



SAPIENTIA ERDÉLYI MAGYAR TUDOMÁNYEGYETEM
KOLOZSVÁRI KAR
KÖRNYEZETTUDOMÁNY TANSZÉK

**Standard ökotoxikológiai tesztek alkalmazása nyomnyi
mennyiségű szerves vegyületek környezeti kockázatbecslésére**

XXXVII. ORSZÁGOS TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI KONFERENCIA

Székely-Varga Szilárd

2. évf. Környezettudomány szak

Témavezetők: Dr. habil. Tonk Szende-Ágnes egyetemi docens

Dr. Rápó Eszter egyetemi adjunktus

Pécs, 2025. április 22-25.

TARTALOMJEGYZÉK

KIVONAT	1
1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	2
1.1. Az ökológia fogalma	2
1.2. A toxikológia, mint tudományág	3
1.3. Az ökotoxikológia meghatározása	4
1.4. Standard ökotoxikológiai tesztek	6
1.5. Vízszennyezés és forrásai	10
1.6. Célkitűzések, hipotézis	16
2. A KUTATÁS MÓDSZERTANA	17
2.1. Mintaelőkészítés, oldatsorozat elkészítése	17
2.2. Adatfeldolgozás	18
2.3. Sztereoszkópos vizsgálatok	19
3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	20
3.1. Csírázás	20
3.2. Standard teszt számított mutatói	22
3.2.1. <i>Salátamagra kifejtett hatás</i>	22
3.2.2. <i>Mustármagra kifejtett hatás</i>	24
3.3. Sztereoszkópos vizsgálatok	29
3.3.1. <i>Mustár csírák vizsgálata</i>	29
3.3.2. <i>Saláta csírák vizsgálata</i>	30
3.4. Szakirodalmi összehasonlítás	33
4. KÖVETKEZTETÉSEK	36
5. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	37
6. IRODALOMJEGYZÉK	38
7. MELLÉKLET	44
7.1 Saját eredmények	44

KIVONAT

Első használatát követően (Ernst Haeckel, 1866) az ökotoxikológia kifejezés értelmezése számos pontosítást kapott, viszont ökotoxikológia alatt a mérgező szennyező anyagok ökoszisztémákra gyakorolt káros hatásainak vizsgálatát értjük.

A tudományág fontosságát és fejlődését a környezetünk minőségi romlása, a rohamos ipari melléktermék- és hulladéktermelés, valamint gyakran ezek ipari balesetei formálják. Ezen forrásokból diverz típusú és mennyiségű szennyezőanyag kerül a környezetbe. Tudjuk azt is, hogy ezen források eredményezik, hogy az édesvízi rendszerek, ökoszisztémák egyik legfontosabb környezeti problémája az antropogén kémiai stresszorok világszerte növekvő nyomása.

Annak ellenére, hogy a vegyi anyagoknak a többsége elszórtan, nyomnyi mennyiségben és alacsony koncentrációban vannak jelen, mégis komoly ökotoxikológiai aggályokat vetnek fel. Tekintettel arra, hogy komplex vegyületek, azonfelül pedig összetett keverék formájában is előfordulnak egyéb átalakulási termékekkel, illetve ismeretlen vegyi anyagokkal is kölcsönhatásba léphetnek.

A környezeti veszélyértékelési keretrendszer különböző standard tesztekkel használ, vizsgálva a szennyezőanyagok (pl. szerves vegyületek) kockázatbecslését, melynek eredményeképpen értékelik a szennyezés hatásait az élőlények túlélésre, növekedésre, szaporodásra és viselkedésükre vonatkozóan.

Kutatásunkban mikroszennyező antibiotikumok környezeti hatását vizsgáltuk standard teszt alapján. Felmértük az ökológiai kockázatértékelést a növények csírázására és fejlődésére vonatkoztatva. Célunk volt továbbá, a forgalomban levő, illetve kémiai tisztaságú hatóanyagok toxicitásának összehasonlítása is.

1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az ökotoxikológia a 21. század tudományának egyik exponenciálisan fejlődő ágazata, melynek szerepe a környezetbe jutó toxikus anyagok vizsgálata és elemzése. Napjainkban különös figyelmet kell fordítani az újonnan megjelenő szennyezők iránt, mivel hosszú távú hatásaiak még ugyan nem bizonyítottak, de sok jót nem rejtegetnek az emberiség számára. A standard ökotoxikológiai tesztek alkalmasak különböző szerves mikroszennyezők környezetre kifejtett, esetlegesen kockázatos hatásának feltárására.

1.1. Az ökológia fogalma

Az ökológia (görögül: *oikosz* = lakás, ház, háztartás) fogalmának első említése Ernst Haeckel, német biológus nevéhez fűződik, aki 1866-ban használta először a terminust a *Generelle Morphologie* című könyvében. Ez a könyv volt az első azok sorában, amelyeket a darwinizmus elterjesztése érdekében írt. Haeckel (1834-1919) Merseburgban nőtt fel, édesapja kormánytisztviselő volt. Már a würzburgi egyetemen végzett orvosi tanulmányai idején komoly érdeklődést mutatott Darwin utazásai iránt (Stauffer, 1957). 1854 nyarán anatómia és fiziológia professzora, Johannes Müller társaságában egy expedíción vett részt Helgoland partvidékén, melynek célja a kis tengeri lények megfigyelése volt. Az itt tett észrevételek mentén folytatta professzora munkáját, immáron Messzinában, ahol a protozoák egyik csoportját, a sugárállatkákat (Radiolaria) vizsgálta, melyek váza kristály formájú. Ezek alapján később azt állította Haeckel, hogy a legrövidebb szerves élet spontán módon, szervetlen anyagból, kristályosodás által keletkezett (Robinson G., 2024). A fordulópontot Darwin 1859-es, *A fajok eredete* című könyve jelentette számára: „Miután 1860-ban visszatértem Olaszországból, amikor megismertem Darwin munkáját, amikor megláttam benne a legnehezebb filozófiai problémák mechanisztikus vagy monisztikus megoldásához előkészített utat, akkor kezdett bennem kialakulni egy olyan egységes életszemlélet, amellyel szemben már csak néhány régóta megszokott és szeretett hitcikkem tudott tovább kitartani” (Stauffer, 1957) (Haeckel 1874, 333. o.). A *Sugárállatkák* című könyvében kifejezte egyetértését Darwin evolúciós elméletével kapcsolatban, ettől a ponttól fogva pedig a darwinizmus támogatójává vált. Haeckel az evolúcióban látta az egész természet egységes magyarázatának alapját, és egy olyan filozófiai megközelítés logikáját, amely tagadta a végső okokat és az egyház teleológiáját. *A szervezetek általános morfológiája (Generelle Morphologie*

der Organismen) című művében számos evolúciós elképzelését bemutatta (Robinson G., 2024). Ez volt az a mű, amely elősegítette az ökológia, mint tudományos fogalom elterjedését.

A 20. századi magyar ökológia legnagyobb alakja, Juhász-Nagy Pál értelmezésében az ökológia azzal foglalkozik, hogy miért nem élhetnek az élőlények bárhol, bármikor, bármekkora számban a Földön. Széchenyi-díjas biológus, ökológus, a Magyar Tudományos Akadémia tagja volt. Felsőoktatási tanulmányait az ELTE biológia-kémia szakán végezte. Előbb Debrecenben, a Kossuth Lajos Tudományegyetemen, majd az ELTE Növényrendszertani és Ökológia Tanszékén tanított. Igazi reneszánsz életszemlélet jellemezte, szakterületén kívül a tudomány többi ágazatában is megállta helyét (Gyires Klára és Füst Zsuzsanna, 2011).

Összefoglalva, az ökológia a biológia azon ága, amely az élőlények és környezetük közötti kapcsolatokat vizsgálja. Azt tanulmányozza, hogy az élőlények hogyan lépnek kölcsönhatásba egymással és fizikai környezetükkel, beleértve a többi élő szervezetet, a légkört, a vizet és a talajt. Az ökológia arra törekszik, hogy megértse az ökoszisztémák szerkezetét, működését és dinamikáját, valamint azt, hogy az emberi tevékenységek hogyan hatnak a természeti világra. Ez egy olyan tudományág, amely segít megérteni a földi élet összetett hálóját, és tájékoztatja a természetvédelmi és erőforrás-gazdálkodási erőfeszítéseket.

1.2. A toxikológia, mint tudományág

A toxikológia, azaz a méregtan, a mérgek kémiai és fizikai tulajdonságaival, az élő szervezetekre gyakorolt hatásaikkal, valamint a mérgezések kezelésére szolgáló eljárások kidolgozásával foglalkozik. Toxikus anyagnak tekintünk minden olyan anyagot, amelyet megfelelő mennyiségben adagolva betegséget vagy halált okoz. Ahogy a XVI. századi orvos, Paracelsus (1493-1541), aki egyértelműen tisztában volt a dózis-válasz összefüggéssel, megjegyezte: *„Minden anyag mérge; nincs olyan, ami ne lenne mérge. A megfelelő dózis különbözteti meg a mérget az orvosságtól”*. Paracelsus megállapította, hogy egy növényi vagy állati mérge mérgező hatásáért valójában konkrét vegyi anyagok felelősek. Azt is dokumentálta, hogy a szervezet reakciója ezekre a vegyi anyagokra a kapott dózistól függ. Vizsgálataiból kiderült, hogy egy anyag alacsonyabb dózisa ártalmatlanok vagy hasznosak lehetnek, míg a nagyobb dózisok mérgezőek. Ez ma a dózis-válasz kapcsolatként ismert, amely a toxikológia egyik fő fogalma. Például a cianid, az arzén, az ólom és a diklór-difenil-triklór-etán (DDT) parányi mennyiségeit rendszeresen lenyeljük az élelmiszerekből, vagy belélegzünk környezeti szennyeződésként, és az emberi szervezetben megmaradnak. A toxikológia tehát egy mennyiségi

tudományág, amely arra törekszik, hogy meghatározza egy potenciálisan toxikus anyagnak azt a mennyiségét, amely bizonyos helyzetekben káros hatásokat okoz egy élő szervezetben (Langman és Kapur, 2006).

A toxikológia a gyógyszerteranból önállósodott, saját fogalomrendszere a XX. században alakult ki, ekkor kezdődött e tudományág magas szintű megértése, miután megismerték a DNS-t és a sejtfunkciókat fenntartó különböző biokémiai anyagokat. Ráismertek arra a tényre, hogy gyakorlatilag minden toxikus hatást a specifikus sejt molekulák és biokémiai anyagok változásai okoznak (Langman és Kapur, 2006). Korábbi orvosi alkalmazása mellett ma már az ismeretanyaga számos más területre is kiterjedt, így beszélhetünk klinikai toxikológiáról, törvényszéki toxikológia, munkaegészségügyi-toxikológiáról, ipari és mezőgazdasági toxikológiáról, környezet-toxikológiáról, ökotoxikológiáról (Gyires Klára és Fürst Zsuzsanna, 2011).

1.3. Az ökotoxikológia meghatározása

Az ökotoxikológia kifejezésének eredete R. Truhaut professzor nevéhez köthető, aki 1969-ben egy olyan tudományként definiálta az említett, amely leírja a különböző anyagok toxikus hatását az élő szervezetekre, különös figyelmet fordítva az ökoszisztémákban belüli közösségekre és populációkra.

Az ökotoxikológia lényegi feladata két területen érhető tetten:

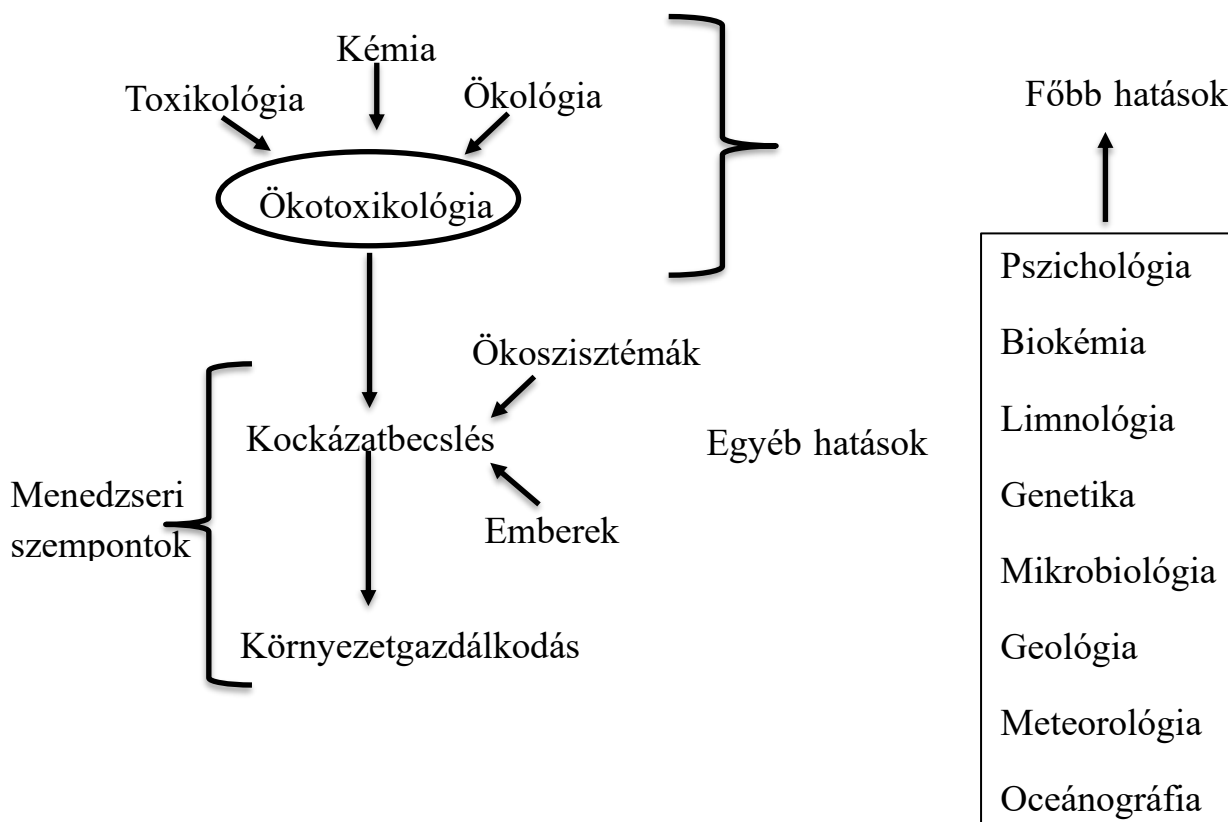
- a környezet tanulmányozásában, amelynek gyökerei az imént említett ökológia tudományában keresendők,
- valamint a mérgező vegyi anyagok élő szervezetekre való hatásának tanulmányozásában, melyet a toxikológia tudománya képvisel.

Az ember és környezete között az idők kezdete óta egy erős kölcsönhatás van jelen, hiszen folyamatosan forrásként tekintünk a körülöttünk levő dolgokra (lásd: építőipari termékek, ruházat, élelem).

A toxikológia, mint tudomány, már régen is fontos szerepet töltött be az emberek életében – gondoljunk csak a mérgezett nyilakra, melyek segítségével az ősi népek elejtették áldozatukat. A további toxikológiai esetek számbavételekor példaként említhetjük a II. világháború idején a német nemzetszocialisták által használt gázkamrákat, valamint az 1986-os csernobili katasztrófa által a légkörbe jutó, és ezáltal majdnem a teljes Európát beszennyező radioaktív anyagok esetét,

illetve mindennapjainkban az esetleges vegyi hadviselés miatt fennálló állandó fenyegetettségérzetet is (Connell és mtsai., 2009).

Az ökotoxikológia egy inter- és multidiszciplináris tudomány, mely a kémia, toxikológia, farmakológia, epidemiológia és ökológia ötvözete. Szerepe a toxikus anyagok környezetbe kerülésének, és az ebből fakadó következmények, hatások megértése, vizsgálata.



1. ábra. Az ökotoxikológia komponensei (Connell és mtsai., 2009).

Mindehhez hozzájárul egy menedzsmenti szempont is, melyre szükség van az esetleges ipari és emberi szennyező tevékenységek szabályozásához. Így a kockázatértékelés és a kockázatkezelés fogalmait is beilleszthetjük az ökotoxikológiai egyenletbe.

Az ökotoxikológia legpontosabb meghatározásainak egyike Frank Moriartytól származik, aki szerint e tudomány feladata a környezetbe kerülő idegen anyagok sorsának értékelése, nyomon követése és előrejelzése. A definíció magába foglalja a környezetünkben jelen levő káros anyagok vegyi jellemzését, a környezetterhelés csökkenésének vagy növekedésének felmérése érdekében

történő nyomon követés szükségességét, illetve hatásuk előrejelzésének nélkülözhetetlenségét a modern ökológiai és toxikológiai vizsgálatok által (Connell és mtsai., 2009).

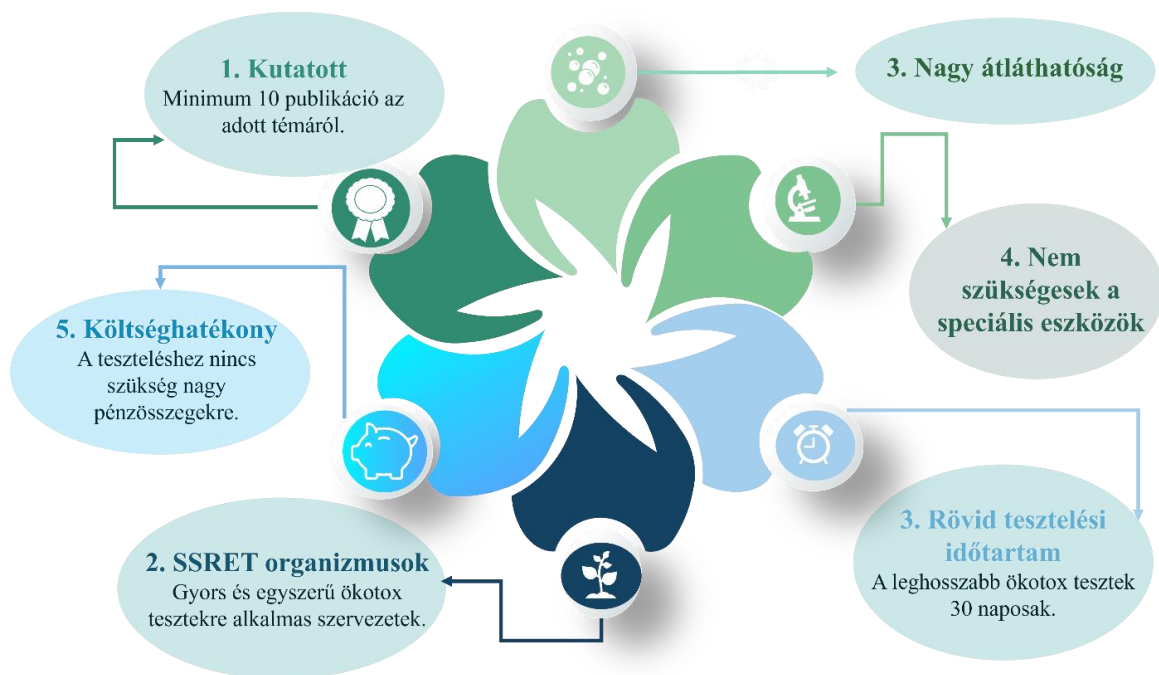
A veszélyes hulladékok, esetünkben a mikroszennyezők vizsgálata érdekében manapság számos ökotoxikológiai módszert dolgoztak ki a tudósok.

1.4. Standard ökotoxikológiai tesztek

Ahogy az előző fejezetben olvasható volt, az elmúlt fél évszázad egyik legjobban fejlődő tudományága az ökotoxikológia volt, tekintettel arra, hogy számtalan új, iparilag előállított vegyi anyag, pl: növényvédő szerek, gyógyszerkészítmények kerültek a környezetbe, melyek kölcsönhatásba léphetnek az élővilággal és ez által károsíthatják bolygónk ökoszisztémáját.

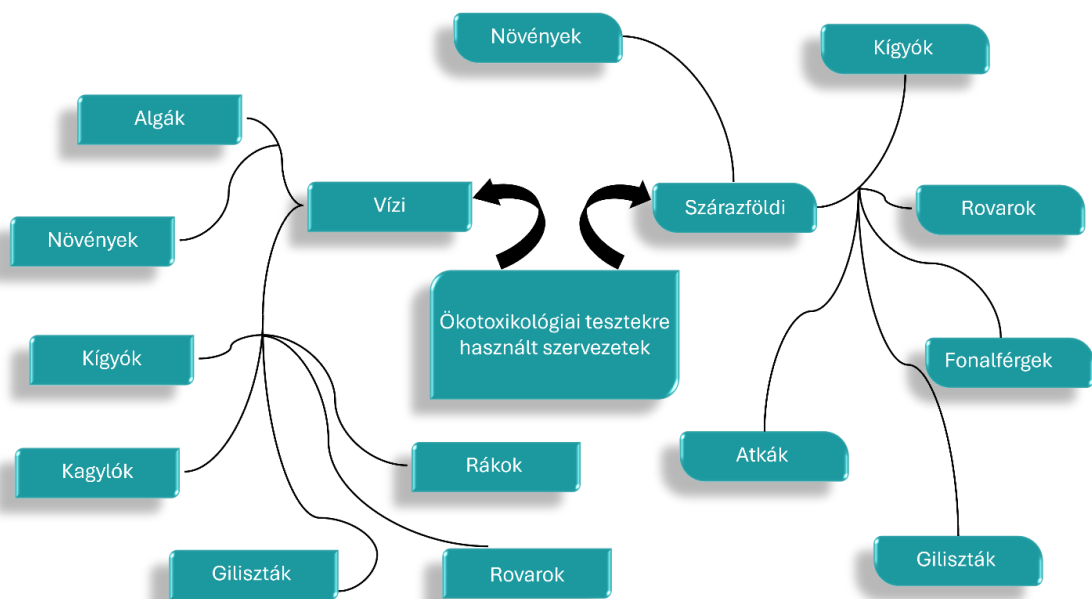
E vegyi anyagok toxikus hatásainak megállapítására ökotoxikológiai vizsgálatokat végeznek. A tesztek eredményeképpen meghatározható, hogy mennyire mérgező egy anyag és mekkora kockázatot jelent a környezetére nézve. Ugyanakkor a vizsgálatok alapján megállapítható, hogy milyen mértékű kárt okozhat egy anyag, illetve a toxicitás szintjét egy adott helyszínen a szennyezés csökkentése után (biobide, 2022).

A szabványvizsgálatok irányelveit különböző szervezetek dolgozták ki, mint például a Gazdasági Együtműködési és Fejlesztési Szervezet (OECD), az Egyesült Államok Környezetvédelmi Ügynöksége (EPA), a Nemzetközi Szabványügyi Szervezet (ISO), a Kanadai Kormány (GC) vagy az Amerikai Anyagvizsgáló Társaság (ASTM). Ezen standard tesztek alkalmazása, kiválasztása különböző feltételeknek kell megfeleljen, ahogy azt a 2. ábra mutatja .



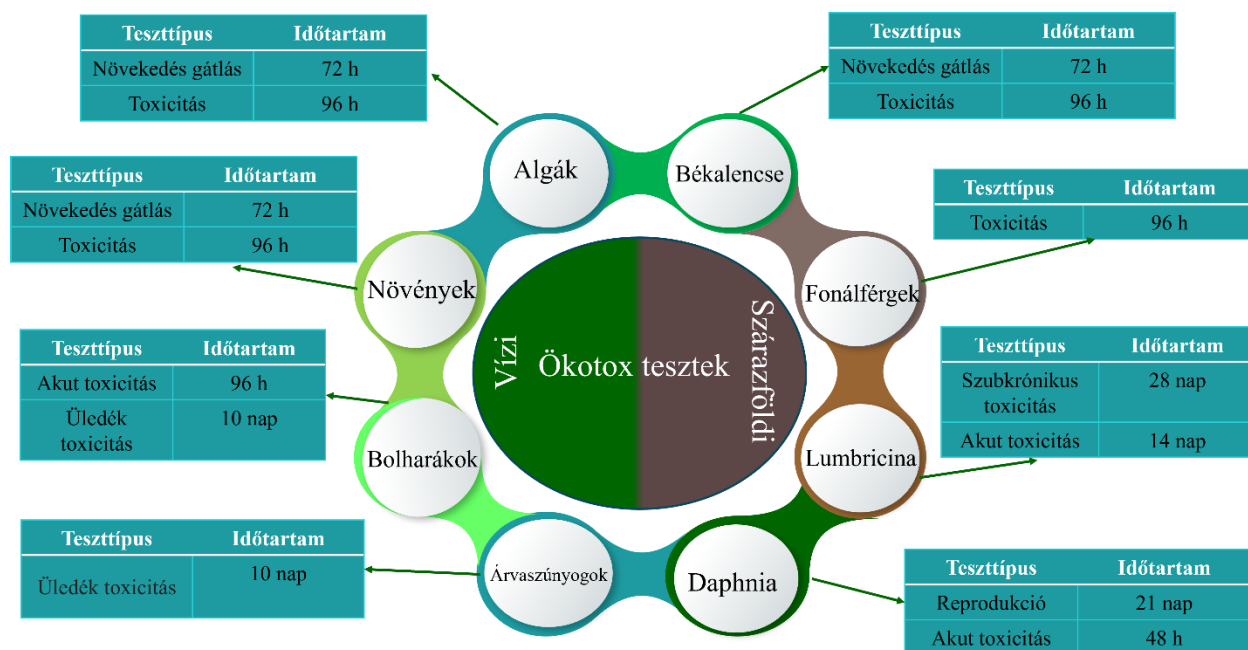
2. ábra. Az ökotoxicitás-értékelés szabványos módszereinek kiválasztásának feltétele (Boros és Ostafe, 2020)

Szabványvizsgálatok elvégezhetők (3. ábra): vízi szervezeteken (lásd: algákon, növényeken, gerinceseken és gerincteleken) és szárazföldi szervezeteken (Kahru és Dubourguier, 2010). A legtöbb ökotoxikológiai vizsgálatot a *Daphnia* fajokon, algákon, illetve zebrahalakon végeznek.



3. ábra. Az ökotoxikológiai tesztekre használt szervezetek (Boros és Ostafe, 2020)

Mindemellett ezeket a vizsgálatokat csoportosíthatjuk a vizsgálat időtartama alapján is (4. ábra). Léteznek rövid távú, akut és hosszú távú, krónikus vizsgálatok. A rövid távú vizsgálatok a leggyakoribbak, és sokszor az élőlények túlélésének elemzésére/értékelésére használják. A hosszú távú vizsgálatokat akkor alkalmazzák, ha az akut vizsgálatok eredményeiből arra következtethetünk, hogy környezeti kockázatot jelentenek. Ezek a vizsgálatok a szervezetek növekedését és szaporodását befolyásoló hatásokat mérik fel (Crane és mtsai., 2008).



4. ábra. Különböző ökotox tesztek és összehasonlításuk (Boros és Ostafe, 2020)

A mikro és nano-szennyezők toxicitására használt vízi növények közé soroljuk az algákat (*Algae*). Ezeket különböző ökotoxikológiai tesztek során használják, melyek célja a növekedésgátlás és toxicitás mértékének vizsgálata. Az általunk választott szabványvizsgálathoz hasonlóan ezen tesztek időtartama is 72-96 óra. Egy másik teszt növény a békalencse (*Lemna minor*), melyet általában 7 napos ökotox tesztek során vizsgálnak, ugyancsak növekedésgátlás és toxicitást figyelve (Boros és Ostafe, 2020).

Kutatásunk egyik teszt növénye a **fehér mustármag** (*Sinapis Alba*) volt (5. ábra). A mustár az egyik legrégebbi fűszer, évezredek óta a világ egyik legszélesebb körben termesztett és sokoldalúan hasznosítható növényének számít. A mustár első ismert felhasználása Kr. e. 3000-re nyúlik vissza.



5. ábra. Fehér mustár (saját szerkesztés)

A mustárnövények a keresztesvirágúak rendjének káposztafélék (*Brassicaceae*) családjába tartoznak, amely több mint 330 nemzetséget és több mint 3700 fajt foglal magába, melyek világszerte elterjedtek. A legelterjedtebbek a *Sinapis* és a *Brassica* nemzetségekből származó fajok, melyeket kereskedelmi célokból, világszerte termesztnek. A *Sinapis alba* magjai világos szalmasárga színűek és valamivel nagyobbak, mint a *Brassica nigra* és *juncea* magjai. A fehér mustár a mediterrán térségben őshonos, ugyanakkor a leggyakrabban használt mustárfaj Európában. Elsősorban magjaiért, magas olajtartalma és fűszer előállításáért termesztik a meleg régiókban, hidegebb területeken viszont zöldségmentesítőként. A fehér mustármagra jellemző a szinigrin, amely egy glükoszínigrin, és jelentősen hozzájárul a mustár irritáló szagához és csípős ízéhez, azonban ezen mustárfaj íze enyhébb, mint más mustárfajoké. A magok számos biológiailag aktív komponens forrásul szolgálnak, ilyen az előbb bemutatott szinigrin is (Lietzow, 2021).

A másik tesztnövényünk a **kerti saláta** (*Lactuca sativa*) volt, mely világszerte ismert, termesztett és fogyasztott zöldség (6. ábra). A legnagyobb salátatermesztő ország Kína, viszont itt leginkább spárgasalátát termelnek, ami kevésbé ismert Európában és az AEÁ-ban. Kiváló gyógyászati tulajdonságokkal rendelkezik, számos betegség gyógyítására használják, például különböző gyomorproblémákra, gyulladásokra valamint húgyúti fertőzésekre.

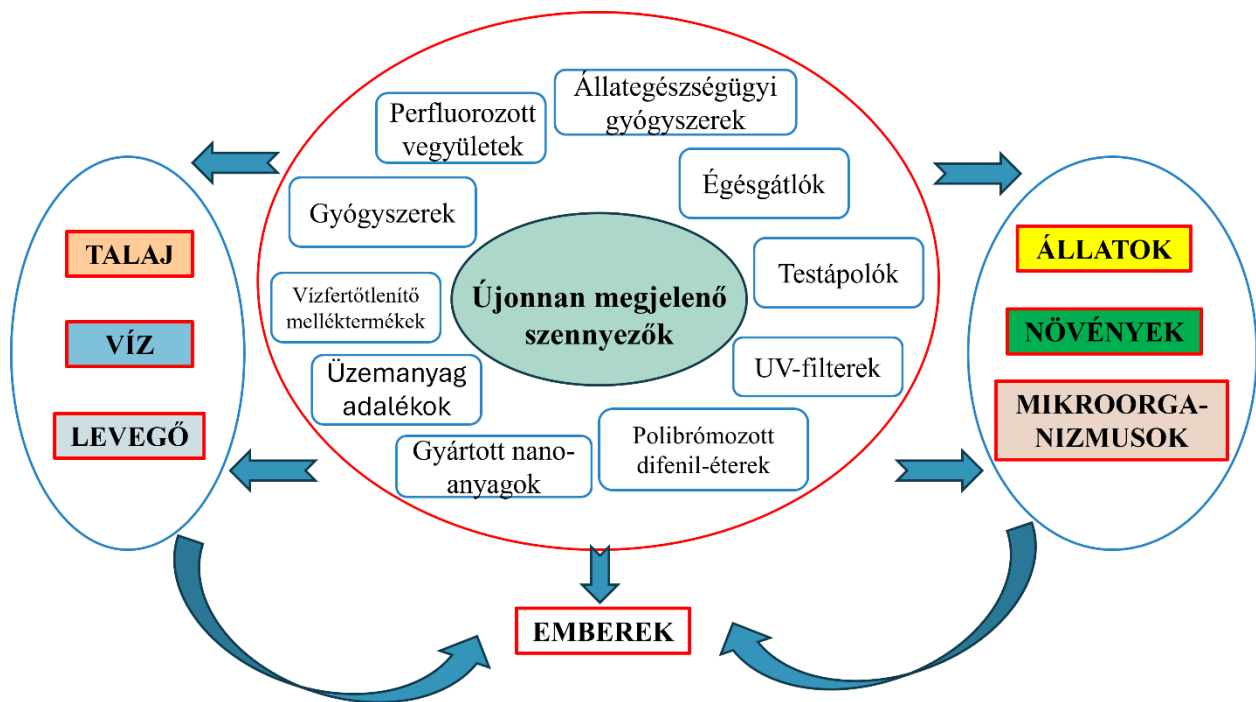


6. ábra. Kerti saláta (saját szerkesztés)

Különböző tanulmányok azt bizonyították, hogy antimikrobiális, antioxidáns és hipnotikus farmakológiai hatásai vannak. A növény kémiai összetétele a másodlagos metabolitok különböző osztályainak jelenlétét mutatta ki, mint például a terpenoidok, flavonoidok és fenolok, amelyek felelősek a biológiai aktivitásért. A saláta emellett vitaminokat, ásványi anyagokat és szerves anyagokat is tartalmaz (Noumedem és mtsai., 2017).

1.5. Vízszennyezés és forrásai

Az elmúlt évtizedekben számos tanulmány kimutatta és elemezte a felszíni vizekben található szerves és szervetlen mikroszennyező anyagok jelenlétét (Luo és mtsai., 2014; Pal és mtsai., 2010). Mikroszennyezőknek nevezzük azokat a szennyeződések, amelyek a környezetben nagyon alacsony koncentrációban ($\mu\text{g/l}$, ng/l) találhatók meg. A mikroszennyezők családját újonnan megjelenő szennyezőknek tekintik (7. ábra).

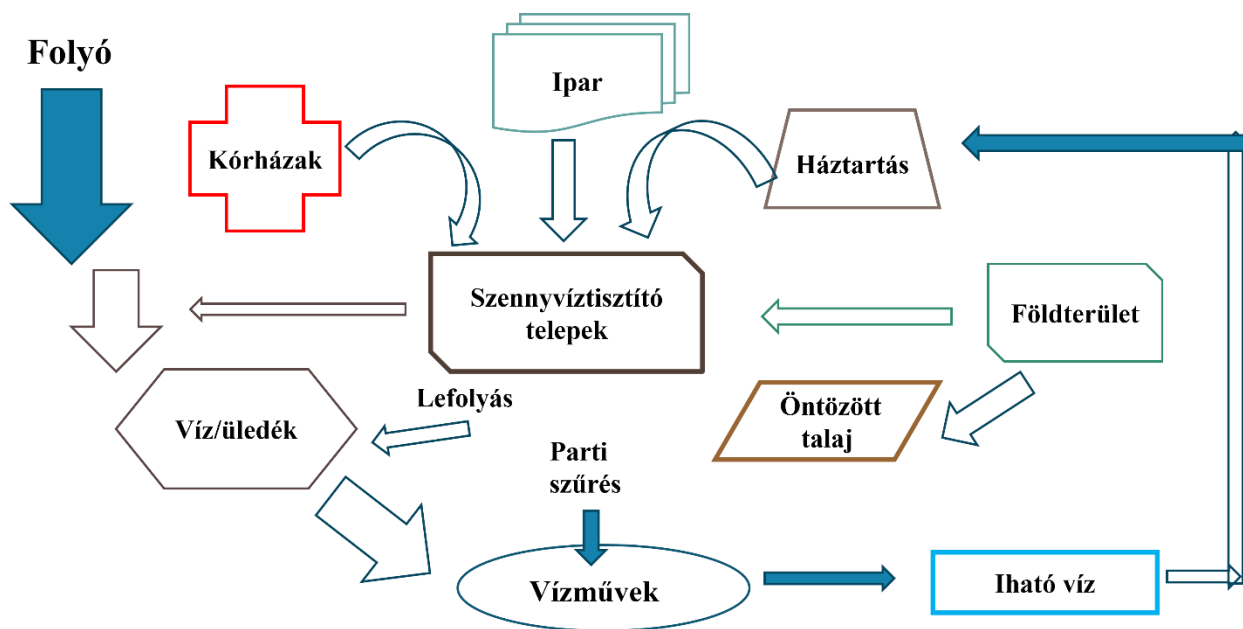


7. ábra. A talajra, levegőre, vízre, állatokra, növényekre, mikroorganizmusokra és emberekre ható új szennyező anyagok kategóriái (Gogoi és mtsai., 2018; Lei és mtsai., 2015; Salthammer és mtsai., 2010; Tang és mtsai., 2019; Vasilachi és mtsai., 2021)

Ezen szennyezők legfőképpen az intenzív városi, illetve ipari tevékenységekből származnak, szennyvíz formájában. A különböző szennyezőforrások közül a tisztított szennyvíz szabadon bocsájtása tűnik potenciálisan szennyező anyagok, köztük gyógyszerek, testápolási termékek, felületaktív anyagok, nehézfémek és peszticidek fő forrásának (Deblonde és mtsai., 2011; Loos és mtsai., 2013; Luo és mtsai., 2014; Pal és mtsai., 2010; Teijon és mtsai., 2010). Ezen szennyvizek szennyezőanyag tartalma a települési szennyvíztisztító telepek (WWTP) gyakori, alacsony hatékonyságával magyarázható (Falás és mtsai., 2016; Gosset és mtsai., 2020; Grandclément és mtsai., 2017).

Napjainkban az emberi tevékenység eredményeként a vízszennyezés globális kihívássá vált. Ez jelentős aggodalmakat vet fel, különösen a szennyvízben levő szerves mikroszennyezők, mint pl.: gyógyszerek, kémiai vegyületek és patogén mikroorganizmusok jelenléte és kockázata miatt. A vízszennyezés az ipari termelés, a laboratóriumi kutatások, a magas gyógyszerfogyasztás és – ami a legfontosabb – az egészségügyi létesítmények fennállásának következménye. A

létesítmények állandó pontforrást jelentenek a különböző típusú gyógy- vagy diagnosztikai szerekkel, lásd kontrasztanyagokkal történő szennyezésnek (Castillo Meza és mtsai., 2020; Yilmaz és mtsai., 2017). A környezetben előforduló eredetüket és útjukat mutatja be a 8. ábra.



8. ábra. Az újonnan keletkező szennyező anyagok eredete és útvonalai a környezetben (Vasilachi és mtsai., 2021).

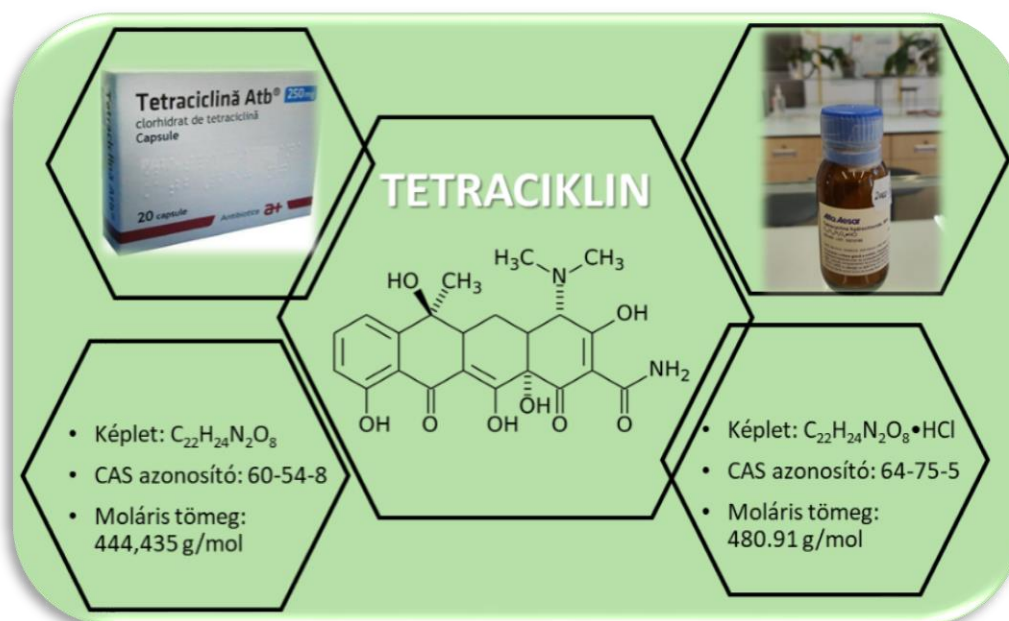
Az ilyen vegyületek koncentrációja bár alacsony értékeket mutat a felszíni vizekben, az élő szervezetekre gyakorolt potenciális hosszú távú hatásokról még nem állnak rendelkezésre pontos információk. Ugyanakkor hiba lenne azt hinni, hogy a közeljövőben valamilyen féle változás fog történni az egyes meghatározó gyógyszercsoportok, antidepresszánsok, antibiotikumok gyártásának vagy használatának csökkenésével kapcsolatban. Mindemellett sürgősen megoldást kell találni a gyógyszerek túlzott használatának minimalizálása érdekében (van Buul és mtsai., 2014).

Az antibiotikum felfedezését a 20. század egyik legjelentősebb tudományos eredményének tartják, amely forradalmasította mind a humán-, mind az állatgyógyászatot. Az antibiotikumokat azonban a közelmúltban a környezetszennyezők újonnan megjelenő osztályaként ismerték fel. Ezen gyógyszerek és melléktermékeik több módon juthatnak be a környezetbe: gyáraktól, gyógyszergyártásból származó szennyvizekből, az állattenyésztésből és a szennyvíztisztító telepekről. A legnagyobb problémát az jelenti, hogy nem létezik határérték

gyógyszermaradványra, az Európai Unióban is csak nemrégiben kezdték a legkritikusabb összetevők maximális koncentrációjának meghatározását (Carvalho és Santos, 2016).

Kutatásunk kezdő fázisában, a gyógyszerhatóanyag mikroszennyezők választásakor a tetraciklin és ampicillin mellett döntöttünk, mert ezen gyógyszerek az emberek által ismertek, széles körben használtak és az egész világon elterjedtek. Mindkét gyógyszer esetében összehasonlítást végeztünk a kereskedelmi és az analitikai tisztaságú antibiotikum hatása között.

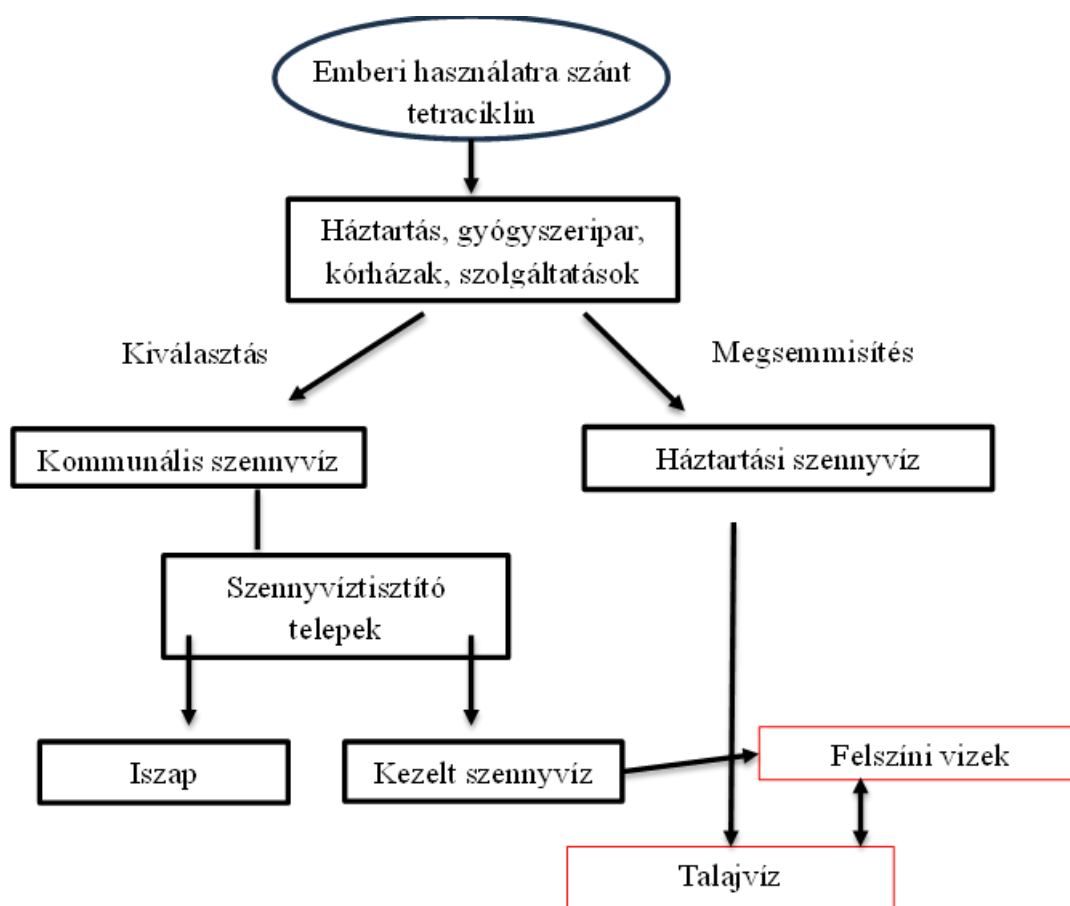
A **tetraciklint (Tc)**, avagy a 2-(amino-hidroxi-metilidén)-4-dimetilamino- 6,10,11,12a-tetrahidroxy-6-metil-4,4a,5, 5a-tetrahidrotetracén-1,3,12-trion-t, mint poliketid típusú antibiotikumot az 1940-es években fedezték fel, és már az 1950-es évektől terápiás kezelésekre használták (9. ábra). Ugyanebben az időben elterjedt az állattenyésztési iparban növekedésserkentőként és a mezőgazdaságban takarmány adalékként Észak-Amerikában. A legújabb kutatások azt mutatják, hogy az antibiotikumok közül a tetraciklin előállítás és fogyasztás szempontjából második helyen szerepel világszerte, míg Kínában csúcstartó (Chopra és Roberts, 2001).



9. ábra. A tetraciklin általános jellemzői (saját szerkesztés)

A ma piacon levő antibiotikumok egyik legolcsóbb csoportjának számít. Ezért fogyasztása rohamosan megnőtt azon fejlődő országokban, melyek korlátozott egészségügyi költségvetéssel rendelkeznek. Az Európai Unióban, az 1997-es években terápiás célra felhasználtak közel 2300

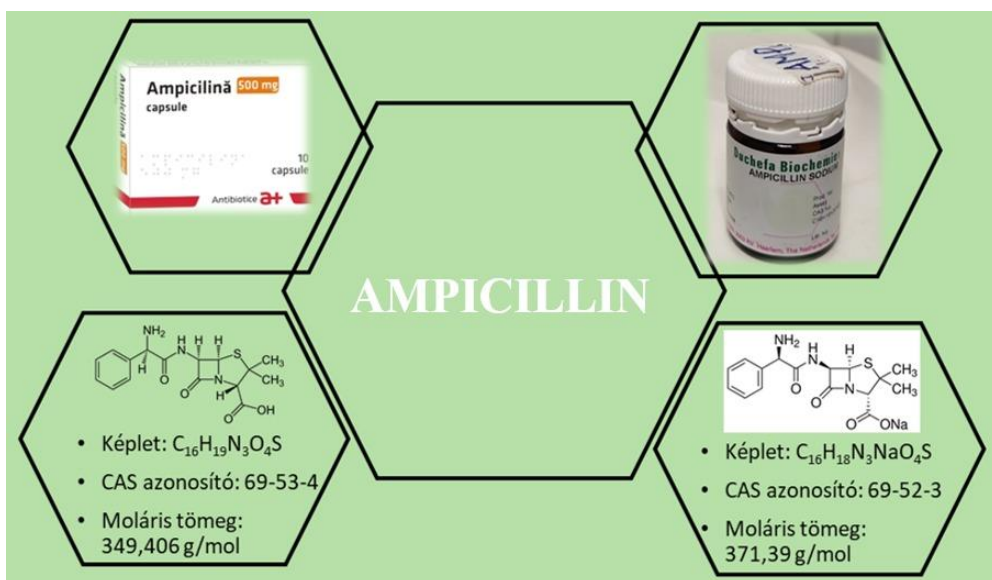
tonna tetraciklint, pár év múlva az AEÁ-ban már 3000 tonnára nőtt ezen elfogyasztott antibiotikumok száma. Az elmúlt évtizedekben a tetraciklin túlzott használata következtében rohamosan megnőtt a környezet e vegyülettel való szennyezésének módja. A gyógyszer előfordulása a vízi ökoszisztémákban nagy figyelemre tett szert, mivel potenciális veszélyt jelent a baktériumok antibiotikumokkal szembeni rezisztenciájának kialakulásának kockázata. Az antibiotikumok, esetünkben a tetraciklin, vizelet, széklet vagy trágya formájában kerül ki a természetbe a gyógyszeres kezelés alatt és után. Egyes megfigyelések szerint a tetraciklinnel kezelt állatok a gyógyszer 25-75% vagy akár 70-90%-át kiválasztják és aktív formában az imént említett módon a környezetbe juttatják (Daghrir és Drogui, 2013).



10. ábra. A tetraciklin környezetbe jutásának lehetséges forrásai és útvonalai (Daghrir és Drogui, 2013)

Az **ampicillin**, IUPAC nevén (2S,5R,6R)-6-([(2R)-2-amino-2-fenilacetyl]amino)-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo[3.2.0]heptán-2- karbonsav, egy olyan béta-laktám antibiotikum,

amely számos bakteriális fertőzés kezelésére hatásos (11. ábra). Több mint 50 éve használják a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok által okozott fertőzések kezelésére (Jiang és mtsai., 2013; Sharma, 2007). 1958-ban fedezték fel, és 1961-től a kereskedelemben is kapható.



11. ábra. Az ampicillin általános jellemzői (saját szerkesztés)

Az Egészségügyi Világszervezet alapvető gyógyszereinek listáján foglal helyet, és az egyik legelterjedtebb gyógyszer az alapvető közegészségügyi rendszerben. Az ampicillin antibakteriális hatásmechanizmusa a penicillinkötő fehérjék megkötésében rejlik. Az antibiotikum daganatellenes hatását illetően a vélemények ellentmondásosak. Számos in vitro vizsgálat kimutatta, hogy az ampicillin különböző kombinációkban tumorellenes hatást fejt ki a vastagbélrák esetében (Jassim és mtsai., 2017; Mohammed és mtsai., 2020). Ugyanakkor a ráktípusokon végzett in vivo vizsgálatok azt mutatták, hogy az ampicillin fogyasztása növeli bizonyos rákos megbetegedések, mint például az emlőrák kialakulásának kockázatát (Velicer és mtsai., 2004).

Az antimikrobiális szerek, mint például a tetraciklin vagy ampicillin felboríthatják az emberi bélrendszer mikroflóráját és növelhetik bizonyos fertőzések kockázatát. Ezt a tényt figyelembe véve nem meglepő, hogy számos kutatás próbálja meghatározni és megbecsülni az antibiotikumok toxicitását a vízi és a szárazföldi fajokra (Daghrir és Drogui, 2013).

A mikrobiális biodiverzitás létfontosságú jelentőséggel bír a talajban és vízben zajló biológiai folyamatok fenntartásában, a legtöbb biogeokémiai ciklus kizárólag mikroorganizmusok által közvetített. Az antibiotikumok ökológiai tényezőként befolyásolhatják a környezetet, megváltoztatva a természetes baktériumkolóniák szerkezetét, sőt, egyes baktériumcsoportok

eltűnéséhez járulhatnak hozzá (Allen és mtsai., 2010). A növényekben található fitokémiai és bioaktív összetevők eredményeként a vadon élő állatok mindig is képesek voltak önmaguk gyógyítására. Tanulmányok kimutatták az emberek által használt egyes gyógyszerek kifejlesztésén keresztül, hogy a növények olyan bioaktív vegyületeket tartalmaznak, amelyek antimikrobiális, parazitaellenes, hematológiai és más fontos egészségügyi paraméterek révén képesek elősegíteni az egészséges életmódot. Egy növénynek képesnek kell lennie arra, hogy elpusztítsa, csökkentse vagy gátolja a patogén mikrobapopulációt. Ilyen növény a mustár, a kerti katicavirág és a papaja is (Adegbeye és mtsai., 2020). A gyógyászatban antibiotikumokat vonnak ki bizonyos növényi csírákból, lásd: retek, kerti katicavirág, vagy akár mustármag csírákból. Az antibiotikumok mindezek alapján elméletileg védik a növényeket a fitofagocitózis és a kórokozók inváziója ellen.

Mindezek tudatában fontos a környezeti kockázatbecslés, értjük ezalatt azon tevékenységeket, amelyek lehetővé teszik a kockázat, valamint a fenyegetettség felismerését, elemzését, értékelését és potenciális toxikus hatások felbecslését, ezen rizikó tényezők ökotoxikológiai tesztekkel tárhatóak fel (Székely, 2014).

1.6. Célkitűzések, hipotézis

Kutatásunk célja a különböző gyógyszerhatóanyagok csírázásra gyakorolt toxikus hatásainak tanulmányozása volt, szabványvizsgálat által. Elsődleges prioritásnak tekintettük megfigyelni a csírák morfológiai, anatómiai elváltozásait, a gyökérnövekedés gátlását, a gyökerek hosszát, illetve a kicsírázott magok arányát.

Azt feltételezzük, hogy az antibiotikumok nyomnyi mennyiségű jelenléte is már negatívan befolyásolja a csírák növekedését. Mindemellett úgy gondoltuk, hogy nem lesz lényegi különbség az analitikai minőségű, tisztaságú, valamint a kereskedelmi forgalomban kapható antibiotikumok hatása között. A tetraciklin és ampicillin hatásai, ha nem is jelentősen, de különbözni fognak egymástól. Ugyanakkor feltételeztük, hogy morfológiai elváltozásokat fogunk megfigyelni a csírákon az antibiotikumos kezelés hatására.

Hipotéziseink:

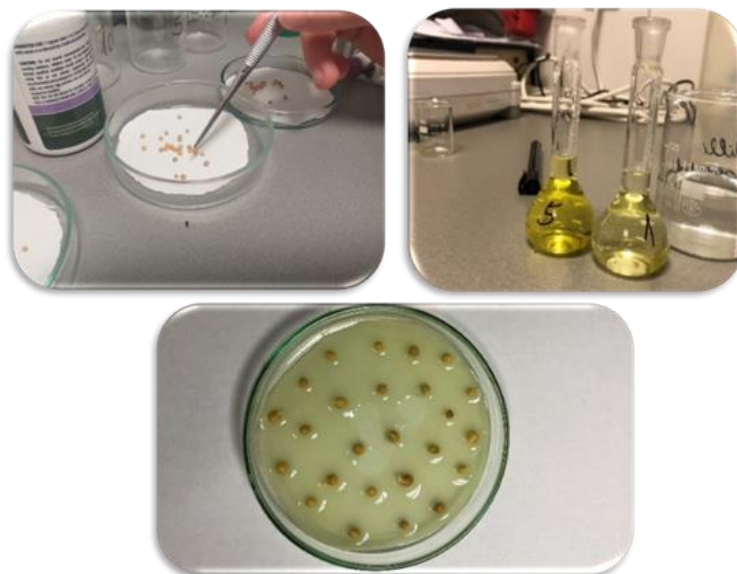
- A gyógyszerhatóanyagok negatívan befolyásolják a csírák növekedését.
- Nincs különbség az analitikai tisztaságú és kereskedelmi forgalomban kapható antibiotikum hatása között.
- Morfológiai elváltozások keletkeznek a csírákon az antibiotikumok hatására.

2. A KUTATÁS MÓDSZERTANA

2.1. Mintaelőkészítés, oldatsorozat elkészítése

A veszélyes hulladékok, esetünkben a gyógyszermaradvány mikroszennyezők vizsgálata érdekében, az MSZ21978/8-85 számú magyar országos szabvány alapján csíranövénytesztet végeztünk.

Kutatásunk során vizsgáltuk a kerti saláta (*Lactuca Sativa*, Linnaeus írta le először), illetve a mustár (*Sinapis Alba*, az ókori egyiptomiak fedezték fel) csírázását. Sterilizált Petri-csészékben, szűrőpapírra 25-25 magot helyeztünk el egyenlő távolságokra (12. ábra). A magokra Eppendorf mikropipetta segítségével 5-5 ml gyógyszeroldatot pipettáztunk (kontrol-deszt. víz-, 1, 5 és 10 g/l-es koncentrációkban), vigyázva, hogy a folyadék ne borítsa el a magokat, illetve azok ne mozduljanak el az oldatban. 72 órán keresztül 20-23 °C-on természetes és mesterséges megvilágítástól mentes helyen tartottuk a mintákat, ezáltal betartva a szabvány által előírt lépéseket.



12. ábra. Kutatási képek (saját felvétel)

Kutatásunkban a kereskedelemben kapható és analitikai tisztaságú ampicillin, tetraciklin hatását tanulmányoztuk, minden kísérleti beállítást 6-szor ismételtünk meg a pontos következtetések és replikálhatóság érdekében, noha a szabvány 2 párhuzamos vizsgálat elvégzését követeli.

2.2. Adatfeldolgozás

Második lépésben lejegyeztük a kicsírázott magok számát és a digitális tolómérce segítségével lemért gyökérhosszúságokat (13. ábra).



13. ábra. Digitális tolómérce és kicsírázott mustár (saját felvétel)

A kapott számadatok alapján kiszámoltuk, az irodalomban gyakran irányadóként ismert indexeket, mint például a gyökérnövekedés-gátlás a relatív csírázás -és gyökérhosszúság értékeit, illetve a csírázási indexet.

- gyökérnövekedés-gátlás (seedling growth inhibition):

$$SGI = \frac{Kontrol - Minta}{Kontrol} \times 100 \quad (1)$$

- relatív csírázás (relative germination):

$$RG = 100 \times \frac{Kicsírázott\ minta\ száma}{Kicsírázott\ kontrol\ száma} \quad (2)$$

- relatív gyökérhosszúság (relative root length):

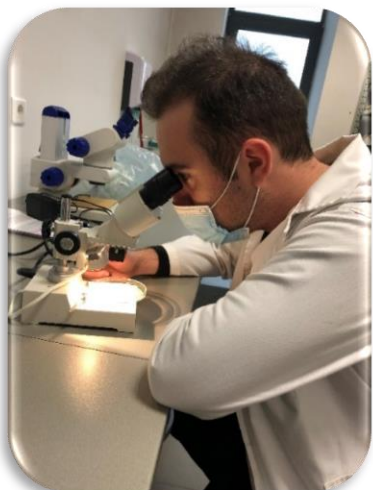
$$RRL = 100 \times \frac{Minta\ átlag\ gyökér\ hosszúsága}{Kontrol\ átlag\ gyökér\ hosszúsága} \quad (3)$$

- csírázási index (germination index): (4)

$$GI = \frac{RG \times RRL}{100}$$

2.3. Sztereoszkópos vizsgálatok

A kutatás harmadik lépése során sztereoszkópos vizsgálatokat végeztünk. Ismerve a gyökér/csíra általános felépítését, összehasonlítottuk a csírákat. Vizsgáltuk az esetleges elváltozásokat, tanulmányoztuk az egyes szerkezeti egységek épségét. Fényképfelvételeket készítettünk a kezeletlen és a különböző hatóanyagokkal kezelt saláta csírákról, valamint a mustár csírákról is (14. ábra).



14. ábra. Sztereoszkópos vizsgálat

Sztereoszkópos vizsgálatokat gyakran alkalmaznak az ökotoxikológiai tesztek során a magvak csírázásának tanulmányozására, mivel lehetővé teszik a kutatók számára a folyamat részletes megfigyelését és elemzését. Ez azért fontos, mert bizonyos környezeti stressztényezők vagy toxikus anyagok befolyásolhatják a magvak csírázását, így a sztereoszkóp segítségével észlelhető bármilyen rendellenesség vagy abnormitás.

Nem elhanyagolható ugyanakkor, hogy a sztereoszkóp révén információt kaphatunk a csírázási sebességről, a magvak fizikai változásairól és a palánták esetleges károsodásáról. Ez az információ segíthet a kutatóknak felmérni a környezeti stresszorok hatását a növények növekedésére és fejlődésére. Ezenkívül a sztereoszkópok segíthetnek a kutatóknak azonosítani a mérgező anyagok konkrét hatásmechanizmusait, és betekintést nyújthatnak abba, hogy ezek az anyagok hogyan hatnak a növényegészségügyre (Jardine, 2016; Trigiano és Gray, 2016).

Összességében a képalkotó módszerek értékes eszközök az ökotoxikológiai tesztek analízise során, mivel lehetővé teszik a magvak csírázásának pontos és részletes megfigyelését, ami segítheti a környezetgazdálkodási és megőrzési erőfeszítéseket.

3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK

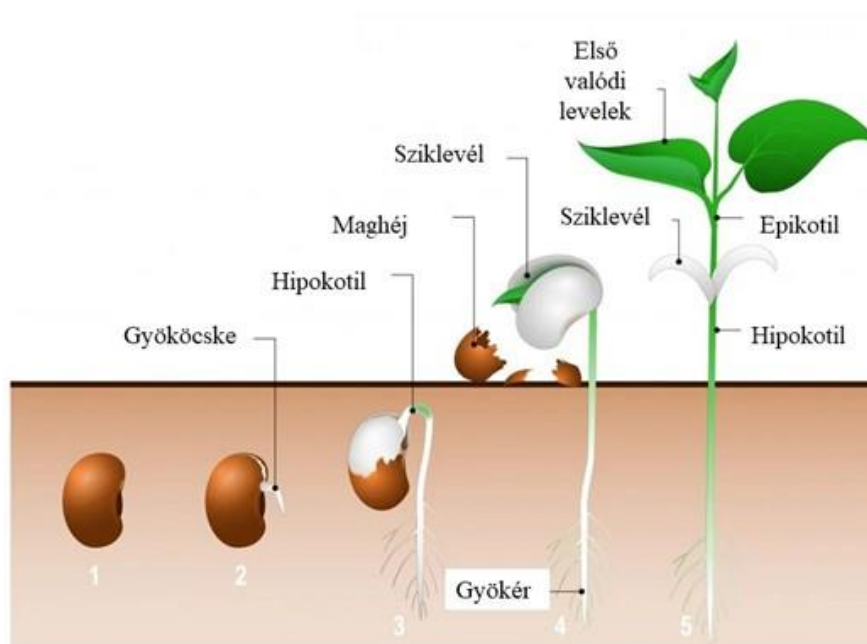
Dolgozatomban egyes ábrákon jelöléseket használtam az értelmezés megkönnyítése érdekében. Ilyen például az analitikai tisztaságú gyógyszerek esetében az A.g. jelölés, illetve a kereskedelmi forgalomban kapható gyógyszerek esetében a Com. jelölés, az összesített jelöléseket az 1. táblázat tartalmazza.

1. Táblázat. Jelmagyarázat a 17. és 18. ábrákhoz

Jelölés	Meghatározása
A.g. Ampicillin (A.g. A)	Analitikai tisztaságú ampicillin hatóanyag
Com. Ampicillin (Com. A.)	Kereskedelemben kapható ampicillin
A.g. Tetracycline (A.g. T.)	Analitikai tisztaságú tetraciklin hatóanyag
Com. Tetracycline (Com. T.)	Kereskedelemben kapható tetraciklin

3.1. Csírázás

Kultúrnövények vetőmagjai életciklusuk folyamán különböző fejlődési szakaszokon mennek át. A kutatásunkban használt modell saláta- és mustárnövényeknek nyolc fő növekedési szakasza különíthető el: csírázás, levelek fejlődése, szár megnyúlása, virág megjelenése, virágzás, termésfejlődés, érés és öregedés (15. ábra).



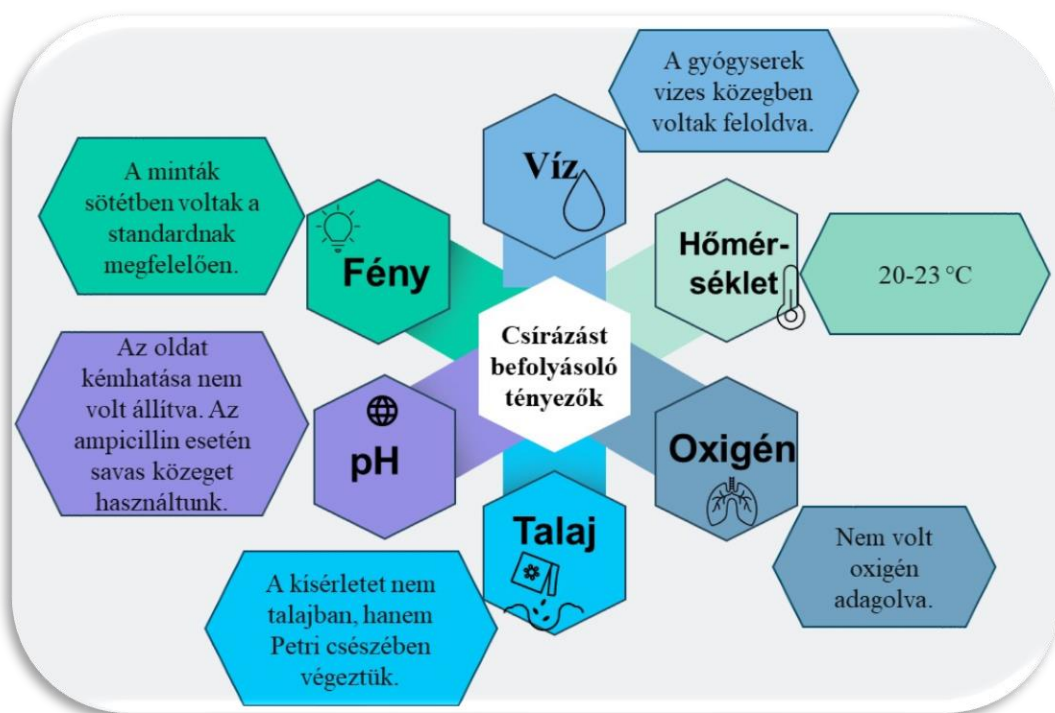
15. ábra. Növény fejlődési folyamata (scienceabc, 2019)

Az általunk alkalmazott standard ökotoxikológia, pontosabban fitotoxikológiai teszt 72 órás vizsgálatot igényelt, a növényeink a csírázási szakaszban maradtak, az ábrán megfelel a második - harmadik szakasznak.

A vetőmag csírázásához elengedhetetlen néhány szükséges feltétel, amelyek jelenlétét a kutatásban kiemelt fontossággal felügyeltük (geeksforgeeks, 2023).

- **Víz:** A víz szükséges a maghéj megpuhulásához, és lehetővé teszi az embrió növekedését és fejlődését, ami a mag csírázásához szükséges. A csírázás előtt a magok többsége bizonyos mértékű vízfelvételt igényel.
- **Hőmérséklet:** A különböző magvak csírázásához az ideális hőmérséklet változó. Míg a csírázáshoz az egyes magvak a meleg hőmérsékletet részesítik előnyben, másoknak hidegre van szükségük. Különböző növényeknek eltérő ideális csírázási hőmérsékletük van, ezért fontos ellenőrizni az egyedi igényeket.
- **Oxigén:** A csírázás során lezajló légzési folyamat működéséhez oxigénre van szüksége. A mag nem tudja felhasználni a tárolt táplálék tartalékait a növekedéshez és a virágzáshoz oxigén nélkül.
- **Fény:** Egyes magoknak fényre van szükségük a csírázáshoz, míg másoknak nem. A fény a csírázás sebességét is befolyásolhatja, egyes magvak fény jelenlétében gyorsabban csíráznak.
- **Talaj:** A csírázáshoz a talaj nem direkt követelmény, de a csíranövény számára fontos, ha már kikelt. A talajnak jó vízelvezetőnek kell lennie, és elegendő mennyiségű vizet, oxigént és tápanyagot kell tartalmaznia ahhoz, hogy a palánta egészséges legyen.
- **pH:** A talaj pH-értéke befolyásolhatja a vetőmag csírázását. Egyes magvak a legjobban savas talajban csíráznak, míg mások a semleges vagy lúgos talajt részesítik előnyben.

A vizsgálatainkat érintő külső paramétereket a 16. ábra tartalmazza.



16. ábra. A csírázást befolyásoló paraméterek (saját szerkesztés)

A vetőmag csírázásának azonban hátrányai is vannak pl. környezetfüggőség, sebezhetőség (magvak érzékenyek a sérülésekre, ami csökkentheti az életképes magvak számát és a csírázási arányt), időigényes, korlátozott genetikai sokféleség. Kutatásunkat a magvak sebezhetőségére építettük.

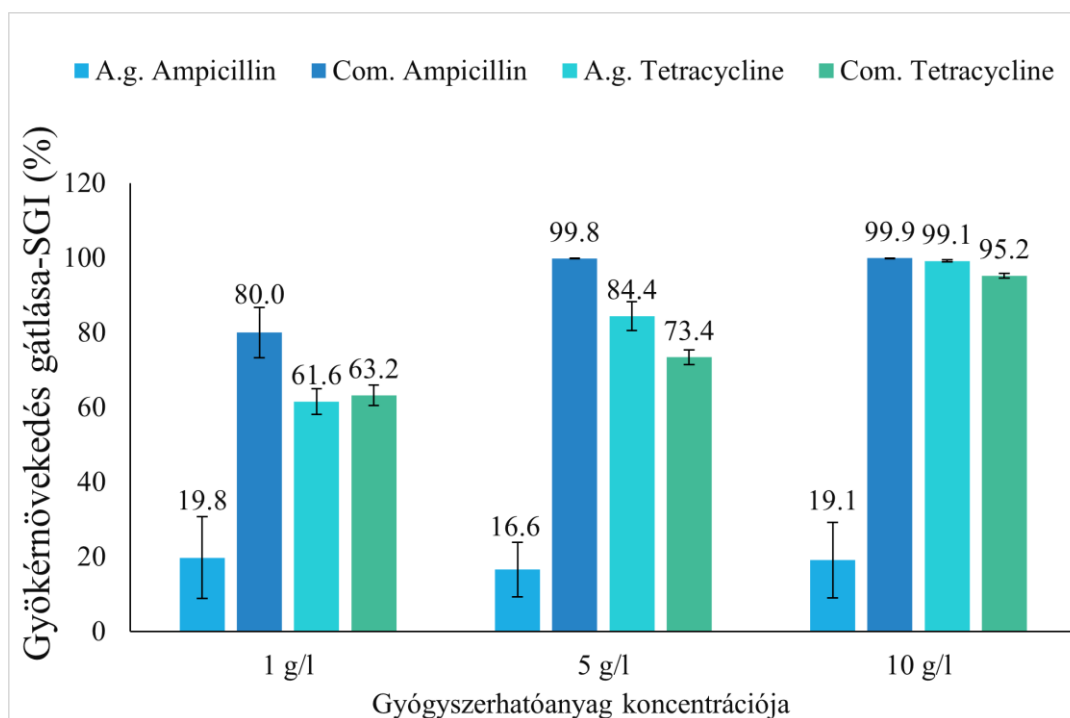
3.2. Standard teszt számított mutatói

3.2.1. Salátamagra kifejtett hatás

Ebben a vizsgálatban két széles körben fogyasztott gyógyszert, antibiotikumot választottunk ki, hogy értékeljük ezek lehetséges fitotoxikus hatását a *Lactuca sativa* magvak (saláta) csírázására és fejlődésére.

Közvetlen érintkezés alapján a *saláta-* és *mustármagokra* esett a választás, mivel egyszerűsége, alacsony költsége, valamint a vegyszerekkel való érintkezésre való gyors reagálás miatt standard fajú modellnövények, amelyeket szárazföldi/vízi növényeket érintő ökotoxikológiai vizsgálatokhoz ajánlanak.

Ampicillin és tetraciklin salátamagra kifejtett toxicitását vizsgáltuk a laboratóriumi tisztaságú hatóanyagra és a kereskedelemben kapható gyógyszerekre (17. ábra).



17. ábra. A saláta gyökernövekedése (SGI) (saját szerkesztés)

Az ampicillin, a saláta esetében minden vizsgált koncentráció (1-5-10 g/l) esetén gyökernövekedés gátlást mutatott. Látható, hogy az analitikai tisztaságú (A.g. Ampicillin) kb. 19%-ban gátolják a saláta csírájának, gyökerének növekedését. Minden vizsgálat a standardnak megfelelően két párhuzamos mintát igényelt, amely teszteket háromszor hajtottunk végre. Az ábrán látható szórások pedig négy párhuzamos mérés eredményei. A kereskedelemben kapható ampicillinnel (Com. Ampicillin) szemben a nagy tisztaságú hatóanyag szórása nagyobb volt. Megállapítható az is, hogy a fogyasztók által használt, kereskedelemben kapható ampicillin jóval nagyobb, akár 99,9%-os gátlást is elérhet. Itt meg kell említsük, hogy a kereskedelemben kapható ampicillin nem oldódott vízben vagy alkoholban, ezért enyhén savas közegben oldottuk, ez viszont direkt módon befolyásolhatta a csírázásgátlás értékét.

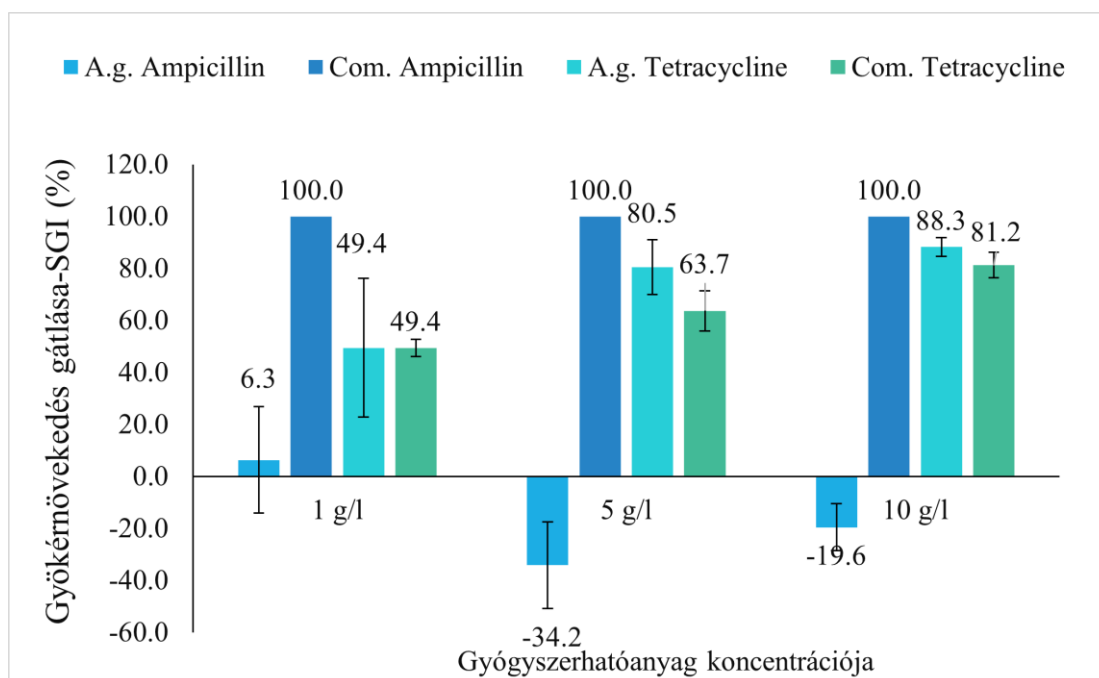
A tetraciklin is gyökernövekedés gátlást mutatott a salátamag esetén. Minden esetben a gyógyszerek koncentrációjának növekedésével a gátlás mértéke is növekedett, például az analitikai tisztaságú tetraciklin esetén (A.g. Tetracycline). Legmagasabb gátlást a saláta esetében a 10 g/l-es analitikai tisztaságú tetraciklin oldat eredményezett, ebben az esetben 99,14%-os gátlás

volt megfigyelhető. Ugyanakkor a kereskedelemben kapható tetraciklinnel (Com. Tetracycline) kezelt minták nem tértek el nagymértékben az analitikai tisztaságú tetraciklinnel kezeltéktől, arányosság jellemezte őket.

Összehasonlítva az egyes antibiotikumok csírázásgátló hatását, a legnagyobb gátlást minden koncentrációra vonatkoztatva, a kereskedelemben kapható ampicillin fejt ki. Ezen eredményünk alapján ajánljuk a minél ritkább használatát, illetve az ampicillin gyártásának csökkentését is.

3.2.2. Mustármagra kifejtett hatás

Ha a csírázás folyamatának meghatározásakor úgy fogalmazzunk, hogy ez a növény fejlődésének egy olyan szakasza, ahol esetleges toxikus stressz, kedvezőtlen körülmény mellett (legyen az hő, víz-, táplálékhiány vagy mérgezőanyag) képes-e termő növényé fejlődni, akkor az ökotoxikológia csírázásgátlás teszt esszenciáját adjuk meg. Figyelembe véve a tényt, a salátához hasonlóan a fehér mustármag (*Sinapis alba*) toxikus stresszre mutatott csírázását is tanulmányoztuk (18. ábra).



18. ábra. A mustár gyökérnövekedése (SGI) (saját szerkesztés)

Az 18. ábrán szembetűnő eredmény, hogy a kereskedelemben kapható ampicillin (Com. Ampicillin) mindhárom vizsgált koncentrációnál 100%-os hatékonyságot mutatott, a vizsgált 100-as nagyságrendű magból egy sem csírázott ki. A kereskedelemben kapható ampicillin nem oldódott vízben vagy alkoholban, ezért enyhén savas közegben oldottuk, viszont feltehetően ez gátolta a csírázást, amelyet egyértelműen nem jelenthetünk ki, mert a mustármagnál 80-99 %-os gátlást tapasztaltunk.

A tiszta hatóanyag (A.g. Ampicillin) 1 g/l-es koncentrációnál 49,4%-os gátlást, míg a magasabb koncentrációk (5 g/l: 32,4%; 10 g/l: 19,6%) serkentést mutattak.

Tanulmányozva a tetraciklin hatását, az 18. ábra alapján látható, hogy kis koncentrációnál (1 g/l) nem figyelhető meg lényeges eltérés az analitikai tisztaságú (A.g. Tetracycline) és a kereskedelemben kapható gyógyszer (Com. Tetracycline) gátlása között a mustármag esetén, ugyanis a gyökérnövekedés gátlás mindkét esetben 49,44%-os volt. Nagyobb koncentrációkban (5-10 g/l) megfigyelhető, hogy az analitikai tisztaságú tetraciklin nagyobb mennyiségben gátolta a mustár gyökérnövekedését, mint a kereskedelemben kapható társa.

Összehasonlítva az orvosságokat a mustármag esetén is az ampicillin eredményezett enyhe kicsírázást.

Standard tesztünknel a csírázásgátlás mérésétől eltérő, **relatív csírázás** (RG – relative germination), **relatív gyökérhosszúság** (RRL – relative root length), illetve **csírázási index** (germination index) mérőszámokkal, mutatókkal is jellemezhető a csírákra kifejtett toxicitás. A magok fitotoxicitásának hatását a fenti mérőszámok alapján állapíthatjuk meg (2. táblázat).

A relatív magcsírázást (RG), a magok csírázási sebességének mértéke, egy standard palántanevelési tesztben a magok kontrollcsoportjához képest adjuk meg. Kiszámítása úgy történik, hogy a tesztcsoportban lévő csírázott magvak számát elosztjuk a kontrollcsoport kicsírázott magjainak számával.

Az RG eredménye a vizsgált magvak relatív életerejét és egészségi állapotát jelzi. A magas RG érték azt jelzi, hogy a tesztcsoportban lévő magvak nagyobb arányban csíráznak a kontrollcsoportéhoz képest, ami arra utal, hogy egészségesebbek, és nagyobb valószínűséggel nőnek és fejlődnek. Ezzel szemben az alacsony RG-érték azt jelzi, hogy a tesztcsoportban lévő magvak kisebb arányban csíráznak, mint a kontrollcsoportban, ami a vetőmag minőségével vagy a csírázásukat befolyásoló környezeti feltételekkel kapcsolatos lehetséges problémákra utal.

2. Táblázat. A relatív csírázás (RG) és a relatív gyökérhosszúság (RRL) összehasonlítása.

	C (g/l)	Saláta		Mustár	
		RG	RRL	RG	RRL
A.g. Ampicillin	1	92,36	80,25	93,91	93,66
	5	98,61	83,42	95,34	134,17
	10	95,83	80,91	83,87	119,60
Com. Ampicillin	1	93,75	20,03	nd.	
	5	45,83	0,23		
	10	19,79	0,10		
A.g. Tetracycline	1	100,00	38,44	104,63	50,56
	5	95,24	15,63	85,19	19,48
	10	76,87	0,86	62,04	11,73
Com. Tetracycline	1	95,24	36,79	108,75	50,56
	5	91,16	26,61	106,25	36,34
	10	87,07	4,78	75,00	18,76

Vizsgálati körülményeink között a relatív magcsírázás a saláta esetén 76,87%-nál nagyobb volt, kivétel a kereskedelemben kapható ampicillin 5 g/l (RG = 45,83%) és 10 g/l (RG = 19,79%, ez volt a legkisebb érték) koncentrációknál. A kapott eredmények arra utalnak, hogy a kereskedelemben kapható ampicillinre jelentős a fitotoxicitás.

Mustár esetében a kontroll mintánkhoz képest nagyobb arányban fordulnak elő egészségesebb magvak. Feltételezhető, hogy abban az esetben ha a magvak a fejlődésük korai szakaszában (a teszt 72 órás csírákat vizsgál) kicsíráznak, akkor a vizes oldatból felvett „tápanyagokkal” rövid periódusra maradnak életképesek.

A relatív gyökérnövekedés, gyökérhosszúság (RRL) a palánták elsődleges gyökerének (gyökének) növekedésének mértéke egy standard palántanövekedési tesztben, összehasonlítva a palánták kontrollcsoportjával. Ezt úgy számítjuk ki, hogy a tesztcsoportban lévő gyök hosszát elosztjuk a kontrollcsoport gyökének hosszával.

Az RRL eredménye szintén a vizsgált palánták relatív életerejét és egészségi állapotát jelzi. A magas RRL érték azt jelzi, hogy a tesztcsoportba tartozó palánták a kontrollcsoportéhoz képest hosszabb és robusztusabb gyökérnövekedést mutatnak, ami arra utal, hogy egészségesebbek, és nagyobb a valószínűsége a sikeres növekedésnek és fejlődésnek. Ezzel szemben az alacsony RRL-érték azt jelzi, hogy a tesztcsoportba tartozó palánták gyökérnövekedése rövidebb vagy

visszamaradt a kontrollcsoporthoz képest, ami arra utal, hogy a palánták egészségével vagy a növekedésüket befolyásoló környezeti feltételekkel kapcsolatos problémák lehetségesek.

Az 2. táblázatban szereplő adatok szembevetően alacsonyabb értékeket mutatnak az RG értékekhez viszonyítva. Ez alapján elmondható, hogy a gyökerek hossza rövidebb, visszamaradt, csökevényes (a sztereoszkópos vizsgálatoknál is látható). Ez szintén arra ad bizonyítékot, hogy a salátát és a mustárt egyaránt toxikus hatásnak teszi ki az antibiotikumok jelenléte. A magvak, ha kicsíráznak a csíráik életképesek 72 óras mérést követően, viszont a gyökereik állapota hosszú távon a magvak fejlődésének gátlását eredményezheti.

A csírázási index (GI) egy másik paraméter, amely a mag csírázásának és a palánta növekedésének értékelésére használható, standard palántanevelési tesztben. A csírázási indexet úgy számítják ki, hogy a csírázási százalékot megszorozzák az átlagos csírázási aránnyal (összes csírázási nap / összes csírázott mag). Eredményeink a 3. táblázatban találhatóak.

3. Táblázat. A csírázási indexek a saláta- és mustármagra.

Csírázási index (GI)	C (g/l)	Saláta	Mustár
A.g. Ampicillin	1	74,12	87,95
	5	82,26	127,92
	10	77,54	100,31
Com. Ampicillin	1	18,78	0
	5	0,11	0
	10	0,02	0
A.g. Tetracycline	1	38,44	52,90
	5	14,88	16,59
	10	0,66	7,28
Com. Tetracycline	1	35,04	54,98
	5	24,25	38,62
	10	4,16	14,07

A csírázási index átfogó mérést nyújt a magvak csírázási százalékáról és csírázási arányáról. A magasabb csírázási index azt jelzi, hogy a magvak gyorsan és nagy sebességgel csíráznak, ami jó magminőségre és optimális növekedési feltételekre utal. Másrészt az

alacsonyabb csírázási index lassabb csírázást és potenciálisan gyengébb magminőséget vagy kedvezőtlen növekedési feltételeket jelez.

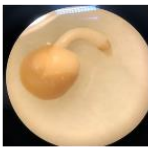
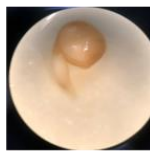
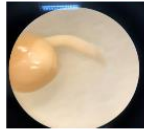
Vizsgálatainknál változó értékű indexeket kaptunk. A tiszta hatóanyagú ampicillin saláta- és mustármag indexei egyaránt magasak voltak, ezen magvak gyorsabban csíráztak ki. Ezzel szemben a kereskedelemben kapható ampicillin kedvezőtlen, toxikus hatás meglétét jelzi.

Összefoglalva a kapott eredményeinket és kiemelve a szembetűnő trendeket, összehasonlítva a relatív csírázás és a relatív gyökérhosszúság értékeit, elmondható, hogy a gyógyszerhatóanyagok koncentrációjának növekedésével, mindkét érték csökkenő trendet mutat. Kivételt képez az analitikai tisztaságú ampicillin, mely esetében az előbb láthattuk, hogy serkentette a csírák fejlődését. Megfigyelhető továbbá, hogy nagy százalékban kicsíráztak a magok, viszont a csírák hossza alacsony értékeket mutat. A legnagyobb relatív csírázást a mustár esetében jegyeztük fel, a kereskedelemben kapható 1g/l-es tetraciklin oldattal való kezelés után. A saláta esetében a legnagyobb relatív csírázási érték az analitikai tisztaságú tetraciklin 1g/l-es oldatának esetében volt megfigyelhető.

3.3. Sztereoszkópos vizsgálatok

Sztereoszkópos vizsgálataink során elemeztük a mustár és saláta csírák morfológiai elváltozásait, illetve tanulmányoztuk bizonyos szerkezeti egységek épségét. Fényképfelvételeket készítettünk a különböző gyógyszeroldatokkal kezelt csírákról (lásd 19. ábra és 20. ábra).

3.3.1. Mustár csírák vizsgálata

	A.g. Ampicillin	Com. Tetraciklin	A.g. Tetraciklin
1 g/l			
5 g/l			-
10 g/l			
Kontroll:			

19. ábra. Mustár csírák osztályozása (saját szerkesztés)

A fenti, 19. ábrán, egy összehasonlító táblázat látható a mustár csírákról a különböző gyógyszerhatóanyagokkal való kezelés után. Sztereoszkóp alatt megvizsgáltuk a mintákat és fényképfelvételeket készítettünk róluk. Előzetes eredményeinket alátámasztják a fényképek, például az analitikai tisztaságú ampicillinnel kezelt csírák esetében megfigyelhető a magas gyökérhosszúság.

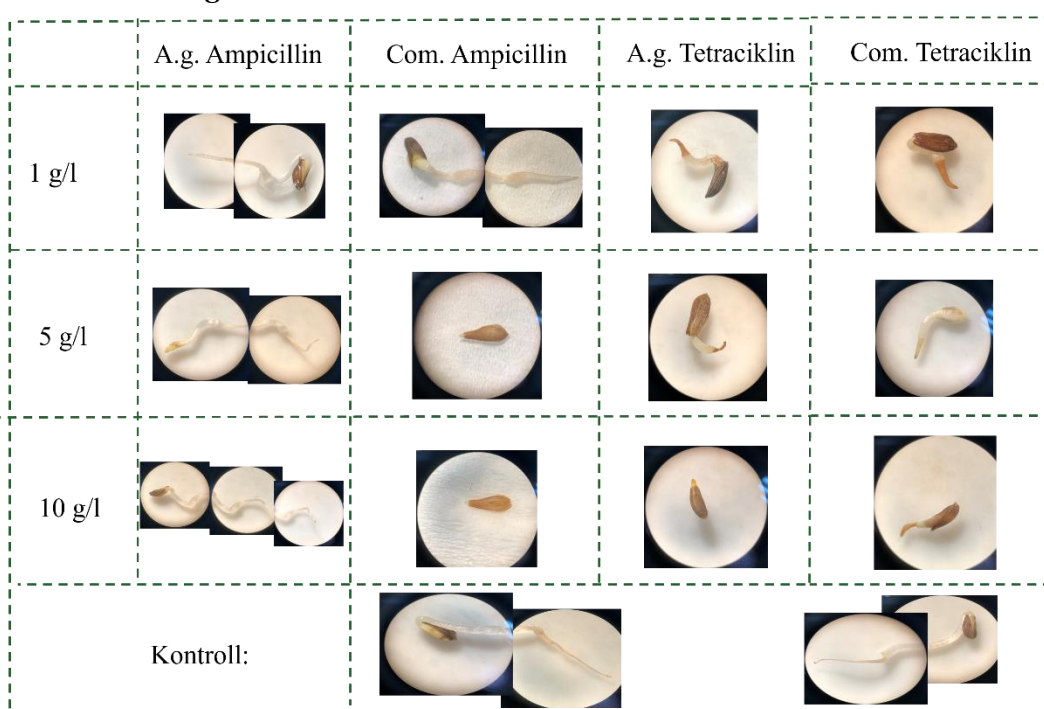
A növényi sejteket merev poliszacharid sejtfa veszi körül, ezért mozdulatlanok, ami korlátozza a sejtpusztulás útjait. A sejtpusztulásnak két fő típusát különböztetjük meg a növényekben, morfológiai kritériumok alapján: a vakuoláris sejthalált és a nekrozist. A vakuoláris sejtpusztulás egy lassú folyamat, amelyet az összes vagy a legtöbb sejtkomponens fokozatos

romlása jellemez. Ezzel ellentétben, a nekrózist a rohamos sejtpusztulás írja le, amely patogén invázió vagy az abiotikus stressz hatására következik be (McCall and Klein, 2013). A 19. ábrán észrevehető a tetraciklin gátló hatása, a gyökércsúcsokon megjelennek a nekrózis és a dehidratáció jelei, ugyanakkor a gyökerek rövidek (lásd: 1 g/l-es A.g. tetraciklin esetében).

Mindemellett megfigyelhető, hogy a kontroll csírák gyökere rövidebb, mint az analitikai ampicillin esetében, ami igazolja a fent említetteket, még hozzá azt, hogy az RRL értékei nagyobbak az A.g. ampicillin esetén a kontrollcsoportéhoz viszonyítva.

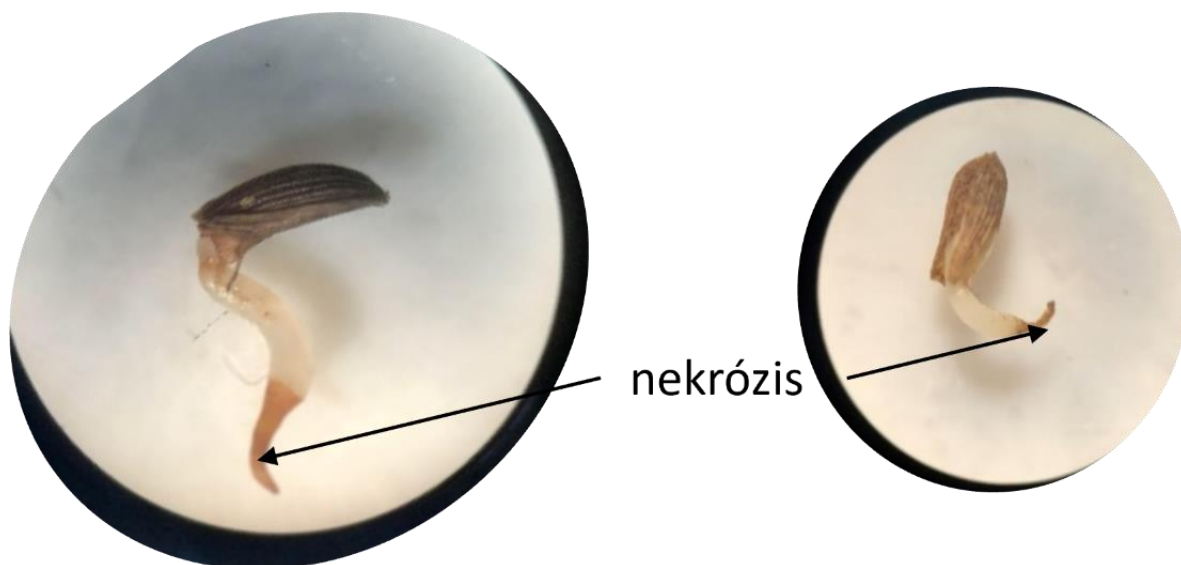
A kereskedelembe kapható ampicillin esetében a magok nem csíráztak ki, így nem készültek fotók.

3.3.2. Saláta csírák vizsgálata



20. ábra. Saláta csírák osztályozása (saját szerkesztés)

Ökotoxikológiai tesztjeink során megállapítottuk, hogy nekrózis és dehidratáció jelei leginkább a tetraciklinnel kezelt salátamagok esetében volt megfigyelhető (20. ábra). A hasonló koncentrációjú ampicillines oldatok esetén kevésbé volt észrevehető a gyökérelhalás tünete. A saláta esetében a nekrózis jelenléte nagyon jól megfigyelhető a 21. ábrán.

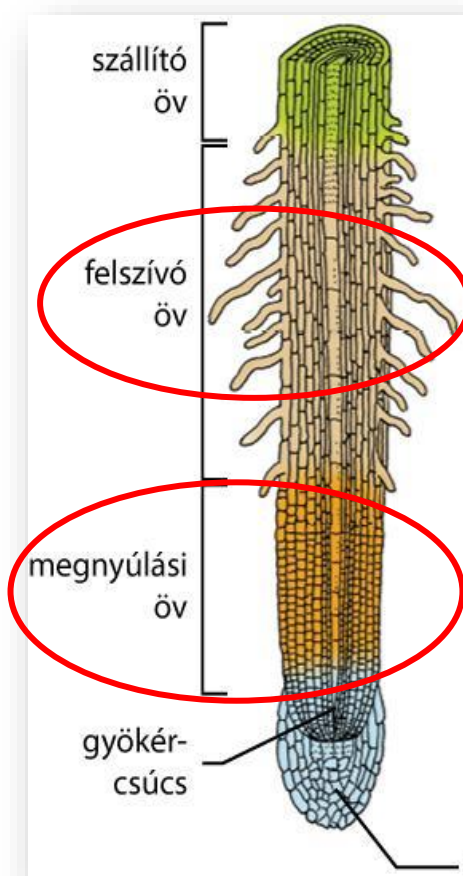


21. ábra. 1 g/l-es (bal felén), 5 g/l-es (jobb felén) analitikai tisztaságú tetraciklinnel kezelt saláta mag (saját szerkesztés)

A 20. ábrán megfigyelhetjük, hogy az analitikai tisztaságú ampicillinnel kezelt salátamagok gyökerének hossza jóval nagyobb a többi, hasonló koncentrációjú gyógyszerekkel kezelt magokkal szemben. Ugyanakkor a fent említett SGI eredményeinket igazolják az utolsó két oszlop fotói is a tetraciklin esetében, mivel egyértelműen megállapítható, hogy az analitikai tisztaságú tetraciklin nagyobb mennyiségben gátolta a saláta gyökérnövekedését, mint a kereskedelemben kapható társa. Mindemellett jól látható, hogy majdnem minden esetben a gyógyszerek koncentrációjának növekedésével a gátlás mértéke is arányosan megnőtt. Kivételt képez az analitikai tisztaságú ampicillin, melynek RRL értékei magasak.

Az irodalmi adatok alapján alátámasztható, hogy a magok felületén baktériumok, vírusok vannak. A csírázáshoz szükséges körülmények ideálisak bizonyos baktériumok szaporodásának, így könnyen találhatunk a csírák felületén olyan betegségeket okozó baktériumokat, mint például az *Escherichia coli* vagy a *Salmonella* (eteltcsakokosan, 2019). Amennyiben a víz minimális koncentrációban tartalmaz antibiotikumot, a magvak felületén megtalálható baktérium tenyészetek el kéne pusztuljanak az antibiotikumok hatására. Tehát elméletileg, az antibiotikumos oldatnak kellene serkentenie a csírázást. Mindemellett kimutatták, hogy a magok táplálószerében a sejtek anyagcsere folyamataik melléktermékeiként antibiotikumok keletkeznek, ami szintén serkenti a csírázást és a növények fejlődését.

Mindezek ellenére a fenti ábrák alapján elmondható, hogy gátlás figyelhető meg. Ugyanis a gyökércsúcsok megnyúlási zónái és a gyökérszőrök övezete (22. ábra) egyre inkább érzékenyek bizonyult az antibiotikumokkal szemben. Így elmondható, hogy adott koncentrációjú antibiotikumos kezelés már káros a csírázásra. A melléktermékként képződött antibiotikumok mennyisége nagyban függ a növényi fajoktól és környezeti tényezőktől.



22. ábra. A gyökércsúcsok megnyúlási zónái és a gyökérszőrök övezete ("Biológia 11. - II. A növények életműködései - 9. A zárvatermő növények életciklusa," n.d.)

3.4. Szakirodalmi összehasonlítás

A kapott eredmények értékelése a szakirodalmi információk nélkül lehetetlen. Biológiai tesztek tág spektrumát alkalmazzák és vitatják meg tudományos szaklapok tanulmányaiban, annak érdekében, hogy megállapítsák a szennyező anyagok fitotoxicitását. A tanulmányok révén optimalizálják a folyamatokat és megkönnyítik ezzel a környezeti és emberi kockázatok ellenőrzését.

Yuan Luo és mtsai. a kínai kel (*Brassica rapa* L.) használták a **tetraciklin** toxicitásának tanulmányozására, mivel magja közepes méretű (1-2 mm), gyorsan és egyenletesen csírázik. Kísérleteiket 20 és 160 magmintán végezték 5 ml 1, 5, 10, 20, 50, 100 és 200 μ M oldattal. 12 órás (csírázási szakasz) inkubáció után a csírázási százalék elérte a 90%-ot (Luo és mtsai., 2019).

Min Pan és L. M. Chu tanulmányozta a széles körben használt és perzisztens állatgyógyászati antibiotikumok, **a tetraciklin** (TC), a szulfametazin (SMZ), a norfloxacin (NOR), az eritromicin (ERY) és a kloramfenikol (CAP) toxicitását a magok csírázására és a gyökér megnyúlására **salátában**, paradicsomban, sárgarépában és uborkában. Eredményeik azt mutatták, hogy ezek a vegyületek ($c = 0.00, 0.01, 0.10, 1.00, 10.0, 100$ és 300 mg/l) szignifikánsan gátolták a gyökér megnyúlását, ami a fitotoxicitási teszt legérzékenyebb végpontja. Kifejezik, hogy a hidrofóbicitás az antibiotikumok fitotoxikus hatásait befolyásoló döntő tényező, a növényekre gyakorolt fitotoxicitás pedig a poláris narkózis mechanizmusával magyarázható. A TC a legmagasabb szintű toxicitással járt, ezt követte a NOR, az ERY, az SMZ és a CAP. A növényfajok tekintetében a saláta érzékeny a legtöbb VA-ra (Pan és Chu, 2016).

Összehasonlítva eredményeinket Min Pan és L. M. Chu eredményeivel elmondható, hogy az analitikai tisztaságú tetraciklin 60-99%-os, míg a kereskedelemben kapható tetraciklin 60-90%-os csírázásgátlást mutatott a saláta esetén 1-10 g/l koncentrációk között. Következtetésük, miszerint a gyökér megnyúlása bizonyult a legérzékenyebb végpontnak a fitotoxicitási tesztben, esetünkben is megtapasztalható volt (lásd: sztereoszkópos felvételek).

Matilde Carballo és mtsai. áttekintése az antibiotikumok fitotoxikus hatásait értékeli a szárazföldi haszonnövényekre és a vadon élő (nem haszon) növényekre. 275 adatkészletet elemeztek, amelyek 12 antibiotikum-osztályt (aminoglikozidok, biszfenolok, diaminopiridinek, fluorokinolonok, ionoforok, linkozamidok, makrolidok, penicillinek, fenikol, kinolonok, szulfonamidok és tetraciklinek) és nyolc növény családot tartalmaztak (*Asterapiace*, *Cubaceae*, *Bracuraceae*, *Bracuraceae baceae*, *liliaceae*, *Poaceae* és *Solanaceae*). Hangsúlyozzák, hogy

ezekre a vizsgálatokra azért van szükség, mert az antibiotikumok mind közvetlenül, például a légzés vagy a klorofill szintézisének csökkentésével, mind pedig közvetetten a növény-mikroba szimbiotikus kapcsolatok kiegyensúlyozatlanságával fejthetnek ki fitotoxikus hatást (Carballo és mtsai., 2022).

Az értékelt antibiotikumok különböző osztályai közül a fenikolt találták a legtoxikusabb antibiotikum-osztálynak, ugyanakkor a makrolidok és a tetraciklinek voltak a legkevésbé toxikusak a korábbi vizsgálatokkal ellentétben. Nem találtak szignifikáns eredményt a növénycsaládok összehasonlításában. Azt találták, hogy a *Brassicaceae* és *Liliaceae* a legérzékenyebb család, míg az *Asteraceae* a legkevésbé érzékeny. További vizsgálatokat javasolnak (Carballo és mtsai., 2022).

Egy hidroponikus kísérletet végeztek Xiujie Xie és mtsai. a **tetraciklin**nek a búza (*Triticum aestivum* L.) növekedésére, antioxidáns és genetikai mutatóira gyakorolt toxikus hatásainak vizsgálatára. Eredményeik azt mutatták, hogy a Tc 0.5-10 mg/l-ben serkentheti a magok csírázását, a sejt mitotikus osztódását és a búzapolánták növekedését, és nem indukálta jelentős mértékben az antioxidáns enzimek aktivitását. Ezzel ellentétben, magas koncentrációban koncentrációfüggő módon jelentősen gátolja a búza csírázását. Arra a következtetésre jutottak, hogy a tetraciklin potenciális fiziológiai, biokémiai és genetikai toxicitást okozhat a növényi sejtekben, és a kromoszóma-rendellenességek és az RNS érzékeny bioindikátorok lehetnek a tetraciklin-szennyeződésre, mint a többi növényi jellemző (Xie és mtsai., 2011).

Irodalmi áttekintésem során a google scholar és elsevier felületeken nagyon kevés vagy régi tanulmányokat találtam, amikor a következő kulcsszavak kombinációját kerestem: fitotoxicitási tesztek, magcsírázás, mustár, antibiotikumok, ampicillin. Ez a tény tovább bizonyítja a fitotoxikológiai standard teszt elvégzésének szükségességét az optimalizálás érdekében.

Egy összefoglaló (review) cikk Geetha Gopal és mtsai. lényegretörően összefoglalják, hogy mivel a gyógyszerészetileg aktív vegyi anyagokra vonatkozóan nincsenek globálisan megengedett maximális környezeti koncentrációk, ebből kifolyólag az országok kormányainak szigorú szabályozást kellene bevezetniük (23. ábra). A kapott következtetéseiket a 23. ábrán szemléltetem, amely eredményeimmel összhangban jövőbeli perspektívát adhat a gyógyszermaradványok kezelési normatíváihoz (Gopal és mtsai., 2020).



23. ábra. Ajánlott intézkedések (saját szerkesztés irodalom alapján (Gopal és mtsai., 2020))

4. KÖVETKEZTETÉSEK

Eredményeink azt mutatják, hogy a csírázás gátlása gyógyszer- és koncentrációfüggő. Ezen gyógyszerek hatásai ugyanakkor betekintést nyújthatnak a fajok relatív érzékenységebe és alapul szolgálhatnak az új vegyületek növényekre gyakorolt potenciális toxikus hatásainak vizsgálatához. Nem figyelhető meg lényeges különbség az analitikai minőségű és kereskedelmi forgalomban kapható tetraciklin hatása között. Az analitikai tisztaságú ampicillin kis koncentrációban gátolja, viszont nagyobb koncentrációban serkenti a gyökér növekedését.

Hipotéziseinkre adott válaszok:

- ***A gyógyszerek negatívan befolyásolják a csírák növekedését.***

Az állítás igaz, számos esetben volt megfigyelhető a gyökernövekedés gátlása, a csírák hosszúságának csökkenése és nekrosis jelei is.

- ***Nincs különbség az analitikai minőségű és kereskedelmi forgalomban kapható antibiotikum hatása között.***

Nem volt megfigyelhető lényeges, nagymértékű különbség a forgalomban levő gyógyszer és az analitikai tisztaságú hatóanyag között.

- ***Morfológiai elváltozások keletkeznek a csírákon az antibiotikumok hatására.***

Valóban, morfológiai elváltozások keletkeztek a csírákon az antibiotikumok hatására, dehidratáció, nekrosis jelei mutatkoztak. A gyökércsúcsok megnyúlási zónái és a gyökérszőrök övezete egyre inkább érzékenynek bizonyult az antibiotikumokkal szemben.

Összességében, kutatásunk alátámasztja azt a feltevésünket, hogy napjaink egyik legfőbb környezetvédelmi problémája a nem megfelelően tisztított szennyvíz, mely kikerül a szabadba és bekapcsolódván egy természetes ciklusba, visszakerül az ember táplálékláncába és ezáltal a szervezetünkbe. Sürgősen megoldásokat kell keresni ezen toxikus vegyületek eltávolítására, mivel komoly veszélyeket rejtenek úgy az ökoszisztémára, mint az emberi társadalomra nézve. Hatásaik hosszú távon még nem bizonyítottak, de az bizonyos, hogy környezetmódosító/környezetrongáló funkcióval rendelkeznek.

Célunk, hogy további ökotoxikológiai tesztek végezzünk az antibiotikumok, mint mikroszennyezők, toxikus hatásainak megerősítése érdekében bizonyos növényfajokon. Mindemellett szeretnénk kiterjeszteni kutatásunkat az állatvilágra is, és ezáltal vizsgálni bizonyos rovarok viselkedésének változását a különböző gyógyszeroldatok hatására.

5. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm témavezetőimnek, Dr. habil. Tonk Szende-Ágnes egyetemi docensnek és Rápó Eszter egyetemi adjunktusnak a Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem Kolozsvári Kar Környezettudomány tanszék oktatóinak a segítségét, szakmai támogatását, amellyel ez a dolgozat elkészülhetett.

6. IRODALOMJEGYZÉK

Zotero programcsomaggal készült

- Adegbeye, M.J., Elghandour, M.M.M.Y., Faniyi, T.O., Rivero Perez, N., Barbabosa-Pilego, A., Zaragoza-Bastida, A., Salem, A.Z.M., 2020. Antimicrobial and antihelminthic impacts of black cumin, pawpaw and mustard seeds in livestock production and health. *Agroforest Syst* 94, 1255–1268. <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0337-0>
- Allen, H.K., Donato, J., Wang, H.H., Cloud-Hansen, K.A., Davies, J., Handelsman, J., 2010. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat Rev Microbiol* 8, 251–259. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2312>
- biobide, 2022. Ecotoxicity Testing Methods and Models. URL <https://blog.biobide.com/ecotoxicity-testing-methods-and-models> (accessed 11.16.22).
- Biológia 11. - II. A növények életműködései - 9. A zárwatermő növények életsiklusa [WWW Document], n.d. URL https://nat2012.nkp.hu/tankonyv/biologia_11/lecke_02_009 (accessed 4.13.24).
- Boros, B.-V., Ostafe, V., 2020. Evaluation of Ecotoxicology Assessment Methods of Nanomaterials and Their Effects. *Nanomaterials (Basel)* 10, 610. <https://doi.org/10.3390/nano10040610>
- Carballo, M., Rodríguez, A., de la Torre, A., 2022. Phytotoxic Effects of Antibiotics on Terrestrial Crop Plants and Wild Plants: A Systematic Review. *Arch Environ Contam Toxicol* 82, 48–61. <https://doi.org/10.1007/s00244-021-00893-5>
- Carvalho, I.T., Santos, L., 2016. Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European scenario. *Environment International* 94, 736–757. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.06.025>
- Castillo Meza, L., Piotrowski, P., Farnan, J., Tasker, T.L., Xiong, B., Weggler, B., Murrell, K., Dorman, F.L., Vanden Heuvel, J.P., Burgos, W.D., 2020. Detection and removal of biologically active organic micropollutants from hospital wastewater. *Science of The Total Environment* 700, 134469. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134469>

- Chopra, I., Roberts, M., 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 65, 232–260. <https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001>
- Connell, D.W., Lam, P., Richardson, B., Wu, R., 2009. *Introduction to Ecotoxicology*. John Wiley & Sons.
- Crane, M., Handy, R.D., Garrod, J., Owen, R., 2008. Ecotoxicity test methods and environmental hazard assessment for engineered nanoparticles. *Ecotoxicology* 17, 421–437. <https://doi.org/10.1007/s10646-008-0215-z>
- Daghrir, R., Drogui, P., 2013. Tetracycline antibiotics in the environment: a review. *Environ Chem Lett* 11, 209–227. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0404-8>
- Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., Hartemann, P., 2011. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health, The second European PhD students workshop: Water and health ? Cannes 2010* 214, 442–448. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.08.002>
- eteltcsakokosan, 2019. Csírák. Ételtsakokosan. URL <https://eteltcsakokosan.hu/csirak/> (accessed 4.12.24).
- Falás, P., Wick, A., Castronovo, S., Habermacher, J., Ternes, T.A., Joss, A., 2016. Tracing the limits of organic micropollutant removal in biological wastewater treatment. *Water Research* 95, 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.009>
- geeksforgeeks, 2023. Seed Germination-Process, Factors, Advantage [WWW Document]. GeeksforGeeks. URL <https://www.geeksforgeeks.org/seed-germination/> (accessed 4.12.24).
- Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V.K., Tushara Chaminda, G.G., An, A.K., Kumar, M., 2018. Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development* 6, 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>

- Gopal, G., Alex, S.A., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., 2020. A review on tetracycline removal from aqueous systems by advanced treatment techniques. *RSC Adv.* 10, 27081–27095. <https://doi.org/10.1039/D0RA04264A>
- Gosset, A., Polomé, P., Perrodin, Y., 2020. Ecotoxicological risk assessment of micropollutants from treated urban wastewater effluents for watercourses at a territorial scale: Application and comparison of two approaches. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 224, 113437. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.113437>
- Grandclément, C., Seyssiecq, I., Píram, A., Wong-Wah-Chung, P., Vanot, G., Tiliacos, N., Roche, N., Doumenq, P., 2017. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: A review. *Water Research* 111, 297–317. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.005>
- Gyires Klára, Fürst Zsuzsanna, 2011. *A farmakológia alapjai*. Medicina Könyvkiadó Zrt.
- Jardine, B., 2016. Microscopes, in: *A Companion to the History of Science*. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 515–529. <https://doi.org/10.1002/9781118620762.ch36>
- Jassim, T., Israa, M., Al-Ibadi, I., 2017. Ampicillin inhibition effect on HCT116 cell line.
- Jiang, J.-Q., Zhou, Z., Sharma, V.K., 2013. Occurrence, transportation, monitoring and treatment of emerging micro-pollutants in waste water — A review from global views. *Microchemical Journal* 110, 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.04.014>
- Kahru, A., Dubourguier, H.-C., 2010. From ecotoxicology to nanoecotoxicology. *Toxicology, Potential Hazard of Nanoparticles: From Properties to Biological & Environmental Effects* 269, 105–119. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.08.016>
- Langman, L.J., Kapur, B.M., 2006. Toxicology: Then and now. *Clinical Biochemistry*, 50th Anniversary Special Issue 39, 498–510. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2006.03.004>
- Lei, M., Zhang, L., Lei, J., Zong, L., Li, J., Wu, Z., Wang, Z., 2015. Overview of Emerging Contaminants and Associated Human Health Effects. *BioMed Research International* 2015, e404796. <https://doi.org/10.1155/2015/404796>

- Lietzow, J., 2021. Biologically Active Compounds in Mustard Seeds: A Toxicological Perspective. *Foods* 10, 2089. <https://doi.org/10.3390/foods10092089>
- Loos, R., Carvalho, R., António, D.C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Paracchini, B., Ghiani, M., Lettieri, T., Blaha, L., Jarosova, B., Voorspoels, S., Servaes, K., Haglund, P., Fick, J., Lindberg, R.H., Schwesig, D., Gawlik, B.M., 2013. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research* 47, 6475–6487. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.08.024>
- Luo, Y., Guo, W., Ngo, H.H., Nghiem, L.D., Hai, F.I., Zhang, J., Liang, S., Wang, X.C., 2014. A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of The Total Environment* 473–474, 619–641. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065>
- Luo, Y., Liang, J., Zeng, G., Li, X., Chen, M., Jiang, L., Xing, W., Tang, N., Fang, Y., Chen, X., 2019. Evaluation of tetracycline phytotoxicity by seed germination stage and radicle elongation stage tests: A comparison of two typical methods for analysis. *Environmental Pollution* 251, 257–263. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.005>
- McCall, K., Klein, C., 2013. Necrosis methods and protocols, *Methods in molecular biology*, 1004. Humana Press, New York.
- Mohammed, A.A., Al-Musawi, T.J., Kareem, S.L., Zarrabi, M., Al-Ma'abreh, A.M., 2020. Simultaneous adsorption of tetracycline, amoxicillin, and ciprofloxacin by pistachio shell powder coated with zinc oxide nanoparticles. *Arabian Journal of Chemistry* 13, 4629–4643. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.10.010>
- Noumedem, J., Djeussi, D., Hritcu, L., Marius, M., Kuete, V., 2017. *Lactuca sativa*, in: *Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Against Metabolic, Inflammatory, Infectious and Systemic Diseases*. pp. 437–449. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00020-0>
- Pal, A., Gin, K.Y.-H., Lin, A.Y.-C., Reinhard, M., 2010. Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science*

- of The Total Environment 408, 6062–6069.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.09.026>
- Pan, M., Chu, L.M., 2016. Phytotoxicity of veterinary antibiotics to seed germination and root elongation of crops. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 126, 228–237.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.027>
- Robinson G., 2024. Ernst Haeckel | German Naturalist & Evolutionary Biologist [WWW Document]. URL <https://www.britannica.com/biography/Ernst-Haeckel> (accessed 4.12.24).
- Salthammer, T., Mentese, S., Marutzky, R., 2010. Formaldehyde in the Indoor Environment. *Chem. Rev.* 110, 2536–2572. <https://doi.org/10.1021/cr800399g>
- scienceabc, 2019. How Does A Seed Grow Into A Tree? [WWW Document]. Science ABC. URL <https://www.scienceabc.com/nature/seed-grow-tree.html> (accessed 4.12.24).
- Sharma, S.K., 2007. New trends in telescopic remote Raman spectroscopic instrumentation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Seventh International Conference on Raman Spectroscopy Applied to the Earth and Planetary Sciences 68, 1008–1022. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.06.047>
- Stauffer, R.C., 1957. Haeckel, Darwin, and Ecology. *The Quarterly Review of Biology* 32, 138–144. <https://doi.org/10.1086/401754>
- Székely, C., 2014. A környezeti kockázatok kezelése. *Gazdaság és Társadalom* 1. <https://doi.org/10.21637/GT.2014.1.02>
- Tang, Y., Yin, M., Yang, W., Li, H., Zhong, Y., Mo, L., Liang, Y., Ma, X., Sun, X., 2019. Emerging pollutants in water environment: Occurrence, monitoring, fate, and risk assessment. *Water Environment Research* 91, 984–991. <https://doi.org/10.1002/wer.1163>
- Teijon, G., Candela, L., Tamoh, K., Molina-Díaz, A., Fernández-Alba, A.R., 2010. Occurrence of emerging contaminants, priority substances (2008/105/CE) and heavy metals in treated wastewater and groundwater at Depurbaix facility (Barcelona, Spain). *Science of The Total Environment* 408, 3584–3595. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.04.041>

- Trigiano, R.N., Gray, D.J., 2016. *Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology*. CRC Press.
- van Buul, L.W., van der Steen, J.T., Doncker, S.M., Achterberg, W.P., Schellevis, F.G., Veenhuizen, R.B., Hertogh, C.M., 2014. Factors influencing antibiotic prescribing in long-term care facilities: a qualitative in-depth study. *BMC Geriatrics* 14, 136. <https://doi.org/10.1186/1471-2318-14-136>
- Vasilachi, I.C., Asiminicesei, D.M., Fertu, D.I., Gavrilescu, M., 2021. Occurrence and Fate of Emerging Pollutants in Water Environment and Options for Their Removal. *Water* 13, 181. <https://doi.org/10.3390/w13020181>
- Velicer, C.M., Heckbert, S.R., Lampe, J.W., Potter, J.D., Robertson, C.A., Taplin, S.H., 2004. Antibiotic use in relation to the risk of breast cancer. *JAMA* 291, 827–835. <https://doi.org/10.1001/jama.291.7.827>
- Xie, X., Zhou, Q., Lin, D., Guo, J., Bao, Y., 2011. Toxic effect of tetracycline exposure on growth, antioxidative and genetic indices of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environ Sci Pollut Res* 18, 566–575. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0398-8>
- Yilmaz, G., Kaya, Y., Vergili, I., Beril Gönder, Z., Özhan, G., Ozbek Celik, B., Altinkum, S.M., Bagdatli, Y., Boergers, A., Tuerk, J., 2017. Characterization and toxicity of hospital wastewaters in Turkey. *Environ Monit Assess* 189, 55. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5732-2>

7. MELLÉKLET

7.1 Saját eredmények

Kutatásom során az antibiotikumok, mint mikroszennyezők, potenciális toxikus hatásait vizsgáltam a mustár- illetve salátamagok esetében. Hipotéziseim közé tartozott, hogy a különböző koncentrációjú gyógyszerhatóanyagok káros hatással lehetnek a környezetre, ezen belül a növények, csírák fejlődésére, növekedésére. Ahhoz, hogy állításom bebizonyítsam, csíranövénytesztet végeztem, követve az MSZ21978/8-85-ös magyar országos szabványt, majd sztereoszkópos vizsgálatokat végeztem a csírákon. Kutatásomban, a kereskedelembe kapható és analitikai tisztaságú ampicillin és tetraciklin hatásait vizsgáltam. Miért pont ezeket a gyógyszerhatóanyagokat választottam? Széles körben elterjedtek, a Föld majdnem minden pontján mindennapi használatra alkalmazzák úgy a humán-, mint az állatgyógyászatban.

Úgy gondolom, kutatásommal hozzájárultam a gyógyszermaradványok, mint mikroszennyezők toxikus hatásainak megértéséhez és vizsgálatához. Sikerült kibővíteni az eddigi tudáshalmazt azáltal, hogy két specifikus növény csírázását vizsgáltam és ezek reakcióját a különböző toxikus anyagokra, ezen esetben a gyógyszermaradványokra.

Az általam alkalmazott vizsgálati módszerek:

- csíranövénytesztet végeztem az említett szabvány alapján. Sterilizált Petri-csészékben, szűrőpapírra 25-25 magot helyeztem el egyenlő távolságokra, majd Eppendorf mikropipetta segítségével 5-5 ml gyógyszeroldatot pipettáztam különböző koncentrációkban. 72 órán keresztül, 20-23 °C-on sötétben tartottam a mintákat. Noha a szabvány 2 párhuzamos vizsgálat elvégzését követelte, én mindenik kísérleti beállítást 6-szor ismételt meg a pontos következtetések és replikálhatóság érdekében.
- digitális tolómérce segítségével lemértem a gyökérhosszúságokat és lejegyeztem a kicsírázott magvak számát. Ezek alapján különböző indexeket számoltam ki, mint például a gyökérnövekedés-gátlás vagy relatív csírázás értékeit.
- sztereoszkópos vizsgálatokat végeztem, melyek során összehasonlítottam a csírákat. Vizsgáltam az esetleges elváltozásokat, az egyes szerkezeti egységek épségét és fényképfelvételeket készítettem a kezeletlen és a különböző hatóanyagokkal kezelt csírákról.

Eredményeim:

- minden esetben, a gyógyszerek koncentrációjának növekedésével a gyökérnövekedés gátlás mértéke is növekedett
- nem volt megfigyelhető lényeges különbség forgalomban kapható gyógyszer és az analitikai tisztaságú hatóanyag között
- összehasonlítva a relatív csírázás és gyökérhosszúság értékeit, elmondható, hogy a gyógyszerhatóanyagok koncentrációjának növekedésével, mindkét érték csökkenő trendet mutat. Kivételt képez az analitikai tisztaságú ampicillin, mely serkentette a csírák fejlődését a mustármag esetében.
- a sztereoszkópos vizsgálatok során megfigyeltük, hogy a csírákon dehidratáció és nekrosis jelei mutatkoztak. Így megállapítható, hogy morfológiai elváltozások keletkeznek a csírákon az antibiotikumok hatására.