

Testy toxicity sedimentů

K.Hilscherová

Sedimenty

- velmi různorodé složení - polotuhá matrice - pevná fáze (částice) a pórová voda
- v podstatě akvatický ekvivalent půdy
- heterogenní prostředí - směs jílu, písku, minerálů, huminových látek, odumřelých organismů a antropogenních polutantů
- akumulace a inaktivace polutantů (např. AVS – kovy, Corg – PAHs)
- primární úložiště biotického i abiotického materiálu (včetně polutantů) v akvatickém prostředí
- akumulace polutantů v sedimentech může způsobit:
 1. Změny ve struktuře bentických společenstev
 2. Zvýšené zatížení organismů polutanty
 3. Toxicitu

Klasifikace sedimentů

1. Obsah organického uhlíku – ovlivňuje sorpci neutrálních organických látek → zvýšené Kow = zvýšená sorpce
2. Distribuce zrnitostních frakcí – větší částice mají tendenci sorbovat méně poltantů
3. Obsah a typ jílu
4. Kationtová výměnná kapacita (KVK)
 - ovlivňuje sorpci kationtů
1. pH – ovlivňuje speciaci kovů, sorpci

Další fyzikálně chemické parametry

- DO, salinita, amoniak



Transport a resuspendace sedimentů

Proudy, povodně, vítr, vlny

- Způsobují pohyby sedimentů v závislosti na jejich velikosti

Porová voda

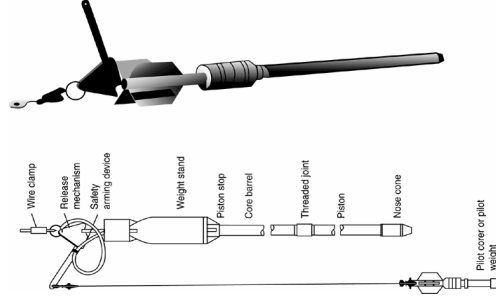
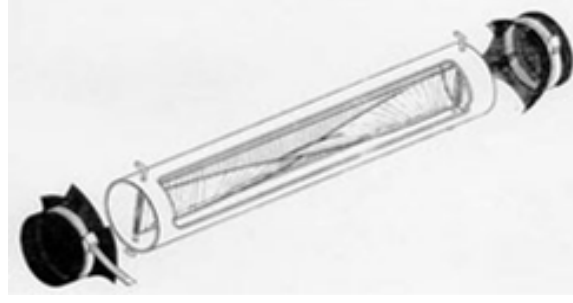
- Voda mezi částicemi sedimentů
- Nepolární pollutanty → sedimenty → porová voda → vodní sloupec
- Primární zdroj expozice polutantů pro organismy žijící v sedimentu

Sedimenty mohou vázat polutanty, pak být překryty další vrstvou sedimentů → redukce biodostupnosti

Odběry vzorků sedimentů

- tyčové vzorkovače (vertikální profil, historie sedimentace)
- pasivní vzorkovače – sedimentové pasti (plaveniny)
- drapákové vzorkovače (směsné vzorky)
- SPMDs – odběr určitých typů polutantů (zejm. pórová voda)

☹️ **Narušení fyzikálně chemických parametrů sedimentů**



Manipulace se vzorky

- Uskladnění:
změny toxicity vzorků v závislosti na teplotě (chlazení (4°C) vs. mražení (<-20°C)), době uskladnění a stupni kontaminace sedimentů
- Úpravy vzorků:
 - 1.) úpravy pH (6-9) – vliv na toxicitu a biodostupnost kovů (Zn, Ni, Pb, Cu, Cd), amoniaku a sirovodíku
 - 2.) lyofilizace vs. zmražení
 - 3.) amoniak – odstranění amoniaku ze vzorku probubláváním nebo přidáním zeolitu
 - 4.) homogenizace
 - 5.) kovy – odstranění kovů přidáním EDTA nebo sulfidů
 - 6.) výluhy (vodné/organické) vs. SPTs – změny toxicity eluátů v závislosti na volbě rozpouštědla (voda, methanol, DCM) vs. toxicita biodostupné frakce kontaminantů
 - 7.) pórová voda vs. SPTs

Testy se sedimenty

- Organismy v sedimentu vystaveni látkám zachyceným v pevné i kapalně složce matrice
- Pro bentické organismy - biodostupnost chemických stresorů v sedimentech.
- Sediment = potenciální dlouhodobý zásobník/zdroj kontaminantů uvolněných do vody
- Může být nezbytné remediovat kontaminované lokality bagrováním nebo odstraněním sedimentů
- odstranění sedimentu, jeho transport a uložení mohou být velmi nákladné; studie toxicity umožní identifikovat nebezpečně kontaminované lokality – kde je třeba odstranění, kde možno ponechat bez významného rizika.
- Zejména EPA a ASTM metodiky

Skrínigové testy toxicity/genotoxicity

Bakteriální modely

Testy s výluhy sedimentů:

- *Vibrio fischeri* (Microtox) – 0,5 h
- *Escherichia coli* (Toxichromotest) – 2 h

Kontaktní verze testu

- Flash test s *Vibrio Fischeri* – kinetický test - stanovení inhibičního účinku vzorků na světelnou emisi *Vibrio fischeri*
- srovnatelné se statickou zkouškou s luminiscenčními bakteriemi podle ČSN EN ISO 11348
- Flash verze - eliminace vlivu zákalu a zbarvení vzorku, umožňuje provedení testu se suspenzí vzorku bez přípravy vodného výluhu. Je mezistupněm ke kontaktním zkouškám ekotoxicity

Testy genotoxicity s výluhy:

- SOS chromotest
- umuC test
- GFP test atd.

Nástroje pro hodnocení

- Základní požadavky
 - Měření zakalených (barevných) materiálů
 - Schopnost rozlišení TOXICKÝ - NETOXICKÝ
 - Rychlost
- Bakteriální bioluminiscenční testy toxicity
 - Klasické – *Microtox*[®], *BioTox*[™], *LUMISTox* aj.
 - Alternativní – modifikace klasických testů (např. **BioTox[™] Flash test***)

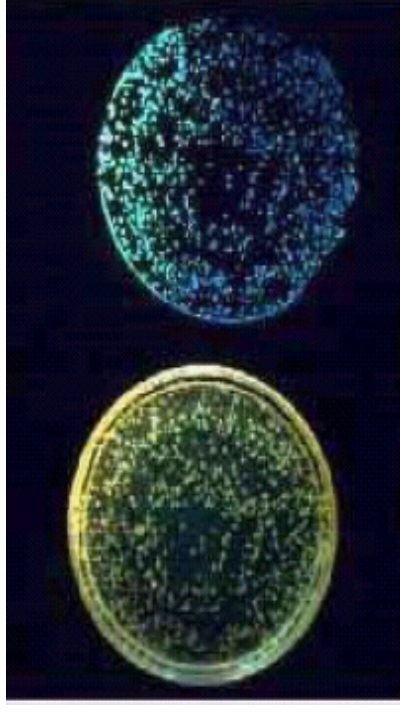
* Lappalainen, J. et al. (1999): Chemosphere, 38(5), pp. 1069-1083.

Microtox

- *Vibrio fischeri*
 - Mořská bakterie schopná bioluminiscence



- Design:
- Akutní
 - mikrodestička
 - Endpoint: inhibice bioluminiscence
 - Luminometr – t = 0, 15, 30 minut
 - Testování vodného výluhu

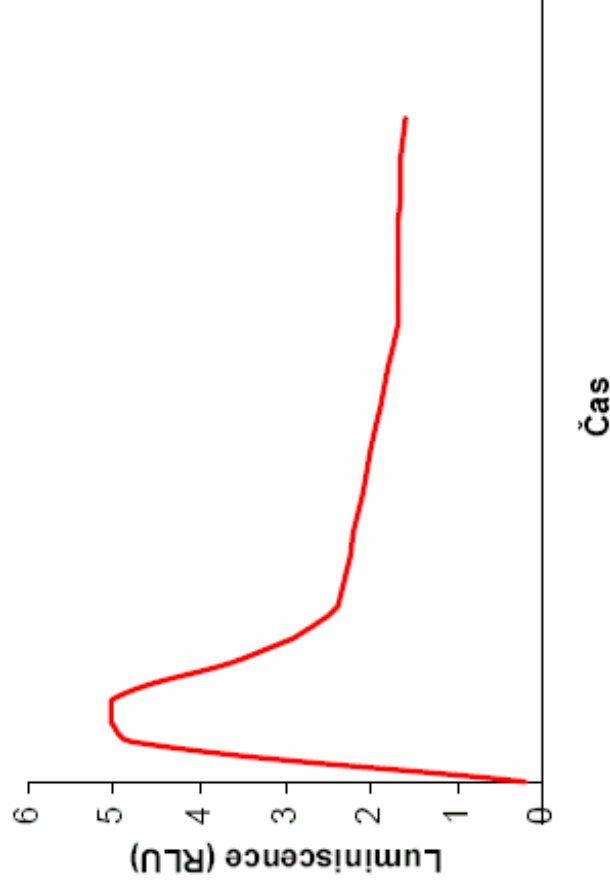


Flash test

- **Vibrio fischerii**
 - testování zakalených a barevných vzorků, bez potřeby referenčního materiálu

design:

- akutní
- inhibice bioluminiscence
- mikrodestička
- luminometr s dispensorem
- nutné vzorek protřepat (během měření)
- krátká doba měření – Hodnota píku
S_{max} (0-2s) v porovnání s píkem
S_{30s} (po 30s měření)



$$INH = 1 - \frac{S_{30s}}{KF \cdot S_{\max}}$$

Akutní testy toxicity I.

- Porová voda
- Eluát ze sedimentu
- 48-96 h expozice
- Příprava eluátu: 24h třepání, 100 g sedimentu/1L vody
- Druhy: *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*, *ceriodaphnia dubia*, střevle potoční (*Pimephales Promelas*), pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)
- Sledované parametry: přežívání, imobilizace

Akutní testy toxicity II.

- Kontaktní testy - Celý sediment
- 96h – 10 dní expozice
- Druhy: různonožec (*Hyalella azteca*), jepice (*Hexagenia limbata*), pakomár (*C.tentans/riparius*)
- 10-denní test s *Hyalella azteca* a *Chironomus tentans*
- Sledované parametry: přežívání

Chronické testy toxicity I.

- Porová voda
- Eluát ze sedimentu
- 7-35 dní expozice
- Druhy: *Ceriodaphnia dubia*, střevle potoční (*Pimephales promelas*), pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)
- Sledované parametry: přežívání, imobilizace, růst, reprodukce, doba první reprodukce, doba úhynu, přežívání mladých

Chronické testy toxicity II.

- Kontaktní testy - Celý sediment
- Zpravidla 28 dní expozice
- Druhy: různonožec (*Hyalella azteca*), pakomár (*C.tentans/riparius*)
- Sledované parametry: přežívání, imobilizace, růst, reprodukce, doba první reprodukce, doba úhynu, přežívání mladých
- 28- a 42-denní testy s *H. azteca*
- Sub-chronické a celoživotní testy s *Chironomus tentans*
- 10-denní krátkodobý chronický test s larvami obojživelníků

Ekotoxikologické biotesty se sedimenty

– přehled EPA

Test Medium	Species	Common Name
Freshwater benthic	<i>Chironomus dilutus</i>	Chironomid, midge larvae
	<i>Chironomus riparius</i>	Chironomid, midge larvae
	<i>Hyalella azteca</i>	Amphipod, scud
	<i>Lumbriculus variegatus</i>	Oligochaete, "worm"
	<i>Gammarus pulex</i>	Amphipod
	<i>Hexagenia limbata</i>	Ephemeroptera, mayfly
	<i>Tubifex tubifex</i>	Oligochaete
	<i>Diporeia</i> sp	Amphipod, Great Lakes
	<i>Americamysis bahia</i> ^{***}	Mysid shrimp
	<i>Ampelisca abdita</i>	Amphipod (Atlantic)
Marine Benthic	<i>Eohaustorius estuarius</i>	Amphipod (Pacific)
	<i>Leptocheirus plumulosus</i>	Amphipod (Atlantic)
	<i>Rhepoxynius abronius</i>	Amphipod (Pacific)
	<i>Grandinterella japonica</i>	Amphipod

Ekotoxologické biotesty se sedimenty – přehled EPA

	<i>Psammococcus miliaris</i>	Shore urchin
	<i>Mercenaria mercenaria</i>	Hard shell clam
	<i>Mulinia lateralis</i>	Dwarf surf clam
	Microtox (<i>Vibrio fischeri</i>)	Bacteria
Freshwater Pelagic	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Cladoceran, water flea
	<i>Daphnia magna</i>	Cladoceran, water flea
	<i>Daphnia pulex</i>	Cladoceran, water flea
	<i>Pimephales promelas</i>	Fish, fathead minnow
	<i>Salvelinus fontinalis</i>	Fish, brook trout
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Fish, rainbow trout
Marine Pelagic	<i>Atherinops affinis</i>	Fish, topsmelt
	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Fish, sheepshead minnow
	<i>Menidia beryllina</i>	Fish, silverside

Testy toxicity sedimentü ASTM

Table 3.6. Some freshwater sediment toxicity tests (ASTM E1383, 1993)

Species:	1. Amphipod (<i>Hyalella azteca</i>) 2. Midges: <i>Chironomus tentans</i> , <i>Chironomus riparius</i> 3. <i>Daphnia magna</i> and <i>Ceriodaphnia dubia</i> 4. Mayflies (<i>Hexagenia</i> spp.)
Endpoints:	1. Number of young; survival, growth & development; reproductive capacity 2. Larval survival and growth, adult emergence 3. Survival and reproduction 4. Mortality, growth, burrowing behaviour, moulting frequency
Duration:	10–30 days for tests 1 and 2; 2–7 days for test 3; 7–21 days for test 4
Temperature (°C):	20–25 for test 1; 20–23 for test 2; 25 for test 3; 17–22 for test 4
Conditions:	Static for all tests; flow-through for tests 1 and 2; recirculating for test 4
Level of effort:	Medium for all tests

Testy toxicity sedimentü ASTM

Table 3.7. Some marine and esturine sediment toxicity tests (ASTM E1383, 1993)

Species:	<ol style="list-style-type: none">1. Amphipods2. Fish, crustaceans, zooplanktons, or bivalves3. Infaunal amphipods, burrowing polychaetes, mollusks, crustaceans, or fish
Material:	<ol style="list-style-type: none">1. Whole sediment2. Dredged material (elutriate)3. Dredged material (whole sediment)
Endpoints:	<ol style="list-style-type: none">1. Mortality, emergence, renewal2. Mortality3. Survival
Duration:	10 days for tests 1 and 3; 2 days for zooplankton and fish larvae in test 2 and 4 days for bivalves and crustaceans in test 2
Temperature (°C):	20–25 for test 1; 20–23 for test 2; 25 for test 3; 17–22 for test 4
Conditions:	Static for all tests; flow-through for tests 1 and 2; recirculating for test 4

Testy bioakumulace

- Kontaktní testy – celý sediment
- 28-56 dní expozice
- Druhy: různonožec (*Hyalella azteca*), máloštětinatci (*Lumbriculus variegatus*, nitěnka obecná)