

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

XXXII. OTDK

Biológia szekció

HAGYOMÁNYOS ÉS ÉLŐGÉPES SZENNYVÍZTISZTÍTÁS HATÉKONYSÁGÁNAK VIZSGÁLATA KOMPLEX TOXIKOLÓGIAI PROFIL ALAPJÁN

Készítette: Orosz Ivett

Ökotoxikológus MSc II. évfolyam

Belső konzulens: Dr. Krifaton Csilla, Dr. Cserhádi Mátyás
egyetemi adjunktus

Gödöllő

2014

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
1.1. Előzmények	3
1.2. Célkitűzések.....	4
1.3. Irodalmi áttekintés	4
1.3.1. Szennyvíztisztítás módjai.....	4
1.3.2. Biológiai szennyvíztisztítás	6
1.3.3. Organica Food Chain Reactor (FCR)	8
1.4. Toxikológia és ökotoxikológia	9
1.4.1. Mikroszennyezők vízi környezetben káros hatásuk alapján	9
1.4.2. Alkalmazható ökotoxikológiai tesztek.....	10
1.4.3. <i>Aliivibrio fischeri</i> általános bemutatása	11
1.4.4. <i>Pseudomonas fluorescens</i> általános bemutatása	12
1.4.5. Genotoxikus hatás vizsgálatának lehetőségei	12
1.4.6. Hormonhatás vizsgálatának lehetőségei	13
2. Anyag és módszer	14
2.1. Mintavételezés	14
2.2. <i>Aliivibrio fischeri</i> biolumineszcenzia-gátlás teszt.....	15
2.3. <i>Pseudomonas fluorescens</i> növekedés-gátlás teszt	17
2.4. SOS Chromo genotoxicitás teszt	18
2.5. BLYES/ BLYAS hormonhatás elemző tesztrendszer	19
2.6. Vízkémiai vizsgálatok	21
3. Eredmények és értékelésük.....	24
3.1. A telki szennyvíztisztító telep ismertetése.....	24
3.1.1. Az FCR rendszerből érkező szennyvízminták ökotoxikológiai értékelése.....	24
3.1.1. Az FCR rendszerből érkező szennyvízminták vízkémiai eredményeinek értékelése.....	25
3.2. A hatvani szennyvíztisztító telep ismertetése	26
3.2.1. A hatvani szennyvíztisztító telep ökotoxikológiai eredményei	26
3.2.2. A hatvani szennyvíztisztító telep vízkémiai eredményei összehasonlítva az ökotoxikológiai eredményekkel.....	28
3.3. A jászberényi szennyvíztisztító telep ismertetése	29
3.3.1. A jászberényi szennyvíztisztító telep ökotoxikológiai eredményei.....	30
3.3.2. A jászberényi szennyvíztisztító telep vízkémiai eredményei összehasonlítva az ökotoxikológiai eredményekkel.....	31
5. Összefoglaló.....	33

1. Bevezetés

1.1. Előzmények

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 védelmén 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.

Bár a fentebb említett REACH rendelet értelmében a szennyvíztisztítóknak ökotoxikológiai paraméterek alapján is értékelni kellene bizonyos vegyi anyagok kijutását, a szennyvíztisztítók rendszerében a szennyező anyagok olyan komplex összetételt mutatnak, hogy nagyon kevés próbálkozás van a kifolyó vizek komplex értékelésére. Általánosságban a kémiai és biológiai oxigénigény, nitrogén, foszfor, pH, stb. értékek kerülnek szabályozásra. Sajnos a hatóságok az ökotoxikológiai méréseket nem állítják követelményként, így a szennyvíztisztítással foglalkozó szakemberek csak tudományos téren foglalkoznak a problémával, de megvalósításként még nem általános a szennyvíztisztítóból kifolyó víz hatásának értékelése az ökológiai rendszerekre.

Korábbi vizsgálataim során (2013-as Tudományos Diákköri Konferencián bemutatott eredmények) két Organica élőgépes technológiát hasonlítottam össze.

Az Organica Technológiák Zrt. a KMOP-1.1.1-09/1-2009-0009 azonosító számú BIOREM projekt keretein belül az élővizetekbe olyan reaktorrendszert hozott létre, mely egymással kölcsönhatásban álló úszó elemekre telepített természetes és mesterséges biofilm

hordozókkal végzi a környező közeg megtisztítását a biológiailag bontható komponensektől. A rendszer alapjául az élőgépes technológia szolgál. A BIOREM egy kaszkáddal működő élőgépes rendszer, amelyet felszíni vízre telepítettek. A befolyó szennyvize a Gödöllő városi szennyvíztisztító telepről érkező eleveniszapos technológiával kezelt szennyvíz volt (HTTP2).

Vizsgálati módszereink során a helyszíni vizsgálatok mellett (vízkémia) pro és eukarióta tesztorganizmusokat alkalmazva egy komplex értékelési rendszert állítottunk össze. A citotoxicitás tekintetében a vízi szervezetekre kifejtett hatást az *Aliivibrio fischeri* tesztorganizmra figyeltük, míg a talajbaktériumokra kifejtett hatást a *Pseudomonas fluorescens* növekedés-gátlás teszttel modelleztük. A genotoxicitás kimutatására az SOS javító mechanizmuson alapuló SOS-Chromotestet végeztük el. Az endokrin rendszert zavaróanyagok kimutatását a *Saccharomyces cerevisiae* genetikailag módosított törzseivel vizsgáltuk, amelyek működésének alapja a genomba integrált humán ösztrogén/androgén receptor.

Eredményeink alapján a BIOREM rendszer befolyóból vett mintái valamelyik vizsgált komponens tekintetében toxikusnak bizonyultak. Ez hívta fel figyelmünket arra, hogy egy hagyományos szennyvíztisztítással működő telep kifolyó vize káros biológiai hatással lehet a befogadó ökológiai rendszereire.

1.2. Célkitűzések

Célkitűzéseink között szerepelt az Organica FCR rendszer, valamint két eleveniszapos technológiával működő szennyvíztisztító telep (Hatvan, Jászberény) hatékonyságának vizsgálata. Továbbá ökotoxikológiai szempontból nyomon követtük az eleveniszapos szennyvíztisztító telepek kifolyó tisztított vizének az élővízre gyakorolt hatását is. Egy komplex toxikológiai profil alapján vizsgáltuk a citotoxikus, genotoxikus, illetve hormonhatású szennyezőanyagok megjelenését a szennyvízben.

1.3. Irodalmi áttekintés

1.3.1. Szennyvíztisztítás módjai

A szennyvíztisztítás célja, hogy öntisztuló képességének határán belül a befogadó vizének esztétikáját, összetételét és a vízi életet fenntartó állapotát a szennyvízben lévő szennyezőanyagok hatásától megóvja (JOBÁGY, 1989).

A tisztított szennyvizek minősége és az alkalmazandó szennyvíztisztítási hatások hatóságilag szabályozott, jelenleg a KvVM 28/2004 (XII. 25.) rendelete van hatályban. Az 1.

mellékletben látható, hogy a tisztított szennyvíznek milyen határértékeknek kell megfelelnie a szennyvíztisztító telep terhelési kapacitásának függvényében.

A szennyvíztisztító telepeknek a határértékek túllépéséért szennyvízbírságot, illetve a környezetbe kibocsátott szennyezőanyag mennyisége alapján környezetterhelési díjat kell fizetnie.

A szerves szennyezőanyagok mértékének függvényében meghatározott oxigénmennyiségre van szükség a biológiai lebontáshoz. Ennek a folyóvízben lévő, hőmérséklettől függő oxigéntartalomnak egy bizonyos mennyiségét a befogadó szolgáltatja. Amennyiben egy megadott értéknél nagyobb a biokémiai oxigénigény és a víz oxigéntartalmának aránya, akkor a biológiai folyamatok során az oxigén eltűnik a vízből, vagy annyira lecsökken, hogy ez az állapot a víz élővilágára káros hatással lehet. Az elhasznált oxigén pótlódása a levegőből történhet, ennek mértéke azonban függ a víz felszínétől, mozgásától, hőmérsékletétől, oxigénhiányától, valamint klimatikus és biológiai tényezőktől. A kibocsátásuk előtt a szennyvizek minőségének meg kell felelnie bizonyos követelményeknek, mint például, a szennyvíz bevezetése a befogadó halállományát, a haltáplálékul szolgáló élővilágot és a vízi élőlények szaporodását még átmenetileg se károsíthatja. Az esetleges szennyeződés leghatékonyabban a természetes vizekben zajló biológiai élet károsodásával mutatható ki (ILLÉS, 1986).

A határértékek túllépése jelentős gondokat okozhat. A foszfor vagy a nitrogén túlterhelés például oxigénhiányt, eutrofizációt okozhat az adott víztestben, de problémát jelenthetnek olyan szerves anyagok, toxikus vegyületek is, melyek a vízi szervezetekben, illetve az üledékben felhalmozódni képesek, ezért ezek szennyvízzel való kijutásának megakadályozása is fontos feladat lenne. A kémiai oxigénigény (KOI_k) valamint a biológiai oxigénigény (BOI_5) azt az oxigénmennyiséget jelenti, amely a szerves anyagok kémiai úton végbemenő, illetve mikroszervezetek általi lebontásához szükséges. Az összes lebegőanyag tartalom a szennyvízben található oldott és kolloid anyagok mennyiségéről ad információt. Abban az esetben, ha ezek az értékek meghaladják a megszabott határértékeket, eutrofizációt okozhatnak (KÁRPÁTI, 2011).

A szennyvíztisztítási eljárásokat három fő csoportba lehet sorolni: 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 leüleptetését 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 életműködésükhöz 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.

1.3.2. 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 (SZLOVENCÁS, 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).

Az eleveniszap nagy részét energia- és szénforrásként szerves anyagot felhasználó heterotróf szervezetek (pl.: baktériumok, gombák, protozoák) alkotják, illetve kevés számban jelen vannak még autotróf szervezetek is, melyeknek energia- és szénforrása szerves anyag.

A tisztítás során először a szennyvíz szilárd szemcséit homokfogóban elkülönítik, majd a lebegő anyag elválasztása az előüleptítőben történik.

Ezt követően a szennyvíz a levegőztető medencékbe kerül, ahol a tápanyag és végtermék egyenletes koncentrációja mellett keveréssel lebegésben tartják az élő iszapot. Minél nagyobb az eleveniszap koncentrációja, annál nagyobb az anyagátadás és a szennyezőanyag lebontása. Az utóüleptítőből kikerülő iszap nagy részét visszatáplálják, recirkuláltatják az

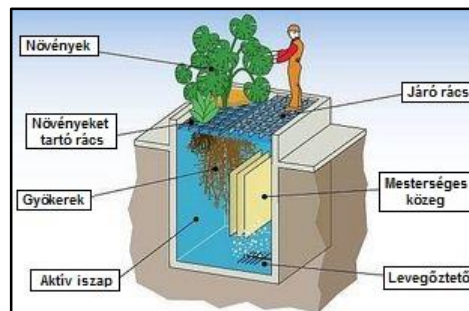


1. kép: Utóüleptítő a Délpesti szennyvíztisztító telepen, 2012 (<http11>)

optimális iszapkoncentráció megtartásának érdekében (1. kép). Az utóüleptítőben tovább folytatódik a biológiai tisztítási folyamat a szilárd anyagok leválasztása mellett, ezért minimum két órás időt kell itt biztosítani (TÖMÖSY, 2004). A leülepedett iszap elkülönül a víztől, így a tisztított vizet megfelelő fertőtlenítés, csírátlantás után a befogadóba vezetik (ROTMISZTROV et al., 1982).

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 utóztisztítóként 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 sokcellás, 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 váltakozó szennyvízterhelést (HTTP1). A levegőztetett tartályok tetején elhelyezett rácsra 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 (2. kép). Ez a szagtalan Élőgép mindamellett, hogy hatékonyabb és olcsóbb az eleveniszapos eljárásnál, sokkal esztétikusabb is, mivel külsőre nagyon hasonlít egy üvegházhoz (HTTP1).



2. kép: Nyitott aerob reaktor sematikus rajza, 2014(HTTP2)

Az Élőgép szennyvíztisztító telep beruházási és üzemeltetési költségei sokkal kedvezőbbek a hagyományos eleveniszapos eljáráshoz képest (BODNÁR, 2000).

1.3.3.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 felszínközeli természetes biofilm növekedéséhez szükséges élőhelyet. A mélyebb részekre polipropilénből készült mesterséges biofilmhordozók (3. kép) biztosítják a mikroorganizmusok életterét (BENEDEK et al., 2013).



3. kép: Mesterséges biofilmhordozó, 2013 (Organica Technológiák Zrt.)

Több ilyen reaktor összekötésével, 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 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 (HTTP1).

1.4. Toxikológia és ökotoxikológia

1.4.1. Mikroszennyezők vízi környezetben káros hatásuk alapján

A szerves anyagok eltávolítása a szennyvízből a kémiai és a biológiai oxigénigény mérésével jól szabályozható. A szennyvízben azonban megjelenhetnek olyan szerves mikroszennyezők (pl.: PAH-vegyületek, PCB-származékok, növényvédőszer), amelyek biológiailag nem, vagy csak nehezen bonthatók. Ezáltal szinte változatlan formában felhalmozódhatnak az üledékben, vagy a felszíni vizek segítségével eljuthatnak az emberhez. A mikroszennyezők vizsgálatára rendeletet a szennyvíztisztításban még nem hoztak létre, valamint határértékeket sem szabtak ki rájuk.

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 (SONNENSCHIEIN & 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.: 17 β -ösztradiol (E2), ösztrol (E3) és ösztrolon (E1)), mesterséges hormonok (pl.: dietilsztilbösztrol, 17 α -etinilösztradiol), fito- és mikoösztrogén (pl.: izoflavonok, lignánok, sztilbénok, zearalenon), gyógyszerek hatóanyaga hormonális mellékhatásokkal (pl.: klorofibrát, amiodaron-hidroklorid), ipari és háztartási vegyszerek (poliklórozott bifenilek (PCB), égésgátló anyagok, festékek, lágyítószer (pl. biszfenol-A, ftalátok, alkilfenol-etoxilát), detergensok, UVszűrők), növényvédő szerek és metabolitjaik (pl.: DDT, metoxiklor, kepone, dieldrin, Lindan, endoszulfán, toxafén), ipari és háztartási folyamatok melléktermékei (pl.: policiklikus aromás szénhidrogének (PAH), dioxinok), fémek és fémtartalmú vegyületek (pl.: kadmium, ólom).

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).

1.4.2. Alkalmazható ökotoxikológiai tesztek

A hagyományos ökotoxikológiai tesztek esetében adott organizmus, populáció vagy közösség válaszait tanulmányozzuk a környezetbe kikerülő káros anyag hatására, tesztszervezeteket/tesztrendszeret alkalmazunk bioindikációs módszerrel. A toxikológiában a leggyorsabb és legegyszerűbb laboratóriumi tesztek közé soroljuk a mikroszervezeteket alkalmazó teszteket. Az egy fajt 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 teszteken kívül 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 tesztszervezeteket; 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).

Az élővizek vizsgálatára magasabbrendű élőlényeket alkalmazó tesztek modellállatai lehetnek pl. a zebra-dánio (*Danio rerio*), a naphal (*Lepomis gibbosus*), a szivárványos pisztráng (*Oncorhynchus mykiss*). Általánosan elterjedt peszticidek, szennyvizek, elfolyók, illetve veszélyes hulladékok vizsgálatára. A halteszteknél kiemelten fontossággal bír a korai életszakaszban történő akut vizsgálatok elvégzése is, ezért a kísérletek az adult (felnőtt) egyedek mellett kiterjednek az embrió és a lárv szakasz megfigyelésére is. Az akut tesztek általában 96 órás vizsgálatok, a krónikus tesztek pedig megkülönböztetünk egy- vagy többgenerációs vizsgálatokat.

A tesztek során leggyakrabban használt végpont a túlélés vagy pusztulás, azonban ökológiai szempontból fontos a növekedésgátlás vagy a reprodukció vizsgálata is. A szennyezőanyagokat sokszor a tesztorganizmus biokémiai, fiziológiai változásával mutathatjuk ki, ilyen esetekben a végpont lehet például enzimek aktivitásának változása.

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

1.4.3. *Aliivibrio fischeri* általános bemutatása

Az *Aliivibrio fischeri* fakultatív anaerob, pálcika alakú baktérium, poláris ostorokkal mozog, legismertebb tulajdonsága a biolumineszcencia. 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 *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.

1.4.4. *Pseudomonas fluorescens* általános bemutatása

A *Pseudomonas fluorescens* talajlakó baktériumot szerves, és szerves szennyező anyagok toxikus hatásának kimutatására alkalmazzák. A talajban gombákkal-növényekkel élő szimbiózisban, a gombahifák növekedésében játszik szerepet, ezzel elősegíti a nitrogén és foszfor felvételét (RAVNSKOV & JAKOBSEN, 1999). Részt vesz a szerves anyagok lebontásában, a természetben széles körben elterjedt. Alacsony vas hozzáférhetőség esetén zöldes színű fluoreszkáló pigmentet termel (PALLERONI, 1984). Jellegzetes stressztűrő és fémtűrő képessége révén nem tartozik az érzékeny tesztorganizmusok közé (STOCKWELL & LOPER, 2005). Tengeri körülmények között kimutatták a szénhidrogénekhez való adaptációját (VASUDEVAN et al., 2007).

1.4.5. Genotoxikus hatás vizsgálatának lehetőségei

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 köztermék keletkezik, ami képes a DNS-hez kapcsolódni és így az örökítő anyagot károsítani. Azok a tesztorganizmusok, 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 tesztbe 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).

Széles körben használják a mutagén anyagok kimutatására a mutáns *Salmonella typhimurium* törzseket alkalmazó Ames-tesztet.

Egy másik géntoxikológiai teszt az SOS-Chromo teszt, mely 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 az Ames-teszt alternatívájaként alkalmazható. Legault és munkatársai (1994) 14 vegyületet (2 szerves, 2 rovarirtó szer, 2 halogénezett szénhidrogén, 2 alkalikus anyag, 2

aromás amino, 1 Cl-fenol, 3 PAH) vizsgáltak Ames tesztel és SOS-Chromo tesztel. Az SOS-Chromo teszt a kísérlet során 86%-os egyezést mutatott az Ames tesztel. A Captan gombaölő szer, az MNNG (N-metil-N-nitro-N-nitrozoguanidin), a 4-NQO (4-nitro-quinoline-oxid), a Cr⁶⁺, a 2AA (2-aminoantracén), és a B-a-P (Benzo-a-Pirén) mindkét tesztel mutagénnek és karcinogénnek bizonyult. Egyéb szakirodalmi adatok is 60-100% korrelációt mutattak az Ames teszt és SOS-Chromo teszteredményei között, illetve az SOS-Chromo teszt előnyei között említendő a gyorsabb eredményközlés és a költséghatékonyabb mérés, amely monitoring módszerként jobban alkalmazhatóvá teszi.

1.4.6. Hormonhatás vizsgálatának lehetőségei

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 bioripporter 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 (ELDRIGE ET AL, 2007).

A két módszer között eltérést a kromogén használata jelenti, amely költség szempontból nem elhanyagolható nagyszámú minta feldolgozásánál, illetve az, hogy a lux gének kifejeződése jóval gyorsabban (már 3-6 óra alatt) mérhető eredményeket tesz lehetővé, míg a *lacZ* gén bioripporterként való alkalmazása a YES tesztben, 3-5 nap alatt értékelhető.

2. Anyag és módszer

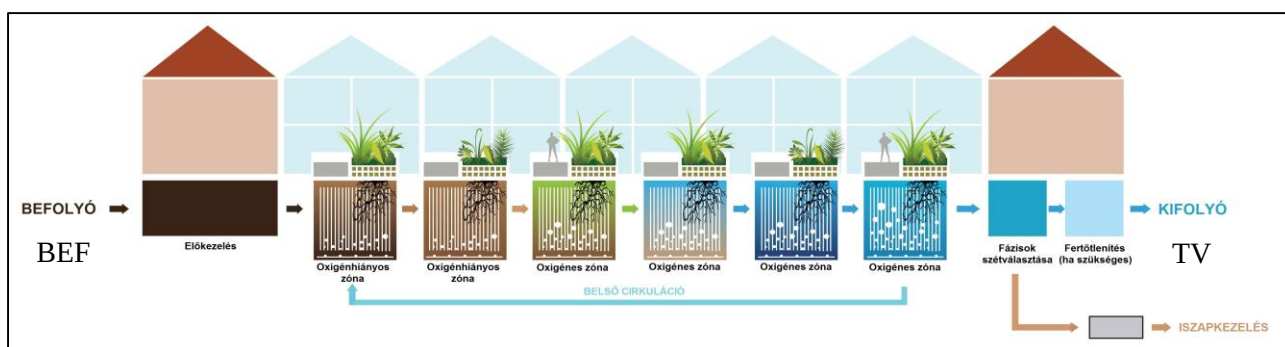
2.1. Mintavételezés

A mintákat Telkiből az FCR rendszer esetében a nyers befolyó szennyvízből, és a kifolyó már tisztított vízből vették az Organica Technológiák Zrt. szakemberei.

Telkiből, az FCR rendszerből alkalmanként 2 minta érkezett (4. kép):

- **BEF**: nyers befolyó szennyvízből vett minta
- **TV**: a tisztított szennyvízből vett minta

A minták érkezéseinek dátumai: 2014. június, 2014. augusztus



4. kép: Az Élőgépes FCR folyamatábrája a mintavételi pontok jelölésével (HTTP1)

A két hagyományos szennyvíztisztító esetében (Hatvan és Jászberény) a mintákat a városi szennyvíztisztító által már tisztított vízből történt a mintavétel. A befogadó terhelt szakaszának értékelésére a bevezetés alatti szakaszon, míg a befogadó természetes állapotának jellemzésére a bevezetés feletti szakaszon történt a mintavétel.

Hatvanból, a hagyományos rendszerből alkalmanként 3 minta érkezett (5. kép):

- **Bev. feletti**: bevezetés feletti szakaszon vett minta,
- **TV**: tisztított szennyvízből vett minta,
- **Bev. alatti**: bevezetés alatti szakaszon vett minta

A minták érkezéseinek dátumai:

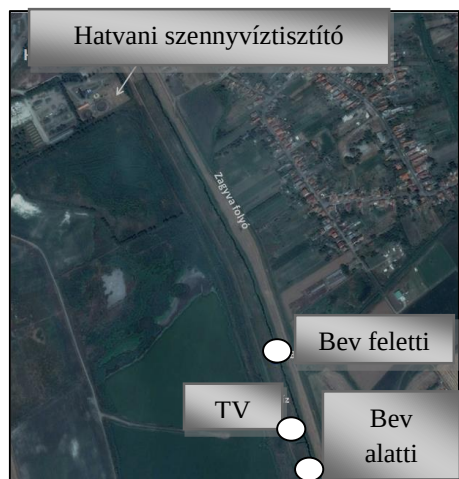
2013. november, 2014. március, 2014. június, 2014. augusztus

Jászberényből, a hagyományos rendszerből alkalmanként 3 minta érkezett (6. kép):

- **Bev. feletti**: bevezetés feletti szakaszon vett minta,
- **TV**: tisztított szennyvízből vett minta
- **Bev. alatti**: bevezetés alatti szakaszon vett minta,

A minták érkezéseinek dátumai:

2013. november, 2014. március, 2014. június, 2014. augusztus



5. kép: A hatvani mintavételi helyek bemutatása, 2014 (Cserhádi M.)



6. kép: A jászberényi mintavételi helyek bemutatása, 2014 (Cserhádi M.)

A minta minden esetben homogén pontminta volt, amit 500 ml-es barna, steril üvegben szállítottak a laborba hűtőládában. A mintákat a laborban 4°C-on hűtőszekrényben tároltuk. A tesztek elvégzése előtt a homogén mintákból 50 ml-t lecentrifugáltunk, majd a felülúszót átszűrtük 0,20µm pórusátmérőjű steril membránszűrőn.

2.2. *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 *Aiivibrio 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 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 tesztstruktúra 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® luminométerrel mértük.

A törzsszuszpénzió készítése

A nátrium-kloridoldatot és a védőközeget előhűtöttük jégen. A főtenyészetből vett baktériumszuszpénziót centrifugáltuk $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ -on előhűtött hűtőcentrifugában 15-20 percig 6000 ± 2000 g-vel. Ezután a felülúszót dekantáltuk, és az üledéket reszuszpéndáltuk 5-10 ml jéghideg nátrium-klorid-oldatban. Majd megismételtük a centrifugálást azonos feltételek mellett. Ezt követően leöntöttük a felülúszót, és reszuszpéndáltuk az üledéket 0,5 ml jéghideg nátrium-klorid-oldatban. A baktériumszuszpénziót áttettük egy előhűtött főzőpohárba és jégre helyeztük. Lassan hozzáadagoltunk 4 ml védőközeget, jégen való állandó hűtés és keverés közben. Meghatároztuk a nátrium-klorid-oldattal készített 1:100 arányú hígítás zavarosságát fotométerrel. 2500 ± 500 FNU zavarosság eléréséig adagoltuk hozzá az előhűtött védőközeget, és 15 percen keresztül folyamatosan kevertük, hogy homogén elegyet kapjunk. Végül szétmértünk megfelelő tesztcsövekbe 100 μl adagokat. A törzsszuszpénziót -20°C -on hűtőszekrényben tároltuk.

A vizsgálat menete:

Kb. 10 ml lecentrifugált szennyvízmintát 0,45 μm pórusátmérőjű membránszűrőn átszűrtük, majd egy kémcsőbe 0,2 g NaCl-ot mértünk analitikai mérlegen (mivel az *A. fischeri* egy mélytengeri faj, 2%-os NaCl jelenlétében ideálisak a körülmények). Ezt követően a NaCl-ra ráértük a 10 ml mintát és ellenőriztük a pH értékét. A gép beállítása és a küvettákkal való feltöltése után elkészítettük a hígítási sort, és a fagyasztva tárolt törzsszuszpénziót felolvasztottuk vízfürdőben, majd hozzáadtunk 500 μl reagens oldatot. 15 perc inkubációs idő elteltével a törzsszuszpénziót átöntöttük a reagenshez, és 500 μl tesztszuszpénziót pipettáztunk a $15 \pm 1^{\circ}\text{C}$ -on tárolt küvettákba. 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.

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

Ktx: párhuzamos kontroll minták fénykibocsátásának átlagértéke adott kontaktidőnél

Mtx: párhuzamos minták fénykibocsátásának átlagértéke adott kontaktidőnél

A releváns EC₅₀ (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: $TU = (1/EC) \cdot 100$. 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 EC₅₀-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):

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

2.3. *Pseudomonas fluorescens* növekedés-gátlás teszt

A törzsfenntartás általános TGE-5 táptalajokon (lásd. 1. melléklet) történik, a tenyészeteket 5-10°C-on tároltuk. Vonatkozó szabványa az MSZ 21470-88 Környezetvédelmi talajvizsgálatok. *Pseudomonas fluorescens* talajtoxicitási teszt. A mérés a vizsgálandó szennyezőanyag szaporodás-gátló hatásának kimutatásán alapul. A táptalajban lévő szintelen trifenil-tetrazólium-klorid (TTC) a tesztbaktérium zavartalan szaporodása esetén dehidrogenáz enzim aktivitása révén átalakul vörös színű trifenil-tetrazólium-formazánná, a minta által tesztbaktériumra kifejtett gátló hatás esetén viszont csökkent dehidrogenáz enzimaktivitás miatt, a TTC nem alakul át, így szintelen marad. Először 100cm³ N-M tápoldatot (lásd. 2. melléklet) oltottunk be a tesztbaktérium ferdekémcső-tenyészetéből kivett oltókacsnyi mennyiséggel, majd 28°C-on 48 órán keresztül inkubáltuk.

A vizsgálat menete

A különböző szennyvízmintákból a szabványban meghatározott koncentrációjú hígítási sort készítettünk. Az anyagkeverékek hígításához 10%-os DMSO (dimetil-szulfoxid) oldatot használtunk. A hígítási sorok részletes leírását az 3. melléklet tartalmazza. A hígítási sorok elkészítése után a már előre beoltott N-M tápoldatból 5 ml-t átpipettáztunk a 100cm³ már felhasználás előtt elkészített N-M tápoldatba. Alapos elkeverés után 1 ml 1 g/cm³-es vizes TTC oldatot tettünk hozzá, ügyelve arra, hogy ne kerüljön fényre, mivel a TTC fényérzékeny oldat. A minták hígításaiból és a tömény mintákból egyenként 0,05 cm³ mennyiségeket pipettával a microtiter lemez mélyedéseibe helyeztünk, 3 ismétlésben. Majd az előkészített szuszpenzióból rendszeres keverés mellett pipettával 0,2 cm³ mennyiségeket mértünk ki a mintákra. A teszt működésének ellenőrzésére két kontrollt alkalmaztunk: a tesztbaktériumok érzékenységét 0,05-0,05 cm³, 100 mg/dm³ koncentrációjú rézoldattal ellenőriztük, így ez lett a negatív kontrollunk. A pozitív kontroll pedig a desztillát vízhez hozzáadott 10% -os DMSO oldat volt.

A microtiter lemezek óvatos mozgatásával az elegyeket elkevertük, majd a lemezeket egyenként nagy átmérőjű Petri-csészékbe helyeztük. A lemezek mellé megnedvesített papírvattát helyeztünk, elkerülve ezzel a mintáink párolgását. Ezután a Petri-csészéket lefedtük és 3 órára 4°C-os hűtőszekrénybe helyeztük. Majd betettük őket 28°C-on 48 órára a termosztátba.

Az inkubációs idő leteltével egyszerű vizuális módszerrel kiértékeljük színváltozás alapján a tesztet:

zavartalan szaporodása nem toxikus	enyhe szaporodás gátlása kissé toxikus	teljes szaporodás gátlása toxikus
---------------------------------------	---	--------------------------------------

2.4. SOS Chromo genotoxicitás teszt

A teszt szerkezete 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 enzimjelenléte 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 keverék 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, 1 l 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 (OD_{600}) és beállítottuk a törzsoldat sejtsűrűségét $OD_{600}=0,05$ -re. A metabolikus aktivitással történő vizsgálathoz a törzsoldatot szintén $OD_{600}=0,05$ -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 μ l-t mértünk 3 ismételtsben a szennyvízmintákból és a kontrollokból, majd ezekhez 100 μ l tesztorganizmet adagoltunk. Ezek után a microtiter lemezt két órán keresztül sötétben 37°C-on inkubáltuk. Az inkubációs idő leteltével kiadagoltuk a megfelelő szubsztrátokat 100 μ l 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:

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

ahol, A_{405} : abszorbancia 405 nm-en (alkalikus foszfatáz); A_{620} : 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).

2.5. BLYES/ BLYAS hormonhatás elemző tesztrendszer

A tesztorganizmeteket 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.

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.

Emellett egy kontroll BLYR törzzsel a sejttoxicitást 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 1-re állítottuk be ($OD_{600}=1$).

A vizsgálatokat fehér microtiter lemezekben hajtottuk végre. Pozitív kontrollokként 17 β -ösztradiolt valamint 5 α -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 ismétlésben, ezután 200 μ l mennyiségeket 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 reciprokértékének alkalmazásával nem a biolumineszcencia gátlási, hanem intenzitási értékben adtuk meg százalékos arányban a kontrollhoz viszonyított fénykibocsátás változást.

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

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

2.6. Vízkémiai vizsgálatok

Az **Organica Technológiák Zrt. laboratóriumában** a beérkező FCR szennyvízminták szerves és szervetlen paramétereinek (kémiai oxigénigény, összes nitrogén, ammónium, nitrát, nitrit, orto-foszfát, összes foszfor) vizsgálatát végeztem el Hach Lange gyorsesztekkel (HTTP10). A tesztek alapja színreakció, mely fotométerrel mérhető. A pH-mérést Mettler toledo típusú mérővel végeztem. Míg a szerves paraméterek biológiailag hozzáférhető részét (biológiai oxigénigény) OxiTop rendszerben vizsgáltam. A vizsgálatok kimutatási határát a 4. melléklet tartalmazza.

Biológiai oxigénigény (BOI): A vizsgálatot OxiTop rendszerben végeztük el. A mintából 150 ml-et töltöttünk barna, steril üvegbe, majd hozzá adtunk 3 csepp induktort. Ezt követően hozzá adtuk a NaOH tablettákat és felcsavartuk az üvegre a digitális mérőfejet. 5 napig 20°C-on inkubáltuk.

Kémiai oxigénigény (KOI): Az oxidálódó anyagok ezüstsulfát katalizátor jelenlétében kénsav és kálium-bikromát oldatával reakcióba lépnek. A kloridot higany-sulfáttal lehet maszkírozni. A Cr^{3+} zöld elszíneződése mérendő. A mintákból 2 ml-t átpipettáztunk az egyes küvetákba, majd összeáztuk és roncsolóba helyeztük 148°C-on, 120 percig. Szobahőmérsékletre hűtés után HACH LANGE DR 3900 fotométerrel mértük a mintákat.

Összes nitrogén (TN): A szervetlen vagy szerves kötött nitrogén peroxodiszulfáttal melegítve nitráttá oxidálódik. A nitrátionok kénsavas és foszforsavas oldatában a 2,6-dimetilfenollal reakcióba lépve rózsaszínes nitrofenolt képeznek. A mintákból 200 µl-t pipettáztam a feltárási „A” küvetákba, majd mindegyikhez hozzáadtam 2300 µl „A” reagenst és egy feltárási „B” reagenst. Ezt követően 100°C-on 1 órán át roncsoltam a mintákat. A roncsolás után a küvetákat szobahőmérsékletre hűlni hagytam, majd mindegyikhez hozzáadtam 1 tablettát semlegesítő „C” reagenst. Alapos homogenizálása mintákból 500 µl-hez hozzáadtuk a tesztcsövekhez. Az így kapott oldathoz 200 µl „D” reagenst adtunk, majd alaposan összeáztuk. 10 perc után fotométerrel lemértük.

Ammónium-nitrogén: Az ammóniumionok 12,6-os pH-értéknél nitroprusszid-nátrium, mint katalizátor jelenlétében hipoklorit-ionokkal és szalicilátionokkal reagáltatva kék színű indofenolt képeznek. 500 µl mintát mértünk a küvetákba, majd összeáztuk a gyárilag

előállított reagenst tartalmazó kupak rácsavarása után. 15 perc után elvégeztük a fotometriás mérést.

Nitrát-nitrogén: A nitrátionok kénsavat és foszforsavat tartalmazó oldatokban 2,6-dimetilfenollal reagáltatva 4-nitro-2,6-dimetilfenollá alakulnak. Mérési tartománytól függően 200 µl vagy 1000 µl mintát, és 1000 µl vagy 200 µl reagenst pipettáztunk a küvettákba, majd alaposan összekevertük őket. 10 perc elteltével lemértük az így kapott oldatot fotométerrel.

Nitrit-nitrogén: A nitritek savas oldatban primer aromás aminokkal reagáltatva diazóniumsókká alakulnak. Ezek olyan aromás vegyületekkel elegyedve képeznek élénk színű azoszínezékeket, amelyek egy aminocsoportot vagy egy hidroxilcsoportot tartalmaznak. Ez a rózsaszín elszíneződés fotométerrel mérhető. Mérési tartománytól függően 200 µl vagy 2000 µl mintát pipettáztunk a küvettákba, majd alaposan összeráztuk a gyárilag előállított reagenst tartalmazó kupak rácsavarása után. 10 perc elteltével lemértük az így kapott oldatot fotométerrel.

Orto-foszfát és összes foszfor (TP): A foszfátionok savas oldatban molibdát és antimónium ionjaival reagáltatva antimonil-foszfor-molibdát komplexet képeznek, amely aszkorbinsavval redukálva kék színű foszfor-molibdént eredményez. Az összes foszfor mérése során 400 µl mintát átpipettáztunk a küvettába. Következő lépésként a reagenssel előre ellátott kupakot rácsavaroztuk a küvettákra és alaposan összeráztuk őket, majd 100°C-on 60 percig roncsoltuk őket. Miután szobahőmérsékletre hűlt a küvetta, hozzáadtunk 500 µl „B” reagenst és rácsavartunk egy „C” reagenst tartalmazó kupakot. Alaposan összeráztuk őket és 10 perc elteltével fotométerrel lemértük.

Az orto-foszfát mérésének lépései megegyeznek az összes foszforéval, azzal a különbséggel, hogy a mintákat nem roncsoltuk.

A **hatvani** és **jászberényi** mintavételezés során a helyszínen (terepi vizsgálatok pl.: hőmérséklet, vezetőképesség mérés), majd a **Tanszéki laboratóriumban** a fentebb is említett szervetlen és szerves paraméterek Merck gyorsesztekkel lettek meghatározva. A tesztek alapelve megegyezik a Telkiben található rendszer esetében használt HACH LANGE tesztek színreakción alapuló elveivel, azonban a mérés módszertana különböző. Ezekben az esetekben a fotometriás meghatározás Spectroquant NOVA 60-as fotométerrel, a pH-mérés Mettler toledo típusú mérővel, az oldott oxigént és a fajlagos vezetőképességet hordozható mérő segítségével történt. A szerves paraméterek biológiailag hozzáférhető része (biológiai oxigénigény) OxiTop rendszerben lett meghatározva.

A tesztek módszertani leírása:

Biológiai oxigénigény (BOI): a vizsgálat menete megegyezik az FCR minták esetében leírt módszerrel.

Kémiai oxigénigény (KOI): A mintákból 3 ml-t átpipettáztak az egyes küvettákba, majd összerázták és roncsolóba helyezték 148°C-on, 120 percig. Szobahőmérsékletre hűtés után lemérték a mintákat.

Teljes szerves szén (TOC): A mintából 25 ml-t pipettáztak a küvettába, majd hozzáadtak 3 cseppet az 1. reagensből. Alapos homogenizálás és 10 perc pihentetés után 3 ml-t pipettáztak belőle egy újabb küvettába. Ezt követően hozzáadtak 1 adagoló kanállyal a 2. reagensből, és 120°C-on, 120 percig roncsolták. Végül a szobahőmérsékletű küvettát fotométerrel mérték.

Ammónium-nitrogén: A mintából 5 ml-t pipettáztak a küvettába, majd hozzáadtak 0,60 ml-t az 1. reagensből és alaposan homogenizálták. Ezt követően hozzáadtak 1 adagoló kanállyal a 2. reagensből, majd ismét homogenizálták. 5 perc elteltével hozzáadtak 4 cseppet a 3. reagensből. Végül újabb 5 perc után lemérték a küvettákat.

Nitrát-nitrogén: Egy jól zárható küvettába egy adagoló kanállyal mértek az 1. reagensből, majd 5 ml 2. reagenst pipettáztak hozzá. Alapos homogenizálás után 1,5 ml-t pipettáztak az üvegbe. Végül 10 per elteltével lemérték a küvettákat.

Nitrit-nitrogén: A mintából 5 ml-t pipettáztak a küvettába, majd hozzáadtak 1 adagoló kanállyal az 1. reagensből és alaposan homogenizálták őket. 10 perc után lemérték a küvettákat.

Orto-foszfát: A mintából 5 ml-t pipettáztak a küvettába, majd hozzáadtak 1,2 ml reagenst. Alapos homogenizálás után lemérték a küvettákat.

3. Eredmények és értékelésük

3.1. A telki 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 (7. kép) a településtől D-DNY-i irányban található. Az FCR rendszer 6 reaktorból álló lineáris kaszkádszisztem szerint működik. Befogadóként a Budajenői-patak szolgál. A településről érkező szennyvíz nagy része kommunális jellegű, naponta kb. 800 m³ szennyvíz folyik be a tisztító telepre. További kísérletezések folynak a közeli kórház által gyógyszermaradványokkal terhelt szennyvíz tisztításával kapcsolatban is.



7. kép: FCR reaktorok
(A szerző saját felvétele)

3.1.1. Az FCR rendszerből érkező szennyvízminták ökotoxikológiai értékelése

A **2014 júniusban** Telkiből érkezett minták esetében kijelenthető, hogy az elvégzett ökotoxikológiai tesztek közül a víztoxikológiai modellszervezetre, az *Aliivibro fischeri*re a beérkező szennyvíz toxikus volt, míg a reaktorokon keresztül haladva a szennyező anyag feltételezhetően lebomlott, így a kifolyó szennyvízmintában már nem mutattunk ki citotoxikus hatást (1. táblázat). A talajbaktériumok modellszervezete, a *Pseudomonas fluorescens* tesztorganizet egyik minta esetében sem mutatott érzékenységet. Az SOS-Chromo teszttel elvégzett genotoxikológiai vizsgálatok során a beérkezett minták nem bizonyultak genotoxikusnak, a tesztorganizetnek nem aktiválódott az SOS repair rendszere. A BLYES/BLYAS tesztrendszer nem mutatott ki hormonhatást egyik minta esetében sem, illetve a BLYR törzzssel végzett vizsgálatok során sem jelentkezett citotoxikus hatás a tesztorganizetre.

Az **augusztus** hónapban vett minták esetében az FCR rendszer befolyó szennyvize *A. fischeri* tesztorganizetre toxikusnak bizonyult, azonban a kifolyó vízben már nem tapasztaltunk toxikus hatást (1. táblázat). A mintákat *P. fluorescens* tesztorganizetttel vizsgálva minden esetben zavartalan szaporodás volt megfigyelhető. Egyik mintánál sem tapasztaltunk genotoxikus, illetve hormonhatású anyagok megjelenését.

1.táblázat: Az FCR minták vizsgálatának összesített ökotoxikológiai mérési eredményei, 2014:

	2014. június		2014. augusztus	
	BEF	TV	BEF	TV
A. fischeri teszt				
EC20 (%)	6	n.a.	9	n.a.
EC50 (%)	11	n.a.	25	n.a.
EC80 (%)	20	n.a.	70	n.a.
Toxikus egyenérték	9,09	0	4	0
SOS-Chromo teszt				
indukciós faktor	1,01	1,01	0,87	0,88
genotoxikus	nem	nem	nem	nem
BLYES teszt				
Biolumineszcencia intenzifikáció (%)	-19,33	-21,93	12,35	0,8
ösztrogén hatású	nem	nem	nem	nem
BLYAS teszt				
Biolumineszcencia intenzifikáció (%)	-11,04	-8,6	5,21	6,25
androgén hatású	nem	nem	nem	nem
BLYR teszt				
Biolumineszcencia gátlás (%)	-4,4	-1,33	-5,87	-14,11
citotoxikus	nem	nem	nem	nem
P. fluorescens teszt	+	+	+	+

Jelmagyarázat:

nem toxikus	kissé toxikus	toxikus	nagyon toxikus
-------------	---------------	---------	----------------

3.1.1. Az FCR rendszerből érkező szennyvízminták vízkémiai eredményeinek értékelése

A jelenleg is hatályban lévő 28/2004 (XII. 25.) KvVM rendelet sajátossága, hogy megadja a szennyvíztisztítóknak azt a lehetőséget, hogy a 10000 m³/nap-nál kisebb kapacitással működő telepeknél vagy a befogadó élővíz állapotától függően egyedi határértéket szabjanak meg. Ezeket az egyedi határértékeket és a mért eredményeket a 2. táblázat tartalmazza. Jól látható, hogy az FCR rendszer befolyó nyers szennyvize jóval meghaladta a helyi jogszabályban megszabott kémiai és biológiai oxigénigény, nitrogén és foszformennyiségeket. A kifolyó szennyvíz esetében az ammónia és ebből kifolyólag az összes nitrogén, valamint a foszfor mennyisége, illetve a júniusi időszakban a biológiai oxigénigény haladta meg a kifolyó vízben a jogszabályi előírást. Azonban az eredmények kiértékelésekor figyelembe kell venni, hogy a júniusi időszakban a szennyvíztisztító telepen fonálféreg irtás volt. Az alkalmazott nematocid túlzott felhasználása miatt feltételezhetően a biofilm is károsodást szenvedett, annak visszaépülése több hétig tartó folyamat, mindenesetre az ökotoxikológiai mérések alapján az élőgép sérült rendszerrel is képes volt a toxikus befolyó mintákat semlegesíteni. Érdekes, hogy a foszfortartalom nem mutatott jelentős csökkenést. Ennek oka az lehet, hogy a szennyvíztelepen jelenleg nem működik foszforeltávolítás.

2. táblázat: Az FCR rendszer vizsgált paramétereinek összesített vízkémiai eredményei, 2014

Határérték	2014. július	2014. augusztus
------------	--------------	-----------------

Vizsgált komponensek		BEF	TV	BEF	TV
KOI (mg/l)	75	1110	102	464	62,9
BOI ₅ (mg/l)	25	375	50	255	7
Nitrit-N (mg/l)	-	0,003	0,338	0,013	1,13
Nitrát-N (mg/l)	-	0,292	5,52	0,29	10,8
NH ₄ ⁺ -N (mg/l)	5	58,4	37,8	55,2	21,5
Összes nitrogén (mg/l)	-	75,5	45,8	77,2	31,1
Orto-foszfát (mg/l)	-	6,52	6,86	4,97	7,56
Összes foszfor (mg/l)	5	11,3	8,21	10,5	8,33
pH	-	7,82	7,8	8,02	7,78

3.2. A hatvani szennyvíztisztító telep ismertetése

Hatvan a Hatvani kistérség székhelye, Heves megye délnyugati részén fekszik. A szennyvíztisztító telep Hatvan és a környező települések (kb. 4900 m³/nap) szennyvizét tisztítja eleveniszapos technológiával. 2007-ben fejezték be a Hatvan Város szennyvízelvezetése és tisztítása projekt keretein belül a telep felújítását.



8. kép: A hatvani szennyvíztisztító telep (http5)

A szennyvíztisztító telepre (8. kép) beérkező kommunális szennyvíz megtisztítása három lépcsőben megy végbe. Elsőként a mechanikai tisztítás során a szennyvíz különböző méretű rácson, homokfogókon, zsírfogókon és ülepítőkön megy keresztül. A biológiai tisztítás eleveniszapos medencékben történik. Ezt követően, ha szükséges, a tisztított szennyvíz a fertőtlenítő medencékbe kerül. Végül a tisztított víz a, befogadóba azaz a Zagyva folyó felső szakaszába kerül (HTTP6).

3.2.1. A hatvani szennyvíztisztító telep ökotoxikológiai eredményei

A 2013 novemberben érkezett minták esetében a bevezetett tisztított víz, illetve a bevezetés fölötti szakaszon vett minta az *A. fischeri* tesztszervezetre kissé toxikusnak bizonyult, azonban a bevezetés alatti szakaszon vett mintánál már nem tapasztaltunk citotoxikus hatást (3. táblázat). Egyik mintánál sem jelentkezett toxikus hatás a *P. fluorescens* tesztszervezettel vizsgálva. Nem tapasztaltunk genotoxikus hatást sem a mintáknál és a BLYES/BLYAS/BLYR törzsekkel való vizsgálat sem mutatott ki hormon vagy citotoxikus hatást.

A 2014 márciusban érkezett minta esetében a bevezetett már tisztított víz *A. fischeri* tesztszervezettel vizsgálva toxikusnak bizonyult. Azonban sem a bevezetés fölötti szakaszon, sem a bevezetés alatti szakaszon vett mintánál nem tapasztaltunk toxikus hatást. Egyik mintánál

sem mutatott érzékenységet a *P. fluorescens* tesztrendszerrel, illetve az SOS Chromo teszttel sem jelentkezett genotoxikus hatás. A BLYES/BLYAS tesztrendszer nem mutatott ki hormonhatást egyik minta esetében sem, illetve a BLYR törzsszel végzett vizsgálatok során sem jelentkezett citotoxikus hatás a tesztrendszerre.

A **júniusban** érkezett minták közül a bevezetett tisztított víz és a bevezetés fölötti szakaszon vett minta esetében nem jelentkezett toxikus hatás az *A. fischeri* tesztrendszerre, azonban a bevezetés alatti szakaszon vett minta esetében enyhe toxikus hatást tapasztaltunk. Egyik mintánál sem jelentkezett toxikus hatás a *P. fluorescens* tesztrendszerrel vizsgálva. Egyik minta sem bizonyult genotoxikusnak, illetve hormonhatásúnak.

Az **augusztusban** érkezett minták esetében *A. fischeri* tesztrendszerrel vizsgálva a bevezetett tisztított víz, és a bevezetés fölötti szakaszon vett minta esetében nem jelentkezett toxikus hatás, azonban a bevezetés alatti szakaszon vett minta toxikusnak bizonyult. Egyik mintánál sem jelentkezett toxikus hatás a *P. fluorescens* tesztrendszerrel vizsgálva. Nem jelentkezett genotoxikus hatás egyik mintánál sem. A BLYES/BLYAS törzsekkel való vizsgálat nem mutatott ki hormonhatást, a BLYR törzsszel való vizsgálat során nem tapasztaltunk citotoxikus hatást.

3. táblázat: A hatvani minták vizsgálatának összesített ökotoxikológiai mérési eredményei, 2014:

	2013. november			2014. március			2014. június			2014. augusztus		
	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti
A. fischeri teszt												
EC20 (%)	55	40	n.a.	n.a.	21	n.a.	n.a.	n.a.	68	55	n.a.	31
EC50 (%)	105	151	n.a.	n.a.	46	n.a.	n.a.	n.a.	166	280	n.a.	64
EC80 (%)	n.a.	565	n.a.	n.a.	101	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	135
T.U	0,95	0,66	0	0	2,17	0	0	0	0,6	0,36	0	1,56
SOS-Chromo teszt												
indukciós faktor genotoxikus	1,34 nem	1,16 nem	1,3 nem	1,29 nem	1,17 nem	1,26 nem	0,92 nem	0,91 nem	0,95 nem	0,86 nem	0,86 nem	0,74 nem
BLYES teszt												
Fénykibocsátás növekedés (%)	-0,33	-8,79	-9,54	5,99	7,52	6,45	-15,14	-16,32	2,12	9,14	11,72	0,06
ösztrogén hatás	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem
BLYAS teszt												
Fénykibocsátásnövekedés(%)	-31,21	-27,42	-31,37	-8,44	-18,85	-11,26	-12,3	-10,63	-13,43	-7,22	7,13	0,9
androgén hatás	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem
BLYR teszt												
Fénykibocsátás gátlás (%)	-0,9	-0,55	1,31	-14,7	-9,78	-7,51	-11,05	-6,95	1,48	-16,9	-14,05	-13,98
citotoxikus	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem	nem
P. fluorescens teszt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Jelmagyarázat

nem toxikus	kissé toxikus	toxikus	nagyon toxikus
-------------	---------------	---------	----------------

3.2.2 A hatvani szennyvíztisztító telep vízkémiai eredményei összehasonlítva az ökotoxikológiai eredményekkel

A mintavételezés során a terepi vizsgálatokra (pl.: hőmérséklet, vezetőképesség mérés), majd laboratóriumi körülmények között a szervetlen és szerves paraméterek vizsgálatára került sor gyorstesztetekkel.

A kémiai oxigénigény vizsgálata során feltételezhetően mérési hiba történt, mivel azt tapasztaltuk, hogy a kémiai oxigénigény értéke egyes esetekben jóval a biológiai oxigénigény értéke alatt volt. Ezért az eredmények kiértékelésekor csak a biológiai oxigénigény értékét vettük figyelembe. A vízkémiai eredményeket összehasonlítva az ökotoxikológiai eredményekkel, az azoknál tapasztalt hatásokat nem támasztják alá a vízkémiai eredményeknél tapasztalt határértékhez viszonyított adatok.

A 4. táblázat jól mutatja, hogy annak ellenére, hogy **2013 novemberében** a bevezetés fölötti szakaszon, illetve a tisztított vízből vett minta *A. fischeri* tesztorganizmre kissé toxikusnak bizonyult, a vízanalitikai mérések nem mutattak határértéket meghaladó értékeket. **2014 márciusában** a bevezetett tisztított vízből, valamint a bevezetés alatti szakaszon vett minta esetében a kapott eredmények meghaladták a meghatározott biológiai oxigénigény határértékét. Ez a magas szervesanyag tartalom a tisztított vízben, amely a kimutatási határérték feletti BOI-t mutatott, elképzelhető, hogy olyan magas oxigénigénnyel jellemezhető mintát takar, ami gátló hatással volt az *A. fischeri* tesztorganizmre, azonban a bevezetés alatti szakaszon (ahol a BOI érték 41,6 volt) vett mintánál már nem tapasztaltuk a gátló hatást. A jászberényi mintáknál is látható lesz, hogy 50, 100, 150 körüli BOI értéknél még nem feltétlenül jelentkezik gátló hatás az *A. fischeri* tesztorganizmre. **2014 júniusában** mindhárom mintavételi helyről származó mintánál a kapott biológiai oxigénigény eredménye meghaladta a határértéket és a bevezetés alatt enyhe ökotoxikus hatást tapasztaltunk *A. fischeri* tesztorganizmre. Mivel a magas szerves anyag tartalom már a bevezetés fölötti szakaszon is jelentkezett, ez a magas érték nem magyarázható a szennyvíztisztítás nem megfelelő hatékonyságával. **2014 augusztusában** a vízkémiai mérések során nem tapasztaltunk határértéket meghaladó eredményeket, mégis a bevezetés alatti szakaszon vett minta *A. fischeri*-re toxikusnak bizonyult. Az itt tapasztalt, jellemzően a nyári hónapokban a bevezetés alatti szakaszon fellépő toxikus hatás esetleg a mederben feldúsult szennyező anyagokkal magyarázható.

4. táblázat: A hatvani rendszer vizsgált paramétereinek összesített vízkémiai eredményei, 2014

Vizsgált komponensek	Határértékek	2013. november			2014. március			2014. június			2014. augusztus		
		Bev. felett i	TV	Bev. alatt i	Bev. felett i	TV	Bev. alatt i	Bev. felett i	TV	Bev. alatt i	Bev. felett i	TV	Bev. alatt i
KOI (mg/l)	125	<10*	34	110	24	46*	287	29	14*	19*	<10	<10*	<10
BOI ₅ (mg/l)	25	16,4	21,8	16,4	9,2	>200	41,6	28,6	27,2	28,6	9,2	15,5	9,9
Nitrit-N (mg/l)	-	0,1	0,1	0,1	0,0	<0,0	0,0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2
Nitrát-N (mg/l)	-	5,3	1,1	5,4	1,9	<1	2,7	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	1,3
NH ₄ ⁺ -N (mg/l)	10	0,0	1,1	0,1	<0,1	>3	>3	0,0	0,1	0,0	0,2	1,3	0,3
Orto-foszfát (mg/l)	-	1,0	6,2	1,0	<1,0	2,5	<1,0	<1,0	3,6	<1,0	2,5	3,0	2,3
pH	6,5-9	8,3	7,9	7,9	6,6	6,7	6,8	8,2	7,6	8,1	7,8	7,5	7,8
Fajlagos vezetőképesség (µS/cm)	-	1336	1725	1362	1251	1849	1306	1286	1676	1318	802	1625	837
TOC (mg/l)	-	75,4	93,5	71,5	96,4	100,2	105,3	79,0	93,9	102,7	81,0	100,2	95,0
Oldott oxigén (mg/l)	-	8,6	2,8	8,8	9,4	3,5	8,7	8,2	7,0	7,9	7,1	3,6	6,4
Hőmérséklet (°C)	-	8	17	9,5	14	15	15	19	21	19	22	24	22

* mérési hiba, > kimutatási határ felett, < kimutatási határ alatt

3.3. A jászberényi szennyvíztisztító telep ismertetése

Jászberény az Észak-Alföldi régióban, Jász-Nagykun-Szolnok megyében található. Eleveniszapos technológiával rendelkező szennyvíztisztító telepe 1981 óta működik. A szennyvíztisztítóba (9. kép) beérkező kommunális szennyvíz (kb. 8000 m³/nap) első lépésben egy mechanikai tisztításon megy keresztül, majd a biológiai tisztítás során eleveniszapos medencékbe kerül. A medencékből kifolyó szennyvíz utóülepítőkre jut, ahonnan a már tisztított víz a befogadóként szolgáló Zagyva folyó alsó szakaszába kerül (HTTP7).



9. kép: A jászberényi szennyvíztisztító telep (http8)

Február óta jelenleg is felújításokat végeznek a szennyvíztisztító telepen a KEOP - 1.2.0/B/10-2010-0070 (Jászberény-Jászfákóhalma közös szennyvízelvezetési és tisztítási) pályázat keretein belül. A jászberényi szennyvíztisztító telep korszerűsítése során olyan új komplex eleveniszapos tisztítási technológiát építenek ki, melyben a szerves anyag lebontáson és a nitrifikáción kívül denitrifikáció és részleges biológiai foszforeltávolítás is lehetséges lesz. A munkálatok alatt átalakítják a meglévő oxidációs és eleveniszapos medencéket, felújítják a

recirkulációs szivattyúház, valamint sor kerül Dorr-típusú utóülepítők, iszapvíztelenítő gépház, tisztított szennyvíz átemelő, rács- homokfogó- osztó műtárgy, komposztáló technológia és szippantott szennyvíz fogadó és előkezelő technológia építésére, bővítésére (HTTP9).

3.3.1. A jászberényi szennyvíztisztító telep ökotoxikológiai eredményei

Az eredmények értékelésekor figyelembe kell venni, hogy a szennyvíztelepen a már említett KEOP pályázat keretein belül 2014 februárjától megkezdődtek a felújítási munkálatok. A kapott eredmények jól mutatják, hogy az építkezés megkezdése után azzal párhuzamosan folyamatosan romlott a tisztított szennyvíz minősége, ez a befogadóként szolgáló Zagyva folyó állapotát jelentősen károsította.

A **2013 novemberében** érkezett minták esetében *A. fischeri* tesztszervezettel vizsgálva egyik esetben sem tapasztaltunk citotoxikus hatást. A mintákat *P. fluorescens* tesztszervezettel vizsgálva minden esetben zavartalan szaporodás volt megfigyelhető. Az SOS-Chromo teszt egyik mintánál sem mutatott ki genotoxicitást. A mintákon a BLYES/BLYAS törzsekkel való vizsgálat nem mutatott ki hormonhatást. A BLYR törzsszel nem tapasztaltunk citotoxikus hatást.

A **2014 márciusában** érkezett minták esetében a bevezetett tisztított víz esetében nem tapasztaltunk *A. fischeri* tesztszervezettel citotoxikus hatást, azonban a bevezetés fölötti szakaszon enyhe toxikus hatást, valamint a bevezetés alatti szakaszon toxikus hatást tapasztaltunk (5. táblázat). *P. fluorescens* tesztszervezettel vizsgálva a mintákat nem jelentkezett toxikus hatás. Nem tapasztaltunk genotoxikus hatást, illetve hormonhatást egyik mintánál sem.

A **júniusban** érkezett minták esetében a bevezetés fölötti szakaszon vett mintánál *A. fischeri* tesztszervezettel vizsgálva nem jelentkezett toxikus hatás, azonban a bevezetett tisztított víz toxikusnak, valamint a bevezetés alatti szakaszon vett minta erősen toxikusnak bizonyult. A *P. fluorescens* tesztszervezet nem mutatott érzékenységet. Egyik minta esetében sem tapasztaltunk genotoxikus, illetve hormonhatású anyagok megjelenését.

Az **augusztusban** érkezett minták esetében a bevezetés fölötti szakaszon vett mintánál *A. fischeri* tesztszervezettel vizsgálva nem jelentkezett toxikus hatás, azonban a bevezetett tisztított víz toxikusnak, valamint a bevezetés alatti szakaszon vett minta erősen toxikusnak bizonyult. Egyik mintánál sem jelentkezett toxikus hatás a *P. fluorescens* tesztszervezettel vizsgálva. Egyik minta esetében sem tapasztaltunk genotoxikus hatást. A BLYES/BLYAS törzsekkel való vizsgálat nem mutatott ki hormonhatást. A BLYR törzsszel való vizsgálat nem mutatott ki citotoxikus hatást.

5. táblázat: A jászberényi minták vizsgálatának összesített mérési eredményei, 2014:

	2013. november			2014. március			2014. június			2014. augusztus		
	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti
A. fischeri teszt												
EC20 (%)	103	43	8	34	n.a.	25	78	50	1	n.a.	3	3
EC50 (%)	n.a.	388	n.a.	145	n.a.	55	399	100	4	n.a.	11	9
EC80 (%)	n.a.	3434	n.a.	613	n.a.	123	n.a.	198	17	n.a.	37	27
Toxikus egyenérték	0	0,26	0	0,69	0	1,81	0,25	1	25	0	9,09	11,11
SOS-Chromo teszt												
indukciós faktor genotoxikus	1,38 nem	1,34 nem	1,33 nem	1,21 nem	1,27 nem	1,31 nem	0,96 nem	0,99 nem	0,95 nem	0,9 nem	0,89 nem	0,87 nem
BLYES teszt												
Biolumineszcencia intenzifikáció (%) ösztrogén hatású	-16,25 nem	-19,22 nem	-19,65 nem	9,16 nem	3,97 nem	0,56 nem	-9,3 nem	-17,51 nem	-21,98 nem	9,74 nem	15,56 nem	11,84 nem
BLYAS teszt												
Biolumineszcencia intenzifikáció (%) androgén hatású	-32,1 nem	-25,62 nem	-18,63 nem	-11,83 nem	-7,52 nem	-6,91 nem	-11,3 nem	-14,5 nem	-15,12 nem	5,93 nem	-11,59 nem	-9,41 nem
BLYR teszt												
Biolumineszcencia gátlás (%) citotoxikus	0,18 nem	0,21 nem	-0,42 nem	-7,71 nem	-6,8 nem	-5,67 nem	-3,83 nem	-17,17 nem	-8,93 nem	-15,09 nem	-10,75 nem	-10,92 nem
P. fluorescens teszt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Jelmagyarázat (Toyikus egyenérték, Vengris et al, 2004)

nem toxikus	kissé toxikus	toxikus	nagyon toxikus
-------------	---------------	---------	----------------

3.3.2 A jászberényi szennyvíztisztító telep vízkémiai eredményei összehasonlítva az ökotoxikológiai eredményekkel

A kémiai oxigénigény vizsgálata során ennél a szennyvíztelepnél is feltételezhetően mérési hiba lépett fel, mivel a kémiai oxigénigény értéke egyes esetekben jóval a biológiai oxigénigény értéke alatt volt. Ezért az eredmények kiértékelésekor itt is csak a biológiai oxigénigény értékét vettük figyelembe. A 6. táblázat mutatja, hogy bár **2013 novemberében** az ökotoxikológiai tesztekkel nem tapasztaltunk toxikus hatást, mégis a tisztított vízből, valamint a bevezetés alatti szakaszon vett minta biológiai oxigénigény értéke meghaladta a határértéket. Mindemellett megjegyzendő, hogy az ammónium-N kimutatási határérték felett volt a tisztított víz és a bevezetés alatti szakaszon. Bár ez az érték nem mutatja pontosan, hogy jogszabályi határérték felett van-e az ammóniából származó nitrogén, hiszen ehhez magasabb kimutatási határral rendelkező tesztre lenne szükség. **2014 márciusában** a bevezetés feletti szakaszon a vízkémiai mérésekkel nem tapasztaltunk határértéket meghaladó eredményeket, míg a minta *A. fischeri* teszt szervezetre kissé toxikusnak bizonyult. Ennek ellenkező példája, hogy a tisztított vízből vett minta esetében a biológiai oxigénigény értéke meghaladta a határértéket, mégis az ökotoxikológiai tesztekkel nem tapasztaltunk toxikus hatást. A bevezetés alatti szakasról származó minta vízkémiai értékei a határérték alatt voltak, azonban *A. fischeri* tesztel vizsgálva mégis toxikusnak bizonyult a minta. **2014 júniusában** mindhárom helyről vett minta, valamint

augusztusban a tisztított vízből és a bevezetés alatti szakaszon vett minta biológiai oxigénigény értéke meghaladta a határértéket, valamint az NH₄-N volt kimutatási határérték felett. Emellett erős citotoxikus hatást is megfigyeltünk *A. fischeri* tesztszervezetre.

6. táblázat: A jászberényi rendszer vizsgált paramétereinek összesített eredményei, 2014

Vizsgált komponensek	Határérték	2013. november			2014. március			2014. június			2014. augusztus		
		Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti	Bev. feletti	TV	Bev. alatti
KOI (mg/l)	125	<10*	>150	59*	22	42	36	<10*	74	120	<10*	>150	135
BOI ₅ (mg/l)	25	16,9	149	84,5	9,2	34,5	18,3	25,4	50,7	33,8	10,6	49,3	61,3
Nitrit-N (mg/l)	-	0,0	0,1	0,1	0,0	0,3	0,2	0,2	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1
Nitrát-N (mg/l)	-	1,9	<0,5	0,6	2,5	3,3	2,0	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
NH ₄ ⁺ -N (mg/l)	5	0,1	>3,0	>3,0	<0,1	0,5	0,3	0,0	<0,5	0,2	0,3	>3,0	3,6
Orto-foszfát (mg/l)	-	<1,0	7,9	5,4	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	4,3	7,8	<1,0	10,5	7,9
pH	6,5-9	8,3	7,9	7,9	6,7	6,5	6,9	8,0	7,8	7,7	7,7	7,7	7,6
Fajlagos vezetőképesség (µS/cm)	-	1412	1664	1634	1273	1306	1293	1317	1498	1616	1011	1409	1293
TOC (mg/l)	-	67,7	99	92,7	99,6	99,6	100	91,2	103,3	102,8	90,6	103,4	103,1
Oldott oxigén (mg/l)	-	8,4	2,7	3,7	8,6	8,6	8,7	6,8	3,8	5,2	5,3	4,6	2,7
Hőmérséklet (°C)	-	9	15	15	15	17	16,5	21,5	22,5	21,5	24	25	25

* mérési hiba, > kimutatási határ felett, < kimutatási határ alatt

5. Összefoglaló

A kapott eredmények alapján a **Telkiben** lévő FCR rendszer befolyó még nyers szennyvízmintái *Aliivibrio fischeri* tesztszervezettel vizsgálva toxikusnak bizonyultak. Korábbi vizsgálataink alatt az FCR rendszer beállítása során (próbaüzem idején) tapasztaltunk genotoxikus anyagok megjelenését a szennyvízben. Míg az előző eredményeinkkel ellentétben, jelen periódusban nem tapasztaltunk genotoxikus, vagy hormonhatású anyagok megjelenését. Ennek oka feltételezhetően az lehet, hogy az első vizsgálati periódusunk után bezárták a Telkiben található magánkórházat, aminek szennyvizét szintén az FCR rendszer tisztította.

Az FCR rendszerkifolyó szennyvize *A. fischeri* tesztszervezettel vizsgálva nem tapasztaltunk ökototoxicitást, így ökotoxikológiai szempontból a szennyvíztisztítás sikeresnek mondható. Ezzel ellentétben a vízkémiai eredmények meghaladták a határértéket. A nitrogén és foszfor, valamint a júniusi minta esetében a biológiai oxigénigény értéke meghaladta a megszabott határértéket. Ebben az esetben valószínűleg a túlzott nematocid felhasználás következtében csökkent a biofilm hatékonysága a könnyen bomló szervesanyag eltávolítás és a nitrifikáció, denitrifikáció tekintetében, valamint megemlítenéd, hogy foszfor eltávolítást nem végeznek Telkiben, de a most mért adatok értelmében ez javasolható lenne. Információink alapján tervezik egy nagyméretű project keretében ennek kidolgozását. Ebben az esetben arra láthattunk példát, hogy a határértéket meghaladó vízkémiai paraméterek mellett nem volt ökototoxicitás tapasztalható. Bár az egész ökoszisztémára nem jelenthető ki, hogy a kifolyó víz nem jelent kockázatot, az alkalmazott tesztszervezet igen érzékeny mikroorganizmus. Egy ökoszisztéma érzékenysége általában a legérzékenyebb reprezentánsának érzékenységén múlik, így a tesztszervezetünk zavartalan szaporodása esetén feltételezhetően a kifolyó szennyvíz nem jelent az ökoszisztémára nézve kockázatot. Mindemellett ennek kijelentésére további ökotoxikológiai vizsgálatok eredménye is szükséges lenne.

A hagyományos eleveniszapos technológiával működő **Hatvan és Jászberény** városi szennyvíztisztítók esetében bár genotoxikus és hormonhatást nem mértünk a vízmintákból, de a befogadóba vezetett már tisztított víz a vízi szervezetekre kifejtett citotoxikus hatás vizsgálata során kifogásolhatónak bizonyult. Korábbi méréseink alapján a gödöllői szennyvíztisztító esetében is tapasztaltunk hasonlóeredményeket, így továbbra is aggodalomra ad okot a szennyvíztisztítók élő rendszerekre kifejtett hatása.

Eredményeink alapján az ökototoxicitást jelző minták esetében nem volt kimutatható határértéktúllépés a vízkémiai paraméterekben, illetve ennek ellenkezőjét is kimutattuk, olyan esetben ahol határértéknek megfelelő vízkémiai paraméterek nem biztosították a jó ökológiai

állapotot. Egyetlen mintavételi időpontban tapasztaltunk összefüggő eredményeket, még hozzá a Hatvan városi szennyvíztisztító telepen 2014 márciusában, ahol feltételezhetően a jelentős biológiai oxigénigény érték (amely vizsgálataink során a legmagasabb mért érték, a kimutatási határ feletti BOI-val) miatt a minta toxikusnak bizonyult *A. fischeri* tesztszervezetre. Alacsonyabb BOI értékeknél, a szervesanyag tartalom még nem eredményezett gátló hatást az *A. fischeri* tesztszervezetre, legalábbis nem tulajdonítható egyértelmű magas BOI értéknek a tesztszervezetre gyakorolt gátlás. Mindkét szennyvíztisztító telepen megfigyeltünk jellemzően a nyári hónapokban egy évszakos változással összefüggő citotoxikus hatást. Ezekben a mintavételi időpontokban a bevezetett tisztított víz nem bizonyult toxikusnak, azonban a bevezetés alatti szakaszon már toxikus hatást tapasztaltunk. Véleményünk szerint ez feltételezhetően annak tulajdonítható, hogy a bevezetés alatt a kis vízállásnak köszönhetően (lásd 5. melléklet) a nyári időszakban a szennyezőanyagok bekonzentrálódnak és akár egymás hatását felerősítve addig ki nem mutatott toxicitás jelenik meg.

A jászberényi szennyvíztisztító telep esetében a korszerűsítési munkálatokkal párhuzamosan vízminőség romlást tapasztaltunk. Jellemzően a nyári hónapokban a bevezetett tisztított víz toxikusnak, míg a bevezetés alatti szakaszon vett minta már erősen toxikus bizonyult. Ezért véleményünk szerint a szennyvíztisztító telep stabilizálását követően érdemes lenne annak hatékonyságát egy újabb periódusban felmérni, és a rendszer helyreállítását végig követni.

Eredményeink alapján szükségesnek tartanánk továbbá a vizsgálatok folytatását mindhárom szennyvíztisztító telepen. Telki esetében a foszforeltávolítási munkálatok monitoringja miatt. Mindamellet, eddigi tapasztalataink (2013-as TDK munka) és a mostani vizsgálataink eredményei alapján az FCR technológia ökotoxikológiai szempontból nem kifogásolható szennyvizet bocsát a környezetbe.

Az eleveniszapos hatvani szennyvíztisztító telep esetében a téli hónapokban, valamint a jászberényi telep esetében a nyári hónapokban a bevezetett tisztított víztoxikusnak bizonyult *Aliivibrio fischeri* tesztszervezet esetében, ezért javasolt lenne az általunk már elkezdett ökotoxikológiai állapotfelmérést további szennyvíztisztító telepekre is kiterjeszteni.

A jogszabályokban csak a vízkémiai paramétereket szabályozzák szigorú határértékekkel, azonban az eredményeink alapján jól látható, hogy a befogadó élővíz jó ökológiai állapota nem feltétlenül biztosítható csak ezeknek a komponenseknek a

monitorozásával. Ezért javasolnánk a jogszabályokban a vízkémiai vizsgálatok mellett az ökotoxikológiai vizsgálatok előírását is.