

Aleksandra Wdowczyk

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

e-mail: aleksandra.wdowczyk@upwr.edu.pl

TESTY TOKSYCZNOŚCI JAKO UZUPEŁNIENIE MONITORINGU NA SKŁADOWISKACH ODPADÓW KOMUNALNYCH

TOXICITY TESTS AS A SUPPLEMENT TO MONITORING AT MUNICIPAL LANDFILLS

DOI: 10.15611/pn.2018.542.15

JEL Classification: Q53

Streszczenie: Celem artykułu było przedstawienie potrzeby zastosowania testów toksyczności do oceny odcieków pochodzących ze składowisk odpadów komunalnych. Z prowadzonych obecnie badań wchodzących w skład monitoringu składowisk odpadów komunalnych trudno jest precyzyjnie określić, jakie związki chemiczne mogą znajdować się w odciekach oraz jaki wpływ mogą wywierać na organizmy bytujące w środowisku. Badania te, oparte w całości na parametrach fizykochemicznych, nie obrazują rzeczywistego zanieczyszczenia wód, ponieważ większość związków obecnych w odciekach pozostaje nieznana i stanowi potencjalne zagrożenie. Autor zarekomendował wykorzystanie dwóch rodzajów testów do badań odcieków ze składowisk odpadów komunalnych, prowadzonych na *V. fischeri* i *D. magna*, m.in. ze względu na niski koszt oraz łatwość przeprowadzonych badań. Zwraca również uwagę na fakt, że poszczególne składniki odcieków mogą wywoływać odmienne reakcje, powodując synergiczne lub antagonistyczne efekty toksyczne, które nie zostaną zidentyfikowane za pomocą analiz fizykochemicznych, a mogą zostać wykryte za pomocą testów toksyczności.

Słowa kluczowe: toksyczność, wody odciekowe, zanieczyszczenie, monitoring.

Summary: The aim of this article is to present the need to use toxicity tests to assess the waste water from municipal landfills. It is difficult to determine precisely what chemical compounds can be found in leachate and what impact they can have on organisms living in the environment. These studies, based entirely on physicochemical parameters, do not illustrate the actual water pollution. The author recommended the use of two types of tests to test leachate from municipal waste dumps, carried out on *V. fischeri* and *D. magna*, among others due to the low cost and ease of the research carried out. The author draws attention to the fact that individual components of leachate may cause different reactions, causing synergistic or antagonistic toxic effects, which will not be identified by physicochemical analyses, but may be detected by means of toxicity tests.

Keywords: toxicity, leachate, pollution, monitoring.

1. Wstęp

W ostatnim czasie dużo uwagi poświęca się problemowi składowania odpadów komunalnych, co jest uwarunkowane ich negatywnym wpływem na środowisko oraz życie i zdrowie ludzi. Niesie ono za sobą ryzyko degradacji środowiska, pogorszenia krajobrazu, emisji gazów, hałasu, powstawania pyłów, jak również odcieków, którym poświęcone zostanie niniejsze opracowanie [Palmiotto i in. 2014; Downey, Willigen 2005; Fernández-González i in. 2017; Boas Berg i in. 2018].

W przeprowadzanych badaniach monitoringowych na składowiskach odpadów szczególną uwagę poświęca się emisjom mogącym pogorszyć stan środowiska wodnego – wodom odciekowym [Dyrektywa Rady 1999/31/WE; Rozporządzenie MŚ 2013], które generowane są, gdy zawartość wilgoci na składowisku przekracza jego zdolność retencyjną. Woda, infiltrując przez złożę odpadów, ułatwia przebieg reakcji chemicznych oraz rozpuszczanie i ługowanie substancji zawartych w odpadach, powodując zanieczyszczenie środowiska [Grygorczuk-Petersons, Wiater 2016; Koc-Jurczyk i in. 2018].

Skład chemiczny i mikrobiologiczny odcieków ze składowisk jest złożony i zmienny. Zależy on nie tylko od składu odpadów, budowy składowiska, warunków środowiskowych, sposobu składowania odpadów, dynamiki procesów rozkładu zachodzących wewnątrz składowiska, ale również od takich czynników jak klimat czy opady atmosferyczne [El-Fadel i in. 2002; Yao 2017; Raghav 2013; Kheradmand 2010]. Charakterystyka odcieków ze składowisk odpadów komunalnych odgrywa ważną rolę w wyborze procesu oczyszczania. Do parametrów, które mają istotne znaczenie w tym procesie, należy wiek odcieków oraz stosunek BZT5/ChZT. Dopiero na ich podstawie dobiera się metodę, tj.: obróbka fizykochemiczna, biologiczna i procesy hybrydowe, kombinowane, sprzężone [Kumar Triphaty, Kumar 2017].

Jest to o tyle ważne, że do oczyszczalni ścieków docierają wody odciekowe ze składowisk odpadów, które niejednokrotnie zawierają duże ilości niezdefiniowanych substancji, o nieznanym stężeniu toksycznych i opornych substancji organicznych, co znacząco może wpłynąć na pracę oczyszczalni, będąc przeszkodą w stosowaniu tradycyjnych biologicznych procesów obróbki [Farré, Barceló 2003; Amor i in. 2015].

Dlatego też monitoring odcieków ze składowisk odpadów obejmuje identyfikację poszczególnych zanieczyszczeń za pomocą analiz chemicznych. Choć analizy te pozwalają określić szereg zanieczyszczeń, to i tak w wielu przypadkach znaczna część toksycznych substancji pozostaje niewykryta. Główną tego przyczyną jest ich występowanie w niskich stężeniach lub polarność, co z kolei prowadzi do niedoszacowania toksyczności odcieków [Thomas i in. 2009; Ghosh i in. 2017]. Zgodnie z obowiązującymi w Polsce przepisami prawnymi, monitoring odcieków składowiskowych i wód występujących w otoczeniu składowisk odpadów komunalnych obejmuje: odczyn, przewodność elektrolityczną właściwą, zawartość ogólnego węgla organicznego, miedzi, cynku, ołowiu, kadmu, chromu, rtęci, sumę wielopier-

ścieniowych węglowodorów aromatycznych [Rozporządzenie MŚ 2013]. Niemniej jednak badania wykazują, że wody odciekowe mogą zawierać znacznie więcej substancji, a ich skład na różnych składowiskach może wykazywać znaczące różnice [Öman, Junestedt 2008].

Stosowane analizy chemiczne umożliwiają wykrycie pojedynczego związku lub ich ograniczonej grupy w danym czasie. Nie pozwalają jednak na dokonanie pełnej oceny zanieczyszczeń w próbce i ich toksyczności, która ma najistotniejsze znaczenie z punktu widzenia organizmów bytujących w środowisku [Hassan i in. 2016]. Niedoszacowanie substancji, w środowisku wodnym, powoduje narażenie żyjących tam zwierząt na działanie mieszanin zanieczyszczeń. Poszczególne ich składniki mogą wywoływać odmienne reakcje, powodując synergiczne lub antagonistyczne efekty toksyczne [Barata i in. 2006], np. podczas prowadzonych badań toksyczności na organizmie testowym *Daphnia magna* udowodniono, że substancje występujące samoistnie mogą wywołać inne działanie niż mieszanina tych związków [Liu i in. 2018].

Mając na uwadze, że sama analiza chemiczna nie ujawnia złożonych interakcji pomiędzy zanieczyszczeniami, opracowano szereg testów, które pozwalają na oszacowanie poziomu toksyczności.

Celem niniejszego opracowania było przedstawienie potrzeby zastosowania testów toksyczności opartych na organizmach *Daphnia magna* oraz *Vibrio fischeri* do oceny odcieków pochodzących ze składowisk odpadów komunalnych, gdyż ze względu na łatwość i niskie koszty ich przeprowadzenia mogą one stanowić uzupełnienie i poszerzenie aktualnie obowiązującego monitoringu środowiskowego.

2. Testy toksyczności prowadzone na bakteriach *Vibrio fischeri*

Istnieje szeroka gama testów mikrobiologicznych służących do oceny toksyczności. Są one dobrą alternatywą dla tych prowadzonych na wyższych organizmach, których badanie generuje m.in. wysokie koszty [Chen i in. 2017]. Wykorzystują one różne mechanizmy, m.in. oparte na:

- zdolności mikroorganizmów do przekształcania węgla, siarki lub azotu,
- aktywności enzymatycznej, takiej jak wykorzystanie ATP, kwaśnej i alkalicznej fosfatazy, dehydrogenaz i innych enzymów,
- wzroście, śmiertelności lub aktywności fotosyntetycznej drobnoustrojów,
- wychwycie glukozy,
- zużyciu tlenu oraz
- wydajności luminescencji [Tothill, Turner 1996].

W badaniach najczęściej wykorzystywany jest mechanizm oparty na zjawisku bioluminescencji, ze względu na komercyjny dostęp do testów w różnych wersjach, łatwość wykonania oraz krótki czas trwania – wynoszący zaledwie 5–30 minut [Abbas i in. 2018; Parvez i in. 2006].

Najszerzej stosowaną bakterią do analizy ekotoksyczności jest bakteria morska *Vibrio fischeri*, rozpowszechniona w subtropikalnych i umiarkowanych środowiskach morskich, charakteryzująca się naturalną luminescencją [Aruoja i in. 2011]. W prowadzonych badaniach z użyciem *Vibrio fischeri* toksyczność substancji jest oceniana na podstawie zjawiska luminescencji, tj. wytwarzania światła, które jest wprost proporcjonalne do aktywności metabolicznej populacji bakterii, a jakiegokolwiek hamowanie aktywności enzymatycznej powoduje odpowiednie zmniejszenie bioluminescencji [Parvez i in. 2006]. Poziom toksyczności mierzony jest za pomocą lumenometru, który umożliwia pomiar intensywności światła emitowanego przez bakterie luminescencyjne w jednostce czasu. Zwalnianie metabolizmu bakterii przejawia się osłabieniem emisji światła, co odpowiada poziomowi toksyczności testowanej substancji [Abbas i in. 2018]. Toksyczność w próbkach jest wyrażana jako takie stężenie badanego związku, które powoduje 50% hamowanie procesu luminescencji u bakterii testowych, w odniesieniu do czasu trwania eksperymentu (EC50) [Trusz-Zdybek i in. 2012].

Vibrio fischeri znalazła zastosowanie m.in. jako narzędzie służące do oceny stopnia zanieczyszczenia wód [Boluda i in. 2002; Zadorozhnaya 2015], osadów dennyh [Gao M. i in. 2018; Cieszyńska-Semenowicz i in. 2018] i gleb [Brohon, Gourdon 2000; Chen i in. 2017].

Dotąd *Vibrio fischeri* nie były powszechnie wykorzystywane do sporządzania charakterystyki odcieków ze składowisk, jednak w literaturze można odnaleźć informację, że bardzo dobrze się sprawdziły przy sporządzeniu pełnej charakterystyki odcieków pochodzących z trzech składowisk odpadów komunalnych na Tajwanie. Zastosowano je w teście ostrej toksyczności. Prowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że odcieki pochodzące z jednego składowiska są poważnie toksyczne, a z dwóch pozostałych nietoksyczne, co stanowiło bardzo dobre uzupełnienie prowadzonej analizy chemicznej i pozwoliło na jednoznaczne stwierdzenie toksyczności próbek [Fan i in. 2006].

Gatunek ten wykorzystano również do badania toksyczności związków organicznych zawartych w odciekach z dziesięciu duńskich składowisk odpadów. *Vibrio fischeri* stanowił jedną ze składowych użytej baterii biotestu. Test przeprowadzono zgodnie ze standardem ISO, stosując liofilizowane *Vibrio fischeri* dostarczone w zestawie BioTox TM jako organizmy testowe. Testy przeprowadzono w 1 ml szklanych fiolkach, stosując pięć stężeń w dwóch powtórzeniach i dwie kontrole w każdym teście. Jako punkt końcowy zastosowano zmniejszenie luminescencji bakterii po 15 minutach. Prowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że znaczna część toksycznych związków chemicznych będących w odciekach składowiskowych pozostaje nieznana i zaleca się łączenie analiz chemicznych i toksykologicznych w przyszłych programach monitorowania tego typu obiektów [Baun i in. 2004].

Vibrio fischeri stanowiła także jeden z trzech organizmów wskaźnikowych, obok rozwielitki *Daphnia sp.* *Artemia Salina Microcrustaceae* i ryby *Brachydanio rerio*, do oceny ostrej toksyczności odcieków pochodzących ze składowisk odpadów

sanitarnych. *Vibrio fischeri* wykazała się mniejszą wrażliwością niż pozostałe organizmy na surowy odciek, lecz największą wrażliwością na ten, który poddano wcześniej procesom koagulacji/flokulacji, chociaż był on mniej toksyczny. Najprawdopodobniej było to związane ze zwiększeniem stężenia glinu w oczyszczonym odcieku, który niekorzystnie wpłynął na ich metabolizm [Silva i in. 2004]. Powyższe potwierdza konieczność badania odcieków za pomocą organizmów reprezentujących różne poziomy troficzne, co z kolei umożliwia prawidłową interpretację wyników.

Testy biologiczne oparte na bakteriach mogą być użyteczne, w szczególności jako metody wczesnego ostrzegania, dzięki ich szybkiej reakcji na toksyny biologiczne lub chemiczne [Girotti i in. 2008]. Oprócz bakterii *V. fischeri*, do testów toksyczności opartych na zjawisku bioluminescencji stosuje się także inne bakterie, tj. *Vibrio harvey*, *Pseudomonas fluorescens* i *Pseudomonas leiognathi* [Girotti i in. 2008]. Niemniej jednak prowadzone badania pokazały że *V. fischeri* jest gatunkiem najbardziej wrażliwym spośród bakterii wykorzystywanych do badań toksyczności [Aruoja i in. 2011].

Obecnie do najszerzej stosowanych testów dostępnych komercyjnie opartych na zjawisku bioluminescencji należą: Microtox®, LUMISTox® i ToxAlert® [Farre, Barcelo 2003]. Microtox® jest testem wrażliwym na szerokie spektrum chemikaliów i wykazał dobrą korelację z innymi standardowymi testami, dlatego też został określony jako skuteczne narzędzie do oceny toksyczności: ścieków [Araújo i in. 2005] oraz 16 cieczy jonowych [Hernandez-Fernandez i in. 2015]. Microtox® okazał się również świetnym narzędziem przesiewowym do klasyfikacji toksyczności odpadów, wykazując się wysoką wrażliwością na toksyczność w ekstraktach organicznych. Pozwoliło to na zidentyfikowanie próbek odpadów o wysokiej toksyczności, umożliwiając tym samym ich klasyfikację jako niebezpiecznych, bez konieczności wykonywania dalszych testów, co znacząco obniżyło koszty, ale także i czas trwania badań. Test opierał się na pomiarze emisji światła w autoluminescencyjnej bakterii *V. fischeri*, przeprowadzono go przy użyciu analizatora Microtox® M500; emisje światła monitorowano po 5 minutach, 15 minutach i 30 minutach. Wyniki otrzymane po 30 minutach uznano za ostateczne [Weltens i in. 2014].

Microtox® został również wykorzystany i pozytywnie oceniony w badaniach nad możliwością zastosowania alternatywnych chemicznych i biologicznych testów przesiewowych w celu klasyfikacji zagrożenia odpadami. Otrzymane wyniki pokazały, że test pozwala na uszeregowanie większości próbek zgodnie z toksycznością, nawet gdy jest ona niska. Zestawiono go także z innym testem bakteryjnym – Vitotoxem, który wykazywał się taką samą wrażliwością, ale ze względu na różnice w czasie tj. analiza Microtox® – 30 minut, a Vitotox – 4 godziny, Microtox® został uznany za preferowane narzędzie przesiewowe [Dopez i in. 2012].

W prowadzonych badaniach nad oceną toksyczności chemicznej za pomocą fotobakterii bioluminescencyjnej (*Vibrio fischeri*) porównano trzy komercyjnie wykorzystywane testy, tj.: Microtox®, LUMISTox® i ToxAlert®. W otrzymanych wynikach dla ponad 80 różnych związków chemicznych wykazano, że wszystkie

charakteryzują się dobrą dokładnością, są zgodne, a zaobserwowane niewielkie rozbieżności najprawdopodobniej wynikają z różnic pomiędzy procedurami laboratoryjnymi i sposobem przygotowywania związków [Jennings i in. 2001].

3. Testy toksyczności prowadzone na *Daphnia magna*

Skorupiaki z rodziny *Daphniidae* są najpowszechniejszym i najważniejszym organizmem wykorzystywanym do badań toksyczności substancji chemicznych oraz monitorowania toksyczności zanieczyszczonych wód. W szczególności przedstawiciel rodziny – *Daphnia magna* (rozwieltka) jest zalecany w międzynarodowych wytycznych dotyczących badań toksyczności jako gatunek modelowy [Cui i in. 2017; OECD 2004; Persoone i in. 2009]. Jest on wrażliwy na szeroki zakres zanieczyszczeń wodnych i zmiany środowiskowe, dlatego jest powszechnie stosowany w badaniach toksyczności na całym świecie, dostarczając wielu informacji na temat stanu środowiska [Attanasio 2018]. Jego niewątpliwą zaletą jest niewielki rozmiar, krótki cykl życia (który pozwala na szybkie przeprowadzenie testów) oraz względna łatwość hodowli w warunkach laboratoryjnych [Environment Canada 2000; Steinkey i in. 2018; Manakul i in. 2017].

Prowadzone testy toksyczności polegają na określeniu liczby osobników, u których stwierdzono reakcję na dany związek chemiczny lub inne zaburzenia w środowisku. Wyróżnia się testy toksyczności: podostrej (subletalnej), ostrej (letalnej) i chronicznej [Piontek i in. 2012]. Większość badań toksykologicznych przeprowadzonych na tych skorupiakach opiera się na testach toksyczności ostrej, gdzie oceniane jest śmiertelność lub immobilizacja organizmów. Jednakże w celu uzyskania bardziej szczegółowych informacji na temat toksyczności, zwłaszcza skutków subletalnych wywołanych niższymi stężeniami substancji toksycznych, stosuje się obserwację zmian we wzroście, rozmnażaniu, zachowaniu pływackim i innych cechach [Bownik 2017; Persoone i in. 2009].

W literaturze można odnaleźć badania, w których zestawiano odpowiedzi letalne z subletalnymi u osobnika *Daphnia magna*, np. podczas badań nad interaktywną toksycznością Ni, Zn, Cu i Cd, stwierdzając, że metale są toksyczne dla zachowania żywieniowego *D. magna* przy znacznie niższych stężeniach (tj. 27–63 razy niższych) w porównaniu do funkcji przeżycia [Lari i in. 2017]. Autorzy badaniem potwierdzili słuszność prowadzenia obserwacji nie tylko funkcji letalnych, ale także i subletalnych.

Jednak większość badań prowadzonych na tych organizmach opiera się na testach toksyczności ostrej (letalnych), gdzie organizmy poddawane są 24- i 48-godzinnej ekspozycji na różne stężenia ścieków i badanego środka. Warto podkreślić, że w odróżnieniu od testów subletalnych nie zapewniają one możliwości wglądu w mechanizm toksyczności lub wpływ substancji toksycznej na zachowanie osobników [Barrozo i in. 2015]. Testy toksyczności ostrej najczęściej prowadzone są w oparciu o wstępnie ustalony zakres stężeń substancji. Do badań mogą być wyko-

rzystywane jedynie osobniki posiadające mniej niż 24 godziny, reprezentujące płę żeńską. Zgodnie z obowiązującymi wytycznymi organizmy nie mogą być karmione podczas testu, a ich gęstość w roztworach nie może przekraczać jednego zwierzęcia na 15 ml [OECD 2004]. Badania wykonuje się w małych zlewkach z kilkukrotną ilością powtórzeń, np. 10 organizmów w każdym z pięciu powtórzeń na 200 ml różnych stężeń [Lari i in. 2017]. Zwykle oprócz prowadzonych testów wykonywany jest także monitoring jakości wody, tj. temperatura, rozpuszczony tlen, pH, twardość i przewodność. Za koniec pomiaru uważa się upływ okresu 48 godzin, kiedy 50% populacji jest nieruchome [Hassan i in. 2016].

Testy wykonywane są powszechnie w celu dokonania oceny różnego rodzaju zanieczyszczeń, także do oceny wpływu mieszanin substancji i wielu zanieczyszczeń w próbkach laboratoryjnych i terenowych [Barata i in. 2006]. *Daphnie* wykorzystywane były również m.in. w badaniach: oceny ostrej toksyczności 18 cieczy jonowych, gdzie były jednym z trzech organizmów reprezentatywnych, wśród alg i ryb [Pretti i in. 2009]; oceny ryzyka związanego ze stosowanymi substancjami chemicznymi, np. badanie toksyczności ostrej chlorowanych anilin [Dom i in. 2010]; oceny stresu oksydacyjnego powodowanego przez nanocząsteczki TiO₂ [Kim i in. 2010]; oceny toksyczności działania kadmu na nanomateriałach [Gao i in. 2018] oraz oceny toksyczności miedzi [Park i in. 2018].

Zastosowanie zintegrowanych badań ekotoksykologicznych do monitorowania odcieków ze składowisk stanowi nową dziedzinę możliwości ich wykorzystania, dlatego w literaturze można odnaleźć tylko nieliczne przykłady takiego zastosowania.

Daphnia wykorzystywana była w badaniach nad narzędziem do klasyfikacji odpadów, jako jedna ze składowych baterii biotestu obok bakterii i alg. Wykonano 24- i 48-godzinny test ostrej toksyczności bazujący na pomiarze unieruchomienia skorupiaków. Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że biotesty mierzą bezpośredni ładunek toksyczny, dając prosty wynik oceny zagrożenia, w odróżnieniu od stosowanych analiz fizykochemicznych. Dlatego też wydają się dobrym narzędziem, które powinno być powszechnie wykorzystywane do prowadzenia tego typu badań [Weltens i in. 2014].

W ramach realizowanego projektu „Ocena wpływu wybranych składowisk odpadów komunalnych na ekotoksyczność wód podziemnych w województwie pomorskim” badano wody podziemne z użyciem bakterii *Vibrio fischeri* oraz bezkręgowców *Daphnia magna*. Dla obu organizmów wykonano test ostrej toksyczności, dodatkowo dla *Daphni* wykonano badania toksyczności przewlekłej (tj. 21-dniowej ekspozycji, gdzie za punkt końcowy testu uważa się przeżycie i rozmnażanie rozwielitek [Tišler i in. 2004]). Zaobserwowano, że nie ma prostej korelacji pomiędzy fizykochemiczną klasą czystości wody a rzeczywistą ekotoksycznością badanych próbek. Badania pozwoliły na jednoznaczne stwierdzenie, że klasyfikacja oparta tylko na parametrach fizykochemicznych nie jest wystarczająca, by oszacować ryzyko związane z rzeczywistym zanieczyszczeniem wód podziemnych czy odciekowych, ponieważ większość związków obecnych w odciekach pozostaje nieznana

i stanowi potencjalne zagrożenie dla środowiska wodnego, organizmów wodnych i ludzi [Wolska i in. 2007].

Do badań ekotoksyczności najczęściej wykorzystywany jest *Daphnia magna*, ale stosowane są również inne gatunki, tj.: *Daphnia similes*, *Artemia salina*, *Thamnocephalus platyurus* i *Brachionus plicatilis* [Ghosh i in. 2017].

4. Dyskusja

Przeprowadzone badania wykazały, że obowiązujący zakres monitoringu jest mało efektywny oraz może dostarczać niepełnych informacji na temat oddziaływania na środowisko wodne. Okazuje się bowiem, że dodanie zaledwie 2–3 nowych parametrów do badań monitoringowych może całkowicie zmienić postrzeganie toksyczności danego odcieku pochodzącego ze składowiska [Wdowczyk, Szymańska-Pulikowska 2018]. Stąd istnieje potrzeba uzupełnienia prowadzonego monitoringu o dodatkowe badania, np. takie jak testy toksyczności.

W literaturze przedmiotu spotkać można różne poglądy dotyczące zakresu przeprowadzanych testów toksyczności. Jednym ze stanowisk jest sporządzenie analizy z zastosowaniem organizmów reprezentujących różne poziomy troficzne, czyli wykorzystaniem baterii testów biologicznych. Tak przeprowadzona analiza pozwoli na wykonanie pełnej oceny profilu toksyczności organizmów o różnych trybach funkcjonowania i wrażliwości, stanowiąc doskonałe uzupełnienie dla prowadzonych analiz chemicznych [Hernando i in. 2007; Ghosh i in. 2017; Baun i in. 2004]. Należy jednak mieć na uwadze, że różne reakcje badanych organizmów mogą utrudnić prawidłową interpretację wyników toksyczności [Silva i in. 2004]. Stwierdzono, że jeden test o szerokim spektrum działania może zastąpić baterię biotestów i być wykorzystywany jako początkowe narzędzie przesiewowe [Deprez i in. 2012].

Ciekawym rozwiązaniem przy ocenie jakości odcieków pochodzących ze składowisk odpadów wydaje się zastosowanie wielopoziomowego podejścia, które obejmuje następujące etapy:

- I etap – analiza fizykochemiczna wykonywana we wszystkich przypadkach,
- II etap – sporządzenie ogólnej oceny toksyczności, która mogłaby być wykorzystywana jako podstawowe narzędzie przesiewowe,
- III etap – zastosowanie baterii biotestów, która pozwoli na sporządzenie pełnej oceny profilu [Deprez i in. 2012].

Dla tak złożonych wycieków, jak odcieki ze składowisk odpadów komunalnych, oprócz analizy fizykochemicznej, która jest obligatoryjnie przeprowadzana w ramach monitoringu, warto byłoby dodać sporządzenie ogólnej oceny toksyczności w każdej badanej próbce – z zastosowaniem jednego-dwóch organizmów testowych. Dalsze badania z wykorzystaniem baterii biotestów zalecane byłyby tylko w wybranych przypadkach, kiedy analiza ta byłaby wymagana.

5. Podsumowanie

Prowadzone obecnie badania fizykochemiczne na składowiskach odpadów komunalnych nie pozwalają na wykrycie wszystkich substancji wchodzących w skład odcieków składowiskowych, a co za tym idzie – ich toksyczności. Stąd też zidentyfikowano potrzebę poszerzenia badań monitoringowych w sposób, który pozwoli na ich właściwą ocenę. Najlepszym rozwiązaniem wydaje się wykonywanie, popularnie stosowanych w innych dziedzinach, testów toksyczności, które dotąd nie były powszechnie wykorzystywane w tego typu analizach. Zastosowanie testów do oceny odcieków stanowi nową możliwość ich wykorzystania.

Obecnie testy toksyczności są prowadzone z użyciem wielu organizmów, które reprezentują różne poziomy troficzne, oprócz opisanych bakterii *Vibrio fischeri* czy bezkręgowców *Daphnia magna*, również na mikroalgach (*Pseudokirchneriella subcapitata*), rybach (*Carassius auratus*) czy ssakach [Bortolotto i in. 2009; Ghosh i in. 2017]. Niemniej jednak ze względów etycznych, jak również kosztowych w artykule zarekomendowano i opisano jedynie testy toksyczności prowadzone na 2 organizmach, które są powszechnie dostępne w Polsce oraz pozwalają na szybkie uzyskanie wyniku przeprowadzonego badania. Z analizy literatury wynika bowiem, że organizmem nadającym się do oceny toksyczności odcieków jest *V. fischeri*, która jest najbardziej wrażliwą z bakterii wykorzystywanych do badań toksyczności, oraz bezkręgowce *D. magna* ze względu na łatwość hodowli w warunkach laboratoryjnych. Na względzie należy mieć również fakt, że do badań na tych organizmach nie są potrzebne zgody wymagane przepisami prawnymi.

Literatura

- Abbas M., Adil M., Ehtisham-ul-Haque S., Munir B., Yammen M., Ghaffar A., Abbas Shar G., Tahr M.A., Iqbal M., 2018, *Vibrio fischeri* bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: A review, Science of The Total Environment, vol. 626.
- Amor C., Torres-Socia E., Peres A., Maldonado L.M., Oller I., Malato S., Lucas M.S., 2015, *Mature landfill leachate treatment by coagulation/flocculation combined with Fenton and solar photo-Fenton processes*, Journal of Hazardous Materials, vol. 286.
- Araújo C.V., Nascimento R.B., Oliveira C.A., Strotmann U.J., da Silva E.M., 2005, *The use of Microtox® to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camaçari (BA, Brazil)*, Chemosphere, vol. 58, no. 9.
- Aruoja V., Sihtmäe M., Dubourguier H.-C., Kahru A., 2011, *Toxicity of 58 substituted anilines and phenols to algae Pseudokirchneriella subcapitata and bacteria Vibrio fischeri: comparison with published data and QSARs*, Chemosphere, vol. 84, no. 10.
- Attanasio R., 2018, *Understanding the Daphnia magna – microbiota crosstalk is an essential step to improve ecotoxicogenomics-based testing*, Integrated Environmental Assessment and Management, vol. 14, no. 1.

- Barata C., Baird D.J., Miñarro A., Soares A.M.V.M., 2000, *Do genotype responses always converge from lethal to non-lethal toxicant exposure levels? A hypothesis tested using laboratory Daphnia magna Straus clones*, Environ. Toxicol. Chem., no. 19.
- Barata C., Baird D.J., Nogueira A.J.A., Soares A.M.V.M., Riva M.C., 2006, *Toxicity of binary mixtures of metals and pyrethroid insecticides to Daphnia magna Straus. Implications for multi-substance risks assessment*, Aquat. Toxicol., no. 78.
- Barrozo E.R., Fowler D.A., Beckman M.L., 2015, *Exposure to D2-like dopamine receptor agonists inhibits swimming in Daphnia magna*, Pharmacol. Biochem. Behav., no. 137.
- Baun A., Ledin A., Reitzel L.A., Bjerg P.L., Christensen T.H., 2004, *Xenobiotic organic compounds in leachates from ten Danish MSW landfills – chemical analysis and toxicity tests*, Water Research, vol. 38, no. 18.
- Boas Berg A., Radziemska M., Adamcová D., Zloch J., Vaverkov M.D., 2018, *Assessment strategies for municipal selective waste collection – regional waste management*, Journal of Ecological Engineering, vol. 19, no. 1.
- Boluda R., Quintanilla J.F., Bonilla J.A., Sáez E., Gamón M., 2002, *Application of the Microtox® test and pollution indices to the study of water toxicity in the Albufera Natural Park (Valencia, Spain)*, Chemosphere, vol. 46, no. 2.
- Bortolotto T., Bertoldo J.B., da Silveira F.Z., Defaveri T.M., Silvano J., Pich C.T., 2009, *Evaluation of the toxic and genotoxic potential of landfill leachates using bioassays*, Environ. Toxicol. Pharmacol., vol. 28.
- Bownik A., 2017, *Daphnia swimming behaviour as a biomarker in toxicity assessment: a review*, Sci. Total Environ., no. 601–602.
- Brohon B., Gourdon R., 2000, *Influence of soil microbial activity level on the determination of contaminated soil toxicity using LUMISTox® and MetPlate bioassays*, Soil Biology and Biochemistry, vol. 32, no. 6.
- Chen S.S., Sun Y., Tsang D.C., Graham N.J.D., Ok Y.S., Feng Y., Li X.-D., 2017, *Potential impact of flowback water from hydraulic fracturing on agricultural soil quality: metal/metalloid bioaccessibility, Microtox® bioassay, and enzyme activities*, Sci. Total Environ., vol. 579.
- Cieszynska-Semenowicz M., Rogowska J., Ratajczyk W., Ratajczyk J., Wolska L., 2018, *Toxicity studies of elemental sulfur in marine sediments*, International Journal of Sediment Research, vol. 33, no. 2.
- Cui R., Chae I. Y., An Y.-J., 2017, *Dimension-dependent toxicity of silver nanomaterials on the cladocerans Daphnia magna and Daphnia galeata*, Chemosphere, vol. 185.
- Deprez K., Robbens J., Nobels I., Vanparys C., Vanermen G., Tirez K., Michiels L., Weltens R., 2012, *DISCRISSET: a battery of tests for fast waste classification – application of tests on waste extracts*, Waste Manag., vol. 32, no. 12.
- Dom N., Knapen D., Benoot D., Nobels I., Blus R., 2010, *Aquatic multi-species acute toxicity of (chlorinated) anilines: Experimental versus predicted data*, Chemosphere, vol. 81, no. 2.
- Downey L., Van Willigen M., 2005, *Environmental stressors: the mental health impacts of living near industrial activity*, Journal of Health and Social Behavior, vol. 46, no. 3.
- Dyrektywa Rady 1999/31/WE z 26 kwietnia 1999 r. w sprawie składowania odpadów, Dz.Urz.U.E.L 182 z 16 lipca 1999 r.
- El-Fadel M., Bou-Zeid E., Chahine W., Alayli B., 2002, *Temporal variation of leachate quality from pre-sorted and baled municipal solid waste with high organic and moisture content*, Waste Management, vol. 22, no. 3.
- Environment Canada EPS 1/RM/14 Biological Test Method: Reference Method for Determining Acute Lethality of Effluents to *Daphnia magna*, 2000, <https://www.ec.gc.ca/faunescience-wildlife-science/default.asp?lang=En&n=CF33F86F-1>.
- Fan H.J., Shu H.Y., Yang H.S., Chen W.C., 2006, *Characteristics of landfill leachates in central Taiwan*, Sci. Total Environ., vol. 361, no. 1–3.

- Farré M., Barceló D., 2003, *Toxicity testing of wastewater and sewage sludge by biosensors, bioassays and chemical analysis*, TrAC Trends in Analytical Chemistry, vol. 22, no. 5.
- Fernández-González J.M., Grindlay A.L., Serrano-Bernardo F., Rodríguez-Rojas M.I., Zamorano M., 2017, *Economic and environmental review of Waste-to-Energy systems for municipal solid waste management in medium and small municipalities*, Waste Manage., vol. 67.
- Gao L., Wang Z., Li S., Chen J., 2018, *Bioavailability and toxicity of trace metals (Cd, Cr, Cu, Ni, and Zn) in sediment cores from the Shima River, South China*, Chemosphere, vol. 192.
- Gao M., Zhang Z., Lv M., Song W., Lv Y., 2018, *Toxic effects of nanomaterial-adsorbed cadmium on Daphnia magna*, Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 148.
- Ghosh P., Thakur I.S., Kaushik A., 2017, *Bioassays for toxicological risk assessment of landfill leachate: A review*, Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 141.
- Girotti S., Ferri E.N., Fumo M.G., Maiolini E., 2008, *Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria*, Analytica Chimica Acta, vol. 608, no. 1.
- Grygorczuk-Petersons E.H., Wiater J., 2016, *Effect of sealed municipal waste landfill on the quality of underground water*, Journal of Ecological Engineering, vol. 17, no. 1.
- Hassan S.H. A., Ginkel S.W. van, Hussein M.A.M., Abskharon R., Oh S.-E., 2016, *Toxicity assessment using different bioassays and microbial biosensors*, Environment International, vol. 92–93.
- Hernandez-Fernandez F.J., Bayo J., Peres de los Rios A., Vincente M.A., Bernal F.J., Quesada-Medina J., 2015, *Discovering less toxic ionic liquids by using the Microtox® toxicity test* Ecotoxicol, Environ. Saf., vol. 116.
- Hernando M.D., Vettori S. de, Martínez Bueno M.J., Fernández-Alba A.R., 2007, *Toxicity evaluation with Vibrio fischeri test of organic chemicals used in aquaculture*, Chemosphere, vol. 68, no. 4.
- Jennings V.L.K., Rayner-Brandes M.H., Bird D.J., 2001, *Assessing chemical toxicity with the bioluminescent photobacterium (Vibrio fischeri): a comparison of three commercial systems*, Water Research, vol. 35, no. 14.
- Kheradmand S., Karimi-Jashni A., Sartaj M., 2010, *Treatment of municipal landfill leachate using a combined anaerobic digester and activated sludge system*, Waste Management, vol. 30, no. 6.
- Kim K.T., Klaine S.J., Cho J., Kim S.-H., Kim S.D., 2010, *Oxidative stress responses of Daphnia magna exposed to TiO₂ nanoparticles according to size fraction*, Science of The Total Environment, vol. 408, no. 10.
- Koc-Jurczyk J., Jurczyk Ł., Urbańska M., 2018, *Effect of technological conditions on removing organic substances from landfill leachates*, Journal of Ecological Engineering, vol. 19, no. 1.
- Kumar Tripathy B., Kumar M., 2017, *Suitability of microwave and microwave-coupled systems for landfill leachate treatment: An overview*, Journal of Environmental Chemical Engineering, vol. 5, no. 6.
- Lari E., Gauthier P., Mohaddes E., Pyle G.G., 2017, *Interactive toxicity of Ni, Zn, Cu, and Cd on Daphnia magna at lethal and sub-lethal concentrations*, J. Hazard Mater., vol. 334.
- Liu Y., Guo R., Tang S., Zhu F., Zhang S., Yan Z., Chen J., 2018, *Single and mixture toxicities of BDE-47, 6-OH-BDE-47 and 6-MeO-BDE-47 on the feeding activity of Daphnia magna: From behavior assessment to neurotoxicity*, Chemosphere, vol. 195.
- Manakul P., Peerakietkhajorn S., Matsura T., Kato Y., Watanabe H., 2017, *Effects of symbiotic bacteria on chemical sensitivity in Daphnia magna*, Marine Environmental Research, vol. 128.
- OECD Guideline for Testing of Chemicals. Test No. 202: Daphnia Sp. Acute Immobilisation Test OECD Publishing, Paris, France (2004).
- Öman C.B., Junestedt C., 2008, *Chemical characterization of landfill leachates – 400 parameters and compounds*, Waste Management, vol. 28, no. 10.
- Palmiotto M., Fattore E., Paiano V., Celeste G., Colombo A., Davoli E., 2014, *Influence of a municipal solid waste landfill in the surrounding environment: toxicological risk and odor nuisance effects*, Environment International, vol. 68.

- Park J., Ra J.-S., Rho H., Cho J., Kim S.D., 2018, *Validation of a biotic ligand model on site-specific copper toxicity to Daphnia magna in the Yeongsan River, Korea*, Ecotoxicology and Environmental Safety, vol. 149.
- Parvez S., Venkataraman C., Mukherji S., 2006, *A review on advantages of implementing luminescence inhibition test (Vibrio fischeri) for acute toxicity prediction of chemicals*, Environment International, vol. 32, no. 2.
- Persoone G., Baudo R., Cotman M., Blaise C., Thompson K.C., Moreira-Santos M., Vولات B., Torokne A., Han T., 2009, *Review on the acute Daphnia magna toxicity test – evaluation of the sensitivity and the precision of assays performed with organisms from laboratory cultures or hatched from dormant eggs*, Knowl. Managt. Aquat. Ecosyst., vol. 393.
- Piontek M., Walczak B., Czyżewska W., Lechtów H., 2012, *Miedź, kadm i cynk w pyłe drogowym miast oraz określenie toksyczności związków tych metali metodą biologiczną*, KOSMOS, tom 61, nr 3.
- Pretti C., Chiappe C., Baldetti I., Brunini S., Monni G., Intorre L., 2009, *Acute toxicity of ionic liquids for three freshwater organisms: Pseudokirchneriella subcapitata, Daphnia magna and Danio rerio*, Ecotoxicol. Environ. Saf., vol. 72.
- Raghab S., Meguid A., Hegazi H., 2013, *Treatment of leachate from municipal solid waste landfill*, HBRC Journal, vol. 9.
- Rozporządzenie Ministra Środowiska z 30 kwietnia 2013 r. w sprawie składowisk odpadów, Dz.U. z 2013, poz. 523.
- Silva A.C., Dezotti M., Sant'Anna Jr. G.L., 2004, *Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate*, Chemosphere, vol. 55.
- Steinke D., Lari E., Woodman S.G., Luong K.H., Wong C.S., Pyle G.G., 2018, *Effects of gemfibrozil on the growth, reproduction, and energy stores of Daphnia magna in the presence of varying food concentrations*, Chemosphere, vol. 192.
- Thomas D.J.L., Tyrrel S.F., Smith R., Farrow S., 2009, *Bioassays for the evaluation of landfill leachate toxicity*, J. Toxicol. Environ. Health B, vol. 12.
- Tišler T., Zagorc-Končan J., Cotman M., Drolc A., 2004, *Toxicity potential of disinfection agent in tannery wastewater*, Water Res., vol. 38.
- Tothill I.E., Turner A.P.F., 1996, *Developments in bioassay methods for toxicity testing in water treatment*, Anal. Chem., vol. 15.
- Trusz-Zdybek A., Szymycha Madeja A., Traczewska T.M., Piekarska K., 2012, *Zastosowanie systemu Microtox® w bioindykacji próbek środowiskowych*, KOSMOS, tom 61, nr 3.
- Wdowczyk A., Szymańska-Pulikowska A., 2018, *Analiza możliwości oceny stanu środowiska wodnego w otoczeniu składowiska odpadów komunalnych*, Inżynieria Ekologiczna, vol. 19, nr 6, s. 57–64.
- Weltens R., Deprez K., Michiels L., 2014, *Validation of Microtox® as a first screening tool for waste classification*, Waste Manage., vol. 34.
- Wolska L.W., Sagajdakow A., Kuczyńska A., Namieśnik J., 2007, *Application of ecotoxicological studies in integrated environmental monitoring: possibilities and problems*, Trends Anal. Chem., vol. 26.
- Yao P., 2017, *Perspectives on technology for landfill leachate treatment*, Arabian Journal of Chemistry, vol. 10, sup. 2.
- Zadorozhnaya O., Kirsanov D., Buzhinsky I., Tsarev F., Abramova N., Bratov A., et al., 2015, *Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of Vibrio fischeri bacteria*, Sensors and Actuators B: Chemical, vol. 207, part B.