

PIOTR EPLER

*Instytut Zoologii Stosowanej WSR Kraków*

*Dyrektor: Doc. dr hab. Władysława Niemczyk*

## ODDZIAŁYWANIE ZANIECZYSZCZENIA WÓD NA ICH ICHTIOFAUNĘ

### CZĘŚĆ II. TOKSYCZNOŚĆ AMONIAKU, FENOLI I CYJANKÓW

Wszystkie trzy wymienione w podtytule niniejszego artykułu związki występują powszechnie w ściekach przemysłu chemicznego, metalurgicznego, sodowego czy gazowego często stanowiąc o jego toksyczności.

Amoniak jest jednym z najważniejszych gazów nieorganicznych znajdujących się w ściekach i toksyczność jego w stosunku do ryb jest wysoka. Oddziałuje na organizm ryby jako trucizna wewnętrzna dostając się do wnętrza poprzez skrzel, ale natura jego toksycznego oddziaływania jest na razie niezrozumiała. Z szeregu prac wynika, że toksyczność tego związku związana jest z niezdysonowanymi drobinami i uzależniona od takich czynników środowiska, jak pH, twardość wody, tlen rozpuszczony, wolny CO<sub>2</sub> i temperatura (Herbert, Jordan Lloyd 1965, Lloyd, Herbert 1960, Lloyd 1961, Merkens, Downing 1957 i inni).

Lloyd (1961) badał wpływ koncentracji rozpuszczonego tlenu na toksyczność amoniaku i stwierdził, że toksyczność tego związku wzrasta wraz ze zmniejszeniem się koncentracji rozpuszczonego O<sub>2</sub>. Krzywa wyznaczona czasem przeżycia i koncentracja trucizny przesuwają się w kierunku niższych wartości. Ten wzrost toksyczności można otrzymać przez porównanie ilości amoniaku dającego efekt toksyczny w 100% nasycenia O<sub>2</sub> i ilości amoniaku dającego ten sam efekt toksyczny w niższej wartości nasycenia O<sub>2</sub>. Można to wyrazić przez stosunek

$\frac{X_s}{X}$ , gdzie

X<sub>s</sub> — koncentracja trucizny przy 100% nasycenia,

X — koncentracja trucizny dająca taki sam efekt toksyczny jak w X<sub>s</sub> przy niższych wartościach rozpuszczonego tlenu.

Zwiększenie stosunku  $\frac{X_s}{X}$  spowodowane jest przez wolny CO<sub>2</sub> w wo-

dzie i na powierzchni skrzel. Zjawisko to można wytłumaczyć w sposób następujący: wiadomą jest rzeczą, że toksyczność roztworów amoniaku spowodowana jest niezjonizowanymi molekułami i że amoniak zjonizowany ( $\text{NH}_4^{++}$ ) nie jest toksyczny. Z kolei ilość niezjonizowanego amoniaku uzależniona jest od pH nie tyle całego roztworu, co pH na powierzchni skrzel (im pH niższe, tym mniejsza ilość amoniaku występuje w formie niezjonizowanej); pH wody na powierzchni skrzel może być obliczone z alkaliczności, temperatury, wolnego  $\text{CO}_2$  w roztworze oraz wolnego  $\text{CO}_2$  na powierzchni skrzel. Z kolei obliczanie ilości  $\text{CO}_2$  (w mg/l) wydzielanego przez powierzchnię skrzel można dokonać z następującego wzoru:

$$\text{D.O} \times \text{RQ} \frac{\text{ciężar drobinowy } \text{CO}_2}{\text{ciężar drobinowy } \text{O}_2} \times \frac{\text{P}}{100}, \text{ gdzie}$$

D.O. — tlen rozpuszczony w wodzie w mg/l,

RQ — iloraz oddechowy ryb (przyjmuje się 0,8),

P — procent tlenu wykorzystywany przez rybę.

Jeżeli teraz koncentracja rozpuszczonego  $\text{O}_2$  się zmniejsza, maleje także ilość wydzielonego  $\text{CO}_2$  przez skrzel, a tym samym pH wody na powierzchni skrzel podnosi się, wzrasta ilość amoniaku w postaci niezdysonizowanej, a tym samym toksyczność tego związku ulega zwiększeniu.

W danych warunkach temperatury i rozpuszczonego tlenu dla każdej populacji ryb średnia koncentracja niezjonizowanego amoniaku na powierzchni skrzel zdolna do zabicia 50% badanych ryb jest wielkością stałą (Lloyd Herbert 1960).

Tabela 1

Koncentracja niezjonizowanego amoniaku zabijająca 50% ryb w czasie 500 minut dla 4 różnych stężeń tego związku

PH	Wolny $\text{CO}_2$ mg/l	500 $\text{LC}_{50}$ niezjoniz. amoniaku mg/l	Średnia koncentracja niezjoniz. amoniaku na pow. skrzel mgN/l
8,2	3,2	0,84 (0,79—0,90)	0,39 (0,37—0,42)
7,8	7,7	0,62 (0,56—0,58)	0,42 (0,38—0,46)
7,37	21,5	0,42 (0,38—0,46)	0,36 (0,33—0,39)
7,0	48,0	0,49 (0,46—0,53)	0,45 (0,42—0,49)

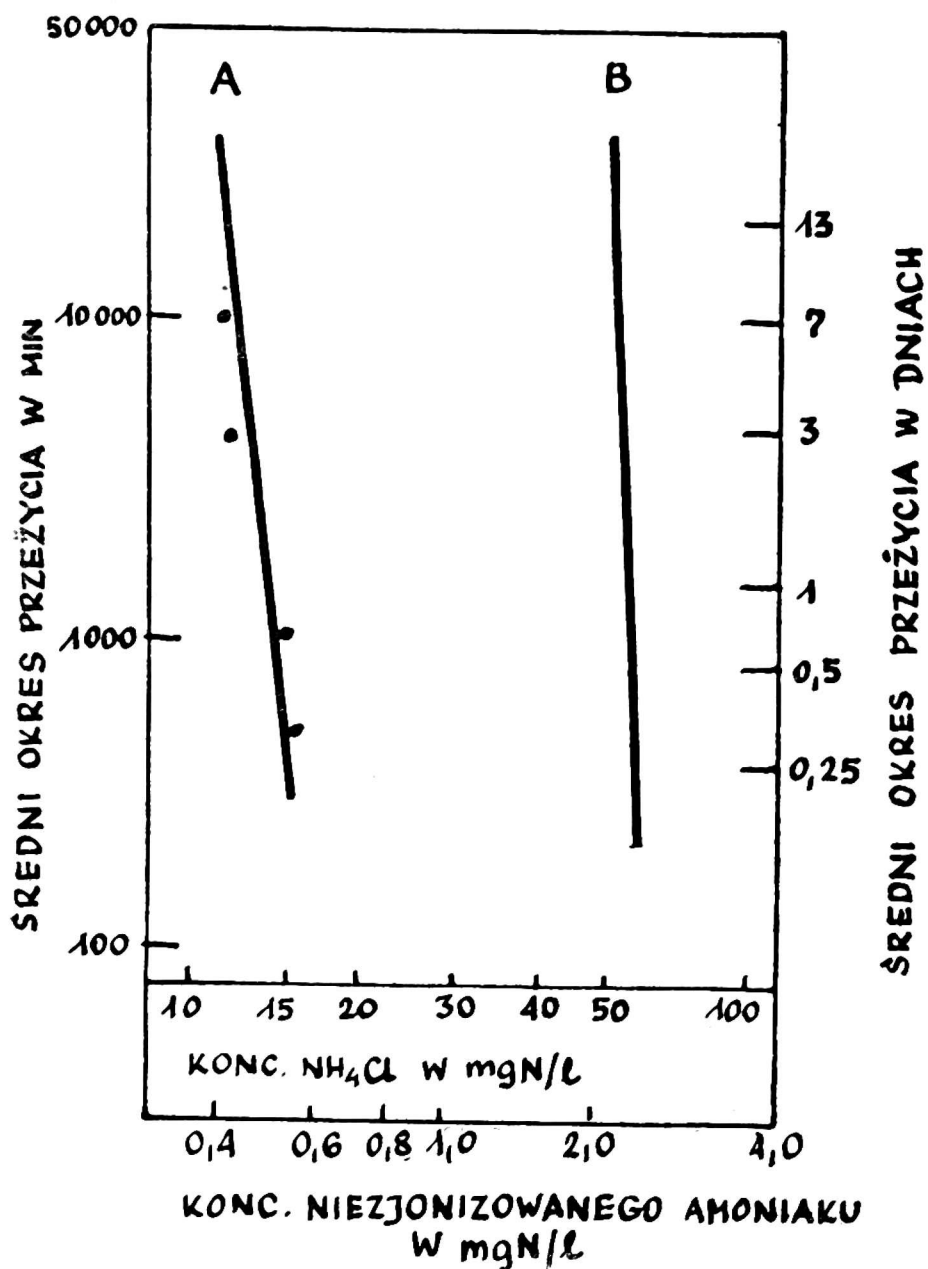
Merkens i Downing (1957) badali odporność pstrąga tęczowego i innych gatunków ryb na toksyczne oddziaływanie amoniaku w niskich prężnościach rozpuszczonego tlenu i stwierdzili, że obniżanie prężności tlenu podnosi toksyczność niezjonizowanego amoniaku w stosunku do wszystkich badanych gatunków ryb i prężność  $O_2$  posiada większy wpływ na czas przeżycia w niższych wartościach niezdysonizowanego amoniaku. Brak tlenu na odporność okonia i płoci nie uwidaczniał się tak wyraźnie jak w przypadku pstrąga tęczowego, gdzie obniżał ją bardzo znacznie.

W tabeli 2 przedstawione są stężenia niezjonizowanego amoniaku i chlorku amonu w różnych wartościach pH oddziałujące na palczaka pstrąga tęczowego w 2 poziomach rozpuszczonego  $O_2$  z rozbiciem na 100% przeżycie (A) i 100% śmiertelność (B) (Merkens, Downing 1957).

Tabela 2

## Stężenia niezjonizowanego amoniaku i chlorku amonu

	C z a s   w   g o d z i n a c h									
	2		8		36		168		312	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Amoniak niezjonizowany (mgN/l) ‰ nasycenia $O_2$ 100,3										
	2,14	3,98	1,73	2,19	1,73	1,91	1,62	1,76	1,26	1,73
NH <sub>4</sub> Cl (mgN/l) ‰ nasycenia $O_2$ 100,3										
6,5	1873	3484	1514	1917	1514	1672	1418	1541	1103	1514
7,0	594	1104	480	608	480	530	450	488	350	480
7,5	189	352	153	194	153	169	143	156	111	153
8,0	61,3	114	49,6	62,7	49,6	54,7	46,4	50,4	36,1	49,6
8,5	20,9	38,8	16,9	21,3	16,9	18,6	15,8	17,1	12,3	16,9
9,0	8,06	15,0	6,51	8,25	6,51	7,19	6,10	6,63	4,74	6,51
9,5	4,01	7,46	3,24	4,10	3,24	3,58	3,04	3,30	2,36	3,24
Amoniak niezjonizowany (mgN/l) ‰ nasycenia 45,7										
	0,59	1,05	0,38	0,79	0,34	0,79	0,31	0,63	0,31	0,63
NH <sub>4</sub> Cl (mgN/l) ‰ nasycenia $O_2$ 45,7										
6,5	516	919	333	692	298	692	271	552	271	552
7,0	164	291	105	219	94,4	219	86,0	175	86,0	175
7,5	52,2	92,9	33,6	69,9	30,0	69,9	27,4	55,7	27,4	55,7
8,0	16,9	30,1	10,9	22,6	9,74	22,6	8,88	18,0	8,88	18,0
8,5	5,75	10,2	3,7	7,70	3,31	7,70	3,02	6,14	3,02	6,14
9,0	2,22	3,95	1,43	2,97	1,28	2,97	1,17	2,37	1,17	2,37
9,5	1,11	1,97	0,71	1,48	0,64	1,48	0,58	1,18	0,58	1,18



Wykres 1. Współzależność pomiędzy niezdysoncowanym amoniakiem a czasem przeżycia pączaka pstrąga tęczowego w dwóch wartościach nasycenia tlenem  
 A — 45,7% i B — 100,3% przy pH — 8,03 i temp. 20,1 °C

Wyniki przedstawione w tabeli 2, a zilustrowane również graficznie na wykresie 1 podkreślają olbrzymi wpływ pH i nasycenia tlenem na toksyczność amoniaku i te dwie wartości determinują toksyczność ścieku zawierającego ten związek. Już w początkach badań testowych utarło się przekonanie, że pstrąg jest gatunkiem najczulszym w stosunku do wszystkich występujących w ściekach trucizn. Natomiast Wuhrman (1952) badając toksyczność amoniaku i fenoli w stosunku do kilku gatunków ryb stwierdził, że jakkolwiek pstrąg jest bardziej wrażliwy na fenol niż inne gatunki ryb, to w przypadku amoniaku prawidłowość ta nie jest zachowana. Dane te stoją w sprzeczności z wcześniejszymi ba-



daniami tego autora (Wuhrman, Woker 1949, 1950), gdzie wykazano, że pstrąg jest bardziej czuły na amoniak niż kleń, brzana czy płoć. Ujemną stroną tych doświadczeń był krótki, bo trwający zaledwie 1 dzień, czas trwania testów i to, że kryterium reakcji ryby na truciznę był objaw utraty równowagi.

Ball (1967) podjął badania mogące określić wrażliwość na amoniak kilku gatunków ryb, w tym również pstrąga. Koncentrację niezjonizowanego amoniaku obliczał z poniższego równania:

$$\text{konc. niezjoniz. amon.} = \frac{\text{całkowita konc. amoniaku}}{1 + \text{antylog.}(\text{pK}_a - \text{pH})}$$

gdzie  $K_a$  — współczynnik właściwy dla temperatury roztworu podany przez Robinsona i Stokesa (1955) i wykazał, że w przypadku blisko znacznych koncentracji letalnych, zabijających 50% testowanych ryb ( $LC_{50}$ ), notuje się małe różnice we wrażliwości na ten związek, występujące pomiędzy testowanymi gatunkami z wyjątkiem okonia, który jest prawdopodobnie bardziej czuły na niezjonizowany amoniak (tab. 3).

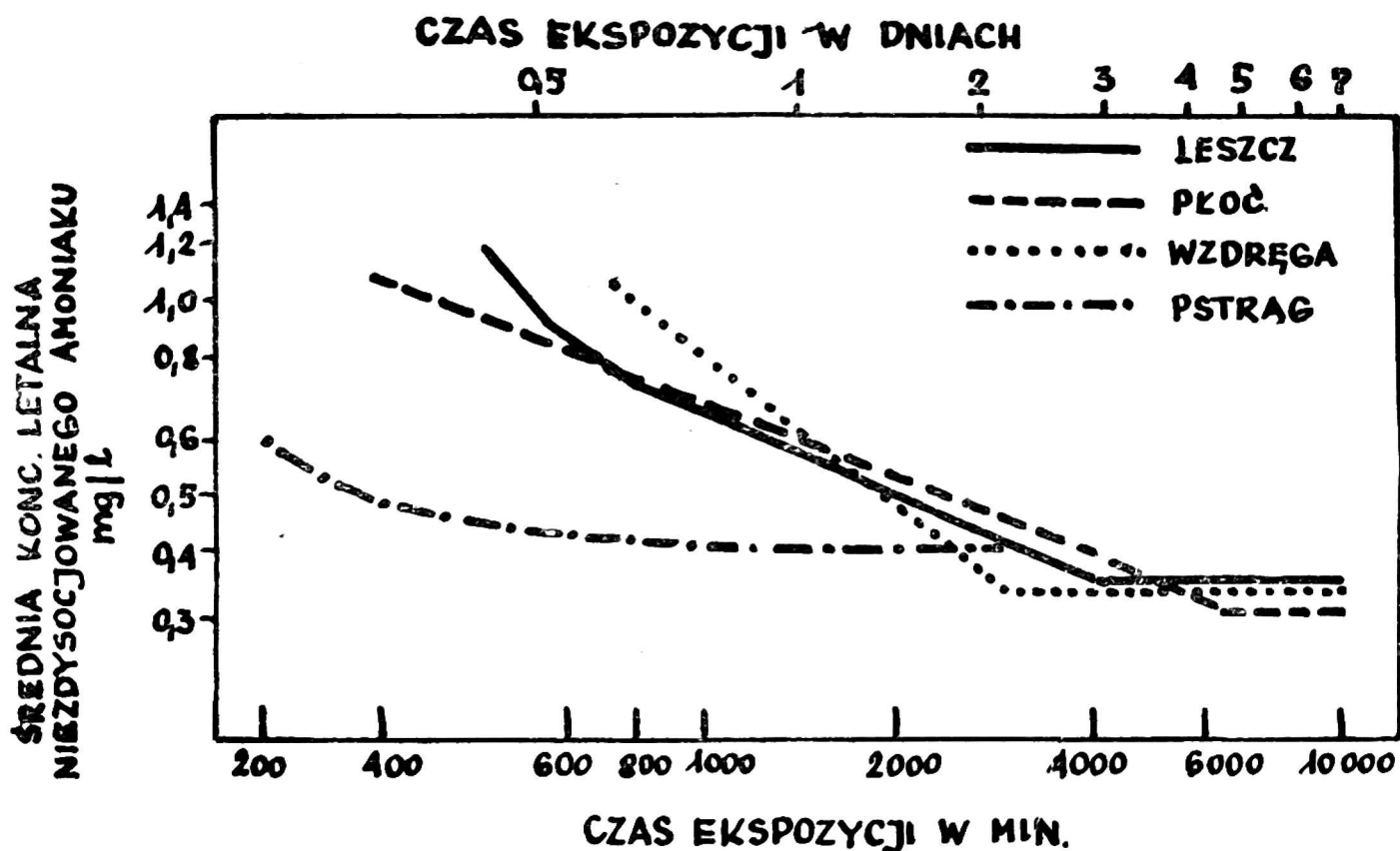
Tabela 3

Wrażliwość na amoniak kilku gatunków ryb.

Gatunek	$LC_{50}$ dla niezjonizowanego amoniaku w mgN/l (czas ekspozycji 4000 min)
Okoń	0,29 (0,24 — 0,34)
Płoć	0,35 (0,30 — 0,40)
Wzdreğa	0,36 (0,31 — 0,42)
Leszcz	0,41 (0,36 — 0,47)
Pstrąg	0,41 (0,34 — 0,49)

Jak wynika z wykresu 2, wraz ze wzrostem stężenia amoniaku, czas przeżycia ryb spada i różnice pomiędzy gatunkami stają się bardziej widoczne. W czasie 1-dniowej ekspozycji pstrąg tęczowy jest znacznie bardziej wrażliwy na amoniak w zakresie średniej letelnej koncentracji niż inne gatunki ryb. Jednak po upływie dwóch dni śmiertelność pstrąga gwałtownie spada, a wrażliwość innych gatunków ryb zmienia się tylko nieznacznie.

Na toksyczność amoniaku w przeciwieństwie do metali nie ma wpływu koncentracja jonów wapniowych, co w przypadku pstrąga i płoci stwierdził Herbert (1962), badając oddziaływanie na rybostan ścieku powstałego w trakcie procesu wytwarzania koksu.



Wykres 2. Wrażliwość czterech gatunków ryb słodkowodnych na niezdysoncjonowany amoniak

Współzależność pomiędzy rozpuszczonym tlenem a koncentracją niezjonizowanego amoniaku badali także Downing i Merkens (1955), którzy stwierdzili, że czas przeżycia pstrąga tęczowego w koncentracjach niezjonizowanego amoniaku rzędu 0,60—1,29 mg N/l wzrasta wraz ze wzrostem koncentracji tlenu z 1,5 do 8,5 mgO<sub>2</sub>/l oraz że w każdej koncentracji niezjonizowanego amoniaku czas przeżycia maleje przy wzroście stężenia amoniaku z 0,60 do 1,29 mgN/l. Ze względu na częste występowanie omawianego związku w różnego rodzaju ściekach zaczęto poszukiwać szybkiej metody oznaczania jego toksyczności. Próbę taką podjął Lloyd (1961) opracowując metodę graficzną, według której można skalkulować toksyczne oddziaływanie amoniaku na pstrąga tęczowego.

Z tabeli 4 mającej dokumentować słuszność metody graficznej Lloyda wynika, że różnice pomiędzy przewidywaną a obserwowaną toksycznością roztworów amoniaku w stosunku do pstrąga tęczowego sięgają maksymalnie 12%. Na marginesie należy zwrócić uwagę, że autor używa określenia koncentracja progowa dodając, że zabija ona 50% testowanych ryb. Jest to więc taka ilość trucizny, która odpowiadałaby zgodnie z przyjętą nomenklaturą LC<sub>50</sub>.

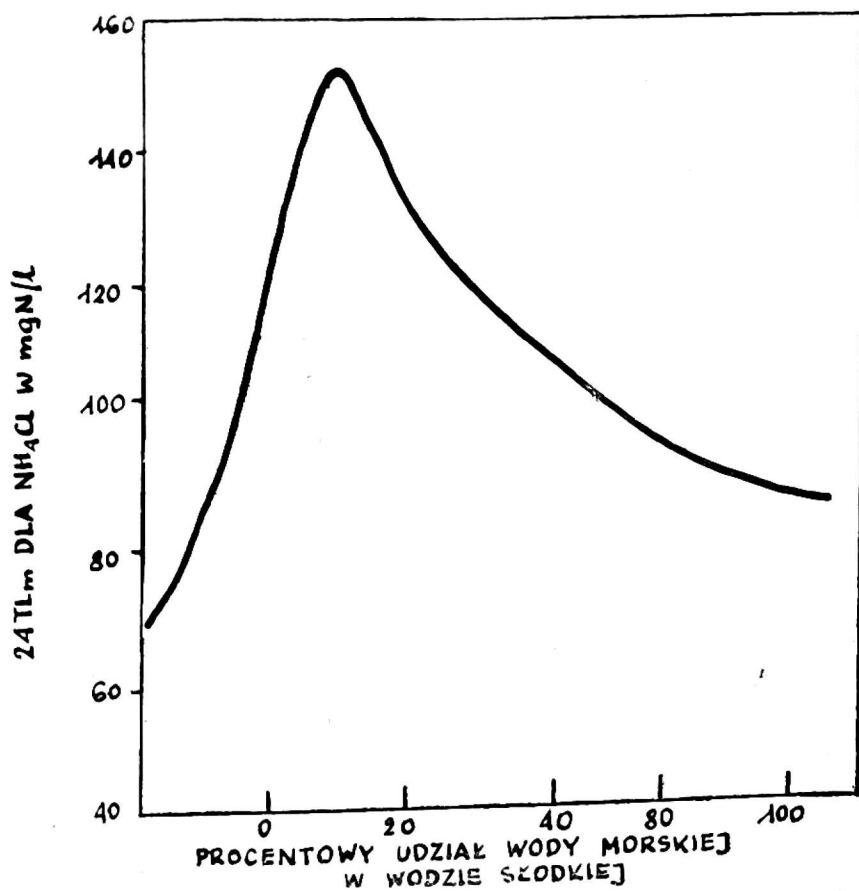
Badano również wrażliwość ryb łososiowatych na amoniak w warunkach ujściowych, ponieważ zdarza się obecnie coraz częściej, że ścieki zrzucane są do tych obszarów wód, przez które ryby łososiowate przechodzą w trakcie swoich wędrówek z wody słodkiej do słonej

i odwrotnie (Herbert, Shurben 1965). Określano więc odporność młodych pstrągów tęczowych i smoltów łososa atlantyckiego na chlorek amonu w różnych wartościach zasolenia i stwierdzono, że odporność

Tabela 4.

## Toksyczność roztworów amoniaku dla pstrąga tęczowego

Nr. dośw	Analiza wody					Koncentracja progowa amoniaku mgN/l		
	twardość mg CaCO <sub>3</sub>	pH	temp.	wolny CO <sub>2</sub>	tlen rozpuszcz. % wart. nasyc.	przewid.	obserw.	% błędu
1	50	8,03	20,1	1,0	100	43,6	49,3	-4,7
2	50	8,00	15,0	1,1	100	64,4	58,5	+10,1
3	250	7,37	18,6	21,5	100	56,0	50,5	+10,9
4	250	7,00	20,5	48,0	100	106	119	-10,9
5	250	7,80	20,7	7,7	100	23,8	23,9	-0,4
6	250	8,20	19,8	3,2	100	15,6	14,5	+7,6
7	250	7,42	17,5	19,8	100	58,3	57,0	+2,3
8	250	7,42	17,5	19,8	67	45,8	49,7	-7,8
9	250	7,42	17,5	19,8	37,5	34,7	33,5	+3,6
10	250	7,80	10,7	9,5	100	49,7	49,6	+0,2



Wykres 3. Wpływ zasolenia na toksyczność NH<sub>4</sub>Cl w stosunku do pstrąga tęczowego (pH — 7,45, temp. 13,6 °C, twardość wody 125 mg/l CaCO<sub>3</sub>)

ryb na tę truciznę wzrasta do wartości zasolenia odpowiadającej 30 procentowej wodzie morskiej, po przekroczeniu tego punktu odporność na  $\text{NH}_4\text{Cl}$  spada wraz z zasoleniem, ale nawet w 100% wodzie morskiej 24 godz. TLm jest większy niż w wodzie słodkiej (wyk. 3).

Porównanie wrażliwości pstrąga i łososa dokonane przy dwóch różnych wartościach zasolenia wykazało, że łosoś jest 1,2 do 2,5 raza bardziej czuły na amoniak niż pstrąg tęczowy (tab. 5).

Tabela 5.

## Porównanie wrażliwości pstrąga i łososa

Zasolenia wody morskiej w ‰	PH	Twardość mg/l $\text{CaCO}_3$	24 g. TLm (mg N/l)	
			łosoś	pstrąg
0	7,81	248	15	37
50	7,52	185	43	51
75	7,51	150	42	50

## Fenole

Do najbardziej rozpowszechnionej grupy trucizn organicznych występujących w ściekach należą związki fenolowe, w skład których wchodzi fenole, krezole, związki ksylenowe, naftole, katechole, chydrochinon, fluoroglucyna oraz niektóre inne substancje.

Związki te zwracają na siebie uwagę nie tylko ze względu na wysoką toksyczność samego fenolu i szeregu jego homologów, ale również poprzez ich oddziaływanie na zapach i wartości smakowe rybiego mięsa. Zazwyczaj fenol występuje w wodach otwartych w stężeniach nie powodujących masowego śnięcia ryb. Badania wykazały obecność populacji ryb, w tym również gatunków łososiowatych w potokach zawierających 1,0 mg/l fenolu. Reichenbacg-Klinke (1965) określając oddziaływanie fenolu o koncentracji 0,02—0,07 mg/l na ryby wykazał, iż śmiertelność w tym zakresie stężeń nie występuje, ale zaobserwował zmiany typu patologicznego w organizmie ryb, co pozwoliło mu stwierdzić, że fenol nawet w tak małej ilości jest szkodliwy.

Badając toksyczne działanie fenolu, wielu naukowców zaobserwowało szereg istotnych zmian patologicznych zachodzących w organizmie ryby pod wpływem tego związku i tak:

Linhardt (1951) stwierdził występowanie skrzepów we krwi, zapalenie przewodu pokarmowego oraz wzrost leukocytów i poziomu cyjanów we krwi zatrutych ryb. Wykazał on ponadto, że fenol oddziałuje na układ nerwowy rozpuszczając tłuszcze i na układ krążenia rozpuszczając erytrocyty.

Harelka i Effenberger (1957) stwierdzili, że zarówno przy ostrym, jak i chronicznym zatruciu fenolem nie występuje krwawienie ze skrzel, a ryby wykazywały symptomy zatrucia trucizną działającą na układ nerwowy. Uduszenie następowało drogą zalegania oraz koagulacji krwi w skrzelach.

Wiśniewski (1962) donosi o zapaleniu i nekrozie skrzel, osadzaniu się żółtych pigmentów pochodzenia hemoglobinowego w wątrobie, nerkach i sercu karpia, z równoczesnym rozregulowaniem krążenia. Lammering i Burbank (1960) opisali niszczenie i odbarwienie blaszek skrzelowych oraz uszkodzenia mózgu i wątroby u ryby słonecznej (Sun-fish) testowanej w koncentracji fenolu odpowiadającej  $LC_{50}$ . Hulsband i Hulsband (1963) stwierdzili 25-procentowe zmniejszenie się ilości erytrocytów i 25-procentowe zwiększenie się ich powierzchni u pstrąga przetrzymwanego w ciągu 48 godz. w roztworze fenolu zawierającego 1,5 mg tego związku na litr. Skropek (1963) wykazał, że pod wpływem fenolu skrzela nabrzmiewają i wydzielają się z nich duża ilość śluzu. Reichenbach-Klinke (1965) w badaniach porównawczych nad dziko żyjącymi gatunkami ryb testowanymi w roztworze fenolu wykazał, że pod wpływem tej substancji następuje zapalenie skrzel wraz z nabrzmieniem nabłonka, całkowite wypróżnienie komórek śluzowych, a w najbardziej zaawansowanych przypadkach występuje zapalenie skóry, która może być czasami dwukrotnie grubsza niż normalna. W jelitach następowało zwiększenie się liczby komórek kielichowych i zwiększenie sekrecji śluzu. Zmiany zapalne i degeneracyjne w wątrobie i mięśniach. Jeszcze jednym z symptomów charakterystycznych dla śmierci ryb spowodowanej przez fenol był krwotok wewnętrzny (gromadzenie się krwi w jamie ciała) oraz krwotoki występujące u nasady płetw (szczególnie piersiowej i brzusznej).

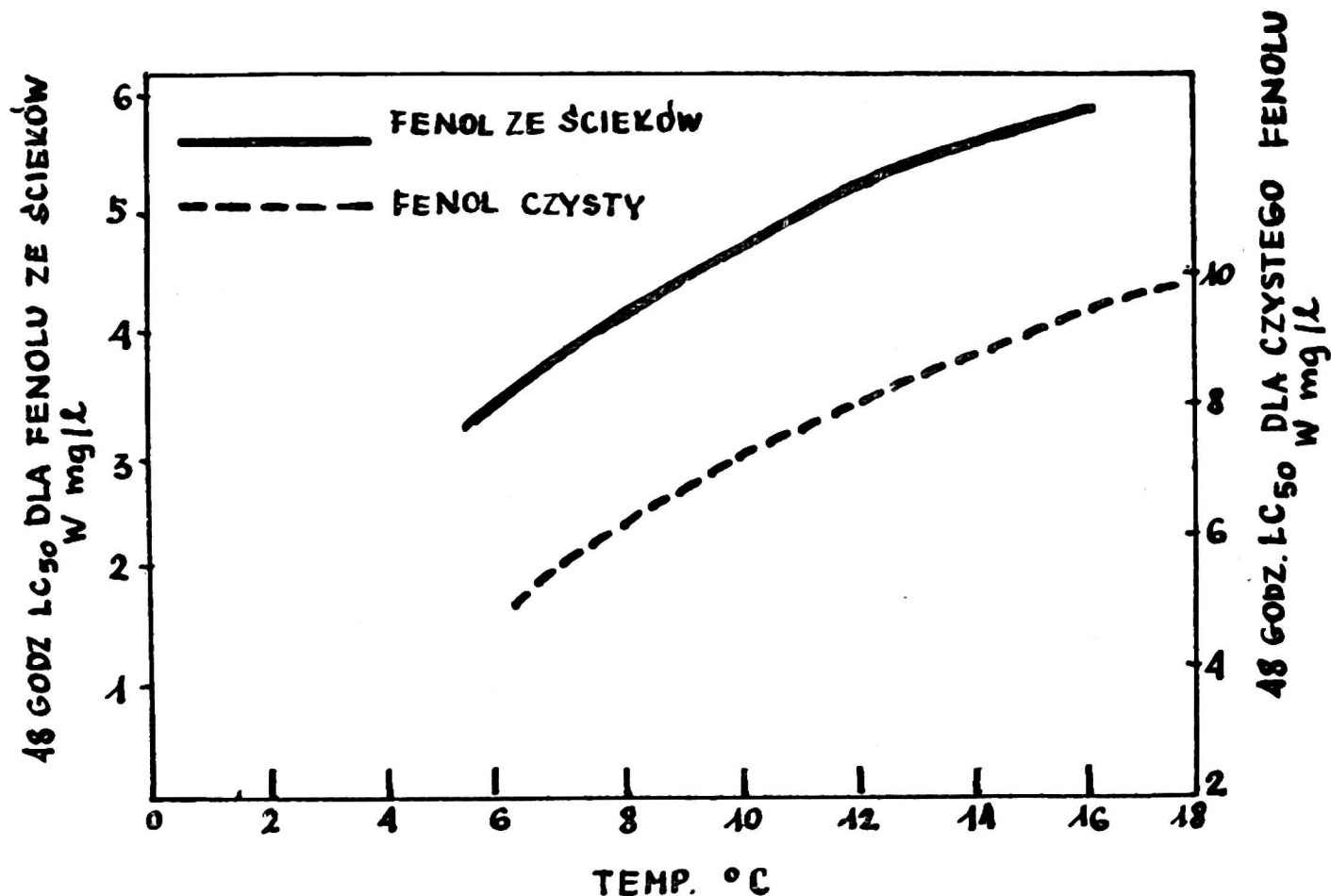
Często zdarza się sytuacja, że o toksyczności danego ścieku stanowi jeden lub dwa jego trujące składniki. Herbert (1962) badając toksyczność ścieku powstałego w wyniku produkcji koksu, który charakteryzował się następującym składem chemicznym:

wolny amoniak	— 100 mg/l,
-związany amoniak	— 4,500 mg/l,
-siarczki	— ślad,
-tiosiarczki (jako S)	— 900 mg/l,
-tiocyjanki (jako CNS)	— 1800 mg/l,
-fenole (jako $C_6H_5OH$ )	— 1700 mg/l.

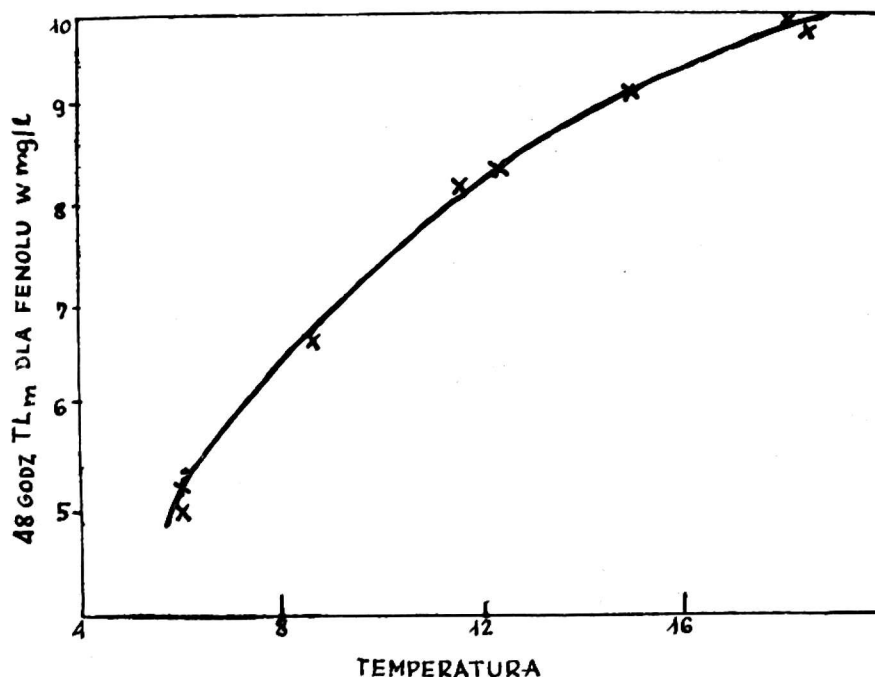
Wykazał, że toksyczność czystego fenolu ( $LC_{50}$  — ok. 9 mg/l) jest mniejsza od toksyczności mieszaniny reprezentującej ściek (0,8 części wagowych ścieku odpowiada toksyczności 1,0 części wagowej czystego fenolu).



Badania wykonane przez Browna (1968) wykazały, że 48 godz.  $LC_{50}$  uzależniona jest od temperatury i rozpuszczonego tlenu, a porównanie toksyczności czystego fenolu z fenolem pochodzącym ze ścieków podestylacyjnych i koksowniczych potwierdza spostrzeżenia Herberta (1962) i wygląda następująco (wyk. 4):



Wykres 4. Wpływ temperatury na toksyczność fenolu pochodzącego ze ścieków oraz fenolu czystego na pstrąga tęczowego



Wykres 5. Wpływ temperatury na 48 godz. średni limit tolerancji fenolu w stosunku do pstrąga tęczowego

- a) przy temp. 15°C 48 godz. LC<sub>50</sub> dla fenolu ze ścieków wynosi 5,8 mg/l, podczas gdy 48 godz. LC<sub>50</sub> dla czystego fenolu jest znacznie wyższe, bo obraca się w granicach 9—10 mg/l,
- b) przy nasyceniu tlenem w wysokości 50% 48 godz. LC<sub>50</sub> dla fenolu pochodzącego ze ścieków obniża się do wartości 4,58 mg/l.

Badania Browna (1968) potwierdziły doniesienia (Edwards Brown 1966), iż toksyczność fenolu jest uzależniona w dużej mierze od temperatury (wyk. 5) i prace te obalają twierdzenia zawarte we wcześniejszych publikacjach jakoby temperatura nie miała wpływu na trujące oddziaływanie fenolu.

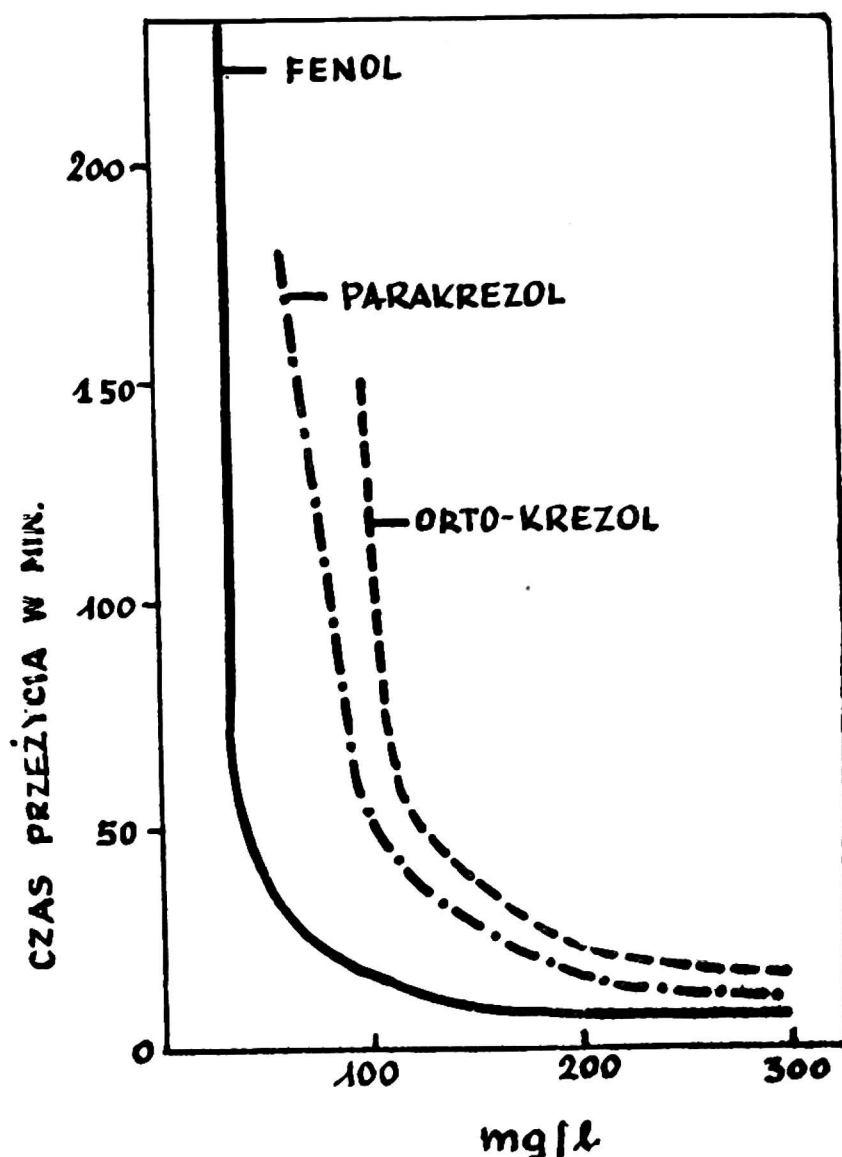
Toksyczność fenolu jest również uzależniona od twardości wody, ale w bardzo niewielkim stopniu. Leclerc i Derlaminck wykazali, że fenol jest toksyczny dla strzebli poniżej 24—28 mg/l w wodzie destylowanej i jest trochę bardziej toksyczny w wodzie twardej (18—20 mg/l). Wartości te są raczej za wysokie, lecz określając je autorzy brali pod uwagę jedynie 6-godzinny czas dyspozycji. Spośród jednowodorotlenowych fenoli najczęściej badano nie tylko sam fenol, ale również i jego związki homologiczne, których toksyczne oddziaływanie na ryby nie jest jednakowe.

Omawiając toksyczność krezolu napotyka się w literaturze na krańcowo sprzeczne opinie. Część autorów uważa, że toksyczność fenolu i krezolu jest jednakowa. Shelford (1917) twierdzi, że ortokrezol jest bardziej toksyczny od fenolu oraz od para- i metakrezolu. Remianienko (1931) również stwierdził, że dawka śmiertelna dla strzebli w przypadku krezolu wynosi 16 mg/l, a w przypadku fenolu 20 mg/l. Wesołow (1965) twierdzi, że krezol jest 3 razy bardziej toksyczny od fenolu i określił

Tabela 6

*Toksyczność niektórych jednowodorotlenowych fenoli dla karpia, lina i płoc*

Substancja	LC <sub>50</sub> mg/l		
	karp	lin	płoc
1,4,5 ksylenol	10	9	10
Ortokrezol	29,5	15,4	15,6
Parakrezol	21,2	15,8	17
1,2,4 ksylenol	21,1	17,8	15,6
Metakrezol	24,5	21	23,3
Fenol	24,9	14,5	17
1,3,4 ksylenol	30	13	nie test.
1,3,5 ksylenol	53	51	nie test.



Wykres 6. Toksyczność oddziaływania fenolu oraz orto- i parakrezolu na strzeblę w temp. 17°C

letalną dawkę krezolu dla karasia na 25 mg/l. Zupełnie przeciwną opinię prezentują Albesmeyer (1957) i Albesmeyer i Erickson (1959), którzy porównując właściwości toksyczne fenolu, krezolu i ksylenu stwierdzili, że najbardziej toksyczny jest fenol (tab. 6, wyk. 6).

Spośród izomerów krezolu najbardziej toksyczny według badań Bucksteega i wsp. (1955) jest ortokrezol, a para- i metakrezol posiadają jednakowe oddziaływanie trujące na ryby.

Spośród innych fenoli mających jedną grupę OH wysoko trujący w stosunku do ryb jest ksylenol (dwumetylofenol), który posiada sześć izomerów o różnej toksyczności. Już Hubalt (1937) badając toksyczność wymienionych izomerów stwierdził, że koncentracja rzędu 70 mg/l 1, 3, 5 ksylenolu zabija płoć w ciągu 4,5 godz. w temp. 9°C. 1, 4, 5 ksylenol okazał się dwa razy bardziej trujący, albowiem zabijał płoć w tym samym czasie i w tej samej temperaturze przy koncentracji 35 mg/l.

Bandt (1958) przeprowadził badanie porównawcze nad toksycznością czterech izomerów ksylenolu (tab. 7), testując je na leszczu, płoci,

karpiu i okoniu, określając wielkość progową toksycznego oddziaływania (najprawdopodobniej autor pod tym terminem rozumiał taką koncentrację trucizny, przy której pojawiały się pierwsze symptomy intoksykacji).

Tabela 7

## Toksyczność czterech izomerów ksylenolu

Izometr	Gatunek ryby	Próg toksycznego oddziaływania mg/l
1,3,4 ksylenol	leszcz	8,0
	płoc	8,0
	karp	10,0
1,3,5 ksylenol	okoń	15,0
	płoc	18,0
	leszcz	20,0
1,2,4 ksylenol	leszcz	5,0
	płoc	5,0
	karp	10,0
1,2,5 ksylenol	leszcz	5,0
	płoc	5,0
	karp	10,0

Z danych tabeli 7 wynika, że najmniej toksyczny jest 1,3, 5 ksylenol, co zgodne jest z danymi opublikowanymi przez Albersmeyera i Ericksona (1959) (tab. 6).

Oprócz omawianych wyżej jednowodorotlenowych fenoli toksyczne okazały się również alfa i beta naftol, których stężenia letalne wynosiły dla alfa naftolu 2, 3 i 4 mg/l w stosunku do płoci, leszcza i karpia, a beta naftolu 2 mg/l dla tych samych gatunków (Bandt 1958).

Z fenoli charakteryzujących się dwiema grupami OH najbardziej toksyczny okazał się hydrochinol, który według niektórych autorów (Sollman 1948) jest w stosunku do złotej rybki 100 razy bardziej trujący niż fenol. Podobny fakt stwierdzili Sorokin i Lukonienko (1966) badając toksyczność hydrochinonu na narybku leszcza. Wykazali oni wysoką toksyczność tej substancji, która jest w porównaniu z fenolem ok. 100 razy większa. Bandt (1955, 1958) testując na hydrochinon karpia, okonia i ciernika, w celu ustalenia koncentracji progowej dla tych gatunków, stwierdził, że jest ona jednakowa przy temp. 16°C i pH 7,6 i wynosiło 0,2 mg/l. O toksyczności innych związków fenolowych posiadających dwie grupy wodorotlenowe posiadamy wiadomości fragmentaryczne, jedynie Sollmann (1948) wspomina, że są bardziej tok-

syczne od fenolu, a Bandt (1958, 1955) wykazał, że stężenie progowe parachinonu wynosi dla płoci, leszcza, karpia i lina odpowiednio 0,1, 0,2, 1,0 i 1,0 mg/l oraz że rezorcyna przejawia swoje toksyczne oddziaływanie w stosunku do płoci i karpia dopiero przy koncentracji 35 mg/l. Również ten sam autor określił próg toksyczności pirokatechiny dla ryb karpłowych na 10—15 mg/l w zależności od gatunku, np. płoć 10,0 mg/l, a karp 15,0 mg/l.

Najmniej toksycznymi związkami z grupy fenoli są: pirogallol, fluoroglucyna posiadające trzy grupy OH. Baudt (1958) wykazał, że stężenie 20 mg/l pirogallolu jest toksyczną wartością progową dla płoci, podczas gdy dla karpia wartość ta wynosi 50 mg/l. Charakterystyczne jest, iż trujące działanie pirogallolu rzędu 30 mg/l przejawia się 5 razy szybciej niż działanie fenolu w tej samej koncentracji. Bardzo mało toksyczna jest fluoroglucyna, która niebezpieczna jest dopiero w stężeniu 600 mg/l.

W badaniach nad toksycznością związków fenolowych szczególnie cenne okazały się cytowane niejednokrotnie powyżej prace Baudta (1955 i 1958), który badania testowe różnych substancji fenolowych przeprowadzał w tych samych warunkach, przez co wyniki przez niego otrzymane są w pełni porównywalne i na tej właśnie podstawie ustawił związki fenolowe w następującym szeregu toksyczności:

ksylenole    hydrochinon    krezole    fenol    pirokatechina    rezorcyna  
pirogallol    fluoroglucyna.

Badaniami testowymi objęte zostały również związki organiczne, które powstały w wyniku oddziaływania na fenole takich grup, jak siarka, metale, grupa niarowa czy chlorowcowa.

Gersdorff (1936, 1938) twierdzi, że po wprowadzeniu do fenolu i krezolu grupy siarkowej powstałe w ten sposób tiofenole i tiokrezole są czterokrotnie bardziej toksyczne niż fenol i krezol.

Również izomery tych związków są bardziej trujące niż związek macierzysty (np. paratiokrezol jest 8,5 raza, a orto- i metatiokrezole są 4 i 5 razy bardziej toksyczne niż sam krezol). Wprowadzenie grupy nitrowej również zmienia toksyczność fenoli, chociaż zmiana ta jest mniej wyraźna. Ortonitrofenol jest mniej toksyczny niż fenol, natomiast metanitrofenol oraz paranitrofenol są odpowiednio 2 i 5 razy bardziej toksyczne niż ortonitrofenol.

Lammering i Burbank (1960) wykazali w doświadczeniach na okoniach, że nitrofenol (bez określenia jego izomeru) jest 2 do 3 razy mniej trujący niż fenol, którego koncentracja zabijająca 50% testowanych ryb wynosiła 22,7 i 22,2 mg/l, podczas gdy stężenie nitrofenolu potrzebne do wywołania tego samego efektu wynosiło 66,9 i 21,6 mg/l. Wykazali też,



ze zwiększenie ilości grup nitrowych w cząsteczce fenolu do 2 lub 3 powoduje obniżenie toksyczności.

Grindley (1946) badał oddziaływanie na strzeblę dwunitrofenolu ( $\text{NO}_2/2 \text{C}_6\text{H}_3\text{OH}$ ) oraz kwasu pikrynowego (2, 4, 6 trójnitrofenolu). Wyniki jego doświadczeń przedstawione są w tabeli 8.

Jak więc wynika z tabeli 8, dwunitrofenol jest ok. 75 razy bardziej toksyczny niż kwas pikrynowy. Na przykład w roztworze zawierającym koncentrację równą 200 mg dwunitrofenolu, strzebla przeżyła 22,2 min., a w takiej samej koncentracji kwasu pikrynowego ten sam gatunek przeżywa 26 godzin.

W literaturze toksykologicznej istnieją również dane odnoszące się do toksyczności fenolu, któremu podstawiono grupy metylowe i etylowe. Na przykład meta metylo-etylofenol jest już silnie trujący przy wartości 4 mg/l dla okonia i płoci (Bandt 1958), co znaczy, że jest on dwukrotnie bardziej trujący niż 1,2,5 ksylenol.

Tabela 8

## Wyniki doświadczeń Grindleya

Substancja	Koncen. mg/l	Temperatura		Początkowe pH	Śr. czas przeżycia w min.	Liczba testowa- nych ryb
		min.	max.			
Dwunitrofenol	250	17,2	17,6	7,9	17,7	6
	200	17,5	17,5	7,8	22,2	6
	150	12,4	12,4	7,7	29,9	6
	70	12,7	—	8,1	107	6
	50	15,3	—	8,1	209	6
2,4,6 trójnitrofenol (kw. pikrynowy)	2000	16,7	17,2	7,3	192	6
	1500	16,8	16,8	7,4	237	6
	700	16,4	16,7	7,7	474	6
	400	13,0	17,1	7,9	826	6
	200	13,0	20,0	7,8	1563	6

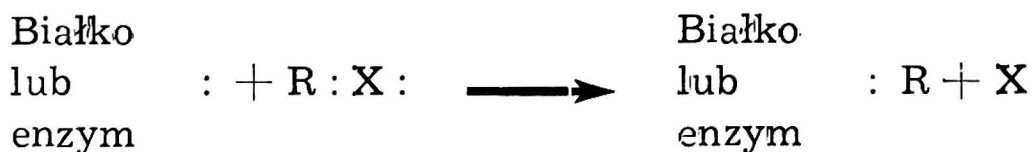
Osobne zagadnienie stanowią połączenia pierwiastków z grupy chlorowców z fenolami. Badania nad tym zagadnieniem rozpoczął Gersdorff i Smith (1940a), którzy stwierdzili, że wprowadzenie ich do cząsteczki fenolu podnosi jego toksyczne właściwości. Zgodnie z wynikami otrzymanymi przez tych autorów można przedstawić chlorofenole w następującym szeregu toksyczności:

J Br . Cl

Porównanie ilościowe stopnia toksyczności chlorowcowych pochodnych fenolu jest przedstawione poniżej przy założeniu, że toksyczność czystego fenolu wynosi 1

— ortochlorofenol	1,15
— ortobromofenol	1,25
— metabromofenol	1,53
— metajodofenol	1,61
— parabromofenol	1,87
— parachlorofenol	1,87
— ortojodofenol	2,01
— parajodofenol	7,78

Natura toksycznego działania chlorowcowych pochodnych szeregu fenolu najprawdopodobniej związana jest z ich oddziaływaniem na ważne systemy enzymatyczne w organizmie poprzez wiązanie grup sulfhydrylowych, hydroksylowych czy aminowych z centrum nukleofilnego enzymów. Nie jest także wykluczone, że niektóre białka posiadające ważne znaczenie fizjologiczne wchodzą w reakcję z chlorowcowymi pochodnymi fenolu, tracąc przez to swoje właściwości. Reakcje te zgodnie z Moie (1962) można przedstawić następująco:



Stopień toksyczności chlorowcowych pochodnych fenolu może być różny dla różnych organizmów, albowiem zależy on będzie od charakteru systemów enzymatycznych i aktywności biologicznej białek. Podstawowe znaczenie dla reagentu RX posiada komponenta X (chlorowiec), która jest nośnikiem zabezpieczającym zdolność przenikania molekuly do organizmu.

Większość z omawianych i nie omawianych tu substancji fenolowych posiada również właściwości zatrucia organizmu ludzkiego, jak np. benzen czy naftalen. Zatrucie człowieka w wyniku intoksykacji aniliną zachodzi na zasadzie przemiany hemoglobiny w methemoglobinę poprzez związek formowany we krwi z aniliny, a mianowicie fenylohydroksylaminę.

Związki fenolowe dostawszy się do organizmu ludzkiego oddziałują również jako trucizna działająca na układ nerwowy, wywołując nieskoordynowanie ruchów i drżenia mięśni.

### Cyjanki

Od czasu wykrycia przez Sheela w 1790 r. cyjanowodoru (HCN) jego sole cyjanki stawały się coraz bardziej niezbędnymi elementami w procesach produkcyjnych (utwardzanie metali, elektrorafinacji i itp.), sta-

nowiąc coraz większe niebezpieczeństwo dla całej biocenozy odbiornika, do którego dostawały się wraz ze ściekami. Pierwszym z naukowców, który podjął badania testowe nad cyjankami był Powers (1917) używając jako obiekt złotą rybkę.

W następnej kolejności problemem tym na większą skalę zajął się Aleksander i wsp. (1935), którzy natknęli się na to zagadnienie badając źródła zanieczyszczenia rzeki Tees. Określając wrażliwość smoltów łososia i pstrąga tęczowego na roztwór cyjanku potasu, wykazali, że wrażliwość ich jest jednakowa, a próg toksyczności leży w okolicach 0,1 mg CN/l. Zaobserwowali również, że ryba umieszczona w roztworze cyjanku zachowuje się spokojnie. W odpowiednim czasie, uzależnionym od koncentracji trucizny, ryba nagle traci równowagę, nie może przyjąć normalnej pozycji pozostając w położeniu bocznym z głową skierowaną do góry. Istotny także w przypadku zatrucia cyjankami był kolor skrzel, o wiele jaśniejszy niż u ryb nie zatrutych, co było spowodowane inaktywacją enzymów oddechowych. Ten jasnoczerwony kolor skrzel jest jednym z najważniejszych dowodów, że ryba została zabita przez cyjanki. Wykazano również, że toksyczność cyjanków spowodowana jest przez niezdysoncjowane cząsteczki HCN, które posiadają większą siłę przenikania do tkanek niż jony zdysocjowane (Brinley 1927).

Wpływ pH na toksyczność cyjanków świetnie ilustruje doświadczenie Wuhrmana i Wokera (1948), którzy wykazali, że w roztworze zawierającym 0,66 mg CN/l koncentracja cząsteczkowego HCN przy pH 8,84 wynosiła 0,45 mg/l, przy obniżeniu pH do 8,12 koncentracja molekularnego HCN wzrosła do 0,62 mg/l, a przy pH równym 7,58 wynosiła 0,66 mg/l. Przy podanych powyżej założeniach kleń tracił równowagę po 94,70 i 54 min. Wuhrman (1952) badając wrażliwość strzebli, klenia, okonia i lina na toksyczne oddziaływanie cyjanków stwierdził, że próg toksyczności jest dla tych gatunków bardzo podobny i leży w gra-

Tabela 9

*Wrażliwość niektórych gatunków ryb na cyjanki*

Ryba	Temperatura	Czas ekspozycji w godz.	mg CN/l
Pstrąg tęcz.	17,5	74	0,07
Okoń	15	17	0,13
Strzebla	15	10	0,10
Lin	15	48	0,20
Kleń	15	48	0,22

nicach 0,1—0,2 mg/l, ale próg czasowy reakcji różnił się bardzo znacznie; dla okonia np. wynosił on ok. 4 min., a dla lina ponad 30 min. Autor badał również wpływ temperatury na toksyczność cyjanków w stosunku do lina, strzebli i pstrąga. Z danych tych wynika, że przy koncentracji cyjanków 0,5 mg/l wzrost temperatury z 5 do 20°C skraca czas przeżycia dla pstrąga z 28 do 3 min., dla strzebli z 250 do 12 min. i dla lina z 270 do 90 min.

Zsumowane dane odnośnie wrażliwości niektórych gatunków ryb na cyjanki przedstawione jest w tab. 9. Jednak Southgate (1953) sugeruje, że bezpieczna koncentracja cyjanków w wodzie, w której ma się na dłuższą metę rozwijać normalne życie winna wynosić 0,01 mg/l.

Wrażliwość na cyjanki jest również uzależniona od ilości rozpuszczonego w roztworze tlenu. I tak Downing (1954) badając czas przeżycia pstrąga tęczowego w stężeniach cyjanku potasu rzędu 0,105—1,55 mg/l wykazał, że wzrasta on wraz ze wzrostem ilości rozpuszczonego tlenu z 10 do 100% wartości nasycenia i że wpływ ten jest wyraźniejszy przy niższych koncentracjach trucizny.

Herbert i Merkens (1952) przeprowadzili doświadczenia nad określeniem wrażliwości cyjanków w stosunku do pstrąga, biorąc pod uwagę czas aklimatyzacji do warunków doświadczenia oraz długość ryb. Autorzy stwierdzili, że im krótszy czas aklimatyzacji, tym szybciej testowana ryba ginie pod wpływem takiej samej ilości cyjanku (tab. 10).

Tabela 10

## Wrażliwość pstrąga na cyjanki

Czas aklimat.	Ilość ryb	Koncentr. mg CN/l	Czas przeż. (min.)
48	40	0,150	28,60
97	40	0,150	35,15
120	40	0,150	46,97
172	38	0,150	39,68

Przy określaniu wrażliwości na cyjanki ryb o różnych długościach jednoroczne smolty pstrąga w ilości 63 szt. podzielono na zakresy długości od 5 do 17,25 cm. Ryby testowano w roztworze zawierającym 0,153 mg CN/l, a czas przeżycia w poszczególnych klasach długości przedstawiono w tabeli 11.

Jak wynika z danych w tab. 11 pstrągi mniejsze posiadają większą odporność na cyjanki niż ryby większe znajdujące się w tym samym wieku. Jest to niezwykle istotne przy przeprowadzaniu testów, ponieważ przy wyselekcjonowanym na jednakową długość materiale otrzymane

wyniki będą porównywalne i popełni się mniejszy błąd w określaniu średniego czasu przeżycia. Holden i Marsden (1964) badali rozmieszczenie i koncentrację cyjanków u łososia i troci nie zatrutych i zatrutych tą trucizną. U 4 ryb kontrolnych w 6 godzin po śmierci stwierdzili oni stosunkowo wysoką zawartość cyjanku w mózgu niż w innych organach (tab. 12).

Tabela 11

## Czas przeżycia ryb

Zakres długości	Ilość ryb w grupie	Średnia dł.	Średni czas przeżycia (w min.)
5,5— 6,25	3	5,75	39,0
6,5— 7,25	11	7,13	37,0
7,5— 8,25	7	7,93	33,4
8,5— 9,25	10	8,96	24,1
9,5—10,25	8	9,81	22,25
10,5—11,25	3	11,00	28,3
13,5—14,25	1	14,00	12,0
14,5—15,25	13	15,00	18,4
15,5—16,25	6	15,71	16,7
16,5—17,25	1	17,25	16,0

Tabela 12

## Zawartość cyjanków w organach ryb

Organ	Ryba			
	w 1	w 2	w 3	w 4
Mózg	0,090	0,015	0,037	0,130
Skrzela	0,011	0,014	0,010	0,014
Wątroba	0,006	0,013	0,006	0,027

W następnym etapie doświadczenia 5 par samców łososia (3/4—2/4 kg) eksponowano w różnych koncentracjach cyjanków w temperaturze 5,5°C przez okres 30 min. Ryby te następnie przetrzymywano w temp. 8°C i po 6 godzinach dokonywano analizy (tab. 13).



Tabela 13

*Koncentracja CN w skrzelach po 6 godz.*

Stężenie CN w mg/l	Koncentracja CN w skrzelach w mg	
5	0,94	1,11
10	1,83	2,30
25	—	2,03
50	2,62	2,71
125	6,32	6,90

Jak więc wynika z tabeli 13, ilość cyjanku wykrytego w skrzelach jest wprost w zależności od jego koncentracji w roztworze. Podobne, choć mniej regularne, wyniki otrzymano w przypadku troci wagi 150—500 g eksponowanej w różnych stężeniach CN w temp. 4,5—6,2°C i przechowywanych w 10°C przez 6 godzin przed analizą (tab. 14).

Tabela 14

*Analizy troci*

Koncentracja CN w mg/l	Koncentracja CN w skrzelach mg	
5	0,53	0,64
10	0,64	1,18
25	2,39	2,42
50	0,90	1,87
75	2,72	2,99
100	2,43	4,15

W toku dalszych eksperymentów określano wpływ czasu ekspozycji na zawartość cyjanków w skrzelach (tab. 15). Roztwór testowy zawierał 50 mg CN/l, a temperatura wynosiła 5°C. Ryby po 6-godzinnym przetrzymywaniu w 8°C poddawano analizie.

Tabela 15

*Czas ekspozycji ryb*

Czas ekspozycji w minutach	Koncentracja CN w skrzelach mg	
10	0,95	1,58
15	1,14	1,57
20	1,81	1,95
25	1,79	2,14
30	2,31	2,62

Ten sam eksperyment powtórzono z trocią, badając na zawartość cyjanków nie tylko skrzela, ale również wątrobę i mózg (tab. 16).

Tabela 16

## Czas ekspozycji dla troci

Czas ekspozycji w minutach	Stężenie cyjanków w mg					
	skrzela		mózg		wątroba	
10	0,62	0,89	0,68	0,71	1,01	1,65
15	0,82	0,82	0,60	0,69	1,33	1,42
20	1,55	1,56	1,08	2,30	2,24	2,38
25	1,78	1,79	2,24	2,38	2,04	3,00

Z danych otrzymanych drogą analizy wynika, że najwyższa koncentracja cyjanków występuje w wątrobie, co zdaje się świadczyć, że organ ten posiada zdolność akumulowania cyjanków. Ostatnim członem tych kompleksowych badań Holdena i Marsdena nad oddziaływaniem cyjanków w różnych warunkach jest wpływ temperatury w czasie ekspozycji. Cztery pary troci testowano w roztworze 50 mg/l cyjanku w 2 zakresach temperatur 7° i 18,5°C w dwóch czasach ekspozycji 10 i 30 min. Wyniki analizy na cyjanki dokonano po 6-godzinnym okresie przetrzymywania w temp. 10°C (tab. 17).

Tabela 17

## Analizy porównawcze troci

Temperatura	Czas ekspozycji w min.	Koncentracja cyjanku mg					
		skrzela		mózg		wątroba	
7°C	10	0,87	1,53	0,62	0,79	1,12	1,16
	30	2,19	2,24	1,41	2,80	3,58	3,91
18,5°C	10	0,76	1,12	0,72	1,15	1,05	1,66
	30	1,44	2,62	1,45	1,96	3,51	3,59

Oprócz prostych związków cyjanowych występują także związki kompleksowe, jak np. żelazo i żelazicyjanki, które charakteryzują się mniejszą toksycznością w stosunku do ryb (Burdie, Lipscheutz 1950 — cyt. za Liebmanem 1951).

Stwierdzili oni również, że kompleksowe związki cyjanku rozkładają się pod wpływem światła, uwalniając wolny jon cyjanowy. I tak roztwory zawierające 2—5 mg żelazicyjanku na 1 l H<sub>2</sub>O poddane bez-

pośredniemu działaniu światła zabijają testowane ryby w ciągu 1 1/4 do 2 1/2 godz., podczas gdy ta sama koncentracja tego związku w świetle rozproszonym lub w ciemności nie działa toksycznie na ryby. Warto zaznaczyć, że w wodach naturalnych przy koncentracji 25 mg/l żelazicyjanku potasu nagromadzenie jonu cyjanowego dochodziło od 0,1 do 0,2 mg/l (Smirnow, Pawlenko, Olejnik 1967). Ze względu na to, że w literaturze brak jest w zasadzie informacji o oddziaływaniu na ryby kompleksowych związków cyjanowych, podjęto w Katedrze Rybactwa WSR Kraków badania nad wpływem żelazicyjanku potasu  $K_3 [Fe/CN]_6$  na pstrąga tęczowego (Błażej M. 1969 — praca magisterska).

Tabela 18

## Ustalenie stężenia dopuszczalnego

Nr. akwarium	Koncentracja $K_3 Fe(CN)_6$ w mg/l	Czas przeżycia w godz.
1	750	1/2
2	600	2,0
3	400	ryba żyła 2 dni nie wykazując zewn. objawów zatrucia

Po ustaleniu stężenia letalnego, które wynosiło 600 mg/l oraz dopuszczalnego — 400 mg/l (tab. 18) przeprowadzono badania nad oddziaływaniem tego związku na obraz krwi pstrąga tęczowego, przyjmując czas trwania testu na 10 dni przy koncentracji 350 mg żelazicyjanku na litr w dwóch zakresach temperatur (9—11°C i 16—18°C). Porównanie wskaźników fizjologicznych grupy kontrolnej z doświadczalną wykazały, że w grupie poddanej doświadczeniu wskaźniki te nie uległy obniżeniu, ale istotnie wzrosły. Wpływ temperatury nie ujawnił się w odniesieniu do ilości białych i czerwonych ciałek krwi, natomiast uwidocznił się w przypadku procentowej zawartości hemoglobiny. W temperaturze 9—11°C zwiększenie się hemoglobiny wynosiło 5,4% w porównaniu z grupą kontrolną, a w zakresie temperatur 16—18°C wzrost ten wynosił 6,1%. W obu zakresach temperatur w grupie doświadczalnej istotnie wzrosła ilość białych i czerwonych ciałek krwi w porównaniu z grupą kontrolną. Wartości te dla czerwonych i białych ciałek krwi oraz hemoglobiny ujęte są w tabeli 19.

Wyniki uzyskane przez autorkę ujawniły nowe zjawisko występujące w subtoksycznych koncentracjach żelazicyjanku. Wydaje się, że podwyższone wskaźniki hematologiczne krwi można tłumaczyć reakcją

obronną organizmu na działanie czynnika toksycznego, który osłabiając efektywność działania hemoglobiny zmusza organizm do utrzymania odpowiedniego zaopatrzenia w tlen drogą zwiększenia procentowej zawartości hemoglobiny we krwi testowanych ryb. Zagadnienie to wymagałoby dalszych badań, które należy również rozciągnąć na inne związki kompleksowe cyjanków.

Tabela 19  
Wartości dla czerwonych i białych ciałek  
krwi i hemoglobiny

	Tempe- ratura	Proc. wzrostu
Krwinki czerwone	9 — 11	2,55 — 5,64
	16 — 18	2,31 — 6,38
Krwinki białe	9 — 11	1,92 — 10,0
	16 — 18	5,19 — 13,53
Hemoglo- bina	9 — 11	4,9 — 11,32
	16 — 18	5,14 — 6,39

#### LITERATURA

1. Albersmeyer W. B. (1957): *Fischwirt* 7 (no 8).
2. Albersmeyer W. B. Ericksen L. (1959): *Z. Fisch* 8.N.F. 29—65.
3. Alexander W. B., Southgate B. A., Basindale R. 1935: *Tech. Pop. Wat. Pollut. Res. Loud* No 5.
4. Bail I. R. 1967: *Water Research*, Vol. 1, pp 767—775. Pergamon Press.
5. Bandt H. (1958): *Behandlung eine monographische studie Akademie Verl Lag. Berlin.*
6. Bandt H. (1955): *Wasserwirsch (Wassertechn. 5, 18).*
7. Błazej M. (1969): *W maszynopisie Katedra Rybactwa WSR.*
8. Brinlêy F. J. (1927): *Biol. Bull. Wood's Hole* 53, 365—89.
9. Brown V. M. (1968): *Water Research Pergamon Press. London, vol. 2 p. 723—733.*
10. Bucksteeg W., Thile H., Stoltzel K. (1955): *Vom Wasser* 22, 194—211.
11. Demanienko W. N. (1931): *Higiiena i epidemiologia* Nr. 4—7.
12. Downing K. M. (1954): *J. Exp. Biol.* vol 31 nr. 2, 161—164.
13. Downing K. M., Merkens S. C. (1955): *Ann. Appl. Biol.* V. 34 No 2 pp 242—246.
14. Edwards R. W., Brown V. M. (1966): *Inst. Sew. Purif. Annual Conference, Brighton* 21—24. 6. 1966. Conf. Paper No 4
15. Gersdorff W. (1963): *Journ. Agr. Research* No 1, 53, 884.
16. Gersdorff W. (1938): *Protoplasma* 31, (199).
17. Gersdorff W., Smith L. (1940): *Am. J. Pharm.* 112—97.
18. Grindley J. (1946): *Ann. App. Biol* vol. 33, 1, 103—106.
19. Havelka J., Effenberger M. (1957): *Sb. Cest. Akad. Zemed. Ved* 30, 421—424.

20. Herbert D. W. M., Merkens J. C. (1952): *J. Exp. Biol.* vol. 29 Nr 4, 632—649.
21. Herbert D. M. W. (1962): *Ann. Appl. Biol.* 50, pp 755—777.
22. Herbert D. M. W., Jordan D. H. W., Lloyd R. (1965): *The Inst. Sew. Purif. J. of Institute Post.* 6.
23. Herbert D. W. M., Shurben D. S. (1965): *Sut. J. Air. Wat. Poll.* V 9 pp 89—91. Pergamon Presss.
24. Holden A. V., Marsden K. (1964): *Freshwater and Salmon Fish. Res.* nr. 33.
25. Hubalt E. (1937): *Extr. Ann. Physiol.* 132.
26. Hulsband E., Hulsband I. (1963): *Arch. Fischwiss.* 14, 68—85.
27. Lammering M. W., Burbank N. C. (1960): *Proc. 15th Industr. Waste. Conf. Purdne. Univ. Engng. Extn. Ser. No 106*, 541—552.
28. Liebmann H. (1951): *Handbuch der Froschwasser und Abwasser biologie* Bd.1 München.
29. Linhardt H. (1951): *Diss. Tieräzl. Fak. Univ. München.*
30. Lloyd R. (1961): *Wat. Waste Purif. J.* March, April.
31. Lloyd R. (1961a): *J. Exp. Biol.* 38 pp. 447—455.
32. Merkens C. J., Downing K. M. (1957): *Ann. Appl. Biol.* V. 45, No 3, pp 521—527.
33. Moie W. (1962): *Uspiechy w oblasti uzuczenia pesticidow.* Moskwa Innostranaja kniga.
34. Powers B. (1917): *Illinois biol. Monogr.* 4, 127—193.
35. Reinchenbach-Klinke H. H. (1965): *Arch. Fisch. Wiss.* 16, 1—16.
36. Shelford V. (1917): *Bull. III. State Lab. Nat. Hist.* 11, 381—412.
37. Skrapek K. (1963): *Ustv i ved. Inform. Min. Zamed. Lesn. od. Hospod. Ziv.-Vyr.* 8, 499—504.
38. Smirnow R, Pawlenko M., Olejnik M. (1967): *Eksperymentalnoje osobnowanije predielno dopustnostimej koncentracji ferrocjanidow w wode wodejomow. Promyszlennyje zagrazenia wodojomów.* Wypusk 8. Moskwa.
39. Sollmann T. (1948): *Journ. GenPhysiol.* 32. 617.
40. Sorokin Ju. I., Lukanienko W. I. (1960): *Farmakologia i toksikologia* Nr. 1.
41. Southgate B. A. (1953): *Water Sanit. Engr.* 4, 213—217.
42. Weselob E. A. i wsp. (1965): *Woprosy gidrobiologii.* Moskwa izd. Nauka.
43. Wuhrman K., Woker H. (1948): *Schweiz Z. Hydrol.* 11, 210—244.
44. Wuhrman K.: (1952) *Sur quelques pricipies de la toxicologie du poisson.* *Bull. Centre Belge Et Document. Eaux.* 15, 49—60.