

SYLWIA ŁABUŹEK, JOLANTA PAJĄK^{*)}, BOŻENA NOWAK, MARCIN SOLGA

Uniwersytet Śląski
Katedra Biochemii
ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice

Badania toksyczności produktów degradacji poliestru „Bionolle[®]”^{**)}

Streszczenie — Zbadano toksyczność produktów hydrolizy oraz biodegradacji poliestru „Bionolle[®]” przeprowadzonej z udziałem grzybów mikroskopowych *Aspergillus niger* i *Penicillium funiculosum* w stosunku do *Chlorella* sp., *Lemna minor*, *Brassica rapa*, *Daphnia magna* oraz *Allium cepa*. Stwierdzono, że produkty starzenia hydrolitycznego nie wywierały toksycznego wpływu na organizmy testowe, podczas gdy roztwory uzyskane po biodegradacji „Bionolle[®]” hamowały wzrost *Chlorella* sp., *Lemna minor* oraz *Brassica rapa* i powodowały śmierć *Daphnia magna*, nie wywoływały natomiast efektu klastogennego u *Allium cepa*. Na podstawie wartości wyznaczonych wskaźników toksyczności (IC_{50} , $NOEC$, LC_{50}) można przypuszczać, że produkty degradacji poliestru rozproszone w środowisku nie będą negatywnie oddziaływać na bytujące tam organizmy. Ponadto stwierdzono, że ubytki masy próbek oraz wartości TOC (sumarycznej zawartości węgla organicznego) w roztworach po hydrolizie są znacznie mniejsze niż w roztworach po biodegradacji.

Słowa kluczowe: poliestr alifatyczny, hydroliza, biodegradacja, grzyby mikroskopowe, toksyczność.

EXAMINATION OF TOXICITY OF THE PRODUCTS OF „BIONOLLE[®]” POLYESTER DEGRADATION

Summary — The toxicity of the products of hydrolysis and biodegradation of „Bionolle[®]” polyester, carried out with use of filamentous fungi *Aspergillus niger* and *Penicillium funiculosum*, on *Chlorella* sp., *Lemna minor*, *Brassica rapa*, *Daphnia magna* or *Allium cepa* was investigated. It was found that the products of hydrolytic degradation did not show toxic influence on the organisms tested while the solutions obtained after „Bionolle[®]” biodegradation inhibited the growth of *Chlorella* sp., *Lemna minor* and *Brassica rapa*, caused the mortality of *Daphnia magna* (Fig. 1), however, they did not cause the clastogenic effect on *Allium cepa* (Fig. 2). On the basis of the values of toxicity indices determined (IC_{50} , $NOEC$ and LC_{50}) one can foresee that the products of polyester biodegradation, scattered in the environment, will not affect negatively the organisms living there (Table 2). Additionally it was found that the weight loss and TOC (total content of organic carbon) values of the samples in the solvent after hydrolysis are much lower than in similar solvents after biodegradation (Table 1).

Key words: aliphatic polyester, hydrolysis, biodegradation, filamentous fungi, toxicity.

W naszych poprzednich pracach wykazaliśmy, że „Bionolle[®]” — alifatyczny syntetyczny poliestr — ulega degradacji abiotycznej [1] a także biodegradacji (z udziałem zarówno bakterii, jak i grzybów mikroskopowych) w warunkach laboratoryjnych w podłożach syntetycznych [2] oraz w glebie [3]. Degradacja przebiegała również w warunkach polowych (naturalnych) w glebie, z której wyizolowano wiele szczepów grzybów i bakterii zdolnych do szybkiego rozkładu omawianego poliestru. Szczepy te wydzielają enzymy rozrywające wiązania estrowe, powodując zmniejszenie ciężaru cząsteczkowego polimeru [4].

Jak wiadomo, powstające produkty takiego rozkładu tworzyw polimerowych przedostają się do powietrza, gleb, wód powierzchniowych i podziemnych [5, 6]. Z punktu widzenia ekotoksykologii ważne jest, czy produkty te, jak również wydzielane do otoczenia metabolity organizmów uczestniczących w procesie biodegrada-

cji, nie wykazują działania toksycznego i nie akumulują się w środowisku naturalnym [7].

Celem przedstawionej pracy było określenie w warunkach laboratoryjnych toksycznego wpływu produktów degradacji hydrolitycznej i biodegradacji poliestru „Bionolle[®]” na wybrane organizmy testowe.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Badany poliestr

Badaniom poddano poliestr „Bionolle[®]” typ # 3001 o wskaźniku szybkości płynięcia (MFR) 1,5 g/10 min fir-

^{*)} Autor do korespondencji — e-mail: jpajak@us.edu.pl;

^{**)} Artykuł zawiera treść wystąpienia w ramach Konferencji Naukowej „Materiały polimerowe POMERANIA-PLAST”, Kołobrzeg, 23–25 maja 2007 r.

my Showa Denko (Europe) GmbH. Próbki miały postać folii wytłaczanej w sposób opisany w [3].

Mikro- i makroorganizmy

Biodegradację folii polimerowych prowadzono przy użyciu *Aspergillus niger* van Tieghem oraz *Penicillium funiculosum* Thom. Szczepy grzybowe wyizolowano z wysypiska śmieci w Sosnowcu i oznaczono w Instytucie Ekologii Terenów Uprzemysłowanych w Katowicach; namnażano je w podłożach mikrobiologicznych, w sposób opisany we wcześniejszej pracy [2].

W badaniach toksykologicznych produktów rozkładu folii poliestrowych w charakterze organizmów testowych posłużyły zielenica (*Chlorella sp.*), rzęsa drobna (*Lemna minor*), rzępa polna (*Brassica rapa*) oraz rozwielitka wielka (*Daphnia magna*). Dwa pierwsze pozyskano ze zbiornika Kozłowa Góra w Piekarach Śląskich i oznaczano w Katedrze Botaniki Systematycznej, nasiona *Brassica rapa* zakupiono w Przedsiębiorstwie Ogrodnictwa i Szkółkarstwa (Ożarów Mazowiecki), a *Daphnia magna* otrzymano z Zakładu Hydrobiologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska UŚ.

W teście genotoksyczności stosowano cebulę (*Allium cepa*).

ŚRODOWISKO DEGRADACJI

Degradację hydrolityczną oraz biodegradację folii polimerowych prowadzono w kolbach w płynnej pożywce (wg Zhao [8]) wyjaławianej w temp. 121°C, pod ciśnieniem 0,12 MPa (1,2 atm) pary wodnej w ciągu 20 min. W podłożach umieszczano próbki folii o masie 0,85 g, wstępnie sterylizowane w wyniku zanurzenia na okres 5 min w 70-proc. izopropanolu. W przypadku biodegradacji, do środowiska dodatkowo wprowadzano 1 mln niezbędnych w tym procesie zarodników grzybów. Zawartość kolb wytrząsano następnie na wytrząsarce firmy LAB LINE z szybkością 110 obr/min w temp. 25 °C w ciągu 100 dób.

Roztwory uzyskane bezpośrednio w wyniku hydrolyzy oraz roztwory otrzymane po biodegradacji tworzyw [te ostatnie — w celu oddzielenia pozostałej grzybni — po przesączeniu pod zmniejszonym ciśnieniem przez sączek membranowy sterylizowany w temp. 100 °C pod ciśnieniem 0,08 MPa (0,8 atm) w ciągu 30 min] zachowywano do badań toksykologicznych.

Ocena stopnia degradacji folii

Po okresie inkubacji wyjęte z roztworów próbki folii myto i suszono w eksykatorku do stałej masy. Zmiany masy próbek (w %) określano za pomocą wagi analitycznej „Mettler Toledo AB 204-S”.

Zawartość ogólnego węgla organicznego TOC (*Total Organic Carbon*) w roztworach po degradacji abiotycznej

i biotycznej oznaczano przy użyciu analizatora „TOC 1200” firmy Euroglas.

Ocena toksyczności roztworów po degradacji folii

Testy toksykologiczne

W ramach testów toksykologicznych oceniano następujące zjawiska:

— Zahamowanie wzrostu *Chlorella sp.* wg PN-EN ISO 8692:2005;

— Przyrost masy *Lemna minor*: Na szalkach Petriego średnicy 80 mm umieszczano 12 sztuk *Lemna minor* o jednakowych wymiarach i znanej masie oraz 15 ml roztworu uzyskanego w wyniku degradacji tworzyw. Rośliny hodowano w ciągu 96 h w temp. 22 ± 2 °C poddając je działaniu światła o długości fali 400—700 nm w warunkach natężenia oświetlenia 8500 luksów przez 12 h w ciągu każdej doby. Test był akceptowany, jeżeli w okresie dwóch dób hodowli roślin w pożywce kontrolnej (niezawierającej produktów degradacji polimeru) następował co najmniej dwukrotny przyrost masy roślin [9];

— Wzrost korzeni *Brassica rapa*: Nasiona rośliny sterylizowano zanurzając na 5 min kolejno w wodnych roztworach 10-proc. etanolu i 3-proc. nadtlenku wodoru i następnie płuczając je w sterylnej wodzie destylowanej. Zachowując jałowe warunki, partie dwunastu nasion o jednakowych wymiarach rozkładano równomiernie na szalkach Petriego wyłożonych bibułą filtracyjną [wyjaławianych uprzednio w temp. 121 °C pod ciśnieniem 0,12 MPa (1,2 atm) w ciągu 20 min]. Nasiona jednorazowo podlewano roztworem uzyskanym w wyniku degradacji tworzyw (5 ml). Płytki inkubowano przez 96 h w temp. 22 ± 2 °C, poddając je działaniu światła o długości fali 400—700 nm i natężeniu oświetlenia 8500 luksów przez 12 h w ciągu każdej doby [9];

— Śmiertelność *Daphnia magna* wg PN-EN ISO 6341:2002.

Stężenie substancji chemicznej (w roztworze otrzymanym po degradacji poliestru), niewywołujące istotnych skutków działania (NOEC) obliczano z wykorzystaniem analizy wariancji (ANOVA). Stężenie powodujące w 50 % zahamowanie namnażania (IC_{50}) *Chlorella sp.* lub w 50 % zahamowanie wzrostu korzeni (IC_{50}) *Brassica rapa* bądź śmierć połowy osobników populacji (LC_{50}) *Daphnia magna* wyznaczano metodą probitów [10].

Test genotoksyczności (mikrojąder)

Do zlewek poj. 50 ml wprowadzano po 30 ml odstanej wody kranowej oraz po jednej bulwie *Allium cepa*. Zakładano 3 hodowle a rośliny hodowano w ciemności w temp. 20 ± 1 °C do chwili wykształcenia od 10 do 20 korzeni przybyszowych długości 2—5 cm. Cebule z wytworzonymi korzeniami przenoszono następnie do zlewek zawierających 30 ml roztworu uzyskanego po biodegradacji „Bionolle®”. Hodowle inkubowano w temp. 20 ± 1 °C w ciągu 48 h, po czym wycinano fragmenty

korzeni ze stożkiem wzrostu. Fragmenty te utrwalano w mieszaninie 95-proc. alkoholu etylowego z lodowatym kwasem octowym (3:1) przez 4 h. W celu odmycia utrwalacza korzenie przenoszono na 5 min do wody destylowanej. Preparaty hydrolizowano w ciągu 1 h w 5 M HCl i barwiono odczynnikami Schiff'a (metoda Feulgena) w ciemności przez kolejne 2 h. Korzenie przenoszono następnie na szkiełko przedmiotowe zawierające kroplę 45-proc. kwasu octowego, nakładano szkiełko nakrywkowe i lekko przyciskano je do przedmiotowego. Preparaty obserwowano przy użyciu mikroskopu świetlnego „Olympus Provis AX 70” w 400-krotnym powiększeniu. W przypadku każdego preparatu w ok. 1000 komórkach liczono jądra z mikrojądrami [11, 12].

Opisany sposób postępowania realizowano co najmniej trzykrotnie.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Przebieg degradacji „Bionolle®”

W środowisku przyrodniczym degradacja tworzyw polimerowych jest na ogół wynikiem zachodzącej jednocześnie hydrolizy abiotycznej i biotycznej [13]. Procesy te prowadzą do rozkładu polimeru i przyczyniają się do powstawania rozpuszczalnych w wodzie produktów, które mogą być przyswajane przez organizmy tam bytujące [14].

T a b e l a 1. Ubytek masy próbki oraz stężenie węgla organicznego (TOC) w roztworze po hydrolizie bądź po biodegradacji poliestru „Bionolle®”

T a b l e 1. Sample weight loss and organic carbon concentration (TOC) in the solvents after either hydrolysis or biodegradation of „Bionolle®” polyester

Badany parametr	Hydroliza	Biodegradacja	
		<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>
Ubytek masy, %	3,4 ± 0,25	59,3 ± 2,67	73,2 ± 2,7
TOC, mg/dm ³	159 ± 4,73	1569 ± 51,15	2589 ± 49,71

Tabela 1 przedstawia procentowy ubytek masy oraz stężenie węgla organicznego (TOC) uwolnionego do roztworów w wyniku hydrolizy lub biodegradacji „Bionolle®”.

Wykazano, że poliestr ulegał w znacznie większym stopniu biodegradacji pod wpływem grzybów mikroskopowych niż abiotycznej degradacji hydrolitycznej. Ilość ogólnego węgla organicznego uwolnionego z polimeru w procesie hydrolizy była około 10- i 16-krotnie mniejsza od ilości uzyskanej w wyniku biodegradacji odpowiednio z *Aspergillus niger* lub *Penicillium funiculosum*. Większy ubytek masy folii (73,2 %) powodował przy tym *Penicillium funiculosum*. Także z danych literaturowych wiadomo, że grzyby mikroskopowe z rodzaju

Penicillium odznaczają się wyjątkowo dużą zdolnością do degradacji różnego rodzaju tworzyw [15]. Depolimeryza polihydroksymaślanu *Penicillium funiculosum* wykazująca aktywność hydrolazy i rozrywa adypinowe wiązania estrowe w „Bionolle®” [16].

Toksyczność produktów degradacji „Bionolle®”

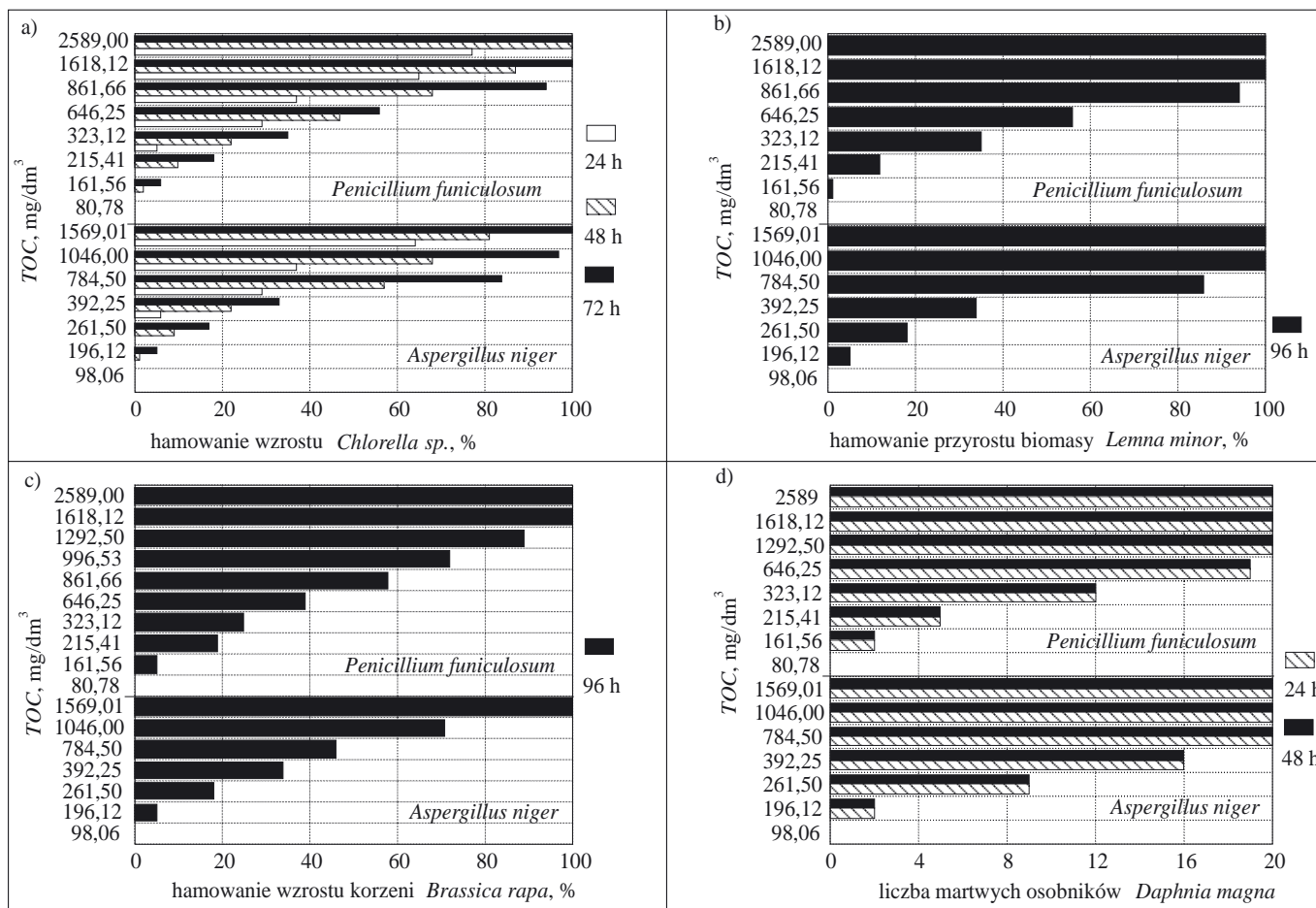
Toksyczne oddziaływanie substancji chemicznych na organizm prowadzi do zahamowania lub zmiany przebiegu zachodzących w nim naturalnych procesów biochemicznych. Modyfikacja już nawet jednej reakcji powoduje zachwianie homeostazy, obniżając tym samym ogólną sprawność organizmu, co w konsekwencji może niekiedy prowadzić do jego śmierci [7]. Z upływem czasu dochodzi natomiast do kumulacji toksycznych efektów oraz występowania innych niż wzrost śmiertelności następstw, takich jak zmiana tempa wzrostu bądź zmniejszenie rozrodczości [17]. Ważne jest zatem, aby zarówno małowcząsteczkowe produkty degradacji polimerów, jak i wydzielane do środowiska metabolity organizmów uczestniczących w tym procesie były nietoksyczne oraz by nie akumulowały się w środowisku [18].

Stwierdzono, że produkty starzenia hydrolitycznego poliestru w największym otrzymanym stężeniu TOC (159 mg/dm³) nie oddziaływały toksycznie na *Chlorella* sp., *Lemna minor*, *Brassica rapa* oraz *Daphnia magna*, podczas gdy produkty biodegradacji „Bionolle®” przez *Aspergillus niger* (TOC 1569 mg/dm³) i *Penicillium funiculosum* (TOC 2589 mg/dm³) całkowicie zahamowały wzrost *Chlorella* sp., *Lemna minor* oraz *Brassica rapa*, spowodowały także śmierć wszystkich badanych *Daphnia magna*.

W celu określenia zależności dawka-odpowiedź, uzyskane przez nas po degradacji poliestru próbki roztworów zawierające związki organiczne w stężeniach wywołujących reakcje letalne rozcieńczano i badano ich wpływ na organizmy testowe. Próbkę przesączów rozcieńczano w postępie geometrycznym, tak aby iloraz ciągu nie przekraczał 2,2.

Rysunek 1 przedstawia hamowanie wzrostu *Chlorella* sp., przyrostu biomasy *Lemna minor*, wzrostu korzeni *Brassica rapa* oraz śmiertelność *Daphnia magna* w obecności roztworów uzyskanych po biodegradacji „Bionolle®” z *Aspergillus niger* i *Penicillium funiculosum*.

Najmniejsza oznaczona wartość TOC, roztworów uzyskanych w wyniku rozkładu polimeru wywołanego działalnością *Aspergillus niger* powodująca śmierć wszystkich zastosowanych rozwielitek oraz całkowite zahamowanie wzrostu *Lemna minor* wynosiła odpowiednio 785 mg/dm³ i 1046 mg/dm³. Roztwory, w których TOC było równe 392 mg/dm³, powodowały hamowanie wzrostu *Chlorella* sp. w 33 %, inhibicję przyrostu biomasy *Lemna minor* i wzrostu korzeni *Brassica rapa* w 34 % oraz śmierć badanych osobników *Daphnia magna* w 80 %. Ponadto u *Lemna minor* występowały chlorozy, nekrozy, utrata pławności oraz skrócenie i ściemnienie korzeni.



Rys. 1. Wpływ rozcieńczenia na efekt toksyczności roztworów po degradacji poliestru „Bionolle®” przez *Aspergillus niger* i *Penicillium funiculosum*: (a) hamowanie wzrostu *Chlorella sp.*, (b) hamowanie przyrostu biomasy *Lemna minor*, (c) hamowanie wzrostu korzeni *Brassica rapa*, (d) śmiertelność *Daphnia magna*

Fig. 1. Effect of dilution on the toxicity of the solvents after “Bionolle®” polyester degradation by *Aspergillus niger* and *Penicillium funiculosum*: (a) inhibition of *Chlorella sp.* growth, (b) inhibition of *Lemna minor* biomass growth, (c) inhibition of *Brassica rapa* roots growth, (d) mortality of *Daphnia magna*

Najmniejsze stężenie TOC wywołujące efekty toksyczne u wszystkich organizmów testowych wynosiło 196 mg/dm³. Mianowicie, hamowany był wówczas wzrost *Chlorella sp.*, przyrost biomasy *Lemna minor* oraz wzrost korzeni *Brassica rapa* odpowiednio o 1 %, 5 % i 5 %; stwierdzono także śmierć 2 z 20 badanych osobników *Daphnia magna*. Nie odnotowano natomiast toksycznego działania na testowane organizmy roztworów w których TOC miało wartość 98 mg/dm³.

W wyniku działania *Penicillium funiculosum* na poliestr „Bionolle®” uzyskano roztwory, których najmniejsze stężenie TOC powodujące śmierć wszystkich badanych rozwielitek wynosiło 1293 mg/dm³, stężenie 1618 mg/dm³ uniemożliwiło zaś wzrost *Brassica rapa* oraz *Lemna minor*. Roztwory, w których TOC było równe 323 mg/dm³ przyczyniały się do zahamowania wzrostu *Chlorella sp.* i przyrostu biomasy *Lemna minor* w 35 %, zahamowania wzrostu korzeni *Brassica rapa* w 25 %, oraz śmierć 12 z 20 (60 %) badanych osobników *Daphnia magna*. U *Lemna minor* obserwowano — podobne do wcześ-

niej wymienionych — zmiany morfologiczne liści i korzeni. TOC równe 162 mg/dm³ wywoływało jeszcze efekty toksyczne u wszystkich badanych organizmów testowych. Inhibicja wzrostu zielenic po upływie 48 h oraz 72 h inkubacji wynosiła odpowiednio 2 % i 6 %, inhibicja przyrostu biomasy *Lemna minor* po 96 h — 1 % natomiast inhibicja wzrostu korzeni *Brassica rapa* po 96 h — 5 %. Odnotowano śmierć 2 z 20 badanych osobników *Daphnia magna* zarówno po 24 h, jak i po 48 h. Roztwory, których TOC wynosiło 81 mg/dm³ nie były już toksyczne dla żadnego z badanych organizmów.

W tabeli 2 przedstawiono ocenę toksyczności roztworów uzyskanych po degradacji poliestru „Bionolle®” przez *Aspergillus niger* oraz *Penicillium funiculosum* w odniesieniu do organizmów testowych.

Stwierdzono, że spośród badanych organizmów roślinnych najmniej wrażliwym na produkty rozkładu poliestru była *Brassica rapa*, mniejszą tolerancję wykazywała *Lemna minor*, a najwrażliwszym okazała się *Chlorella sp.*

T a b e l a 2. Ocena toksyczności (wartości IC_{50} , LC_{50} oraz $NOEC$) roztworów uzyskanych po biodegradacji poliestru „Bionolle[®]”
T a b l e 2. Evaluation of toxicity (IC_{50} , LC_{50} or $NOEC$ values) of the solutions after „Bionolle[®]” polyester biodegradation

Organizm testowy	Miara toksyczności mg/dm^3	Biodegradacja	
		<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium funiculosum</i>
<i>Chlorella</i> sp.	IC_{50}	299 (285—313)	332 (319—345)
	$NOEC$	98 (61—115)	112 (90—134)
<i>Lemna minor</i>	IC_{50}	579 (541—617)	601 (564—638)
<i>Brassica rapa</i>	IC_{50}	789 (760—818)	817 (781—853)
<i>Daphnia magna</i>	LC_{50}	289 (260—318)	312 (273—351)

^{a)} Uzyskane stężenia TOC nie pozwoliły na wyznaczenie miar toksyczności roztworów po hydrolizie.

Zahamowanie przyrostu biomasy *Chlorella* sp. i *Lemna minor* oraz wzrostu korzeni *Brassica rapa* mogło być spowodowane opisywanym już w literaturze negatywnym wpływem niektórych produktów degradacji polimerów na rośliny [19]. Kim i in. [20] wykazali toksyczny efekt działania m.in. kwasu bursztynowego i kwasu adypinowego oraz 1,4-butanodiolu (substratów w syntezie badanego poliestru „Bionolle[®]”) na kiełkowanie nasion *Raphanus sativus*. Podobne zależności obserwowali także Arfsten i in. [21] w badaniach wpływu produktów hydrolizy BAK2195/CP1000 (90:10), zawierającego m.in. kwas adypinowy i 1,4-butanodiol, na kiełkowanie oraz wzrost *Brassica rapa* i *Lepidium sativum*.

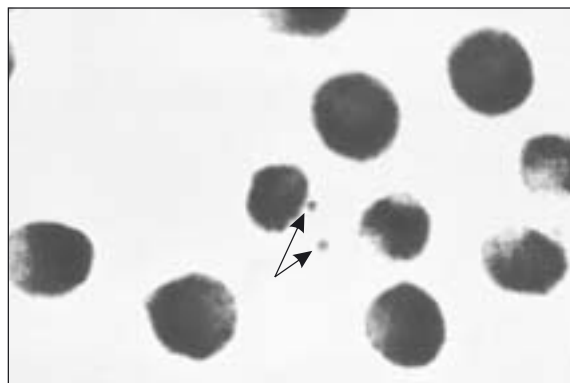
Wyznaczona w naszej pracy wartość LC_{50} (stężenie substancji powodujące śmierć połowy osobników) produktów degradacji poliestru w przypadku oddziaływania na *Daphnia magna* była niewiele większa od LC_{50} kwasu mlekowego [22]. Rozwielitka była wrażliwa również na produkty degradacji „Ecoflexu” [23].

Warto tu jednak podkreślić, że większość badań toksykologicznych dotyczących tworzyw biodegradowalnych jest prowadzona w warunkach laboratoryjnych, w których na organizmy testowe oddziałują roztwory o dużym, rzadko spotykanym w środowisku naturalnym stężeniu produktów degradacji polimerów [5, 19, 21—23]. Dlatego też tak uzyskiwane wyniki nie mogą stanowić dostatecznej podstawy do interpretowania odpowiednich zjawisk występujących w naturze.

Produkty degradacji tworzyw mogą nie tylko wpływać negatywnie na cechy fenotypowe organizmów, ale także powodować zmiany w materiale genetycznym, indukując powstawanie aberracji chromosomowych (działanie klastogenne), w wyniku których w komórkach mogą się tworzyć mikrojądra [12]. Do badania tego rodzaju zmian (genotoksyczności) wykorzystano roztwory otrzymane po degradacji folii wyłącznie przez *Penicillium funiculosum*, ponieważ charakteryzowały się one większą toksycznością w stosunku do badanych organizmów testowych niż roztwory uzyskane w wyniku biodegradacji polimeru przez *Aspergillus niger*. Określano częstość występowania w komórkach merystema-

tycznych korzeni *Allium cepa* jąder interfazowych wraz z mikrojądrami.

Rysunek 2 przedstawia interfazowe jądra i mikrojądra w komórkach cebuli.



Rys. 2. Jądra interfazowe z mikrojądrami w korzeniach *Allium cepa* wytworzone pod wpływem działania roztworu otrzymanego po biodegradacji poliestru „Bionolle[®]” przez *Penicillium funiculosum*

Fig. 2. Interface nuclei with micronuclei in *Allium cepa* roots, formed under the influence of the solution obtained after „Bionolle[®]” polyester biodegradation by *Penicillium funiculosum*

W komórkach roślin kontrolnych na 1139 jąder przypadła 3 mikrojądra, podczas gdy w roztworze pochodzącym na 1177 analizowanych jąder korzeni cebuli (hodowanej w ciągu 24 i 48 h) zidentyfikowano odpowiednio 1 oraz 5 mikrojąder. Świadczy to o braku klastogennego wpływu produktów biodegradacji poliestru na komórki merystematyczne korzeni *Allium cepa*.

Genotoksyczny efekt wykazał natomiast Evandri i in. [24] w przypadku *Allium cepa* hodowanej w wodzie w butelkach z PET. Po 56 dobach inkubacji wykryli oni ok. 100 aberracji chromosomowych na 1000 badanych komórek.

WNIOSKI

— Poliester „Bionolle[®]” ulegał pod wpływem grzybów mikroskopowych w większym stopniu degradacji niż degradacji abiotycznej.

— Produkty starzenia hydrolytycznego poliestru uwolnione w ciągu 100 dób degradacji nie wywierały toksycznego wpływu na *Chlorella* sp., *Lemna minor*, *Brassica rapa* oraz *Daphnia magna*.

— Roztwory uzyskane po biodegradacji „Bionolle[®]” z udziałem grzybów mikroskopowych były toksyczne, ale nie genotoksyczne w stosunku do badanych organizmów testowych.

Dziękujemy dr Jolancie Juchimiuk z Katedry Anatomii i Cytologii Roślin za wykonanie preparatów komórek *Allium cepa*.

LITERATURA

1. Łabużek S., Nowak B., Pająk J.: *Polimery* 2006, **51**, 27.
2. Łabużek S., Pająk J., Nowak B., Majdiuk E., Karcz J.: *Polimery* 2002, **47**, 256.
3. Łabużek S., Pająk J., Nowak B.: *Polimery* 2005, **50**, 675.
4. Nowak B.: Praca doktorska, Uniwersytet Śląski, Katowice 2006.
5. Wik A., Dave G.: *Chemosphere* 2006, **64**, 1777.
6. Lasowski R., Migula P.: „Ekotoksykologia od komórki do ekosystemu”, PWRiL, Warszawa 2004.
7. Kaczmarek H., Bajer K.: *Polimery* 2006, **51**, 716.
8. Zhao J.-H., Wang X.-Q., Zeng J., Yang G., Shi F.-H., Yan Q.: *Polym. Degrad. Stab.* 2005, **90**, 173.
9. Praca zbiorowa: „Standard methods for the examination of water and wastewater” (red. Eaton A. D., Clesceri L. S., Greenberg A. E.), American Public Health Association, Washington 1995.
10. Peltier W. H., Weber C. I.: „Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents to Freshwater and Marine Organisms”, wyd. 3., US Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, EPA/600/4-85/013, 1985.
11. Grant W. F.: *Mut. Res.* 1982, **99**, 273.
12. Maluszynska J., Juchimiuk J., Wolny E.: *Folia Histochem. Cytobiol.* 2003, **41**, 101.
13. Scott G., Gilead D.: „Degradable Polymers”, Chapman & Hall, London 1995.
14. Marten E., Müller R.-J., Deckwer W.-D.: *Polym. Degrad. Stab.* 2003, **80**, 485.
15. Kim M., Lee A., Yoon J., Chin I.: *Eur. Polym. J.* 2000, **36**, 1677.
16. Scherer T. M., Fuller R. C., Lenz R. W., Goodwin S.: *Polym. Degrad. Stab.* 1999, **64**, 267.
17. Klaassen C. D.: „Casarett & Doull’s Toxicology: The basic science of poisons”, wyd. 6., McGraw-Hill Professional, New York 2001.
18. Forbes V. E., Forbes T. L.: „Ecotoxicology in theory and practice”, Chapman & Hall, New York 1994.
19. Lewis M. A.: *Environ. Pollut.* 1994, **87**, 319.
20. Kim M. N., Lee B. Y., Lee I. M., Lee H. S., Yoon J. S.: *J. Environ. Sci. Health, Part A: Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng.* 2001, **36**, 447.
21. Arfsten D. P., Burton D. T., Fisher D. J., Callahan J., Wilson C. L., Still K. R., Spargo B. J.: *Environ. Res.* 2004, **94**, 198.
22. Bowmer C. T., Hooftman R. N., Hanstveit A. O., Vanderbosh P. W. M., van der Hoeven N.: *Chemosphere* 1998, **37**, 1317.
23. Witt U., Einig T., Yamamoto M., Kleeberg I., Deckwer W.-D., Müller R.-J.: *Chemosphere* 2001, **44**, 289.
24. Evandri M. G., Tucci P., Bolle P.: *Food Addit. Contam.* 2000, **17**, 1037.