

Biomonitoring metali ciężkich w ekosystemach wód śródlądowych

Krzysztof Kilian*, Jerzy Golimowski*, Krzysztof Dmowski*, Jarosław Kucharzyk*,
Krystyna Jakimowicz-Hnatyszak*

Metale ciężkie należą do najczęściej spotykanych zanieczyszczeń w środowisku wodnym. Na rozprzestrzenianie się metali ciężkich w wodzie duży wpływ mają warunki fizykochemiczne panujące w zbiorniku. W efekcie sedymentacji zawiesin i adsorpcji na powierzchni koloidów większość metali jest kumulowana w osadach dennych. Metale te pod wpływem zmiany warunków fizykochemicznych mogą być uwalniane i włączać się w sposób niekontrolowany do cykli biogeochemicznych. Tą drogą metale trafiają do łańcuchów pokarmowych, ulegając bioakumulacji i biomagnifikacji.

Ryby, dzięki specyficznym cechom, szczególnie nadają się do bioindykacyjnej oceny skażenia wód. Ze skażonych wód chłoną one substancje toksyczne całą powierzchnią ciała, a także pobierają duże ilości ksenobiotyków podczas oddychania i odżywiania się.

Spośród wielu gatunków na wyróżnienie zasługuje leszcz (*Abramis brama* L.). Zawartość metali ciężkich w jego tkankach informuje o skażeniu środowiska i zmianach tych skażeń w czasie. Zaletami leszcza jako organizmu biomonitoringowego jest również duża częstość występowania, ograniczona migracja oraz silny związek z przydenną strefą zbiorników. Dlatego leszcz został wybrany jako gatunek monitoringowy w Europie i jest wykorzystywany w długofalowych badaniach biomonitoringowych, prowadzonych przez banki prób środowiskowych (Golimowski & Dmowski, 1997; Kilian i in., 1997).

Część doświadczalna

Aparatura:

- spektrometr ICP-AES Philips PV 8060 (Holandia) z nebulizerem ultradźwiękowym Cetac U-5000 AT (USA),
- spektrometr AAS Perkin Elmer ZL 4100 (Niemcy) z korekcją tła metodą Zeemana,
- spektrometr Altec AMA 254 (Czechy) do oznaczania Hg metodą zimnych par,
- mineralizator mikrofalowy CEM MDS 81 D (USA),
- mineralizator mikrofalowy Prolabo Maxi Digest MX350 (Francja).

Odczynniki:

- HNO_3 65%, HCl 38% Instra-Analyzed (J.T. Baker, USA),
- NH_4NO_3 , H_2O_2 p.a. (Analar, Wielka Brytania),
- wielopierwiastkowe roztwory wzorcowe QCS3, QCS4, MCS3 (Radian, USA),
- jednopierwiastkowe roztwory wzorcowe Titrisol (Merck, Niemcy),

— woda dejonizowana w systemie MilliQ (Millipore, USA).

Materiał do badań

Dorośle leszcze (*Abramis brama*) były poławiane siecią we wrześniu 1997 r. w następujących miejscach:

- rzeka Wisła: Jezioro Włocławskie, poniżej Płocka,
- rzeka San: powyżej Stalowej Woli (Nisko), poniżej Stalowej Woli (Stalowa), ujście Sanu do Wisły (Wrzawy).

Odławianie, pomiary morfometryczne, oznaczanie wieku ryb na podstawie rocznych przyrostów łusek i izolowanie tkanek przeprowadzono zgodnie z procedurą standardową niemieckiego banku prób środowiskowych (Klein & Paulus, 1995).

Do badań wyizolowano: mięśnie jako próbki do oznaczania rtęci, wątroby do oznaczania pozostałych metali ciężkich. Były to próbki pobrane z osobników należących do tej samej klasy wiekowej, tzn. 6–9-letnie ryby.

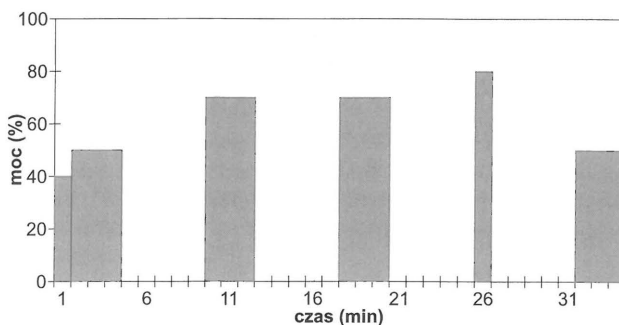
Próbki mięśni (ok. 20 g świeżej masy) oraz wątroby (ok. 5–10 g) każdego osobnika umieszczano w kolbach okrągłodennych i wstępnie rozdrabniano za pomocą pręta teflonowego. Następnie próbki te zamrażano do temp. ok. -70°C przez zanurzenie kolb w mieszaninie suchy lód–aceton. Tak przygotowane próbki poddawano liofilizacji w temperaturze wymrażania -55°C i przy próżni 310^{-3} mm Hg. Czas trwania liofilizacji próbek wątroby wynosił 24 h, a próbek mięśni 72 h. Próbki uchroniono przed zanieczyszczeniem, używając filtrów bibułowych przy wprowadzaniu powietrza do kolb po liofilizacji.

Liofilizowane próbki mielono w cyrkonowym młynie kulowym w temperaturze pokojowej, a następnie przesiewano przez sito nylonowe o oczkach 0,5 mm i przechowywano w pojemnikach z polietylenu.

Mineralizacja próbek

W badaniach zastosowano dwie metody rozkładu próbek z użyciem energii mikrofalowej: mineralizację w systemie zamkniętym i otwartym.

Mineralizacja w systemie zamkniętym: do 500 mg prób-



Ryc. 1. Program mineralizacji w ciśnieniowym układzie mikrofalowym

*Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski, ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa,

**Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Krakowskie Przedmieście 26/28, 00-927 Warszawa,

***Państwowy Instytut Geologiczny, Centralne Laboratorium Chemiczne, ul. Rakowiecka 4, 00-975 Warszawa

ki dodawano 8 ml wody królewskiej, po 3 godzinach zamykano naczynie ciśnieniowe i umieszczano w kuchence mikrofalowej. Stosowano typowy program mineralizacji przedstawiony na ryc. 1. Mineralizaty uzupełniano wodą do 25 g. Roztwory były klarowne o zabarwieniu lekko żółtym.

Mineralizacja w systemie otwartym: do 1 g próbki dodawano 8 ml wody królewskiej i prowadzono mineralizację w mineralizatorze Prolabo do całkowitego rozтворzenia próbki. Następnie próbki rozcieńczano wodą do 25 g. Roztwory miały wyraźne żółte zabarwienie.

Ze względu na znaczną liczbę próbek, w dalszych badaniach rutynowych stosowano metodę mineralizacji w systemie zamkniętym.

Oznaczanie metali

Oznaczenia prowadzono metodami ICP-AES, ET-AAS, a także metodą AAS zimnych par (Hg).

Metodą ICP-AES oznaczano następujące pierwiastki: Pb, As, Cd, Cr, Co, Cu, Mo, Ni, V, Zn, Ti, Al, Mn, Ag. W celu poprawy granicy wykrywalności zastosowano nebulizer ultradźwiękowy. Do korekcji interferencji niespektralnych w ICP-AES, spowodowanych matrycą zastosowano standard wewnętrzny: Be-Sc o stężeniu 0,25 mg/l.

Do oznaczeń ilościowych zastosowano metodę krzywej kalibracji, posługując się wielopierwiastkowymi roztworami kalibracyjnymi. Za wynik przyjmowano średnią z trzech oznaczeń. Po zbadaniu każdych 5 próbek przeprowadzano weryfikację krzywej kalibracji.

W metodzie ET-AAS do oznaczeń Pb i Cd zastosowano modyfikator palladowy oraz dodatek NH4NO3, w celu uniknięcia strat związanych z lotnością chlorków metali. Do dozowania próbek zastosowano autosampler.

Oznaczanie rtęci wykonano w próbkach stałych, bez ich roztwarzania metodą CV-AAS za pomocą monofunkcyjnego analizatora.

Wyniki

Stosując metodę ICP-AES wykonano badania wstępne zawartości metali w zmineralizowanych próbkach tkanek. Wyniki przedstawiono w tab. 1.

Ze względu na wysoki limit detekcji metody ICP-AES oznaczenie Pb wykonano metodą ET-AAS. Oznaczenia kadmu metodą ET-AAS wykonano w celu sprawdzenia wyników uzyskanych metodą ICP-AES. Uzyskane rezultaty przedstawia tab. 2.

Poprawność uzyskanych wyników sprawdzano analizując materiały referencyjne SRM 1577b (wątroba wołowa) i BCR 186 (nerka wieprzowa) i wewnętrzny materiał kontrolny niemieckiego banku prób środowiskowych (wątroba leszcza). Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 3. Uzyskano również zadowalającą zgodność oznaczeń Cd metodą ICP-AES i ET-AAS w poszczególnych próbkach.

Do oznaczania Hg w mięśniach leszczy zastosowano metodę CV-AAS, ze względu na dostatecznie niski limit detekcji oraz możliwość badania próbek stałych, co upraszcza

Tab. 1. Zawartość metali w wątrobach leszczy [µg/g s.m.]

Pierwiastek	G.O (6s)	Jezioro Włocławskie	San/Nisko	San/Stalowa	San/Wrzawy
Zn	0,1	79±14	88±12	78±12	95±11
Cu	0,05	10±4	28±8	18±7	35±17
Cr	0,1	0,56±0,09	0,60±0,10	0,55±0,05	0,63±0,10
Cd	0,05	0,09±0,08	0,3±0,2	1,4±1,0	1,1±0,8
Mn	0,02	5,7±0,9	10,5±1,6	7,8±0,8	10±3
Al	0,8	5,4±1,5	4,7±0,7	7±2	5±3
As	2	<2	<2	<2	<2
Co	0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2
Mo	0,25	0,8±0,2	0,7±0,2	0,6±0,2	0,5±0,1
Ni	0,5	<0,5	<0,5	0,6±0,3	<0,5
Pb	1,2	<1,2	<1,2	<1,2	<1,2
Ti	0,02	0,08±0,04	0,07±0,03	0,3±0,2	0,3±0,2
V	0,05	0,14±0,06	0,18±0,03	0,18±0,03	0,21±0,04
Ag	0,05	0,3±0,2	0,4±0,3	0,2±0,2	0,4±0,3

Tab. 2. Wyniki oznaczenia Pb i Cd w wątrobach leszczy po mineralizacji w systemie zamkniętym metodą ET-AAS [µg/g s.m.]

Pierwiastek	GO (6s)	Jezioro Włocławskie	San/Nisko	San/Stalowa	San/Wrzawy
Pb	0,2	0,5±0,1	0,30±0,06	0,9±0,7	0,5±0,2
Cd	0,03	0,06±0,02	0,4±0,2	1,4±0,9	1,1±0,7

Tab. 3. Wyniki oznaczania Pb i Cd metodą ET-AAS w materiałach odniesienia po mineralizacji mikrofalowej w systemie zamkniętym [µg/g]

Pierwiastek	SRM 1577b		BCR 186		Materiał kontrolny wątroba leszcza	
	wartość certyfikowana	oznaczono	wartość certyfikowana	oznaczono	zawartość podana	oznaczono
Pb	0,129±0,004	<0,2	0,306±0,011	0,35	0,5–0,6	0,67
Cd	0,50±0,03	0,55	2,71±0,15	2,85	0,10–0,15	0,1

Tab. 4. Wyniki oznaczeń Hg w mięśniach leszczy metodą CV- AAS [µg/g s.m.]

Jezioro Włocławskie	San/Nisko	San/Stalowa	San/Wrzawy
0,32±0,05	0,60±0,09	0,5±0,1	0,55±0,02

cza znacznie procedurę analityczną i zapobiega ewentualnym stratom lotnego analitu.

Uzyskane wyniki oznaczeń Hg w mięśniach leszcza przedstawiono w tab. 4.

Rtęć oznaczono również w materiale odniesienia BCR 185 (wątroba wieprzowa), uzyskując wyniki zgodne z certyfikatem (wartość certyfikowana 443 ng/g, uzyskany wynik 43,6 ng/g).

Wnioski

Zbadano tkanki 18 leszczy, w których oznaczono zawartość metali ciężkich. Jest to niewystarczający materiał, aby można było wyciągnąć wnioski na temat zanieczyszczenia Wisły i Sanu. Można jednak zauważyć pewne prawidłowości:

- Zawartość Hg w mięśniach wszystkich leszczy z Sanu jest wyższa niż w mięśniach ryb pochodzących z Wisły, co może mieć związek z intensywną gospodarką rolną na terenie Kotliny Sandomierskiej.

- Wyższą zawartość Cd i Pb została zaobserwowana w wątrobach leszczy pochodzących z Sanu z okolic Stalowej Woli, gdzie są zlokalizowane liczne zakłady przemysłu elektromaszynowego i ciężkiego.

- Wyniki badań potwierdzają przydatność leszcza w badaniach biomonitoringowych wód śródlądowych. Za najważniejsze należy uznać możliwość śledzenia zawartości pierwiastków silnie toksycznych i ulegających bioakumulacji, takich jak Cd, Pb, Hg.

Autorzy pracy dziękują pani Helenie Pabisiak z Polskiego Związku Wędkarskiego w Tarnobrzegu za pomoc w zorganizowaniu badań w terenie.

Literatura

- GOLIMOWSKI J. & DMOWSKI K. 1997 — Chemosphere, 34: 1989.
KILIAN K., BIAŁECKI L., DMOWSKI K. & GOLIMOWSKI J. 1997 — Mat. VI Poznańskiego Konwersatorium Analitycznego, Poznań 16–17 kwietnia 1997 r.
KLEIN R. & PAULUS M. 1995 — Umweltproben für die Schadstoffanalytik im Biomonitoring. G. Fischer Verlag.