

KLASYFIKACJA TOKSYCZNOŚCI ŚCIEKÓW SZPITALNYCH W ODNIESIENIU DO KRYTERIÓW ICH SZKODLIWOŚCI WZGLĘDEM BIOCENOZ WODNYCH

Aleksandra Zgórska¹, Elżbieta Grabińska-Sota²

¹ Główny Instytut Górnictwa, Plac Gwarków 1, 40-166 Katowice

² Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Śląska, Konarskiego 18, 44-100 Gliwice

* Autor do korespondencji e-mail: azgorska@gig.eu

STRESZCZENIE

W celu określenia potencjału toksykologicznego, a tym samym prognozowania skutków jakie może wywołać depozycja nieoczyszczonych lub też niedostatecznie oczyszczonych ścieków szpitalnych względem biocenozy zasiedlających akweny wodne stanowiące odbiorniki ścieków po procesie oczyszczania, przeprowadzono analizę ekotoksykologiczną. Badania przeprowadzono na rzeczywistych próbkach ścieków szpitalnych. Zakres analizy ekotoksykologicznej obejmował przeprowadzenie następujących testów: testy immobilizacji skorupiaków *Daphnia magna*, test przeżywalności skorupiaków z gatunku *Thamnocephalus platyurus* oraz *Artemia salina*, a także test inhibicji wzrostu kolonii orzęsków *Tetrahymena termophila*. W ramach każdego testu, w oparciu o wyniki cząstkowe wyznaczono wartości wskaźników ekotoksykologicznych EC_{50} (ang. *effect concentration*), które następnie przekształcono na jednostki toksyczności TU (ang. *Toxic Unit*) na podstawie których dokonano klasyfikacji toksyczności analizowanych próbek ścieków. W ramach przeprowadzonych badań, próbki ścieków szpitalnych sklasyfikowane zostały jako medium charakteryzującego się ostrą toksycznością. Z przeprowadzonych badań wynika, że ścieki szpitalne stanowią poważne zagrożenie względem organizmów zasiedlających ekosystemy wodne, a ich niedostateczne oczyszczenie lub też niekontrolowany zrzut do środowiska może wywołać katastrofalne skutki względem organizmów zasiedlających narażoną biocenozę.

Słowa kluczowe: jednostka toksyczności (TU), klasyfikacja toksyczności, bioindykacja, ścieki szpitalne

THE TOXICITY CLASSIFICATION OF HOSPITAL WASTEWATER IN RELATION TO THE CRITERION OF THEIR HARMFULNESS IN REFERENCE TO WATER BIOGENOSIS

ABSTRACT

In order to assess the toxicological potential and thus forecast the potential effect posed by untreated hospital wastewater discharges according to exposed ecosystem, the ecotoxicological analysis were performed. During the study the real samples of hospital wastewater were used. The ecotoxicological analysis included the following tests: immobilization test according to crustacean *Daphnia magna*; mortality test according to crustacean *Thamnocephalus platyurus* and *Artemia salina* and growth inhibition test relative to ciliates *Tetrahymena termophila*. Within each test, the value of ecotoxicological indicators EC_{50} (*effect concentration*) were estimated. The EC_{50} value were transformed into the Toxic Unit (TU), basis of which the analyzed hospital wastewater samples were classified. The results proves that hospital wastewater pose a serious threat to exposed aquatic organisms and their insufficient purification as well as uncontrolled discharge into the environment may cause adverse changes in the environment.

Keywords: toxic unit (TU), toxicity classification, biotest battery, bioindication, hospital wastewater

WSTĘP

Problem racjonalnej gospodarki ściekami stanowi niezwykle istotny element z punktu widzenia ochrony środowiska naturalnego. W myśl obowiązującego prawa, tj. art. 29 ustawy z dnia 20 lipca 2017 r. „korzystanie z wód nie może powodować pogorszenia stanu wód i ekosystemów od nich zależnych, z wyjątkiem przypadków określonych w ustawie, w szczególności nie może naruszać ustaleń planu gospodarowania wodami na obszarze dorzecza, powodować marnotrawstwa wody lub marnotrawstwa energii wody, a także nie może wyrządzać szkód” [Dz.U.2018.2268]. Niezwykle istotnym staje się więc dobór odpowiednich, przyjaznych środowisku, a zarazem ergo- jak i ekonomicznych technologii oczyszczania i podczyszczania ścieków, a także podjęcie działań zmierzających do eliminacji i szacowania zagrożenia wynikającego z niekontrolowanych zrzutów ścieków nieoczyszczonych bezpośrednio do akwenów wodnych. Wprowadzenie do środowiska ścieków nieoczyszczonych z uwagi na obecność w nich substancji charakteryzujących się wysoką toksycznością może wywołać nieodwracalne zmiany w ekosystemach prowadząc do ich degradacji. Szczególnie niebezpiecznym przykładem są ścieki szpitalne, których wysoki potencjał toksykologiczny spowodowany jest obecnością szerokiej gamy zanieczyszczeń należących do grupy substancji diagnostycznych jak i farmaceutyków (antybiotyki, niesteroidowe leki przeciwzapalne, regulatory tłuszczu, estrogeny, antydepresanty, leki przeciwnowotworowe, beta-blokery, środki cieniujące, leki przeciwdrgawkowe i uspokajające, itp. [Emmanuel, 2005][Jolibois i Guerbet, 2005]. Co więcej, nawet znając skład ścieków niezwykle trudnym jest prognozowanie skutków ewentualnej ich migracji do środowiska. Należy bowiem pamiętać, że analiza fizykochemiczna nawet najbardziej precyzyjna, informuje wyłącznie o określonych poziomach skażeń i ewentualnym przekroczeniu określonych prawem norm. Jedynie na podstawie wskaźników biologicznych uzyskać można informacje o stanie ekosystemów i ewentualnych zagrożeniach wynikających z depozycji zanieczyszczeń do środowiska naturalnego [Gupta i in., 2009]. Jedynie wskaźniki biologiczne obrazują skalę realnego zagrożenia uwzględniając zależności synergistycznych i addytywnych oddziaływań poszczególnych komponentów złożonych mieszanin. Celowość zastosowania biomonitoringu w badaniach toksyczności

prób środowiskowych jak i ocenie stanu ekosystemów znalazła swoje odzwierciedlenie chociażby w Ramowej Dyrektywie Wodnej [RDW 2000/60/WE], według której wskaźniki biologiczne stosowane są do szczegółowego określania stanu ekologicznego wód powierzchniowych, podczas gdy pozostałe wskaźniki (fizyczno-chemiczne, hydromorfologiczne) mają jedynie wartość pomocniczą. Reakcja organizmu testowego jest zatem próbnym scenariuszem obrazującym potencjalne zagrożenia dla żywych organizmów, czego nie są w stanie odzwierciedlić nawet najdokładniejsze pomiary techniczne. Mając na uwadze rangę przedstawionego problemu, celowym wydawało się podjęcie działań zmierzających do oszacowania zagrożenia, jakim jest odprowadzanie do ekosystemów wodnych nieoczyszczonych, lub też niedostatecznie oczyszczonych ścieków szpitalnych. W rezultacie, w ramach pracy przy zastosowaniu baterii biotestów, oceniono potencjał ekotoksykologiczny rzeczywistych próbek środowiskowych szpitalnych. W ramach przeprowadzonych badań, na podstawie wyników poszczególnych testów ekotoksykologicznych wyznaczono wartości wskaźnika EC_{50} (*ang. effect concentration*), rozumianego jako stężenia badanego medium wywołujące odpowiednie/spodziewane efekty toksyczne u połowy populacji organizmów testowych. W niniejszej pracy, wskaźniki ekotoksykologiczne ścieków szpitalnych wyrażone w formie EC_{50} wyznaczone zostały dla skorupiaków słodkowodnych z gatunku: *Daphnia magna* i *Thamnocephalus platypurus*, skorupiaków słonolubnych z gatunku *Artemia salina* oraz orzęsków z rodziny *Tetrahymena termophila*. Ponadto, bazując na wyznaczonych wartościach wskaźników EC_{50} , dokonano klasyfikacji ścieków szpitalnych w oparciu o dostępną metodologię tj.: system klasyfikacji toksyczności ścieków opracowany przez zespół prof. Persoone i wsp. [2003], oraz wytyczne Dyrektywy EWG ACE 89/BE 2/D3.

METODYKA BADAŃ

Materiał do badań

Ścieki szpitalne stanowiące przedmiot badań pochodziły ze szpitala zlokalizowanego w obrębie województwa śląskiego. W chwili poboru próbek, w szpitalu funkcjonowały 4 oddziały w tym m.in. oddział rehabilitacji oddechowej, chorób płuc i gruźlicy, a także chorób

płuc i chemioterapii nowotworowej. Szpital przygotowany był na hospitalizację ponad 160 pacjentów, co przy założeniu średniodobowej produkcji ścieków $400 \div 1200$ l/łóżko*d [Emmanuel, 2005], powoduje, że przy pełnym obciążeniu, ze szpitala odprowadzanych jest od ok. 64 do 192 m³ ścieków dziennie. Z uwagi na typ jednostki, w ściekach spodziewane były wysokie stężenia farmaceutyków należących do grupy tzw. przeciwgruźliczych leków I-go rzutu tj.: streptomycyna, izoniazyd, etambutol, ryfampicyna, czy pirazynamid, ponadto leków zaliczanych do grupy II-go rzutu: kapreomycyna, kwas para-aminosalicylowy, cyklokseryna amikacyna, chinolony, kanamycyna i etionamid, a także środków cieniujących i kontrastujących oraz znacznych ilości środków stosowanych do sterylizacji narzędzi i sprzętu chirurgicznego jak i środków powierzchniowo czynnych. Materiał do badań pobrany został z terenu przyszpitalnej oczyszczalni ścieków. Ścieki pobrano przy użyciu czerpaka bezpośrednio z osadnika Imhoffa, pełniącego funkcję zbiornika wyrównawczego w którym gromadzone są ścieki przed ich odprowadzeniem do przyszpitalnej oczyszczalni ścieków, gdzie ulegają oczyszczeniu na złożu biologicznym i dezynfekcji z użyciem 2% roztworu podchlorynu sodu. Materiał badawczy pobrany został z uwzględnieniem wytycznych dotyczących sposobu poboru próbek ścieków z otwartych kanałów ściekowych do analizy fizycznej i chemicznej oraz bakteriologicznej [PN-ISO 5667-10:1997], [PN-C-04620-11:1974], a także wytycznych odnoszących się do sposobu postępowania z próbkami do biotestów [PN-EN ISO 5667-16:2004].

Zakres analizy fizykochemicznej

Na miejscu poboru próbek, przy użyciu miernika elektronicznego Multi340i firmy WTW wyposażonego w sondę pomiaru temperatury i elektrodę WTW do pomiaru pH (pH-electrode SenTix41) oznaczono temperaturę i odczyn ścieków szpitalnych. Oznaczenie przeprowadzono zgodnie z zaleceniami polskiej normy [PN-ISO 5667-16:2004]. Następnie ścieki przetransportowano do laboratorium, gdzie część próbek wykorzystano do przeprowadzenia pełnej analizy fizyko-chemicznej obejmującej oznaczenie następujących parametrów: zawiesiny ogólnej [PN-EN 872:2007], chemicznego

zapotrzebowania tlenu (ChZT) [PN-6060:2006], stężenia azotu amonowego [Spectroquant[®] firmy Merck, metodyka zgodna z ISO 7150-1:1984], azotu azotanowego [Spectroquant[®] firmy Merck, metodyka zgodna z DIN 38405-9:2011], azotu azotynowego [Spectroquant[®] firmy Merck, metodyka zgodna z US EPA 354.1; DIN EN 26777-10:1993], chloru wolnego i ogólnego [Spectroquant[®] firmy Merck, metodyka zgodna z DIN 38408-4; APHA 4500-Cl₂G], oraz halogenków adsorbowanych na węglu aktywnym (AOX) [Spectroquant[®] firmy Merck]. Próbkę ścieków przeznaczone do analizy ekotoksykologicznej zamrożono i przechowywano w temperaturze -60°C. Każdorazowo próbki rozmrażano bezpośrednio przed rozpoczęciem biotestów.

Zakres analizy ekotoksykologicznej

Zgodnie z wytycznymi i instrukcjami dostarczonymi przez producenta testów toksykologicznych, próbki ścieków przygotowywano bezpośrednio przed rozpoczęciem każdego z testów. Zakres prac obejmował rozmrażanie próbek w temperaturze pokojowej, wtórne sączenie, a także pomiar temperatury i pH badanych próbek ścieków. Ponadto, w razie konieczności przeprowadzano korektę odczynu próbki do zakresu określonego stosowaną procedurą (dopuszczalna wartość pH określona jest tolerancją organizmów testowych).

Z uwagi na charakter próbek środowiskowych analizę ekotoksykologiczną oparto na testach toksyczności ostrej i chronicznej, zalecanych w przypadku analizy próbek o wysokiej i średniej toksyczności. Poszczególne testy ekotoksykologiczne wchodzące w zakres baterii biotestów opisano poniżej. Dla każdego z testów przeprowadzono dwie serie pomiarowe. Każda z serii obejmowała przeprowadzenie testów ekotoksykologicznych dla co najmniej pięciu stężeń testowych ścieków szpitalnych w zakresie od 6,25% do 100%, przy uwzględnieniu trzech powtórzeń przypadających na każde stężenie testowe. Każdorazowo dla każdego z testów, uzyskany efekt toksyczny wyrażony w procentach (%), został przekształcony na jednostkę probitową, co pozwoliło na określenie wartości wskaźnika ekotoksykologicznego EC₅₀ i sklasyfikowanie badanych próbek pod kątem ich toksyczności. Zasadę klasyfikacji toksyczności próbek ścieków opisano w dalszej części rozdziału.

Test immobilizacji skorupiaków *Daphnia magna*

Test immobilizacji skorupiaków słodkowodnych *Daphnia magna* został wykonany z użyciem mikrobiotestu Daphtoxkit F™ w oparciu o procedurę opisaną przez producenta firmę MicroBio Tests Inc. (Gent, Belgia). Test ten zgodny jest z normą ISO 6341 i wytycznymi OECD 202. Po 48h ekspozycji oceniono stopień immobilizacji młodych osobników *Daphnia magna* narażonych na działanie poszczególnych stężeń testowych badanych próbek ścieków. Dla każdego stężenia testowego efekt toksyczny wyrażono jako średni procent unieruchomienia osobników. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono wartości EC_{50} .

Test toksyczności ostrej z wykorzystaniem skorupiaków *Artemia salina*

Test toksyczności ostrej z wykorzystaniem skorupiaków słodkowodnych *Artemia salina* przeprowadzono zgodnie z instrukcją dostarczoną przez producenta zestawu Artoxkit M™ firmę MicroBio Tests Inc. (Gent, Belgia). Po 24h ekspozycji organizmów na działanie różnych stężeń badanych próbek ścieków, oceniono przeżywalność naupliusów. Otrzymane wyniki wyrażono w postaci mediany procentu śmiertelności odpowiednio dla każdego stosowanego stężenia. Na podstawie uzyskanych wyników wyznaczono wartość EC_{50} .

Test toksyczności ostrej z wykorzystaniem skorupiaków *Thamnocephalus platyurus*

Test toksyczności ostrej z wykorzystaniem skorupiaków słodkowodnych *Thamnocephalus platyurus* przeprowadzono zgodnie z instrukcją dostarczoną przez producenta zestawu Thamnotoxkit F™ firmę MicroBio Tests Inc. (Gent, Belgia). Test ten zgodny jest z normą ISO 14380. Po 24h ekspozycji organizmów na działanie różnych stężeń badanych próbek ścieków, oceniono przeżywalność organizmów testowych. Otrzymane wyniki wyrażono jako medianę procentu śmiertelności w próbkach, na ich podstawie wyznaczono wartości EC_{50} .

Test toksyczności chronicznej z wykorzystaniem pierwotniaków *Tetrahymena termophila*

Do oceny toksyczności chronicznej względem pierwotniaków *Tetrahymena termophila*

wykorzystano mikrobiotest Protoxkit F™. Test przeprowadzono zgodnie z wytycznymi producenta firmę MicroBio Tests Inc. (Gent, Belgia). Po 24÷28h czasie inkubacji (ekspozycja kolonii pierwotniaków na działanie stężeń badanych próbek ścieków dla długości fali 440 nm zmierzono gęstość optyczną każdej z próbek i porównano z gęstością optyczną tych próbek w czasie T0 (T0 – czas rozpoczęcia testu). Wzrost zmętnienia w kuwetach testowych, spowodowany spadkiem intensywności pobierania substratu pożywkowego przez pierwotniaki, odzwierciedla zahamowanie wzrostu kolonii. Wyniki wyrażono w postaci średniego procentu zahamowania wzrostu kolonii w odpowiednich stężeniach. Na podstawie uzyskanych rezultatów wyznaczono wartości EC_{50} .

Klasyfikacja toksyczności badanych próbek

Wartości wskaźników ekotoksykologicznych wyznaczone w testach zootoksyczności i wyrażone jako % efektu toksycznego EC_{50} przekształcane zostały na jednostkę toksyczności TU (*ang. Toxic Unit*) zgodnie z poniższym wzorem. Na podstawie wyznaczonych wartości TU badane próbki ścieków szpitalnych sklasyfikowano pod względem ich potencjału toksykologicznego. Klasyfikacji dokonano w oparciu o system opracowany przez Persoone i wsp. [2003], a także na podstawie wytycznych zawartych w Dyrektywie EWG [ACE 89/BE 2/D3].

$$TU = \frac{1}{EC_{50}} \times 100\%$$

gdzie TU – jednostka toksyczności,
 EC_{50} – wskaźniki ekotoksykologiczne wyznaczone na podstawie wyników testów toksykologicznych, %.

System klasyfikacji toksyczności opracowany przez zespół Profesora Persoone [2003] od kilkunastu lat z powodzeniem stosowany jest w ocenie skutków jakie wywołać może odprowadzenie do środowiska naturalnego wszelkiego typu ścieków i odcieków. Klasę toksyczności badanych ścieków wytypowano na podstawie danych zamieszczonych w tabeli 1

Toksyczność ścieków szpitalnych oceniono również w odniesieniu do kryteriów ich szkodliwości względem biocenozy wodnych. Wyznaczone, w testach toksyczności ostrej i chronicznej wartości TU sklasyfikowano w oparciu o wytyczne zawarte w Dyrektywie EWG [ACE 89/

Tabela 1. System klasyfikacji toksyczności ścieków wg Persoone i wsp. [2003]**Table 1.** Toxicity classification system for natural wastewater by Persoone et. al. [2003]

Jednostka toksyczności ostrej ścieków (TU)	Klasa toksyczności	Toksyczność	Symbol
TU <0,4	Klasa I	Brak ostrej toksyczności	☺
0,4 ≤ TU <1	Klasa II	Mała ostra toksyczność	☹
1 ≤ TU <10	Klasa III	Ostra toksyczność	☠
10 ≤ TU <100	Klasa IV	Wysoka ostra toksyczność	☠☠
TU ≥ 100	Klasa V	Bardzo wysoka ostra toksyczność	☠☠☠

BE 2/D3 Final Report Commission EC]. System klasyfikacji przedstawiono w tabeli 2.

Analiza statystyczna

W celu wykazania istnienia lub stwierdzenia braku zależności pomiędzy uzyskanymi w trakcie badań wynikami, dla danych cząstkowych otrzymanych w testach ekotoksykologicznych przeprowadzono analizę statystyczną z użyciem programu komputerowego STATISTICA v.10 producenta StatSoft Polska. Typ rozkładu danych zbadano przy użyciu testu normalności rozkładu Shapiro-Wilka. Dla danych o rozkładzie normalnym w celu wykazania istnienia różnic statystycznych analizę statystyczną kontynuowano z wykorzystaniem testu t-Studenta. Dla danych o rozkładzie innym niż normalny, w zależności od grupy analizowanych wyników wykorzystano test U Manna-Whitney'a (nieparametryczny test dla prób niezależnych).

WYNIKI I Dyskusja

Temperatura badanych ścieków utrzymywała się na poziomie $19,0 \pm 22,5$ °C (wartość średnia 21,25 °C). Próbkę surowych ścieków szpitalnych charakteryzowały się lekko zasa-

dowym odczynem (pH 8,06), a zawartość zawiesiny ogólnej w próbkach ścieków osiągnęła średni poziom równy 285 mg/l. Ścieki szpitalne wykorzystane w ramach badaniach, okazały się być bardzo miarodajnymi i reprezentatywnymi próbkami, co wykazano na podstawie wyników analizy fizykochemicznej. Uzyskane wartości parametrów fizykochemicznych zbieżne są z danymi literaturowymi. Wartość ChZT wyznaczona dla próbek ścieków surowych, zbliżona jest do wyników uzyskanych odpowiednio przez Tsakona i wsp. [2007] ($340 \div 550$ mgO₂/l), Mesdaghinia i wsp. [2008] (435 mgO₂/l), Emmanuel'a [2005] ($150 \div 800$ mgO₂/L) oraz Ekhaie i Omavwoya [2008] (658 mgO₂/l). Porównywalne z danymi literaturowymi są również wartości stężeń poszczególnych form azotu, a także ogólna ilość cząstek zawieszonych (TDS) [Emmanuel, 2005], [Ekhaie i Omavwoya, 2008]. Szczegółowe wyniki analizy fizykochemicznej przedstawiono w tabeli 3.

Toksyczne oddziaływanie ścieków szpitalnych na organizmy z gatunku *Daphnia magna* zaobserwowano dla próbek ścieków z przedziału stężeń testowych od 25,00% do 100,00%. Istotnie statystycznie wyniki (wyniki znacząco różne względem próby kontrolnej) uzyskano już dla próbek ścieków 4-krotnie rozcieńczonych (śmiertelność organizmów testowych na po-

Tabela 2. Klasyfikacja toksyczności wg Dyrektywy EWG [ACE 89/BE 2/D3 Finale Report Commission EC]**Table 2.** Toxicity classification according to EC Directive [ACE 89/BE 2/D3 Finale Report Commission EC]

Jednostka toksyczności ostrej ścieków (TU)	Klasa toksyczności	Ocena toksyczności ścieków
0	0	Nietoksyczne
<1	I	Słabo toksyczne
1-10	II	Toksyczne
11-100	III	Silnie toksyczne
>100	IV	Ekstremalnie toksyczne

Tabela 3. Wyniki analizy fizykochemicznej ścieków szpitalnych
Table 3. The results of physico-chemical analysis of hospital wastewater

Parametr	Jednostka	Średnia	±SD
Temperatura	°C	21,25	±0,26
Odczyn	-	8,06	±0,04
Zawiesina ogólna (TDS)	mg/l	285,00	±19,20
Chemiczne zapotrzebowanie tlenu	mgO ₂ /l	431,25	±21,78
Azot amonowy	mg _{N-NH₄} /l	53,24	±0,52
Azot azotanowy	mg _{N-NO₃} /l	0,92	±0,09
Azot azotynowy	mg _{N-NO₂} /l	0,11	±0,01
Halogenki adsorbowane na węglu aktywnym	mg _{AOX} /l	1,54	±0,60
Chlor wolny	mg _{Cl₂} /l	0,19	±0,00
Chlor ogólny	mg _{Cl₂} /l	0,25	±0,08

ziomie 40,00%), podczas gdy ścieki w stężeniu 50,00% wywołały unieruchomienie (rozumiane jako śmierć organizmów testowych) już u ponad 98,00% osobników (tab. 4).

Spośród wszystkich zastosowanych organizmów testowych skorupiaki z gatunku *Artemia salina* charakteryzowały się najwyższą tolerancją na działanie badanego medium. Istotnie statystycznie efekty toksyczne zaobserwowano dopiero dla 2-krotnie rozcieńczonych próbek ścieków surowych (śmiertelność rzędu 10,00%). Dwukrotnie rozcieńczone próbki ścieków indukowały efekty toksyczne na poziomie 23,33%, natomiast ścieki nierozcieńczone wpływały na śmierć wszystkich osobników wykorzystanych w teście (tab. 5).

W przypadku ścieków surowych, toksyczność względem skorupiaków *Thamnocephalus platyoursus* zaobserwowano już w próbkach ścieków 8-krotnie rozcieńczonych. Natomiast 25,00% stężenie ścieków szpitalnych wpłynęło na śmierć blisko połowy organizmów testowych. Zakres toksyczności odnotowany dla próbek ścieków w stężeniu równym i powyżej 12,50% mieścił się w przedziale od 13,33% do 100,00%. Narażenie skorupiaków na działanie ścieków nierozcieńczonych powodowało śmierć organizmów testowych już po kilku godzinach inkubacji (tab. 6). Wyniki testu z wykorzystaniem orzęsków z gatunku *Tetrahymena thermophila* dowodzą, że ścieki szpitalne wpływały negatywnie na wzrost kolonii orzęsków w całym zakresie stosowanych stężeń testowych. Zakres toksycznego oddziaływania ścieków mieścił się w przedziale od 36,40% (stężenie ścieków 6,25%) do 61,92% (stężenie ścieków 100,00%) (tab. 7).

Wyznaczone dla każdego z biotestów wartości wskaźników ekotoksykologicznych EC₅₀ wraz z wynikami klasyfikacji toksyczności próbek ścieków szpitalnych, dokonanej w oparciu o metodykę opisaną przez zespół Persoone [2003] oraz wytyczne zawarte w dyrektywie EWG (ACE 89/BE2/D3), przedstawiono w tabeli poniżej (tab. 8).

Na podstawie wyników analizy ekotoksykologicznej, z uwzględnieniem 100,00% istotności wyników w klasie, surowe próbki ścieków szpitalnych sklasyfikowano jako próbki wykazujące ostrą toksyczność [Persoone i in., 2003]. Według wytycznych Dyrektywy EWG (ACE/89/BE2/D3), surowe ścieki szpitalne sklasyfikowano jako toksyczne.

Wysoką toksyczność ścieków szpitalnych potwierdzają również doniesienia literaturowe, które wskazują, że wysoki potencjał toksykologiczny determinowany jest przede wszystkim obecnością farmaceutyków, substancji diagnostycznych, a także związków stosowanych w trakcie terapii klinicznych [Gartiser i in., 1996; Kümmerer, 2001; Jolibois i in., 2005; Emmanuel, 2005]. Toksyczność ścieków może być dodatkowo potęgowana obecnością reaktywnych form tlenu (ROS), substancji powierzchniowo czynnych i środków dezynfekcyjnych, czyli związków które negatywnie oddziałują na DNA komórkowe i mogą generować powstawanie m.in. zmian nowotworowych [Roeske, 2007]. Zagrożenie, jakie stanowią ścieki szpitalne względem ekosystemu wodnego, potwierdził w swoich badaniach również Escher [2011], który rozszerzył analizę o testy chroniczne na rybach *Pimephales promelas*. Negatywne oddziaływanie ścieków szpitalnych na przedstawicieli ekosystemu wodnego sta-

Tabela 4. Wyniki testu immobilizacji skorupiaków Daphtoxkit FTM

Table 4. Daphtoxkit FTM – immobilization test results

Seria pomiarowa	Kontrola	Stężenie ścieków szpitalnych					EC ₅₀ [%]
		6,25 [%]	12,5 [%]	25,0 [%]	50,0 [%]	100,0 [%]	
Seria 1	0,00	0,00	5,00*	35,00*	99,00*	100,00*	24,61
Seria 2	0,00	5,00*	0,00	45,00*	98,00*	100,00*	30,18
Średnia	0,00	2,50	2,50	40,00*	98,50*	100,00*	27,40

* Wynik istotny statystycznie względem próby kontrolnej (test t-Studenta, p <0,05).

Tabela 5. Wyniki testu toksyczności ostrej Artoxkit MTM

Table 5. Artoxkit MTM – acute toxicity test results

Seria pomiarowa	Kontrola	Stężenie ścieków szpitalnych						EC ₅₀ [%]
		6,25 [%]	12,5 [%]	25,0 [%]	50,0 [%]	75,00 [%]	100,0 [%]	
Seria 1	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67*	13,33*	100,00*	75,52
Seria 2	0,00	0,00	0,00	0,00	13,33*	33,33*	100,00*	69,00
Mediana	0,00	0,00	0,00	0,00	10,00*	23,33*	100,00*	71,26

* Wynik istotny statystycznie względem próby kontrolnej (test U Manna-Whitney'a, <0,05).

Tabela 6. Wyniki testu toksyczności ostrej Thamnotoxkit FTM

Table 6. Thamnotoxkit FTM – acute toxicity test results

Seria pomiarowa	Kontrola	Stężenie ścieków szpitalnych					EC ₅₀ [%]
		6,25 [%]	12,5 [%]	25,0 [%]	50,0 [%]	100,0 [%]	
Seria 1	0,00	6,66*	13,33*	33,33*	80,00*	100,00*	22,58
Seria 2	0,00	0,00	13,33*	46,66*	100,00*	100,00*	18,07
Mediana	0,00	3,33	13,33*	40,00*	90,00*	100,00*	20,33

* Wynik istotny statystycznie względem próby kontrolnej (test U Manna-Whitney'a, <0,05).

Tabela 7. Wyniki testu toksyczności chronicznej Protoxkit FTM

Table 7. Protoxkit FTM – chronic toxicity test results

Seria pomiarowa	Stężenie ścieków szpitalnych					EC ₅₀ [%]
	6,25 [%]	12,5 [%]	25,0 [%]	50,0 [%]	100,0 [%]	
Seria 1	30,62	49,05	54,20	53,93	58,81	28,64
Seria 2	41,46	43,90	53,93	65,04	65,04	18,22
Średnia	36,04	46,47	57,59	61,92	61,92	23,43

* Wynik istotny statystycznie względem próby kontrolnej (test t-Studenta, p <0,05).

Tabela 8. Klasyfikacja toksyczności badanych próbek ścieków szpitalnych

Table 8. Toxicity classification of hospital wastewater

Organizm testowy	Surowe ścieki szpitalne			
	EC ₅₀ [%]	TU	Klasa toksyczności	
			wg Persoone (2003)	wg EWG ACE/89/BE2/D3
<i>Daphnia magna</i>	27,40	3,65	III	II
<i>Artemia salina</i>	71,26	1,40	III	II
<i>Tetrahymena thermophila</i>	20,33	4,92	III	II
<i>Thamnocephalus platyurus</i>	23,43	4,27	III	II
Istotność wyniku w klasie	100,00 %		100,00%	-
Toksyczność			Ostra toksyczność	Toksyczne

ło się przedmiotem badań Orias'a i Perrodin'a [2013], którzy wykorzystując baterię biotestów chronicznych oszacowali ryzyko spowodowane bezpośrednią depozycją ścieków do rzeki. Autorzy wykazali brak negatywnego oddziaływania skażonych wód rzecznych na reprodukcję *Daphnia magna*, *Heterocypris incongruens* i wzrost *Pseudokirchneriella subcapitata*, uzyskali jednak efekt toksyczny na poziomie 14% w teście na *Brachionus calyciflorus*, dowodząc tym samym, że dłuższa ekspozycja może negatywnie wpływać na procesy życiowe organizmów narażonych na ich działanie. Dodatkowo wykazano w literaturze wprost proporcjonalną zależność pomiędzy obecnością w ściekach specyficznego typu zanieczyszczeń, a reakcją organizmów na ich działanie [Guzzella i in., 2004; Wang i in., 2007]. Kümmerer i wsp. [Kümmerer i in., 2000] dowiedli, że obecność w ściekach szpitalnych wysokich stężeń leków znajdujących się w powszechnym użyciu (ciprofloxacyna, ofloxacyna czy metronizadol) potęguje efekt ich mutagennego i toksycznego oddziaływania względem komórek bakteryjnych odpowiednio dla *Salmonella typhimurium* i *Pseudomonas putida*. Dodatkowo Emmanuel (2005) i Boillot i wsp. [2008] wykazali, że czynnikiem wysokiego ryzyka, generującym wzrost potencjału toksykologicznego ścieków jest obecność glutaraldehydu, środka powszechnie stosowanego w dezynfekcji narzędzi i sprzętu chirurgicznego. Uzyskane dla ścieków szpitalnych zawierających glutaraldehyd wartości EC_{50} wyniosły odpowiednio 0,16% w teście Microtox® dla bakterii *Vibrio fischeri* i 0,02% dla *Daphnia magna* w teście immobilizacji skorupiaków [Emmanuel, 2005].

WNIOSKI

Z raportów WHO wynika, że ponad 80% składu ścieków szpitalnych stanowią ścieki bytowo-gospodarcze łatwo ulegające biodegradacji. W pozostałych 20% skumulowany jest jednak olbrzymi ładunek zanieczyszczeń, czyniący te ścieki niezwykle toksycznymi i potencjalnie zagrażającymi zdrowiu i życiu ludzkiemu [Chaurasia i in., 2009]. Z publikacji naukowych wynika, że toksyczność ścieków szpitalnych jest od 5-ciu do 15-stu razy wyższa od toksyczności ścieków miejskich. Fakt ten, jak również wyniki przeprowadzonych badań na podstawie których ścieki sklasyfikowano jako medium zarówno toksyczne (klasyfikacja wg. EWG ACE/89/BE2/

D3) jak i wykazujące ostrą toksyczność (Klasyfikacja wg. Persoone'a) jednoznacznie dowodzą, że surowe ścieki szpitalne stanowią poważne zagrożenie dla ekosystemów wodnych, a niewłaściwe gospodarowanie nimi rozumiane jako niedostateczne ich oczyszczenie może doprowadzić do katastrofalnych i nieodwracalnych zmian w biocenozach rzecznych. Dodatkowo, mając na uwadze fakt, że nie wszystkie obecne w ściekach szpitalnych substancje farmakologiczne i diagnostyczne usuwane są w konwencjonalnych układach oczyszczania ścieków, koniecznym wydaje się prowadzenie monitoringu efektywności oczyszczania ww. ścieków, który oprócz kontroli poziomu standardowych wskaźników zanieczyszczeń, obejmował będzie również biomonitoring próbek ścieków oczyszczonych, pozwalający ocenić rzeczywisty wpływ ścieków oczyszczonych na zasiedlających ekosystemy rzeczne przedstawicieli fauny i flory.

Podziękowania

Autorzy pragną wyrazić swoją wdzięczność dla Narodowego Centrum Nauki za finansowanie badań w ramach grantu o numerze: N N523 561038.

BIBLIOGRAFIA

1. APHA 4500-Cl₂-G. Standard Methods for the Examination of the amount of free or dissolved chlorine in water.
2. Boillot C., Perrodin Y. 2008. Join-action ecotoxicity of binary mixtures of glutaraldehyde and surfactants used in hospitals: Use of the Toxicity Index model and isoblogram representation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 252-259.
3. Chaurasia S., Dwivedi R., Singh R., Dwivedi P. 2009. Hospital Waste Management and its Probable Health Effect. *Indian Journal of Environmental Protection*, 29, 16-19.
4. DIN 38405-9 (2011-09). German standard methods for examination of water, waste water and sludge - Anions (group D) - Part 9: Spectrometric determination of nitrate.
5. DIN 38408-4 (1984-06). German standard methods for the examination of water, waste water and sludge; gaseous components (group G); determination of free chlorine and total chlorine (G 4).
6. DIN EN 26777-10 (1993-04). Water quality; determination of nitrite; molecular absorption spectrometric method.

7. Dyrektywa EWG – Raport Komisji ACE 89/BE 2/D3.
8. Ekhaïse F.O., Omavwoya B.P. 2008. Influence of Hospital Wastewater Discharged from University of Benin Teaching Hospital (UBTH), Benin City on its Receiving Environment. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science*, 4 (4), 484-488.
9. Emmanuel E., Hanna K., Bazin C., Keck G., Clément B., Perrodin Y. 2005. Fate of glutaraldehyde in hospital wastewater and combined effects of glutaraldehyde and surfactants on aquatic organisms. *Environment International*, 31,399-406.
10. Escher B.I., Baumgartner R., Koller M., Treyer K., Lienert J., McArdell C.S. 2011. Environmental toxicology and risk assessment of pharmaceuticals from hospital wastewater. *Water Research*, 45, 75-92.
11. Gartiser S., Binker L., Erbe T., Kümmerer K., Willmund R. 1996. Belastung von Krankenhausabwasser mit gefährlichen Stoffen im Sinne, *Acta Hydrochemie und Hydrobiologica*, 24:2.
12. Gupta P., Mathur N., Bhatnagar P., Nagar P., Srivastava S. 2009. Genotoxicity evaluation of hospital wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1925-1932.
13. Guzzella L., Monarca S., Zani C., Feretti D., Zerbini I., Buschini A., Poli P., Rossi C., Richardson S.D. 2004. In vitro potential genotoxic effects of surface drinking water treated with chlorine and alternative disinfectants. *Mutation Research*, 564, 179-193.
14. ISO 14380:2011-11 (E). Water quality - Determination of the acute toxicity to *Thamnocephalus platyurus* (Crustacea, Anostraca).
15. ISO 6341:2012. Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test.
16. ISO 7150-1:1984. Water quality - Determination of ammonium - Part 1: Manual spectrometric method.
17. Jolibois B., Guerbert M. 2005. Evaluation of industrial, hospital and domestic wastewater genotoxicity with the *Salmonella* fluctuation test and the SOS chromotest. *Mutation Research*, 565, 151-162.
18. Jolibois B., Guerbert M. 2005. Simplified Protocol for Evaluating the Genotoxic Risk of Hospital Wastewater. *Environmental Toxicology*, 21(2), 141-146.
19. Kümmerer K. 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review. *Chemosphere*, 45, 957-969.
20. Kümmerer K., Al-Ahmad A., Mersh-Sundermann V. 2000. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere*, 40, 701-710.
21. Mesdaghinia A.R., Naddafi K., Nabizadeh R., Saeedi R., Zamanzadeh M. 2009. Wastewater Characteristic and Appropriate Method for wastewater Management in the Hospitals, 38 (1), 34-40.
22. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Test No. 202: *Daphnia sp.* Acute Immobilisation Test.
23. Orias F., Perrodin Y. 2013. Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: A review. *Science of The Total Environment*, 454 (455), 250-276.
24. Persoone G., Marsalek B., Blinova I., Törökne A., Zarina D., Manusadzianas L., Nałęcz-Jawecki G., Tofan L., Stepanova N., Tothova L., Kolar B. 2003. A practical and User-Friendly Toxicity Classification System with Microbiotests for Natural Waters and Wastewaters. *Environmental Toxicology*, 18 (6), 395-402.
25. PN-6060:2006. Jakość wody. Oznaczanie chemicznego zapotrzebowania tlenu.
26. PN-C-04620-11:1974. Woda i ścieki. Pobieranie próbek-Pobieranie próbek ścieków z otwartych kanałów ściekowych do analizy fizycznej i chemicznej oraz bakteriologicznej.
27. PN-EN 872:2007 Jakość wody. Oznaczanie zawiesin-Metoda z zastosowaniem filtracji przez sączki z włókna szklanego.
28. PN-EN ISO 5667-16:2004. Jakość wody. Pobieranie próbek-Część 16: Wytyczne dotyczące postępowania z próbkami do biotestów.
29. PN-ISO 5667-10:1997. Jakość wody. Pobieranie próbek -- Wytyczne pobierania próbek ścieków.
30. Roeske, W. 2007. Dezynfekcja wody pitnej. Oficyna Wydawnicza PROJPRZEMEKO, Bydgoszcz.
31. Tsakona M., Anagnostopoulou E., Gidaracos E. 2007. Hospital waste management and toxicity evaluation: A case study. *Waste Management*, 27, 912-920.
32. US EPA 354.1. Nitrogen, Nitrite (Spectrophotometric). Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes, EPA-600/ 4-79-020.
33. Ustawa z dnia 20 lipca 2017 r. prawo wodne [Dz. U. 2018.2268].
34. Wang L., Wei D., Wei J., Hu H. 2007. Screening and estimating of toxicity formation with photobacterium bioassay during chlorine disinfection of wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 141, 289-294.