

# OBSAH

## ÚVOD

<b>1. MUTAGENNÍ A KANCEROGENNÍ ÚČINKY CHEMICKÝCH LÁTEK</b>	<b>9</b>
1.1. Mutagenní účinky	9
1.1.1. Charakteristika jednotlivých typů mutací	9
1.1.2. Mutageny	10
1.1.2.1. Fyzikální faktory	11
1.1.2.2. Chemické látky	11
1.1.3. Mutagenese	13
1.1.4. Reparační procesy	14
1.2. Kancerogenní účinky	15
1.2.1. Charakteristika nádorů	15
1.2.2. Kancerogeny	17
1.2.2.1. Fyzikální faktory	17
1.2.2.2. Chemické látky	17
1.2.2.3. Biologické faktory	18
1.2.3. Kancerogeneze	19
1.3. Vztah mutagenese a kancerogeneze	21
<b>2. VÝSKYT GENOTOXICKÝCH LÁTEK V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ</b>	<b>22</b>
2.1. OVZDUŠÍ	22
2.2. PŮDA	23
2.3. VODA	24
2.3.1. PITNÁ VODA	24
2.3.2. POVRCHOVÁ VODA	24
2.3.3. ODPADNÍ VODA	25
2.3.3.1. Splaškové odpadní vody	25
2.3.3.2. Průmyslové odpadní vody	28
2.3.3.3. Srážkové vody	31
2.3.3.4. Podmínky pro vypouštění odpadních vod do stokové sítě	32
2.3.3.5. Podmínky pro vypouštění odpadních vod do vodních recipientů	32
<b>3. METODY HODNOCENÍ KONTAMINACE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ</b>	<b>34</b>
3.1. Biologické krátkodobé testy	35
3.1.1. Modelování metabolické aktivity	36
3.2. Testy genotoxicity	37
3.2.1. Charakteristika vybraných testů genotoxicity	39
3.2.1.1. <i>Salmonella typhimurium</i> His- detekční systém (Ames test)	41
3.2.1.2. SOS chromotest	46
3.2.1.3. Mutatox	50
3.2.1.4. Kometový test	53
<b>4. PŘÍPRAVNÉ OPERACE PŘED PROVEDENÍM TESTU GENOTOXICITY</b>	<b>59</b>
4.1. Příprava vzorku ovzduší (prachové částice PM <sub>10</sub> , PM <sub>2,5</sub> ) pro testování mutagenity	59
4.1.1. Vzorkování	59
4.1.2. Odběr vzorků	59
4.1.3. Přeprava, konzervace a uchování	60
4.1.4. Předběžná úprava a příprava vzorku	60
4.1.5. Stanovení EOM	60
4.2. Příprava vzorku půdy pro testování mutagenity	61

4.2.1. Odběr vzorků	61
4.2.2. Předběžná úprava a příprava vzorku	61
4.2.3. Stanovení EOM	61
4.3. Příprava vzorku vody pro testování mutagenity	62
4.3.1. Odběr vzorků	62
4.3.2. Přeprava, konzervace a uchovávání	62
4.3.3. Předběžná úprava a příprava vzorku	63
4.3.3.1. Rozmrazování	63
4.3.3.2. Homogenizace	63
4.3.3.3. Zkoncentrování	63
4.3.3.4. Oddělování nerozpuštěných částic	65
4.3.3.5. Úprava hodnoty pH	65
4.3.3.6. Sterilizace vzorku	65
<b>5. POSTMITOCHONDRIÁLNÍ FRAKCE S9</b>	<b>66</b>
5.1. Příprava mikrosomální frakce S9 z jater krys	66
5.1.1. Indukce experimentálních zvířat	66
5.1.2. Preparace jater a příprava jaterního homogenátu	66
5.1.3. Separace frakce S9	67
5.1.4. Ověření standardních vlastností frakce S9	67
5.1.4.1. Stanovení koncentrace obsahu proteinů	67
5.1.4.2. Optimalizace frakce S9	67
5.1.4.3. Sterilita frakce S9	68
5.2. Příprava mikrosomální frakce S9 z jater ryb	68
5.2.1. Indukce experimentálních zvířat	68
5.2.2. Preparace jater a příprava jaterního homogenátu	70
5.2.3. Separace frakce S9	71
5.2.4. Ověření standardních vlastností frakce S9	71
5.2.4.1. Stanovení koncentrace obsahu proteinů	71
5.2.4.2. Optimalizace S9 frakce	71
<b>6. VYUŽITÍ MINIATURIZOVANÝCH TESTŮ V PRAXI</b>	<b>75</b>
6.1. SOS chromotest sada	75
6.2. Muta-ChromoPlate sada	76
6.3. Mutatox	78
6.4. Shrnutí poznatků	83
<b>7. NÁVRH METODY</b>	<b>85</b>
7.1. Metoda stanovení genotoxických účinků znečištění povrchových a odpadních vod na vodní organismy	85
7.1.1. Amesův fluktuální miniaturizovaný test	89
<b>8. OVĚŘENÍ NAVRHOVANÉ METODY V PRAXI</b>	<b>105</b>
8.1. Povrchové vody	105
8.2. Odpadní vody	108
8.2.1. Biocel a.s., Paskov	113
8.2.2. Bochemie spol.s r. o., Bohumín	115
8.2.3. Saft Ferak a. s., Raškovice	118
8.2.4. Ferrum a.s., Frýdlant n.O.	120
8.2.5. Nová huť a.s., Ostrava	122
8.2.6. Železářny a drátovny a.s., Bohumín	124
8.2.7. Ústřední čistírna odpadních vod, Ostrava	125

<b>9. NÁVRH OPATŘENÍ PRO SNÍŽENÍ GENOTOXICKÝCH ÚČINKŮ ODPADNÍCH VOD</b>	<b>127</b>
<b>ZÁVĚR</b>	<b>131</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b>	<b>133</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b>	<b>134</b>
<b>LITERATURA</b>	<b>136</b>
<b>SEZNAM SYMBOLŮ, ZKRATEK A ZNAČEK</b>	<b>149</b>

Genotoxický účinek je někdy vyvolán i při velmi nízké koncentraci chemických látek a je zde důležitou veličinou čas, v průběhu kterého působí látka na organismus. Důsledkem poškození genetického materiálu organismu se tak projeví až za delší dobu, někdy teprve v další generaci (Tolgyessy et al., 1984).

Genotoxické účinky látek proto představují jedno z nejzávažnějších rizik pro organismy, a to zejména vzhledem k jejich značnému rozšíření ve všech složkách životního prostředí. Podle zprávy U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency) je každý rok jen na území USA vypuštěno do životního prostředí několik milionů tun genotoxických a nebo kancerogenních látek (Claxton et al., 1993).

Nejvíce kontaminovaná složka životního prostředí je ovzduší, kde je největším problémem obsah oxidu siřičitého, který se slučuje s vodou na kyselinu siřičitou. U hydrogensířičanového aniontu a siřičanového aniontu byla v pokusech in vitro prokázána vysoká reaktivita s DNA (Melachová, 1993). Ve vzduchu se však v různých koncentracích nachází také řada dalších genotoxických látek jako jsou např. polycyklické aromatické uhlovodíky, polychlorované bifenylly, formaldehyd, tetrahaloethylen, těžké kovy (Štárek et al., 2001; Parva - Boffina, 1993).

Silné znečištění prostředí se nešetrným způsobem odráží také na kvalitě zemědělské půdy. Vedle těžkých kovů jsou v půdách obohaceny víceuhlíkaté uhlovodíky, polycyklické aromatické uhlovodíky, rezidua pesticidů, herbicidů, insekticidů, fungicidů a růstových regulátorů, polychlorované bifenylly, deriváty nitrosokouenní apod. (Melachová, 1993).

Znečišťující látky z ovzduší i z půdy se v konečné fázi dostávají do povrchových i podzemních vod jako konečného recipientu. Kontaminace vod genotoxickými látkami se