

I Krajowe Warsztaty Ekotoksykologiczne

„Praktyczne wykorzystanie systemów Microtox/DeltaTox i Toxkit do oceny toksyczności”

Puławy, 16-17 czerwca 2011

Niektóre streszczenia referatów

Organizatorzy



TIGRET Sp. z o.o.



Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów,
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa –
Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Patronat medialny

WODOCIĄGI
KANALIZACJA

Lista opublikowanych streszczeń (wg kolejności prezentacji):

1. **Potencjał informacyjny biotestów** – Lidia Wolska – Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk
2. **Międzynarodowe analizy interlaboratoryjne testów Toxkit – ostatni etap procesu walidacji testów** – Grzegorz Nałęcz-Jawecki – Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa
3. **Fitotoksyczność chlorku sodu wobec rzęsy drobnej (*Lemna minor*)** – Barbara Adomas – Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn
4. **Zalety i wady testu Phytotoxkit** – Tomasz Sekutowski – Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Wrocław
5. **Ocena skażenia wody przez glifosat z wykorzystaniem testów Daphtoxkit i Phytotoxkit** – Tadeusz Banaszkiewicz – Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn
6. **Biotesty narzędziem w ocenie toksyczności gleby podczas bioremediacji zanieczyszczeń ropopochodnych** – Teresa Steliga – Instytut Nafty i Gazu Oddział Krosno, Krosno
7. **Przegląd standaryzowanych, ON-LINE, laboratoryjnych i terenowych testów bioindykacyjnych do oceny jakości wody do spożycia** – Grzegorz Piętowski – TIGRET Sp. z o.o., Warszawa
8. **Ocena toksyczności i mutagenności terenów cynkowo-ołowiowych w rejonie Olkusza** – Agnieszka Abratowska – Uniwersytet Warszawski, Warszawa
9. **Ocena toksyczności zbiornikowych osadów dennych przy wykorzystaniu baterii biotestów** – Agnieszka Baran – Uniwersytet Rolniczy, Kraków
10. **Wykorzystanie biotestów do oceny ryzyka ekologicznego w glebach użytkowanych rolniczo** – Agnieszka Klimkowicz-Pawlas – Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, Puławy
11. **Nowe zastosowanie ekotestów** – Katarzyna Wilma – Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk
12. **Wykorzystanie systemu DeltaTox® do oceny toksyczności środków chemicznych stosowanych w technologii płuczek wiertniczych** – Grzegorz Zima - Instytut Nafty i Gazu Oddział Krosno, Krosno

Potencjal informacyjny biotestów

L.WOLSKA^{1,2}

¹*Międzywydziałowy Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej,*

Gdański Uniwersytet Medyczny,

ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-519 Gdynia

²*Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk*

liidiawolska@gumed.edu.pl

Biotesty (mikrobiotesty) stają się coraz powszechniej stosowanym narzędziem oceny jakości środowiska. Najszerzej są one stosowane do oceny próbek wodnych (wody pitne, wody powierzchniowe, ścieki oczyszczone i inne), nieco skromniej testy stosowane są w ocenie gleby i osadów, zaś do oceny jakości powietrza mikrobiotesty praktycznie nie są stosowane.

Już w 1998 roku raport Instytutu RIZA (Holandia) wskazywał, że przy wielości i różnorodności substancji zanieczyszczających środowisko, ocena jakości środowiska powinna zawierać oznaczanie takich parametrów jak: toksyczność ostra, toksyczność chroniczna, bioakumulacja, mutagenność, trwałość. Proponowane narzędzia do oceny tych parametrów osiągnęły różny poziom, od szerokiej gamy standardowych, dość powszechnie stosowanych i w niektórych krajach wdrożonych do ustawodawstwa, testów oceny toksyczności ostrej do wciąż w fazie badań testów oceniających trwałość czy bioakumulację.

Stosowanie biotestów w istotny sposób uzupełnia informację analityczną o parametr sumaryczny, jakim jest obserwowany efekt toksyczności wobec wybranych organizmów wskaźnikowych. Niewątpliwą zaletą parametru toksyczności jest to, że wynik uwzględnia współdziałanie obecnej w próbce mieszaniny związków, również tych związków, które nie są identyfikowane i oznaczane z zastosowaniem oznaczeń chemicznych.

Niestety tak znaczący akt prawny jak Dyrektywa Wodna, uznając wagę biotestów przy ocenie toksyczności substancji, przede wszystkim tych nowo wprowadzanych do środowiska, nie formułuje wprost zalecenia ich stosowania do oceny jakości środowiska wodnego.

Niemniej jednak w wielu państwach intensywnie wykorzystuje się badania ekotoksykologiczne do oceny środowiska, ale także rozwiązywania problemów środowiskowych. Prace różnych grup badawczych zaowocowały już propozycją kilku systemów klasyfikacji ekotoksykologicznej próbek środowiskowych.

Zasady przeprowadzania klasyfikacji jakości ekotoksykologicznej ścieków w oparciu o wartość wskaźnika TU zawarto w zaleceniach Komisji Helsińskiej (HELCOM) z 2002 roku [i, ii, iii].

Od roku 1999 we Francji rozwijany jest dość złożony system klasyfikacji ścieków, który wymaga w pierwszym kroku wykonania testów toksyczności w oparciu o szerokie spektrum organizmów oraz wyznaczenie ich genotoksyczności [iv].

W 2003 roku zespół pod kierunkiem Persoone zaproponował prosty system klasyfikacji wód i ścieków oparty dla wód o pomiar efektu (PE), dla ścieków o jednostkę toksyczności (TU=100/L(E)C₅₀) [v].

Badania z zastosowaniem biotestów mogą służyć:

- ✓ poszukiwaniu tzw. *hot spots*, czyli miejsc o bardzo wysokim poziomie zanieczyszczenia związkami toksycznymi;
- ✓ wskazywaniu miejsc o nierozpoznanych problemach ekotoksykologicznych;
- ✓ zarządzaniu środowiskiem;
- ✓ zarządzaniu operacyjnemu procesami technologicznymi;
- ✓ inne.

Biotesty mogą być również wykorzystywane w innych obszarach, pozaśrodkowiskowych, gdzie ich użyteczność może być zaskakująco bezcenna.

Słowa kluczowe: ekotesty, potencjał informacyjny, zarządzanie środowiskiem

[¹] Helcom Recommendation 23/11. *Requirements for discharging of waste water from the chemical industry*, Adopted 6 March 2002, having regard to Article 20, Paragraph 1 b) of the Helsinki Convention. Annex 13, Helsinki, Finland, s. 61-66 (2002).

[¹] Helcom Recommendation 23/12. *Reduction of discharges and emissions from production of textiles*, Adopted 6 March 2002, having regard to Article 20, Paragraph 1 b) of the Helsinki Convention. Annex 14, Helsinki, Finland, s. 67-72 (2002).

[¹] Helcom Recommendation 23/10. *Reduction of discharges and emissions from production and formulation of pesticides*, Adopted 6 March 2002, having regard to Article 20, Paragraph 1 b) of the Helsinki Convention. Annex 12, Helsinki, Finland, s. 56-60 (2002).

[¹] Vindimian, E., Garric, J., Flammarion, P., Thybaud, E., Babut, M.: An index of effluent aquatic toxicity designed by partial least squares regression, using acute and chronic tests and expert judgements. *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2386-2391 (1999).

[¹] Persoone G., Marsalek B., Blinova I., Törökne A., Zarina D., Manusadzianas L., Nałęcz-Jawecki G., Tofan L., Stepanova N., Tothova L., Kolar, B.: A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. *Environ. Toxicol.*, 18, 395-402 (2003).

Międzynarodowe analizy interlaboratoryjne testów Toxkit – ostatni etap procesu walidacji testów.

G. NAŁĘCZ-JAWECKI

Zakład Badania Środowiska, Warszawski Uniwersytet Medyczny;

ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa; gnalecz@wum.edu.pl

Słowa kluczowe: interkalibracja, Thamnotoxkit F, Ostracodtoxkit F, Phytotoxkit

Testy z użyciem słodkowodnych glonów oraz skorupiaków z rodzaju *Daphnia* wprowadzono do norm krajowych i międzynarodowych w ostatnich dekadach XX wieku. W ostatnich latach w normach ISO dopuszczono możliwość stosowania w tych testach, nie tylko organizmów pozyskiwanych z hodowli, ale także z form kryptobiotycznych. Dzięki temu testy Daphtoxkit F magna i Algaltoxkit F są w pełni zgodne ze standardami ISO.

Skorupiak *Thamnocephalus platyurus* od wielu lat jest stosowany w badaniach wody i ścieków jako tańsza i często bardziej czuła alternatywa dla rozwielitki. Badania osadów dennych rzek i jezior są bardzo rzadko wykonywane z powodu braku laboratoriów badawczych pracujących na zalecanych przez normy międzynarodowe bezkręgowcach z rodzaju *Hyalella* oraz *Chironomus*. Organizmy testowe pakietu Ostracodtoxkit F - małżoraczki *Heterocypris incongruens*, charakteryzują się podobną wrażliwością do wyżej wymienionych, przy znacznie prostszej procedurze testowej (Chial i in. 2003 a i b).

Barierą stosowania obu organizmów jest brak certyfikacji ISO. Starania o wprowadzenie testów oceny jakości wody na *T. platyurus* oraz osadów na *H. incongruens* do norm ISO rozpoczęto kilka lat temu. W 2010 roku przedstawiono projekty norm (ISO/CD 14371 i ISO/CD 14380), zaś Belgia i Włochy podjęły się organizacji międzynarodowych badań międzylaboratoryjnych mających na celu ocenę testów odpowiednio na *T. platyurus* oraz *H. incongruens*. W badaniach wzięły udział laboratoria z całego świata, w tym z Polski: 5 laboratoriów na 23 dla *T. platyurus* oraz 6 na 26 – dla *H. incongruens*.

Jako substancje toksyczne zastosowano dwuchromian potasu (*T. platyurus*) oraz siarczan miedzi (*H. incongruens*). W przypadku *T. platyurus* wszystkie testy wykonano prawidłowo - śmiertelność w kontroli negatywnej wyniosła poniżej 10%. Jednocześnie uzyskano porównywalne wyniki toksyczności – rozrzut pomiędzy laboratoriami wyniósł 23,7%. Natomiast test subchroniczny na osadach przysporzył więcej trudności. Część laboratoriów uzyskała prawidłowe wyniki dopiero za drugim podejściem, nie spełniono wzrostowego kryterium ważności testu, zaś rozrzut wyników toksyczności był wyższy – ponad 30%. W obu przypadkach uzyskano bardzo wysoki procent wylęgu organizmów z jaj przetrwanych.

Piśmiennictwo

Chial B.Z., G.Persoone and C.Blaise, 2003a. Cyst-based toxicity tests XVI. Sensitivity comparison of the solid-phase *Heterocypris incongruens* microbioassay with the *Hyalella azteca* and *Chironomus riparius* contact assays on freshwater sediments from Peninsula harbour (Ontaria). *Chemosphere*, 52, 95-101.

Chial B.Z., G.Persoone and C.Blaise, 2003b. Cyst-based toxicity tests XVIII. Application of the Ostracodtoxkit microbioassay in a bioremediation project of oil-contaminated sediments : sensitivity comparison with the *Hyalella azteca* solid-phase assay. *Environmental Toxicology*, 18, (5), 279-283.

ISO/CD 14371. (2010). Water quality — Determination of fresh water sediment subchronic toxicity to *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda). ISO/TC 147/SC 5/WG 2 N 0234.

ISO/CD 14380. (2010). Water quality -- Determination of the acute toxicity to *Thamnocephalus platyurus* (Crustacea, Anostraca). ISO/TC 147/SC 5/WG 2 N 0235.

Fitotoksyczność chlorku sodu wobec rzęsy drobnej (*Lemna minor*)

Ł.SIKORSKI, * A.I. PIOTROWICZ-CIEŚLAK**, B. ADOMAS*

*Katedra Ochrony Powietrza i Toksykologii Środowiska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
w Olsztynie, Prawocheńskiego 17, 10-720 Olsztyn

**Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
ul. Oczapowskiego 1 A, 10-719 Olsztyn
e-mail: badomas@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: chlorek sodu, rzęsa drobna, cyklitole

Streszczenie

Zasolenie jest jedną z powszechnych przyczyn degradacji środowiska przyrodniczego, powodowanej przez rozpuszczalne w wodzie jony soli. Migracje, spływy powierzchniowe, nieprawidłowo prowadzona irygacja zwiększają zawartość soli w podłożu macierzystym, jak i w wodach. Mianem zasolenia środowiska najczęściej nazywa się zwiększone ponad naturalne (przewodność elektryczna ≥ 4 ds/m), stężenie chlorku sodu. Występuje m.in. na terenach, charakteryzujących się niskimi opadami atmosferycznymi oraz wysoką ewapotranspiracją. Problem zasolenia dotyczy 6-7% powierzchni globu, zaś w Unii Europejskiej obejmuje od 1 do 3 milionów ha. Chlorek sodu występuje w pokładach skalnych i charakteryzuje się wysoką rozpuszczalnością. Stosowany w zabiegach odładowych, pozostaje w glebie przez cały sezon wegetacyjny. Wskutek wymywania obciąża swą zawartością zbiorniki słodkowodne, przez co staje się toksyczny wobec wielu organizmów wodnych, szczególnie w stosunku do słodkowodnych hydrofitów. Obecność chlorku sodu w środowisku zmniejsza zdolność roślin do pobierania wody (susza fizjologiczna), tym samym zmniejsza tempo ich wzrostu. Nadmiar soli zaburza procesy transpiracyjne, a także powoduje dysfunkcję enzymów, poprzez konkurencję jonów sodu z jonami potasowymi.

Jednym ze skutecznych sposobów obrony roślin przed skutkami zasolenia, jest synteza i gromadzenie związków osmoprotekcyjnych. Są to nietoksyczne, niskocząsteczkowe substancje, które bez szkodliwego wpływu na metabolizm rośliny, utrzymują równowagę osmotyczną, chronią struktury komórkowe i enzymy. Należą do nich m.in. niektóre aminokwasy, węglowodany oraz ich pochodne polihydroksyalkohole.

Celem pracy była ocena działania zróżnicowanych poziomów zasolenia środowiska wodnego (0,125 i 0,4 M) na tempo wzrostu rzęsy drobnej (*Lemna minor*) oraz zawartości cyklitoli w tkankach rzęsy. Do badań użyto LEMNA TEST. Cyklitole oznaczono przy użyciu chromatografii gazowej Thermo Scientific.

Badania wykazały, że stężenie 0,125 M chlorku sodu 12-krotnie hamuje powierzchnię całkowitą liści rzęsy drobnej (*Lemna minor*). Najwyższe z testowanych stężeń (0,4 M), przy siedmiodniowym narażeniu na NaCl zmniejszyło powierzchnię liści rzęsy średnio o 17%. Dodatkowo najwyższe stężenie powodowało wyraźne objawy chlorozy na liściach. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężeń chlorku sodu rośnie zawartość osmoprotektantów w tkankach rzęsy drobnej.

Badania finansowane ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego (grant nr N N305 275440) oraz z tematu statutowego (1019 0880) Katedry Ochrony Powietrza i Toksykologii Środowiska UWM w Olsztynie.

ZALETY I WADY MIKROBIOTESTU PHYTOTOXKIT

TOMASZ SEKUTOWSKI

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach
Zakład Herbologii i Technik Uprawy Roli, ul. Orzechowa 61, 50-540 Wrocław
e-mail: t.sekutowski@iung.wroclaw.pl

Słowa kluczowe: testy biologiczne, mikrobiotest Phytotoxkit, herbicydy

Metody analityczne wykorzystujące materiał biologiczny stają się powoli konkurencyjne w odniesieniu do klasycznych metod analitycznych, a w niektórych przypadkach mogą wręcz je zastąpić. Powszechne zastosowanie zawdzięczają głównie swojej specyfice oraz niskim kosztom jednostkowym. W badaniach ekotoksykologicznych wyróżnia się dwie grupy zastosowań metod biologicznych w ocenie wpływu ksenobiotyków na środowisko glebowe:

a) bioanalitka, która związana jest z wykorzystaniem organizmów biologicznych jako receptorów określonych substancji chemicznych np. herbicydów. Ze względu na sposób wykorzystania składnika biologicznego wyróżniamy:

- bioczujniki, których elementem aktywnym jest część biologiczna (np. enzym, przeciwciała - test ELISA),

- biotesty, których elementem kontrolno-pomiarowym jest cały organizm roślinny lub jego część (nasiona, korzenie np. test Phytotoxkit).

b) biomonitoring, który może przebiegać dwutorowo:

- poprzez tworzenie pasywnych próbników akumulacyjnych w oparciu o typowe badania analityczne próbek biologicznych,

- poprzez obserwację bioindykatorów roślinnych czy zwierzęcych.

Biotest (gr. *bios* - życie + łac. *testari* - świadczyć) - można zdefiniować jako eksperymentalną próbkę biologiczną (cały organizm lub jego część), której celem jest wykrycie toksycznej substancji znajdującej się w środowisku lub poznaniu jej szkodliwego działania, poprzez ilościowe oznaczenie wpływu badanej substancji w porównaniu do obiektu kontrolnego.

W ekotoksykologii do badań pozostałości różnych ksenobiotyków (np. herbicydów) najczęściej wykorzystywane są rośliny i ich nasiona, ze względu na specyfikę działania badanych preparatów oraz ze względu na aspekt humanitarny, ekonomiczny i praktyczny. Przykładem mogą być konwencjonalne biotesty 14 czy 21 dniowe, które polegają na wysianiu nasion rośliny testowej (odpowiednio wrażliwej na badaną substancję lub grupę chemiczną) w próbkę glebową zawierającą pozostałości badanej substancji chemicznej.

Konieczność wykonywania analiz wielu próbek glebowych w stosunkowo krótkim czasie doprowadziła do pojawienia się zminiaturyzowanych testów fitotoksyczności zwanych mikrobiotestami lub testami drugiej generacji jako alternatywa dla biotestów konwencjonalnych. Przykładem takiego mikrobiotestu jest szybki (72 h) test - Phytotoxkit.

Zasada działania tego fitotestu opiera się o kiełkujące nasiona *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* i *Sinapis alba*, które w wyniku kontaktu z badaną substancją chemiczną np. herbicydu znajdującą się w glebie, wykazują specyficzną reakcję (brak kiełkowania lub redukcję długości korzeni). Wykorzystanie standardowych nasion umożliwi ujednoczenie testu i otrzymanie powtarzalnych wyników niezależnie od laboratorium w którym wykonywane są badania. Specyfika testu Phytotoxkit omija wszystkie pracochłonne czynności jakie są związane z biotestami konwencjonalnymi przez co znacznie skraca się czas jaki jest potrzebny do uzyskania odczytu (z 14 do 3 dni). Ponadto test ten umożliwia bezpośredni pomiar długości korzeni metodą analizy obrazu (program Image tools), przez co graficzne przedstawienie zależności pomiędzy redukcją długości korzeni fitodetektorów, a fitotoksycznym stężeniem badanych substancji chemicznych jest szybsze i zdecydowanie łatwiejsze w porównaniu do biotestu konwencjonalnego. Test ten pozwala również na pełniejsze oszacowanie fitotoksycznego wpływu pozostałości substancji chemicznych nie tylko na środowisko glebowe ale na całą agrofityocenozę.

Należy również podkreślić fakt, że testy z zastosowaniem szybko kiełkujących nasion wybranych gatunków roślin, mogą być dobrym uzupełnieniem lub nawet alternatywą dla klasycznych pomiarów instrumentalnych.

Zróznicowany charakter substancji chemicznej (np. herbicydów) uniemożliwia jednak stosowanie tylko jednego rodzaju testu Phytotoxkit, zawierającego standardowe fitodetektory dostarczone w zestawie. Dlatego bardzo często w praktyce, przeprowadza się modyfikację testu, polegającą na zastąpieniu standardowych roślin testowych innymi gatunkami tj. *Helianthus annuus*, *Cucumis sativus* czy *Fagopyrum esculentum*. Niestety „operacja” taka wymaga bardzo wielu prób testowych (prowadzonych metodą prób i błędów) ze względu na fakt, że nie wszystkie nasiona nadają się do tego typu testu. Związane jest to z samą budową nasion (gruba okrywa nasienna, długi czas „nasiąkania” – powyżej 72 h, wielkość nasion – nie nadają się nasiona bardzo drobne i duże, najlepsze są nasiona średniej wielkości) czy fizjologią nasion (długi czas spoczynku, mała zdolność kiełkowania).

Również do mankamentów tego rodzaju testu należy zaliczyć fakt, braku możliwości identyfikacji badanego ksenobiotyka (substancja chemiczna znajdująca się w próbce glebowej musi być już znana) w porównaniu do metod analitycznych.

Przypuszczalnie jednak obszar zastosowania mikrobiotestów (tj. Phytotoxkit) w ciągu najbliższych kilku lat będzie się zwiększał, a uzyskane w ten sposób informacje będą stanowiły podstawę do tworzenia np. zespół różnych testów (Phytotoxkit → test ELISA → HPLC), w celu bardziej precyzyjnego oznaczenia oraz poszerzenia spektrum testowanych substancji chemicznych w porównaniu do klasycznych metod instrumentalnych (tj. GC, HPLC).

Ocena skażenia wody przez glifosat z wykorzystaniem testów Daftoxkit i Phytotestkit.

BANASZKIEWICZ T., WYSOCKI K.

Katedra Ogrodnictwa UWM w Olsztynie, ul. Prawocheńskiego 21, 10-927 Olsztyn

e-mail: banasz@uwm.edu.pl

Słowa kluczowe: glifosat, Daftoxkit, Phytotestkit, chlorofil a.

Glifosat [N-(fosfonometylo) glicyna] jest powszechnie znanym związkiem chwastobójczym, stosowanym zarówno w agrocenozach, jak i na terenach nieużytkowanych rolniczo. Działanie herbicydu polega na zakłóceniu szlaku metabolicznego kwasu szikimowego, poprzez blokowanie enzymu syntazy EPSP (syntaza 5-enolopirogroniano-szikimowo-3-fosforanowa), co prowadzi do powolnego zamierania roślin na skutek niedoboru białek. Podstawową reakcją obronną roślin po zabiegu jest szybkie wydalanie glifosatu w niezmienionej postaci, za pośrednictwem systemu korzeniowego. Prowadzi to do ryzyka skażenia gleby i wody oraz działania fitotoksycznego substancji aktywnej na niewymagające zwalczania rośliny sąsiadujące. Oznacza to potrzebę prowadzenia badań monitoringowych tego herbicydu, analogicznie, jak w przypadku innych substancji, będących źródłem nieakceptowalnego poziomu skażenia środowiska. Pomimo dość prostej struktury chemicznej glifosatu, jako związku z grupy aminofosfonianów, jednostki zajmujące się badaniami pozostałości pestycydów w Polsce, nie wykazują zainteresowania oznaczaniem zawartości tego związku w środowisku. W tej sytuacji, podjęto próbę określenia trwałości i zachowania się glifosatu w wodzie przy pomocy testów biologicznych. Doświadczenie prowadzono w komorze fitotronowej w kontrolowanych warunkach temperatury (12 godz -16 °C + 12 godz - 24 °C). W doświadczeniach wykorzystano 2 tygodniowe siewki gorczycy białej (*Sinapis alba*), z dobrze wykształconymi liścieniami (pojawiały się już pierwsze liście właściwe). W kubkach testowych, wypełnionych wodą, o pojemności 120 ml umieszczono po 5 roślin, które traktowano herbicydem Glyphos 360 SL (substancja czynna - glifosat), w trzech stężeniach, to jest: 0,5%; 1% i 2%. Stężenia te były analogiczne, jak w przypadku zabiegów wykonywanych w warunkach polowych. Na każdą roślinę наносzono jednakową ilość sporządzonego roztworu, co dawało odpowiednio: 0,36 µl/roślinę, 0,18 µl/roślinę i 0,09 µl/roślinę, w przeliczeniu na substancję czynną. Wyznaczono trzy momenty krytyczne, w których traktowane rośliny usuwano z roztworu: po 2, 24 i 48 godzinach od zastosowania cieczy użytkowej. W traktowanych roślinach dokonywano pomiaru aktywności chlorofilu a za pomocą urządzenia Hansatech Instrument Handy PEA. Wodę, w której zanurzone były korzenie roślin traktowanych, przeznaczono do wykonania testów Daftoxkit i Phytotestkit w celu oceny skażenia jej przez glifosat.

Widoczne zmiany na roślinach pojawiały się już po 24 godzinach po naniesieniu roztworów herbicydu. Rośliny stawały się słabsze, liścienie traciły jędrność. Podczas badań stwierdzono zmniejszającą się aktywność chlorofilu a w zależności od zastosowanego stężenia. Największe zmiany zaobserwowano po 48 godzinach w przypadku roślin traktowanych stężeniem 1% i 2% preparatu.

Woda, w której zanurzone były korzenie roślin traktowanych, posłużyła do wykonania testów na wykrycie skażenia przez glifosat. Przeprowadzono dwa rodzaje testów: Daftoxkit i Phytotestkit. Największa śmiertelność dafni- 95% (w obiekcie kontrolnym 40%) została odnotowana w wodzie pobranej z kubków, gdzie traktowane były rośliny roztworem 2% w wyniku 48 godzinnej ekspozycji na zanieczyszczenie. Podobne dane zostały zaobserwowane

w testach Phytoteskit. Zahamowanie wzrostu korzeni roślin testowych w ponad 50% odnotowano w przypadku wody pobranej z kubków, w których znajdowały się rośliny traktowane roztworem 2% po 48 godzinnej ekspozycji. Na uwagę zasługuje fakt, że rośliny wykazywały znaczne zahamowanie wzrostu w przypadku wszystkich stosowanych stężeń po 48 godzinnej ekspozycji. Najlepsze rezultaty uwidoczniły się po 7 dniowym czasie trwania testu.

Wyniki obu przeprowadzonych serii badań potwierdziły przydatność zastosowanej metody badawczej do oceny skażenia wody przez glifosat, wynikającego z wcześniejszego zastosowania herbicydu do zwalczania chwastów.

Biotesty narzędziem w ocenie toksyczności gleby podczas bioremediacji zanieczyszczeń ropopochodnych

dr hab. inż. TERESA STELIGA *prof. nadzw.*

mgr PIOTR JAKUBOWICZ

Instytut Nafty i Gazu Oddział Krosno

38-400 Krosno, ul. Armii Krajowej 3

e-mail: Teresa.Steliga@inig.pl

Słowa kluczowe: odpady wiertnicze, dół urobkowy, zanieczyszczenia ropopochodne, bioremediacja, mikroorganizmy autochtoniczne, biotesty.

Streszczenie

Odpady wiertnicze powstałe przy wierceniu płytkich otworów (poniżej 1000 m ppt) z zastosowaniem metody udarowej zawierają zanieczyszczenia ropopochodne. Stanowią one złożoną mieszaninę związków o zróżnicowanych własnościach biologicznych, które mogą być przyczyną niekorzystnych dla człowieka i organizmów żywych zmian zachodzących w skażonych ekosystemach. W wyniku prowadzonych prac bioremediacyjnych metodą *in-situ* na terenach dołów urobkowych, które obejmują:

- ✓ remediację wstępną polegającą na drenażu melioracyjno- odciekowym;
- ✓ bioremediację podstawową stymulowaną poprzez dozowanie substancji biogennych;
- ✓ inokulację bezpiecznymi dla środowiska i ludzi biopreparatami sporządzonymi na bazie niepatogennych gatunków bakterii autochtonicznych i grzybów zidentyfikowanych na podstawie badań molekularnych,

często powstają pośrednie metabolity o zróżnicowanej aktywności biologicznej. Niektóre z nich mogą być bardziej toksyczne niż produkt wyjściowy i posiadać potencjalne własności mutagenne oraz rakotwórcze. Z tego względu ocenę skuteczności stosowanych zabiegów bioremediacyjnych na dołach urobkowych uzupełniono o monitoring toksykologiczny, który przeprowadzono z wykorzystaniem testów nowej generacji (Microtox[®] SPT, Ostracodtoxkit FTM, PhytotoxkitTM i testu mutagenności Ames'a). Pozwolił on na określenie wpływu zanieczyszczeń ropopochodnych oraz pośrednich metabolitów powstających w procesach bioremediacyjnych na biocenozę glebową.

Do badań toksyczności gleby/opadu wiertniczego na poziomie troficznym reducentów zastosowano test Microtox[®] SPT z wykorzystaniem systemu Delta Tox. Próbkę gleby surowej pobranej z dołów urobkowych charakteryzowały się widoczną toksycznością, o czym świadczą wartości stężenia efektywnego (EC₅₀), powodujące 50 % obniżenie luminescencji w zakresie od 3 510 do 6 480 mg odpadu/dm³, co odpowiada w przeliczeniu na jednostki toksyczności TU = 13,2 – 25,6. Analiza toksyczności prób wyciągów wodnych z gleby i ziemi, pobranej w toku procesu bioremediacji prowadzonej metodą *in-situ*, wykazała zmniejszenie stopnia toksyczności gleby, gdyż odnotowano obniżenie toksyczności do poziomu (TU = 5,19 – 7,97) pomimo widocznej redukcji zanieczyszczeń ropopochodnych, co sugeruje, że odnotowana toksyczność może pochodzić od metabolitów powstałych w trakcie mikrobiologicznego rozkładu zanieczyszczeń ropopochodnych. Próbkę gleby po zakończeniu oczyszczania biologicznego (po okresie 3 lat oczyszczania) nie hamowały luminescencji bakterii testowych w stopniu wskazującym na obecność związków toksycznych (czyli nie było możliwości wyznaczenia wartości EC₅₀).

Do badań nad toksycznością na poziomie troficznym konsumentów gleby/odpadu wiertniczego z dołów urobkowych zanieczyszczonego substancjami ropopochodnymi w charakterze bio wskaźnika użyto skorupiaka *Heterocypris incongruens* (Ostracodtoxkit FTM). W przypadku gleby i ziemi surowej, pobranej z obszarów dołów urobkowych śmiertelność bioindykatorów zawiera się w granicach: 53,3 – 66,6 %, co dowodzi znacznej toksyczności gleby, charakteryzującej się wysokim stopniem skażenia substancjami ropopochodnymi (99 860- 153 428 mg/kg s.m.). Po przeprowadzonym procesie oczyszczania, obejmującym inokulację biopreparatem na bazie bakterii autochtonicznych i grzybów, śmiertelność testowanych organizmów uległa zmniejszeniu do poziomu: 33,3 – 38,1 %, a zahamowanie wzrostu wynosiło: 29,7 – 33,4 %. Przedstawione wyniki wskazują na istotny efekt toksyczności, pomimo obniżenia stopnia skażenia do poziomu 9 734 mg/kg s.m., co może sugerować obecność metabolitów pośrednich powstałych w wyniku biodegradacji węglowodorów ropopochodnych. Badania przeprowadzone na ujednoliconych próbkach z poszczególnych obszarów dołów urobkowych po zakończeniu oczyszczania, wskazują na zmniejszenie się stopnia śmiertelności organizmów do poziomu: 23,3 – 28,8 %. Natomiast drugi parametr (zahamowanie wzrostu) uległ znacznemu obniżeniu i kształtował się na niskim poziomie: 5,4 – 11,7 %, co wskazuje na brak efektu toksyczności badanej gleby.

Testy fitotoksyczności z wykorzystaniem PhytotoxkitTM przeprowadzono na próbkach odpadu z dołów urobkowych pobranych na różnych etapach procesu ich oczyszczania. Testy wykazały znaczne różnice pomiędzy badanymi próbkami i organizmami testowymi roślin. Badane próbki odpadów z dołów urobkowych przed rozpoczęciem procesu oczyszczania były toksyczne w stosunku do rzeżuchy – powodowały zahamowanie wzrostu korzenia w granicach: 97,1 – 99,8 %, co koreluje z wysoką zawartością zanieczyszczeń ropopochodnych w analizowanych próbkach. W trakcie prowadzonego oczyszczania dołów urobkowych pomimo znacznego obniżenia zanieczyszczeń ropopochodnych, zahamowanie wzrostu rzeżuchy zawierało się w granicach: 38,61 – 50,37 %, co może wskazywać, że rzeżucha jest bardziej wrażliwa na metabolity obecne w glebie i węglowodory ropopochodne, które nie uległy biodegradacji. Ilość wykiełkowanych nasion dla próbki surowej wahała się w granicach: 6,6 – 13,3 %, a w trakcie bioremediacji wzrosła do 56,6 – 66,6 %. Badania przeprowadzone po zakończeniu prac bioremediacyjnych trwających przez okres 3 lat wskazują na osiągnięcie zadowalających efektów, gdyż procent wykiełkowanych nasion rzeżuchy kształtował się na wysokim poziomie wynoszącym: 93,3 – 96,0 %, a zahamowanie wzrostu korzenia zawierało się w granicach: 12,84 – 29,74 %. Znacznie mniej wrażliwe na zanieczyszczenia zawarte w glebie okazały się sorgo i gorczyca. Zahamowanie wzrostu korzenia gorczycy w próbkach surowych wynosiło od 57,7 do 65,1 %, zaś dla korzenia sorgo kształtowało się na poziomie 61,83 – 76,23 %. Stosunkowo wysoki stopień zahamowania wzrostu korzenia roślin testowych (gorczyca - 29,1 do 39,52 %, sorgo- 5,8–42,5%) w trakcie procesu bioremediacji może wskazywać na obecność toksycznych metabolitów, powstałych w wyniku biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych. Po zakończeniu prac bioremediacyjnych przyrost długości korzenia gorczycy był wyższy niż w próbce kontrolnej o 4,7 – 17,8 %, zaś zahamowanie wzrostu korzenia dla sorgo kształtowało się na niskim poziomie od 9,8 do 12,6 %, co dowodzi to braku toksyczności gleby i ziemi pochodzącej z terenów oczyszczanych dołów urobkowych.

Do oceny potencjalnych właściwości mutagennych gleby i ziemi skażonej substancjami ropopochodnymi z poszczególnych dołów urobkowych oraz po zakończeniu prac bioremediacyjnych wykorzystano mikropłytkowy test Ames'a. W przypadku gleby i ziemi surowej z dołów urobkowych stwierdzono, że próbki charakteryzujące się wysoką zawartością zanieczyszczeń ropopochodnych ((99 860- 153 428 mg/kg s.m.) były mutagenne, gdyż uzyskano zwiększenie liczby mutacji powrotnych dla szczepu TA-100 (szczep TA-98 nie dawał pozytywnej odpowiedzi – brak wzrostu rewertantów), o czym świadczy wskaźnik mutagenności zawierający się w granicach: 3,34 – 6,19. Próbki odpadu z dołów urobkowych po zakończeniu procesów bioremediacyjnych nie wykazywały obecności związków o potencjalnych własnościach mutagennych i rakotwórczych, gdyż liczba rewertantów indukowanych bez histydyny była jedynie

nieznacznie wyższa (mniej niż dwukrotnie) od liczby mutantów spontanicznych pojawiających się na podłożu kontrolnym, wobec czego próbek tych nie można uznać za mutagenne.

Uzyskane wyniki badań z wykorzystaniem testów toksykologicznych pozwalają na prześledzenie powstawania metabolitów pośrednich oraz obserwacji zmian własności toksycznych w trakcie prowadzenia procesów oczyszczania gleby z dołów urobkowych. Ponadto pozwolą one na potwierdzenie przywrócenia rekultywowanych terenów do użytkowania leśnego.

Przegląd standaryzowanych, ON-LINE, laboratoryjnych i terenowych testów bioindykacyjnych do oceny jakości wody do spożycia.

GRZEGORZ PIĘTOWSKI

TIGRET SP. Z O.O.

ul. Warszawska 27, 02-495 Warszawa; gp@tigret.eu

Słowa kluczowe: ochrona wody do spożycia, systemy ON-LINE, systemy terenowe.

Zabezpieczenie ujęć i sieci wodociągowej przed przypadkowym lub celowym skażeniem jest jednym z podstawowych zadań współczesnych zakładów zajmujących się przygotowaniem i dystrybucją wody do spożycia. Elektroniczne systemy kontroli dostępu, mechaniczne zabezpieczenia ujęć i inne tradycyjnie stosowane rozwiązania nie dają wystarczającej pewności, że woda dostarczana do kranów jest właściwej jakości. Dlatego też producenci oferują wiele rozwiązań bioindykacyjnych, zapewniających maksymalną ochronę dla dystrybuowanego produktu.

Systemy biomonitoringu mogą pracować w oparciu o komórki, tkanki lub organizmy wielokomórkowe. Zależnie od wielkości i istotności wodociągu można wybrać systemy pomiaru chwilowego lub ON-LINE, wpięte w sieć wodociągową.

Prezentacja obejmuje szereg dostępnych rozwiązań wskazując i uzasadniając wybór najlepszych rozwiązań.

Prezentację wykonano na podstawie danych Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (EPA), upublicznionego raportu dla Armii USA nt przeglądu systemów ochrony wody przeznaczonej do spożycia oraz informacji pozyskanych od producentów.

Ocena toksyczności i mutagenności terenów cynkowo-ołowiowych w rejonie Olkusza

A. ABRATOWSKA, W. CEGIEŁKOWSKA, M. OLESZKIEWICZ, A. PAROL
i M. WIERZBICKA

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii,
Instytut Botaniki, Zakład Molekularnej Fizjologii Roślin
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

tel. (22) 55 42 003

www.biol.uw.edu.pl/zmfr/

agnieszkaslysz@biol.uw.edu.pl

ekotoksykologia, ekotesty, metale ciężkie, Microtox, Phytotoxkit, hałdy cynkowo-ołowiowe

Skażenie środowiska metalami ciężkimi ma dwa główne źródła: naturalne i antropogeniczne. Naturalne wzbogacenie gleb w metale wynika głównie z występowania rud metali i wietrzenia skał. Najważniejsze źródła antropogeniczne to wydobywanie rud metali i przemysł metalurgiczny (Shaw 1990, Kabata-Pendias i Pendias 1993). Pierwiastkami o najwyższym współczynniku wzbogacenia antropogenicznego (stosunek emisji ze źródeł antropogenicznych do naturalnych) są Pb, Zn i Cd (Shaw 1990). Nadmierne stężenie metali (mikroelementów, tj. Zn, Cu, Fe, Mn, Al – powyżej ilości optymalnej dla prawidłowego metabolizmu, czy pierwiastków balastowych, np. Pb, Cd, Hg – zbędnych w metabolizmie) uniemożliwia prawidłowy rozwój organizmów. Nadmiar metali ciężkich w środowisku ma poważne konsekwencje dla zdrowia ludzi, przyczyniając do rozwoju wielu chorób, w tym nowotworów.

W Polsce skażenie środowiska metalami ciężkimi występuje na Górnym Śląsku, w tym w okolicach Olkusza, w wyniku występowania rud metali, ich kopalnictwa i hutnictwa (Lis i Pasieczna 1995). W rejonie Olkusza znajdują się złoża cynkowo-ołowiowe złożone z pierwotnych minerałów cynku i ołowiu z domieszką srebra, oraz wtórnych minerałów cynku, występujące w dolomitach kruszczośnych i wapieniach, wydobywane od czasów Średniowiecza do końca XVI w. (ołów i srebro) oraz od XIX w. (cynk). Minerałom tym towarzyszy kadm i tal (Grodzińska i Szarek-Łukaszewska 2002). Już na początku XX w. zauważono, że pola w okolicach Olkusza są nieurodzajne i „wolne od kretów” (Wóycicki 1913). Wykryte stosunkowo niedawno skażenie okolic Olkusza silnie trującym talem jest na alarmującym poziomie (Dmowski i in. 2002, Wierzbicka i in. 2004).

Toksyczność metali ciężkich dla roślin zależy od stężenia ich form biodostępnych w glebie, które jest uwarunkowane: składem skały macierzystej, rodzajem gleby, odczynem roztworu glebowego, potencjałem redox, zawartością i jakością materii organicznej. Pierwiastki związane z pewnymi frakcjami gleby nie są dostępne dla organizmów. Dlatego całkowite stężenie metali ciężkich nie może być podstawą do oceny toksyczności gleby. Informacje o biodostępności metali ciężkich można uzyskać dzięki badaniom stężenia pierwiastków przy użyciu metod frakcjonowania gleb (ekstrakcja puli pierwiastków związanych z poszczególnymi składnikami gleby). Natomiast niemożliwy do oceny, z użyciem metod analizy instrumentalnej, jest toksyczny efekt działania podłoża, w którym znajduje się wiele pierwiastków, mogących wzajemnie sumować lub znosić efekty swego działania. Z tego powodu nasze badania oceny toksyczności i mutagenności gleb opierają się na zastosowaniu zestawów Toxkit i systemu Microtox. Za pomocą baterii biotestów można w prosty sposób ocenić efekt działania prób środowiskowych na różne organizmy (Nałęcz-Jawecki i inni 1997).

W podjętych badaniach oceniono toksyczność gleb skażonych metalami ciężkimi z rejonu Olkusza, na podstawie: 1) stężenia i dostępności tych pierwiastków w podłożu, oraz 2) odpowiedzi organizmów testowych na kontakt z próbkami położy (badanie toksyczności i działania mutagennego – testy z użyciem różnych organizmów). Próby podłoży (warstwa powierzchniowa, do głębokości 20 cm) zebrano z hałd cynkowo-ołowiowych oraz ze zbiornika poflotacyjnego w Bolesławiu k/ Olkusza, a także z terenu miasta Olkusz (wg danych geochemicznych z 1999 roku podwyższone stężenie ołowiu, kadmu i cynku w glebie) oraz z dwóch punktów leżących poza miastem, gdzie wg cytowanych danych geochemicznych gleby nie były skażone metalami ciężkimi. Analizy stężenia metali ciężkich w glebie wykonano z użyciem metod analitycznych – całkowite stężenie pierwiastków po mineralizacji gleby mieszaniną kwasu azotowego i perhydrolu, pula potencjalnie biodostępna po ekstrakcji gleby roztworem EDTA i roztworem octanu amonu w obniżonym pH, wolne i słabo związane jony po ekstrakcji gleby wodą i roztworem CaCl_2 (Karczewska i Kabala 2008). Pomiarów wykonywano przy użyciu atomowej spektroskopii absorpcyjnej (AAS), bądź spektrometrii mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS). Ponieważ odczyn podłoża jest jednym z głównych czynników limitujących dostępność pierwiastków metali ciężkich, wykonano oznaczenie pH gleb. Toksyczność gleb oceniono za pomocą testów: Phytotoxkit, Daphtoxkit, Microtox SPT oraz MARA, a także testu *Allium* (test przyrostu korzeni przybyszowych cebuli). Za pomocą testu *Allium* wykonano także wstępną ocenę mutagenności roztworów glebowych (zaburzenia w przebiegu mitozy i powstawanie mikrojąder w komórkach merystematycznych wierzchołka korzenia) (Wierzbicka 1988).

Całkowite stężenie metali ciężkich (w tym Zn, Pb i Cd) w próbach podłoży było bardzo wysokie. Najwyższe stężenie tych pierwiastków wykryto w próbach z hałdy galmanowej i zbiornika poflotacyjnego, oraz z centrum Olkusza. Odczyn wszystkich badanych podłoży był alkaliczny. Stężenie pierwiastków w formach potencjalnie i aktualnie dostępnych (Zn, Pb i Cd) było najwyższe w próbach z hałdy galmanowej i zbiornika poflotacyjnego. Podłoża o najwyższym stężeniu metali ciężkich hamowały wzrost roślin uprawnych (test Phytotoxkit). Ekstrakty wodne z prób z hałdy galmanowej i zbiornika poflotacyjnego wywierały największy wpływ na poziom luminescencji bakterii w teście Microtox Solid Phase Test (efekt powyżej LC50). Wyniki testu MARA potwierdziły najwyższą toksyczność podłoża hałdy cynkowo-ołowiowej. Podsumowując, wyniki przeprowadzonych biotestów korelowały z wynikami otrzymanymi z użyciem technik analitycznych; wpływ gleb i ekstraktów glebowych na organizmy testowe zależał od stężenia dostępnych form cynku, ołowiu i kadmu. Aktualnie są prowadzone dalsze badania, w tym testy mutagenności (test Ames'a MPF) i ocena mikrobiologiczna gleb. Zastosowane testy

wykazywały głównie efekt toksyczności ostrej, natomiast w przypadku prób środowiskowych, którymi zajmuje się nasze laboratorium, większy problem stanowi występujące przez długi czas narażenie organizmów na niezbyt wysokie stężenia biodostępne metali (toksyczność chroniczna). Dlatego planujemy rozszerzenie badań o inne biotesty.

Literatura:

- Dmowski K., Kozakiewicz A., Kozakiewicz M. 2002. Bioindykacyjne poszukiwania talu na terenach południowej Polski. *Kosmos* 51, 151-163.
- Grodzińska K., Szarek-Lukaszewska G. 2002. Haldy cynkowo-ołowiowe w okolicach Olkusza – przeszłość, teraźniejszość i przyszłość. *Kosmos* 51, 127-138.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. 1993. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Karczewska A., Kabała C. 2008. *Metodyka analiz laboratoryjnych gleb i roślin*. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.
- Lis J., Pasieczna A. 1995. *Atlas Geochemiczny Polski*. Państwowy Instytut Geologiczny, Warszawa.
- Nałęcz-Jawecki G., Rudź B., Rawicki J. 1997. Evaluation of toxicity of medical devices using Spirotox and Microtox tests: I. Toxicity of selected toxicants in various diluents. *Journal of Biomedical Materials Research* 35, 101-105.
- Shaw A.J. 1990 (Ed.). *Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects*. CRC Press, Boca Raton, Floryda.
- Wierzbicka M. 1988. Mitotic disturbances induced by low doses of inorganic lead. *Caryologia* 41, 143-160.
- Wierzbicka M., Szarek-Lukaszewska G., Grodzińska K. 2004. Highly toxic thallium in plants from the vicinity of Olkusz (Poland). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59, 84–88.
- Wóycicki Z. 1913. *Obrazy roślinności Królestwa Polskiego*. IV. Roślinność terenów galmanowych Bolesławia i Olkusza. Kasa Mianowskiego, Warszawa.

Wykorzystanie baterii biotestów w ocenie toksyczności osadów dennych

AGNIESZKA BARAN, CZESŁAWA JASIEWICZ, MAREK TARNAWSKI

Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Katedra Inżynierii Wodnej i Geotechniki
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków,
Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl

Słowa kluczowe: osady denne, toksyczność, bateria biotestów

Nagromadzone w zbiornikach wodnych osady denne stanowią bardzo ważną część ekosystemów, odgrywając szczególną rolę w ich funkcjonowaniu oraz w obiegu pierwiastków pomiędzy poszczególnymi komponentami systemu wodno-gruntowego. Osady denne pełnią rolę naturalnego filtra i są wskaźnikiem stopnia degradacji środowiska. Użytecznym narzędziem, którego zastosowanie pozwala na pełniejszą ocenę zagrożeń wynikających z obecności substancji toksycznych w osadach dennych, ich biodostępności i współdziałania, są biotesty. Zastosowanie biotestów w ocenie jakości osadów dennych może być dobrym uzupełnieniem analiz chemicznych. Bioindykacja ocenia ogólną jakość środowiska na podstawie reakcji żywego organizmu. Reakcja ta obejmuje nie tylko sumaryczne działanie wszystkich substancji pochodzenia antropogenicznego i naturalnego, ale także daje obraz interakcji pomiędzy substancjami toksycznymi a abiotycznymi i biotycznymi czynnikami środowiska. Ze względu na to, że organizmy różnią się wrażliwością w stosunku do różnych substancji toksycznych, istotnym czynnikiem jest dobór odpowiedniej baterii organizmów testowych (biotestów), reprezentujących wszystkie ogniwa łańcucha troficznego, a więc zarówno producentów, konsumentów i reducentów.

Celem badań była ocena możliwości wykorzystania baterii biotestów w ocenie jakości zbiornikowych osadów dennych. W badaniach zastosowano trzy biotesty pracujące na pięciu gatunkach organizmów żywych. Pierwszym testem był Phytotoxkit FTM, w którym jako organizmy testowe używane są nasiona trzech roślin: sorgo (*Sorghum saccharatum*), rukiew (*Lepidium sativum*) oraz gorczyca biała (*Lepidium sativum*). Jako drugi zastosowano Ostarcodotoxkit FTM wykorzystujący skorupiaki (*Heterocypris incongruens*). Jako trzeci test w ocenie toksyczności osadów wykorzystano zestaw Microtox pracujący na bakterii luminescencyjnej *Vibrio fischeri*.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2009-2012. Grant badawczy nr N N305 295037- G1735/KIWiG/09-12 - „Ocena możliwości rolniczego wykorzystania zbiornikowych osadów dennych”

Wykorzystanie biotestów do oceny ryzyka ekologicznego w glebach użytkowanych rolniczo

A. KLIMKOWICZ-PAWLAS, B. SMRECZAK, B. MALISZEWSKA-KORDYBACH

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów

ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

e-mail: agnes@iung.pulawy.pl

Słowa kluczowe: ocena ryzyka, zanieczyszczenie gleb, biotesty, Phytotoxkit, Toxi-screening

Jednym z najpoważniejszych zagrożeń dla gleb użytkowanych rolniczo jest zanieczyszczenie szkodliwymi substancjami chemicznymi, w tym związkami organicznymi z grupy WWA. Zbyt wysoka zawartość zanieczyszczeń może wpływać negatywnie na organizmy glebowe, na obniżenie bioróżnorodności i pogorszenie jakości gleb (Maliszewska-Kordybach i in. 2009). W celu oceny stanu zagrożenia ekosystemów glebowych na obszarach szczególnie narażonych na degradacje chemiczne stosowane są metody oceny ryzyka ekologicznego (*Ecological Risk Assessment* – ERA).

Proces oceny ryzyka obejmuje trzy podstawowe etapy: sformułowanie problemu, analizę i ocenę ryzyka (Sutter II i in. 2000, Tarazona i Vega 2002). Wstępny etap procedury ERA to najczęściej pomiar stężenia substancji toksycznych w środowisku glebowym i porównanie zmierzonych zawartości z wartościami dopuszczalnymi określonymi w odpowiednich regulacjach prawnych (Tarazona i Vega 2002, Klimkowicz-Pawlas 2009). W drugim etapie ERA oceny zależności pomiędzy oddziaływaniem zanieczyszczeń a efektami ekologicznymi dokonuje się w oparciu o wyniki testów ekotoksykologicznych. Wybór tych testów często stwarza trudności. Zalecenia norm ISO (ISO 15799:2003, ISO 17616:2005) wskazują na konieczność zastosowania przynajmniej jednego testu dla każdej grupy troficznej organizmów; testy te winny być czułe i łatwe w zastosowaniu oraz zapewniać otrzymywanie szybkich powtarzalnych wyników.

Celem pracy było zastosowanie biotestów do wstępnej oceny ryzyka na wybranym obszarze gleb użytkowanych rolniczo w sferze oddziaływania źródeł zanieczyszczenia związkami organicznymi (WWA).

Teren badań obejmował obszar ok. 100 km² zlokalizowany w Górnośląskim Okręgu Przemysłowym. Z badanego obszaru pobrano 24 próbki gleb, które scharakteryzowano pod względem właściwości gleb oraz zawartości WWA i wybranych metali ciężkich. Do oceny ekotoksykologicznej zastosowano dwa testy: Phytotoxkit oraz Toxi-screening.

Test Phytotoxkit pozwala ocenić wpływ zanieczyszczeń na wzrost roślin w początkowej fazie rozwoju. W teście tym standardowo wykorzystywane są 3 rośliny: jedna z klasy

jednoliściennych sorgo cukrowe (*Sorghum saccharatum* Kcke) oraz 2 z klasy dwuliściennych gorczyca biała (*Synapis alba* L.) i rzeżucha (*Lepidium sativum* L.). W badaniach zastosowano dwie rośliny: gorczycę białą oraz zgodnie z zaleceniami normy ISO 17126:2005 – sałatę (*Lactuca sativa* L.).

Test Toxi-screening – jest testem terenowym umożliwiającym ocenę toksyczności zanieczyszczeń w środowisku wodnym lub w fazie wodnej gleby. Jako organizmy wskaźnikowe w teście Toxi-screening wykorzystywane są bakterie luminescencyjne *Vibrio fischeri*, które jako jeden z efektów metabolizmu wytwarzają światło. Pod wpływem substancji toksycznych zawartych w próbce może dochodzić do zahamowania emisji światła, zmiany intensywności bioluminescencji są miarą stopnia toksyczności próbki

Przeprowadzone badania wykazały, iż testy Phytotoxkit oraz Toxi-screening są szybkimi i stosunkowo dobrymi metodami do oceny toksyczności gleb zanieczyszczonych przez WWA. Zastosowanie biotestów w procedurze oceny ryzyka pozwoliło na wyznaczenie wskaźników ryzyka i wytypowanie obszaru o podwyższonym ryzyku ekologicznym.

Literatura

1. Klimkowicz-Pawlas A. 2009. Oddziaływanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na siedliskową funkcję gleby. Monografie i rozprawy naukowe, nr 22, IUNG-PIB Puławy, pp. 92.
2. Maliszewska-Kordybach B, Smreczak B, Klimkowicz-Pawlas A 2009. Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of the Total Environment* 407: 3746-3753.
3. Sutter II G.W., Efrogmson R.A., Sample B.E., Jones D.S. 2000. *Ecological Risk Assessment for Contaminated Sites*. CRC Press, Lewis Publishers, Boca Raton, USA.
4. Tarazona JV, Vega MM 2002. Hazard and risk assessment of chemicals for terrestrial ecosystems. *Toxicology* 181: 187-191.

Nowe zastosowanie ekotestów

K. WILMA¹, M. CIESZYŃSKA¹, R. CZERNYCH¹, L. WOLSKA^{1,2}

¹Międzywydziałowy Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny,

ul. Powstania Styczniowego 9b, 81-519 Gdynia

²Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk

kasiaso@gumed.edu.pl

Szacuje się, że ponad 80% czasu człowiek przebywa w pomieszczeniach zamkniętych, dlatego tak istotna jest jakość powietrza wewnątrz (*ang. Indoor Air Quality, IAQ*). Możliwość optymalnej kontroli IAQ (odpowiednie wskaźniki i procedury pomiarowe) ma zatem zasadnicze znaczenie dla zabezpieczenia i podnoszenia stanu zdrowia mieszkańców. Emisja toksycznych substancji z materiałów budowlanych i wyposażeniowych stanowi potencjalne zagrożenie dla zdrowia człowieka.

Obecnie wielkość emisji oceniana jest poprzez oznaczanie stężenia uwalnianych do powietrza związków, a ocena ryzyka zdrowotnego szacowana jest na podstawie stosunku tego stężenia danego analitu w powietrzu do wartości dopuszczalnej (NDS – najwyższe dopuszczalne stężenie). Niewątpliwą wadą tego systemu oceny jest konieczność oznaczania znacznej ilości uwalnianych związków oraz wynikający z tego wysoki koszt analiz. Dodatkowo metodologia ta nie uwzględnia skutków biologicznych mogących wystąpić u człowieka w efekcie narażenia na złożoną mieszaninę wielu substancji. Ocena aspektów zdrowotnych stosowania materiałów budowlanych i wyposażeniowych wymaga rozwoju nowych metod i narzędzi pomiarowych.

Literatura donosi o próbach wykorzystania narzędzi bioanalitycznych takich jak testy toksykologiczne, do oceny toksyczności strumienia emisji np. pyłowych zanieczyszczeń atmosfery. Wstępne wyniki badań pokazują, iż wskaźniki biologiczne można również zastosować do oceny higienicznej materiałów budowlanych i wyposażeniowych. Ich zastosowanie może w istotny sposób uzupełnić informację analityczną o parametr sumaryczny, jakim jest obserwowany efekt toksyczności wobec wybranych organizmów wskaźnikowych.

W pracy przedstawione zostanie nowe podejście do oceny toksyczności strumienia emisji z wytypowanych materiałów wyposażeniowych oparte o zastosowanie ekotestów (Microtox[®], ThamnotoxkitTM). Uzyskane wyniki porównane zostaną z wynikami klasycznych oznaczeń chemicznych z wykorzystaniem technik TD-GC-FID i TD-GC-MS.

Słowa kluczowe: jakość powietrza wewnątrz, ekotesty, emisja z materiałów budowlanych i wyposażeniowych

Wykorzystanie systemu DeltaTox do oceny toksyczności środków chemicznych stosowanych w technologii płuczek wiertniczych.

ZIMA G., ULIASZ M., BŁAŻ S.

Instytut Nafty i Gazu O/Krosno, ul. Armii Krajowej 3, 38-400 Krosno

zima@inig.pl

Słowa kluczowe: płuczka wiertnicza, toksyczność

Głównym i podstawowym kryterium wyboru środków chemicznych stosowanych w technologii płuczek wiertniczych jest ich wpływ na parametry technologiczne wiercenia i zapewnienie stabilności ścian otworu. Często natomiast pomija się wpływ tych środków na środowisko naturalne. Ocena toksyczności poszczególnych środków stosowanych do sporządzania płuczek wiertniczych pozwala na opracowanie składów płuczek charakteryzujących się dobrymi parametrami technologicznymi i minimalną szkodliwością dla środowiska przyrodniczego.

Metoda oceny toksyczności z wykorzystaniem bakterii luminescencyjnych *Vibro fischeri* może dostarczyć znacznie więcej istotnych informacji niż analiza fizyko-chemiczna. Metoda DeltaTox pozwala na kompleksową ocenę stanu badanego środowiska i może być stosowana do badania szerokiego zakresu próbek środowiskowych, obejmujących; wodę zbiorników, wodę pitną, ścieki komunalne, ścieki przemysłowe, wycieki, odcieki ze składowisk odpadów, jak również może znaleźć zastosowanie w technologii płuczkowej przy wdrażaniu nowych rodzajów środków chemicznych, poprzez dobór środków mniej toksycznych, lub też przy zagospodarowaniu zużytej płuczki przeznaczonej do likwidacji. Pomiar toksyczności próbek można przeprowadzać poprzez procedurę Q-tox, która została opracowana dla potrzeb szybkich pomiarów ostrej toksyczności. Umożliwia ona zbadanie dużej liczby próbek i daje nam orientacyjne informacje o poziomie toksyczności. Druga procedura B-tox jest podstawową procedurą badania toksyczności, która jest stosowana dla uzyskania dokładniejszych wyników i pozwala na określenie wartości EC 50. Wartość EC 50 określa stężenie, przy którym następuje 50 %-owe obniżenie metabolizmu bakterii. Wyznaczenie wartości EC 50 dla poszczególnych środków stosowanych do sporządzania płuczek wiertniczych pozwala na opracowanie receptur płuczek charakteryzujących się niższą toksycznością. Na podstawie wartości EC 50 dla filtratów z płuczek odpadowych można określić stopień ich rozcieńczenia przed przekazaniem do utylizacji. Badania toksyczności środków stosowanych w składach płuczek wiertniczych przeprowadzone w INiG wskazują, że środki o podobnym zastosowaniu często znacznie różnią się toksycznością i istnieje możliwość zastąpienia środków toksycznych środkami mniej szkodliwymi.
