

Politechnika Gdańska
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Analitycznej

Rozprawa doktorska

**KOMPLEKSOWA OCENA JAKOŚCI ŚRODOWISKA W OPARCIU O WYNIKI
POMIARÓW ANALITYCZNYCH I EKOTOKSYKOLOGICZNYCH**

mgr inż. Agnieszka Sagajdakow

Promotorzy:

Dr hab. Lidia Wolska
Prof. dr hab. inż. Jacek Namieśnik

Gdańsk 2009

Dziękuję,

*PANU PROFESOROWI JACKOWI NAMIEŚNIKOWI ORAZ PANI DOKTOR HAB. LIDII WOLSKIEJ
za interesujący temat pracy, wszelkie rady, zarówno merytoryczne, techniczne jak i życiowe,
za wszechstronną pomoc oraz za cierpliwość i zaufanie jakim mnie obdarzyli,
a także za porady oraz sugestie, dzięki którym powstała niniejsza praca;*

*KOLEŻANKOM I KOLEGOM Z KATEDRY CHEMII ANALITYCZNEJ,
w szczególności z pokoju 235, za duchowe wsparcie i stworzenie miłej atmosfery pracy;*

*MINISTERSTWU NAUKI I SZKOLNICTWA WYŻSZEGO
za wsparcie finansowe w realizacji badań;*

*ZAKŁADOWI UTYLIZACYJNEMU GDAŃSK-SZADÓŁKI
oraz ZAKŁADOWI INŻYNIERII ŚRODOWISKA „EKO-PROJEKT”
za współpracę oraz dostarczanie próbek do badań;*

*RODZINIE I PRZYJACIOM
za wieloletnie wsparcie i nieustającą wiarę w moje możliwości.*

SPIS TREŚCI

SPIS SKRÓTÓW I AKRONIMÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE	5
1. WSTĘP	8
2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA	12
2.1. Obecność metali ciężkich w środowisku	12
2.2. Metale ciężkie w glebie. Ekstrakcja sekwencyjna metali	14
2.3. Zanieczyszczenie gleb przez metale ciężkie	19
2.4. Właściwości biochemiczne i fizykochemiczne gleby	20
2.5. Formy pierwiastków toksycznych w glebie	26
2.6. Ruchliwość i pobieranie jonów metali przez rośliny	27
2.7. Ochrona gleb - stan prawny	30
2.8. Testy oparte na wykorzystaniu roślin	33
2.8.1. Zastosowanie glonów jako elementu aktywnego fitotestów	37
2.8.2. Zastosowanie roślin naczyniowych jako elementu aktywnego fitotestów	43
2.8.3. Mikrobiotest Phytotoxkit F TM	46
2.9. Klasyfikacja ekotoksykologiczna próbek środowiskowych	48
2.10. Podsumowanie	53
3. CEL I ZAKRES PRACY	55
4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	57
4.1. Materiały i aparatura	57
4.1.1. Odczynniki	57
4.1.2. Aparatura	58
4.1.3. Wyposażenie dodatkowe	59
4.2. Biotesty – narzędzie do oceny jakości wód podziemnych wokół składowiska odpadów komunalnych	60
4.2.1. Opis składowiska odpadów komunalnych wytypowanych do badań	60
4.2.2. Pobieranie próbek wód podziemnych do badań	67
4.3. Biotesty – narzędzie do oceny jakości ekosystemu Zalewu Szczecińskiego	71
4.3.1. Charakterystyka Zalewu Szczecińskiego	71
4.3.2. Projekt badawczy: „Litogeneza i geochemia osadów dna i strefy brzegowej Zalewu Szczecińskiego”	74
4.3.3. Pobieranie i przygotowanie próbek środowiskowych do badań	74
4.4. Zależność pH- mobilność metali i jej wpływ na toksyczność	77
4.4.1. Charakterystyka zbiornika „Turawa”	77
4.5. Procedury analityczne	80
4.5.1. Badania parametrów chemicznych i fizykochemicznych próbek wód powierzchniowych i podziemnych pobranych wokół składowiska odpadów komunalnych	80
4.5.2. Przygotowanie ekstraktów dichlorometanowych z próbek wód podziemnych do oznaczania związków organicznych z grupy NROC z wykorzystaniem techniki LE-GC-MS	81
4.5.3. Procedura przygotowania próbek ekstraktów wodnych z osadów dennych	82
4.5.3.1. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTÓW WODNYCH Z OSADÓW DENNYCH DO POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI	82
4.5.3.2. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTÓW WODNYCH Z OSADÓW DENNYCH DO OCENY WYMYWALNOŚCI METALI	83
4.5.4. Testy toksyczności wykorzystywane do oceny jakości ekotoksykologicznej próbek środowiskowych	84
4.5.4.1. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM BIOLUMINESCENCYJNYCH BAKTERII <i>VIBRIO FISCHERI</i>	85
4.5.4.2. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU SKORUPIAKA <i>DAPHNIA MAGNA</i>	85
4.5.4.3. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU SKORUPIAKA <i>THAMNOCEPHALUS PLATYURUS</i>	87

4.5.4.4. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU ROŚLIN JEDNOLIŚCIENNYCH (<i>SORGHUM SACCHARATUM</i>) I DWULIŚCIENNYCH (<i>LEPIDIUM SATIVUM</i> I <i>SINAPIS ALBA</i>)	88
4.5.4.5. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA BADAŃ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU GLONÓW <i>SELENASTRUM CAPRICORNUTUM</i>	90
4.6. Wyniki i ich omówienie.....	91
4.6.1. Ocena wpływu składowiska odpadów komunalnych na poziom zanieczyszczenia wód podziemnych	91
4.6.1.1. OCENA JAKOŚCI EKOTOKSYKOLOGICZNEJ PRÓBEK BADANYCH WÓD PODZIEMNYCH I POWIERZCHNIOWYCH	91
4.6.1.2. PORÓWNANIE KLASYFIKACJI CHEMICZNEJ I EKOTOKSYKOLOGICZNEJ BADANYCH PRÓBEK WODY	101
4.6.1.3. ZALEŻNOŚCI WYSTĘPUJĄCE POMIĘDZY TOKSYCZNOŚCIĄ A WYNIKAMI ANALIZ CHEMICZNYCH.....	113
4.6.1.4. PORÓWNANIE WRAŻLIWOŚCI ORGANIZMÓW WSKAŹNIKOWYCH WOBEC MIESZANINY ZANIECZYSZCZEŃ ZAWARTYCH W WODACH POCHODZĄCYCH ZE SKŁADOWISKA ODPADÓW KOMUNALNYCH W GDAŃSKU- SZADÓLKACH	119
4.6.2. Wyniki badań ekotoksyczności próbek środowiskowych pobranych w ramach projektu badawczego Zalewu Szczecińskiego	140
4.6.2.1. OCENA JAKOŚCI EKOTOKSYKOLOGICZNEJ PRÓBEK OSADÓW DENNYCH POBRANYCH Z ODWIERTÓW WYKONANYCH W CZASZY ZALEWU SZCZECIŃSKIEGO.....	140
4.6.2.2. PORÓWNANIE WRAŻLIWOŚCI SKORUPIAKÓW: <i>THAMNOCEPHALUS PLATYURUS</i> ORAZ <i>DAPHNIA MAGNA</i> W STOSUNKU DO KSENOBIOTYKÓW OBECNYCH W BADANYCH PRÓBKACH OSADÓW DENNYCH	149
4.6.3. Wyniki oceny zależności pH- mobilność metali i jej wpływu na toksyczność badanych próbek osadów	152
4.7. Wnioski	162
4.7.1. Ocena wpływu składowiska odpadów komunalnych na poziom zanieczyszczenia wód podziemnych	162
4.7.2. Ocena ekotoksyczności próbek środowiskowych pobranych w ramach projektu badawczego Zalewu Szczecińskiego	166
4.7.3. Wyniki oceny zależności pH- mobilność metali i jej wpływu na toksyczność badanych próbek osadów	167
5. PODSUMOWANIE.....	168
6. LITERATURA.....	176
7. STRESZCZENIE.....	182
8. ABSTRACT.....	183
9. DOROBEK NAUKOWY	184

SPIS SKRÓTÓW I AKRONIMÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE

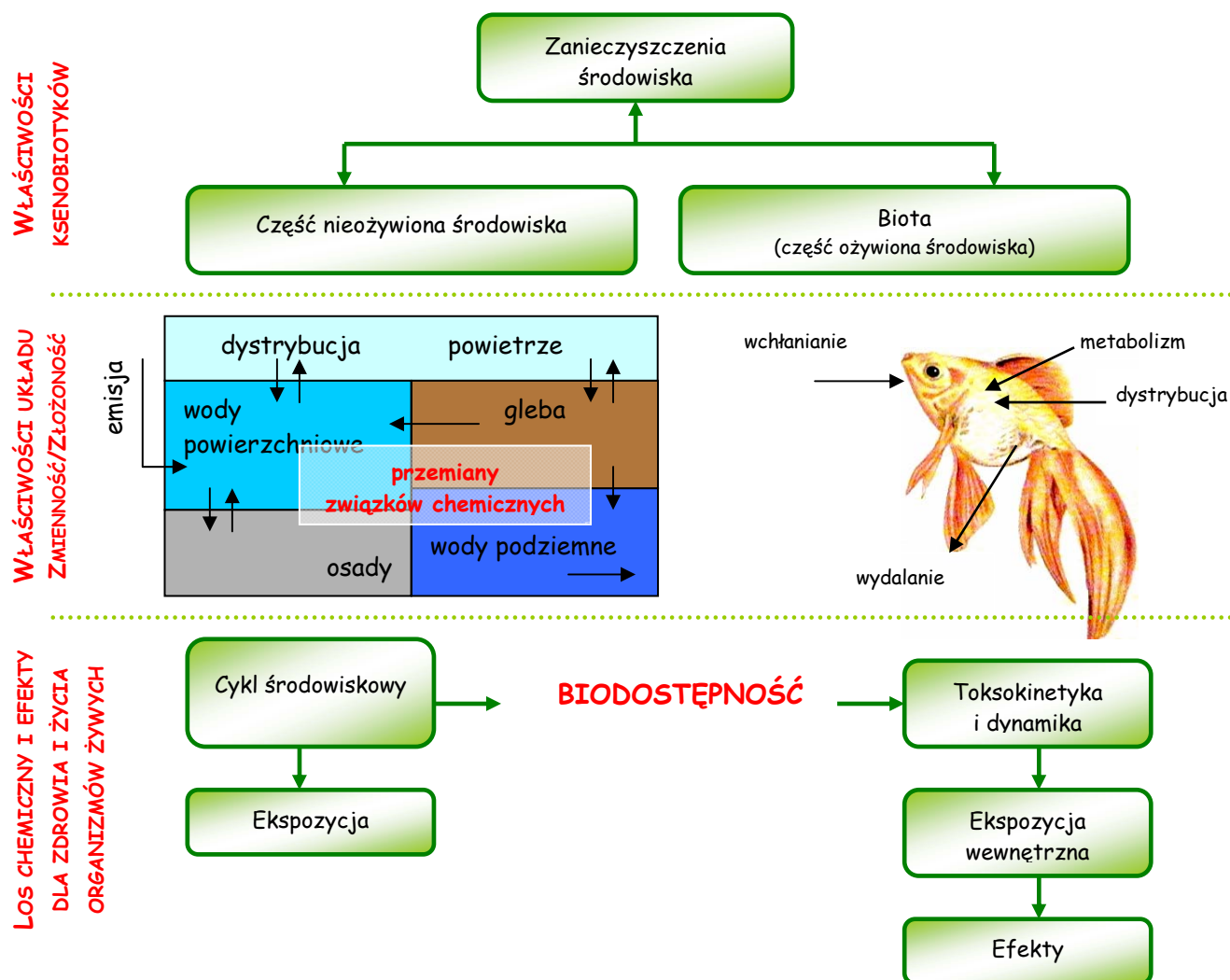
SKRÓT/ AKRONIM	TERMIN ANGIELSKOJĘZYCZNY	TERMIN POLSKOJĘZYCZNY
AGP	<i>Algal Growth Potential</i>	Maksymalny przyrost masy glonów w obecności związków odżywczych
APHA	<i>American Public Health Association</i>	Amerykańskie Zrzeszenie do Spraw Zdrowia Publicznego
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>	Towarzystwo Badań Materiałowych Stanów Zjednoczonych
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>	Adenozynotrifosforan
BfG	<i>Bundesanstalt für Gewässerkunde</i>	Federalny Instytut Hydrologiczny (Niemcy)
BZT	–	Biologiczne Zapotrzebowanie na Tlen
CIA	<i>Computer Image Analysis</i>	System komputerowej analizy obrazu polegający na pomiarze liczby komórek, powierzchni komórek, długości wszystkich gałęzi
CF	<i>Concentration Factor</i>	Współczynnik Wzbogacenia
ChZT	–	C hemiczne Z apotrzebowanie na Tlen
CV-AAS	<i>Cold Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>	Spektrometria absorpcji atomowej z generowaniem zimnych par
DIN	<i>Deutsches Institut für Normung</i>	Niemiecki Instytut Normalizacyjny
DPD	–	Punkt pobierania próbek osadu z odwiertu wykonanego w czaszy Jeziora Dąbie
EC₁₀, EC₂₀, EC₂₅, EC₅₀, EC₉₀	<i>Effective Concentration</i>	Stężenie efektywne- stężenie danej toksyny w środowisku, które wywołuje określony efekt biologiczny w wysokości 10, 20, 25, 50, 90% jego maksymalnej wartości
EDTA	<i>EthyleneDiamineTetraacetic Acid</i>	Kwas etylenodiaminotetraoctowy (kwas wersenowy)
F	<i>Fraction</i>	Fracja
GC-MS	<i>Gas Chromatography- Mass Spectrometry</i>	Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas
HELCOM	<i>Helsinki Commission</i>	Komisja Helsińska
IC₅₀	<i>Inhibition Concentration</i>	Stężenie czynnika toksycznego w środowisku, które powoduje osłabienie o połowę danego procesu, np. wzrostu
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma- Optical Emission Spectrometry</i>	Spektrometria emisji optycznej ze wzbudzeniem w indukowanej plazmie

IOP	<i>International Odra Project</i>	Międzynarodowy Projekt Badania Dorzecza Rzeki Odry
ISO	<i>International Standard Organization</i>	Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna
JSP	–	Punkt pobierania próbek osadu z odwiertu wykonanego w czaszy Jeziora Jamno
LC₂₀, LC₅₀	<i>Lethal Concentration</i>	Stężenie śmiertelne- stężenie danej toksyny w wodzie, powietrzu lub glebie, które wywołuje śmierć 20, 50% osobników badanej populacji
LE-GC-MS	<i>Liquid Extraction- Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>	Ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz połączona z chromatografią gazową i spektrometrią mas
LOEC	<i>Lowest Observed Effect Concentration</i>	Najniższe stężenie, przy którym obserwuje się pierwsze niekorzystne skutki działania toksyny
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>	Granica oznaczalności
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>	Narodowy Instytut Wzorców i Technologii (Stanów Zjednoczonych)
NOEC	<i>No Observed Effect Concentration</i>	Najwyższe stężenie substancji toksycznej, przy którym nie obserwuje się niekorzystnego efektu jej działania
NROC	<i>Non- Regulated Organic Compounds</i>	Związki organiczne, których obecność w środowisku nie podlega uregulowaniom prawnym
n.w.	–	Nie wykryto
NWRI	<i>National Water Research Institute</i>	Narodowy Instytut Badań Wód
OECD	<i>Organization for Economic Co-operation and Development</i>	Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju
OSPAR	<i>Oslo and Paris Commission</i>	Komisja Oslo-Paryż
OWO	–	Ogólny Węgiel Organiczny
P	–	Punkt pobierania próbek wody podziemnej wokół składowiska odpadów komunalnych
PCB	<i>Polychlorinated Biphenyls</i>	Polichlorowane Bifenyle
PE	<i>Percentage Effect</i>	Procentowa wartość obserwowanego efektu działania toksycznego
pH	–	Wykładnik stężenia jonów wodorowych
PN	–	Norma Polska
pT	–	Ujemny logarytm binarny ze współczynnika rozcieńczenia próbki, przy którym nie jest obserwowany efekt toksyczności ostrej
QI	–	Górny poziom wodonośny

QI1	–	Pierwsza warstwa górnego poziomu wodonośnego (przypowierzchniowa)
QI2	–	Druga warstwa górnego poziomu wodonośnego (pośrednia)
QI3	–	Trzecia warstwa górnego poziomu wodonośnego (użytkowa)
QII	–	Dolny poziom wodonośny
R	–	Współczynnik regresji
RDW	–	Ramowa Dyrektywa Wodna
SMA	<i>Stereo Microscope Analysis</i>	System mikroskopowej analizy obrazu polegający na pomiarze długości wszystkich gałęzi
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>	Ekstrakcja do fazy stałej
TBT	<i>Tributyltin</i>	Tributylocyna
TDS	<i>Total Dissolved Solids</i>	Całkowita zawartość rozpuszczonych cząstek stałych
TU	<i>Toxicity Units</i>	Jednostki toksyczności
TZB	–	Punkt pobierania próbek osadu z odwiertu wykonanego w czaszy Jeziora Turawskiego
US EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>	Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych
WP	–	Punkt pobierania próbek wody powierzchniowej w obrębie Potoku Kozackiego
WWA	–	Wielopierścieniowe Węglowodory Aromatyczne
ZPD, ZSWP	–	Punkt pobierania próbek osadu z odwiertu wykonanego w czaszy Zalewu Szczecińskiego
ZU	–	Zakład Utylizacyjny

1. WSTĘP

Gwałtowny rozwój cywilizacji sprawia, że środowisko, w którym żyje człowiek, ulega nieustannym zmianom. Ostatnie dwieście lat (era industrializacji) zaznaczyło się intensywnym wzrostem zużycia surowców oraz narastającą, w sposób niekontrolowany, emisją do środowiska tysięcy różnych substancji. Każdego dnia, do powietrza, wód powierzchniowych i gleb dostaje się (pochodząca głównie ze źródeł antropogenicznych) szeroka gama zanieczyszczeń. Zanieczyszczenia obecne w części abiotycznej środowiska podlegają różnorodnym procesom transportu (mogą występować, więc w miejscach odległych od źródła emisji) oraz przemianom fizycznym, chemicznym (foto- i biochemicznym) oraz biologicznym, które prowadzą do powstania innych związków często określanymi za pomocą terminu „zanieczyszczenia wtórne” (**Rysunek 1**) [1].



Rysunek 1. Wpływ ksenobiotyków na ożywioną i nieożywioną część środowiska.

Z nieożywionej części środowiska związki chemiczne przedostają się do roślin, organizmów zwierzęcych i- ostatecznie- także do organizmów ludzkich. Należy pamiętać, iż obecne w środowisku substancje toksyczne prowadzić mogą do trwałych uszkodzeń nie tylko w przypadku poszczególnych gatunków, ale również całych ekosystemów.

To wszystko sprawia, że konieczne jest podejmowanie właściwych działań w zakresie monitorowania poziomów emisji oraz redukcji emisji zanieczyszczeń do poszczególnych elementów środowiska, jak i oceny zagrożeń wynikających z obecności w środowisku różnych ekotoksyn. Liczne katastrofy ekologiczne oraz widoczne już dziś globalne zmiany środowiska (ocieplenie klimatu, kwaśne deszcze, dziura ozonowa, eutrofizacja, deficyt czystej wody) uświadomiły społeczności międzynarodowej zagrożenia jakie wynikają z tak realizowanego ekspansywnego rozwoju [1-3].

Na początku lat siedemdziesiątych, narastająca świadomość zagrożeń związanych z obecnością w środowisku substancji toksycznych doprowadziła do powstania agend rządowych oraz wielu organizacji pozarządowych. Jednostki te inicjują działania w zakresie monitorowania i redukcji emisji zanieczyszczeń do poszczególnych elementów środowiska, jak i oceny zagrożeń wynikających z już wprowadzonych do środowiska toksyn. Początkowo opierała się ona wyłącznie o ocenę stopnia zanieczyszczenia środowiska, która polegała na określeniu stężenia związków chemicznych (wytypowanych jako wskaźniki zanieczyszczenia środowiska) i/lub oznaczeniu wybranych wskaźników sumarycznych (OWO, ChZT, BZT itp.) w próbkach środowiskowych z wykorzystaniem „klasycznych” metodyk analizy chemicznej i porównaniu ich do wartości liczbowych najwyższych dopuszczalnych stężeń, ustalanych w wyniku wielokierunkowej analizy oddziaływania danej substancji na ożywioną część przyrody (biota), w tym również człowieka. Niestety, opisany sposób oceny ryzyka charakteryzował się małą skutecznością [4-8]. Ograniczenia tego podejścia wynikają przede wszystkim z faktu, że:

- nie ma pewności, iż wskazane do badań wskaźniki zanieczyszczenia środowiska obejmują wszystkie istotne związki toksyczne zawarte w badanym elemencie środowiska. Należy pamiętać, iż współcześnie działalność gospodarcza jest procesem bardzo dynamicznym, jej intensywność, różnorodność i skala przyczynia się do tego, że każdego roku wzrasta ilość zanieczyszczeń wprowadzanych do środowiska i nieustannie zmienia się ich skład. Co roku wytwarzane są setki nowych substancji (środki ochrony roślin, leki, barwniki, środki czystości), które trafiając do środowiska, ulegają wielu przemianom, tworząc nowe związki o niezdefiniowanej strukturze i nieznannej toksyczności [9]. Ich identyfikacja oraz określenie zagrożeń jakie stwarzają dla środowiska i człowieka

wymaga prowadzenia wieloletnich prac badawczych. Ich wymiernym efektem są kolejne pozycje na listach substancji niebezpiecznych, których wprowadzanie do środowiska jest zabronione lub ograniczone i których obecność w środowisku powinna być monitorowana (np. TBT) [10];

- względy czasowe, finansowe i analityczne, uniemożliwiają określenie stężeń wszystkich toksycznych związków zawartych w badanym elemencie środowiska, a oznaczanie parametrów sumarycznych przynosi informację zbyt ogólną i słabo skorelowaną z toksycznością [11];

- wyniki analiz chemicznych nie uwzględniają efektu wzajemnego oddziaływania substancji toksycznych w wyniku [12-13,4]:

- sumowania się oddziaływań poszczególnych związków (synergizm addycyjny);
- znaczącego wzrostu siły oddziaływania, większego niż wynikałoby to z prostego sumowania indywidualnych oddziaływań poszczególnych składników (synergizm hiperaddycyjny);
- osłabienia, a nawet znoszenia wzajemnych oddziaływań związków chemicznych (antagonizm).

Uważna obserwacja zmian zachodzących w środowisku wywołanych przez obecność substancji toksycznych, zarówno pochodzenia naturalnego jak i antropogenicznego, od dawna pozwalała człowiekowi bezpośrednio wnioskować o występujących w środowisku zagrożeniach. Pojawienie się negatywnych efektów informuje o obecności w środowisku związków toksycznych, a intensywność tego efektu sugerować może poziom ryzyka dla innych organizmów (pomimo, iż wrażliwość różnych organizmów na ten sam związek toksyczny jest różna). W wyniku oddziaływania na organizmy żywe pojedynczej toksyny lub też ich mieszanin zaobserwować można zarówno skutki bezpośrednie w postaci toksyczności ostrej, jak i tak zwane skutki odległe: zmiany mutagenne, rakotwórcze, teratogenne lub embriotoksyczne.

Mimo szczególnego znaczenia informacji uzyskiwanych z obserwacji zwierząt i roślin, narażonych na działanie substancji toksycznych, dopiero w latach sześćdziesiątych XX-tego wieku zaczęto stosować w sposób naukowy organizmy żywe (ryby, skorupiaki, glony itp.) do oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska, głównie wodnego. Najpoważniejszym problemem, który wyniknął w trakcie pierwszych prac z biotestami była stosunkowo niska wrażliwość stosowanych organizmów wskaźnikowych, niska powtarzalność i odtwarzalność testów oraz konieczność prowadzenia dużych

i kosztownych hodowli odpowiednich szczepów organizmów roślinnych i/lub zwierzęcych. Współczesne testy biologiczne (np. mikrobiotesty) pozbawione są tych wad, wiele z nich wykonywanych jest wg standardów ISO i/lub OECD (testy toksyczności ostrej i chronicznej) [14-17]. Do chwili obecnej opracowanych zostało już wiele mikrobiotestów, które w roli organizmów wskaźnikowych wykorzystują różne organizmy: bakterie, rośliny (algi, rośliny naczyniowe) oraz zwierzęta (skorupiaki, wrotki, pierwotniaki) [18,19].

Wciąż trwają też prace nad opracowaniem nowych testów, zwłaszcza tych, które umożliwiłyby określenie mutagenności czy teratogenności. W takich testach materiał biologiczny (na różnym poziomie organizacji) stanowi aktywny element urządzenia pomiarowego. W oparciu o pomiar takich parametrów jak toksyczność ostra, toksyczność chroniczna, mutagenność, bioakumulacja i trwałość w środowisku rozwijane jest nowe podejście do oceny ryzyka środowiskowego [20,21].

Pomimo tak znaczącego postępu w zakresie rozwoju narzędzi pomiaru toksyczności i wdrażania tych rozwiązań do oceny ryzyka wynikającego z zanieczyszczenia środowiska, dalszych prac badawczych wymagają wciąż takie obszary jak:

- opracowanie ujednoczonej ekotoksykologicznej klasyfikacji jakości poszczególnych elementów środowiska (wody powierzchniowe, osady rzeczne, wody i osady portowe, wody podziemne oraz odcieki ze składowisk, zrzuty do wód powierzchniowych i inne);
- rozwój metodyk pomiaru toksyczności osadów i gleby [22,23];
- doskonalenie narzędzi do pomiaru toksyczności chronicznej, mutagenności i teratogenności;
- rozwój zintegrowanego podejścia do monitoringu parametrów chemicznych i ekotoksykologicznych [24,7].

2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

2.1. Obecność metali ciężkich w środowisku

*„Wszystko jest trucizną i nic nie jest trucizną - jedynie dawka decyduje o tym”
Paracelsus*

Rozwój cywilizacji i urbanizacji, postępujące uprzemysłowienie sprawiają, iż zawartość metali ciężkich w środowisku przyrodniczym (glebie, wodzie i powietrzu) ciągle wzrasta stwarzając zagrożenie dla prawidłowego rozwoju wszystkich organizmów. Akumulacja metali w glebie jest zjawiskiem bardzo niebezpiecznym, gdyż stanowi ona główne ogniwo w przyrodniczym obiegu pierwiastków chemicznych i jest podstawowym elementem w łańcuchu troficznym: gleba -roślina -zwierzę -człowiek. Metale ciężkie przechodząc do środowiska oddziałują na wszystkie składowe łańcucha pokarmowego, począwszy od drobnoustrojów glebowych, przez rośliny i zwierzęta, na człowieku kończąc [25].

Niektóre metale ciężkie należące do grupy pierwiastków śladowych, w sytuacji, kiedy występują w środowisku w swym naturalnym stężeniu, odgrywają wiele ważnych, pozytywnych ról. Mikroelementy katalizują między innymi wiele reakcji biochemicznych, zachodzących w organizmach. Wpływ metali na procesy biochemiczne organizmów jest różnorodny i specyficzny. Uczestniczą one w tworzeniu krwinek czerwonych, hormonów, witamin, w procesach oddychania, utleniania i redukcji, fotosyntezie oraz w tworzeniu pigmentów. W zależności od własności chemicznych oraz pozycji w układzie okresowym, niektóre metale ciężkie spełniają ważną rolę w przemianie materii, wchodzą w skład układu kostnego i tkanek organizmów żywych, biorą udział w funkcjonowaniu systemów nerwowych. Metale ciężkie odgrywają też istotną rolę w procesach metabolizmu mikroorganizmów, np. bakterii, biorąc udział w regulacji procesów biochemicznych, stabilizowaniu struktur komórkowych czy katalizie reakcji enzymatycznych. Metalom ciężkim przypisuje się jednocześnie rolę stymulatorów oraz czynników hamujących procesy życiowe.

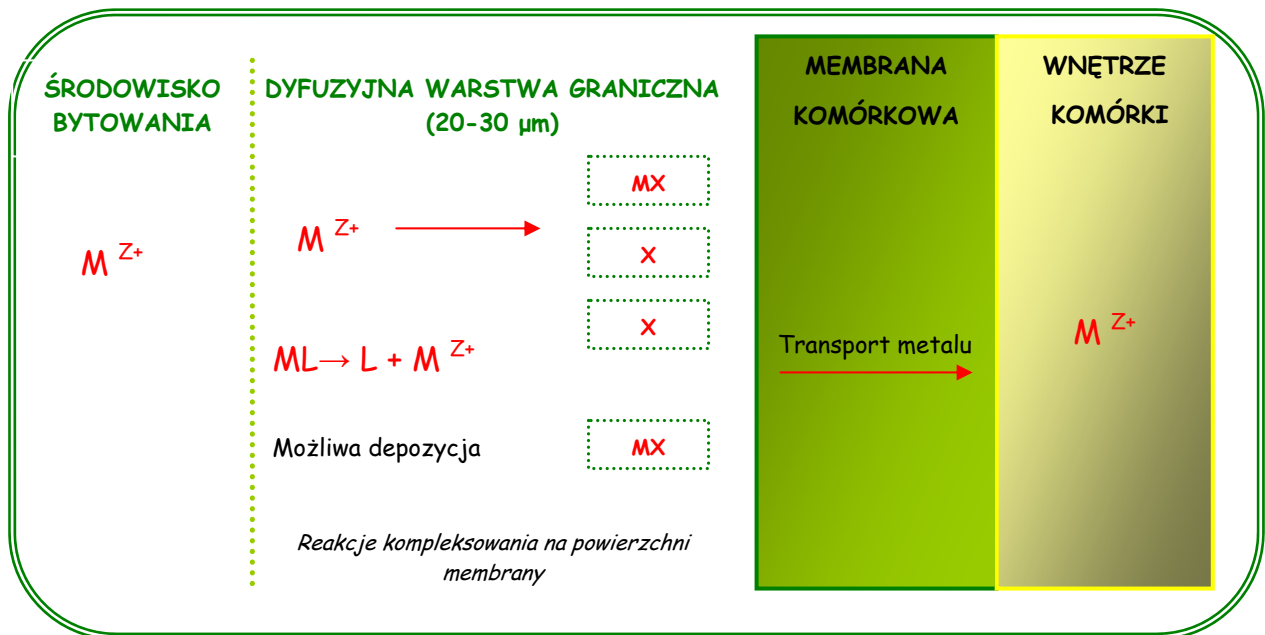
W zależności od stężenia, stopnia utlenienia i łatwości tworzenia kompleksów metale mogą stać się czynnikami toksycznymi dla wszystkich organizmów żywych (drobnoustroje, rośliny, zwierzęta, ludzie). Właściwości toksyczne tych związków ujawniają się wówczas, gdy receptor przez odpowiedni okres czasu pozostaje w kontakcie z przyswajalną formą metali o stężeniu wystarczającym do wywołania niekorzystnej reakcji organizmu. Wpływ na toksyczność metali ma również charakterystyka

fizykochemiczna wody, osadów, gleby, skład i stan zdrowia populacji organizmów żywych, jak również stężenie i biodostępność samego metalu. W **Tabeli 1** wymieniono tylko niektóre z czynników, które mają wpływ na toksyczność metali w środowisku wodnym [26].

Tabela 1. Czynniki decydujące o toksyczności metali w środowisku wodnym.

POSTAĆ METALU W WODZIE	Nieorganiczne (jon kompleksowy, jon chelatowy)
	Organiczne (koloidalne, osad, zaadsorbowane)
OBECNOŚĆ INNYCH METALI I TRUCIZN	Oddziaływanie synergistyczne
	Brak interakcji (sumowanie się oddziaływań)
	Oddziaływanie antagonistyczne
CZYNNIKI WPLYWAJĄCE NA FIZJOLOGIĘ ORGANIZMÓW I POSTAĆ METALU W WODZIE	Temperatura
	pH
	Tlen rozpuszczony
	Światło
	Zasolenie
UWARUNKOWANIA ZWIĄZANE Z ORGANIZMEM	Etap rozwoju osobniczego (jajo, larwa)
	Zmiany cyklu życia (linienie, reprodukcja)
	Wiek i rozmiar
	Płeć
	Potrzeby żywieniowe
	Aktywność
	Dodatkowa ochrona (muszla)
	Adaptacja do obecności metali
Zmieniony sposób zachowania się	

Na **Rysunku 2** przedstawiono natomiast schemat modelu pobierania metali przez komórkę [27].



Rysunek 2. Model pobierania metali przez komórkę.

2.2. Metale ciężkie w glebie. Ekstrakcja sekwencyjna metali

Naturalna zawartość metali ciężkich w glebach na ogół nie stanowi zagrożenia dla roślin, zwierząt czy człowieka. Niestety, co podkreślone zostało w wielu badaniach, wskutek uprzemysłowienia i upowszechnienia zdobyczy cywilizacji powierzchnia gleb o naturalnej zawartości metali ciężkich systematycznie się kurczy. Brak wiedzy o naturalnej zawartości metali ciężkich w glebach jest często powodem znacznych uproszczeń w ocenie i interpretacji przyczyn zanieczyszczeń metalami ciężkimi [28]. Określenie tzw. naturalnych zawartości metali ciężkich w glebach jest zagadnieniem złożonym, ponieważ większość gleb podlega antropopresji o różnej intensywności. Oczywistym wydaje się fakt, iż, oznaczanie metali ciężkich w glebie nie powinno sprowadzać się jedynie do stwierdzenia ich obecności i całkowitej ilościowej oceny ich zawartości, wymagane jest również określenie postaci, w jakiej dany pierwiastek występuje w badanym materiale.

Punktem wyjściowym obecnie wykorzystywanych sposobów określania różnych form fizycznych pierwiastków śladowych były techniki ekstrakcji analitów z badanych próbek za pomocą jednego czynnika ekstrakcyjnego. Efektem końcowym prac prowadzonych w różnych ośrodkach naukowych są skomplikowane procedury ekstrakcji

sekwencyjnej z wykorzystaniem roztworów o różnej sile ługowania określonych składników [29,30].

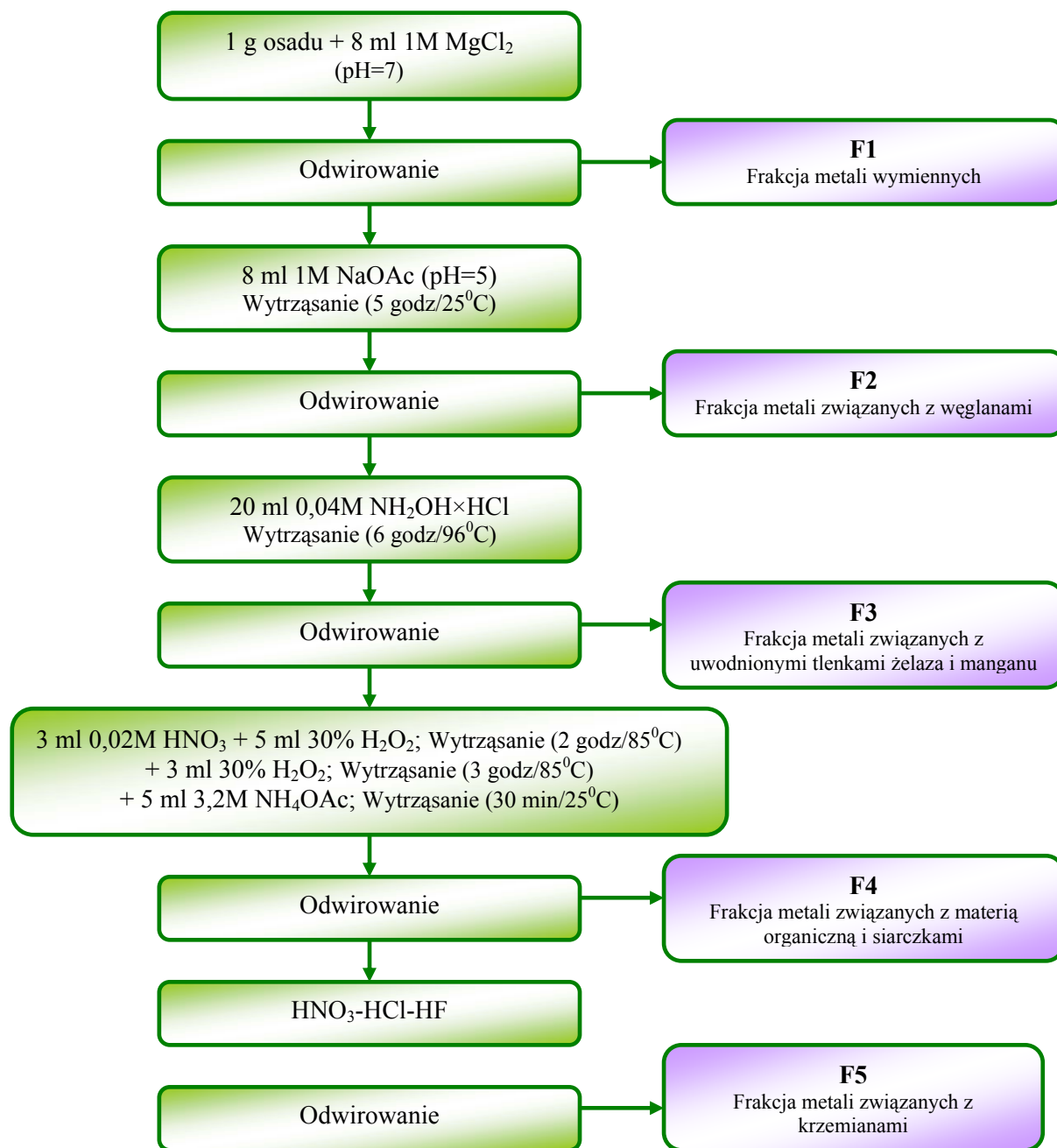
Ryzyko związane z obecnością pierwiastków toksycznych w glebach dotyczy przede wszystkim występowania form rozpuszczalnych w wodzie, które mogą być łatwo przyswajane przez rośliny. Ponieważ całkowita zawartość pierwiastka nie informuje dokładnie o jego potencjalnej bioprzyswajalności i mobilności, coraz powszechniej stosuje się ekstrakcję sekwencyjną (wieloetapową), która pozwala na określenie zawartości form danego pierwiastka w glebie [31-36]. Procedury ekstrakcji sekwencyjnej wykorzystując szereg ekstrahentów pozwalają na wyodrębnienie kilku frakcji metali. Dzięki wykorzystaniu procedur symulujących przebieg naturalnych zjawisk przyrodniczych (np. kwaśne deszcze) możliwe jest określenie biodostępności i mobilności metali. Tego typu procedury znajdują zastosowanie między innymi w badaniu materiałów geologicznych, osadów rzecznych, osadów morskich, osadów z lagun, osadów ściekowych oraz popiołów.

Podstawową procedurą ekstrakcji sekwencyjnej jest procedura opracowana przez Tessiera i współpracowników. Schemat ekstrakcji sekwencyjnej zaproponowany przez Tessiera (**Rysunek 3**) pozwala na wyróżnienie pięciu następujących frakcji metali [37]:

1. frakcja metali wymiennych; są to metale zaadsorbowane na powierzchni ciał stałych;
2. frakcja metali związanych z węglanami: frakcja ta obejmuje metale występujące w formie węglanów lub metale współstrącone z węglanami;
3. frakcja metali związanych z uwodnionymi tlenkami żelaza i manganu; są to metale zaadsorbowane na rozwiniętej powierzchni wytrącających się uwodnionych tlenków żelaza i manganu;
4. frakcja metali związanych z materią organiczną i siarczkami; są to metale zaadsorbowane na powierzchni materii organicznej lub w nią wbudowane;
5. frakcja metali związanych z krzemianami; frakcja ta obejmuje metale wbudowane w sieć krystaliczną minerałów.

Pomimo, iż ograniczenia selektywności powyższej procedury są szeroko dyskutowane w literaturze światowej [33,36] cechy, które zapewniają jej standaryzację i możliwość porównywania uzyskanych wyników sprawiają, że jest ona nadal często stosowana. W praktyce spotkać można również modyfikacje procedury Tessiera, które mają na celu zwiększenie efektywności wymywania metali, czy też znaczne skrócenie czasu trwania procesu ekstrakcji (np. zastosowanie energii mikrofalowej i energii

promieniowania ultradźwiękowego, zamiast konwencjonalnego wytrząsania próbek) [32-34,36,38,39].



Rysunek 3. Schemat ekstrakcji sekwencyjnej próbek stałych zaproponowany przez Tessiera.

Porównanie różnych rozwiązań w zakresie ekstrakcji sekwencyjnej metali z próbek stałych przedstawiono w **Tabeli 2**.

Tabela 2. Podstawowe informacje o najbardziej znanych odmianach ekstrakcji sekwencyjnej metali z próbek stałych.

EKSTRAKCJA	WYKORZYSTYWANE EKSTRAHENTY	FRAKCJA METALI	LITERATURA
4-stopniowa	KNO ₃	1). wymiennych	[40]
	NaOH	2). zaadsorbowanych	
	EDTA	3). związanych z materią organiczną	
	HNO ₃	4). związanych z węglanami i siarczkami	
6-stopniowa	NH ₄ Ac	1). wymiennych	[41]
	NaAc×Hac	2). związanych z węglanami	
	NH ₂ OH×HCl/HAc	3). związanych z uwodnionymi tlenkami manganu	
	bufor szczawianowy	4). związanych z uwodnionymi tlenkami żelaza	
	H ₂ O ₂ ×HNO ₃ ×NH ₄ Ac	5). związanych z siarczkami i materią organiczną	
	HNO ₃	6). związanych z krzemianami	
7-stopniowa	H ₂ O	1). wymywalnych wodą	[42]
	NH ₄ Ac	2). wymiennych	
	C ₆ H ₆ /CH ₃ OH	3). wymywalnych rozpuszczalnikami organicznymi	
	C ₆ H ₆ /CH ₃ OH/KOH	4). wymywalnych rozpuszczalnikami organicznymi (kwasy fulwowe i humusowe)	
	HCl	5). związanych z krzemianami (frakcja metali łatwo wymywalnych)	
	HF	6). trwale związanych z krzemianami	
	HCl/HClO ₄ /HNO ₃	7). niewymywalnych organicznymi rozpuszczalnikami	
8-stopniowa	H ₂ O	1). wymywanych wodą	[43]
	KNO ₃	2). wymiennych	
	Na ₄ P ₂ O ₇	3). związanych z materią organiczną	
	EDTA	4). związanych z węglanami	
	NH ₂ OH×HCl	5). związanych z uwodnionymi tlenkami manganu	
	cytrynian sodu/ NaHCO ₃ /Na ₂ S ₂ O ₄	6). związanych z uwodnionymi tlenkami żelaza	
	HNO ₃	7). związanych z siarczkami	
	HNO ₃ ×H ₂ O ₂	8). trwale związanych z krzemianami	

Metale ciężkie mogą być kumulowane w glebie, gdzie zalegają setki i tysiące lat. Do metali najczęściej występujących w glebach należą: żelazo, chrom, nikiel, cynk, miedź, kobalt, ołów, kadm i rtęć [44]. Przy zbyt dużym stężeniu stają się one toksyczne nie tylko dla organizmów wyższych, ale również i dla drobnoustrojów. Metale akumulowane są przede wszystkim w wierzchnich warstwach glebowych, skąd poprzez rośliny łatwo trafiają do kolejnych ogniw łańcucha troficznego, wywołując zmiany mutagenne

i kancerogenne w organizmach żywych. Pierwiastki te akumulują się zarówno w tkankach miękkich, jak i twardych zwierząt oraz człowieka [45]. Z wymienionych pierwiastków można wydzielić dwie ważne grupy:

- kadm, rtęć i ołów- pierwiastki charakteryzujące się bardzo dużą toksycznością dla ludzi i zwierząt, natomiast mniej szkodliwe są dla wzrostu i rozwoju roślin;
- miedź, cynk i nikiel, które w nadmiarze są bardziej szkodliwe dla samych roślin niż dla organizmów zwierzęcych i człowieka [46].

Zawartość metali ciężkich w glebach uzależniona jest przede wszystkim od:

- geochemicznego charakteru skał macierzystych;
- zachodzących procesów geologicznych oraz glebotwórczych;
- zanieczyszczeń przemysłowych;
- działalności agrotechnicznej związanej z nawożeniem oraz kształtowaniem właściwości chemicznych i fizykochemicznych gleby.

Pierwsze dwie grupy czynników zalicza się do czynników naturalnych i kształtują one tzw. tło biogeochemiczne, zaś pozostałe dotyczą procesów zanieczyszczania gleby. Dostępność biologiczna metali ciężkich jest określona przez solubilizację (proces zwiększania rozpuszczalności substancji za pomocą tzw. czynników wpływających na przebieg procesu rozpuszczania, czyli solubilizatorów) i uwolnienie metali z minerałów skałotwórczych oraz reakcje adsorpcji i strącania w glebach i osadach. Natężenie adsorpcji metali zależy od:

- właściwości danego metalu: wartościowości, promienia jonowego, stopnia uwodnienia i liczby koordynacyjnej w stosunku do tlenu;
- parametrów fizykochemicznych środowiska: pH i właściwości redoks;
- właściwości adsorbentu: ładunku stałego i ligandów tworzących kompleksy;
- obecności innych metali i ich stężenia oraz obecności ligandów w otaczających płynach [47].

Przyswajalność biologiczna metali ciężkich obecnych w glebach zależy od form, w jakich metale te występują w roztworze glebowym. Często wyodrębnia się umownie dwie grupy form metali, różniące się fitoprzyswajalnością:

- formy labilne, do których należą wolne jony oraz małowymiarowe, nieorganiczne związki kompleksowe- łatwo przyswajalne biologicznie;
- formy stabilne, tworzone głównie przez trudno przyswajalne makromolekularne, organiczne związki chelatowe [48].

2.3. Zanieczyszczenie gleb przez metale ciężkie

Zanieczyszczenie gleb przez metale ciężkie może być związane z różnymi źródłami emisji tych ksenobiotyków. Gleby ulegają zanieczyszczeniu metalami ciężkimi wskutek opadania pyłów atmosferycznych, spływu ścieków, wodnej migracji pierwiastków ze składowisk odpadów stałych, pylenia z rozwiewanych hałd lub osadników przemysłowych. Do zanieczyszczenia gleb może dochodzić również w wyniku stosowania nawozów mineralnych i preparatów ochrony roślin, a także stosowanie odpadów i ścieków do użyźniania i wapnowania gleby. Tereny wzdłuż ciągów komunikacyjnych (np. autostrady, trakcje kolejowe) i taśmociągów narażone są na opadanie łatwo pyłących materiałów przewożonych, na substancje pochodzące ze spalania materiałów pędnych (np. benzyna, ropa naftowa, olej, węgiel) oraz na ścieranie opon, nawierzchni dróg i przewodów trakcji elektrycznych. Wiele metali, zwłaszcza kadm, ołów, cyna, miedź i cynk zanieczyszczają gleby i wody w wyniku wycieków ze składowisk odpadów [47].

Odrębny problem, dotyczący ewentualnego zanieczyszczenia gleb przez metale, wiąże się z rolnictwem. Do głównych źródeł emisji zanieczyszczeń związanych z działalnością rolniczą należy zaliczyć:

- zanieczyszczenia z nawozów mineralnych;
- pestycydy;
- środki suszące;
- środki konserwujące żywność;
- odpady z intensywnej hodowli trzody chlewnej i drobiu;
- kompost i obornik;
- ścieki komunalne.

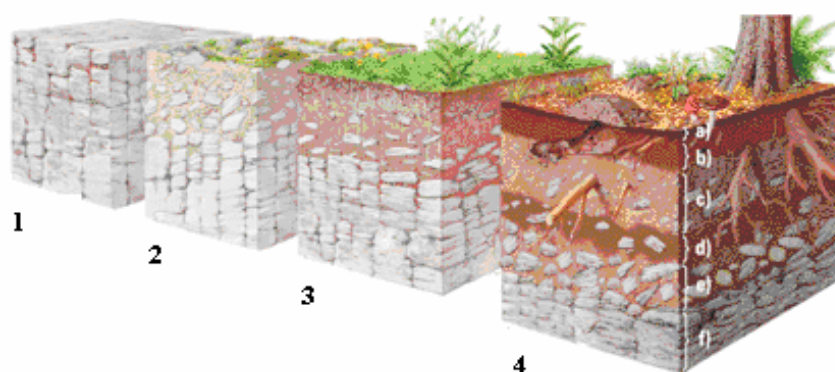
Znaczącym źródłem emisji pierwiastków śladowych do gleb, zwłaszcza w ich poziomach powierzchniowych, są nawozy mineralne oraz niektóre środki ochrony roślin. Po wprowadzeniu pestycydu do gleby może się on przemieszczać i pojawiać następnie w różnych (odległych) miejscach. Po wnikięciu do gleby może być pobierany przez korzenie roślin (a następnie usuwany z pola wraz z fitomasą), biodegradowany do nowego związku chemicznego lub wypłukiwany z wodą do podglebia i głębiej. Długoletnie stosowanie niektórych środków ochrony roślin doprowadziło do zanieczyszczenia gleb przez arsen, miedź, rtęć, kadm i ołów [49].

Głównymi punktowymi i obszarowymi źródłami emisji metali do gleb są przede wszystkim pyły emitowane przez huty metali nieżelaznych, składowiska żużli pohutniczych, energetyczne spalanie węgla, a także zanieczyszczenia motoryzacyjne. Zagrożenie dla gleb ze strony zanieczyszczeń emitowanych przez pojazdy samochodowe uzależnione jest głównie od natężenia ruchu, oddalenia od drogi, ukształtowania terenu, a także sposobu jego użytkowania.

Wody opadowe stanowią dodatkowe źródło zanieczyszczeń, których ładunek pochodzi z obiegu biogeochemicznego metali oraz z gospodarczej działalności człowieka. Ze źródeł atmosferycznych mogą pochodzić w znacznych ilościach jony będące wartościowymi składnikami odżywczymi roślin, ale także jony toksyczne dla większości organizmów, jak: kadm, ołów, rtęć i inne. Wody opadowe, wpływając na przebieg procesów glebowych i chemizm wód odpływających z gleb, wpływają na funkcjonowanie ekosystemów lądowych i wodnych. Procesy te mogą być szczególnie groźne na obszarach z dominacją opadów o kwaśnym charakterze oraz małej odporności gleb i wód na degradację [50].

2.4. Właściwości biochemiczne i fizykochemiczne gleby

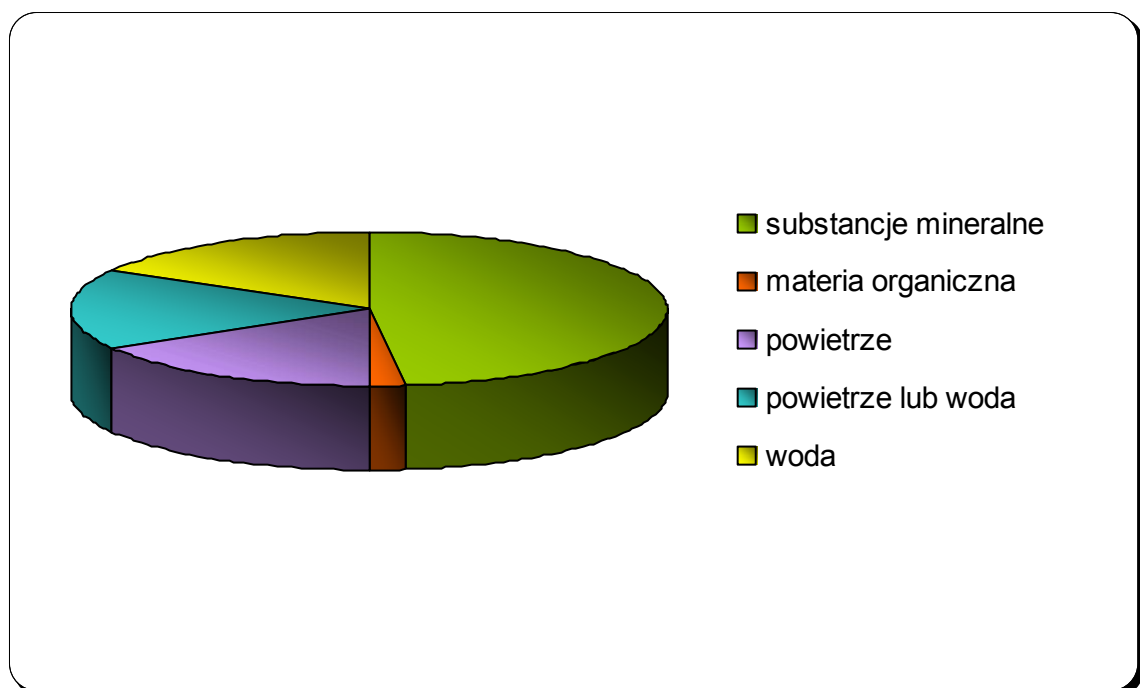
Gleba to biologicznie czynna powierzchniowa warstwa (1,5- 2,0 m) litosfery, powstała ze skały macierzystej pod wpływem czynników glebotwórczych (głównie organizmów żywych, klimatu i wody) i podlegająca stałym przemianom (**Rysunek 4**).



Rysunek 4. Kolejne etapy procesu glebotwórczego [51]:

1. Lita skała ulega procesom wietrzenia. 2. W wyniku wietrzenia na skale powstaje warstwa luźnej zwietrzliny. Jest ona infiltrowana przez wodę opadową, dzięki której rozwijają się mikroorganizmy i roślinność (mchy, porosty). Ich obecność powoduje dalszy rozkład skały macierzystej i ukształtowanie się tzw. niedojrzałej gleby. 3. Roślinność rozwija się coraz intensywniej. W wyniku rozkładu jej szczątków powstaje warstwa organiczna, na którą oddziałują bakterie i mikroorganizmy- tworzy się warstwa próchnicy. 4. W tzw. glebie dojrzałej wyraźnie zaznacza się podział na warstwy- poziomy glebowe. Można wyróżnić: **a)** poziom ściółki, **b)** poziom próchniczny, **c)** poziom wymywania- eluwalny, **d)** poziom wmywania- iluwalny, **e)** zwietrzałą skałę macierzystą.

Glebę traktuje się jako układ trójfazowy, składający się z fazy stałej, ciekłej i gazowej (**Rysunek 5**). Największą objętość zajmuje faza stała gleby, zazwyczaj do 50%. Składa się ona z części mineralnej i organicznej. Część mineralna gleby powstaje na skutek wietrzenia fizycznego i chemicznego skały macierzystej. Natomiast, część organiczna powstaje jedynie dzięki procesom biologiczno-chemicznym, w których główną rolę odgrywają organizmy glebowe- edafon. Udział kolejnych dwóch faz: ciekłej i gazowej jest bardzo różny i zależy od czynników klimatycznych, morfologicznych i lokalnych układów ekologicznych [45].



Rysunek 5. Układ trójfazowy gleby.

W warunkach naturalnych między tymi trzema fazami tworzy się układ równowagi stabilnej- zarówno jakościowej, jak i ilościowej. Jego naruszenie prowadzi do niekorzystnych zmian określanych terminem degradacji [45]. Faza stała gleby jest polidispersyjna, gdyż obejmuje cząstki różnych rozmiarów i heterodispersyjna, ponieważ poszczególne jej cząstki różnią się pod względem chemiczno-mineralogicznym. Stan rozdrobnienia mineralnej części fazy stałej gleby charakteryzowany jest przez skład granulometryczny, czyli procentowy udział poszczególnych cząstek mineralnych, zwanych frakcjami granulometrycznymi. Wśród frakcji granulometrycznych wyróżnia się:

- frakcję kamienistą (500- 75 mm);
- frakcję żwirową (75- 2 mm);

- frakcję piaskową (2- 0,05 mm);
- frakcję pyłową (0,05- 0,002 mm);
- frakcję iłową (<0,002 mm) [52,53].

Skład granulometryczny jest podstawową cechą gleby kształtującą jej zdolności sorpcyjne (ograniczenie ruchliwości makro- i mikropierwiastków), a zatem decydującą o mobilności i dostępności metali ciężkich dla roślin [54].

Do najważniejszych zjawisk fizykochemicznych charakteryzujących dynamikę trójfazowego układu glebowego należą:

- rozpuszczanie i wytrącanie;
- adsorpcja i desorpcja;
- zakwaszanie i alkalizacja;
- utlenianie i redukcja;
- peptyzacja i koagulacja;
- dyfuzja itp.

Najważniejsze fizykochemiczne właściwości gleb są związane z procesami i zjawiskami obserwowanymi na granicy faz stałej (mineralnych i organicznych składników gleby) i ciekłej (roztworu glebowego) [55]. Szczególne znaczenie mają zachodzące w glebach procesy sorpcji. Proces ten obejmuje dwa zjawiska: absorpcję i adsorpcję. Przykładem absorpcji jest pochłanianie przez roztwór glebowy gazów z atmosfery, a także gazów, które są produktami procesów biologicznych lub chemicznych zachodzących wewnątrz gleby. Natomiast, adsorpcja jest zjawiskiem zachodzącym na granicy dwóch faz i polega na tym, że w warstwie powierzchniowej danej fazy stężenie substancji jest większe niż w głębi tej fazy. Sorpcja może przebiegać dzięki słabym oddziaływaniom van der Waalsa, siłom elektrostatycznym, a także w wyniku wytworzenia wiązań chemicznych [56]. Zdolności sorpcyjne gleb odgrywają bardzo ważną rolę w odżywianiu się roślin, nawożeniu gleb oraz zatrzymywaniu różnych związków, np. metali ciężkich i pestycydów. W zależności od sposobu zatrzymywania różnych substancji przez cząstki gleby można wyróżnić kilka typów procesów sorpcji. W **Tabeli 3** przedstawiono podstawowe informacje o tych procesach [52].

Tabela 3. Podstawowe informacje o różnych procesach sorpcyjnych zachodzących w glebie.

RODZAJ SORPCJI	UWAGI
SORPCJA MECHANICZNA	zatrzymywanie cząstek w porach glebowych
SORPCJA FIZYCZNA	„przyciąganie” roztworów glebowych przez stałe cząstki substancji, zmniejszających napięcie powierzchniowe
SORPCJA CHEMICZNA	zachodzi wtedy, gdy w wyniku reakcji chemicznych powstają substancje nierozpuszczalne lub trudno rozpuszczalne
SORPCJA BIOLOGICZNA	polega na wbudowywaniu substancji mineralnych w materię organiczną przez makro- i mikroorganizmy
SORPCJA FIZYKOCHEMICZNA (TZW. WYMIENNA)	zachodzi dzięki reakcjom wymiany między roztworem glebowym a koloidami glebowymi

Ogromny wpływ na jakość zachodzących procesów sorpcyjnych ma typ gleby. Do najważniejszych parametrów kształtujących zachowanie się substancji nieorganicznych, a w szczególności metali ciężkich w glebie należy zaliczyć:

- pH gleby;
- zawartość materii organicznej;
- obecność anionów;
- stężenie metali ciężkich;
- rozmiary cząstek gleby;
- potencjał redoks;
- wilgotność gleby [56].

W ocenie jakości gleby bardzo ważnym wskaźnikiem jest jej pojemność sorpcyjna, czyli całkowita ilość kationów, która może być związana przez glebę [52]. Jest ona czynnikiem decydującym o uwalnianiu jonów metali ciężkich do roztworu glebowego przy danym pH [57]. Metale ciężkie są adsorbowane na powierzchni minerałów glebowych w centrach aktywnych, zachodzące zaś reakcje chemiczne można opisać równaniami wymiany jonowej, które mają charakter reakcji odwracalnych, zachodzą stechiometrycznie i są selektywne. Jednoczesne zasorbowanie przez glebę kilku metali ciężkich (co ma zwykle miejsce w warunkach naturalnych) wytwarza między nimi zjawiska konkurencyjności, objawiające się wypieraniem z kompleksu sorpcyjnego metalu o mniejszej energii

wiązania. Przy zmianie stanu gleby (odczynu, wilgotności, natlenienia) w kompleksie sorpcyjnym ujawniają się zjawiska konkurencji pomiędzy zasorbowanymi wcześniej metalami. Sorpcja konkurencyjna może wpływać na ruchliwość niektórych pierwiastków w glebach i przyczyniać się do ich przemieszczania w głąb profilu glebowego bądź pobierania przez system korzeniowy roślin. Efektem występowania zjawiska konkurencyjności między kationami metali ciężkich jest, zachodząca równolegle do procesów sorpcyjnych, desorpcja [58].

Ważną cechą gleb, jest ich odczyn kwasowo- zasadowy (pH), który określa stężenie molowe jonów wodorowych w roztworze glebowym. Wiele właściwości gleb zależy od pH, np. dostępność dla roślin pierwiastków pokarmowych lub potencjalnie toksycznych, pojemność wymiany kationów czy też skład kationów wymiennych. Odczyn gleby jest podstawowym czynnikiem determinującym skład chemiczny i stężenie roztworu glebowego. Zmiana odczynu gleby w znacznym stopniu wpływa na stężenie składników w roztworze glebowym, a co za tym idzie na ich ruchliwość i dostępność dla roślin [59].

W glebach zanieczyszczonych przez metale ciężkie następuje wzrost ich rozpuszczalności w wyniku procesu zakwaszania gleb. Podobnie w warunkach silnej alkalizacji gleb także może nastąpić pewien wzrost rozpuszczalności metali, zwłaszcza miedzi [60]. Odczyn i kwasowość (ilość jonów wodorowych i glinowych związanych wymiennie lub niewymiennie z fazą stałą gleby) bardzo silnie rzutują również na rozmieszczenie mikro- i makropierwiastków w profilu glebowym. Wpływ taki bardzo wyraźnie zaznacza się w przypadku gleb kwaśnych. Dotyczy to między innymi takich pierwiastków, jak: cynk, ołów, miedź i kadm. Wzrost zakwaszenia gleb powoduje między innymi wzrost ruchliwości opisywanych metali, przez co są one włączane do obiegu w ekosystemie [61]. Ze względu na silną zależność rozpuszczalności metali od odczynu, wapnowanie zanieczyszczonych gleb jest podstawowym zabiegiem ograniczającym ruchliwość metali ciężkich z gleb. Niektóre metale mogą również wykazywać zwiększoną rozpuszczalność nie tylko w środowisku kwaśnym, ale także alkalicznym, co wiąże się z tworzeniem ujemnie naładowanych jonów kompleksowych typu $M[OH]_n^-$ oraz kompleksowych połączeń metali z jonami amonowymi i małomolekularnymi związkami organicznymi w roztworze [60].

Występowanie określonych form pierwiastków toksycznych w glebie zależne jest w dużym stopniu od wartości potencjału redoks. Określone układy redoks tworzą pierwiastki występujące zarówno w formie utlenionej, jak i zredukowanej. W glebie może współistnieć kilka układów redoks, a stężenia poszczególnych składników tych układów

oraz pH wpływają łącznie na wartość potencjału redoks gleby [55]. Efektem procesów redukcyjnych jest rozpuszczanie uwodnionych tlenków żelaza i manganu, przechodzenie do roztworu jonów Mn^{2+} , a w dalszej kolejności Fe^{2+} oraz uwalnianie metali ciężkich wcześniej zabsorbowanych i okludowanych na hydroksoxytlenkach. W jeszcze silniej redukcyjnych warunkach, gdy redukcji ulegają siarczany, uwolnione wcześniej do roztworu metale ciężkie podlegają zwykle chemisorpcji i stracają się w postaci trudno rozpuszczalnych siarczków, np. FeS_2 , HgS , CdS , CuS , MnS i ZnS [60].

Oprócz części mineralnej gleba zawiera również materię organiczną, która obejmuje martwe szczątki roślinne i zwierzęce, zarówno świeżo obumarłe, jak i na różnych stadiach rozkładu. Szczątki roślinne, nagromadzone w glebach znajdujące się w różnych stopniach rozkładu (humifikacja, mineralizacja) to próchnica, czyli humus glebowy. Próchnica stanowi 70- 80% materii organicznej gleby. Związki humusowe pełnią ważną rolę w glebie, gdyż w reakcjach z metalami mogą tworzyć sole, a także proste i chelatowe związki kompleksowe. Funkcję ligandów kompleksujących metale z roztworu pełnią grupy funkcyjne kwasów huminowych i fulwowych zawierające tlen (grupy karboksylowe, fenolowe, alkoholowe i fenyłowe), azot (grupy aminowe i amidowe) oraz siarkę (grupy siarczkowe i sulfhydryłowe) [56]. Jony metali mogą być również mostkami w kompleksach związków humusowych z minerałami ilastymi. Trwałość związku humusowo- metalicznego zależy od odczynu gleby i rodzaju jonu metalu. Rodzaj połączeń organiczno- mineralnych, stopień wysycenia przez jon metaliczny, adsorpcja kompleksu na mineralnej cząstce gleby, a także biodegradacja organicznego składnika kompleksu są czynnikami decydującymi o ruchliwości jonów metalicznych w glebie, o ich przemieszczaniu się w profilu glebowym i wytrącaniu, a w konsekwencji o przebiegu procesu glebotwórczego i kształtowaniu się profilu glebowego. W glebach kwaśnych ogromne znaczenie ma zdolność materii organicznej do wiązania potencjalnie toksycznych jonów glinu. Bezsporny jest również udział materii organicznej w detoksykacji jonów chromianowych Cr^{6+} [55].

Ważnym wskaźnikiem świadczącym o żyzności gleby jest jej aktywność biologiczna, określana między innymi poprzez aktywność enzymatyczną. Przemiany mikrobiologiczne i biochemiczne zachodzące w glebie zdecydowanie przeważają nad reakcjami chemicznymi, a zanieczyszczenie środowiska glebowego przez metale ciężkie prowadzi do obniżenia intensywności większości reakcji biochemicznych przebiegających w glebie oraz zmniejszenia aktywności enzymów glebowych [62]. Obecność pierwiastków toksycznych prowadzi do zmniejszenia aktywności innych enzymów glebowych: ureazy,

fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej. Oddziaływanie metali ciężkich, występujących w zbyt dużych ilościach w glebie, na enzymy wynika nie tylko z działania bezpośredniego, ale także pośredniego- poprzez zmianę stanu zakwaszenia gleby, oddziaływanie na uprawianą roślinność oraz na liczebność drobnoustrojów. Wszystkie te elementy wiążą się z zakwaszeniem gleby, w największym stopniu stan jej zakwaszenia zwiększają związki miedzi, cynku i niklu, a więc metali, które z reguły powodują największe modyfikacje w mikrobiologicznych właściwościach gleby [25].

2.5. Formy pierwiastków toksycznych w glebie

Każdy pierwiastek występuje w glebie w bardzo wielu formach (postaciach), jako różne związki mineralne i organiczne oraz jony znajdujące się w roztworze lub związane z fazą stałą. Formy te charakteryzują się różną biodostępnością i można je zakwalifikować do kilku kategorii. Ogólnie za najłatwiej dostępne uznaje się formy jonowe obecne w roztworze glebowym, najczęściej w postaci prostych jonów, rzadziej jonów kompleksowych. Następnie należy wymienić formy łatwo rozpuszczalne lub jony zaadsorbowane wymiennie, które stosunkowo szybko uzupełniają ubytki stężenia jonów w roztworze. Z form trudniej dostępnych można wyróżnić te, które są silniej związane (ich uwolnienie do roztworu wymaga np. zmiany pH lub potencjału redoks, utworzenia związków chelatowych) oraz te, które są bardzo silnie związane (np. w postaci wolno wietrzejących minerałów lub substancji organicznych odpornych na rozkład mikrobiologiczny) [55]. Jony zawarte w roztworze glebowym są w równowadze z wolnymi rozpuszczonymi solami, solami zaadsorbowanymi, związkami wytrąconymi i jonami wymiennymi. Równowaga ta jest kształtowana przez szereg procesów glebowych, takich jak: sorpcja wymienna, reakcje wytrącania i rozpuszczania, reakcje utleniania i redukcji, procesy mineralizacji i unieruchamiania (immobilizacji) [59].

Biodostępność pierwiastków, korzystna z punktu widzenia właściwego odżywiania roślin, w przypadku pojawienia się w glebie pierwiastków (substancji) toksycznych jest bardzo niepożądana. W procesach detoksykacji największe znaczenie ma przejście form jonowych, łatwo pobieranych z roztworu, w formy trudno dostępne. Unieruchamianie pierwiastków toksycznych w glebie zachodzi głównie w wyniku procesów adsorpcji, tworzeniu trwałych kompleksów np. związków chelatowych z próchnicą, a także wytrącaniu w postaci związków trudno rozpuszczalnych (sprzyja temu zwykle odczyn

bliski obojętnemu). Im gleba jest bogatsza w koloidy mineralne i organiczne, tym skuteczniej wiąże substancje toksyczne. Zmiana warunków fizykochemicznych (np. zakwaszenie gleby) może doprowadzić do ponownego uruchomienia toksycznych metali [55].

2.6. Ruchliwość i pobieranie jonów metali przez rośliny

Metale ciężkie łatwo ulegają kumulacji zarówno w komórkach organizmów, które są zaliczane do grupy producentów jak i konsumentów. Szczególnie niebezpieczne jest kumulowanie tych związków w komórkach producentów, gdyż poprzez te organizmy nadmierne ilości metali mogą zostać włączone do łańcucha pokarmowego i jednocześnie do obiegu biologicznego. Niestety, to właśnie rośliny są głównym odbiorcą składników mineralnych z gleby i jednocześnie głównym ich źródłem w żywieniu zwierząt i ludzi. Pierwiastki śladowe są silnie sorbowane przez składniki stałej fazy gleby, bardzo słabo podlegają wymywaniu oraz przemieszczaniu się w profilu glebowym. Znaczące ich odprowadzenie z gleby wiąże się z pobraniem i wyniesieniem ich z plonem roślin lub erozją gleby [63]. Do czynników mających największe praktyczne zastosowanie w przeciwdziałaniu nadmiernemu wzrostowi stężenia metali ciężkich w roślinach należą:

- gatunek uprawianej rośliny;
- zawartość metali ciężkich w glebie;
- odczyn gleby (pH);
- zawartość substancji organicznej, a także makro- i mikroelementów w glebie;
- wilgotność gleby.

Spośród właściwości fizykochemicznych gleby jej odczyn (pH) ma największe znaczenie dla procesu kumulacji metali ciężkich w roślinach. Jeżeli gleba charakteryzuje się odczynem zasadowym ($\text{pH} > 6,5$) prowadzi to do zmniejszenia ilości łatwo rozpuszczalnych form metali w glebie i ogranicza ich pobieranie oraz gromadzenie przez rośliny [63]. W środowisku kwaśnym rośliny mogą pobierać duże ilości tych pierwiastków nawet z gleb mało zanieczyszczonych (dotyczy to zwłaszcza kadmu, cynku i niklu) [64]. W roztworach glebowych o obojętnym i lekko alkalicznym odczynie kadm występuje zazwyczaj w formie wolnych jonów, natomiast takie pierwiastki jak cynk, miedź i ołów w formie kompleksów nieorganicznych. Kationy Zn^{2+} i Cd^{2+} są słabo kompleksowane przez substancję organiczną, dlatego metale te występują w roztworze glebowym w postaci

wolnych jonów [57]. Zgodnie z teorią Fullera ruchliwość pierwiastków śladowych w glebie w dużej mierze zależy od pH gleby, np.:

- przy pH gleby 4,2- 6,6: kadm i cynk zaliczane są do pierwiastków ruchliwych, natomiast miedź i ołów- do słabo ruchliwych;
- przy pH gleby 6,7- 7,8: kadm i cynk są umiarkowanie ruchliwe, a miedź i ołów- słabo ruchliwe.

Przejawem wzrostu mobilności metali jest zwiększenie ich rozpuszczalności w roztworach o słabej sile ługującej oraz zwiększone pobieranie przez rośliny [30].

Wpływ pH na stężenie metali ciężkich w roztworze glebowym jest modyfikowany przez zawartość i rodzaj materii organicznej w glebie. Ponadto substancje organiczne mają znacznie większe zdolności wiązania metali ciężkich w silnie zakwaszonych glebach niż substancje mineralne [65].

Najważniejszym ogniwem w łańcuchu pokarmowym na drodze transportu metali ciężkich z gleby do organizmów żywych są rośliny [66]. Proces akumulacji metali w roślinie obejmuje trzy główne etapy:

- zwiększenie mobilności jonów metali;
- pobieranie metali;
- transport metali do miejsc składowania w roślinie.

Zauważono, że proces nagromadzenia się metali w roślinie na ogół maleje w kolejności: korzenie > łodygi > liście > owoce i nasiona [66]. W pobieraniu dużą rolę odgrywa forma, w jakiej metal znajduje się w glebie oraz jej kwasowość [57]. Zazwyczaj wyróżnia się następujące formy metali w glebie, określane często za pomocą terminu:

- **„czynne”**, bezpośrednio rozpuszczalne w wodzie, występujące w roztworze glebowym w postaci jonów lub rozpuszczalnych kompleksowych połączeń z ligandami mineralnymi lub organicznymi;
- **„wymienne”**, adsorbowane w położeniach jonowymiennych związanych z trwałymi i zmiennymi ładunkami mineralnych i organicznych składników kompleksu sorpcyjnego gleby;
- **„specyficznie sorbowane”**, tworzące silne wiązania koordynacyjne z grupami funkcyjnymi uwodnionych tlenków żelaza i glinu oraz struktur krzemianowych;
- **„okludowane (współstrącone)”** w tlenkach żelaza, glinu i manganu lub obecne w nich wskutek dyfuzji do wnętrza kryształów;

- „**chemicznie sorbowane**”, tworzące wtórne, trudno rozpuszczalne połączenia amorficzne lub krystaliczne, np. węglany, siarczki, fosforany; proces chemisorpcji i strącania nierozpuszczalnych połączeń zachodzi głównie w warunkach przesylenia roztworu, jest on jednak możliwy także w warunkach roztworu nienasyconego;

- „**rezydualne**”, wbudowane w sieci krystaliczne pierwotnych i wtórnych minerałów glebowych; do tej frakcji zaliczyć należy także metale obecne w formie spieków krzemianowych, jakie mogą trafiać do gleby wraz z pyłami metalurgicznymi [57].

Najszybciej przez rośliny pobierane są wolne jony (np. Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{2+}), natomiast te, które znajdują się w formie kompleksów, są uwalniane za pomocą substancji aktywnie wydzielanych przez korzenie roślin. Korzenie roślin mogą wydzielać do gleby kwasy organiczne i chelatory metali, tzw. fitosiderofory, zdolne do uwalniania metali z nierozpuszczalnych kompleksów glebowych. Podobną rolę odgrywają obecne w plazmolemie oksydazy i ATP- zależne pompy protonowe zmniejszające pH gleby, a także zdolne do redukcji metali (np. żelaza, miedzi, manganu) do form lepiej przyswajalnych. Wymienione właściwości korzeniowych czynników wpływających na pobieranie metali można także przypisać grzybom mikoryzowym oraz mikroorganizmom glebowym, będących ważnymi składnikami ryzosfery korzeniowej. Podstawowym procesem warunkującym homeostazę jonów metali w roślinie oraz decydującym o jej odporności jest regulacja pobierania jonów metali przez komórki korzenia. Znaczna część metali ciężkich zatrzymywana jest przez ścianę komórkową. W błonach komórek roślinnych nie ma specyficznych transporterów dla jonów metali zbędnych, takich jak kadm i ołów, które prawdopodobnie wnikają do wnętrza komórek poprzez mało specyficzne transportery dla kationów niezbędnych. Po wniknięciu do komórki jony metali nie pozostają w stanie wolnym, lecz są wiązane i otoczkowane przez specjalne substancje chelatujące i chaperonowe. Dotyczy to zwłaszcza silnie reaktywnych jonów Cu^{2+} , które mają duży potencjał redoks, a jednocześnie są niezbędne jako składniki wielu enzymów mitochondrialnych i plastydowych, takich jak dysmutaza nadadtlenkowa, oksydaza cytochromu C czy też plastocyjanina. W ich wewnątrzkomórkowym transporcie uczestniczą specjalne metalochaperony, natomiast za transport jonów metali z cytoplazmy do odpowiednich przedziałów komórkowych odpowiedzialna jest odrębna grupa białek.

Do najważniejszych, najlepiej zbadanych substancji uczestniczących w wiązaniu, a także wewnątrzkomórkowym transporcie metali ciężkich należą białka i peptydy zwane metalotioneinami, które podzielono na trzy klasy. Związki zaliczone do dwóch pierwszych klas wykazują zdolność do wiązania metali ciężkich u zwierząt i grzybów. Natomiast

rośliny wykształciły odmienny, sprawny system reagujący na obecność metali ciężkich w komórce, który polega na syntezie fitochelatyn, które są zaliczane do metalotionein III klasy. Biosynteza fitochelatyn ma przebieg etapowy i w ostatniej fazie jest katalizowana przez syntetazę fitochelatynową- enzym, którego aktywatorami są wolne jony metali ciężkich, szczególnie Cd^{2+} , Ag^+ , Bi^{3+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} i Cu^{2+} , a substratami glutation lub fitochelatyny o różnej długości łańcucha peptydowego. Rola fitochelatyn polega na detoksykacji nadmiaru wolnych jonów metali w komórkach roślinnych, w czym ważną rolę odgrywają grupy $-\text{SH}$ reszt cysteinowych. Podstawowa rola, jaką przypisuje się fitochelatynom, polega na wahadłowym transporcie metali dwuwartościowych z cytoplazmy do wakuoli, gdzie w warunkach małej wartości odczynu pH kompleks ulega dysocjacji, a jony metali łączą się z kwasami organicznymi [67].

2.7. Ochrona gleb - stan prawny

Gleba jest ważnym elementem środowiska przyrodniczego, z uwagi na przebiegający w niej rozwój roślin, stanowiących pokarm dla ludzi i zwierząt. Właściwości gleby mogą ulegać zmianie w wyniku negatywnego oddziaływania czynników spowodowanych emisją zanieczyszczeń przemysłowych i rozwojem motoryzacji, a także chemizacji rolnictwa.

Celem monitoringu gleby, który stanowi systemem okresowo powtarzanych pomiarów i obserwacji wybranych cech i właściwości gleb, jest ocena stanu i kierunku zmian środowiska przyrodniczego oraz opracowanie prognoz i wczesne informowanie o przewidywanych przeobrażeniach tego środowiska pod wpływem czynników zewnętrznych.

Ponieważ jednym z celów monitoringu gleb jest stwierdzenie, czy nie nastąpiło przekroczenie standardów jakości gleb, określonych w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 roku w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi (Dz. U. Nr 165, poz. 1359), badane są wyłącznie wskaźniki, wyszczególnione w w/w rozporządzeniu [68]. W pierwszej kolejności należy:

- 1). określić wodoprzepuszczalność gruntów [m/s] w każdym przypadku poboru próbek z głębokości większej niż 0,3 m;
- 2). ustalić listę substancji, których wystąpienie jest spodziewane, ze względu na prowadzoną w rejonie lub w sąsiedztwie pobierania prób działalność;

3). wskazać do badań wybrane w miarę potrzeb spośród niżej wymienionych wskaźników i substancji:

- **metale:** As, Ba, Cr, Sn, Zn, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Hg;
- **związki nieorganiczne:** cyjanki wolne, cyjanki wolne kompleksowe;
- **węglowodory:** benzyna suma (węglowodory C₆-C₁₂), olej mineralny (węglowodory C₁₂ – C₃₅), węglowodory aromatyczne: benzen, etylobenzen, toluen, ksylen, styren, suma węglowodorów aromatycznych;
- **wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne:** naftalen, fenantren, antracen, fluoranten, chrysen, benzo/a/antracen, beno/a/piren, benzo/a/fluoranten, benzo/ghi/percylen, suma wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych;
- **węglowodory chlorowane:** alifatyczne chlorowane pojedyncze (lotne), alifatyczne chlorowane (suma), chlorobenzeny pojedyncze, chlorobenzeny (suma), chlorofenole pojedyncze, chlorofenole (suma), związki z grupy PCB;
- **środki ochrony roślin:** pestycydy chloroorganiczne, pestycydy- związki nie chlorowane;
- **pozostałe zanieczyszczenia:** tetrahydrofuran, pirydyna, tetrahydrotiofen, cykloheksan, fenol, krezole (suma), ftalany (suma).

Jeszcze do niedawna, ocena jakości środowiska, w tym również gleb opierała się przede wszystkim na wynikach badań parametrów fizykochemicznych (monitoring chemiczny). Różnorodność chemiczna zanieczyszczeń (związki nieorganiczne, organiczne, metaloorganiczne) i ich ilość sprawia jednak, że monitoring chemiczny jest bardzo kosztowny. Dodatkowo, wymaga on utrzymywania sieci specjalistycznych laboratoriów, wyposażonych w odpowiedni sprzęt, obsługiwany przez wysokiej klasy specjalistów. Biorąc pod uwagę względy finansowe, wymuszające konieczność ograniczenia ilości możliwych do przeprowadzenia oznaczeń zidentyfikowanych (znanych) zanieczyszczeń środowiskowych (zakres badanych związków, częstotliwość analiz i ilość punktów monitoringowych) oraz względy analityczne (niemożność lub trudność w zidentyfikowaniu wszystkich zanieczyszczeń występujących w badanym elemencie środowiska oraz w opracowaniu odpowiednich procedur ich oznaczania) należy stwierdzić, że pełna wiedza o poziomie chemicznego zanieczyszczenia środowiska jest praktycznie niemożliwa do uzyskania. Podkreślić, należy również fakt, iż nawet kompletna baza danych monitoringowych nie pozwala bezpośrednio określić możliwych efektów

biologicznych, jakie w badanym ekosystemie wywołać może określona mieszanina zanieczyszczeń.

Dlatego też, tradycyjne, fizykochemiczne podejście do oceny zanieczyszczenia środowiska od kilku już lat uzupełniane jest przez, wprowadzane do praktyki analitycznej, metody biologiczne (biomonitoring, monitoring biologiczny), a w ostatnich latach także przez badania ekotoksykologiczne. Niewątpliwie, takie podejście może być źródłem nowych, istotnych informacji o stanie abiotycznej części środowiska.

Biomonitoring, wg Ramowej Dyrektywy Wodnej (RDW)- monitoring jakości biologicznej obejmuje określenie składu gatunkowego, zasobów i bioróżnorodności, czyli- jest opisem stanu bioty w badanym ekosystemie. Zmiany w składzie gatunkowym, zasobach czy bioróżnorodności wywołane przez zanieczyszczenia środowiska można obserwować w dłuższym okresie czasowym, co z punktu widzenia zadań monitoringu, nie daje możliwości wczesnego zapobiegania negatywnym skutkom zanieczyszczenia.

W latach sześćdziesiątych zaczęto stosować organizmy żywe (m.in. ryby, skorupiaki, algi) do oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska, głównie środowiska wodnego. Testy te charakteryzują się dużą praco- i czasochłonnością, do ich przeprowadzenia konieczne są próbki o dużych objętościach, a odtwarzalność uzyskiwanych wyników była stosunkowo niska.

Pod koniec lat siedemdziesiątych w Stanach Zjednoczonych (nieco później także w krajach Europy Zachodniej) prowadzono intensywne badania nad opracowaniem, a później również wprowadzeniem do praktyki analitycznej, szybkich, standardowych testów ekotoksykologicznych, znanych także jako ekotesty.

W przypadku stosowania tego typu podejścia, poziom zanieczyszczenia ocenia się w oparciu o specyficzną, całościową reakcję standardowych organizmów wskaźnikowych (rośliny, bakterie, skorupiaki itp.)- na zróżnicowaną (pod względem charakteru chemicznego oraz stężenia) mieszaninę substancji toksycznych zawartych w badanym elemencie środowiska. Takie podejście pozwala uzyskać kompleksową informację o potencjalnym wpływie zanieczyszczeń na ożywioną część środowiska (z uwzględnieniem ich współoddziaływania) [24,69-72]. Odpowiedź, w zależności od stosowanego organizmu wskaźnikowego i charakteru testu (toksyczność ostra, chroniczna, mutagenność itd.), można uzyskać już po 5- 30 minutach (test z zastosowaniem bakterii *Vibrio fischeri*) lub po kilku dniach (test z zastosowaniem skorupiaków np. *Daphnia magna*). Testy te nie wymagają dużych objętości próbki, są zgodne z wymaganiami

zawartymi w odpowiednich normach ISO i zaleceniach OECD, charakteryzują się dużą odtwarzalnością i powtarzalnością.

Monitoring ekotoksykologiczny doskonale uzupełnia monitoring chemiczny i pozwala na wcześniejszą reakcję w przypadku pojawiającego się zagrożenia, co w konsekwencji eliminuje lub ogranicza negatywny wpływ na biotę.

W **Tabeli 4** zestawiono informacje o badaniach, w których do oceny jakości próbek środowiskowych wykorzystywano obok klasycznych metodyk analitycznych, testy ekotoksykologiczne.

2.8. Testy oparte na wykorzystaniu roślin

Ciekawym rozwiązaniem okazały się testy toksyczności, które w roli organizmów wskaźnikowych wykorzystują rośliny (tzw. fitotesty). Najczęściej jako czynnik aktywny stosowane są przede wszystkim:

- glony: zielenice, sinice, okrzemki;
- rzęsa wodna;
- ukorzenione makrofity (rośliny i ich nasiona): wodne i lądowe.

Reprezentują one organizmy o szczególnym znaczeniu dla swoich siedlisk naturalnych: oprócz tego, iż dostarczają one tlen i zapewniają obieg substancji organicznych, kontrolują także jakość wody oraz równowagę gleby i osadów dennych. Ponadto, rośliny zapewniają pożywienie, schronienie i siedlisko życia innym organizmom (owadom, bezkręgowcom, rybam, płazom, ptakom i ssakom) [73,74]. Tak więc zmiany zachodzące w roślinach bezpośrednio wpływają na strukturę i funkcjonowanie całego ekosystemu.

Jeszcze do niedawna popularnym sposobem wykorzystania roślin do oceny jakości środowiska był biomonitoring *in situ*. Rośliny (wodne i lądowe) stosowano również do usuwania zawiesin, metali ciężkich, składników odżywczych (azotu i fosforu), toksycznych związków organicznych, jak również bakterii z odcieków powstających podczas odwadniania kopalni, składowisk odpadów, pól uprawnych i kanalizacji burzowych [73]. Dopiero niedawno znalazły one zastosowanie (w postaci fitotestów) do oceny zagrożenia wynikającego z zanieczyszczenia środowiska wodnego i lądowego.

Tabela 4. Informacje literaturowe na temat przeprowadzanych badań, w których jednocześnie stosowano testy ekotoksykologiczne i odpowiednie metodyki badań analitycznych.

RODZAJ PRÓBKII	ZAKRES CHEMICZNYCH BADAŃ ANALITYCZNYCH	BIOTESTY	UWAGI	LITERATURA
1	2	3	4	5
Osady ściekowe z oczyszczalni ścieków: próbki osadów surowych oraz osadów po 76 dniach kompostowania	<ul style="list-style-type: none"> - pH, - OWO, - azot całkowity, 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Phytotoxkit FTM</i>: <i>Lepidium sativum</i>; - <i>Ostracodtoxkit FTM</i>: <i>Heterocypris incongruens</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Zgodnie z normą OECD osady ściekowe mieszano z glebą odniesienia (dodatek gleby wynosił odpowiednio 6 i 24%). - Śmiertelność <i>Heterocypris incongruens</i> wynosiła od 0% do 90% (w zależności od rodzaju osadów ściekowych). - W przypadku większości próbek osadów ściekowych odnotowano zahamowanie wzrostu korzenia na poziomie 20-100%. - Wyraźne zahamowanie kiełkowania nasion (test <i>Phytotoxkit FTM</i>) obserwowano w przypadku próbek osadów ściekowych z 24%-ową domieszką gleby odniesienia. - Zaobserwowano, iż proces kompostowania (w zależności od typu osadów ściekowych) wywiera różny wpływ na toksyczność badanych próbek. - Kompostowanie osadów często prowadziło do wzrostu toksyczności w stosunku do <i>Heterocypris incongruens</i>. - W przypadku testu <i>Phytotoxkit FTM</i>, kompostowanie osadów miało korzystny wpływ na kiełkowanie nasion i wzrost roślin. 	[75]

Tabela 4. ciąg dalszy

1	2	3	4	5
Osady ściekowe z oczyszczalni ścieków: próbki osadów surowych oraz osadów po 76 dniach kompostowania	- WWA - metale ciężkie: Cd, Cr, Cu, Pb, Ni, Zn	- <i>Phytotoxkit FTM</i> ; <i>Lepidium sativum</i>	- Celem badań było określenie wpływu kompostowania na fitotoksyczność osadów ściekowych. - Badane próbki osadów ściekowych wykazywały zróżnicowane efekty toksyczne wobec wykorzystanych organizmów testowych (rośliny). - Kompostowanie osadów ściekowych zmniejsza ich toksyczność wobec roślin.	[76]
Próbki wód powierzchniowych i osadów z 4 rzek Polski; próbki gleby z terenów zalewowych	- do porównania wykorzystano wyniki klasycznego monitoringu chemicznego opartego o pomiar parametrów fizykochemicznych	- <i>Algaltokit FTM</i> ; - <i>Lemna minor</i> ; - <i>Phytotoxkit FTM</i> ; - <i>Rotokit FTM</i> ; - <i>Rotokit FTM short-chronic</i> ; - <i>Daphtokit FTM magna</i> ; - <i>Rapidotoxkit FTM</i> ; - <i>Thamnotoxkit FTM</i> ; - <i>Ostracodtoxkit FTM</i> ; - <i>Microtox</i> ®; - <i>Spirotox</i> ®; - <i>Protoxkit FTM</i>	- Zgodnie z zaproponowaną klasyfikacją ekotoksykologiczną jakość próbek wód powierzchniowych, okazała się być lepsza w porównaniu z oceną jakości wód wykonaną w oparciu o pomiar parametrów fizykochemicznych. - Próbki osadów oraz próbki gleby z terenów zalewowych charakteryzowały się wyższą toksycznością niż próbki wód powierzchniowych. - Wydaje się koniecznym uzupełnienie tradycyjnego monitoringu opartego o pomiar parametrów fizykochemicznych o ocenę toksyczności. Pozwoli to niewątpliwie na ocenę rzeczywistego zagrożenia badanych próbek środowiskowych w stosunku do organizmów żywych. - Zróżnicowana wrażliwość na obecne w środowisku zanieczyszczenia sprawia, iż wskazane jest stosowanie baterii biotestów (ocena toksyczności w stosunku do organizmów będących przedstawicielami różnych poziomów troficznych).	[77]

Tabela 4. ciąg dalszy

1	2	3	4	5
Próbki gleby z terenów rolniczych	- skład mineralny, - rozkład granulometryczny - przewodnictwo, - pH, - zdolność do wymiany kationów, - ciężar właściwy	- <i>Sorgo saccharatum</i> ; - <i>Lepidium sativum</i> ; - <i>Sinapis alba</i>	- Przeprowadzone badania miały na celu ocenę skuteczności usunięcia Cd z zanieczyszczonych gleb w drodze wykorzystania metod elektrokinetycznych (EDTA). - Sprawność procesu zależała w dużej mierze od pH gleby: niskie pH gleby prowadziło do gromadzenia się jonów Cd ²⁺ w pobliżu katody. - Zastosowanie metod elektrokinetycznych pozwoliło na znaczne usunięcie Cd z gleby, jednakże niska wartość pH gleby po zakończeniu procesu prowadziła do wzrostu fitotoksyczności.	[78]
Próbki osadów ściekowych wymieszane z popiołami lotnymi z elektrowni węglowej	- metale ciężkie	- Phytotoxkit®: <i>Sinapis alba</i> , <i>Sorghum saccharatum</i> , <i>Lepidium sativum</i> , - Microtox®: <i>Vibrio fischeri</i>	- Rozpatrywano dodatek popiołów lotnych oraz wapna jako alternatywną technologię stabilizacji osadów ściekowych. - Dodanie popiołów lotnych i wapna do osadów ściekowych powoduje wzrost pH osadów do wartości 8-12. - Osady z dodatkiem popiołów lotnych oraz wapna wykazywały silną toksyczność, która- w wyniku procesów starzenia osadów- uległa obniżeniu.	[79]
Próbki osadów ściekowych wymieszane z popiołami lotnymi pochodzącymi z elektrowni węglowej	- metale ciężkie	- bakterie: <i>Vibrio fischeri</i> , - skorupiaki: <i>Daphnia magna</i> , - rośliny jedno- i dwuliścienne: <i>Sinapis alba</i> , <i>Lepidium sativum</i> , <i>Sorghum saccharatum</i>	- Celem przeprowadzonych badań była ocena stabilizacji osadów ściekowych po wymieszaniu ich z popiołem lotnym, sprawdzenie właściwości fizykochemicznych otrzymanych próbek oraz ich ocena ekotoksykologiczna. - Dodatek popiołów do osadów ściekowych wpływał na zmniejszenie wymywalność metali. - Ekotoksyczność rosła wraz ze wzrostem stosunku popioły lotne/ osady ściekowe. Podkreślono konieczność oceny toksyczności osadów ściekowych przed ich ponownym wykorzystaniem (do nawożenia gleby). - Dodatek popiołów lotnych do osadów ściekowych uznano za interesującą metodę stabilizacji osadów ściekowych, pozwalającą na zminimalizowanie wypłukiwania metali z osadów.	[80]

W literaturze dostępnych jest wiele informacji na temat bioakumulacji zanieczyszczeń chemicznych przez glony i makrofity. Rośliny te znalazły szerokie zastosowanie jako biowskaźniki *in situ* w kontroli jakości środowiska ze względu na ich zdolność akumulacji związków chemicznych. Ukazało się również obszerne opracowanie dotyczące wykorzystania glonów jako podstawy biotestów służących określeniu zawartości miedzi w środowisku [81]. Prowadzono również badania odnośnie wchłaniania przez glony takich metali jak Mn^{6+} , Mo^{6+} , Ni^{2+} , V^{5+} [82].

2.8.1. Zastosowanie glonów jako elementu aktywnego fitotestów

Wybór gatunku glonu (alg) do danego testu zależy przede wszystkim od:

- jego dostępności;
- wymagań hodowli;
- łatwości użycia.

Na podstawie tych kryteriów zaleca się stosowanie mikroalg (w postaci mikrobiotestu), wśród których dwa najczęściej testowane gatunki należą do rodziny zielenic, są to glony:

- *Selenastrum capricornutum* [83];
- *Scenedesmus quadricauda* i *Scenedesmus subspicatus* [84].

W literaturze spotkać można opisy zastosowania cytometrii przepływowej w przypadku testów opartych na wykorzystaniu mikroalg [85]. Należy ją traktować jako wygodny i szybki sposób pomiaru ilości komórek w przepływającym medium, umożliwiającą pominięcie ograniczeń tradycyjnej cytometrii. Jako jej podstawowe ograniczenia należałoby wymienić:

- wysoką, niemożliwą do osiągnięcia w warunkach naturalnych, gęstość komórek;
- brak technik zapewniających możliwość liczenia komórek przy jednoczesnym rozróżnianiu komórek żywych i komórek martwych;
- niemożność wyznaczenia więcej niż jednego parametru charakteryzującego dany gatunek;
- niemożność uzyskania informacji o mechanizmie toksycznego działania zanieczyszczeń.

Ze względu na budowę (pojedynczych komórek) oraz zawartość fotosyntetycznego barwnika- chlorofilu *a*, wzbudzanego pod wpływem światła niebieskiego w cytometrii

przepływowej często stosowane są mikroalgi. Ponieważ w środowisku wodnym na populację glonów rzadko składają się organizmy jednego gatunku, zastosowanie cytometrii przepływowej umożliwia rozdzielenie poszczególnych gatunków na podstawie odbieranego sygnału- fluorescencji, a tym samym realizację biotestów funkcjonujących w oparciu o kilka gatunków [82,83,86,87].

Inną techniką przeprowadzania testów z wykorzystaniem mikroalg jest ich unieruchomienie na specjalnym podłożu (tzw. immobilizacja). Tak przygotowane hodowle utrzymują stałość procesów oddychania i fotosyntezy, a po 12 miesiącach przechowywania ich w ciemności i temperaturze 4°C powracają do normalnego wzrostu. Dotychczas immobilizowane komórki glonów stosowano głównie w procesach oczyszczania wód ściekowych z metali ciężkich, związków azotu oraz fosforu [84].

W **Tabeli 5** przedstawiono informacje o wykorzystaniu wybranych gatunków glonów w testach służących do oceny toksyczności próbek środowiskowych.

Tabela 5. Informacje o wykorzystywaniu wybranych gatunków glonów w testach służących do oceny toksyczności próbek środowiskowych.

RODZINA	GATUNEK	PARAMETR MIERZONY I WIELKOŚĆ OZNACZANA	CZAS TRWANIA TESTU	PIERWOTNE ŹRÓDŁO	ZASTOSOWANIE	LITERATURA
1	2	3	4	5	6	7
zielenice	<i>Selenastrum capricornutum</i> (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , <i>Raphidocelis subcapitata</i>)	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	3 dni	ISO 8692 (1989)	Porównano selektywność i wrażliwość różnych gatunków glonów w stosunku do herbicydów i związków nieorganicznych metali.	[88]
				ISO/DIN 8692 (1987)	Oceniono wpływ działalności rolniczej na jakość wody rzecznej.	[89]
		Hamowanie wzrostu, EC ₁₀ , EC ₅₀	7 dni	ISO 8692 (1989)	Określono toksyczność antybiotyków stosowanych na farmach zwierzęcych.	[83]
		Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	1 dzień	US EPA (1985)	Porównano wrażliwość glonów w stosunku do toksycznych metali w oparciu o hodowlę prowadzoną w warunkach statycznych i dynamicznych.	[84]
		Fluorescencja, EC ₁₀	1, 2 dni	[90]	Ocena toksyczności gleb zanieczyszczonych przez związki z grupy WWA	[91]

Tabela 5. ciąg dalszy

1	2	3	4	5	6	7
zielenice	<i>Selenastrum capricornutum</i> (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , <i>Raphidocelis subcapitata</i>)	Liczba komórek, fluorescencja, EC ₁₀ , EC ₅₀ , LOEC, TU ₁₀	1, 2 dni	ISO 8692 (1989)	Ocena wpływu działalności rolniczej na jakość wód powierzchniowych.	[92]
		Stężenie chlorofilu, EC ₂₀ , TDS	1, 2, 3 dni	nie określono	Określono wpływ działalności kopalni cynku i złota na jakość wód słodkich.	[93]
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	3 dni	OECD (1984)	Porównano selektywność i wrażliwość różnych gatunków glonów w stosunku do herbicydów i związków nieorganicznych metali.	[88]
		Hamowanie wzrostu, EC ₅₀ zmiana tempa oddychania, stężenie całkowite chlorofilu, stężenie chlorofilu <i>a</i> i <i>b</i>	12 dni	nie określono	Oceniono wchłanianie metali (Cu ⁺ , Cu ²⁺ , Mn ⁶⁺ , Mo ⁶⁺ , Ni ²⁺ , V ⁵⁺).	[82]
<i>Scenedesmus subspicatus</i> (<i>Desmodesmus subspicatus</i>)	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	3 dni	ISO 8692 (1989)	Porównano selektywność i wrażliwość różnych gatunków glonów w stosunku do herbicydów i związków nieorganicznych metali.	[88]	

Tabela 5. ciąg dalszy

1	2	3	4	5	6	7
zielenice	<i>Scenedesmus subspicatus</i> (<i>Desmodesmus subspicatus</i>)	Stężenie chlorofilu a	2, 7, 14 dni	ISO 8692 (1989)	Ocena jakości wody rzecznej z wykorzystaniem biotestu <i>in situ</i> .	[94]
		Liczba komórek, hamowanie wzrostu, EC ₅₀	1, 2, 3 dni	ISO 8692 (1989)	Wpływ obecności związków absorbujących światło na zahamowanie procesu wzrostu glonów.	[95,96]
		Biomasa, fluorescencja	1, 2, 3 dni	DIN 38412-part 33 (1989)	Wpływ stężenia składników odżywczych (azotu i fosforu) na proces wzrostu glonów.	[97]
		Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	7 dni	ISO (1989)	Uzyskanie danych dotyczących toksyczności fluorantenu i jego metabolitów.	[87]
	<i>Stichococcus bacillaris</i>	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	3 dni	OECD (1984)	Porównano selektywność i wrażliwość różnych gatunków glonów w stosunku do herbicydów i związków nieorganicznych metali.	[88]
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	3 dni	OECD (1984)	Porównano selektywność i wrażliwość różnych gatunków glonów w stosunku do herbicydów i związków nieorganicznych metali.	[88]
		Fotosynteza, stężenie chlorofilu	4 godz.	nie określono	Ocena toksyczności odcieków ze składowisk odpadów niebezpiecznych zdeponowanych w kopalniach soli.	[98]

Tabela 5. ciąg dalszy

1	2	3	4	5	6	7
zielenice	<i>Chlorella kessleri</i>	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	3 dni	OECD (1984)	Porównano selektywność i wrażliwość różnych gatunków glonów w stosunku do herbicydów i związków nieorganicznych metali.	[88]
	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	AGP	4 dni	US EPA (1974)	Ocena jakości morskich wód przybrzeżnych z wykorzystaniem mikrobiotestu.	[99]
okrzemki	<i>Skeletonema costatum</i>	Liczba komórek, fluorescencja, hamowanie wzrostu EC ₁₀ , EC ₅₀ , EC ₉₀	1, 2, 3 dni	ISO 102 53 (1995)	Ocena wrażliwości okrzemek w odniesieniu do zaleceń OSPAR.	[86]
krasnorosty	<i>Ceramium strictum</i> , <i>Ceramium tenuicorne</i>	SMA, CIA, w obu metodach: EC ₁₀ , EC ₂₀ , EC ₂₅ , EC ₅₀	7 dni	nie określono	Rowinięcie metodyki dwóch biotestów opartych na wykorzystaniu makroalg: SMA (z ang. <i>stereo microscope analysis</i>) i CIA (z ang. <i>computer image analysis</i>).	[100]
sinice	<i>Synechococcus leopoliensis</i> (<i>Anacystis nidulans</i>)	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	4 dni	OECD (1984)	Porównano selektywność i wrażliwość różnych gatunków glonów w stosunku do herbicydów i związków nieorganicznych metali.	[88]
	<i>Microcystic aeruginosa</i>	Hamowanie wzrostu, EC ₅₀	7 dni	ISO (1989)	Określenie toksyczności antybiotyków stosowanych na farmach zwierzęcych.	[83]

2.8.2. Zastosowanie roślin naczyniowych jako elementu aktywnego fitotestów

Badanie toksyczności z wykorzystaniem testów opartych na wykorzystaniu roślin naczyniowych przeprowadza się głównie w stosunku do pestycydów, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) i metali ciężkich. Informacje literaturowe na temat wykorzystania wybranych gatunków roślin jako elementu aktywnego odpowiednich biotestów zestawiono w **Tabeli 6**.

➤ Rzęsa wodna

Makrofity niezwykle rzadko znajdują zastosowanie w testach toksyczności. Jeśli jednak w literaturze napotyka się na tę grupę roślin, to przedstawione badania najczęściej dotyczą rzęsy wodnej (*Lemna minor* i *Lemna gibba*)- gatunku reprezentatywnego dla wszystkich roślin naczyniowych. Rzęsa wodna jest gatunkiem swobodnie pływającym, nie zakorzenionym w podłożu. Jej małe rozmiary, łatwość hodowli i krótki czas rozmnażania (dwukrotny wzrost liczebności następuje w ciągu 1-4 dni) decydują o wykorzystaniu jej jako materiału biologicznego. Względna wrażliwość różnych gatunków rzęs, jak również wrażliwość rzęs względem glonów i innych gatunków roślin wodnych nie została dotychczas jednoznacznie określona. W badaniach opisanych w literaturze żaden z testowanych gatunków: rzęsa drobna (*Lemna minor*) i glony (*Selenastrum capricornutum*), nie wykazał zdecydowanej wrażliwości [101,102]. Badania licznej grupy gatunków glonów i makrofitów w stosunku do herbicydów świadczą o ich porównywalnej wrażliwości [103].

➤ Rośliny zakorzenione

Duże rozmiary, powolny wzrost i brak ustalonych metod przeprowadzania testów w przypadku roślin zakorzenionych sprawiły, iż przyczyniły się do sporadycznego ich wykorzystania w formie materiału biologicznego. W literaturze spotkano informacje o wykorzystaniu wywłócznika kłosowego (*Myriophyllum spicatum*) i różnolistnego (*Myriophyllum hydrophyllum*). Rośliny mogą być hodowane w laboratorium lub pozyskiwane do testów ze źródeł naturalnych.

Tabela 6. Zastosowanie wybranych gatunków roślin naczyniowych w testach służących do oceny toksyczności próbek środowiskowych.

GATUNEK	PARAMETR MIERZONY I WIELKOŚĆ OZNACZANA	CZAS TRWANIA TESTU	LICZBA POWTÓRZEŃ	WARUNKI	PIERWOTNE ŹRÓDŁO	ZASTOSOWANIE	LITERATURA
1	2	3	4	5	6	7	8
Rzęsa drobna (<i>Lemna minor</i>)	Liczba liści, biomasa	96 godz.	3	statyczne	APHA (1985)	Porównano względną wrażliwość rzęsy drobnej i zielenicy w stosunku do szesnastu herbicydów.	[101,102]
						Oceniono wpływ działalności rolniczej na jakość wody rzecznej.	[101]
Rzęsa garbata (<i>Lemna gibba</i>)	Liczba liści, EC ₅₀ stężenie chlorofilu <i>a</i> , stężenie chlorofilu <i>b</i> , hamowanie wzrostu	8 dni	3	statyczne	ASTM (1998)	Porównano wrażliwość rzęsy garbatej w stosunku do wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych.	[104]
	nie określono					Określono zagrożenia spowodowane występowaniem w strumieniach wód pestycydów dla żyjących w nich organizmów wodnych.	[105]
Salata zwyczajna (<i>Lactuca sativa</i>)	Hamowanie wzrostu korzeni, IC ₅₀	120 godz.	3	statyczne	NWRI	Porównano wyniki testów uzyskanych w trakcie badań międzylaboratoryjnych przez laboratoria WaterTox Network; w dalszej części: oceniono jakość wody pitnej.	[106,107]

Tabela 6. ciąg dalszy

1	2	3	4	5	6	7	8
Wywłócznik kłosowy (<i>Myriophyllum spicatum</i>)	Długość pędów, liczba węzłów pędu głównego i bocznych, liczba i długość korzeni stężenie chlorofilu <i>a</i> , stężenie chlorofilu <i>b</i> , hamowanie wzrostu, EC ₅₀	12 dni	3	statyczne	ASTM (1998)	Porównano wrażliwość rzęsy garbatej w stosunku do związków z grupy WWA.	[104]
Trawa (<i>Lolium perene</i>) rzodkiew zwyczajna (<i>Raphanus sativum</i>)	Hamowanie wzrostu, liczba roślin, sucha masa	14 dni	4	statyczne	OECD	Ocena toksyczności i mobilności metali ciężkich w piaszczystej glebie.	[108]
Wierzba (<i>Salix viminalis x schwerinii</i>)	Hamowanie wzrostu, transpiracja, zużycie wody	336 godz./ 381,5 godz./ 361,5 godz.	nie określono			Ocena toksyczności gleb zanieczyszczonych przez związki z grupy WWA.	[109]

2.8.3. Mikrobiotest *Phytotoxkit FTM*

W chwili obecnej najczęściej stosowanym, a jednocześnie najlepiej poznanym i dostępnym na rynku biotestem, w którym, jako element aktywny wykorzystuje się, rośliny jest mikrobiotest *Phytotoxkit FTM*. Opiera się on na pomiarze zmniejszenia (lub braku obecności) kiełkujących nasion oraz na pomiarze wzrostu młodych korzeni po kilku dniach ekspozycji wybranych nasion na działanie substancji toksycznych lub zanieczyszczonej gleby (wobec gleby kontrolnej).

W charakterze organizmów bio wskaźnikowych wykorzystane zostały rośliny 1-liścienne: *Sorghum saccharatum* oraz 2-liścienne: *Lepidium sativum* oraz *Sinapis alba* (**Rysunek 6**). Rośliny te zostały wybrane ze względu na ich bardzo szybkie kiełkowanie i znaczne przyrosty korzeni i pędów, co umożliwia obserwację i odczyt wyników już po 3 dniach prowadzenia testu [19].



Rysunek 6. Wygląd nasion od lewej: *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum* oraz *Sinapis alba* [110-112].

Mikrobiotest *Phytotoxkit FTM* jest użytecznym narzędziem wykorzystywanym przez chemików analityków do oceny stopnia zanieczyszczenia poszczególnych elementów środowiska. Znalazł on zastosowanie m.in. w:

1). rolnictwie:

- kontrola jakości nasion;
- wpływ nawozów glebowych;
- dynamika wczesnego wzrostu rośliny;

2). ekotoksykologii do analizy fitotoksyczności:

- gleb;
- osadów;

- ścieków do nawożenia;
- biocydów;
- osadów z oczyszczalni ścieków;
- kompostu;
- substancji chemicznych;
- środków ochrony roślin.

Dzięki zastosowaniu kalibrowanych nasion roślin (*Sinapis alba*, *Lepidium sativum* oraz *Sorghum saccharatum*), których wysoka jakość jest gwarantowana przez producenta, powtarzalność i wiarygodność uzyskiwanych wyników jest bardzo duża [19].

Podstawowe elementy testu do pomiaru fitotoksyczności stanowią (**Rysunek 7**):

- przezroczyste pojemniki (pojemniki testowe) z papierowym filtrem;
- stojaki (pionowe ustawienie pojemników testowych w trakcie inkubacji w stojakach pozwala na zajęcie minimalnej przestrzeni laboratoryjnej);
- gleba odniesienia;
- fiolki z nasionami.



Rysunek 7. Wygląd części składowych mikrobiotestu *Phytotoxkit FTM*.

Obsługa systemu nie wymaga specjalistycznego przeszkolenia ani też doświadczenia w pracy z biowskaźnikami. Dodatkowymi zaletami tego fitotestu jest niewątpliwie możliwość bezpośredniej obserwacji kiełkujących nasion oraz automatyczny pomiar korzeni (i pędów) metodą analizy obrazu (rejestracja „obrazu” kiełkujących nasion w pojemnikach może być prowadzona przy użyciu dowolnego sprzętu cyfrowego: aparatu fotograficznego, kamery internetowej lub płaskiego skanera).

Duża powtarzalność uzyskiwanych wyników pomiarowych związana jest z faktem, iż badania testowe, a przede wszystkim etap inkubacji, prowadzone są w ściśle określonych, kontrolowanych warunkach. Dodatkowo, test typu *Phytotoxkit FTM* nie wymaga prowadzenia hodowli organizmów wskaźnikowych (nasiona roślin dostarczane są przez producenta), co pozwala na zmniejszenie nakładu pracy i obniżenie kosztów analizy. Jak wynika z przeprowadzonych badań dane o toksyczności dla tych samych związków, uzyskane przy użyciu różnych organizmów wskaźnikowych (w tym przypadku roślin), wykazują pewne rozbieżności. Najprawdopodobniej, wynikają one z:

- różnic we wrażliwości poszczególnych gatunków roślin na obecność w środowisku mieszaninę zanieczyszczeń;
- różnic w mechanizmach obronnych roślin.

Dlatego tak istotne jest wykonanie przy każdej serii badań próbek rzeczywistych również badań testowych dla próbek gleby odniesienia.

2.9. Klasyfikacja ekotoksykologiczna próbek środowiskowych

W prawodawstwie Unii Europejskiej brak jest jednolitego systemu klasyfikacji jakości próbek środowiskowych ze względu na ich ekotoksyczność. W literaturze dostępny jest jednak szereg propozycji odnośnie sposobów klasyfikacji.

Na podstawie wyników przeprowadzonych testów toksyczności możliwa jest ocena jakości ekotoksykologicznej badanych próbek środowiskowych, w oparciu o (wyrażoną w procentach) wartość zaobserwowanego efektu toksycznego działania, przykładowo zahamowania bioluminescencji bakterii, zahamowania wzrostu glonów, śmiertelności skorupiaków, bądź też na podstawie wartości oszacowanych wskaźników toksyczności, takich jak L(E)C₂₀, L(E)C₅₀, TU i innych.

Zasady przeprowadzania klasyfikacji jakości ekotoksykologicznej w oparciu o wartość wskaźnika TU zawarto w zaleceniach Komisji Helsińskiej (HELCOM¹) z 2002 roku. Klasyfikacja ta dotyczy próbek ścieków oczyszczonych odprowadzanych do wód z zakładów chemicznych [113], tekstylnych [114] i zakładów produkujących i konfekcjonujących środki ochrony roślin [115]. W postanowieniach Komisji Helsińskiej zaleca się badanie toksyczności ostrej próbek ścieków z zastosowaniem dwóch spośród czterech proponowanych organizmów wskaźnikowych (**Tabela 7**).

¹ Komisja HELCOM jest organem koordynującym realizację postanowień Konwencji Helsińskiej, której przedmiotem jest kompleksowa ochrona środowiska morskiego obszaru Morza Bałtyckiego

Przykładowo, w efekcie zastosowania testów toksyczności wobec bakterii *Vibrio fischeri* i skorupiaków *Daphnia magna*, dla których wartość liczbową wskaźnika TU wynosi 8, wartość wskaźnika NOEC (zgodnie z poniższym równaniem) wynosi 12,5%.

$$TU = \frac{100}{NOEC} \quad (1)$$

Tabela 7. Wykaz testów toksyczności i krytycznych wartości liczbowych wskaźnika TU według zaleceń Komisji Helsińskiej [115].

ORGANIZM WSKAŹNIKOWY	CZAS TRWANIA TESTU [GODZ.]	WARTOŚĆ WSKAŹNIKA TU
RYBY	96	2
SKORUPIAKI Z RODZAJU <i>DAPHNIA</i>	48	8
GLONY	72	16
BAKTERIE <i>VIBRIO FISCHERI</i>	0,5	8

Zatem ścieki powinny być takiej jakości, aby przy rozcieńczeniu 1:7 (12,5%) nie był obserwowany efekt toksyczności ostrej dla organizmów *Vibrio fischeri* i *Daphnia magna*. Jeżeli $NOEC < 12,5\%$, wówczas badane ścieki charakteryzują się złą jakością ekotoksykologiczną i nie mogą być odprowadzane do wód powierzchniowych.

W 2003 roku pojawiła się propozycja klasyfikacji poziomu toksyczności ostrej wód naturalnych i ścieków odprowadzanych do tych wód, opracowana przez prof. Persoone'a i współpracowników [116]. Klasyfikację tworzą dwa systemy:

- system klasyfikacji zagrożeń, do oceny jakości ekotoksykologicznej wód naturalnych;
- system klasyfikacji toksyczności, do oceny jakości ekotoksykologicznej ścieków komunalnych, przemysłowych i odcieków ze składowisk.

Oba te systemy klasyfikacji oparte są na dwóch kryteriach:

- pozycji w 5- stopniowej klasie ostrego zagrożenia;
- istotności wyniku w klasie zagrożenia.

Klasyfikacji jakości wód naturalnych do jednej z pięciu klas zagrożenia dokonuje się na podstawie procentowej wartości obserwowanego efektu (PE), np. zahamowania bioluminescencji, oszacowanej podczas testu przeprowadzonego na nierozcieńczonej próbce. System klasyfikacji zagrożeń wód naturalnych przedstawiono w **Tabeli 8**.

Tabela 8. System klasyfikacji zagrożeń wód naturalnych według Persoone'a [116].

KLASA	ISTOTNOŚĆ WYNIKU	WARTOŚĆ WSKAŹNIKA PE	STOPIEŃ ZAGROŻENIA
I	0	< 20 %	Brak zagrożenia ostrego
II	1	$20\% \leq PE < 50\%$	Niski poziom zagrożenia ostrego
III	2	$50\% \leq PE < 100\%$	Zagrożenie ostre
IV	3	100% w co najmniej jednym teście	Wysoki poziom zagrożenia ostrego
V	–	100% we wszystkich testach	Bardzo wysoki poziom zagrożenia ostrego

Klasyfikacji toksyczności ścieków wprowadzanych do środowiska dokonuje się również na podstawie wartości liczbowej wskaźnika PE uzyskanej podczas testu przeprowadzonego na nierozcieńczonej próbce. Jednak w przypadku tych próbek, dla których wartość wskaźnika PE > 50%, dodatkowo przeprowadza się testy, w trakcie których badaniom poddaje się kolejne rozcieńczenia badanych próbek. Uzyskane wartości liczbowe L(E)C₅₀ przelicza się na jednostki toksyczności TU. W zależności od wartości liczbowych wskaźnika TU dokonuje się klasyfikacji próbek ścieków zgodnie z kryteriami przedstawionymi w **Tabeli 9**.

Tabela 9. System klasyfikacji toksyczności ścieków wprowadzanych do środowiska wodnego według Persoone'a [116].

KLASA	ISTOTNOŚĆ WYNIKU	WARTOŚĆ LICZBOWA WSKAŹNIKA TU	STOPIEŃ TOKSYCZNOŚCI
I	0	< 0,4	Brak toksyczności ostrej
II	1	$0,4 \leq TU < 1$	Niski poziom toksyczności ostrej
III	2	$1 \leq TU < 10$	Toksyczność ostra
IV	3	$10 \leq TU < 100$	Wysoki poziom toksyczności ostrej
V	4	≥ 100	Bardzo wysoki poziom toksyczności ostrej

Zaletą obu przedstawionych systemów jest możliwość oceny istotności wyniku w klasyfikacji ekotoksykologicznej. Istotność wyniku w danej klasie oblicza się zgodnie z poniższym równaniem:

$$\text{istotność wyniku w klasie} = (\sum \text{istotności wyników uzyskanych dla wszystkich testów})/n \quad (2)$$

gdzie „n” oznacza liczbę przeprowadzonych biotestów.

Z kolei procentową wartość istotności wyniku w klasie oblicza się w następujący sposób:

$$[\%] \text{ istotność wyniku w klasie} = \text{istotność wyniku w klasie} / (\text{maksymalna istotność wyniku}) \times 100 \quad (3)$$

Uwzględnia ona liczbę testów wykonanych na różnych organizmach wskaźnikowych (im więcej wykonanych testów tym ocena badanej próbki jest bardziej wiarygodna) oraz zróżnicowanie w wynikach oszacowanej toksyczności wobec różnych organizmów wskaźnikowych (roślin i zwierząt).

W 2004 roku, Galassi i współpracownicy na potrzeby badań wód powierzchniowych dorzecza rzeki Pad (Włochy) wprowadzili klasyfikację jakości ekotoksykologicznej bazującą na współczynniku wzbogacenia zanieczyszczeń (CF) [117]. Proces wzbogacania zanieczyszczeń obecnych w badanej próbce przeprowadzano z wykorzystaniem techniki ekstrakcji do fazy stałej (SPE). Procedura ta umożliwiła rozróżnienie badanych próbek pod kątem ekotoksyczności wynikającej z obecności w nich tylko tych związków toksycznych, które można wyekstrahować za pomocą określonego rozpuszczalnika. Oceny ekotoksyczności dokonano zgodnie z kryteriami przedstawionymi w **Tabeli 10**, biorąc pod uwagę bardziej toksyczny efekt obserwowany wobec organizmów *Vibrio fischeri* (podczas testu trwającego 30 min) lub *Daphnia magna* (podczas testu trwającego 48 godz.).

Tabela 10. Klasyfikacja ekotoksyczności wód powierzchniowych oparta na wykorzystaniu wartości liczbowych współczynnika wzbogacenia zanieczyszczeń (CF) [117].

ZAGROŻENIE DLA ŚRODOWISKA WODNEGO	WARTOŚĆ CF ODPOWIADAJĄCA WARTOŚCI EC ₅₀ DLA <i>DAPHNIA MAGNA</i>	WARTOŚĆ CF ODPOWIADAJĄCA WARTOŚCI EC ₅₀ DLA <i>VIBRIO FISCHERI</i>
WYSOKIE	≤ 10	≤ 40
ŚREDNIE	≤ 20	≤ 80
NISKIE	> 20	> 80

Niemiecki Federalny Instytut Hydrologiczny (BfG) zaproponował system ekotoksykologicznej klasyfikacji osadów oparty na wyznaczaniu wartości liczbowej wskaźnika pT [118]. Wskaźnik pT oznacza ujemny logarytm binarny ze współczynnika rozcieńczenia próbki, przy którym nie jest obserwowany efekt toksyczności ostrej. Inaczej mówiąc, wartość liczbową wskaźnika pT określa ile razy należy badaną próbkę rozcieńczyć (w stosunku 1:2), aby przestała ona być toksyczna. Wartość liczbową wskaźnika pT, wyznaczona dla najbardziej wrażliwego organizmu spośród wszystkich tworzących baterię biotestów, określa klasę toksyczności badanego osadu. W tym miejscu trzeba podkreślić, że wszystkie stosowane testy toksyczności, jak również wszystkie badane fazy ciekłe tj. woda porowa² [119], oraz wodny czy też organiczny ekstrakt uzyskany z osadu, są równoważne w stosunku do kryteriów ustanowionych przez prof. Krebs'a i które przedstawiono w **Tabeli 11**. Przykładowo, jeśli pierwsza wartość liczbową wskaźnika pT, dla którego nie obserwuje się już efektu toksycznego działania, wynosi 5, wówczas badany osad należy do V klasy toksyczności.

Tabela 11. Klasyfikacja ekotoksykologiczna osadów oparta na wartości liczbowej wskaźnika pT [118].

STOPIEŃ ROZCIEŃCZENIA	WSPÓLCZYNNIK ROZCIEŃCZENIA	WARTOŚĆ LICZBOWA WSKAŹNIKA pT	KLASA TOKSYCZNOŚCI	KLASYFIKACJA OSADÓW POD KĄTEM ZARZĄDZANIA ŚRODOWISKIEM	
				KOD KOLORÓW	TRÓJPOZIOMOWY SYSTEM OCENY
próbka nierozcieńczona	2^0	0	0	0	<i>brak zagrożenia</i>
1:2	2^{-1}	1	I	I	
1:4	2^{-2}	2	II	II	
1:8	2^{-3}	3	III	III	<i>na granicy zagrożenia</i>
1:16	2^{-4}	4	IV	IV	
1:32	2^{-5}	5	V	V	<i>zagrożenie</i>
$\leq (1:64)$	$\leq 2^{-6}$	≥ 6	VI	VI	

² Woda porowa oznacza tą część wody zawartą w osadzie, która jest utrzymywana w osadzie pod wpływem kapilarności między stałymi cząstkami osadu [120]

Oceny jakości ekotoksykologicznej osadów można dokonać również w oparciu o system klasyfikacji opracowany w ramach projektu *ARGE-Elbe* [120]. Zakłada on klasyfikację badanych próbek osadów do jednej z pięciu klas jakości ekotoksykologicznej na podstawie procentowej wartości obserwowanego efektu toksycznego działania- PE (Tabela 12).

Tabela 12. Klasyfikacja ekotoksykologiczna osadów opracowana w ramach projektu *ARGE-Elbe* [120,121].

KLASA TOKSYCZNOŚCI	WARTOŚĆ WSKAŹNIKA PE	STAN EKOLOGICZNY (W ODNIESIENIU DO RDW)	KOD KOLORÓW
I	$\leq 15\%$	Bardzo dobry	Niebieski
II	$> 15\% \text{ PE} \leq 30\%$	Dobry	Zielony
III	$> 30\% \text{ PE} \leq 50\%$	Umiarkowany	Żółty
IV	$> 50\% \text{ PE} \leq 70\%$	Słaby	Pomarańczowy
V	$> 70\%$	Zły	Czerwony

2.10. Podsumowanie

Zintegrowanie monitoringu chemicznego, opartego na oznaczaniu indywidualnych wskaźników zanieczyszczenia środowiska, z pomiarem toksyczności umożliwia uzyskanie pełniejszej i bardziej wiarygodnej informacji o stanie badanego elementu środowiska, a to z kolei może być podstawą do podejmowania trafniejszych decyzji administracyjnych z zakresu zarządzania środowiskowego.

Niestety, znalezienie wyraźnych korelacji pomiędzy wynikami przeprowadzonych analiz chemicznych i wynikami pomiaru toksyczności (w wyniku zastosowania odpowiednich biotestów) nie jest prostym zadaniem i nastrocza wielu trudności. Sytuacja taka może mieć związek ze skomplikowanym składem matrycy próbki oraz złożonymi interakcjami pomiędzy jej poszczególnymi składnikami. Nie można, z całą pewnością, wykluczyć udziału w oszacowanej toksyczności próbek również tych związków, które ze względu na ograniczenia stosowanych procedur analitycznych i przyrządów kontrolno-pomiarowych, dotychczas nie zostały zidentyfikowane. Zatem o ile oszacowana toksyczność badanych próbek odzwierciedla rzeczywisty stan zagrożenia wynikający

z zanieczyszczenia danego ekosystemu, to pełna identyfikacja związków chemicznych odpowiedzialnych za efekty toksyczne jest niestety, niemożliwa.

W **Tabeli 13** zestawiono zalety i wady obu podejść analitycznych stanowiących równocześnie elementy zintegrowanego systemu badań (monitoringu) poszczególnych elementów środowiska.

Tak więc, dopiero przeprowadzenie badań z wykorzystaniem obu typów technik pozwala na kompleksową ocenę jakości analizowanych próbek środowiskowych.

Tabela 13. Zalety i wady podejść analitycznych stanowiących elementy zintegrowanego systemu oceny stanu środowiska.

	ANALITYKA CHEMICZNA	BIOTESTY
ZALETY	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Możliwość przeprowadzenia zarówno analizy ilościowej jak i jakościowej badanej próbki; ➤ Możliwość śledzenia środowiskowego losu zanieczyszczeń; ➤ Możliwość przechowywania próbek przed analizą; 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Możliwość przeprowadzania testów <i>in situ</i>; ➤ Brak konieczności zakupu odczynników wysokiej czystości oraz materiałów odniesienia; ➤ Niskie wymogi odnośnie kwalifikacji personelu; ➤ Możliwość uzyskania informacji o wpływie zanieczyszczeń na organizmy żywe; ➤ Relatywnie niski koszt przeprowadzenia analiz;
WADY	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Czaso- i pracochłonne procedury przygotowania próbek do analizy, ➤ Koszty związane z koniecznością zakupu odczynników wysokiej czystości, utylizacją i zagospodarowaniem ich nadmiaru; ➤ Wysoki poziom kwalifikacji personelu; ➤ Brak informacji o wpływie zanieczyszczeń na organizmy żywe; 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Brak możliwości przeprowadzenia analizy jakościowej i ilościowej poszczególnych indywidualów chemicznych obecnych w badanych próbkach ➤ Konieczność przeprowadzenia badań natychmiast po etapie pobrania próbek

3. CEL I ZAKRES PRACY

Jeszcze do niedawna ocena jakości środowiska wodnego opierała się w głównej mierze o wyniki pomiarów uzyskanych w trakcie prowadzenia monitoringu chemicznego. Niestety, obejmował on tylko, stanowiące szczególne zagrożenie dla ekosystemów wodnych, zanieczyszczenia umieszczone na listach tzw. zanieczyszczeń priorytetowych. Podejście takie skutecznie uniemożliwiało przewidywanie potencjalnego toksycznego wpływu badanego elementu środowiska na zasiedlające go organizmy żywe. Biorąc, bowiem pod uwagę skomplikowany, zarówno jakościowy jak i ilościowy, skład próbek środowiskowych, wydaje się wielce prawdopodobne pominięcie, w trakcie prowadzonych oznaczeń chemicznych, substancji o istotnej toksyczności. Trudno również przewidzieć wzajemne oddziaływania poszczególnych składników mieszaniny. Należy ponadto pamiętać, iż w dalszym ciągu dla wielu substancji chemicznych, dane na temat ich toksyczności, są nadal niedostępne.

Z powyższych względów konieczny wydaje się więc być bezpośredni pomiar toksyczności ogólnej badanej próbki. Może on być realizowany w oparciu o mikrobiotesty. Niestety, uzyskane tą drogą wyniki nie dostarczają informacji o substancjach odpowiedzialnych za stwierdzony efekt toksyczny.

Idealnym rozwiązaniem byłoby, więc takie narzędzie metodyczne, które obok informacji na temat toksyczności pozwoliłoby także na jednoczesną identyfikację wywołujących ją związków (lub grup związków) chemicznych. W takim ujęciu, najbardziej skutecznym narzędziem wydaje się być zintegrowane podejście do oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska. Polega ono na połączeniu badań z zakresu typowych metodyk analitycznych oraz odpowiednich mikrobiotestów.

Głównym celem pracy jest sprawdzenie przydatności biotestów, jako jednego z narzędzi do oceny stopnia zanieczyszczenia ekosystemów wodnych.

Na poligon badawczy wybrano:

- składowisko odpadów komunalnych, zlokalizowane na terenie województwa pomorskiego;
- jedną z zatok Morza Bałtyckiego- Zalew Szczeciński.

Realizacja głównego celu niniejszej rozprawy obejmuje następujące zadania badawcze:

- w przypadku składowiska odpadów komunalnych:
 - oznaczenie toksyczności ostrej próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół składowiska odpadów komunalnych;

- ocenę wrażliwości organizmów wskaźnikowych (proponycja optymalnego składu baterii biotestów);
- ocenę jakości ekotoksykologicznej badanych próbek wód (proponycja autorskiego systemu klasyfikacji ekotoksykologicznej);
- ocenę zależności występujących pomiędzy toksycznością a wynikami analiz chemicznych próbek wód;
- próbę identyfikacji lotnych i średniolotnych związków organicznych o charakterze niepolarnym (fluorowcoalkany, węglowodory aromatyczne i alifatyczne), których obecność w środowisku nie podlega uregulowaniom prawnym (związki z grupy *NROC*) w próbkach wód podziemnych pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół składowiska odpadów komunalnych;
- ocenę zależności występujących pomiędzy toksycznością a wynikami analiz chemicznych pobranych próbek środowiskowych;
- w przypadku Zalewu Szczecińskiego:
 - oznaczenie toksyczności ostrej próbek środowiskowych pobranych w ramach projektu badawczego „Litogeneza i geochemia osadów dna i strefy brzegowej Zalewu Szczecińskiego”;
 - ocenę jakości ekotoksykologicznej badanych próbek osadów dennych;
 - ocenę zależności występujących pomiędzy toksycznością a wynikami analiz chemicznych pobranych próbek środowiskowych;
 - ocenę wymywalności metali z osadów dennych.

4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

4.1. Materiały i aparatura

4.1.1. Odczynniki

- Testy bakteryjne do pomiaru toksyczności ostrej (*Microtox*[®] *Acute Toxicity Test*) firmy *Strategic Diagnostics Inc.* (USA), złożone z:
 - liofilizowanych bakterii bioluminescencyjnych (*Microtox*[®] *Acute Reagent*);
 - roztworu regeneracyjnego (*Microtox*[®] *Reconstitution Solution*);
 - roztworu do sporządzania rozcieńczeń – 2% NaCl (*Microtox*[®] *Diluent*);
 - roztworu do nastawiania optymalnego dla komórek bakteryjnych stężenia soli-22% NaCl (*Microtox*[®] *Osmotic Adjusting Solution*).
- Mikrobiotesty *Daphtokit FTM magna*- testy do pomiaru toksyczności ostrej, firmy *Microbiotests Inc.* (Belgia), w skład których wchodzi:
 - fiolki z jajami zimowymi (łac. *ephippium*) skorupiaka *Daphnia magna*;
 - stężone roztwory soli: NaHCO₃, CaCl₂, MgSO₄, KCl;
 - fiolki zawierające spirulinę – pokarm dla młodych organizmów testowych.
- Mikrobiotesty *Thamnotokit FTM*- testy do pomiaru toksyczności ostrej, firmy *Microbiotests Inc.* (Belgia), w skład których wchodzi:
 - fiolki z cystami skorupiaka *Thamnocephalus platyurus*,
 - stężone roztwory soli: NaHCO₃, CaSO₄, MgSO₄, KCl.
- Mikrobiotesty *Algaltokit FTM*- testy do pomiaru toksyczności ostrej, firmy *Microbiotests Inc.* (Belgia), w skład których wchodzi:
 - fiolki zawierające złoża glonów *Selenastrum capricornutum*, unieruchomione w postaci małych kulek;
 - roztwór do uwalniania unieruchomionych glonów;
 - fiolki zawierające pożywkę wzrostową: stężone roztwory różnych związków chemicznych.
- Mikrobiotesty *Phytokit FTM*- testy do pomiaru toksyczności ostrej, firmy *Microbiotests Inc.* (Belgia), w skład których wchodzi:
 - fiolki z nasionami roślin *Sinapis alba*, *Lepidium sativum* i *Sorghum saccharatum*;
 - standaryzowany piasek używany w teście jako gleba kontrolna.
- Dichlorometan (czystość chromatograficzna) firmy *Merck* (Niemcy);

- Aceton (czystość min. 99,5%) firmy *Merck* (Niemcy);
- Certyfikowana substancja wzorcowa: 4-bromo-1-fluorobenzen w dichlorometanie o stężeniu 0,066 µg/µl firmy *Restek Corporation* (USA);
- Roztwór chlorku potasu (0,01 M) o przewodności właściwej 1,41 mS/cm (do kalibracji czujnika konduktometrycznego) firmy *Elmetron* (Polska);
- Roztwory wodorotlenku sodu i kwasu solnego o stężeniu 0,5 N (do regulacji pH);
- Azot (N₂) do odparowywania nadmiaru rozpuszczalnika z ekstraktów (czystość 99,8%) firmy *AGA* (Polska);
- Napowietrzana woda destylowana;
- Woda niegazowana „Żywiec” (w **Tabeli 14** przedstawiono parametry charakterystyczne dla chemizmu tej wody).

Tabela 14. Chemiczna charakterystyka naturalnej wody źródlanej „Żywiec”.

SUMA SKŁADNIKÓW MINERALNYCH	174,40 [mg/dm³]
anion wodorowęglanowy	101,41 [mg/dm ³]
anion chlorkowy	2,53 [mg/dm ³]
anion fluorkowy	0,08 [mg/dm ³]
kation magnezowy	4,91 [mg/dm ³]
kation wapniowy	28,00 [mg/dm ³]
kation sodowy	7,88 [mg/dm ³]

4.1.2. Aparatura

- Analizator *Microtox*[®] *Model 500* firmy *Strategic Diagnostics Inc.* (USA);
- Chromatograf gazowy GC 8000 firmy *Fisons* sprzężony z detektorem mas (MSD)
- Stereoskopowy mikroskop binokularowy firmy *Ceti NV* (Belgia);
- Wytrząsarka laboratoryjna firmy *Elpan* (Polska);
- Zestaw do odparowywania nadmiaru rozpuszczalnika w strumieniu gazu obojętnego firmy *J.T.Baker* (USA);
- Zestaw do ekstrakcji do fazy stałej (SPE) firmy *J.T.Baker* (USA);
- Wodoszczelny przyrząd wielofunkcyjny CX-401 firmy *Elmetron* (Polska);
- Elektroda pH- metryczna EPP-3 firmy *Elmetron* (Polska);

- Czujnik konduktometryczny typ CD-2 (Zakład Produkcji Elementów Aparatury Fizykochemicznej *Hydromet*, Polska);
- Czujnik tlenowy typ CTN-9202 S (Zakład Technik Pomiarowych *Elsent*, Polska).

4.1.3. Wyposażenie dodatkowe

W czasie badań wykorzystywano również następujące wyposażenie dodatkowe:

- szklane kuwety firmy *Strategic Diagnostics Inc.* (USA), (do analizatora *Microtox®*);
- polistyrenowe i szklane szalki Petriego;
- polistyrenowe wielostudzienkowe płytki testowe;
- polistyrenowe płytki testowe;
- szklane i polistyrenowe mikropipety do przenoszenia organizmów;
- mikrositko o średnicy oczek 100 μm ;
- cylindry miarowe o pojemności 10 i 50 ml;
- kolbki Erlenmayer'a o objętości 250 ml;
- pojemniki tzw. „moczówki” o pojemności 100 ml;
- szklane fiolki o pojemności 11 ml;
- waga analityczna typ WAX 110- Zakład Mechaniki Precyzyjnej *Radwag Radom*;
- sączi wykonane z włókna szklanego o średnicy porów 0,45 μm firmy *Millipore*;
- regulowane pipety automatyczne o pojemności 0,2, 1 i 5 ml firmy *Brand*;
- plastikowe szpatułki;
- folia uszczelniająca *PARAFILM®M* firmy *Merck* (Niemcy);
- filtry papierowe o wysokiej czystości (8,7 x 12,5 cm, grubość 0,54 mm);
- wata bawełniana (100%) firmy *Bella* (Polska);
- stojaki do płytek;
- nalepki;
- metalowe sitko (d=2mm) do przesiewania próbek gleby;
- cyfrowy aparat fotograficzny (Cannon).

4.2. Biotesty – narzędzie do oceny jakości wód podziemnych wokół składowiska odpadów komunalnych

4.2.1. Opis składowiska odpadów komunalnych wytypowanych do badań

Teren objęty badaniami stanowi ponadlokalne składowisko odpadów komunalnych w Gdańsku- Szadółkach administrowane przez *Zakład Utylizacyjny Sp. z o.o w Gdańsku* (widok Zakładu ukazano na **Rysunku 8**). Zostało ono wybudowane w miejscu dawnej żwirowni (bez uszczelnienia kwatery składowej) w latach 1960-1970, a jego oficjalną eksploatację rozpoczęto w 1973 roku. W chwili obecnej teren składowiska zajmuje obszar około 70 ha [122].



Rysunek 8. Widok Zakładu Utylizacyjnego Sp. z o.o. w Gdańsku- Szadółkach.

Składowisko odpadów położone jest około 8 km na zachód od centrum miasta Gdańska, pomiędzy wsiami Kowale i Otomin (gmina Kolbudy Górne) a Szadółkami (obecnie w granicach administracyjnych miasta Gdańska). Od północy przylega ono do ulicy Jabłoniowej, przechodzącej w drogę gruntową, prowadzącą do centrum wsi Otomin. Od strony wschodniej sąsiaduje z obwodnicą Trójmiasta, będącą fragmentem drogi krajowej nr 6. Od południa i zachodu składowisko przylega do granic miasta Gdańska [122]. W bezpośrednim sąsiedztwie składowiska leży Otomiński Obszar Chronionego Krajobrazu. Drugim, znajdującym się w pobliżu (kilkaset metrów) obszarem prawnie chronionym jest strefa ochronna ujęcia wody pitnej „Straszyn” (wody powierzchniowe z obszaru składowiska wpływają poniżej ujęcia wody) [122].

Składowisko w Gdańsku- Szadółkach jest obecnie jedynym miejscem składowania odpadów komunalnych na terenie miasta Gdańska. Na mocy porozumienia Prezydenta Miasta Gdańska z samorządami graniczących gmin, składowisko obsługuje również gminę i miasto Pruszcz Gdański, gminę Kolbudy oraz miasto i gminę Żukowo. W **Tabeli 15** przedstawiono dane demograficzne dotyczące wyżej wymienionych gmin [123].

Tabela 15. Liczba mieszkańców w rejonie obsługiwanym przez składowisko w Gdańsku-Szadółkach [123].

POZYCJA	MIASTO/GMINA	STAN NA 2003 R.	PROGNOZA 2010 R.
1.	Gdańsk	459 000	-
2.	Kolbudy	12 600	-
3.	Pruszcz Gdański	38 700	-
4.	Żukowo	21 700	-
RAZEM		532 000	485 750

Szacuje się, że do *Zakład Utylizacyjnego* trafiają rocznie następujące ilości odpadów:

- odpady komunalne: 210 tys. ton;
- odpady przemysłowe: 40-50 tys. ton;
- gruz budowlany: przeszło 20 tys. ton;
- odpady przeznaczone do biodegradacji, pirolizy i składowania w mogiłnikach: około 600 ton.

Ilość zdeponowanych do tej pory odpadów określa się na około 70 Tg [123]. W przypadku odpadów komunalnych niesegregowanych, ich unieszkodliwianie polega najczęściej na

warstwowym układaniu w wyznaczonych do tego kwaterach składowych posiadających osłony ochronne przeciw wywiewaniu odpadów lekkich przez wiatr. Następnie, przy zastosowaniu ciężkich specjalistycznych urządzeń typu kompaktor, są one zagęszczane i ostatecznie pokrywane obojętną warstwą izolacyjną, np. ziemią, gruzem lub piaskiem [124]. Dodatkowa warstwa gleby, obsadzona roślinnością zabezpiecza skarpe kwatery składowej przed erozją wodną oraz wspomaga rekultywację biologiczną. Pochodzące z selektywnej zbiórki odpady organiczne oraz odpady zielone pochodzące z terenów miejskich kompostowane są w kompostowni kontenerowej (**Rysunek 9**).



Rysunek 9. Widok kompostowni (a) i czynnej kwatery składowej (b).

Odpady zanieczyszczone przez ropę naftową i substancje ropopochodne unieszkodliwiane są w procesie biodegradacji: usypuje się je wraz z materiałem strukturalnym (wilgotne trociny, słoma lub kora drzewna) w przyzmy, które następnie zaszczenia się bakteriami. Przy utrzymaniu optymalnych warunków procesu następuje całkowita degradacja węglowodorów.

Odpady niebezpieczne, takie jak zużyte baterie i akumulatory, świetlówki, przeterminowane lekarstwa, przekazywane są przez *Zakład Utylizacyjny*, do odzysku lub unieszkodliwiania, innym przedsiębiorstwom. Mogilniki pozostające na obszarze składowiska (**Rysunek 10**), zgodnie z Krajowym Planem Gospodarki Odpadami mają zostać zlikwidowane do 2010 roku [125].

Przyjmowane do *Zakładu Utylizacyjnego* odpady budowlane (gruz pochodzący z rozbiórek i remontów), po wcześniejszym rozdrobnieniu wykorzystywane są natomiast

jako materiał do utwardzania wewnętrznych dróg na składowisku lub przysypywania odpadów na kwaterach składowych.



Rysunek 10. Ogólny widok mogilników zlokalizowanych na terenie *Zakładu Utylizacyjnego Gdańsk- Szadółki*.

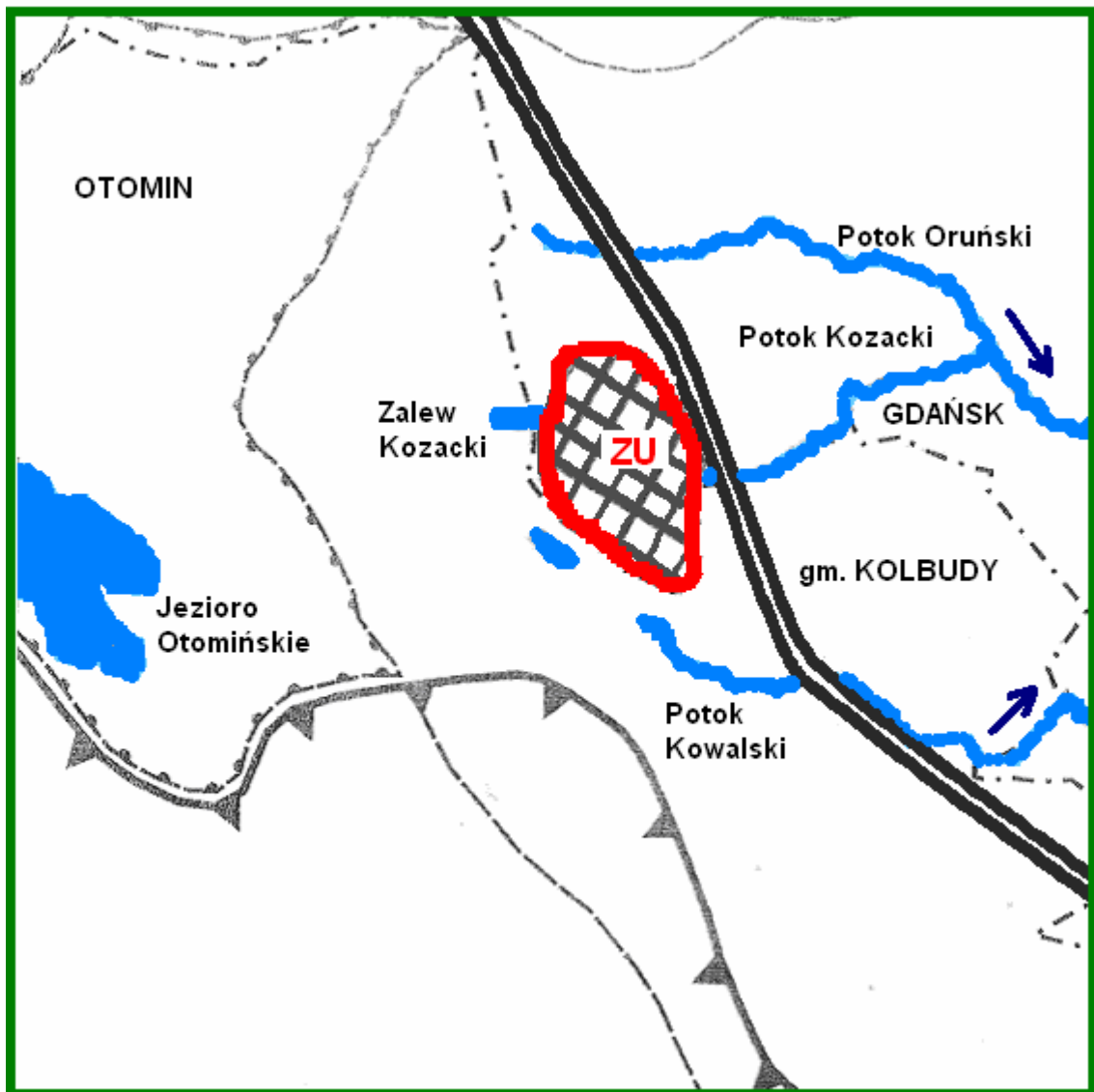
W **Tabeli 16** przedstawiono, prognozowane i obecnie dostarczane do *Zakładu Utylizacyjnego Sp. z o.o. Gdańsku- Szadółkach*, ilości odpadów [126].

Pod względem hydrograficznym składowisko położone jest w dorzeczu Raduni, uchodzącej do Motławy. Teren stanowi źródliskową część Potoku Kozackiego, dopływu Potoku Oruńskiego, który z kolei uchodzi do kanału Raduni. Wody Kanału Raduni zasilają Motławę, potem Martwą Wisłę i ostatecznie uchodzą do Zatoki Gdańskiej. Centralna część składowiska odwadniana jest przez Potok Kozacki. Wypływa on z rozległego obszaru podmokłego położonego bezpośrednio przy granicy administracyjnej Gdańska. Potok Kozacki wpływa do Potoku Oruńskiego około 680 m na wschód od ul. Przywidzkiej. Południowy fragment terenu przyległego do składowiska odwadniany jest przez Potok Kowalski, którego obszar źródliskowy, znajduje się na południe od składowiska. Cały teren Zakładu odwadniany jest w kierunku wschodnim [126]. Lokalne warunki hydrograficzne zobrazowane zostały na **Rysunku 11**.

Tabela 16. Prognozowane ilości odpadów dostarczanych do *Zakładu Utylizacyjnego Gdańsk- Szadółki* [126].

RODZAJ ODPADÓW	JEDNOSTKA	1995	2010	2015	2020
Ilość mieszkańców (Gdańsk, Kolbudy, Żukowo)	M	-	485 750	472 260	455 642
Współczynnik nagromadzenia dla odpadów komunalnych w gospodarstwach domowych	Mg/M/rok	-	0,26	0,28	0,30
Współczynnik nagromadzenia całkowitej ilości odpadów		-	0,53	0,57	0,62
Odpady komunalne z gospodarstw domowych	Mg/rok	-	125 396	131 336	136 507
Odpady komunalne z podmiotów użyteczności publicznej		-	17 079	18 399	19 821
Odpady komunalne z przemysłu i usług		-	39 977	43 067	46 395
Razem odpady komunalne zmieszane		185 000	182 452	192 801	202 723
Odpady zielone		1 700	6 278	6 572	6 865
Odpady podlegające biodegradacji		-	2 618	2 751	2 892
Odpady wielkogabarytowe		1 500	2 000	2 090	2 250
Odpady budowlane		60 000	50 000	50 000	50 000
Odpady pozostałe		10 000	8 000	8 000	8 000
Surowce wtórne		1 000	5 549	7 700	9 340
Łącznie ilość odpadów w roku		259 200	256 898	269 915	282 071
Odpady ziemi i piasku		5 600	30 000	30 000	30 000
Całkowita ilość odpadów		264 800	286 898	299 915	312 071
Odpady zawierające azbest		-	20 000	20 000	-

Rejon lokalizacji składowiska i *ZU* charakteryzuje się bardzo zróżnicowanymi warunkami geologicznymi i hydrogeologicznymi. Przy powierzchni terenu występują głównie gliny zwałowe, a na terenie składowiska piaski drobno i średnio-ziarniste. Poniżej zalega kompleks glin zwałowych, w niektórych miejscach przewarstwiony piaskami, łąkami i mułkami. Również budowa terenu wykorzystywanego pod składowanie odpadów nie jest jednolita i często, trudna do ustalenia, co przeszkadza w ocenie wpływu zdeponowanych odpadów na stan czystości głębszych warstw wodonośnych. W przeszłości na obszarze istniejącego składowiska występowały spore złoża żwirów i piasków, a pozostałe po ich eksploatacji wyrobiska stopniowo wypełniano odpadami.



Rysunek 11. Warunki hydrograficzne w rejonie ZU w Gdańsku [127].

Na terenie Gdańska piętra wodonośne pojawiają się w osadach: czwartorzędu, paleogenu, neogenu i kredy [123]. W podłożu składowiska odnaleziono jedynie utwory czwartorzędu, w których występują dwa poziomy wodonośne – górny QI i dolny QII, który stanowi jednocześnie podstawowy użytkowy poziom wodonośny. W górnym poziomie wodonośnym QI wyróżniono trzy warstwy wodonośne [126]:

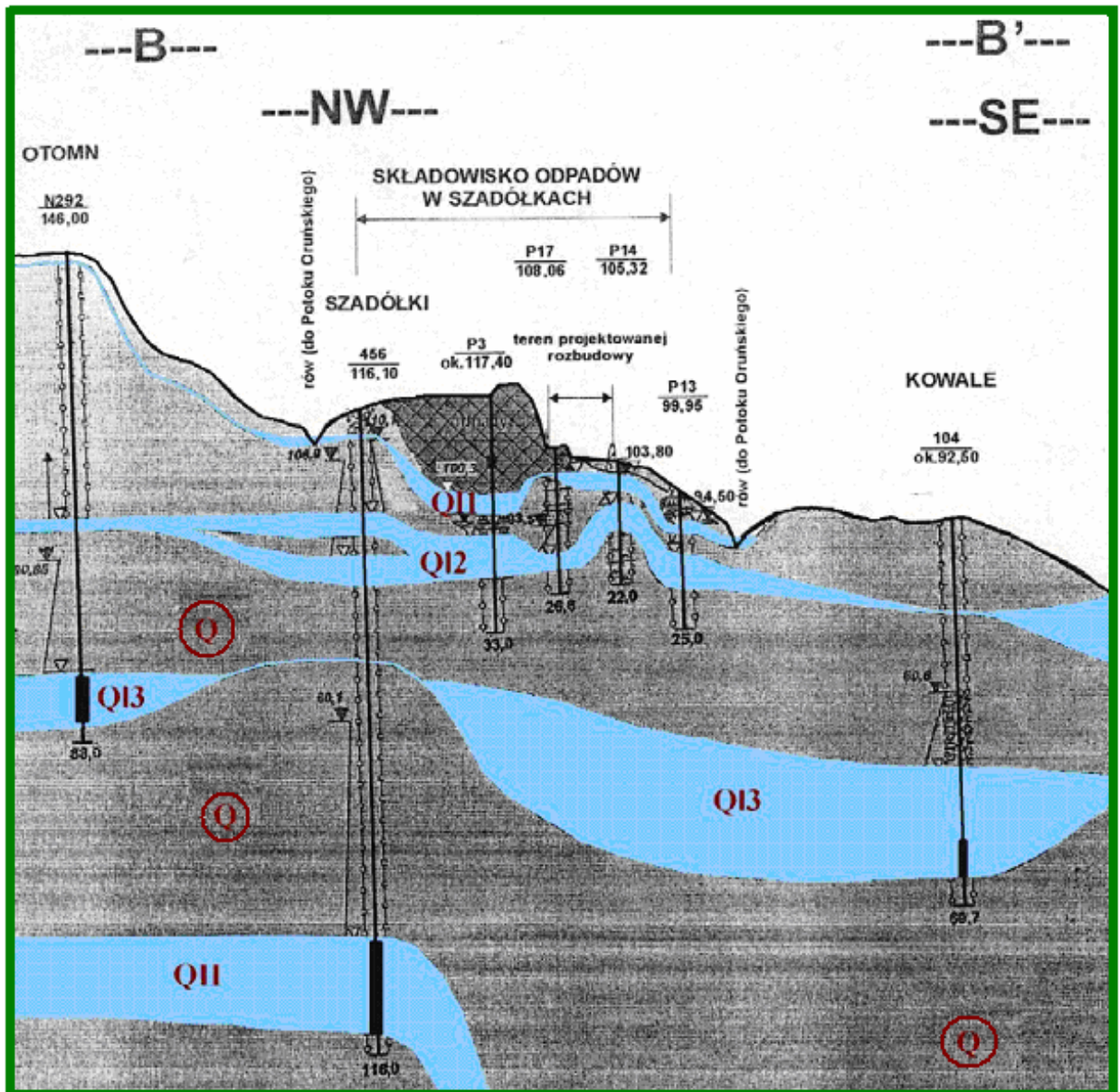
- pierwsza warstwa- przypowierzchniowa QI1;
- druga warstwa- pośrednia QI2;
- trzecia warstwa- pierwsza użytkowa QI3.

Krótką charakterystykę poszczególnych poziomów wodonośnych przedstawiono w **Tabeli 17**.

Tabela 17. Charakterystyka warstw wodonośnych występujących na terenie składowiska [126].

WARSTWA WODONOŚNA	CHARAKTERYSTYKA
PIERWSZA WARSTWA WODONOŚNA (Q11)	<ul style="list-style-type: none"> - Lokalizacja- południowa część składowiska. - Cechy charakterystyczne: nieciągłość i zmienna miąższość. - Ryzyko przenikania odcieków ze składowiska.
DRUGA WARSTWA WODONOŚNA (Q12)	<ul style="list-style-type: none"> - Występowanie piasków pylastych o miąższości do 10 m. - Zwierciadło wody napięte, na poziomie 105 m n.p.m. w części północno-wschodniej, na wschodzie do 95 m n.p.m.
TRZECIA WARSTWA WODONOŚNA (Q13)	<ul style="list-style-type: none"> - Pierwsza użytkowa warstwa wodonośna. - Zwierciadło wody na 63 m n.p.m.
DOLNY POZIOM WODONOŚNY (Q11)	<ul style="list-style-type: none"> - Główny poziom użytkowy. - Występowanie na głębokości 96-121 m. - Obecność glin zwałowych, zastoiskowych ilów i mułków. - Zwierciadło wody utrzymuje się na ok. 60 m n.p.m.

Dokładny przekrój hydrogeologiczny, obrazujący rozmieszczenie wód gruntowych we wschodnio-zachodnim (B-B') przekroju poprzecznym składowiska, został przedstawiony na **Rysunku 12**.



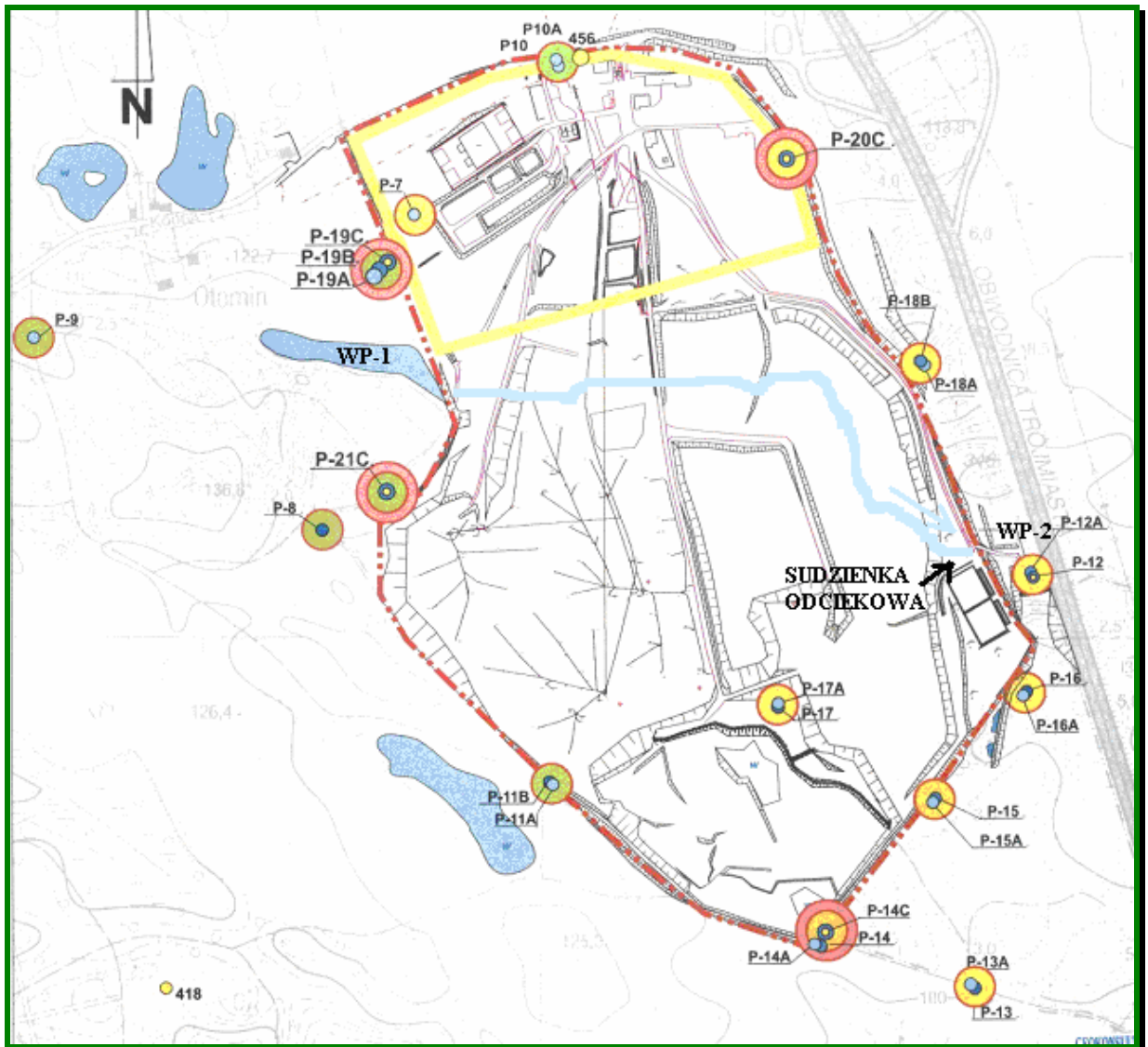
Rysunek 12. Przekrój hydrogeologiczny dla lokalizacji Zakładu Utylizacyjnego Gdańsk-Szadółki [122].

4.2.2. Pobieranie próbek wód podziemnych do badań

Istniejąca obecnie na składowisku w Gdańsku- Szadółkach sieć monitoringowa obejmuje następujące punkty obserwacyjne (**Rysunek 13**):

- 27 piezometrów monitorujących jakość wód podziemnych: P7, P8, P9, P10, P10A, P11A, P11B, P12, P12A, P13, P13A, P14, P14A, P14C, P15, P15A, P16, P16A, P17, P17A, P18A, P18B, P19A, P19B, P19C, P20C, P21C (ujmują one wody wszystkich trzech warstw górnego poziomu wodonośnego);

- 2 punkty obserwacyjne na ciekach powierzchniowych (Potok Kozacki przed składowiskiem: WP1 oraz za składowiskiem: WP2);
- zbiornik odcieków [128,129].



Rysunek 13. Rozmieszczenie punktów kontrolnych dla wód podziemnych, powierzchniowych i odciekowych z zaznaczonym prawdopodobnym kierunkiem przepływu Potoku Kozackiego przez teren składowiska.

Usytuowanie piezometrów zarówno na dopływie wód do składowiska jak i na ich odpływie (**Tabela 18**), zapewnia możliwość uzyskania informacji o rzeczywistym wpływie zakładu na jakość wód.

Tabela 18. Usytuowanie piezometrów oraz ich zasięg ze względu na przynależność do danej warstwy wodonośnej [130-136].

USYTUOWANIE	NA DOPŁYWIE WÓD DO SKŁADOWISKA	NA ODPLYWIE WÓD ZE SKŁADOWISKA
PIERWSZA WARSTWA GÓRNEGO POZIOMU WODONOŚNEGO (Q11)	P9 P10 P10A P11A P19A	P7* P13A P14A P15A P16A P17A P18A
DRUGA WARSTWA GÓRNEGO POZIOMU WODONOŚNEGO (Q12)	P8 P11B P19B	P12A P13 P14 P15 P16 P17 P18B
TRZECIA WARSTWA GÓRNEGO POZIOMU WODONOŚNEGO (Q13)	P19C P21C	P12 P14C P20C

* W przypadku piezometru P7 lokalizacyjnie mógłby on zostać zakwalifikowany do grupy piezometrów przeznaczonych do kontroli jakości wód podziemnych w strefie dopływu, jednak na podstawie analizy karty dokumentacyjnej tego otworu oraz warunków hydrogeologicznych piezometr ten określono jako monitorujący wody odpływowe z terenu składowiska.

Próbki wód podziemnych z piezometrów P7, P8, P9, P10, P10A, P11A, P11B, P12, P12A, P13, P13A, P14, P14A, P15, P14C, P16, P17, P17A, P18B, P19A, P19B, P19C, P20C, P21C, wód powierzchniowych z górnego (WP1) i dolnego (WP2) biegu Potoku Kozackiego oraz wód odciekowych pobierano w dniach: 27-28.11.2007 r. (I tura), 11-12.03.2008 r. (II tura), 10-11.06.2008 r. (III tura), 9-10.09.2008 r. (IV tura), 25-26.11.2008 r. (V tura), 7-8.04.2009 (VI tura pomiarowa).

Podczas II, IV i VI tury pomiarowej odnotowano brak wody w piezometrze P15, w związku z czym nie było możliwości przeprowadzenia badań laboratoryjnych odpowiednich próbek. Podobną sytuację odnotowano również w trakcie V tury pomiarowej z tą różnicą, iż dotyczyła ona braku wody w piezometrze P7.

Próbki wód podziemnych zostały pobrane zgodnie z wytycznymi PN-ISO 5667-11:2004 przy użyciu pompy zanurzeniowej „GIGANT” wraz z pompą wspomagającą „WHALE”. Bezpośrednio po pobraniu próbek wód przeprowadzono pomiary pH, temperatury oraz przewodności elektrolitycznej (**Rysunek 14**) [128,129].



Rysunek 14. Przepompowanie piezometru (rys. lewy) oraz sprzęt używany do pobierania próbek wód podziemnych (rys. prawy) [134].

Próbki wody powierzchniowej były pobierane przy użyciu czepaka, w którym umieszczono naczynie do pobierania próby, zwracając uwagę na to, aby naczynie zostało zanurzone pod powierzchnię wody oraz aby w trakcie operacji pobierania próbki nie przedostawały się pływające przedmioty i zawiesina (norma PN-ISO 5667- 6:2003). Po pobraniu próbek wód powierzchniowych na miejscu określano podstawowe parametry wody, tzn. odczyn, przewodność elektrolityczną właściwą, temperaturę, mętność, barwę, zapach oraz smak wody oraz warunki atmosferyczne: temperatura, opady i zachmurzenie [128,129].

Również próbki wód odciekowych były pobierane przy użyciu czepaka (norma PN-ISO 5667- 10:1997). Proponowany sposób pobierania próbek uwzględnił stratyfikację składu odcieku. Zwracano szczególną uwagę na to, aby w czasie pobierania próbek nie doszło do jej zanieczyszczenia zawiesiną, która na skutek ciągłej sedymentacji wykazuje dużą miąższość w zbiorniku [128,129].

Próbki wód powierzchniowych i podziemnych oraz próbki odcieku pobierano do butelek ze szkła borokrzemianowego z nakrętką wyposażoną w podkładkę teflonową. Butelki przygotowywano myjąc je wodą wodociągową z dodatkiem detergentu, następnie płukano je wodą destylowaną, suszono, płukano acetonem i ponownie suszono. Po dwukrotnym przepłukaniu butelek wodą z piezometru, napełniano je pod korek, zwracając szczególną uwagę, aby w butelce nie pozostały pęcherzyki powietrza.

4.3. Biotesty – narzędzie do oceny jakości ekosystemu Zalewu Szczecińskiego

4.3.1. Charakterystyka Zalewu Szczecińskiego

Zalew Szczeciński jest częścią wodnego estuarium Odry, oddającej tu swoje wody do Morza Bałtyckiego. Zalew jest tylko częściowo położony na terenie Polski, ponieważ znaczna część jego obszaru znajduje się na terytorium Niemiec. Oprócz Odry uchodzą do niego także inne rzeki: Wkra, Piana, Ina, Gowienica i Wołczenica. Zalew połączony jest z Zatoką Pomorską następującymi cieśninami: Pianą, Świną oraz Dziwną [137].

Równoleżnikowo rozciąga się on na ponad 70 km, natomiast południkowo na około 22 km [138]. Zalew Szczeciński jest największym zbiornikiem wodnym w Polsce zajmującym powierzchnię, która wraz z cieśninami wynosi 911,8 km², z czego 50,1% (457,3 km²) znajduje się na terytorium polskim. Natomiast obszar samego zalewu, bez cieśnin zajmuje 687 km². Jest to rozległy, lecz stosunkowo płytki akwen wodny. Maksymalna głębokość wynosi 10 m na torze wodnym Szczecin-Świnoujście, natomiast średnia głębokość to 3,8 m [137]. Wokół brzegów rozciągają się płycizny i mielizny, które wybiegają na znaczną odległość od brzegu. Cypel lądowy pod Nowym Warpem oraz płycizny Reptziner Haken i Mielizna Osiecka dzielą Zalew na dwie części: Duży Zalew i Mały Zalew. Naturalny podział zalewu pokrywa się z podziałem politycznym [138].

Na obszarze Zalewu Szczecińskiego wyróżnia się także wiele zatok i rozlewisk o charakterze jezior. Jako największe z nich można wyróżnić: Zalew Kamieński w dolnym odcinku Dziwny, Zatokę Skoszewską u wejścia do Dziwny, Roztokę Odrzańską w ujściu Odry, Jezioro Nowowarpnieńskie wchodzące w głąb południowego brzegu oraz Jezioro Wicko Wielkie u wejścia do starej Świny [137]. Na **Rysunkach 15 i 16** przedstawiono odpowiednio: mapę geograficzną omawianego obszaru oraz zdjęcie satelitarne zalewu z naniesionymi najważniejszymi częściami akwenu.



Rysunek 15. Mapa Zalewu Szczecińskiego [139].

Warunki środowiskowe Zalewu Szczecińskiego zależą głównie od sytuacji hydrologicznej w ujściowym odcinku Odry oraz od intensywności wlewów wód morskich z Zatoki Pomorskiej [140]. Oceniając stan środowiska w tym akwenie należy więc uwzględnić te dwa czynniki naturalne. Poza nimi, ważną rolę w kształtowaniu środowiska zalewu odgrywają czynniki antropogeniczne, wpływające w znaczący sposób na zanieczyszczenie tego zbiornika. Jako najważniejsze wyróżnić można: przemysł, transport morski, napływ ścieków komunalnych z okolic zalewu, a także intensywną aktywność rekreacyjno-turystyczną w rejonie Zatoki Pomorskiej oraz Zalewu Szczecińskiego.



Rysunek 16. Zdjęcie satelitarne Zalewu Szczecińskiego z najważniejszymi częściami akwenu.

4.3.2. Projekt badawczy: „Litogeneza i geochemia osadów dna i strefy brzegowej Zalewu Szczecińskiego”

Zalew Szczeciński został wytypowany do szeroko zakrojonego projektu badawczego pod nazwą „Litogeneza i geochemia osadów dna i strefy brzegowej Zalewu Szczecińskiego”. Projekt ten miał na celu ocenę stanu ekologicznego Zalewu Szczecińskiego dla uzyskania niezbędnych informacji mających służyć do zaprojektowania i wyboru właściwej technologii jego remediacji. Konieczność przeprowadzenia pełnej kampanii badawczej wynika z braku miarodajnych informacji na temat stopnia zanieczyszczenia ekosystemu Zalewu Szczecińskiego, udziału i wpływu poszczególnych typów zanieczyszczeń na procesy eutrofizacji.

Projekt wykonano za zamówienie Ministra Środowiska i był on finansowany ze środków Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej.

Prace badawcze na obszarze Zalewu Szczecińskiego rozpoczęte zostały jesienią 2007 roku. Zespół badawczy z Katedry Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej został zaproszony do udziału w tym projekcie ze względu na doświadczenie zdobyte w trakcie realizacji między innymi Międzynarodowego Projektu Badań Dorzecza Rzeki Odry (IOP) i nawiązaną współpracę z innymi jednostkami naukowo- badawczymi z tego regionu oraz projektu badawczego pt.: „Ocena stanu ekologicznego Jeziora Turawskiego w celu opracowania działań na rzecz jego poprawy”.

Instytucją bezpośrednio koordynującą prace badawcze realizowane w ramach projektu badań Zalewu Szczecińskiego był Uniwersytet Szczeciński, przy czym zespół koordynujący stanowili: prof. dr hab. Andrzej Witkowski – kierownik, dr Artur Skowronek, prof. dr hab. Ryszard Borówka, dr Andrzej Osadczuk.

Zadaniem zespołu badawczego z Katedry Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej była ocena ekotoksyczności osadów Zalewu Szczecińskiego.

4.3.3. Pobieranie i przygotowanie próbek środowiskowych do badań

Prace terenowe, w ramach kampanii badawczej Zalewu Szczecińskiego, prowadzono w okresie od września 2007 r. do października 2008 r. Próbkę pobierano odpowiednio we wrześniu 2007 r. oraz czerwcu, lipcu i październiku 2008 r.

Niezwykle istotną była sprawna organizacja poszczególnych kampanii pomiarowych, tzn. przygotowanie wysokiej jakości sprzętu oraz opracowanie sposobów dystrybucji próbek do laboratoriów zaangażowanych w projekt.

Strategię pobierania próbek opracował między innymi dr Artur Skowronek (*Geoconsult Skowronek & Wrobel GbR*). Bezpośrednim wykonawcą był Zakład Usług Geologicznych „Grunt” (ul. Grunwaldzka 31, 45-054 Opole).

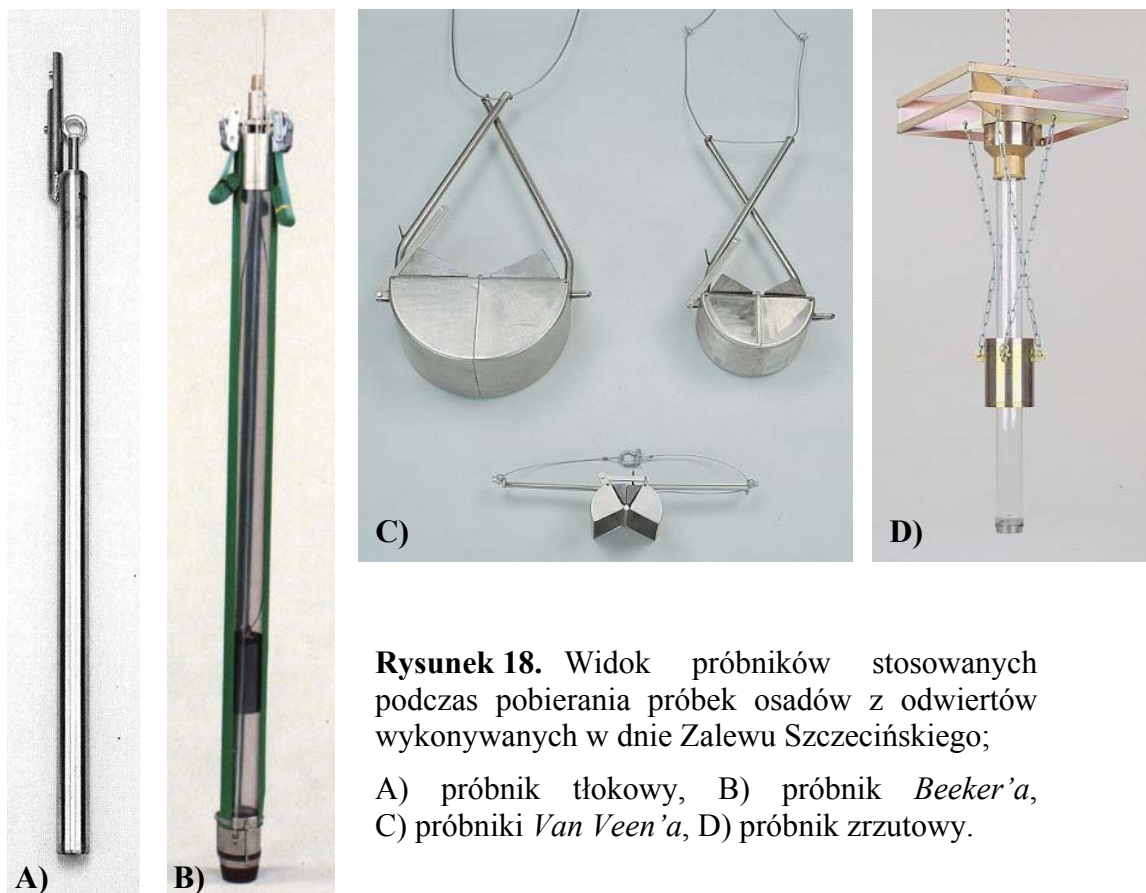
Lokalizację miejsc pobierania próbek środowiskowych w ramach tego projektu badawczego przedstawiono na **Rysunku 17**.



Rysunek 17. Lokalizacja miejsc pobierania próbek na obszarze Zalewu Szczecińskiego.

Próbki osadów dennych mają kluczowe znaczenie dla wiarygodnego rozpoznania stanu zanieczyszczenia zbiornika, dlatego też zwracano szczególną uwagę na sposób ich pobierania. Próbki te pobierano w kilkuset miejscach na obszarze samego zalewu oraz w kilkudziesięciu miejscach na obszarze jezior, z różnych warstw osadów dennych.

Wiercenia odbywały się w czterech cyklach: wrzesień 2007 r., czerwiec 2008 r., lipiec 2008 r. oraz październik 2008 r., każdorazowo pobierano po około 50 próbek osadów. Na etapie pobierania próbek osadów wykorzystano próbnik *Van Veen'a* i próbnik zrzutowy (systemy linowe), oraz próbniki tłokowo- podciśnieniowe, opuszczane na żerdziach, których zasada działania oparta jest na wtlaczaniu ostrza próbnika przy jednoczesnym zasysaniu urobku za pomocą tłoka, poruszającego się wewnątrz próbnika (**Rysunek 18**, A), C), D)). Próbki te umożliwiły jednak pobieranie próbek osadu o zaburzonej strukturze. W związku z koniecznością pobierania próbek o nienaruszonej strukturze zastosowano próbnik *Beeker'a* (**Rysunek 18**, B)), w którym również zastosowano system tłokowy, tłok porusza się w tym przypadku w cylindrze z przezroczystego tworzywa sztucznego, dając unikalną możliwość szczegółowego opisu stratyfikacji osadu. Wymienionymi systemami pobierania próbek operowano z pontonu, pokładu łodzi motorowej lub platformy służącej ekipie wiertników.



Rysunek 18. Widok próbników stosowanych podczas pobierania próbek osadów z odwiertów wykonywanych w dnie Zalewu Szczecińskiego;

A) próbnik tłokowy, B) próbnik *Beeker'a*, C) próbniki *Van Veen'a*, D) próbnik zrzutowy.

Próbki osadów pobierano do polipropylenowych woreczków (przeznaczonych do zamrażania żywności). Wypełnione próbkami woreczki umieszczano w lodówkach turystycznych i niezwłocznie przesyłano pocztą kurierską do laboratorium Katedry Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego PG. Próbki osadów zamrażano, a następnie liofilizowano przez okres 3 dni. Zliofilizowane próbki osadów przechowywano w butelkach ze szkła borokrzemianowego z nakrętką z podkładką teflonową. Butelki przygotowano myjąc je wodą wodociągową z dodatkiem detergentu, następnie przemywano je wodą destylowaną, suszono, przepłukiwano acetonem i ponownie suszono.

4.4. Zależność pH- mobilność metali i jej wpływ na toksyczność

4.4.1. Charakterystyka zbiornika „Turawa”

Próbki osadów dennych pobrane zostały z Jeziora Turawskiego. Jest to nizinny zbiornik retencyjny na rzece Mała Panew położony we wschodniej części województwa opolskiego w powiecie opolskim, na terenie gmin Turawa i Ozimek. Zbiornik turawski jest oddalony o ok. 12 km od centrum Opoli i ok. 18 km na wschód od ujścia Małej Panwi do Odry. Zlewnia Małej Panwi leży na obszarach Wyżyny Śląskiej i Równiny Opolskiej. Na **Rysunku 19** przedstawiono mapę okolic Jeziora Turawskiego oraz mapę poglądową Polski z zaznaczoną lokalizacją omawianego zbiornika.



Rysunek 19. Lokalizacja Jeziora Turawskiego [141].

Zbiornik turawski zasilają rzeki Mała Panew i Libawa. W otoczeniu zbiornika wodnego „Turawa” (inaczej: Jezioro Turawskie, jezioro Duże) znajdują się Jezioro Średnie, Jezioro Małe i Zielone (Srebrne lub Szmaragdowe). Są to dawne piaskownie, z których czerpano materiał do budowy zbiornika i wałów ochronnych, obecnie wypełnione wodą. Poza enklawami o niewielkiej powierzchni, bardziej zainwestowanymi gospodarczo, pozostały teren zlewni Małej Panwi stanowi część Obszaru Chronionego Krajobrazu „Lasy Stobrowsko- Turawskie”. Decyzja o organizacji tej formy przestrzennej ochrony ekosystemów została podjęta w 1988 roku.

Zbiornik retencyjny „Turawa” powstał w latach międzywojennych (uruchomiony po odbudowie w 1948 r.) by zasilając w wodę rzekę Odrę poprawić jej warunki do żeglugi. Wówczas wybudowano zaporę o wysokości 13 m i sztuczny zbiornik wodny o pojemności 106 mln m³ i powierzchni 21 km². Prace koordynowało utworzone specjalnie w tym celu Biuro Budowy Jeziora. Przedsięwzięcie, jak na owe czasy, było ogromne. Przy jego budowie użyto 33 mln m³ ziemi, 225 tys. ton kamienia, 10 tys. ton cementu, 10 tys. ton żelaza, 35 tys. ton żelbetonu. Wybudowano 65 tys. m² ścian. W ten sposób wzniesiono ponad 6-kilometrowej długości mur zaporowy, którego wysokość w najwyższym punkcie wynosi 13 m, a szerokość podstawy 5 m. Ogólny koszt budowy, trwającej niespełna 4 lata, poniesiony przez ówczesne Przedsiębiorstwo Gospodarki Zasobami Wodnymi we Wrocławiu, wyniósł 28 mln marek [142].

Już w latach budowy akwenu określona była jednoznacznie jego funkcja. Zbiornik oprócz podstawowego zadania regulacji przepływów i ochrony przed powodzią, wykorzystywany jest jako teren rekreacyjny, a także dla energetyki i rybołówstwa [143]. Duża powierzchnia lustra wody jeziora stwarza znakomite warunki do uprawiania sportów wodnych i wędkarstwa. W latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych na obrzeżach jezior turawskich powstawały liczne zakładowe ośrodki wypoczynkowe. Wiele z nich funkcjonuje do dziś (często przez cały rok). Niestety jego walory rekreacyjne zakłócają się przez różne przejawy antropopresji na terenach sąsiadujących ze zbiornikiem.

Znaczny udział w powierzchni zlewni stanowią użytki rolne o intensywnej uprawie, co jest poważnym źródłem ładunku zanieczyszczeń transportowanych z wodami Małej Panwi prosto do zbiornika [144]. Skutkiem tego stanu rzeczy jest przeżyźnienie zbiornika biogenami (fosforem) i przekroczenie jego zdolności kompensacyjnej. To powoduje, iż Jezioro Turawskie charakteryzuje się zaawansowaną eutrofizacją przejawiającą się zakwitami sinicowymi w miesiącach letnich [145].

Nie bez znaczenia jest również wpływ znacznej ilości ścieków z miast aglomeracji śląskiej i zanieczyszczeń emitowanych przez zakłady przemysłowe zlokalizowane głównie w górnej części zlewni Małej Panwi [146]. Potencjalne wysokie zagrożenie dla ekosystemu Jeziora Turawskiego stanowi niezabezpieczona hałda odpadu poprodukcyjnego z huty „Mała Panew” w Ozimku [147]. W związku ze swoim położeniem bezpośrednio nad korytem płynącej u jej podnóża rzeki, a tym samym możliwością ługowania i transportu do niej substancji niebezpiecznych, jest ona najpoważniejszym obszarem źródłowym toksyn przemysłowych.

Wszystkie te czynniki powodują przedostawanie się do zbiornika nadmiernej ilości zanieczyszczeń, a w dalszym stadium ich kumulację, ponieważ, w przypadku tego jeziora, proces samooczyszczania nie zachodzi w pełni. W wyniku wieloletnich procesów akumulacji zanieczyszczeń w zbiorniku powstały kilkumetrowe warstwy osadów dennych o różnorodnym i nie do końca poznanym składzie chemicznym. Istnieje zatem konieczność szczegółowego rozpoznania ładunku zanieczyszczeń i przestrzennego rozmieszczenia szerokiego spektrum substancji chemicznych obecnych w masie osadu dennego zbiornika „Turawa”.

Silnie rozwinięta działalność przemysłowa w górnej części zlewni Małej Panwi, obejmującą między innymi: eksploatację i hutnictwo srebra, cynku i ołowiu, hutnictwo żelaza i szkła, produkcję celulozy, produkcję chemiczną (w tym barwników dla przemysłu włókienniczego i materiałów wybuchowych), przyczyniła się w dużej mierze do zanieczyszczenia osadów dennych Jeziora Turawskiego przez metale ciężkie [148-151]. Osady Jeziora Turawskiego zanieczyszczone są przede wszystkim przez cynk, kadm, ołów i miedź, w nieco mniejszym natomiast stopniu przez arsen i rtęć. Oznaczone stężenie cynku, kadmu i ołowiu jest ok. 800 razy wyższe od poziomu tła geochemicznego, miedzi- ok. 9 razy, a arsenu i rtęci ok. 7 razy. Oznaczone wartości stężeń pozostałych metali są zbliżone do wartości tła geochemicznego (**Tabela 19**).

Ponieważ metale ciężkie mogą stanowić poważne zagrożenie dla życia biologicznego w zbiorniku, podjęto próbę oceny wpływu mobilności tych ksenobiotyków na toksyczność próbek osadów dennych. Do oceny zależności pH- mobilność metali ciężkich oraz jej wpływu na toksyczność wytypowano drobnoziarniste próbki osadów, różniące się pod względem lokalizacji miejsc ich poboru: poblize tamy (północno-zachodnie obrzeże zbiornika) oraz wlot Małej Panwi do jeziora.

Tabela 19. Stężenie metali oznaczone w próbkach osadów dennych pochodzących z Jeziora Turawskiego [152].

METAL	As	Hg	Cd	Pb	Cr	Zn	Cu	Ni	Fe	Mn	Al
stężenie mg/kg d.m.											
Min	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	249	1	639
Max	122	1,21	400	689	121	7 599	404	64	35 720	605	66 442
Wartość średnia	7	0,06	15	31	13	399	14	7	4 799	55	6 826
stężenie (frakcja < 63 µm), mg/kg d.m											
Min	n.w.	n.w.	n.w.	1,6	2,0	1,02	0,3	0,9	987	3,8	1 471
Max	149	2,7	817	1 707	105	7 174	390	59,2	51 749	513	53 713
Wartość średnia	19	0,2	27,8	73,4	32,7	590	27,8	13,3	12 173	95	19 227
Tło geochemiczne	20	0,4	0,3	20	90	95	45	68	47 200	850	84 000

n.w. – nie wykryto (poniżej LOQ)

4.5. Procedury analityczne

4.5.1. Badania parametrów chemicznych i fizykochemicznych próbek wód powierzchniowych i podziemnych pobranych wokół składowiska odpadów komunalnych

Na zlecenie ZU Gdańsk- Szadółki badania parametrów chemicznych i fizykochemicznych próbek wód powierzchniowych i podziemnych pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół terenu składowiska, przeprowadzane były co trzy miesiące przez akredytowane laboratorium Zakładu Inżynierii Środowiska „EKO-PROJEKT” z wykorzystaniem standardowych metodyk analitycznych [128,129,135,136,153].

Badania poszczególnych parametrów fizykochemicznych (zgodnie z Pozwoleniem Zintegrowanym) przeprowadzono w następującym zakresie:

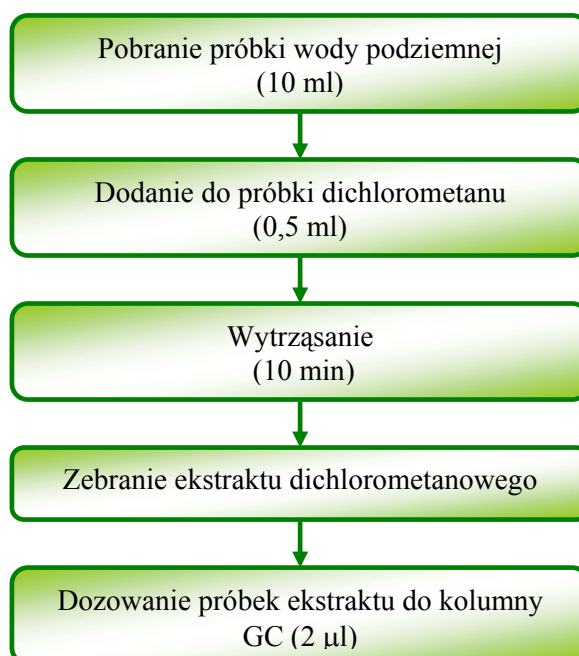
- *wody podziemne*: odczyn (pH), przewodność elektrolityczna właściwa, zawartość metali ciężkich (Cu, Zn, Pb, Cd, Cr⁺⁶, Hg), ogólny węgiel organiczny (OWO), suma wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA), Na, Mg, K, Ca, Mn, Fe, Ni, zasadowość, twardość ogólna, zawiesina ogólna, mętność, barwa, zapach, utlenialność, ChZT, BZT₅, chlorki, siarczki, siarczany, azot amonowy, azot ogólny, azot azotynowy i azotanowy, fenole lotne, ekstrakt eterowy, sucha pozostałość oraz substancje rozpuszczone;
- *wody powierzchniowe*: odczyn (pH), przewodność elektrolityczna właściwa, metale (Pb, Cd, Cu, Zn, Cr⁺⁶, Hg), ogólny węgiel organiczny (OWO), suma wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA);

- *wody odciekowe*: odczyn (pH), przewodność elektrolityczna właściwa, metale (Pb, Cd, Cu, Zn, Cr⁺, Hg), ogólny węgiel organiczny (OWO), suma wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA), chrom ogólny (Cr), Ni, Mn, Fe, Na, K, Ca, Mg, fluorki, mętność, barwa, zapach, twardość ogólna, zasadowość, utlenialność, ChZT, BZT, ortofosforany, chlorki, siarczany, azot: amonowy, azotanowy, azotynowy, ogólny, fenole lotne, ekstrakt eterowy, sucha pozostałość, substancje rozpuszczone, zawiesina ogólna oraz siarczki [153].

Dodatkowo we wszystkich piezometrach prowadzono również pomiary położenia zwierciadła wody.

4.5.2. Przygotowanie ekstraktów dichlorometanowych z próbek wód podziemnych do oznaczania związków organicznych z grupy NROC z wykorzystaniem techniki LE-GC-MS

Na etapie izolacji związków organicznych o szerokim spektrum polarności i o małej lotności, których obecność w środowisku nie podlega uregulowaniom prawnym (związki z grupy NROC) z próbek wód podziemnych, wykorzystano technikę ekstrakcji ciecz–ciecz. Schemat procedury analitycznej przedstawiono na **Rysunku 20**.



Rysunek 20. Schemat procedury przygotowania ekstraktów dichlorometanowych z próbek wód podziemnych do analizy na zawartość analitów z grupy NROC z zastosowaniem techniki GC-MS.

Uzyskane ekstrakty poddawano analizie chromatograficznej z wykorzystaniem chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem mas. Parametry pracy układu GC–MS zestawiono w **Tabeli 20**. Związki identyfikowano poprzez porównanie odpowiednich widm mas z widmami mas substancji wzorcowych znajdującymi się w komputerowej bibliotece widm opracowanej przez *NIST*.

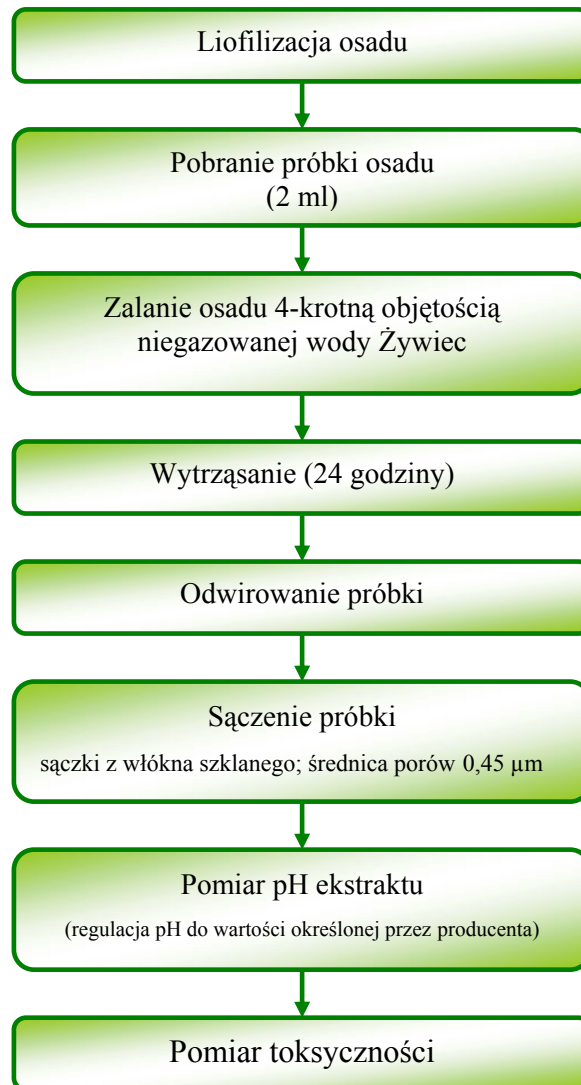
Tabela 20. Warunki prowadzenia analiz chemicznych próbek ekstraktów dichlorometanowych z próbek wód podziemnych z wykorzystaniem techniki GC–MS.

ELEMENTY UKŁADU POMIAROWEGO	PARAMETRY PRACY UKŁADU
Chromatograf gazowy	GC 8000 series, firmy FISIONS
Detektor	Trace MS z jonizacją elektronową (EI) pracujący w trybie SCAN: 10 - 450 j.m.
System dozowania	Dozownik do bezpośredniego wprowadzania próbki do kolumny na zimno (ang. <i>cold on-column</i>)
Objętość dozowanej próbki	2 μ l
Gaz nośny	Hel (70 kPa)
Kolumna	Rtx-5 MS, (30 m; 25 mm; 0,25 μ m)
Program temperaturowy	40°C przez 2 min; 5°C min ⁻¹ do 100°C; 10°C min ⁻¹ do 250°C; 250°C przez 10 min; 3°C min ⁻¹ do 270°C; 270°C przez 4 min
System integrujący	<i>Excalibur</i>

4.5.3. Procedura przygotowania próbek ekstraktów wodnych z osadów dennych

4.5.3.1. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTÓW WODNYCH Z OSADÓW DENNYCH DO POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI

Na **Rysunku 21** przedstawiono poszczególne etapy procedury przygotowania próbek ekstraktów wodnych z osadów dennych do pomiarów toksyczności ostrej z wykorzystaniem określonych organizmów wskaźnikowych.



Rysunek 21. Schemat przygotowania próbek ekstraktów wodnych z osadów dennych do pomiarów toksyczności.

4.5.3.2. PRZYGOTOWANIE EKSTRAKTÓW WODNYCH Z OSADÓW DENNYCH DO OCENY WYMYWALNOŚCI METALI

Do ekstrakcji wykorzystano niegazowaną wodę niskozmineralizowaną „Żywiec”, której charakterystykę przedstawiono w **Tabeli 14**.

Do regulacji pH tej wody, odpowiednio do wartości: 2, 5 oraz 7, wykorzystano kwas solny- HCl oraz wodorotlenek sodu- NaOH. Po zakończeniu, trwającej 24 godziny, ekstrakcji ponownie mierzono, przy użyciu wodoszczelnego przyrządu wielofunkcyjnego CX-401 (Elmetron) pH (elektroda pH-metryczna EPP-3, Elmetron) oraz przewodnictwo właściwe uzyskanych ekstraktów (czujnik konduktometryczny Typ CD-2, Nr 1530).

4.5.4. Testy toksyczności wykorzystywane do oceny jakości ekotoksykologicznej próbek środowiskowych

Do oceny jakości ekotoksykologicznej badanych próbek środowiskowych wykorzystano mikrobiotesty, których ogólną charakterystykę przedstawiono w **Tabeli 21**.

Tabela 21. Charakterystyka mikrobiotestów wykorzystywanych w trakcie badań.

NAZWA MIKROBIOTESTU	TAXON	GATUNEK ORGANIZMU	CZAS TRWANIA TESTU	MIERZONY PARAMETR	PROCEDURA	LITERATURA
<i>Microtox</i> [®]	bakterie morskie	<i>Vibrio fischeri</i>	30 min	spadek bioluminescencji	PN-EN ISO 11348-3:2002	[154]
<i>Daphtoxkit FTM magna</i>	skorupiaki (wioślarki)	<i>Daphnia magna</i>	48 godz.	śmiertelność	Zgodnie z zaleceniami producenta	[155-158]
<i>Thamnotoxkit FTM</i>	skorupiaki	<i>Thamnocephalus platyurus</i>	24 godz.	śmiertelność		
<i>Algaltoxkit FTM</i>	glony	<i>Selenastrum capricornutum</i>	3 dni	hamowanie wzrostu		
<i>Phytotoxkit FTM</i>	rośliny jedno- i dwuliścienne	<i>Sorghum sacharatum</i> , <i>Lepidium sativum</i> , <i>Sinapis alba</i>	3 dni	hamowanie kiełkowania nasion; hamowanie wzrostu korzenia		

W **Tabeli 22** przedstawiono krótkie podsumowanie dotyczące wykorzystania poszczególnych mikrobiotestów podczas badań określonych obszarów.

Tabela 22. Wykorzystanie mikrobiotestów do oceny jakości ekotoksykologicznej określonych obszarów badawczych.

OBSZAR BADAŃ	MIKROBIOTESTY WYKORZYSTYWANE W TRAKCIE BADAŃ				
	<i>Microtox</i> [®]	<i>Daphtoxkit FTM magna</i>	<i>Thamnotoxkit FTM</i>	<i>Phytotoxkit FTM</i>	<i>Algaltoxkit FTM</i>
Ocena jakości wód podziemnych wokół składowiska odpadów komunalnych	✓	✓	✓	✓	
Ocena jakości ekosystemu Zalewu Szczecińskiego	✓	✓	✓	✓ (<i>Lepidim sativum</i>)	
Zależność pH-mobilność metali i jej wpływ na toksyczność	✓	✓			✓

4.5.4.1. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM BIOLUMINESCENCYJNYCH BAKTERII *VIBRIO FISCHERI*

Spośród 27 procedur, dostępnych w oprogramowaniu *MicrotoxOmni*TM (firmy *Strategic Diagnostics Inc., USA*) przeznaczonego dla analizatora *Microtox*[®] *Model 500*, do pomiarów toksyczności próbek wodnych ekstraktów wybrano procedurę oznaczoną jako „81,9% Basic Test”. Jest to test podstawowy przeprowadzany bez powtórzeń w układzie: 1 próbka kontrolna + szereg 4 rozcieńczeń o ilorazie 2 rozpoczynając od stężenia 81,9%.

Procedurę pomiaru toksyczności ostrej „81,9% Basic Test” z zastosowaniem liofilizowanych bakterii *Vibrio fischeri* przedstawiono schematycznie na **Rysunku 22**.

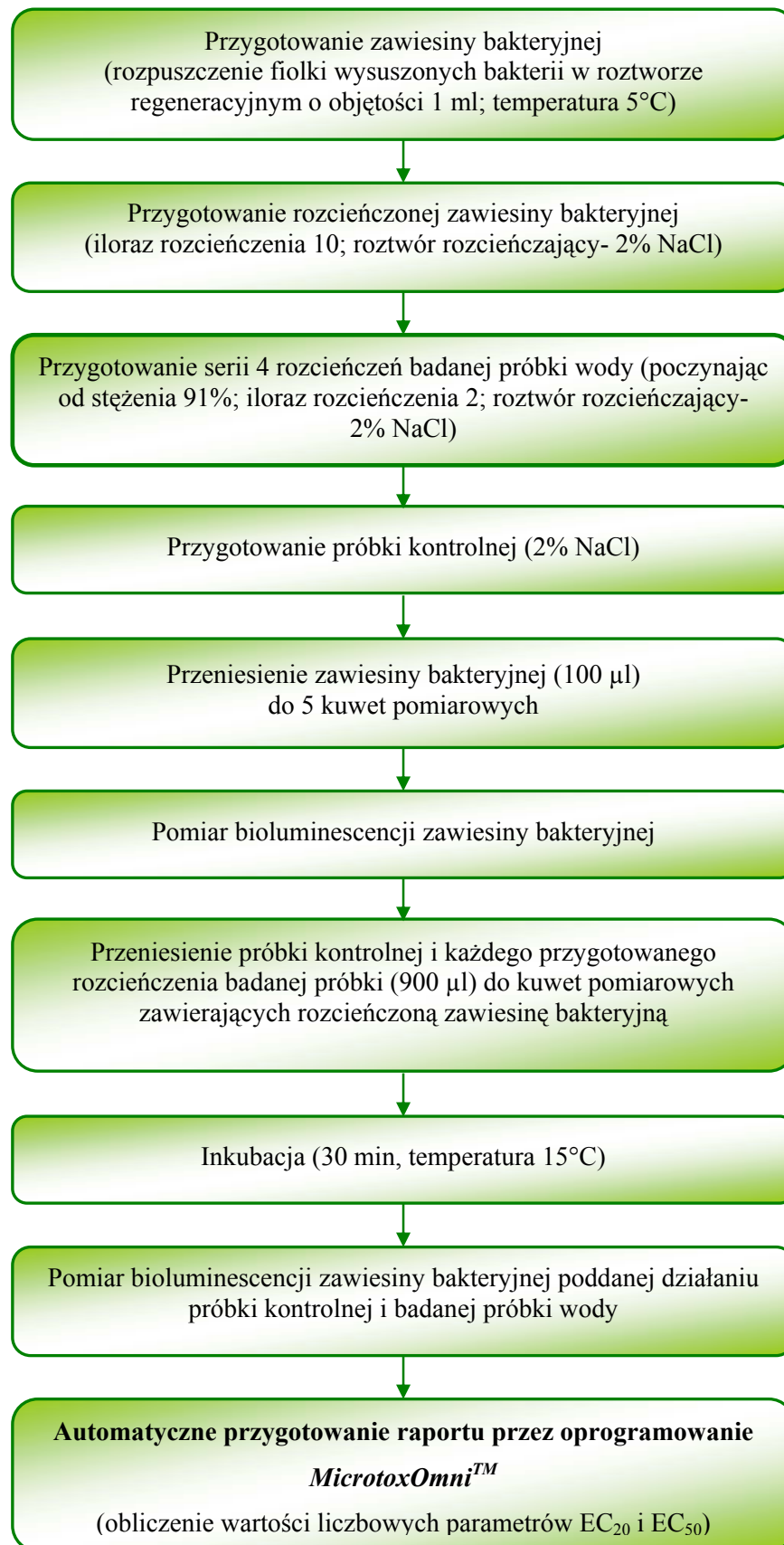
4.5.4.2. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU SKORUPIAKA *DAPHNIA MAGNA*

Badania toksyczności próbek wód obejmowały pomiar toksyczności ostrej wyznaczonej za pomocą testu *Daphtoxkit F*TM *magna* (**Rysunek 23**). Przed przystąpieniem do pomiarów dokonano pomiarów pH próbek, a w razie potrzeby korygowano je do wartości pH=5-9 stosując NaOH lub HCl. Próbkę wód nie były filtrowane.



Rysunek 23. Wygląd ogólny zestawu *Daphtoxkit F*TM (A) oraz skorupiaka *Daphnia magna* (B) [159].

Do testu wykorzystano dorosłe osobniki *Daphnia magna* rozwinięte z jaj zimowych *ephippium*. Na trzy dni przed rozpoczęciem testu, „uśpione” jaja umieszczano na płytkach *Petriego* i zalewano wodą niegazowaną „Żywiec”. Jaja inkubowano przez 72 godz. w temperaturze 20- 22°C przy stałym oświetleniu (6000 lux). Świeżo wylęgnięte osobniki *Daphnia magna* przeznaczone do testu toksyczności ostrej karmiono spiruliną i inkubowano przez około 2 godz. Następnie, przenoszono je za pomocą mikropipety do wielokomorowych płytek testowych wypełnionych próbkami badanej wody. Płytki umieszczano w temperaturze 20°C w ciemności i inkubowano przez okres 48 godzin. Po upływie odpowiednio: 24 oraz 48 godzin zliczano martwe/nieruchome osobniki, a następnie obliczano stopień śmiertelności/ unieruchomienia (w %).



Rysunek 22. Schemat procedury pomiaru toksyczności ostrej próbek wodnych z wykorzystaniem testu bakteryjnego (*Vibrio fischeri*).

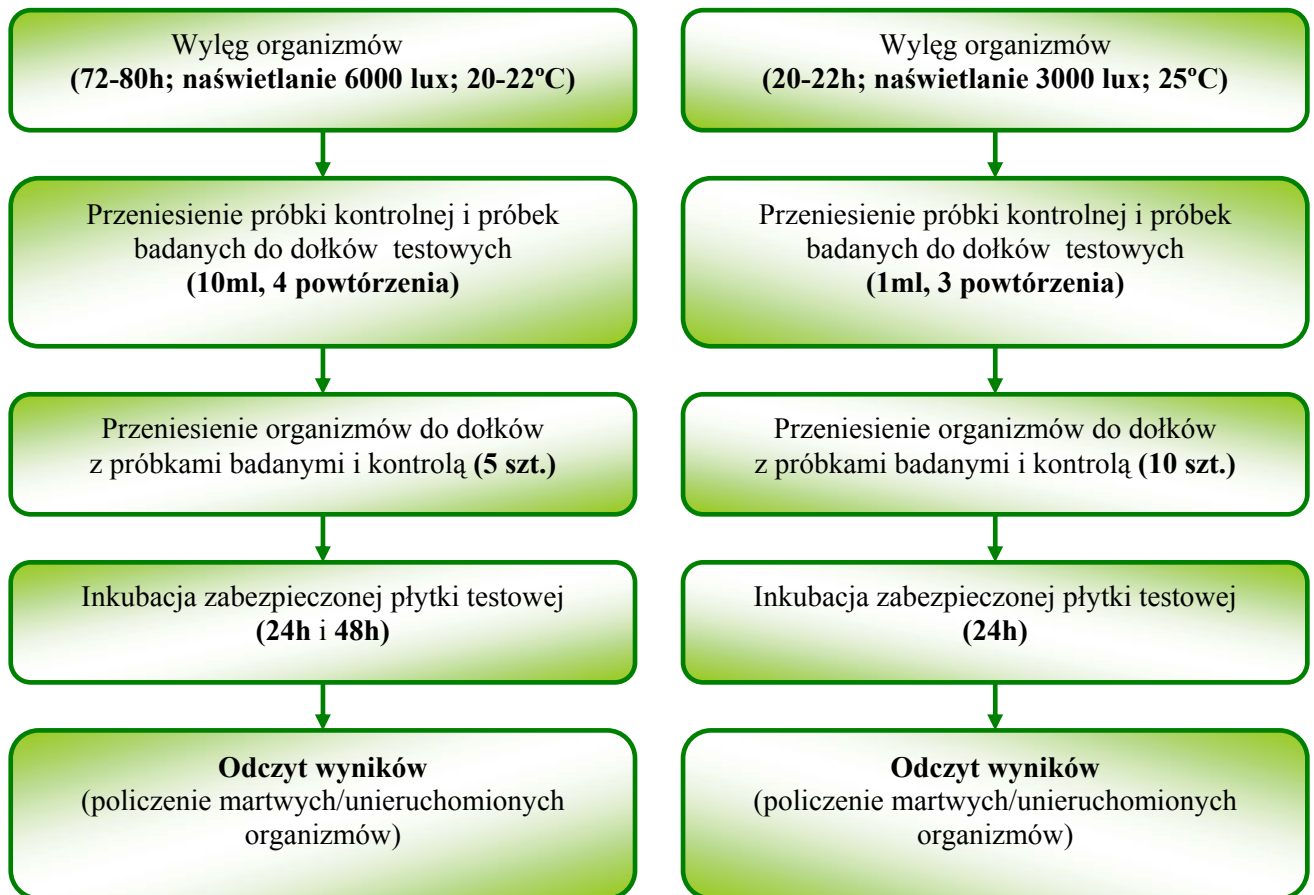
4.5.4.3. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU SKORUPIAKA *THAMNOCEPHALUS PLATYURUS*

W przypadku mikrobiotestu *Thamnotoxkit FTM* organizmy testowe poddane zostały wylęgowi 24 godziny przed planowanym rozpoczęciem testu. Umieszczone w wypełnionych niegazowaną wodą („Żywiec”) płytkach *Petrie*go, cysty organizmów testowych inkubowano przez ok. 24 godzin w temperaturze 25°C w oświetleniu o natężeniu 3000- 4000 lux. Młode organizmy (**Rysunek 24**) przeznaczone do wykorzystania w teście pomiaru toksyczności ostrej, przenoszono, przy użyciu mikropipety, do wielokomorowych płytek testowych wypełnionych próbkami badanej wody. Następnie, płytki umieszczano w temperaturze 20°C w ciemności i inkubowano przez okres 24 godzin. Po upływie tego czasu zliczano martwe/nieruchome osobniki, a następnie obliczano stopień śmiertelności/unieruchomienia (w %).



Rysunek 24. Wygląd skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* [159].

Procedurę pomiaru toksyczności ostrej badanych próbek z zastosowaniem skorupiaków *Daphnia magna* oraz *Thamnocephalus platyurus* przedstawiono schematycznie na **Rysunku 25**.





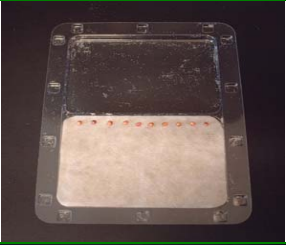

Schemat A.

Schemat B.

Rysunek 25. Schemat procedury pomiaru toksyczności ostrej próbek wody z wykorzystaniem skorupiaków *Daphnia magna* (schemat A) oraz *Thamnocephalus platyurus* (schemat B).

4.5.4.4. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA POMIARÓW TOKSYCZNOŚCI OSTREJ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU ROŚLIN JEDNOLIŚCIENNYCH (*SORGHUM SACCHARATUM*) I DWULIŚCIENNYCH (*LEPIDIUM SATIVUM* I *SINAPIS ALBA*)

Badania toksyczności próbek wód podziemnych obejmowały również pomiar toksyczności ostrej wyznaczanej w oparciu o test roślinny – *Phytotoxkit F™*, przeprowadzony zgodnie z zaleceniami prof. Guido Persoone (*MicroBioTests Inc., Nazareth, Belgia*), **Rysunek 26**.

I.		płytki testowa z pokrywką
II.		napęlenie dolnej części płytki watą bawełnianą, nasączenie jej badanymi próbkami wody podziemnej
III.		umieszczenie papierowego filtra na powierzchni waty, ułożenie na nim nasion (10 sztuk)
IV.		inkubacja płytek testowych (3 dni, temp. 25°C)

Rysunek 26. Schemat procedury pomiaru toksyczności ostrej próbek wodnych z wykorzystaniem testu *Phytotoxkit FTM* [159].

Toksyczność szacowano korzystając z pomiaru dwóch parametrów:

- zahamowanie kiełkowania nasion;
- zahamowanie wzrostu korzenia.

W teście wykorzystywano rośliny jednoliścienne (*Sorghum saccharatum*) oraz dwuliścienne (*Lepidium sativum* i *Sinapis alba*). Płytki testowe wypełniano watą bawełnianą nasączoną badanymi próbkami wód. Na tak przygotowanym „podłożu” umieszczano papierowy filtr, a na nim- nasiona roślin. Płytki, po szczelnym zamknięciu, umieszczano w temperaturze 20°C w ciemności i inkubowano przez 3 dni. Po zakończeniu testu przy użyciu aparatu fotograficznego dokonywano rejestracji obrazu płytek testowych. Do analizy obrazu wykorzystano program umożliwiający pomiar długości korzeni roślin „*Image Tools*”.

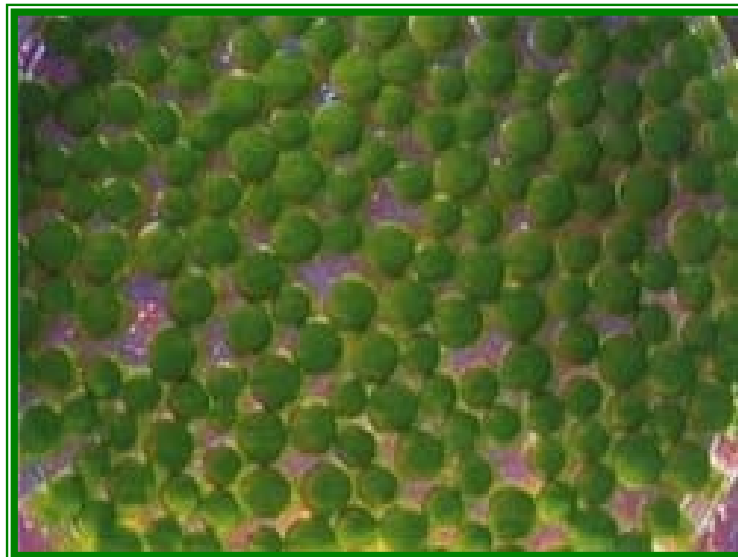
4.5.4.5. PROCEDURA PRZEPROWADZENIA BADAŃ Z WYKORZYSTANIEM TESTU OPARTEGO NA ZASTOSOWANIU GLONÓW *SELENASTRUM CAPRICORNUTUM*

Badania toksyczności próbek ekstraktów wodnych obejmowały pomiar toksyczności ostrej z wykorzystaniem testu *Algaltokit FTM magna* zgodnie z zaleceniami producenta.

Przed przystąpieniem do testu próbki przefiltrowano, a następnie dokonano pomiaru pH ekstraktów (w razie potrzeby korygowano je do wartości 7- 9 stosując dodatek NaOH lub HCl).

Rolę organizmów testowych pełniły glony *Selenastrum capricornutum* „uwolnione” ze złoża, w dniu rozpoczęcia testu, (**Rysunek 27**). Do wypełnionych ekstraktami osadów kuwet testowych dodawano zawiesinę glonów o gęstości optycznej 1×10^6 [komórek/ml]. Następnie, dla każdego, tak przygotowanego roztworu, dokonano odczytu gęstości optycznej. Kuwety testowe inkubowano przez 3 dni w temperaturze 21-25°C przy stałym oświetleniu (10000 lux).

Pomiar gęstości optycznej każdego roztworu glony- ekstrakt miał miejsce odpowiednio po 24, 48 oraz 72 godzinach. Pozwoliło to na oszacowanie, poprzez porównanie gęstości optycznej roztworów oraz próbki kontrolnej, stopnia zahamowania wzrostu komórek glonów (w %).



Rysunek 27. Wygląd glonów *Selenastrum capricornutum* [159].

4.6. Wyniki i ich omówienie

4.6.1. Ocena wpływu składowiska odpadów komunalnych na poziom zanieczyszczenia wód podziemnych

4.6.1.1. OCENA JAKOŚCI EKOTOKSYKOLOGICZNEJ PRÓBEK BADANYCH WÓD PODZIEMNYCH I POWIERZCHNIOWYCH

Badania toksyczności wód podziemnych, pobranych wokół i na terenie składowiska odpadów komunalnych, prowadzone były w sześciu turach pomiarowych:

- 27-28.11.2007 (I tura);
- 11-12.03.2008 (II tura);
- 10-11.06.2008 (III tura);
- 9-10.09.2008 (IV tura);
- 25-26.11.2008 (V tura);
- 7-8.04.2009 (VI tura).

W trakcie każdej tury pomiarowej do badań pobierano dodatkowo próbki wód powierzchniowych oraz próbki odcieków. Omawiany obszar znajduje się na terenie Pojezierza Kaszubskiego, w górnej części doliny Potoku Oruńskiego, do którego uchodzi płynący przez teren składowiska Potok Kozacki. Pod względem hydrograficznym jest on położony w dorzeczu Raduni, uchodzącej do Motławy. Od zachodu teren składowiska sąsiaduje z bezodpływową powierzchniowo zlewnią jeziora Otomińskiego. Składowisko zostało uruchomione przed rokiem 1990 i pomimo, iż nie posiada, wymaganych obecnie uszczelnień, nadal jest ono czynne.

Toksyczność ostrą próbek wody badano wobec bakterii *Vibrio fischeri*, skorupiaków *Daphnia magna* i *Thamnocephalus platyurus* oraz roślin jednoliściennych (*Sorghum saccharatum*) i dwuliściennych (*Lepidium sativum* i *Sinapis alba*).

Okazało się, iż w przypadku próbek wód pobranych z piezometrów zlokalizowanych na dopływie do składowiska nie stwierdzono ich toksycznego oddziaływania na bakterie *Vibrio fischeri*. Odnotowany dla wszystkich badanych próbek z tego rejonu, spadek bioluminescencji nie przekraczał 50% (im wyższą wartość ma ten parametr, tym próbka jest bardziej toksyczna).

Wyższy efekt toksyczny w stosunku do tych organizmów wskaźnikowych obserwowano natomiast w przypadku próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów zlokalizowanych na odpływie ze składowiska. Niewątpliwie może to świadczyć o wpływie składowiska na obniżanie jakości ekotoksykologicznej wód podziemnych. Znamienny jest

również fakt, iż obniżenie jakości dotyczyło wód pochodzących ze wszystkich warstw górnego poziomu wodonośnego jakie występują pod terenem składowiska. Mianowicie:

- warstwy pierwszej Q11: próbki P7 (I i III tura), P17A (tury I-V);
- warstwy drugiej Q12: próbki P16 i P18B (I tura) oraz P17 (I i III tura);
- warstwy trzeciej Q13: próbka P20C (I tura).

Generalnie, najwyższą toksycznością (podczas przeprowadzonych badań) charakteryzowała się próbka wody podziemnej pobrana z piezometru P17A (w III turze spadek bioluminescencji wynosił 96%).

Próbki wód pobrane z piezometrów zlokalizowanych na dopływie do składowiska wywoływały u skorupiaka *Daphnia magna* (test *Daphtoxkit FTM magna*) zróżnicowany efekt toksyczny. Śmiertelność organizmów wskaźnikowych (po 48 godzinach inkubacji) wahała się w granicach: 0-95%. 100%-ową przeżywalność organizmów testowych obserwowano podczas I tury pomiarowej między innymi dla próbek wód pobranych z piezometrów P10A oraz P19C. Najwyższą śmiertelność (95%) w trakcie wszystkich sześciu tur pomiarowych odnotowano dla próbki P21C.

Natomiast, próbki wód pochodzące z piezometrów zlokalizowanych na odpływie ze składowiska charakteryzowały się wysoką toksycznością w trakcie wszystkich sześciu tur pomiarowych. Negatywny wpływ składowiska na jakość wód w najmniejszym stopniu dotyczy próbek wód z trzeciej warstwy wodonośnej. Tylko w przypadku próbki wody podziemnej pobranej z piezometru P14C podczas III tury pomiarowej obserwowano 100%-ową śmiertelność organizmów wskaźnikowych. Wysoką toksyczność wykazywała próbka P20C pobrana zarówno podczas II jak i III tury pomiarowej (śmiertelność skorupiaków wynosiła odpowiednio 60 i 90%). Na szczególną uwagę zasługują jednak cztery próbki pochodzące z wyższych warstw górnego poziomu wodonośnego. Mianowicie: P17A (Q11) oraz P16 i P17 (Q12), które we wszystkich turach pomiarowych wykazywały prawie 100%-owy efekt toksyczny.

Dla wszystkich próbek zaobserwowano wyraźny wzrost toksyczności wobec *Daphnia magna* w trakcie III tury pomiarowej.

Należałoby również zaznaczyć, iż w przypadku kilku próbek 100%-ową śmiertelność obserwowano już po 24 godzinach inkubacji. Były to próbki: P7 (I tura), P17A i P16 (tury I-V, VI) oraz P17 (tury I-III, VI).

Skorupiaki *Thamnocephalus platyurus* uważane są za organizmy charakteryzujące się bardzo dużą wrażliwością na obecne w środowisku zanieczyszczenia. Wyniki uzyskane w trakcie badań za pomocą testu *Thamnotoxkit FTM* wskazują, że 100%-owy efekt

toksyczny wobec organizmów wskaźnikowych (*Thamnocephalus platyurus*) zaobserwowano w przypadku próbek wód pobranych z piezometrów zlokalizowanych na dopływie do składowiska, obejmujących:

- pierwszą warstwę górnego poziomu wodonośnego QI1: P10 (IV tura), P10A (III, V), P11A (III, VI), P19A (III, VI);
- drugą warstwę górnego poziomu wodonośnego QI2: P8 (III), P11B i P19B (III, IV);
- trzecią warstwę górnego poziomu wodonośnego QI3: P19C (I, III, IV), P21C (VI).

Natomiast w przypadku próbek wód pobranych z piezometrów zlokalizowanych na odpływie ze składowiska 100%-ową śmiertelność organizmów wskaźnikowych obserwowano w przypadku:

- pierwszej warstwy górnego poziomu wodonośnego QI1: P7 (III), P13A (IV, VI), P17A (II-IV);
- drugiej warstwy górnego poziomu wodonośnego QI2: P 12A (IV-VI), P13 (III, VI), P14 (IV, VI), P16 (III, IV), P17 (I-IV, VI), P18B (III, V, VI);
- trzeciej warstwy górnego poziomu wodonośnego QI3: P12 (III, VI), P14C i P20C (III).

Przeprowadzenie testu *Phytotoxkit FTM* pozwala na ocenę dwóch efektów końcowych dla roślin dwuliściennych (*Lepidium sativum* i *Sinapis alba*) oraz jednoliściennej (*Sorghum saccharatum*):

- zahamowanie kiełkowania nasion;
- zahamowanie wzrostu korzenia.

Test roślinny przeprowadzony został dla pięciu tur pobierania próbek, pomiarów nie przeprowadzono dla I tury pomiarowej.

W przypadku próbek wód pobranych z piezometrów zlokalizowanych na dopływie do składowiska w żadnym przypadku efekt toksyczny (zahamowanie kiełkowania nasion, zahamowanie wzrostu korzenia) nie przekroczył 50%. Dla części próbek obserwowano efekt wręcz odwrotny, polegający na wzroście korzenia (punkt odniesienia stanowiła próbka kontrolna). Może to wskazywać na sływ substancji odżywczych z terenów wokół składowiska. Zjawisko takie obserwowano między innymi w przypadku próbki P14A (tury III i IV). Wzrost korzenia obserwowano zarówno dla roślin jedno- jak i dwuliściennych. Najsilniejsze zahamowanie kiełkowania nasion obserwowano w przypadku próbki wody

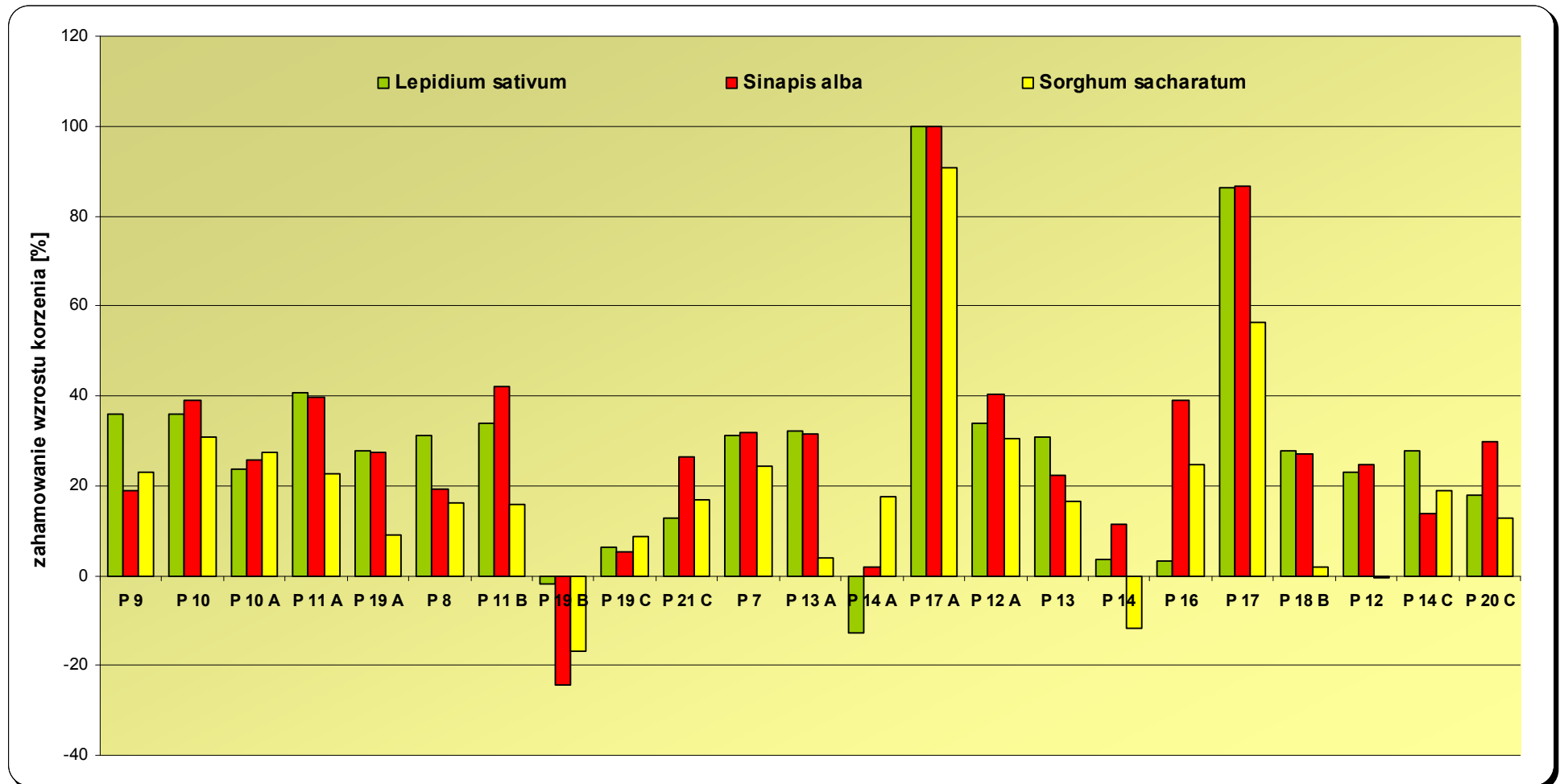
podziemnej: P17A (100%-owe zahamowanie kiełkowania nasion w przypadku próbek pobranych w III, IV i V turze pomiarowej).

Na **Rysunku 28** przedstawiono przykładowe płytki testowe, na których obserwowano zahamowanie kiełkowania nasion oraz zahamowanie wzrostu korzenia uzależnione od toksyczności badanych próbek wód.



Rysunek 28. Zróżnicowany efekt toksyczny wobec roślin testowych w trakcie badania próbek wody podziemnej pobranej z piezometrów zlokalizowanych wokół składowiska odpadów komunalnych.

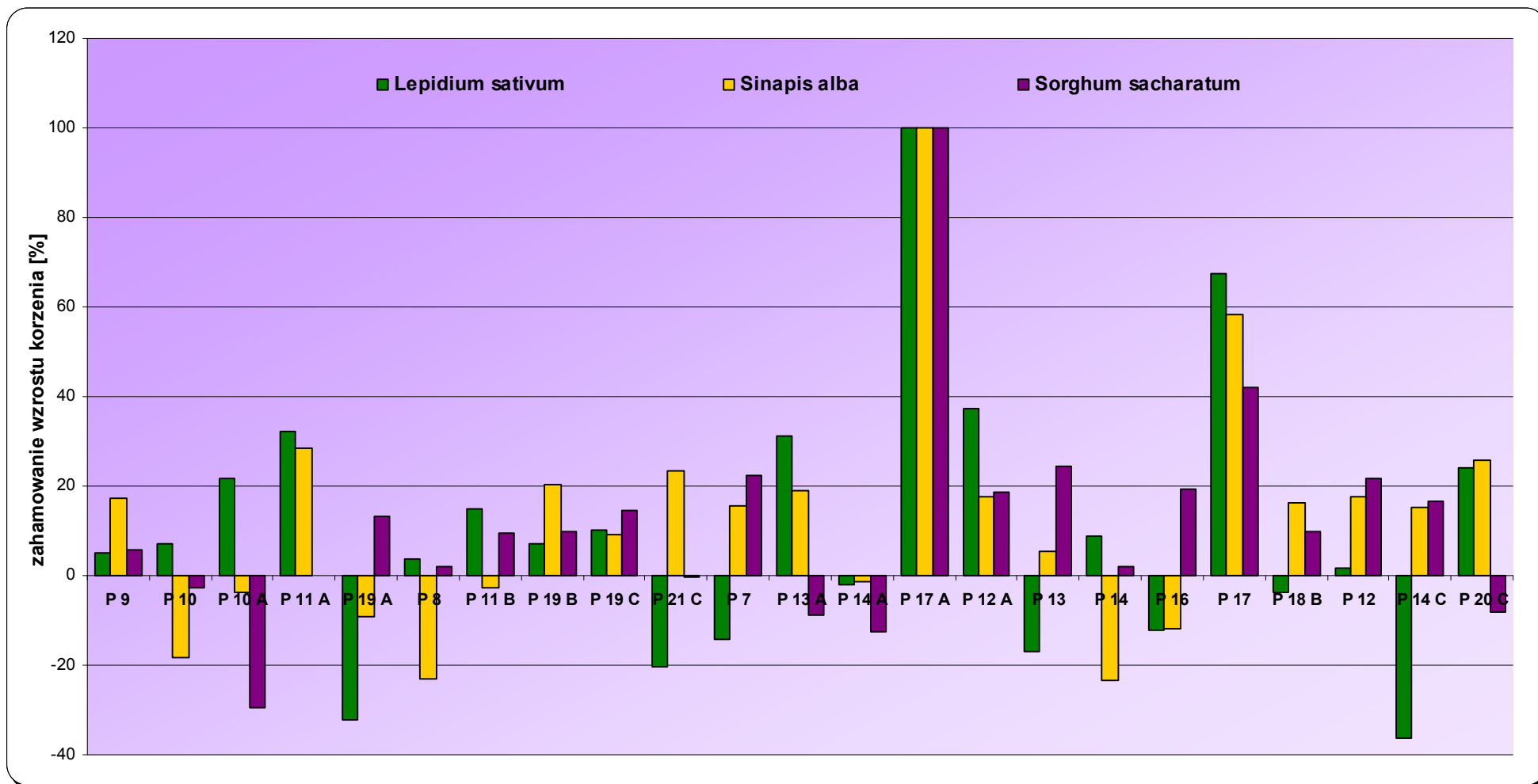
Na kolejnych rysunkach (**Rysunki 29-33**) przedstawiono procentowe zahamowanie wzrostu korzenia *Lepidium sativum*, *Sinapis alba* oraz *Sorghum sacharatum* obserwowane dla próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów w trakcie tur pomiarowych II-VI. W większości przypadków badane próbki wykazywały w stosunku do roślinnych organizmów wskaźnikowych niski efekt toksyczny (z reguły nie przekraczał on 40%). Wyjątek stanowiły jedynie próbki P17, P17A, dla których odnotowano efekt toksyczny w postaci zahamowania wzrostu korzenia na poziomie odpowiednio: 90- 100% oraz 88- 100%. Obserwowany dla części próbek przyrost korzeni świadczyć może o obecności związków (lub takim ich wzajemnym oddziaływaniu), które wywierają korzystny wpływ na wzrost roślin. Rozbieżności pomiędzy wynikami uzyskanymi w trakcie badań próbek wód podziemnych pobranych w trakcie kolejnych tur pomiarowych wskazują na dużą zmienność składu chemicznego badanych wód. Wydaje się, iż może mieć to związek z porą roku (temperatura), intensywnością opadów, a przede wszystkim z rodzajem składowanych odpadów.



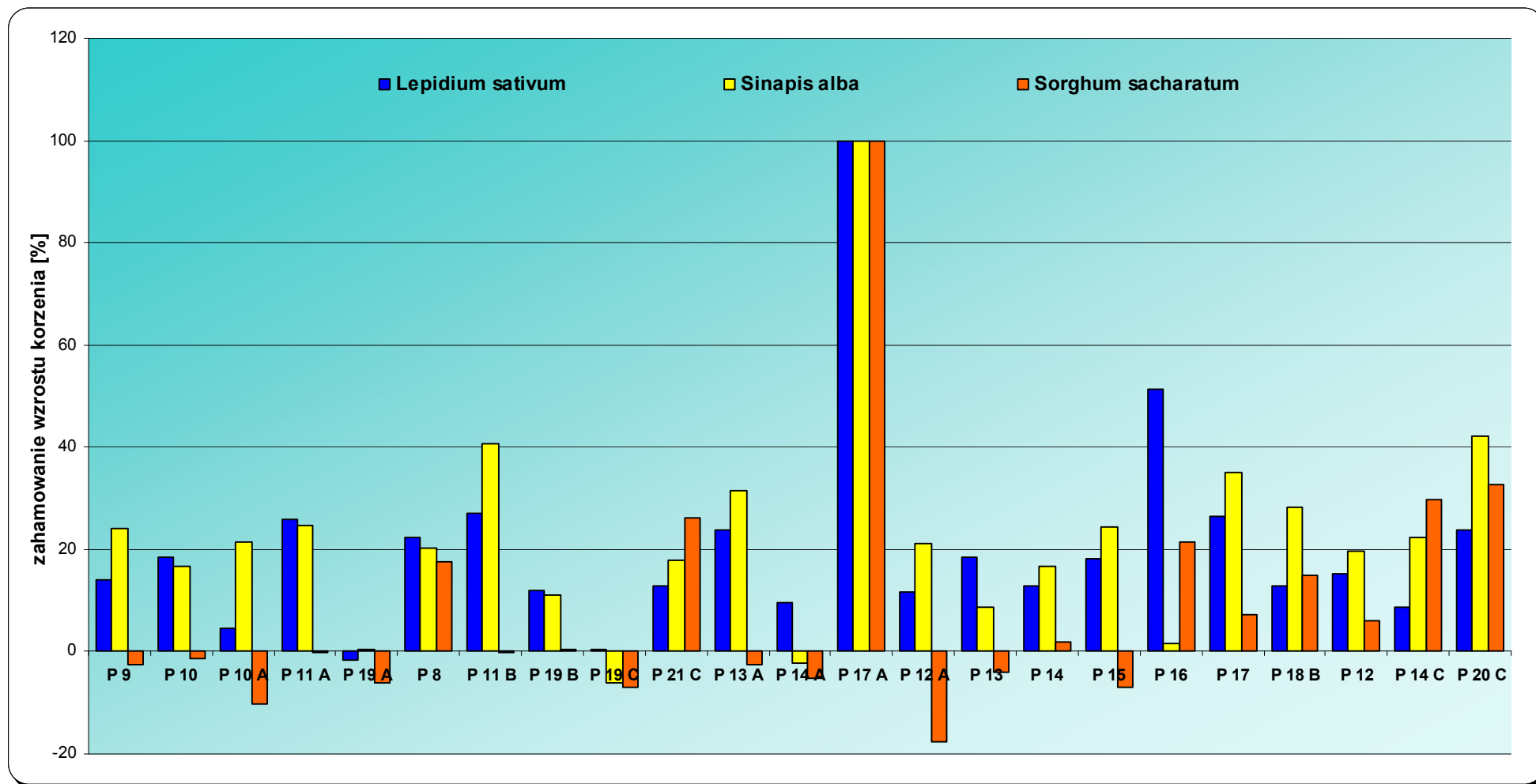
Rysunek 29. Procentowe zahamowanie wzrostu korzenia roślin jedno- i dwuliściennych w trakcie badania próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów w trakcie II tury pomiarowej.



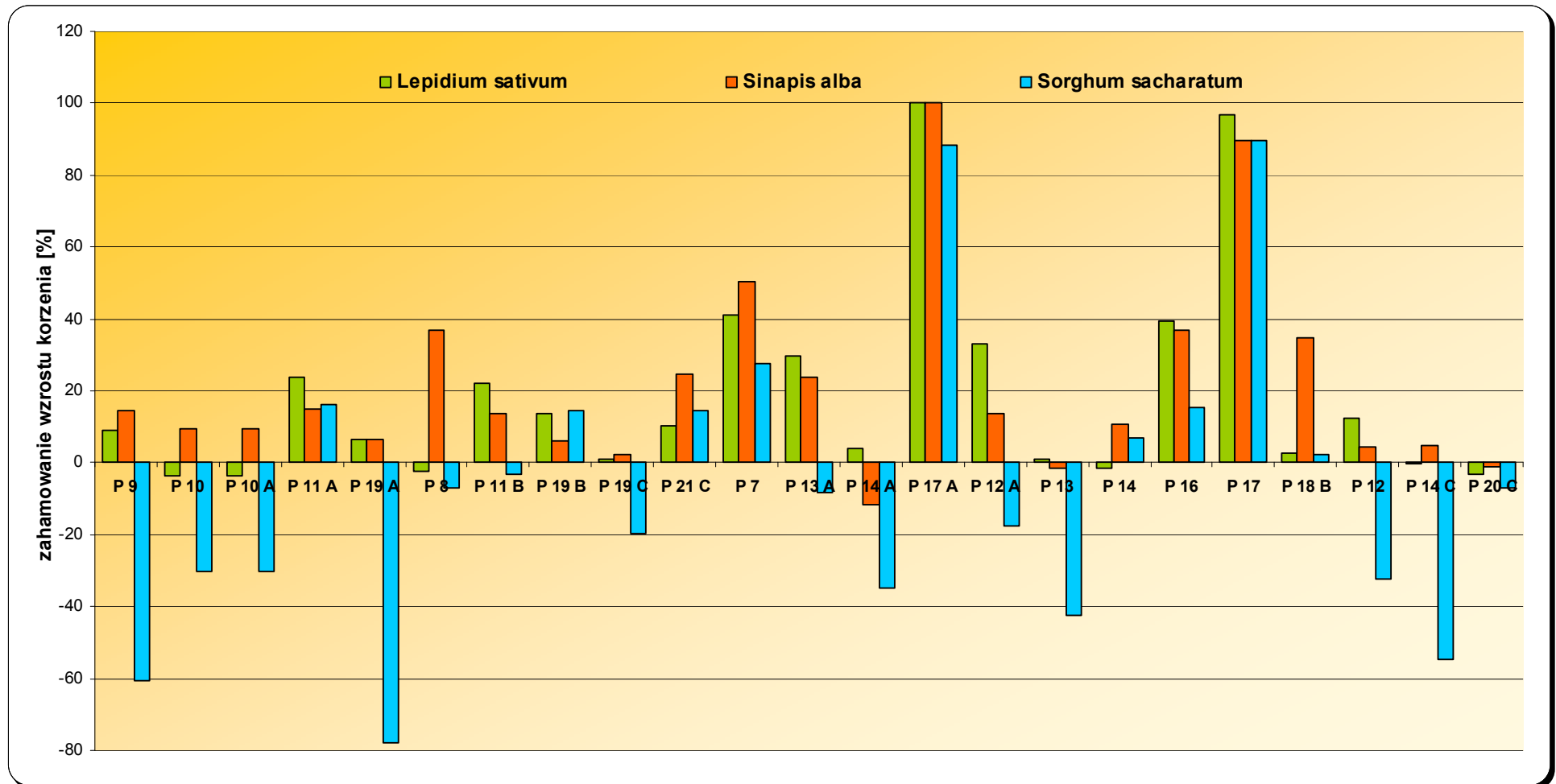
Rysunek 30. Procentowe zahamowanie wzrostu korzenia roślin jedno- i dwuliściennych w trakcie badania próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów w trakcie III tury pomiarowej.



Rysunek 31. Procentowe zahamowanie wzrostu korzenia roślin jedno- i dwuliściennych w trakcie badania próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów w trakcie IV tury pomiarowej.



Rysunek 32. Procentowe zahamowanie wzrostu korzenia roślin jedno- i dwuliściennych w trakcie badania próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów w trakcie V tury pomiarowej.



Rysunek 33. Procentowe zahamowanie wzrostu korzenia roślin jedno- i dwuliściennych w trakcie badania próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów w trakcie VI tury pomiarowej.

Różnice w odpowiedziach poszczególnych roślin widoczne były w przypadkach próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów: P19B (tury II, III), P14A (tury II, V, VI), P14 (II-IV, VI), P10, P10A: tury III-VI, P11A (tura III), P8, P11B: tury III, IV, VI, P19C (tury III, V, VI), P21C, P7, P16, P18B, P12, P20C: tury III, IV, P19C (tury III, V, VI), P9 (tury V, VI), P13A, P13: tury III-VI, P14C (tury III, IV, VI), P19A (tury IV-VI), P12A (tura VI), P15- tura pomiarowa V.

Ogólnym wnioskiem wynikającym z porównania efektu toksycznego wobec organizmów wskaźnikowych *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*, *Sinapis alba*, *Sorghum saccharatum* i *Lepidium sativum* jest zauważalny wzrost toksyczności próbek wód pobranych z obszaru zlokalizowanego na odpływie wód ze składowiska w stosunku do toksyczności próbek wody pobranych na dopływie (we wszystkich turach pomiarowych). Zaobserwowano jednak przypadki, kiedy wysoką toksyczność wykazywały również próbki pobrane z piezometrów zlokalizowanych na dopływie do składowiska. Dotyczy to próbek wód pobranych z piezometrów: P9 (IV tura pomiarowa), P10, P19B- tury IV i V, P10A (tury III-V), P11A, P19A- tury III, IV, VI, P8 (III tura), P11B (tury I, III, IV), P19C (tury I, III, IV, VI), P21C (tury IV i VI). Może to być wynikiem migracji zanieczyszczeń z innego źródła, znajdującego się przed składowiskiem odpadów lub też wynikiem cofania się wód gruntowych poziomu wodonośnego QI2. Cofnięcie to prawdopodobnie spowodowane jest naturalnie ukształtowanym wzniesieniem zaznaczonym na przekroju hydrogeologicznym w miejscu lokalizacji piezometru P19B (**Rysunek 12**).

Wzrost toksyczności wobec organizmów wskaźnikowych obserwowano również w przypadku próbek wód pobranych z Potoku Kozackiego. Próbki wód pobierano w dwóch punktach pomiarowych: mianowicie przed składowiskiem (WP1) oraz za składowiskiem (WP2).

Wysoki efekt toksyczny w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri* wykazały próbki wód powierzchniowych WP2 (II-IV tura), dla których spadek bioluminescencji wahał się w zakresie: 51-64%. Dla próbek wód powierzchniowych pobranych w punkcie WP1 nie stwierdzono efektu toksycznego w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri*.

Najwyższą (80%-ową) śmiertelność organizmów z gatunku *Daphnia magna* dla próbki WP1 stwierdzono podczas III tury pomiarowej. Próbki wód powierzchniowych pobranych za składowiskiem (WP2) wykazywały znacznie wyższy efekt toksyczny wobec tych organizmów: 100%-owa śmiertelność podczas tur II, III, V oraz VI.

We wszystkich turach pomiarowych próbki wód powierzchniowych WP2 były toksyczne wobec skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* (100%-owa śmiertelność), w przypadku próbki wód powierzchniowych pobranych w punkcie WP1 najwyższy efekt toksyczny (100%) odnotowano podczas tury III, V oraz VI.

Bardzo wysoki efekt toksyczny wobec wszystkich badanych organizmów wskaźnikowych we wszystkich turach pomiarowych stwierdzono również w przypadku próbek odcieku.

4.6.1.2. PORÓWNANIE KLASYFIKACJI CHEMICZNEJ I EKOTOKSYKOLOGICZNEJ BADANYCH PRÓBEK WODY

W chwili obecnej zarówno w prawodawstwie polskim jak i Unii Europejskiej brak jest wciąż jednolitego systemu klasyfikacji jakości ekotoksykologicznej. Dlatego też do oceny jakości badanych próbek wód wykorzystano dostępne w literaturze propozycje systemów klasyfikacji, tzn.:

- klasyfikację zawartą w zaleceniach Komisji Helsińskiej [115];
- wartości liczbowe parametru pT, stanowiącego podstawę klasyfikacji zaproponowanej przez Krebs'a [116];
- system klasyfikacji wprowadzony przez Persoone'a i współpracowników [118].

Dodatkowo, podjęto również próbę oceny jakości ekotoksykologicznej badanych wód w oparciu o autorski system pozwalający na przypisanie poszczególnym próbkom wód odpowiedniej klasy jakości ekotoksykologicznej. Próbkę wody badane przy użyciu mikrobiotestów, wywołujące określony efekt (zahamowanie bioluminescencji, zahamowanie wzrostu korzeni lub śmiertelność) o konkretnej wartości procentowej zostały uszeregowane w czteroklasowy system, którego krótką charakterystykę przedstawiono w **Tabeli 23**.

Tabela 23. Autorski system klasyfikacji toksyczności wód.

KLASA TOKSYCZNOŚCI	CHARAKTERYSTYKA	EFEKT TOKSYCZNOŚCI [%]	KOD KOLORÓW
I	Wody nietoksyczne lub o niskiej toksyczności	0 - 25	Niebieski
II	Średnia toksyczność	26 – 50	Zielony
III	Podwyższona toksyczność	51 - 75	Pomarańczowy
IV	Wysoka toksyczność	76 - 100	Czerwony

W **Tabeli 24** przedstawiono wyniki klasyfikacji badanych próbek wód podziemnych przeprowadzonej w oparciu o wyżej wymienione systemy jakości ekotoksykologicznej.

Zgodnie z klasyfikacją zawartą w zaleceniach Komisji Helsińskiej uznaje się, że ścieki powinny być takiej jakości, aby przy ich rozcieńczeniu w stosunku 1:7 (odpowiada to stężeniu 12,5%) nie był obserwowany efekt toksyczności ostrej w stosunku do dwóch spośród czterech rekomendowanych organizmów wskaźnikowych. Jeżeli przyjmie się, że jakość wód podziemnych wokół składowisk nie powinna być gorsza niż jakość oczyszczonych ścieków wprowadzanych do wód powierzchniowych, to wymogu tego nie spełniają próbki wód pobrane z piezometrów P17A (tury I-IV) oraz P16 (tura I) (patrz: **Tabela 24**, kolumna 3).

W oparciu o klasyfikację zaproponowaną przez Krebs'a, oceny jakości ekotoksykologicznej osadów można dokonać, między innymi, na podstawie wyników badań próbek wodnych ekstraktów uzyskanych z osadów, przeprowadzonych z wykorzystaniem biotestów. Wodny ekstrakt przygotowuje się poprzez wytrząsanie próbki osadu z wodą destylowaną w ilościach 1:4 (v:v). Zakładając, że badane wody gruntowe stanowią ekstrakt wodny z podziemnych warstw gleby, jakość tych wód przedstawia się następująco:

- wody z piezometrów P17A (tura I, IV), P16 (tura I) można zakwalifikować jako wody „na granicy zagrożenia” dla organizmów żywych;

- wody pobrane z piezometru P17A w trakcie II oraz III turze pomiarowej jako wody „stwarzające zagrożenie” dla organizmów żywych;
- próbki wód pobrane z pozostałych piezometrów nie stanowią zagrożenia dla organizmów żywych (patrz: **Tabela 24**, kolumna 4).

Według kryteriów zawartych w zaleceniach Komisji Helsińskiej, jak i klasyfikacji zaproponowanej przez Krebs'a, badane próbki wód podziemnych uzyskały zbieżną ocenę jakości ekotoksykologicznej. Klasyfikacje te oparte są na założeniu, że jakość wód (bądź ekstraktu wodnego z gleby) należy uznać za dobrą, jeżeli przy rozcieńczeniu ich w stosunku 1:7 (12,5%) według zaleceń Komisji Helsińskiej i 1:3 (25%) według klasyfikacji Krebs'a, nie obserwuje się występowania efektu toksyczności ostrej.

Uzyskane wyniki toksyczności ostrej oceniono również wykorzystując klasyfikację zaproponowaną przez Persoone'a i współpracowników. Klasyfikacji badanych próbek wód podziemnych dokonano zgodnie z kryteriami określonymi dla wód naturalnych (patrz: **Tabela 24**, kolumny 5 i 6). W systemie tym wysoką toksyczność ostrą, bądź wysokie zagrożenie dla organizmów żywych (przy wysokim współczynniku istotności wyników) wykazują próbki wód podziemnych pobranych z piezometrów: P17A (tury I-VI), P17 (tury I-III), P7, P12A, P13, P16, P18B, P20C- tura I. Oznacza to, że wody te stwarzają poważne niebezpieczeństwo dla organizmów żywych.

Stosując system autorski otrzymuje się wyniki zbliżone z wynikami gdy stosuje się system klasyfikacji zaproponowany przez Persoone'a (dla wód naturalnych). System klasyfikacji Persoone'a ma jednak zasadniczą zaletę- dostarcza ważnych informacji na temat istotności otrzymanych wyników przy stosowaniu do oceny wielu różnych biotestów.

Tabela 24. Klasyfikacja wód podziemnych przeprowadzona w oparciu o dostępne systemy jakości ekotoksykologicznej i chemicznej.

Nr piezometru	Data pobrania próbki	KLASYFIKACJA CHEMICZNA						
		Wg Helcom'u	Wg Krebs'a	Wg Persoone'a		autorska	Wg Rozporządzenia Ministra Środowiska	
				Klasa zagrożenia dla wód naturalnych			Klasa jakości chemicznej	Parametry chemiczne i fizykochemiczne, dla których zostały przekroczone dopuszczalne wartości
				Numer klasy	Istotność wyniku [%]			
1	2	3	4	5	6	7	8	9
PIEZOMETRY ZLOKALIZOWANE NA DOPLYWIE DO SKŁADOWISKA								
Pierwsza warstwa górnego poziomu wodonośnego QII								
P 9	27/11/2007	+	I	II	67	II	II	miedź
	11/03/2008	+	0	II	22	II	II	OWO
	10/06/2008	+	0	III	28	III	I	-
	10/09/2008	+	0	III	19	IV	D	-
	25/11/2008	+	0	II	33	I	D	-
	08/04/2009	+	0	II	11	I	D	-
P 10	28/11/2007	+	0	II	67	II	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	12/03/2008	+	0	II	44	II	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, chlorki, siarczany
	11/06/2008	+	0	III	28	III	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	09/09/2008	+	0	IV	17	IV	S	OWO
	26/11/2008	+	0	III	28	IV	D	-
	07/04/2009	+	0	II	33	II	D	-
P 10 A	28/11/2007	+	0	II	33	I	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	12/03/2008	+	0	II	56	II	III	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, wapń, mangan, siarczany
	11/06/2008	+	0	IV	26	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	09/09/2008	+	0	III	25	IV	S	OWO
	26/11/2008	+	0	IV	26	IV	D	-
	07/04/2009	+	0	II	22	I	D	-

Tabela 24. *ciąg dalszy*

1	2	3	4	5	6	7	8	9
P 11 A	27/11/2007	+	0	I	0	I	II	przewodność elektrolityczna właściwa, miedź
	11/03/2008	+	0	II	44	II	III	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, wapń, siarczany
	10/06/2008	+	0	IV	30	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	10/09/2008	+	0	III	31	IV	D	-
	25/11/2008	+	0	II	33	II	D	-
	08/04/2009	+	0	IV	26	IV	D	-
P 19 A	27/11/2007	+	0	II	67	I	II	OWO
	11/03/2008	+	0	II	56	II	IV	OWO, wapń, mangan, żelazo
	10/06/2008	+	0	III	22	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	10/09/2008	+	0	III	19	IV	D	-
	26/11/2008	+	0	III	22	II	D	-
	08/04/2009	+	0	IV	19	IV	D	-
Druka warstwa poziomu wodonośnego Q12								
P 8	27/11/2007	+	0	II	33	II	II	OWO
	11/03/2008	+	0	II	44	II	IV	OWO, wapń, mangan, żelazo, siarczany
	10/06/2008	+	0	IV	19	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	10/09/2008	+	0	III	19	IV	D	-
	25/11/2008	+	0	II	33	I	D	-
	08/04/2009	+	0	II	44	II	D	-
P 11 B	27/11/2007	+	0	III	50	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa, miedź
	11/03/2008	+	0	II	33	II	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	10/06/2008	+	0	IV	26	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	10/09/2008	+	0	IV	17	IV	D	-
	25/11/2008	+	0	II	33	II	S	OWO
	08/04/2009	+	0	II	33	II	D	-

Tabela 24. *ciąg dalszy*

1	2	3	4	5	6	7	8	9
P 19 B	27/11/2007	+	0	II	33	I	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	II	22	II	III	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, magnez, wapń, żelazo, siarczany
	10/06/2008	+	0	IV	26	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	10/09/2008	+	0	IV	21	IV	D	-
	26/11/2008	+	0	II	22	I	D	-
	08/04/2009	+	0	III	28	III	D	-
Trzecia warstwa poziomu wodonośnego Q13								
P 19 C	27/11/2007	+	0	IV	44	IV	II	OWO
	11/03/2008	+	0	II	11	I	III	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, magnez, wapń, mangan, żelazo
	10/06/2008	+	0	IV	26	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	10/09/2008	+	0	IV	17	IV	D	-
	26/11/2008	+	0	III	22	III	D	-
	08/04/2009	+	0	III	22	IV	D	-
P 21 C	27/11/2007	+	0	II	67	I	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	II	33	II	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, wapń, mangan, żelazo, chlorki
	10/06/2008	+	0	III	28	III	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	10/09/2008	+	0	III	25	IV	S	OWO
	25/11/2008	+	0	II	33	II	D	-
	08/04/2009	+	0	IV	26	IV	S	OWO

Tabela 24. ciąg dalszy

1	2	3	4	5	6	7	8	9
PIEZOMETRY ZLOKALIZOWANE NA ODPLYWIE ZE SKŁADOWISKA								
Pierwsza warstwa górnego poziomu wodonośnego Q11								
P 7	28/11/2007	+	II	IV	56	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, miedź, OWO
	12/03/2008	+	0	III	33	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , mangan, żelazo, chlorki
	11/06/2008	+	I	IV	26	IV	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	09/09/2008	+	0	III	25	IV	S	OWO , mangan, azot amonowy
	-	-	-	-	-	-	-	-
	07/04/2009	+	0	III	44	III	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , sól, magnez, potas, nikiel, chlorki, azot amonowy
P 13 A	27/11/2007	+	0	II	33	I	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	II	33	II	III	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , wapń, siarczany
	10/06/2008	+	0	III	33	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	09/09/2008	+	0	IV	21	IV	D	-
	25/11/2008	+	0	II	44	II	S	OWO
	08/04/2009	+	0	IV	30	IV	D	-
P 14 A	27/11/2007	+	0	III	33	IV	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	II	22	II	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , potas, mangan, żelazo, siarczany
	10/06/2008	+	0	III	22	III	III	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	10/09/2008	+	0	III	19	III	S	OWO , potas
	25/11/2008	+	0	II	22	II	S	OWO
	08/04/2009	+	0	III	22	III	S	potas, siarczany

Tabela 24. *ciąg dalszy*

1	2	3	4	5	6	7	8	9
P 17 A	28/11/2007	-	IV	IV	89	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	12/03/2008	-	V	IV	85	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, sól, magnez, potas, wapń, mangan, żelazo, nikiel, chlorki, siarczany
	11/06/2008	-	VI	IV	96	IV	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, miedź, OWO
	09/09/2008	-	III	IV	96	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, magnez, potas, żelazo, nikiel, chlorki, azot amonowy, indeks fenolowy (fenole lotne)
	26/11/2008	+	II	IV	96	IV	S	OWO
	07/04/2009	+	0	IV	78	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, sól, potas, nikiel, chlorki, azot amonowy
Dru ga warstwa poziomu wodonośnego Q12								
P 12 A	28/11/2007	+	0	III	66	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	II	67	II	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, sól, wapń, mangan, chlorki, siarczany
	10/06/2008	+	0	III	33	IV	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	09/09/2008	+	0	IV	21	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, wapń, mangan, nikiel, chlorki
	26/11/2008	+	0	IV	22	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa
	07/04/2009	+	0	IV	26	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, sól, wapń, nikiel, chlorki
P 13	27/11/2007	+	I	III	66	III	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	II	44	II	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, wapń, mangan, żelazo, chlorki, siarczany
	10/06/2008	+	0	IV	22	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	09/09/2008	+	0	III	25	IV	D	-
	25/11/2008	+	0	III	16	II	D	-
	08/04/2009	+	0	IV	22	IV	D	-

Tabela 24. *ciąg dalszy*

1	2	3	4	5	6	7	8	9
P 14	27/11/2007	+	0	II	33	I	II	przewodność elektrolityczna właściwa Ca , OWO
	12/03/2008	+	0	II	11	I	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, wapń, mangan, żelazo , siarczany
	10/06/2008	+	0	II	33	II	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	10/09/2008	+	0	IV	17	IV	D	-
	25/11/2008	+	I	II	22	II	D	-
	08/04/2009	+	0	IV	22	IV	D	-
P 15	28/11/2007	+	0	II	67	II	V	przewodność elektrolityczna właściwa, kadm, OWO
	11/03/2008	-	-	-	-	-	-	-
	10/06/2008	+	0	III	22	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	-	-	-	-	-	-	-	-
	25/11/2008	+	0	III	22	III	S	OWO
-	-	-	-	-	-	-	-	-
P 16	28/11/2007	-	III	IV	78	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	IV	30	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, sól, magnez, wapń, mangan, żelazo, nikiel, chlorki
	11/06/2008	+	I	IV	30	IV	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	09/09/2008	+	I	III	19	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, magnez, nikiel, chlorki, azot amonowy
	26/11/2008	+	0	IV	30	IV	S	OWO
	07/04/2009	+	0	IV	30	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO, sól, magnez, wapń, nikiel, chlorki

Tabela 24. *ciąg dalszy*

1	2	3	4	5	6	7	8	9
P 17	28/11/2007	+	II	IV	89	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, kadm, OWO
	12/03/2008	+	0	IV	63	IV	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , sól, magnez, potas, wapń, mangan, żelazo, nikiel, chlorki, siarczany
	11/06/2008	+	I	IV	67	IV	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, kadm, miedź, OWO
	09/09/2008	+	0	IV	38	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , potas, nikiel, azot azotanowy, azot azotynowy, azot amonowy, indeks fenolowy (fenole lotne)
	26/11/2008	+	0	II	33	II	S	OWO
	07/04/2009	+	0	IV	59	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , sól, nikiel, chlorki, siarczany, azot azotynowy, azot amonowy
P 18 B	28/11/2007	+	II	III	66	III	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	12/03/2008	+	0	II	33	II	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , sól, wapń, mangan, żelazo, nikiel, chlorki, siarczany
	11/06/2008	+	0	IV	19	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	09/09/2008	+	0	III	19	III	S	OWO , mangan, nikiel, azot amonowy
	26/11/2008	+	0	IV	22	IV	S	OWO
	07/04/2009	+	0	IV	26	IV	S	azot amonowy
Trzecia warstwa poziomu wodonośnego Q13								
P 12	28/11/2007	+	0	II	67	II	II	przewodność elektrolityczna właściwa, miedź
	11/03/2008	+	0	II	44	II	III	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , magnez, wapń, chlorki, siarczany
	10/06/2008	+	0	IV	15	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	09/09/2008	+	0	III	25	IV	D	-
	26/11/2008	+	0	III	22	III	D	-
	08/04/2009	+	0	IV	22	IV	D	-

Tabela 24. *ciąg dalszy*

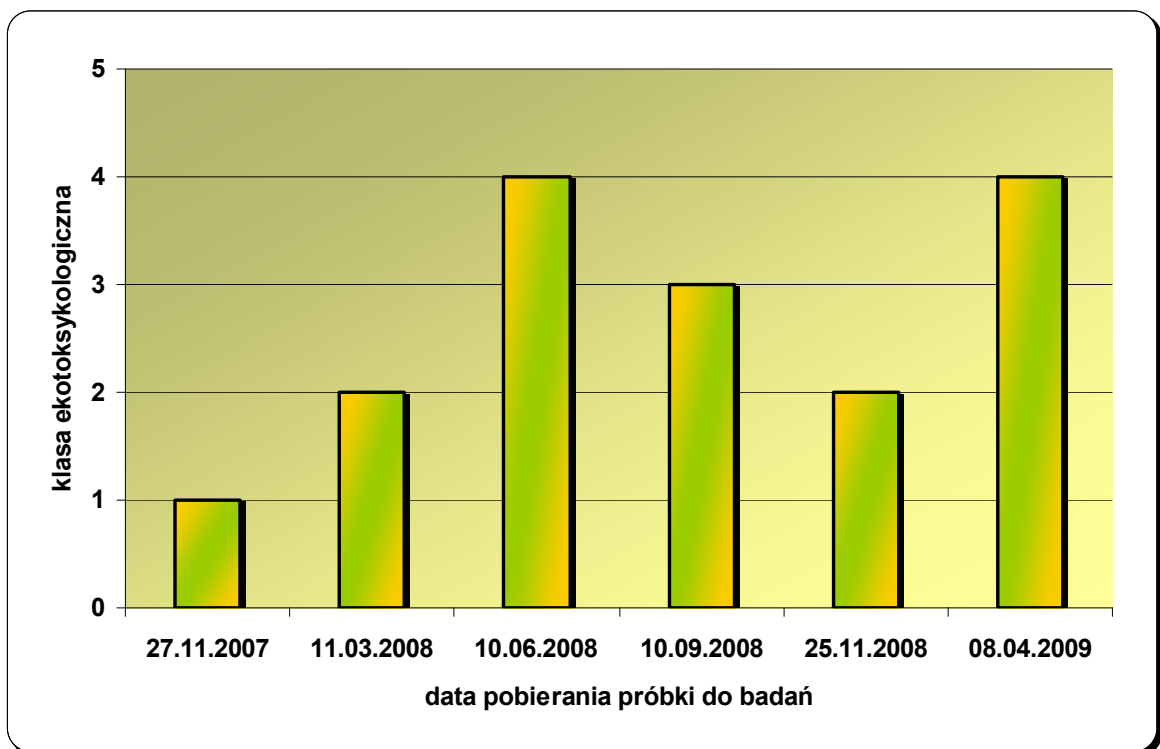
1	2	3	4	5	6	7	8	9
P 14 C	27/11/2007	+	0	II	67	I	II	OWO
	11/03/2008	+	0	III	16	II	IV	OWO, wapń, mangan, żelazo , siarczany
	10/06/2008	+	0	IV	22	IV	II	przewodność elektrolityczna właściwa
	10/09/2008	+	0	III	19	IV	D	-
	25/11/2008	+	0	II	44	II	D	-
	08/04/2009	+	0	III	22	III	D	-
P 20 C	28/11/2007	+	II	III	83	III	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	11/03/2008	+	0	III	22	III	V	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , sól, wapń, mangan, żelazo, chlorki , siarczany
	10/06/2008	+	0	IV	30	IV	IV	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO
	10/09/2008	+	0	III	31	IV	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , wapń, chlorki
	25/11/2008	+	0	III	44	IV	S	OWO
	07/04/2009	+	0	II	22	II	S	przewodność elektrolityczna właściwa, OWO , wapń, nikiel, chlorki

+/- – dobra/zła jakość (wg zaleceń Komisji Helsińskiej)

D/S- dobry/słaby stan chemiczny wód (na podstawie Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 23 lipca 2008 r. w sprawie kryteriów i sposobu oceny stanu wód podziemnych)

Na podstawie wyników uzyskanych w trakcie badań (patrz: **Tabela 24**) można wysunąć następujące wnioski:

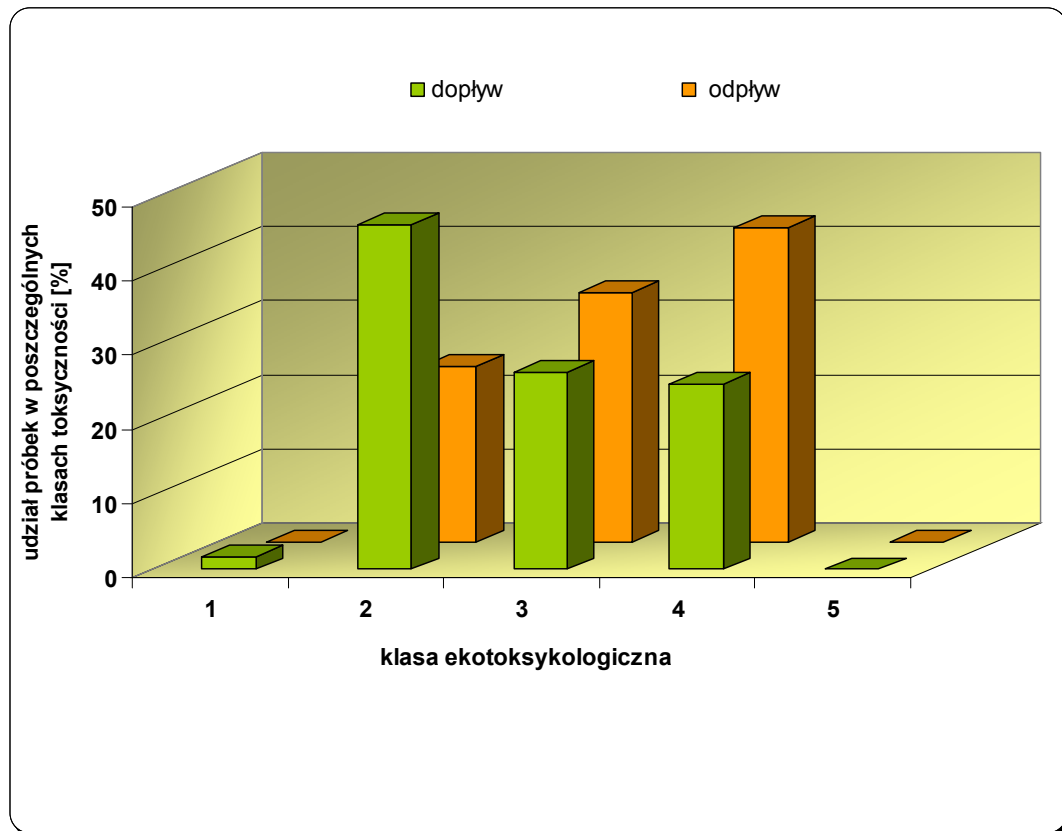
- rezultaty zastosowanych systemów klasyfikacji: autorskiego oraz wg Persoone'a dla wód naturalnych są zbieżne, przy czym system autorski jest prostszy w stosowaniu;
- wszystkie systemy klasyfikacji wskazują na niską jakość ekotoksykologiczną próbek wód pobranych z piezometrów P17A (tury I-IV), P16 (tura I);
- wyniki klasyfikacji zaproponowanej przez HELCOM i Krebs'a pokrywają się dla zdecydowanej większości badanych próbek wód;
- systemy klasyfikacji dla wód naturalnych wprowadzony przez Persoone'a stanowi bardziej rygorystyczny system oceny toksyczności niż klasyfikacja zaproponowana przez HELCOM i Krebs'a;
- jakość ekotoksykologiczna badanych próbek wód (oceniona wg systemu zaproponowanego przez Persoone'a) często ulegała czasowym zmianom (ulegała poprawie lub pogorszeniu) (**Rysunek 34**);



Rysunek 34. Czasowe zmiany jakości ekotoksykologicznej wód podziemnych na przykładzie wody pobranej z piezometru P11A.

- wykorzystanie systemów klasyfikacji ekotoksykologicznej pozwala na łatwą i szybką ocenę wpływu składowiska na pogarszanie się jakości ekotoksykologicznej wód: porównanie jakości wód na dopływie i odpływie ze składowiska.

Na **Rysunku 35** przedstawiono procentowy udział próbek w poszczególnych klasach jakości wód z podziałem na wody na dopływie i odpływie ze składowiska.



Rysunek 35. Graficzne przedstawienie wyników badań toksyczności dokumentujących wpływ składowiska odpadów komunalnych na jakość wód podziemnych.

Przedstawione wyniki badań wskazują, że wykorzystanie w monitoringu ekotoksyczności wód podziemnych wokół składowisk, systemu klasyfikacji proponowanego przez Persoone'a i współpracowników może się przyczynić do uzyskania pełniejszej informacji, niezbędnej do oceny ryzyka wynikającego z zanieczyszczenia badanego elementu środowiska.

4.6.1.3. ZALEŻNOŚCI WYSTĘPUJĄCE POMIĘDZY TOKSYCZNOŚCIĄ A WYNIKAMI ANALIZ CHEMICZNYCH

Pierwszy etap poszukiwania przyczyn stwierdzonej toksyczności ostrej wobec zastosowanych organizmów wskaźnikowych, stanowiło porównanie uzyskanych wyników ekotoksyczności z wynikami obowiązkowego monitoringu parametrów chemicznych i fizykochemicznych dla wód podziemnych wokół składowisk. Z zaleceń zawartych

w Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie klasyfikacji dla prezentowania stanu wód powierzchniowych i podziemnych, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji wyników i prezentacji stanu tych wód (Dz. U. Nr 32, poz. 284) wynika, że obowiązkowe oznaczenia parametrów fizykochemicznych powinny być wykonywane przez laboratoria akredytowane, co w przypadku omawianego składowiska odpadów komunalnych ma miejsce (akredytowane laboratorium Zakładu Inżynierii Środowiska „Eko-Projekt”) [160].

Wyniki badań fizykochemicznych zawarte w udostępnionych raportach mogą stanowić podstawę do klasyfikacji wód podziemnych pobranych w trakcie trzech tur pomiarowych (I-III) wg Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie klasyfikacji dla prezentowania stanu wód powierzchniowych i podziemnych, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji wyników i prezentacji stanu tych wód. Powyższe rozporządzenie straciło moc z dniem 1 stycznia 2005 roku, w związku z czym podana klasyfikacja ma jedynie charakter pomocniczy. Odniesiono się do tego rozporządzenia ponieważ nie istniały wówczas inne, obowiązujące akty prawne pozwalające na porównanie otrzymanych wyników badań z wartościami dopuszczalnymi dla poszczególnych wskaźników jakości wody podziemnej.

W przypadku próbek wód podziemnych pobranych w późniejszych turach pomiarowych podstawę klasyfikacji stanowiło Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 23 lipca 2008 r. w sprawie kryteriów i sposobu oceny stanu wód podziemnych (Dz.U. 2008, Nr 143, poz. 896) [161]. Podobnie jak wcześniejsze rozporządzenie, miało ono jedynie charakter pomocniczy: zostało opracowane na potrzeby ustawy Prawo Wodne, natomiast monitoring składowisk prowadzony jest na podstawie Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 9 grudnia 2002 r. (Dz.U. 2002, Nr 220, poz. 1858) będącego aktem wykonawczym do ustawy o odpadach. Niestety, w chwili obecnej, nie istnieją inne akty prawne, które normowałyby jakość wód podziemnych badanych w ramach prowadzonego monitoringu składowisk odpadów. Biorąc pod uwagę fakt, że liczba parametrów uwzględnionych w rozporządzeniu dotyczącym monitoringu składowisk jest znacznie mniejsza niż w rozporządzeniu dotyczącym oceny stanu wód podziemnych, nie ma możliwości dokonania pełnej klasyfikacji monitorowanych wód. Odniesienie się do niego pozwala jednak na stwierdzenie, na podstawie analizy wyników okresowych pomiarów wartości wybranych parametrów czy i w jakim stopniu składowiska oddziałują na jakość wód podziemnych [122,129,134]. W **Tabeli 25** zawarty jest krótki opis poszczególnych klas jakości wód oraz obrazowy sposób ich przedstawiania.

Tabela 25. Klasyfikacja chemiczna jakości wód podziemnych [160,161].

KLASA JAKOŚCI WÓD	CHARAKTERYSTYKA		KOD KOLORÓW ¹	KOD KOLORÓW ²
I	Bardzo dobra	Wartości liczbowe żadnego ze wskaźników nie przekraczają dopuszczalnych wartości dla jakości wody przeznaczonej do spożycia przez człowieka; wartości liczbowe kształtowane są jedynie przez naturalne procesy zachodzące w warstwie wodonośnej.	Niebieski	Zielony
II	Dobra	Wartości liczbowe wskaźników, poza manganem i żelazem, nie przekraczają dopuszczalnych wartości dla jakości wody przeznaczonej do spożycia przez człowieka; wartości liczbowe wskaźników nie wskazują na oddziaływania antropogeniczne.	Zielony	
III	Zadowalająca	Wartości liczbowe niektórych wskaźników przekraczają dopuszczalne wartości dla jakości wody przeznaczonej do spożycia przez człowieka; podwyższone wartości liczbowe wskaźników są wynikiem słabych oddziaływań antropogenicznych lub czynników naturalnych.	Żółty	
IV	Niezadowalająca	Wartości liczbowe większości wskaźników przekraczają dopuszczalne wartości dla jakości wody przeznaczonej do spożycia przez człowieka, co jest wynikiem słabych oddziaływań antropogenicznych oraz naturalnie zachodzących procesów.	Pomarańczowy	Pomarańczowy
V	Zła	Woda nie spełnia wymagań określonych dla wody przeznaczonej do spożycia przez człowieka; wartości liczbowe wskaźników są potwierdzeniem występowania oddziaływań antropogenicznych.	Czerwony	

¹Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie klasyfikacji stanu wód powierzchniowych i podziemnych, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji wyników i prezentacji stanu tych wód;

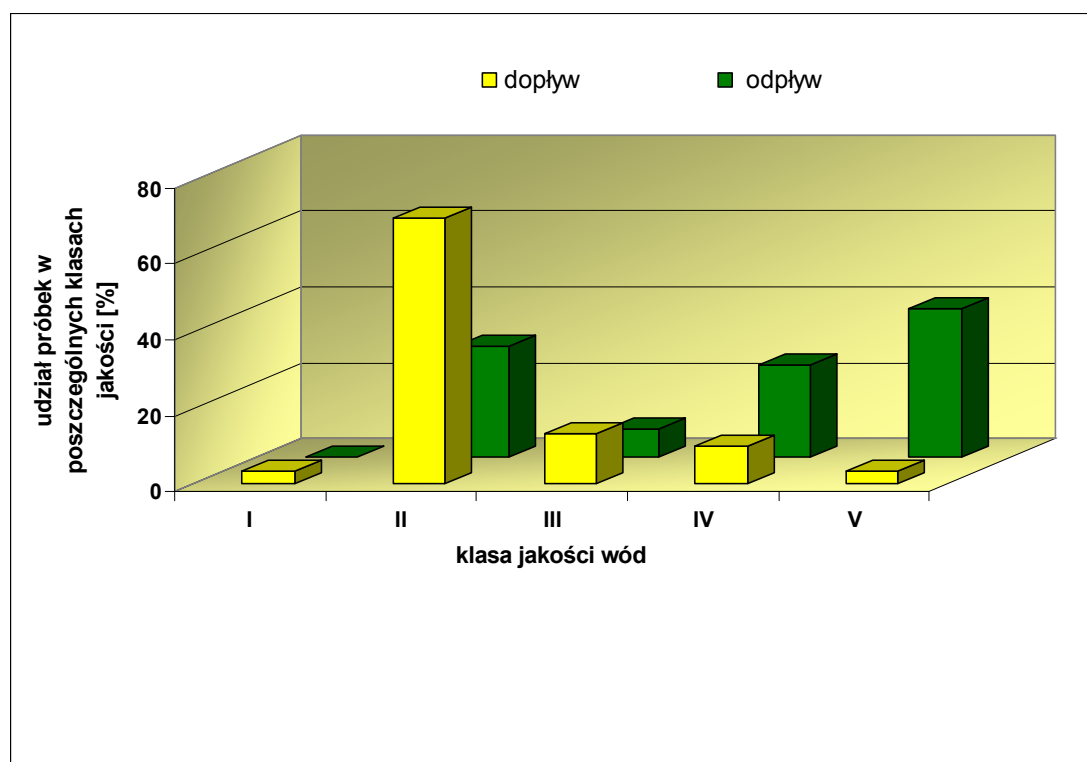
²Rozporządzenia Ministra Środowiska z dnia 23 lipca 2008 r. w sprawie kryteriów i sposobu oceny stanu wód podziemnych (Dz.U. 2008, Nr 143, poz. 896)

Korzystając z posiadanej dokumentacji dokonano również oceny zmian w klasyfikacji wód podziemnych w czasie. Dla większości wód podziemnych ich klasyfikacja chemiczna w okresie badań (od kilku miesięcy do czterech lat) nie uległa znaczącym zmianom.

W **Tabeli 24** (kolumna 8) przedstawiono klasyfikację wód podziemnych w oparciu o najbardziej aktualne wyniki badań chemicznych oraz podano parametry, których przekroczenie powoduje zakwalifikowanie wody do określonej klasy czystości (kolumna 9).

Generalnie, wody na dopływie do składowiska w porównaniu z wodami na odpływie, charakteryzują się lepszymi parametrami fizykochemicznymi (**Rysunek 36**). Oczywiście, jakość fizykochemiczna wód, pobierana z poszczególnych piezometrów,

ulegała zmianom czasowym. Najczęściej przekraczaniem parametrami były przewodność elektrolityczna właściwa oraz całkowita zawartość węgla organicznego.



Rysunek 36. Graficzne przedstawienie wyników badań fizykochemicznych dokumentujących wpływ składowiska odpadów komunalnych na jakość wód podziemnych.

Porównanie klasyfikacji wód podziemnych na podstawie wyników badań ekotoksykologicznych (zarówno według zaleceń Komisji Helsińskiej, kryteriów Krebs'a, oraz obu systemów zaproponowanych przez Persoone'a) z klasyfikacją parametrów chemicznych (według Rozporządzenia Ministra Środowiska) wskazuje, iż brak jest między nimi prostej zależności, mianowicie:

- w większości przypadków próbki wód podziemnych pobranych na dopływie do składowiska (zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska) uznano za wody o dobrej jakości fizykochemicznej (należące do I-III klasy czystości); wyjątek stanowiły próbki wód pobrane z piezometrów: P19A, P8 (II tura pomiarowa), P10, P10A (tura IV), P11B (V tura pomiarowa), P21C (tury pomiarowe: I, II, IV, VI); według systemów klasyfikacji Persoone'a (dla wód naturalnych) nie stanowią one zagrożenia ekotoksykologicznego (z wyjątkiem próbek pobranych z piezometrów P10, P10A, P21C (tura VI) wykazujących „zagrożenie wysokie” lub „wysoki poziom zagrożenia ostrego” dla organizmów żywych);

natomiast według klasyfikacji proponowanej przez HELCOM oraz Krebs'a nie stanowią one zagrożenia ekotoksykologicznego;

- praktycznie wszystkie próbki wód, pochodzące „z odpływu” ze składowiska można zaliczyć do IV lub V klasy czystości (według Rozporządzenia Ministra Środowiska), wyjątek stanowiły próbki pochodzące z piezometrów: P18B (tura III), P12 (tury I-VI), P14C (tury I, III-VI); jednocześnie wszystkie badane próbki, według systemu oceny Persoone'a, stanowią zagrożenie ekotoksykologiczne; zgodnie z klasyfikacją proponowaną przez HELCOM oraz Krebs'a zagrożenie ekotoksykologiczne mogą stanowić jedynie próbki pobrane z piezometrów P17A (tury I-IV), P16 (tura I).

Na podstawie powyższego porównania ocen jakości ekotoksykologicznej i chemicznej badanych próbek wód podziemnych, można wysunąć następujące wnioski:

- w większości przypadków próbki o wysokiej toksyczności skorelowane są z niską jakością wód wg klasyfikacji fizykochemicznej (klasa V lub IV);
- wiele próbek nie wykazuje toksyczności ostrej wobec wykorzystywanych organizmów mimo, że ich jakość wg klasyfikacji fizykochemicznej jest bardzo niska (P21C: I i II tura, P14 A: II i V tura, P19A, P8, P12 A, P13, P14, P18B- II tura, P15: I tura, P11B, P13A, P17- V tura, P20C- VI tura);
- obserwowano również próbki, które pomimo dobrej jakości fizykochemicznej wykazywały wysoki lub bardzo wysoki efekt toksyczny w stosunku do wykorzystywanych organizmów wskaźnikowych: P9- tury III, IV, P10, P10A- III, V, P11A, P19B, P13A, P14C- III, IV, VI, P19A, P8, P12- III-VI, P11B- I, III, IV, P19C, P13- I, III-VI, P14- IV, VI, P21C, P15, P18B- III.

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdzają, że ocena zagrożeń wynikających z przedostawania się substancji toksycznych ze składowisk komunalnych do wód podziemnych oparta wyłącznie na wynikach monitoringu parametrów chemicznych jest niepełna i powinna być obligatoryjnie uzupełniona o wyniki badań ekotoksykologicznych. Tym bardziej, że obecnie dostępne mikrobiotesty umożliwiają rutynowe wykonywanie takich badań bez konieczności prowadzenia uciążliwej hodowli odpowiednich organizmów wskaźnikowych.

W kolejnym etapie poszukiwania przyczyn stwierdzonej toksyczności ostrej u zastosowanych organizmów wskaźnikowych, podjęto próbę identyfikacji związków organicznych, których obecność w środowisku nie podlega uregulowaniom prawnym (związki z grupy *NROC*), zatem nieobjętych zakresem rutynowo oznaczanych parametrów

chemicznych. Badaniom poddano próbki wód podziemnych zebranych zarówno na dopływie jak i na odpływie ze składowiska. W tym celu przeprowadzono przesiewowe badania chromatograficzne próbek ekstraktów dichlorometanowych, z zastosowaniem układu GC–MS, w poszukiwaniu związków organicznych, które udało się wyizolować z pobranych próbek wód w trakcie ekstrakcji za pomocą tego rozpuszczalnika.

Korzystając z odpowiednich technik chemometrycznych podjęto również próbę wydobycia cennych informacji z wielowymiarowych danych pomiarowych. W celu przeprowadzenia analiz zależności występujących pomiędzy wynikami oznaczeń chemicznych a wskaźnikami toksyczności próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół składowiska odpadów komunalnych, nawiązano współpracę z profesorem Vasilem Simeonov'em- wybitnym specjalistą z zakresu wykorzystania technik chemometrycznych i sztucznej inteligencji z Wydziału Chemii Uniwersytetu w Sofii (Bułgaria).

Zastosowanie metod chemometrycznych wymagało stworzenia kompletnej bazy danych, zawierającej ponad 6600 wyników w postaci 36 parametrów chemicznych i 12 wskaźników toksyczności dla 138 próbek wód. W skład chemicznych i fizykochemicznych wskaźników jakości wchodziły:

- wskaźniki fizyczne (odczyn, zawiesina ogólna);
- wskaźniki tlenowe (tlen rozpuszczony, BZT₅, ChZT_{Mn});
- wskaźniki biogenne (zawartości azotu amonowego, azotanowego, azotynowego, azotu Kjeldahla);
- wskaźniki zasolenia (przewodność elektryczna właściwa, substancje rozpuszczone ogólne, zasadowość ogólna, twardość ogólna, mętność, zawartości chlorków, siarczanów, krzemionki zdysocjowanej, magnezu, sodu, potasu, wapnia);
- metale, w tym metale ciężkie (Fe, Hg, Pb, Cu, Ni, Zn, Cd, Mn, Cr, Cr⁺⁶);
- wskaźniki zanieczyszczeń przemysłowych (fenole – indeks fenolowy, detergenty anionowe).

Z kolei wskaźniki toksyczności stanowiły:

- stopień zahamowania bioluminescencji bakterii *Vibrio fischeri*;
- wartości liczbowe wskaźników EC₂₀ i EC₅₀ wyznaczone z zastosowaniem testu toksyczności ostrej wobec bakterii *Vibrio fischeri*;
- śmiertelność skorupiaków *Daphnia magna*;
- śmiertelność skorupiaków *Thamnocephalus platyurus*;

- stopień zahamowania kiełkowania nasion: *Sinapis alba*, *Sorghum sachcrathum*, *Lepidium sativum*;
- stopień zahamowania wzrostu korzenia: *Sinapis alba*, *Sorghum sachcrathum*, *Lepidium sativum*.

Na tym etapie realizacji projektu badawczego badania chromatograficzne próbek ekstraktów rozpuszczalnikowych (z zastosowaniem układu GC-MS) oraz chemometryczna analiza wielowymiarowych zbiorów danych pomiarowych nie zostały jeszcze ukończone. Ich wyniki zostaną przedstawione w formie publikacji w terminie późniejszym.

4.6.1.4. PORÓWNANIE WRAŻLIWOŚCI ORGANIZMÓW WSKAŹNIKOWYCH WOBEC MIESZANINY ZANIECZYSZCZEŃ ZAWARTYCH W WODACH POCHODZĄCYCH ZE SKŁADOWISKA ODPADÓW KOMUNALNYCH W GDAŃSKU- SZADÓLKACH

W celu skomponowania optymalnej baterii mikrobiotestów do przyszłych badań porównano wrażliwość organizmów wskaźnikowych wykorzystywanych w trakcie badań. W pierwszym etapie porównano wrażliwość bakterii bioluminescencyjnych z wrażliwością skorupiaków *Thamnocephalus platyurus* oraz *Daphnia magna* (**Rysunek 37**).

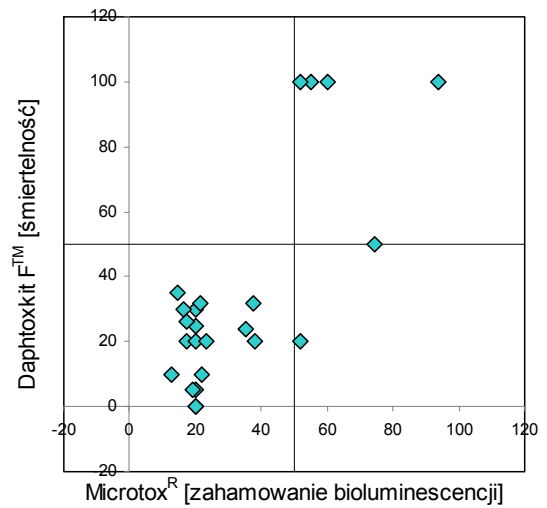
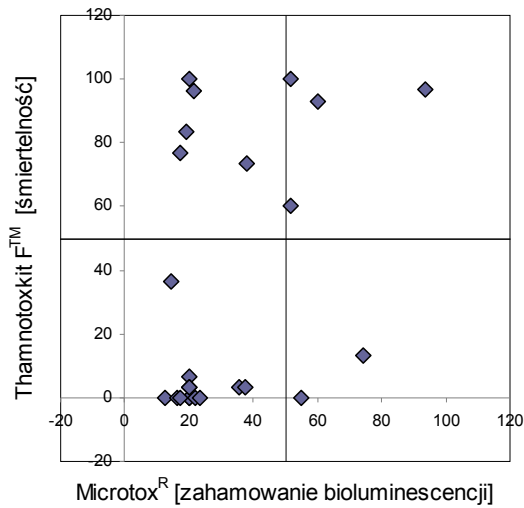
Na podstawie wyników uzyskanych w trakcie badań próbek zebranych w I turze pomiarowej, można stwierdzić, iż 37% badanych próbek wywołała wysoki efekt toksyczny (śmiertelność $\geq 50\%$) w stosunku do skorupiaków *Thamnocephalus platyurus*. Natomiast, w przypadku bakterii *Vibrio fischeri* zanotowano stosunkowo nieliczne przypadki (25% badanych próbek) kiedy spadek bioluminescencji przekroczył 50%. Podobne proporcje zostały zachowane również w przypadku próbek pobranych w II turze pomiarowej: 13% badanych próbek charakteryzowało się wysokim efektem toksycznym w teście *Thamnotoxkit FTM*, w przypadku testu *Microtox*® taki efekt odnotowano natomiast tylko dla 4% badanych próbek. W przypadku III i IV tury pomiarowej różnice we wrażliwości tych organizmów zaznaczyły się bardzo wyraźnie: bowiem wysoką śmiertelność skorupiaków *Thamnocephalus platyurus* obserwowano w przypadku 83% i 100% badanych próbek (odpowiednio III i IV tury), jednocześnie dla tych samych próbek spadek bioluminescencji poniżej 50% odnotowano tylko w przypadku 3 próbek oraz 1 próbki pobranych odpowiednio w czasie III oraz IV tury pomiarowej.

**PORÓWNANIE WRAŻLIWOŚCI *VIBRIO FISCHERI*, *THAMNOCEPHALUS PLATYURUS*
ORAZ *DAPHNIA MAGNA***

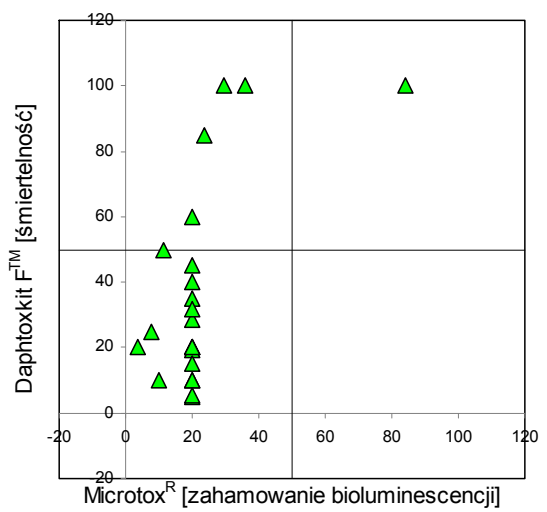
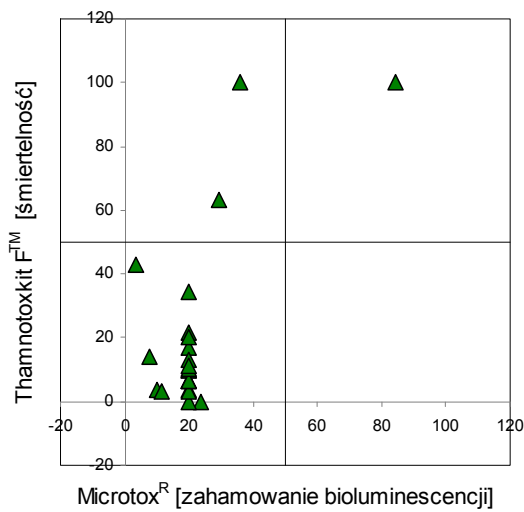
Microtox®/ Thamnotoxkit FTM

Microtox®/ Daphtoxkit FTM

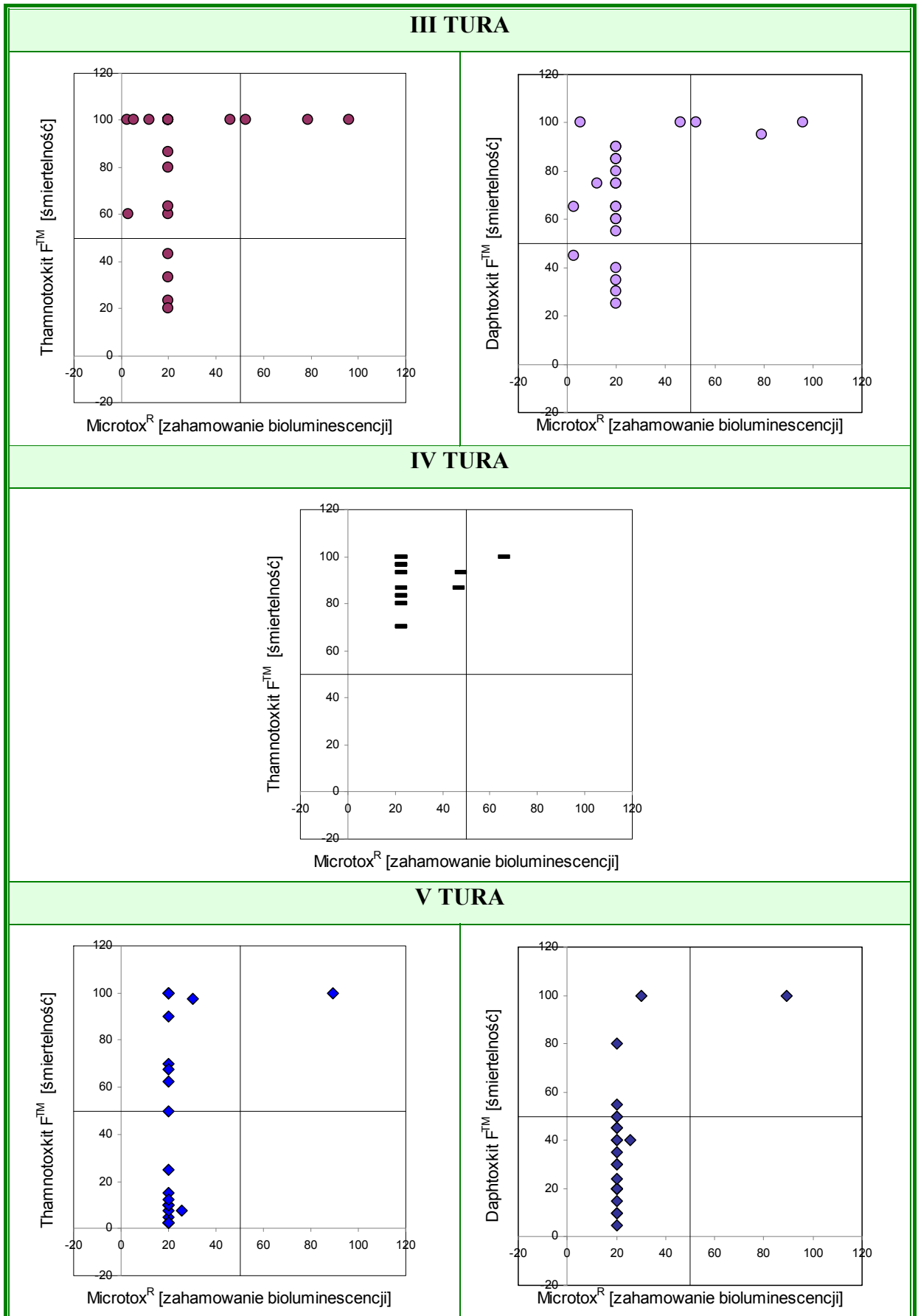
I TURA

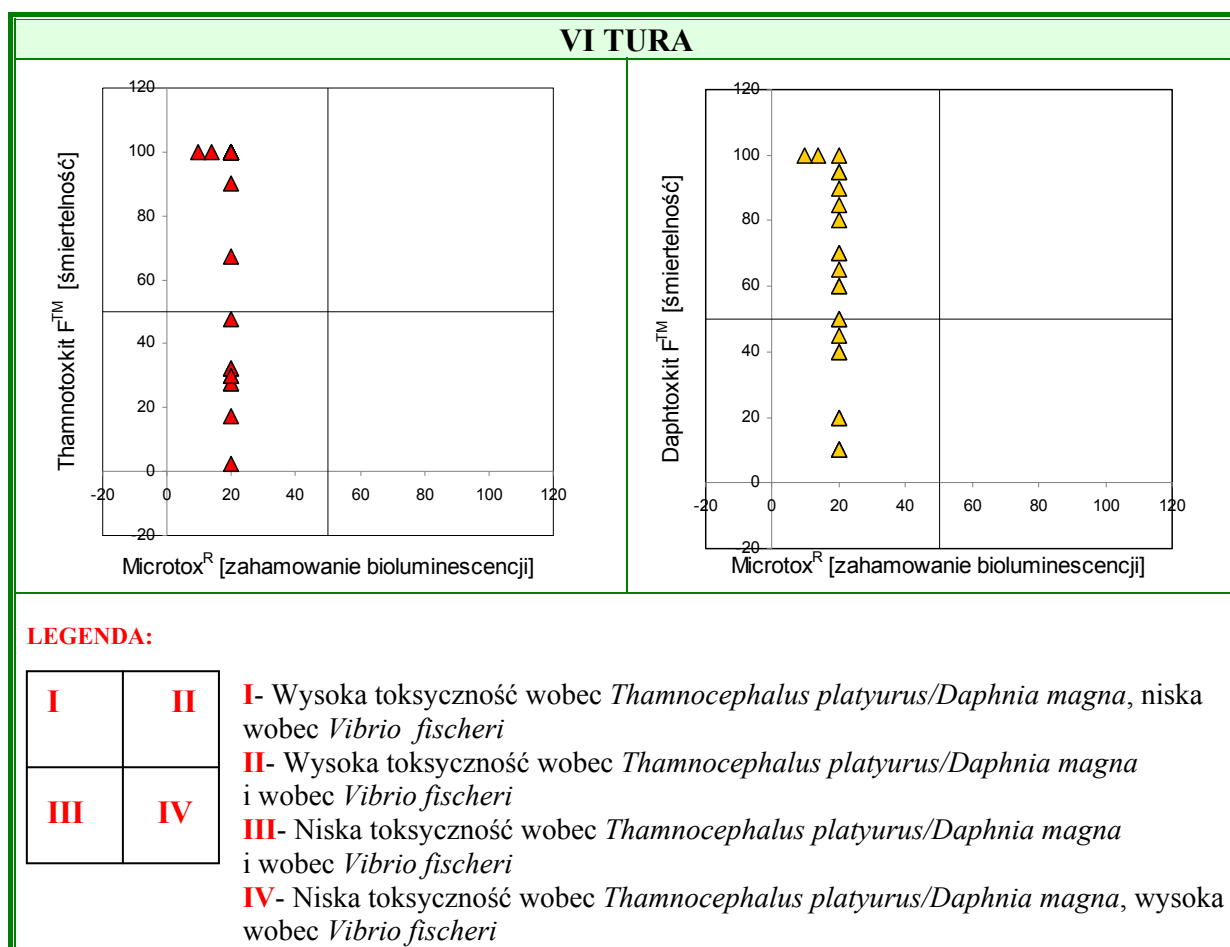


II TURA



Rysunek 37. *ciąg dalszy*



Rysunek 37. *ciąg dalszy*

Rysunek 37. Porównanie wrażliwości bakterii *Vibrio fischeri* ze skorupiakami *Thamnocephalus platyurus* i *Daphnia magna* na skład chemiczny badanych próbek wody.

Fakt, iż skorupiaki *Thamnocephalus platyurus*, w porównaniu z bakteriami *Vibrio fischeri*, charakteryzują się dużo większą wrażliwością na ksenobiotyki obecne w badanych próbkach potwierdziły także wyniki uzyskane w czasie dwóch ostatnich tur pomiarowych, kiedy śmiertelność na poziomie ponad 50% wobec *Thamnocephalus platyurus* odnotowano dla 43% i 61% badanych próbek wód, tymczasem zahamowanie bioluminescencji o podobnej wartości procentowej wywołało jedynie 4% próbek w czasie V tury pomiarowej, natomiast dla próbek pobranych podczas VI tury pomiarowej nie stwierdzono żadnego takiego przypadku.

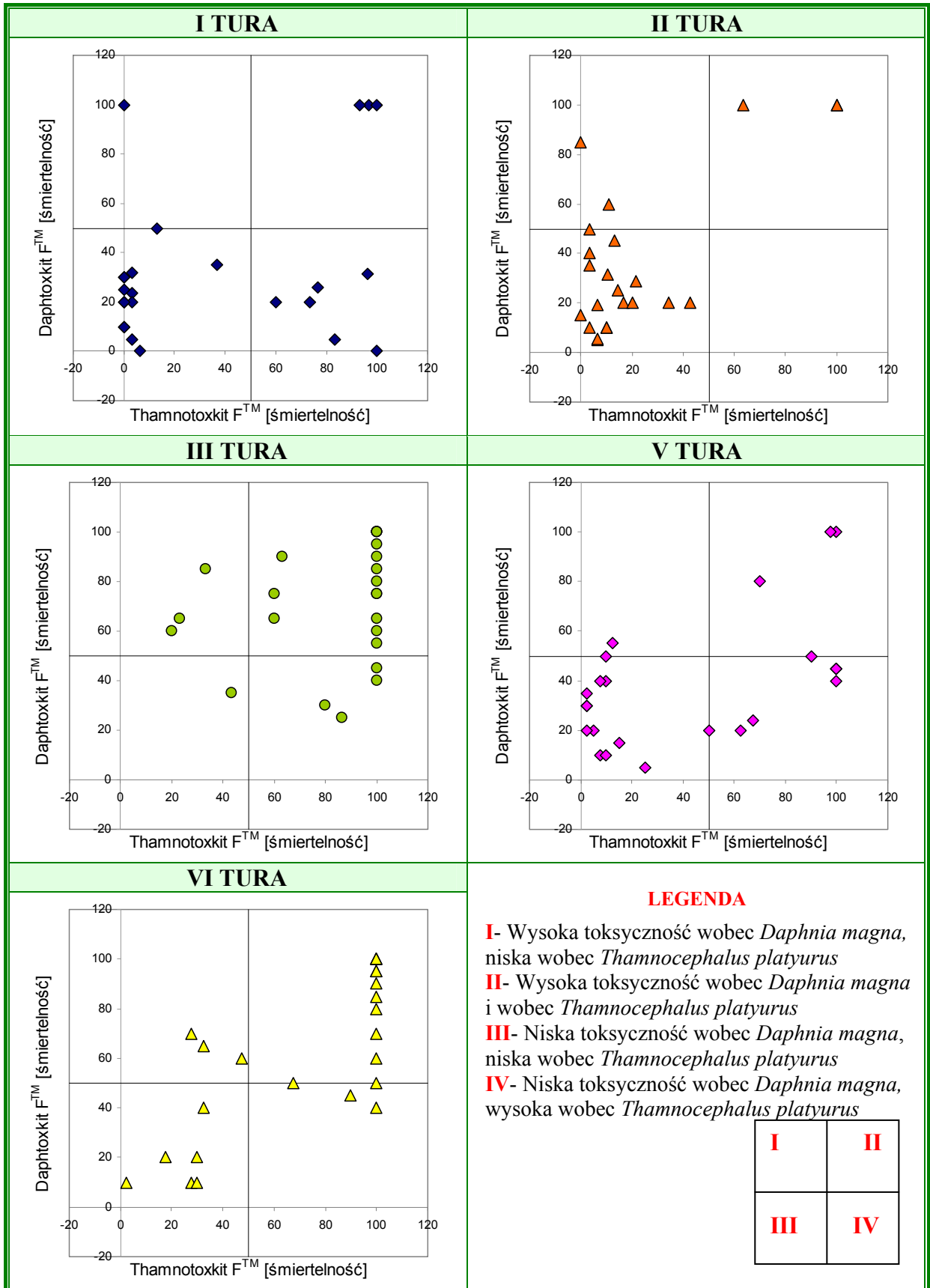
Z porównania wyników uzyskanych w trakcie badań próbek z zastosowaniem testów *Microtox*[®] oraz *Daphtoxkit FTM magna* wynika, iż pierwszy z nich charakteryzuje się mniejszą wrażliwością na skład chemiczny badanych próbek. Jako przykład posłużyć mogą wyniki uzyskane w trakcie III oraz VI tury pomiarowej: wysoki efekt toksyczny

(przekraczający 50%) wobec *Daphnia magna* stwierdzono dla 79% oraz 65% analizowanych próbek wód. W tym samym czasie podobny efekt toksyczny w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri* zanotowano jedynie dla 12% i 0% przypadków.

Z wyników uzyskanych w trakcie ekotoksykologicznej oceny próbek wód podziemnych wynika, iż bakterie *Vibrio fischeri* charakteryzują się stosunkowo niską wrażliwością w stosunku do chemicznego składu badanych próbek. Najbardziej wrażliwym organizmem okazał się skorupiak *Thamnocephalus platyurus*. Wpływ na uzyskane przy pomocy tych mikrobiotestów wyniki może mieć również czas ekspozycji organizmów wskaźnikowych na obecne w badanych próbkach ksenobiotyki. Test wykorzystujący bakterie *Vibrio fischeri* jest testem, w którym odpowiedź na pytanie: „czy i w jakim stopniu próbka jest toksyczna?” uzyskujemy już po 5-30 minutach. Natomiast, testy, które w roli organizmów wskaźnikowych wykorzystują skorupiaki są zwykle testami kilkudniowymi (*Thamnotoxkit FTM* trwa 24 godziny, *Daphtoxkit FTM magna*- 48 godzin).

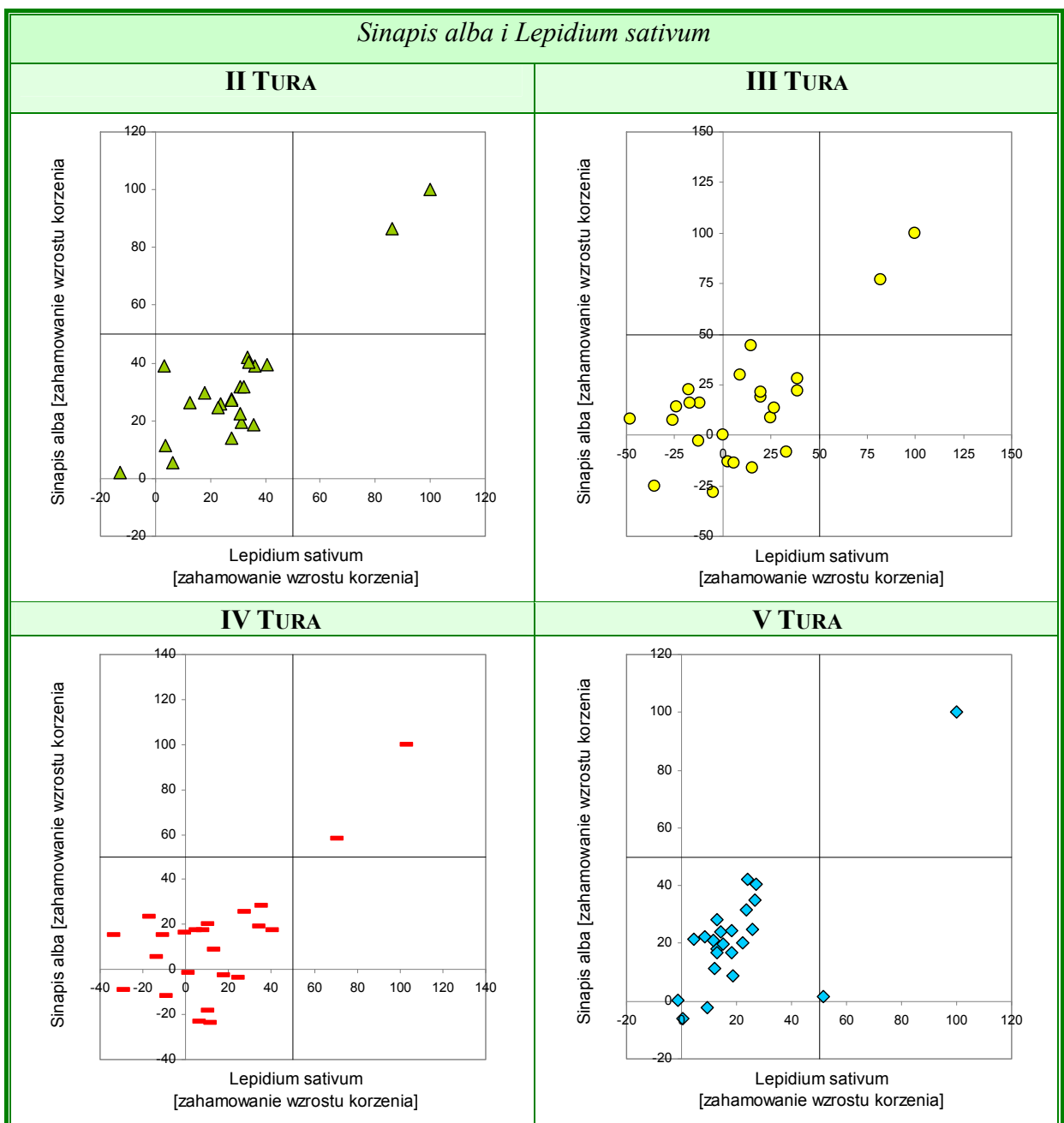
Na **Rysunku 38** przedstawiono odpowiednie zależności pomocne dla porównania wrażliwości skorupiaków *Daphnia magna* oraz *Thamnocephalus platyurus* na obecne w badanych próbkach ksenobiotyki.

Największy odsetek próbek charakteryzujących się wysoką toksycznością (śmiertelność organizmów wskaźnikowych przekraczająca 50%) występuje wśród próbek zebranych w trakcie III tury pomiarowej: 79% dla *Daphtoxkit FTM magna* i 83% dla *Thamnotoxkit FTM*. Obserwowane dla tych samych próbek różnice efektów toksycznych uzyskanych za pomocą tych dwóch mikrobiotestów, mogą świadczyć o różnicach we wrażliwości organizmów wskaźnikowych. Można przypuszczać, iż jeden z tych organizmów charakteryzuje się większą wrażliwością na określone zanieczyszczenia lub ich kombinację, która z kolei nie wywiera (lub wywiera w mniejszym stopniu) negatywny wpływ na czynności życiowe drugiego organizmu wskaźnikowego. Pomimo podobnego rozkładu procentowego udziału próbek charakteryzujących się wysoką toksycznością wobec skorupiaków *Daphnia magna* i *Thamnocephalus platyurus*, jako test o większej wrażliwości, należałoby traktować test *Thamnotoxkit FTM* (przemawiają za tym wyniki uzyskane w trakcie badań próbek zebranych w I, III oraz V turze pomiarowej).

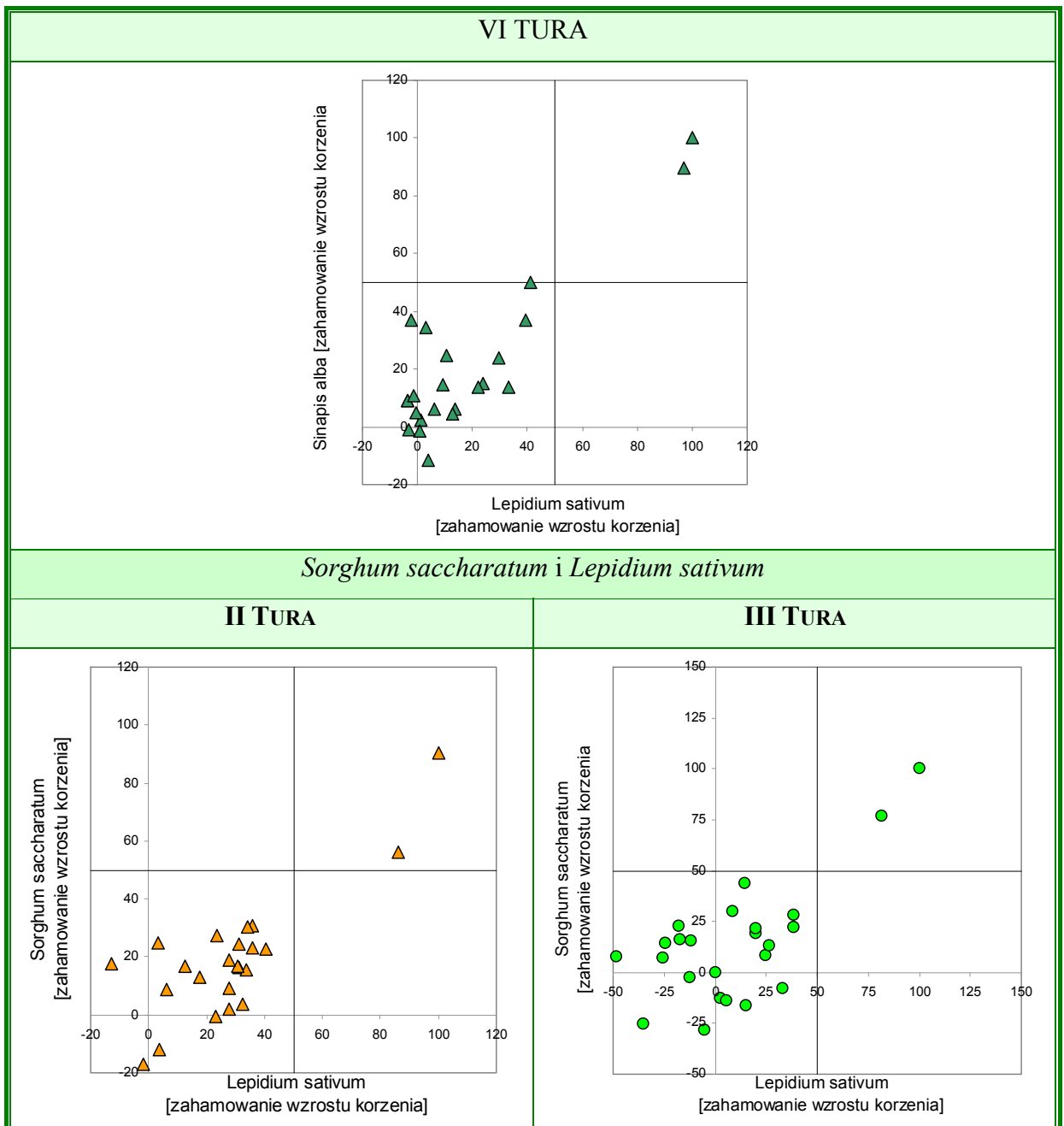


Rysunek 38. Porównanie wrażliwości skorupiaków z gatunku *Daphnia magna* i *Thamnocephalus platyurus* na chemiczny skład badanych próbek wody pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół terenu składowiska odpadów komunalnych.

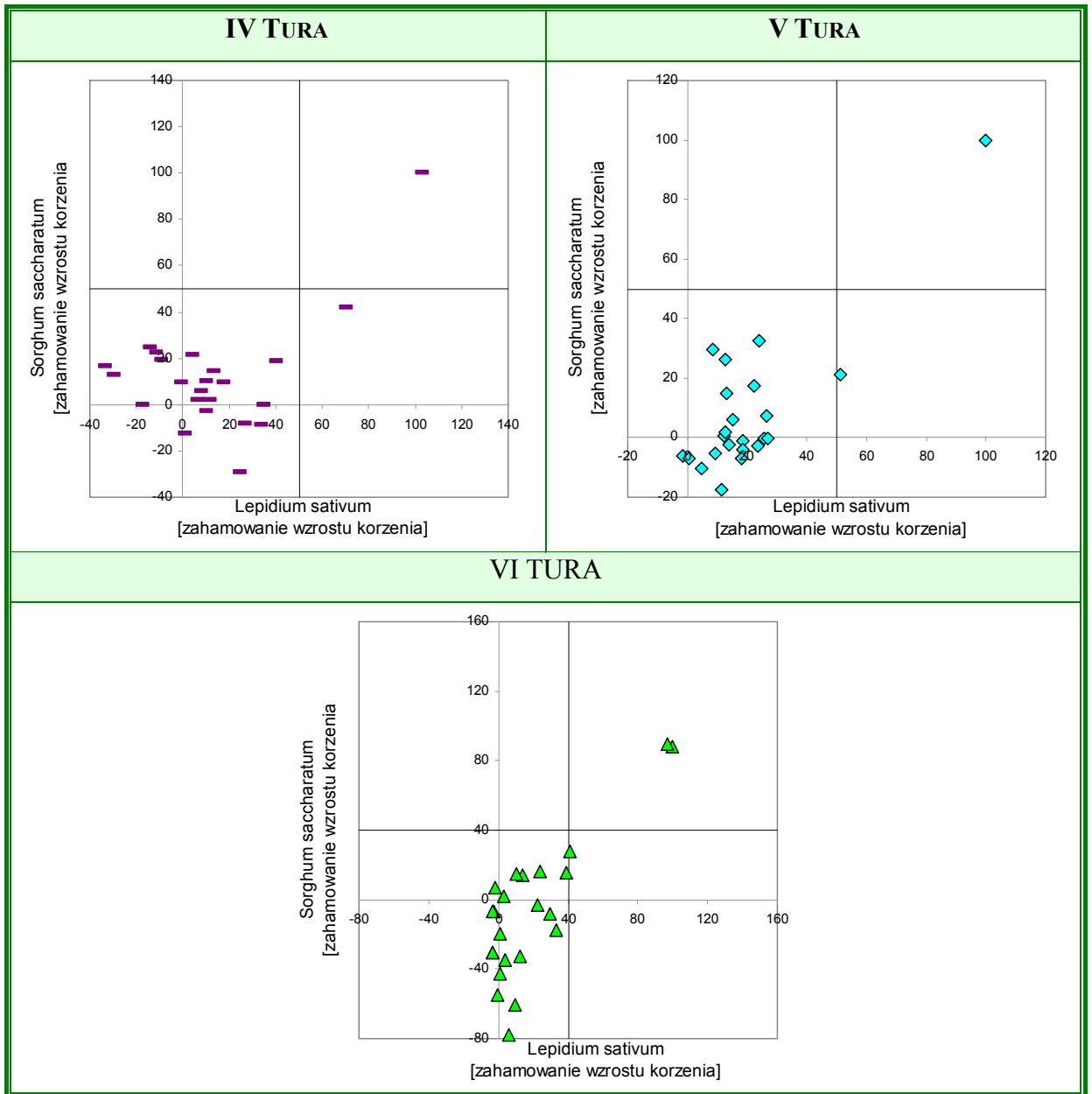
Z porównania wrażliwości organizmów roślinnych *Sinapis alba*, *Lepidium sativum* i *Sorghum saccharatum* (Rysunek 39) wynika, iż badane próbki wód podziemnych w większości przypadków nie wywoływały efektu toksycznego w przypadku roślinnych organizmów wskaźnikowych. Za wyjątek uznać można próbki zebrane w trakcie VI tury pomiarowej, kiedy dla pewnego odsetka próbek (rzędu 13%) odnotowano $\geq 50\%$ -owe zahamowanie wzrostu korzenia (w przypadku *Sinapis alba*). W przypadku pozostałych tur porównywalny efekt toksyczny stwierdzono w 7% badanych próbek. Porównanie wyników procentowego zahamowania wzrostu korzenia dla *Lepidium sativum*, *Sinapis alba* oraz *Sorghum saccharatum* pozwala stwierdzić, iż charakteryzują się one zbliżoną wrażliwością na obecne w próbkach zanieczyszczenia.



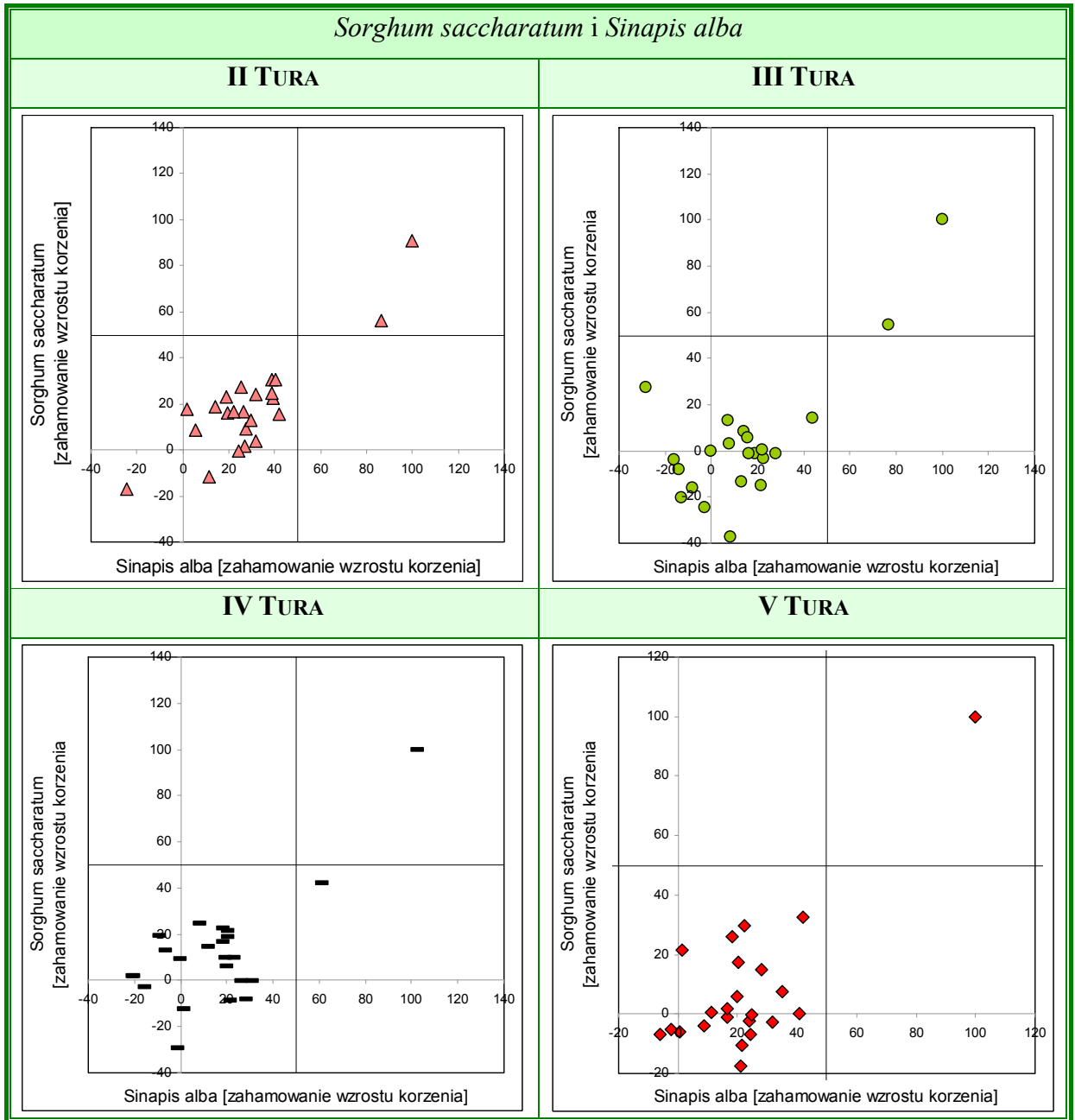
Rysunek 39. *ciąg dalszy*

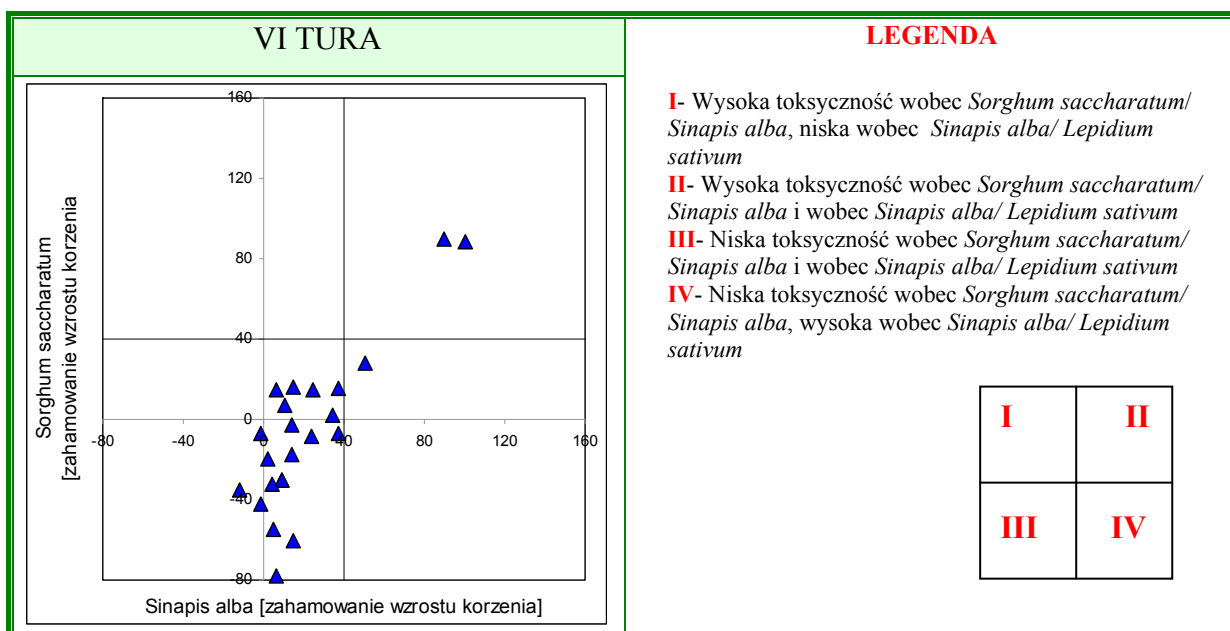


Rysunek 39. *ciąg dalszy*



Rysunek 39. ciąg dalszy



Rysunek 39. *ciąg dalszy*

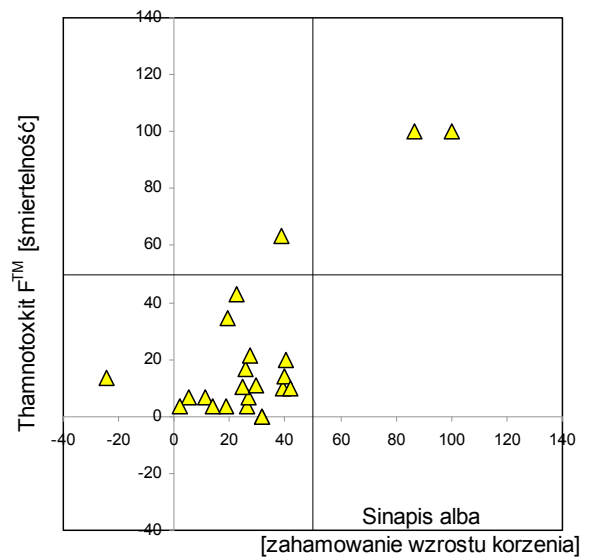
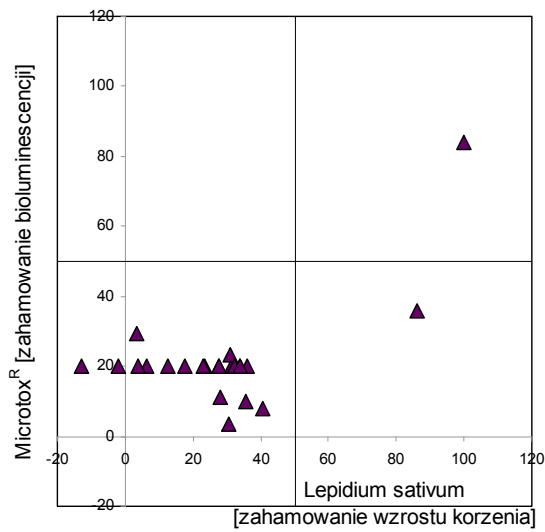
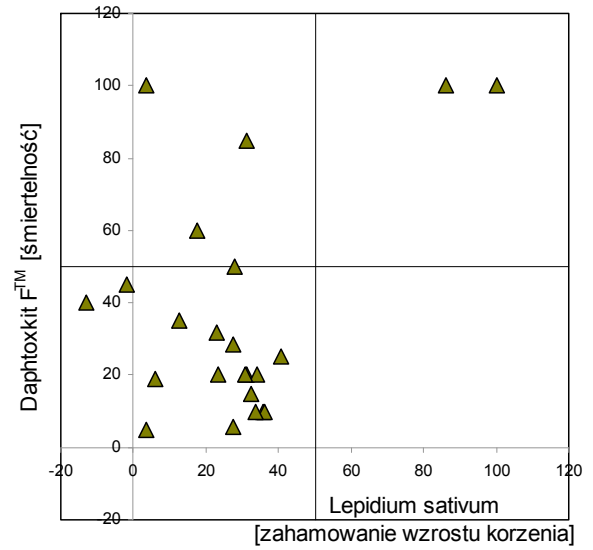
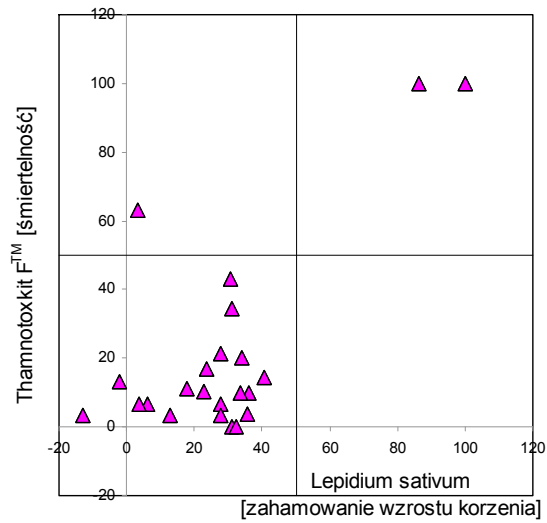
Rysunek 39. Porównanie wrażliwości organizmów użytych w teście *Phytotoxkit FTM* (*Sinapis alba*, *Lepidium sativum*, *Sorghum saccharatum*) na skład chemiczny badanych próbek wody pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół terenu składowiska odpadów komunalnych.

Wrażliwość organizmów roślinnych (*Sinapis alba*, *Lepidium sativum*, *Sorghum saccharatum*) porównano także z wrażliwością bakterii bioluminescencyjnych (*Vibrio fischeri*) i skorupiaków (*Thamnocephalus platyurus* oraz *Daphnia magna*). Na **Rysunku 40** przedstawiono uzyskane wyniki.

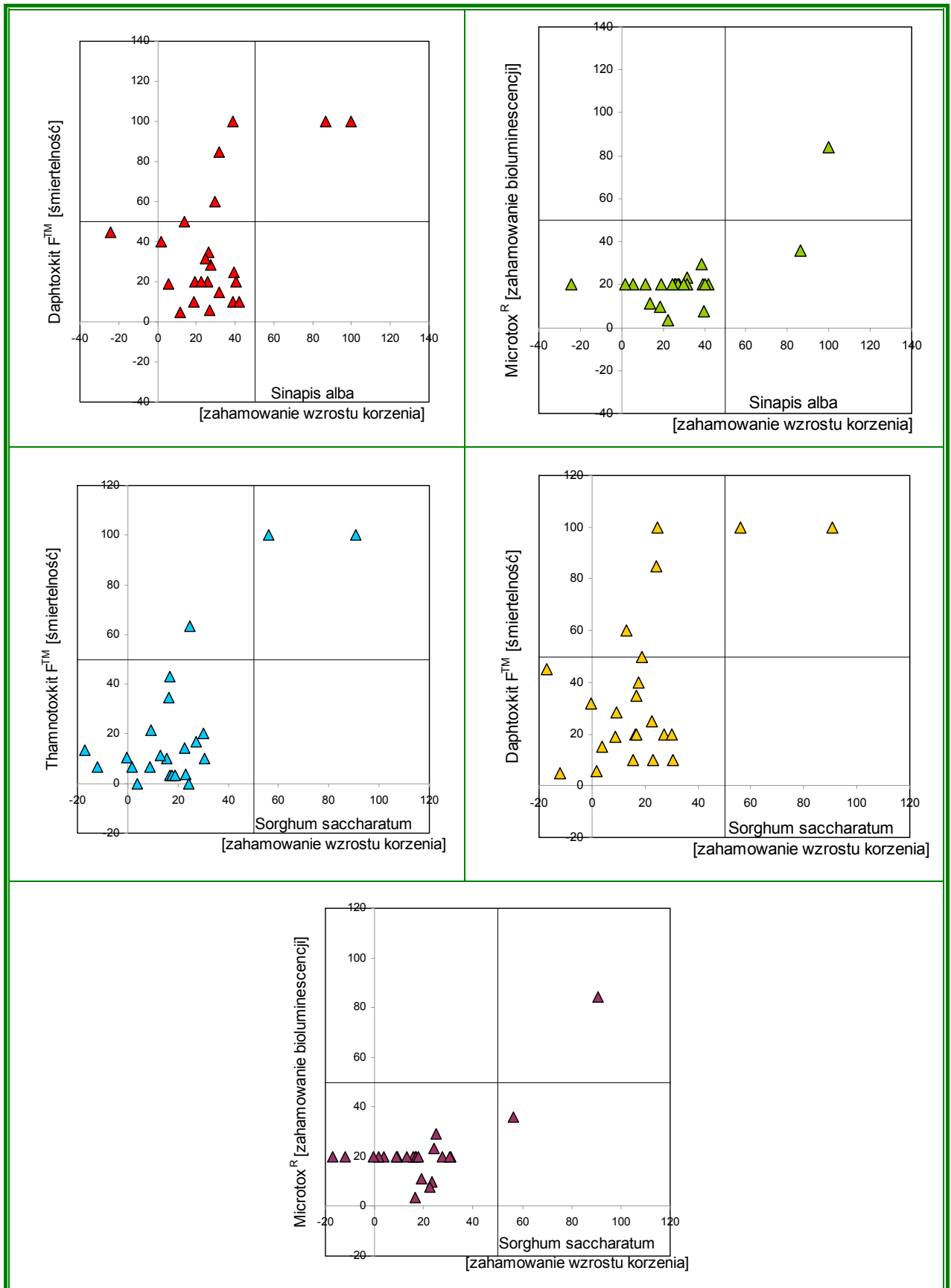
PORÓWNANIE WRAŻLIWOŚCI ORGANIZMÓW ROŚLINNYCH Z WRAŻLIWOŚCIĄ SKORUPIAKÓW

I BAKTERII

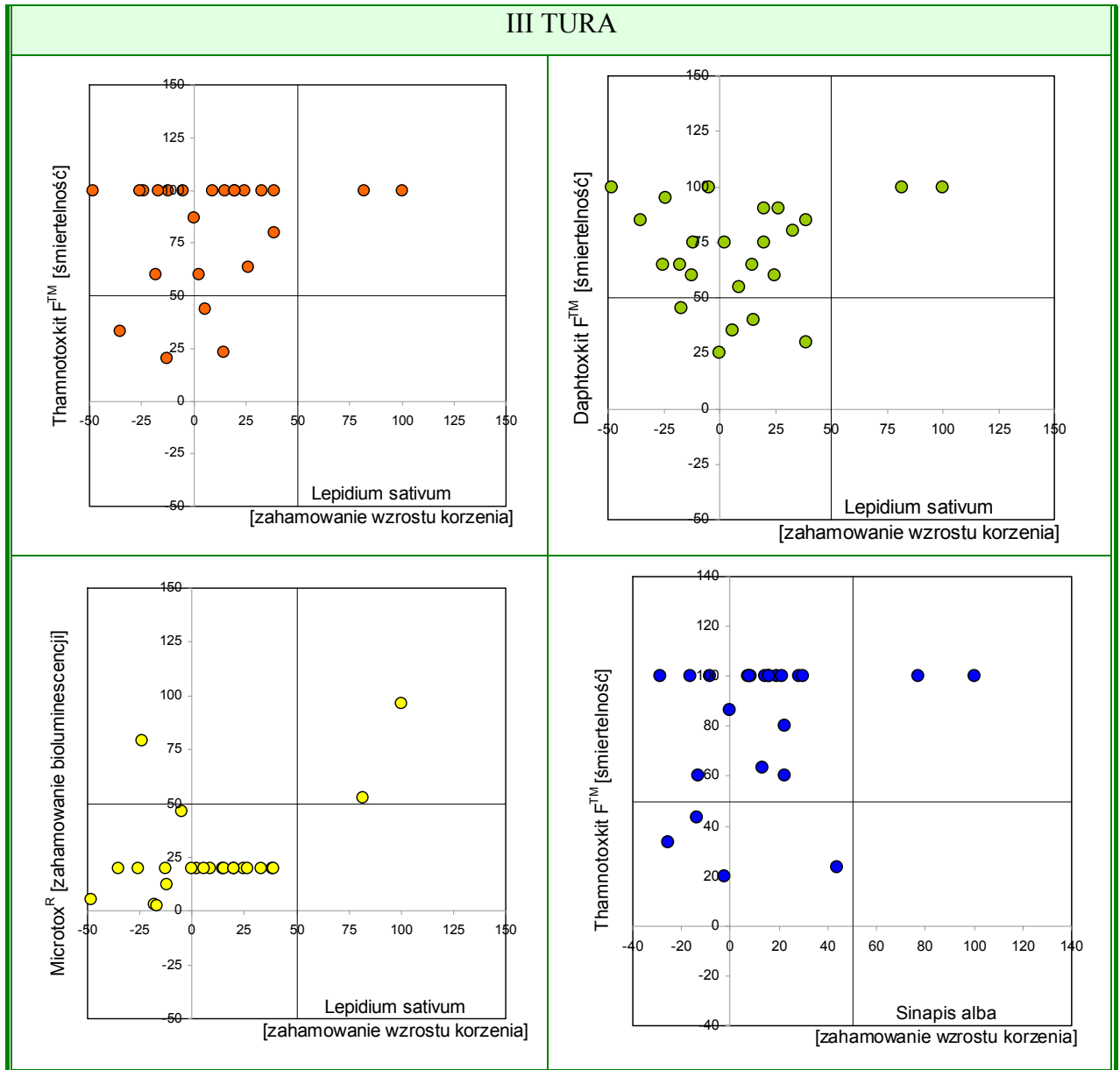
II TURA



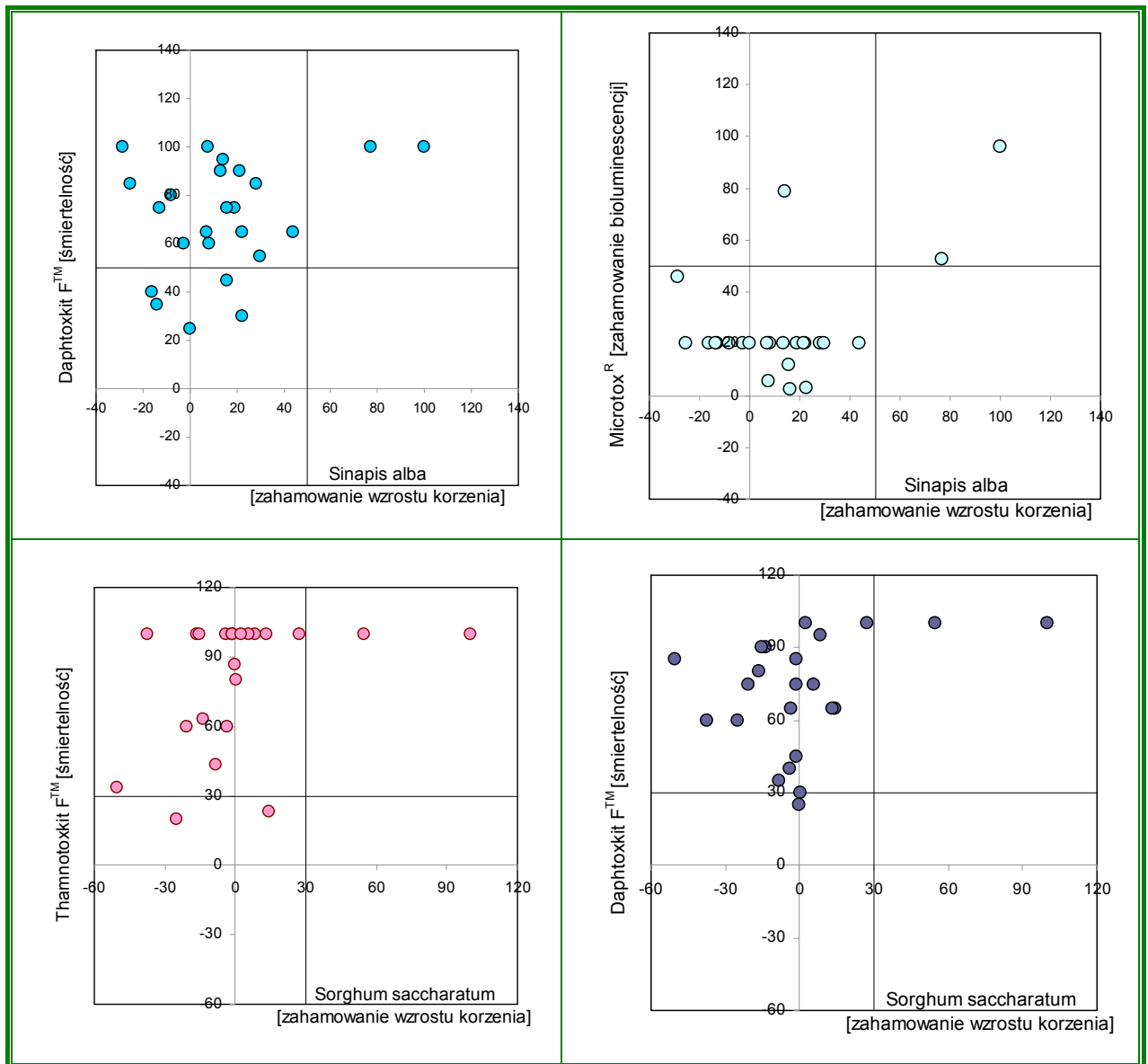
Rysunek 40. *ciąg dalszy*



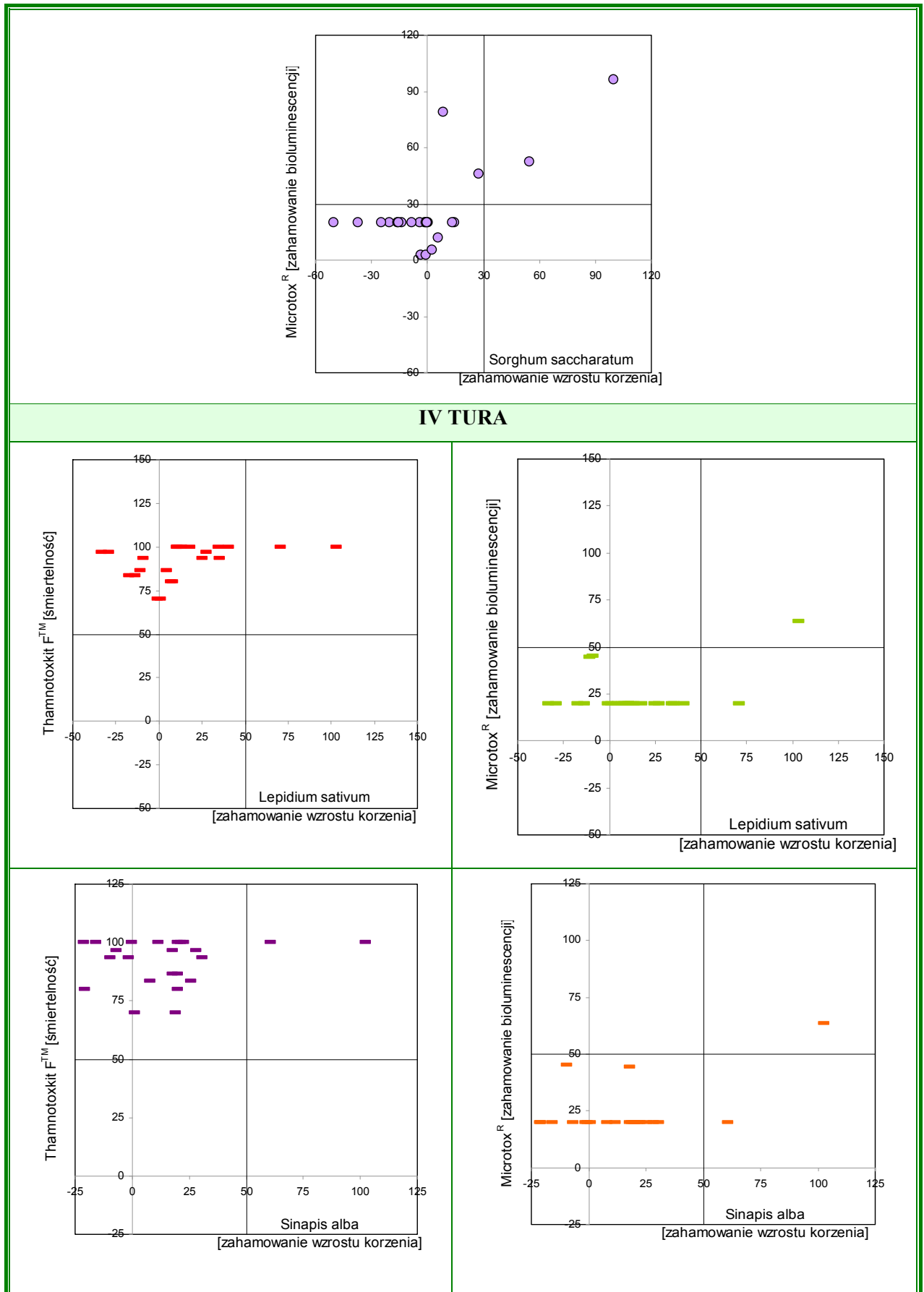
Rysunek 40. *ciąg dalszy*



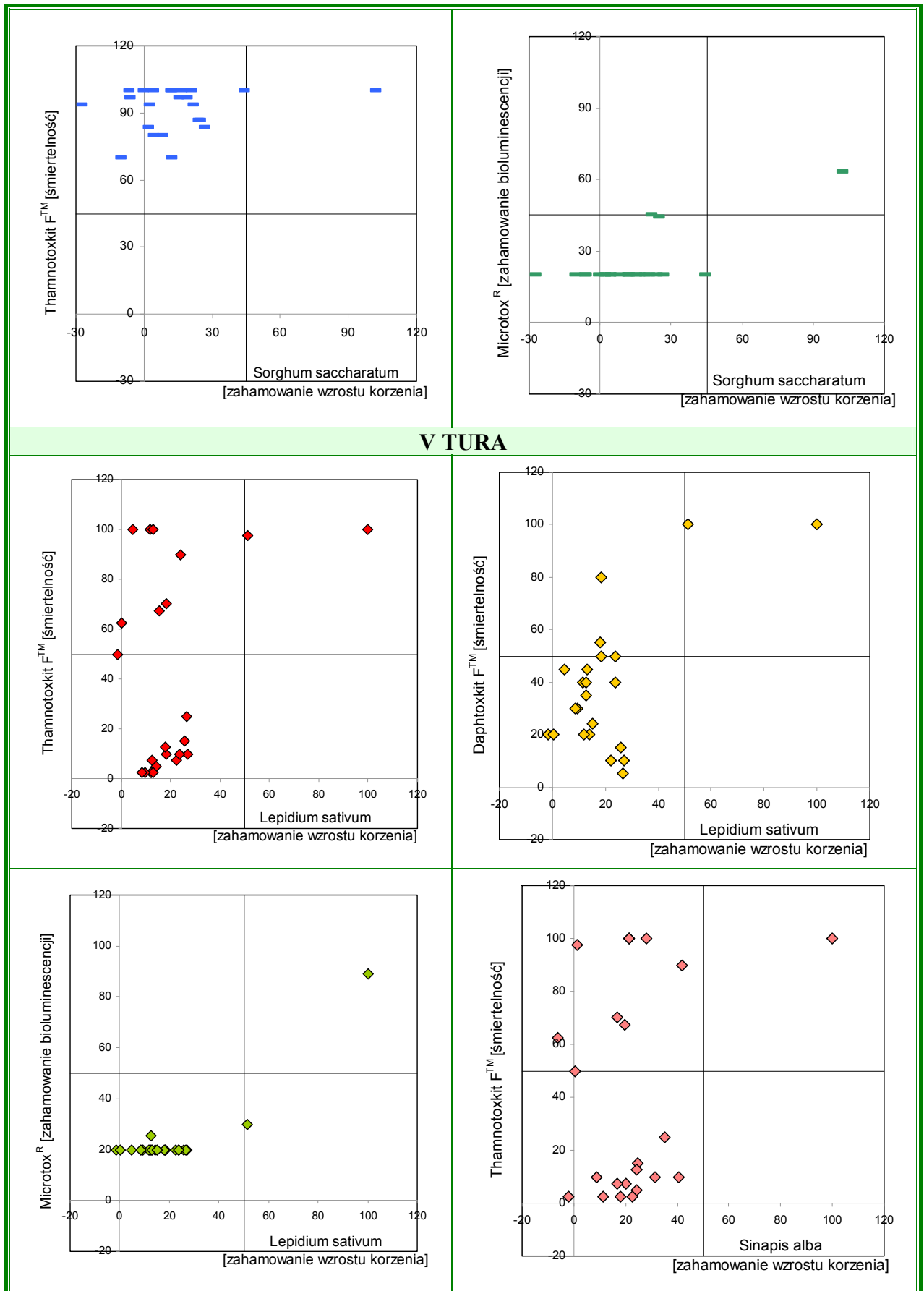
Rysunek 40. *ciąg dalszy*



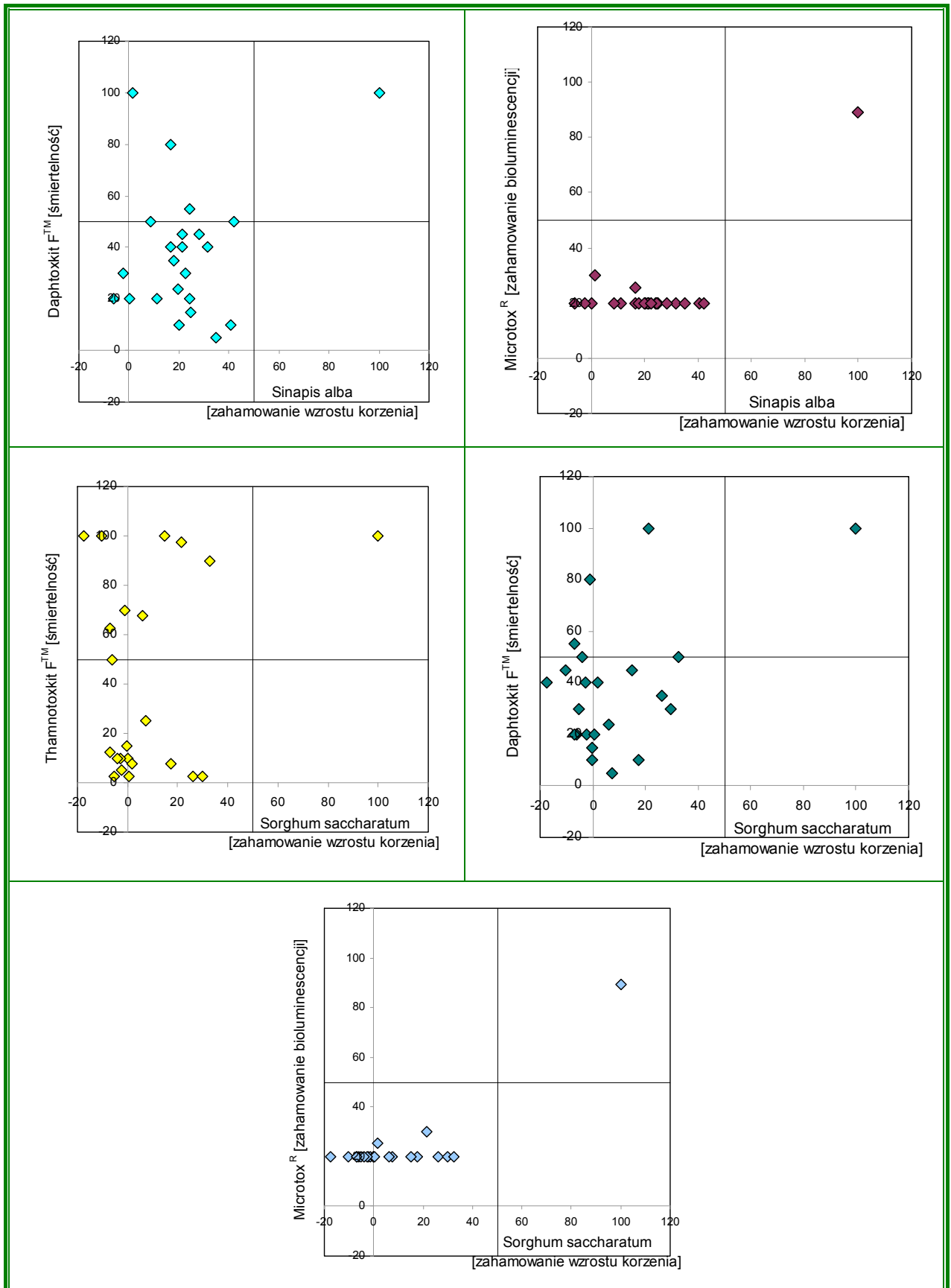
Rysunek 40. *ciąg dalszy*



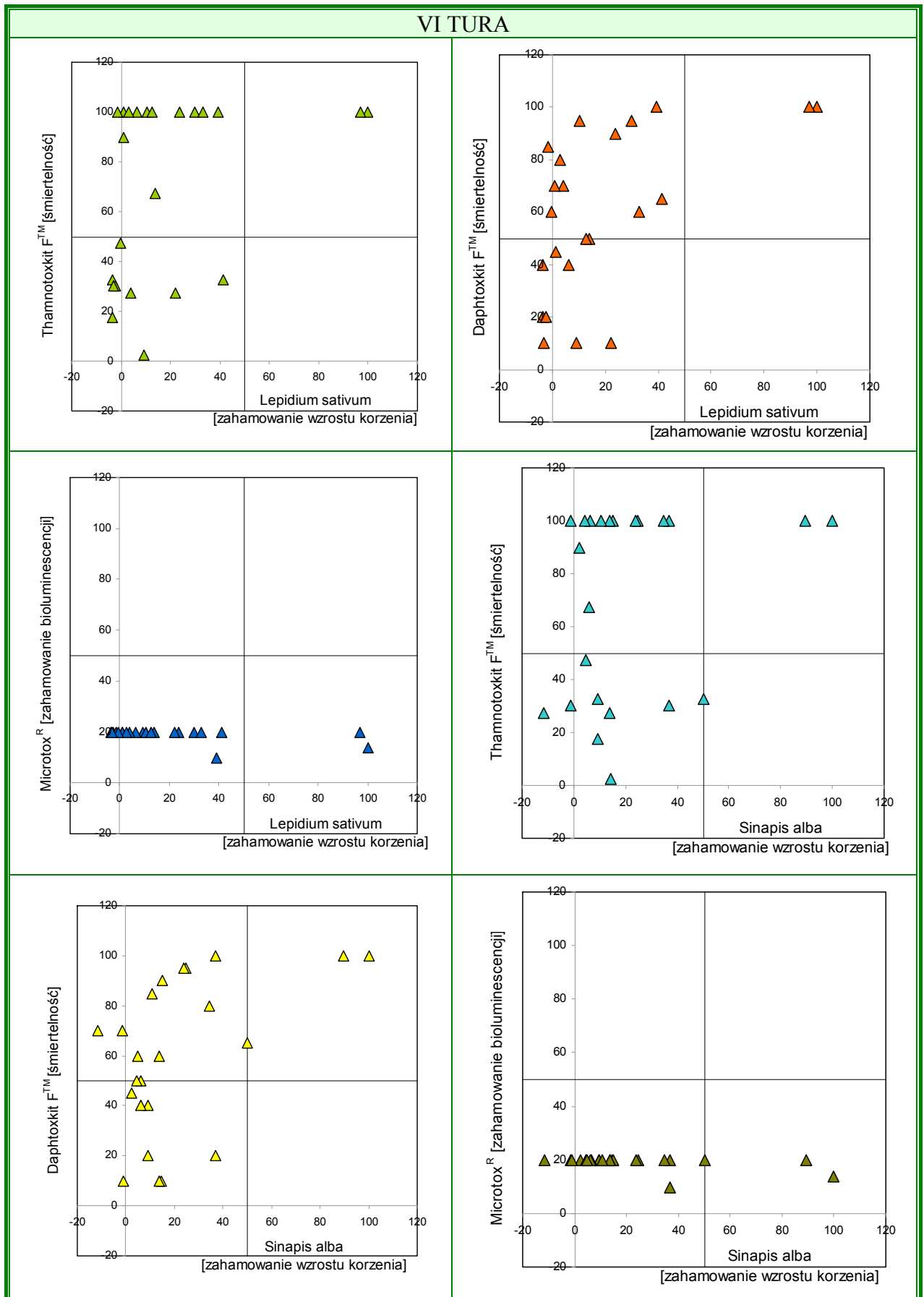
Rysunek 40. *ciąg dalszy*



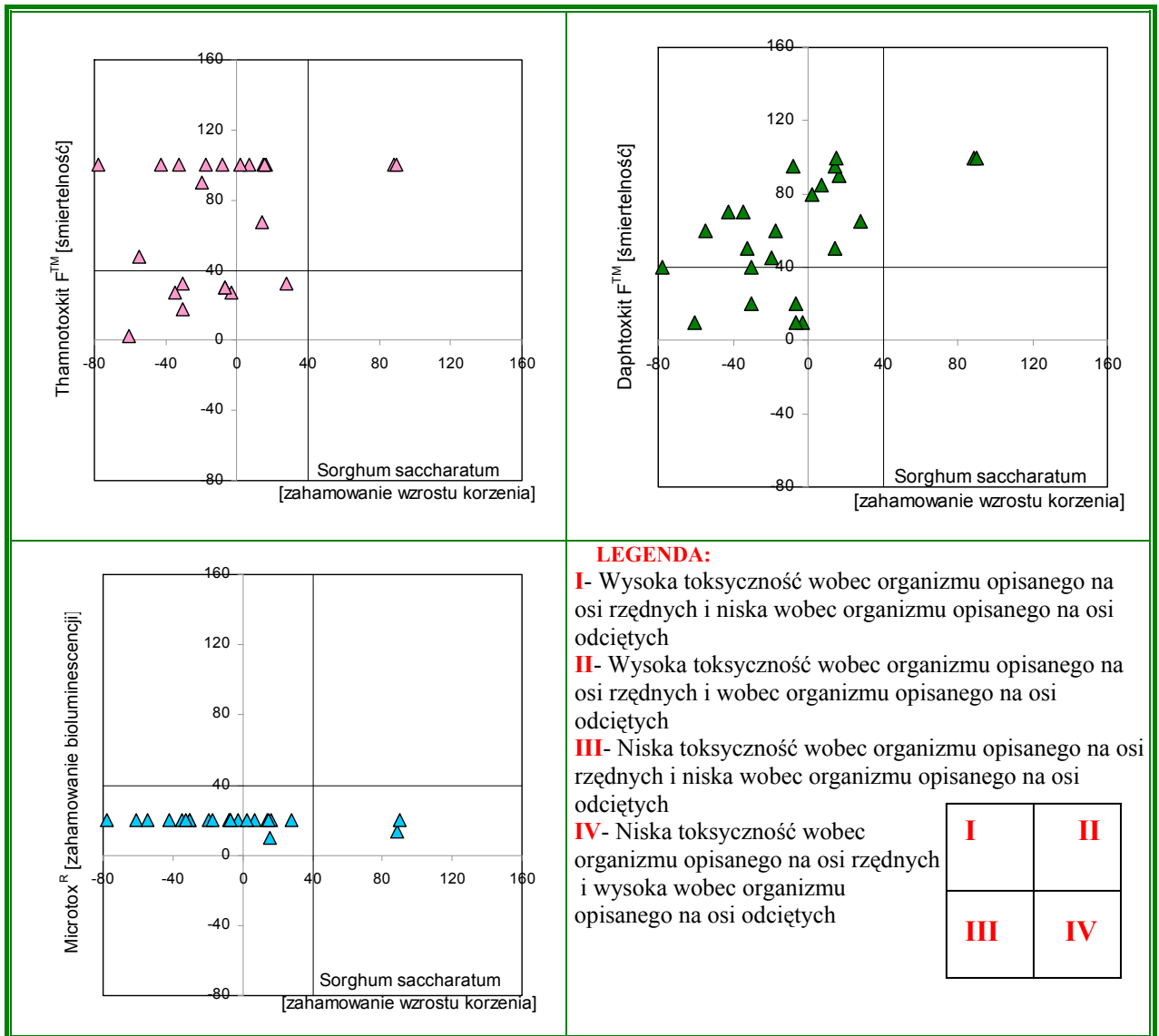
Rysunek 40. *ciąg dalszy*



Rysunek 40. *ciąg dalszy*



Rysunek 40. *ciąg dalszy*



Rysunek 40. Porównanie wrażliwości organizmów roślinnych (*Sinapis alba*, *Sorghum saccharatum*, *Lepidium sativum*) z wrażliwością bakterii bioluminescencyjnych (*Vibrio fischeri*) i skorupiaków (*Thamnocephalus platyurus*, *Daphnia magna*) na ksenobiotyki obecne w próbkach wody pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół terenu składowiska odpadów komunalnych.

Większość próbek pobranych w trakcie II tury nie wykazuje efektu toksycznego wobec organizmów wskaźnikowych. Najniższą wrażliwością na obecne w badanych próbkach wód zanieczyszczenia charakteryzują się bakterie bioluminescencyjne *Vibrio fischeri*. Wynikać to może z najkrótszego czasu kontaktu organizmów wskaźnikowych z badaną próbką- test z wykorzystaniem bakterii trwa bowiem zaledwie 30 min.

Najwyższą wrażliwością na zmiany składu chemicznego próbek odznaczają się natomiast skorupiaki *Thamnocephalus platyurus*.

Na podstawie wyników otrzymanych w trakcie badań próbek zebranych w III turze pomiarowej można stwierdzić, iż organizmy roślinne charakteryzują się, w porównaniu z pozostałymi organizmami wskaźnikowymi, stosunkowo niską wrażliwością.

Porównanie obserwowanych w przypadku organizmów roślinnych, bakterii oraz skorupiaków efektów toksycznych wywołanych obecnością w analizowanych próbkach różnorodnej mieszaniny zanieczyszczeń, pozwala na stwierdzenie, iż dopiero zastosowanie baterii mikrobiotestów daje pełen obraz możliwych oddziaływań mogących mieć szkodliwy wpływ na dany ekosystem. Informacja o potencjalnym negatywnym efekcie toksycznym wywoływanym u organizmów wskaźnikowych, uzyskana przy użyciu mikrobiotestów, pozwala na prognozowanie i zapobieganie nieodwracalnym zmianom zachodzącym w biocenozie i biotopie. Jest to praktycznie niewykonalne na podstawie wyników analiz fizykochemicznych, dlatego stosowanie narzędzi zintegrowanych w monitoringu środowiska jest tak niezwykle istotne.

Z porównania wrażliwości organizmów wskaźnikowych wywnioskowano, iż optymalnym uzupełnieniem monitoringu wpływu składowiska odpadów komunalnych w Gdańsku- Szadółkach na wody podziemne i powierzchniowe jest użycie trzech mikrobiotestów: *Thamnotoxkit FTM*, *Microtox[®]* oraz *Phytotoxkit FTM*. Ze względu na otrzymanie podobnej odpowiedzi każdego z wykorzystanych w badaniach gatunków roślin, zastosowanie *Sorghum saccharatum* uznano za wystarczające. Decydującym czynnikiem przemawiającym za wyborem tej właśnie rośliny był rozmiar jej nasion, który znacznie ułatwia przeprowadzenie testu. Skorupiaki *Thamnocephalus platyurus* wskazano jako najbardziej wrażliwe organizmy testowe spośród wszystkich użytych w badaniach ekotoksykologicznych- mogą być traktowane jako najwłaściwsze narzędzie do uzyskiwania informacji o potencjalnym wpływie toksycznym na organizmy żywe. Należy stwierdzić, że również stosowanie testu *Microtox[®]* ma szereg zalet, takich jak:

- stosunkowo niski koszt wykonania badań;
- możliwość uzyskania szybkiej odpowiedzi na temat toksyczności badanej próbki (już po 30 minutach);
- elastyczny dobór czasu inkubacji organizmów (5-30 min).

Powyższe argumenty uznano za wystarczające w doborze optymalnego składu baterii mikrobiotestów. Jednak, w zależności od tego, jaką informację o stanie środowiska chcemy uzyskać, istnieje możliwość wyboru jednego lub dwóch z wyszczególnionych

organizmów. Podstawowym uzupełnieniem wyników uzyskanych dzięki zastosowaniu klasycznych badań monitoringowych, ze względu na przystępność i prostotę wykonania oraz, równie istotną, cenę mikrobiotestu, mógłby być *Microtox*®.

4.6.2. Wyniki badań ekotoksyczności próbek środowiskowych pobranych w ramach projektu badawczego Zalewu Szczecińskiego

4.6.2.1. OCENA JAKOŚCI EKOTOKSYKOLOGICZNEJ PRÓBEK OSADÓW DENNYCH POBRANYCH Z ODWIERTÓW WYKONANYCH W CZASZY ZALEWU SZCZECIŃSKIEGO

Przystępując do realizacji projektu badawczego Zalewu Szczecińskiego wykorzystano wiedzę zdobytą już we wcześniejszych projektach, a także realizowanym równocześnie projekcie: „Ocena wpływu składowiska odpadów komunalnych na jakość wód podziemnych”. Do oceny jakości ekotoksykologicznej próbek ekstraktów wodnych z osadów dennych pobranych z odwiertów wykonanych w czaszy Zalewu Szczecińskiego wykorzystano baterię biotestów analogiczną jak w przypadku próbek wód podziemnych pobranych z piezometów zlokalizowanych wokół składowiska odpadów komunalnych. Bateria biotestów obejmowała więc: bioluminescencyjne bakterie *Vibrio fischeri*, skorupiaki *Daphnia magna* oraz *Thamnocephalus platyurus*, test roślinny ograniczony do rośliny dwuliściennej *Lepidium sativum*.

Wykorzystując wyniki badań dokonano w oparciu o system klasyfikacji opracowany w ramach projektu *ARGE–Elbe* oceny jakości ekotoksykologicznej badanych próbek osadów (**Tabela 26**). Klasyfikacji dokonano zgodnie z określonymi kryteriami, zaznaczając numer próbki odpowiednim kolorem: klasa 1, klasa 2, klasa 3, klasa 4, klasa 5. Należałoby wspomnieć, iż o zaliczeniu próbki osadu do określonej klasy toksyczności decydował test, wykazujący najwyższy efekt toksyczny.

Tabela 26. Klasyfikacja próbek osadów dennych pobranych z odwiertów badawczych wykonanych w czaszy Zalewu Szczecińskiego (w oparciu o system klasyfikacji opracowany w ramach projektu *ARGE-Elbe*).

NUMER PRÓBK	<i>VIBRIO FISCHERI</i>	<i>THAMNOCEPHALUS PLATYURUS</i>	<i>LEPIDIUM SATIVUM</i>	
	zahamowanie bioluminescencji	śmiertelność [%]	zahamowanie [%]	
	[%]	24 h	kiełkowania nasion	wzrostu korzenia
ZPD 002				
ZPD 007				
ZPD 012				
ZPD 013				
ZPD 022				
ZPD 025				
ZPD 027				
ZPD 030				
ZPD 036				
ZPD 46				
ZPD 46 fr. róż.-bez.				
ZPD 050				
ZPD 051				
ZPD 052				
ZPD 056				
ZPD 057				
ZPD 058				
ZPD 059				
ZPD 061				
ZPD 065				
ZPD 066				
ZPD 068				
ZPD 069				
ZPD 070				
ZPD 071				
ZPD 072				
ZPD 073				
ZPD 074				
ZPD 075				
ZPD 077				
ZPD 081				
ZPD 083				
ZPD 084				
ZPD 085				
ZPD 086				
ZPD 087				
ZPD 088				
ZPD 089				
ZPD 090				
ZPD 091				
ZPD 095				
ZPD 096				
ZPD 097				
ZPD 098				
ZPD 099				
ZPD 101				
ZPD 103				
ZPD 106				
ZPD 107				
ZPD 110				
ZPD 111				
ZPD 112				
ZPD 113				
ZPD 114				
ZPD 115				
ZPD 116				
ZPD 117				
ZPD 119				
ZPD 121				
ZPD 123				
ZPD 124				
ZPD 125				
ZPD 126				
ZPD 127				
ZPD 128				

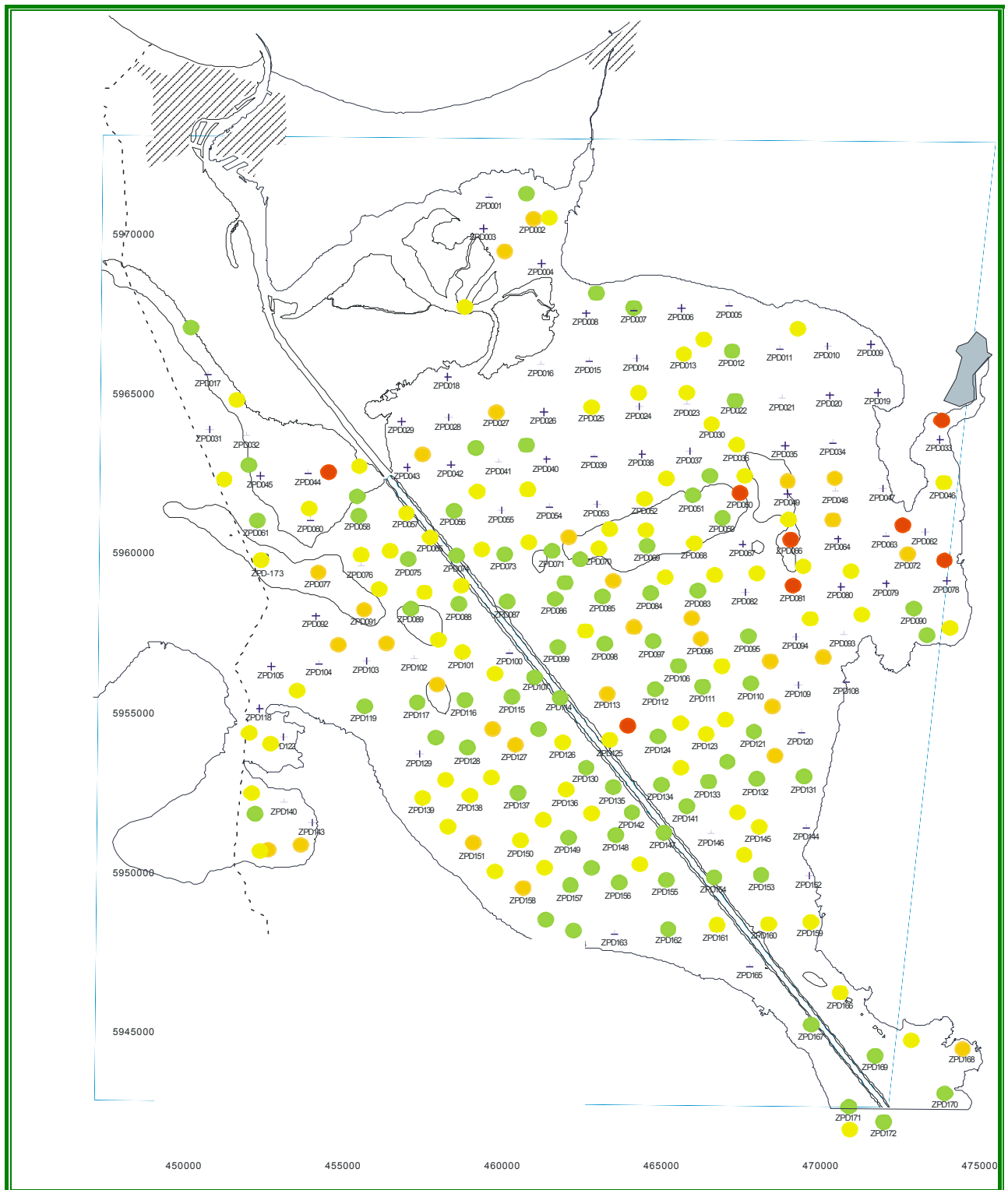
Tabela 26. *ciąg dalszy*

ZPD 130				
ZPD 131				
ZPD 132				
ZPD 133				
ZPD 134				
ZPD 135				
ZPD 136				
ZPD 137				
ZPD 138				
ZPD 139				
ZPD 141				
ZPD 142				
ZPD 145				
ZPD 147				
ZPD 148				
ZPD 149				
ZPD 150				
ZPD 151				
ZPD 153				
ZPD 154				
ZPD 155				
ZPD 156				
ZPD 157				
ZPD 158				
ZPD 159				
ZPD 160				
ZPD 161				
ZPD 162				
ZPD 164				
ZPD 166-1				
ZPD 167				
ZPD 168				
ZPD 169				
ZPD 170				
ZPD 171				
ZPD 172				
ZPD 173				
ZPD 174				
ZPD 175				
ZPD 176				
ZPD 177				
ZPD 178				
ZSWP 001				
ZSWP 002				
ZSWP 003				
ZSWP 07				
ZSWP 011				
ZSWP 017				
ZSWP 019				
ZSWP 025				
ZSWP 026				
ZSWP 031				
ZSWP 032				
ZSWP 033				
ZSWP 034				
ZSWP 035				
ZSWP 038				
ZSWP 039				
ZSWP 040				
ZSWP 041				
ZSWP 042				
ZSWP 043				
ZSWP 045				
ZSWP 046				
ZSWP 047				
ZSWP 048				
ZSWP 051				
ZSWP 052				
ZSWP 053				
ZSWP 054				
ZSWP 055				
ZSWP 056				
ZSWP 057				
ZSWP 058				
ZSWP 059				
ZSWP 060				
ZSWP 061				
ZSWP 062				
ZSWP 064				
ZSWP 065				

Tabela 26. *ciąg dalszy*

ZSWP 066				
ZSWP 067				
ZSWP 068				
ZSWP 069				
ZSWP 070				
ZSWP 071				
ZSWP 072				
ZSWP 073				
ZSWP 074				
ZSWP 075				
ZSWP 076				
ZSWP 077				
ZSWP 078				
ZSWP 079				
ZSWP 080				
ZSWP 083				
ZSWP 084				
ZSWP 085				
ZSWP 087				
ZSWP 088				
ZSWP 091				
ZSWP 093				
ZSWP 094				
ZSWP 095				
ZSWP 096				
ZSWP 097				
ZSWP 098				
ZSWP 099				
ZSWP 100				
ZSWP 101				
ZSWP 103				
ZSWP 104				
ZSWP 105				
ZSWP 107				
ZSWP 108				
ZSWP 110				
ZSWP 113				
ZSWP 114				
ZSWP 115				
ZSWP 116				
ZSWP 117				
ZSWP 119				
ZSWP 120				
ZSWP 121				
ZSWP 122				
ZSWP 123				
ZSWP 127				
ZSWP 131				
ZSWP 134 0,60-1,00				
ZSWP 135				
ZSWP 136				
ZSWP 137				
ZSWP 138				
ZSWP 138/1				
ZSW 09 0,50-0,75				

Ocenę ekotoksyczności ostrej ekstraktów wodnych w stosunku do bakterii bioluminescencyjnych *Vibrio fischeri* przedstawiono w formie graficznej na **Rysunku 41**. Najwyższą toksyczność ostrą wobec tych organizmów wskaźnikowych obserwowano podczas badań próbek: ZPD 050, ZPD 066, ZPD 070, ZPD 081, ZSWP 026, ZSWP 035, ZSWP 053, ZSWP 061, ZSWP 096. Próbki te pobrano z miejsc zlokalizowanych na przedpolu ujścia rzeki Dziwny i w dwóch miejscach wzdłuż toru wodnego.



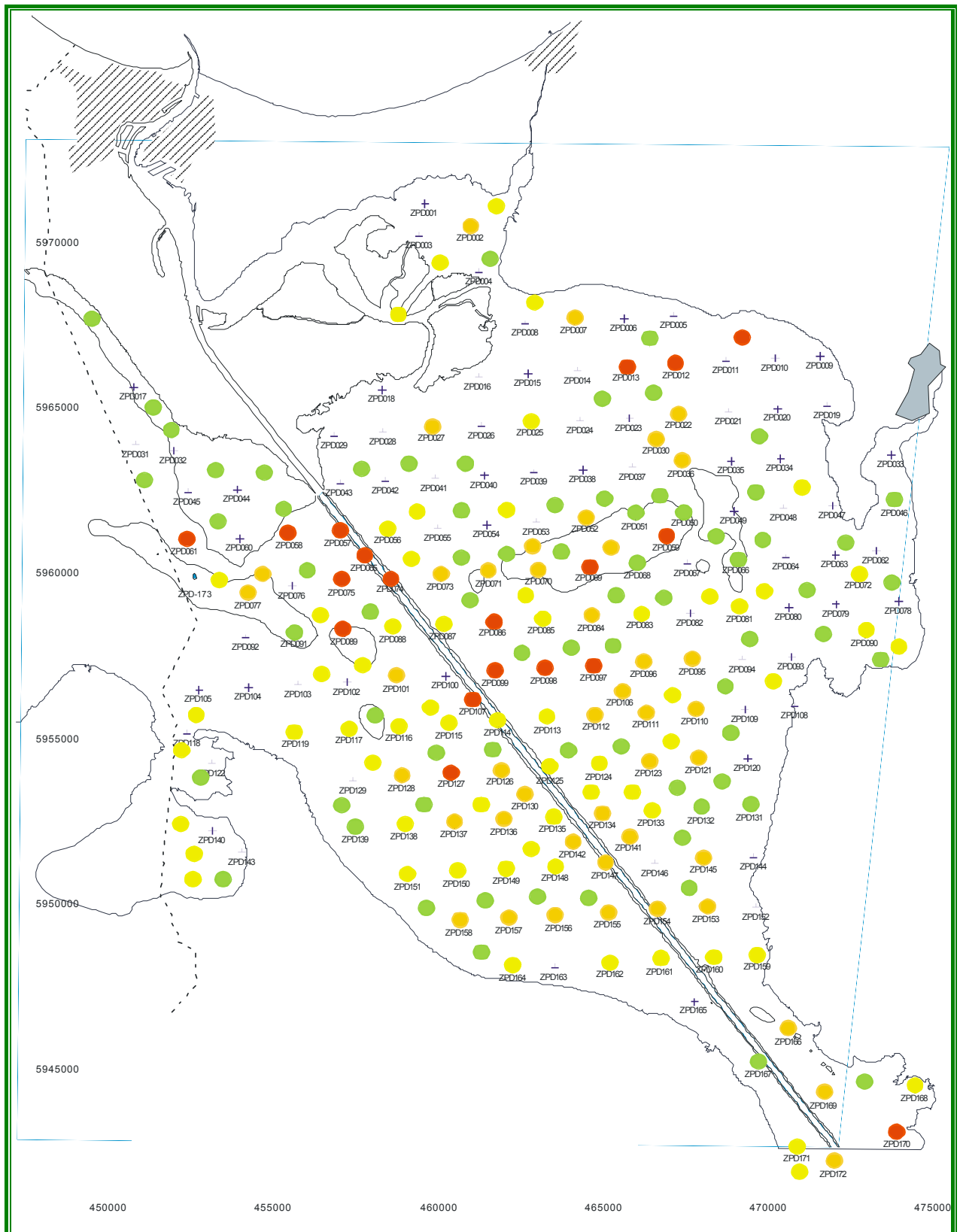
Rysunek 41. Toksyczność ekstraktów wodnych z próbek osadów pobranych z Zalewu Szczecińskiego wobec bakterii *Vibrio fischeri*.

Najwyższy efekt toksyczny w stosunku do skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* wykazały próbki: ZPD 013, ZPD 46, ZPD 056, ZPD 059, ZPD 072, ZPD 074, ZPD 084, ZPD 086, ZPD 090, ZPD 091, ZPD 095, ZPD 096, ZPD 097, ZPD 098, ZPD 099,

ZPD 107, ZPD 110, ZPD 113, ZPD 115, ZPD 125, ZPD 135, ZPD 138, ZPD 145, ZPD 147, ZPD 158, ZPD 166-1, ZPD 171, ZPD 172, ZPD 175, ZPD 176, ZSWP 011, ZSWP 019, ZSWP 026, ZSWP 038, ZSWP 039, ZSWP 048, ZSWP 053, ZSWP 055, ZSWP 056, ZSWP 061, ZSWP 074, ZSWP 084, ZSWP 087, ZSWP 091, ZSWP 093, ZSWP 095, ZSWP 096, ZSWP 097, ZSWP 099, ZSWP 100, ZSWP 101, ZSWP 104, ZSWP 105, ZSWP 108, ZSWP 113, ZSWP 116, ZSWP 119, ZSWP 120, ZSWP 122, ZSWP 123, ZSWP 127 i ZSWP 138/1. Próbki te pobrano z miejsc zlokalizowanych w środkowej części zalewu oraz wzdłuż toru wodnego.

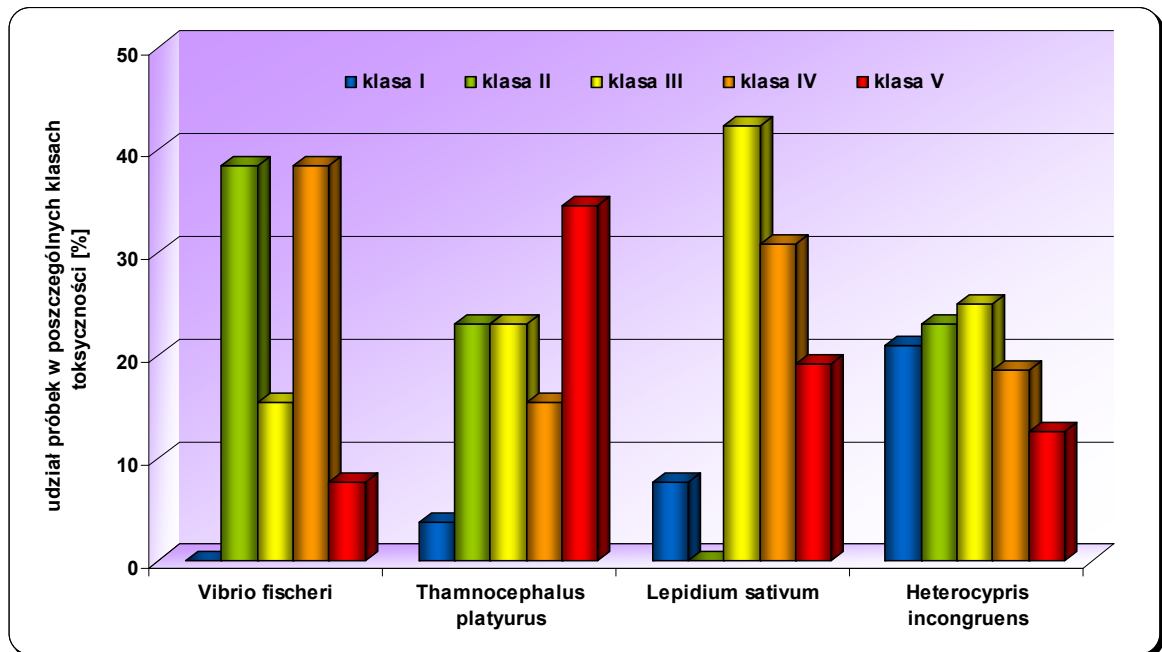
Najsilniejsze zahamowanie wzrostu korzenia dwuliściennej rośliny *Lepidium sativum* obserwowano w przypadku próbek osadów: ZPD 036, ZPD 070, ZPD 072, ZPD 083, ZPD 085, ZPD 088, ZPD 091, ZPD 097, ZPD 099, ZPD 101, ZPD 103, ZPD 106, ZPD 110, ZPD 112, ZPD 115, ZPD 121, ZPD 135, ZPD 138, ZPD 145, ZPD 173, ZPD 175, ZSWP 002, ZSWP 019, ZSWP 026, ZSWP 033, ZSWP 034, ZSWP 038, ZSWP 039, ZSWP 046, ZSWP 053, ZSWP 057, ZSWP 059, ZSWP 061, ZSWP 065, ZSWP 069, ZSWP 073, ZSWP 080, ZSWP 083, ZSWP 088, ZSWP 093, ZSWP 100, ZSWP 103, ZSWP 105, ZSWP 107, ZSWP 116, ZSWP 117, ZSWP 122, ZSWP 127, ZSWP 138 i ZSWP 138/1. Próbki te pochodziły z odwiertów badawczych zlokalizowanych w środkowej części zalewu.

W ramach badań uzupełniających w laboratorium Katedry Chemii Analitycznej Politechniki Gdańskiej przeprowadzono dodatkowo test „bezpośredniego kontaktu z badaną próbką”. W tym celu wykorzystano test *Ostracodtoxkit FTM chronic*, który w roli organizmów wskaźnikowych wykorzystuje skorupiaki *Heterocypris incongruens*. Wyniki oznaczania toksyczności osadów wobec tych organizmów przedstawiono na **Rysunku 42**. Generalnie, najwyższą toksyczność wobec małżoraczka wykazywały próbki pobrane wzdłuż toru wodnego oraz w północno-wschodniej części zalewu.



Rysunek 42. Toksyczność próbek osadów pobranych z Zalewu Szczecińskiego wobec skorupiaka *Heterocypris incongruens*.

W przypadku niemal wszystkich próbek osadów dennych pobranych z odwiertów badawczych wykonanych w czasie Zalewu Szczecińskiego zaobserwowano efekt toksyczności ostrej wobec badanych organizmów wskaźnikowych. Odsetek badanych próbek zaliczonych do odpowiedniej klasy toksyczności przedstawiono na **Rysunku 43**.

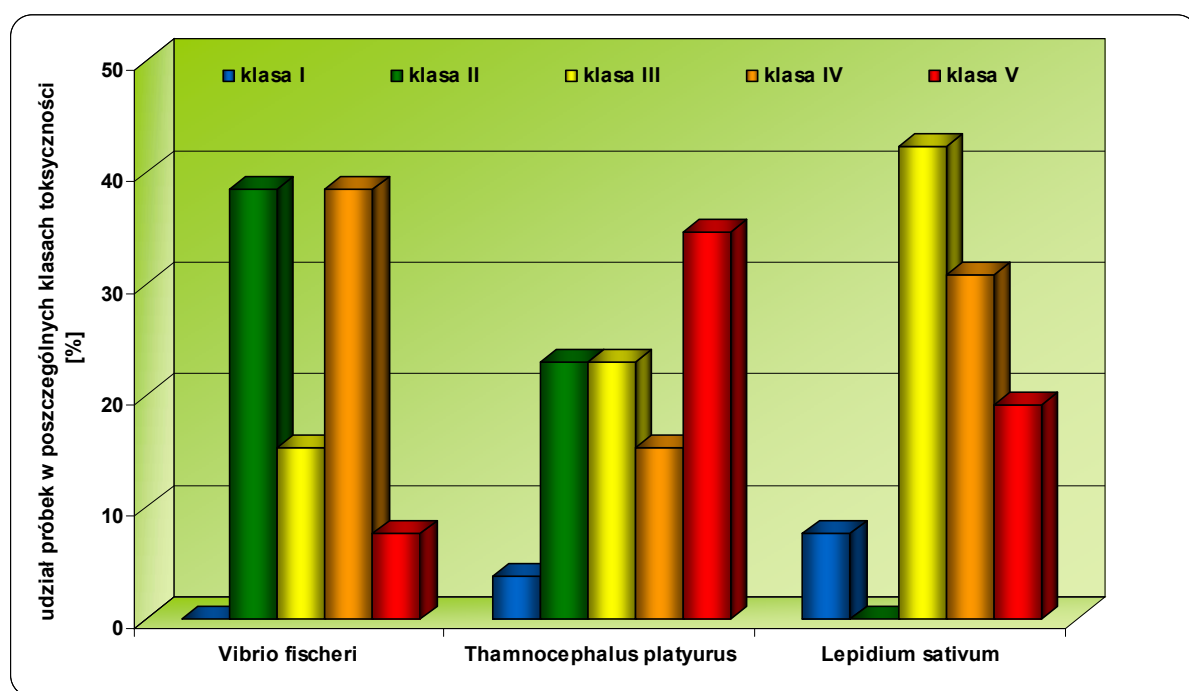


Rysunek 43. Odsetek badanych próbek osadów dennych pobranych z Zalewu Szczecińskiego zaliczonych do odpowiedniej klasy toksyczności.

Okazuje się, iż próbki ekstraktów wodnych z osadów nie wykazują lub wykazują niski efekt toksyczny w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri* oraz wobec skorupiaka *Thamnocephalus platyurus*. W teście bezpośredniego kontaktu znaczny odsetek badanych próbek osadów (64%) wywołuje wysoki efekt toksyczny wobec *Lepidium sativum* oraz wobec małżoraczka *Heterocypris incongruens* (31%). Należy pamiętać, iż toksyczność ekstraktów wodnych z próbek osadów dennych mierzona wobec bakterii *Vibrio fischeri* oraz skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* odpowiada toksyczności tych substancji, które są łatwo wymywane do fazy wodnej (substancje mobilne). Dla niektórych organizmów, jak w przypadku małżoraczka *Heterocypris incongruens*, który żeruje bezpośrednio w osadzie oraz rośliny *Lepidium sativum* dostępne mogą być również formy ksenobiotyków nierozpuszczone w wodzie, występujące w formie zasorbowanej w osadzie. Obserwowane w trakcie przeprowadzonych badań, znaczne zahamowanie wzrostu *Lepidium sativum* (w porównaniu z próbką kontrolną) może częściowo wynikać z nieznacznego zasolenia wód Zalewu Szczecińskiego (0,5-2,0‰) oraz ubóstwa osadów

dennych w związki niezbędne do prawidłowego wzrostu roślin (m.in. związki azotu, fosforu, potasu).

System klasyfikacji opracowany w ramach projektu *ARGE-Elbe* został wykorzystany również do oceny jakości ekotoksykologicznej 26 próbek osadów dennych pobranych z odwiertów badawczych wykonanych w czaszy Jezior: Jamno oraz Dąbie. Na **Rysunku 44** przedstawiono procentowy udział próbek o określonej toksyczności wobec bakterii *Vibrio fischeri*, skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* oraz rośliny *Lepidium sativum*.



Rysunek 44. Procentowy udział próbek zaliczonych do odpowiedniej klasy toksyczności na podstawie pomiarów z wykorzystaniem odpowiednich organizmów wskaźnikowych (testy toksyczności) w stosunku do wszystkich przebadanych próbek pobranych z czaszy Jezior: Dąbie oraz Jamno.

Duża część badanych ekstraktów wodnych z próbek osadów (54%) nie wykazuje toksyczności lub też charakteryzuje się niską toksycznością w stosunku do bakterii, nieco mniejszy odsetek (50%) nie wykazuje toksyczności (lub wykazuje niski efekt toksyczny) wobec skorupiaka *Thamnocephalus platyurus*. Natomiast, w przypadku stosowania testu bezpośredniego kontaktu (test roślinny) 50% badanych próbek osadów wykazuje wysoki lub bardzo wysoki efekt toksyczny w stosunku do organizmu wskaźnikowego.

Najwyższy spadek bioluminescencji bakterii *Vibrio fischeri* (75-78%) odnotowano podczas badań próbek: DPD 15, JSP 22. Próbki: DPD 9, DPD 10, DPD 13, DPD 15,

DPD 16, DPD 17, DPD 19, DPD 61, JSP 22 wywołały natomiast najwyższy efekt toksyczny u *Thamnocephalus platyurus* (śmiertelność na poziomie 75-87%). Najwyższe zahamowanie wzrostu korzenia rośliny dwuliściennej *Lepidium sativum* (71-80%) stwierdzono w przypadku próbek: JSP 12, JSP 22, JSP 35, JSP 38, JSP 63.

Należy zauważyć, iż część próbek uznanych za nietoksyczne wobec bakterii *Vibrio fischeri*, wykazywała wysoki efekt toksyczny wobec skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* oraz wobec rośliny dwuliściennej *Lepidium sativum*. Wynika to najprawdopodobniej z różnic we wrażliwości organizmów wskaźnikowych na związki chemiczne oraz z czasu ekspozycji na działanie ksenobiotyków obecnych w badanych próbkach (czas kontaktu organizmów wskaźnikowych z próbką w przypadku bakterii trwa 30 min, w przypadku skorupiaka- 24 godziny, natomiast w przypadku roślin- 3 dni). Znaczącym jest również fakt, iż test toksyczności ostrej wobec bakterii *Vibrio fischeri* i skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* przeprowadza się badając odpowiedni ekstrakt wodny uzyskany z badanej próbki osadu. Zatem obserwowana toksyczność ostra wobec tych organizmów wskaźnikowych może być związana z występowaniem w badanych próbkach zanieczyszczeń, które rozpuszczają się w wodzie. Natomiast test toksyczności wobec rośliny *Lepidium sativum*, jest testem, w którym dochodzi do bezpośredniego kontaktu organizmu wskaźnikowego z badaną próbką osadu. Jak do tej pory, nie jest jeszcze wyjaśniona w dostatecznym stopniu intensywność procesu pobierania przez rośliny ksenobiotyków zasorbowanych na powierzchni cząstek osadu w stosunku do intensywności procesu ich pobierania bezpośrednio z wody. Wydaje się jednak, iż w tym przypadku za stwierdzoną fitotoksyczność odpowiedzialne są związki wykazujące tendencję do sorpcji na cząstkach osadu. Dodatkowo rośliny posiadają różne wykształcone mechanizmy obronne, które zabezpieczają je przed wnikaniem szkodliwych związków do wnętrza organizmu.

4.6.2.2. PORÓWNANIE WRAŻLIWOŚCI SKORUPIAKÓW: *THAMNOCEPHALUS PLATYURUS* ORAZ *DAPHNIA MAGNA* W STOSUNKU DO KSENOBIOTYKÓW OBECNYCH W BADANYCH PRÓBKACH OSADÓW DENNYCH

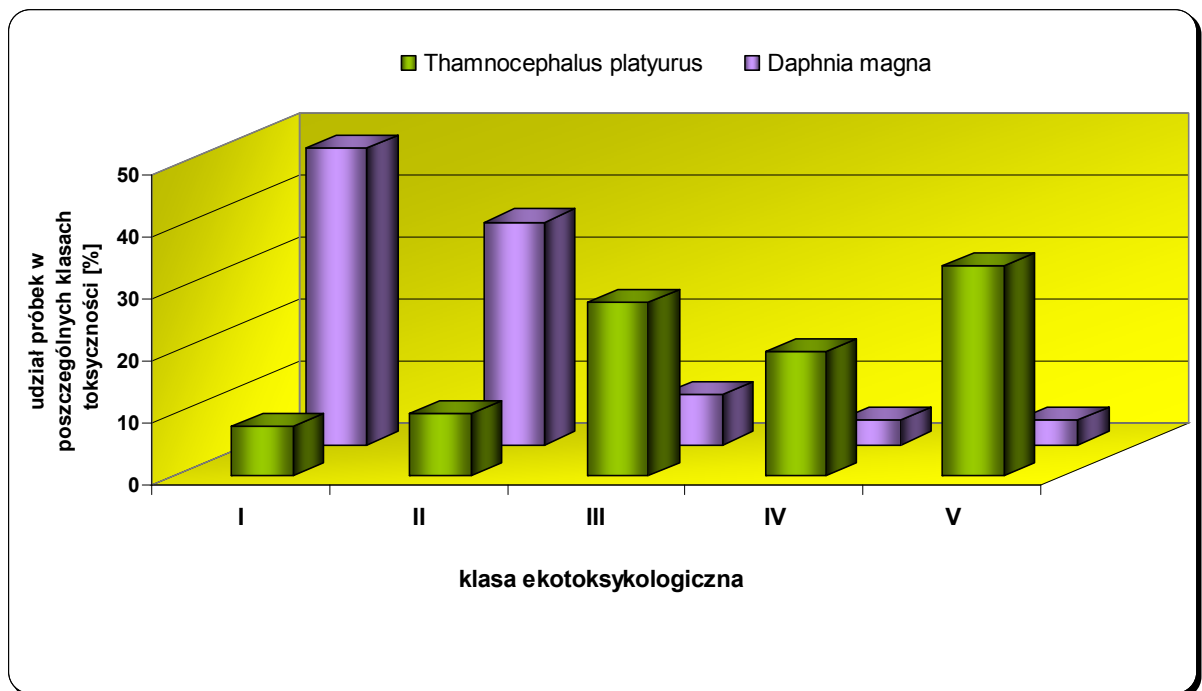
W przypadku próbek osadów dennych pobranych w czaszy Zalewu Szczecińskiego w trakcie I tury pomiarowej przeprowadzono badania z wykorzystaniem testów, w których organizmy wskaźnikowe stanowią dwa różne skorupiaki: *Thamnocephalus platyurus* oraz *Daphnia magna*. Porównanie klasyfikacji ekotoksykologicznej przeprowadzonej na

podstawie wyników uzyskanych w trakcie przeprowadzonych testów toksyczności przedstawiono w **Tabeli 27**. Klasyfikacji tej dokonano w oparciu o system opracowany w ramach projektu *ARGE-Elbe*.

Tabela 27. Ocena ekotoksykologiczna próbek osadów pobranych w trakcie I tury pomiarowej z odwiertów badawczych wykonanych w czaszy Zalewu Szczecińskiego na podstawie wyników testów: *Thamnotoxkit FTM* oraz *Daphtoxkit FTM magna*.

NUMER PRÓBKII	<i>THAMNOCEPHALUS PLATYURUS</i>	<i>DAPHNIA MAGNA</i>
	śmiertelność [%]	śmiertelność [%]
	24 godz.	48 godz.
ZPD 002		
ZPD 013		
ZPD 025		
ZPD 027		
PD 030		
ZPD 46		
ZPD 46 fr. róż.-bez.		
ZPD 050		
ZPD 052		
ZPD 056		
ZPD 057		
ZPD 061		
ZPD 066		
ZPD 070		
ZPD 072		
ZPD 077		
ZPD 081		
ZPD 084		
ZPD 087		
ZPD 090		
ZPD 091		
ZPD 096		
ZPD 101		
ZPD 110		
ZPD 113		
ZPD 119		
ZPD 123		
ZPD 127		
ZPD 131		
ZPD 136		
ZPD 139		
ZPD 141		
ZPD 145		
ZPD 148		
ZPD 151		
ZPD 153		
ZPD 158		
ZPD 159		
ZPD 161		
ZPD 164		
ZPD 166-1		
ZPD 167		
ZPD 168		
ZPD 169		
ZPD 170		
ZPD 171		
ZPD 172		
ZPD 173		
ZPD 174		
ZPD 175		

Na **Rysunku 45** przedstawiono procentowy udział próbek osadów dennych zaliczonych do poszczególnych klas toksyczności.



Rysunek 45. Odsetek próbek osadów dennych pobranych z Zalewu Szczecińskiego zaliczonych do poszczególnych klas toksyczności.

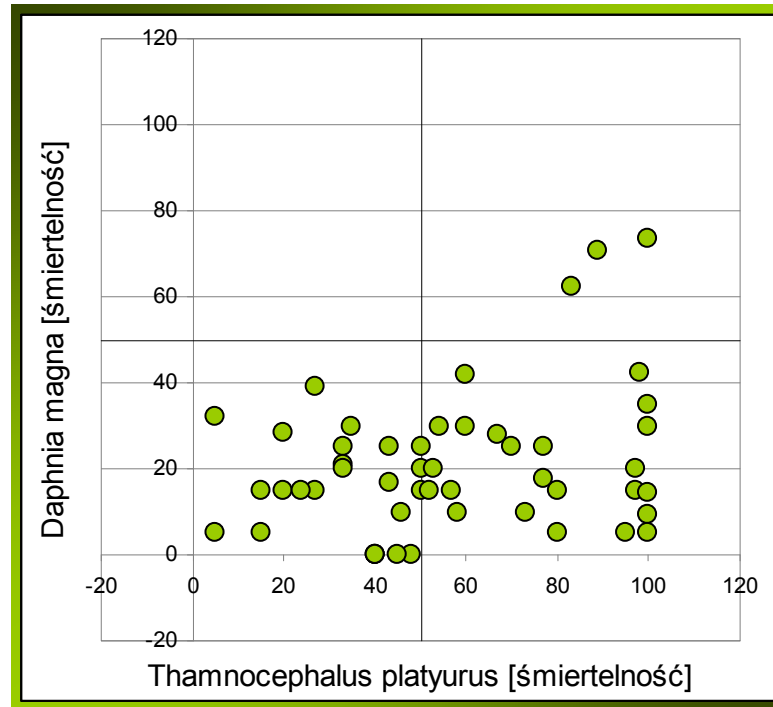
Znakomita większość badanych ekstraktów wodnych z próbek osadów (92%) nie wykazuje toksyczności lub też charakteryzuje się niską toksycznością w stosunku do skorupiaka *Daphnia magna*. Natomiast, połowa badanych ekstraktów wodnych (54%) wykazuje wysoki lub bardzo wysoki efekt toksyczny w stosunku do skorupiaka *Thamnocephalus platyurus*.

Na **Rysunku 46** graficznie przedstawiono zależności pomiędzy wrażliwością dwóch porównywanych organizmów wskaźnikowych na ksenobiotyki obecne w badanych próbkach.

Okazuje się, iż dużo większą wrażliwością charakteryzuje się *Thamnocephalus platyurus*. Badane próbki osadów podzielić można na dwie grupy:

- I- wykazujące niską toksyczność wobec obu organizmów wskaźnikowych;
- II- wykazujące niską toksyczność wobec *Daphnia magna* i wysoką toksyczność wobec *Thamnocephalus platyurus*.

Tylko w nielicznych przypadkach stwierdzano wysoką toksyczność zarówno wobec *Daphnia magna* jak i *Thamnocephalus platyurus*.



Rysunek 46. Porównanie wrażliwości skorupiaków *Thamnocephalus platyurus* i *Daphnia magna* na skład chemiczny badanych próbek osadów.

Niewątpliwie takie porównanie wrażliwości organizmów wskaźnikowych dostarcza cennych informacji, które przydatne są w momencie wyboru organizmów wskaźnikowych w trakcie komponowania składu optymalnej baterii biotestów.

4.6.3. Wyniki oceny zależności pH- mobilność metali i jej wpływu na toksyczność badanych próbek osadów

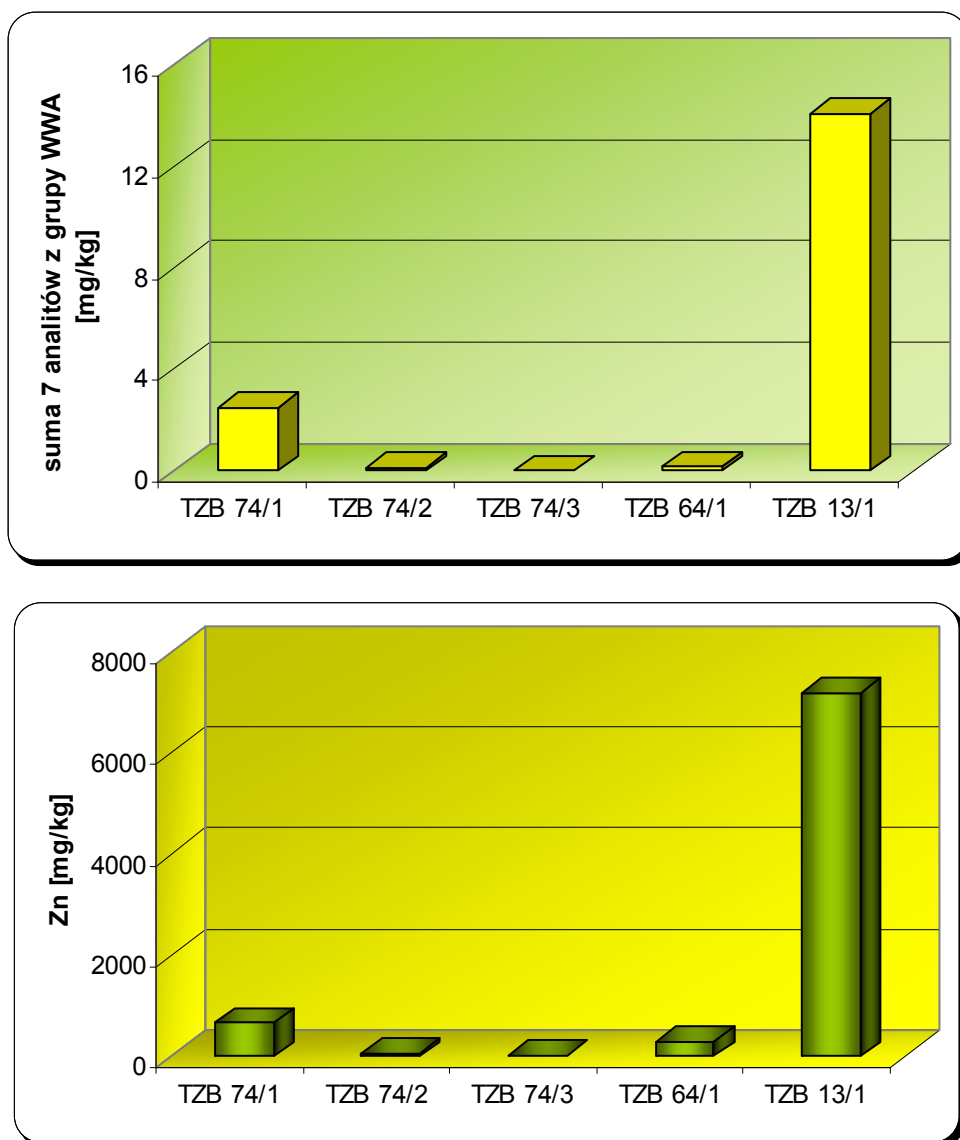
Przeprowadzone badania obejmowały ekstrakcję wybranych próbek osadów z Jeziora Turawskiego przy pomocy wody o pH = 7, 5, 2 a następnie pomiar toksyczności ekstraktów wobec bakterii *Vibrio fisheri*, skorupiaaka *Daphnia magna* oraz glonów *Selenastrum capricornutum* oraz oznaczanie w otrzymanych ekstraktach stężenia metali ciężkich.

Oznaczenie zawartości metali ciężkich w ekstraktach wodnych z próbek osadów dennych przeprowadzono w akredytowanym laboratorium Państwowego Instytutu Geologicznego w Warszawie stosując następujące techniki analityczne:

- spektrometria emisji optycznej ze wzbudzeniem w indukowanej plazmie (ICP-OES): As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn;

- spektrometria absorpcji atomowej z generowaniem zimnych par (CV-AAS): Hg.

Do badań wybrano próbki osadów o różnej zawartości materii organicznej: od próbek, które składały się głównie z piasku (TZB 74/1, TZB 74/2, TZB 74/3, TZB 64/1), po próbki z wysoką zawartością materii organicznej (TZB 13/1). Próbki o numerach TZB 74/1, TZB 74/2, TZB 74/3 pochodzą z tego samego rdzenia, pobrane zostały jednak z różnych głębokości. Obciążenie próbek osadów materia organiczną scharakteryzowano zawartością sumy 7 analitów z grupy WWA (**Rysunek 47**). Dodatkowo, na rysunku tym graficznie przedstawiono zawartość Zn w poszczególnych próbkach.



Rysunek 47. Zawartość materii organicznej [mg/kg] oraz Zn [mg/kg] w badanych próbkach osadów.

Oznaczone ilości metali, które zostały wymyte z badanych próbek za pomocą zakwaszonej wody (pH=2, 5, 7) porównano z wynikami oznaczeń metali w odpowiednich frakcjach uzyskanych w wyniku zastosowania 6-etapowej ekstrakcji sekwencyjnej, która została przeprowadzona w laboratorium Katedry Toksykologii, Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa, Akademii Rolniczej w Szczecinie. W trakcie ekstrakcji sekwencyjnej poszczególne frakcje otrzymywano poprzez zastosowanie odpowiednich ekstrahentów:

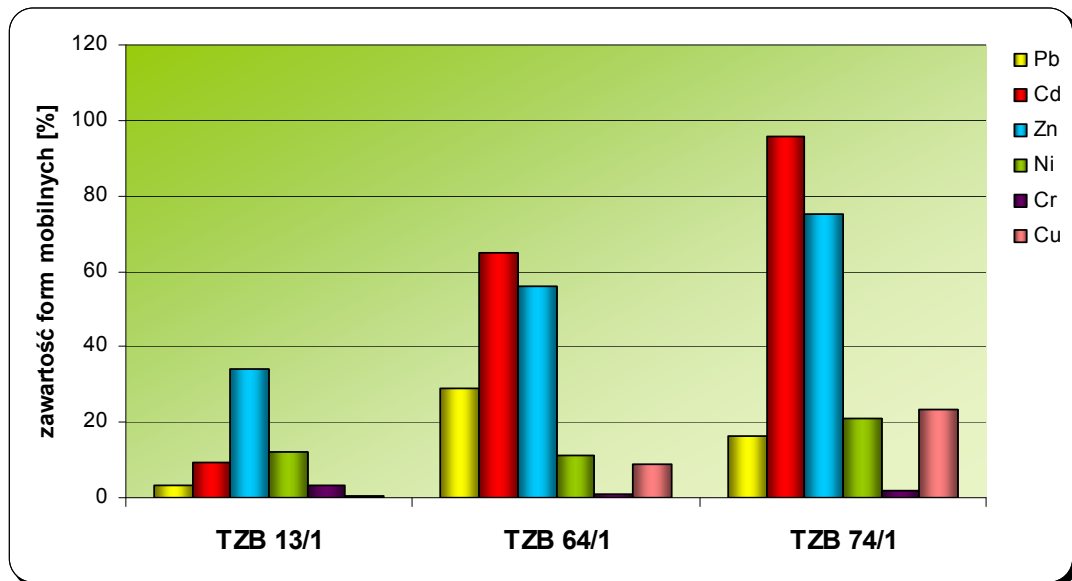
- I frakcja- 1 mol/l NH_4OAc (pH 7);
- II frakcja- 1 mol/l NH_4OAc (pH 5);
- III frakcja - 1 mol/l $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (pH 2);
- IV frakcja - 0,2 mol/l 1 $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ + 0,2 mol/l $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (pH 3);
- V frakcja - 30% H_2O_2 + HNO_3 (pH 2), NH_4OAc (pH 7);
- VI frakcja - 65% HNO_3 .

W trakcie przeprowadzanych badań szczególną uwagę zwrócono na próbki osadów drobnoziarnistych. Frakcje drobnoziarniste, ze względu na dużą pojemność sorpcyjną, mogą zawierać znaczne ilości metali ciężkich. Ponadto stanowią one najbardziej mobilną część osadu, co sprzyja przemieszczaniu zanieczyszczeń wewnątrz akwenu (w wyniku falowania wody). Można zatem oczekiwać, że przy dużych przepływach wody ta drobnoziarnista, najbardziej zanieczyszczona frakcja jest najszybciej przemieszczana z prądem w dół rzeki.

Przeprowadzona ekstrakcja sekwencyjna pozwoliła na uzyskanie informacji o procentowym udziale w ogólnej zawartości metali ich najbardziej mobilnych form, a tym samym najłatwiej dostępnych dla organizmów żywych, w przypadku metali ciężkich ma to decydujący wpływ na ich toksyczność. Pod tym względem najważniejsze są frakcje:

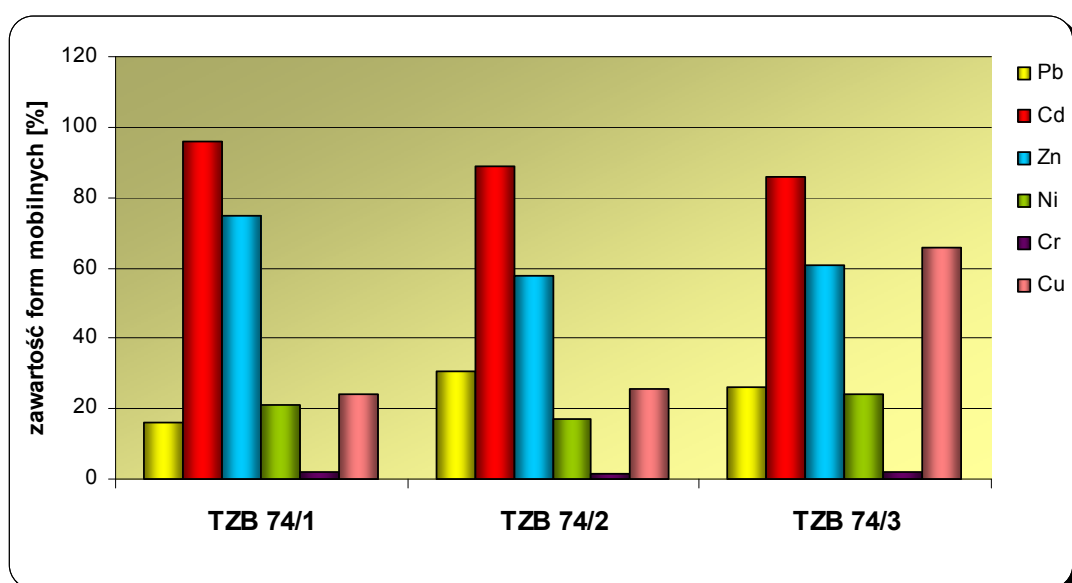
- I – formy wymienne metali;
- II – formy węglanowe metali.

Metale z tych właśnie frakcji łatwo ulegają desorpcji z cząstek osadu do wody, skąd mogą być łatwo pobierane przez organizmy i włączane do łańcucha troficznego. Ekstrakcja sekwencyjna ujawniła znaczne zróżnicowanie w mobilności (wymywalności) badanych metali z próbek osadu. Udział mobilnych form poszczególnych metali określono jako procentowy udział sumy ich stężeń w dwóch pierwszych frakcjach w stosunku do ogólnej ich zawartości w danej próbce (**Rysunek 48**).



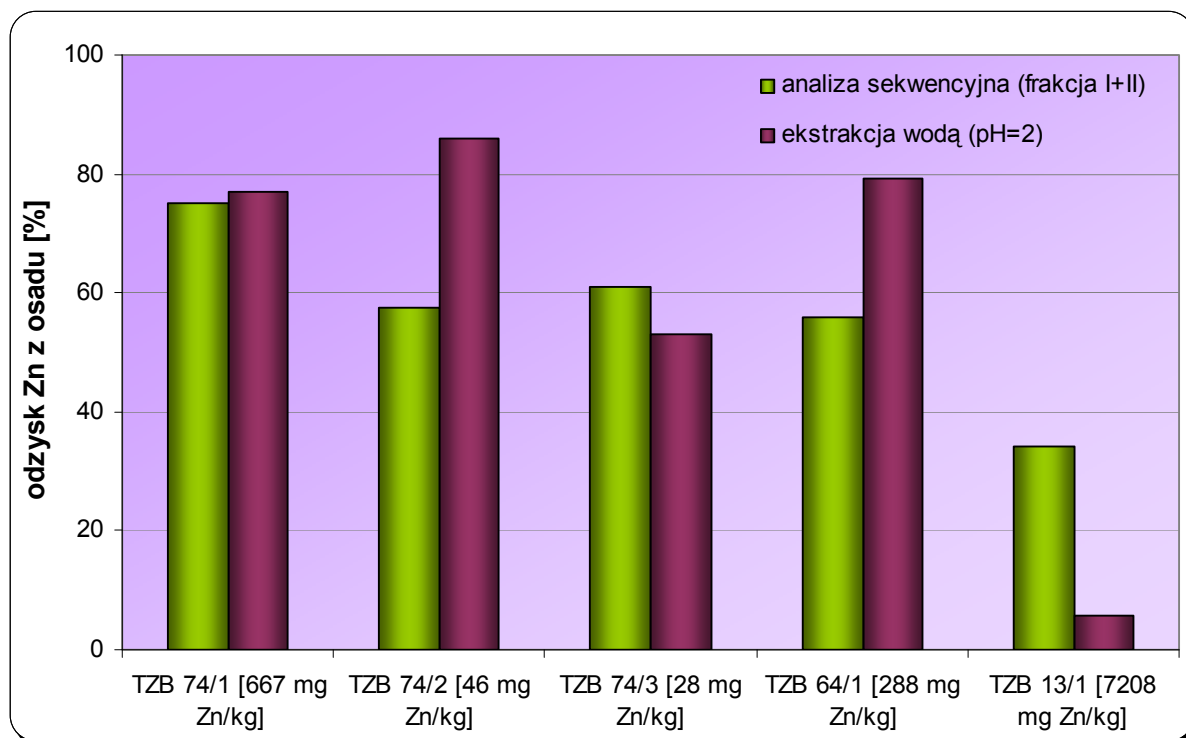
Rysunek 48. Udział mobilnych form metali w ogólnej ich zawartości w wybranych próbkach osadów dennych Jeziora Turawskiego.

Na **Rysunku 49** przedstawiono natomiast zmianę udziału form mobilnych poszczególnych metali w ogólnej ich zawartości w badanej próbce wraz z głębokością wykonanego odwiertu (rdzenia), na przykładzie próbki TZB 74/1. Uzyskane wyniki sugerują, iż wraz z głębokością maleje udział form mobilnych Cd i Zn, podczas gdy udział form mobilnych Cu wzrasta. W przypadku pozostałych metali takich zależności nie można wskazać. Wzrost udziału form mobilnych Cu wraz z głębokością rdzenia można tłumaczyć obniżeniem wartości pH w głębszych warstwach osadu.



Rysunek 49. Zmiana udziału form mobilnych poszczególnych metali w ich ogólnej zawartości w badanej próbce wraz z głębokością rdzenia.

Porównanie wymywalności metali za pomocą zakwaszonej wody (pH=2) z ich wymywalnością z zastosowaniem 6-etapowej ekstrakcji sekwencyjnej wskazuje, że w obu przypadkach wartości te są do siebie zbliżone. Na **Rysunku 50** przedstawiono porównanie zmienności odzysku Zn z osadu przy zastosowaniu obu sposobów wymywania.

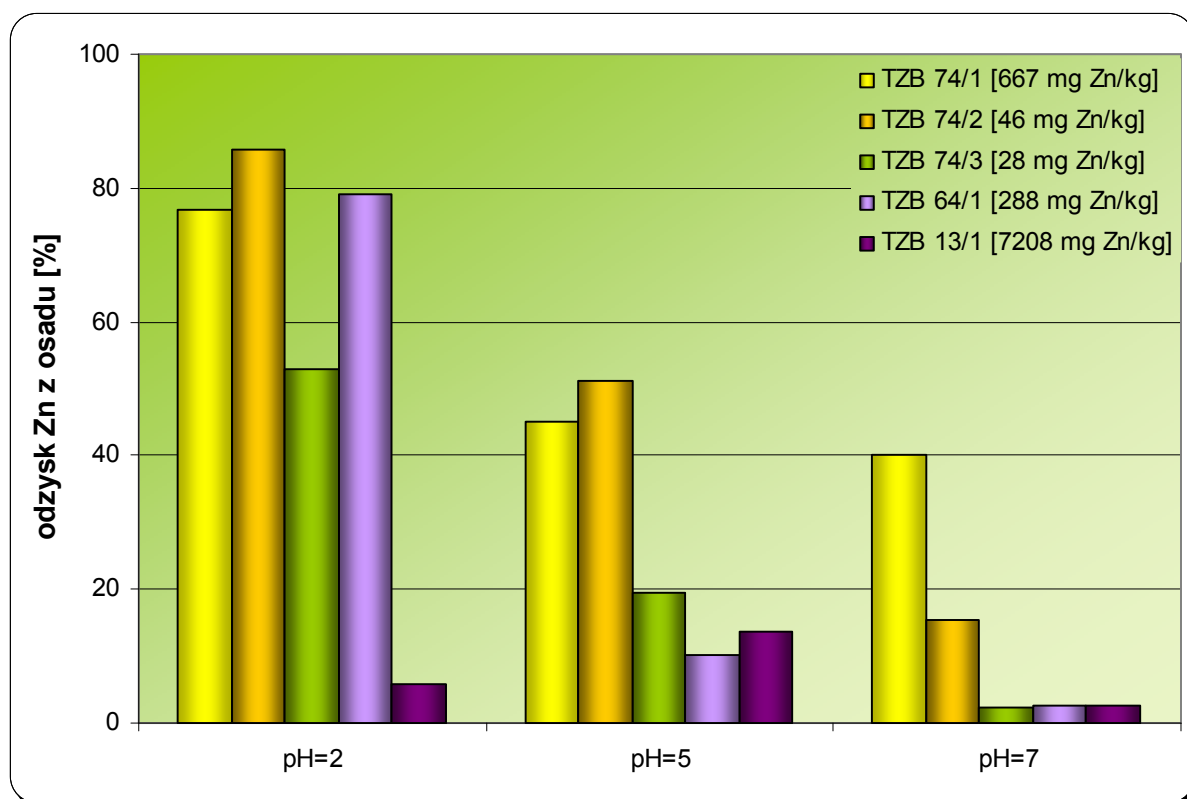


Rysunek 50. Zmienność odzysku Zn w zależności od zastosowanego sposobu wymywania.

Uzyskane wyniki sugerują, że frakcja uznawana za biodostępną (I i II frakcja) w ekstrakcji sekwencyjnej jest ilościowo tożsama z frakcją, która jest wymywana w trakcie ekstrakcji za pomocą czynnika ekstrakcyjnego o pH=2. Na uwagę zasługuje próbka TZB 13/1 (z dużą zawartością materii organicznej), w przypadku której nawet zastosowanie ekstrakcji sekwencyjnej umożliwia odzysk Zn na stosunkowo niskim poziomie (około 33%). Wykorzystując natomiast wymywanie zakwaszoną wodą (pH=2) uzyskuje się około 5-krotnie niższy odzysk Zn (6%). Sugeruje to, że w warunkach naturalnych, duża zawartość materii organicznej, a właściwie wpływ jej buforujących właściwości, może w znacznym stopniu ograniczyć mobilność metali „uwięzionych” w osadzie.

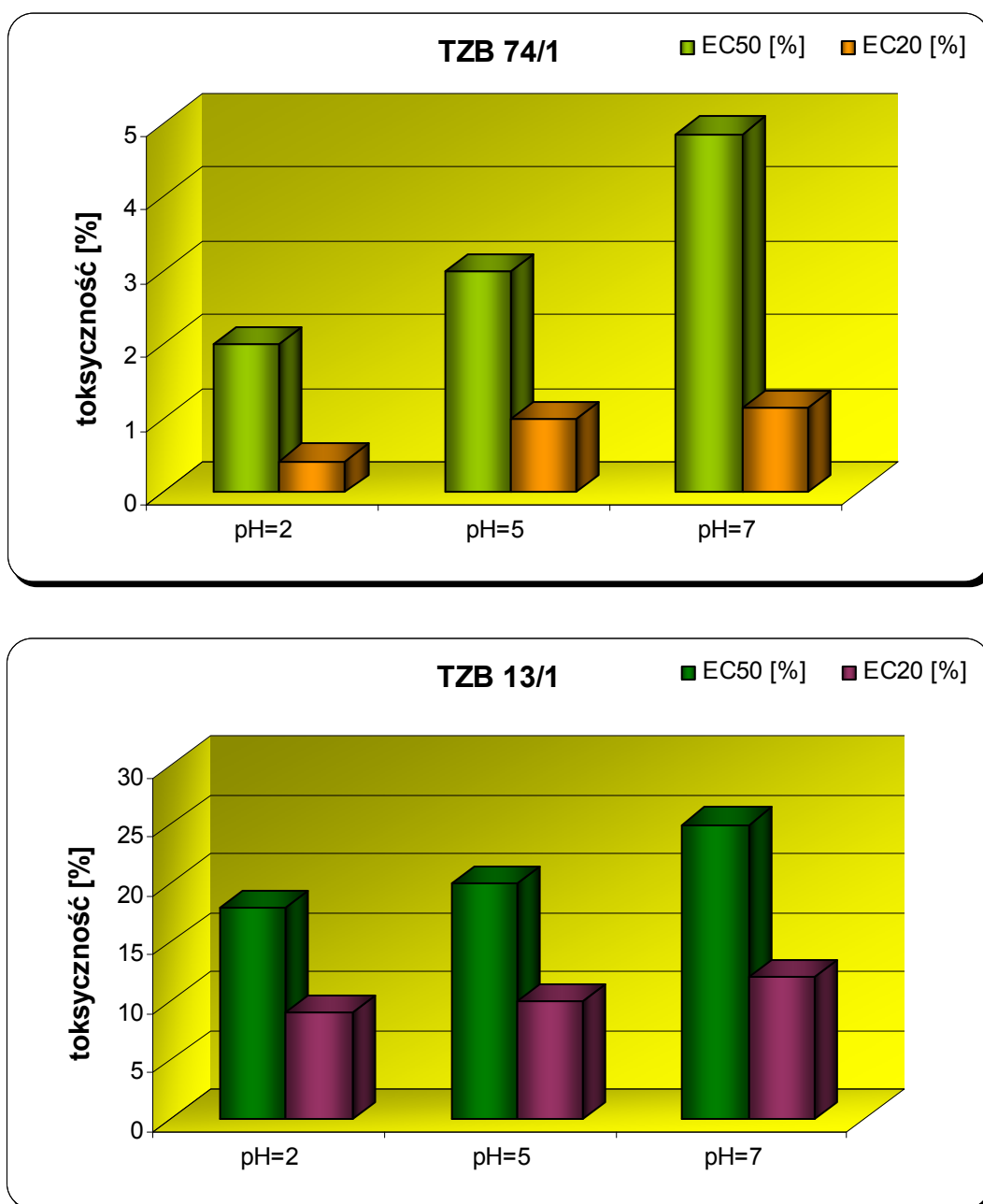
Przeprowadzone badania wykazały również, że wymywalność metali rośnie wraz ze wzrostem stopnia zakwaszenia czynnika ekstrakcyjnego. Najwyższy wzrost stężenia metali w ekstrakcie obserwowano w przypadku próbek, których matrycę stanowił głównie

piasek (TZB 74/2, TZB 74/3). Natomiast, w przypadku próbek o dużej zawartości materii organicznej (TZB 13/1) stężenie metali w ekstrakcie wzrastało w stosunkowo niewielkim stopniu (**Rysunek 51**).



Rysunek 51. Zależność pomiędzy pH stosowanego ekstrahenta a odzyskiem metali z badanych próbek osadów na przykładzie Zn.

Wyniki przeprowadzonych badań ekotoksykologicznych mogą być podstawą do stwierdzenia, że ekstrakty wodne generalnie charakteryzowały się wysoką toksycznością wobec wszystkich organizmów testowych. W przypadku bakterii *Vibrio fischeri* odnotowano zahamowanie bioluminescencji na poziomie 36-99%. Zaobserwowano, iż spadek wartości pH zastosowanego ekstrahenta, wpływał na obniżenie wartości EC_{50} oraz EC_{20} , co było równoznaczne ze wzrostem toksyczności badanych ekstraktów wodnych z osadów (**Rysunek 52**).



Rysunek 52. Graficzne przedstawienie zależności pomiędzy wartościami liczbowymi parametrów EC₅₀ oraz EC₂₀ i wartością pH stosowanego ekstrahenta (na przykładzie wybranych próbek).

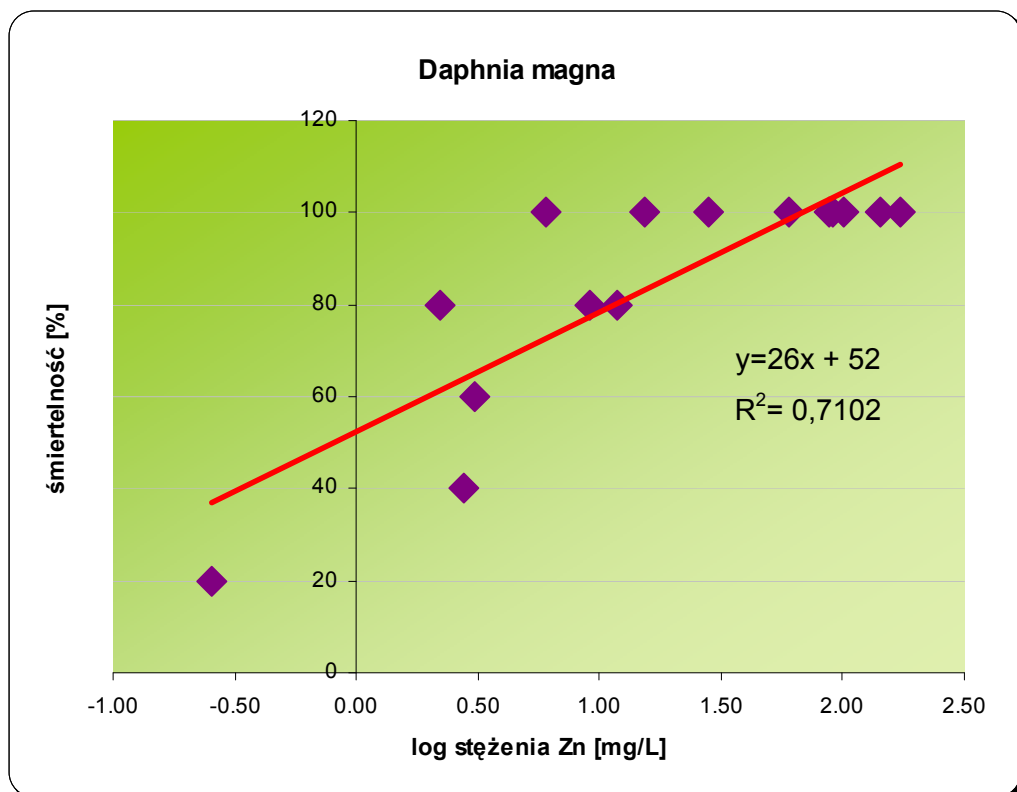
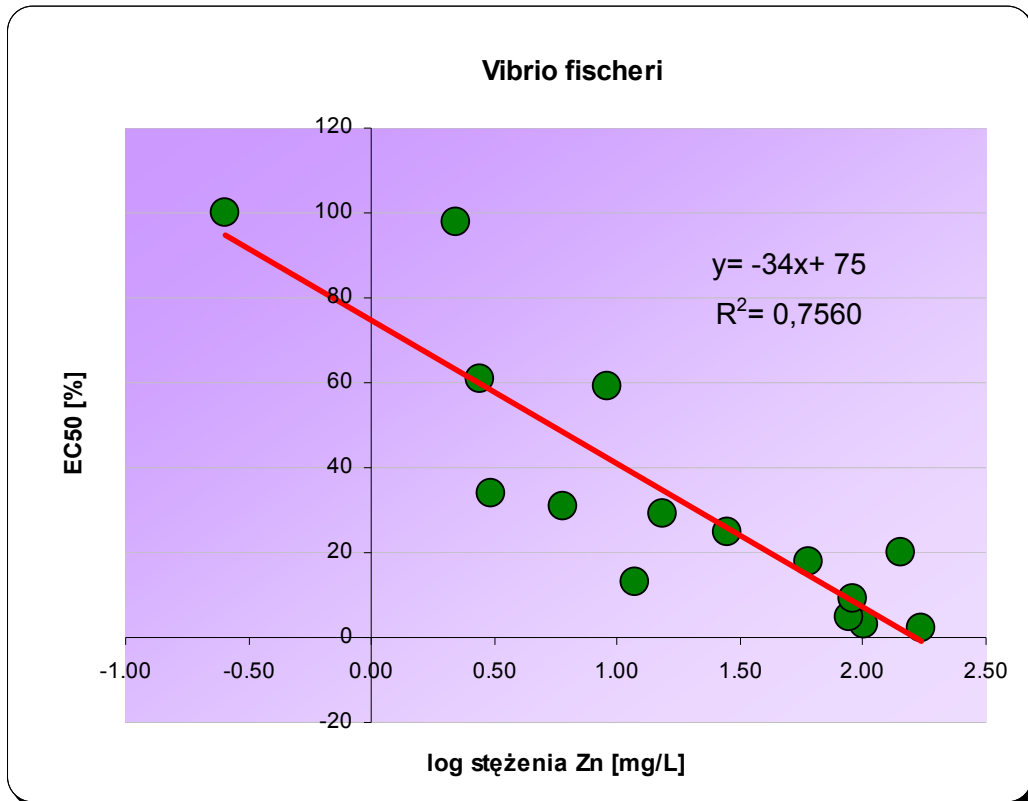
Test toksyczności ostrej osadu wobec bakterii *Vibrio fischeri* przeprowadza się w oparciu o ekstrakt wodny uzyskany z badanej próbki osadu. Zatem obserwowana toksyczność ostra wobec bakterii może być związana z występowaniem w próbkach zanieczyszczeń o charakterze hydrofilowym, które rozpuszczają się w wodzie. Najwyższą toksyczność ostrą wobec bakterii *Vibrio fischeri* zaobserwowano dla próbki TZB 74/1, która została pobrana u wlotu Małej Panwi. Wydaje się, iż może mieć to związek

z lokalizacją, bezpośrednio nad korytem rzeki, niezabezpieczonej, hałdy odpadów hutniczych. Pewną korelację zaobserwować można również pomiędzy oszacowanymi parametrami toksyczności, a głębokością wykonanego odwiertu (próbka TZB 74): okazuje się, iż wraz ze wzrostem głębokości z której pobrana została próbka jej toksyczność maleje.

W przypadku stosowania testu *Daphtoxkit FTM* szacowanym parametrem była śmiertelność organizmu wskaźnikowego mierzona po 24 oraz 48 godzinach od chwili rozpoczęcia testu. Dla wszystkich ekstraktów wodnych z osadów wymywanych ekstraktem o pH= 2 zanotowano, po 24 godzinach prowadzenia obserwacji, 100%-ową śmiertelność organizmów testowych. Najwyższą toksyczność ostrą wobec skorupiaka *Daphnia magna* zaobserwowano dla próbek TZB 74/1 oraz TZB 13/1 (po 24 godzinach stwierdzono 100%-ową śmiertelność, niezależnie od wyjściowego pH ekstrahenta). W przypadku pozostałych próbek zaobserwowano natomiast wzrost śmiertelności organizmów testowych wraz ze spadkiem wartości pH ekstrahenta. Po 48 godzinach od chwili rozpoczęcia testu tylko w przypadku próbki TZB 64/1 (pH=7) nie odnotowano 100%-owej śmiertelności (przeżyło 20% organizmów testowych).

Badane ekstrakty osadów charakteryzowały się również bardzo wysoką toksycznością w stosunku do komórek glonów *Selenastrum capricornutum*- praktycznie we wszystkich przypadkach obserwowano 100%-owe zahamowanie wzrostu organizmów wskaźnikowych.

Badając zależność zmienności parametrów toksyczności od logarytmu stężenia metalu oznaczonego w ekstrakcie można wskazać wysoką korelację pomiędzy logarytmem stężenia Zn i wartością parametru EC₅₀ oszacowaną wobec bakterii *Vibrio fischeri* oraz śmiertelnością skorupiaka *Daphnia magna* (**Rysunek 53**).



Rysunek 53. Zależność pomiędzy logarytmem stężenia Zn a parametrem EC_{50} (bakterie *Vibrio fischeri*) oraz śmiertelnością skorupiaka *Daphnia magna*.

Na podstawie danych zgromadzonych w **Tabeli 28**, stwierdzić można, iż śmiertelność skorupiaka *Daphnia magna* (mierzona po 24 godzinach) wykazuje znaczną korelację również ze stężeniem Cd i Ni.

Tabela 28. Równania regresji opisujące zależność pomiędzy logarytmem stężenia metali a badanymi efektami toksyczności.

Metal	<i>Vibrio fischeri</i>				<i>Daphnia magna</i>	
	(x) log c/ spadek bioluminescencji (y)		(x) log c/ EC ₅₀ (y)		(x) log c/ śmiertelność (y)	
	Równanie regresji	R ²	Równanie regresji	R ²	Równanie regresji	R ²
As	y = 24x + 121	0,1754	y = -41x - 37	0,1788	y = 37x + 148	0,2495
Cd	y = 15x + 88	0,3821	y = -27x + 18	0,4568	y = 22x + 97	0,5248
Cr	y = 16x + 116	0,1060	y = -32x - 39	0,1501	y = 26x + 144	0,1733
Cu	y = 5x + 86	0,0401	y = -14x + 16	0,0979	y = 12x + 100	0,1350
Ni	y = 21x + 99	0,4646	y = -38x - 1	0,5350	y = 31x + 113	0,6195
Pb	y = 9x + 93	0,1142	y = -19x + 7	0,1690	y = 18x + 110	0,2531
Zn	y = 20,374x + 54,79	0,7181	y = -35,714x + 77,79	0,7682	y = 25,954x + 52,53	0,7102

W ramach badań uzupełniających w laboratorium Katedry Chemii Analitycznej, Wydziału Chemicznego, Politechniki Gdańskiej dodatkowo określono toksyczność chroniczną wobec skorupiaków *Heterocypris incongruens* (wykorzystując test *Ostracodtoxkit FTM chronic*, przeprowadzony zgodnie z zaleceniami prof. Guido Persoone (*MicroBioTests Inc.*, Nazareth, Belgia) [162]). Test toksyczności chronicznej wobec skorupiaka *Heterocypris incongruens* jest testem bezpośredniego kontaktu organizmów z badaną próbką osadu. W literaturze brak jest informacji o tym w jakim stopniu małżoraczki bezpośrednio pobierają zanieczyszczenia zasorbowane na cząstkach osadów, a w jakim stopniu pobierają je z wody. Mając na uwadze rozbieżności w wynikach otrzymanych w oparciu o testy *Ostracodtoxkit FTM chronic* oraz *Microtox®* można przypuszczać, iż toksyczność obserwowana wobec małżoraczka ma związek z obecnością w środowisku związków wykazujących tendencję do sorpcji na cząstkach osadu.

4.7. Wnioski

4.7.1. *Ocena wpływu składowiska odpadów komunalnych na poziom zanieczyszczenia wód podziemnych*

Wydaje się, iż składowiska odpadów, które stanowią i zawsze będą stanowiły potencjalne źródło emisji zanieczyszczeń do wód podziemnych należy traktować jako szczególne miejsca, gdzie wykorzystanie badań ekotoksykologicznych może w istotny sposób przyczynić się do skuteczniejszej ochrony wód (powierzchniowych oraz podziemnych). Należy pamiętać, że jeszcze do niedawna składowanie odpadów gromadzonych na istniejących dziś składowiskach komunalnych nie było inwentaryzowane. Na składowiska trafiały, obok odpadów komunalnych, również znaczne ilości odpadów niebezpiecznych (były to najczęściej baterie, świetlówki odpady lakiernicze, przeterminowane leki i środki ochrony roślin, a także zużyte oleje i smary). W przypadku składowisk odpadów niebezpiecznych jednocześnie z substancjami niebezpiecznymi o znanym składzie, gromadzone są również takie, których skład, a co za tym idzie toksyczność, nie jest znana. Podobny problem stanowią także składowiska odpadów przemysłowych. Niestety, jeszcze przez kilka/kilkanaście lat stare, zazwyczaj nieuszczelnione kwatery będą wykorzystywane, a po ich zamknięciu jeszcze przez długie lata będą oddziaływały na otoczenie. Wydaje się, że budowane obecnie, wg najlepszych technologii, składowiska z odpowiednimi systemami drenażu nie powinny być źródłem przedostawania się substancji toksycznych do środowiska. Niestety nie można wykluczyć zdarzeń losowych (kataklizmy, katastrofy) jak również celowych, niezgodnych z prawem działań ludzkich, których efektem może być zanieczyszczenie środowiska.

Ponadto w pracy racjonalnie zorganizowanych składowisk problem stanowią odcieki. Badanie kilku parametrów fizykochemicznych nie może być źródłem informacji na temat ich toksyczności; a to przede wszystkim ten parametr powinien być wyznacznikiem dalszego toku postępowania z odciekami.

W Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 9 grudnia 2002 r. w *sprawie zakresu, czasu, sposobu oraz warunków prowadzenia monitoringu składowisk odpadów* (Dz. U. 02.220.1858) zawarte są zalecenia określające jakie parametry powinny być monitorowane w wodach powierzchniowych, odciekowych i podziemnych (przy czym dla wód podziemnych ustala się parametry wskaźnikowe jak dla wód odciekowych) wokół składowisk [163].

Z treści rozporządzenia wynika, że dla składowisk odpadów niebezpiecznych oraz składowisk odpadów innych niż niebezpieczne wymagany jest monitoring zaledwie dwóch parametrów wskaźnikowych: odczyn (pH) i przewodność elektrolityczna właściwa.

Dla składowisk przyjmujących odpady komunalne wymagany jest dodatkowo monitoring następujących parametrów wskaźnikowych:

- ogólny węgiel organiczny (OWO);
- zawartość poszczególnych metali ciężkich: Cu, Zn, Pb, Cd, Cr(VI), Hg;
- suma zawartości ksenobiotyków z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA).

Dodatkowe parametry wskaźnikowe dla wód powierzchniowych i odciekowych, mogą zostać wybrane wyłącznie z listy stanowiącej załącznik do uregulowań prawnych dotyczących klasyfikacji wód (wartości wskaźników zanieczyszczeń śródlądowych wód powierzchniowych); parametry te powinny być ustalane zgodnie z przewidzianym rodzajem składowanych odpadów. Tak więc, w Rozporządzeniu *w sprawie zakresu, czasu, sposobu oraz warunków prowadzenia monitoringu składowisk odpadów* zawarte są zalecenia odnośnie prowadzenia badań w celu oznaczenia racjonalnej liczby parametrów fizykochemicznych. Parametry te co prawda zapewniają możliwość zgrubnego śledzenia zmian w wodach odciekowych i podziemnych, nie dają jednak informacji o ich wpływie na ekosystem.

W ramach współpracy z *Zakładem Utylizacyjnym Gdańsk- Szadółki*, od kilku już lat prowadzone są badania mające na celu ocenę wpływu składowiska odpadów komunalnych na jakość wód podziemnych, powierzchniowych i odciekowych. Uzyskane wyniki mogą stanowić podstawę do stwierdzenia, iż połączenie odpowiednich testów ekotoksykologicznych z klasycznym monitoringiem chemicznym jest niezbędnym etapem w ocenie rzeczywistych zagrożeń związanych z takim przejawem antropopresji jakim jest składowanie odpadów. Uzyskane wyniki pozwoliły również na sformułowanie następujących wniosków:

1. Składowisko odpadów komunalnych w Gdańsku- Szadółkach wywiera wpływ na jakość wód podziemnych pochodzących z pierwszego (QI1) i drugiego (QI2) poziomu wodonośnego.

2. Próbkę wód podziemnych pobrane z piezometrów zlokalizowanych na odpływie ze składowiska wykazują znacznie wyższy efekt toksyczny niż te na dopływie, co świadczyć może o wymywaniu zanieczyszczeń z terenu *Zakładu Utylizacyjnego*. Przypuszcza się, iż ze względu na naturalne ukształtowanie warunków hydrologicznych (na wysokości

piezometru P19B, pod kwaterą składową, obserwuje się znaczne podniesienie poziomu wód (QI2), występować może zjawisko cofania się wód gruntowych z drugiego poziomu pierwszej warstwy wodonośnej, zawierającej zanieczyszczenia migrujące z rozkładającej się hałdy odpadów, do obszaru znajdującego się na dopływie wód do składowiska. Zjawisko takie nie zostało jednak potwierdzone przez specjalistów. Tłumaczyłoby ono jednak wysoką toksyczność oraz złą jakość chemiczną próbek wód pobranych z piezometrów znajdujących się na dopływie wód do składowiska podczas III tury pomiarowej.

3. Składowisko odpadów komunalnych w Gdańsku- Szadółkach może przyczyniać się także do obniżenia jakości ekotoksykologicznej wód, uchodzącej do Motławy, Raduni (składowisko zlokalizowane jest w jej dorzeczu). W celu potwierdzenia tych przypuszczeń należałoby jednak przeprowadzić odpowiednie badania.

4. Test *Microtox*® charakteryzował się najmniejszą wrażliwością na obecne w próbkach zanieczyszczenia. W przypadku wszystkich badanych próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów usytuowanych na dopływie do składowiska (wyjątek stanowiła próbka wody pochodząca z piezometru P9, I tura) mierzony spadek bioluminescencji nie przekroczył 25%. Należy podkreślić jednak, iż wykorzystanie tego test umożliwia otrzymanie odpowiedzi na pytanie: „*czy i w jakim stopniu próbka jest toksyczna?*” już po 5-30 minutach.

5. Próbkę pobrane w trakcie II tury pomiarowej wykazują najmniejszą toksyczność w stosunku do wszystkich organizmów testowych, natomiast próbki pobrane w III turze największą. Przypuszczalnie, może mieć to związek ze zmieniającymi się porami roku oraz warunkami atmosferycznymi (tury pomiarowe odbywały się w 3-miesięcznych odstępach, 4 razy w roku). Trzecia tura pomiarowa miała miejsce w lecie- wzrost temperatury powietrza prawdopodobnie ma wpływ na przyspieszenie zachodzących w masie odpadów procesów degradacji, wpływając w ten sposób na wzrost ilości produktów ubocznych migrujących ze składowiska w głąb gleby. Ilość wody docierająca do hałdy, lub opadająca na nią w wyniku wiosennych roztopów oraz/lub intensywnych deszczów, nie pozostaje również bez znaczenia: wzrasta bowiem objętość płynów migrujących (zawierających produkty rozkładu odpadów) przez kwaterę składową, które uwalniane są następnie do gleby, powodując jej zanieczyszczenie. Ma to ścisły związek z przesączaniem się zwiększonej ilości zanieczyszczeń do wód powierzchniowych oraz podziemnych. Zróżnicowane wyniki, otrzymane w trakcie badań próbek zebranych w kolejnych turach pomiarowych, potwierdzają konieczność monitorowania jakości wód

podziemnych i powierzchniowych wokół terenu składowiska w określonych odstępach czasowych.

6. Dzięki porównaniu odpowiedzi organizmów roślinnych, skorupiaków oraz bakterii na zanieczyszczenia zawarte w badanych próbkach, potwierdzono, iż dopiero zastosowanie baterii mikrobiotestów daje pełen obraz możliwych oddziaływań mogących mieć szkodliwy wpływ na dany ekosystem. Informacje o potencjalnych negatywnych efektach mogących wystąpić u organizmów wskaźnikowych, uzyskane w trakcie badań z wykorzystaniem mikrobiotestów, pozwalają na prognozowanie i zapobieganie nieodwracalnym zmianom zachodzącym w biocenozie i biotopie. Dlatego też, narzędzia ekotoksykologiczne powinny stanowić równocenne uzupełnienie badań fizykochemicznych prowadzonych w ramach monitoringu składowisk odpadów.

7. Na podstawie wyników uzyskanych w trakcie porównania wrażliwości organizmów wskaźnikowych wydaje się, iż optymalnym uzupełnieniem monitoringu wpływu składowiska odpadów komunalnych w Gdańsku-Szadółkach na jakość wód powierzchniowych i podziemnych jest wykorzystanie trzech mikrobiotestów:

- *Thamnotoxkit FTM* (wysoka wrażliwość organizmów wskaźnikowych);
- *Microtox*® (krótki czas trwania testu);
- *Phytotoxkit FTM* (ograniczony do rośliny jednoliściennej *Sorghum saccharatum*).

Podstawowym uzupełnieniem wyników uzyskanych dzięki zastosowaniu klasycznych badań monitoringowych, ze względu na przystępność i prostotę wykonania oraz, równie istotną, cenę mikrobiotestu, mógłby być natomiast test *Microtox*®.

8. Porównanie wyników przeprowadzonych analiz chemicznych i biotestów, i w efekcie brak prostych korelacji między nimi stanowi mocną podstawę do tezy, że nie zawsze wskaźniki chemiczne są wystarczającym źródłem informacji o poziomie zanieczyszczenia badanego elementu środowiska.

9. Wykorzystanie w badaniach odpowiednich testów ekotoksyczności (biotestów) może dostarczyć dodatkowych informacji o stanie środowiska: wskazują one bowiem na konieczność przeprowadzenia dalszych szczegółowych badań z zakresu analityki chemicznej. Celem tych badań powinno być przede wszystkim poszukiwanie w analizowanych próbkach tych związków toksycznych, które nie są objęte badaniami prowadzonymi w ramach monitoringu chemicznego, a zatem ich obecność w środowisku nie podlega odpowiednim regulacjom wynikającym z prawa ochrony środowiska.

4.7.2. Ocena ekotoksyczności próbek środowiskowych pobranych w ramach projektu badawczego Zalewu Szczecińskiego

Osady są miejscem kumulowania się zanieczyszczeń wprowadzanych do środowiska wodnego. W zależności od charakteru chemicznego zanieczyszczeń oraz budowy osadu, mogą one być w różny sposób wiązane w osadzie, a co za tym idzie łatwiej bądź trudniej dostępne dla organizmów wodnych.

Monitoring chemiczny pozwala oznaczać określone substancje z dużą dokładnością i precyzją, jednak ograniczony jest tylko do określonej liczby wytypowanych substancji, które stanowią wskaźniki zanieczyszczenia środowiska. Taki system „nie widzi” wielu związków, których obecność może mieć negatywny wpływ na organizmy zasiedlające środowisko wodne. Dodatkowym ograniczeniem monitoringu chemicznego jest znacząca trudność w ocenie skutków współwystępowania wielu substancji na różnych poziomach stężeń i ich współoddziaływanie.

Niewątpliwie, zastosowanie organizmu roślinnego lub zwierzęcego (biotesty), jako wskaźników zanieczyszczenia środowiska, eliminuje te utrudnienia i umożliwia jednocześnie uzyskanie informacji o ostatecznym zagrożeniu wynikającym z rodzaju i poziomu zanieczyszczenia próbki, biodostępności zanieczyszczeń i ich współoddziaływanie.

Uzyskane wyniki badań toksyczności osadów pobranych z obszaru Zalewu Szczecińskiego wskazują, że:

1. Próbkę o najwyższej toksyczności wobec bakterii *Vibrio fischeri* (spadek bioluminescencji > 75%) zlokalizowane są na przedpolu ujścia rzeki Dziwny do zalewu i w dwóch miejscach wzdłuż toru wodnego; osady te zawierają substancje mobilne, które stosunkowo łatwo są ekstrahowane do fazy wodnej. Miejsca pobierania próbek charakteryzujących się największą toksycznością oraz znaczna mobilność zanieczyszczeń mogą wskazywać, że źródłem tych zanieczyszczeń są wody rzeki Dziwny, zaś toksyczność obserwowana w punktach w pobliżu toru wodnego może sugerować niekontrolowane zrzuty ścieków ze statków;

2. W przypadku stosowania testu bezpośredniego kontaktu (test *Ostracodtoxkit FTM chronic*) duża część (ponad 30%) próbek badanych osadów dennych wykazuje efekt toksyczności > 50% (próbki toksyczne i o wysokiej toksyczności); osady pobrane wzdłuż toru wodnego i w północno-wschodniej strefie Zalewu Szczecińskiego zanieczyszczone są substancjami toksycznymi, których mobilność jest raczej ograniczona, ale które są

biodostępne dla organizmów bezpośrednio żyjących w osadzie. Zanieczyszczenie osadów przez substancje toksyczne wynika z ich akumulacji w osadzie, proces ten trwa przez lata i wynika z działalności gospodarczej prowadzonej na terenie zalewu oraz jest rezultatem nanoszenia osadów wraz z wodami Odry.

4.7.3. Wyniki oceny zależności pH- mobilność metali i jej wpływu na toksyczność badanych próbek osadów

Przeprowadzone badania potwierdziły istnienie zależności pomiędzy pH a wymywalnością metali: procent wymycia metali z matrycy (w tym przypadku-osadów dennych) wzrasta wraz ze spadkiem wartości pH stosowanego ekstrahenta. Okazało się, iż parametr ten pozostaje także w związku z zawartością materii organicznej: wraz ze wzrostem jej zawartości w próbce, procent wymycia maleje. Wzrost procentu wymycia metali z matrycy obserwowano natomiast w przypadku próbek, w których dominującym materiałem był piasek.

Badane wodne ekstrakty z osadów dennych charakteryzowały się bardzo wysoką toksycznością w stosunku do wszystkich organizmów wskaźnikowych (bakterie, skorupiaki, glony). Zastosowanie mikrobiotestów potwierdziło istnienie zależności pomiędzy pH ekstrahenta, a toksycznością badanych próbek osadów dennych (świadczą o tym niskie wartości liczbowe parametrów EC_{50} oraz EC_{20}).

Dominującym zanieczyszczeniem w analizowanych ekstraktach wodnych z badanych próbek osadów dennych był cynk. Wydaje się więc, iż efekty toksyczne obserwowane u organizmów wskaźnikowych należałoby powiązać z obecnością tego metalu. Wskazuje na to także stosunkowo wysoka korelacja pomiędzy logarytmem stężenia tego metalu a oszacowanymi, wobec bakterii *Vibrio fischeri* i skorupiaka *Daphnia magna*, parametrami toksyczności.

Uzyskane wyniki sugerować mogą, że frakcja uznawana za biodostępną (I i II frakcja) w 6-stopniowej ekstrakcji sekwencyjnej jest ilościowo tożsama z frakcją, która jest wymywana w trakcie ekstrakcji za pomocą zakwaszonej wody (pH=2). Wymywanie wodą o pH=2 można więc uznać za prostsze i mniej kosztowne oznaczenie niż ekstrakcja sekwencyjna.

5. PODSUMOWANIE

Jeszcze do niedawna, ocena jakości zarówno wód powierzchniowych jak i podziemnych oraz osadów opierała się przede wszystkim na wynikach badań parametrów fizykochemicznych (monitoring chemiczny). Różnorodność chemiczna zanieczyszczeń (związki nieorganiczne, organiczne, metaloorganiczne) i ich ilość sprawia jednak, że monitoring chemiczny jest bardzo kosztowny. Dodatkowo, wymaga on utrzymywania sieci specjalistycznych laboratoriów, wyposażonych w odpowiedni sprzęt, obsługiwany przez wysokiej klasy specjalistów. Biorąc pod uwagę względy finansowe, wymuszające konieczność ograniczenia ilości możliwych do przeprowadzenia oznaczeń zidentyfikowanych (znanych) zanieczyszczeń środowiskowych (zakres badanych związków, częstotliwość analiz i ilość punktów monitoringowych) oraz względy analityczne (niemożność lub trudność w zidentyfikowaniu wszystkich zanieczyszczeń występujących w badanym elemencie środowiska oraz opracowania odpowiednich procedur ich oznaczania) należy stwierdzić, że pełna wiedza o poziomie chemicznego zanieczyszczenia środowiska jest praktycznie niemożliwa do uzyskania. Podkreślić, należy również fakt, iż nawet kompletna baza danych monitoringowych nie pozwala bezpośrednio określić możliwych efektów biologicznych, jakie w badanym ekosystemie wywołać może określona mieszanina zanieczyszczeń.

Dlatego też, tradycyjne, fizykochemiczne podejście do oceny zanieczyszczenia środowiska od kilku już lat uzupełniane jest przez monitoring biologiczny (biomonitoring), a w ostatnich latach także przez badania ekotoksykologiczne. Niewątpliwie, takie podejście może być źródłem nowych, istotnych informacji o stanie abiotycznej części środowiska.

Monitoring ekotoksykologiczny stanowi doskonałe uzupełnienie monitoringu chemicznego i pozwala na szybką reakcję w przypadku pojawiającego się zagrożenia, co w konsekwencji eliminuje lub ogranicza negatywne wpływy na biotę.

W szeregu państw europejskich (Holandia, Anglia, Irlandia, Włochy, Niemcy) stosuje się już ekotesty w ramach odpowiednich narodowych programów monitoringowych. Również Komisja Europejska w Ramowej Dyrektywie Wodnej, nakazując państwom- członkom Unii Europejskiej- osiągnięcie dobrego stanu ekologicznego wód powierzchniowych i podziemnych do 2015 roku, pośrednio wskazuje na konieczność stosowania biotestów. W aktach niższego rzędu (np. Wytyczne do

monitoringu i oceny rzek transgranicznych), odpowiednie instytucje Unii Europejskiej wskazują, iż ocena jakości wód w zlewniach i ekologiczne funkcjonowanie ekosystemów wodnych wymaga integracji następujących elementów:

- analizy fizykochemicznej próbek wody, zawiesiny, osadów i żyjących organizmów;
- oceny ekotoksykologicznej;
- przeglądu biologicznego.

Również Komisja Helsińska zaleca stosowanie badań ekotoksykologicznych (zalecenia nr 23/10; 23/11 i 23/12 z marca 2002 r.) do monitoringu zrzutu ścieków z zakładów chemicznych, produkujących lub konfekcjonujących pestycydy oraz ścieków z zakładów tekstylnych.

Niestety, pomimo pojawiających się w prawodawstwie Polski, Unii Europejskiej, jak i w zaleceniach instytucji zajmujących się zagadnieniami monitoringu środowiska zapisów odnośnie stosowania biotestów do oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska, brak jest wciąż wiedzy i umiejętności pozwalających na rutynowe ich stosowanie w monitoringu środowiska.

Wydaje się więc konieczne i uzasadnione kontynuowanie badań, tak aby uzyskać dodatkowe informacje niezbędne do wyjaśnienia znaczenia wartości liczbowych parametrów toksyczności (uzyskiwanych z wykorzystaniem odpowiednich biotestów) w interpretacji informacji o stanie zanieczyszczenia środowiska.

Nadrzędnym celem jaki postawiono przy planowaniu programu badawczego będącego podstawą tej rozprawy doktorskiej było sprawdzenie przydatności biotestów jako jednego z narzędzi do oceny stopnia zanieczyszczenia ekosystemów wodnych. Na poligon badawczy wytypowano:

- składowisko odpadów komunalnych, zlokalizowane na terenie województwa pomorskiego;
- jedną z zatok Morza Bałtyckiego- Zalew Szczeciński.

Przeprowadzone badania pozwoliły na oszacowanie toksyczności ostrej próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół terenu składowiska oraz próbek osadów dennych pobranych z odwiertów wykonanych w czaszy Zalewu Szczecińskiego. Podjęto również próbę określenia zależności pomiędzy mobilnością metali a toksycznością próbek. Do tego celu wykorzystano próbki osadów dennych pobranych na różnych głębokościach z odwiertów wykonanych w dnie Jeziora Turawskiego.

Do oceny jakości ekotoksykologicznej badanych próbek wykorzystano następujące organizmy wskaźnikowe:

- morskie bakterie bioluminescencyjne *Vibrio fischeri*- test *Microtox*[®] (destruenci);
- skorupiaki *Daphnia magna*- test *Daphtoxkit FTM magna* (konsumenci);
- skorupiaki *Thamnocephalus platyurus*- test *Thamnotoxkit FTM* (konsumenci);
- rośliny 1-liścienne: *Sorghum sacharatum* oraz 2-liścienne: *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*- test *Phytotoxkit FTM* (producenci);
- algi *Selenastrum capricornutum*- test *Algaltoxkit FTM* (producenci).

Dodatkowo, podjęto również próbę oceny jakości ekotoksykologicznej badanych próbek wód podziemnych w oparciu o zalecenia Komisji Helsińskiej oraz system klasyfikacji zagrożeń do oceny jakości ekotoksykologicznej wód naturalnych zaproponowany przez prof. Persoone'a. Oceny jakości ekotoksykologicznej próbek osadów dennych dokonano natomiast w oparciu o system klasyfikacji opracowany w ramach projektu *ARGE-Elbe*.

Wyniki uzyskane w trakcie realizacji poszczególnych zadań badawczych mogą być podstawą do następujących spostrzeżeń i wniosków dotyczących:

➤ **wykorzystania biotestów jako efektywnego narzędzia do oceny jakości środowiska:**

- Wykorzystanie biotestów potwierdziło, iż składowisko odpadów komunalnych w Gdańsku- Szadółkach wywiera wpływ i obniża jakość ekotoksykologiczną wód podziemnych pochodzących z pierwszego (QI1) i drugiego (QI2) poziomu wodonośnego;
- W przypadku próbek wód podziemnych, które pobierano z obszaru zlokalizowanego na odpływie ze składowiska odnotowano, w porównaniu z próbkami wód pobranymi z piezometrów zlokalizowanych na dopływie do składowiska, zauważalny wzrost toksyczności w stosunku do wszystkich organizmów wskaźnikowych. Jednocześnie, próbki te charakteryzowały się także znacznie gorszymi parametrami fizykochemicznymi (najczęściej były przekraczane wartości normatywne takich parametrów jak: przewodność elektrolityczna właściwa oraz całkowita zawartość węgla organicznego). Sytuacja taka może świadczyć o migracji zanieczyszczeń wraz z odciekami do wód powierzchniowych i podziemnych (składowisko nie posiada uszczelnienia kwatery składowej);

- Zróżnicowane wyniki, otrzymane w trakcie badań próbek zebranych w kolejnych turach pomiarowych, potwierdzają konieczność monitorowania jakości wód podziemnych i powierzchniowych wokół terenu składowiska w określonych odstępach czasowych;

- Biotesty można traktować jako skuteczne narzędzie w ocenie jakości ekotoksykologicznej osadów dennych. Monitoring osadów dennych ma szczególne znaczenie, ponieważ pełnią one funkcję tzw. pamięci długookresowej zbiornikazdeponowane w nich substancje mogą pozostawać tam przez wiele lat. Zanieczyszczenia akumulowane są w osadach dennych głównie na drodze sedymentacji zawiesin i adsorpcji ksenobiotyków przez cząstki składników osadów. Zazwyczaj stężenia substancji szkodliwych zdeponowanych w osadach znacznie przewyższają ich zawartości w wodzie. Substancje te mogą być jednak uwalniane do wody na skutek zmian zachodzących w środowisku wodnym, takich jak:

- warunki hydrologiczne;
- natlenienie;
- pH.

Dlatego też, tak ważne jest podejmowanie działań w zakresie odpowiedniego monitorowania zanieczyszczenia osadów dennych;

- Wyniki przeprowadzonych badań ekotoksykologicznych pozwalają na szybką identyfikację incydentalnych zrzutów substancji niebezpiecznych na składowisku lub w przypadku zbiorników wodnych- niekontrolowanych zrzutów ścieków ze statków;

- Otrzymane wyniki wskazują na zasadność stosowania biotestów w monitoringu, szczególnie na etapie badań przesiewowych. Oszacowana toksyczność badanych próbek uwzględnia bowiem obecność substancji toksycznych nieznanych bądź nieobjętych rutynowymi procedurami monitoringu chemicznego, przez co jest on bardziej wiarygodny, niż w przypadku stosowania tradycyjnych metodyk z zakresu analityki chemicznej;

- Konieczne jest prowadzenie dalszych badań wdrożeniowych, które pozwolą na wybór optymalnej baterii biotestów oraz opracowanie jednolitej klasyfikacji ekotoksyczności. Konsekwencją tych działań powinno być włączenie biotestów do regulowanych prawnie procedur monitoringu środowiska;

➤ **porównania systemów klasyfikacji ekotoksykologicznej badanych próbek środowiskowych:**

- Informacje uzyskane w wyniku zastosowania różnych systemów klasyfikacji toksyczności badanych próbek, mianowicie: systemu autorskiego oraz systemu zaproponowanego przez Persoone'a są zbieżne;

- Informacje uzyskane w rezultacie zastosowania klasyfikacji zaproponowanej przez HELCOM i Krebs'a pokrywają się dla zdecydowanej większości badanych próbek wód;

- Systemy klasyfikacji dla wód naturalnych wprowadzony przez Persoone'a stanowi bardziej rygorystyczny system oceny toksyczności niż klasyfikacja zaproponowana przez HELCOM i Krebs'a;

- Wykorzystanie systemów klasyfikacji ekotoksykologicznej pozwala na łatwą i szybką ocenę jakości ekotoksykologicznej próbek środowiskowych;

- Wydaje się, że wykorzystanie w monitoringu ekotoksyczności próbek środowiskowych, systemu klasyfikacji proponowanego przez Persoone'a i współpracowników może się przyczynić do uzyskania pełniejszej informacji, niezbędnej do oceny ryzyka wynikającego z zanieczyszczenia badanego elementu środowiska.

➤ **oceny zależności występujących pomiędzy klasyfikacją chemiczną i ekotoksykologiczną badanych próbek środowiskowych:**

- Porównanie klasyfikacji wód podziemnych na podstawie wyników badań ekotoksykologicznych z klasyfikacją parametrów chemicznych (według Rozporządzenia Ministra Środowiska) i w efekcie brak prostych korelacji między nimi stanowi mocną podstawę do tezy, że nie zawsze wskaźniki chemiczne są wystarczającym źródłem informacji o poziomie zanieczyszczenia badanego elementu środowiska;

- Na uwagę zasługuje fakt, iż nie zawsze zła jakość fizykochemiczna badanych próbek środowiskowych jest równoznaczna z ich jakością ekotoksykologiczną, np. dla części próbek wód pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół terenu składowiska obserwowano przypadki, w których wysokie stężenia analitów klasyfikowało próbkę do wód złej jakości (V klasa), natomiast informacja uzyskana dzięki użyciu baterii mikrobiotestów pozwalała na przypisanie jej I lub II klasy toksyczności (odpowiednio: brak efektu toksycznego lub znikomy wpływ na czynności życiowe organizmów). Odnotowywane były również sytuacje odwrotne, kiedy efekt toksyczny przekraczał 75%

(IV klasa toksyczności), a wyniki badań fizykochemicznych stanowiły podstawę do zakwalifikowania wód do II klasy jakości;

- Wyniki przeprowadzonych badań mogą być podstawą do stwierdzenia, że ocena jakości danego elementu środowiska oparta wyłącznie na wynikach monitoringu parametrów chemicznych jest niepełna i powinna być obligatoryjnie uzupełniona o wyniki badań ekotoksykologicznych. Jest to tym bardziej uzasadnione ze względu na fakt, że dostępne obecnie mikrobiotesty umożliwiają rutynowe wykonywanie takich badań bez konieczności prowadzenia uciążliwej hodowli odpowiednich organizmów wskaźnikowych.

➤ **porównania wrażliwości organizmów wskaźnikowych wobec mieszaniny zanieczyszczeń zawartych w próbkach środowiskowych:**

- Zróżnicowane odpowiedzi organizmów wskaźnikowych na badaną próbkę wynikają z osobniczych cech poszczególnych organizmów oraz z czasu ich ekspozycji na działanie ksenobiotyków obecnych w badanych próbkach;

- Istotny jest również fakt, iż w przypadku oceny ekotoksykologicznej próbek osadów dennych test toksyczności ostrej wobec bakterii *Vibrio fischeri* i skorupiaka *Thamnocephalus platyurus* przeprowadza się badając odpowiedni ekstrakt wodny uzyskany z próbki osadu. Zatem obserwowana toksyczność ostra wobec tych organizmów wskaźnikowych może być związana z występowaniem w badanych próbkach zanieczyszczeń, które obecne są w fazie wodnej. Natomiast testy roślinne oraz test *Ostracodtoxkit FTM chronic* są testami bezpośredniego kontaktu z badaną próbką osadu. Wydaje się, iż w tym przypadku za stwierdzoną toksyczność odpowiedzialne są w głównej mierze- związki wykazujące tendencję do sorpcji na cząstkach osadu.

➤ **doboru optymalnego składu baterii mikrobiotestów:**

- Porównanie obserwowanych efektów toksycznych w stosunku do bakterii, skorupiaków oraz roślin, które są wywołane przez obecność w analizowanych próbkach różnorodnej mieszaniny zanieczyszczeń, pozwala na stwierdzenie, iż dopiero zastosowanie baterii mikrobiotestów daje pełen obraz możliwych oddziaływań mogących mieć szkodliwy wpływ na dany ekosystem;

- Optymalna bateria biotestów wykorzystywana do oceny jakości środowiska powinna obejmować:

➤ bakterie *Vibrio fischeri* (test *Microtox*®);

- skorupiaki *Thamnocephalus platyurus* (test *Thamnotoxkit FTM*);
- roślinę *Sorghum saccharatum* (test *Phytotoxkit FTM*).

Ze względu na otrzymanie podobnych odpowiedzi w przypadku każdego z wykorzystanych w badaniach gatunków roślin, zastosowanie *Sorghum saccharatum* uznano za wystarczające. Roślinę wybrano głównie z uwagi na rozmiar nasion, który znacznie ułatwia przeprowadzenie testu. Skorupiaki *Thamnocephalus platyurus* wskazano jako najbardziej wrażliwe organizmy testowe spośród wszystkich użytych w badaniach ekotoksykologicznych- mogą być traktowane jako najwłaściwsze narzędzie do uzyskiwania informacji o potencjalnym wpływie toksycznym na organizmy żywe. Za wykorzystaniem testu *Microtox*® przemawia natomiast szereg jego zalet. Jako najważniejsze należałoby wymienić:

- stosunkowo niski koszt wykonania badań;
- możliwość uzyskania szybkiej odpowiedzi na temat toksyczności badanej próbki (już po 5- 30 minutach);
- elastyczny dobór czasu inkubacji organizmów (5-30 min).

Powyższe argumenty należy uznać za wystarczające dla decyzji o doborze optymalnego składu baterii mikrobiotestów. W zależności od tego jaka informacja o stanie środowiska jest oczekiwana, istnieje możliwość wyboru jednego lub dwóch z wyszczególnionych organizmów. Jako podstawowe narzędzie, uzupełniające klasyczny monitoring chemiczny należałoby wskazać (ze względu na przystępność, prostotę wykonania oraz cenę analizy pojedynczej próbki) test *Microtox*®.

➤ **wplywu pH ekstrahenta na wymywalność metali:**

- Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że wymywalność metali rośnie wraz ze spadkiem pH ekstrahenta. Najwyższy wzrost stężenia metali w ekstrakcie obserwowano w przypadku próbek, których główny składnik matrycy stanowił piasek. Natomiast, w przypadku próbek o dużej zawartości materii organicznej stężenie metali w ekstrakcie wzrastało w stosunkowo niewielkim stopniu;

- Uzyskane wyniki sugerują, że frakcja uznawana za biodostępną (I i II frakcja uzyskana w wyniku zastosowania 6-etapowej procedury ekstrakcji sekwencyjnej) jest ilościowo tożsama z frakcją, która jest wymywana w trakcie ekstrakcji za pomocą wody o pH=2. Wymywanie za pomocą zakwaszonej wody (pH=2) można więc uznać za prostsze i mniej kosztowne oznaczenie niż ekstrakcja sekwencyjna;

- Wydaje się, że ekstrakcja za pomocą zakwaszonej wody (pH=2) może być skutecznym narzędziem wykorzystywanym do oceny intensywności procesu wymywania metali z próbek osadów. Zastosowanie czynnika ekstrakcyjnego o pH=7 pozwala na uzyskanie frakcji, która może być źródłem niepełnej informacji odnośnie biodostępności ksenobiotyków obecnych w fazie wodnej. Zastosowanie czynnika ekstrakcyjnego o większym stopniu zakwaszenia zapewnia możliwość uzyskania dodatkowych informacji odnośnie biodostępności związków, które wykazują tendencję do sorpcji na cząstkach osadu. Dotychczas, zagadnienie to jest rozpoznane w niewielkim stopniu, konieczne są więc dalsze projekty badawcze poruszające ten temat

6. LITERATURA

1. Schwarzenbach R.P., Escher B.I., Fenner K., Hofstetter T.B., Johnson C.S., von Gunten W., Wehrli B., *Science*, **313**, 1072 (2006).
2. U Thant S., Report: Global development, the turning point (1969).
3. Brundtland G.H., Commission report: Our Common Future (1987).
4. Benfenati E., Barcelo D., Johnson I., Galassi S., *Trends Anal. Chem.*, **22**, 757 (2003).
5. Bispo A., Jourdain M.J., Jauzein M., *Org. Geochem.*, **30**, 947 (1999).
6. Galassi S., Benfenati E., *J. Chromatogr. A*, **889**, 149 (2000).
7. Kristensen P., Krogsgaard J., *Eur. Water Pollut. Control.*, **7**, 36 (1997).
8. Eilersen A.M., Arvin E., Henze M., *Water Sci. Technol.*, **50**, 277 (2004).
9. Galassi S., Guzzella L., Croce V., *Chemosphere*, **54**, 1619 (2004).
10. Dyrektywa 2000/60/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 października 2000 r. ustanawiająca ramy wspólnotowego działania w dziedzinie polityki wodnej.
11. Baun A., Ledin A., Reitzel L.A., Bjerg P.L., Christensen T.H., *Wat. Res.*, **38**, 3845 (2004).
12. Wolska L., Mińkowski M., Kuczyńska A., Namieśnik J. *Chem. Inż. Ekol.*, **10**, 575 (2003).
13. Manusadžianas L., Balkelyte L., Sadauskas K., Blinova I., Pollumaa L., Kahru A., *Aquatic Toxicol.*, **63**, 27 (2003).
14. Persoone G., *Zeitschr. für Angew. Zool.*, **79**, 17 (1992a).
15. Persoone G., Cyst - based toxicity tests: VI. Toxkits and Fluotox tests as cost-effective tools for routine toxicity screening. In: Steinhauser, K.G., Hansen, P.D., editors. *Biologische Testverfahren*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, p. 563-576 (1992).
16. Persoone G., Development and first validation of a "stock culture free" algal microbiotest: the Algaltoxkit. In: Wells, P.G., Lee, K., Blaise, C., editors. *Microscale aquatic toxicology, advances, techniques and practice*. Boca Raton, FL: CRC Lewis Publishers, Chapter 20, p 311-320 (1998).
17. Persoone G., Development and validation of Toxkit microbiotests with invertebrates in particular crustaceans. In: Wells, P.G., Lee, K., Blaise, C., editors. *Microscale aquatic toxicology, advances, techniques and practice*. Boca Raton, FL: CRC Lewis Publishers, Chapter 20, p 437-449 (1998).
18. Kuczyńska A., Wolska L., Namieśnik J., Zastosowanie biotestów w badaniach środowiskowych. W: *Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym*. (Praca zbiorowa pod redakcją J. Namieśnika, W. Chrzanowskiego i P. Szpinek), CEAM, Gdańsk, 2003, str. 667-698.
19. <http://www.tigret.pl/>. (strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
20. EPA, 40 CFR Part 136. Guidelines establishing test procedures for the analysis of pollutants; whole effluent toxicity test method; final rule. *Federal Register*, **67**, 69951-69972 (1998).
21. Tonkes M., Pols H., Warmer H., Bakker V., Whole-effluent assessment. RIZA – report 98.034 (1998).
22. Ho K.T., Burgess R.M., Pelletier M.C., Serbst J.R., Ryba S.A., Cantwell M.G., Kuhn A., Raczekowski P., *Mar. Pollut. Bull.*, **44**, 286 (2002).
23. Nendza M., *Chemosphere*, **48**, 865 (2002).
24. Nohava M., Vogel W.R., Gaugitsch H., *Environ. Int.* **21**, 33 (1995).
25. Wyszowska J., Kucharski J., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **492**, 435 (2003).
26. <http://www.republika.pl/sakar/toksyczn.htm> (strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
27. Balety G.E., Apte S.C., Stauber J.L., *Aust.J.Chem.*, **57**, 903 (2007).
28. Baran S., Turski R., Degradacja, ochrona i rekultywacja gleb. Wyd. Akademii Rolniczej w Lublinie, Lublin, 1996.
29. Węglarzy K., *Biul. Inform.*, **39**, 83 (2001).
30. Chłopecka A., Wpływ różnych związków kadmu, miedzi, ołowiu i cynku na formy tych metali w glebie oraz na ich zawartości w roślinach. Praca doktorska. IUNG, Puławy, 1994.
31. Filipek T., Domańska J., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **482**, 157 (2002).1
32. Kuokkanen T., Pöykiö R., Nurmesniemi H., Rämö J., *Chem. Spec. Bioavailab.*, **18**, 131 (2006).
33. Filgueiras A.V., Lavilla I., Bendicho C., *J. Environ. Monit.*, **4**, 823 (2002).

34. Das A.K., Chakraborty R., Cervera M.L., de la Guardia M., *Talanta*, **42**, 1007 (1995).
35. Fernández Alborés A., Pérez Cid B., Fernández Gómez E., Falqué López E., *Analyst*, **124**, 1353 (2000).
36. Glyzes Ch., Tellier S., Astruc M., *Trends Anal. Chem.*, **21**, 6 (2002).
37. Tessier A., Campbell P.G.C., Bisson M., *Anal. Chem.*, **51**, 844 (1979).
38. Kenndy V.H., Sanchez A.L., Oughton D.H., Rowland A.P., *Analyst*, **122**, 89R (1997).
39. Žemberyová M., Barteková J., Závadská M., Šišoláková M., *Talanta*, **71**, 1661 (2007).
40. Sposito G., Lund L.J., Chang A.C., *Soil. Sci. Soc. Am. J.*, **46**, 260 (1982).
41. Kersten M., Förstner U., *Water Sci. Technol.*, **18**, 121 (1986).
42. Hirner A.V., Kritsotakis K., Tobschall H.J., *Appl. Geochem.*, **5**, 491 (1990).
43. Miller W.P., McFee W.W., *J. Environ. Qual.*, **12**, 29 (1983).
44. Emsley J., *Chemia. Przewodnik po pierwiastkach*. WN PWN, Warszawa, 1997.
45. Mocek A., *Ekol. Techn.*, **12**, 3 (2004).
46. Korzeniowska J., Stanisławska-Głubiak E., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **493**, 167 (2003).
47. Alloway B. J., Ayres D. C., *Chemiczne podstawy zanieczyszczenia środowiska*. WN PWN, Warszawa, 1999.
48. Karczewska A., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **482**, 275 (2002).
49. Kabata-Pendias A., Pendias H., *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. WN Warszawa, 1999.
50. Koc J., Glińska-Lewczuk K., SolarSKI K., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **493**, 159 (2003).
51. http://plepleple.blog4u.pl/upload/proces_glebotworczy_maly.gif
(strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
52. Drozd J., Licznar M., Pisarek I., *Gleboznawstwo przewodnik do ćwiczeń dla studentów szkół wyższych*. Wyd. skryptowe WSP. Opole, 1992.
53. Właśniewski S., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **493**, 279 (2003).
54. Terelak H., Motowicka-Terelak T., Maliszewska-Kordybach B., Pietruch Cz., *Monitoring chemizmu gleb ornych Polski, Program badań i wyniki 1995 i 2000*. Bibl. Monitor. Środow. PIOŚ, Warszawa, 2002.
55. Bednarek R., Dziadowiec H., Pokojska U., Prusinkiewicz Z., *Badania ekologiczno-gleboznawcze*. WN PWN, Warszawa, 2004.
56. Kowalkowski T., Buszewski B., *Ekol. Techn.*, **10**, 3 (2002).
57. Karczewska A., *Zesz. Nauk. Akademii Rolniczej we Wrocławiu*, **432**, 7 (2002).
58. Gąsczyk R., Muszyński P., Szeremeta J., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **482**, 165 (2002).
59. Łabętowicz J., Rutkowska B., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **482**, 343 (2002).
60. Karczewska A., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **482**, 269 (2002).
61. Kocowicz A., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **482**, 281 (2002).
62. Kucharski J., Hłasko A., Wyszowska J., *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, **476**, 173 (2001).
63. Sady W., *Przem. Ferment. Owoc.-Warzyw.*, **5**, 21 (2001).
64. Domagała-Świątkiewicz I., Sady W., *Owoce-Warzywa-Kwiaty*, **15**, 27 (2001).
65. Woźny A., *Ołów w komórkach roślinnych: pobieranie, reakcje, odporność*. Wyd. Sorus, Poznań, 1995.
66. Gambuś F., *Acta Agr. et Silv. Ser. Agr.*, **35**, 21 (1997).
67. Gwóźdź E.A., Kopyra M., *Biotechnologia*, **3**, 107 (2003).
68. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 roku w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi (Dz. U. Nr 165, poz. 1359)
69. Mantis I., Voutsas D., Samara C., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **62**, 397 (2005).
70. Bulich A.A., Greene M.W., Isenberg D.L., Reliability of the bacterial luminescence bioassay for the determination of toxicity of pure compounds and complex effluents, [W]: *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Fourth Conference*, ASTM STP737, D.R. Branson, K.L. Dickson, Eds., ASTM, s. 338-347 (1981).
71. Kiebling M., Rayner-Brandes M., *GIT Lab. J.*, **4**, 254 (1998).
72. Wang C., Wang Y., Kiefer F., Yedeler A., Wang Z., Kettrup A., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **56**, 211 (2003).
73. Lewis M.A., *Environ. Pollut.*, **87**, 319 (1995).
74. Wang W., Freemark K., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **30**, 289 (1995).

75. Oleszczuk P., *Waste Manage*, **28**, 1645 (2008).
76. Oleszczuk P., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **69**, 496 (2008).
77. Mankiewicz-Boczek J., Nałęcz-Jawecki G., Drobniewska A., Kaza M., Sumorok B., Izydorczyk K., Zalewski M., Sawicki J., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **71**, 830 (2008).
78. Apostolos G., Gidarakos E., Skouta A., *J. Environ. Manage.*, **86**, 535 (2008).
79. Samaras P., Papadimitriou C.A., Haritou I., Zouboulis A.I., *J. Hazard. Mater.*, **154**, 1052 (2008).
80. Papadimitriou C.A., Haritou I., Samaras P., Zouboulis A.I., *Environ. Res.*, **106**, 340 (2008).
81. Stauber J.L., Davies C.M., *Environ. Rev.*, **8**, 255 (2000).
82. Fargašová A., Bumbálová A., Havránek E., *Chemosphere*, **38**, 1165 (1999).
83. Halling-Sørensen B., *Chemosphere*, **40**, 731 (2000).
84. Chen Y.Ch., *Aquaculture*, **195**, 71 (2001).
85. Stauber J.L., Franklin N.M., Adams M.S., *Trends Biotechnol.*, **20**, 141 (2002).
86. Svedrup L.E., Fürst Ch.S., Weideborg M., Vik E.A., Stenersen J., *Chemosphere*, **46**, 311 (2002).
87. Šepič E., Bricelj M., Leskovšek H., *Chemosphere*, **52**, 1125 (2003).
88. Rojíčková-Padrtová R., Maršálek B., *Chemosphere*, **38**, 3329 (1999).
89. Okamura H., Piao M., Aoyama I., Sudo M., Okubo T., Nakamura M., *Environ. Pollut.*, **117**, 411 (2002).
90. Halling-Sørensen B., Nyholm N., Baun A., *Chemosphere*, **32**, 1513 (1996).
91. Baun A., Justesen K.B., Nyholm N., *Chemosphere*, **46**, 251 (2002).
92. Baun A., Bussarawit N., Nyholm N., *Environ. Pollut.*, **102**, 185 (1998).
93. LeBlond J.B., Duffy L.K., *Sci. Total Environ.*, **271**, 49 (2001).
94. Twist H., Edwards A.C., Codd G.A., *Water Res.*, **32**, 2471 (1998).
95. Cleuvers M., Weyers A., *Water Res.*, **37**, 2718 (2003).
96. Cleuvers M., Ratte H.T., *Water Res.*, **36**, 2173 (2002).
97. Hund K., *Chemosphere*, **35**, 1069 (1997).
98. Wundram M., Selmar D., Bahardi M., *Chemosphere*, **32**, 1623 (1996).
99. Toricelli L., Manzo S., Accornero A., Manfra L., *Fresenius Environ. Bull.*, **11** (2002).
100. Bruno E., Elkund B., *Environ. Pollut.*, **125**, 287 (2003).
101. Fairchild J.F., Sappington L.C., Ruessler D.S., Proc. Tech. Meet. U.S. Geol. Surv., An ecological risk assessment of the potential for herbicide impacts on primary productivity of Lower Missouri River, Charleston, South Carolina, March 8-12, 1999.
102. Fairchild J.F., Ruessler D.S., Haverland P.S., Carlson A.R., *Arch. Environ. Toxicol.*, **32**, 353 (1997).
103. Fairchild J.F., Ruessler D.S., Carlson A.R., *Environ. Toxicol. Chem.*, **17**, 1830 (1998).
104. Marwood Ch.A., Solomon K.R., Greenberg B.M., *Environ. Toxicol. Chem.*, **20**, 890 (2001).
105. Battaglin W., Fairchild J., *Wat. Sci. Technol.*, **45**, 95 (2002).
106. Ronco A., Gagnon P., Diaz-Baez M.C., Arkhipchuk V., Castillo G., Castillo L.E., Dutka B.J., Pica-Granados Y., Ridal J., Srivastava R.C., Sánchez A., *Environ. Toxicol.*, **17**, 232 (2002).
107. Diaz-Baez M.C., Sanchez A., Dutka B.J., Ronco A., Castillo G., Pica-Granados Y., Castillo L.E., Ridal J., Arkhipchuk V., Srivastava R.C., *Environ. Toxicol.*, **17**, 241 (2002).
108. Prokop Z., Vangheluwe M.L., Van Sprang P.A., Janssen C.R., Holoubek I., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **54**, 65 (2003).
109. Thygesen R.S., Trapp S., *J. Soils & Sediments*, **2**, 77 (2002).
110. <http://www.purcellmountainfarms.com/Sorghum%20Grain%20crop%20043.jpg>
(strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
111. http://img.alibaba.com/photo/105701403/Lepidium_Sativum_Flex_Seeds.jpg
(strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
112. http://www.fuszerek.extra.hu/index_elemei/fehermustar1.jpg
(strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
113. Helcom Recommendation 23/11. Requirements for discharging of waste water from the chemical industry, Adopted 6 March 2002, having regard to Article 20, Paragraph 1 b) of the Helsinki Convention. Annex 13, Helsinki, Finland, 61-66 (2002).

114. Helcom Recommendation 23/12. Reduction of discharges and emissions from production of textiles, Adopted 6 March 2002, having regard to Article 20, Paragraph 1 b) of the Helsinki Convention. Annex 14, Helsinki, Finland, 67-72 (2002).
115. Helcom Recommendation 23/10. Reduction of discharges and emissions from production and formulation of pesticides, Adopted 6 March 2002, having regard to Article 20, Paragraph 1 b) of the Helsinki Convention. Annex 12, Helsinki, Finland, 56-60 (2002).
116. Persoone G., Marsalek B., Blinova I., Törökne A., Zarina D., Manusadžianas L., Nałęcz-Jawecki G., Tofan L., Stepanova N., Tothova L., Kolar B., *Environ. Toxicol.*, **18**, 395 (2003).
117. Boluda R., Quintanilla J.F., Bonilla J.A., Sáez E., Gamón M., *Chemosphere*, **46**, 355 (2002).
118. Krebs F., *GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium*, **32**, 293 (1998).
119. Decyzja Komisji z dnia 24 maja 2006 r. w sprawie przepisów krajowych zgłoszonych przez Republikę Czeską na podstawie art. 95 ust. 4 traktatu WE, dotyczących maksymalnej dopuszczalnej zawartości kadmu w nawozach (2006/390/WE).
120. Reincke H., Schulte-Oehlmann U., Duft M., Markert B., Oehlmann J., Stachel B., Biologisches Effektmonitoring an Sedimenten der Elbe mit *Potamopyrgus antipodarum* und *Hinia (Nassarius) reiculata* (Gastropoda: Prosobranchia). ARGE-Elbe (2001).
121. Grote M., Altenburger R., Brack W., Moschütz S., Mothes S., Michael C., Narten G.B., Paschke A., Schirmer K., Walter H., Wennrich R., Wenzel K.D., Schüürmann G., *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, **33**, 555 (2005).
122. Małaczyński M., Majorkowski A., Wieszczyński T., Pomowski K., Tichbar A., Łabieniec K., Przegląd Ekologiczny dla Składowiska Odpadów Gdańsk Szadółki (2002).
123. Tyszecki A., Wniosek o wydanie pozwolenia zintegrowanego Zakład Utylizacyjny Sp. z o.o. w Gdańsku. Eko-Konsult, Gdańsk (2006).
124. Bystrzanowski W., Ocena Oddziaływania na Środowisko Przedsięwzięcia Inwestycyjnego, Dot. Budowy Zakładu Utylizacji Odpadów Komunalnych w Gdańsku-Szadółkach, INFRA TECH, Gdańsk (2001).
125. <http://www.zut.com.pl/> (strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
126. Ebelt M., Kiejzik-Głowińska M., Tyszecki A., Raport o oddziaływaniu na środowisko budowy zakładu unieszkodliwiania odpadów w Gdańsku Szadółkach. Eko-Konsult, Gdańsk (2005).
127. Andrzejewska D., Andrzejewski T., Behnke M., Godlewski J., Kiejzik-Głowińska M., Sadurski A., Szymański J., Toszecki A., Walc K., Wniosek o wydanie Pozwolenia Zintegrowanego ZUT Sp. z o.o. w Gdańsku, Ekokonsult, Gdańsk (2006).
128. Nyga-Głuch A., Monitoring składowiska odpadów komunalnych w Gdańsku-Szadółkach, Badania składu wód podziemnych, powierzchniowych i odciekowych. Raport za I kwartał 2008 roku, Eko-Projekt, Pszczyna (2008).
129. Nowak A., Monitoring składowiska odpadów komunalnych w Gdańsku-Szadółkach, Badania składu wód podziemnych, powierzchniowych i odciekowych. Raport za II kwartał 2008 roku, Eko-Projekt, Pszczyna (2008).
130. Stangret, J. Walczyk, Badania ilości i składu wód podziemnych, powierzchniowych oraz odcieków dla Zakładu Utylizacyjnego Sp. z o.o. w Gdańsku (SNG/TLC/Raport nr 1/2004), Saur Neptun Gdańsk, Gdańsk, 2004.
131. Walczyk J., Badania ilości i składu wód podziemnych, powierzchniowych oraz odcieków dla Zakładu Utylizacyjnego Sp. z o.o. w Gdańsku (SNG/TLC/Raport nr 2/2004), Saur Neptun Gdańsk, Gdańsk (2004).
132. Walczyk J., Badania ilości i składu wód podziemnych, powierzchniowych oraz odcieków dla Zakładu Utylizacyjnego Sp. z o.o. w Gdańsku (SNG/TLC/Raport nr 3/2004), Saur Neptun Gdańsk, Gdańsk (2004).
133. Walczyk J., Badania ilości i składu wód podziemnych, powierzchniowych oraz odcieków dla Zakładu Utylizacyjnego Sp. z o.o. w Gdańsku (SNG/TLC/Raport nr 4/2004), Saur Neptun Gdańsk, Gdańsk (2004).
134. Wiczyński M., Przybyłko- Rydzyk K., Moczulski G., Monitoring składowiska odpadów komunalnych w Gdańsku-Szadółkach, Badania składu wód podziemnych, powierzchniowych i odciekowych. Raport za 2005 rok, Eko-Projekt, Pszczyna (2006).

135. Ciechanowska-Żurek K., Monitoring składowiska odpadów komunalnych w Gdańsku-Szadółkach, Badania składu wód podziemnych, powierzchniowych i odciekowych. Raport za 2006 rok, Eko-Projekt, Pszczyna (2007).
136. Wojewoda Pomorski, Pozwolenie Zintegrowane (ŚR/Ś. IX.6619/30/06/07) Gdańsk (2007).
137. http://pl.wikipedia.org/wiki/Zalew_Szczeci%C5%84ski (strona dostępna 21.10.2009 r.)
138. http://www.skagen.pl/nasz_akwen.html (strona dostępna 21.10.2009 r.)
139. <http://www.viamichelin.com/viamichelin/int/dyn/controller/Maps#> (strona dostępna 21.10.2009 r.)
140. Raport o stanie środowiska w Województwie Zachodniopomorskim w latach 2004- 2005, Praca zbiorowa, WIOŚ, Szczecin (2007).
141. <http://www.wodnik.ow.pl/lokalizacja.html> (strona dostępna 21.10.2009 r.)
142. <http://www.turawa.pl> (strona dostępna 21.10.2009 r.)
143. Związek Gmin „Dolna Mała Panew” w Turawie, Czystość wody zbiornika „Turawa” gwarancją dobrego wypoczynku, Turawa- Opole (2002).
144. Raport końcowy z prac badawczych wykonanych w ramach projektu „Ocena stanu ekologicznego Jeziora Turawskiego w celu opracowania działań na rzecz jego poprawy” w dniach od 15.10.2003 r. do 14.12.2004 r. Umowa nr 1/PO/B/2003 z dnia 15.10.2003. Wykonawca: Uniwersytet Wrocławski, Instytut Nauk Geologicznych. Autorzy: Gurwin J., Kryza H., Kryza J., Kurowski L., Jędrysek M., Raczyński P., Solecki A., Szynekiewicz A., Wrocław (2004).
145. Wniosek o przyznanie dotacji ze środków Wojewódzkiego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Opolu na prace badawcze i ekspertyzy. Wnioskodawca: Pełnomocnik Rządu Do Spraw „Programu dla Odry 2006”. Nazwa zadania: Ocena stanu ekologicznego Jeziora Turawskiego w celu opracowania działań na rzecz jego poprawy.
146. Raport końcowy z prac badawczych wykonanych w ramach projektu „Ocena stanu ekologicznego Jeziora Turawskiego w celu opracowania działań na rzecz jego poprawy” w dniach od 15.10.2003 r. do 14.12.2004 r. Umowa nr 8/PO/B/2003 z dnia 15.10.2003. Wykonawca: Geoconsult Skowronek & Wróbel GbR. Autorzy: Skowronek A., Wróbel F., Hannover (2004).
147. Raport końcowy z prac badawczych wykonanych w ramach projektu „Ocena stanu ekologicznego Jeziora Turawskiego w celu opracowania działań na rzecz jego poprawy” w dniach od 15.10.2003 r. do 14.12.2004 r. Podsumowanie badań wraz z koncepcją remediacji Jeziora Turawskiego. Wykonawca: Uniwersytet Wrocławski, Instytut Nauk Geologicznych. Autorzy: Skowronek A., Gurwin J., Kryza J., Wrocław (2004).
148. Skowronek A., Projekt zintegrowanych prac pomiarowo – badawczych dla określenia obciążenia zbiornika wodnego zanieczyszczonymi osadami dennymi (na przykładzie zbiornika „Turawa”). Materiały konferencji naukowo – technicznej: Problemy ochrony zasobów wodnych w dorzeczu Odry, RZGW Wrocław, 05.2002, Szklarska Poręba.
149. Ciszewski D., Malik I., Zapis XX-wiecznej historii zanieczyszczenia rzeki Małej Panwi metalami ciężkimi w jej osadach. Przegląd Geologiczny, **51** (2003).
150. Lis J., Pasieczna A., Atlas Geochemiczny Polski, 1:2 500 000, PIG, Warszawa (1995).
151. Bojakowska I., Sokołowska G., Wyniki monitoringu chemicznego osadów wodnych Polski w latach 1991 – 1993, Biblioteka Monitoringu Środowiska PIOŚ, Warszawa (1994).
152. Wolska L., Kuczyńska A., Gurwin J., Protasowicki M., Namieśnik J., Ecotoxicity - a tool for assessment of the state of a lake polluted by the metallurgical industry and indication of a way towards remediation, Materiały Protection and restoration of the environment VIII, 3-7.07.2006, Chania, Kreta, Grecja, 637-638.
153. Nowak A., Monitoring składowiska odpadów komunalnych w Gdańsku-Szadółkach, Badania składu wód podziemnych, powierzchniowych i odciekowych, Raport za 2007 rok, „Eko-Projekt”, Pszczyna (2007).
154. PN-EN ISO 11348-2:2002, Jakość wody. Oznaczanie inhibicyjnego działania próbek wody na emisję światła przez *Vibrio fischeri* (badanie na bakteriach luminescencyjnych). Część 2: Metoda z zastosowaniem wysuszonych bakterii, Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.
155. Standard operational procedure: Daphtoxkit FTM magna. Crustacean Toxicity Screening Test for Freshwater. MicroBioTests Inc. Nazareth, Belgium.

156. Standard operational procedure: Thamnotoxkit FTM. Crustacean Toxicity Screening Test for Freshwater. MicroBioTests Inc. Nazareth, Belgium.
157. Standard operational procedure: Algaltoxkit FTM. MicroBioTests Inc. Nazareth, Belgium.
158. Standard operational procedure: Phytotoxkit FTM. MicroBioTests Inc. Nazareth, Belgium.
159. <http://www.biohidrica.cl/> (strona dostępna dnia 21.10.2009 r.)
160. Rozporządzeniu Ministra Środowiska z dnia 11 lutego 2004 r. w sprawie klasyfikacji dla prezentowania stanu wód powierzchniowych i podziemnych, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji wyników i prezentacji stanu tych wód (Dz. U. Nr 32, poz. 284)
161. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 23 lipca 2008 r. w sprawie kryteriów i sposobu oceny stanu wód podziemnych (Dz.U. 2008, Nr 143, poz. 896)
162. Ostracodtoxkit F. Chronic „direct contact“ toxicity test for freshwater sediments – Standard operational procedure, MicroBioTests Inc., Nazareth, Belgia
163. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 grudnia 2002 r. w sprawie zakresu, czasu, sposobu oraz warunków prowadzenia monitoringu składowisk odpadów (Dz. U. 02.220.1858)

7. STRESZCZENIE

Głównym celem pracy było sprawdzenie przydatności biotestów, jako jednego z narzędzi do oceny stopnia zanieczyszczenia ekosystemów wodnych oraz porównanie wrażliwości wykorzystanych w trakcie badań organizmów wskaźnikowych (bakterie *Vibrio fischeri*, skorupiaki *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*, rośliny *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*, *Sorghum saccharatum*).

W ramach pracy wykonano serię pomiarów pozwalających na określenie toksyczności ostrej:

- próbek wód podziemnych pobranych z piezometrów zlokalizowanych wokół terenu składowiska odpadów komunalnych;
- próbek osadów dennych pobranych z odwiertów wykonanych w czaszy Zalewu Szczecińskiego oraz Jeziora Jamno oraz Dąbie.

Na podstawie przeprowadzonych badań własnych oraz studiów literaturowych uzyskano następujące efekty:

- potwierdzono, iż biotesty stanowią cenne uzupełnienie tradycyjnego monitoringu fizykochemicznego;
- porównano wrażliwość, wykorzystywanych w trakcie badań, organizmów wskaźnikowych oraz zaproponowano optymalny skład baterii mikrobiotestów;
- uzyskane wyniki zinterpretowano pod kątem, dostępnych w literaturze, systemów klasyfikacji jakości ekotoksykologicznej;
- opracowano autorski system klasyfikacji toksyczności wód powierzchniowych i podziemnych.

Ponadto, podjęto próbę oceny wpływu stopnia zakwaszenia czynnika ekstrahującego na wymywalność metali ciężkich z próbek osadów pobranych z Jeziora Turawskiego. Na podstawie uzyskanych wyników udowodniono, że:

- wymywalność metali rośnie wraz ze spadkiem pH czynnika ekstrahującego;
- wymywanie metali za pomocą zakwaszonej wody (pH=2) można uznać za prostszą i mniej kosztowną alternatywę dla ekstrakcji sekwencyjnej.

8. ABSTRACT

The main aim of the elaborate was to test the availability of biotests as one of tools for assessing pollution level of the aqueous ecosystems and comparing the sensitivity of bioindicating organisms applied during the studies (bacteria *Vibrio fischeri*, crustaceans *Daphnia magna*, *Thamnocephalus platyurus*, plants *Lepidium sativum*, *Sinapis alba*, *Sorghum saccharatum*).

Within the framework of the work the series of measurements has been conducted to assess acute toxicity of:

- Water samples collected from piezometers localized around municipal landfill;
- Sediment samples collected from cores done at Szczecin Bay and Lakes of Jamno and Dąbie.

Based on own studies conducted and literature data the following results were obtained:

- It was proved that biotests constitute the valuable supplement for traditional physicochemical monitoring;
- Sensitivity of bioindicating organisms used during the studies has been compared and optimal set of the microbiotest battery has been proposed;
- The results gained were interpreted in the framework of available in the literature classification system of the ecotoxicological quality;
- Author classification system of the surface and underground water toxicological quality has been determined.

Furthermore, an attempt has been taken to assess the effect of acidification level of the extracting agent on the extractability of heavy metals from the sediment samples collected at Turawskie Lake. Based on the results obtained it has been proved that:

- Extractability of metals increases with pH decrement of the extraction agent;
- Extraction of metals with acidified water (pH=2) can be assessed as easier and lower in costs when compared to alternative sequential extraction.

9. DOROBEK NAUKOWY

PUBLIKACJE

- L. Wolska, **A. Sagajdakow**, A. Kuczyńska, J. Namieśnik, *Zintegrowany system badań zanieczyszczenia środowiska oparty na wykorzystaniu analityki chemicznej i biotestów*, Ecol. Chem. Eng., 13, 3-30 (2006).
- Wolska L., **Sagajdakow A.**, Kuczyńska A., Namieśnik J., *Application of ecotoxicological studies in integrated environmental monitoring: possibilities and problems*, Trends Anal. Chem., 26, 332-344 (2007).
- Sagajdakow A., Wolska L., Namieśnik J., *Wpływ eksploatacji składowisk komunalnych na jakość wód podziemnych. Rola ekotestów w ocenie ryzyka środowiskowego*, Wiadomości Chem. 63, 499-515 (2009).
- Franke S., **Sagajdakow A.**, Wolska L., Namieśnik J., *Integrated approach – the effective tool for pollution level control of sediments from Lake Turawskie*, Ecol. Chem. Eng. S, 16, 313-321 (2009).
- Wolska L., **Sagajdakow A.**, Namieśnik J., *The influence of aqueous environment pH on the mobility of heavy metals from sediments resulting in the increment of the toxicity*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., (praca wysłana do redakcji).

PUBLIKACJE W PRZYGOTOWANIU

- L. Wolska, M. Felchner-Żwiręłło, **A. Sagajdakow**, J. Namieśnik, *Biotesty – narzędzie do oceny jakości wód powierzchniowych i podziemnych wokół składowiska odpadów komunalnych*;
- Simeonov V., Wolska L., **Sagajdakow A.**, Namieśnik J., *Metody chemometryczne- efektywne narzędzie do oceny jakości próbek wód podziemnych na podstawie wyników testów toksyczności i parametrów fizykochemicznych*;
- **Sagajdakow A.**, Wolska L., Namieśnik J., *Jakość wód podziemnych pobranych wokół składowiska odpadów komunalnych- klasyfikacja chemiczna i ekotoksykologiczna*;
- **Sagajdakow A.**, Wolska L., Namieśnik J., *Próba identyfikacji związków z grupy NROC's w próbkach wód podziemnych*

REFERATY, KOMUNIKATY I POSTERY

- L. Wolska, A. Kuczyńska, **A. Sagajdakow**, J. Namieśnik, *Simultaneous application of chemical analytics and bioassays in environmental studies*, Proc. 34th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, ISEAC 34, 4. 06-8. 06. 2006, Hamburg, Germany (book of abstracts – tylko wersja elektroniczna na CD).
- **Sagajdakow**, A. Kuczyńska, M. Kursa-Mikołajczak, L. Wolska, A. Kot-Wasik, J. Namieśnik, *Ecotoxicity of waste material from metallurgical industry in Poland*, Proc. 34th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, ISEAC 34, 4. 06-8. 06. 2006, Hamburg, Germany, B-40 (book of abstracts – tylko wersja elektroniczna na CD).
- **Sagajdakow A.**, *Kompleksowa ocena jakości środowiska w oparciu o wyniki pomiarów analitycznych i biologicznych*, Materiały Sesji Sprawozdawczej Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 25-26.09.2006, Gdańsk, str. 25.
- **Sagajdakow A.**, Kuczyńska A., Wolska L., Namieśnik J., *Zintegrowany system oceny jakości środowiska w oparciu o wyniki pomiarów analitycznych i biologicznych*, Materiały XLIX Zjazdu PTChem i SITPChem, 18-22.09.2006, Gdańsk, str. 189.
- **Sagajdakow A.**, G. Kunkel, Kuczyńska A., Wolska L., Namieśnik J., *Developing procedure of determination of elemental sulphur from the sediments and removing the sulphur in order to determine the sediments toxicity*, Proc. 13th International Symposium on Separation Sciences, 27-29.06.2007, High Tatras, Štrbské Pleso, Slovak Republic (book of abstracts – tylko wersja elektroniczna na CD).
- Wolska L., **Sagajdakow A.**, Kuczyńska A., Namieśnik J., *Influence of water pH mobility of sediment heavy metals and changes in supernatant water toxicity*, Proc. 13th International Symposium on Toxicity Assessment, 08.2007, Toyama, Japonia, str. 126.
- **Sagajdakow A.**, Wolska L., Namieśnik J., *Zależność pH- mobilność zanieczyszczeń oraz jej wpływ na toksyczność osadów na przykładzie Jeziora Turawskiego*, L Zjazd PTChem i SITPChem & 11TH EuCheMS- DCE, 9-12.09.2007, Toruń, str. 236.
- **Sagajdakow A.**, *Zależność pomiędzy mobilnością metali a toksycznością próbek środowiskowych. Mobilność a biodostępność*, Materiały Sesji Sprawozdawczej Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 24-25.09.2007, Gdańsk, str. 34.

- **Sagajdakow A.**, Franke S., Wolska L., Namieśnik J., *Dichloromethane extracted organic compounds from lake sediments: GC/MS analysis and toxicological testing*, Proc. 35th ISEAC, 22-26.06.2008, Gdańsk, str. 261.
- **Sagajdakow A.**, Kudlak B., Wolska L., Namieśnik J., *Determination of ecotoxicity of surface sediments with battery of biotests*, Proc. 35th ISEAC, 22-26.06.2008, Gdańsk, str. 316.
- **Sagajdakow A.**, *Biotesty – narzędzie do oceny jakości wód powierzchniowych i podziemnych wokół składowisk odpadów komunalnych*, Materiały Sesji Sprawozdawczej Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 22-23.09.2008, Gdańsk, str. 25.
- **Sagajdakow A.**, Franke S., Wolska L., Namieśnik J., *Evaluation of the State of Sediments in Lake Turawskie on the Basis of Toxicity and GC/MS Analysis*, Proc. 14th International Symposium on Separation Sciences, 30.09-3.10.2008, Primošten, Croatia.
- Wolska L., **Sagajdakow A.**, Namieśnik J., *Indicators for underground water quality*, Proc. 14th International Symposium on Toxicity Assessment, 20.08-4.09.2009, Metz, Francja.

WYSTAPIENIA USTNE

- **Sagajdakow A.**, Kuczyńska A., Wolska L., Namieśnik J., *Zintegrowany system oceny jakości środowiska w oparciu o wyniki pomiarów analitycznych i biologicznych*, XLIX Zjazd PTChem i SITPChem, Gdańsk, 18-22.09.2006.
- **Sagajdakow A.**, *Zależność pomiędzy mobilnością metali a toksycznością próbek środowiskowych. Mobilność a biodostępność*, Sesja Sprawozdawcza Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 24-25.09.2007, Gdańsk.
- **Sagajdakow A.**, Wolska L., Felchner M., Miszkiel A., Namieśnik J., *Ocena jakości odcieków ze składowisk komunalnych w świetle klasyfikacji chemicznej i ekotoksykologicznej*, LI Zjazd PTChem i SITPChem, 7-11. 09. 2008, Opole.
- **Sagajdakow A.**, *Biotesty – narzędzie do oceny jakości wód powierzchniowych i podziemnych wokół składowisk odpadów komunalnych*, Sesja Sprawozdawcza Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 22-23.09.2008, Gdańsk.

- **Sagajdakow A.**, Wolska L., Namieśnik J., *Wpływ eksploatacji składowisk komunalnych na jakość wód podziemnych. Rola biotestów w ocenie ryzyka środowiskowego*, 52. Zjazd PTCh i SITPChem, 12-16.09.2009, Łódź.

WYRÓŻNIENIA

- Grant promotorski nr N N305 3468 33 na realizację projektu badawczego pt.: „Ocena ryzyka środowiskowego w oparciu o równoczesne wykorzystanie analityki chemicznej i biotestów” przyznany w ramach 33 konkursu na projekty badawcze na podstawie decyzji Ministra Nauki i Informatyzacji nr 3468/B/P01/2007/33.
- Stypendium w ramach I edycji konkursu „**InnoDoktorant**” – stypendia dla doktorantów, współfinansowane ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Unii Europejskiej w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki oraz Środków Budżetu Państwa i Województwa Pomorskiego, przyznane w grudniu 2008 r. Dodatkowe stypendium naukowe Rektora PG za wyróżniający się dorobek naukowy przyznane w roku akademickim 2008/2009.

WSPÓLPRACA Z UCZELNIAMI I PRZEMYSŁEM

- Współpraca z uczelniami: Institute of Organic Chemistry, University of Hamburg (dr Stephan Franke),
- Współpraca z przemysłem: ocena toksyczności próbek wód powierzchniowych, podziemnych oraz odciekowych w ramach współpracy z ZU „Gdańsk-Szadółki” (w ramach umowy podpisanej pomiędzy ZU „Gdańsk-Szadółki” a Katedrą Chemii Analitycznej Politechniki Gdańskiej),
- Udział w projekcie „Litogeneza i geochemia osadów dna i strefy brzegowej Zalewu Szczecińskiego”,
- Udział w projekcie: Oddziaływanie wraków na środowisko na przykładzie wraku s/s „*Stuttgart*” (projekt zgłoszony w 36 konkursie na projekty badawcze).
- Udział w pierwszym międzylaboratoryjnym porównaniu oznaczeń toksyczności próbek wodnych i fazy stałej opartych na bakteriach luminescencyjnych organizowanym przez firmę „*Tigret*”.