

Małgorzata RAJFUR<sup>1</sup>, Paweł KREMS<sup>1</sup> i Andrzej KŁOS<sup>1</sup>

## WYKORZYSTANIE GLONÓW *Palmaria palmata* JAKO BIOMONITORÓW ZANIECZYSZCZENIA WÓD POWIERZCHNIOWYCH METALAMI CIĘŻKIMI

### THE USE OF *Palmaria palmata* ALGAE AS THE BIOMONITORS OF POINT CONTAMINATION OF SURFACE WATERS

**Abstrakt:** Celem przeprowadzonych badań była ocena możliwości zastosowania glonów morskich *Palmaria palmata* w aktywnym biomonitoringu wód. Na podstawie pomiaru przyrostu stężeń metali ciężkich w eksponowanych glonach dokonano oceny zanieczyszczenia metalami ciężkimi wód rzeki Jastrzębianka przepływającej przez Jastrzębie Zdrój (województwo śląskie, południowo-zachodnia Polska). Stężenia metali: Mn, Fe, Cu, Zn, Cd i Pb oznaczano metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS). Wyniki badań biomonitoringowych umożliwiły wstępną ocenę zanieczyszczenia badanych wód oraz wykazały, że jednym z potencjalnych źródeł wzbogacania rzeki metalami: Mn, Fe, Cu i Zn mogą być odcieki kopalniane.

**Słowa kluczowe:** glony, *Palmaria palmata*, metale ciężkie, biomonitoring wód

Intensywny rozwój przemysłu dokonujący się na przestrzeni ostatniego stulecia, jak również szybki przyrost ludności negatywnie wpłynęły na stan środowiska przyrodniczego. W wyniku uwalnianych substancji chemicznych oraz biologicznych ze źródeł przemysłowych i komunalnych wzrasta poziom zanieczyszczenia wszystkich elementów środowiska [1]. Obecnie zanieczyszczenie wód i gleb metalami ciężkimi, które są toksyczne dla ludzi i zwierząt, stało się poważnym problemem ekologicznym [2].

Od wielu lat w celu oceny zanieczyszczenia ekosystemów wodnych stosuje się monitoring biologiczny. Wykorzystywane są do tego celu m.in. glony [3] i rośliny wodne [4]. Elementy bioty akumulują w swoich organizmach duże ilości zanieczyszczeń, m.in. metali ciężkich [5].

Przykładami badań biomonitoringowych z wykorzystaniem glonów są badania przeprowadzone w Polsce (Duże Jezioro Turawskie) [6], w Indiach: rzeka Kolong [7] oraz jezioro Pulicat [8], w Republice Macedonii (rzeka Vardar) [9], Federacji Rosyjskiej (12 rzek Półwyspu Kolskiego, rzeka Jenisej na Syberii) [10,11], Szkocji (jezioro w paśmie gór Lochnagar) [12], Australii (4 rzeki w pobliżu miasta Sydney: Hawkesbury, Parramatta, Cooks i Clyde) [13].

Celem przeprowadzonych badań była ocena możliwości zastosowania glonów *Palmaria palmata* jako biomonitorów źródeł zanieczyszczenia wód powierzchniowych.

#### Charakterystyka obszaru badań

Rzeka Jastrzębianka jest dopływem rzeki Szotkówki, która z kolei jest prawym dopływem Olzy (rzeka w dorzeczu Odry). Przepływa ona przez silnie zurbanizowane tereny miasta Jastrzębie Zdrój, położonego na południu województwa śląskiego. Podobnie

<sup>1</sup> Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6, 45-032 Opole, tel. 77 401 60 42, email: mrajfur@o2.pl

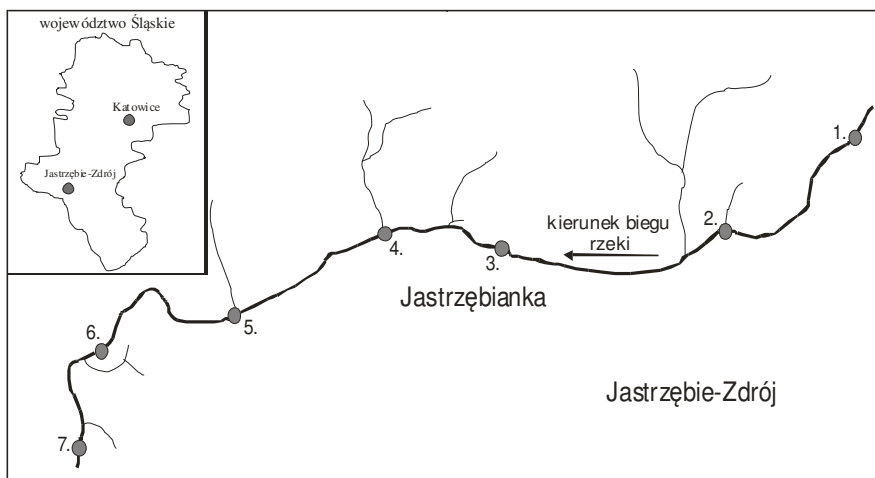
\* Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole'13, Jarnołtówek, 23-26.10.2013

jak większość rzek i strumieni na terenie Górnośląskiego Okręgu Przemysłowego, rzeka ta jest silnie zanieczyszczona przez przemysł oraz ścieki komunalne. Poważnym problemem na tym terenie jest zasolenie wód kopalnianych [14].

### Metodyka badań

Do badań wykorzystano morskie glony *Palmaria palmata* (Linnaeus) Weber & Mohr zakupione w firmie Bogutyn Młyn z Radzyna Podlaskiego. Są to wielokomórkowe i rozgałęzione glony o długości około 20-50 cm o charakterystycznej ciemnoczerwonej barwie [15]. Zakupiony materiał badawczy był w formie wysuszonej. W celu usunięcia soli uwolnionych w wyniku destrukcji błon komórkowych glony przepłukiwano wodą zdemineralizowaną (konduktywność  $\kappa = 0.5 \mu\text{S/cm}$ ) i suszono przez 24 h w temp. 323 K. Tak przygotowane glony były przechowywane w szczelnie zamkniętych pojemnikach polietylenowych.

Reprezentatywne (uśrednione) próbki glonów o masie 1 g zostały umieszczone w perforowanych pojemnikach polietylenowych. Następnie próbki były ekspozowane przez 50 minut w wodach rzeki Jastrzębianka. Próbkę zanurzano w odległości około 1 metra od linii brzegowej rzeki. Badania przeprowadzono w pięciu powtórzeniach. Lokalizację punktów pomiarowych przedstawiono na mapie na rysunku 1, a w tabeli 1 krótki opis miejsc pomiarowych.



Rys. 1. Lokalizacja miejsc pomiarowych na rzece Jastrzębianka

Fig. 1. Location of exposure points on the Jastrzębianka river

Po ekspozycji próbki glonów zostały przepłukane wodą zdemineralizowaną i wysuszone w temperaturze 323 K. Tak przygotowane próbki podano mineralizacji w mineralizatorze mikrofalowym Speedwave Four firmy BERGHOF. W zmineralizowanych próbkach glonów oznaczono metale ciężkie (Mn, Fe, Cu, Zn, Cd i Pb) metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS), wykorzystując aparat iCE 3000 firmy Thermo Electron Corporation (USA).

Charakterystyka miejsc ekspozycji glonów w rzece Jastrzębianka

Tabela 1

Characteristics of the exposure points of algae in the Jastrzebianka river

Table 1

Numer miejsca pomiarowego	Opis miejsca pomiarowego
1	przy wylocie ścieków z KWK „Zofiówka”
2	w pobliżu ręcznej myjni samochodowej
3	w pobliżu kościoła św. Katarzyny
4	tereny leśne
5	w pobliżu stacji benzynowej BP
6	w pobliżu kąpieliska „Zdrój”
7	dzielnica Zdrój, w pobliżu Parku Zdrojowego

Tabela 2

Granice wykrywalności (*IDL*) oraz granice oznaczalności (*IQL*) charakteryzujące spektrometr iCE 3500 [mg/dm<sup>3</sup>]

Table 2

The instrumental detection limits (*IDL*) and instrumental quantification limits (*IQL*) for the spectrometer iCE 3500 [mg/dm<sup>3</sup>]

Metal	<i>IDL</i>	<i>IQL</i>
Mn	0,0016	0,030
Fe	0,0043	0,060
Cu	0,0045	0,033
Zn	0,0033	0,010
Cd	0,0028	0,013
Pb	0,0130	0,070

Tabela 3

Porównanie zmierzonych i certyfikowanych wartości stężeń analitów w BCR-414 *plankton* i BCR-482 *lichen*

Table 3

Comparison of measured and certified concentrations in BCR-414 *plankton* and in BCR-482 *lichen*

Metal	BCR-414 <i>plankton</i>		AAS		Dev. **
	Stężenie	±Niepewność	Średnia	±SD *	
	[mg/kg s.m.]				
Mn	299	12	284	13	-5,0
Fe	1,85	0,19	1,79	0,20	-3,2
Cu	29,5	1,3	28,4	1,6	-3,7
Zn	112	3	107	3	-4,5
Cd	0,383	0,014	n.d	n.d	n.d
Pb	3,97	0,19	3,75	0,21	-5,5
Metal	BCR-482 <i>lichen</i>		AAS		Dev. **
	Stężenie	±Niepewność	Średnia	±SD *	
	[mg/kg s.m.]				
Mn	33,0	0,5	31,7	0,68	-3,9
Fe	804	160	n.d.	n.d.	n.d.
Cu	7,03	0,19	6,63	0,17	-5,7
Zn	100,6	2,2	95,1	2,3	-5,5
Cd	0,56	0,02	0,53	0,03	-5,3
Pb	40,9	1,4	38,2	1,0	-6,6

\* - odchylenie standardowe, \*\* - względna różnica pomiędzy stężeniem zmierzonym i certyfikowanym  $100\% \cdot (c_z - c_c) / c_c$ , n.d. - nie oznaczano

Stężenia metali naturalnie zakumulowanych w suchej masie (s.m.) glonów *Palmaria palmata* wynosiły:  $c_{Mn,0} = 22,6 \pm 0,04$  mg/kg s.m.;  $c_{Fe,0} = 72,6 \pm 0,18$  mg/kg s.m.;  $c_{Cu,0} = 1,24 \pm 0,05$  mg/kg s.m.;  $c_{Zn,0} = 9,12 \pm 0,03$  mg/kg s.m.;  $c_{Cd,0} = < 0,081 \pm 0,008$  mg/kg s.m.;  $c_{Pb,0} = < 4,38 \pm 0,07$  mg/kg s.m.

W tabeli 2 podano granice wykrywalności oraz granice oznaczalności metali ciężkich, charakteryzujące spektrometr iCE 3500 [16]. Do kalibrowania aparatu wykorzystano wzorce firmy ANALYTIKA Ltd. (CZ).

W tabeli 3 przedstawiono stężenia metali ciężkich oznaczone w certyfikowanych materiałach referencyjnych BCR-414 *plankton* i BCR-482 *lichen*, wytwarzanych przez *Institute for Reference Materials and Measurements*, Belgia.

### Interpretacja wyników badań biomonitoringowych

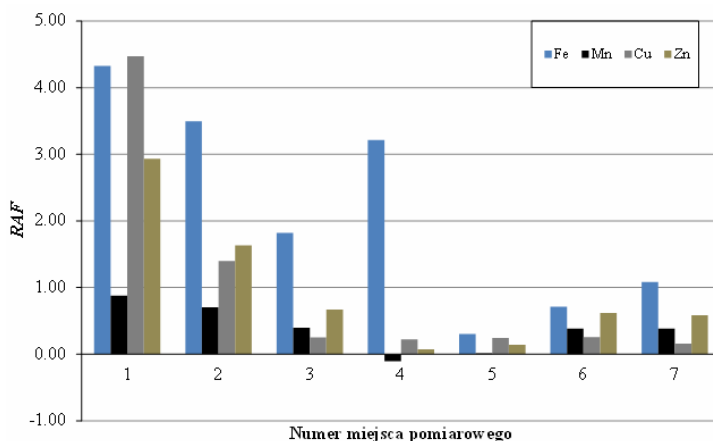
Do oceny przyrostów stężeń analitów w glonach wykorzystano współczynnik akumulacji względnej (*RAF - Relative Accumulation Factor*):

$$RAF = \frac{C_1 - C_0}{C_0} \quad (1)$$

gdzie:  $C_0$  - stężenie analitu przed okresem ekspozycji [mg/kg s.m.],  $C_1$  - stężenie analitu po okresie ekspozycji [mg/kg s.m.] [3].

### Wyniki badań biomonitoringowych

Na rysunku 2 przedstawiono wartości współczynników *RAF* dla każdego badanego pierwiastka. Stężenie Cd i Pb w glonach ekspozycyjnych w wyznaczonych punktach pomiarowych na rzece Jastrzębianka było poniżej granicy oznaczalności stosowanej metody analitycznej.



Rys. 2. Przyrost stężeń metali ciężkich w próbkach glonów *Palmaria palmata* ekspozycyjnych w rzece Jastrzębianka

Fig. 2. Increase in the concentrations of heavy metals in samples of *Palmaria palmata* algae exposed in the Jastrzebianka river

Analiza wartości współczynników *RAF* wskazuje na największe stężenia oznaczonych metali: Mn, Fe, Cu i Zn w miejscu 1, w pobliżu kanału ściekowego kopalni. Oddalając się wraz z nurtem rzeki od kanału ściekowego, stężenia metali zmniejszają się, co jest prawdopodobnie spowodowane akumulacją metali ciężkich w osadach dennych rzeki oraz w organizmach żywych bytujących w jej korycie. Ponowny wzrost stężenia żelaza zaobserwowano w miejscu 4, na terenach leśnych. Gleby leśne, ze względu na obniżone pH, często charakteryzują się zawartością wolnego żelaza, tzn. żelaza uwolnionego z sieci krystalicznej minerałów [17].

### Podsumowanie

Biomonitoring staje się coraz bardziej popularną metodą oceny zanieczyszczenia różnych komponentów środowiska metalami ciężkimi. Główną zaletą biomonitoringu jest mały koszt pozyskiwania próbek. Wśród metod biomonitoringowych duże znaczenie ma biomonitoring aktywny polegający na ekspozycji materiału biologicznego w różnych matrycach środowiskowych, m.in. w wodach powierzchniowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że glony morskie *Palmaria palmata* mogą być wykorzystywane w aktywnym biomonitoringu wód powierzchniowych jako biocejniki do wykrywania miejsc pochodzenia zanieczyszczeń zawierających metale ciężkie. Zdolność glonów do akumulowania metali może być wykorzystywana także w procesach fitoremediacji wód i ścieków.

### Podziękowania

„Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/03/D/NZ9/00051”.

Autorzy publikacji składają podziękowania Pani **Magdalenie Wajdzie** za pomoc w przeprowadzeniu badań biomonitoringowych.

### Literatura

- [1] Traczewska T. Metody biologiczne w kontroli jakości wody. *Ekotoksykol w Ochr Środow.* 2008;884:435-442.
- [2] Ociepa-Kubicka A, Ociepa E. Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi. *Int J Environ Health.* 2012;15(2):169-180.
- [3] Karadede-Akin H, Ünlü E. Heavy metal concentrations in water, sediment, fish and some benthic organisms from Tigris River, Turkey. *Environ Monit Assess.* 2007;131:323-337 DOI: 10.1007/s10661-006-9478-0.
- [4] Robinson B, Nick Kimb N, Marchetti M, Monid C, Schroeter L, van den Dijssel C, et al. Arsenic hyperaccumulation by aquatic macrophytes in the Taupo Volcanic Zone, New Zealand. *Environ and Experimen Botany.* 2006;58:206-215. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2005.08.004.
- [5] Rajfur M, Kłos A, Waclawek M. Sorption properties of algae *Spirogyra* sp. and their use for determination of heavy metal ions concentrations in surface water. *Bioelectrochemistry.* 2010;80:81-86. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2010.03.005.
- [6] Rajfur M, Kłos A, Waclawek M. Application of alga in biomonitoring of the Large Turawa Lake. *Int J Environ Sci and Health.* 2011;46(12):1401-1408. DOI: 10.1080/10934529.2011.606717.

- [7] Buragohajin BB, Yasmin F, Biomonitoring of pollution by microalgae community in aquatic system with special reference to water quality of River Kolong, Nagaon, Assam, India. *Int J Appl Sci Biotechnol.* 2014;2(1):45-49. DOI: 10.3126/ijasbt.v2i1.9345.
- [8] Kamala-Kannan S, Prabhu Dass Batvari B, Jae Lee K, Kannan N, Krishnamoorthy R, Shanthi K, et al. Assessment of heavy metals (Cd, Cr and Pb) in water, sediment and seaweed (*Ulva lactuca*) in the Pulicat Lake, South East India. *Chemosphere.* 2008;71:1233-1240. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2007.12.004.
- [9] Levkov Z, Krstic S. Use of algae for monitoring of heavy metals in the River Vardar, Macedonia. *Mediterranean Marine Sci.* 2002;3(1):99-112. DOI: 10.12681/mms.262.
- [10] Komulainen SF, Morozov AK. Heavy metal dynamics in the periphyton in small rivers of Kola Peninsula. *Water Res.* 2010;37(6):874-878. DOI: 10.1134/S0097807810060138.
- [11] Anishchenko OV, Gladyshev MI, Kravchuk ES, Ivanova EA, Gribovskaya IV, Sushchik NN. Seasonal variations of metal concentrations in periphyton and taxonomic composition of the algal community at a Yenisei River littoral site. *Central Europ J Biol.* 2010;5(1):125-134. DOI: 10.2478/s11535-009-0060-y.
- [12] Yang H, Rose NL, Battarbee RW. Distribution of some trace metals in Lochnagar, a Scottish mountain lake ecosystem and its catchment. *Sci Total Environ.* 2002;285:197-208. DOI: 10.1016/S0048-9697(01)00931-7.
- [13] Melville F, Pulkownik A. Investigation of mangrove macroalgae as biomonitors of estuarine metal contamination. *Sci Total Environ.* 2007;387:301-309. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.06.036.
- [14] Swolkień J. Możliwości ograniczenia szkodliwego wpływu wód dołowych na stan rucociągów kolektora „Olza” i środowisko rzeki Odry. *Rozprawa doktorska.* Kraków: 2007.
- [15] Graham LE, Graham JM, Wilcox LW. *Algae.* Kalifornia: Benjamin Cummings, Uniwersytet Kalifornijski; 2009.
- [16] Instrukcja obsługi aparatu AAS iCE 3000 firmy Thermo Scientific. Warszawa: Spectro-Lab; 2013.
- [17] Dąbkowska-Naskręt H. Status of iron in alluvial soils from the Wisła River Valley. *J Plant Nutrition.* 2000;23:1549-1557.

## THE USE OF *Palmaria palmata* ALGAE AS THE BIOMONITORS OF POINT CONTAMINATION OF SURFACE WATERS

Chair of Biotechnology and Molecular Biology, Opole University

**Abstract:** The aim of the study was evaluation of application of the marine algae *Palmaria palmata* in the active biomonitoring of water. On the base of determination of heavy metals concentrations accumulated in algal thalli the pollution of the Jastrzebianka river, flowing through Jastrzebie Zdroj (Silesia, south-western Poland), was assessed. Concentrations of Mn, Fe, Cu, Zn, Cd and Pb were determined using the atomic absorption spectrometry (AAS). The obtained results of biomonitoring research enabled a preliminary assessment of contamination of analyzed groundwater. It was shown that one of the potential sources of increase in concentrations of the metals Mn, Fe, Cu and Zn in river can be mine effluent.

**Keywords:** algae, *Palmaria palmata*, heavy metals, water biomonitoring