

Szent István Egyetem
Gazdasági, Agrár- és Egészségtudományi Kar

Antibiotikum maradványok előfordulása a Körösök vízrendszerében

Tudományos Diákköri Dolgozat

Készítette:

Szabó Anita

III. évfolyam

Környezetgazdálkodási agrármérnök

Konzulens:

Dr. Jakab Gusztáv

egyetemidocens

Külső konzulens:

Dr. Jakabné Dr. Sándor Zsuzsanna

tudományos főmunkatárs

Halászati és Öntözési Kutatóintézet

Szarvas

2011

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. Irodalmi áttekintés	4
2.1. A Körösök medencéjének jellemzése	4
2.2. Gyógyszermaradványok előfordulása és útja a környezetben	10
2.3. Humán- és állati gyógyszermaradványok bemutatása, osztályozása és veszélyei	12
2.4. Gyógyszermaradványok hatása a vízi élőszervezetekre	17
3. Anyag és módszer	20
3.1. A mintavételi helyek kijelölése és jellemzése	20
3.2. Mintavételi módszerek	22
3.3. Analitikai módszerek	23
4. Eredmények és értékelésük	30
5. Következtetések és javaslatok	39
6. Összefoglalás	41
Irodalomjegyzék	43
Köszönetnyilvánítás	46
Függelék	47

1. Bevezetés

A különböző vegyipari termékek, többek között a gyógyszerek és hormonhatású anyagok egyre súlyosabb környezetszennyező hatását az elmúlt 10-20 évben kezdték egyre szélesebb körben felismerni. A gyógyszermaradványok, hasonlóan más szennyezőanyagokhoz, képesek beépülni a növényekbe, állatokba, ahol koncentrációjuk a bioakkumuláció és a biomagnifikáció révén sokkal nagyobb lehet, mint a környezetben. A vízi ökoszisztémák fokozottabban érzékenyek a szennyező anyagokra, mivel a vízi szervezetek testfelülete közvetlenül érintkezik a vízzel. Táplálékuk is vízi eredetű, szervezetükben így hamarabb felhalmozódnak a mérgező anyagok, ezért a mérgezés tünetei, vagy az egyéb káros hatások még azelőtt kimutathatók, mielőtt azok az embereken is jelentkeznének.

Figyelembe véve a korábbi kutatások eredményeit, a Halászati és Öntözési Kutatóintézet kutatói egy nemzetközi projekt keretében célul tűzték ki a vizeinkbe kerülő mikroszennyezők vizsgálatát, ezek közül is az egyik legalattomosabb vegyületcsoport, az antibiotikumok jelenlétét és felhalmozódását. További célkitűzésnek fogalmazták meg néhány nem-szteroid fájdalomcsillapító gyógyszermaradvány vizsgálatát is.

Ebbe a munkába kapcsolódtam be tudományos diákköri hallgatóként, melynek során a környezeti minták analitikai vizsgálatát végeztem el. A laboratóriumi munka során három antibiotikum csoport, tetraciklinek, szulfonamidok és nitrofuránok előfordulását határoztuk meg növényekben, üledékben és bentikus élőszervezetekben. Az analitikai elemzéshez egy „screening” módszert alkalmaztunk, mely lehetővé teszi minden aktivitással rendelkező gyógyszermolekula kimutatását. Az ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) technika nem csak az anyavegyületeket, hanem a metabolitokat is képes kimutatni, így egy gyors monitoring vizsgálatot tesz lehetővé.

Munkám során szeretném az emberek figyelmét felhívni arra, hogy a csekély mennyiségük miatt veszélytelennek tartott gyógyszermaradványok hatással vannak/lehetnek a vízi élőlényekre, illetve közvetetten a lakosságra is. Habár a folyószabályozások és vízrendezések jelentősen visszafogták a Kárpát-medencei folyók ökológiai potenciálját, a környezetszennyező anyagok kibocsátásának csökkentésével jelentősen mérsékelhető lenne ez a hatás, és a folyók újra régi szépségüket mutathatnák.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A Körösök medencéjének jellemzése

A Körösök vízgyűjtőjének kiterjedése 27537 km², amelyen négy folyó helyezkedik el, ezek a Fehér-Körös, a Fekete-Körös, a Sebes-Körös és a Berettyó. Ezek a folyók a Nyugati-Szigethegység nyugati oldaláról gyűjtik össze a vizeket. A vízfolyások teljes hossza 3345 km-t tesz ki, amelyből, 207 km a Sebes-Körös, 168 km a Fekete-Körös, 248 km a Fehér-Körös, 37 km a Kettős-Körös, 91 km a Hármaskörös és 198 km a Berettyó hossza. A fő folyók hossza eléri a 949 km-t. Ezek a folyók a Szigethegység nyugati részének, éspedig a Réz-hegységnek, a Bihar-hegységnek, a Királyerdőnek, a Béli-hegységnek és a Zarándnak a vizeit gyűjtik össze. Keletről a medencét a Szamos és a Maros medencéje, valamint a Bihar-hegység határolja.

A topográfiai felméréseket követően 1756-1829 között megépítették az első gátakat a Körösök alsó szakaszán és egyes kanyarulatokat átvágva lerövidítették folyásukat. Így a Fekete-Körösön 41 kanyarulatot vágtak át, 12,5 km-rel rövidítve le a folyót, a Fehér-Körös pedig 39 km-t veszített hosszából (Sárkány-Kiss et al., 1999). A gátemelések és lecsapolások számottevően megváltoztatták a Körösök térségének jellegét, jelentősen éreztetve az antropogén hatásokat.

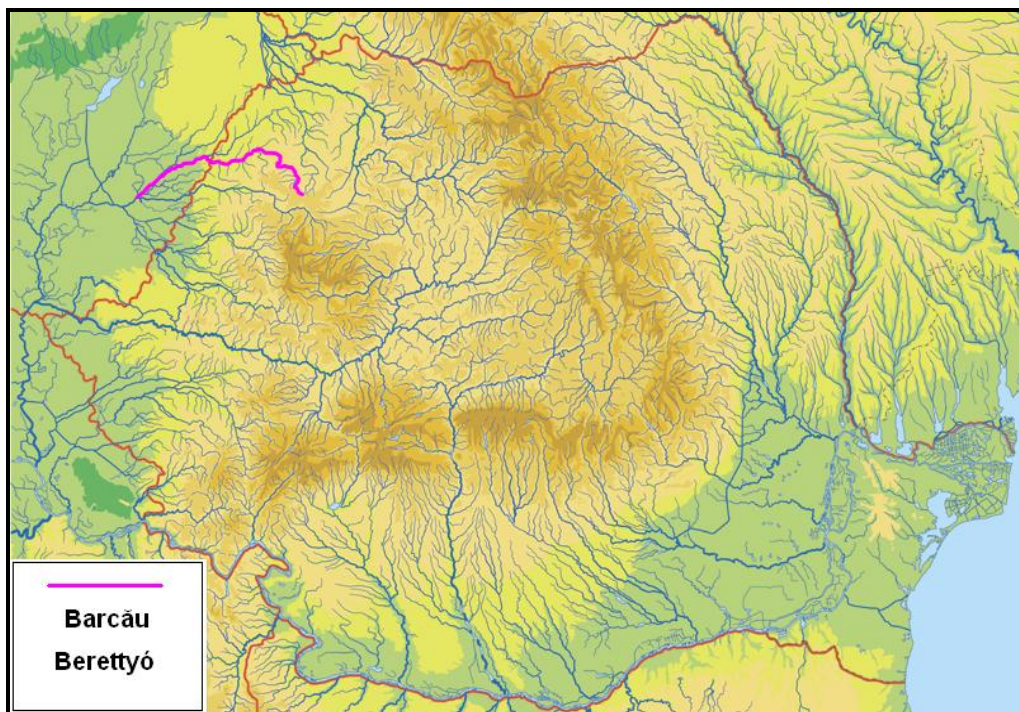
A Körösök vízrendszere

Berettyó

A Berettyó csodálatos természeti környezetben, a Réz-hegység nyugati peremén, a 997 m magas Ponor csúcs alatt ered triász kori mészkő rétegek bővizű karsztforrásaiból. Marghitát elhagyva felveszi legjelentősebb baloldali mellékvizét, a gyors folyású, gyakran megáradó Bisztra-patakot, majd Szalárdnál kiér az Alföldre. Már az országhatáron túl, Pocsajnál torkollik bele legnagyobb jobboldali mellékfolyója, az Ér. A Berettyó Szeghalomnál ömlik a Sebes-Körösbe. A folyó teljes hossza 198 km, ebből 120 km Románia, 78 km Magyarország területén található.

Vízhozam tekintetében a Berettyó szeszélyes folyó. Átlagos vízhozama a torkolatnál 8 m³/s, ám a tavaszi áradások idején ennek az értéknek a sokszorosát is elérheti, aszályos nyarakon viszont alig haladja meg a 0,5 m³/sec hozamot.

A Berettyó felső szakasza tulajdonképpen egy hegyi patak, annak minden jellegzetességével. Ezen a szakaszon Marghita város nagymértékben szennyezi a folyót. A Berettyó alsó szakasza bakteriológiai vizsgálatok alapján erősen szennyezettnek minősíthető, sok a Salmonella és a coliform baktérium. A Berettyót számos antropogén hatás érte, különösen kifejezettek voltak ezek az alsó szakaszán. Ilyen volt a vízszabályozás, mederrendezés. Töltések közé szorították és elzárták a Sárreótól, hosszát a szabályozott szakaszon 1/3-ára csökkentették. A szabályozás előtti jellegzetes mocsári élővilága teljesen megsemmisült. A halállomány kicserélődött és a fészkelő madarak sem találtak többé kedvező fészkelési lehetőségeket. Középső szakaszán kevésbé a hidrotechnikai beavatkozások, sokkal inkább a környezetszennyezés jelentős. Az 1950-es évektől beindult a kőolaj kitermelés, majd a finomító megépítése. Marghitától a folyó öntisztulása érvényesülne, de itt a kommunális szennyvíz jelenti a szennyező forrást. A felső szakasz élővilága őrizte meg leginkább ősi jellegét.

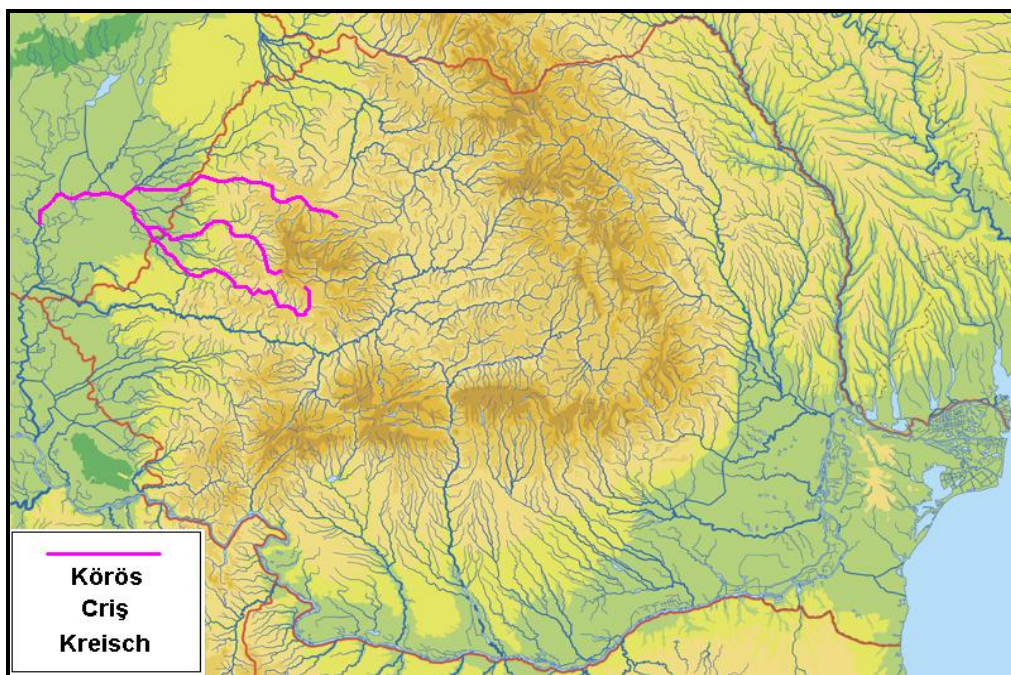


1. ábra. A Berettyó folyó elhelyezkedése a Kárpát-medence keleti részén (forrás: wikipédia)

Sebes-Körös

A Sebes-Körös a Gyalui-havasok, a Vlegyásza és a Királyerdő északi hegyoldalairól gyűjti össze a vizeket. Körösfő közeléből, a Bánffyhunyadi-medence északi részéből, 710 m tengerszint feletti magasságból ered. A Sebes-Köröst a forrásoktól Bánffyhunyadiig mezőgazdasági területek, kaszálók kísérik. A Csucsai-Körösfeketői-medencébe ömlik egyik legjelentősebb mellékfolyója, a Dregán. Majd a folyó egy szorosba jut, ezt követően ömlik bele másik jelentős mellékfolyója, a Jád.

A folyó felső szakaszán, a kommunális szennyvizek beömlése következtében kialakuló sajátos életfeltételek miatt hiányoznak a puhatestűek. Az itt előforduló zooplankont elsősorban a kerekessérgek képviselik. Két gyűjtőtő található a folyón, a gyűjtőtő alatt a víz nagy része egy mesterséges, a vízi élőlények számára alkalmatlan betoncsatornába áramlik, és csak kis része folyik a régi mederben, amely az eredeti vízi társulások maradványait tartalmazza. A másik gyűjtőtő létesítése Fugyi felett folyik (Sárkány-Kiss et al., 1999). Körösszegnél egy sertéshízlaldából származó szennyvíz egyenesen a folyóvízbe ömlik. Itt a víz zavarossága növekedik, színe zöldes, szaga pedig kellemetlen.



2. ábra. A Körösök elhelyezkedése a Kárpát-medence keleti részén (forrás: wikipédia)

Fekete-Körös

A Fekete-Körös a Cucurbata csúcs (1848 m) északi lejtőiről, 1460 m tengerszint feletti magasságból ered, majd 30 km után a Köves-Körössel egyesülve 202 m tengerszint feletti magasságra ereszkedik. A forrástól 5-6 km-re valamennyi fizikai-kémiai paraméter első osztályú vízminőségre utal. A három Körös közül csak itt találhatók meg a *Dinocras cephalotes* és *Rhabdiopterix alpina* álkérészfajok. Vaskohsziklásnál a vizet a beömlő háztartási és ipari szennyvizek károsítják (Sárkány-Kiss et al., 1999).

A Fekete-Körös vize a bakteriológiai indikátorok alapján minden vizsgálati évben harmadosztályúnak minősült. 1991-ben fekál streptococcusok, 1992-ben a coliformok, 1993-ban mind a streptococcusok, mind a coliformok magas száma miatt. Ezek az indikátorszervezetek háztartásokból és állatfarmokból származó, ürülékkel szennyezett vizek beömlését jelzik (Sárkány-Kiss et al., 1999).

Fehér-Körös

A Fehér-Körös a Bihar-hegység nyugati oldaláról, 980 m tengerszint feletti magasságból, a Certezu csúcs (1184 m) alól ered, és 31 km után Kriscsórnál 291 m tengerszint feletti magasságig ereszkedik. Mihelenytől kb. 10 km-re a folyó áramlását az antropogén hatások nagymértékben megváltoztatták. Itt egy gyűjtőtavat építenek, ezen kívül szabályozó gátak is megfigyelhetők. Mindezek a munkálatok károsítják a természetes élőhelyeket, de nem befolyásolják a víz minőségét. Brád település bányászata és ipara jelentős, ami az utóbbi évtizedekben még tovább növekedett anélkül, hogy egy megfelelő környezetvédelmi infrastruktúra kialakult volna. Emiatt jelentős környezetszennyezés figyelhető meg (Sárkány-Kiss et al., 1999).

Számos paraméter másod- illetve harmadosztályú vízre utal. Almásnál a nitritek, nitrátok, foszfátok és szulfátok értékei nagyobbak. Ezek az anyagok a szomszédos mezőgazdasági területekről mosódnak be a folyóba, vagy a folyómenti települések szennyvizeiből származnak (Sárkány-Kiss et al., 1999).

Köröskisjenőnél a mederszabályozás negatívan befolyásolja a bentonikus szervezetek életét. Gyulánál a folyónak egyenes és mély mesterséges csatorna jellege van. A víz lassú folyású, amely az eutrofizációs folyamatoknak kedvez. A bakteriológiai indikátorok időben változnak, emiatt évenként különböző minőségi kategóriákba sorolható ez a szakasz, úgymint első kategóriájú (tisztá víz), illetve második kategóriájú (szennyezett víz). A Fehér- és Fekete-Körösben annak ellenére, hogy a fajok száma majdnem megegyezik, diverzitásuk és az egyedszámok aránya különböző.

Kettős-Körös

A Kettős-Körös Békésnél a Fekete- és a Fehér-Körös szanazugi összefolyásából keletkezik, teljes hossza 37,3 km. A planktonikus kerekeshégek egyedszáma kimagasló, de a fajszám alacsony, ez a tény eutrofizációra utal. A Kettős-Körösben azonosított legtöbb faj kozmopolita, széles ökológiai tűrőképességgel rendelkezik (Sárkány-Kiss et al., 1999).

Hármas-Körös

A Hármas-Körös a Sebes-Körös - Kettős-Körös összefolyásától a Tisza folyóba való betorkollásig tart. Végszelvénye a Tisza Csongrád alatti torkolatánál van, teljes hossza 91,3 km. Mivel a Hármas-Körös vízgyűjtője magába foglalja a Fehér-, Fekete- és Sebes-Körös, valamint a Berettyó román és magyar vízgyűjtő területét egyaránt, illetve jobbról felveszi a Hortobágy-Berettyó főcsatorna vízgyűjtőjét is, a Hármas-Körös saját vízgyűjtőterületével együtt összesen 27537 km² vízgyűjtő területtel rendelkezik. Ezáltal a Maros után a Tisza második legnagyobb mellékfolyója.

Legjelentősebb mellékvíze a Hortobágy-Berettyó főcsatorna, amely jobb oldalról ömlik a folyóba. Hossza mentén több lefűződött holtág is található, melyek jelentős része jelenleg is belvíz befogadó, valamint vízátervező szerepet tölt be és gravitációs, szivattyús kapcsolatban áll a Hármas-Körössel (forrás: www.vizeink.hu).

A Körösök vidékén található települések szennyvízkezelési technológiájának bemutatása

A Körösök vízrendszerének minőségét elsősorban az ipari és mezőgazdasági termelés befolyásolja, de az újabb kutatások bebizonyították, hogy a lakossági vegyszerhasználat is hozzájárul vizeink elszennyezéséhez. A nagyvárosok szennyvízelvezető rendszerén, vagy a szennyvíztisztító telep kifolyóján keresztül nagy mennyiségben kerülnek ki olyan vegyületek, melyek perzisztensként viselkednek környezetünkben. Ezért mérési eredményeink értékeléséhez az egyes települések lakosságának számát és a településen működő szennyvíztelep technológiáját is figyelembe vesszük. Munkám során a következő városokról gyűjtöttem össze az interneten is elérhető információkat:

Békéscsaba: lakossága 64074 fő (2011. jan. 1.), szennyvíztisztítási technológiája B, a tisztított szennyvizet az Élővíz-csatornába engedik, melyre jelentős hatással van.

Gyomaendrőd: lakossága 14131 fő (2010. jan. 1.), szennyvíztisztítási technológiája B/N/P, a tisztított szennyvizet a Hármaskörösbe vezetik, hatása a befogadóra nem jelentős.

Gyula: lakossága 31928 fő (2011. jan. 1.), szennyvíztisztítási technológiája B/N/P, a tisztított szennyvizet a Kétegyházi-csatornába vezetik, hatása a befogadóra nem jelentős.

Köröstarcsa: lakossága 2544 fő (2010. jan. 1.), szennyvíztisztítási technológiája B/N/P, a tisztított szennyvizet a Kettős-Körösbe engedik, hatása a befogadóra elhanyagolható.

Szarvas: lakossága 17412 fő (2010. jan. 1.), szennyvíztisztítási technológiája B, a tisztított szennyvizet a Hármaskörösbe engedik, hatása a befogadóra nem jelentős.

Békés: lakossága 20182 fő, szennyvíztisztítási technológiája B/N/P, elsődleges befogadó a Kettős-Körös, melyre hatása nem jelentős.

Szeghalom: lakossága: 9632 fő (2010. jan.1.), szennyvíztisztítási technológiája B, a tisztított szennyvizet a Berettyóba engedik, hatása a befogadóra elhanyagolható.

Mezőtúr: lakossága: 17947 fő, a tisztított szennyvíz a Hortobágy-Berettyóba kerül bevezetésre, hatása a befogadóra jelentős.

Túrkeve: lakossága 9049 fő, szennyvíztisztítási technológiája B, a tisztított szennyvíz a Túrkevei-csatornába kerül, hatása a befogadóra jelentős.

Nagyvárad: lakossága 206 ezer fő, szennyvíztisztítási technológiája M/B. 2010-ben korszerűsítették a szennyvíztisztító telepet.

Marghita: lakossága 15 ezer fő, szennyvíztelepe elavult, nem felel meg az EU-s követelményeknek.

Beius: lakossága 10 ezer fő, nem rendelkezik szennyvíztisztító teleppel, az a közeljövőben kerül kiépítésre.

Chisineu-Cris: lakossága 8 ezer fő, szennyvíztisztítási technológiája M.

Ineu: lakossága 3500 fő, 2009-ben került sor a szennyvíztisztító telep építésére, mely megfelel az EU-s normáknak.

Tinca: lakossága 4 ezer fő, nem rendelkezik szennyvíztisztító teleppel, az a közeljövőben kerül kiépítésre.

2.2. Gyógyszermaradványok előfordulása és útja a környezetben

Az ipari előállítás, a modern növényvédelem és az intenzív gyógyszerfelhasználás során egyre számottevőbb mennyiségben kerülnek a természetbe környezetszennyező anyagok. Egyes szintetikus anyagok hormonális hatását már a múlt század harmincas éveiben kimutatták (Dodds és Lawson 1938).

A különböző vegyipari termékek, többek között a gyógyszerek és hormonhatású anyagok egyre súlyosabb környezeti szennyező hatásait azonban csak az utóbbi 10-20 évben kezdték egyre szélesebb körben felismerni, miután bebizonyosodott, hogy az emberre is egyre erősödő és egyre súlyosabb hatásokkal lehetnek (Colborn et al., 1996). Ebből kifolyólag a gyógyszermaradványok kimutatása és lehetséges mellékhatásaik tanulmányozása a vízi környezetben az elmúlt évtizedben egyre nagyobb figyelmet kapott.

A különféle mérgező anyagok, különös tekintettel a vizeinkbe jutó szennyezőkre, kisebb-nagyobb mértékben beépülnek a növényekbe, állatokba, ahol koncentrációjuk a bioakkumuláció és a biomagnifikáció miatt sokkal nagyobb lehet, mint a környezetben.

Korábban elfogadott nézet volt, hogy a szennyvizekbe kerülő gyógyszermaradványok mennyisége elhanyagolható, így nincsenek különösebb hatással a természetre. Napjainkban azonban sorra jelennek meg az olyan tanulmányok, amelyek felhívják a figyelmet arra, hogy az intenzív gyógyszerfelhasználás során a természeti környezetbe kerülő szennyező anyagok milyen nagy kockázatot jelentenek, de hatásuk még sok szempontból tisztázatlan. Újabban az „emerging pollutant” (egyre nagyobb figyelmet igénylő szennyezőanyagok) elnevezést használja rájuk a tudomány.

Több gyógyszer termelési adatait megtalálhatjuk a különböző statisztikai közleményekben. Az egyik leggyakoribb gyógyszercsoport, az antibiotikumok éves felhasznált mennyisége világviszonylatban például 100.000-200.000 tonna (!). Az eladott nem-szteroid tartalmú gyulladáscsökkentők mennyisége is viszonylag nagy: 2004-ben Magyarországon 7764 kg diclofenac került eladásra (Záray et al., 2006), Angliában 390 tonna ibuprofen, 35 tonna naproxen és 26 tonna diclofenac (Jones et al., 2002).

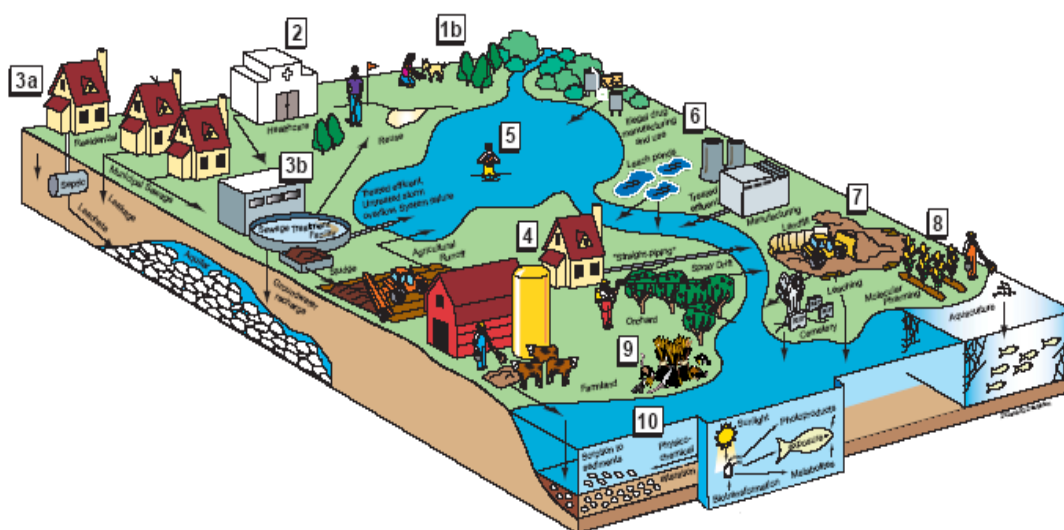
A gyógyszermaradványok eredeti formában vagy metabolitként kerülnek a vízi környezetbe, mivel a szennyvíztisztító technológiák nem képesek lebontásukra. Így a szennyvízzel vagy a szivárgó vizekkel kerülnek folyóinkba, tavainkba, a talajvízbe és ivóvízbe is, szennyezve azok élővilágát (Pouliquen, 2009; Minh, 2009).

A gyógyszermaradványok lehetséges útját a vízi környezetben a 3. ábrán mutatjuk be (Daughton, 2003):

1. az emberek és háziállatok anyagcsere kiválasztása,
2. kórház hulladék kibocsátása,
3. kibocsátás a szennyvíztisztítókból,
4. szennyvíziszap kiszállítása a földekre,
5. fürdőzés során történő közvetlen kibocsátás,
6. ipari szennyvíz kibocsátása,
7. kimosódás a hibás hulladéklerakókból és temetőkből,
8. akvakultúrákból történő kibocsátás nyílt vizekbe,
9. a mezőgazdaság növényvédő- és gyomirtó szer kibocsátása,
10. környezeti hatások (pl. biodegradáció, fotodegradáció, párolgás).

A gyógyszerek az állati és emberi szervezetből történő eltávozásuk után különböző fizikai, kémia és biológiai átalakuláson mennek keresztül a környezetben, melynek során melléktermékek keletkeznek. A biológiai átalakítást különböző baktériumok végzik, a nem biológiai transzformáció fény, hő és víz hatására megy végbe, az ipari transzformáció pedig

különböző kémiai anyagok alkalmazásának következménye. Ezek a folyamatok a szennyvíztisztító rendszerekben, az iszapban és vízben, vagy a termőföldekre kikerülő állati trágyában és a talajban játszódhatnak le. A különböző folyamatok és átalakulások következtében a gyógyszerek sorsa követhetetlen, hatásuk felmérése nehézkes, habár világszerte egyre több vegyületet és metabolitot sikerül kimutatni a különböző vizes rendszerekből.



3. ábra. A gyógyszermaradványok előfordulása és útja a környezetben (Daughton, 2003)

2.3. Humán- és állati gyógyszermaradványok bemutatása, osztályozása és veszélyei

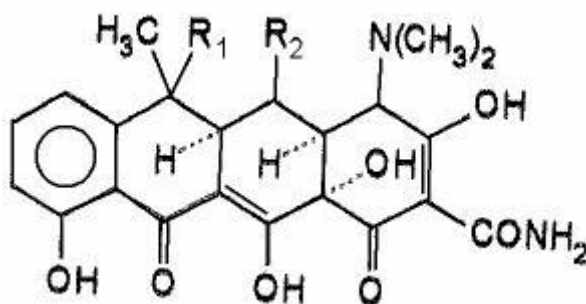
A humán- és állati gyógyszermaradványok osztályozásához az 1. táblázat nyújt segítséget, amely a felszíni vizekben mért koncentráció értékeket is tartalmazza. A felsorolt gyógyszervegyületek és származékok közül a két legfontosabb és leggyakoribb gyógyszercsoport az antibiotikumok és a nem-szteroid fájdalomcsillapítók.

Az antibiotikumok közül munkám során a tetraciklineket, szulfonamidokat és a nitrofurán bomlástermék csoportjait vizsgáltam. A tetraciklineket az ötvenes években történő felfedezésük után nagy intenzitással használták, még preventív céllal is. Nagyrészüket perzisztensként viselkedik a környezetben, megtalálhatóak szennyvíziszaphoz, üledékhez,

talajhoz adszorbeálva, és a szennyvíztisztítás során csupán részleges lebontásuk érhető el (2. táblázat). Molekulaképletét a 4. ábrán mutatom be, ahol látható a négy benzolgyűrűből felépített igen stabil molekula. Pl. az amoxicillin 80-90%-ban változatlan formában ürül ki az állati szervezetből, sőt a környezetbe kikerülve visszaalakul az eredeti molekulává.

1. táblázat. Néhány, a felszíni vizekből kimutatott gyógyszer koncentrációja (Boxall, 2004 nyomán)

Gyógyszercsoport	Gyógyszerek	Mért maximum koncentráció (ng L ⁻¹)
Antibiotikumok	Chloramphenicol	355
	Chlortetracycline	690
	Oxytetracycline	140
	Tetracycline	110
	Ciprofloxacin	30
	Sulphametazine	220
	Norfloxacin	120
	Nitrofurán csoport	–
Fájdalomcsillapítók/ gyulladáscsökkentők	Codeine	1000
	Acetilszalícilsav	340
	Carbamezapine	1100
	Diclofenac	1200
	Ketaprofen	120
	Naproxen	190
	Phenazone	950
	Ibuprofen	3400
	Indomethacine	200
Antidepresszánsok	Fluoxetine	12
Zsírsanyagcsere szabályozók	Gemfibrozil	790
	Benzaifibrate	3100
Antidiabetikus készítmények	Metfarmin	150
Fertőtlenítőszer	Triclosan	150
Béta-blokkolók	Carazolol	110
	Metoprolol	2200
Fogamzásgátlók	17a-Ethinylestradiol	4,3



4. ábra. A tetraciklin molekula szerkezete

A tetraciklin származékokat vízínövényekben is kimutatták, ami bizonyítja, hogy a növények képesek azokat a talajból, üledékből felvenni és akkumulálni, esetenként fitotoxicitásról is beszélhetünk. Sárgarépa gyökeréből, salátalevélből és kukoricából is kimutatták (Boxall et al., 2006; Kumar et. al., 2005). A vizsgálatok során mért szulfametazin és tetraciklin koncentráció nem volt túl magas, de fokozatosan növekedett a felhasznált trágya antibiotikum tartalmával. A halgazdaságokhoz közeli folyóból származó moháknál (*Fontinalis antipyretica*) is jól mérhető oxitettraciklin tartalmat határoztak meg (Poliquen et al., 2009).

A bioakkumuláción kívül az antibiotikumok rezisztens baktériumtörzsek kialakulásához is vezethetnek. Ez az intenzív állattartás következtében, a túlzott antibiotikum használat miatt jöhet létre. A haltenyésztés során bekövetkezett gyógyszer-szennyezés eredményeként a rezisztens baktériumtörzseket már emberi populációkban is kimutatták (Rhodes, et al, 2000).

2. táblázat. Az üledékben, talajban és trágyában korábban kimutatott oxitettraciklin értékek

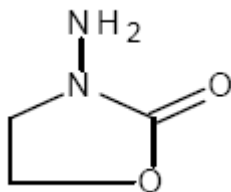
Minta típusa	Koncentráció érték $\mu\text{g kg}^{-1}$	Irodalom
tengeri üledék halgazdaság közelében	max 900 (w.w.)	Capone, et al., 1996
folyóvízi üledék	max 200 (w.w.)	Pouliquen et al., 2009
halgazdaságból származó üledék	min 0.1 max 246 (d. w.)	Lalumera et al., 2004
állatfarmról származó trágya	min 50 max 450 (w.w.)	Karci - Balcioglu, 2009
mezőgazdasági területről származó talaj	min 20 max 500 (w.w.)	Karci - Balcioglu, 2009

Az USA-ban a szulfonamidok azon 11 gyógyszer közé tartoznak, amelyeket már az ivóvizekben is megtaláltak (Hooper, 2009). De jól mérhető mennyiségben található meg folyóvizekben, valamint a szennyvíztisztító telepek elfolyóvizében is.

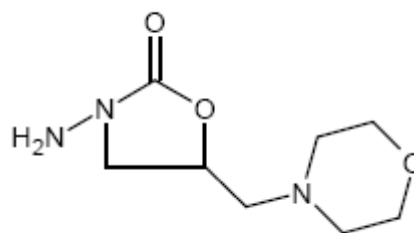
A nitrofuránokat a közelmúltig világszerte széleskörűen használták, elsősorban az állatgyógyászatban. Hosszú évekbe telt, mire kiderült, hogy ezeknek a vegyületeknek mutagén és karcinogén hatásuk is van, ezért tilalmukról az Európai Unió 2377/90 direktívája intézkedik. A furazolon, furaltadon, nitrofurantoin és nitrofurazon a nitrofuránok csoportjába tartozó, elsősorban állatgyógyászati szerek. A nitrofurantoint azonban a humán gyógyászatban is alkalmazzák húgyúti fertőzések gyógyítására. Rendkívül gyorsan metabolizálódnak, ezért anyavegyületeik általában nem mutathatóak ki, viszont metabolitjaik, esetleg bomlástermékeik hetekig, hónapokig perzisztálhatnak. Bár használatuk erősen

korlátozott, illetve mára már tiltott (furaltadon), ennek ellenére jelentős antibakteriális hatásuk miatt illegálisan alkalmazzák őket. Az EU 2003/181/EK rendelete előírja az állati eredetű élelmiszerek nitrofurán tartalmának vizsgálatát. Vizekre és üledékükre, beleértve a szennyvizeket is, nincs ilyen előírás. Feltételezhető volt azonban, hogy a jelentősen csökkent mértékű felhasználás ellenére is megtalálhatók, főleg a szennyvíziszapban. Kevésbé hidrofíl tulajdonságuk miatt vízben csak kis mértékben oldódnak.

A furazolidon elsősorban a szárnyasok tartásánál, a furaltadon pedig a haltenyésztésben volt (illetve ma is) használatos. A Leeder Consulting honlapján (http://www.leederconsulting.com/food_nitrofurans_residues.html) közöltek szerint antibakteriális adalékanyagként egyes élelmiszer- és takarmány-kiegészítőkben világszerte a mai napig alkalmazzák. Ezért időnként napjainkban is előfordul nagyobb mértékű nitrofurán eredetű élelmiszerszennyeződés, különösen az Ázsiából származó import baromfitermékekben. Vizsgálatukat súlyos, már igen kis mennyiségben is jelentkező genotoxikus hatásuk indokolja.



3-amino-2-oxazolidon (AOZ)

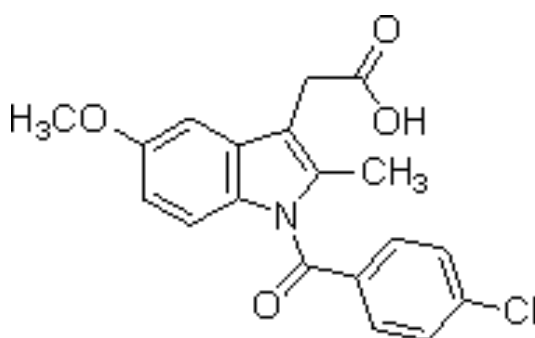


5-metilmorfolino-3-amino-2-oxazolidon (AMOZ)

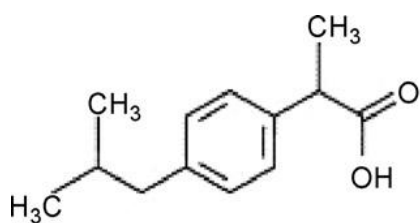
5. ábra. Nitrofurán származékok (metabolitok)

A nem-szteroid fájdalomcsillapítók közül az ibuprofen, ketoprofen, naproxen, diclofenac és az indometacin vegyületek meghatározása szerepelt a vizsgálatok között. Ezek a vegyületek savas tulajdonságú, hidrofíl jellegű molekulák, ezért oldott formában vannak jelen a vízi környezetben. Leginkább fény hatására bomlanak a vízben, de az átalakulás során még veszélyesebb molekulák keletkeznek (pl. diclofenacból, Schulze, 2008). A szennyvíztisztítók

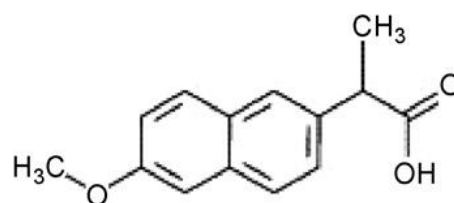
eltávolítási hatásfoka a diclofenac esetében 17-69 % közötti (átlagosan 26%) érték (Heberer, 2002; Ternes, 1998).



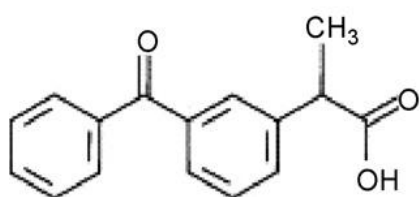
Indometacin



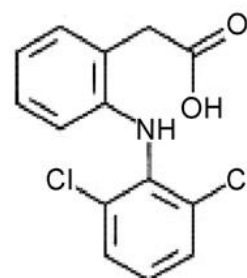
Ibuprofen



Naproxen



Ketoprofen



Diclofenac

6. ábra. Nem-szteroid fájdalomcsillapítók szerkezeti képletei

3. táblázat. A diclofenac előfordulása szennyvíztisztító elfolyó vizében és felszíni vizekben (Y. Zhang et.al., 2008)

Ország	Szennyvíztisztító telep elfolyó vize ng L ⁻¹	Természetes vizek ng L ⁻¹
Ausztria	1700	30
Dánia	200	-
Finnország	300	20
Németország	1450	290
Görögország	350	-
Olaszország	800	-
Spanyolország	140-2200	-
Svédország	170	-
Svájc	700	-
Kanada	400	45
USA	50	15
Japán	20	2-3
Dél-Korea	10	1
Brazília		240
Anglia	1480	95
Franciaország		10

2.4. Gyógyszermaradványok hatása a vízi élőszervezetekre

Az egyik legveszélyesebb szennyezőanyag a környezetben az antibiotikumok csoportja, mivel hozzájárul a rezisztens patogén baktériumok kialakulásához. A nitrofurán vegyületeknek mutagén és karcinogén hatása van, ezért ezek tilalmáról az Európai Unió 2377/90 direktívája intézkedik.

A szteroid vegyületek elsősorban a nemi hormonrendszer megzavarásában fejtik ki hatásukat. A természetbe került ösztrogének megzavarhatják a halak és más vízi állatok szaporodását, például a kizárólag nőstény halakban termelődő vitellogenin fehérjét a hím halak is termelni kezdik. Az embrionális állapotban és a pubertás előtt adott ösztrogének a hím halakat funkcionális nőstényekké, vagy hermafroditákká alakították. A természetbe elsősorban az emberi vizelettel kerülnek ki az ösztrogének. Ezek a vegyületek túlnyomórészt inaktív, glükoronid metabolit alakjában távoznak a szervezetből. A természetes szteroidok metabolizmusa gyors, de a fogamzásgátlókban adott mesterséges szteroidok sokkal lassabban metabolizálódnak. A szteroidok a szennyvíztisztítóknál csak részben bomlanak el. Az eleveniszapos szennyvíztisztítóban az átlagosan beömlő E1 (esztron) 61 %-a, az E2

(esztradiol) 87 %-a, az E3 (esztriol) 95 %-a és az EE2 (etinil-esztradiol) 85 %-a kerül megsemmisítésre.

A szteroidok teljes eliminálásához egy olyan szennyvíztisztítási eljárás kell, amely magába foglalja az eleveniszapos, nitrifikációs, denitrifikációs lépéseket, valamint az iszaprecirkulációt is. Ezúton a természetes szteroidok eliminációja meghaladja a 98 %-ot, míg a mesterségeseké csak a 90 %-ot, így a kimenőáram szteroid tartalma még 1 ng/L alatt marad. Általánosságban megállapítható, hogy a mesterséges szteroidok nehezebben bomlanak le az emberi szervezetben, a környezetben és a szennyvíztisztítóknak is (Juvancz Z., 2005).

A gyógyszermaradványok és metabolitjaik hatását ezidáig leginkább rövid ideig tartó toxicitási tesztek segítségével tanulmányozták. Ilyen tesztet alkalmaztak algákon, gerincteleneken és halakon, ahol az EC₅₀ végpontnál az alga növekedést (96 óra) vagy a *Daphnia magna* mortalitását (48 óra) vizsgálták néhány gyógyszermaradvány esetében (Ferrari et. al., 2003, 2004). Hasonló módon zebradánió (*Brachydanio rerio*) embriókat helyeztek 96 órára 480 µg/L töménységű diclofenac oldatba, és tanulmányozták életképességüket, valamint a gyógyszervegyület teratogén hatását (Dietrich és Prietz, 1999). Ösztrogén és karcinogén hatást is kimutattak növendék japán medakával (*Oryzias latipes*) végzett négy napos kísérletekben (Hong et al., 2007). Ezen kísérletek során a környezetben mérhető diclofenac koncentráció értéken is a biomarkerek indukcióját állapították meg.

A toxicitási vizsgálatok hátránya, hogy csak magas koncentráció értékeken végezhetőek, mely értékek a vízi környezetben kevésbé fordulhatnak elő. A krónikus hatást vizsgáló teszt az élőlények egész életperiódusára is kiterjeszthető és meghatározható az a legkisebb koncentráció érték, ahol már észlelhető hatás mutatható ki (LOEC). Az eddigi vizsgálatok során általában egy nagyságrenddel kisebb értékeket határoztak meg a környezetben, mint az LOEC, de pl. a diclofenac esetében szennyvízben már kimutattak az LOEC-hez hasonló mennyiséget is.

A nem-szteroid fájdalomcsillapítók esetében ösztrogénhatást, mutagén és karcinogén hatásokat, valamint a biokkumuláció előfordulását tanulmányozták. Egy 21 napos kísérletben a sebes pisztráng (*Salmo trutta*) csökkent immunreakciót mutatott az 50 µg/L töménységű diclofenac expozíció következtében, mely hozzájárulhat a patogénekkal szembeni gyengébb védekezőképességhez (Hoeger et al., 2005). Hasonló hatást mutattak ki Schweiger és

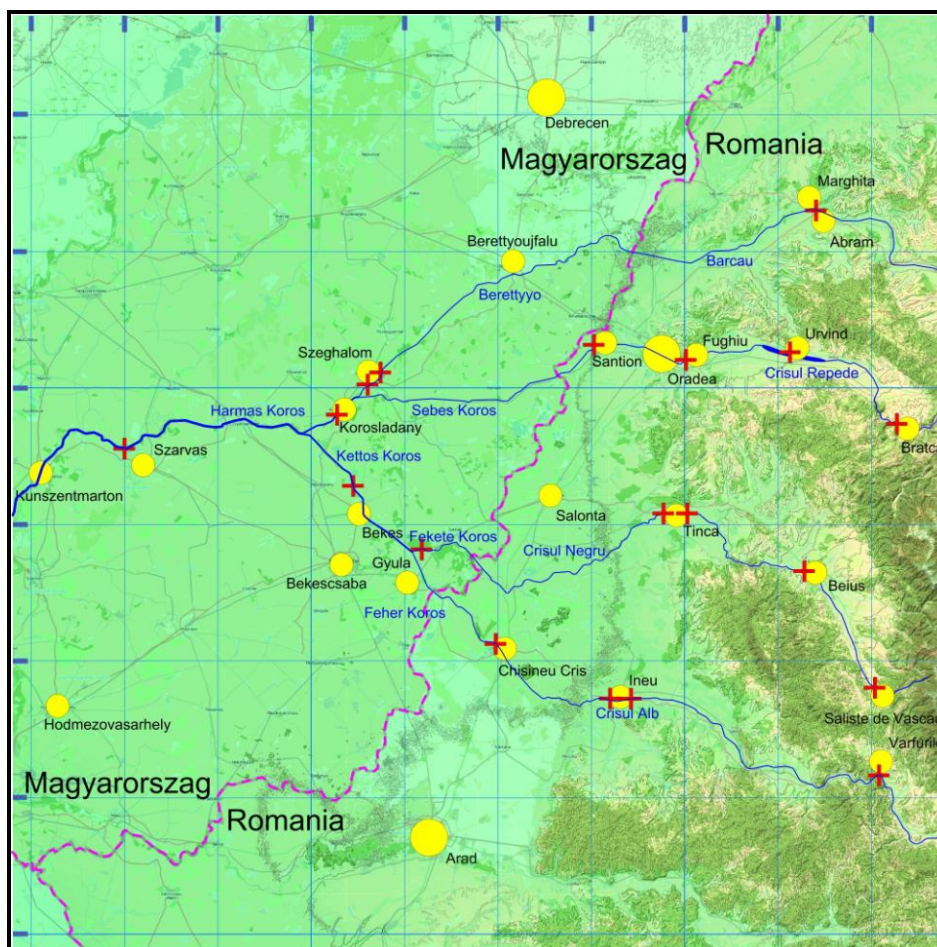
munkatársai (2004) a szivárványos pisztráng (*Oncorhynchus mykiss*) szennyezése során a környezetben előforduló diclofenac koncentráció értéken, amikor is a kopolyúk és a vesék patogén elváltozása volt megfigyelhető. Szintén veseelégtelenségben pusztultak el azok a sasok is, melyek diclofenac-kal szennyezett szarvasmarha húst fogyasztottak (Oaks et al., 2004).

A gyógyszer-szennyezési kísérletek általában egy, vagy esetleg néhány vegyület egyidejű alkalmazásával végezhetőek. Ezzel ellentétben a környezetbe kikerülő gyógyszerek és egyéb szennyezőanyagok együttesen vannak jelen és együtt fejtik ki hatásukat. Ezek lehetnek gyengítő vagy erősítő kölcsönhatások, de meghatározásuk nagyon problémás. Az anyavegyület mellett a metabolitok és melléktermékek egyidejűleg is jelen lehetnek. Tehát a „*single effect*” helyett nagyobb figyelmet kell fordítanunk a „*mixture effect*” meghatározására! A környezetben mért értékek alacsony szintet jelentenek, de hosszú távú expozíció során hatásuk egyelőre nem tisztázott. Az egyes vegyületek környezeti kockázatbecsléséhez viszont elengedhetetlen a megfelelő számú hatásvizsgálat.

3. Anyag és módszer

3.1. A mintavételi helyek kijelölése és jellemzése

A HURO projekt keretében a HAKI és a Nagyváradi Egyetem munkatársai 2011. augusztus második felében végezték el a mintavételezést (Függelék 1-2. ábra). A mintavételezéseknél sajnos nem tudtam jelen lenni, de a további munkában, úgymint mintaelőkészítés és mérés, természetesen részt vettem. Az egyes folyószakaszokon a nagyobb városok felett és alatt is gyűjtöttek mintát, a város terhelését a szennyvíztelepek befolyói után mintázták. Minden folyó esetében kontroll mintát is vettek, melyet nulla kontrollnak tekintettünk. A mintavételi pontokat a 4. táblázatban és a 7. ábrán mutatom be.



7. ábra. A mintavételi pontok elhelyezkedése (+)

4. táblázat. A mintavételi pontok sorszáma és GPS koordinátái

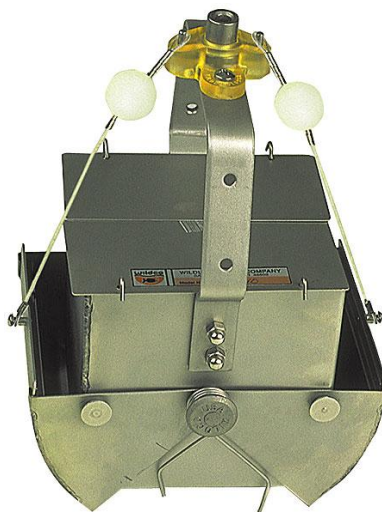
.	Mintavételi hely	Folyó	GPS koordináták
1 2	Szarvas, HU	CRISUL TRIPLU/ HÁRMAS-KÖRÖS	alatt: N 46° 53' 56,0" E 20° 32' 0,0" fent: N 46° 53' 11,0" E 20° 30' 3,0"
3 4 5	Békés, HU	CRISUL DUBLU/ KETTŐS-KÖRÖS	alatt A: N 46° 48' 09,0" E 21° 08' 9,0" alatt B: N 46° 48' 0,0" E 21° 08' 10,0" fent: N 46° 47' 51,9" E 21° 08' 12,94"
6 7	Szeghalom, HU	BARCAU/ BERETTYÓ	alatt: N 47° 15' 00,0" E 21° 09' 10,7" fent: N 47° 17' 53,5" E 22° 14' 45,5"
8 9	Marghita, RO	"0" pont (szennyezés nélkül)	alatt : N 47° 19' 59,43" E 22° 19' 33,91" fent: N 47° 19' 30,2" E 22° 23' 13,54"
10	Körösladány, HU	CRISUL REPEDE/ SEBES-KÖRÖS	N 46° 56' 53,28" E 21° 04' 22,49"
11	Santion (Nagyvárad, alatt), RO		N 47° 04' 52,5" E 21° 48' 26,2"
12	Fughiu (Nagyvárad felett), RO		N 47° 03' 38,1" E 22° 02' 32,1"
13	Urvind, RO		N 47° 03' 44,6" E 22° 16' 54,11"
14	Bratca, RO	"0" point (without pollution)	N 46° 35' 26,8" E 22° 36' 01,3"
15	Gyula, HU	CRISUL NEGRU/ FEKETE-KÖRÖS	N 46° 42' 08,5" E 21° 19' 02,6"
16 17	Tinca, RO		alatt: N 46° 06' 19,3" E 21° 57' 27,9" felett: N 46° 46' 04,6" E 21° 55' 59,6"
18	Beius, RO		alatt: N 46° 39' 35,0" E 22° 20' 39,1"
19	Saliste de Vascau, RO	"0" point (without pollution)	N 46° 26' 01,1" E 22° 33' 19,3"
20	Chisinau-Cris, RO	CRISUL ALB/ FEHÉR-KÖRÖS	N 46° 31' 34,7" E 21° 30' 26,8"
21 22	Ineu, RO		alatt: N 46° 25' 38,0" E 21° 19' 47,3" felett: N 46° 25' 53,9" E 21° 51' 36,6"
23	Varfurile, RO	"0" point (without pollution)	N 46° 17' 31,2" E 22° 30' 48,0"
24	Békéscsaba	Élővíz-csatorna- szennyvíztelep előtt	N 46° 42' 18,80" E 21° 6' 18,95"
25	Békéscsaba	Élővíz-csatorna - szennyvíztelep előtt	N 46° 42' 18,80" E 21° 6' 18,95"
26	Békéscsaba	Élővíz-csatorna - szennyvíztelep után (Bandika-fa)	N 46° 42' 56,19" E 21° 6' 55,07"
27	Békéscsaba	Élővíz-csatorna - szennyvíztelep után (Bandika-fa)	N 46° 42' 56,19" E 21° 6' 55,07"

3.2. Mintavételi módszerek

A teljes tápláléklánc bioakkumulációjának vizsgálatához ötféle mintatípus begyűjtését tűzték ki célul az egyes folyók teljes szakaszán, és pedig víz, üledék, bentoszlakó szervezetek, vízinövények és halak. Dolgozatomban három mintatípussal foglalkozom, így ezek mintavételezését ismertetem.

Üledék mintavétel

Az üledék mintavételhez Ekman-típusú mintavevőt alkalmaztak, melyet legtöbb esetben csónakból használtak a kijelölt mintavételi ponton. Ez a mintavevő a felső 1-10 cm-es rétegből gyűjti össze az üledéket. A minták 500 ml-es, zárható tetejű műanyag edénybe kerültek és a biológiai aktivitás lecsökkentésére edényenként 5 ml NaN_3 oldatot használtak. A minták tárolása a szállítás során hűtőtáskában, a laboratóriumban pedig $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történt. Fagyasztás előtt az üledékmintákból eltávolították a növényi- és állati maradványokat, valamint kiülepedés előtt leöntötték a fennmaradó vizet.



8. ábra. Ekman-féle mintavevő

Bentosz mintavétel

A bentosz mintavétel planktonháló segítségével csónakból vagy a vízpartról történt. Többszöri átmosás és helyszíni fajmeghatározás után a mintákat gyűjtőedénybe helyezték. A mintavételi edényt (kryo csövet) előzőleg lemérték majd a laboratóriumba szállítást követően,

fagyasztás előtt az össz-tömeget is meghatározták. A nagyobb élő szervezeteket (csiga, kagyló) különválasztották, és lefagyasztás előtt eltávolították róluk a külső meszes vázat.

Növényi mintavétel

A vízinövények közül két csoportot célzott meg a mintavétel, és pedig a gyökérzónával rendelkező nád- és gyékényfajokat (makrofiták), valamint lebegő hínarakat, mint a rucaöröm (*Salvinia natans*) és a békalencse (*Lemna* spp.). Fajonként 2-3 egyedet (békalencséből 40-50 egyed) gyűjtöttek be, laboratóriumba szállítás után tisztára mosták, leitatták róluk a felesleges vizet és lemérték őket. A mintákat az elemzések megkezdéséig -30 °C-on fagyasztva, nylon zacskóban tárolták.

3.3. Analitikai módszerek

A mérésekhez használt módszer az „enzyme-linked immunosorbent assay” (ELISA) teszt, amely vírus és baktérium elleni antitestek, vagy egy bizonyos vírus elleni specifikus antitest kimutatására szolgáló laboratóriumi eljárás. A vizsgálat tehát nem a kórokozót mutatja ki, hanem az antigénhez vagy antitesthez kapcsolódó enzim aktivitását határozza meg, így az ellene termelődött ellenanyagok mennyiségéről ad támpontot. A mérésekhez használt tesztek a Ridascreen® R-Biopharm AG, Darmstadt, Németország gyártó által forgalmazott, a tetraciklinek, szulfonamidok egész csoportjának *screenelésére* kifejlesztett eljárás tejben, vajban, mézben. A minták hígítási arányainak, valamint a kinyerési százalék meghatározásával Kumar, et. al. (2005) szerint jól alkalmazhatóak környezeti mintáknál is. A Ridascreen® Nitrofurán AOZ teszt a furazolidon anyavegyület bomlástermékének, a 3-amino-2-oxazolidon (AOZ) mérésére alkalmas.

Mintaelőkészítés

Az üledékminták tetejéről leöntöttük a vizet, és eltávolítottuk belőlük a növényi és állati maradványokat. Az így előkészített mintát visszafagyasztottuk, majd a víz eltávolítása céljából liofilizátorba helyeztük. A liofilizálás során -30 °C-on és $2 \cdot 10^{-1}$ mBar nyomáson (vákuumban) történt a fagyasztva szárítás, melyet 48 órán keresztül végeztünk. Az így

szárított üledéket dörzsmozsárban porítottuk és az elemzésekig sötét helyen tároltuk. A növényi mintákat liofolizálás előtt fagyasztott formában ollóval aprítottuk, a szárítást követően pedig kávédarálóval homogenizáltuk. A bentoszmintákat felolvasztás után Ultraturrax készülék segítségével homogenizáltuk (12000 rpm-en), majd bemértük az analitikai vizsgálatokhoz, valamint a szárazanyag meghatározáshoz szükséges mennyiségeket.

A tetraciklin vegyületek mérése ELISA módszerrel

A Ridascree® Tetracyclin (Art. No.: R3501) kitted Magyarországról, az R-Biopharm cégtől szereztük be. A gyártó által hús alapú élelmiszerekre kidolgozott módszert módosítottuk üledékre és növényi mintákra. A vizsgálati készlet az enzim immunoassay-hez szükséges minden reagenst és standardot tartalmazta. A tetraciklin mennyiségi meghatározására spektrofotométert használtunk, 450 nm-es hullámhosszon mértük a fényelnyelést. Az abszorbancia leolvasásához használt spektrofotométert a 9. ábra mutatja.



9. ábra. Elisa Multiskan spektrofotométer

Tetraciklinek extrakciója üledékből, növényi mintákból és bentikus szervezetekből:

1. 2 g liofilizált üledéket 50 ml McIlvan pufferben, 0,5 g liofilizált növényi mintát 25 ml McIlvan pufferben, valamint 0,5 g nyers bentoszmintát 25 ml McIlvan pufferben Ultra-turrax-szal homogenizáltunk, majd fél órán keresztül rázógépen extraháltuk;
2. 15 °C-on, 10 percig 4000 g-n centrifugáltuk;
3. a felső réteget átszívtuk egy másik edénybe, majd még kétszer megismételtük az extrakciós műveletet és az összegyűjtött extraktumot szűrőpapíron átszűrtük;
4. a RIDA C18 oszlopokat átöblítettük 3 ml metanollal (100%), majd 2 ml desztillált vízzel;
5. a szűrletből 5 ml-t lassan átnyomtunk az oszlopon (15 csepp/perc), majd ismét öblítettünk 3 ml desztillált vízzel, a maradék folyadékot pozitív nyomással eltávolítottuk, és 2 percig nitrogénnel szárítottuk az oszlopot;
6. a mintát 2 ml 20 mM oxálsavat tartalmazó metanollal (15 csepp/perc) eluáltuk;
7. az eluátumot 1:10 arányban hígítottuk a kittben található 1-es pufferrel (50µl eluátum+450 µl puffer1);
8. az ELISA lemez celláiba 50-50 µl mintát pipettáztunk.

Az ELISA teszt az alábbi alkalmazásra kész oldatokat tartalmazta:

1. Tetraciklin standardok: 0; 1,5; 4,5; 13,5; 40,5; 120,15 µg/L koncentrációban.
2. Peroxidázhoz kötött másodlagos antitest oldat használatra készen.
3. Anti-tetraciklin antitest oldat használatra készen.
4. Karbamid-peroxid szubsztrát használatra készen.
5. Kromogén oldat (tetrametil-benzidin) használatra készen.
6. Reakcióblokkoló oldat (1 N kénsav).
7. Standard- és mintahígító puffer.

A méréshez szükséges mosópuffer összetétele: 0,55 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ + 2,85 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ + 9 g NaCl + 1% tween 20 % 100 ml-re feltöltve desztillált vízzel.

Az ELISA mérések kivitelezése az alábbiak szerint történt:

1. A minták és standardok számának megfelelő mennyiségű cellát helyeztünk a tartóba.
2. A cellákba pipettáztunk 50-50 µl előkészített standardot vagy mintát.
3. Minden cellába bemértünk 50-50 µl anti-tetraciklin antitest oldatot és óvatosan összeráztuk, majd egy órán át szobahőmérsékleten inkubáltuk.
4. A folyadékot kiöntöttük, majd szűrőpapírhoz ütögetve teljes mértékben folyadékmentesítettük a cellákat. 250 µl mosópufferrel feltöltöttük a cellákat, majd a fenti eljárást összesen kétszer ismételtük.
5. 100 µl peroxidázhoz kötött másodlagos antitest oldatot adtunk minden cellához és 15 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk.
6. Kiöntöttük a folyadékot, a cellákat a 4. pontban ismertetett módon folyadékmentesítettük, majd kétszer átmostuk 250-250 µl mosópufferrel.
7. Minden cellához 50-50 µl karbamid-peroxid szubsztrátot és tetrametil-benzidin kromogént adtunk, majd 15 percig inkubáltuk. A reakció sárga színű vegyületet adott.
8. A cellákban a reakciót 100-100 µl 1 N kénsav oldattal állítottuk le, majd fél órán belül 450 nm-en mértük az abszorbanciát Multiskan Spectrum W/Cuvette 511185000 (Thermo Labsystems) ELISA készüléken.

A szulfonamid vegyületek mérése ELISA módszerrel

A szulfonamidok mérése Ridascreen® Sulfamethazin (Art. No.:R3004) típusú teszttel történt.

Az üledékmintákat az alábbiak szerint extraháltuk az ELISA teszthez:

1. 2 g liofilizált üledéket 20 ml acetonitril/víz = 84/16 eleggyel Ultra-turrax-szal homogenizáltunk, majd 10 percig 3000 g-n, 15 °C-on centrifugáltuk;
2. a felső fázisból 3 ml-t leszívtunk és 3 ml desztillált vízzel hígítottuk, majd hozzáadtunk 4,5 ml etil-acetátot és 10 percig kevertük;
3. 10 perc centrifugálás után (3000 g, 15 °C) kvantitatívan leszívtuk az etil-acetátos réteget, majd egy másik centrifugacsőben bepárooltuk;
4. a száraz maradékot feloldottuk 1,5 ml, a kitthez tartozó hígított 1-es pufferben, majd ebből 50 µl-t adagoltunk cellánként az ELISA lemezre.

A teszt az alábbi alkalmazásra kész oldatokat tartalmazta:

1. Szulfametazin standardok: 0; 1; 30; 90; 270; 810 $\mu\text{g/L}$ koncentrációban.
2. Peroxidázhoz kötött antitest oldat használatra készen.
3. Anti-szulfametazin antitest oldat használatra készen.
4. Karbamid-peroxid szubsztrát használatra készen.
5. Kromogén oldat (tetrametil-benzidin) használatra készen.
6. Reakcióblokkoló oldat (1 N kénsav).
7. Standard- és mintahígító puffer.

A méréshez a standardokat és a mintákat 1:10 arányban hígítottuk 1-es pufferrel.

A mérés kivitelezése az alábbiak szerint történt:

1. A minták és standardok számának megfelelő mennyiségű cellát helyeztünk a tartóba.
2. A cellákba pipettáztunk 50-50 μl előkészített standardot.
3. Minden cellába bemértünk 50-50 μl anti-szulfametazin antitest oldatot és óvatosan összeráztuk, majd két órán át szobahőmérsékleten inkubáltuk.
4. A folyadékot kiöntöttük, majd szűrőpapírhoz ütögetve teljes mértékben folyadékmentesítettük a cellákat. 250 μl vízzel feltöltöttük a cellákat, majd a fenti eljárást összesen kétszer ismételtük.
5. 100 μl peroxidázhoz kötött másodlagos antitest oldatot adtunk minden cellához és 15 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk.
6. Kiöntöttük a folyadékot, a cellákat a 4. pontban ismertetett módon folyadékmentesítettük, majd kétszer átmostuk 250-250 μl vízzel.
7. Minden cellához 50-50 μl karbamid-peroxid szubsztrátot és tetrametil-benzidin kromogént adtunk, majd 15 percig inkubáltuk. A reakció sárga színű vegyületet adott.
8. A cellákban a reakciót 100-100 μl 1 N kénsav oldattal állítottuk le, majd fél órán belül 450 nm-en mértük az abszorbanciát Multiskan Spectrum W/Cuvette 511185000 (Thermo Labsystems) ELISA készüléken.

A nitrofurán vegyületek mérése ELISA módszerrel

A 3-amino-2-oxazolidon (AOZ) meghatározásához a Ridascree[®] Nitrofurán R-Biopharm, Art. No.: R3703 ELISA tesztet használtuk, a mérés a következőképpen történt:

Mintaelőkészítés

1. 2 g liofilizált üledékmintához 4 ml desztillált vizet, 0,5 ml 1 M-os HCl-at, továbbá 100 µl 10 mM-os 2-nitrobenzol-aldehidet (dimetil-szulfoxidban feloldva) adtunk.
2. Megfelelő keverés után 16 órán keresztül 37 °C-on inkubáltuk.
3. A semlegesítést és az extrakciót 5 ml 0,1 M-os K₂HPO₄, 0,4 ml 1 M-os NaOH és 5 ml etil-acetát segítségével végeztük 30 másodpercig történő erőteljes keverés során. A jobb elválasztás elősegítésére 50 °C-on inkubáltuk a mintát.
4. A centrifugálást 10 percig szobahőmérsékleten, 3000 g-vel végeztük.
5. A felső etil-acetát rétegből 2,5 ml-t vettünk ki és nitrogénáramban, Stuart mintabepárló berendezésen elpárologtattuk.
6. A bepárolt mintát 1 ml mosópufferben vettük fel, melyből 50 µl-t használtunk az ELISA tesztben.

A teszt az alábbi alkalmazásra kész oldatokat tartalmazta:

1. Nitrofurán standardok 0; 25; 50; 100; 200; 400 µg/L koncentrációban.
2. Peroxidázhoz kötött antitest oldat használatra készen.
3. Anti-AOZ antitest oldat használatra készen.
4. Szubsztrát/kromogén oldat (tetrametil-benzidin) használatra készen.
5. Reakcióblokkoló oldat (1 N kénsav).
6. Mintahígító és mosópuffer.

ELISA teszt protokollja:

1. A mintahelyeket feltöltöttük a standardok és minták 50 µl-es mennyiségével kétszeres ismétlésben.
2. 50 µl enzim-konjugát hozzáadása.
3. 50 µl antitest hozzáadása és óvatos keverés után 1 órán keresztül szobahőmérsékleten inkubáltuk.
4. Többszöri ütögetéssel kiöntöttük a folyadékot a plate-ből, vigyázva, hogy a teljes mennyiséget eltávolítsuk. Háromszor átmostuk a plate-et 250 µl mossópufferrel, a mosások között egy nedvszívó kendőre kiütögettük a folyadékot.
5. Cellánként 100 µl szubsztrát/kormogén oldatot adagoltunk, rázás után 15 percig sötétben, szobahőmérsékleten inkubáltuk.
6. Az enzimreakció leállításához 100 µl stop oldatot (1 N H₂SO₄) adtunk a cellákba, 5 percig ráztuk, majd fél órán belül, 450 nm-en leolvastuk a fényelnyelést (abszorbanciát).

4. Eredmények és értékelésük

A tetraciklin mérés beállítása és standardizálása ELISA teszttel, a módszer alkalmazhatóságának vizsgálata környezeti mintákban

A mérések előtt mindhárom mintatípusnál standardokat futtattunk 0; 0,15; 0,45; 1,35; 4,05; 12,15 ppb koncentrációkban. A standard görbéket a 10. ábrán mutatjuk be. Az ábrákból megállapítható, hogy a mérések lineáris tartománya 0-1,35 $\mu\text{g/L}$ között van, ezért az ismeretlen minták vizsgálatára a regresszió egyenest itt határoztuk meg. A minták mért abszorbanciája a lineáris tartományba esett, így ezek további hígítására nem volt szükség.

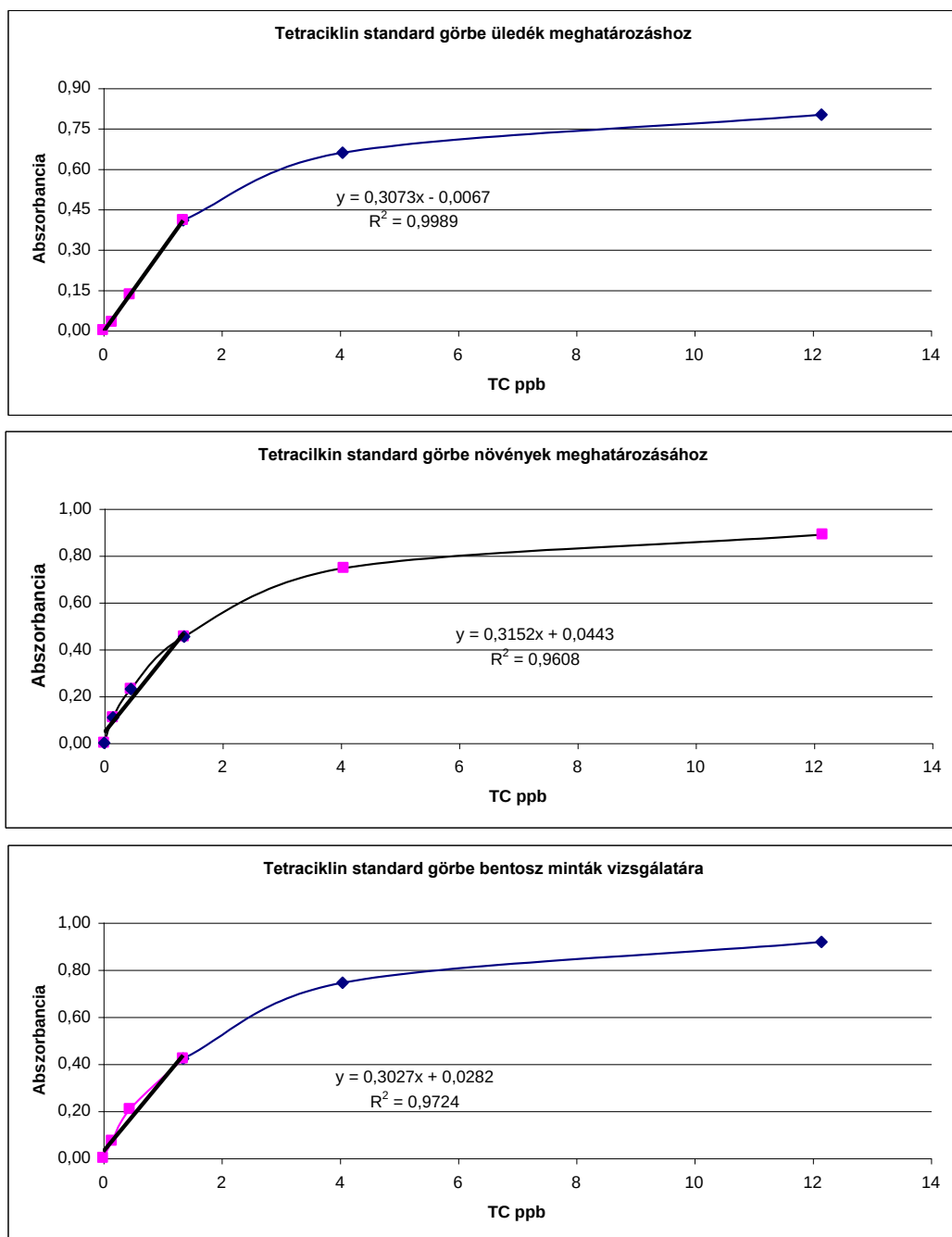
Minden mintatípusnál meghatároztuk a kimutatási határt (LOQ), mely a következőképpen alakult: 0,5 ng/g volt száraz üledékre, 10 ng/g szárított növényre és 8 ng/g a bentoszlakó szervezetekre, eredeti anyagra viszonyítva.

A Körösök vízrendszeréből gyűjtött különböző üledékminták tetraciklin elemzése

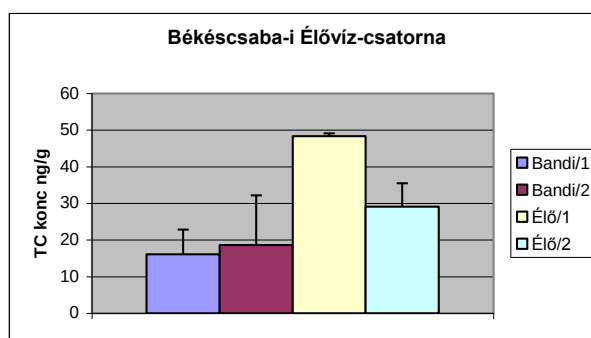
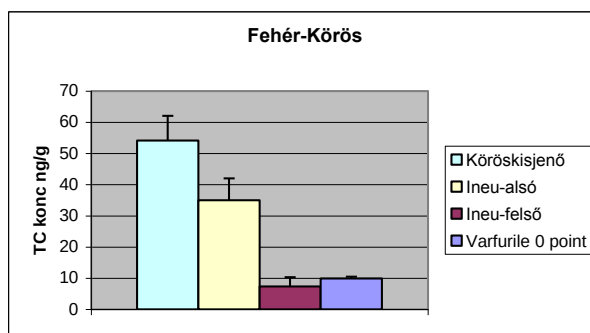
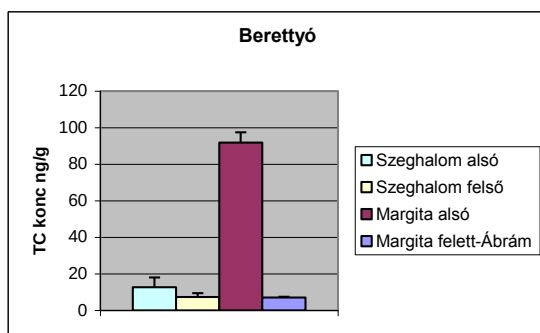
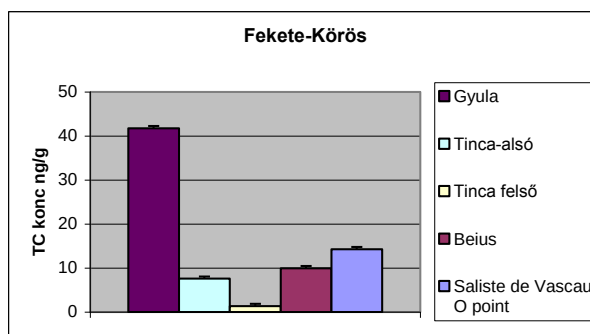
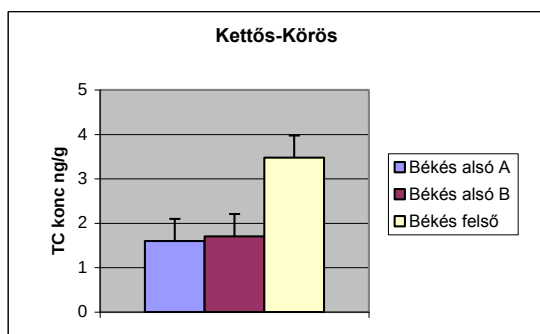
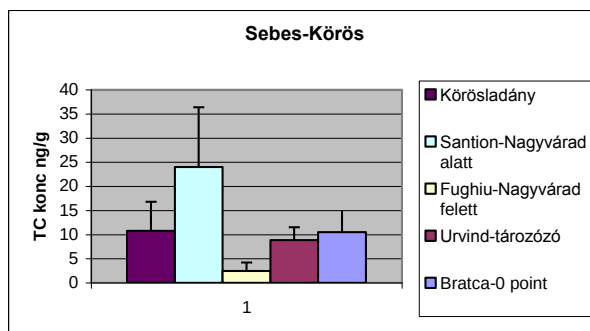
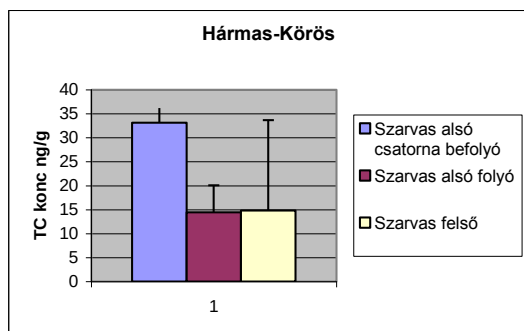
A 3.1. fejezetben bemutatott mintavételi helyeken összesen 28 db üledékmintát vizsgáltunk meg a HAKI Halbiológia osztályának kromatográfiás laboratóriumában. A nagy mintaszám miatt egy ELISA plate-en a standardokon kívül 78 mintahely áll rendelkezésre, így ezt osztottuk szét az üledékminták között. Ennek megfelelően egy mintából kettő, néhány esetben három ismételésre volt lehetőség. A kapott eredményeket a 11. ábrán mutatom be, külön ábrázolva az egyes folyószakaszokat.

A megvizsgált folyószakaszok mintavételi pontjain az esetek többségében kimutattuk az aktivitással rendelkező tetraciklin vegyületeket, melyek 1,6-91,77 ng/g tartományban találhatóak. Összehasonlítva a szakirodalomban leírt korábbi mérési eredményekkel megállapítható, hogy a Körösökben mért értékek általában egy nagyságrenddel kisebbek, de néhány esetben eléri a halastavak üledékében mért értékeket.

Az irodalmi forrásokból tudjuk, hogy az intenzív állattenyésztés során a nagy mennyiségű gyógyszerfelhasználás eredményeként a környező vizekben kimutathatóak a gyógyszermaradványok. A humán gyógyszerfogyasztás jóval kisebb hatással lehet a környezetre, de adataink azt bizonyítják, hogy maradványaik sok helyen már mérhető mennyiségben találhatóak.



10. ábra. A tetraciklinek standard görbéi



11. ábra. Az üledékminták tetraciklin tartalma liofilizált anyagra vonatkoztatva (ng/g)

Adataink értékelésekor figyelembe próbáltuk venni az egyes települések szennyvíztisztítási technológiáját is, de erre csak a magyarországi szakaszon volt lehetőség. Az elméleti részben felsorolt városok közül egyedül Békéscsabán számíthattunk szennyvízterhelésre, de néhány nagyobb méretű román település esetén is mérhető mennyiségeket vártunk (pl. Nagyvárad, Köröskisjenő, Marghita).

Mind a hat folyószakaszt figyelembe véve a Marghita város szennyvízcsatorna hálózata közelében vett üledékminta mutatja a legnagyobb lakossági terhelést. Várakozásunk ellenére a Békés város környékén vett két alsó minta esetében igen kis tetraciklin értéket határoztunk meg. Mért értékeink alátámasztják, hogy a Békéscsaba tisztított szennyvizét is összegyűjtő Élővíz-csatorna vize a nagy terhelés ellenére már hígulva ömlik a Kettős-Körösbe, köszönhetően az Ó-Körös csatorna vízrendszerének.

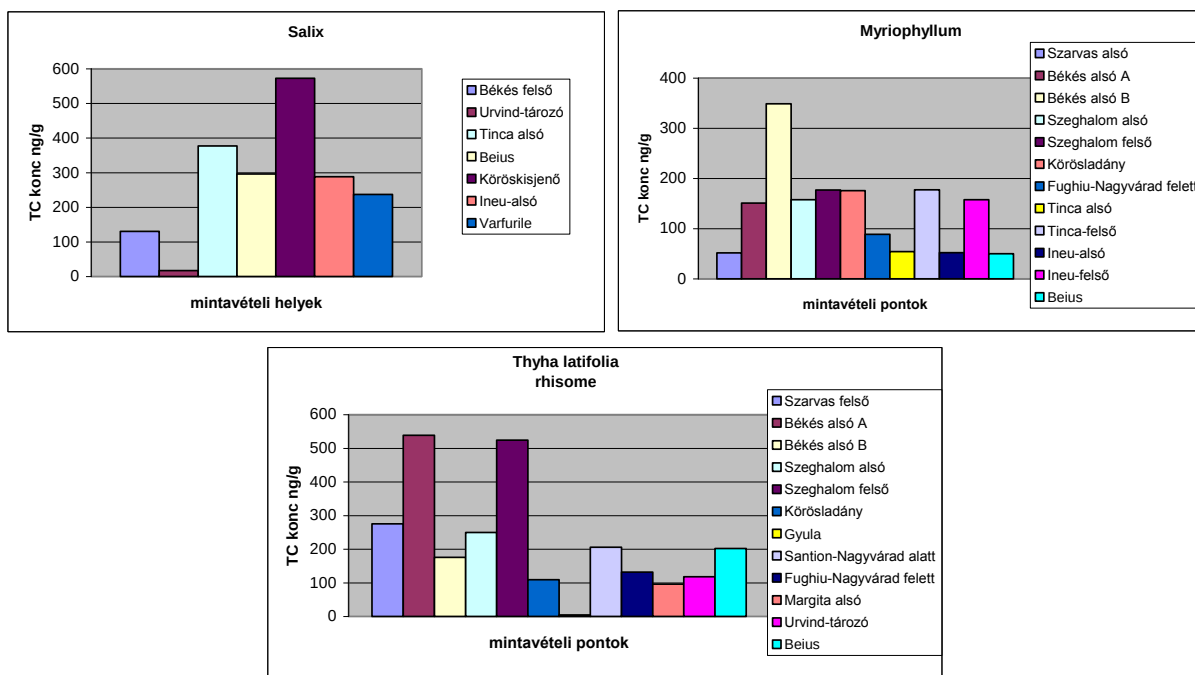
A városok felett vett kontroll mintákhoz hasonlítva a város alatti mintákat, a legtöbb esetben kimutatható növekedés tapasztalható. Ez egyértelműen bizonyítja, hogy a lakossági gyógyszerfogyasztás is hozzájárul a tetraciklin vegyületek felhalmozódásához a folyóvizek üledékében. Az eredmények továbbá azt is alátámasztják, hogy egy-egy nagyobb terhelés a szennyező forrás közelében okoz szennyezést, mely a folyószakasz alsóbb részein már lecsökken, adott esetben el is tűnhet!

A Körösök vízrendszeréből gyűjtött különböző növényminták tetraciklin elemzése

A bioakkumulációs folyamatok vizsgálatához évelő vízinövények, valamint bentoszlakó és más vízi állatok használhatóak. A nemzetközi projekt munkatársai a mintavételek során több növényfajt gyűjtöttek be, melyek összefoglaló táblázata a Függelék 1. táblázatában található. A gyógyszermaradvány elemzésekhez három növényfajt választottunk ki, a széleslevelű gyékényt (*Typha latifolia*), a süllőhínárt (*Myriophyllum* spp.) és a fűzet (*Salix* spp.). A gyékény a gyökérszónán keresztül veszi fel a tápanyagot, ezért sikeresen használják az üledékben felhalmozott szennyeződések eltávolítására. Élőhelye a lassúbb folyású vizek. A süllőhínár egy alámerült hínárnövény, egész felületével a vízből veszi fel a tápanyagot. A fűz a folyók felső szakaszának gyorsfolyású részén fordul elő, célunk volt ezen folyószakaszok vizsgálata is. Sajnos az összes mintavételi ponton nem sikerült begyűjteni mindegyik növényfajt, még az azonos élőhelyeken sem, ezért eredményeink nem teljesen reprezentálják a tetraciklinek előfordulását.

AZ ELISA mérés során a gyékényminták esetében 4 és 572 ng/g közötti értéket határoztunk meg, a legkisebb koncentráció a gyulai mintában volt, a legnagyobb pedig a Békés alsó és a Szeghalom felső mintákban (12. ábra). A szakirodalomban egyetlen vizsgálatot találtunk a növények tetraciklin szennyeződésének szintjéről, melyben kimutatták, hogy a vízi mohák 1000-szer több tetraciklint is képesek felhalmozni magukban, mint az üledék (Poliquen et.al, 2009).

A marghitai mintahelyen a növényzet szegényes volt, ezért reprezentatív mintát nem sikerült gyűjteni, így az értékek a vártnál kisebbek. Ezzel szemben a békési minták alacsony üledék tetraciklin koncentrációjához viszonyítva kimagasló a gyékényrizóma minták tetraciklin tartalma. A süllőhínár esetében szintén kiugró értéket mértünk a békési mintákban, a fűznél érdekes módon a kontroll mintában is számottevő mennyiség mutatható ki. Mérési adataink azt sugallják, hogy nem csak azokon a helyeken számíthatunk akkumulációra, ahol a vegyületcsoport az üledékhez kötött formában található, hanem ahol oldott formában a vízből a növényzet felhalmozhatta.



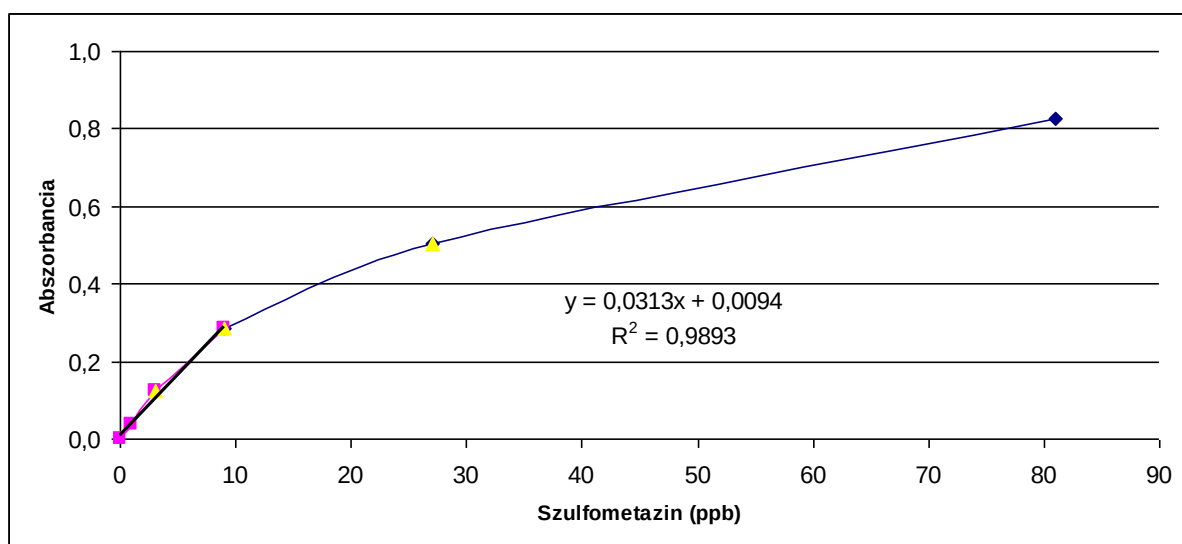
12. ábra. Növényminták tetraciklin tartalma liofilizált anyagra vonatkoztatva (ng/g)

A Körösök vízrendszeréből gyűjtött bentoszminták tetraciklin elemzése

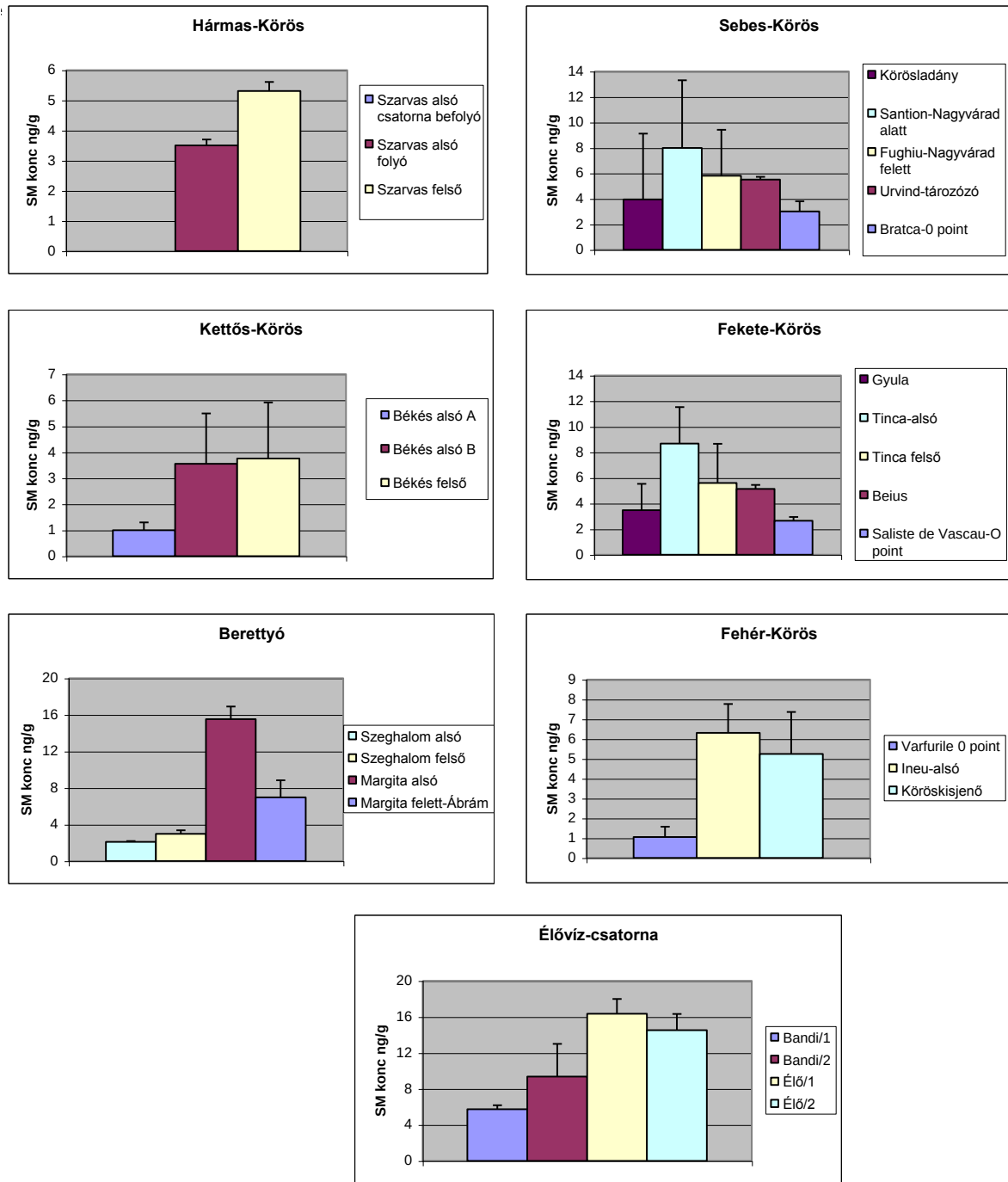
A bentoszlakó állatok gyógyszermaradvány vizsgálatára az üledékből kigyűjtött összes élőszervezetet biomasszaként használtuk fel, fajonkénti vizsgálatra a kis mennyiségek miatt nem volt lehetőségünk. A fajlista a Függelék 2. táblázatában található. Az ELISA screening vizsgálat eredményeként a legtöbb mintavételi ponton kimutatási határ közeli koncentráció értékeket kaptunk. Két kiugró mérési pont különíthető el, a Szarvas város alatti szennyvízbefolyó környéke (88 ng/g, e.a.), valamint az urvindi tározó (45 ng/g, e.a.). Összességében megállapítható, hogy a bentoszlakó szervezetekben előfordulhat nyomnyi mennyiségben tetraciklin maradvány, de az adódhat akár a felületi szennyeződésből is.

A szulfametazin mérés beállítása és standardizálása ELISA tesztel, a módszer alkalmazhatóságának vizsgálata környezeti mintákban

A mérések előtt standardokat futtattunk 0;1, 3, 9, 27 és 81 µg/L koncentrációkban, melyet a 13. ábrán szemléltetnek. Az abszorbancia-koncentráció görbe a 0 - 9 µg/L (ppb) tartományban lineáris, ezt használtuk az ismeretlen koncentrációk meghatározására. A kimutatási határ a szárított üledékben 0,1 ng/g volt.



13. ábra. A szulfametazin meghatározás standardizációja



14. ábra. Az üledékminták szulfametazin tartalma liofilizált szárazanyagra vonatkoztatva

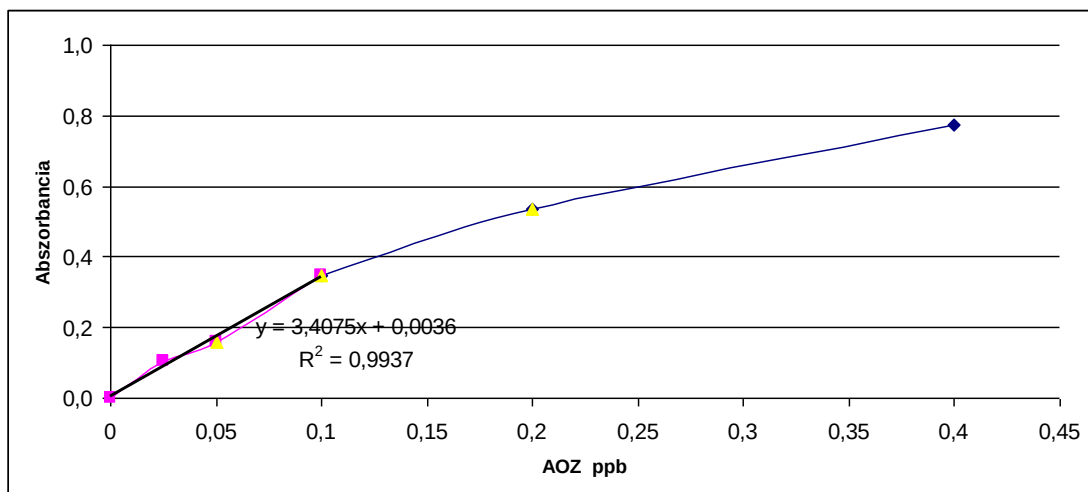
A Körösök vízrendszeréből gyűjtött különböző üledékminták szulfametazin tartalmának meghatározása

A tetraciklin vizsgálatoknál ismertetett mintákat elemeztük a szulfametazin esetében is, összesen 28-at. Az eredményeket a 14. ábrán ismertetem az egyes folyószakaszokra vetítve. A koncentráció értékek átlagosan az 1-8 ng/g közötti tartományban helyezkednek el és többnyire a város alatti magas koncentrációnak megfelelő trendet mutatják. A marghitai mintákban kiugró értéket mértünk, melyek 14-16 ng/g között változtak. A szakirodalomban üledékvizsgálatokra nem, csak vízelemzésekre találtunk adatokat.

A békéscsabai Élővíz-csatorna üledékében is elég magas értékeket mértünk (10-16 ng/g), és különbség van a szennyvíztelep előtti és utáni mintahely eredményei között is. A szennyvíztelep előtt vett csatornaüledék számottevően több szulfametazint tartalmaz, mint a tisztított szennyvízzel hígított csatorna üledéke. Ez azt mutatja, hogy a szennyvíztelep nem terheli tovább az Élővíz-csatornát, az alkalmazott technológia segítségével a szennyvíziszappal eltávolítható a szulfametazin.

A nitrofurazolidon bomlástermékének, a 3-amino-2-oxazolidon (AOZ) mérésének beállítása és standardizálása ELISA teszttel, a módszer alkalmazhatóságának vizsgálata környezeti mintákban

A mérések előtt standardokat futtattunk 0, 25, 50, 100, 200, és 400 ppt koncentrációkban. A standard görbét a 15. ábrán mutatom be. A linearitási tartomány 0 és 100 ppt között volt, a további mérésekhez és számolásokhoz az itt felvett kalibrációs egyenest használtam. A kimutatási határ $0,08 \text{ ng g}^{-1}$ (ppb) volt szárított üledékben.



15. ábra. Az AOZ bomlástermék meghatározás standardizációja

A Körösök vízrendszeréből gyűjtött különböző üledékminták AOZ tartalmának meghatározása

A furazolidon bomlástermékét, az AOZ-t a legtöbb üledékmintában a kimutatási határ közelében találtuk meg. Néhány nagyváros utáni mintahelyen, mint Marghita és Nagyvárád mértünk egy kicsit nagyobb értékeket, 0,18 és 0,16 ppb-t. A nemzetközi és a hazai irodalomban a nitrofurán származékok jelenlétére környezeti mintákban nem találtam hivatkozást, gyakori viszont az élelmiszeripari termékek vizsgálata, különösen az Ázsiából importált áruk esetén.

5. Következtetések és javaslatok

A Körösök és a Berettyó folyó élővilágának és üledékének antibiotikum szennyezettsége az állattenyésztésben megtalálható szintekkel összehasonlítva kismértékű. A nemzetközi irodalomban fellelhető adatokkal egyezően méréseink is igazolták, hogy az antibiotikumok jelentős mennyiségben tapadnak a folyóvízi üledékhez, így anaerob körülmények között kevésbé bomlanak, mint a vízben, ahol napsugárzás hatására is degradálódnak. Mérési eredményeink megerősítik azt a szakirodalomban olvasható és világszerte elfogadott véleményt, hogy a mai ismert technológiákkal működő szennyvíztelepek nem képesek teljesen lebontani ezeket a vegyületeket.

A növényi mintákban meghatározott tetraciklin szintek azt mutatják, hogy a növények képesek akkumulálni ezeket a szerves vegyületeket. Ez új lehetőséget nyithat e vegyületek vizes élőhelyek létesítésével történő eltávolítására a szennyvíztelepek, valamint az állattartó farmok, halgazdaságok elfolyó vizéből.

A bentikus állatok tetraciklin szennyezettségének vizsgálata nem bizonyítja a bioakkumuláció előfordulását ezekben a szervezetekben. Erre további monitoring vizsgálatok szükségesek, melyet a későbbiekben, a tavaszi mintavétel során fognak elvégezni a HAKI munkatársai.

A vizsgált folyók üledékében a szulfametazin és a nitrofurán szennyezettség, bár mérhető mennyiségben sikerült kimutatnunk, alacsonynak tekinthető.

A humán gyógyszerfogyasztás hatását ezeken a mintákon keresztül is érzékelhettük. A mintahelyek nagy részén a város felett alacsonyabb koncentrációkat mértünk, mint a város után, a szennyvízkifolyók közelében. Adatainkból ugyanakkor az is látszik, hogy ezek a szennyeződések hosszú távon nem befolyásolják a folyó minőségét, meglátásom szerint a szennyezőforrás után néhány km-re már csökkenést feltételezhetünk. Ez a megfigyelés megegyezik a szakirodalmi forrásokban leírtakkal (Pouliquen et.al, 2009).

Az eredmények tükrében a következő javaslatokat fogalmazom meg:

- Véleményem szerint fontos lenne, ha mind a humán gyógyászatban, mind az állattartásban felhasznált gyógyszermennyiségeket csökkentenénk, ha környezettudatosabban élnénk, és e látásmódot a következő generációknak is továbbadnánk.
- Véleményem szerint már azzal is sokat segíthetnénk, ha a nem használt gyógyszereket nem a kommunális hulladéktárolóba helyeznénk el, vagy nem a csatornába

öntենék, hanem a gyógyszertárakban leadnánk azokat. A begyűjtött gyógyszerek így a környezetet kevésbé károsító módon égetéssel semmisíthetők meg.

- Ezen túlmenően olyan szennyvíztisztítási technológiák kidolgozására van szükség, melyek képesek a szennyvizekben lévő gyógyszermaradványok eltávolítására.

- A jövő feladata mindenképpen a „green pharmacy”, a környezetbarát, lebomló gyógyszerek előállítása és használata.

6. Összefoglalás

Az ipari előállítás, a modern növényvédelem és az intenzív gyógyszerfelhasználás során egyre számottevőbb mennyiségben kerülnek a természetbe környezetszennyező anyagok. Egyes szintetikus anyagok hormonális hatását már a múlt század harmincas éveiben kimutatták. A különböző vegyipari termékek, többek között a gyógyszerek és hormonhatású anyagok egyre súlyosabb környezeti szennyező hatásait azonban csak az utóbbi 10-20 évben kezdték egyre szélesebb körben felismerni, miután bebizonyosodott, hogy az emberre is egyre erősödő és egyre súlyosabb hatásokkal lehetnek. A gyógyszermaradványok, más szennyezőanyagokhoz hasonlóan, képesek beépülni a növényekbe, állatokba, ahol koncentrációjuk a bioakkumuláció és biomagnifikáció révén sokkal nagyobb lehet, mint a környezetben.

Ezért a gyógyszermaradványok kimutatása, és azok lehetséges mellékhatásainak tanulmányozása vízi környezetben az elmúlt időszakban egyre nagyobb figyelmet kapott. Napjainkban sorra jelennek meg az olyan tanulmányok, amelyek felhívják a figyelmet arra, hogy az intenzív gyógyszerfelhasználás során a természeti környezetbe kerülő szennyező anyagok milyen nagy kockázatot jelentenek. Ezek az anyagok vagy eredeti formában, vagy metabolitként kerülnek a környezetbe, mivel a szennyvíztisztító technológiák nem képesek lebontásukra. Így a szennyvizekkel vagy szivárgó vizekkel folyókba, tavainkba, a talajvízbe és ivóvízbe is bekerülnek, szennyezve és mérgezve ezzel a vizek élővilágát.

A Halászati és Öntözési Kutatóintézetben egy nemzetközi projekt keretében a Körösök vízrendszerének gyógyszermaradvány monitoring vizsgálatát kezdték el. Ebbe a felmérésbe kapcsolódtam be, célkitűzésünk a teljes tápláléklánc bioakkumulációjának vizsgálata volt. A vizsgálatokhoz ötféle mintatípus került begyűjtésre: víz, bentosz, üledék, halak, vízinövények. A dolgozatban három mintatípussal foglalkoztam: üledék, vízi növények és bentoszlakó állatok. A vízi növények közül nád- és gyékényfajok, lebegő hínárok, rucaöröm és békalencse begyűjtésére került sor. A bentoszlakó állatok többnyire különféle lárvákból, csigafélékből és kagylókból kerültek ki.

Ezekből a mintákból antibiotikumokat (tetraciklint, szulfonamidot és nitrofuránt) határoztunk meg. A tetraciklint az ötvenes években történő felfedezése után nagy intenzitással

alkalmazták, származékainak jelentős része azonban perszisztensként viselkedik a környezetben. A tetraciklin származékokat vízi növényekben is kimutatták, ez azt bizonyítja, hogy a növények képesek a talajból és üledékből is felvenni azokat. Az USA-ban a szulfonamidokat már ivóvízben is megtalálták, de jól mérhető mennyiségben vannak jelen a folyóvizekben, szennyvíztisztító telepek elfolyóvizeiben is. A nitrofuránt elsősorban az állatgyógyászatban használták széleskörűen. Hosszú évekbe telt, mire kiderült, hogy mutagén és karcinogén hatása is van.

Az üledékmintákra vonatkozó tetraciklin elemzéseknél az esetek többségében kimutattuk az aktivitással rendelkező tetraciklin vegyületeket, melyek koncentrációi a 1,6-91,77 ng/g tartományba esnek. A szakirodalomban található korábbi mérési eredményekkel összehasonlítva megállapítható, hogy a Körösökben mért értékek általában egy nagyságrenddel kisebbek voltak, csak néhány esetben érték el a halastavak üledékeiben mért mennyiségeket.

A szulfametazin koncentrációk 1-8 ng/g között helyezkednek el. Két kiugró értéket mértünk, a marghitai és az Ineu város feletti mintában. Az AÖZ-t a legtöbb üledékmintában a kimutatási határ közelében találtuk meg.

A növénytípusok esetében 4 és 572 ng/g közötti tetraciklin értéket határoztunk meg, mely nagyságrendileg hasonló a szakirodalomban talált egyetlen vizsgálati adathoz. A bentoszlakó élőlények esetében nyomokban találtunk csak tetraciklin maradványt, kiugró értéket a szarvasi szennyvízbefolyó környékén mértünk.

Munkámmal arra szeretném felhívni a figyelmet, hogy a csekély mennyiségük miatt veszélytelennek tartott gyógyszermaradványok hatással vannak, illetve lehetnek a vízi élőlényekre, és közvetetten a környező lakosságra is. Az eddigi eredmények csak a növényeknél mutatják a bioakkumuláció előfordulását, de a gyógyszermaradványok állandó jelenléte tudvalevőleg hozzájárul a rezisztens baktériumtörzsek kifejlődéséhez. Ennek ismeretében mindenképpen fel kell hívni a figyelmet a tudatos gyógyszerfelhasználásra.

Véleményem szerint e vegyületek körültekintőbb alkalmazásával (szükséges mennyiség és indokolt alkalom), a fel nem használt készletek megfelelő elhelyezésével, valamint a szennyvíztisztítási technológiák fejlesztésével gyönyörű folyóink megtarthatnák egyedi szépségüket, és csodálatos élővilágukat.

Irodalomjegyzék

- Boxall A.B.A., 2004: The environmental side effects of medication. How are human and veterinary medicines in soils and water bodies affecting human and environmental health? (viewpoint) *EMBO reports* 5(12), 1110-1116
- Capone D.G., Weston D.P., Miller V., Shoemaker C., 1996: Antibacterial residues in marine sediments and invertebrates following chemotherapy in aquaculture. *Aquaculture* 145, 55-75, 1996
- Colborn T., Dumanoski D. and Peterson J., 1996: Our stolen future: Are we threatening our fertility, intelligence and survival? – A scientific detective story. New York, NY: Dutton, Penguin Books VSA
- Daughton C. G., 2003: Chemicals from Pharmaceuticals and Personal Care Product. In: E. Julius Dasch (ed.) *Water Science and Issues*, New York: Macmillan Reference USA, 158-164
- Dietrich D. R., Prietz A., 1999: Fish embryotoxicity and teratogenicity of pharmaceuticals, detergents and pesticides regularly detected in sewage treatment plant effluents and surface waters, *Toxicologist* 48 (1-S), 151
- Dodds E. C. and Lawson W., 1938: Molecular structure in relation to oestrogenic activity. Compounds without a phenanthrene nucleus, *Proceedings of the Royal Society, London B.*, 125, 222-232
- Ferrari B., Paxeus N., Lo Giudice R., Pollio A. and Garric J., 2003: Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewaters: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac, *Ecotoxicological Environment Safety*, 55, (3), 359–370
- Ferrari B., Mons R., Vollat B., Fraysse B., Paxeus N., Lo Giudice R., Pollio A. and Garric J., 2004: Environmental risk assessment of six human pharmaceuticals: are the current environmental risk assessment procedures sufficient for the protection of the aquatic environment?, *Environmental Toxicology Chemistry*, 23, 5, 1344–1354
- Hartig C., Storm T., Jekel M., 1999: Detection and identification of sulphonamide drugs in municipal waste water by liquid chromatography coupled with electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, Vol. 854, Issues 1-2, p. 163
- Heberer T. 2002: Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data, *Toxicol. Letter* 131 (1/2), pp. 5–17

- Hoeger B., Köllner B., Dietrich D. R. and Hitzfeld B., 2005: Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*) *Aquatic Toxicology* 75, (1), pp. 53-64
- Hong H. Na, Kim H. Na, Park K.S., Lee S.K. and Gu M.B. 2007: Analysis of the effects diclofenac has on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) using real-time PCR, *Chemosphere* 67, (11), 2115-2121
- Hooper, R. 2009: Top 11 compounds in US drinking water *New Scientist*
- Jones O.A.H., Voulvoulis N., Lester J.N. 2002: Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals, *Water Research* 36, 5013–5022
- Juvancz Z., 2005: Szteroidhormonok környezeti hatásai. *Környezetvédelem XIII.*, 2., pp. 26-27
- Karci A. and Balcioglu I.A. 2009: Investigation of the tetracycline, sulphonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey, *Science and Total Environment*, 407, 16, 4652-4664
- Kumar K., Gupta S.C., Baidoo S.K., Chander Y. and Rosen C.J., 2005: Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure, *Journal of Environmental Quality*, 34, 2082–2085
- Lalumera G.M., Calamari D., Galli P., Castiglioni S., Crosa G., Fanelli R. 2004: Preliminary investigations on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy, *Chemosphere* 54, 661-668
- Pouliquen H., Delépée R., Thorin C., Haury J., Larhantec-Verdier M., Morvan M.L., Le Bris H. 2009: Comparison of water, sediment, and plants for the monitoring of antibiotics: A case study on river dedicated to fish farming, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28, (3), 496-502
- Oaks J.L., Gilbert M., Virani M.Z., Watson R.T., Meteyer C.U., Rideout B.A., Shivaprasad H.L., Ahmed S., Chaudhry M.J.I., Arshad M., Mahmood S., Ali A. and Khan A.A., 2004: Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan, *Nature* 427, 6975, 630–633
- Rhodes G., Huys G., Swings J., McGann P., Hiney M., Smith P., Pickup R.W.: 2000: Distribution of oxytetracycline resistance plasmids between aeromonads in hospital and aquaculture environments: implication of Tn1722 in dissemination of the tetracycline resistance determinant tet A., *Applied Environment Microbiology*, 66, (9), 3883-3890

- Sárkány-Kiss E., Sîrbu I., Kalivoda B. 1999: A Körös-medence folyóvölgyeinek természeti állapota / Starea naturală a văilor din Bazinul Crișurilor. – Tisza Klub és Pro Europa Liga, Szolnok – Marosvásárhely, p. 296
- Schulze T. 2008: Effect-directed analysis of phototransportation products of diclofenac. SETAC European Annual Meeting, 2008
- Schwaiger J., Ferling H., Mallow U., Wintermayr H. and Negele R.D. 2004: Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac part I,: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout, *Aquatic Toxicology*, 68, 141–150
- Ternes, T. A., 1998: Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers, *Water Research* 32, (11), pp. 3245-3260
- Záray Gy., 2006: Az analitikai kémia néhány környezettudományi kihívása. Challenges of analytical chemistry generated by environmental sciences. *Magyar Kémiai Folyóirat*, 112 (1), pp. 5-8

Világháló oldal:

<http://www.newscientist.com/article/dn16397-top-11-compounds-in-us-drinking-water.html>

http://www.leederconsulting.com/food_nitrofurans_residues.html

<http://vizeink.hu/>

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Dr. Jakab Gusztáv főiskolai docensnek és Dr. Jakabné Dr. Sándor Zsuzsanna tudományos főmunkatársnak, akik javaslataikkal, szakmai iránymutatásukkal nagy segítséget adtak dolgozatom megírásához. Köszönettel tartozom továbbá Bogár Gábornénak a laboratóriumi mérések során nyújtott jelentős segítségéért. A nemzetközi projekt (PHARMARIVER–HURO, projektszám 0901/086.2.2.2) az Európai Unió ERFA támogatásával valósulhatott meg.

Függelék

1. táblázat. Begyűjtött növényfajok

Salix alba	fehér fűz
Myriophyllum spp.	süllőhínár fajok
Rumex spp.	lórom fajok
Typha latifolia	széleslevelű gyékény
Trapa natans	sulyom
Lythrum spp.	füzény fajok
Elodea canadensis	kanadai átokhínár
Alisma spp.	hídőr fajok
Sagittaria saggitifolia	közönséges nyílfű

2. táblázat. Bentosz fajlista

Gammarus sp.	tüskés bolharák
Odonata larvae	szitakötő lárva
Bithynia sp.	vízicsiga
Dityscidae larvae	csíkbogár lárva
Aeschna larvae	acsa lárva
Radix sp.	fűlcsiga
Hirudinae	pióca
Libelula larvae	nagyszitakötő lárva
Diptera larvae	kétszárnyúfélék lárva
Ephemeroptera larvae	kérészlárva
Trichoptera larvae	tegzes lárva
Oligochaeta	Kevéssertéjű férgek
Viviparus viviparus	mocsári fialócsiga
Sphaerium sp.	gömbkagyló
Chironomida larvae	árvaszúnyog lárva
Gomphus larvae	szitakötő lárva
Coleoptera larvae	bogárlárva
Unio sp.	folymkagyló
Adonata sp.	tavikagyló
Turbellariata	örvényféreg
Heteroptera	poloska
Zygoptera	kis szitakötő



1. ábra. A mintavevő csapat üledék mintavétel közben.



2. ábra. Növény mintavétel úszó-lebegő növényzetből és gyökérzónával rendelkező növényzetből.



3. ábra. Bentosz mintavétel, planktonháló segítségével történő mintavételezés és a gyűjtött csigák.