

Ogólna charakterystyka metod biologicznej kontroli jakości środowiska

*Jolanta Kozak, Maria Włodarczyk-Makuła**

Toksykologia obejmuje badania i ocenę niekorzystnego lub szkodliwego działania substancji chemicznych i innych czynników na organizmy, a także analizę prawdopodobieństwa ich wystąpienia w różnych warunkach ekspozycji.

Organizmy łączą efekty pozytywnego i negatywnego wpływu ksenobiotyków, zatem obserwowana odpowiedź jest efektem działania wszystkich aktywnych biologicznie komponentów środowiska. Dlatego testy biologiczne dostarczają kompleksowej informacji o skali toksyczności niż analizy chemiczne. Badania własności różnych substancji i czynników oraz ich oddziaływanie na organizm pozwala na określenie takich własności jak:

- toksyczność określana jako bezpośrednie wywołanie objawów chorobowych;
- mutagenność – powodowanie zmian genetycznych;
- kancerogenność – inicjowanie zmian nowotworowych;
- teratogenność – oddziaływanie na rozrodczość;
- alergenność – reakcje nadwrażliwości na czynniki środowiska.

Podstawą badań toksykologicznych jest zależność dawka – odpowiedź, czyli zależność między dawką danej substancji toksycznej a prawdopodobieństwem wystąpienia określonego efektu biologicznego w organizmach wskaź-

nikowych. Zależność ta może nasilać się wraz ze wzrostem dawki tej substancji i wyrażana jest nie dla poszczególnych osobników, ale dla całej populacji narażonej na konkretną dawkę. W badaniach wykorzystuje się laboratoryjne testy toksykologiczne. Ponadto coraz popularniejsze stają się bardziej czułe metody, do których należą biomarkery stosowane w badaniach na poziomach: fizjologicznym, komórkowym, subkomórkowym i molekularnym [1,2]. W tabeli 1 przedstawiono podział toksykologii [3].

Działalność antropogeniczna człowieka, w wyniku której występuje emisja zanieczyszczeń do wód, powietrza atmosferycznego oraz gleby wywołuje negatywne skutki dla organizmów bytujących w środowisku. Skutki te stanowią przedmiot badań toksykologii środowiska, w tym także kotoksykologii. W obszarze badań toksykologii środowiska jest badanie kompleksowego oddziaływania substancji toksycznych na elementy biosfery, poprzez kontrolowanie ich przemieszczania w ekosystemach

i pomiędzy nimi. Zajmuje się badaniem obiegu naturalnych i antropogenicznych zanieczyszczeń i ich wpływu na strukturę i funkcję ekosystemów. Na podstawie tych badań można określić źródła zanieczyszczeń, dopuszczalne stężenia oraz sposoby zapobiegania emisji tych związków. Ekotoksykologia jest gałęzią toksykologii zajmującą się szkodliwym wpływem substancji chemicznych występujących w środowisku na organizmy inne niż człowiek. Jest to nauka o efektach działania substancji toksycznych nie tylko na pojedyncze elementy ekosystemów lecz kompleksowo na cały ekosystem. Substancjami toksycznymi mogą być zarówno substancje naturalne pochodzenia roślinnego (np. mykotoksyny) jak i ksenobiotyki wprowadzane przez człowieka do środowiska, a wśród nich np. pestycydy, dioksyny czy zanieczyszczenia pochodzenia przemysłowego [1]. Celem pracy był ogólny przegląd metod badań biologicznej kontroli jakości środowiska z uwzględnieniem badań toksykologicznych.

Wskaźniki toksyczności

Niektóre substancje wywierają niekorzystny wpływ na środowisko wtedy, gdy ich ilość przekracza poziom tła, choć same w sobie często nie są substancjami toksycznymi. Przykładem mogą być tu fosforany, które występują naturalnie w wodzie, jednak nadmierna ich ilość powoduje eutrofizację zbiorników wodnych. Innym przykładem mogą być tzw. trwałe zanieczyszczenia środowiska. Do grupy tej należą m.in. pestycydy, polichlorowane bifenyle i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne. Wyróżnia się także inne substancje, które mają niekorzystny wpływ na człowieka i inne organizmy. Można je podzielić na pierwotne oraz wtórne czyli takie, które powstały w wyniku reakcji chemicznych związków podstawowych wprowadzonych do środowiska z innymi składnikami. W środowisku bowiem oprócz migracji zanieczyszczeń zachodzą permanentnie różne procesy przemian, wśród których można wymienić adsorpcję czy transformacje substancji chemicznych [1,2]. W toksykologii



Tabela 1. Podział toksykologii [3]

Użytkowa	Środowiskowa			Kliniczna	Sądowa
Badania oddziaływań na organizmy - pestycydów - środków konserwujących - leków w chemioterapii	Przemysłowa	Pozaprzemysłowa środowiskowa	Ekotoksykologia	Dotyczy diagnostyki i leczenia ostrych zatruć - przypadkowych, - zawodowych - samobójczych	Przygotowanie ekspertyz sądowych
	ocena środowiska pracy człowieka (efekty toksyczne obserwowane bezpośrednio u człowieka)	ocena zanieczyszczenia - powietrza atmosferycznego, - wody, - ścieków - gleby - żywność	badania oddziaływania toksycznych substancji chemicznych na organizmy oprócz człowieka		

używa się terminu „toksyczność”, która definiowana jest jako cecha związków chemicznych, polegająca na bezpośrednim oddziaływaniu na organizm, do których związki te wniknęły. Toksyczność to działanie niepożądane wynikające z reakcji chemicznych czy fizykochemicznych pomiędzy związkiem chemicznym, który wniknął do organizmu, a układem biologicznym (DNA, enzymy). Wyróżnia się toksyczność ostrą i chroniczną. Charakterystykę tych przypadków przedstawiono w tabeli 2 [2].

Testy toksyczności ostrej umożliwiają uzyskanie informacji dotyczących oddziaływania na organizmy, związków chemicznych czy mieszanin substancji, które mogą występować w wodach powierzchniowych, wodzie przeznaczonych do spożycia oraz w ściekach czy odciekach ze składowisk odpadów. Mogą również służyć do zlokalizowania skażonych terenów oraz do kontroli procesów bioremediacji gruntów. Testy długotrwałej toksyczności czyli testy toksyczności chronicznej służą do oceny niekorzystnego oddziaływania ksenobiotyków na osobniki i populacje w warunkach przedłużonego działania. Ba-

dana substancja podawana jest do organizmu w conajmniej pięciu stężeniach w ciągu całego cyklu życiowego organizmu (np. embriony, młodzi, osobniki dojrzałe). Testy te obejmują niepełny cykl życiowy organizmów i zazwyczaj są to najbardziej wrażliwe okresy życia czyli takie jak reprodukcja czy wzrost [1]. W zasadzie niemal wszystkie związki chemiczne mogą być toksyczne i właściwie zależy od wchłoniętej dawki. Efekt biologiczny spowodowany działaniem danej substancji chemicznej może mieć różnorodny charakter. Niekiedy jest toksyczny, ale czasem wskutek działania różnych czynników adaptacyjnych organizmu, skutek działania i stopień toksyczności może być inny. Z tego względu przy ocenie ryzyka używa się różnych pojęć i wielkości. Miarą oddziaływania jest dawka określana jako ilość substancji chemicznej podana, pobrana lub wchłonięta do organizmu w określony sposób, warunkując brak lub wystąpienie efektów biologicznych wyrażonych odsetkiem organizmów odpowiadających na tę dawkę. Ilość ta podawana jest w jednostkach wagowych w odniesieniu do masy lub powierzchni ciała. Czasami

wielkość ta podawana jest w odniesieniu do czasu ekspozycji. Jak już wspomniano, w toksykologii, istotna jest zależność pomiędzy przyjętą dawką a odpowiedzią organizmu. Aby ilościowo oceniać i porównywać toksyczne właściwości różnych związków chemicznych stosowana jest specjalna skala oznaczana skrótem **LD** (ang. *lethal dose* – dawka śmiertelna).

Najłatwiejszym do zaobserwowania punktem końcowym w doświadczeniach biologicznych jest śmierć organizmów. Efekt taki wywołuje podanie dawki śmiertelnej. Odpowiada to takiej ilości substancji chemicznej, która powoduje śmierć już po jednorazowym podaniu. W badaniach laboratoryjnych najczęściej wyznacza się dawkę śmiertelną medialną czyli **LD₅₀**. Oznacza to taką dawkę, przy której nastąpił zgon 50 ze 100 testo-

wanych organizmów, które w różny sposób narażone były na działanie danego związku. Inną skalą, stosowaną dla substancji gazowych jest stężenie śmiertelne we wdychanym powietrzu, oznaczane skrótem **LC** (ang. *Lethal concentration* – stężenie śmiertelne). W badaniach toksykologicznych stosuje się także dawkę graniczną **DM** (ang. *dosis minima*), która określa najmniejszą ilość substancji wywołującej pierwsze dostrzegalne skutki biologiczne. Kolejną wielkością jest stężenie efektywne **EC₅₀** (ang. *effect concentration*). Jest to stężenie toksykanta powodujące powstanie jakichkolwiek zmian w organizmach testowych np. hamowanie procesów biochemicznych czy wzrostu. Jako wynik oznaczenia podawane jest stężenie hamujące w 50% dany proces fizjologiczny, w odniesieniu do

Tabela 2. Porównanie toksyczności ostrej chronicznej [5]

Toksyczność	
Ostra	Chroniczna (przewlekła)
Zmiany w organizmach testowych następują w krótkim czasie (do 96 h) po jednorazowym podaniu substancji chemicznej	Zmiany w organizmach testowych, wywołane oddziaływaniem w dłuższym czasie i po wielokrotnym lub stałym narażeniu na związek chemiczny. Obserwowana odpowiedź polega na zmianie aktywności fizjologicznej organizmu

czasu trwania eksperymentu $EC_{50} - t$. W badaniach toksyczności przewlekłej stosowane są także wskaźniki takie jak NOEC, LOEC oraz NOAEL. Wskaźnik **NOEC(D)** (ang. *no observed effect concentration (dose)*) oznacza najwyższą dawkę, która w określonym czasie trwania badań nie powoduje żadnych dostrzegalnych zmian w organizmach testowych. Wskaźnik **LOEC** (ang. *lowest observed effect concentration*) oznacza najniższą dawkę, która w określonym czasie trwania badań toksyczności chronicznej wywołuje zmiany w organizmach testowych. **NOAEL (Nel lub NOEL)** z kolei to najwyższa dawka lub poziom narażenia

w badaniach umożliwiających wyznaczenie zależności dawka – odpowiedź, przy którym nie występuje istotny statystycznie lub biologicznie, wzrost częstości lub nasilenie niepożądanych skutków w porównaniu z grupą kontrolną [2,3,4,5].

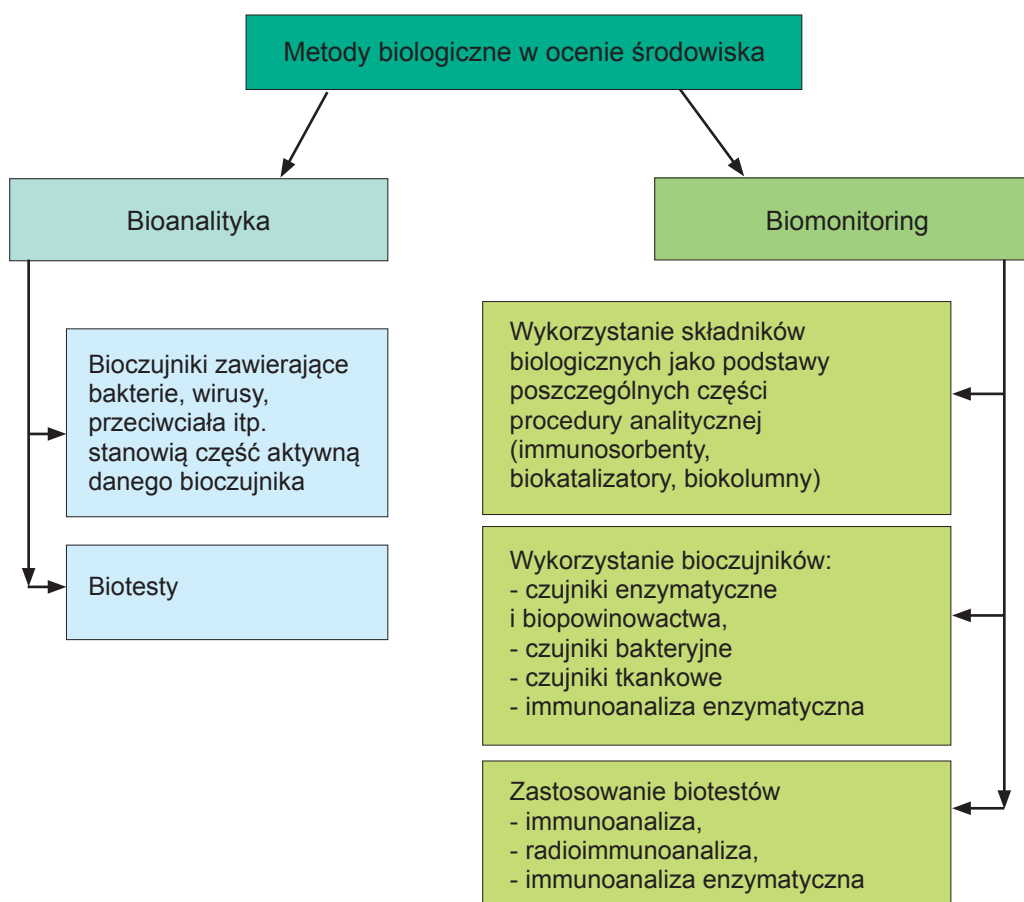
Metody biologicznej kontroli jakości środowiska

Intensywny rozwój przemysłu, rolnictwa oraz wzrost liczby ludności na świecie powoduje wzrost emisji zanieczyszczeń do środowiska naturalnego. Wykorzystywane obecnie techniki laboratoryjne umożliwiają ocenę skażenia, jednak nie dostarczają informacji o skutkach oddzia-

ływania zanieczyszczeń na organizmy. Wynika to często z braku wiedzy o losach wprowadzonej do środowiska substancji oraz o jej przemianach. Dlatego uważa się, że metody biologiczne oceny stanu środowiska są nie tylko doskonałym uzupełnieniem metod chemicznych, ale w licznych przypadkach są jedynymi metodami monitorowania na podstawie której można scharakteryzować aktualny stan środowiska. Należą do metod czułych, stosunkowo niedrogich i szybkich. W biologicznych metodach kontroli środowiska można wyróżnić bioanalitikę i biomonitoring. Na rysunku 1 przedstawiono schematycznie zastosowanie

metod biologicznych w kontroli jakości elementów środowiska [6].

Bioindykacja jest to informacja z biosystemów pozwalająca na dokonanie oceny całego obszaru środowiska. Bioindykator z kolei to organizm (lub część organizmu albo zgrupowanie organizmów), zawierający informacje na temat jakości środowiska (lub części środowiska). Biomonitor natomiast to organizm (część organizmu, lub zgrupowanie organizmów), który zawiera informację o ilościowych aspektach dotyczących jakości środowiska. Biomonitor jest zawsze bioindykatorem, ale bioindykator niekoniecznie spełnia wymagania stawiane biomonitorowi. Wyróżnia się bioindykację (biomonitoring) aktywny i pasywny. Bioindykacja aktywna jest wtedy, gdy umieszcza się w warunkach testowych, wcześniej wyhodowane w laboratorium bioindykatory, a następnie bada poziom ksenobiotyków w tych organizmach. Bioindykacja pasywna natomiast, polega na badaniu organizmów żyjących naturalnie w warunkach testowych. Biomonitoring, jest to pomiar odpowiedzi organizmów, zwanych bioindykatorami lub biowskaźnikami, na zmiany zachodzące w środowisku. Zadaniem biomonitoringu jest zebranie informacji na temat stanu zanieczyszczenia oraz przewidywanie skutków zanieczyszczenia. Bioindykatory można podzielić na dwa rodzaje. Do pierwszej grupy zaliczane są organizmy, które pojawiają się w siedlisku skażonym daną substancją



Rys. 1. Zastosowanie metod biologicznych w kontroli jakości elementów środowiska [1,6]



i są charakterystyczne dla tego zanieczyszczenia. Drugą grupę stanowią gatunki wrażliwe na określony czynnik, które znikają z danego siedliska w obecności toksycznej substancji. Bioindykacja i biomonitoring muszą dostarczyć informacji na temat skali skażeń lub degradacji ekosystemów [1,6,7,8].

Podczas ekspozycji organizmów na śladowe ilości mikrozanieczyszczeń, efekt toksyczny często nie jest obserwowany, a metody analizy tradycyjnej mogą się nie sprawdzić. Może być to wynikiem biotransformacji niektórych substancji chemicznych, zachodzącej po wnikięciu do organizmu. W takich przypadkach poszukuje się metod pośrednich do identyfikacji narażenia. Miernikiem ekspozycji są reakcje biologiczne np. zmiana aktywności określonych enzymów, kumulacja zanieczyszczeń w płynach ustrojowych, wydzielinach itp. Takie wskaźniki narażenia określa się mianem biomarkerów. Biomarkery są określane jako odpowiedź biologiczna na zanieczyszczenia środowiska obserwowana na poziomie genetycznym, enzymatycznym, fizjologicznym lub morfologicznym. Parametry te zmieniają się pod wpływem środowiska (ogólnie) oraz pod wpływem zanieczyszczenia (szczegółowo). W tych przypadkach może dochodzić do zmian morfologicznych czy histologicznych organizmów, które pojawiają się po ekspozycji na zanieczyszczenie. Istnieje wiele klasyfikacji biomarkerów. Najczęściej dokonuje się podziału na biomarkery narażenia i bio-

markery skutków. Zakres biomarkerów jest szeroki i obejmuje biomarkery specyficzne i niespecyficzne. Specyficzne jest wtedy, gdy dana substancja chemiczna oddziałuje na szlaki metaboliczne (np. hamowanie działania enzymu dehydratazy kwasu aminolewulinowego (ALAD) przez ołów, tworzenie adduktów DNA i hemoglobiny pod wpływem WWA), natomiast niespecyficzne – gdy różne zanieczyszczenia wpływają na dany układ organizmu (np. układ immunologiczny) [7].

Bioanalitika

W bioanalityce wykorzystuje się substancje aktywne biologicznie, jako receptory określonych zanieczyszczeń. Ze względu na sposób wykorzystania składnika biologicznego wyróżnia się biosensory (bioczuJNIKI) oraz biotesty. Biosensory są to narzędzia pomiarowe generujące sygnał w zależności od stężenia danej substancji. Pomiar jest możliwy w wyniku połączenia selektywnego systemu biologicznego (np. enzym, przeciwiało, membrana, organelle, komórka, tkanka) z fizycznym narzędziem analitycznym (np. elektroda potencjometryczna lub amperometryczna, odbiornik optyczny lub optoelektroniczny). Zaletami biosensorów są wysoka czułość i selektywność, mała podatność na zakłócenia, miniaturowe rozmiary oraz stosunkowo niewysokie koszty analizy. Pomiar z użyciem bioczuJNIKA zwykle nie wymaga pracochłonnego przygotowania próbki, a czujnik biologiczny może być stosowany przez

Tabela 3. Rodzaje biosensorów i wykrywanych zanieczyszczeń [1]

Sposób detekcji	Wykrywane zanieczyszczenia
Reakcja enzymatyczna lub metabolizm mikrobiologiczny	Pestycydy, azotany III, azotany V, fenole, naftalen
Inhibicja enzymatyczna	Pestycydy, metale ciężkie
Inhibicja procesu oddychania	Substancje toksyczne
Aktywność fotosyntetyczna	Herbicydy
Luminescencja bakteryjna	Toksyczne związki organiczne, metale ciężkie
Membrany drukowane molekularnie	Pestycydy
Immunochemia	Herbicydy, polichlorowane bifenylo

długi okres czasu. W tabeli 3 przedstawiono zastosowanie biosensorów [1].

Biotesty, z kolei, to rutynowe procedury toksykologiczno-farmakologiczne, przeprowadzane zazwyczaj w laboratoriach, niekiedy w terenie, w warunkach standardowych. W literaturze spotykane są informacje na temat trzech głównych sposobów przeprowadzania badań z wykorzystaniem biotestów. Są to :

- laboratoryjne testy toksyczności, w których toksyczny związek jest sztucznie wprowadzany np. do wzorcowego roztworu wodnego. Ten test może być źródłem informacji na temat toksyczności danej substancji w kontrolowanych warunkach. Wykonywany jest w celu przeprowadzenia wzorcowania biotestu, który następnie zostanie wykorzystany do oszacowania toksyczności próbek rzeczywistych,
- laboratoryjne testy toksyczności prowadzone na bazie pobranych próbek rzeczywistych (woda, gleba, osady). Toksyczność takich próbek jest porównywana z toksycznością próbek wzorcowych [9].

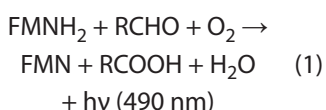
Wśród biotestów wyróżnia się testy toksyczności ostrej (letalne) i chronicznej (subletalne). Za pomocą testów toksyczności ostrej można określić między innymi zahamowanie wzrostu u glonów, śmiertelność u bezkręgowców i u ryb. Jeśli po upływie 96 godzin nie nastąpi śmierć testowanych organizmów w 50%, wtedy przeprowadza się testy toksyczności przewlekłej w celu oznaczenia zmian fizjologicznych. Aby dany organizm mógł pełnić rolę efektywnego biotestu musi spełniać szereg warunków, takich jak:

- stosunkowo łatwa hodowla w warunkach laboratoryjnych, pozwalająca na pozyskanie dużej ilości osobników;
- duża łatwość izolacji organizmów ze środowiska;
- znajomość struktury genetycznej organizmu i jego wrażliwości na substancje toksyczne;
- wytypowany organizm o wysokiej wrażliwości powinien reprezentować dany gatunek lub gromadę, do której jest zaliczany, a ponadto musi być gatunkiem rodzimym, charakterystycznym dla badanego ekosystemu;

• organizmy testowe powinny podobnie reagować na dawkę bądź stężenie toksyny w różnych miejscach i przy określonym stopniu ekspozycji na zanieczyszczenia [6].

Testy bakteryjne

W testach bakteryjnych zastosowanie znalazły m. in. bakterie morskie *Vibrio Fischeri* wykazujące naturalną bioluminescencję. Służą one do oceny stopnia zanieczyszczenia wód, gleby i osadów dennych. Toksyczność związku oceniana jest na podstawie pomiaru bioluminescencji, którego dokonuje się przed i po inkubacji zawiesiny bakteryjnej z badaną próbką. Podstawą bioluminescencji, czyli emisji światła przez żywe organizmy jest reakcja utleniania związku zwanego lucyferyną przez enzym – lucyferazę. Reakcja przebiega następująco:



Lucyferaza łącząc się z kofaktorem (FMNH₂), przy pomocy tlenu, przekształca aldehyd w kwas tłuszczowy, a sama ulega wzbudzeniu przechodząc na poziom wyższy energetycznie. W wyniku utleniania powstaje cząsteczka w stanie wzbudzonym czyli oksylucyferyna i przemiana do stanu podstawowego wiąże się z emisją światła (światło o długości fali 490 nm, zielono-niebieskie). Bioluminescencja bakterii jest ściśle związana z gęstością populacji oraz stanem metabolicznym. Bakterie luminescencyjne emitują światło, gdy

znajdują się w optymalnym dla siebie środowisku. Wtedy 10% energii zużywane jest na świecenie. W obecności związków toksycznych natomiast, w wyniku zaburzenia procesów fizjologicznych, luminescencja zanika. Im wyższy jest stopień toksyczności, tym mniejsza jest ilość światła emitowanego przez bakterie. Zmiany te, są wprost proporcjonalne do względnej bioaktywności próbki. Punkt końcowy testu określany jest jako wskaźnik EC50. Obecnie bakterie te wykorzystywane są w teście Microtox. Jest on narzędziem ceny toksyczności substancji chemicznych, stopnia zanieczyszczenia wód, osadów dennych i gleb. Może być także stosowany w tzw. skriningu ścieków i odcieków zawierających znaczne ilości związków organicznych i nieorganicznych. Ze względu na szybkość działania i dużą czułość, test jest często stosowany w przypadku analiz złożonych próbek środowiskowych. Inne rodzaje bakterii wykorzystywane w biotestach to *Pseudomonas putida* czy pałeczka duru brzuszego *Salmonella typhimurium* [11, 12, 13, 14].

Testy oparte na wykorzystaniu roślin

W testach toksyczności opartych na wykorzystaniu roślin, czyli fitotestach stosowane są glony (zelenice, sinice, okrzemki), rzęsa wodna i ukorzenione makrofity (roślina i jej nasiona) wodne i lądowe. Gatunki te reprezentują organizmy, które charakteryzują się szczególnym znaczeniem dla swoich siedlisk

naturalnych. Wynika to z tego, że dostarczają tlen, zapewniają obieg substancji organicznych, kontrolują jakość wody oraz równowagę gleby i osadów dennych. Ponadto zapewniają pożywienie, schronienie i siedlisko życia innym organizmom takim jak: bezkręgowce, ryby, płazy, ptaki i ssaki. Dlatego zmiany zachodzące w roślinach mogą bezpośrednio wpływać na strukturę i funkcjonowanie całego ekosystemu. Wśród roślin nasiennych w fitotestach wykorzystuje się ryż, owies, pszenicę, rzepak, sałatę oraz pieprznicę siewną zwaną potocznie rzeżuchą. Wyróżnia się 11 różnych testów opartych na analizie toksycznego oddziaływania substancji na organizmy roślinne. Rośliny nasienne powszechnie wykorzystywane są do oceny zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi, pestycydami czy WWA. W przypadku oceny środowiska wodnego, często rośliny były wykorzystywane w monitoringu *in situ* również do usuwania zanieczyszczeń takich jak metale ciężkie, azot, fosfor, toksyczne związki organiczne. Obecnie w fitotestach odchodzi się od wykorzystania roślin nasiennych na rzecz glonów. Jest to wynikiem dość długiego czasu potrzebnego do wykonania testu. Przy wyborze glonów do biotestów, należy brać pod uwagę ich dostępność i łatwość użycia. Najczęściej stosowane są gatunki należące do rodziny zielenic. Są to algi *Selenastrum capricornutum* oraz *Scenedesmus quadricauda* i *S. subspicatus*. Sinice i okrzemki są rzadziej stosowane ze względu na

ich powolny wzrost i wymagające warunki hodowli. Badania prowadzone są często z wykorzystaniem urządzenia pomiarowego jakim jest cytometr przepływowy. Inną techniką przeprowadzania testów z wykorzystaniem mikroalg jest ich unieruchomienie na specjalnym podłożu (immobilizacja) [9,15].

Testy toksyczności oparte na zwierzętach

Testy toksyczności, w których wykorzystywane są zwierzęta są najbardziej popularne i przeprowadza się je znacznie częściej niż fitotesty. Znajdują tu zastosowanie gatunki takie jak równorzęs – *Tetrahymana pyriformis*, dżdżownica (*Tubifex tubifex*, *Limnodrilus hoffmeisteri*), pijawki, małże blaszkoskrzelne, skorupiaki – rozwielitka (*Daphnia magna*), pierwotniak (*Tetrahymana thermophila*), owady, ryby (okoń, flądra, płoć) ssaki (samica szczura). Spośród bezkręgowców najszerzej omawianymi w literaturze międzynarodowej organizmami testowymi są dafnie. Badania nad nimi prowadzone były już w latach czterdziestych XX wieku. Wykorzystywane są obecnie w teście Daphtoxkit F™ magna, w którym wykorzystane jest zjawisko hamowania ruchu skorupiaków obserwowane po 24 i 48 godzinach inkubacji. Kolejnym testem jest Thamnotoxkit F™ – Toxkit wykorzystujący skorupiaka *Thamnocephalus platyurus*. Reakcją testową jest śmierć skorupiaków. Test wykonuje się przy zastosowaniu organizmów świeżo wylęglých z jaj przetrwalnych. Test ten



polecany jest jako tańsza alternatywa dla testu *Daphnia magna*. Spośród małż wykorzystuje się racicznice zmienianą (*Dreissena polymorpha*), która w hodowli szybko się namnaża. Małż ten wykazuje dużą czułość na zmiany stężeń metali ciężkich w wodzie. Reakcja na zanieczyszczenia jest widoczna gołym okiem, ponieważ pod wpływem nagłych zmian stężeń metali ciężkich szybko zamyka muszlę. Jest on używany na terenach wielu wodociągów w krajach europejskich. Po katastrofie w Czarnobylu organizmy te były również wykorzystywane do badania globalnego natężenia promieniowania beta i gamma elektrowni jądowej. Do analizy bioindykacyjnej wykorzystywane są również inne małże, takie jak: *Gnathonemus petersi*, *Apteronatus albifrons*, *Corbicula fluminea*, *Scorbicularia piana*. Innym przykładem zastosowania małż w biotestach są małże z rodzaju szczeżuja (*Anodonta*) do hodowli krótkoterminowych prowadzonych w stacjach uzdatniania wody (wodociągach). Organizmy te odżywiają się podczas filtracji wody i reagują na zanieczyszczenia zamykając muszle, gdy w wodzie znajdują się sub-

stancje toksyczne. Stałe obserwacje zachowania małży są jednym z elementów monitorowania jakości wody [9,15].

Podsumowanie

Biologiczne metody oceny toksyczności zanieczyszczeń stanowią uzupełnienie metod chemicznych. Są one źródłem bezpośrednich danych o toksycznym oddziaływaniu związków chemicznych (zarówno o charakterze ostrym, jak i przewlekłym) na wybrany organizm wskaźnikowy lub populację. Dzięki doskonaleniu technik analitycznych i wykorzystaniu nowych organizmów testowych, w ostatnim czasie, metody znajdują coraz szersze zastosowanie w badaniach jakości środowiska. Wynika to z faktu, że są szybsze, tańsze w porównaniu z metodami chemicznymi oraz, co jest niezwykle istotne, nie generują substancji ubocznych, ponieważ nie wymagają zastosowania dodatkowych substancji chemicznych. Dlatego obszar zastosowania biotestów będzie coraz większy, a uzyskane w ten sposób informacje będą stanowiły podstawę do podjęcia badań z wykorzystaniem konwencjonalnych metod analitycznych.

Literatura

- [1] Traczewska M.T, Biologiczne metody oceny skażenia środowiska, Oficyna wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2011
- [2] Seńczuk W, Toksykologia Współczesna, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2005
- [3] <http://www.chemia.uni.lodz.pl/kchogin/dydaktyka/toksykologia/pdf/2013/T1.pdf>
- [4] www.en.umed.wroc.pl/sites/default/files/struktura/farmacja/farmakologia/1_Farmacja_przemyslowa.pdf
- [5] www.uwm.edu.pl/wksir/zmetkli/dokumenty/t27.doc
- [6] Tatuśko N, Jakubus B, M, Przegląd wybranych biologicznych metod oceny stanu środowiska naturalnego, Inżynieria Ekologiczna, 42, 2015, 78-86
- [7] Walker C.H, Hopkin S.P, Sibby R.M, Peakall D.B, Podstawy ekotoksykologii, Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa 2002
- [8] Markert B, Simone W, Diatta J, Chudzińska E, Innowacyjna obserwacja środowiska- Bioindykatory i Biomonitoring: Definicje, Strategie i Zastosowania, Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych, 53, 2012 15-145
- [9] Kuczyńska A., Wolska L., Namieślnik J., Zastosowanie

biotestów w badaniach środowiskowych, Politechnika Gdańska, 32, 2007, 669-695.

- [10] www.pg.gda.pl/chem/CEEAM/Dokumenty/CEEAM_ksiazka_polska/Rozdzialy/rozdzial_001.pdf
- [11] <http://www.eko-dok.pl/2013/61.pdf>
- [12] http://www.ietu.katowice.pl/Projekty_badaw/Projekty_UE/Interreg/COHIBA/23_09/COHIBA%20BIOTESTY_POP.pdf
- [13] http://www.pzits.not.pl/docs/ksiazki/Odra_2010/Pasternak%20231-238.pdf
- [14] Wilk P, Szalińska E, Microtox jako narzędzie do oceny toksyczności osadów dennych, Czasopismo Techniczne, Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, 6, 2011
- [15] Krzemińska A, Testy ekotoksykologiczne czyli nowe trendy w monitoringu jakości wód powierzchniowych i podziemnych. Nadgorliwość, czy konieczność, Gospodarka Wodna, 1, 2004, 19-24

* Jolanta Kozak, Maria Włodarczyk-Makula; Katedra Chemii, Technologii Wody i Ścieków, Wydział Infrastruktury i Środowiska – Politechnika Częstochowska, email: jolanta.kozak@poczta.onet.pl; mwm@is.pczest.pl