

Krzysztof Korczak, Magdalena Pankiewicz*, Marcin Głodniok**

ZASTOSOWANIE METODY BIOINDYKACJI DO OCENY ODDZIAŁYWANIA ŚCIEKÓW PRZEMYSŁOWYCH NA ŚRODOWISKO WODNE

Streszczenie

Ekotoksykologia jest nauką względnie młodą, która stanowi połączenie ekologii i toksykologii, pozwalającą na badanie wpływu substancji toksycznych na ekosystemy. Bioindykacja jest metodą, w której wykorzystuje się jako wskaźnik organizmy żywe. Ich reakcja może być podstawą do oceny ogólnej aktywności biologicznej badanego układu, a co za tym idzie, do oceny toksyczności badanej próbki. Za pomocą bioindykacji można wyznaczyć ogólną toksyczność badanej próbki oraz określić sumaryczny efekt oddziaływania zanieczyszczeń zawartych w ściekach na środowisko wodne. Istnieje wiele testów, w których jest wykorzystywana metoda bioindykacji. W Głównym Instytucie Górnictwa badania prowadzono z zastosowaniem LUMIStox. System ten pozwala na uzyskanie powtarzalnych i miarodajnych wyników pomiarów.

The use of bioindication method for assessment of industrial sewage impact on water environment

Abstract

Ecotoxicology is relatively young science, which forms link between ecology and toxicology enabling investigation of toxic substances' impact on ecosystems. Bioindication is a method in which living organisms are used as indicator. Their reaction can be a basis for assessment of general biological activity of studied system, and, as a consequence, for assessment of studied sample toxicity. With the help of bioindication, the general toxicity of studied sample may be determined, as well as the total effect of contaminations contained in sewages impact on water environment may be defined. Many tests exist, in which the bioindication method is used. In Central Mining Institute, the tests with the use of LUMIStox were conducted. This system enables to obtain repeatable and reliable results of measurements.

1. BADANIA EKOTOKSYKOLOGICZNE ŚRODOWISKA WODNEGO METODĄ BIOINDYKACJI

Ekotoksykologia jest nauką względnie młodą, która stanowi połączenie ekologii i toksykologii; zajmuje się badaniem wpływu substancji toksycznych na ekosystemy (Manahan 2006). O ile tradycyjna toksykologia jest nauką o wpływie substancji toksycznych na organizmy żywe, głównie ludzi, to ekotoksykologia zajmuje się wpływem na grupy w populacjach żyjących w środowisku naturalnym.

Bioindykacja jest metodą, w której do określania zmian w środowisku wykorzystuje się wskaźniki biologiczne – organizmy żywe. Ich reakcje mogą być podstawą do oceny ogólnej aktywności biologicznej badanego układu, a co za tym idzie, do oceny toksyczności badanej próbki (Nałęcz-Jawecki 2003). Bioindykacyjna ocena różnych technologii produkcji, a także bieżący monitoring ścieków i odpadów sprzyjają tworzeniu technologii proekologicznych. Najczęściej standardowy monitoring wód i ścieków obejmuje na ogół wyznaczanie kilkunastu podstawowych parametrów fizykochemicznych. Część zanieczyszczeń jest traktowana

* Główny Instytut Górnictwa

jako ogólne parametry wody BZT₅, ChZT lub OWO (ogólny węgiel organiczny). Często dodatkowe oznaczanie stężenia niektórych substancji specyficznych (np. metali, węglodorów, pestycydów) nie daje konkretnej odpowiedzi na pytanie, jak badane ścieki mogą działać na organizmy żywe i jak to może oddziaływać na środowisko wodne.

Określanie stężeń większości związków w ściekach byłoby kosztowne, a także trudne, ze względu na to, że część zanieczyszczeń w nich zawartych może uaktywniać się po wprowadzeniu do środowiska. Przykładem może być uwalnianie się metali przy zmniejszaniu się odczynu w wodach odbiornika lub przy zmieszaniu ze ściekami kwaśnymi. Metodą bioindykacji można wyznaczyć ogólną toksyczność badanych ścieków oraz określić sumaryczny efekt oddziaływania zanieczyszczeń na środowisko wodne.

Organizacje międzynarodowe zalecają stosowanie czterech rodzajów bioindykatorów: rozwielitki *Daphnia magna* lub *Daphnia pulex* (ISO 6341:1996, EC-C2 1992), ryby – różne gatunki (ISO 7346:1996, EC-C1 1992), glony – zielenice *Scenedesmus subspicatus* lub *Selenastrum capricornutum* (ISO 8692:1994, EC-C3 1992) oraz bakterie *Pseudomonas putida* i *Vibrio fischeri* (ISO 10712:1995).

Pierwszymi badaniami, w których wykorzystano metodę bioindykacji, był test Microtox®, który został opracowany w 1979 roku w USA. Bioindykator stanowiły bakterie *Vibrio fischeri* (Bulich 1982). Organizmy te około 10% metabolizmu zużywają na wytwarzanie światła. W obecności substancji toksycznych luminescencja zmniejsza się wraz ze wzrostem toksyczności ogólnej próbki. Z zastosowaniem tego bioindykatora opracowano systemy, między innymi: LUMISTox, Biotox, ToxAlert.

W Głównym Instytucie Górnictwa do wykonywania badań stosowano system LUMISTox, który jest z powodzeniem szeroko stosowany w wielu placówkach badawczych na całym świecie. Wybrane przykłady prac naukowych z wykorzystaniem omawianego systemu przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Przykłady prac badawczych z zastosowaniem systemu LUMISTox 300

Lp.	Tytuł	Autorzy	Czasopismo	Zakres badań
1	Toxicity evaluation of reactive dyestuffs, auxiliaries and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria <i>Vibrio fischeri</i>	Ch. Wang, A. Yediler, D. Liener, Z. Wang, A. Kettrup	Chemosphere 46 (2002) s. 339–344	Badanie toksyczności próbek ścieków, reaktywnych barwników pochodzących z zakładów tekstylnych w miejscowościach Ayazaga i Istanbul (Turcja)
2	Effect of dealumination of iron(III)-exchanged Y zeolites on oxidation of Reactive Yellow 84 azo dye in the presence of hydrogen peroxide	M. Neamtu, C. Catrinescu, A. Kettrup	Applied Catalysis B: Environmental 51 (2004) s. 149–157	Przedmiotem badań była degradacja reaktywnego barwnika RY84 z zastosowaniem nadtlenu wodoru jako utleniacza
3	Ozonation of oxytetracycline and toxicological assessment of its oxidation by-products	K. Li, A. Yediler, M. Yang, S. Schulte-Hostede, M.H. Wong	Chemosphere 72 (2008) s. 473–478	Przedmiotem badań był proces degradacji antybiotyku oksytetracykliny (OTC), który jest znany jako trudno eliminowany oraz z niebezpieczeństwa, jakie stwarza dla środowiska z powodu jego niestabilności. Za pomocą LUMISTox 300 badano toksyczność produktów powstałych w wyniku oksydacji OTC
4	Abamectin in the aquatic environment	T. Tišler, N. Kožuh Eržen	Ecotoxicology 15 (2006) s. 495–502	Badanie toksyczności próbek zanieczyszczonych lekiem Abamectin (popularny lek stosowany w weterynarii)
5	Bio-remediation of colored industrial wastewaters by the white-rot fungi <i>Phanerochaete chrysosporium</i> and <i>Pleurotus ostreatus</i> and their enzymes	V. Faraco, C. Pezzella, A. Miele, P. Giardina	Biodegradation 20 (2009) s. 209–220	Przedmiotem badań była biorekultywacja kolorowych ścieków przemysłowych z wykorzystaniem grzybów z grupy <i>Phanerochaete chrysosporium</i> i <i>Pleurotus ostreatus</i>

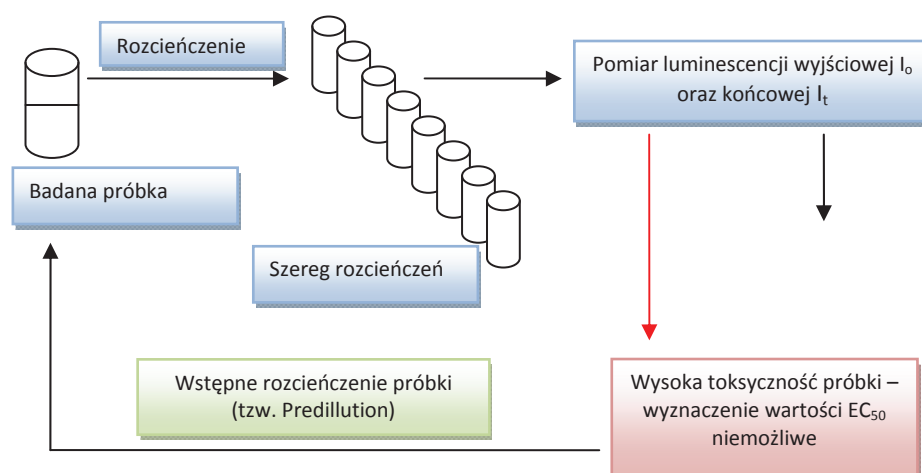
2. METODYKA POMIARÓW ZASTOSOWANA W BADANIACH TOKSYCZNOŚCI

Do pomiarów toksyczności zastosowano luminometr typu LUMIStox 300 – Dr. Lange, który pozwolił na uzyskanie powtarzalnych i miarodajnych wyników. Wszystkie materiały i odczynniki pochodziły od producenta, a pomiar i sama inkubacja były prowadzone w ściśle określonych i kontrolowanych warunkach, zgodnych z normą ISO 11348:2007 (tab. 2).

Tabela 2. Zakres normy ISO 11348:2007

PN-EN ISO 11348-1:2007 ICS: 13.060.70	Jakość wody – Oznaczenie inhibicyjnego działania próbek wody na emisję światła przez <i>Vibrio fischeri</i> (badanie na bakteriach luminescencyjnych) Część 1: Metoda z zastosowaniem świeżo przygotowanych bakterii (oryg.)
PN-EN ISO 11348-2:2007	Jakość wody – Oznaczenie inhibicyjnego działania próbek wody na emisję światła przez <i>Vibrio fischeri</i> (badanie na bakteriach luminescencyjnych) Część 2: Metoda z zastosowaniem wysuszonych bakterii (oryg.)
PN-EN ISO 11348-3:2007	Jakość wody – Oznaczenie inhibicyjnego działania próbek wody na emisję światła przez <i>Vibrio fischeri</i> (badanie na bakteriach luminescencyjnych) Część 3: Metoda z zastosowaniem liofilizowanych bakterii (oryg.)

Wszystkie próbki badanej wody były rozcieńczane w 2% wodnych roztworach NaCl. Rozcieńczenia były przygotowane zgodnie z normą ISO 11348:2007, według wskazań producenta. Czas inkubacji próbek wynosił 15 minut. Schemat postępowania przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat postępowania podczas pomiarów ekotoksykologicznych

Fig. 1. Layout of proceeding during ecotoxicological measurements

Na podstawie otrzymanych wyników pomiaru były wyznaczane wskaźniki toksyczności próbek EC_{20} i EC_{50} . Są to wielkości stanowiące dawkę. Określony efekt,

czyli w przypadku prowadzonych badań, zahamowanie luminescencji, uzyskano odpowiednio dla 20% i 50% obserwowanej populacji (Walker, Hopkin 2002). Wartości EC_{50} przedstawia się jako tzw. jednostkę toksyczności TU (*toxic unit*)

$$TU = (1/EC_{50}) \cdot 100$$

Na podstawie największej liczby jednostek toksyczności TU, otrzymanych w jednym z testów, próbki ścieków są zaliczane do następujących klas:

- Klasa I: brak ostrej toksyczności – test nie wykazał żadnej toksyczności badanych próbek.
- Klasa II: mała ostra toksyczność – został zaobserwowany procentowy efekt zahamowania luminescencji, jednakże jest on mniejszy niż 50% ($TU < 1$). 20% zahamowanie luminescencji może być uznane za najniższy znaczący efekt, mający istotny wpływ toksyczny. 20% efekt jest równoważny 0,4 TU, 30% efekt = 0,6 TU i 40% efekt = 0,8 TU.
- Klasa III: ostra toksyczność – wartość EC_{50} została osiągnięta lub przekroczona, ale w 10-krotnym rozcieńczeniu próbki efekt jest już mniejszy niż 50% (1–10 TU).
- Klasa IV: wysoka ostra toksyczność – wartość EC_{50} została osiągnięta przy 10-krotnym rozcieńczeniu próbki, ale nie została osiągnięta przy 100-krotnym rozcieńczeniu próbki (10 –1 TU).
- Klasa V: bardzo wysoka ostra toksyczność – wartość EC_{50} została osiągnięta przy 100-krotnym rozcieńczeniu ($TU \geq 100$).

Podział ścieków na klasy ze względu na toksyczność przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. System klasyfikacji toksyczności ścieków wprowadzanych do środowiska wodnego

Jednostka toksyczności, TU	Klasa	Toksyczność
< 0,4	I	Brak ostrej toksyczności
0,4 < TU < 1	II	Mała ostra toksyczność
1 < TU < 10	III	Ostra toksyczność
10 < TU < 100	IV	Wysoka ostra toksyczność
TU > 100	V	Bardzo wysoka ostra toksyczność

Źródło: Ecotoxicology and Environmental Safety 71 (2008), s. 830–836.

3. ZASTOSOWANIE BADAŃ EKOTOKSYKOLOGICZNYCH DO OCENY ODDZIAŁYWANIA ŚCIEKÓW NA ŚRODOWISKO WODNE

3.1. Wynik badań ekotoksykologicznych odcieków pochodzących z procesu podziemnego zgazowania węgla kamiennego

Badania toksykologiczne wykonano na próbkach odcieków pochodzących z instalacji pilotowej procesu podziemnego zgazowania węgla kamiennego (Kapusta, Stańczyk 2009). Wybrane parametry fizykochemiczne od ścieków poprocesowych, zestawione z najwyższymi dopuszczalnymi wartościami wskaźników zanieczyszczeń, przedstawiono w tabeli 4 (Rozporządzenie 2006).

Tabela 4. Wybrane parametry fizykochemiczne ścieków pochodzących z procesu podziemnego zgazowania węgla zestawione z dopuszczalnymi wartościami zanieczyszczeń

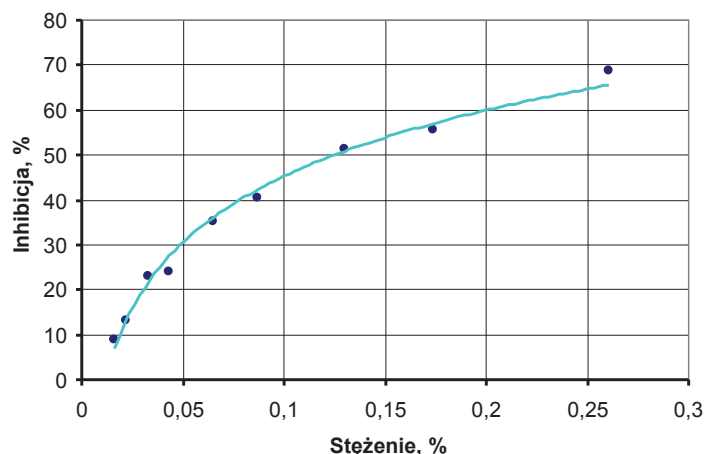
Oznaczenie	Jednostka	Wartość	Najwyższa dopuszczalna wartość średniodobowa (Rozporządzenie 2006)
Barwa	–	słomkowa	n.o.
Przewodność	μS/cm	15 100	n.o.
Odczyn	pH	5,8	6,5–9
BZT ₅	mg/l O ₂	490	25
ChZT _{Cr}	mg/l O ₂	2710	125
Azot amonowy	mg/l N	1930	n.o.
Azot ogólny	mg/l N	1980	30
Zawiesiny ogólne	mg/l	< 2	35
Chlorki	mg/l	929,2	1000
Cyjanki ogólne	mg/l	1,04	n.o.
Cyjanki wolne	mg/l	0,5	0,1
Cyjanki związane	mg/l	0,54	5
Fenole lotne	mg/l	59,1	0,1
OWO	mg/l	181	30
Rodanki	mg/l	6,25	10
Siarczany	mg/l	2510	500
Suma Cl+SO ₄	mg/l	3439	1500
Amon	mg/l	2490	n.o.
Bor	mg/l	5,5	1
Żelazo	mg/l	188	10
BTEX (benzen, toluen, etylobenzen, ksylen)	μg/l	26,5	0,1 (dla BTX)
WWA (wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne)	μg/l	1870	n.o.

n.o. – nie określono

Z tabeli 4 wynika, że ścieki pochodzące z procesu zgazowania węgla przekraczają dopuszczalne zawartości BZT, ChZT, azotu ogólnego, fenoli lotnych, OWO (ogólnego węgla organicznego) czy żelaza. Szczególną uwagę należy jednak zwrócić na wysokie wskaźniki BTEX i WWA (wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne). Wprowadzenie tego typu ścieków bezpośrednio do zbiornika wodnego, bez wcześniejszego oczyszczenia, mogłoby spowodować silne zatrucie środowiska wodnego.

Wstępne badania wykazały wysoką toksyczność próbek ścieków. Z tego powodu było konieczne ich rozcieńczenie w celu wyznaczenia parametru toksyczności i EC₅₀. Uzyskane wyniki badań oraz wykresy zależności zahamowania świecenia bakterii od stężenia próbki przedstawiono na rysunku 2 i w tabeli 5.

Taka wartość EC₅₀ w przeliczeniu na wskaźnik toksyczności TU daje nam wartości rzędu 769 TU, co kwalifikuje badaną próbkę do klasy V – bardzo wysoka ostra toksyczność. Badania te potwierdziły przypuszczenia o szkodliwości odcieków dla środowiska wodnego i konieczności prowadzenia dalszych badań w zakresie unieszkodliwiania uwalnianych w procesie zanieczyszczeń.



Rys. 2. Zależność inhibicji luminescencji bakterii od stężenia dla próbki ścieków pochodzących z procesu podziemnego zgazowania węgla

Fig. 2. Dependence of bacterium's luminescence inhibition from concentration for sample of sewage from the process of underground coal gasification

Tabela 5. Wyliczone wartości EC dla próbki pochodzącej z procesu podziemnego zgazowania węgla

EC:	20	30	40	50	60	70	80
Próbka	0,032	0,055	0,084	0,125	0,187	0,288	0,489

Wartość pogrubiona – EC₅₀.

3.2. Wyniki badań ścieków przemysłowych z instalacji chemicznych i z terenów poprzemysłowych

Badaniom toksykologicznym poddano próbki ścieków przemysłowych, pobranych w czasie procesu oczyszczania. Próbki stanowiły mieszaninę ścieków pochodzących z instalacji syntezy organicznej, wód infiltracyjnych z zanieczyszczonych terenów poprzemysłowych oraz odcieków ze składowiska odpadów. Pobrano je z dwóch etapów procesu oczyszczania ścieków:

- próbka (1): ścieki oczyszczone mechanicznie i biologicznie metodą osadu czynnego,
- próbka (2): ścieki oczyszczone biologicznie, poddane procesowi koagulacji, flokulacji i filtracji na filtrach żwirowych.

Wyniki badań fizykochemicznych przedstawiono w tabeli 6.

Z tabeli 6 wynika, że w próbce (ścieki oczyszczone biologicznie) zostały przekroczone dopuszczalne wartości wskaźników BZT₅, ChZT_{Cr}, OWO, azotu ogólnego, zawiesin ogólnych i detergentów anionowych. W próbce 2 (ścieki oczyszczone biologicznie, przefiltrowane) natomiast nie zostały przekroczone żadne dopuszczalne wartości.

Obliczone wartości EC dla badanych próbek przedstawiono w tabeli 7, a krzywe zależności hamowania świecenia bakterii od stężenia próbek na rysunkach 3 i 4.

Tabela 6. Zestawienie badań fizykochemicznych próbek ścieków pochodzących z instalacji przemysłowych

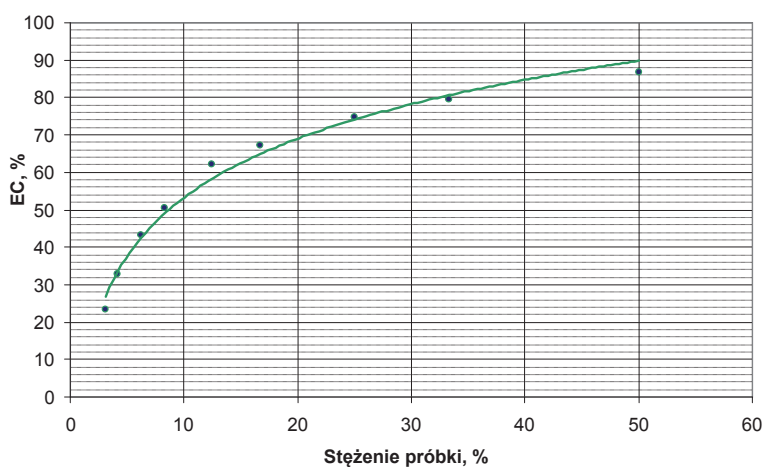
Oznaczenie	Jednostka	Badane próbki		Najwyższa dopuszczalna wartość średniodobowa (Rozporządzenie 2006)
		ścieki oczyszczone biologicznie (1)	ścieki oczyszczone biologicznie, przefiltrowane (2)	
Przewodność	μS/cm	1890	1479	n.o.
Odczyn	pH	7,20	7,20	6,5–9
BZT ₅	mg/l	53	5,0	25
ChZT _{Cr}	mg/l	336	98,8	125
Azot ogólny	mg/l	68	27	30
Azot Klejdahla	mg/l	68	26	n.o.
Zawiesiny ogólne	mg/l	92	4,6	35
AOX	mg/l	0,14	0,12	1
Chlorki	mg/l	208	197	1000
Cyjanki wolne	mg/l	0,007	0,003	0,1
Cyjanki związane	mg/l	0,029	0,016	5
Detergenty anionowe	mg/l	6,78	1,33	5
Detergenty niejonowe	mg/l	0,98	< 0,3	10
Ekstrakt eterowy	mg/l	16	3,8	50
Fenole lotne	mg/l	0,038	0,010	0,1
Fluorki	mg/l	0,075	0,14	25
Fosfor ogólny	mg/l	1,01	0,087	3
OWO	mg/l	70	11	30
Siarczany	mg/l	230	273	500

– wartości przekroczone, n.o. – nie określono.

Tabela 7. Wyliczone wartości EC dla badanych próbek

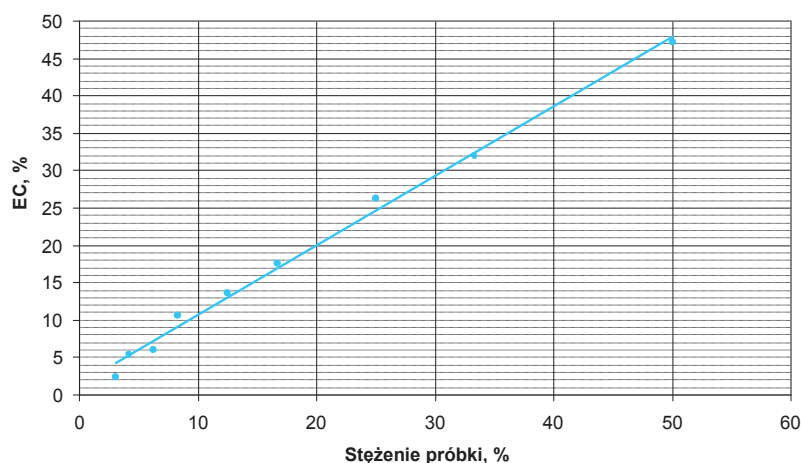
EC	20	30	40	50	60	70	80
Próbka 1	2,30	3,82	5,81	8,54	12,57	19,14	31,97
Próbka 2	17,95	28,90	42,66	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.

n.w. – nie wyznaczono; wartość pogrubiona – EC₅₀.



Rys. 3. Zależność inhibicji luminescencji bakterii od stężenia dla próbki 1 (ścieki oczyszczone biologicznie)

Fig. 3. Dependence of bacterium's luminescence inhibition from concentration for sample 1 (sewages after biological treatment)



Rys. 4. Zależność inhibicji luminescencji bakterii od stężenia dla próbki 2 (ścieki oczyszczone biologicznie, przefiltrowane)

Fig. 4. Dependence of bacterium's luminescence inhibition from concentration for sample 2 (filtered sewages after biological treatment)

Zaobserwowane przekroczenie dopuszczalnych wartości $ChZT_{Cr}$, BZT_5 , azotu, zawiesin ogólnych, detergentów anionowych i OWO w próbce 1 wskazywało na toksyczność badanej próbki. Ścieki zaliczono do klasy IV (wysoka ostra toksyczność), niemniej jednak, wskaźnik TU mieścił się w dolnej granicy, na pograniczu klasy III i IV. W przypadku próbki 2 analiza fizykochemiczna wykazała, że badana próbka ścieków nie przekraczała dopuszczalnych wartości zanieczyszczeń. Analiza toksykologiczna potwierdziła brak jej toksyczności. Zanieczyszczenia zawarte w próbce 2 spowodowały zahamowanie luminescencji bakterii, jednak nie wywołały $\geq 50\%$ efektu w badanym szeregu rozcieńczenia. Oznacza to, że wartość wskaźnika $EC_{50} > 50$. Próbkę o wskaźniku $EC_{50} > 50$ uznaje się za nietoksyczne.

Badania potwierdziły hipotezę, że część zanieczyszczeń znajdujących się w ściekach przemysłowych, a oznaczanych wskaźnikiem $ChZT$ jest biologicznie nierozkładalna przez osad czynny. Usunięcie zanieczyszczeń pozostałych po procesie biologicznym jest skuteczne przez zastosowanie koagulacji, flokulacji, a następnie filtracji.

4. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Zastosowanie metody bioindykacji do oceny toksyczności ogólnej może stanowić dodatkowy element monitoringu ścieków przemysłowych, szczególnie w przypadku występowania substancji specyficznych, nierozkładalnych biologicznie w procesie biologicznego oczyszczania ścieków. Zastosowanie tej metody do określenia toksyczności ścieków pochodzących z procesu podziemnego zgazowania węgla potwierdziło, że stężenie zawartych w nich zanieczyszczeń wymaga badań nad opracowaniem sposobu zapobiegania ich rozprzestrzenianiu się w środowisku wodnym.

W badaniach technologicznych nad intensyfikacją oczyszczania ścieków stanowiących mieszaninę ścieków z instalacji chemicznej, wód infiltracyjnych z zanieczyszczonych terenów poprzemysłowych oraz odcieków ze składowiska odpadów,

testy bioindykacyjne potwierdziły skuteczność dodatkowego etapu oczyszczania metodą chemiczno-filtracyjną.

Aparatura użyta do przeprowadzonych badań została zakupiona w ramach projektu nr: POIG.02.01.00-24-045/08 pt. „Modernizacja zaplecza badawczego wykorzystywanego podczas rewitalizacji terenów zdegradowanych działalnością przemysłową”.

Literatura

1. Bulich A.A. (1982): A practical and reliable method for monitoring the toxicity of aquatic samples. *Process. Biochem.* 17, s. 45–47.
2. EC-C1 (1992): Methods for the determination of ecotoxicity. Acute toxicity for fish. *Official Journal of the European Communities* L383 A/169.
3. EC-C2 (1992): Methods for the determination of ecotoxicity. Acute toxicity for Daphnia. *Official Journal of the European Communities* L383 A/172.
4. EC-C3 (1992): Methods for the determination of ecotoxicity. Algal inhibition test. *Official Journal of the European Communities* L383 A/179.
5. ISO 6341:1996:Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea).
6. ISO 7346:1996:Water quality – Determination of the acute lethal toxicity of substances to a freshwater fish [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)].
7. ISO 8692:2004:Water quality – Freshwater algal growth inhibition test with *Scenedesmus subspicatus* and *Selenastrum capricornutum*.
8. ISO 10712:1995:Water quality – *Pseudomonas putida* growth inhibition test.
9. ISO 11348:2007:Water quality – Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test).
10. Stańczyk K., Kapusta K. (2009): Uwarunkowania i ograniczenia rozwoju procesu podziemnego zgazowania węgla w Polsce. *Przemysł Chemiczny* nr 88/4, s. 331–338.
11. Manahan S.E. (2006): Toksykologia środowiska. Aspekty chemiczne i biochemiczne. Warszawa, Wydaw. Naukowe PWN.
12. Mankiewicz-Boczek M., Nałęcz-Jawecki G. i inni (2008): Application of a microbiotests battery for complete toxicity assessment of rivers. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71, s. 830–836.
13. Nałęcz-Jawecki G. (2003): Badanie toksyczności środowiska wodnego metodą bioindykacji. *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Warszawie* nr 2.
14. Walker C.H., Hopkin S.P. (2002): *Podstawy Ekotoksykologii*. Warszawa, Wydaw. Naukowe PWN.
15. Rozporządzenie (2006): Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 24 lipca 2006 r. w sprawie warunków, jakie należy spełnić przy wprowadzaniu ścieków do wód lub do ziemi, oraz w sprawie substancji szczególnie szkodliwych dla środowiska wodnego (Dz. U. 2006 nr 137, poz. 984 z późniejszymi zmianami).

Recenzent: dr Zbigniew Bzowski