

# V Krajowa Konferencja Bioindykacyjna

## „Praktyczne wykorzystanie systemów bioindykacyjnych do oceny jakości i toksyczności środowiska i substancji chemicznych”

Lublin, 27-29 maja 2015

### Streszczenia prezentacji (P) i posterów (E)

#### Organizatorzy



Gdański Uniwersytet Medyczny  
Zakład Toksykologii Środowiska



Europejskie Regionalne Centrum  
Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk



Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie  
Zakład Chemii Środowiskowej



TIGRET Sp. z o.o.

#### Patronat medialny



	<b>Referat - Państwowy Monitoring Środowiska w Roztoczańskim Parku Narodowym – Stachyra P.</b>
<b>1P</b>	<b>Ocena ryzyka narażenia środowiska na pozostałości farmaceutyków za pomocą baterii biotestów - Wieczerzak M., Kudłak B., Namieśnik J</b>
<b>2P</b>	<b>Ekotoksykologiczna ocena wpływu wybranych farmaceutyków przed i po procesie oczyszczania fotokatalitycznego na <i>Vibrio fischeri</i> (Microtox), <i>Daphnia magna</i> (Daphtoxkit F) - Czech B., Oleszczuk P.</b>
<b>3P</b>	<b>Zmiana toksyczności farmaceutyków podczas oczyszczania w systemach hydrofitowych - Kalka J., Zackiewicz J., Felis E., Nowrotek M., Miksch K.</b>
<b>4P</b>	<b>Wstępne wyniki oznaczeń toksykologicznych płynów technologicznych stosowanych w procesie pozyskiwania gazów z pokładów łupkowych - Kudłak B., Wieczerzak M., Namieśnik J.</b>
<b>5P</b>	<b>Ocena toksyczności wybranych nanocząstek w obecności surfaktantów - Jośko I., Skwarek E., Bogusz A., Oleszczuk P.</b>
<b>6P</b>	<b>Ocena jakości osadów jezior przymorskich na podstawie badań biologicznych, analitycznych i toksykologicznych - Bigus K., Astel A., Obolewski K.</b>
<b>7P</b>	<b>Ocena jakości środowiska wodnego przy zastosowaniu próbników pasywnych oraz krótkoterminowych testów bakteryjnych - Pogorzelec M., Trusz-Zdybek A., Piekarzka K.</b>
<b>1E</b>	<b>Wykorzystanie biotestów w monitoringu jakości gleb - Baran A., Wieczorek J.</b>
<b>2E</b>	<b>Analiza toksyczności barwników tekstylnych otrzymanych w procesie biokatalizy - Polak J., Wlizło K., Jarosz-Wilkolażka A.</b>
<b>3E</b>	<b>Ocena ekotoksycznego oddziaływania spinosadu na środowisko glebowe w oparciu o wybrane testy biologiczne - Telesiński A., Michalcewicz W., Onyszko M., Płatkowski M., Stręk M.</b>
<b>4E</b>	<b>Ocena skuteczności remediacji gleb aktywowanymi biowęglami przy zastosowaniu testów ekotoksykologicznych - Kołtowski M., Oleszczuk P.</b>
<b>5E</b>	<b>Toksyczność gleb użyźnianych osadem ściekowym i biowęglem z osadu ściekowego, w stosunku do <i>Lepidium sativum</i> i <i>Folsomia candida</i> - Zielińska A., Oleszczuk P.</b>
<b>6E</b>	<b>Fitotoksyczność biowęgli po adsorpcji metali ciężkich - Bogusz A., Oleszczuk P.</b>
	<b>Referat – Ocena jakości i toksyczności środowiska z wykorzystaniem technik chemometrycznych - Astel A.</b>
<b>7E</b>	<b>Charakterystyka mikrobiologiczna i ocena toksyczności ścieków z przydomowych oczyszczalni ścieków - Chojniak J., Plaza G., Nałęcz-Jawecki G., Kaiser A., Hegedusova B., Ejhed H., Magner J.</b>
<b>8E</b>	<b>Wykorzystanie testów ekotoksykologicznych w ocenie współoddziaływania związków powierzchniowo czynnych - Czernych R., Ratajczyk W., Wolska L.</b>
<b>9E</b>	<b>Wpływ modyfikowanych chitozanów na toksyczność wody w stosunku do bakterii <i>Vibrio fischeri</i> - Kalinowski R., Kaźmierczuk M., Paczkowski Sz., Trzcińska M., Tomczyk B., Tórz A., Eymontt A., Wierzbicki K.</b>
<b>10E</b>	<b>Wykorzystanie biotestów oraz wskaźników chemicznych w ocenie osadów dennych zbiornika Rzeszów - Baran A., Tarnawski M., Koniarz T.</b>
<b>11E</b>	<b>Wykorzystanie mikrobiotestów do oceny zagrożeń terenów poddanych zróżnicowanej antropopresji - Klimkowicz-Pawlas A., Smreczak B., Ukalska-Jaruga A.</b>
<b>12E</b>	<b>Wykorzystanie biotestów do oceny aktywności biologicznej gleb po aplikacji przekompostowanych odpadów z przemysłu drobiarskiego - Baran A., Orłowska K., Kopeć M.</b>
<b>8P</b>	<b>Mikrobiologiczne wskaźniki w ocenie jakości środowiska - Michalska M., Bartoszewicz M., Zorena K.</b>
<b>9P</b>	<b>Zróżnicowane podejście do oceny zagrożenia ze strony zakwitów sinicowych - Gągała I., Karwaciak I., Ratajewski M., Pułaski Ł., Jurczak T., Kokociński M., Jaskulska A., Mankiewicz-Boczek J.</b>
<b>10P</b>	<b>Reakcja roślin na występowanie w podłożu czwartorzędowych soli amoniowych - Biczak R., Pawłowska B.</b>
<b>11P</b>	<b>Oddziaływanie czynników antropogenicznych na ekotoksyczność osadów Zatoki Gdańskiej - Rogowska J., Cieszyńska-Semenowicz M., Ratajczyk W., Wolska L.</b>
<b>12P</b>	<b>Czy obecność siarki elementarnej w osadach może wpływać na ich toksyczność? - Cieszyńska-Semenowicz M., Rogowska J., Ratajczyk W., Sychowska J., Wolska L.</b>

13E	Ocena oddziaływania związków fluoru i selenu na zawartość wybranych niskocząsteczkowych antyutleniaczy i barwników asymilacyjnych w siewkach kukurydzy cukrowej ( <i>Zea mays</i> var. <i>saccharata</i> ) - <u>Stręk M.</u>
14E	Wpływ rodzaju anionu czwartorzędowych pirydynio-ketoksymów na fitotoksyczność - <u>Parus A., Wojciechowska A., Wojciechowska I., Szulc A.</u>
15E	Wpływ herbicydowego anionu pirydyniowych cieczy jonowych na początkowy rozwój roślin - <u>Szulc A., Parus A., Syguda A., Woźniak M., Sydow M., Ławniczak Ł., Chrzanowski Ł.</u>
16E	Fitotoksyczność herbicydów Avans Premium 360 SL i Chwastox Extra 300 SL w stosunku do wybranych gatunków roślin uprawnych - <u>Piątkowski M.</u>
17E	Ocena toksyczności kompostów skażonych rtcią - <u>Wolf M., Traczewska T., Sitarska M., Filyarovskaya V., Hanus-Lorenz B., Hołtra A., Zamorska-Wojdyła D.</u>
13P	Badanie potencjalnej mutagenności wyrobów włóknistych wobec <i>Salmonella typhimurium</i> i <i>Escherichia coli</i> w teście Ames - <u>Jadczyk P., Umińska-Wasiluk B., Krucińska I., Żywicka B.</u>
14P	Monitoring genotoksyczności oraz aktywności endokrynnnej wody z Wisły w okolicach Warszawy - <u>Zgadzaj A., Skrzypczak A., Nałęcz-Jawecki G.</u>
15P	Badanie aktywności biologicznej komórek A549 narażanych na lotne związki organiczne (LZO) - <u>Chraniuk M., Wolska L.</u>
16P	Celowość stosowania badań in vitro w zakresie określania toksyczności związków lotnych - <u>Gałęzowska G., Wolska L.</u>
18E	Wpływ odmiany rośliny testowej na wynik testu genotoksyczności <i>Vicia faba Root Tip Assay</i> - <u>Obidoska G., Korzeniowska M., Hadam A.</u>
17P	Ocena fotodegradacji bezpośredniej i pośredniej substancji chemicznych w środowisku wodnym na przykładzie leków przeciwdepresyjnych - <u>Wawryniuk M., Drobiewska A., Bolimowska E., Kasprzak D., Klimiuk K., Nałęcz-Jawecki G.</u>
18P	Czy zrzuty ścieków oczyszczonych w rejonie Zatoki Gdańskiej mogą wpływać na jakość jej wód? - <u>Ratajczyk W., Cieszyńska-Semenowicz M., Sychowska J., Wolska L.</u>
19P	Dynamika czasoprzestrzenna mikrozanieczyszczzeń w rzece miejskiej: ocena wpływu wód burzowych jako źródła dioksyn i triklosanu w rzece i jej zbiornikach - <u>Urbaniak M., Tygielska A., Krauze K., Mankiewicz-Boczek J.</u>
20P	Testy regeneracji na przykładzie <i>Lemna minor</i> - czyli jak otrzymać więcej istotnych ekologicznie danych z ekotoksykologicznych badań laboratoryjnych - <u>Drobiewska A., Kapłan M., Wójcik D., Nałęcz-Jawecki G.</u>
19E	Ocena jakości procesu defosfatacji ścieków na podstawie analizy specjacyjnej fosforu oraz identyfikacji bakterii nitkowatych - <u>Bezak-Mazur E., Stoińska R.</u>
20E	Fotodegradacja i toksyczność inhibitorów korozji w wodzie morskiej - <u>Kalka J., Felis E., Zackiewicz J.</u>
21E	Dynamika zanikania wybranych 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych w aspekcie ich oddziaływania na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie - <u>Telesiński A., Sułkowska N., Onyszko M.</u>
22E	Fitotoksyczność tetrafluoroborantu amonu dla wybranych roślin wyższych - <u>Pawłowska B., Biczak R.</u>

# **Streszczenia prezentacji**

## **Ocena jakości i toksyczności środowiska z wykorzystaniem technik chemometrycznych**

ASTEL A.

Akademia Pomorska, Instytut Biologii i Ochrony Środowiska,  
Zakład Chemii Środowiskowej, ul. Arciszewskiego 22b, 76-200 Słupsk  
e-mail: [astel@apsl.edu.pl](mailto:astel@apsl.edu.pl), [AliAst@poczta.fm](mailto:AliAst@poczta.fm)

*Słowa kluczowe: monitoring, klasyfikacja czystości komponentów środowiska, toksyczność, analiza danych wielowymiarowych, analiza skupień, analiza głównych składowych, sieci neuronowe, diagramy Hasse*

Egzystencja i ingerencja człowieka w środowisko sprawiły, że środowisko wraz z zachodzącymi w nim procesami stało się jednym z głównych obiektów współczesnych badań. Dowiedzono, że wyniki pomiarów analitycznych szerokiego spektrum próbek środowiskowych, takich jak powietrze atmosferyczne, opady, gleby, osady denne, skały, czy też rozmaite próbki wodne mogą być źródłem istotnych informacji o środowisku.

Wydawać się może, że wykonanie szczegółowych badań próbek środowiskowych za pomocą zaawansowanych technik analitycznych powinno wystarczyć do oceny jakości, a w wielu przypadkach do stwierdzenia toksyczności komponentów środowiska. W rzeczywistości istnieje wiele czynników, które znaczco utrudniają a w skrajnych przypadkach nawet uniemożliwiają poprawne wnioskowanie. Jednym z nich jest ilość uzyskiwanych danych cyfrowych. Innym fakt, że użyteczna informacja o środowisku ma najczęściej charakter zakodowany, a dodatkowo większość zjawisk środowiskowych cechuje wysoki stopień złożoności. Okazuje się zatem, że zastosowanie w interpretacji danych środowiskowych klasycznych elementów statystyki matematycznej, stworzonych głównie do testowania hipotez w układach dwuwymiarowych lub o wpływie jednego/kilku czynników na jeden/kilka parametrów badanych obiektów w kontrolowanych warunkach jest nieefektywne. Trudności najczęściej wynikają z nadmiaru danych oraz tego, że nawet jeśli możliwe jest wykonanie analizy wyników pomiarowych, to zostanie w niej wykorzystana tylko część zgromadzonych danych. W efekcie, badacze szukający ukrytego porządku i struktur w układach wielowymiarowych zmuszeni są, wobec ich ogromnej z reguły komplikacji, do daleko idących uproszczeń i generalizacji. Potrzeba analizy różnorodnych problemów w ujęciu wielowymiarowym, które obejmuje jednoczesne odkrywanie związków pomiędzy wieloma zmiennymi z uwzględnieniem składowej czasu doprowadziła do wprowadzenia do powszechnego stosowania grupy technik statystycznego i numerycznego opracowania danych nazywanych technikami chemometrycznymi, lub w skrócie „chemometrią”.

Treść wystąpienia dotyczy omówienia podstaw teoretycznych najbardziej popularnych technik analizy chemometrycznej, do których należą: analiza skupień, analiza głównych składowych, analiza funkcji dyskryminacyjnej, neuronowe sieci Kohonena czy też klasyfikacyjne diagramy Hasse'go. Założenia metodologiczne i ogólne idee stosowania poszczególnych technik uzupełniono literaturowymi przykładami ich zastosowania do oceny jakości i toksyczności wybranych komponentów środowiska.

## **Quality and environmental toxicity assessment using chemometric techniques**

A.ASTEL

Pomeranian University, Institute of Biology and Environmental Protection,  
Environmental Chemistry Research Unit, 22b Arciszewskiego Str., 76-200 Słupsk  
e-mail: [astel@apsl.edu.pl](mailto:astel@apsl.edu.pl), [AliAst@poczta.fm](mailto:AliAst@poczta.fm)

*Key-words: monitoring, classification of the purity of environmental compartments, toxicity, multidimensional data analysis, cluster analysis, principal component analysis, neural networks, Hasse diagrams*

The existence and human interference in the environment made the environment with ongoing processes in it one of the main objects of contemporary research. It has been proved that the results of a broad spectrum of analytical measurements of environmental samples, such as atmospheric air, precipitation, soil, sediments, rocks, or variety of water samples can be a source of important environmental information.

It might seem that making a detailed survey of environmental samples using advanced analytical techniques should be sufficient to evaluate the quality and, in many cases, to determine the toxicity of environmental components. In fact, there are many factors that make correct logical inference difficult, or even impossible in some cases. One of them is the amount of generated digital data. Another is the fact that useful information about the environment is commonly encoded, while most of environmental phenomena characterized by a high degree of complexity. It appears that the use of classical elements of mathematical statistics in the interpretation of environmental data, designed mainly to test hypotheses in two-dimensional systems or about the impact of one / several factors on the one / several parameters of the investigated objects in controlled conditions is inefficient. Problems are likely to arise from the excess data and that, even if is possible to perform the analysis of the measurement results, it will be only based on certain part of the collected data. As a result, researchers looking for the hidden order and structure in multidimensional systems are forced, due to their high complexity, to far-reaching simplifications and generalizations. The need to analyze the different problems in a multidimensional approach that includes the simultaneous discovery of relationships between multiple variables taking into account the time component has led to the introduction of chemometrics.

The content of the lecture concerns the theoretical basis of the most popular chemometric techniques, which include: cluster analysis, principal component analysis, discriminant function analysis, Kohonen neural networks or Hasse diagrams. Methodological and general ideas of above mentioned techniques were supplemented with literature examples of their use to evaluate the quality and toxicity of selected environmental compartments.

## Ocena ryzyka narażenia środowiska na pozostałości farmaceutyków za pomocą baterii biotestów

WIECZERZAK M.<sup>1</sup>, KUDŁAK B.<sup>1</sup>, NAMIEŚNIK J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Analitycznej, Ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk  
[monwiecz@student.pg.gda.pl](mailto:monwiecz@student.pg.gda.pl), [monika.wieczterzak@tlen.pl](mailto:monika.wieczterzak@tlen.pl)

*Słowa kluczowe:* pozostałości leków, farmaceutyki, bateria biotestów, ekotoksyczność

W wyniku antropopresji środowisko przyrodnicze staje się rezerwuarzem szerokiej gamy zanieczyszczeń. Wskutek działalności człowieka powstają niebezpieczne substancje chemiczne, które następnie przedostają się do poszczególnych elementów środowiska zaburzając funkcjonowanie ekosystemów. W każdym ekosystemie panuje delikatna równowaga oraz sieć zależności pomiędzy organizmami z niższych i wyższych poziomów troficznych.

Przez tysiąclecia dobór naturalny promował gatunki, których cechy umożliwiały przeżycie. Ewolucja wyposażała organizmy żywe w szereg mechanizmów naprawczych i detoksykacyjnych pozwalających uniknąć zatrucia i akumulacji zanieczyszczeń w tkankach i organach (Sytar *et al.* 2013, Wieloch *et al.* 2012). Niestety rozwój cywilizacyjny spowodował, że w przeciągu ostatnich dekad zmiany w środowisku następują w zastraszającym tempie, nie dając szans na przystosowanie się.

Zanieczyszczenia środowiska pochodzenia antropogenicznego stanowią dużą grupę zróżnicowanych związków pod względem właściwości fizykochemicznych, niektóre z tych związków mogą niekorzystnie wpływać na biochemicalne procesy przebiegające w organizmie żywym. Przykładem związków aktywnych biologicznie są farmaceutyki i ich pozostałości kumulujące w środowisku.

Farmaceutyki to syntetyczne lub naturalne substancje mające na celu poprawę zdrowia lub ratowanie życia. Substancja chemiczna o potwierdzonym działaniu leczniczym przechodzi wiele faz badań klinicznych, mających na celu wykrycie czy dany związek będzie bezpieczny dla pacjenta. Niestety badania losu środowiskowego farmaceutyków należy do rzadkości.

Badania środowiskowe wymagają dużej wiedzy, trzeba wziąć pod uwagę wiele czynników takich jak rozpuszczalność danych substancji a także czynniki środowiskowe (pH, zasolenie, temperatura, itp.), współobecność jonów oraz różnych innych związków, z którymi badane substancje mogą wchodzić w interakcje, ale także czynniki biologiczne jak odpowiedź odpowiednich organizmów z poszczególnych poziomów troficznych. Można wyróżnić trzy podstawowe typy interakcji pomiędzy substancjami chemicznymi obecnymi w środowisku:

- addytywność – efekt mieszaniny związków jest sumą efektów poszczególnych związków występujących w mieszaninie,

- synergizm – efekt sumaryczny mieszaniny związków chemicznych jest większy a niżeli suma efektów poszczególnych związków z osobna,

- antagonizm – efekt sumaryczny mieszaniny związków chemicznych jest mniejszy a niżeli suma efektów poszczególnych związków z osobna.

Substancje obecne w mieszaninie mogą oddziaływać między sobą, co sprawia, że ich toksyczność może się zmniejszać lub wzrastać w zależności od matrycy próbki (US EPA 2000, Wieczterzak *et al.* 2015)

Pozostałości farmaceutyków jak większość zanieczyszczeń środowiska występują na niskich poziomach stężeń, na których nie przyczyniają się bezpośrednio do śmierci organizmów

bytujących w narażonym ekosystemie, ale mogą przyczyniać się do długofalowych i nieodwracalnych zmian.

Badania przeprowadzane w Katedrze Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej są próbą określenia ryzyka narażenia organizmów żywych na mieszaniny wybranych farmaceutyków oraz próbą wyznaczenia możliwych interakcji pomiędzy nimi oraz czynnikami fizykochemicznymi. Do badań wybrano 4 związków o właściwościach biologicznie czynnych z grupy farmaceutyków, które są wykorzystywane w różnych kuracjach, od niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), leków przeciwdepresyjnych, antybiotyków.

Substancje modelowe wybrane do badań: diklofenak (sól sodowa), chloramfenikol, chlorowodorek oksytetraacykliny, chlorowodorek fluoksetyny, (Sigma Aldrich - Niemcy). Badania wykonano za pomocą baterii biotestów składające się z testów Ostracodtoxkit F<sup>TM</sup>, XenoScreen YES/YAS oraz Microtox®. Organizmy testowe w wybranej baterii pochodzą z różnych poziomów troficznych, a zastosowanie baterii biotestów umożliwia uzyskanie szerszych informacji o wpływie wywieranym przez badane substancje. Ze względu na fakt, że w ekosystemach są obecne organizmy cechujące się różną wrażliwością, posłużenie się baterią biotestów pozwala także uniknąć błędu wynikającego z przeszacowanie lub niedoszacowania ogólnej toksyczności badanej próbki w stosunku do całego ekosystemu.

#### Literatura:

- U. S. Environmental Protection Agency, "Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures", 2000, <http://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=20533>, dostęp: marzec 2014  
Sytar O., et al., Heavy Metal-Induced Oxidative Damage, Defense Reactions, and Detoxification Mechanisms in Plants, *Acta Physiologiae Plantarum*, **35**:985–99, 2013  
Wieczerek M., Kudłak B., Namieśnik J., Environmentally Oriented Models and Methods for the Evaluation of Drug × Drug Interaction Effects, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **45**:131–55, 2015  
Wieloch, M. et al., Do Toxic Heavy Metals Affect Antioxidant Defense Mechanisms in Humans?, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **78**:195–205, 2012

## Environmental risk assessment of exposure to residues of pharmaceuticals using bioassays battery

**WIECZERZAK M.<sup>1</sup>, KUDŁAK B.<sup>1</sup>, NAMIEŚNIK J.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Gdańsk University of Technology, Faculty of Chemistry, Department of Analytical Chemistry, G. Narutowicza St. 11/12, 80-233 Gdańsk  
[monwiecz@student.pg.gda.pl](mailto:monwiecz@student.pg.gda.pl), [monika.wieczerek@tlen.pl](mailto:monika.wieczerek@tlen.pl)

*Key words: drug residues, pharmaceuticals' interaction, ecotoxicity*

As a result of anthropopressure the environment becomes a reservoir for a wide range of contaminants. Generated due to human activities hazardous chemicals penetrate into various elements of the environment disrupting the functioning of ecosystems. In each ecosystem there is a delicate balance and a network of relationships between organisms from different trophic levels.

For thousands of years, natural selection has promoted species whose features allow surviving. Evolution has provided living organisms in a number of repair and detoxification mechanisms to avoid intoxication and accumulation of pollutants in the tissues and organs (Sytar et al. 2013, Wieloch et al. 2012).

Sadly the dynamic development of civilization caused that in recent decades, environmental changes occur at an alarming rate, without giving a chance for quick adaptation. Anthropogenic pollutants are a large group of different compounds in terms of physicochemical properties, some of which may adversely affect the biochemical processes going on in the living

organism. Examples of biologically active compounds are pharmaceuticals and their residues accumulating in the environment.

Pharmaceuticals are synthetic or natural substances aimed at improving health and saving lives. Chemical with proven therapeutic effect undergoes many phases of clinical trials, to detect whether a given compound will be safe for the patient. Unfortunately, pharmaceuticals' environmental fate studies are rare.

Interdisciplinary environmental studies require a lot of knowledge, one must take into account many factors such as the solubility of the substances as well as environmental factors (pH, salinity, temperature, etc.) coexistence ions and various other factors, of which the test substances can interact and also biological factors such as response (sensitivity) of the respective organisms from different trophic levels. There are three basic types of interaction between the factors in the environment:

- Additivity - the effect of the factors is the sum effect of various factors present in the mixture;

- Synergy - the effect of factors in total is greater than the sum of the effects of each factor separately;

- Antagonism - the effect of factors in total is lower than the sum of the effects of each factor separately.

The substances in the mixture may interact with each other living organisms, which can reduce or increase their toxicity depending on the sample matrix or observed organism or parameter (US EPA 2000 Wieczerzak *et al.* 2015).

Research carried out at the Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Technical University of Gdańsk are an attempt to determine the risk of exposure of organisms living on a mixture of selected pharmaceuticals and attempt to determine the possible interactions between them and physico-chemical factors.

Four chosen to study compounds from the group of biologically active pharmaceuticals are used in various treatments from non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), antidepressants, antibiotics.

Model substance selected for the tests: diclofenac (sodium salt), chloramphenicol, oxytetracycline hydrochloride, fluoxetine hydrochloride (Sigma Aldrich - Germany).

The study was performed using a bioassay battery consisting of Ostracodtoxkit F™, XenoScreen YES/YAS and Microtox®.

Like most pollution, residues of pharmaceuticals occur at low concentration levels, in which they do not directly contribute to the death of dwelling organisms in exposed ecosystem, but may contribute to the long-term and irreversible changes.

#### Literature:

- U. S. Environmental Protection Agency, "Supplementary Guidance for Conducting Health Risk Assessment of Chemical Mixtures", 2000, <http://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=20533>, access: march 2014
- Sytar O., *et al.*, Heavy Metal-Induced Oxidative Damage, Defense Reactions, and Detoxification Mechanisms in Plants, *Acta Physiologiae Plantarum*, **35**:985–99, 2013
- Wieczerzak M., Kudłak B., Namieśnik J., Environmentally Oriented Models and Methods for the Evaluation of Drug × Drug Interaction Effects, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **45**:131–55, 2015
- Wieloch M. *et al.*, Do Toxic Heavy Metals Affect Antioxidant Defense Mechanisms in Humans?, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **78**:195–205, 2012

## **Ekotoksykologiczna ocena wpływu wybranych farmaceutyków przed i po procesie oczyszczania fotokatalitycznego na *Vibrio fischeri* (Microtox®) i *Daphnia magna* (Daphtoxkit F)**

**2P**

CZECH B., OLESZCZUK P.

Zakład Chemii Środowiskowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin  
e-mail: [bczech@hektor.umcs.lublin.pl](mailto:bczech@hektor.umcs.lublin.pl)

*słowa kluczowe: farmaceutyki, fotokataliza, TiO<sub>2</sub>, ekotoksykologia*

Fotokataliza, jako jedna z Zaawansowanego Procesów Utleniania, stanowi metodę umożliwiającą całkowite usuwanie zanieczyszczeń organicznych z powietrza, wody czy ścieków [1,2]. Głównym czynnikiem utleniającym są rodniki \*OH, które mogą być generowane fizycznie (UV, ultradźwięki), chemicznie (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) czy fotokatalitycznie (TiO<sub>2</sub>/UV). W wyniku szybkiego i nieselektywnego działania rodników zanieczyszczenia są rozłożone do CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O i prostych kwasów nieorganicznych [3].

Za pomocą metod foto katalitycznych wiele związków może ulec rozłożeniu: pestycydy, WWA czy farmaceutyki. Ta ostatnia grupa jest szczególnie istotna, gdyż zarówno produkcja, jak i konsumpcja leków rośnie, a tym samym ich ilość w środowisku będzie rosła [4]. Głównym źródłem farmaceutyków w środowisku są ścieki komunalne i szpitalne. Ponieważ farmaceutyki notowane są w wodach powierzchniowych, a nawet podziemnych, świadczy to o tym, że obecnie stosowane metody oczyszczania ścieków nie są wydajne w usuwaniu tych związków [5]. Istnieje, zatem konieczność stosowania innych, bardziej wydajnych metod.

Najczęściej stosowanym fotokatalizatorem jest TiO<sub>2</sub>. Wynika to z faktu, że jest to tani, stabilny i wydajny materiał. Dwie jego wady: postać proszku i aktywność tylko w UV można pokonać np. za pomocą domieszkowania (metalami, niemetalam, półprzewodnikami) czy nośnikowania [6]. Wydajność metod fotokatalitycznych jest często mierzona jako ubytek stężenia badanego związku w czasie ( $c/c_0$ , gdzie  $c$  jest stężeniem mierzonym w czasie  $t$ ,  $c_0$  stężeniem początkowym). Takie podejście jednak nie obejmuje tworzenia produktów pośrednich, które mogą być oporne na dalsze utlenianie i całkowita mineralizacja nie będzie obserwowana. Skutkować to może wręcz wzrostem toksyczności ścieku po jego oczyszczeniu. Konieczne jest zatem poszukiwanie innych rozwiązań.

Do oceny skuteczności metod fotokatalitycznych można wykorzystać testy ekotoksykologiczne [7]. Zastosowanie biotestów umożliwia uzyskanie szybkiej i wiarygodnej odpowiedzi na temat skuteczności oczyszczania [8]. Do określenia skuteczności oczyszczania ścieków organizmy wodne powinny mieć zastosowanie. Zatem testy standardowe takie jak Daphtoxkit F™ (*Daphnia magna*) i Microtox® (*Vibrio fischeri*) zyskują na popularności. Niemniej ich zastosowanie do oceny jakości oczyszczonych ścieków zawierających farmaceutyki jest znikome. Generalnie wiele farmaceutyków jest toksycznych dla organizmów a wartości EC<sub>50</sub> mieszczą się w granicach 39.9 – 69.8 mg/L (*D. magna*) czy 11.45 mg/L (*V. fischeri*) dla DCF [8].

Podjęto zatem próby oszacowania skuteczności oczyszczania ścieków zawierających farmaceutyki [8]. Jako zanieczyszczenia modelowe wybrano leki z różnych grup terapeutycznych: przeciw zapalny i przeciw gorączkowy diklofenak (DCF), β-bloker metoprolol (MT) i środek przeciwbakteryjny chloramfenikol (CPL). Toksyczność oszacowano dla ścieków przed oczyszczeniem, po oczyszczeniu fotokatalitycznych (przez 4 godz.) i po około 2 miesiącach od zaprzestania oczyszczania. Czas ten ma kluczowe znaczenie z punktu widzenia biodegradacji. Naświetlanie inicjowało reakcje łańcuchowe, które biegły po zakończeniu naświetlania.

Uzyskane dane potwierdziły, że ścieki nieoczyszczone mogą być zaklasyfikowane do III klasy toksyczności zgodnie z kryteriami ujętymi w Directive 79/831/EEC (Tabela 1) biorąc pod uwagę  $EC_{50}$  uzyskane dla *D. magna*. Oczyszczanie skutkowało zmniejszeniem toksyczności dla *D. magna*. Toksyczność CPL i MT zmniejszyła się po oczyszczeniu odpowiednio o 60% i 40%. W przypadku ścieków ocenianych po 2 miesiącach od oczyszczania, produkty utlenienia DCF były zdecydowanie mniej toksyczne. Natomiast produkty utlenienia MT, choć o początkowo niższej toksyczności, zwiększały immobilizację *D. magna* dla stężeń powyżej 25 mg/L.

Tabela 1. Zmiany toksyczności ścieków uwzględniając kategorie wg. Dyrektywy 79/831/EEC: bardzo toksyczny ( $EC_{50} \leq 1$  mg/L); toksyczny ( $1 \text{ mg/L} < EC_{50} \leq 10 \text{ mg/L}$ ); szkodliwy ( $10 \text{ mg/L} < EC_{50} \leq 100 \text{ mg/L}$ ).

farmaceutyk	ścieki nieoczyszczone $EC_{50}$ (mg/L)	Oczyszczone ścieki $EC_{50}$ (mg/L)	ścieki po 60 dniach od oczyszczania $EC_{50}$ (mg/L)
<i>D. magna</i> 24h			
DCF	toksyczny	toksyczny	szkodliwy
CPL	toksyczny	szkodliwy	nietoksyczny
MT	toksyczny	szkodliwy	szkodliwy
<i>V. fischeri</i>			
DCF	szkodliwy	toksyczny	szkodliwy
CPL	szkodliwy	szkodliwy	szkodliwy ≈ nietoksyczny
MT	szkodliwy	nietoksyczny	nietoksyczny

Wyniki wskazują, że fotokatalityczne oczyszczanie ścieków zawierających badane zanieczyszczenia było skuteczne z punktu widzenia mineralizacji, degradacji i detoksykacji. Zatem proces ten może być z powodzeniem polecony jako etap wstępny czy końcowy oczyszczania. Największą wrażliwość na badane ścieki wykazała *D. magna*, co wskazuje, że ten organizm powinien być wykorzystywany do testowania skuteczności fotokatalitycznych metod oczyszczania ścieków zawierających farmaceutyki.

#### Literatura:

- [1] D. Friedmann, C. Mendive, D. Bahnemann, Appl. Catal. B Environ. 99 (2010) 398–406.
- [2] M.Y. Guo, F. Liu, Y.H. Leung, A.M.C. Ng, A.B. Djurišić, W.K. Chan, Curr. Appl. Phys. 13 (2013) 1280–1287.
- [3] J.-M. Herrmann, Appl. Catal. B Environ. 99 (2010) 461–468.
- [4] M. Carballa, F. Omil, T. Ternes, J.M. Lema, Water Res. 41 (2007) 2139–2150.
- [5] H.-R. Buser, T. Poiger, M.D. Müller, Environ. Sci. Technol. 32 (1998) 3449–3456.
- [6] J. Ananpattarachai, P. Kajitvichyanukul, S. Seraphin, J. Hazard. Mater. 168 (2009) 253–261.
- [7] K. Fischer, M. Kühnert, R. Gläser, A. Schulze, RSC Adv. 5 (2015) 16340–16348.
- [8] B. Czech, I. Joško, P. Oleszczuk, Ecotoxicol. Environ. Saf. 104 (2014) 247–253.

## **Ecotoxicological evaluation of selected pharmaceuticals to *Vibrio fischeri* (Microtox®) and *Daphnia magna* (Daphtoxkit F) before and after photooxidation process**

CZECH B., OLESZCZUK P.

Department of Environmental Chemistry, Faculty of Chemistry, Maria Curie-Skłodowska University, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin  
e-mail: [bczech@hektor.umcs.lublin.pl](mailto:bczech@hektor.umcs.lublin.pl)

*keywords:* pharmaceuticals, photocatalysis,  $TiO_2$ , ecotoxicity

Photocatalysis, as one of the Advanced Oxidation Process, is widely recognized method that enables the total removal of almost all organic pollutants from air, water or wastewater [1,2]. The main driving force are  $^{\bullet}OH$  radicals that can be generated physically (UV, ultrasounds), chemically ( $H_2O_2$ ) or photocatalytically ( $TiO_2/UV$ ). The result of radicals nonselective and quick action is decomposition of pollutants into  $CO_2$ ,  $H_2O$  and simple inorganic acids [3].

Many groups of pollutants can be decomposed using photocatalysis: pesticides, PAHs, pharmaceuticals. The last group is a great concern as the growing production and consumption will result in their increased release into environment [4]. The main routes of pharmaceuticals introduction into environment are both hospital ad municipal wastewater. As pharmaceuticals are noted in surface water or even in ground water, it indicates that presently applied wastewater treatment methods are inefficient in their removal [5]. Though new efficient methods are required to meet the standards for treated wastewater.

One of the mostly applied photocatalysts is  $TiO_2$ . It's widely used as it is cheap, stable and efficient material. The main two drawbacks: powder form and activity in UV region can be however omitted for example by doping (with metals, nonmetals, semiconductors) or application of supports [6]. The effectiveness of the photocatalytic process is often measured as the loss of concentration in time ( $c/c_0$ , where  $c$  is concentration measured at time  $t$ ,  $c_0$  initial concentration). This approach however did not include the formation of by-products that can be resistant to further decomposition and though total decomposition cannot be achieved. This may results in increased toxicity of the treated wastewater. A new approach, though, need to be undertaken.

The evaluation of the photocatalytic efficiency can be achieved ecotoxicological tests [7]. The application of bioassays enables to obtain quick and reliable answer about effect of treatment [8]. For the evaluation of the effectiveness of wastewater treatment tests that use water organisms can be successfully applied. Tests such as Daphtoxkit F<sup>TM</sup> (*Daphnia magna*) and Microtox® (*Vibrio fischeri*) gained popularity. However, their application in the qualitative analysis of photocatalytically treated waste water containing PPCPs is quite occasional. Generally, many PPCPs are considered to be toxic for the water organisms with EC<sub>50</sub> 39.9 – 69.8 mg/L (*D. magna*), 11.45 mg/L (*V. fischeri*) for DCF [8].

The effectiveness of the photocatalytic treatment of wastewater containing various pharmaceuticals was tested [8]. Model pollutants compounds belonging to different therapeutic class drugs: an analgesics and anti-inflammatory drug Diclofenac (DCF),  $\beta$ -blocker Metoprolol (MT) and antimicrobial agent Chloramphenicol (CPL) were selected.

The toxicity tests were provided for the untreated solutions of PPCPs, the model wastewater treated photocatalytically and model wastewater after the treatment, where the samples were left for ca. 2 months as this time span is crucial for DCF biodegradation and the UV irradiation induced chain reactions that ran after the end of irradiation.

The obtained data indicated that untreated pharmaceutical wastewater, according to EC<sub>50</sub> values obtained for *D. magna*, should be classified as III class toxic compounds using the

criteria established according with the Directive 79/831/EEC (Table 1). The toxicity to *D. magna* of photocatalytically treated PPCPs solutions was generally reduced. The toxicity of CPL and MT after treatment was reduced at about 60% and 40%, respectively. And the toxicity of DCF oxidation products left for 60 days to *D. magna* was generally reduced in comparison to the model wastewater immediately after treatment. The results obtained for MT however indicate that MT oxidation products, although with initial lower toxicity, caused increased immobilization of *D. magna* at the concentration above 25 mg/L.

Table 1. The changes of the toxicity of wastewater in the contexts of toxicity categories established according with the Directive 79/831/EEC: very toxic ( $EC_{50} \leq 1$  mg/L); toxic ( $1 \text{ mg/L} < EC_{50} \leq 10$  mg/L); harmful ( $10 \text{ mg/L} < EC_{50} \leq 100$  mg/L).

Pharmaceutical	Raw wastewater $EC_{50}$ (mg/L)	After treatment $EC_{50}$ (mg/L)	After 60 days post treatment $EC_{50}$ (mg/L)
<i>D. magna</i> 24h			
DCF	toxic	toxic	harmful
CPL	toxic	harmful	non-toxic
MT	toxic	harmful	harmful
<i>V. fischeri</i>			
DCF	harmful	toxic	harmful
CPL	harmful	harmful	harmful≈non toxic
MT	harmful	Non toxic	Non-toxic

The results revealed that photocatalytical treatment of wastewater containing studied pollutants was efficient, both in mineralization and degradation, detoxification. Though the process may be proposed as the polishing or post-treatment method of PPCPs removal from model wastewater. The greatest sensitivity of *D. magna* suggests that these organisms should be used for testing the photocatalytic removal of pharmaceutical pollutants.

#### References:

- [1] D. Friedmann, C. Mendive, D. Bahnemann, Appl. Catal. B Environ. 99 (2010) 398–406.
- [2] M.Y. Guo, F. Liu, Y.H. Leung, A.M.C. Ng, A.B. Djurišić, W.K. Chan, Curr. Appl. Phys. 13 (2013) 1280–1287.
- [3] J.-M. Herrmann, Appl. Catal. B Environ. 99 (2010) 461–468.
- [4] M. Carballa, F. Omil, T. Ternes, J.M. Lema, Water Res. 41 (2007) 2139–2150.
- [5] H.-R. Buser, T. Poiger, M.D. Müller, Environ. Sci. Technol. 32 (1998) 3449–3456.
- [6] J. Ananpattarachai, P. Kajitvichyanukul, S. Seraphin, J. Hazard. Mater. 168 (2009) 253–261.
- [7] K. Fischer, M. Kühnert, R. Gläser, A. Schulze, RSC Adv. 5 (2015) 16340–16348.
- [8] B. Czech, I. Joško, P. Oleszczuk, Ecotoxicol. Environ. Saf. 104 (2014) 247–253.

## Zmiana toksyczności farmaceutyków podczas oczyszczania w systemach hydrofitowych

3P

KALKA J., ZACKIEWICZ J., FELIS E., NOWROTEK M., MIKSCH K.

Katedra Biotechnologii Środowiskowej Politechnika Śląska,  
44-100 Gliwice ul. Akademicka 2A,  
e-mail: [joanna.kalka@polsl.pl](mailto:joanna.kalka@polsl.pl)

*Słowa kluczowe:* *sufametoksazol, diklofenak, oczyszczalnie hydrofitowe, toksyczność*

Obecność farmaceutyków w środowisku budzi uzasadnione obawy w kontekście długotrwałego narażenia człowieka i innych organizmów na tą grupę mikrozanieczyszczeń. Pojawiają się one w środowisku przyrodniczym głównie wraz z wprowadzanymi tam oczyszczonymi ściekami. Dowodzi to niedoskonałości obecnie stosowanych systemów oczyszczania ścieków i uzdatniania wód. Poszukuje się zatem nowych rozwiązań tego problemu, to jest opracowanie technologii pozwalającej na skutecną eliminację tych środków z ścieków bytowych i miejskich. Są to najczęściej procesy hybrydowe łączące metody pogłębionego utleniania, procesy membranowe i utlenianie biologiczne. Z drugiej strony, zainteresowanie budzą także tzw. technologie „low-cost” np. wzorowane na zjawiskach zachodzących w systemach bagiennych, czyli w tzw. sztucznych mokradłach w skali technicznej zwanymi oczyszczalniami hydrofitowymi.

Przeprowadzony eksperyment miał na celu określenie skuteczności usuwania sulfametoksazolu i diklofenaku w modelowej oczyszczalni hydrofitowej o przepływie pionowym. Kolumny systemu hydrofitowego obsadzone były *Phalaris arundinacea*

Monitoring biotransformacji farmaceutyków dokonywany był za pomocą wysokosprawnego chromatografu cieczowego HPLC, sprzężonego z detektorem UV oraz tandemowym spektrometrem masowym LS-MS/MS . Oceniono także toksyczność ścieków odpływających z systemu hydrofitowego wobec *Vibrio fischeri*.

*Praca finansowana przez NCN w ramach grantu 2012/05/B/ST8/02739*

## **Detoxification of pharmaceuticals containing wastewater in constructed wetlands**

**KALKA J., ZACKIEWICZ J, FELIS E., NOWROTEK M., MIKSCH K**

Environmental Biotechnology Department, The Silesian University of Technology,  
44-100 Gliwice ul. Akademicka 2A,  
e-mail: [joanna.kalka@polsl.pl](mailto:joanna.kalka@polsl.pl)

### **Abstract**

The occurrence of pharmaceutical compounds in the environment raises concerns in the context of long-term exposure of human beings and other organisms. Pharmaceuticals appear in the natural environment mainly together with treated wastewater. This demonstrates the inadequacy of the current systems of wastewater treatment. There is a need to develop technology to effectively eliminate those compounds from domestic and urban wastewater. New treatment techniques are mostly hybrid processes combining advanced oxidation methods, membrane processes and biological oxidation. On the other hand, the growing interest are also attributed to "low-cost" technologies for example constructed wetlands.

An experiment was designed to determine the effectiveness of the removal of sulfamethoxazole and diclofenac in the model constructed wetlands with vertical flow. The columns were planted with *Phalaris arundinacea*

Monitoring of biotransformation products was performed using a high performance liquid chromatography coupled with UV detector and a tandem mass spectrometer LS-MS / MS. Toxicity of the effluent was also assessed against *Vibrio fischeri*.

# Wstępne wyniki oznaczeń toksykologicznych płynów technologicznych stosowanych w procesie pozyskiwania gazów z pokładów łupkowych

4P

KUDŁAK B. <sup>a\*</sup>, WIECZERZAK M. <sup>a</sup>, NAMIEŚNIK J. <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańsk,  
ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

\* adres do korespondencji elektronicznej: [blakudla@pg.gda.pl](mailto:blakudla@pg.gda.pl)

*Słowa kluczowe:* gazy łupkowe, toksyczność płynów technologicznych, toksyczność osadów, szczelinowanie, Microtox®, Ostracodtoxkit F<sup>TM</sup>, Phytotoxkit F<sup>TM</sup>

Gaz łupkowy (z ang. *shale gas*), określany mianem błękitnego paliwa zaliczany jest do złóż niekonwencjonalnych. Pod pojęciem tym kryją się takie zasoby gazu ziemnego, które z technicznego punktu widzenia są trudniejsze w eksploatacji i mniej opłacalne na tle znanych złóż konwencjonalnych. Wciąż rosnące zapotrzebowanie na gaz, chcąc zapewnienia bezpieczeństwa energetycznego kraju i wzmacnienia pozycji na rynku, a także ogromne nadzieję na szybszy rozwój gospodarczy dodatkowo piętnują zainteresowanie tym złożem. W obliczu kurczących się zasobów zasilających złoża konwencjonalne, gaz z formacji łupkowych stanowi nowe, cenne źródło surowca energetycznego. Należy być świadomym, iż na drodze do ekonomicznego wykorzystania złóż gazu łupkowego stoi szereg wyzwań. Prace prowadzone na złóżach niekonwencjonalnych wymagają odmiennego traktowania niż w przypadku złóż tradycyjnych. W celu prawidłowego rozpoznania, a następnie udostępnienia złoża konieczne jest opracowanie odpowiednich metod badawczych, dostarczających dokładnych i precyzyjnych informacji na temat ośrodka skalnego. Jednak największą przeszkodą na drodze do sukcesu są kosztowne i wysoce zaawansowane technologicznie prace wiertnicze oraz szczelinowanie hydrauliczne.

Termin *shale gas* odnosi się do gazu ziemnego zawartego w silnie zdiagenezowanych skałach ilasto-mułowcowych, które charakteryzuje mała przepuszczalność na skutek niskiej porowatości skały. Gaz ten osadzony jest na częściach skał, które łatwo ulegają kruszeniu, potocznie zwane łupkami. Złoża te zaliczane są do złóż niekonwencjonalnych, z racji mniejszej opłacalności wydobycia oraz stopnia skomplikowania tego procesu. Niestety na chwilę obecną, poza firmami amerykańskimi, tylko nieliczne międzynarodowe koncerny (np. Total, Schlumberger, BP) potrafią efektywnie eksploatować pokłady tych złóż. Główną przeszkodą są drogie i zaawansowane technologicznie wiercenia poziome na dużych głębokościach, a także niedopracowane jeszcze technologie hydraulicznego szczelinowania, pozwalające na tworzenie sieci szczelin łączących powierzchnie skał z otworem eksploatacyjnym.

W procesie szczelinowania wyodrębniamy następujące etapy:

- otwarcie szczelin – zataczanie płynu szczelinującego, zazwyczaj bez proppantu, następuje inicjacja i propagacja szczelin;
- zataczanie proppantu – odpowiada za podparcie szczelin i zabezpiecza przed ich zamknięciem;
- przepłukanie otworu – zazwyczaj z udziałem zwykłej wody, ma na celu oczyszczenie odwieru z proppantu.

Dzięki wykorzystaniu szeroko rozwiniętych programów informatycznych możliwe jest określenie parametrów technologicznych, a wśród nich ciśnienia, strumienia objętości wtłaczanego płynu hydraulicznego, jego skład chemiczny, ilość proppantu.

Zaplanowane badania zakładały analizę rzeczywistych oddziaływań prowadzonych prac wydobywczych na wszystkie elementy środowiska: atmosferę, powierzchnię terenu, grunt,

wody powierzchniowe i podziemne w obszarach: 1) Lubocina: odwiert Lubocino 2-H, PGNiG, koncesja Wejherowo; 2) Starego Miasta odwiert Stare Miasto, Eni, koncesja Elbląg. 3) Syczyna: odwiert Syczyn OU-2, Orlen UpStream, koncesja Wierzbica; 4) Wysina: odwiert Wysin, PGNiG, koncesja Stara Kiszecka; 5) Zawady: odwiert Zwierzyniec, Chevron, koncesja Zwierzyniec; 6) Łebienia: odwiert Łebień LE-2H, Lane Energy, koncesja Lębork; 7) Gapowa: odwiert Gapowo, BNK, koncesja Bytów, jednak przedstawione tutaj rezultaty obejmują tylko wyniki oznaczeń toksykologicznych w wybranych lokalizacjach gdzie przeprowadzono pełen cykl prac wydobywczych.

W próbkach odpadów i płynów technologicznych oznaczano toksyczność wobec następujących gatunków organizmów: bakterii *Vibrio fischeri* (ekstrakty wodne i ciecz), skorupiaka *Heterocypris incongruens* i gorczyki *Sinapis alba* (próbki stałe oraz ekstrakty wodne i ciecz). Wymienione gatunki organizmów dobrano celem oszacowania poziomu toksyczności wobec możliwie szerokiej gamy organizmów z różnych poziomów troficznych (producenci, konsumenci, destruenci). Ponadto dokonując wyboru baterii biotestów należało uwzględnić fakt występowania próbek stałych (plony technologiczne zawierające zwierciny itp.) – test Ostracodtoxkit F<sup>TM</sup> jest najlepiej poznany i pierwszym biotestem bezpośredniego kontaktu skorupiaków z osadami/glebami próbek słodkich i słonawych.

W przypadku wszystkich lokalizacji dostarczone próbki wód nie stanowią zagrożenia ekotoksykologicznego zarówno pod względem ostrym jak i chronicznym. Zagrożenie ekotoksykologiczne stanowią próbki proppantu – wykazują one wysoki poziom toksyczności nawet po rozcieńczeniu – zwłaszcza w rozumieniu toksyczności ostrej. Wysokim poziomem toksyczności chronicznej charakteryzują się próbki osadów i zwierciń – nawet bardzo wysoce rozcieńczone próbki wywoływały bardzo dużą śmiertelność badanych skorupiaków choć w przypadku toksyczności wobec organizmu roślinnego widoczny jest wyraźny spadek toksyczności. W przypadku próbek płynu zwrotnego widać spadek poziomu toksyczności wraz z upływem czasu a zatem z ubytkiem pozostałości płynu szczelinującego w odwiercie. Wysoce toksyczne pod względem chronicznym są próbki niektórych osad pozabiegowych, pomimo przeprowadzenia ekstrakcji osad nadal pozostawał toksyczny chociaż w zauważalnie niższym stopniu, osad ten stanowi zagrożenie dla organizmów żywych i należy ściśle przestrzegać procedur bezpieczeństwa podczas wszystkich etapów cyklu życia osadu.

## **Initial results on determination of toxicity level of technological fluids utilized during shale gas extraction**

KUDŁAK B.<sup>a\*</sup>, WIECZERZAK M.<sup>a</sup>, NAMIEŚNIK J.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Gdańsk University of Technology, G. Narutowicza Str. 11/12, 80-233 Gdańsk  
\*electronic correspondence address: [blakudla@pg.gda.pl](mailto:blakudla@pg.gda.pl)

**Keywords:** shale gas, technological fluids' toxicity, sediments' toxicity, fracturing, Microtox®, Ostracodtoxkit F<sup>TM</sup>, Phytotoxkit F<sup>TM</sup>

Shale gas, also called blue gas, is believed to be non-conventional one. This term covers such deposits of methane being more difficult to extract and less efficient from economic point of view than traditional deposits. Continuously increasing demand for gas, will of assuring energy safety of a country and enforcing market position make interest in this kind of deposits increase. On the other hand one should be aware that there are numerous obstacles facing the economically efficient utilization of such gas. Technological processes conducted in the nonconventional deposits greatly differ from conventional ones and even between different

geological regions. However the most costs-generating and technologically advanced are drilling processes and hydraulic fracturing.

The “shale gas” term refers to gas captured in strongly diagenised clay-siltstone rocks characterized with low permeability due to low porosity of such rocks. This gas is deposited at the particles easily undergoing the fracturing – shales. Unfortunately until now despite some North American companies (e.g. Total, Schlumberger, BP) none is capable of exploring these deposits. The main obstacles are high costs and technological advancements of horizontal drilling at high depths, as well as not-fully elaborated technologies of hydraulic fracturing enabling creation of fractures’ cobwebs connecting the rocks with the exploratory drill. There are 3 main stages of fracturing:

- fractures’ opening – pumping the fracturing fluid, most often without proppant, initiation and propagation,
- pumping the proppant – responsible for full opening of fractures and preventing from their close up,
- drill hole flushing – usually with regular water in order to clean it from the proppant fluid.

Thanks to informatics it is possible to virtually determine composition of the technological fluids, including the pressure, volume of pumped fluids, its chemical composition etc.

The studies planned included analyses of real impact of conducted processes on all environmental compartments in the vicinity of drilling platforms: atmosphere, surface, ground, soil, surface and ground waters in the regions: 1) Lubocino 2) Stare 3) Syczyn 4) Wysin 5) Zawada 6) Łebień 7) Gapowo, however results presented here cover only toxicological ones in locations where full fracturing cycle took place.

In the samples of technological wastes and fluids the toxicity was determined to the following organisms: *Vibrio fischeri* (water extracts and fluids), crustacean *Heterocypris incongruens* and *Sinapis alba* (solids and aqueous extracts and fluids). These organisms were selected to cover possibly wide trophic levels and studies on both fluids and solids in a cost-efficient manner.

In case of all locations the water samples did not pose ant ecotoxicological threat both from chronic and acute point of view. It is not the case of the proppant samples being highly toxic even after serial dilution – especially in case of acute toxicity to bacteria. From the chronic toxicity point of view the samples of sediments and drill cuttings are very dangerous for the environment, especially to crustaceans. In case of backflow fluids one can notice significant decrease of toxicity with time. However the highest threat is posed by the sediments present in post-technological fluids – despite extraction the sediments kept on toxic and special safety measures must be taken into account when dealing with this type of waste material.

## Ocena toksyczności wybranych nanocząstek w obecności surfaktantów

JOŚKO I.<sup>a</sup>, SKWAREK E.<sup>b</sup>, BOGUSZ A.<sup>c</sup>, OLESZCZUK P.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Instytut Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

<sup>b</sup> Zakład Radiochemii i Chemii Koloidów, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

<sup>c</sup> Zakład Chemii Środowiskowej, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

[izabela.josko@up.lublin.pl](mailto:izabela.josko@up.lublin.pl)

*Słowa kluczowe:* nanocząstki, surfaktanty, ocena toksyczności, fitotoksyczność

Zwiększająca się produkcja i użycie nanocząstek (NP), wchodzących w skład szerokiej gamy produktów, skutkuje uwalnianiem ich do środowiska. NP w różnych komponentach środowiska mogą podlegać działaniu składników matryc, które mogą wpływać na zachowanie i toksyczność NP. Przykładem takich związków są surfaktanty. Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu surfaktantów na toksyczność trzech rodzajów NP: nano-ZnO, nano-TiO<sub>2</sub>, nano-Ni. Badano oddziaływanie trzech surfaktantów: bromek centrymonium (CTAB), kwas 4-dodecylobenzenosulfonowy sodu (SDBS), triton X-100 (TX-100). Do oceny toksyczności wykorzystano dwa testy: DAPHTOXKIT F<sup>TM</sup> (rozwielitka, *Daphnia magna* jako organizm testowy) i test kielkowania/elongacji korzeni (rzeżucha, *Lepidium sativum*) (OECD 1984). Ponadto zostały wykonane analizy mikroskopowe (skaninowa i transmisyjna mikroskopia elektronowa) oraz analizę wielkości cząstek i potencjału  $\zeta$  (spektroskopia korelacji fotonowej) w celu charakterystyki i obserwacji nanocząstek w obecności surfaktantów. W badaniach zastosowano szeroki zakres stężeń NP (0.5 – 1000 mg/L), natomiast surfaktanty zostały dodane do roztworów w stężeniu nietoksycznym dla *L. sativum* i *D. magna*.

Wyniki pokazały, że wpływ surfaktantów na toksyczność nanocząstek był uzależniony od zastosowanego biotestu. Toksyczność NP w stosunku do *D. magna* uległa zmniejszeniu pod wpływem surfaktantów. Jednak poziom redukcji toksyczności był uzależniony od rodzaju i stężenia NP, a także od rodzaju zastosowanego surfaktantu. Największy spadek toksyczności nano-ZnO nastąpił pod wpływem CTAB, podczas gdy poziom toksyczności nano-TiO<sub>2</sub> uległ największej redukcji w obecności TX-100. W przypadku nano-Ni, wpływ surfaktantów był uzależniony od stężenia NP. Przy mniejszych stężeniach nano-Ni, nie obserwowało różnic między wpływem poszczególnych surfaktantów, podczas gdy przy stężeniu 100 i 1000 mg/L największą redukcję toksyczności charakteryzowała się CTAB. W przeciwnieństwie do testu DAPHTOXKIT F<sup>TM</sup>, fitotest wykazał w większości przypadków zwiększenie toksyczności NP w obecności surfaktantów. Podobnie jak przy zastosowaniu testu z *D. magna*, również w stosunku do *L. sativum* zmiany toksyczności były uzależnione od rodzaju NP i surfaktantów oraz stężenia NP.

*Badania zostały zrealizowane z wykorzystaniem aparatury zakupionej ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (projekt POIG.02.01.00-06-024/09 Centrum Nanomateriałów Funkcjonalnych).*

## The assessment of selected nanoparticles toxicity in the presence of surfactants

JOŠKO I.<sup>a</sup>, E. SKWAREK<sup>b</sup>, A. BOGUSZ<sup>c</sup>, P. OLESZCZUK<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Institute of Plant Genetics, Breeding and Bionanotechnology, University of Life Sciences in Lublin

<sup>b</sup> Department of Radiochemistry and Colloid Chemistry, Maria Curie Skłodowska University in Lublin

<sup>c</sup> Department of Environmental Chemistry, Maria Curie Skłodowska University in Lublin

[izabela.josko@up.lublin.pl](mailto:izabela.josko@up.lublin.pl)

**Keywords:** nanoparticles, surfactants, toxicity assessment, phytotoxicity

Rising production and using of different nanoparticles (NP) result in their releasing to the environment. In the different components of environment, NP face the various compounds (for example surfactants), which may impact on the behavior and toxicity of NP. The objective of the study was the estimation of the effect of surfactants on the toxicity of nanoparticles: nano-ZnO, nano-TiO<sub>2</sub> and nano-Ni towards *Daphnia magna* and *Lepidium sativum*. The effect of hexadecyltrimethylammonium bromide (CTAB), Triton X-100 (TX100) and 4-dodecylbenzenesulfonic acid (SDBS) was tested. The Microbiotest – Daphtoxkit F<sup>TM</sup> and the germination/elongation test (OECD 1984) were applied for the toxicity testing. Additionally, the scanning and transmission electron microscopy (SEM and TEM) and the analysis of particle size and  $\zeta$  potential (photon correlation spectroscopy) were conducted to the characterization and observation of NP in the presence of surfactants. In these studies, the wide range of NP concentrations (0.5-1000 mg/L) was used, whereas the surfactants were added to the solutions at non-toxic doses (for *D. magna* and *L. sativum*).

The results showed that the influence of surfactants on NP toxicity was determined by the using biotest. The addition of NPs to a solution of the surfactants caused a significant reduction of their toxicity. The range of reduction of the toxicity of the ENPs depended on the kind of the ENPs and their concentration in the solution, and also on the kind of surfactant. For nano-ZnO the greatest reduction of toxicity was caused by CTAB, while for nano-TiO<sub>2</sub> the largest drop of toxicity was observed after the addition of TX100. In the case of nano-Ni, the effect of the surfactants depended on its concentration. In the range of the lowest concentrations tested no differences were noted among the surfactants, while at nano-Ni higher concentrations (100 and 1000 mg/L) the best reduction of toxicity of nano-Ni was characteristic of CTAB. In contrast to DAPHTOXKIT F<sup>TM</sup>, the phytotest showed the increase of NP toxicity in the presence of surfactants in the most of cases. However, range of phytotoxicity changes was determined by the kind of NP and surfactants as well as the concentration of NP.

*The research was carried out with the equipment purchased thanks to the financial support of the European Regional Development Fund in the framework of the Polish Innovation Economy Operational Program (contract no. POIG.02.01.00-06-024/09 Center of Functional Nanomaterials).*

## Ocena jakości osadów jezior przymorskich na podstawie badań biologicznych, analitycznych i toksykologicznych

BIGUS K.<sup>1</sup>, ASTEL A.<sup>1</sup>, OBOLEWSKI K.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Chemii Środowiskowej Akademia Pomorska, ul. Arciszewskiego 22a,  
76-200 Słupsk

<sup>2</sup> Zakład Hydrobiologii, Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, ul. Jana Karola Chodkiewicza  
30, 85-064 Bydgoszcz  
e-mail: [kbigus@apsl.edu.pl](mailto:kbigus@apsl.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* jeziora przymorskie, makrofauna, metale ciężkie

Jeziora przymorskie to zbiorniki wodne, które zostały całkowicie oddzielone od morza przez mierzeję, zatokę, lagunę lub liman. Skutkiem tego jest stopniowe wypieranie wód morskich i zastępowanie ich wodami słodkimi. Są to zazwyczaj rozległe i płytke zbiorniki. Ich cechą charakterystyczną jest duże falowanie, eutrofizacja, dobre natlenienie wód oraz ich duża mętność.

W niniejszej pracy przedstawiono wyniki badań jakości osadów wybranych jezior przymorskich (Łebsko, Gardna, Sarbsko, Dołgie Wielki, Ptasi Raj). W tym celu w osadach oznaczano stężenie metali ciężkich (Zn, Cu, Ni, Mn, Fe), skład gatunkowy makrofauny dennej oraz toksyczność osadów. Oszacowanie jakości osadów jezior o różnej łączności z morzem pozwoli w pełni poznać sposób funkcjonowania ekosystemów jezior przymorskich oraz oszacować zmiany jakim będą podlegały takie ekosystemy w związku ze zwiększającą się antropopresją w strefie przybrzeżnej.

Makrofauna jest ważnym ogniwem łańcuchów pokarmowych w jeziorze i odgrywa znaczącą rolę w funkcjonowaniu jeziora. Wykazuje ona silne powiązanie ze stopniem eutrofizacji wód, jednak jej występowanie w dużym stopniu zależy od czynników lokalnych, toteż zróżnicowanie zespołów może być bardzo duże w zależności od stanowiska.

Kondycję ekologiczną jezior przymorskich oszacowano na podstawie zmiany jakościowo – ilościowej fauny dennej. W tym celu oszacowano dwa parametry: zagęszczenie i biomasę makrofauny. Makrofauna badanych jeziora w czasie całego okresu badań reprezentowana była przez pięć taksonów: Oligochaeta, Crustacea, Insecta, Bivalvia i Gastropoda. Spośród badanych jezior największą bioróżnorodnością charakteryzowało się jezioro Łebsko. Zaobserwowano tam występowanie wszystkich pięciu taksonów. W osadach jezior Ptasi Raj, Gardno i Sarbsko stwierdzono obecność czterech taksonów. Najmniejszą bioróżnorodnością charakteryzowało się jezioro Dołgie Wielkie, gdzie zaobserwowano obecność tylko Oligochaeta i Insecta. Największą liczbę taksonów w jeziorach Gardno i Dołgie Wielkie zaobserwowano w sezonie wiosennym. W jeziorach Sarbsko i Ptasi Raj największa liczba taksonów występowała w sezonie letnim, natomiast w jeziorze Łebsko w sezonie jesiennym. Różnice w składzie jakościowym i ilościowym makrozoobeżntosu wynikają z różnego stopnia łączności jeziora z morzem. Odcięcie jezior od zasilania wodami słonymi wpływa na niekorzystną zmianę stanu ekologicznego akwenów przymorskich. Jezioro Łebsko, które jest jeziorem lagunowym, całkowicie otwartym posiada największą liczbę taksonów. Jezioro Dołgie Wielkie jest całkowicie zamkniętym jeziorem wśród wydmowym i z tego względu zaobserwowano w nim najmniejszą liczbę taksonów.

Wśród pięciu badanych metali ciężkich w osadach wybranych jezior zaobserwowano największe stężenie żelaza ( $10,27 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ). W badanych osadach miedź charakteryzowała się najmniejszym stężeniem i wynosiło ono  $7,81 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ . W osadach pochodzących z Łebska zaobserwowano największe stężenie takich metali jak: mangan, miedź i żelazo. Największą zawartość cynku stwierdzono w osadach pochodzących z jeziora Dołgie Wielkie, natomiast niklu w osadach pochodzących z Sarbska.

Wszystkie jeziora słonawe mają własną specyfikę hydrologiczno-ekologiczną. Różnią się poziomem zasolenia oraz dopływem wód słodkich i słonych. Czynniki te mają wpływ na skład chemiczny osadów, skład gatunkowy fauny dennej oraz toksyczność tych ekosystemów.

## An assessment of sediments of coastal lakes quality based on biological, analytical and toxicological research

BIGUS K.<sup>1</sup>, ASTEL A.<sup>1</sup>, OBOLEWSKI K.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Environmental Chemistry Research Unit, Pomeranian University,  
22a Arciszewskiego Str., 76-200 Słupsk

<sup>2</sup> Department of Hydrobiology, University of Kazimierz Wielki,  
30 Jana Karola Chodkiewicza Str., 85-064 Bydgoszcz  
e-mail: [kbigus@apsl.edu.pl](mailto:kbigus@apsl.edu.pl)

*Key-words:* *coastal lakes, macrofauna, heavy metals*

Coastal lakes are water reservoirs that have been completely separated from the sea by a spit, the bay, lagoon or lake. This is why gradual displacement of marine waters and replacing them with freshwater takes place. Coastal lakes are generally broad and shallow reservoirs. Their characteristic feature is substantial wavy motion, eutrophication, good oxygenation of the water and their high turbidity.

This paper presents the results of sediment quality assessment in selected coastal lakes (Łebsko, Gardno, Sarbsko, Dołgie Wielki, Ptasi Raj). For this purpose, the concentration of heavy metals (Zn, Cu, Ni, Mn, Fe), species composition of benthic macrofauna and sediment toxicity were determined. Estimation of sediment quality in lakes of different communication with the sea allows fully understanding the functioning of sea lakes ecosystems and estimating the changes which will be subject to such ecosystems due to increasing anthropopressure in the coastal zone.

Macrofauna is an important link in the food chain in the lake and plays a significant role in the functioning of the lake. It shows a strong link with the degree of eutrophication, but its occurrence is highly dependent on local factors, so the diversity of species can be very large depending on the sampling place position. The ecological condition of the sea lakes was estimated based on the change in quality and quantity of the benthic fauna. For this purpose two parameters were evaluated: the density and amount of macrofauna biomass. Macrofauna in the investigated lakes during the entire study period was represented by five taxa: Oligochaeta, Crustacea, Insecta, Bivalvia and Gastropoda. Among of investigated lakes the Łebsko lake was characterized by the highest biodiversity. There was observed the presence of all five taxa. In the sediments of Ptasi Raj, Gardno and Sarbsko lakes four taxa were identified. The lowest biodiversity was found in Dołgie Wielkie, where only Oligochaeta and Insecta appeared. The greatest number of taxa in lakes Gardno and Dołgie Wielkie was observed the Spring. In lakes Sarbsko and Ptasi Raj the highest number of taxa occurred in Summer, while in Łebsko lake in Autumn. The differences in the qualitative and quantitative composition of macrozoobenthos result from the various connectivity of the lakes with the sea. Cut off from the supply of salty water influences on unfavorable changes of ecological status of coastal water reservoirs. The Łebsko lake, which is a fully opened lagoon lake has the largest number of taxa, while Dołgie Wielkie lake being fully closed lake located between dunes was characterized by the lowest number of taxa.

Among five of heavy metals determined in bottom sediments of the investigated coastal lake the highest concentration was determined for iron ( $10,27 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ). In the studied sediment s the lowest concentration was determined for copper ( $7,81 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ). The sediments from Łebsko shown

the highest concentration of such metals as manganese, copper and iron. The highest zinc content was found in sediments from Dołgie Wielkie lake, while nickel from Sarbsko.

All brackish lakes have their own hydrological and ecological characteristics. They differ in the level of salinity and inflow of fresh and salt waters. These factors affect the chemical composition of the sediments, benthic fauna species composition and toxicity.

## Ocena jakości środowiska wodnego przy zastosowaniu próbników pasywnych oraz krótkoterminowych testów bakteryjnych

7P

POGORZELEC M., TRUSZ-ZDYBEK A., PIEKARSKA K.

Politechnika Wrocławска  
Wydział Inżynierii Środowiska  
Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki  
ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław  
[katarzyna.piekarska@pwr.edu.pl](mailto:katarzyna.piekarska@pwr.edu.pl)

*Słowa kluczowe: woda przeznaczona do spożycia, uzdatnianie wody, sieć wodociągowa, ekstrakcja, żywice jonowymienne, syntetyczne błony półprzepuszczalne*

Woda wodociągowa, ze względu na swoją powszechność, wykorzystywana jest jako woda do picia, dlatego jest podstawowym źródłem wymiany wody w organizmie. W związku z tym nie może ona zawierać potencjalnie szkodliwych dla zdrowia substancji i drobnoustrojów, a jednocześnie powinna zawierać składniki niezbędne do prawidłowego przebiegu przemian metabolicznych. Woda powierzchniowa ujmowana na cele komunalne zawiera zidentyfikowanych ponad 2 tysiące związków organicznych, wśród których możemy wyróżnić: naturalne ziązki organiczne (pozostałości przemian chemicznych i biologicznych związków zawartych w biomasie organizmów wodnych oraz ich metabolitów) oraz związki organiczne pochodzenia antropogenicznego, wśród których mogą być obecne substancje szczególnie uciążliwe dla środowiska, oporne na biodegradację takie jak: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), chlorowane pestycydy (CL-PEST), polichlorowane bifenyle (PCB), dibenzofurany (PCDFs) i dibenzo-p-dioksyny (PCDDs).

Stale udoskonalane metody oczyszczania wody poprzez modyfikacje procesów i układów technologicznych nie zapewniają utrzymania stabilności chemicznej i biologicznej wody wprowadzanej do sieci wodociągowej. Powoduje to, że jakość wody u odbiorców jest często inna niż jakość wody wprowadzanej do sieci wodociągowej, gdyż ulega ona wtórnemu zanieczyszczeniu w systemie dystrybucji. Znajdujące się w wodzie powierzchniowej związki organiczne pochodzenia naturalnego i antropogenicznego, w procesie dezynfekcji wody tworzą tzw. produkty uboczne (UPD), które stanowią jeden z czynników odpowiedzialnych za choroby nowotworowe u ludzi. Dezynfekcja wody wodociągowej metodami chemicznymi polega na dawkowaniu do niej silnych utleniaczy, dlatego też podczas dezynfekcji wód zawierających związki organiczne i nieorganiczne równolegle do tego procesu przebiegają procesy przemiany związków organicznych i nieorganicznych. W czasie chlorowania wody wodociągowej powstają takie uboczne produkty dezynfekcji jak: trihalometany (THM), kwasy halogenooctowe, chlorofenole, halogenoketony, halogenonitryle, trichlorobenzeny, hydroksyfurany, MX, czyli 3-chloro-4(dichlorometylo)-5-hydroksy-2(5H)-furanon oraz halogenowe związki organiczne (AOX). Wiele z nich charakteryzuje się działaniem toksycznym, mutagennym, genotoksycznym, czy też rakotwórczym. Związki mutagenne mogą się także tworzyć podczas dystrybucji wody w sieci wodociągowej, np. w trakcie reakcji pozostałygo chloru z naturalną materią organiczną lub z produktami korozji mikrobiologicznej i chemicznej materiałów z których zbudowana jest sieć wodociągowa.

Wykrycie oraz identyfikacja substancji obecnych w wodzie wodociągowej w oparciu o analizę chemiczną jest kosztowna i wymaga zastosowania nowoczesnych technik analitycznych. Ponadto, ze względu na to, iż nie wszystkie związki chemiczne zostały poznane lub występują w ilościach śladowych, znajdują się one poza możliwościami analitycznymi metod instrumentalnych. Analiza chemiczna nie może więc być podstawą do prognozowania biologicznych skutków jakie mogą wywołać zanieczyszczenia na organizmy żywe. Stąd też istnieje konieczność zastosowania w kontroli jakości środowiska wodnego, obok metod

analitycznych, badań bioindykacyjnych. W badaniach tych kluczową pozycję zajmują bakteryjne testy krótkoterminowe *in vitro*. Często stosowaną metodą w badaniach oceny mutagenności próbek wody jest bakteryjny test *Salmonella*, zwany inaczej od nazwiska jego twórcy testem Ames. Rezultaty testów Amesa potwierdzane są też innymi testami pozwalającymi na ocenę genotoksyczności wody do picia (SOS-Chromotest, Test Umu, Vitotox, Mutatox, Test bioluminescencyjny z *Vibrio harveyi*). Przeprowadza się także ocenę toksyczności wody przy zastosowaniu testu Microtox oraz jej cytotoxiczności z zastosowaniem linii komórkowych. Równocześnie metodami chemicznymi poszukuje się markerów odpowiedzialnych za mutagenność wody przeznaczonej do spożycia.

W Zakładzie Biologii i Ekologii (obecnie Biologii Sanitarnej i Ekotechniki) Politechniki Wrocławskiej do oceny potencjalnych właściwości mutagennych i rakotwórczych wody surowej, w różnym stopniu uzdatnionej oraz uzdatnionej, test Amesa był stosowany od 1982r. Badania podjęto i prowadzono z inicjatywy i pod kierunkiem Pani Prof. Marii Pawlaczyk-Szpilowej.

Jedną z trudności występujących w badaniach właściwości biologicznych wody wodociągowej jest konieczność pobierania jej dużych objętości. Mikrozanieczyszczenia występują w wodzie w bardzo niskich stężeniach, często poniżej granicy wykrywalności, dlatego pobierane próbki przed analizą biologiczną należy odpowiednio zatężyć. Działania związane z etapem przygotowania próbki w znaczący sposób mogą wpłynąć na wynik końcowy analizy, zatem bardzo ważne jest dobranie odpowiedniej metody. W badaniach prowadzonych w Zakładzie do 1993r. stosowano najpierw trzykrotną ekstrakcję 20 dm<sup>3</sup> wody cykloheksanem, a po 1993r. przygotowywanie próbek prowadzono z użyciem żywic Amberlite XAD2 lub XAD2 w kombinacji z XAD7 i XAD16.

W ostatnich latach zwiększyła się popularność ekstrakcji membranowej, wykorzystującej syntetyczne błony półprzepuszczalne. Syntetyczne błony półprzepuszczalne (ang. Semipermeable Membrane Devices- SPMDs) są przeznaczone do zatężania hydrofobowych związków organicznych obecnych w próbkach wody lub powietrza. Zostały zaprojektowane tak, aby odwzorowywać biokoncentrację związków organicznych w tkance tłuszczowej organizmów, przy zastosowaniu powtarzalnej matrycy. Począwszy od 1990r. syntetyczne błony półprzepuszczalne stały się powszechnie wykorzystywane w monitoringu wód. Technika wykorzystująca SPMD ma duże znaczenie przy szacowaniu zagrożenia związanego z ekspozycją na działanie zanieczyszczeń, ponieważ pozwala uzyskiwać średnie, ważne w czasie, stężenia zanieczyszczeń rozpuszczonych i przyswajalnych biologicznie dla długich okresów czasu. Skuteczność metody wykazano dla krótkoterminowych testów biologicznych wykorzystujących zjawisko bioluminescencji bakteryjnej szczepów *Vibrio fischeri* oraz *Vibrio harveyi*. Syntetyczne błony półprzepuszczalne mogą zostać zamontowane w przewodach wodociągowych, eliminując tym samym pobieranie do ekstrakcji dużych objętości wody oraz umożliwiając prowadzenie monitoringu wody na przestrzeni dłuższego czasu.

## **Quality assessment of aquatic environment using the passive samplers and short-term bacterial assays**

**POGORZELEC M., TRUSZ-ZDYBEK A., PIEKARSKA K.**

Wroclaw University of Technology  
Faculty of Environmental Engineering  
Division of Sanitary Biology and Ecotechnology  
Wybrzeże Wyspińskiego 27, 50-370 Wrocław, Poland  
[katarzyna.piekarska@pwr.edu.pl](mailto:katarzyna.piekarska@pwr.edu.pl)

**Key words:** *bioassays, drinking water, extraction, ion-exchange resins, semipermeable membrane devices (SPMDs), water supply system, water treatment*

Tap water, due to its universality, is used as drinking water, and thus is the primary source of water exchange in the human body. Therefore, microorganisms and substances which are potentially harmful for living organisms cannot be present there. What is more, tap water should contain ingredients which are necessary for the proper metabolism. Surface water, which is used for municipal purposes, contains more than 2,000 registered organic compounds, including natural organic compounds (residues of chemical and biological transformation of compounds present in the biomass of aquatic organisms and their metabolites), and organic compounds of anthropogenic origin, which may especially burdensome for the environment, resistant to biodegradation, such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), chlorinated pesticides (CL-PEST), polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzofurans (PCDFs) and dibenzo-p-dioxins (PCDDs). Continuously improved methods of water potabilization by modification of processes and technological systems fail to maintain chemical and biological stability of water entering the water supply system. In result, quality of water which goes to the customers is often different than the quality of water entering the water supply network, because of its recontamination in the distribution system. Organic compounds, both natural and anthropogenic origin, which are present in surface water, during the process of water disinfection, form other harmful compounds, referred as water disinfection by-products (DBPs), which are one of the factors responsible for cancer in humans. During chlorination of water DBPs are formed, e.g. trihalomethanes (THM), haloacetic acids, chlorophenols, halogenated ketones, halogenated nitriles, trichlorobenzenes, hydroxyl furans, MX, and organic halogen compounds (AOX). Many of them can be potentially mutagenic, genotoxic or carcinogenic. Mutagenic compounds may also be formed in the water supply system during the reaction of residual chlorine with organic matter, or with products of microbiological and chemical corrosion of materials that make up water supply network. Methods of detection and identification of substances present in tap water, which based on chemical analysis are expensive and require the use of modern analytical techniques. Furthermore, due to the fact that not all the compounds are known or are present in trace amounts, they are under detection limit of instrumental analysis. Therefore, chemical analysis cannot be the basis for predicting biological effects that pollution can cause on living organisms. Hence, there is the need of using bioassays for quality control of aquatic environment, as a complement of analytical methods. In these types of studies, the short-term bacterial *in vitro* assays are the most popular. Bacterial *Salmonella* assay, otherwise known as the name of its creator Ames test, is often used method in evaluation of mutagenicity of water samples. Ames test results are confirmed by other tests also allowing to assess the genotoxicity of drinking water (SOS-Chromotest, Test Umu, Vitotox, Mutatox, *Vibrio harveyi* bioluminescence test). Evaluation of the toxicity of water using Microtox test and cytotoxic activity using cell lines is also carried out. At the same time chemical markers responsible for the mutagenicity of water intended for human consumption

are also sought. In the Division of Biology and Ecology (at present Division of Sanitary Biology and Ecotechnique) at Wroclaw University of Technology, Ames test has been used since 1982 to evaluate potentially mutagenic and carcinogenic properties of raw water at different stages of water treatment. This study was carried out on the initiative and under the direction of Prof. Maria Pawlaczyk-Szpilowa.

Micropollutants are present in water at very low concentrations, often below the detection limit, therefore, environmental samples should be concentrated prior to analysis. Classical methods of water sampling generate logistical problems, because the necessity of the large quantities of water transport from sampling place to the laboratory. The actions connected with sample preparation for bioassay may significantly affect the final result of analysis, so it is very important to choose an appropriate method. In the studies conducted at the Department of Biology and Ecology before 1993 triple extraction with 20 dm<sup>3</sup> of cyclohexane was used, and since 1993 sample preparation using Amberlite XAD2 or XAD2 in combination with XAD7 and XAD16 was carried out.

In recent years, the membrane extraction using a semipermeable membrane devices, which allow for concentration of contaminants in the place of sampling, has become commonly used technique. Semipermeable Membrane Devices (SPMDs) are designed for concentrating the hydrophobic organic compound present in water or air samples. They enable the imitation of organic compounds bioconcentration in the adipose tissue of organisms, using a repetitive matrix. Since 1990 a Semipermeable Membranes Devices have been widely used in water monitoring. The technique is important for estimating risks associated with exposure of living organisms to contaminants, because allows to easily determine the time-weighted average concentration of the analytes dissolved and absorbed biologically for long periods of time.

The effectiveness of the method has been demonstrated for short-term bioassays using the bacterial luminescence phenomenon of *Vibrio fischeri* and *Vibrio harveyi*. Semipermeable membrane devices may be installed in water pipes, that eliminate the necessity of large quantities of water transport from sampling place to the laboratory, and allow for monitoring of water over a long period of time.

## Mikrobiologiczne wskaźniki w ocenie jakości środowiska

8P

MICHALSKA M., BARTOSZEWCZ M., ZORENA K.

Gdański Uniwersytet Medyczny  
Zakład Immunobiologii i Mikrobiologii Środowiska  
e-mail: [gosia@gumed.edu.pl](mailto:gosia@gumed.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* bakterie kałowe, bakterie wskaźnikowe, zanieczyszczenie środowiska, *Escherichia coli*

W wodach naturalnych, glebie i powietrzu żyją miliony różnych mikroorganizmów. Niektóre z nich mogą stanowić zagrożenia dla zdrowia i życia ludzi. Możliwość zakażenia ludzi przez kontakt z zanieczyszczoną wodą, glebą czy powietrzem zmusza do prowadzenia stałego monitoringu higieniczo-sanitarnego środowiska naturalnego. W rutynowych badaniach sanitarno-epidemiologicznych nie jest możliwe wykrywanie wszystkich mikroorganizmów chorobotwórczych i potencjalnie chorobotwórczych. Obowiązujące standardy oceny sanitarnej polegają na szacowaniu, w badanym materiale, obecności patogennych mikroorganizmów w oparciu o wykrywanie i oznaczanie liczby bakterii wskaźnikowych zanieczyszczeń. Bakterie wskaźnikowe zanieczyszczenia kałowego to bakterie żyjące jako saprofity w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt ciepłokrwistych. Ich obecność w środowisku naturalnym (w wodzie, glebie) świadczy o zanieczyszczeniu kałowym i może wskazywać na obecność bakterii chorobotwórczych takich jak m.in. *Salmonella*. Bakterie, które służą do oceny sanitarnej środowiska muszą spełniać następujące wymagania: muszą stale zamieszkiwać końcowy odcinek przewodu pokarmowego człowieka, muszą bardzo licznie występować w przewodzie pokarmowym, nie mogą być chorobotwórcze, nie mogą wytwarzać przetrwalników, nie mogą się rozmnażać w wodzie i glebie, czas ich przeżycia poza przewodem pokarmowym musi być dłuższy niż czas przeżycia bakterii chorobotwórczych, muszą także być wykrywane prostymi sposobami w stosunkowo krótkim czasie. Główne organizmy wskaźnikowe kałowego zanieczyszczenia środowiska to *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* (pacjentowe kałowe), beztlenowa bakteria *Clostridium perfringens*. Ocenę jakości bakteriologicznej można poszerzyć o badania ogólnej liczby bakterii psychrofo i mezofilnych oraz o liczbę *Staphylococcus aureus* czy *Pseudomonas aeruginosa*.

## **Microbiological indicators in assessing the quality of the environment**

MICHALSKA M., BARTOSZEWCZ M., ZORENA K.

Medical University of Gdańsk  
Zakład Immunobiologii i Mikrobiologii Środowiska  
e-mail: [gosia@gumed.edu.pl](mailto:gosia@gumed.edu.pl)

*Keywords: faecal bacteria, indicator bacteria, environmental pollution, Escherichia coli*

The naturally occurring waters and soils are millions of different microorganisms. Some of them may constitute a danger to human health and life. The possibility of human infection through the water, soil or air forces to conduct constant monitoring of hygiene and sanitary environment. The existing sanitary assessment involve examining the presence of pathogenic microorganisms forms based on the so-called indicator bacteria. This indicator bacteria as saprophytes bacteria living in the human digestive tract and confide higher. Their presence in the water or the soil means the faecal contamination and therefore also very dangerous pathogenic bacteria infection. The bacteria that are to be used to assess the sanitary environment must meet the following requirements: they must be permanent residents lower intestinal tract of a human, they very frequently occur in the gastrointestinal tract can not be pathogenic, can not produce spores, they can not multiply in water and soil, time their survival in the water must be longer than the survival of pathogenic bacteria must be detected by simple means in a relatively short period of time. The main environmental pollution indicator organisms are: *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis* (*Streptococcus faecalis*), *Clostridium perfringens*. The assessment of the bacteriological quality can be extended to study the total number of psychrofo and mesophilic bacteria and the number of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

## Zróżnicowane podejście do oceny zagrożenia ze strony zawkwitów sinicowych

9P

GĄGAŁA I.<sup>a</sup>, KARWACIAK I.<sup>b</sup>, RATAJEWSKI M.<sup>b</sup>, PUŁASKI Ł.<sup>\*b,d</sup>, JURCZAK T.<sup>c</sup>,  
KOKOCIŃSKI M.<sup>e</sup>, JASKULSKA A.<sup>a,c</sup>, MANKIEWICZ-BOCZEK J.<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup>European Regional Centre for Ecohydrology PAS, 3 Tylna, 90-364 Łódź, Poland

<sup>b</sup>Laboratory of Transcriptional Regulation, Institute of Medical Biology PAS, 106 Łodowa,  
93-232 Łódź, Poland

<sup>c</sup>Department of Applied Ecology, Faculty of Biology and Environmental Protection,  
University of Łódź, 12/16 Banacha, 90-237 Łódź, Poland

<sup>d</sup>Department of Molecular Biophysics, Faculty of Biology and Environmental Protection,  
University of Łódź, 12/16 Banacha, 90-237 Łódź, Poland

<sup>e</sup>Department of Hydrobiology, Faculty of Biology, Adam Mickiewicz University, 89  
Umultowska, 61-614 Poznań, Poland

[ilonagagala@erce.unesco.lodz.pl](mailto:ilonagagala@erce.unesco.lodz.pl); [j.mankiewicz@erce.unesco.lodz.pl](mailto:j.mankiewicz@erce.unesco.lodz.pl)

*Słowa kluczowe:* metabolity sinicowe, mikrocystyny, PCR, PPIA, aktywność biologiczna, biosensory komórkowe, immunotoksyczność

Powszechność występowania toksycznych zawkwitów zdominowanych przez sinice (zawkwitów sinicowych) oraz zagrożenie jakie niesie za sobą obecność produkowanych przez nie metabolitów, stały się obiektem zainteresowania WHO oraz UE, której Dyrektywa 2006/07/WE dotycząca zarządzania jakością wody na kąpieliskach została przyjęta w polskim Prawie Wodnym (2001). Jednakże w polskim prawodawstwie brak jest konkretnych przykładów postępowania w celu oceny występowania, jak też oceny zagrożenia ze strony zawkwitów sinicowych, tj. schematu monitoringu ze wskazaniem metod umożliwiających właściwą identyfikację problemu. Zastosowanie zintegrowanych procedur monitoringu złożonych mieszanin, jakimi są zawkwy sinicowe, powinno obejmować zarówno: 1) ocenę potencjału do produkcji głównych grup toksyn sinicowych (m.in. hepatotoksyny – mikrocystyny), 2) identyfikację ilości oraz biologicznej aktywności w/w metabolitów, 3) jak też całościową ocenę aktywności próbki bez potrzeby wydzielania z komórek sinic poszczególnych metabolitów oraz kompartmentów. Dlatego też, w prezentowanych badaniach przedstawiono różne metody oceny potencjalnego oraz rzeczywistego zagrożenia ze strony zawkwitu sinicowego zdominowanego przez sinice z rodzaju *Microcystis*, aktywnie produkujące mikrocystyny. W tym celu niezbędne było wykorzystanie metod molekularnych, komercyjnych testów skriningowych oraz nowoopracowanych biosensorów komórkowych. Ważnym elementem monitoringu, umożliwiającym wczesne wykrycie potencjalnego zagrożenia ze strony sinic produkujących toksyny, są badania molekularne w oparciu o metodę PCR (ang. Polymerase Chain Reaction). W zbiorniku Sulejowskim są one prowadzone przy wykorzystaniu specyficznych genów markerowych pozwalających śledzić obecności sinic (gen 16S rRNA) oraz ich genotypów toksycznych (gen *mcyA*). Poza badaniem potencjału do produkcji (ang. early warning), ważna jest ocena obecności mikrocystyn jak też ich faktycznej biologicznej aktywności (toksyczności), będącej podstawą oceny zagrożenia dla organizmów żywych. W monitoringu takim wykorzystuje się test do oceny hamowania aktywności fosfatazy białkowej (MICROCYSTEST, ZeuLab) poprzez mikrocystynę, umożliwiający detekcję aktywności przy stężeniu czterokrotnie niższym niż dawka dopuszczalna 1 µg/l w wodzie pitnej.

Jednakże w zawkwicie sinicowym istnieją czynniki toksyczne, inne niż główne, dobrze poznane grupy toksyn sinicowych (hepato-, neuro- oraz cytotoxyn), które przy odpowiednich warunkach mogą stwarzać dodatkowe lub nawet większe zagrożenie dla organizmów. Ponadto sinice tworzące kolonie tak jak rodzaj *Microcystis* mogą być siedliskiem dla innych

mikroorganizmów, będących źródłem wspomnianych związków. Dlatego obiecującym wydają się być narzędzia biochemiczne takie jak biosensory komórkowe umożliwiające wykazanie zróżnicowanych odpowiedzi szlaków metabolicznych na różnorodne substancje toksyczne.

Takie podejście umożliwia pełniejszą ocenę skali problemu z uwzględnieniem wpływu na jakość środowiska jak i bezpośrednio człowieka.

Badania finansowane w ramach projektu NCN - UMO-2012/07/B/NZ8/03991 „*Zastosowanie komórkowych biosensorów reporterowych w ekotoksykologii sinic: nowe ‘tarcze’ dla bioaktywności*”

## English title: **Differentiated approach to risk assessment of cyanobacterial blooms**

**Key words:** *cyanobacterial metabolites, microcystins, PCR, PPIA, biological activity, cellular biosensors, immunotoxicity*

The prevalence of toxic cyanobacterial blooms and the threat posed by the presence of their metabolites have become an object of interest of WHO and the EU, of which the Directive 2006/07/EC concerning the management of bathing water quality was adopted in Polish Water Law (2001). However, in the Polish legislation, there is no specific examples of action in order to assess the prevalence, as well as a risk assessment of cyanobacterial blooms, ie. a monitoring scheme with an indication of methods that allow proper identification of the problem. The use of integrated monitoring procedures for complex natural mixtures, like cyanobacterial blooms, should include: 1) an assessment of the potential of blooms for the production of the most common hazardous cyanobacterial toxins (i.e. hepatotoxins - microcystins), 2) identification of presence and biological activity of above mentioned metabolites, 3) as well as the overall assessment of the bloom sample without the need to isolate one particular metabolite and compartments. Therefore, the present study shows a variety of methods to assess actual and potential threats from cyanobacterial blooms, dominated by cyanobacteria of the genus *Microcystis*. For this purpose it was necessary to use molecular methods, commercial screening tests and newly developed cellular biosensors. This approach enables a more complete assessment of the scale of the problem, taking into account the impact on the quality of the environment and human directly.

An important element of monitoring which enables early detection of potential threat from toxin-producing cyanobacteria, are molecular studies based on the PCR method (Polymerase Chain Reaction). In the Sulejów Reservoir these studies are conducted using the specific marker genes to track the presence of cyanobacteria (16S rRNA gene) and their toxigenic strains (mcyA gene). Apart from the exploration of a potential to produce microcystins (early warning), it is important to evaluate their presence as well as their actual biological activity (toxicity), which is the basis for a risk assessment to living organisms. In such a monitoring the test based on quantification of the inhibition of protein phosphatase by microcystin (i.e. MICROCYSTEST, ZeuLab) is used, which allows detection of activity at concentrations four times lower than the dose limit 1 µg/l in drinking water.

However, inside cyanobacterial blooms there exist toxic elements other than the main, well-known group of cyanobacterial toxins (hepato-, neuro- and cytotoxins), which in the right conditions can pose an additional or even greater threat to organisms. In addition, colony-forming cyanobacteria such as the genus *Microcystis* can be a habitat for other microorganisms and their toxic metabolites. That is why their biochemical tools such as cellular biosensors capable of demonstrating different responses of metabolic pathways to a variety of toxic substances seem to be promising.

This approach enables a more complete assessment of the scale of the problem, taking into account the impact on the quality of the environment and humans directly.

Research funded by NSC – grant no. UMO-2012/07/B/NZ8/03991 „*Application of reporter cell biosensors in ecotoxicology of cyanobacteria: new targets for bioactivity*”

## Reakcja roślin na występowanie w podłożu czwartorzędowych soli amoniowych

10P

BICZAK R., PAWŁOWSKA B.

Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, Instytut Chemii, Ochrony środowiska i Biotechnologii, ul. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa

[r.biczak@ajd.czest.pl](mailto:r.biczak@ajd.czest.pl)

*Słowa kluczowe: fitotoksyczność, inhibicja, lądowe rośliny wyższe, stres oksydacyjny*

Czwartorzędowe sole amoniowe (CSA) to grupa związków chemicznych znanych od wielu lat. Dzięki wielu użytecznym właściwościom, znajdują one szerokie zastosowanie w przemyśle, biotechnologii, medycynie, farmakologii, a także w produkcji biocydów. CSA są prekursorem bardzo interesującej grupy związków, które w ostatnich latach stały się głównym celem badań wielu naukowców, zwanej cieczami jonowymi. Ciecze jonowe to związki chemiczne zbudowane z kationu i anionu. Związki te charakteryzują się temperaturą topnienia poniżej 100 °C, niską prężnością par, są niepalne oraz posiadają dużą stabilność termiczną i elektrochemiczną.

Jednymi z przedstawicieli czwartorzędowych soli amoniowych są chlorek tertetyloamoniowy [TEA][Cl] oraz bromek tertetyloamoniowy [TEA][Br]. Związki te ze względu na ich właściwości próbano użyć m.in. w różnych zastosowaniach klinicznych, m.in. w leczeniu nadciśnienia oraz do oceny zdolności do rozszerzenia naczyń krwionośnych w przypadkach choroby naczyń obwodowych, jednak ze względu na swoje skutki uboczne szybko zastąpione zostały one przez inne leki. Ze względu na próby tego typu zastosowań, związki te już w latach pięćdziesiątych ubiegłego wieku zostały przebadane pod względem ich wpływu na organizmy zwierząt i ludzi. Na chwilę obecną brak jest jednak badań określający wpływ tych związków na rośliny lądowe.

Szerokie wykorzystanie w przemyśle CSA, w tym chlorku i bromku tetraetyloamoniowych powoduje, że związki te mogą dostać się do środowiska glebowego w postaci np. odpadów poprodukcyjnych. Jedną z cech czwartorzędowych soli amoniowych jest ich silna adsorpcja na powierzchni różnych substancji. Powoduje to, że związki te po przedostaniu się do gleb mogą zostać zaadsorbowane przez koloidy glebowe i zostać pobrane przez rośliny. Niezmierne ważnym zatem, staje się więc określenie stopnia oddziaływania tych soli na wzrost i rozwój lądowych roślin wyższych.

W przedstawionych badaniach określono wpływ chlorku tetraetyloamoniowego oraz bromku tetraetyloamoniowego wprowadzonego do gleby w różnych stadiach, na wschody i wczesne stadia wzrostu i rozwoju roślin wyższych określono w badaniach fitotoksyczności, w oparciu o przewodnik OECD/OCDE 208/2006. W przeprowadzonym eksperymencie, nasiona wybranych gatunków lądowych roślin wyższych – jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare*) i rzodkiewki zwyczajnej (*Raphanus sativus L. subvar. radicula* Pers.) wysiano do wazonów zawierających glebę, do której dodano badany związek chemiczny i do wazonów zawierających glebę kontrolną. Przez cały okres prowadzenia badań utrzymywano optymalne warunki wzrostu i rozwoju wybranych gatunków roślin.

Badając fitotoksyczność zastosowanych stężeń [TEA[Cl]] oraz [TEA][Br] określono i porównano wschody i masę pędów roślin kontrolnych, ze wschodami i masą pędów roślin rosnących na glebie, do której wprowadzono odpowiednie ilości związku, stopień inhibicji długości korzenia i pędu oraz dokonano oceny wizualnej wszystkich uszkodzeń badanych gatunków roślin. W przeprowadzonym eksperymencie określono również wpływ badanych CSA na stres oksydacyjny u roślin.

## Plant response to the presence in the medium of the quaternary ammonium salts

BICZAK R., PAWŁOWSKA B.

Institute of Chemistry, Environment Protection and Biotechnology, Jan Długosz University,  
13/15 Armii Krajowej Avenue, 42-200 Częstochowa, Poland

[r.biczak@ajd.czest.pl](mailto:r.biczak@ajd.czest.pl)

*Keywords:* phytotoxicity, inhibition, terrestrial higher plants, oxidative stress

Quaternary ammonium salts (QAS) are a group of chemicals known for many years. With many useful properties, they find wide application in industry, biotechnology, medicine, pharmacology and in the production of biocides. CSA is a precursor of the very interesting group of compounds which in recent years has become a major objective of the research of many scientists, called ionic liquids. Ionic liquids are compounds composed of a cation and anion. These compounds are characterized by a melting point below 100 °C, low vapor pressure, are non-flammable and have a high thermal stability and electrochemical.

One of the representatives of the quaternary ammonium salts are tetraethylammonium chloride [TEA][Cl] and tetraethylammonium bromide [TEA][Br]. These compounds due to their properties, among others, attempted to use in various clinical applications, including the treatment of hypertension and to assess the ability of blood vessels to expand in cases of peripheral vascular disease, but due to its side effects have been quickly replaced on the other drugs. Due to attempts this type of application, these compounds already in the fifties of the last century have been tested for their effects on organisms, animals and humans. At the moment, there are no studies determining the effect of these compounds on terrestrial plants.

Widespread use in the industry QAS or the ionic liquids including tetraethylammonium chloride and tetraethylammonium bromide makes these compounds can get into the soil environment as waste. One of the features of quaternary ammonium salts is their strong adsorption on the surface of various substances. The result is that these compounds have the ingress of soil can be adsorbed by colloids soil and be taken up by the plant. An extremely important becomes so determine the degree of impact of compounds on the growth and development of terrestrial higher plants.

In this study the influence of tetraethylammonium chloride and tetraethylammonium bromide introduced into the soil at various concentrations, on emergence and early stages of plant growth and development of higher phytotoxicity was determined in studies based on the guide OECD / OECD 208/2006. In the experiment, the seeds of some species of terrestrial higher plants - spring barley (*Hordeum vulgare*) and radish (*Raphanus sativus* L. subvar. *radicula* Pers.) Were seeded into vases containing soil to which was added the test compound and to vases containing soil control. Throughout the study period we maintained the optimal conditions for the growth and development of selected plant species.

Examining phytotoxicity concentrations used [TEA][Cl] and [TEA][Br] were determined and compared emergence weight of shoots control plants, the rising and the ground shoot of plants growing in the soil to which appropriate amounts of the compound, the degree of inhibition of root length and shoot and a visual assessment was made of all plant species examined damage. In the experiment we determined the effects of test CSA oxidative stress in plants.

## Oddziaływanie czynników antropogenicznych na ekotoksyczność osadów Zatoki Gdańskiej

11P

ROGOWSKA J., CIESZYŃSKA-SEmenowicz M., RATAJCZYK W., WOLSKA L.

Zakład Toksykologii Środowiska

Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i  
Tropikalnej, Gdańskie Uniwersytet Medyczny  
ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk  
[justyna.rogowska@gumed.edu.pl](mailto:justyna.rogowska@gumed.edu.pl)

*Słowa kluczowe: środowisko morskie, Zatoka Gdańsk, osady denne, ekotoksyczność*

Efektywna ochrona ekosystemów morskich jest jednym z wyzwań społeczności międzynarodowej. Przyjęcie w 2000 roku, w ramach Unii Europejskiej, Ramowej Dyrektywy Wodnej oraz w 2008 roku Ramowej Dyrektywy Morskiej (RDM) było podstawą do stworzenia nowej, zintegrowanej polityki ochrony ekosystemów wodnych. Zgodnie z wytycznymi zawartymi w RDM każde państwo zobowiązane jest opracować strategię morską dla swoich wód morskich, w której uwzględniona zostanie specyfika tych wód i która będzie jednocześnie odzwierciedlać ogólne perspektywy danego regionu lub podregionu morskiego. Programy realizowane na mocy strategii morskich będą skuteczne jedynie w przypadku, gdy zostaną opracowane na podstawie solidnej wiedzy o stanie środowiska morskiego. Dlatego pierwszym krokiem w ich przygotowaniu jest przeprowadzenie identyfikacji i analizy cech lub właściwości presji i oddziaływania na wody morskie na danym obszarze.

Klasyczna metodologia oceny stanu jakości środowiska, która jest wymagana przez prawodawstwo polskie, opiera się na zastosowaniu technik analizy chemicznej. Jednakże uzyskane w ten sposób wyniki nie odzwierciedlają w pełni ryzyka dla ekosystemów i w dalszej kolejności człowieka. W związku z tym uzupełnienie informacji chemicznej o wyniki badań ekotoksykologicznych wydaje się nieuniknione.

Przedmiotem badań była ocena ekotoksyczności próbek osadów pobranych na obszarze Zatoki Gdańskiej. Zatoka Gdańsk jest obszarem szczególnie narażonym zanieczyszczenia. Źródłem zanieczyszczenia na tym obszarze jest przemysł, głównie energetyczny oraz dynamicznie rozwijający się transport samochodowy. Duże ilości pyłu zwieszonego w powietrzu na obszarze województwa pomorskiego powstają wskutek spalania paliw zlej jakości w paleniskach domowych lub w lokalnych kotłowniach węglowych (tzw. niska emisja). Duża część zanieczyszczeń dostających się do środowiska morskiego pochodzi ze źródeł lądowych i przenoszona jest przede wszystkim z wodami rzeki Wisły lub bezpośrednim spływem ze źródeł obszarowych. Ponadto przez Zatokę Gdańską przebiega trasa ruchu statków do portów w Gdyni i Gdańskim. Wody Zatoki Gdańskiej są również miejscem deponowania osadów pochodzących z pogłębiania torów wodnych i akwenów. Należy również zwrócić uwagę, że do wód Zatoki Gdańskiej odprowadzane są ścieki oczyszczone z oczyszczalni, tj. oczyszczalni „Wschód”, „Dębogórze” czy oczyszczalni w Helu i Jastarni. Warto również wspomnieć, że obszar południowego Bałtyku był obszarem intensywnych działań wojennych w czasie II wojny światowej. Porty w Gdańskim i Gdyni stanowiły ważne bazy marynarki wojennej.

W celu określenia poziomów toksyczności próbek osadów zastosowano organizmy wskaźnikowe reprezentujące różne poziomy troficzne (bakterie, rośliny, skorupiaki). Poszukiwanie zależności pomiędzy wynikami badań ekotoksykologicznych i analiz chemicznych oparte zostało o porównanie uzyskanych wskaźników toksyczności i wyników analiz chemicznych.

## The impact of anthropogenic factors on the ecotoxicity of sediments of the Gulf of Gdańsk

ROGOWSKA J., CIESZYŃSKA-SEMENOWICZ M., RATAJCZYK W., WOLSKA L.

Department of Environmental Toxicology

Faculty of Health Sciences of the Division of Nursing and the Institute of Maritime and Tropical Medicine  
Medical University of Gdańsk  
23 Dębowa Str, 80-204 Gdańsk, Poland  
[justyna.rogowska@gumed.edu.pl](mailto:justyna.rogowska@gumed.edu.pl)

*Keywords: marine environment, Gulf of Gdańsk, bottom sediments, ecotoxicity*

Effective protection of marine ecosystems is one of the challenges the international community. The adopted in 2000, within the European Union, The Water Framework Directive and in 2008 The Marine Strategy Framework Directive (RDSM) was the basis for a new, integrated policy to protect aquatic ecosystems. In accordance with the guidelines included in the RDM each Member State is required to develop a marine strategy for its marine waters which will take into account the specificity of these waters and which will also reflect the overall perspective of the marine region or subregion. The programs implemented under maritime strategy will only be effective if developed based on solid knowledge about the state of the marine environment. Therefore, the first step in preparation is to carry out identification and analysis of the characteristics or properties of the pressures and impacts on marine waters in the area.

The classic methodology for evaluation of the quality of the environment, which is required by Polish legislation, is based on the use of chemical analysis techniques. However, information obtained in this way do not fully reflect the risks to ecosystems and, subsequently, human. Accordingly, the complementary chemical information about the results of the ecotoxicological seems inevitable.

The Gulf of Gdańsk area is a region which is at risk of pollution and requires special protection due to its specific hydrological and biochemical properties. Industry, and in particular coal-based energy and the dynamically growing road transport, are the main sources of pollution. Equally important is the fact that poor quality fuel is used in homes and in local low emission power stations. This leads to a significant amount of particulate pollutants suspended in the air in the Pomerania region. A large part of the pollution inputs to the marine environment comes from land-based sources and is transmitted primarily from the waters of the Vistula River or direct runoff from the area. What is more through the Gulf of Gdańsk sea routes to the harbours of Gdynia and Gdańsk are crossed. The waters of the Gulf of Gdańsk is also a place for depositing sediments from dredging waterways and reservoirs. It should also be noted that to the waters of the Gulf of Gdańsk treated wastewater from sewage treatment plants "Gdańsk-Wschód", "Dębogórze" and sewage treatment situated in Hel and Jastarnia is discharged. It is also worth mentioning that the area of the southern Baltic Sea was an area of intense battles and much military activity in World War II. The ports of Gdańsk and Gdynia were important naval bases. Both Gdynia and Gdańsk were important naval bases.

In order to determine the levels of toxicity of sediment samples were used indicator organisms representing different trophic levels (bacteria, plants, crustaceans). The search for the relationship between the results of the ecotoxicological studies and chemical analysis was based on a comparison of obtained indicators of toxicity and the results of chemical analyzes.

## Czy obecność siarki elementarnej w osadach może wpływać na ich toksyczność?

12P

CIESZYŃSKA-SEmenowicz M., ROGOWSKA J., RATAJCZYK W.,  
SYCHOWSKA J., WOLSKA L.

<sup>1</sup> Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa  
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdańsk Uniwersytet Medyczny,  
ul. Dębową 23, 80-204 Gdańsk, tel. 58 349 19 37

[Cieszynskam@gumed.edu.pl](mailto:Cieszynskam@gumed.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* ekotoksyczność, siarka elementarna, mikrobiotesty

Siarka, w postaci różnych związków, jest powszechnie obecna we wszystkich elementach środowiska: minerałach, glebie, wodzie i atmosferze. Jedną z jej form występowania jest siarka elementarna, występująca w przyrodzie w formie pierwiastkowej S<sup>0</sup> i tworząca rombowe ośmioczłonowe cyklokryształy S<sub>8</sub>. Siarka elementarna jako niezwykle trudno rozpuszczalna w wodzie, uznawana jest za formę siarki o niskiej toksyczności i małej biodostępności, oraz niezdolną do bioakumulacji w organizmach żywych. Jednak efekt toksycznego działania siarki nie został wystarczająco poznany, mało jest pewnych i potwierdzonych informacji o dawkach/stężeniach siarki, które wywołują negatywne skutki oraz o interakcjach siarki z materią organiczną i w mieszaninach z innymi związkami. Ponadto, istnieje mało danych o tym, w jaki sposób toksyczność siarki elementarnej może być modyfikowana przez obecność substancji o właściwościach hydrofobowych, np. związków ropopochodnych, smarów, olejów lub innych substancji mogących występować w rzeczywistych próbkach osadów.

W prezentacji przedstawione zostaną wyniki badań mających na celu poszerzenie wiedzy na temat wpływu siarki elementarnej na obserwowaną toksyczność osadów pobranych z różnych miejsc na obszarze Zatoki Gdańskiej. Badania te prowadzone były w kilku etapach:

- ustalenie czy istnieje zależność pomiędzy notowanymi stężeniami siarki elementarnej w próbkach rzeczywistych osadów, a ich toksycznością;
- porównanie toksyczności ekstraktów rozpuszczalnikowych uzyskanych z próbek osadów zawierających siarkę elementarną z toksycznością tych samych ekstraktów, które oczyszczono z siarki elementarnej przy zastosowaniu aktywowanej miedzi.

W badaniach nie zaobserwowano zależności pomiędzy stężeniem siarki elementarnej, a toksycznością wobec organizmów wskaźnikowych osadów lub ekstraktów rozpuszczalnikowych. Nie został również zaobserwowany spadek toksyczności w przypadku ekstraktów oczyszczonych z siarki elementarnej w porównaniu do ekstraktów zawierających siarkę elementarną, przed jej usunięciem. Może wskazywać to na obecność w badanych próbkach rzeczywistych osadów innych związków odpowiedzialnych za ich toksyczność.

## **Does the presence of elemental sulfur in the sediment may affect their toxicity?**

**CIESZYŃSKA-SEMENOWICZ M., ROGOWSKA J., RATAJCZYK W.,  
SYCHOWSKA J., WOLSKA L.**

<sup>1</sup> Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa  
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdańsk Uniwersytet Medyczny,  
ul. Dębową 23, 80-204 Gdańsk, tel. 58 349 19 37

[Cieszynskam@gumed.edu.pl](mailto:Cieszynskam@gumed.edu.pl)

*Keywords:* *ecotoxicity, elemental sulphur, microbiotests*

Sulfur in the form of different compounds, is widely present in all parts of the environment: minerals, soil, water and atmosphere. One of its forms is the elemental sulfur which occurs in nature in the elemental form of S<sup>0</sup> and forms a rhombus eight-membered S<sub>8</sub> cyclocristals. Elemental sulfur as extremely sparingly soluble in water, is considered a form of sulfur with low toxicity and low bioavailability, and thus unable to bioaccumulate in living organisms. However, the effect of sulfur toxicity has not been sufficiently understood. Information on the doses / concentrations of elemental sulfur that cause negative effects and the interaction of sulfur with organic matter and in mixtures with other compounds is not certain and confirmed. Furthermore, there is insufficient information on how the toxicity of elemental sulfur could be modified by the presence of substances with hydrophobic properties, eg. compounds of oil, grease, or other substances which may be present in sediment samples.

The presentation will show the results of research aimed at increasing knowledge about the impact of elemental sulfur on the observed toxicity of sediments collected from different places in the Gulf of Gdańsk. These studies were conducted in several stages:

- Determination whether a relationship between the concentrations of elemental sulfur listed in real samples of sediments and their toxicity exist;
- Comparison of the toxicity of solvent extracts obtained from the sediment samples containing elemental sulfur with the toxicity of the same extracts after elemental sulfur was purified using activated copper.

In the studies, no relationship between the concentration of elemental sulfur and toxicity of sediment or sediment solvent extracts was noted. No difference in toxicity was observed between purified extracts and extracts containing elemental sulphur. This may indicate the presence in the tested samples of sediments compounds responsible for their toxicity.

## Badanie potencjalnej mutagenności wyrobów włóknistych wobec *Salmonella typhimurium* i *Escherichia coli* w teście Amesa

JADCZYK P.\*, UMIŃSKA-WASILUK B.\*, KRUCIŃSKA I.\*\*, ŹYWICKA B.\*\*\*

\*Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Wrocławskiego, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27,  
50-370 Wrocław

\*\*Katedra Materiałoznawstwa, Towaroznawstwa i Metrologii Włókienniczej, Politechnika  
Łódzka, ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź

\*\*\*Zakład Chirurgii Eksperimentalnej i Badania Biomateriałów, Uniwersytet Medyczny im.  
Piastów Śląskich we Wrocławiu, Wybrzeże Pasteura 1, 50-367 Wrocław

e-mail: [piotr.jadczyk@pwr.edu.pl](mailto:piotr.jadczyk@pwr.edu.pl)

Niektóre materiały, które potencjalnie mogłyby być zastosowane jako materiały medyczne wykazują różne rodzaje toksyczności, w tym genotoksyczność. Dlatego celem prezentowanej pracy było określenie potencjalnej aktywności mutagennej materiału szewnego oraz materiałów okostnych 29/11/R/WO badana i 36/11/R/WO badana *Salmonella typhimurium* oraz *Escherichia coli* w mikropłytkowym teście Amesa. Zgodnie z zaleceniami PN-EN ISO 10933-12 sterylnie biomateriały ekstrahowano w sterylnym roztworze fizjologicznym NaCl, wytrząsając (250 rpm) przez 72h w temperaturze 37°C 1 g materiału szewnego (nici chirurgicznych) z 10 cm<sup>3</sup> soli fizjologicznej. Próbki dokostne wytrząsano z roztworem fizjologicznym soli w takiej proporcji, by na 8 cm<sup>2</sup> obustronnej powierzchni (4 cm<sup>2</sup> powierzchni jednostronnej) przypadało 2,67 cm<sup>3</sup> soli fizjologicznej. Genotoksyczność biomateriałów badano mikropłytkowym testem Amesa firmy Xenometrix by Endotell (Ames MPF™ Penta I). Zastosowane szczepy pozwalały na wykrywanie mutacji zmiany fazy odczytu (*Salmonella typhimurium* TA 98, TA 1537) oraz podstawiania par zasad (*Salmonella typhimurium* TA 100, TA 1535, *Escherichia coli* wp2). Wykonanie testu w dwóch wersjach: bez i z aktywacją metaboliczną 30% frakcją S9-mix wątroby szczurów pozwoliło na wykrywanie aktywności mutagenów bezpośrednich i pośrednich. Ekstrakty materiałów włóknistych wprowadzano do testu w postaci roztworów w soli fizjologicznej, rozcieńczając je połowicznie. Badano 6 rozcieńczeń każdego ekstraktu, w 3 powtórzeniach. Bakterie testowe były eksponowane na działanie próbki przez 90 minut w temperaturze 37°C. Potem do zawiesiny bakterii z próbką dodawano podłożę indykacyjnego i inkubowano w płytach 384-dółkowych przez 48 godzin, również w temperaturze 37°C (48 dółków na jedno z 3 powtórzeń każdego rozcieńczenia). Podłożę indywidualny, który zmienia kolor z fioletowego na żółty, w tych dółkach, w których nastąpiła mutacja skutkująca rozwojem bakterii. Po zakończeniu inkubacji liczono osobno dółki z podłożem koloru fioletowego i żółtego. Za genotoksyczne, zgodnie z procedurą uznawano próbki, w których średnia (w 3 powtórzeniach) liczba dółków pozytywnych była trzykrotnie większa niż w kontroli negatywnej (bez próbki). Badane biomateriały nie wykazywały aktywności mutagennej wobec szczepów baterijnych użytych w teście Amesa bez i z aktywacją metaboliczną w zastosowanym zakresie stężeń. Oznacza to, że nie powodują one powstawania mutacji zmiany fazy odczytu i podstawiania par zasad, na wykrywanie których pozwalały zastosowane szczepy. Pozwala to rekomendować wszystkie badane biomateriały do dalszych badań poprzedzających ich kliniczne zastosowanie. Zebrane dane literaturowe wskazują, że jest to uzasadnione ze względu na genotoksyczność części biomateriałów, które są obecnie stosowane w medycynie.

Badania finansowane z projektu „Biodegradowalne wyroby włókniste – BIOGRATEX” w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka na lata 2007- 2013. Numer projektu: POIG.01.03.01-00-007/08-00.

## **Examination of the potential mutagenicity of fibrous products towards *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the Ames test**

**JADCZYK P.\*, UMIŃSKA-WASILUK B.\*<sup>,</sup>, KRUCIŃSKA I.\*\*<sup>,</sup>, ŻYWICKA B.\*\*\*<sup>,</sup>**

**\*Environmental Engineering Faculty, Wroclaw University of Technology, ul. Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław**

**\*\*Department of Material and Commodity Sciences and Textile Metrology, Lodz University of Technology, ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź**

**\*\*\*Department of Experimental Surgery and Biomaterials Research, Wroclaw Medical University, Wybrzeże Pasteura 1, 50-367 Wrocław**

e-mail: [piotr.jadczyk@pwr.edu.pl](mailto:piotr.jadczyk@pwr.edu.pl)

Some materials, which potentially could be applied as a medical materials, show different types of toxicity, including genotoxicity. Therefore, determining the potential mutagenic activity of surgical sutures and bone implants materials (29/11/R/WO/B and 36/11/R/WO/B) in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in microplate Ames test was a purpose of presented work. According to PN-EN ISO 10933-12 the sterile biomaterials were extracted in the sterile physiological salt solution, shaking 1 g of surgical sutures (250 rpm) for 72 h in the temperature 37°C with 10 cm<sup>3</sup> of physiological salt solution. Bone implants sample were shaken with the physiological salt solution in such proportion that for 8 cm<sup>2</sup> of double-sided area (4 cm<sup>2</sup> of unilateral area) was 2.67 cm<sup>3</sup> of physiological salt solution. Genotoxicity of biomaterials was analyzed with the use of microplate Ames assay obtained from Xenometrix company by Endotell (Ames MPF™ Penta I). The applied strains allowed the detection of the mutations of frameshift changes (*Salmonella typhimurium* TA 98, TA 1537) and base pair substitutions (*Salmonella typhimurium* TA 100, TA 1535, *Escherichia coli* wp2). Carrying out the microbial assays in two versions: in the presence and absence of metabolic activation by rat liver S9 30% fraction allowed the activity detection of direct and indirect mutagens. The extracts of fibrous materials were introduced into the test as the partially diluted solutions in the physiological salt. Six dilutions of every extract, in 3 replicates were examined. The bacteria were exposed for the sample activity during 90 minutes in the temperature 37°C. Next, the indicative medium was added into the bacterial suspension with sample and therefore incubation took place during 48 hours in the temperature 37°C (48 hours for 1 from 3 replicates of every dilution). The indicator medium which changed the color from purple to yellow, in these wells, where the mutation occurred resulting in the bacterial development. After the incubation the holes with purple and yellow medium were counted separately. The samples where the average number of the positive holes (in 3 replicates) was three times larger than in negative control (without the sample) were found genotoxic. The studied biomaterials did not show the mutagenic activity towards bacterial strains used in the Ames assays without and with the metabolic activation in the applied range of concentrations, indicating that they do not cause the mutation of frameshift change and base pair substitution. Our results recommend all studied biomaterials for further research preceding their clinical application.

The research were financed by the project "Biodegradable fibrous products - BIOGRATEX" in frames of Innovative Economy Operational Program 2007 - 2013: POIG.01.03.01-00-007 / 08-00.

## Monitoring genotoksyczności oraz aktywności endokrynnnej wody z Wisły w okolicach Warszawy

14P

ZGADZAJ A., SKRZYPczak A., NAŁĘCZ-JAWECKI G.

Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmacji, Zakład Badania Środowiska,  
Banacha 1, 02-091 Warszawa

*Slowa kluczowe:* genotoksyczność, aktywność endokrynną, Wisła

Monitorowanie jakości wód powierzchniowych w sąsiedztwie dużych obszarów miejskich ma istotne znaczenie dla zrozumienia wpływu, jaki aglomeracje mają na lokalny ekosystem. Zrealizowany przez nas projekt polegał na oznaczaniu genotoksyczności oraz aktywności endokrynnnej próbek wody wiślanej z pięciu różnych punktów poboru w okolicach Warszawy, leżących w różnej odległości od wylotu wody z głównej warszawskiej oczyszczalni ścieków. Pobór próbek przeprowadzano co kwartał na przestrzeni dwóch lat. Genotoksyczność wody była oznaczana za pomocą *umu*-testu, wykonywanego według normy ISO 13829. Jest to krótkoterminowy test bakteryjny, wykorzystujący szczep *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002. Mutagenność wybranych próbek oceniono również za pomocą mikropłytkowej wersji testu Amesa. Oba oznaczenia wykonano z lub bez aktywacji metabolicznej w postaci szczurzej frakcji wątrobowej S9. Aktywność agonistyczna oraz antagonistyczna w stosunku do ludzkich receptorów estrogenowych i androgenowych została oznaczona testem XenoScreen XL YES/YAS z wykorzystaniem zmodyfikowanych genetycznie drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Wyniki *umu*-testu wskazywały na zdecydowanie podwyższony poziom genotoksyczności próbek pobranych w okolicy wylotu oczyszczalni ścieków oraz jego istotne zamiany w ciągu roku. Natomiast rezultaty testu XenoScreen XL YES/YAS ujawniły podwyższoną aktywność antagonistyczną w stosunku do receptorów estrogenowych i androgenowych większości spośród badanych próbek.

Projekt był finansowany przez Narodowe Centrum Nauki, NCN (2011/03/B/NZ7/00751).

## **Monitoring of the genotoxicity and endocrine disrupting activity of the Vistula river in the vicinity of Warsaw in Poland**

**ZGADZAJ A., SKRZYPCZAK A., NAŁĘCZ-JAWECKI G.**

Medical University of Warsaw, Faculty of Pharmacy,  
Department of Environmental Health Sciences, Banacha 1, 02-091 Warszawa

*Keywords:* *genotoxicity, endocrine disruptors, Vistula*

Monitoring of the impact of wastewater from large agglomerations on local surface water is important to understand the influence of urban areas on the environment. Evaluation of the level of mutagens and endocrine disruptors in surface water is particularly important to determine the risk of disturbances in the homeostasis of ecosystem. In this research the water samples were obtained from Vistula (the largest Polish river) in the vicinity of Warsaw, the capital of Poland. Five sampling points were located upstream and downstream from the outlet of the main Warsaw wastewater treatment plant. The samples have been collected every quarter over two years. The genotoxicity of all samples was assessed by the *umu*-test according to the ISO 13829 protocol with *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 as the test organism and by the Ames Microplate Format Mutagenicity Assay. Both tests were performed with and without metabolic activation with s9 rat liver fraction. The estrogenic and androgenic agonistic and antagonist activities of tested samples were evaluated by the XenoScreen XL YES/YAS assay using *Saccharomyces cerevisiae* strains with human estrogen and androgen receptors. The results of *umu*-test show significant changes in the genotoxicity of samples during the year. The most genotoxic were samples from the sampling point situated next to the outlet of water from the wastewater treatment plant. Moreover these samples were mutagenic for almost the whole duration of the experiment. However, the genotoxicity of water gradually decreased in the next downstream sampling points. The microplate version of Ames test was found to be inappropriate in case of this study because of ambiguous results. The XenoScreen XL YES/YAS assay showed antagonistic activities against both receptors of a few concentrated water samples.

This project was funded by The National Science Centre, NCN (2011/03/B/NZ7/00751).

## **Badanie aktywności biologicznej komórek A549 narażanych na Lotne Związki Organiczne (LZO)**

**15P**

CHRANIUK M., WOLSKA L.

Zakład Toksykologii Środowiska Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa  
i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdańskie Uniwersytet Medyczny,  
ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk, Polska  
e-mail: [milenachraniuk@gumed.edu.pl](mailto:milenachraniuk@gumed.edu.pl)

*Słowa kluczowe: aktywność biologiczna komórek, lotne związki organiczne*

Lotne związki organiczne (LZO) emitowane przez przemysł, transport oraz materiały budowlane i wyposażeniowe mogą znacząco wpływać na płuca człowieka. By określić niekorzystny wpływ tych związków na układ oddechowy konieczne jest przeprowadzenie badań oceniających aktywność biologiczną komórek po ekspozycji na LZO. Ze względu na trudności związane z pozyskiwaniem oraz hodowlą tkanki płuc stosuje się obecnie komórkowe modele płuc. Prawidłowa ocena niekorzystnego wpływu LZO na komórki płuc jest możliwa w przypadku wykonania znacznej ilości testów określających aktywność biologiczną komórki. Jednak wiąże się to ze znacznymi kosztami i długim czasem prowadzonych eksperymentów. By zmniejszyć koszty należy stosować testy powszechnie dostępne i nieczasochłonne. Ponadto podstawowy mechanizm testu powinien być możliwie najprostszy. Do tej grupy testów zaliczyć można między innymi test WST-1 oceniający prawidłową pracę mitochondriów oraz test LDH sprawdzający ciągłość błony komórkowej. W przypadku testu WST-1 jak i LDH na wynik końcowy wpływ ma wiele dodatkowych czynników, które w szerszej skali decydują o funkcjonowaniu poszczególnych elementów jak i całej komórki. Kolejnym testem, który dobrze odzwierciedla stan komórki jest test GSH/GSSG. Ilość zredukowanego (GSH) i utlenionego glutationu (GSSG) oraz form pochodnych (GSSR) doskonale opisuje stan komórki walczącej z ksenobiotykami w tym LZO. W wystąpieniu zostaną omówione wyżej wspomniane testy, zasady ich działania i możliwość ich zastosowanie w badaniu wpływu LZO na komórki płuc.

## **The biological activity study of A549 cells exposed to Volatile Organic Compounds (VOC)**

**CHRANIUK M., WOLSKA L.**

Department of Environmental Toxicology, Faculty of Health Sciences, Division of Nursing,  
Institute of Maritime and Tropical Medicine, Medical University of Gdańsk, Dębowa 23  
street, 80-204 Gdańsk, Poland  
e-mail: [milenachraniuk@gumed.edu.pl](mailto:milenachraniuk@gumed.edu.pl)

*Keywords:* *biological activity of cells, volatile organic compounds*

Volatile Organic Compounds (VOC) emitted by industry, traffic or construction materials and house equipment may significantly affect upper and lower respiratory system, for e.g. human lungs. Toxicity tests that use human cells play an increasingly important role in assessment of health risk. To determinate negative effects of these compounds on the respiratory system, it is necessary to conduct experiments which determinate biological cell activity after exposure to VOC. Lung tissue is very hard to obtain and maintaining therefore cell model is used. Proper assessment of VOCs negative effect on lung cells is possible but only after performing a considerable amount of tests to determine the biological activity of the cell. However, it involves substantial costs and long lasting experiments. To reduce the cost of experiments universally available and short tests should be used. In addition, test mechanism should be as simple as possible. Representative tests are the WST-1 test (it shows proper function of mitochondria) and LDH test which verifies membrane integrity. In the case of the WST-1 and LDH the final result is affected by many factors that decide on the functioning of individual components and the entire cell. Another test that accurately reflects the cell condition is a GSH/GSSG test. Amount of reduced (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) and derived forms (GSSR) perfectly describes the cell condition after exposure to xenobiotics for example VOC. The essentials of working conditions of the above-mentioned tests as well as possible applications in studying the impact of VOCs on lung cells will be discussed.

## Celowość stosowania badań *in vitro* w zakresie określania toksyczności związków lotnych

16P

GAŁĘZOWSKA G., WOLSKA L.

Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdańsk Uniwersytet Medyczny, ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk  
[grazynagalezowska@gumed.edu.pl](mailto:grazynagalezowska@gumed.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* *lotne związki organiczne, kultury komórkowe, testy toksyczności*

Płuca człowieka każdego dnia narażane są na zanieczyszczenia występujące w powietrzu. W raporcie WHO wśród dziesięciu najczęstszych przyczyn zgonów wymieniono, aż cztery choroby układu oddechowego. Zanieczyszczenia powietrza, a zwłaszcza lotne związki organiczne (VOC, Volatile Organic Compounds), mogą wywołać zaburzenia w funkcjonowaniu układu oddechowego, co w konsekwencji może prowadzić do schorzeń takich jak alergia czy astma, a nawet przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, jak również rozwoju nowotworu płuc.

Ocena stężenia związków w powietrzu (co odwzorowuje ocenę jakości powietrza) wykorzystuje nowoczesną instrumentalną chemię analityczną. Ilościowa ocena narażenia organizmu na związki toksyczne wiąże się z szacowaniem poziomu tych związków lub ich metabolitów w moczu lub specyficznych białek w osoczu czy wydzielinie płucnej.

Pionierem w rozwoju nowych myśli czy trendów badawczych są Stany Zjednoczone, również w przypadku badań wpływu substancji lotnych na organizm człowieka. W 2007 roku w raporcie U.S. National Research Councilm przedstawiono długookresową strategię możliwości wyznaczania toksyczności związków występujących w środowisku. W przypadku badań z wykorzystaniem zwierząt naukowcy wykorzystują zasadę tak zwanych 3R, tj. ‘Reduction, Refinement and Replacement’ (‘zmniejszenie, udoskonalenie i zastępowanie’). W związku z tym korzystne jest rozwijanie badań alternatywnych, a w szczególności mile widziane jest wykorzystywanie modeli *in vitro* odwzorowujących ludzkie płuca. Wykorzystanie hodowli komórkowych *in vitro*, w tym stosowanie komórek płucnych wydaje się bardzo interesującą metodą pomiaru cytotoksyczności wszystkich związków, a nawet związków lotnych. Bezsprzeczna zaletą tego rozwiązania jest nieinwazyjny charakter oznaczeń.

W pracy przedstawiono możliwości badania jakości powietrza wewnętrz z wykorzystaniem kultur komórkowych A549. Porównano techniki narażania kultur oraz przedstawiono wstępne wyniki wykorzystania testów komercyjnych w zakresie określenia zmian cytotoksycznych w komórkach (Annexin V & Dead Cell®, Count & Viability®, Oxidative Stress®, MitoPotential®). Przedstawiono zalety i wady stosowania kolejnych testów, porównano ich czułość i powtarzalność w niewiele zmiennych warunkach laboratoryjnych. Opisano również problemy i ich rozwiązanie w zakresie przeprowadzania badań toksyczności LZO wobec komórek A549.

## The advisability of *in vitro* researches used for determining of toxicity of volatile organic compounds

GAŁĘZOWSKA G., WOLSKA L.

Medical University of Gdańsk, Faculty of Health Sciences with Subfaculty of Nursing and Institute of Maritime and Tropical Medicine, Department of Environmental Toxicology,  
23 Dębowa Str. 80-204 Gdańsk, Poland  
[grazynagalezowska@gumed.edu.pl](mailto:grazynagalezowska@gumed.edu.pl)

*Keywords:* volatile organic compound, cell culture, toxicity tests, air quality

Human lungs are constantly exposed to contaminants present in the air. According to the WHO report 4 out of 10 of the most common causes of death are related with the respiratory system. Air impurities, especially Volatile Organic Compounds (VOCs), often lead to improper functioning of the respiratory system which in turn may cause illnesses such as asthma, allergies, chronic obstructive pulmonary disease, or even lung cancer.

The evaluation of the concentration of compounds in air (evaluation of air quality) is based on modern instrumental analytical chemistry. However, the evaluation of the risk posed to humans by toxic compounds relies on the evaluation of the levels of these compounds, their metabolites in urine or specific proteins in plasma or pulmonary secretions.

The United States are currently pioneers in developing new solutions. In 2007 the US National Research Council prepared a long-term strategy for testing the toxicity of environmental compounds. Scientists routinely work within the three R's principles of 'Reduction, Refinement and Replacement' of animal experiments. Accordingly, viable alternatives are regularly developed. In the specific case of the human lungs, *in vitro* models for inhalation toxicology that mimic *in vivo* toxic events that may occur in the human lung, are developed. Cell culture-based assay is an interesting method of measuring cytotoxicity of all substances, even volatile compounds. It utilizes *in vitro* grown pulmonary cells. This method's non-invasive nature is an undeniable advantage.

Researches present the possibility to apply *in vitro* cell culture A549 in assessing indoor air quality. The techniques of cell exposure were compared and preliminary results of the use of commercial tests in determining the cytotoxicity changes are presented (Annexin V & Dead Cell®, Count & Viability®, Oxidative Stress®, MitoPotential®). The presentation lists the advantages and disadvantages of using other tests. We compared the sensitivity and reproducibility of the few variables under laboratory conditions. It also describes the problems and their solution for testing the toxicity of VOCs against A549 cells.

## Ocena fotodegradacji bezpośredniej i pośredniej substancji chemicznych w środowisku wodnym na przykładzie leków przeciwdepresyjnych

WAWRYNIUK M.\*, DROBNIEWSKA A. \*, BOLIMOWSKA E. \*, KASPRZAK D. \*,  
KLIMIUK K. \*, NAŁĘCZ-JAWECKI G.\*

\* Zakład Badania Środowiska, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet  
Medyczny, Polska  
[mawryniuk@wum.edu.pl](mailto:mawryniuk@wum.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* fotoprodukt, toksyczność, biotesty, Microtox®, HPLC

Każdego roku na całym świecie zużywa się tysiące ton substancji farmakologicznie czynnych. Powszechnie stosowanie farmaceutyków doprowadziło do znacznego wzrostu ich wykrywania w środowisku. Leki przeciwdepresyjne są w czołówce, a ich konsumpcja ciągle rośnie. Promieniowanie słoneczne jest głównym abiotycznym czynnikiem wpływającym na rozkład związków chemicznych występujących w środowisku. Ekspozycja leków na to promieniowanie może wpływać na ich trwałość, prowadząc do zmiany właściwości fizykochemicznych produktu. Niektóre farmaceutyki mają fotochemiczny czas półtrwania zaledwie kilka minut, podczas gdy inne mogą rozkładać się jedynie w małym stopniu nawet po wielu tygodniach naświetlania. Większość leków rozkłada się pod wpływem promieniowania słonecznego, ale skutki ekotoksykologiczne mogą być różne w każdym przypadku. Możemy wyróżnić dwa rodzaje reakcji fotochemicznych, którym podlegają substancje chemiczne: fotodegradację bezpośrednią i pośrednią. W pierwszym przypadku, związki absorbują światło słoneczne i bezpośrednio przekształcają się do produktów, albo w przypadku niestabilnych stanów wzbudzonych ulegają rozkładowi. Substancje, które nie absorbują światła powyżej 290 nm nie ulegają fotodegradacji bezpośrednią. W drugim przypadku, fotorozkład związku spowodowany jest przez reaktywne cząstki powstałe w skutek pochłaniania światła przez substancje humusowe. W obu przypadkach, światło może doprowadzić do utworzenia bardziej toksycznych produktów niż związki macierzyste. Fotoprodukt często charakteryzuje się wysoką aktywnością biologiczną oraz trwałością w roztworach wodnych.

Celem badań była kompleksowa ocena fotodegradacji wybranych leków przeciwdepresyjnych przy użyciu biotestów i metod fizykochemicznych.

Analiza fotodegradacji była przeprowadzona przy użyciu symulatora światła. Próbki oceniano wykorzystując testy biologiczne i wysokociśnieniową chromatografię cieczową (HPLC). Toksyczność próbek badano na standardowych organizmach wodnych, takich jak: *Vibrio fischeri* (Microtox®), *Spirostomum ambiguum* (Spirotox), *Ceriodaphnia dubia* (Ceriodaphtoxkit F™ acute), *Thamnocephalus platyurus* (Thamnotoxkit F™), *Lemna minor* i *Spirodela polyrhiza*. Jednocześnie przy pomocy HPLC monitorowano stężenia leków.

Większość z analizowanych leków przeciwdepresyjnych była toksyczna dla organizmów zastosowanych w badaniach. W próbkach naświetlanych potwierdzono obecność fotoproduktów. Wyniki badań toksyczności wykazały, że fotodegradacja leków przeciwdepresyjnych prowadzi do powstawania fotoproduktów bardziej toksycznych, niż związki macierzyste. Ponadto, toksyczność próbek nie spadała proporcjonalnie do spadku stężenia farmaceutyków. Otrzymane wyniki wskazują, że szkodliwość produktów fotodegradacji przeciwdepresantów i innych leków powinna być brana pod uwagę w badaniach ekotoksykologicznych.

## Assessment of direct and indirect photodegradation of chemical substances in the aquatic environment, a case of antidepressants

**WAWRYNIUK M.**\*, **DROBNIEWSKA A.**\*, **BOLIMOWSKA E.**\*, **KASPRZAK D.**\*,  
**KLIMIUK K.**\*, **NAŁĘCZ-JAWECKI G.**\*

\* Department of Environmental Health Sciences, Faculty of Pharmacy, Medical University of Warsaw, Poland  
[mawryniuk@wum.edu.pl](mailto:mawryniuk@wum.edu.pl)

*Keywords:* photoproducts, toxicity, bioassay, Microtox®, HPLC

Every year thousands of tons of pharmacologically active compounds (PhACs) are used in medicine throughout the world. The widespread use of pharmaceuticals has lead to significant increase of their detection in environment. Antidepressants are at the forefront and have a very high growth dynamics of consumption. Solar radiation is the main abiotic factor influencing the distribution of chemical compounds present in the environment. Exposure of drugs to irradiation can impact the stability of the formulation, leading to changes in the physicochemical properties of the product. Some pharmaceuticals have a photochemical half-life of only a few minutes, while other drugs may be decomposed only a few percent after several weeks' of exposure. Although many drugs are found to decompose under irradiation the practical consequences may not necessarily be the same for all these compounds. Chemical substances are subject to two types of photoreaction, direct and indirect photodegradation. In the first case, the chemicals absorb sunlight directly and are converted to products, when unstable excited states of the molecule decompose. Chemicals that cannot absorb light above 290 nm are resistant to direct photodegradation. In the second case, photodegradation of the target compound is caused by light-absorbing humic species. In both cases, sunlight may cause conversion of the drugs into more toxic decomposition products. Often photoproducts are characterized by high biological activity and high stability in aqueous solution.

The aim of the studies was a comprehensive assessment of photodegradation of selected antidepressants using the bioassays and physicochemical methods.

Photodegradation experiment was performed in a solar light simulator. The samples were evaluated using the bioassays and high pressure liquid chromatography (HPLC). Toxicity of the samples was tested with standard aquatic organisms, such as: *Vibrio fischeri* (Microtox®), *Spirostomum ambiguum* (Spirotox), *Ceriodaphnia dubia* (Ceriodaphtoxkit F™ acute), *Thamnocephalus platyurus* (Thamnotoxkit F™), *Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza*. At the same time the concentrations of the pharmaceuticals was monitored using HPLC.

Most of the tested antidepressants were toxic for the organisms used in these studies. After exposure to light the presence of photoproducts was confirmed in samples. Toxicity, measured with bioassays, showed that photodegradation of antidepressant drugs caused the formation of more toxic photoproducts than their parent compounds. Moreover, the toxicity of the samples decreased slower than the concentration of the pharmaceuticals. The results indicate that the harmfulness of photoproducts of the antidepressants and other drugs should be taken into consideration in the ecotoxicological studies.

## Czy zrzuty ścieków oczyszczonych w rejonie Zatoki Gdańskiej mogą wpływać na jakość jej wód?

18P

RATAJCZYK W., CIESZYŃSKA-SEMENOWICZ M., SYCHOWSKA J., WOLSKA L.

Zakład Toksykologii Środowiska, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdańsk Uniwersytet Medyczny,  
ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk, tel. 58 349 19 37  
[sinclair@gumed.edu.pl](mailto:sinclair@gumed.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* ekotoksyczność, ścieki oczyszczone, mikrobiotesty, Zatoka Gdańska

Powszechnie praktykowanym sposobem wprowadzania ścieków oczyszczonych do środowiska jest ich punktowy zrzut do wód powierzchniowych. W Polsce, zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 24 lipca 2006 r. (z późniejszymi zmianami z dnia 28 stycznia 2009 r.) kontrola jakości ścieków oczyszczonych wprowadzanych do wód powierzchniowych opiera się na fizykochemicznych wskaźnikach zanieczyszczeń. Jakość ścieków uwalnianych do środowiska charakteryzuje się dużą zmiennością składu i zróżnicowanym poziomem stężeń zanieczyszczeń. W związku z tym zasadnym staje się pytanie: czy współczesne oczyszczalnie radzą sobie z usuwaniem ze ścieków szerokiej gamy związków i jaki jest/może być wpływ ścieków oczyszczonych na odbiornik, zwłaszcza gdy jest nim ekosystem morski.

W pracy zostaną omówione wyniki badań ekotoksykologicznych i chemicznych próbek ścieków ze wszystkich oczyszczalni odprowadzających ścieki oczyszczone do Zatoki Gdańskiej. Oprócz badań ścieków przeprowadzono również badania toksyczności wody i osadów wokół kolektorów wyprowadzających ścieki z oczyszczalni. Do badań ekotoksykologicznych wykorzystano bakterie *Vibrio fischeri* oraz skorupiaka *Heterocypris incongruens*. W obszarze trwałych zanieczyszczeń organicznych (POPs) we wszystkich próbkach oznaczono stężenia związków z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA), polichlorowanych bifenylek (PCB) oraz oznaczono w osadach zawartość metali ciężkich.

## **Whether the discharges of treated wastewater into the Gulf of Gdańsk may affect the quality of its waters?**

**RATAJCZYK W., CIESZYŃSKA-SEMENOWICZ M., SYCHOWSKA J., WOLSKA L.**

Department of Environmental Toxicology, Faculty of Health Sciences with Subfaculty of Nursing and Institute of Maritime and Tropical Medicine, Medical University of Gdańsk,  
Dębowa 23 Street, 80-204 Gdańsk, tel. 58 349 19 37  
[sinclair@gumed.edu.pl](mailto:sinclair@gumed.edu.pl)

*Key words: ecotoxicity, treated wastewater, microbiotests, Gulf of Gdańsk*

Commonly practiced way of introducing treated sewage to the environment is their point discharges into surface waters. In Poland, according to Regulation of the Minister of Environment of 24 July 2006. (with amendments of 28 January 2009) the quality control of treated wastewater entering to surface waters is based on the physicochemical indicators of pollution. The quality of wastewater discharged into the environment is highly variable in composition and pollution concentrations. Therefore, a reasonable question arises: whether the modern wastewater treatment plants cope with the removal from wastewater a wide range of compounds and what could be the impact of treated wastewater on the receiver, especially when it is the marine ecosystem.

In the study the results of the ecotoxicological and chemical samples of all sewage treatment plants discharge treated wastewater into the Gulf of Gdańsk will be discussed. In addition to wastewater research there were also conducted water and sediment toxicity tests around the collectors lead-out sewage treatment plants. For ecotoxicological studies *Vibrio fischeri* bacteria and *Heterocypris incongruens* shellfish were applied. In all samples concentrations of persistent organic pollutants (POPs) such as the compounds from the group of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and the content of heavy metals in sediments was also determined.

## Dynamika czasoprzestrzenna mikrozanieczyszczeń w rzece miejskiej: ocena wpływu wód burzowych jako źródła dioksyn i triklosanu w rzece i jej zbiornikach

**URBANIAK M.<sup>a,b</sup>, TYGIELSKA A.<sup>b</sup>, KRAUZE K.<sup>a</sup>, MANKIEWICZ-BOCZEK J.<sup>a,b</sup>**

<sup>a</sup>European Regional Centre for Ecohydrology PAS, 3 Tylna, 90-364 Łódź, Poland

<sup>b</sup>Department of Applied Ecology, Faculty of Biology and Environmental Protection,  
University of Łódź, 12/16 Banacha, 90-237 Łódź, Poland

[m.urbaniak@unesco.lodz.pl](mailto:m.urbaniak@unesco.lodz.pl)

Jednym z najbardziej widocznych skutków urbanizacji jest wzrost udziału powierzchni nieprzepuszczalnych, z których za pośrednictwem spływu powierzchniowego a następnie kolektorów burzowych odprowadzane są znaczne ładunki zanieczyszczeń uprzednio zdeponowanych na powierzchni miejskich zlewni. Stanowi to poważne zagrożenie dla ekosystemów wodnych, które podczas okresów intensywnych opadów stają się odbiornikami szeregu zanieczyszczeń, w tym zanieczyszczeń organicznych do których należą m.in. dioksyny oraz triklosan. Związki te charakteryzują się szerokim spektrum występowania w środowisku wodnym, jako iż ich głównym źródłem jest dopływ zanieczyszczeń bytowych, przemysłowych oraz emisja i depozycja atmosferyczna związana z działalnością człowieka. Jednocześnie na ostateczny wymiar stężenia i ładunku w/w zanieczyszczeń w ekosystemie rzecznym wpływ mają warunki hydro-meteorologiczne, które mogą zarówno akcelerować jak również zmniejszać ich stężenie w badanym środowisku.

Tym samym postanowiono zweryfikować hipotezę dotyczącą wpływu warunków hydrologicznych (ilość deszczu/przepływu) na stężenia dioksyn i triklosanu w rzece miejskiej jako efekt dopływu wód deszczowych i roztopowych. W szczególności skupiono się na 1) analizie stężenia dioksyn i triklosanu w wodzie rzecznej oraz deszczowej i roztopowej pochodzącej ze zidentyfikowanych kolektorów deszczowych, 2) analizie zmienności stężenia dioksyn i triklosanu w wodzie rzecznej oraz deszczowej i roztopowej pochodzącej ze zidentyfikowanych kolektorów deszczowych w zależności od wielkości opadu deszczu i przepływu wody w rzece oraz 3) wpływie wód deszczowych i roztopowych na notowane stężenia dioksyn i triklosanu w wodzie rzecznej.

Próbki wody przeznaczone do analiz pobierano 5-krotnie w okresie od lipca 2013 do marca 2014 roku podczas zróżnicowanych warunków hydro-meteorologicznych. Stanowiska poboru zlokalizowane były wzdłuż biegu rzeki Sokołówki, z uwzględnieniem punktów poboru wody rzecznej, wody ze zbiorników zaporowych oraz wylotów kanalizacji burzowej. Analizy stężenia dioksyn i triklosanu wykonano z wykorzystaniem metody immunoenzymatycznej ELISA (ang. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Uzyskane wyniki wykazały zróżnicowanie stężeń badanych związków w zależności od poboru z tendencją do wzrostu ich średnich wartości podczas okresu deszczowego poprzedzonego okresem bezdeszczowym oraz w trakcie intensywnego topnienia pokrywy śniegowo-lodowej: najwyższe średnie stężenie zarówno dioksyn ( $345 \text{ pg ml}^{-1}$ ) jak i triklosanu ( $478 \text{ pg ml}^{-1}$ ) stwierdzono w czasie wiosennego opadu śniegu z deszczem poprzedzonego okresem bezdeszczowym. Z kolei najniższe wartości (odpowiednio  $69 \text{ pg ml}^{-1}$  i  $249 \text{ pg ml}^{-1}$  dla dioksyn i triklosan) zanotowano w czasie umiarkowanego opadu występującego na 5 dni przed poborem oraz bardzo wysokiego przepływu wody w rzece, poprzedzonego gwałtownymi burzami w sierpniu, co doprowadziło do rozcieńczenia stężenia badanych związków.

Jednocześnie wykazano, iż wielkość opadu deszczu oraz przepływ wody w rzece wpływają na udział stężeń dioksyn w wodzie rzecznej, zbiornikach zaporowych oraz wodzie burzowej i roztopowej, tj.: intensywny opad i/lub gwałtowne topnienie pokrywy śnieżno-lodowej generuje znaczny udział związków w wodzie rzecznej oraz zbiornikach zaporowych natomiast słaby/umiarkowany opad deszczu generuje wzrost udziału dioksyn w wodzie burzowej pochodzącej z kolektorów burzowych. Podobna sytuacja występowała w przypadku triklosanu, jednak jego stężenie w wodzie burzowej był niższy niż w wodzie rzecznej i wodzie ze zbiorników zaporowych, a tym samym jego wpływ na zanieczyszczenie rzeki i jej zbiorników był znikomy.

## **English title: Spatio-temporal variability of urban river contaminants: an evaluation of stormwater overflows as source of dioxins and triclosan in a river and its reservoirs**

One of the most visible effects of urbanization is increase of the share of impervious surface, from which through runoff and storm collectors, the significant amounts of pollutant loads previously deposited on the surface of urban catchment are discharged. This constitutes a serious threat to aquatic ecosystems, which during periods of intensive rainfall become receivers of a number of pollutants, including organic pollutants, such as dioxins and triclosan. These compounds are characterized by a broad spectrum of occurrence in the aquatic environment, as their main source is the input of domestic and industrial sewage, emissions and atmospheric deposition associated with human activities. At the same time, the final concentration and load of the above-mentioned pollutants in the river ecosystem depends from hydro-meteorological conditions, which may both accelerate as well as reduce their concentration in the analyzed environment.

Thus, in the study it was decided to verify the hypothesis regarding the impact of hydrological conditions (rainfall/flow) on the concentration of dioxins and triclosan in the urban river as a result of inflow of rainwater and snowmelt. In particular, the study focused on 1) analysis of the concentration of dioxins and triclosan in the river water, rainwater and snowmelt coming from the identified stormwater sewers, 2) analysis of the variation of the concentration of dioxins and triclosan in the river water, rainwater and snowmelt coming from the identified stormwater sewers depending on the amount of rainfall and water flow in the river, and 3) analysis of the impact of rainwater and snowmelt on the quoted concentration of dioxins and triclosan in the river water.

Water samples for analysis were collected 5 times during the period from July 2013 to March 2014 under different hydro-meteorological conditions. Samples were analyzed with the use of the ELISA immunoassay enzyme method (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Sampling points were located along the Sokolowka River, with regards to sampling points of river water, water from reservoirs and the previously identified point sources of pollution in the form of storm sewer outlets.

The obtained results indicate that mean dioxin and triclosan concentrations increase during a rainy period preceded by a rainless interlude and during intensive melting of the snow-ice cover: the highest average concentration of both dioxins ( $345 \text{ pg mL}^{-1}$ ) and triclosan ( $478 \text{ pg mL}^{-1}$ ) were noted during spring rain and snowfall preceded by a rainless phase. The lowest values in turn ( $69 \text{ pg mL}^{-1}$  and  $249 \text{ pg mL}^{-1}$  for dioxins and triclosan, respectively) were observed during moderate rainfall which had occurred 5 days prior to sample collection, preceded by violent storms in August and very high flow, which led to dilution of the analyzed compounds.

The amount of rainfall and river flow was also found to affect the allocation of dioxins in river water, reservoir water and stormwater i.e.: intense precipitation and/or rapid melting of the snow-ice cover generates significantly higher concentrations in the river and reservoirs, while weak rainfall results in their increased allocation in stormwater. A similar situation was observed for triclosan, however, its concentration in stormwater was mostly lower than in river and reservoir samples and hence its impact on river and reservoir pollution was negligible.

## Testy regeneracji na przykładzie *Lemna minor* – czyli jak otrzymać więcej istotnych ekologicznie danych z ekotoksykologicznych badań laboratoryjnych?

20P

DROBNIEWSKA A., KAPŁAN M., WÓJCIK D., NALECZ-JAWECKI G.

Zakład Badania Środowiska, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny  
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa  
[agata.drobniewska@wum.edu.pl](mailto:agata.drobniewska@wum.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* testy regeneracji, *Lemna minor*

W ocenie ryzyka środowiskowego ksenobiotyków, większość badań koncentruje się tylko na badaniu toksycznego wpływu substancji chemicznych na organizmy żywe. W praktyce istotne wydaje się także badanie mające na celu ocenę zdolności regeneracji organizmów testowych, np. rzęsy drobnej po uprzednim jej narażeniu na działanie związków chemicznych (EPA, 1998). Niestety doniesień z literatury dotyczących regeneracji *Lemna sp.* jest wciąż bardzo mało (Drost i in. 2007; Mohammad i in. 2010, 2006; Teodorović i in. 2012). W prezentowanych badaniach analizowano toksyczność sulfonamidów (SDM) z wykorzystaniem LemnaTest. Po siedmiodniowej inkubacji w roztworach SDM rośliny przenoszono do świeżej pożywki i inkubowano przez kolejne 7 dni. Uzyskane wyniki wskazują na to, że *Lemna minor* wykazuje zdolność regeneracji po wcześniejszym narażeniu jej na działanie sulfadimetoksyny, jednakże 7-dniowa regeneracja jest niewystarczająca aby wróciła ona do stanu fizjologicznego.

### Recovery potential of *Lemna minor* – getting more ecologically relevant data from laboratory tests

Department of Environmental Health Sciences, Medical University of Warsaw, Warsaw,  
Poland  
[agata.drobniewska@wum.edu.pl](mailto:agata.drobniewska@wum.edu.pl)

For the environmental risk assessment of xenobiotics, most studies have focused only on toxic effects of chemicals. Recovery of the reproduction capability of *Lemna sp.* after exposure to different chemicals, include pharmaceuticals, is another important factor that must be considered. The Guidelines for Ecological Risk Assessment of the U.S. EPA, suggest not only considering the nature and intensity of potential effects, including spatial as well as temporal scales, but also the potential for recovery (EPA, 1998). Very limited number of laboratory has studied the recovery of *Lemna sp.* (Drost et al. 2007; Mohammad et al., 2010, 2006; Teodorović et al., 2012). In our study the toxicity of sulfadimethoxine (SDM) was being evaluated with the LemnaTest before and after irradiation lasting 1 and 4 h. After 7 d exposure in SDM solutions, the plants were transferred to the fresh medium and incubated for the next 7 d. Summarizing our studies it seems that *Lemna* has ability to regenerate, but 7 d long recovery phase is not long enough for it to return to physiological state.

- EPA, 1998. Guidelines for Ecological Risk Assessment. U.S. EPA/630/R-95/002F. Washington, DC.  
Drost, W., Matzke, M., Backhaus, T., 2007. Heavy metal toxicity to *Lemna minor*: Studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure. Chemosphere. 67, 36-43.  
Mohammad, M., Itoh, K., Suyama, K., 2010. Effects of herbicides on *Lemna gibba* and recovery from damage after prolonged exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 58, 605-612.  
Mohammad, M., Itoh, K., Suyama, K., Yamamoto, H., 2006. Recovery of *Lemna sp.* after exposure to sulfonylurea herbicides. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 76, 256-263.  
Teodorović, I., Knežević, V.Z., Tunić, T.O., Čučak, M., Nikolić Lećić J., Leovac, A., Ivančev Tumbas I., 2012. *Myriophyllum aquaticum* versus *Lemna minor*: sensitivity and recovery potential after exposure to atrazine. Environ. Toxicol. Chem. 31, 417-426.

# **Streszczenia**

# **e-plakatów**

## Wykorzystanie biotestów w monitoringu jakości gleb

1E

BARAN A., WIECZOREK J.

Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie,  
[Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl](mailto:Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl)

*Słowa kluczowe:* gleby, ekotoksyczność, biotesty, monitoring, województwo Małopolskie

Celem badań było wykorzystanie baterii biotestów (Phytotoxkit, Ostracodtoxkit oraz Microtox) w monitoringu jakości i klasyfikacji ekotoksykologicznej gleb na terenie województwa małopolskiego. Do badań pobrano 320 próbek glebowych. Punkty poboru próbek wyznaczono metodą równych kwadratów o boku kwadratu 7,5km. Próbki glebowe pobierano z poziomu 0-10cm. Na podstawie klasyfikacji ekotoksykologicznej najwięcej gleb (39% próbek) zakwalifikowano do klasy II jako próbki niskotoksyczne, stanowiące niskie ostre zagrożenie. Nieznacznie mniej, bo 37% badanych gleb miało klasę III, co oznacza, że są to próbki toksyczne i stanowią ostre zagrożenie. Klasę I (próbki nietoksyczne) reprezentowało 11% badanych gleb. Klasa IV (próbki wysokotoksyczne) oraz klasa V (próbki bardzo wysokotoksyczne) były reprezentowane łącznie przez 15% badanych gleb. W badaniach stwierdzono, że wśród gleb pobranych na gruntach ornych, użytkach zielonych i nieużytkach dominowały próbki niskotoksyczne, zakwalifikowane do klasy II. Natomiast na użytkach leśnych przeważały gleby zaliczone do klasy III (próbki toksyczne), stanowiły one 35% próbek pobranych na tych użytkach. Uzyskane wyniki reprezentują jeden z etapów badań nad selekcją właściwego zestawu baterii biotestów wykorzystywanych w monitoringu jakości gleb i pokazują słuszność stosowania biotestów, jako komplementarnego narzędzia analizy chemicznej w ocenie i klasyfikacji ekologicznej gleb. Ponadto wydaje się, że w polskim prawodawstwie powinno być wskazanie do stosowania biotestów w procedurach monitoringu gleb.

Badania finansowane ze środków budżetowych na naukę: N N305 107640 (2011-2014), DS-3101/KChRiŚ

## Analiza toksyczności barwników tekstylnych otrzymanych w procesie biokatalizy

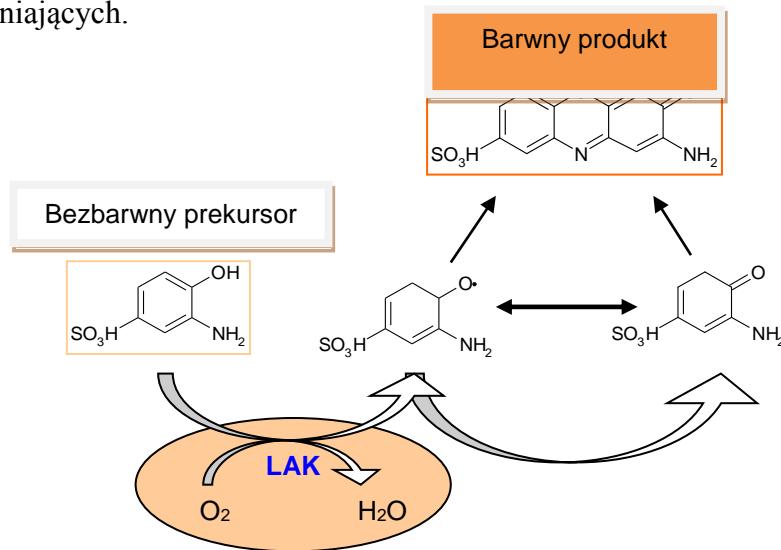
POLAK J., WLIZŁO K., JAROSZ-WILKOŁAZKA A.

Zakład Biochemii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej  
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin  
[anna.wilkolazka@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:anna.wilkolazka@poczta.umcs.lublin.pl)

*Słowa kluczowe:* lakaza grzybowa, barwniki, biokataliza, toksyczność, Microtox

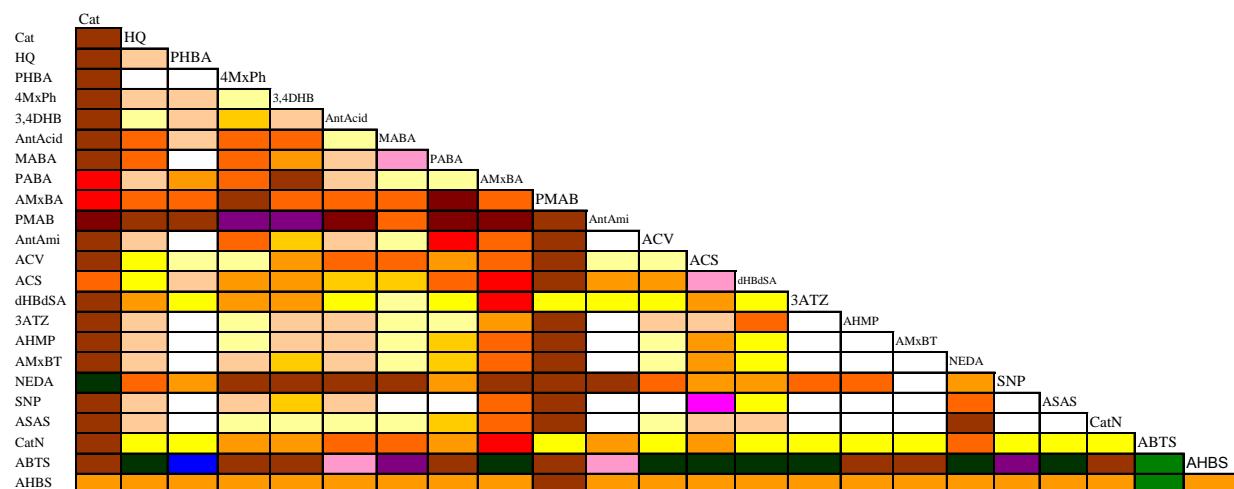
Grzyby białej zgnilizny drewna są źródłem wielu enzymów oksydoredukcyjnych, o znaczeniu biotechnologicznym, wśród których najważniejszymi są lakazy i peroksydazy. Główną rolą tych enzymów jest udział w rozkładzie polimeru ligninowego drewna, co stanowi ważny punkt w procesie obiegu węgla w przyrodzie. Od wielu dekad są one również ważnym narzędziem naukowców w opracowywaniu biokatalitycznych metod syntezy różnorodnych produktów i związków chemicznych o wysokim potencjale aplikacyjnym.

Lakaza grzybowa to glikoproteina wydzielana zewnątrzkomórkowo, która charakteryzuje się wysokim potencjałem atomu miedzi w centrum aktywnym enzymu, co determinuje jej niską specyficzność substratową. Lakaza może transformować związki chemiczne o zróżnicowanej strukturze, od prostych związków fenolowych do policyklicznych węglowodorów aromatycznych. Dzięki tym właściwościom może być stosowana jako uniwersalny katalizator zarówno w procesach degradacji jak i w procesach syntezy. Za pomocą biokatalizy enzymatycznej z udziałem lakazy, możliwa jest degradacja substancji toksycznych takich jak policykliczne węglowodory aromatyczne, aminy aromatyczne oraz barwniki tekstylne. Inną właściwością lakazy grzybowej (LAK) jest jej udział w bardzo wielu reakcjach syntezy związków o nowych właściwościach fizycznych i chemicznych takich jak biomateriały, biopolimery, antybiotyki, związki biologicznie czynne oraz barwniki tekstylne (Rysunek poniżej). Reakcja syntezy barwników tekstylnych ma szczególne znaczenie, gdyż z jednej strony umożliwia otrzymanie barwników o zmniejszonej toksyczności a z drugiej strony pozwala zastąpić proces chemicznej syntezy biokatalizą enzymatyczną, której podstawową zaletą jest niski wpływ na środowisko naturalne. Barwniki otrzymywane w procesach biotechnologicznych są mniej toksyczne i łatwiej biodegradowalne a przede wszystkim proces ich otrzymywania zachodzi w łagodnych warunkach jeżeli chodzi o wartości pH, ciśnienia i temperatury, a także bez użycia toksycznych substratów oraz niebezpiecznych związków utleniających.



W przypadku takich produktów jak barwniki tekstylne, niezmiernie ważne z punktu widzenia konsumenta jest określenie ich wpływu na organizmy żywe jak i ich toksyczności środowiskowej. Metody określania toksyczności barwników mogą opierać się o reakcje barwne np. z zastosowaniem czerwieni obojętnej lub metody chemiluminescencyjnej np. z bakterią morską *Vibrio fisheri*. W obu przypadkach wyniki są bardzo trudne do interpretacji z powodu intensywnej barwy testowanych związków, która zniekształca odczyt absorbancji lub luminescencji substancji lub organizmów testowych. W przypadku systemu Microtox możliwe jest przeprowadzenie korekty barwy związków czerwonych i pomarańczowych przy długości fali 490 nm, która znaczco zmniejsza oddziaływanie samej barwy na końcowy wynik toksyczności.

Celem pracy było określenie toksyczności środowiskowej barwników tekstylnych otrzymanych metodami biotechnologicznymi, a więc z zastosowaniem biokatalizatora enzymatycznego. Biokatalizatorem syntezy barwników była lakaza grzybowa ze szczezu *Cerrena unicolor*, która została zastosowana do biotransformacji bezbarwnych związków organicznych w barwne produkty, o potencjalnym zastosowaniu jako barwniki tekstylne. Wśród związków organicznych, zastosowanych jako prekursory barwników, były benzenowe i naftalenowe pochodne, zawierające metoksylowe, aminowe, sulfonowe i hydroksylowe grupy funkcyjne. W wyniku lakazowej transformacji tych substratów, otrzymano produkty o różnej barwie i intensywności, które zostały przebadane pod kątem ich zastosowania jako barwniki tekstylne (Tabela poniżej).



Dla otrzymanych produktów, charakteryzujących się intensywną i trwałą barwą oraz zdolnością do wybarwiania włókien wełnianych, przeprowadzono test ekotoksyczności z zastosowaniem szczepu *Vibrio fisheri* i aparatu Microtox. Pod kątem oceny toksyczności środowiskowej zostały przebadane produkty o różnych barwach - żółtych, pomarańczowych i fioletowych. Podczas testu zostały wyznaczone parametry EC50 określające poziom toksyczności środowiskowej zarówno bez jak i z uwzględnieniem korekcji barwy, niezależnie od koloru testowanych produktów. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, iż funkcja korekty barwy znaczco wpływała na parametr EC50 wszystkich testowanych barwników, niezależnie od ich barwy.

### Podziękowania

Praca była współfinansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach Programu Iuventus Plus (0433/IP1/2011/71) oraz Narodowe Centrum Nauki (NN 302 633040).

## Toxicity analysis of textile dyes obtained by biocatalysis

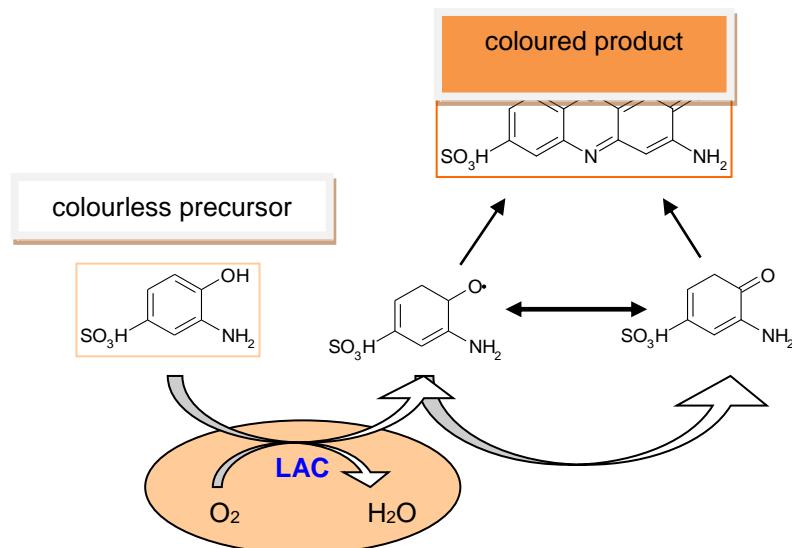
POLAK J., WLIZŁO K., JAROSZ-WILKOŁAZKA A.

Department of Biochemistry, Faculty of Biology and Biotechnology  
Maria Curie-Skłodowska University, Akademicka 19, 20-033 Lublin  
[anna.wilkolazka@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:anna.wilkolazka@poczta.umcs.lublin.pl)

*Key words:* fungal laccase, dyes, biocatalysis, toxicity, Microtox

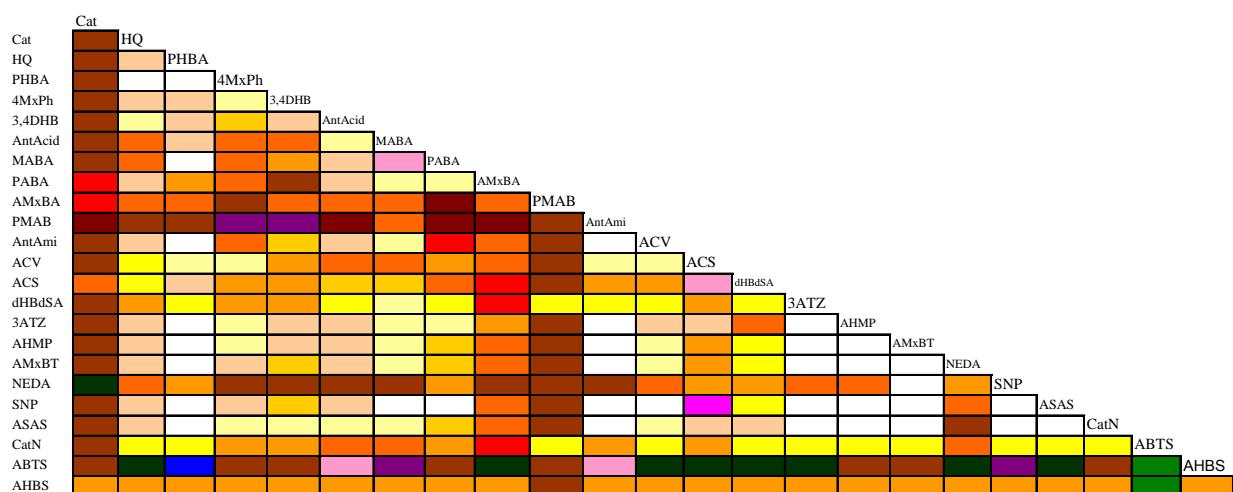
White rotting fungi are the source of many oxidising enzymes about biotechnological importance, among them laccases and peroxidases. The main role of these enzymes is degradation of lignin polymer, what is an important point in the global carbon cycle. Since many decades, they are also an important tool for scientists in developing of new biocatalytic methods of variety of chemical products and compounds with high potential of application synthesis.

Fungal laccase is extracellular glycoprotein, containing high redox potential copper atom in the active site of molecule, determining its low substrate specificity. Laccase is able to transform chemicals about different structure, from simple phenolic compounds to polycyclic aromatic hydrocarbons. Because of these properties it can be used as catalyst, both in degradation as well as in the synthesis processes. Many toxic compounds can be degraded by using of laccase-mediated biocatalysis and among them are polycyclic aromatic hydrocarbons aromatic amines and dyes. Another feature of the fungal laccase (LAC) is its ability to mediate the synthesis of compounds about new physical and chemical properties such as biomaterials, biopolymers, antibiotics, biologically active compounds as well as textile dyes. Especially the laccase-mediated synthesis of textile dyes is very promising because on the one hand it gives the possibility to obtain dyes with reduced toxicity and on the other hand, it represents an alternative for the chemical synthesis due to limited environmental impact (the figure below). Dyes obtained during biocatalysis are less toxic and easier biodegradable, but what is more important the synthesis thereof takes place under mild conditions in terms of pH value, pressure and temperature, and without the use of the toxic materials and dangerous oxidising agent.



In the case of dyes it is extremely important to determine their impact on living organisms and also their environmental toxicity. Several methods can be used, and most of them are based on coloured reactions, for example with using neutral red dye or chemiluminescent methods with bacterium *Vibrio fischeri*. In the both cases the results are very difficult to interpret because the colour of tested dye interferes with the absorbance or luminescence substance applied to the test (e.g. neutral red). In the case of reddish compounds it is possible to recalculate the data obtained from the Microtox system using the colour correction mode, what significantly reduces the influence of the colour on the final toxicity results.

The main goal of our study was the analysis of environmental toxicity of textile dyes obtained by using of enzymatic biocatalyst. Laccase obtained from *Cerrena unicolor* strain was used for the transformation of colourless organic compounds (dyes precursors) into coloured products with high commercial potential. Among precursors were compounds belonging to the benzene and naphthalene derivatives containing methoxy, amine, hydroxy and sulfonic substituents. Due to action of laccase on these precursors different coloured products were synthesised, and they were characterised under their ability to dyeing of wool fibres (the table below).



For product characterised by intensive and stable colours and by the ability to stain wool fibres, the ecotoxicity test was carried out using a Microtox system against *Vibrio fischeri* bacterium. Ecotoxicity was evaluated for dyes about different colours: orange, yellow, red, green, and violet. The EC50 parameter was calculated for each dye without and with using the colour correction mode, irrespectively on the colour of tested product. Basis on the results it can be concluded that colour correction mode has a significant influence on the EC50 parameter of all tested dyes, regardless of their colour.

### Acknowledgements

This work was partially supported by the Ministry of Science and Higher Education Iuventus Plus Program (0433/IP1/2011/71) and the National Science Centre (NN 302 633040).

## Ocena ekotoksycznego oddziaływania spinosadu na środowisko glebowe w oparciu o wybrane testy biologiczne

**TELEŚIŃSKI A.<sup>1</sup>, MICHALCEWICZ W.<sup>2</sup>, ONYSZKO M.<sup>1</sup>, PŁATKOWSKI M.<sup>1</sup>,  
STREK M.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii

<sup>2</sup> Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

ul. Słowiackiego 17, 71-434 Szczecin

e-mail: [arkadiusz.telesinski@zut.edu.pl](mailto:arkadiusz.telesinski@zut.edu.pl)

**Słowa kluczowe:** *spinosad, gleba, aktywność enzymatyczna, drobnoustroje, Phytotoxkit, Ostracodtoxkit F, Vibrio fischeri*

System rolnictwa ekologicznego wymaga stosowania ściśle określonych zasad produkcji roślinnej i zwierzęcej. Związane jest to ze stosowaniem m.in. naturalnych środków ochrony roślin. Należy do nich insektycyd spinosad, który powstaje w wyniku fermentacji promieniowców glebowych *Saccharopolyspora spinosa*. Ze względu na budowę chemiczną spinosad jest zaliczany do makrocyclicznych laktonów. W skład spinosadu wchodzą dwa metabolity makrocycliczne spinosyn A ( $C_{41}H_{65}NO_{10}$ ) oraz spinosyn D ( $C_{42}H_{67}NO_{10}$ ).

Celem podjętych badań była ocena szybkości zanikania oraz toksyczności spinosadu w środowisku glebowym.

Badania przeprowadzono na próbkach glebowych gliny lekkiej o zawartości węgla organicznego  $10,91 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Do części ziemistych wprowadzono spinosad w postaci preparatu Spintor 240 SC, w dawkach polowa (zalecana przez producenta), pięciokrotnie większa, dziesięciokrotnie większa i dwudziestopięciokrotnie większa. Punktem odniesienia była gleba bez dodatku insektycydu. Wilgotność próbek doprowadzono do 60% maksymalnej pojemności wodnej i przechowywano je w temperaturze  $20^{\circ}\text{C}$ . W trakcie trwania doświadczenia oznaczono za pomocą chromatografii cieczowej zawartość pozostałości spinosadu (jako sumę spinosynu A i D), metodami spektrofotometrycznymi aktywność enzymów glebowych (dehydrogenaz, fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz ureazy), a także zawartość podstawowych grup mikroorganizmów (bakterii, grzybów i promieniowców). Ponadto w 1. i ostatnim dniu doświadczenia wykonano testy Phytotoxkit, Ostracodtoxkit F i zmodyfikowany test skriningowy z bakteriami *Vibrio fischeri*.

Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że po 28 dniach zawartość spinosadu w glebie uległa ponad 95% rozkładowi. Pozostałości insektycydu w tym dniu wykazano jedynie przy dawce dziesięciokrotnie i dwudziestopięciokrotnie większej od zalecanej. Analiza zmian aktywności enzymów glebowych wykazała niewielki wpływ spinosadu na oceniane procesy biochemiczne. Spośród oznaczanych enzymów najbardziej wrażliwe na obecność insektycydu okazały się dehydrogenazy. Obecność w glebie pozostałości spinosadu spowodowała istotne zmiany liczebności drobnoustrojów glebowych, zwłaszcza promieniowców.

Porównując otrzymane wyniki testów ekotoksyczności nie stwierdzono wpływu pozostałości spinosadu na kiełkowanie roślin testowych. Wystąpiło natomiast zahamowanie wzrostu korzeni, bioluminescencji bakterii *Vibrio fischeri*, jak i zwiększenie śmiertelności skorupiaków *Heterocypris inconspicua*, zwłaszcza bezpośrednio po aplikacji insektycydu.

## Assessment of spinosad ecotoxicity effect on soil based on chosen biotests

**TELEŚIŃSKI A.<sup>1</sup>, MICHALCEWICZ W.<sup>2</sup>, ONYSZKO M.<sup>1</sup>, PŁATKOWSKI M.<sup>1</sup>,  
STREK M.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Plant Physiology and Biochemistry

<sup>2</sup> Department of Microbiology and Biotechnology of Environment  
West Pomeranian University of Technology in Szczecin,  
Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

**Keywords:** *spinosad, soil, enzymatic activity, microorganisms, Phytotoxkit, Ostracodtoxkit F, Vibrio fischeri*

The organic farming system requires the use of specific principles in crop and animal production. This is due to use natural products in plant protection. Spinosad is insecticide, which is formed by the fermentation of soil actinomycetes *Saccharopolyspora spinosa*. Due to the chemical structure spinosad is ranked among the macrocyclic lactones. The spinosad consists of two macrocyclic metabolites: spinosyn A ( $C_{41}H_{65}NO_{10}$ ) and spinosyn D ( $C_{42}H_{67}NO_{10}$ ).

The aim of this study was to determine the rate of dissipation and toxicity of spinosad residues in soil.

The experiment was carried out on samples of sandy loam with organic carbon content of  $10.91 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Spinosad, as Spintor 240 SC was added into soil material in dosages: recommended by the manufacturer five-fold, ten-fold and twenty-five-fold higher. The soil without insecticide was reference. Moisture samples was adjusted to 60% of the maximum holding water capacity and the samples were stored at  $20^\circ\text{C}$ . Spinosad residue content (as a sum spinosyn A and D), soil enzyme activities (dehydrogenase, acid and alkaline phosphatase, and urease), and the content of basic groups of microorganisms (bacteria, fungi and actinomycetes) were determined during the experiment. Spinosad residue content was measured with liquid chromatographic method, and soil enzyme activities was assayed with spectrophotometric method. In addition, on the first and last day of the experiment, tests Phytotoxkit, Ostracodtoxkit F and modified screening test with the bacteria *Vibrio fischeri* were used.

Based on the obtained results, it was found that after 28 days the content of spinosad in the soil was 95% decomposed – residues of this insecticide have been found in soil with at a dosage of spinosad tenfold and twenty-fivefold higher than recommended. Analysis of soil enzyme activity changes showed little effect of spinosad on the assessed biochemical processes. Among the most sensitive enzymes assayed for the presence of the insecticide proved dehydrogenase. The presence of spinosad residues in the soil resulted in significant changes in the number of soil microorganisms, especially actinomycetes.

Comparing the results of ecotoxicity tests no effect of spinosad residue on germination test was observed. Occurred while the decrease of root growth, bioluminescence in *Vibrio fischeri* and increased mortality of shellfish *Heterocypris incongruens*, were shown, particularly immediately after insecticide application.

## Ocena skuteczności remediacji gleb aktywowanymi biowęglami przy zastosowaniu testów ekotoksykologicznych

KOŁTOWSKI M., OLESZCZUK P.

Zakład Chemii Środowiskowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie- Skłodowskiej, Pl. Marii Curie- Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin, Polska  
[michal.koltowski@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:michal.koltowski@poczta.umcs.lublin.pl)

*Słowa kluczowe:* WWA: aktywacja biowęgli; *Vibrio fischeri*; *Lepidium sativum*; *Folsomia candida*

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) to związki, które mogą negatywnie oddziaływać na zdrowie ludzi i innych organizmów żywych. WWA, mogą dostać się do gleb, co stwarza toksyczne zagrożenie również dla organizmów glebowych. Jednym ze sposobów remediacji zanieczyszczonych gleb przez WWA jest związanie ich i immobilizacja przez biowęgiel. Celem badań była redukcja toksyczności gleb zanieczyszczonych WWA poprzez zastosowanie biowęgla wyprodukowanego z wikliny. W celu poprawy struktury porowatej i zdolności sorpcyjnej biowęgla, został on poddany różnym rodzajom aktywacji: 1) hydrotermicznej przy użyciu energii mikrofal, 2) w reaktorze fluidalnym za pomocą dwutlenku węgla oraz 3) w reaktorze fluidalnym za pomocą pary wodnej. Tak przygotowany materiał zastosowano do trzech gleb: 1) KB- pobranej z terenu koksowni z okolic składowiska odpadów przemysłowych, 2) KOK- pobranej z terenu koksowni w bliskim sąsiedztwie baterii koksowniczej oraz 3) POPI- pobranej z terenu wytwórni mas bitumicznych.

Aktywowane biowęgle oraz biowęgiel wyjściowy dodano w dawce 5% w/w do badanych gleb i mieszano przez okres dwóch miesięcy w ciemności. W celu określenia ekotoksyczności zastosowano następujące testy ekotoksykologiczne: Phytotoxkit F (*Lepidium sativum*), Collembolan test (*Folsomia candida*) oraz Microtox® (*Vibrio fischeri*). Próbki fazy stałej gleby poddano testom Phytotoxkit F oraz Collembolan test, podczas gdy ekotoksyczność ekstraktów wodnych gleb badano przy pomocy testu Microtox®.

Wyniki wykazały, że biowęgle mają wpływ na redukcję ekotoksyczności w glebach zanieczyszczonych WWA. Zakres redukcji ekotoksyczności zależał od rodzaju gleby jak i od rodzaju biowęgla. Gleby kontrolne charakteryzowały się wysoką śmiertelnością dorosłych (53-70%) oraz niską liczbą młodych osobników *Folsomia candida* (5-19%). Zaobserwowano również wysokie zahamowanie wzrostu korzeni w glebach KOK oraz KB (25 oraz 19%, odpowiednio). Wyniki testu Miroctox® również wykazały wysoką toksyczność wobec bakterii *Vibrio fischeri*, lecz tylko dla gleby KOK (89%). Najwyższą toksyczność w stosunku do wszystkich rodzajów biotestów, spośród badanych gleb wykazywała gleba KOK, która charakteryzowała się jednocześnie najwyższą sumą 16 WWA (40 mg/kg). Zastosowanie wyjściowych oraz aktywowanych biowęgli do badanych gleb spowodowało redukcję toksyczności zanieczyszczonych gleb. W teście Collembolan test pod względem śmiertelności *Folsomia candida* dodatek aktywowanych biowęgli oraz biowęgla wyjściowego skutkował redukcję toksyczności w zakresie od 20 do 40%. Największą liczbę młodych osobników *Folsomia candida* zaobserwowano w glebie KOK po dodatku biowęgli modyfikowanych dwutlenkiem węgla oraz mikrofalami (51 osobników, dla obydwu biowęgli). Najwyższą redukcję zahamowania wzrostu korzeni *Lepidium sativum* zaobserwowano w glebie KOK dla biowęgla aktywowanego mikrofalami (Roots Growth Inhibition (RGI)= -12). Podobną redukcję zahamowania wzrostu korzeni jak w glebie KOK zaobserwowano również dla gleby POPI. W teście Microtox® istotną redukcję zahamowania bioluminescencji bakterii *Vibrio fischeri* zaobserwowano w glebie KOK oraz POPI dla wszystkich rodzajów biowęgli. Najbardziej efektywnym biowęglem pod względem redukcji toksyczności względem

*Vibrio fischeri* w glebach KOK i POPI były te aktywowane przy użyciu przegrzanej pary wodnej oraz mikrofal.

Badania wykonano w ramach projektu BCAMED PSPB-135/2010, współfinansowanego przez Szwajcarię w ramach Szwajcarskiego Programu Współpracy z nowymi krajami członkowskimi Unii Europejskiej.

## **Evaluation of the effectiveness of soil remediation using activated biochars in relation to ecotoxicological bioassays**

KOŁTOWSKI M., OLESZCZUK P.

Department of Environmental Chemistry, Faculty of Chemistry, Maria Curie-Sklodowska University, Maria Curie-Sklodowska Sq. 3, 20-031 Lublin, Poland  
[michal.koltowski@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:michal.koltowski@poczta.umcs.lublin.pl)

**Keywords:** PAHs; biochar activation; *Vibrio fischeri*; *Lepidium sativum*; *Folsomia candida*

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are compounds that may adversely affect the health of humans and other living organisms. Moreover, PAHs could enter to the soil provoking toxic effects also for soil dwelling organisms. One possibility to remediate soils that are contaminated by PAHs is to bind and immobilize them with biochar. The aim of this study was to reduce the ecotoxicity of PAH contaminated soils by adding biochar pyrolysed from willow. To improve the biochar porous structure and binding capacity it was subjected to a range of activations by: 1) microwaves (in a microwave reactor under an atmosphere of superheated steam), 2) carbon dioxide in fluidized bed reactor and 3) superheated steam in fluidized bed reactor. Activated biochars were applied to three types of soils: 1) from landfill, where industrial wastes from coking plant are deposited (KB), 2) from the area of coking battery (KOK), and 3) from the area of bitumen processing plant (POPI).

Soils were mixed with original and activated biochars with 5% w/w dose and conditioned for two months in the dark. A battery of three bioassays was used for ecotoxicological evaluation of samples: Phytotoxkit F (*Lepidium sativum*), Collembolan test (*Folsomia candida*) and Microtox® (*Vibrio fischeri*). Solid phase soil samples were tested in Phytotoxkit F and Collembolan test, whereas in the case of Microtox®, leachates from investigated soils were analysed.

Results showed that biochars can affect on ecotoxicity reduction in soils contaminated by PAHs. The ecotoxicity reduction range depended on type of the soil and type of the biochar activation. Control soils was characterised by high mortality of springtails (53-70%) and low number of juveniles (5-19). Moreover, a high root growth inhibititon (RGI) in contrast to POPI soil was observed in KOK and KB soils (25 and 19%, respectively). Microtox® test results showed also very high inhibition of bioluminescence of *Vibrio fischeri* only for KOK soil (89%). The highest toxicity due to all kinds of bioassays and control soils was observed for KOK soil which was characterised by the highest sum of the 16 PAHs (40 mg/kg). After no activated and activated biochar amendment to investigated soils, reduce in ecotoxicity due to range of bioassays was observed. In Collembolan test according to the mortality of *Folsomia candida* all type of the amended biochars caused significant reduction of mortality in KOK soil and results was ranged from 20 to 40%. The highest number of juveniles (51) was observed after biochars activated by CO<sub>2</sub> and microwaves amendment to KOK soil. According to the results obtained from Phytotoxkit F test the highest decrease of root growth inhibition (RGI) in KOK soil was observed for biochar activated by microwaves (RGI= -12). A similiar to KOK soil significant reduction of RGI was also noted for POPI soil. In Microtox® test a significant decrease of inhibition of bioluminescence in KOK and POPI soil was observed for all kind of amended biochar. The most effective was that modified by water vapour and microwaves.

This work was supported by a grant from Switzerland through the Swiss Contribution to the enlarged European Union.

## Toksyczność gleb użyźnianych osadem ściekowym i biowęglem z osadu ściekowego w stosunku do *Lepidium sativum* i *Folsomia candida*

ZIELIŃSKA A., OLESZCZUK P.

Zakład Chemii Środowiskowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin  
e-mail: [anna.zielinska@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:anna.zielinska@poczta.umcs.lublin.pl)

*Słowa kluczowe:* osad ściekowy, biowęgiel, toksyczność, Phytotoxkit F, *Folsomia candida*.

Obecność zanieczyszczeń, takich jak silnie toksycznych związków organicznych, potencjalnie toksycznych pierwiastków, mikroorganizmów chorobotwórczych czy jaj robaków, ogranicza wykorzystanie osadów ściekowych do użyźniania i rekultywacji gleb. Z tego też powodu poszukuje się nowych rozwiązań. Alternatywą może być biowęgiel (BC). Dodatek biowęgla do gleb zwiększa ich żywotność oraz wpływa na zmiany klimatyczne poprzez sekwestrację węgla w glebie, redukcję emisji  $N_2O$  oraz  $CH_4$  z gleb. Ponadto biowęgiel zwiększa pojemność wodną gruntu oraz pH gleb, zapobiega wymywaniu składników pokarmowych oraz immobilizuje zanieczyszczenia organiczne i nieorganiczne w glebie [1].

Celem badań była ocena wpływu osadów ściekowych i biowęgli otrzymanych z tych osadów (w temperaturach 500 °C, 600 °C i 700 °C) po dodaniu ich do gleby na ich toksyczność w stosunku do roślin (*Lepidium sativum*) i stawonogów (*Folsomia candida*). Osad ściekowy i biowęgle dodane zostały do gleby w dawce 1 %.

Badania wykazały, że mieszanina osadu ściekowego i gleby była toksyczna w stosunku do *L. sativum*. Konwersja osadu ściekowego do biowęgla spowodowała całkowitą redukcję jego fitotoksyczności. Biowęgle dodane do gleby stymulowały wzrost korzeni *L. sativum* zarówno w porównaniu do samej gleby, jak i mieszaniny gleba-osad ściekowy. Zależnie od temperatury w jakiej otrzymano biowęgiel zaobserwowano stymulację wzrostu korzeni w zakresie od 7.8 % (BC700) do 64.2 % (BC500) w stosunku do gleby nie zawierającej dodatków i od 51.3 % (BC700) do 130.6 % (BC500) w stosunku do wyjściowego osadu ściekowego.

Z kolei w przypadku testu z *F. candida* zanotowano odwrotne tendencje. Mieszanina gleba-osad ściekowy nie wpływała istotnie na śmiertelność *F. candida* w stosunku do samej gleby. Wpływ mieszaniny gleby i biowęgli zależał od temperatury ich otrzymania. Biowęgle otrzymane w temperaturze 500 °C powodowały zwiększenie śmiertelności *F. candida*. Biowęgle otrzymane w temperaturze 700 °C nie wpływały istotnie na przeżywalność *F. candida*, podczas gdy biowęgle otrzymane w temperaturze 600 °C obniżały śmiertelność badanych organizmów. Dodatek zarówno biowęgli, jak i osadów ściekowych hamował znacząco rozrodczość *F. candida*.

[1] J. Lehmann, M.C. Rillig, J. Thies, C.A. Masiello, W.C. Hockaday, D. Crowley, Biochar effects on soil biota – A review, *Soil Biol. Biochem.* 43 (2011) 1812–1836.  
doi:10.1016/j.soilbio.2011.04.022.

## Toxicity of soils fertilized by sewage sludge and biochar produced from sewage sludge relative to *Lepidium sativum* and *Folsomia candida*

ZIELIŃSKA A., OLESZCZUK P.

Department of Environmental Chemistry, Faculty of Chemistry, Maria Curie-Skłodowska University, 3 Maria Curie-Skłodowska Square, 20-031 Lublin  
e-mail: [anna.zielinska@poczta.umcs.lublin.pl](mailto:anna.zielinska@poczta.umcs.lublin.pl)

**Keywords:** sewage sludge, biochar, toxicity, Phytotoxkit F, *Folsomia candida*.

The presence of contaminants in sewage sludge, such as highly toxic organic compounds, potentially toxic elements, pathogenic microorganisms or worm eggs, restricts its application for soil fertilization and reclamation. Due to this, new solutions are constantly sought. Biochar (BC) can be an answer to the current problems related to sewage sludge reuse. The addition of biochar to soil increases its fertility and affects climate change through carbon sequestration in soil and reduction of N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> emission from soil. In addition, biochar increases the water capacity of soil and its pH, prevents leaching of nutrients and immobilises organic and inorganic contaminants in soil [1].

The aim of the study was to evaluate the effect of the addition of sewage sludges and biochars obtained from them (at temperatures of 500 °C, 600 °C i 700 °C) to soil on its toxicity relative to plants (*Lepidium sativum*) and arthropod (*Folsomia candida*). The sewage sludge and biochar were added to soil at a dose of 1 %.

The studies have been shown that a mixture of sewage sludge and soil was toxic to *L. sativum*. The conversion of the sewage sludge to biochar caused a total reduction of its phytotoxicity. Biochars added to soil, stimulated root growth of *L. sativum*, both in comparison with the soil itself and a mixture of soil-sewage sludge. Depending on the pyrolysis temperature, stimulation of root growth within the range from 7.8 % (BC700) to 64.2 % (BC500) relative to the soil containing no additives and from 51.3 % (BC700) to 130.6 % (BC500) relation to initial sewage sludge was observed.

In turn, in the case of the test with *F. candida* the opposite trends were observed. The mixture of soil-sewage sludge did not have any significant effect on the mortality of *F. candida* relation to soil itself. The impact of the mixture of soil and biochars depended on the pyrolysis temperature. Biochars obtained at 500 °C caused the increase of mortality of *F. candida*. Biochars produced at 700 °C did not cause any significant effect on survival of *F. candida*, while biochars obtained at 600 °C caused decrease the mortality of the test organisms. The addition of both biochars and sewage sludges significantly inhibited the reproduction *F. candida*.

[1] J. Lehmann, M.C. Rillig, J. Thies, C.A. Masiello, W.C. Hockaday, D. Crowley, Biochar effects on soil biota – A review, *Soil Biol. Biochem.* 43 (2011) 1812–1836.  
doi:10.1016/j.soilbio.2011.04.022.

## Fitotoksyczność biowęgli po adsorpcji metali ciężkich

BOGUSZ A., OLESZCZUK P.

Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Wydział Chemii,  
Zakład Chemii Środowiskowej,  
Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin  
[aleksandra0989@gmail.com](mailto:aleksandra0989@gmail.com)

*Słowa kluczowe:* *biowęgle, fitotoksyczność, metale ciężkie*

W świetle coraz bardziej restrykcyjnych przepisów dotyczących jakości wód gruntowych i powierzchniowych, aspekt usuwania z nich jonów metali ciężkich stał się nadzrędnym celem wielu badań. Biorąc pod uwagę fakt, iż metale ciężkie, w przeciwieństwie do zanieczyszczeń organicznych, nie są biodegradowalne, a ponadto zachowują dużą trwałość w środowisku naturalnym konieczne jest ograniczenie ich biodostępności w środowisku naturalnym. Stąd, w ostatnich latach szczególną uwagę poświęca się opracowaniu efektywnych metod usuwania lub immobilizacji jonów metali ciężkich. Celem tego jest ograniczenie ich mobilności w środowisku naturalnym oraz minimalizacja negatywnego wpływu na organizmy żywego. Spośród wielu dostępnych technik najczęściej wykorzystuje się adsorcję. Jest to związane z niewątpliwyimi zaletami tego procesu, takimi jak dostępność szerokiej gamy materiałów sorpcyjnych, możliwości ich odzysku, łatwości modyfikacji, braku zwykle toksycznych produktów ubocznych oraz niskich kosztów. Badania prowadzone obecnie skoncentrowane są na poszukiwaniu tanich i łatwo dostępnych adsorbentów, które będą zdolne do selektywnego oraz nieodwracalnego usuwania jonów metali ciężkich. W tym celu testuje się między innymi różne rodzaje biomasy jako surowce do otrzymywania wydajnych materiałów biowęglowych. Biowęgle otrzymywane w wyniku pirolizy biomasy ze względu na swoje właściwości stały się atrakcyjną alternatywą dla węgli aktywnych, których cena rynkowa wciąż rośnie, a dostępność biomasy jest praktycznie nieograniczona.

Przy opracowywaniu metod immobilizacji jonów metali za pomocą adsorpcji, konieczne jest określenie czy proces zachodzi w sposób nieodwracalny, nie powodując wtórnego zanieczyszczenia ekosystemów oraz przeniknięcia tych substancji do łańcucha pokarmowego zwierząt. W tym celu należy oszacować siłę oddziaływanie pomiędzy biowęgiem, a adsorbatem w postaci jonu danego metalu. Trwałość tych oddziaływań warunkuje nietoksyczność biowęgla po procesie adsorpcji ograniczając uwalnianie jonów z adsorbentu.

W niniejszej pracy oszacowano zdolności adsorpcyjne biowęgla otrzymanego w wyniku pirolizy słomy z pszenicy (BCS) w stosunku do jonów Cd(II), Cu(II), Cr(VI), Zn(II), Pb(II) oraz Ni(II). Do oznaczeń wykorzystano technikę absorpcyjną spektrometrii atomowej z atomizacją w płomieniu (F AAS). Adsorcję prowadzono w sposób statyczny, a pojemność adsorpcyjną wyznaczono na podstawie różnicy stężeń jonów w roztworze wyjściowym i po ustaleniu się stanu równowagi. Ponadto, określono fitotoksyczność biowęgla przed i po procesie immobilizacji tych jonów przy zastosowaniu testu Phytotoxkit F. Jako roślinę testową zastosowano *Lepidium sativum*.

## Phytotoxicity of biochars after the adsorption of heavy metals

BOGUSZ A., OLESZCZUK P.

University of Maria Curie-Skłodowska,  
Faculty of Chemistry, Department of Environmental Chemistry  
Pl. Marii Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin  
[aleksandra0989@gmail.com](mailto:aleksandra0989@gmail.com)

*Keywords:* Phytotoxicity, biochars heavy metals

In the view of increasingly stringent regulations on the quality of groundwater and surface water, the aspect of removal of heavy metal ions has become a primary aim of many studies. Given the fact that the heavy metals, in contrast to the organic contaminants, are not biodegradable, and characterized by high stability in the environment, reducing of their bioavailability in the environment is crucial. Hence, in recent years, the particular attention is paid to developing effective methods for removing or immobilization of heavy metal ions. Limiting their mobility in the environment and minimizing the negative effects on living organisms are the main purposes. Considering each available techniques the most commonly used is adsorption. It is associated with the undoubted advantages of the process, such as the availability of a wide variety of adsorbents and the possibility of their recovery, ease of modification, the absence of normally toxic by-products and low cost. Current studies are mainly focused on the search for cheap and readily available adsorbents which will be capable to selective and irreversible removing heavy metal ions. For this purpose, different types of biomass as a feedstock for high-performance carbonaceous materials are tested. Biochar derived from biomass pyrolysis, because of its properties, have become an attractive alternative to activated carbons, whose market price is still growing, while the availability of biomass is virtually unlimited.

During developing of methods of metal ions immobilization on the basis of adsorption, it is necessary to determine whether the process takes place in an irreversible way, without causing the secondary pollution of ecosystems and transfer of these substances into the food chain of animals. For that reason, evaluation of the strength of interactions between biochar and the adsorbate in the form of a metal ion should be done. Stability of these interactions determines the non-toxicity of biochar after the adsorption process by reducing the release of ions from the adsorbents surface.

In the current study, the adsorption ability of biochar obtained by pyrolysis of wheat straw (BCS) in respect to the Cd(II), Cu(II), Cr(VI), Zn(II), Pb(II) and Ni(II) ions was performed. Atomic absorption spectrometry with flame atomization (F AAS) was used for determination the metal ions concentration in the solution. Adsorption process was carried out in a batch mode, and the adsorption capacity was determined from the difference between the concentrations of ions in the starting solution, and after establishing the equilibrium state. In addition, the phytotoxicity of biochar before and after immobilization of the ions was evaluated using the Phytotoxkit F test. As a test plant *Lepidium sativum* was used.

## Charakterystyka mikrobiologiczna i ocena toksyczności ścieków z przydomowych oczyszczalni ścieków

CHOJNIAK J.<sup>1</sup>, PŁAZA G.<sup>1</sup>, NAŁĘCZ- JAWICKI G.<sup>2</sup>, KAISER A.<sup>3</sup>, HEGEDUSOWA B.<sup>3</sup>,  
EJHED H.<sup>4</sup>, MAGNÉR J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, Mikrobiologia Środowiskowa, Polska

<sup>2</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Farmaceutyczny, Zakład Badania Środowiska,  
Polska

<sup>3</sup> Development and Assessment Institute in Waste Water Technology at RWTH Aachen  
University, Niemcy

<sup>4</sup> Natural resources & Environmental Effects, IVL Swedish Environmental Research Institute,  
Szwecja

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

*Słowa kluczowe: mikroorganizmy, antybiotyki, przydomowe oczyszczalnie ścieków,  
ekotoksyczność*

Oczyszczalnie przydomowe to zespół urządzeń służących do oczyszczania ścieków bytowych z gospodarstw domowych w procesach mechanicznych, biologicznych i chemicznych. Oczyszczone ścieki są odprowadzane do środowiska wodno-gruntowego.

Celem badań była charakterystyka mikrobiologiczna i ekotoksykologiczna surowych i oczyszczonych ścieków z różnych technologii przydomowych oczyszczalni ścieków. Badania obejmowały wybrane technologie biologicznego oczyszczania ścieków: (1) technologię A - zbiorniki ze złożem fluidalnym i stałym, (2) technologię B - system biofiltrów zrobionych z włókna wełnianego jako absorbent mikroorganizmów, oraz (3) technologię C - system reaktorów z napowietrzaniem z pływającymi plastikowymi kształtkami, na których osadzane są mikroorganizmy.

Badania wykazały, iż bakterie stanowiły najliczniejszą grupę wśród wszystkich mikroorganizmów, we wszystkich badanych próbach. Ogólna liczba bakterii zawierała się w przedziale  $10^4$ - $10^{12}$  jtk/ml. Największe stężenie bakterii zaobserwowano na plastikowych kształtkach pochodzących z Technologii C ( $10^{12}$  jtk/ml) oraz na filtrach z włókna wełnianego ( $10^8$  jtk/ml) z Technologii B. Liczba mikroorganizmów w ściekach surowych była znacznie wyższa niż ich liczba w ściekach oczyszczonych. Liczba grzybów była niska. Natomiast, nie zaobserwowano obecności promieniowców w ściekach. Do podłoża hodowlanych dodawano antybiotyki: kanamycynę, streptomycynę i penicylinę, oceniając w ten sposób liczbę bakterii opornych na wybrane antybiotyki. Bacterie oporne na antybiotyki stanowiły od 40 do 60% ogólnej liczby bakterii w testowanych ściekach. W badaniach mikrobiologicznych zastosowano również różne podłoż chromogenne do oceny obecności bakterii należących do: *coli*, *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*. W badaniach ekotoksykologicznych (Microtox i Spirotox) stwierdzono, że ścieki surowe były toksyczne, natomiast ścieki oczyszczone nie były toksyczne.

Przeprowadzone badania mikrobiologiczne i toksykologiczne ścieków surowych i oczyszczonych z różnych biologicznych systemów oczyszczania wykazały, że testowane technologie są efektywne i skuteczne.

## **Microbial characterization and evaluation of the toxicity of wastewaters from onsite wastewater technologies (OSWT)**

**CHOJNIAK J.<sup>1</sup>, PŁAZA G.<sup>1</sup>, NAŁĘCZ- JAWICKI G.<sup>2</sup>, KAISER A.<sup>3</sup>, HEGEDUSOWA B.<sup>3</sup>,  
EJHED H.<sup>4</sup>, MAGNÉR J.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Institute for Ecology of Industrial Areas, Microbial, Department of Environmental Microbiology,  
Poland

<sup>2</sup> Medical University of Warsaw, Faculty of Pharmacy, Department of Environmental Studies,  
Poland

<sup>3</sup> Development and Assessment Institute in Waste Water Technology at RWTH Aachen  
University, Germany

<sup>4</sup> Natural resources & Environmental Effects, IVL Swedish Environmental Research Institute,  
Sweden

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

**Key words:** *microorganisms, antibiotics, onsite wastewater treatment, ecotoxicity*

Onsite (or decentralized) wastewater treatment systems are used to reduce wastewater pollution load from households or small industries not connected to wastewater treatment plants and return treated wastewater back into the receiving environment. Usually the treatment process includes pre-treatment and biological treatment stages. For biological treatment many different treatment technologies are used: SBR, fixed bed, fluidized bed, membrane reactors, biofilter systems.

The scope of the study was to evaluate the microbial and ecotoxicological quality of raw and treated wastewaters. Three different technologies were investigated: (1) technology A: Fixed bed reactor; (2) technology B: Trickling filter / Biofilter system with a filter consisting of rockwool pieces on which the microorganisms grow; and (3) technology C: Aerated filter system with a fluidized bed reactor with the microorganisms growing on the surface of plastic media and suspended microorganisms.

Initial results showed that bacteria were the most abundant group of microorganisms in influent and effluent wastewaters and all materials tested. The range of bacteria number was  $10^4$ - $10^{12}$  cfu/ml. The highest number of bacteria was in black plastic pieces ( $10^{12}$  cfu/ml) and in the rockwool material ( $10^8$  cfu/ml) which were used as biological carriers in the technologies C and B, respectively. Each individual carrier provides a protected surface area to support the growth of bacteria, leaving the active biomass on the inside of these carrier elements. The number of fungi was low, and no *Actinomycetes* were detected. To evaluate the number of antibiotic-resistance bacteria the following antibiotics were added separately and mix to the media: kanamycin, streptomycin, and penicillin. 40-60 % of the total bacteria were the antibiotic-resistance bacteria. The chromogenic media were used to evaluate the following bacteria: *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*. In ecotoxicological analysis two biotests were applied: Microtox and Spirotox. The influents wastewaters from all investigated technologies were toxic. However, the toxicity was not detected in the effluents. According to the obtained results the tested technologies were microbial and ecotoxicological effective.

Badania zostały sfinansowane w ramach projektu “Optimization of small wastewater treatment facilities (OPTITREAT)” no. 2112932-1 BONUS EEIG.

**8E**

## **Wykorzystanie testów ekotoksykologicznych w ocenie współoddziaływania związków powierzchniowo czynnych**

CZERNYCH R., RATAJCZYK W., WOLSKA L.

Zakład Toksykologii Środowiska Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdańsk Uniwersytet Medyczny,  
ul. Dębowa 23, 80-204 Gdańsk, Polska  
e-mail: [r.czernych@gumed.edu.pl](mailto:r.czernych@gumed.edu.pl)

*Słowa klucze:* testy ekotoksykologiczne, surfaktanty, współoddziaływanie, ryzyko środowiskowe.

Konsekwencją powszechności stosowania związków powierzchniowo – czynnych jest systematyczna ich emisja i łatwe przemieszczanie się w środowisku. Substancje będące składnikami wielu detergentów trafiają do ścieków i innych elementów środowiska naturalnego głównie z czynności wykonywanych w gospodarstwach domowych (pranie ubrań, mycie naczyń, kąpiel) i w gałęziach przemysłu (oczyszczanie powierzchni metali, farbowanie tkanin, wytwarzanie cząsteczek magnetycznych).

W celu zwiększenia efektywności związków powierzchniowo-czynnych w środkach czyszczących najczęściej obecne są w postaci mieszanin określonych grup surfaktantów (jonowe, niejonowe). Występowanie tych związków w postaci mieszaniny warunkuje nie tylko zwiększenie właściwości czyszczących, ale przyczynia się również do zwiększenia ich toksyczności w momencie przedostania się do środowiska naturalnego. Dzieje się tak z uwagi na występowanie tak zwanego zjawiska współoddziaływania związków.

Praca skupia swoją uwagę na możliwościach wykorzystania testów ekotoksykologicznych w ocenie zjawiska współoddziaływania mieszanin środków powierzchniowo-czynnych popularnie stosowanych w środkach czystości.

## The use of ecotoxicological tests in the evaluation of the interaction of surfactants

CZERNYCH R., RATAJCZYK W., WOLSKA L.

Department of Environmental Toxicology, Faculty of Health Sciences, Division of Nursing,  
Institute of Maritime and Tropical Medicine, Medical University of Gdańsk, Dębowska 23  
street, 80-204 Gdańsk, Poland  
e-mail: [r.czernych@gumed.edu.pl](mailto:r.czernych@gumed.edu.pl)

*Key-words:* *ecotoxicological tests, surfactants, interactions, environmental risk.*

The consequence of the prevalent of the use of surfactants is their systematic emission and easy transport in the environment. The constituents of many detergents end up in sewage and other environmental elements mainly from household activities (washing clothes, washing dishes, bathing) and industries (metal surface cleaning, textile dyeing, manufacture of magnetic particles).

In order to increase the efficiency of the surfactant in the cleaning compositions they are most often present in the form of mixtures of certain groups of surfactants (ionic and nonionic). The presence of these compounds in the form of a mixture determines not only increase of the cleaning properties, but also increases their toxicity when they enter the environment. This is due to the presence of the so-called phenomenon of interactions of the compounds.

The work focuses its attention on the possibilities of use of ecotoxicological tests in the evaluation of the interaction phenomena of mixtures of surfactants commonly used in cleaning agents.

## Wpływ modyfikowanych chitozanów na toksyczność wody w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri*

KALINOWSKI R.<sup>1)</sup>, KAŽMIERCZUK M.<sup>1)</sup>, PACZKOWSKI SZ.<sup>1)</sup>, TRZCIŃSKA M.<sup>1)</sup>,  
TOMCZYK B.<sup>1)</sup>, TÓRZ A.<sup>2)</sup>, EYMONTT A.<sup>3)</sup>, WIERZBICKI K.<sup>3)</sup>

- 1) Zakład Ekotoksykologii, Instytut Ochrony Środowiska – Państwowy Instytut Badawczy,  
ul. Krucza 5/11d, 00-548 Warszawa  
2) Katedra Fizykochemii i Technologii Polimerów, Politechnika Śląska,  
ul. Strzody 7, 44-100 Gliwice  
3) Zakład Inżynierii Sanitarnej Wsi, Instytut Technologiczno-Przyrodniczy,  
Falenty, Al. Hrabska 3, 05-090 Raszyn  
[radoslaw.kalinowski@ios.edu.pl](mailto:radoslaw.kalinowski@ios.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* Microtox, *Vibrio fischeri*, chitozan, woda, toksyczność

Procesy uzdatniania wody przeznaczonej do spożycia mające na celu zapewnienie bezpieczeństwa zdrowotnego ludzi pod kątem mikrobiologicznym, ze względu na stosowanie silnych utleniaczy mogą powodować powstawanie toksycznych ubocznych produktów dezynfekcji. Realizowany przez ogólnopolskie konsorcjum projekt badawczy finansowany przez NCBiR w ramach instrumentu INNOTECH pt. "Biologiczna stabilizacja mikrobiologii wody przeznaczonej do spożycia" ma na celu opracowanie technologii uzdatniania wody zapewniającej biologiczną stabilizację mikrobiologii wody w oparciu o naturalne procesy mikrobiologiczne oraz tzw. „zieloną chemię” w miejscu stosowanych metod chemicznych i fizycznych. Na potrzeby badań w niniejszym projekcie został wybudowany model stacji uzdatniania wody pozwalający na weryfikację stawianych hipotez badawczych w skali półtechnicznej. Jednym z testowanych rozwiązań procesu uzdatniania było użycie (jako ostatniego stopnia uzdatnienia) kolumny filtracyjnej wypełnionej naturalnym biopolimerem – chitozanem zmodyfikowanym poprzez wbudowanie w jego strukturę atomów miedzi lub srebra.

W pracy przedstawiono wyniki badań nad wpływem modyfikowanych chitozanów na toksyczność wody po procesie uzdatniania w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri* w teście Microtox, które miały odpowieǳieć na pytanie dotyczące możliwego uwalniania toksycznych jonów metali z zastosowanego materiału filtracyjnego. Do oceny toksyczności próbek zastosowano procedurę 81.9% Screening Test w którym organizmy testowe inkubowano 5, 15 i 30 min. Dodatkowo podjęto próbę oceny wpływu czasu kontaktu uzdatnianej wody z modyfikowanym biopolimerem na zmiany toksyczności w stosunku do bakterii. W badaniach nie stwierdzono uwalniania metali z kolumny chitozanowej w ilościach wpływających na toksyczność wody w stosunku do bioindykatorów. Obserwowane efekty toksyczne wywoływanie przez wodę po przejściu przez kolumnę chitozanową były zarówno w przypadku chitozanu modyfikowanego miedzią jak i srebrem na zbliżonym poziomie jak w próbce kontrolnej, uzdatnionej jedynie metodami fizycznymi (aeracja, filtracja przez złożę piaskowe). Czas kontaktu wody w procesie uzdatniania z biopolimerem nie powodował istotnych zmian w toksyczności próbek. Nie zaobserwowało przyrostu reakcji testowej pomiędzy różnymi czasami inkubacji, a różnice pomiędzy poszczególnymi próbками miały charakter fluktuacji.

Praca została sfinansowana w ramach projektu INNOTECH-K2/IN2/7/181844 „Biologiczna stabilizacja mikrobiologii wody przeznaczonej do spożycia” oraz środków własnych IOŚ-PIB.

## Influence of modified chitosan on water toxicity towards bacteria *Vibrio fischeri*

**KALINOWSKI R.<sup>1)</sup>, KAŽMIERCZUK M.<sup>1)</sup>, PACZKOWSKI SZ.<sup>1)</sup>, TRZCIŃSKA M.<sup>1)</sup>,  
TOMCZYK B.<sup>1)</sup>, TÓRZ A.<sup>2)</sup>, EYMONTT A.<sup>3)</sup>, WIERZBICKI K.<sup>3)</sup>**

<sup>1)</sup> Department of Ecotoxicology, Institute of Environmental Protection – National Research Institute, Krucza 5/11d, 00-548 Warsaw

<sup>2)</sup> Department of Physical Chemistry and Technology of Polymers, Silesian University of Technology, Strzody 7, 44-100 Gliwice

<sup>3)</sup> Department of Rural Sanitary Engineering, Institute of Technology and Life Sciences, Falenty, Al. Hrabska 3, 05-090 Raszyn

[radoslaw.kalinowski@ios.edu.pl](mailto:radoslaw.kalinowski@ios.edu.pl)

**Keywords:** *Microtox, Vibrio fischeri, chitosan, water, toxicity*

Processes of drinking water treatment intended to ensure people health safety in terms of microbiology, due to usage of strong oxidants can cause occurrence of toxic disinfection byproducts. Scientific project carried out by nationwide consortium, financed by The National Centre of Research and Development under the financial instrument INNOTECH entitled “Biological stabilization of drinking water microbiology” is designed to develop water treatment technology that ensures microbiological stability based on natural microbiological mechanisms and so called “green chemistry” as a replacement for currently applied physical and chemical treatment methods. For purposes of this project the model of water treatment station had been built. It allowed the hypothesis to be tested in semi-technical scale. One of the solutions that had been tested was applying as a final treatment stage filtration through the filter column filled with natural biopolymer – chitosan – modified by incorporation in his structure copper or silver.

This paper presents the research results of influence of modified chitosan on water toxicity on *Vibrio fischeri* bacteria after water treatment process. The tests were carried out in Microtox system and were intended to answer whether the applied filtering material emits toxic metal ions into the treated water. The 81.9% Screening test protocol was applied to assess the sample toxicity; 5, 15 and 30 minutes period of incubation were used. Additionally attempted to estimate the influence of chitosan-water contact time on toxicity to bioindicators. Observed toxic effects caused by both silver and copper modified chitosan were on similar level as in control sample – treated only by physical methods (aeration, filtration on sand column). Exposure time to biopolymer in treatment process does not pose significant changes in toxicity of samples. Incline of test reaction between different exposure times was not observed and differences between each sample points were actually fluctuations.

Research was financed under the project INNOTECH-K2/IN2/181844 “Biological stabilization of drinking water microbiology” and by own resources of Institute Of Environmental Protection – National Research Institute

## **Wykorzystanie biotestów oraz wskaźników chemicznych w ocenie osadów dennych zbiornika Rzeszów**

**BARAN A.<sup>1</sup>, TARNAWSKI M.<sup>2</sup>, KONIARZ T.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, <sup>2</sup>Katedra Inżynierii Wodnej i Geotechniki,  
Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

[Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl](mailto:Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl)

*Słowa kluczowe: osady denne, biotesty, przestrzenny rozkład metali ciężkich, właściwości fizyczno-chemiczne osadów, rekultywacja zbiornika*

Celem badań było wykorzystanie wskaźników chemicznych i biologicznych w ocenie zanieczyszczenia osadów dennego zbiornika Rzeszów. Zastosowane wskaźniki chemiczne pozwoliły na ocenę zawartości i rozmieszczenia metali ciężkich w osadach dennego badanego zbiornika. Natomiast biotesty pozwoliły na ocenę ekotoksyczności osadów dennego zdeponowanych w zbiorniku. Zawartość metali ciężkich w osadach wyniosła 39 do 91,9 mg Zn, 0,15 do 0,55 mg Cd, 7,70 do 109 mg Pb, 12,65 do 25,4 mg Ni, 11,20 do 26,50 mg Cu oraz 17 do 40,2 mg Cr. Osady generalnie nie były zanieczyszczone metalami ciężkimi. Analiza specjalistyczna wykazała niską mobilność metali ciężkich z osadów dennego. Osady denne charakteryzowały się ponadto obojętnym lub zasadowym odczynem oraz składem granulometrycznym o przewadze frakcji ilastej (48-60%) i bardzo dobrymi właściwościami sorpcyjnymi i buforowymi. Inhibitorka luminescencji *Vibrio fischeri* wyniosła od -34 do 45%, co świadczy, że osady wykazywały brak lub niską toksyczność dla bakterii. Oceniając właściwości fizyczno-chemiczne i ekotoksyczne osadów dennego pod kątem ich nawozowego i rekultywacyjnego wykorzystania, stwierdzono, że osady denne ze zbiornika Rzeszów mogą być stosowane, jako dodatek do gleb lekkich, kwaśnych w celu poprawy ich produkcyjności oraz mogą ograniczać toksyczny wpływ metali ciężkich na glebę i rośliny.

Badania finansowane ze środków budżetowych na naukę: N305 295037 (2009-2013), DS-3101/KChRiŚ, DS – 3322/KIWG

## Wykorzystanie mikrobiotestów do oceny zagrożeń terenów poddanych zróżnicowanej antropopresji

11E

KLIMKOWICZ-PAWLAS A., SMRECZAK B., UKALSKA-JARUGA A.

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy  
Zakład Gleboznawstwa Erozji i Ochrony Gruntów  
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy  
e-mail: [agnes@iung.pulawy.pl](mailto:agnes@iung.pulawy.pl)

*Słowa kluczowe:* zagrożenia gleb, zanieczyszczenia chemiczne, mikrobiotesty, toksyczność, antropopresja

Ochrona gleb jest jednym z najważniejszych zagadnień w polityce UE, co znalazło wyraz w rezolucji Parlamentu Europejskiego z dnia 13 listopada 2007 w sprawie strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby. Wśród głównych zagrożeń dla funkcji gleb wymienia się m.in. spadek zawartości materii organicznej, zmiany bioróżnorodności, zakwaszanie się gleb oraz zanieczyszczenie. Zagrożenia te mogą być wynikiem procesów naturalnych występujących w przyrodzie oraz antropogenicznych będących wynikiem działalności rolniczej (stosowanie nawozów organicznych i mineralnych, kompostów i pestycydów) lub pozarolniczej (emisje przemysłowe zanieczyszczeń). Gleba jest tym elementem środowiska, w którym w ostatecznej kolejności gromadzi się większość zanieczyszczeń. Skutkiem tego może być ograniczenie bioróżnorodności w glebie, a co za tym idzie zmniejszenie odporności na działanie czynników stresowych, pogorszenie jakości, żywności i produkcyjności gleb. Ocena zagrożeń związanych z zanieczyszczeniem gleb jest często przeprowadzana w oparciu o pomiar całkowitej zawartości związków. Analizy chemiczne nie zawsze dostarczają informacji o szerokiej gamie substancji toksycznych obecnych w glebach, dlatego też muszą być uzupełniane o testy ekotoksykologiczne obejmujące organizmy należące do różnych grup troficznych.

Celem badań była ocena zagrożeń związanych z zanieczyszczeniem gleb poddanych zróżnicowanej antropopresji z zastosowaniem mikrobiotestów. Badania prowadzono na dwóch obszarach użytkowanych rolniczo (Czerwionka i Frampol) o podobnej charakterystyce glebowej (zawartość węgla organicznego, pH, zasobność w składniki pokarmowe), ale o różnej historii i intensywności narażenia na wpływ zanieczyszczeń (metale i 16 WWA).

W celu charakterystyki ekotoksykologicznej zastosowano trzy mikrobiotesty: test hamowania emisji światła przez bakterie luminescencyjne (*Vibrio fischeri*) z wykorzystaniem systemu oceny toksyczności Microtox; test Rapidtoxkit z wykorzystaniem skorupiaków *Thamnocephalus platyurus* oraz test fitotoksyczności Phytotestkit pozwalający ocenić bezpośredni efekt oddziaływanie związków chemicznych zawartych w roztworze glebowym na wzrost roślin. Poziom antropopresji oceniono w oparciu o indeksy emisji zanieczyszczeń.

Badania były realizowane w ramach projektu nr UMO-2011/03/B/ST10/05015 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki

## **Application of microbiotests for the assessment of areas subjected to different anthropopressure**

**KLIMKOWICZ-PAWLAS A., SMRECZAK B., UKALSKA-JARUGA A.**

Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute  
Czartoryskich 8, 24-100 Puławy, Poland  
e-mail: [agnes@iung.pulawy.pl](mailto:agnes@iung.pulawy.pl)

*Key words:* threats to soils, chemical pollutants, microbiotests, toxicity, anthropopressure

Soil protection is one of the most important issues in EU policy, as reflected in the European Parliament resolution of 13 November 2007 on the Thematic Strategy on soil protection. Among the main threats to soil functions decline of organic matter, changes in biodiversity, acidification of soils and soil pollution are mentioned. These threats may be the result of natural processes occurring in nature and anthropogenic activity resulting from agricultural (use of organic and mineral fertilizers, compost and pesticides) or non-agricultural (industrial emissions of pollutants) activities. Soil is the component of the environment in which finally accumulates the majority of pollutants. This may result in reduction of soil biodiversity, thus reducing resistance to stress, deterioration in the quality, fertility and productivity of soils. The hazard assessment associated with soil contamination is often based on the determination of the total content of chemicals. Chemical analysis alone does not provide complete information on a wide range of toxic substances, thus they have to be complemented with the results of ecotoxicological tests at different trophic levels.

The aim of the study was to evaluate the risks associated with contamination of soils subjected to different level of anthropopressure. The study was conducted in two agricultural areas (Czerwionka and Frampol) with similar soil characteristics (organic carbon content, pH, nutrients content), but with different history and intensity of exposure to pollution (metals and 16 PAHs). For detailed characteristic of soil ecotoxicity three microbiotests were applied: the test of bioluminescence inhibition (*Vibrio fischeri*) using Microtox, the Rapidtoxkit with crustaceans *Thamnocephalus platyurus* and Phytotetskit for the evaluation the direct impact of the chemicals in soil solution on the plant growth. The level of anthropopressure was determined on the basis of emission indexes.

The financial support from the National Science Centre grant No UMO-2011/03/B/ST10/05015 is kindly acknowledged.

## **Wykorzystanie biotestów do oceny aktywności biologicznej gleb po aplikacji przekompostowanych odpadów z przemysłu drobiarskiego**

BARAN A., **ORŁOWSKA K.**, KOPEĆ M.

Katedra Chemii Rolnej i Środowiskowej, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, [Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl](mailto:Agnieszka.Baran@ur.krakow.pl)

*Słowa kluczowe:* *odpady drobiarskie, komposty, aktywność biologiczna gleb, biotesty*

Intensyfikacja produkcji drobiarskiej z jednej strony zapewnia wyższą opłacalność, a z drugiej wiąże się z większą ilością produktów odpadowych takich jak pomiot, obornik, odpady poubojowe, martwe ptaki oraz z emisją gazów do środowiska (amoniak). Ilość odpadów i emisja zanieczyszczeń powstających w czasie chowu i uboju drobiu zależy przede wszystkim od wielkości ferm i zakładów przetwórczych oraz przyjętych technologii. Celem badań było zbadanie aktywności biologicznej gleby po aplikacji kompostów wyprodukowanych na bazie odpadów pochodzących z przemysłu drobiarskiego. Właściwości biologiczne gleby oceniono na postawie aktywności dehydrogenaz oraz wyników z dwóch biotestów (Ostracodtoxkit, Microtox). Schemat doświadczenia polowego na założonym użytku zielonym obejmował następujące obiekty: A - kontrola, B - NPK, C - przekompostowana słoma kukurydzy, D – przekompostowana pulpa tłuszczu, krwi i tkanek zwierzęcych, E – przekompostowane odchody zwierzęce wymieszane ze słomą, F - przekompostowana mieszanina tłuszczu i pierza. Aplikacja kompostów do gleby wpłynęła na zwiększenie jej aktywności po 1 roku doświadczenia. Aktywności dehydrogenaz w obiektach z kompostem wyniosła 2,5 do 4,5 µg TPF · (g · 24h)<sup>-1</sup> i była istotnie większa niż w obiekcie kontrolnym. Inhibicja luminescencji Vibrio fischeri wała się od 5 (Obiekt C) do 27% (Obiekt D), natomiast inhibicja wzrostu Heterocyparis incongruens od 12% (Obiekt F) do 43% (Obiekt A – kontrolny). Wykazano brak toksyczności oraz niską toksyczność gleb po zastosowaniu kompostów. Najlepsze właściwości biologiczne gleb stwierdzono w obiektach z przekompostowanymi odchodami zwierzęcymi wymieszanyimi ze słomą (Obiekt E) oraz z przekompostowaną mieszaniną tłuszczu i pierza ze słomą kukurydzy (Obiekt F).

Badania finansowane ze środków budżetowych na naukę DS-3101/KChRiŚ

**13E**

## Ocena oddziaływania związków fluoru i selenu na zawartość wybranych niskocząsteczkowych antyutleniaczy i barwników asymilacyjnych w siewkach kukurydzy cukrowej (*Zea mays* var. *saccharata*)

STREK M.

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,  
Słowackiego 17, Szczecin  
email: [michal.strek@zut.edu.pl](mailto:michal.strek@zut.edu.pl)

*słowa kluczowe:* fluor, selen, kukurydza cukrowa, prolina, flavonoidy, polifenole, barwniki asymilacyjne, antyutleniacze

Celem badań była analiza wpływu fluoru i selenu dodanych do gleby na zmiany parametrów biologicznych kukurydzy cukrowej dwóch odmian (*Zea mays* var. *saccharata*). Badania były skoncentrowane na interpretacji korelacji pomiędzy zawartością związków polifenolowych i flavonoidowych a zawartością proliny. Zmiany ilości barwników asymilacyjnych nie były istotnie skorelowane z innymi badanymi parametrami.

Jako podłoże wykorzystano glebę pobraną z poziomu ornopróchnicznego (0-30cm) gleb rdzawych typowych Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku. Gleba ta charakteryzuje się składem granulometrycznym piasku-glinistego i zawartością węgla organicznego  $8,7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Do przesianej gleby dodano w różnych kombinacjach selen (0,05 mmol) na dwóch stopniach utlenienia (IV i VI) jako wodne roztwory  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  i  $\text{H}_2\text{SeO}_4$  oraz fluor (10 mmol) jako wodny roztwór NaF. Tak przygotowanym materiałem glebowym wypełniono wazony (po dwa dla każdej kombinacji) i wysiano po 15 ziarniaków kukurydzy. W ciągu całego doświadczenia rośliny były oświetlane lampą sodową Son-T Agro 400W firmy Philips o natężeniu promieniowania na poziomie gleby w wazonach  $90 \mu\text{E}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$  PAR (radiacji aktywnej fotosyntetycznej). Fotoperiodyzm został ustalony na 12 godzin dnia i nocy. W 14., 21. i 28. dniu doświadczenia zmierzono poziom barwników asymilacyjnych (chlorofilu a i b oraz karotenoidów), zawartość polifenoli ogółem, flavonoidów ogółem i proliny w świeżej masie roślinnej. Wszystkie wyniki zinterpretowano statystycznie osobno dla każdej odmiany. Wartości rzeczywiste badanych parametrów porównano testem post-hoc Tukey HSD, wykorzystując oprogramowanie Statistica 10.0. Przyjęty poziom istotności wynosił  $p < 0,05$ . Wyliczono również współczynniki korelacji pomiędzy badanymi parametrami. Dane statystyczne nie obejmują kombinacji z Se VI ponieważ przy ustalonym stężeniu okazał się toksyczny, doprowadził do zahamowania wzrostu roślin przez to uzyskania ilości świeżej masy nie była wystarczająca do wykonania analiz. Ilość barwników asymilacyjnych nie była skorelowana z poziomem metabolitów wtórnego i proliny. Barwniki wykazywały jedynie wysoce istotną wzajemną korelację. Test HSD Tukey'a wykazał istotne różnice pomiędzy badanymi odmianami we wszystkich parametrach oprócz proliny. Z danych doświadczalnych wynika, że stężenie proliny było największe w najmłodszych siewkach i spadało w czasie trwania doświadczenia niezależnie od odmiany. Test porównań wielokrotnych nie wykazał jednoznacznej tendencji wywoływanej przez dany czynnik doświadczalny. Wykazano jednak istotną dodatnią korelację pomiędzy zawartością metabolitów wtórnego a ilością proliny niezależnie od odmiany. Dodatkowo wykazano iż Se na różnych stopniach utlenienia może w różny sposób oddziaływać na rośliny.

## **Assessment of the impact of fluoride compounds and selenium on content of selected low molecule antioxidants and assimilation pigments in seedlings of sweet corn (*Zea mays* var. *saccharata*)**

STREK M.

Department of Plant Physiology and Biochemistry ,  
West Pomeranian University of Technology in Szczecin,  
Słowackiego 17, 71-434 Szczecin  
email: [michal.strek@zut.edu.pl](mailto:michal.strek@zut.edu.pl)

*Key words:* fluoride, selenium, sugar corn, proline, flavonoids, polyphenols, assimilation pigments, antioxidants

The aim of the study was to examine the influence of fluorine and selenium added to the soil to changes in biological parameters of the two varieties. of corn (*Zea mays* var. *Saccharata*). The study focused on the interpretation of the correlation between polyphenolic and flavonoid compounds and proline content.

As the substrate were used soil collected from the arable horizon (0-30cm) typical rusty soils at the Agricultural Experimental Station in Lipnik. The soil is characterized by the granulometric composition of sand-clay and content of organic carbon  $8,7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . To the sieved soil was added in various combinations selenium (0.05 mmol) on the two oxidation states (IV and VI) as an aqueous solution  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  and  $\text{H}_2\text{SeO}_4$  and fluoride (10 mmol) as an aqueous solution of NaF. Mixed soil material was poured into pots (two for each combination) and plated with 15 kernels of corn. During the whole experiment the plants were lit sodium lamp Son-T Agro 400W Philips with intensity of radiation at the level of the soil in pots of  $90 \mu\text{E}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$  PAR (photosynthetically active radiation). Photoperiodism was set on 12 hours of the day and night. In 14th, 21th and 28th day of experiment was measured level of assimilation pigments (chlorophyll a, b and carotenoids), total polyphenols, total flavonoids and proline content in the fresh weight of the plant. All results were statistically interpreted separately for each variety. Real values of compared parameters were studied with post-hoc Tukey HSD test, using the software Statistica 10.0. The adopted level of significance was  $p < 0.05$ . Also the correlation coefficients between the studied parameters was calculated. Statistical data do not include a combination of Se VI, because at a fixed concentration proved to be toxic, led to inhibition of plant growth. Quantity of fresh weight was not sufficient to perform the analysis. The amount of assimilation pigments has not been correlated with the level of secondary metabolites and proline. The pigments showed only a highly significant correlations between each other. Tukey HSD test showed significant differences between the tested varieties in all parameters except proline Experimental data show that the concentration of proline was greatest in the early seedling and declined during the test regardless of the variety. Multiple comparison test showed no clear trend caused by the experimental factor. However, it has been shown a significant positive correlation between the content of secondary metabolites and the amount of proline regardless of variety. In addition, it has been shown that, at different oxidation levels may differently affect the plant.

## Wpływ rodzaju anionu czwartorzędowych pirydynio-ketoksymów na fitotoksyczność

PARUS A., WOJCIECHOWSKA A., WOJCIECHOWSKA I., SZULC A.,

Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Poznańska,  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań, Polska

Autor do korespondencji: Anna Parus; [anna.parus@put.poznan.pl](mailto:anna.parus@put.poznan.pl)

*Slowa kluczowe:* czwartorzędowe sole pirydyniowe, pochodne oksymów pirydylowych,  
fitotoksyczność

Zainteresowanie czwartorzędowymi solami amoniowymi oraz cieczami jonowymi obecnie jest bardzo duże. Związane jest to między innymi z ich dużym potencjałem przemysłowego zastosowania. Duża możliwość kombinacji kation anion sprawia, iż cieczki jonowe są w dużej mierze projektowalne, tak aby uzyskać substancję o pożądanach właściwościach. Niemniej jednak, zwiększenie wykorzystania tych związków na dużą skalę może doprowadzić do skażenia środowiska poprzez przypadkowe wycieki ścieków lub geologiczną adsorpcję i zaleganie w podłożu glebowym. Wiele z tych substancji może swobodnie przemieszczać się w matrycy glebowej i przedostać się do wód podziemnych ze względu na ich dobrą rozpuszczalność w wodzie. Analiza ekotoksykologiczna jest jednym z niezbędnych elementów systemu oceny przydatności i ryzyka stosowania preparatów chemicznych. Czwartorzędowe sole pirydyniowe są związków o szerokim spektrum zastosowania, m.in. znalazły zastosowanie jako środki ochrony roślin, składniki preparatów grzybo- i bakteriobójczych, a także jako ekstrahenty metali z roztworów wodnych. Oksymy pirydylowe oraz ich czwartorzędowe sole pirydyniowe są znanymi hydrolitycznymi katalizatorami micelarnymi, a przede wszystkim środkami odblokowującymi enzym acetylocholinoesterazę (AChE), stosowane głównie przy zatruciach związkami fosforoorganicznymi (środkami ochrony roślin). W chemii analitycznej znane jako ligandy metali, a także jako ekstrahenty w procesach usuwania metali z roztworów wodnych [1-3]. Tak szerokie spektrum możliwości ich użyteczności niewątpliwie wiąże się również z tym, iż mogą przedostawać się do środowiska naturalnego, zarówno na etapie produkcji, jak i podczas niewłaściwego zagospodarowania produktów odpadowych. Miedzy innymi, dlatego bardzo istotnym elementem badań nad nowo syntezowanymi związkami jest analiza ich interakcji ze środowiskiem i organizmami żywymi, w tym również analiza fitotoksyczności. Duże zainteresowanie, a przede wszystkim wielokierunkowa możliwość ich zastosowania stwarza ryzyko przedostania się ich do środowiska naturalnego. Ważnym aspektem środowiskowym jest ocena toksyczności danej grupy związków w stosunku do różnych systematycznie organizmów, w tym także do roślin. Wcześniej badania dotyczące fitotoksyczności oksymu 3-pirydylowego i jego bromków czwartorzędowych wykazały, iż w zależności od stężenia związku wykazują zróżnicowany efekt.

Celem pracy była analiza wpływu rodzaju anionu czwartorzędowych soli pirydynio-ketoksymowych na fitotoksyczność rośliny jednoliścienniej. Realizacja badań polegała na ocenie inhibicji kiełkowania nasion kukurydzy zwyczajnej (*Zea Mays*). Ze względu na powtarzalność wyników i łatwość wykonania doświadczeń analiza fitotoksyczności została przeprowadzona przy narażeniu rośliny na kontakt z badanymi substancjami przez system korzeniowy. Uprawy prowadzono z wykorzystaniem testu Phytotoxki™. Analizowane substancje rozpuszczono w metanolu a następnie przygotowano ich wodne roztwory. Do gleby dodano taką ilość substancji, aby ich efektywne stężenie wynosiło 10, 25, 50, 100, 500 i 1000 mg/kg s.m.g. Do próby kontrolnej wprowadzono wodę demineralizowaną. Uprawy prowadzono z zachowaniem stałych parametrów takich jak temperatura i wilgotność. Na przygotowane podłoże, ułożono po 10 ziarniaków kukurydzy zwyczajnej (5 płytka dla każdego stężenia badanych związków – analiza na 50 ziarniakach). Po 7-dniowym okresie trwania

doświadczenia zliczono ilość wykiełkowanych ziaren kukurydzy oraz zmierzono długość korzenia i epikotylu. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono indeks kielkowania oraz wyznaczono EC<sub>50</sub> (efektywne stężenie substancji powodujące 50% zahamowanie wzrostu korzeni).

Czwartorzędowe pirydynio-ketoksymy wykazują zróżnicowany wpływ na kielkowanie i początkowy wzrost rośliny jednoliściennej. Fitotoksyczność tych związków zależy w dużej mierze od struktury analizowanych związków, a także od stężenia substancji. Zastosowanie bromków pirydynio-ketoksymów w stężeniu 500 mg/kg s.m.g. powodowało znaczne zahamowanie rozwoju korzeni i części nadziemnych kukurydzy, a obecność substancji o stężeniu 1000 mg/kg s.m.g powodowała, że zarówno wysokość epikotyli jak i długość korzeni nie przekraczała 10 mm, co stanowiło około 10% średniej długości epikotylu lub korzenia próbki kontrolnej nie narażonej na działanie czynnika chemicznego. Z kolei wymiana anionu bromkowego na octanowy powoduje, że zastosowanie związku w dawkach 25 oraz 500 mg/kg s.m.g. inhibicuje kielkowanie ziarniaków kukurydzy, natomiast użycie stężenia 1000 mg/kg s.m.g. ponowny jego wzrost.

Praca została sfinansowana w ramach projektu „Inżynier Przyszłości. Wzmocnienie potencjału dydaktycznego Politechniki Poznańskiej - **POKL.04.03.00-00-259/12** oraz ze środków na działalność statusową **03/32/DSMK/05016**.

#### Literatura

1. E. Abele, R. Abele, E. Lukevics, *Pyridine oxime: synthesis, reactions and biological activity. Review.*, Chemistry of Heterocyclic Compounds, 39(7) (2003) 825-865.
2. K. Wieszczycka, A. Wojciechowska, M. Krupa, R. Kordala-Markiewicz, *Quaternary Pyridinium Ketoximes as Zinc Extractants from Chloride Solutions*. J. Chem. Eng. Data 58(11) (2013) 3207–3215.
3. K.P.M. Mosse, A.F. Patti, E.W. Christend, T.R. Cavagnaro, *Winery wastewater inhibits seed germination and vegetative growth of common crop species*, Journal of Hazardous Materials, 180 (2010) 63-70.

## Influence of the type anion of quaternary pyridinium-ketoxime on phytotoxicity

PARUS A., WOJCIECHOWSKA A., WOJCIECHOWSKA I., SZULC A.,

Poznan University of Technology, Institute of Chemical Technology and Engineering,  
ul. Berdychowo 4, 60-965 Poznań, Polska

corresponding author: Anna Parus; [anna.parus@put.poznan.pl](mailto:anna.parus@put.poznan.pl)

*key words:* *quaternary pyridinium- ketoxime, derivatives of pirydyl ketoximes, phytotoxicity*

Interest of quaternary ammonium salts and ionic liquids are currently very high. This is due to their great potential for industrial use as well as the possibility of replacing the commonly used volatile organic solvents. Large possibility of combining cation and anion makes ionic liquids are „largely design”, so as to obtain a substance with specific properties. The increased use of these compounds on a large scale can lead to environmental contamination by incidental sewage spills or geological adsorption and retention in soil. Many of these substances can easily move in the soil matrix and get into the groundwater due to their good solubility in water. Ecotoxicological analysis is one of the essential elements of the assessment of the suitability and risks of chemicals. The quaternary pyridinium salts are a wide range of applications, including being used as pesticides, fungicides and preparations bactericidal, as well as extractants of metals from aqueous solutions. Pyridyl ketoximes and its quaternary derivatives have the ability to reactivate the enzyme acetylcholinesterase (AChE), when it is fully inhibited by organophosphorus compounds, including pesticides and chemical warfare agents and they are particular pharmacological interest. These compounds are also known as ligands in analytical chemistry and extractants of metal ions from aqueous solution [1-3]. Such a broad spectrum of possibilities certainly their usefulness is also associated with the fact that they may enter the environment, both at the production and due to improper management of waste products. Among of these things, very important part of research of the newly synthesized compounds is an analysis of their interaction with the environment and organisms, including analysis of phytotoxicity.

The aim of this study was to analyze the influence of the anion type of quaternary pyridinium-ketoxime on phytotoxicity monocotyledonous.

Implementation of the research was based on an assessment of inhibition of maize seeds (*Zea mays*) germination. Due to the reproducibility of results and ease of the experience phytotoxicity analysis was performed with the exposure of plants in contact with the test substances by the root system. Cultivation was conducted using the test Phytotoxki™. Quaternary pyridinium ketoximes were dissolved in methanol and then prepared aqueous solutions. To the soil was added an amount of the substance that their effective concentrations was 10, 25, 50, 100, 500 and 1000 mg/kg d.w.s. For the control, deionized water was added. Cultivation was carried out in maintaining constant parameters such as temperature and humidity. On the prepared soil, put 10 maize seeds (5 plates for each concentration of test compounds - analysis of 50 seeds). After a 7-day duration, the number of germinated maize seeds was counted and measured the root length and the shoot highest. Based on the obtained results the germination index and the EC50 (effective concentration of the substance causing 50% inhibition of root growth) were determined.

Quaternary pyridinium-ketoximes exhibited differential impact on germination and initial growth of monocotyledonous - maize. Phytotoxicity of these compounds depends largely on the structure of the compounds studied, as well as the concentration of the substance. Use of bromide pyridinium-ketoxime at concentration 500 mg/kg d.w.s. caused a significant inhibition of maize roots and shoot, and the presence of a concentration 1000 mg/kg d.w.s. both, the shoot

height and the root length did not exceed 10 mm, representing about 10% of the mean length of control root or shoot sample not exposed to chemical agent. In turn, the changed bromide anion on acetate made that used the compound at 25 and 500 mg/kg d.w.s. inhibited the germination of maize seeds, while a concentration of 1000 mg/kg d.w.s. renewed its growth.

### Acknowledgments

This article was financially supported within the project "Engineer of the Future. Improving the didactic potential of the Poznan University of Technology" - **POKL.04.03.00-00-259/12**, implemented within the Human Capital Operational Programme, co-financed by the European Union within the European Social Fund" and the Polish Ministry of Science and Higher Education as project No **03/32/DSMK/05016**.

### References

1. E. Abele, R. Abele, E. Lukevics, *Pyridine oxime: synthesis, reactions and biological activity. Review.*, Chemistry of Heterocyclic Compounds, 39(7) (2003) 825-865.
2. K. Wieszczycka, A. Wojciechowska, M. Krupa, R. Kordala-Markiewicz, *Quaternary Pyridinium Ketoximes as Zinc Extractants from Chloride Solutions*. J. Chem. Eng. Data 58(11) (2013) 3207–3215.
3. K.P.M. Mosse, A.F. Patti, E.W. Christend, T.R. Cavagnaro, *Winery wastewater inhibits seed germination and vegetative growth of common crop species*, Journal of Hazardous Materials, 180 (2010) 63-70.

**15E**

## Wpływ herbicydowego anionu pirydyniowych cieczy jonowych na początek rozwój roślin

**SZULC A., PARUS A., SYGUDA A., WOŹNIAK M., SYDOW M., ŁAWNICZAK Ł., CHRZANOWSKI Ł.**

Politechnika Poznańska, Wydział Technologii Chemicznej, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, ul. Berdychowo 4, 60-065 Poznań  
email: [alicja.szulc@put.poznan.pl](mailto:alicja.szulc@put.poznan.pl)

*Słowa kluczowe:* *pirydyniowe cieczce jonowe, fitotoksyczność*

Termin “cieczce jonowe” jest pojęciem niezwykle szerokim, obejmującym kilka milionów układów (tj. kombinacji struktur chemicznych), których do tej pory odnotowano aż 1500. Zazwyczaj substancje te charakteryzują się wysoką prężnością par, przez co ich lotność zredukowana jest do minimum. Co więcej, związki te mogą być również wykorzystywane w procesach separacji w środowisku zarówno organicznym jak i wodnym. Wraz z innymi, niemniej ważnymi właściwościami, powyżej wymienione cechy pozwalają na zastosowanie cieczce jonowych w wielu procesach zarówno w skali laboratoryjnej, jak i przemysłowej. Obecnie wiele prac i publikacji naukowych poświęcanych jest testom i ocenie toksyczności cieczce jonowych. Zagadnienie to wydaje się być szczególnie ważnym w aspekcie ochrony zdrowia ludzkiego a także i środowiska. Z tym ostatnim, nierozerwalnie związany jest proces biodegradacji – rozumiany jako zdolność mikroorganizmów (między innymi bakterii) do wykorzystania chemikaliów (w tym konkretnym ujęciu – cieczce jonowych) jako pożywki (tj. źródła węgla i energii). Prowadzi to do produkowania przez mikroorganizmy cząsteczek mniejszych, a co najważniejsze – w większości charakteryzujących się znacznie niższą toksycznością w porównaniu do wyjściowych związków, a to ma ogromne znaczenie w aspekcie środowiskowym.

W celu oznaczenia fitotoksyczności przygotowano roztwory o stężeniu 1 [mg/ml]. Używając roztwór w powyższym stężeniu przygotowano cieczce jonowe o stężeniach 5, 10, 25, 50 i 100 [mg/l]. W badaniach wykorzystano pirydyniowe cieczce jonowe (tabela 1).

Tabela 1. Pirydyniowe cieczce jonowe

Symbol chemiczny	Struktura	Masa molowa
[12Py][2,4-D]		468,51 g/mol
[12Py][Dikamba]		468,51 g/mol
[12Py][Clopyralid]		439,47 g/mol
[12Py][Glifosat]		416,56 g/mol

<b>Symbol</b>	<b>Nazwa wg. IUPAC</b>
[12Py][2,4-D]	(2,4-dichlorofenoxy)octan 1-dodecylopirydyniowy
[12Py][Dikamba]	(3,6-dichloro-2-methoxy)benzoesan 1-dodecylopirydyniowy
[12Py][Chlopyralid]	(3,6-dichloro)pikolinian 1-dodecylopirydyniowy
[12Py][Glifosat]	2-(fosfonometyloamino)octan 1-dodecylopirydyniowy

Wszystkie powyższe ciecze jonowe są rozpuszczalne w wodzie, metanolu, etanolu, izopropanolu, DMSO oraz chloroformie. W badaniach zastosowano następujące gatunki roślin: jęczmień (*Hordeum vulgare*), kukurydza (*Zea mays*), rzepak (*Brassica napus*) and gorczyca (*Brassica kabera*).

Koncentrując się na wynikach testów fitotoksyczności, można stwierdzić, że wszystkie zastosowane ciecze jonowe wykazywały wpływ na rośliny. W przypadku cieczy jonowej bazującej na 2,4-D wykazywała ona wpływ zarówno na rośliny jedno- jak i dwuliściennie, jednakże była bardziej toksyczna dla roślin dwuliściennych (rzepak i gorczyca). W przypadku cieczy jonowych zawierających w swojej budowie „Chlopyralid” nie wykazano ich wpływu na rośliny. W przypadku cieczy jonowych zawierających „Glifosat” ich działanie zależało od stężenia oraz rodzaju rośliny. Kiedy ciecze jonowe zastosowano w stężeniu 25 mg/l nie zaobserwowano zmiana dla wszystkich rodzajów roślin. Ich toksyczne działanie wzrastało wraz ze wzrostem stężenia. Kiedy przeprowadzono testy po dwóch miesiącach w tej samej glebie, okazało się że jest znaczące zwiększenie wzrostu roślin, zwłaszcza jęczmienia, nawet kiedy zastosowano większe stężenia. Ten efekt może być wywołany tym, że anionowa grupa wykazuje pewną aktywność hormonalną. Wiele publikacji koncentrujących się na tej cieczy jonowej wykazuje, że rośliny potraktowane tą chwastobójczą substancją, rosną lepiej i są nawet silniejsze niż przed jej zastosowaniem, z powodu genetycznych modyfikacji. [12Py][Dikamba] wydaje się być najbardziej toksyczną i efektywną cieczą jonową. Dzięki jej zastosowaniu zahamowano wzrost, a użyta w najwyższym stężeniu nie pozwala nawet na zakiełkowanie w przypadku wszystkich gatunków roślin. Powtórzenie badań dla tej samej gleby zawierającej najmniejsze stężenia cieczy jonowej (5, 10 i 25 mg/kg gleby) po dwóch miesiącach wykazało poprawę we wzroście roślin. Jednakże, dla najwyższych stężeń wyniki są podobne. Tak więc, toksyczny efekt zastosowania tych cieczy jonowych utrzymuje się dłużej niż pozostałych.

Badania zostały sfinansowane z grantu o numerze 03/32/DSMK/05016.

## Influence over pyridine based ionic liquid on initial plant development

**SZULC A.**, PARUS A., SYGUDA A., WOŹNIAK M., SYDOW M., ŁAWNICZAK Ł., CHRZANOWSKI Ł.

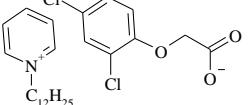
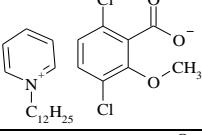
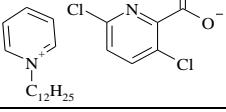
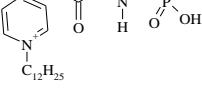
Poznan University of Technology, Institute of Chemical Technology and Engineering, ul.  
Berdychowo 4, 60-965 Poznań, Polska  
email: [alicja.szulc@put.poznan.pl](mailto:alicja.szulc@put.poznan.pl)

*Key words:* *pyridine based ionic liquid, phytotoxicity*

The term Ionic Liquid is a very wide terminology comprising several millions of possible systems with more than 1 500 systems reported to date. They all have negligible vapor pressure and thus do not evaporate. They can be used for separations from organic or aqueous systems. These properties, along with many others, allow them to be used in many situations or processes, either at a small or large and industrial scale. These properties, along with many others, allow them to be used in many situations or processes, either at a small or large and industrial scale. Currently, many studies, papers and different publications are focused on the evaluation and testing of ILs' toxicity. As directly, toxicity is related and important for the human health, the biodegradation - meaning the ability of microorganisms including bacteria to use the Ionic Liquids as their nutrients. It relates further to the production of smaller and less toxic molecules from them, which is also important for the environment as there are less harmful chemicals produced from such compounds.

An aqueous solution of each Ionic Liquid was prepared 1 [mg/ml] concentrate. Using the main solution, five different concentrations were prepared, in the volume of 10 ml, from each Ionic Liquid. The selected concentrations: 5, 10, 25, 50 and 100 [mg/L]. In research pyridine based Ionic Liquids were used (table 1)

Table 1. Pyridine based Ionic Liquids

Chemical symbology	Molecular structure	Molecular mass
[12Py][2,4-D]		468,51 g/mol
[12Py][Dicamba]		468,51 g/mol
[12Py][Clopyralid]		439,47 g/mol
[12Py][Glyphosate]		416,56 g/mol

Symbol	IUPAC name
[12Py][2,4-D]	(2,4-dichlorofenoxy)octan 1-dodecylopirydinium
[12Py][Dikamba]	(3,6-dichloro-2-methoxy)benzoesan 1-dodecylopirydinium
[12Py][Chlopyralid]	(3,6-dichloro)pikolinian 1-dodecylopirydyniowy
[12Py][Glyphosate]	2-(fosfonometyloamino)octan 1-dodecylopirydinium

They all are soluble in water, methanol, ethanol, isopropanol, DMSO and chloroform. In research were used plant's specimens like Barley (*Hordeum vulgare*), Corn (*Zea mays*), Rape (*Brassica napus*) and Charlock (*Brassica kaber*).

Concerning to the phytotoxicity results, we can affirm that all the ionic liquids have some herbicidal effect. In the case of the 2,4-D based ILs, they affect both plants, monocotyledon and dicotyledonous, being more affected the dicotyledonous specimen (Rape and Charlock). In the case of "Chlopyralid" anion, there is an herbicidal activity. In the case of "Glyphosate" ionic liquid, we could say that is acting depending of the concentration and it acts equally in dicotyledonous and monocotyledon specimens. There is a common effect, once the concentration 25 mg/L is exceeded. Then its toxic effect in the plants increases significantly. After the two month test in the same soil, there is a significantly increase in the growth of the plants, and especially in barley, the plant grows stronger even in the highest concentrations. This effect should be caused because of the hormone activity of this anionic group. Many studies of this compound assure that the plants treated with this herbicidal compound, end up adapting to his action and even they get stronger against it, due to genetic modifications. [12Py][Dicamba], seems to be the more toxic and effective of this group. Is able to inhibit the growth of all the plants evaluated and at highest concentrations it does not allow the growth of any of them at all. After two months, the soil previously exposed to the lowest concentrations (5, 10 and 25 mg/kg soil) the plants show an improvement in the growth. However, at highest concentrations the results are similar. Hence, the toxic effect of this ionic liquid will remain longer than the rest of the evaluated compounds.

This work was supported by the grant number 03/32/DSMK/05016.

**16E**

## **Fitotoksyczność herbicydów Avans Premium 360 SL i Chwastox Extra 300 SL w stosunku do wybranych gatunków roślin uprawnych**

PŁATKOWSKI M.

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Słowińskiego 17, 71-434 Szczecin  
e-mail: [maciej.platkowski@zut.edu.pl](mailto:maciej.platkowski@zut.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* glifosat, kwas (4-chloro-2-metylofenoksy)octowy, MCPA, fitotoksyczność, pszenica, gorgonka, rzeżucha, rzodkiewka

Zastosowanie środków ochrony roślin systematycznie wzrasta. W Polsce do najpopularniejszych środków ochrony roślin zaliczają się preparaty zawierające glifosat oraz kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy w skrócie MCPA.

Mimo tego, że glifosat i MCPA znany jest rolnictwu od wielu lat, to naukowcy prowadzą dalsze badania, aby potwierdzić czy przeprowadzone do tej pory badania w pełni to potwierdzają nietoksyczne działanie tych herbicydów

Celem podjętych badań była ocena fitotoksyczności pozostałości glifosatu oraz MCPA w glebie w stosunku do roślin pszenicy, owsa, rzeżuchy oraz rzodkiewki.

Badania przeprowadzono za pomocą zmodyfikowanego testu kiełkowania nasion i wczesnego wzrostu roślin PHYTOTOXKIT. Modyfikacja polegała na zmianie gatunków roślin testowych. Z zalecanych w teście roślin dwuliściennych wybrano rzeżuchę (*Lepidium sativum* L.) oraz dodatkowo rzodkiewkę odmiany Rowa (*Raphanus sativus* var. *sativus* cv. Rowa). Do oceny fitotoksyczności w stosunku do roślin jednoliściennych wybrano pszenicę odmiany Skagen (*Triticum aestivum* L. cv. Skagen), oraz oвес odmiany Bingo (*Avena sativa* L. cv. Bingo). Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych na piasku gliniastym o zawartości węgla organicznego  $8,7\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Do części ziemistych wprowadzono preparaty zawierające glifosat: Avans Premium 360 SL oraz MCPA: Chwastox Extra 300 SL. Dawki wprowadzonych wodnych roztworów preparatów przeliczono na ilości substancji czynnej 1 i  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Próbą odniesienia była gleba kontrolna (bez dodatku herbicydu). Badania przeprowadzono zgodnie z procedurą opisaną w instrukcji dołączonej do testu PHYTOTOXIT.

Czynnikiem, który wywołał największe zahamowanie wzrostu korzeni u badanych roślin był dodatek preparatu Chwastox Extra 300 SL. We wszystkich kombinacjach z użyciem tego preparatu zahamowanie wzrostu korzeni wyniosło ponad 50% względem prób kontrolnych. Dawka  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  glifosatu wywołała ok 40% zahamowanie wzrostu korzeni u użytych roślin jednoliściennych. Wyższa dawka tego preparatu w podobnym stopniu wpłynęła na wzrost korzeni pszenicy i rzodkiewki.

Biorąc pod uwagę zahamowanie kiełkowania nasion to również zaobserwowano najwyższy procent w próbach zanieczyszczonych zarówno preparatem Chwastox 300SL jak i w mieszaninie z preparatem Avans Premium 360 SL. Preparat zawierający glifosat w znacznym stopniu wpłynął na kiełkowanie owsa i rzeżuchy – dawka  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  oraz rzodkiewki – obie zastosowane dawki.

## **Phytotoxicity of herbicides Avans Premium 360 SL and 300 SL Extra Chwastox in relation to certain crop species**

PŁATKOWSKI M.

Department of Plant Physiology and Biochemistry,  
West Pomeranian University of Technology in Szczecin,  
Slowackiego 17, 71-434 Szczecin

**Keywords:** *glyphosate acid (4-chloro-2-methylphenoxy) acetic acid, MCPA, phytotoxicity, wheat, mustard, cress, radish*

The use of plant protection products is steadily increasing. In Poland, the most popular of plant protection products include formulations containing glyphosate and 4-chloro-2-methylphenoxyacetic in short MCPA.

Although glyphosate and MCPA is known agriculture for many years, researchers conduct further testing to confirm if conducted so far studies fully support this finding toxic effects of these herbicides

The aim of this study was to evaluate phytotoxicity of glyphosate and MCPA residues in the soil in relation to plant wheat, oats, cress and radishes.

The study was conducted using a modified test of seed germination and early plant growth Phytotoxkit. The modification consisted in changing the test plant species. In the preferred assay dicotyledonous plants selected cress (*Lepidium sativum* L.) and additionally radish varieties Rowa (*Raphanus sativus* var. *sativus* cv. Rowa). To assess the phytotoxicity monocots selected wheat varieties Skagen (*Triticum aestivum* L. cv. Skagen) and oats variety Bingo (*Avena sativa* L. cv. Bingo) The study was conducted in laboratory conditions in the loamy sand containing organic carbon  $8.7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . For the earthy part of preparations containing glyphosate was introduced Avans Premium 360 SL and MCPA: Chwastox Extra 300 SL. Doses entered aqueous preparation were converted to amount of active substance 1 and  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  Reference was an attempt to control soil (without added herbicide). The study was conducted in accordance with the procedure described in the instructions supplied with the test PHYTOTOXIT.

A consideration that caused the greatest inhibition of root growth in plants studied was the addition of preparation Chwastox Extra 300 SL. All combinations with the preparation of root growth inhibition was over 50% relative to the control samples. The dose of  $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  of glyphosate caused approximately 40% inhibition of the growth of roots used in monocots. A higher dose of this formulation to a similar extent affected the wheat root growth and radishes. Given the inhibition of germination of seeds is also the highest percentage observed in the samples contaminated with both Chwastox 300SL preparation in admixture with the preparation Avans Premium 360 SL. The formulation containing glyphosate significantly affected the germination of oat and cress - a dose of  $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  and radish - both applied doses.

## Ocena toksyczności kompostów skażonych rtęcią

WOLF M., TRACZEWSKA T., SITARSKA M., FILYAROVSKAYA V.,  
HANUS-LORENZ B., HOŁTRA A., ZAMORSKA-WOJDYŁA D.

Politechnika Wrocławskiego, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i  
Ekotechniki, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław  
[mirela.wolf@pwr.edu.pl](mailto:mirela.wolf@pwr.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* kompostowanie, toksyczność, rtęć, *Lemna minor*, *Salvinia natans*

W procesie kompostowania rozkład materii organicznej następuje w wyniku intensywnych procesów biochemicalnych i enzymatycznych przez mikroorganizmy obecne w kompoście. Stabilny kompost może być wykorzystywany rolniczo np. do nawożenia gleb lub zamykania kwater składowisk odpadów. Celem badań była ocena toksyczności kompostu wzbogaconego biomasą pofitoremediacyjną skażoną rtęcią.

Eksperyment przeprowadzono w trzech układach: gleba-biomasa bez rtęci (kontrola), glaba-biomasa z rtęcią (1 mgHg/kg s.m.), gleba-biomasa z rtęcią i zaszczepem mikroorganizmów ( $1 \text{ cm}^3$  o stężeniu  $10^9$  jtk co odpowiada  $2 \cdot 10^6$  jtk/g s.m.) wyizolowanych ze środowiska opornych na działanie rtęci (1 mgHg/kg s.m.) w szafie termostatycznej w temperaturze 26°C.

W ramach analizy mikrobiologicznej przeprowadzono badania liczebności bakterii mezofilnych i psychrofilnych oraz ilość grzybów, drożdży i pleśni, które odpowiadają za liczne przemiany substancji organicznych obecnych w kompostach. Po zakończeniu procesu dokonano analizy toksyczności wyciągów wodnych z kompostów, dla oceny stopnia zagrożenia poprzez wymywanie związków szkodliwych oraz samych kompostów.

Pośród drobnoustrojów w kompoście zaobserwowano głównie bakterie tj.  $262 \cdot 10^6$  jtk/g kompostu, natomiast grzybów pleśniowych i drożdżaków było o rzad niżej ( $94 \cdot 10^6$  jtk/g kompostu). Stosunek ilościowy bakterii psychrofilnych do mezofilnych to 4,5:1 (psychrofile:  $214 \cdot 10^6$  jtk/g kompostu, mezofile  $48 \cdot 10^6$  jtk/g kompostu). Dodatek skażonej biomasy roślinnej (*Lemna minor* i *Salvinia natans*) wpływał na zmianę proporcji pomiędzy badanymi grupami drobnoustrojów, a w przypadku biomasy pobioremediacyjnej zaobserwowano efekt toksycznego oddziaływania rtęci.

Microtox oraz Rapidtoxkit przeprowadzone zostały na wyciągach wodnych z kompostów, które pozwoliły na ocenę stopnia zagrożenia dla środowiska wodnego w wyniku spływów powierzchniowych. Oceny toksyczności ostrej dokonano na dżdżownicy *Eisenia fetida* zgodny z normą PN-ISO 11268-1:1997, określając śmiertelność organizmów testowych eksponowanych na badany kompost.

Test Microtox wyciągów wodnych kompostów zawierających biomasę skażoną rtęcią nie wykazał toksyczności. Efekt toksyczności z wyciągu wodnego z gleby ogrodowej (kontrola) nie przekroczył 1% po 5 i 15 min. ekspozycji. Wyciąg z kompostu zawierającego biomasę roślinną nie skażoną rtęcią efekt toksyczności wynosił 2% po 5 min. ekspozycji, natomiast po kwadransie bakterie powróciły do pełnej zdolności metabolicznej. Największy stopień obniżenia poziomu luminescencji zauważono dla kompostu zawierającego biomasę skażoną rtęcią, a jego wartość wyniosła 13%. W wyciągach wodnych z kompostów z biomasą skażoną rtęcią oraz z kompostu zaszczepionego bakteriami opornymi na rtęć zaobserwowano spadek bioluminescencji do 9% po 5 minutach i 2% po 15 minutach.

Toksyczność mierzona testem Rapidtoxkit wykazała ujemny wpływ ekstraktów wodnych kompostów na proces przyjmowania pokarmu. Zastosowane najniższe rozcieńczenia Rozcieńczenia kompostu niekontaminowanego (10% i 5%) powodowały inhibicję aktywności skorupiaków o 10% i 4%. Dwukrotne rozcieńczenie spowodowało ograniczenie przyjmowania pokarmu o 61%, natomiast dalsze zatężanie ekstraktów zahamowało go całkowicie.

Śmiertelność dżdżownic gatunku *Eisenia fetida* w glebie skażonej rtęcią wykazała, iż dodatek biomasy do stężenia 1 mgHg/kg s.m. nie wywołuje efektu toksycznego; ponadto nie zauważono śmiertelności dżdżownic w żadnym wykorzystanym podłożu, a procentowy ubytek masy we wszystkich podłożach zawierających rtęć oraz kontroli był porównywalny. Na śmiertelność dżdżownic nie miał także wpływu zaszczep mikroorganizmami opornymi na rtęć, które zostały wyizolowane ze środowiska naturalnego.

Badania zostały wykonane w ramach grantu MNiSW nr N N523 612139 pt: „Ocena skuteczności fitoremediacji wód skażonych rtęcią (II) przez pleustofity Dolnego Śląska”. Publikacja sfinansowana z badań statutowych S40-029.

## Toxicity assessment of compost contaminated with mercury

WOLF M., TRACZEWSKA T., SITARSKA M., FILYAROVSKAYA V.,  
HANUS-LORENZ B., HOŁTRA A., ZAMORSKA-WOJDYŁA D.

Wroclaw University of Technology, Faculty of Environmental Engineering, Department of  
Sanitary Biology and Ecotechnology, 50-370 Wroclaw  
[mirela.wolf@pwr.edu.pl](mailto:mirela.wolf@pwr.edu.pl)

*Keywords:* composting, toxicity, mercury, *Lemna minor*, *Salvinia natans*

The composting process of organic matter occurs as a result of intensive biochemical and enzymatic processes led by microorganisms present in the compost. Stable compost can be used for agricultural purposes, eg. for soil fertilization or lodging closing landfills. The aim of the study was to evaluate the toxicity of compost-enriched biomass after phytoremediation contaminated with mercury.

The experiment was performed in three schemes: soil-biomass free of mercury (control), soil-biomass with mercury (1mgHg/kg dm), soil-biomass with mercury inoculated by microorganisms (1 cm<sup>3</sup> at a concentration of 109 cfu equivalent of 2·106 cfu/g dm) isolated from the environment resistant to mercury (1 mgHg / kg dm) in the cabinet thermostat at 26° C.

Microbiological analysis of mesophilic and psychrophilic bacteria and the amount of fungi, yeasts and molds was conducted as part of this research. These microorganisms are responsible for many transformations of organic matter present in compost. After the completion of experiment an analysis of the toxicity of aqueous extracts of composts was performed to assess the degree of risk by washing harmful compounds and the compost.

Among the microorganisms in the compost mainly bacteria were observed (ie. 262 · 106 cfu / g of compost), mold, fungi and yeast were a rank lower (94 · 106 cfu / g of compost).

Quantitative ratio of psychrophilic to mesophilic bacteria is 4.5: 1 (psychrophiles: 214 · 106 cfu / g of compost, mesophiles 48 · 106 cfu / g of compost). Contaminated plant biomass as an additive (*Lemna minor* and *Salvinia natans*) influenced the change in the proportions between these two groups of microorganisms, and in the case of biomass after phytoremediation a toxic effect of mercury was observed.

Microtox and Rapidtoxkit tests were performed on water extracts of compost. These tests allowed to assess the degree of risk to the aquatic environment as a result of surface runoff. The acute toxicity assessment was made on the earthworm *Eisenia fetida* accordance with standard ISO 11268-1: 1997, determining mortality of the test organisms exposed to the tested compost.

Microtox test of aqueous extracts of composts containing biomass contaminated with mercury showed no toxicity. Toxic effect of aqueous extract of garden soil (control) did not exceed 1%

at 5 and 15 min. exposure. Toxicity effect of compost's extract containing plant biomass not contaminated with mercury was 2% after 5 min. exposure. After a quarter of an hour bacteria returned to their metabolic full capacity. The greatest degree of reduction in the level of luminescence was observed for compost containing biomass contaminated with mercury, and its value was 13%. The water extracts of composts with biomass contaminated with mercury and compost inoculated with bacteria resistant to mercury showed a decrease in bioluminescence to 9% at 5 minutes and 2% at 15 minutes.

Toxicity measured by Rapidtoxkit test showed the negative impact of the aqueous extracts of composts on the process of food intake. Dilutions of uncontaminated compost (10% and 5%) caused inhibition of the activity of crustaceans of 10% and 4%. Twofold dilution caused a decline in food intake by 61%, while further concentrating the extracts inhibited it completely.

The mortality rate of the *Eisenia fetida* earthworms in soil contaminated with mercury showed that the addition of biomass to a concentration of 1 mgHg / kg DM does not cause toxic effects; moreover, no earthworm mortality was observed in any of used soil and the percentage loss of all mercury-containing media and the control was similar. The inocula mercury-resistant microorganisms that have been isolated from the environment had no effect on earthworms mortality.

## **Wpływ odmiany rośliny testowej na wynik testu genotoksyczności *Vicia faba* Root Tip Assay**

**18E**

**OBIDOSKA G., KORZENIOWSKA M., HADAM A.**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Ogrodnictwa, Biotechnologii i Architektury Krajobrazu, Katedra Ochrony Środowiska, Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa,  
e-mail: [grazyna\\_obidoska@sggw.pl](mailto:grazyna_obidoska@sggw.pl)

*Słowa kluczowe:* genotoksyczność, *Vicia faba*, roślina testowa, odmiana

Rutynowe badania fizyko-chemiczne nie są w stanie wykryć wszystkich substancji obecnych w próbkach środowiskowych. Niektóre z tych substancji mogą stanowić duże zagrożenie dla organizmów żywych, dlatego ważna jest indykacja ich obecności. Do kompletnej oceny toksyczności i genotoksyczności próbek środowiskowych polecane są baterie biotestów [1,2]. Biotesty wykorzystywane do wykrywania genotoksyczności to przeważnie test Ames, test kometkowy i testy *in vitro* na komórkach ssaków. Są również relatywnie tanie, proste metody wykrywania genotoksyczności z użyciem systemów roślinnych takich jak TRAD-MCN czy TRAD-SHM (z *Tradescantią*) oraz testy stożków wzrostu korzeni (RTA – Root Tip Assay) z użyciem cebuli (*Allium cepa*) i bobiku (*Vicia faba*). *Vicia faba* RTA jest bardzo dobrą metodą oceny genotoksyczności próbek ciekłych [3,4,5] i stałych [6,7]. Parametrami oceny są: mikrojądra (MN) lub aberracje chromosomalne (CA) obserwowane podczas podziałów mitotycznych (zwłaszcza w anafazie i telofazie). Pomimo, iż test mikrojądrowy z *Vicia* został ustandaryzowany w 2013 roku (ISO 29200 “Assessment of genotoxic effects on higher plants – *Vicia faba* micronucleus test”), to jednak w protokole nie określono dokładnie odmiany rośliny testowej. Z innych źródeł wiadomo, że wrażliwość kiełkujących nasion odmian *Vicia faba* np. na kadmu [8] czy ołów [9] może się znaczowo różnić. Stwierdzono też, iż u odmian innych gatunków występują istotne różnice wrażliwości na czynniki toksyczne i genotoksyczne, co w przypadku zastosowania ich w biotestach może mieć wpływ na rezultat badań [10].

Naszym celem było porównanie wyników oceny genotoksyczności próbki wody pobranej z Wisły w Warszawie, przy użyciu testu aberracji chromosomalnych z wykorzystaniem jako roślin testowych sześciu polskich odmian bobiku: Kodam, Neptun, Amulet, Olga, Kasztelan i Nadwiślański. Indeks mitotyczny posłużył do oceny cytotoxisyczności, a aberracje chromosomalne w anafazie i telofazie do oceny genotoksyczności próbki. Dwie a sześciu odmian (Kodam i Amulet) nie wykazały cytotoxisyczności próbki wody, ale wszystkie sześć wykazało jej genotoksyczność. Zaobserwowano jednak pewne różnice wrażliwości odmian na czynniki genotoksyczne; Najbardziej wrażliwa okazała się Olga (niskotaninowa), a najmniej Kodam (wysokotaninowa). Konkluzja: odmiana rośliny testowej w teście *Vicia faba* RTA może mieć istotny wpływ na wynik badań, dlatego aby rezultaty były porównywalne, należałyby wybrać do testu jedną, wrażliwą odmianę bioindykatora.

### **Effect of the test plant cultivar on the result of genotoxicity test *Vicia faba* Root Tip Assay.**

*Key words:* genotoxicity, *Vicia faba*, test plant, cultivar

Routine chemical and physical analyses are not able to detect all the substances present in environmental samples. Some of these unrecognised substances may be of great danger for living organisms, therefore it is important to indicate their presence. For complete toxicity or genotoxicity assessment of environmental samples, the application of batteries of biotests are

recommended [1,2]. Biotests used for genotoxicity detection are mainly the Ames test, the Comet assay and *in vitro* tests on mammalian cells. There are also relatively low-cost, easy methods of detecting genotoxicity using plant systems such as Trad-MCN or Trad-SHM assays (with *Tradescantia*), and *Allium cepa* or *Vicia faba* Root Tip Assays. *Vicia faba* RTA is a very convenient method of genotoxicity assessment in liquid [3,4,5] and solid samples [6,7]. The parameters of genotoxicity assessment are: micronuclei (MN) or chromosomal aberrations (CA) observed during mitotic division (especially in anaphase and telophase).

Although the *Vicia* micronucleus assay was standardised in 2013 in an international protocol ISO 29200 “Assessment of genotoxic effects on higher plants – *Vicia faba* micronucleus test”, the cultivar of the test plant was not exactly specified. From some reports it is known that the sensitivity of germinating seeds of *Vicia faba* cultivars for example to cadmium [8] or lead [9] may vary significantly. It also reported that cultivars of some other species may vary quite seriously in sensitivity to toxic or genotoxic factors which may affect the results of toxicity or genotoxicity tests [10].

Our aim was to compare the results of genotoxicity testing of Vistula river water sample, collected in Warsaw, using the chromosomal aberration (CA) assay performed with six Polish cultivars of *Vicia faba*: Kodam, Neptun, Amulet, Olga, Kasztelan and Nadwiślański. Mitotic index (MI) was scored to assess cytotoxicity and chromosomal aberrations (CA) in anaphase and telophase to assess genotoxicity. Two of six cultivars (Kodam and Amulet) did not show the cytotoxicity of the tested water sample, but all six detected its genotoxicity, however some differences in the sensitivity of cultivars to genotoxic agents were observed; the most sensitive one was Olga (low tannin content) and the least sensitive Kodam (high tannin content). Conclusion: The cultivar of the test plant in *Vicia faba* RTA may have significant effect on the test result, therefore to obtain comparable data, one sensitive cultivar should be chosen as the bioindicator.

1. Mankiewicz-Boczek J., Nałęcz-Jawecki G., Drobnińska A., Kaza M., Sumorok B., Izydorczyk K., Zalewski M., Sawicki J. 2008: Application of microbiotests battery for complete toxicity assessment of rivers. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 71: 830-836.
2. Cabrera G.L., Rodriguez D.M.G., Maruri A.B., 1999: Genotoxicity of the extracts from the compost of the organic and the total municipal garbage using three plant bioassays. *Mut. Res.*, 426: 201-206.
3. Zhong Y., Feng S.L., Luo Y., Zhang G.D., Kong Z.M., 2001: Evaluating the genotoxicity of surface water of Yangzhong City using the *Vicia faba* micronucleus test and the comet assay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 67: 217-224.
4. Sang N., Li G., 2004: Genotoxicity of municipal landfill leachate on root tips of *Vicia faba*. *Mut. Res.*, 560: 159-165.
5. Abdel-Migid H., Azab Y.A., Ibrahim W.M., 2007: Use of plant genotoxicity bioassay for the evaluation of efficiency of algal biofilters in bioremediation of toxic industrial effluent. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 66: 57-64.
6. Minissi S., Caccese D., Passafiume F., Grella A., Coccotti E., 1998: Mutagenicity (micronucleus test in *Vicia faba* root tips) polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metal content of sediments collected in Tiber river and its tributaries within the urban area of Rome. *Mut. Res.*, 420: 77-84.
7. Cotelle S., Dhyevre A., Muller S., Chenon P., Manier N., Pandard P., Echairi A., Silvestre J., et al., 2015: Soil genotoxicity assessment – results of an interlaboratory study on the *Vicia* micronucleus assay in the context of ISO standardization. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22: 988-995.
8. Rahoui S., Chaoui A., 2008: Differential sensitivity to cadmium in germinating seeds of three cultivars of faba bean (*Vicia faba* L.). *Acta Physiol. Plant.*, 30: 451-456,
9. Lei D., Duan C., He F., Song C., 2006: Responses of different *Vicia faba* varieties photosynthetic characteristics to Pb pollution. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 17(6): 1095-1098,

Cecchi M., Guiresse M., Silvestre J., Pradere P., Pinelli E., Dumat C. 2006: Lead speciation and behaviour in the soil-plant system for a calcareous soil contaminated by lead recycling plant fallouts. Comparison of *Vicia faba* used in AFNOR toxicity test and *Pelargonium* a potentially good candidate for soil remediation. Difpolmine Conference, 12-14 December, Le Corum, Montpellier, France: 16.

## Ocena jakości procesu defosfatacji ścieków na podstawie analizy specjacyjnej fosforu oraz identyfikacji bakterii nitkowatych

19E

BEZAK-MAZUR E.\*, STOIŃSKA R.\*

\*Politechnika Świętokrzyska, Wydział Inżynierii Środowiska, Geomatyki i Energetyki,  
al. Tysiąclecia Państwa Polskiego 7, 25-314 Kielce  
e-mail: [r.szustak@poczta.onet.pl](mailto:r.szustak@poczta.onet.pl)

*Słowa kluczowe:* *bakterie nitkowate, specjacja fosfor, defosfatacja ścieków*

Celem badań było wykazanie możliwości oceny defosfatacji na podstawie równoczesnej analizy specjacji fosforu oraz bakterii nitkowatych w przypadku zmieniających się warunków w reaktorze osadu czennego. Analiza specjacyjna jest metodą badawczą opierającą się na procedurach które umożliwiają identyfikację form danego pierwiastka oraz ich ilościowe oznaczenie w badanej próbce. Pierwotnie stosowano ją do określenia form specjacyjnych pierwiastków w glebach oraz osadach dennych, a w ostatnich latach stosuje się również do analizy osadów ściekowych[1]. Jest ona oparta na sekwencyjnej izolacji poszczególnych frakcji fosforu poprzez zastosowanie kolejno rozpuszczalników o wzrastającej sile ekstrahowania. W literaturze znanych jest kilkanaście metod specjacji fosforu, w których wykorzystuję się ekstrakcję sekwencyjną. Jedną z nich jest metoda Goltermanna [2]. Polegała ona na wykorzystaniu w analizie odczynników chelatowych (Na-EDTA i Ca-EDTA) oraz roztworów  $H_2SO_4$  i NaOH. Taka kombinacja ekstrahentów pozwala wyizolować formy nieorganiczne fosforu (wyodrębnione za pomocą Na-EDTA i Ca-EDTA) oraz formy organiczne (wyodrębnione za pomocą roztworów NaOH i  $H_2SO_4$ ). Według Goltermanna formą specjacyjną o największej dostępności biologicznej (biodostępności, mobilności) jest fosfor zaadsorbowany na powierzchni częstek osadów, czyli frakcja Ca-EDTA i frakcja Na-EDTA. Analizę specjacyjną fosforu można również wykorzystać do oceny procesu defosfatacji ścieków poprzez badanie poszczególnych udziałów form fosforu w osadzie ściekowym, które zmieniają się w zależności od warunków fizyko-chemicznych panujących w reaktorze biologicznym [3]. W pracy analizowano specjację fosforu w osadzie czennym, w tym udział form biodostępnych fosforu. Oprócz tego wskaźnika chemicznego analizowany był również zespół bakterii nitkowatych osadu czennego. Zaobserwowano zależność pomiędzy obecnością poszczególnych gatunków bakterii nitkowatych a udziałami form specjacyjnych fosforu. Wykonano dwie serie pomiarowe osadów ściekowych, ponieważ każda z serii pomiarowych reprezentowała odmienne warunki natlenienia. Pierwsza seria prób osadu została pobrana w momencie awarii systemu napowietrzenia a druga seria 3 tygodnie po jej naprawie. Analiza wyników doprowadziła do wniosków iż w przebadanym osadzie czennym w warunkach braku napowietrzenia dominującymi formami występowania fosforu były formy mobilne i biologicznie dostępne, czyli frakcje Ca-EDTA i Na-EDTA, co może sugerować uwalnianie fosforu z komórek organizmów w warunkach beztlenowych. Również analiza mikroskopowa mikroorganizmów nitkowatych osadu czennego wykazała, iż w próbkach osadu czennego pobranego w czasie trwania awarii napowietrzania nie dochodzi do wbudowywania fosforu w komórki bakterii, ponieważ dominującymi gatunkami bakterii nitkowatych były gatunki: Beggiatoa oraz Typ 021N. Gatunki te są bakteriami Neisser-ujemnymi [4], czyli niegromadzącymi w swoim organizmie polifosforanów. Ponadto występowanie tych organizmów wiąże się bardzo z niskim stężeniem tlenu. Gatunek Beggiatoa dodatkowo gromadzi w swoim organizmie globule siarki, co świadczy o wysokiej zawartości siarkowodoru w ściekach a zatem o zagniawaniu osadu. W przebadanym osadzie czennym pobranym po usunięciu awarii systemu napowietrzenia dostrzega się znaczny wzrost frakcji NaOH oraz redukcję frakcji Ca-EDTA. Frakcja fosforu NaOH utożsamiana jest z fosforem zawartym w materii organicznej, dlatego też zwiększyły udział tej frakcji może świadczyć o wzmożonym

procesie asymilacji fosforu w organizmach mikroorganizmów w warunkach tlenowych. Zachodzenie procesu asymilacji fosforu w warunkach tlenowych może potwierdzać również obecność bakterii nitkowej *Microthrix parvicella* [5]. Bakteria ta jest gatunkiem Neisser-dodatnim, gromadzącym w swoim organizmie polifosforany. Gatunek ten ma również szczególnie wysokie powinowactwo do tlenu, co powoduje że bakteria ta może korzystać z metabolizmu tlenowego już przy minimalnym stężeniu tego gazu w środowisku [6], dlatego też dowodzi o poprawie warunków tlenowych panujących w reaktorze osadu czynnego. Wyniki badań wskazują iż równoczesna analiza specjacji fosforu oraz bakterii nitkowych pozwala ocenić jakość procesu defosfatacji ścieków oraz ocenę kondycji osadu ściekowego w przypadku zmieniających się warunków fizykochemicznych w reaktorze osadu czynnego.

**Literatura:**

- [1] BEZAK-MAZUR E., MAZUR A., STOIŃSKA R., Phosphorus speciation in sewage sludge, Environment Protection Engineering 2014, 40(3),161-175.
- [2] GOLTERMAN H.L. *Fractionation of sediment phosphate with chelating compounds: a simplification, and comparison with other methods*, Hydrobiologia.1996; 335: 1: 87-95.
- [3] BEZAK-MAZUR E., STOIŃSKA R., *Analiza specjacyjna fosforu w różnych typach osadów ściekowych z wybranych oczyszczalni ścieków*, Proceedings of ECOpole 2014;8(1):127-133.
- [4] FIAŁKOWSKA E., FYDA J., PAJDAK-STÓS A., WIĄCKOWSKI K. *Osad czynny - biologia i analiza mikroskopowa*, Seidel Przywecki 2010.
- [5] ROSSETTI S., TOMEI M.C., NIELSEN H., TANDOI V. "Microthrix parvicella", a filamentous bacterium causing bulking and foaming in activated sludge systems: a review of current knowledge, FEMS Microbiology Reviews 2005, 29: 49–64.
- [6] MACHNICKA A., GRÜBEL K., SUSCHKA J. *Improving of the biological removal and recovering of phosphorus from sewage by filamentous microorganisms*, Przemysł Chemiczny 2008,87(5): 509-511.

## The evaluation of the process of dephosphatation of wastewater on the basis of speciation analysis of phosphorus and identification of filamentous bacteria.

BEZAK-MAZUR E.\*<sup>1</sup>, STOIŃSKA R.\*<sup>1</sup>

\*Kielce University of Technology, the Faculty of Faculty of Environmental, Geomatic and Energy Engineering, av. Tysiąclecia Państwa Polskiego 7, 25-314 Kielce  
e-mail: [r.szustak@poczta.onet.pl](mailto:r.szustak@poczta.onet.pl)

*Keywords:* *filamentous bacteria, phosphorus speciation, dephosphatation of wastewater*

The aim of the research was to show the possibility of evaluation of dephosphatation on the basis of simultaneous analysis of speciation of phosphorus as well as filamentous bacteria in the case of changing conditions in the reactor of the active sediment. The speciation analysis is a research method based on the procedures which allow the identification of forms of a given element as well as its quantitative marking in the examined sample. It was primarily applied to determine the speciation forms of elements in soils and sediments and lately it is also used to analyse wastewater sediments [1]. It is based on the sequential isolation of fractions of phosphorus through the application of solvents with the increasing extracting force. The literature provides several methods of speciation of phosphorus in which sequential extraction is applied. One of them is the Golterman method [2]. It consists in the use of chelating agents (Na-EDTA and Ca-EDTA) as well as solutions of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and NaOH in the analysis. This combination of extractants allows to isolate inorganic forms of phosphorus (separated by means of Na-EDTA and Ca-EDTA) as well as organic forms (separated by means of solutions of NaOH and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). According to Golterman the speciation form characterised by larger bioavailability (mobility) is the phosphorus absorbed on the surface of sediment particles, that is Ca-EDTA and Na-EDTA fractions. The speciation analysis of phosphorus may also be applied to the evaluation of the process of sediment dephosphatation through the examination of particular shares of phosphorus forms in the wastewater sediment which change according to the physical-chemical conditions in the biological reactor [3]. In the research work the speciation of phosphorus in the active sediment together with the share of bioavailable forms of phosphorus were analysed. Apart from this chemical indicator, the set of filamentous bacteria of the active sediment was also analysed. The relation between the presence of particular kinds of filamentous bacteria and the shares of phosphorus speciation forms was observed. Two measurement series of wastewater sediments were carried out because each of the measurement series represented different oxygenation conditions. The first series of sediment samples was collected in the moment of breakdown of the aeration system and the second one 3 weeks after the breakdown was fixed. The analysis of the results led to the conclusion that in the examined active sediment in conditions of lack of aeration the dominant forms of phosphorus were mobile and bioavailable forms, that is Ca-EDTA and Na-EDTA fractions. This may suggest that phosphorus is released from cells of organisms in anaerobic conditions. The microscopic analysis of filamentous microorganisms of the active sediment showed that in the samples of the active sediment collected during the breakdown of the aeration system that building phosphorus into bacteria cells does not occur because the dominant species of filamentous bacteria were following: Beggiatoa and Type 021N. These species are Neisser-negative bacteria [4]. This means that they do not gather polyphosphates in their organisms. Additionally, the occurrence of these organisms is connected with a very low concentration of oxygen. The Beggiatoa species additionally gathers in their organisms globules of sulphur which is a sign of high content of hydrogen sulphide in the wastewater so of sediment putrefaction. In the examined active sediment collected after the aeration system breakdown was repaired a significant increase of NaOH fraction and decrease of Ca-EDTA fraction can be

noticed. The NaOH phosphorus fraction is identified with the phosphorus contained in the organic matter therefore its increased share may be a sign of the growth of the process of assimilation of phosphorus in microorganisms in aerobic conditions. The proof of the process of assimilation of phosphorus in the aerobic conditions may be also the presence of filamentous bacteria *Microthrix parvicella* [5]. This is a Neisser-positive bacteria which gathers polyphosphates in their organisms. This species has also exceptionally high affinity to oxygen. This causes that the bacteria may use the aerobic metabolism even if the concentration of this gas in the environment is minimal [6]. Therefore it is a proof of aerobic conditions in the active sediment reactor. The results of the research show that the simultaneous analysis of phosphorus speciation and filamentous bacteria allows to evaluate the quality of the process of the dephosphatation of wastewater as well as estimate the condition of the wastewater sediment in the case of changing physical-chemical conditions in the active sediment reactor.

### **Literature:**

- [7] BEZAK-MAZUR E., MAZUR A., STOIŃSKA R., Phosphorus speciation in sewage sludge, Environment Protection Engineering 2014, 40(3),161-175.
- [8] GOLTERMAN H.L. *Fractionation of sediment phosphate with chelating compounds: a simplification, and comparison with other methods*, Hydrobiologia.1996; 335: 1: 87-95.
- [9] BEZAK-MAZUR E., STOIŃSKA R., *The speciation analysis of phosphorus in different types of wastewater sediments from chosen wastewater treatment plants*, Proceedings of ECOpole 2014;8(1):127-133.
- [10] FIAŁKOWSKA E., FYDA J., PAJDAK-STÓS A., WIĄCKOWSKI K. *Osad czynny - biologia i analiza mikroskopowa*, Seidel Przywecki 2010.
- [11] ROSSETTI S., TOMEI M.C., NIELSEN H., TANDOI V. "Microthrix parvicella", a filamentous bacterium causing bulking and foaming in activated sludge systems: a review of current knowledge, FEMS Microbiology Reviews 2005, 29: 49–64.
- [12] MACHNICKA A., GRÜBEL K., SUSCHKA J. *Improving of the biological removal and recovering of phosphorus from sewage by filamentous microorganisms*, Przemysł Chemiczny 2008,87(5): 509-511.

## Fotodegradacja i toksyczność inhibitorów korozji w wodzie morskiej

20E

KALKA J., FELIS E., ZACKIEWICZ J.

Katedra Biotechnologii Środowiskowej Politechnika Śląska,  
44-100 Gliwice ul. Akademicka 2A,  
e-mail: [joanna.kalka@polsl.pl](mailto:joanna.kalka@polsl.pl)

*Słowa kluczowe:* benzotiazol, benzotriazol, woda morska, toksyczność

Benzotriazol (BTA) i benzotiazol (BT) znalazły zastosowanie głównie jako inhibitory korozji metali. Wprowadzone w niewielkich ilościach do korozyjnego środowiska powodują znaczne zmniejszanie szybkości korozji metalu stykającego się z tym środowiskiem, poprzez wytworzenie na powierzchni metalu warstwy ochronnej. Są to również związki szeroko stosowane jako składniki tworzyw sztucznych, kauczuków, barwników i różnych powłok w celu zwiększenia trwałości i wydajności produktu. BT i BTA wykorzystywane są także w materiałach przeznaczonych do ochrony przeciw promieniowaniu UV. BTA wykorzystywany jest również w lotnictwie, jako składnik środków odladzających, płynów zapobiegających zamarzaniu w transporcie samochodowym, oraz jako składnik chłodziw. W gospodarstwach domowych używany jest w środkach chemii gospodarczej jako składnik detergentów stosowanych do zmywarek.

Benzotiazol (BT) i benzotriazole (BTA), poprzez powszechnie zastosowanie, są wykrywane w różnych matrycach środowiskowych. Występują zarówno w ściekach przemysłowych, miejskich, jak i w wodach powierzchniowych- mi. in. w rzekach i jeziorach, wodach morskich, a także w glebie.

W pracy oceniono toksyczność BT i BTA w stosunku do organizmów naturalnie występujących w wodach słonych tj. *Vibrio fischeri*, *Artemia salina* i *Phaeodactylum tricornutum*. Syntetyczną wodę morską, zawierającą badanie związki w stężeniach 10 mg/L poddawano naświetlaniu w reaktorze SOLARBOX 1500 (Co.Fo.Me.Gra; Włochy), wyposażonym w chłodzoną powietrzem lampa ksenonową, emitującą promieniowanie polichromatyczne z zakresu UVB, UVA, światła widzialnego i podczerwieni, którego zakres jest tożsamy z zakresem promieniowania emitowanego przez Słońce. Badania prowadzono w temperaturze 35- 37°C, przy irydancji 500 W/m<sup>2</sup>. Stopień usunięcia substancji aktywnych określano za pomocą HPLC-UV, produkty pośrednie fotodegradacji identyfikowano za pomocą LC-MS/MS. Weryfikację toksyczności roztworów poreakcyjnych przeprowadzono z udziałem wyżej wymienionych gatunków.

Praca finansowana przez NCN w ramach grantu 2011/03/D/ST8/04595

## Photodegradation and toxicity of corrosion inhibitors in marine water

KALKA J., FELIS E., ZACKIEWICZ J.

Environmental Biotechnology Department, The Silesian University of Technology,  
44-100 Gliwice ul. Akademicka 2A,  
e-mail: [joanna.kalka@polsl.pl](mailto:joanna.kalka@polsl.pl)

### Abstract

Benzotriazole (BTA) benzothiazole (BT) have been used mainly as corrosion inhibitors. Introduced in small amounts to the corrosive environment result in a significant reduction of the corrosion rate of the metal, by generating the protective layer on its surface. BT and BTA are also widely used as components of plastics, rubber, pigments, and various coatings to enhance the stability and performance of the product. BT and BTA are used in materials intended for protection against UV radiation. BTA is a component of de-icing and antifreeze liquids, in the road transport and aviation, and as a component of refrigerants. In households, BTA is used as a component of detergents for dishwashers.

Benzothiazoles (BT) and benzotriazole (BTA), are detected in the various environmental matrices. There are both urban and industrial wastewater as well as in the surface waters e.g. in rivers and lakes, marine waters, as well as in the soil.

During the study the toxicity of BT and BTA was evaluated, in relation to natural organisms inhabiting brackish waters, ie., *Vibrio fischeri*, *Artemia salina* and *Phaeodactylum tricornutum*. A synthetic sea water containing the test compounds at concentrations of 10 mg/L was subjected to irradiation 500 W/m<sup>2</sup> in SOLARBOX reactor. Active substances removal was determined by LC-UV, photo-degradation intermediates were identified by LC-MS/MS. Toxicity of postprocessing solutions toxicity was verified with the above-mentioned species.

## Dynamika zanikania wybranych 1-alkilo-3-metyloimidazoliowych cieczy jonowych w aspekcie ich oddziaływania na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie

21E

TELESIŃSKI A., SUŁKOWSKA N., ONYSZKO M.

Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii,  
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,  
ul. Słowiackiego 17, 71-434 Szczecin  
e-mail: [miroslaw.onyszko@zut.edu.pl](mailto:miroslaw.onyszko@zut.edu.pl)

*Słowa kluczowe:* ciecz jonowe, fluor, gleba, oksydaza o-difenolowa

Wzrost zainteresowania cieczami jonowymi jako niekonwencjonalnymi rozpuszczalnikami wynika z ich korzystnych właściwości fizykochemicznych, m.in. bardzo małej prężności par oraz dobrej stabilności termicznej i elektrochemicznej. Związki te są solami organicznymi, zbudowanymi z różnych organicznych kationów oraz nieorganicznych lub organicznych anionów, o temperaturze topnienia równej lub bliskiej temperaturze pokojowej. Substancje te mogą dostawać się do gleby między innymi w wyniku przypadkowego rozlania, stosowania kompostów z osadów ściekowych, czy odcieków ze składowisk odpadów.

Celem podjętych badań było określenie dynamiki zanikania dwóch cieczy jonowych tj. tetrafluoroboranu 1-butyl-3-metyloimidazoliowy oraz tetrafluoroboranu 1-heksyl-3-metyloimidazoliowy w kontekście ich oddziaływania na aktywność oksydazy o-difenolowej w glebie.

Doświadczenie przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych na dwóch rodzajach gleb: piasku gliniastym o zawartości węgla organicznego  $8,7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  i gliny lekkiej o zawartości węgla organicznego  $10,9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Do części ziemistych pobranego materiału glebowego wprowadzono analizowane ciecze jonowe w dawkach: 5, 50, 500 oraz  $5000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{s.m.}$  gleby. Następnie doprowadzono wilgotność gleb do 60% m.p.w. Glebę dokładnie wymieszano i przechowywano w szczelnie zamkniętych workach polietylenowych w temperaturze  $20^\circ\text{C}$ . Punktem odniesienia była gleba kontrolna (bez dodatku cieczy jonowych) utrzymywana w takich samych warunkach jak próbki glebowe z dodatkiem cieczy jonowych. W 1., 7., 14., 28., 56. dzień doświadczenia oznaczono chromatograficznie zawartość kationów imidazoliowych, potencjometrycznie zawartość fluoru rozpuszczalnego i potencjalnie dostępnego dla roślin oraz spektrofotometrycznie aktywność oksydazy o-difenolowej.

Otrzymane wyniki badań wykazały, że kation 1-butyl-3-metyloimidazoliowy okazał się układem odpornym na degradację w glebie, podczas gdy wydłużenie podstawnika alkilowego do sześciu atomów węgla (kation 1-heksyl-3-metyloimidazoliowy) zdecydowanie przyspieszyło proces rozkładu. Zawartość fluoru rozpuszczalnego w roztworze glebowym, jak i potencjalnie dostępnego dla roślin, w glebie zanieczyszczonej imidazoliowymi cieczami jonowymi, zwiększała się w trakcie trwania doświadczeń, jednak na ilość uwalnianego fluoru nie miała większego wpływu długość podstawnika alkilowego w kationie. Zwiększanie dawki, oraz wydłużanie podstawnika alkilowego w kationie imidazoliowym zwiększało oddziaływanie cieczy jonowych na aktywność oksydazy o-difenolowej. Zmiany aktywności oksydazy o-difenolowej w glebie zanieczyszczonej imidazoliowymi cieczami jonowymi: tetrafluoroboranem 1-butyl-3-metyloimidazoliowym oraz tetrafluoroboranem 1-heksyl-3-metyloimidazoliowym, zależne były od dawki oraz rodzaju cieczy jonowej, a także właściwości fizyczno-chemicznych gleby.

## Dissipation dynamic of some 1-alkyl-3-methylimidazolium ionic liquids and their effect on o-diphenol oxidase activity in soil

TELEŚIŃSKI A., SUŁKOWSKA N., ONYSZKO M.

Department of Plant Physiology and Biochemistry,  
West Pomeranian University of Technology in Szczecin,  
Słowackiego 17, 71-434 Szczecin  
e-mail: [miroslaw.onyszko@zut.edu.pl](mailto:miroslaw.onyszko@zut.edu.pl)

*Key words:* *ionic liquids, fluoride, soil, o-diphenol oxidase*

The increased interest in ionic liquids as unconventional solvents due to their favorable physicochemical properties, including very low vapor pressure, good thermal and electrochemical stability. These compounds are organic salts, constructed from a variety of organic cations, and inorganic or organic anions, having a melting point at near room temperature. These substances can get into the soil, among other things as a result of accidental spillage, the use of compost from sewage sludge or landfill leachate.

The aim of study was to determine the dissipation of two ionic liquids: tetrafluoroborate 1-butyl-3-methylimidazolium and tetrafluoroborate 1-hexyl-3-methylimidazolium in terms of their impact on o-diphenol oxidase activity in soil.

The experiment was carried out in laboratory conditions on the two types of soil: loamy sand containing organic carbon,  $8.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  and the sandy loam with organic carbon content of  $10.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Analyzed ionic liquids, in doses: 5, 50, 500 and  $5000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ dm}$ . were treated into soil material. Then, the soil moisture content was adjusted to 60% of the maximum water holding capacity. The soil was mixed thoroughly and stored in polyethylene bags at  $20^\circ\text{C}$ . Soil without addition of ionic liquids stored in the same conditions as the samples containing ionic liquids, was reference. On day 1, 7, 14, 28 and 56 imidazolium cation content was determined by chromatographic method, content of fluoride soluble, and content of fluoride potentially available to plants were determined by potentiometric method, and o-diphenol activity was determined by spectrophotometric method.

The obtained results showed that the 1-butyl-3-methylimidazolium cation proved system resistant to degradation in the soil, while the elongation of the alkyl chain to six carbon atoms (1-hexyl-3-methylimidazolium cation) strongly accelerated the decomposition. The content of fluoride soluble, as well as fluoride potentially available to plants in soil contaminated with imidazolium ionic liquids, increased during the experiments, however, the amount of released fluoride does not exert much influence the length of the alkyl chain of the cation. Increasing the dose and lengthening the alkyl substituent of the imidazolium cation increased impact of ionic liquids on the o-diphenol oxidase activity. Changes in the o-diphenol oxidase activity in soil contaminated with ionic liquids imidazoliowymi tetrafluoroborate 1-butyl-3-methylimidazolium and tetrafluoroborate 1-hexyl-3-methylimidazolium, depended on the dose, type of ionic liquid, and the soil physico-chemical properties.

## Fitotoksyczność tetrafluoroboranu amonu dla wybranych roślin wyższych

22E

PAWŁOWSKA B., BICZAK R.

Akademia im. Jana Długosza w Częstochowie, Instytut Chemii, Ochrony środowiska i Biotechnologii, ul. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa

[b.pawlowska@ajd.czest.pl](mailto:b.pawlowska@ajd.czest.pl)

*Słowa kluczowe:* fitotoksyczność, lądowe rośliny wyższe, tetrafluoroboran amonu

Tetrafluoroboran amonu to substancja chemiczna dobrze rozpuszczalna w wodzie i nierozpoczalna w alkoholu. Związek ten wykorzystywany jest jako składnik kąpieli galwanicznych, w obróbce metali oraz jako katalizator alkilowania i polimeryzacji. Prowadzono również badania mające na celu zastosowanie tetrafluoroboranu amonu do impregnacji drewna.

Tetrafluoroboran wykazuje działanie szkodliwe na oczy, skórę i błony śluzowe ludzi i zwierząt. W dostępnej literaturze brak jest badań dotyczących wpływu tetrafluoroboranu amonu na lądowe rośliny wyższe.

W przedstawionej pracy wpływ tetrafluoroboranu amonu  $[A][BF_4]$ , wprowadzonego do gleby w różnych stadiach, na wschody i wczesne stadia wzrostu i rozwoju roślin wyższych, określono w badaniach fitotoksyczności w oparciu o przewodnik OECD/OCDE 208/2006. W przeprowadzonym eksperymencie, nasiona wybranych gatunków lądowych roślin wyższych – jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare*) i rzodkiewki zwyczajnej (*Raphanus sativus L. subvar. radicula* Pers.) wysiano do wazonów zawierających glebę do której dodano badany związek chemiczny i do wazonów zawierających glebę kontrolną. Przez cały okres prowadzenia badań utrzymywano optymalne warunki wzrostu i rozwoju wybranych gatunków roślin.

Oceniając fitotoksyczność zastosowanych stężeń tetrafluoroboranu amonu określono i porównano wschody i masę (suchą i zieloną) pędów roślin kontrolnych, ze wschodami i masą (suchą i zieloną) pędów roślin rosnących na glebie, do której wprowadzono odpowiednie ilości związku. Dokonano ponadto, oceny wizualnej wszystkich uszkodzeń badanych gatunków roślin, takich jak zahamowanie wzrostu, nekroza i chloroza, czego odzwierciedleniem są wykonane zdjęcia cyfrowe roślin doświadczalnych. Na podstawie otrzymanych wyników określono wielkości LOEC (the lowest observed effect concentration) – najniższe stężenie wywołujące zauważalne skutki w postaci obniżki we wzroście i wschodach w porównaniu z kontrolą oraz NOEC (no observed effect concentration) – najwyższe stężenie nie wywołujące zauważalnych, toksycznych skutków.

## Phytotoxicity ammonium tetrafluoroborate for selected higher plants

PAWŁOWSKA B., BICZAK R.

Institute of Chemistry, Environment Protection and Biotechnology, Jan Długosz University,  
13/15 Armii Krajowej Avenue, 42-200 Częstochowa, Poland  
[b.pawlowska@ajd.czest.pl](mailto:b.pawlowska@ajd.czest.pl)

*Keywords:* phytotoxicity, terrestrial higher plants, ammonium tetrafluoroborate

Ammonium tetrafluoroborate is a chemical substance soluble in water and insoluble in alcohol. This compound is used in electroplating bath, metal working and as catalyst in alkylation and polymerization. Research studies aiming to the use of ammonium tetrafluoroborate to the impregnation of wood.

Tetrafluoroborate exerts harmful for eyes, skin and mucous membranes of humans and animals. In the available literature, there are no studies on the effect of ammonium tetrafluoroborate for terrestrial higher plants.

In this study, the effect of ammonium tetrafluoroborate [A][BF<sub>4</sub>], introduced into the soil at various concentrations, on emergence and early stages of growth and development of higher plants identified in the study of phytotoxicity based on the guide OECD/OCDE 208/2006. In the experiment, seeds of some species of terrestrial higher plants – spring barley (*Hordeum vulgare*) and radish (*Raphanus sativus* L. subvar. *radicula* Pers.) Were seeded into vases containing soil to which was added the test compound and to vases containing soil control. Throughout the study period we maintained the optimal conditions for the growth and development of selected plant species.

In assessing the phytotoxicity of ammonium tetrafluoroborate concentrations used were determined and compared emergence and weight (dry and green) shoots of the control plants, the emergence and weight (dry and green) shoots of plants growing in soil having been introduced the corresponding amount of a compound. An evaluation of all visual lesions on studied plant species such as stunting, chlorosis and necrosis, which is reflected in digital photographs taken of the test plants. Based on the obtained results, the size of the LOEC (the lowest observed effect concentration) – the lowest concentration causing observable effects in the form of a reduction in growth and germination compared with the control – and the NOEC (no observed effect concentration) – the highest concentration not causing observable, toxic effects.