

# ***KÖRNYEZETTOXIKOLÓGIA MT***

***A környezettoxikológia jelentősége, szerepe***

***Általános áttekintés, tematika – 2018***

***Dr. Molnár Mónika***

***E-mail: [mmolnar@mail.bme.hu](mailto:mmolnar@mail.bme.hu)***

***Tel: 463-2347, Ch. ép. 2. em. 244-es szoba***

***Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem***

***Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék***

***Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Csoport***

# Bevezető előadás

- Környezettoxikológia
  - *Helye, szerepe, mivel foglalkozik*
  - *Környezettoxikológiai tesztek, tesztorganizmusok*
- Környezettoxikológia elmélet: tematika
- Környezettoxikológia labor - gyakorlatok
- Feladatok, követelmények



# A környezettoxikológia helye és szerepe

- A környezettoxikológia a vegyi anyagoknak az ökológiai rendszerek szerkezetére és funkciójára gyakorolt hatását vizsgálja. Ember?
- Kiválasztott, jellemző fajok vagy laboratóriumi tesztorganizmusok válasza alapján következtetünk az ökoszisztéma egészére.
- Az ökológiai rendszereket teljes komplexitásában átfogja, a molekuláris szinttől az egyed és a közösség szintjén keresztül a teljes ökoszisztémáig.



# A környezettoxikológia multidiszciplináris tudomány

- Ökológia
- Biológia, populáció biológia
- Mikrobiológia
- Biokémia
- Fiziológia
- Molekuláris genetika
- Farmakokinetika
- Evolúcióbiológia
- Szerves és szervetlen kémia
- Limnológia
- Talajtudományok
- Meteorológia
- Tengerbiológia, oceanográfia
- Természetvédelem, tájvédelem
- Matematika, számítástechnika, modellezés
- Biometria
- Kockázatfelmérés
- Kockázatkezelés

# Veszély



# KOCKÁZAT

## ▪ Vegyi anyag



Veszélyessége: kémiai szerkezetéből adódó *immanens* tulajdonság

Mindent ami problémát okoz meg kell ismerni!!



**Vegyi anyagok tesztelése**

## ▪ Környezeti minták – *szennyezett környezet*



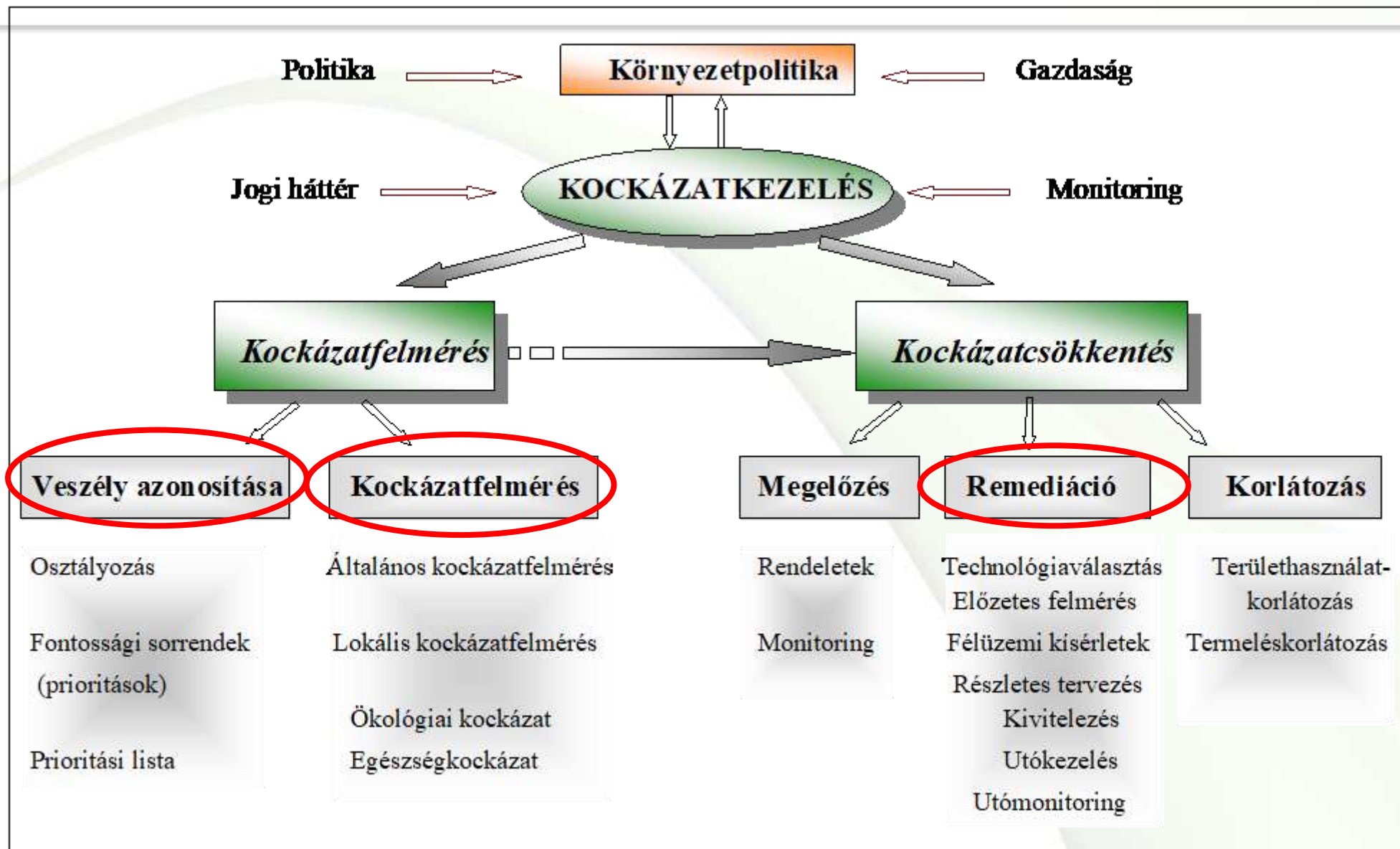
Vegyi anyag kikerül a környezetbe



**KOCKÁZAT**

- *Vegyi anyag kockázata a környezettel való kölcsönhatás révén nyilvánul meg*

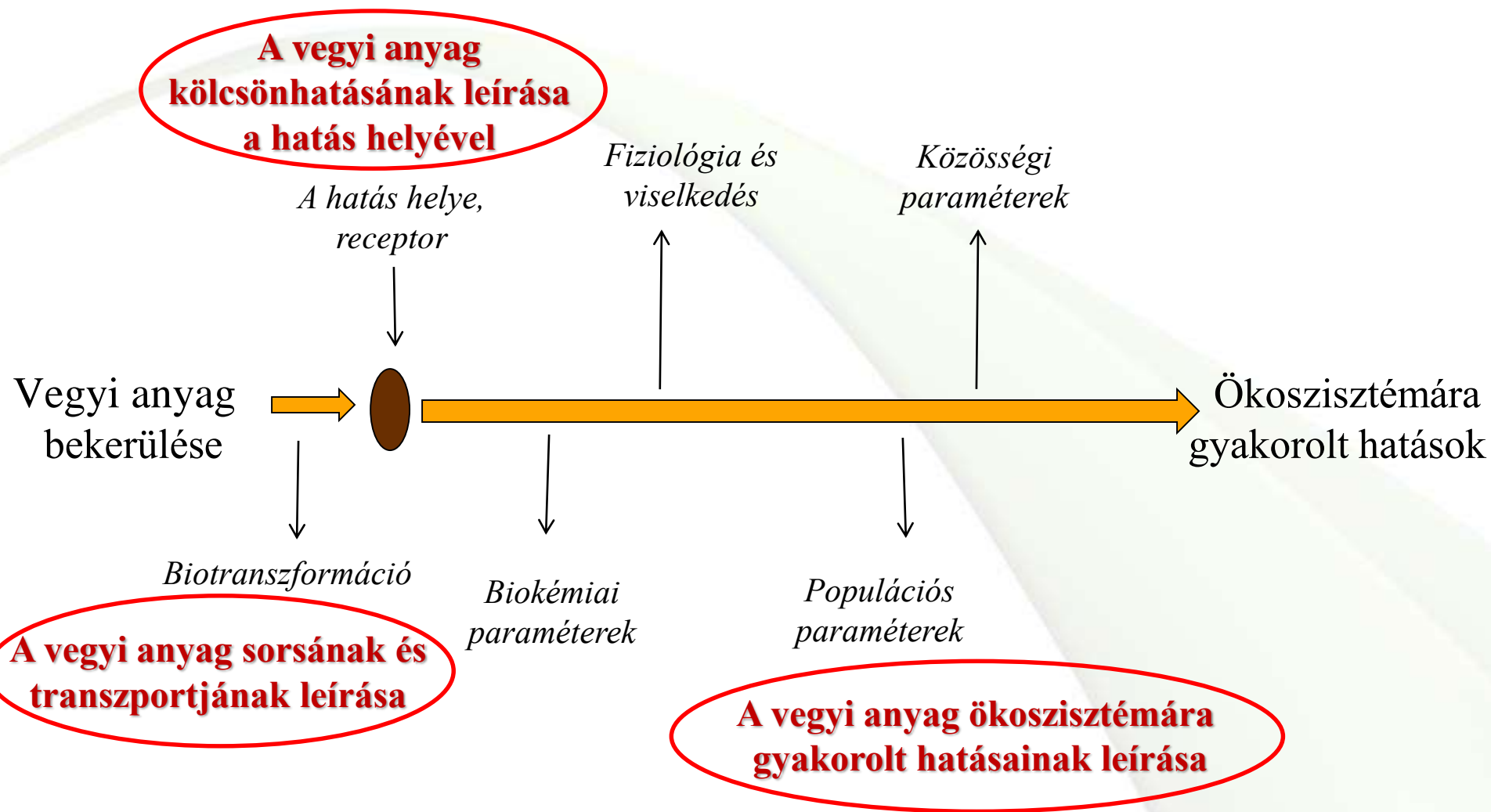
# A környezettoxikológia a kockázatkezelésben



# A környezettoxikológia a kockázatmenedzsmentben

- **Vegyai anyagok, valamint szennyezett területek kockázatának jellemzésére**
- Támogatja a környezetmenedzsment és környezetpolitika döntéseit
  - Hatáson alapuló határértékek és más környezetminőségi kritériumok képzéséhez
    - Károsan még nem ható koncentráció
  - Monitoring-rendszerekhez
  - Kockázatcsökkentési intézkedésekkel kapcsolatos döntésekhez
    - Kockázatcsökkentési intézkedés kiválasztása
    - Remediáció célértékének meghatározása
    - Remediáció hatékonyságának ellenőrzése

# A környezettoxikológia három fő funkciója



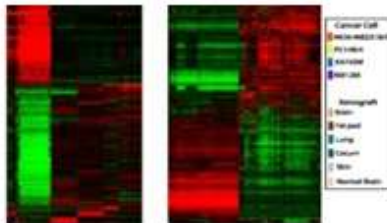


Mechanisztikus  
betekintés

Reprodukálhatóság, specifikusság

### Molekuláris paraméterek

- Genomika
- Transzkriptomika
- Proteomika
- Metabolomika



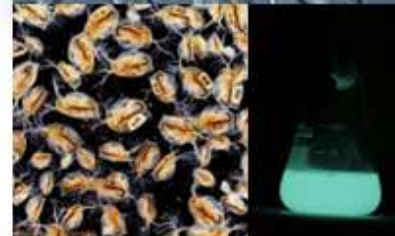
### Organizmus (egyed) szintjén

- Viselkedés és fiziológia
- Túlélés, pusztulás
- Szaporodási funkciók
- Mozgás, táplálkozás, keringés
- Endokrin metabolizmus



### Populáció

- Kolonizáció
- Predáció
- Reprodukció



### Ökoszisztéma


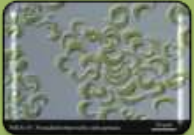




- Viselkedés
- Dinamika
- Szolgáltatások



Környezeti relevancia

Ökológiai  
betekintés

# Módszeregyüttes vízi ökoszisztéma tesztelésére

	Mikro-szennyezőanyagok meghatározása trimetilszilil (TMS) (oxim) észter/éterekként GC-MS eljárással (gázkromatográfiás elválasztás után tömegszelektív detektálás)	KÉMIAI ANALITIKA
	Algatesztek egysejtű algafajokkal: <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , <i>Scenedesmus subspicatus</i> , <i>Chlorella vulgaris</i> (szaporodásgátlás mikrotitrátor lemezben)	KÖRNYEZETTOXIKOLÓGIA
	<i>Tetrahymena pyriformis</i> (protozoa) szaporodásgátlási teszt <i>Tetrahymena pyriformis</i> enzimaktivitás-gátlási teszt	
	Békalencse ( <i>Lemna minor</i> ) szaporodásgátlási teszt klorofilltartalom mérésével	
	<i>Heterocypris incongruens</i> kagylósrák immobilitási teszt	
	<i>Daphnia magna</i> immobilitási teszt <i>Daphnia magna</i> szívritmus teszt	

# Környezeti minták ökotoxikológiai tesztelése (1)

## Környezeti minták tesztelésének problémái:

- Szennyezőanyagok keveréke
- Kölcsönhatások
- Vizsgált közeg: extraktum, teljes talaj



## Szennyezett talaj tesztelésének problémái

- Szennyezőanyag keverék: szinergizmus, antagonizmus
- Biotranszformáció: termékek hatása
- Biodegradáció
- Hozzáférhetőség: eltérő fizikai-kémiai és biológiai hozzáférhetőség
- Az analitikai program csak a szennyezőanyagok kis hányadát tartalmazza
- A környezeti minta biotikus és abiotikus tulajdonságai befolyásolják az eredményt

# Környezeti minták ökotoxikológiai tesztelése (2)

## Az ökotoxikológiai tesztelés megoldás a problémák egy részére

- Integrálja a toxikus anyagok kölcsönhatásait
- Integrálja a szennyezőanyag és a mátrix kölcsönhatásait
- A szennyezőanyag biológiailag hozzáférhető részét méri
- Kémiai analitikai módszerrel nem kimutatható anyagok hatását is méri
- Az analitikai programba be nem vett veszélyes anyagok hatását is méri

## Ökotoxikológiai tesztekkel szemben támasztott követelmények

- Ökológiai relevancia, környezeti realitás
- Reprodukálhatóság
- Megbízhatóság
- Érzékenység

# Vegyianyagok viselkedése a környezetben

- **Vegyianyagok sorsa és viselkedése a környezetben: mozgékonyág, hozzáférhetőség, biodegradálhatóság** befolyásolják az aktuális toxicitást.
- **Mozgékonyág, hozzáférhetőség** befolyásolja az aktuális toxicitást: kölcsönhatás a szennyezőanyagok, valamint a szennyezőanyag és a mátrix között. Transzport és hozzáférhetőség integrált metodikával jellemezhető.
- **Szorpciós kapacitás:** a szennyezőanyag és toxicitása megoszlik környezeti elemek fázisai között.
- **Integrált megközelítés:** fizikai-kémiai jellemzők + biológiai-ökotoxikológiai jellemzők **helyszín specifikus kockázat.**

# INTEGRÁLT MÓDSZEREGYÜTTES

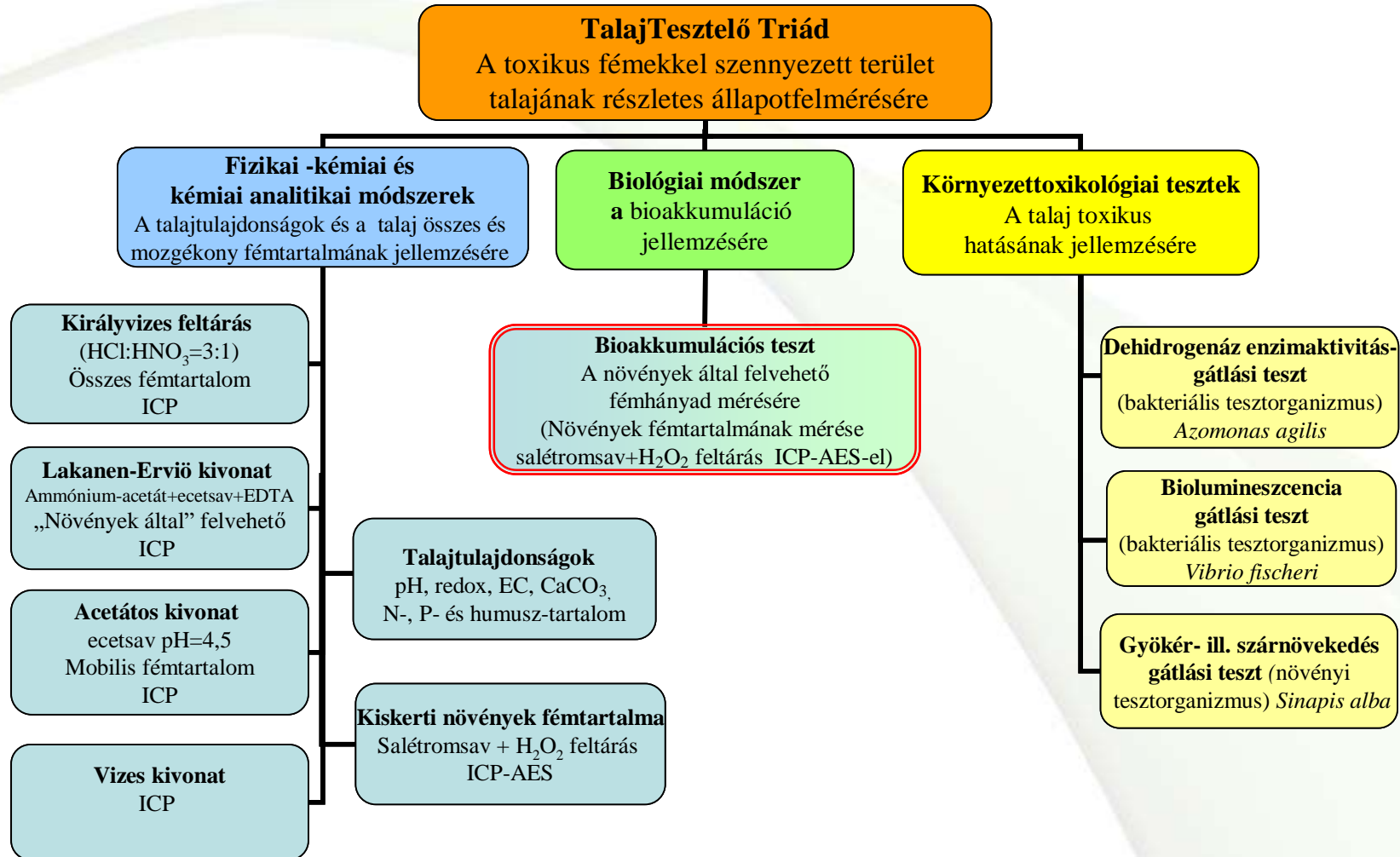
Fizikai-kémiai  
módszerek

Talajökoszisztéma  
jellemezése

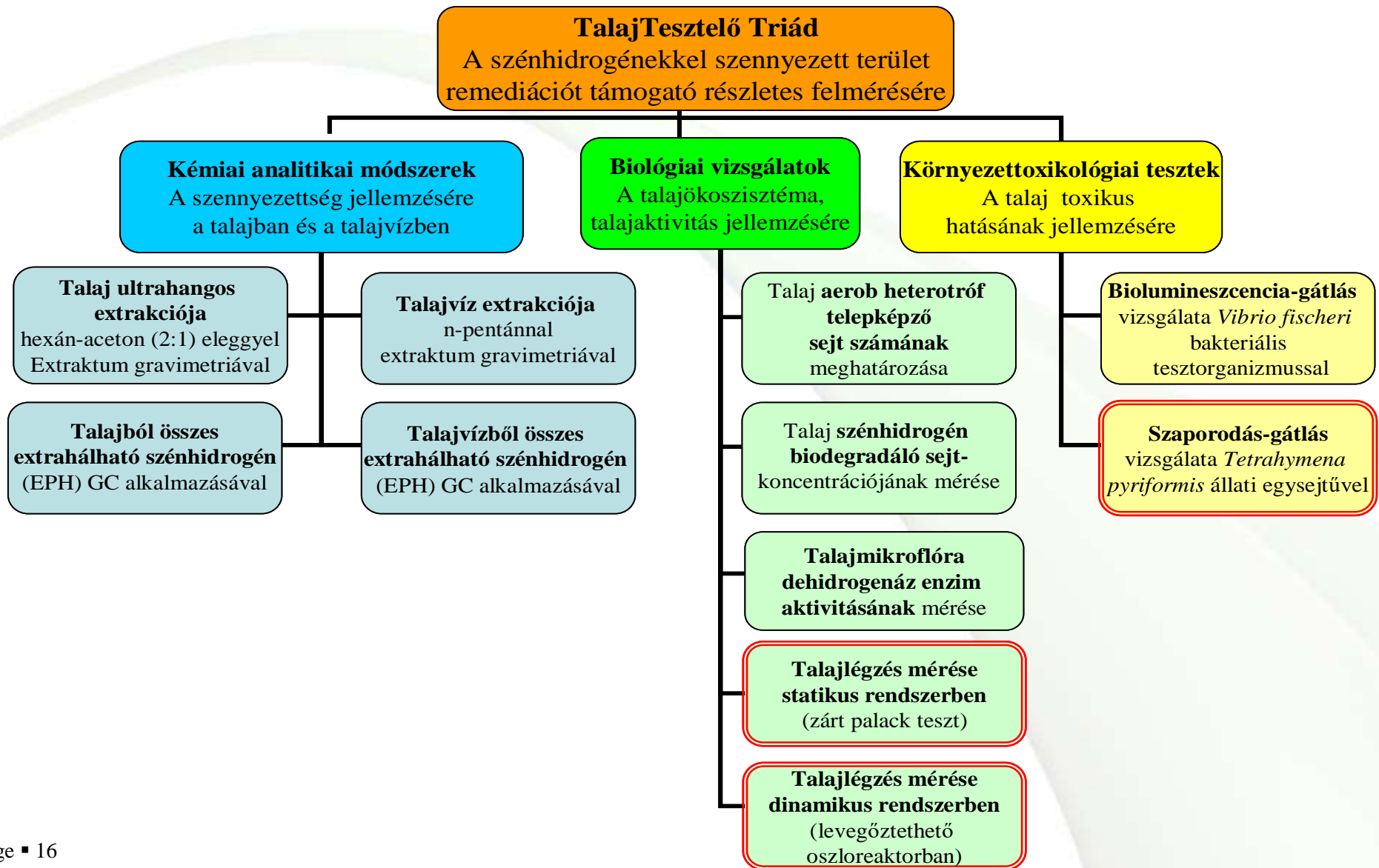
Ökotoxikológiai  
tesztek



# Tesztgyűttes fémekkel szennyezett kertek talajának részletes helyszínspecifikus szennyezettség-felmérésére



# Szénhidrogénekkal szennyezett terület remediációt megalapozó felmérésére alkalmazott módszeregyüttes





# Környezettoxikológia – Tematika

- **A környezettoxikológia alapjai - vegyi anyagok hatása a környezetre**
- **Toxicitási tesztek, toxikus anyagok hatása**
  - *Osztályozás, értékelés, tesztorganizmusok, követelmények*
  - *A dózis-válasz, koncentráció-válasz összefüggés vizsgálata*
- **Tesztműszerek bemutatása és jellemzése – módszertani áttekintés**
- **Géntoxikológia – mutagenitás vizsgálata**
- **Új irányok, innovációk: alternatív tesztek, bioszenzorok**
- **Környezettoxikológia a kockázatmenedzsmentben**
  - *Vegyi anyagok kockázata, a kockázat mérésének alapja*
  - *Újólág felismert káros hatású szennyezőanyagok*
  - *Humán kockázatfelmérés*



# Környezettoxikológia – tematika példák

## Több fajt alkalmazó tesztek

*Mikrokozmosz*

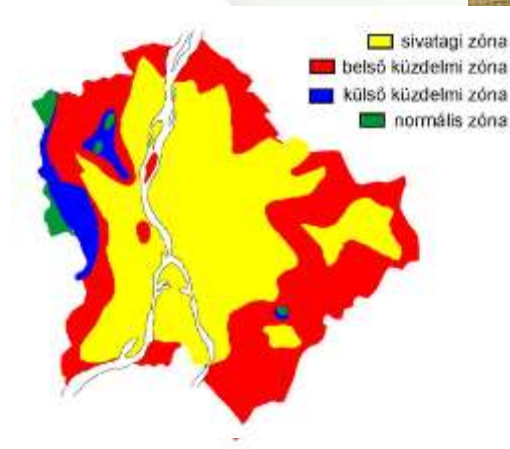


*Mezokozmosz*



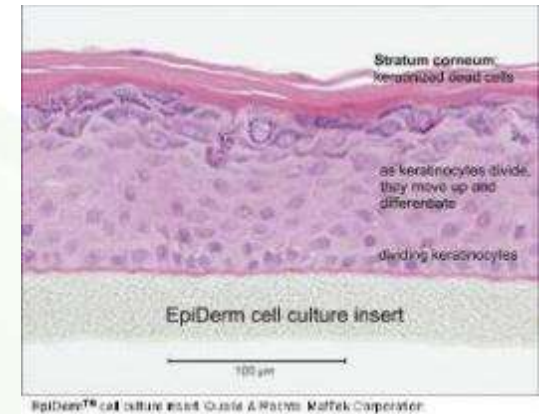
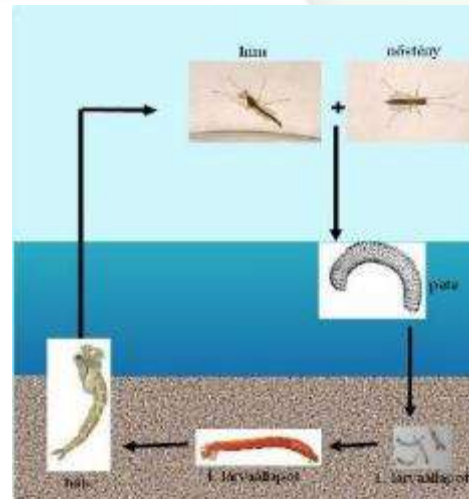
# Környezettoxikológia – tematika példák

## Szabadföldi vizsgálatok



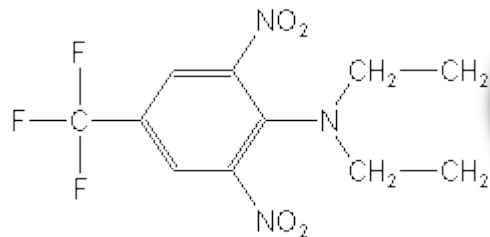
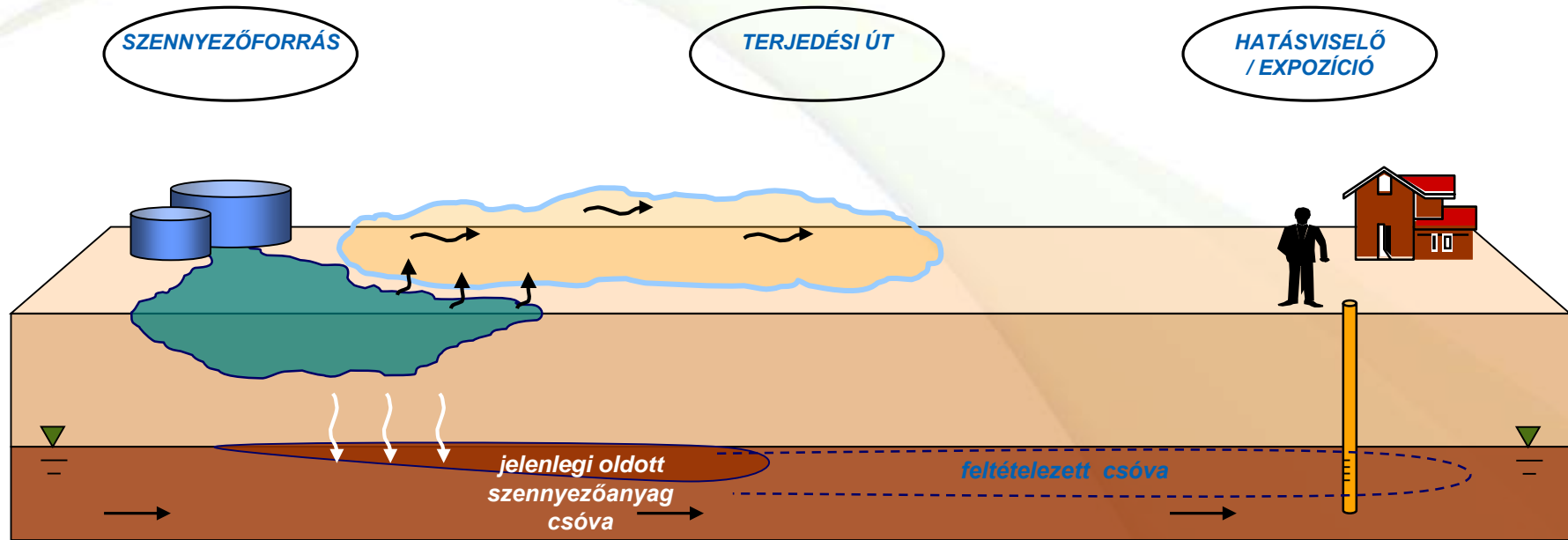
# Környezettoxikológia – tematika példák

Innovációk, állatkísérletek kiváltására alkalmas alternatív tesztek



# Környezettoxikológia – tematika példák

## Környezettoxikológia a kockázatelemzésben



# Környezettoxikológia – tematika példák

## Szennyezőanyagok, „Emerging pollutants”



Vegyai anyagok hatása az immunrendszerre

**POP** - Persistent Organic Pollutants    **PBT** - Persistent Bioaccumulative Pollutants

**PP** - Persistent Pesticides    **PPCP** - Pharmaceutical and Personal Care Products



# ***KÖRNYEZETTOXIKOLÓGIA***

***Laborgyakorlatok, követelmények***



# Laborgyakorlatok

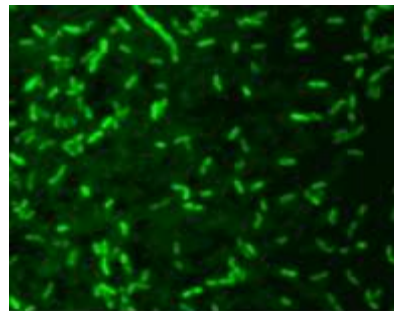
- *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia-gátlási teszt
- *Folsomia candida* mortalitási teszt
- Csíranövényteszt
- Talajlégzés mérése és jellemzése különböző rendszerekben
- Talajmikrobiológiai vizsgálatok
- Vízi tesztorganizmusok környezettoxikológiai tesztelésre

# *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszt

- Tesztorganizmus: *Aliivibrio fischeri* (*Vibrio fischeri*, *Photobacterium phosphoreum*)  
Tengeri baktérium, fényt emittál  
A kurtafarkú tintahal hordozza a *Aliivibrio fischeri*-t az úgynevezett "fény szervben".
- A teszt elve a *Aliivibrio fischeri* által emittált lumineszcens fény detektálása; toxikus anyagok jelenlétében a fényemisszió csökken.



Kurtafarkú tintahal  
*Euprymna scolopes*



Baktériumszuszpenzió  
mikroszkópos képe  
(fluoreszcens festett sejtek)



Folyadék kultúra  
jól megvilágított  
helyen



Folyadék kultúra  
sötétben

# *Aliivibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszt

- **Teszt típusa:** bakteriális, akut toxicitási teszt
- **Az *Aliivibrio fischeri* érzékenysége:** mind nehézfémekre, mind szerves makro- és mikro-szennyezőanyagokra érzékeny
- **Végpont:** lumineszcencia intenzitáscsökkenése, a minta hígítási sorából  $EC_{20}$ ,  $EC_{50}$  illetve  $ED_{20}$ ,  $ED_{50}$  határozható meg
- **Szükséges műszer:** luminométer
- **Tesztelés időtartama:** 30, 60... perc
- **Alkalmazási terület:** előzetes és részletes állapotfelmérés, kockázatfelmérés, remediáció követése, utómonitoring



FLUOstar OPTIMA készülék

# *Folsomia candida* mortalitási teszt

A *Folsomia candida* (*Collembola*) az ugróvillások rendjébe tartozó, ősi rovar. Apró (3–4 mm hosszú) fehér állatkák.

- Talajban élnek (m<sup>2</sup>-enként ~ 100 000 állatka)
- Fontos szerepük van a „talajfunkció” fenntartásában
- Hasi tömlővel lélegeznek, talajgőzökre érzékenyen reagálnak.

*A vizsgálathoz azonos korú (14 napos) állatkák szükségesek*



Kifejlett állat petékkel



Kifejlett egyedek fiatal állatokkal



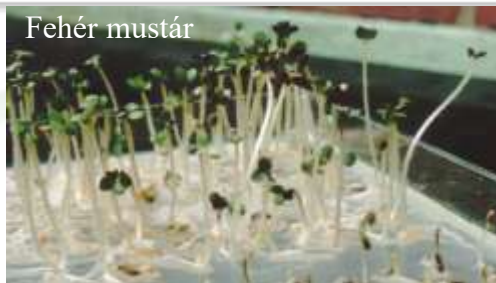
Kifejlett *Collembola*

# *Folsomia candida* mortalitási teszt

- **Teszt típusa:** állati, akut toxicitási és krónikus (reproduktivitási) teszt
- **A *Folsomia candida* érzékenysége:** nehézfémekre kevésbé, szerves szennyezőanyagokra érzékeny, főleg az illékonyakra és a bőrön át felszívódókra
- **Végpont:** hígításból LD<sub>20</sub> és LD<sub>50</sub>, reproduktivitási teszténél NOEC
- **Szükséges műszer:** citoplaszt mikroszkóp vagy vizuális
- **Tesztelés időtartama:** akut: 5–10 nap, reprodukciós: 20 nap



# Növényi biotesztek



<http://www.kertvarazsmagazin.hu/>

- Alkalmazott teszt növények: fehér mustár (*Sinapis alba*), borsó (*Pisum sativum*), kerti zsázsa (*Lepidium sativum*), retek (*Raphanus sativus*), búza (*Triticum sativum*), zab (*Avena sativa*) és kukorica (*Zea mays*), angolperje (*Lolium perenne*), stb.
- A növényi magokat közvetlenül a talajba (v. agarral kevert talajba) ültetjük → direkt kontakt a növényi gyökerek és a talaj között.

# Csíranövény gyökér-, szárnövekedés gátlási teszt

- **Teszt típusa:** növényi, akut toxicitási teszt
- **A *Lepidium sativum* érzékenysége:** a szennyezőanyagok széles skálájára érzékeny
- **Végpont:** biomassza, szár- és gyökernövekedés gátlás százalékban megadva, vagy  $ED_{20}$  és  $ED_{50}$  a minták hígítási sorozatából.
- **Tesztelés:** Petri-csésze, 5 g nedvesített talaj, 20 mag, 20 °C-on, sötétben
- **Szükséges műszer:** mérleg, vonalzó, vizuális értékelés
- **Tesztelés időtartama:** 3–7 nap

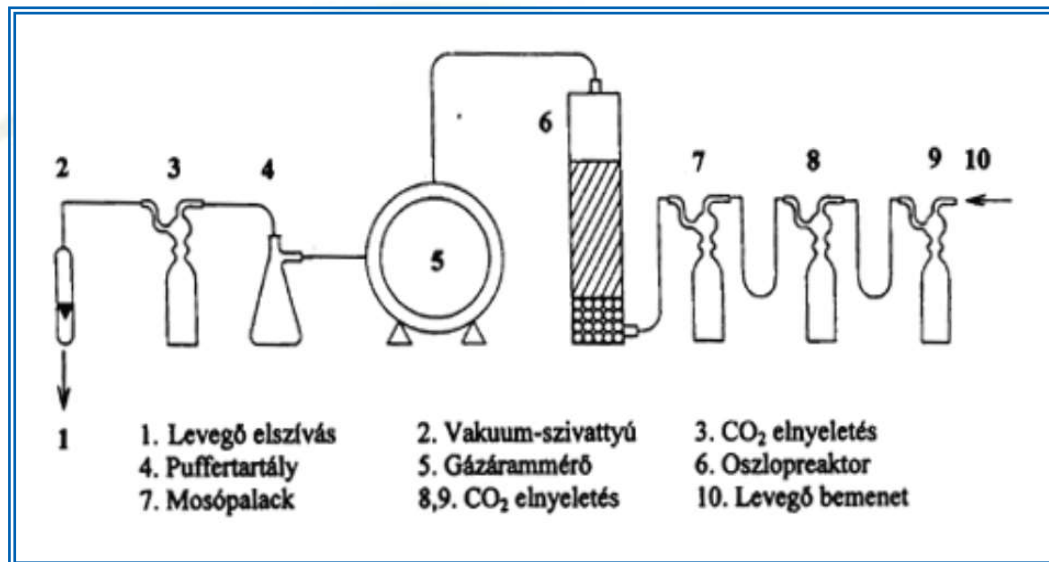
# Talajlégzés mérése

- A talajban lévő mikroorganizmusok aktivitása mérése CO<sub>2</sub> termelés mérésével
  - aktivitás és aktiválhatóság mérés
  - szennyezőanyag bontás intenzitásának mérése (biodegradáció, termelt CO<sub>2</sub> mennyisége arányos az elbontott szennyezőanyag mennyiséggel)
  - remediáció tervezése (pl. levegőztetés hatása, tápanyagadagolás hatása, hozzáférhetőséget növelő adalékanyag hozzáadása)

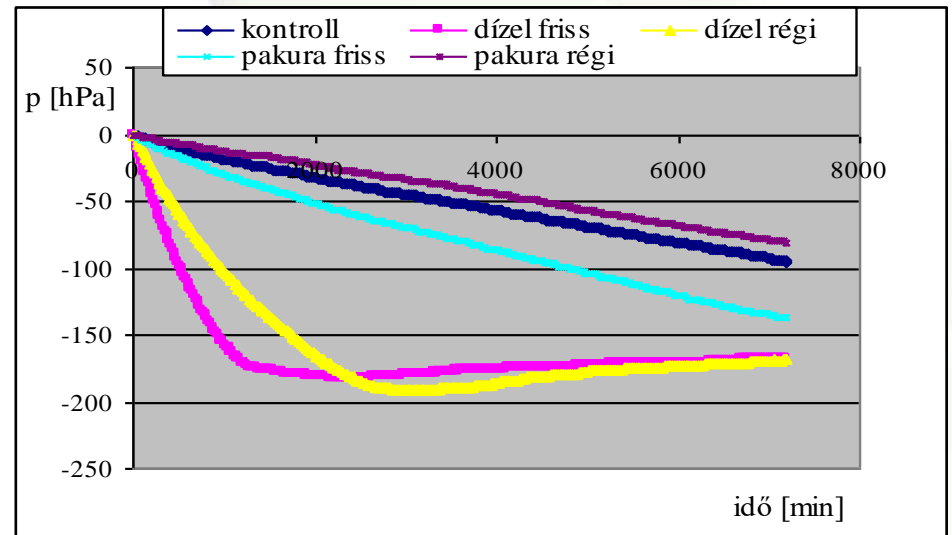




# Dinamikus talajlégzés-mérés



# Talajlégzés mérésére zárt palack tesztben

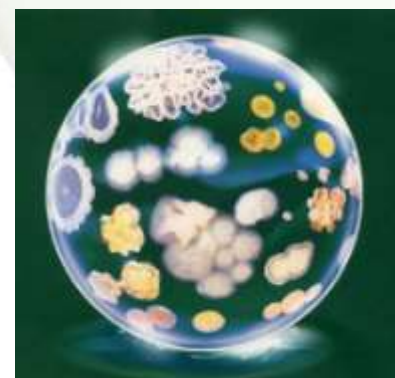
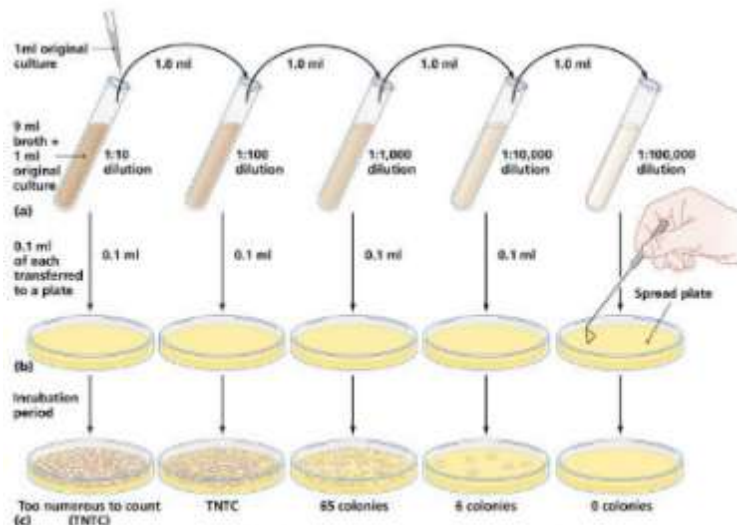
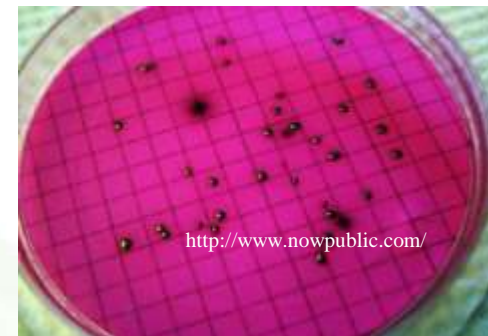


# Talajmikrobiológiai vizsgálatok

- Általános talajmikrobiológiai vizsgálatok
  - Összcsíraszám meghatározása
  - Gombaszám meghatározása
- Higiénés talajmikrobiológiai vizsgálatok
  - Coliformszám, fekálcoliformszám meghatározása
  - Fekálstreptococcus-szám meghatározása ...



Összes coliform, Endo-agar



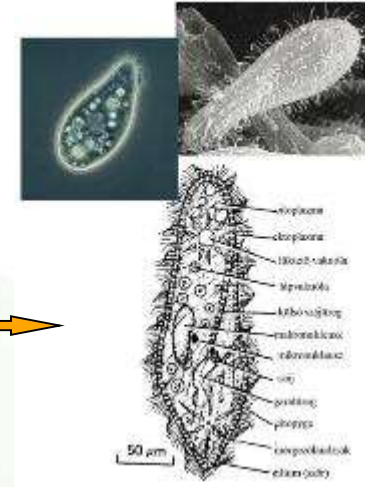
Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

# Vízi tesztorganizmusok környezettoxikológiai tesztelésre



← Békalencse: *Lemna minor*

Protozoa: *Tetrahymena pyriformis* (állati egysejtű)



← Vízibolha: *Daphnia magna*

Édesvízi kagylósrák: *Heterocypris incongruens*



Guppi: *Poecilia reticulata*

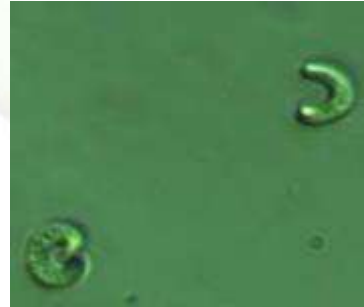


Halak

# Vízi tesztorganizmusok: felismerés és számolás

Algák

*Pseudokirchneriella subcapitata*



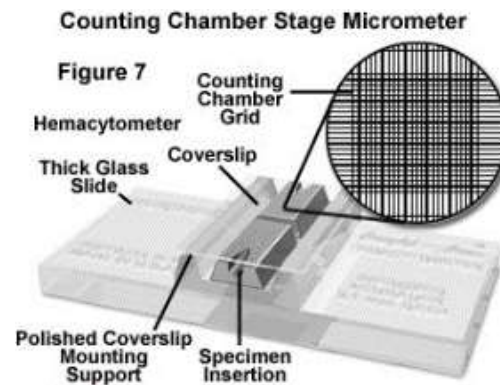
*Chlorella vulgaris*



*Scenedesmus subspicatus*



*Tetrahymena pyriformis*



**Feladat: Bürker-kamrás sejtszámlálás**

# Daphnia

- A Daphniák szűznemzéssel szaporodnak, egy nőstény általában egyszerre 4–10 ivadéknak ad életet (ez időszak alatt a kikelt lárvák is nőstények).
- Az embriók fejlődése az anyaállat testében akár mikroszkóp nélkül is megfigyelhető.
- A fiatal nőstények négy napos koruktól már minden harmadik napon tovább szaporodnak, körülbelül 40 napos életükben akár 25 alkalommal.

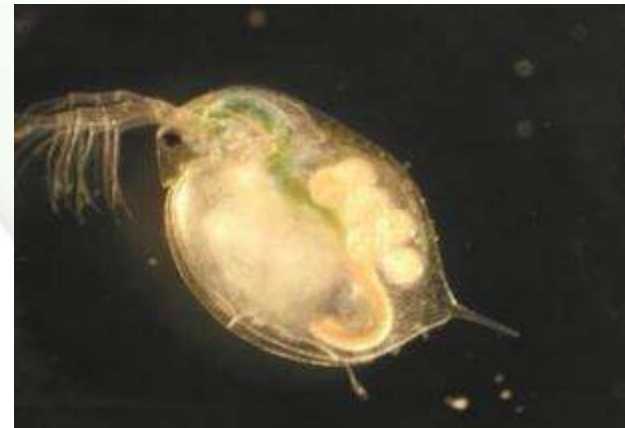


Daphnia születése

<http://www.youtube.com/watch?v=b7UFjsAYr3Y&feature=related>

# Daphnia, szívritmus mérése

- Szívritmus mérése: új mérési végpont
- Érzékenyítés
- Kutatási eredmények:
  - koffein, nikotin,
  - Gyógyszerhatóanyagok...



Daphnia szívritmus mérése

<http://www.youtube.com/watch?v=MJCnZ0pB3q4&feature=related>

# KÖRNYEZETTOXIKOLÓGIA

## Feladatok, követelmények

- Részvétel az előadásokon
- Részvétel a laboratóriumi gyakorlatokon, jegyzőkönyvek leadása
- Egyéni feladat kidolgozása
- Kis vizsga (kiadott témakörök alapján)

Kapcsolódó oktatási anyagok

- <http://envirottox.hu/hu/oktatasi-anyagok-hallgatoknak/>



# IRODALOM

- **KÖRINFO adatbázis:** Dinamikus információs rendszer a környezethatékony és környezettudatos döntéshozatal szolgálatában

[www.enfo.hu](http://www.enfo.hu), [www.korinfo.hu](http://www.korinfo.hu)

- Hallgatói információk, előadásanyagok:

<http://envirotox.hu/hu/oktatasi-anyagok-hallgatoknak/>

**Gruiz K., Horváth B. és Molnár M. (2001):**

Környezettoxikológia, Műegyetemi Kiadó, Budapest



***KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!***