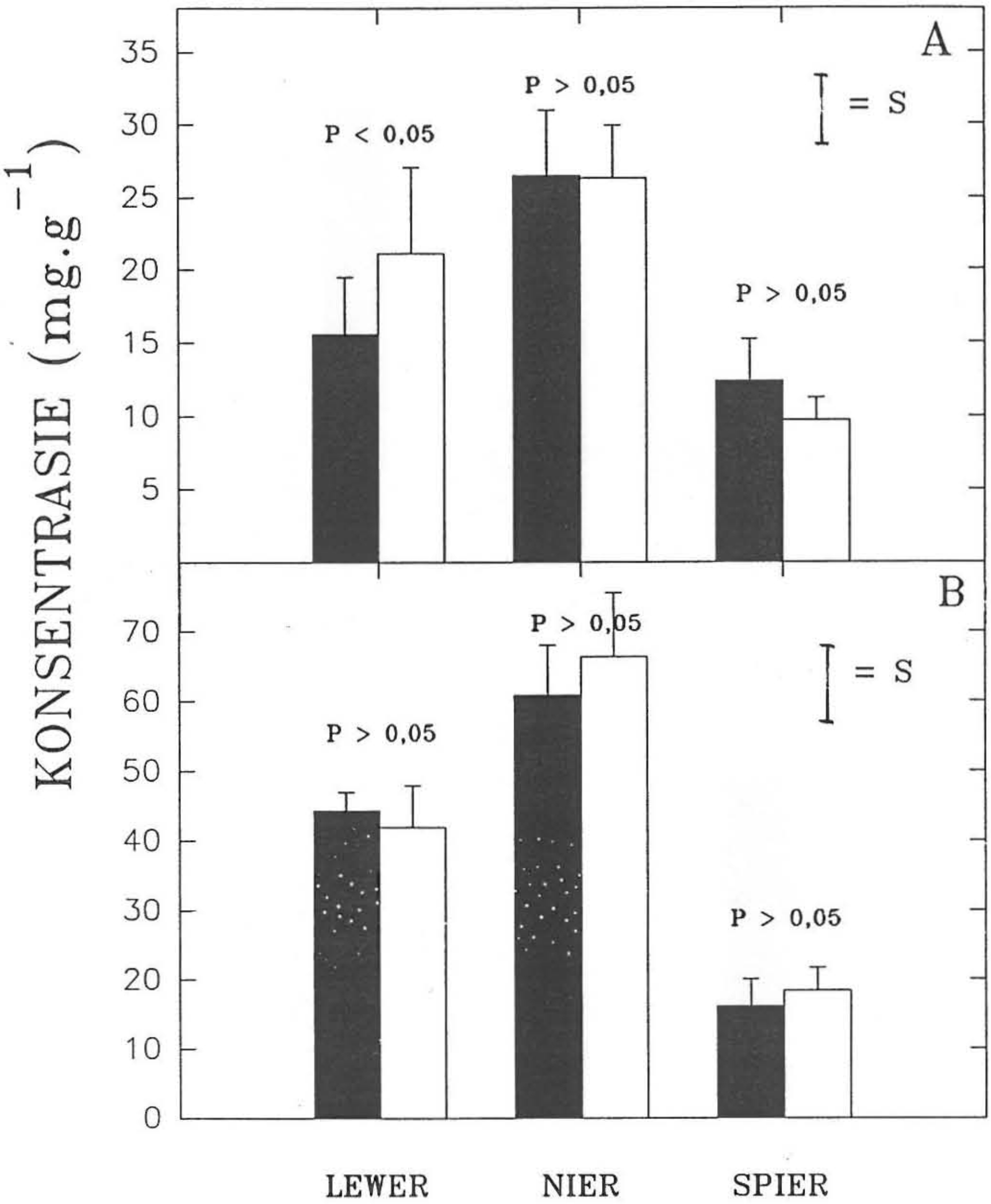


FIGUUR 21: Konsentrasies Mg gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en in natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

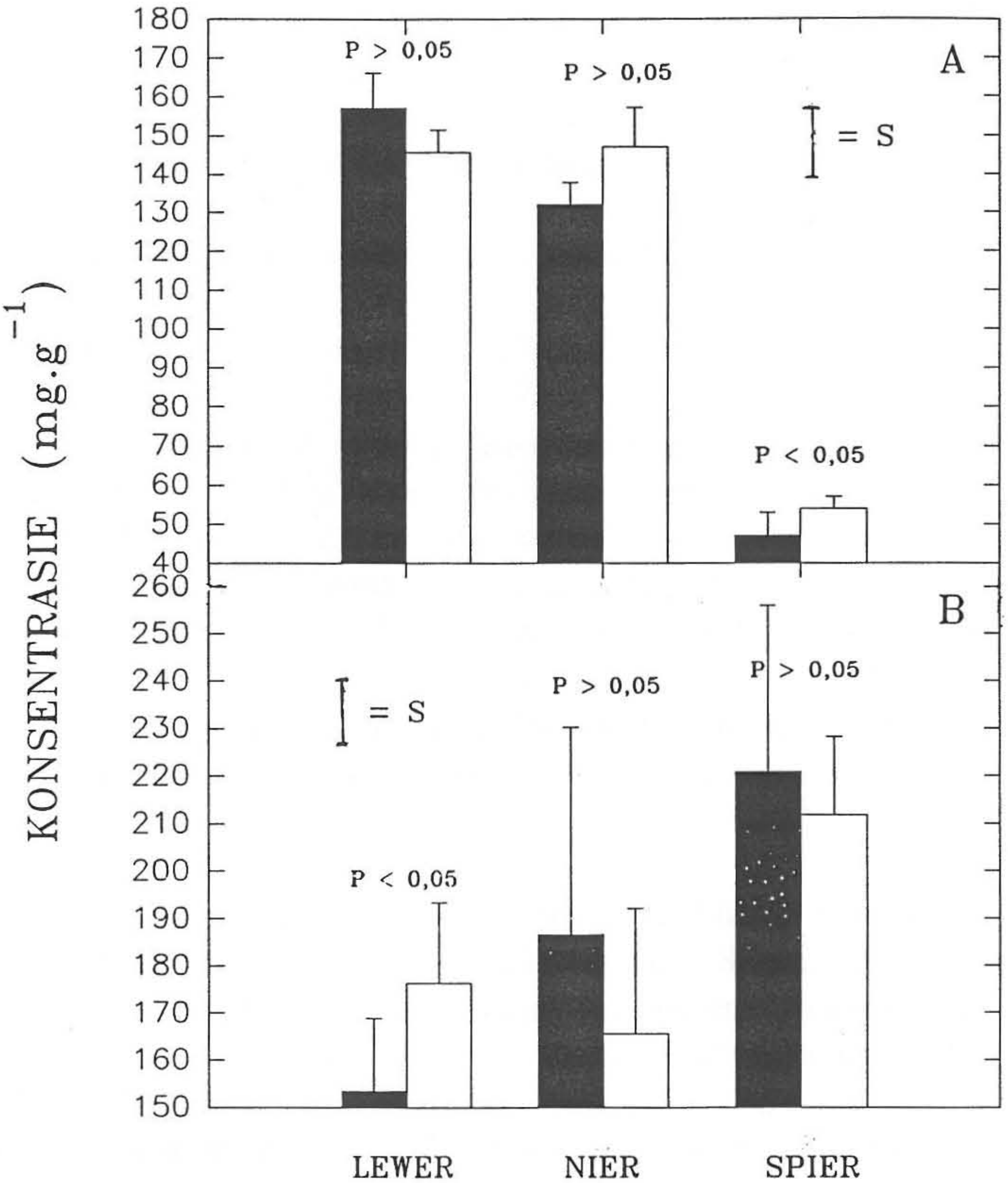


FIGUUR 22: Konsentrasies Na in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)



FIGUUR 23: Konsentrasies kalium (K) gemeet in weefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in 1991 in behandelde rioolwater (donker stafies) en natuurlike damwater (blanko stafies) aangehou is.

A: Visse aangehou vanaf Januarie tot Junie 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

B: Visse aangehou vanaf Januarie tot Desember 1991 waartydens weefsel geanaliseer is

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waardes van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van verskille tussen lokaliteite aan)

gariepinus aangetref is. Geen uniforme patroon in die wisseling van die konsentrasies kalium in die niere en lewer van visse uit beide lokaliteite is waargeneem nie. Die konsentrasies van die drie betrokke metale is egter deurgaans laer as die waardes wat Mohamed *et al.* (1990) in die weefsel van *Tilapia nolitica* in die Nylrivier in Egipte gevind het.

3.6 Mikro-organismes in water en visweefsel

3.6.1 Inleiding

Reeds lank voordat die mikrobiese etiologie van siekte bekend was, is waargeneem dat water as 'n medium in die oordraging van siektes kan dien (USEPA, 1976). Die oorsaak-effek verwantskap van siekte-oordraging en spesifiek fekaal-geassosieerde mikrobes, is oorspronklik deur Von Fritsch in 1880 gedefinieer tydens die identifikasie van *Klebsiella* spp. in menslike feces. Verdere verwantskappe tussen fekaal-geassosieerde mikrobes en potensiële siektes is ontwikkel deur Escherich se beskrywing van *Bacillus coli* (*Escherichia coli*) as 'n indikator van besoedeling (Wolf, 1972; Guarria, 1972).

Mikrobiese indikatore word gebruik om 'n aanduiding van die veiligheid van water vir verskillende gebruike aan te toon (USEPA, 1976). Bakterieë van die kolivormgroep word beskou as die primêre indikatore van fekale kontaminasie en word ook dikwels as indikator vir waterkwaliteit gebruik (USEPA, 1976). Totale kolivormige bakterieë word geassosieer met die feses van warmbloedige diere. Daarenteen is die gebruik van fekale kolivormige organismes bewys as van 'n groter sanitêre belang te wees, aangesien dit beperk is tot die dermkanaal van ektoterme diere (USEPA, 1976). Dit is ook algemeen bekend dat 'n enkele sel van *Salmonella* of 'n enkele plaketvormende eenheid siekte kan veroorsaak.

Volgens die USEPA (1976) word die aanwesigheid van bogenoemde organismes vir die daarstelling van standaarde vir waterkwaliteit gebruik. Tydens die formulering van veilige mikrobiologiese kriteria, moet egter gelet word op die doel waarvoor die water gebruik word, die tipe water en ook die geografiese ligging van die waterbron, aldus die USEPA (1976).

Mikrobiologiese standaarde vir waterkwaliteit van afvalwater in Suid-Afrika blyk skaars te wees. Die regulasie betreffende die vereistes vir die suiwering van afvalwater en afloop, Regulasie 991 van 1984 (Regulasie, 1984), vereis dat afvalwater of afloop geen tipiese (fekale) koli per 100 ml mag bevat nie. Sodanige standaard is egter moeilik haalbaar in die praktyk en is dus ook onprakties, aangesien selfs rivierwater fekale kolivormige organismes as gevolg van dierlike besmetting kan bevat. Die enigste wyse waarop afvalwater aan sodanige standaard kan voldoen, is deur sterilisasie van die water, 'n proses wat duur is. Die afleiding kan dus gemaak word dat bogenoemde standaard daargestel is om organismes in afvalwater tot die minimum te beperk.

Die resultate van die mikrobiologiese analise van water wat in hierdie studie gekry is, word nie met die voorgeskrewe wetlike standaard vir afvalwater vergelyk nie en wel om die volgende redes:

* Die Bloemspruitrioolwerke beskik oor 'n permit van die Departement van Waterwese waarin vrystelling vir chlorinasie gegee is. Dit impliseer dus dat daar nie 'n organismetelling vir hierdie afvalwater voorgeskryf word nie.
* Alle monsters van die behandelde rioolwater is in die eerste verouderingsdam geneem wat nie finale uitvloeisel bevat nie. Indien die watermonsters in die laaste (vyfde) verouderingsdam wat finale uitvloeisel bevat, geneem is, sou dit 'n meer sinvolle interpretasie wees.

Aangesien daar tans geen mikrobiologiese standaarde vir rivierwater in Suid-Afrika bestaan nie, kan die standaard van geen tipiese fekale kolivormige organisme per 100 ml water, as die ideaal beskou word. Daar bestaan wel standaarde vir ontspannings- en skulpviswater in die Verenigde State van Amerika (USEPA, 1976), maar dit is nie in hierdie studie gebruik nie, aangesien dit nie toepaslik is nie.

3.6.2 Mikrobiologiese analises

Bloed- en spierweefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat in die Krugersdriftdam en die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke aangehou is, sowel as watermonsters van hierdie lokaliteite, is getoets vir totale kolivormige organismes (figuur 24), fekale kolivormige organismes (figuur 25), *Salmonella* (figuur 26), kolifage (figuur 27) en *Escherichia coli*.

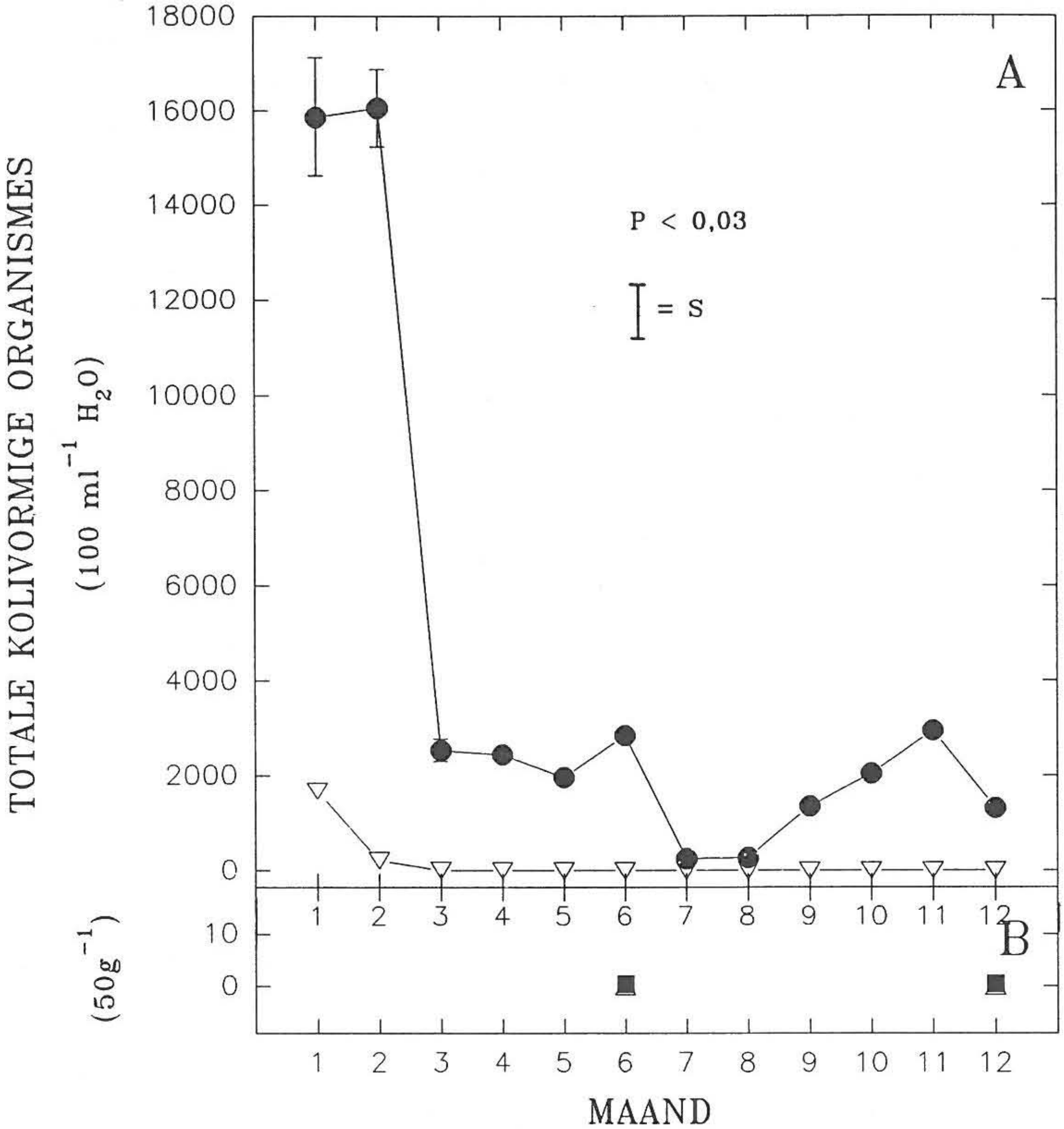
Watermonsters is maandeliks in drievoud direk langs die hokke waarin visse in die Krugersdriftdam en die Bloemspruitrioolwerke (figuur 1) aangehou is, geneem. Monsternemings en mikrobiologiese analises is vanaf Januarie 1991 tot Desember 1992 uitgevoer.

Dieselfde twee visgroepe van die onderskeie lokaliteite wat vir die chemiese analises van visweefsel gebruik is, is ook vir mikrobiologiese analises aangewend. In Junie 1991 is nege visse van elke lokaliteit gemonster en op 'n ewekansige wyse in drie groepe van drie elk verdeel. Dieselfde prosedure is ook in Desember 1991 gevolg.

Vanuit al drie visgroepe per lokaliteit is 'n monster van die bloed, spierweefsel met vel en spierweefsel sonder vel van elke vis vir ontleding versamel. Op elkeen van hierdie monsters is drie aparte ontledings vir bogenoemde organismes uitgevoer.

Totale kolivormige organismes. Die voorkoms van totale kolivormige organismes in die water sowel as in die bloed en die spierweefsel van die visse in beide lokaliteite, word in figuur 24 aangetoon.

Die natuurlike damwater het byna deurgaans geen konsentrasie van die organismes getoon nie, behalwe in Januarie (1,67 x 10^3) en Februarie 1991 (2,2 x 10^2 per 100 ml). Daarenteen het die behandelde rioolwater hoër konsentrasies gedurende Januarie (1,586 x 10^4) en Februarie (1,6 x 10^{-4} per 100 ml) getoon. Gemiddelde waardes is nie vir 1991 bereken nie, aangesien temperatuurfluktuasies van die water as gevolg van seisoenale



FIGUUR 24 A: Totale kolivormige organismes in behandelde rioolwater van Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van water van die Krugersdriftdam (▽ --- ▽) getel vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Totale kolivormige organismes in spierweefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat gedurende 1991 in behandelde rioolwater (■) en natuurlike damwater (△) aangehou is en gedurende Junie 1991 (maand 6) en Desember 1991 (maand 12) ontleed is.

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

TABEL 4: Bakteriologiese kwaliteit van spierweefsel en bloed van *Clarias gariepinus* wa gedurende 1991 in behandelde rioolwater en natuurlike damwater aangehou is.

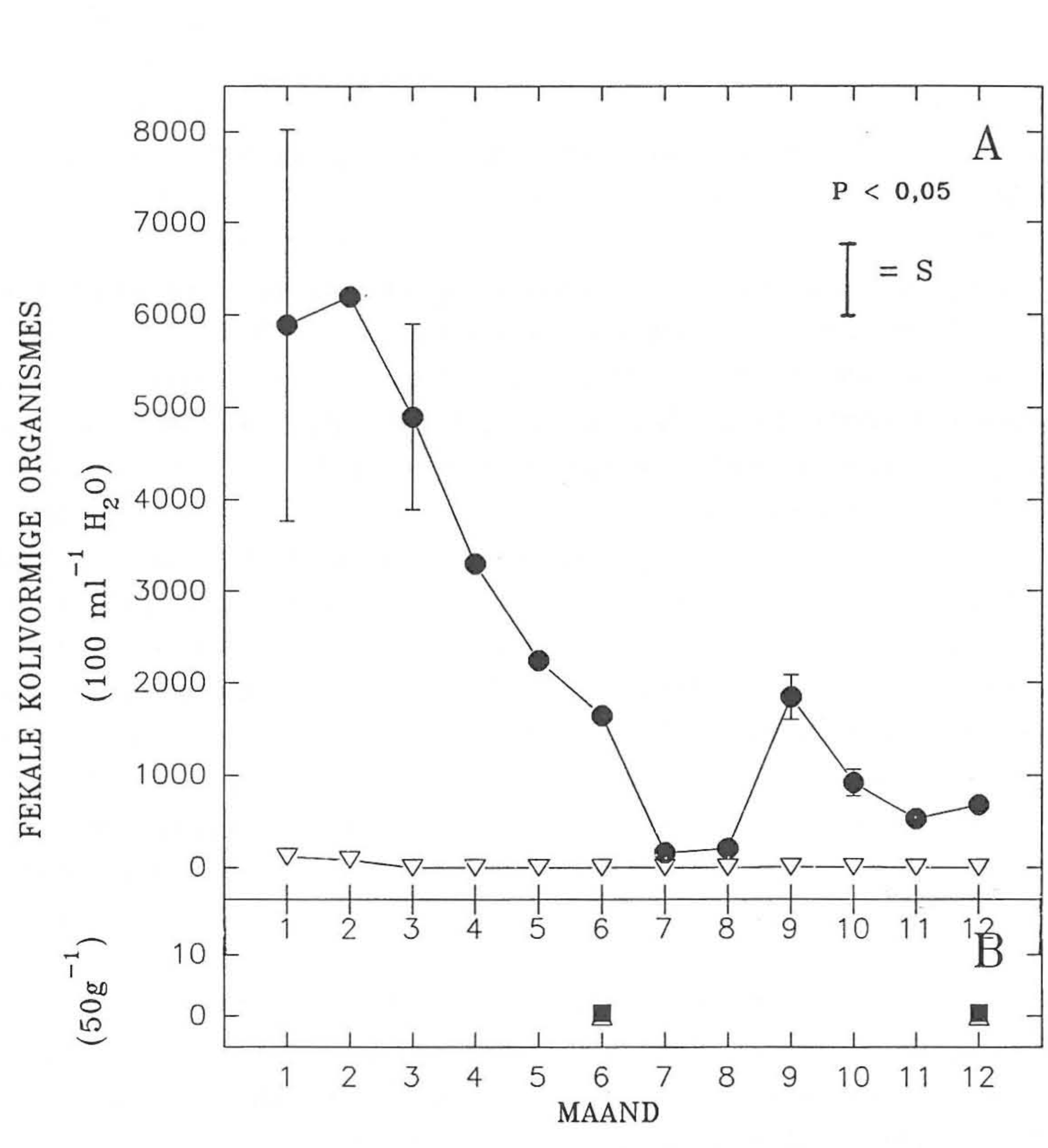
Monster	Totale koli-vormige organismes per 50 g vis		Fekale koli-vormige organismes per 50 g vis		Salmonella persentasie positief		*E. coli* +/-		Kolifage per 50 g vis	
A: BEHANDELDE RIOOLWATER										
	Jun	Des	Jun	Des	Jun	Des	Jun	Des	Jun	Des
Spier-	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
weefsel	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
sonder vel	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
Spier-	2	40	0	0	0	0	-	-	0	0
weefsel	4	41	0	0	0	0	-	-	0	0
met vel	2	38	0	0	0	0	-	-	0	0
Bloed	0	0	2	0	0	0	-	-	0	0
(1 ml)	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
B: NATUURLIKE DAMWATER										
	Jun	Des	Jun	Des	Jun	Des	Jun	Des	Jun	Des
Spier-	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
weefsel	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
sonder vel	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
Spier-	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
weefsel	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
met vel	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
Bloed	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
(1 ml)	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0
	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0

wisseling, 'n wanvoorstelling van die voorkoms van sodanige organismes tot gevolg sal hê.

Die resultate in figuur 24 stem ooreen met sommige van die tellings wat deur Buras, *et al.* (1987) gevind is in behandelde huishoudelike afvalwater. Turner, *et al.* (1986) het in rioolverrykte seewater heelwat laer tellings (7,8 x 10^2 per 100 ml) aangetref. Sulke afvalwater is van hoë bakteriologiese kwaliteit. Geldenhuys en Pretorius (1989) het by 16 °C 'n gemiddelde totale kolivormige organismetelling van 2,1 x 10^4 per 100 ml in rivierwater, wat met behandelde rioolwater besoedel was, gevind. In laasgenoemde ondersoek is ook 'n duidelike seisoenale patroon in die voorkoms van hierdie organismes in die water aangetref (Geldenhuys en Pretorius, 1989) wat ooreenstem met die bevindinge in hierdie studie.

Geen totale kolivormige organismes is by *Clarias gariepinus* in die bloed en spierweefsel waarvan die vel verwyder is, gevind nie (tabel 4). Dit is in ooreenstemming met die resultate van Buras, *et al.* (1987) op *Tilapia* en karp, Turner *et al.* (1986) op *Oreochromis mossambicus* en *Liza macrolepis* en Slabbert, *et al.* (1989) op *Cyprinus carpio*. Slabbert *et al.* (1989) se waardes vir spierweefsel sonder vel vir *Cyprinus carpio*, wat vir ses maande in behandelde rioolwater aangehou is, was hierteenoor heelwat hoër, naamlik 4,5 x 10^3 per 50 g vis. Nieteenstaande hierdie verskil stem die getalsverhouding van totale kolivormige organismes in visweefsel tot dié in die water waarin die visse vooorkom, in hierdie studie baie goed ooreen met dit wat deur Slabbert *et al.* (1989) gevind is. Totale kolivormige organismes is in hierdie studie wel in klein getalle in weefselmonsters met vel van *Clarias gariepinus* gevind (tabel 4).

Fekale kolivormige organismes. Fekale kolivormige organismetellings in die water afkomstig uit die twee lokaliteite het dieselfde tendens as dié vir totale kolivormige organismes getoon (figuur 25). Geen fekale kolivormige organismes is ook in die spierweefsel met en sonder velbedekking van visse in behandelde rioolwater (tabel 4) sowel as in die natuurlike damwater aangetref nie. Die hoogste telling (6,3 x 10^3 per 100 ml) is gedurende Februarie 1991 vir behandelde rioolwater aangeteken



FIGUUR 25 A: Fekale kolivormige organismes in behandelde rioolwater van die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van water van die Krugersdriftdam (▽ --- ▽) getel vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Fekale kolivormige organismes in spierweefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat gedurende 1991 in behandelde rioolwater (■) en natuurlike damwater (△) aangehou is en gedurende Junie 1991 (maand 6) en Desember (maand 12) ontleed is.

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

waarna 'n geleidelike afname tot $1,7 \times 10^2$ per 100 ml in Julie en Augustus 1991 gevind is.

Slabbert *et al.* (1989) het 'n telling van 10^5 per 100 ml in die water van 'n munisipale verouderingsdam aangeteken en 'n nultelling vir die spierweefsel van *Cyprinus carpio* wat vir ses maande in dieselfde water aangehou is. Die tellings in hierdie studie vir water vanuit beide lokaliteite is, net soos in die geval van totale kolivormige organismes, laer as dié van Slabbert *et al.* (1989). Die afleiding kan gemaak word dat die water van 'n biologiese sypelbedding, soos dié van die Bloemspruitrioolwerke, 'n hoër bakteriologiese kwaliteit het as dié van 'n geaktiveerde slykproses waarin Slabbert *et al.* (1989) hul studies uitgevoer het. Met die uitsondering van Januarie tot Mei 1991 was die fekale kolivormige organismetelling wat in hierdie studie in behandelde rioolwater gevind is, laer as dié van Geldenhuys en Pretorius (1989) in die Kliprivier (Vaalrivieropvanggebied) wat met rioolwater besoedel is, naamlik $3,4 \times 10^3$ per 100 ml. Die tellings wat in hierdie studie vir 1991 in die Krugersdriftdam gevind is, is teenoor dié van behandelde rioolwater en bogenoemde outeurs negeerbaar klein. Die behandelde rioolwater van die Bloemspruitrioolwerke het elke maand van 1991 positief vir *Escherichia coli* getoets. In die geval van die Krugersdriftdam is *Escherichia coli* slegs gedurende Oktober en November in die water aangetref.

Geen fekale kolivormige organismes is in die spierweefsel van *Clarias gariepinus*, met en sonder velbedekking, in beide lokaliteite aangetref nie (figuur 25B en tabel 4). Slegs in een geval is twee fekale kolivormige organismes per ml in die bloed van visse in behandelde rioolwater gevind wat moontlik toegeskryf kan word aan kontaminasie tydens die monsteringsproses. Die toets vir *Escherichia coli* het ook negatief op die aanwesigheid van die fekale kolivormige organismes in die bloed getoets.

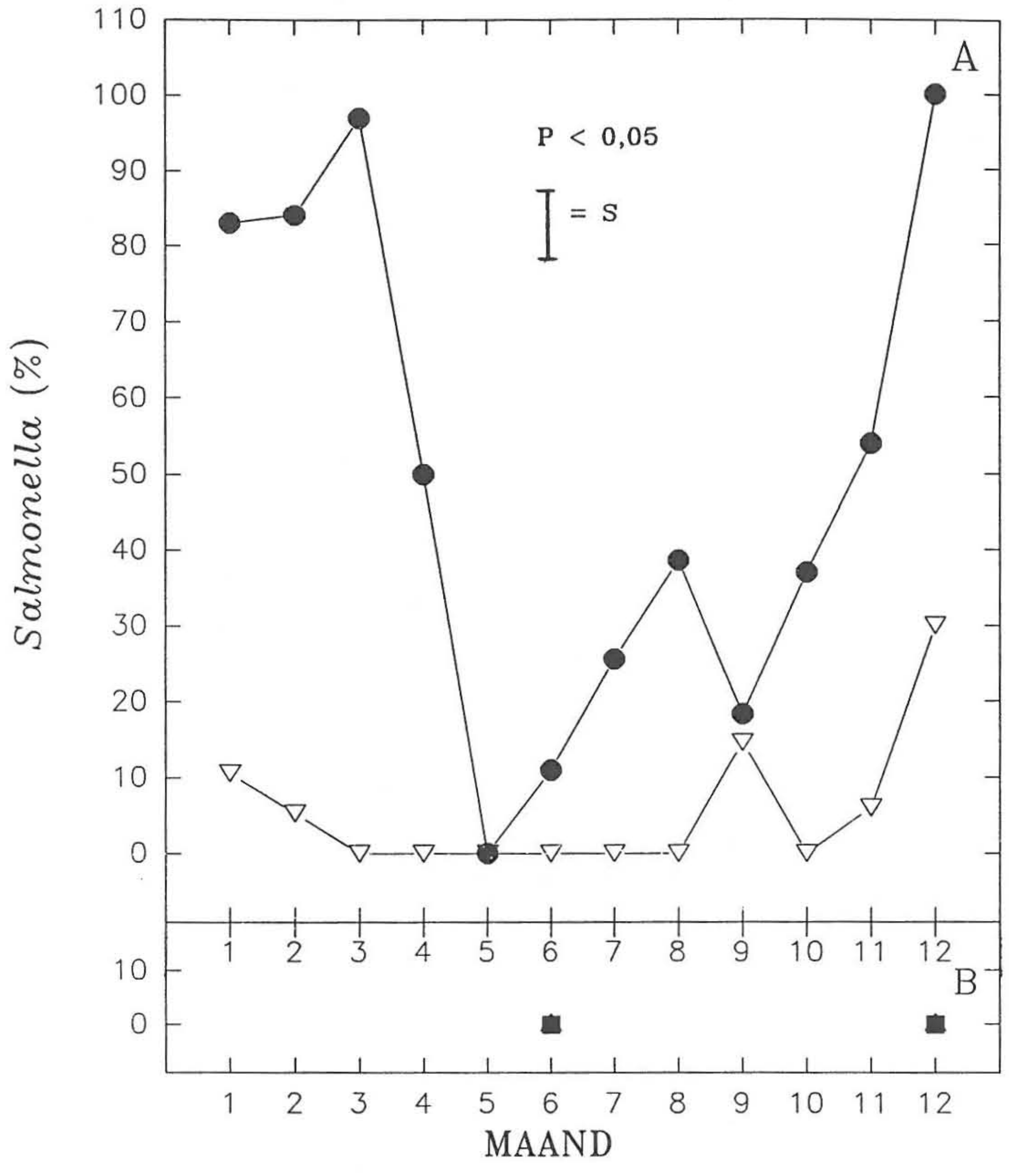
Die resultate van Buras *et al.* (1987) en Slabbert *et al.* (1989) stem ooreen met dié van hierdie studie waar fekale kolivormige organismes in die water aanwesig, maar in die spierweefsel van visse afwesig is. Fattal, Eisawy, Dotan, Shuval en Mancy (1989) het in teenstelling met 'n heelwat hoër voorkoms van *Escherichia coli* in afvalwater as in nie-afvalwater gevind

dat die spierweefsel van *Tilapia*-hibriede wat in hierdie water aangehou is, geen verskille in konsentrasies van hierdie organismes getoon het nie. Dit is in ooreenstemming met die bevindinge van hierdie studie met die uitsondering dat geen *Escherichia coli* in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* aangetref is nie.

***Salmonella*.** Die persentasie watermonsters wat gedurende 1991 positief vir *Salmonella* getoets is, sowel as die totale afwesigheid van hierdie organisme in die spierweefsel en bloed van visse in behandelde rioolwater en natuurlike damwater, word in figuur 26 aangetoon. Met die uitsondering van Mei waartydens geen *Salmonella* in die water aangetref is nie, was die voorkoms van hierdie organisme in behandelde rioolwater telkens hoër as in natuurlike damwater. In beide habitats was die voorkoms ook hoër gedurende die somermaande.

Die groot wisseling in die seisoenale voorkoms van *Salmonella* in behandelde rioolwater, stem goed ooreen met die bevindinge van Cloete, Toerien en Pieterse (1984) in 'n afvalwater behandelingstelsel naby Vereeniging in die Transvaal. Met die uitsondering van Maart en Desember was die persentasies in hierdie studie egter heelwat laer as dié van Slabbert *et al.* (1989) vir stabilisasiedamme naby Pretoria. Die afwesigheid van *Salmonella* in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* in beide habitats (figuur 26), stem ook ooreen met die bevindinge van Buras *et al.* (1987) en Turner *et al.* (1986) vir *Tilapia* spp. en dié van Slabbert *et al.* (1989) vir *Cyprinus carpio*. Buras, Duek en Niv (1985) het wel *Salmonella* in die spierweefsel van *Tilapia uarea* en *Cyprinus carpio* in huishoudelike afvalwater gevind en wel wanneer die konsentrasie van die organismes 5×10^5 per milliliter in die water was.

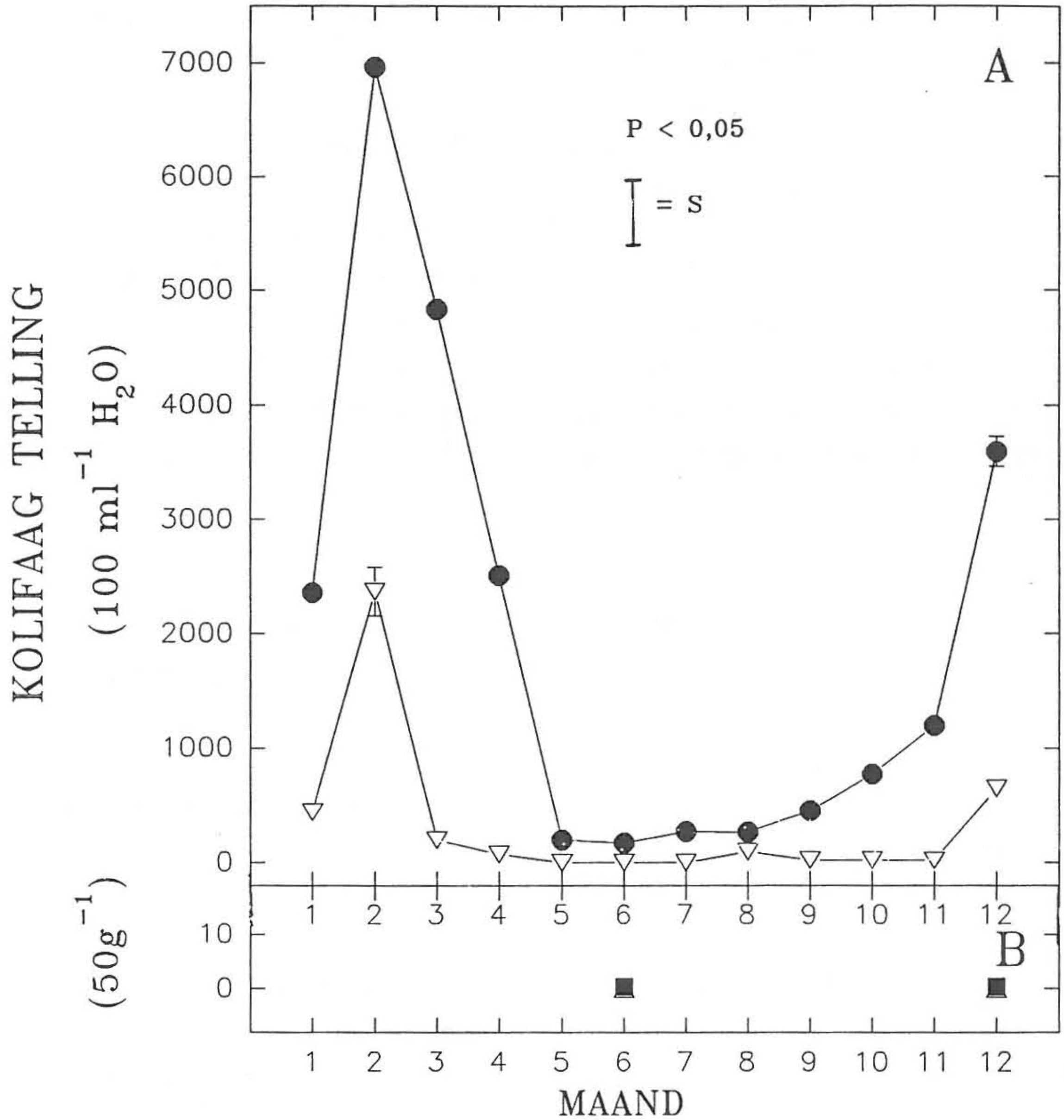
***Kolifage*.** Kolifaagtellings was gedurende 1991 deurgaans hoër in die behandelde rioolwater van die Bloemspruitrioolwerke as in die Krugersdriftdam en in beide habitats was dit ook hoër gedurende die maande met hoër watertemperature (figuur 27). Die hoogste kolifaagtelling van $7{,}0 \times 10^3$ per 100 ml is in Februarie 1991 vir behandelde rioolwater aangeteken. Geen kolifage is in die bloed en spierweefsel van visse wat in beide die habitats aangehou is, aangetref nie.



FIGUUR 26 A: % watermonsters van behandelde rioolwater van die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van water van die Krugersdriftdam (▽ --- ▽) wat vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12) positief vir *Salmonella* spp. getoets is.

B: % spierweefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat gedurende 1991 in behandelde rioolwater (■) en natuurlike damwater (△) aangehou is en gedurende Junie 1991 (maand 6) en Desember 1991 (maand 12) positief vir *Salmonella* spp. getoets is.

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)



FIGUUR 27 A: Kolifage in behandelde rioolwater van die Bloemspruit rioolwerke (● --- ●) en van water van die Krugersdriftdam (▽ --- ▽) getel vanaf Januarie 1991 (maand 1) tot Desember 1991 (maand 12).

B: Kolifage in spierweefselmonsters van *Clarias gariepinus* wat gedurende 1991 in behandelde rioolwater (■) en natuurlike damwater (△) aangehou is en gedurende Junie 1991 (maand 6) en Desember 1991 (maand 12) ontleed is.

(S = standaardafwyking van die gemiddelde waarde)
(P-waarde van die Student t-toets dui die betekenisvolheid van die verskil in gemiddelde waardes van die twee lokaliteite oor 12 maande aan)

In vergelyking met die tellings wat ander outeurs vir natuurlike waterbronne en munisipale suiweringswerke rapporteer, blyk die virologiese standaard van die verouderingsdamme van die Bloemspruitrioolwerke vir ten minste 'n groot deel van die jaar relatief hoog te wees. Slabbert *et al.* (1989) het tellings van so hoog as $4,7 \times 10^5$ per 100 ml water en Grabow, *et al.* (1984) tellings van $3,8 \times 10^5$ per 100 ml water in onderskeidelik 'n munisipale stabilisasiedam en ongesuiwerde rioolwater naby Pretoria gevind. Daarteenoor was die waardes van Geldenhuys en Pretorius (1989) vir besoedelde rivierwater in Transvaal heelwat laer en van dieselfde orde as in hierdie studie. Die afwesigheid van kolifage in die bloed en spierweefsel van *Clarias gariepinus* in hierdie studie, stem ooreen met die bevindinge van Slabbert *et al.* vir *Cyprinus carpio* aangehou in 'n munisipale stabilisasiedam.

3.7 REëNVALSYFERS IN DIE MODDERRIVIEROPVANGGEBIED GEDURENDE 1991

Reënvalsyfers (tabel 5) is gedurende 1991 vir die Modderrivieropvanggebied versamel ten einde 'n moontlike verdunning of konsentrering van metale in die water van die twee lokaliteite waarin visse aangehou is, te verklaar.

Dit dien vermeld te word dat die reënvalsyfers in tabel 5 slegs vir 1991 geldig is en nie die gemiddelde jaarlikse syfers vir die gebied verteenwoordig nie.

TABEL 5: Reëlvalsyfers vir die Modderrivieropvanggebied gedurende 1991 (mm).

MAAND	TOTAAL
Januarie	141,6
Februarie	98,4
Maart	145,3
April	2,5
Mei	0,0
Junie	21,8
Julie	4,1
Augustus	0,0
September	42,7
Oktober	216,0
November	54,0
Desember	52,0

4. ALGEMENE BESPREKING

4.1 Inleiding

Om vas te stel of water bruikbaar is, maak die gebruiker daarvan hoofsaaklik op sy sintuie staat. Die voorkoms, smaak en reuk van die water sal bepaal of dit aanvaarbaar is al dan nie. Die primêre doel van hierdie studie was om op 'n wetenskaplike wyse vas te stel of die vlakke van geselekteerde metaalione en mikro-organismes in visse aangehou in behandelde rioolwater, hoër is as dié in visse van 'n nabyliggende natuurlike waterbron en dus 'n moontlike gesondheidsgevaar vir die mens kan inhou.

Die waterkwaliteitsdata wat in hierdie studie versamel is, moet ten einde bogenoemde doelwit te bereik met kwaliteits kriteria van die United States Environmental Protection Agency (USEPA) en die Wêreldgesondheidsorganisasie (WHO) vergelyk word. Hierdie kriteria is ook geldig vir akwatiese stelsels waarin vis aangetref en deur die mens as 'n voedselbron gebruik word. In sommige gevalle stel bogenoemde twee organisasies slegs kriteria vir huishoudelike water wat gerig is op die beskerming van menslike gesondheid en wat nie noodwendig vir die beskerming van waterlewe geldig is nie. Die veiligheid van menslike gebruik van visse wat in water wat aan die kriteria vir huishoudelike water voldoen, aangehou word, kan egter nie deur bogenoemde kriteria gewaarborg word nie, aangesien waterorganismes daarvoor bekend is dat hulle toksiese stowwe in hulle liggaamsweefsel tot hoër vlakke kan akkumuleer. Maksimum menslike blootstellingsvlakke vir die inname en biologiese monitering van metale, word egter in tabel E-1 (BYLAE E) aangedui. Dié blootstellingsvlakke is 'n samevatting van data wat deur verskeie navorsers bepaal is en word volgens Carson *et al.* (1991) as veilig beskou.

4.2 Metaalioonkonsentrasies in water en visweefsel

Kwik: Die kwikkonsentrasie in watermonsters van beide monsternemingslokaliteite was deurgaans laer as 1 $\mu g.L^{-1}$ wat minder is as

die aanbevole vlak van 5 $\mu g.L^{-1}$ vir drinkwater wat deur die Suid-Afrikaanse Buro vir Standaarde (SABS) voorgestel word. Die WHO (1984) beveel egter aan dat slegs 1 $\mu g.L^{-1}$ kwik in drinkwater toegelaat moet word, aangesien 'n inname van 2 liter water per dag teen hierdie konsentrasie ongeveer 10 % van die verdraagsame kwikinname vir 'n mens is (WHO, 1984). Daarteenoor beveel die USEPA (1976) 'n maksimum konsentrasie van 2 $\mu g.L^{-1}$ vir huishoudelike drinkwater en 0,05 $\mu g.L^{-1}$ vir varswaterbronne wat waterlewe onderhou, aan. Die konsentrasies van beide bogenoemde organisasies is baie laer as die 20 $\mu g.L^{-1}$ wat deur Suid-Afrikaanse wetgewing vir afvalwater (Regulasie, 1984) toegelaat word.

Alhoewel die water van die Krugersdriftdam en dié van die verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke aan die kriteria van die bogenoemde instansies voldoen, het Hannerz reeds in 1968 bewys dat alge en waterplante kwik deur middel van oppervlakabsorbsie akkumuleer waar konsentrasies van so laag as 100 $\mu g.L^{-1}$ in die water teenwoordig was. McKim *et al.* (1976) het ook bevind dat vis oor 'n tydperk van 20 tot 48 weke meer as 0,5 $\mu g.g^{-1}$ kwik in hul weefsel akkumuleer in water met 'n metiel-kwikkonsentrasie wat gewissel het tussen 0,018 en 0,030 $\mu g.L^{-1}$. Visse wat deur Mount (1974) aan 0,8 tot 0,41 $\mu g.L^{-1}$ kwik blootgestel is, het binne drie maande gevrek.

Uit die resultate van hierdie studie kan die afleiding gemaak word dat die lae kwikvlakke in die water van beide monsternemingslokaliteite nie vir vis sowel as vir die mens gevaarlik is nie, maar indien die konsentrasies daarvan in die Krugersdriftdam sou vermeerder, akwatiese lewe nadelig beïnvloed kan word. Die voorkoms van lae kwikvlakke in water kan egter misleidend wees in die lig van die feit dat hierdie hoogs toksiese metaal tot hoë vlakke in weefsel akkumuleer. Hierdie feit word ondersteun deur die relatief hoë kwikkonsentrasies wat in die spierweefsel van visse in hierdie studie aangetref is in vergelyking met nier- en lewerweefsel (figuur 13). Die laagste konsentrasies metiel-kwik in bloed en hare wat met toksiese simptome geassosieer word, word volgens epidemiologiese data in "Methyl Mercury in Fish" (Anonymous, 1971) op respektiewelik 0,2 $\mu g.g^{-1}$ en 60 $\mu g.g^{-1}$ gereken. Hierdie waardes korreleer met 'n chroniese blootstelling

van ongeveer 300 μg/70 kg liggaamsmassa per dag. Ten einde veilige inname van kwik te verseker, is laasgenoemde vlak met 'n faktor 10 tot 30 μg/persoon/dag deur bogenoemde bron verminder. Hierdie bron beklemtoon ook dat indien alle ander voedselbronne asook waterinname uitgesluit word en slegs vis geëet word, die maksimum daaglikse inname van vis wat 0,5 $mg.kg^{-1}$ kwik bevat, nie 60 gram (420 g/week) mag oorskry nie. Hierdie vlak vir kwik word ook deur die "Food and Drug Administration" (FDA, 1974) vir alle lewende hawe wat deur die mens as voedselbron gebruik word, voorgestel. Die USEPA (1976) beskou ook visse as veilig vir menslike gebruik wanneer die water waarin die vis aangehou word, nie die vlak van 0,05 $\mu g.L^{-1}$ kwik oorskry nie.

Alhoewel die gemiddelde kwikkonsentrasies in die spierweefsel van visse in sowel behandelde rioolwater as natuurlike damwater laer was as die 0,5 $mg.kg^{-1}$ wat deur die FDA (1974) as 'n limiet voorgestel word, is die gemiddelde waarde van 0,406 $\mu g.g^{-1}$ wat vir visse in laasgenoemde lokaliteit gemeet is, verontrustend.

Lood: Die toksisiteit van lood in water word net soos ander swaarmetale deur pH, hardheid, organiese stowwe en die teenwoordigheid van ander metale bepaal. Die loodioonkonsentrasie in water kan byvoorbeeld wissel van 500 $\mu g.L^{-1}$ vir sagte water tot 3 $\mu g.L^{-1}$ vir harde water (USEPA, 1976).

Die WHO (1984), USEPA (1976) en SABS (1984) stel 'n maksimum loodioonkonsentrasie van 0,05 $mg.L^{-1}$ vir huishoudelike drinkwater voor terwyl Suid-Afrikaanse wetgewing 'n maksimum van 0,1 $mg.L^{-1}$ vir afvalwater toelaat. In hierdie studie is 'n gemiddelde konsentrasie van 0,0226 $mg.L^{-1}$ met 'n maksimum van 0,068 $mg.L^{-1}$ in Februarie 1991 aangeteken wat heelwat laer is as die voorgeskrewe maksimum waardes. Alhoewel dit die maksimum konsentrasies vir drinkwater oorskry, voldoen dit wel nog aan die Suid-Afrikaanse standaard vir industriële afvalwater. Volgens McCabe (1970) word lood egter selde in konsentrasies hoër as 0,05 $mg.L^{-1}$ in afvalwater aangetref en in die lig hiervan is die Februarie 1991-waarde vir die Krugersdriftdam tog kommerwekkend.

'n Moontlike verklaring vir die hoë loodvlakke gedurende Februarie 1991 kan die akkumulasie van besoedelingstowwe op ondeurdringbare oppervlakke gedurende die voorafgaande droogte in die gebied wees, gevolg deur 'n oormatige afwassing daarvan gedurende die daaropvolgende reënseisoen. Die reënvalsyfers, aangedui in tabel 5, ondersteun hierdie vermoede. Verdere faktore wat moontlik tot hierdie hoë loodvlakke kon bydra, is 'n toename in boubedrywighede en verhoogde verkeersvloei in die opvanggebied.

Ten minste twee benaderings kan gevolg word wanneer 'n veilige loodkonsentrasie in voedsel en water vasgestel word. Eerstens kan gelet word na die vlak wat lood in die bloed bereik en tweedens kan voorsiening gemaak word vir 'n aanvaarbare weeklikse inname van die stof (WHO, 1984). Die Gemeenskaplike FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (WHO, 1972) het 'n veilige inname van 3 mg lood per week bepaal. Geen veilige weeklikse inname is vir kinders vasgestel nie.

'n Waterinname met 'n loodkonsentrasie van 100 $\mu g.L^{-1}$ per week kan daartoe lei dat die maksimum bloed-loodvlak van 30 $\mu g.L^{-1}$ wat as veilig vir kinders beskou word, oorskry word (WHO, 1977). Volgens hierdie organisasie sal die verdraagsame weeklikse inname van 3 mg lood vir volwassenes ook oorskry word indien 'n dieet gevolg word wat, tesame met 'n waterinname van 100 $\mu g.L^{-1}$, meer as 230 μg lood per dag bevat. Indien die gemiddelde loodvlak in drinkwater nie meer as 50 $\mu g.L^{-1}$ lood is nie, sal die 3 mg weeklikse loodinname nie oorskry word nie, selfs al sluit 'n daaglikse dieet 300 μg lood in (WHO, 1972). *Clarias gariepinus* wat in die Bloemspruitverouderingsdam en in die Krugersdriftdam aangehou is, bevat minder as 10 μg lood per gram spierweefsel en kan dus ten opsigte van hierdie metaal as veilige voedsel beskou word, mits nie meer as 30 g vis per dag (210 g/week) geëet word nie en slegs water met 'n lae loodinhoud gedrink word. Dit dien egter weer vermeld te word dat die loodkonsentrasies in die spierweefsel van babers in die verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke laer was as die van babers in die Krugersdriftdam. Dit mag ook moontlik wees dat die verskil tussen die konsentrasies in die niere en die spierweefsel, veroorsaak is

deur die akkumulasie van anorganiese soute in die niere, terwyl organiese soute elders in die liggaam akkumuleer.

Sink: Die sinkkonsentrasies wat respektiewelik in behandelde rioolwater en natuurlike damwater gevind is, was deurgaans laer as die maksimum konsentrasie van 5 $mg.L^{-1}$ wat deur alle gesaghebbende waterkwaliteitsinstansies voorgeskryf word. Volgens WHO (1984) is die genoemde maksimum konsentrasie hoofsaaklik om estetiese redes daargestel, aangesien hoër konsentrasies in water 'n onaangename smaak tot gevolg het en 'n ghriesagtige laag op die water veroorsaak wanneer dit gekook word.

Die daaglikse vereiste sinkinname deur middel van voedsel vir die mens, word afhangend van ouderdom en geslag, op 4 tot 10 mg gestel (WHO, 1984). Voorskoolse kinders benodig ongeveer 0,3 mg Zn per kg liggaamsmassa (USEPA, 1976). Aangesien 'n groot sinktekort volgens die National Academy of Sciences (NAS, 1980) by inwoners van die VSA aangetref word, beveel Taylor, DeMayo & Taylor (1982) aan dat sink in konsentrasies van 1,1 mg/dag vir babas, 2,2 mg/dag vir kinders en volwassenes, 2,8 mg/dag tydens puberteit, 2,55 tot 3,0 mg/dag gedurende swangerskap en 5,45 mg/kg gedurende laktasie ingeneem moet word. 'n Langtermyn-inname van hoër sinkkonsentrasies sal volgens die WHO (1984) nie nadelige gevolge vir die mens inhou nie, aangesien die menslike liggaam oortollige sink geredelik in die feses uitskei. Volgens Carson, *et al.* (1991) is 'n orale inname van sink, gebaseer op 'n LD_{50}-omvang van 1 tot 3 $mg.kg^{-1}$ liggaamsmassa vir rotte, nie toksies vir die mens nie. Die maksimum konsentrasie van 0,3 $mg.g^{-1}$ spierweefsel wat in *Clarias gariepinus* in hierdie studie gevind is, hou dus geen gevaar vir die menslike gebruik van hierdie vis in nie, mits daar nie oormatige hoeveelhede per dag ingeneem word nie.

Yster: Die ysterkonsentrasie in behandelde rioolwater het, anders as in die geval van die Krugersdriftdam, nooit die voorgeskrewe maksimum vlak van 0,3 $mg.L^{-1}$ (USEPA, 1976; WHO, 1984) vir drinkwater en afvalwater (Regulasie, 1984) oorskry nie. Die konsentrasies ysterione wat gedurende die eerste helfte van 1991 in die Krugersdriftdam gemeet is, is hoër as die

bogenoemde voorgeskrewe waarde wat volgens die WHO (1984) 'n onaangename smaak van water tot gevolg kan hê. Die hoër ysterinhoud van die water van die Krugersdriftdam in vergelyking met dié van die verouderingsdam (figuur 6A), kan toegeskryf word aan die hoër ysterinhoud in die sediment van eersgenoemde habitat (tabel 3).

Volgens Sollman (1957) neem die mens in 'n normale dieet ongeveer 7 tot 35 mg yster per dag in. 'n Gemiddelde inname is volgens laasgenoemde outeur sowat 16 mg per dag. 'n Gemiddelde daaglikse inname van 10 mg word vir mans en 18 mg vir vrouens aanbeveel (NAS, 1980). Aangesien die lewers en niere van die proefdiere hoë ysterkonsentrasies (> 35 $mg.g^{-1}$) bevat, word die organe nie vir menslike verbruik aanbeveel nie. Die ysterioonkonsentrasies wat in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* in hierdie studie gemeet is, is onbeduidend laag en hou geen gesondheidsgevaar met inname daarvan in nie. Dieselfde kan egter nie in die geval van die lewer en niere van hierdie vis gesê word nie (figuur 16). Selfs 'n inname van slegs een gram lewer of nier van *Clarias gariepinus* per dag tydens chroniese blootstelling (inname), sal die voorgeskrewe konsentrasies oorskry wat volgens Carson *et al.* (1991) tot hemosiderose of selfs hemokromatose kan lei.

Koper: 'n Maksimum konsentrasie van 1,0 $mg.L^{-1}$ word vir koper in drinkwater (USEPA, 1976; WHO, 1984; SABS, 1984) en in gesuiwerde afvalwater (Regulasie, 1984) aanbeveel. Die hoogste gemiddelde konsentrasie wat in hierdie studie gemeet is, was 0,056 $mg.L^{-1}$ vir natuurlike damwater. Met 'n normale waterinname van twee liter per dag, kan die gemete koperkonsentrasies in hierdie studie geen gesondheidsgevaar inhou nie.

Die fisiologiese liggaamsbehoefte van die mens aan hierdie spoormetaal wissel volgens die National Academy of Science (1980) tussen 2 en 3 mg per dag. Volgens Sollman (1957) benodig jong kinders ongeveer 0,1 mg koper per dag en volwassenes ongeveer 2 mg/dag. Die spierweefsel van *Clarias gariepinus* in behandelde rioolwater en natuurlike damwater het baie lae konsentrasies van hierdie metaalioon bevat (respektiewelik 6,6 en 3,8 $\mu g.g^{-1}$) en hou dus geen gevaar vir menslike gebruik in nie. Die

konsentrasies in figuur 17 is laer as waardes in die literatuur vir ander varswater-visspesies. Cross, Hardy, Jones en Barber (1973) en Bryan (1976) skryf hierdie verskynsel toe aan die besondere vermoë van sekere visspesies om koper en sink teen 'n hoë tempo uit te skei. Volgens beskikbare inligting is daar ook geen aanduiding dat 'n chroniese blootstelling aan koper in konsentrasies, soos gevind in *Clarias gariepinus*, 'n karsinogeniese of mutageniese gevaar vir die mens inhou nie (Moore en Ramamoorthy, 1984).

Mangaan: Wanneer mangaanioonkonsentrasies in water 150 $\mu g.L^{-1}$ oorskry, word klagtes gewoonlik van die publiek ontvang (Griffen, 1960; WHO, 1984). Hierdie klagtes handel meesal oor bruin vlekke op wasgoed en die onaangename smaak van die water. Dit is ook moontlik dat die teenwoordigheid van klein konsentrasies yster in die water die nadelige effekte van mangaan kan verhoog (WHO, 1984). 'n Maksimum konsentrasie van 50 $\mu g.L^{-1}$ (USEPA, 1976) en 100 $\mu g.L^{-1}$ (WHO, 1984) word deur verskillende owerhede vir huishoudelike drinkwater aanbeveel. Die gemiddelde konsentrasie van mangaan in behandelde rioolwater (22,8 $\mu g.L^{-1}$) en dié in natuurlike damwater (19,4 $\mu g.L^{-1}$) in hierdie studie is egter heelwat laer.

Die gemiddelde daaglikse mangaaninname deur die mens word volgens Sollman (1957) op ongeveer 10 mg bereken, terwyl die NAS (1973) beweer dat dit ongeveer 3 tot 7 mg per dag is. 'n Volwasse persoon benodig egter slegs 2,5 tot 5 mg per dag (NAS, 1980). 'n Oormatige inname van hierdie metaal kan lewerskade veroorsaak, maar slegs enkele gevalle hiervan is wêreldwyd aangeteken (McKee en Wolf, 1963). Die gemiddelde mangaanioonkonsentrasie in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* aangehou in behandelde rioolwater (24,5 $\mu g.g^{-1}$) en in die Krugersdriftdam (17,6 $\mu g.g^{-1}$) is sodanig dat 'n normale daaglikse dieet wat hierdie visspesie insluit, geen gesondheidsgevaar inhou nie. Dieselfde kan egter nie gesê word vir die inname van die lewer van hierdie visspesie in beide habitats nie (figuur 18).

Chroom: Die gemiddelde chroomioonkonsentrasie in die behandelde rioolwater en die water van die Krugersdriftdam is gedurende 1991 as 12,4

en 9,24 $\mu g.L^{-1}$ respektiewelik bereken. Die aanbevole standaard van 50 $\mu g.L^{-1}$ (USEPA, 1976; WHO, 1984) vir totale chroom is daargestel om onder andere voorsiening te maak vir chroom in die heksavalente vorm wat hoogs toksies is en moeilik geanaliseer kan word (WHO, 1984). Die lae gemiddelde waardes wat in die water van beide lokaliteite gevind is, is egter veel hoër as die waardes wat deur Watling en Watling (1983a-b) in Suid-Afrikaanse riviere gevind is en dat die konsentrasies wat vir sommige maande gedurende die tweede helfte van 1991 in beide lokaliteite aangeteken is (figuur 18), in die orde van 40 tot 50 $\mu g.L^{-1}$ was. Die laer pH waardes en laer hardheid van die water, wat gedurende die tweede helfte van 1991 in veral die Krugersdriftdam gemeet is (figure 2 en 3), het waarskynlik tot die hoër chroomioonkonsentrasies van die water tot naby onaanvaarbare vlakke bygedra. Die Wêreldgesondheidsorganisasie beweer dat in die geval van belugte en gechloreerde water met 'n totale chroominhoud van 100 $\mu g.L^{-1}$, 40-66 % Cr(VI) van die totale chroominhoud van die water opgeneem word. Hieruit kan afgelei word dat vlak damwater met 'n hoë totale chroom- en suurstofinhoud, soos in die geval van die Krugersdriftdam, 'n uiters toksiese toestand in terme van Cr(VI) mag inhou.

Moontlike redes vir die voorkoms van hoër konsentrasies opgeloste chroom in die Krugersdriftdam en in behandelde rioolwater gedurende die tweede helfte van 1991, is die storting van afval langs die bo-lope van die Modderrivier deur derdewêreldse gemeenskappe, kunsmisafloop vanaf landerye aan die oewers van die rivier en chroombevattende uitvloeisel vanaf elektroplateringsaanlegte in die opvanggebied. Onwettige storting van skadelike stowwe in die rivier kan ook nie uitgesluit word nie.

Snyder, Cook, Nasset, Karhausen, Howells en Tipton (1975) het die gemiddelde chroominname deur middel van voedsel en vloeistowwe vir 'n 70 kg persoon op ongeveer 150 μg per dag beraam. Die gemiddelde chroomkonsentrasie in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* in behandelde rioolwater van 125,8 $\mu g.g^{-1}$ en in natuurlike damwater van 151,9 $\mu g.g^{-1}$ kan in die lig van bovermelde daaglikse inname 'n gesondheidsrisiko inhou, veral aangesien die Cr(VI)-inhoud van die spierweefsel 'n onbekende faktor is. Die hoër chroomioonkonsentrasies

wat in die water van beide lokaliteite gedurende die tweede helfte van 1991 gemeet is, reflekteer ook geensins in die weefsel van *Clarias gariepinus* gedurende Desember 1991 nie. Dit wil dus voorkom dat *Clarias gariepinus* hierdie metaal net tot bepaalde konsentrasievlakke in die weefsel akkumuleer, ongeag die konsentrasie daarvan in die water.

Die simptome van 'n oormatige inname van chroom by die mens is nog onbekend (Carson, *et al.*, 1991). Volgens die National Academy of Sciences (1980) is 'n inname van sowat 1 μg per dag Cr(III) noodsaaklik om 'n normale glukosemetabolisme in die liggaam te kan handhaaf. 'n Daaglikse inname van totale chroom in klein hoeveelhede kan dus as veilig beskou word. Davids en Lieber (1951) het ook gerapporteer dat 'n familie van vier individue water met 'n chroomkonsentrasie van 450 $\mu g.L^{-1}$ oor 'n tydperk van 3 jaar ingeneem het sonder enige simptome van chroomvergiftiging. Studies wat deur MacKenzie (1958) op rotte uitgevoer het, het ook getoon dat 'n inname van water met 'n chroomkonsentrasie van 450 tot 2500 $\mu g.L^{-1}$ selfs na 'n jaar geen toksiese effekte tot gevolg gehad het nie.

Aangesien die konsentrasie van Cr(VI) in die water van die Krugersdriftdam en die behandelde rioolwater van die Bloemspruitrioolwerke steeds 'n onbekende faktor is, kan die gevaar van chroombesoedeling in hierdie lokaliteite, selfs in die lig van die bevindinge van ander navorsers hierbo vermeld, nie gering geskat word nie. Dit kan minstens gesê word dat dit wil voorkom asof die behandelde rioolwater nie 'n groter gesondheidsgevaar inhou as die water van die Krugersdriftdam nie. Dit word daarom aanbeveel dat owerhede gemoeid met gesondheid- en omgewingsbewaring dringend aandag aan die voorkoming van chroombesoedeling in die natuurlike waters van die Oranje-Vrystaat moet skenk. Die totale chroominhoud in varswatervis behoort met behulp van wetgewing gereguleer te word.

Aluminium: Geen standaarde word vir aluminium in afvalwater deur die USEPA of RSA-wetgewing gestel nie. Wanneer die konsentrasie van 36,6 $\mu g.L^{-1}$ in die behandelde rioolwater van die Bloemspruitrioolwerke vergelyk word met die maksimum voorgestelde konsentrasie van 0,2

mg.L^{-1} van die WHO (1984), is daar geen rede tot kommer nie. Dit is egter die aluminiumkonsentrasie van die Krugersdriftdam ('n gemiddeld van 290,3 μg.L^{-1}), wat die WHO (1984) se standaard vir drinkwater oorskry. Verkleuring van die water, wat volgens die WHO (1984) by konsentrasies hoër as 0,2 mg.L^{-1} kan voorkom, kan dus in hierdie geval verwag word, aangesien die hoë ysterkonsentrasies wat in die dam aangetref is (figuur 6), hierdie verskynsel volgens die WHO (1984) kan bevorder.

Die totale inname van die aluminium by die mens is ongeveer 80 mg per dag (Norseth, 1977). Chroniese blootstelling aan groot dosisse aluminium kan egter volgens Browning (1969) tot gevolg hê dat die fosforinhoud van die liggaamsweefsel afneem. Ongeprosesseerde voedsel bevat gewoonlik minder as 10 mg aluminium per kilogram, alhoewel sommige voedselsoorte tot 150 mg per kilogram kan bevat. Die biologiese rol van aluminium is nog onbekend (Carson, *et al.*, 1991).

Die gemiddelde aluminiumioonkonsentrasies wat in die weefsel van *Clarias gariepinus* aangetref is, was in die geval van visse in beide habitats laer as 1 mg.g^{-1} wat geen gesondheidsgevaar vir die mens met inname inhou nie.

Kobalt: Drinkwater bevat ongeveer 2 μg kobalt per liter, alhoewel konsentrasies van so hoog as 107 μg.L^{-1} gerapporteer is (Carson, *et al.*, 1991). Die gemiddelde kobaltkonsentrasie in die behandelde rioolwater van hierdie studie was 4,4 μg.L^{-1} met 'n ooreenstemmende konsentrasie van 6,3 μg.L^{-1} in natuurlike damwater. Aangesien geen standaard vir kobalt in water deur gesaghebbende instansies gestel is nie, kan aanvaar word dat in die lig van die lae konsentrasies wat in hierdie studie gemeet is, die teenwoordigheid van hierdie metaal in die twee betrokke lokaliteite nie 'n gesondheidsgevaar vir die mens inhou nie.

Die kobaltkonsentrasie in voedsel kan op ongeveer 40 tot 50 μg van die totale daaglikse inname geskat word (Smith en Carson, 1980). Herndron, *et al.* (1980) beveel 'n daaglikse inname van 0,2 μg kobalt in die vorm van vitamien B_{12} vir die mens aan. Dit is egter welbekend dat visse en skulpdiere hierdie metaal tot 'n groot mate in hulle liggaamsweefsel kan

konsentreer wanneer hulle in water wat met kobalt gekontamineer is, voorkom (Carson, *et al.*, 1991). Ten spyte hiervan is kobaltkonsentrasies laer as 1 $\mu g.g^{-1}$ in enkele spierweefselmonsters van *Clarias gariepinus* in beide habitats gemeet wat die afleiding hierbo onderskryf.

Kadmium: 'n Maksimum konsentrasie van 10 $\mu g.L^{-1}$ is deur die SABS (1984) en die USEPA (1976) vir die metaal in drinkwater voorgestel. Alle watermonsters wat in hierdie studie geanaliseer is, met die uitsondering van die September 1991 monsters in die Krugersdriftdam (gemiddeld 7,6 $\mu g.L^{-1}$), het konsentrasies laer as 1 $\mu g.L^{-1}$ opgelewer wat op geen kadmiumbesoedeling dui nie.

Volgens USEPA (1980) en Carson, *et al.*, (1991) absorbeer die menslike liggaam slegs sowat 5 % van die totale kadmiuminname deur middel van voedsel en water. Die kadmiumioonkonsentrasies wat in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* in hierdie studie gevind is, was laer as 2 $\mu g.g^{-1}$ en kan dus in die lig van bogenoemde nie as 'n gesondheidsgevaar beskou word indien die visse geëet word nie.

Magnesium:. Die gemiddelde magnesiumioonkonsentrasies van behandelde rioolwater en natuurlike damwater in hierdie studie, respektiewelik 13,54 en 10,90 $mg.L^{-1}$, is heelwat laer as die aanbevole 100 $mg.L^{-1}$ van die SABS (1984) en 150 $mg.L^{-1}$ van die Wêreldgesondheidsorganisasie (NAS, 1980). Volgens Crounse, Pories, Bray & Mauger (1983) word sowat 20 % van die daaglikse magnesiuminname verkry uit die drink van hardewater. Die lae magnesiumwaardes wat in hierdie studie gemeet is, sowel as die feit dat die water as matig hard geklassifiseer kan word, dui daarop dat baie min magnesium opgeneem sal word indien hierdie water gedrink word.

Alhoewel magnesium as 'n essensiële mineraal geklassifiseer is, word aanbeveel dat die daaglikse inname nie 350 mg vir mans en 300 mg vir vrouens oorskry nie (NAS, 1980) Spierweefselanalises van *Clarias gariepinus* het 12,7 $mg.g^{-1}$ vir behandelde rioolwater en 10,9 $mg.g^{-1}$ vir natuurlike damwater getoon. Matige porsies spierweefsel van *Clarias gariepinus* met laasgenoemde konsentrasies kan aanvanklik diarree na

inname veroorsaak, maar selfs oormatige inname sal volgens Carson, *et al.* (1991) geen nadelige patologiese toestande tot gevolg hê nie.

Kalsium: Volgens die WHO (1984) kan die smaak van water nadelig beinvloed word deur kalsiumioonkonsentrasies hoër as 100 $mg.L^{-1}$. Gemiddelde konsentrasies van so laag as 36,3 $mg.L^{-1}$ vir behandelde rioolwater en 27,4 $mg.L^{-1}$ vir water van die Krugersdriftdam is vasgestel wat bogenoemde moontlikheid uitskakel.

Die gemiddelde daaglikse kalsiuminname deur die mens word volgens Snyder, *et al.* (1975) tussen 690 en 1130 mg gestel. Kalsium is slegs gedurende Junie 1991 in hierdie studie geanaliseer waarna dit gestaak is vir kostebesparing aangesien die konsentrasies wat gevind is, sodanig was dat dit nie 'n gesondheidsgevaar by inname deur die mens sal veroorsaak nie. Die gemiddelde konsentrasie daarvan in die spierweefsel was 4,4 $mg.g^{-1}$ wat geen noemenswaardige bydrae tot die genoemde gemiddelde daaglikse inname sal lewer nie.

Natrium: Ten spyte van die maksimum konsentrasie van 400 $mg.L^{-1}$ wat deur die SABS (1984) vir natrium in drinkwater aanbeveel is, beweer die WHO (1984) dat daar nie genoegsaam bewyse bestaan dat 'n oormaat natrium in water enige ernstige gesondheidsgevare inhou nie. In hierdie studie is gemiddelde konsentrasies natrium van 64,6 $mg.L^{-1}$ vir behandelde rioolwater en 26,8 $mg.L^{-1}$ vir natuurlike damwater vasgestel.

Die gemiddelde aanbevole inname van natrium wissel tussen 115 en 1800 mg per dag vir kinders onder die ouderdom van 10 jaar tot 3300 mg per dag vir volwassenes (Carson, *et al.*, 1991). Epidemiologiese studies het egter getoon dat 'n langtermyn oormatige inname van natrium een van die faktore is wat hipertensie by die mens bevorder. 'n Hoë Na:K-verhouding in die dieet kan nadelig en selfs dodelik vir persone wees wat aan hoë bloeddruk ly (NAS, 1980). In die spierweefsel van *Clarias gariepinus* is gemiddelde natriumioonkonsentrasies van 14,2 $mg.g^{-1}$ vir visse in behandelde rioolwater en 14,0 $mg.g^{-1}$ vir visse in natuurlike damwater gevind. Heelwat hoër waardes is by die ontleding van die lewer- en nierweefsel van visse aangeteken. Soos in die geval van kalsium sal die

natriuminhoud van die spierweefsel van die visse in hierdie studie, nie noemenswaardig bydra tot die vereiste totale daaglikse natriuminname nie.

Kalium: Die water van die Bloemspruitverouderingsdam het 'n gemiddelde konsentrasie van 18,2 $mg.L^{-1}$ opgelewer teenoor die 5,0 $mg.L^{-1}$ in die water van die Krugersdriftdam. Geen riglyn of maksimum konsentrasie is vir hierdie metaal in water voorgestel nie.

Die gemiddelde kaliumioonkonsentrasies wat in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* aangetref is, was feitlik dieselfde vir visse in beide habitats (133,9 $mg.g^{-1}$ vir visse in behandelde rioolwater en 132,9 $mg.g^{-1}$ vir Krugersdriftdam-visse). Die hoogste konsentrasies kalium is in die niere van die visse gevind, wat die reguleringsfunksie van hierdie orgaan met betrekking tot kalium bevestig (NAS, 1980). Geen beduidende verskille kon ook gevind word in die kaliumioonkonsentrasie in niere van visse uit beide habitats nie (figuur 23). Dit blyk dus dat *Clarias gariepinus* die kaliumkonsentrasie in die weefsel reguleer, ongeag die konsentrasie daarvan in die water.

NAS (1980) het vasgestel dat die daaglikse inname van kalium by volwassenes ongeveer 1,9 tot 5,9 g is en beskou konsentrasies tussen 1,8 tot 5,6 g per dag as veilig vir die mens. Snyder *et al.* (1975) beweer dat die natuurlike kaliuminhoud van voedsel, asook voedseladditiewe, tot 'n inname van so veel as 3,3 g/dag by die mens kan bydra. NAS (1980) waarsku dat 'n skielike verhoging bokant 18 g per dag tot akute vergiftiging in volwassenes kan lei wat die moontlikheid van 'n hartaanval kan vergroot. Die kaliumgehalte van die water wat gemeet is, en die hoeveelheid kalium in die spierweefsel wat in hierdie studie bestudeer is, behoort egter geen gesondheidsrisiko vir die mens in te hou nie.

Ter opsomming van die bespreking van die moontlike gesondheidsrisiko wat metaalione in die weefsel van *Clarias gariepinus* mag inhou indien hierdie vis as voedselbron deur die mens gebruik word, kan gestel word dat visse wat in die verouderingsdam aangehou word, net so veilig, indien nie veiliger nie, is as die visse van die Krugersdriftdam. Selfs die feit dat die konsentrasies van die metaalione wat in hierdie studie ondersoek is,

met die uitsondering van kwik en magnesium, hoër in die lewer en niere as in die spierweefsel van die visse was, doen geen afbreek aan die "veiligheid" van veral visse in behandelde rioolwater as voedselbron nie, aangesien hierdie organe nie normaalweg as voedsel deur die mens benut word nie.

Dit word egter aanbeveel dat die minimum industriële uitvloeisel saam met huishoudelike afvalwater in rioolwater gestort word ten einde die gevaar van bio-akkumulasie van metale in visweefsel tot die minimum te beperk (Turner, *et al.*, 1986).

4.3 Mikro-organismes in water en visweefsel

Totale kolivormige organismes: Totale kolivormige bakterieë sluit alle fekale kolivorms en 'n wye verskeidenheid ander spesies in. Spesies van *Escherichia, Enterobacter, Kliebsiella* en *Citrobacter* is onder andere belangrike lede van die totale kolivormige groep (Evans, *et al.*, 1981).

Aangesien slegs 1 kolonie van hierdie organismegroep per 100 ml vir drinkwater deur verskillende outoriteite gestel word, is behandelde rioolwater nie vir menslike inname geskik nie. Volgens Rump en Krist (1988) het verskeie Oos-Europese lande 'n maksimum van 1 x 10^4 totale kolivormige organismes per 100 ml vir ontspannings- en swembadwater vasgestel. Die behandelde rioolwater wat in hierdie studie ondersoek is, het tellings van tot 1,6 x 10^5 / 100 ml getoon wat dit volgens die Water Pollution Control Federation (1990) as afvalwater klassifiseer. Ander outers wat navorsing op visse in afvalwater gedoen het, maak geen melding van toksiese hoeveelhede totale kolivormige organismes vir lewende organismes nie (Turner *et al.*, 1986; Buras *et al.*, 1987; Geldenhuys en Pretorius, 1989; Slabbert *et al.*, 1989) en in sommige gevalle was die hoeveelheid organismes wat hulle getel het, heelwat groter as dit wat in die behandelde rioolwater van die Bloemspruitrioolwerke gevind is.

Geen totale kolivormige bakterieë is in die spierweefsel of bloed van *Clarias gariepinus* gevind nie. Dit stem ooreen met die resultate van

Slabbert *et al.* (1989), Turner *et al.* (1986) en Nupen (1983). In gevalle waar spierweefsel met vel van die vis ontleed is, is wel lae tellings gekry. In laasgenoemde geval kan die bakteriële kontaminasie moontlik toegeskryf word aan grondbakterieë wat op die vel van die vis groei en volgens Slabbert *et al.* (1989) meer bestand is teen disinfeksie as patogeniese mikro-organismes. Dit kan dus met 'n redelike mate van sekerheid aanvaar word dat totale kolivormige organismes by tellings wat in hierdie studie in behandelde rioolwater gevind is, nie in die spierweefsel van *Clarias gariepinus* sal akkumuleer nie.

***Fekale kolivormige organismes*:** Fekale kolivormige organismes, 'n subgroep van die totale kolivormgroep, toon 'n hoë temperatuurverdraagsaamheid en kan goed by temperature hoër as die liggaamstemperature van endoterme diere oorleef (Clesceri, *et al.*, 1989). *Klebsiella* spp. en *Escherichia coli* is van die meer prominente organismes in hierdie groep (Water Pollution Control Federation, 1990).

Volgens Miescier en Cabelli (1982) wissel fekale kolivormige organismetellings in behandelde riooluitvloeisel tussen 0 en 2,4 x 10^3 per 100 ml water. Tellings van hierdie groep organismes in die eerste verouderingsdam van die Bloemspruitrioolwerke, alhoewel deurgaans hoër as in die Krugersdriftdam, was binne hierdie grense (figuur 9). Die behandelde rioolwater te Bloemspruit hou wel 'n wesenlike gesondheidsgevaar vir die mens in, aangesien *Escherichia coli* in alle monsters positief getoets het. Die teenwoordigheid van *Escherichia coli* is volgens die SABS (1984) 'n bevestiging van fekale besmetting van water.

Die afwesigheid van fekale kolivormige organismes in die spierweefsel, met en sonder velbedekking, van *Clarias gariepinus* in beide habitats (figuur 25B), is in ooreenstemming met die bevindinge van Turner *et al.* (1986), Slabbert *et al.* (1989) en Nupen (1983) vir ander visspesies wat in huishoudelike afvalwater aangehou is. Uit bogenoemde bevindinge is dit dus duidelik dat, ten spyte van die hoë voorkoms van fekale kolivormige organismes in behandelde rioolwater (figuur 25A), hierdie organismes nie in spierweefsel akkumuleer nie. Die eenmalige voorkoms van twee fekale kolivormige organismes per 50 g vis in een bloedmonster gedurende Junie

1991 kan moontlik toegeskryf word aan kontaminasie van die monster tydens bloedversameling.

Salmonella: *Salmonella* het in feitlik alle watermonsters van behandelde rioolwater uit die Bloemspruitrioolwerke positief getoets (figuur 26A). In gevalle waar *Salmonella* wel in die Krugersdriftdam (gedurende die somermaande) gevind is, was die persentasies egter heelwat laer as in die geval van behandelde rioolwater. Alhoewel geen toetse uitgevoer is ten einde vas te stel of dit menslike of dierlike *Salmonella* was nie, kan met redelike sekerheid aanvaar word dat die meeste van hierdie organismes afkomstig is van dierlike ekskreta. By die verouderingsdam was groot getalle eende en ganse ten tye van monsterneming teenwoordig. Die Krugersdriftdam maak weer deel uit van 'n natuurreservaat waarin verskeie wildsoorte gereeld naby die monsternemingspunt kom water suip.

Soos in die geval van totale en fekale kolivormige organismes, is geen *Salmonella* in spierweefselmonsters, met en sonder vel, en bloedmonsters van *Clarias gariepinus* in beide habitats gevind nie. Die gevaar dus dat hierdie organismes in die spierweefsel kan akkumuleer, wat gevolglik vir die mens 'n gesondheidsgevaar mag inhou, kan dus buite rekening gelaat word.

Kolifage: Die goeie korrelasie wat tussen die voorkoms van kolifage en enteriese virusse bestaan, maak van eersgenoemde organismes goeie indikatore van die teenwoordigheid van genoemde virusse in water (Geldenhuys en Pretorius, 1989). Volgens Grabow, *et al.* (1984) voldoen kolifage as indikator ook aan die basiese kriteria wat gebruik word vir die toetsing van die virologiese veiligheid van water.

Die aantal kolifage per 100 ml water wat in hierdie studie in behandelde rioolwater gevind is, was deurgaans groter as in die geval van die Krugersdriftdam (figuur 27A). Ten spyte van die hoër voorkoms van kolifage gedurende die somermaande, veral in die verouderingsdam, was dit steeds veel laer as dit wat deur Grabow *et al.* (1984) vir hierdie organismes in ongesuiwerde rioolwater gevind is. Die water van die

verouderingsdam in hierdie studie blyk dus van 'n relatief hoë virologiese standaard te wees.

Soos in die geval van die voorafgaande mikro-organismes, is ook geen kolifage in die spierweefsel of bloed van *Clarias gariepinus* in beide habitats gevind nie wat die gevaar van enteriese virusbesmetting uitskakel.

Ter samevatting van die bespreking van die moontlike gesondheidsrisiko wat mikro-organismes in die weefsel van *Clarias gariepinus* mag inhou indien hierdie vis as voedselbron deur die mens gebruik word, kan dit gestel word dat visse wat in die verouderingsdam aangehou word, net so veilig, indien nie veiliger nie, is as die visse van die Krugersdriftdam. Selfs die feit dat die konsentrasies van die organismes wat in hierdie studie ondersoek is, deurgaans hoër in die behandelde rioolwater as in die water van die Krugersdriftdam was, doen geen afbreek aan die "veiligheid" van die visse as voedselbron nie, aangesien die organismes nie in die weefsel gevind is nie en die afleiding dus gemaak kan word dat dit nie in die weefsel akkumuleer by konsentrasies soos in die water gevind is nie.

Volgens Buras (1985) sal bakterieë slegs die spierweefsel van vis binnedring wanneer die fagosiete in die verskillende organe, nie meer in staat is om sodanige bakterieë te weerstaan nie. Enige gevaar van werkoppervlak kontaminasie gedurende voorbereiding van die vis, moet voorkom word deur higiëniese werkwyses. Die daaropvolgende gaarmaak van die vis sal die finale beskerming teen besmette voedselinname bied (Nupen, 1983).

5. OPSOMMING

5.1 Die voorkoms van verskeie spoorelemente (-metale) en mikrobiologiese patogene is gedurende 1991 in behandelde rioolwater van die Bloemspruitrioolwerke en in 'n natuurlike waterbron, te wete die Krugersdriftdam, ondersoek. Die doel van die studie was om moontlike korrelasies te identifiseer tussen die konsentrasies van die spoorelemente en patogene in die water van die twee habitats met dié in die spierweefsel en sommige organe van die baber *Clarias gariepinus* wat daarin aangehou is. Moontlike gesondheidsrisiko's wat die gebruik van babers aangehou in behandelde rioolwater vir die mens mag inhou indien hierdie vis geëet sou word, kon sodoende geïdentifiseer word.

5.2 Die volgende spoorelemente is vir die doel van die ondersoek as moontlike kontaminante van behandelde rioolwater geselekteer: Kwik, lood, sink, yster, koper, mangaan, chroom, aluminium, kobalt, kadmium, magnesium, natrium, kalium en kalsium. Mikrobiologiese patogene, te wete totale kolivormige organismes, fekale kolivormige organismes, *Salmonella*, kolifage en *Escherichia coli* is ook tydens die studie in water en visweefsel ondersoek.

5.3 Verskeie fisiese eienskappe van die water van die twee habitats, naamlik pH, hardheid, konduktiwiteit, oksidasie-reduksiepotensiaal en temperatuur is bepaal ten einde moontlike verklarings te bied vir onverwagte hoë of lae spoorelementkonsentrasies en mikrobetellings.

5.4 Met die uitsondering van kwik, magnesium en kalium (laasgenoemde slegs gedurende die somermaande), was die konsentrasies van die geselekteerde spoorelemente opmerklik hoër in die lewers en niere van visse as in die spierweefsel.

5.5 Sommige spoorelemente het in die geval van sekere weefseltipes hoër konsentrasies gedurende die somer as gedurende die winter getoon. Geen vaste seisoenale patroon in die voorkoms van hierdie elemente kon egter vasgestel word nie.

5.6 Die konsentrasies kwik en mangaan in die niere was hoër vir visse in die Krugersdriftdam as in behandelde rioolwater. Sink het egter in die winter en aluminium in die somer hoër konsentrasies in die niere van visse in behandelde rioolwater getoon. Vir al die ander spoorelemente was die verskil in konsentrasie vir hierdie orgaan tussen die twee lokaliteite onbeduidend.

5.7 In die lewers van visse aangehou in die Krugersdriftdam, was die konsentrasies van sink in die winter, yster in die somer en kalium in beide seisoene hoër as in dié van visse in behandelde rioolwater. Hoër konsentrasies kwik, lood en aluminium (slegs in die winter) is weer in die lewers van visse, aangehou in behandelde rioolwater, gemeet. Vir al die spoorelemente was die verskil in konsentrasie vir hierdie orgaan tussen die twee lokaliteite onbeduidend.

5.8 Aangesien die mens in die meeste gevalle slegs die spierweefsel van visse in sy dieet insluit, is een van die belangrikste bevindinge van hierdie studie dat, met die uitsondering van magnesium, al die ander spoorelemente laer konsentrasies in die spiere van visse wat in behandelde rioolwater aangehou is, getoon het.

5.9 Kwik- en chroomkonsentrasies neig om die maksimum toelaatbare vlakke in die spierweefsel van *Clarias gariepinus*, veral in die Krugersdriftdam, te bereik. Met die uitsondering van die relatief hoë kwikkonsentrasies in die spierweefsel van babers in die Krugersdriftdam, asook dié van chroom by visse van beide lokaliteite, hou geen ander spoorelemente egter 'n moontlike gesondheidsgevaar vir die mens in nie, indien filette van hierdie visse geëet sou word.

5.10 Die relatief hoë chroomioonkonsentrasie in die water van veral die Krugersdriftdam, mag moontlik te wyte wees aan onvolledig gesuiwerde industriële afvalwater van elektroplaterings aanlegte wat nie in die suiweringswerke van die Bloemfontein stadsraad gestort word nie, maar via ander roetes in die dam beland. In die lig van die onbekende hoeveelhede Cr(VI) wat deel is van die totale chroominhoud van die water en spierweefsel van visse wat in hierdie studie gevind is, kan die gebruik

van visse uit beide lokaliteite 'n gesondheidsgevaar inhou. Hierdie gevaar is egter nie groter vir die gebruik van visse in behandelde rioolwater as vir dié in natuurlike damwater nie.

5.11 Spoorelementkonsentrasies wat in die lewers en niere van *Clarias gariepinus* in beide habitats aangetref is, kan wel 'n gesondheidsrisiko vir die mens inhou wanneer dit geëet word. Dit word dus aanbeveel dat dié organe nie as voedsel vir menslike gebruik benut word nie.

5.12 Seisoenale tendense ten opsigte van die voorkoms van totale en fekale kolivormige organismes, kolifage, *Salmonella* en *Escherichia coli*, is wel in die water van beide lokaliteite waargeneem. Hoë tellings is gedurende somermaande verkry terwyl lae of geen tellings gedurende wintermaande met lae watertemperature gevind is nie. Ten spyte hiervan is geen tekens van hierdie patogene organismes in die spierweefsel sonder velbedekking van *Clarias gariepinus* in beide lokaliteite gevind nie. Slegs onbeduidende lae tellings vir totale kolivormige organismes is aangeteken vir spierweefselmonsters van *Clarias gariepinus* waarvan die vel nie verwyder is nie. Spierweefsel van vis wat in behandelde huishoudelike uitvloeisel afkomstig uit 'n biologiese sypelbedding aangehou word, kan dus as mikrobiologies veilig vir menslike gebruik beskou word, veral indien die vel higiënies verwyder word.

5.13 Die kommer rakende die kwaliteit en gesondheidsrisiko's van vis wat in behandelde rioolwater aangehou word, kan deur die bevindinge van hierdie studie as **ongegrond** beskou word. Visse wat as voedselbron in behandelde huishoudelike afvalwater aangehou word, sal ten opsigte van patogeniese mikro-organismes en spoormetale, nie 'n gesondheidsrisiko vir die mens inhou nie, met die voorbehoud dat higiëniese voedselvoorbereiding en hantering van visse na die vangs daarvan toegepas word.

5.14 Dit word aanbeveel dat verdere navorsing rakende die volgende aspekte gedoen word:

* Die voorkoms van pestisiedes in die water en visweefsel van visse wat in behandelde rioolwater aangehou word;
* Die seisoenale voorkoms van spoorelemente in water en visweefsel van visse in behandelde rioolwater en natuurlike damwater; en
* Die vlak van kontaminasie wat in die spierweefsel ontstaan wanneer *Clarias gariepinus* aan hoë kunsmatige konsentrasies patogene in water blootgestel word.

6. DANKBETUIGINGS

Ek wens my dank en waardering teenoor die volgende persone en instansies uit te spreek:

dr B J Frey vir sy positiewe leiding, advies en hulp wat te alle tye tot my beskikking was,

prof F Hodgson en sy twee laboratoriumtegnoloë, Mev E Stevens en Mej L van Schalkwyk van die Instituut vir Grondwaterstudies aan die Universiteit van die Oranje-Vrystaat vir hulle belangstelling, waardevolle raad en opoffering,

mnre P Wagner, G Spannenberg en die personeel van die Bloemspruitrioolwerke vir hulle ondersteuning, hulp en opoffering,

die Direktoraat Natuurbewaring van die Oranje-Vrystaat vir die beskikbaarstelling van die Soetdoring natuurreservaat,

dr J Krause vir sy belangstelling en motivering,

mnr F Crous vir sy belangstelling en hulp tesame met mnr R Lotz vir sy belangstelling, moeite en die bereidwilligheid om ten spyte van ysige water in die winter, hulp te verleen met die verskuiwing van en toesig oor die vishokke,

Transwerke Bloemfontein vir die verskaffing van materiaal vir die bou van vishokke,

die Stigting vir Navorsingsontwikkeling vir die beskikbaarstelling van fondse vir die projek,

die Sentrale Navorsingskomitee van Technikon OVS vir die beskikbaarstelling van fondse om die projek mee te begin,

mej A Murphy vir die fotografering van analises en belangrike tonele in die projek,

my kollegas in die Fakulteit Toegepaste Wetenskappe en in die besonder mejj WMJ van den Heever en D Olivier vir hulle hulp in die laboratorium,

mnr M Muller van die chemiese laboratorium van die WNNR in Durban vir sy waardevolle hulp en raad,

die personeel van Waterlit, WNNR wat altyd behulpsaam was met die verkryging van literatuur,

die personeel van die Bronnesentrum, Technikon OVS wat nie moeite ontsien het om literatuur regoor Suidelike Afrika vir die projek te versamel nie.

Ten slotte, my ouers, vir hul belangstelling en die besondere wyse waarop hulle my gemotiveer het om die studie te voltooi.

7. LITERATUURVERWYSINGS

Werke aangedui met 'n * is nie in die oorspronklike gesien nie.

*ANONYMOUS. 1971. A toxicologic-epidemiologic evaluation of risks. **In**: Methyl Mercury in Fish. Report from an expert group. *Nord. Hyg. Tidskr*. Suppl. 4.

ANONYMOUS. 1988. Fish and "chicks" to feed Gazankulu. **In**: SA Waterbulletin. **14**(3): 16-19.

ADAMS, M.H. 1959. Bacteriophages. Interscience Publishers, New York. 592pp.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). 1987. Annual Book of ASTM Standards, Vol 11.01. American Soc. Testing & Materials, Philidelphia, Pa.

AWADALLAH, R.W. 1990. Physical and chemical properties of Aswan High Dam Lake water. *Water SA*. **16**(1): 79-84.

BEAMISH, R.J. & H.H. HARVEY. 1972. Acidification of La Cloche Mountain lakes, Ontariao and resulting fish mortalities. *J. Fish. Res. Board. Can*. **29**: 1131-1143.

BELL, A.V. 1976. Waste controls at base metal mines. *Environ. Sci. Technol.* **10**: 130-135.

BEZUIDENHOUT, L.M., H.J. SCHOONBEE & L.P.D. DE WET. 1990. Heavy metal content in organs of the African sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), from a Transvaal lake affected by mine and industrial effluents. Part 1. Zink and copper. *Water SA*. **16**(2): 125-129.

*BOYLE, E.A. 1979. **In**: Copper in the Environment (1980). **1**: 77-88.

*BOYLE, E.A. & J.M. EDMOND. 1975. Copper in surface waters of New Zealand. *Nature* (London). **253**: 107-109.

*BROWNING, E. 1969. Toxicology of industrial metals.

BRUTON, M.N. 1979. The food and feeding behavior of *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae) in Lake Sabaya, South Africa with emphasis on its role as a predator of cichlids. *Trans. zool. Soc. Lond.* **35**: 47-114.

BRUWER, C.A., H.R. VAN VLIET, D.P. SARTORY & P.L. KEMPSTER. 1985. An assessment of water related problems of the Vaal River between Barrage and Douglas Weir. Technical report No. TR121 of the Dept. of Water Affairs, Pretoria. 1-185.

BRYAN, G.W. 1976. Some aspects of heavy metal tolerance in aquatic organisms. In: *Effects of pollutants on Aquatic Organisms*. Lockwood, APM, ed., Cambridge University Press, New York.

BULL, R.J. 1974. Toxicological research, its application to the setting of drinking water standards. Proc. 16th Water Qual. Conf., Trace Metals in Water Supplies: Occurrence, Significance and Control. Univ. Ill., Coll. Engin. 49-64.

BURAS, N. 1985. Future of water reuse. Third water reuse Symposium Proceedings, August 26-31 1983. San Diego, California. **2**: 723-731.

BURAS, N., L. DUEK & S. NIV. 1985. Reactions of Fish to Microorganisms in Wastewater. *Applied and Environmental Microbiology*. **50**(4): 989-995.

BURAS, N., L. DUEK, S. NIV, B. HEPHER, & E. SANDBANK. 1987. Microbiological aspects of fish grown in treated wastewater. *Wat. Res.* **21**(1): 1-10.

BURROWS, I.G. & B.A. WHITTON. 1983. Heavy metals in water, sediments and invertebrates from a metal-contaminated river free of organic pollution. *Hydrobiologia*. **106**: 263-273.

CARSON, B.L., H.V. ELLIS III. & J.L. McCANN. 1991. Toxicology and biological monitoring of metals in humans including feasability and need. Third Ed. Michigan: Lewis Publishers, Inc. 328pp.

*CHARPENTIER, J. 1988. Adaption des stations de boues activées à faible charge à l'élimination du Carbone, de l'azote et du Phosphore; besions en oxygéne et régulation redox. Thése université de Rennes I.

CLESCERI, L.S., A.E. GREENBERG & R. RHODES TRUSSEL. (Editors). 1989. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17th Ed. Published jointly by the American Public Health Association, American Water Works Association and The Water Pollution Control Federation, Washington D.C. p.3-53 - 3-63, 9-39 - 9-41, 9-931 - 9-139.

CLOETE, T.E., D.F. TOERIEN, & A.J.H. PIETERSE. 1984. The Bacteriological Quality of Water and Fish of a Pond System for the Treatment of Cattle Feedlot Effluent. *Agricultural Wastes*. **9**: 1-15.

CROSS, F.A., L.H. HARDY, N.Y. JONES, & R. BARBER. 1973. Relation between total body weight and concentrations of manganese, iron, copper, zink and mercury in white muscle of bluefish (*Pomatomus saltatrix*) and a bathyl-demersal fish, *Antimora rostrata*. *J. Fish. Res. Bd. Can.* **30**: 1287-1291.

CROUNSE, R.G., W.J. PORIES, J.T. BRAY, & R.L. MAUGER. 1983. Geochemistry and man: Health and disease 1. Essential elements. **In**: Applied Environmental Geochemistry. Thortain, I. (editor). London, UK: Academic Press. 309-333.

*DAVID, G & J. CHARPENTIER. 1984. Ungraphique pour l'utilisation optimale de l'énergie en liaison avec l'élimination de la pollution carbonée et azotée. *Tech. Sci. Municipales* Fevrier.

DAVIDS, H.W. & M. LIEBER. 1951. Underground water contamination by chromium wastes. *Water and Sewage Works*. **98**: 528.

DE LA MÉNARDIÉRE, M., J. CHARPENTIER, A. VACHON, & G. MARTIN. 1991. ORP as control parameter in a single sludge biological nitrogen and phosphorus removal activated sludge system. *Water SA*. **17**(2): 123-132.

DEPARTEMENT VAN WATERWESE. 1986. Aantekeninge oor etlike van die belangrikste besproeiing- en veeldoelige skemas wat deur die Departement van Waterwese gebou is en / of beheer word. Pretoria: Departement van Waterwese. pp.68.

DIXIT, S.S. & D. WHITCOMB. 1983. Heavy metal burden in water, substrate, and macroinvertebrate body tissue of a polluted river Irwell (England). *Environ. Pollut. Ser. B*. **6**: 161-172.

DUFFUS, J.H. 1983. Environmental Toxicology. Edward Arnold (Publishers) Ltd: London. 164 pp.

DU PREEZ, A.L. 1985. The chemical composition of Transkei river water. *Water SA*. **11**(1): 41-47.

DU PREEZ, H.H. & G.J. STEYN. 1992. A preliminary investigation of the concentration of selected metals in the tissues of the tigerfish (*Hydrocynus vittatus*) from the Olifants River, Kruger National Park, South Africa. *Water SA*. **18**(2): 131-136.

*EVANS, T.M., et al. 1981. Coliform Species Recovered from Untreated Surface Water by Membrane filter, Standard, and Modified Most-probable-Number Tecniques. *Appl. Environ. Microbiol.* **41**: 657.

FAGERSTRÖM, T. & A. JERNELÖV. 1972. Aspects of quantitative ecology of mercury. *Water Res*. **6**: 1193-1202.

FATTAL, B., A.M. EISAWAY, A. DOTAN, H.I. SHUVAL, & K.H. MANCY. 1989. Impact of water quality on fish production based on Egyptian and Israeli practices. *Wat. Sci. Tech*. **21**(3): 27-33.

FEACHEM, R.G., D.J. BRADLEY, H. GARELICK & D.D. MARA. 1978. Health aspects of excreta and wastewater management: review and analysis. Aquacultural reuse 11.3. The International Bank for Recontruction and Development, The World Bank, Washington, DC.

FISHMAN, M.J. & W.L. BRADFORD (EDITORS). 1982. A Supplement to Methods for the Determination of Inorganic Substances in water and Fluvial Sediments. Rep. No. 82-272, U.S. Geological Survey, Washington, D.C.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). 1974. Poisonous or deleterious substances in peanuts, evaporated milk, fish and shellfish. Proposed Rules, *Federal Register*, Dec. 6, 1974, Washington, D.C.

FÖRSTNER, U. & G.T.W. WITTMANN. 1983. Metal Pollution in the Aquatic Environment. Second Ed. Springer Verlag. Berlin.

FOURIE, H.O. 1989. An estimation of the health implications of chemical contaminants in food and water a total diet ("Market basket") study. *Water Research Commission Report No 173/1/89*. 1-43.

GAIGHER, I.G. 1977. Reproduction of the catfish (*Clarias gariepinus*) in the Hardap dam, South West Africa. *Modoqua*. **10**: 55-59.

GARBARINO, J.R. & H.E. TAYLOR. 1985. Trace Analysis. Recent Developments and Applications of Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy to Trace Element Analysis of Water. Volume 4. Acedemic Press, New York, N.Y.

GELDENHUYS, J.C. & P.D. PRETORIUS. 1989. The occurrence of enteric viruses in polluted water, correlation to indicator organisms and factors influencing their numbers. *Wat. sci. tech.* **21**(3): 105-109.

GORHAM, E. & A.G. GORDON. 1963. Some effects of smelter pollution upon aquatic vegetation near Sudbury, Ontario. *Can. J. Bot.* **41**: 371-378.

GRABOW, W.O.K., P. COUBROUGH, E.M. NUPEN, & B.W. BATEMAN. 1984. Evaluation of coliphages as indicators of the virological quality of sewage-polluted water. *Water SA*. **10**(1): 7-14.

GREENFIELD, S., I.L. JONES & C.T. BERRY. 1964. High-pressure plasma-spectroscopic emmision sources. *Analyst*. 89: 713.

GRIFFEN, A.E. 1960. Significance and removal of manganese in water supplies. *Jour. Amer. Water Works Assn.* **52**: 1326.

GROENEWALD, AA van J. 1964. Observations on the food habits of *Clarias gariepinus* Burchell, the South African barbel, (Pisces: Clariidae) in Transvaal. *Hydrobiologia*. **28**: 287-291.

GUARRIA, L.J. 1972. Brief literature review of *Klebsiella* as pathogens. In seminar on the significance of Fecal coliforms in Industrial Waste. EPA. TR 3. National Field Investigations Center, Denver, Colorado. 94pp.

*GUELIN, A. 1962. Polluted water and the contamination of fish, p. 480-502. **In**: G. Borgstrom (ed.), Fish as food, vol. 2. Nutrition, sanitation and utilization. Academic Press, Inc. New York.

HANNERZ, L. 1968. Experimental investigations on accumulation of mercury in water organisms. Fishery Board of Sweden, Institute of Freshwater Research, Drottingholm, Report 48.

HARTUNG, R. 1974. Heavy metals in the lower Mississippi. *Proc. Int. Conf. Persist. Chem. Aquatic Ecosyst.*, Ottawa. **I**-93-98.

HATTINGH, W.H.J. 1977. Reclaimed water: a health hazard? *Water SA*. **3**(2): 104-112.

HEJKAL, T.W., C.P. GERBA, S. HENDERSON & M. FREEZE. 1983. Bacteriological, Virological and Chemical evaluation of a Wastewater-aquaculture system. *Water Res.* **17**(12): 1749-1755.

HEM, J.D. 1970. Study and interpretation of the chemical characteristics of natural water. U.S. Geol. Surv. Water Supply Pap. (2nd ed). **1473**: 363.

HENDREY, G.R., R. BORGSTRφM, & G. RADDUM. 1976. Acid precipitation in Norway: effects on benthic faunal communities. Abstr. 39th. Annu. Meet. ASLO, Savannah.

HEPHER, B. & Y. PRUGININ. 1981. Commercial fish farming with special reference to fish culture in Israel. New York, Wiley Intersience. 261 pp.

HEPHER, B. & G.L. SCHROEDER. 1975. Wastewater utilization in Israeli aquaculture. *Proc. Int. Conf. on Renovation and Recycling of Wastewater through Aquatic and Terrestrial Systems*. Rockefeller Foundation and Institute of Water Research, Michigan State University.

HERNDRON, B.L., R.A. JACOB & J. McCANN. 1980. Chapter 8. Physiological effects. **In**: Trace metals in the environment. Volume 6 - Cobalt. Smith, IC & BL, Carson, (editors). *Ann. Arbor*. Michigan: Ann Arbor Science Publishers, Inc. / The Butterworth Group. 925-1140.

HEY, D. 1955. A preliminary report on the culture of fish in the final effluent from the new disposal works, Athlone, South Africa. *Verh. Internat. Verrein. Theor. u Angew. Limnol.* **12**: 737-742.

HOBBS, B.C. & D. ROBERTS. 1987. Food Poisoning and Food Hygiene. Fifth Ed. Edward Arnold: London. 375 pp.

HOLCOMBE, G.W., D.A. BENOIT, & E.N. LEONARD. 1979. Long-term effects of zink exposures on brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Trans. Am. Fish. Soc.* **108**: 76-87.

IRUKAYAMA, K. 1967. The pollution of Minamata Bay and Minamata disease. *Adv. Water Poll. Res.* **3**: 153.

IYENGAR, G.V., & B. SANSONI. 1980. Sample preparation of biological materials for trace element analysis, **In**: Elemental analysis of biological materials. International Atomic Energy Agency, technical report IAEA No. 197, Vienna, Austria. 197-212.

JANSSEN, W.A. 1970. Fish as potential vectors of human bacterial diseases of fishes and shellfishes. *Am. Fish. Soc. Spec. Publ.* 5: 284-290.

KEMPSTER, P.L. 1986. Application of inductively coupled plasma emission spectrometry in the analysis of environmental samples. Technical Report TR130, Dept. of Water Affairs, Hydrological Research Institute, Pretoria. 40-104.

KENNEDY & SEBETICH. 1976. Uncontaminated streams in Northern California. **In**: Geological Survey Research. Washington, D.C. 208-209.

*KLONTZ, G.W. & L.S. SMITH. 1968. Methods of using fish as biological research subjects. **In**: Methods of animal experimentation. Vol. III. Gay, W.J. (editor). Academic Press, New York & London. 324-385.

LAWTON, R.L. & E.V. MORSE. 1980. *Salmonella* survival in freshwater and experimental infection in goldfish (*Crassus auratus*). *J. Environ. Sci. Health Part A Environ. Sci. Eng.* 4: 339-358.

LLOYD, R.M. 1965. Factors that affect the tolerance of fish to heavy metal poisoning. Biol. Problems in Water Pollution, 3rd Seminar 1962, U.S. Dept. Health, Education and Welfare. 181 pp.

LUCAS, R.E. & J.F. DAVIS. 1961. Relationships between pH values of organic soils and availibilities of 12 plant nutrients. *Soil Science*. **92**: 177-182.

MacKENZIE, R.D. 1958. Chronic toxicity Studies. II: Hexavalent and trivalent chromium administered in drinking water to rats. A.M.A. Archives of Industrial Health. **18**: 232.

MacLEOD, J.C. & E. PESSAH. 1973. Temperature effects on mercury accumulation, toxicity, and metabolic rate in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can*. **30**: 485-492.

MARTIN, J.M., O. HøGDAHL, & J.C. PHILLPOTT. 1976. Rare earth element supply to the ocean. *J. Geophys. Res*. **81**: 3119-3121.

MASSOUD, A.H.S., A.A. EZZAT, O.A. EL-RAYIS, & H. HAFEZ. 1981. Occurrence and distribution of chemical pollutants in Lake Mariut, Egypt. II. Heavy metals. *Water, Air and Soil Pollut.* **16**(4): 401-407.

MATTHIESSEN, P. & A.E. BRAFIELD. 1977. Uptake and loss of dissolved zinc by the stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. *J. Fish. Biol.* **10**: 399-410.

MATHIS, B.J. & T.F. CUMMINGS. 1973. Selected metals in sediments, water and biota in the Illinois River. *J.W.P.C.F.* **45**: 1573-1583.

McCABE, LJ. 1970. Metal levels found in distribution samples. Amer. Water Works Assn. Seminar on Corrosion by Soft Water, Washington, D.C. 9 pp.

*McKEE, J.E. & H.W. WOLF. 1963. Water quality criteria. State Water Quality Control Board, Publ., Sacremento, California, Pub. 3-A.

*McKIM, J.M., *et al.* 1976. Long term effects of methylmercuric chloride on three generations of brook trout (*Salvelinus fontinalis*); toxicity, accumulation, distribution and elimination. *Journal Fish. Res. Bd. Canada*.

MIESCIER, J.J. & V.J. CABELLI. 1972. *Enterrococcus* and other microbial indicators of municipal sewage effluents. *Journ. Water Pollut. Control Fed.* **54**: 1599.

MOHAMED, A.E., R.M. AWADALLAH, & S.A. GABR. 1990. Chemical and ecological studies on *Tilapia nilotica*. *Water SA*. **16**(2): 131-134.

*MOORE, J.W. & S. RAMAMOORTHY. 1984. Heavy Metals in Natural Waters. Springer-Verlag New York Inc.

MORIARTY, F. 1991. Ecotoxicology: The study of Pollutants in Ecosystems. Second Ed. Academic Press: London. 289 pp.

MOUNT, D.I. 1964. An autopsy technique for zink-caused fish mortality. *Trans. Am. Fish. Soc.* **93**: 174.

MOUNT, D.I. 1974. Chronic toxicity of methylmercuric chloride in fathead minnow. Testimony in the matter of proposed toxic effluent standards for Aldrin-Dieldrin, *et al.* *FWPCA* (307) Docket No 1, Exhibit No 4.

*NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAT). 1973. Manganese. Washington, D.C.: Printing and Publishing Office, National Academy of Sciences.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAT). 1980. National Academy of Sciences. Recommended dietary allowances. 9th Ed. Washington, D.C.: Printing and Publishing Office, National Academy of Sciences.

NHRMWDA. 1977. National handbook of recommended methods for water-data acquisition (NHRMWDA). Chapter 5, Chemical and physical quality of water and sediment. Office of water data coordination, Geological survey, U.S. Dept., of the Interior, Reston, Virginia. p.5-1 to p.5-7.

NORSETH, T. 1977. Aluminium. **In:** Toxicology of metals, Vol. II. Springfield, VA: National Technical Information Service. PB-268-324. 4-14.

NUPEN, E.M. 1983. Possible health hazards in fish farming using sewage. Paper presented at the seminar on Appropriate Technology Transfer in Water Supply and Sanitation, Thohoyandou Hotel, Venda, 28 - 30 September.

OSBORN, D.W. 1987. Sewage purification in South Africa, past and present. Paper presented at IWPC (WISA) Conference, Port Elizabeth, 12-15 May, 1987. Chapter 13. p.1-30.

OVERHOFF, H. & W. FORTH. 1978. Biologisch essentielle Elemente ("Spurenelemente"). *Deut. Ärzteblatt*. 301-305.

POTTER, L., D. KIDD, & D. STANDIFORD. 1975. Mercury levels in Lake Powell: Bioamplification of mercury in man-made desert reservoir. *Environ. Sci. Technol.* **9**: 41-46.

PRINSLOO, J.F. & H.J. SCHOONBEE. 1992. Evaluation of the poly- and monoculture production of the common carp *Cyprinus carpio* L. and the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) in final effluent oxidation pond water of a sewage purification system. *Water SA*. **18**(1): 7-12.

PRINSLOO, J.F., H.J. SCHOONBEE, I.H. VAN DER WALT & M. PRETORIUS. 1989. Production of the sharptooth catfish *Clarias gariepinus* (Burchell) and the European common carp *Cyprinus carpio* L. with artificial feeding in polyculture in maturation ponds at Seshego, Lebowa. *Water SA*. **15**(1): 43-48.

RAAD VIR BEVOLKINGSONTWIKKELING. 1990. Dit kan hier gebeur: Onbeheerste bevolkingsgroei bedreig die sinvolle voortbestaan van almal in Suid Afrika. *Bevolkingsgroei*. 1-2.

RANDWATERRAAD. 1982. Annual report (1981/82). P.O. Box 1127, Randburg, Republic of South Africa.

REGULASIE
kyk
SUID-AFRIKA (Republiek)

REICHENBACK-KLINKE, H.H. 1973. Fish pathology. T. IH. Publications, Neptune City, New York.

REINERT, R.E., L.J. STONE, and W.A. WILLFORD. 1974. Effect of temperature on accumulation of methylmercuric chloride and p,p'DDT by rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Fish. Res. Board Can.* **31**: 1649-1652.

ROBECK, G.G. 1974. Purification of drinking water to remove pesticides and other poisonous chemicals: American practice. Special Subj. No. 10. Proc. 16th Water Qual. Conf. Unif. Ill. Coll. Eng.

RUMP, H.H. & H. KRIST. 1988. Laboratory Manual for the Examination of Water, Waste Water, and Soil. New York: VCH Publishers.

RUOTHTULA, M. & J.K. MIETTINEN. 1975. Retension and excretion of ^{203}Hg-labelled methylmercury in rainbow trout. *Oikos*. **26**: 385-390.

SANDBANK, E. & E.M. NUPEN. 1984. Warmwater fish production on treated wastewater effluents. Paper presented at Aquaculture South Africa 1984, Cathedral Peak. 3-4 May 1984.

*SCHELL, J. & H. A. NEVISRA. 1977. **In**: Cadmium in the Environment (1980). **1**: 141-148.

SCHOLTZ, A.T.J. & W. UYS. 1988. Site selection, Planning and Pond Construction. **In**: The culture of the sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* in Southern Africa. South African National Scientific Programmes Report No 153. CSIR: Pretoria. 27-35.

SCHOONBEE, H.J. 1969. Notes on the food habits of fish in Lake Baberspan, Western Transvaal, South Africa. *Verh. int. Verhein. Limnol*. **17**: 689-701.

SHAW, T.L. & V.M. BROWN. 1974. The toxicity of some forms of copper to rainbow trout. *Water Res. Arch*. **8**: 377-382.

SIMPSON, D.E. & V.C. STONE. 1988. Site selection, Planning and Pond Construction. **In**: The culture of South African Sharptooth Catfish *Clarias gariepinus* in Southern Africa. South African National Scientific Programmes Report No 153. CSIR: Pretoria. 98-104.

SLABBERT, J.L., W.S.G. MORGAN, & A. WOOD. 1989. Microbiological aspects of fish cultured in wastewaters - the South African experience. *Wat. Sci. Tech.* **21**(3): 307-310.

SMITH, I.C. & B.L. CARSON. (eds.) 1980. Trace metals in the environment. Volume 6 - Cobalt. Ann Arbor, Michigan: Ann. Arbor. Science Publishers, Inc. / The Butterworth Group. 1202 pp.

SNYDER, W.S., M.J. COOK, E.S. NASSET, L.R. KARHAUSEN, G.P. HOWELLS & I.H. TIPTON. 1975. International Commission on Radiological Protection. Report on the task group on reference man. ICRP Publication 23. New York.

SOLLMAN, T.M. 1957. A manual of pharmacology. 8th ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, Pa.

*SUGAWARA, K. 1978. **In**: Cadmium in the Environment (1980). **1**: 141-145.

SUID-AFRIKAANSE BURO VIR STANDAARDE (SABS). 1984. SABS 241-1984 Spesifikasie vir water vir huishoudelike gebruik. Tweede Hersiene Uitgawe. Die Raad van die Suid-Afrikaanse Buro vir Standaarde: Pretoria.

SUID-AFRIKA (Republiek). 1970. Tweede aanvullende verslag oor die voorgestelde Modderrivier Staatswaterwerk (Krugersdriftdam). Staatsdrukker: Pretoria.

SUID-AFRIKA (Republiek). 1984. Vereistes vir die suiwering van afvalwater en afloop. Regulasie 991 van 1984. Staatskoerant No. 9225. 18 Mei 1984. Staatsdrukker: Pretoria.

TAMM, C.O. 1976. Acid precipitation: biological effects in soil and forest vegetation. *Ambio*. **5**: 235-238.

TAYLOR, M.C., A. DeMAYO, & K.W. TAYLOR. 1982. Effects of zink on humans, laboratory and farm animals, terrestrial plants, and freshwater aquatic life. *Crit. Rev. Environ. Control.* **12**(2): 113-181.

TURNER, J.W.D., R.R. SIBBALT, & J. HEMENS. 1986. Chlorinated secondary domestic sewage effluent as a fertilizer for marine aquaculture. III. Assesment of bacterial and viral quality and accumulation of heavy metals and chlorinated pesticides in cultured fish and prawns. *Aquaculture*. **53**(2): 157-168.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). 1976. Quality Criteria for Water. National Technical Information Service. PB-263 943. Office of Water and Hazardous materials, Washington D.C. EPA, 26 July 1976.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). 1980. Ambient Water Quality Criteria for Cadmium. National Technical Information Service. PB81-117368. Washington D.C.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). 1983. Method 200.7 Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometric method for trace element analysis of water and wastes. Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes. EPA-600/4-79-020, revised March 1983.

UNITED STATES PUBLIC HEALTH SERVICE (USPHS). 1962. United States Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service. Drinking water standards. Washington DC.

VAHRENKAMP, H. 1973. Metalle in Lebensprosezessen. *Chemie Unserer Zeit*. **7**: 97-105.

VAN AS, J.G. & L. BASSON. 1988. Parasites of sharptooth catfish and their possible implication in aquaculture. *The culture of the sharptooth catfish, Clarias gariepinus in Southern Africa.* CSIR, South African National Scientific Programmes Report No 153: 98-104.

VAN DER MERWE, C.G., H.J. SCHOONBEE, & J. PRETORIUS. 1990. Observations on concentrations of heavy metals zinc, manganese, nickel and iron in the water environment, in sediment and in two aquatic macrophytes, *typha capensis* (Rohrb) N.E. Br and *Arundo donax* L. of a stream affected by goldmine and industrial effluents. *Water SA.* **16**(2): 119-124.

VAN DER WAAL, B.C.W. 1972. 'n Ondersoek na aspekte van die ekologie, teelt en produksie van *Clarias gariepinus* (Burchell) 1822. M.Sc. verhandeling, Randse Afrikaanse Universiteit, Johannesburg.

VERSLAG
kyk
SUID-AFRIKA (Republiek).

WALDRON, H.A. 1988. Lecture notes on Occupational Medicine. Third Edition. Blackwell Scientific Publications: London, 260 pp.

WALMSLEY, R.D. 1988. Aquaculture regulations in South Africa. The culture of the sharptooth catfish, *Clarias gariepinus* in Southern Africa. CSIR, South African Scientific Programmes Report No 153. 118-124.

WARNER, J. 1982. Vis uit vrugte-afloop. *Die Landbouweekblad.* (338): 24-27.

WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (WPCF). 1990. Wastewater biology: the microlife. St. Joseph: Imperial Printing Co. 184pp.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1982a. Metal Surveys in South African estuaries I. Swartkops River. *Water SA*. 8(1): 26-35.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1982b. Metal Surveys in South African estuaries II. Knysna River. *Water SA*. 8(1): 36-34.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1982c. Metal Surveys in South African estuaries III. Hartenbos, Little Brak and Great Brak Rivers (Mossel Bay). *Water SA*. 8(2): 108-113.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1982d. Metal Surveys in South African estuaries IV. Keurbooms and Bietou Rivers (Plettenberg Lagoon). *Water SA*. 8(2): 114-119.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1982e. Metal Surveys in South African estuaries V. Kromme and Gamtoos Rivers (St Francis Bay). *Water SA*. 8(4): 187-191.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1982f. Metal Surveys in South African estuaries VI. Sundays River. *Water SA*. 8(4): 192-195.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1983a. Metal Surveys in South African estuaries VII. Bushmans, Kariega, Kowie and Great Fish Rivers. *Water SA*. 9(2): 66-70.

WATLING, R.J. & H.R. WATLING. 1983b. Trace metal surveys in Mossel Bay, St Francis Bay and Algoa Bay South Africa. *Water SA*. 9(2): 57-65.

WATLING, R.J. (Editor). 1981. A manual of methods for use in the South African marine pollution programme. South African National Scientific Programmes, Report 44. 82 pp.

WILLIAMS, R.J.P. 1967. Heavy metals in biological systems. *Endeavour*. **24**: 96-100.

WILLOUGHBY, N.G. & D. TWEDDLE. 1978. The ecology of the catfish, *Clarias gariepinus* and *Clarias ngamensis* in the Shire valley, Malawi. *J. Zool.* (London). **186**: 507-534.

WOOD, J.M. 1975. Biological cycles for elements in the environment. *Naturwissenschaften*. **62**: 357-364.

WOLF, H.W. 1972. The coliform count as a measure of water quality. **In**: Water Pollution Microbiology. Mitchell, R. (Editor). Wiley-Interscience.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1971. International standards for drinking water. Third Ed. World Health Organization: Geneva.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1972. Technical Report Series, No. 505. (Evaluation of certain food additives and the contaminants: mercury, lead and cadmium: Sixteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives).

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1977. Lead (Environmental Health Criteria 3). World Health Organization: Geneva.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 1984. Guidelines for drinking water quality, Vol. I. Recommendations. World Health Organization: Geneva. 130pp.

WRIGLEY, T.J., D.F. TOERIEN, & I.G. GAIGHER. 1988. Fish production in small oxidation ponds. *Water Research*. 22(10): 1279-1285.

YASUNO, M., S. HATAKEYAMA, & Y. SUGARA. 1985. Characteristic distribution of chironomids in rivers polluted with heavy metals. *Verh. Internat. Limnol.* **22**: 2371-2377.

ZITKO, V. & W.G. CARSON. 1976. A mechanism of the effects of water hardness on the lethality of heavy metals to fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **13**: 23-30.

BYLAE A
Reagense en media vir chemiese- en mikrobiologiese analise

Reagense vir chemiese analise

AA Spectrometer Standard Mercury Nitrate (CLINICAL SCIENCES DIAGNOSTICS) 1,00 mg $Hg.ml^{-1}$ Diagnostiese reagens

ICP-Mehrelement - Standardlösung IV (MERCK) 23 Elemente in verdunde Salpetersäure) (enthält Salpetersäure ca 1 $mol.L^{-1}$) Art No 11355

Swaelsuur (SAARCHEM) (AR) 98 % H_2SO_4

Salpetersuur (SAARCHEM) (AR) 55 % HNO_3

10 % Salpetersuur. 100 ml HNO_3 (SAARCHEM) (AR) is in 'n 1 liter volumetriese fles gevoeg. Dit is tot by merk met gedistilleerde H_2O opgevul (Watling, 1981).

20 % Tinchloried in 20 % soutsuur. 500 g Tinchloried (PAL Chemicals) (AR) ($SnCL_22H_2O$) is in 1 liter 50 % HCl opgelos. Dit is tot 2,5 liter in 'n donker wye nek Winchester bottel opgemaak nadat die tinchloried opgelos het. Die oplossing is gesuiwer deur dit met kwikvrye lug te borrel teen 'n tempo van 1 liter/minuut vir 48 uur. Die kwik is verwyder deur die lug oor glaswol wat met platina-ägtige chloried geïmpregneer is, te stuur. Nadat dit die eerste suiweringsproses ondergaan het, is die oplossing vir 'n verdere 24 uur met kwikvrye argon teen dieselfde vloeitempo gesuiwer. Tydens hierdie behandeling is alle kwik wat in die tinchloried of in die wande van die houer teenwoordig was, verwyder (Watling, 1981).

5 % Lae-kwik kaliumpermanganaat oplossing. 50 g lae-kwik kalium permanganaat (PAL Chemicals) (AR) ($KMnO_4$) is in 1 liter gedistilleerde water opgelos. 'n Klein stukkie koperdraad is in die

oplossing gevoeg om alle anorganiese kwik uit die oplossing te verwyder (Watling, 1981).

20 % lae kwik hidroksielammoniumchloried oplossing. 200 g Hidroksielammoniumchloried (Fluka) (AR) ($NH_2OH.HCl$) is in 1 liter gedistilleerde water opgelos (Watling, 1981).

Waterstofperoksied (MERCK) (AR) 35 % Medies ekstra suiwer. H_2O_2

Soutsuur (PAL Chemicals) (AR) 34 % HCl

Chloroform (PAL Chemicals) Chemies suiwer. $CHCl_3$

Voorbereiding en berging van glasware

Alle glasware wat in die analise gebruik is, is vooraf gewas en vir 48 ure in 'n 5 % Decon 75 nie-metaalatige detergent oplossing gelaat. Nadat die tyd verstreke was, is die items deeglik met gedistilleerde water gewas en vir 24 ure in 50 % HCl geweek. Die items is hierna met gedistilleerde water gewas en in 1% HNO_3 gestoor voordat dit gebruik is.

Media en reagense vir mikrobiologiese analise

M-Fc agar (Biolab). 50 g van die media is in 1 liter gedistilleerde gesteriliseerde water gesuspendeer. Dit is gekook totdat alles opgelos was. Daarna is dit in petribakkies gegiet. Indien verlang kan 10 ml van 1 % rossuuroplossing by die medium gevoeg word voordat dit gekook word. Die medium is nie ge-outoklafeer nie.

M-Endo agar LES (Biolab). Om volledige oplossing van basiese-fuchsien te verseker, is die medium soos volg voorberei:
51 g van die media is in 1 liter gedistilleerde gesteriliseerde water gesuspendeer. Daarna is 50 ml etanol bygevoeg en vir 10 minute laat staan. Koking het plaasgevind totdat alle media opgelos is. Die

agar is in petribakkies gegiet en in 'n donker plek by 4 °C gestoor. Sorg is geneem dat dit nie oorverhit nie.

Bismuth Sulfiet agar acc. to WILSON-BLAIR (MERCK). 47,5 $g.L^{-1}$ van die media is in ge-demineraliseerde water opgelos deur verhitting in 'n kokende waterbad. Die gevormde presipitaat is tot homogeen gemeng en die medium is gegiet tot plate om dik lae te vorm. Die pH was 7.6 ± 0.2

Bacto-agar (Difco). Die agar is opgelos in ge-demineraliseerde gedistilleerde water sodat die agar 2 % van die totale agarpersentasie in die oplossing beslaan het.

Dubbellaag agar. 'n Gemodifiseerde dubbellaag-agar metode (Adams, 1959) is vir analise gebruik. Die onderste laag van die plaat het die volgende bevat:
11 g Difco agar, 13 g Difco Bakto triptoon, 8 g Natriumchloried en 1,5 g glukose per 1 liter gedistilleerde water.

Die boonste laag het die volgende bevat:
6 g Agar, 10 g triptoon, 8 g Natriumchloried en 3 g glukose per 1 liter water.

Salmonella verrykingssop acc. to Rappaport (MERCK). 54 $g.L^{-1}$ van die medium is in gedemineraliseerde gesteriliseerde water opgelos. Dit is in proefbuise gegiet en onder gemiddelde toestande (20 minute by 115 °C) ge-outoklafeer terwyl 'n pH van 6 ± 0,1 verkry is.

Selenite cystine sop (MERCK). 23 $g.L^{-1}$ van die media is in gedemineraliseerde gesteriliseerde water by 'n temperatuur van ± 50 °C opgelos en 'n pH van 7,0 ± 0,2 is verkry.

Triptoonwater (Biolab). 10 g triptoon en 5 g natriumchloried is in 1000 ml water opgelos. Die pH-waarde is sodanig ingestel dat dit na

sterilisasie 7,4 was. Hoeveelhede van 5 ml is in proefbuise gegiet en vir 15 minute lank in 'n outoklaaf by 115 ±2 °C gesteriliseer.

Kovacs-reagens (MERCK). Medies ekstra suiwer. 35 %.

Gentian violet oplossing (Tedro). Waterige oplossing van 0,5 % m/v.

D$^{(+)}$ **Glukose** (SMM Chemicals)

Natrium chloried (PAL Chemicals) (AR) NaCl

BYLAE B

Analise van watermonsters deur middel van induktief gekoppelde plasma emissiespektroskopie

Kalibrasie van die IGP spektrometer. Eerstens is die instrument se deteksielimiet, akkuraatheid, liniêre spektrum en spektrale inmenging vir elke analitiese lyn bepaal. Aandag is aan die konfigurasie van die instrument gegee sodat die werking ooreenkomstig die analitiese vereistes op 'n dag tot dag basis is.

Die instrument is aangeskakel en vir 30 minute gelaat om die regte temperatuur te bereik en te stabiliseer. Daarna is dit volgens die volgens die voorskrifte van die vervaardiger gekalibreer deur die gebruik van kunsmatige standaarde (ICP-Mehrelement - Standardlösung IV (MERCK)) en blanko-oplossings. Die standaarde is deurgesuig vir ten minste 15 sekondes (om die plasma te bereik) voordat sein-integrasie begin is. Na elke aspirasie is die monsterpypie vir ten minste 60 sekondes met 'n blanko-oplossing gespoel om die oordrag van enige vorige standaard te voorkom. 'n Gemiddelde intensiteit van veelvoudige integrasies (4 integrasies) is met standaarde uitgevoer om toevallige foute te verminder. Voordat die analise van monsters begin is, is die instrument se standaardafwyking gekontroleer. Konsentrasies wat in die analise verkry is, het 'n standaardafwyking van $\leq$ 5 % getoon.

Analise van watermonsters. 'n Kalibrasie blanko-oplossing is geanaliseer gevolg deur die werklike blanko (monster). Dit het 'n kontrole voorsien vir kontaminasie van die monster tydens voorbereiding met die reagense. Hierna is monsters geanaliseer met behulp van die outomatiese monsternemings apparaat en die instrument is vir 60 sekondes met verdunde suur tussen monsters en blanko-oplossings gespoel. Sorg is geneem dat geen kontaminasie deur oordrag van monsters tydens die analise voorgekom het nie. Verdunnings en aansurings is gemaak waar monsters se konsentrasies onder die liniêre kalibrasie lyn deur die instrument bereken is.

Instrumentele kwaliteitsbeheer. Die instrument se kontrole standaard is twee maal na elke tien monsters bepaal. In gevalle waar daar 'n afwyking van ± 5 % tussen die twee metings was, is die instrument weer gekalibreer.

Toets vir matrys inmenging. Waar 'n nuwe of ongewone monster matrys geanaliseer is, is verseker dat die nie-liniêre inmenging nie positief of negatief was nie. Waar die element teenwoordig 'n konsentrasie van meer as 1 $mg.L^{-1}$ gehad het, is serie verdunnings met die kalibrasie blanko-oplossing uitgevoer vir 'n meer akkurate lesing. Resultate van die verdunning was binne ± 5 % van die oorspronklike resultaat. Waar konsentrasies minder as 1 $mg.L^{-1}$ was of nie opgespoor is nie, is 'n na-verterings toevoeging gelyk aan 1 $mg.L^{-1}$ gemaak. Herwinning van die toevoeging was altyd tussen 95 % en 105 % of binne die vasgestelde beheergrense van ± 2 % standaardafwyking van die gemiddelde.

Berekeninge en korreksies.

Blanko korreksie: Die kalibrasieblankowaarde is afgetrek van elke monster om 'n agterlyn korreksie te maak. Die resultaat van die metode blanko-oplossings se analise is alternatiewelik van die monsters afgetrek om voorsiening te maak vir reagens kontaminasie. Die reagensblanko en agter-lyn korreksie is saamgevat in een aftrekking.

Verdunnings korreksie: Waar die monster verdun is, is die resultate vermenigvuldig met 'n verdunningsfaktor (*VF*) wat as volg bereken is:

$$VF = \frac{\text{Finale volume}}{\text{Oorspronklike volume}}$$

Korreksie vir spektrale inmenging: Die spektrale inmenging is gekorrigeer deur die rekenaar se sagteware wat deur die vervaardiger van die instrument verskaf is.

Data voorstelling: Analitiese data is gerapporteer in konsentrasie eenhede van milligramme per liter met drie korrekte desimale. Konsentrasies laer as die deteksielimiet is as nie opgespoor nie, minder as die gegewe dekteksielimiet, vir die monster aangegee.

BYLAE C
Voorbereiding van kwikstandaarde en blanko-oplossings

Die blanko-oplossings en standaarde is op dieselfde wyse as die weefselmonsters met betrekking tot volumes van reagense, verteringstyd, ens., voorberei. Die rede hiervoor is om voorsiening te maak vir enige kwik wat in die reagense teenwoordig kan wees.

Die metode van voorbereiding is, as volg uitgevoer:
Blanko-oplossings: (In duplikaat)
2 ml van 6 % $KMNO_4$ en 1 ml gekonsentreerde H_2SO_4 is in 'n 150 ml Erlenmeyerfles gevoeg. Die monster is vir 2 ure by 55 °C verteer. Daarna is 25 ml gekonsentreerde H_2SO_4 en 20 ml 6 % $KMnO_4$ by die monster gevoeg. Dit is vir 'n verdere 4 ure verhit waarna dit tot presies 100 ml opgemaak is. Dit is as die blanko gelees.

Standaarde: (In duplikaat)
25 ml 6 % $KMnO_4$ en 1 ml gekonsentreerde H_2SO_4 is in 'n 150 ml Erlenmeyerfles gevoeg. Daarna is 2 ml van 'n AA Spektrometer kwikstandaardoplossing van 1 $\mu g.ml^{-1}$ bygevoeg wat soos volg voorberei is. ('n Voorbereide kunsmatige kwikstandaard soos in BYLAE A van 1000 $mg.L^{-1}$ is gebruik):
- Die oplossing is verdun: 1 ml tot 100 ml in 10 % HNO_3 - genoem oplossing a.
- Oplossing a is verder verdun: 1 ml tot 100 ml in 10 % HNO_3 - genoem oplossing b.

Oplossing b wat voorberei is, is gebruik as die werkstandaard.

Die monster is vir 2 ure lank verteer. Daarna is 25 ml gekonsentreerde H_2SO_4 en 20 ml 6 % $KMnO_4$ bygevoeg waarna dit vir 'n verdere 4 ure verhit is. Na verhitting is die monster akkuraat tot 100 ml opgemaak. Dit is as die standaard gelees.

Berekening van kwikkonsentrasies

Die berekening is as volg gedoen:

(i) Eerstens is die netto standaard verkry deur die gemiddelde blanko absorbansie van die gemiddelde standaard absorbansie af te trek. Die faktor (f) is soos volg vanaf die blanko-oplossings en standaarde bereken:

$$f = m \times a \div b$$

waar;

m = massa van Hg in die standaard,

a = volumes van die standaarde en die werklike monsters, en

b = netto standaard absorbansie.

(ii) Die konsentrasie vir die spesifieke monster volume is hierna as volg bereken:

(monster absorbansie - blanko absorbansie) x f x ($c \div d$)

waar;

f = faktor in (i) bereken,

c = volumes van die standaarde en die monsters vermenigvuldig met 10^2, en

d = volume wat in die analise gebruik is.

(iii) Die massa wat van die bostaande berekening verkry is, is gedeel deur die massa van die biologiese materiaal wat afgeweeg is vir die ontbinding van die monster om die resultaat in μg Hg.g^{-1} van die nat gewig te gee.

Analitiese data is gerapporteer in die konsentrasie eenheid mikrogram per liter tot drie korrekte desimale syfers.

BYLAE D
Voorbereiding van membraanfilters en toerusting vir mikrobiologiese analises

Voorbereiding van membraanfilters

50 mm Millipore membraanfilters met 'n roosterpatroon wat 'n maksimum poriegrootte van 0,45 μm het, is gebruik. Membrane is met gedistilleerde water natgemaak en tussen lagies filtreerpapier in petribakkies vir sterilisasie gepak. Die behandeling het voorkom dat die membrane opkrul tydens sterilisasie. Die verpakte petribakkies is in aluminium foelie toegedraai en in 'n glasbeker geplaas vir sterilisasie by 121 °C vir 20 minute. Aan die einde van die proses is die stoom vinnig uit die outoklaaf vrygelaat ten einde akkumulasie van water of kondensasie op die filters te voorkom (Watling, 1981).

Voorbereiding van filtrasie apparaat

As gevolg van die hoë slyk inhoud in veral die water afkomstig van die Krugersdriftdam, is metaal filterhouers met 'n inhoudsmaat van 100 ml gebruik. Vir sterilisasie is die filterhouer gemonteer sonder om dit styf vas te skroef, maar sorg is geneem dat die poreuse plaat in posisie teen die boonste oppervlak van die houer is. Die hele filterhouer is in aluminium foelie toegedraai en vir 20 minute in 'n outoklaaf by 121 ± 2 °C gesteriliseer.

Voorbereiding van tangetjies

Rondepunttangetjies met gladde kake is in proefbuise geplaas wat met katoenwol toegestop is. Die proefbuise en tangetjies is daarna by 121 ± 2 °C vir 20 minute gesteriliseer. Tydens gebruik is die tangetjies weer gesteriliseer deur dit in tegniese metanol te doop en die nat tangetjie dan aan die brand te steek.

Voorbereiding van media

Die media wat vir die onderskeie bepalings gebruik is, is voorberei volgens die spesifikasies van die vervaardigers soos in BYLAE A.

Filtrasietegniek

Algemene voorbereiding van toerusting: Voordat enige monsters versamel is, is voldoende agarmedia voorberei en gesteriliseer. Steriele tangetjies, petribakkies (65 mm in deursnee), 1 ml en 10 ml pipette, pipetpunte, 50 ml aluminium bedekte maatsilinders, proefbuise met proppe, membraanfilters, absorbsieskywe, en groot hoeveelhede gedistilleerde water (gesteriliseer in 1 liter wye nek Schott bottels by 121 ± 2 °C vir 20 minute) is vooraf voorberei.

Voorbereiding van absorbsieskywe in petribakkies

Die steriele absorbsieskywe is deur middel van steriele tangetjies in die petribakkies geplaas. Membraan groeisop is gepipeteer (± 2 ml) om elke skyf te benat sodat die hele skyf nat genoeg was om genoegsame voeding vir bakteriologiese groei te verseker. Die skywe is vooraf voorberei.

Seleksie van die toepaslike monstervolume

Resultate van 'n voorlopige verkenningstudie is gebruik vir die seleksie van monstervolumes. Vir die water van die Krugersdriftdam, is volumes van 100 ml gefiltreer. Water van die verouderingsdam is gefiltreer in volumes van 1 ml aangesien mikrobiologiese besoedeling van die water teenwoordig was. Onmiddelik voordat filtrasie uitgevoer is, is die monsterbottels ongeveer 25 keer hewig heen en weer geskud sodat daar deeglike vermenging van die inhoud kon plaasvind.

Filtrasie en oordraging van membrane

'n Steriele filterhouer, gekoppel aan 'n Buchnerfles en 'n elektriese vakuumpomp is opgestel. Deur gebruik te maak van 'n steriele tangetjie, is 'n steriele membraanfilter met die roosterkant bo, op die poreuse plaat in die filterhouer geplaas. Die houer is weer aanmekaargesit en die tregter is met steriele gedistilleerde water gespoel. Die membraanfilter is ook in steriele gedistilleerde water geweek.

Die bottel wat die monster bevat is ongeveer 25 keer deur 'n vinnige beweging van die polsgewrig omgekeer om moontlike neerslag egalig deur die monster te versprei. Daarna is 100 ml van die monster asepties in die saamgestelde membraanfilterhouer oorgeplaas en gefiltreer deur suiging op die filtreerfles aan te wend. Nadat die 100 ml toetsmonster gefiltreer is, is die tregter drie maal met 20 tot 30 ml steriele water gewas. Die houer is versigtig uitmekaar gehaal en 'n steriele tangetjie is gebruik om die membraan, met die roosterkant bo, asepties oor te plaas op 'n plaat met agar. Sorg is geneem dat geen lugborrels tussen die membraan en die oppervlak vasgevang word nie en dat goeie benattingskontak gehandhaaf word.

'n Blankomonster is as kontrole in triplikaat op dieselfde wyse as hierbo voorberei.

BYLAE E

TABEL E-1: MAKSIMUM BLOOTSTELLINGSVLAKKE VIR MENSLIKE BLOOTSTELLING AAN METALE MET INNAME EN BIOLOGIESE MONITERING DAARVAN (CARSON, *et al.*, 1991).

	Blootstellingsvlak	Konsentrasie in biologiese media[a] $\mu g.L^{-1}$
Kwik	15 of < 10 μg/dag[b]	< 20 (w) 0,30 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Lood	450 μg/dag[b]	< 350 (w) 0,04 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Sink	~ 13 mg/dag[b]	1 000 (s) ~ 5 000 (w) ~ 10 000 (rbs)
Yster	~ 16 mg/dag[b]	1,290 (p) (mans) 24 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Koper	3,5 mg/dag[b]	160 tot 3 480 (w) 700 tot 1 400 (s) mans 850 tot 1 550 (s) vrouens 930 (rbs) 0,24 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Mangaan	3,7 mg/dag[b]	0,587 ± 0,183 (s) 0,015 $\mu g.g^{-1}$ (rbs) < 3 (u) 0,03 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Chroom	~ 150 μg/dag[b]	0,160 (p of s)
Aluminium	~ 45 mg/dag[b]	< 10 (s)
Kobalt	~ 50 of 300 μg/dag[b]	≤ 238 (w) ≤ 206 (rbs) 100 tot 750 (u)
Kadmium	~ 150 μg/dag[b]	< 10 (w) 0,05 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Magnesium	340 mg/dag[b] of hoër	1,807 ± 0,132 mEq.L^{-1} (s) 20 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Natrium	2 300 tot 6 900 mg/dag[b]	2 900 000 tot 3 560 000 (s) 510 $\mu g.g^{-1}$ (a)
Kalium	3,3 mg/dag[b]	140 000 tot 215 000 (s) 320 $\mu g.g$ (a)

SLEUTEL: [a] w = heelbloed; s = serum; a = vetweefsel; rbs = eritrosiete; u = uriene
[b] Geskatte daaglikse inname vir 'n 70 kg verwysingspersoon of ander bepaalde skatting volgens literatuur.