



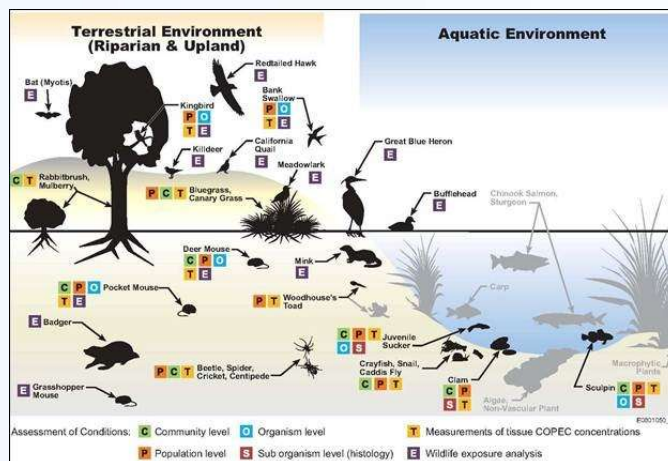
Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Hodnocení ekologických rizik

03 – Hodnocení expozice

Mgr. Jana Vašíčková, Ph.D.

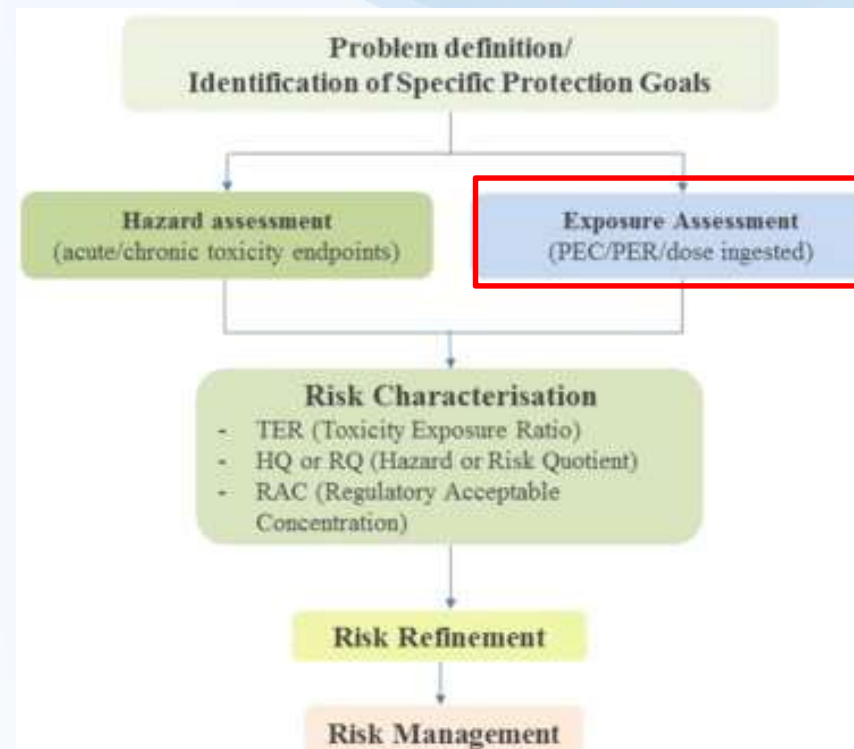
vasickova@recetox.muni.cz



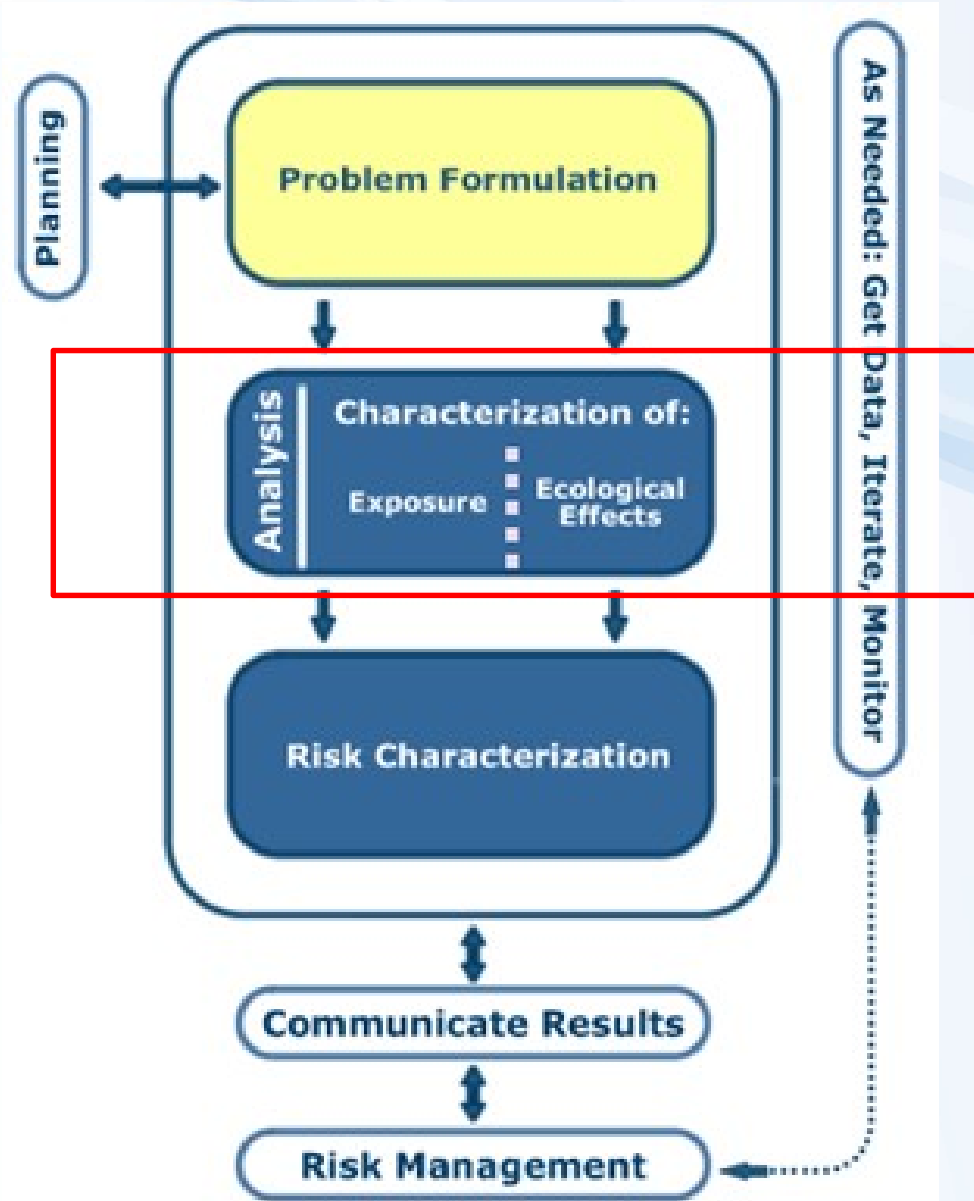
Osnova

Hodnocení expozice:

- obecné zákonitosti hodnocení expozice
- osud látek v prostředí
- chemické a biologické analýzy v hodnocení rizik
- metodiky a modely



Hodnocení expozice



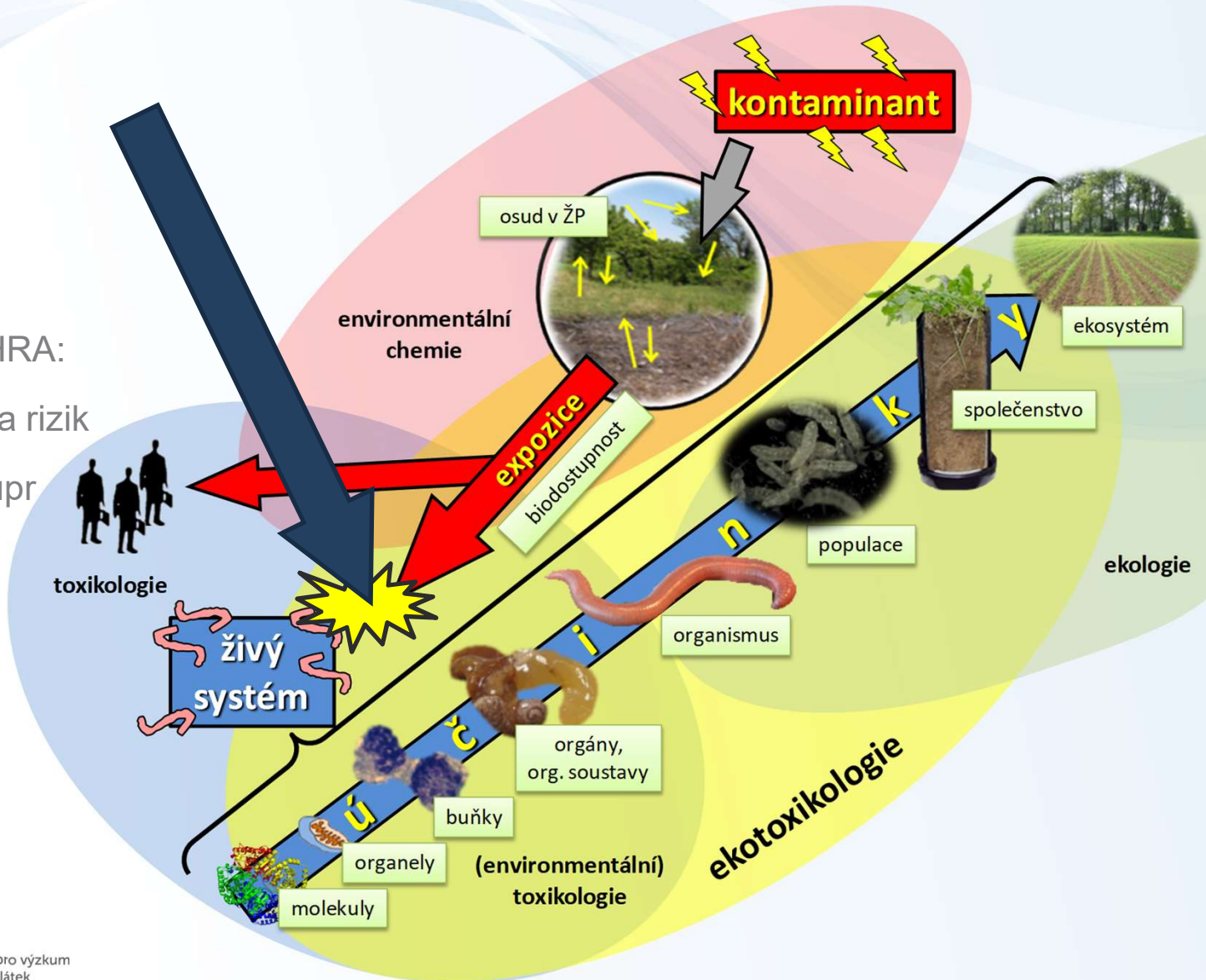
Fáze analýzy rizik

- Analýza je proces, který zkoumá dvě hlavní složky rizika, expozice a účinků a jejich vztahy mezi sebou navzájem.
- Cílem je poskytnout data nezbytné pro stanovení nebo předpovídání ekologické odezvy na stresory za podmínek expozice.
- Produktem fáze analýzy jsou souhrnné profily, které popisují expozici a vztah mezi stresorem a odpovědí.
- Tyto profily tvoří základ pro odhad a popis rizika v charakterizaci rizik.
- Průběh fáze analýzy:
 - Selektce dat, která budou použita na základě jejich užitečnosti pro vyhodnocení hypotéz
 - Analýza expozice - zkoumání zdroje stresorů, distribuci stresorů v životním prostředí a míru společného výskytu nebo kontakt
 - Analýza dopadu - zkoumání vztahu stresor-odpověď, důkazy kauzality a vztah mezi měřenými efekty a hodnocenými endpointy



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

expozice v HHRA:
C8580 Analýza rizik
Doc. Pavel Čupr



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

- **Expozice** = stav kdy se toxikant dostává do přímého kontaktu s biosystémem
 - Zahrnuje i cesty, kterými se látka dostává od zdroje k příjemci a osud látky v prostředí
- **Účinek** = změna, kterou svým působením toxikant v biosystému vyvolá
- **K přímému vlivu** toxikantu na biosystém může dojít pouze tehdy, jestliže molekuly toxikantu vstoupí do interakce s molekulami v místě účinku v biosystému
- Pouze pokud toxikant vstoupí do organismu a zde dosáhne místa, které je citlivé na jeho působení (= tzv.místo účinku) a vstoupí do reakce s molekulami, které se zúčastňují metabolismu, může nastat škodlivé působení
- **Nepřímý účinek** = zprostředkovaně vztahy mezi organismy – likvidace včel působení pesticidů ovlivní opylování rostlin



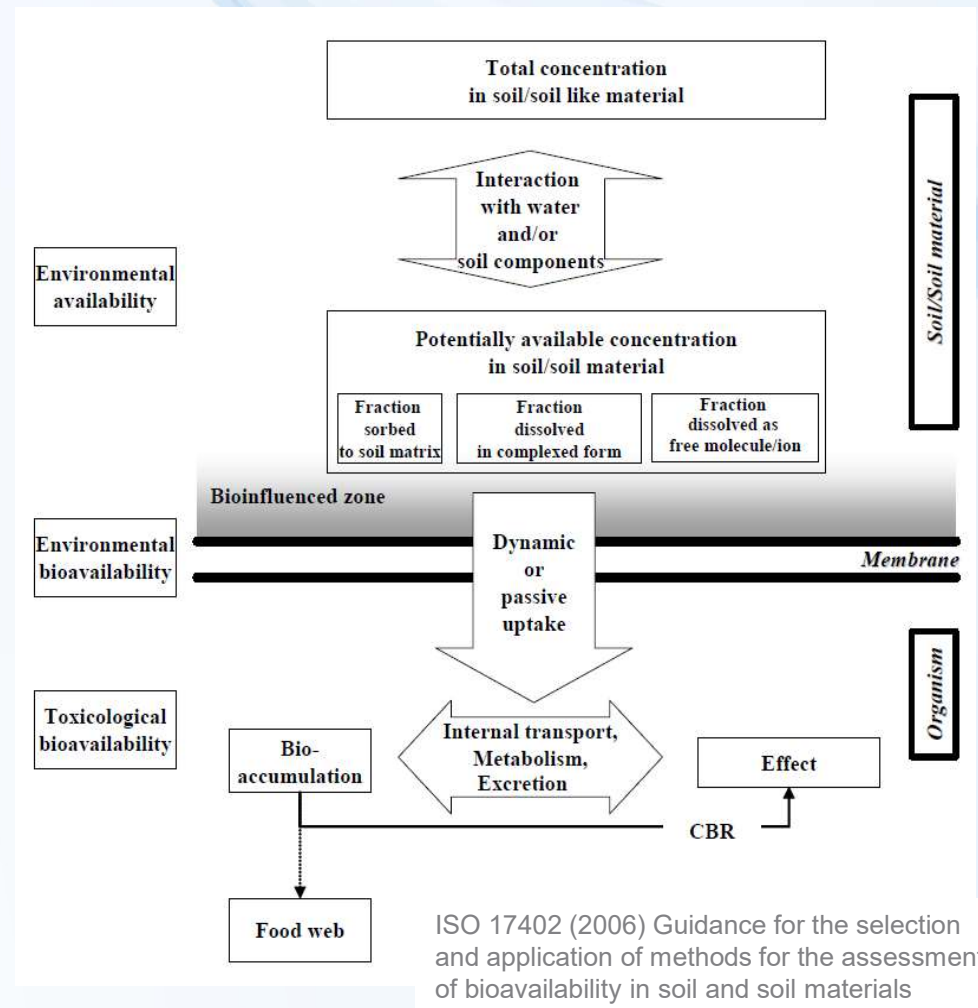
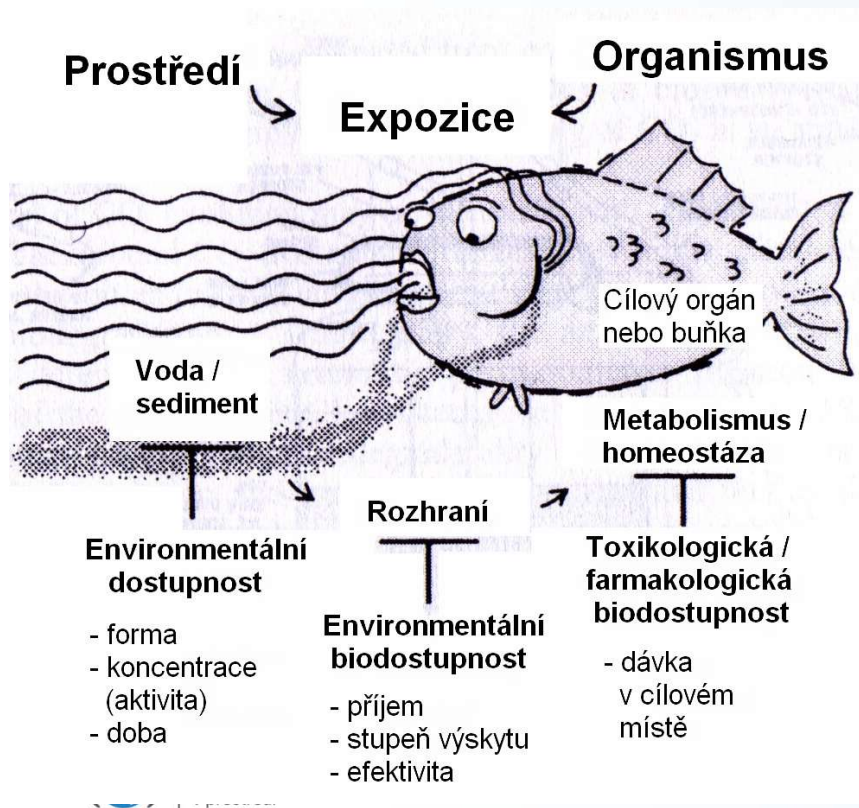
Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

- hodnocení efektů bez znalosti expozice je téměř zbytečné
- **bez expozice není účinek, bez expozice je riziko = 0**
- z hlediska **poslání / cíle celé ekotoxikologie**: nejen řešit efekty, ale popsat celý problém, popsat riziko, odvodit opatření, chránit ŽP:
 - predikce – hodnocení rizik – pravděpodobnosti, že při dané koncentraci dojde k definovaným efektům
 - kauzalita – korelace intenzity stresoru (koncentrace chemické látky) a míry poškození biologického systému
 - Výsledek je prognóza koncentrace toxikantů v jednotlivých složkách prostředí = **PEC (Predicted Environmental Concentration)**
 - potenciální expozice jako jeden z podkladů pro hodnocení účinků



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

- všechny tyto procesy je potřeba popsat a vyhodnotit (= změřit/modelovat) pro kvalitní analýzu ekotoxikologického problému, protože v drtivé většině případů platí, že pro účinek musí látka vstoupit do organismu a reagovat s biol. receptorem
- expoziční cesta



Hodnocení expozice

- Princip hodnocení expozice, jakožto základního předpokladu pro existenci účinků je v metodice EcoRA zcela nezbytnou komponentou.
- Expozice se vyjadřuje buď ve vazbě na prokazatelně přítomné stresory v prostředí nebo jako **funkce dávky**, například dle očekávaného příjmu v potravě.
- Samostatnou kategorií popisující celkovou dávku přijatou organismem již ve vztahu k předpokládanému účinku je **dávkový ekvivalent**.
- Hodnocení expozice a hodnocení účinků spolu úzce souvisejí. Musí být koordinované s aktivitami charakterizujícími fyzikální a chemické vlastnosti sledované lokality či oblasti.
- I přes velmi úzkou souvislost těchto hodnocení neexistují standardní přístupy ani specifická sada metod EcoRA pro všechna místa – každé hodnocení je unikátní a místně specifické.
- Význam hodnocení spočívá v kvantifikaci skutečné nebo potenciální expozice každého receptoru zájmovými kontaminanty a použité metody musí tudíž spojovat kontaminanty v prostředí s ekologickými receptory.



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

konstrukce expozičního scénáře – analýza situace

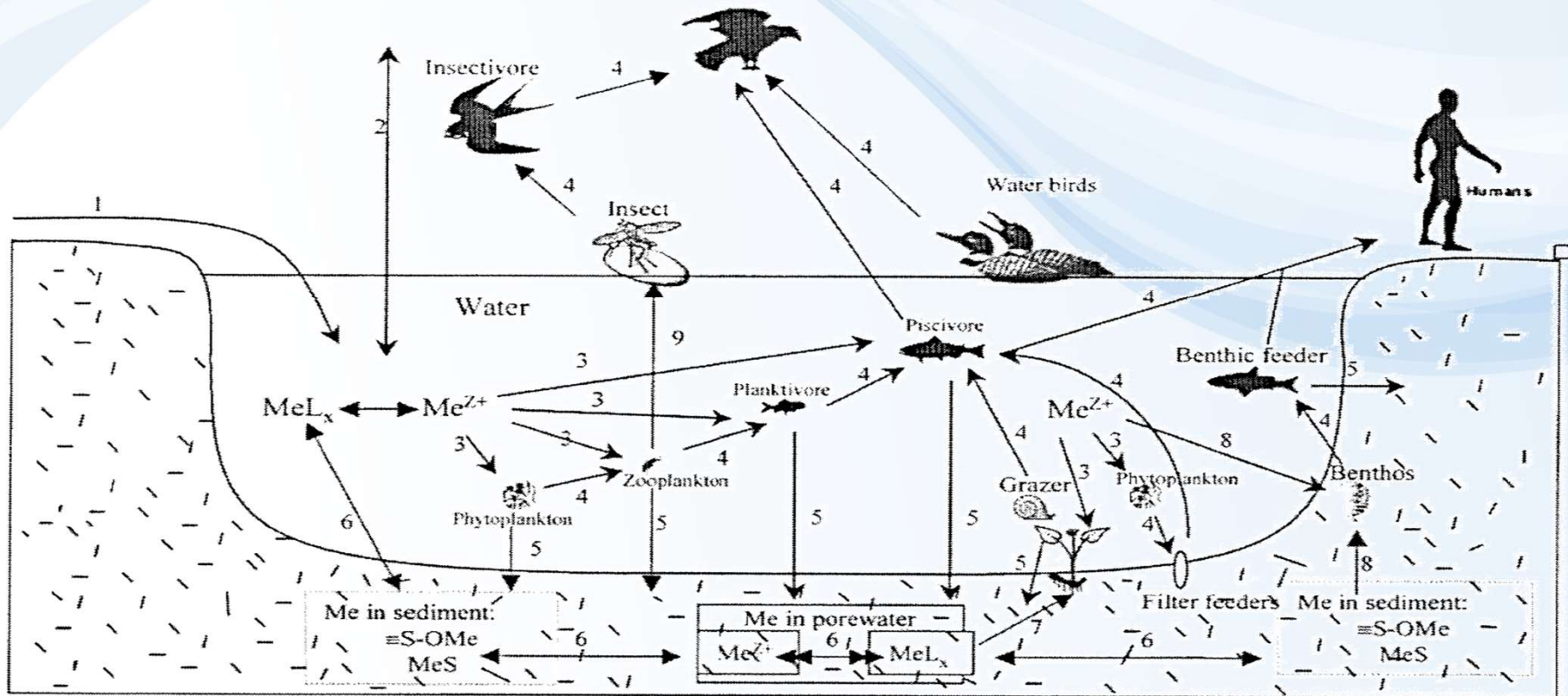
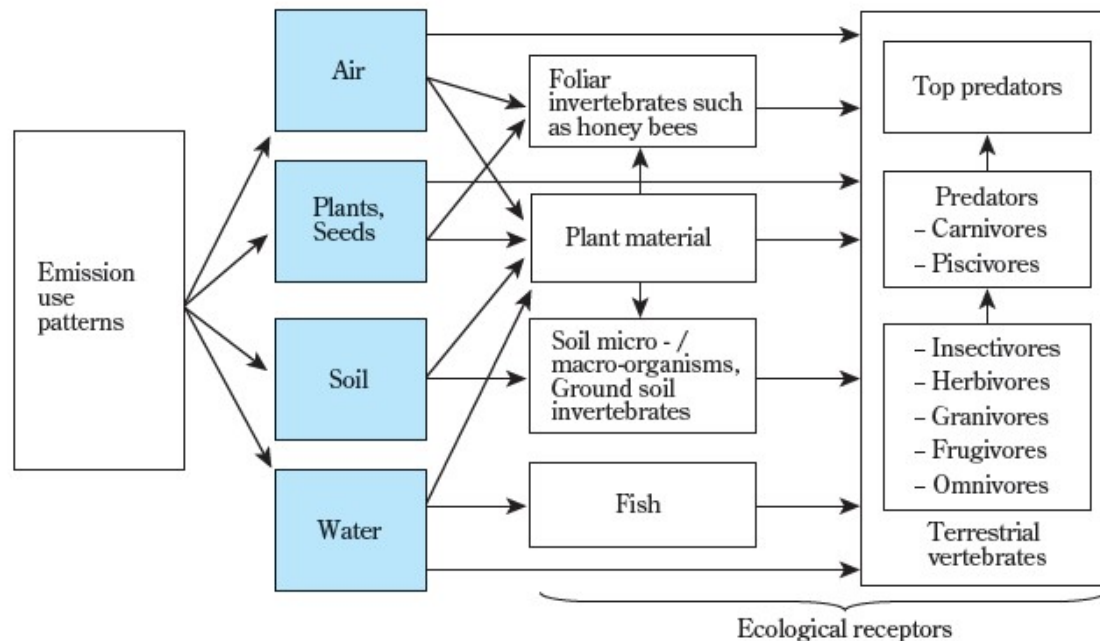


Figure 2. Conceptual model for metals in aquatic systems. (1) runoff and point sources; (2) atmospheric deposition (and volatilization for Hg); (3) uptake from dissolved phase; (4) trophic transfer; (5) deposition of detrital organic matter; (6) precipitation/dissolution and sorption/desorption; (7) uptake by rooted macrophytes; (8) benthic organisms may ingest sediment or irrigate their burrows and take up metals from water column; (9) emergence of insects. Me^{Z+}: free metal ions (metal aquo complexes); MeL_x: metal complexes with ligand L (charges are neglected for simplicity); MeS: metal precipitates; ≡S-OMe: metal adsorbed on particles.

Metodiky hodnocení expozice

- Hodnocení expozice zahrnuje popis a kvantifikaci všech jevů, které se vyskytují mezi výstupem toxikantu ze zdroje a jeho přímým kontaktem s biosystémem, tedy expozicí.
 - Výstup toxikantu ze zdroje (emise)
 - Transformace v prostředí včetně změn a transformace látek v průběhu transportu (transmise)
 - Kontakt toxikantu s cílovými organismy (imise)

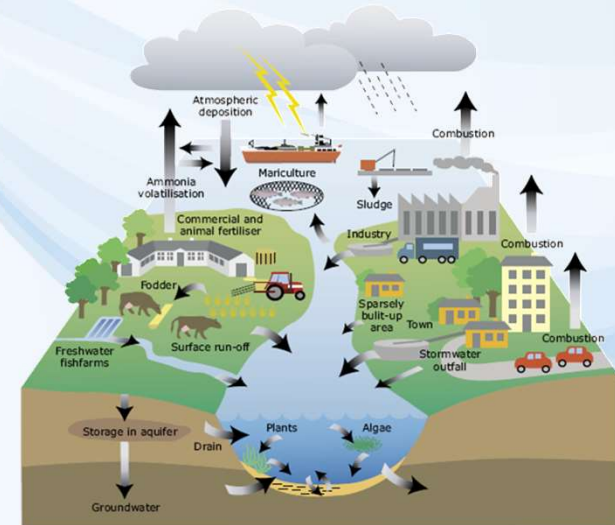


EU Conceptual model for the hazard and risk assessments in the terrestrial ecosystems

Chemicals reach the initial exposed compartment (s) (Air, Plants, Seeds, Soil or Water), distribute in the environment and reach ecological receptors.

Zdroje rizik

- Identifikace zdroje - relevantní informace mohou pocházet:
 - Map využití půdy, letecké snímkování
 - Rozhovory s místními informátory
 - Historické záznamy
 - Průzkumy oblasti



- Fyzikální stav zdroje
- Složení zdroje, a jeho historie, včetně stavu který vedl k nápravě (např. odpad uložen před 15 lety na povrch půdy a zakrytý čistou půdou před 10 lety)



Zdroje rizik - přehled zdrojů kontaminace

- BODOVÉ ZDROJE (Ize lépe kontrolovat, postihovat)
 - odpadní komunální vody
 - průmyslové odpadní vody
 - pevné městské a průmyslové odpady - skládky / spalování
- DIFUZNÍ ZDROJE (obtížná kontrola)
 - průmysl, produkty motorů, výroba energie
 - splachy z povrchů (silnice, střechy, nátěry ...)
 - zemědělské činnosti



Otázky pro při hodnocení distribuce stresorů

- Jaké jsou důležité transportní cesty?
- Jaké vlastnosti stresoru ovlivňují jeho transport?
- Jaké vlastnosti ekosystému budou ovlivňovat transport stresoru?
- Budou se tvořit sekundární stresory?
- Kam se budou stresory transportovat?



Charakterizace stresorů

- Pro chemické stresory, vyhodnocení obvykle začíná určením rozdělovacích koeficientů
- Klíčové faktory zahrnují fyzikálně-chemické vlastnosti, jako je rozpustnost a tlak par
- Například chemické látky s nízkou rozpustností ve vodě mají tendenci se nacházet ve složkách životního prostředí s vyššími podíly organického uhlíku, jako jsou půdy, sedimenty a biota
- Odtud se hodnocení může zkoumat transport v kontaminovaném médiu
- Vzhledem k tomu, směsi látek mohou mít různé vlastnosti, analýza by měla zvážit, jak se složení směsi může měnit v čase v průběhu transportu v životním prostředí
- Bioakumulace a biomagnifikace jsou dalšími důležitými parametry

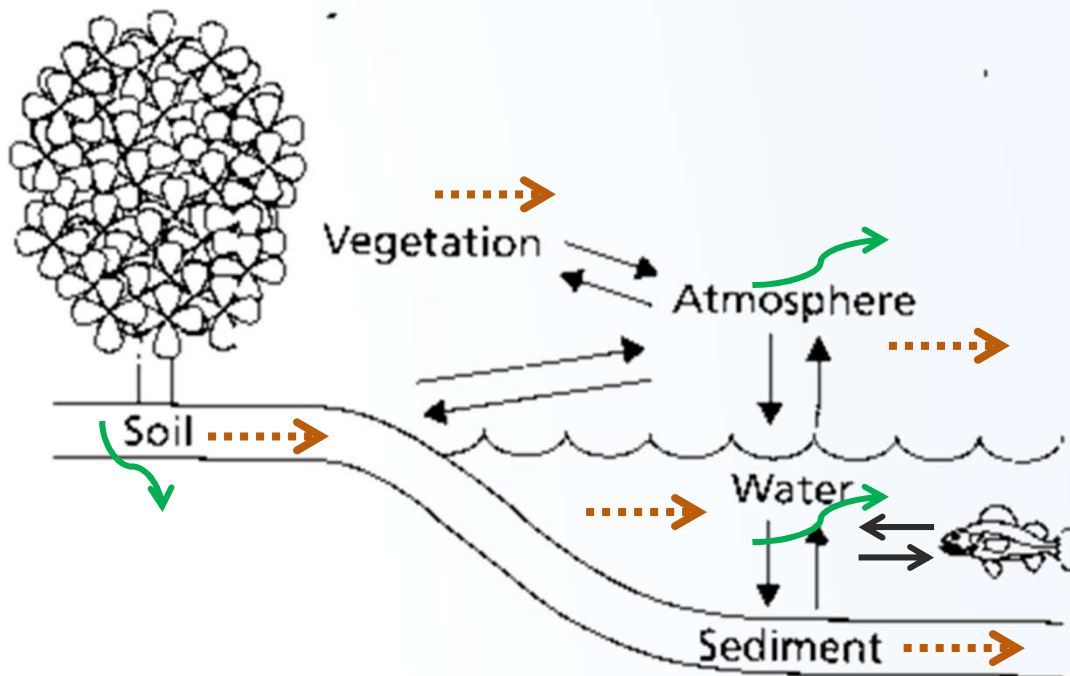
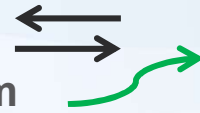


OSUD látky v prostředí určuje míru EXPOZICE

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*)



Obecné mechanismy transportu a rozptylu stresorů

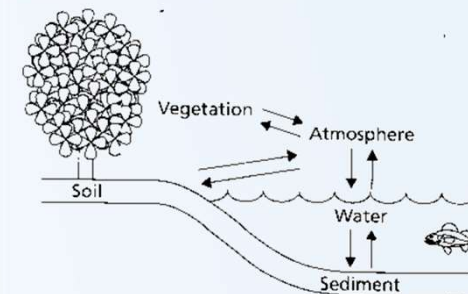
- Fyzikální, chemické a biologické stresory:
 - Vzdušným prouděním
 - V povrchových vodách (řeky, jezera, potoky)
 - Skrze půdní povrch
 - V podzemních vodách
- Primární chemické stresory:
 - prostřednictvím potravního řetězce
- Primárně biologické stresory:
 - Lidská činnost
 - Pasivní transportem jinými organismy
 - Biologické vektory



Které parametry určují jaký bude osud chemické látky?

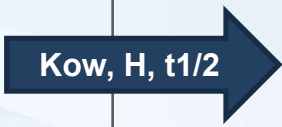
	ROZDĚLOVÁNÍ	TRANSPORT	TRANSFORMACE
Vlastnosti látky			
Vlastnosti prostředí			
Voda			
Sedimenty			
Půda			
Atmosféra			
Vlastnosti bioty vegetace, konzumenti ...			

Kombinace uvedených parametrů určí osud a výslednou expozici organismů

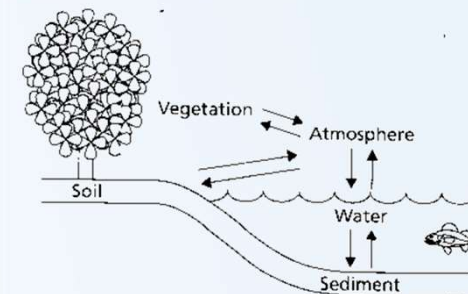


Které parametry určují jaký bude osud chemické látky?

	ROZDĚLOVÁNÍ	TRANSPORT	TRANSFORMACE
Vlastnosti látky	Polarita vs hydrofobicita (K_{ow} , rozpustnost ve vodě) Těkavost, bod varu, vypařování (H , bod varu) Reaktivita vs stabilita a persistence (t_{1/2})		
Vlastnosti prostředí	Proudění (rychlost, směr, typ ...) Teplota Světlo (a jeho parametry) Chemické složení pH (volné H ⁺) Redox potenciál (... přítomnost O ₂) 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



OSUD látky v prostředí určuje míru EXPOZICE

- Transportní procesy - dochází k pohybu látek v prostředí, ale nemění se chemická podstata
 - Difúze, sorpce, volatilizace, biokoncetrace
- Transformační – mění se chemické složení toxikantu – dochází k jeho degradaci
 - Fotolýza, hydrolýza, oxidace, biologická degradace
- Při popisu látek v prostředí je důležitá kinetika, to znamená změna koncentrací látky v závislosti na čase. Rychlost degradace a transformace je důležitým parametrem pro hodnocení možnosti jejich migrace v životním prostředí
- Řada těchto procesů probíhá podle kinetiky 1. řádu což znamená, že okamžitá rychlost reakce je úměrná koncentraci výchozí látky v dané fázi.



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 – hydrolýza, 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)



Přeměny látek v prostředí – (bio)transformace

- **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



Sekundární stresory

- Sekundární stresory může výrazně změnit závěry o riziku – mohou být větší nebo menší, než se týkají primárního stresoru.
- Charakterizace sekundárního stresoru je obvykle součástí charakterizace expozice - všechny potenciálně významné sekundární stresory jsou brány v úvahu.
- Pro chemikálie, vyhodnocení se obvykle zaměřuje na metabolity, biodegradace produkty nebo chemikálie vytvořených pomocí abiotických procesů.
 - mikrobiální činnost zvyšuje bioakumulaci rtuti přeměnou anorganických forem na organické
 - sekundární stresory mohou být také vytvořeny pomocí procesů v ekosystému. Přísun nutrientů do řeky může snížit koncentraci rozpuštěného kyslíku protože se zvýší primární produkce a následně dekompozice
 - Fyzikální disturbance – např. odstranění břehových porostů, může generovat mnoho sekundární stresorů, včetně zvýšení živin, teploty, sedimentace a změně toku – tyto faktory mohou ovlivnit úmrtnost ryb v daném místě řeky



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

- překryv s environmentální chemií
- expozici předchází **osud kontaminantu v prostředí**, který nemůže ekotoxikologie přehlížet, protože expozici klíčově ovlivňuje:
 - změna **environmentální dostupnosti**:
 - změna celkové koncentrace v prostředí
 - změna distribuce v různých částech prostředí
 - změna forem výskytu látky (např. kovy – speciace) a transformace
 - závisí zejména na vlastnostech látky a prostředí
 - změna **biodosažitelnosti a biodostupnosti**
 - vazba na složky prostředí
 - omezení příjmu organismy
 - závisí na vlastnostech látky, prostředí ale i organismů



Expozice v ekotoxikologii a v EcoRA

- celá řada souvisejících procesů na překryvu ekotoxikologie a environmentální chemie
 - bioakumulace
 - biokoncentrace
 - bioobohacování
 - biotransformace
 - biodegradace
 - toxokinetika
 - toxodynamika



Bioakumulace, Biokoncentrace, Bioobohacování

Biokoncentrace

Míra příjmu látky do organismu (ryby) z vody

BCF – Bioconcentration factor

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

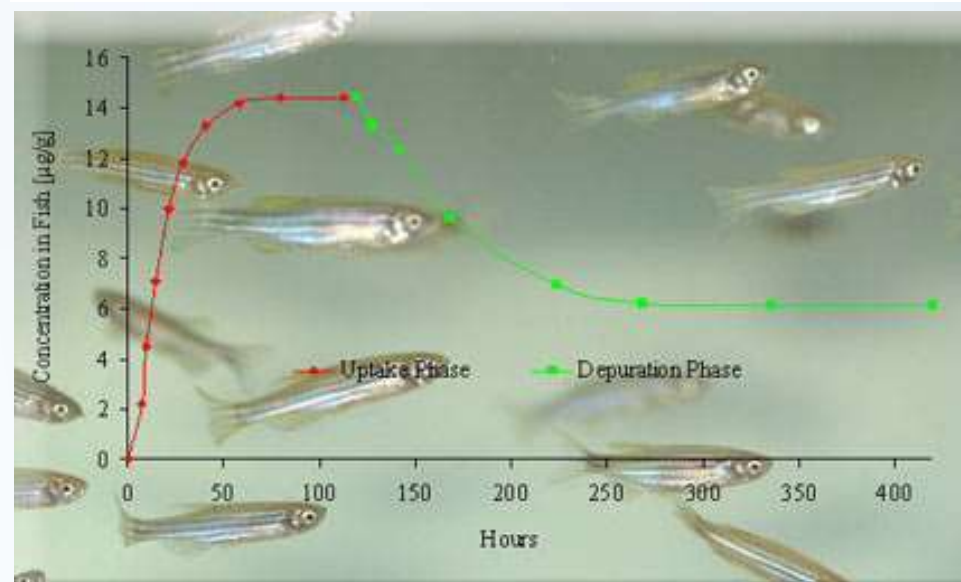
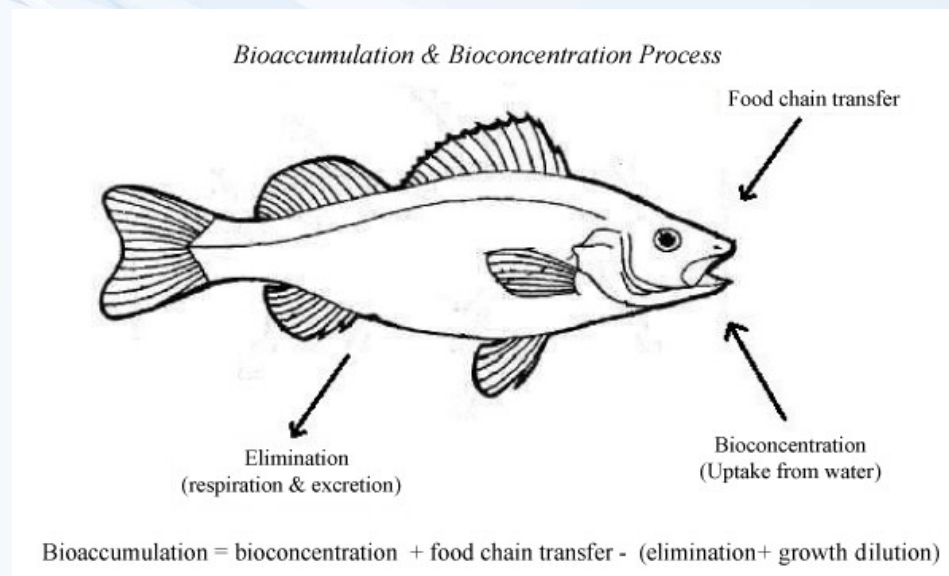
Experimentální stanovení

Testy s rybami (standard OECD 305)

Dlouhé, náročné testy, testy s rybami in vivo

BCF lze predikovat z K_{ow}

$$\log BCF = \log K_{ow} - 1.32$$



Bioakumulace, Biokoncentrace, Bioobohacování

Bioakumulace

Akumulace látky (všechny cesty expozice)

BAF – Bioaccumulation factor

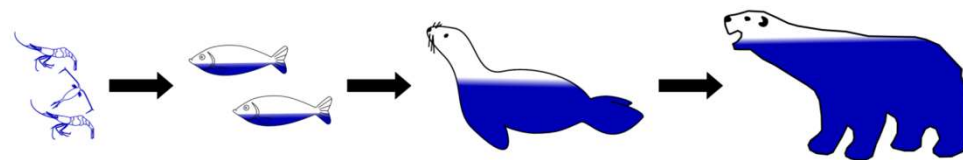
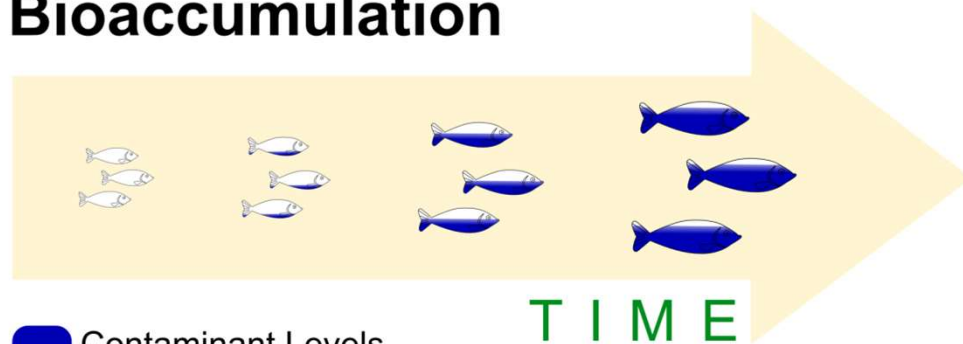
$$\text{BAF} = \frac{\text{Concentration of HM in dry fish tissue (mg Kg}^{-1}\text{)}}{\text{Concentration of HM in rivulet water (mg L}^{-1}\text{)}}$$

Bioobohacování (Biomagnification)

Zvyšování koncentrací látek v organismech
v potravním řetězci

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

Bioaccumulation



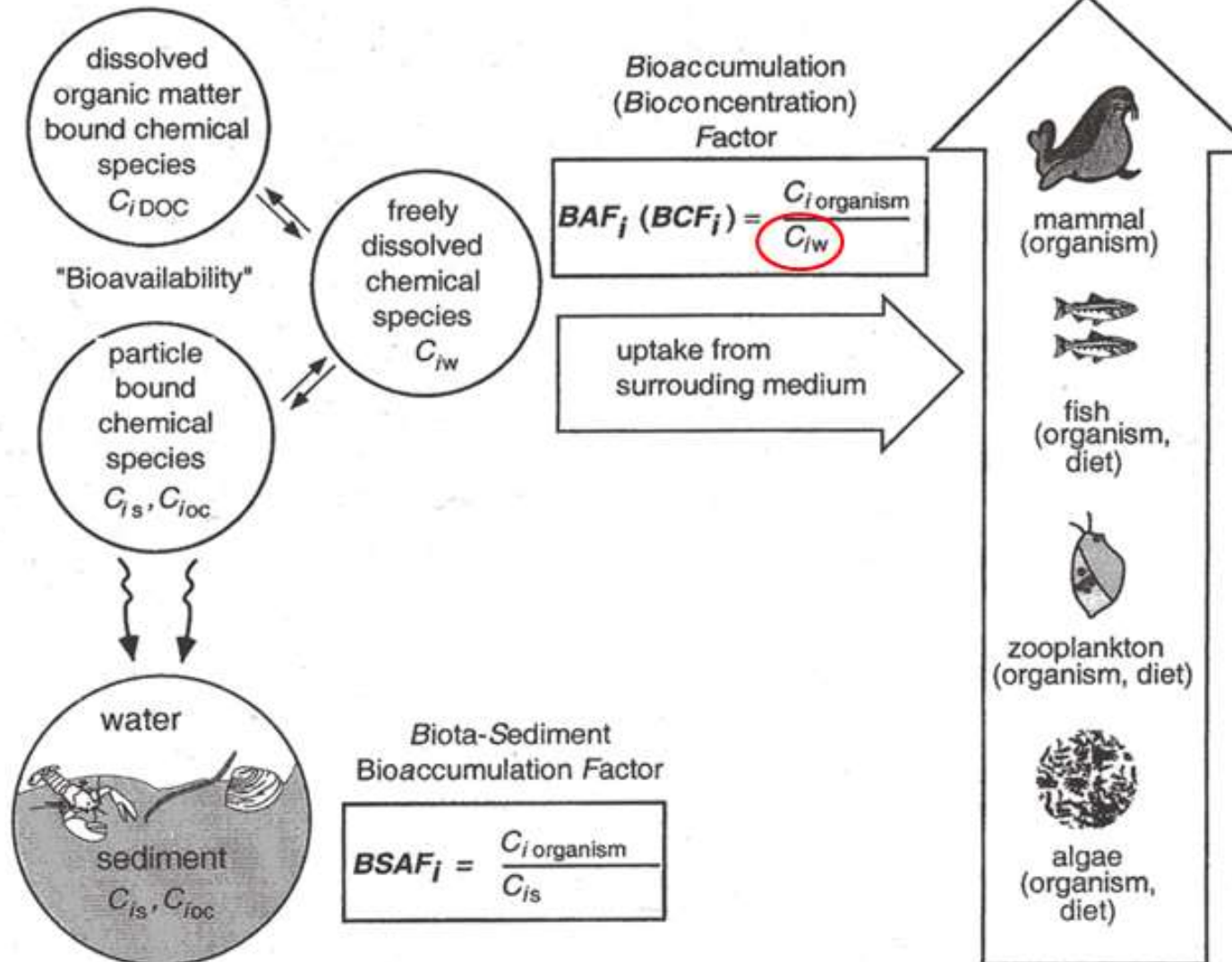
Biomagnification



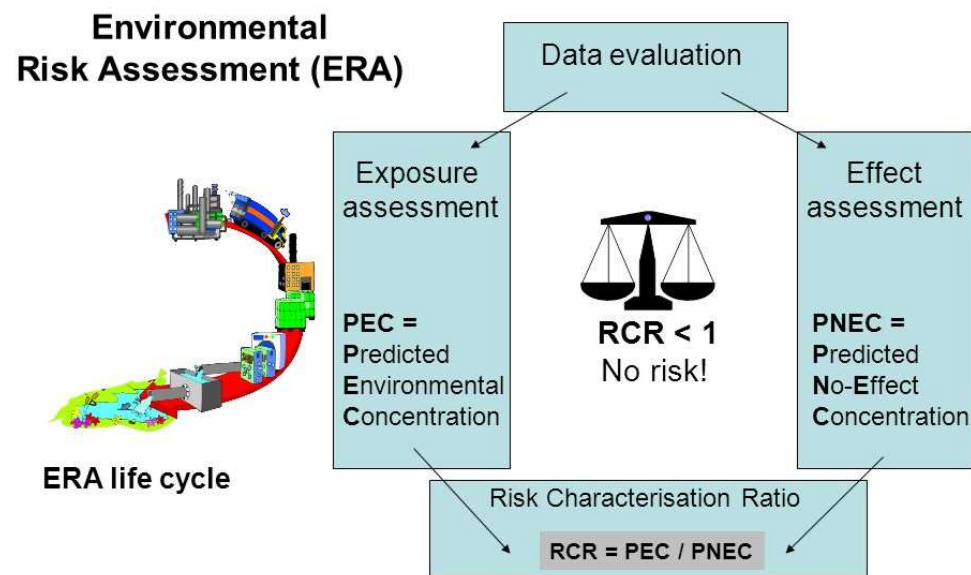
Biomagnification Factor

$$BMF_i = \frac{C_{i \text{ organism}}}{C_{i \text{ diet}}}$$

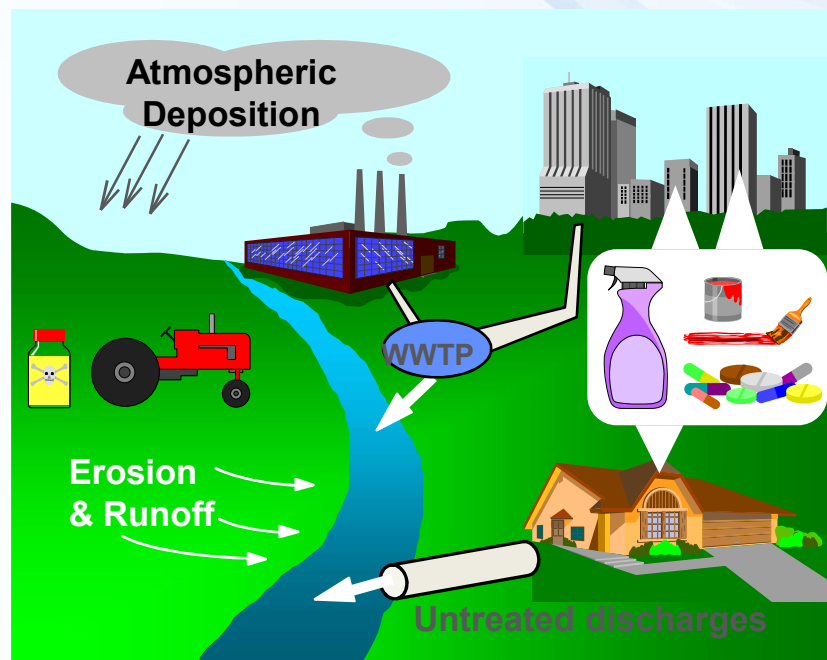
uptake from food



Hodnocení expozice



Jak poznat dávku (expozici) ?



Hodnocení expozice

- analýza intenzity, kvantifikace stresoru = chemické látky, toxikantu
- cíl = přesná a pravdivá koncentrace/dávka, které jsou biosystémy exponovány + případně četnost a doba trvání expozice a prostorové definování
- **měření versus modelování**
- nutno jasně definovat **KDE** (na jaké „vrstvě“) je stresor kvantifikován:

koncentrace v prostředí X koncentrace v organismu (dávka)

a **CO** vlastně vyjadřuje

- pro hodnocení rizika ($HI = PEC / PNEC$) je nutné, aby PEC a PNEC měly stejný kontext: musí být ve stejných jednotkách (např. celková koncentrace ve vodě / účinky při konkrétní celkové koncentraci ve vodě)
- u kauzality to nutné není (např. koncentrace ve vodě / počet buněk řas v ml) – ALE kvantifikace stresoru musí být co nejvíce relevantní k následným efektům (biodostupná koncentrace)



Metody hodnocení expozice

- „klasické“
 - stanovení **totální koncentrace v prostředí** (externí)
 - stanovení koncentrace **v organismu** (interní - body burden)
 - většinou **jednorázové stanovení aktuální koncentrace**
- „moderní“
 - stanovení „**biodostupných**“ koncentrací v prostředí – důraz na reálnou frakci – efektivní frakci toxikantu
 - stanovení reálné expozice z hlediska času – **dlouhodobé** zprůměrování koncentrace – time weighted average (TWA) – **pasivní vzorkování**
 - měření a modelování přestupu do organismu – **toxokinetika**
 - efektivní koncentrace **v organismu** (lethal body burden, incipient lethal level..) + **biomarkery expozice**
 - **modelování expozice** multisložkovými environmentálními modely

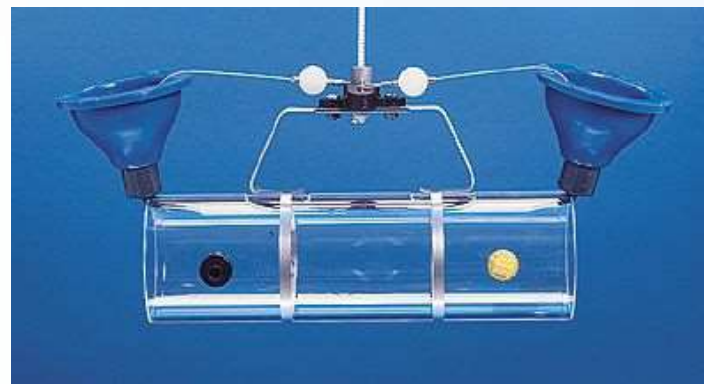


Hodnocení hladin a koncentrace v prostředí

- Principem je odběr vzorků, jejich chemická analýza a vyhodnocení
- Výstupem je totální koncentrace na daném místě v daném čase
- Základní informace pro retrospektivní studie
 - Monitoring vybraných látek v ovzduší na měřicích stanicích
 - Monitoring kvality vod v povrchových tocích
 - Systematický monitoring kvality půd a jejich kontaminace v rámci celé ČR
 - Účelové studie kontaminace okolí průmyslových závodů
 - Výzkumné studie zaměřené na určitý zdroj kontaminace
 - Rozložené koncentrace látek v modelovém ekosystému
 - Monitoring zdravotního stavu lesních porostů pomocí analýzy síry v jehličí



Aktuální koncentrace v médiu



Celkové – totální – koncentrace

Exposure Medium	Typical Tools for Measurement / Estimation	Typical Ancillary Parameters	Cautions / Key Issues
Soil	<ul style="list-style-type: none"> • Measurement of bulk soil chemistry, based on collection by trowel or auger 	<ul style="list-style-type: none"> • Site-specific, but may include organic matter content, pH, moisture content, soil texture, cation exchange capacity. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sample depth • Differentiation of soil layers • Spatial design and resolution
Surface water	<ul style="list-style-type: none"> • Measurement of total or dissolved concentrations using typical water sampling gear 	<ul style="list-style-type: none"> • Site-specific, but may include hardness, pH, alkalinity, acidity, temperature, dissolved oxygen, anions, cations, nutrients, conductivity, salinity, TSS, DOC 	<ul style="list-style-type: none"> • Temporal variability including seasonality
Sediment and sediment porewater	<ul style="list-style-type: none"> • Measurement of bulk sediment chemistry using grabs, divers, or cores • Measurement of sediment porewater chemistry (dissolved) by extraction from sediments, or directly (e.g., using push-point samplers) 	<ul style="list-style-type: none"> • For sediment: organic carbon, particle size, pH, sulphides, SEM:AVS, possibly iron and manganese hydroxides • For porewater: redox, plus similar parameters to surface water 	<ul style="list-style-type: none"> • Understanding relevance of bulk sediment versus porewater for each receptor type • Sample depth • Spatial design and resolution • Understanding and addressing oxygenation of porewater samples during collection and transport
Air / Vapour	<ul style="list-style-type: none"> • Rare for ERA, but direct measurement and modeling are both used – see text. 		
Tissues	<ul style="list-style-type: none"> • Direct measurement preferred • Estimation using uptake factors or models 	<ul style="list-style-type: none"> • Lipid content • Moisture content 	<ul style="list-style-type: none"> • Consideration of whether to test whole organism or selected tissue types • Consideration of whether to depurate, depending on how tissue data will be used.

Celkové – totální – koncentrace

totální celkové koncentrace
silné, agresivní („harsh“) extrakce

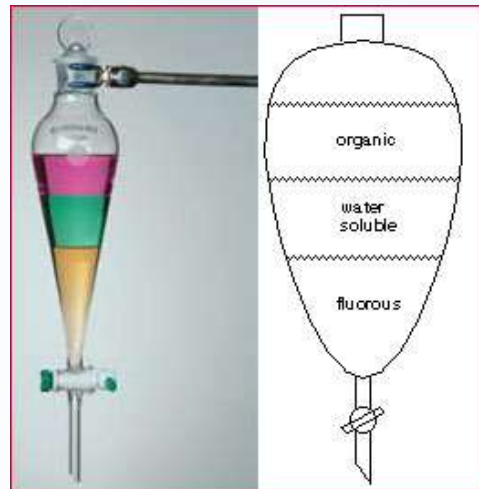
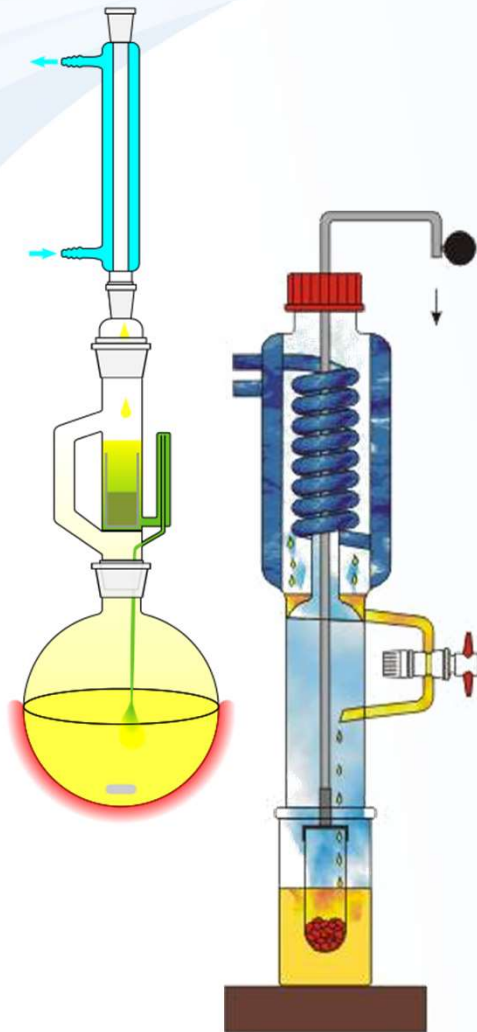
půda

sediment

voda

vzduch (filtry)

biota



The background features several overlapping, flowing blue lines that create a sense of movement and depth. The lines vary in opacity and color, ranging from light sky blue to a more saturated medium blue. A dark grey rectangular box is centered horizontally and vertically, containing the title text.

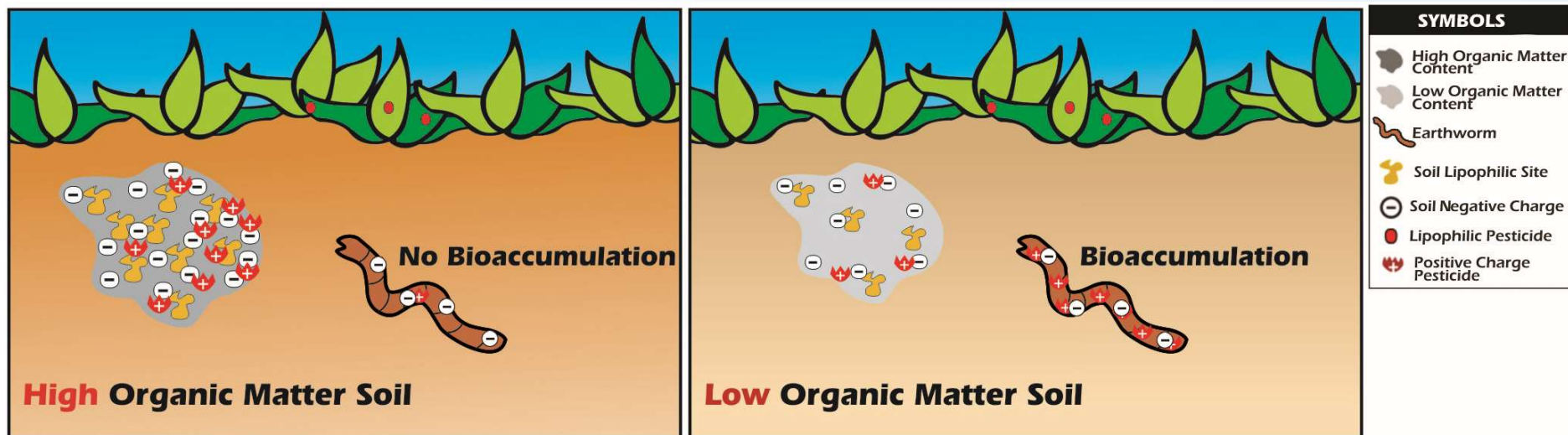
Měření biodostupnosti

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

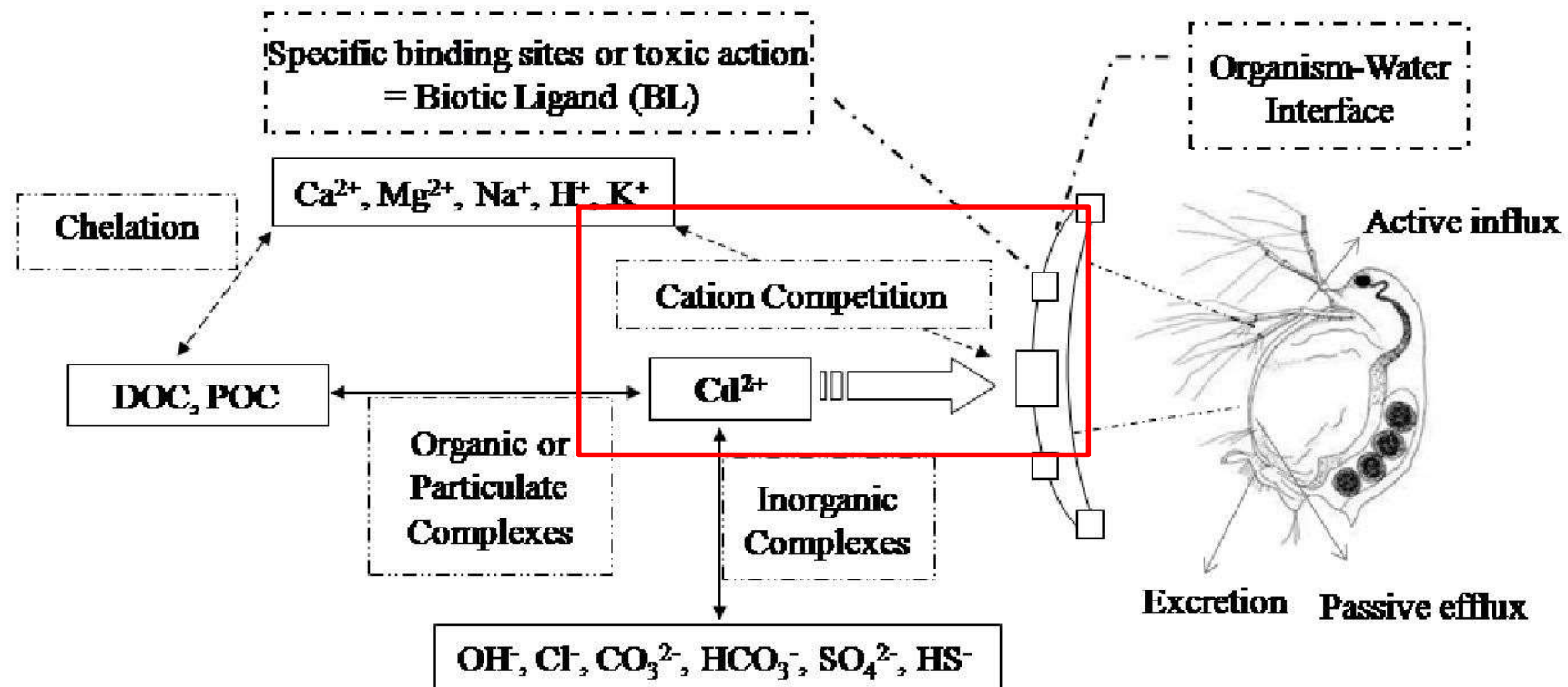
dvě rozdílné půdy (vysoký a nízký obsah organického uhlíku)
biodostupnost (a tedy i bioakumulace) je vyšší v případě “low”



BIODOSTUPNOST

Toxické kovy ve vodách vs. tvrdost vody

-> **vyšší tvrdost vody (více Ca / Mg) – snížení biodostupnosti / snížení toxicity kovů**
(kompetice s toxickými kovy o vazebná místa v biotě)



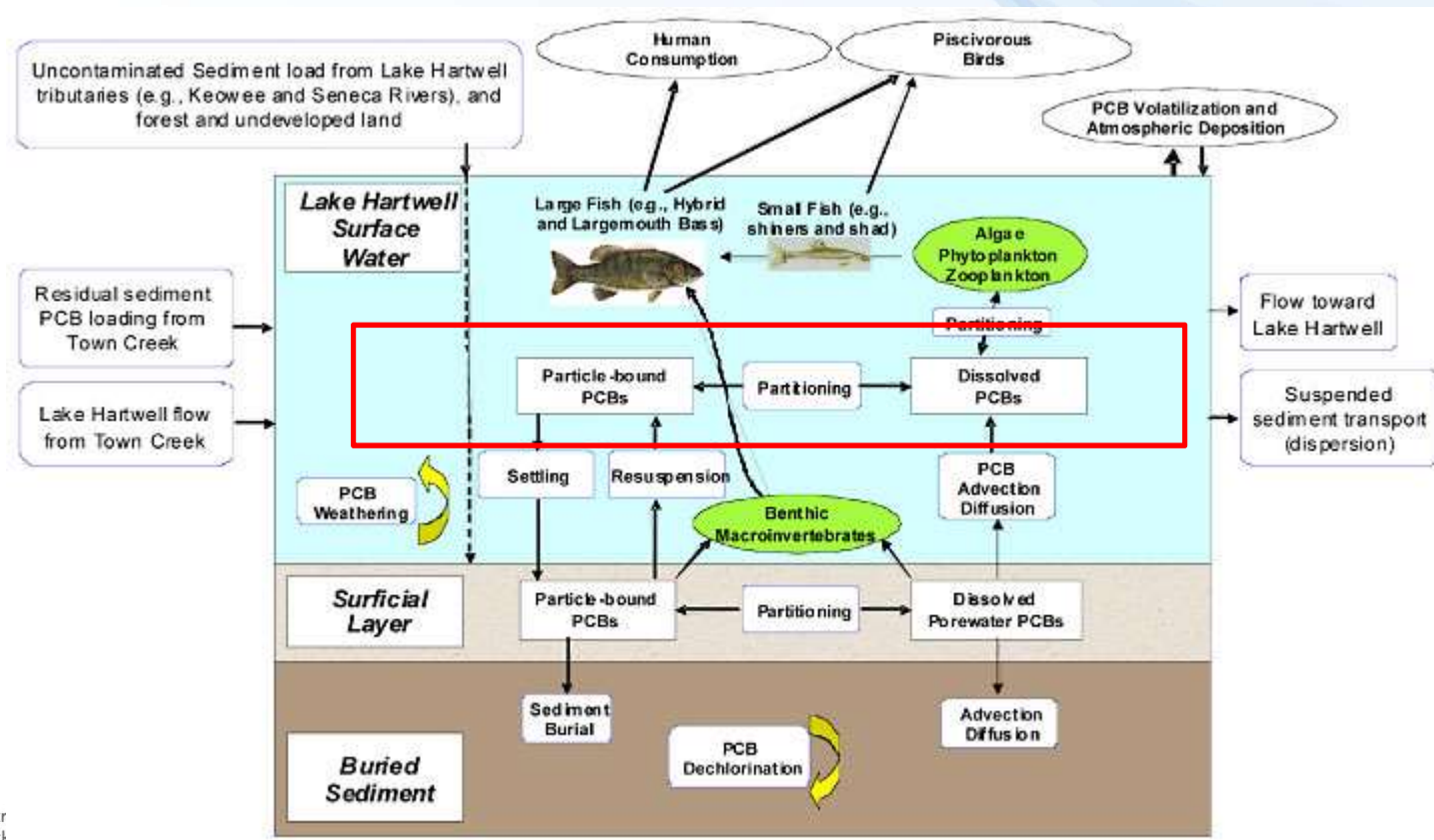
BIODOSTUPNOST

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

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

(ale současně i v mrtvé organické hmotě - OC)

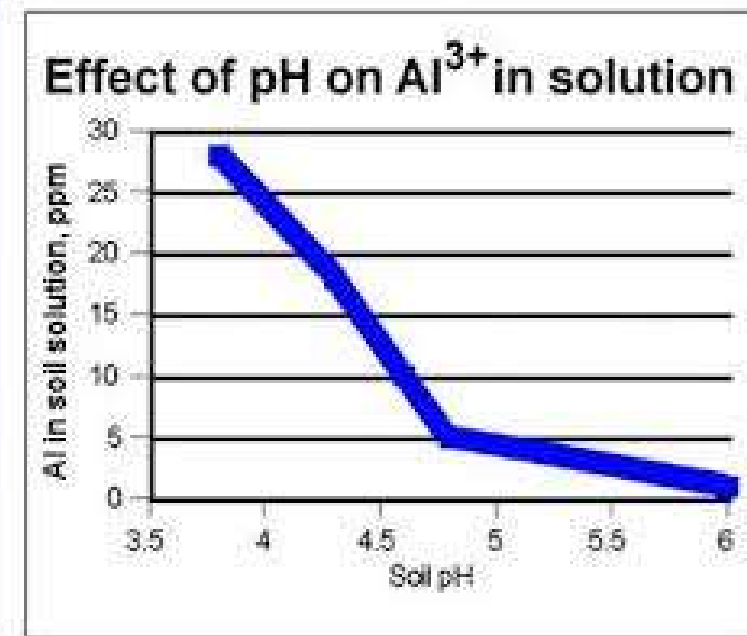
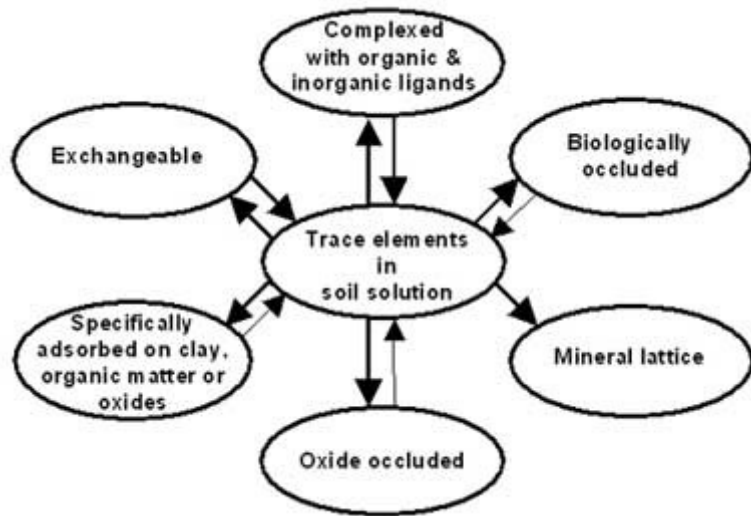
-> **vysoký obsah OC v prostředí (ve vodě): snížení biodostupnosti látek**



BIODOSTUPNOST

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**



Měření biodostupnosti

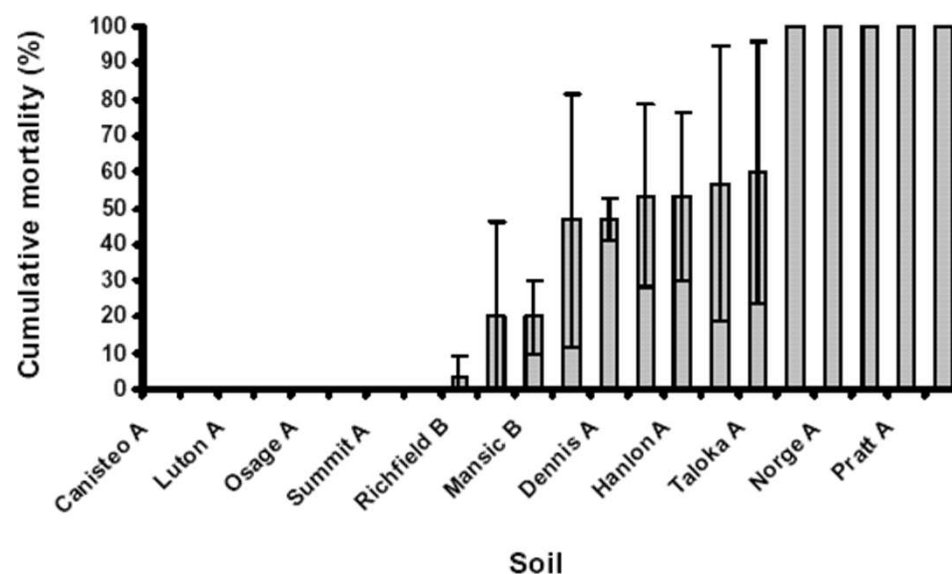
bioavailability

degree to which chemicals present in the soil may be absorbed or metabolised by human or ecological receptors or are available for interaction with biological systems

ISO 17402 (2006)

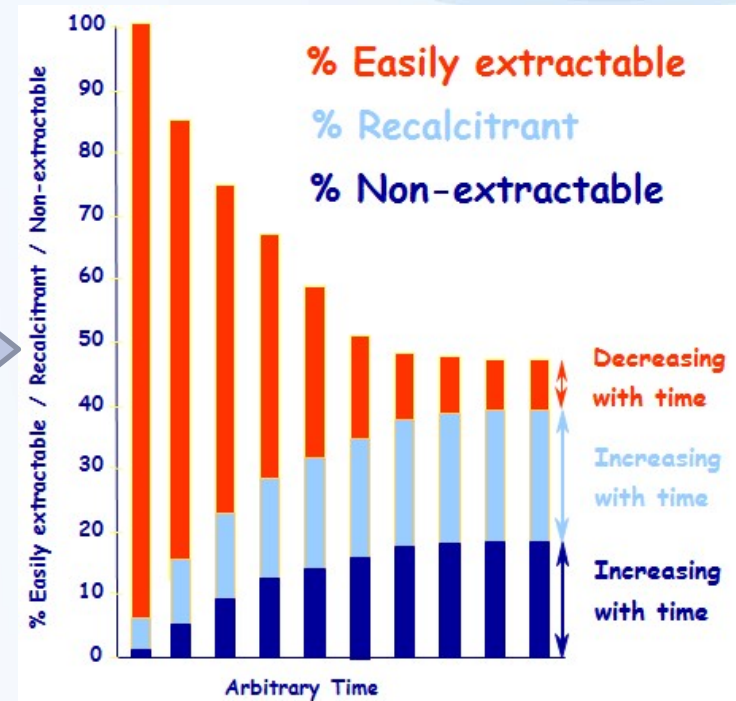
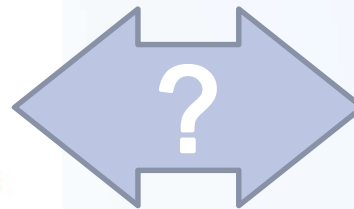
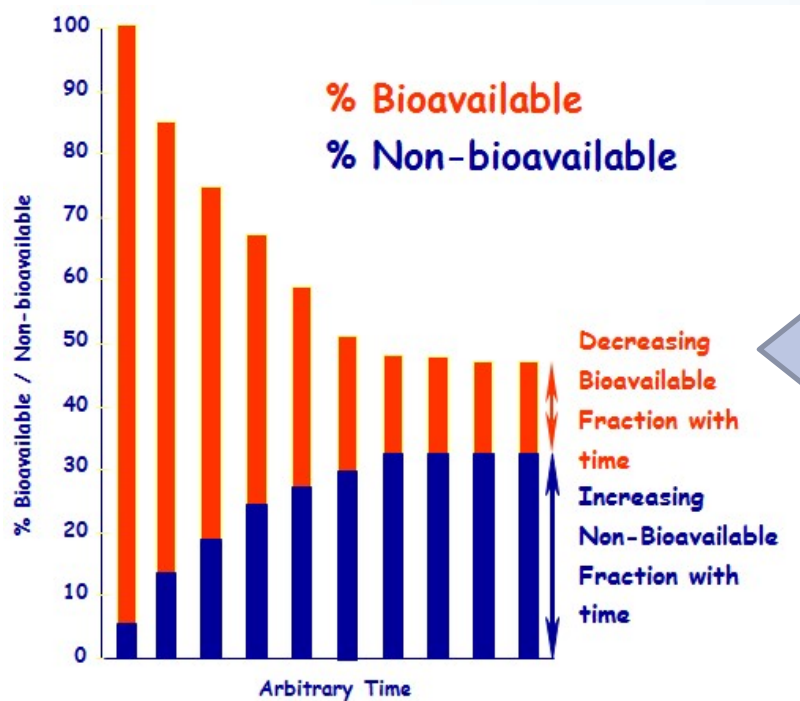
- je potřeba zejména při analýze **kauzality mezi expozicí a účinkem**
- je potřeba pro větší **mechanistické poznání** tohoto vztahu
- je potřeba pro možné **extrapolace** účinků mezi vzorky a kontaminanty

Eisenia andrei exponována olovu 2 g/kg (totalní koncentrace)



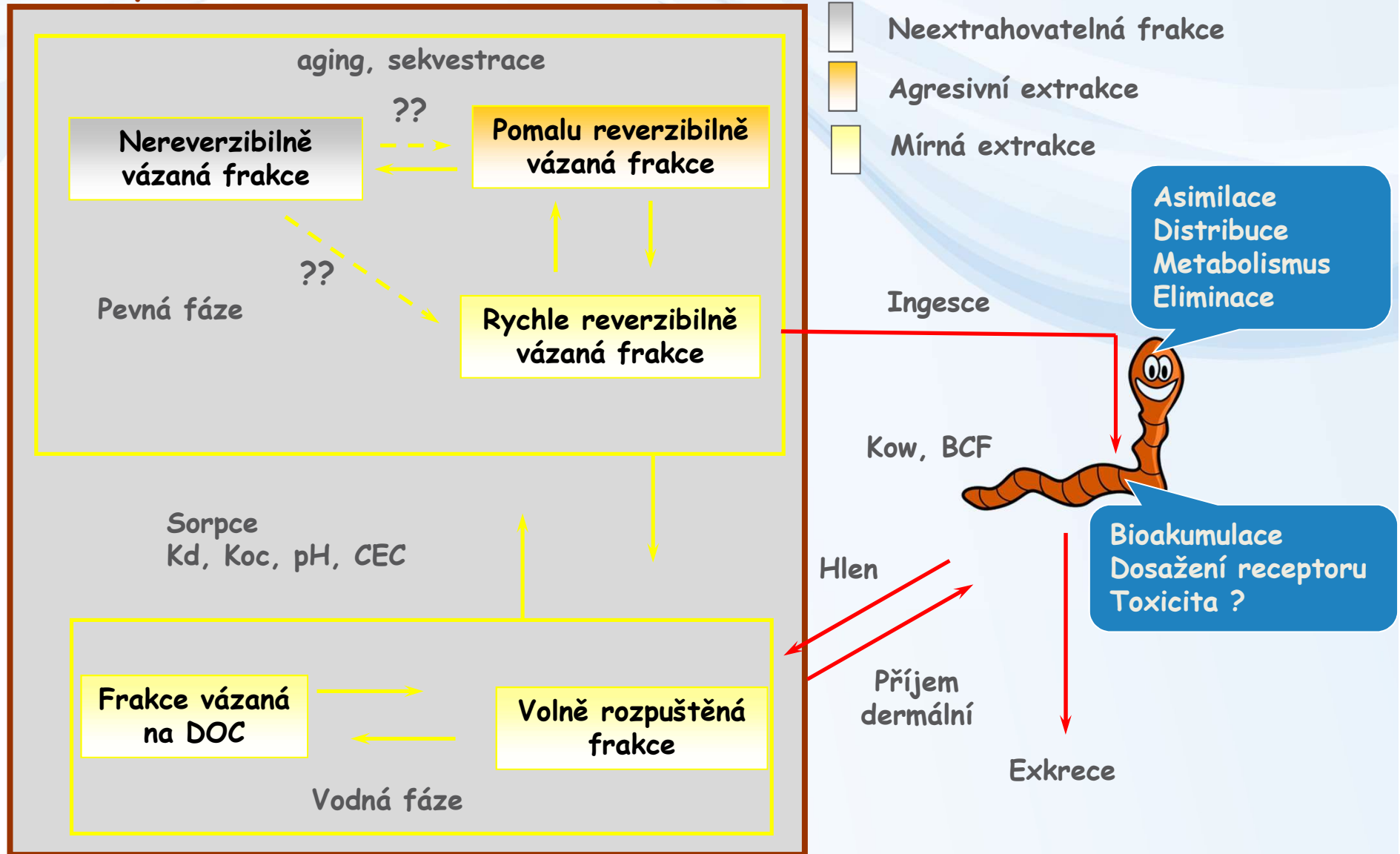
Jak změřit biodostupnost ?

- pravdivě **biodostupnou** koncentraci lze stanovit pouze analýzou organismu po jeho expozici případně analýzou efektů
- snaha vyvinout jednoduché chemické nástroje pro odhad biodostupné koncentrace / frakce kontaminantu
- pouze taková chemická metoda, která koreluje s biologickým příjmem či efekty je validní (**biomimetické metody / proxy for biota**)

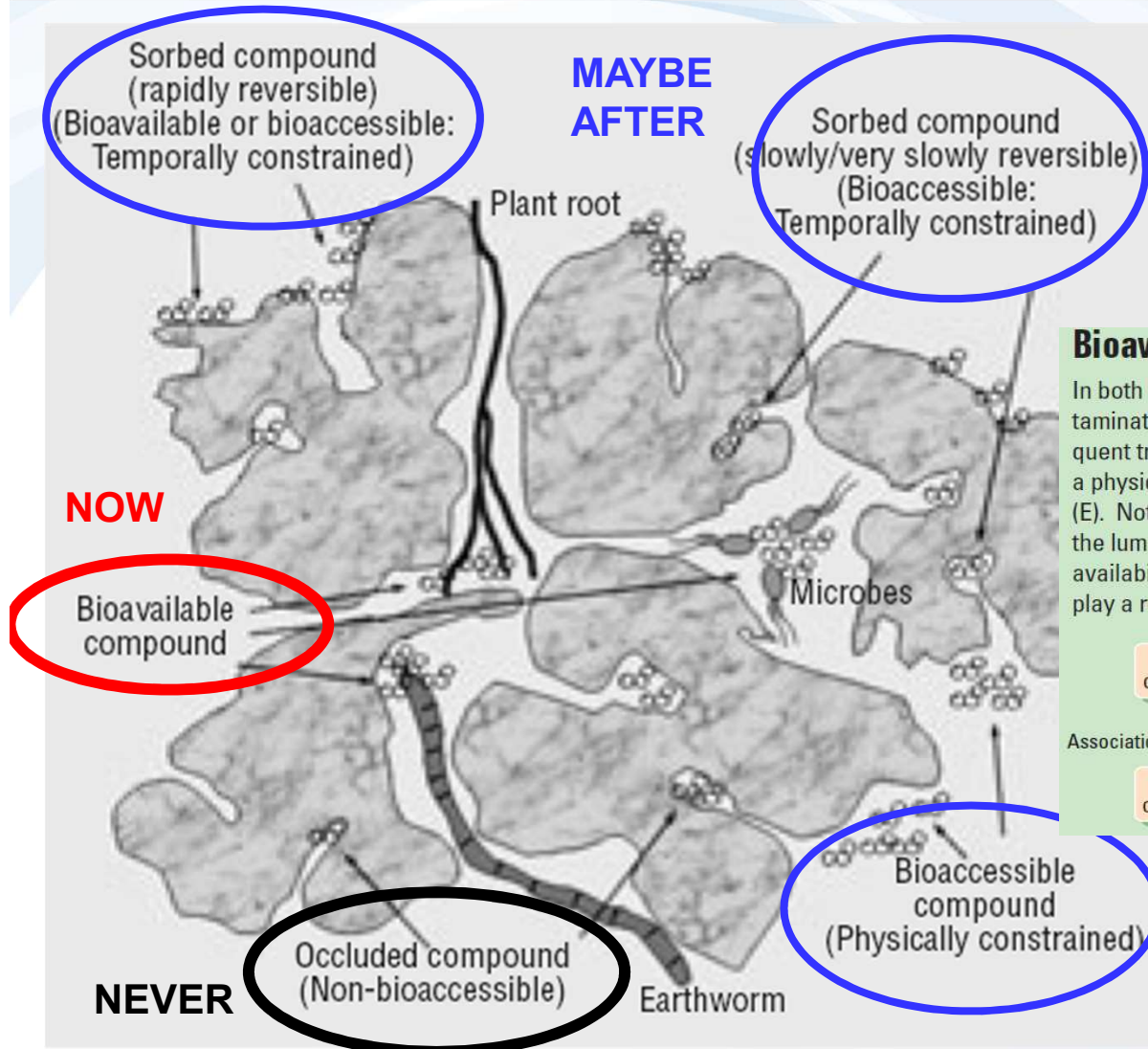


Jak změřit biodostupnost ?

Celkový obsah



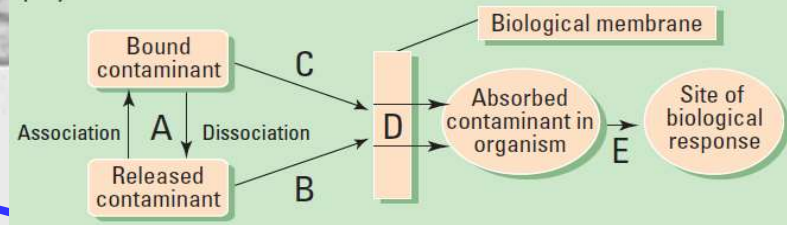
Jak změřit biodostupnost ?



$$\text{Biodosažitelná} = \text{Biodostupná} + \text{Potenciálně biodostupná}$$

Bioavailability processes

In both soil and sediment, processes that determine exposure to contamination include release of a solid-bound contaminant (A) and subsequent transport (B), transport of bound contaminants (C), uptake across a physiological membrane (D), and incorporation into a living system (E). Note that A, B, and C can occur internal to an organism, such as in the lumen of the gut. The NRC report defines A, B, C, and D to be bioavailability processes, but not E, because soil and sediment no longer play a role.



biodostupnost začíná až přestupem přes biomembránu

Jak změřit biodostupnost ?

Řešení:

- **nemůže existovat jedna univerzální metoda**
- různé organismy, látky, situace:
 - toxicita pro organismy žijící v médiu ☹️
 - biodegradace kontaminantu 😊
 - přestup kontaminantu do potravních řetězců ☹️

- **nutné se ptát: biodostupnost PRO** jakou látku ?

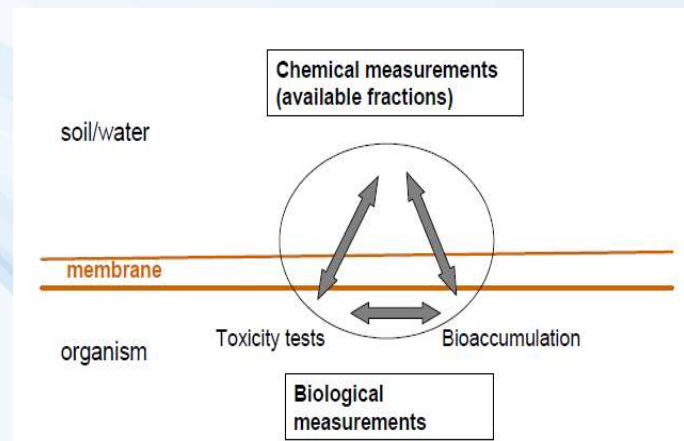
jaký organismus ?

jakou situaci ?

jaký cíl ochrany ?

... ?

- **specifické okolnosti definovat a pro danou situaci hledat vhodnou metodu**



Metody hodnocení biodostupnosti

půda / sediment	hydrofóbní polutanty	polární polutanty	kovy
koncentrace v pórové vodě		✓	✓
extrakce vodnými roztoky H ₂ O, CaCl ₂ , NH ₄ NO ₃		✓	✓
vzorkování volných kovů diffusive gradient in thin film (DGT), Donnan membrane technique (DMT)			✓
slabé kyseliny či komplexující činidla CH ₃ COOH, EDTA			✓
roztok v kombinaci se sorbenty Tenax, XAD či hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HPCD)	✓	✓	
slabá organická rozpouštědla butanol, metanol, etanol, směsi s vodou	✓	✓	
superkritická fluidní extrakce (SFE) nastavitelná síla / polarita extrakce	✓	✓	
biomimetické sorbenty / pasivní vzorkovače polyoxymethylene (POM), polydimethylsiloxane (PDMS), solid phase microextraction (SPME), semi-permeable membrane devices (SPMD)	✓	✓	
voda / vzduch	hydrofóbní polutanty	polární polutanty	kovy
biomimetické sorbenty / pasivní vzorkovače POM, PDMS, SPME, SPMD, Polar organic compounds integrative sampler (POCIS), Chemcatcher,	✓	✓	
vzorkování volných iontů kovů diffusive gradient in thin film (DGT), Donnan membrane technique (DMT)			✓

Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

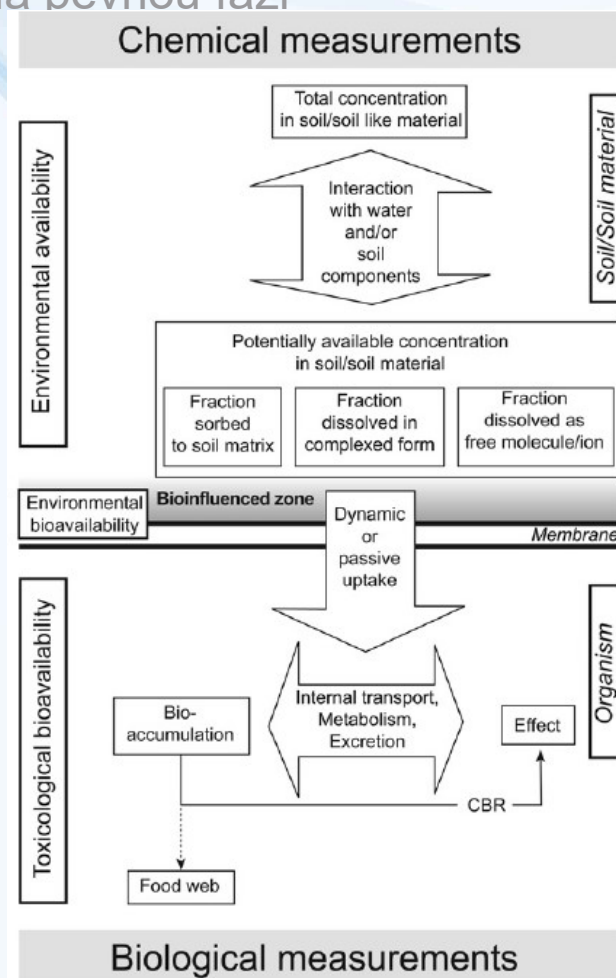
- **ISO 17402 (2006)**
Guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability in soil and soil materials
- výběr metod dle mnoha kritérií – nejen prostá korelace s biologií (empirické metody), ale důraz na **mechanistický / fyziologický princip** = logicky souvisí s biologickými efekty / příjmem
- **validace na více látkách, více půdách/sedimentech**

Mechanism	Simulates	Pathway	Method	Calibrated		Recommended	Limitations
				Contaminant	Target		
Neutral extract	Pore water concentration	Direct contact with water	Neutral water extract (NaNO ₃ ; KNO ₃ NH ₄ NO ₃ ; CaCl ₂)	Cd/Zn/Ni	Soil organisms, plant uptake	+	NH ₄ NO ₃ may reduce pH in low buffered soils. CaCl ₂ may reduce DOC concentrations Poorly soluble compounds Depends on
Separation by diffusion	Free metal concentration	Direct contact with water	Extraction of pore water	Cd/Zn/Ni	Soil organisms, plant uptake	+	concentration of salt Pore water not available in dry soil Equilibration time if water is added
		Transport	Leaching test	Inorganic/organic	Ground-water	+	Poorly soluble compounds
		Uptake	DMT, DGT	inorganic	Soil organisms, plant uptake	+	Specialized equipment
Acid extraction	Potential soluble in water	Uptake	Acid extract (HNO ₃)	Cd/Zn/Ni	Plant uptake after including soil characteristics	+	
		Transport	Leaching test	Inorganic	Ground-water	+	
		Uptake	Acid extract (pH of stomach or lower)	Pb	Screening, human ingestion	+	Gives a maximum of bioavailability, because pH in the intestine system is higher
Complexing agent	Potential soluble in water, competitive	Uptake, Transport	EDTA extract	Heavy metals	Plant uptake, groundwater		
Simulation of digestion	Oral uptake	Human uptake	Stomach and intestine system	Pb/Cd/Zn/Ni/Hg/PCB/PAH method comparison	Human	+	
Adsorption to competitive adsorbant	Amount in equilibrium with pore water	Contact with pore water	Adsorption to solid phase (TENAX, XAD, cyclodextrines)	PAH	Degrading organisms	+	
			Adsorption to solid phase (SPME, TENAX)	PAH/PCB/OCP	Uptake invertebrates	+	
Increasing solubility	Amount in equilibrium with pore water	Contact with pore water	Mild (water + organic) solvent	PAHs	Degrading organisms		
Partial oxidation of organic matter	Amount of weakly bounded organic contaminants	Easy attainable by micro-organisms	Oxidation with persulphate	PAHs	Degrading organisms	+	



Metody stanovení expozice

- Chemické metody
 - Různé druhy extrakcí - extrakce vodnými rozpouštědly a výluhy,
 - Extrakce organickými rozpouštědly a extrakce na pevnou fázi
- Biologické metody
 - Bioakumulace
 - Stanovování reziduí látky v organismu (CBR)
 - Klasické testy na organismech
 - Biomarkery expozice
 - Sledování genů



Přímé biologické metody

- Informace o aktuálním množství přijaté chemické látky
- Zahrnují v sobě všechny biotické (např. metabolismus) a abiotické (např. pH, množství organické hmoty) faktory ovlivňující biodostupnost.
- CBR - critical body residuum - měří bioakumulace nebo obsah rezidua v organismu
- CBRs představuje vnitřní koncentraci chemické látky v závislosti na subletálních a letálních efektech a charakterizuje toxikologickou biodostupnost, zatímco bioakumulace reprezentuje přechod mezi enviromentální a toxikologickou biodostupností.



Přímé biologické metody

- Termín CBRs byl definován jako nejnižší pozorovaná koncentrace chemické látky v těle organismu, která je spojena s výskytem nežádoucích efektů u jedinců a populací, a to ve všech stádiích vývoje
- CBRs tedy pomáhají ustanovit toxikokinetický vztah mezi expozicí a celkovou koncentrací látky v organismu.
- Pro studium kontaminovaných míst lze posuzovat kvalitu půdy pomocí koeficientu nebezpečnosti (risk quotient, RQ):

$$RQ = IBR / CBR$$

- kde IBR je vnitřní obsah rezidua v těle
- Hodnota $RQ < 1$ by měla zabezpečit přiměřenou ochranu důležitých funkcí ekosystému, které jsou spojeny s půdními organismy



Akumulační indikátory

- Některé organismy jsou v sobě schopny akumulovat zvýšené množství toxikantů a mohou sloužit jako materiál pro chemickou analýzu
- Akumulační metody jsou často kombinovány s indikačními postupy signalizujícími na biochemické nebo fyziologické úrovni účinky kontaminantů
- U odebraných organismů se stanovují – těžké kovy, POP + parametry růstu, zasažení parazity, krevní obraz, biochemické parametry



Akumulační indikátory

- Příklady – akumulace těžkých kovů v plžích, bryomonitoring – využití při hodnocení imisní zátěže
 - Mechorosty mají vysokou sorpční kapacitu – díky vysoké smáčivosti a vysokému povrchu buněčných stěn
 - Hojně rozšířené organismy
 - Roční přírůstky mechů dovolují analyzovat vzorky z časově určeného období
 - Bryomonitoring na území ČR zahájen v roce 1991 na 33 lokalitách – mech trávník Schreberův
 - Umožňuje sledovat časové vývojové trendy imisní zátěže



Akumulační indikátory

- Při používání akumulčních indikátorů je třeba respektovat:
 - Akumulační indikátor je živý organismus s veškerou variabilitou živého systému
 - Kumulace toxikantu není pasivní proces, ale je realizován celým metabolismem organismu se všemi obrannými procesy jak z hlediska příjmu tak z výdeje
 - O výsledné koncentraci nerozhoduje pouze příjem toxikantu, ale rovnováha, která se ustaví mezi všemi složkami látkového toku
 - Zjištěné koncentrace v akumulčních bioindikátorech jsou modelem biodostupné složky látky, nikoliv celkového obsahu v prostředí
 - Standardizace musí vždy respektovat cíle studie a konkrétní podmínky na straně stanovované látky tak organismu



Chemické metody

Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

organické polutanty:

A. stanovení biodosažitelné frakce pomocí extrakce rozpouštědly či pomocí vodných roztoků s přidanými sorbenty

Method	Working principle	Strengths	Weaknesses
Mild solvent extraction (Kelsey et al., 1997; Liste and Alexander, 2002)	<ul style="list-style-type: none">Analyze HOC in mild solvent after extractionPartial extraction measuring rapid desorption fraction	<ul style="list-style-type: none">Easy operation	<ul style="list-style-type: none">Results vary with solvent, matrix and organismsNot applicable for <i>in situ</i> measurement
HPCD extraction (Cuypers et al., 2002; Reid et al., 2000)	<ul style="list-style-type: none">Analyze HOC in HPCD after extractionPartial extraction measuring rapid desorption fraction	<ul style="list-style-type: none">Fast and easy operation	<ul style="list-style-type: none">Species-dependent performance and limited extraction capacityNot applicable for <i>in situ</i> measurement
Sequential Tenax extraction (Cornelissen et al., 1997; Xu et al., 2008)	<ul style="list-style-type: none">Consecutive desorption with Tenax as HOC trapUse regression model to estimate various desorption fractionsUse F_{rapid} to indicate bioaccessibility	<ul style="list-style-type: none">Tenax reused and economicalUnderstanding of desorption kinetics	<ul style="list-style-type: none">Time consuming and laboriousNot applicable for <i>in situ</i> measurement
6-h Tenax extraction (Cornelissen et al., 2001)	<ul style="list-style-type: none">Single-step desorption with Tenax as HOC trapUse F_{6h} to approximate bioaccessibility	<ul style="list-style-type: none">Fast and easy operation	<ul style="list-style-type: none">F_{6h} may not equal to F_{rapid}Not applicable for <i>in situ</i> measurement

Cui et al. (2013) Environmental Pollution 172: 223-234



Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

organické polutanty

B. stanovení volně rozpuštěné koncentrace s využitím sorbentů – pasivních vzorkovačů

(vlastně velice podobné postupy jako pasivní vzorkování vody)

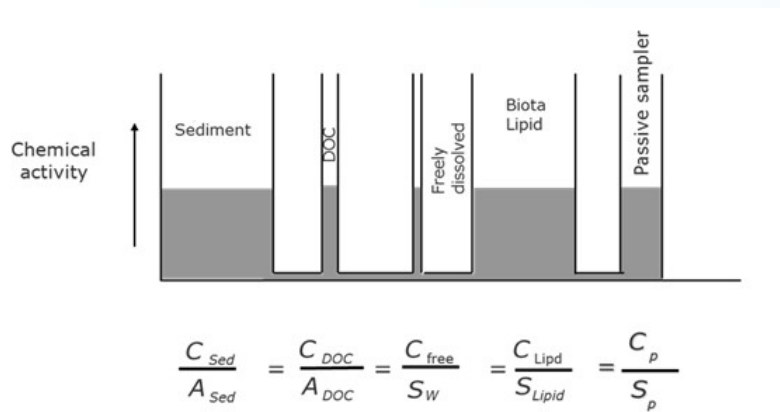
Method	Working principle	Strengths	Weaknesses
SPMD (Semi-permeable membrane device) (Huckins et al., 1990; Zimmerman et al., 2004)	<ul style="list-style-type: none">• Expose sampler in sample matrix• Analysis of HOC in sampler after solvent extraction• Derive C_{free} and use C_{free} to indicate bioavailability	<ul style="list-style-type: none">• Good sensitivity due to large sampler volume• Commercially available• Applicable for <i>in situ</i> measurement	<ul style="list-style-type: none">• Extensive post-sample processing• Require large sample size• Very long equilibration times• Not compatible with bench-scale bioassays
PED (Polyethylene device) (Cho et al., 2009)	<ul style="list-style-type: none">• Expose sampler in sample matrix• Analysis of HOC in sampler after solvent extraction• Derive C_{free} and use C_{free} to indicate bioavailability	<ul style="list-style-type: none">• Good sensitivity due to large sampler volume• Inexpensive• Applicable for <i>in situ</i> measurement	<ul style="list-style-type: none">• Require large sample size• Very long equilibration times• Not compatible with bench-scale bioassays
Injector-type SPME (Arthur and Pawliszyn, 1990; Xu et al., 2007)	<ul style="list-style-type: none">• Expose sampler in sample matrix• Analyze HOC on fiber by direct injection• Derive C_{free} via external calibration and use C_{free} to indicate bioavailability	<ul style="list-style-type: none">• Good sensitivity due to analysis of whole fiber• Less time consuming and solvent-free• Automation possible• Applicable for <i>in situ</i> measurement	<ul style="list-style-type: none">• Non-equilibrium sampling• Matrix effect• Not compatible with bench-scale bioassays
Disposable SPME (Mayer et al., 2000; Hunter et al., 2008)	<ul style="list-style-type: none">• Expose fiber in sample matrix• Analyze HOC at equilibrium• Derive C_{free} via K_{SPME} and use C_{free} to indicate bioavailability	<ul style="list-style-type: none">• Inexpensive and easy operation• Compatible with bench-scale bioassays and co-exposure• Applicable for <i>in situ</i> measurements	<ul style="list-style-type: none">• Sensitivity may be low• Long equilibrium times for HOCs with large K_{ow}

Cui et al. (2013) Environmental Pollution 172: 223-234



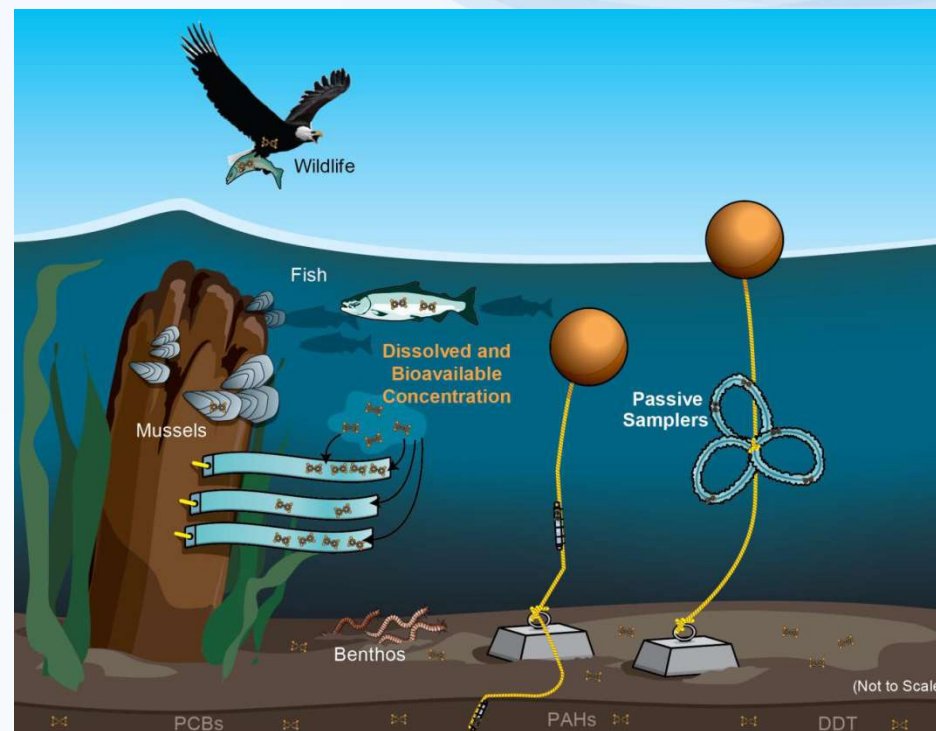
Passive sampling - teorie

- několik zásadních výhod oproti klasickému vzorkování:
 - vzorkovač – sorbent je vystaven v mediu většinou delší dobu podobně jako organismus – time weighted average (TWA) concentration
 - je snaha, aby rozdělovací koeficienty mezi médiem a vzorkovačem připomínaly přestup do bioty – „biomimetic“, „proxy to biota“
 - vzorkuje relevantní koncentraci – „free dissolved concentration“ (C_{free})
- <http://youtu.be/4zIQQbnxxR0>



SETAC (2012) Guidance on Passive Sampling Methods to Improve Management of Contaminated Sediments. Summary of a SETAC Technical Workshop

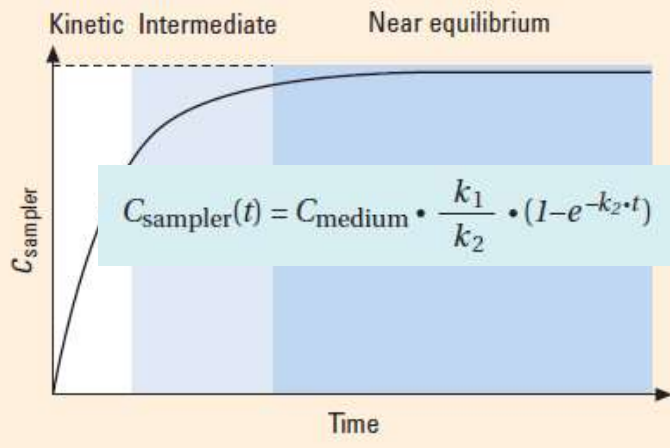
US EPA (2012) Guidelines for Using Passive Samplers to Monitor Organic Contaminants at Superfund Sediment Sites



Passive sampling - teorie

Generalized uptake profile for a passive sampling device

The passive sampler operates in three regimes: kinetic (white), intermediate (light blue), and near equilibrium (blue). A first-order one-compartment model (Equation 1) is often used to fit experimental measurements.



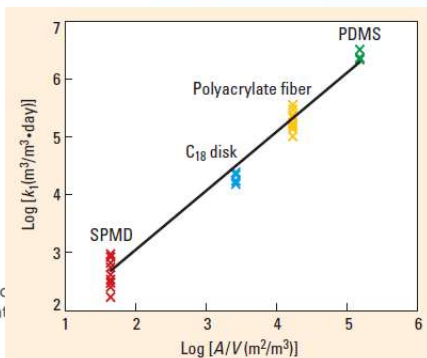
Mayer et al (2003) Environ Sci Technol 37: 184A–191A

- kinetika 1. řádu, jednosložkový model – vstupní proměnné k_1 a k_2 (rychlost příjmu a výdeje)
- v monitoringu ŽP je upřednostněno **nerovnovážné vzorkování** – lineární příjem látky vzorkovačem – pro dosažení TWA, zatímco při stanovení biodostupnosti je častější **rovnovážné vzorkování**
- v rovnováze nejsou $k_{1,2}$ potřeba a C_{free} a fugacita mohou být spočítány ze vztahu

$$C_{\text{free}} = C_{\text{sampler}} / K_s$$

kde K_s je rozdělovací koeficient vzorkovač-vzorek

- čím vyšší je poměr povrch / objem, tím rychleji je dosaženo rovnováhy



Centrum pro
toxických látek
v prostředí

Passive sampling - teorie

- **základní předpoklad** = volně rozpuštěná koncentrace (C_{free}) je hlavní determinant příjmu látky biotou a následných efektů a rizik
- platí zejména u malých organismů přijímajících látky pasivní difúzí
- **jakmile hraje významnou roli potrava, nemusí být již tento přístup validní !!**
- vzorkování by nemělo ovlivňovat vzorkovaný systém:
tzv. **negligible depletion**
- depleci lze využít pro stanovení dosažitelné frakce

$$\frac{V_{\text{sampler}} \cdot K_{\text{sampler, medium}}}{V_{\text{medium}}} < 0.05$$

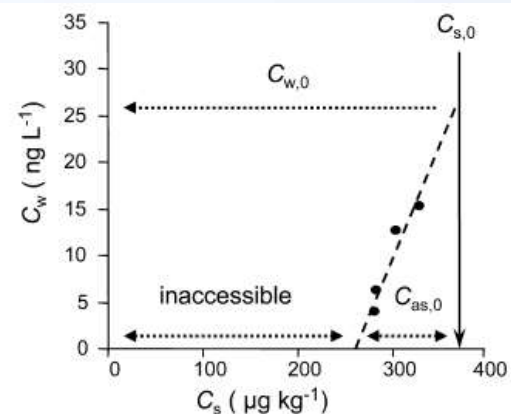
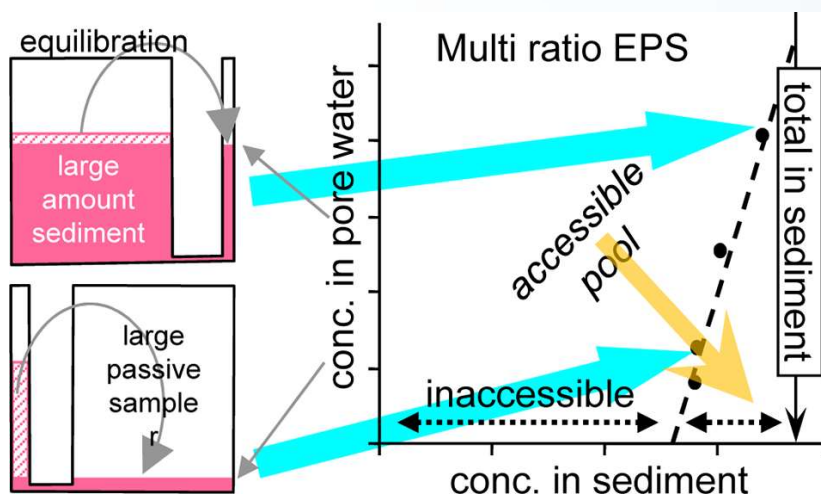


Figure 3. Fluoranthene concentrations in the water (C_w) versus the residual concentration in the sediment (C_s) as calculated by eq 5. The arrow on the right indicates the original concentration in the sediment ($C_{s,0}$).

Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

kovy:

A. stanovení pomocí extrakce včetně sekvenční extrakce

- (Weak) salt extractions (e.g., CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, NH_4Ac , NaNO_3 , Mg salts, BaCl_2 , in concentrations from as low as 0.001 M and up to 1 M salt solutions).
- Reductive extractions (e.g., sodium ascorbate, hydroxylamine HCl, sodium dithionite).
- Weak acid extractions (e.g., acetic acid, citric acid).
- Strong complexation methods (e.g., DTPA-TEA, EDTA, NTA).
- Dilute strong acids (e.g., HNO_3 , HCl, “double acid” ($\text{HCl} + \text{H}_2\text{SO}_4$)).
- Combined extractants (e.g., Ammonium oxalate-oxalic acid, Mehlich III (dilute acid, salt, and EDTA)).

Peijnenburg and Jager (2003) *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56 : 63–77

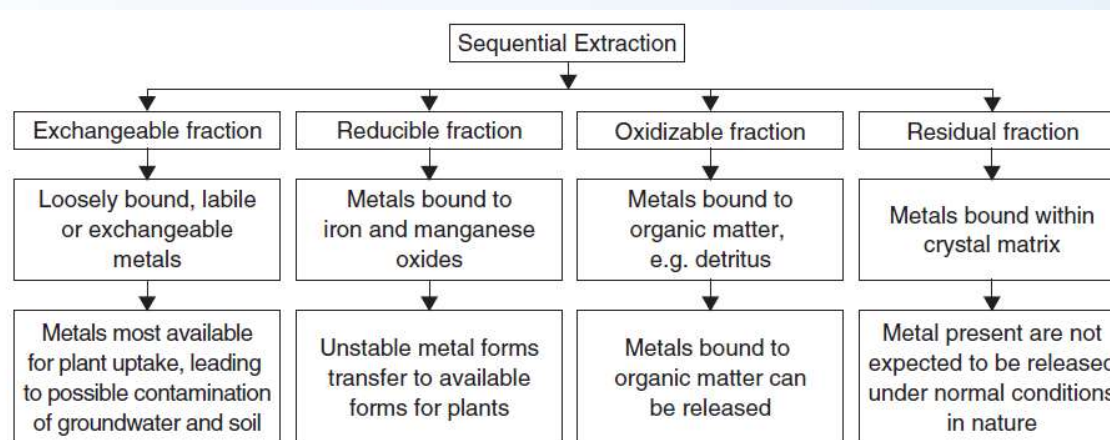


Figure 4.7 Overview of the sequential extraction method for metals, as applied to the analysis of soils and sediments [45]. From Dean, J. R., *Methods for Environmental Trace Analysis*, AnTS Series. Copyright 2003. © John Wiley & Sons, Limited. Reproduced with permission.



Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

extrakce kovů

Extraction agent	Type of binding						
	ion exchange	surface adsorption	precipitate (carbonates, sulphides or hydroxides)	Coprecipitate (amorphous hydroxides)	organic complexes	occlusion (crystalline hydroxides)	mineral crystal lattice
electrolytes	MgCl ₂						
acetic acid (buffer)	CH ₃ COOH + CH ₃ COOH / CH ₃ COONa						
acetic acid (reducing)	CH ₃ COOH + NH ₂ OH						
oxalic acid (buffer)	(COOH) ₂ + (COONH ₄) ₂						
diluted mineral acid	HNO ₃						
digestion: acid mixture + HF	HCB + HNO ₃ + HF						
aqua regia	HCB +						
alkaline fusion (extracts + acid)	Na ₂ CO ₃						
basic solution				NaOH			
complex formers	EDTA, DTPA						
complex formers	citric acid (hot)						

Dean (2007) Bioavailability, Bioaccessibility and Mobility of Environmental Contaminants.

Table 4.1 Extraction procedures used to isolate nominal soil/sediment phases [1]

Phase	Reagent or method of isolation	Comments
Water-soluble, soil solution, sediment pore water	Water, centrifugation, displacement, filtration, dialysis	Contains the most mobile and hence potentially available metal species
Exchangeable	MgCl ₂ , NH ₄ OAc, HOAc	Contains weakly bound (electrostatically) metal species that can be released by ion-exchange with cations such as Ca ²⁺ , Mg ²⁺ or NH ₄ ⁺ . Ammonium acetate is the preferred extractant as the complexing power of acetate prevents re-adsorption or precipitation of released metal ions. In addition, acetic acid dissolves the exchangeable species, as well as more tightly bound exchangeable forms
Organically bound	Na ₄ P ₂ O ₇ , H ₂ O ₂ at pH 3/NaOAc	Contains metals bound to the humic material of soils. Sodium hypochlorite is used to oxidize the soil organic matter and release the bound metals. An alternative approach is to oxidize the organic matter with 30% hydrogen peroxide, acidified to pH 3, followed by extraction with ammonium acetate to prevent metal ion re-adsorption or precipitation
Carbonate	NaOAc at pH 5 (HOAc)	Contains metals that are dissolved by sodium acetate acidified to pH 5 with acetic acid
Mn oxide-bound	NH ₂ OH.HCl	Acidified hydroxylamine hydrochloride releases metals from the manganese oxide phase with minimal attack on the iron oxide phases
Fe (amorphous) oxide	(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ in the dark	Amorphous forms of iron oxides can be discriminated between by extracting with acid ammonium oxalate in the dark
Fe (crystalline) oxide	(NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ under UV light	Crystalline forms of iron oxides can be discriminated between by extracting with acid ammonium oxalate under UV light

Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

extrakce (nejen) kovů napodobující pórovou vodu

Salt solution	Concentration (M)	Reference
Calcium chloride (CaCl ₂)	0.01	Smith <i>et al</i> (2010) Krishnamurti (2008) Peijnenburg <i>et al</i> (2007) Barriuso <i>et al</i> (2004) Houba <i>et al</i> (2000)
	0.05	Krishnamurti (2008) Cheng (1990)
	0.1	Peijnenburg <i>et al</i> (2007)
Calcium nitrate (Ca(NO ₃) ₂)	0.1	Peijnenburg <i>et al</i> (2007) Lanno <i>et al</i> (2004)
Ammonium acetate (NH ₄ Ac)	1.0	Peijnenburg <i>et al</i> (2007)
Mg-salts	n/a ¹	Peijnenburg <i>et al</i> (2007)
Barium chloride (BaCl ₂)	n/a ¹	Peijnenburg <i>et al</i> (2007)
Sodium nitrate (NaNO ₃)	0.01	Yin <i>et al</i> (2002)
	0.1	Peijnenburg <i>et al</i> (2007)
Ammonium nitrate (NH ₄ NO ₃)	0.1	Peijnenburg <i>et al</i> (2007)

¹ n/a: not available

A 0.01M CaCl₂ solution has been documented as the preferential extraction solution because the concentration of Ca²⁺ ions is similar to that measured in soil pore water solutions (Peijnenburg *et al*, 2007) and a similar ionic strength (Houba *et al*, 2000).



Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

extrakce kovů

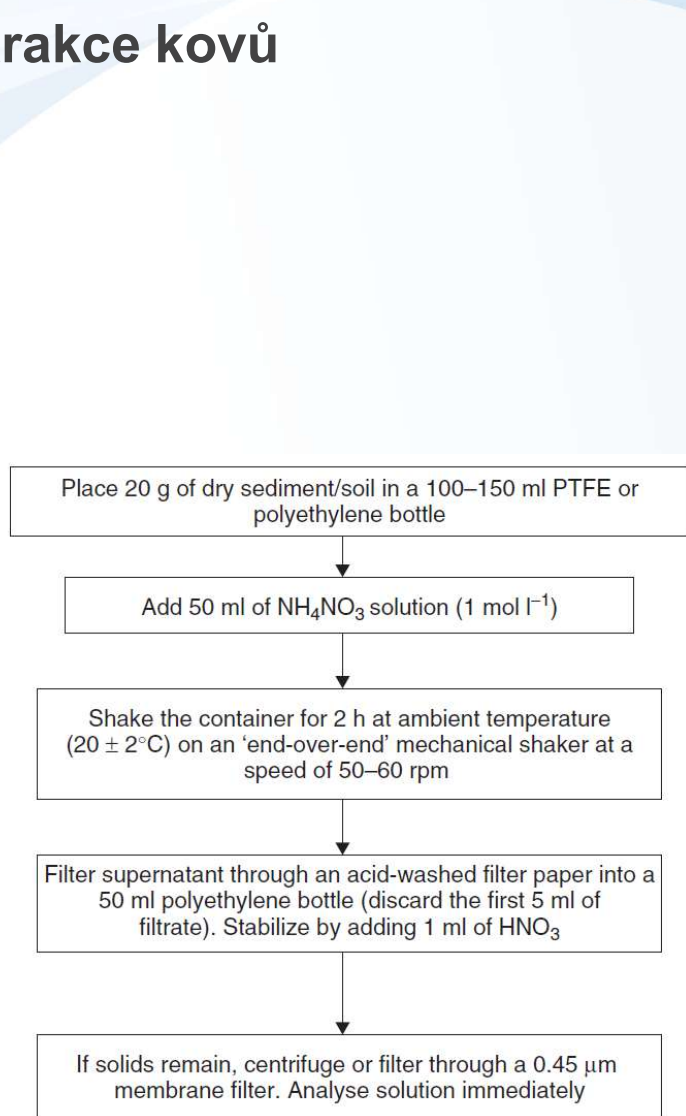


Figure 4.4 Procedure adopted in the single extraction method for metals (employing ammonium nitrate (NH_4NO_3)), as applied to the analysis of soils and sediments [2].

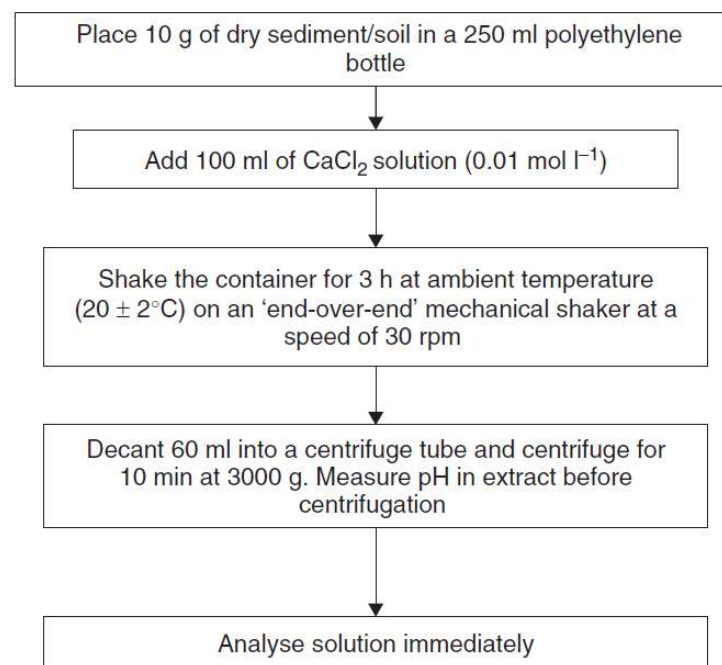


Figure 4.5 Procedure adopted in the single extraction method for metals (employing calcium chloride (CaCl_2)), as applied to the analysis of soils and sediments [2].

Metody hodnocení biodostupnosti – půda / sediment

extrakce kovů

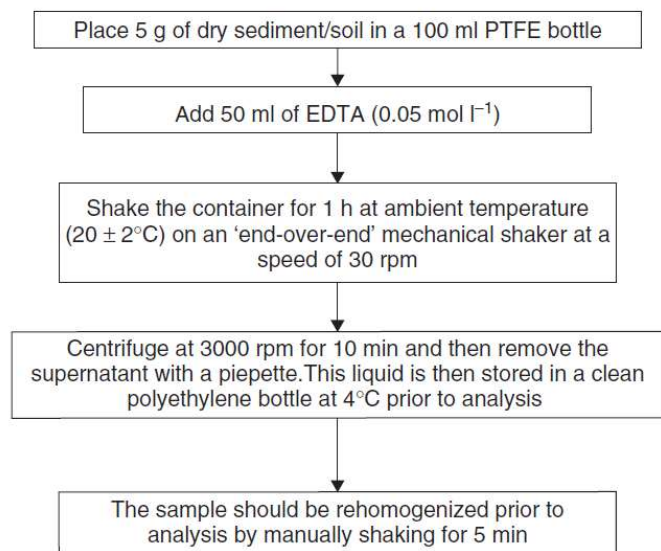


Figure 4.1 Procedure adopted in the single extraction method for metals (employing ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)), as applied to the analysis of soils and sediments [45]. From Dean, J. R., *Methods for Environmental Trace Analysis*, AnTS Series. Copyright 2003. © John Wiley & Sons, Limited. Reproduced with permission.

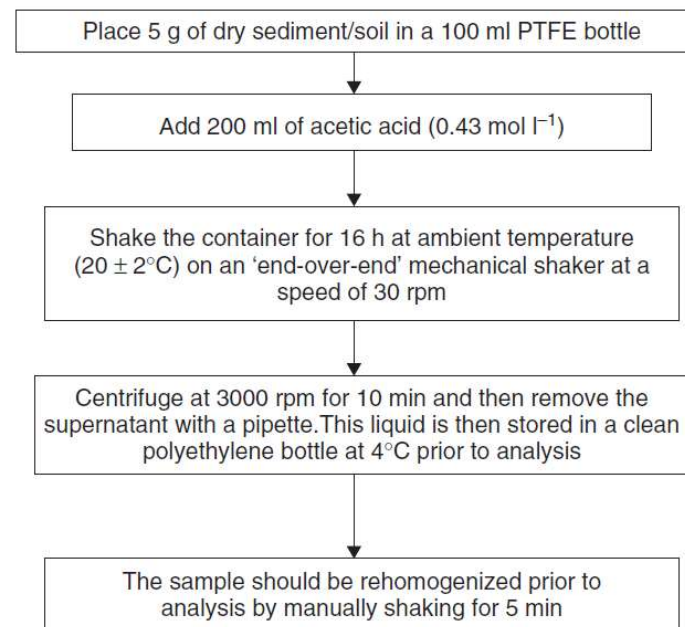
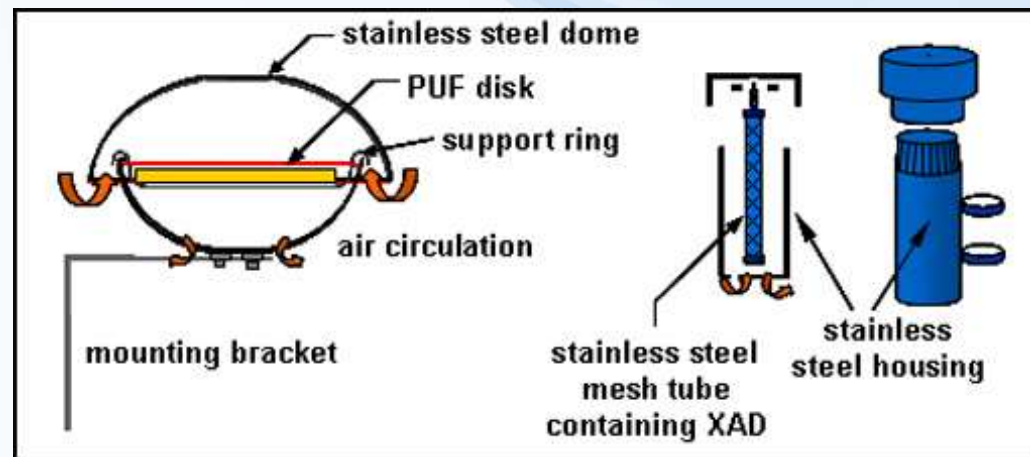


Figure 4.2 Procedure adopted in the single extraction method for metals (employing acetic acid), as applied to the analysis of soils and sediments [45]. From Dean, J. R., *Methods for Environmental Trace Analysis*, AnTS Series. Copyright 2003. © John Wiley & Sons, Limited. Reproduced with permission.

Passive sampling - ovzduší

- často je kladen více důraz na TWA, biomimetické schopnosti jsou v pozadí
- <http://youtu.be/w-Cn8LzB21c>
- Global Atmospheric Passive Sampling (GAPS) Network



<http://www.ec.gc.ca/rs-mn/default.asp?lang=En&n=6AA18234-1>

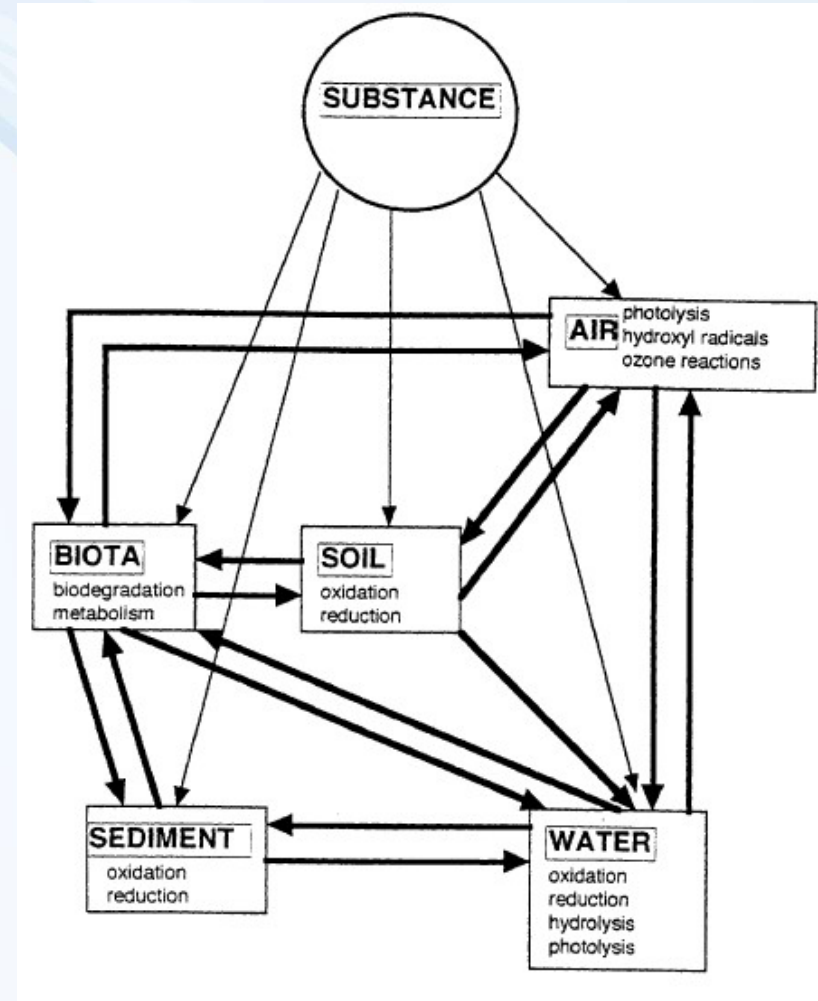
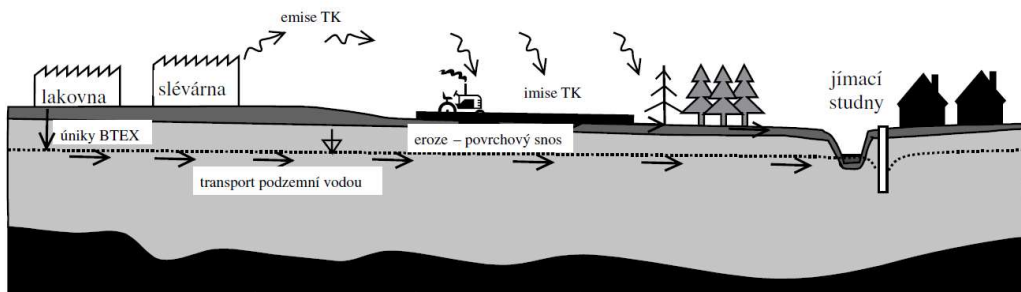


The background features several overlapping, wavy blue lines that create a sense of motion and depth. A dark grey rectangular box is centered horizontally, containing the title text in white. The overall aesthetic is clean and modern.

Modelování expozice

Modelování expozice

- scénáře („worst case scenario“ či jiné)
- modelování:
 - transportu od zdroje
 - změny koncentrace
 - degradace a vzniku transformačních produktů
 - distribuce v ŽP
 - distribuce v rámci dané složky prostředí (např. v půdě)
- zdrojem jsou data o zdrojích + data vlastnostech látek a prostředí



The Edinburgh Centre for Toxicology. UNEP/IPCS Training Module No. 3, Section B, Environmental Risk Assessment.

Modelování expozice

The following assumptions are made:

a) Sludge produced	0.085 kg /head /day
b) Population served by water treatment plant	100 000
c) Application rate to land	1 kg / m ²
d) Depth of soil penetration	20 cm.

$$\begin{aligned}\text{Concentration in sludge} &= \frac{(i) \times (ii) \times (iii) \times (v)}{(a) \times (b)} \\ &= \frac{5 \times 10^9 \times 0.13 \times 0.03 \times 0.9}{0.085 \times 100\,000} \quad \text{mg / kg}\end{aligned}$$

$$= 2.06 \times 10^3 \text{ mg / kg}$$

$$\begin{aligned}\text{Concentration in receiving soil} &= \frac{2.06 \times 10^3 \times (c)}{(d)} \quad \text{mg / kg} \\ &= \frac{2.06 \times 10^3 \times 1}{200} \quad \text{mg / kg}\end{aligned}$$

$$= 10.3 \text{ mg / kg}$$

This assumes a soil density of 1 tonne / m³. Given a low water solubility, and high log Kow, it is anticipated that leaching will be minimal. This assessment takes no account of the potential effects of repeat applications of sludge.

Of course, the assumptions made above must be justified (see below).

modelování zátěže
jednotlivých složek ŽP – od
zdroje do okolí organismu

The Edinburgh Centre for Toxicology. UNEP/IPCS
Training Module No. 3, Section B, Environmental
Risk Assessment.



Modelování expozice

- multimedia fate models (Mackay)
- fugacitní modely I až IV
- fugacita = tendence utíkat/prchat z příslušné fáze

$$C = f \cdot Z$$

C - koncentrace v dané fázi

f – fugacita

Z - konstanta fugacity

- v rovnováze platí:

$$f_{\text{soil}} = f_{\text{air}} = f_{\text{sediment}} = f_{\text{biota}}$$

Affinity	Water S in g / L	Air H in Pa m ³ /mol	Soil log Koc	Animal biota log Kow	Plant biota log Koa
high	>1	>10	>5	>5	>8
medium high	1 - 10 ⁻²	10 - 10 ⁻¹	5 - 4	5 - 3.5	8 - 7
medium	10 ⁻² - 10 ⁻³	10 ⁻¹ - 10 ⁻²	4 - 2	3.5 - 3	7 - 5
medium low	10 ⁻³ - 10 ⁻⁵	10 ⁻² - 10 ⁻⁴	2 - 1	3 - 1	> 4
low	<10 ⁻⁵	<10 ⁻⁴	<1	<1	<4

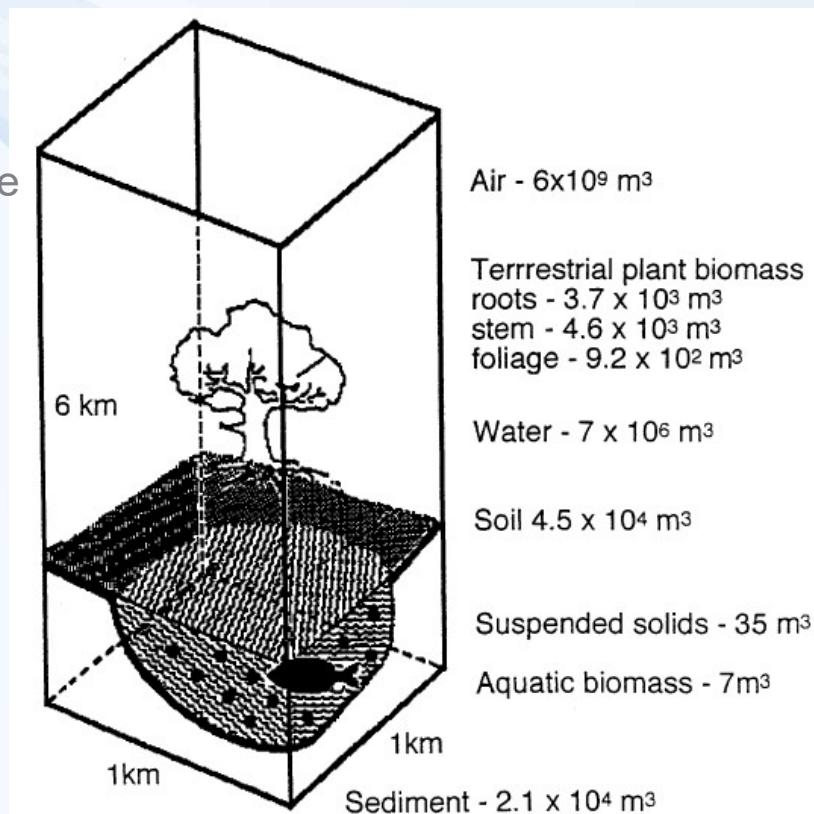


FIGURE A4.2 The "unit of world" in Mackay's fugacity model with the inclusion of terrestrial plant biomass

The Edinburgh Centre for Toxicology. UNEP/IPCS Training Module No. 3, Section B, Environmental Risk Assessment.

Měření a modelování toxikokinetiky

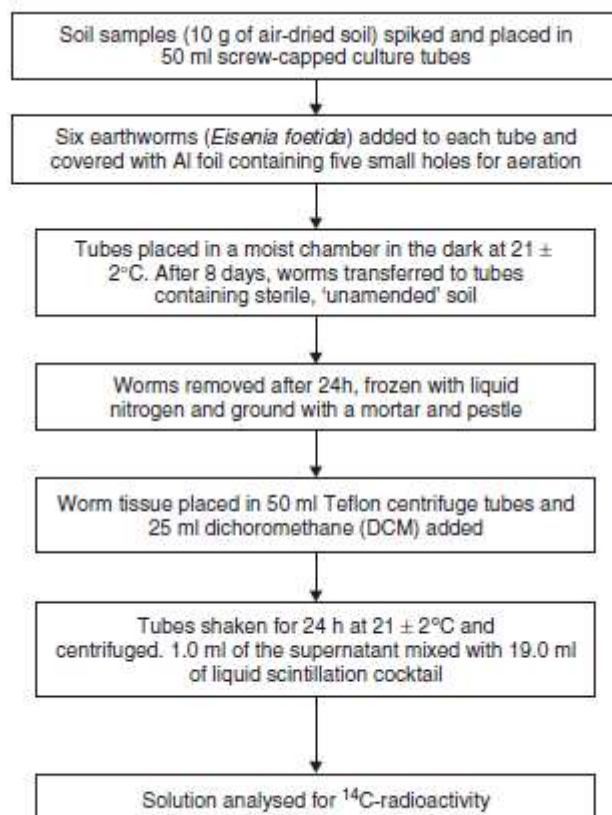


Figure 5.3 Procedure adopted in the earthworm uptake studies used by Kelsey *et al.* [3].

$$BSAF = \frac{C_{org} \cdot F_{om}}{C_s \cdot F_{lip}}$$

where

BSAF= biota–soil accumulation factor

C_{org} = concentration in the worm

C_s = concentration in soil solid phase

F_{lip} = weight fraction of lipid in the organism

F_{om} = weight fraction of OM.

critical Body Residues (CBR)

internal concentration accumulated in a tissue, organ or all body that is correlated with an adverse effect



Equilibrium Partitioning Theory (EqP)

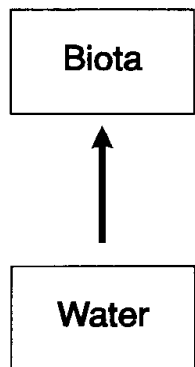
Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 10, pp. 1541–1583, 1991
Printed in the USA. Pergamon Press plc

Annual Review

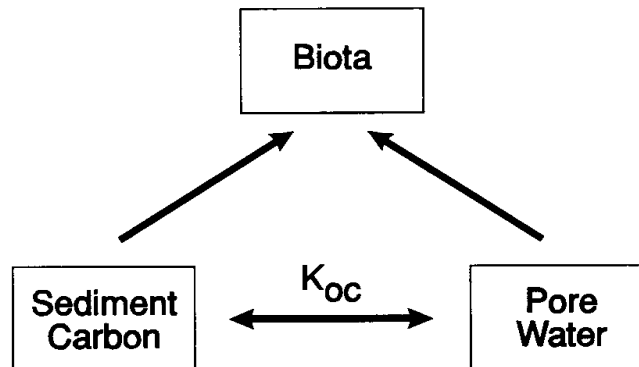
TECHNICAL BASIS FOR ESTABLISHING SEDIMENT
QUALITY CRITERIA FOR NONIONIC ORGANIC
CHEMICALS USING EQUILIBRIUM PARTITIONING

DOMINIC M. DI TORO*

Water Only
Exposure



Sediment - Pore Water
Exposure



Equilibrium Partitioning

- v rovnováze lze namodelovat pomocí K_d koncentrace v pórové vodě a půdě / sedimentu a pomocí BCF potom koncentrace v organismu
- následně lze použít k extrapolacím mezi různými látkami (QSAR) či mezi různými půdami/sedimenty
- předpokládá, že klíčovou koncentrací pro následný vstup do organismu a efekty je rozpuštěná koncentrace C_{free}

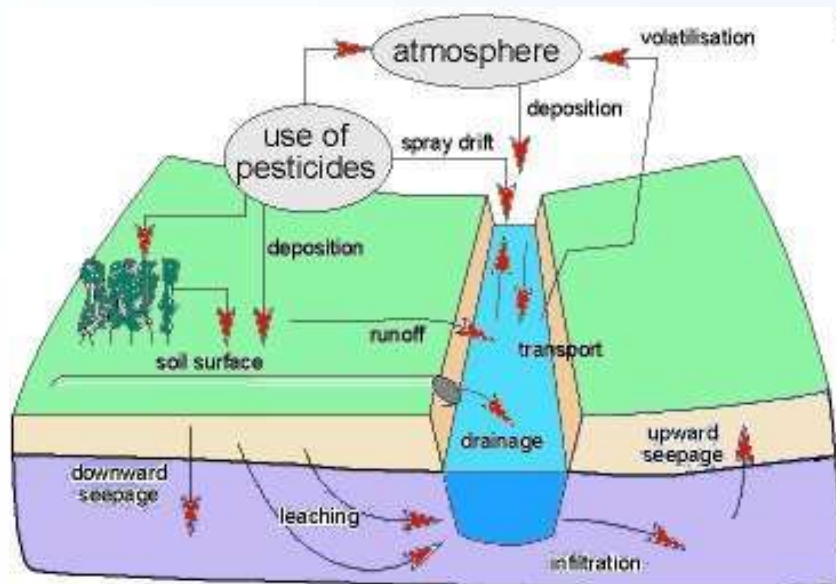
$$C_{pw} = C_s / (K_{oc} f_{oc})$$

- C_{pw} concentration in pore water;
- C_s concentration in solid phase;
- K_{oc} chemical-specific partition coefficient;
- f_{oc} mass fraction of organic carbon (kilograms organic carbon per kilogram sediment).



Modelování expozice

- Plant protection products (PPP) – pesticides
- **FOCUS** modely EU - <http://focus.jrc.ec.europa.eu/>
- PELMO, PEARL, MACRO, PRZM – podzemní voda
- STEP 1 a 2, SWASH, TOXWA, SWAN – povrchová voda
- EVA – ovzduší
- cílem jsou hodnoty PEC_s , PEC_{sw} , PEC_{sed} , PEC_{gw}



<http://www.pesticidemodels.eu/home>



Ekotoxikologické databáze

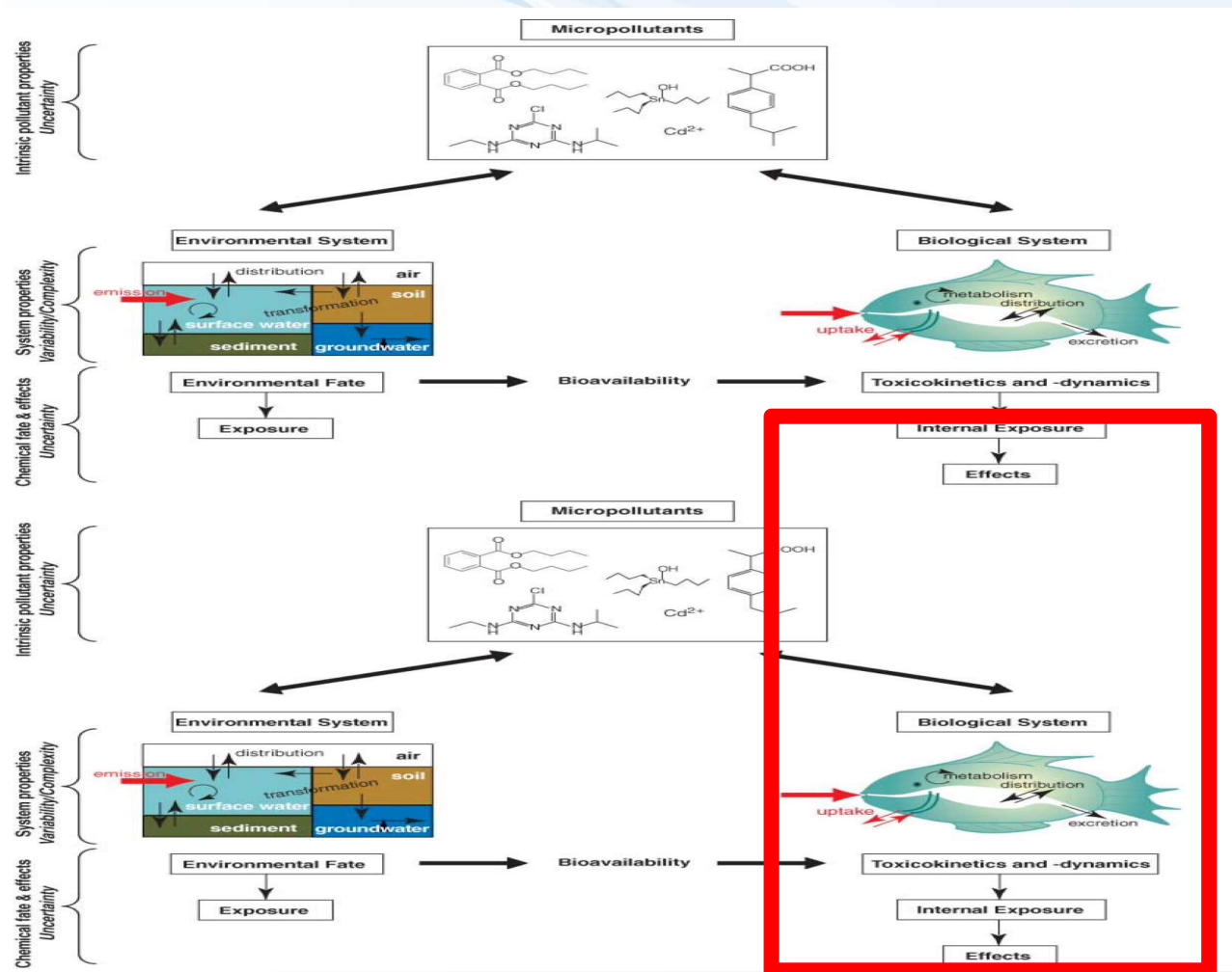
- <https://cfpub.epa.gov/ecotox/>
- <http://www.ipmcenters.org/Ecotox/DataAccess.cfm>
- <https://www.cerc.usgs.gov/data/acute/multiselect.asp>
- <http://www.ecetoc.org/>





Měření a modelování příjmu kontaminantů organismy

Měření a modelování toxikokinetiky



Schwarzenbach et al. (2006) The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science* 313, 1072-1077



TOXIKOKINETIKA 1: příjem látek do organismu

Příjem látek u různých organismů

1) jednobuněčné organismy

- pasivní difuze přes membránu
- „selektivní“ vstup přes existující transportní systémy

2) vícebuněčné organismy / řasy

- difuze toxikantu přes membránu a mezi buňkami

3) terestrické rostliny

- rozpuštěné ve vodě/půdě - vstup kořeny/listy
- plyné toxikanty - vstup přes stomata na listech
- lipofilní látky (některé herbicidy) - penetrace voskové kutikuly
- vstup do buňky □ přes membránu



TOXIKOKINETIKA 1: příjem látek do organismu

Příjem látek do organismu:

4) živočichové - 3 hlavní cesty vstupu do organismu

- potrava/pitná voda

 - průchod trávicím traktem, změny/transformace dle pH, mikroflory střeva, př. cykasin: netoxický - ve střevě konverze->silný mutagen

- respirační cesta

 - trachee u hmyzu, žábry u akvatických organismů, plíce

 - velká plocha pro výměnu/vstup látky (často 25x > povrch těla)

- povrchem těla

 - větší význam u menších organismů (relativně větší plocha) a akvatických organismů



ULOŽENÍ (sequestration)

Uložení xenobiotik v inertních tkáních

=> omezení cirkulace a snížení expozice

Živočichové - tuk (organochlorové látky), zuby, vlasy, rohy (kovy)

- u bezobratlých popsáno ukládání nerozpustných zinkových granulí ve střevě pijavek

Rostliny - vakuoly, listy, kůra (-> opadání)

Uvolnění ze zásob

PCBs a další organochlorové látky -> tuk: ALE: rychlá potřeba energie (strádání, tvorba mléka ...) uvolnění ze zásob

-> náhlá větší expozice a/nebo uvolňování v mléce



ULOŽENÍ (sequestration)

Metalothioneiny (MTs, MT-like proteins)

- cytoplasmatické nízkomolekulární proteiny (6-10 kD) bohaté na Cys
- známy u velké řady eukaryot
- vazba kovů : Zn, Cd, Hg ... => snížení expozice / toxicity
- dlouhý poločas života proteinů (~ 25 dní)
- původní biologická funkce -
? snad regulace dostupnosti esenciálních kovů (např. Zn) ?

INDUKCE MTs

- expozice kovy
- jiný méně specifický stres - hypoxie, změny teploty ...
- Indukce MTs - další příklad BIOMARKER EXPOZICE

Expozice volně žijících živočichů

- externě vystaveny kontaminaci orální, dermální a inhalační cestou
- orální expozice zahrnuje spotřebu kontaminovaných potravin, vodu, nebo v půdu.
- dermální expozice nastává, když jsou kontaminující látky absorbovány kůží.
- inhalační expozice nastane, když jsou vdechnuty těkavé sloučeniny nebo jemné částice.
- celková expozice je celkový součet expozice:

$$\gg E_{\text{celk}} = E_{\text{oral}} + E_{\text{dermal}} + E_{\text{inhal}}$$



Dermální expozice – půdní organismy

- Předpoklady:
- 1) organismus je exponován kontaminantům při kontaktu povrchu těla s půdou
- 2) organismus je vystaven expozici půdou která přilne k jeho povrchu (kůži), ne všechny kontaminanty jsou absorbovány
- Model převzatý z hodnocení rizik pro lidi:

$$D = (A * P * S * C * F * B) / W$$

Kde:

A = plocha povrchu organismu (cm²)

P = podíl kontaminované plochy

S = adhezní faktor pro kůži (mg/cm²)

C = Koncentrace kontaminantu v půdě (mg/kg)

F = konverzní faktor (10³ kg/mg)

B = hustota půdy (kg/cm³)

W = hmotnost organismu (kg)



Inhalační expozice - půdní organismy

- Inhalační expozice je často zanedbatelná:

1) většina kontaminovaných lokalit jsou buď pokryta vegetací

2) většina těkavých organických látek (VOC) se rychle odpaří z půdy a povrchové vody, mísí se vzduchem, kde se rychle ředí a disperguje

Difúze není pravděpodobná, pokud Henryho konstanta je $>24.3 \text{ Pa/m}^3/\text{mol}$



Orální expozice

- Orální expozice volně žijících živočichů může pocházet z kontaminované potravy (rostlinného nebo živočišného), vody, nebo z půdy.
- Požití půdy může být náhodné, zatímco se zvíře pase, a nebo účelné.
- Celková perorální expozice je součet expozičních případů na jednotlivé vstupy

$$E_{\text{oral}} = E_{\text{food}} + E_{\text{water}} + E_{\text{soil}} + E_{\text{direct}}$$

- E_{food} = expozice z potravy;
 - E_{water} = expozice z vody;
 - E_{soil} = expozice z půdy;
 - E_{direct} = expozice z přímé konzumace.
- Vyjádření je v jednotkách mg kontaminantu/kg tělesné hmotnosti/den



Model pro odhad orální ingesce potravy

$$E_j = \sum_{i=1}^m (I_i \times C_{ij})$$

where E_j = oral exposure to contaminant (j) (mg/kg/d); m = number of ingested media (e.g., food, water, or soil); I_i = ingestion rate for medium (i) (kg/kg body weight/d or L/kg body weight/d); and C_{ij} = concentration contaminant (j) in medium (i) (mg/kg or mg/L). E_j represents the daily exposure averaged over the exposure duration, which at most waste sites is likely to be chronic, measured in terms of months or years.



Calculation of fresh food consumption may be estimated as:

$$I_{ff} = \sum_{i=1}^m \left(P_i \times \frac{I_{fd}}{1 - WC_i} \right)$$

where I_{ff} = total food ingestion rate (kg food (fresh weight)/kg body weight/d); m = total number of food types in the diet; P_i = proportion of the i th food type in the diet; and WC_i = percent water content (by weight) of the i th food type.

Water ingestion rates can be estimated for mammals and birds from allometric models (Calder and Braun 1983):

$$I_w = 99W^{0.90} \quad \text{Mammals}$$

and

$$I_w = 59W^{0.67} \quad \text{Birds}$$

where I_w = water ingestion rate (mL water/d); and W = body weight (g live weight).

**Více informací:
Wildlife Exposure Factors Handbook (US EPA 1993)**



In the absence of relevant data, food consumption values can be estimated from allometric regression models based on metabolic rates. Nagy (1987) derived equations to estimate food consumption for birds and mammals, including:

$$I_{df} = 0.235W^{0.822} \quad \text{Eutherian mammals}$$

$$I_{df} = 0.621W^{0.564} \quad \text{Rodents}$$

$$I_{df} = 0.577W^{0.727} \quad \text{Herbivores}$$

$$I_{df} = 0.492W^{0.673} \quad \text{Marsupials}$$

$$I_{df} = 0.648W^{0.651} \quad \text{All birds}$$

$$I_{df} = 0.495W^{0.704} \quad \text{Seabirds}$$

$$I_{df} = 0.398W^{0.850} \quad \text{Passerine birds}$$

$$I_{df} = 0.013W^{0.773} \quad \text{Insectivorous iguanid lizards}$$

$$I_{df} = 0.019W^{0.841} \quad \text{Herbivorous iguanid lizards}$$

where I_{df} = food ingestion rate (dry weight) in (g/d); and W = body weight (g live weight).



Modelování příjmu kontaminantu

- Koncentrace kontaminantu ve složce prostředí včetně bioty v expozičních bodech
- Faktory přenosu z prostředí do bioty
- Informace o životním cyklu receptoru:
 - Dieta (typ potravy, proporce různých druhů potravin)
 - Metabolická rychlost, rychlost příjmu potravy
 - Rozsah domovské oblasti vs. Plocha sledované lokality
 - Využití lokality
 - Chování



Modelování expozice – denní dávka

$$ADD = (C * IR * F)$$

Kde:

- ADD = aplikovaná denní dávka konzumentem (mg/kg/d)
- C = koncentrace kontaminantu v potravě nebo složce prostředí (mg/kg)
- IR = rychlost příjmu (normalizovaná) (kg potravy.kg tělesné váhy.d)
- F = frakce dané potravy v dietě (0-1)



Ukázka výpočtu: modelování expozice

$$ADD = (C * IR * F)$$

Kde:

- ADD = aplikovaná denní dávka konzumentem (mg/kg/d)
- C= koncentrace kontaminantu v potravě nebo složce prostředí (mg/kg)
- IR = rychlost příjmu (normalizovaná) (kg potravy.kg tělesné váhy.d)
- F= frakce dané potravy v dietě (0-1)

The western harvest mouse
Reithrodontomys megalotis



Odhad expozice Pb pro Western harvest mouse (*Reithrodontomys megalotis*)

Známé informace:

- Expoziční bodová koncentrace pro Pb v povrchové vodě a půdě z dané lokality
- Odhad koncentrace Pb ve vegetaci založený na přenosovém faktoru půda/rostlina
- Měřená koncentrace Pb v hmyzu sbíraném na daném místě (kobylinky)



Expozice z příjmu potravou

- Dieta: 16% bezobratlí, 81% vegetace, 3% půda
- Rychlost příjmu potravy: $0.15 \text{ kg.kg bw}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
- Rychlost příjmu vody: $0.10 \text{ L.kg bw}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
- Koncentrace Pb v potravě:
 - Bezobratlí: 9.7 mg.kg^{-1}
 - Vegetace: 2.1 mg.kg^{-1}
 - Pitná voda: 0.0012 mg.l^{-1}
 - Půda: 105 mg.kg^{-1}

White-Footed Mouse

Expoziční faktor	Průměr	Min	Max	SD
Tělesná váh	20.6	14.0	26.3	3.4
Rychlost příjmu potravy [$\text{g.g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$]	0.45	0.38	0.55	0.06
Rychlost příjmu vody [$\text{g.g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$]	0.19	0.123	0.287	0.04
Frakce příjmu z půdy [%]	2.0	0.0	5.0	0.03
Oblast výskytu [ha]	0.06	0.054	0.072	0.005
Dieta [%]				
Hmyz	58			
Vegetace	42			



Denní dávka Pb z požití bezobratlých

- IR (rychlost příjmu potravy) = $0.15 \text{ kg potravy.kg}^{-1} \text{ bw.d}^{-1}$
- C = $9.7 \text{ mg Pb.kg}^{-1}$ bezobratlých
- F (frakce bezobratlých v dietě) = 16%

- **ADD = C * IR * F**

- $\text{ADD} = 9.7 \text{ mg Pb} \cdot \text{kg}^{-1} * 0.15 \text{ kg potravy.kg}^{-1} \text{ bw.d}^{-1} * 0.16$
- **ADD = 0.23 mg Pb.kg⁻¹ myši.d⁻¹**



Denní dávka pb z požití vegetace

- $IR = 0.15. \text{ kg potravy.kg}^{-1} \text{ bw.d}^{-1}$
- $C \text{ vegetace} = 2.1 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ vegetace}$
- $\text{Frakce vegetace v potravě} = 81\%$

- **$ADD = C_{veg} * IR * FR_{veg}$**

- $ADD = 2.1 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ vegetace} * 0.15. \text{ kg.kg}^{-1} \text{ bw.d}^{-1} * 0.81$
- **$ADD = 0.26 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ myši.d}^{-1}$**



Denní dávka z náhodného požití půdy

- $IR = 0.15. \text{ kg potravy.kg}^{-1} \text{ bw.d}^{-1}$
- $C_{\text{soil}} = 105 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ půdy}$
- Frakce v dietě = 3%

- **$ADD = C_{\text{soil}} * IR * FR_{\text{soil}}$**

- $ADD = 105 \text{ mg.kg}^{-1} \text{ vegetace} * 0.15. \text{ kg.kg}^{-1} \text{ bw.d}^{-1} * 0.03$
- **$ADD = 0.47 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ myši.d}^{-1}$**



Denní příjem požitím povrchové vody

- IR water = 0.10 L vody.kg⁻¹ bw.d⁻¹
- C water = 0.0012 mg Pb.kg⁻¹vody
- **ADD = Cwater * IRwater**
- ADD = 0.0012 mg Pb.kg⁻¹vody * 0.10 L vody.kg⁻¹ bw.d⁻¹
- **ADD = 0.0001 mg Pb.kg⁻¹ myši.d⁻¹**



Celkový denní příjem Pb

- $ADD_{\text{invertebrates}} = 0.23 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ myši.d}^{-1}$
- $ADD_{\text{vegetation}} = 0.26 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ myši.d}^{-1}$
- $ADD_{\text{soil}} = 0.47 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ myši.d}^{-1}$
- $ADD_{\text{water}} = 0.0001 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ myši.d}^{-1}$

- **ADD total** = $\sum (\text{ADD invertebrates} + \text{ADD vegetation} + \text{ADD soil} + \text{ADD water})$
= $0.96 \text{ mg Pb.kg}^{-1} \text{ myši.d}^{-1}$

- Pro charakterizaci rizika bude tato hodnota srovnána s hodnotami charakterizující možný škodlivý účinek (např. NOAEL, LOAEL)

