

# Využití biologických nástrojů pro sledování nebezpečných látek v prostředí

Luděk Bláha, Klára Hilscherová, Jakub Hofman, Jiří Novák,  
Michal Bittner, Barbora Jedličková, Tereza Stěpánková, Petra Macíková,  
Martin Beníšek, Jana Klánová, Ivan Holoubek a kol.



# Současná ekotoxikologie ?



Published online: 21 October 2005; | doi:10.1038/news051017-16

## **Pollution makes for more girls**

**The stress of dirty air skews sex ratios in Sao Paulo.**

**Erika Check**

Toxic fumes favour the fairer sex, a group of researchers in Brazil has found.

Jorge Hallak and his team at the University of Sao Paulo turned up the surprising result by studying babies born in their city. They divided the metropolis of 17 million people into areas of low, medium and high air pollution, using test results from air-quality monitoring stations. They then studied birth registries of children born from 2001 to 2003.

The team found that 48.3% of babies were female in the least polluted areas, but 49.3% were female in the dirtiest parts of town. After measuring the ratio of boys to girls born in all the areas, they calculated that 1,180 more babies would have been boys in the polluted areas if they had the same sex ratios as the cleaner areas. The team reported their findings on 17 October at the American

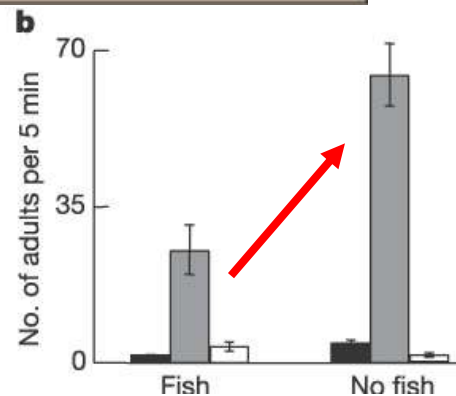
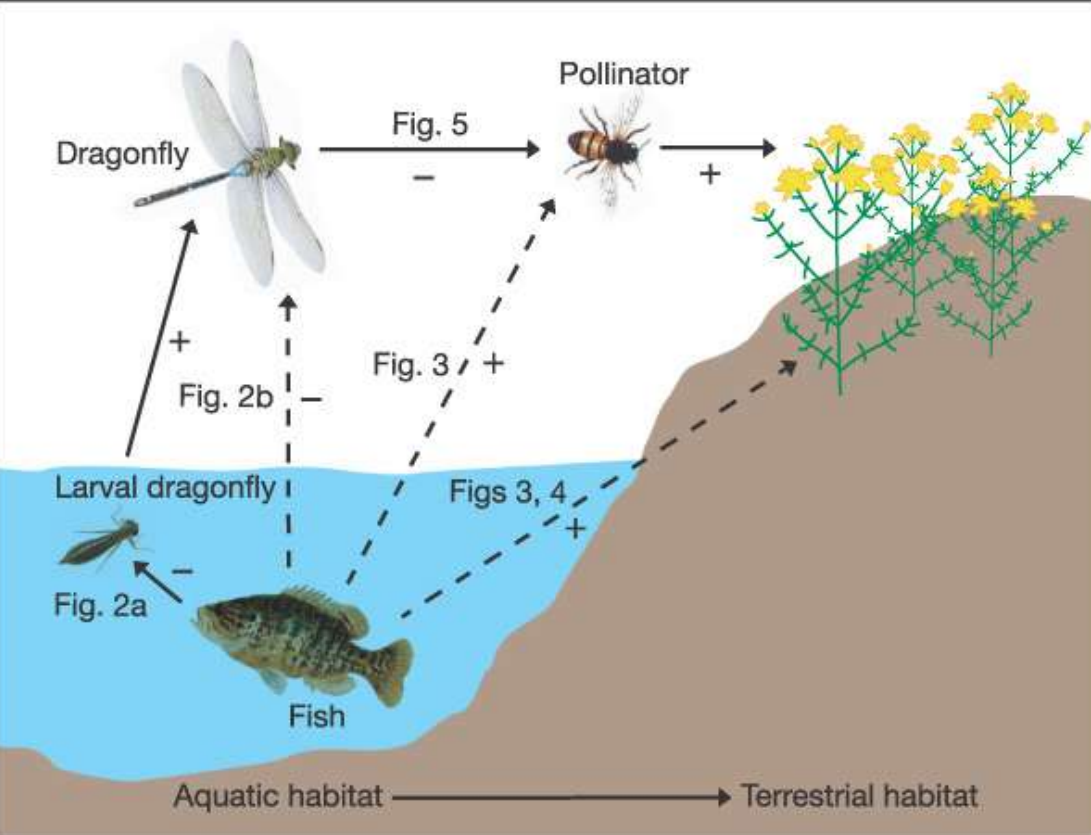


Babies born in highly polluted areas are more likely to be girls.

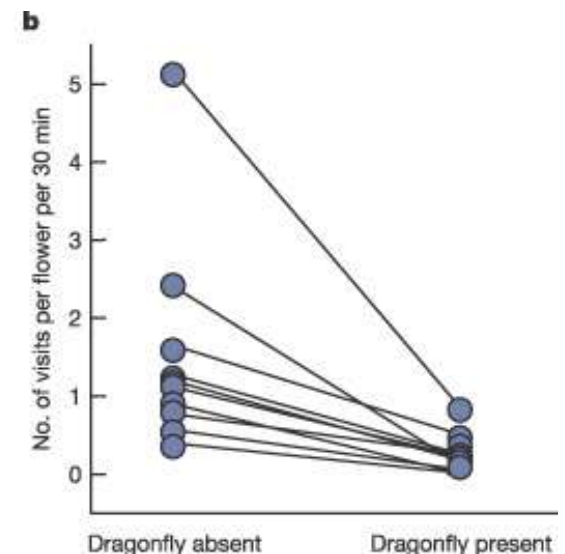
© Alamy

# EKOLOGIE vs. EKOTOXIKOLOGIE

„klíčové druhy“



**Počty šidel**  
vs. ryby



**„Opylování“** vs. šidla

**Knight et al.**  
**Nature (2005) 437: 880**

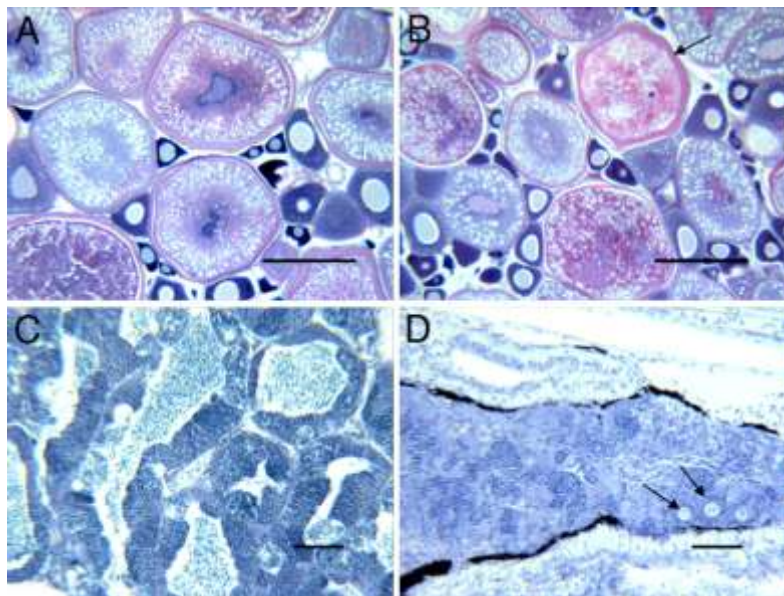
Kidd et al. 2007. *PNAS* 104(21):8897-8901

## Collapse of a fish population

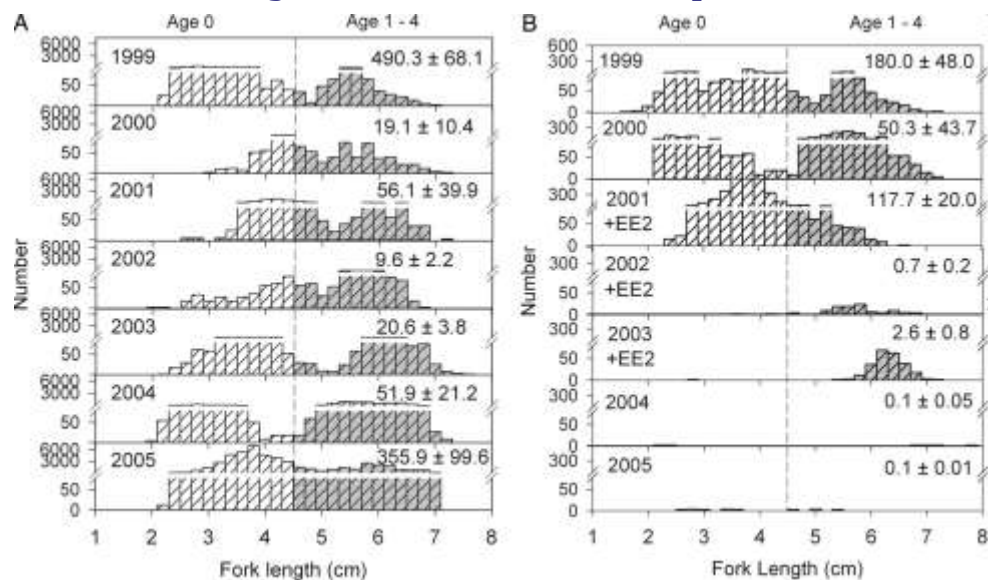
following exposure to a synthetic estrogen.



**5 ng/L (!)  
7 let expozice**



## **Kontrolní jezera + Ethinylestradiol**



# Toxické chemikálie a globální problémy ?

## Promíchávání oceánů

-> ochlazování / fungování zeměkoule

[Nature 447, p.522, May 31, 2007]



**Mořský život přispívá cca 50% k mechanické energii nutné k promíchávání oceánů**

[Dewar, Marine Res 64:541 (2006)]

[Katija a Dabiri, Nature 460:624 (2009)]

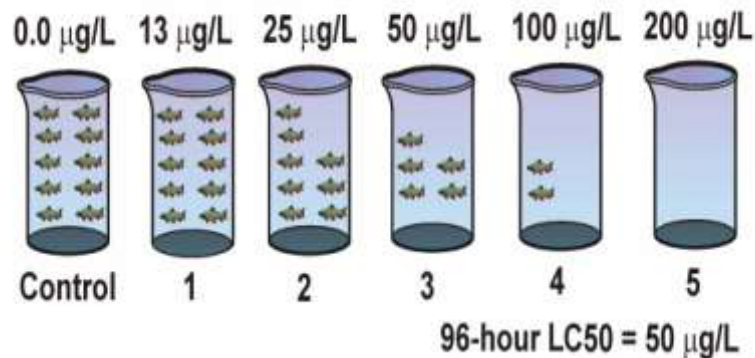
# Hodnocení toxických dopadů na biotu (ekotoxikologické biotesty)



Přídavek látky (Cu)  
[ *Přídavek směsi - vzorku* ]



Concentration:

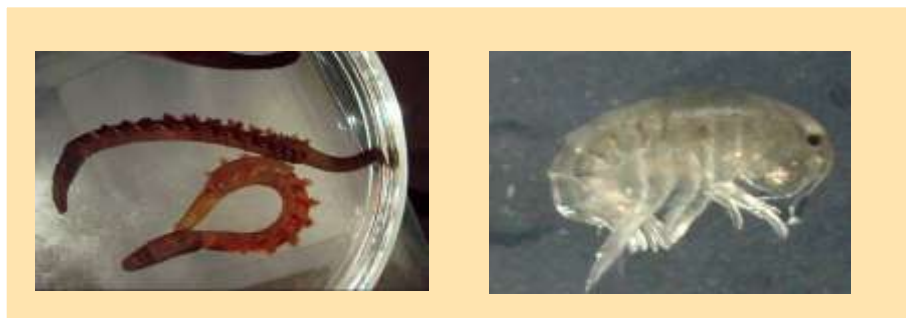


Účinky - koncentrace  
(celkový/rozpuštěný Cu)



Extrapolace =

PNECs nebo EQCs = **LIMITY**  
(celkový/rozpuštěný Cu)



# Realita

## Chemické limity

pro konkrétní  
omezené serie  
látek

## Výjimky

...odtěžené  
sedimenty ...  
reálně zahrnují  
i hodnocení toxicity

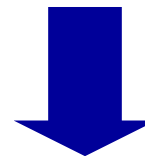
Kritéria znečištění vody (v µg/l, pokud není uvedeno jinak)						
Metodický pokyn - podzemní voda				pitná voda	povrchová voda	
Ukazatele	A	B	C	ČSN 757111	vodár.	ostatní
<b>VII. Chlorované alifatické uhlovodíky</b>						
jednotlivé mimo násl.	0,1	50	100			
1,2-dichlorethan	0,1	25	50	10		
1,1-dichlorethen	0,1	10	20	0,3		
1,2-dichlorethenv	0,1	25	50			
dichlornethan	0,1	15	30			
tetrachlorethen	0,1	10	20	10		
tetrachlormethan	0,1	5	10	3		
trichlorethen	0,1	25	50	30		
trichlornethan	0,1	25	50	30		
chlorethen (vinylchlorid)	0,1	10	20	20		
<b>VIII. Ostatní uhlovodíky (směsné, nhalogenované)</b>						
NEL	50	200	1000	50	50	200
<b>IX. Ostatní aromatické uhlovodíky (halogenované)</b>						
PCB (suma 28, 52, 101, 118, 138, 153 a 180)	0,01	0,25	1	0,05	(d)	0,025
PCDD/PCDF (dibenzodioxiny a dibenzodifurany) v ng/l	0,01	0,025	0,05			
<b>X. Ostatní</b>						
Anorganické látky						
B	100	500	5000		300	500
Cl <sup>-</sup>	25000	100000	150000	100000	150000	350000
F (F <sup>-</sup> pro vodu)	250	2000	4000	1500	1000	1500
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	120	1200	2400	500	1000	3000
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	25	200	400	100	100	200
S (sulfidická)	10	150	300		(d)	20
volné kyanidy/thiokyanáty	5	40	75			
kompex. kyanidy (pH<5)	10	250	500			
kompex. kyanidy (pH>5)	10	100	200			
Organické látky						
cyklohexanon	0,1	250	500			
flaláty (suma)	1	5	10			
hydrochinon	0,1	400	800			
pyrokatechin (katechol)	0,1	600	1200			
kresoly	0,1	100	200			
pavidin	0,1	3	6			
resorcin (resorcinol)	0,1	300	600			
tetrahydrofuran	0,1	5	50			
tetrahydrothiofen	0,1	15	30			
trinitrotoluen (TNT)	0,1	0,5	1			
tenzidy aniontové (PAL-A)	20	250	500	200	200	1000



# Hodnocení toxických dopadů na biotu (ekotoxikologické biotesty)

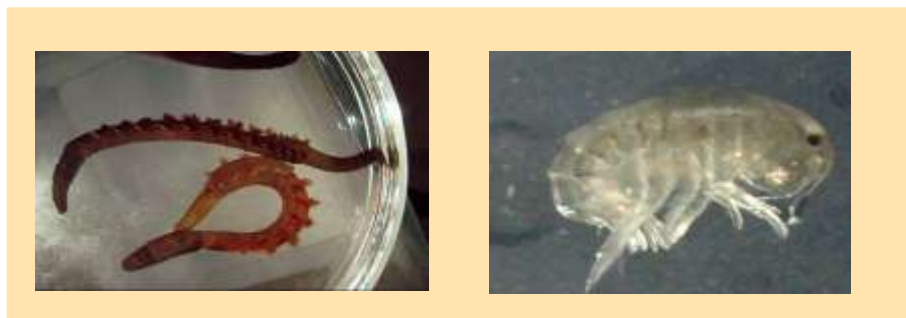
## Problémy

- Ekotoxikologové jsou stále **„vědecky sebekritičtí“ a tedy nesrozumitelní** pro účely legislativy (chemický limit je jednodušší na pochopení)
- Testuje se **zpravidla akutní toxicita** (menší problém v našem západním světě)



Významný „chronický“ problém  
***endokrinní disruptory***

- ***Často neznáme strukturu EDC  
(nelze chemicky analyzovat)***



# Využití biologických nástrojů

## příklady



# Reálný problém

## Nádrž Pilňok

- Region Ostrava-Karviná



**Rak bahenní**

*Pontastacus leptodactylus*

**INTERSEX**

**Samice s mužskými gonopody?**

**Samec s vajíčky?**



# Integrované hodnocení



## Sedimenty

- Pilnok
- Referenční lokality  
*Karviná, Steinlach (Německo)*

## Extrakce

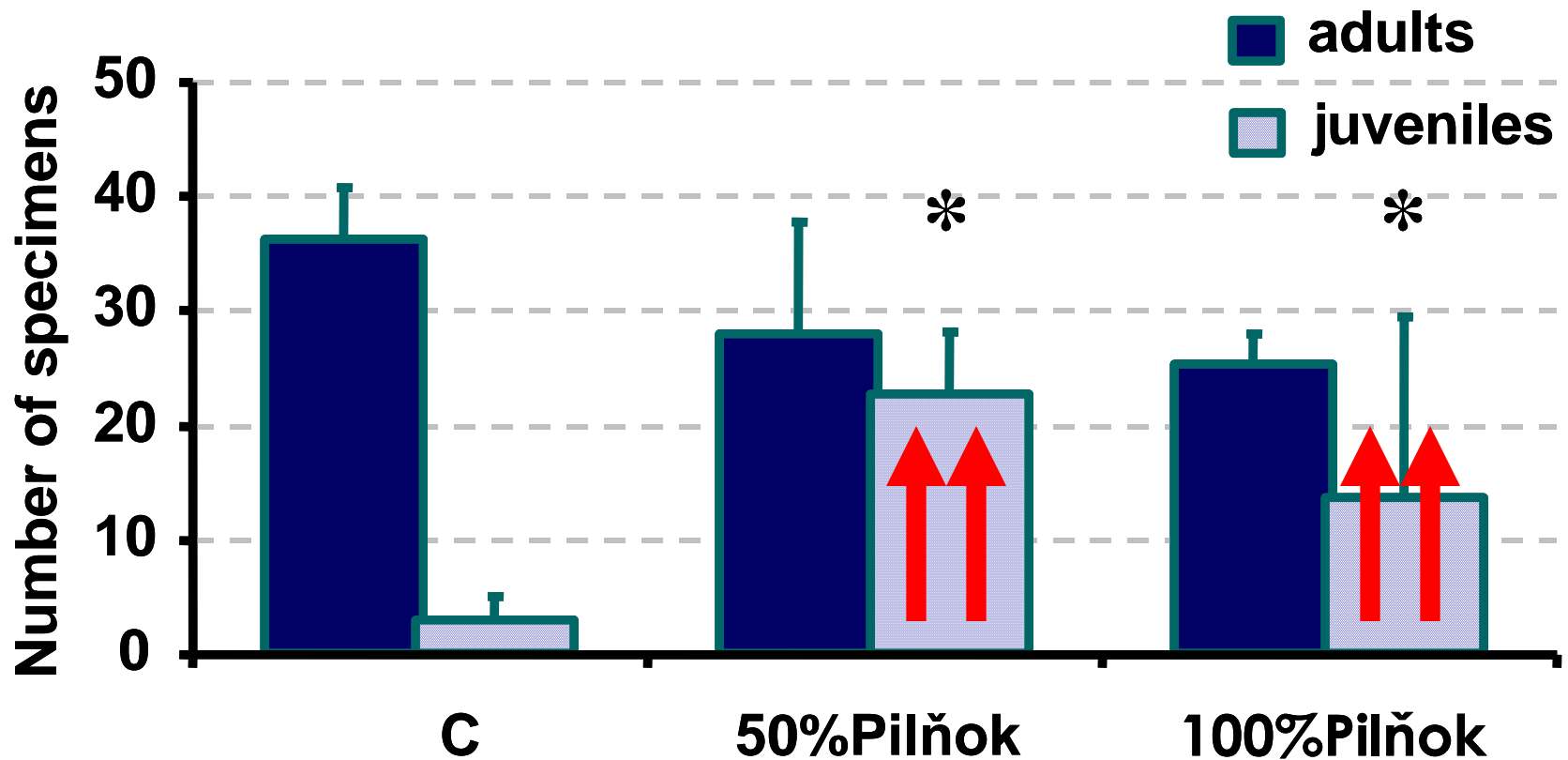
**Chemické  
analýzy**

*In vitro*  
účinky

*In vivo* účinky

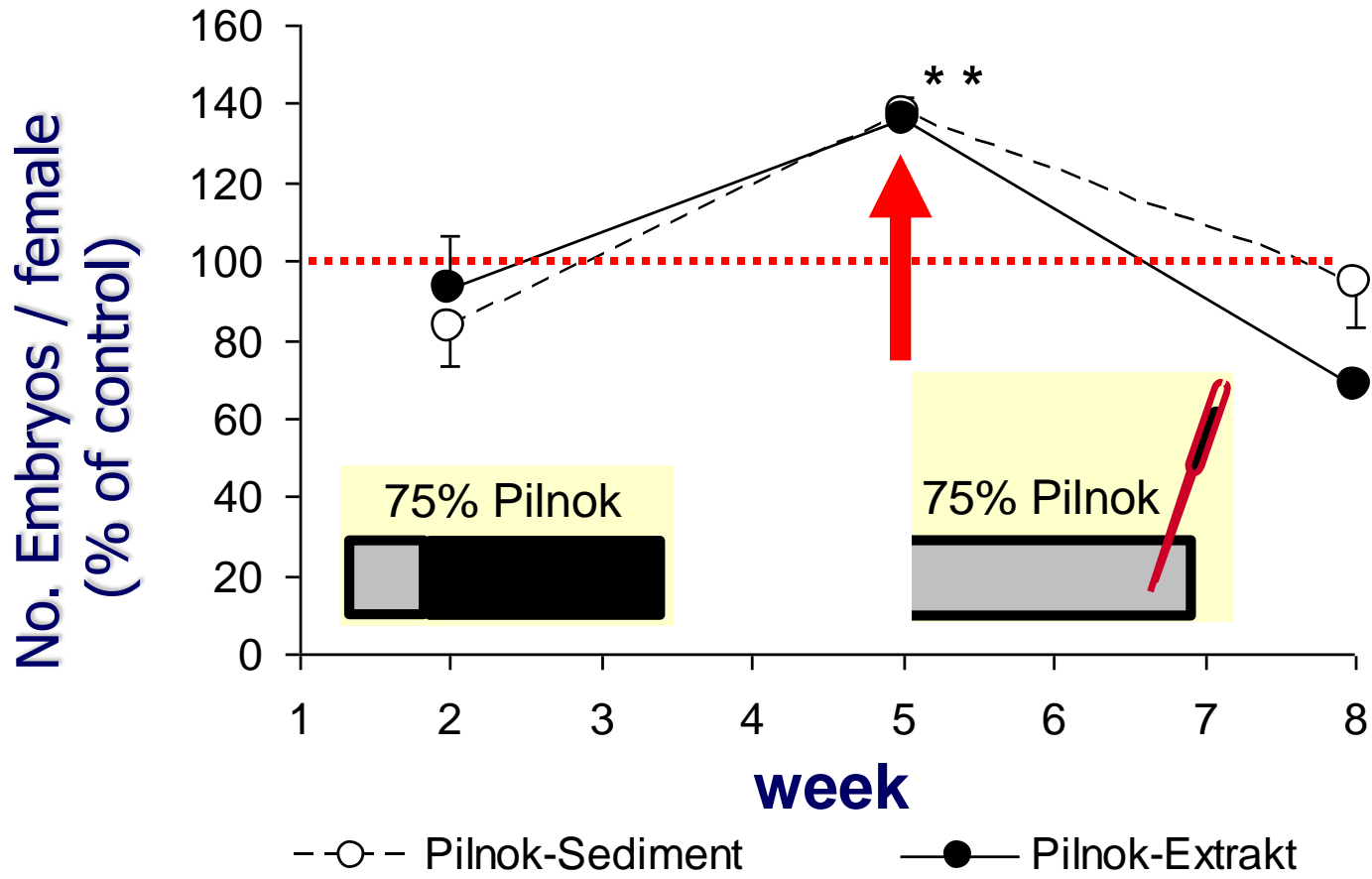


# Pilňok zvyšuje počty a velikost F1 juvenilů

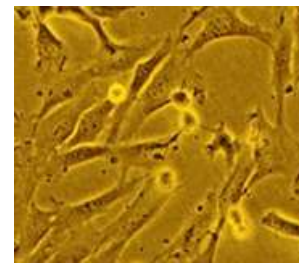
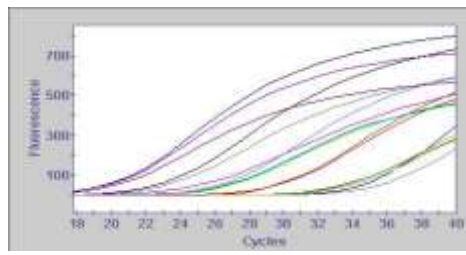




# Pilňok (sedimenty i extrakty) stimulují produkci embryí

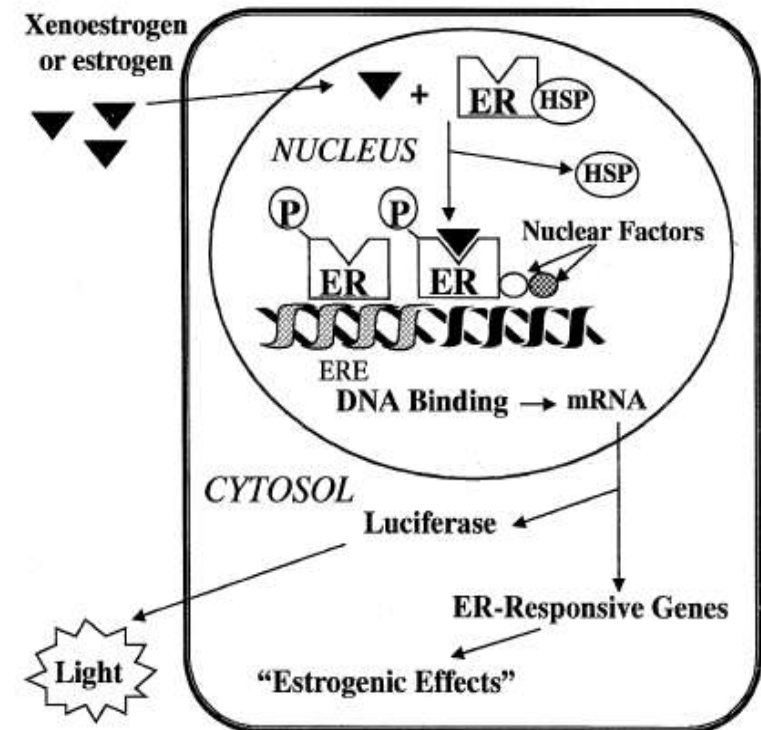


# Molekulární a biochemická ekotoxikologie



**In vitro biotesty pro nové typy polutantů:**  
**dioxiny, genotoxiny, endokrinní toxikanty**  
(estrogeny, androgeny, kortikoidy...)

Luciferasové & GFP reportery  
(bakterie, kvasinky, savčí buňky)



# Příkladová studie 1 – ČOV Brno

## **Čistírna odpadních vod (Brno, Modřice)**

- roční studie (vstup/výstup; May 2007 – April 2008)
- kompozitní vzorky (24h), každý měsíc - 12 období
- příprava pro testování (SPE a analýza účinků)

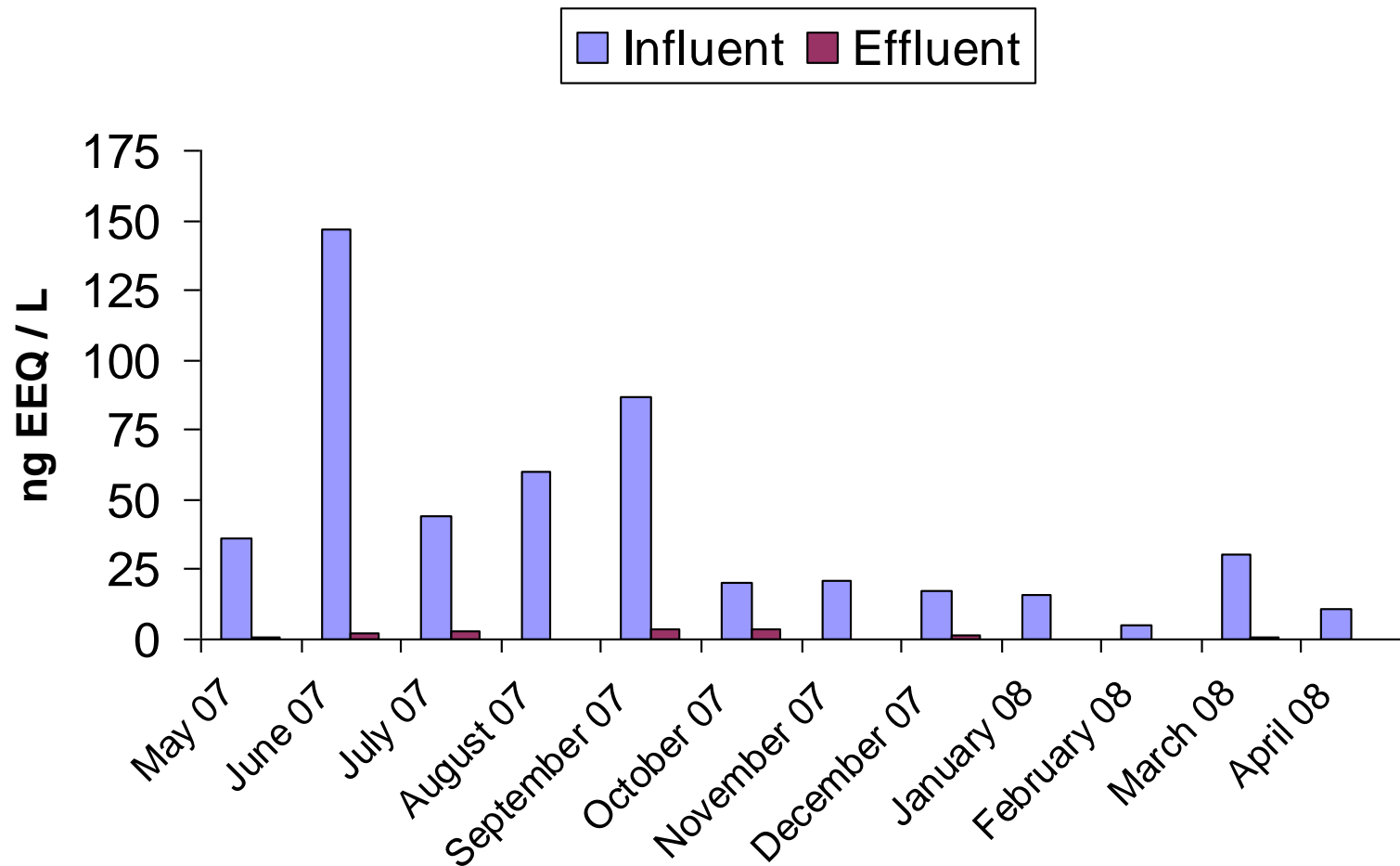




# Příkladová studie 1 – ČOV Brno

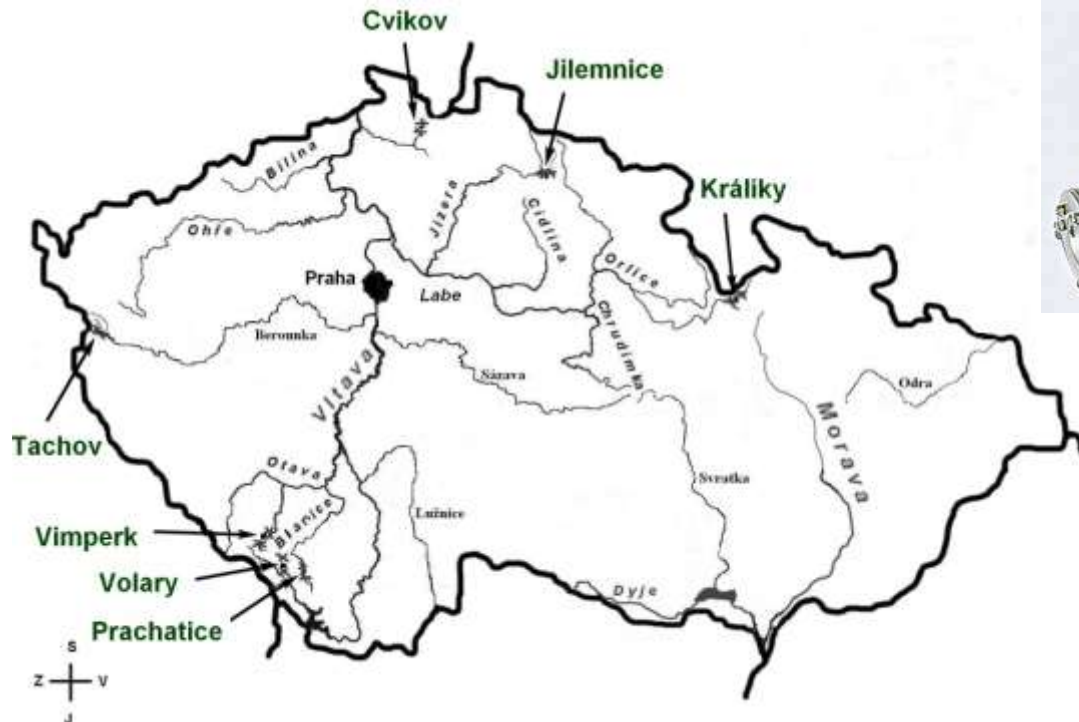
## Příklad estrogenita

- Účinnost odstraňování 81 až >98%
- ČOV vstup : 5 to 147 ng EEQ/L (equivalenty E2)  
výstup 0.1 - 4 ng EEQ/L



# Příkladová studie 2 – Malá sídla / ČOV

- Říční voda nad a pod ČOV (**obce 4000 až 13000 obyvatel**)
- Menší vodní toky nezatížené dalšími většími zdroji znečištění
- Vzorkování – pasivní vzorkovače POCIS (21 dní)



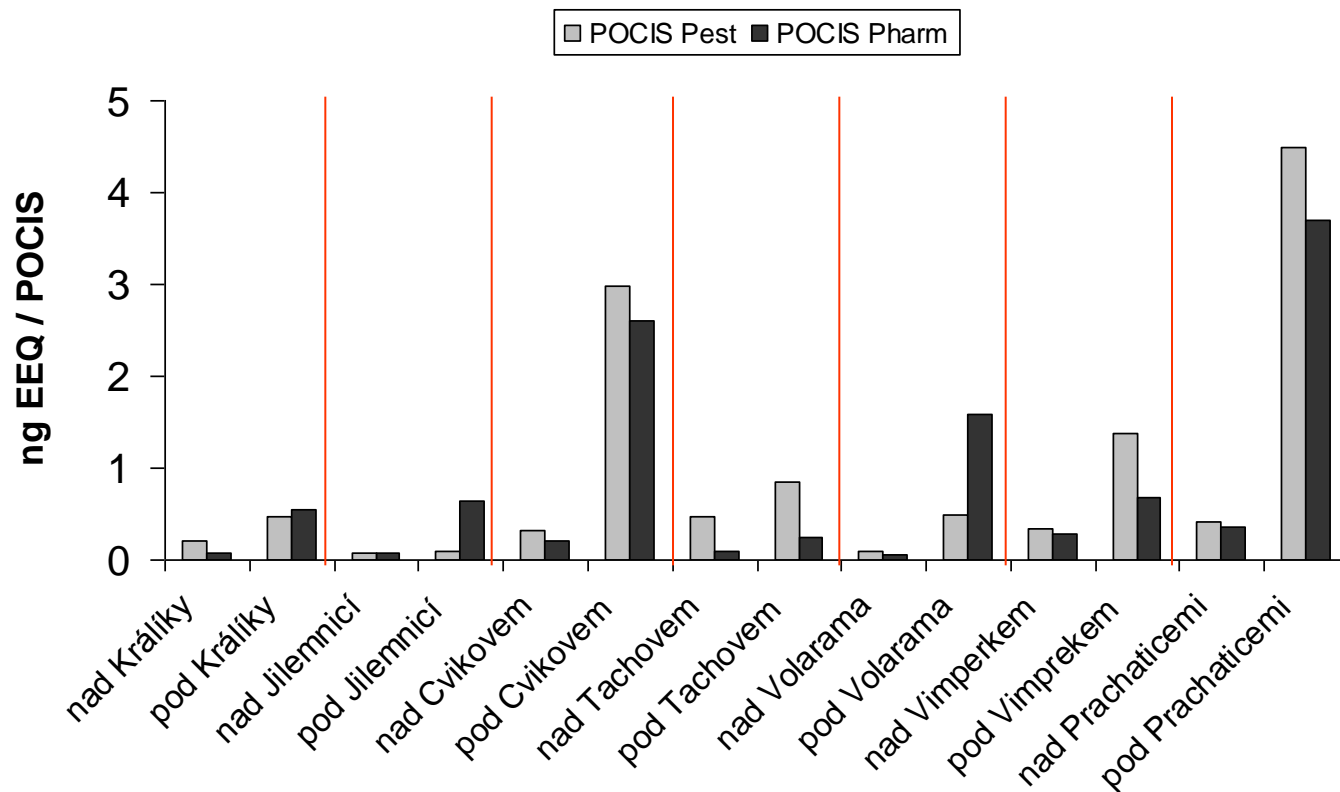
# Příkladová studie 2 – Malá sídla / ČOV

## ESTROGENITA

➤ Detekce estrogenity  
0,06 ng až 4,50 ng  
EEQ/POCIS

➤ V řekách pod ČOV  
více estrogenní vzorky  
ve všech případech

➤ Cvikov a Prachatice  
estrogenní potenciál  
v řekách pod ČOV  
na hranici známých  
efektivních koncentrací



**Xenoestrogenní aktivita  
POCIS Pest a POCIS Pharm**

# Estrogenní (EEQ) a Androgenní (AEQ) látky v ČOV

Vzorek	EEQ (ng/l)	AEQ (ng/l)	Stát	Reference
<b>Přítok ČOV</b>	0,6-153		Holandsko	[10]
	8,2-75		Holandsko	[11]
		20-310	Švédsko	[12]
	17,3-81		Nový Zéland	[7]
	0,6-5,2		Japonsko	[13]
		<NSM-169	Holandsko	[14]
<b>Odtok ČOV</b>	0,05-2,6		Holandsko	[10]
	1,7-3,4		Holandsko	[11]
		<NSM-160	Švédsko	[12]
		<NSM	Holandsko	[14]
	<NSM		Nový Zéland	[7]
		34-635	Velká Británie	[15]
	0,6-5,2		Japonsko	[13]

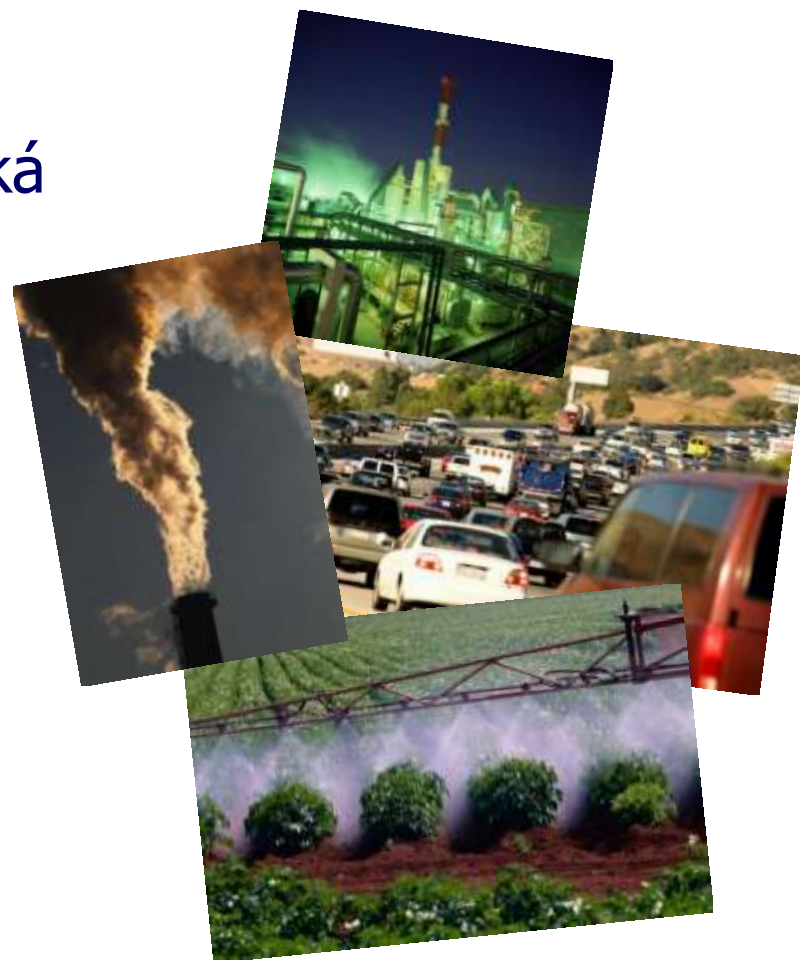
NSM - nejnížší stanovitelné množství látek

# Příkladová studie 3 – Specifické efekty vzduchu

## Aktivní vzorkování (léto 2005) částice vs. plynná fáze

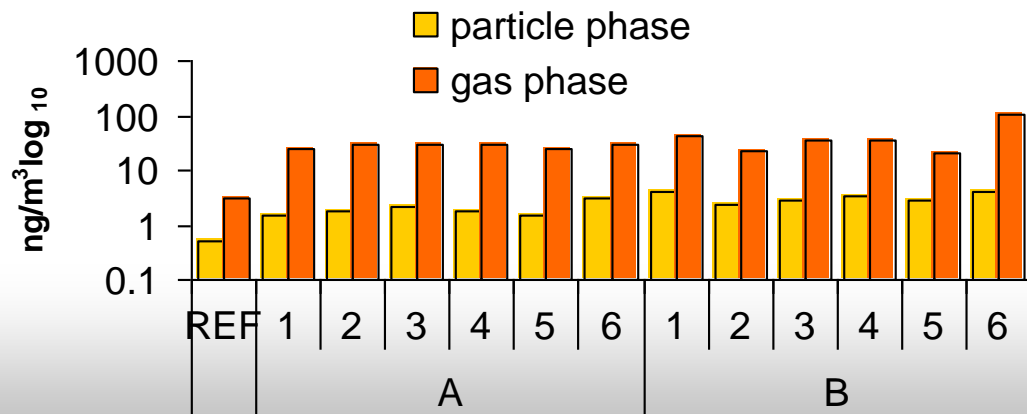
- **Referenční** lokalita – zemědělská oblast (observatoř Košetice)
- **Region A** – chemický průmysl (OCPs, Středočeský kraj)
- **Region B** – výroba barev, zemědělství, doprava (Uherskohradištsko)

Novák et al. (2009) Environment International

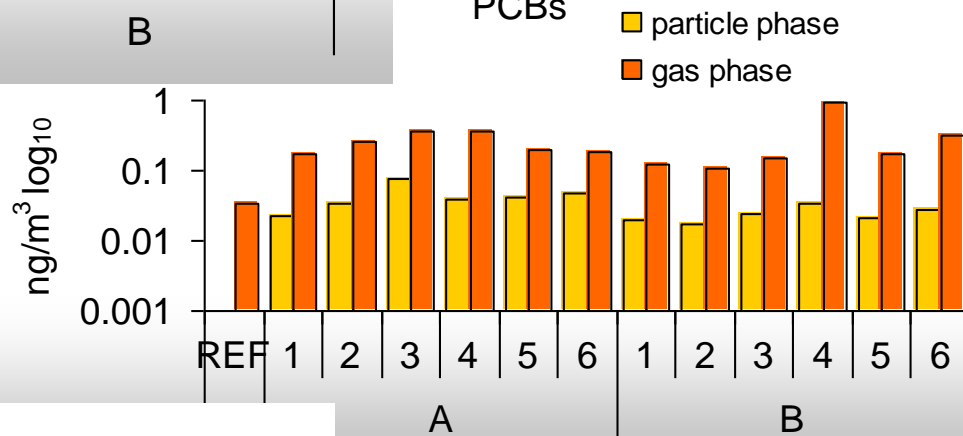


# Chemické analýzy

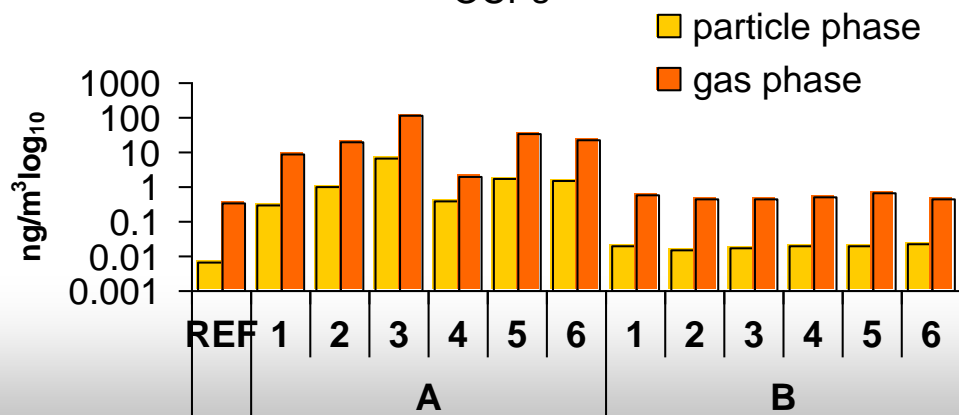
## PAHs



## PCBs

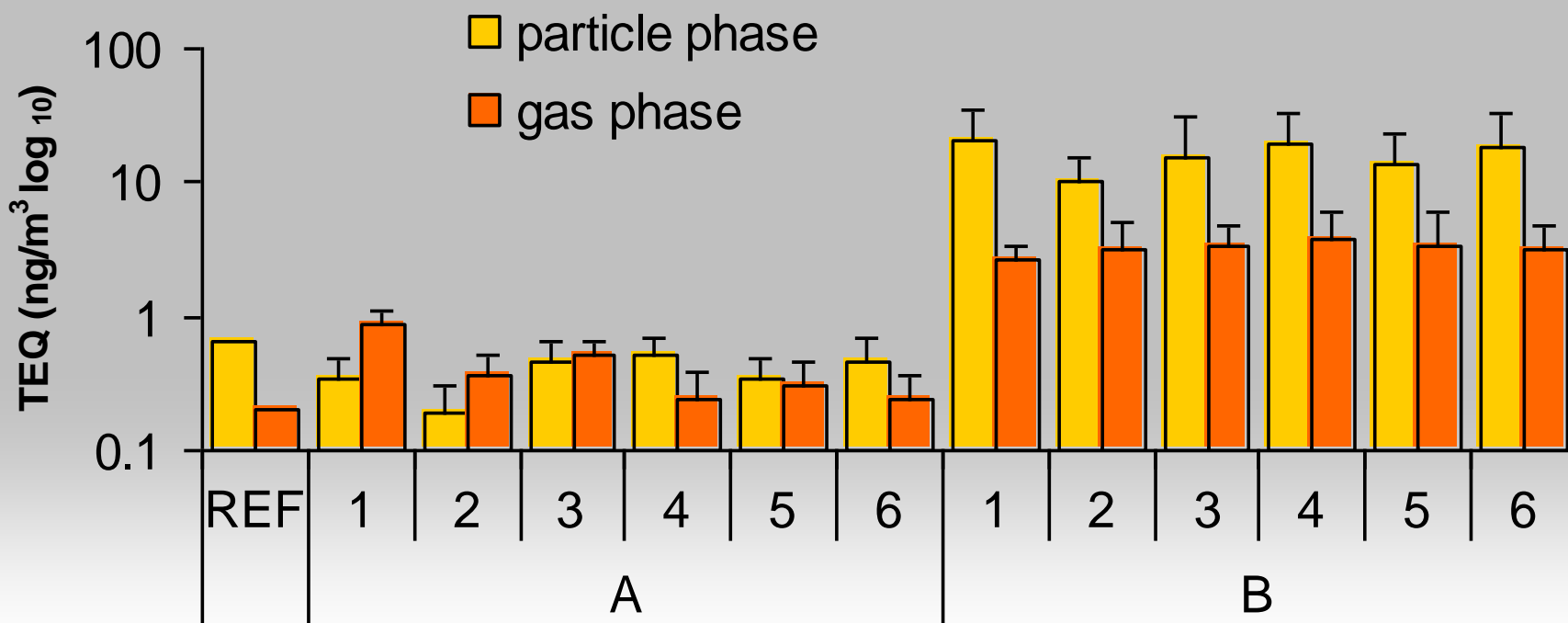


## OCPs



# Dioxinová toxicita vzduchu

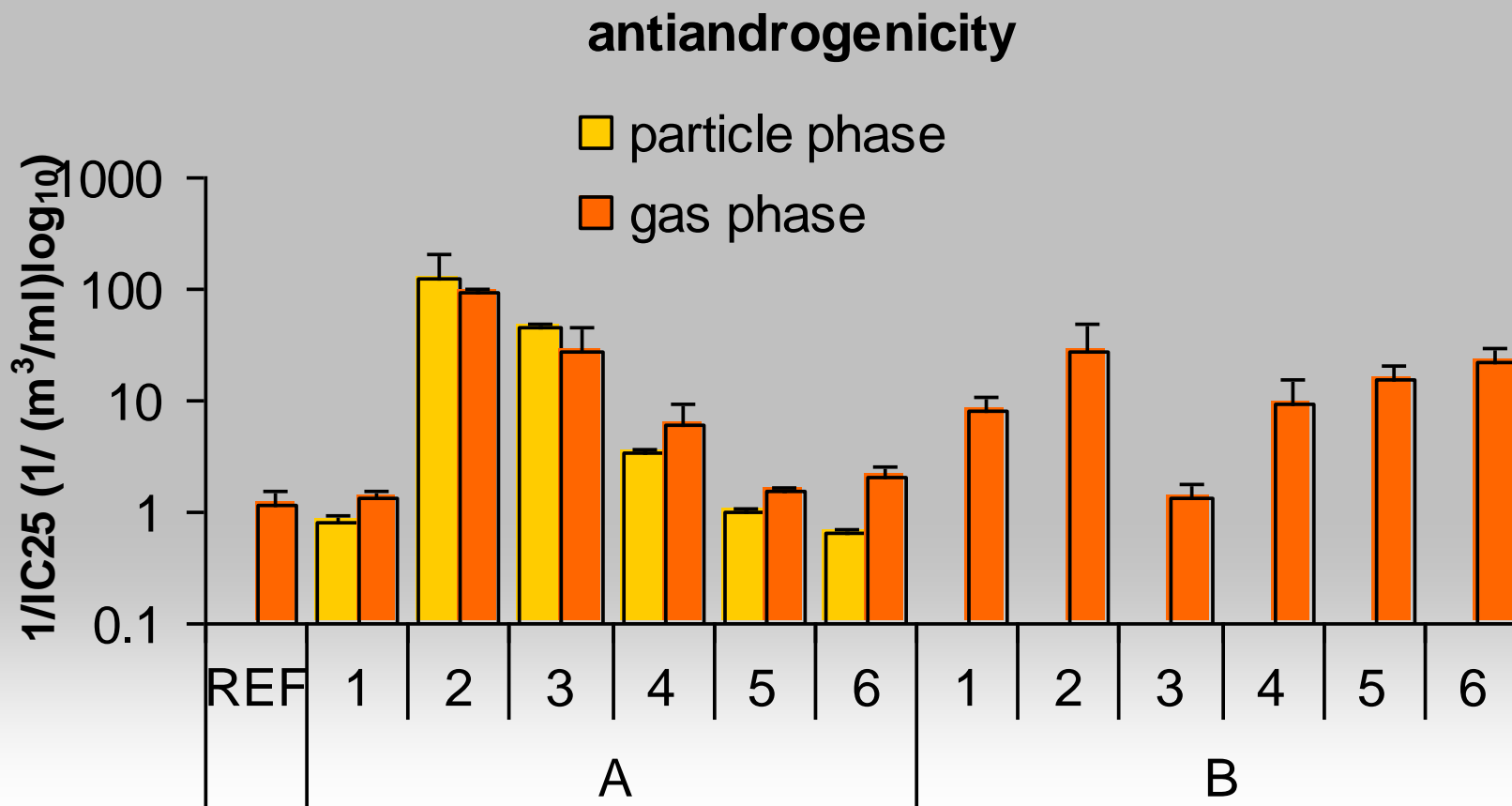
## dioxin-like toxicity



○ Částice (vyšší aktivity) i plynná fáze

○ B > A

# Antiandrogenita vzduchu



- Podobné kvantitativní efekty ALE rozdílů mezi regiony  
A – také na částicích / B – jen plynná fáze



## Shrnutí a závěry

- Biotesty poskytují informace, které chemické analýzy nedokážou zprostředkovat
- Poznání a kvalitní zhodnocení účinků toxických látek v prostředí vyžaduje komplementární využití chemických i biologických nástrojů
- Výsledky biotestů **jsou kvalitní a ekologicky relevantní** (... s větší variabilitou než chemické analýzy, což je pro realitu přirozené)  
*... a je třeba pracovat na jejich začlenění do legislativy*

**... díky za pozornost**