

Wojciech Ratajczyk, Monika Cieszyńska, Katarzyna Szychowska, Lidia Wolska

Zastosowanie testu biologicznego Microtox[®] do oceny skuteczności działania oczyszczalni ścieków bytowo-przemysłowych

Zgodnie z rozporządzeniem Ministra Środowiska z 24 lipca 2006 r. w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu ścieków do wód lub ziemi oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego, wraz z późniejszymi zmianami z 28 stycznia 2009 r., kontrola jakości ścieków w Polsce opiera się na wskaźnikach fizyczno-chemicznych. Różnorodność działalności prowadzonej w ramach współczesnej gospodarki sprawia, że do oczyszczalni ścieków trafiają nie tylko substancje, których oznaczenie jest wymagane przez przepisy prawne, ale także związki o nieznanym budowie i właściwościach, ich mieszaniny oraz produkty przemian. Technologie stosowane w oczyszczalniach ścieków nie usuwają wszystkich potencjalnie szkodliwych związków chemicznych, zatem do środowiska mogą przedostawać się także substancje o właściwościach toksycznych [1]. Niekorzystne zmiany jakościowe, szczególnie zachodzące w ekosystemach wodnych, wpływają ostatecznie na zdrowie i życie człowieka [2]. Wynika stąd konieczność poszukiwania skutecznych wskaźników monitoringowych.

Współcześnie do oceny jakości ścieków (w szczególności ścieków oczyszczonych) coraz częściej wykorzystuje się testy biologiczne (biotesty). W szczególności wynik oznaczania toksyczności daje odpowiedź organizmu wskaźnikowego na całościowy skład próbki, a nie tylko – jak ma to miejsce w przypadku standardowych oznaczeń chemicznych – informację o ilości danych substancji [1]. W wielu państwach testy toksyczności stanowią element systemu oceny jakości środowiska lub oceny potencjalnych zagrożeń wynikających z wprowadzania ścieków oczyszczonych do wód powierzchniowych [3]. Zastosowanie testów biologicznych, w uzupełnieniu do dotychczas wymaganych badań fizyczno-chemicznych, wydaje się znacząco podnosić skuteczność monitoringu i zarządzania jakością zasobów wodnych [4].

Wiodącym krajem w dziedzinie zintegrowanego podejścia do oceny jakości ścieków odprowadzanych do środowiska są Stany Zjednoczone. Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (U.S. EPA) stosuje procedurę tzw.

całkowitego efektu toksycznego ścieków (WET – whole effluent toxicity), która pozwala określić w bezpośrednich pomiarach łączny efekt toksyczny wywołany przez ścieki na testowe organizmy wodne. Ocena tego typu ma na celu usprawnienie zarządzania strumieniami ścieków wpływających do oczyszczalni w ramach ogólnokrajowego systemu (NPDES – National Pollutant Discharge Elimination System). Na podstawie regularnego monitoringu ustalane są lokalne wartości dopuszczalne toksyczności ścieków odprowadzanych przez zakłady przemysłowe [5, 6]. W Australii, Nowej Zelandii oraz Wielkiej Brytanii od lat 90. XX w. stosuje się wyłącznie bezpośrednią ocenę toksyczności próbek ścieków, a także wód, do których ścieki są odprowadzane (DTA – direct toxicity assessment), jednak pierwsze wytyczne dotyczące badań tego typu zostały wydane dopiero w 2000 r. [7, 8]. Zalecenie stosowania badań toksyczności ścieków wydała w 2002 r. również Komisja Helsińska (HELCOM). Dotyczą one jednak wyłącznie próbek ścieków oczyszczonych odprowadzanych do wód z zakładów chemicznych, tekstylnych i zakładów produkujących i konfekcjonujących środki ochrony roślin [9].

Polska, zgodnie z Traktatem Akcesyjnym, zobowiązuje się do wprowadzenia do 2015 r. przepisów prawnych Unii Europejskiej w zakresie odprowadzania i oczyszczania ścieków komunalnych. W celu uporządkowania gospodarki ściekowej oraz realizacji wymogów w taki sposób, aby wywiązać się z zobowiązań traktatowych, powołano Krajowy Program Oczyszczania Ścieków Komunalnych (KPOŚK). Realizacja ujętych w tym programie inwestycji ma na celu ograniczenie ilości niedostatecznie oczyszczonych ścieków, co ma doprowadzić do ochrony przed ich niekorzystnymi skutkami dla środowiska wodnego. Zakończenie zaplanowanych działań, m.in. spełnienie wymogów dyrektywy 91/271/EWG z 21 maja 1991 r., dotyczącej oczyszczania ścieków komunalnych, jest równoznaczne z osiągnięciem efektu ekologicznego w zakresie oczyszczania ścieków lub zagospodarowania osadów ściekowych. Wydaje się, że uzupełnienie obowiązujących badań o wskaźniki określające toksyczności ścieków znacząco podniosłoby jakość informacji o ewentualnych zagrożeniach dla środowiska wodnego wynikających z faktu wprowadzania ścieków oczyszczonych do wód powierzchniowych. Podejmowane działania w zakresie biomonitoringu są tym bardziej znaczące, że Polska zobowiązana jest do wdrożenia w pełni Ramowej Dyrektywy Wodnej (dyrektywa 2000/60/WE) i osiągnięcia dobrego stanu ekologicznego wód do 2015 r.

Mgr W. Ratajczyk, dr M. Cieszyńska, mgr K. Szychowska: Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Zakład Toksykologii Środowiska, ul. Marii Skłodowskiej-Curie 3 A, 80-210 Gdańsk sinclair@gumed.edu.pl

Prof. dr hab. L. Wolska: Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Chemii Analitycznej, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk lidwolsk@pg.gda.pl

Zarówno przytoczone przykłady, piśmiennictwo [4], jak i wyniki badań fizyczno-chemicznych i ekotoksykologicznych przeprowadzonych w ramach programów badawczych (Jakość wód transgranicznych w zlewni Bugu [10], International Odra Project [11]) potwierdzają, że toksyczność stanowi doskonałe narzędzie nie tylko wspomagające poprawę jakości ścieków wprowadzanych do wód powierzchniowych, ale również umożliwiające skuteczne zarządzanie strumieniami ścieków doprowadzanych do oczyszczalni, a zatem koordynację pracy całej oczyszczalni. Takie działania dają całościowy obraz skuteczności stosowanych procesów technologicznych. Jest to szczególnie istotne, jeśli weźmie się pod uwagę fakt, że ścieki charakteryzują się dużą zmiennością (sezonową, tygodniową, dobową) składu i znacznym zróżnicowaniem zawartości substancji toksycznych.

Toksyczność poszczególnych substancji oznaczanych w ściekach wobec organizmów wodnych jest mało poznana. Mała ilość pojedynczych substancji może nie wykazywać przekroczeń dopuszczalnej zawartości, jednak ścieki stanowią złożoną mieszaninę różnych związków, które współdziałają ze sobą i wpływają na ogólny poziom ich toksyczności. Interakcje między substancjami mogą wykazywać efekt synergistyczny bądź antagonistyczny [12]. Szczególny problem w środowisku wodnym stanowią tak zwane biomimetyki hormonalne, czyli substancje zaburzające procesy endokrynne. Takie działanie wykazują ksenoestrogeny, polichlorowane bifenyle, niektóre wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, dioksyny czy chemikalia poprodukcyjne znajdujące się w ściekach przemysłowych. Wiele z tych związków stanowi poważne zagrożenie dla flory i fauny, głównie ze względu na procesy bioakumulacji. Związki te mogą także zagrażać części biologicznej oczyszczalni, ponieważ proces ich adsorpcji na kłaczkach osadu czynnego może prowadzić do wyraźnego zmniejszenia respiracji lub nawet całkowitego wyginięcia biocenozy, a zatem zmniejszenia wydajności całego układu oczyszczania ścieków [13]. Mając na uwadze ochronę wód odbiornika oraz organizmów zasiedlających reaktory biologiczne w oczyszczalniach, zarówno monitoring toksyczności ścieków dopływających do oczyszczalni, jak i ocena ich toksyczności na poszczególnych etapach oczyszczania mogłaby w znacznym stopniu wspomóc obecne rozwiązania kontroli skuteczności oczyszczania ścieków [1].

Celem pracy było wykonanie pilotażowych badań skuteczności pracy Grupowej Oczyszczalni Ścieków „Dębogórze” przy zastosowaniu testu biologicznego Microtox[®], wykorzystującego bakterie *Vibrio fischeri* jako organizm wskaźnikowy. Badania obejmowały pomiar zmian hamowania (lub stymulacji) luminescencji bakterii *Vibrio fischeri* wynikający z ich kontaktu ze ściekami po różnych etapach oczyszczania.

Materiał i metody

Badania zostały przeprowadzone przy współpracy laboratorium Grupowej Oczyszczalni Ścieków „Dębogórze”. Na terenie obsługiwanym przez przedsiębiorstwo mieszka około 360 tys. mieszkańców, a obecna średnia przepustowość mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków (technologia Bardenpho) wynosi około 55 tys. m³/d. Ścieki oczyszczone odprowadzane są kolektorem głębokowodnym do Zatoki Puckiej w miejscowości Mechelinki, oddalonej od oczyszczalni o około 9 km, na odległość ponad 2,5 km od linii brzegowej. Materiał do badań stanowiły

średniodobowe próbki ścieków pobieranych przez aparaturę kontrolno-pomiarową (próbobiorniki automatyczne). Próbki ścieków dopływających do oczyszczalni (po kratach) oraz po oczyszczeniu mechanicznym (I^o – po osadniku wstępnym) i biologicznym (II^o – po osadniku wtórnym) były pobierane 4-krotnie w miesiącu, natomiast próbki na wyjściu z kolektora (stacja w Mechelinkach) 2-krotnie w miesiącu. Pomiary luminescencji bakterii wskaźnikowych przeprowadzono losowo w październiku, listopadzie i grudniu 2011 r. oraz systematycznie w maju i czerwcu 2012 r. W pracy wykorzystano wyniki badań wskaźników fizyczno-chemicznych ścieków wykonanych w laboratorium oczyszczalni.

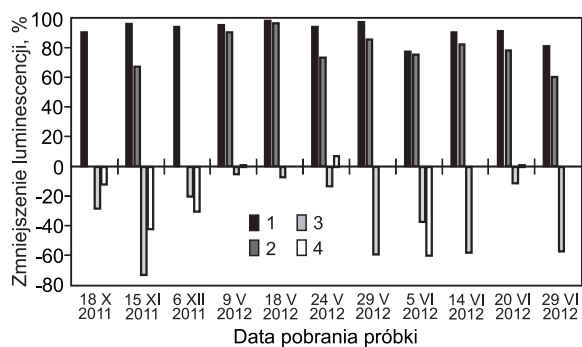
Ocenę skuteczności procesu oczyszczania ścieków analizowano w oparciu o pomiar luminescencji bakterii wskaźnikowych. W charakterze bioindykatora wykorzystane zostały bakterie luminescencyjne *Vibrio fischeri*, które emitują światło, jako efekt swoich normalnych procesów metabolicznych. Zmiana przebiegu procesów metabolicznych, wynikająca z kontaktu z analizowaną próbką ścieków, powoduje zmiany intensywności emisji światła przez te organizmy. Przed wykonaniem testu podstawowego Microtox[®] próbki odpowiednio przygotowano do wykonania oznaczeń. Oznaczenia pH wykonano za pomocą pH-metru CP-105 firmy Elmetron z głowicą GPX-105s. W procedurze ISO/DIS 11346-3 wymagane są wartości pH w zakresie 6,00÷8,50. Pomiar luminescencji prowadzono z zastosowaniem analizatora Microtox[®] Model 500 (Strategic Diagnostics Inc., Newark, USA), na podstawie procedury producenta (Basic Test 81.9). Obecność substancji toksycznych w badanej próbce powoduje zmniejszenie intensywności luminescencji bakterii. Reakcja testowa była badana po 30 min inkubacji próbki ścieków z bakteriami *Vibrio fischeri*. W ramach kontroli wyników systematycznie wykonywano testy jakości stosowanych bakterii *Vibrio fischeri*. Roztworem kontrolnym był, zalecany przez producenta Microtox[®], siedmiowodny siarczan cynku. Reakcja testowa badana była po 15 min inkubacji roztworu kontrolnego z bakteriami. Wyniki pięciu powtórzeń testu kontrolnego były zgodne z wytycznymi podanymi przez producenta.

Pomiary przeprowadzono najpóźniej w ciągu 24 h od momentu pobrania próbek. Na potrzeby pracy wykonano 11 oznaczeń w próbkach ścieków dopływających do oczyszczalni, 9 oznaczeń w próbkach pobranych po I^o oraz 11 oznaczeń po II^o, 7 oznaczeń w próbkach ścieków oczyszczonych pobranych ze stacji w Mechelinkach oraz po 8 oznaczeń w przefiltrowanych próbkach ścieków dopływających do oczyszczalni oraz ścieków po I^o oczyszczania. Filtrację mętnych próbek ścieków przeprowadzano z wykorzystaniem aparatury oraz sączków do filtracji wstępnej i analizy zanieczyszczeń typu APFC o średnicy 1,2 μm (Merck Millipore).

Dyskusja wyników

W czasie prowadzenia badań wszystkie próbki ścieków dopływających do oczyszczalni w dużym stopniu powodowały zmniejszenie luminescencji bakterii *Vibrio fischeri* – średnio o 91% (mediana 94%) (rys. 1). Nieznacznie mniejszy wpływ toksyczności ścieków na luminescencję bakterii wskaźnikowych (ok. 80%) stwierdzono na początku tygodnia, co mogło wynikać z mniejszego strumienia ścieków przemysłowych dopływających do oczyszczalni na skutek ograniczenia intensywności pracy zakładów przemysłowych w dni świąteczne [14]. Toksyczność ścieków





Rys. 1. Toksyczność próbek ścieków z oczyszczalni „Dębogórze” (1 – ścieki nieoczyszczone, 2 – ścieki oczyszczone mechanicznie (po I^o), 3 – ścieki oczyszczone biologicznie (po II^o), 4 – ścieki oczyszczone ze stacji w Mechelinkach)

Fig. 1. Toxicity of effluent samples collected from „Debogorze” wastewater treatment plant (1 – raw wastewater, 2 – wastewater following mechanical treatment (1st degree of treatment), 3 – wastewater following biological treatment (2nd degree of treatment), 4 – effluent from Mechelinki station)

mechanicznie oczyszczonych w stosunku do bakterii *Vibrio fischeri* była nieznacznie mniejsza niż ścieków nieoczyszczonych. Średnie zmniejszenie ich luminescencji (i mediana) wynosiło 78%. Oczyszczanie mechanicznie w niewielkim stopniu wpływało na zmniejszenie luminescencji bakterii wskaźnikowych, średnio o kilkanaście procent, co wskazuje na to, że substancje toksyczne mają charakter substancji dobrze rozpuszczalnych w wodzie [15].

W czasie badań próbki ścieków oczyszczonych nie wykazywały działania toksycznego, ponieważ zaobserwowano zwiększenie luminescencji bakterii *Vibrio fischeri* o 33% (mediana 28%) (rys. 1). Może to świadczyć o obecności w ściekach oczyszczonych substancji, które stwarzają dobre warunki do rozwoju bakterii (destruenci w łańcuchu troficznym), stąd wzrost ich bioluminescencji. Probki ścieków oczyszczonych pobranych ze stacji w Mechelinkach także nie wykazywały toksyczności w stosunku do bakterii wskaźnikowych, a uzyskane wyniki pomiaru luminescencji

były zbliżone do wyników uzyskanych w przypadku ścieków oczyszczonych pobranych na terenie oczyszczalni. Średnie zwiększenie luminescencji bakterii wynosiło 19,5% (mediana 12%). W badanym czasie odprowadzane ścieki nie stanowiły zagrożenia dla wód Zatoki Puckiej, co jest zgodne z wynikami oznaczeń wskaźników fizyczno-chemicznych (tab. 1). Z przeprowadzonych badań wynika, że przy obecnej średniej przepustowości oczyszczalni „Dębogórze” proces oczyszczania ścieków bytowo-przemysłowych jest bardzo skuteczny.

Warunkiem wykonania testu Microtox® jest klarowność próbki. Rozpraszanie światła przez znajdujące się w ściekach cząstki stałe może powodować błędną interpretację zaniku świecenia bakterii *Vibrio fischeri*. Zarówno ścieki nieoczyszczone, jak i oczyszczone mechanicznie (po I^o) były mętne, o zabarwieniu brunatnym, z widoczną obecnością zawiesin. W związku z tym podjęto badania, w jakim stopniu zawiesiny wpływają na wynik pomiaru luminescencji bakterii wskaźnikowych. Wyniki badań zilustrowano na rysunkach 2 i 3.

Przefiltrowane próbki ścieków nieoczyszczonych oraz oczyszczonych mechanicznie wykazywały mniejszy wpływ na hamowanie luminescencji bakterii wskaźnikowych niż próbki niefiltrowane. Średnie zmniejszenie luminescencji bakterii *Vibrio fischeri* w przypadku filtratu ścieków nieoczyszczonych wynosiło 75% (mediana 75,5%), zaś różnica między średnią luminescencją bakterii w próbkach filtrowanych i niefiltrowanych wynosiła 16%. Średnie zmniejszenie luminescencji bakterii w filtratach ścieków oczyszczonych mechanicznie wynosiło 60% (mediana 61%). W tym przypadku różnica pomiaru wynosiła 18%. Zmiana luminescencji bakterii między próbką ścieków przed i po filtracji może wynikać z następujących powodów:

- zawiesiny w ściekach rozpraszają promieniowanie emitowane przez bakterie *Vibrio fischeri*, powodując zafałszowanie odczytu w luminometrze,

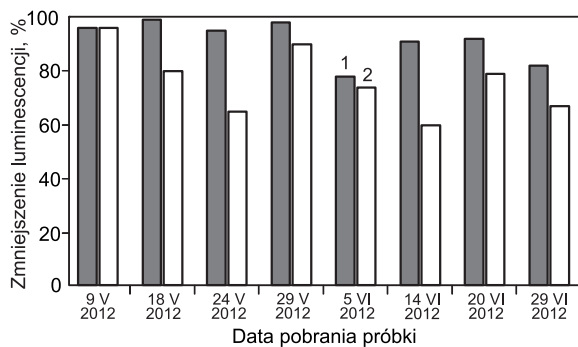
- proces filtracji spowodował usunięcie ze ścieków zawiesin wraz z zaadsorbowanymi na ich powierzchni substancjami toksycznymi.

Tabela 1. Charakterystyka jakości ścieków z oczyszczalni „Dębogórze” (od X 2011 r. do VI 2012 r.)

Table 1. Quality characteristics of effluent from „Debogorze” wastewater treatment plant (from October 2011 to June 2012)

Wskaźnik, jednostka	Ścieki nieoczyszczone	Ścieki oczyszczone		Stacja w Mechelinkach	Wartość dopuszczalna*
		po I ^o	po II ^o		
BZT ₅ , gO ₂ /m ³	minimum	320	230	3	15
	maksimum	560	410	6	
	średnia	450	308	3,5	
ChZT, gO ₂ /m ³	minimum	1000	720	21	125
	maksimum	1400	1200	28	
	średnia	1213	890	25	
Fosfor ogólny, gP/m ³	minimum	9,96	10,1	0,31	1
	maksimum	14,4	23,8	0,93	
	średnia	12,5	18,5	0,58	
Azot ogólny gN/m ³	minimum	–	–	5,6	10
	maksimum	–	–	7,7	
	średnia	–	–	6,58	
Zawiesiny ogólne, g/m ³	minimum	300	130	5	35
	maksimum	660	530	7	
	średnia	464	296	5	

*w ściekach oczyszczonych



Rys. 2. Toksyczność próbek ścieków dopływających do oczyszczalni „Debogorze” (1 – ścieki niefiltrowane, 2 – ścieki przefiltrowane przez sącdek 1,2 µm)

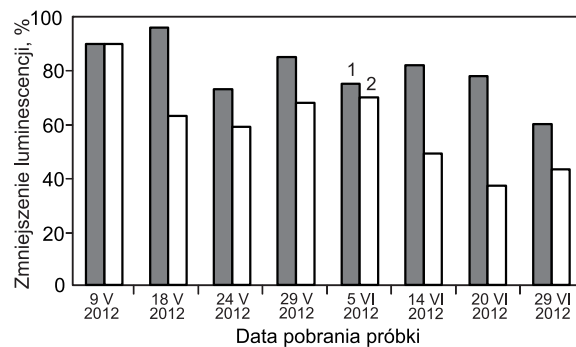
Fig. 2. Toxicity of raw influent samples collected from „Debogorze” wastewater treatment plant (1 – unfiltered sewage, 2 – sewage filtered down to 1.2 µm)

Obserwowany niewielki spadek luminescencji bakterii wskaźnikowych w próbkach przefiltrowanych może sugerować, że większość substancji toksycznych przechodziła przez etap filtracji i w próbkach filtrowanych efekt toksyczności spowodowany był występowaniem mieszaniny różnych substancji. Wyjaśnienie obserwowanej zmiany toksyczności próbek ścieków w wyniku ich filtracji wymaga dalszych badań [16].

Przed wykonaniem testu podstawowego Microtox®, zgodnie z normą ISO/DIS 11346-3, należało ustalić pH próbki tak, aby mieściło się w zakresie 6,00÷8,50. Wartość pH wszystkich badanych próbek ścieków zawierała się w wymaganym zakresie, zatem nie było potrzeby dodatkowych czynności korekcyjnych. Wartości pH próbek ścieków nieoczyszczonych mieściły się w przedziale 7,37÷7,78, a pH ich filtratów – 7,64÷8,09. Wartości pH ścieków nieoczyszczonych po filtracji prawie w każdym przypadku były wyższe od pH ścieków niefiltrowanych. W próbce kontrolnej (dwa powtórzenia) z użyciem wody destylowanej wykazano, że warunki pomiaru nie miały wpływu na zmianę pH badanych próbek ścieków. Można zatem przypuszczać, że odfiltrowane zawiesiny zawierały substancje o charakterze kwasów (np. lotne kwasy tłuszczowe), które w trakcie filtracji osadzały się na sączku i w rezultacie powodowały podwyższenie pH filtratu. Wartości pH próbek ścieków po I° oczyszczania mieściły się w przedziale 7,37÷7,68, a pH ich filtratów – 7,50÷8,15. Zmiany pH próbek ścieków po oczyszczaniu mechanicznym były podobne do zmian obserwowanych w przypadku próbek ścieków nieoczyszczonych. Wartości pH próbek ścieków oczyszczonych oraz pobranych ze stacji w Mechelinkach zawarte były odpowiednio w przedziałach 7,70÷8,02 oraz 8,06÷8,12.

Podsumowanie

Ścieki bytowo-przemysłowe dopływające do oczyszczalni mechaniczno-biologicznej, z chemicznym wspomaganie usuwania fosforu, znacznie zmniejszały luminescencję bakterii *Vibrio fischeri*. Przeprowadzone badania próbek średniodobowych nie pozwalają jednoznacznie stwierdzić, czy ścieki przemysłowe miały w tym większy udział. Jedynie spadek luminescencji bakterii wskaźnikowych stwierdzony w przypadku próbek ścieków pobranych po dniach świątecznych może wskazywać na udział ścieków przemysłowych w ogólnym poziomie toksyczności ścieków. Proces filtracji próbek ścieków wprowadzony do



Rys. 3. Toksyczność próbek ścieków oczyszczonych mechanicznie (po I°) (1 – ścieki niefiltrowane, 2 – ścieki przefiltrowane przez sącdek 1,2 µm)

Fig. 3. Toxicity of mechanically treated sewage samples (1st degree of treatment) (1 – unfiltered sewage, 2 – sewage filtered down to 1.2 µm)

procedury testu Microtox® powodował zwiększenie luminescencji bakterii *Vibrio fischeri*, co było spowodowane mniejszym rozproszeniem światła po odsączeniu cząstek stałych i/lub usunięciem z filtratu niewielkiej ilości substancji toksycznych. Doświadczenie z usuwaniem zawiesin z próbki ścieków wskazuje, że związki odpowiedzialne za toksyczność ścieków mają charakter polarny lub jonowy. W czasie badań ścieki oczyszczone nie hamowały luminescencji bakterii wskaźnikowych, co świadczy o dużej skuteczności pracy oczyszczalni oraz o tym, że ścieki odprowadzane z oczyszczalni do wód Zatoki Puckiej nie powinny stwarzać zagrożenia dla środowiska morskiego, w szczególności dla mikroorganizmów jednokomórkowych. Jednocześnie badania takie należałoby uzupełnić o testy z wykorzystaniem innych organizmów wskaźnikowych, takich jak skorupiaki czy rośliny. Do całościowej oceny skuteczności oczyszczania ścieków ważne byłoby zarówno oznaczenie toksyczności ostrej, jak również toksyczności chronicznej oraz braku efektu genotoksyczności ścieków oczyszczonych.

W polskim prawodawstwie brakuje wytycznych do stosowania testów biologicznych, jako narzędzia do oceny skuteczności oczyszczania ścieków. Przeprowadzone badania sugerują, że testy toksyczności, równoległe z analizą fizyczno-chemiczną, mogłyby stanowić znaczące uzupełnienie informacji uzyskiwanych z monitoringu jakości ścieków i pozytywnie wpływać na proces zarządzania gospodarką wodną.

LITERATURA

1. A. DROBNIĘSKA: Biotesty jako narzędzie wspierające zarządzanie procesem oczyszczania ścieków. *Kosmos* 2012, vol. 61, nr 3, ss. 393–400.
2. A. KUCZYŃSKA, L. WOLSKA, J. NAMIEŚNIK: Zastosowanie biotestów w badaniach środowiskowych. W: Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym, Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego, Gdańsk 2007, ss. 669–695.
3. COHIBA WP 3 Participants: Whole Effluent Assessment (WEA). Finnish Environment Institute SYKE, Helsinki 2010.
4. B. KOLWZAN, W. KOLWZAN, A.M. DZIUBEK, G. PASTERNAK: Statistical approach to assessing groundwater pollution from gasworks. *Environment Protection Engineering* 2011, Vol. 37, No. 1, pp. 119–126.
5. Toxicity Reduction Evaluation Guidance for Municipal Wastewater Treatment Plants. EPA/833B-99/002, U.S. EPA, Office of Wastewater Management, Washington DC 1999.

6. Method Guidance and Recommendations for Whole Effluent Toxicity (WET) Testing (40 CFR Part 136). EPA 821-B-00-004, U.S. EPA, Office of Water, Washington DC 2000.
7. J. CHAPMAN, M. WARNE, R. PATRA: Considerations when applying the revised toxicant guidelines. *Australasian Journal of Ecotoxicology* 2001, Vol. 7, pp. 157–174.
8. T. DEREK, W. JIM, C. DAVID, C. PHILIP, T. DAVID, U. JOHN, T. COLIN: The use of direct toxicity assessment in the assessment and control of complex effluents in the UK: A demonstration programme. *Ecotoxicology* 2004, Vol. 13, pp. 423–436.
9. Requirements for Discharging Wastewater from the Chemical Industry. HELCOM Recommendation 23/11 (Superseding HELCOM Recommendation 20E/6), Helsinki 2002.
10. L. WOLSKA, M. MICHALSKA, M. BARTOSZEWICZ: Toksyczność ekosystemu. W: J. DOJLIDO, W. KOWALCZEWSKI, R. MIŁASZEWSKI, J. OSTROWSKI [red.]: Rzeki Bug, zasoby wodne i przyrodnicze, IMGW, Wyższa Szkoła Ekologii i Zarządzania, Warszawa 2003, ss. 352–361.
11. L. WOLSKA, Ż. POLKOWSKA: Bacterial luminescence test screening of highly polluted areas in the Odra river. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 2001, Vol. 67, pp. 52–58.
12. S. PARVEZ, C. VENKATARAMAN, S. MUKHERJI: Toxicity assessment of organic contaminants: Evaluation of mixture effects in model industrial mixtures using 2n full factorial design. *Chemosphere* 2008, Vol. 73, pp. 1049–1055.
13. E. FELIS, S. BOROK, K. MIKSCH: Ocena zdolności wybranych biomimetyków hormonalnych do sorpcji na kłaczkach osadu czynnego (Assessing the ability of some endocrine disruptors to sorb onto activated sludge flocs). *Ochrona Środowiska* 2011, vol. 33, nr 2, ss. 49–52.
14. K. GERNAEY, X. FLORES-ALSINA, C. ROSEN, L. BENEDETTI, U. JEPPSSON: Dynamic influent pollutant disturbance scenario generation using a phenomenological modeling approach. *Environmental Modelling & Software* 2011, Vol. 26, pp. 1255–1267.
15. X. DOMENE, J. COLON, M.V. URAS, R. IZQUIERDO, A. AVILA, J.M. ALCANIZ: Role of soil properties in sewage sludge toxicity to soil collembolans. *Soil Biology and Biochemistry* 2010, Vol. 42, ss. 1982–1990.
16. R.P.H. SCHMITZ, A. EISENTRAGER, W. DOTT: Agonistic and antagonistic toxic effects observed with miniaturized growth and luminescence inhibition assays. *Chemosphere* 1999, Vol. 38, No. 1, pp. 79–95.

Ratajczyk, W., Cieszynska, M., Szychowska, K., Wol-ska, L. **Microtox® Bioassay Application as a Measure of Sewage Treatment Plant Effectiveness.** *Ochrona Środowiska* 2014, Vol. 36, No. 1, pp. 51–55.

Abstract: Variety of modern economic activities leads to wastewater treatment plants receiving not only well-known waste substances, determination of which is required by the legislation, but also compounds of unknown composition and properties, their mixtures and metabolism products. Therefore, it is important to ask a question how modern treatment plants cope with removal of a wide range of compounds and what impact treated sewage may have on a receiver, especially the marine ecosystem. Studies on feasibility of Microtox® bioassay application to assessment

of the selected wastewater treatment plant effectiveness were an attempt to address this question. The analyzed material were sewage samples collected at subsequent stages of treatment as well as at the collector outlet to the sea. The studies involved assessment of the effect of mechanical-biological sewage treatment on sewage toxicity to *Vibrio fischeri*. In addition, effect of pH and turbidity on wastewater toxicity was determined. Microtox® test demonstrated that the analyzed sewage treatment technology (Bardenpho) was highly effective in removal of toxic compounds entering the sewer system from various sources. Effluent discharged to the sea showed no toxic effect against *Vibrio fischeri*.

Keywords: Microbiotest, *Vibrio fischeri*, toxicity, ecotoxicity, wastewater treatment.