



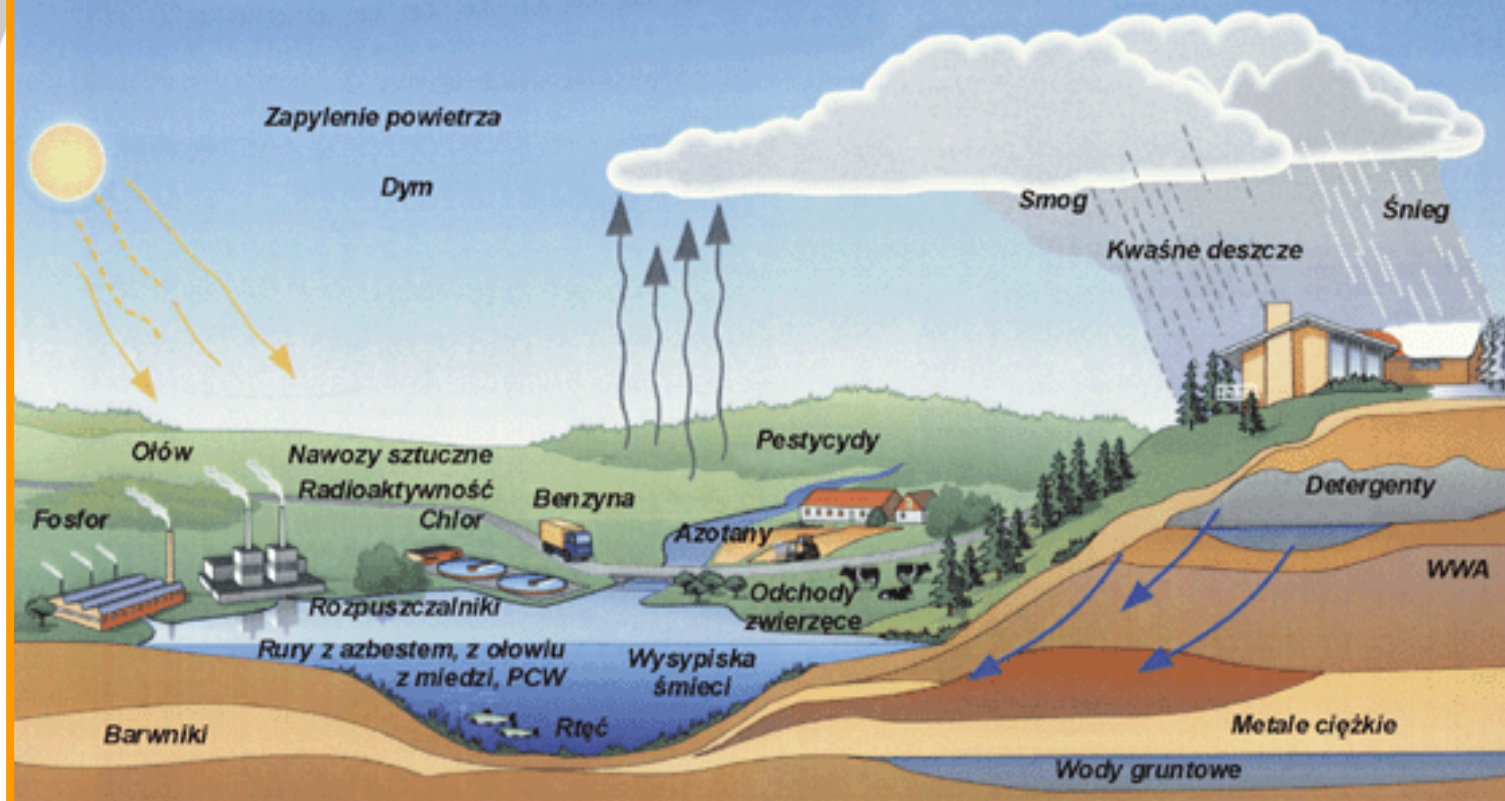
**Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych**  
**Seminarium 2012**

# **Aktywność biologiczna ścieków, wód burzowych i odcieków pochodzących z rejonu morza Bałtyckiego – wyniki projektu COHIBA**

Dr hab. Danuta Mielżyńska-Švach

Zespół Mikrobiologii Środowiska

## Jak zaturowana jest woda



# MONITORING ŚCIEKÓW

Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 24 lipca 2006 r. reguluje:

najwyższe dopuszczalne wartości wskaźników zanieczyszczeń lub minimalne procenty redukcji zanieczyszczeń dla oczyszczonych ścieków komunalnych wprowadzanych do wód i do ziemi (**BZT5, ChZT1, zawiesiny ogólne, azot ogólny, fosfor ogólny**) (**Załącznik nr 1**)

najwyższe dopuszczalne wartości wskaźników zanieczyszczeń dla niektórych substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (16 związków: min. **kadm, rtęć, HCH, CCl<sub>4</sub>, PCP** itd.)

najwyższe dopuszczalne wartości dla pozostałych wskaźników zanieczyszczeń (56 wskaźników w tym: **temperatura, pH, węgiel ogólny, azot amonowy** itd.) (**Załącznik nr 3**)



# MONITORING CHEMICZNY

**Monitoring chemiczny obejmuje ok. 170 związków**

**W środowisku występuje około 100 000 substancji toksycznych!!!!**



**99% substancji toksycznych pozostaje poza systemem monitoringu chemicznego**



**NIEDOSZACOWANIE RYZYKA**

# RAMOWA DYREKTYWA WODNA

„Woda nie jest produktem handlowym takim jak każdy inny, ale raczej dziedzicznym dobrem, które musi być chronione, bronione i traktowane jako takie” (preambuła z **Ramowej Dyrektywy Wodnej** 2000/60/W)

Główne cele RDW dotyczą:

- zaspokojenia zapotrzebowania na wodę ludności, rolnictwa i przemysłu,
- ochrony wód i ekosystemów znajdujących się w dobrym stanie,
- poprawy jakości wód i stanu ekosystemów zdegradowanych,
- zmniejszenia zanieczyszczenia wód podziemnych.



# RAMOWA DYREKTYWA WODNA

Według Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 20 sierpnia 2008 roku klasyfikacja stanu wód opiera się na ocenie stanu ekologicznego, który obejmuje:

- **ocenę stanu biologicznego** na podstawie badania fitoplanktonu, fitobentosu, makrofitów, makrozoobentosu i ichtifauny,
- **ocenę elementów fizyko-chemicznych**: warunki tlenowe, zanieczyszczenia organiczne, zasolenie, zakwaszenie i warunki biogenne,
- **ocenę stanu chemicznego** na podstawie stężenia substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego, w tym substancji priorytetowych,
- **ocenę elementów hydromorfologicznych**.



# ANALIZY CHEMICZNE W OCENIE ŚRODOWISKA

Analizy chemiczne **nie wykrywają** wszystkich substancji działających szkodliwie na organizmy żywe.

Analizy chemiczne **nie wykrywają** substancji występujących w bardzo niskich stężeniach.

Metody analityczne charakteryzujące się niską granicą oznaczalności (ng/l, pg/l) **są bardzo kosztowne**.

Związki chemiczne mogą reagować ze sobą, dając w wyniku pochodne bardziej lub mniej toksyczne od substratów (**addytywność, synergizm, antagonizm**).

Czynniki fizyczne (pH, temperatura, promieniowanie itp.) **mogą wpływać na toksyczność** mieszaniny substancji chemicznych.

# METODY BIOLOGICZNE W OCENIE ŚRODOWISKA

**Biomonitoring** - obserwacje w środowisku:

- obserwacja zmian ilościowych i jakościowych flory oraz fauny na danym obszarze (**indeks saprobowy**, **indeks biotyczny**),
- obserwacja organizmów pełniących rolę **biowskaźników**:  
wrażliwości (ryby, małże),  
kumulacji (glony, skorupiaki, rośliny wyższe, ryby).

**Bioanalityka** - analiza wpływu zanieczyszczeń na materiał biologiczny:

- **biotesty** z zastosowaniem odpowiednich organizmów testowych,
- **bioczujniki** (bakterie, wirusy, przeciwciała itp. stanowią aktywną część czujnika).

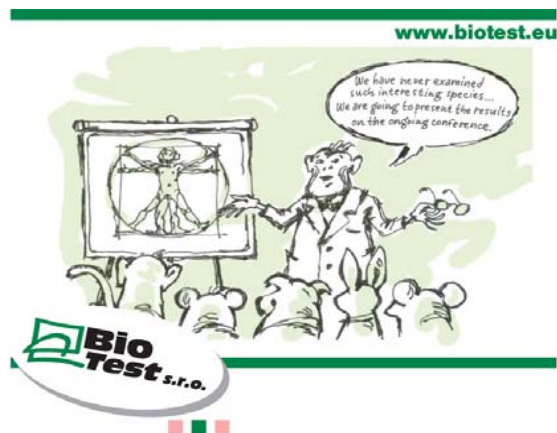


# BIOTEST - DEFINICJA

**Biotesty** (gr. *bios* – życie + łac. *testari* - świadczyć) są specyficzną grupą badań ilościowych, opartą na ocenie wpływu substancji toksycznych lub ich mieszanin na wybrane organizmy żywe.

W przypadku badania **próbek środowiskowych** metody te umożliwiają ocenę sumarycznej toksyczności uwzględniającej antagonistyczne lub synergistyczne interakcje między poszczególnymi składnikami mieszaniny.

**Mechanizm toksyczności** zależy od rodzaju związku, typu ekspozycji, organizmu i warunków abiotycznych.



# KRYTERIA PRZYDATNOŚCI BIOTESTU

- ❑ Dostateczna wrażliwość na różne rodzaje substancji toksycznych.
- ❑ Prostota wykonania i możliwość standaryzacji warunków.
- ❑ Powtarzalność uzyskanych wyników.
- ❑ Możliwość ekstrapolacji wyników na inne organizmy i całe ekosystemy.
- ❑ Wynik testu powinny być użyteczny dla szacowania ryzyka ekologicznego.
- ❑ Akceptacja przez środowiska naukowe.



# KRYTERIA PRZYDATNOŚCI ORGANIZMU

## Kryterium 5R

1. **Podstawowy** (relevant) – organizmy wskaźnikowe powinny ogrywać istotną rolę w funkcjonowaniu ekosystemów.
2. **Powszechny** (reliable) – organizmy wskaźnikowe powinny być szeroko rozpowszechnione w naturze i łatwe w uzyskaniu.
3. **Przeżywający** (robust) – organizmy wskaźnikowe nie powinny być wrażliwe na bardzo niskie stężenia toksyn.
4. **Podatny** (responsive) – reakcja organizmu (śmiertelność, zmiany anatomiczne, morfologiczne, behawioralne) na toksynę powinna być wyraźna i wymierna.
5. **Powtarzalny** (reproducible) – reakcja organizmu na ten sam rodzaj oraz stężenie substancji toksycznej powinna być powtarzalna.

# RODZAJE BIOTESTÓW

## W zależności od efektu (skutku):

letalne (badają śmierć organizmów),  
fizjologiczne (badają zmiany fizjologiczne i morfologiczne).

## W zależności od czasu trwania:

krótkoterminowe (ostre),  
długoterminowe (przewlekłe, chroniczne).



Glony *Chlorella vulgaris*

## W zależności od miejsca ich wykonywania:

laboratoryjne,  
pół-polowe (mikrosystemy, ang. *microcosm*),  
polowe (*in situ*) (mezosystemy, ang. *mesocosm*).



Kiełż *Gammarus varsoviensis*

# RODZAJE BIOTESTÓW

## W zależności od rodzaj próbki:

przygotowane w laboratorium związki chemiczne lub ich mieszaniny,  
próbki środowiskowe (wody, ścieki, osady ściekowe, gleby).

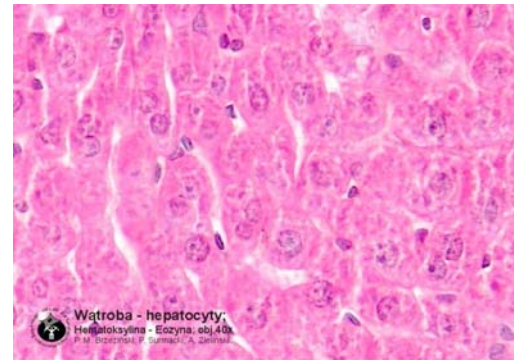
## W zależności od stosowanego modelu:

cały organizm (roślina, zwierzę),  
wybrany narząd, } metody *in vivo*

hodowla komórek,  
reakcje enzymatyczne. } metody *in vitro*



**Gupik** *Lebides reticulatus*



# RODZAJE BIOTESTÓW

## W zależności od liczby gatunków:

jednogatunkowe,  
wielogatunkowe.

## W zależności od warunków prowadzenia testu:

statyczne - badane próbki nie podlegają wymianie,  
półstatyczne – wymiana badanej próbki w określonych odstępach czasu,  
dynamiczne – stały przepływ czyli badania *in situ* w tzw. mezosytemach.

## W zależności od rodzaju organizmu:

bakterie,  
rośliny,  
zwierzęta.



# PODSTAWOWE POJĘCIA

## TOKSYCZNOŚĆ OSTRA

Szkodliwe zmiany w organizmach testowych wywołane oddziaływaniem toksyn występują w czasie ekspozycji do 96 godzin. Zmiany te mogą prowadzić do zaburzeń czynności fizjologicznych i śmierci.

## TOKSYCZNOŚĆ CHRONICZNA

Szkodliwe zmiany w organizmach testowych wywołane oddziaływaniem toksyn występują po dłuższym czasie. Obserwacje polegają na ocenie zmian aktywności fizjologicznej, np.: pokarmowej, rozrodczej, zaburzeń genetycznych i zakłóceń w funkcjonowaniu narządów.



# MIARY TOKSYCZNOŚCI

**LC<sub>t</sub>** (ang. **L**ethal **C**oncentration) – stężenie substancji lub % rozcieńczonej próbki wywołujące śmierć określonej liczby organizmów testowych (wyrażone w %) w określonym czasie np. LC<sub>50</sub>

**EC<sub>t</sub>** (ang. **E**ffect **C**oncentration) – stężenie substancji lub % rozcieńczonej próbki wywołujące zmiany fizjologiczne u określonej liczby organizmów testowych (wyrażone w %) w określonym czasie np. EC<sub>50</sub>

**TU** (ang. **T**oxic **U**nit) – jednostki toksyczności obliczane w oparciu o L(E)C według wzoru  $TU = [1/L(E)C_{50}] \times 100$

# COHIBA

CONTROL OF HAZARDOUS SUBSTANCES  
IN THE BALTIC SEA REGION



PART FINANCED BY THE EUROPEAN UNION  
(EUROPEAN REGIONAL DEVELOPMENT FUND)



Baltic Sea Region  
Programme 2007-2013



22 partnerów z ośmiu krajów regionu bałtyckiego tj: Finlandii, Estonii, Łotwy, Litwy, Polski, Niemiec, Danii i Szwecji.

Koordynatorem jest Finnish Environmental Institute.

Członkiem konsorcjum jest Komisja Helsińska czyli HELCOM.

Projekt składa się z 6 pakietów zadaniowych, które były realizowane we wszystkich krajach uczestniczących w projekcie.

## Obiekty badań

- Ścieki z trzech oczyszczalni komunalnych (6 poborów).
- Ścieki z jednej oczyszczalni przemysłowej (6 poborów).
- Wody burzowe (2 pobory).
- Odcieki ze składowiska (2 pobory).

## Trzy biotesty toksyczności ostrej (obowiązkowe)

- PN-EN ISO 8692:2008 Test hamowania wzrostu glonów słodkowodnych z wykorzystaniem jednokomórkowych zielenic
- PN-EN ISO 6341:2002 Określanie ograniczania ruchliwości *Daphnia magna* Straus (Cladocera: Crustacea)
- PN-EN ISO 11348:2008 Oznaczanie inhibicyjnego działania próbek wody na emisję światła przez *Vibrio fischeri*

## Jeden test na mutagenność (dodatkowe)

- ISO 16240:2005 Determination of the genotoxicity of water and waste water – Salmonella/microsome test (Ames test).

# BADANIE ŚCIEKÓW – TEST *P. subcapitata*

## Organizm testowy

*Pseudokirchneriella subcapitata* (SAG 61.81) uzyskiwana z Gottingen Algae Collection (Germany) oraz hodowana zgodnie z normą ISO.

## Badane rozcieńczenia

W badaniach zastosowano rozcieńczenia: 100, 75, 50 i 25 %, trzy powtórzenia. Kontrola w sześciu powtórzeniach.

## Doświadczenia

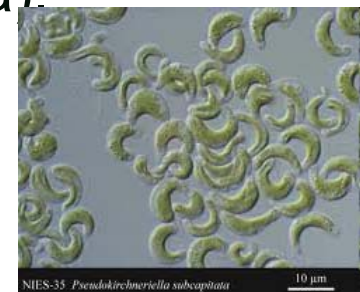
Ocena **tempa hamowania wzrostu** mikroalg przez pomiar gęstości optycznej po 24, 48 i 72 h (metoda spektrofotometryczna).

## Związek referencyjny

3,5-dichlorofenol (3,5-DCP)

## Miara toksyczności

**EC<sub>t</sub>** – % rozcieńczonych ścieków , powodujące obniżenie przyrostu biomasy lub liczby komórek (50 lub 20%).



# WYNIKI BADAŃ ŚCIEKÓW DLA *P. subcapitata*

Miesiąc	MWWTP1	MWWTP2	MWWTP3	IWWTP1
	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)
<b>06.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>07.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>09.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>11.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>01.2010</b>	NT	NT	NT	NT
<b>04.2010</b>	NT	NT	NT	NT

NT: EC<sub>50</sub> nie mogło zostać obliczone

# BADANIE ŚCIEKÓW – *D. magna*

## Organizm testowy

***Daphnia magna*** (Daphtokit, Tigret). Organizmy dostarczano w postaci jajeczek, które przechowywano w ciemności, w temp. 4-8°C. Przed testem jajeczka były umieszczone w wodzie wraz z pożywką. Młode osobniki były odżywiane mikroglonami.

## Badane rozcieńczenia

W badaniach zastosowano rozcieńczenia 100, 75, 50 i 25 %, cztery powtórzenia.

## Doświadczenia

W teście oceniano **immobilizację** (unieruchomienie) lub **śmiertelność** rozwielitek po 24 lub 48 h.

## Związek referencyjny

Dwuchromian potasu ( $K_2Cr_2O_7$ )

## Miara toksyczności

**EC<sub>t</sub>** – % rozcieńczonych ścieków, powodujące unieruchomienie badanych organizmów (20 lub 50%).



# WYNIKI BADAŃ ŚCIEKÓW DLA *D. magna*

Miesiąc	MWWTP1	MWWTP2	MWWTP3	IWWTP1
	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)
<b>06.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>07.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>09.2009</b>	NT*	NT*	NT*	85,0
<b>11.2009</b>	NT*	NT*	NT*	89,0
<b>01.2010</b>	NT	NT	NT	NT*
<b>04.2010</b>	NT	NT*	NT	40,0

NT: EC<sub>50</sub> nie mogło zostać obliczone

NT\*: Obliczono EC<sub>20</sub>

# BADANIE ŚCIEKÓW – TEST *V. fischeri*

## Organizm testowy

*Vibrio fischeri* (Microtox, Tigret) otrzymywano w formie liofilizowanej i przechowywano w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## Badane rozcieńczenia

W badaniach zastosowano rozcieńczenia: 90, 60, 40 and 26,67 %, dwa powtórzenia.

## Doświadczenia

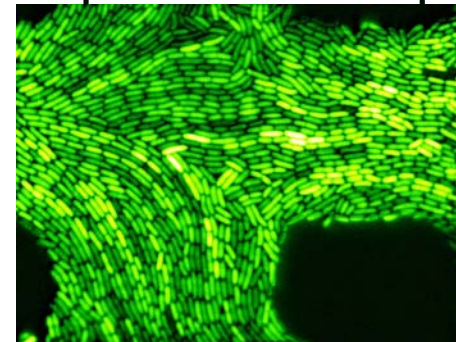
Ocena intensywności luminescencji badanych próbek przeprowadzono po 15 i 30 min w porównaniu do próbek kontrolnych.

## Związek referencyjny

3,5-dichlorofenol (3,5-DCP)

## Miara toksyczności

$EC_t$  – % rozcieńczonych ścieków powodujące redukcję emisji światła przez bakterie (20 lub 50%).



# WYNIKI BADAŃ ŚCIEKÓW DLA *V. fischeri*

Miesiąc	MWWTP1	MWWTP2	MWWTP3	IWWTP1
	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)	EC <sub>50</sub> (%)
<b>06.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>07.2009</b>	89.6	NT	NT	NT
<b>09.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>11.2009</b>	NT	NT	NT	NT
<b>01.2010</b>	NT	NT	NT	NT
<b>04.2010</b>	NT	NT*	NT	NT

NT: EC<sub>50</sub> nie mogło zostać obliczone

NT\*: Obliczono EC<sub>20</sub>

<b>Wody burzowe</b>	<i>V.fisheri</i> EC <sub>50</sub> (%)	<i>P.subcapitata</i> EC <sub>50</sub> (%)	<i>D.magna</i> EC <sub>50</sub> (%)
<b>12.2009</b>	NT	3,48	50,1
<b>10.2010</b>	NT	NT	50,0

<b>Odcieki</b>	<i>V.fisheri</i> EC <sub>50</sub> (%)	<i>P.subcapitata</i> EC <sub>50</sub> (%)	<i>D.magna</i> EC <sub>50</sub> (%)
<b>12.2009</b>	16,5	56,6	1,2
<b>10.2010</b>	23,3	2,49	4,0

# BADANIE ŚCIEKÓW - TEST *Salmonella*

## Organizm testowy

***Salmonella Typhimurium*** otrzymywano w formie liofilizowanej (TRINOVA).

Przechowywane w temp. -20°C. Szczepy: TA98 i TA100.

## Badane rozcieńczenia

W badaniach zastosowano rozcieńczenia : 100, 75, 50 i 25 %, trzy powtórzenia.

## Doświadczenie

Po 48 godzinach inkubacji w 37°C, liczone liczbę rewertantów spontanicznych, indukowanych oraz w kontrolach negatywnych i pozytywnych. Zastosowano wariant, bez i po aktywacji metabolicznej ( $\pm$ S9).

## Związki referencyjne

Mutagen bezpośredni (-S9)

TA98 - 4-nitro-1,2-fenylenodiamina (NPDA)

TA100 - nitrofurantion (NF)

Mutagen pośredni (+S9)

2-aminoantracen (2-AA) dla obu szczepów



# EFEKT MUTAGENNY ŚCIEKÓW DLA SZCZEPU TA98

Miesiąc	MWWTP1		MWWTP2		MWWTP3		IWWTP1	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
<b>06.2009</b>	0	<b>63*</b>	<b>21</b>	<b>53*</b>	3	<b>32</b>	4	<b>22</b>
<b>07.2009</b>	-1	-6	3	-1	<b>49*</b>	14	5	-1
<b>09.2009</b>	-6	-7	-7	-1	-4	<b>26</b>	-6	-4
<b>11.2009</b>	1	1	3	-1	0	-1	0	1
<b>01.2010</b>	2	-8	-2	-12	-3	-5	0	-14
<b>04.2010</b>	-2.3	9.0	-15	-3.6	-8.6	9.3	-2.3	-2.3

Kryterium oceny według ISO: różnica między liczbą rewertantów próbie i kontroli

Efekt mutageny  $\geq$  **20**

# EFEKT MUTAGENNY ŚCIEKÓW DLA SZCZEPU TA100

Miesiąc	MWWTP1		MWWTP2		MWWTP3		IWWTP1	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
<b>06.2009</b>	-38	1	-20	<b>81</b>	18	-34	-21	18
<b>07.2009</b>	1	16	11	-1	68	<b>125*</b>	11	-6
<b>09.2009</b>	5	-10	5	-6	4	-1	1	-6
<b>11.2009</b>	-28	2	5	-12	-23	9	2	12
<b>01.2010</b>	-26	-7	-31	-3	4	-5	-6	4
<b>04.2010</b>	-9.4	16.7	-28.4	0.4	3.7	-20	0	-27

Kryterium oceny według ISO: różnica między liczbą rewertantów próbie i kontroli

Efekt mutagenny  $\geq$  **80**

# KLASYFIKACJA TOKSYCZNOŚCI ŚCIEKÓW

TU	Klasa	Toksyczność	Symbol
$<0,4$	I	Brak ostrej toksyczności	
$0,4 < TU < 1$	II	Mała ostra toksyczność	
$1 < TU < 10$	III	Ostra toksyczność	
$10 < TU < 100$	IV	Wysoka ostra toksyczność	
$TU > 100$	V	Bardzo wysoka ostra toksyczność	

# OBLICZANIE ISTOTNOŚCI WYNIKU

Każdej wartości **TU** otrzymaną dla danego testu nadano wartość liczbową (waga toksyczności) równą:

0 – dla próbek nietoksycznych

1 – dla  $0,4 < TU \leq 1$

2 – dla  $1 < TU \leq 10$

3 – dla  $10 < TU \leq 100$

4 – dla  $TU > 100$

Następnie obliczono wagę w ramach klasy wg poniższego wzoru:

$$\mathbf{WAGA = \Sigma WP / n}$$

$\Sigma WP$  – suma wartości WP wszystkich zastosowanych testów

**n** – liczba zastosowanych testów

Na koniec wagę przekształcono w procenty:

$$\mathbf{\% WAGA = WAGA / \max WP * 100}$$

# TOKSYCZNOŚĆ ŚCIEKÓW W MWWTP1

Miesiąc	Waga toksyczności			Klasa	IW	%IW	<i>S.Typhimurium</i>
	<i>V.fischeri</i>	<i>D.magna</i>	<i>P.subcapitata</i>				
06.2009	0	0	0	I	0	0	+
07.2009	2	0	0	III	2	32	-
09.2009	0	1	0	II	1	34	-
11.2009	0	1	0	II	1	34	-
01.2010	0	0	0	I	0	0	-
04.2010	0	0	0	I	0	0	-

# TOKSYCZNOŚĆ ŚCIEKÓW W MWWTP2

Miesiąc	Waga toksyczności			Klasa	IW	%IW	<i>S.Typhimurium</i>
	<i>V.fischeri</i>	<i>D.magna</i>	<i>P.subcapitata</i>				
06.2009	0	0	0	I	0	0	+
07.2009	0	0	0	I	0	0	-
09.2009	0	1	0	II	1	34	-
11.2009	0	1	0	II	1	34	-
01.2010	0	0	0	I	0	0	-
04.2010	0	1	0	II	1	34	-

# TOKSYCZNOŚĆ ŚCIEKÓW W MWWTP3

Miesiąc	Waga toksyczności			Klasa	IW	%IW	<i>S.Typhimurium</i>
	<i>V.fischeri</i>	<i>D.magna</i>	<i>P.subcapitata</i>				
06.2009	0	0	0	I	0	0	-
07.2009	0	0	0	I	0	0	++
09.2009	0	1	0	II	1	34	-
11.2009	0	1	0	II	1	34	-
01.2010	0	0	0	I	0	0	-
04.2010	0	0	0	I	0	0	-

# TOKSYCZNOŚĆ ŚCIEKÓW W IWWTP1

Miesiąc	Waga toksyczności			Klasa	IW	%IW	<i>S.Typhimurium</i>
	<i>V. fischer</i>	<i>D.magna</i>	<i>P.subcapitata</i>				
06.2009	0	0	0	I	0	0	-
07.2009	0	0	0	I	0	0	-
09.2009	0	2	0	III	2	33,5	-
11.2009	0	2	0	III	2	33,5	-
01.2010	0	1	0	II	1	34	-
04.2010	0	2	0	III	2	33,5	-

# TOKSYCZNOŚĆ WÓD BURZOWYCH

Miesiąc	Waga toksyczności			Klasa	IW	%IW	<i>S.Typhimurium</i>
	<i>V. fischer</i>	<i>D.magna</i>	<i>P.subcapitata</i>				
12.2009	0	2	3	IV	3	56	-
10.2010	0	2	0	III	2	33,5	-

# TOKSYCZNOŚĆ ODCIEKÓW

Miesiąc	Waga toksyczności			Klasa	IW	%IW	<i>S.Typhimurium</i>
	<i>V. fischer</i>	<i>D.magna</i>	<i>P.subcapitata</i>				
12.2009	2	3	2	IV	3	78	-
10.2010	2	3	3	IV	3	89	-

## Obiekty badań

- Ścieki z dwóch oczyszczalni komunalnych MWWTP 2 i 3 (1 pobór).

## Dwa biotesty toksyczności chronicznej

- ISO 12890:1999 Determination of toxicity to embryos and larvae of freshwater fish
- PN-EN ISO 20079:2006 Oznaczanie toksycznego wpływu składników wodnych i ścieków na rzęsę wodną (*Lemna minor*) - Test hamowania wzrostu rzęsy wodnej

## Oznaczono dwa biomarkery

- Indukcja witelogeniny w hepatocytach *Salmo trutta m. lacustris*
- Badanie aktywności EROD w hepatocytach *Salmo trutta m. lacustris*

# TEST EMBRIOTOKSYCZNOŚCI NA *Danio reiro*

*Danio reiro* to słodkowodna ryba z rodziny karpiowatych. Popularna w hodowlach akwariowych.

Test prowadzono na wczesnych stadiach rozwojowych:

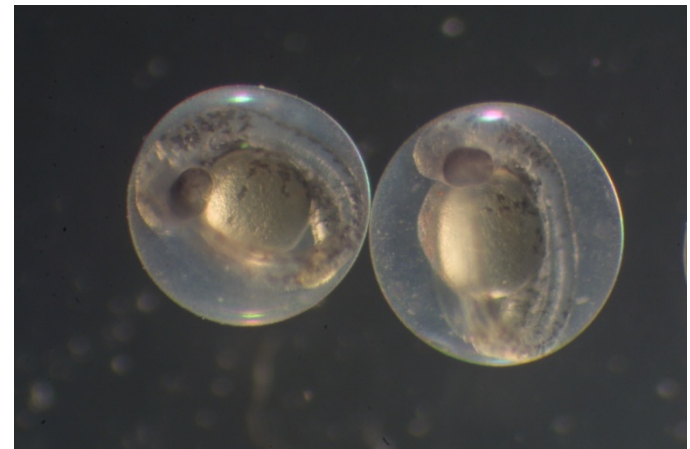
- stadium zarodka (embrion),
- stadium larwalne (larwa).

Miara toksyczności

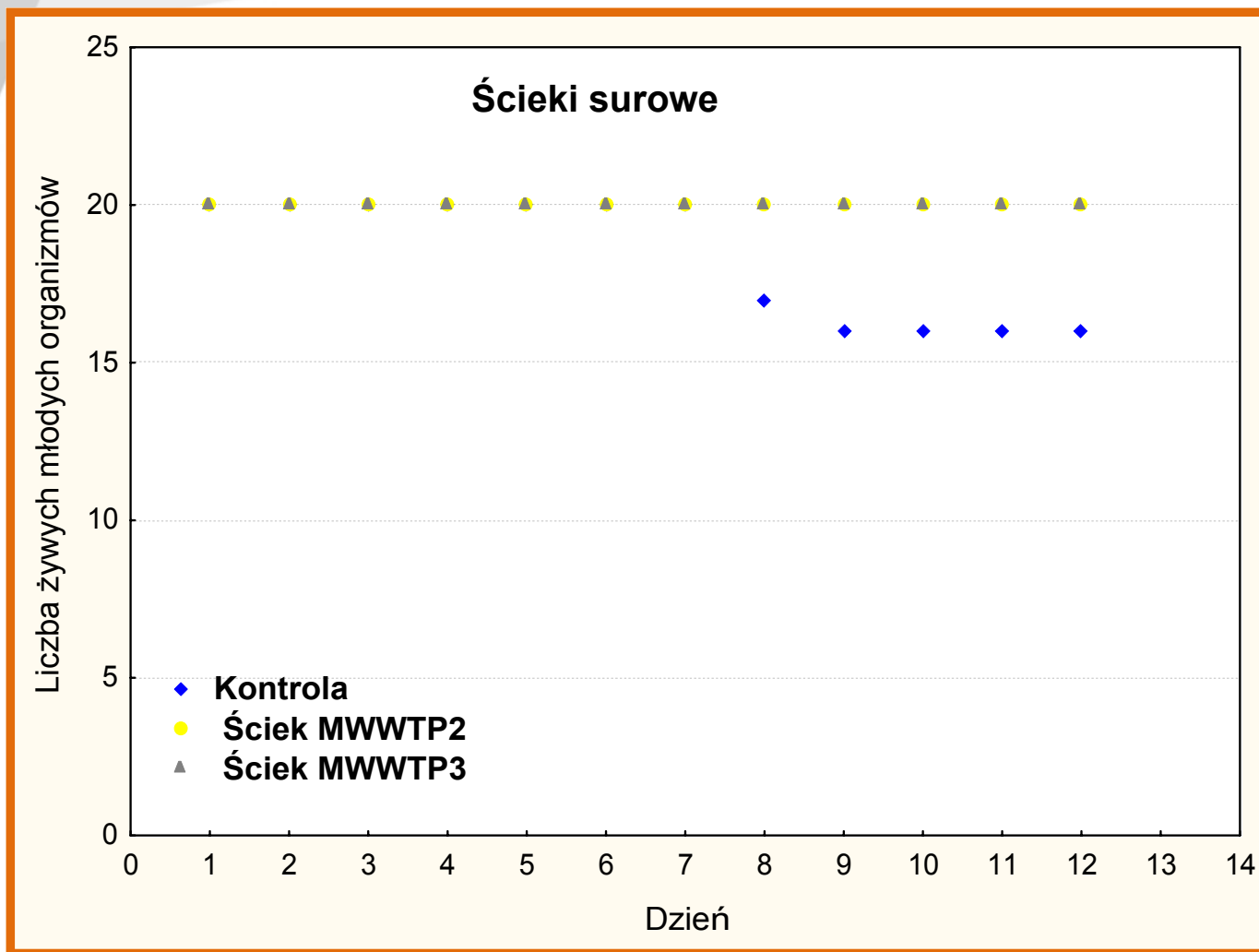
Ocena **przeżywalności** badanych organizmów.



2-dniowe embriony *Danio reiro*



# EMBRIOTOKSYCZNOŚĆ ŚCIEKÓW DLA *D. reiro*



# TEST TOKSYCZNOŚCI NA *Lemna minor*

*Lemna minor* jedna z najmniejszych na świecie roślin naczyniowych. W Polsce jest rośliną pospolitą, występującą na powierzchni zbiorników wodnych.

Test bada **zahamowanie wzrostu** czyli liczby roślin, liczby i powierzchni frondów, liczby i długości korzeni, suchej lub świeżej biomasy oraz zawartości chlorofilu w okresie 5 lub 7 dni.

Miara toksyczności

**EC<sub>t</sub>** – stężenie ścieków powodujące zahamowanie w/w parametrów



# TOKSYCZNOŚĆ ŚCIEKÓW DLA *L. minor*

Obiekt	% zahamowania (liczba frondów)		% zahamowania (powierzchnia fronów)	
	Czas obserwacji 5 dni	7 dni	5 dni	7 dni
MWWTP2	-1,7	1,8	-6,8	-14,4
MWWTP3	0,7	3,9	1,3	-3,2

# TEST NA HEPATOCYTACH *Salmo trutta*

*Salmo trutta m. lacustris* to ryba z rodziny łososiowatych. Żyje w czystych, dobrze natlenionych i zimnych jeziorach oraz zbiornikach zaporowych.

Test wykrywa **obecność estrogenów** w próbkach poprzez pomiar ilości produkowanej **witelogeniny**.

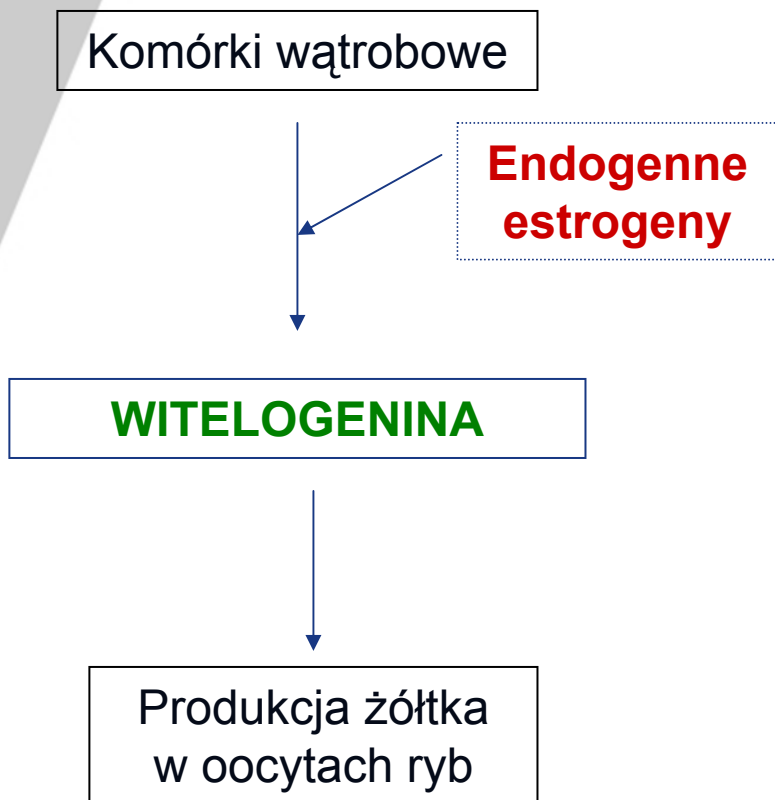
**WITELOGENINA** – białko prekursorowe biorące udział w produkcji żółtka w oocytach ryb. Naturalna produkcja witelogeniny zachodzi pod wpływem estrogenów żeńskich u samic.

Prowadzony jest na **komórkach wątrobowych** (hepatocytach) pochodzących od męskich osobników.

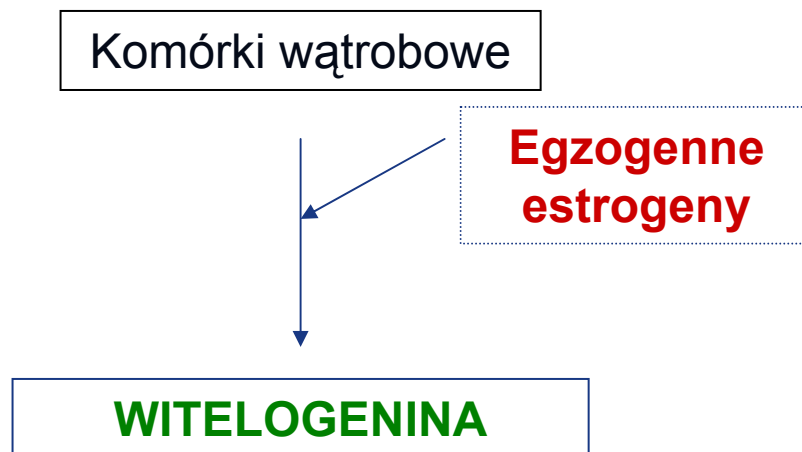


# TEST NA HEPATOCYTACH *Salmo trutta*

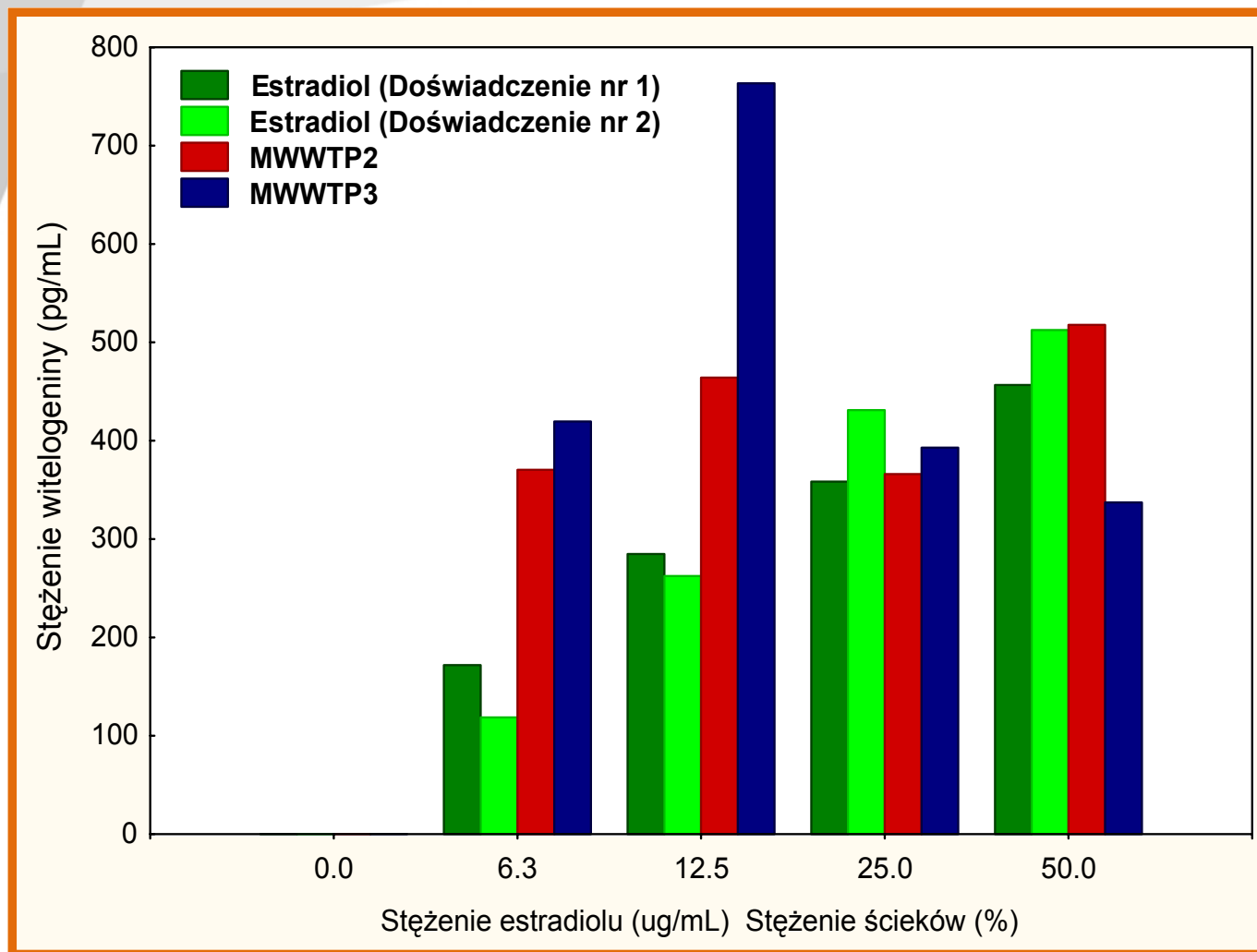
## SAMICA



## SAMIEC



# DZIAŁANIE ESTROGENNE ŚCIEKÓW

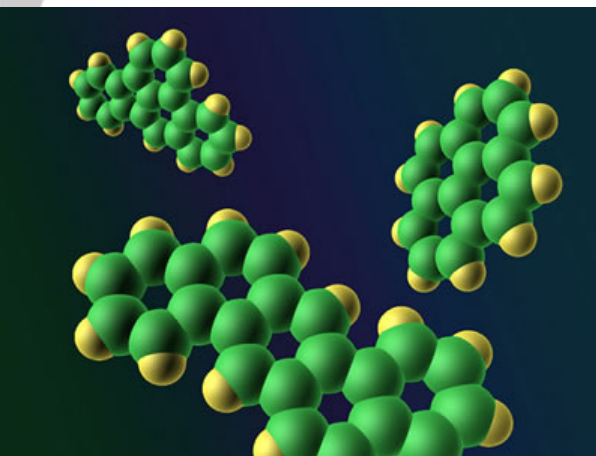


# TEST EROD

**Aktywność enzymatyczna** O-deetylazy etoksyrezorufiny (**EROD**) w hepatocytach ryb pozwalana na ocenę aktywności cytochromu P450.

Enzymy kodowane przez cytochrom P450 biorą udział w procesach biotransformacji i detoksykacji substancji toksycznych.

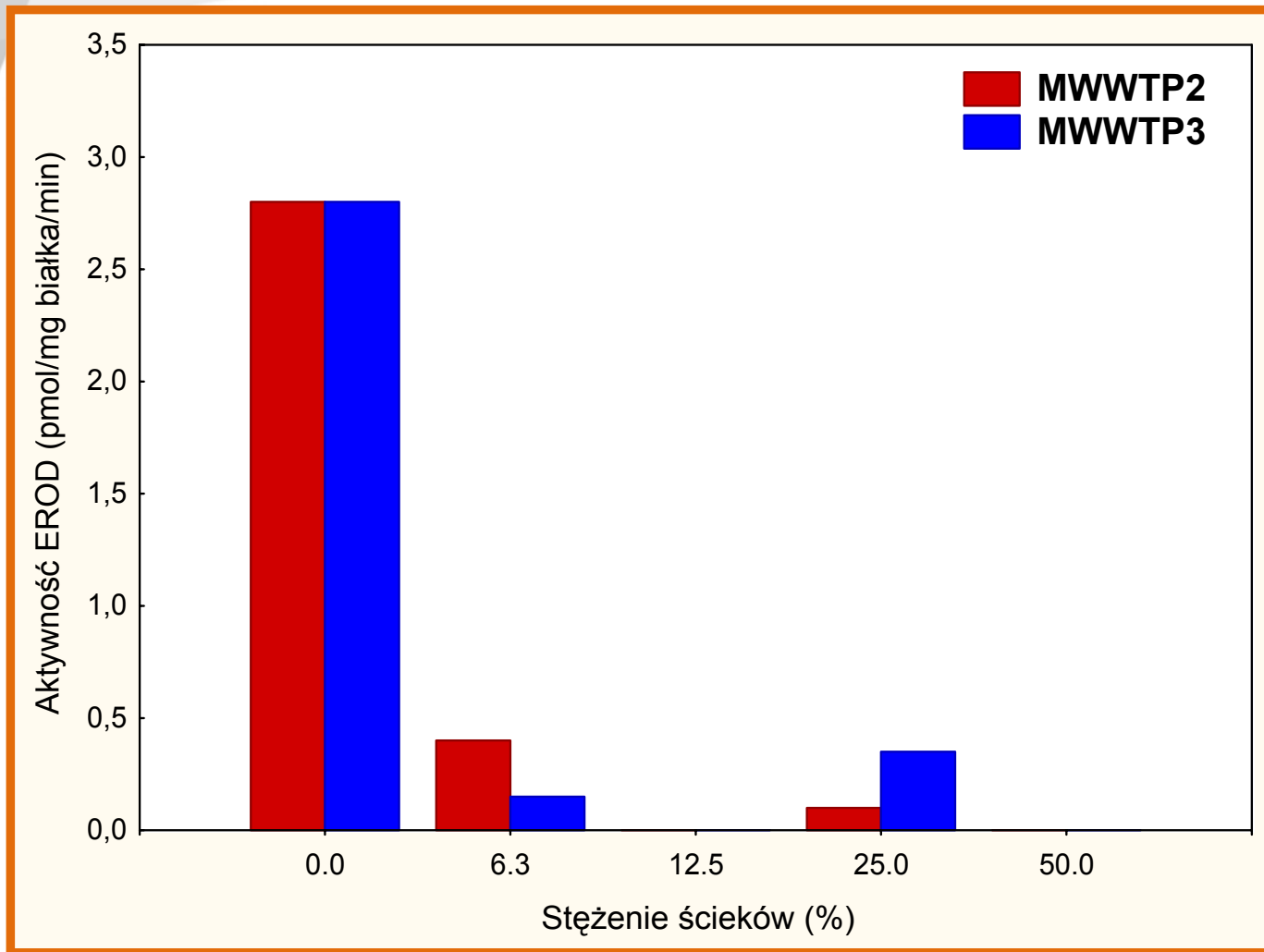
**Spadek aktywności EROD w komórkach wątrobowych jest wskaźnikiem toksyczności danej próby.**



## Biomarker narażenia na

- polichlorowane bifenyle (PCB)
- wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA)
- dioksyny

# TOKSYCZNOŚĆ ŚCIEKÓW



# WNIOSKI

- Próbkę ścieków z badanych oczyszczalni nie zawierały substancji wywołujących toksyczność ostrą. Właściwości mutagenne zaobserwowano jedynie w próbach pobranych w lecie.
- Toksyczne były próbki wód burzowych oraz odcieków, które nie zawierały substancji mutagennych.
- Próbkę ścieków z dwóch oczyszczalni komunalnych nie zawierały substancji działających embriotoksycznie na *Dario rerio* oraz hamujących wzrost *Lemna minor*.
- W próbkach ścieków z dwóch oczyszczalni komunalnych występowały substancje działające estrogenie oraz hamujące aktywność cytochromu P450.

# WYKONAWCY

## **Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, Katowice**

Dr hab. D. Mielżyńska-Švach

Dr hab. G. Płaza

## **Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa**

Dr hab. G. Nałęcz-Jawecki

## **Instytut Przemysłu Chemicznego, Pszczyna**

Dr P. Fochtman

## **Finnish Environment Institute (SYKE), Helsinki**

Dr T. Nakari

Dr P. Munne



## Otwarte seminaria 2012

**Dziękuję za uwagę**

[mielzynska@ietu.katowice.pl](mailto:mielzynska@ietu.katowice.pl)