

MONTABIO-füzetek I.

Környezetanalitikai és toxikológiai indikációkon
alapuló rendszer a fenntartható talajminőségért

Environmental analytical and toxicological indication
based system for sustainable soil quality



Környezetanalitikai és toxikológiai indikációkon alapuló rendszer a fenntartható talajminőségért

Environmental analytical and toxicological indication based
system for sustainable soil quality

A kiadványt szerkesztette / Editors
Székács András és Illés Zoltán / András Székács and Zoltán Illés

© MTA Növényvédelmi Kutatóintézete
Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences
Budapest
2009

A kiadvány a
“Komplex monitoring rendszer összeállítása talaj-mikroszennyezők analitikai
kimutatására és biológiai értékelésére a fenntartható környezetért (MONTABIO)”
OM 00026, 00027, 0028 és 00029/2008
kutatási program támogatásával készült.

This publication has been sponsored by the research project
OM 00026, 00027, 0028 and 00029/2008
“Complex monitoring system for analytical detection and biological evaluation of
soil micropollutants for a sustainable environment”.

Címlapkép – Szeift Béla: Egynyári növény
(akvarell, merített papír, 2009)

Cover picture – Béla Szeift: Annual plant
(water-color on dipped paper, 2009)



Borítóterv / Cover design: Závodszy, F.

MONTABIO-füzetek – I.
Kiadja az MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, 1525 Budapest, Pf. 102.
E-mail: webmaster@nki.hu
Felelős kiadó: Dr. Barna Balázs
ISBN 978-963-87178-3-2
ISBN 978-963-87178-4-9 (I.)
Készült a **dART studio** gondozásában.

TARTALOMJEGYZÉK

TABLE OF CONTENTS

A "MONTABIO" (OM 00026-00029/2008) projekt elemei <i>Szabó, P., Anton, A., Székács, A., Mészáros, F.</i>	Elements of research project "MONTABIO" (OM 00026-00029/2008)	4
A magyar Talajinformációs és Monitoring Rendszer, a fejlesztés lehetőségei <i>Anton, A.</i>	The Hungarian Soil Information and Monitoring System and its expansion possibilities	6
Mintavételi kérdések a komplex talajszennyezési és talajbiológiai monitorozás tervezésénél <i>Dombos, M., Szécsy, O., Szabó, J., Anton, A.</i>	Sampling issues for the design of a complex soil contamination and biological monitoring system	18
Gyakori talaj- és vízszennyező növényvédő szerek Magyarországon, környezetanalitikai és ökotoxikológiai kockázatok <i>Székács, A., Darvas, B.</i>	Common soil and water contaminating pesticides in Hungary, environmental analytical and ecotoxicological risks	33
Gázkromatográfiás módszerek a környezetanalitikai vizsgálatokban <i>Mörtl, M., Maloschik, E., Juracsek, J., Székács, A.</i>	Gas chromatography in environmental analysis	43
<i>Daphnia magna</i> bioteszt alkalmazása környezeti mintákon <i>Fekete, G., Fejes, Á.</i>	Application of <i>Daphnia magna</i> biotest on environmental samples	52
Az Ames és SMART mutagenitási tesztek alkalmazhatósága környezeti mintákon <i>Bokán, K., Darvas, B.</i>	Applicability of the Ames and SMART mutagenicity tests on environmental samples	57



A "MONTABIO" (OM 00026-00029/2008) projekt elemei

Elements of research project "MONTABIO" (OM 00026-00029/2008)

Szabó Péter^a, Anton Attila^b, Székács András^c és Mészáros Ferenc^d

^a Megaterra Környezetvédelmi Mérnöki Iroda Kft., Budapest

^b MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet, Budapest

^c MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai Osztály, Budapest

^d Fair Trade Agro Bio Export-Import Kft., Békéscsaba

P. Szabó^a, A. Anton^b, A. Székács^c and F. Mészáros^d

^a Megaterra Environmental Engineering Office Ltd., Budapest, Hungary

^b Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary

^c Department of Ecotoxicology and Environmental Analysis, Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary

^d Fair Trade Agro Bio Export-Import Ltd., Békéscsaba, Hungary

The objective of project MONTABIO is to develop a soil contamination monitoring system capable of complex survey of typical soil contaminants in Hungary using up-to-date sampling and measurement techniques, eliminating environmental protection and analytical limitations due to the agricultural focus of the present Soil Protection and Monitoring Information System (TIM). Besides the representativity-optimization of the sampling technique to reveal the contamination source, important objectives of the projects include: (1) *in situ* sensoric methods to identify volatile contaminants, and validation of the reliability of these methods; (2) expansion of the range of investigation beyond analytical determinations to biotests (soil biology, ecotoxicity, mutagenicity) to provide risk based soil and ground-water contaminant identification; (3) interpret results in a spatial informatics system to obtain a measurement protocol adaptable to ecological indications.

A 2007. évben meghirdetett Jedlik Ányos Program (a pályázati kiírás azonosítója: NKFP_07_A4) keretében elnyert projektünk célkitűzése komplex monitoring rendszer összeállítása talaj-mikroszennyezők analitikai kimutatására és biológiai értékelésére a fenn tartható környezetért. A MONTABIO projektet a Magyar Tudományos Akadémia két intézete, a Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet (MTA TAKI) és a Növényvédelmi Kutatóintézet

(MTA NKI), valamint két üzleti vállalkozás, a Megaterra Környezetvédelmi Mérnöki Iroda Kft. (Budapest) és a Fair Trade Agro Bio Export-Import Kft. (Békéscsaba) által alkotott négyes konzorcium valósítja meg, a konzorciumvezető a Megaterra Kft. ügyvezetője, a projekt szakmai vezetője az MTA TAKI részéről kijelölt a témavezető. A kutatási-fejlesztési projekt célkitűzése, talajszennyezés-monitoring rendszer létrehozása, amely



- korszerű mintavételi és méréstechnikai módszereket alkalmaz
- alkalmas a hazai talajszennyezők jellegzetes típusainak komplex felmérésére
- kiküszöböli a jelenleg működő Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszer (TIM) mezőgazdasági irányultságából adódó környezetvédelmi és -analitikai hiányosságokat.

A mintavételezési technikának a szennyező forrás feltárására vonatkozó reprezentativitás-optimalása mellett a projekt fontos analitikai és módszertani célkitűzései, hogy:

1. az illékony szennyezők (pl. VOCI, TPH) meghatározására szenzortechnikán alapuló helyszíni, *in situ* méréstechnikákat dolgozzon ki,;
2. a kockázatcentrikus talaj- és talajvízszennyezés-azonosítási mód érdekében a vizsgálati eljárások körét az analitikai határozáson túl biológiai tesztekkel bővítse, a kémiai és genetikai biztonság javítását célozva;
3. a mintaterületek eredményeit térinformatikai rendszerben együtt interpretálva az ökológiai indikációktól függően alakítható mérés-technikát dolgozzon/alkalmazzon.

A projekt teszterületén (Békes megye) a területhasznosítás típusai szerint többféle terület került kijelölésre:

1. Intenzív mezőgazdasági termelés alá vont termőterület
2. Ökológiai mezőgazdasági termelés alá vont termőterület

3. Mezőgazdasági termeléssel felhagyott terület, legelő
4. Pontszerű szennyezés mezőgazdasági szennyező anyaggal (nem mezőgazdasági tevékenység)
5. Pontszerű szennyezés ipari eredetű szennyező anyaggal

Az alkalmazott módszerek

Mintavételezés. A projekt keretében tervezett munka első lépése a vizsgálati minták vételezése a kijelölt teszterületekről. E feladatkör kiterjed talaj-, felszínvíz- és talajgáz-mintavételre.

Kémiai analitika. A vett környezeti mintákat kémiai analízisnek vetjük alá. Erre a mintavétel helyén (*in situ*) mérésekben kerül sor, illetve a minták laboratóriumba szállítását követően, amikor – a minta-előkészítést követő – műszeres analitikai mérésekkel meghatározzuk a különböző növényvédőszer-maradékok és szénhidrogének, valamint a műtrágya- és más eredetű szervesetlen toxikus szennyezők koncentrációját.

Biológiai vizsgálatok. A mintákat mutagenitási és biotesztekben vizsgáljuk. Ökológiai bioindikációs vizsgálatokban felmérjük a talajok biodiverzitását, az „összmikrobás” katabolikus aktivitásokat és más talajökológiai indikációkat.

Térinformatika. A mintavételi pontok elhelyezkedését megjelenítésük és a statisztikai értékelések érdekében térinformatikai rendszerben dolgozzuk fel.

Törvényhozási és közpolitikai értékelés. A környezetállapot fenntartása/védelme/ visszaállítása érdekében eredményeinket a közpolitika számára feldolgozva döntéshozói körök rendelkezésére bocsátjuk.



A magyar Talajinformációs és Monitoring Rendszer, a fejlesztés lehetőségei

The Hungarian Soil Information and Monitoring System and its expansion possibilities

Anton Attila

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet,
Budapest

A. Anton

Research Institute of Soil Science and
Agricultural Chemistry, Hungarian Academy of
Sciences, Budapest, Hungary

The Soil Protection and Monitoring Information System (TIM), established in 1992 by law, provides systematic measurement and observation (monitoring) on soil quality. Its objective is to characterize the spatial position and temporal variation of the soil resources to assure appropriate regulation: TIM, consisting of 1236 segments (865 agricultural, 183 forestry and 189 special problematic sites) covers the entire country without limitations in soil utilization, ownership or other considerations. Its limitations are, however, that (i) segment density is variable due to geomorphological, botanical and pedological features; and (ii) the lack of risk-based structure. The agricultural focus of the present TIM structure is to be expanded to consider meteorological and atmospheric chemistry parameters, effective environmental contamination, as well as ecotoxicology and bioindication.

Az 1992-ben létrehozott Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszer (TIM) jogi háttérét a termőföldről szóló 1994. évi LV. számú törvény jelentette, működtetéséről a termőföld védelméről szóló 2007. évi CXXIX. törvény rendelkezik. A törvény meghatározza a talajvédelem állami feladatait, melyeket a földügyekért felelős miniszter a talajvédelmi hatóság útján lát el. Meghatározza azokat a feladatokat, amelyek ellátásáról az államnak kell gondoskodnia annak érdekében, hogy a talajokról megfelelő mennyiségű adat, információ, szakszerűen feldolgozott és nyilvántartott térképanyag stb. álljon rendelkezésre, továbbá meghatározza, hogy a talajok állapotáról rendszeres mérés, rutin megfigyelés (monitorozás)

működjön. A TIM koncepcióját szakértői bizottság dolgozta ki az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet irányításával [1]. A TIM célja a talajkészletek térbeli helyzetének jellemzése, a talajállapot időbeli követése a megfelelő szabályozás érdekében. A TIM az ország egész területére kiterjed, a művelési ágak, tulajdonjog vagy egyéb szempontok szerinti korlátozások nélkül.

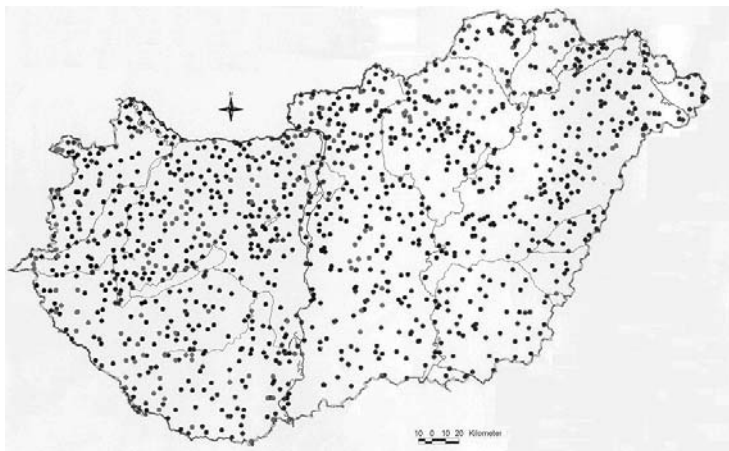
A TIM alapállapot-felvételezésére 1992-ben került sor. A mérőhálózat 1236 pontot foglal magába, kisebb természetföldrajzi egységek reprezentatív területein. Az 1236 monitorozási pontból 865 mezőgazdasági, 183 erdővel borított, 189 speciális, problematikus területen található, így:



- ivóvízbázisok hidrogeológiai védőterületein,
- tavak, tározók vízgyűjtőjén,
- erősen szennyezett ipari és agglomerációs körzetekben,
- hulladék és veszélyes hulladéklerakó helyek környékén,
- közlekedés érintette területeken,
- katonai létesítmények környékén,
- környezeti szempontból érzékeny területeken.

A monitoring rendszer működtetésében elengedhetetlen, hogy a mintavétel évente azonos időben történjen, hiszen néhány talajtulajdonság erőteljes

szezondinamikát mutat, és csak a közel azonos időben vett minták eredményei vethetők össze az évek során. Az időpont kijelölésének másik szempontja, hogy viszonylag kevés mezőgazdasági kultúra borítsa a területeket, hogy a helyszíni munkával lehetőleg minél kevesebb kár keletkezzen. Mindezek alapján a mintavételt évente szeptember 15. és október 15. között kell elvégezni. Az eredmények összevethetősége miatt nagy a jelentősége annak is, hogy a minták közel azonos helyről származzanak, ezért a mintavételt minden évben a kijelölt pont 50 m-es körzetében kell végrehajtani (1. ábra).



1. ábra A Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszer (TIM) talajszelvényeinek földrajzi eloszlása 1:10 000 léptékű térképen.

Az alapállapot rögzítése érdekében az első évben igen széleskörű vizsgálatokra került sor (a vizsgálandó paraméterek egy részét csak egyszer, ebben az első évben határozták meg). A TIM eredeti ütemezésében szereplő vizsgálatok voltak a talajok fizikai-kémiai tulajdon-

ságainak (beleértve a tápanyagtartalom, a toxikus elem-tartalom meghatározását is), valamint a talajok mikrobiológiai sajátosságainak meghatározása. Az egyes talajtulajdonságok időbeli változékonysága szerint a vizsgálatokat 1, 3 vagy 6 évenként kell ismételni (1. táblázat).

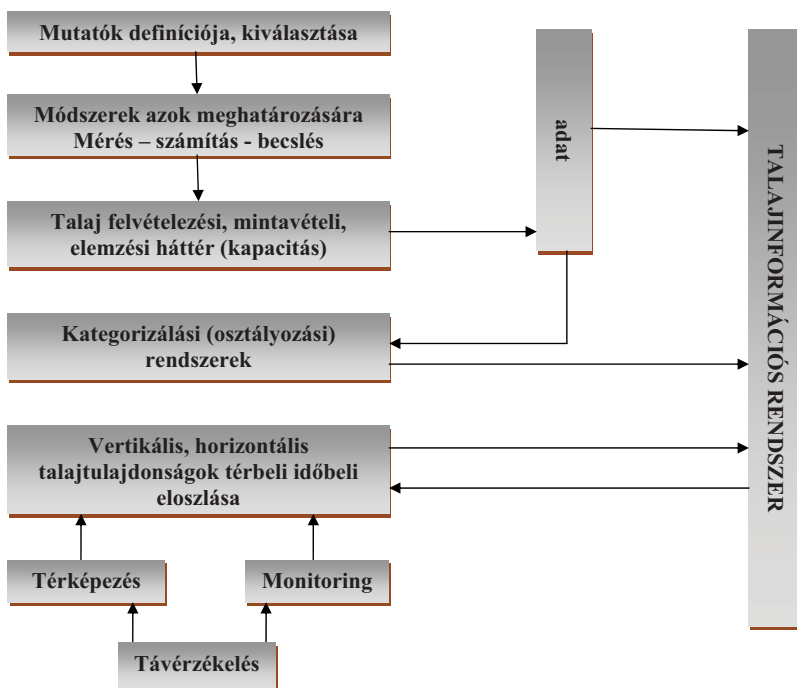
*I. táblázat* A TIM mérőhálózatában meghatározásra kerülő talajtulajdonságok

Meghatározni kívánt talajjellemző	1992	évente	3-évente	6-évente
Térfogattömeg	*	—	—	—
Mechanikai összetétel	*	—	—	—
Arany-féle kötöttségi szám (K_A)	*	—	—	—
Higroszkóposság (hy_2)	*	—	—	—
Teljes vízkapacitás (pF0)	*	—	—	—
Szabadföldi vízkapacitás (pF 2,5)	*	—	—	—
Holtvíztartalom (pF 4,2)	*	—	—	—
Hasznosítható vízkészlet (pF 2,5-pF 4,2)	*	—	—	—
CaCO ₃ -tartalom ha > 5 %	*	—	—	*
ha 1-5 %	*	—	*	—
ha < 1 %	*	*	—	—
pH deszt.vízben ha a CaCO ₃ tartalom > 1 %	*	—	*	—
< 1 %	*	*	—	—
pH nKCl-ben ha a CaCO ₃ tartalom > 1 %	*	—	*	—
< 1 %	*	*	—	—
Hidrolitos aciditás, ha a talaj nem karbonátos	*	*	—	—
Kicserélődési aciditás, ha a talaj nem karbonátos	*	*	—	—
Összes vízzoldható sótartalom	*	—	—	*
Összes só szikes, vagy szikesedésre hajlamos talajok	*	*	—	—
1:5 arányú vizes kivonat elemzése (CO ₃ ³⁻ , HCO ₃ ³⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺) nagyobb sótartalmú talajokon/	*	—	—	*
Szódalúgosság (szikes talajokon)	*	—	*	—
Szervesanyag tartalom	*	—	*	—
Adszorpciós kapacitás	*	—	—	*
Kicserélhető kationok összetétele (Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺)	*	—	—	*
Összes N-tartalom	*	—	*	—
Nitrát/nitrit-tartalom	*	*	—	—
"Felvehető" növényi tápelemek mennyisége (P, K, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Na, Fe, B, Mo)	*	—	*	—
"Toxikus"(toxikussá válható) elemek mennyisége (Al, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Zn)	*	—	*	—
Cellulózeszt a talaj biológiai	*	—	*	—
Dehidrogenázaktivitás aktivitásának	*	—	*	—
CO ₂ -produkció jellemzésére	*	—	*	—
Természetes radioaktivitás	*	—	*	—
Talajvíz kémiai összetétele (pH, EC, Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Na ⁺ , CO ₃ ²⁻ , HCO ₃ ³⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻)	*	*	—	—



A TIM eredeti ütemezésében nem szerepelt a növényvédőszer-maradékok, szerves szennyezők vizsgálata. Növényvédőszer-vizsgálatokra 1993-ban az információs mérőhelyek közül 100 szelvényből, intenzíven művelt területről, a felső 3 genetikai szelvényből került sor. Az ekkor vizsgált szer-csoportok fenoxi-karbonsavak, triazin-

származékok, klórozott szénhidrogének voltak. Ezen vizsgálatok folytatódtak, illetve bővültek 1996-97-ben a karbamát és foszforsavészter szercsoportokkal. A szerves mikroszennyezőket csak 1996-ban és 1997-ben kezdték el vizsgálni. A talajtulajdonságok regisztrációja több lépésben zajló folyamat, amit a 2. ábra szemléltet.



2. ábra Magyarországi talajok tulajdonságainak jellemzése a TIM pontok alapján

A talajok kémhatását alapvetően az alapkőzet minősége és a talajképződési folyamatok határozzák meg. A kémhatás közvetlenül (tápelemek oldhatósága) és közvetve (mikroszervezetek tevékenysége, toxikus fémek mobilizá-

ciója) hat a biomassza-produkcióra. Magyarországon az erősen savanyú és erősen lúgos kémhatású talajok területének nagysága csekély. Talajaink túlnyomó többsége gyengén savanyú vagy gyengén lúgos kémhatású.



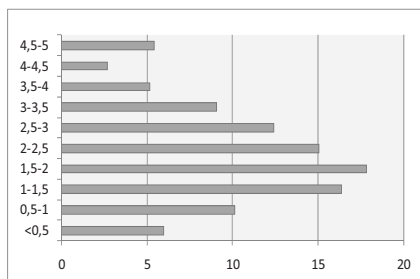
A TIM rendszer előírásai szerint, ha a pH értéke nagyobb, mint 6,8, meg kell határozni a CaCO_3 -tartalmat, erősen lúgos talajokon pedig a szódalúgosságot. A CaCO_3 -tartalomnak nemcsak a kémhatásvizonyok szabályozásában van fontos szerepe. A karbonátos talajok adszorpciós komplexumában mintegy 70-80% a kalcium részaránya, ami kedvező a termékenységre, a fizikai-kémiai tulajdonságokra. A kalcium a kolloidok stabilizálásával hozzájárul a jó talajszerkezet kialakításához, a levegő- és vízháztartás javításához.

A hazai talajok humuszállapota a humusztartalom és a humuszos réteg vastagsága szerint egyaránt jó. Viszonylag alacsony a kis humusztartalmú talajok aránya, a TIM minták közel kétharmad része 1,5% feletti humusszal jellemezhető (3. ábra). A 2000-2004 közötti eredményeket összevetve megállapítható, hogy a minták 20%-ban mutatkozik humusztartalom-csökkenés, 64%-ban a szint változatlan, míg 16%-ban némi növekedés tapasztalható.

A TIM pontok alapján igen jól elkülönülnek hazánk nagy homoktájai (11%), mint a Nyírség, a Duna-Tisza köze, a Somogyi-homokhát. A kedvező

tulajdonságú vályog- és homokos vályogtalajok a löszalapú csernozjom-talajokra és a barnaföldekre jellemzőek (31%). Ezek elsősorban a Mezőföldön, Észak-Dunántúlon és az Északi-Középhegység nyugati részén fordulnak elő. Az iszapos vályog (20%) a Dunántúl talajaiban fordul elő, de találhatóak az Északi-Középhegységben és a debreceni löszháton is. Az iszapos agyagos vályog (12%) az Alpokalján, a Baranyai-dombság és a Dél-Tiszántúli-löszhát és az Északi-Középhegység egyes részein fordul elő. Nehezebb mechanikai összetétel jellemzi a Bodrogi-közt, Közép-Tisza mentét, a Jászság vidékeit.

Az 1992-es mintavételezéskor a TIM minták 8%-ban 50 mg/kg feletti volt a nitráttartalom, míg 1998-ban már csak 2%-a tartozott ebbe a kategóriába. A talajok kálium- és foszforellátottsága jónak mondható. A TIM eredményei alapján a magyarországi talajok többségét emissziós eredetű, diffúz szennyeződés nem érte, mezőgazdasági talajaink tiszták. Az eltérő intenzitású, de lassan ismét emelkedő vegyszerhasználat hatása elsősorban a kiterjedt mezőgazdasági művelésű területtel rendelkező közép-dunántúli és a két alföldi régióban érzékelhető. A TIM keretében szerves szennyezők vizsgátaiban mutatkozó „szennyezési kép” lényegében kedvezőnek nevezhető, bár a vizsgált mérési pontok, a talajminták száma és a mintaterületek kiválasztása alapján semmiképpen nem beszélhetünk országos reprezentativitásról. A TIM adatbázisa egyes esetekben lehetővé tesz további összefüggés-vizsgálatokat, a változások időbeli követését.



3. ábra Talajaink humusztartalma



Fejlesztési lehetőségek

Mintavétel-optimalizálás, reprezentativitás

A TIM mintasűrűsége átlagosan kb. 77 km² mintavételi pontonként, ám ez a különféle geomorfológiai, botanikai és a rendszer célkitűzéseiből fakadó, főként talajtani szempontok folytán változó. A kifejezetten az erősen szennyezett ipari és agglomerációs körzetekre telepített mintavételi pontok – ha szennyezettek – (térképi) megjelenítéskor túltrepezentálják a szennyező hatást, mivel e hatások többsége az átlagos 77 km²-nél kisebb területen érvényesül. A kiugró, egyedi értékek mintavételi helyét, környezetét, a lehetséges szennyező forrásokat tehát egyedileg kell vizsgálni és interpretálni, mivel pusztán a vizsgálati eredmények alapján generált térképsorozatok – a fentiek következtében – magukban nem alkalmasak a különféle szennyezések és szennyezett talajok „koordinátszerű” lehatárolására, csupán jelzik, hol kell ilyen, lehatároló vizsgálatokat végezni. Az eredmények területi kiterjeszthetősége a domborzati viszonyoktól is függ [2]. A finomabb felbontás érdekében az egész ország területére nézve a jelenlegi TIM mérési pontok megsokszorozása – kívánt, ha a vizsgálati kör is bővül – finanszírozhatatlan. A TIM létrehozása óta az eredeti céloktól némiképp eltérő súlyponttal jelentkező, mind több szennyező ágens monitorozási és a nagyobb felbontás igényét az adott gondra (emisszióforrás, „érzékeny” terület stb.) létrehozott regionális vagy lokális alrendszerek elégíthetik ki.

A TIM rendszer térbeli felbontásának növelése, térségi szintű alrendszerének megalapozása. A TIM jelenlegi mérési pontjainak mintasűrűsége nem teszi lehetővé a mérési adatoknak az országosnál nagyobb felbontásban történő megjelenítését. E felbontásban a mintavételi pontok vizsgálati eredményeinek területi kiterjeszthetőségéhez nem áll rendelkezésre térbeli objektum. Egy kiválasztott térség (mintaterület) komplex jellemzéséhez; a talaj agrár- és ökológiai potenciáljának változásértékeléséhez megfelelő, a vizsgálati tér léptékében releváns számú vizsgálati (mintavételi) pont meghatározására és kijelölésére van szükség. A kijelölést a meglévő nagyléptékű talajtani- és domborzati adatbázisokra támaszkodva, azok térinformatikai alapokon történő értékelésével lehetséges elvégezni. A legfontosabb részfeladat a térségi szintű talajtani adatbázisok kialakítása, amihez az ország mezőgazdasági területeire az MTA TAKI térképi, valamint helyszíni és laboratóriumi vizsgálati alapadatai szolgálhatnak kiindulásul.

Az agroökológiai egységek elhatárolása lehetséges a Kreybig-féle átnézetes térképezés adatai alapján, hiszen annak célja a helyi talajadottságok vizsgálata, a talajok térbeli mintázatának meghatározása, a főbb talajtulajdonságok ábrázolása és részletes ismertetése volt. A Kreybig-féle talajismereti térképsorozat máig az egyetlen, az országot teljesen lefedő, ilyen jellegű nagyléptékű térképsorozat. Talajtermékenységi és -értékelési szempontú reambulációja és térinformatikai adaptációja országos jelentőségű kihívás [3].



Kockázatközpontúság

A szennyezett területek kockázatközpontú „kezelése” lassan beépül a hazai jogrendbe. Ezt bizonyítja, hogy a III. Nemzeti Környezetvédelmi Program (2009-2014) rögzített intézkedései közé tartozik a szennyezett területek kockázat alapú kezelésének továbbfejlesztése, illetve a 6/2009. (IV. 14.) KvVM-EüM-FVM együttes rendelet hatályba lépése (a földtani közeg és a felszín alatti víz szennyezéssel szembeni védelemhez szükséges határértékekről és a szennyezések méréséről), ami csupán „B” általános szennyezettségi határértéket rögzít. A rendelet alapján az egyedi „D” kármentesítési célhatárérték meghatározásánál fontos szerep jut a kockázatfelmérésnek. Ez kiterjed a szennyezett terület jellemzésére, a veszélyforrás azonosítására, a kitettség felmérésére, a hatás feltárására és a veszélyes anyag mennyiségének meghatározására. Várható, hogy egyre szélesebb körben terjednek el az olyan kármentesítési, remediációs technológiák, melyek a természetes szennyezőanyag-csökkenés (NA) monitorozását (MNA) vagy intenzifikálását (ENA) veszik alapul. Ennek értelmében a TIM sem nélkülözheti a kockázatközpontú szemléletet.

A meteorológiai és légkörkémiiai adatok, viszonyok, sajátosságok, kapcsolódó adatbázisok figyelembe vétele. Az emissziós források és adatok mellett, az uralkodó szélirány, szélerekségek, stb. ismerete fontos támpont a mintavételi helyek kijelöléséhez. A hazai

légszennyezettség-mérő hálózatok: az Országos Immissziómérő Hálózat (RIV) és az automatikus légszennyezettség-mérő hálózatok keretében alapvetően szakaszos, aktív mintavételezésen alapuló vizsgálatai alapvető összetevőkre (ülepedő por, SO_2 , CO, NO_2 , korom), esetenként és helyenként pedig más komponensekre terjednek ki, az ország közel száz településén.

1980 és 2000 között értékes vizsgálatok folytak (és folynak jelenleg is) a települések levegőminőségének alakulásáról [4], részben az európai, ezen belül a hazai regionális háttérszennyezettség-mérő hálózatban mért adatok (SO_2 , NO_2 , NO_3^- , NH_4^+ , SO_4^{2-} , Pb és Cd légköri koncentrációja és nedves ülepedése), részben a Magyarországon végzett intenzív mérési kampányok során szerzett információk (toxikus nehézfém-koncentrációk, az azokat hordozó aeroszol-részecskék nagyság szerinti eloszlása), és modellszámítások (nagy távolságú légköri terjedési modell: Pb, Cd; kontinentális skálájú modell: kén- és nitrogénvegyületek) tekintetében. 1992 óta az MTA TAKI működteti a jelentős intézeti és egyetemi együttműködéssel folyó, integrált megközelítésű Nemzeti Fokális Központot (*National Focal Center*), mely tevékenységét az ENSZ Európai Gazdasági Bizottsága keretében, a *World Geodetic System* égisze alatt folytatja [5]. A kritikus terhelési és terheléstüllépési térképek, az azokhoz felhasznált és fejlesztett adatbázisok értékes információt szolgáltathatnak a TIM aktualizálásához. Néhány mintaterületen megtörtént a kritikus



terhelési értékek nagy földrajzi felbontású (1x1 km) módszertanának tesztelése, a hatófelszín-kategóriák teljes körű meghatározása és integrált térinformatikai adatbázisú rangsorolása [6], illetve a hazai talajok bizonyos környezeti hatásokkal szembeni érzékenységi térképei is rendelkezésre állnak [7].

Ténylegesen ható szennyezőanyag-koncentrációk. A környezet nehézfém-terhelése több forrásból, természetes geokémiai, biológiai és antropogén hatásokból eredhet. A talajban a hatás a tényleges mobilitásviszonyokkal áll összefüggésben, ami azt jelenti, hogy magas „összes”elem-koncentráció nem feltétlenül von maga után nagy környezeti kockázatot. Bár számos nehézfém (pl. Ni, Zn, Cu, Cr stb.) az élő szervezet számára nélkülözhetetlen, esszenciális, a szükségesnél nagyobb koncentrációban előfordulva mérgezőek [8]. Egyes nehézfémek (Hg, Cd, Pb) egyáltalán nem szükségesek az élő

szervezetek számára, így különösen veszélyesek.

A talajtulajdonságokat értékelve a nehézfémek mobilitását nagyban befolyásolja a talaj szemcseméret-eloszlása, pórustérfogata, vízkapacitása, kapilláris vízvezetése, permeabilitása, hőmérséklete. E tulajdonságok közvetve vagy közvetlenül szerepet játszanak a talaj szerkezetének, hő-, víz- és levegőháztartásának, a mikroflóra és mikrofauna, az ásványianyag-csere és a talaj öntisztulási folyamatainak kialakításában [9].

Talajinkubációs modellkísérletben eltérő fizikai, kémiai, és fiziko-kémiai tulajdonságú modelltalajokon (*II. táblázat*) vizsgáltuk a nehézfémek mobilitásviszonyainak alakulását desztillált vizes (csapadékkal történő kimosódás modellezése), acetátpufferes (savas közeg modellezése), és Lakanen–Erviö-féle kivonattal [10] (növényi felvehetőség modellezése). Az egyes oldható nehézfémfrakciókat ICP AES alkalmazásával mértük.

II. táblázat A modelltalajok tulajdonságai

Származási hely	Talajtípus	pH (H ₂ O)	K _A	CaCO ₃ %	H%
Nyírlugos	Gyengén humuszos, kovárványos homoktalaj	5,1	25	Nyomokban	0,8
Gödöllő	Homokon kialakult rozsdabarna erdőtalaj	6,1	27	Nyomokban	1,3
Örbottyán	Gyengén humuszos, karbonátos homoktalaj	7,8	24	12,4	0,7
Nagykorpád	Raman-féle barna erdőtalaj	5,9	38	Nyomokban	1,5
Gyöngyös	Csernozjom barna erdőtalaj	6,4	43	Nyomokban	3,2
Apaj	Szolonsák-szolonyec talaj	8,8	34	13,8	2,0
Ragály	Savanyú barna erdőtalaj	4,7	41	Nyomokban	1,6
Hajdúböszörmény	Réti talaj	7,5	54	Nyomokban	4,4
Hortobágy	Szolonsák-szolonyec talaj	9,1	60	5,1	3,0



Többváltozós lineáris regresszióanalízis eredményei alapján a fémek mobilitását nagyban befolyásolták a modelltalajok tulajdonságai. A kémhatás, a kötöttség és a humusztartalom együttesen hatott a Zn, Pb, Cd, Cr vízdoldható ($P > 90\%$), és az acetátoldható elemtartalmára ($P > 99\%$). Ez is rávilágít, a tényleges kockázat nem határozható meg az ún. „összes”-koncentráció mérésével. A talajtulajdonságokat is ismerni kell a szennyezés környezeti kockázatának megítélésében, és egyes tulajdonságok változása szerepet játszhat a szennyezés környezet- és humán egészségügyi kockázatának alakulásában.

Biológiai tesztek, bioindikáció, öko-toxikológia. A talaj az ökoszisztémák talán egyik legbonyolultabb szerkezetű eleme, mely élettérhez számos élőlénycsoport adaptálódott: alacsonyabb és magasabb rendű állatok, gombák egész sora kizárólag a talajban élhet. Ez maga után vonja a talajvédelemi stratégia egyik célját: a biodiverzitás megőrzését. A bioindikáció a talajlakó életközösségek ökológiai minősítése, melyhez a talajbiota monitoring szintű feltárása és mérése szükséges. A talaj-ökológiai indikációs eljárások az élőhelyeken fellépő degradatív folyamatokat teszik mérhetővé, jelzik, hogy adott élőhely talajaiban az életközösségek ökológiai állapotjelzői adott környezeti terhelés mellett – pl. területhasználat módja, intenzitása, szennyezettsége stb. – mennyire különböznek a kevésbé terhelt területek életközösségeitől. E módszercsalád alapján képesek lehetünk

a terhelések mértékét a fenntarthatóság szempontjából skálázni, esetleges degradációs veszélyeket feltárni és indikációs modellek bevezetésével a talajökológiai változásokat előre jelezni [11].

Az Európai Környezetvédelmi Ügynökség (*European Environmental Agency*) tagországai között talán az egyik legrészletesebb adatbázis az Ausztriában 1992-ben bevezetett ún. BORIS talajmonitoring rendszer, mely részletes talajzoológiai, -ökológiai vizsgálatokat is tartalmaz. Ebben a rendszerben a mikrogerinctelen állatcsoportok és a mezofauna egyedszám- és fajszám-becslését, továbbá a teljes makrogerinctelen fauna mintavételezését végzik el. Noha az egyes gerinctelen állatcsoportokról csak a magasabb rendszertani kategóriákat határozzák meg (fajszintű azonosítás nincs), a monitoring rendszer az ökológiai indikációs elemzésekhez jó adatokat biztosít. Részletes elemzésre kerül a talaj mikrobiális szintje, melyben 26 paramétert mérnek.

A TIM talajbiológiai bővítési lehetőségei

1. módszer. Különböző túlélési stratégiájú mikrobák részarányának megállapítása (szelektív táplemezek felhasználásával). A módszer a talajok degradációs fokát, termékenységét, környezeti stabilitását jellemzi. Elve, hogy jó környezeti körülmények között a gyors szaporodású, nagy tápanyagigényű mikrobák részaránya magasabb, viszont tartós és folyamatos természetes vagy antropogén „stresszkörülmények”



között a jobb környezeti tűrőképességű, lassú szaporodású, kis tápanyagigényű mikrobák nagyobb számú jelenléte várható és igazolt. Rendszeres (éves/szezonális) vizsgálatok kimutatják a degradációs tendenciákat.

A módszer a talajok mikrobiológiai állapotát méri fel, mely függ a hőmérséklettől, vízellátottságtól, talajtulajdonságoktól, szezonaritástól stb., emiatt nagy szórás várható, az értékeléshez a talajtulajdonsággal való korrelációvizsgálatra is szükség van. Rendszeres adatfelvétel a talajok puffereképességéről és plasztikusságáról (*resilience*) informál, s arról, bolygatás vagy egyéb környezeti stressz után mennyire képes a talaj-mikroflóra „helyreállni”.

2. módszer. „Összmikrobás” katabolikus aktivitás meghatározása fluoreszcindiacetát (FDA) módszerrel [12]. A módszer a talajok összes mikrobiális biomassájának a megállapítására alkalmazott Jenkinson-féle kloroform-fumigációs eljárással erős pozitív korrelációt ad. A módszerrel a talaj-mikrobiota mennyiségét határozzuk meg, ami bizonyos határértékek között jellemző lehet az adott talajra.

3. módszer. Talajökológiai indikáció a fonálféregtaxonok (Nematoda) összetétele alapján az „érettségi index” felhasználásával. Az életmenet-stratégián alapuló indikációs eljárások az általános diszturbációs elméleten alapulnak, amely kimondja, hogy zavarás hatására az „r” stratégista fajok populációi terjednek el. A fonálférgek családjait egy olyan egydimenziós

diszturbációs skálán sorolták be, amelynél a zavarásra adott választ lehet jellemezni, ennek két szélső értéke a betelepülő és a perzisztens típusok. Ezen osztályozás eredményeképpen az érettségi indexet használják közösségi szintű környezeti indikációs vizsgálatoknál [13]. A módszer a talajban bekövetkező trófikus kapcsolatok átalakulását, ökológiai és funkcionális diverzitás változását indikálja (pl. eutrofizáció). E vizsgálati módszert hazánkban is felhasználták nehézfém-szennyezések vizsgálatánál [14]. A vizsgálat a TIM „S” pontjain, továbbá erdőkben, természetközeli és zavarásnak kitett élőhelyeken javasolt, évente többször, aspektusok szerint legalább háromszor.

4. módszer. Talajökológiai indikáció a mezofauna fajkompozíciója alapján. Az ugróvillás- és atkafajokat ökológiai érzékenységük, szaporodási stratégiájuk alapján minősítették, majd alkalmazták ökológiai indikációra [15]. A fajok terjedési, szaporodási módjai és szinkronizációs mechanizmusai alapján állították fel az életmenet-stratégiákat. A mikroartropódákon belül az atkákra általánosan használják a Siepel-féle [16] besorolást, amely taxonómiai egységek szerint nemcsak a táplálkozás, de más életmenet-stratégia szerint osztályoz. Hasznos a talajsavanyodás, eutrofizáció, nehézfém- és szerves szennyezések, szárazodás, talajdegradáció indikációjára. A vizsgálat a TIM „S” pontjain, erdőkben, természetes, természetközeli élőhelyeken, diszturbációnak kitett élőhelyeken ajánlott.



5. *módszer.* Biológiai aktivitás mérése földigilisztákkal. A földigiliszták a lebontók közül a végső lebontókhoz tartoznak. A vizsgálat a dekompozíció intenzitásának jelzésére szolgál, az eróziós vizsgálatok biológiai indikátora. Többnyire csak egyedszámuk alapján végzik az indikációt, noha a fajok is indikátorértékkel bírnak, csak a taxonómiai hiátus miatt nem végzik el ezt a meghatározást. Ezt a vizsgálatot is a TIM „S” pontjain, továbbá erdőkben, természetes, természetközeli vagy diszturbációnak kitett élőhelyeken célszerű elvégezni.

A TIM rendszer adatainak, információinak különböző felhasználók számára történő publikálása

Ahhoz, hogy a talajmonitorozás eredményei megfelelő módon hasznosíthatók lehessenek, az adatok térinformatikai rendszerben történő kezelésén túl különböző felhasználói körök számára történő adatinformációs szolgáltatás kialakítása is szükséges. A TIM mérési adatsorainak értékelését szakértői szinten kell elvégezni, ugyanakkor nagyon sok esetben van szükség különböző komplex talajtani-környezeti modellezési munkák végrehajtásához magukra a nyers mérési adatokra is. Ezért elengedhetetlen a TIM adatbázisra épülő, internetes, eltérő felhasználói jogosultságokat hozzárendelni képes, moduláris felépítésű, hierarchikus elrendezésű, alkalmazói-szolgáltatói adatkezelést biztosító adatinformációs szolgáltatás bevezetése.

Az internetes térinformatikai rendszer létrehozásánál a célkitűzés egy olyan felhasználói felület kialakítása, amely a felhasználók számára különleges előképzettség nélkül és egyszerűen használható. A felhasználói felület központjában minden esetben a térkép és a keresési szempontok, illetve a keresési eredményeket megjelenítő felület áll rendelkezésre. A rendszer tervezésénél szétválasztandók az adatgyűjtés, az adatfeldolgozás–elemzés és az adatpublikálás szintjei, és ezekhez megfelelő programmodulokat kell definiálni. A rendszer központjában, a rendszergazda által ellenőrzött körülmények között működő, az internetes adatszolgáltatást (adatpublikálást) végző térképi adatszervert áll, amelyhez önállóan működő térinformatikai modulok kapcsolhatók. Az adott mintaterületi rendszer adatbázisának kialakítása a szerkesztők által működtetett térinformatikai rendszer segítségével történik, a fentiekben vázolt felhasználói igények kielégítésére a térinformatikai eszközrendszerrel szerkesztett térinformatikai adatok (adatbázisok általános térbeli statisztikai, logikai lekérdezéseinek eredményei stb.) publikálását végzi az internetes térképi adatszervert. A végfelhasználók – előre definiált felhasználói jogkörökkel – internetes böngésző program segítségével felhasználói csatolófelületen keresztül hajthatják végre lekérdezéseiket. A végfelhasználók lekérdezéskor a fejlesztők által szerkesztett, a térképi adatszervert által szolgáltatott adatokhoz férhetnek hozzá.



Irodalomjegyzék

- [1] Várallyay Gy, Szabóné Kele G, Berényi Üveges J, Mart P, Karkalik A. Thury I 2008. Magyarország talajainak állapota a Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszer alapján. FVM, Budapest
- [2] Ódor L, Horváth I, Fügedi U 1998. A háttérkoncentrációk lehatárolása a BFNTÁ TIM adatai és a MÁFI Országos Geokémiai Felvételének (OGF) adatai alapján. (http://www.kvvm.hu/cimig/documents/Fugg_1_T_alaj.pdf)
- [3] Pásztor L, Szabó J, Bakacsi Zs 2006. A talajokra vonatkozó térképi alapú információ megújításának és pontosításának lehetőségei a Kreybig digitális talajinformációs rendszer példáján. In: Környezetkímélő növénytermesztés – minőségi termelés (Nagy J, Dobos A, szerk.). Debreceni Egyetem, Debrecen, 117-129. old.
- [4] Vaskövi B-né 2002. A települések levegőminőségének alakulása Magyarországon 1980 – 2000 között. In: A légszennyezés környezeti hatásainak elemzése – elméleti háttér (Flachner Zs, Németh T, Tóth R, szerk.). MTA TAKI és Atmoszféra Consulting Kft, Budapest, 134-152. old.
- [5] Pásztor L, Szabó J, Bakacsi Zs 2002. Légszennyezés – terhelések mértékének és kritikus határértékeinek térképezése Magyarországon. In: A légszennyezés környezeti hatásainak elemzése – elméleti háttér (Flachner Zs, Németh T, Tóth R, szerk.). MTA TAKI és Atmoszféra Consulting Kft, Budapest, 120 – 126. old.
- [6] Szabó J, Horváth F, Pásztor L, Bakacsi Zs 2002. Javaslat és elővizsgálat természetföldrajzi típusú kritikus terhelési értékek részletes térbeli felbontású meghatározására. In: A légszennyezés környezeti hatásainak elemzése – elméleti háttér (Flachner Zs, Németh T, Tóth R, szerk.). MTA TAKI és Atmoszféra Consulting Kft, Budapest, 127-133. old.
- [7] Várallyay Gy 2002. Magyarország talajainak érzékenysége környezeti hatásokkal szemben. In: A légszennyezés környezeti hatásainak elemzése – elméleti háttér (Flachner Zs, Németh T, Tóth R, szerk.). MTA TAKI és Atmoszféra Consulting Kft, Budapest, 53-63. old.
- [8] Kádár I 1995. A talaj–növény–állat–ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel Magyarországon. KvVM és MTA TAKI, Budapest.
- [9] Csathó P 1994. A környezet nehézfém-szennyezettsége és az agrártermelés. Tematikus szakirodalmi szemle. MTA TAKI, Budapest
- [10] Lakanen E, Erviö R 1971. A comparison of eight extractants for the determination of plant available micronutrients in soil. *Acta Agr. Fenn.* **123**: 223-232.
- [11] Dombos M., Szalkai T 2004.: Indikációs modellek és azok alkalmazása a talajökológiában. *Agrokémia és Talajtan* **53**: 184-194.
- [12] Schnürer J, Rosswall T 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**:1256-1261.
- [13] Bongers T 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* **83**: 14-19.
- [14] Bakonyi G, Nagy P, Kádár I 2003. Long term effects of heavy metals and microelements on nematode assemblage. *Toxicol. Lett.* **140-141**: 391-401.
- [15] Siepel H 1995. Applications of microarthropod life-history tactics in nature management and ecotoxicology. *Biol. Fertil. Soils* **19**:75-83.
- [16] Siepel H 1994. Life-history tactics of soil microarthropods. *Biol. Fertil. Soils* **18**:263-278.



Mintavételi kérdések a komplex talajszennyezési és talajbiológiai monitorozás tervezésénél

Sampling issues for the design of a complex soil contamination and biological monitoring system

Dombos Miklós, Szécsy Orsolya, Szabó József és Anton Attila

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet,
Budapest

M. Dombos, O. Szécsy, J. Szabó and A. Anton

Research Institute of Soil Science and
Agricultural Chemistry, Hungarian Academy of
Sciences, Budapest, Hungary

This study summarizes problems and various aspects related to sampling within a monitoring system. An overview on European monitoring systems is presented on the basis of the ENVASSO project, with special emphasis on the results of soil monitoring in Hungary. The issue of soil heterogeneity within a sampling location is discussed and an experimental setup to determine a proper spatial sampling protocol is described. The corresponding sample number optimization study is the subject of project MONTABIO. Finally, practical implementation of sampling, its spatial arrangement, sampling methods, measured soil characteristics and corresponding analytical procedures are summarized.

Az európai talajmonitorozó rendszerek áttekintése

Az Európai Unió Környezetvédelmi Ügynöksége által támogatott, 40 kutatópartner részvételével zajló ENVASSO projekt* keretében a partner országok bemutatták nemzeti monitorozó rendszereiket [1]. A szakértők vizsgálatának célja a talajmonitoring hálózatok (*soil monitoring networks*, SMN) és adatbázisok jellemzése, a mért változók összegyűjtése, és a talaj-mintavételezési és tesztelési eljárások leírása. A magyarországi adatokat a Talajinformációs és Monitoring Rendszer (TIM) szolgáltatta.

A mintavételi protokollok áttekintése

Az egyes országokat reprezentáló mintaterületek kiválasztása kulcsfontosságú kérdés a monitorozás megtervezésében. Ebben a tekintetben az ENVASSO szakértői is csak általános javaslatokat fogalmaztak meg: „az SMN-ek legyenek «térben elég sűrűn» elhelyezve ahhoz, hogy lefedjék a legtöbb talajtípust, az összes földhasználatfajtát, valamint legyenek képesek különféle diffúz gradiensek kimutatására is. Helyezkedjenek el sűrűbben az olyan jellegű területek környékén, ahol ilyen gradiensek várhatóak (pl. városok térségében)”. A mintaterület kiválasztásánál minig az

* Environmental Assessment of Soil for Monitoring (ENVASSO) (<http://www.envasso.com>)



a célkitűzés, hogy a vizsgált időbeli változásokat tekintve a terület a lehető legkevésbé legyen heterogén. Ehhez előzetes talajtérképezést kell végezni, és általában fontos, hogy kis területről legyen szó. A területek kiterjedése 10 m²-től a néhány hektárig terjed. Ahol a térbeli heterogenitás vizsgálható volt, ott a mintaterület a talajprofil kialakulását illetően homogénnek volt tekinthető (kivéve a vízgyűjtők).

Az ENVASSO javaslata: A mintaterület legyen nagyobb 100 m² (az ennél kisebb területeken már magának az ismételt mintavételnek is lehetnek hatásai), az 1 hektárnál nagyobb területek esetében viszont már jelentősen megnövekszik a térbeli heterogenitás. A hazai gyakorlatban a tápanyagvizsgálatokat 5 hektáros területről gyűjtik egybe ún. „átlagmintába”, amely azonban az Európai gyakorlathoz képest jóval nagyobbak mondhatók. Szükséges lesz tehát megvizsgálni, hogy a mintaterület mérete optimális-e a monitorozó vizsgálatokhoz.

A monitorozó rendszerekben a mintavételek során mintaterületenként 4-100 részmintát vesznek. E részmintákon többnyire nem végeznek külön analízist, csak az egyesített mintákon (átlagminta). A mintavétel gyakran szabályos rácsháló pontjait követi. Milyen legyen az összehangolt mintavétel? Fontos szempontok: célok, műszaki és anyagi megfontolások, homogenitás foka, talajtulajdonságok térbeli felépítése. A talajtulajdonságok azonban általában ismeretlenek, ezért eleve nagyszámú mintavétellel kell kezdeni a vizsgálatot. Nem feltétlenül

igaz, hogy minél nagyobb a terület, annál több részminta szükséges.

Az ENVASSO javaslata: Kerüljük a szélsőséges helyzeteket (túl sok minta kis helyről és fordítva). Ha monitorozás a cél, ne használjunk egyetlen mintát – a terület méretéhez igazodva legalább 4, leginkább 10-100 részmintát vegyünk. Jegyezzük meg pontosan a furatok helyét. A részmintavételek sűrűségét tovább alakíthatjuk attól függően, ha pl. a talajtípus ismert térbeli heterogenitással rendelkezik.

A paraméterektől és a hálózatoktól függően az időbeli ismétlések közötti időtartam 5-20 évig terjed. A legtöbb SMN 5-10 évenként végez mintavételt. Némely SMN a monitorozás elejére inkább rövidebb időtartamot javasol, úgy, hogy a későbbiekben a tapasztalt változások alapján határozza meg az újramintázás gyakoriságát.

Legtöbbször állandó, fix mélységekben végeznek mintavételt, mely lehetővé teszi a területek és országok közötti összehasonlítást, és bizonyos antropogén hatásokat is jól ki lehet így mutatni. A horizontokat általában talajszelvény-mintákon vizsgálják.

Az ENVASSO javaslata: (1) Szinte az összes SMN esetében a talajfelszín szerves rétegeit az alatta fekvő szerves-ásványi talajtól elkülönítve mintázzák. Ehhez a réteghez azt javasolják, hogy fix mélységekben vegyünk mintát, mert így elkerülhetjük a mintavétel szubjektivitását, összhangba hozhatjuk a mintavételi protokollokat, és az egyes SMN-eket is össze tudjuk egymással hasonlítani. Legjobb, ha mélységi mintákat is veszünk, és talajszelvényt is



használunk. (2) Nehéz meghatározni a mélységeket, EU-szinten. Ha azonban változtatunk a nemzeti, bevett szokásokon e tekintetben, akkor az új eredményeket már nem lehet a régiekkel összehasonlítani. Azt javasolják, hogy úgy vegyünk mintát, hogy aztán legalább a koncentrációkat vagy az elemek csoportjait ki tudjuk számítani 0-15 cm és 0-30 cm-es mélységek között.

A kutatócsoport az időbeli ismétléseknél azt javasolta, hogy legalább a „rég” minta 10%-át analizáljuk újra párhuzamosan a jövőbeni kampányokban. Az ISO 11464 minimum 500 g minta vételét írja elő, azonban érdemes 3-10 kg mintát venni és tárolni. A szárított mintát analizáló SMN-ek közel 90%-a $\leq 40^\circ\text{C}$ -on végzi a szárítást. A legtöbb SMN sűrű (2 mm) szitán juttatja keresztül a mintáit analízis előtt.

Az ENVASSO javaslata: Ne szárítsuk 40°C fölött a mintákat, mert az ennél magasabb hőmérséklet jelentősen befolyásolja a nyomelemek módosulatait, módosíthatja a pH-t [2], és egyéb talajtulajdonságokat (pl. víztartó képesség) is.

A leggyakrabban mért indikátorok vizsgálati analitikai technikáit az alábbiakban mutatjuk be:

A feltalaj szervesszéntartalma. A mérési módok három csoportba sorolhatók:

- Nedves oxidáció savas dikromát-oldatban, majd különböző mérések, pl. a megmaradt dikromát titrálása, fotometriás meghatározás vagy a fejlődött CO_2 gáz befogása és meghatározása.

- Különböző hőmérsékleteken a szerves szén száraz oxidálása, melyet a fejlődött CO_2 befogása és meghatározása követ.
- Izzítási veszteség meghatározása különböző hőmérsékleteken (általában akkor, ha $\text{OC} > 15\%$ [3]).

A nedves feltárás – amit az SMN-ek fele alkalmaz – általában nem mutatja ki az összes jelen lévő széntartalmat, csak a könnyen oxidálható részeit (pl. Walkley-Black-, módosított Walkley-Black-, Anne-, Tjurin-módszerek). 500°C alatti száraz oxidáció során némely humuszanyagok ellenállnak az égetésnek (azért használatos, hogy szervesszén-tartalom karbonátok jelenlétében is meghatározható legyen). Ennél magasabb hőmérsékleten ($> 900^\circ\text{C}$), automata C-analizátorral eredményesebben kimutatható a szervesszén-tartalom, ám ehhez a mintában lévő karbonátokat elő kezelni szükséges. Az izzítási veszteség meghatározását többnyire a szerves réteg vizsgálatokhoz használják.

Az ENVASSO javaslata: száraz oxidáció, magas hőmérsékleten, automata C-analizátor segítségével. EU-szinten javasolják ennek használatát, de érdemes kombinálni a régi technikákkal, hogy az eredmények a korábbi értékekkel összehasonlíthatók, és a pedotranszfer függvények meghatározhatók legyenek [4-8].

Nehézfémek. A nehézfémek koncentrációjára kapott eredményeket elsősorban a feltárás módja befolyásolja. Az SMN-ek mintegy fele királyvizet használ, míg a többi különféle egyéb, szintén savas feltárásokkal dolgozik. Számos SMN



finomabb feltárásokat végez, (pl. DPTA, EDTA, ammónium-acetát, BaCl_2 használatával), melyek segítségével az elemek mobilisabb formáit tudjuk meghatározni. A módszertől függetlenül, használunk ISO szabványokat.

Az ENVASSO javaslata: a királyvíz használata lehetővé tenné a harmonizációt az ICP Forest Survey talajmonitorozó hálózattal. A már említett okok miatt a különféle technikák kombinálását javasolják.

pH. A hálózatok három fő vizes mátrixot használnak a pH-meghatározásra, ezek desztillált vagy deionizált víz, KCl , CaCl_2 . Többnyire vizes mérést végeznek, némely országok kétfélét (pl. Magyarország: H_2O , KCl), némelyek (pl. Németország) pedig mindháromfélét használják. A hígítási különbségek nagyok, általában az 1:5 talaj:folyadék arányt használják és javasolják, legalább a vizes és a KCl pH-meghatározáshoz. *Az ENVASSO javaslata:* Mivel a pH mérése nem drága, javasolják a három módszer párhuzamos alkalmazását.

Térfogattömeg. Ennek mérését az egyes SMN-eken belül is rendkívül sokféleképpen végzik, főként attól függően, hogy a talaj tartalmaz-e durva szemcséket, vagy nem.

Az ENVASSO javaslata: nagy mennyiségű (500 cm^3 vagy több) talajon és legalább 3 ismételtsben végezzük a mérést. A sok durva szemcsét tartalmazó talajok esetében a mintavételt a térfogattömeg meghatározására kifejlesztett „kiásásos” módszerrel végezzük, lehetőleg a területhez közel,

de azon kívül, mert az ilyen mintavétel hosszú távú monitoringhoz túlságosan romboló hatású.

Szemcseméret-frakciók. A talaj monitorozásához elengedhetetlen ismerni a szemcseméret-eloszlást, hiszen ehhez számtalan talajtényező szorosan kapcsolódik. Néhány indikátor határértékeit (pl. kationcsere-kapacitás) közvetlenül ettől tesznek függővé. A szemcseméret-eloszlás meghatározására számos osztályozási rendszert használnak. Legelterjedtebb az agyagfrakció szemcsemérete ($< 2\text{ }\mu\text{m}$), a vályognál már nagyobb a változatosság ($< 20\text{--}63\text{ }\mu\text{m}$, 5 különböző értékkel).

Az ENVASSO javaslata: a szemcseméret-eloszlásra folytonos, kummulált görbe megállapítása, mely segítségével az összes osztályozás használható és az összes érték összehasonlítható lenne.

Archiválás. A minták tárolásával lehetővé válik: (1) korábbi kutatásokból származó minták újramérése, az analitikai protollokkal kapcsolatos változások észlelésére; (2) talajbank létrehozása kutatásra és laborok közötti kalibrációra.

Az ENVASSO javaslata: Tároljunk nagy mennyiségeket (néhány kg, melyeket előzőleg 40°C -on szárítottunk) zárt edényben, védve a szennyeződésektől. Tárolás szobahőmérsékleten, a hőmérséklet és a páratartalom minimális ingadozása mellett, direkt fénytől védve.

Minimálisan kimutatható változás

Mintavételi terület szintjén már számos tanulmány foglalkozott ezzel a témával



[pl. 9-15]. Táj- és ország szintjén, illetve EU-szinten szintén fontos megállapítani, hogy egy talajindikátor globális változásának észlelésére milyen hatással van a területek száma, és a talajnak e mögött rejlő térbeli variabilitása [pl. 3,14].

Kimutatható változás legkisebb szintjének számítási módszere (minimum detectable change, MDC). A következő metodológia alapján számos talajtani változóra meghatározták a kimutatható változás legkisebb szintjét: bármely mintavételi elrendezésben, melyben az x változót vizsgáljuk, n darab területet mintázunk, és először a t_0 időpontban, majd a t_1 időpontban veszünk mintát. A változó átlagos változásának számítása a következőképpen történik:

$$\Delta \bar{x} = \sum_{i=1}^n (x_{i,t_0} - x_{i,t_1}) / n,$$

ahol $x_{i,t}$ a t időpontban, i mintaterületen végzett mérés. Δx standard hibája:

$$\sqrt{\frac{2s^2}{n}},$$

ahol s^2 a változó varianciájának számított értéke, n pedig a mintavételi pontok száma a mintavételi elrendezésben [16]. Annak a feltétele, hogy egy változó két mintavétel közötti y változásának középértékét kimutassuk:

$$y \geq \frac{N_p \sqrt{2s}}{\sqrt{n}},$$

ahol N_p a standardizált normál eloszlás értéke, p valószínűségi szint mellett. y az MDC. Ha átrendezzük ezt az egyenletet, úgy, hogy megkapjuk egy

bizonyos változás méréséhez szükséges minták számát. Tehát:

$$n \geq \frac{N_p^2 \times 2 \times s^2}{y^2}, \text{ illetve } n \geq \frac{N_p^2 \times 2 \times s^2 \times 100^2}{x^2 \times \bar{Y}^2},$$

ahol x az a százalékos változás, amit ki akarunk mutatni, Y pedig a populáció középértéke.

Ha feltételezzük, hogy a változó egy becsült mértékben változik (k), és ez a változás folyamatos a teljes t időintervallumon belül, akkor:

$$t \geq \frac{N_p \sqrt{2s}}{k \sqrt{n}}$$

időintervallum szükséges ahhoz, hogy kimutathassuk a változást. A mérési hiba és a mintavételi hiba bevezetésével az s^2 számításának az a legjobb módszere, ha összevetjük a korábbi tanulmányokból kapott természetes varianciát (s_{natural}^2) és a várható mérési hibákat [17]. Feltételezzük, hogy ezek mind független változók, így:

$$s^2 = s_m^2 + s_s^2 + s_{\text{natural}}^2,$$

ahol s_m^2 a mérési variancia, s_s^2 pedig a mintavételi variancia, mely a talaj terepről történő mintavételéből származik (területen belüli variancia). Ezen adatokból a következőket tudták elvégezni:

- a nemzeti hálózatok számára kiszámítottak két MDC-t, melyek azok a legkisebb változások, melyeket az SMN kimutatni képes
 - a. egyrészt a mintaterületek összes számához viszonyítva,
 - b. másrészt azokhoz a területekhez viszonyítva, melyeken az adott indikátort mérni szokták;
- szimulálták azon területek számát, mely szükségesek ahhoz, hogy az



egyes indikátorok nemzeti középértékeinek változását ki lehessen mutatni

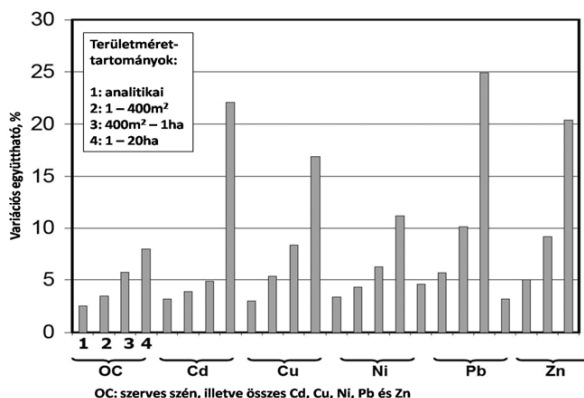
- szimulálták az ahhoz szükséges időt, hogy egy bizonyos mértékű változás kimutatható legyen.

Területen belüli variabilitás. A területen belüli variabilitás áttekintéséhez 120 referenciát gyűjtöttek össze. Ezek a szakirodalmak 1 m² és 20 ha közötti területeken vizsgálták a talajindikátorok mintaterületen belüli variabilitását. Az adatokból kiszámították a mintavételi területek varianciáit, majd azok középértékeit az összes rendelkezésre álló paraméter esetében. Megvizsgálták a lehetséges korrelációs kapcsolatokat a területen belüli variabilitás és a terület kiterjedése és/vagy a középértékek között. Hat paraméter (OC és összes Cd, Cu, Zn, Ni, Pb) esetében egyértelmű kapcsolatot mutattak ki a variációs együttható és a területek nagysága

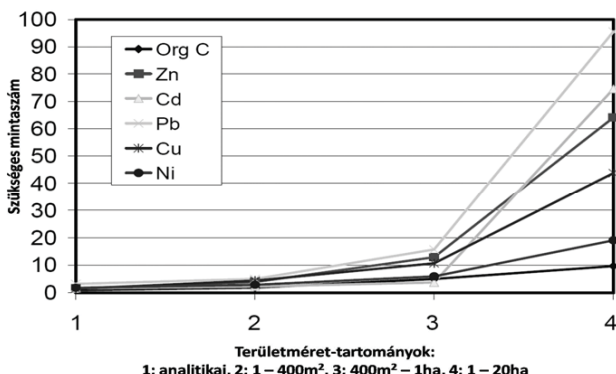
között (1. ábra). Feltűnő relatív növekedés figyelhető meg az 1 ha fölötti területekre, különösen néhány nehézfémre (Pb, Zn, Cu, Cd), melyek kis távolságokon belül is nagy térbeli változatosságot mutatnak. A területméretet négy csoportba sorolták: (1) analitikai, (2) 1–400 m², (3) 400 m² – 1 ha, (4) 1 – 20 ha. Az analitikai érték arra a variációs együtthatóra utal, melyet a minták többszöri újramérésével kapunk. Ha feltételezzük, hogy egy adott területméret-kategórián belül, térben független és normális eloszlású a mérés (mely esetünkben nyilvánvalóan nem igaz), akkor a mintaszám, a variációs együttható és a középérték pontossága a következő kapcsolatban állnak:

$$n = t^2 \times \frac{CV^2}{ER^2},$$

ahol n a minták száma, CV a variációs együttható, ER a pontosság, t pedig a Student-féle t -érték az elvárt valószínűségi, vagy konfidenciaszint mellett [18].



1. ábra A szerves szén és öt nehézfém feltalajban mért koncentrációjának szórása különböző nagyságú mintaterületeknél [1]. Az abszcisszán a különböző vizsgálatokból nyert variációs együtthatóinak középértékei láthatóak.



2. ábra A Középérték meghatározásához szükséges mintaszám 5%-os relatív hiba mellett, területméret-osztályok szerint [1].

A 2. ábra megmutatja azt a szükséges mintaszámot, mely a fent tanulmányozott paraméterek középértékei (5% pontosság és 95% konfidencia esetén) és a területek nagysága viszonyának számításához kell. Néhány erősen változó paraméter esetében (mint pl. a Pb) a vételezendő minták száma korlátozóvá válik, ha a terület nagysága meghaladja az 1 hektárt. Vegyük figyelembe továbbá azt is, hogy számos esetben az 5%-os relatív hiba nem elég pontos ahhoz, hogy ki tudjuk mutatni a változást. Ugyanez a számítás Pb esetén 2,5%-os relatív hiba mellett a következő mintaszámokat adja: 13, 20, 63 és 380, sorba a növekvő területnagyságok mentén. A terület méretével járó variabilitás-növekedés, valamint a fenti mintaszám-számítás alapján azt javasolják, hogy amennyiben a részminták számát még gyakorlatban kivitelezhetőnek akarjuk tartani, a mintaterületünk ne haladja meg az 1 ha méretet.

Minimális kimutatható változás egyes országok és indikátorok esetében

Az indikátorok nemzeti variabilitása. A variációs együtthatók (CV) középértékei különféle földhasználatokra és különféle indikátorokra kerültek kiszámításra, nemzeti szinten. Erdőtalajokra a CV-értékek egész magas szintet mutatnak, legtöbbjük 75-120% között mozog, kivéve a pH-t. A legmagasabb CV-szintet a Cd, az Pb és a Cu esetében kapták.

Legkisebb kimutatható változás (MDC). Az MDC értéket az országok által megadott monitoring mintaterületek adatai alapján számították ki: egyrészt az összes monitoring terület száma (N), másrészt azon területek száma (n_i), melyeken egy adott indikátor (i) mérését konkrétan el is végezték. Itt tehát az adott változéhoz tartozó mintaszám volt csak a különbség, a többi alapstatisztika azonos volt. Az n_i -értékkel számított



MDC_n egy adott i indikátor aktuális MDC -jét jelenti, míg az N -nel számított MDC_N esetén könnyen elérhető az MDC anélkül, hogy további területeket kellene mintázni. Az eredmények alapján nemzeti szinten, térképen ábrázolták a minimális kimutatható változást. Ennek alapján Magyarországra az *I. és II. táblázatok* adatait kapták.

Kiszámolták, hány mintaterületre van szükség egy adott MDC eléréséhez. Összehasonlították az N és az n mintaterületek számát, melyek alapján javaslatot tudnak tenni az egyes EU-tagállamoknak arról, hogy hány további területen kell mintavételt végezniük, ha egy meghatározott MDC -értéket akarnak elérni. A nemzeti középértékhez képest 5%-os

I. táblázat A Magyarország ellenőrzött ökológiai gazdasági számának és az ökológiai terület nagyságának alakulása 1998-2008 között.

Változó	MDC_N	MDC_n
Szerves szén (g/kg)	0,20-0,40	0,20-0,40
Pb (mg/kg)	1-1,5	1-1,5
Cd (mg/kg)	0,10	0,08
Cr (mg/kg)	0,91	0,88
Cu (mg/kg)	0,92	0,87
Zn (mg/kg)	2,34	2,12
pH	0,16	–

eltérés kimutatásához szükséges területek elméleti értékéből ($n1$) kiszámíthatjuk az országonként szükséges elméleti területsűrűséget.

II. táblázat Hét talajparaméter Magyarországra jellemző értékei, mintaterületek létező és további szükséges számát tekintve. N az összes monitoring-terület száma, n azon területek száma, ahol az adott paramétert vizsgálják, $n1$ a nemzeti középértékhez képest 5%-os relatív eltérés kimutatásához szükséges területek elméleti értéke, a nemzeti variancia-statisztikák alapján, $n2$ további szükséges területek száma az n területekhez képest, $n3$ további szükséges területek száma az N területekhez képest.

Változó	N	n	$n1$	$n2$	$n3$
Szerves szén	1328	1328	1680	352	352
Pb	1328	1328	1348	20	20
Cd	1328	1328	175	0	0
Cr	1328	1243	479	0	0
Cu	1328	1328	1138	0	0
Zn	1328	1328	638	0	0
pH	1328	1328	347	0	0



Szerves szén. Az ahhoz szükséges mintaterületek száma, hogy a feltalajban levő szervesszén-tartalom nemzeti átlagának 5%-os relatív csökkenését kimutassuk, alapvetően az ország kiterjedésétől és a széntartalom országon belüli variabilitásától függ. Ha összehasonlítjuk ezt az elméleti mintaterület-számot az n értékkel (azon területek száma, ahol jelenleg is folyik széntartalom mérés) vagy az N értékkel (az összes mintaterületek száma), következtethetünk azon területek számára, melyeket országonként még hozzá kell adni a jelenlegi területekhez, hogy elérjük a változás kimutatásának ezt a szintjét. Néhány ország kivételével a legtöbbnek komoly erőfeszítéseket kell még tennie ahhoz, hogy talaj-széntartalom 5%-os relatív változását ki tudja mutatni.

Ólom. Ólomtartalom esetében a nemzeti átlagtól való 5%-os relatív változás kimutatásához szükséges mintavételi helyek száma 69 és 1874 mintaterület között változik, az ország kiterjedésétől függően. Ólomra a fent leírt módon szintén kiszámíthatjuk az országonként minimálisan szükséges új mintavételi területek számát. Egyes országok kivételével – amelyekben kellően sűrűn találhatók az ólmot is vizsgáló területek (kedvező, hogy ide tartozik Magyarország is) – számos országnak még sok terület bevonására van szüksége, hogy elérje a szükséges számot. 5%-os relatív növekedés az ólomtartalomban mindemellett igen valószínűtlen feltételezés.

A minimális kimutatható változás rendkívül nagy eltérést mutat egyes talajmonitorozó rendszerek és indikátorok között. Némely országnak még sok új mintaterület létrehozására lesz szüksége. Néhány indikátor, mint pl. a feltalaj szervesszén-tartalma esetén az egyes monitoring-mintavételek között kb. 10 év elteltével kimutathatóak szimulált változások. Ehhez viszont a legtöbb ország esetében nem elég az 1 terület/300 km² sűrűség. Más indikátorok (pl. nehézfémek) változásának kimutatásához, ez az időtartam nem elég, hacsak nem történik komoly és hirtelen szennyezés.

Mintasám-optimalizáció

A kísérlettervezés vizsgálatánál (így a MONTABIO projekt tervezése esetén is) fontos, hogy megismerjük a méréskor fellépő különböző típusú hibákat és azok hatását az adatok szóródását jellemző statisztikai mutatókra. A mintavétel tervezésénél elsőként meg kell határozni:

- a kísérleti elrendezést – ami a vizsgálat szakmai kérdéséből, vagy a monitorozás feladatából adódik
- a pontossági követelményeket (így pl. a minimális kimutatási változást) – ami szintén szakmai tapasztalaton alapszik.

A kísérleti elrendezést statisztikai értelemben tekintjük, azaz elsőként az a kérdés, hogy kísérletről (*a*) vagy ún. megfigyeléses vizsgálatról (*b*) van-e szó. Az (*a*) esetben a kérdésünk az, hogy van-e hatása valamely megadott



kezelésnek az ún. válaszváltozó (itt talajparaméter) mért értékeire? Ekkor az adott kísérleti elrendezésnek megfelelő statisztikai elemzéshez (pl. ANOVA vagy regressziós elemzés stb.) – bizonyos elővizsgálati adatok mellett vagy az egyes csoportokhoz tartozó szórásadatok segítségével – meg lehet határozni, hogy az adott hipotézis statisztikai elvetéséhez vagy elfogadásához mekkora ismétlésszámot kell alkalmazni. A szükséges mintaszám pontos meghatározását adott kísérleti elrendezés mellett (pl. ANOVA elrendezés) szoftveres úton (pl. CADEMO, Statistica, SPSS) mintaszám-optimalizációban számolható. A (b) esetben a kérdés arra irányul, hogy a vizsgált talajindikátor az adott helyen és adott időpontban mekkora értéket vett fel? Ez főként a felméréseknél és monitorozásoknál lép fel, ahol statisztikai értelemben ún. „pontbecslést” kell elvégezni. Itt a szükséges mintaszám a mért változó pontossági kritériumától függ. Ha pontosabb adatokat szeretnénk, akkor több ismétlés szükséges, azonban az ismétlések térbeli elhelyezésével, illetve a mintavételi mód kialakításával sokat lehet javítani a pontosságon. Meg kell azonban jegyezni azt, hogy az (a) és (b) pontban leírt problémák sohasem függetlenek egymástól, mert nyilván monitorozásnál is feltehető valamely hipotézis (pl. hatás alapú monitorozó rendszerek), és egyedi kísérletnél is kíváncsiak lehetünk arra, hogy adott kezelésnél kapott adat abszolút értéke mekkora (nemcsak arra, hogy szignifi-

kánsan különbözik-e valamely másik csoporttól, pl. a kontrolltól).

Ha meg akarjuk ismerni a pontossági követelményeket, minimálisan ismernünk kell a szórást, és információval kell rendelkezünk a szórás és a mintanagyság összefüggéséről. Sajnos azonban nem elég csak a szórást ismernünk, mert maga a szórás is változik azzal, hogy a mintákat milyen térbeli elrendezésben vesszük, tehát a kísérleti tervben a térbeli elrendezést is vizsgálni kell. Ennek megválasztása függ egyrészt a mintavételi módszer technikájától, másrészt a mért változó térbeli heterogenitásától. Ekkor a kérdés az, mekkora területről hány almintát érdemes venni egy területen (jelen esetben parcellán) az adott indikátor becsléséhez. A vizsgálat további fókuszálásához meglegelni kell a *mérés hibáival* kapcsolatos alapvető statisztikai fogalmakat.

- *A mérés pontossága*: mekkora a becslésből származó értékek szóródása a becsült tényleges érték körül;
- *A mérés megbízhatósága (vagyis a torzítás)*: mennyivel tér el a becsült középtérték a valós középtértéktől.

A fenti definíciókat tekintve az becslés torzítása, megbízhatósága (*bias, accuracy*) azt jelenti, hogy a becslés mennyire van közel a valódi populációmérethez. Nem szabad azonban összekeverni a minta megbízhatóságát a minta pontosságával (*precision*), mely maguknak az ismételt méréseknek – a mért értékeknek – az egymáshoz képesti



„közeliségét” jelenti. A mérések lehetnek „közel egymáshoz” (= pontos vagy érzékeny mérés), de ha a valódi populációmérettől távol vannak, akkor a mérés nem megbízható. A mérés megbízhatóságát többfajta mérés összehasonlításával lehet becsülni, vagy ha ismert a populáció valódi egyedszáma, akkor a megbízhatóságot az ettől való eltérés nagysága adja meg.

Mintavételi kérdések a MONTABIO projektben

Egy mezőgazdasági művelésű parcella különböző talajparamétereinek reprezentatív becsléséhez a mintavételezésre vonatkozó alapkérdés: Mekkora területről „érdemes” a mintát venni? E kérdést két különböző módon közelítettem meg: (A) a reprezentativitási kritérium a mintavételi hiba szempontjából a torzítás vizsgálatát jelenti. Az a kérdés, hogy az alapsokaságra vonatkozó középértéket reprezentáló „teljes populációméret” és a mintákból kapott becslés között mekkora a különbség? Ezt a kérdést e vizsgálatban úgy közelítjük, hogy a lehető legnagyobb (terepi bejárás során homogénnek jellemzett) területről – a reprezentatív parcellarészletről (RPR) – vett minták átlagait hasonlítjuk össze kisebb területekről vett minták külön-külön átlagaival. A konkrét kérdések tehát így alakulnak: Változik-e a minták torzítása, ha megváltoztatjuk a mintavételi területet, s ha igen, milyen mértékben? Hogyan változik a mintavétel pontossága, ha

növeljük a területet? (B) Úgy is feltehetjük a kérdést, hogy mekkora az a terület, amely az indikátorok szempontjából homogénnek nevezhető? E kérdést a mért értékek términtázati elemzésével közelíthetjük meg. Azt vizsgáljuk, hogy adott ponton kapott indikátorérték és a ponttól távolodva felvett értékek milyen korrelációban állnak egymással? Ezt a kapcsolatot ún. autokorrelációs térsorozat-elemzés segítségével mutathatjuk ki. Hány almintából álljon a minta (mekkora legyen a talajminta végső térfogata)? Adott pontosság eléréséhez mekkora almintaszám szükséges? Lehet-e a rétegzett mintavételi tervezéshez helyszíni mérést alkalmazni a homogén foltok kiválasztásához?

Statisztikai és adatelemzési módszerek

A pontosság jellemzése. Ha egy populáció egyedszámát becsüljük, a populációméret várható értékén túl a mérés pontosságáról is számot kell adni. A mérés érzékenységet a mintaelemek átlag körüli diszperziójával mutathatjuk be. Erre a szórás és az átlag szórása mellett a százalékos relatív pontosság (Q) is használható.

$$\begin{aligned}\tilde{N} &= \text{becsült populációméret} \\ CL_1, CL_2 &= \tilde{N} \text{ 95\%-os konfidencia-határai} \\ Q &= 50 \times (CL_1 - CL_2) / \tilde{N}\end{aligned}$$

Q a becsült populációméret és a 95% konfidenciahatárok közötti különbség a becsült érték százalékában. Miután a konfidenciahatárok igen sok esetben aszimmetrikusak az átlaghoz képest (torzultság), ezek átlagát tekintjük.



Adott százalékos relatív pontosság (Q) eléréséhez szükséges mintaszám kiszámítása.

Q = a szükséges relatív pontosság

\bar{N} = egy mintaegységben található egyedek átlagos száma

s = egy mintaegységben található egyedek szórása

m' = az a mintaszám, amelynél 95%-os valószínűséggel elérhető Q relatív pontosság, vagy annál kevesebb

1. módszer: s/\bar{N} előzetes becslése
 m' első becslése

$$m_0 = \left(\frac{200}{Q} \right)^2 \left(\frac{s}{\bar{N}} \right)^2$$

ha $m_0 < 25$, $m' = m_0 + 2$;

ha $50 > m_0 > 25$, $m' = m_0 + 1$;

ha $m_0 > 50$, $m' = m_0$.

2. módszer: előzetes vizsgálat

m_1 = mintaszám az előzetes vizsgálatban

\hat{N}_1 = az előzetes minta átlagértéke

s_1 = az előzetes minta szórása

m^+ = az a mintaszám, amit hozzáadva az előzetes mintaszámhoz, 95% valószínűséggel elérhető a Q relatív pontosság (azaz $m' = m_1 + m^+$).

$$m^+ = \left(\frac{200}{Q} \right)^2 \left(\frac{s_1}{\hat{N}_1} \right)^2 \left(1 + \frac{2}{m_1} \right)$$

Nagy mintázási hányados esetén, ha a szükséges mintázási hányados (m'/M) nagy, a szükséges mintaszám csökkenthető a következőre:

$$m^* = m' \left(\frac{M}{M + m'} \right)$$

M = a mintaterületen elérhető maximális mintaszám

E módosítás akkor alkalmazható, ha $m'/M > 0,1$ – azaz ha a szükséges mintaszám az elérhető maximális mintaszámnak több mint 10%-a.

Adott költséggel elérhető pontosság számítása.

C_T = az adott teljes költség

c = egy minta vételének költsége

Q' = az adott teljes költséggel 95%-os valószínűséggel elérhető pontosság

s/\bar{N} előzetes becslése

$$Q' = (200s/\bar{N}) \sqrt{c/C_T}$$

Az optimális mintaelrendezés kétszintes mintavétel esetén.

M = a maximálisan elérhető nagyobb mintaegységek száma (gyakorlatilag végtelen is lehet)

m = azoknak a nagyobb egységeknek a száma, ahol mintavétel történt

U = a kis mintaegységek maximálisan elérhető száma egy nagyobb mintaegységen belül (feltételezve, hogy ez egyenlő minden nagyobb mintaegységen belül)

u = azoknak a alegységek száma, ahol mintavétel történt

u_{opt} = az u optimumértéke.

Ebből megbecsülhető az m érték, ami ahhoz szükséges, hogy a feladatot adott költségből (m_c) vagy adott pontossággal (m_p) elvégezzük.

Mintaszám adott költség esetén.

Tegyük fel, hogy a felmérésre előirányozott kiadás C . Ekkor



$$m_c = C / (c_m + c_u U_{opt})$$

Adott relatív pontosság (Q) eléréséhez szükséges mintanagyság:

$$m_p = \left[s_M^2 + s_U^2 \left(\frac{1}{u} - \frac{1}{U} \right) \right] / \left[\frac{s_M^2}{M} + \left(\frac{\bar{N}}{200} Q \right)^2 \right]$$

A főátlag, a teljes egyedszám és a konfidencia-határok kiszámítása kétszintes mintavételezés esetén. A főátlag és a teljes egyedszám becslése: a kis mintavételi egységenkénti egyedszám főátlagának legjobb becslése \bar{N} . A teljes mintavételi területi egyedszám legjobb becslése \bar{NMU} .

Konfidenciahatárok:

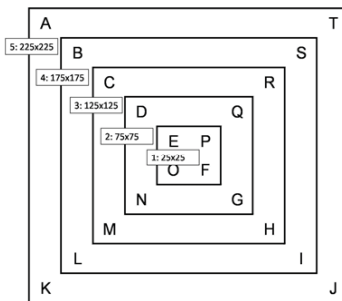
Az \bar{N} standard hibája:

$$s_{\bar{N}} = \sqrt{\left(1 - \frac{m}{M} \right) s_M^2 / m + \left(1 - \frac{u}{U} \right) s_U^2 / um}$$

Elemzési eljárások a MONTABIO vizsgálat kérdéseire

A területnagyság és a torzítás viszonya. A területnövelés kérdését úgy tesztljük, hogy a szabályos elrendezésben felvett mintákhoz tartozó adatokat utólagosan összevonjuk (szabályos módon kumulálva, mindig a szomszéd-adatokat tekintve), az összevonások szerint ábrázoljuk a kumulált mintaátlagokat és a 95% konfidenciaintervallumokat, majd ezt követően vizsgáljuk az összevonás hatását az átlagokra.

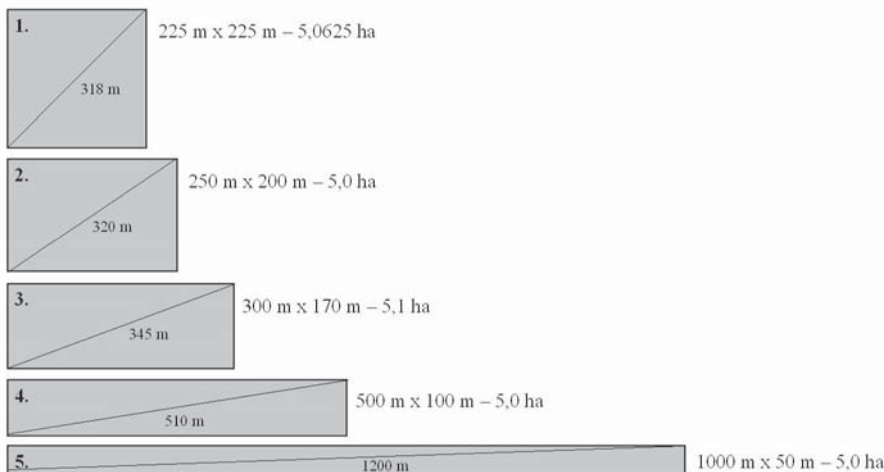
A területnagyság és a pontosság viszonya. A terület nagyságát szintén másodlagos mintavétellel változtatjuk, öt méretet elkülönítve (3. ábra).



3. ábra Másodlagos összevonások a mintaterületen. 1. kvadrát (EOFP, 25x25 m), 2. kvadrát (DNGQ, 75x75 m), 3. kvadrát (CMHR, 125x125 m), 4. kvadrát (BLIS, 175x175 m), 5. kvadrát (AKJT, 225x225 m).

E másodlagos mintavételi területeken 4 mintavételi ponton 5 ismétlésben vettünk mintát, s e „másodlagos” mintából számítottuk a szórást és a relatív százalékos pontosságot. A tényleges fűráshelyszínek kijelölésére diffúz mezőgazdasági terhelési mintaterületeken a parcellákat tovább szűkítettük, ott elhelyezve az MTA TAKI GIS Laborja által meghatározott 5 ha reprezentatív parcellarészletet (RPR), parcellamérettől és -alaktól függően többféle formában (4. ábra). Az előzetes RPR-kijelölést a MONTABIO-területek térinformatikai adatbázisa alapján végezzük, s a terepen véglegesítjük. A gépi fűrások az adott parcellára kitűzött RPR-hez kötődnek, annak olyan sarokpontján, mely a gépi fűrást biztosító járművel a legkisebb területi bolygatással jól megközelíthető.

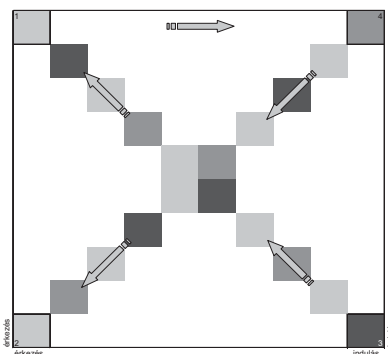
A gépi fűrásokat 50x50 m parcellarészleten (reprezentatív parcellafűrás = RPF) jelöljük ki (4 fűrás a négyzet



4. ábra Öt lehetséges 5,0 ha területű reprezentatív parcellarészlet (RPR) alakja és mérete.

sarokpontjain, 1 fúrás a középpontban). Az így mélyített 5 fúrás egy helyszín öt ismétlésének tekinthető, és csak az RPF negyedhektáros parcella térreprezentálására alkalmas. Az átlagmintavétel során a terepi vizsgálatokat az AIR Indikátor Vizsgálati Protokoll szerint végezzük. A vizsgálatokhoz a terepen kézi fúró segítségével történő átlagmintavételezéssel gyűjtünk talajmintát. A mintavételezés alapegysége az RPR, melynek mintázása a mélység szerint eltérő számú pontmintából képzett átlagminták összeállításával hajtható végre (5. ábra), három mélységből. A felső, 0-30 cm réteg esetében az RPR átlóin haladva 10-10 pontmintából alakítunk átlagmintát. A 30-60 cm talajszintet minden második esetben mintázzuk, mely az RPR átlóin 5-5, összesen 10 pontmintát eredményez.

Minden negyedik esetben a 60-90 cm mélységű talajréteg is megmintázásra kerül, ami az RPR két átlóján összesen 5 pontmintából kialakított átlagmintát eredményez.



5. ábra Egy RPR pontmintáinak elhelyezkedése (a sötétebb árnyalat a mintázott rétegek számával arányos).



Az átlagmintázásból a mezőgazdasági eredetű környezetterhelés okozta talaj-degradációs folyamatok nyomonkövetésére gyűjtünk adatokat, amelyekből az alábbi talajdegradációs folyamatok jellemezhetők:

- nitrátfeldúsulás/-csökkenés
- növényvédőszer-szennyezés
- nehézfém-szennyezés
- savanyodás*
- másodlagos szikesedés*
- szervesanyagkészlet-csökkenés*
- tömörödés*

Irodalomjegyzék

- [1] Arrouays D, Morvan X., Saby NPA, Richer de Forges A, Le Bas C, Bellamy PH, Berényi Üveges J, Freudenschuß A., Jones AR, Jones RJA, Kibblewhite MG, Simota C, Verdoodt A, Verheijen FGA (Eds) 2008. Environmental Assessment of Soil for Monitoring: Volume Ila Inventory & Monitoring. EUR 23490 EN/2A, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- [2] Martínez CE, Jacobson AR, McBride MB 2003. Aging and temperature effects on DOC and elemental release from a metal contaminated soil. *Environ. Poll.* **122**: 135-143.
- [3] Bellamy PH, Loveland PJ, Bradley RI, Lark RM, Kirk GJD 2005. Carbon losses from all soils across England and Wales 1978-2003. *Nature* **437**: 245-248.
- [4] Lowther JR, Smethurst PJ, Carlyle JC, Nambiar EKS 1990. Methods for determining organic carbon in podzolic sands. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **21**: 457-470.
- [5] Wang XJ, Smethurst PJ, Herbert AM 1996. Relationships between three measures of organic matter or carbon in soils of eucalypt plantations in Tasmania. *Austral. J. Soil Res.* **34**: 545-553.
- [6] Jolivet C, Arrouays D, Bernoux M 1998. Comparizon of soil organic carbon and organic matter determinations in sandy soils of France. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **29**: 2227-2233.
- [7] Hegymegi P, Spiegel H, Filcheva E., Gal A, Verheijen FGA 2007. Review and comparison of methods used for soil organic carbon determination: Part 2 Laboratory study. *Soil Sci. Agrochem. Ecol.* **XLI**: 3-18.
- [8] Spiegel H, Filcheva E, Hegymegi P, Gal A, Verheijen FGA 2007. Review and comparison of methods used for soil organic carbon determination: Part 1 Review of methods. *Soil Sci. Agrochem. Ecol.* **XLI**: 19-25.
- [9] Hungate B, Jackson R, Field CB, Chaplin FS 1996. Detecting changes in soil carbon in CO₂ enrichment experiments. *Plant Soil* **187**: 135-145.
- [10] Zar J 1996. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA
- [11] Garten C, Wulfscheleger S 1999. Soil carbon inventories under a bioenergy crop (Switchgrass): measurement limitations. *J. Environ. Qual.* **28**: 1359-1365.
- [12] Conen F, Yakutin M, Sambuu A 2003. Potential for detecting changes in soil organic carbon concentrations resulting from climate change. *Global Change Biology* **9**: 1515-1520.
- [13] Conen F, Zerva A, Arrouays D 2004. The carbon balance of forest soils; detectability of changes in soil carbon stocks in temperate and boreal forests., In: The Carbon Balance of Forest Biomes. (Griffith H, Jarvis P, Eds) Bios Scientific Press, London, UK
- [14] Saby N, Arrouays D 2004. Simulation of the Use of a Soil-Monitoring Network to Verify Carbon Sequestration in Soils: Will Changes in Organic Carbon Stocks be Detectable? *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **35**: 2379-2396.
- [15] Smith P 2004. How long before a change in soil organic carbon can be detected? *Global Change Biol.* **10**: 1878-1883.
- [16] Barnett V 2002. Sample survey: Principles and Methods. Arnold, London, UK.
- [17] Ramsey MH 1998. Sampling as a source of measurement uncertainty: techniques for quantification and comparison with analytical sources. *J Anal Atomic Spectrom.* **13**: 97-104.
- [18] Snedecor G, Cochran WG 1967. Méthodes statistiques. Acta, Paris, France.

* -al jelölt degradációs folyamatok a MONTABIO projektben nem vizsgálandók.



Gyakori talaj- és vízszennyező növényvédő szerek Magyarországon, környezetanalitikai és ökotoxikológiai kockázatok [#]

Common soil and water contaminating pesticides in Hungary, environmental analytical and ecotoxicological risks

Székács András és Darvas Béla

MTA Növényvédelmi Kutatóintézet,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

A. Székács and B. Darvas

Department of Ecotoxicology and Environmental
Analysis, Plant Protection Institute, Hungarian
Academy of Sciences, Budapest, Hungary

Pesticide active ingredients subsist in the environment for shorter or longer duration. The longer their half-life (e.g., DT_{50}) is, the higher the potential risk that they reach non-target populations through food-chain connections. This is why persistent organic pollutants (POPs) are undesirable in plant protection practices, as nearly half of the soil specimens sampled in Hungary are affected by residues. POPs include chlorinated hydrocarbon insecticides (e.g. DDT and its metabolite DDE), but on a broader aspect herbicide active ingredient atrazine can also be classified into this group, as its residues are known to persist in lower soil layers protected from aerobic decomposition. Ongoing systematic monitoring of pesticide residues in environmental matrices in Hungary since 1999 revealed extensive point contamination of both surface water and soil throughout the country. Thus, traces of DDT (the insecticide banned in Hungary first in the world in 1968) or its decomposition products, lindane (a hexachlorocyclohexane insecticide banned in 2002) and atrazine are found in our soils to date at alarmingly high concentrations reaching 10-400 ng/g. Most common water pollutant pesticides are atrazine (used predominantly as a herbicide in corn monocultures until its ban in 2007) and acetochlor (to date a registered active ingredient in Hungary) at concentrations of 0.1 to 10 ng/ml, as well as diazinone and trifluralin at lower levels.

Az intenzív, iparszerű mezőgazdasági termelési gyakorlat egyfajta csapdahelyzetbe hozta önmagát – s egyidejűleg az ökológiai környezetet. A termelékenység fokozására a kultúrnövényeket hatalmas kiterjedésű monokultúrákban

termeszteti, ugyanakkor e monokultúrák – természetidegen elemként – fokozott kártételt tesznek lehetővé. Az iparszerű mezőgazdaság tehát – részben – a saját maga teremtette teherrel küzd: hogyan hárítsa el azokat a – mikrobiológiai,

[#] A kézirat rövidített változata megjelent „Az ökológiai gazdálkodás szerepe a fenntartható fejlődésben” c. kiadványban (2008, ISBN 978-963-06-7080-7).

* A *-gal jelölt hatóanyagok hazánkban nem használhatók növényvédelmi célra. A (*)-gal jelölt hatóanyagok kivonásra kerültek, azonban a raktári készletek még felhasználhatók. E jelöléseket csupán a hatóanyag első szövegbeli előfordulásakor tüntetjük fel.



növényi vagy állati – kártevőket, melyeket afféle terített asztalként, részben önmaga „vonz be” [1]. A nagyobb lehetséges kártétel ellen hatékonyabb védekezési technológia szükséges, így az intenzív mezőgazdasági technológia egyik meghatározó összetevője a kémiai növényvédelem.

A növényvédelemben alkalmazott vegyszerekkel kapcsolatos szabályozások egyre szigorodó jellegűek. Míg a szintetikus vegyipar által előállított korai növényvédő szerek többnyire általános hatású sejtmérgek voltak, a hatóanyag-fejlesztés idővel a mind specifikusabb hatásmódú, a lehetőségekhez mérten környezetkímélő vegyületek felé tolódott el. Ennek lehetőségét a mind inkább csak az adott kártevőben jelen levő hatáshelyekre specifikus vegyületek fejlesztése képviselte, de hasonlóképpen fontos irányt jelentett a természetes eredetű hatóanyagok kutatása is. A rovarellenes szerek között sem volt ez másképpen, így a szerves vegyületek első generációját természetes eredetű vegyületek alkották, melyek közül hazánkban a nikotin felhasználása volt jelentős. A negyvenes években a növényvédelmi kémia első lépése a *DDT** és rokon vegyületeinek (*dieldrin**, *HCH**, *camphchlor** stb.) felfedezése volt. A *DDT* felhasználása Európában a burgonyabogár elleni védekezésben volt a legjelentősebb, a trópusi égővön pedig főként a maláriát terjesztő csípőszúnyog irtására használták. Később, Rachel Carson könyve [2] nyomán figyelt fel a világ a lassú lebomlású, egyes környezeti és biológiai körülmények között igen hosszú időn

keresztül megmaradóképes (perzisztens) vegyületek biológiai szövetekben való feldúsulásának (bioakkumuláció) jelenségére és a táplálékláncok menti megsokszorozódásra (biomagnifikáció). A környezetanalitikai vizsgálatok szerint a *DDT* felezési ideje talajokban – az oxigénellátottságtól és mikrobiális tevékenységtől függően – évtizedekben mérhető. A megmaradóképes vegyületek alkotják az ún. perzisztens szerves szennyezők (*Persistent Organic Pollutants*), más néven *POP*-vegyületek körét, amelyek krónikus hatásait lassan térképezték fel [3,4].

Környezetkémiai jellemzők

A növényvédelem újabb tudományterületei igyekeztek a kémiai védekezés hatását felmérni és csökkenteni. A környezeti mintákban mérhető szennyezők szintjét a környezetanalitikai vizsgálatok hivatottak feltérképezni, és éppen az ezirányú vizsgálatok fordították a hatóanyag-fejlesztést a gyors lebomlású vegyületek kutatása felé. Öröndöletes, hogy míg a hetvenes években egy hatóanyag megítélésében még egyenesen előnynek számított, ha hosszan megmaradt a kijuttatás környezetében (hosszú hatástartam), két évtized után a megmaradóképességet egyértelmű ökológiai gondként érzékeljük (elhúzódó környezetterhelés), s a hatóanyag perzisztenciája adott esetben az engedélyezés korlátja lehet. Amennyiben a környezetanalitikai vizsgálat szennyezőt jelez, lényeges felmérni a szennyezés eredetét és a kezelés (kijuttatás) időpontját. A

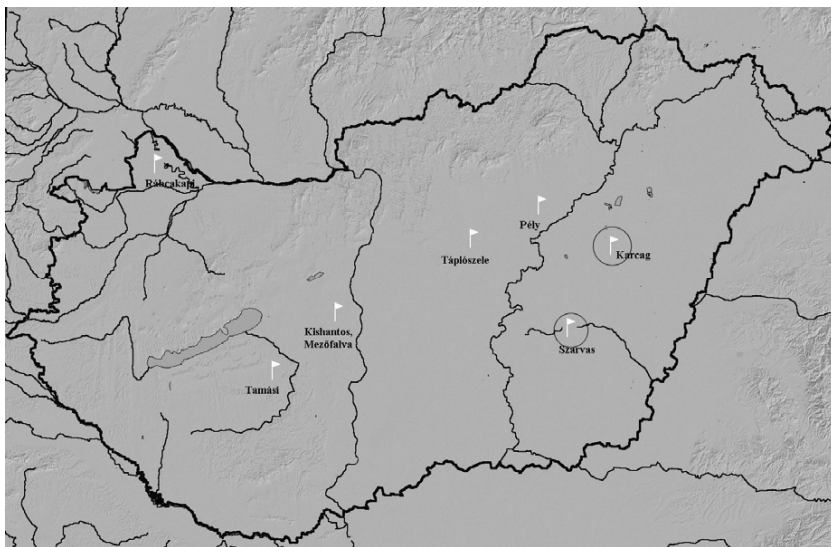


nyomozás igen összetett feladat, például a kukorica gyomirtására eddig használt *atrazine** és az azzal rokon triazin-származékok a talaj felső rétegében közepes gyorsasággal bomlanak, azonban bemosódás után, a mélyebb rétegekben oxigén hiányában, valamint a talajvízben perzisztens módon viselkednek [5]. Kevesek előtt ismert, hogy az *atrazine* például nemcsak a Balaton vizéből mutatható ki, de a tó mélyiszapja is tartalmazza azt.

Talajszennyezők. A permetezőszerek kijuttatásakor a készítmény túlnyomó többsége célját tévesztve a talajfelszínre kerül. Permetezés közben az UV sugárzás lebontó hatása a legerőteljesebb. A talajra kerülő hatóanyag erőteljesen kötődhet a talajkolloidokhoz (pl. 2,4-D), illetve a vízdoldható vegyületek – gyors vagy lassú ütemben – a mélyebb rétegekbe mosódhatnak. Az 1968-ban – a világon elsőként – Magyarországon betiltott rovarölő szernek, a *DDT*-nek máig mérhető nyomai találhatók talajainkban. A kilencvenes években az országos növényvédelmi hálózat mintegy 800 minta vizsgálatával azt mutatta ki, hogy hazai talajainkban a *DDT/DDE* maradványainak előfordulása a leggyakoribb. Kis mennyiségben (100-200 ng/g) a talajok fele tartalmazza ezeket a szennyezőket. A talajok 20-30%-ából mutatható ki *atrazine* (< 100 ng/g) és 10-20%-ából 2,4-D, utóbbi mennyisége elérheti a 200-600 ng/g értéket is. 1999 és 2002 között szántóterületeken végzett saját vizsgálataink is alátámasztották a korábbi tapasztalatokat: a talajminták

8-25%-ában fordult elő *atrazine* [6]. Bár egy 2002-es vizsgálatban 24 talajmintából csupán kettőben találtunk *atrazine*-t 70-110 ng/g szinten, a képet jelentősen rontotta, hogy a szermaradékot téli mintavételezéskor (vagyis a kijuttatás után 8-9 hónappal!) mutattuk ki. Sajnálatosan igazoltuk ezzel azt is (mely tényre korábbi vizsgálatunkban is bemutattunk [7]), hogy az *atrazine* hatóanyagot méltán nevezik ún. másodrendű *POP*-vegyületnek: perzisztenciája ugyan jóval alatta marad a több évtizedes felezési idejű *DDT* kapcsán tapasztalható értéknek, de e hatóanyagnak is számottevő hányada bomlás nélkül áttelelhet a mélyebb talajrétegekben. A tapasztalatok szerint tehát a legjelentősebb növényvédő szeres talajszennyezőknek a hajdani *DDT*-használat és a jelenkori kukorica- és gabonagyomirtási gyakorlat nevezhetők.

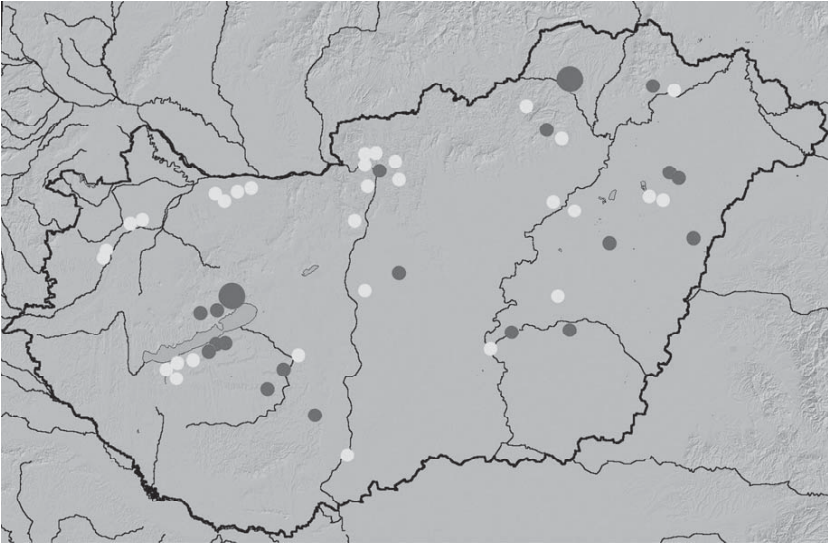
2006 és 2008 között főként ökológiai művelésű területek (1. ábra) vizsgálata során lényegesen kisebb szennyezettséget találtunk. Azonban még itt is, a mért 250 minta mintegy 20-30%-ából volt 100 ng/g értéket meg nem haladó mennyiségben kimutatható a *DDE*. Hasonló koncentrációban mutatkozott a minták 5-15%-ában a 2000-ben kivont *lindane** (γ -*HCH**) [8]. További talajszennyezőként fordult elő a vizsgált minták 10-40%-ban 30 ng/g alatti koncentráción a *trifluralin*(*)¹⁾ nevű gyomirtó hatóanyag. Kedvező mérési tapasztalat ugyanakkor, hogy az általunk eddig vizsgált rizikós növényekben (olajtök, napraforgó, mák, len, kapor, sárgarépa), ha *DDE*-tartalmú talajokon teremtek is, nem tudtunk szermaradékot kimutatni.



1. ábra Felszínvíz- és talajmintavételi területek ökológiai művelésű mezőgazdasági területeken (2006-2008).

Vízszennyezők. A kipermetezett szerek egy része elsodródva a felszíni vizekbe kerül, más része közvetlenül a kezelés után nagy mennyiségű csapadék hatására a felszíni vizekbe mosódhat, míg egy további része a talajokra kerül, és elindul a talajvíz felé. E szennyezőket műszeres analitikai módszerekkel és biotesztekkel egyaránt kimutathatjuk [9,10]. Analitikai kimutatásra az FVM (korábban MÉM) növényvédelmi hálózata által javasolt minta-előkészítési és gázkromatográfiás műszeres analitikai eljárás terjedt el [11]. Az FVM hálózata 1994-2000 között mintegy 2000 felszíni vízmintát vizsgált meg, és évente átlagosan – széles változatossággal – a minták 5-50%-ában talált szennyezőanyagot. A leggyakoribb felszíni vízszennyező az *atrazine* (~100 pg/ml) volt, amit a minták 6%-ából mutattak ki.

Egy másik kukorica-gyomirtó, az *acetochlor* a minták 4%-ából került elő. *HCH* és *diazinon*^(*) rovarirtókat tartalmazott a minták 3%-a [12]. Saját vizsgálatainkban 2000 és 2004 között 600 felszíni vízmintát mértünk meg. A minták 60%-a tartalmazott detektálható mennyiségű hatóanyagot (2. ábra). Kiemelhető közülük a *diazinon*, az *atrazine* és az *acetochlor*. Közepesen magas szennyezettségi szintet (1-10 ng/ml) mértünk 14 mintavételi helyen (az összes mintavételi helyek 15,6%-a) és alacsony szennyezettséget (1 ng/ml alatt) 32 mintavételi helyen (az összes mintavételi helyek 35,2%-a). A tapasztalt szennyezettségi szintek azért is aggasztóak, mert a vonatkozó, Magyarországon is érvényes EU Irányelv [13] a felszín alatti vizekre a maximálisan megengedhető határértéket



2. ábra Szennyezettséget mutató felszínvíz-mintavételi helyek egy országos felmérés keretében (1999-2002). Megállapított szennyezettségi szintek: 1 ng/ml alatt (kis világos kör), 1-10 ng/ml (kis szürke kör), 10 ng/ml felett (nagy szürke kör).

egyes növényvédő szerekre 0,1 ng/ml, az összes növényvédőszer-maradékokra pedig 0,5 ng/ml koncentrációban határozza meg. A hajdani növényvédőszer-gyártók telephelyein észleltünk kiemelkedő felszínvíz-szennyezettséget. Balatonfüzfőn (Nitrokémia Ipartelepek) például az *atrazine* és *acetochlor* koncentrációja a 10 ng/ml szintet is meghaladta. Másik, szintén kiemelkedően nagy pontszerű szennyezettséget az Észak-Magyarországi Vegyiművek körzetében találtunk [14,15]. Az ország növényvédelmi gyakorlatát kétségkívül kedvezőtlenül minősíti, hogy – vizsgálati eredményeink nyomán megfogalmazott figyelmeztetésünk [16] ellenére – a lehető legvégső határig használta az *atrazine* hatóanyagú gyomirtó készítményeket, s ezzel talajvizeink védelmére

nem fordított kellő gondot. Pedig a talajvíz (az első vízzáró réteg fölött felgyülemelő víz) ivóvízkészletünk bázisa. Egy 1998-ban elvégzett nyersvíz-/ivóvízvizsgálat szerint az *atrazine*-, *diazinon*- és *prometryne**-szennyezettség meghaladta az EU elfogadható ivóvízminőségi határértékét (MRL) (0,1 ng/ml) [17]. A vízszennyezés leginkább a sérülékeny, parti kavicszűrűsű vízbázisokat érintette, melyek közül a váci Dunakanyar emelhető ki. 2002-ben visszatértünk ezekre a területekre és *acetochlor*-szennyezettséget jegyeztünk fel. 2006 és 2008 között 115, főként ökológiai művelésű tábla víznyerő helyét vizsgáltuk. A minták 25-80%-ában volt *diazinon* kimutatható (< 50 pg/ml). A minták közel felében *atrazine* (< 250 pg/ml) és *trifluralin* (< 50 pg/ml)



hatóanyagokat mutattunk ki. Ismert környezeti kockázatú hatóanyag továbbá a *glyphosate*, melynek előnyeként említik csekély fennmaradó maradék-szintjét. Ez azonban inkább környezet-analitikai nehézséget, semmint előnyt tükröz, mivel a hatóanyagot és bomlás-termékét – kiemelkedő vízdoldhatóságuk miatt – kémiai analízissel nehéz detektálni, vagyis szermaradéka azért nincs, mert nem tudjuk kimutatni [18].

Környezetbiológiai jellemzők

Egy hatóanyag szennyező megjelenése szempontjából fontos az *MRL*, amelyet behatárol biológiai hatásának megnyilvánulása (vagyis a megengedhető napi bevitel, *ADI*). Az élőszervezetek által felvett vegyületek sorsa változatos lehet. Tekintélyes részük detoxifikálódik: a szervezet enzimszisztémái metabolizálják és vízdoldhatóbb formában üríthetővé teszik ezeket [19]. Kisebb csoportjuk képes valamely szövetben feldúsulni, ott hosszabb időre raktározódni. Ezt nevezzük bioakkumulációnak. Azon, bioakkumulációra hajlamos vegyületeket, amelyek a tápláléklánc mentén fel is dúsulnak, a biomagnifikációra képes csoportba soroljuk [20].

Bioakkumuláció. Növényvédőszer-hatóanyagok főként lipidgazdag szövetekben gyarapodnak fel. Közülük kiemelhetők a zsírszövet, az emlőmirigy, a gonádok és a csontvelő. A rovarirtóként használt klórozott szénhidrogének (pl. *DDT*, *dieldrin*, *lindane* stb.) tartoznak ebbe a körbe [21]. A feldúsulás helye és a krónikus hatások között könnyű össze-

függést találni. Nem véletlen, hogy az ilyen vegyületek a tejjel ürülnek ki a szervezetből. Az Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet (OÉTI) felmérései szerint az anyatejben még ma is jelentős mennyiségű *DDT* mutatható ki (a tejzsírban $0,33 \mu\text{g/g}$), még ha mennyisége az utolsó tíz évben felére is csökkent [22]. 2000-ben került betiltásra az utolsó, bioakkumulációra hajlamos, tejjel ürülő hatóanyagunk, a *lindane*.

Biomagnifikáció. A tápláléklánc feldúsulás nem néhányszoros növekedést jelent, hanem nagyságrendekkel megnövekedett mennyiségeket. A hajdanán méhkímélő technológiákban alkalmazott *camphechlor* (= *toxaphene**) például a fókák szervezetében már milliószoros nagyságrendben van jelen, ha a vegyület(ek) tengervízbeli mennyiségét tekintjük egységnyiinek. Nyilvánvalóan az ilyen vegyületek a csúcsragadozóknál okozzák a legnagyobb gondot. A *DDT* kiterjedt alkalmazása miatt hosszú időre ezért tűntek el hazánkban a nagy ragadozó madarak. A vízi üledékek *DDT*-szennyezettsége miatt a folyami halak vizsgálata hazánkban még mindig időszerű kérdés.

Toxicitási jellemzők

Egy vegyület toxikológiai jellemzéséhez kulcsadatok a koncentráció/dózis és a kitettség. Utóbbi a megmaradóképesség egyenes következménye. Betegséghez a krónikus kitettség vezet. E tekintetben az ivóvízszennyezők a legveszélyesebbek, mivel ezek (leválthatatlanságuk miatt) krónikus kitettséget hoznak létre.



Akut toxicitás. Az akut toxicitás egy vegyület azonnali mérgező hatását mutatja. Minél kisebb egy vegyület LC_{50} vagy LD_{50} értéke (a tesztállatok felének pusztulását kiváltó koncentráció vagy dózis), annál balesetveszélyesebb az anyag. Az akut toxicitás mérésére modellállatfajokat választunk. Ezekben belül van néhány hasonlóan reagáló csoport. Az emlősök és madarak általában nagyon hasonlóan reagálnak a hatóanyagokra. Rájuk az idegmérgekre (rovarölő szerek) mutatott kifejezett érzékenység a jellemző. Kitüntetett helyet foglalnak el a talajfertőtlenítő szerek, a növényvédelem leginkább balesetveszélyes hatóanyagai. A halakra és a vízi gerinctelen szervezetekre (pl. bolharákok) a piretroidok jelentenek szélsőségesen nagy veszélyt [23]. Paradox megoldás tehát a hazai szúnyogirtásban is használt piretroidok köre. A balatoni halpusztulásokban kulcsszerepet játszott a tóközeli piretroidhasználat (szúnyogirtás és növényvédelem) [24,25]. Csekély azon hatóanyagok száma, amelyeket hasznos gerincteleneken (ragadozók, paraziták, gilisztafélék) kellően vizsgáltak, így kérdőjel kerül az ún. integrált védelemre használt hatóanyagok egy része mellé, amely például egy hatóanyag vízzszennyező képességét nem is tekinti.

Krónikus toxicitás. A krónikus hatások szubletális dózisban hosszú kitettség során mutatkoznak meg. Felismerésük korántsem könnyű: követő és visszatekintő tanulmányokat igényel. Igen gyakori, hogy egy hatóanyag kivonását ennek a hatásnak a felismerése váltja ki.

Mutagenitás. Amennyiben egy vegyület valamilyen úton az örökítő rendszer megváltozását váltja ki, azt mutagénnek nevezzük. Egy anyag lehet közvetlen (direkt) mutagén, és lehet promutagén, amikor a vegyületből a szervezet enzimjei készítik el az aktív változatot. A mutagenitás mérésére sokféle teszt szolgál, közülük az Ames-tesztek csoportja a legszélesebb körben használt [26,27]. Tíz éve 130 növényvédőszer-hatóanyagot használhattunk fel termelési célból, amely valamely teszt-rendszerben mutagénnek minősíthető, de az ilyen hatású hatóanyagok száma még ma is harminchoz közeli [28]. Az örökítő anyag megváltoztatása számos következménnyel járhat. Gyakori, hogy végzetes betegségek kialakulását alapozza meg a mutagenitás. A 2009-ben még felhasználható jelentősebb mutagén hatóanyagok: 2,4-D, acetochlor, alachlor^(*), aldicarb, deltamethrin, dichlorvos^(*), dimethoate, folpet, malathion^(*) és trifluralin.

Karcinogenitás. A kémiai karcinogenezishez általában több egymást követő mutáción keresztül vezet az út. Ezért sokan közvetlen kapcsolatot látnak a mutagenitás és karcinogenitás között [29]. Tény, hogy még optimista becslők szerint is a mutagén vegyületek 60%-áról derül ki később, hogy egyidejűleg karcinogén is. Megnyugtató lehetne, hogy az IARC (a WHO Nemzetközi Rákkutatási Ügynöksége) kimutatása [30] egyetlen olyan növényvédőszer-hatóanyagot sem tart nyilván, amely emberen bizonyítottan rákkeltő. Sajnos azonban azt is bizonyosan meg-



állapítja ez az adatbázis, hogy a növényvédő szerekkel közvetlenül dolgozók rosszindulatú betegségei (tüdőrák, leukémia, limfóma, mielóma stb.) jelentősebbek. A tartós kitettség különösen jellemző a méregraktár-kezelőkre, permetező szerek bekeverését végzőkre, a védőfelszerelés nélkül permetezőkre. A szennyezett ruha szerepe kiemelkedő. Hozzá kell tennünk azt is, hogy az állatkísérletekben bizonyosan rákkeltő hatóanyagok száma jelentős [31]. Ezen vegyületeket most vonja ki fokozatosan az EU a növénytermesztés gyakorlatából. A fejes saláta 2008-as hazai botrányában kulcsszerepű *chlorothalonil* például állatkísérletekben bizonyosan rákkeltő. Az engedély nélkül használt gombaölő szerből az *MRL* több mint kétszázszorosát mérték egy barcsi termelő árújában. A 2009-ben még termelési célra használható állatkarcinogén (*IARC* kód: 2B) hatóanyagok: *2,4-D*, *chlorothalonil*, *dichlorvos*, utóbbit szúnyogirtásra hosszú ideig – főként Csongrád és Békés megyében – településekre szórták.

Teratogenitás. A teratogenitás torzfejlődést idéz elő. Ez emlősök esetében a méhen belüli fejlődés időszakában következik be. Enyhébb tünetei a hasadt szájpád, a nyúlászaj vagy a bordák számának változása. Súlyos, sokszor halálos tünete a nyitott gerincoszlop a születéskor. A teratogenitást ma meglehetősen fajspecifikus hatásként kezelik. Így az egy fajon teratogénnek bizonyult vegyület még nem vonja feltétlenül maga után a tiltást. Több, nem rokon fajon tapasztalt torzképződés

viszont már súlyos figyelmeztetés [32]. 2009-ben még növényvédelmi célra felhasználható teratogén hatóanyag a *2,4-D* és a *malathion*.

Hormonmoduláns hatás. A hormonmoduláns vegyületek a szexszteroid-hormonok (ösztrogén, tesztoszteron) területén okoznak általában agonista típusú hatásokat [33,34]. A legtöbb vegyület a receptorhelyet képes elfoglalni, és azon jelet továbbítani. A hatóanyagok közül kiemelkedő a triazin-herbicidek hatása, amelyek közül az *atrazine* – csekély koncentrációban (100 pg/ml) – a genetikailag hímnek született békák hermafrodita fejlődését képes kiváltani. A hazai felszíni vizeink legalább 10%-a szennyezett olyan mértékben *atrazine* hatóanyaggal, hogy az ebihalak hermafrodita fejlődése realitássá válik [33,35]. A kétélűek kiemelkedő hormonális érzékenysége valószínűleg összefüggésbe hozható azzal, hogy szinte minden fajuk veszélyeztetett és így védett. A még a növényvédelemben felhasználható hormonmoduláns hatóanyagok: *2,4-D*, *alachlor*, *aldicarb*, *cypermethrin*, *malathion*, *metiram* és *trifluralin*.

Immunmoduláns hatás. Az immunrendszer rendkívül plasztikusan reagál a környezetünkre. Több paraméterének egyidejű változása esetén beszélünk immunsztatikus hatásról (ez a védekező rendszer kóros gyöngülését jelenti) vagy felfokozott állapotáról (amelynek ismert formája az allergia) [36]. A szakirodalom dokumentált esetekről számol be, melyekben az emberi immun-



rendszer növényvédőszer-maradékoknak való tartós kitettség hatására legyöngül [37]. Az Egyesült Államok kukoricaövezetében, ahol az *atrazine* megjelenése az ivóvízben súlyos gond, ez idézi elő a koraszülések számának növekedését, a születési súlyok csökkenését és a csecsemőkori megbetegedések számának számottevő emelkedését. Súlyosan gátoltnak találták a gyapottöldek (a legjobban kemizált szántóföldi kultúra) körzetében élő és az eszkimó (az északi félteke „csúcsragadozó”) gyerekek immunrendszerét. A még felhasználható, jelentős mértékben immunmoduláns hatóanyagok: *2,4-D*, *cypermethrin*, *dichlorvos* és *dimethoate*.

A jelenlegi hatóanyagok megítélése

A legsúlyosabb környezet-egészségügyi nehézségeket jelentő nehézfémekre (arzén) és klórozott szénhidrogénekre (*DDT*, *dieldrin*) épülő növényvédelemi eljárásokat a hetvenes évekig kivonták a gyakorlatból. Ennél tovább kellett várni a higanytartalmú csávázók és néhány klórozott szénhidrogén esetében (*camphechlor*, *lindane*). Az *atrazine* és körének kivonására pedig az utolsók között kerítettünk sort az EU tagországai között. A tíz évvel ezelőtti hazai számbavétel során közel száz hatóanyag tiltását javasoltuk, azonban a felelős hatóságok semmit sem tettek ebben az ügyben [38]. Az EU-csatlakozás után, közösségi nyomásra korszerűsítették a hazai hatóanyagválasztékot. Jól érzékelteti ezt az engedélyezett hatóanyagok számának alakulása: a csatlakozás előtt – pl. a

skandináv országokhoz képest – az ökotoxikológiai kritikára érzéketlennek minősíthető.

Irodalomjegyzék

- [1] Székács A 1999 A növényvédő szerek kockázatai. *Magyar Tudomány* **1999**: 38-49.
- [2] Carson R 1962. *The Silent Spring*. Houghton Mifflin Co, Boston.
- [3] United Nations 2001. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. United Nations Environment Programme, Geneva, Switzerland.
- [4] Bernes C. 1998. Persistent Organic Pollutants. Swedish Environmental Protection Agency.
- [5] Székács A, Darvas B 2006. Talaj- és vízzennyező növényvédő szerek. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 269-277 old.
- [6] Oldal B, Maloschik E, Uzinger N, Anton A, Székács A 2006. Pesticide residues in Hungarian soils. *Geoderma* **135**: 163-178.
- [7] Le HM, Székács A, Tökés G, Ferguson BS 1996. Detection of atrazine in Hungary by immunoanalytical (ELISA) method. *J. Environ. Sci. Health B* **30**: 459-464.
- [8] Székács A, Maloschik E, Mörtl M, Darvas B 2008. Talajaink és vizeink növényvédőszer-szennyezettsége. *Környezetvédelem* **16**(6): 14-15.
- [9] Levkovets I, Fekete G, Ernst A, Starodub N, Székács A 2005. Evaluation of selected pesticides by instrumental, immunoanalytical methods and aquatic ecotoxicity biotests. In: 7th International HCH and Pesticides Forum Book (Elbestawy E, Moklyachuk L, Pidlisnyuk V, Schulz N, Stefanovska T, Vijgen J, Eds.), International HCH & Pesticides Association, Holte, Denmark, pp. 148-152.
- [10] Székács A, Fónagy A, Fekete G, Szentkirályi F, Bernáth B 2004. Ökotoxikológiai és rovarmonitorozási vizsgálatok az agroökológia szolgálatában. *"Agro-21" Füzetek* **37**: 148-159.
- [11] Majzik-Solymos E, Visi É, Károly G, Bercziné BB, Györfi L 2001. Comparison of extraction methods to monitor pesticide residues in surface water. *J. Chrom. Sci.* **39**: 325-331.
- [12] Károly G, Györfi L, Ocskó Z 2001. Felszíni vizeink növényvédőszer-szennyezettségi vizsgálatai. *Növényvédelem* **37**: 539-545.
- [13] European Parliament and Council 2006. Directive 2006/118/EC (12 Dec 2006) on the



- protection of groundwater against pollution and deterioration. *Offic. J. Eur. Union* **L 372**: 19-31.
- [14] Maloschik E, Ernst A, Hegedűs Gy, Darvas B, Székács A 2007. Monitoring water polluting pesticides in Hungary. *Microchem. J.* **85**: 88-97.
- [15] Székács A, Ernst A, Juracsek J, Darvas B 2005. Monitoring water polluting pesticides in Hungary. In: 7th International HCH and Pesticides Forum Book (Elbestawy E, Moklyachuk L, Pidlisnyuk V, Schulz N, Stefanovska T, Vijgen J, Eds.), International HCH & Pesticides Association, Holte, Denmark, pp. 68-69.
- [16] Székács A, Ernst A, Juracsek J, Darvas B 2004. Növényvédő szerek okozta vízszennyezések Magyarországon. In: Kémiai és genetikai biztonság a mezőgazdaságban (Laczó F, szerk.). Környezettud. Központ, Budapest, pp. 53-60.
- [17] Kárpáti Z, Györfi L, Csanády M, Károly G, Krómer I 1998. Ivóvizek növényvédőszer-szennyezettsége. *Egészségtudomány* **42**(2):143-152.
- [18] Székács A 2006. Gyomirtó szerek. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 109. old.
- [19] Darvas B (1990) A zoocidek metabolizálásában közreműködő enzimrendszerek rovarokban. *Növényvédelem* **26**: 49-63.
- [20] Darvas B 2006. Technikai tisztaságú hatóanyagok szennyezettsége, készítmények formulációja, hatóanyagok egymásra hatása. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 294-303. old.
- [21] Darvas B (2000) Virágot Oikosnak. L'Harmattan Kiadó, Budapest.
- [22] Griff T, Békés E, Czakó K, Ifjú P, Szerleticsné Túri M, Sohár P-né 2007. Anyatejnek POP-szennyezettsége. A IV. WHO anyatejvizsgálat eredményei. In: Az egészség bölcsője, Várandósság – szoptatás – egészséges táplálkozás. (Egészségügyi továbbképzési program anyaga) Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet, Budapest.
- [23] Csillik B, Fazakas J, Nemcsók J, Knyihar-Csillik E 2000. Effect of the pesticide Deltamethrin on the Mauthner cells of Lake Balaton fish. *Neurotoxicology* **21**: 343-352.
- [24] Bálint T, Ferenczy J, Kátai F, Kiss I, Kufcsák O, Láng G, Polyhos Cs, Szabó I, Szegetes T, Nemcsók J 1997. Similarities and differences between the massive eel (*Anguilla anguilla* L.) devastations that occurred in Lake Balaton in 1991 and 1995. *Ecotox. Environ. Saf.* **37**: 17-23.
- [25] Nemcsók J, Bálint T, Fazakas J, Kátai F, Kiss I, Hieu LH, Kufcsák O, Láng G, Polyhos Cs, Szabó I, Szegetes T 1999. The contribution of a pyrethroid insecticide to the massive eel (*Anguilla anguilla* L.) devastation, in Lake Balaton in 1995. *Acta Biol. Hung.* **50**: 161-173.
- [26] Ames BN, Lee FD, Durston EW 1973. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **70**: 782-786.
- [27] Darvas B 2006. Mutagének az agrokemizálás gyakorlatában. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 158-169. old.
- [28] Bokán K, Fejes Á, Soós I, Fekete G, Darvas B 2009. Növényvédő szerek mutagenitása. *Növényvédelem*, (in press)
- [29] Ames BN, Durston EW, Yamasaki E, Lee FD 1973. Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **70**: 2281-2285.
- [30] Waters M, Stack F, Jackson M, Lohman P, Lohman W, Rice J 2000. Genetic activity profiles of short-term tests with data from the US EPA and the IARC Monographs (GAP2000).
- [31] Tompa A, Darvas B 2006. A növényvédő szerek daganatkeltő hatása. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 190-196. old.
- [32] Darvas B 2006. Teratogén hatású növényvédő szerek. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 224-227. old.
- [33] Colborn T, Dumanoski D, Myers JP 1996. Our Stolen Future. Dutton, New York.
- [34] Keith LH 1997. Environmental Endocrine Disruptors. Wiley, New York.
- [35] Darvas B, Csóti A, Székács A 2006. Hormonálisan aktív környezeti anyagok. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B., Székács A., szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 232-245. old.
- [36] Institoris L, Dési I 2006. Immunmoduláns növényvédő szerek. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 254-262 old.
- [37] Repetto R, Baliga S 1996. Pesticides and the immune system. World Resources Institute, Washington DC.
- [38] Darvas B 1999. In: A biológiai növényvédelem és helyzete Magyarországon (Polgár AL, szerk.). OMFB, Budapest, 15-48. old.



Gázkromatográfiás módszerek a környezetanalitikai vizsgálatokban

Gas chromatographic methods in environmental analysis

*Mörtl Mária, Maloschik Erik,
Juracsekné N. Judit és Székács András*

*M. Mörtl, E. Maloschik, J. N. Juracsek
and A. Székács*

MTA Növényvédelmi Kutatóintézete,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

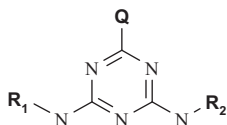
Department of Ecotoxicology and Environmental
Analysis, Plant Protection Institute, Hungarian
Academy of Sciences, Budapest, Hungary

Among instrumental analytical techniques the role of gas chromatography (GC) is essential in the field of environmental analysis. The chromatographic method and sample preparation procedure of choice depend on the sample types as well as on the target compounds. In some cases chemical modification (derivatization) of target compounds prior to analysis is necessary. In GC the volatile analytes interact with a stationary phase, therefore they are retained, and the differences in the surface phase interactions result in the separation of the compounds. For detection purposes mass spectrometry (MS) is the most favorable technique, because beyond detection it also provides structural information on the corresponding compounds, which is substantial in the identification of the analytes. In turn, although liquid chromatographic techniques are on the rise, GC-MS protocols remain the most prevalent in pesticide residue analysis. Each analytical procedure has to be validated that involves the determination of calibration curves, recoveries, the limits of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ).

A növényvédőszer-hatóanyagok analitikai meghatározása különféle környezeti mintákból (mátrixokból) a környezetanalitika feladata. A begyűjtött felszíni- és talajvízmintákból, illetve a talajmintákból megfelelő feldolgozás után gázkromatográfhoz kapcsolt tömegspektrométer segítségével határozzuk meg a célvegyületek koncentrációját. A világszerte forgalomban lévő mintegy ezer növényvédő szer közül analitikai, toxikológiai megfontolások, valamint a hazai felhasználási szokások alapján a monitorozás szempontjából fontos vegyületek köre leszűkíthető. A vizsgált

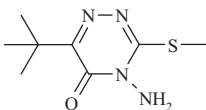
vegyületekre példák az 1. ábrán láthatók. Ezek polaritás, illékonyság, sav-bázis-sajátságok, vízdoldhatóság és más fizikai-kémiai tulajdonságok szempontjából is meglehetősen különböznek egymástól, ami megnehezíti a minta-előkészítést és az analízist.

További nehézséget jelent, hogy a kijuttatott szerek sok esetben nem egy kémiai egységes hatóanyagot, hanem gyakran több vegyületet, ill. izomereket tartalmaznak. Ennek oka lehet az, hogy az előállítás (pl. gyökös klórozás) során keletkezett termékelegyet alkalmazták növényvédő szerként. Például a *HCH*

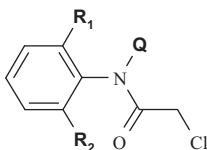
**Herbicidek**

Triazinok:

atrazine, simazine, prometryn, terbutryn

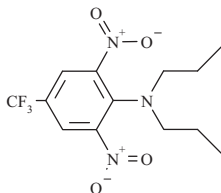


metribuzin



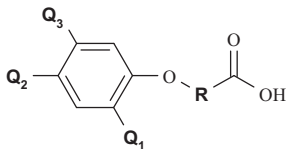
Klóracetanilidek:

*acetochlor, propachlor
alachlor, dimethalachlor
metolachlor, propisochlor*



Dinitro-anilinek:

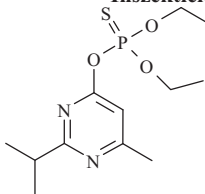
trifluralin



Klórfenoxi-alkánsavak:

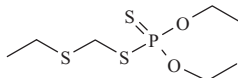
*2,4-D, MCPA, mecoprop, 2,4-DB,
MCPB, dichlorprop*

1. ábra A szermaradék-analitikai vizsgálatok fontosabb célvegyületei.

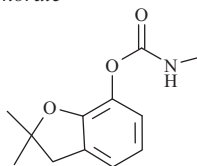
Inszekticidek

Szerves foszforsav-észterek:

diazinon

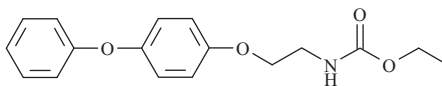


phorate



Karbamátok:

carbofuran



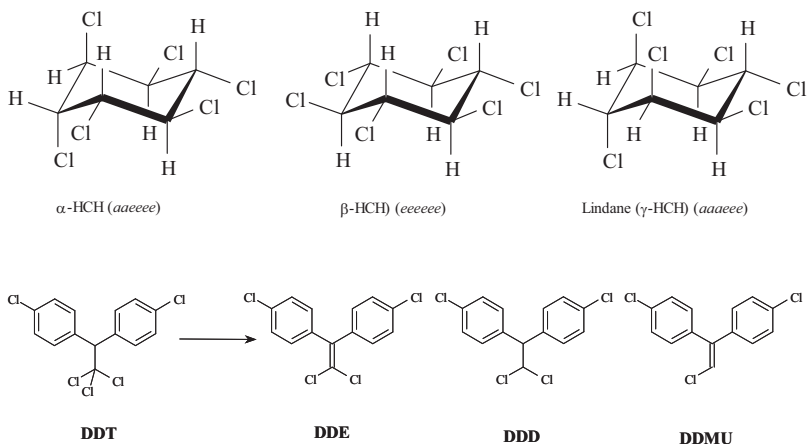
Hormonanalógok:

fenoxycarb



(hexaklór-ciklohexán) molekulához a klóratomok térállásától függően többféle izomerváltozat is tartozik (2. ábra). Ezen izomer vegyületek a természetbe kikerülve különböző sebességgel, részben vagy teljesen lebomlanak, így eredeti mennyiségükre gyakran csak a

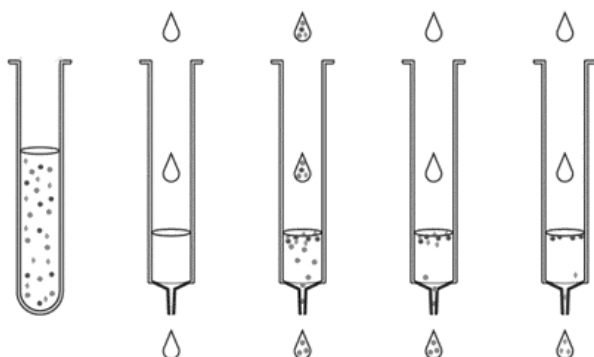
bomlástermékekből lehet következtetni (2. ábra). Állandó hátterszennyezőként vannak jelen a lassan lebomló anyagok az ún. POP-vegyületek (angol nevük *Persistent Organic Pollutants*), amelyek környezetünkben még évtizedek múltán is jelen vannak.



2. ábra Példák perzisztens hatóanyagokra: a HCH izomerjei (*fent*), valamint a DDT és bomlástermékei (*lent*).

A minta jellege (talaj, víz, növény stb.) és a célvegyületek határozzák meg a szükséges minta-előkészítési lépés(ek)e(t), az alkalmazható analitikai módszert, a beállítható kromatográfiás körülményeket, a detektálás módját, valamint a kinyerhető analitikai adatot. A környezeti minta az esetek többségében nem vizsgálható közvetlenül az analitikai műszerekkel, azt a méréshez megfelelő formába kell hozni. A minta előkészítése során megoldani szükséges problémák a minta homogenizálása, az analitikai műszer mérési tartományának meg-

felelő koncentráció beállítása (dúsítás, hígítás), valamint a mérni nem kívánt vegyületek (mátrixhatás, adott zavaró komponensek) eltávolítása. Az előkészítés során végzett műveletek magukban foglalhatják az ülepítést, centrifugálást, szűrést és a célvegyületek kivonására szolgáló lépéseket, mely utóbbi lehet például folyadék-folyadék-extrakciós (LLE), szilárd fázisú extrakciós (SPE) vagy szilárd fázisú mikroextrakciós (SPME) eljárás. Az SPE minta-előkészítés egyik változatának lépései a következők (3. ábra):



1. kondicionálás, 2. minta felvitele, 3. mosás, 4. leoldás

3. ábra Tipikus SPE minta-előkészítési eljárás lépései.

- kondicionálás, melynek során az SPE oszlopot hozzuk „működésre kész” állapotba;
- a minta felvitele során megkötődnek a célvegyületek a szilárd fázison;
- az oszlop mosása során a zavaró komponensek távolíthatók el;
- a célvegyületeket tartalmazó oldat megfelelő oldószerrel történő leoldása.

A vízminták előkészítésére általunk használt SPE eljárás [1-3] folyamat-ábrája a 4. ábrán látható. Az eljárás során 1 liter vízmintából 1-5 ml szerves oldószerben betöményített mintaoldatot nyerünk, ami – optimális esetben – a koncentráció ezerszeres növekedését jelenti. A talajoknál folyadékeleggyel való extrakcióval [4] vonjuk ki a szermaradékokat (5. ábra).

A növények minta-előkészítése ennél lényegesen bonyolultabb feladat, mivel ezek összetétele rendkívül változatos. Az alkalmazott módszer függ a növényi

minta víz- és olajtartalmától, s emellett az eredményeket a fehérje- és szénhidráttartalom is befolyásolja. Nagy víztartalmú termények, mint például a tök (> 90%), sárgarépa (> 70%) és a kapor, minta-előkészítése jelentősen különbözik a nagy olajtartalmú magvak, például napraforgó (50-60%), tökmag (50%), len (35%) és más (20%) esetén alkalmazott eljárásoktól.

A minta a víz-, és olajtartalmától, valamint a szénhidrát- és fehérjetartalomtól függően különböző előkészítést igényel, hiszen a mátrixkomponensek eltávolítása más-más módon valósítható meg. A növényi mintáknál az utóbbi időben egyre inkább terjed az ún. QuEChers módszer [5,6], amelyet a tapasztalatok alapján többször is továbbfejlesztettek. Ennek során a szárítás mellett a szinanyagokat grafitizált szénrel, a lipideket C18 fázis segítségével ún. diszperzív SPE eljárással távolítják el az oldószeres extraktumból.



Víz minta (1 liter)

szűrés, homogenizálás
oszlop-előkészítés (5 ml
 CH_2Cl_2 /metanol (8:2), 15 ml
10 g/l aszkorbinsavoldat), 5
ml/perc, szárazra nem
szívható!

Víz minta átszívása (10-15 ml/perc)

oszlop mosása:
7 ml deszt. víz,
1 ml metanol/deszt. víz (1:1),
oszlop szárazra szívása

Hatóanyagok elúciója 1. frakció (semleges/bázikus hatóanyagok) 1 ml metanol + 6 ml CH_2Cl_2 /metanol (8:2)

Egyesített eluátum bepárlása,
oldószercseré (i-oktán)

Hatóanyagok elúciója 2. frakció (savas hatóanyagok) 6 ml 0,9 g/l KOH-tartalmú CH_2Cl_2 /metanol (6:4)

Egyesített eluátum bepárlása,
oldószercseré (i-oktán),
származékképzés

GC-MS mérés

4. ábra Vizminták előkészítésének folyamatábrája. Szilárd fázisú extrakció Restek CarboPrep-90 (500 mg/6 ml) oszlopon neutrális, bázikus és savas komponensekre.

Talaj minta (10 g, légszáraz)

talajminta bemérése csavaros
kupakos centrifugacsőbe
+ 15 ml hexán/acetón (1:1)

Alapos rázatás (5 perc)

Ultrahangos agitálás (20 perc)

Centrifugálás (4°C, 5000 fordulat/perc, 10 perc)

Centrifugálás

Centrifugálás (4°C, 5000 fordulat/perc, 10 perc)

Centrifugálás

Extraktum dekantálása (10 ml)

osztott kémcsőbe,
bepárlás vákuumkádban
(1 ml),
majd szárazra párolás
nitrogénáramban,
bepárlási maradék oldása
1 ml etil-acetátban

GC-MS mérés

5. ábra Talajminták előkészítésének folyamatábrája. A talajmintákat az előkészítést megelőzően kiterítve, levegőn szárítjuk, majd őrléssel és szitálással homogenizáljuk.

Bizonyos esetekben szükségessé válhat a célvegyületek kémiai módosítása is, az ún. származékképzés. A minta előkészítése során kémiai átalakítással a vegyületek alkalmassá válnak a gázkromatog-

ráfias (GC) mérésre, illetve javulnak kromatográfias tulajdonságaik. A GC módszerben leginkább az illékonyág növelése (H-hidak megszüntetése) és a termikus stabilitás növelése a cél.



Kromatográfias szempontból sor kerülhet a származékképzésre a jelalak javítása miatt, esetleg a jel „kihúzása” is megoldható a többi zavaró jel közül. A detektálhatóság (kimutatási határ stb.) javítása a célvegyület kémiai módosításával általában az elektronbefogásos detektálásnál fordul elő. A savas herbicidek közül a klórfenoxi-ecetsavak (I. táblázat) GC úton közvetlenül nem vizsgálhatók, mivel nem illékonyak.

I. táblázat A klórfenoxi alkánsav típusú herbicidek szerkezete és savi erősségüket jellemző pK_a értékük.

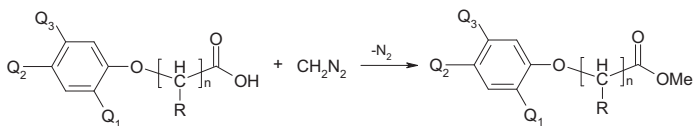
Szerkezet	Röv.	pK_a
	4-CPA	3,01
	mecoprop (MCP)	3,78
	MCPA	3,07
	Dichloroprop	3,00
	2,4-D	2,73
	2,4,5-TP	2,83
	2,4,5-T	2,88
	MCPB	4,84
	2,4-DB	4,80

Karboxilcsoportjaikkal hidrogénhidak kialakítására képesek: két molekula dimerre kapcsolódik vagy irreverzibilisen megkötődnek a kromatográfias rendszer elején. A savas hidrogén lecszerelésével az illékonyaság kellően növelhető.

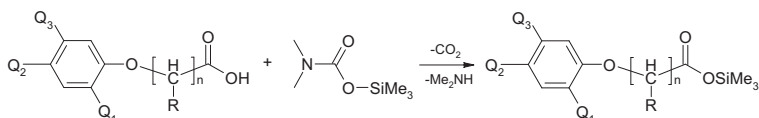
Alkalmazható eljárás az alkilezés, ezen belül is a metilezés. A szakirodalomban korábban leírt diazometán metilező szer (6. ábra) frissen előállítandó, robbanásveszélyes és bizonyítottan rákkeltő. A kereskedelembe kapható trimetil-szilil-diazometán kis reakciókészségű, a trimetil-szulfónium-hidroxid és a trimetil-fenil-ammonium-hidroxid pedig csak magas hőmérsékleten nyújt teljes konverziót.

A metilező szerekkel szemben egyes szililező szerek szóba jöhetnek klór-fenoxi-alkánsavak védő és műszeres analitikai méréshez módosító funkciójú származékképzésére (szililezésére). E célra jó lehetőséget nyújt a munkatársunk által klór-fenolokra korábban már sikeresen alkalmazott trimetilszilil-*N,N*-dimetil-karbamát és származékai [7]. A vegyület gyorsan és kvantitatív módon reagál (7. ábra), a minta eltarthatósága a reagens feleslegével biztosítható.

Az előkészített minták analíziséhez Saturn 2000 GC-MS munkaállomás (Varian) áll rendelkezésünkre. A GC rendszer főbb részeit a 8. ábra mutatja be. Az általában μ l nagyságrendű minta a fűtött injektorban elpárolog, majd az oszlopra kerül. A vivő gáz által létrehozott kényszeráramlás végighajtja a minta komponenseit az ún. oszlopon, mely lehet kapillárisoszlop (falán



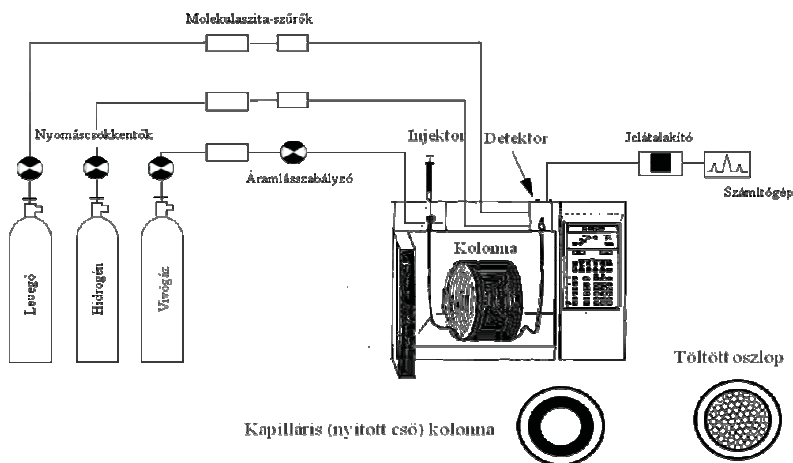
6. ábra Szubsztituált fenoxi-alkánsavak diazometánnal történő metilezési reakciósémája.



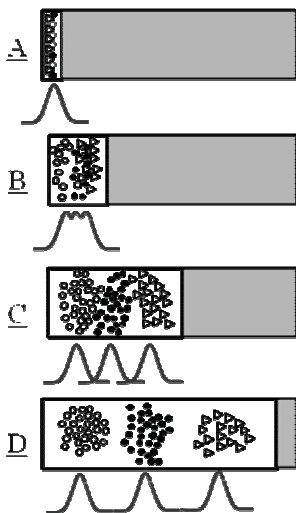
7. ábra Szubsztituált fenoxi-alkánsavak trimetilszilil-*N,N*-dimetilkarbamáttal történő szililezésének reakciósémája.

kémiailag kötött, speciális szilikonréteg-gel vagy töltött oszlop. A minta molekulái az oszlop megosztó fázisával különböző erősségű kölcsönhatásba lépnek, az álló fázishoz erősebben kötődő vegyületek lassabban haladnak, míg a gyengébben kötődő komponensek

inkább a gázfázisban tartózkodnak és így gyorsabban haladnak (9. ábra). Az oszlopról az egymás után távozó komponenseket detektáljuk, az idő függvényében rögzített analitikai jel a kromatogram. A 10. ábrán egy általunk mért kromatogram és az egyik csúcs



8. ábra A gázkromatográfiás rendszer főbb részei.



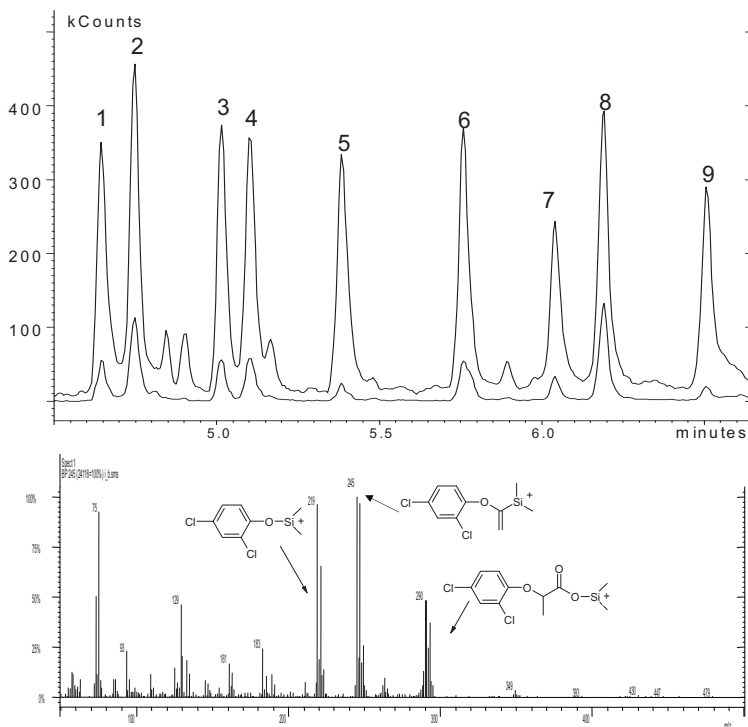
9. ábra A kromatográfiás elválasztás folyamata és a kromatogram kifejlődése.

(*dichlorprop*-szililészter) tartozó tömegspektrum látható. A GC körülmények (hőmérséklet, állófázis, nyomás stb.) között meghatározott retenciós idő a minta komponenseinek minőségi azonosítására, míg a csúcsterület a minta komponenseinek mennyiségi meghatározására szolgál (kalibrálás). A különböző detektorok más-más koncentrációtartományban használhatók és a detektálható vegyületek köre is különbözhet. A tömegspektrometriás detektálás előnye, hogy alacsony kimutatási határok mellett a vegyületről szerkezeti információ is nyerhető. A kromatográfiás oszlopról távozó anyag előbb ionizálódik, majd a molekula a „gyengébb pontokon” széttöredezik, s így fragmensek keletkeznek, melyeket tömeg/töltés (m/z) szerint elválasztunk, detektálunk. A spektrumban

szerencsés esetben megjelenik az egy elektron elvesztésével keletkező molekulaion (példánkban $m/z=349$). A spektrum legintenzívebb ionja az ún. báziscsúcs ($m/z=245$): a többi ion jelintenzitását ehhez viszonyítjuk. A fragmensek tömege és intenzitása a molekula szerkezetétől függ, ahhoz ujjlenyomatként hozzárendelhető és spektrumkönyvtárakban tárolható. Ismeretlen anyagról felvett tömegspektrumot összehasonlítva a spektrumkönyvtárban tároltakkal a hasonlóság alapján a vegyület azonosítható.

Az analitikai módszerfejlesztés során meg kell határozni a minta-előkészítés és a mérés optimális körülményeit. Ellenőrizni kell a visszanyerést (az eredeti mennyiségből az analitikai eljárással a minta-előkészítés után visszamérhető mennyiséget), időről időre meg kell határozni a kalibráló egyenes (jelnagyság vs. koncentráció) paramétereit. Fontos analitikai jellemző a kimutatási határ (*limit of detection*, LOD – az a koncentráció, melynél a jel/zaj-viszony 3), mennyiségi detektálást azonban csak a 10 feletti jel/zaj-viszony mellett (*limit of quantitation*, LOQ) lehet megbízhatóan végezni. Módszervalidáláskor vizsgálni kell a módszer reprodukálhatóságát, robosztusságát, analitikai teljesítményjellemzőit.

A mennyiségi meghatározást zavarhatják a mátrix – jelen esetben a talaj – összetevői, ha a célvegyületekkel átfedő jelet adnak. Ez kiküszöbölhető, ha a koncentrációt egyetlen ion intenzitásából határozzuk meg, mégpedig olyan ionból, amely a zavaró komponensek spektrumából hiányzik.



10. ábra A klór-fenoxi-alkánsavak szililezett származékainak kromatogramja (fent) és a 4. számú csúchoz (dichlorprop-szililészter) tartozó tömegspektrum (lent).

Irodalomjegyzék

- [1] S Di Corcia A, Marchetti M 2001. Multiresidue method for pesticides in drinking water using a graphitized carbon black cartridge extraction and liquid chromatographic analysis. *Anal. Chem.* **63**: 580-585.
- [2] Majzik-Solymos E, Visi É, Károly G, Bercziné BB, Györfi L 2001. Comparison of extraction methods to monitor pesticide residues in surface water. *J. Chrom. Sci.* **39**: 325-331.
- [3] Magyar Szabványügyi Hivatal 1995. Vízminőség. Mintavétel. 1. rész: Irányelvek mintavételi programok és mintavételi technikák megtervezéséhez. MSZ (ISO) 5667-6:1995, Budapest.
- [4] Magyar Szabványügyi Hivatal 1998. Környezetvédelmi talajvizsgálatok. Mintavétel. MSZ 21470-1:1998, Budapest.
- [5] Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, Schenck FJ 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solidphase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.* **86**: 412-431.
- [6] Lesueur C, Knittl P, Gartner M, Mentler A, Fuerhacker M 2008. Analysis of 140 pesticides from conventional farming foodstuff samples after extraction with the modified QuEChERS method. *Food Control* **19**: 906-914.
- [7] Kovács Á, Kende A, Mörtl M, Volk G, Rikker T, Török K 2008. Determination of phenols and chlorophenols as trimethylsilyl derivatives using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1194**: 139-142.



Daphnia magna bioteszt alkalmazása környezeti mintákon

Application of *Daphnia magna* biotest on environmental samples

Fekete Gábor és Fejes Ágnes

MTA Növényvédelmi Kutatóintézete,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

G. Fekete and Á. Fejes

Department of Ecotoxicology and Environmental
Analysis, Plant Protection Institute, Hungarian
Academy of Sciences, Budapest, Hungary

Chemicals (including agrochemicals) released into the environment may interact in numerous ways with organism living there. To predict possible non-target effects, candidate pesticide active ingredients are required to be evaluated in ecotoxicological tests prior to their registration. The effects of pure active ingredients determined in various *in vitro* tests gain importance in the evaluation of environmental samples as well. Yet, the range and direction of the actual effects depend on numerous environmental factors, and possible agonist or synergistic interactions among various substances have also to be considered.

Akut és krónikus toxicitás

A növényvédő szerek veszélyességét elsősorban toxicitásuk meghatározásával ítéltjük meg. A mérgezés/kitettség alapján két toxicitástípust különböztetünk meg: az akut (heveny) és a krónikus (idült) toxicitást, előbbi a mérgező anyaggal szembeni egyszeri, utóbbi huzamosabb idejű kitettség mellett lép fel. A növényvédő szerek toxicitásának kifejezésére az egyik leggyakrabban használt mérőszám az LC_{50} / EC_{50} érték, adott vegyület azon – letális vagy effektív – koncentrációja, amely a vizsgált tesztállatoknál 50% mortalitást/hatáskifejtést eredményez. Minél kisebb ez az érték, annál mérgezőbb a hatóanyag az adott tesztorganizmokra [1]. Elterjedt emellett az LD_{50} érték használata is, adott vegyület 50%-os mortalitást okozó dózisa [2]. Az LD_{50} , LC_{50} és EC_{50} értékeket legalább öt különböző – 1-99% mortalitást okozó –

dózis alapján számíthatjuk ki. Ha a mortalitás és az alkalmazott dózisok között az összefüggés lineáris, erre probitanalízist alkalmazhatunk.

A toxikológiában jelenleg használt jelentősebb mérőszámok még az ENSZ Egészségügyi Világszervezete (WHO) és Mezőgazdasági és Élelmezési Világszervezete (FAO) által definiált és nyilvántartott NOEL és ADI értékek. A NOEL (megfigyelhető hatást ki nem váltó koncentráció, *no observed effect level*) a vizsgált anyag azon legnagyobb mennyiségét jelenti, amely még nem okoz semmilyen észlelhető változást a tesztorganizmokon. Az ADI (megengedhető napi bevitel, *acceptable daily intake*) adott anyagból az elfogadható napi beviteli szintet jelenti mg/testtömeg kg/nap mértékegységben [3].

A toxikus hatásnak kitett élő szervezetben kóros élettani folyamatok indulhatnak meg. Ha ezek nyomán a genetikai anyagban is változás megy



végbe, akkor öröklődő jellegűvé válhat, s ezáltal az utódokban is megjelenhet. Az örökítő anyag – belső vagy külső hatásra bekövetkező – megváltozását mutációnak nevezzük. Ez jellemzően krónikus kitettség során valósulhat meg. Hatásmechanizmusuk alapján kétféle mutagént különböztetünk meg: direkt és indirekt mutagéneket. Előbbiek közvetlenül a DNS-re hatnak, míg utóbbiak a szervezetben átalakulnak, és a belőlük képződő származékok mutagének. A daganatképződés oka a sejtosztódás szabályozásának mutáció okozta hibája.

Akut toxicitás. Akut toxicitás meghatározására az alacsonyabb rendű szárazföldi állatok közül leginkább a házi méh (*Apis mellifica*), valamint talajlakó földigiliszták (Lumbricidae) és ugróvillások (Collembola) alkalmasak. Vízi gerinctelenek esetén különbséget kell tenni az állóvízi és a folyóvízi, illetve az itt található eltérő tulajdonságú élőhelyek között. A bentosban (a víz–szilárdtest fázishatárán) élő állatok közül a csövjájó féreg (*Tubifex tubifex*), a planktonban (a vízben lebegő élőlényközösségben) élők közül a *Daphnia*-fajok alkalmasak toxicitás-tesztekhez [4]. Vízi gerincesek közül gyakran használt teszttálatok a szivárványos pisztráng (*Salmo gairdnerii*), a ponty (*Cyprinus carpio*) és a nagy naphal (*Lepomis macrochir*). A halakon mért toxicitás általában összhangban van a vízi ízeltlábúakon (*Daphnia* spp.) mért toxicitással.

Ritkábban madarakat is alkalmaznak ilyen irányú tesztek során. Közülük elsősorban a tőkés réce (*Anas*

platyrhynchus), a fűrj (*Coturnix coturnix*) és a házi tyúk (*Gallus domesticus*) gyakori modellállatok. Az emlősök közül főként vándorpatkányt (*Rattus norvegicus*), házi egeret (*Mus musculus*) vagy ritkábban albínó mezei nyulat (*Lepus europeus*) és tengerimalacot (*Cavia porcellus*) alkalmaznak. A hatóanyag bejuttatása többnyire orálisan (szájon át), perkután (bőrön keresztül) vagy inhalációs kezelés során történik. Nyulakon általában szemirritációs vizsgálatokat végeznek [5].

Krónikus toxicitás. Krónikus toxicitás meghatározására reprodukciós-, teratogenitási (torzképződési), karcinogenitási (rákkeltő) és mutagenitási (az örökítő anyag megváltozása) tesztek használnak. Ezek egy részét az akut toxicitási tesztekben alkalmazott szervezeteken végzik. A prokarióta (kromoszómák) egysejtűeket alkalmazó tesztek legnagyobb előnye, hogy a felhasznált tesztszervezetek egyszerűen kezelhetők, ugyanakkor az eljárások viszonylag gyors eredményt adnak, így költséghatékonyak. Legismertebb ezek közül az Ames-teszt. A gerinceseken végzett *in vitro* vizsgálatokat izolált sejtvonalakon végzik. Ezek a tesztek mind osztódásban lévő sejtek, szövetek vizsgálatára irányulnak, a használt sejt-típusok többnyire egerből, patkányból vagy hörcsögből származó petesejtek, limfociták vagy fibroblasztok. Ezen *in vitro* tesztek alkalmasak kromoszóma-aberráció, DNS-törés, mikronukleusz-képződés, örökletes transzlokáció, soron kívüli DNS-szintézis és testvérekromatid-csere kimutatására [6].



Környezeti minták előkészítése az immobilizációs vizsgálatra

Konkrét anyagok (pl. technikai növényvédő szerek) esetén a vizsgálatok tervezése a módszerekhez tartozó, jellemzően ISO szabvány alapján történik. Környezeti minták tesztelése során először a megfelelő minta-előkészítést kell megoldani, hogy a módszer reprodukálhatósága garantálható legyen, ugyanakkor ne okozzon problémát az eredmények helyes értelmezése. A *Daphnia magna* tesztállatot alkalmazó szabvány immobilizációs teszt közvetlenül végezhető vízminták vizsgálatában. A vizsgálathoz a környezetből származó vízmintákat az első tesztelés során hígítatlanul használják fel. Ha a minta 100% mortalitást okoz, úgy hígítási sorokat kell felvenni, és ilyen módon számítható az EC_{50} érték. A hígító folyadék minden esetben a teszt során is alkalmazott folyadékközeg, melyben vizsgált *Daphnia* egyedek élnek.

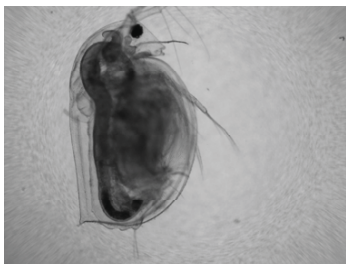
Talajminták esetén az immobilizációs vizsgálat előtt oldószeres (pl. vizes) talajkivonatot kell készíteni. Ehhez meghatározott mennyiségű mintát kell kimérni, melyet az adott területre eső éves csapadék (Magyarországon jellemzően ~600-800 mm) 1 hónapra átlagolt mennyiségével (pl. 500 ml/300 g) öntenek fel. 10 perc ultrahangos kezelés után a folyadékot vákuumszűrővel szűrőpapíron átszűrjük, majd 10 percig 3000/perc fordulaton centrifugáljuk. Az így előkészített talajkivonatot használják a vizsgálatban. Ha a talaj-minta szennyezőit analitikai mérésben meg is

határozták, a mérést a vizes extraktumon ismételtelen el kell végezni, mivel az eltérő kivonási eljárás miatt az így kapott eredmény várhatóan eltér a szabályos analitikai minta-előkészítés során mért adatoktól.

A *Daphnia magna* immobilizációs teszt

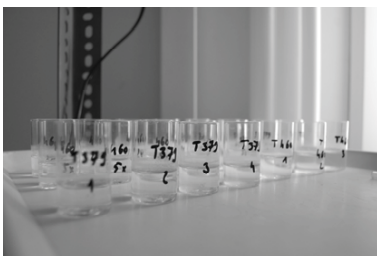
Az immobilizációs teszt kivitelezése *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) tesztállaton (1. ábra) szabvány [7] leírása alapján történik. A tenyészet a tesztelőírás szerinti, négyféle sóoldatot ($CaCl_2$, $MgSO_4$, $NaHCO_3$, KCl) tartalmazó oldatban (*Daphnia*-közeg) tartható. A szabvány alapján a megvilágítási idő napi 16 óra, a hőmérséklet $22^\circ C$. A tesztállatok érzékenységét kálium-dikromát ($K_2Cr_2O_7$) tesztrel mérik, amely során különböző koncentrációkban vizsgálják a tesztállatok alkalmasságát. A tesztek alapján a tenyészet megfelelőnek bizonyul a vízmintavizsgálatra, ha a kálium-dikromátra kimért EC_{50} értékek minden esetben az elvárt 0,6 és 1,7 mg/l közé esnek.

A teszt során az állatoknak azt a tulajdonságát használják ki, hogy megfelelő körülmények között szűznemzéssel szaporodnak. Első lépésben a törzstenyészetből kiválogatják az anyákat, melyeket kisebb főzőpohárba helyeznek át. Az anyaállat testében szabad szemmel is jól kivehetők a fejlődő utódok. Az akut teszthez a maximum 24 órás fiatal állatokat használják, ezeket eltávolítják az anyák mellől. *Faeces*-poharakba a kontroll-



1. ábra A *Daphnia magna* tesztállat fénymikroszkópos képe.

csoport esetén 10 ml *Daphnia*-közeg, a tesztcsoport esetén 10 ml minta kerül. A tesztek négy ismétlésben végzik, ismétlésenként 10 állattal. Először 24, majd 48 óra elteltével vizsgálják az állatok mozgását, és feljegyzik az immobilizációs protokoll alapján a mozgásképes egyedek számát (2. ábra). A kísérlet befejeztével probitanalízissel kiszámítják az 50% immobilizációt (hatáskifejtést) okozó koncentrációkat (EC₅₀-értékek).



2. ábra *Daphnia magna* akut immobilizációs teszt.

Krónikus toxicitási teszt *Daphnia magna* tesztállaton

Az immobilizációs teszt mellett az anyagok hosszú távú mérgező hatásának

feltárása szempontjából meghatározó vizsgálatok is elvégezhetők, a *Daphnia magna* 21-napos krónikus teszt alkalmazásával [8]. Ennek során a hatóanyagok szubletális koncentrációjának hosszútávú hatásait lehet figyelemmel kísérni. A módszer lényege, hogy a maximum 24 órás fiatal állatokat félstatikus vagy átfolyó rendszerben a tesztelni kívánt víz-mintába helyezik. Ehhez megfelelő térfogatú (50-100 ml) üvegedényeket alkalmaznak, melyek mindegyikébe egyetlen egyedet helyeznek. A teszt 21 napos időtartama alatt az oldatokat hetente háromszor fel kell újítani. A teszt során folyamatosan feljegyzik a szülők túlélését, illetve a teszt végén élő utódok és az élő szülők hányadosát. Ilyen módszerrel vizsgálható és számszerű paraméterekkel kellő pontossággal jellemezhető a túlélés és a szülők szaporodási teljesítménye.

Az immobilizációs teszt alkalmazási területei

A növényvédő szerek engedélyezési folyamatában fontos lépés a hatóanyagok akut toxicitásának vizsgálata. A nemzetközi szabványmódszer szerint végzett *D. magna* immobilizációs teszt [7] alkalmas oldható vegyi anyagok (ide tartozik a növényvédő szerek jelentős csoportja), kezelt vagy kezeletlen ipari és kommunális szennyvízfolyások, illetve felszíni vagy talajvizek akut toxicitásának meghatározására. Az immobilizációs teszt jogszabályokban előírt alkalmazási területeit az 1. táblázat tartalmazza.



I. táblázat A *D. magna* immobilizációs teszt alkalmazási területei.

A vizsgálat célja		Elő- írás
KV ^a	Veszélyfelmérés vízi környezet esetében	[9]
	A hulladék környezeti veszélyességének megállapítása	[10]
	Az ökológiai állapot osztályozása	[11]
	Az egyes tevékenységek folytatása során keletkező használt- és szennyvizek kibocsátásának szabályozása	[12]
	Használt és szennyvizek minősítése	[13]
	VAE ^b eü ^b A hatóanyagokra vonatkozó általános toxicitás felmérése	[14]
	VAE ^c mg ^c A takarmány-adalékanyagok engedélyezése, nyilván- tartásba vétele és minősítése	[15]
VAE ^d ip ^d	Hatóanyagok engedélyezése	[16]
	A termélnövelő anyagok engedélyezése	[17]
	Veszélyes áruk besorolása	[18]

^a Környezetvédelem

^b Vegyi anyag-engedélyezés – közegészségügy

^c Vegyi anyag-engedélyezés – mezőgazdaság

^d Vegyi anyag-engedélyezés – ipar

Irodalomjegyzék

- [1] Hamilton MA, Russo RC, Thurston RV 1977. Truncated Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Env. Sci. Tech.* 11: 714-719.
- [2] Várnagy L 1995. A növényvédelmi higiénia elméleti alapjai. In: Agrárkémiai higiénia (Várnagy L, Budai P, szerk.). Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- [3] Polgár A L 2006. A növényvédő szerek heveny toxicitása. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). l'Harmattan, Budapest, 117-122. old.
- [4] Polgár AL, Schmera D 2006. Toxicitás alacsonyabb rendű hasznos élő szervezeteken. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). l'Harmattan, Budapest, 129-134. old.
- [5] Darvas B 2006. A növényvédő szerek heveny toxicitása gerinceseken. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). l'Harmattan, Budapest, 123-128. old.
- [6] Darvas B 2006. Mutagének az agrokemizálás gyakorlatában. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). l'Harmattan Kiadó, Budapest, 158-169. old.
- [7] MSZ EN ISO 6341:1998. Vízminőség. A mobilitásgátlás meghatározása *Daphnia magna* Strauson (Cladocera, Crustacea). Akut toxicitási teszt.
- [8] MSZ ISO 10706:2002. Vízminőség. Anyagok hosszú távú mérgező hatásának meghatározása *Daphnia magna* Straus-on (Cladocera, Crustacea).
- [9] 44/2000. (XII. 27.) EüM rendelet a veszélyes anyagokkal és a veszélyes készítményekkel kapcsolatos egyes eljárások, illetve tevékenységek részletes szabályairól
- [10] 98/2001. (VI. 15.) Korm. Rendelet a veszélyes hulladékkal kapcsolatos tevékenységek végzésének feltételeiről
- [11] 31/2004. (XII. 30.) KvVM rendelet a felszíni vizek megfigyelésének és állapotértékelésének egyes szabályairól
- [12] 28/2004. (XII. 25.) KvVM rendelet a vízzennyező anyagok kibocsátásaira vonatkozó határértékekről és alkalmazásuk egyes szabályairól
- [13] 27/2005. (XII. 6.) KvVM rendelet a használt és szennyvizek kibocsátásának ellenőrzésére vonatkozó részletes szabályokról
- [14] 38/2003. (VII. 7.) ESZCsM-FVM-KvVM együttes rendelet a biocid termékek előállításának és forgalomba hozatalának feltételeiről
- [15] 44/2003. (IV. 26.) FVM rendelet a Magyar Takarmánykódex kötelező előírásairól
- [16] 89/2004. (V. 15.) FVM rendelet a növényvédő szerek forgalomba hozatalának és felhasználásának engedélyezéséről, valamint a növényvédő szerek csomagolásáról, jelöléséről, tárolásáról és szállításáról
- [17] 36/2006. (V. 18.) FVM rendelet a termélnövelő anyagok engedélyezéséről, tárolásáról, forgalmazásáról és felhasználásáról
- [18] 47/2005. (VI. 29.) GKM rendelet a Nemzetközi Vasúti Árufuvarozási Egyezményre vonatkozó Egységes Szabályok (CÍM) mellékleteinek kihirdetéséről és szóló 4/1987. (V. 13.) KM rendelet módosításáról



Az Ames és SMART mutagenitási tesztek alkalmazhatósága környezeti mintákon

Applicability of the Ames and SMART mutagenicity tests on environmental samples

Bokán Katalin és Darvas Béla

MTA Növényvédelmi Kutatóintézet,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

K. Bokán and B. Darvas

Department of Ecotoxicology and Environmental
Analysis, Plant Protection Institute, Hungarian
Academy of Sciences, Budapest, Hungary

Environmental monitoring activities presently carried out in our laboratory on soil filtrates, as well as on ground and surface waters sampled in Hungary are aimed to cover the entire country or represent its well-defined regions. As a part of the survey, mutagenicity tests are performed on pesticide residues identified in environmental samples. Considering the fact that final conclusions regarding the mutagenicity of any given compound can be reached only upon comparison of several mutagenicity tests, the surveys apply the internationally standardized Ames test and in the case of selected samples and agents the so-called Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). While the Ames test detects mutagenic effects exerted on prokaryotic microorganisms and are confined solely to point mutations, and serves us as a model of soil-borne microbial communities, the SMART test method, using the Mediterranean fruit fly (*Drosophila melanogaster*), detecting chromosome fragmentation and chromosomal aberrations, provides us relevant information on possible mutagenic effects on insects participating in stubble decomposition.

Bizonyított, hogy a rákos megbetegedések közel 90%-át a környezetünket szennyező mutagén hatású anyagok okozzák. A GAP2000 [1] genetikai aktivitásprofilokat tartalmazó mutagenitási adatbázisban – sajnos – kiemelkedő arányban szerepelnek növényvédőszer-hatóanyagok. Mutagenitás mérésére nagyszámú, nemzetközileg elfogadott teszt is rendelkezésre áll, így prokarióta vagy eukarióta egysejtűeken, soksejtű, alacsonyabb rendű eukariótákon, valamint gerinceseken, illetve az azokból nyert sejtvonalakon végzett vizsgálatok [2].

Jelenlegi munkánk során talajszűrleteknek, talaj- és felszíni vizeknek az országra kiterjedő monitorozását végezzük. A vizsgálatok részeként e környezeti mintákban található növényvédőszer-maradékokkal végzünk mutagenitás teszteket. Ehhez Ames-tesztet és – kiválasztott minták és hatóanyagok esetében – ún szomatikus mutációs és rekombinációs tesztet (*Somatic Mutation and Recombination Test*, SMART) alkalmazunk, hiszen valamely anyag mutagén hatásáról csak több teszt összevetése után vonhatunk le végső következtetéseket. Míg az Ames-



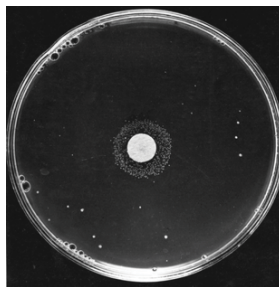
teszt [3,4] mikroorganizmusokra (amely számunkra a talaj bakteriális közösséget modellezi [5]), addig a Szabad János által ecetmuslicán (*Drosophila melanogaster*) kifejlesztett SMART-teszt [6] a tarlómaradvány-aprító rovarokra ad releváns információt.

Az Ames-teszt

A mutagén hatású anyagok a reverz mutációs tesztekben használt, eleve mutációt tartalmazó baktériumokban pontmutációt indukálva revertálják a fennálló mutációt (visszaállítva az eredeti vad típust), s helyreállítják azok kieső aminosav-szintetizáló képességét. A reverzió mértéke arányos a mutagén hatással. A használt baktériumtörzsek auxotróf mutánsok, egy-egy aminosavat feltétlenül igényelnek szaporodásukhoz, mivel azt nem képesek szintetizálni. Ez az aminosav a *Salmonella typhimurium* törzsek esetében a hisztidin, az *Escherichia coli* WP2 *uvrA* esetében a triptofán. Ezen auxotróf mutáns baktériumok tehát nem képesek minimál táptalajon növekedni, csak akkor, ha valamilyen mutagén anyag hatására a vad típusú baktériumokká módosulnak (revertálnak) (1. ábra).

A felhasznált baktériumok több olyan mutációt is tartalmaznak (a sejtfal megnövekedett áteresztő képessége, a DNS-hibajavító rendszer kiküszöbölése stb.), melyek növelik érzékenységüket a mutációs eseményekkel szemben. A baktériumok nem rendelkeznek oxidatív metabolizáló enzimrendszerrel, ezért a tesztek minden esetben májkivonat hozzáadásával is el kell végezni, mely

modellezi a vizsgált anyag viselkedését a metabolizációs rendszerek átalakítása után [3]. Ez az *S9*-nek nevezett mikroszomális frakció patkányból vagy szíriai aranyhörcsögből származik, mikroszomális és citoszolikus lebontó enzimeket tartalmaz. A rácsálók mája lehet kezeletlen, vagy enzimindukáló anyagokkal előkezelt. Ha a tesztanyag csak az *S9* frakcióval válik mutagénné, úgy az eredeti anyagot promutagénnek nevezzük.



1. ábra Mutagenitásra pozitív tenyésztés Ames-tesztben. Az Ames-teszt módszerét a LAB Research Hungary Veszprémi Intézetében volt módunk elsajátítani.

Tervezzük az ún. Ames MPF teszt kipróbálását és meghonosítását is. Itt a hagyományos módszer (lemezöntéses tenyésztés) helyett 384-lyukú mikrotálcákat használnak, és az eredményt metabolikus színreakció jelzi. A teszt nagy előnye a hagyományos formával szemben az egyszerűbb és gyorsabb használat, és az alacsonyabb tesztanyag-szükséglet. Mivel az Ames MPF-ben a hagyományos teszttel megegyező törzseket alkalmaznak, az eredmények összevethetők a korábbi irodalmi adatokkal [4].

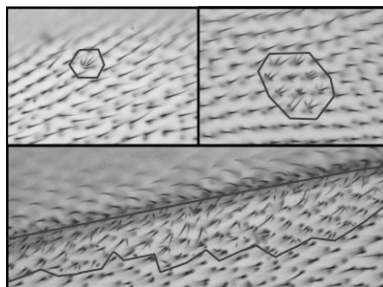


A SMART-teszt

Ismertek olyan mutagén vagy rákkeltő vegyületek, melyek a bakteriális tesztekben inaktívak, például azért, mert metabolitjuk aktív. Mások éppen a kromoszómaszétválás megzavarásával okoznak mutációkat. Ezért is szükséges a vizsgálatok során többsejtű, sejtmagvas élőlényeket (vagy azok sejtvonalát) használni a mutagén hatás tesztelésére. Magasabb rendűek használata azért is indokolt, mert örökítő anyaguk szerveződése lényegében azonos, s anyageseréjük is hasonló. Így ha egy vegyület egy fajban (pl. ecetmuslicában) mutagén, az várhatóan más fajokban (így emberben is) az lesz.

Sikeresen tenyésztetbe vontuk a szükséges két *D. melanogaster*-törzset (*mwh*, *flr*), melyek alkalmasak a tesztek kivitelezésére. A *Drosophila* mozaikvagy SMART-teszt elvégzése során laboratóriumban tartott, beltenyésztett muslicatörzsekből szűz nőstényeket és hímeket gyűjtünk. A nőstények (a), a hímek a (b) jelű recesszív marker-mutációkat, esetünkben *mwh* és *flr* mutációkat hordoznak. Az *mwh*-homozigóta szárnysejtek 1 szőrszál helyett 3-7, csomókban elhelyezkedő szőrszálakat fejlesztenek (2. ábra), az *flr*-homozigóta sejtekből pedig egyetlen, göndör szál ered. E szülők keresztezéséből származó lárvákat a vizsgálandó anyaggal kezelünk. A pupariáció után kikelő imágók szárnyain lehet mozaikfoltokat keresni. Az imágók az (a) és (b) marker-mutációk jellegzetességeit csak nagyon kis mértékben mutatják, azaz ha a vizsgált anyagnak

nincs mutagén hatása, akkor ritkán képződnek mozaikfoltok. Ellenkező esetben a mutagén hatás mintegy előhívja a szülőktől öröklött lappangó tulajdonságokat: azok az utódok szárnyain szigetek formájában jelennek meg. Sok mozaikfolt általában erős mutagén hatást jelez és fordítva.



2. ábra Az *mwh* mutáció egyedi és csoportos megjelenése *D. melanogaster* imágójának szárnyán. A SMART-teszt módszerét az Szegedi Egyetem Orvosbiológiai Intézetétől vettük át.

Növényvédőszer-hatóanyagok vizsgálata SMART-tesztben

A SMART-teszt során első mutagenitászvizsgálataink a hazai vizekben és talajokban leggyakoribb növényvédőszer-hatóanyagok (*atrazine*, *glyphosate*, *2,4-D*, *chlorothalonil*, *terbuthylazine*) terjedtek ki. Az alkalmazott koncentrációkat a *The Pesticide Manual* adatbázisban fellelhető ízeltlábú fajok LC_{50} értékei, illetve az Egyesült Államok Környezetvédelmi Hivatala (US EPA) és az Egészségügyi Világszervezet (WHO) Rákkutató Ügynöksége (IARC) által létrehozott GAP2000 adatbázisban [1] található, a hatóanyagokra leírt mutagenitási eredmények (legkisebb



már hatást kiváltó dózis, LED) figyelembevételével határoztuk meg. Pozitív kontrollként formaldehidet alkalmaztunk, mely változó mértékű, de jól detektálható mutációt okoz.

A mért hatások értékelésére az f frekvenciát (a mutációs gyakoriság) alkalmaztuk az alábbi képlet alapján

$$f = n \times m / C \times N$$

ahol n mozaikfoltok száma; m a mozaikfoltok átlagos mérete; C a szárnyat alkotó sejtek száma és N a vizsgált szárnyak száma. A kezeletlen kontroll esetében az $f = 6 \times 10^{-5}$, míg a pozitív kontroll formaldehid (1,5 g/l) esetében $f = 9 \times 10^{-4}$ volt.

Az *atrazine* a vizsgált 80 mg/l koncentrációban a *D. melanogaster* szárnyak 33%-án okozott *mwh* típusú elváltozást, vagyis jelenős eltérés mutatkozott a kezeletlen kontrollhoz (5%) viszonyítva. A mutációs gyakoriság ($f = 2,66 \times 10^{-5}$) viszonylag alacsony volt. Az irodalmi adatok szerint a LED érték 100 mg/l, azaz a korábban leírtakhoz képest valamivel alacsonyabb dózissnál mutattunk ki mutációt. A következőkben a legkisebb, már hatást kiváltó dózist kell meghatározunk, hogy felmérjük a SMART-teszt érzékenységét az *atrazine* esetén.

A *glyphosate* az általunk vizsgált két koncentrációban (160 és 800 mg/l) csak kismértékű mutációt okozott a szárnyakon ($f = 3,2 \times 10^{-5}$), így további vizsgálatokat nem tervezünk.

A 2,4-D hatóanyagot 25 és 125 mg/l dózisokban teszteltük. Utóbbin az *mwh* mutáció megjelenése jelentősen magasabb értéket ($f = 5,3 \times 10^{-3}$) mutatott a kontrollénál, a 25 mg/l

koncentráció nem mutatkozott mutagénné. Ezzel szemben az irodalmi adatokban 25 mg/l LED szerepel, vagyis eredményünk jelenleg csak a SMART-teszt alkalmaz-hatóságát bizonyítja.

A *terbuthylazine* a vizsgált legmagasabb koncentrációban (100 mg/l) sem tekinthető mutagénné ($f = 1,29 \times 10^{-5}$). Ez a koncentráció az irodalomban fellelhető, ízeltlábúakra vonatkozó LD₅₀ érték 2-5-szöröse.

A *chlorothalonil* alkalmazott két dózisa (1,8 és 9 mg/l) esetében hasonló eredményeket kaptunk ($f = 2,55 \times 10^{-5}$ és 2×10^{-5}). A *chlorothalonil* a SMART-tesztben nem mondható mutagénné.

Irodalomjegyzék

- [1] Waters M, Stack F, Jackson M, Lohman P, Lohman W, Rice J 2000. Genetic activity profiles of short-term tests with data from the US EPA and the IARC Monographs (GAP2000).
- [2] Darvas B 2006. Mutagének az agrokemizálás gyakorlatában. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.). L'Harmattan Kiadó, Budapest, 158-169. old.
- [3] Ames BN, Lee FD, Durston EW 1973. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **70**: 782-786.
- [4] Flückiger-Isler S, Baumeister M, Braun K, Gervais V, Hasler-Nguyen N, Reimann R, Van Gompel J, Wunderlich H-G, Engelhardt G 2004. Assessment of the performance of the Ames II assay: A collaborative study with 19 coded compounds. *Mutation Res.* **558**: 181-197.
- [5] 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 tests for screening genotoxic agents. *Environ. Toxicol. Water* **9**: 45-57.
- [6] Szabad J, Soós I, Polgár Gy, Héjja Gy 1983. Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mosaic and the sex-linked recessive lethal tests, *Mutation Res.* **113**: 117-133.



Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal



Megaterra Kft.

