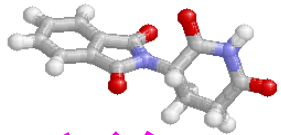
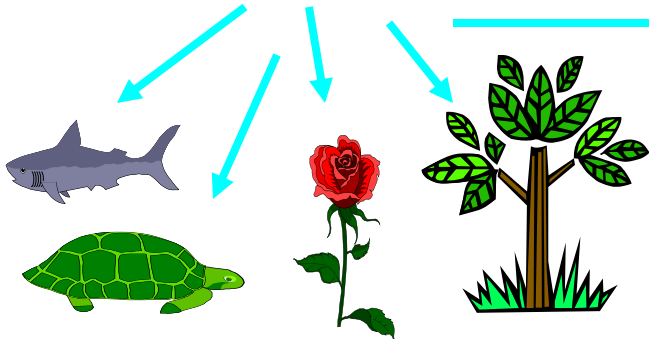
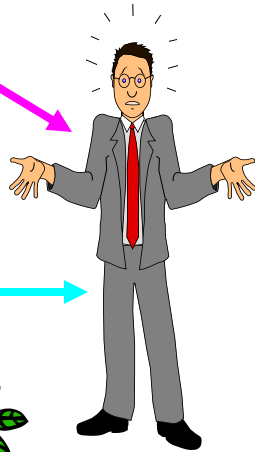


STRUPENOST - Kaj je?

potencialna lastnost snovi, da povzroči škodljive učinke na organizmih



Vsaka snov je lahko strup,
odvisno od njene koncentracije
(Paracelsus, 1493-1541)



STRUPENOST- Zakaj?

Dolgoročni cilj vodnega gospodarstva:
visoka kvaliteta vseh naravnih vod

2000/60/EC Water Framework Directive

1996/61/EEC IPPC Directive

Nevarne snovi



- minimiziranje **toksičnega onesnaženja**
- posebna pozornost obstojnim in/ali bioakumulirajočim snovem

EVROPSKA ZAKONODAJA

OJ No L 84/72 1993

Potrebno pridobiti informacije o kemikaliji:

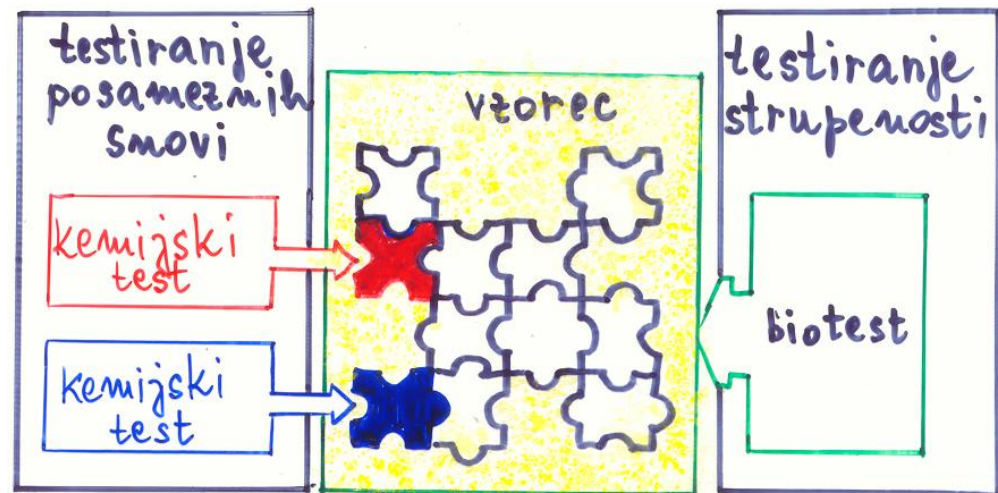
- Splošne informacije
- Fizikalno-kemijski podatki
- Usoda v okolju in poti prenosa
- Ekotoksičnost
 - Ribe
 - Daphnia
 - Alge
 - Bakterije
 - Kopenski organizmi
 - Zemeljski organizmi
- Toksičnost

Potrebno odgovoriti na vprašanja:

- **Koliko toksičnega onesnaženja lahko varno dovolimo?**
- **Kako strupen je lahko izpust v okolje?**

UGOTAVLJANJE STRUPENOSTI

- kemijski specifični pristop (analiziranje posameznih snovi)
- "pristop k celotnemu iztoku" (uporaba testnih organizmov - biotest)



STRUPENOSTNI TESTI

Strupenost je rezultanta koncentracije strupa in časa delovanja

- **Akutni** \Rightarrow kratek čas (nekaj ur do nekaj dni), enkratna izpostavitve, hiter, intenziven odgovor organizmov (smrt, negibnost)
- **Kronični** \Rightarrow daljši čas (delni ali celotni življenjski cikel), ponavljajoča ali stalna izpostavljenost, odgovor organizmov ni tako hiter (rast, razvoj, razmnoževanje)

AKUTNI STRUPENOSTNI TESTI

Hiter, intenziven odgovor organizma

- široko koncentracijsko območje

***LC* (lethal concentration) smrtna koncentracija**



koncentracija, ki povzroči smrt določenega deleža testnih organizmov

***LC₅₀* srednja (50%) smrtna koncentracija**



koncentracija pri kateri pogine 50% izpostavljenih organizmov v času opazovanja

npr. ***48h LC₅₀ = 0,1 mg/l***

***EC* (effective concentration) efektivna koncentracija**



povzroči specifičen efekt določenega deleža testnih organizmov kot so spremembe v hitrosti dihanja, izguba ravnotežja v času opazovanja

***EC₅₀* srednja efektivna koncentracija**

npr. ***96h EC₅₀ = 0,2 mg/l***

KRONIČNI STRUPENOSTNI TESTI

*Zgodnje razvojne stopnje,
delni ali celotni življenjski cikel*

Kronična strupenost se odraža v spremembah apetita, rasti, metabolizma, reprodukcije in celo smrtnosti ali mutacijah

Namen?

MDK - maksimalna dovoljena koncentracija

NOEC (*no-observed-effect concentration*)

najvišja testirana koncentracija strupa, kjer ne zasledimo škodljivega vpliva na izpostavljene organizme

npr. **21d NOEC = 0,05 mg/l**

$$\text{ACR} = \frac{\text{akutna strupenost}}{\text{kronična strupenost}}$$

STRUPENOSTNI TESTI (glede na izvedbo)

➤ **Statični**

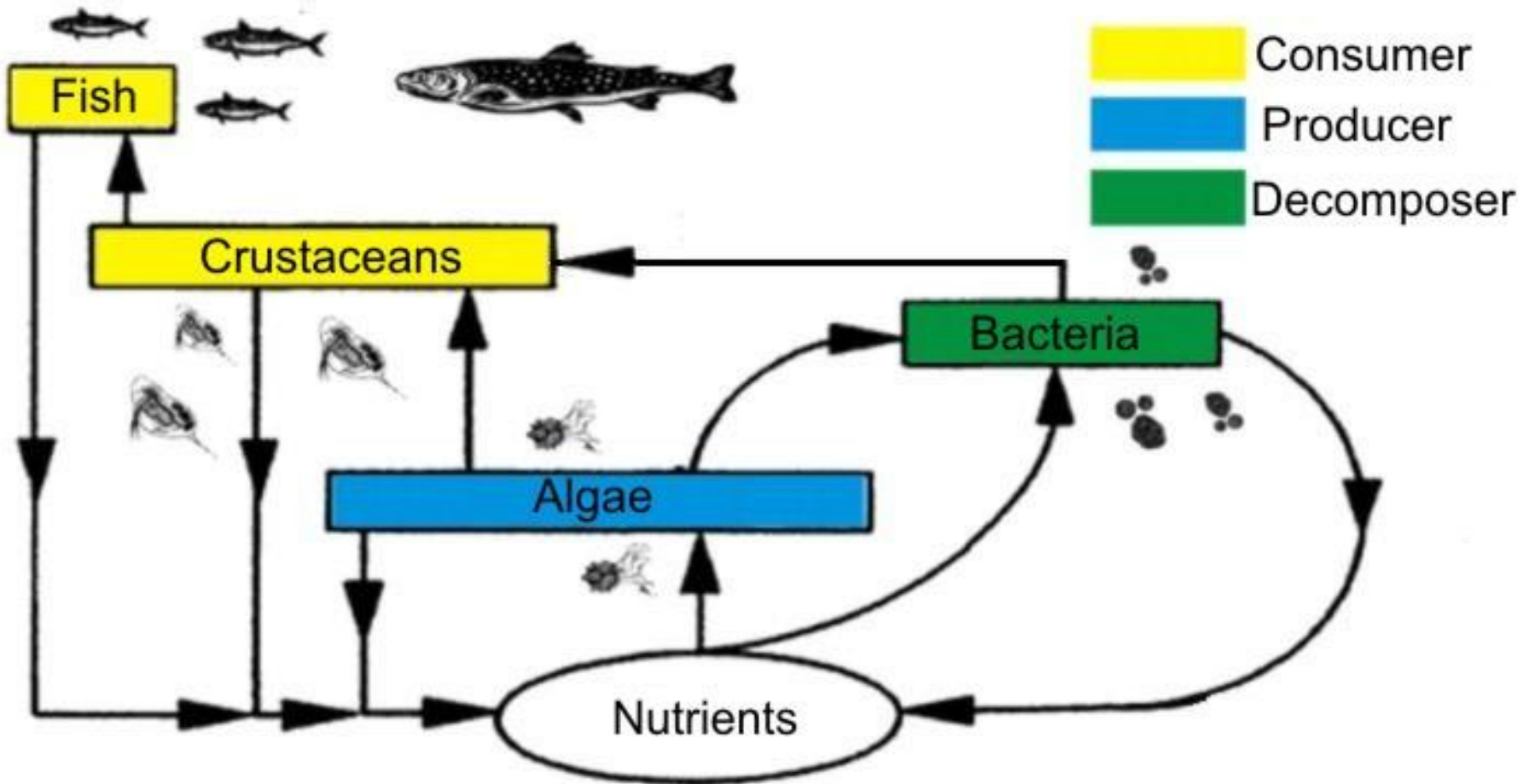


➤ **Obnavljajoči**



➤ **Pretočni**

STRUPENOSTNI TESTI (glede na organizem)



STRUPENOSTNI TESTI

(glede na organizem)

- Razgrajevalci: bakterije

- *Vibrio fischeri*,
- aktivno blato.

- Producenti:

- alge - *Scenedesmus subspicatus*
- višje rastline - *Lemna minor*.

- Porabniki:

- ribe - *Brachydanio rerio*,
- nevretenčarji - *Daphnia magna*, *Artemia salina*.

STRUPENOSTNI TESTI

(izvedba)

- Različne koncentracije vzorca: s **testnim medijem** redčimo (specifičen medij za posamezen testni organizem)
- **Kontrolni test** - s testnim medijem, a brez vzorca
- **Standardni test** - občutljivost testnih organizmov in pravilnost izvedbe

UPORABA STRUPENOSTNIH TESTOV

- kontrola komunalnih in industrijskih odpadnih vod
- kontrola površinskih vod - redno in ob nesrečah (izlitjih)
- notranja kontrola indirektnih izpustov (v obratu)
- ocena učinkovitosti različnih metod čiščenja, izbira čistilnih naprav
- TRE (Toxicity Reduction Evaluation)
- specifični primeri - lokacije tovarn, za ugotavljanje potrebne stopnje čiščenja odpadne vode, da zadostimo zahtevam za izpust v odvodnik
- predpisovanje individualnih dovoljenj za izpuste odpadnih vod
- predpisi - zakonodaja
- sedimenti in zemljišča
- izcedki deponij in izlužki odpadkov
- testiranje kemikalij

VREDNOTENJE STRUPENOSTI

ZA BIOLOŠKO ČISTILNO NAPRAVO

ZA VODOTOK

➤ testi z aktivnim blatom
- organizmi, ki se
nahajajo v čistilnih
napravah

➤ biološka analiza

ekološka metoda:

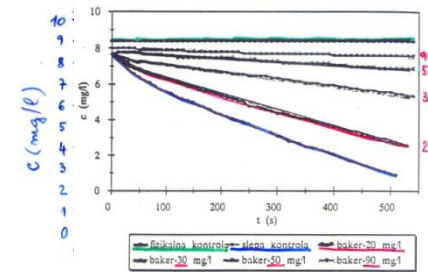
biološka analiza
življenjskih združb

fiziološka metoda:

laboratorijski testi z
vodnimi organizmi

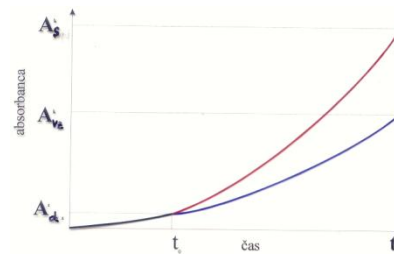
VREDNOTENJE STRUPENOSTI ZA BIOLOŠKO ČISTILNO NAPRAVO

↗ respirometrični test z aktivnim blatom, zaviranje hitrosti porabe kisika

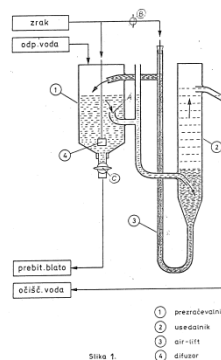


Strupenost bakra

↗ rast mikroorganizmov aktivnega blata



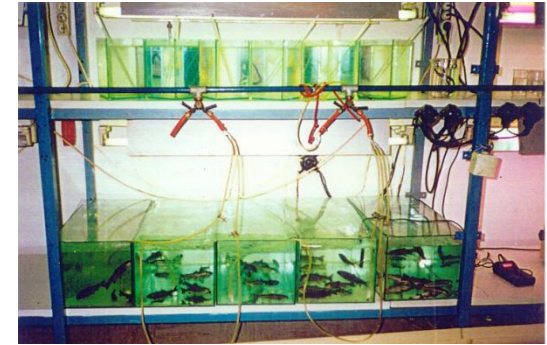
↗ laboratorijska modelna biološka čistilna naprava



Zasledujemo vpliv na učinkovitost čiščenja

VREDNOTENJE STRUPENOSTI ZA VODOTOK

biološka analiza



ekološka metoda:

biološka analiza
življenjskih združb

fiziološka metoda:

laboratorijski testi z
vodnimi organizmi:

bakterije

alge

nižnji raki

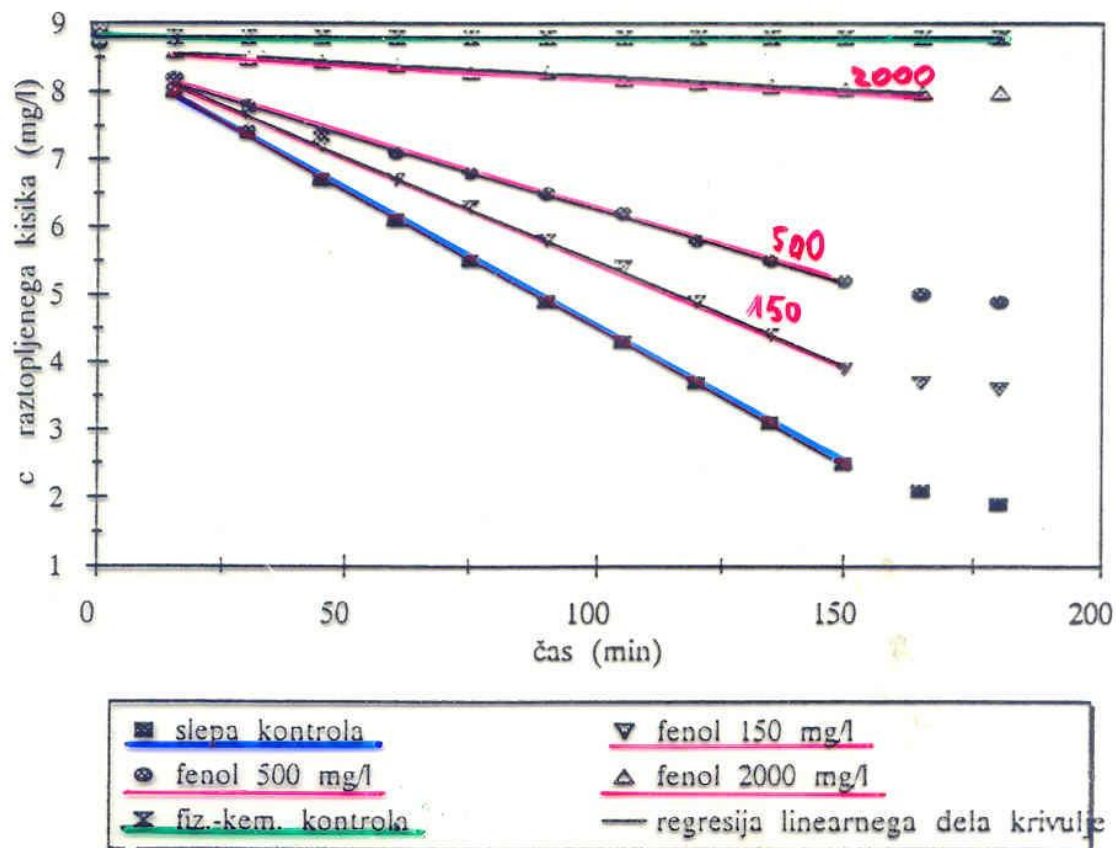
ribe

TESTNI ORGANIZMI

BAKTERIJE	<ul style="list-style-type: none">↗ mešana združba↗ <i>Vibrio fischeri</i> (<i>Photobacterium phosphoreum</i>)↗ <i>Pseudomonas putida</i>
ALGE	<ul style="list-style-type: none">↗ <i>Scenedesmus subspicatus</i>↗ <i>Selenastrum capricornutum</i>
NIŽJI RAKI	<ul style="list-style-type: none">↗ <i>Daphnia magna</i>↗ <i>Daphnia pulex</i>↗ <i>Ceriodaphnia dubia</i>
RIBE	<ul style="list-style-type: none">↗ <i>Oncorhynchus mykiss</i> (šarenka)↗ <i>Brachydanio rerio</i> (zebrica)↗ <i>Cyprinus carpio</i> (krap)↗ <i>Pimephales promelas</i>↗ <i>Salvenius fontinalis</i> (potočna zlatovčica)

STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK

zaviranje hitrosti porabe kisika
- mešana bakterijska združba



Strupenost fenola

STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK

Bakterije *Vibrio fischeri*

Vibrio fischeri

Encimsko katalizirana reakcija nastanka luminiscence

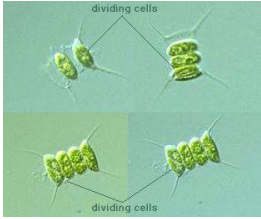


Merimo zaviranje bioluminiscence *Vibrio fischeri*

➤ akutni test: 30min EC_{50}

➤ kronični test: 24h EC_{50}

STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK



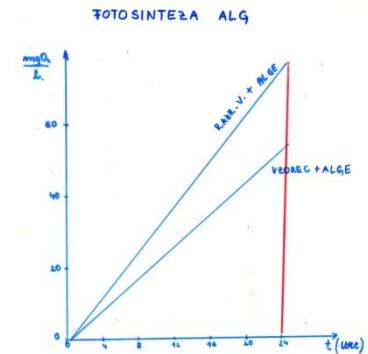
Alge: *Scenedesmus subspicatus*

Selenastrum capricornutum

Merimo zaviranje:

↗ fotosinteze alg: 24h EC_{50}
akutni test

↗ rasti alg: 72h EC_{50}
kronični test



STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK

Lemna minor

- Mala leča je prosto plavajoča vodna rastlina.
- Kontinuirno jo gojimo v laboratoriju.
- Preštejemo liste.

STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK

Lemna minor

- **Prenesemo rastline iz posode za gojenje v testno posodo.**
- **Pripravimo različne koncentracije testne snovi (mg/l ali vol.%).**
- **Damo po 10 listov v vsako testno čašo.**
- **Čaše postavimo pod svetlobo.**

STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK

Lemna minor

Preštujemo zrasle liste po 3 dneh:

Specifična hitrost rasti:

$$\mu_s = (\ln N_{c0} - \ln N_{c1})/n$$

N_{c0} - število listov ob $t=0$

N_{c1} - število listov ob t

n - število dni

μ_c - specifična hitrost rasti za kontrolni test

μ_s - specifična hitrost rasti za vzorec

$$I (\%) = ((\mu_c - \mu_s) / \mu_c) * 100$$

STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK

Nižji raki (vodne bolhe): *Daphnia magna*

- akutni test: nezmožnost gibanja (24h) 48h EC₅₀
- kronični test: reprodukcija 21d NOEC

STRUPENOSTNI TEST ZA VODOTOK

Ribe: *Oncorhynchus mykiss* (šarenka - postrv)

➔ akutni test: smrtnost 96h LC_{50}



➔ kronični test: razvoj ikre v mladico in odraslo ribo, meseci, leta

VREDNOTENJE STRUPENOSTI ZA ZEMLJE

Dva testa:

- Merjenje rasti korenin - akutni test
- Merjenje kaljivosti semen - akutni test

Merjenje rasti korenin - akutni test

- 72 h
- Vzkalimo semena
- Različne koncentracije vzorca, damo v zemljo (1/3 vzorca + 2/3 zemlje), dodamo 10 vzkaljenih semen in po 72 h izmerimo dolžino korenin. Vzoredno delamo kontrolni test.

VREDNOTENJE STRUPENOSTI ZA ZEMLJE

Dva testa:

- Merjenje rasti korenin - akutni test
- Merjenje kaljivosti semen - akutni test

Merjenje kaljivosti semen - akutni test

- xxx h
- Izbira semen - gorčica *Sinapis alba*
- Različne koncentracije vzorca, damo v petrijevko, dodamo 20 semen in po x h izmerimo dolžino korenin. Vzoredno delamo kontrolni test.

VREDNOTENJE STRUPENOSTI ZA ZEMLJE

➔ Merjenje kaljivosti semen - akutni test

gorčica *Sinapis alba*

VREDNOTENJE REZULTATOV STRUPENOSTNIH TESTOV

