

Szent István Egyetem
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet
Környezetvédelmi és Környezetbiztonsági Tanszék

BIOLÓGIAI SZENNYVÍZTISZTÍTÁS HATÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA KOMPLEX TOXIKOLÓGIAI PROFIL ALAPJÁN

Készítette: Orosz Ivett
Ökotoxikológus MSc II. évfolyam

Belső konzulens: Dr. Krifaton Csilla
egyetemi adjunktus

Gödöllő

2014

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék	2
1. Bevezetés	3
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1. A szennyvíztisztítás alapjai	4
2.1.1. Kutatás megalapozása.....	4
2.1.2. Mikroszennyezők a vízi környezetben	5
2.1.3. Szennyvíztisztítás módjai	7
2.2. Biológiai szennyvíztisztítás	7
2.2.1. A növényi gyökerek alkalmazása	10
2.2.2. A biofilm alkalmazásának előnyei.....	10
2.3. Az Organica Technológiák Zrt.	11
2.3.1. Organica Food Chain Reactor (FCR)	11
2.3.2. Az Organica BIOREM project	12
2.3.3. A telki és a gödöllői szennyvíztisztító telep ismertetése	12
2.4. Toxikológia és ökotoxikológia	13
2.4.1. <i>Aliivibrio fischeri</i> általános bemutatása.....	14
2.4.2. Genotoxikus hatás vizsgálatának jelentősége	14
2.4.3. A hormonhatás vizsgálati módszerei	15
3. Anyag és módszer.....	16
3.1. Mintavételezés	16
3.2. <i>Aliivibrio fischeri</i> biolumineszcenzia-gátlás teszt	16
3.3. SOS-Chromo genotoxicitás teszt.....	18
3.4. BLYES/ BLYAS hormonhatás elemző tesztrendszer	19
4. Eredmények és értékelésük	22
4.1. Az FCR szennyvízminták értékelése.....	22
4.2. A BIOREM szennyvízminták értékelése.....	26
5. Következtetések, javaslatok.....	29
6. Összefoglalás.....	30
7. Köszönetnyilvánítás	31
8. Irodalomjegyzék	32
9. Mellékletek	35
1. melléklet	35
2. melléklet	35

1. Bevezetés

Napjainkban a világ rohamosan növekvő népessége miatt fokozott igény támadt a tisztított víz újrafelhasználására, a talajvíz visszapótlására. A vízi ökoszisztémák védelme mellett fontos a megfelelő vízminőség a halászat, a horgászat, a hajózás, valamint a vízi sportok esetében is.

A szennyvíztisztítás célja a krónikus vagy akut toxicitást okozó vegyületek, haloform vegyületek, vagy prekursorai, vagy más szennyező szerves anyagok természetes élővízbe kikerülésének megakadályozása, ezzel párhuzamosan pedig a jogszabályokban előírt minőségű, a szabályoknak megfelelő tisztított szennyvíz kibocsátása a természetes befogadóba, azaz a vízi élet problémamentessé tétele (KÁRPÁTI & VERMES, 2011).

Az egyre szigorúbb környezet- és természetvédelmi előírások hatására előtérbe kerültek a természet közeli szennyvíztisztítási eljárások. Ezeket a még hatékonyabb tisztítás érdekében gyakran alkalmazzák kombinációban, ilyen technológiát fejlesztett ki az Organica Technológiák Zrt. is, az ún. „Élőgép” tisztítási rendszert. Ennek a technológiának az alapja a növények gyökérzetében kialakuló biológiai sokféleség lehetőségének maximális kihasználása.

Dolgozatomban az Organica Food Chain Reactor (FCR) rendszer reaktoraiból, valamint a BIOREM rendszerből és a befolyó szennyvízből vett mintákat vizsgáltam háromféle pro és eukarióta tesztrendszerrel, amelyek a következők voltak:

- A citotoxicitás tekintetében a vízi szervezetekre kifejtett hatást az *Aliivibrio fischeri* tesztorganizmenként figyeltük.
- A genotoxicitás kimutatására az SOS javító mechanizmuson alapuló SOS Chromo tesztet végeztük el.
- Az endokrin rendszert zavaró anyagok kimutatását a *Saccharomyces cerevisiae* genetikailag módosított törzseivel vizsgáltuk, amelyek működésének alapja a genomba integrált humán ösztrogén/androgén receptor.

Célunk a befolyó szennyvízminták káros biológiai hatásának kimutatása volt, valamint az Organica rendszer hatékonyságának felmérése az egyes tisztítási lépcsőkön előre haladva.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A szennyvíztisztítás alapjai

2.1.1. Kutatás megalapozása

Kommunális szennyvizek esetében a vízszennyezések megelőzése érdekében hatóságilag határértékeket írnak elő a szennyvíz lebegőanyag tartalmára, biokémiai oxigénigényére, illetve a növényi tápanyagokra, a foszforra, és a nitrogénre. Ha a cél a víz minőségének védelmében túlmutat (pl.: víz újrafelhasználás, ivóvízellátás), akkor lényegesen több szennyezőanyaggal és vegyi anyaggal szemben állítanak fel követelményeket (JOBBÁGY, 1989).

2007-ben lépett érvénybe a 1907/2006/EK REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) rendelet, amely a vegyi anyagok regisztrálásáról, értékeléséről, engedélyezéséről és korlátozásáról szól. Ennek értelmében a toxikológiai teszteknek az anyagok teljes életciklusát végig kell követniük, a laboratóriumtól egészen a végtermékig (CARMEL, 2007). A rendelet által szabályozott vegyi anyagok fizikai-kémiai jellemzésére, humán egészségkockázatára, ökotoxikológiai hatására, degradációjára és a környezetben történő akkumulációjára szabványosított vizsgálati módszereket a nemzetközileg elfogadott OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development), EC (European Economic Community) és ISO (International Organisation for Standardization) által standardizált tesztek tartalmazzák.

Tágabb értelmezésben a toxicitás azt jelenti, hogy egy anyag káros hatással van egy biológiai szervezetre. A citotoxikus anyagok a sejtek életfunkcióit gátolják (TÖRÖK, 2005). A mutagén tesztekkel a vizsgált anyag hatására bekövetkező sejt szinten öröklődő DNS változásokat mutathatjuk ki, a karcinogenitás tesztekkel a vizsgált anyag rosszindulatú daganat keltő hatását, a teratogenitási tesztekkel pedig az utódokban megjelent fejlődési rendellenességeket vizsgálják (GRUIZ et al., 2001).

2.1.2. Mikroszennyezők a vízi környezetben

Hormonháztartást megzavaró vegyületek (EDC):

Az ED hatású vegyületek képesek az endogén természetes hormonok hatását utánozni vagy antagonizálni, megváltoztathatják a természetes hormonok szintézisének és metabolizmusának folyamatát, vagy módosíthatják a hormonok hatását receptor szinten (SONNENSCHNEIN & SOTO 1998). A vízi környezetben megtalálható ED vegyületek legfőbb forrásai a szennyvíztisztítók kifolyó vize, a mezőgazdasági területekről, utakról, településekről való elfolyás, valamint a vizekbe történő közvetlen kibocsátás (BURKHARDT-HOLM, 2010). Az ED hatással rendelkező vegyületek kémiaiailag nagyon sokfélék lehetnek. Az ED vegyületek között megtalálhatóak (BYRNE et al., 2009; MARKEY et al., 2003):

- Természetes hormonok és metabolitjaik (pl.: 17β -ösztradiol (E2), ösztriol (E3) és öszttron (E1))
- Mesterséges hormonok (pl.: dietilsztilbösztrol, 17α -etinilösztadiol)
- Fito- és mikoösztrogének (pl.: izoflavonok, lignánok, sztilbének, zearalenon)
- Gyógyszerek hatóanyaga hormonális mellékhatásokkal (pl.: klorofibrát, amiodaron-hidroklorid)
- Ipari és háztartási vegyszerek (poliklórozott bifénilek (PCB), égésgátló anyagok, festékek, lágyítószerke (pl. biszfenol-A, ftalátok, alkilfenol-etoxilát detergensek, UVszűrők)
- Növényvédő szerek és metabolitjaik (pl.: DDT, metoxiklór, kepone, dieldrin, Lindan, endoszulfán, toxafén)
- Ipari és háztartási folyamatok melléktermékei (pl.: policiklikus aromás szénhidrogének (PAH), dioxinok)
- Fémek és fémtartalmú vegyületek (pl.: kadmium, ólom)

Az emberi szervezetből távozó nemi hormonok jelentős mértékben hozzájárulhatnak a szennyvizek ösztrogén, illetve androgén terheléséhez. Egy terhes nő például átlagosan 259 μg E2, 600 μg E1 és 6000 μg E3 vegyületet választ ki naponta (JOHNSON et al., 2000). A férfiak szervezetéből naponta 56,65 μg tesztoszteron (T), 14,1 μg dihidrotesztoszteron (DHT) és 3340 μg androszteron távozik (LIU et al., 2009). JOHNSON és munkatársai (2005) az E2, E1 és EE2 jelenlétét vizsgálták Norvégiában, Svédországban, Finnországban, Hollandiában, Belgiumban, Németországban, Franciaországban és Svájcban, összesen 17 szennyvíztisztító kifolyó vizében. Az

E2 0,61–3 ng/L, az E1 0,2–35 ng/L, míg az EE2 0,8–2,8 ng/L koncentrációban fordult elő. A természetes androgének közül leggyakrabban a T-t és az androszténdiont (ADD) mutatják ki szennyvíztisztítókból (STRECK, 2009), pl.: az USA-ban a T átlagosan 116 ng/L koncentrációban volt detektálható (KOLPIN et al., 2002), míg Kínában az ADD 4,8–12 ng/L koncentrációban volt jelen kifolyó szennyvízben.

A jelentős mértékű ipari előállításuk és ipari, illetve háztartási felhasználásuk következtében alkilfenol-etoxilátok, ftalátok, fenolok, valamint UV szűrők is bekerülhetnek a felszíni vizekbe. Pl. az ösztrogén hatású benzil-butil-ftalát átlagosan 0,31 ng/L koncentrációban fordult elő 17 ausztriai szennyvíztisztító kifolyó vizében (CLARA et al., 2010). A szintén ösztrogén hatású biszfenol-A jelenlétét több ország felszíni vizében is kimutatták. A legnagyobb koncentrációban Hollandiában (21 µg/L), Japánban (19 µg/L) és az USA-ban (12 µg/L) fordult elő (BELFROID et al., 2002; CRAIN et al., 2007; KOLPIN et al., 2002). Az ösztrogén aktivitással jellemezhető nonilfenol Svájc, Kanada, Olaszország folyóvízeiben 0,01-158 µg/L koncentrációban volt kimutatható (AHEL et al., 1994; BENNIE et al., 1997; DAVI & GNUDI 1999). Az UV szűrők közül egy svájci szennyvíztisztító kifolyó vizében a benzofenon-3 (300 ng/L), a 4-metilbenzilidén kámfor (2700 ng/L), a metoxifahéjsav-oktilészter (100 ng/L) és az oktokrilén (300 ng/L) fordult elő (BALMER et al., 2005). Ezen UV szűrők több különböző hormonhatással is jellemezhetőek (KUNZ & FENT 2006).

Genotoxikus vegyületek:

A genotoxikus vegyületek a DNS-ben tárolt genetikai információt károsítják, ezáltal az örökölt tulajdonságok megváltozását idézhetik elő, valamint e vegyületek a genetikai károsodást kijavító rendszereket is gátolhatják (REIFFERSCHIED et al., 2011).

A genotoxikus vegyületek komplex környezeti mátrixokban való előfordulását már az 1970-es évek óta vizsgálják (WHITE, 2004). KATAOKA és munkatársai (2000) 3 mutagén heterociklusos amint mutattak ki a Duna bécsi szakaszából. WANG és munkatársai (2009) PAH, PCB és szerves klórozott peszticidek jelenlétét vizsgálták Kínában. A PAH-ok (főként fenantrén, pirén, fluorantén és krizén) koncentrációja 13,8-97,2 ng/L, a PCB-k koncentrációja 0,08-0,51 ng/L, míg a peszticidek koncentrációja 2,33-3,60 ng/L között változott a vizsgált vízgyűjtő területén. Egy Japán folyó vizsgálata során a poliklórozott dibenzo-dioxinok és dibenzo-furánok össz koncentrációja 12-170 pg/L között alakult (KISHIDA, 2013). Potenciális mutagén és rákkeltő nitrózaminokat mutattak ki svájci szennyvíztisztító elfolyó vizében 5-25 ng/L koncentrációban (KRAUSS et al., 2009).

2.1.3. Szennyvíztisztítás módjai

A szennyvíztisztítás célja, hogy öntisztuló képességének határán belül a befogadó vizét a szennyvízben lévő szennyezőanyagok hatásától esztétikáját, összetételét és a vízi életet fenntartó állapotát megóvja.

A tisztítás hatékonyságát a befogadó viszonyai és a szennyvíz mennyisége, gazdasági szempontok, valamint tisztítási határértékek határozzák meg. A tisztított szennyvizek minősége és az alkalmazandó szennyvíztisztítási hatásfok hatóságilag szabályozott (JOBBÁGY, 1989).

A szennyvíztisztítási eljárásokat három fő csoportba: mechanikai, biológiai és fizikai-kémiai.

- Mechanikai tisztítás: Célja a szennyvíz biológiai tisztításra való előkészítése. Először durva, majd finom rácson vezetik át a szennyvizet a durvább szennyeződések eltávolítása és a lebegő anyagok kivonása érdekében. A felszínen úszó olajat és zsírt az ülepítéskor zsírfogókkal távolítják el. Végül a derítés során vegyszerekkel további szennyeződések leülepítését végzik.
- Biológiai tisztítás: A tisztítás biológiai folyamatok révén történik, a szennyvíz oldott és kolloidális szerves anyagai eltávolítását bakteriális szervezetek sokasága végzi aerob körülmények között. Ezek az aerob mikroorganizmusok a szerves vegyületeket oxidatív úton bontják le enzim rendszerükkel, s az eközben felszabaduló energiát saját életműködéseikhez használják fel.
- Fizikai-kémiai tisztítás: Célja a biológiai tisztítás során létrejött sók, illetve a szennyvízben még mindig megtalálható mikroszennyezők és tápelemek (nitrogén, foszfor) eltávolítása. A foszfort például derítéssel és kicsapással lehet eltávolítani. Ellenkező esetben a befogadóba bejutva alga túlburjánzást okozhatnak (KERÉNYI, 1995).

Ezeket egymás után alkalmazva alakíthatjuk át a szennyvizet oly módon, hogy az a természetbe kijuttatható vagy akár újra felhasználható legyen.

2.2. Biológiai szennyvíztisztítás

A mechanikai szennyvíztisztítás után a szennyvízben maradt oldott és lebegő szennyezőanyagok lebontására a következő biológiai tisztító módszereket lehet alkalmazni:

- Csepegtetőtestes szennyvíztisztítás
- Stabilizációs tavas szennyvíztisztítás
- Elárasztott, rögzített-ágyas szennyvíztisztítás
- Eleveniszapos szennyvíztisztítás
- Élőgépes tisztítás

Csepegtetőtestes szennyvíztisztítás: A csepegtetőtestek segítségével a szennyvíz szervesanyag-tartalmán kívül a biológiai iszap lebontása is lehetséges, végtermékként humusz jellegű, nem rothadóképes, szemcsés szerkezetű anyag távozik (SZLOVENCsÁK, 1981).

Stabilizációs tavas szennyvíztisztítás: Ennél a módszernél a biológiai lebontás tervszerűen leszűkített térben történik. Ennek a folyamatnak a hatékonyságába a tér korlátozásán és a hőmérséklet szabályozásán kívül más eljárással (pl.: keverés, levegőztetés) nem avatkoznak be. Stabilizációs tavak lehetnek: aerob, fakultatív, és anaerob tavak (BENEDEK-VALLÓ, 1976).

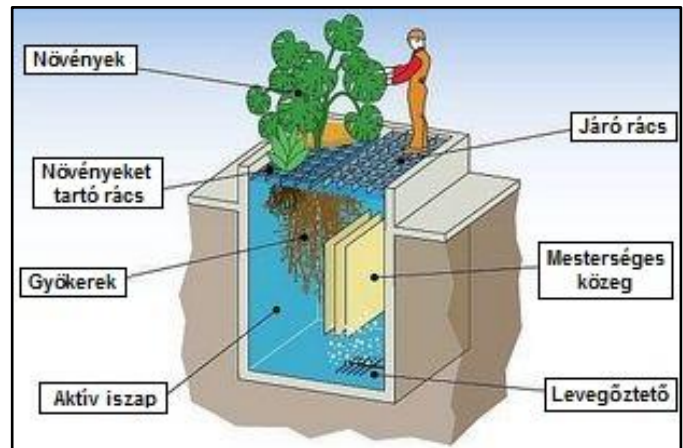
Elárasztott, rögzített-ágyas szennyvíztisztítás: A helymegtakarításra és az üzemeltetés egyszerűségére való törekvés miatt egyre gyakrabban alkalmazzák a biofilmes eljárásokat, vagy az ún. „rögzített-ágyas reaktorokat” a szennyvíztisztítás során (BISHOP-KINNER, 1986). Ennél az eljárásnál a tisztítás döntően a biofilm tevékenységének eredménye, melynek nagy előnye a kicsi helyigénye, az alacsony üzemeltetési költsége, valamint a nagy terhelésekkel szembeni rugalmassága (KÁRPÁTI, 2002).

Eleveniszapos szennyvíztisztítás: Ennél az eljárásnál a lebontást végző kevert mikroorganizmusok a pelyhes szerkezetű iszapban, az ún. „eleveniszapban” helyezkednek el. A levegőztető medencében történik a baktériumtömeg és a tisztítandó szennyvíz érintkezése, az aerob lebontási folyamatokhoz szükséges oxigént mesterségesen, ún. levegőztető berendezésekkel juttatják be a rendszerbe (SZLOVENCsÁK, 1981). A levegőztetés ellátja az eleveniszapot oxigénnel, a víz és baktériumtömeg folytonos átkeverésével hozzájárul az oxigén és az eleveniszap homogén eloszlásához. (JOBBÁGY, 1989).

Élőgépes tisztítás: Ennek a technológiának az alapja a növények gyökérzetében kialakuló biológiai sokféleség lehetőségének maximális kihasználása. A biológiai tisztítási folyamatok felgyorsításával az Élőgép egyesíti a hagyományos eleveniszapos eljárásoknál használt levegőztetett reaktorokat és a gyökérzónában kialakuló több mint 3000 fajból álló ökoszisztéma előnyeit. A technológiai sor a szennyvíz összetételétől és a tisztítási igénytől függően anaerob előtisztítóval, anoxikus zónával, valamint utótisztítóként levegőztetett biológiai szűrővel egészül ki. A tisztításban a baktériumok mellett zoo-planktonok, algák, csigák, kagylók, halak és különböző növények vesznek részt. A

szennyezőanyagok maximális biológiai lebontását az organizmusok önszerveződő, illetve napenergia-hasznosító képessége teszi lehetővé (HTTP1). Az Élőgép eljárás felépítése sok-cellás, ahol az egyes cellákban különböző életközösség (ökoszisztéma) jön létre a biológiai lebontás előrehaladásával. Az Élőgépben kialakuló változatos ökoszisztémák révén kialakuló stabil és ellenálló rendszer jól tűri a változó szennyvízterhelést (HTTP1).

A levegőztetett tartályok tetején elhelyezett rácstra vannak telepítve a növények, a gyökérzetük biofilmmel meghosszabbítva mélyen nyúlik be a szennyvízbe, így hatalmas felületet és kiváló életteret biztosít a lebontásban részt vevő élőlényeknek (1. ábra). Ez a szagtalan Élőgép mindamellett, hogy hatékonyabb és olcsóbb az eleveniszapos eljárásnál, sokkal esztétikusabb is, mivel külsőre nagyon hasonlít egy üvegházhoz (HTTP1).



1. ábra: Nyitott aerob reaktor sematikus rajza, 2013 (HTTP2)

Magyarországon az Élőgép technológia üvegházban került elhelyezésre, hogy a téli időszakban is tudja biztosítani a növények számára az életfeltételeikhez szükséges optimális 6°C-ot. Mivel a technológia cseppszóródás ellen védett és szagtalan, így nem veszélyezteti a közvetlen mellette tartózkodókat. Az üvegház építési technológiája nagyon költséghatékony és gyors, az épület mindemellett esztétikus is (HTTP1).

Az Élőgép szennyvíztisztító telep beruházási és üzemeltetési költségei sokkal kedvezőbbek a hagyományos eleveniszapos eljáráshoz képest. Ennek a lényegesen alacsonyabb költségnek az okai:

- Kevesebb gépészeti és szabályozó berendezést igényel az önszabályozó és önfenntartó ökológiai rendszer.
- Kis alapterület igényű technológia, könnyen beilleszthető a városi környezetbe.
- Az üvegház a mezőgazdaságban széles körben elterjedt, nagy sorozatban gyártott, rendkívül gazdaságos szerkezet.
- A tisztításban részt vevő növények a gyökereiken keresztül oxigénnel látják el a biofilmen lévő baktériumokat, így a levegőbefúvás energiaigénye alacsonyabb.
- A rendszerben lényegesen kevesebb elszállítandó iszap keletkezik
- Mivel a technológia önszabályozó, így alig igényel emberi beavatkozást, nagyfokú üzembiztonság jellemzi.

- Az eljárás minimális kellemetlen szagkibocsátással jár. (BODNÁR, 2000)

2.2.1. A növényi gyökerek alkalmazása

A mesterséges töltetekhez képest a növényi gyökerek alkalmazása lényegesen több előnnyel jár, így például:

- A növényi gyökerek fajlagos felülete egy-két nagyságrenddel nagyobb.
- A növényi gyökerek nem képesek eltömődni, így az üzembiztonság szintje magas.
- Egyes növényfajok (pl.: mocsári növények) képesek a gyökérzónába oxigént transzportálni, ami tovább növeli a biofilm lebontó aktivitását.
- A növények a biofilm számára táplálékot jelentő szerves savakat választanak ki a gyökereik felszínén. Amikor a szennyvíztisztító telepre nem vagy csak kevés szennyvíz érkezik, akkor a növények ezzel segítik a mikrobák túlélését, ezáltal azok nagyobb számban lesznek jelen a tisztítómű helyreállításakor (KÁRPÁTI & VERMES, 2011).

2.2.2. A biofilm alkalmazásának előnyei

A gyökerek mesterséges meghosszabbításaként alkalmazott biofilmen lévő mikroorganizmusok aktivitása hozzájárul a reaktorokban lebegésben tartott biomassa működéséhez, mely a tisztítási hatásfok növekedését eredményezi. A mikroorganizmusok feltapadnak a hordozó felületére, ahol biológiai hártóanyagot hoznak létre (EHLERS & TURNER, 2012). A biofilmen élő mikroorganizmusok sokkal nagyobb kolóniát alkotnak az eleveniszapos eljárás iszap pelyhecskéivel szemben (KÁRPÁTI & VERMES, 2011).

A biofilmen megjelenhetnek más hosszabb életciklusú, magasabb rendű élőlények (pl.: csillós egysejtűek, férgek, ízeltlábúak) is. Az így kialakult összetett ökoszisztéma a szennyvízben lévő vegyületek szélesebb körét tudja lebontani, így a szennyvíznek alacsonyabb lesz a szervesanyag-tartalma, hatékonyabb lesz a nitrifikáció (WANNER et al. 1988).

Ez a technológia a komplex ökoszisztéma révén a többszintes táplálékláncre épül, tehát a szennyeződések lebontó baktériumot más élőlények elfogyasztják, amelyeket viszont magasabb rendű élőlények tizedelnek meg. Végeredményben ezzel a módszerrel csökken a szennyvíziszap fajlagos hozama, ami lényeges üzemköltség-csökkenést jelent (HTTTP1).

A biofilmes rendszer előnyei:

- A túlterhelt eleveniszapos eljárás kibővítésére alkalmas.
- Alkalmas a híg szennyvizek tisztítására.
- A szerves anyag és a nitrogénformák hatékony eltávolításához járul hozzá a biofilm hordozók fajlagos felületének növelése.

- A rendszerben igen változatos és komplex mikrobiális ökoszisztéma jön létre.

Ez a komplex rendszer hatékonyabb lebontást végez és lényegesen kevesebb iszap képződik (KÁRPÁTI & VERMES, 2011).

2.3. Az Organica Technológiák Zrt.

Az Organica Technológiák Zrt.-t 1998-ban alapította Kenyeres István és Bodnár Attila. Magyarország egyik vezető környezettechnológiai szolgáltatójaként a cég egy már meglévő amerikai ötletet fejlesztett tovább működőképes formába, ez volt az előbbieken már említett Élőgépes tisztítási módszer (GILYÉN, 2007).

A cég központja Budapesten, az ún. „Élőgép” szennyvíztisztító telep pedig szerte a világban megtalálható. Hazánkban összesen tizenkilenc helyszínen létezik, ezek többsége kisebb települések szennyvizét kezeli, találkozhatunk vele többek között Telkiben, Etyeken, Szarvason, ezeken kívül Budapesten is létesítettek már ilyen telepet.

A cég jelentős nemzetközi sikereket is elért, az „Élőgép” a világon jelenleg öt országban működik, összesen 24 telepen (így például a krónikus vízhiánytól szenvedő kínai Sencsenben, a francia Le Lude-ben, a lengyelországi Barzkowicében valamint Ausztriában a hartbergi ökoparkban), és elkezdtek kiépíteni képviselőiket a meglévő sencseni iroda mellett más kínai városokban, Szingapúrban, Indiában és az Egyesült Államokban is (ORGANICA TECHNOLÓGIÁK ZRT., 2009).

Mindezek mellett 2012-ben az Organica újíthatta fel az élőgépes technológiával az 1960-as évek óta működő Dél-pesti Szennyvíztisztító Telepet is.

2.3.1. Organica Food Chain Reactor (FCR)

Az FCR technológia célja, hogy az egymás után kapcsolt reaktorokban létrejövő nagy mennyiségű biomasszát a lehető legnagyobb mértékben helyhez kössük. Az egyes reaktorok tetején növények helyezkednek el, amelyek gyökerei biztosítják a felszínközelbi természetes biofilm növekedéséhez szükséges élőhelyet. A mélyebb részekre polipropilénből készült mesterséges biofilmhordozók (2. ábra) biztosítják a mikroorganizmusok életterét (BENEDEK et al., 2013).

Több ilyen reaktor összekötésével (lásd 1.



2. ábra: Úszó modul és mesterséges biofilmhordozó, 2013 (Organica Technológiák Zrt.)

melléklet), az egyes reaktorokban helyhez kötött biológiai rendszerek egymáshoz képest eltérnek, rövid időn belül az adott reaktorra specializált ökoszisztéma alakul ki.

Ilyen reaktorokat lineáris reaktorkaszkádba szervezve a kaszkád elején lévő reaktorokban jelennek meg a befolyó szennyvíz bontható komponenseinek lebontására specializálódott szervezetek, míg a kaszkád hátsó reaktoraiban az első reaktorokból átfolyó víz utótisztítására alkalmas szervezetek találhatók nagy számban. Ennek a specializációnak köszönhetően állati egysejtűek és magasabb rendű szervezetek (pl.: protozoák, férgek, puhatestűek, ízeltlábúak) jelennek meg a hátsó reaktorokban, illetve a rendszer végén, a már megtisztított vízbe indikátorként halak is telepíthetők.

Ennek a struktúrának a hagyományos eleveniszapos rendszerrel való kombinálásával (az anoxikus és anaerob reaktorok különböző módú kapcsolásával) nagy hatékonyságú, teljes tápanyag-eltávolítás érhető el (HTT1).

2.3.2. Az Organica BIOREM project

Az Organica Technológiák Zrt. a KMOP-1.1.1-09/1-2009-0009 azonosító számú projekt keretein belül az élővizekbe olyan reaktorrendszert hoztak létre, mely egymással kölcsönhatásban álló úszó elemekre telepített (az előző fejezetben már kifejtett) természetes és mesterséges biofilmhordozókkal végzi a környező közeg megtisztítását a biológiailag bontható komponensektől. A rendszer alapjául az élőgépes technológia szolgál.

A fenti elemek nagy mennyiségű biomassza helyhez kötését teszik lehetővé. Megfelelő folytonos áramlás létrehozásával a lebegő fázisban található szervezetek, és az üledékben lévő mikroorganizmusok is részt tudnak venni a biológiai tisztításban. Ezzel az új módszerrel komplex és diverz ökoszisztémát hoznak létre, mely hatékonyabb és stabilabb tisztítást eredményez, így sikeresen el lehet távolítani a szennyező anyagokat az élővizes környezetből (HTT3).

2.3.3. A telki és a gödöllői szennyvíztisztító telep ismertetése

A kb. 2700 főt számláló település, Telki a Zsámbéki-medence keleti szélén fekszik, Budapesttől 18 km-re. A 2004. november 1-jén üzembe helyezett FCR eljárással működő szennyvíztisztító telep (3. ábra) a településtől D-DNY-i irányban található. Befogadóként a Budajenői-patak szolgál.

A településről érkező szennyvíz nagy része kommunális jellegű. További kísérletezések folynak a közeli kórház által



**3. ábra: A Telkiben található reaktorok, 2013
(A szerző saját felvétele)**

gyógyszermaradványokkal terhelt szennyvíz tisztításával kapcsolatban is.

A cég a BIOREM projekt keretein belül létrehozott egy kísérleti szennyvíztisztító tavat (4. ábra) a gödöllői Aranypony Zrt. területén. Az FCR rendszerrel ellentétben a BIOREM csak egy kaszkáddal működik, illetve a befolyó szennyvize sem nyers, hanem a városi szennyvíztisztító telepről érkező kezelt szennyvíz van belevezetve a tóba. Befogadóként a Rákos-patak szolgál.



4. ábra: A gödöllői BIOREM rendszer, 2013 (A szerző saját felvétele)

Vizsgálataim az FCR rendszerből, valamint a BIOREM rendszerből és a befolyó szennyvízből vett minták feldolgozása volt a következő fejezetben kifejtett mikrobiális tesztekkel.

2.4. Toxikológia és ökotoxikológia

A hagyományos ökotoxikológiai tesztek esetében az egyed feletti szerveződési szinteken tanulmányozzuk a környezetbe kikerülő káros anyag hatását; az adott közeg populációit, egyedeit használjuk, tesztorganizmusokat/tesztrendszereket alkalmazunk bioindikációs módszerrel. A toxikológiában a leggyorsabb és legegyszerűbb laboratóriumi tesztek közé soroljuk a mikroszervezeteket alkalmazó tesztek. Az egy fajta alkalmazó laboratóriumi tesztek könnyen elvégezhetőek, kivitelezési költségei alacsonyak, jól reprodukálhatóak (GRUIZ et al., 2001). Bár a magasabb szerveződési szintekre történő következtetés nehézkes, vagy egyáltalán nem lehetséges, ezek a mikrobiális ökotoxikológiai tesztek jól modellezik, hogy milyen hatással van adott szennyező anyag a baktériumok szintjére, amely majd minden ökoszisztéma első, legalacsonyabb szerveződési szintje. A hagyományos ökotoxikológiai tesztek kivül bioreporter rendszerek segítséget nyújthatnak a káros szennyezők kimutatásában. Prokarióta (pl.: *Escherichia coli*) vagy eukarióta (pl.: *Saccharomyces cerevisiae*) sejtekbe riporter géneket inszertálva – pl. luciferáz enzim génje, illetve a *lacZ* gén – elérhető, hogy szenzorként jelezzék a szennyezőanyagok jelenlétét a környezetben (XU et al., 2012). Mindamelllett, hogy ezek a kísérletek ötvözik a mikrobiotesztek előnyeit (pl. költséghatékony és gyors módszerek) nem vetnek fel etikai problémát, hiszen alacsony szerveződési szinteken alkalmaz tesztorganizmusokat; ezek kívül hátrányaik is megegyeznek, miszerint a kapott laboratóriumi eredmények nem reprezentálják pontosan a környezetben

lejátszódó folyamatokat, hiszen egy szennyező anyag másképp jut be (pl. eltérő expozíciós útvonalak) egy mikroorganizmusba, mint magasabb rendű élőlényekbe (CALLOW, 1993).

A további fejezetekben a témához szorosan kapcsolódó bakteriális tesztek bővebben is kifejtem.

2.4.1. *Aliivibrio fischeri* általános bemutatása

Az *Aliivibrio fischeri* mérsékelt és szubtrópusi tengerekben él. Fakultatív anaerob, pálcika alakú baktérium, poláris ostorokkal mozog (5. ábra).

Mivel az *A. fischeri* egy tengeri mikroorganizmus, ezért halofil, tehát a sókoncentráció befolyásolja a szaporodását és fénykibocsátását (MAIDEN, 2004). Fénykibocsátásáért 2 enzim (luciferáz, fotogenáz) a felelős (KOVÁTS et al., 2005), és 5 gén határozza meg, amelyeket a



5. ábra: *Aliivibrio fischeri*, 2013 (HTTP4)

luxR és a *luxI* gén szabályoz. A kibocsátott fény mennyisége függ a baktérium anyagcsere folyamataitól. A biolumineszcencia csak oxigén jelenlétében megy végbe, tehát a fénykibocsátás a szerves anyagok oxidációja során következik be (MAIDEN, 2004). Toxikus közegben az enzimgátlás révén a fénykibocsátás csökken, amely megfelelő fotométerrel mérhető, és arányos a szennyezettség mértékével (KOVÁTS et al., 2005). Szerves szennyező széles körére érzékeny és egyes szerzők kimutatták nehézfémekre mutatott érzékenységet is (VAAJASAARI et al., 1998). Pórusvizek, talajkivonatok és teljes talaj vizes szuszpenziójának vizsgálatára használják előzetes és részletes állapotfelmérésre, kockázatfelmérésre, remediáció követésére, ellenőrzésre és utómonitoringra.

2.4.2. Genotoxikus hatás vizsgálatának jelentősége

A géntoxikológia feladata az emberrel közvetlenül kapcsolatba kerülő anyagok mutagén hatásának felderítése (SZILÁGYI, 2003). Megkülönböztethetünk közvetlen vagy indirekten ható genotoxikus anyagokat. Az indirekten ható genotoxinok esetében a metabolizmus során olyan köztitermék keletkezik, ami képes a DNS-hez kapcsolódni és így az örökítő anyagot károsítani. Azok a tesztszervezetek, amelyek nem rendelkeznek ilyen metabolikus rendszerrel, önmagukban nem képesek az indirekt hatású genotoxikus anyagokat kimutatni. Ebben az esetben szükséges külső forrásból a metabolizmusért felelős enzimeket a teszthez adagolni (pl. mutagén kezelésen átesett patkánymáj-enzimkivonat alkalmazására). Ezzel a módszerrel modellezni lehet a magasabb rendű állatokban lejátszódó metabolizációs folyamatokat. Mivel az indirekt genotoxikus anyagok

így aktivált állapotba kerülnek, az egyszerű és gyors bakteriális tesztekkel következtetni lehet a szennyezőanyagok magasabb rendű szervezetekre gyakorolt hatásaira (AMES et al, 1975).

Az SOS-Chromo teszt során egy mutáns *Escherichia coli* törzset alkalmazunk a mutagenitás kimutatására. A teszt nagy előnye, hogy egy alapfelszereltségű laboratóriumban is könnyen el lehet végezni, az Ames-teszttel ellentétben (AMES et al, 1975).

Szakirodalmi adatok alapján kijelenthető, hogy az SOS-Chromo teszt nagyfokú megbízhatósággal használható az Ames-teszt helyett. LEGAULT és munkatársai (1994) 14 vegyületet vizsgáltak Ames teszttel és SOS-Chromo teszttel. Az SOS-Chromo teszt a kísérlet során 86%-os egyezést mutatott az Ames teszttel. Ezért annak egyszerűbb és gyorsabb alkalmazhatósága miatt a vizsgálataink során az SOS-Chromo tesztet használtuk.

2.4.3. A hormonhatás vizsgálati módszerei

Széles körben alkalmazott módszer a YES (Yeast Estrogen Screen) teszt, mely különböző anyagok ösztrogénhatásának kimutatására alkalmas. A tesztorganizmalként szolgáló *Saccharomyces cerevisiae* genomjába a humán ösztrogén receptort kódoló gént integrálták. A sejt plazmidon kódolt receptor és ösztrogén válasz elemeket tartalmaz. Ezeknek az elemeknek a kapcsolódását követően a *lacZ* gén átíródása aktiválódik. A receptorok aktivitásának méréséhez a klorofenol- β -D-galaktopiranozid (CPRG) szubsztrát szükséges. A CPRG szubsztrátot a képződő β -galaktozidáz enzim hidrolizálja. A sárgából vörösbe átváltó színreakció 540 nm-en kolorimetriásan mérhető (Routledge & Sumpter, 1995).

A hormonhatás kimutatására a szintén élesztő alapú BLYAS/BLYES biorporter rendszer is alkalmazható. Humán ösztrogén/androgén receptor gének segítségével ez a tesztrendszer az androgén és ösztrogén hatást jelzi fénykibocsátás változással, hiszen ebben az esetben a sejt plazmidon kódolt ösztrogén/androgén válasz elemek mellett a biolumineszcenciáért felelős géneket is tartalmaz. Egy kontroll BLYR törzzsel pedig a citotoxicitás mérhető.

Vizsgálataink során ezt az utóbbi tesztrendszert alkalmaztuk az átfogóbb adatok érdekében.

3. Anyag és módszer

3.1. Mintavételezés

A vizsgálataim során használt szennyvízmintákat a telki FCR, és a gödöllői BIOREM rendszerből származtak. A mintavételezés 2013. február 11-től 2013. július 16-ig tartott. A mintákat az FCR rendszer esetében a nyers befolyó szennyvízből, az egyes homogén reaktorokból, és a kifolyó már tisztított vízből vették az Organica Technológiák Zrt. szakemberei; míg a BIOREM rendszer esetében a befolyóból (gödöllői tisztított szennyvíz) vett minta mellett, egy a rendszer által tisztított víznek minősülő (kifolyó) mintát vettek, mivel a tó homogén a folyamatos kevertetésnek köszönhetően.

A mintákat a laborban 4°C-on hűtőszekrényben tároltuk. A tesztek elvégzése előtt a homogén mintákból 50 ml-t lecentrifugáltunk, majd a felülúszót átszűrtük 0,20 µm pórusátmérőjű steril membránszűrőn.

3.2. *Aliivibrio fischeri* biolumineszcenzia-gátlás teszt

Az ISO 11348 szabványsorozatnak megfelelő vizsgálat alkalmazható szennyvízre, vizes extraktumokra, csurgalékvizekre, édesvizekre és sós vagy enyhén sós vízre.

A kísérlethez szükséges *Aliivibrio fischeri* (DSM-7151, NRLLB-11177) baktériumot a Mikroorganizmusok és Sejtkultúrák Német Gyűjteményéből (DSMZ- Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) rendeltük. A fagyasztva szárított (liofilizált) baktériumot rehidratálás után MSZ szabványnak megfelelő tápoldatban szaporítottuk és 4°C-on tartottuk fenn ferde agaron. A kísérlethez szükséges főtenyészet készítése során 50 ml MSZ tápoldatot tartalmazó 250 ml térfogatú Erlenmeyer-lombikba oltottuk át az előtenyészetet úgy, hogy kb. 10 FNU (nefelometriás formazin egység) kezdeti zavarosságot kapjunk. Ezután 21 ± 1 órán át 180 f/min fordulaton és $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk.

A vizsgálat alapelve a baktérium fénykibocsátás-gátlásának meghatározása a tesztminta és a tesztszervezet szuszpenzióinak küvetében való egyesítésével. A hígítási sorok eredményeit korrigálni kell egy korrekciós faktor figyelembe vételével, mely a kontroll minták expozíciós időn belüli intenzitásváltozásának a mértéke. A minta által okozott gátlást azzal a hígítással fejezzük ki, amely a kontroll értékéhez képest 20%, 50% és 80% fénycsökkenést eredményez. Ezeket az értékeket interpoláljuk a hígítási sorozaton belül. A vizsgálat nem igényelt steril körülményeket, de a normál laboratóriumi higiéniai és tisztasági körülményeket biztosítottuk a mérésekhez. A

fénykibocsátás mérését az Azur által kifejlesztett Microtox® vagy a Merck által forgalmazott ToxAlert® luminométerrel mértük.

A vizsgálat menete:

Kb. 10 ml lecentrifugált szennyvízmintát 0,45 µm pórusátmérőjű membránszűrőn átszűrtünk és egy kémcsőbe 0,2 g NaCl-ot mértünk analitikai mérlegen (mivel az *A. fischeri* egy mélytengeri faj, 2%-os NaCl jelenlétében ideálisak a körülmények). A NaCl-ra ráértük a 10 ml mintát és ellenőriztük a pH értékét.

A gép beállítása és küvettákkal való feltöltése után elkészítettük a hígítási sort, majd a fagyasztva tárolt törzssuszpenziót felolvasztottuk vízfürdőben, és hozzáadtunk 500 µl reagens oldatot. A 15 perces inkubációs idő elteltével a törzssuszpenziót átöntöttük a reagenshez, majd 500 µl tesztsuszpenziót pipettáztunk a $15 \pm 1^\circ\text{C}$ -on tárolt küvettákba, 2 párhuzamosban. Az inkubációs idő után bemértük a küvettákat (I_0) és kiegészítettük az oldatot a mintával/ hígított mintával vagy a NaCl oldattal a célnak megfelelően 1 ml végtérfogatra. A 30 perces kontaktidő elteltével a küvettákat újra bemértük.

A koncentráció-hatás függvény minden expozíciós időre meghatározható egy lineáris regressziós analízissel.

Froehner és munkatársai által kidolgozott (2002) egyenlet alapján meghatároztuk a toxikus anyagok által kifejtett gátlást.

$$\text{Gátlás (\%)} = [((K_{tx} - M_{tx}) / K) * 100]$$

K_{tx} : párhuzamos kontroll minták fénykibocsátásának átlagértéke adott kontaktidőnél

M_{tx} : párhuzamos minták fénykibocsátásának átlagértéke adott kontaktidőnél

A párhuzamos minták által mért lumineszcencia gátlási értékek szórása az ISO szabványban meghatározott $\pm 3\%$ esetében fogadható el.

A releváns EC_{50} (50%-os hatást kifejtő koncentráció) értéket vesszük alapul a minták toxicitásának értékelésénél. A végpontként 50%-os hatást kiváltó toxicitási adatok értékelhetőek toxikus egységekben (Toxic Unit = T.U.).

A T.U. a következő képlettel számolható ki: $TU = (1/EC) * 100$.

50%-os gátlás alatt alacsony a toxicitási mérték, a T.U. az 50%-os hatás arányában határozható meg. A legtöményebb minta koncentrációja által okozott gátlás (x) úgy aránylik EC_{50} -hez, mint $x/50$ az 1 T.U.-hoz. A 20%-nál kisebb hatásos érték alatt a mintának nincs toxikus hatása (VENGRIS et al., 2004).

3.3. SOS-Chromo genotoxicitás teszt

A tesztorganizm az *Escherichia coli* K12 vad típusának PQ37 mutáns törzse. A teszt alapja, hogy genotoxikus hatásra az SOS repair mechanizmus aktiválódik. A tesztorganizmusban a β -galaktozidáz strukturgénje, azaz a *lacZ* gén az *sfiA* gén kontrollja alá lett helyezve, összeépítve az SOS operonnal. A DNS javítása során az *sfiA:lacZ* operont a genotoxicitás nagyságának megfelelően többször átírja. Tehát az átírások számának növekedése egyenesen arányos a *lacZ* által kódolt β -galaktozidáz enzim mennyiségével. Normál állapotban egy represszor (gátló) fehérje megakadályozza az *sfiA* gén kifejeződését, ezáltal a *lacZ* gén aktiválódását. Emellett a sejt életképességét is érdemes mérni, amelyet az alkalikus foszfatáz enzim jelenléte mutat.

Megfelelő szubsztrát hozzáadásával ez a két enzim kolorimetriásan mérhető. A β -galaktozidáz szubsztrátja az X-gal (5-bromo-4-kloro-3-indolil- β -D-galaktopiranozid), mely hidrolízis után kék színű terméket eredményez és 620 nm-en mérhető fotométerrel. Az alkalikus foszfatáz enzim szubsztrátja a paranitrofenil foszfát (pNPP), amely sárga színt eredményez és 405 nm-en mérhető. Ezek relatív koncentrációjából lehet következtetni a minta genotoxikus tulajdonságára (LEGAULT et al., 1994).

A tesztben S-9 mix alkalmazásával lehetőség van a genotoxinok metabolikus aktiválással történő vizsgálatára is. Az S-9 mix mutagén kezeléssel kivont patkánymáj-enzimeket tartalmaz, így a magasabb rendű élőlények szervezetében lejátszódó metabolikus folyamatokra is következtethetünk.

A vizsgálat menete

A tesztet a gyártó (Environmental Bio-Detection Products, Kanada) útmutatása szerint hajtottuk végre.

A kísérlet megkezdése előtt a tesztbaktériumot steril körülmények között 10 ml Casiton tápoldatban (2,5 g élesztőkivonat, 2,5 g pepton, 8,5 g NaCl, 1000 cm³ desztillált víz) felszaporítottuk, és 8-12 órán keresztül 37°C-on 170 rpm-en inkubáltuk. A vizsgálat elején ellenőriztük a sejtszuszpenzió sűrűségét 600 nm-en (OD₆₀₀) és beállítottuk a törzsoldat sejtsűrűségét OD₆₀₀=0,05-re. A metabolikus aktivitással történő vizsgálathoz a törzsoldatot szintén OD₆₀₀=0,05-re állítottuk be.

A teszt során két pozitív kontroll alkalmazásával ellenőriztük a teszt megfelelő működését. A 4-nitro-quinoline-oxid (4NQO) a direkt hatású genotoxinokra alkalmazott kontroll, így a kapott teszteredményeket standardizálhattuk. A 2-amino-antracén (2AA) az indirekt genotoxinokra alkalmazott kontroll. Továbbá alkalmaztunk egy hígító oldatot tartalmazó negatív kontrollt és egy

baktériummentes kontrollt is. Az alkalmazott pozitív kontrollokat a microtiter lemezen 1:2-es hígítási sorban vizsgáltuk.

A microtiter lemez megfelelő mélyedéseibe 10 µl-t mértünk 3 párhuzamosban a szennyvízmintákból és a kontrollokból, majd ezekhez 100 µl tesztservezetet adagoltunk. Ezek után a microtiter lemezt két órán keresztül sötétben 37°C-on inkubáltuk. Az inkubációs idő leteltével kiadagoltuk a megfelelő szubsztrátokat 100 µl mennyiséggel és 1,5 órán át 37°C-on tovább inkubáltuk.

Az inkubációs idő leteltével 405 nm és 620 nm hullámhosszon megállapítottuk az abszorbancia mértékét. A kapott eredmények kifejezésére alkalmazható az indukciós faktor (IF), amely a genotoxikus aktivitás kifejezésére szolgál. Az alábbi képlettel határozható meg:

$$IF = (A_{405nk} \cdot A_{620t}) / (A_{405t} \cdot A_{620nk})$$

ahol, A₄₀₅: abszorbancia 405 nm-en (alkalikus foszfatáz)

A₆₂₀: abszorbancia 620 nm-en (β-galaktozidáz)

nk: negatív kontroll

t: adott szerkoncentrációjú tesztelt oldat

Szakirodalmi adatok alapján akkor számít genotoxikusnak a minta, ha az IF értéke nagyobb vagy egyenlő 1,5-tel (LEGAULT et al., 1994).

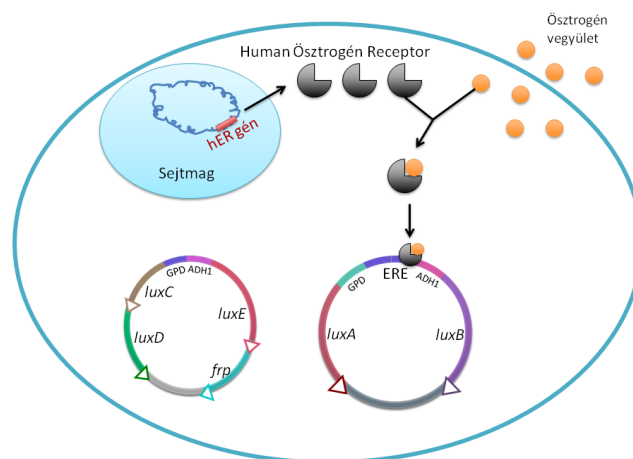
Adott vegyület dózis-hatás (IF) függvényében a lineáris rész meredekségéből állapítjuk meg az indukciós potenciált (SOSIP). Egy korrekciós faktort alkalmazunk az eredmények standardizálásához, mely során a tesztben 4NQO (4-nitro-quinoline-oxid)-ra meghatározott SOSIP értéket hasonlítjuk a szakirodalomban publikált SOSIP=71 értékhez (QUILLARDET et al., 1982).

3.4. BLYES/ BLYAS hormonhatás elemző tesztrendszer

A tesztservezeteket az amerikai Tennessee Egyetem munkatársai fejlesztették ki és hivatalos együttműködési szerződés keretében Gary S. Sayler professzor, a Center for Environmental Biotechnology vezetője bocsátotta a rendelkezésünkre.

A hormonhatású anyagok jelenléte a BLYAS/BLYES tesztrendszerrel kimutatható, amely a *Saccharomyces cerevisiae* biolumineszcens, genetikailag módosított törzseit alkalmazza. Eredeti formájában a faj nem képes biolumineszcenciára, de a *lux* génkazetta sejtbe integrálásával létrehozták a biolumineszcencia alapú BLYES (Bioluminescent Yeast Esrtogen Screen) tesztet. A BLYES teszt esetében a humán ösztrogén receptor génjét (hER-α), a BLYAS teszt esetében pedig a humán androgén receptor génjét integrálták a genomba. Ezeken kívül még két plazmid is szerepet játszik, a pUTK407 és pUTK404, amelyek a bakteriális *lux* géneket kódolja (6. ábra).

A sejtbe került hormonhatású szennyező anyagok kötődnek az ösztrogén/androgén receptorral, így a kialakuló molekula komplex a plazmidon elhelyezkedő humán endokrin szabályozó elemekhez kötődik (ERE). Majd indukálja az élesztő promótereit mögé integrált luciferin (*luxA*, *luxB*) géneket.



6. ábra: A BLYES teszt sematikus ábrája (SANSEVERINO et al., 2005)

Emellett egy kontroll BLYR törzsszel a sejttöxicitást vizsgálhatjuk. Ebbe a törzsvonalba integrálták a fénykibocsátáshoz szükséges *lux* kazettát tartalmazó konstitutív módon átíródó plazmidokat, ezáltal a törzs indukció nélkül is képes fénykibocsátásra. Ha a sejt életfunkcióit gátolja valamilyen citotoxikus anyag, csökken a biolumineszcencia mértéke. Ebből a gátlásból ki lehet számolni a minta toxicitását.

A vizsgálat menete

A tesztek előkészületei során a BLYES, BLYAS, BLYR tesztorganizmeket 250 ml-es Erlenmeyer lombikban 30 ml tápoldatban felszaporítottuk és termosztátban 24 órán keresztül inkubáltuk. A törzssoldatok sejtsűrűségét 600 nm-en $OD_{600} = 1$ -re állítottuk be. (A tápoldat receptje 1 liter desztillált vízhez: 854,5 ml YMM alaplé (lásd 2. melléklet), 10 ml vitamin oldat (lásd 2. melléklet), 100 ml glükóz oldat, 25 ml L-aszparaginsav oldat, 8 ml L-treonin oldat, 2,5 ml $CuSO_4$ oldat).

A vizsgálatokat fehér microtiter lemezekre hajtottuk végre. Pozitív kontrollokként 17β -ösztradiolt valamint 5α -dihidrotesztoszteront alkalmaztunk 1:2-es hígításban 0,1 ppm koncentrációból kiindulva. Két negatív kontroll használata is szükséges volt (1) a hígításhoz használt metanolt és a tesztorganizmeket tartalmazó kontroll, illetve (2) csak a tesztorganizmet tartalmazó kontroll.

További lépésként a microtiter lemez mélyedéseibe adagoltunk 20 μ l-t a mintákból és kontrollokból három párhuzamosban, ezután 200 μ l-kezt adagoltunk a lemezre a tesztorganizmektől a sejtsűrűségük beállítása után. Ellenőriztük a kezdő fénykibocsátást (ViktorX luminométer, PerkinElmer), majd 5 órán keresztül 30°C-on inkubáltuk. Az inkubációs idő letelte után újra ellenőriztük a fénykibocsátást.

Meghatároztunk egy lumineszcencia intenzitási értéket Froehner és munkatársai által kidolgozott (2002), de módosított egyenlet alapján. Az eredeti egyenlet reciprok értékének alkalmazásával nem a biolumineszcencia gátlási, hanem intenzitási értékben adtuk meg százalékos arányban a kontrollhoz viszonyított fénykibocsátás változást.

$$\text{Intenzitási érték (\%)} = [((K_{tx} - M_{tx}) / K) * 100] * (-1)$$

Ktx: párhuzamos kontroll minták fénykibocsátásának átlagértéke adott kontaktidőnél

Mtx: párhuzamos minták fénykibocsátásának átlagértéke adott kontaktidőnél

4. Eredmények és értékelésük

Telkiből, az FCR rendszerből alkalmanként 4 minta érkezett:

- F-inf: nyers befolyó szennyvízből vett minta
- F-2: belső reaktorból vett minta
- F-4: belső reaktorból vett minta
- F-6: a kifolyó kezelt szennyvízből vett minta

A minták érkezéseinek dátumai: 2013.02.11, 2013.03.18, 2013.04.02, 2013.05.07., 2013.05.21., 2013.06.17., 2013.07.16.

Gödöllőről a BIOREM rendszerből 3 alkalommal érkezett 1 minta:

- T: homogén szennyvízminta

A minták érkezéseinek dátumai: 2013.04.23., 2013.05.07., 2013.05.21.

Gödöllőről a BIOREM rendszerből 2 alkalommal érkezett 2 minta:

- T-inf: befolyó kezeletlen szennyvízminta
- T-eff: kifolyó kezelt szennyvízminta

A minták érkezéseinek dátumai: 2013.03.18, 2013.06.04., 2013.06.17, 2013.06.25, 2013.07.02., 2013.07.09., 2013.07.16.

4.1. Az FCR szennyvízminták értékelése

A **február 11-én** Telkiből érkezett minták esetében kijelenthető, hogy az elvégzett ökotoxikológiai tesztek közül a víztoxikológiai modellszervezet, az *Aliivibro fischeri* tesztrendszerre a beérkező szennyvíz toxikus volt, míg a reaktorokon keresztül haladva a minták egyre kevésbé mutattak toxikus hatást. Az SOS-Chromo teszttel elvégzett genotoxikológiai vizsgálatok során a beérkezett minták genotoxikusnak bizonyultak, mivel a tesztrendszernek aktiválódott az SOS repair rendszere. Azonban a BLYES/BLYAS tesztrendszer nem mutatott ki hormonhatást, illetve a BLYR törzzsel végzett vizsgálatok során sem jelentkezett citotoxikus hatás a tesztrendszerre.

A **március 18-án** az FCR rendszer esetében a befolyó szennyvíz *A. fischeri* tesztrendszerre toxikusnak bizonyult, azonban a szennyvíztisztítás további folyamatai során jelentősen csökkent a toxicitás mértéke és a rendszer utolsó reaktorában már nem tapasztaltunk toxikus hatást. A befolyó szennyvízből vett minta esetében az SOS-Chromo teszt genotoxicitást mutatott ki, ami a rendszer további reaktoraiból vett mintáknál is tapasztalható volt. Azonban a szennyvíztisztítás itt is sikeresnek bizonyult, mivel az utolsó reaktorban már nem jelentkezett genotoxikus hatás. A

mintákon a BLYES/BLYAS/BLYR törzsekkel való vizsgálat nem mutatott ki hormon vagy citotoxikus hatást.

Az **április 2-án** érkezett minták enyhe toxicitást mutattak az *A. fischeri* teszt esetében, de a rendszer utolsó reaktorában már nem jelentkezett toxikus hatás, tehát a szennyvíztisztítás sikeresnek bizonyult. Az SOS-Chromo teszttel nem tapasztaltunk genotoxikus hatást. A befolyó szennyvíz esetében a BLYES teszt kis mértékű ösztrogén hatást mutatott ki, ami azonban a további reaktorokban már megszűnt. A BLYAS teszt során egyik minta sem bizonyult androgén hatásúnak illetve a BLYR teszt egyik mintánál sem jelzett citotoxikus hatást.

A **május 7-én** érkezett befolyó szennyvízminta esetében toxicitást tapasztaltunk az *A. fischeri* tesztorganizmummal, azonban a további reaktorokban már nem mértünk toxikus hatást. Egyik esetben sem mutatott ki az SOS-Chromo teszt genotoxikus hatást. A BLYES tesztorganizmumnál a rendszer elején ösztrogén hatású anyagot tapasztaltunk, mivel a teszt során erőteljes fényintenzitás jelentkezett. A többi vizsgálat nem mutatott ki a mintánál genotoxicitást vagy citotoxicitást.

A **május 21-én** érkezett befolyó szennyvíz toxikus volt az *A. fischeri* tesztorganizmumra, viszont a szennyvíztisztító további reaktoraiban nem tapasztaltunk toxicitást. Az SOS-Chromo teszttel sem mértünk genotoxicitást egyik esetben sem. A befolyó szennyvízben nem tapasztaltunk hormon hatást, azonban az F-2-es minta esetében ösztrogén hatást, míg az F-4-es minta esetében enyhe androgén hatást mértünk. A BLYR tesztorganizmum egyik minta esetében sem mutatott ki citotoxicitást.

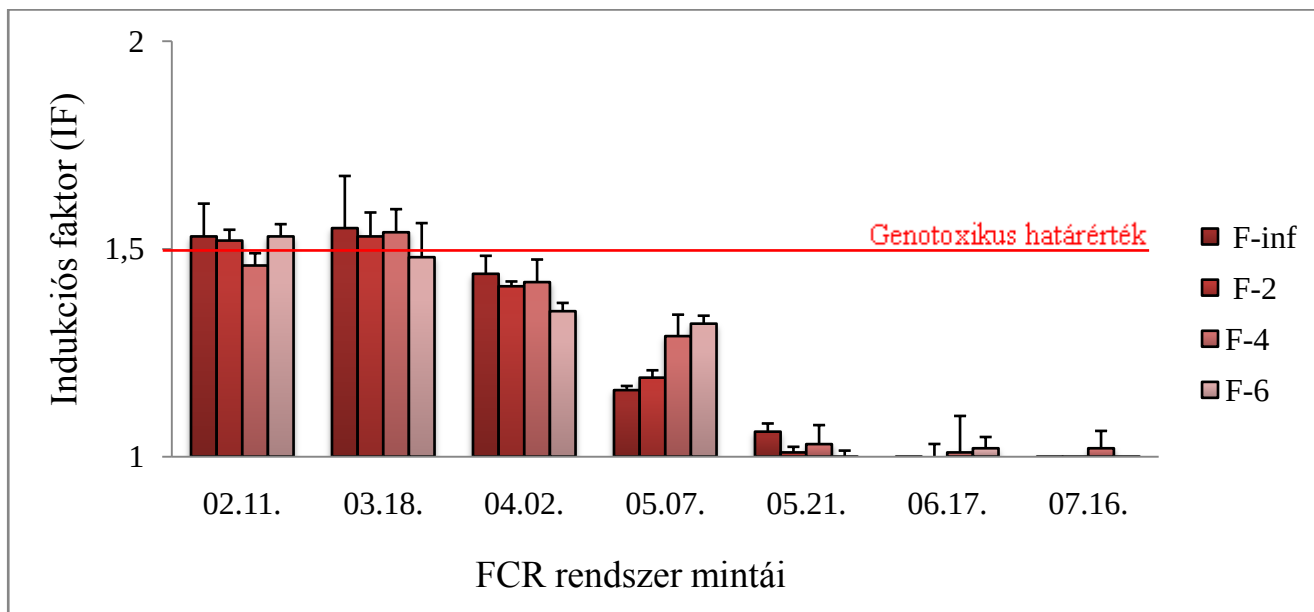
A **június 17-én** érkezett minták nem mutattak ki citotoxikus és genotoxikus hatást egyik tesztorganizmum esetében sem. Csak a BLYR tesztorganizmumnál tapasztaltunk enyhén gátló hatást.

A **július 16-án** érkezett minták közül a befolyó szennyvízminta esetében toxicitást tapasztaltunk az *A. fischeri* tesztorganizmumnál, azonban a rendszer utolsó reaktorában már nem volt mérhető toxikus hatás. Egyik minta sem mutatott ki a többi tesztorganizmummal mérve sem hormonhatást, sem genotoxicitást.

Az *Aliivibrio fischeri* tesztorganizmummal vizsgált citotoxicitás eredményeit a 2. táblázat szemlélteti. A vizsgálati időszak első felében a rendszer mintái toxikusnak bizonyultak. Azonban így is jól látszik a szennyvíztisztítás sikeressége, mivel az egyes mintavételi időpontoknál az utolsó reaktorokban már gyengébb citotoxicitást mértünk. A vizsgálati időszakunk végére már egyik mintánál sem jelentkezett citotoxikus hatás.

A genotoxicitás mérés eredményeit a 9., a hormonhatásmérés eredményeit a 10. ábra mutatja.

A 7. ábrán az SOS-Chromo teszttel kapott összesített eredményeink láthatóak. Összességében elmondható, hogy a vizsgálataink kezdeti periódusában a genotoxicitási értékek a szakirodalombeli 1,5-ös határérték körül mozogtak. A vizsgálatunk végére ezek az értékek jelentősen lecsökkentek az összes szennyvízmintánál, már csak 1,00 körül mozogtak. Tehát a minták nem számítottak genotoxikusnak. Azonban a különbségek a kapott értékek között nem bizonyultak jelentősnek.



7. ábra: Az FCR szennyvízminták genotoxikus vizsgálata SOS-Chromo teszttel, 2013

A 8. ábrán a BLYES/BLYAS/BLYR tesztrendszerrel végzett vizsgálatok összesített eredménye látható. Ennek fényében elmondható, hogy a vizsgálati időszakunk közepén két alkalommal (május 7, május 21) tapasztaltunk erős hormonhatást mindkét teszt esetében. Ebben az esetben a szennyvíz számunkra ismeretlen ok miatt, valószínűleg olyan EDC-t tartalmazott, amely a bomlás során kerül olyan állapotba, hogy nagy affinitással kapcsolódik az ösztrogén receptorhoz, viszont ezen a két mintavételi alkalommal is a hormonhatás megszűnt a kimenő szennyvíznél, tehát a tisztított szennyvízben nem mértünk hormonhatást okozó anyag jelenlétére utaló adatot. A BLYR törzzsel nem mutattunk ki citotoxikus hatást egyik minta esetében sem.

1. táblázat: Az FCR minták citotoxikus vizsgálatának mérési eredményei *Aliivibrio fischeri* tesztszervezettel, 2013:

A. fischeri teszt	2013.02.11				2013.03.18				2013.04.02				2013.05.07				2013.05.21				2013.06.17				2013.07.16			
	F-inf	F-2	F-4	F-6	F-inf	F-2	F-4	F-6	F-inf	F-2	F-4	F-6	F-inf	F-2	F-4	F-6	F-inf	F-2	F-4	F-6	F-inf	F-2	F-4	F-6	F-inf	F-2	F-4	F-6
EC20 (%)	5	29	41	22	24,9	57	62	52	26	79	44	87	15	n.a.	n.a.	n.a.	7	n.a.	n.a.	n.a.	75	56	n.a.	n.a.	5	n.a.	56	n.a.
EC50 (%)	47	140	170	126	90	478	206	1571	132	175	100	418	41	n.a.	n.a.	n.a.	23	n.a.	n.a.	n.a.	2302	300	n.a.	n.a.	10	n.a.	468	n.a.
EC80 (%)	406	672	704	721	326	3990	680	44218	663	383	231	2009	111	n.a.	n.a.	n.a.	73	n.a.	n.a.	n.a.	70641	n.a.	n.a.	n.a.	19	n.a.	3908	n.a.
Toxikus egyenérték (TU)	2,13	0,71	0,59	0,79	1,11	0,2	0,48	0,06	0,75	0,57	1	0,24	2,43	0	0	0	4,35	0	0	0	0,04	0,33	0	0	10	0	0,21	0

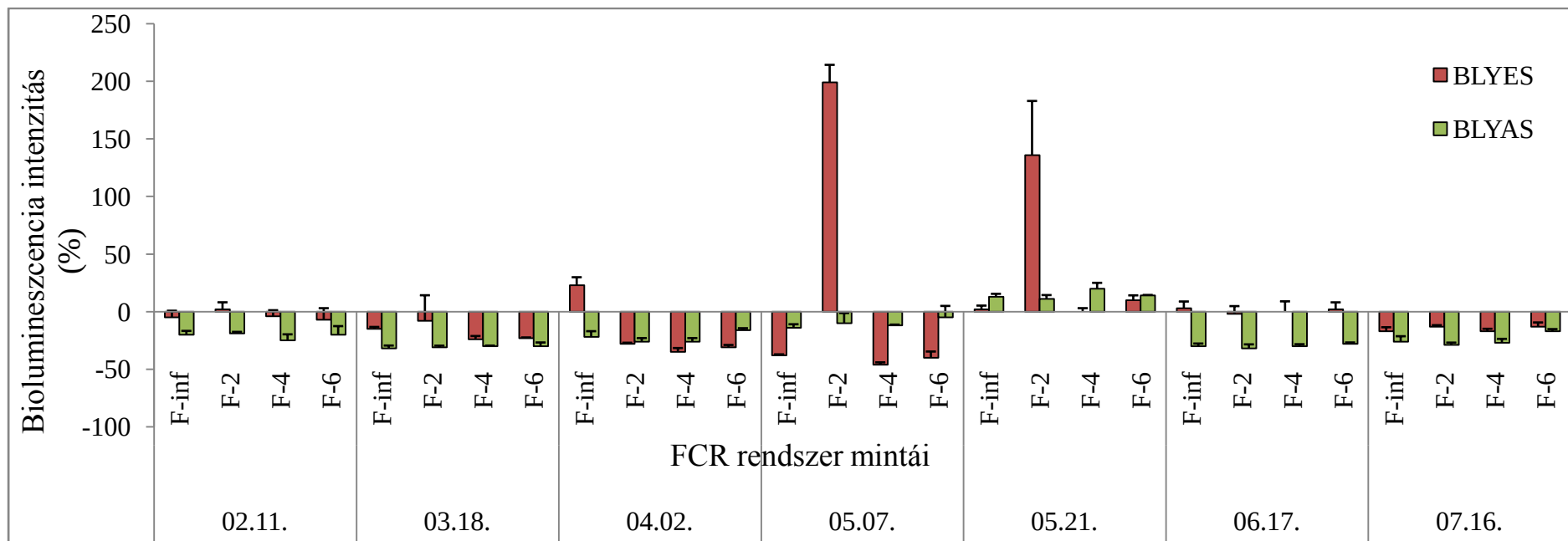
Jelmagyarázat Toxikus Egyenérték (Vengris et al., 2004):

nem toxikus $TU < 0,4$

kissé toxikus $0,4 < TU < 1$

toxikus $1,1 < TU < 10$

nagyon toxikus $10 < TU < 100$



8. ábra: Az FCR szennyvízminták vizsgálata BLYES/BLYAS/BLYR törzzsel, 2013

4.2. A BIOREM szennyvízminták értékelése

A **március 18-án** a Gödöllőről érkezett szennyvízminta esetében a befolyó szennyvíz *A. fischeri* tesztszervezetre toxikusnak bizonyult, azonban a szennyvíztisztítás további folyamatai során jelentősen csökkent a toxicitás mértéke, és a gödöllői rendszer elfolyó vizében már nem tapasztaltunk toxikus hatást. Nem jelentkezett genotoxikus hatás egyik mintánál sem és a BLYES/BLYAS/BLYR törzsekkel való vizsgálat sem mutatott ki hormon vagy citotoxikus hatást.

Az **április 23-án** érkezett minta esetében egyik tesztszervezet sem mutatott érzékenységet, tehát a minta nem bizonyult genotoxikusnak, citotoxikusnak valamint hormonhatást sem tapasztaltunk.

A **május 7-én** érkezett minta esetében csak BLYR teszt esetében mértünk enyhe citotoxikus hatást. A többi vizsgálat nem mutatott ki a mintánál genotoxicitást vagy citotoxicitást.

A **május 21-én** érkezett minta esetében egyik tesztszervezetre nézve sem tapasztaltunk citotoxikus, genotoxikus, és hormonhatást.

A **június 4-én** érkezett befolyó és kifolyó minták nem mutattak citotoxikus és genotoxikus hatást egyik tesztszervezetre sem, viszont enyhe hormonhatást tapasztaltunk mindkét minta esetében.

A **június 17-én** érkezett minták nem mutattak ki citotoxikus és genotoxikus hatást egyik tesztszervezet esetében sem. Csak a BLYR tesztnél tapasztaltunk enyhén gátló hatást.

A **június 24-én** érkezett minták nem voltak toxikus hatással az *A. fischeri* tesztszervezetre. Nem tapasztaltunk genotoxikus hatást sem az SOS-Chromo teszttel. Valamint a BLYES/BLYAS/BLYR tesztrendszerrel sem mutattunk ki hormonhatást, illetve citotoxicitást.

A **július 2-án** érkezett minták szintén nem voltak citotoxikus hatással az *A. fischeri* tesztszervezetre. Genotoxikus hatást sem mértünk az SOS-Chromo teszttel. Valamint hormonhatást és citotoxikus hatást sem tapasztaltunk a BLYES/BLYAS/BLYR törzsszel sem.

A **július 9-én** érkezett minták nem voltak toxikus hatással az *A. fischeri* tesztszervezetre. Nem tapasztaltunk genotoxikus hatást sem az SOS-Chromo teszttel. Valamint a BLYES/BLYAS/BLYR tesztrendszerrel sem mutattunk ki hormonhatást, illetve citotoxicitást.

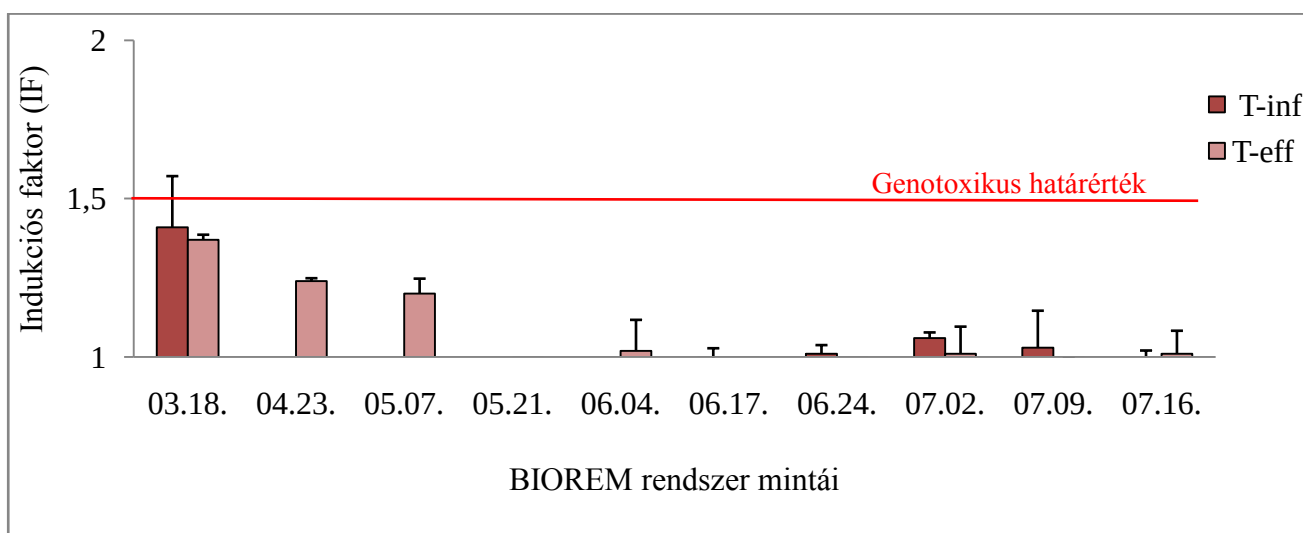
A **július 16-án** érkezett minta befolyó szennyvizében tapasztaltunk enyhe toxicitást az *A. fischeri* tesztszervezetnél, de ez a toxicitás megszűnt a szennyvíztisztítás során. A mintákban nem tapasztaltunk citotoxicitást, genotoxicitást és hormonhatást sem.

A *Aliivibrio fischeri* tesztszervezettel vizsgált citotoxicitás eredményeit a 3. táblázat szemlélteti. A vizsgálati időszak első napján a befolyó szennyvízből vett minta (T-inf) esetében volt

enyhe toxikus hatás kimutatható. A további vizsgálatok során egyik mintánál sem jelentkezett citotoxikus hatás.

A genotoxicitás mérés eredményeit a 9., a hormonhatásmérés eredményeit a 10. ábra mutatja.

A 9. ábrán az SOS-Chromo teszttel kapott összesített eredményeink láthatóak. Három időpontban (04.23., 05.07., 05.21.) az Organica Technológiák Zrt. nem küldött a befolyóból mintát (T-inf), csak a kifolyó szennyvízből (T-eff). Összességében elmondható, hogy a vizsgálati periódusunk elején az értékek a szakirodalombeli 1,5-ös határérték körül mozogtak, mint a telkiből érkezett minták esetében is, majd a későbbi mintavételeknél az értékek jelentősen lecsökkentek, már csak 1,00 körül mozogtak. Mindamellett a vizsgálati periódus alatt egyik esetben sem haladta meg a minták vizsgálati értéke a genotoxikus határt.



9. ábra: A BOREM szennyvízminták genotoxicitás vizsgálata SOS-Chromo teszttel, 2013

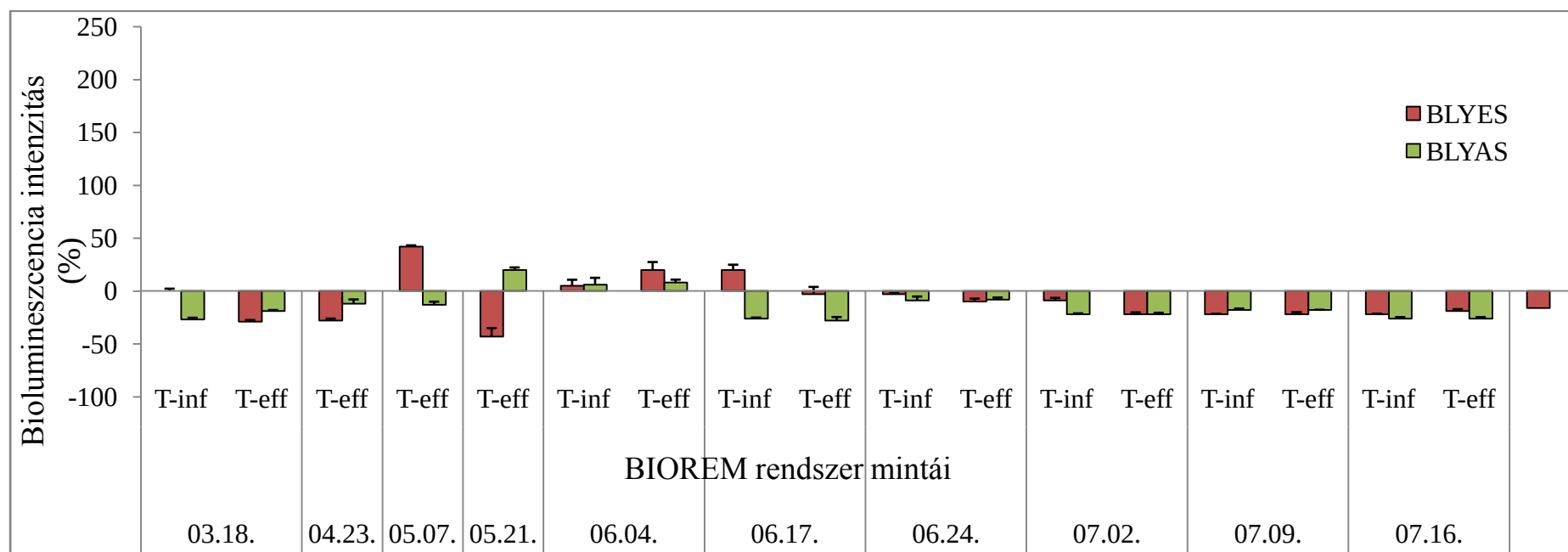
A 10. ábrán a BLYES/BLYAS/BLYR tesztrendszerrel végzett vizsgálatok összesített eredménye látható. Ennek fényében elmondható, hogy a vizsgálati időszakunk elején tapasztaltunk erős hormonhatást, és enyhe citotoxicitást, ami a vizsgálatunk végére megszűnt, tehát kijelenthető, hogy a tisztított szennyvízben hormonhatást okozó szennyező anyag nem maradt.

2. táblázat: A BIOREM minták citotoxikus vizsgálatának mérési eredményei *Aliivibrio fischeri* tesztszervezettel, 2013:

A. <i>fischeri</i> teszt	18.márc		23.ápr	07.máj	21.máj	04.jún		17.jún		24.jún		02.júl		09.júl		16.júl	
	T-inf	T-eff	T-eff	T-eff	T-eff	T-inf	T-eff	T-inf	T-eff	T-inf	T-eff	T-inf	T-eff	T-inf	T-eff	T-inf	T-eff
EC20 (%)	20	42	58	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	116	n.a.	n.a.	n.a.	16	96	29%	n.a.	39	n.a.
EC50 (%)	95	303	298	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1603	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	1109	n.a.	n.a.	185	n.a.
EC80 (%)	448	2171	1534	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	22000	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Toxikus egyenérték	1,05	0,33	0,34	0	0	0	0	0,06	0	0	0	0	0	0	0	0,54	0

Jelmagyarázat: Toxikus Egyenérték (Vengris et al., 2004):

nem toxikus $TU < 0,4$	kissé toxikus $0,4 < TU < 1$	toxikus $1,1 < TU < 10$	nagyon toxikus $10 < TU < 100$
------------------------	------------------------------	-------------------------	--------------------------------



10. ábra: A BIOREM szennyvízminták vizsgálata BLYES/BLYAS/BLYR törzsszel, 2013

5. Következtetések, javaslatok

Eredményeim alapján a két vizsgált rendszer, a Telkiben lévő FCR és a gödöllői BIOREM rendszer kifolyó mintája egyik toxikológiai paraméter tekintetében sem volt kifogásolható; míg az FCR rendszer befolyó még nyers szennyvízmintái valamint meglepő módon a BIOREM rendszer befolyóból vett mintái egyes vizsgálati paraméter tekintetében toxikusnak bizonyultak. Az eredmények részletes értékelésénél érdekes megfigyelés, hogy a detoxifikációs hatékonyság nem mondható lineárisnak az FCR rendszerben az egymást követő reaktorokon keresztül, mivel egyes esetekben valamely káros hatás megjelenését tapasztaltuk a középső reaktorokban (F-2, F-4) (pl. 2013.05.07., 2013.05.21.). Ebben az esetben nagy valószínűséggel a bomlástermékek hatására megjelenő cito/geno/hormonhatásról lehet szó. Ezen eredmények rámutatnak az ökotoxikológiai vizsgálatok fontosságára a szennyvíztisztítók hatékonyságának értékelésénél, így javasolható lenne egyszerű ökotoxikológiai mérések beiktatása a vizsgálati paraméterek közé.

Jelen dolgozat bár nem tárgyalja, de a BIOREM project keretében a bakteriális tesztekkel párhuzamosan akut halatesztekkel, felnőtt (adult) és embrió zebradánió alkalmazásával is értékelték a szennyvízminták toxicitását.. A vizsgálati időszak elején a halateszteknel előforduló mortalitás és teratogenitás a megengedett százaléknál jóval nagyobb mértékben jelentkezett. A vizsgálati időszak végén a kifolyóból érkezett minták egyik halas teszt tekintetében sem voltak kifogásolhatóak. A kezelés időtartama alatt nem volt kimutatható hatás az adult halas teszt során, az embriók esetében pedig nem haladta meg a mortalitás mértéke a protokollban meghatározott szintet.

Vizsgálati eredményeink alapján elmondható, hogy az Élőgépes eljárásnál a komplex mikrobiológiai lebontás hatására a toxikus szennyező komponensek lebomlottak. Azonban a genotoxikus illetve a hormonhatású anyagok eltávolítási hatékonyságának tekintetében további vizsgálatok szükségesek, hiszen ezek csökkenés nem tulajdonítható egyértelműen a mikrobiális aktivitásnak, inkább az évszakos periódus változásával volt észlelhető a csökkenés. Jellemzően nehezebb az ilyen káros hatással rendelkező mikroszennyezők eltávolítása, egyrészt a szennyezők alacsony koncentrációja miatt – nem szabad megfeledkezni viszont arról, hogy már nyomnyi mennyiségben is képesek DNS károsodását okozni vagy az endokrin rendszer működését károsan befolyásolni –, másrészt ezek a mikroszennyezők sok esetben nagyon komplex molekulaszervezettel jellemezhetőek, amelyek megbontására csak néhány mikroorganizmus képes. Javasolható tehát olyan mikroorganizmusok keresése, amelyek hatékonyan képesen akár bonyolult összetételű mikroszennyezőket is szubsztrátként elfogadni. Az ilyen irányú kutatásokat jelen dolgozat ugyan nem tárgyalja, de kutatócsoportunk igen pozitív eredményeket ért el ezen a téren.

6. Összefoglalás

Az egyre szigorúbbá váló környezet- és természetvédelmi szabályozások hatására előtérbe kerültek a természet közeli szennyvíztisztítási eljárások. Ilyen technológiát fejlesztett ki az Organica Technológiák Zrt., amelynek alapja a növények gyökérzetében kialakuló biológiai sokféleség lehetőségének maximális kihasználása.

A vízben oldott szerves és szervetlen anyagok minősége és mennyisége a vízminősítés szempontjából döntő szerepet játszik. Fontos a vízminőség kémiai analitikai vizsgálata különböző komponensekre (pl.: KOI, BOI, ammónia-, nitrit-, nitrát-ion, stb.), amely adatokat értékelve megtudjuk, hogy a víztisztítási technológia követi-e a vízminőségi előírásokat. Azonban ezek az adatok nem mutatják minden esetben a valós állapotot, így szükséges a vízkémiai tesztek kibővítése ökotoxikológiai tesztekkel, valamint biológiai hatást mérő eszközökkel. Dolgozatomban az Organica Food Chain Reactor (FCR) rendszer reaktoraiból, a BIOREM rendszerből és a befolyó szennyvízből vett mintákat vizsgáltam és célunk az új módszerrel történő szennyvíztisztítás hatékonyságának vizsgálata volt egy komplex ökotoxikológiai profil alkalmazásával.

Vizsgálati módszereink során pro és eukarióta tesztorganizmusokat alkalmazva egy többágú értékelési rendszert állítottunk össze. (1) A vízminták citotoxicitásának megállapítására az *Aliivibrio fischeri* lumineszcencia gátlási teszt. A (2) genotoxicitás kimutatására az *E. coli* alapú SOS-Chromo teszt, illetve (3) a hormonhatású anyagok jelenléte a BLYAS/BLYES tesztrendszerrel, amely a *Saccharomyces cerevisiae* biolumineszcens genetikailag módosított törzseit alkalmazza és humán ösztrogén/androgén receptor gének segítségével fénykibocsátás változással jelzi az EDC-k jelenlétét; egy kontroll BLYR törzzsel pedig a citotoxicitást is vizsgálja.

Az eredmények kiértékelése során azt tapasztaltuk, hogy a befolyó nyers szennyvízminták, egyes vizsgálati paraméter (cito-, genotoxikus, androgén/ösztrogén hatás) tekintetében kifogásolhatóak voltak. A szennyvíztisztító kaszkádszisztémán keresztül haladva a mikrobiológiai lebontás hatására ezek a szennyező komponensek lebomlottak.

Vizsgálataink alapján a kifolyó szennyvíz ökotoxikológiai szempontból nem volt kifogásolható, így az Organica FCR és Biorem technológia ökotoxikológiai szempontból sikeresnek mondható, bár genotoxikus és hormonhatás szempontjából további vizsgálatok szükségesek. Mindemellett vizsgálataim felhívják a figyelmet az (öko)toxikológiai tesztek fontosságára a szennyvíztisztítási eljárásban, hiszen, a szennyvíztisztítás során akár káros közti és melléktermékek is megjelenhetnek, amelyek monitoringja a hagyományos vizsgálati paraméterek (KOI, BOI) mellett fontos információval rendelkezik.

7. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindazoknak, akik a dolgozatom megírásában segítséget nyújtottak.

Elsőként köszönettel tartozom konzulensemnek, Dr. Krifaton Csillának az útmutatásáért, támogatásáért, értékes tanácsaiért és végtelen türelméért.

Köszönetet mondok Tóth Imrének és Farkas Jánosnak, az Organica Technológiák Zrt. szakembereinek a szakmai tanácsokért.

Köszönettel tartozom Balázs Adriennek a laborgyakorlat elsajátításában, a dolgozatom megírásában, valamint a szükséges kísérletekben nyújtott segítségéért.

Továbbá szeretném megköszönni a Szent István Egyetem Halgazdálkodási Tanszék munkatársainak, hogy a rendelkezésemre bocsátották az akut haltesztek eredményeit.

Külön köszönet a BLYES/BLYR törzsekért a Tennessee Egyetem kutatóinak (Knoxville, Tennessee).

A projectet a Kutató Kari Kiválósági Támogatás– Research Centre of Excellence- 17586-4/2013/TUDPOL és Organica-Bioem KMOP-1.1.1-09/1-2009-0009 project támogatta.

8. Irodalomjegyzék

- AHEL, M., GIGER, W. & SCHAFFNER, C. (1994): Behavior of alkylphenol polyethoxylate surfactants in the aquatic environment- II. occurrence and transformation in rivers.- *Water Research* 28: pp. 1143-1152.
- AMES, B. N.; MCCANN, J. AND YAMASAKI, E. (1975): Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/ mammalian- microsome mutagenicity test. - *Mutation. Research*, 31: pp. 347-364.
- BALMER, M., BUSER, H.R., MÜLLER, M.D., POIGER, T., (2005): Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. - *Environmental Science and Technology* 39: pp. 953–962.
- BELFROID, A., VAN VELZEN, M., HORST, B. v., VETHAAK, D. (2002): Occurrence of bisphenol A in surface water and uptake in fish: evaluation of field measurements.- *Chemosphere* 49: pp. 97–103.
- BENEDEK P., VALLÓ S. (1976): Vízisztítás- szennyvíztisztítás. Műszaki Kiadó, Budapest, pp. 694
- BENEDEK T., TÁNCICS A., SZILÁGYI N., TÓTH I., FARKAS M., SZOBOSZLAY S., KRIFATON Cs., HARTMAN M., KRISZT B. (2013): Analysis of biofilm bacterial communities responsible for carbon removal through a reactor cascade treating wastewater. - *World Journal of Microbiology and Biotechnology*
- BENNIE, D.T., SULLIVAN, C.A., LEE, H.-B., PEART, T.E., MAGUIRE, R.J. (1997): Occurrence of alkylphenols and alkylphenol mono- and diethoxylates in natural waters of the Laurentian Great Lakes basin and the upper St. Lawrence River. - *The Science of the Total Environment* 193: pp. 263-275.
- BISHOP P. L., KINNER N. E. (1986): Aerobic fixed-film processes. In: REHM M. J.- REED G.: *Biotechnology*, Vol. 8. VCH, Weinheim, pp. 113-176.
- BODNÁR A. (2000): *Organica: a munkára fogott természet- Biokultúra* 1: pp. 17
- BURKHARDT-HOLM, P. (2010): Endocrine disruptors and water quality: A state-of-the-art review. - *Water Resources Development* 26(3): pp. 477-493.
- BYRNE, C., DIVEKAR, S. D., STORCHAN, G. B., PARODI, D. A. & MARTIN, M. B. (2009): Cadmium—a metal hormone? - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), pp. 266–271.
- CALLOW, P. (eds.) (1993): *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell Science Ltd., pp. 487
- CARAMEL L. (2007): A vegyi anyagok Európa célkeresztjében. L'Europe s'attaque à la toxicité des substances chimiques.- *Polgári Szemle* (6)
- CLARA, M., WINDHOFFER, G., HARTL, W., BRAUN, K., SIMON, M., GANS, O., SCHEFFKNECHT, C., CHOVANEC, A. (2010): Occurrence of phthalates in surface runoff, untreated and treated wastewater and fate during wastewater treatment.- *Chemosphere* 78: pp. 1078–1084.
- CRAIN, D. A., ERIKSEN, M., IGUCHI, T., JOBLING, S., LAUFER, H., LEBLANC, G. A., GUILLETTE JR., L. J. (2007): An ecological assessment of bisphenol-A: Evidence from comparative biology. - *Reproductive Toxicology* 24: pp. 225–239.
- EHLERS G. A. C. & TURNER S. J.(2012): *Biofilms in Wastewater Treatment Systems*- In: Lear G. & Lewis G. (eds.). *Microbial Biofilms*, Caister Academic Press, Norfolk, UK, pp. 99-108.
- GILYÉN Á. (2007): Csigatiszta. Szennyvíztisztító mini-ökoszisztéma- Figyelő 21: pp. 70-71.
- GRUIZ K., HORVÁTH B., MOLNÁR M. (2001): *Környezettoxikológia. Vegyi anyagok hatása az ökoszisztémára*, Műegyetem Kiadó, Budapest, pp. 169
- JOBÁGY S. (1989): Vízminőség-szabályozás a keletkező szennyvizek tisztításával.- In: KATONA E. (szerk.): *A vízminőség-szabályozás kézikönyve*. AQUA Kiadó, Budapest, pp. 275-442.

- JOHNSON, A. C., BELFROID, A. & DI CORCIA, A. (2000): Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent.- *Science of the Total Environment*, 256 (2–3), pp. 163–173.
- JOHNSON, A.C., AERNI, H.-R., GERRITSEN, A., GIBERT, M., GIGER, W., HYLLAND, K., JURGENS, M., NAKARI, T., PICKERING, A., SUTER, M.J.-F., SVENSON, A., WETTSTEIN, F.E. (2005): Comparing steroid estrogen, and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices. - *Water Research* 39: pp. 47–58.
- KATAOKA, H., HAYATSU, T., HIETSCH, G., STEINKELLNER, H., NISHIOKA, S., NARIMATSU, S., KNASMULLER, S., HAYATSU, H. (2000): Identification of mutagenic heterocyclic amines IQ, Trp-P-1 and A α C) in the water of the Danube River. - *Mutation Research* 466: pp. 27–35.
- KÁRPÁTI Á., VERMES L. (2011): Vízgazdálkodás- Szennyvíztisztítás.- In: DOMOKOS E. (szerk.). Környezetmérnöki Tudástár, 10. kötet, pp. 251
- KÁRPÁTI Á. (2002): Lakossági szennyvizek aerob tisztítása eleveniszapos és más módszerekkel. Veszprémi Egyetem, Ismeretgyűjtemény, Veszprém, pp. 95
- KERÉNYI A. (1995): Általános környezetvédelem., Mozaik Kiadó, Szeged, pp. 179-183.
- KISHIDA, M. (2013): Distribution characteristics and source identification of polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in the waters from River Kanzaki, running through Osaka urban area, Japan. - *Journal of Environmental Sciences* 25(3) pp. 441–451.
- KOLPIN, D., FURLONG, E., MEYER, M., THURMAN, E. M., ZAUGG, S., BARBER, L., BUXTON, H. (2002): Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance. - *Environmental Science and Technology* 36(6): 1202-1211.
- KOVÁTS N., SZALAY T., KÁRPÁTI Á. (2005): Mikrobiotesztek alkalmazása szennyvizek toxicitásának minősítése során. - *MaSzeSz Hírcsatorna* pp. 9-13.
- KRAUSS, M., LONGRÉE, P., DORUSCH, F., ORT, C., HOLLENDER, J. (2009): Occurrence and removal of N-nitrosamines in wastewater treatment plants. - *Water Research* 43: pp. 4381–4391.
- KUNZ, P.Y., FENT, K. (2006): Multiple hormonal activities of UV filters and comparison of in vivo and in vitro estrogenic activity of ethyl-4-aminobenzoate in fish. - *Aquatic Toxicology* 79: pp. 305–324.
- LEGAULT, R., BLAISE, C., ROKOSH, D. & CHONG-KIT, R. (1994): Comparative Assessment of the SOS Chromotest Kit and the Mutatox Test with the *Salmonella* plate Incorporation (Ames Test) and Fluctuation Test for Screening Genotoxic Agents.- *Environmental Toxicology and Water Quality*, 9 (1) pp. 45-57.
- LIU, Z., KANJO, Y., MIZUTANI, S. (2009): Urinary excretion rates of natural estrogens and androgens from humans, and their occurrence and fate in the environment: A review. - *Science of the Total Environment* 407: pp. 4975-4985.
- MAIDEN, S. (2004): *Vibrio fischeri*. http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2004/V_fischeri.htm
- MARKEY, C. M., RUBIN, B. S., SOTO, A. M. & SONNENSCHNEIN, C. (2003): Endocrine disruptors: from Wingspread to environmental developmental biology.- *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 83(1–5), pp. 235–244.
- ORGANICA TECHNOLÓGIÁK ZRT. (2009): Lakótelepi zöldövezet- Organica Zrt.- Figyelő 2: pp. 44
- QUILLARDET, P., HUISMAN, O., D'ARI, R. & HUFNUNG, M. (1982): SOS Chromotest, a direct assay of induction of SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. - *National Academy of Sciences*, 79: pp. 5971-5975.
- REIFFERSCHIED, G., BUCHINGER, S., CAO, Z., CLAUS, E. (2011): Identification of mutagens in freshwater sediments by the Ames-fluctuation assay using nitroreductase and acetyltransferase overproducing test strains. - *Environmental and Molecular Mutagenesis* 52(5): pp. 397-408.

- ROUTLEDGE, E.J. & Sumpter, J.P. (1995): Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen.- *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15 (3): pp. 241-248.
- SANSEVERINO, J., GUPTA, R.K., LAYTON, A. C., PATTERSON, S. S., RIPP, S. A., SAIDAK L., SIMPSON, M. L., SCHULTZ, T.W., & SAYLER, G. S. (2005): Use of *Saccharomyces cerevisiae* BLYES Expressing Bacterial Bioluminescence for Rapid, Sensitive Detection of Estrogenic Compounds. - *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (8) pp. 4455-4460.
- SONNENSCHNIG, C. & SOTO, A.M. (1998): An Updated Review of Environmental Estrogen and Androgen Mimics and Antagonists. - *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 65(1-6): 143-150.
- STRECK, G. (2009): Chemical and biological analysis of estrogenic, progestagenic and androgenic steroids in the environment. - *Trends in Analytical Chemistry* 28(6)
- SZILÁGYI F. (2003): Mérnökökológia. Budapest Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Építőmérnöki Kar, Vízi Közmű és Környezetmérnöki Tanszék, Budapest, pp. 7-15.
- SZLOVENCZAK I. (1981): Víz- és csatornázási művek gépi berendezéseinek karbantartása. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, pp. 432
- TÖRÖK T. (2005): Víz- és ökotoxikológia. In: DURA GY. (szerk.) (2005): Környezet egészségtani jegyzetek. Fodor József Országos Közegészségügyi Központ Országos Közegészségügyi Intézete, pp. 60-63.
- VAAJASAARI, K., AHTIAINEN J., NAKARI, T., DAHLBO, H. (1998): Hazard assessment of the industrial waste leachability studies: Chemical characterization and biotesting by routine tests. International Symposium on new microbiotests for routine toxicity screening and biomonitoring. Brno, Czech Republic. Book of Abstracts, pp. 10
- VENGRIS, T., BINKIENÈ, R., BUTKIENÈ, R., NIVINSKIENÈ, O., MELVYDAS, V., MANUSADŽIANAS (2004): Microbial degradation of an offset-printing developer. - *Journal of Hazardous Materials B1* 13. pp. 181-187.
- WANG, J., BI, Y., PFISTER, G., HENKELMANN, B., ZHU, K., SCHRAMM, K.-W. (2009): Determination of PAH, PCB, and OCP in water from the Three Gorges Reservoir accumulated by semipermeable membrane devices (SPMD). - *Chemosphere* 75: pp. 1119–1127.
- WANNER J. , KUCMAN K. , & GRAU P. (1988): Activated sludge process combined with biofilm cultivation- *Water Research*, Vol. 22., No. 2., pp. 207-215.
- WHITE, P.A. (2004): The sources and potential hazards of mutagens in complex environmental matrices. - *Mutation Research* 567: pp. 107–108.

Internetes hivatkozások

http1: www.organicawater.hu Letöltve: 2013-09-26

http2: http://infovilag.hu/hir-16164-biologiai_szennyviztisztitot_epitett_sza.html Letöltve: 2013-10-05

http3: <http://otbiorem.hu/> Letöltve: 2013-09-26

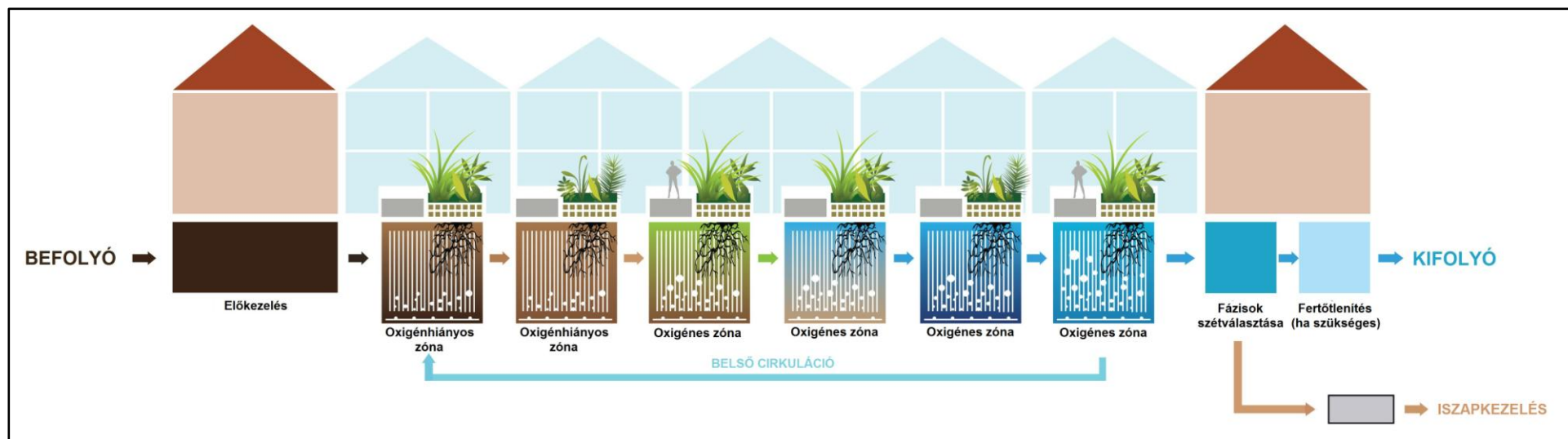
http4: https://encryptedtbn2.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcTD9Rgm2040_96ki5bUG9Jpl4L5wDFhvElFmUIDeCHvzwkS4wG6 Letöltve: 2013-10-31

Egyéb hivatkozások

MSZ EN ISO 11348/1:2000 Vízminőség. Vízminőség gátló hatásának meghatározása a *Vibrio fischeri* fénykibocsátására (Lumineszcensbaktérium-teszt). 1. rész: Vizsgálat frissen előkészített baktériumokkal (ISO 11348/1:1998)

9. Mellékletek

1. melléklet



11. ábra: Az Élőgépes FCR folyamatábrája, 2013 (HTTP1)

2. melléklet

YMM (leu-, ura-): leucin- és uracil szelektív alapmédium, 1 liter desztillált vízhez: 13,61 g KH_2PO_4 , 1,98 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 4,2 g KOH (lemezes), 0,2 g MgSO_4 , 1 ml FeSO_4 oldat (40 mg/50 ml víz), 50 mg L-hisztidin, 50 mg adenin, 20 mg L-arginin-HCl, 30 mg L-metionin, 30 mg L-tirozin, 30 mg L-izoleucin, 30 mg L-lizin-HCl, 25 mg L-fenilalanin, 100 mg L-glutaminsav, 150 mg L-valin, 375 mg L-szerin, 13 g agar

Vitamin oldat: 500 ml desztillált vízhez: 20 mg tiamin, 20 mg piridoxin, 20 mg pantoténsav, 100 mg inozitol, 50 ml biotin oldat (2 mg/100 ml)