

IRENA CABEJSZEK, MIROSLAW STASIAK

BADANIA NAD WPŁYWEM NIEKTÓRYCH METALI NA BIOCENOZĘ WODNĄ PRZY ZASTOSOWANIU *DAPHNIA MAGNA* JAKO WSKAŹNIKA

(Część I)

Z Zakładu Higieny Komunalnej PZH

I. WSTĘP

Praca niniejsza jest kolejnym opracowaniem z cyklu badań nad wpływem substancji szkodliwych zawartych w ściekach przemysłowych na biocenozę wodną.

Poprzednie opracowania dotyczyły wpływu niektórych fenoli i cyjanów na biocenozę wodną przy zastosowaniu *Daphnia magna* jako wskaźnika (1,2). Niniejsze opracowanie zapoczątkowuje cykl badań nad wpływem związków metali najczęściej odprowadzanych do wód powierzchniowych ze ściekami przemysłowymi.

Część I pracy dotyczy chromu, manganu, żelaza, kobaltu, niklu i miedzi. Związki tych metali mogą dostawać się do wód powierzchniowych ze ściekami różnych gałęzi przemysłu, a przede wszystkim przemysłu chemicznego, metalurgicznego, galwanizerskiego i innych. Własności toksyczne związków metali w stosunku do organizmów wodnych były przedmiotem licznych badań (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15). Podobnie jak we wszystkich badaniach tego typu stosowano różne testy biologiczne i różną metodykę badań, co mogło być powodem dużej rozbieżności wyników.

W celu przejrzystszego przedstawienia dotychczasowych wyników badań nad szkodliwością związków metali objętych naszymi badaniami na biocenozę wodną przy zastosowaniu skorupiaka *Daphnia magna* jako wskaźnika, zestawiono w tabeli I dane uzyskane na podstawie dostępnego nam piśmiennictwa (3,4,5,7,8,10).

Z powyższego zestawienia widać, że dotychczasowe wyniki badań nad toksycznością metali przy zastosowaniu nawet tego samego testu są rażąco rozbieżne i wymagają ściślejszego ustalenia i lepszego sprecyzowania warunków badań.

Niezależnie od badań nad ustaleniem dawki toksycznej, między innymi Shaw W.H.R. i Grushkin B. (15) przypisują stopień szkodliwości danego metalu zdolności do wchodzenia jego jonu w połączenia z grupą tiolową enzymów.

II. WYNIKI BADAŃ

W niniejszej pracy zastosowano metodykę podobną do opisanej w naszych poprzednich pracach (1,2). Woda używana do celów hodowlanych i doświadczalnych pochodziła z wodociągu warszawskiego, która jest mie-

Tabela I

Wyniki badań nad toksycznością związków chromu, manganu, żelaza, kobaltu, niklu i miedzi według różnych autorów przy zastosowaniu *Daphnia magna* jako wskaźnika

Lp.	Autor	Związek chemiczny	Postać obliczeniowa dawki	pH	Dawka mg/l	Rodzaj dawki	Czas działania
1	Anderson (1944)	$K_2Cr_2O_7$	Cr^{+6}	—	0,2	toksyczna	1—8 godzin
2	Anderson (1944)	CrO_3	Cr^{+6}	—	0,31	toksyczna	1—8 „
3	Anderson (1946) wg Klein (1957)	Na_2CrO_4	Cr^{+6}	—	0,1	toksyczna	1—8 „
4	Freeman, Flower (1953)	Na_2CrO_4	Cr^{+6}	7,8	0,13	toksyczna	100 godzin
5	Bringman, Kuhn (1959)	$K_2Cr_2O_7$	Cr^{+6}	—	0,7	toksyczna	48 „
6	Anderson (1944)	$FeSO_4$	Fe^{+2}	—	56	toksyczna	1—8 „
7	Anderson (1944)	$FeCl_3$	Fe^{+3}	—	45	toksyczna	1—8 „
8	Anderson (1944)	$CoCl_2$	Co^{+2}	—	11,6	toksyczna	1—8 „
9	Bringmann, Kuhn (1959)	$CoCl_2$	Co^{+2}	—	2,3	toksyczna	48 „
10	Anderson (1948) wg Klein (1957)	$NiCl_2$	Ni^{+2}	—	0,3	toksyczna	1—8 „
11	Bringman, Kuhn (1959)	$NiCl_2$	Ni^{+2}	—	6	toksyczna	48 „
12	Ellis (1937)	$CuSO_4$	Cu^{+2}	—	0,4	śmiertelna	15 min.—2 g.
13	Anderson (1944)	$CuSO_4$	Cu^{+2}	—	0,03	toksyczna	1—8 godzin
14	Bringman, Kuhn (1959)	$CuSO_4$	Cu^{+2}	—	0,1	toksyczna	48 „

szaniną wody powierzchniowej i wstępnej, jej zasadnicze cechy w okresie badania zestawiono w tabeli II.

Badaniami objęto związki następujących sześciu metali: chromu, manganu, żelaza, kobaltu, niklu i miedzi, przy czym do badań użyto te związki, które najczęściej występują w ściekach w znacznych ilościach i wskutek tego mogą przedostawać się do odbiornika.

Tabela II
Charakterystyka wody używanej do doświadczeń

Temperatura C°	Odczyn pH	Tlen mg/l O ₂	Zasado- wość mval	Twardość mval
20°—22°	7,4—8,0	7,8—8,2	5,5—5,8	3,4—4,2

Do badań używano chlorki i siarczany, zaś w przypadku chromu przebadano chromian potasu i trójtlenek chromu. Dawki toksyczne, jak w poprzednich badaniach, obliczono w oparciu o średnią arytmetyczną z kilku serii doświadczeń, przy czym za dawkę toksyczną przyjęto najmniejszą ilość badanego metalu w mg/l, przy której pada co najmniej 50% dafni w określonym czasie (5, 24, 48, 72, 96, 120 godzin). Ponadto na podstawie tych samych doświadczeń wyliczono dawki toksyczne metodą Muencha H. i Reeda L., określające stężenie, przy którym pada 50% organizmów użytych do doświadczenia. (TL₅₀ — tolerance limit).

1. Chrom

Przy badaniach z chromianem potasu (K₂CrO₄) wstępne badania wykazały konieczność zastosowania stężeń w granicach od 0,2 do 4,2 mg/l Cr⁺⁶, stopniując dawki co 0,2 mg/l.

Zachowanie się dafni przy dawkach w tych granicach w okresie początkowym 5 godzin nie ulegało zmianie. Po 24 godzinach ponad 50% dafni padło przy dawce 3,0 mg/l Cr⁺⁶. Po 48 godzinach — przy dawce 0,6 mg/l. Po 72, 96, 120 godzinach dawka toksyczna utrzymywała się na poziomie 0,4 mg/l. W granicach stosowanych stężeń nie uchwycono w ciągu 24 godzin dawki, przy której padłyby wszystkie dafnie użyte do doświadczeń, natomiast 100% dafni padało po 48 godzinach przy stężeniu 0,8 mg/l Cr⁺⁶, po 120 godzinach zjawisko to występuje przy dawce 0,6 mg/l.

Przy badaniach wykonanych z trójtlenkiem chromu (CrO₃) zastosowano stężenia od 0,2 do 2,4 mg/l Cr⁺⁶, co 0,2 mg/l.

W okresie 5 godzin żadnych zmian w zachowaniu się dafni nie zauważono. Po 24 godzinach ponad 50% dafni padło przy stężeniu 2,0 mg/l Cr⁺⁶. Po 48 godzinach dawka toksyczna wynosiła 0,8 mg/l. Po 72, 96 i 120 godzinach — 0,6 mg/l.

Dawki, przy której padłoby 100% dafni po 24 godzinach nie uchwycono, natomiast po 48 godzinach dawka ta wynosiła 1,2 mg/l Cr⁺⁶, po 120 godzinach 0,8 mg/l.

Chrom trójwartościowy w warunkach doświadczenia ulegał hydrolizie oraz wytrąceniu i z tego powodu nie wyznaczono szkodliwości jonu chromu trójwartościowego.

2. Mangan

Badania przeprowadzono z siarczanem manganawym, związek ten bowiem w warunkach doświadczenia nie ulegał zmianom. Dawki, w obrębie których przeprowadzono doświadczenia wahały się od 20 do 250 mg/l Mn⁺² przy czym od 20 do 200 mg/l stopniowano dawki co 20 mg. a od 200 do 250 mg/l co 50 mg.

W okresie pierwszych 5 godzin w stężeniach od 120 mg/l Mn^{+2} dafnie wykazały zmniejszoną ruchliwość. Po 24 godzinach dawka szkodliwa wynosiła 80 mg/l Mn^{+2} . Po 48, 72 i 96 godzinach — 40 mg/l Mn. Po 120 godzinach — 20 mg/l Mn.

Wszystkie dafnie użyte do doświadczenia padały po 24 godzinach przy stężeniu 100 mg/l Mn^{+2} i po 120 godzinach przy stężeniu 60 mg/l.

3. Żelazo

Badania przeprowadzono z chlorkiem żelazowym i siarczanem żelazowym. Procesy utleniania się żelaza dwuwartościowego do trójwartościowego oraz hydroliza związków żelazowych powodują wytrącenie się żelaza i zakwaszanie środowiska. Tracenie oznak życia u dafni przy pewnych stężeniach prawdopodobnie spowodowane jest niskimi wartościami pH.

Zastosowano stężenia chlorku żelazowego w granicach od 10 do 100 mg/ Fe^{+3} , stopniując je co 10 mg/l. Już w ciągu pierwszych dwóch godzin padło więcej niż 50% dafni przy stężeniu 100 mg/l Fe^{+3} , przy czym pH przy tym stężeniu spadło do 3,1. Po 5 godzinach takie samo zjawisko stwierdzono przy dawce 90 mg/l.

Po 24, 48, 72, 96 i 120 godzinach dawka toksyczna utrzymywała się na tym samym poziomie i wynosiła 80 mg/l Fe^{+3} , przy pH około 4. Zaznaczyć jeszcze należy, że procent padłych dafni z biegiem czasu wzrasta.

Wszystkie dafnie użyte do doświadczenia padały już po 5 godzinach przy stężeniu 100 mg/l, po 24 godzinach przy 90 mg/l i po 120 godzinach przy 80 mg/l. Należy jeszcze zaznaczyć, że przy stężeniach do 70 mg/l Fe^{+3} w okresie początkowym doświadczenia, wartości pH wahały się około 6 i w ciągu doby wzrastały do stanu wyjściowego. Tym też tłumaczyć można fakt przeżywalności dafni w tych stężeniach.

4. Kobalt

Do badania użyto chlorek kobaltawy, w stężeniach od 2 do 30 mg/l Co^{+2} , przy stopniowaniu co 2 mg/l Co^{+2} . Do 5 godzin od początku doświadczenia żadnych zmian w zachowaniu dafni nie spostrzeżono. Po 24 godzinach więcej niż 50% dafni ginęło przy stężeniu 16 mg/l Co^{+2} . Po 48 godzinach — przy dawce 6 mg/l. Po 72 godzinach — przy dawce 4 mg/l. Po 96 i 120 godzinach — przy stężeniu 2 mg/l. W ciągu 24 godzin w granicach stosowanych stężeń nie uchwycono dawki, przy której padałyby wszystkie dafnie użyte do doświadczenia. Po 48 godzinach dawka taka wynosiła 8 mg/l Co^{+2} , po 120 godzinach 4 mg/l.

Przy użyciu siarczanu kobaltowego wyniki badań przedstawiały się zupełnie podobnie, z wyjątkiem dawki po 24 godzinnym działaniu, która wynosiła 20 mg/l Co^{+2} .

5. Nikiel

Takie same sole i takie same stężenia jak przy badaniu kobaltu zastosowano do badań nad szkodliwością niklu.

W pierwszych godzinach doświadczenia dafnie zachowywały się normalnie, zarówno przy zastosowaniu siarczanu niklawego, jak i chlorku niklawego. Po 24 godzinach padło ponad 50% dafni przy 18 mg/l Ni^{+2} w postaci chlorku niklu. Po 48 godzinach — przy 8 mg/l. Po 72 go-

dzinach — przy 6 mg/l. Po 96 godzinach — przy 4 mg/l. Po 120 godzinach — przy 2 mg/l. Wszystkie dafnie w wodzie z chlorkiem niklowym padły po 24 godzinach przy stężeniu 30 mg/l Ni^{+2} , po 120 godzinach — przy 6 mg/l. Dawka szkodliwa dla 24 godzin przy użyciu siarczanu niklowego wynosi 26 mg/l Ni^{+2} . Po 48 godzinach — spadała do 8 mg/l. Po 72 godzinach — do 6 mg/l. Po 96 i 120 godzinach — do 4 mg/l. Nie uchwycono dawki dla 24 godzin przy której ginęłyby wszystkie dafnie po 48 godzinach 100% dafni padało przy 14 mg/l Ni^{+2} po 120 godzinach przy 6 mg/l.

6. Miedź

Szkodliwość miedzi określono za pomocą siarczanu miedzi. Wstępne badania wykazały, że należy zastosować stężenie od 0,02 do 0,8 mg/l Cu^{+2} , przy czym do 0,1 mg/l zastosowano stopniowanie co 0,02, powyżej 0,1 co 0,1 mg/l. W okresie pierwszych 5 godzin żadnych zmian w zachowaniu się dafni nie zauważono. Po 24 godzinach dawka toksyczna kształtowała się na poziomie 0,6 mg/l Cu^{+2} . Po 48, 72 i 96 godzinach. — wynosiła 0,1 mg/l. Po 120 godzinach — 0,08 mg/l.

W ciągu 24 godzin w obrębie badanych stężeń nie znalazła się dawka, przy której padałyby wszystkie dafnie używane do doświadczenia. Wszystkie dafnie padły po 48 godzinach przy stężeniu 0,7 mg/l Cu^{+2} . Po 120 godzinach przy stężeniu 0,2 mg/l.

III. OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Wyniki doświadczeń obrazujące wielkość dawek toksycznych poszczególnych metali w zależności od czasu zestawiono w tabeli III i IV. Przeliczenia zostały dokonane dwoma sposobami. Uzupełnienie tabeli IV stanowi rycina 1.

Tabela III

Porównawcze zestawienie dawek szkodliwych w stosunku do *Daphnia magna* w zależności od czasu (średnia arytmetyczna)

Związek chemiczny	Postać obliczeniowa dawki	5 godz.	24 godz.	48 godz.	72 godz.	96 godz.	120 godz.
K_2CrO_4	Cr^{+6}	—	2,8–3,0	0,4–0,6	0,2–0,4	0,2–0,4	0,2–0,4
CrO_3	Cr^{+6}	—	1,8–2,0	0,6–0,8	0,4–0,6	0,4–0,6	0,4–0,6
MnSO_4	Mn^{+2}	—	60–80	20–40	20–40	20–40	0–20
FeCl_3	Fe^{+3}	80–90	60–80	60–80	60–80	60–80	60–80
CoCl_2	Co^{+2}	—	14–16	4–6	2–4	0–2	0–2
CoSO_4	Co^{+2}	—	18–20	4–6	2–4	0–2	0–2
NiCl_2	Ni^{+2}	—	16–18	6–8	4–6	2–4	0–2
NiSO_4	Ni^{+2}	—	24–28	6–8	4–6	2–4	2–4
CuSO_4	Cu^{+2}	—	0,4–0,6	0,1–0,2	0,1–0,2	0,08–0,1	0,06–0,08

Tabela IV

Porównawcze zestawienie dawek szkodliwych w stosunku do *Daphnia magna* w zależności od czasu (wyliczone metodą Muencha i Reeda)

Związek chemiczny	Postać obliczeniowa dawki	24 godz.	48 godz.	72 godz.	96 godz.	120 godz.
K ₂ CrO ₄	Cr ⁺⁶	2,98	0,55	0,40	0,31	0,29
CrO ₃	Cr ⁺⁶	1,87	0,80	0,58	0,49	0,48
MnSO ₄	Mn ⁺²	90,9	42,2	28,8	24,6	21,0
FeCl ₃	Fe ⁺³	84	76	74	69	65
CoCl ₂	Co ⁺²	16,8	5,5	3,7	1,7	1,0
CoSO ₄	Co ⁺²	19,6	6,0	4,6	3,4	2,7
NiCl ₂	Ni ⁺²	17,3	6,9	4,5	2,0	1,3
NiSO ₄	Ni ⁺²	22,8	7,2	4,8	3,3	2,1
CuSO ₄	Cu ⁺²	0,50	0,20	0,14	0,097	0,069

W tabeli III zestawiono dawki uzyskane z wyliczeń dokonanych w oparciu o średnią arytmetyczną. Przedstawione dawki zawarte są w pewnych granicach, co jest spowodowane stopniowaniem stężeń, przy czym pierwsza wartość graniczna przedstawia ilość substancji, przy której pada jeszcze mniej niż 50% dafni, a druga przy której już ginie więcej niż 50%.

Metoda Muencha i Reeda pozwala wyliczyć dawki, przy których ginie 50% organizmów (TL₅₀ — tolerance limit) i to zestawienie podano w tabeli IV.

Wyniki naszych doświadczeń przeliczone dwiema metodami są prawie zupełnie zbieżne. Z danych tabeli III i IV oraz ryciny 1 wynika, że spośród badanych metali z wyjątkiem żelaza najbardziej szkodliwa dla *Daphnia magna* jest miedź, a najmniej mangan. Szkodliwe działanie tych metali jest raczej powolne, wzmożenie działania obserwuje się po 48 godzinach. Zaobserwowano również, że szkodliwość związków badanych metali (kobaltu i niklu) w postaci siarczanów jest mniejsza aniżeli w postaci chlorków. Wyjątek stanowi chlorek żelazowy, którego dawka toksyczna w zależności od czasu ulega niewielkim zmianom. Zjawisko to prawdopodobnie spowodowane jest bardziej działaniem kwaśnego środowiska niż jonem metalu.

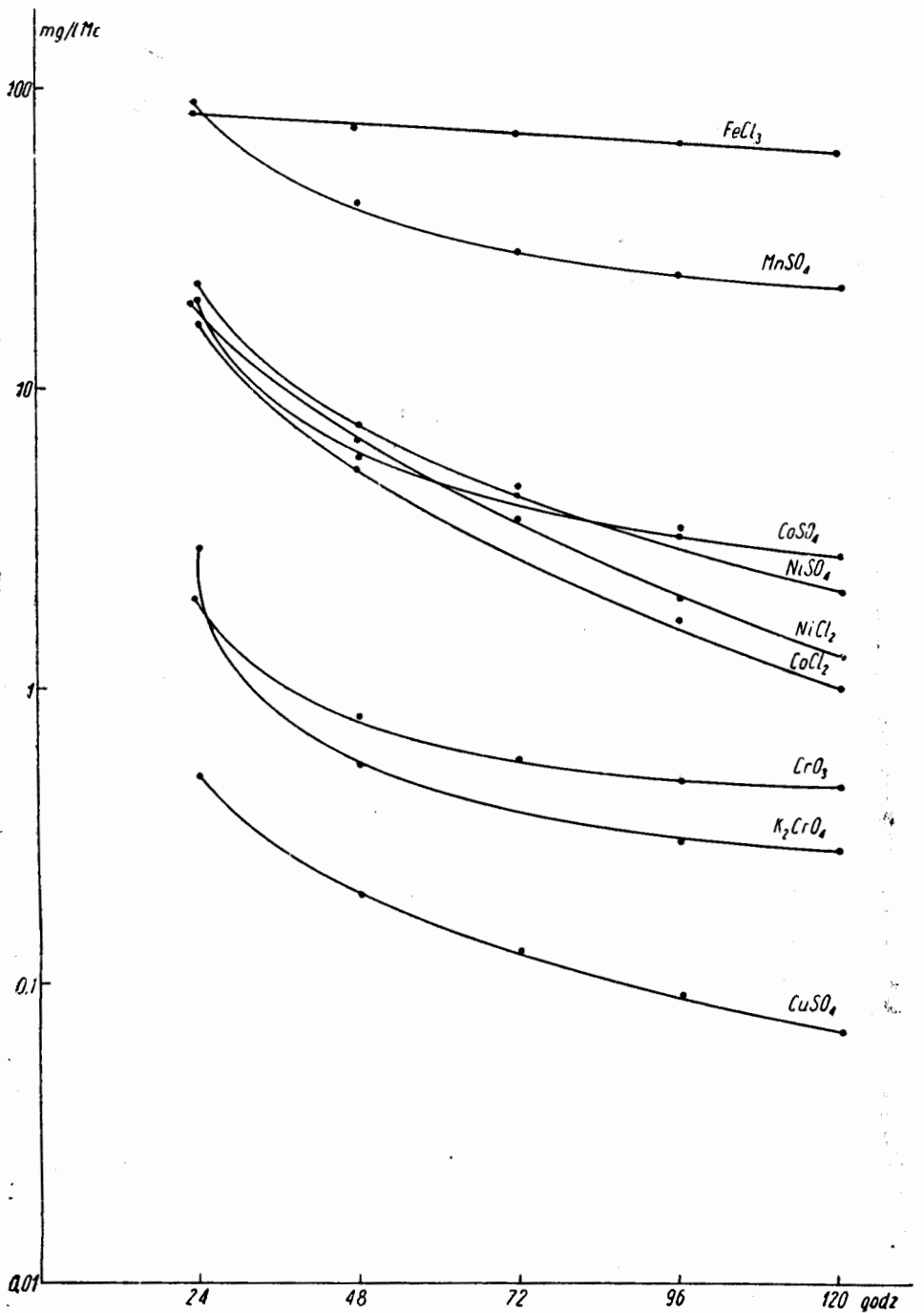
Na tle tych spostrzeżeń nasuwają się następujące wnioski:

1. Szkodliwość metali objętych badaniami w stosunku do *Daphnia magna* można uszeregować następująco: miedź, chrom, kobalt, nikiel, mangan.

2. Szkodliwe działanie metali jest raczej powolne i wzrasta w miarę upływu czasu, przy czym wyraźne wzmożenie działania obserwuje się po 48 godzinach.

3. Siarczany kobaltu i niklu wykazują mniejszą toksyczność aniżeli chlorki.

4. Szkodliwe działanie żelaza wywołane jest hydrolizą powodującą obniżenie pH środowiska.



Ryc. 1. Toksyczne działanie metali na *Daphnia magna* w zależności od czasu.

И. Ц а б э й ш е к, М. С т а с я к

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД ВЛИЯНИЕМ НЕКОТОРЫХ МЕТАЛЛОВ НА ВОДНЫЙ
БИОЦЕНОЗ ПРИМЕНЯЯ *DAPHNIA MAGNA* КАК УКАЗАТЕЛЯ

С о д е р ж а н и е

Этот труд является очередной обработкой цикла исследований над влиянием вредных веществ находящихся в промышленных сточных водах на водный биоценоз применяя *Daphnia magna* как указателя. Прожние труды посвящены были влиянию некоторых фенолов и соединений циана. (1,2) Этот труд начинает исследований над влиянием соединений металлов чаще всего попадающих в поверхностные воды вместе с промышленными сточными водами. Первая часть относится к соединениям хрома, марганца, железа, кобальта, никеля и меди.

Применена была такая же методика как и в прежних трудах (1,2). Результаты исследований пересчитаны были как арифметическая средняя, а также по методу Muencha и Reeda.

Вредность исследуемых металлов по отношению к *Daphnia magna* можно представить в следующей очереди: медь, хром, кобальт, никель, марганец. Вредное действие этих металлов медленное и по мере исхода времени возрастает, причем отчетливое увеличение действия выступает после 48 часов. Сернистые соединения исследуемых металлов менее токсичны нежели хлористые. Вредное действие соединений железа проявляются снижением pH среды.

I. C a b e j s z e k, M. S t a s i a k

STUDIES ON THE INFLUENCE OF SOME METALS ON WATER BIOCECENOSIS
EMPLOYING *DAPHNIA MAGNA* INDEX

S u m m a r y

The following study is the successive elaboration from the cycle of investigations on the influence of harmful substances contained in industrial wastes on the water biocenosis employing *Daphnia magna* index. The previous studies concerned the influence of some phenols and cyanates (1,2). The present study initiates the cycle of investigations on the influence of compounds of metals most frequently led to surface waters with industrial wastes. Part I concerns chromium, manganese, iron, cobalt, nickel, and copper.

The technique employed was the same as in the previous studies (1,2). The results were computed basing on the mean arithmetic and according to Muench and Reed's method.

Toxicity of metals concerned in the investigation in respect to *Daphnia magna* may be given in the following order: copper, chromium, cobalt, nickel, manganese. The toxic action of these metals is rather slow and increases with time and a distinct increase of action appears after 48 hours. The sulphates of the examined metals reveal a smaller degree of toxicity than chlorides. Toxic action of iron is presented by the lowering of pH of the environment.

PIŚMIENICTWO

1. Cabejszek I., Just J.: Badania nad wpływem fenoli na biocenozę wodną przy zastosowaniu *Daphnia magna* jako wskaźnika, Roczniki PZH X, 1, 1959. — 2. Cabejszek I., Just J.: Badania nad wpływem cyjanoków na biocenozę wodną przy

zastosowaniu *Daphnia magna* jako wskaźnika, Roczniki PZH, X, 403, 1959. — 3. *Anderson B.*: The toxicity thresholds of various sodium substances found in industrial wastes as determined by the use of *Daphnia magna*. Sewage Works Journal 16, 1156 1944. — 4. *Bringmann G., Kühn Renate*: Vergleichende Wasser-toxikologische Untersuchungen der Bakterien, Algen und Kleinkrebsen. Ges. — Ing., 80, 115, 1959. — 5. *Bringmann G., Kühn Renate*: Wasser-toxikologische Untersuchungen mit Protozoen als Testorganismen, Ges.-Ing., 80, 239, 1959. — 6. *Corner E., Sparrow B.*: The modes of action of toxic agents I. Observations on the poisoning of certain crustaceans by copper and mercury. J. mar. biol. Ass. U.K., 35, 531, 1956. — 7. *Ellis M.*: Detection and Measurement of stream pollution, US Department of Commerce Bureau of Fisheries, Bulletin nr 2, 1937. — 8. *Freemann L., Flower I.*: Toxicity of combination of certain inorganic compounds to *Daphnia magna* Straus, Sewage and Industrial Wastes, 25, 1191, 1953. — 9. *Herbert P.*: Measurement of Toxicity of Substances to Fish, Water and Sewage Eng., 11, 504, 1952. — 10. *Klein L.*: Aspects of River Pollution, London 1957.

11. *Ludemann D.*: Die Giftwirkung des Mangans auf Fische, Krebse und Fischnährtiere. Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden-, und Lufthygiene, nr 7, 1953. — 12. *Meinck F., Stoff M., Kohlschutter H.*: Industrie — Abwasser, Stuttgart 1956. — 13. *Steinmann P.*: Toxikologie der Fische Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas VI, 289, 1928 — 14. *Wallen I., Greer W., Lasater R.*: Toxicity to *Gambusia affinis* of certain pure chemicals in turbid Waters, Sewage and Industrial Wastes, 29, 695, 1957. — 15. *Shaw W., Grushkin B.*: The toxicity of Metal ions to Aquatic Organisms, Arch. Biochem. Biophys., 67, 447, 1957.