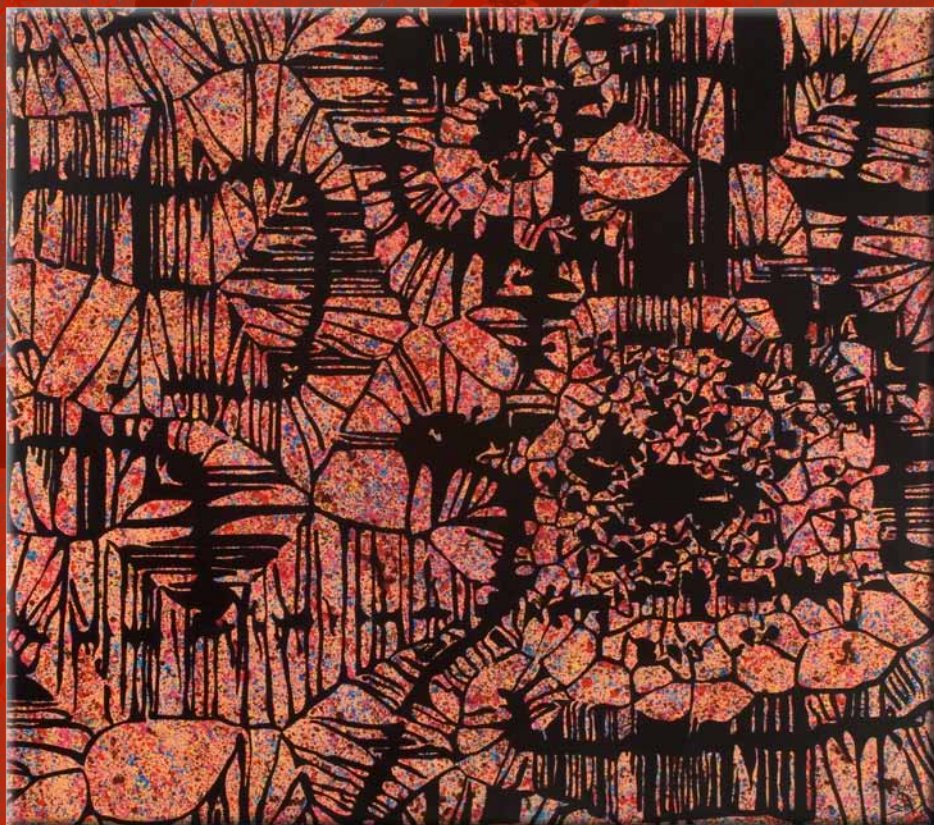


MONTABIO-füzetek IV.

Komplex monitoring rendszer összeállítása
talaj-mikroszennyezők analitikai kimutatására és biológiai
értékelésére a fenntartható környezetért

Complex monitoring system for analytical detection
and biological evaluation of
soil micropollutants for a sustainable environment



Komplex monitoring rendszer összeállítása
talaj-mikroszennyezők analitikai kimutatására és
biológiai értékelésére a fenntartható környezetért

Complex monitoring system for analytical detection
and biological evaluation of soil micropollutants
for a sustainable environment

A kiadványt szerkesztette / Editor
Székács András / András Székács

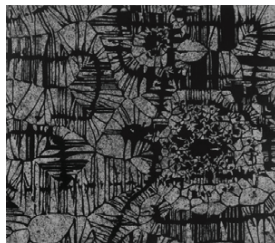
© MTA Növényvédelmi Kutatóintézet
Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences
Budapest
2010

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 – Szirtes János: “Kiss”
(akril, vászon, 2009)

Cover picture – János Szirtes: “Kiss”
(acril on canvas, 2009)



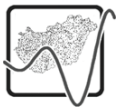
Borítótér / Cover design: Závodszy, F.
Fotó / Photo: Sulyok, M.

MONTABIO-füzetek – IV.
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 978-963-87178-7-0 (IV.)
Készült a **dART studio** gondozásában.

TARTALOMJEGYZÉK

TABLE OF CONTENTS

Az agrokémiai szerek környezeti hatásai <i>Anton, A., Székács, A.</i>	Environmental impacts of agrochemicals 4
Komplex talajmonitorozás mintavétel- optimalizációja <i>Vályi, K., Szécsy, O., Dombos, M., Anton, A.</i>	Sampling optimization for complex soil monitoring 7
Illékony komponensek kimutatása talaj- és talajvízmintákból helyszíni talajlevegő-vizsgálatokkal <i>Bernáth, B., Pröhle, T., Illés, T., Szabó, P.</i>	Detection of volatile components in soil and ground water samples in on site soil gas measurements 14
Növényvédőszer-maradékok gázkromatográfiás és immunanalitikai meghatározásának eredményei vizekben és talajokban <i>Mörtl, M., Maloschik, E., Juracsek, J., Székács, A.</i>	Determination of pesticide residues in water and soil samples by gas chromatography and immunoanalysis 30
Poliaromás szénhidrogének meghatározása vizekben és talajokban immunanalitikai módszerrel <i>Székács, A., Juracsek, J., Knopp, D., Niessner, R.</i>	Determination of polyaromatic hydrocarbons in water and soil samples by immunoanalysis 38
Környezeti mikroszennyezők és toxikus elemek együttes hatása <i>Daphnia magna</i> biotesztben <i>Fekete, G., Fejes, Á.</i>	Combined effects of environmental micropollutants and toxic microelements in the <i>Daphnia magna</i> biotest 52
Az Ames és SMART mutagenitási tesztek alkalmazása környezeti mintákon <i>Bokán, K., Darvas, B.</i>	Application of the Ames and SMART mutagenicity tests on environmental samples 57



Az agrokémiai szerek környezeti hatásai

Environmental impacts of agrochemicals

Anton Attila^a és Székács András^b

^aMTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet,
Budapest

^bMTA Növényvédelmi Kutatóintézet,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

A. Anton^a and A. Székács^b

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

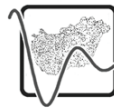
^bDepartment of Ecotoxicology and
Environmental Analysis, Plant Protection
Institute, Hungarian Academy of Sciences,
Budapest, Hungary

Frequent agrotechnical manipulations of the topsoil along with intensive fertilizer and pesticide applications severely deteriorate soil fertility and regenerativity. The acidifying effect of over-fertilization intensifies leaching, and by ensuring large amounts of plant available nitrogen and phosphorus for microbial populations while easily decomposable carbon sources are unavailable, also supports humus decomposition. These processes result in a joint negative impact on the physical (structure, aggregate stability) as well as hydrophysical soil properties (moisture regime); and weaken the resistance of soil to erosion. Pesticides and their residues in soil exert additional effects on physico-chemical and biochemical soil properties as chemical stressors. In turn, soil deteriorates in species diversity of microbe populations responsible for the multifunctionality of soil, thereby decreasing the adaptability of the microbe population. This is a key issue not only from the aspect of maintaining the ecological equilibrium, but also in respect of the repeated regeneration of soil fertility.

To facilitate the protection of arable soils, a local soil contamination monitoring system capable of complex survey of typical soil contaminants using up-to-date sampling and measurement techniques has been established in Békés County, Hungary within the scope of project MONTABIO. The monitoring system aims to extend the present Soil Protection and Monitoring Information System (TIM), at the same time eliminating its environmental protection and analytical limitations.

Az iparszerű növénytermesztés a talajok minőségének romlásához vezet. A minőségromlás összetett folyamat: a túlzott mértékű agrotechnika (gyakori mélyszántás) növeli a termőréteg levegőzöttségét, drasztikusan csökken az anaerob régiók aránya az aerob, oxigénnel jól ellátott talajtérhez képest, mely folyamat – az aerob lebontó

mikroflóra tevékenysége nyomán – a talaj szervesanyag-készletének gyorsuló lebomlásához vezet. Ennek során nagy mennyiségű – üvegházhatású – CO₂ keletkezik. A túltrágyázás savanyító hatása fokozza a kilúgozást, s azáltal, hogy nagy mennyiségű felvehető nitrogén- és foszforforrást biztosít a mikrobiális életközösségek számára



olyan körülmények között, ahol könnyen lebontható szénforrások (növényi maradványok, szerves trágyák) nem állnak rendelkezésre, szintén elősegíti a humuszlebontást. Mindez együttesen rontja a talaj szerkezeti tulajdonságait (aggregátumstabilitás stb.), s így vízgazdálkodását is; az erózió pusztító hatása egyre nagyobb lehet. A makrotápelemek egyoldalú visszapótlása relatív mikrotápelem-hiányt eredményez. A talajsavanyodás hatására a talajlakó mikrobanépességeken belül növekszik a – potenciálisan fitopatogén és fitotoxin-termelő – mikrogombák aránya a baktériumok rovására.

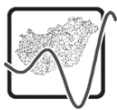
A túlzott műtrágyafelhasználás elsősorban az iparszerű mezőgazdasági termelés környezet-egészségügyi kockázatokat hordozó velejárója [1]. A műtrágya nemcsak a felhasználás helyén szennyezheti a környezetet, hanem jelentős forrás lehet az előállítás és a tárolás körzete, valamint a helytelen kijuttatás is. A káliumtúladagolás környezet-egészségügyi kockázata nem számottevő: mind a talajban, mind az emberi (állati) szervezetben viszonylag nagy koncentrációban van jelen, savanyító hatása minimális, a felesleges kálium a vízzel ürül. Negatív következményként bizonyos esetekben a káliummal túltrágyázott legelőkön az állatok néhány százalékán fellépő ún. hipomagnézia szindrómát említhetjük, amit valójában a túlzott káliumbevitellel járó relatív magnéziumhiány okoz.

Elsősorban a nitrogén-, de a foszforműtrágyák is savanyítják a talajt. A nitrogénműtrágyák bemosódhatnak a talajvízbe, elsősorban NO_3^- formájában,

mivel az NH_4^+ csak igen kevésbé mozgékony a talajban. A túlzott nitrogén-műtrágyázás gyakran a termés minőségének romlását eredményezi, és a növények ellenállóképességének csökkenéséhez vezet. A foszforműtrágya jelentős részben vízben oldhatatlan szervetlen és szerves vegyületekké alakul, így kisebb mértékben veszélyezteti a felszín alatti vizeket felszíni elfolyás, erózió révén. A nitrogénműtrágyákkal együtt viszont gyorsíthatja a felszíni élővizek eutrofizációját. Túltrágyázás esetén a nitrogénműtrágyák, de a szerves trágyák is a talajt, talajvizet és a légkört is szennyezhetik nitrogén-oxidokkal, ammóniával (karbamid), gázként vagy levegőbe kerülő porral.

A talajvízbe lejutó nitrát bizonyos határkoncentráció felett lehetetlenné teszi a szennyezett vízkészlet ivóvízként való felhasználását, mivel – elsősorban újszülötteknél – methemoglobinémiát okoz. Nehézfémekkel elsősorban a foszforműtrágyák és szennyezett takarmány etetése, szennyezők révén a szerves trágyák, komposztok, talajjavító szerek is lehetnek szennyezettek. A legnagyobb kockázatot a rákkeltőnek minősülő és mobilis kadmiumsók (pl. acetát, oxid, nitrát, szulfát, szulfit) jelentik. Elsavanyodó talajokban megnőhet a kadmium mobilitása [2].

A növényvédő szerek és maradékaik kémiai stresszorokként hatva a talajokban tovább rontják a talajok fizikokémiai és biokémiai tulajdonságait [3]. Kijuttatásukat követően – változó időtartamban – megmaradnak a talajban, s minél hosszabb a talajbeli tartózkodási idejük, annál inkább megnő az esélye



annak, hogy különféle nem célzott életközösségeket is elérhetnek. Ez az oka, hogy a perzisztens környezet-szennyezőket, más néven POP-vegyületeket mind inkább kiszorítani törekszünk a mezőgazdasági gyakorlatból. De rövid talajbeli élettartamú toxikus vegyületek, elsősorban a talajfertőtlenítő szerek is különös gondot okozhatnak, mivel hatásukban nem specifikus, általános sejtmérgek. A talajfertőtlenítés ökotoxikológiai szempontból alapvetően kétséges technológia, hiszen az alkalmazás területén szinte valamennyi talajlakó élőlényt elpusztíthat.

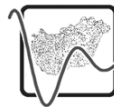
A fenti folyamatok – a gyakori talajbolygatás, valamint az intenzív műtrágya- és növényvédőszer-használat – együttesen a talaj multifunkcionalitásáért felelős mikrobiológiai képességek fajgazdagságának csökkenéséhez vezetnek, ami által romlik a mikrobiológiai alkalmazkodóképessége. Ez nemcsak az ökológiai egyensúly megőrzésének kulcskérdése, de a talaj termékenységének a vegyszeres kezelések és a vegetációs periódusok közötti ismételt megújulásában is döntő tényező.

A talajok termőképességének védelme érdekében a korszerű mintavételi és mérési technikák alkalmazásával talajszennyezők összetett felmérésére alkalmas helyi talajszennyezés-monitoring rendszert alakítottunk ki Békés megyében a MONTABIO projekt keretében. A rendszer alkalmazott módszereivel kiterjeszti a jelenlegi Talajvédelmi Információs és Monitoring Rendszer (TIM) [4] vizsgálati körét, ugyanakkor kiküszöböli az annak mezőgazdasági

irányultságából adódó környezetvédelmi és -analitikai hiányosságokat. A MONTABIO projektet az MTA 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 valósította meg. A kockázatcentrikus szennyezésazonosítási rendszerben [5] a projekt szenzortechnikán alapuló helyszíni, *in situ* mérést és a kémiai és genetikai biztonság javítását célzó biológiai tesztekbe vont be a vizsgálatok eszköztárába, s a mintaterületek eredményeit térinformatikai rendszerben együtt interpretálva az ökológiai indikációktól függően alakítható méréstechnikát dolgozott ki.

Irodalomjegyzék

- [1] Kádár I 1995. A talaj–növény–állat–ember tápláléklánc szennyeződése kémiai elemekkel Magyarországon. KvVM és MTA TAKI, Budapest.
- [2] Csathó P, Radimsky L 2009. Two worlds within EU27: sharp contrasts in organic and mineral NP use, NP balances and soil P status. Widening and deepening gap between Western and Central Europe. *Commun Soil Sci Plant Anal* **40**: 999-1019.
- [3] Darvas B, Székács A (szerk.) 2006. Mezőgazdasági ökotoxikológia. I'Harmattan, Budapest.
- [4] 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.
- [5] Dombos M., Szalkai T 2004. Indikációs modellek és azok alkalmazása a talajökológiában. *Agrokémia és Talajtan* **53**: 184-194.



Komplex talajmonitorozás mintavétel-optimalizációja

Sampling optimization for complex soil monitoring

Vályi Kriszta^a, Szécsy Orsolya^b,
Dombos Miklós^a és Anton Attila^b

K. Vályi^a, O. Szécsy^b, M. Dombos^a and
A. Anton^b

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet,
Budapest

^a Környezetinformatikai Osztály

^b Talajbiológiai és -biokémiai Osztály

^a Department of Environmental Informatics,

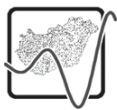
^b Department of Soil Biology and Biochemistry,
Research Institute of Soil Science and

Agricultural Chemistry, Hungarian Academy of
Sciences, Budapest, Hungary

For environmental analysis of the ecological state of soils and monitoring its transitions, experimental planning of the sampling design and of the method applied is essential. Testing the reliability and precision of the environmental variables examined, exploration of their spatial heterogeneity and estimation of the required sample size and sampling area play a decisive role. In the present work the most effective spatial layout for representative sampling of a parcel was examined. Soil parameters measured included total microbial activity (FDA), pesticide residues, 13 heavy metals, nutrients and compaction. Soil and groundwater samples were taken from arable lands under organic or intensive cultivation, manually or by mechanical drilling, in three different regular sampling designs. Hand drilling was carried out by the Representative Parcel Segment (RPS) method, a standardized protocol for agricultural soil sampling. A homogenous (at field scale) representative (assisted by aerial photographs, topographical and soil maps, elevation models and on-site observations) parcel part of 50 000 m² was chosen, and samples were taken from 20 sampling spots per sites along the diagonals of the RPS. For mechanical drilling a 50x50 m quadrat was designated at a corner of the RPS, with samples from drillings at the corners and in the centre of the RPS. Percentage precision and required sample size for the detection of 10, 20, and 40% differences were calculated for all environmental variables and sampling schemes, at 5% level of significance and 90% power. In the case of heavy metals, using the smaller sampling area (corner of RPS) 3-22 samples were sufficient for the detection of 10% difference, which is close to the current sampling size. Using larger sampling area and the diagonal RPS design, higher sampling sizes are required (mean: 32, in the case of Sn extremely high: 255). Variation and required sample size for nutrient and humus content are substantially higher, and even higher in the case of total microbial activity.

A talajok környezetvédelmi célú ökológiai állapotfelmérések és -változások szakszerű vizsgálatához elengedhetetlen az alkalmazott monitorozás kísérletes

tervezése. E folyamatban meghatározó szerepet játszik az adott mintavételi helyeken felvett környezeti változók pontosságának és megbízhatóságának



vizsgálata. Jelen munkában azt vizsgáltuk meg, hogy egy parcellára reprezentatív mintavételt milyen térbeli elrendezésben lehet a leghatékonyabban – legnagyobb pontossággal és legkisebb torzítással – mintavételezni.

Az ENVASSO projektben megállapított 8 legfontosabb, a talajt veszélyeztető tényező között a talajszennyezés, ezen belül a nehézfémekkel történt terhelés is szerepel (Huber, 2008). Markert (1995) szerint a reprezentatív mintavételből, illetve annak hiányából eredő hiba elérheti az 1000%-ot is. A pontos helyen történő mintázás hibája rendszerint nagyobb, mint ami a minta előkészítéséből, feltárásából és analizéséből származik (Fortunati, 1994). Kádár (1998) szerint az összes hiba 80-85%-át az átlagmintában, azaz a terepi mintavételben kereshetjük. A Theocharopoulos (2001) által megvizsgált 15 európai talajmintavételi előírásból egyik sem tartalmazott előírásokat a mintavételi terület kiterjedésére. Az utóbbi évtizedekben ráadásul a terepi talajmintavétel technikai fejlődése jelentősen elmaradt a talajvizsgálatokétól. A mintavételi módszerekből eredő hiba tehát a legnagyobb a monitorozás összes többi lépéséhez képest. A nehézfémek monitorozására ezért szükség lenne egy egységes, Európaszerite alkalmazott talajmintavételi protokollra, a jelen mintavételezések ugyanis számos ponton eltérnek egymástól.

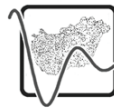
A talajbiológiai paraméterek közül mértük a teljes mikrobiális aktivitást fluoreszcein-diacetát hidrolízisének mérésével (FDA), a mezofauna

denzitását, általános talajparaméterek mellett a talajszennyezést tekintve 13 nehézfém elemtartalmát és növényvédőszer-maradékokat, tápanyagtartalmat és a tömörödöttséget. Szántókon, szabályos elrendezésben 20-100 mintát vettünk a talajból, ill. gépi fúrással a talajvízből. Az adatok elemzése során kiszámítottuk az elért százalékos relatív pontosságot (*percentage relative precision*, Q), illetve a szükséges mintaszámot. A relatív pontosság a becslült populációméret és annak 95%-os konfidenciahatárai közötti különbséggel, a becslült érték százalékában kifejezve.

A kísérlettervezéshez feltétlenül szükséges a legkisebb kimutatható különbség (*minimum detectable change*, MC) megadása. Vizsgálatunk célja az adott MC-khez szükséges mintavételi befektetés megtervezése. Ez statisztikai értelemben pontbecslés, ahol az MC függvényében a térbeli elrendezést és ismétlésszámot szeretnénk meghatározni. A statisztikai vizsgálatban az alapsokaság az adott parcella, a vizsgálat objektuma az általunk meghatározott, adott területű és homogén reprezentatív parcellarészlet (RPR), az ismétlések pedig az RPR-en belüli egyes pontokon történő mintavételek.

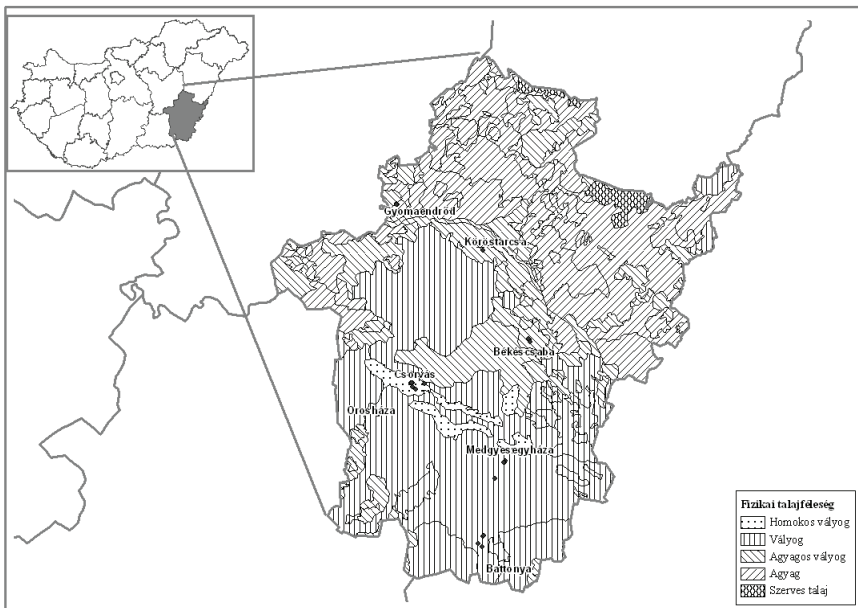
Vizsgálati anyag és módszer

A mintavételeket a MONTABIO projekt összesen 14 mintaterületén (*I. táblázat*), Békés megyében végeztük el, 2008 és 2009 során, intenzív és bio művelésű szántókon, egy ösgyepen és egy legelőn (*I. ábra*). A mintavételeket térben a 2. és 3. ábrák szerint rendeztük el.



A vizsgálat során háromféle mintavételi módszert alkalmaztunk:

- átlagmintavétel (0-30, 30-60 és 60-90 cm talajrétegekből vett, mélységenként eltérő számú pontminta) kézi fúrással az 5 ha RPR-ek területén;
- talajbiológiai mintavétel a talaj felső 10 cm rétegéből;
- gépi fúrás (talaj- + talajvíz-mintavétel) 50x50 m területről (RPF, reprezentatív parcellafúrás), területenként 5 fúrással.



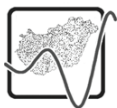
1. ábra A MONTABIO projekt mintavételi helyeinek fizikai talajfésése (homoki vályog, vályog, agyagos vályog, agyag, szerves talaj), valamint elhelyezkedése Békés megyében.

Vizsgálati eredmények és értékelésük

Hat mintaterületen vizsgáltuk a nehézfémek százalékos változását (4. ábra). A minták a gépi fúrással (RPF) származnak, területenként 5 rész-mintából. Az összesen 60 mintából kémiai elemként hasonlítottuk össze az évek adatait.

Az eltéréseket pozitív előjellel használtuk, majd elemenként összesítettük.

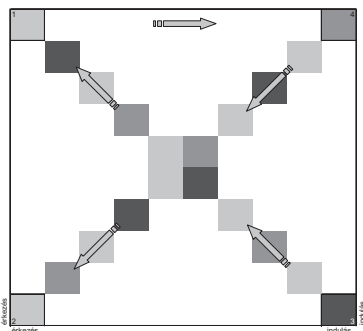
Az elemenként és területenként átlagolt eltérések alapján a következőket kaptuk: a legnagyobb százalékos eltérést az ón mutatja (38,5%), a legnagyobb szórással együtt. Magas értékeket kaptunk a kadmium és bárium esetében is (sorban 24,1%, illetve 21,4%). A legalacsonyabb eltérést a nikkel és a kobalt esetében kaptuk (mindkettő 3,5% körül), és a legkisebb szórásértékekkel is ezek az elemek rendelkeznek.



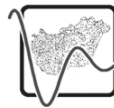
2. ábra A csorvási 04/4 hrsz. parcella potenciális RPR-je (nagy négyzet)és RPF-je (kis négyzet).

I. táblázat A mintaterületek kódjai és művelésük 2008-ban és 2009-ben.

Mintavételi területek			
2008		2009	
MH1	Medgyesegyháza, intenzív	–	–
MH2	Medgyesegyháza, bio	MH2	Medgyesegyháza, bio
CS1	Csorvás, intenzív	CS1	Csorvás, intenzív
CS2	Csorvás, Bio	–	–
CS3	Csorvás, legelő	–	–
BA1	Battonya, intenzív	BA1	Battonya, intenzív
BA2	Battonya, bio	BA2	Battonya, bio
–	–	BA3	Battonya, ősgyep
KT1	Köröstarcsa, intenzív	KT1	Köröstarcsa, intenzív
KT2	Köröstarcsa, bio	KT2	Köröstarcsa, bio



3 ábra Egy RPR pontmintáinak elhelyezkedése az átlagmintavételnél. A legsötétebb négyzeteknél mindhárom mélységből, a középszürkékénél 30–60 és 0–30 cm-ből, a legvilágosabbaknál a felső 30 cm-ből vettünk mintát.



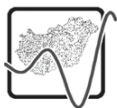
Egyik vizsgált területet sem érte külső hatás a 2008 és 2009 időszakban, ezért a kiugróan magas változások efféle külső tényezőkkel nem indokolhatók. Azt feltételezzük, hogy ezek az eltérések magából a mintavétel sajátosságából erednek. Megállapítható, hogy az RPF típusú mintavétellel több elemnél nem tudunk detektálni akár 30%-os eltérést sem. Ezért szükséges annak megállapítása, hogy az RPF illetve RPR típusú mintavételnél mekkora lenne a

szükséges mintaszám bizonyos eltérés detektálásához.

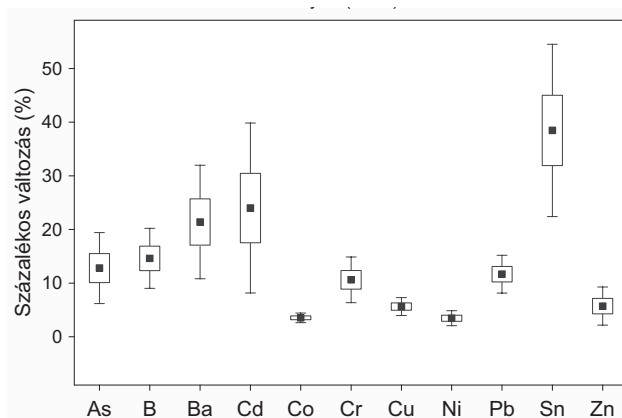
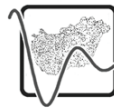
Az öt ismételéből álló gépi, fűréssal vett minták vizsgálati paramétereit (RPF: 50 x50 m területen) és a kimutatásokban kapott értékeket a *II. táblázatban* mutatjuk be. Hasonló – lényegesen nagyobb terjedelmű – adattáblázatot ismertet a húsz ismételéből álló, kézi fűréssal vett mintákra (RPR: 5 ha, pl.: 225x225 m területen) vonatkozóan a *III. táblázat*.

II. táblázat Adott százalékos eltérés kimutatásához szükséges mintaszám, gépi fűrés.

Elem	Gépi (RPF) mintavételezés			Adott eltérés kimutatásához szükséges mintaszám		
	Gazd. típus	Mintaszám/ terület	Elemtartalom [mg/kg]	10%	20%	40%
As	–	5	11,2 ± 0,9	15	5	3
B	–	5	25,7 ± 2,2	17	6	3
Ba	–	5	189,2 ± 20,6	27	8	3
Cd	–	5	0,2 ± 0,0	25	7	3
Co	–	5	13,3 ± 0,7	8	3	2
Cr	–	5	49,6 ± 3,5	12	4	3
Cu	–	5	22,1 ± 1,6	13	5	3
Mo	–	5	0,2 ± 0,1	329	88	23
Ni	–	5	36,6 ± 1,8	7	3	2
Pb	–	5	17,7 ± 1,5	16	5	3
Sn	–	5	2,3 ± 0,4	73	19	6
Zn	–	5	68,4 ± 4,6	11	4	3
Humusz [%]	–	5	3,1 ± 0,4	34	10	4
pH (H ₂ O)	–	5	7,4 ± 0,3	4	3	2
K _(A)	–	5	45,0 ± 1,9	6	3	2
FDA	–	5	68,1 ± 21,2	205	52	14

*III. táblázat* Adott százalékos eltérés kimutatásához szükséges mintaszám, kézi fűrés.

Elem	Kézi (RPR) mintavételezés a köröstarcsai mintahelyeken				Adott eltérés kimutatásához szükséges mintaszám		
	Gazd. típus	Mintaszám/ terület	Elemtartalom [mg/kg]		10%	20%	40%
As	intenzív	20	11,05	10,93 ± 1,16	25	8	3
	bio	20	12,39	12,28 ± 1,34	26	8	3
B	intenzív	20	22,54	21,42 ± 4,29	86	23	7
	bio	20	28,57	27,73 ± 3,67	38	11	4
Ba	intenzív	20	205,86	202,14 ± 33,95	61	16	5
	bio	20	180,45	198,67 ± 33,31	61	16	5
Cd	intenzív	20	0,15	0,14 ± 0,02	86	11	5
	bio	20	0,20	0,17 ± 0,03	64	18	6
Co	intenzív	20	13,21	13,44 ± 0,91	11	4	3
	bio	20	12,92	12,81 ± 0,59	6	3	2
Cr	intenzív	20	64,48	62,23 ± 5,63	19	6	3
	bio	20	60,54	61,13 ± 5,17	17	5	3
Cu	intenzív	20	24,22	23,94 ± 1,37	8	4	2
	bio	20	31,91	31,72 ± 2,39	14	5	3
Mo	intenzív	20	0,00	0,16 ± 0,09	1704	191	49
	bio	20	0,15	0,17 ± 0,09	590	158	41
Ni	intenzív	20	39,91	40,17 ± 1,31	4	3	2
	bio	20	39,22	40,33 ± 1,33	9	4	2
Pb	intenzív	20	20,67	20,05 ± 1,14	8	4	2
	bio	20	21,25	21,88 ± 0,69	4	3	2
Sn	intenzív	20	1,61	1,90 ± 0,66	255	65	17
	bio	20	1,67	2,45 ± 1,88	1234	309	79
Zn	intenzív	20	79,59	79,07 ± 3,62	6	3	2
	bio	20	83,31	81,54 ± 4,92	9	4	3
Al – K ₂ O	intenzív	20	172,92	179,34± 20,68	29	9	4
	bio	20	380,28	367,25± 49,5	39	11	4
Al – P ₂ O ₅	intenzív	20	80,88	80,75± 32,92	351	89	23
	bio	20	254,84	233,14±113,36	498	126	33
NH ₄ – N	intenzív	20	2,97	2,75 ± 0,73	144	39	11
	bio	20	3,45	3,79 ± 0,87	113	29	9
NO ₃ – N	intenzív	20	5,95	6,64 ± 4,22	835	213	54
	bio	20	9,76	8,34 ± 4,71	672	169	43
Teljes – N	intenzív	20	1407,03	1398,71±181,1	37	10	4
	bio	20	2182,98	1798,34±204,3	29	8	4
Humusz [%]	intenzív	20	2,09	2,09 ± 0,23	27	8	3
	bio	20	3,02	3,08 ± 0,16	8	3	2
pH (H ₂ O)	intenzív	20	7,23	6,91 ± 0,59	17	6	3
	bio	20	7,04	6,85 ± 0,39	8	4	2
K _(A)	intenzív	20	55,43	53,67 ± 2,69	7	3	2
	bio	20	58,29	55,47 ± 2,99	8	3	2



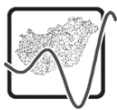
4. ábra Nehézfémek koncentrációjának százalékos aránya hat mintahelyen 2008 és 2009 között (sötét négyzet: átlagérték, világos négyzög: standard hiba, zárt szakasz: standard deviáció).

A kétféle fúrással vett mintáknál (II. és III. táblázatok) kiszámítottuk, hogy mekkora mintaszám szükséges 10, 20, 40%-os különbség kimutatásához, 5% szignifikanciaszint és a próba 90%-os ereje mellett. A kisebb területről származó gépi fúrásoknál pl. a 10%-os különbség detektálásához szükséges mintaszám a nehézfémek esetében 3-22 közötti értéknek adódott. A nagyobb területről származó kézi fúrásoknál a nagyobb szórás miatt ezek az értékek magasabbnak adódtak (átlagosan 32, szélsőségesen nagy mintaszám az Sn esetében: 255).

Figyeljük meg, hogy a tápanyagtartalmak és a százalékos humusztartalom szórása lényegesen nagyobb a nehézfémek szórásánál, így azonos mintavételi befektetés mellett ez utóbbi elemek szintjeiről pontosabb becsléseket lehet elérni. Emiatt komplex monitorozás protokolljának tervezésénél e változók statisztikai mutatóit kell alapul venni.

Irodalomjegyzék

- [1] Fortunati, GU, Pasturenzi M 1994. Quality in soil sampling. *Quim Anal* **13** (Suppl 1): S5-S20.
- [2] Huber S, Prokop G, Arrouays D, Banko G, Bispo A, Jones RJA, Kibblewhite MG, Lexer W, Möller A, Rickson RJ, Shishkov T, Stephens M, Toth G, Van den Akker JJH, Varallyay G, Verheijen FGA, Jones AR (Eds.) 2008. Environmental Assessment of Soil for Monitoring: Volume I. Indicators & Criteria. EUR 23490 EN/1, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg.
- [3] Kádár I 1998. Kármentesítési kézikönyv 2. A szennyezett talajok vizsgálatáról. Környezetvédelmi Minisztérium, Budapest.
- [4] Markert B. 1995. Quality assurance of plant sampling and storage. In: Quality Assurance in Environmental Monitoring Sampling and Sample Pre-treatment. (Quevauviller P, Ed.) VCH Weinheim, New York, pp. 215-254.
- [5] Theocharopoulos, SP, Wagner G, Sprengart J, Mohr ME, Desaulles A, Muntau H, Christou M, Quevauviller P 2001. European soil sampling guidelines for soil pollution studies. *Sci Total Environ* **264**. 51-62.



Illékony komponensek kimutatása talaj- és talajvízmintákból helyszíni talajlevegő-vizsgálatokkal

Detection of volatile components in soil and ground water samples in on site soil gas measurements

*Bernáth Balázs^a, Pröhle Tamás^b,
Illés Tibor^b és Szabó Péter^a*

*B. Bernáth^a, T. Pröhle^b, T. Illés^b and P.
Szabó^b*

^a Megaterra Környezetvédelmi Mérnöki
Iroda Kft., Budapest

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

^b NLO Tanácsadó és Szolgáltató Kft.,
Budapest

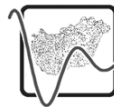
^b NLO Advising and Service Ltd., Budapest,
Hungary

Exploring contamination at a given location, advancing *in situ* measurement facilitates to obtain a more precise picture of the contamination rate, compared to the conventional protocol based on removing samples from their original environment and transferring, processing and analyzing them in the laboratory. On site soil gas determination provides a revolutionary novel measurement technique for contamination assessment and monitoring with increasing accuracy. Moreover, this method complements and completes our means to explore the features and corresponding changes in the characteristics of soil as a polydisperse system.

In accordance with the objectives of the R&D project MONTABIO complex on site soil gas measurement instrument and method development has been carried out using the portable multi-functional analytical device, Ecoprobe 5 to complement ongoing soil contamination monitoring activities. Contaminant determination and subsequent retraceability modelling improved efficacy and accuracy of the on site analytical method for oxygene, carbon dioxide, methane, total petroleum hydrocarbons and volatile organic compounds. In consequence, both the sampling procedure and the on site soil gas measurement method has been accredited by the Hungarian National Accreditation Board, and the procedure and equipment for sampling and prelaboatory analyzing volatile components from soil and ground water has been applied for patent protection.

A helyszíni talajlevegő-vizsgálatok forradalmian új eljárásmódot nyújtanak a szennyezettség pontosabb felméréséhez és változásainak nyomonkövetéséhez. Egy terület szennyezettségének felderítésénél az *in situ* mérések előtérbe helyezésével, sokkal pontosabb képet kapunk az adott terület esetleges szennyezettségéről,

mintha a mintát eredeti környezetéből kiragadva, szállítva, előkészítve laboratóriumban vizsgáljuk meg. A módszer alkalmazása egy potenciálisan szennyezett terület felmérése során, a beavatkozás szükségességének, illetve mértékének pontosabb és biztosabb meghatározására nagyobb garanciát jelent a hagyományos eljárásoknál.



A MONTABIO kutatás-fejlesztési projekt célkitűzéseivel összhangban a szisztematikus talajszennyezettség-monitoring tevékenység mellett, műszer- és módszerfejlesztést a végeztünk komplex helyszíni talajlevegő-mérések analitikai rendszerbe állításához. Az elvégzett méréseknek, illetve a mérések és vizsgálatok visszavezethetőségi modellezésének köszönhetően újabb tapasztalatokat sikerült nyerni, valamint tudatos módszer- és eszközfejlesztéssel hatékonyabbá, pontosabbá tenni a kidolgozott módszert. A pontosság mellett a költséghatékonyaság is a kifejlesztett metodika előnye. Mindemellett nemcsak az eljárás *in situ* eredményeit, hanem a felmért területről kapott információkat is a helyszínen, rövid időn belül lehet feldolgozni.

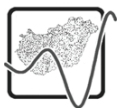
A pályázatban szereplő és elfogadott feladatattérnek megfelelően a Megaterra Kft. az alábbi feladatok elvégzésében közreműködött: 1) mintavételi pontok kijelölése, 2) talaj, felszíni és felszín alatti víz, talajlevegő akkreditált mintavételezése, 3) *in situ* szenzoros mérések (gáزدetektor) fejlesztése, kivitelezése, 4) tanulmányterv a szennyezett területek kockázatbecslésével kapcsolatban.

A helyszíni és laboratóriumi talajlevegő-mintavétel és -mérés végzésére a Megaterra Kft. A 2009–2010 időszakban a konzorcium által kijelölt Békés-megyei teszterületeken, így agrárterületeken ökológiai (Köröstarcsa, Medgyesegyháza, Battonya) és intenzív művelésű táblákon (Csorvás és

Battonya), valamint szennyezett ipari területek és mezőgazdasági jellegű szennyező anyaggal, de nem mezőgazdasági tevékenység nyomán szennyezett területek, így növényvédőszerrel (Gyomaendrőd – Nagylapos), ammóniummal, nitrittel, nitráttal (Békéscsaba), illetve alifás, klórozott alifás és aromás szénhidrogénekkel (Orosháza) szennyezett térségekben végzett mintavételezéseket és –vizsgálatokat nagyszámú (összesen 1123 db) talaj-, talajvíz- és felszínivíz-mintán (*I. táblázat*).

A mintavételi teszterületeket és a vételezett mintaszámot rögzített mintavételi program (terv) szerint alakítottuk ki, kidolgozásakor számos – mind elvi, mind a mintavételezések időzítése szempontjából fontos, mind pedig egyéb technikai – tényezőre tekintettel. A kezdeti mintavételezések után pedig a mintavételi és vizsgálati pontokat a konzorciumi partnerekkel történő szakmai egyeztetés után, azokon a teszterületeken jelöltük ki, ahol a korábbi talaj-, talajvíz- és felszínivíz-minták laborvizsgálatai, illetve a helyszíni talajlevegő-mérések eredményei pozitívak voltak.

A talajmintavételek során mintánként 0,1–0,5 kg talajt vettünk (*I. ábra*), talajvíz és felszíni víz esetén mintánként legfeljebb 2,5 l volt a minta mennyisége. A mintavételi fúrásokat a korábban már bemutatott [1,2] RPF kvadrát alapján, területenként 5–5 helyen mélyítettük. A megadott koordináták alapján a kijelölt fúráspontokat méteres alatti GPS támogatással kerestük meg. A



mintavételi tervet az egyes teszt-területek sajátosságainak figyelembe vételével alakítottuk ki. A talaj

mintavételi mélység és a mintaszám ennek megfelelően teszt-területenként változott.

I. táblázat A mintavételi területek és minták megoszlása területhasznosítás jellege szerint, 2009–2010

Mintázott terület jellege	Talajminta [db]	Felszínvíz- és talajvízminta [db]
Intenzív mezőgazdasági termelés alá vont termőterület	203	40
Ökológiai mezőgazdasági termelés alá vont termőterület	173	38
Mezőgazdasági termeléssel felhagyott terület, legelő	45	15
Pontszerű szennyezés mezőgazdasági jellegű szennyező anyaggal (nem mezőgazdasági tevékenység nyomán)	68	47
Pontszerű szennyezés ipari eredetű szennyező anyaggal	123	371
Összesen	612	511

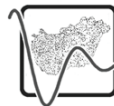


1. ábra Talajmintavétel talajfúrással magminta-vételre alkalmas Eijkelkamp ütve fúró berendezés segítségével

A talajvizet egyes kijelölt talajfúrások során, illetve a tesztterületeken és környezetükben található figyelőkút, ásott kút, lecsövezett mintavételi fúrás esetében mintáztuk, a hidrogeológiai paramétereket rögzítve. Amennyiben a magminta-vételre alkalmas száraz

gépi fúrással nem sikerült elérni a talajvíz fakadási szintjét, Foremost Mobile – Minuteman benzinmotoros spiralfúró gépet használtunk, így elérve, hogy minden fúrásból sikerüljön talajvízmintát venni, mivel az eszközzel 10 m talpmélységű talajfúrást lehet mélyíteni. A teszt-területekhez kapcsolódó felszíni vizek (patakok, öntöző csatornák) mintázásához hosszabbítható (teleszkópos) rúdra szerelt műanyag merítő edényt használtunk, illetve merítéssel vettünk mintát.

A talajlevegő-méréseket a légnemű fázis *in situ* mintavételét és azonnali kiértékelést biztosító Ecoprobe 5 talajlevegő-mérő készülékkel végeztük (*2. ábra*). A mintavétel és vizsgálatok általános szempontjait, valamint az alkalmazott műszerek, berendezések részletes ismertetését a 2009. évi kiadványban ismertettük [2].



2. ábra Az Ecoprobe 5 talajlevegő-mérő készülék (RS Dyanics Ltd, Prága, Csehország)

Összemérések

Az összemérések végzése során képet kaphatunk a műszer pontosságáról, a mérések megbízhatóságáról. Az összeméréseket különféle kalibráló-gázokkal végeztük. A fotoionizációs detektor (PID) egyponstos kalibrálásához 100 ppm izobuténgázt (szintetikus levegőben), az IR metán, TP (ásványolaj eredetű szénhidrogének) és széndioxid egyponstos kalibrálásához 10.000 ppm CH₄ és 10.000 ppm CO₂ kevert gázt (nitrogénben) használtuk. Az O₂ kalibrálása a külső friss levegő felhasználásával történik. A külső légnyomás- és talajhőmérséklet-mérés kalibrálását követően megfelelő gázokkal, gázkeverékekkel egy- és többponstos kalibrálásokat végeztünk (II-IV. táblázatok).

A mérési bizonytalanságot, vagyis a mérési eredmény megbízhatóságát a pontosság és a precizitás együttesen

II. táblázat Az Ecoprobe 5 műszer kalibrálása szén-dioxid (CO₂) és metán (CH₄) elegyével nitrogénáramban (N₂)

Gyártó	CO ₂ + CH ₄ (N ₂ -ben)		
	Névleges	Anal.CH ₄	Anal.CO ₂
	[v/v% (ppm)]		
Messer	0,1 (1000)	0,10007 (1000,7)	0,09998 (999,8)
Messer	0,5 (5000)	0,5125 (5125)	0,4951 (4951)
Messer	1 (10000)	1,06 (10600)	1,06 (10600)
Messer	5 (50000)	4,86 (48600)	4,96 (49600)

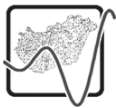
III. táblázat Az Ecoprobe 5 műszer kalibrálása metánnal- (CH₄) nitrogénáramban (N₂)

Gyártó	CH ₄ (N ₂ -ben)	
	Névleges	Analitikai
	[v/v% (ppm)]	
Messer	10 (100000)	9,9996 (99960)

IV. táblázat Az Ecoprobe 5 műszer kalibrálása izobuténnel (C₄H₈) és szintetikus levegőben

Gyártó	C ₄ H ₈ (szint. levegőben)	
	Névleges	Analitikai
	[v/v% (ppm)]	
Messer	0,001 (10)	0,001 (10)
Messer	0,01 (100)	0,00993 (99,3)
Messer	0,1 (1000)	0,101 (1010)
Messer	0,2 (2000)	0,201 (2010)

jellemzik. A pontosság mérőszáma a mért érték (mérési átlag) és a referencia (standard) adat hányadosa szorozva százszal, azaz $R = \frac{\bar{C}_i}{C_{ref}} \times 100$.



A precizitás a megismételt vizsgálatok eredményei közötti egyezés mértéke, a módszer véletlen hibáját jellemzi rendszerint a becsült tapasztalati szórással (SD) és/vagy a százalékos szórással (RSD) kifejezve. Az Ecoprobe5 hordozható gázmérő műszer a VOC, CH₄, TP, CO₂, O₂ paramétereket megadott pontossággal és precizitással képes mérni:

Az illékony szerves vegyületek (VOC) mérési pontossága 97% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (10, 104, 1000, 1999 ppm izobutén) történt mérések pontosságának átlaga}. A VOC-mérés precizitása RSD=10% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (10, 104, 1000, 1999 ppm izobutén) történt mérések százalékos szórásának átlaga}.

A metán mérési pontossága 99% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (973, 5132, 10500, 48600, 100400 ppm metán) történt mérések pontosságának átlaga}. A metán-mérés precizitása RSD=5% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (973, 5132, 10500, 48600, 100400 ppm metán) történt mérések százalékos szórásának átlaga}.

A teljes petróleum szénhidrogének (TP) mérési pontossága 98% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (973, 50132, 10500, 48600, 100400 ppm metán) történt mérések pontosságának átlaga}. A TP-mérés precizitása RSD=5% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (973, 5132, 10500, 48600, 100400 ppm metán) történt mérések százalékos szórásának átlaga}.

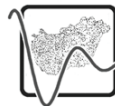
A szén-dioxid-mérési pontossága 98% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (974, 4937, 10600, 49500 ppm CO₂) történt mérések pontosságának átlaga}. A szén-dioxid-mérés precizitása RSD=5% {a különböző koncentrációjú kalibráló gázokkal (974, 4937, 10600, 49500 ppm CO₂) történt mérések százalékos szórásának átlaga}.

Az oxigén mérési pontossága 99,5% {kültéri levegővel (O₂ tartalom 21%) történt mérések pontosságának az átlaga}. Az oxigénmérés precizitása RSD=0,2% {kültéri levegővel (O₂ tartalom 21%) történt mérések százalékos szórása}.

Visszavezethetőség

A három év mérési adatai alapján célunk a kapcsolatok megtalálása talaj-, talajvíz- és talajlevegő-szennyezettség között, matematikai módszerek bevonásával. Környezeti károk feltérképezése és elhárítása terén fontos a helyszíni (*in situ*) mérések pontossága, megbízhatósága. Hordozható mérőműszerek fejlődésével, ez a kérdés, mind inkább statisztikai jellegű kérdéssé válik, azaz,

- Milyen statisztikai modellekkel vizsgálható egy adott területen elvégzett helyszíni és a kapcsolódó laboratóriumi mérések eredményeinek korrelációja?
- Hány minta helyszíni és laborvizsgálata után tudunk megfelelő biztonsággal nyilatkozni a különböző módszerrel végzett mérési eredményeinek korrelációjáról?



- A kétféle vizsgálati módszer megfelelő szintű korrelációja esetén, milyen becslést adhatunk a helyszíni mérés eredményéből, a laboratóriumi mérés eredményére? A becsléshez milyen konfidenciaintervallum tartozik?

Adott teszterületen (Orosháza-I.) 31 mintavételi furatban Ecoprobe 5 készülékkel a talajlevegő *in situ* mérését végeztük el (PID, CH₄, CO₂ TP). Összevetés céljából ugyanazon mintavételi helyekről vett talajmintákat laboratóriumi körülmények között is megvizsgáltattuk (TPH-GC).

Statisztikai szempontból több lehetséges korrelációs modell ellenőrzése történt meg. Ezen modellek közül számos nagyon magas korrelációt mutatott ki a helyszíni és laboratóriumi mérések között. Ennek alapján megalapozottnak tűnik, hogy a helyszíni mérésekkel kiválthatunk, bizonyos laboratóriumi méréseket, illetve laboratóriumi mérések eredményei előre jelezhetők, ha rendelkezünk megfelelő méretű olyan adatbázissal, amelyik esetén a mérési pontoknál mind helyszíni, mind pedig az onnan vett minták esetén laboratóriumi vizsgálat eredményei ismertek. Hangsúlyozni kívánjuk, hogy az adatbázis szükséges méretét számos körülmény befolyásolhatja (szennyező anyag, a talaj összetétele, a szennyezés bekövetkezése óta eltelt idő stb.), ezért megfelelő mérési adatbázis építése és további statisztikai vizsgálatok szükségesek a helyszíni és laboratóriumi mérések összehasonlítása terén.

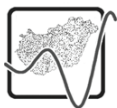
Talajlevegő-mintavétel és -mérés lyukfúrásos és „elvesző csúcsos” módszerrel helyszíni és/vagy laboratóriumi vizsgálatban

Helyszíni vizsgálataink arra utaltak, hogy jelentős különbség mutatkozik a lyukfúrásos és az „elvesző csúcsos” módszer között [2]. Az Eijkelkamp „elvesző csúcsos” mintavevő vertikálisan szekcionált talajlevegő mintavételére alkalmas bolygatatlan szerkezetű talajból, míg a lyukfúrásos módszer esetében vertikális átlagminta vételére van lehetőség.

A módszert az adott teszterületen (Orosháza II.) kétféleképpen vizsgáltuk. Három mintavételi ponton először 0,5 m, 1,0, 1,5 és 2,0 m-ig ütöttük le a mintavevő szárazakat. Az egyes rétegekből 2-2 mérés történt. Minden ponton létesült előzőleg talajmintavételi fúrás 6 m talpmélységgel, így a talajprofil is ismert. Az „elvesző csúcsos” vizsgálatot a mintavételi furatoktól 50 cm távolságban végeztük.

A talajmintavételi furatból mért talajlevegő-mérési eredmények és az „elvesző csúcsos” módszerrel vett mintákra kapott eredmények között különbségek mutatkoznak, továbbá az elvesző csúccsal azonos ponton, de különböző mélységből származó minták eredményei is különböznek egymástól.

A vákuum mértéke talajmintavételi furatból történő mérés során – néhány kivételtől eltekintve – többnyire legfeljebb -20 mbar. Az „elvesző csúcs” alkalmazásával a mérési sorozatokban a vákuum -400 és -800 mbar között



változott. Ennek oka, hogy a szivattyú a talajból és nem a furatból szívja ki a talajlevegőt. A légköri levegő kizárása fontos a talajlevegő mérése során, melyet jó felszíni tömítettséggel (gumilap, harang) érhetünk el.

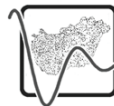
Az *in situ* talajminta-vizsgálatok során az O_2 -tartalom is eltérően alakult a két módszerben (*V. táblázat*): a furatból történő méréskor magasabb értéket detektáltunk, mint az “elvesző csúcs” alkalmazásakor.

V. táblázat A mért oxigénszintek a lyukfúrásos és “elvesző csúcsos” talajlevegő-mintavételi hely környezetében

A minta jele	O_2 [v/v%]	A minta jele	O_2 [v/v%]	A minta jele	O_2 [v/v%]
OK1A		OK1D		OK1E	
A furattól 0,5 m távolságban					
OK1A_0,5/1	17,27	OK1D_0,5/1	16,62	OK1E_0,5/1	17,09
OK1A_0,5/2	17,33	OK1D_0,5/2	16,93	OK1E_0,5/2	17,19
OK1A_1,0/1	10,68	OK1D_1,0/1	17,74	OK1E_1,0/1	20,22
OK1A_1,0/2	9,21	OK1D_1,0/2	16,28	OK1E_1,0/2	20,34
OK1A_1,5/1	9,94	OK1D_1,5/1	11,85	OK1E_1,5/1	20,34
OK1A_1,5/2	11,20	OK1D_1,5/2	11,19	OK1E_1,5/2	20,37
OK1A_2,0/1	20,36	OK1D_2,0/1	11,30	OK1E_2,0/1	20,30
–	–	OK1D_2,0/2	8,59	OK1E_2,0/2	20,22
Átlagminta furatból (min–max)					
OK1A/1	13,61	OK1D/1	15,89	OK1E/1	16,48
OK1A/5	16,84	OK1D/5	18,05	OK1E/5	17,88

A talajlevegő összes illékony szerves anyag (VOC) komponenseit a műszer – alapkiépítettségben 10,6 eV energia-szintű – PID lámpájával nyert analitikai jel méri. A VOC-meghatározások esetében a talajmintavételi furatban mért talajlevegő-átlagminta értékeihez képest, az “elvesző csúcsos” vizsgálat rétegmintájában lényegesen kisebb koncentráció adódott (*VI. táblázat*). Ennek egyik oka lehet, hogy az

“elvesző csúcs” esetében kb. 2-4 cm² felületen át szívhat a szivattyú talajlevegőt, míg a talajmintavételi fúrásnál nagyságrendekkel nagyobb felület áll rendelkezésre, hogy a talajlevegő komponensei nagyobb térfogatba diffundáljanak, s ott feldúsuljanak. Az azonos mélységben végrehajtott mérések közti eltérést okozhatja a PID által mért komponensek alacsony mennyisége a vizsgált rétegben.



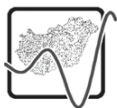
VI. táblázat A mért összes illékony szerves anyag (VOC) szintjei* a lyukfúrásos és “elvesző csúcsos” talajlevegő-mintavételi hely környezetében

A minta jele	VOC [ppm]	A minta jele	VOC [ppm]	A minta jele	VOC [ppm]
OK1A		OK1D		OK1E	
A furattól 0,5 m távolságban					
OK1A_0,5/1	0,00	OK1D_0,5/1	0,18	OK1E_0,5/1	0,42
OK1A_0,5/2	0,00	OK1D_0,5/2	0,00	OK1E_0,5/2	0,41
OK1A_1,0/1	0,06	OK1D_1,0/1	0,30	OK1E_1,0/1	0,00
OK1A_1,0/2	0,03	OK1D_1,0/2	0,71	OK1E_1,0/2	0,00
OK1A_1,5/1	0,00	OK1D_1,5/1	0,00	OK1E_1,5/1	0,00
OK1A_1,5/2	0,09	OK1D_1,5/2	0,00	OK1E_1,5/2	0,00
OK1A_2,0/1	0,00	OK1D_2,0/1	0,00	OK1E_2,0/1	0,00
–	–	OK1D_2,0/2	0,00	OK1E_2,0/2	0,00
Átlagminta furatból (min–max)					
OK1A/1	17,82	OK1D/1	1,68	OK1E/1	1,07
OK1A/5	8,73	OK1D/5	0,86	OK1E/5	0,69

Megjegyzés: * A VOC-szinteket a műszer fotoionizációs detektor (PID) egységéhez tartozó lámpa méri. A lámpa cserélhető, különleges esetekben alacsonyabb vagy magasabb energiájú lámpák is felhasználhatók. A PID lámpával mért érték 100 ppm izobutén referenciagázra vonatkozik.

Az Ecoprobe 5 talajlevegő-mérő készülék infravörös (IR) detektorával mért CH₄ és TP komponensek esetén megfigyelhető, hogy míg a műszer a vertikális átlagmintákban nem (vagy csak kis koncentrációban) mutatott ki szennyeződést, addig egyes szekcionált rétegmintákban jelentős szennyező-anyag-koncentrációt detektált (*VII-VIII. táblázatok*). Ennek oka lehet, hogy a szennyezési góc mélyebb rétegben helyezkedik el annál, mint ahol a vertikális átlagminta mérése zajlott (lásd OK1D 2 méteren).

Ez a felfedezés rendkívüli fontosságú, hiszen egy terület szennyezettségének felderítésénél igazolja az *in situ* mérés fontosságát. Sokkal pontosabb képet kapunk az adott talajréteg esetleges szennyezettségéről, mintha csupán átlagmintát veszünk, illetve ha a mintát eredeti környezetéből kiragadva, szállítva, előkészítve laboratóriumban vizsgáljuk meg. Ez pedig nagyobb garanciát jelent egy szennyezett terület felmérése során a beavatkozás szükségességének vagy mértékének pontosabb és biztosabb meghatározására.



VII. táblázat A mért metán (CH_4) szintje a lyukfúrásos és “elvesző csúcsos” talajlevegő-mintavételi hely környezetében

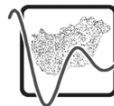
A minta jele	CH_4 [ppm]	A minta jele	CH_4 [ppm]	A minta jele	CH_4 [ppm]
OK1A		OK1D		OK1E	
A furattól 0,5 m távolságban					
OK1A_0,5/1	0,01	OK1D_0,5/1	40,11	OK1E_0,5/1	1 341
OK1A_0,5/2	0,01	OK1D_0,5/2	0,01	OK1E_0,5/2	0,01
OK1A_1,0/1	0,01	OK1D_1,0/1	0,01	OK1E_1,0/1	1,65
OK1A_1,0/2	0,01	OK1D_1,0/2	0,01	OK1E_1,0/2	0,01
OK1A_1,5/1	0,01	OK1D_1,5/1	0,01	OK1E_1,5/1	0,01
OK1A_1,5/2	217,80	OK1D_1,5/2	0,01	OK1E_1,5/2	0,01
OK1A_2,0/1	157,09	OK1D_2,0/1	0,01	OK1E_2,0/1	1,93
–	–	OK1D_2,0/2	35 766	OK1E_2,0/2	0,01
Átlagminta furatból (min–max)					
OK1A/1	19,6	OK1D/1	0,0	OK1E/1	0,0
OK1A/5	0,0	–	–	–	–

Mindemellett jó korreláció fedezhető fel az “elvesző csúccsal” mért CH_4 - és TP-szintekre vonatkozó eredmények között, ami – pozitív értékek esetén – a szennyezettség korára utal (anaerob módon bomlott, régi szennyeződés).

*Környezetvédelmi mérések
összehasonlítása: helyszíni vs.
laboratóriumi mérések*

A környezetvédelem területén egyre fontosabbá válnak a szennyező anyagok helyszíni mérései. A környezetet szennyező gócok körülhatárolása és figyelése a környezet mentesítésének az első, fontos lépése. A helyszíni méréseket lehetővé tevő

mérőműszerek fejlődésével és a helyszíni mérések eredményeinek azonnali kiértékelésével, a megfelelő mintavételi pontok megtalálása egyszerűbbé vált, lerövidítve a teljes folyamatot. Környezeti szennyező gócok terepi körülhatárolása során a mintavételezési pontok megfelelő kiválasztása érdekében Ecoprobe 5 készülékkel elvégzett helyszíni talajlevegő-mérések és az ugyanazon mintavételi helyekről vett talajlevegő-minták laboratóriumi meghatározásához talajmintákat, minden mintavételezési helyen 1 m, 2 m, 3 m, 4 m és 5 m mélységből vettünk. Talajmintákból laboratóriumi körülmények között TPH-mérésekre, az Ecoprobe 5 mérőműszerrel a talaj



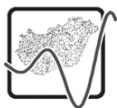
VIII. táblázat A mért teljes petróleum szénhidrogének (TP) szintjei a lyukfúrásos és “elvező csúcsos” talajlevegő-mintavételi hely környezetében

A minta jele	TP [ppm]	A minta jele	TP [ppm]	A minta jele	TP [ppm]
OK1A		OK1D		OK1E	
A furatból 0,5 m távolságban					
OK1A_0,5/1	0,00	OK1D_0,5/1	75,12	OK1E_0,5/1	1 202
OK1A_0,5/2	0,00	OK1D_0,5/2	0,00	OK1E_0,5/2	0,00
OK1A_1,0/1	0,00	OK1D_1,0/1	0,00	OK1E_1,0/1	0,00
OK1A_1,0/2	0,00	OK1D_1,0/2	2,17	OK1E_1,0/2	0,00
OK1A_1,5/1	0,00	OK1D_1,5/1	0,00	OK1E_1,5/1	0,00
OK1A_1,5/2	156,81	OK1D_1,5/2	0,00	OK1E_1,5/2	0,00
OK1A_2,0/1	151,49	OK1D_2,0/1	0,00	OK1E_2,0/1	0,00
–	–	OK1D_2,0/2	35 963	OK1E_2,0/2	0,00
Átlagminta furatból (min–max)					
OK1A/1	440,01	OK1D/1	0,0	OK1E/1	0,0
OK1A/5	21,25	–	–	–	–

levegő-mintákban CH₄-, CO₂- és TP-mérésekre került sor. Mivel az Ecoprobe 5 mérőműszerrel rövid időközönként ismételt mérések történtek, a készülék a mérések átlagát és a mért értékmaximumokat is jelezte, valamint PID-mérésre is sor került. A helyszíni a szennyeződés körülhatárolását összesen 31 méréssel sikerült elvégezni.

Természetes módon merült fel annak az igénye, hogy a helyszíni mérések eredményeit tudományos alapossággal hasonlítsuk össze a laboratóriumi mérésekkel. A matematikai statisztika módszereinek a felhasználásával kerestünk feleletet az alábbi kérdésekre:

- Milyen statisztikai modellek segítségével vizsgálható egy adott területen elvégzett helyszíni és az ezekhez kapcsolódó laboratóriumi mérési eredmények korrelációja?
- Hány minta helyszíni és laborvizsgálata után tudunk megfelelő biztonsággal nyilatkozni a különböző módszerrel végzett mérések eredményeinek korrelációjáról?
- A két vizsgálati módszer megfelelő szintű korrelációja esetén, milyen becslést adhatunk a helyszíni mérés eredményéből, a labormérés eredményére? A becsléshez milyen konfidenciaintervallum tartozik?



A helyszíni és laboratóriumi mérések statisztikai elemzését [3,4] elvégezve több megállapításra jutottunk. Az első lépésben – lineáris regresszió segítségével – beazonosítottuk a helyszíni Ecoprobe 5 mérések közül azokat (a TP és CH_4), amelyek a legjobban magyarázzák a laboratóriumi méréseket; a szűkített méréstípusra megismételtük elemzésünket, és így láthatóvá vált, hogy a CH_4 -mérések jelentősége a laboratóriumi TPH mérések statisztikai magyarázata során csökkent. Korrelációs vizsgálataink összhangban álltak és megerősítették regressziós modellünk eredményét.

A laboratóriumi mérések és az Ecoprobe 5 mérések közötti jelentős statisztikai kapcsolat – már korlátozott mérésszám esetén is – egyértelművé vált. A statisztikai kapcsolat erősségét több objektív tényező befolyásolhatja, ilyenek lehetnek például a mérés helyszínének talajszerkezete, a szennyezés forrásának erőssége és a szennyezés anyaga, a szennyezés kezdetétől eltelt idő.

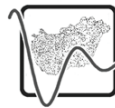
Mindezek alapján célszerű lenne jelentősebb számú statisztikai elemzést elvégezni különböző helyszínekről származó mérések felhasználásával, illetve olyan mérési módszertant kidolgozni, melynek segítségével a helyszíni mérések eredményeiből – megfelelő biztonsággal – következtetni lehetne a laboratóriumi mérések eredményeire. Ennek egy lehetséges módszertana a következő volna: a szakértők által szükségesnek tartott számú *in situ* mérést elvégzik az

Ecoprobe 5 mérőműszerrel, és mintákat vesznek a laboratóriumi mérésekhez. A mintákat két részre osztják. A nagyobb rész elemzését elvégeztetik megfelelő laboratóriumban. Ezek felhasználásával elvégzik a statisztikai elemzéseket, megállapítják a statisztikai kapcsolat erősségét, majd ezen elemzések alapján kiszámítják a második csoportba osztott laboratóriumi mérések modellből származtatható értékét. Végül összevetik a laboratóriumi eredményekkel. A vázolt módszertan leglényegesebb pontja meghatározni azt a mérési mennyiséget, amely esetén kellő biztonsággal és pontossággal lehet következtetni a helyszíni mérésből az ahhoz tartozó, de el nem végzett laboratóriumi mérés eredményére.

Szénhidrogén-szennyezés in situ mikrobiológiai megszüntetésének talajlevegő-monitoring vizsgálata

A szénhidrogénnel szennyezett talaj és talajvíz kitermelés nélküli kezelésének egyik – világszerte környezetbarát technológiaként elismert – módszere a szennyeződés hatásnövelt biológiai lebontása. Az intenzifikált biodegradációs eljárásnak a teszterületeken történő alkalmazásával és a talajlevegő-méréseknek köszönhetően választ kapunk a szénhidrogének mikrobiológiai lebontási folyamataira és a mikrobiológiai aktivitás mértékére.

A projekt ideje alatt *in situ* (a földtani közegben) és *ex situ* (bioprizmákon) végeztük. 20 m³ mikrobiológiai oltóanyag kijuttatása történt meg két



részletben, az Orosháza I. tesztterületen. A kijuttatást a helyszínre szállított 1 m³-es IBC tartályokból gravitációsan vagy szivattyúval, az öt vizsgálati pont között egyenletesen eloszlátva oldottuk meg (3. ábra).

A tesztterületen talajlevegő-méréseket végeztünk: az oltóanyag kijuttatása előtt, a kijuttatás után közvetlenül, majd a biodegradáció beindulását ellenőrizendő, az oltás után 8 és 20 nappal. A mérési eredményeket a IX. táblázat mutatja be.



3. ábra Mikrobiológiai oltóanyag kijuttatása az Orosháza I. tesztterületen szénhidrogének intenzifikált lebontására

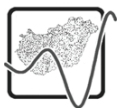
Az eredmények jól szemléltetik, hogy alapállapotban az E pont volt a legszennyezettebb, a többi ponton a műszer nem mutatott ki jelentősebb szennyezést. A beoltás után a CO₂- és CH₄-értékek csökkentek, nyilvánvalóan az elárasztás miatt, mivel a talaj pórusai telítődtek a folyékony fermentummal. Ugyanakkor az olajbontó baktériumok aktivitása miatt a TP szintje megemelkedett. A beoltás utáni 8. napon már látható a CH-bontás beindulása, főleg a CO₂-értékek drasztikus

emelkedéséből, illetve az E ponton mért korábbi magasabb CH₄- és TP-értékek csökkenéséből. A B ponton mért – a korábbinál magasabb – CH₄- és TP-értékek azt jelzik, hogy az alapállapotkor mért koncentrációk ellenére volt valamennyi szennyeződés, amit a mikrobák „megtaláltak” és megkezdtek lebontani. Ez a tendencia megfigyelhető 20 nappal a beoltás után az A ponton is, ahol addig sem CH₄ sem TP nem volt mérhető. 20 nappal a beoltás után az adatokból jól látszik (főleg a legszennyezettebb E ponton), hogy az addig emelkedő tendenciát mutató CH₄-, TP-, és CO₂-értékek, már csökkenni kezdtek, tehát a lebontási folyamat szépen lecseng. Az eredmények átültethetők a környezetvédelmi kármentesítési gyakorlatba, főleg olyan helyszínek vonatkozásában, ahol a hagyományos (talajkitermeléssel járó) műszaki megoldások nem vagy csak korlátozott mértékben lehetségesek (épületek alatt, sűrűn beépített, burkolt felszínek, vonalas létesítmények).

A módszer szabadalmi és akkreditációs státuszának biztosítása

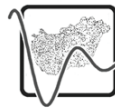
Szabadalom benyújtása

A talaj és a talajvíz illékony összetevőinek *prelaboralis* szennyezettség-vizsgálati módszereire vonatkozóan szabadalmat jelentettünk be „*Eljárás és berendezés illékony komponensek talaj- és talajvízmintákból történő kinyerésére és prelaboralis vizsgálatára*”



IX. táblázat A mért metán (CH₄), teljes petróleum szénhidrogének (TP) és szén-dioxid (CO₂) szintjei szénhidrogén-talajszennyezéss hatásnövelt biológiai lebontása során

A minta jele	CH ₄ átlag [ppm]	CH ₄ max. [ppm]	TP átlag [ppm]	TP max. [ppm]	CO ₂ átlag [ppm]	CO ₂ max. [ppm]
Beoltás előtt						
OÜ1A pre	0,00	0,00	0,00	0,00	22 644	24 009
OÜ1B pre	0,00	0,00	0,00	0,00	11 241	14 656
OÜ1C pre	0,00	0,00	0,00	0,00	3 202	4 318
OÜ1D pre	0,00	0,00	0,00	0,00	14 284	14 970
OÜ1E pre	2 090	2 262	1 921	2 028	14 826	15 703
Beoltás után közvetlenül						
OÜ1A post	0,00	0,00	8,08	44,37	1 271	1 285
OÜ1B post	0,00	0,00	0,36	14,31	1 583	2 040
OÜ1C post	0,00	0,00	20,10	88,46	3 274	7 117
OÜ1D post	0,00	0,00	40,61	113,80	1 237	1 259
OÜ1E post	93,09	281,14	32,68	81,18	1 343	1 519
Beoltás után 8 nappal						
OÜ1A	0,00	0,00	0,00	0,00	156 459	159 550
OÜ1B	150,32	291,75	131,27	180,59	186 024	192 048
OÜ1C	0,00	0,00	0,00	0,00	93 387	97 202
OÜ1D	0,00	0,00	0,00	0,00	179 810	185 033
OÜ1E	592,87	809,57	474,15	591,35	105 885	113 616
Beoltás után 20 nappal						
OÜ1A	58,44	301,24	106,13	175,59	101 442	102 813
OÜ1B	0,00	0,00	0,00	0,00	100 752	102 648
OÜ1C	0,00	0,00	0,00	0,00	65 551	67 911
OÜ1D	0,00	0,00	0,00	0,00	111 101	113 387
OÜ1E	390,67	587,97	165,18	258,86	116 339	118 957



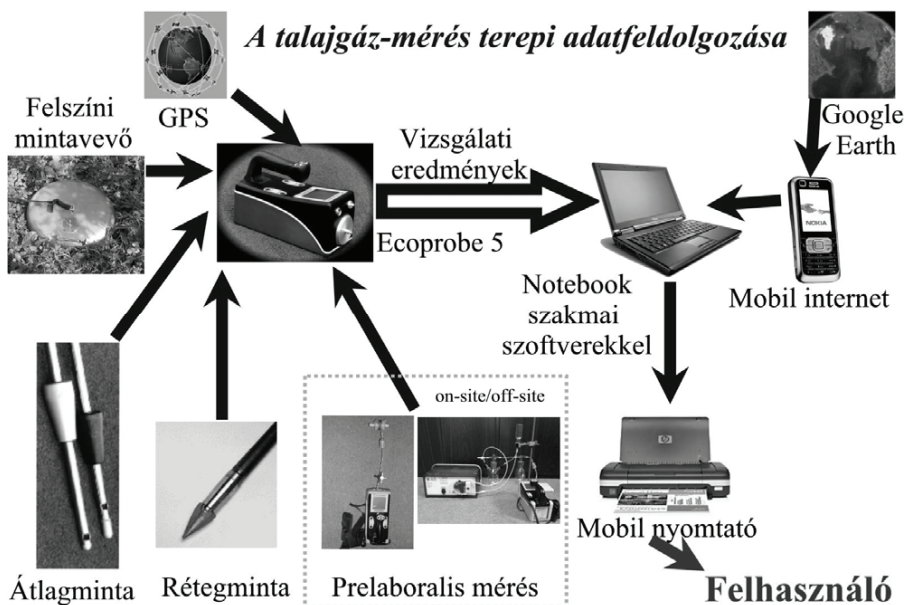
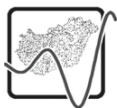
címmel. A módszerek jelentőségét a minták olcsó elővizsgálati (*screening*) lehetősége és ezáltal a költséges laboratóriumi vizsgálatokra szánt mintaszám ésszerűsítése (csökkentése) adja. A *prelaboralis* módszerek egyrészt kiegészítik a helyszíni talajlevegő-méréseket, másrészt a laboratóriumi költségek csökkentésével növelik a tényfeltárások költséghatékonyságát.

A helyszíni talajlevegő-vizsgálati akkreditáció megszerzése

A MONTABIO kutatás-fejlesztési projekt keretén belül a Megaterra Kft. 2009. október 28-án megszerezte a talajlevegő/depóniagáz/biogáz mintavételi akkreditációt. További feladat volt a talajlevegő helyszíni vizsgálati akkreditált státusz megszerzése, melynek érdekében módosítottuk és kiegészítettük minőségügyi kézikönyvünket, kidolgoztuk a talajlevegő helyszíni vizsgálatára vonatkozó belső eljárásrendünket [5]. Új akkreditációs eljárás keretében a Nemzeti Akkreditáló Testület (NAT) által végzett helyszíni szemle során 2010. október 21-én bemutattuk a Megaterra Kft. talajlevegő mintavételi és helyszíni vizsgálati eljárásait és eszközeit. Az értékelő jelentés szerint a szemle, a dokumentáció és az eljárás működése megfelelt a vonatkozó előírásoknak: a Megaterra Kft. minden szempontból (minőség-irányítási, műszaki, szakmai) felkészülnek bizonyult. A helyszíni talajlevegő-vizsgálati akkreditációt 2010. november 10-én sikeresen megszereztük.

Az *in situ* talajlevegő-vizsgálati tapasztalatokra épülő lehetőségek

A talaj- és talajvíz-szennyezettség mérése és idősoros *monitoring* követése során széles körben elterjedt eljárás, hogy a szilárd illetve folyadék fázisból mintát veszünk, majd vizsgáló laboratóriumba szállítjuk. Ez az eljárás mód számos, lényeges hibával terhelt és nem ad választ a talaj–talajvíz-rendszer eredeti összetételére, tulajdonságaira, változására. Első és talán legfontosabb hibátényező, hogy a mintavétellel a kivett mintának tulajdonságait változtatjuk meg, csökkentjük reprezentativitását. A második lényeges hibátényező a minta tárolása és szállítása. A harmadik a laboratóriumi feltárás és vizsgálat behatása. Ezért nem véletlen, hogy a kereskedelmi laborok a laboratóriumi eredménylapon következetesen feltüntetik, hogy az adatok a laboratóriumba beérkezett mintákra vonatkoznak, azok tulajdonságait tükrözik. A laboratóriumba beérkező és vizsgálatok alá vetett minta azonban a fentiek miatt nem reprezentálja a természetes életközegben lévő talaj- és/vagy talajvízminta tulajdonságait. Ezért a környezetvédelmi mérés-technikai gyakorlatban egyre inkább elterjedő nézet, hogy a talajt és a talajvizet lehetőleg szondák lehelyezésével *in situ* vagy legalábbis *on site* módszerekkel a helyszínen vizsgáljuk. A talajlevegő mérés jelenleg Magyarországon csak korlátozott mértékben terjedt el, holott nemcsak az eljárás *in situ* eredményeit, hanem a felmért területről kapott információkat is a



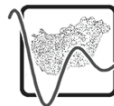
4. ábra A helyszíni talajlevegő-vizsgálat és adatfeldolgozás lépéseinek folyamatábrája

helyszínen, rövid időn belül tudjuk feldolgozni, és a megrendelő felé azonnal prezentálni a helyzetet, az esetleges beavatkozás várható méretét (4. ábra).

A helyszíni talajlevegő-vizsgálatok új eljárásmodot nyújtanak a környezeti szennyezettségi állapot pontosabb megismeréséhez és változásainak nyomonkövetéséhez. A módszertan egyben kiegészíti és teljessé teszi a talaj, mint háromfázisú polidiszperz rendszer tulajdonságainak és azok változásainak megismerését. A megbízhatóság és pontosság mellett a költséghatékonyság is előnye a kifejlesztett módszernek.

Irodalomjegyzék

- [1] Dombos M, Szécsy O, Szabó J, Anton A. 2009. Mintavételi kérdések a komplex talajszennyezési és talajbiológiai monitorozás tervezésénél. In: Környezetanalitikai és toxikológiai indikációkon alapuló rendszer a fenntartható talajminőségért. *MONTABIO-füzetek I.* (Székács A, Illés Z, szerk.) MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Budapest, pp. 18-32.
- [2] Tatai G, Bernáth B (2009) Helyszíni talajlevegő-mérések. *MONTABIO-füzetek II.* (Székács A, Illés Z, szerk.) MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, Budapest, pp. 1-44.
- [3] Seber GAF, Lee AJ 2003. Linear Regression Analysis. 2nd Ed. Wiley Series in Probability and Statistics Wiley-Blackwell, New York.
- [4] Wackernagel H 2003. Multivariate Geostatistics: An Introduction with Applications, 3rd Ed. Springer Verlag, New York.
- [5] Megaterra Kft. 2010. Megaterra Belső Eljárás-2 (MEBE-2). Megaterra Kft., Budapest.



Növényvédőszer-maradékok gázkromatográfiás és immunanalitikai meghatározásának eredményei vizekben és talajokban

Determination of pesticide residues in water and soil samples by gas chromatography and immunoanalysis

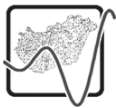
*Mörtl Mária, Maloschik Erik,
Juracsek Judit és Székács András*

MTA Növényvédelmi Kutatóintézete,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

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

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

Systematic monitoring of pesticide residues in environmental matrices in Békés county (Hungary) revealed extensive contamination of both surface water and soil. Within a three-year sampling campaign (2008-2010) of the 286 water samples analysed, 139 samples contained detectable contamination by one or more target compounds (contamination rate 49%). Most common water pollutant pesticides were acetochlor at concentrations of 0.02 to 10 ng/ml, atrazine (used predominantly as a herbicide in corn monocultures until its ban in 2007), metolachlor trifluralin and diazinone at lower levels. Moreover, glyphosate was detected as water contaminant at concentrations of 0.54-0.98 ng/ml by an immunoanalytical method. Pesticide contamination in soil samples appeared to be more uniform in time: of the 543 soil samples analysed 165 samples contained detectable contamination by one or more target compounds (contamination rate 30%). Most common soil pollutants were trifluralin (a herbicide active ingredient banned in Hungary since 2009) at concentrations of 1.0 to 1800 ng/g and acetochlor (to date a registered active ingredient in Hungary, used predominantly as a herbicide in corn monocultures) and metolachlor at lower levels. One-quarter of the soil samples contained traces of DDT (the insecticide banned in Hungary first in the world in 1968) or its decomposition products. Point source contamination of atrazine was found in some soils at alarmingly high concentrations reaching 50-782 ng/g. A new derivatization technique was developed for the determination of chlorophenoxy acid type herbicides from water samples. Nearly half of the water specimens sampled in 2010 were affected by residues of 2,4-D at concentrations above LOQ (50 ng/ml) and some other ingredients of this group (mecoprop, MCPA, 2,4,5-TP, MCPB). 2,4,5-TP (fenoprop) has not been registered in Hungary and is banned in the EU since 2004. Occurrence of banned ingredients may indicate illegal pesticide use or slow decomposition in the given environmental matrix, and by monitoring of pesticide residues, alteration of crop protection practices could also be followed.

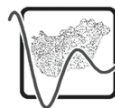


Alkalmazott K+F Programunkban megmaradóképes (perzisztens) növényvédő szerek maradákait határoztuk meg mezőgazdasági (vegyszeres és ökológiai termesztésű), ipari és természetvédelmi területeken különböző Békés megyei helyszíneken. A szerek alkalmazásának kockázatai, ill. kedvezőtlen ökológiai hatásuk mára már közismertté váltak [1-5]. A vizsgálati körben szóba kerülő növényvédő szereket és bizonyos bomlás-termékeiket részint felszíni vizekben, részint talajokban vizsgáltuk, műszeres és immunanalitikai eljárással. A célvegyületeket, az alkalmazott mintaelőkészítési [6], illetve műszeres analitikai módszereket e sorozat korábbi kiadványában [7] már bemutattuk. A projekt a talaj minőségi mutatóira fókuszált, de a talajok szennyezettsége nem kezelhető függetlenül a talajjal érintkező vizek szennyezettségétől. Különösen igaz ez a növényvédőszer-maradékokra, hiszen a kijuttatott szerek a csapadékkal beoldódva megjelennek nemcsak a mélyebb rétegekben, hanem a felszíni és talajvizekben egyaránt. Az öntözővízben lévő hatóanyagok viszont a talajokat szennyezhetik el. A felszíni- és talajvizek elszennyezése az ivóvíz minőségét is veszélyeztetheti, mivel a szokásos víztisztítási eljárásoknak a növényvédő szerek koncentrációjára nincs különösebb hatása. Az EU határérték 100 ng/l, amit korábbi méréseink [8] szerint a vizek nagy hányada túllép. A koncentrációt más tisztább források bekeverésével lehetne ugyan csökkenteni, de nem jogszerű megoldás. A csapadék mennyisége a kioldódás mellett a hatóanyagok lebomlása szempontjából is fontos

tényező, mivel az ebben szerepet játszó mikroorganizmusok aktivitását is befolyásolja.

A hároméves projekt során növényvédő szerek választott körének és bizonyos bomlástermékeiknek meghatározását Saturn 2000 típusú gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC-MS) készüléken, a korábban már alkalmazott módszerünkkel [8] végeztük el. A komponensek azonosítása tömegspektrumuk alapján, míg mennyiségük meghatározása a kvantitatív detektáláshoz használt ion intenzitása, valamint a hatóanyag analitikai standardjával felvett kalibráció alapján történt. A projekt során – kiterjesztve a vizsgálatba bevont vegyületek körét – új módszert dolgoztunk ki [9] a fenoxi-alkánsav típusú gyomirtószer-hatóanyagok vízmintákból történő meghatározására.

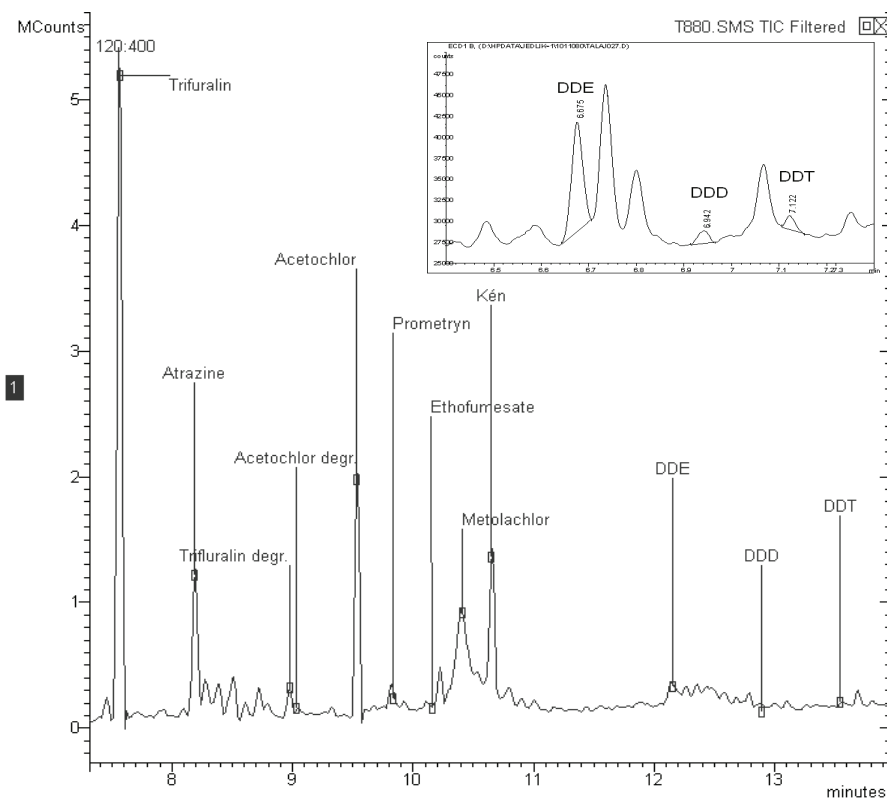
Emellett – a projekt harmadik évében – a tömegspektrometriás mérésekkel párhuzamosan verifikációs szándékkal az előkészített mintákat HP5890 típusú, elektronbefogásos detektorral felszerelt gázkromatográfiás (GC-ECD) készüléken is megmértük. Az ECD mérések hasznos eredményeket szolgáltatnak, valamint segítettek az összetevők kimutatását azokban az esetekben, amikor a MS detektálással nyert kromatogramon nagyon kis intenzitással vagy nem eléggé egyértelműen jelent meg a célvegyület. Főleg a kimutatási határhoz (LOD) vagy a mennyiségi meghatározási határhoz (LOQ) közeli koncentrációknál, a kromatográfiás futás végén jövő kevésbé illékony vegyületeknél (*DDE*, *DDT*) és komplex mátrix miatti zajban elvesző jelek azonosításánál lehetett jól haszno-



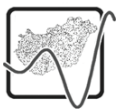
sítani az ECD eredményeket (1. ábra). A kétféle mérés során a standard hatóanyagokkal meghatározott retenciós idők jól korreláltak, ami a jelek vegyületekhez való hozzárendelését elősegítette, így a két módszerrel kapott eredmények megerősítették egymást.

Szintén az utolsó évben a széleskörűen alkalmazott *glyphosate* gyomirtószer-hatóanyag származékképzés utáni GC-MS mérését is megkíséreltük. Az analitikai standarddal végrehajtott kísérletek során

a szakirodalomban leírt származékképző módszerek közül sem az *N*-metil-*N*-(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid / trimetil-klór-szilán reagenssel végrehajtott eljárás [10], sem a klór-fenoxi-alkánsavakra alkalmazott szilil-karbamát reagensünk [9] nem bizonyult elég hatékonynak. Időközben mód nyílt a minta-előkészítést nem igénylő enzimjelzéses *immunoassay* (ELISA) módszer alkalmazására, így egyszerűbb és gyorsabb kivitelezhetősége miatt emellett döntöttünk (ld. később).



1. ábra A T880 számú gyomaendrői talajminta tömegspektrometriás detektálással felvett kromatogramja, valamint az elektronbefogásos detektálással felvett kromatogram (jobbra feni) egy kritikus részlete.



Mivel a kármentesítés alatt álló orosházi területekről érkezett minták egy részében olajos szennyezés mutatkozott, ezért tovább bővítve a célvegyületek körét, bevontuk vizsgálatainkba a poliaromás szénhidrogéneket (PAH) is. E vegyületek meghatározására újabb gázkromatográfiás módszert fejlesztettünk, valamint ELISA módszert is alkalmaztunk.

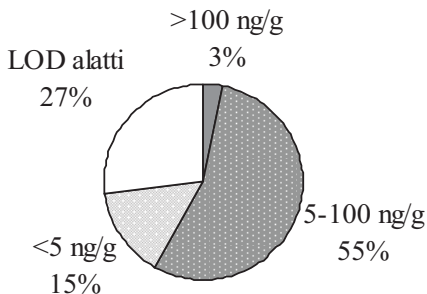
A pályázat során 286 felszíni- és talajvíz-, valamint 543 talajminta (2008: 81 felszíni- és talajvíz, 203 talajminta; 2009: 121 felszíni- és talajvíz, 220 talajminta; 2010: 84 felszíni- és talajvíz, 120 talajminta) elemzését végeztük el, évi legfeljebb három mintavételezési ciklusban. Ez azt jelentette, hogy a növényvédő szerek kezelése előtt, után és a betakarítás táján történt a minták begyűjtése. Az első két évben a minta vételi térségben kiterjedt és ismételt mintavételezésekkel, a harmadik év során pedig az első két év eredményei alapján kockázatelemzés segítségével végzett, a mintavétel-optimalizálásra vonatkozó fejlesztési eredményeinket felhasználva határoztuk meg a mintavételi helyszíneket. A 2010 tavaszi mintavételezésre ekkor nem kerülhetett sor, mert a helyszínek többsége víz alatt volt.

Talajok növényvédő szeres szennyezettsége

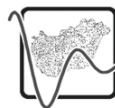
A kapott 543 talajminta mindegyikének kiértékelése megtörtént. A három év átlagában a kiértékelt talajminták mintegy 30%-a tartalmazott valamilyen növényvédő szeres szennyezést.

Az első két évben a teljes területről, több mélységből begyűjtött mintákat

vizsgáltuk, ekkor a szennyezett minták aránya viszonylag alacsonyabbnak adódott (2008-ban 19%, 2009-ben 17%). A harmadik évben azonban célzottan olyan területekre koncentráltunk, ahol korábban már valamilyen szennyezőt kimutattunk, így a pályázat utolsó évében viszonylag magas találati arányok mutatkoztak, ennek mértékét a 2. ábra szemlélteti. Összesen a minták 73%-ában mutatkozott egy vagy több vegyület kimutatható szennyezése, melyből az összes minta 15%-ában alacsony (5 ng/g), négy gyomaendrődi minta esetében azonban jelentős mértékű (>100 ng/g) szennyezettségi szintet állapítottunk meg *trifluralin*-ra nézve és ezekből három esetben az *acetochlor*-, illetve két esetben az *atrazine*-tartalom is magas volt. A magas találati arányban a célzott mintavételezés mellett a jobb kimutatási határok (LOD) és az ECD mérések hatása is megmutatkozik. A mért koncentrációk lényegében az előző évekhez hasonlóan alakultak. A leggyakoribb talajszennyező a *trifluralin* (1–1822 ng/g), az *acetochlor*

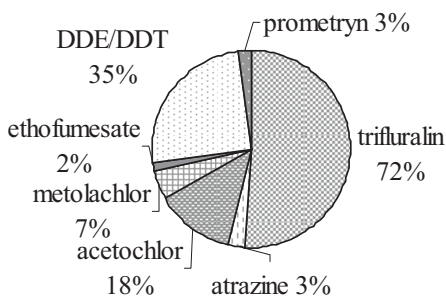
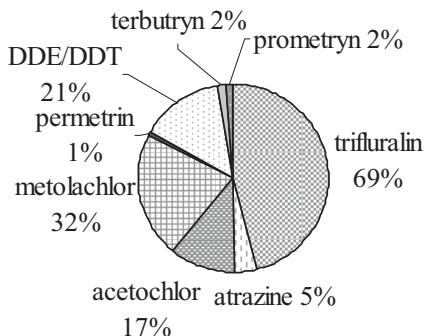


2. ábra Növényvédő szerek előfordulása a vizsgált talajokban, a 2010-es célzott mintavételezésben



(5–690 ng/g), és a *metolachlor* (1–150 ng/g) volt, bár ez utóbbi aránya 2010-ben némileg csökkent. A mintáknál viszonylag gyakori háttérszennyező volt a *DDT* (1–83 ng/g) és bomlásterméke a *DDE*, egy esetben (GYN1E/1) azonban magas (83 ng/g) szennyezettségi szint volt mérhető. Néhány esetben a korábbi években is LOD felett detektáltuk ezeket a perzisztens szereket. Az előző évekhez képest nagyobb találati arány (25%) minden bizonnyal az ECD mérések alkalmazásának is köszönhető, mivel ezen a mérések során a kis intenzitású jelek nem vesznek el az analitikai háttérzajban. Ritkábban jelentkezett szennyezőként az *atrazine* (51–782 ng/g) és szórványosan előfordult 2009-ben a *terbutryn* és a *permethrin*, valamint 2010-ben két gyomaendrődi mintánál *ethofumesate*-ot kimutattunk. Ezekon felül sok esetben kén jelenlétét is detektáltuk. A növényvédő szerek hatóanyagok szerinti előfordulását a 3. ábra szemlélteti.

A klór-fenoxi-alkánsavak vízmintákból való mérésére kidolgozott új származékképzési eljárásunkat a 2,4-*D* talajokból történő mérésére teszteltük. Öt különböző, a szakirodalomban javasolt minta-előkészítési módszert hasonlítottunk össze és vizsgáltuk a minta eltarthatóságát is. Azt tapasztaltuk, hogy a szakirodalomban szereplő néhány hetes lebomlási idő valós, sőt akár egy-két hét alatt az LOD alá csökkenhet a 2,4-*D* koncentrációja. Mivel a bomlási folyamatokban a mikroorganizmusok szerepe a meghatározó, a talajmintákat az extrakciót megelőzően átmenetileg 70°C-on tároltuk. A korábbi mérésekhez

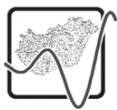


3. ábra Növényvédőszer-hatóanyagok előfordulása a vizsgált talajokban, a három év átlagában (*fent*), valamint a 2010. évi célzott mintavételezésben (*lent*) a szennyezett esetek százalékában.

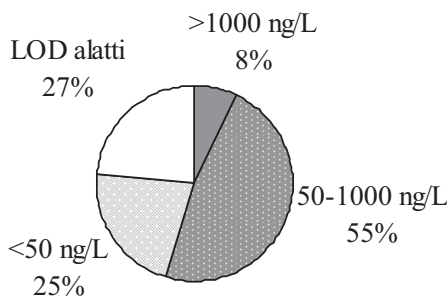
[11] képest az *atrazine* meghatározó szerepe kivonásának köszönhetően megszűnt és a *DDT* lassú csökkenése is érzékelhető.

Vizek növényvédő szeres szennyezettsége

A kapott vízminták kiértékelése során talált növényvédő szeres szennyezések mértékét a 4 ábra mutatja be. A növényvédő szeres szennyezettségi vizsgálatra kapott 286 vízmintából 139



mintában, vagyis mintegy a minták felében volt kimutatható bizonyos mennyiségű növényvédő szer. A vizek esetében a találati arányokban nagyobb ingadozásokat lehet tapasztalni, mivel a célzott mintavételezés mellett a változó csapadékmennyiség is erősen befolyásolja a növényvédőszer-hatóanyagok kioldódását a talajból és a vizekben mérhető szennyezettségi szintet. Az első, kevésbé csapadékos évben a vízminták



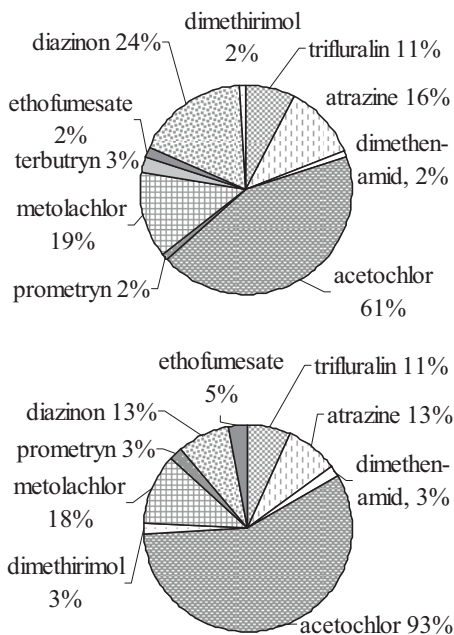
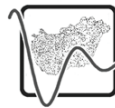
4. ábra Növényvédő szerek előfordulása a vizsgált felszíni vizekben, a 2010-es célzott mintavételezésben

mintegy 67%-a tartalmazott egy vagy több hatóanyagot, 2009-ben 18%-os arány volt mérhető. 2010-ben összesen a minták 73%-ában mutatkozott egy vagy több vegyület kimutatható szennyezése, melyből az összes minta 25%-ában kisebb mértékű (50 ng/l alatti) szennyezettségi szintet állapítottunk meg. A kapott vízminták kiértékelése során talált növényvédő szeres szennyezések mértékét 2010-ben a 4 ábra mutatja be. Ez a találati arány a korábbi mérésekhez képest jelentősen magasabb, de nem meglepő, hiszen a mintavételezés célzottan történt. A koncentrációk az előző évi

értékekhez hasonlóak, összhangban a mindkét évre jellemző nagy mennyiségű csapadékkal.

Az első évben leggyakoribb vízszennyezőként *acetochlor* (0,022–3900 µg/l), és *diazinon* (0,001–0,851 µg/l) mutatkozott, gyakran detektáltunk *metolachlort* (0,001–56 µg/l), néhány esetben *atrazine-t* (0,5–100 µg/l) és *trifluralint* (0,8–9 µg/l). A második évben hasonlóan alakult a növényvédőszer-maradékok hatóanyag szerinti megoszlása azzal a különbséggel, hogy *diazinont* nem detektáltunk. Az első két évben *terbutrynt* is kimutattunk 2-2 esetben. A harmadik évben újra megjelent a *diazinon* (0,018–0,651 µg/l), s a leggyakrabban detektált *acetochlort* a minták még nagyobb hányada tartalmazta (0,022–6,25 µg/l), emellett szórványosan néhány egyéb hatóanyagot (*prometryn*, *dimethenamid*, *dimethirimol*, *ethofumesate*) is találtunk. A többi hatóanyag lényegében az előző évekhez hasonló súllyal volt jelen a szennyezett minták között, a hatóanyagok szerinti előfordulást az 5 ábra szemlélteti.

Az eredményekből látható, a projekt keretében vizsgált vizek növényvédő szeres szennyezettsége szempontjából minden évben figyelemre méltóak a gyomaendrőd–nagylaposi talajvízfuratokból (GYN1/.../TV/) származó minták. A mért koncentrációk összességében magasak, különösen *acetochlor* és *atrazine* hatóanyagokra. Ez utóbbit a projekt utolsó évében már csak itt detektáltuk, máshol nem fordult elő ez a 2007 óta nem használható gyomirtószer-hatóanyag. Ez a tapasztalat – amennyiben reprezentatívnak mondható – igen kedvező,



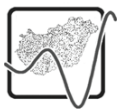
5. ábra Növényvédőszer-hatóanyagok előfordulása a vizsgált felszíni vizekben, a három év átlagában (*fent*), valamint a 2010. évi célzott mintavételezésben (*lent*) a szennyezett esetek százalékában.

hiszen arra utal, hogy a talaj mélyebb, anaerob rétegeiben ez a rövid távú perzisztenciát, s ennek nyomán felszínvíz-szennyező tulajdonságot mutató hatóanyag a visszavonása után viszonylag gyorsan megszűnt – legalábbis a vizsgálati térségben – folyamatos környezet-szennyezőként hatni. Az utolsó évben három gyomaendrői vízmintában nagy mennyiségű *ethofumesate* volt jelen, két-két mintában pedig *dimethenamid*, és *dimethirimol* hatóanyagokat mutattunk ki. Ezen gyom- illetve gombairtó hatóanyagokat a vizsgálat korábbi éveiben

nem találtuk meg. A *dimethenamid* jelenleg is engedélyezett klóracetamid herbicid, a *dimethirimol* viszont pirimidinol típusú szisztémikus fungicid hatóanyag, melynek visszavonását az Európai Unió 2002-ben rendelte el.

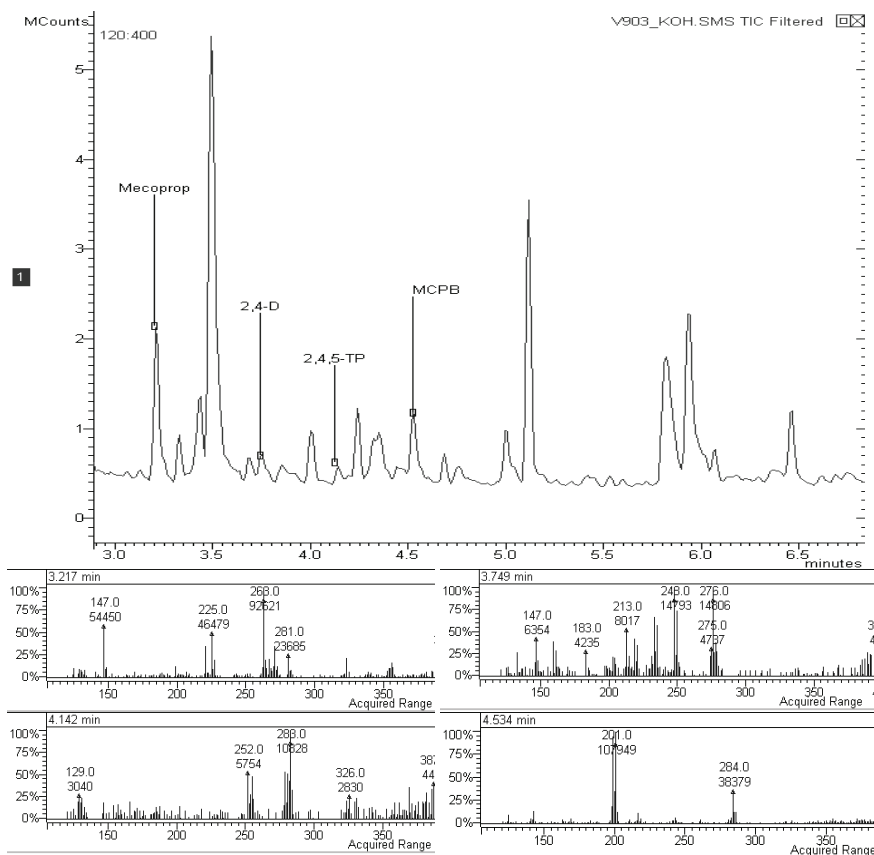
Az orosházi közútkezelőtől (OK1/.../TV), illetve az üvegyárból (OÜ1/.../TV) hozott vízminták olajos szennyezettsége nem szűnt meg, az utolsó évben is legalább a fele jelentős mennyiségben tartalmazott szénhidrogéneket és három minta különösen szennyezett volt (elkülönülő olajos fázist tartalmazott). Ezeket a különösen szennyezett mintákat a projekt első két évében növényvédőszer-maradványra nem vizsgáltuk, mivel ez befolyásolja a vizes fázisban lévő peszticid mennyiségét, ugyanakkor jelentősen ronthatja az analitikai rendszerünk teljesítőképességét (magasabb zajszint és LOD). Az utolsó évben ennek ellenére analizáltuk a szénhidrogénnel erősen szennyezett mintákat is, sőt a három esetben elkülöníthető olajos fázist is. A vizes fázisokból ezekben az esetekben *acetochlort* tudtunk detektálni, míg a szerves fázisból előzetes várakozásainknak megfelelően nem tudtunk növényvédőszer-maradékot kimutatni. A kevésbé vízzoldható vegyületek – melyek inkább a szerves fázisban vannak jelen – kimutatását gátolta a nagy mennyiségű alifás és aromás szénhidrogén (antracén, bifenilek) okozta háttér. A szerves hatóanyagok mellett a vízminták jelentős hányadában elemi kenet is detektáltuk.

A fenoxi-alkánsavakra kidolgozott eljárásunkat [3] a projekt utolsó évben alkalmaztuk rutinszerűen vízminták

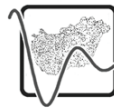


analízisére. Származékképzés után mind a sav, mind az ammóniumsó formájában kijuttatott hatóanyagokat mértük *tercier-butil-dimetil-szilil-észter*ként (6. ábra). Megállapítható, hogy ebből a vegyületcsoportból a 2,4-D a leggyakoribb vízszennyező, a vizsgált minták 79%-ában volt kimutatható, 45%-ában pedig

a mennyiségi meghatározásra is alkalmas koncentrációban volt jelen. Az összes pozitív minta tartalmazott kisebb (LOQ alatti) vagy nagyobb (11-38 ng/l) mennyiségben 2,4-D-t, ugyanakkor három gyomaendrői mintában (V909, V910, V900) viszonylag magas (176, 907, 1003 ng/l) szint volt mérhető.



6. ábra A V903 kódszámú békéscsabai talajvízminta II. frakciójának (KOH-os leoldás) kromatogramja és a benne talált fenoxi-alkánsavak tercier-butil-dimetil-szilil-észterének tömegspektruma: *mecoprop* (balra fent), 2,4-D (jobbra fent), 2,4,5-TP (balra lent) és MCPB (jobbra lent).



Több hatóanyagot (*mecoprop*, *MCPA*, *2,4,5-TP*, *MCPB*) is kimutattunk 10 esetben, főleg Gyomaendrődön és az Orosházi Közösüzem területéről gyűjtött mintákból. A *fenoprop* (*2,4,5-TP*) jelenléte azért meglepő, mert a hatóanyag Magyarországon nincs forgalomban, és az Európai Unió is kivonásra javasolta 2004 óta. A finomított minta-előkészítésnek és az alacsony kimutatási határoknak köszönhetően ennél a csoportnál is magas találati arány (45-76%) adódott.

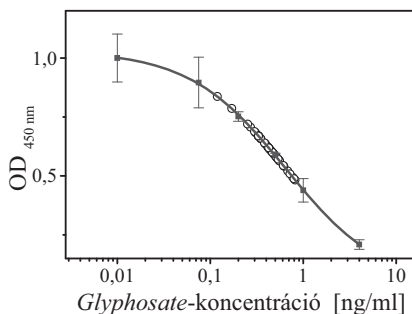
A *glyphosate* kimutatása ELISA technikával

Mint ahogy a *glyphosate* gyomirtószer-hatóanyag származékképzés utáni GC-MS kimutatási módszerei – a rendkívül munkaigényes minta-előkészítés vagy a túl magas LOD miatt – nem bizonyultak használhatónak, immunanalitikai eljárás alkalmazását is kipróbáltuk. Az Abraxis LLC (Warminster, PA, USA) kereskedelmi forgalomban elérhető ELISA rendszere (#PN 500086) mind analitikai paraméterei (kimutatási határ, érzékenység), mind egyszerű kivitelezhetősége miatt kedvező választásnak tűnt. Az eljárás előnye hogy vizes mintában közvetlenül – extrakciós lépés nélkül – alkalmazható és gyorsan kivitelezhető. Analitikai értelemben elvi hátránya viszont az, hogy – a kromatográfiai módszerekkel ellentétben – csupán egyetlen analitikai jelet szolgáltat a vizsgált mintákról, vagyis nem ad részletes információt azok összetételéről, a kísérletek során viszonylag magas háttér mellett szolgáltatott jelet, és meg kell

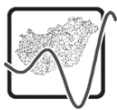
jegyezni azt is, hogy viszonylag magas mintánkénti önköltsége miatt a módszer sajnos aligha alkalmazható a rutin analitikai gyakorlatban.

Az Abraxis ELISA rendszer garantált LOD értéke 0,05 ng/ml, a kimutatás felső koncentrációhatára 4 ng/ml (efölött hígítani kell). A rendszer feszíni, talaj- és forrásvízre validált, talajvízre azonban nem. A módszer meglehetősen specifikus: keresztreaktivitása még a közeli rokon vegyületekre (*glyphosine*, *glyphosinate*, *AMPA*, glicin stb) is 0,1% alatti.

A módszer jellemzése során az analitikai standard görbe a gyártó által megadott szigmoid lefutás szerintinek bizonyult (7. ábra), azonban a felszíni- és talajvízmintákkal enyhe mártíxhatás mutatkozott, ami miatt a gyakorlati kimutatási határ (a hígítási paraméterek figyelembe vételével) magas, $0,35 \pm 0,10$ ng/ml értékűnek adódott.



7. ábra A *glyphosate* szigmoid lefutású analitikai standard görbéje az Abraxis ELISA módszerében (■ Abraxis standardok, ○ környezeti vízminták V195-V966). A gátlási középérték (IC_{50}) $0,66 \pm 0,02$ ng/ml.



Az ELISA módszerrel a projekt harmadik éve során gyűjtött felszíni- és talajvízmintákban 5 esetben tapasztaltunk – a jelentős háttérből – kiugró, 16 esetben magas *glyphosate*-szinteket (I. táblázat).

I. táblázat ELISA módszer segítségével kimutatott *glyphosate*-koncentrációk felszíni- és talajvízmintákban

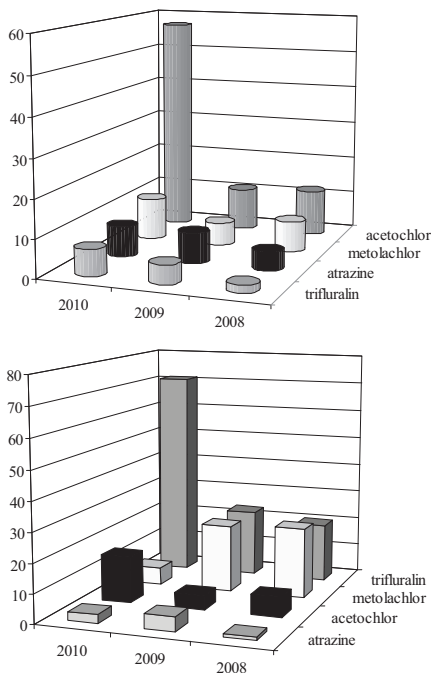
Terület	Mintavételi hely / Művelés	<i>Glyphosate</i> - koncentráció [ng/ml]
BA2G	Battonya ^a	0,68 ± 0,09
BA3F	Battonya ^b	0,66 ± 0,15
BA3G	Battonya ^b	0,63 ± 0,07
CSF1	Csorvás ^c	0,65 ± 0,13
CSF2	Csorvás ^c	0,82 ± 0,04
CS1F	Csorvás ^c	0,68 ± 0,12
KT2F	Kőröstarcsa ^a	0,76 ± 0,04
MH2F	Medgyesegyháza ^a	0,75 ± 0,08
BSZ1A	Békéscsaba ^d	0,93 ± 0,08
BSZ1B	Békéscsaba ^d	0,60 ± 0,05
BSZ1E	Békéscsaba ^d	0,66 ± 0,10
GYN1C	Gyomaendrőd ^d	0,98 ± 0,003
GYN1D	Gyomaendrőd ^d	0,56 ± 0,26
GYN1G	Gyomaendrőd ^d	0,63 ± 0,04
GYN1H	Gyomaendrőd ^d	0,59 ± 0,05
GYN1J	Gyomaendrőd ^d	0,59 ± 0,11
GYN1K	Gyomaendrőd ^d	0,87 ± 0,08
OK1G	Orosháza ^c	0,66 ± 0,04
OK1I	Orosháza ^c	0,96 ± 0,10
OK1B	Orosháza ^c	0,58 ± 0,06
OK1M	Orosháza ^c	0,54 ± 0,003

^a ökológiai termelés (bio), ^b ösgep, ^c intenzív, ^d ipari terület, ^e közutkezelő

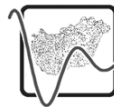
Össességében az Abraxis *glyphosate*-specifikus ELISA rendszere alkalmas, könnyen kivitelezhető, de magas LOD értékű és viszonylag költséges kimutatási módszernek bizonyult.

Szennyezettség, visszavont szerek

A leggyakoribb vízszennyezőként az *acetochlor*, a *metolachlor*, az *atrazine*, a *trifluralin* és a *diazinon* volt detektálható. A leggyakoribb talajszennyező a *trifluralin*, gyakori háttérszennyező a *DDT* és bomlásterméke a *DDE* volt. Ritkábban fordult elő az *acetochlor*, néhány esetben pedig a *metolachlor* vagy az *atrazine*. A szennyezett esetek számának változását a minden évben előforduló hatóanyagokra a 7. ábra szemlélteti.



7. ábra A szennyezettnek talált minták számának éves változása a leggyakoribb növényvédőszer-hatóanyagokra vizekben (286 minta) (fent) és talajokban (543 minta) (lent).



A három év alatt a legszennyezettebb térség a gyomaendrői terület volt, ahol minden évben több hatóanyagra is kiemelkedő szennyezettséget detektáltunk, úgy talajban, mint vízmintákban. Az analitikai eredmények alapján, a terület kármentesítése messzemenőleg indokolt.

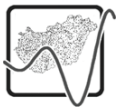
A szerhasználat változása következtében új, eddig nem detektált hatóanyagokat (*ethofumesate*, *dimethirimol*) is kimutattunk, ugyanakkor gyakran már visszavont hatóanyagokat is detektáltunk. Az *atrazine* visszavonását követően már csak a gyomaendrői mintákban volt kimutatható az utolsó évben, míg előtte békéscsabai és orosházi mintákban is mértük. A *trifluralin* (2009 óta nem használható) az projekt minden évében megjelent a víz- és főként a talajmintákban: a projekt utolsó évében a szennyezett talajminták 72%-a tartalmazott *trifluralint*. Kiemelten szennyezettek voltak *trifluralinnal* a GyN1E mintavételi pontról származó gyomaendrői talajminták, ami pontszennyezésre utal. A *diazinont* – 2007-es visszavonását követően – 2008-ban még viszonylag sok vízmintában detektáltuk, 2009-ben nem volt találat, ugyanakkor a 2010-es talajvízmintákban (8 esetben, például a KT2G, MH2F, BSz1C mintavételi pontokról származó talajvizekben) újra megjelent ez a nem szisztémikus rovarirtó szer.

Amint látható, a monitorozási tevékenység elengedhetetlenül fontos a változó szerhasználat víz- és talajszennyezésekre gyakorolt hatásának követésére, az illegális szerhasználat detektálására, és a korábban kijuttatott, mára visszavont

szerek kémiai átalakulásainak (felhalmozódás, lebomlás), lehetséges környezeti hatásainak követése szempontjából. Egy teljeskörű környezeti állapotfelmérés a szennyező források felderítése, illetve a kármentesített területek állapotának utólagos követése vonatkozásában is hasznos eredményekkel szolgálhat.

Irodalomjegyzék

- [1] Carson R 1962. *The Silent Spring*. Houghton Mifflin Co, Boston.
- [2] Colborn T, Dumanoski D, Myers JP 1996. *Our Stolen Future*. Dutton, New York.
- [3] Keith LH 1997. *Environmental Endocrine Disruptors*. Wiley, New York.
- [4] Repetto R, Baliga S 1996. *Pesticides and the Immune System*. World Resources Institute, Washington DC.
- [5] Darvas B, Székács A (szerk.) 2006. *Mezőgazdasági ökotoxikológia*. L'Harmattan Kiadó, Budapest.
- [6] 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.
- [7] Mörtl M, Maloschik E, Juracek NJ, Székács A 2009. Gáz-kromatográfiás módszerek a környezet-analitikai vizsgálatokban. In: *MONTABIO-füzetek I. Környezetanalitikai és toxikológiai indikációkon alapuló rendszer a fenntartható talajminőségért* (Székács A., Illés Z. szerk.), MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Budapest, pp. 43-51.
- [8] Maloschik E, Ernst A, Hegedűs Gy, Darvas B, Székács A 2007. Monitoring water-polluting pesticides in Hungary, *Microchem J* **85**: 88-97.
- [9] Maloschik E, Mörtl M, Székács A 2010. Novel derivatisation technique for the determination of chlorophenoxy acid type herbicides by gas chromatography-mass spectrometry, *Anal Bioanal Chem* **397**: 537-548.
- [10] Motojyuku M, Saito T, Akieda T, Otsuka H, Yamamoto I, Inokuchi S 2008. Determination of glyphosate, glyphosate metabolites, and glufosinate in human serum by gas chromatography-mass spectrometry, *J Chromatogr B* **875**: 509-514.
- [11] Oldal B, Maloschik E, Uzinger N, Anton A, Székács A 2006. Pesticide residues in Hungarian soils. *Geoderma* **135**: 163-178.



Poliaromás szénhidrogének meghatározása vizekben és talajokban immunanalitikai módszerrel

Determination of polyaromatic hydrocarbons in water and soil samples by immunoanalysis

Székács András^a, Juracsek Judit^a,
Dietmar Knopp^b és Reinhardt
Niessner^b

^a MTA Növényvédelmi Kutatóintézet,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

^b Institute of Hydrochemistry, Munnich
University of Technology, Germany

A. Székács^a, J. Juracsek^a, D. Knopp^b and
R. Niessner^b

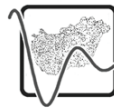
^a Department of Ecotoxicology and
Environmental Analysis, Plant Protection
Institute, Hungarian Academy of Sciences,
Budapest, Hungary

^b Institute of Hydrochemistry, Munnich
University of Technology, Germany

To assess polyaromatic hydrocarbon (PAH) content in surface water and soil samples, immunoanalytical (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) and instrumental (gas chromatography coupled with mass spectrometry, GC-MS) methods were applied using appropriate sample preparation. A PAH-specific ELISA system, developed at the Institute of Hydrochemistry, Technical University of Munich (Germany), well proved its utility for the detection of PAH compounds, using benzo[a]pyrene (B[a]P) as analytical standard, in the concentration range of 0,6-40 ng/ml. The IC₅₀ value, the slope of the sigmoid standard curve at the IC₅₀ and the estimated limit of detection were found to be 0.65 ± 0,06 ng/ml, 0,84 ± 0,06, and ~0,6 ng/ml, respectively. Quantitative determination was hindered by matrix components in soil extracts and surface water, therefore the method was not applicable for soil analysis. However, as revealed with spiked surface water samples, PAH content was detectable, although against an increased background signal level due to matrix components, most likely humic acids. Thus, PAH content in surface water samples was determined in surface water samples collected in the given sampling regime, and 4 samples were found severely (9.1-16.0 ng/ml B[a]P-equivalent) and 6 samples moderately (3.2-6.8 ng/ml B[a]P-equivalent) contaminated. GC-MS analysis of the surface water samples also indicated substantial contamination by aliphatic and aromatic hydrocarbons, characteristic components of diesel fuels, among which naphthalene derivatives being detected by the ELISA system.

Az ipari hulladékokban és a nem teljes égés füstanyagaiban előforduló poliaromás szénhidrogének (*polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) és nitro-származékaik különösen veszélyes

környezetszennyezőknek minősülnek [1]. Egyes pirénszármazék képviselőik a DNS anyagával adduktokat képezve vagy a DNS-javítási folyamatokat gátolva karcinogén és mutagén hatást



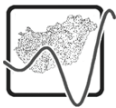
fejtenek ki [2-4], illetve befolyásolják különböző élőlények metabolikus folyamatait [5,6]. Környezeti lebontásukat részletesen leírták talajban [7] és vízi rendszerekben [8,9]. Kiemelkedő genotoxicitása és rákkeltő hatásai [10-12] miatt az Európai Unióban az Európa Tanács 98/83/EC Irányelve (az ún. "Ivóvíz Irányelv") [13] a benzo[a]pirén (B[a]P), az egyik legtoxikusabb PAH ivóvízbeli határértékét 10 ng/l (10 ppt) szintben – a növényvédőszer-maradékokra vonatkozó határérték egytizedében – határozza meg. A PAH vegyületeket ennek megfelelően vizsgálni szükséges [14], így vízi környezetben [9,15,16], valamint – többnyire üzemanyag- vagy ipari eredetű szennyezések nyomán – lég- [17] és talajszennyezőként [18,19]. Az analitikai igény kielégítésére az elterjedt gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC-MS) és egyéb műszeres analitikai [16,20] eljárások mellett az elmúlt bő egy évtizedben mind inkább terjedőben vannak az immunanalitikai eljárások, így különféle enzimjelzéses *immunoassay* [21-34] és immunszenzor [35-37] eljárások.

A MONTABIO projekt egyik célkitűzése az volt, hogy a kockázat-centrikus talaj- és talajvíz-szennyezés-azonosítás érdekében a vizsgálati eljárások körét potenciálisan mutagén hatású szennyezőkre vonatkozó vizsgálatokkal bővítsse. Ennek alapjául az a szakmai információ szolgált, hogy hazai talajok szűrléite Ames-tesztben vizsgálva azok némelyikét mutagénnek találták, s a kérdést a mai napig nem sikerült megnyugtatóan lezárni. Tény, hogy talajok – ún. TPH értékkel jellemzett – alifás-

szénhidrogén-szennyeződése gyakori, s a talajminták GC vizsgálatakor mutatkoznak olyan csúcsok, amelyek olaj-származékoktól származó szennyezettségre utalnak. Ilyen szennyezők részben közlekedési és ipari tevékenység hatására kerülhetnek a földterületekre. Mutagén vegyületek esetleges megjelenése a talajokban azért is aggodalomra okot adó jelenség, mert a talajt alkotó mikroorganizmusok öröklődő megváltozása nem kívánatos a talajok termőképessége szempontjából.

A projekt során nyert tapasztalatok igazolták, hogy szénhidrogén típusú szennyezőket (részint petróleum, részint poliaromás szénhidrogéneket) valóban kimutattunk jelentős számú – főként ipari eredetű szennyezőket tartalmazó – talajmintákban. A projekt első két évében csak növényvédőszer-maradékok meghatározását végeztük a munka keretében vett környezeti mintákból. A laboratóriumba beérkező minták egy részénél azonban – különösen az orosházi közútkezelő vállalat területéről származó vízminták esetében – nagyfokú szerves szennyezettséget tapasztaltunk, ahol is az olajos szennyező a víztől jól elkülönült fázist alkotott. A projekt harmadik évében ezért, a korábbiakon túlmenően, e szennyezők analízisét is elvégeztük.

PAH vegyületek analitikai meghatározását – más szerves mikroszennyezőkhöz hasonlóan – a legelterjedtebben GC vagy nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfiás (HPLC) eljárásokban végzik, de e módszerek a célvegyületek előzetes betöményítését igénylik, illetve munka- és időigényes eljárások. Az



immunanalitikai módszerek, elsősorban az enzimjelzéses *immunoassay* (ELISA) technika megoldást kínálnak e gondra, hiszen – amennyiben rendelkezésre áll megfelelő érzékenységű antitest – vizes mintában közvetlenül alkalmazhatók, s igen szelektív és érzékeny kimutatást tesznek lehetővé. Az ELISA rendszerek esetében a könnyű kivitelezhetőség “ára” analitikai értelemben ugyanakkor az, hogy a módszer kevésbé komplex analitikai jelet szolgáltat: a jelből a minta összetételére vonatkozó – kromatogram vagy spektrális jellegű információt nem biztosít.

A szakirodalom számos olyan *immunoassay* rendszerről számol be, amelyet PAH vegyületek kimutatására fejlesztettek ki [21-34], többnyire környezeti mintákban történő meghatározásra. Talajban és vízben történő mérésre kereskedelmi ELISA rendszerek is forgalomban vannak.

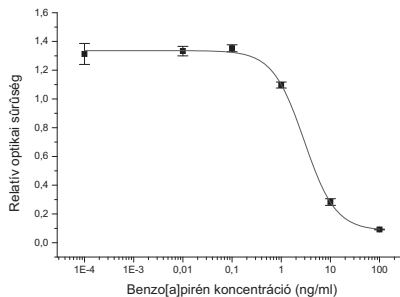
ELISA módszer PAH kimutatására

Nemzetközi együttműködésben lehetőségünk nyílt egy monoklonális antitest és rögzített antigén alapú PAH-specifikus ELISA [34] tesztelésére, ami mellé megerősítésként a minták GC-MS analízisét is elvégeztük a szokásos gáz-kromatográfiás protokollunkkal.

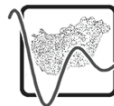
Az ELISA módszer ún. versengő eljárásen alapszik (rögzített antigén alapú változat), vagyis a minta PAH-tartalma verseng az ELISA mikrotálca falán rögzített antigénnel a rendszerben alkalmazott antitestek kötőhelyeiért. Ennek megfelelően a legerősebb analitikai jelet (színintenzitást) a rendszer akkor

szolgáltatja, ha a bevitt minta PAH – vagy egyéb immunreaktív vegyület-, alapvetően B[a]P- tartalma a legkisebb. A módszer – célzott módon – B[a]P érzékeny kimutatására alkalmas. Az EU hatósági szabályozás szerint a B[a]P maximális megengedett mennyisége (MRL) 0,01 ng/ml [13], az immunanalitikai módszer ennél csekély mértékben érzékenyebb, a kimutatási határ (LOD) 0,024 ng/ml; a felső kimutatási koncentrációhatár 4 ng/ml (fölötte hígítani kell).

Analitikai standard segítségével igazoltuk, hogy a módszert kifejlesztő német kutatóintézet által említett analitikai jellemzők kiválóan reprodukálhatóak voltak, s hogy a módszert alkalmazhattuk vízminták elemzésére. A szigmoid standard görbéről (1. ábra) megállapított analitikai paraméterek: IC_{50} (a rendszer gátlási középértéke) = $0,65 \pm 0,06$ ng/ml, p (a görbe IC_{50} értéknél mutatott meredeksége) = $0,84 \pm 0,06$, a becsült LOD $\sim 0,6$ ng/ml.



1. ábra *Benzo[a]pirén analitikai kimutatásának standard meghatározási görbéje a Müncheneri Műszaki Egyetem ELISA rendszerben.*



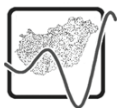
A vizsgálatok kimutatták, hogy az eljárásban többféle blokkolóreagens (zselatin, kazein, tejpor) is jól alkalmazható. A német kutatócsoport jellemezte az alkalmazott antitestek (22F12) különböző PAH vegyületekkel mutatott keresztreaktivitását is (I. táblázat).

I. táblázat Az alkalmazott ELISA rendszer keresztreaktivitása különböző poliaromás szénhidrogénnel [34].

Minta	Kereszt-reaktivitás [%]
benzo[a]pirén	100
krizén	77
indeno[1,2,3-cd]pirén	45
benzo[b]fluorantén	24
pirén	18
fluorantén	15
benz[a]antracén	13
benzo[k]fluorantén	5
fenantén	1
antracén	1
benzo[ghi]perilén	1
naftalin	< 1
acenaftilén	< 1
acenaftén	< 1
fluorén	< 1
dibenz[ah]antracén	< 1

Az *immunoassay* rendszerek nagy előnye, hogy – a GC műszeres analitikai vizsgálatokkal ellentétben – vizes mintákon többnyire közvetlenül alkalmazhatóak. Ugyanakkor a célvegyületek csekély vízoldhatósága miatt gyakran szerves oldószert is alkalmazni kell az extrakcióhoz, így a kivonást rendszerint 5-25% szerves oldószert tartalmazó vizes extraháló-oldattal végzik. Különösen vonatkozik mindez a kiemelkedően hidrofób PAH vegyületekre. A PAH *immunoassay* rendszerekhez metanol vagy acetonitril alkalmazását javasolják [23,30,31,34], és a szerves oldószer (metanol) a mi vizsgálatainkban is kedvezőnek bizonyult. Az ELISA módszer korábbi optimalizálása [34] során kimutatták, hogy a rendszer metanoltűrése kiemelkedően magas: az analitikai módszer érzékenysége és a kalibrációs görbe alakja 40% metanoltartalomig gyakorlatilag csupán elhanyagolható mértékben változott. (Az etanol is csekély hatású volt a rendszerben, ugyanakkor az acetonitril már 10% koncentráción súlyos mértékben rontotta az érzékenységet, és a propanol, dimetil-szulfoxid, aceton oldószerek is kedvezőtlennek bizonyultak.) Ennek megfelelően a talajminták extrakciójához 10% metanoltartalmú vizes elegyet alkalmaztunk.

Annak vizsgálatára, hogy a módszer talajmintákból nyert kivonat B[a]P-tartalmának meghatározására is alkalmas-e, talajmintákat mesterségesen szennyeztünk (*spike*) B[a]P standarddal 3 szinten. A GC-MS módszer mintaelőkészítési eljárásával megegyezően



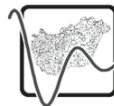
hexán–aceton 1:1 oldószereleggyel történő extrakció után a szárazra párolt mintákat 100 µl metanolban felvettük, 20 percig szonikáltuk, majd 900 µl desztillált vizet adtunk hozzá. (Átoldás 10%-os metanolba, 10x töményítés.) A vortexkeverőn jól összekevert mintákat vittük fel az ELISA lemezre. Összehasonlításként (a mátrixhatás vizsgálatára) 3 szinten *spike*-jelöltük a kiindulási talajminta kivonatát is. Minthogy az ELISA rendszer a B[a]P vegyülettel nem szennyezett kontoll talajextraktum esetén is számottevő színreakciót mutatott, és minthogy a mesterségesen szennyezett talajmintákban az ELISA módszer nem szolgáltatott a B[a]P koncentrációjával arányos jelet, a kísérlet azt bizonyította, hogy az így előkészített talajminta olyan erős mátrixhatást gyakorol a rendszerre, hogy ezzel a módszerrel a talajminták B[a]P-tartalmát nem tudjuk mérni.

Vizsgáltuk, hogy felszíni vízben felvett kalibráló görbe segítségével alkalmazható-e a rendszer vízminták mérésére. Az ELISA módszer kapcsán leírták [34], hogy az csapvízben mátrixhatás mutatkozása nélkül, a 0,1–1,0 ng/ml koncentrációtartományban 104,6 ± 6,7% visszanyeréssel alkalmazható. Felszíni vizek (folyó- és tóvíz) esetén csekély mértékű mátrixhatásról számoltak be, melyet a felszíni vizekben jelen levő oldott huminsavtartalom következményeként tudtak be. Bár a rendszerre a felszínivízminta a mi vizsgálatainkban is kimutatható mátrixhatást gyakorolt, a talajokkal ellentétben a mesterségesen szennyezett (*spike*) vízminták mérhetőek voltak felszíni vízben felvett kalibráló

görbe segítségével. Ennek alapján a mintavételi időny során vett vízmintákat ELISA megatározásnak vetettük alá. Az egyes vízminták PAH-tartalmát bemutató táblázat (*II. táblázat*) adatain jól látszik, hogy 10 minta tartalmazott statisztikailag szignifikáns, a háttérjelintenzitástól elkülönülő PAH-mennyiséget. Ezek közül 4 erősen szennyezett (9,1–16,0 ng/ml B[a]P-ekvivalens) mintát (V891, V892, V893, V920) és 6 közepesen szennyezett (3,2–6,8 ng/ml B[a]P-ekvivalens) (V955, V956, V957, V960, V962, V963) találtunk. Ez a megengedett határérték 900-1600-szorosát jelenti.

II. táblázat Poliaromás szénhidrogénnel (PAH) erősen és közepesen szennyezett vízmintákban ELISA módszerrel mért B[a]P-ekvivalens koncentrációk.

Minta	Kód	Mért
		B[a]P-ekvivalens koncentráció [ng/ml]
V891	OK1B/TV	16,02 ± 0,24
V892	OK1C/TV	10,42 ± 0,71
V893	OK1E/TV	9,12 ± 0,50
V920	OK1D/TV	9,52 ± 0,34
V955	OK1A/TV	4,45 ± 0,22
V956	OK1D/TV	3,88 ± 0,13
V957	OK1E/TV	5,42 ± 0,12
V960	OK1G/TV	3,19 ± 0,24
V962	OK1B/TV	6,13 ± 0,08
V963	OK1C/TV	4,84 ± 0,21



A meghonosított indirekt, kompetitív ELISA módszer tehát jól használható vízminták PAH-koncentrációjának meghatározására anélkül, hogy a mintákat töményíteni kellene. Sajnos a talajvizsgálatokhoz módosítanunk kell a szokásos minta-előkészítési módszert, ha PAH-vegyületekre is mérni kívánunk.

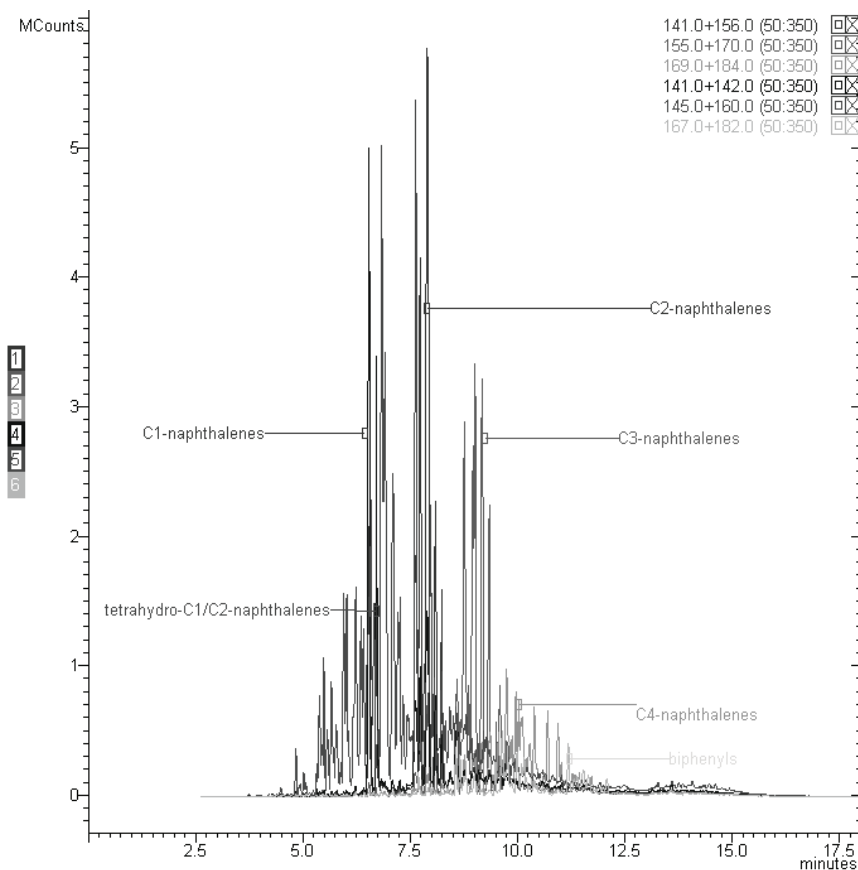
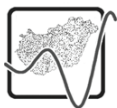
Műszeres analitikai módszer PAH kimutatására

A GC–MS módszert e vizsgálatokhoz némiképpen módosítanunk kellett, hogy az illékonyabb vegyületeket is detektálni tudjuk. Az új módszerrel végrehajtott mérések során a V891, V892 és V893

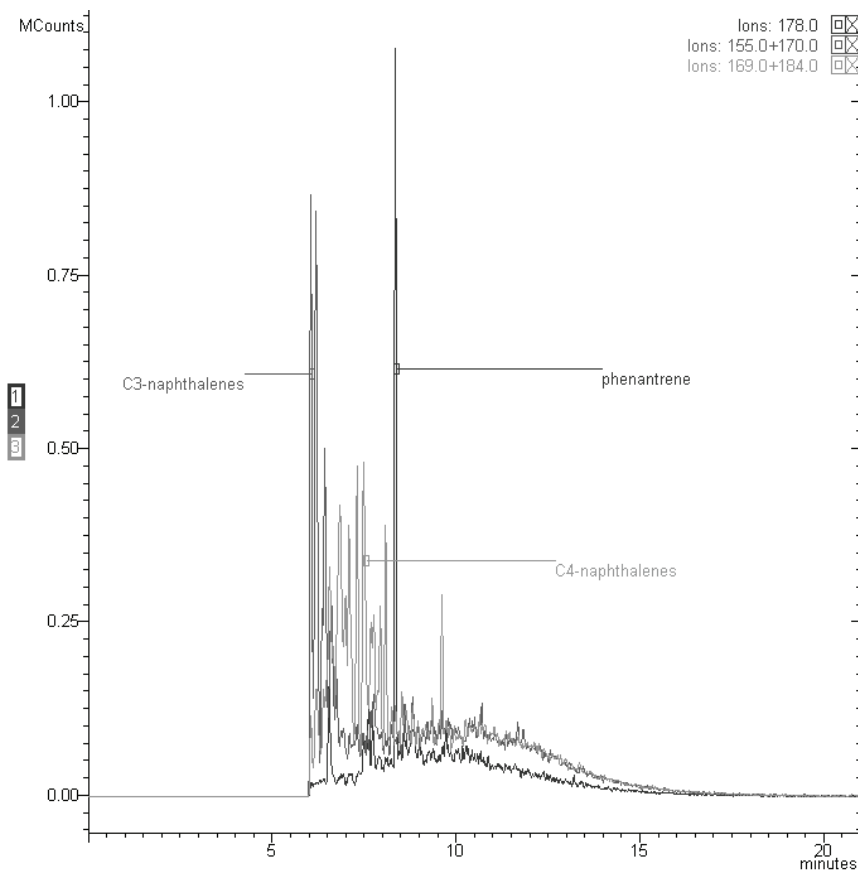
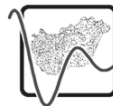
orosházi talajvízmintákat vizsgáltuk részletesebben: külön-külön azok vizes és szerves fázisait (2. és 3. ábrák). Mindezek eredményeként sikerült azonosítanunk a mintákban jelen lévő alifás és aromás szénhidrogéneket (III. táblázat). Az azonosított aromások közül BTX- és PAH-típusú szennyezők egyaránt jelen voltak a vizsgált mintákban (benzol, toluol, etil-benzol, xilolok, valamint kisebb gyűrűtagszámú (1-3) aromás szénhidrogének: fluorén, antracén, fenantrén, naftalin), illetve bifenilek mutatkoztak még kisebb arányban. (Az azonosított vegyületek a dízel üzemanyagokban és azok égéstermékeiben jellegzetesen megtalálható szénhidrogén-összetevők.)

II. táblázat A V891, V892 és V893 vízmintákbantallalt alifás és aromás szénhidrogének.

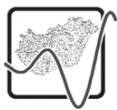
Név	Vegyülettípus	Képlet (izomerek)	Molekulatömeg (fragmens ion)	Retenciós jellemző (retenciós index)
benzol	BTX	C ₆ H ₆	78 (77)	670
toluol		C ₇ H ₈	92 (91)	780
etil-benzol		C ₈ H ₁₀	106 (91)	850
xilol		C ₈ H ₁₀	106 (91)	860
naftalin	PAH	C ₁₀ H ₈	128	1190
metil-naftalin (C ₁ -)		C ₁₁ H ₁₀ (3)	142 (141)	~1300
dimetil-naftalin (C ₂ -)		C ₁₂ H ₁₂ (10)	156 (141)	~1400
trimetil-naftalin (C ₃ -)		C ₁₃ H ₁₄ (14)	170 (155)	~1500
tetrametil-naftalin (C ₄ -)	Bifenilek	C ₁₄ H ₁₆ (22)	184 (169)	~1600
dimetil-bifenil		C ₁₄ H ₁₄	182 (167)	~1600
fenantrén	PAH	C ₁₄ H ₁₀	178 (152)	1730



2. ábra Azonosított aromás vegyületek jellemző csoportjai az orosházi kútkezelőtől származó vízminta (V892) szerves fázisában. Az ábrán az egyes vegyületcsoportokra jellemző ionok (pl. a dimetil-naftalin izomerekre a 141+156 m/z) intenzitását tüntettük fel.



3. ábra Azonosított aromás vegyületek jellemző csoportjai az orosházi küzútkezelőtől származó vízminta (V892) vizes fázisában. Az ábrán az egyes vegyületcsoportokra jellemző ionok (pl. a fenantrénre a 178 m/z) intenzitását tüntettük fel.

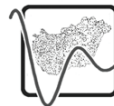


Az immunanalitikai (ELISA) és műszeres analitikai (GC-MS) vizsgálatok eredményeképpen elmondható, hogy a Münchener Műszaki Egyetem Hidrokémiai Intézetében kidolgozott ELISA rendszer [34] alkalmazhatónak bizonyult PAH vegyületek kimutatására, analitikai standardként B[a]P vegyületet alkalmazva, a 0,6–40 ng/ml B[a]P-koncentrációtartományban. A rendszer IC_{50} értéke $0,65 \pm 0,06$ ng/ml, a szigmoid standard görbe IC_{50} értéknél mutatott meredeksége $0,84 \pm 0,06$, a becsült LOD $\sim 0,6$ ng/ml értékűnek adódott. A mennyiségi meghatározást ugyanakkor zavarták a mátrix – jelen esetben a talaj és a felszíni vizek – összetevői, így a módszer oldószeres talajkivonatban nem

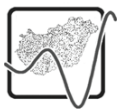
volt alkalmazható, és felszíni vizekben is mutatkozott csekély mátrixhatás. Ennek ellenére mesterségesen szennyezett felszínivízminták esetében a B[a]P-tartalom mérhetőnek bizonyult, melynek alapján a PAH-tartalmat a mintavételi időny során vett vízmintákban ELISA vizsgálattal meghatároztuk. A vizsgált vízminták közül 4 mintát erősen (9,1–16,0 ng/ml B[a]P-ekvivalens), 6 mintát közepesen (3,2–6,8 ng/ml B[a]P-ekvivalens) szennyezettnek találtunk. A felszínivízmintákat GC-MS vizsgálatnak is alávetettük, melyben szintén számottevő mennyiségű alifás és aromás szénhidrogén típusú szennyezőt detektáltunk, melyek közül az ELISA rendszer a naftalinszármazékokat mutatta ki.

Irodalomjegyzék

- [1] Zandler M 1980. Polycyclic aromatic and heteroaromatic hydrocarbons. In: The Handbook of Environmental Chemistry, Anthropogenic Compounds, Vol. 3A (Hutzinger O, Ed.), Springer, Berlin, pp. 109-131.
- [2] Lowe PP, Silverman BD 1984. Predicting carcinogenicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Acc. Chem. Res.* **17**: 332-338.
- [3] McCormick JJ, Maher VM 1985. Cytotoxic and mutagenic effects of specific carcinogen-dna adducts in diploid human fibroblasts. *Environ. Health Perspect.* **62**: 145-155.
- [4] Malia SA, Vyas RR, Basu AK 1996. Site-specific frame-shift mutagenesis by the 1-nitropyrene-DNA adduct N-(deoxyguanosin-8-y1)-1-aminopyrene located in the (CG)(3) sequence: Effects of SOS, proofreading, and mismatch repair. *Biochemistry* **35**: 4568-4577.
- [5] Lange B, Kremer S, Sterner O, Anke H 1995. Induction of secondary metabolism by environmental pollutants: Metabolization of pyrene and formation of 6,8-dihydroxy-3-methylisocoumarin by *Crinipellis stipitaria* JK 364. *Z. Naturforsch. C* **50**: 806-812.
- [6] Howard PC, Consolo MC, Dooley KL, Beland FA 1995. Metabolism of 1-nitropyrene in mice - transport across the placenta and mammary tissues. *Chem. Biol. Interact.* **95**: 309-325.
- [7] Laor Y, Farmer WJ, Aochi Y, Strom PF 1998. Phenanthrene binding and sorption to dissolved and to mineral-associated humic acid. *Water Res.* **32**: 1923-1931.
- [8] Livingstone DR 1998. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comp. Biochem. Physiol. A* **120**: 43-49.
- [9] Parkinson DR, Dust JM 2010. Overview of the current status of sediment chemical analysis: trends in analytical techniques. *Environ. Rev.* **18**: 37-59.
- [10] Brandt HCA, Watson WP 2003. Monitoring Human Occupational and Environmental Exposures to Polycyclic Aromatic Compounds. *Ann. Occup. Hyg.* **47**: 349-378.
- [11] Sauvain JJ, Vu Duc T, Guillemin M. 2003. Exposure to carcinogenic polycyclic aromatic compounds and health risk assessment for diesel-exhaust exposed workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* **76**: 443-455.
- [12] Luch A 2005. The Carcinogenic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons. Imperial College Press, London, UK.
- [13] European Council Directive 98/83/EC concerning the quality of water intended for human consumption.



- [14] Vo-Dinh T (Ed.) 1989. Chemical analysis of polycyclic aromatic compounds. Wiley, NY, USA.
- [15] Qin Z, Bragg L, Ouyang G, Niri VH, Pawliszyn J 2009. Solid-phase microextraction under controlled agitation conditions for rapid on-site sampling of organic pollutants in water. *J. Chromatogr. A* **1216**: 6979-6985.
- [16] Qin Z, Mok S, Ouyang G, Dixon DG, Pawliszyn J 2010. Partitioning and accumulation rates of polycyclic aromatic hydrocarbons into polydimethylsiloxane thin films and black worms from aqueous samples. *Anal. Chim. Acta* **667**: 71-76.
- [17] Lane D, Leithead A, Baroi M, Lee JY, Graham L 2008. The detection of polycyclic aromatic compounds in air samples by GCxGC-TOFMS. *Polycyclic Aromat. Compd.* **28**: 545-561.
- [18] Thomas W 1986. Accumulation of airborne trace pollutants by arctic plants and soil. *Water Sci. Technol.* **18**: 47-57.
- [19] Van Brummelen TC, Verweij RA, Wedzinga SA, Van Gestel CAM 1996. Enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons in forest soil near a blast furnace plant. *Chemosphere* **32**: 293-314.
- [20] Zaugg SD, Burkhardt MR, Burbank TL, Olson MC, Iverson JL, Schroeder MP 2006. Determination of semivolatile organic compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons in solids by gas chromatography/mass spectrometry. In: *Techniques and methods 5-B3*. U.S. Geological Survey, Reston, VA, USA.
- [21] Meisenacker K, Knopp D, Niessner R 1993. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for pyrene. *Anal. Meth. Instr.* **1**: 114-118.
- [22] McDonald PP, Almond RE, Mapes JP, Friedman SB 1994. PAH RIS soil test: a rapid, on-site screening test for polynuclear aromatic hydrocarbons in soil. *J. AOAC Int.* **77**: 466-472.
- [23] Knopp D, Väänänen V, Zühlke J, Niessner R. 1997. Development of an ELISA for 1-nitropyrene - a possible marker compound for diesel exhaust emissions. In: *Immunochemical technology for environmental applications* (Aga DA, Thurman EM, Eds.). American Chemical Society, Washington, DC, USA, pp. 61-76.
- [24] Krämer PM 1998. A strategy to validate immunoassay test kits for TNT and PAHs as a field screening method for contaminated sites in Germany. *Anal. Chim. Acta* **376**: 3-11.
- [25] Barcelo D, Oubina A, Salau JS, Perez S 1998. Determination of PAHs in river water samples by ELISA. *Anal. Chim. Acta* **376**: 49-53.
- [26] Kipp S, Peyrer H, Kleiböhmer W 1998. Coupling superheated water extraction with enzyme immunoassay for an efficient and fast PAH screening in soil. *Talanta* **46**: 385-393.
- [27] Székács A, Le HM, Knopp D, Niessner R 1999. A modified enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for polyaromatic hydrocarbons. *Anal. Chim. Acta* **399**: 127-134.
- [28] Li K, Chen R, Zhao BE, Roberts VA, Li QX 1999. Monoclonal antibody-based ELISAs for ppb determination of polycyclic aromatic hydrocarbons: effects of haptens and formats on sensitivity and specificity. *Anal. Chem.* **71**: 302-309.
- [29] Quelven E, Tjolllynn S, Rocher L, Mille G, Fourneron J-D 1999. Development of a monoclonal antibody against polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polycyclic Aromat. Compd.* **13**: 93-103.
- [30] Knopp D, Seifert M, Väänänen V, Niessner R 2000. Determination of PAHs in contaminated water and soil samples with immunological and chromatographic methods. *Environ. Sci. Technol.* **34**: 2035-2041.
- [31] Scharnweber T, Fisher M, Suchánek M, Knopp D, Niessner R. 2001. Monoclonal antibody to polycyclic aromatic hydrocarbons based on a new benzo[a]pyrene immunogen. *Fresenius J. Anal. Chem.* **371**: 578-585.
- [32] Nording M, Haglund P 2003. Evaluation of the structure/cross-reactivity relationship of polycyclic aromatic compounds using an enzyme-linked immunosorbent assay kit. *Anal. Chim. Acta* **487**: 43-50.
- [33] Chuang JC, Van Emon JM, Chou Y-L, Junod N, Finegold JK, Wilson NK 2003. Comparison of immunoassay and gas chromatography/mass spectrometry for measurement of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soil. *Anal. Chim. Acta* **486**: 31-39.
- [34] Matschulat D, Deng A, Niessner R, Knopp D 2005. Development of a highly sensitive monoclonal antibody based ELISA for detection of benzo[a]pyrene in water. *Analyst* **130**: 1078-1086.
- [35] Fährnich KA, Pravda M, Guilbault GG 2002. Immunochemical detection of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Anal. Lett.* **35**: 1269-1300.
- [36] Fährnich KA, Pravda M, Guilbault GG 2003. Disposable amperometric immunosensor for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using screen-printed electrodes. *Biosens. Bioelectr.* **18**: 73-82.
- [37] Moore EJ, Kreuzer MP, Pravda M, Guilbault GG 2004. Development of a rapid single-drop analysis biosensor for screening of phenanthrene in water samples. *Electroanalysis* **16**: 1653-1659.



Környezeti szerves mikroszennyezők és toxikus elemek együttes hatása *Daphnia magna* biotesztben

Combined effects of environmental organic micropollutants and toxic microelements in the *Daphnia magna* biotest

Fekete Gábor és Fejes Ágnes

G. Fekete and Á. Fejes

MTA Növényvédelmi Kutatóintézete,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

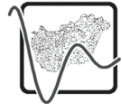
Department of Ecotoxicology and Environmental
Analysis, Plant Protection Institute, Hungarian
Academy of Sciences, Budapest, Hungary

The objective of our three-year survey has been to test the toxic effects of pesticide residues and toxic microelements in surface and ground water, as well as soil samples from industrial and intensive or ecological agricultural fields on an indicator organism. For this purpose, the immobilization test on *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) has been carried out according the specifications of the ISO 6341:1996 standard protocol. In addition to being a required test method in pesticide registration, this test is capable to detect the acute toxicity of miscellaneous water-soluble substances, treated or untreated industrial and communal sewage, as well as surface or ground water. Samples identified in previous analytical determinations to contain pesticide residues, other organic micropollutants or heavy metal contamination have been selected to be subjected to the biological test. A part of the samples originated from industrial sites was found to be severely contaminated with organic pesticides (acetochlor, atrazine, diazinon, metolachlor, terbutryn, trifluralin), exerting toxic effects on the test organism.

Az iparszerű mezőgazdasági technológia előretörésével a valaha használt természetes növényvédőszer-hatóanyagok helyébe különböző szintetikus vegyületek léptek. Ezek közül is kiemelkedően veszélyesek az ún. megmaradóképes szerves szennyezők, POP vegyületek (*Persistent Organic Pollutants*) közé tartozó klórozott szénhidrogén típusú rovarölő szerek. Ezek a hatóanyagok képesek felhalmozódni az élő szervezetekben (bioakkumuláció), illetve hatványozódva jelennek meg a tápláléklánc felső szintjei felé haladva (biomagnifikáció). E tulajdonságaik

miatt hosszú távú hatásaikkal is számolnunk kell.

A növényvédő szerek alkalmazása emellett globális mértékű problémákat is jelent. Alkalmazásuk során szennyezhetik a levegőt, a talajt, illetve felszíni- és talajvizekbe kerülésük következményeként ivóvízkészleteinket is. A nem megfelelő helyeken megjelenő növényvédő szerek a célszervezeteken kívül károsíthatják a terület élővilágát, emellett az élelmiszereinkbe is bekerülhetnek. Egy vegyület nem célterületen való megjelenésének veszélyét növeli a perzisztencia, a



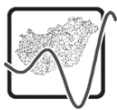
vízoldékonyság és a toxikus metabolitok keletkezése. A növényvédő szerek helyi bomlását számtalan tényező befolyásolja, ezek közül a legfontosabbak a talaj pH értéke, oxigénnel való ellátottsága és mikrobiális aktivitása [1].

Az egyes hatóanyagok akut és krónikus toxicitásának meghatározása biológiai tesztek segítségével történik, amelyek révén megítélhető ezen anyagok környezetre, illetve emberre való veszélyessége [2]. Vannak olyan növényvédő szerek, amelyek jó vízoldható tulajdonságaik miatt bekerülve a talajba, gyorsan eléri a talajvizet, és kapcsolatba kerülhetnek ivóvízkészleteinkkel. Ha egy jelentős perzisztenciájú vegyület még bizonyos mértékű vízoldékonysággal is rendelkezik, az nagymértékben szennyezheti a talajvizet. Az egyik ilyen hatóanyag az *atrazine*, amely anaerob körülmények között alig bomlik, így a talajban lefelé haladva egyre kevésbé bomlékony. A hazai vizeket tekintve, a leggyakoribb vízszennyezők az *atrazine* és az *acetochlor*, de rendszeresen előfordul a vizsgált mintákban *diazinon*, *metolachlor* és *trifluralin* is [3].

A különböző hatóanyagok együttes hatása antagonizmust és szinergizmust is eredményezhet, míg más esetekben ezen anyagok additív kölcsönhatásaival kell számolnunk. *Esisenia foelide* (giliszta) tesztben az *acetochlor* és a műtrágyaként alkalmazott karbamid keverékének alkalmazása minden dózis mellett alacsonyabb toxicitást mutatott, mint az *acetochlor* egyedüli hatása, azonos körülmények között [4]. Zooplankton – köztük *Daphnia* sp – és algák esetében egyes rovarirtó szerek

(*carbaryl*, *malathion*, *chlorpyrifos*, *diazinon*, *endosulfan*) keverékének együttes hatása nem tér el jelentősen az egyenkénti alkalmazás okozta toxicitástól, vagyis a hatások alapvizsgálatok eredményei alapján becsülhetők. Ugyanezen rovarölőket kételtűeken alkalmazva szinergista hatás mérhető. Hasonlót figyeltek meg herbicidek (*acetochlor*, *metolachlor*, *glyphosate*, *2,4-D*, *atrazine*) keverékek vizsgálatok során is [5].

A 2008-2010 időszakban különböző ipari, intenzív mezőgazdasági és ökológiai gazdálkodású termőföldekről származó felszíni-, és talajvízminták, illetve talajminták növényvédőszer-maradványainak tesztállatokra gyakorolt hatását vizsgáltuk. Célunk a mintákban jelen lévő hatóanyagok biológiai hatásainak vizsgálata volt. Az immobilizációs tesztet *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) tesztállaton az ISO 6341:1996 szabvány leírása alapján végeztük [6]. Ez a vizsgálat a növényvédőszer-hatóanyagok engedélyezési eljárásain felül alkalmas még egyéb oldható vegyi anyagok, kezelt vagy kezeletlen ipari és kommunális szennyvíz-elfolyások, illetve felszíni vagy talajvizek akut toxicitásának meghatározására [2]. Az analitikai vizsgálatok során megállapított növényvédőszer-, más szerves szennyező-, illetve nehézfém-tartalmú minták kerültek kiválasztásra biológiai tesztekre. Az ipari területekről származó minták egy részében nagymértékű szerves növényvédőszer-tartalom (*atrazine*, *acetochlor*, *diazinon*, *metolachlor*, *terbutryn*, *trifluralin*) volt kimutatható, melyek toxikus hatást gyakoroltak a tesztállatokra [7].



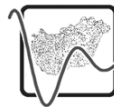
Anyag és módszer

Mintavétel. A békés megyei területekről nagyszámú talaj- és vízminta érkezett, melyek közül a vizsgálatokba ökológiai mezőgazdasági termelés alá vont, intenzív mezőgazdasági és ipari területekről származó mintákat vontunk be. A talajvíz-mintavétel eredetileg meglévő, öntözési céllal létrehozott kutakból vagy a területen lévő fűrt kutakból történt. Meglévő kút esetében a vízkivételre egyébként használt szerkezet által (szivattyú, hidrofór stb.) kivett vízből történt a vizsgálati mintavételezés. Ez esetben a minta homogén, a használatra jellemző paraméterekkel rendelkezik. Fűrt kútból nyert talajvízminta az adott rétegre jellemző vízminőséget reprezentálja. Vizsgálatainkba mindkétféle mintavételből származó talajvízmintát bevontunk. A vizsgálati minta mennyisége minimálisan 5 l volt. A beérkezett minták előzetes analitikai feldolgozása után az élő szervezetekre potenciálisan veszélyt jelentő hatóanyagokat tartalmazókat választottuk ki.

A kísérleti körülmények. Az immobilizációs tesztet *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) tesztállaton a vonatkozó szabvány [6] leírása alapján végeztük. A törzstenyészet a Palladin Biokémiai Intézetből (Kijev, Ukrajna) és a LAB Research Hungary veszprémi intézetéből származik. A tenyészetet a tesztelőírás szerinti oldatban (*Daphnia* tenyészoldat) tartottuk, melynek elkészítéséhez négyféle adott koncentrációjú sóoldat (CaCl_2 , MgSO_4 , NaHCO_3 , KCl)

25-25 ml mennyiségét elegyítettük, és 1 literre hígítottuk [6]. A megvilágítási idő napi 16 óra, a hőmérséklet 22°C volt. Az állatok táplálására *Pseudokirchneriella subcapitata* zöldalga-tenyészet szolgált. A tesztállatok érzékenységét kálium-dikromát ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) toxicitási teszttel mértük, amely során különböző koncentrációkban vizsgáltuk a tesztállatok alkalmasságát. A tesztek alapján a tenyészet megfelelőnek bizonyult a vízmintavizsgálatra, mivel az EC_{50} értékek minden esetben az elvárt 0,6 és 1,7 mg/l közé estek.

A kísérlet beállítása. A teszt során az állatoknak azon tulajdonságát használjuk, hogy megfelelő körülmények között szűznemzéssel szaporodnak. Első lépésben a törzstenyészetből kiválogattuk és kisebb főzőpohárba áthelyeztük az anyákat. Az anyaállat testében szabad szemmel is jól kivehetők a fejlődő utódok. A teszthez a maximum 24 órás fiatal állatokat használtuk, ezeket eltávolítottuk az anyák mellől. *Faeces*-poharakba a kontroll esetén 10 ml *Daphnia* tenyészoldatot, a tesztcsoport esetén 10 ml mintát mértünk ki. A tesztekét négy ismétlésben végeztük, ismétlésenként 10 állattal. 24 majd 48 óra elteltével vizsgáltuk az állatok mozgását, az immobilizációs protokoll alapján a mozgásképes egyedeket jegyeztük fel. A kísérlet befejeztével a Henderson–Tilton-képlettel számítottuk ki az immobilizáció mértékét, mely minden esetben figyelembe veszi a kontroll mortalitását [8]. Az EC_{50} értékeket statisztikai probitanalízissel számítottuk ki.



Eredmények

Az analitikai mérések során a legfontosabb talajszennyezőnek a *trifluralin* és a *metolachlor*, míg a leginkább jelenlévő vízszennyező hatóanyagnak az *acetochlor*, *atrazine*, *metolachlor*, *trifluralin*, illetve a *diazinon* bizonyult. A talaj- és vízmintákban ezen kívül összesen 14 mikroelem került meghatározásra, számos mintában a jogszabályok által meghatározott határértéken felüli mennyiségben [9]. Amint az eredményekből várható volt, a vízminták többségénél nem tapasztaltunk kiemelkedő toxicitást. Ezzel szemben kiemelkedő vagy jelentős toxicitás volt tapasztalható azon víz- és talajminták esetében, melyek erősen szennyezettek voltak nehézfémekkel és/vagy növényvédőszer-maradékokkal, jelezve ezen anyagok káros hatását *D. magna* teszttálon.

A növényvédő szerek közül értelemszerűen a rovarirtó szerek toxikus hatása a legjelentősebb a rákfélékhez tartozó vízibolhára, mivel a rovarok ellen kifejlesztett hatóanyagok nagyobb valószínűséggel okoznak károsodást egyéb ízeltlábúakon, mint a gombaölők vagy a gyomirtó szerek. Ezt jól tükrözi például a *diazinon* inszekticid hatóanyag kiemelkedően alacsony EC_{50} értéke *D. magnán* ($0,96 \mu\text{g/l}$).

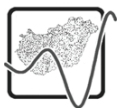
A mikroelemek toxicitása a vízibolhára – és egyéb szervezetekre – nagyban függ azok speciációjától, ezért a szakirodalomban gyakran hivatkoznak az adott elem leggyakoribb formáira. A mintákból nagy számban kimutatott mikroelemek (arén, bór, nikkel, szelén)

önállóan kismértékű toxicitást okoztak *D. magnán*. Ennek következtében toxicitás erősen szennyezett felszíni vizeknél vagy vizes talajkivonatoknál tapasztalható, főként melyeknél növényvédőszer-szennyeződés is kimutatható volt.

Számos mintában volt megtalálható egy vizekben gyakran előforduló szennyező adalékanyag, a dibutil-ftalát [10] lágyítószer. Ennek EC_{50} értéke $3,0\text{--}5,2 \text{ mg/l}$ [11], vagyis nem befolyásolta eredményeinket, ahogy azt saját vizsgálataink is megerősítették.

Az I. táblázatban jelölt „A” és „B” jelű minták erősen szennyezettek voltak *acetochlor* és *atrazine* hatóanyagokkal, emellett magas bórtartalommal rendelkeztek. Mindkét minta hígítatlan állapotban teljes mortalitást okozott a teszttálatokon. E két minta esetében 5-, 10-, és 25-szörös hígításban is elvégeztük a teszteket, és így az 50%-os mortalitást kiváltó koncentrációt sikerült meghatároznunk. A minták esetén az EC_{50} érték rendre 6,4-szeres és 13,3-szoros hígítást jelentett. E talajvízminták esetében az erős toxicitás jól mutatja az egyedi hatóanyagok illetve egyéb összetevők között lejátszódó szinergizmust, mivel az egyenkénti EC_{50} értékek nem indokolják a ténylegesen mért kiemelkedő hatást.

A „C” jelű minta esetében kevés *diazinon*-, *acetochlor*- és jelentős *metolachlor*-szennyeződés volt kimutatható (bár még ez utóbbi sem éri el a rá jellemző EC_{50} érték 1%-át a *D. magna* egyedeken). E mintánál 65%-os mortalitás volt megfigyelhető a teszttálatokon. Mivel az észlelt toxicitást



valószínűsíthetően nem a minta csekély növényvédőszer- vagy mikroelem-tartalma okozta; a biológiai hatás valamely nem kimutatható komponensnek vagy szintén az összetevők közötti szinergista reakcióknak tulajdonítható.

Ezzel szemben az „E” jelű talajvízminta nem okozott immobilizációt a tesztállaton, ami azért érdekes, mert a minta *diazinon*-tartalma ugyan nem éri el, de megközelíti a hatóanyagra vonatkozó EC_{50} értéket. Emiatt valamilyen mértékű mortalitást kellett volna tapasztalnunk. Ezek után tiszta hatóanyagot alkalmazva meghatároztuk a *D. magna* populáció *diazinon*-érzékenységét, ekkor az EC_{50} érték 0,34 ng/l (0,27–0,39 ng/l) nagyságúnak adódott. Ezt követően, *diazinont* adtunk a vízmintához, az EC_{50} értéknek megfelelő koncentrációban (*spike* oldat), így a várható eredmény teljes mortalitás lett volna. Azonban az így létrehozott mintában okozott mortalitás nem érte el ezt a mértéket, így valószínűsíthetően valamely anyag gátolta a *diazinon* hatáskifejtését. Ez a megfigyelés jelzi az antagonista hatásokat a szennyező összetevők között.

Egy másik kritikus vízmintában („D”) nagy bórkoncentráció és korlátozott (40%) toxicitás volt jellemző. Ebből szintén szintén 0,34 ng/l koncentrációjú *diazinont* tartalmazó *spike* oldatot készítettünk, mely során 100%-os mortalitást tapasztaltunk. Ez a vizsgálat a *diazinon*ra való érzékenységet, illetve a kismértékű szinergizmust mutatja bór és a *diazinon* között.

A vizsgált talajminták közül a „F” kódú minta okozott mortalitást a teszt-

állatokon. Ez a minta egyéb mikroelemek mellett kiemelkedő mennyiségű (15,4 mg/kg) arzént tartalmazott. A talajmintaszűrletek teljes mortalitást okoztak hígítatlan állapotban, az 50%-os mortalitási értéket 2,54-szeres hígításban tapasztaltuk. Ez az érték jó egyezést mutat az arzén EC_{50} értékével, ami *D. magna* tesztállaton 7,5–15 mg/l [12].

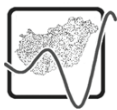
A „G” jelű minta számos különböző növényvédőszer- mikroelem-szennyeződés mellett kiemelkedő nikkeltartalommal (40,1 mg/kg) rendelkezett. E talajminta vizes szűrlete 95% immobilizációt okozott a tesztállatokon. A nikkelt EC_{50} értéke az irodalmi adatok alapján 7,3 mg/l [13], ezzel pedig összhangban van a kiváltott erős biológiai hatás.

Összegzés

Vizsgálataink a növényvédő szerek iránti érzékenységen felül arra mutatnak rá, hogy számos szennyező esetén valódi additív hatások jelentkeznek, vagyis az egyes vegyületek irodalomban megtalálható toxicitási értékei alapján jól becsülhető a többes szennyezés együttes ökotoxikológiai hatása. Több esetben azonban szinergista és antagonista hatásokat is kimutattunk, ami alapján megállapítható, hogy az egyes szennyezők hatásait nem elegendő külön-külön elemezni, hiszen a környezetben igen gyakran együtt fordulnak elő, így számolnunk kell a szennyezések és a mintákban előforduló egyéb természetes anyagok összetett kölcsönhatásaival.

I. táblázat Vízminták és talajminta-szűrletek akut toxicitása *D. magna* tesztlálaton

Minta- kód	Hatóanyag-tartalom [µg/l vagy mg/kg]					Nehézfém-tartalom [µg/l vagy mg/kg]					<i>D. magna</i> mortalitás [%] /EC ₅₀ hígítás (konf.int.)
	<i>acetochlor</i>	<i>atrazine</i>	<i>diazinon</i>	<i>metolachlor</i>	<i>terbutryn</i>	<i>trifluralin</i>	As	B	Ni	Se	
Vízminták											
A	> 1000	100	<0,001	1,66	0,18	0,8	–	609	6,0	12,6	100 / 1;6,4 (1;4,3-1;8,9)
B	> 1000	> 100	<0,001	0,56	0,35	9,0	9,6	360	15,9	23,2	100 / 1;13,3 (1;9,0-1;18,8)
C	0,18	-	0,008	55,9	–	–	8,0	145	5,0	–	65,0 ± 8,7
D	–	–	<0,001	–	–	–	–	1544	0,9	–	40,1 ± 28,3
D ^a	–	–	0,34 ^b	–	–	–	–	1544	0,9	–	100
E	–	–	0,84	–	–	–	1,8	367	2,5	–	–
E ^a	–	–	1,18 ^b	–	–	–	1,8	367	2,5	–	–
Talajminták											
F	–	–	–	–	–	0,203	15,4	30,8	37,1	0,742	100 / 1;2,5 (1;1,7-1;3,3)
G	0,005	0,2	–	0,011	–	0,011	7,81	22,7	40,1	–	94,9 ± 8,8
Referencia-értékek [µg/l]											
<i>D. magna</i> EC ₅₀	9000 ^c	87000 ^c	0,96 ^c	25000 ^c	2660 ^c	250 ^c	7500- 15040 ^d	56000- 141000 ^e	7300 ^f	430-4070 ^g	

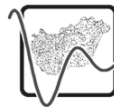


Megjegyzések az I. táblázathoz:

- ^a Hozzáadott diazinont tartalmazó minta
^b Mért és spike olat készítése során hozzáadott diazinontartalom összesen
^c A *The Pesticide Manual* [14] alapján
^d As(III), As₂O₃ speciációkra [12, 15]
^e 141000 µg/l B(III), tetraborátra, illetve 56000-66000 µg/l elemi bórra [16, 17]
^f Ni(I), NiCl₂ speciációkra [18]
^g 430-3000 µg/l Se (IV), szelenitre illetve 550-5300 µg/l Se (VI), szelenátra [13]

Irodalomjegyzék

- [1] Darvas B, Takács-Sánta A 2006. Globális környezeti problémáink, különös tekintettel a mezőgazdaságban használt vegyületekre. In: Mezőgazdasági ökotoxikológia (Darvas B, Székács A, szerk.) l'Hartmann, Budapest, pp. 12-18.
- [2] Fekete G, Fejes Á 2009. *Daphnia magna* bioteszt alkalmazása környezeti mintákon. In: Környezetanalitikai és toxikológiai indikációkon alapuló rendszer a fenntartható talajminőségért. *MONTABIO-füzetek I.* (Székács A, Illés Z, szerk.) MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Budapest, pp. 52-56.
- [3] Károly G, Györfi L, Ocsó Z 2001. Felszíni vizeink növényvédő szer szennyezettségi vizsgálatai. *Növényvédelem* **37**: 539-545.
- [4] Xiao H, Zhou QX, Liang JD 2004. Single and joint effects of acetochlor and urea on earthworm *Eisenia foetida* populations in phaeozem. *Environ. Geochem. Health* **26**: 277-283.
- [5] Relyea RA 2009. A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia* **159**: 363-376.
- [6] ISO 1996. Water quality - Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test. ISO 6431:1996
- [7] Mörtl M, Maloschik E, Juracek J, Székács A 2010. Növényvédőszer-maradékok gáz-kromatográfiás és immunanalitikai meghatározásának eredményei vizekben és talajokban. In: Komplex monitoring rendszer összehallítása talaj-mikroszennyezők analitikai kimutatására és biológiai értékelésére a fenntartható környezetért. *MONTABIO-füzetek IV.* (Székács A, Illés Z, szerk.) MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Budapest, pp. 29-39.
- [8] Henderson CF, Tilton EW 1955. Tests with acaricides against the brow wheat mite. *J. Econ. Entomol.* **48**: 157-161.
- [9] 6/2009. (IV. 14.) KvVM-EüM-FVM együttes rendelet a földtani közeg és a felszín alatti vízszennyezéssel szembeni védelméhez szükséges határértékekről és a szennyezések méréséről
- [10] Fromme H, Kuchler T, Otto T, Pilz K, Muller J, Wenzel A 2002. Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Res* **36**: 1429-1438.
- [11] Staples CA, Adams WJ, Parkerton TF, Gorsuch JW, Biddinger GR, Reinert KH 1997. Aquatic toxicity of eighteen phthalate esters. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**: 875-891.
- [12] Guilhermino L, Diamantino T, Silva MC, Soares AMVM 2000. Acute toxicity test with *Daphnia magna*: an alternative to mammals in the prescreening of chemical toxicity? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **46**: 357-362.
- [13] Martins J, Oliva Teles L, Vasconcelos V 2007. Assays with *Daphnia magna* and *Danio rerio* as alert systems in aquatic toxicology. *Environ. Int.* **33**: 414-425.
- [14] Tomlin CDS (Ed.) 2000. The Pesticide Manual, 12th Ed., British Crop Protection Council, Farnham, UK.
- [15] Lilius H, Hastbacka T, Isomaa B 1995. A comparison of the toxicity of 30 reference chemicals to *Daphnia magna* and *Daphnia pulex*. *Environ. Toxicol. Chem.* **14**: 2085- 2088.
- [16] Maier KJ, Knight AW 1991. The toxicity of waterborne boron to *Daphnia magna* and *Chironomus decorus* and the effects of water hardness and sulfate on boron toxicity. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **20**: 282-287.
- [17] Strigul N, Vaccari L, Galdun C, Wazne M, Liu X, Christodoulatos C, Jasinkiewicz K 2009. Acute toxicity of boron, titanium dioxide, and aluminum nanoparticles to *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*. *Desalination* **248**: 771-782.
- [18] Pedersen F, Petersen GI 1996. Variability of species sensitivity to complex mixtures. *Water Sci. Technol.* **33**: 109-119.



Az Ames és SMART mutagenitási tesztek alkalmazása környezeti mintákon

Application of the Ames and SMART mutagenicity tests on environmental samples

Bokán Katalin és Darvas Béla

MTA Növényvédelmi Kutatóintézete,
Ökotoxikológiai és Környezetanalitikai
Osztály, Budapest

K. Bokán and B. Darvas

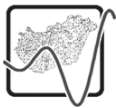
Department of Ecotoxicology and Environmental
Analysis, Plant Protection Institute, Hungarian
Academy of Sciences, Budapest, Hungary

Mutagenicity assessment methods within our ongoing environmental monitoring activities include the standardized microbial Ames test utilizing mutant *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* strains, as well as the so-called Somatic Mutation and Recombination Test (SMART) relying on special strains of the Mediterranean fruit (*Drosophila melanogaster*). The Ames test detects mutagenic effects on prokaryotic microorganisms by point mutations, while the SMART test indicates chromosome fragmentation and chromosomal aberrations on *D. melanogaster*. The pesticide 2,4-D was found to exert no effect in the Ames test neither alone as active ingredient, nor in formulation (as herbicide preparation DESORMON). Similarly, no mutagenic effect of selected surface water samples containing residues of pesticide active ingredients acetochlor, atrazine, metolachlor, terbutryn, trifluralin at high concentrations, and subsequently exert toxicity in the *Daphnia magna* biotest, was found in the Ames test. In contrast, 2,4-D showed slight mutagenicity in the SMART test. However, selected surface water and soil samples, proven to contain pesticide residues and/or toxic microelements at high concentrations resulted in no significant effects in the same somatic mutation test.

A növényvédelem során felhasznált anyagok, így a növényvédő szerek is hosszabb-rövidebb ideig a környezetünkben maradnak, bekerülnek a talajba, vizeinkbe, kölcsönhatásba kerülhetnek az ott élő szervezetekkel, feldúsulhatnak, akumulálódhatnak a táplálékláncban. Bizonyított, hogy a rákos megbetegedések közel 90%-át a környezetünket szennyező mutagének okozzák [1]. Jelenleg Magyarországon közelítőleg 300 ezer fő szenved daganatos betegségben [2], ezért a környezetbe juttatott

vegyszerek, így a növényvédő szerek mutagenitásának vizsgálata is elengedhetetlenül fontos feladatunk.

Munkánk során környezeti minták monitorozását végezzük az egész országra kiterjedően. Talajszűrletekben, felszíni és talajvizekben kimutatható növényvédőszer-maradékok esetleges mutagén hatásainak vizsgálatát végezzük. Ehhez két tesztrendszert honosítottunk meg laboratóriumunkban, melyek együtt átfogó képet nyújtanak a vizsgált mintákról: míg az Ames-teszt



mikroorganizmusokat használ teszt-szervezetként, és pontmutációkat detektál, addig a SMART tesztben *Drosophila melanogaster* a célszervezet, és kromoszómatoréses mutációkról ad információt [3].

Az Ames-teszt

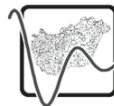
A prokarióta egysejtűeket alkalmazó tesztek legnagyobb előnye, hogy a felhasznált teszt-szervezetek egyszerűen kezelhetők, s az eljárások viszonylag gyors eredményt adnak, így költség-hatékonyak. Ezekkel az eljárásokkal génmutációkat (kereteltolódás, bázispárcsere) detektálhatunk. A legnépszerűbb eljárásnak máig az Ames-teszt mondható. A teszt során a mutagén hatású anyagok a tesztelésekben használt, eleve mutációt tartalmazó baktériumokban pontmutációt indukálva (revertálva a fennálló mutációt, vagyis a vad típust visszaállítva) helyreállítják a mutáns törzsek kieső aminosav-szintetizáló képességét. Ez az aminosav a *Salmonella typhimurium* törzsek esetében a hisztidin, az *Escherichia coli* WP2 *uvrA* esetében a triptofán. A reverzió populációt érintő gyakorisági értéke arányos a mutagén hatással [4].

A bakteriális teszt önmagában vagy oxidatív metabolizáló enzimek jelenlétében is elvégezhető a vizsgált anyag a lebontó rendszerek átalakító folyamatai nyomán tapasztalható hatásmodellezésére. E célra az S9-nek nevezett, patkányból vagy szíriai aranyhőrcsőgből származó májkivonat mikroszomális és citoszolikus frakcióiban található lebontó enzimeket tartalmaz [4-7].

A MONTABIO pályázat keretében 2008-ban létrehoztunk egy steril laboratóriumot, és mikrobiológiai munka végzésére alkalmassá tettük azt. Beszerzésre került három, a standard eljárásokban alkalmazott baktériumtörzs (*Escherichia coli* WP2, *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 1537).

Elvégeztük az Ames tesztet a 2,4-D gyomirtószer-hatóanyag vizsgálatára (*I. táblázat*). Ez a fenoxiecetsav típusú vegyület napjainkban széles körben elterjedt, szelektíven alkalmazható auxinhatású herbicidek hatóanyaga. A teszt elvégzését indokolta, hogy a DDT és atrazin mellett a hazai talajokban a 2,4-D a harmadik leggyakrabban előforduló növényvédőszer-maradék [8]. Mindhárom alkalmazott törzs esetében negatív eredményt kaptunk a tesztben, mely a nemzetközi eredményekkel is összecseng – a teszt során a vizsgált anyaggal kezelt Petri-csészékben a kontrollhoz képest nem jelent meg szignifikánsan több revertáns kolónia. Így egyúttal validáltuk is teszt-rendszerünket az irodalomban már elvégzett kísérletek reprodukálásával.

Mivel azonban a legtöbb fenoxi-ecetsav típusú herbicidhez hasonlóan a 2,4-D hatóanyagú gyomirtók is szennyezettek lehetnek dioxinokkal, így vizsgálataink folytatásaként elvégeztük egy 2,4-D hatóanyagú termék tesztjét is (*II. táblázat*) Tesztjeinkhez a DESORMON készítményt választottuk, melyet a Nufarm Hungária Kft. bocsájtott rendelkezésünkre. A tesztek eredményei alapján elmondható, hogy a DESORMON nem okoz az Ames teszt által kimutatható pontmutációkat.



További vizsgálataink során talajvíz-minták értékelését végeztük el, melyek *Daphnia magna* tesztben magas toxicitást mutattak. A V676, V677 és V679 minták ipari szennyezés után elvileg megtisztított kutakból származtak, azonban méréseink szerint a területek továbbra is jelentős mennyiségben

tartalmaznak növényvédőszer-maradványokat (*acetochlor*, *atrazine*, *terbutryn*, *metolachlor*, *trifluralin*). Az előzetes biológiai tesztek pozitív eredményével szemben azonban mutagén hatást ezen felszínvíz-mintákon nem detektáltunk az Ames teszt alkalmazásával (III-V. táblázatok).

I. táblázat Az Ames-teszt eredménye 2,4-D hatóanyag vizsgálatokor.

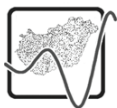
Dózis / lemez	Mutációs faktor (MF)			
	TA100		<i>E. coli</i>	
	[μg]	-S9	+S9	-S9
5000	0,58 (79)	1,17 (108,5)	1,40 (210,5)	1,24 (224,5)
2000	0,73 (99,5)	1,46 (135,5)	1,27 (191)	0,95 (171)
800	0,76 (103,5)	1,46 (136)	1,43 (215)	1,44 (259,5)
320	0,77 (104,5)	1,52 (140)	1,37 (205)	1,06 (191,5)
156	0,80 (109,5)	1,40 (130,5)	1,07 (161)	1,26 (227,5)
Oldószeres kontroll	<i>1</i> (136,5)	<i>1</i> (93)	<i>1</i> (150)	<i>1</i> (180,5)
Pozitív kontroll	4,77 (460)	2,38 (221)	13,67 (2132)	12,19 (2200)

MF: az oldószeres kontrollhoz viszonyított mutációs faktoral kifejezve, zárójelben a revertáns telepek átlagos száma.

II. táblázat Az Ames-teszt eredménye DESORMON készítmény vizsgálatokor.

Dózis / lemez	Mutációs faktor					
	TA100		TA1503		<i>E. coli</i>	
	[µg]	-S9	+S9			
5000	0,58 (70)	0,79 (130)	1,08 (4,7)	1,2 (6)	0,92 (242)	0,8 (284)
2000	0,50 (60)	0,91 (150)	0,85 (3,7)	1,07 (5,3)	1,14 (300)	0,82 (266)
800	0,91 (110)	1,1 (180)	0,77 (3,3)	1,53 (7,7)	1,09 (288)	1,11 (362)
320	1,05 (127)	0,63 (103)	0,77 (3,3)	1,4 (7)	1,56 (412)	1,35 (440)
128	0,80 (96,3)	0,53 (86,3)	1,23 (5,3)	1,33 (6,7)	1,34 (353)	1,14 (371)
Oldószeres kontroll	<i>1</i> (121)	<i>1</i> (164)	<i>1</i> (4,3)	<i>1</i> (5)	<i>1</i> (264)	<i>1</i> (325)
Pozitív kontroll	7,54 (920)	5,68 (932)	290 (1256)	8,13 (40,7)	5,2 (1440)	5,46 (1776)

MF: az oldószeres kontrollhoz viszonyított mutációs faktoral kifejezve, zárójelben a revertáns telepek átlagos száma.



III. táblázat Az Ames-teszt eredménye a V676 talajvízminta vizsgálatakor.

Dózis / lemez	Mutációs faktor					
	TA100		TA1503		<i>E. coli</i>	
	[μg]	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
5000	0,22 (5)	1,08 (30,7)	0,08 (10)	0,9 (121)	0,25 (12)	0,65 (31,3)
2000	0,31 (7)	1,05 (29,7)	0,06 (8)	0,88 (119)	0,38 (18)	0,89 (45)
800	0,46 (10,3)	1 (28,3)	0,5 (64,7)	0,89 (121)	0,71 (33,7)	1,09 (55)
320	0,88 (20)	1,11 (31,3)	0,45 (57,7)	0,88 (120)	0,81 (38,3)	1,11 (56,3)
128	0,94 (21,3)	0,93 (26,3)	0,92 (117,7)	0,82 (112)	10,8 (38)	0,97 (49,3)
Oldószeres kontroll	<i>1</i> (22,7)	<i>1</i> (28,3)	<i>1</i> (128,3)	<i>1</i> (135)	<i>1</i> (47,3)	<i>1</i> (50,7)
Pozitív kontroll	19,49 (441,7)	58 (1643)	10,16 (1138)	15,17 (2063)	20,66 (860)	4,78 (242)

MF: az oldószeres kontrollhoz viszonyított mutációs faktorról kifejezve, zárójelben a revertáns telepek átlagos száma.

IV. táblázat Az Ames-teszt eredménye a V677 talajvízminta vizsgálatakor.

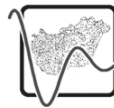
Dózis / lemez	Mutációs faktor					
	TA100		TA1503		<i>E. coli</i>	
	[µg]	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9
5000	0,88 (20)	1,08 (30,7)	0,78 (100)	0,89 (121)	0,25 (12)	0,62 (31,3)
2000	0,88 (20)	1,05 (29,7)	0,7 (90)	0,88 (119)	0,38 (18)	0,89 (45)
800	0,46 (10,3)	1,0 (28,3)	0,5 (64,7)	0,89 (121)	0,71 (33,7)	1,09 (55)
320	0,88 (20)	1,11 (31,3)	0,45 (57,7)	0,88 (120)	0,81 (38,3)	1,11 (56,3)
128	0,94 (31,3)	0,93 (26,3)	0,92 (117)	0,82 (112)	0,8 (38)	0,97 (49,3)
Oldószeres kontroll	<i>1</i> (22,7)	<i>1</i> (28,3)	<i>1</i> (128,3)	<i>1</i> (136)	<i>1</i> (47,3)	<i>1</i> (50,7)
Pozitív kontroll	19,4 (441)	58 (1643,3)	10,16 (1138)	15,17 (2063)	20,66 (860,7)	4,78 (242)

MF: az oldószeres kontrollhoz viszonyított mutációs faktorról kifejezve, zárójelben a revertáns telepek átlagos száma.

A SMART-teszt

Míg az Ames teszt a pontmutációk detektálására ad lehetőséget, az általunk választott másik tesztrendszer a magasabb rendű szervezetekben előforduló kromoszóma mutációkat

deríti fel. A kísérlet során a tesztállatként használt ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) lárváját kezeljük a vizsgálandó szerrel, mely, ha mutagén volt, úgy a kifejlődő imágók szárnyán fenotipusos változásokat hoz létre [9]. A mért hatások értékelésére



V. táblázat Az Ames-teszt eredménye a V679 talajvízminta vizsgálatakor.

Dózis / lemez	Mutációs faktor					
	TA100		TA1503		<i>E. coli</i>	
[μg]	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
5000	0,64 (7)	0,79 (9)	0,5 (3,3)	0,82 (3)	0,96 (35,3)	1,01 (54,7)
2000	0,73 (8)	0,71 (8)	0,3 (2)	1,18 (4,3)	1,24 (45,3)	0,96 (51,7)
800	0,88 (9,7)	0,97 (11)	0,7 (4,7)	1,36 (5)	1,21 (44,3)	1,02 (55,3)
320	0,82 (9)	0,65 (7,3)	0,8 (5,3)	1,36 (5)	1,03 (37,7)	1,04 (56)
128	0,85 (9,3)	1,24 (14)	0,55 (3,7)	1,55 (5,7)	1,12 (41)	1,0 (54)
Oldószeres kontroll	1 (11)	1 (11,3)	1 (6,7)	1 (3,7)	1 (36,7)	1 (54)
Pozitív kontroll	185 (1726)	37,82 (428,7)	23,4 (156)	39,45 (144,7)	25,74 (986,7)	2,77 (149,3)

MF: az oldószeres kontrollhoz viszonyított mutációs faktorról kifejezve, zárójelben a revertáns telepek átlagos száma.

az f frekvenciát (a mutációs gyakoriság) alkalmaztuk az alábbi képlet alapján

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

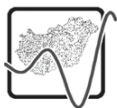
ahol n mozaikfoltok száma; m a mozaikfoltok átlagos mérete; C a szárnyat alkotó sejtek száma és N a vizsgált szárnyak száma. A kezeletlen kontroll esetében az $f = 6 \times 10^{-5}$, míg a pozitív kontroll formaldehid (1,5 g/l) esetében $f = 9 \times 10^{-4}$ volt.

A kísérletekben használt *Drosophila* törzsek a törökországi Antalyai Egyetem Biológiai Tanszékéről, Prof. Bülent Kayától származnak [10], akitől a módszert elsajátítottuk. Az első évben elvégzett kísérletek során optimalizáltuk a módszert növényvédőszer-hatóanyagok vizsgálatára: elvégeztük az *atrazine*, *glyphosate*, és *2,4-D* tesztelését. Ennek folytatásaként 2009-ben tovább folytattuk a magyarországi talajokban és vizekben leggyakrabban

előforduló növényvédőszer-hatóanyagok (*terbuthylazin*, *chlorothalonil*, *delta-methrin*) vizsgálatát (VI. táblázat).

Tesztjeink során a *2,4-D* fennakadt a vizsgálatokon: 125 mg/l-es dózisban a mutációs gyakoriság $5,3 \times 10^{-3}$ volt, ami egy nagyságrenddel nagyobb a pozitív kontroll mutációs gyakoriságánál. A kapott eredmények a további, általunk tesztelt növényvédőszer-hatóanyagok esetében rendre egy vagy két nagyságrenddel kisebbek, mint a pozitív kontrollként alkalmazott formaldehid esetében számolt mutációs gyakoriság, ezért a vizsgált hatóanyagok a SMART tesztben nem mondhatóak mutagénnek.

A továbbiakban elvégeztük néhány talajvíz- és talajminta vizsgálatát (VII. táblázat). Az Ames teszt kapcsán már ismertetett V676, V677 és V679 számú vízminták mellett még elemzésre került a V702-es minta, mely magas börtartalmával és *Daphnia* tesztben mért



VI. táblázat Növényvédőszer-hatóanyagok vizsgálata SMART teszttel.

Hatóanyag	Dózis [mg/l]	A vizsgált szárnyak száma (N)	Mozaikfoltok száma (n)	Mozaikfoltok átlagos mérete (m)	Mutációs gyakoriság (f)
2,4-D	25	26	1	2	$2,56 \cdot 10^{-6}$
	125	75	12	1002	$5,3 \cdot 10^{-3}$
glyphosate	160	45	2	2,4	$3,55 \cdot 10^{-6}$
	800	32	10	3	$3,2 \cdot 10^{-5}$
atrazine	80	10	4	2	$2,7 \cdot 10^{-5}$
	800	16	6	32	$4 \cdot 10^{-4}$
terbutylazine	20	30	1	2	$2,22 \cdot 10^{-5}$
	100	36	5	2,8	$1,3 \cdot 10^{-5}$
chlorothalonil	1,8	32	7	3,5	$2,55 \cdot 10^{-5}$
	9	30	5	3,6	$2 \cdot 10^{-6}$
delthametrin	5	28	1	2	$2,38 \cdot 10^{-6}$
	25	32	3	2,66	$8,312 \cdot 10^{-6}$
	125	30	3	2	$6,66 \cdot 10^{-6}$
Kezeletlen kontroll	–	36	12	5,3	$6 \cdot 10^{-5}$
Pozitív kontroll (formaldehid)	1500	36	19	5,1	$9 \cdot 10^{-4}$

f: A mutáció mértékét a mutációs gyakoriság (f) jelzi.

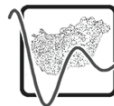
40%-os mortalitási értékével hívta fel magára a figyelmet. Emellett vizsgáltunk két talajmintát is melyekben a peszticid szermaradékok mellett mikroelemek is megtalálhatóak voltak: a T379-ben az arzéntartalom volt kiemelkedően magas (15 mg/kg), a T460-ban pedig nikkel volt magas koncentrációban (40,1 mg/l) mérhető.

Vizsgálataink azonban kimutatták, hogy a magas peszticid maradék, és esetenként a szintén magas mikroelem-tartalom ellenére ezek a környezeti minták SMART tesztben nem mutagének, tehát kromoszómatoréses mutációt nem okoznak.

Végezetül elmondható, hogy a vizsgálataink kiindulópontjául szolgáló,

a Magyar Genetikusok Konferenciáján elhangzott állítás, mely szerint a magyarországi talajok mutagenitás tesztben pozitív eredményt adnak, nem bizonyosodott be. Az általunk vizsgált, szennyeződéseket és szermaradékokat bizonyítottan tartalmazó hazai víz- és talajminták sem Ames-, sem SMART tesztben nem mutattak mutagén hatást, azaz sem kromoszómatoréses, sem pontmutációt nem okoznak.

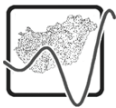
Megbizonyosodtunk továbbá arról is, hogy az Ames- és SMART mutagenitási tesztek együttes alkalmazása, analitikai vizsgálatokkal és biológiai toxicitási tesztekkel kiegészítve komplex képet nyújthat a vizsgált környezeti minták minőségéről.



VII. táblázat Talajvizek és talajextraktumok vizsgálata SMART teszttel.

Minta	Dózis [mg/l]	A vizsgált szárnyak száma (N)	Mozaikfoltok száma (n)	Mozaikfoltok átlagos mérete (m)	Mutációs faktor (MF)
V677 (GYN1E/TV)	5	18	3	3	$1,6 \cdot 10^{-5}$
	10	17	4	2,5	$1,9 \cdot 10^{-5}$
	20	20	3	2	10^{-5}
V679 (GYN1G/TV)	5	16	2	2,5	$1,04 \cdot 10^{-5}$
	10	18	3	3,3	$10,83 \cdot 10^{-5}$
	20	18	1	3	$5,5 \cdot 10^{-6}$
V676 (GYN1D/TV)	5	30	5	3,6	$2 \cdot 10^{-6}$
	10	27	2	3	$7,4 \cdot 10^{-6}$
	20	22	3	3	$1,36 \cdot 10^{-5}$
V702 (CS2/TV)	5	32	10	3	$3,2 \cdot 10^{-5}$
	10	24	5	4,2	$2,91 \cdot 10^{-5}$
	20	29	7	4,1	$3,29 \cdot 10^{-5}$
T379 (KT2A/SZ)	5	21	4	2,5	$1,58 \cdot 10^{-5}$
	10	28	5	2	$1,19 \cdot 10^{-5}$
	20	27	8	3,1	$3,06 \cdot 10^{-5}$
T460 (GYN1E/3)	5	25	3	3	$1,2 \cdot 10^{-5}$
	10	26	6	2,1	$1,61 \cdot 10^{-5}$
	20	25	6	3	$2,4 \cdot 10^{-5}$
Kezeletlen kontroll	–	36	12	5,3	$6 \cdot 10^{-5}$
Pozitív kontroll (FA)	1500	36	19	5,1	$9 \cdot 10^{-4}$

MF: A mutáció mértékét a mutációs faktor jelzi.



Irodalomjegyzék

- [1] Szabad J 1987. Rákkeltő tényezők szűrése muslica mozaikokkal. *Tudomány* **2**: 51-56.
- [2] Egészségügyi Minisztérium 2006, Nemzeti Rákellenes Program. Egészségügyi Szakképző és Továbbképző Intézet, Budapest.
(<http://www.motesz.hu/docs/NemzetiRakellenesProgram.pdf>)
- [3] Bokán K, Darvas B 2009. Az Ames- és SMART mutagenitási alkalmazhatósága környezeti mintákon. In: Környezetanalitikai és toxikológiai indikációkon alapuló rendszer a fenntartható talajminőségért. *MONTABIO-füzetek I.* (Szőkács A, Illés Z, szerk.) MTA Növényvédelmi Kutatóintézete, Budapest, pp. 57-60.
- [4] 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. U.S.A.* **70**: 782-786.
- [5] Maron DM, Ames BN 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.* **113**: 173-215.
- [6] Mortelmans K, Zeiger E 2000. The Ames *Salmonella*/microsome mutagenicity assay. *Mutat. Res.* **455**: 29-60.
- [7] Hakura A, Shimada H, Nakajima M, Sui H, Kitamoto S, Suzuki S, Satoh T 2007. *Salmonella*/human S9 mutagenicity test: a collaborative study with 58 compounds. *Mutagenesis* **20**: 217-228.
- [8] Maloschik E, Ernst A, Hegedűs Gy, Darvas B, Székács A 2007. Monitoring water-polluting pesticides in Hungary. *Microchem. J.* **85**: 88-97.
- [9] Graf U, Würigler FE, Katz AJ, Frei H, Juon H, Hall CB, Kale PG 1984. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.* **6**: 153-188.
- [10] Kaya B, Marcos R, Yanikoğlu A, Creus A. 2004. Evaluation of the genotoxicity of four herbicides in the wing spot test of *Drosophila melanogaster* using two different strains. *Mutat. Res.* **557**: 53-62.



Nemzeti Kutatási és Technológiai Hivatal



Megaterra Kft.



1949-2009

