



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

E4070 - Základy toxikologie pro přírodovědce

Environmentální toxikologie a ekotoxikologie

Luděk Bláha

blaha@recetox.muni.cz

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Obsah bloku ENVIRONMENTÁLNÍ TOXIKOLOGIE

- **Environmentální toxikologie 1: Expozice**

- Hlavní zdroje látek pro prostředí, hlavní skupiny látek v prostředí
- Hlavní látky v matricích ŽP – příklady (vzduch, voda)
- Osud látky v prostředí → Expozice
 - Rozdělování v prostředí – Kow, H
 - Transformace v prostředí – t1/2, DT50
- Bioakumulace, Biodostupnost, Expozom

- **Environmentální toxikologie 2: Účinky na člověka**

- Jinde v přednáškách: stejné principy, metody

- **Environmentální toxikologie 3: Ekotoxikologie**
= účinky na přírodní organismy

- Hodnocení rizik a úloha (eko)toxikologie
- Strategie testování (modely, trofické úrovně, baterie testů)
- Příklady hlavních biotestů
- Příklady využití výsledků biotestů (odvození limitů, “tiered” approach – léčiva)



Úvodem:

Ochrana přírody („environment“) před toxickými látkami je nezbytná pro zajištění “ekosystémových služeb” i zdraví a přežití samotného člověka



Ztráty biodiverzity



• Narušení ekosystémových služeb

- Nevyrovnané vodní cykly
 - Nedostatek vody
 - Sucha / Záplavy
- **Narušení kvality vody**
 - **Pitná voda**
 - **Koupací vody**
 - **Toxické látky v potravních řetězcích**
- Nedostatek potravy
 - Přímé → ryby (EDCs, overfishing)
 - Nepřímé → výnosy na polích
- Ekonomické dopady

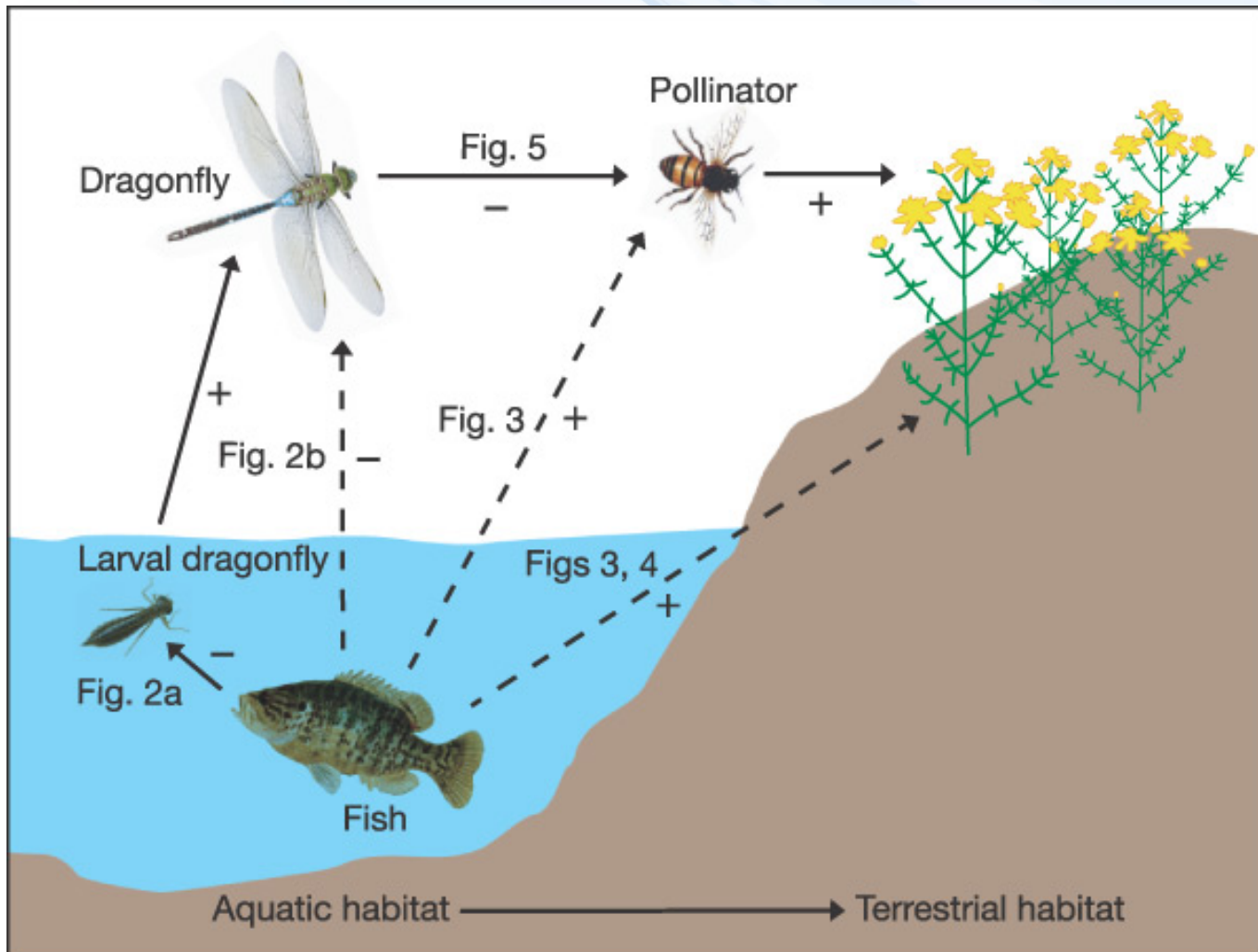


Příklad - změny v biodiverzitě



Vliv na vodu (ryby) → snížení úrody na polích

NATURE (2005) 437: 880

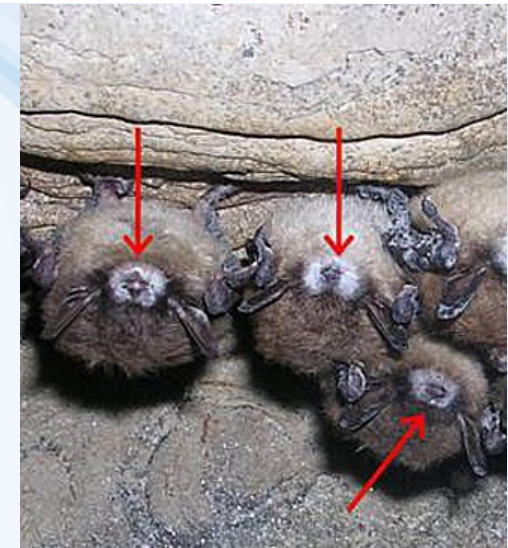
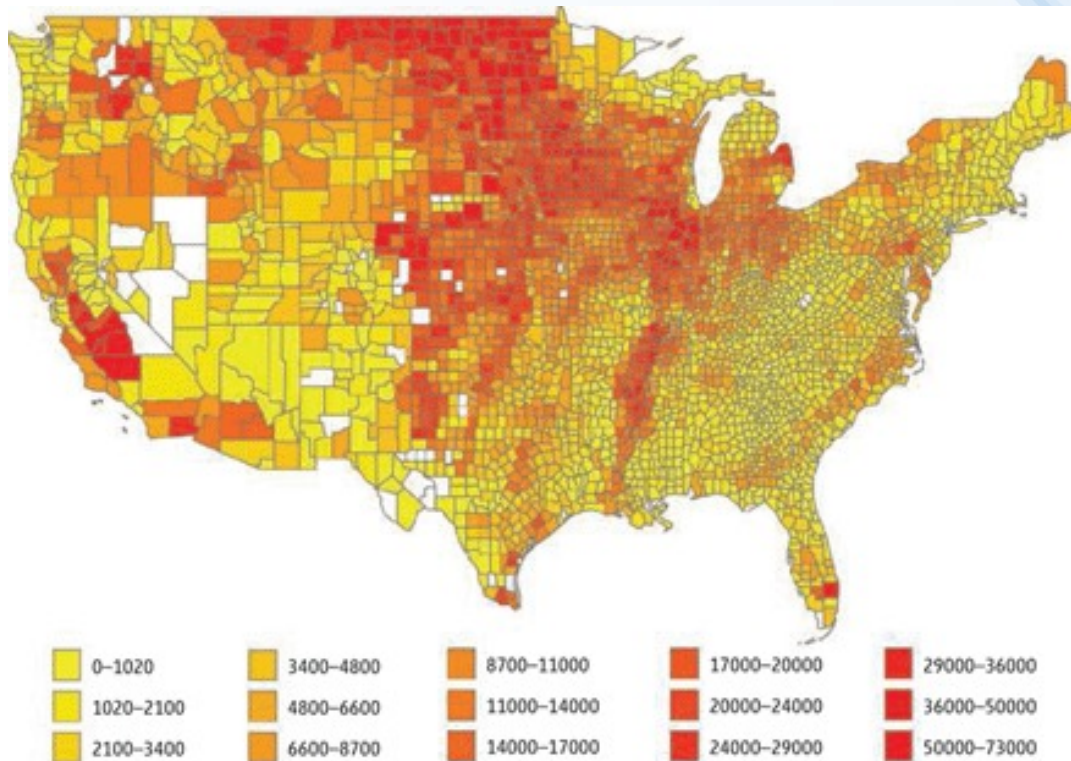


CONSERVATION

Economic Importance of Bats in Agriculture

Justin G. Boyles,^{1*} Paul M. Cryan,² Gary F. McCracken,³ Thomas H. Kunz⁴

Insectivorous bat populations, adversely impacted by white-nose syndrome and wind turbines, may be worth billions of dollars to North American agriculture.



Životní prostředí a chemické látky

(zdroje a typy znečištění, osud látek v prostředí, biodostupnost, bioobohacování látek v potravních řetězcích).



ENVIRONMENTÁLNÍ TOXIKOLOGIE

Multidisciplinární vědecká disciplína, která se zabývá škodlivými vlivy různých agens v prostředí (chemické, fyzikální, biotické) na živé organismy.

“Často se vysvětluje jako studium toxických látek v prostředí na zdraví člověka”

VS

EKOTOXIKOLOGIE

Věda studující toxické efekty v přírodě, u přírodních organismů, zejména efekty v populacích a společenstvech

(**nehumánní toxikologie**) [Truhaut 1979]

Oba pojmy se velmi často zaměřují, prolínají ...



Ekotoxikologie vs. Toxikologie

Toxikologie	Ekotoxikologie
Cílem chránit člověka před toxickými látkami	Cílem chránit populace mnoha druhů
Vždy vychází ze zvířecích modelů (testování na člověku ?)	Může využít přímého testování citlivosti druhů
Člověk je dobře charakterizován – menší chyby při extrapolacích	Jednotlivé druhy jsou velmi rozdílné – míra nejistoty při extrapolacích velká
Testovací organismy i člověk jsou teplokrevní – dobrá predikce účinků	Mnoho chladnokrevných živočichů, mnoho rostlin !, bakterií !
Jednoduché dávkování a měření toxicity (výsledek LD50)	Nejednotné dávkování (vnější, vnitřní), koncentrace ve vnější vodě není stejná s dávkou v těle ...
Dobře charakterizované mechanismy působení	Méně informací o biochemických mechanismech
Dobře standardizované testovací metody	Mnoho metod, málo standardních, ? predikce efektů v ekosystémech ?



Hlavní ZDROJE a vstupy toxických látek do prostředí

- průmysl, produkty motorů, výroba energie
- odpadní komunální vody
- splachy z povrchů (silnice, střechy, nátěry ...)
- průmyslové odpadní vody
- pevné městské a průmyslové odpady - skládky / spalování
- zemědělské činnosti

Každý zdroj - určité charakteristické skupiny chemických látek

Příklad: Odpadní komunální vody (ČOV): Primárně vliv na vodní ekosystém

- 1) Netoxické organické látky (fekální znečištění)
- 2) Další skupiny toxických chemických látek
 - Domácí chemie (detergenty, změkčovadla, vůně)
 - Léčiva
 - Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs)
 - Chlorované látky
 - Toxické kovy
 - Polychlorované dibenzo-p-dioxiny a furany (PCDD/Fs)

TYPY zdrojů

- BODOVÉ
- LINIOVÉ (dopravní stavby apod.)
- DIFÚZNÍ – rozptýlené (zemědělství)



• Environmentální toxikanty

– podle „biologických“ vlastností

Pesticidy	Toxické pro nežádoucí organismy („pests“)	DDT, parathion, glyfosát (round-up), atrazin
Insekticidy	Toxické pro hmyz/členovce	DDT, parathion
Herbicidy	Toxické pro rostliny	2,4-D, glyfosát, atrazin
Fungicidy	Toxické pro houby/plísně	Pesticidy s toxickými kovy (Hg, Cu)
Rodenticidy	Toxické pro hlodavce	Kyanid
Karcinogeny	Indukují rakovinu	Benzo[a]pyren
Reprodukčně toxické	Vliv na rozmnožování	Ethinyl-estradiol
Endokrinní disruptory	Vliv na hormonální aparát	Ethinyl-estradiol, tributylcín



• Environmentální toxikanty

– podle „fyzikálně-chemických“ vlastností

Lipofilní (hydrofobní)	Rozpustné v tucích / málo rozpustné ve vodě	DDT
Hydrofilní	Rozpustné ve vodě	Fenol, moderní insekticidy
Neutrální organické látky	Látky bez náboje (neionizují se)	DDT, PCB
Radioaktivní látky	Nestabilní, rozpad a uvolnění záření	Radon
Surfaktanty, detergenty	Látky snižující povrchové napětí na rozhraní dvou fází	Nonylfenol, alkylbenzen sulfonáty
Persistentní látky	Velmi dlouhý život v prostředí (nedegradují se)	DDT, PCB
Mošusové látky (musks), parfémy	Používané jako „vůně“ nebo regulátory zápachů	



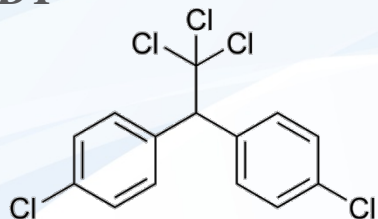
• Environmentální toxikanty

– podle „chemické struktury“

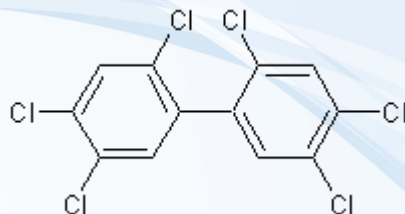
Chlorované uhlovodíky, organochlorové látky	Chlorohydrocarbons, organochlorines	DDT, PCB, PCDD/Fs
Polychlorované bifenyly (PCB)	Polychlorinated biphenyls	PCB153
Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)	Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)	Benzo[a]pyren
Polychlorované dibenzo-p-dioxiny („dioxiny“) a – furany	Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and -furans (PCDD/Fs)	2,3,7,8-TCDD
Těžké kovy, toxické kovy	Heavy metals	Hg, Pb, Cd (+ další)
Organokovové látky	Organometallics	Alkyl-cíny
Organofosfáty	Organophosphates (OPs)	Látky (insekticidy) – např. parathion
Pyrethroidy	Pyrethroids	Insekticidy/repelenty odvozené z látek produkovaných v květinách (zejm. Asteraceae) – např. cypermethrin



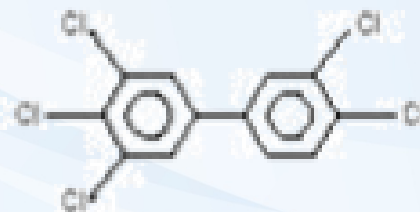
DDT



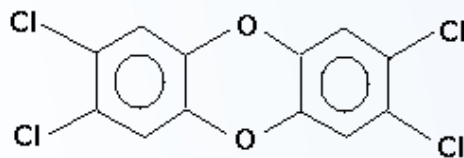
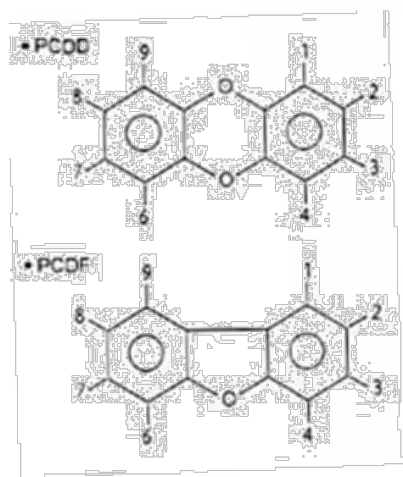
PCB153 (velmi častý)



PCB126 (toxický - koplánární)

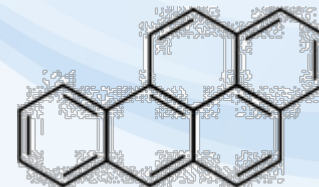


Polychlorované dioxiny a furany

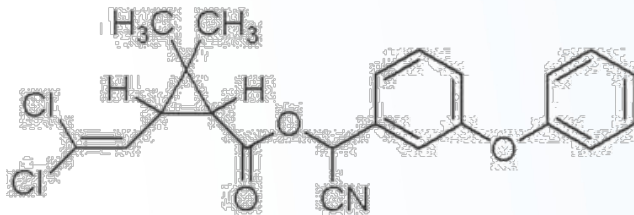


2, 3, 7, 8 - p - TCDD

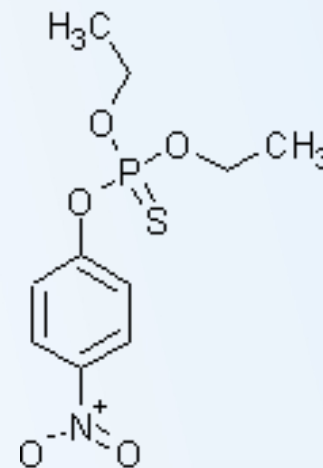
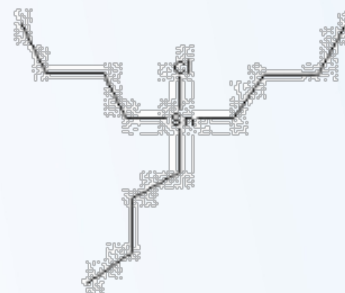
Benzo[a]pyren – zástupce PAHs



Cypermethrin



Tributyl-cín chlorid



ENVIRONMENTÁLNÍ OSUD toxických látek



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

OSUD látky v prostředí určuje míru EXPOZICE

ENVIRONMENTÁLNÍ OSUD (fate) popisuje

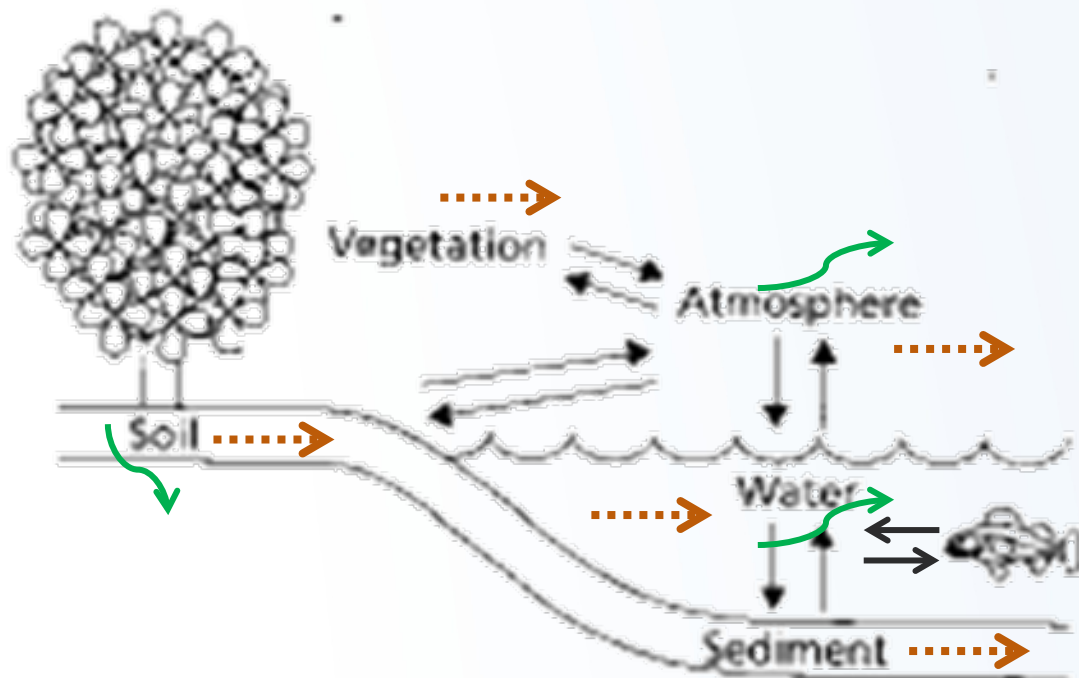
- ? V kterých složkách prostředí se látka nachází
- ? Jak se uvnitř složek pohybuje
- ? Jak se uvnitř složek přeměňuje

ROZDĚLOVÁNÍ mezi složky

TRANSPORT – např. vzduchem

TRANSFORMACE

– chemické a biologické



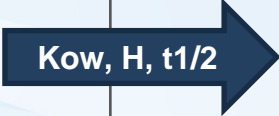
EXPOZICE (exposure)

Míra vystavení organismu látce (v určité koncentraci, po určitou dobu atd = *Expoziční scénáře*)

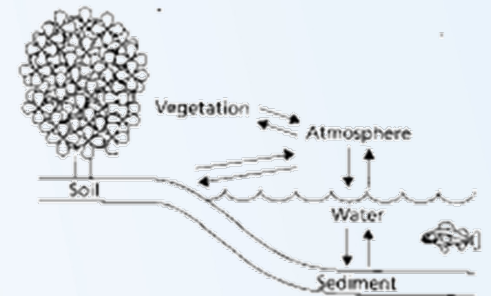


Které parametry určují jaký bude osud chemické látky?

	ROZDĚLOVÁNÍ	TRANSPORT	TRANSFORMACE
Vlastnosti látky	Polarita vs hydrofobicita (Kow , rozpustnost ve vodě) Těkavost, bod varu, vypařování (H , bod varu) Reaktivita vs stabilita a persistence (t1/2)		
Vlastnosti prostředí	Proudění (rychlost, směr, typ ...) Teplota Světlo (a jeho parametry) Chemické složení pH (volné H+) Redox potenciál (... přítomnost O2) Přítomnost anorganických iontů / výměnných míst (např. jílu) Částice – typ, velikost, množství Organický materiál – typ, množství (humínové látky atp.)		
Voda			
Sedimenty			
Půda			
Atmosféra			
Vlastnosti bioty vegetace, konzumenti ...	Počet / Pohyb / Velikost (povrch) / Množství (%) tuku / Stupeň v trofické pyramidě atd. atd.		



Kombinace uvedených parametrů určí osud a výslednou expozici organismů



Které parametry látek jsou především klíčové s ohledem na riziko **EKOTOXICITY** ?

- **1) Tendence vstupovat do organismů**
 - vyšší **hydrofobicita** (tuky v organismech)
 - rozdělovací koeficient oktanol/voda (**K_{ow}**, logP)
- **2) Stabilita (persistence, pomalá degradace)**
 - dlouhodobé působení v prostředí
 - poločas života (**t_{1/2}**)
- **3) Toxické účinky v organismech**

... o každé z vlastností musíme něco vědět

1+2 - v této části kurzu
3 – ostatní přednášky



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Vstup látky do bioty (přestup z prostředí do organismu)

- **Distribuce látky mezi složkami prostředí**

- Rozdělovací procesy mezi složkami prostředí (kompartmenty/matrice/fáze)

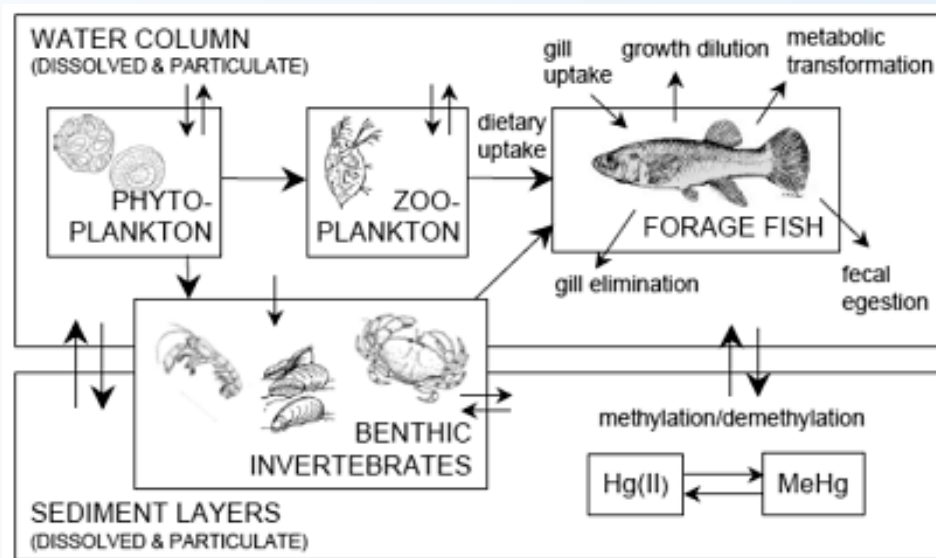
- biota/atmosféra
- půda/atmosféra

- sediment (půda) / voda
- voda/atmosféra

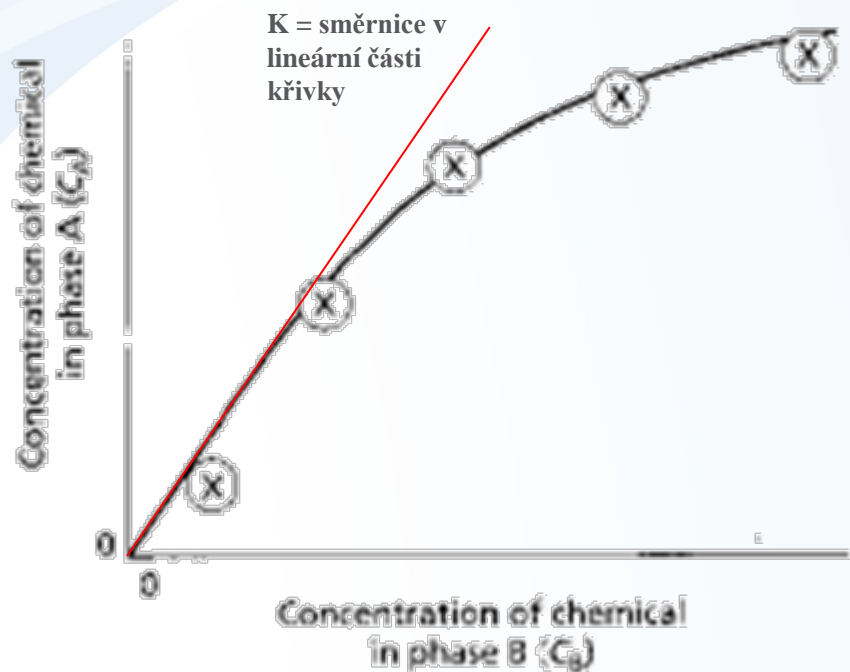
- **Jednou ze složek je BIOTA**

- důležité jsou procesy rozdělování “prostředí \leftrightarrow biota”

- Atmosféra / biota
- Voda / biota
- Sediment / biota
- Půda / biota
- Biota (potrava) / Biota (predátor)



Rozdělovací procesy mezi fázemi v ROVNOVÁZE odpovídají kinetice prvního řádu – popis *Freundlichova rovnice*



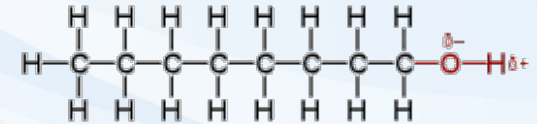
- **$C_a = K \cdot C_b^{1/n}$**
C - koncentrace ve fázích A (C_a) a B (C_b)
K - rozdělovací konstanta
n - konstanta nelinearity
- V případě lineárního vztahu ($n=1$)
 $K = C_a / C_b$
= “rozdělovací koeficient”
 - Velikost K určuje tendenci přechodu látky z fáze B do fáze A
- Z praktického experimentu (*rozdělování látky mezi dvě fáze*) lze odečíst příslušné konstanty
 $\log C_a = 1/n \cdot \log C_b + \log K$



Model rozdělování “Biota-Voda”

- **Rozdělovací koeficient BIOTA / VODA**

- je náročné stanovit
(standardní postup – stanovení biokoncentrace: viz dále)
- Alternativa - využití modelu s **n-octanolem**



- **N-octanol**

- Nemísí se s vodou, obdobné vlastnosti jako tuky či fosfolipidy biologických membrán

- **Rozdělování n-octanol/voda**

- **Kow** – rozdělovací koeficient
- Charakterizuje HYDROFOBICITU (resp. LIPOFILICITU)
- Časté vyjádření jako logKow (resp. logP)

Experimentální stanovení Kow

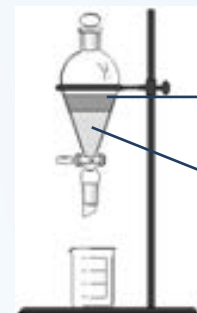
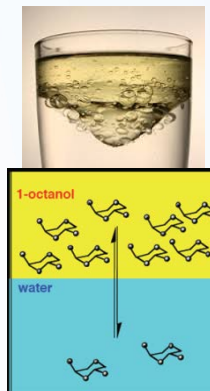
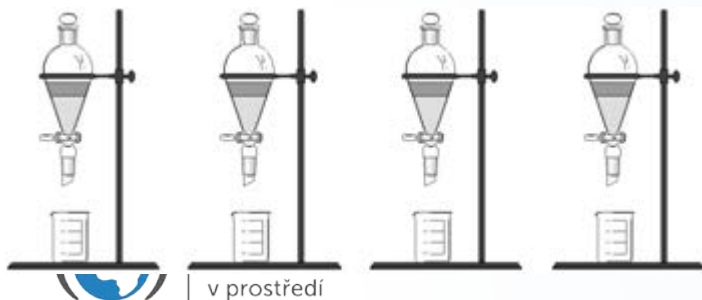
System
n-octanol/voda + přidání látky

Třepání do ustavení
rovnováhy

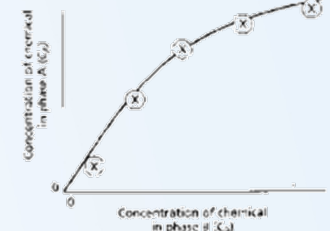
Chemická analýza
koncentrací

Výpočet Kow

4 různé počáteční koncentrace



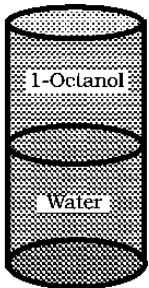
n-oct
water



Kow – příklady

Látka	Kow	logKow (logP)	K_bioakumulace (experimentální)
Lindane	5 250	3.72	470
DDT	2 290 000	6.35	1 100 000
Arochlor 1242 (PCB)	199 600	5.30	3 200
Naftalen	3 900	3.59	430
Benzen	135	2.13	13

Hydrophobicity



Measured as Water/Octanol
Partition Coefficient (P)

$$\log P_A = \log \frac{[A]_{1\text{-octanol}}}{[A]_{\text{water}}}$$

log P > 0 lipid phase
log P < 0 water phase

$$\log BCF = \log Kow - 1.32$$

Biokoncentrace, Bioakumulace, Bioobohacování

Biokoncentrace

Míra příjmu látky do organismu (ryby) z vody

BCF – Bioconcentration factor

$$BCF = \frac{Concentration_{Biota}}{Concentration_{Water}}$$

Experimentální stanovení

Testy s rybami (standard OECD 305)

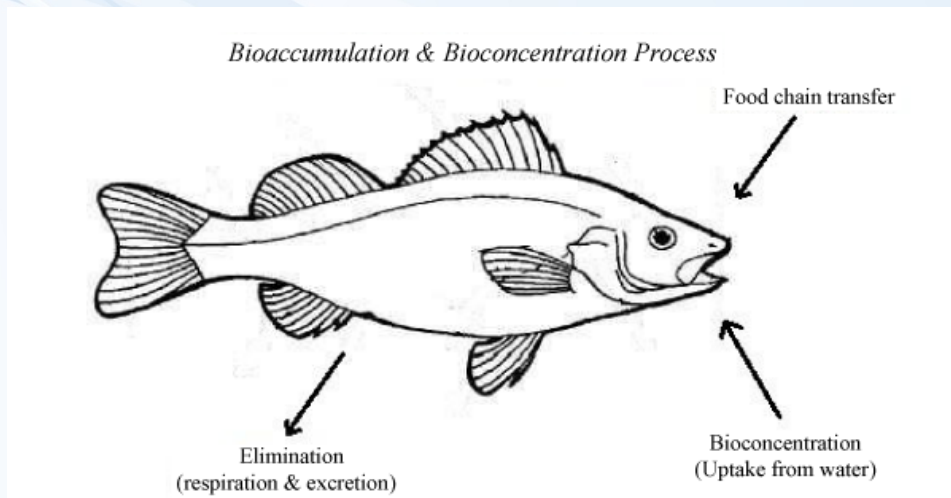
Dlouhé, náročné testy, testy s rybami in vivo

BCF lze predikovat z Kow

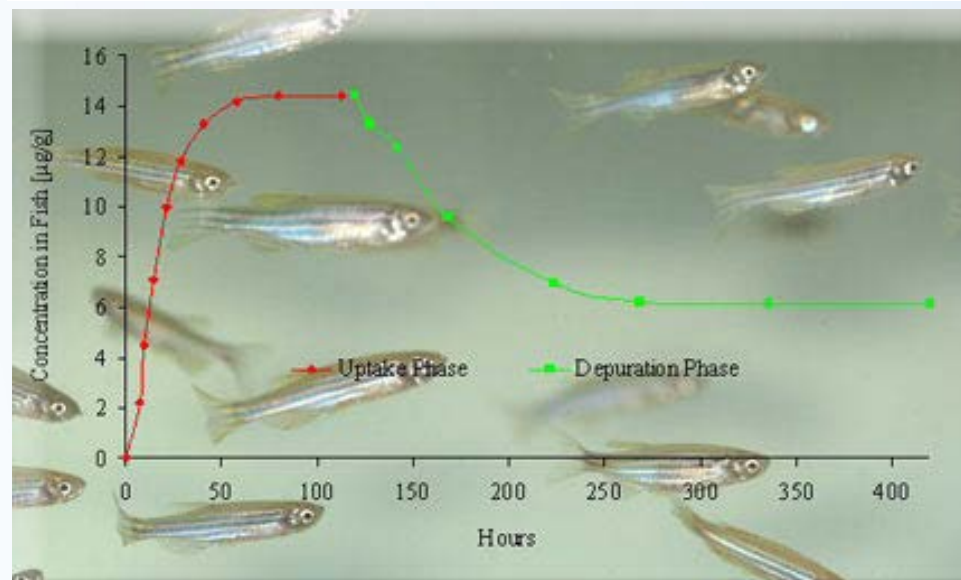
$$\log BCF = \log Kow - 1.32$$



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



Bioaccumulation = bioconcentration + food chain transfer - (elimination + growth dilution)



Bioakumulace, Biokoncentrace, Bioobohacování

Bioakumulace

Akumulace látky (všechny cesty expozice)

BAF – Bioaccumulation factor

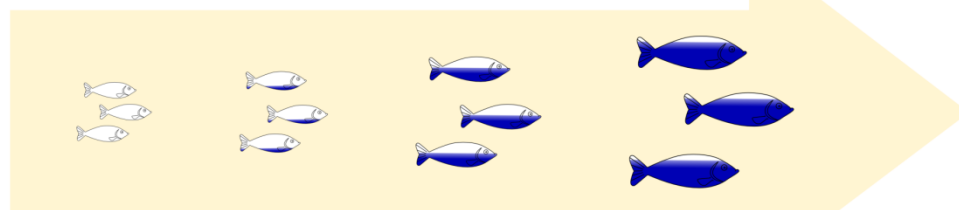
$$\text{BAF} = \frac{\text{Concentration of HM in dry fish tissue (mg Kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentration of HM in rivulet water (mg L}^{-1}\text{)}}$$

Bioobohacování (Biomagnification)

Zvyšování koncentrací látek v organismech v potravním řetězci

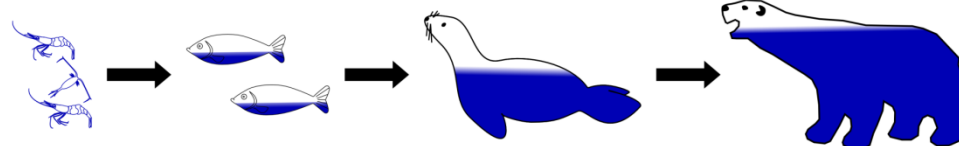
BMF – Biomagnification factor ($C_{\text{predator}}/C_{\text{food}}$)

Bioaccumulation



● Contaminant Levels

T I M E

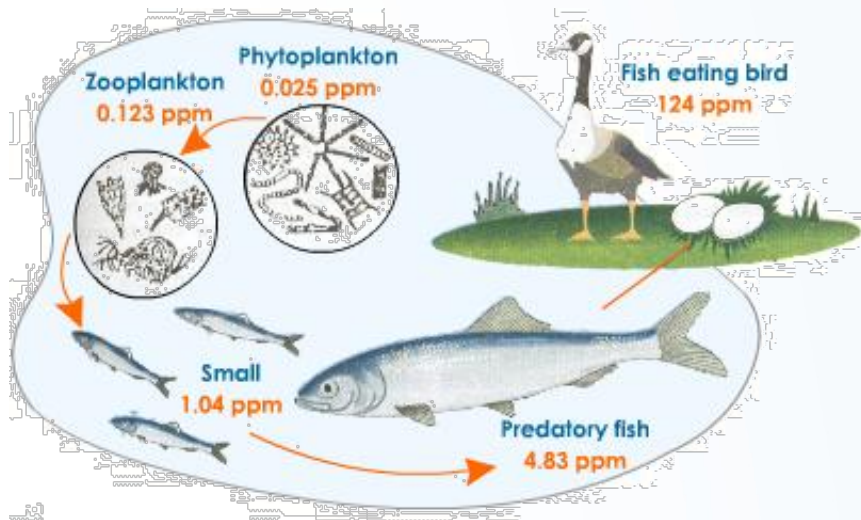


● Contaminant Levels

Biomagnification



Bioobohacování (Biomagnification)






Process of Biological Magnification;
DDT concentrations increase in organisms along the food chain






Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



(a) Freshwater Lakes in Southern Sweden

			
	phytoplankton	zooplankton	juvenile fish
PCB 153 (7.1)	60 (25 - 170)	48 (25 - 125)	180 (90 - 500)

(b) Fjord in Northern Norway

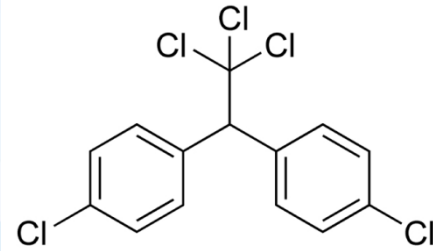
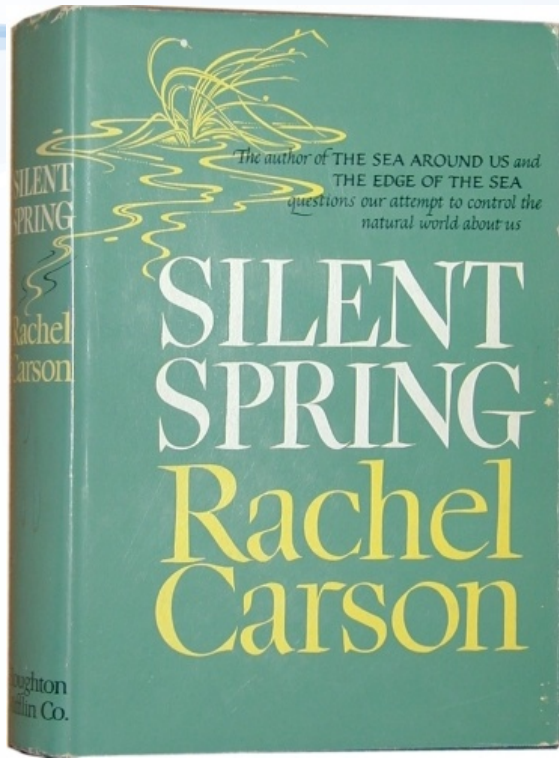
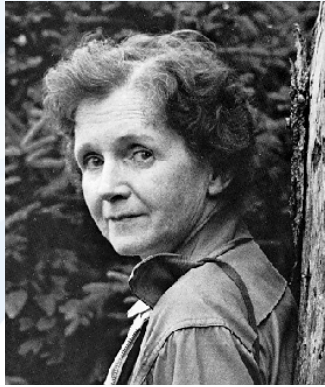
			
	sandeel (whole fish)	cod (liver)	seal (blubber)
Σ DDT (7.6 - 7.9)	60 (30 - 130)	200 (100 - 470)	2000 (600 - 7800)
PCB 153 (7.1)	25 (10 - 60)	95 (45 - 300)	1200 (550 - 2800)
HCB (5.1)	4 (2 - 8)	60 (40 - 70)	95 (90 - 100)
Σ HCH (3.8)	40 (25 - 60)	30 (20 - 40)	65 (5 - 200)

(c) Bobio River in Chile

		
	various fish	various water birds
Σ DDT (7.6 - 7.9)	890 (480 - 1340)	1570 (970 - 2350)
PCB 153 (7.1)	80 (50 - 130)	550 (400 - 700)
HCB (5.1)	25 (10 - 35)	50 (25 - 75)
Σ HCH (3.8)	150 (80 - 360)	45 (24 - 94)

Average values of lipid-normalized concentrations (ranges in parentheses) of some organochlorine compounds: PCB153, Σ DDT = *o,p*-DDT + *p,p*-DDT = *o,p*-DDE = *p,p*-DDE, Σ HCHs = α - + β - + δ -hexachlorohexane, and HCB = hexachlorobenzene in organisms belonging to some food chains ($\log K_{ow}$ values are given in parentheses after the compound names). All concentrations are expressed in $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ lip. (a) Planktonic food webs in 19 lakes in Southern Sweden (Berglund et al., 2000). The average lipid contents were 5.4, 8.8, and 6.6% for the phytoplankton, zooplankton, and fish. (b) Local marine food chain in a fjord in Northern Norway (Ruus et al., 1999) (c) Fish and fish-eating water birds from the Santa Barbara location, Bobio River, Chile (Focardi et al., 1996)

1962



The great expectations held for DDT have been realized. During 1946, exhaustive scientific tests have shown that, when properly used, DDT kills a host of destructive insect pests, and is a benefactor of all humanity.

one of the country's largest producers of this amazing insecticide. Today, everyone can enjoy added comfort, health and safety through the insect-killing powers of Pennsalt DDT products . . . and DDT is only one of Pennsalt's many chemical products which benefit industry, farm and home.



GOOD FOR STEERS—Beef grows healthier nowadays . . . for it's a scientific fact that—compared to untreated cattle—beef steers gain up to 50 pounds extra when protected from horn flies and many other pests with DDT insecticides.



KNOX FOR THE HOME—helps **Kn**ox Out to make healthier, more comfortable homes . . . protects your family from dangerous insect pests. Use **Kn**ox-Out DDT Powders and Sprays as directed . . . then watch the bugs "bite the dust!"



KNOX FOR DAIRIES—Up to 20% more **Kn**ox milk . . . more butter . . . more cheese . . . tests prove greater milk production when dairy cows are protected from the annoyance of many insects with DDT insecticides like **Kn**ox-Out Stock and Barn Spray.



GOOD FOR FRUITS—Bigger apples, juicier fruits that are free from smugly worms . . . all benefits resulting from DDT dusts and sprays.



GOOD FOR ROW CROPS—25 more barrels of potatoes per acre . . . actual DDT tests have shown crop increases like that! DDT dusts and sprays help truck farmers pass these gains along to you.



KNOX FOR INDUSTRY—Food **Kn**ox processing plants, laundries, dry cleaning plants, hotels . . . dozens of industries gain effective bug control, more pleasant work conditions with Pennsalt DDT products.

PENN SALT
CHEMICALS

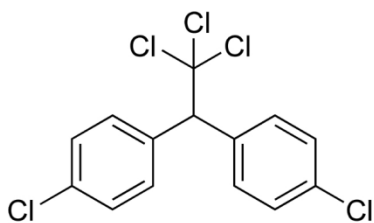
DT Years' Service to Industry • Farm • Home

PENNSYLVANIA SALT MANUFACTURING COMPANY
WIDENER BUILDING, PHILADELPHIA 7, PA.

Bitman et al. *Science* 1970, 168(3931): 594

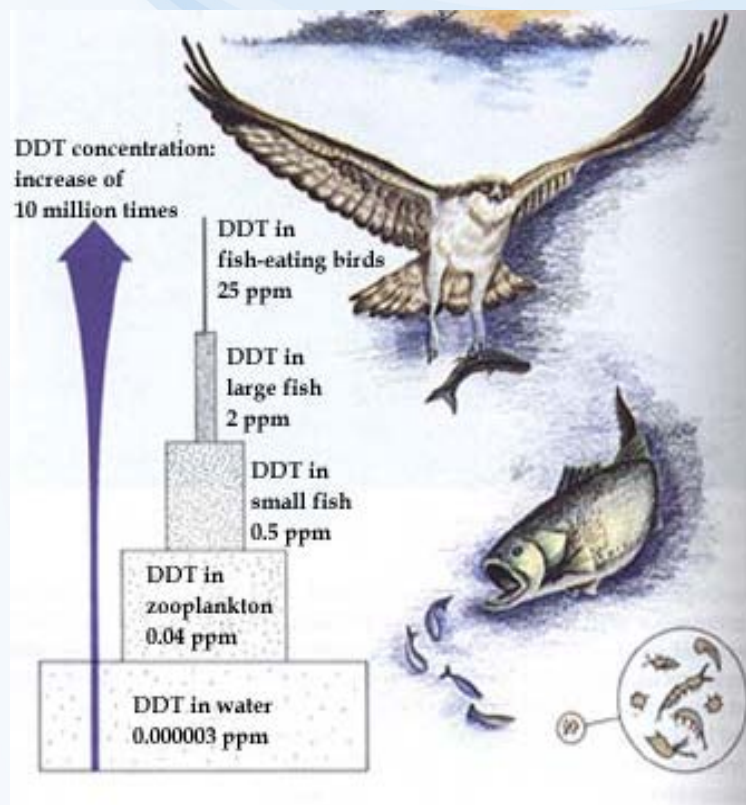


Biochemie: ptačí karbonátdehydratáza



In situ: bioakumulace
→ **úbytek populací ptáků**

In vivo: měknutí vajíček



Environmentální transformace / Persistence



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

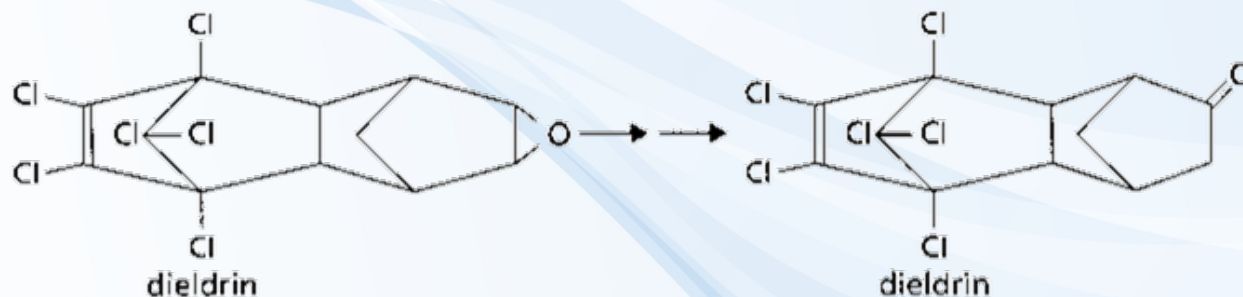
Přeměny látek v prostředí – (bio)transformace

- **Typy transformací organických látek:**
 - částečná změna struktury (např. vstup OH do neutrální mk)
 - degradace na menší organické molekuly
 - úplná degradace org. látky (CO₂, H₂O)
- **Hlavní procesy**
 - **Chemické** - dle typu prostředí
 - atmosféra – fotochemické reakce, reakce s kyslíkem (!)
 - voda – hydrolyza, oxidační reakce
 - anoxické prostředí (sedimenty, podzemní voda) – redukční reakce
 - **Biotické (enzymatická)**
 - **Úplná biotransformace** („Ready biodegradability“)
 - látka je využívána mikroorganismy jako zdroj uhlíku → produkce CO₂
 - **Kometabolizace**
 - mikroorganismy potřebují jiný (hlavní) zdroj C (transformace látky v rámci „vedlejších“ procesů)
- **Výsledek transformace**
 - netoxické produkty
 - tvorba ještě toxičtějších produktů (! př. Hg → methyl-Hg)
- **Biodegradabilita vs Persistence**
 - Látky polární a reaktivní – zpravidla krátký poločas života
 - Halogenované, neutrální látky – persistentní v prostředí

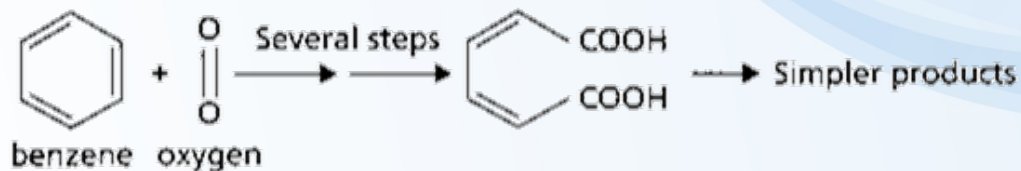


Jednoduché transformační procesy (za přítomnosti kyslíku)

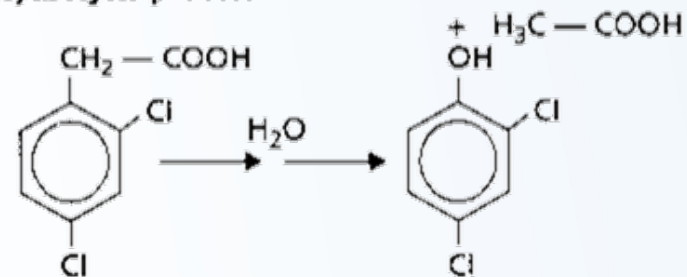
Transforming process



Transforming process



Hydrolysis process



2, 4-dichlorophenyl
acetic acid

Fig. 3.6 Some transformation and degradation patterns for chemicals discharged to the environment.



Anaerobní biotransformace – příklad methyl-rtuť

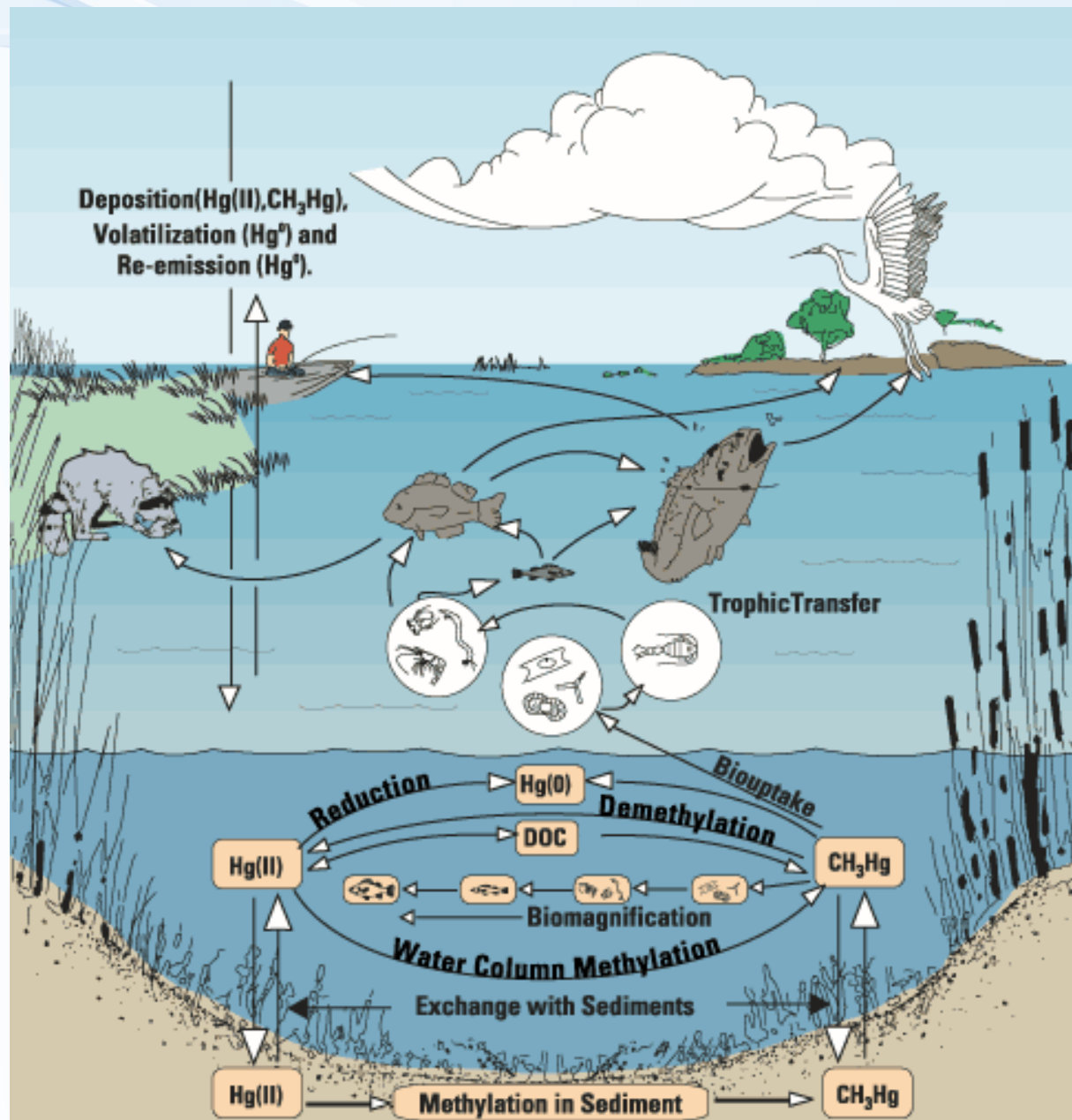
Me-Hg

- Bioakumulace
- Vysoká toxicita

• MINAMATA bay

(DÚ – koukněte

Na web na „minamata“)



Charakterizace persistence – poločas života

- Kinetika transformace - kinetika prvního řádu

$$- C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$$

C_t - koncentrace v čase t

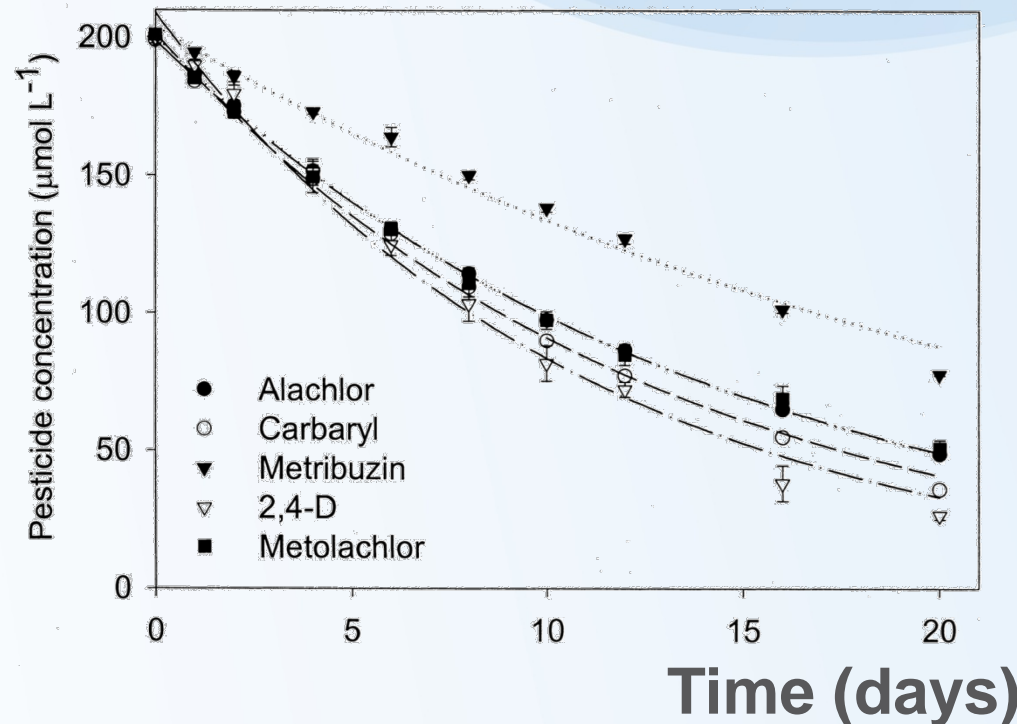
C_0 - počáteční koncentrace

k - konstanta (rychlost degradace)

t – čas

- Po odvození (poločas života, half-life)

$$t_{1/2} = \ln 2 / k = 0.693 / k$$



Poločas života vybraných pesticidů v půdě - příklady

Látka	Poločas života v půdě (roky) <i>($t_{1/2}$, resp. DT50 – disappearance time 50%)</i>
Chlorované látky	
DDT	3-10
Dieldrin	1-7
Toxafen	10
Organofosfát – chlorfenos	0,2
Karbamát – carbofuran	0,05 – 1



Osud (procesy) v prostředí → Expozice: BIODOSTUPNÁ látka

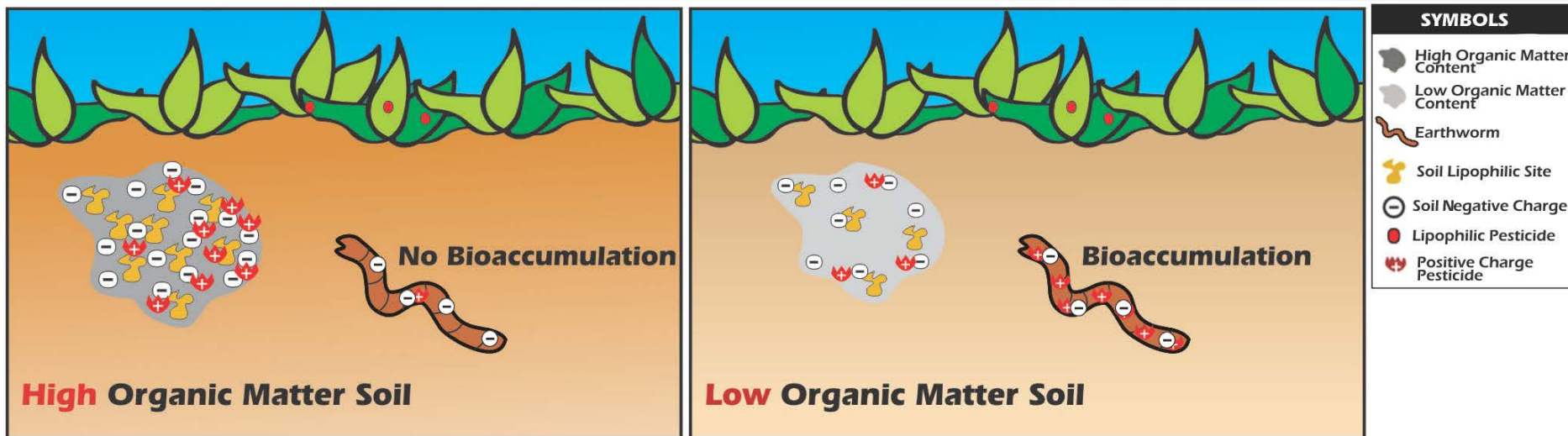


BIODOSTUPNOST

- **Pojem původně z farmakologie**
 - frakce látky, která je v těle účinná
- **V environmentálních vědách**
 - frakce látky, která může být přijata do organismu = látka je ve formě, která je dostupná (není tedy vázána v prostředí - např. na organický uhlík apod.)
- **Biodostupnost popisuje procesy (vztahy) mezi**
 - Látkami přítomnými v prostředí
 - Vstupem (akumulací) látek do organismů
 - Vlastnostmi prostředí

Příklad - Půda

dvě rozdílné půdy (vysoký a nízký obsah organického uhlíku)
biodostupnost (a tedy i bioakumulace) je vyšší v případě “low”



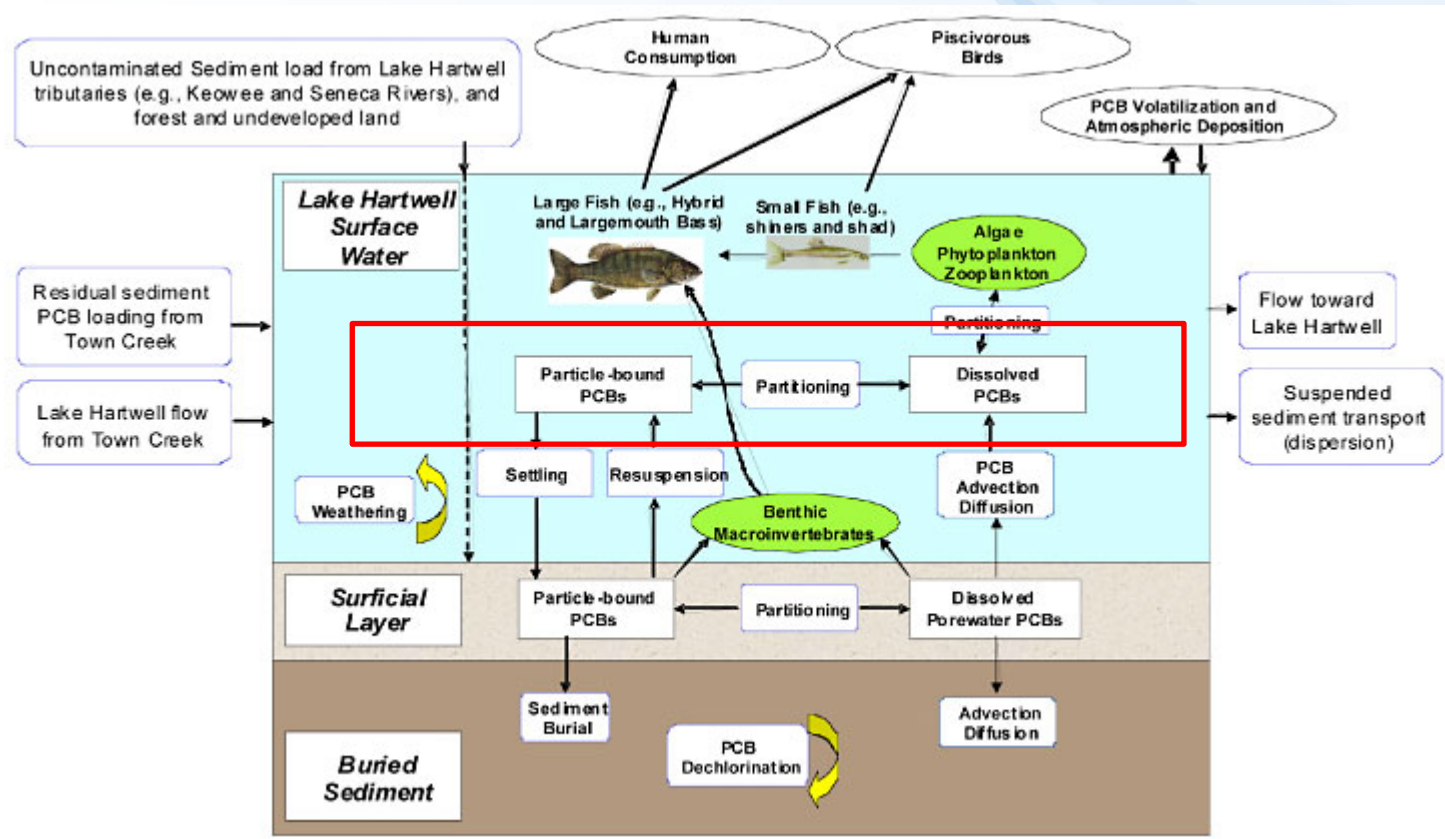
Biodostupnost - příklady

Hydrofobicita – organické látky vs. organický uhlík (humínové látky)

-> hydrofobní látky - tendence akumulace v tucích / v biotě

(ale současně i v mrtvé organické hmotě - OC)

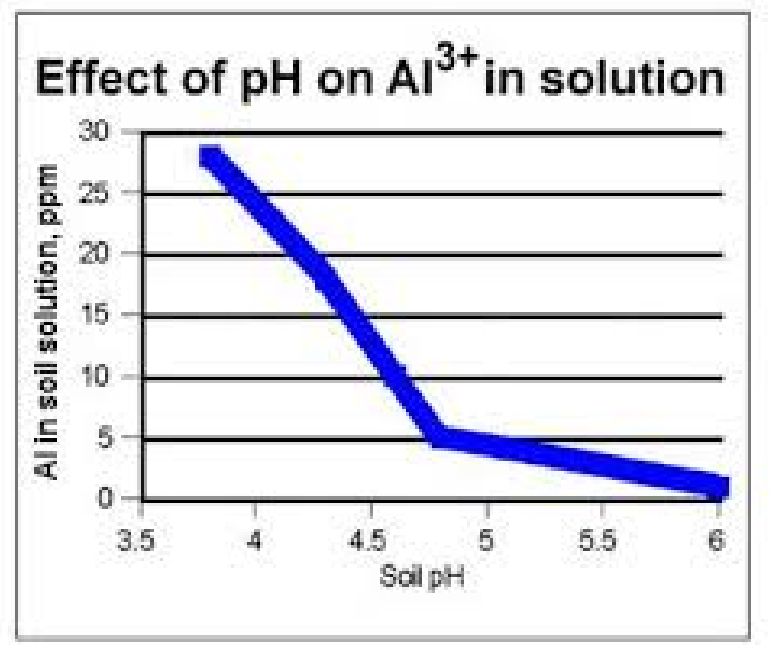
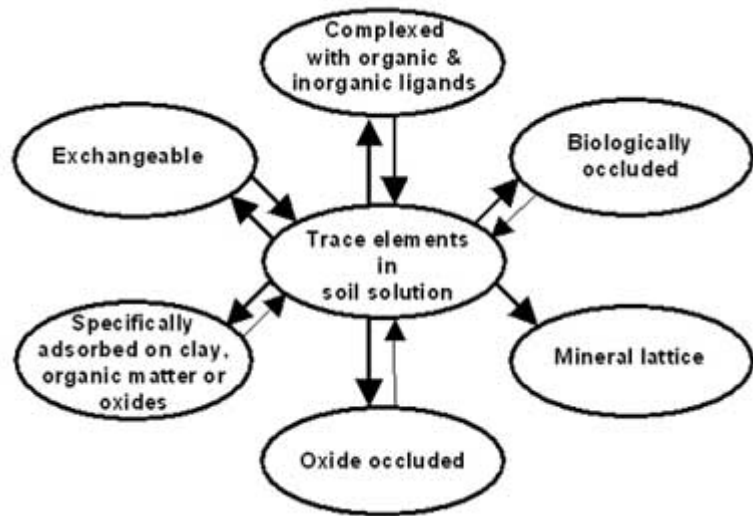
-> **vysoký obsah OC v prostředí (ve vodě): snížení biodostupnosti látek**



Biodostupnost - příklady

Toxické kovy ve vodách vs. pH / složení vod

- > vyšší pH: kovy přítomny v nerozpustných hydroxidech (snížení biodostupnosti)
- > **nižší (kyselé) pH – vyšší rozpustnost a vyšší toxicita kovů**



PRAKTICKÁ EKOTOXIKOLOGIE (biotesty) ... v kostce



Hodnocení účinků v ekotoxikologii

Cílem ekotoxikologických analýz je poznání účinků, které působí přítomnost stresorů na organismy v prostředí – **zejména populace a společenstva**

- suborganismální úroveň
- jednotlivé organismy
- populační efekty
- efekty ve společenstvech
- ekosystémové efekty



ekologická realita, relevance

laboratoř

laboratoř

laboratoř
mikro/mezokosmy

mikro/mezokosmy
polní studie
terénní pozorování

terénní pozorování



obtížnost stanovení



Hodnocení ekotoxicity – základní strategie

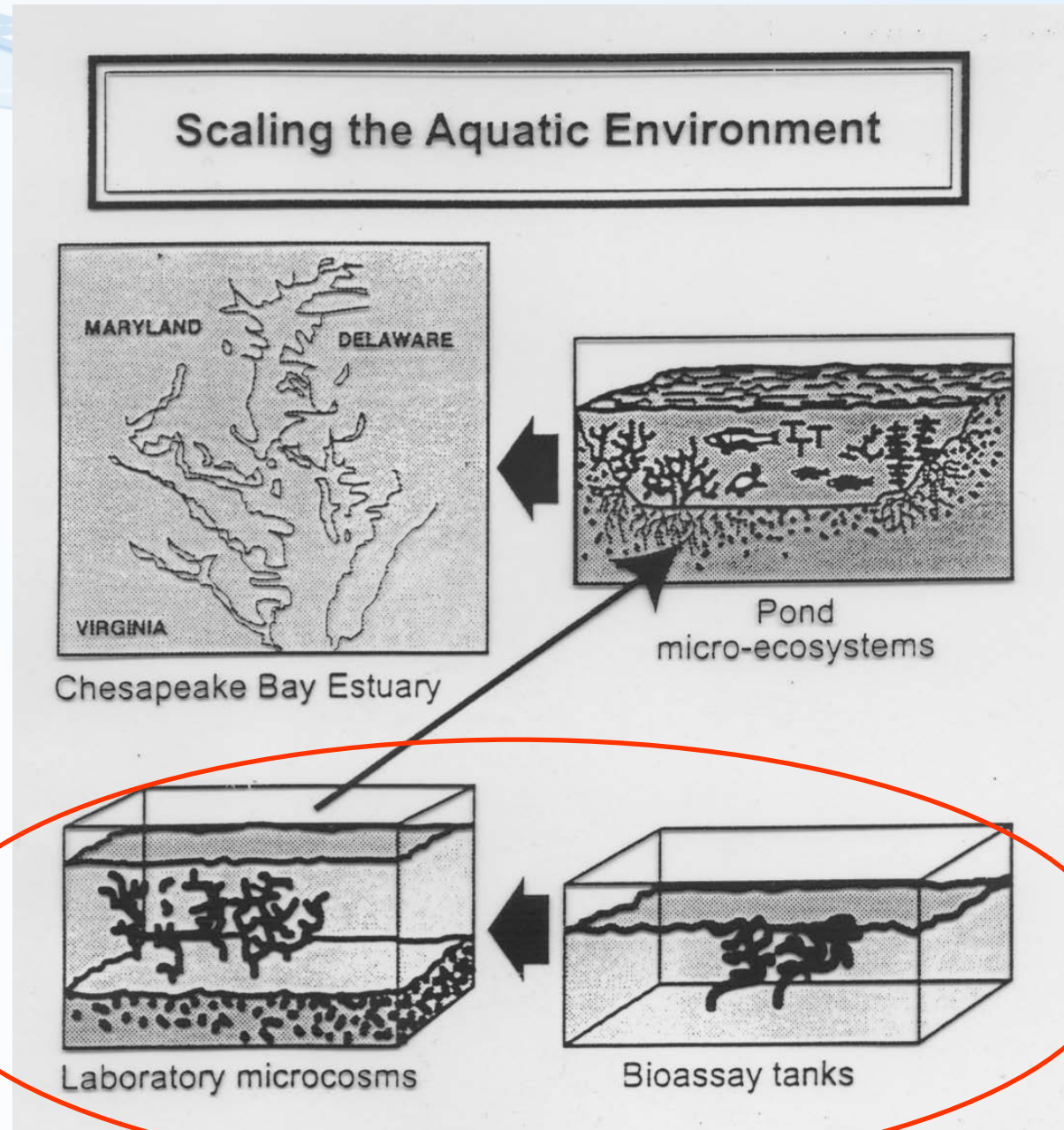
- **Cílem je poznání účinků v ekosystému**
 - Nelze poznat účinky u všech existujících druhů !
 - **Výběr MODELOVÝCH druhů**
 - = reprezentanti svých „ekologických skupin“ (trofických úrovní)
 - Využití kombinace několika testů = **baterie testů**
- **Hlavní ekologické skupiny = trofické úrovně**
 - **Producenti (autotrofové – řasy, rostliny)**
 - **Konzumenti – bezobratlí a obratlovci**
 - **Dekompozitoři (destruenti) – bakterie**
- **Nejběžnější organismy využívané v bateriích testů**
 - **Vodní prostředí – řasy, hrotnatka (D. magna), ryba**
 - **Půda – rostliny + žížaly (příp. roupice, chvostoskoci)**



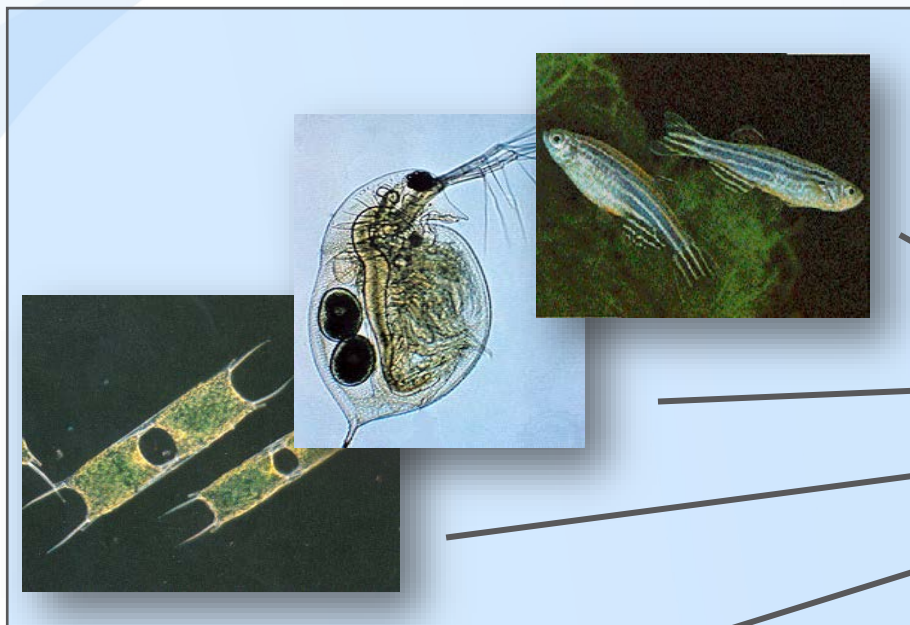
Testování ekotoxicity v praxi

= Účinky na vybraných modelových organismech (systémech)

→ predikce / extrapolace pro celý ekosystém



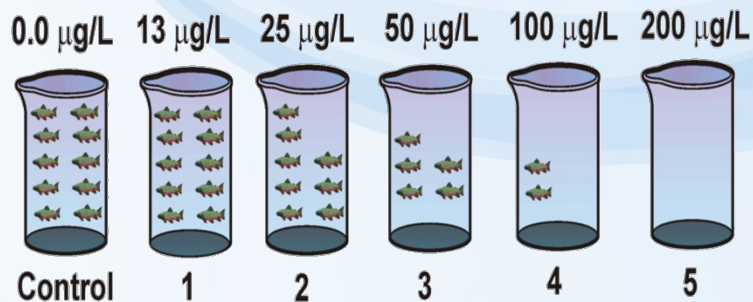
Ekotoxicita 1 – biotesty (nejčastější přístup)



Cu addition



Concentration:



96-hour LC50 = 50 $\mu\text{g/L}$

Effect concentrations expressed in total/dissolved Cu

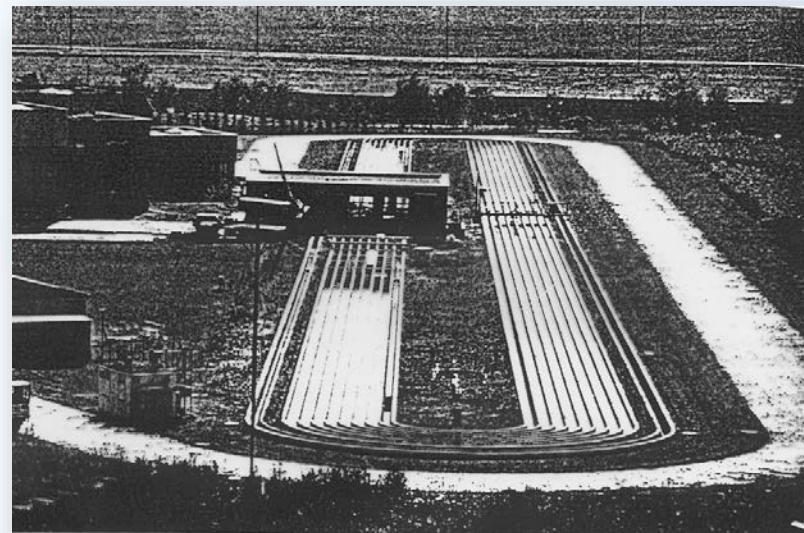
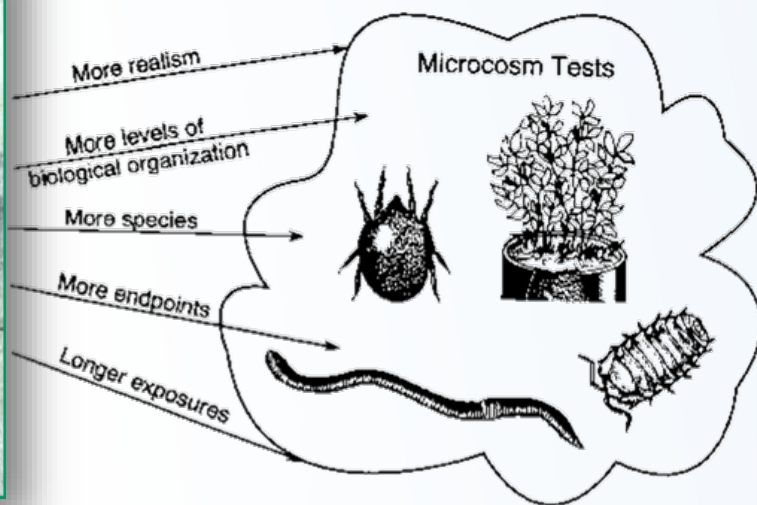


??? Safe concentrations ???



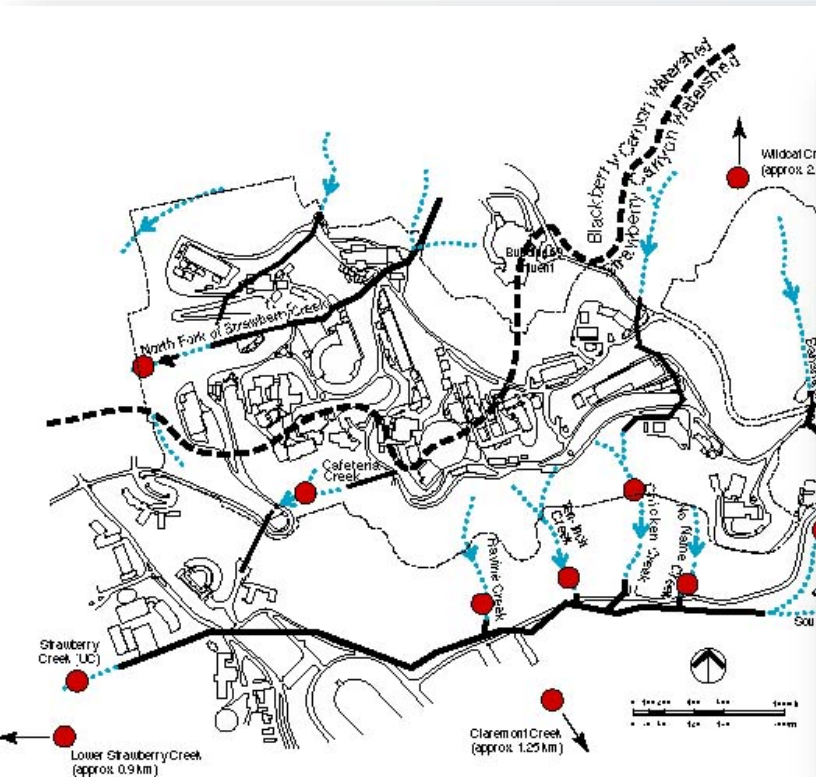
Ekotoxicita 2 – mikrokosmy a mesokosmy

Expensive & time consuming (e.g. *Pesticide testing*)
Variable results (natural variability ...)
Higher ecological relevancy



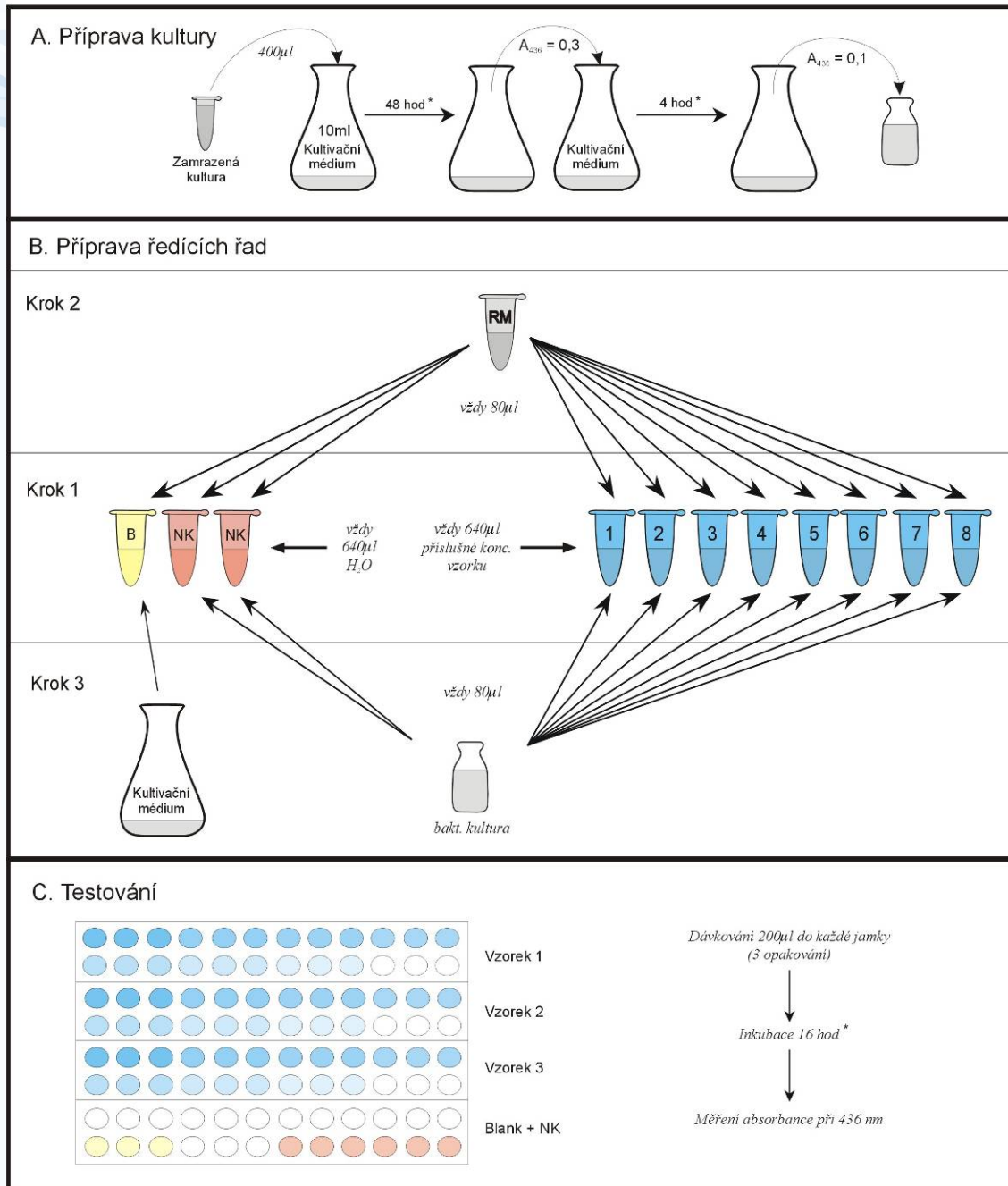
Ekotoxicita 3 – Terénní studie

Complex issue (chemistry, biology, geology, climate, pedology ..)
Ecotoxicology + Ecology
Comparing „contaminated“ to „control“ sites



OBECNÉ SCHÉMA BIOTESTU

- 1) Příprava organismu
- 2) Příprava vzorku (ředící řady – testování dávka:odpověď)
- 3) Expozice
- 4) Vyhodnocení (křivka dávka-odpověď)



Jaké vlastnosti má mít „modelový“ organismus pro standardizovaný biotest ?

- snadná dostupnost (*laboratorní kultury, komerční dostupnost ...*)
- snadné uchování a chov v laboratorních podmínkách do dostatečných množství pro experimenty (rychlý reprodukční cyklus)
- Známa biologie druhu a genetika příslušné kultury y
- jsou prostudovány relativní citlivosti druhu / kultury k různým třídám toxických látek
- citlivost druhu by měla být dobrým reprezentantem příslušné skupiny organismů
 - *Daphnia* → korýši / bezobratlí
 - *Zebřička* → kaprovité ryby / obratlovci



STANDARDIZOVANÉ BIOTESTY

- Během času byly vypracovány metody, které jsou **evidovány, doporučovány nebo realizovány v rámci:**
 - organizací evidujících standardy (*ISO.org, ČSNl.cz, ASTM.org*)
 - dalších (mezi)národních organizací (*OECD.org, WHO.int, Evropská Unie – ecb.jrc.it, US EPA, národní vlády*)
- **Existují standardizované postupy pro hodnocení jednodruhových, vícedruhových efektů i hodnocení polních experimentů a sledování**
 - Na dalších snímcích výběr / příklady



Vodní organismy

Test No. 201: Alga, Growth Inhibition Test	11 July 2006
Test No. 221: Lemna sp. Growth Inhibition Test	11 July 2006
Test No. 202: Daphnia sp. Acute Immobilisation Test	23 Nov 2004
Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test	16 Oct 2008
Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test	17 July 1992
Test No. 204: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study	04 Apr 1984
Test No. 210: Fish, Early-Life Stage Toxicity Test	17 July 1992
Test No. 212: Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages	21 Sep 1998
Test No. 215: Fish, Juvenile Growth Test	21 Jan 2000
Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay	08 Sep 2009
Test No. 230: 21-day Fish Assay	08 Sep 2009
Test No. 231: Amphibian Metamorphosis Assay	08 Sep 2009

Organismy v sedimentech

Test No. 218: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment	23 Nov 2004
Test No. 219: Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water	23 Nov 2004
Test No. 233: Sediment-Water Chironomid Life-Cycle Toxicity Test Using Spiked Water or Spiked Sediment	23 July 2010
Test No. 225: Sediment-Water Lumbriculus Toxicity Test Using Spiked Sediment	15 Oct 2007



Půdní organismy

Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test	17 Aug 2006
Test No. 227: Terrestrial Plant Test: Vegetative Vigour Test	17 Aug 2006
Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests	04 Apr 1984
Test No. 220: Enchytraeid Reproduction Test	23 Nov 2004
Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (<i>Eisenia fetida</i>/<i>Eisenia andrei</i>)	23 Nov 2004
Test No. 228: Determination of Developmental Toxicity of a Test Chemical to Dipteran Dung Flies (<i>Scathophaga stercoraria</i> L. (<i>Scathophagidae</i>), <i>Musca autumnalis</i> De Geer (<i>Muscidae</i>))	16 Oct 2008
Test No. 232: Collembolan Reproduction Test in Soil	08 Sep 2009
Test No. 226: Predatory mite (<i>Hypoaspis</i> (<i>Geolaelaps</i>) <i>aculeifer</i>) reproduction test in soil	16 Oct 2008
Test No. 216: Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test	21 Jan 2000
Test No. 217: Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test	21 Jan 2000

Další biotesty

Test No. 213: Honeybees, Acute Oral Toxicity Test	21 Sep 1998
Test No. 214: Honeybees, Acute Contact Toxicity Test	21 Sep 1998
Test No. 205: Avian Dietary Toxicity Test	04 Apr 1984
Test No. 206: Avian Reproduction Test	04 Apr 1984
Test No. 223: Avian Acute Oral Toxicity Test	23 July 2010



Vodní bezobratlí

ISO 6341:1996	Water quality -- Determination of the inhibition of the mobility of <u>Daphnia magna</u> Straus (Cladocera, Crustacea) -- <u>Acute toxicity test</u>
ISO 10706:2000	Water quality -- Determination of <u>long term toxicity of substances to Daphnia magna</u> Straus (Cladocera, Crustacea)
ISO/DIS 14380	Water quality -- Determination of the <u>acute toxicity to Thamnocephalus platyurus</u> (Crustacea, Anostraca)
ISO/CD 16303	Water quality -- Determination of toxicity of <u>fresh water sediments using Hyalella azteca</u>
ISO 10872:2010	Water quality -- Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and <u>reproduction of Caenorhabditis elegans</u> (Nematoda)
ISO 16712:2005	Water quality -- Determination of acute toxicity of marine or estuarine sediment to amphipods
ISO 20665:2008	Water quality -- Determination of chronic toxicity to Ceriodaphnia dubia
ISO 20666:2008	Water quality -- Determination of the chronic toxicity to Brachionus calyciflorus in 48 h
ISO 14669:1999	Water quality -- Determination of acute lethal toxicity to marine copepods (Copepoda, Crustacea)
ISO/DIS 14371	Water quality -- Determination of freshwater-sediment subchronic toxicity to Heterocypris incongruens (Crustacea, Ostracoda)
ISO 7828:1985	Water quality -- Methods of biological sampling -- Guidance on handnet sampling of aquatic benthic macro-invertebrates
ISO 8265:1988	Water quality -- Design and use of quantitative samplers for benthic macro-invertebrates on stony substrata in shallow freshwaters
ISO 8689-1:2000	Water quality -- Biological classification of rivers -- Part 1: Guidance on the interpretation of biological quality data from surveys of benthic macroinvertebrates
ISO 8689-2:2000	Water quality -- Biological classification of rivers -- Part 2: Guidance on the presentation of biological quality data from surveys of benthic macroinvertebrates
ISO/DIS 10870	Water quality -- Guidelines for the selection of sampling methods and devices for benthic macroinvertebrates in fresh waters
ISO/WD 16778	Water quality -- Calanoid copepod development test with Acartia tonsa



Půdní bezobratlí

ISO 11268-1:1993	Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (<i>Eisenia fetida</i>) -- Part 1: Determination of acute toxicity using artificial soil substrate
ISO 11268-2:1998	Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms (<i>Eisenia fetida</i>) -- Part 2: Determination of effects on reproduction
ISO 11268-3:1999	Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms -- Part 3: Guidance on the determination of effects in field situations
ISO 11267:1999	Soil quality -- Inhibition of reproduction of <i>Collembola (Folsomia candida)</i> by soil pollutants
ISO 16387:2004	Soil quality -- Effects of pollutants on Enchytraeidae (<i>Enchytraeus sp.</i>) -- Determination of effects on reproduction and survival
ISO 15952:2006	Soil quality -- Effects of pollutants on juvenile land snails (Helicidae) -- Determination of the effects on growth by soil contamination
ISO 20963:2005	Soil quality -- Effects of pollutants on insect larvae (<i>Oxythyrea funesta</i>) -- Determination of acute toxicity
ISO 17512-1:2008	Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 1: Test with earthworms (<i>Eisenia fetida</i> and <i>Eisenia andrei</i>)
ISO/DIS 17512-2	Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 2: Test with collembolans (<i>Folsomia candida</i>)
ISO 23611-1:2006	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 1: Hand-sorting and formalin extraction of earthworms
ISO 23611-2:2006	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 2: Sampling and extraction of micro-arthropods (<i>Collembola</i> and <i>Acarina</i>)
ISO 23611-3:2007	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 3: Sampling and soil extraction of enchytraeids
ISO 23611-4:2007	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 4: Sampling, extraction and identification of soil-inhabiting nematodes
ISO/DIS 23611-5	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 5: Sampling and extraction of soil macro-invertebrates
ISO/DIS 23611-6	Soil quality -- Sampling of soil invertebrates -- Part 6: Guidance for the design of sampling programmes with soil invertebrates



Rostliny

ISO 11269-1:1993	Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 1: Method for the measurement of <u>inhibition of root growth</u>
ISO 11269-2:2005	Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants
ISO 17126:2005	Soil quality -- Determination of the effects of pollutants on soil flora -- Screening test for emergence of lettuce seedlings (<i>Lactuca sativa</i> L.)
ISO 22030:2005	Soil quality -- Biological methods -- <u>Chronic toxicity in higher plants</u>
ISO/CD 29200	Soil quality -- Assessment of genotoxic effects on higher plants -- Micronucleus test on <i>Vicia faba</i>





Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Biotesty

příklady 1: vodní prostředí

Nejčastější kombinace v legislativách – 3 testy:

- Řasy (72h-96h růstový test)
- D. magna (akutní test 48h)
- Ryby (akutní test 96h)

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Ekotoxikologické biotesty - producenti

Řasové testy toxicity

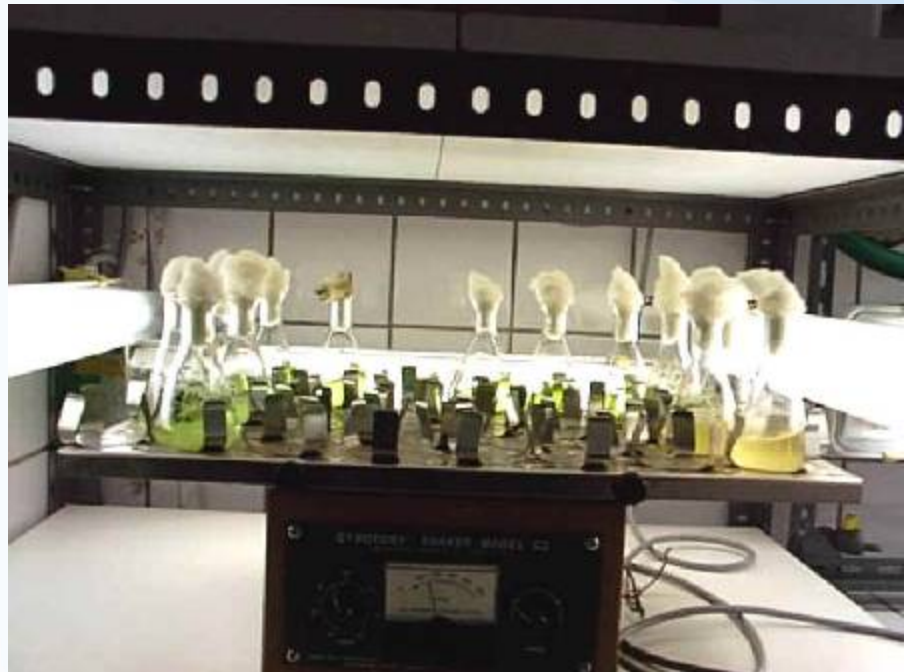
- standardní uspořádání
- 72-96 hod, Erlenmayerovy lahve, třepání
- sledování růstu, počtů buněk, biomasy – kvantifikace chlorofylu (fluorescence)
- miniaturizace mikrodestičky

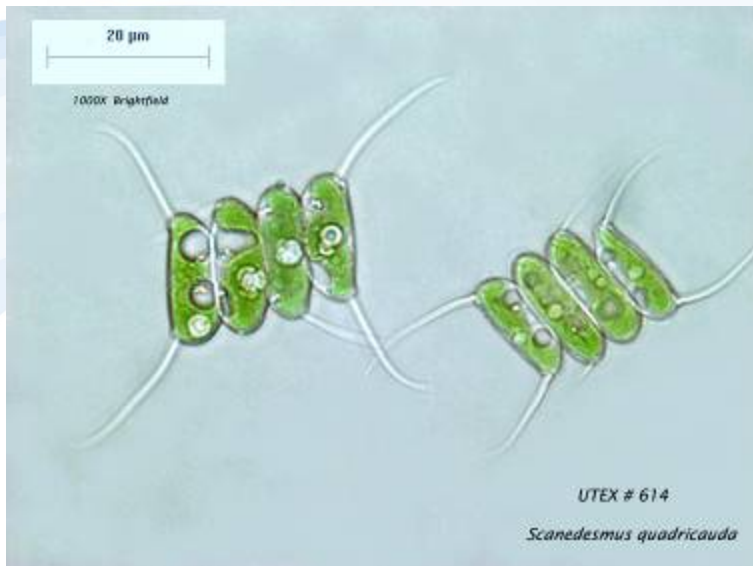
Řasy

Selenastrum capricornutum
Scenendesmus subcapitatus
Sc. quadricauda
Chlorella vulgaris

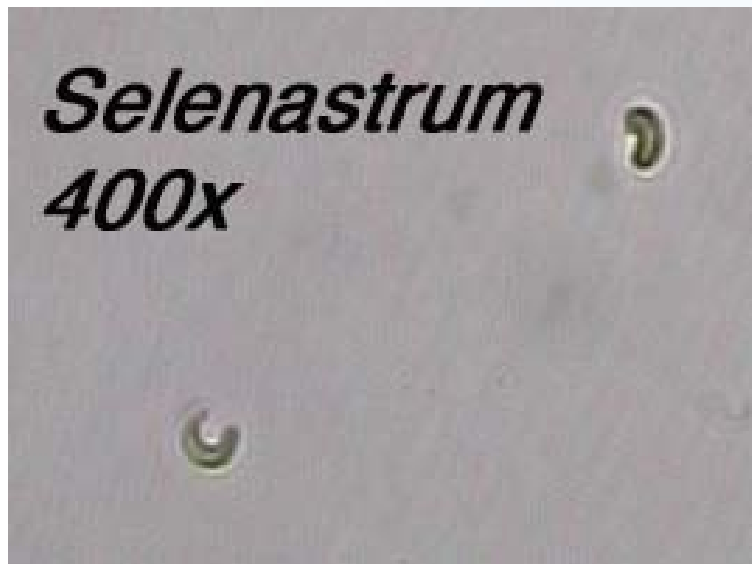
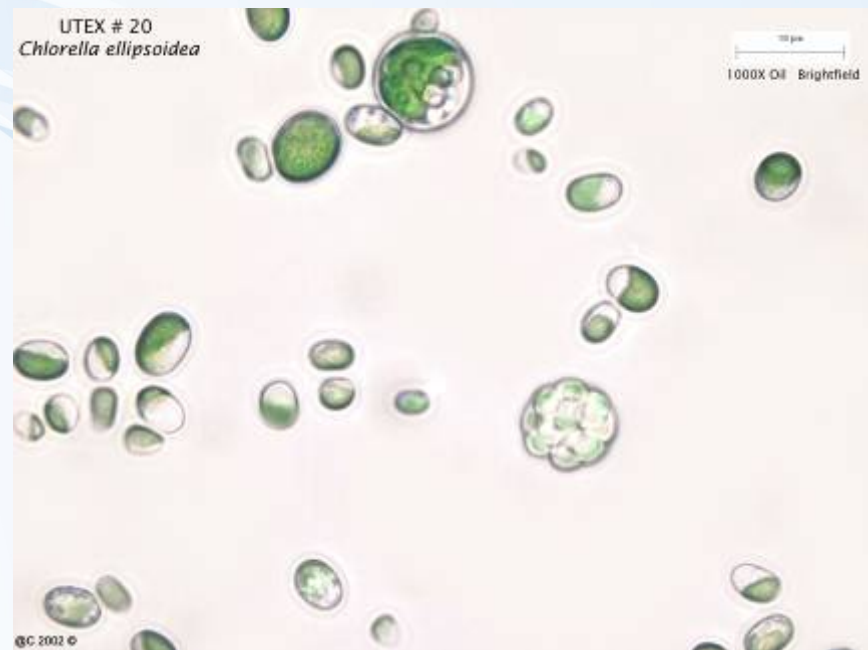
Sinice

Microcystis aeruginosa

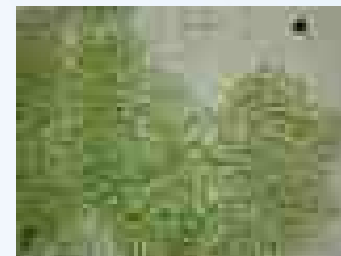




UTEX # 20
Chlorella ellipsoidea



Microcystis aeruginosa



EKOTOXIKOLOGICKÉ BIOTESTY - PŘÍKLADY - - KONZUMENTI – BEZOBRATLÍ -



Ekotoxikologické biotesty – konzumenti - bezobratlí

Akvatické testy s bezobratlími jsou velmi běžné, někdy je ekotoxikologie zaměřována s "Daphniovými biotesty"

-uspořádání

-kádinky,

-**akutní testy – 48 h,**

-prolongované testy 21 d
(reprodukce)

Akvatictí planktonní korýši - nejčastější

Daphnia magna,

Ceriodaphnia dubia, Artemia salina (mořská)

Další bezobratlí

bentičtí korýši – Gammarus, Hyallela azteca

hmyz – Pakomáři (Chironomus), jepice ...



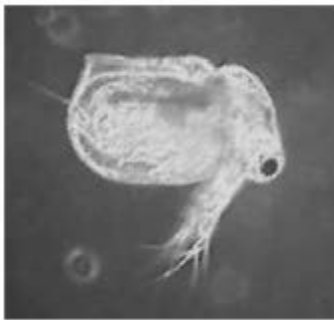
Daphnia magna



Artemia salina



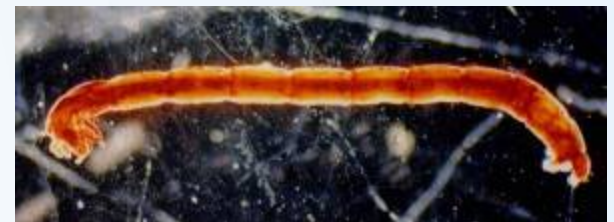
Ceriodaphnia dubia



Gammarus



Chironomus riparius



EKOTOXIKOLOGICKÉ BIOTESTY - PŘÍKLADY -

- KONZUMENTI – OBRATLOVCI –



Ekotoxikologické biotesty - obratlovci

-Rybí biotesty - uspořádání

Akvária

- akutní testy 96 h

- prolongované a embryolarvální testy
dny až měsíce

Dlouhodobé testy - letalita, růst, rozmnožování,

- testy xenoestrogenity (vývoj oboupohlavníků)

- různá uspořádání (statické, průtočné ...)

Rybí druhy

Zebřička (Danio rerio)

Pstruh duhový, Živorodka duhová (paví očko),

Karas, Kapr, Střevle (Pimephales promelas)

Specifické testy (endokrinní disruptce, karcinogenita)

Halančík rýžovištní – Japanese medaka



Živorodka duhová (Paví očko),
Poecilia reticulata



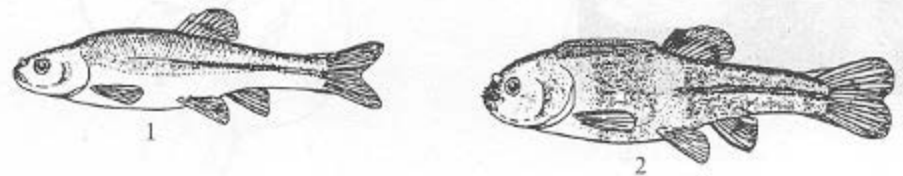
Danio rerio (syn. *Brachydanio rerio*)



Karas (zlatá forma)



Americký druh střevle
(*Pimephales promelas*)



Obr. 3: *Pimephales promelas* (1 - samička, 2 - samček)

Pstruh





Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Biotesty

příklady 2: půdní prostředí

Nejčastější kombinace v legislativách – 2testy

- Rostliny – testy inhibice růstu
- Žížaly – akutní toxicita-letalita (14 dní), reprodukce (několik týdnů)

Pozn: Plus v legislativě ČR a SR také test klíčení s hořčicí – méně častý v jiných zemích

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



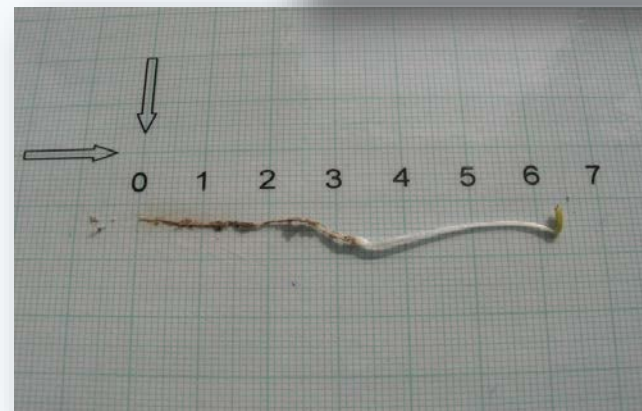
INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inhibice růstu kořene – hořčice, salát

ISO 11269-1

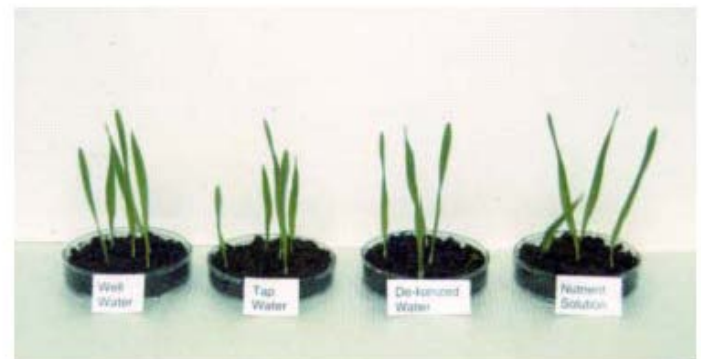
Testy klíčení s rostlinami:

- hořčice (*Sinapis alba*) – vodné médium
- Salát (*Lactuca sativa*) - půda

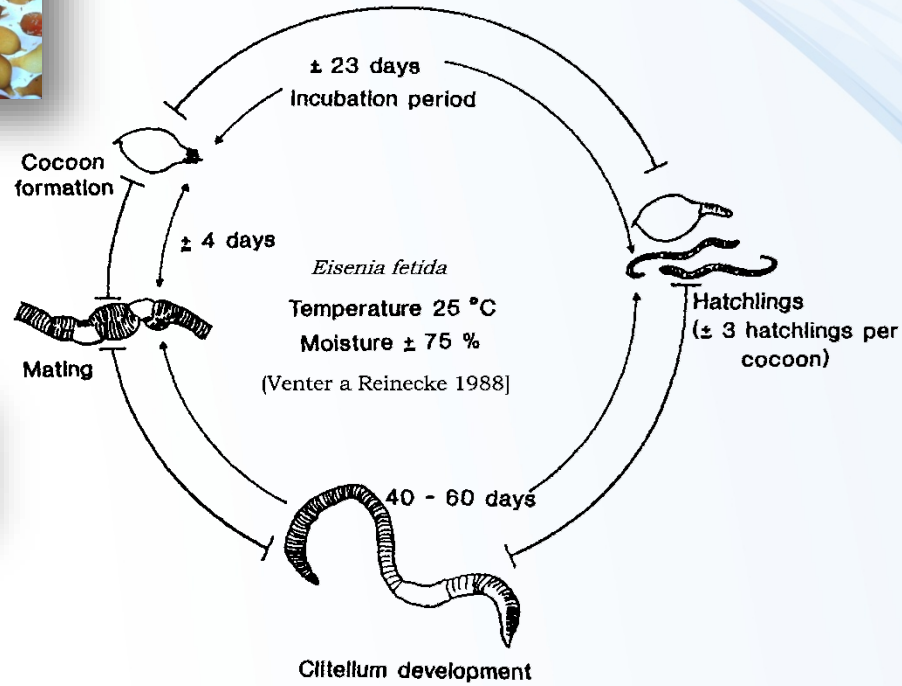




14-d Shoot Length
IC50 = 29.7 mg/g

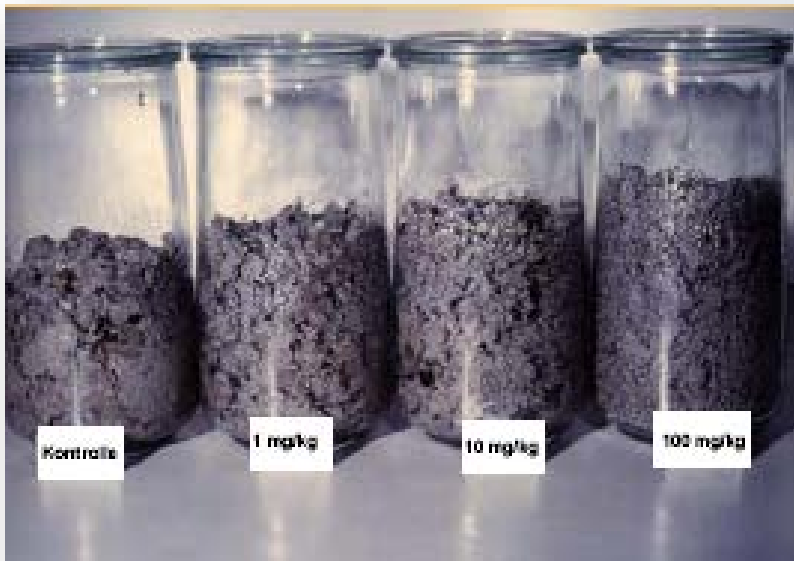


Testy se žížalami



Akutní test s žížalou

- 500 g soil + 10 adult *Eisenia fetida*
- 14 days
- mortality and weight



Ekotoxikologické biotesty – konzumenti - bezobratlí

Další biotesty s terestríckými bezobratlými

VČELY

- testování insekticidů
- dávkování v potravě
- sledování mortality



Moucha domácí - testování léčiv:
antiparazitika

Drosophila
(hodnocení genotoxicity)



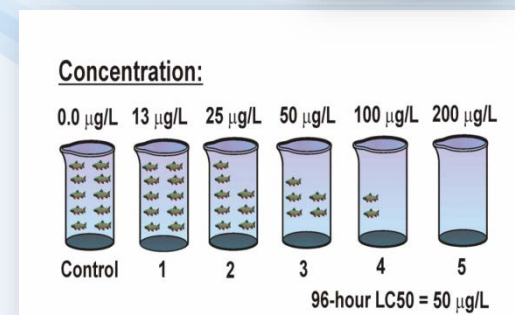
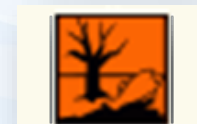
Využití EKOTOXIKOLOGIE V PRAXI



Praktické využití biotestů (1/2)

- **Testování chemikálií (jednotlivé látky)**

- Tradiční biotesty byly vyvinuty pro testování čistých látek (nikoliv směsí nebo kontaminovaných vzorků ŽP !)
- Výhody – standardizované přístupy
 - OECD – Guideline methods - series „2“ Effects on biota
 - ISO methods
 - E.g. Fish tests - OECD 203 / ISO 7346
 - E.g. D. magna - OECD 202 / ISO 6341
- Nevýhody: často omezená vypovídací hodnota
 - Často pouze AKUTNÍ
 - Příliš standardizované (neodpovídá prostředí)
 - Nezohledňují biodostupnost apod.
 - Nesledují vliv směsí
 - Nezohledňují specifické mechanismy (např. endokrinní disrupce)
 - Atd...

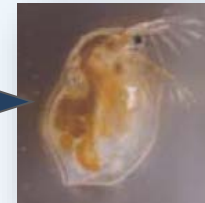
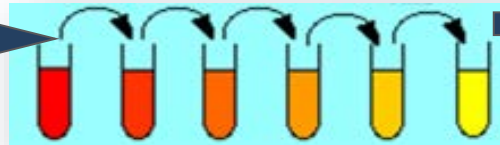


Praktické využití biotestů (2/2)

- Testování **kontaminovaných vzorků (odpady, voda, půda)**
 - Nově v ekotoxikologii – řada otázek
 - Whole effluent toxicity testing (WET)
 - Contact soil toxicity assays
 - Komplexní a komplikované
 - Ne vždy je jasná kauzalita „cause-effects“
 - Přírodní variabilita
 - Př. Řasové testy – účinky živin (N, P) ve výluhu >> toxické látky



Výluh 1:10



Mixture at different ratios



Využití EKOTOXIKOLOGIE V PRAXI

Příklad – biotesty a odvození limitů pro jednotlivé látky



HODNOCENÍ RIZIK

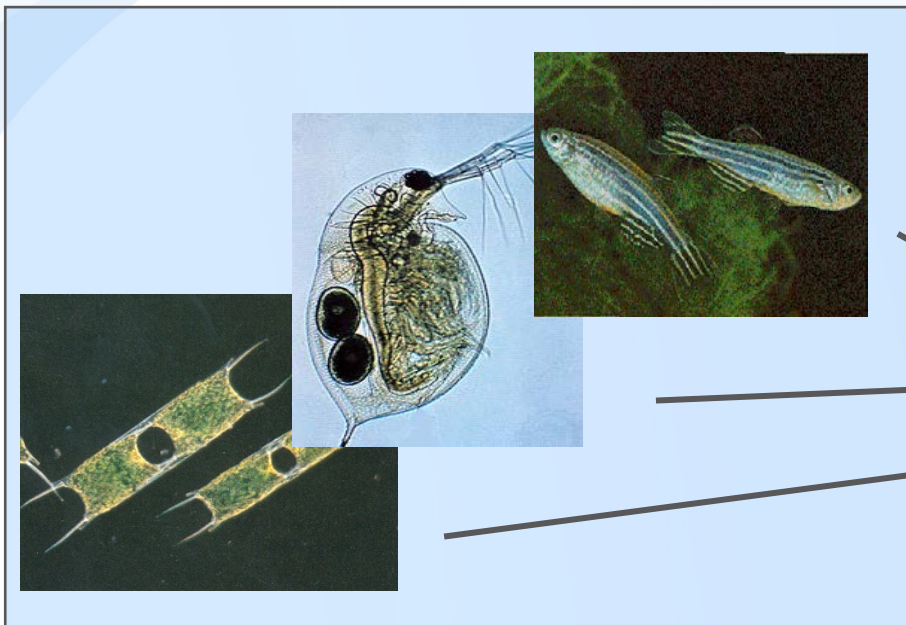
- **Hodnocení vztahu dávka – účinek (eko/toxikologie)**
 - př. hodnocení toxicity - odhady koncentrací vzniku akutních účinků, odhady koncentrací vzniku chronických efektů
 - *hodnocení humáních rizik – toxicita pro člověka, model – laboratorní zvíře*
 - *hodnocení ekologických rizik*
 - řada druhů – nutná zjednodušení:
RECEPTORY – citlivé druhy reprezentující příslušné organismy
 - **Hledaný výsledek**
 - PNEC** (*predikovaná „no-effect concentration*)
*v humánní toxikologii - **TDI** (tolerable daily intake)*
= „bezpečná“ (netoxická) koncentrace



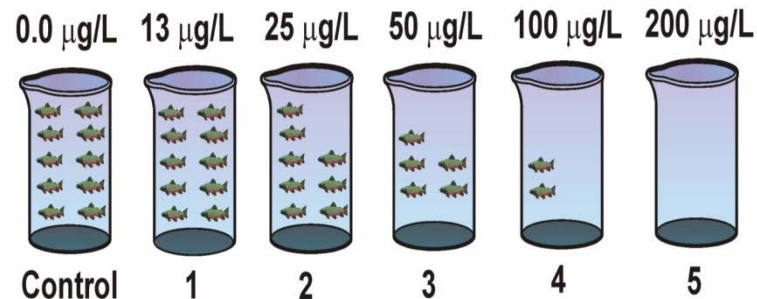
Praktické odvození PNEC

Krok 1: Experimentální testy ekotoxicity

Přídavek látky (Cu) / směsi



Concentration:

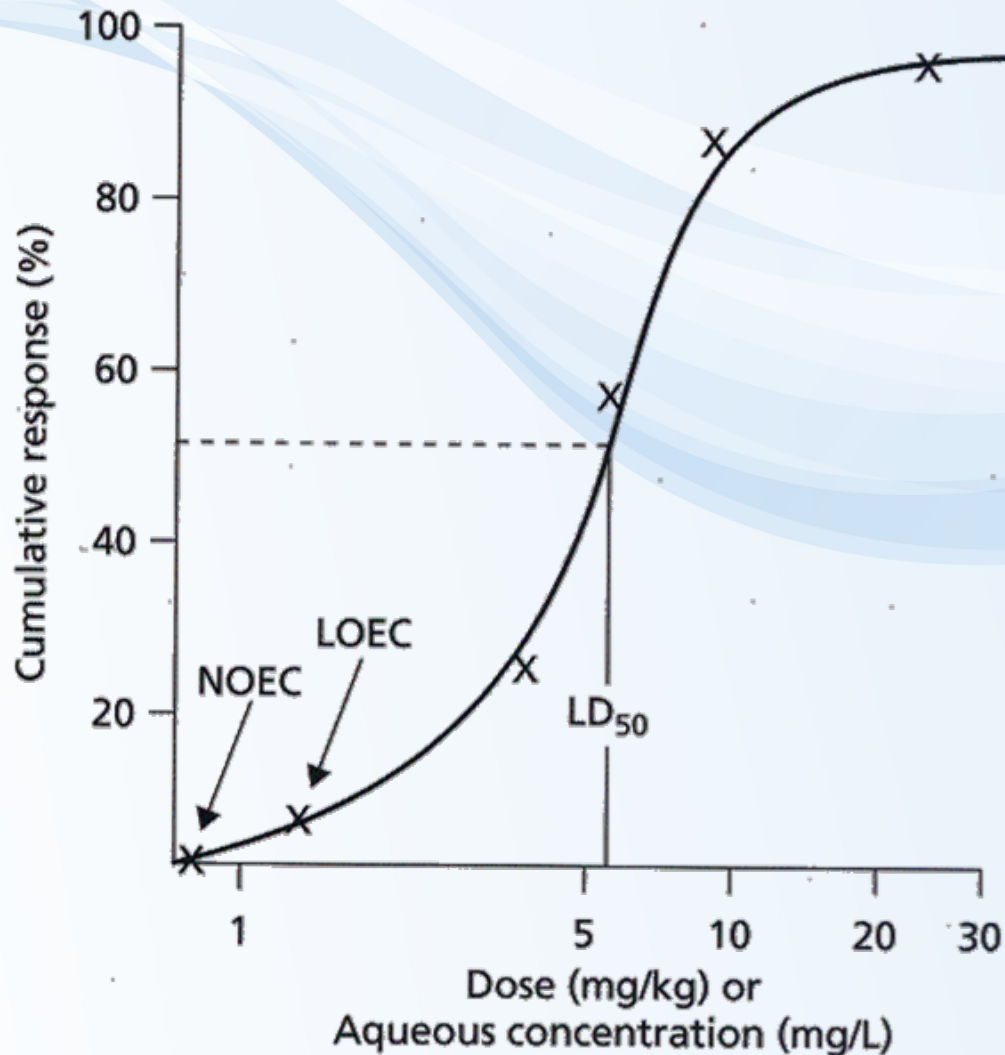


Účinky - koncentrace
(celkový/rozpuštěný Cu)

V praxi – 3-4 akutní biotesty



Fig. 6.2 Cumulative dose–response curve. In a lethality experiment the response is the cumulative percentage of animal mortalities with the actual data points indicated as crosses. Lowest observable effect concentration (LOEC) and no observable effect concentration (NOEC) are indicated.



Pro srovnání toxicity různých látek (vzorků) se užívají parametry odvozené z křivky dávka-odpověď

1) Parametry odvozené přímo z experimentálních dat

LOEC/L *Lowest Observable Effect Concentration/L*

- první nejnižší koncentrace použitá v experimentu, která vyvolala významné efekty

NOEC/L *No Observable Effect Concentration/Level*

- podobně: koncentrace použitá v experimentu ...

Nedostatky - subjektivní

- závisí na zvolených koncentracích
- jiný experiment → jiné výsledky (koncentrační rozmezí, ředící faktor – rozdíly mezi koncentracemi 2x, 5x, 10x...)



Pro srovnání toxicity různých látek (vzorků) se užívají parametry odvozené z křivky dávka-odpověď

2) další parametry odvozené z křivky dávka – odpověď

EC_x (x=1,5,10,25,50,75,90,99 apod.)

- ne vždy je v experimentu dosaženo „přesně 5% efektu“
- parametry se počítají (z „modelované křivky“)

STANDARD - Hodnoty odvozené pro 50% efekt

- nejčastěji užívány pro srovnání toxicity (!)
- odhady v oblasti 50% efektů zatíženy nejmenší chybou
viz předchozí modelový experiment „nejvíce je průměrných“ a proto je odhad průměru nejpřesnější

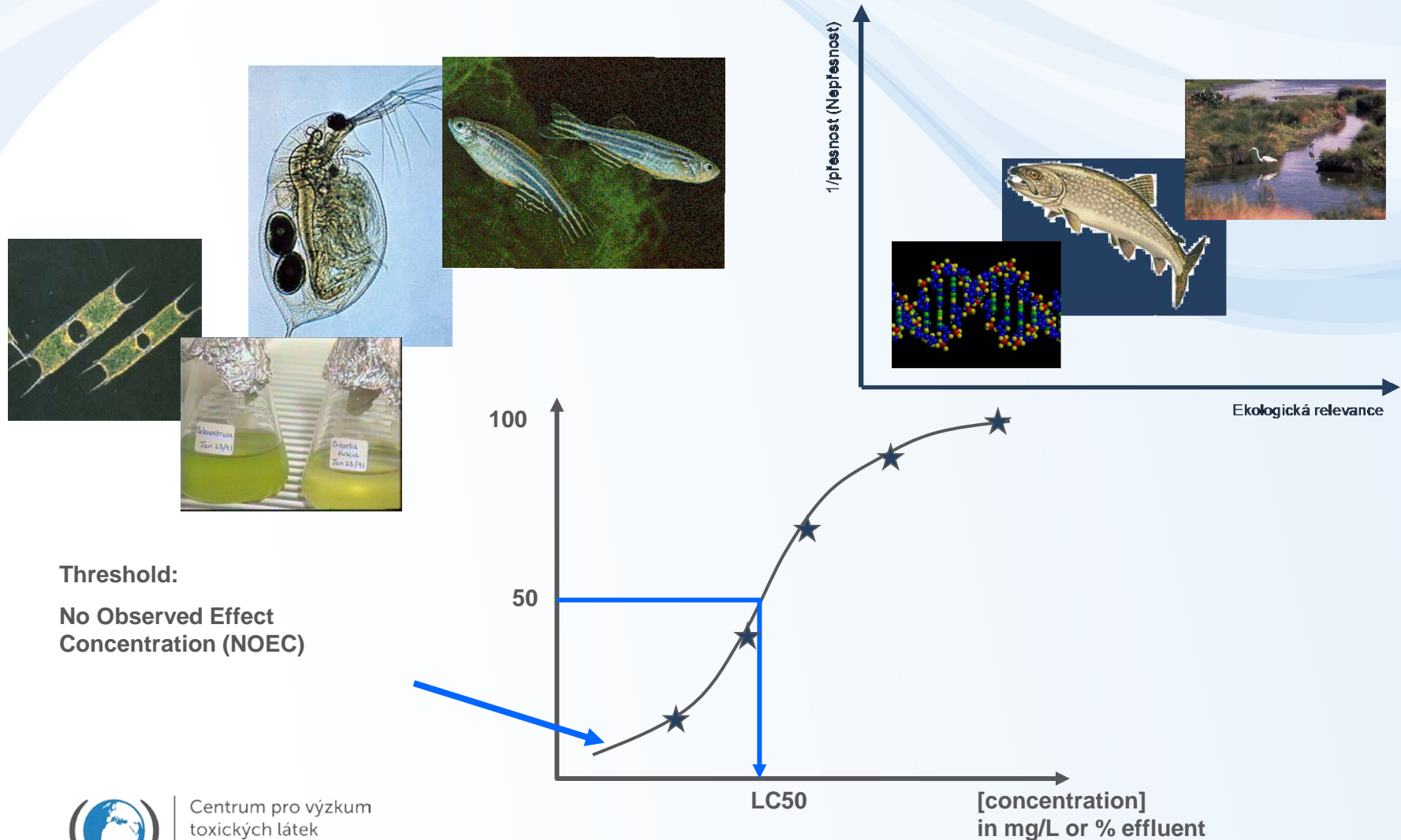
Parametry v ekotoxikologii

- LC50 – koncentrace (C)** způsobující letalitu (L) u 50% jedinců
- EC50** – koncentrace způsobující 50% efekt (E) – např. rozmnožování
- IC50** – koncentrace způsobující 50% inhibici (I) – např. inhibice růstu



Krok 2: Vyhodnocení → odvození EC50 a/nebo NOEC

??? Jak lze extrapolovat 3 hodnoty EC50 do reality (ekosystémy) →
PNEC (Predicted No Effect Concentration)



Threshold:

No Observed Effect
Concentration (NOEC)



EXTRAPOLACE EC_x/NOEC → PNEC: faktory nejistoty

- **Faktory nejistoty / Extrapolační faktory / Faktory hodnocení**
(uncertainty / extrapolation / assessment factors)
 - *? Jak moc je kmen *D. magna* relevantní (intradruhová variabilita)*
 - *? Jsou laboratorní druhy relevantní pro přírodní organismy (mezidruhová variabilita)*
 - *? Citlivost druhů v laboratořích vs. v přírodě*
 - *v laboratořích zpravidla druhy s malou citlivostí – „robustní“ druhy lze chovat ALE přírodní = citlivé ne*
 - *? Jsou použity citlivé parametry (endpointy)*
 - *Klasické testy = mortalita << citlivější reprodukce (ale méně využívána v biotestech)*
 - *? Je relevantní laboratorní expozice pro přírodní podmínky*
 - *Biodostupnost látek / „ageing“ látek*
 - *Expozice v optimu (potrava, podmínky – pH, T)*
 - *Spolupůsobení stresových faktorů (další látky, klima, predace/kompetice)*
 - *Adaptace organismů*



EXTRAPOLACE EC_x/NOEC → PNEC

- **Využití faktorů při extrapolaci**
 - *UF – uncertainty factors,*
 - *AF – assessment factors*

Hodnoty UF/AF zpravidla = 2, 5, 10, 100, 1000
(podle konkrétního předpisu / zákona / akceptované dohody mezi požadavky společnosti a potřebami průmyslu/spotřebitelů)

Využití faktorů: násobení (dělení) získaných výsledků ekotoxicity

$$\mathbf{PNEC = EC_{50} / AF}$$

např. k dispozici jsou data ze 3 biotestů
→ *využije se nejnižší hodnota EC_x*
(*nejcitlivější organismus – cíl naší ochrany*)



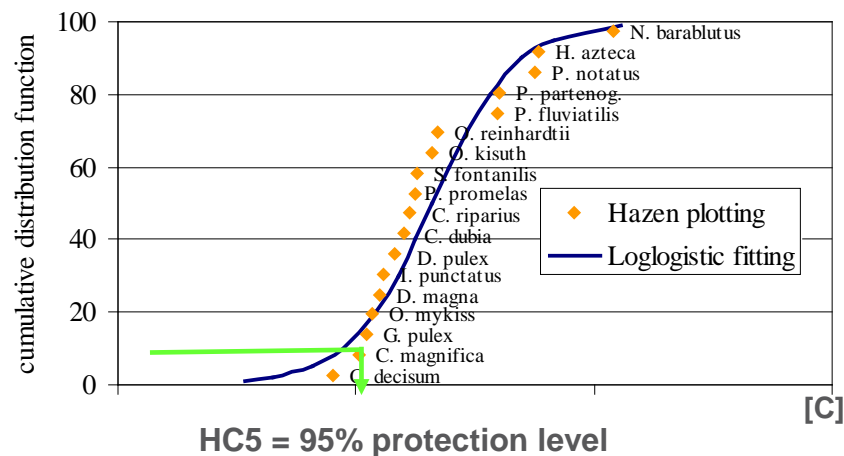
→ **odvození PNEC** = bezpečná koncentrace
 → nastavení „limitů“ (EQS – environmental quality standards)

Hodnoty ekotox. EC50 / NOEC

Extrapolace pomocí faktorů (příklady)

Dostupná data	Assessment factor
L(E)C50 short-term toxicity tests	1000
NOEC for 1 long-term toxicity test	100
NOEC for additional long-term toxicity tests of 2 trophic levels	50
NOEC for additional long-term toxicity tests of 3 species of 3 trophic levels	10

Species sensitivity distribution (SSD)
statistická metoda – zohlední dostupná data
 = EC50 více druhů



PNEC



PNEC vs limity EQS

- **PNEC**

- hodnota odvozená vědeckou metodou (experimentální nebo modelované ECx) s využitím standardizovaných postupů hodnocení rizik (AFs/UFs, SSD)

- **EQS (Environmental Quality Standards)
= NEK (Normy Environmentální Kvality)**

- limit v zákonech, nařízeních atd.
- je odvozen z PNEC, konkrétní hodnota je „politickým“ rozhodnutím a dohodou zúčastněných stran
 - Příklad: Ethinylestradiol (endokrinní disruptor) - odhadnutý PNEC je extrémně nízký (0.001 ng/L). Praktické souvislosti : (i) nelze sledovat (neexistují analytické metody s nízkým limitem detekce), (ii) ČOV reálně nemohou efektivně čistit odpadní vody → v praxi budou koncentrace EE2 vždy nad PNEC ... atd:
Politická debata: “Riziko je třeba řídit. Jaká hodnota EQS v zákoně je akceptovatelná, rozumná, smysluplná? “



NEK pro prioritní látky

Rámcová směrnice EU o vodách WFD (výběr, příklady)

Aktuálně (od 2015) seznam 44 prioritních látek (výběr dole)

+ seznam „sledovaných látek“ (watch list) – viz dále

Č.	Název látky	Číslo CAS ¹	RP-NEK ² Vnitrozemské povrchové vody ³	RP-NEK ² Ostatní povrchové vody	NPK-NEK ⁴ Vnitrozemské povrchové vody ³	NPK-NEK ⁴ Ostatní povrchové vody	NEK Biota ¹²
(21)	rtuť a její sloučeniny	7439-97-6			0,07	0,07	20
(22)	naftalen	91-20-3	2	2	130	130	
(23)	nikl a jeho sloučeniny	7440-02-0	4 ¹³	8,6	34	34	
(24)	nonylfenoly (4-nonylfenol)	84852-15-3	0,3	0,3	2,0	2,0	
(25)	oktylfenoly ((4-(1,1',3,3'- tetramethylbut yl)-fenol)	140-66-9	0,1	0,01	nepoužije se	nepoužije se	
(26)	pentachlorben zen	608-93-5	0,007	0,0007	nepoužije se	nepoužije se	

Kde najít limity / normy environmentální kvality ?



(= EQS – Environmental Quality Standards)

- **ČR**
 - v příslušných zákonech / vyhláškách
 - omezený výčet nejvýznamnějších látek
- **EU**
 - V příslušných legislativách
 - Příklad: Rámcová směrnice o vodě
(**WFD – Water Framework Directive**)
- **Databáze EQS**
 - Německá agentura pro ŽP: **UBA** (→ viz dále)



UBA, Německo

<http://webetox.uba.de/webETOX/public/search/ziel/open.do>



ETOX Information System
Ecotoxicology and Environmental
Quality Targets

Home login Master Data / Administration German English

Effect Data

Quality Target

Organism

Substance

Reference

Downloads

ETOX-Info

Glossary

Handbook

Links

other pages

Publications

Quality Target

Search **Clear Query** Search mode contains exact (* and ? can be used as wildcards)

Substance Name **Specific Search** +

Substance No **Specific Search** +

You can insert more than one number separated with ;

Medium / Matrix

Country

Protected Asset +

Status

Designation

Reference Title **Specific Search** +

Identification No -

Search



Seznam dalších zdrojů – EKOTOXIKOLOGICKÁ DATA

<http://webetox.uba.de/webETOX/public/download/file.do;jsessionid=922432C7F3E2BEB6B9E1016844296AA3?id=4>

ETOX: Information System Ecotoxicology and Environmental Quality Targets

Links to other Providers

Date: 2016-11-07

Content

The list of providers below contains some exemplary links which may be useful for the assessment of substances or for the search of ecotoxicity data and environmental quality

1 Databases and Information systems

1.1 Substance databases

ECOTOX Datenbank der US EPA	http://www.epa.gov/ecotox
Gemeinsamer Stoffdatenpool Bund/Länder	http://www.gsbil.de

1.2 Information systems

Canadian Environmental Quality Guidelines (CEQG)	http://www.ccme.ca/publications/ceqg_rceq.html
Canada, British Columbia	http://www.env.gov.bc.ca/wat/wq/criteria
European Chemicals Agency (ECHA)	http://echa.europa.eu
France: INERIS	-
Normes de Qualité Environnementale et Valeurs Guides Environnementales	http://www.ineris.fr/substances/fr/baqa/9
Netherlands:	-
Rijkswaterstaat RIZA	http://www.helodeskwater.nl/onderzoek/monitoring/normen-waterbeheer-0/
RIVM, risico's van stoffen	http://www.rivm.nl/rva/
OECD – eChem Portal	http://www.echemportal.org/echemportal/
Oekotoxzentrum (Swiss)	http://www.oekotoxzentrum.ch/expertenservice/qualitaetskriterien/vorschlaege/index
Proposals for Acute and Chronic Quality Criteria	
Pharmaceuticals: Ecotoxicity data	http://www.wikipharma.org/welcome.asp
MistrPharma Wiki Database	
UK Technical reports on Specific Pollutants	http://www.wfd.uk.org/UK_Environmental_Standards/stakeholder_reviews/stakeholder_review_1-2007/se1-2007-reports/
Environment Agency, Chemical Standards Database	http://evidence.environment-agency.gov.uk/ChemicalStandards/Home.aspx
Umweltbundesamt > Wassergefährdende Stoffe	http://webripletto.uba.de/ripletto/public/welcome.do
Substances Hazardous to Waters (WGK-Search)	

Nejlepší zdroj ecotox
údajů –
ECOTOX - US EPA
<https://cfpub.epa.gov/ecotox/>

The screenshot displays the EPA ECOTOX Knowledgebase search results for 'methylmercury'. The interface includes navigation tabs for 'Environmental Topics', 'Laws & Regulations', and 'About EPA'. The search results are presented in a table with columns: CAS NUM, CHEM. NAME, CHEM. GRADE, CHEM. ANAL., CHEM. PUB., SPEC. SCI. NAME, and SPEC. GROUP. The results show multiple entries for methylmercury in different species, such as Mytilus edulis and Cytosira barbata, with various chemical grades and analysis methods.



Využití EKOTOXIKOLOGIE V PRAXI

Příklad 2: Legislativa REACH

→ více viz také jinde: „Regulatorní toxikologie“



REACH

Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals

- 27-2-2001: White Paper on the Strategy for Future Chemicals Policy
- 23-10-2003: Commission's proposal REACH
- Prosinec 2008: Povinná před-registrace („phase-in“)
(všechny chemikálie musely být registrovány u ECHA)

The screenshot shows the ECHA website interface. At the top left is the ECHA logo (European Chemicals Agency). A search bar is located at the top right. Below the logo is a navigation menu with items: About Us, Regulations, Addressing Chemicals of Concern, Information on Chemicals, Chemicals in our Life, and Support. The main content area is titled 'REACH 2013' and features a blue banner with the text 'ACT NOW! REACH 2013' and a magnifying glass icon. Below the banner, there is a table with the following data:

Phase-in substances intended to be registered for 2013 deadline	3857
Number of substances for which at least one potential registrant has declared the intention to register the substance.	
of which were registered by the 2010 deadline	868
of which are 'new' phase-in substances to be registered for 2013 deadline	2989

Below the table, there is a section for 'Calendar' with an event listed: '11-12 October 2012 Second Lead registrant workshop'. There is also a 'Webinars' section.

European Chemicals
Agency
(<http://echa.europa.eu>)



- **Data požadovaná v REACH pro každou látku**
(registrační dossier)
 - **Fyz-chem parametry, např.**
 - Kow, bod varu, výpar (Henryho konstanta)
 - **Toxikologie (lidská), např.**
 - Akutní a chronická toxicita, iritace na kůži, karcinogenita
 - **Environmentální rizika – ekotoxikologie, např.**
 - Akutní a chronická toxicita, biodegradace, bioakumulace





Požadavky se zvyšují v souvislosti s produkcí (množství tun/rok)

Classification categories	Test requirements in REACH			
	>1t	>10t	>100t	>100t
		New or prioritised substance		
Reproductive toxicity (a generation test)	no	no	no	no
Chronic toxicity and cancer	no	no	no	(yes)
90-day study	no	no	no	(yes)
28-day study	no	no	(yes)	yes
Acute toxicity (a second route of exposure)	no	no	yes	yes
Acute toxicity	no	yes	yes	yes
Skin allergy	no	yes	yes	yes
Skin and eye irritation	no	yes	yes	yes
Mutagenicity (In vitro)	no	yes	yes	yes
Further ecotoxicity studies (incl long term tests)	no	no	no	yes
Acute toxicity: fish	no	no	yes	yes
Acute toxicity: algae	no	yes	yes	yes
Acute toxicity: Daphnia	no	yes	yes	yes
Biotic degradation	no	yes	yes	yes

ENVIRONMENTÁLNÍ TOXIKOLOGIE - SHRnutí

- **Environmentální toxikologie 1: Expozice**
 - Hlavní zdroje látek pro prostředí, hlavní skupiny látek v prostředí
 - Hlavní látky v matricích ŽP – příklady (vzduch, voda)
 - Osud látky v prostředí → Expozice
 - Rozdělování v prostředí – Kow, H
 - Transformace v prostředí – t_{1/2}, DT₅₀
 - Biokoncentrace, Bioakumulace, Bioobohacování, Biodostupnost ... Expozom

- **Environmentální toxikologie 2: Ekotoxikologie**
= účinky na přírodní organismy
 - Strategie testování (modely, trofické úrovně, baterie testů)
 - Příklady hlavních biotestů (vodní – řasy, dafnie, ryby / půdní – rostliny, žížaly)
 - Příklady využití výsledků biotestů (odvození limitů, REACH)

