



Mikrobiologiczna transformacja organicznych związków cyny

Przemysław Bernat, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Uniwersytet Łódzki, Łódź

Microbial transformation of organotins

Summary

Organotins are ubiquitous in the environment. They are commonly used as a component of plant protective agents, antifouling paints, PVC stabilisers, catalyst and wood preservatives. Some organotins show deleterious effects on different organisms even at very low concentration. Of particular importance to the environment is high toxicity of tributyltin (TBT). Biotransformation of organotin compounds by dealkylation or methylation has been observed. This paper focused on the interactions of microorganisms with organotins including bioaccumulation, detoxification and degradation.

Key words:

organotins, tributyltin, TBT.

1. Wprowadzenie

Związki organiczne cyny znane są od ponad stu pięćdziesięciu lat, ale szersze zastosowanie znalazły dopiero w latach czterdziestych ubiegłego wieku, przede wszystkim jako czynnik stabilizujący przy produkcji chlorku poliwinylu (PCV) (1). Szacuje się, że roczna produkcja organicznych związków cyny wynosi w skali światowej około 50 000 ton (1), z czego około 20% występuje się jako biocydy (2).

Substancje te charakteryzują się występowaniem połączeń typu: R_4Sn , R_3SnX , R_2SnX_2 , $RSnX_3$. Podstawnikami organicznymi (R) mogą być grupy metylowe, fenyłowe, butylowe, propylowe lub pentylowe. Anion X oznacza atom halogenu, grupę hydro-

Adres do korespondencji

Jerzy Długoński,
Katedra Mikrobiologii
Przemysłowej
i Biotechnologii,
Uniwersytet Łódzki,
ul. Banacha 12/16,
90-237 Łódź;
e-mail:
jdlugo@biol.uni.lodz.pl

ksylową, karboksylową lub tiolową. Dołączone grupy funkcyjne -R decydują o właściwościach biologicznych, w tym także o toksyczności danego związku, natomiast podstawnik X ma wpływ na lotność i rozpuszczalność (tab. 1).

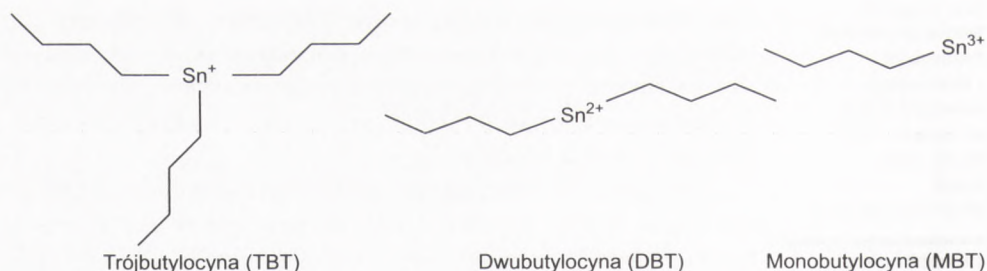
Związki typu $R\text{SnX}_3$ są dodawane do PCV jako stabilizatory, zaś $R_2\text{SnX}_2$ są stosowane jako katalizatory przy wytwarzaniu PCV, pianek poliuretanowych, silikonów, a także jako stabilizatory PCV. Dużą aktywnością biologiczną charakteryzują się związki typu $R_3\text{SnX}$. Spośród nich najbardziej rozpowszechnione są związki z dołączonymi grupami butylowymi (trójbutylocyna (TBT)) i fenylowymi (trójfenylcyna (TPT)). TBT jest używany jako stabilizator PCV, składnik farb przeciwporostowych, którymi pokrywa się kadłuby statków i konstrukcje podwodne, może także służyć jako środek konserwujący drewno, tkaniny, papier i skórę. TPT znajduje zastosowanie głównie w rolnictwie, związek ten stanowi komponent preparatów przeznaczonych do ochrony roślin. Substancje typu $R_4\text{Sn}$ stosuje się jako substraty pośrednie w syntezie innych związków cynoorganicznych (1). Wzory TBT i jego pochodnych dwubutylocyny (DBT) i monobutylocyny (MBT) zaprezentowano na rysunku.

Tabela 1

Właściwości fizykochemiczne wybranych związków cynoorganicznych (1)

Związek	Temperatura topnienia (°C)	Temperatura wrzenia (°C)	Gęstość (g/ml)
tetrabutylcyna (TTBT)	-97	145/1,3 kPa	1,06
chlerek trójbutylcyny (TBTCl)	-16	172/1,3 kPa	1,21
chlerek dwubutylocyny (DBTCl)	39-41	135/1,3 kPa	b.d.
chlerek monobutylocyny (MBTCl)	b.d.	93/1,3 kPa	1,69

b.d. – brak danych



Rys. Wzory strukturalne związków cynoorganicznych.

2. Toksyczność

Silne toksyczne działanie związków cynoorganicznych na organizm człowieka odnotowano po raz pierwszy w roku 1954, we Francji. Na skutek zastosowania, przy leczeniu gronkowcowych infekcji skórnych, preparatu Stalinon (zawierającego dwuetylocynę) zmarły 102 osoby, a ponad dwieście uległo ciężkim zatruciom (3,4).

Cyna jest metalem o małej toksyczności dla organizmów żywych. W wyniku przyłączenia do atomu cyny grup organicznych powstają związki o nowych właściwościach fizykochemicznych, które w zależności od rodzaju podstawnika wykazują działanie toksyczne o zróżnicowanym nasileniu. Toksyczność organicznych związków cyny maleje według schematu: $R_3SnX > R_2SnX_2 > RSnX_3$. Substancje typu R_4SnX są związkami o niewielkiej toksyczności (5). Według Enga i wsp. (6) toksyczność związków cynoorganicznych zależy od całkowitej powierzchni molekularnej związku (TSA – *total surface area*). Wyjątek od podanej reguły stanowi szkodliwe oddziaływanie omawianych ksenobiotyków na bakterie metanogenne: *Methanococcus thermolithotrophicus*, *M. deltae*, *Methanosarcina barkeri* 227, dla których najbardziej toksyczny jest MBT, a najmniej TBT (7). Należy również pamiętać, że organizmy mogą różnie reagować na ten sam związek cynoorganiczny. Myszy są bardziej wrażliwe na TBT, podane w tym samym stężeniu, niż szczury i świnki morskie (8). U człowieka zatrucie organizmu TBT przejawia się bólami głowy, zaburzeniami EEG, zaburzeniami wzroku i wymiotami (1).

3. Skazanie środowiska

Powszechne stosowanie organicznych związków cyny przyczyniło się do zanieczyszczenia środowiska tymi biocydami. Dotyczy to w szczególności środowiska wodnego. Wynika to zwłaszcza z powszechnego stosowania farb z dodatkiem TBT, do malowania kadłubów statków i konstrukcji podwodnych, jako czynnika ograniczającego wzrost wodnych organizmów na ich powierzchni. Ksenobiotyk ten i jego pochodne wykryto w wodach portowych na wszystkich kontynentach (9-15)), także w miejscach bardzo odległych od głównych szlaków transportowych, np. w okolicach Grenlandii (16). W porcie Osaka, w Japonii, ilość TBT w wodzie wynosiła w 1997 r. 0,002-0,033 mg/l, a w osadzie dennym 0,002-0,966 mg/kg suchej masy. Okres półrozkładu tego ksenobiotyku wynosił 8-11 dni w wodzie i 18-67 dni w osadzie (17). W badaniach przeprowadzonych przez Sarradina i wsp. (18), mających na celu oznaczenie zawartości związków cynoorganicznych w osadzie zalegającym dno małego portu Boyardville Oleron (1500 m²), na atlantyckim wybrzeżu Francji, wykazano maksymalne stężenie TBT w ilości 200 ng Sn/g. Okres półrozpadu tego ksenobiotyku wynosił 2,1 roku. Takahashi i wsp. (19) wykazali, że zawartość TBT i produktów jego rozkładu jest zróżnicowana w poszczególnych warstwach osadu. W głębszych warstwach ilość TBT uległa zmniejszeniu, zwią-

szała się natomiast zawartość DBT, która podlegała później ograniczeniu na korzyść MBT.

Związki organiczne cyny znajdujące się również w organizmach żyjących w morzach (20-22). Wykazano, że omulki kolonizujące małe porty (przystanie dla jachtów), przy śródziemnomorskim wybrzeżu Hiszpanii, zawierają więcej TBT niż omulki żyjące w obrębie portów pełnomorskich, odpowiednio 5,4 i 1,2 g Sn/g suchej masy (23). Zawartość TBT określono także w organizmach morskich pochodzących z Zatoki Gdańskiej (24). Największe ilości TBT (38,9 ng/g mokrej masy) wykryto u omulków jadalnych (*Mytilus edulis*) pobranych z wód portu przy Westerplatte. Najmniejsze ilości tego ksenobiotyku stwierdzono u organizmów zasiedlających ujście Wisły do Bałtyku. Dane te pozostają w zgodzie z rezultatami badań, które zostały przeprowadzone we wschodniej części Stanów Zjednoczonych i wykazały obecność większych ilości TBT, DBT i MBT w wątrobach ptaków żyjących na wybrzeżu morskim, niż nad wodami śródlądowymi (całkowita ilość związków cynoorganicznych wynosiła odpowiednio 90 ng/g i 27 ng/g mokrej masy) (25).

Obecność TBT zarejestrowano również w wątrobie ludzi (Polska – 11 ng/g mokrej masy, Japonia 96-360 ng/g mokrej masy) (26). Większe ilości tego biocydu u mieszkańców Japonii są najprawdopodobniej konsekwencją spożywania przez nich większych ilości owoców morza.

Należy zaznaczyć, że organiczne związki cyny wykrywane są w znacznych ilościach także w wodach śródlądowych. Przykładem może być Ren (73 ng Sn/l) oraz Jezioro Genewskie (220 ng Sn/l) (1,5). Dodatkowo, źródłem tych ksenobiotyków jest sieć wodociągowa zbudowana z rur PCV. W Kanadzie w wodzie przepływającej przez rury PCV (po 6 miesiącach od momentu montażu) wykryto monometylocynę (291 ng Sn/l), dwumetylocynę (49,1 ng Sn/l), a także MBT (28,5 ng Sn/l) i DBT (52,3 ng Sn/l) (27,28). Konsekwencją skażenia wody i/lub innych surowców używanych w procesach technologicznych, jest obecność tych związków w różnych produktach. Badacze japońscy (29) wykryli znaczną ilość organicznych związków cyny w papierze pokrytym silikonem, wykorzystywanym do opakowywania wyrobów cukierniczych i w rękawiczkach z poliuretanu (całkowita ilość TBT, DBT i MBT wynosiła odpowiednio do 180 i 230 ng/g).

Ksenobiotyki te trafiają również do oczyszczalni ścieków, gdzie ulegają częściowemu rozkładowi. W osadzie czynnym pochodzącym z oczyszczalni ścieków komunalnych (Chorzów), całkowita ilość związków (TBT, DBT i MBT) wynosiła 890 ng/dm³. Stwierdzono, że 94% substancji znajdowało się w osadzie, z czego tylko 12% ulegało rozkładowi (30). W oczyszczalni ścieków w Zurychu (Szwajcaria) zawartość związków cyny wahała się w granicach 0,3-0,8 (MBT), 0,5-1 (DBT), 0,3-1 (TBT) mg/kg suchej masy osadu ściekowego. Maksymalna degradacja TBT w trakcie procesu oczyszczania ścieków oscylowała w granicach 30% (2).

4. Mechanizm toksyczności

Organiczne związki cyny oddziałują przede wszystkim na błony biologiczne. Dzięki swojej lipofilności mogą one wnikać w błony cytoplazmatyczne, powodując naruszenie ich integralności (31), aż do ich rozerwania włącznie (1). Zwiększają przy tym ich przepuszczalność, co może prowadzić do niekontrolowanego, swobodnego, wypływu jonów z komórek, np. kationów K^+ i Ca^{++} (32).

Związki cynoorganiczne wywierają również negatywny wpływ na procesy i organelle wewnątrzkomórkowe. TBT uszkadza błony mitochondrium, powodując ich obrzmienie i rozerwanie oraz hamuje wymianę jonową i syntezę ATP. Powoduje także zablokowanie oksydacyjnej fosforylacji sprzężonej z łańcuchem oddechowym. Obserwowano też wpływ cytochromu c z mitochondrium w wyniku obniżenia przez ksenobiotyki potencjału błony (33,34).

Apoptoza hepatocytów pstrąga indukowana przez obecność TBT ($2 \mu M$) polega na wypływie jonów Ca^{++} z organelli komórkowych, co prowadzi najpierw do zwiększenia ilości tych jonów w cytozolu, a następnie aktywacji proteaz cysteinowych. Zwiększenie stężenia TBT do wartości $2,5 \mu M$ powoduje nekrozę komórek. Zwiększenie ilości wewnątrzkomórkowego Ca^{++} , w wyniku obecności TBT, odnotowali także inni autorzy (35-38). Pojawienie się nekrozy komórek w obecności wyższych stężeń TBT spowodowane może być również zablokowaniem syntezy ATP (39). W ludzkich neutrofilach, w następstwie działania ksenobiotyku, obserwowano także uszkodzenie białek cytoszkieletu, a następnie indukcję apoptozy komórek (40).

Związki cynoorganiczne przy stężeniu $1 \mu M$, powodując obniżenie aktywności nitrogenazy, wywierają negatywny wpływ na proces wiązania wolnego azotu przez sinice *Anabaena cylindrica* (41,42). TBT i DBT ingerują także w proces fotosyntezy u *Plectonema boryanum* i *A. cylindrica* (tab. 2), natomiast MBT (nawet przy stężeniu $100 \mu M$) nie wywierał wpływu na ten proces, u wspomnianych gatunków sinic (41).

Tabela 2

Toksyczne działanie związków cynoorganicznych na drobnoustroje

Obserwowany efekt	Organizm	Nazwa i stężenie związku	Literatura
1	2	3	4
IC ₅₀ fotosyntezy u sinic	<i>Plectonema boryaum</i>	1,2 μM TBT 11 μM DBT 13 μM TPT	(41)
	<i>Anabaena boryanum</i>	1 μM TBT 9 μM DBT 5 μM TPT	(41)
IC ₅₀ nitrogenazy u sinic	<i>Anabaena cylindrica</i>	1 μM TBT 3 μM DBT 2,5 μM TPT	(41)
IC ₅₀ wzrostu glonów	<i>Scenedesmus obliquus</i>	3,4 $\mu g/l$ TBT	(77)

1	2	3	4
IC ₅₀ fotosyntezy u morskich glonów	<i>Dunaliella tertiolecta</i> <i>Skeletonema costatum</i>	84 μM TPT 80 μM TPT	(39)
IC ₅₀ wzrostu szczepów drożdży	<i>Aureobasidium pullulans</i>	10 μM TBT 51 μM TPT	(86)

IC₅₀ – (inhibition concentration) – stężenie inhibicyjne, powodujące obniżenie o 50% określonej aktywności fizjologicznej organizmów testowych w badaniach subletalnych (93).

TBT może uszkadzać układ odpornościowy ssaków. Ksenobiotyk w stężeniu 200 nM obniża w 50% aktywność komórek NK człowieka (43). Przy stężeniu TBT 200 ng/ml następuje zahamowanie aromatazy komórek KGN i obniżenie poziomu P-450 arom mRNA w tych komórkach (44). TBT (7,2 μM) jest w stanie także ograniczyć lub uniemożliwić przepływ sygnału pomiędzy neuronami poprzez hamowanie aktywności acetylotransferazy cholinowej i kanału I_{Na} (45).

Bardzo duże znaczenie odgrywa w środowisku zjawisko „imposex” indukowane przez TBT, charakteryzujące się pojawieniem się u żeńskich osobników, męskich cech płciowych i ograniczeniem zdolności reprodukcyjnej populacji (46-48). Jest to związane z ingerencją TBT w procesy sterydogenezy poprzez blokowanie biotransformacji męskich hormonów płciowych (49-51). Przypadki zahamowania produkcji żeńskich hormonów płciowych na etapie przekształcania testosteronu obserwowano m.in. u małża *Ruditapes decussata* (52). U pobrażka *Littorina littorea* nie następowało tworzenie się koniugatów testosteronu z siarką, obserwowano natomiast, wraz ze wzrastającym stężeniem TBT zwiększanie się ilości testosteronu w tkankach tego mięczaka (53). Inną przyczyną tego niekorzystnego zjawiska może być neurotoksyczne oddziaływanie TBT, objawiające się ograniczeniem aktywności hormonów peptydowych odpowiedzialnych za dymorfizm płciowy (51). Zaburzenia tego procesu obserwowano u *Nucella lapillus* przy stężeniu TBT w środowisku 1 ng Sn/l (54).

Przedstawione dane świadczą o dużej wrażliwości mięczaków na obecność TBT w środowisku, dlatego też są one bardzo dobrymi organizmami wskaźnikowymi (*sentinel*), pozwalającymi wykazać nawet niewielkie ilości tych zanieczyszczeń w badanym materiale (52,55).

5. Wiązanie i przekształcanie organicznych związków cyny przez mikroorganizmy

Organiczne związki cyny mogą w środowisku naturalnym podlegać procesom akumulacji, metylacji lub dealkilacji, w wyniku czego zmienia się toksyczność tej grupy związków i ich właściwości fizykochemiczne. Na przebieg tych procesów ma wpływ wiele czynników takich jak: pH, właściwości gleby, osadu, intensywność światła, temperatura i aktywność drobnoustrojów (56-58).

Związki cynoorganiczne mogą być wiązane przez organizmy żywe podobnie jak kationy metali. Naładowane ujemnie ligandy, znajdujące się na powierzchni komórek, pozwalają na ich przyłączenie się. Obecność grup organicznych w cząsteczce omawianych ksenobiotyków sprzyja ich przenikaniu przez błony biologiczne i wnikiwaniu do cytozolu (59).

U sinic *Synechocystis* PCC6803 i *Plectonema boryanum* wykazano, że ilość akumulowanych związków zwiększa się wraz ze wzrostem masy ksenobiotyków (TPT>TBT>trójpropylocyna) (60). Wpływ na biosorpcję związków organicznych cyny może wywierać obecność barwników. Szczepy *Aureobasidium pullulans* produkujące melaninę były zdolne do akumulowania większych ilości TBT, w porównaniu do szczepów albinotycznych (odpowiednio 3,6 i 1,3 mM/g suchej masy) (61).

Wiązanie większych ilości ksenobiotyków może prowadzić do obniżenia aktywności i śmierci komórki. Proces taki obserwowano u drożdży *Candida maltosa*, które adsorbowały TBT w ilości 0,51 mmol/g (32). W badaniach przeprowadzonych przez Tam i wsp. (62) na żywych i martwych komórkach glonów z rodzaju *Scenedesmus* lub *Chlorella*, wykazano duże różnice w ilości akumulowanego TBT. Już 5 min po dodaniu ksenobiotyku do zawiesiny zabitych drobnoustrojów, ponad 90% biocydu zostało usunięte ze środowiska. W tym samym czasie, w hodowli z żywymi organizmami ilość ta wynosiła 35%. Po trzech dniach inkubacji ilość TBT pobranego z podłoża przez żywe komórki, stanowiła połowę ilości ksenobiotyku związanego przez martwe komórki glonów. Autorzy sugerują (62), że obserwowane różnice związane są ze zmianą struktury błony komórkowej, jej przepuszczalności i dostępności ligandów.

5.1 Dostępność organicznych związków cyny w środowisku

Postać w jakiej występuje ksenobiotyku wywiera bardzo duży wpływ na jego oddziaływanie na organizmy żywe. Stała dysocjacji (pKa) dla chlorku TBT wynosi 6,51. Poniżej tej wartości TBT występuje w środowisku w formie jonowej (63). Stwierdzono, że u skorupiaka *Daphnia magna* ilość akumulowanego TBT (wyjściowe stężenie 4,8 µg/l) była trzykrotnie wyższa przy pH podłoża 8 niż 6. W środowisku alkalicznym obserwowano także trzy razy większą liczbę martwych osobników niż w hodowli o pH niższym (64).

Na dostępność organicznych związków cyny istotny wpływ ma też zasolenie wody. Rozpuszczalność TBT jest większa przy niższym stężeniu NaCl w wodzie (3 i 2 mg Sn/l odpowiednio przy zawartości soli 8 i 16,1%) (65). Jony chlorkowe hamują rozpuszczalność tego ksenobiotyku łącząc się z TBT (w formie kationowej) i tworząc TBTCI (66). Podniesienie stężenia NaCl w środowisku z 50 do 500 mM powodowało zmniejszenie sorpcji TBT u sinic nawet o 55-65%. Sądzi się, że w obecności NaCl w podłożu dochodzi do zablokowania przez jony Na⁺ miejsc w których następuje przyłączenie TBT na powierzchni komórek. Zmianie może też ulec układ lipidów w błonie, co zmniejsza wrażliwość błony na szkodliwe działanie TBT (67).

5.2. Metylacja

Proces przyłączania grup metylowych do atomu cyny może nastąpić na drodze przemian abiotycznych lub biotycznych. W wyniku tych przekształceń dochodzi do powstania związków o większej lotności i zmienionej toksyczności. Jest to także istotny etap krążenia cyny w środowisku. Biometylację cyny obserwowano w próbach pobranych bezpośrednio z naturalnych środowisk, a także w hodowlach *in vitro*, zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych (5,68-70). Zazwyczaj proces metylacji trwa długo. W przypadku 55-dniowej mieszanej hodowli dwóch szczepów bakteryjnych *Bacillus*, wyizolowanych z osadu portu bostońskiego odnotowano dołączenie grup metylowych do CH_3SnCl_3 tylko w ilości 35%, przy stężeniu wyjściowym akceptora $0,17 \mu\text{M}$. Metylacji nie zaobserwowano w próbie z zabitymi drobnoustrojami (71). Uważa się, że głównym donorem grup metylowych w tym procesie jest kobalamina. Nie wyklucza się także udziału CH_3I , $(\text{CH}_3)_3\text{SI}^-$ i $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ (5,72).

5.3. Dealkilacja

W przeciwieństwie do metylacji jest to proces, w wyniku którego odłączane są grupy organiczne od atomu cyny. W środowisku degradacja bez udziału organizmów żywych zachodzi głównie pod wpływem promieniowania UV. Rozerwanie wiązania Sn-C, przy udziale promieniowania UV wymaga jedynie 190-220 kJ/mol, podczas gdy światło ultrafioletowe dostarcza około 300 kJ/mol (1).

Bardzo ważną funkcję w procesie dealkilacji spełniają w środowisku naturalnym mikroorganizmy. W wyniku postępującego odłączania grup organicznych powstają związki mniej toksyczne dla środowiska, o krótszym czasie półrozkładu. W środowisku wodnym degradacja TBT zachodzi dużo szybciej w wodzie niż osadzie dennym. Może to być spowodowane wyższą koncentracją TBT i zmniejszeniem aktywności drobnoustrojów wynikającej z mniejszej dostępności tlenu (57). Szybkość degradacji TBT zwiększa się także w cieplejszej porze roku (58). Zauważono, że szczep bakteryjny *Pseudomonas aeruginosa* oraz szczepy grzybowe *Coniophora puteana*, *Trametes versicolor* i *Chaetomium globosum* są w stanie degradować TBT z wydajnością 40%, przy stężeniu ksenobiotyku $2,5 \text{ mg/l}$ (5). Produktem końcowym był MBT, nie przekształcany przez drobnoustroje. *Pseudomonas diminuta* w przeciągu 3 dni rozkładał 90% TBT ($8 \mu\text{g/l Sn}$) do DBT i MBT. Proces ten wymagał dużego nakładu energii; dodatek do podłoża hodowlanego peptonu przyspieszał tempo degradacji (73). W przeprowadzonych przez nas badaniach (74) wykazano, że grzyb strzępkowy *Cunninghamella elegans* stosowany do hydroksylacji kortykosteroidów, może również degradować TBT (10 mg/l) do DBT i MBT z wydajnością 70%. Stwierdzono także, że obniżenie ilości ksenobiotyku w hodowli (w wyniku biodegradacji) wpływało korzystnie na szybkość wzrostu grzyba.

Zazwyczaj okres mikrobiologicznego rozkładu TBT do DBT jest dłuższy niż z DBT do MBT, np. u bakterii pochodzących z ujścia rzeki Yab do zatoki Osaka, wynosił odpowiednio 15 i 10 dni (przy stężeniu wyjściowym TBT 9,3 µg/l i DBT 8 µg/l) (57,75).

W przekształcaniu ksenobiotyków zaangażowane są często układy enzymatyczne zawierające cytochrom P-450 (cyt P-450). Również w procesach biologicznej degradacji organicznych związków cyny uczestniczą enzymy zawierające ten hemoproteid (21,66,76). Dotyczy to zwłaszcza przekształcania TBT do DBT, w mniejszym stopniu DBT do MBT (45).

Degradację TBT z udziałem cyt P-450 obserwowano u glonów (77). TBT w stężeniu 100 µg/l był degradowany do DBT i MBT przez *Chlorella* sp. i *Ch. vulgaris* (78). Ksenobiotyk ten był także przekształcany z udziałem cyt P-450 przez *Euglena gracilis* (79) oraz grzyby strzępkowe *C. elegans* (74). U ryb cyt P-450 jest zaangażowany w pierwszym etapie odalkilowania TBT, w wyniku czego powstają alfa, beta, gamma i delta hydroksydwubutylocyny (39). W następnym etapie są one łączone z cukrami i siarczkami do form wysoce polarnych, wydalanych z organizmu. Podobny przebieg ma przekształcanie i usuwanie ksenobiotyku u ssaków (80).

Należy zaznaczyć, że omawiane ksenobiotyki mogą także szkodliwie wpływać na cyt P-450 uczestniczący w procesie biodegradacji, przy czym obserwowana jest tutaj zróżnicowana wrażliwość różnych izoform cyt P-450 (49). W mikrosomach wątroby ryby *Stenotomus chrysops* izoenzym P-450 E (CYP1A1) był silniej hamowany przez TBT niż P-450 B i P-450 A (81). W innych pracach wykazano, że TBT (1mM) obniża aktywność izoenzymu cyt P-450 CYP1A oraz NADH- i NADPH-zależnej reduktazy cytochromu c (17,52,81-83). Przyjmuje się, że TBT może uszkadzać wiązanie Fe-S i/lub zakłócać proces transkrypcji genu/ów odpowiedzialnych za syntezę cyt P-450 (81,84).

6. Mechanizm odporności

Ze środowisk zanieczyszczonych związkami organicznej cyny izolowano liczne szczepy drobnoustrojów odpornych na wysokie stężenia związków cynoorganicznych (85). Za szczepy odporne na TBT uważa się takie izolaty, które wykazują zdolność do wzrostu na podłożu agarowym z dodatkiem 8,4 µM TBT (86). W przeprowadzonej analizie mikroflory osadu dennego portu w Bostonie wykazano, że aż blisko 1% wyodrębnionych drobnoustrojów spełniało to kryterium (87).

U niektórych bakterii geny związane z odpornością na TBT zlokalizowane są na plazmidach. W badaniach przeprowadzonych przez Wuertza i wsp. (88) wykazano, że przeniesienie plazmidu pUM505, z *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 do *Beijerinckia* sp. MC-27 powoduje stukrotne zwiększenie odporności na ten ksenobiotyk (z 8,4 µM TBT do 840 µM TBT). Po kilkukrotnym przepasażowaniu badanego szczepu przez podłoża nie zawierające TBT, odporność na ksenobiotyk uległa zmniejszeniu. Nie stwierdzono także obecności plazmidów.

Natomiast Suzuki i wsp. (89) opisali szczep bakterii *Alteromonas* sp. M-1, zdolny do wzrostu na podłożu z dodatkiem 125 μ M TBT. Wykazano, że mikroorganizm ten posiada aktywny mechanizm usuwający ksenobiotyk z komórki, w którym zaangażowane są białka zlokalizowane w błonie komórkowej. Ponieważ badany szczep nie ma plazmidów należy sądzić, że geny odpowiedzialne za odporność u tych bakterii są pochodzenia chromosomalnego. Do tej pory brak danych na temat mechanizmów odporności na TBT u innych drobnoustrojów, w tym grzybów.

7. Przepisy prawne

Farby z dodatkiem TBT zaczęto stosować na początku lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku. Na początku lat osiemdziesiątych we Francji i Wielkiej Brytanii zauważono, że TBT wywiera niekorzystny wpływ na populacje wielu organizmów żyjących w morzach i oceanach, nie tylko na te, które porastają kadłuby statków (5). Szczególną uwagę poświęcono zamieraniu mięczaków morskich hodowanych w skali przemysłowej w pobliżu portów.

W wyniku przeprowadzonych badań, w wielu krajach wprowadzono zakaz malowania kadłubów statków o długości do 25 m farbami z dodatkiem TBT. Przesłanką do objęcia zakazem tylko tych jednostek był fakt, że łodzie i małe statki spędzają więcej czasu w portach niż jednostki pełnomorskie.

Od 1 stycznia 2003 r. wszystkich armatorów obowiązuje dyrektywa wyspecjalizowanej organizacji ONZ – Międzynarodowej Organizacji Morskiej IMO (International Maritime Organization), dotycząca zakazu stosowania farb przeciwporostowych zawierających TBT. Zgodnie z nią do 1 stycznia 2008 r. mają być wycofane z eksploatacji statki i różnego rodzaju konstrukcje podwodne uprzednio zabezpieczone farbami z dodatkiem TBT.

W Polsce obowiązuje ustawa „Prawo wodne” z 18 lipca 2001 r. (Dz. U., nr 115, art. 40) zakazująca używania farb produkowanych na bazie związków organiczno-cynowych (TBT) do konserwacji technicznych konstrukcji podwodnych.

8. Podsumowanie

Zainteresowanie wpływem związków cynoorganicznych na środowisko uległa stałemu zwiększeniu, zwłaszcza w przeciągu ostatnich kilku lat. Szczególną uwagę poświęca się TBT. Ksenobiotyk ten zaliczany jest do grupy najbardziej toksycznych substancji, jakie są wprowadzane przez człowieka do środowiska. Nawet w śladowych stężeniach związek ten niekorzystnie wpływa na organizmy żywe. Jedynym sposobem ograniczenia jego występowania w środowisku, jak się wydaje, byłby całkowity zakaz jego stosowania.

Niemniej jednak należy mieć na uwadze, że TBT jest biocydem tanim i bardzo efektywnym. Powszechne wprowadzenie zakazu stosowania go w farbach przeciw-

porostowych przyczyni się do podniesienia kosztów transportu morskiego i zwiększenia zużycia paliwa przez statki (90). Przewidywany wzrost kosztów transportu wodnego w skali globalnej może wynieść około 1 mld USD (91). Dlatego też intensywnie poszukuje się tanich i skutecznych preparatów będących w stanie zastąpić farby przeciwporostowe z dodatkiem TBT (92).

Należy również pamiętać, że zakaz dodawania TBT do farb przeciwporostowych nie oznacza całkowitego wyeliminowania tego ksenobiotyku ze środowiska. Stosowany jest on jako składnik wielu innych preparatów używanych do zwalczania szkodników i przeciwdziałania korozji biologicznej. Dlatego, jak się wydaje, celowe jest śledzenie wpływu TBT i związków pochodnych na organizmy oraz badania mechanizmów sprzyjających ich usuwaniu ze środowiska.

Literatura

- Hoch M., (2001), *Appl. Geochem.*, (16), 719-743.
- Fent K., (1996), *Sci. Total Environ.*, 185, 151-159.
- Saxena A. K., (1987), *Appl. Organomet. Chem.*, 1, 39-56.
- Thayer J. S., (1974), *J. Organomet. Chem.*, 76, 265-295.
- White J. S., Tobin J. M., Cooney J. J., (1999), *Can. J. Microbiol.*, 45, 541-554.
- Eng G., Tierney E. J., Olson G. J., Brinckman F. E., Bellama J. M., (1991), *Appl. Organomet. Chem.*, 5, 33-37.
- Boopathy R., Daniels L., (1991), *Appl. Environ. Microb.*, 57, 1189-1193.
- Ueno S., Kashimoto T., Susa N., (2003), *Arch. Toxicol.*, 77, 3.
- Binato G., Biancoott G., Piro R., Angeletti R., (1998), *Fresen. J. Anal. Chem.*, 361, 333-337.
- Gomez-Ariza J. L., Giraldez I., Morales E., (2001), *Water Air Soil Poll.*, 126, 253-270.
- Harino H., Fukushima M., Kawai S., (2000), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 39, (1), 13-19.
- Kawai S., Kurokawa Y., Harino H., Fukushima M., (1998), *Environ. Pollut.*, 102, 2-3, 259-263.
- Morcillo Y., Borghi V., Porte C., (1997), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 32, 198-203.
- Shim W. J., Hong S. H., Yim U. H., (1998), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 35, 41-47.
- Stäb J. A., Traas T. P., Stroomberg G., van Kesteren J., (1996), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 31, 3.
- Strand J., Asmund G., (2003), *Environ. Pollut.*, 123, (1), 31-37.
- Harino H., Fukushima M., Yamamoto Y., Kawai S., Miyazaki N., (1998), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 35, 558-564.
- Sarradin P. M., Lapaquellerie Y., Astruc A., Latouche C., Astruc M., (1995), *Sci. Total. Environ.*, 18, 59-70.
- Takahashi S., Tanabe S., Takeuchi I., Miyazaki N., (1999), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 37, 50-61.
- Ishizaka T., Suzuki T., Saito Y., (1989), *J. Agr. Food. Chem.*, 37, 1096-1101.
- Krone C. A., Stein J. E., (1999), *Aquat. Toxicol.*, 45, 209-222.
- Suzuki T., Matsuda R., Saito Y. J., (1992), *Agr. Food Chem.*, 40, 1437-1443.
- Diez S., Abalos M., Bayona J. M., (2002), *Water Res.*, 36, 905-918.
- Albalat A., Potrykus J., Pempkowiak J., Porte C., (2002), *Chemosphere*, 47, 165-171.
- Kannan K., Senthilkumar K., Elliott J. E., Feyk L. A., Giesy J. P., (1998), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 35, 64-69.
- Kannan, K., Falandysz J., (1997), *Mar. Pollut. Bull.*, 34, 203-207.
- Sadiki A-I, Williams D. T., (1999), *Chemosphere*, 38, (7), 1541-1548.
- Sadiki A-I, Williams D. T., Carrier R., Thomas B., (1996), *Chemosphere*, 32, (12), 2389-2398.
- Takahashi S., Mukai H., Tanabe S., Sakayama K., Miyazaki T., Masuno H., (1999), *Environ. Pollut.*, 106, 2, 213-218.

30. Jendryczko A., Tomśka A., Bień J., (1997), V Ogólnopolskie Sympozjum Naukowo-Techniczne „Biotechnologia Środowiskowa”, Politechnika Śląska, Gliwice, cz. II, 173-180.
31. Ambrosini A., Bertoli E., Zolese G., (1996), *Appl. Organomet. Chem.*, 10, 53-59.
32. Tobin J. M., Cooney J. J., (1999), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 36, 7-12.
33. Gogvadze V., Stridh H., Orrenius S., Cotgreave I., (2002), *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 292, (4), 904-908.
34. Nishikimi A., Kira Y., Kasahara E., Sato E. F., Kanno T., Utsumi K., Inoue M., (2001), *Biochem. J.*, 356 (2), 621-626.
35. Kim G. B., Nakata H., Tanabe S., (1998), *Environ. Pollut.*, 99, 255-261.
36. Oyama Y., Arata T., Chikahisa L., Umabayashi C., Tabaru K., Sakai K., Hayashi H., (2003), *Environ. Toxicol. Phar.*, 13, 29-36.
37. Micic M., Bihari N., Labura Z., Muller W. E., (2001), *Aquat. Toxicol.*, 55, (1-2), 61-73.
38. Reader S., Moutardier V., Denizeau F., (1999), *Biochim. Bioph. Acta (BBA)/Mol. Cell Res.*, 1448, 3, 473-485.
39. Zaucke F., Zöltzer H., Krug H. F., (1998), *Fresen. J. Anal. Chem.*, 361, 386-392.
40. Lavastre V., Girard D., (2002), *J. Toxicol. Env. Health A.*, 65, (14), 1013-1024.
41. Avery S. V., Miller M. E., Codd G. A., Gadd G. M., Cooney J. J., (1991), *FEMS Microbiol. Lett.*, 84, 205-210.
42. Miller M. E., Cooney J. J., (1994), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 27, 501-506.
43. Whalen M. M., Loganathan B. G., Kannan K., (1999), *Environ. Res.*, 81, (2), 108-116.
44. Saitoh M., Yanase T., Morinaga H., Tanabe M., Mu Y. M., Nishi Y., Nomura M., Okabe T., Goto K., Takayanagi R., Nawata H., (2001), *Biochem. Bioph. Res. Com.*, 289, (1), 198-204.
45. Unno T., Inaba Y., Ohashi H., Komori S., (2002), *Toxicol. In Vitro*, 16, (2), 141-150.
46. Horiguchi T., Shiraishi H., Shimizu M., Morita M., (1997), *Environ. Pollut.*, 95, (1), 85-91.
47. Morcillo Y., Porte C., (2000), *Environ. Pollut.*, 107, (1), 47-52.
48. Oberdorster E., McClellan-Green P., (2002), *Mar. Environ. Res.*, 54, (3-5), 715-718.
49. Cooke G. M., (2002), *Toxicol. Lett.*, 126, (2), 121-130.
50. Morcillo Y., Ronis M. J. J., Solé M., Porte C., (1998), *Mar. Environ. Res.*, 46, (1-5), 583-586.
51. Oberdorster E., Rittschof D., LeBlanc G. A., (1998), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 34, 21-25.
52. Morcillo Y., Porte C., (1998), *Trends Anal. Chem.*, 17, (2), 109-116.
53. Ronis M. J. J., Mason A. Z., (1996), *Mar. Environ. Res.*, 42, 161-166.
54. Gibbs P. E., Bryan G. W., (1986), *J. Mar. Biol. Assoc.*, 66, 767-777.
55. Suzuki T., Yamamoto I. I., Yamada H., Kaniwa N., Kondo K., Murayama M., (1998), *J. Agr. Food Chem.*, (1998), 46, (1), 304-313.
56. de Mora S. J., Stewart C., Philips D., (1995), *Mar. Pollut. Bull.*, 30, 50-61.
57. Harino H., Fukushima M., Kurokawa Y., Kawai S., (1997), *Environ. Pollut.*, 98, 2, 163-167.
58. Suzuki T., Kondo K., Uchiyama M., Murayama M., (1999), *J. Agr. Food Chem.*, 47, (9), 3886-3894.
59. Phinney J. T., Bruland K. W., (1994), *Environ. Sci. Technol.*, 28, 1781-1790.
60. Avery S. V., Codd G. A., Gadd G. M., (1993), *Appl. Microbiol. Biot.*, 39, 812-817.
61. Gadd G. M., Gray D. J., Newby P. J., (1990), *Appl. Microbiol. Biot.*, 34, 116-121.
62. Tam N. F., Chong A. M., Wong Y. S., (2002), *Mar. Pollut. Bull.*, 45(1-12), 362-371.
63. Shoukry M. M., (1993), *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 130, 117-120.
64. Fent K., Looser P. W., (1995), *Water Res.*, 29, 7, 1631-1637.
65. Inaba K., Shiraishi H., Soma, U., (1995), *Water Res.*, 29, (1), 1415-1417.
66. Laurence O. S., Cooney J. J., Gadd G. M., (1989), *Microbial Ecol.*, 17, 275-285.
67. Cooney J. J., Wuertz S., (1989), *J. Ind. Microbiol.*, 4, 375-402.
68. Hallas L. E., Means J. C., Cooney J. J., (1982), *Science*, 215, 1505-1507.
69. Cooney J. J., (1988), *J. Ind. Microbiol.*, 3, 195-204.
70. Makkar N. S., Kroncik A. T., Cooney J. J., (1989), *Chemosphere*, 18, 2043-2050.
71. Makkar N. S., Cooney J. J., (1990), *Geomicrobiol. J.*, 8, 101-107.
72. Gadd G. M., (2000), *Sci. Total Environ.*, 258, 119-127.
73. Kawanishi T., Kiuchi T., Asoh H., Shibayama R., Kawai H., Ohata H., (2001), *Biochem. Pharmacol.*, 62, (7), 863-872.

74. Bernat P., Długoński J., (2002), *Biotech. Lett.*, 24, (23), 1971-1974.
75. Harino H., Fukushima M., Kurokawa Y., Kawai S., (1997), *Environ. Pollut.*, 98, 2, 157-162.
76. Fish R. H., Kimmel E. C., Casida J. E., (1976), *J. Organomet. Chem.*, 118, 41-54.
77. Huang G., Bai Z., Dai S., Xie Q., (1993), *Appl. Organomet. Chem.*, 7, 373-380.
78. Tsang C. K., Lau P. S., Tam N. F. Y., Wong Y. S., (1999), *Environ. Pollut.*, 105, 289-297.
79. Ohta M., Nakamura K., Kubo T., Suzuki T., (2001), *Biosci. Biotech. Bioch.*, 65, (1), 14-21.
80. Matsuda R., Suzuki T., Saito Y., (1993), *J. Agr. Food Chem.*, 41, 489-495.
81. Fent K., Woodin B. R., Stegeman J. J., (1998), *Comp. Biochem. Phys. C: Pharmacol. Toxicol Endocrinol.*, 121, 1-3, 277-288.
82. Fent K., Bucheli T. D., (1995), *Marine Environ. Research*, 39, 1-4, 351-352.
83. Shim W. J., Jeon J. K., Hong S. H., Kim N. S., Yim U. H., Oh J. R., Shin Y. B., (2003), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 44, 390-397.
84. Kimmel E. C., Fish R. H., Casida J. E., (1976), *J. Agr. Food Chem.*, 25, (1), 1-9.
85. Hallas L. E., Cooney J. J., (1981), *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 446-471.
86. Cooney J. J., de Rome L., Laurence O., Gadd G. M., (1989), *J. Ind. Microbiol.*, 4, 279-288.
87. Pain A., Cooney J. J., (1998), *Arch. Environ. Cont. Tox.*, 35, 412-416.
88. Miller C. E., Wuertz S., Cooney J. J., Pfister R. M., (1995), *J. Ind. Microbiol.*, 14, 337-342.
89. Suzuki S., Fukagawa T., (1995), *J. Ind. Microbiol.*, 14, (2), 154-158.
90. Abbott A., Abel P. D., Arnold D. W., Milne A., (2000), *Sci. Total Environ.*, 258, 5-19.
91. Champ M. A., (2000), *Sci. Total Environ.*, 258, 21-71.
92. Cowling M. J., Hodgkiess T., Parr A. C., Smith M. J., Marrs S. J., (2000), *Sci. Total Environ.*, 258, 129-137.
93. Łebkowska M., Załęska-Radziwiłł M., Słomczyńska B., (1999), *Toksykologia środowiskowa*, Oficyna Wydawnicza PW, 6, Warszawa.