

Maria ZIELIŃSKA<sup>1</sup>, Małgorzata RAJFUR<sup>1</sup>, Rafał KOZŁOWSKI<sup>2</sup> i Andrzej KŁOS<sup>1</sup>

## BIOMONITORING AKTYWNY RZEKI ODRY Z WYKORZYSTANIEM GLONÓW *Palmaria palmata*\*

### ACTIVE BIOMONITORING OF THE Odra RIVER USING *Palmaria palmata* ALGAE

**Abstrakt:** Celem przeprowadzonych badań był aktywny biomonitoring 8,5 km odcinka rzeki Odry w pobliżu Opola. Do badań wykorzystano glony morskie *Palmaria palmata*. Po okresie ekspozycji w glonach metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) oznaczono stężenia metali ciężkich: Mn, Fe, Cu, Zn i Hg. Metale oznaczano także w próbkach wody. Wyznaczone współczynniki akumulacji względnej (RAF) wskazują na niejednorodne zanieczyszczenie wód badanymi metalami. Największe przyrosty stężeń metali w eksponowanych glonach odnotowano w porcie na osiedlu Metalchem. Wyniki wskazują również na dobre właściwości akumulacyjne glonów *Palmaria palmata*.

**Słowa kluczowe:** glony *Palmaria palmata*, metale ciężkie, rzeka Odra, biomonitoring, współczynnik akumulacji względnej RAF

Biomonitoring polega na wykorzystaniu materiału biologicznego w celu oceny oraz obserwacji zmian środowiska zachodzących pod wpływem różnych czynników, antropogennych i naturalnych. Informacje pozyskane w ten sposób znajdują np. zastosowanie w programie kontroli jakości wód płynących [1]. Grupę metod biomonitoringowych, w których wykorzystuje się właściwości sorpcyjne materiału biologicznego, dzieli się na metody pasywne oraz metody aktywne. Biomonitoring pasywny polega na pobieraniu biosorbenta z miejsca występowania i ilościowym oznaczaniu zakumulowanych w nim analitów [2], natomiast biomonitoring aktywny polega na przeniesieniu biosorbentów, np. glonów, pobranych z ekosystemów niezanieczyszczonych, ich ekspozycji w obszarze badań oraz ocenie przyrostu stężeń analitów po okresie ekspozycji [3].

Wykorzystane do badań glony *Palmaria palmata* są szeroko rozpowszechnione nie tylko w zimnych wodach Północnego Atlantyku czy Oceanu Arktycznego, ale także w cieplejszych wodach w pobliżu Portugalii, Hiszpanii czy New Jersey. Występują na głębokości około 20 m. Są znane ze swoich wartości odżywczych oraz dużej zawartości antyoksydantów. Dzięki łatwej dostępności, małym kosztom pobierania biomasy oraz bardzo dobrym właściwościom sorpcyjnym mogą być one wykorzystywane w aktywnym biomonitoringu wód powierzchniowych [4-8].

Celem badań była ocena możliwości wykorzystania glonów morskich *Palmaria palmata* w biomonitoringu rzeki Odry. W próbkach glonów oznaczano stężenia Mn, Fe, Cu, Zn i Hg. Wyznaczono także współczynniki akumulacji względnej

<sup>1</sup> Samodzielna Katedra Biotechnologii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Opolski, ul. kard. B. Kominka 6, 45-032 Opole, tel. 77 401 60 42, fax 77 401 60 50, email: mrajfur@o2.pl

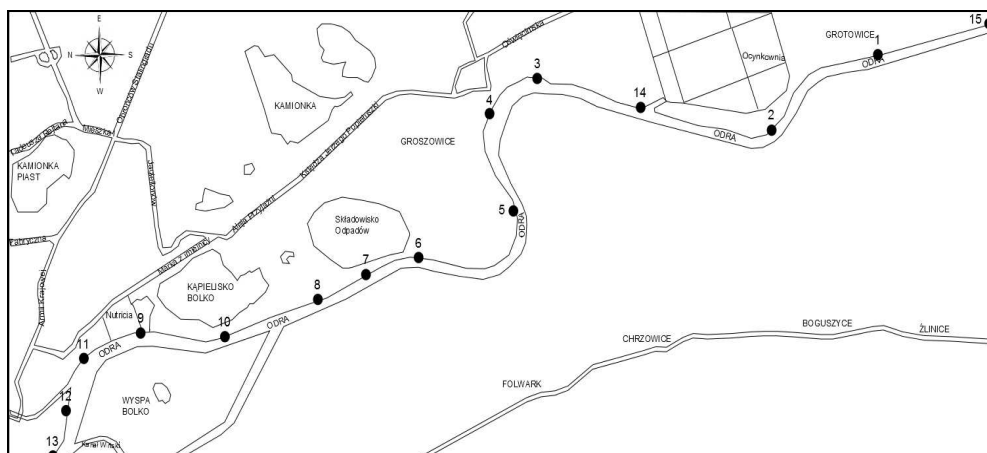
<sup>2</sup> Samodzielny Zakład Ochrony i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Humanistyczno-Przyrodniczy Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce, tel. 41 349 64 34, fax 41 349 64 18

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

RAF, określające przyrost stężeń metali ciężkich w badanych próbkach po okresie ekspozycji.

### Materiały i metody

Biomonitoringiem objęto odcinek rzeki Odry o długości około 8,5 km, od dzielnicy Grotowice do centrum Opola. Badanie prowadzono w dniach 24-30 kwietnia 2013 r. Miejsca ekspozycji próbek glonów *Palmaria palmata* zaznaczono na mapie na rysunku 1. Miejsca oznaczono numerami zgodnie z kolejnością ekspozycji.



Rys. 1. Miejsca ekspozycji próbek glonów *Palmaria palmata*

Fig. 1. Places of the exposure of the *Palmaria palmata* alga samples

Reprezentatywne (uśrednione) próbki glonów o masie 0,5 g umieszczano w perforowanych pojemnikach polietylenowych i zanurzano w rzece na 50 minut w miejscach zaznaczonych na mapie, oddalonych od siebie o około 500 m. Próbkę zanurzano w odległości około 1 m od linii brzegowej. Jednocześnie pobierano próbki wody w celu oznaczenia temperatury, pH, twardości i konduktywności. Po ekspozycji próbki glonów przepłukiwano wodą zdemineralizowaną, suszono oraz mineralizowano w mineralizatorze mikrofalowym Speedwave Four firmy BERGHOF. Próbkę wody, w których oznaczano metale ciężkie, były przenoszone na układ filtracyjny, a następnie były zakwaszane 1 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu azotowego(V).

Do oznaczenia metali ciężkich (Mn, Fe, Cu, Zn i Hg) wykorzystano absorpcyjny spektrometr atomowy w wersji płomieniowej (FAAS) typu ICE 3500 (seria 3000) firmy Thermo Scientific, USA. Rtęć oznaczano z wykorzystaniem analizatora rtęci AMA254 firmy Altec Ltd., CZ.

Stężenia metali naturalnie zakumulowanych w suchej masie (s.m.) glonów *Palmaria palmata* wynosiły:  $c_{Mn,0} = 0,033 \pm 0,006$  mg/g s.m.;  $c_{Fe,0} = 0,288 \pm 0,021$  mg/g s.m.;  $c_{Cu,0} = 0,0033 \pm 0,0008$  mg/g s.m.;  $c_{Zn,0} = 0,021 \pm 0,003$  mg/g s.m.;  $c_{Hg,0} = 53$  ng/g s.m.

## Zapewnienie i kontrola jakości

W tabeli 1 podano granice wykrywalności oraz granice oznaczalności metali ciężkich, charakteryzujące spektrometr iCE 3500 [9]. Do kalibrowania aparatu wykorzystano wzorce firmy ANALYTIKA Ltd. (CZ).

Tabela 1  
Granice wykrywalności (*IDL*) oraz granice oznaczalności (*IQL*) charakteryzujące spektrometr iCE 3500 [mg/dm<sup>3</sup>]

Table 1  
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	0,03
Fe	0,0043	0,06
Cu	0,0045	0,033
Zn	0,0033	0,01
Hg	<i>IQL</i> = 0,003 ng Hg w oznaczanej próbce (aparat AMA254)	

W tabeli 2 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*.

Tabela 2  
Porównanie zmierzonych i certyfikowanych wartości stężeń analitów w BCR-414 *plankton* i BCR-482 *lichen*

Table 2  
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
Hg	0,28	0,02	n.d. *	n.d.	n.d.
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
Hg	0,48	0,02	0,450	0,016	-6,3

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

## Wyniki i ich analiza

W tabeli 3 zamieszczono średnie wartości parametrów fizykochemicznych wody pobranej z poszczególnych miejsc pomiarowych oraz wartość odchylenia standardowego od tych pomiarów.

Tabela 3

Wyniki pomiarów parametrów fizykochemicznych próbek wody

Table 3

The results of measurements of physicochemical parameters of the water samples

Parametr	Temperatura [°C]	pH	Konduktywność [mS]	Twardość [°dH]
Średnia	14,3	8,00	1,3	17,3
Minimum	12,7	7,88	1,2	10,0
Maksimum	18,1	8,05	1,4	20,0
±SD	1,4	0,04	0,1	3,7

W tabeli 4 podano stężenia oznaczanych metali ciężkich w próbkach wody pobranej w miejscach ekspozycji glonów.

Tabela 4

Wyniki pomiarów stężeń metali ciężkich [mg/dm<sup>3</sup>] w próbkach wody pobranej w miejscach ekspozycji glonów

Table 4

The results of measurements of concentrations of heavy metals [mg/dm<sup>3</sup>] in water samples collected in places of the exposure of algae

Parametr	Mn	Fe	Cu	Zn	Hg
Średnia	0,121	0,163	< 0,033	< 0,01	1,2 · 10 <sup>-10</sup>
Minimum	0,045	0,114			1,9 · 10 <sup>-11</sup>
Maksimum	0,428	0,252			2,1 · 10 <sup>-10</sup>
±SD	0,094	0,041			5,1 · 10 <sup>-11</sup>

W tabeli 5 przedstawiono stężenia oznaczanych metali ciężkich w próbkach glonów *Palmaria palmata* eksponowanych w wodach rzeki Odry.

Tabela 5

Wyniki pomiarów stężeń metali ciężkich [mg/kg s.m.] w próbkach glonów

Table 5

The measurement results of concentrations of heavy metals [mg/kg s.m.] in the algae samples

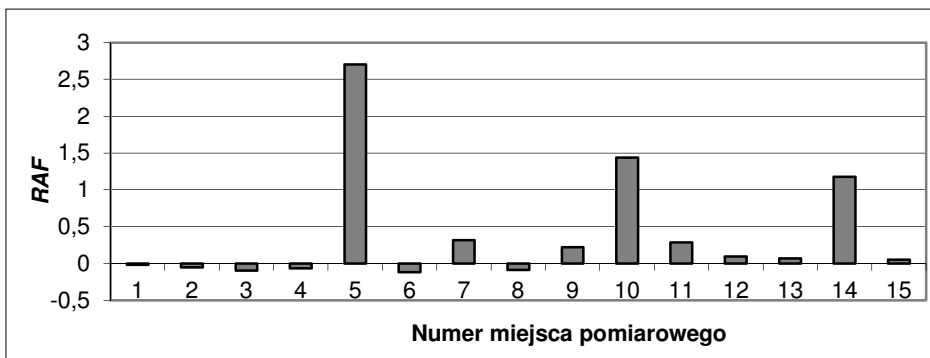
Parametr	Mn	Fe	Cu	Zn	Hg
Średnia	46,0	304	< 0,033	39,0	3,98 · 10 <sup>-5</sup>
Minimum	29,0	193		28,0	2,43 · 10 <sup>-5</sup>
Maksimum	122	524		61,3	7,50 · 10 <sup>-5</sup>
±SD	26,0	82,0		7,70	1,32 · 10 <sup>-5</sup>

W celu oceny przyrostów stężeń metali ciężkich w badanych próbkach glonów wyznaczono współczynniki akumulacji względnej *RAF*:

$$RAF = \frac{c_{i,1} - c_{i,0}}{c_{i,0}}$$

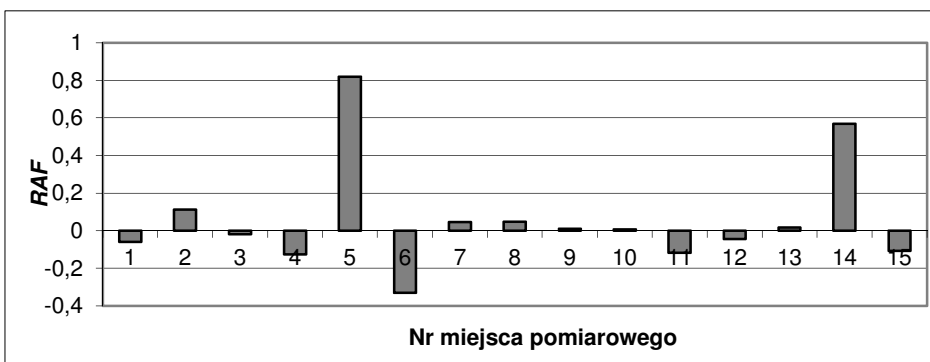
gdzie:  $c_{i,1}$  - stężenie analitu po okresie ekspozycji,  $c_{i,0}$  - stężenie analitu przed okresem ekspozycji [9].

Na rysunkach 2-5 przedstawiono wartości współczynników *RAF* wskazujących na zmiany stężeń analitów w eksponowanych glonach *Palmaria palmata*.



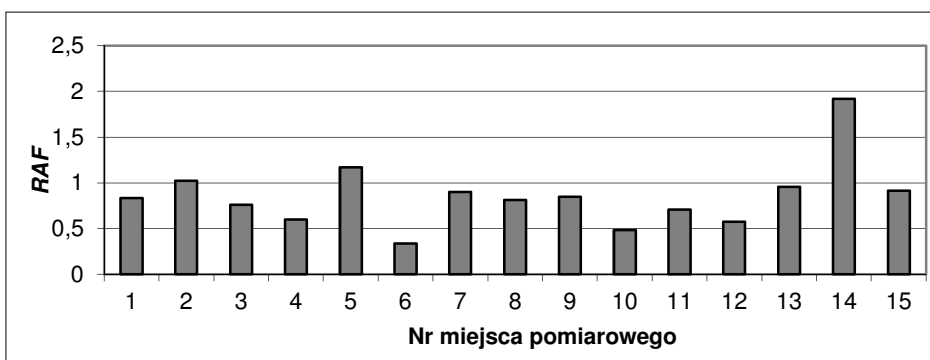
Rys. 2. Przyrosty stężeń manganu w glonach eksponowanych w wodach rzeki Odry

Fig. 2. Increase concentration of manganese in algae exposed in the waters of the Odra river



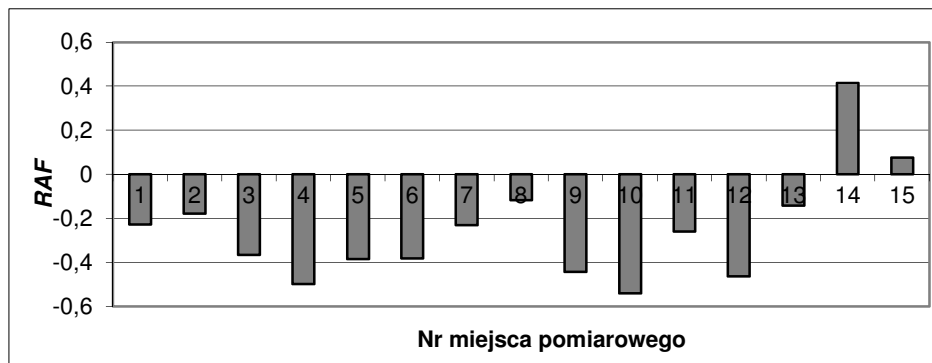
Rys. 3. Przyrosty stężeń żelaza w glonach eksponowanych w wodach rzeki Odry

Fig. 3. Increase concentration of iron in algae exposed in the waters of the Odra river



Rys. 4. Przyrosty stężeń cynku w glonach eksponowanych w wodach rzeki Odry

Fig. 4. Increase concentration of zinc in algae exposed in the waters of the Odra river



Rys. 5. Przyrosty stężeń rtęci w glonach eksponowanych w wodach rzeki Odry

Fig. 5. Increase concentration of mercury in algae exposed in the waters of the Odra river

Wyniki badań wskazują, że metodą płomieniową FAAS w wodzie można oznaczać jedynie stężenia Fe i Mn. Pozostałe metale, z wyłączeniem Hg, która jest oznaczana w aparacie AMA254 ( $IQL = 0,003$  ng Hg w oznaczanej próbce), występują w stężeniach mniejszych od granicy oznaczalności metody.

W eksponowanych próbkach glonów morskich *Palmaria palmata* wykazano przyrosty stężeń Mn, Fe, Zn i Hg. Największe przyrosty Fe i Mn oznaczono w próbkach glonów eksponowanych w miejscach nr 5 (meander rzeki przy ul. Jana Augustyna) i nr 14 (port na osiedlu Metalchem). W próbce nr 14 stwierdzono również największe stężenia Zn i Hg. W glonach nie stwierdzono przyrostów stężeń miedzi. Duża zawartość metali w próbce eksponowanej w miejscu 14 może wynikać ze zwiększonych stężeń metali w wodzie uwalnianych wskutek ich wypłukiwania z maszyn portowych, barek i innych jednostek pływających.

### Podsumowanie i wnioski

Biomonitoring staje się coraz bardziej popularną metodą służącą do oceny zanieczyszczenia różnych ekosystemów, w tym wodnych. Podstawową zaletą biomonitoringu jest tani i niewymagający specjalnego wykształcenia sposób pobierania próbek oraz fakt, że biomonitoring akumuluje biodostępne formy zanieczyszczeń.

Celem przeprowadzonych badań była ocena możliwości wykorzystania glonów *Palmaria palmata* do biomonitoringu zanieczyszczenia wód rzeki Odry metalami ciężkimi: Mn, Fe, Cu, Zn i Hg.

Celowość tej metody wynika z braku możliwości bezpośrednich oznaczeń niektórych metali ciężkich w wodach powierzchniowych metodą FAAS. Nadal nierozpoznane pozostają czynniki wpływające na korelacje pomiędzy stężeniem analitów w wodzie i w glonach. Wyniki przedstawione na rysunkach 2-5 wskazują jednak na możliwość względnej oceny poziomu zanieczyszczenia rzeki oraz identyfikacji źródeł zanieczyszczeń, czego przykładem są znaczące przyrosty stężeń metali w próbkach nr 5 i 14.

## Podziękowania

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

## Literatura

- [1] Kownacki A, Soszka H, Fleituch T, Kudelska D. River biomonitoring - problem and outline of research. W: River biomonitoring and benthic invertebrate communities. Warszawa-Kraków: Institute of Environmental Protection; 2002:7-11.
- [2] Rajfur M, Klos A, Waclawek M. Application of alga in biomonitoring of the Large Turawa Lake. Int J Environ Sci and Health. 2011;46:1401-1408. DOI: 10.1080/10934529.2011.606717.
- [3] Hédouin L, Bustamante P, Fichez R, Warnau M. The tropical brown alga *Lobophora variegata* as a bioindicator of mining contamination in the New Caledonia lagoon: A field transplantation study. Marine Environ Res. 2008;66:438-444. DOI: 10.1016/j.marenvres.2008.07.005.
- [4] Garbary DJ, Beveridge LF, Flynn AD, White KL. Population ecology of *Palmaria palmata* from harvested and non-harvested shores on Digby Neck, Nova Scotia, Canada. Algae. 2012;27(1):33-42.
- [5] Beaugeard M. Biosorption of heavy metals by red algae (*Palmaria palmata*). Canada: National Library of Canada; 2001.
- [6] Klos A, Rajfur M. Influence of hydrogen cations on kinetics and equilibria of heavy-metal sorption by algae - sorption of copper cations by the alga *Palmaria palmata*. J Appl Phycol. 2013; 25:1387-1394. DOI: 10.1007/s10811-012-9970-6.
- [7] Rajfur M, Klos A, Waclawek M. Biosorption of heavy metals from aqueous solutions by red algae *Palmaria palmata*: Study of the kinetics and the equilibrium of sorption. W: Pawłowski L, Dudzińska MR, Pawłowski A, editors. Environmental Engineering. London: Taylor & Francis Group; 2013, 533-540.
- [8] Instrukcja obsługi aparatu AAS iCE 3000 firmy Thermo Scientific. Warszawa: Spectro-Lab; 2013.
- [9] Klos A. Porosty w biomonitoringu środowiska. Opole: Wyd Uniwersytetu Opolskiego; 2009.

## ACTIVE BIOMONITORING OF THE Odra RIVER USING *Palmaria palmata* ALGAE

<sup>1</sup>Chair of Biotechnology and Molecular Biology, Opole University

<sup>2</sup>Department of Environment Protection and Modelling of the Jan Kochanowski University, Kielce

**Abstract:** The objective of this study was an active biomonitoring of the 8.5 km section of the Odra river near Opole. The study used marine algae *Palmaria palmata*. After the exposure period, the algae were analysed using atomic absorption spectrometry (AAS) to define the concentrations of heavy metals, Mn, Fe, Cu, Zn and Hg. Metals were also determined in water samples. Designated relative accumulation factors (*RAF*) indicate a heterogeneous heavy metal contamination of the water. The largest increases in concentrations of heavy metals in exposed algae samples were determined in the harbor of the Metalchem Estate. The results also indicate a good accumulation of algae *Palmaria palmata*.

**Keywords:** *Palmaria palmata* algae, heavy metals, Odra river, biomonitoring, relative accumulation factors *RAF*

