

Teodora Małgorzata TRACZEWSKA*

METODY BIOLOGICZNE W KONTROLI JAKOŚCI WODY

Zarówno w Polsce jak i w wiele krajach opracowano szereg metod standardowych przeznaczonych do badania toksyczności wody, bądź też czystych substancji, (PKN, EPA, OECD, ASTM, ISO itp.). W niniejszej pracy zwrócono szczególną uwagę i dokonano przeglądu metod oceny jakości środowiska wodnego.

1. WSTĘP

Ocena skutków i prognozowanie zmian środowiska wodnego pod wpływem antropopresji stanowi przedmiot badań toksykologii, toksykologii środowiskowej ekotoksykologii oraz toksykologii genetycznej [1].

Toksykologia jest definiowana jako dziedzina, której celem jest ocena wpływu substancji chemicznych i innych obcych czynników na organizmy żywe, ze szczególnym naciskiem na niekorzystne lub wręcz szkodliwe ich działanie oraz analiza prawdopodobieństwa działania substancji toksycznych w różnych warunkach ekspozycji. Organizmy żywe integrują efekty pozytywnych i negatywnych wpływów substancji chemicznych oraz warunków środowiska panujących podczas ich wzrostu i rozwoju [2]. Podstawą badań toksykologicznych jest zależność „dawka-odporność”, a wyrażona matematycznie pozwala na przewidywanie zagrożenia. W badaniach wykorzystywane są laboratoryjne testy toksykologiczne [3].

Toksykologia środowiskowa stanowi wydzieloną gałąź toksykologii i można ją zdefiniować jako naukę o zanieczyszczeniach biosfery i ich wpływie na jej składowe w aspekcie ostatecznego działania na organizm człowieka. Stawia sobie trzy podstawowe cele: – opis losów i dystrybucji ksenobiotyków w biosferze i w organizmie po uwolnieniu do środowiska, – opis interakcji ksenobiotyków z miejscem oddziaływania – opis wpływu molekularnych interakcji na funkcję ekosystemu.

Z kolei ekotoksykologia obejmuje badania organizmów, populacji, zespołów, biocenoz i ekosystemów pod kątem dróg narażenia na czynniki chemiczne, pobrania i efektów toksycznych.

* Politechnika Wroclawska, Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Zakład Biologii i Ekologii, 50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, teodora.traczewska@pwr.wroc.pl.

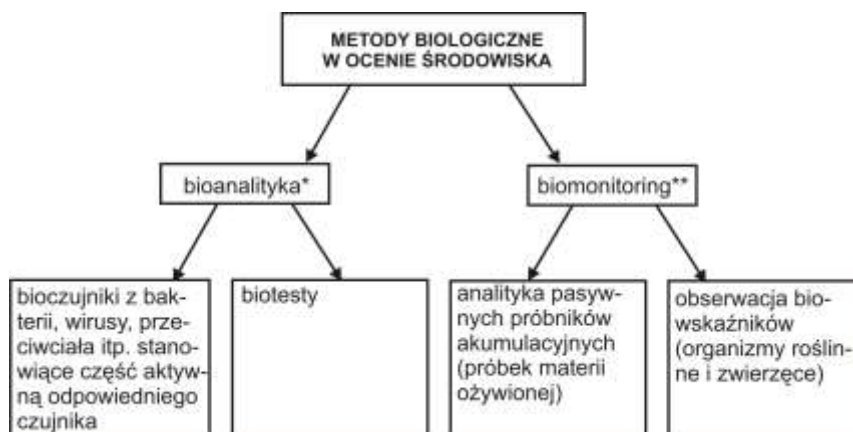
Najprościej jest to nauka o szacowaniu efektów działania substancji toksycznych na ekosystemy w celu ich ochrony jako układu, a nie pojedynczych, izolowanych składowych. Jest nauką zajmującą się wpływem substancji toksycznych na życie organizmów w warunkach naturalnych, a w szczególności na parametry ich cyklu życiowego, takie jak rozrodczość, śmiertelność, długość życia i czas dojrzewania, oraz obserwacjami uogólnionymi takimi jak dostosowanie (adaptacja) organizmów, a zatem dynamiką populacji. Obiektem badań ekotoksykologii są zarówno naturalne substancje toksyczne, jak np. wtórne metabolity produkowane przez mikroorganizmy, grzyby, czy rośliny, jak i związki chemiczne produkowane przez człowieka. W ujęciu aplikacyjnym ekotoksykologia jest nauką badającą występowanie, drogi krążenia, akumulację i rozkład w ekosystemach substancji toksycznych pochodzenia antropogenicznego. Jeśli na szczycie piramidy troficznej umieścimy człowieka granice pomiędzy toksykologią środowiskową a ekotoksykologią przestają być tak wyraźne [4].

Toksykologia genetyczna skupia się przede wszystkim na mutacjach zachodzących pod wpływem substancji chemicznych. Mutacja odnosi się do zmian genetycznych w komórkach somatycznych lub płciowych. Mutacje w komórkach somatycznych mogą się przyczynić do różnych defektów, włączając powstanie nowotworu, natomiast mutacje w komórkach płciowych mogą spowodować choroby genetyczne u przyszłych pokoleń. Podczas gdy ustalono związek pomiędzy ekspozycją na poszczególne substancje chemiczne i karcinogenezę u ludzi, podobny związek dla defektów dziedzicznych jest trudny do dowiedzenia.

Z kolei jakość bakteriologiczna wody mieści się w zakresie mikrobiologii.

W biologicznych metodach kontroli jakości środowiska można wyróżnić dwa podstawowego kierunki:

- analizę wpływu zanieczyszczeń na materiał biologiczny,
- biomonitoring.



Celem opracowania jest zebranie metod biologicznej kontroli jakości wody i jej skażenia pod kątem przydatności w inżynierii i ochronie środowiska.

2. METODY BIOANALITYCZNE W OCENIE JAKOŚCI WODY

2.1. BIOCZUJNIKI

W badaniach środowiskowych biosensory mogą być stosowane do wykrywania i identyfikacji zarówno zanieczyszczeń toksycznych jak i mutagennych. Te ostatnie, w przeciwieństwie do pozostałych, mają charakter urządzeń jednorazowych z uwagi na nieodwracalność zmian zachodzących w materiale biologicznym

W zależności od użytego składnika biologicznego i mierzalnego efektu wyróżnić można dwa rodzaje biosensorów:

- biosensory diagnostyczne służące do wykrywania obecności określonego zanieczyszczenia, charakteryzujące się selektywnością materiału biologicznego (zdolnością reagowania na określony związek chemiczny) wykorzystujące reakcje enzymatyczne lub biopowinowactwo,
- tzw. biosensory szeroko zakresowe służące do detekcji toksyczności zanieczyszczeń poprzez zmiany aktywności metabolicznej składnika biologicznego, z reguły układów pełno komórkowych.

Zastosowanie biosensorów w monitoringu środowiska [5]

Oznaczana substancja	Element biologiczny	Przetwornik sensora/metoda
2,4-dinitrofenol	monoklonalne przeciwciała	elektroda potencjometryczna
Fenole	oksydaza polifenolowa	elektroda amperometryczna
azotany(III)	reduktaza azotynowa	sensor gazowy NH ₃
Naftalen	<i>Pseudomonas + lux</i> plazmid	Fotowzmacniacz
herbicydy triazynowe	mieszanina enzymów	spektrofotometr UV
Formaldehyd	dehydrogenaza formaldehydowa	element piezoelektryczny
rtęć(III)	Ureaza	elektroda gazowa CO ₂
fosforany organiczne	Acetylocholinoesteraza	elektroda pH
metale ciężkie	Ureaza	Mikrokalorymetr
insektycydy karbaminowe	Acetylocholinoesteraza	światłowodowy sensor pH
Herbicydy	<i>Synechococcus</i>	amperometria pośrednia
Chloro fenole	<i>Escherichia coli</i>	amperometria pośrednia

2.2. TESTY TOKSYKOLOGICZNE

W toksykologicznej kontroli jakości wód oraz ocenie wpływu zanieczyszczeń na ekosystem wodny zakłada się, że warunki środowiska wpływają równomiernie na wszystkie organizmy biocenozy. Stąd, w kontroli toksyczności nie musi się uwzględniać wszystkich gatunków lecz można ograniczyć obserwacje do pewnych wybranych, których dobór będzie zależał od warunków lokalnych i od znajomości ich występowania i rozwoju [6,7,8,9,10,11,12,13].

Różnorodne metody badawcze zostały opracowane i zestandaryzowane przez American Public Health Association (APHA), Environmental Protection Agency (EPA), American Society for Testing and Materials (ASTM) oraz Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), PN i PN-ISO i inne instytucje w różnych krajach, w celu oceny niebezpieczeństwa i potencjalnej toksyczności materiałów dla organizmów żywych. We wcześniejszych publikacjach zawarto przegląd metod testowych dotyczących badania jakości wody [14,15].

3. BIOMONITORING

Do niedawna w ocenie zmian zachodzących w środowisku wodnym wykorzystywano jedynie monitoring chemiczny. Jednakże ogromna różnorodność zanieczyszczeń i trudności analityczne nie pozwalają na pełną analizę obciążenia środowiska związkami chemicznymi i pełną ocenę skutków ich oddziaływania na układy żywe.

Monitoring biologiczny zdefiniuje się jako „systematyczne obserwacje reakcji biologicznych na zmiany w środowisku w celu wykorzystania tych informacji w programie kontroli jakości” [16].

Biomonitoring zanieczyszczeń może być pasywny lub aktywny. Metody pasywne polegają na obserwacji organizmów żyjących w naturalnym środowisku w obszarze objętym badaniami. Metody aktywne polegają na wykrywaniu zanieczyszczeń przez umieszczenie w obszarze badań organizmów o poznanym genotypie i odpowiedziach na działanie substancji toksycznych.

3.1. ANALIZA WSKAŹNIKÓW PASYWNYCH

Metody oceny jakości wód powierzchniowych na podstawie biologicznych wskaźnikach zanieczyszczenia można podzielić na dwie grupy:

System saprobowy, bazujący głównie na obecności organizmów planktonicznych i peryfitonu oraz system skupiający się na makrobezkręgowcach bentosowych. Obie grupy jednocześnie ewoluowały z metod ilościowych do jakościowych. Do połowy lat siedemdziesiątych, większość krajów europejskich odeszła jednak od wskaźników

saprobowości i różnorodności, koncentrując się na indeksach biotycznych oraz systemach punktacji [17].

W ocenie stopnia zanieczyszczenia wód ściekami często stosowany jest system saprobów, gdzie saprobowość jest łączona z wartościami indeksu odniesionymi do obfitości i wrażliwości organizmów w celu wyznaczenia indeksu saprobowości. Zaletą tego systemu jest to, że został opracowany w oparciu o szereg zależności pomiędzy stopniem zanieczyszczenia organicznego wody, liczebnością i różnorodnością gatunkową roślin i zwierząt, a także zawartością tlenu rozpuszczonego w wodzie i zawartością dwutlenku węgla. Jakość wody można sklasyfikować do 9 klas. Dzięki solidnym podstawom system ten obowiązuje do dzisiaj pomimo, że jest czasochłonny i kosztowny w przypadku częstego wyznaczania.

Wiele metod kontroli jakości wody wykorzystuje faunę bentosową. Współczynniki różnorodności są matematycznym zapisem, który korzysta z trzech parametrów strukturalnych populacji: bogactwa (liczba obecnych gatunków), równomierności (jednolitość rozkładu osobników każdego gatunku) oraz liczebności (całkowita liczba obecnych organizmów). Powyższe parametry pomagają opisać odpowiedź populacji na stres jakiemu poddawane jest środowisko, w którym zamieszkuje. Zanieczyszczenia organiczne pochodzące ze zrzutów z oczyszczalni ścieków powodują zmniejszenie różnorodności (eliminacja wrażliwych gatunków), zwiększenie liczby organizmów tolerancyjnych oraz zmniejszenie równomierności.

System biotyczny to taki system, który łączy różnorodność konkretnych grup taksonomicznych w jeden indeks lub punktację. Podstawowa różnica pomiędzy indeksem biotycznym a punktacją polega na uwzględnianiu liczebności. Punktacja uwzględnia liczebność organizmów w próbce, podczas gdy przy obliczaniu indeksu liczebność jest pomijana. Systemy punktacji wymagają dokładniejszej identyfikacji przez co są mniej praktyczne w użyciu, ale w zamian dostarczają o wiele więcej informacji na temat jakości biocenozy rzeki. Ważniejsze z nich to: Indeks Biotyczny Trent (TBI) i jego odmiany (EBI, BBI), System Punktacji Chandlera, System Punktacji (BMWP) i podobne, jak program komputerowy RIVPACS pozwalający na wyznaczenie EQI oraz ASPT. System BMWP jest nadal modyfikowany w celu uściślenia metod poboru próbek i ich analizowania oraz poszukuje się metod pozwalających na ich analizę porównawczą. Przykładem może być South African Scoring System czy „fuzzy logic”.

Indeks IBI (Index of Biotic Integrity) opracowano na podstawie obserwacji zastosowaniem zespołów ryb jako wrażliwych wskaźników zmian jakości wody. Ocena dokonywana jest w trzech kategoriach: bogactwa składu gatunkowego, złożoności zależności troficznych i ogólnej obfitości i kondycji (choroby, deformacje kręgosłupa, nowotwory).

Obok omówionych metod w standardowych badaniach jakości wody wykorzystuje się szereg innych organizmów jak np. badania hydromakrofitów w wodach płynących i jeziorach, czy badania okrzemek bentosowych.

3.2. ORGANIZMY MONITOROWE W KONTROLI ZANIECZYSZCZEŃ WODY

W praktyce w obserwacjach biowskaźników znalazły zastosowanie głównie organizmy zwierzęce. Wśród ryb szczególnie wrażliwe na zanieczyszczenia są pstrąg potokowy, płóc, sandacz, a średnio wrażliwe karp i okoń. Pełnią one rolę wskaźników kumulacyjnych i bioindykatorów wrażliwości [18,19]. Pierwszym objawem niekorzystnie zmieniających się warunków środowiska są zmiany w zachowaniu się gatunków organizmów wrażliwych o niskiej tolerancji. Dla przykładu pstrągi mogą rejestrować w ośrodkach węchowych mózgu znikome ilości szkodliwych substancji i gdy ich stężenia przekroczą $10\mu\text{g/l}$ reagują ucieczką. Podobnie w ocenie jakości wody do picia znalazły zastosowanie małże słodkowodne które cechuje wrażliwość na podwyższoną w wodzie zawartość żelaza, azotu amonowego, chloru oraz reagują na skażenia niektórymi metalami ciężkimi (miedź, rtęć, kadm), formaldehydem oraz środkami ochrony roślin. Reagują one natychmiastowym zamknięciem muszli na czas zależny od siły czynnika stresowego. W systemie SYMBIO zachowanie małży jest monitorowane elektronicznie.

Badania biokoncentracji zanieczyszczeń przez organizmy wodne mają na celu, obok czysto poznawczych, ocenę stopnia narażenia człowieka z uwagi na jego pozycję w łańcuchu troficznym. Wiele organizmów wodnych wykazuje szczególną zdolność do biokumulacji. Należą do nich rześa wodna (metale ciężkie), gatunki ryb zawierających znaczne ilości tkanki tłuszczowej

(zanieczyszczenia trwałe jak WWA, PCBs, dioksyny, pestycydy), małże(rtęć). Do bioindykacji zanieczyszczeń wód wykorzystywane są również glony, skorupiaki, a z roślin naczyniowych pałka szerokolistna i wąskolistna [20,21].

4. PODSUMOWANIE

Pełen obraz skutków narażenia organizmów żywych na zanieczyszczenia wody oraz efektów negatywnych oddziaływań na biocenozę można uzyskać jedynie poprzez odpowiedni dobór metod testowych. Podstawowym założeniem takich badań powinno być uwzględnienie wpływu zanieczyszczeń na przedstawicieli poszczególnych poziomów troficznych biocenozy wodnej. Ponadto uzyskane rezultaty powinny obejmować prognozę skutków oddziaływania na organizm człowieka, a także ocenę ryzyka środowiskowego. Z kolei analiza biocenozy, identyfikacja gatunków wskaźnikowych, wsparte badaniami z wykorzystaniem organizmów monitorowych w obserwacjach długoterminowych pozwalają na określenie trendu zmian zachodzących w środowisku wodnym oraz na prognozowanie jego zdolności do samooczyszczania.

LITERATURA

- [1] Hoffman D.J., Rattner B.A., Burton G.A. Cairns J. 1995, Handbook of ecotoxicology, Lewis Publishers.
- [2] Keddy C.J., J.C. Greene, M.A. Bonnell, Review of whole-organism bioassays: soil, freshwater sediment, and freshwater assessment in Canada. *Ecotox and Env Safety*. 1995, 30, 221-251.
- [3] Dutka B.J., Methods for Toxicological Analysis of Waters, Wastewaters and Sediments. National Water Research Institute, Canada Centre of Inland Waters, Burlington, Ontario. 1991, w Keddy i in., 1995.
- [4] Newman M.C., Unger M.A.: Fundamentals of ecotoxicology, Second edition, Lewis Publisher A CRC Press Company 2003
- [5] Brzóska Z., Wróblewski W. 1999: sensory chemiczne, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej
- [6] Horning W.B., C. Weber. Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms. EPA/600/4-85/014. Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, OH. 1985, p. 162.
- [7] Environment Canada, Biological test method: acute lethality test using *Daphnia* spp. EPS 1/RM/11, 1996.
- [8] Environment Canada, Biological Test Method: Test to reproduction and survival using cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. EPS 1/RM/21, 1997b.
- [9] Landis G.W., M.H. Yu, Introduction to Environmental Toxicology. Lewis Publish. 1995.
- [10] Janssen C.R., G. Persoone, T.W. Snell, Cyst – based toxicity tests. VIII. Short-chronic toxicity tests with the freshwater *Brachionus calyciflorus*. *Aquat Toxicol*. 1994, 28, 243-258.
- [11] Snell T.W., B. Moffat, C.R. Janssen, G. Persoone, Acute toxicity tests using rotifers. IV. Effect of cyst age, temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*. *Environ Toxicol Water Quality*. 1991, 6, 63.
- [12] Munkittrick K.R., E.A. Power, G.A. Sergy, *Environ Toxicol Water Quality*. 1991, 6, 35
- [13] Tothill I.E., A.P.F. Turner, Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment. *Trends in Analytical Chemistry*. 1996, vol. 15, no.5.
- [14] Traczewska Teodora, Dziubek Andrzej: Testy przesiewowe w biomonitoringu jakości wody. Instal (Warszawa). 2007 nr 5, s. 72-74,
- [15] Traczewska Teodora, Dziubek Andrzej: Zastosowanie biotestów do oceny jakości wody. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna*. 2006 t. 80, nr 11, s. 60-63,
- [16] Matthews, R.A., Jr. A.L. Buikema, J. Cairns Jr., J.H. Rodgers Jr., Biological monitoring. Part IIA. Receiving system functional methods, relationships and indices. *Water Research*. 1982, 16, 129-139, w: Mulgrew i Williams, 2000
- [17] Davies L.J., (1998), Effect of pollutants on the biotic environment, niepubl., University of Glamorgan.
- [18] Evans G.P., D. Johnson, C. Withell, Development of WRc MKIII Fish Monitor. Environmental Report No. TR233, Medmenham, 1986
- [19] Environment Canada, Biological Test Method: Reference Method for Determining Acute Lethality of Effluents to Rainbow Trout. EPS 1/RM/13, 2000.
- [20] Ou Z., T. Sun, H. Zhang, A bioassay for determining simazine in water using aquatic flowering plants (*Ceratophyllum oryzetorum*, *Ranunculus trichophyllus* and *Alisma plantago-aquatica*). *Pestic Sci*. 1994, 42, 173-178.
- [21] Wong S.L., J.F. Wainwright, J. Pimenta, Quantification of total and metal toxicity in wastewater using algal bioassays. *Aquat Toxicol*. 1995, 31, 57-75.

BIOLOGICAL METHODS FOR WATER QUALITY CONTROL

Polish specialized literature account of biological methods does not include a full, up-to-date for water sample examination. In many countries, scientific centres are in possession of large sets of standard methods (standards) for examining the toxicity of water or pure substances (all of them having been developed by such institutions as PKN, OECD, ISO, EPA, ASTM, etc.). A major advantage of using bioindicator methods is that they allow the assessment of environment quality in the way it is perceived by living organisms. The intention of this paper is to provide an overview of aquatic toxicology with an emphasis on reviewing test method and data collection.