

Słowa kluczowe: *Salvinia sp.*, ryzofiltracja, miedź, wody zanieczyszczone

Anna HOŁTRA*, Teodora M. TRACZEWSKA*, Agnieszka CHUDYK*,
Katarzyna KOPACKA*

OCENA PRZYDATNOŚCI ORGANIZMÓW Z RODZAJU SALVINIA SP. W PROCESIE RIZOFILTRACJI WÓD ZANIECZYSZCZONYCH JONAMI MIEDZI(II)

Usuwanie jonów miedzi obecnych w zanieczyszczonych wodach, w ponad normatywnych ilościach, z wykorzystaniem biomasy roślinnej jest działaniem pro-ekologicznym, jak również alternatywą dla rozpowszechnionych metod chemicznych. Badania nad biosorpcją miedzi przez salwinię pływającą (*Salvinia natans*) prowadzono przez okres 14 dni, stosując wyjściowo różne stężenia metalu. Określono możliwości kumulacyjne *Salvinii natans* przy ustalonych warunkach hodowli oraz wpływ miedzi na parametry fizjologiczne i morfologiczne salwinii pływającej.

1. MIEDŹ W ŚRODOWISKU WODNYM

Toksyczność miedzi w środowisku wodnym zależy od pH, twardości wody, stężenia rozpuszczonego tlenu, obecności czynników chelatujących, obecności kwasów humusowych, zawartości zawiesin stałych oraz interakcji pomiędzy poszczególnymi metalami [11]. Ilość związków miedzi w różnych rodzajach wód jest bardzo zróżnicowana. Klasyfikację wód powierzchniowych w Polsce wraz z dopuszczalnymi wartościami stężeń dla miedzi przedstawiono w tabeli 1.

Tab. 1. Wartości graniczne miedzi w poszczególnych klasach jakości wód powierzchniowych w Polsce

Klasa jakości wód powierzchniowych	Miedź [mg/dm ³]
I	0,020
II	0,040
III	0,060
IV	0,100
V	> 0,100

* Politechnika Wroclawska, Wydział Inżynierii Środowiska, Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, anna.holtra@pwr.wroc.pl

Dopuszczalna zawartość miedzi w wodzie do picia wynosi 0,05 mg/dm³. Szacuje się, że jej naturalna zawartość w wodzie rzecznej, obecnie rzadko spotykana, wynosi 1–2 µg/dm³, natomiast w wodzie morskiej jest 0,02–0,32 µg/dm³. Średnie stężenie miedzi w nieskażonych wodach rzecznych wynosi 102 µg/dm³, zaś wody zanieczyszczone mogą osiągać wartości rzędu 30–602 µg/dm³. Największe stężenia miedzi (powyżej 500 mg/dm³) odnotowano w rejonach Kombinatu Górniczo-Hutniczego Miedzi (KGHM) oraz śląsko-krakowskim [8].

Głównym źródłem zanieczyszczenia wód związkami miedzi w Polsce są ścieki przemysłowe (1300 t/rok). Gałęziami przemysłu emitującymi zanieczyszczenia miedzi do środowiska są przemysł metalurgiczny, farbiarski, tekstylny oraz produkcja środków ochrony roślin i nawozów. Ponadto, porównywalny udział w emisji związków miedzi pochodzenia antropogenicznego stanowi opad atmosferyczny (1200 t/rok), jaki trafia do wód powierzchniowych [8]. W tabeli 2 przedstawiono udział poszczególnych dziedzin działalności człowieka w emisji miedzi do atmosfery.

Tab. 2. Emisja miedzi według rodzajów działalności w 1998 r. [3]

Rodzaj działalności	Emisja miedzi [mg]
Elektrociepłownie, elektrownie i ciepłownie	22,7
Elektrownie i kotłownie lokalne, indywidualne źródła emisji	126,5
Procesy spalania w zakładach przemysłowych	216,2
Procesy produkcyjne bez udziału spalania	19,3
Transport drogowy	2,4
Inne rodzaje transportu	0,9
Przerób odpadów	0,7

Ogółem w zrzucie miedzi do Bałtyku udział antropogeniczny stanowi 82% w stosunku do źródeł pochodzenia naturalnego (naturalny spływ – 310 t/rok i naturalny opad atmosferyczny – 130 t/rok) [8].

Miedź wykazuje szczególnie dużą podatność na biokumulację ze środowiska wodnego. Jest pierwiastkiem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych. W roślinie pierwiastek ten jest akumulowany głównie w korzeniach, a przy pobieraniu jest wiązany w ścianie komórkowej [23,7]. Spełnia ważne funkcje fizjologiczne u roślin, przede wszystkim w procesach oksydacyjno-redukcyjnych i fotosyntezy [8]. Nadmiar miedzi w wodzie wpływa negatywnie na ogólną zawartość chlorofilu w liściach – spadek od 4 do 11% poniżej kontroli [24,25]. Jest niebezpieczny dla biologicznej aktywności, co w znacznym stopniu ogranicza procesy samooczyszczania wód. Jednym z efektów toksyczności jest stres oksydacyjny wywołany akumulacją reaktywnych form tlenu podczas różnych procesów metabolicznych [4,5]. Zawartość miedzi w roślinach pokrywa na ogół jej zapotrzebowanie u zwierząt i człowieka [8]. Miedź jest ważnym mikroelementem występującym w centrach aktywnych wielu enzymów. Wpływa korzystnie na błonę otaczającą komórki nerwowe. Bierze udział w tworzeniu tkanki łącznej, krwinek czerwonych oraz syntezie prostaglandyn wpływających między innymi na czynności

serca i ciśnienie tętnicze krwi. Dzienna dawka miedzi przyjmowana przez człowieka z pożywieniem wynosi około 1,5 mg, przy zapotrzebowaniu 1,5–4 mg/dzień. Niedobór tego pierwiastka może stać się przyczyną niedokrwistości, powodować gorsze wchłanianie żelaza i zmniejszenie liczby krwinek czerwonych i białych, zmniejszając tym samym odporność organizmu. Przypuszczalnie może także powodować uszkodzenie serca i tętnic oraz zaburzenia pracy systemu nerwowego. Dopuszczalne spożycie miedzi wynosi 10 mg/dzień dla dorosłych. Szkodliwy wpływ na organizm człowieka wiąże się z nadmiarem tego pierwiastka w diecie, co może prowadzić do zatruc chemicznych. Wywołuje on różne zmiany metaboliczne, uszkadza wątrobę, nerki, tkanki mózgowo, naczynia wieńcowe i serce. Dawka śmiertelna miedzi zawarta jest w granicach około 30 g siarczanu miedzi.

2. RIZOFILTRACJA WÓD ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI PRZEZ *SALVINIA SP.*

Ograniczenie zanieczyszczenia środowiska wodnego jonami miedzi wymaga podjęcia działań w kierunku odzysku tego metalu wykorzystując gatunki roślin zdolne do jego akumulowania w ilościach przekraczających potrzeby pokarmowe organizmu. Metodą stosowaną do oczyszczania środowisk wodnych jest rizofiltracja. Wykorzystuje ona gatunki roślin o korzeniach mających zdolność do absorpcji lub wytrącania metali z zanieczyszczonych roztworów [24]. Metodę tą można stosować *in situ*. Pozwala ona na wykorzystanie gatunków roślin, nawet nie będących hiperakumulatorami, oraz stosowana jest do oczyszczania głównie dużych objętości wód o małym stężeniu zanieczyszczeń. W procesie rizofiltracji rośliny powinny cechować się szybkim przyrostem korzeni, zdolnością do usuwania metali z roztworu, ograniczoną zdolnością transportu pobranych jonów metali do organów nadziemnych, osiągnięciem dużych rozmiarów, tolerancją na wysokie stężenia metali, zasolenie oraz inne zanieczyszczenia [16].

Przykładem roślin o właściwościach akumulacyjnych w odniesieniu do metali są organizmy z rodzaju *Salvinia sp.* wykazujące zdolność ich bioakumulacji ze środowiska wodnego (tabela 3). Wybór salwinii pływającej (*Salvinia natans*) jest zasadny ze względu na wysoką tolerancją tej rośliny na zakres temperatur (12–30°C) oraz stopień nasłonecznienia panujący w warunkach polskich w okresie wegetacji. Nie bez znaczenia jest obecność włosków od dołu liścia chroniących roślinę przed dostępem wody, pozwalając tym samym na szybkie osuszanie biomasy.

Tab. 3. Biosorpcja metali przez rośliny z rodzaju *Salvinia sp.*

Biosorbent	Metale ciężkie	Literatura
<i>Salvinia sp.</i>	Zn, Cu	[2]
<i>Salvinia acutes</i>	Mn, Pb	[15]
<i>Salvinia herzogii</i>	Cr Cd	[10] [9]
<i>Salvinia maritimus</i>	Mn, Pb, Cd, Fe	[15]
<i>Salvinia minima</i>	As Cr Pb Cd	[6] [12, 13] [6, 13] [13]
<i>Salvinia molesta</i>	Hg Cr, Ni	[15] [22]
<i>Salvinia natans</i>	Cr Cu Ni Hg Pb Cd, Zn	[15] [17, 19] [18] [20] [15, 21] [17]
<i>Salvinia undulata</i>	Pb	[15]
<i>Salvinia rotundifolia</i>	Pb	[1]

Elankumaran i in. [2] dowiedli, że proces biokumulacji miedzi w biomacie przez rośliny z rodzaju *Salvinia sp.* cechuje duża szybkość i wysoka efektywność. Wzrost i wygląd roślin zależał od czasu ekspozycji na działanie metalu oraz dawki początkowej. Ponadto przy wyższych stężeniach początkowych metalu w wodzie, obserwowano większą biokumulację w tkankach. Najbardziej intensywne procesy biokumulacji miedzi przez rośliny z rodzaju *Salvinia sp.* zachodziły już w pierwszym tygodniu narażenia. Około 96% wydajność procesu uzyskano w 6 dniu hodowli przy narażeniu roślin na działanie miedzi o stężeniu 5 mg/dm³. Maksimum biosorpcji miedzi przy stężeniach metalu w wodzie 10 i 15 mg/dm³ osiągnięto 8 dnia hodowli, natomiast dla stężeń 20 i 25 mg/dm³ – 9 dnia. Spadek przyrostu biomasy oraz intensywności fotosyntezy u salwinii narażonej na podwyższone stężenie metalu w wodzie następował zwykle w drugim tygodniu narażenia. U roślin, u których wystąpiły efekty toksyczne nie stwierdzono zahamowania procesów biokumulacji. Zmiany morfologiczne, typu: żółknięcie liści aż do częściowego ich odbarwienia, obserwowano dopiero przy wyższych stężeniach miedzi 20 i 25 mg/dm³, po 8 dniach ekspozycji.

Semsari i in. [17] oraz Sen i Mondal [19] badali wpływ miedzi o stężeniach wyjściowych od 0,01 do 1 mg/dm³ na hodowle salwinii pływającej (*Salvinia natans*). W obydwu przypadkach wyniki potwierdziły możliwości kumulacyjne roślin. Maksymalną wydajność procesu (około 90%) uzyskano dla stężenia metalu poniżej 0,05 mg/dm³ [19].

3. ZAKRES BADAŃ

3.1. DOBÓR WARUNKÓW HODOWLI SALWINII PŁYWAJĄCEJ (*SALVINIA NATANS*)

- Czas trwania eksperymentu – ok. 14 dni, poprzedzony 30 dniowym okresem adaptacji roślin do warunków panujących w laboratorium.
- Pochodzenie roślin – Ogród Botaniczny we Wrocławiu.
- Warunki prowadzenia hodowli – rozcieńczona pożywka Knopa (pH = 7–7,5) lub odstana woda wodociągowa.
- Stanowiska badawcze: zamknięty fitotron przeznaczony do hodowli wazonowych ($T_{H_2O} = 20^{\circ}C$, $T_{pok} = 25^{\circ}C$, oświetlenie w cyklu 12h/12h) lub stanowisko otwarte skonstruowane z folii termoizolacyjnej ($T_{H_2O} = 18–25^{\circ}C$, $T_{pok} = 20–27^{\circ}C$, oświetlenie w cyklu 12h/12h).

3.2. METODYKA BADAŃ

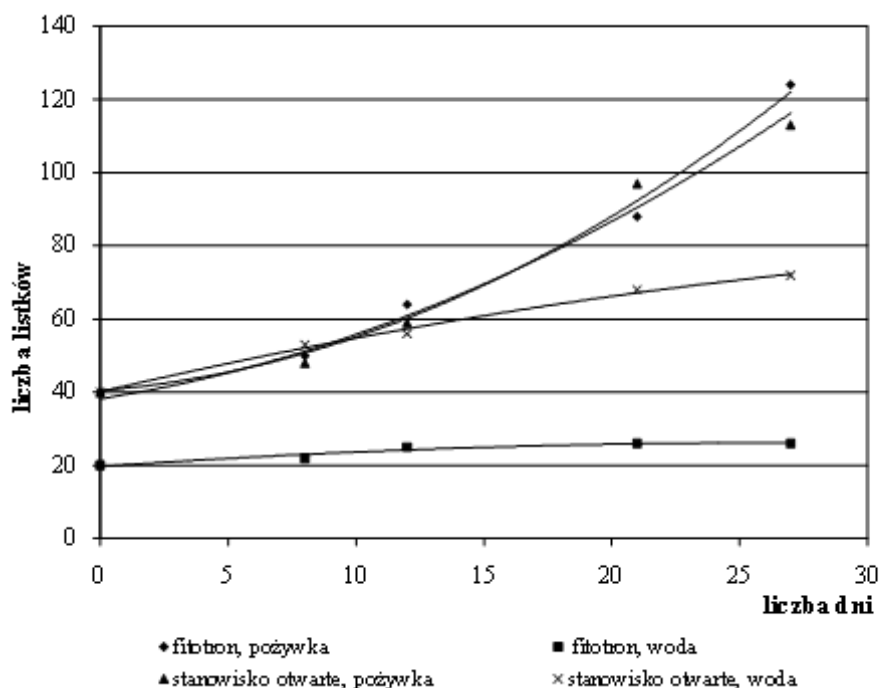
- Oznaczanie intensywności wzrostu salwinii pływającej wykonano na podstawie obserwacji liczby przyrastających liści.
- Obserwacje zmian morfologicznych roślin prowadzono na podstawie obserwacji liczby osobników dotkniętych chlorozą i nekrozą.
- Oznaczanie suchej masy oraz zawartości wody w biomase roślinnej wykonano wg PN-EN 12880.
- Oznaczanie suchej masy w biomase roślinnej narażonej na działanie miedzi wykonano wg PN-EN 12880;
- Ilościowe oznaczanie chlorofilu w biomase roślinnej wykonano metodą spektrofotometryczną z wykorzystaniem krzywej wzorcowej dla chlorofilu wg PN-86/C-05560/02.

4. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

4.1. OCENA STANOWISK BADAWCZYCH NA PODSTAWIE SZYBKOŚCI PRZYROSTU ORAZ MORFOLOGII LIŚCI SALWINII PŁYWAJĄCEJ (*SALVINIA NATANS*)

- Salwinia pływająca lepiej rozwija się na podłożu wzbogaconym solami mineralnymi (pożywka Knopa) niż hodowana na wodzie wodociągowej. W takich warunkach hodowli, stanowisko otwarte sprzyja rozwojowi roślin porównywalnie jak w przypadku stosowania zamkniętego fitotronu.
- Liczba listków salwinii pływającej na pożywce Knopa na stanowisku otwartym podwoiła się już po 20 dniach hodowli. Rozwój roślin był bardziej intensywny w późniejszych dniach hodowli, co może świadczyć o tym, że rośliny te wymagają adaptacji do danego środowiska życia, zanim osiągną maksymalną efektywność.

- Wśród roślin hodowanych na wodzie wodociągowej zaobserwowano więcej osobników dotkniętych chlorozą i nekrozą niż w hodowlach z pożywką.

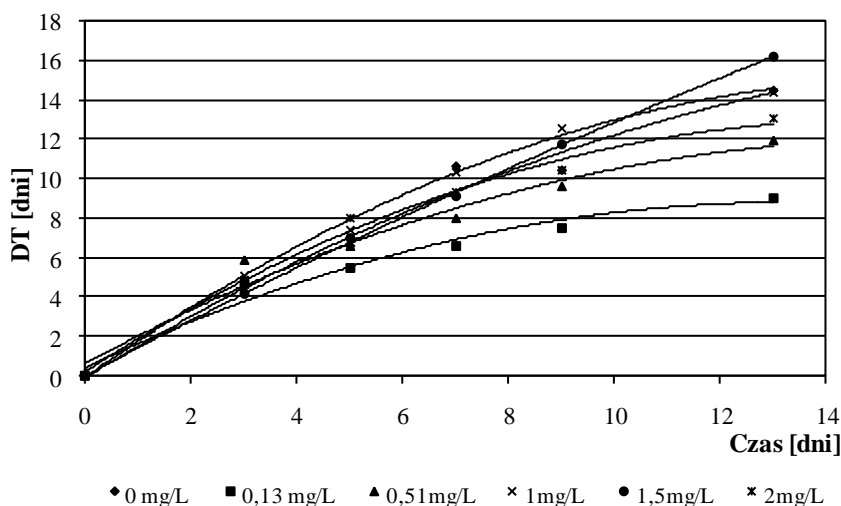


Rys. 1. Wzrost liczby listków salwiii pływającej na stanowisku otwartym oraz w zamkniętym fitotronie z zastosowaniem różnych warunków hodowli: pożywka Knopa lub odstana woda wodociągowa

4.2. WPŁYW MIEDZI NA INTENSYWNOŚĆ WZROSTU SALWINII PŁYWAJĄCEJ (*SALVINIA NATANS*)

- W hodowlach salwiii pływającej narażonej na działanie miedzi o stężeniach od 0,13 do 1,5 mg/dm³, odnotowano utrzymującą się tendencję spadkową wzrostu roślin.
- Niskie stężenia miedzi nie powodują istotnych zmian w rozwoju salwiii pływającej. Przyrost listków w kontroli i w próbach o stężeniu miedzi 0,13 mg/dm³ różnił się jedynie o 30%.
- W hodowli kontrolnej tempo przyrostu liczby listków było wolniejsze niż przy narażeniu roślin na stężenia miedzi 0,13; 0,51 oraz 2 mg/dm³. Czas podwojenia listków w tych hodowlach był krótszy o około 2–5 dni w porównaniu z kontrolą.

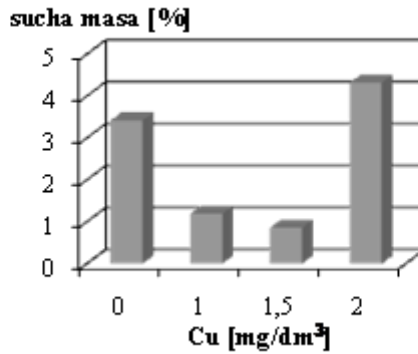
- Przy stężeniach miedzi 1 i 1,5 mg/dm³ zaobserwowano najwolniejszy przyrost listków i równocześnie dłuższe czasy podwojenia niż w kontroli, co świadczy o zahamowaniu przyrostu.



Rys. 2. Czasy podwojenia (DT) liczby listków salwinii pływającej (*Salvinia natans*) w hodowli na pożywce Knopa w obecności różnych stężeń miedzi oraz bez narażenia rośliny na działanie miedzi

4.3. ZAWARTOŚĆ SUCHEJ MASY W PRZECIĘTNYM LIŚCIU SALWINII PŁYWAJĄCEJ (*SALVINIA NATANS*) NARAŻONEJ NA DZIAŁANIE MIEDZI

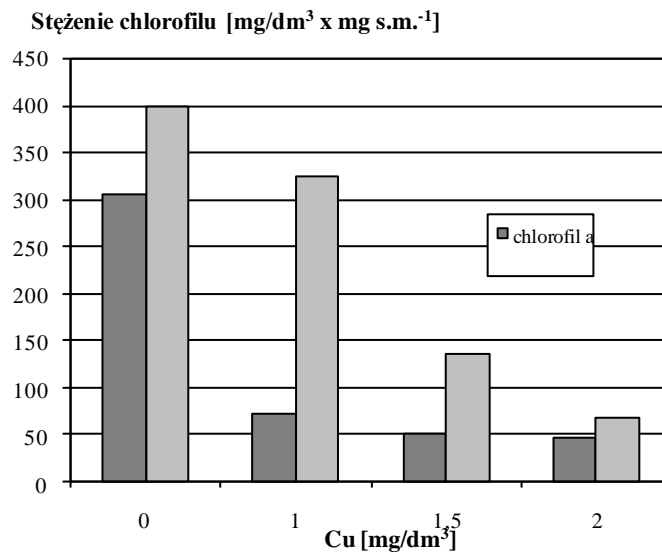
- Zawartość suchej masy w listkach salwinii pływającej zebranych z hodowli laboratoryjnej narażonej na działanie miedzi o stężeniach 1 i 1,5 mg/dm³ była znacząco niższa niż kontrolna, odpowiednio o około 65 i 75%.
- Największy procent suchej masy stwierdzono w hodowli salwinii pływającej eksponowanej na działanie miedzi o stężeniu 2 mg/dm³. Procentowy wzrost suchej masy wyniósł ponad 25% w porównaniu z kontrolą, co może świadczyć o stymulującym działaniu miedzi na wzrost rośliny.
- W przypadku narażenia salwinii pływającej na działania niższych stężeń miedzi nie odnotowano zasadniczych różnic w porównaniu z hodowlą kontrolną.
- W żadnej próbie nie nastąpiło zatrzymanie przyrostu listków, tylko jego spowolnienie, co świadczy o odporności salwinii pływającej na szkodliwe działanie miedzi.



Rys. 3. Pomiar suchej masy salwinii pływającej (*Salvinia natans*) narażonej na działanie miedzi

4.4. WPLYW MIEDZI NA PARAMETRY MORFOLOGICZNE I FIZJOLOGICZNE SALWINII PŁYWAJĄCEJ (*SALVINIA NATANS*)

- Zawartość chlorofilu a i b w biomasie salwinii pływającej znacznie malała w przypadku wyższych stężeń miedzi (1; 1,5 oraz 2 mg/dm³).
- W przypadku narażenia salwinii pływającej na działanie niższych stężeń jonów miedzi nie zanotowano różnic w stosunku do próby kontrolnej.
- Nie stwierdzono chlorozy ani nekrozy w żadnej z obserwowanych hodowli.



Rys. 4. Stężenie chlorofilu a i b w biomasie salwinii pływającej (*Salvinia natans*) z udziałem różnych stężeń miedzi

5. WNIOSKI KOŃCOWE

Ocena procesu biokumulacji miedzi przez salwinię pływającą (*Salvinia natans*):

- Oznaczenia charakterystycznych cech morfologicznych i fizjologicznych hodowanych roślin z rodzaju *Salvinia sp.* nie przysparzają większych problemów, co potwierdza prostotę przyjętej metodyki.
- Hodowla salwini pływającej (*Salvinia natans*) w warunkach laboratoryjnych wykazuje dużą odporność rośliny na działanie miedzi, co świadczy o tym, że jest dobrym materiałem badawczym dla procesu rizofiltracji.
- Zaobserwowane objawy fitotoksycznego działania miedzi u salwini pływającej są akceptowalne i potwierdzają zdolność biokumulacji metali ciężkich w biomasie, bez wywołania nagłego efektu letalnego.

LITERATURA

- [1] Banerjee G., Marker S. 1997. *The role of Salvinia rotundifolia in scavenging aquatic Pb(II) pollution: a case study*. Bioprocess Engineering, 17: 295-300.
- [2] Elankumaran R., Raj Mohan B., Madhyastha M.N. 2003. *Biosorption of copper from contaminated water by Hydrilla verticillata Casp. and Salvinia sp.* Available from: <http://www.ecoweb.com/editorial/030717.html>
- [3] *Emisja metali ciężkich według rodzajów działalności w 1998 r. (w mg)*. 1998. Główny Urząd Statystyczny, Warszawa.
- [4] Foyer C. 1997. *Oxygen metabolism and electron transport in photosynthesis*. W: Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses, pod red. G. Scandalos, Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, London, 587-621.
- [5] Geoffroy L., Frankart C., Eullaffroy P. 2004. *Comparison different physiological parameter responses in Lemna minor and Scenedesmus obliquus exposed to herbicide flumioxazin*. Environmental Pollution, 131(2): 233-241.
- [6] Hoffmann T., Kutter C., Santamaria J.M. 2004. *Capacity of Salvinia minima Baker to tolerate and accumulate As and Pb*. Engineering in Life Sciences, 4(1): 61-65.
- [7] Jackson L.J. 1998. *Paradigms of accumulation in rooted aquatic vascular plants*. The science of Total Environment, 219(2-3): 223-231.
- [8] Kabata-Pendias A., Pendias H. 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa, Rozdz. 1.4., 111-126.
- [9] Maine M.A., Duarte M.V., Sune N.L. 2001. *Cadmium uptake by floating macrophytes*. Water Research, 35/11: 2629-2634.
- [10] Maine M.A., Sune N.L., Lager S.C. 2004. *Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes*. Water Research, 38: 1494-1501.

- [11] Miretzky P., Saralegui A., Cirelli A.F. 2004. *Aquatic macrophytes potential for simultaneous removal of heavy metals*. Chemosphere, 57(8): 997-1005.
- [12] Nichols P.B., Couch J.D., Al-Hamdani S.H. 2000. *Selected physiological responses of *Salvinia minima* to different chromium concentrations*. Aquatic Botany, 68: 313-319.
- [13] Olguin E.J., Hernandez E., Ramos I. 2002. *The effect of both different light conditions and the pH value on the capacity of *Salvinia minima* Baker for removing cadmium, lead and chromium*. Acta Biotechnologica, 22(1-2): 121-131.
- [14] Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie klasyfikacji dla prezentowania stanu wód powierzchniowych i podziemnych, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji wyników i prezentacji stanu tych wód. Dz.U.2004.32.284
- [15] Prasad M.N.V. 2007. *Aquatic plants for phytotechnology*. W: Environmental Bioremediation Technologies, pod redakcją S.N. Singh, R.D. Tripathi, Springer Berlin Heidelberg, Chap. 11, 257-274.
- [16] Salt D.E., Blaylock M., Kumar N.P., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet I., Raskin I. 1995. *Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants*. Biotechnology, 13(5): 468-474.
- [17] Semsari S., Ait Amar H., Badani Z., Benayad B. 2002. *Study of the inhibition of certain trophic levels by the presence of metal cations in water*. Desalination, 150: 177-188.
- [18] Sen A.K., Bhattacharyya M. 1994. *Studies of uptake and toxic effects of Ni(II) on *Salvinia natans**. Water, Air, and Soil Pollution, 78: 141-152.
- [19] Sen A.K., Mondal N.G. 1990. *Removal and uptake of copper (II) by *Salvinia natans* from wastewater*. Water, Air, and Soil Pollution, 49: 1-6.
- [20] Sen A.K., Mondal N.G. 1987. **Salvinia natans* as the scavenger of Hg(II)*. Water, Air, and Soil Pollution, 34: 439-446.
- [21] Sen A.K., Mondal N.G., Bhattacharyya M. 1993. *Studies of uptake and toxic effects of lead on *Salvinia natans**. Indian Journal of Environmental Health, 35(4): 308-320.
- [22] Srivastav R.K., Gupta S.K., Nigam K.D.P., Vasudevan P. 1994. *Treatment of chromium and nickel in wastewater by using aquatic plants*. Water Research, 28(7): 1631-1638.
- [23] Szefer P. 1998. *Distribution and behaviour of selected heavy metals and other elements in various components of the southern Baltic ecosystem*. Applied Geochemistry, 13(3): 287-292.
- [24] Teisseire H., Couderchet M., Vernet G. 1999. *Phytotoxicity of diuron alone and in combination with copper or folpet on duckweed (*Lemna minor*)*. Environmental Pollution, 106(1): 39-45.
- [25] Teisseire H., Couderchet M., Vernet G. 1998. *Toxic responses and catalase activity of *Lemna minor* L. exposed to folpet, copper, and their combination*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 41: 194-200.

RIZOFILTRATION OF COPPER (II) CONTAMINATED WASTEWATER BY USING *SALVINIA SP.*

The removal of redundant copper(II) ions by using aquatic plants from wastewater is the ecology activity and alternative for popular chemical methods. The studies of uptake and toxic effects of copper(II) by *Salvinia natans* have been investigating for 14 days period using different initial metal concentrations. The biosorption of copper(II) from contaminated water presents the bioaccumulation possibilities of *Salvinia natans* under setting cultivation conditions and copper(II) influence on physiological and morphological parameters of *Salvinia natans*.